



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I884192 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 05 月 21 日

(21)申請案號：109142793

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 12 月 04 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

C07K16/30 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2019/12/05 美國

62/943,959

2020/04/20 美國

63/012,584

(71)申請人：美商西健公司 (美國) SEAGEN INC. (US)

美國

(72)發明人：萊恩 穆林 RYAN, MAUREEN (US)；維思登朵芙 蘿莉 WESTENDORF, LORI (US)；邁耶 埃里克 布拉德利 MEYER, ERIC BRADLEY (US)；科斯特納 希瑟 簡 KOSTNER, HEATHER JEAN (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

CN 104072614A

WO 2013/123152A2

審查人員：吳佩諄

申請專利範圍項數：42 項 圖式數：18 共 151 頁

(54)名稱

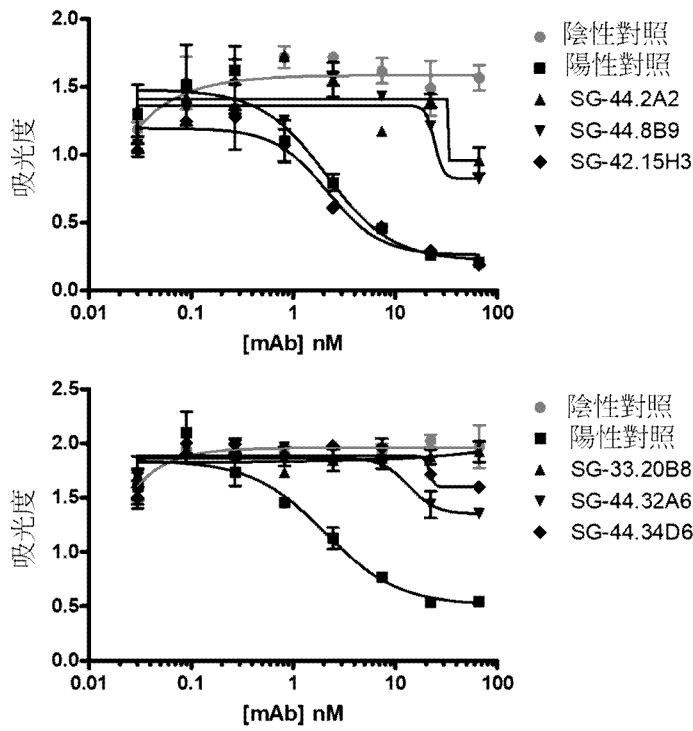
抗 α V β 6 抗體及抗體-藥物結合物

(57)摘要

本發明提供新穎抗 α v β 6 抗體及抗體-藥物結合物以及使用此類抗 α v β 6 抗體及抗體-藥物結合物治療癌症之方法。

Provided are novel anti- α v β 6 antibodies and antibody-drug conjugates and methods of using such anti- α v β 6 antibodies and antibody-drug conjugates to treat cancer.

指定代表圖：



【圖1】



I884192

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗 $\alpha V\beta 6$ 抗體及抗體-藥物結合物

【英文發明名稱】

ANTI- $\alpha V\beta 6$ ANTIBODIES AND ANTIBODY-DRUG CONJUGATES

【中文】

本發明提供新穎抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體及抗體-藥物結合物以及使用此類抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體及抗體-藥物結合物治療癌症之方法。

【英文】

Provided are novel anti- $\alpha v\beta 6$ antibodies and antibody-drug conjugates and methods of using such anti- $\alpha v\beta 6$ antibodies and antibody-drug conjugates to treat cancer.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗 α V β 6抗體及抗體-藥物結合物

【英文發明名稱】

ANTI- α V β 6 ANTIBODIES AND ANTIBODY-DRUG CONJUGATES

【技術領域】

【0001】 本發明係關於新穎抗 α v β 6抗體及抗體-藥物結合物以及使用此類抗 α v β 6抗體及抗體-藥物結合物治療癌症之方法。

【先前技術】

【0002】 α v β 6 (亦稱為 α -v β -6)為結合細胞外基質蛋白(諸如纖維結合蛋白)之細胞黏著受體。 α v β 6係由 α v子單元及 β 6子單元構成，且在多種癌症(包括非小細胞肺癌(NSCLC))會上調。

【0003】 NSCLC為最常見類型之肺癌。在過去一年，超過200,000人經診斷患有肺癌，其為癌症死亡的主要原因。因此，需要針對NSCLC的改良治療。

【0004】 本文中所引用之所有參考文獻(包括專利申請案、專利公開案及科學文獻)皆以全文引用之方式併入本文中，如同各個參考文獻經特定地及個別地指示以引用之方式併入一般。

【發明內容】

【0005】 本文提供抗 α v β 6抗體及針對 α v β 6之抗體-藥物結合物(ADC)。本文亦提供使用針對抗 α v β 6之抗體及ADC來治療表現 α v β 6之病症(包括癌症)的方法。較佳的抗 α v β 6抗體包含SEQ ID NO: 31、32及33之重鏈CDR序列及SEQ ID NO: 37、42及39之輕鏈CDR序列，如由Kabat編

號所確定。

【圖式簡單說明】

【0006】 圖1展示對各種抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體之LAP阻斷ELISA分析的結果。

【0007】 圖2展示關於表現人類及食蟹獼猴 $\alpha\text{v}\beta 6$ 之293F細胞與鼠類抗體純系2A2 (被稱為m2A2)的飽和結合研究之結果。

【0008】 圖3展示親本鼠類mAb (稱為m2A2)重鏈可變區與選定人類生殖系受體(被稱為hIGHV1-46/HJ4)及人類化2A2重鏈變異體的胺基酸序列之比對。星號表示如由Kabat所確定之CDR，且十字形表示如由IMGT所確定之CDR。

【0009】 圖4展示親本鼠類mAb (稱為m2A2)輕鏈可變區與選定人類生殖系接受體(稱為hIGKV1D-33/KJ2)及人類化2A2輕鏈變異體的胺基酸序列之比對。星號表示如由Kabat所確定之CDR，且十字形表示如由IMGT所確定之CDR。

【0010】 圖5展示關於表現人類 $\alpha\text{v}\beta 6$ 之293F細胞與具有LA及LB輕鏈之人類化抗體及親本鼠類及嵌合抗體(分別稱為m2A2及c2A2)之競爭結合研究的結果。

【0011】 圖6展示關於表現人類 $\alpha\text{v}\beta 6$ 之293F細胞與具有HA及HC重鏈的人類化抗體及親本鼠類及嵌合抗體(分別稱為m2A2及c2A2)之競爭結合研究的結果。

【0012】 圖7展示關於表現人類 $\alpha\text{v}\beta 6$ 之293F細胞與人類化抗體及親本鼠類抗體(稱為m2A2)之子集的競爭結合研究之重複結果。

【0013】 圖8展示關於表現人類及食蟹獼猴 $\alpha\text{v}\beta 6$ 之293F細胞與h2A2

HCLG人類化抗體及親本鼠類抗體(稱為m2A2)的飽和結合研究之結果。

【0014】 圖9展示關於表現人類及食蟹獼猴 $\alpha v\beta 6$ 之293F細胞與HCLG人類化抗體及ADC的競爭結合研究之結果。

【0015】 圖10展示藉由ELISA對人類 $\alpha v\beta 1$ 、 $\alpha v\beta 3$ 、 $\alpha v\beta 5$ 、 $\alpha v\beta 6$ 及 $\alpha v\beta 8$ 與h2A2 HCLG人類化抗體之 $\alpha v\beta 6$ 特異性結合研究的結果。

【0016】 圖11展示h2A2 HCLG抗aVb6 vcMMAE ADC針對表現 $\alpha v\beta 6$ 之癌症細胞株展現活體外細胞毒性。

【0017】 圖12展示對裸鼠中之Detroit 562頭頸癌細胞株的異種移植研究之結果。圖式上指示劑量及排程。

【0018】 圖13展示對裸鼠中之HPAFII胰臟癌細胞株的異種移植研究之結果。圖式上指示劑量及排程。

【0019】 圖14展示對裸鼠中之BxPC-3胰臟癌細胞株的異種移植研究之結果。圖式上指示劑量及排程。

【0020】 圖15展示對裸鼠中之SW780膀胱癌細胞株的異種移植研究之結果。圖式上指示劑量及排程。

【0021】 圖16展示對裸鼠中之六個NSCLC細胞株之PDX研究的結果。以3 mg/kg q7dx3給藥ADC。

【0022】 圖17展示對裸鼠中之六個卵巢癌細胞株之PDX研究的結果。以5 mg/kg q7dx3給藥ADC。

【0023】 圖18展示兩種細胞株異種移植模型中之h2A2 HCLG與h15H3之間的比較結果。以3 mg/kg給藥ADC一次。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0024】本申請案主張2019年12月5日申請的美國臨時申請案第62/943,959號及2020年4月20日申請的美國臨時申請案第63/012,584號之權益，其中之每一者出於所有目的以全文引用之方式併入本文中。

序列表之參考

【0025】本申請案包括2020年11月16日創建的名為AVB6-00212_ST25且含有52KB之檔案中之電子序列表，該電子序列表特此以引用之方式併入。

I. 定義

【0026】為了使本發明更易於理解，首先對某些術語進行定義。如本申請案中所使用，除非本文另外明確提供，否則以下術語中之每一者應具有以下闡述之含義。在整個本申請案中，闡述其他定義。

【0027】本文所用之術語「及/或」應視為兩種指定特徵或組分中之每一者具有或不具有另一者之特定揭示內容。因此，如在本文中之諸如「A及/或B」之片語中所使用的術語「及/或」意欲包括「A及B」、「A或B」、「A」(單獨)及「B」(單獨)。同樣，如在諸如「A、B及/或C」之片語中所使用之術語「及/或」意欲涵蓋以下態樣中之每一者：A、B及C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A及C；A及B；B及C；A (單獨)；B (單獨)；及C (單獨)。

【0028】應理解，本文所描述之本發明之態樣及實施例包括「包含」態樣及實施例、「由態樣及實施例組成」及「基本上由態樣及實施例組成」。

【0029】除非另外定義，否則本文中所用之所有技術及科學術語均具有與一般熟習此項技術者通常所理解相同之含義。舉例而言，Concise

Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 第2版, 2002, CRC Press ; Dictionary of Cell and Molecular Biology, 第3版, 1999, Academic Press ; 及Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press , 向此項技術者提供本發明中所用之許多術語的通用辭典。

【0030】單位、前綴及符號以其國際單位制(Système International de Unites ; SI)接受之形式表示。數值範圍包括限定該範圍之數值。本文所提供之標題並非對本發明之各種態樣之限制，其可藉由參考本說明書而整體得出。因此，下文緊接著定義之術語藉由參考整個說明書來更充分地定義。

【0031】術語「 $\alpha\text{v}\beta 6$ 」、「 $\text{avb}6$ 」、「 $\alpha\text{-v } \beta\text{-6}$ 」或「 $\beta 6$ 」在本文中可互換地使用，且除非另外規定，否則包括一般由細胞表現或表現在經 $\alpha\text{v}\beta 6$ 基因轉染之細胞上之人類 $\alpha\text{v}\beta 6$ 的任何變異體、異構體及物種同系物。

【0032】術語「免疫球蛋白」係指由兩對多肽鏈、一對輕(L)低分子量鏈及一對重(H)鏈組成的一類結構上相關糖蛋白，所有四個鏈藉由二硫鍵互連。已充分表徵免疫球蛋白之結構。參見例如Fundamental Immunology第7章(Paul, W., 編, 第2版. Raven Press, N .Y. (1989))。簡言之，每一重鏈通常包含重鏈可變區(本文中縮寫為 V_H 或 VH)及重鏈恆定區(C_H 或 CH)。重鏈恆定區通常包含三個域： C_{H1} 、 C_{H2} 及 C_{H3} 。重鏈一般經由所謂「鉸鏈區」中之二硫鍵互連。每一輕鏈通常包含輕鏈可變區(本文中縮寫為 V_L 或 VL)及輕鏈恆定區(C_L 或 CL)。輕鏈恆定區通常包含一個域 C_L 。 CL 可為 κ (卡帕(kappa))或 λ (拉姆達(lambda))同型。術語「恆定域」

及「恆定區」在本文中可互換使用。免疫球蛋白可來源於任何通常已知同型，包括(但不限於) IgA、分泌性IgA、IgG及IgM。IgG子類亦為熟習此項技術者熟知，且包括(但不限於)人類IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。「同型」係指由重鏈恆定區基因編碼之抗體類別或子類(例如，IgM或IgG1)。

【0033】術語「可變區」或「可變域」係指抗體重鏈或輕鏈中參與抗體與抗原之結合的域。天然抗體之重鏈及輕鏈的可變區(分別為V_H及V_L)可進一步細分成高變區(region of hypervariability) (或高變區(hypervariable region)，其可在序列及/或結構上限定環之形式中高變)，亦稱為互補決定區(CDR)，穿插有更保守的區，稱為構架區(FR)。與「高變區」或「HVR」同義之術語「互補決定區」及「CDR」在此項技術中已知係指抗體可變區內之非連續胺基酸序列，其賦予抗原特異性及/或結合親和力。一般而言，每一重鏈可變區中存在三個CDR (CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3)且每一輕鏈可變區中存在三個CDR (CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3)。「構架區」及「FR」在此項技術中已知係指重鏈及輕鏈之可變區的非CDR部分。一般而言，每一全長重鏈可變區中存在四個FR (FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4)，且每一全長輕鏈可變區中存在四個FR (FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4)。在每一V_H及V_L內，三個CDR及四個FR通常按以下順序自胺基末端排列至羧基末端：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4 (亦參見Chothia及Lesk J. Mot. Biol., 195, 901-917 (1987))。

【0034】在本發明之上下文中，術語「抗體」(Ab)係指免疫球蛋白分子，免疫球蛋白分子之片段及其之衍生物，其能夠在典型的生理條件下以明顯時段之半衰期特異性結合於抗原，諸如至少約30 min、至少約45

min、至少約一小時(h)、至少約兩小時、至少約四小時、至少約八小時、至少約12小時(h)、約24小時或更長時間、約48小時或更長時間、約三天、四天、五天、六天、七天或更多天等或任何其他相關功能上限定之時段(諸如足以誘發、促進、提高及/或調節與抗體結合於抗原相關聯之生理反應的時間及/或足夠抗體募集效應子活性之時間)。免疫球蛋白分子之重鏈及輕鏈的可變區含有與抗原相互作用之結合域。抗體(Ab)之恆定區可調節免疫球蛋白與宿主組織或因子的結合，包括免疫系統之各種細胞(諸如效應子細胞)及補體系統之組分(諸如C1q，補體活化之經典路徑中的第一組分)。抗體亦可為雙特異性抗體、雙功能抗體、多特異性抗體或類似分子。

【0035】 如本文中所用之術語「單株抗體」係指以重組方式產生具有單個主要胺基酸序列，由小鼠B細胞融合體產生之抗體分子之製備。單株抗體組合物顯示針對特定抗原決定基之單一結合特異性及親和力。因此，術語「人類單株抗體」係指顯示單結合特異性之抗體，其具有來源於人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區。人類單株抗體可由融合瘤產生，該融合瘤包括稠合至永生化細胞之由轉殖基因或轉殖染色體非人類動物(諸如轉殖基因小鼠)獲得的B細胞，其具有包含人類重鏈轉殖基因及人類輕鏈轉殖基因之基因體。

【0036】 術語「經分離抗體」係指大體上不含具有不同抗原特異性之其他抗體的抗體(例如，特異性結合於 $\alpha\nu\beta 6$ 之經分離抗體大體上不含特異性結合於除 $\alpha\nu\beta 6$ 之外的抗原之抗體)。然而，特異性結合於 $\alpha\nu\beta 6$ 之經分離抗體可以與其他抗原，諸如來自不同物種之 $\alpha\nu\beta 6$ 分子具有交叉反應性。此外，經分離抗體可大體上不含其他細胞材料及/或化學物質。在一

個實施例中，經分離抗體包括與另一試劑(例如小分子藥物)連接之抗體結合物。在一些實施例中，經分離抗 $\alpha\nu\beta 6$ 抗體包括抗 $\alpha\nu\beta 6$ 抗體與小分子藥物(例如MMAE或MMAF)之結合物。

【0037】 「人類抗體」(HuMAb)係指具有可變區之抗體，該可變區中FR及CDR均來源於人類生殖系免疫球蛋白序列。此外，若抗體含有恆定區，則該恆定區亦來源於人類生殖系免疫球蛋白序列。本發明之人類抗體可包括不由人類生殖系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(例如藉由活體外無規或位點特異性突變誘發或藉由活體內體細胞突變引入之突變)。然而，如本文中所使用，術語「人類抗體」並不意欲包括其中來源於另一哺乳動物物種(諸如小鼠)之生殖系的CDR序列已移植於人類構架序列上的抗體。術語「人類抗體」及「完全人類抗體」同義使用。

【0038】 如本文所用，術語「人類化抗體」係指經基因工程改造之非人類抗體，其含有人類抗體恆定域及非人類可變域，該等非人類可變域經修飾以含有與人類可變域之高水準序列同源性。此可藉由將六個非人類抗體互補決定區(CDR) (其一起形成抗原結合位點)移植至同源人類受體構架區(FR)上來達成(參見WO92/22653及EP0629240)。為了充分重建親本抗體之結合親和力及特異性，可能需要將來自親本抗體(亦即，非人類抗體)之構架殘基取代至人類構架區中(回復突變)。結構同源性建模可幫助識別構架區中對於抗體結合性質而言重要的胺基酸殘基。因此，人類化抗體可包含非人類CDR序列，主要為人類構架區(其視情況包含非人類胺基酸序列之一或多個胺基酸回復突變)及完全人類恆定區。視情況，可應用額外胺基酸修飾(其不一定為回復突變)以獲得具有較佳特性(諸如親和力及生物化學性質)之人類化抗體。

【0039】如本文所用，術語「嵌合抗體」係指其中可變區來源於非人類物種(例如來源於嚙齒動物)且恆定區來源於不同物種(諸如人類)之抗體。嵌合抗體可藉由抗體工程改造產生。「抗體工程改造」為一般用於抗體之不同種類修飾之術語，且其為熟習此項技術者熟知的過程。特定言之，嵌合抗體可藉由使用如Sambrook等人,1989, *Molecular Cloning: A laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第15章中所描述之標準DNA技術產生。因此，嵌合抗體可為經基因或酶工程改造之重組抗體。產生嵌合抗體為熟習此項技術者所瞭解，且由此根據本發明產生嵌合抗體可藉由本文所描述之外的其他方法執行。研發用於治療性應用之嵌合單株抗體以減小抗體免疫原性。其通常可含有對所關注抗原具有特異性之非人類(例如鼠類)可變區及人類恆定抗體重鏈及輕鏈域。如在嵌合抗體之背景下所用之術語「可變區」及「可變域」係指包含免疫球蛋白之重鏈及輕鏈兩者的CDR及構架區的區域。

【0040】「抗-抗原抗體」係指結合於抗原之抗體。舉例而言，抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體為結合於抗原 $\alpha\text{v}\beta 6$ 之抗體。

【0041】抗體之「抗原結合部分」或「抗原結合片段」係指抗體之保留特異性結合於整個抗體所結合之抗原之能力之一或多個片段。抗體片段(例如抗原結合片段)之實例包括(但不限於) Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；雙功能抗體；直鏈抗體；單鏈抗體分子(例如scFv)；及由抗體片段形成之多特異性抗體。抗體之番木瓜蛋白酶消化產生兩個一致的抗原結合片段，稱為「Fab」片段，其各自具有單一抗原結合位點；及殘餘「Fc」片段，其名字反映其容易結晶之能力。胃蛋白酶治療產生具有兩個抗原組合位點且仍能夠使抗原交聯之F(ab')₂片段。

【0042】相對於參考多肽序列之「序列一致性百分比(%)」定義為在比對序列且視需要引入間隙以達成最大序列一致性百分比之後，且不將任何保守性取代視為序列一致性之部分，候選序列中與參考多肽序列中之胺基酸殘基一致的胺基酸殘基之百分比。出於判定胺基酸序列一致性百分比之目的之比對可以此項技術內之各種方式，例如使用公開可獲得的電腦軟體，諸如BLAST、BLAST-2、SnapGene Align或ClustalW BioEdit軟體來達成。熟習此項技術者可判定適用於比對序列之參數，包括在所比較之序列之全長內達成最大比對所需的任何演算法。舉例而言，既定胺基酸序列A相對於既定胺基酸序列B、與既定胺基酸序列B或對照既定胺基酸序列B之序列一致性% (其可替代地表述為相對於既定胺基酸序列B、與既定胺基酸序列B或對照既定胺基酸序列B具有或包含一定序列一致性%之既定胺基酸序列A)計算如下：

$$100 \times \text{分數} X/Y$$

其中X為在A與B之比對程式中藉由序列評估為一致匹配之胺基酸殘基之數目，且其中Y為B中之胺基酸殘基的總數目。應瞭解，在胺基酸序列A之長度不等於胺基酸序列B之長度的情況下，A相對於B之序列一致性%將不等於B相對於A之序列一致性%。

【0043】如本文所用，在抗體與預定抗原結合之情形下，術語「結合(binding/binds)」或「特異性結合」通常為親和力對應於以下 K_D 的結合：當藉由例如生物膜層干涉量測術(BLI)技術在Octet HTX儀器中使用抗體作為配體且抗原作為分析物測定時，為約 10^{-6} M或更小，例如 10^{-7} M或更小、諸如約 10^{-8} M或更小、諸如約 10^{-9} M或更小、約 10^{-10} M或更小、或約 10^{-11} M或甚至更小，且其中抗體以對應於以下 K_D 之親和力與預定抗

原結合：比其與除預定抗原或緊密相關抗原以外之非特異性抗原(例如BSA、酪蛋白)結合之 K_D 低至少十倍，諸如低至少100倍、例如低至少1,000倍、諸如低至少10,000倍、例如低至少100,000倍。結合 K_D 更低之量係視抗體之 K_D 而定，使得當抗體之 K_D 極低時，結合於抗原之 K_D 低於結合非特異性抗原之 K_D 的量可為至少10,000倍(亦即，抗體為高度特異性的)。

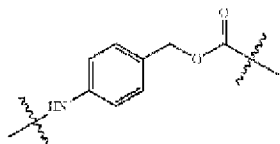
【0044】如本文中所用，術語「 K_D 」(M)係指特定抗體-抗原相互作用之解離平衡常數。如本文所用，親和力與 K_D 為反相關的，亦即親和力愈高意指 K_D 愈低，且親和力愈低意指 K_D 愈高。

【0045】術語「ADC」係指抗體-藥物結合物，其在本發明之情形下係指如本申請案中所描述與藥物部分(例如MMAE或MMAF)偶合的抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體。

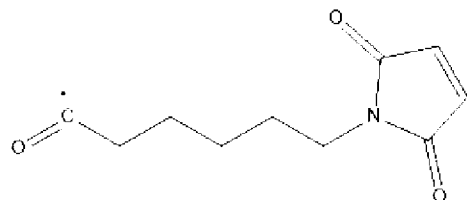
【0046】縮寫「vc」及「val-cit」係指二肽纈胺酸-瓜胺酸。

【0047】縮寫VKG係指三肽連接子纈胺酸-離胺酸-甘胺酸。

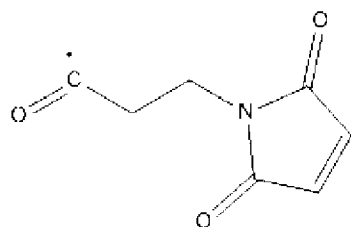
【0048】縮寫「PAB」係指自我分解型間隔子：



【0049】縮寫「MC」係指延伸子順丁烯二醯亞胺己醯基：



【0050】縮寫「MP」係指延伸子順丁烯二醯亞胺丙醯基：



【0051】如本文中所用「PEG單元」為包含重複伸乙基-氧基子單元(PEG或PEG子單元)且可為多分散、單分散或離散(亦即，具有離散數目之伸乙基-氧基子單元)的有機部分。多分散PEG為各尺寸及分子量之異質混合物，然而單分散PEG通常自異質混合物純化且因此提供單鏈長及分子量。較佳PEG單元包含離散PEG，即以逐步方式且不經由聚合過程合成之化合物。離散PEG提供具有限定及指定鏈長之單一分子。

【0052】本文所提供之PEG單元包含一或多個聚乙二醇鏈，其各自包含一或多個彼此共價連接之伸乙基氧基子單元。聚乙二醇鏈可例如以直鏈、分支鏈或星形組態連接在一起。通常，在併入喜樹鹼結合物之前，聚乙二醇鏈中之至少一者在一端衍生，該端之烷基部分經親電子基團取代以與亞甲基胺基甲酸酯單元(亦即表示R之個例)之胺基甲酸酯氮共價連接。通常，每一聚乙二醇鏈中不涉及與連接子單元之其餘部分共價連接的末端伸乙基氧基子單元經PEG封端單元修飾，該PEG封端單元通常視情況經烷基，諸如-CH₃、CH₂CH₃或CH₂CH₂CO₂H取代。較佳PEG單元具有單一聚乙二醇鏈，該單一聚乙二醇鏈具有2至24個串聯共價連接且在一端經PEG封端單元封端之-CH₂CH₂O-子單元。

【0053】「癌症」係指特徵為異常細胞在體內不受控生長之廣泛多種疾病群。「癌症」或「癌症組織」可包括腫瘤。不受調控的細胞分裂及生長導致惡性腫瘤形成，該等惡性腫瘤侵入鄰近組織且亦可經由淋巴系統或血流轉移至身體之遠端部分。轉移之後，遠端腫瘤可稱為「來源於」轉移前腫瘤。

【0054】術語「抗體依賴性細胞毒性」或ADCC為一種誘導細胞死亡之機制，其視經抗體包覆之靶細胞與具有裂解活性之免疫細胞(亦稱為效應子細胞)之相互作用而定。此類效應子細胞包括自然殺手細胞、單核球/巨噬細胞及嗜中性白血球。效應子細胞經由其抗原組合位點連接至與靶細胞結合之Ig之Fc效應子域。經抗體包覆之靶細胞之死亡係由於效應子細胞活性而發生。

【0055】術語「抗體依賴性細胞吞噬作用」或ADCP係指經抗體包覆之細胞藉由與Ig之Fc效應子域結合之吞噬免疫細胞(例如巨噬細胞、嗜中性白血球及樹突狀細胞)而完整或部分內化的過程。

【0056】術語「補體依賴性細胞毒性」或CDC係指一種誘導細胞死亡之機制，其中目標結合抗體之Fc效應子域活化一系列酶促反應，最終在靶細胞膜中之形成孔。通常，抗原-抗體複合物(諸如經抗體包覆之靶細胞上之抗原-抗體複合物)結合且活化補體組分C1q，其進而活化引起靶細胞死亡之補體級聯。補體之活化亦可藉由結合白血球上之補體受體(例如，CR3)而引起有助於ADCC之補體組分沈積於靶細胞表面上。

【0057】「細胞生長抑制作用」係指抑制細胞增殖。「細胞生長抑制劑」係指對細胞具有細胞生長抑制作用，由此抑制特定子集之細胞的生長及/或擴增之藥劑。細胞生長抑制劑可結合於抗體或與抗體組合投與。

【0058】個體之「治療」或「療法」係指對個體進行之任何類型之介入或過程，或向個體投與活性劑，目標為逆轉、緩解、改善、抑制、減緩或預防與疾病相關之症狀、併發症、病狀或生物化學標誌的發作、進展、發展、嚴重程度或復發。在一些實施例中，該疾病為癌症。

【0059】「個體」包括任何人類或非人類動物。術語「非人類動

物」包括(但不限於)脊椎動物，諸如非人類靈長類動物、綿羊、狗以及嚙齒動物，諸如小鼠、大鼠及天竺鼠(guinea pig)。在一些實施例中，個體為人類。術語「個體(subject)」及「患者」及「個體(individual)」在本文中可互換使用。

【0060】 藥物或治療劑之「有效量」或「治療有效量」或「治療有效劑量」為藥物在單獨或與另一治療劑組合使用時，防止個體之疾病發作或促進疾病消退的任何量，疾病消退藉由以下證明：疾病症狀之嚴重程度降低、無疾病症狀期之頻率及持續時間增加或預防由疾病病痛引起之損傷或功能障礙。治療劑促進疾病消退之能力可使用熟練的從業者已知的多種方法評估，諸如在臨床試驗期間在人類個體中評估、在預測人體內之功效的動物模型系統中評估或藉由在活體外分析中分析藥劑之活性評估。

【0061】 藉助於治療腫瘤之實例，相對於未治療之個體(例如，一或多個未治療之個體)，治療有效量之抗癌劑在經治療個體(例如，一或多個經治療個體)中抑制細胞生長或腫瘤生長達至少約10%、至少約20%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、或至少約80%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%。在一些實施例中，相對於未經治療個體(例如一或多個未經治療個體)，治療有效量之抗癌劑在經治療個體(例如一或多個經治療個體)中抑制細胞生長或腫瘤生長達100%。

【0062】 在本發明之其他實施例中，可觀測到腫瘤消退且繼續至少約20天、至少約30天、至少約40天、至少約50天或至少約60天之時間段。

【0063】 治療有效量之藥物(例如，抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體-藥物結合物)包括

「預防有效量」，其為藥物在單獨或與抗癌劑組合投與具有產生癌症之風險或遭受癌症之復發的個體(例如患有惡化前病狀之個體)時，抑制癌症之產生或復發的任何量。在一些實施例中，預防有效量完全地阻止癌症之產生或復發。「抑制」癌症之產生或復發意謂降低癌症之產生或復發的可能性或完全地阻止癌症之產生或復發。

【0064】 如本文所用，「低於治療劑量」意指低於治療化合物(例如抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體-藥物結合物)單獨投與以治療過度增殖性疾病(例如癌症)時之常用或典型劑量的治療化合物劑量。

【0065】 「免疫相關反應模式」係指用藉由誘導癌症特異性免疫反應或藉由改良原生免疫過程產生抗腫瘤作用之免疫治療劑治療的癌症患者中通常觀測到的臨床反應模式。此反應模式之特徵為在腫瘤負荷之最初增加或新病灶出現(其在傳統化學治療劑的評估中將歸類為疾病進展且將與藥物失效同義)之後的有益治療作用。因此，免疫治療劑之適當評估可能需要長期監測此等藥劑對目標疾病之作用。

【0066】 舉例而言，「抗癌劑」促進個體內之癌症消退。在一些實施例中，治療有效量之藥物促進癌症消退至消除癌症之點。「促進癌症消退」意謂投與有效量的單獨或與抗癌劑組合的藥物，引起腫瘤生長或尺寸減小、腫瘤壞死、至少一種疾病症狀之嚴重程度降低、無疾病症狀之時間段的頻率及持續時間增加或防止由於疾病病痛所致之損傷或功能障礙。另外，關於治療之術語「有效」及「效用」包括藥理學效用及生理學安全性兩者。藥理學效用係指藥物促進患者之癌症消退之能力。生理學安全性係指由投與藥物引起的毒性水準或細胞、器官及/或生物體層級下之其他不良生理學作用(副作用)。

【0067】 「持續反應」係指在停止治療之後，對降低腫瘤生長之持續作用。舉例而言，與投藥期開始時之尺寸相比，腫瘤尺寸可保持為相同或更小。在一些實施例中，持續反應具有至少與治療持續時間相同或至少比治療持續時間長1.5、2.0、2.5或3倍之持續時間。

【0068】 如本文中所用，「完全反應」或「CR」係指所有目標病灶消失；「部分反應」或「PR」係指以基線SLD作為參考，目標病灶之最長直徑之總和(SLD)降低至少30%；且「穩定疾病」或「SD」係指以治療開始時之最小SLD作為參考，目標病灶既未充分收縮至認定為PR，亦未充分增加至認定為PD。

【0069】 如本文所用，「無進展存活期」或「PFS」係指治療期間及治療之後所治療疾病(例如癌症)並未惡化之時長。無進展存活期可包括患者經歷完全反應或部分反應之時間量，以及患者經歷穩定疾病之時間量。

【0070】 如本文所用，「總反應率」或「ORR」係指完全反應(CR)率與部分反應(PR)率之總和。

【0071】 如本文所用，「總存活期」或「OS」係指群體中可能在特定持續時間之後存活之個體的百分比。

【0072】 片語「醫藥學上可接受」指示物質或組合物必須與包含其他成分之調配物及/或正用其治療之哺乳動物在化學上及/或毒理學上相容。

【0073】 如本文中所用，片語「醫藥學上可接受之鹽」係指本發明之化合物的醫藥學上可接受之有機或無機鹽。例示性鹽包括(但不限於)硫酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、草酸鹽、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、酸式磷酸鹽、異菸鹼酸鹽、乳酸鹽、水楊酸鹽、酸式

檸檬酸鹽、酒石酸鹽、油酸鹽、丹寧酸鹽、泛酸鹽、酒石酸氫鹽、抗壞血酸鹽、丁二酸鹽、順丁烯二酸鹽、龍膽酸鹽、反丁烯二酸鹽、葡糖酸鹽、葡糖醛酸鹽、葡糖二酸鹽、甲酸鹽、苯甲酸鹽、麩胺酸鹽、甲烷磺酸鹽(「甲磺酸鹽」)、乙烷磺酸鹽、苯磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽、雙羥萘酸(亦即4,4'-亞甲基-雙-(2-羥基-3-萘甲酸))鹽、鹼金屬(例如鈉及鉀)鹽、鹼土金屬(例如鎂)鹽及銨鹽。醫藥學上可接受之鹽可涉及包括另一分子，諸如乙酸根離子、丁二酸根離子或其他相對離子。相對離子可為使母化合物上之電荷穩定之任何有機或無機部分。此外，醫藥學上可接受之鹽在其結構中可具有大於一個帶電原子。多個帶電原子係醫藥學上可接受之鹽之一部分的情況可具有多個相對離子。因此，醫藥學上可接受之鹽可具有一或多個帶電原子及/或一或多個相對離子。

【0074】「投與」或「投藥」係指使用熟習此項技術者已知之多種方法及遞送系統中之任一者向個體物理引入治療劑。抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體-藥物結合物之例示性投藥途徑包括靜脈內、肌肉內、皮下、腹膜內、脊椎或其他非經腸投藥途徑，例如藉由注射或輸注(例如靜脈內輸注)。如本文中所用，片語「非經腸投藥」意謂通常藉由注射之除腸及局部投藥之外的投藥模式，且包括(但不限於)靜脈內、肌肉內、動脈內、鞘內、淋巴管內、病灶內、囊內、眶內、心內、皮內、腹膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛膜下、脊柱內、硬膜外及胸骨內注射及輸注，以及活體內電穿孔。治療劑可經由非腸胃外途徑或經口投與。其他非腸胃外途徑包括局部、表皮或經黏膜投藥途徑，例如鼻內、經陰道、經直腸、舌下或局部。投與亦可例如執行一次、複數次及/或經一或多個延長之時段。

【0075】在本文中可互換使用之術語「基線」或「基線值」可指療

法(例如，如本文中所述之抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體-藥物結合物)投藥之前或在開始療法投藥時的症狀之量測或表徵。可將基線值與參考值相比較以便判定本文所涵蓋之 $\alpha v\beta 6$ 相關疾病(例如癌症)之症狀的減輕或改善。在本文中可互換使用之術語「參考」或「參考值」可指在療法(例如，如所描述之抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體-藥物結合物)投藥之後的症狀之量測或表徵。在劑量方案或治療週期間或在完成給藥方案或治療週期時可量測參考值一或多次。「參考值」可為絕對值；相對值；具有上限及/或下限之值；一系列值；平均值；中位值；均值；或與基線值相比較之值。

【0076】 類似地，「基線值」可為絕對值；相對值；具有上限及/或下限之值；一系列值；平均值；中位值；均值；或與參考值相比較之值。參考值及/或基線值可自一個個體、自兩個不同個體或自一群個體(例如兩個、三個、四個、五個或更多個個體之群組)獲得。

【0077】 如本文中所用，術語「單藥療法」意謂抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體-藥物結合物為在治療週期間向個體投與之唯一抗癌劑。然而，可向個體投與其他治療劑。舉例而言，向患有癌症之個體投與以治療與癌症相關之症狀而非潛在癌症本身(包括例如發炎、疼痛、體重減輕及全身不適)之抗炎劑或其他藥劑可在單藥療法之時間段期間投與。

【0078】 如本文中所用，「不良事件」(AE)為與醫學治療之使用相關聯之任何不利且一般不希望或不合意跡象(包括異常實驗室研究結果)、症狀或疾病。醫學治療可具有一或多個相關AE且每一AE可具有相同或不同水準的嚴重程度。提及能夠「改變不良事件」之方法意謂降低與不同治療方案之使用相關聯之一或多個AE的發生率及/或嚴重程度的治療方案。

【0079】 如本文中所用，「嚴重不良事件」或「SAE」為符合以下

準則中之一者的不良事件：

- 為致死性或危及生命的(如嚴重不良事件之定義中所使用，「危及生命」係指其中患者在事件發生時處於死亡風險下的事件；其並不指假設在更嚴重時可能已造成死亡之事件)。

- 導致持久或明顯的功能障礙/失能

- 構成先天性異常/出生缺陷

- 為醫學上顯著的，亦即定義為危及患者生命或可能需要醫學或手術介入以防止上文所列之結果中之一者的事件。在決定AE是否為「醫學上顯著」中必須執行醫學及科學判斷

- 需要住院病人住院或延長現有住院，不包括以下：1)潛在疾病之常規治療或監測，不與病狀之任何惡化相關；2)對預先存在病狀之選擇性或預規劃治療，病狀與研究之指症不相關且簽署知情同意書時尚未惡化；及3)在患者之一般病狀不存在任何退化的情況下的社會原因及暫時護理。

【0080】 應理解，替代物(例如「或」)之使用意謂替代物中之一者、兩者或其任何組合。應理解，如本文所用，不定冠詞「一(a/an)」係指任何所敘述或列舉組分中之「一或多者」。

【0081】 術語「約」或「基本上包含」係指如由一般技術者所測定，在特定值或組合物可接受之誤差範圍內的值或組合物，其將部分取決於如何量測或測定值或組合物，亦即量測系統之限制。舉例而言，「約」或「基本上包含」可意謂根據此項技術中之實踐在1個或大於1個標準差內。替代地，「約」或「基本上包含」可意謂至多20%之範圍。此外，尤其在生物系統或過程方面，術語可意謂值之至多一個數量級或至多5倍。當特定值或組合物提供於本申請案及申請專利範圍中時，除非另外陳述，

否則「約」或「基本上包含」之含義應假設為在特定值或組合物之可接受的誤差範圍內。

【0082】本文中，對「約」一個值或參數之提及包括(及描述)針對該值或參數本身之實施例。舉例而言，提及「約X」之描述涵蓋且描述「X」。

【0083】如本文所描述，除非另有指示，否則任何濃度範圍、百分比範圍、比率範圍或整數範圍應理解為包括在所列舉範圍內之任何整數值及(在適當時)其分數(諸如整數之十分之一及百分之一)。

【0084】在以下分章節中更詳細地描述本發明之各種態樣。

II. 綜述

【0085】本發明提供特異性結合 $\alpha v\beta 6$ 之抗體。本發明係部分地基於靶向 $\alpha v\beta 6$ 之抗體-藥物結合物(包括vcMMAE抗體-藥物結合物)特別有效於殺滅表現 $\alpha v\beta 6$ +之細胞的發現。已展示 $\alpha v\beta 6$ 表現於多種癌症中，包括非小細胞肺癌(NSCLC) (鱗狀及腺)、頭頸癌(包括頭頸鱗狀癌瘤)、食道癌、乳癌(包括乳房侵襲性癌)、卵巢癌、膀胱癌(包括尿道上皮癌)、皮膚癌(鱗狀細胞癌或SCC)、腎癌(包括腎透明細胞、腎乳頭狀細胞及腎難染細胞)、子宮頸癌、胃癌、前列腺癌(包括前列腺腺癌瘤)、子宮內膜癌(包括子宮癌肉瘤及子宮體子宮內膜)、直腸腺癌、甲狀腺癌、結腸腺癌、胃腺癌及胰臟癌(包括胰腺癌)。

III. 靶分子

【0086】除非另外指示，否則 $\alpha v\beta 6$ 係指人類 $\alpha v\beta 6$ 。例示性 $\beta 6$ 人類序列為指定GenBank寄存編號AAA36122。例示性 αv 人類序列為指定NCBI NP_002201.1。

IV. 本發明之抗體

【0087】 本發明提供鼠類2A2抗體及嵌合、人類化以及人類2A2抗體。

【0088】 本發明之抗體(例如，小鼠2A2抗體之嵌合、人類化及人類形式)對於人類 $\alpha v \beta 6$ 之親和力較佳地等於小鼠2A2抗體對於人類 $\alpha v \beta 6$ 之親和力，高於小鼠2A2抗體對於人類 $\alpha v \beta 6$ 之親和力，或比鼠類抗體2A2對於人類 $\alpha v \beta 6$ 之親和力弱十倍內、五倍內或兩倍內。量測抗體對於其靶抗原之親和力的一種方法係藉由測定抗體之表觀解離常數進行。本發明涵蓋其表觀解離常數與鼠類2A2之表觀解離常數基本上相同(亦即，在實驗誤差內)的抗體(例如，小鼠2A2抗體之嵌合、人類化以及人類形式)以及其表觀解離常數低於或高於鼠類抗體2A2對於人類 $\alpha v \beta 6$ 之表觀解離常數的抗體。嵌合、人類化以及人類2A2抗體特異性結合呈天然形式及/或由CHO細胞以重組方式表現為小鼠2A2抗體的人類 $\alpha v \beta 6$ 。通常地，嵌合、人類化以及人類2A2抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體與鼠類2A2競爭以結合於人類 $\alpha v \beta 6$ 。

【0089】 如在動物模型或臨床試驗中，如培養物中繁殖之癌細胞所示，本發明之較佳抗體抑制癌症(例如細胞生長、轉移至生物體及/或生物體之致死)。動物模型可藉由將表現 $\alpha v \beta 6$ 之人類腫瘤細胞株植入適當免疫缺陷的嚙齒動物品種(例如無胸腺裸鼠或SCID小鼠)中來形成。此等腫瘤細胞株可在免疫缺陷嚙齒動物宿主中藉由皮下注射以實體腫瘤形式建立或藉由靜脈內注射以多發性腫瘤形式建立。在宿主內建立之後，此等腫瘤模型可應用於評估抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體或其結合形式之治療功效，如實例中所描述。

【0090】 大體而言，本發明之抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體及/或抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體-藥物結

合物結合 $\alpha\nu\beta 6$ (例如人類 $\alpha\nu\beta 6$)且對惡性細胞(諸如癌細胞)發揮細胞生長抑制及細胞毒性作用。本發明之抗 $\alpha\nu\beta 6$ 抗體較佳為單株的且可為多特異性、人類、人類化抗體或嵌合抗體、單鏈抗體、Fab片段、F(ab')片段、由Fab表現庫產生之片段及以上中任一者之 $\alpha\nu\beta 6$ 結合片段。在一些實施例中，本發明之抗 $\alpha\nu\beta 6$ 抗體特異性結合 $\alpha\nu\beta 6$ 。本發明之免疫球蛋白分子可為免疫球蛋白分子之任何類型(例如，IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及IgY)、類別(例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)或子類別。

【0091】 在本發明之某些實施例中，抗 $\alpha\nu\beta 6$ 抗體為如本文中所述之抗原結合片段(例如，人類抗原結合片段)且包括(但不限於) Fab、Fab'及F(ab')₂、Fd、單鏈Fvs (scFv)、單鏈抗體、二硫鍵連接之Fvs (sdFv)及包含V_L或V_H域之片段。抗原結合片段(包括單鏈抗體)可包含單獨或與以下中之全部或一部分組合的可變區：鉸鏈區、CH1、CH2、CH3及CL域。本發明中亦包括包含可變區與鉸鏈區、CH1、CH2、CH3及CL域之任何組合的抗原結合片段。在一些實施例中，抗 $\alpha\nu\beta 6$ 抗體或其抗原結合片段為人類、鼠類(例如小鼠及大鼠)、驢、綿羊、兔子、山羊、天竺鼠、駱駝、馬或雞。

【0092】 本發明之抗 $\alpha\nu\beta 6$ 抗體可為單特異性、雙特異性、三特異性抗體或具有更高多特異性。多特異性抗體可對 $\alpha\nu\beta 6$ 之不同抗原決定基具有特異性，或可對 $\alpha\nu\beta 6$ 以及異源蛋白質兩者具有特異性。

【0093】 可就本發明之抗 $\alpha\nu\beta 6$ 抗體所包含之特定CDR而言來描述或指定本發明之抗 $\alpha\nu\beta 6$ 抗體。既定CDR或FR之精確胺基酸序列邊界可使用多種熟知方案中之任一者容易地確定，包括由Kabat等人，(1991), 「Sequences of Proteins of Immunological Interest,」第5版Public Health

Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (「Kabat」編號方案)；Al-Lazikani等人，(1997) JMB 273,927-948 (「Chothia」編號方案)；MacCallum等人，J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), 「Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography, J. Mol. Biol. 262, 732-745.」 (「Contact」編號方案)；Lefranc MP等人，「IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains,」 Dev Comp Immunol, 2003年1月;27(1):55-77 (「IMGT」編號方案)；Honegger A及Plückthun A, 「Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool,」 J Mol Biol, 2001年6月8日;309(3):657-70, (「Aho」編號方案)；及Martin等人，「Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm,」 PNAS, 1989, 86(23):9268-9272, (「AbM」編號方案)描述的方案。既定CDR的邊界可視用於鑑定之方案而定。在一些實施例中，既定抗體或其區(例如，其可變區)之「CDR」或「互補決定區」或個別指定CDR (例如CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3)應理解為涵蓋如由前述方案中任一者所定義的(或特定) CDR。舉例而言，在陳述特定CDR (例如CDR-H3)含有既定V_H或V_L區胺基酸序列中對應CDR之胺基酸序列時，應理解，此類CDR具有如由前述方案中任一者所定義的可變區內之對應CDR (例如CDR-H3)之序列。可指定用於識別一或多個特定CDR之方案，諸如，如由Kabat、Chothia、AbM或IMGT方法所定義之CDR。

【0094】 在一實施例中，本文中所述之抗 α Vb6抗體及抗 α v β 6抗體-藥物結合物之CDR序列係根據Kabat編號方案。在另一實施例中，本文中

所述之抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體及抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體-藥物結合物的CDR序列係根據IMGT編號方案。

【0095】 在一個態樣中，本文提供一種包含重鏈可變區及輕鏈可變區之抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體，其中重鏈可變區包含：(i)包含SEQ ID NO:31之胺基酸序列的CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO:32之胺基酸序列的CDR-H2及(iii)包含SEQ ID NO:33之胺基酸序列的CDR-H3；及/或其中輕鏈可變區包含：(i)包含SEQ ID NO:37之胺基酸序列的CDR-L1，(ii)包含SEQ ID NO:42之胺基酸序列的CDR-L2及(iii)包含SEQ ID NO:39之胺基酸序列的CDR-L3，其中抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體之CDR係由Kabat編號方案定義。在其他實施例中，CDR-L1包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列。在其他實施例中，CDR-L2包含SEQ ID NO: 38或41之胺基酸序列。

【0096】 在一個態樣中，本文提供一種包含重鏈可變區及輕鏈可變區之抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體，其中重鏈可變區包含：(i)包含SEQ ID NO:34之胺基酸序列的CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO:35之胺基酸序列的CDR-H2及(iii)包含SEQ ID NO:36之胺基酸序列的CDR-H3；及/或其中輕鏈可變區包含：(i)包含SEQ ID NO:43之胺基酸序列的CDR-L1，(ii)包含SEQ ID NO:44之胺基酸序列的CDR-L2及(iii)包含SEQ ID NO:45之胺基酸序列的CDR-L3，其中抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體之CDR係由IMGT編號方案定義。

【0097】 本文中所述之抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體可包含任何適合之構架可變域序列，其限制條件為抗體保持結合 $\alpha\text{v}\beta 6$ （例如，人類 $\alpha\text{v}\beta 6$ ）之能力。在本文中所述之抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體之一些實施例中，重及輕鏈可變域分別包含SEQ ID NO: 6及SEQ ID NO: 17之胺基酸序列。在本文中所述之抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體之一些實施例中，重及輕鏈分別包含SEQ ID NO: 21及SEQ ID NO: 29之胺基

酸序列。

【0098】 在一些實施例中，本文提供一種抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體及/或抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體-藥物結合物，其包含重鏈可變域，該重鏈可變域包含與SEQ ID NO:6之胺基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性的胺基酸序列。在某些實施例中，包含與SEQ ID NO:6之胺基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性的胺基酸序列之重鏈可變域含有相對於參考序列的取代(例如，保守性取代)、插入或缺失且保持與 $\alpha\text{v}\beta 6$ (例如，人類 $\alpha\text{v}\beta 6$)結合之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:6中已取代、插入及/或缺失總計1至10個胺基酸。在其他實施例中，SEQ ID NO:6中已取代、插入及/或缺失總計3至10個胺基酸。在某些實施例中，CDR內部之區域中出現取代、插入或缺失(例如，1、2、3、4或5個胺基酸)。在某些實施例中，CDR外部的區域中(亦即，FR中)出現取代、插入或缺失(例如，1、2、3、4或5個胺基酸)。在一些實施例中，抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體包含SEQ ID NO:6之重鏈可變域序列，包括彼序列之轉譯後修飾。

【0099】 在一些實施例中，本文提供一種包含輕鏈可變域之抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體及/或抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體-藥物結合物，該輕鏈可變域包含與SEQ ID NO:17之胺基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性的胺基酸序列。在某些實施例中，包含與SEQ ID NO:17之胺基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性的胺基酸序列之輕鏈可變域含有相對

於參考序列的取代(例如，保守性取代)、插入或缺失且保持與 $\alpha\nu\beta6$ (例如，人類 $\alpha\nu\beta6$)結合之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:17中已取代、插入及/或缺失總計1至10個胺基酸。在其他實施例中，SEQ ID NO:17中已取代、插入及/或缺失總計1至2個胺基酸。在某些實施例中，CDR外部的區域中(亦即，FR中)出現取代、插入或缺失(例如，1、2、3、4或5個胺基酸)。在一些實施例中，抗 $\alpha\nu\beta6$ 抗體包含SEQ ID NO:17之輕鏈可變域序列，包括彼序列之轉譯後修飾。

【0100】 存在五種類別之免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，其分別具有命名為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 之重鏈。 γ 及 α 類別進一步分成子類，例如人類表現以下子類：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2。IgG1抗體可以多種稱為異型之多形態變異體形式存在(評述於Jefferis及Lefranc 2009. *mAbs* 第1卷, 第4期, 1-7中)，其中任一者皆適用於本文中之一些實施例。人類群體中之常見同種異型變異體為由字母a、f、n、z或其組合指定之變異體。在本文中之實施例中之任一者中，抗體可包含重鏈Fc區，重鏈Fc區包含人類IgG Fc區。在其他實施例中，人類IgG Fc區包含人類IgG1。

【0101】 本發明抗體亦包括經修飾之衍生物，亦即藉由使任何類型之分子與抗體共價連接以使得共價連接不阻止抗體結合於 $\alpha\nu\beta6$ 或對HD細胞發揮細胞生長抑制或細胞毒性作用。舉例而言(但不限於)，抗體衍生物包括已經修飾之抗體，修飾例如藉由糖基化、乙醯化、聚乙二醇化、磷酸化、醯胺化、由已知保護/阻斷基團進行之衍生化、蛋白水解裂解、與細胞配位體或其他蛋白連接等進行。許多化學修飾中之任一者可藉由已知技術進行，包括(但不限於)特異性化學裂解、乙醯化、甲醯化、衣黴素之代

謝合成等。另外，衍生物可含有一或多個非典型胺基酸。

人類化抗體

【0102】 人類化抗體為基因工程改造之抗體，其中將來自非人類「供體」抗體之CDR移植至人類「接受體」抗體序列中(參見例如Queen, US 5,530,101及5,585,089；Winter, US 5,225,539；Carter, US 6,407,213；Adair, US 5,859,205；及Foote, US 6,881,557)。受體抗體序列可為例如成熟人類抗體序列、此類序列之複合物、人類抗體序列之共同序列或生殖系區序列。對於重鏈之較佳受體序列為生殖系V_H外顯子IGHV1-46及J外顯子(J_H)外顯子IGHJ4。對於輕鏈，較佳受體序列為外顯子IGKV1D-33及J外顯子IGKJ2。對於重鏈之替代的較佳受體序列包括J外顯子(J_H)、IGHJ1、IGHJ2、IGHJ3、IGHJ5或IGHJ6。對於輕鏈之替代的較佳受體序列包括J外顯子IGKJ1、IGKJ3、IGKJ4或IGKJ5。因此，人類化抗體為具有完全或大體上來自供體抗體之一些或所有CDR以及可變區構架序列及恆定區(若存在，則完全或大體上來自人類抗體序列)的抗體。類似地，人類化重鏈具有至少一個、兩個且通常全部三個完全或大體上來自供體抗體重鏈之CDR以及重鏈可變區構架序列及重鏈恆定區(若存在，則大體上來自人類重鏈可變區構架及恆定區序列)。類似地，人源化輕鏈具有至少一個、兩個且通常全部三個完全或大體上來自供體抗體輕鏈之CDR及輕鏈可變區構架序列以及輕鏈恆定區(若存在，則大體上自人類輕鏈可變區構架及恆定區序列)。除奈米抗體及dAb以外，人類化抗體包含人類化重鏈及人類化輕鏈。當各別CDR之間至少60%、85%、90%、95%或100%之對應殘基(如由Kabat所定義)一致時，人類化抗體中之CDR大體上來自非人類抗體中之對應CDR。當至少85%、90%、95%或100%之由

Kabat所定義之對應殘基一致時，抗體鏈之可變區構架序列或抗體鏈之恆定區分別大體上來自人類可變區構架序列或人類恆定區。

【0103】 儘管人類化抗體通常併入來自小鼠抗體之所有六個CDR (較佳地如由Kabat所定義)，但其亦可用來自小鼠抗體之CDR的少於全部CDR (例如至少3個、4個或5個)進行(例如Pascalis等人, J. Immunol. 169:3076, 2002；Vajdos等人, Journal of Molecular Biology, 320: 415-428, 2002；Iwahashi等人, Mol. Immunol. 36:1079-1091, 1999；Tamura等人, Journal of Immunology, 164:1432-1441, 2000)。

【0104】 某些來自人類可變區構架殘基之胺基酸可基於其對CDR構形及/或結合於抗原之可能影響來選擇。藉由建模、特定位置處之胺基酸之特徵檢查或特定胺基酸之取代或突變誘發作用的經驗觀察來研究此類可能影響。

【0105】 舉例而言，當鼠類可變區構架殘基與選定人類可變區構架殘基之間的胺基酸不同時，人類構架胺基酸可經來自小鼠抗體之等效構架胺基酸取代，此時合理地預測胺基酸：

- (1)直接非共價結合抗原，
- (2)與CDR區相鄰，
- (3)以其他方式與CDR區相互作用(例如，在CDR區之約6 Å內)；或
- (4)調節重鏈與輕鏈之間的相互作用。

【0106】 儘管2A2抗體經識別為小鼠抗體，但本申請案亦涵蓋人類2A2抗體。術語「人類2A2抗體」意謂來源於人類免疫球蛋白基因序列且具有與鼠類2A2抗體之CDR大體上一致的CDR以及顯示類似性質，亦即特异性結合於 $\alpha v \beta 6$ 之抗體。在一些態樣中，人類2A2抗體包含與本文中所述

之重鏈可變區大體上一致的重鏈可變區及/或與本文中所述之輕鏈可變區大體上一致的輕鏈可變區。在一些實施例中，本發明之2A2抗體不為人類抗體，例如，本發明之2A2抗體為鼠類、嵌合或人類化抗體。

【0107】 本發明之一個態樣提供小鼠抗體2A2之人類化形式。小鼠抗體2A2之一種此類人類化變異體經命名為HCLG。HCLG包含：包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列的成熟重鏈可變區及包含SEQ ID NO:17之胺基酸序列的成熟輕鏈可變區。本發明之人類化抗體包括HCLG人類化抗體之變異體，其中人類化重鏈成熟可變區展示與SEQ ID NO: 6之至少90%、95%或99%一致性且人類化輕鏈成熟可變區展示與SEQ ID NO:17之至少90%、95%或99%序列一致性。較佳地，在此類抗體中保留HCLG中之一些或所有回復突變。換言之，重鏈位置H2、H28、H48、H67、H69、H71、H73、H78及H93中之至少1、2、3、4、5、6、7、8個或較佳地全部9個分別經F、S、I、A、L、V、K、A及T佔據。同樣地，位置L69較佳地經R佔據，且L71較佳地經Y佔據。CDR區可由任何習知定義(例如，Chothia)限定，但較佳地如由Kabat或IMGT所限定。在一個實施例中，人類化抗體包含重鏈，其包含SEQ ID NO: 6之3個CDR及與SEQ ID NO: 6之可變區構架具有至少95%一致性的可變區構架。在另一實施例中，人類化抗體包含輕鏈，其包含SEQ ID NO: 17之3個CDR及與SEQ ID NO: 17之可變區構架具有至少95%一致性的可變區構架。在另一實施例中，人類化抗體包含：重鏈，其包含SEQ ID NO: 6之3個CDR及與SEQ ID NO: 6之可變區構架具有至少98%一致性的可變區構架；及輕鏈，其包含SEQ ID NO: 17之3個CDR及與SEQ ID NO: 17之可變區構架具有至少98%一致性的可變區構架。在一個實施例中，人類化抗體包含重鏈，其包含SEQ ID NO: 6

之3個CDR及與SEQ ID NO: 6之可變區構架具有至少99%一致性的可變區構架。在另一實施例中，人類化抗體包含輕鏈，其包含SEQ ID NO: 17之3個CDR及與SEQ ID NO: 17之可變區構架具有至少99%一致性的可變區構架。

【0108】 一種可能變化係用來自人類CDR序列，通常來自用於設計例示性人類化抗體之人類受體序列之CDR的對應殘基取代小鼠抗體之CDR中之某些殘基。一些抗體中的僅一部分CDR (亦即結合所需之CDR殘基的亞群，稱為SDR)需要在人類化抗體中保持結合。不接觸抗原且不在SDR中之CDR殘基可以基於先前研究(例如，常常不需要CDR H2中之殘基H60-H65)、根據處於Chothia高變環(Chothia, J. Mol. Biol. 196:901, 1987)外部之Kabat CDR區、藉由分子建模及/或憑經驗，或如Gonzales等人, Mol. Immunol. 41: 863 (2004)中所述來識別。在此類人類化抗體中，在不存在一或多個供體CDR殘基或省略整個供體CDR的位置處，佔據該位置之胺基酸可為佔據受體抗體序列中之對應位置(藉由Kabat編號)的胺基酸。CDR中包括的此類用於供體胺基酸之受體取代的數目反映了競爭性考慮因素之平衡。此類取代可能有利於減少人類化抗體中之小鼠胺基酸之數目，且因此有利於降低潛在免疫原性。然而，取代亦會導致親和力改變，且較佳避免親和力顯著降低。CDR內之取代位置及待取代之胺基酸亦可以憑經驗選擇。

【0109】 儘管並非較佳的，但可例如在不接觸CDR之構架殘基，或甚至在CDR內之一些潛在CDR接觸殘基胺基酸中進行其他胺基酸取代。通常變異體人類化序列中進行之替代相對於經替換HCLG胺基酸為保守性的。較佳地，相對於HCLG之替代(無論是否為保守性的)對人類化mAb之

結合親和力或效能，亦即，其結合人類 $\alpha\text{v}\beta 6$ 且抑制癌細胞生長之能力不具有顯著作用。

恆定區之選擇

【0110】 人類化抗體之重鏈及輕鏈可變區可連接至人類恆定區的至少一部分。恆定區之選擇可部分地視是否需要抗體依賴性細胞介導之細胞毒性、抗體依賴性細胞吞噬作用及/或補體依賴性細胞毒性而定。舉例而言，人類同型IgG1及IgG3具有較強補體依賴性細胞毒性，人類同型IgG2具有弱補體依賴性細胞毒性且人類IgG4缺乏補體依賴性細胞毒性。另外，人類IgG1及IgG3誘發比人類IgG2及IgG4更強的細胞介導之效應子功能。輕鏈恆定區可為 λ 或 κ 。抗體可表現為含有兩個輕鏈及兩個重鏈之四聚體，表現為單獨的重鏈、輕鏈，表現為Fab、Fab'、F(ab')₂及Fv，或表現為單鏈抗體，其中重鏈及輕鏈可變域經由間隔子連接。

【0111】 人類恆定區示出不同個體之間的同種異型變異及異種異型變異，亦即，恆定區可在不同個體中的一或多個多態位置處不同。異種異型不同於同種異型之處在於血清識別同種異型與一或多個其他同型之非多態區結合。

【0112】 輕鏈及/或重鏈之胺基或羧基端之一個或若干個胺基酸，諸如重鏈之C端離胺酸，可缺失或在一定比例或全部的分子中衍生。取代可在恆定區中進行以降低或增大效應子功能，諸如補體介導之細胞毒性或ADCC (參見，例如Winter等人，美國專利第5,624,821號；Tso等人，美國專利第5,834,597號；及Lazar等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005, 2006)，或以延長在人類中之半衰期(參見，例如Hinton等人，J. Biol. Chem. 279:6213, 2004)。

【0113】在胺基酸位置234、235、237、239、267、298、299、326、330或332處引入包括天然胺基酸取代成半胱胺酸殘基之胺基酸取代的例示性取代，較佳地人類IgG1同型中之S239C突變(US 20100158909)。額外半胱胺酸殘基之存在允許鏈間二硫鍵形成。此類鏈間二硫鍵形成可導致位阻，進而減小Fc區-FcγR結合相互作用之親和力。引入IgG恆定區之Fc區中或接近於IgG恆定區之Fc區之一或多個半胱胺酸殘基亦可充當用於結合治療劑之位點(亦即，使用硫醇特異性試劑，諸如藥物之順丁烯二醯亞胺衍生物來偶合細胞毒性藥物)。治療劑之存在導致位阻，進而進一步減小Fc區-FcγR結合相互作用之親和力。位置234、235、236及/或237中之任一者處的其他取代減小對於Fcγ受體(特定言之，FcγRI受體)之親和力(參見例如US 6,624,821, US 5,624,821)。

【0114】抗體之活體內半衰期亦可對其效應子功能產生影響。可增加或降低抗體之半衰期以調節其治療活性。FcRn為結構上類似於與β2-微球蛋白非共價締合之I類MHC抗原的受體。FcRn調節IgG之代謝及其在整個組織中之胞吞轉運(Ghetie及Ward, 2000, Annu. Rev. Immunol. 18:739-766；Ghetie及Ward, 2002, Immunol. Res. 25:97-113)。IgG-FcRn相互作用發生在pH 6.0 (細胞內小泡之pH)而非pH 7.4 (血液之pH)下；此相互作用能夠使得IgG會被回收返回至循環(Ghetie及Ward, 2000, Ann. Rev. Immunol. 18:739-766；Ghetie及Ward, 2002, Immunol. Res. 25:97-113)。已定位人類IgG1上參與FcRn結合之區(Shields等人, 2001, J. Biol. Chem. 276:6591-604)。人類IgG1之位置Pro238、Thr256、Thr307、Gln311、Asp312、Glu380、Glu382或Asn434處之丙胺酸取代增強FcRn結合(Shields等人, 2001, J. Biol. Chem. 276:6591-604)。具有此等取代之IgG1

分子具有更長血清半衰期。因此，與未經修飾之IgG1相比，此等經修飾IgG1分子可能夠在更長時間段內進行其效應子功能，且因此發揮其治療功效。用於增加與FcRn之結合的其他例示性取代包括250位置處之Gln及/或位置428處之Leu。EU編號用於恆定區中之所有位置。

【0115】 共價結合於保守性Asn297之寡醣參與IgG之Fc區結合FcγR之能力(Lund等人, 1996, J. Immunol. 157:4963-69; Wright及Morrison, 199', Trends Biotechnol. 15:26-31)。IgG上此糖型之工程改造可顯著提高IgG介導之ADCC。將二等分N-乙醯基葡萄糖胺修飾(Umana等人, 1999, Nat. Biotechnol. 17:176-180; Davies等人, 2001, Biotech. Bioeng. 74:288-94)添加至此糖型中或自此糖型移除海藻糖(Shields等人, 2002, J. Biol. Chem. 277:26733-40; Shinkawa等人, 2003, J. Biol. Chem. 278:6591-604; Niwa等人, 2004, Cancer Res. 64:2127-33)可提高IgG Fc與FcγR之間的結合，由此增強Ig-介導之ADCC活性的兩個IgG Fc工程改造實例。

【0116】 人類IgG1 Fc區之經溶劑暴露之胺基酸之系統性取代已產生FcγR結合親和力改變之IgG變異體(Shields等人, 2001, J. Biol. Chem. 276:6591-604)。當與親本IgG1相比較時，包含在Thr256/Ser298、Ser298/Glu333、Ser298/Lys334或Ser298/Glu333 Lys334處取代成Ala之此等變異體之子集展現針對FcγR之結合親和力及ADCC活性兩者的增強(Shields等人, 2001, J. Biol. Chem. 276:6591-604; Okazaki等人, 2004, J. Mol. Biol. 336:1239-49)。

【0117】 抗體之補體結合活性(C1q結合及CDC活性兩者)可藉由Lys326及Glu333處之取代而提高(Idusogie等人, 2001, J. Immunol. 166:2571-2575)。人類IgG2主鏈上之相同取代可將與C1q不充分結合且嚴

重缺乏補體活化活性之抗體同型轉化成可結合Clq且調節CDC之抗體同型 (Idusogie等人, 2001, J. Immunol. 166:2571-75)。若干其他方法亦已應用於提高抗體之補體結合活性。舉例而言, 將IgM之18-胺基酸羧基端尾片移植至IgG之羧基端極大地增強其CDC活性。即使在通常不具有可偵測CDC活性之IgG4情況下亦觀測到此增強(Smith等人, 1995, J. Immunol. 154:2226-36)。此外, 用Cys取代靠近IgG 1重鏈之羧基端安置的Ser444誘導IgG 1之尾部與尾部二聚合的CDC活性相比於單體IgG1增加200倍 (Shopes等人, 1992, J. Immunol. 148:2918-22)。另外, 具有針對Clq之特異性的雙特異性雙功能抗體構築體亦賦予CDC活性(Kontermann等人, 1997, Nat. Biotech. 15:629-31)。

【0118】 補體活性可藉由使重鏈之胺基酸殘基318、320及322中之至少一者突變成具有不同側鏈之殘基(諸如Ala)而降低。其他經烷基取代之非離子型殘基, 諸如Gly、He、Leu或Val, 或替代三個殘基中之任一者的諸如Phe、Tyr、Trp及Pro之此類芳族非極性殘基亦降低或消除Clq結合。Ser、Thr、Cys及Met可用於殘基320及322而非318處以降低或消除Clq結合活性。

【0119】 藉由極性殘基替代318 (Glu)殘基可調節而非消除Clq結合活性。用Ala替代殘基297 (Asn)使得移除裂解活性但僅稍微降低(約三倍弱)針對Clq之親和力。此改變破壞糖基化位點及補體活化所需之碳水化合物之存在。此位點處之任何其他取代亦破壞糖基化位點。以下突變及其任何組合亦降低Clq結合: D270A、K322A、P329A及P31 IS (參見WO 06/036291)。L234A/L235A突變(或LALA突變)亦降低Clq結合以及FcγR結合。

【0120】 對人類恆定區之提及包括具有任何天然同種異型或天然同種異型中佔據多態性位置之殘基之任何排列的恆定區。此外，相對於天然人類恆定區可存在至多1、2、5或10個突變，諸如上文所指示之彼等突變以降低Fcγ受體結合或增加與FcRN之結合。

V. 重組抗體之表現

【0121】 人類化抗體通常藉由重組表現產生。重組聚核苷酸構築體通常包括可操作地連接至抗體鏈之編碼序列的表現控制序列，包括天然相關或異源啟動子區。較佳地，表現控制序列係載體中能夠轉化或轉染真核宿主細胞之真核啟動子系統。一旦載體已併入至適當宿主中，宿主即維持在適合核苷酸序列之高表現量及交叉反應抗體之收集及純化的條件下。

【0122】 哺乳動物細胞為用於表現編碼免疫球蛋白或其片段之核苷酸區段的較佳宿主。參見Winnacker, *From Genes to Clones*, (VCH Publishers, NY, 1987)。能夠分泌完整異源蛋白之多種適合宿主細胞株已在此項技術中開發，且包括CHO細胞株(例如DG44)、各種COS細胞株、HeLa細胞、HEK293細胞、L細胞及非抗體產生骨髓瘤(包括Sp2/0及NS0)。較佳地，細胞為非人類的。用於此等細胞之表現載體可包括表現控制序列，諸如複製起點、啟動子、強化子(Queen等人, *Immunol. Rev.* 89:49 (1986))，及必需的處理資訊位點，諸如核糖體結合位點、RNA剪接位點、聚腺苷酸化位點及轉錄終止子序列。較佳的表現控制序列為來源於內源基因、巨細胞病毒、SV40、腺病毒、牛乳突狀瘤病毒及類似物之啟動子。參見Co等人, *J. Immunol.* 148:1149 (1992)。

【0123】 一旦表現，抗體即可根據此項技術之標準程序純化，包括HPLC純化、管柱層析、凝膠電泳及類似者(一般參見，Scopes, *Protein*

Purification (Springer-Verlag, NY, 1982))。

VI. 核酸

【0124】 本發明進一步提供編碼上文所描述之任何人類化重鏈及輕鏈之核酸。通常，核酸亦編碼稠合至成熟重鏈及輕鏈之信號肽。核酸上之編碼序列可操作地連接至調節序列以確保編碼序列(諸如啟動子、強化子、核糖體結合位點、轉錄終止信號及類似者)之表現。編碼重鏈及輕鏈之核酸可以分離形式出現或可經選殖至一或多個載體中。核酸可藉由例如固態合成或重疊寡核苷酸之PCR來合成。編碼重鏈及輕鏈之核酸可在例如表現載體內連接為一個連續核酸，或可為分離的，例如各自選殖至其自身表現載體中。

【0125】 在一些態樣中，本文亦提供編碼如本文所描述之抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體或其抗原結合片段之核酸。本文進一步提供包含編碼如本文所描述之抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體或其抗原結合片段之核酸的載體。本文進一步提供表現編碼如本文所描述之抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體或其抗原結合片段之核酸的宿主細胞。本文進一步提供包含載體之宿主細胞，該等載體包含編碼如本文所描述之抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體或其抗原結合片段的核酸。

【0126】 本文所描述之抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體可藉由熟知的重組技術使用熟知表現載體系統及宿主細胞來製備。在一個實施例中，如De la Cruz Edmunds等人, 2006, Molecular Biotechnology 34; 179-190、EP216846、美國專利第5,981,216號、WO 87/04462、EP323997、美國專利第5,591,639號、美國專利第5,658,759號、EP338841、美國專利第5,879,936號及美國專利第5,891,693號中所揭示使用GS表現載體系統在CHO細胞中製備抗體。

【0127】本文中所述之單株抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體可例如藉由首次由Kohler等人, *Nature*, 256, 495 (1975)所描述之融合瘤方法產生或可藉由重組DNA方法產生。單株抗體亦可使用例如Clackson等人, *Nature*, 352, 624-628 (1991)及Marks等人, *JMol, Biol.*, 222(3):581-597 (1991)中所描述之技術自噬菌體抗體庫分離。單株抗體可自任何適合之來源獲得。因此, 例如, 單株抗體可自融合瘤獲得, 該等融合瘤係由獲自經所關注抗原免疫之小鼠之鼠類脾B細胞製備, 例如呈在表面上表現抗原之細胞或編碼所關注抗原之核酸形式。單株抗體亦可自來源於經免疫人類或非人類哺乳動物(諸如, 大鼠、狗、靈長類等)之抗體表現細胞之融合瘤獲得。

VII. 抗體-藥物結合物

【0128】抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體可與細胞毒性或細胞生長抑制部分(包括其醫藥學上相容之鹽)結合以形成抗體藥物結合物(ADC)。尤其適合與抗體結合之部分為細胞毒性劑(例如化學治療劑)、前藥轉化酶、放射性同位素或化合物或毒素(此等部分統稱為治療劑)。舉例而言, 抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體可與細胞毒性劑(諸如化學治療劑)或毒素(例如細胞生長抑制劑或殺細胞劑, 諸如(例如)相思子毒素、蓖麻毒素A、綠膿桿菌外毒素或白喉毒素)結合。

【0129】抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體可結合於前藥轉化酶。前藥轉化酶可以重組方式稠合至抗體或使用已知方法化學結合於該抗體。例示性前藥轉化酶為羧肽酶G2、 β -葡糖醛酸酶、青黴素-V-醯胺酶、青黴素-G-醯胺酶、 β -內醯胺酶、 β -葡糖苷酶、硝基還原酶及羧肽酶A。

【0130】用於使治療劑結合於蛋白質(且特定言之結合於抗體)之技術為熟知的。(參見例如*Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy* (Reisfeld等人編, Alan R. Liss, Inc., 1985)中之Arnon等人, 「Monoclonal

Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy」；Controlled Drug Delivery (Robinson等人編, Marcel Dekker, Inc., 第2版, 1987)中之Hellstrom等人, 「Antibodies For Drug Delivery」；Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications (Pinchera等人編, 1985)中之Thorpe, 「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」；Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy (Baldwin等人編, Academic Press, 1985)中之「Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy」；及Thorpe等人, 1982, Immunol. Rev. 62:119-58。亦參見例如PCT公開案WO 89/12624)。

【0131】 除非治療劑裂解掉抗體(例如藉由水解、藉由抗體降解或藉由裂解劑), 否則治療劑可以降低其活性的方式結合。此類治療劑藉由可裂解連接子(其在表現 $\alpha v \beta 6$ 之癌細胞之細胞內環境中裂解敏感但對細胞外環境大體上不敏感)與抗體連接, 使得結合物在其藉由表現 $\alpha v \beta 6$ 之癌細胞內化(例如在核內體中, 或例如在溶酶體環境或胞膜窖環境(caveolar environment)中藉助於pH敏感性或蛋白酶敏感性)時自抗體裂解。

【0132】 通常, ADC包含在治療劑與抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體之間的連接子區。如上文所提及, 通常連接子在細胞內條件下為可裂解的, 使得在細胞內環境中(例如在溶酶體或核內體或胞膜窖內), 連接子之裂解自抗體釋放治療劑。連接子可為例如藉由包括溶酶體或核內體蛋白酶之細胞內肽酶或蛋白酶裂解之肽基連接子。通常, 肽基連接子為至少兩個胺基酸長或至少三個胺基酸長。裂解劑可包括組織蛋白酶B及D及纖維蛋白溶酶(參見例如, Dubowchik及Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123)。最典型的肽

基連接子為可藉由表現 $\alpha v \beta 6$ 之細胞中所存在的酶裂解之肽基連接子。舉例而言，可使用可藉由在癌性組織中高度表現之硫醇依賴性蛋白酶組織蛋白酶B裂解之肽基連接子(例如包含Phe-Leu或Gly-Phe-Leu-Gly肽之連接子)。其他此類連接子描述於例如美國專利第6,214,345號中。在特定實施例中，可藉由細胞內蛋白酶裂解之肽基連接子包含Val-Cit連接子或Phe-Lys二肽(參見例如美國專利6,214,345，其描述用Val-Cit連接子合成小紅莓(doxorubicin))。使用細胞內蛋白水解釋放治療劑之一個優勢為藥劑在結合時通常毒性減弱且結合物之血清穩定性通常較高。

【0133】 可裂解連接子可為pH敏感的，亦即對在某些pH值下之水解敏感。通常，pH敏感性連接子可在酸性條件下水解。舉例而言，可使用可在溶酶體中水解之酸不穩定連接子(例如，脲、半卡巴脲、硫半卡巴脲、順式烏頭醯胺、原酸酯、縮醛、縮酮或類似物)。(參見例如，美國專利 第5,122,368號 ； 第5,824,805號 ； 第5,622,929號 ； Dubowchik及Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123 ； Neville等人，1989, Biol. Chem. 264: 14653-14661)。此類連接子在中性pH條件下，諸如血液中之pH條件下相對穩定，但在低於pH 5.5或5.0 (近似溶酶體之pH)下不穩定。在某些實施例中，可水解連接子為硫醚連接子(諸如，例如經由醯脲鍵連接至治療劑之硫醚(參見例如美國專利第5,622,929號))。

【0134】 其他連接子可在還原條件下裂解(例如二硫化物連接子)。二硫化物連接子包括可使用SATA (N-丁二醯亞胺基-S-乙醯基硫基乙酸酯)、SPDP (N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯)、SPDB (N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丁酸酯)及SMPT (N-丁二醯亞胺基-氧基羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基-二硫基)甲苯)、SPDB及SMPT形成之連接子。(參

見例如，Thorpe等人，1987, *Cancer Res.* 47:5924-5931；Wawrzynczak等人，In *Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimager and Therapy of Cancer* (C. W. Vogel編，Oxford U. Press, 1987。亦參見美國專利第4,880,935號。)

【0135】 連接子亦可為丙二酸酯連接子(Johnson等人，1995, *Anticancer Res.* 15:1387-93)、順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基連接子(Lau等人，1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10):1299-1304)或3'-N-醯胺類似物(Lau等人，1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10):1305-12)。連接子亦可為丙二酸酯連接子(Johnson等人，1995, *Anticancer Res.* 15:1387-93)、順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基連接子(Lau等人，1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10):1299-1304)或3'-N-醯胺類似物(Lau等人，1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10):1305-12)。

【0136】 連接子亦可為不可裂解連接子，諸如直接連接於治療劑(例如藥物)之順丁烯二醯亞胺基-伸烷基-或順丁烯二醯亞胺-芳基連接子。藉由降解抗體來釋放活性藥物-連接子。

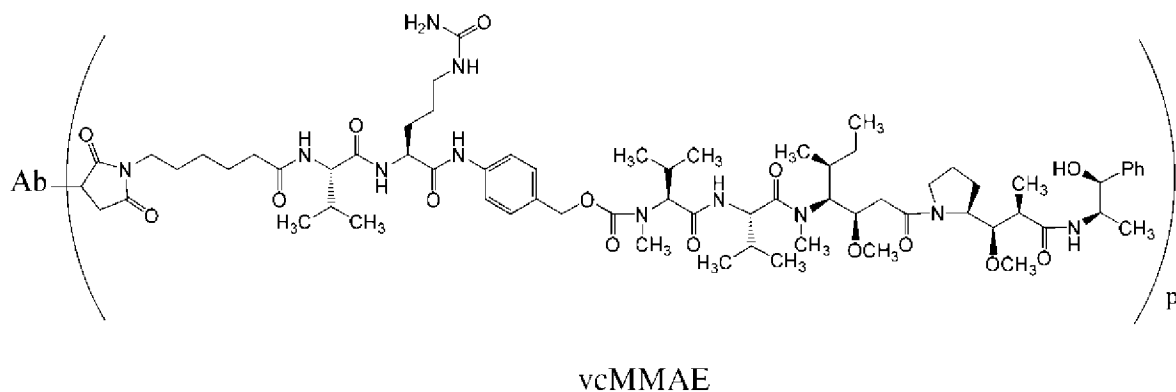
【0137】 連接子可促進細胞內化。當結合於治療劑時(亦即，在如本文所描述之ADC或ADC衍生物之連接子-治療劑部分的背景下)，連接子可促進細胞內化。替代地，當與治療劑及抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體兩者結合時(亦即，在如本文所描述之ADC之背景下)，連接子可促進細胞內化。

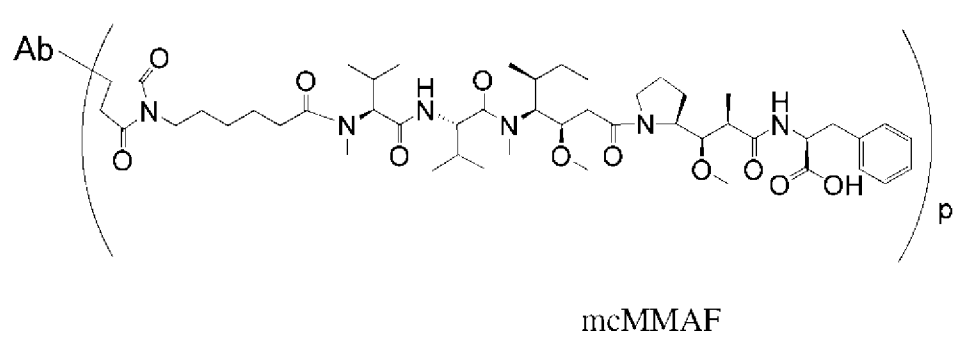
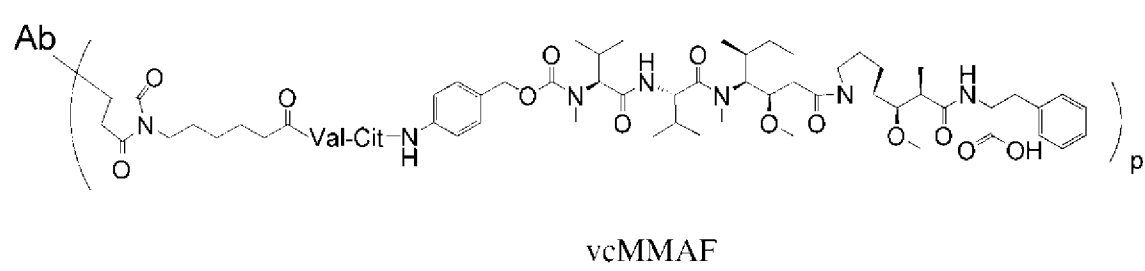
【0138】 抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體可經由抗體之雜原子與連接子結合。此等雜原子可以其天然狀態存在於抗體上或可經引入至抗體中。在一些態樣中，抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體將經由離胺酸殘基之氮原子與連接子結合。在其他態樣中，抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體將經由半胱胺酸殘基之硫原子與連接子結合。半胱胺酸殘基可

為天然存在的或為工程改造至抗體中之半胱胺酸殘基。經由離胺酸及半胱胺酸殘基使連接子及藥物連接子與抗體結合之方法為此項技術中已知的。

【0139】 例示性抗體-藥物結合物包括基於奧瑞他汀(auristatin)之抗體-藥物結合物(亦即，藥物組分為奧瑞他汀藥物)。奧瑞他汀結合微管蛋白已顯示干擾微管機構動力學及核及細胞分裂，且具有抗癌活性。通常，基於奧瑞他汀之抗體-藥物結合物包含奧瑞他汀藥物與抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體之間的連接子。連接子可為例如可裂解連接子(例如肽基連接子、碳水化合物連接子)或不可裂解連接子(例如藉由抗體之降解釋放之連接子)。奧瑞他汀包括(但不限於)奧瑞他汀T、MMAF及MMAE。例示性奧瑞他汀之合成及結構描述於美國公開案第7,659,241號、第7,498,298號、第2009-0111756號、第2009-0018086號及第7,968,687號中，其各自以全文引用之方式併入本文中且用於所有目的。

【0140】 例示性基於奧瑞他汀之抗體藥物結合物包括如下文所展示之vcMMAE (或1006)、vcMMAF及mcMMAF抗體藥物結合物，其中p表示載藥量，Ab為如本文中所述之抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體且val-cit或「vc」表示纈胺酸-瓜胺酸二肽：



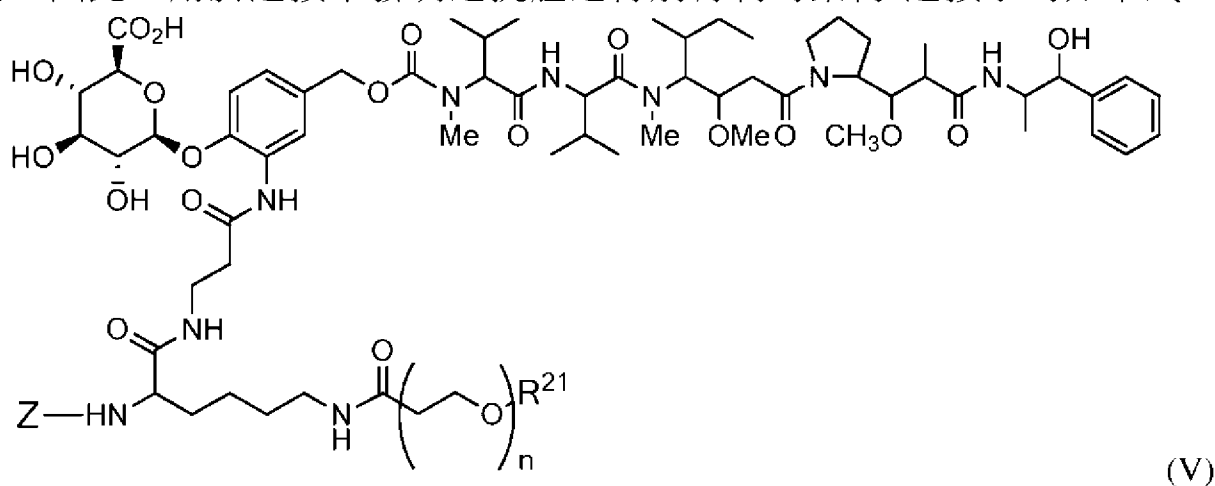


或其醫藥學上可接受之鹽。載藥量由p表示，p為每一抗體之藥物-連接子分子之數目。提及靶向 $\alpha v \beta 6$ 之抗體-藥物結合物，下標p表示載藥量，且視上下文而定，可表示與個別抗體分子連接之藥物-連接子分子的分子數且因此為整數值，或可表示平均載藥量且因此可為整數或非整數值，但通常為非整數值。平均載藥量表示群體中每一抗體之藥物-連接子分子之平均數量。通常而非始終，當吾人提及抗體(例如單株抗體)時，吾人係提及一群抗體分子。在包含一群抗體-藥物結合物分子之組合物中，平均載藥量為重要的品質屬性，此係由於其判定可遞送至靶細胞之藥物量。組合物中未結合抗體分子之百分比包括於平均載藥量中。

【0141】 在本發明之較佳態樣中，當提及包含一群抗體-藥物結合物化合物之組合物時，平均載藥量為1至約16，較佳地約2至約14，更佳地約2至約10。在一實施例中，DAR為約2至約5。在另一實施例中，DAR為4。在另一實施例中，DAR為約6至約10。在另一實施例中，DAR為8。製劑中之平均藥物數目/抗體可藉由諸如質譜分析、HIC、ELISA分析及HPLC之習知手段來表徵。在一些態樣中，抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體經由抗體之半胱胺

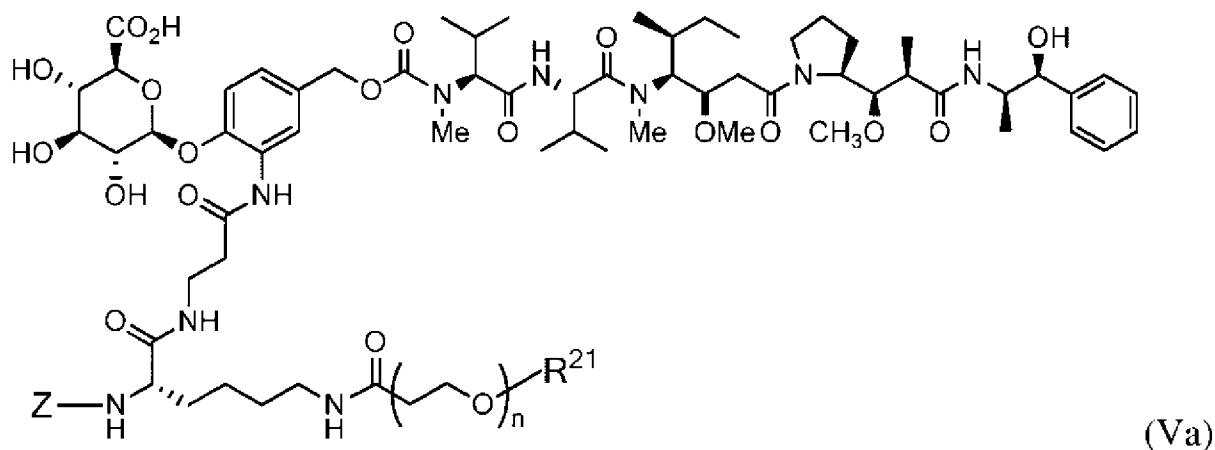
酸殘基與藥物-連接子連接。在一些態樣中，半胱胺酸殘基為經工程改造至抗體中之殘基。在其他態樣中，半胱胺酸殘基為鏈間二硫鍵半胱胺酸殘基。

【0142】 在一些實施例中，與非聚乙二醇化對照相比較，將聚乙二醇聚合物作為側鏈併入至可裂解 β -葡萄糖苷酸MMAE藥物-連接子中提供在異種移植模型中血漿清除率減小及抗腫瘤活性增大之抗體藥物-結合物。因此，用於連接本發明之抗體之特別有利的藥物-連接子為如下式V：



或其醫藥學上可接受之鹽。

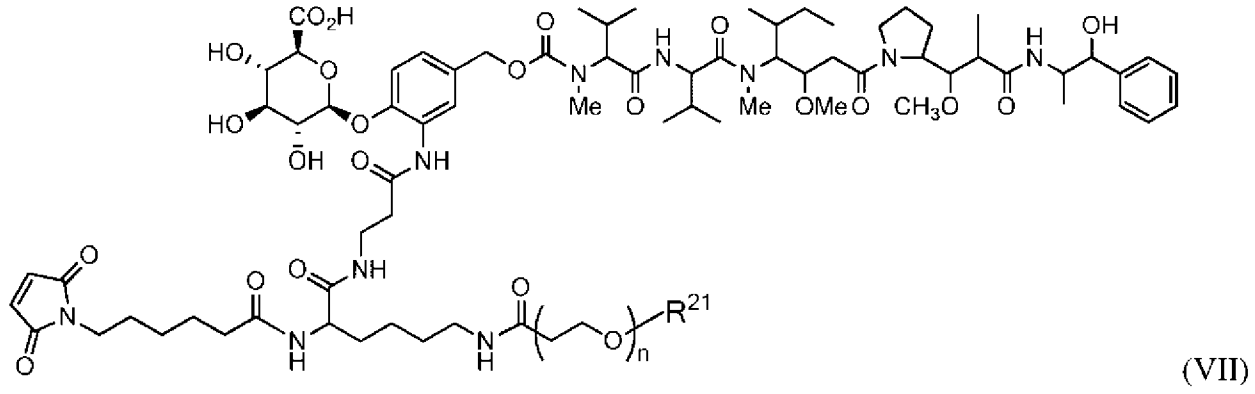
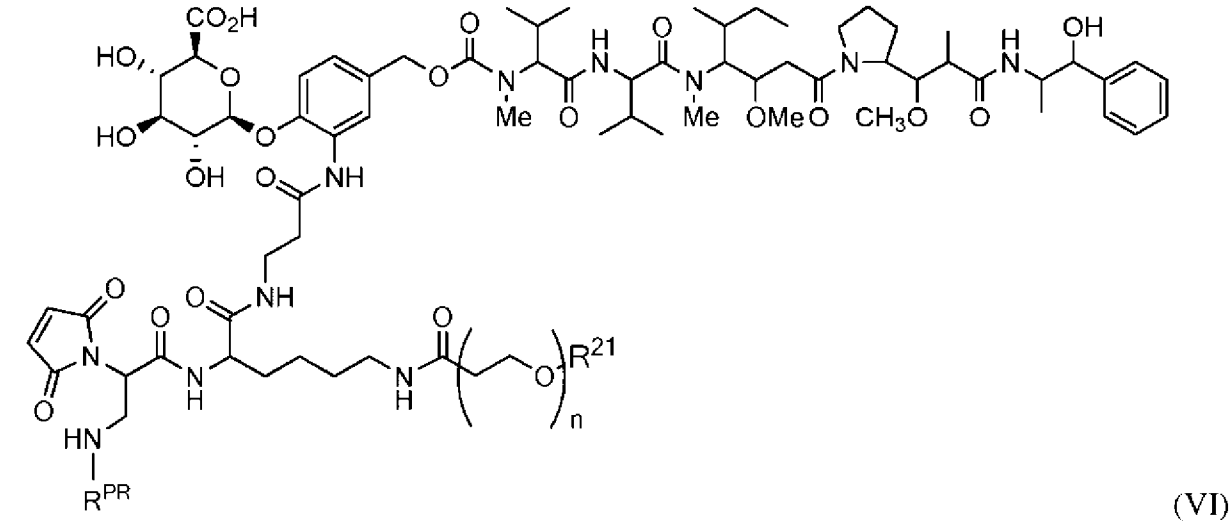
【0143】 對於此類藥物-連接子之較佳立體化學展示於下式Va中：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中對於式V及Va，Z表示具有能夠與抗體上之官能基反應以形成與其共價連接的反應性位點之有機部分，n介於8至36之間且最佳介於8至14之間(最佳12)，R²¹為用於聚乙二醇部分之封端

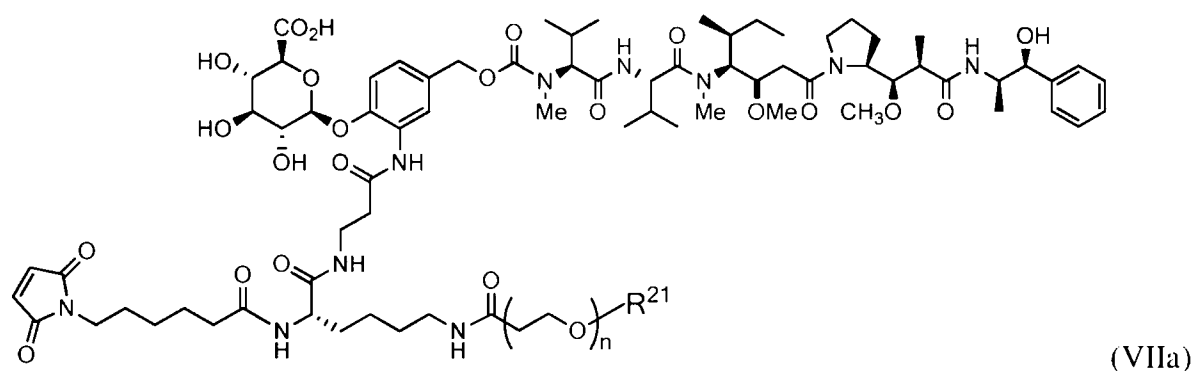
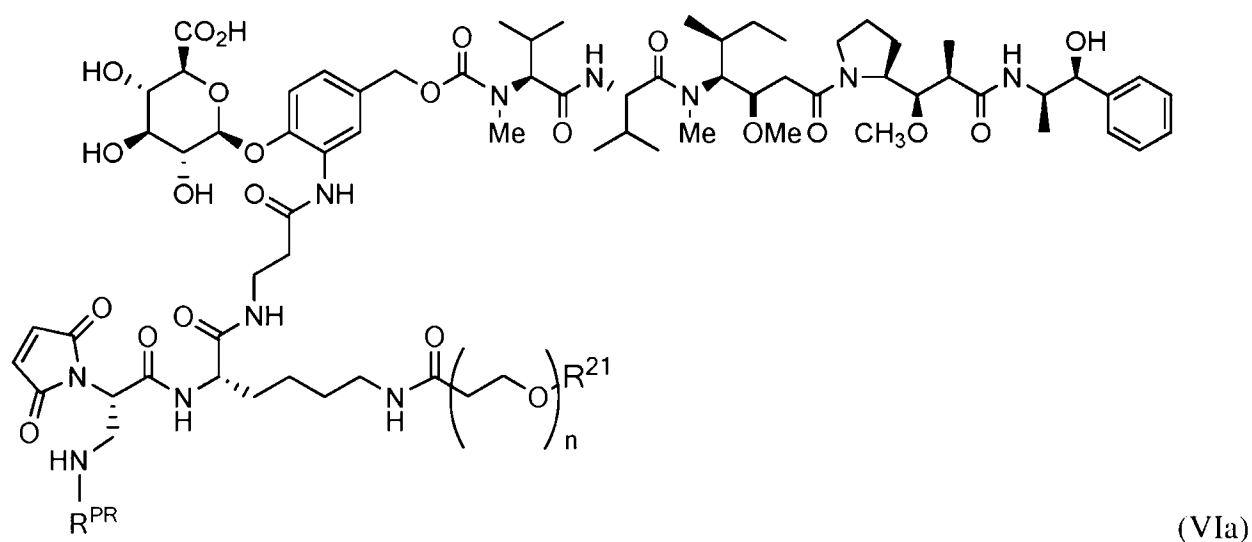
單元，較佳地為-CH₃或-CH₂CH₂CO₂H。

【0144】 較佳Z部分為含順丁烯二醯亞胺基之部分。尤其較佳的Z部分展示於以下藥物-連接子：



或其醫藥學上可接受之鹽中。

【0145】 對於此類藥物-連接子之較佳立體化學展示於以下：



或其醫藥學上可接受之鹽中，其中對於式VI、VIa、VII及VIIa， n 介於8至36之範圍內，最佳介於8至14之範圍內(最佳12)， R^{PR} 為氫或保護基，例如酸不穩定保護基，例如BOC， R^{21} 為用於聚乙二醇部分之封端單元，較佳地為 $-CH_3$ 或 $-CH_2CH_2CO_2H$ 。

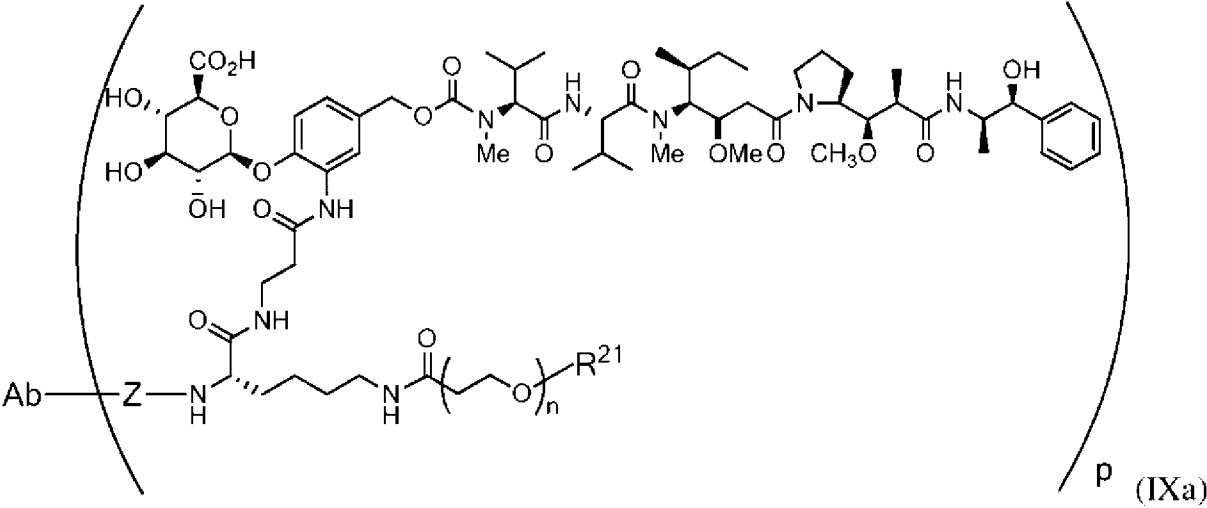
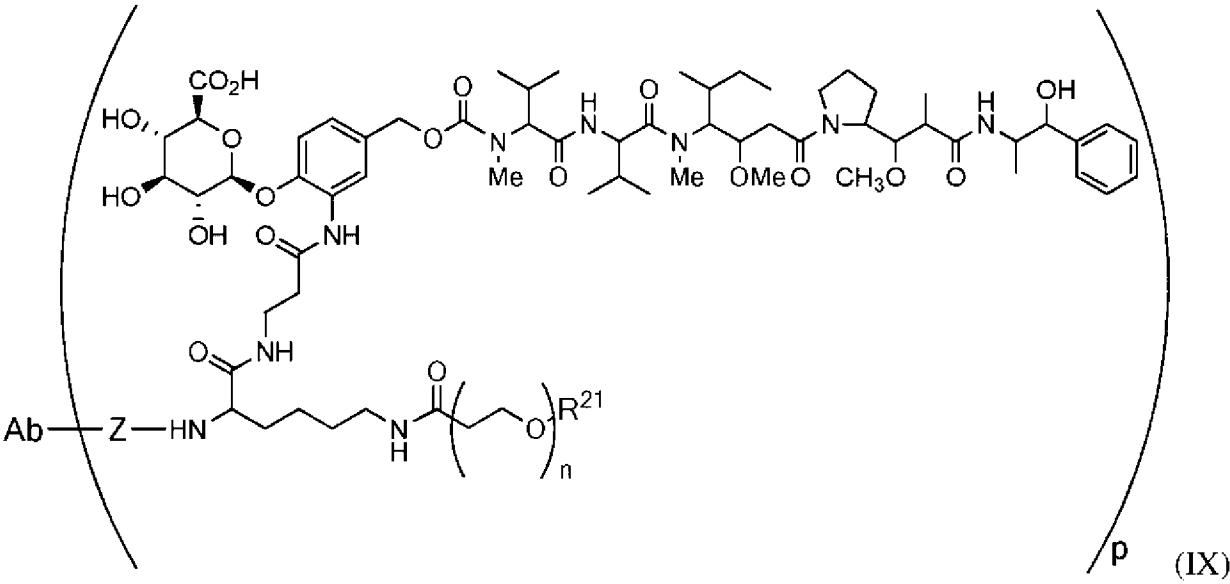
【0146】 如上文所提及， R^{PR} 可為氫或保護基。如本文所用之保護基係指選擇性阻斷(暫時或永久地)多官能化合物中之反應性位點之基團。保護基在其滿足以下條件時為適合之保護基：能夠在分子中別處實現所要化學轉變所需的反應條件下及在需要時純化新形成分子期間，防止或避免非所需副反應或保護基之過早損失，且可在不有害影響新形成分子之結構或立體化學完整性之條件下進行移除。適合之胺類保護基包括酸不穩定氮保護基，包括Isidro-Llobel等人「Amino acid-protecting groups」Chem.

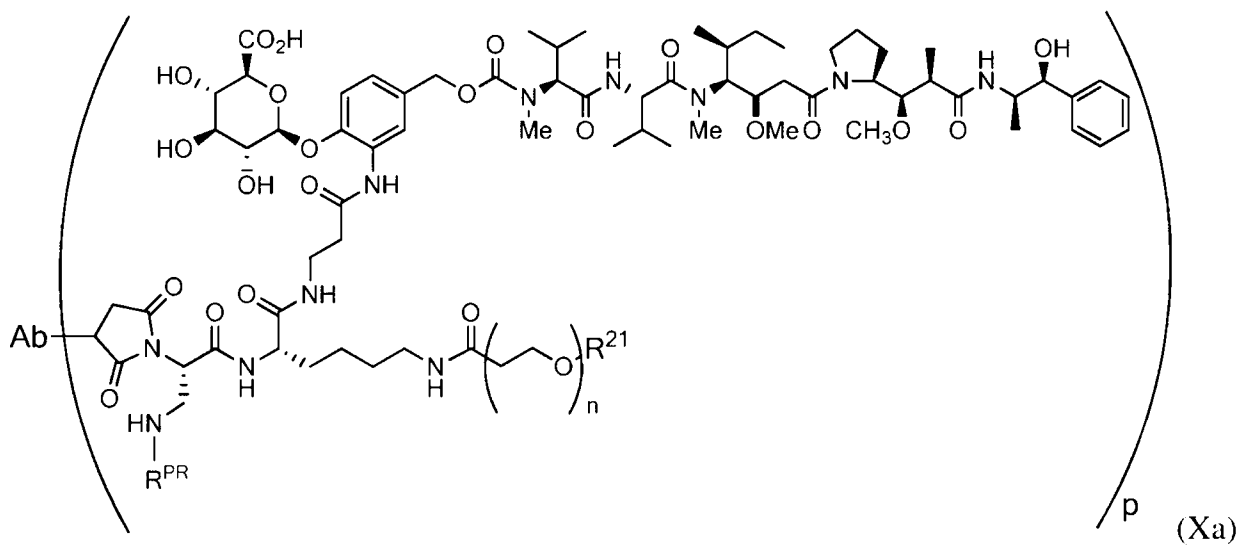
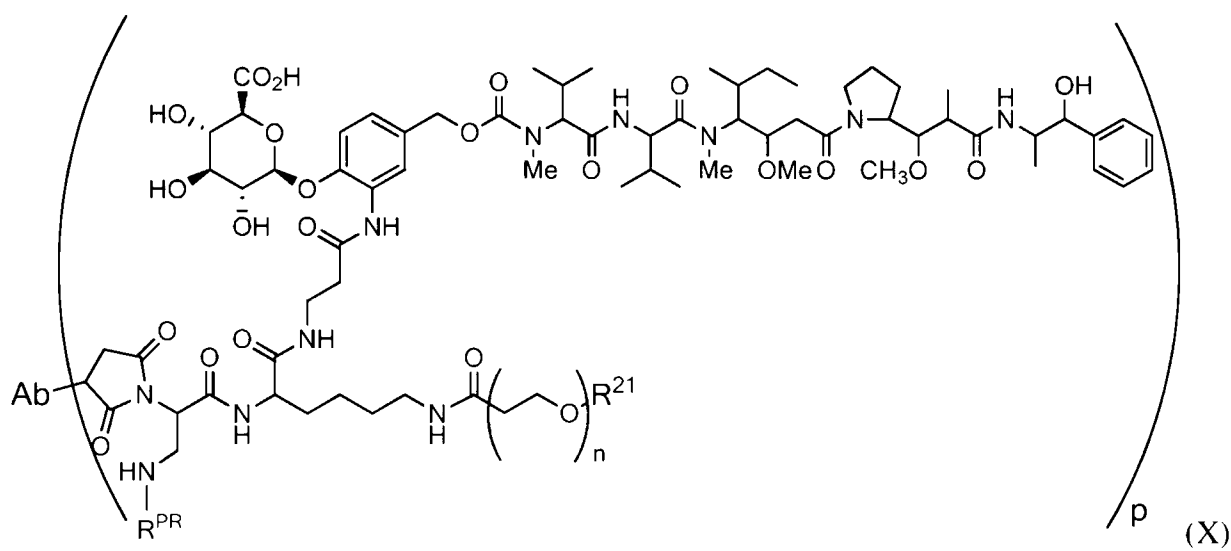
Rev. (2009) 109: 2455-2504所提供之彼等保護基。通常，酸不穩定氮保護基將一級或二級胺基轉變成其對應胺基甲酸酯且包括含胺基甲酸第三丁酯、胺基甲酸烯丙酯及胺基甲酸苯甲酯。

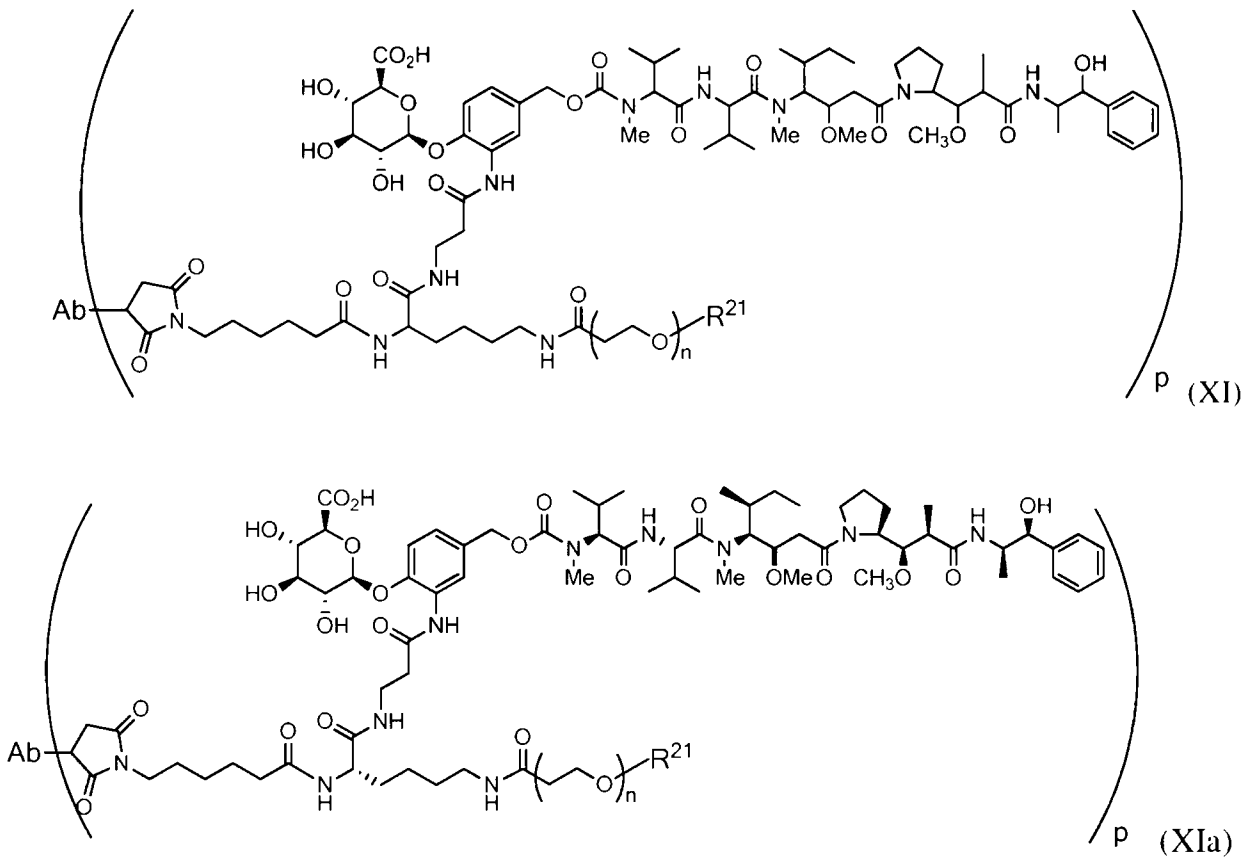
【0147】 如上文所提及， R^{21} 為用於聚乙二醇部分之封端單元。如熟習此項技術者將瞭解，聚乙二醇單元可經多種有機部分(通常相對無反應性之彼等有機部分)末端封端。烷基及經取代烷基為較佳的。

【0148】 對於MMAE聚乙二醇化ADC，諸如本文例示之彼等，尤佳平均載藥量為約8。在例示性實施例中，使藥物-連接子結合於經還原鏈間二硫化物之半胱胺酸殘基。在一些態樣中，對於抗體-藥物結合物化合物之群體中之個別抗體分子的實際載藥量為1至10 (或6至10或6至8)，主導載藥量為8。舉例而言，若除鏈間二硫化物之外，藥物-連接子結合於引入之半胱胺酸殘基(諸如位置239處引入之半胱胺酸殘基，根據EU索引)，則可達成較高載藥量。

【0149】 例示性ADC包括以下：







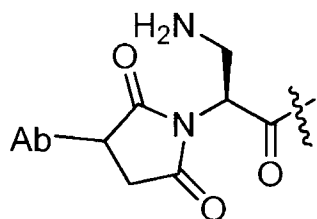
或其醫藥學上可接受之鹽，其中n介於8至36之範圍內且最佳介於8至14之範圍內(最佳地12)，R^{PR}為氫或保護基，例如酸不穩定保護基，例如BOC，R²¹為用於聚乙二醇部分之封端單元，較佳地為-CH₃或-CH₂CH₂CO₂H，Ab表示抗αVβ6抗體且p在指代個別抗體分子時表示介於1至16之範圍內，較佳地1至14、6至12、6至10或8至10之範圍內的整數或在指代抗體分子群體時表示約4或約6至約14，較佳地約8之平均載藥量。

【0150】 如上文所提及，藥物連接子之PEG (聚乙二醇)部分可介於8至36之範圍內，然而，已發現12個氧化乙烯單元之PEG為尤佳的。已發現較長PEG鏈可產生較慢清除率而較短PEG鏈可導致活性減弱。因此，上述所有實施例中之下標n較佳地為8至14、8至12、10至12或10至14且最佳為12。

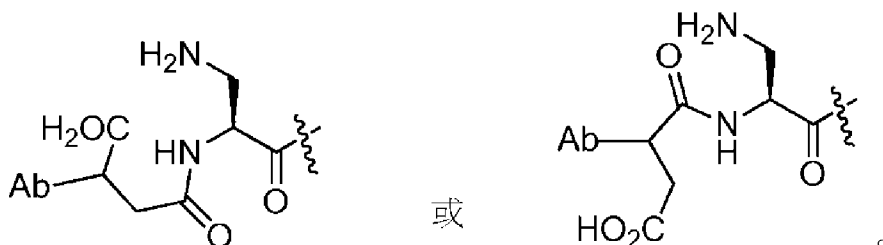
【0151】 多分散PEG、單分散PEG及離散PEG可用於製備本發明之聚乙二醇化抗體藥物結合物。多分散PEG為各尺寸及分子量之異質混合

物，然而單分散PEG通常自異質混合物純化且因此提供單鏈長及分子量。較佳PEG單元為離散PEG，即以逐步方式且不經由聚合過程合成之化合物。離散PEG提供具有限定及指定鏈長之單一分子。如同下標「p」一樣，當提及抗體-藥物結合物之群體時，下標「n」之值可為平均數且可為整數或非整數。

【0152】在較佳實施例中，抗體與藥物-連接子之共價連接係經由抗體之硫氫基官能基與藥物連接子之順丁烯二醯亞胺官能基相互作用以形成經硫取代之丁二醯亞胺來實現。硫氫基官能基可以配位體之天然狀態存在於配位體單元上，例如存在於天然存在之殘基(鏈間二硫化物殘基)中，或可經由化學修飾或藉由生物工程改造引入至配位體中，或兩者之組合。應理解，經抗體取代之丁二醯亞胺可以一或多種水解形式存在。舉例而言，在較佳實施例中，ADC包含丁二醯亞胺部分，該部分在結合於抗體時由以下之結構表示：



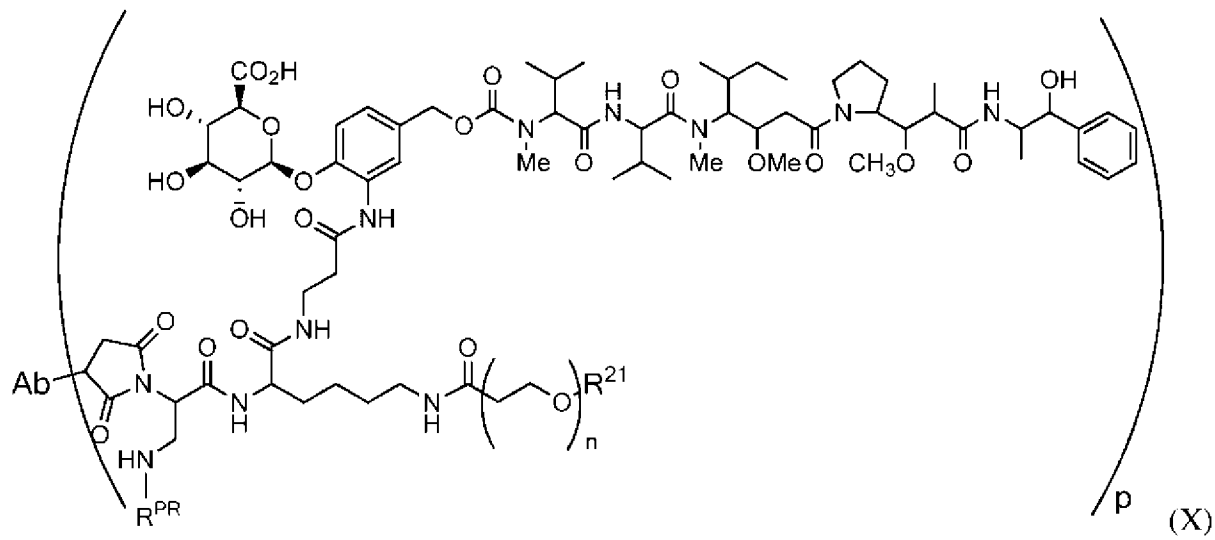
或包含其對應酸-醯胺部分，該部分在結合於抗體時由以下之結構表示：



波浪線指示至藥物-連接子之其餘部分之鍵。

【0153】在一些實施例中，本發明之抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體經由MDpr-

PEG(12)-gluc 連接子結合於單甲基奧瑞他汀E，形成具有以下結構之抗體-藥物結合物：



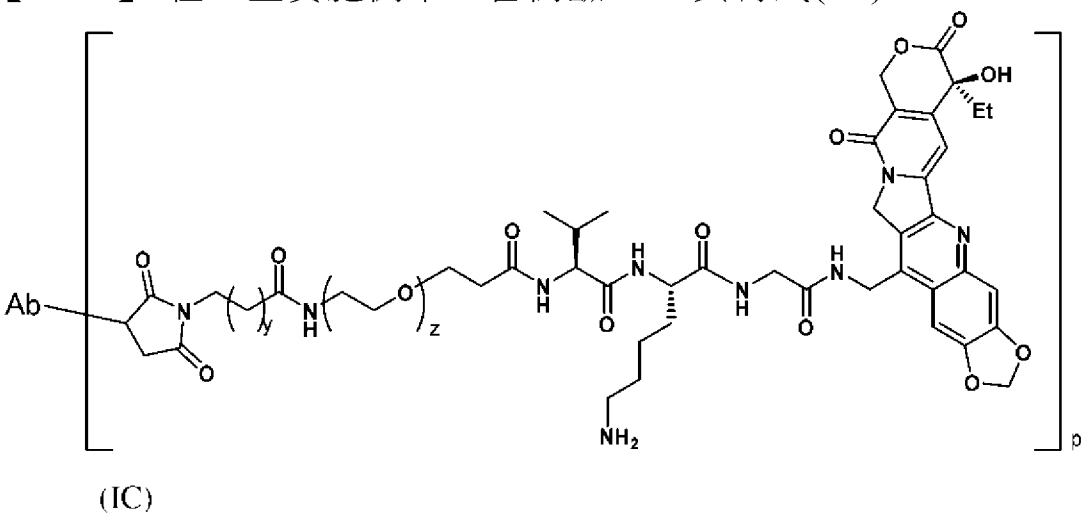
或其醫藥學上可接受之鹽，其中n介於8至36之範圍內且最佳介於8至14之範圍內(最佳為12)，R^{PR}為氫或保護基，例如酸不穩定保護基，例如BOC，R²¹為用於聚乙二醇部分之封端單元，較佳地-CH₃或-CH₂CH₂CO₂H，Ab表示抗 α V β 6抗體且p在指代個別抗體分子時表示介於1至16之範圍內，較佳地1至14、6至12、6至10或8至10之範圍內的整數且在指代抗體分子群體時表示約4或約6至約14，較佳地約8之平均載藥量。

【0154】 例示性抗體-藥物結合物亦包括基於喜樹鹼之抗體-藥物結合物(亦即，藥物組分為喜樹鹼藥物)。喜樹鹼為已展示具有抗癌活性之拓撲異構酶抑制劑。通常基於喜樹鹼之抗體-藥物結合物包含在喜樹鹼藥物與抗 α v β 6抗體之間的連接子。連接子可為例例如可裂解連接子(例如肽基連接子、碳水化合物連接子)或不可裂解連接子(例如藉由抗體之降解釋放之連接子)。例示性喜樹鹼藥物-連接子之合成及結構描述於PCT/US19/025968 (2019年4月5日申請)中，其以全文引用之方式併入本文中且用於所有目的。

【0155】 例示性抗 α v β 6抗體藥物結合物包括如下喜樹鹼抗體藥物結

合物，其中p表示載藥量及Ab表示抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體：

【0156】 在一些實施例中，喜樹鹼ADC具有式(IC)：



或其醫藥學上可接受之鹽；

其中

Ab為抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體；

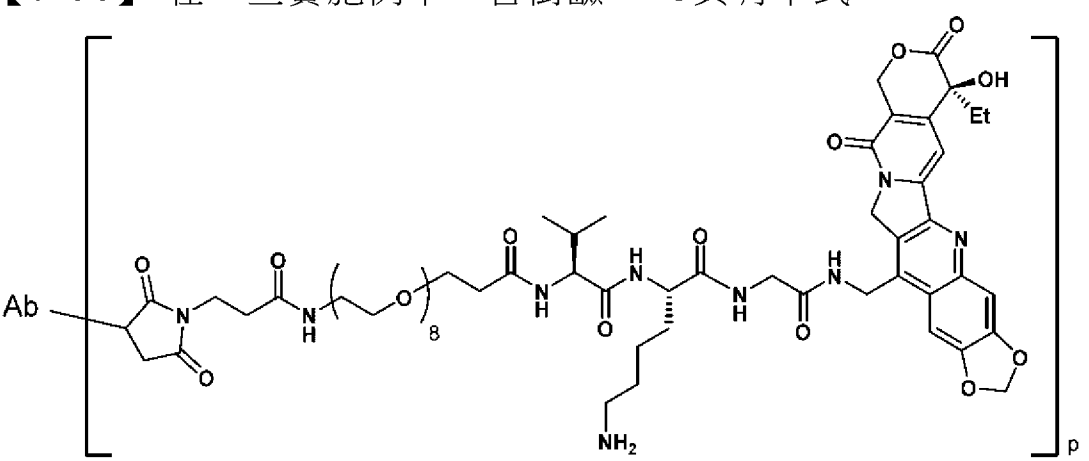
y為1、2、3或4，或為1或4；及

z為2至12中之整數，或為2、4、8或12；

且p為1至16。

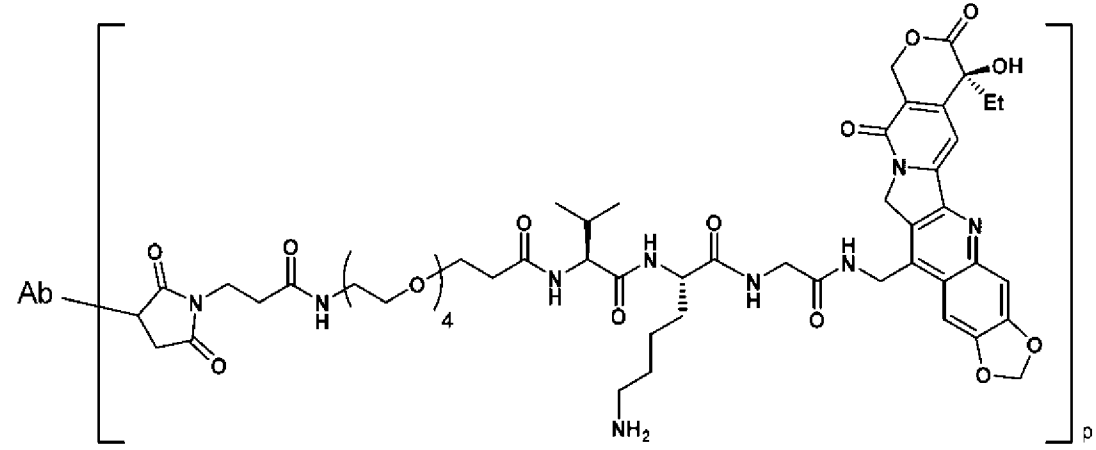
【0157】 在此等實施例之一些態樣中，p為2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些態樣中，p為2、4或8。

【0158】 在一些實施例中，喜樹鹼ADC具有下式：



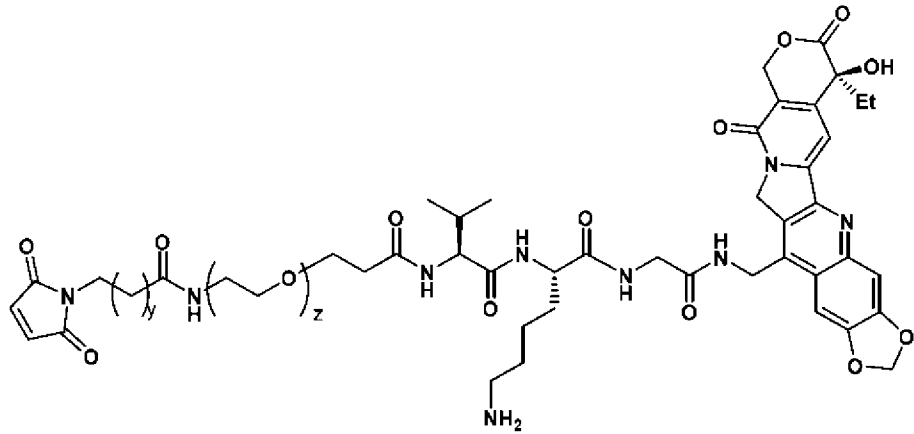
或其醫藥學上可接受之鹽；
其中p為2、4或8，較佳地p為8。

【0159】 在一些實施例中，喜樹鹼ADC具有下式：



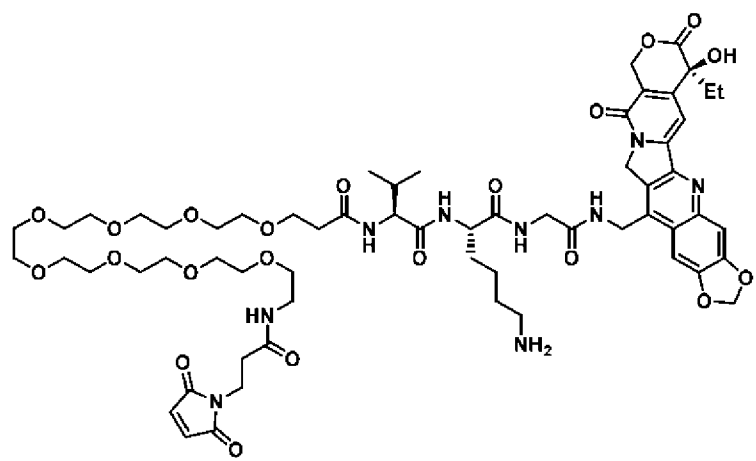
或其醫藥學上可接受之鹽；
其中p為2、4或8，較佳地p為8。

【0160】 在一些實施例中，喜樹鹼藥物-連接子具有下式：



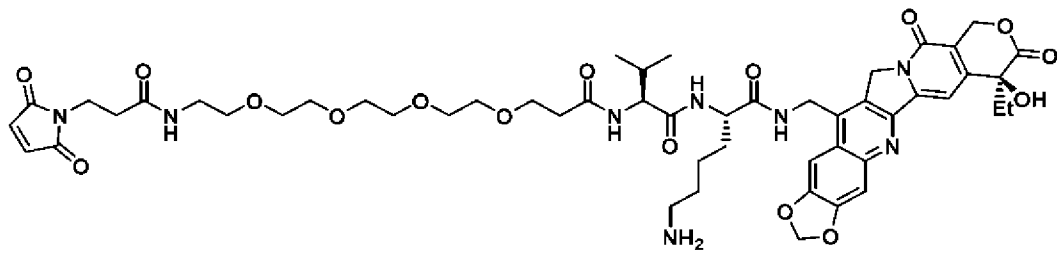
或其醫藥學上可接受之鹽；
其中
y為1、2、3或4，或為1或4；且
z為2至12中之整數，或為2、4、8或12。

【0161】 在一些實施例中，喜樹鹼藥物-連接子具有下式：



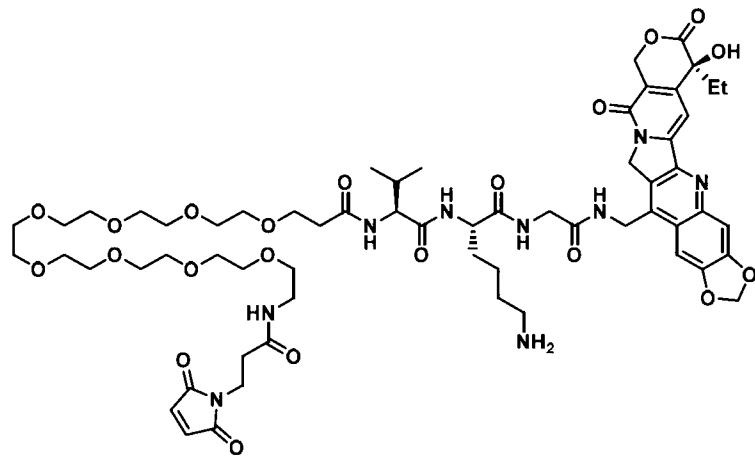
MP-PEG8-VKG-喜樹鹼

【0162】 在一些實施例中，喜樹鹼藥物-連接子具有下式：



MP-PEG4-VKG-喜樹鹼

【0163】 在一些實施例中，喜樹鹼藥物-連接子具有下式：



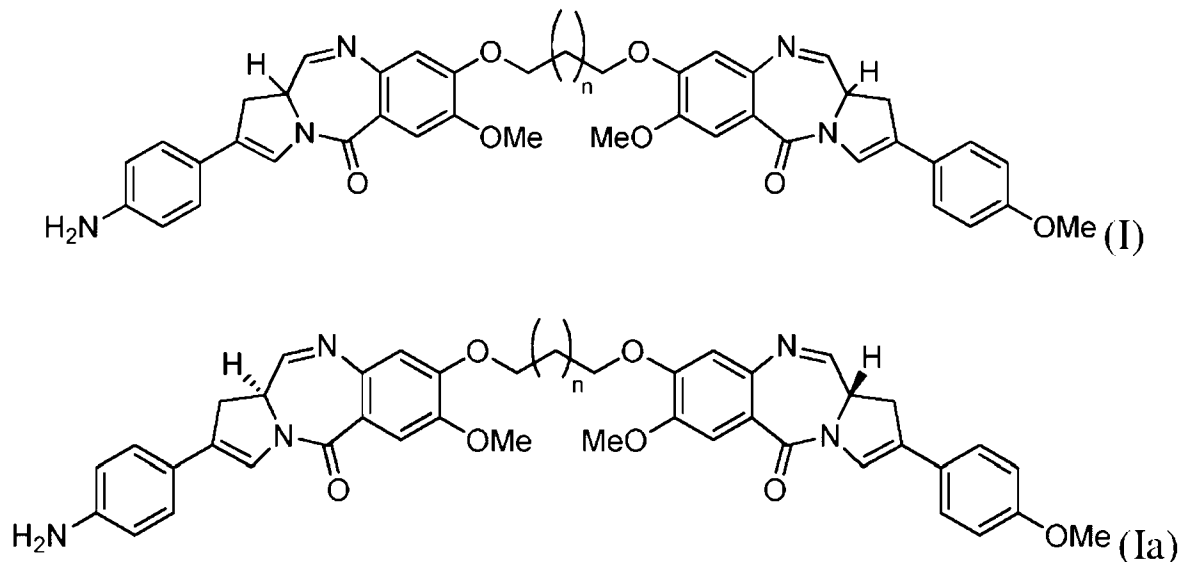
MP-PEG12-VKG-喜樹鹼

【0164】 其他例示性抗體藥物結合物包括類美登素(maytansinoid)抗體藥物結合物(亦即，藥物組分為類美登素藥物)及苯并二氮呋抗體藥物結合物(亦即，藥物組分為苯并二氮呋(例如吡咯并[1,4]苯并二氮呋二聚體(PBD二聚體)、吲哚啉并苯并二氮呋二聚體及喹啉啉并苯并二氮呋二聚

體))。

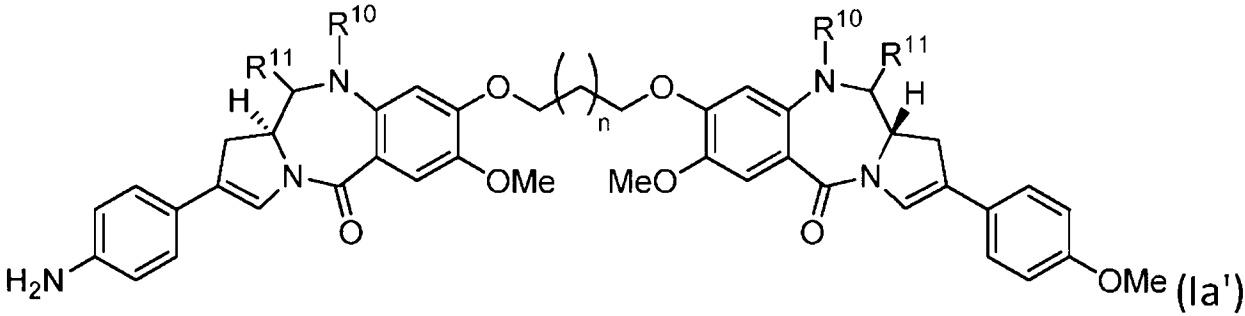
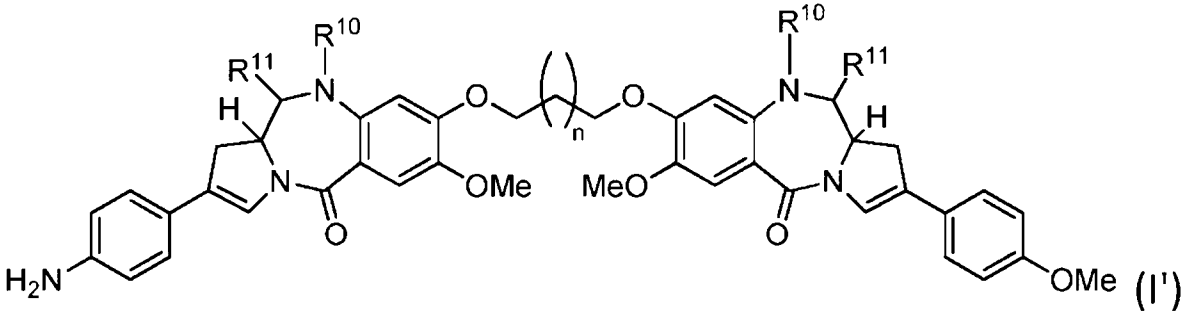
【0165】 在一些實施例中，用於本發明之PBD二聚體由式I表示。

PBD二聚體之較佳立體化學如式Ia中所展示：



或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物；其中下標n為1或3。

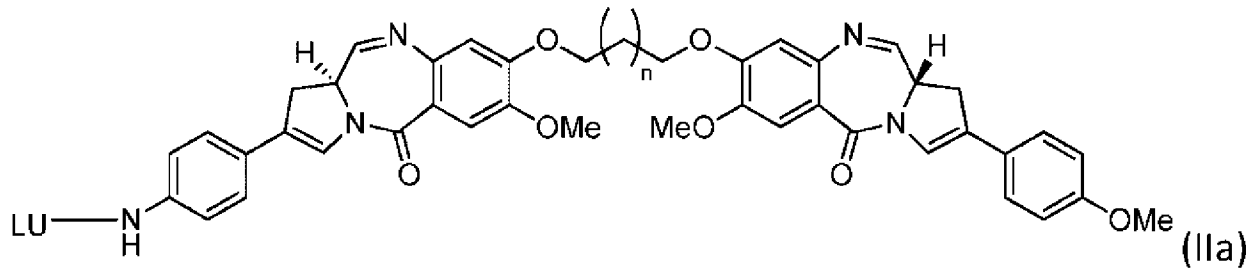
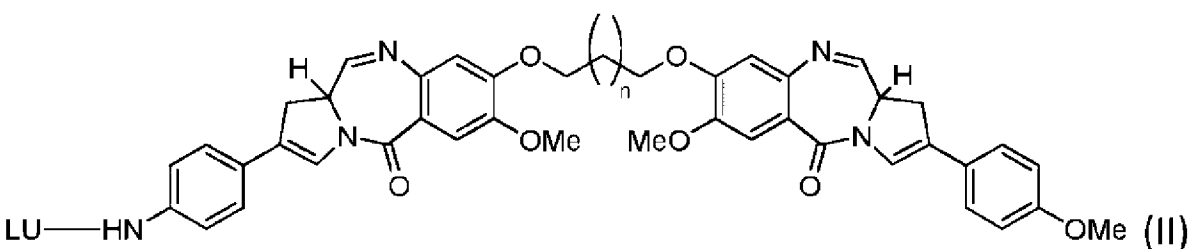
【0166】 式(I)及(Ia)之溶劑合物通常由在一個或兩個PBD單體之亞胺官能基之兩端添加水或醇溶劑以形成甲醇胺及/或甲醇胺醚而形成。舉例而言，在N10-C11位置處，可存在亞胺(N=C)、甲醇胺(NH-CH(OH))或甲醇胺乙醚(NH-CH(OMe))，如由下式I'及Ia'表示：



其中：

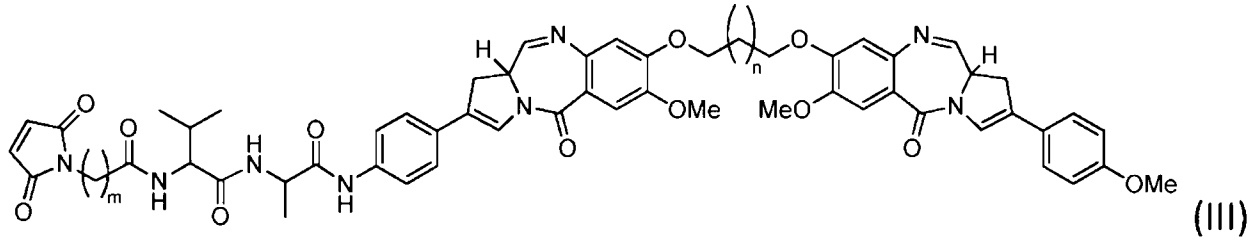
- (a) R^{10} 為 H，且 R^{11} 為 OH 或 OR^A ，其中 R^A 為飽和的 C_{1-4} 烷基(較佳地甲基)；或
- (b) R^{10} 及 R^{11} 於氮與碳原子之間形成與其結合的氮-碳雙鍵；或
- (c) R^{10} 中之一者為 H 且 R^{11} 為 OH 或 OR^A ，其中 R^A 為飽和 C_{1-4} 烷基(較佳地甲基)；且 R^{10} 中之另一者及 R^{11} 於氮與碳原子之間形成與其結合的氮-碳雙鍵。

【0167】 式I或Ia之PBD二聚體(醫藥學上之鹽、溶劑合物或其鹽之溶劑合物)通常地經由連接子單元LU與抗體連接。連接子單元用以在靶位點(例如，癌細胞內部)釋款式I或Ia之PBD二聚體(或醫藥學上之鹽、溶劑合物或其鹽之溶劑合物)。用於本發明之PBD藥物-連接子化合物由以下式II表示(如IIa所展示之較佳立體化學)，其中LU為連接子單元。連接子單元可為例如可裂解肽連接子單元(例如，包含纈胺酸-丙胺酸肽之連接子)或可裂解二硫鍵連接子單元：



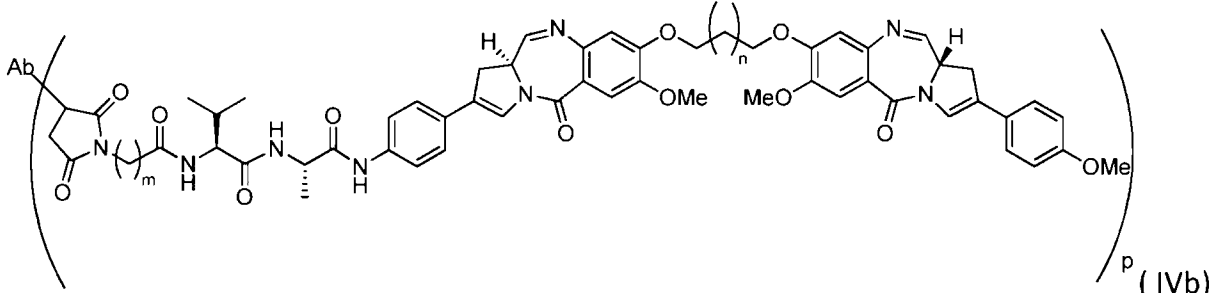
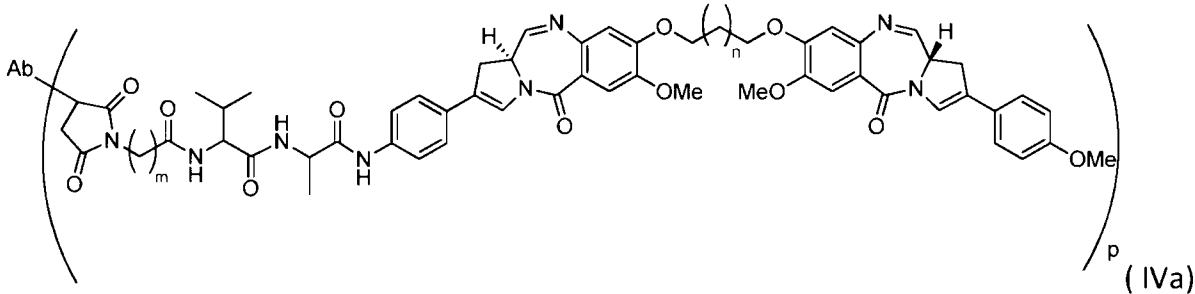
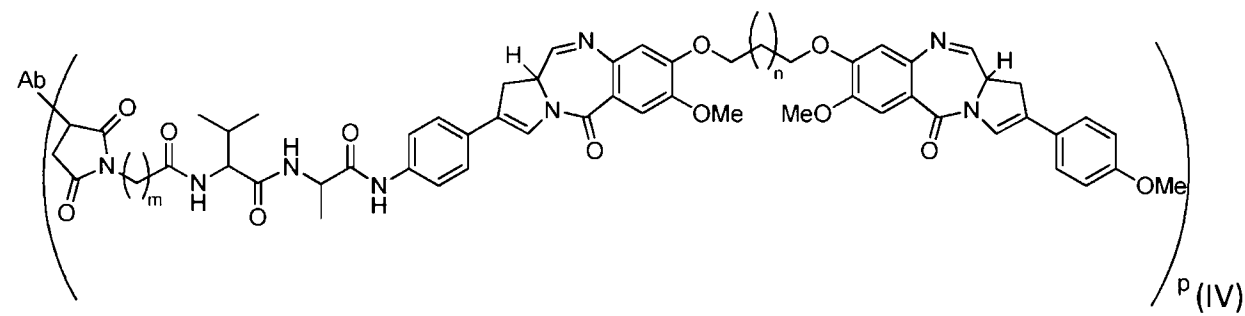
或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物；其中下標 n 為1或3。

【0168】 用於本發明之較佳PBD藥物-連接子化合物由下式III表示：



或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物；其中下標 n 為1或3且下標 M 為2至5之整數。

【0169】 PBD藥物-連接子結合於抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體以產生靶向 $\alpha v \beta 6$ 之抗體-藥物結合物。舉例而言，抗體可結合於式II或式III之藥物-連接子。例示性靶向 $\alpha v \beta 6$ 之抗體-藥物結合物以式IV、IVa及IVb形式展示於下文：



或醫藥學上之鹽、溶劑合物或該鹽之溶劑合物；其中下標n為1或3；
下標m為2至5之整數；且下標p為1至4。

【0170】 結合於抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體之有用類別的細胞毒性劑包括(例如)抗微管蛋白劑、DNA小溝結合劑、DNA複製抑制劑、化學療法敏化劑或類似物。其他例示性類別的細胞毒性劑包括蒽環黴素(anthracycline)、奧瑞他汀、喜樹鹼、倍癌黴素(duocarmycin)、依託泊苷(etoposide)、類美登素及長春花生物鹼(vinca alkaloid)。一些例示性細胞毒性劑包括奧瑞他汀(例如奧瑞他汀T、奧瑞他汀E、AFP、單甲基奧瑞他汀F (MMAF)、親脂性單甲基奧瑞他汀F、單甲基奧瑞他汀E (MMAE))、DNA小溝結合劑(例如烯二炔及萊希普辛(lexitropsin))、倍癌黴素、紫杉烷(taxane) (例如太平

洋紫杉醇(paclitaxel)及多西他賽(docetaxel))、長春花生物鹼、菸鹼醯胺磷酸核糖基轉移酶抑制劑(nicotinamide phosphoribosyltransferase inhibitor; NAMPTi)、特吡萊辛M (tubulysin M)、小紅莓、N-嗎啉基-小紅莓及氰基(N-嗎啉基)-小紅莓。

【0171】細胞毒性劑可為化學治療劑，諸如(例如)小紅莓、太平洋紫杉醇、美法侖(melphalan)、長春花生物鹼、甲胺喋呤、絲裂黴素C或依託泊苷。藥劑亦可為CC-1065類似物、卡奇黴素(calicheamicin)、美登素、尾海兔素(dolastatin) 10之類似物、根黴毒素(rhizoxin)或沙海葵毒素(palytoxin)。

【0172】細胞毒性劑亦可為奧瑞他汀。奧瑞他汀可為奧瑞他汀E衍生物，其例如為形成於奧瑞他汀E與酮基酸之間的酯。舉例而言，可使奧瑞他汀E與對乙醯基苯甲酸或苯甲醯基戊酸反應以分別產生AEB及AEVB。其他典型奧瑞他汀包括奧瑞他汀T、AFP、MMAF及MMAE。各種奧瑞他汀之合成及結構描述於例如US 2005-0238649及US2006-0074008中。

【0173】細胞毒性劑可為DNA小溝結合劑。(參見例如，美國專利第6,130,237號)。舉例而言，小溝結合劑可為CBI化合物或烯二炔(例如卡奇黴素)。

【0174】細胞毒性劑或細胞生長抑制劑可為抗微管蛋白劑。抗微管蛋白劑之實例包括紫杉烷(例如Taxol® (太平洋紫杉醇)、Taxotere® (多西他賽))、T67 (Tularik)、長春花生物鹼(例如長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、長春地辛(vindesine)及長春瑞濱(vinorelbine))及奧瑞他汀(例如奧瑞他汀E、AFP、MMAF、MMAE、AEB、AEVB)。例示性奧

瑞他汀以式III-XIII形式展示於下文中。其他適合之抗微管蛋白劑包括例如漿果赤黴素(baccatin)衍生物、紫杉烷類似物(例如，埃坡黴素(epothilone) A及B)、諾考達唑(nocodazole)、秋水仙鹼(colchicine)及秋水醯胺(colcimid)、雌氮芥(estramustine)、克瑞普托非森(cryptophysin)、西馬多丁(cemadotin)、類美登素、風車子抑素(combretastatin)、圓皮海綿內酯(discodermoide)及軟珊瑚醇(eleuthrobin)。

【0175】細胞毒性劑可為類美登素，另一組抗微管蛋白劑(例如，DM1、DM2、DM3、DM4)。舉例而言，類美登素可為美登素或含有諸如DM-1或DM-4之藥物連接子的美登素(ImmunoGen, Inc.；亦參見Chari等人，1992, Cancer Res.)。

VIII. 治療應用

【0176】本發明之抗體單獨或以其抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體-藥物結合物形式均可用於治療癌症。一些此類癌症在蛋白質(例如藉由使用例示性抗體中之一者的免疫分析)或mRNA層級下量測時展示可偵測的 $\alpha v \beta 6$ 量。一些此類癌症相對於相同類型之非癌性組織(較佳地來自同一患者)展示升高的 $\alpha v \beta 6$ 量。儘管可治療較高或較低含量，但在癌細胞上適合於治療之例示性 $\alpha v \beta 6$ 量為每一細胞有5000至500,000個 $\alpha v \beta 6$ 分子。視情況，在執行治療之前量測癌症中之 $\alpha v \beta 6$ 量。

【0177】與 $\alpha v \beta 6$ 表現相關聯且適合於治療之癌症實例包括非小細胞肺癌(NSCLC) (鱗狀及腺)、頭頸癌(包括頭頸鱗狀癌瘤)、食道癌、乳癌(包括乳房侵襲性癌)、卵巢癌、膀胱癌(包括尿道上皮癌)、皮膚癌(鱗狀細胞癌或SCC)、腎癌(包括腎透明細胞、腎乳頭狀細胞及腎難染細胞)、子宮

頸癌、胃癌、前列腺癌(包括前列腺腺癌)、子宮內膜癌(包括子宮癌肉瘤及子宮體子宮內膜)、直腸腺癌、甲狀腺癌、結腸腺癌、胃腺癌及胰臟癌(包括胰腺癌)。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療NSCLC之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療頭頸癌之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療皮膚癌之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療食道癌之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療乳癌之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療卵巢癌之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療膀胱癌之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療子宮頸癌之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療胃癌(gastric cancer)之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療腎癌之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療子宮內膜癌之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療胃癌(stomach cancer)之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療胰臟癌之方法中。治療可應用於患有此等種類之原發性或轉移性腫瘤的患者。治療亦可應用於用習知治療難以治癒或在對此類治療反應後已復發的患者。

【0178】 本發明之抗體(諸如人類化抗體)單獨或以其結合物形式以有效方案投與，該有效方案意謂延遲癌症之發作、降低癌症之嚴重程度、抑制癌症之進一步惡化及/或改善癌症之至少一種跡象或症狀的劑量、投藥途徑及投藥頻率。若患者已罹患癌症，則方案可稱作治療上有效之方

案。若患者相對於一般群體處於升高之癌症風險下，但尚未經歷症狀，則方案可稱作預防性有效方案。在一些個例中，可在個別患者中相對於同一患者之歷史對照或過去經歷觀測到治療性或預防性功效。在其他個例中，相對於未經治療患者之對照群體，可在經治療患者群體中的臨床前或臨床試驗中證實治療性或預防性功效。

【0179】對於單株抗體之例示性劑量為0.1 mg/kg至50 mg/kg患者體重，更通常1 mg/kg至30 mg/kg、1 mg/kg至20 mg/kg、1 mg/kg至15 mg/kg、1 mg/kg至12 mg/kg、或1 mg/kg至10 mg/kg、或2 mg/kg至30 mg/kg、2 mg/kg至20 mg/kg、2 mg/kg至15 mg/kg、2 mg/kg至12 mg/kg、或2 mg/kg至10 mg/kg、或3 mg/kg至30 mg/kg、3 mg/kg至20 mg/kg、3 mg/kg至15 mg/kg、3 mg/kg至12 mg/kg、或3 mg/kg至10 mg/kg。對於單株抗體或其抗體藥物結合物之例示性劑量為1 mg/kg至7.5 mg/kg、或2 mg/kg至7.5 mg/kg、或3 mg/kg至7.5 mg/kg個體體重，或0.1至20、或0.5至5 mg/kg體重(例如，0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10 mg/kg)或10至1500或200至1500 mg作為固定劑量。在一些方法中，患者經投與至少1.5 mg/kg、至少2 mg/kg或至少3 mg/kg之劑量，每三週或更久投與一次。除其他因素之外，劑量視投藥頻率、患者之病狀及對先前治療(若存在)之反應而定，無論該治療為預防性或治療性且無論病症為急性或慢性的。

【0180】投藥可為非經腸、靜脈內、經口、皮下、動脈內、顱內、鞘內、腹膜內、局部、鼻內或肌肉內。投藥亦可直接定位至腫瘤中。藉由靜脈內或皮下投藥而投藥至全身循環中為較佳的。靜脈內投藥可例如藉由在諸如30至90 min之時間段內輸注或藉由單次推注注射來進行。

【0181】 除其他因素之外，投藥頻率視抗體或結合物在循環中之之半衰期、患者之病狀及投藥途徑而定。回應於患者之病狀或所治療癌症之進展變化，頻率可為每天、每週、每月、每季度或以不規律時間間隔。在連續治療過程內，靜脈內投藥之例示性頻率在一週兩次與每季度一次之間，但更頻繁或較不頻繁的給藥亦為可能的。在連續治療過程內，靜脈內投藥之其他例示性頻率在每週一次或每四週三次之間，但更頻繁或較不頻繁的給藥亦為可能的。對於皮下投藥，例示性給藥頻率為每天至每月，但更頻繁或較不頻繁的給藥亦為可能的。

【0182】 投與劑量之數目視癌症性質(例如，無論呈現急性或慢性症狀)及病症對治療之反應而定。對於急性病症或慢性病症之急性惡化，1個與10個劑量之間常常為足夠的。有時，視情況呈分開形式的單一推注劑量對於急性病症或慢性病症之急性惡化而言為足夠的。針對急性病症或急性惡化之復發，可重複治療。對於慢性病症，抗體可以規則時間間隔投與，例如每週一次、每兩週一次、每月一次、每季度一次、每六個月一次，持續至少1、5或10年或患者的一生。

【0183】 用於非經腸投藥之醫藥組合物較佳係無菌的且大體上等張的且在GMP條件下製造。醫藥組合物可以單位劑型(亦即，用於單次投藥之劑量)提供。醫藥組合物可使用一或多種生理上可接受之載體、稀釋劑、賦形劑或助劑來調配。調配視所選投藥途徑而定。對於注射，抗體可在水性溶液中調配，較佳在生理學上相容的緩衝液中，諸如漢克氏溶液(Hanks' solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)，或生理鹽水或乙酸鹽緩衝液(以減小注射部位處之不適)。溶液可含有調配劑，諸如懸浮劑、穩定劑及/或分散劑。替代地，抗體可呈凍乾形式，在使用之前用適合之媒

劑(例如無菌無熱原質水)復原。液體調配物中之抗體濃度可為例如1至100 mg/ml，諸如10 mg/ml。

【0184】藉由本發明之抗體的治療可與化學治療、放射、幹細胞治療、手術、對所治療之病症有效的其他治療組合。可與如本文所描述之針對 $\alpha v \beta 6$ 之抗體及抗體-藥物結合物一起投與的有用類別之其他試劑包括例如針對癌細胞上表現之其他受體的抗體、抗微管蛋白劑(例如奧瑞他汀)、DNA小溝結合劑、DNA複製抑制劑、烷基化劑(例如鉑複合物，諸如順鉑(cisplatin)、單(鉑)、雙(鉑)及三核鉑複合物及卡鉑(carboplatin))、蔥環黴素、抗生素、抗葉酸劑、抗代謝物、化學治療敏化劑、倍癌黴素、依託泊苷、氟化嘧啶、離子載體、萊希普辛、亞硝基脲、順氯氨鉑(platinol)、預成型化合物、嘌呤抗代謝物、嘌呤黴素、放射敏化劑、類固醇、紫杉烷、拓撲異構酶抑制劑、長春花生物鹼及類似物。

【0185】與相同治療(例如，化學療法)但無單獨或呈結合物形式之抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體相比較，藉由抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體或抗體-藥物結合物，視情況與上文所述的其他藥劑或方案中之任一者單獨或作為抗體藥物結合物組合之治療可增加患有腫瘤(例如，非小細胞肺癌(NSCLC) (鱗狀及腺)、頭頸癌(包括頭頸鱗狀癌瘤)、食道癌、乳癌(包括乳房侵襲性癌)、卵巢癌、膀胱癌(包括尿道上皮癌)、皮膚癌(鱗狀細胞癌或SCC)、腎癌(包括腎透明細胞、腎乳頭狀細胞及腎難染細胞)、子宮頸癌、胃癌、前列腺癌(包括前列腺腺癌)、子宮內膜癌(包括子宮癌肉瘤及子宮體子宮內膜)、直腸腺癌、甲狀腺癌、結腸腺癌、胃腺癌及胰臟癌(包括胰腺癌))之患者的中值無進展存活期或總存活時間(尤其在復發或難治時)至少30%或40%，但較佳地50%、60%至70%或甚至100%或更長。另外或替代地，與相同治療(例如

化學療法)但無單獨或呈結合物形式之抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體相比較，包括單獨或呈結合物形式之抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體的治療(例如，標準化學療法)可增加患有腫瘤之患者的完全反應率、部分反應率或客觀反應率(完全+部分)至少30%或40%，但較佳地50%、60%至70%或甚至100%。

【0186】 通常，在臨床試驗(例如II期、II/III期或III期試驗)中，相對於接受單獨標準療法(或加安慰劑)之患者對照組，用標準療法加單獨或呈結合物形式之抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體治療的患者的中值無進展存活期及/或反應率之前述增加為統計學上顯著的，例如在 $p = 0.05$ 或 0.01 或甚至 0.001 水準下。完全及部分反應率係藉由常用於癌症之臨床試驗中之客觀準則來確定，例如由國家癌症研究所(National Cancer Institute)及/或食品與藥物管理局(Food and Drug Administration)所列或所公認的客觀準則。

IX. 製品及套組

【0187】 在另一態樣中，提供包含本文所描述之抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體或抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體-藥物結合物之製品或套組。製品或套組可進一步包含本文所描述的抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體或抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體-藥物結合物在本發明之方法中之使用說明書。因此，在某些實施例中，製品或套組包含本文中所述之抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體或抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體-藥物結合物在用於治療個體之癌症(例如，非小細胞肺癌(NSCLC) (鱗狀及腺)、頭頸癌(包括頭頸鱗狀癌瘤)、食道癌、乳癌(包括乳房侵襲性癌)、卵巢癌、膀胱癌(包括尿道上皮癌)、皮膚癌(鱗狀細胞癌或SCC)、腎癌(包括腎透明細胞、腎乳頭狀細胞及腎難染細胞)、子宮頸癌、胃癌、前列腺癌(包括前列腺腺癌)、子宮內膜癌(包括子宮癌肉瘤及子宮體子宮內膜)、直腸腺癌、甲狀腺癌、結腸腺癌、胃腺癌及胰臟癌(包括胰腺癌))的方法中之使用說明書，包含向該個體投與有效量之本文中所

述之抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體或抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體-藥物結合物。在一些實施例中，癌症為NSCLC。在一些實施例中，癌症為頭頸癌。在一些實施例中，癌症為食道癌。在一些實施例中，癌症為乳癌。在一些實施例中，癌症為卵巢癌。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療腎癌之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療子宮內膜癌之方法中。在一些實施例中，本發明之抗體或抗體-藥物結合物用於治療胃癌之方法中。在一些實施例中，癌症為膀胱癌。在一些實施例中，癌症為皮膚癌。在一些實施例中，癌症為子宮頸癌。在一些實施例中，癌症為胃癌。在一些實施例中，癌症為胰臟癌。在一些實施例中，個體為人類。

【0188】 製品或套組可進一步包含容器。適合的容器包括例如瓶、小瓶(例如，雙室小瓶)、注射器(諸如單或雙室注射器)及試管。在一些實施例中，容器為小瓶。容器可由多種材料(諸如玻璃或塑膠)形成。容器保存調配物。

【0189】 製品或套組可進一步包含位於容器上或與容器相關聯之標籤或藥品說明書，其可指示復原及/或使用調配物之指導。標記或藥品說明書可進一步指示調配物適用於或既定用於皮下、靜脈內(例如，靜脈內輸注)或其他投藥模式以治療個體之癌症(例如，非小細胞肺癌(NSCLC)(鱗狀及腺)、頭頸癌(包括頭頸鱗狀癌瘤)、食道癌、乳癌(包括乳房侵襲性癌)、卵巢癌、膀胱癌(包括尿道上皮癌)、皮膚癌(鱗狀細胞癌或SCC)、腎癌(包括腎透明細胞、腎乳頭狀細胞及腎難染細胞)、子宮頸癌、胃癌、前列腺癌(包括前列腺腺癌)、子宮內膜癌(包括子宮癌肉瘤及子宮體子宮內膜)、直腸腺癌、甲狀腺癌、結腸腺癌、胃腺癌及胰臟癌(包括胰腺癌))。

保存調配物之容器可為單次使用型小瓶或多次使用型小瓶，其允許重複投藥經復原之調配物。製品或套組可進一步包含第二容器，其包含適合的稀釋劑。製品或套組可進一步包括自商業、治療性及使用者觀點來看所需之其他材料，包括具有使用說明書之其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針、注射器及藥品說明書。

【0190】 本文中之製品或套組視情況進一步包含容器，該容器包含第二藥物，其中抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體或抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體-藥物結合物為第一藥物，且製品或套組進一步包含於標籤或藥品說明書上之用於以有效量的第二藥物治療個體的說明書。在一些實施例中，第二藥物用於消退或減輕一或多個不良事件之嚴重程度。

【0191】 在一些實施例中，抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體或抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體-藥物結合物以凍乾粉形式存在於容器中。在一些實施例中，凍乾粉處於密閉性密封容器中，諸如小瓶、安瓿或藥囊，指示活性劑之量。在藉由注射投與醫藥的情況下，一安瓿注射用無菌水或生理鹽水可例如視情況作為套組之部分形式提供，以使得成分可在投藥之前混合。若需要，則此類套組可進一步包括各種習知醫藥組分之一或多者，諸如(例如)具有一或多種醫藥學上可接受之載劑的容器、額外的容器等，如對於熟習此項技術者而言易瞭解。套組中亦可包括呈插頁或呈標籤形式之印刷說明書，指示待投與之組分量、投藥指南及/或用於混合組分之指南。

X. 其他應用

【0192】 本文所描述之抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體(諸如人類化抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體)可用於在臨床診斷或治療之情形下或研究中偵測 $\alpha v\beta 6$ 。 $\alpha v\beta 6$ 在癌症上之表現提供癌症適合於用本發明之抗體進行治療的指示。抗體亦可以用於實驗室研

究之研究試劑形式出售，用於偵測攜帶 $\alpha v \beta 6$ 之細胞及其對各種刺激之反應。在此類用途中，單株抗體可用螢光分子、自旋標記分子、酶或放射性同位素標記，且可以含有執行 $\alpha v \beta 6$ 之分析必需的所有試劑之套組形式提供。本文所描述之抗體可用於偵測 $\alpha v \beta 6$ 蛋白表現且判定癌症是否適合於用 $\alpha v \beta 6$ ADC治療。

【0193】 上文或下文引用之所有專利申請案、網站、其他公開案、寄存編號及其類似者出於所有目的以全文引用之方式併入，其引用程度如同各個別物件經特定且個別地指示以以引用之方式併入一般。若序列之不同型式與在不同時間之寄存編號相關，則意謂在本申請案之有效申請日時與寄存編號相關之型式。有效申請日意謂若適用，早於關於寄存編號之優先權申請案之實際申請日或申請日。同樣，若在不同時間公開公開案、網站或其類似者之不同型式，則除非另有指示，否則意謂在本申請案之有效申請日最近公開之型式。除非另外特別指示，否則本發明之任何特徵、步驟、元件、實施例或態樣可與任何其他組合使用。儘管出於清楚及理解之目的已藉助於說明及實例相當詳細地描述本發明，但顯而易見可在所附申請專利範圍之範疇內實踐某些改變及修改。

實例

材料

【0194】 描述於以下實例中之細胞株係保持在根據由美國菌種保藏中心(American Type Culture Collection ; ATCC)、國家癌症研究所(National Cancer Institute ; NCI)或德國微生物菌種保藏中心(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany ; DMSZ)指定之條件之培養物中。SW780細胞株、Detroit 562

細胞株、HPAFII細胞株及BxPC3細胞株係自ATCC獲得。FreeStyle™ 293-F (Invitrogen Corp)人類上皮腎細胞及對應轉染體係如製造商所述來保持。細胞培養物試劑係自Invitrogen Corp. (Carlsbad, CA.)、Molecular Devices (Sunnydale, CA)及其他供應商獲得。二級抗體試劑係購自Jackson ImmunoResearch Laboratories (West Grove, PA)。重組 $\alpha v\beta 1$ 、 $\alpha v\beta 3$ 、 $\alpha v\beta 5$ 、 $\alpha v\beta 6$ 及 $\alpha v\beta 8$ 係購自R&D Systems (Minneapolis, MN)。FreeStyle™ 293-F細胞表現內源性整合素 αv 且其經編碼人類、食蟹獼猴或鼠類整合素 $\beta 6$ 之全長cDNA穩定地轉染以分別地產生HEK293F:hu $\beta 6$ 、HEK293F:cyno $\beta 6$ 及HEK293F:mu $\beta 6$ 細胞株。經空載體(HEK293F:載體)轉染之HEK293F細胞用作陰性對照。表現內源性小鼠整合素 αv 之小鼠3T3及FDC-P1細胞經人類及小鼠整合素 $\beta 6$ 之全長cDNA純系轉染，以分別產生3T3:hu $\beta 6$ 及FDC-P1:mu $\beta 6$ 。

方法：

產生2A2抗體

【0195】 ICR (CD-1)小鼠經腹膜內注射約 5×10^6 個3T3:hu $\beta 6$ 轉染體免疫三次。在融合前三天，小鼠接受靜脈內(6 ug)及腹膜內(30 ug)給與之經純化重組人類 $\alpha v\beta 6$ 的最終注射。使用聚乙二醇使自脾臟及淋巴結採集之淋巴球稠合至P3X63Ag8.653骨髓瘤細胞。經稠合細胞在融合瘤生長培養基(含有4 mM麩醯胺酸、10%胎兒純系I、10%選殖因子及青黴素/鏈黴素之IMDM)中恢復隔夜。恢復之後，細胞經短暫離心且隨後接種於半固體培養基中。半固體培養基由補充有融合瘤生長培養基加用於融合瘤選擇之HAT及用於IgG產生之CloneDetect的CloneMatrix培養基組成。在37℃下培育雜交瘤10天。在第10天，使用ClonePixFL (Molecular Devices)採

集IgG產生之融合瘤純系且轉移至含有IgG耗盡之融合瘤生長培養基加HT之96孔盤中。在293F:huβ6轉染體上篩檢融合瘤培養上清液且使用經Alexifluor-647標記之二級抗體標識陽性純系以進行偵測。在FMAT 8200 (Applied Biosystems)中讀取培養盤。結合於293F:huβ6及293F:cynoβ6但不結合於293F:載體之雜交瘤經擴展以直接結合於藥物-連接子。在結合及細胞毒性分析中測試直接結合的抗體組。

LAP阻斷ELISA

【0196】 在4℃下藉由含0.3 ug/mL重組人類潛伏相關肽(rhuLAP) (內部製得；批次09-19-09DS)之1×PBS塗佈96孔微量滴定盤(Nunc)隔夜。移除塗佈溶液之後，在使用之前，盤在室溫下藉由含3% BSA之Tris緩衝生理鹽水(TBS)阻斷一小時且接著藉由PBS+0.05% Tween-20 (PBST)洗滌5×。在單獨的圓錐底96孔盤中，在室溫下將0.25 ug/mL重組人類(rhu) αvβ6-生物素(內部製得rhuαvβ6-生物素，批次號171030A)與逐漸增加濃度之純化抗體在含有1 mM CaCl₂、1mM MgCl₂及1 mg/mL BSA之TBS緩衝液預先培育1小時。接著，將抗體/αvβ6-生物素混合物轉移至經LAP塗佈之盤且在室溫下培育1小時。將盤如上所述洗滌且在室溫下與以1:1000在TBS + 1 mg/mL BSA中稀釋之50微升/孔結合過氧化酶之抗生蛋白鏈菌素(Jackson ImmunoResearch #016-030-084)一起培育1小時。使用TMB (Invitrogen #00-2023)培育5.5分鐘且接著用1N H₂SO₄ (Fisher #SA212-1)淬滅來偵測結合蛋白質及信號。緊接著在450 nm波長下在盤式讀取器(Molecular Devices Vmax Kinetic Microplate Reader)上讀取盤。將資料導出至Microsoft Excel中且使用GraphPad Prism v5.03進行分析。

競爭結合分析-人類化2A2抗體變異體

【0197】 使用293F:hu β 6細胞株進行競爭結合分析。將 0.1×10^6 個抗原表現細胞等分於冰上的96孔v形底盤的各孔中。將細胞與2 nM經AlexaFluor-647標記之m2A2及逐漸增大濃度(0.03至500 nM)之未標記人類化2A2變異體抗體在FACS緩衝液(Tris緩衝生理鹽水、2%胎牛血清、0.5 mM MnCl_2 、0.02% NaN_3)中一起培育1小時。細胞經沈澱且用TBS/FBS洗滌3次。細胞經沈澱且再懸浮於125 μL TBS/FBS中。使用Becton Dickinson Biosciences LSR II (San Jose, CA)偵測結合的螢光信號。使用飽和螢光信號%來測定經標記人類化2A2抗體結合%且隨後使用GraphPad軟體(LaJolla, CA)藉由將資料擬合至具有可變斜率之S形劑量-反應曲線來外推EC50。

競爭結合分析-人類及食蟹獼猴 $\alpha\text{v}\beta$ 6

【0198】 使用293F:hu β 6及HEK293F:cyno β 6細胞株進行競爭結合分析。將 0.1×10^6 個抗原表現細胞等分於冰上的96孔v形底盤的各孔中。將細胞與2 nM經AlexaFluor-647標記之人類化2A2 HCLG及逐漸增大濃度(4 pM至1 μM)之未標記人類化2A2 HCLG抗體及h2A2-Mdpr-PEG(12)-gluc-MMAE(8)在緩衝液(Tris緩衝生理鹽水、2%胎牛血清、0.5 mM MnCl_2 、0.02% NaN_3)中一起培育1小時。細胞經沈澱且用TBS/FBS洗滌3次。細胞經沈澱且再懸浮於125 μL TBS/FBS中。使用Becton Dickinson Biosciences LSR II (San Jose, CA)偵測結合的螢光信號。使用飽和螢光信號%來測定結合細胞之經標記人類化2A2抗體%且隨後使用GraphPad軟體(LaJolla, CA)藉由將資料擬合至具有可變斜率之S形劑量-反應曲線來外推EC50。

$\alpha\text{v}\beta$ 6飽和結合分析-人類及食蟹獼猴 $\alpha\text{v}\beta$ 6

【0199】 使用以下抗原表現細胞株：293F:hu β 6及293F:cyno β 6來進行飽和結合研究。將 0.1×10^6 個抗原表現細胞等分至96孔v形底盤之每個孔中。將m2A2及h2A2 HCLG直接用AlexaFluor-647進行標記且添加至緩衝液(Tris緩衝生理鹽水、2%胎牛血清、0.5 mM MnCl_2 、0.02% NaN_3)中濃度介於6 pM至340 nM之範圍內的細胞。細胞經培育1小時，接著沈澱且用TBS洗滌3次。細胞經沈澱且再懸浮於120 μL TBS中。使用Becton Dickinson Biosciences LSR II (San Jose, CA)偵測結合的螢光信號。使用GraphPad軟體(LaJolla, CA)計算EC50。

ELISA

【0200】 在4°C下用稀釋於50 mM碳酸鹽緩衝液(Sigma, MO)中之1 $\mu\text{g/ml}$ 重組人類 $\alpha\text{v}\beta 1$ 、 $\alpha\text{v}\beta 3$ 、 $\alpha\text{v}\beta 5$ 、 $\alpha\text{v}\beta 6$ 及 $\alpha\text{v}\beta 8$ (R&D Systems, MN)塗佈96孔Maxisorb盤(Nunc)隔夜。將盤用PBS +0.05% Tween 20 (PBS-T)洗滌。移除洗滌緩衝液且在室溫下在TBS阻斷緩衝液(TBS、0.05% Tween 20、1% BSA)中將盤阻斷，保持2小時。將盤洗滌且接著與濃度介於1 pM至67 nM (10 $\mu\text{g/ml}$)範圍之稀釋於TBS結合緩衝液(TBS、0.05% Tween 20、1% BSA、1 mM MnCl_2)中之人類化2A2抗體培育2小時。將盤洗滌，與抗人類Fc-HRP之1:5000稀釋(Jackson ImmunoResearch, PA)一起培育1小時，洗滌且接著與TMB受質一起培育5分鐘。藉由添加1 M HCl停止反應。使用Fusion HT盤式讀取器(Perkin Elmer, Waltham, MA)讀取450 nm下之吸收度。

定量型流式細胞量測分析

【0201】 使用鼠類 $\alpha\text{v}\beta 6$ mAb作為初級抗體及DAKO QiFiKit流式細胞量測術間接分析如製造商(DAKO A/S, Glostrup, Denmark)所描述來測

定細胞表面上之 $\alpha v \beta 6$ 複本數的定量且藉由Becton Dickinson FACScan流式細胞儀評估。

活體外細胞毒性分析

【0202】 在37°C下將腫瘤細胞與抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體藥物結合物一起培育96小時。使用CellTiter-Glo®螢光分析(Promega Corporation, Madison, WI)測定細胞存活率且在EnVision多標記盤式讀取器(Perkin Elmer, Waltham, MA)上量測結果。結果經報導為IC₅₀，定義為在滴定曲線之過程內引起半最大生長抑制的濃度。

產生抗體-藥物結合物

【0203】 抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體之抗體藥物結合物係如US20050238649及WO2015/057699中所描述來製備。藥物連接子vcMMAE (亦稱為1006)及mcMMAF均描述於US20050238649中，該申請案出於所有目的以引用之方式併入本文中。藥物連接子MDpr-Lys(PEGx)-葡萄糖苷酸-MMAE連接子描述於WO2015/057699中，該申請案出於所有目的以引用的方式併入本文中。

活體內活性研究

【0204】 對於細胞株衍生之異種移植的療法實驗，將 5×10^6 個細胞(ATCC)皮下注射至5至8隻雌性裸露(*nu/nu*)小鼠(Envigo)中用於BxPC3、Detroit 562、HPAF-II及SW780研究。小鼠經隨機劃分成研究組且經由腹膜內注射給藥測試物一次，腫瘤達到大致100 mm³。當腫瘤體積達到約500至1000 mm³時，對小鼠進行安樂死。藉由式(體積= $\frac{1}{2} \times \text{長度} \times \text{寬度} \times \text{寬度}$)計算腫瘤體積。植入後約第40天至第65天使展示持久消退之小鼠停止。在所有異種移植研究中，未觀察到用測試物品中之任一者治療的小鼠

之重量損失或治療相關毒性。在由機構動物護理及使用委員會 (Institutional Animal Care and Use Committee) 審批通過之協定下在實驗動物護理評估及認可委員會 (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care) 認可之設施中執行所有動物程序。

【0205】除細胞株衍生之異種移植以外，亦使用由Champions Oncology (Hackensack NJ) 所維持之模型研究h2A2 vcMMAE ADC相對於非小細胞肺癌(NSCLC)之患者來源之異種移植(PDX)模型的抗腫瘤活性。此等PDX模型包括腺及鱗狀組織學兩者之NSCLC樣本。此等模型係藉由植入於免疫功能不全小鼠中來建立且允許生長至150至300 mm³之腫瘤體積，接著將小鼠隨機分為治療組及對照組，且給藥h2A2 vcMMAE或非結合對照h00 vcMMAE ADC。小鼠經每週給藥一次3 mg/kg之ADC，總計三個劑量。在第一劑量之後，每週兩次量測腫瘤體積持續28天或直至腫瘤到達1500 mm³之體積。

【0206】在由Champions Oncology (Hackensack NJ) 所維持之卵巢癌模型的PDX模型中進一步評估h2A2 vcMMAE ADC之抗腫瘤活性。此等模型係藉由植入於免疫功能不全小鼠中來建立且允許生長至150至300 mm³之腫瘤體積，接著將小鼠隨機分為治療組及對照組且給藥ADC。小鼠經每週給藥一次5 mg/kg之ADC，總計三個劑量。在第一劑量之後，每週兩次量測腫瘤體積持續28天，或直至腫瘤到達1500 mm³之體積，高達最多60天。

結果

【0207】鼠類純系m2A2選自融合瘤組，此係由於其作為ADC在多

種 $\alpha v\beta 6$ 陽性腫瘤細胞株上展示細胞毒性活性且其對人類及食蟹獼猴形式之抗原具有相當的親和力。在FMAT及流式細胞術結合研究中證實小鼠2A2之特異性，其中抗體經展示可結合於293F:hu $\beta 6$ 轉染體，但並不結合於 $\alpha v\beta 5$ 陽性親本株(293F:載體)。整合素 $\alpha v\beta 6$ 已經展示為纖維結合蛋白(Weinacker等人，1994)、肌腱蛋白(Prieto等人，1993)、玻璃黏連蛋白(Huang等人，1998)及潛伏相關肽(LAP) (Munger等人，1999)中之RGD位點的受體。整合素 $\alpha v\beta 6$ 與LAP之結合可誘發轉型生長因子 $\beta 1$ (TGF β)之空間限制性活化(Munger等人，1999)。執行潛伏相關肽(LAP)阻斷分析(圖1)，其展示m2A2 (SG-44.2A2)並不阻斷LAP，相比於抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體m15H3 (SG-42.15H3) (參見WO2013/123152)及陽性對照10D5。此推測可獨立於配位體結合遞送2A2抗體。陰性對照為非結合IgG對照，且SG-44.8B9、SG-33.20B8、SG-44.32A6及SG-44.34D6為選自融合瘤組之其他純系。

結合小鼠抗體

【0208】藉由飽和結合研究使用經基因工程改造的細胞株(293F:hu $\beta 6$, 293F:cyno $\beta 6$)測定鼠類單株抗體2A2對於人類及食蟹獼猴 $\alpha v\beta 6$ 之結合的EC50 (圖2)。經基因工程改造的細胞株表現與重組 $\beta 6$ 鏈配對以產生由內源性 αv 及重組 $\beta 6$ 構成之異二聚受體的內源性 αv 。

人類化抗體之設計及選擇

【0209】此實例中用於人類化之起點或供體抗體為鼠類2A2抗體。使用由IGHV1-46及IGHJ4為重鏈且IGKV1D-33及IGKJ2為輕鏈提供之基因體序列。

【0210】在人類化中，重鏈構架中識別出十個位置(H2、H28、H48、H67、H69、H71、H73、H74、H78、H93；圖3)且輕鏈構架中識

別出兩個位置(L69及L71；圖4)，在該等位置處，人類受體序列與供體序列不同且可能由於直接接觸抗原而影響抗體結合，從而影響CDR之構形或影響重鏈與輕鏈之間的封裝。在此等位置之不同置換處併入回復突變以得到四個人類化重鏈變異體(vHA、vHB、vHC、vHD；圖3)及八個人類化輕鏈變異體(vLA、vLB、vLC、vLD、vLE、vLF、vLG、vLH；圖4)。表1至4中指定此等回復突變。構架位置之剩餘部分經來自人類受體序列之殘基佔據。

表1：h2A2重鏈變異體中之人類化突變

vH變異體	HV外顯子受體序列	鼠類供體構架殘基	人類受體CDR殘基
hvHA	IGHV1-46/HJ4	H2、H28、H93	無
hvHB	IGHV1-46/HJ4	H2、H28、H74、H93	無
hvHC	IGHV1-46/HJ4	H2、H28、H48、 H67、H69、H71、 H73、H78、H93	無
hvHD	IGHV1-46/HJ4	H2、H28、H48、 H67、H69、H71、 H73、H74、H78、H93	無

表2：h2A2重鏈變異體中之特異性鼠類構架突變

變異體	2	28	48	67	69	71	73	74	78	93	人類%
hvHA	F	S								T	85.7
hvHB	F	S						P		T	84.7
hvHC	F	S	I	A	L	V	K		A	T	79.6
hvHD	F	S	I	A	L	V	K	P	A	T	78.6

表3：h2A2κ輕鏈變異體中之人類化突變

vK變異體	KV外顯子受體序列	鼠類供體構架殘基	人類受體CDR殘基
hvLA	IGKV1D-33/KJ2	無	無
hvLB	IGKV1D-33/KJ2	L69、L71	無
hvLC	IGKV1D-33/KJ2	L69、L71	L56
hvLD	IGKV1D-33/KJ2	L71	無
hvLE	IGKV1D-33/KJ2	L69、L71	L24
hvLF	IGKV1D-33/KJ2	L71	L24、L56
hvLG	IGKV1D-33/KJ2	L69、L71	L55
hvLH	IGKV1D-33/KJ2	L69	無

表4：h2A2κ輕鏈變異體中之特異性鼠類構架突變

變異體	69	71	人類%
hνLA			84.2
hνLB	R	Y	82.1
hνLC	R	Y	83.2
hνLD		Y	83.2
hνLE	R	Y	83.2
hνLF		Y	85.3
hνLG	R	Y	83.2
hνLH	R		83.2

【0211】 接著，人類化抗體表現此等人類化重鏈及輕鏈變異體之代表組合排列。所得人類化抗體變異體(在鼠類2A2抗體及人類-鼠類嵌合抗體旁邊)與人類ανβ6之競爭結合曲線展示於圖5至7中。選擇四個人類化變異體用於在活體外活性分析中進一步分析。基於定量型流式細胞量測術分析在以不同量表現ανβ6之四個細胞株(胰臟癌HPAFII及BxPC-3細胞、頭頸癌Detroit 562細胞及膀胱癌SW780細胞)中使用細胞毒性分析來量測人類化變異體HCLE、HCLG、HCLH、HALG及人類化抗ανβ6抗體15H3-HTLC (各自結合於藥物-連接子Via，n=12，R^{PR}=H，R²¹=CH₃)之活體外抗癌活性。結果展示於表5中。

表5：活體外活性分析(x50，nM)

	BxPC3	Detroit-562	HAPF-II	SW780
HCLE	6	17.6	14.8	7.9
HCLG	5.1	13.2	10	5.2
HCLH	15.5	28.4	28.7	11.6
HALG	8.2	21.2	17.9	19.6
m2A2	11.1	19.4	15.6	11.7
h15H3-HTLC	8.4	305	8.9	13.8

【0212】 選擇包含重鏈變異體hνHC及輕鏈變異體hνLG之人類化變異體(h2A2 HCLG)用於進一步研究。

【0213】 藉由飽和結合證實h2A2 HCLG 結合於人類及食蟹獼猴ανβ6兩者(圖8)，該飽和結合包括親本鼠類2A2作為參考以展現其與人類

化變異體之間的相當結合。亦藉由相對於經螢光標記之鼠類2A2之競爭結合來證實h2A2 HCLG結合於人類及食蟹獼猴 $\alpha v\beta 6$ 兩者(圖9)。此分析亦包括結合ADC，該ADC係由h2A2 HCLG及SGD-5088藥物-連接子藉由還原抗體鏈間二硫化物且與藥物-連接子之八個複本結合來製備。所述結合過程對結合於來自人類或食蟹獼猴之 $\alpha v\beta 6$ 不具有影響。亦藉由ELISA證實h2A2 HCLG的結合特異性，其中抗體結合於重組人類 $\alpha v\beta 6$ ，但並非 $\alpha v\beta 1$ 、 $\alpha v\beta 3$ 、 $\alpha v\beta 5$ 或 $\alpha v\beta 8$ (圖10)。

h2A2 ADC之活體外抗癌活性

【0214】基於定量型流式細胞量測術分析在以不同量表現 $\alpha v\beta 6$ 之四個細胞株(胰臟癌HPAFII及BxPC-3細胞、頭頸癌Detroit 562細胞及膀胱癌SW780細胞)中使用細胞毒性分析來量測人類化變異體HCLG在結合於vcMMAE時的活體外抗癌活性。圖11展示在此等分析中展現細胞殺滅行為之人類化2A2抗 $\alpha v\beta 6$ ADC。

h2A2 ADC之活體內抗癌活性

【0215】使用活體外測試之相同四個細胞株，證實與vcMMAE活體內結合之人類化2A2 HCLG抗體(每一抗體平均4個藥物)的抗腫瘤活性(圖12至15)。觀察到與未治療且非結合對照ADC相比較之明顯腫瘤生長延遲或腫瘤消退。h2A2 HCLG-1006(4)係指每一抗體具有平均4個vcMMAE藥物連接子分子之親本鼠類抗體2A2的HCLG人類化形式之抗體藥物結合物。h00-1006 (4)係指每一抗體具有平均4個vcMMAE藥物連接子分子的非結合性對照抗體之抗體藥物結合物。

【0216】在NSCLC之PDX模型中，與vcMMAE結合之人類化2A2 HCLG抗體(每一抗體平均4個藥物)亦展示抗腫瘤活性(圖16)。觀察到與未

治療且非結合對照ADC相比較之明顯腫瘤生長延遲或腫瘤消退。h2A2 HCLG-1006 (4)係指每一抗體具有平均4個vcMMAE藥物連接子分子之親本鼠類抗體2A2的HCLG人類化形式之抗體藥物結合物。h00-1006 (4)係指每一抗體具有平均4個vcMMAE藥物連接子分子的非結合性對照抗體之抗體藥物結合物。

【0217】 在卵巢癌之PDX模型中，與vcMMAE結合之人類化2A2 HCLG抗體(每一抗體平均4個藥物)亦展示抗腫瘤活性(圖17)。觀察到與未治療之腫瘤相比較之明顯腫瘤生長延遲或略微腫瘤減小。h2A2 HCLG-1006 (4)係指每一抗體具有平均4個vcMMAE藥物連接子分子之親本鼠類抗體2A2的HCLG人類化形式之抗體藥物結合物。

【0218】 當 與DAR為8之 藥 物-連 接 子VIa (n=12，R^{PR}=H，R²¹=CH₃)結合時，將h2A2 HCLG之抗腫瘤活性與h15H3之抗腫瘤活性相比較。研究協定與上文針對使用HPAFII及BxPC3細胞株之細胞株衍生之異種移植模型所述的相同。以3 mg/kg向動物給藥h2A2 HCLG、h15H3或非靶向對照(h00) ADC一次(圖18)。在兩種模型中，h2A2 HCLG ADC展現植入腫瘤之持久消退，而h15H3 ADC展現生長延遲。

序列

SEQ ID NO: 1 - m2A2 vH

EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKAS VNWVKQSNGKSLEWIGV R
YNQKFKGKATLTVDKPSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYC WGQGASVTVSS

SEQ ID NO: 2 - mIGHV1-39 (最接近的鼠類生殖系V基因)

EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASQYSLDYNNMNWVKQSNGKSLEWIGVINPNYQETS
YNQKFKGKATLTVDQSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCAR

SEQ ID NO: 3 - hIGHV1-46/HJ4

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASQYSLISYYMHWVRQAPGQGLEWMGIEINPSGGIS
SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDYAVYYCARYFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 4 - h2A2 vHA
QFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS VNWVRQAPGQGLEWMGV
RYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC WGQGT~~LV~~TV
SS

SEQ ID NO: 5 - h2A2 vHB
QFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS VNWVRQAPGQGLEWMGV
RYNQKFKGRVTMTRDTPTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC WGQGT~~LV~~TV
SS

SEQ ID NO: 6 - h2A2 vHC
QFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS VNWVRQAPGQGLEWIGV
RYNQKFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC WGQGT~~LV~~TV
SS

SEQ ID NO: 7 - h2A2 vHD
QFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS VNWVRQAPGQGLEWIGV
RYNQKFKGRATLTVDKPTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC WGQGT~~LV~~TV
SS

SEQ ID NO: 8 - m2A2 vL
DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGAS LNWYQQRKQGKSPQLLIYGVNLADGMS
SRFSGSGSGRQYSFKISSLHPDDVATYYCQNVLTPTPTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 9 - mIGKV12-89 (最接近的鼠類生殖系V基因)
DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGAS LNWYQQRKQGKSPQLLIY NLADGMS
SRFSGSGSGRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNVLTSTPFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 10 - hIGKV1D-33/KJ2
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS LNWYQQKPGKAPKLLIY NLETGVPS
RFGSGSGGTDFTFITISLQPEDATYYCQQYDNLP YTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 11 - h2A2 vLA
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGAS LNWYQQKPGKAPKLLIY NLADGVP
SRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDATYYC FGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 12 - h2A2 vLB
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGAS LNWYQQKPGKAPKLLIY NLADGVP
SRFSGSGSGRDYTFITISLQPEDATYYC FGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 13 - h2A2 vLC
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGAS LNWYQQKPGKAPKLLIYGVNLATGVP
SRFSGSGSGRDYTFITISLQPEDATYYCQNVLTPTPTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 14 - h2A2 vLD
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGAS LNWYQQKPGKAPKLLIY NLADGVP
SRFSGSGSGTDYTFITISLQPEDATYYC FGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 15 - h2A2 vLE

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	<u>LNWYQQKPGKAPKLLIY</u>	<u>NLADGVP</u>
SRFSGSGSGRDYFTFTISSLQPEDIATYYC	FGQGTKLEIK	

SEQ ID NO: 16 - h2A2 vLF

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS	<u>LNWYQQKPGKAPKLLIY</u>	<u>NLATGVP</u>
SRFSGSGSGTDYFTFTISSLQPEDIATYYC	FGQGTKLEIK	

SEQ ID NO: 17 - h2A2 vLG

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGAS	<u>LNWYQQKPGKAPKLLIY</u>	<u>NLEDGVP</u>
SRFSGSGSGRDYFTFTISSLQPEDIATYYC	FGQGTKLEIK	

SEQ ID NO: 18 - h2A2 vLH

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGAS	<u>LNWYQQKPGKAPKLLIY</u>	<u>NLADGVP</u>
SRFSGSGSGRDFTFTISSLQPEDIATYYC	FGQGTKLEIK	

SEQ ID NO: 19 - h2A2 HA重鏈

QFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASQYNSTEDYNVNWVRQAPGQGLEWMGVINPKYCE
IRYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCIRGNAWDYWGQGTLLTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 20 - h2A2 HB重鏈

QFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASQYNSTEDYNVNWVRQAPGQGLEWMGVINPKYCE
IRYNQKFKGRVTMTRDTPSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCIRGNAWDYWGQGTLLTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 21 - h2A2 HC重鏈

QFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASQYNSTEDYNVNWVRQAPGQGLEWIGVINPKYCE
IRYNQKFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCIRGNAWDYWGQGTLLTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 22 - h2A2 HD重鏈

QFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASTYSGEDYNVNWVRQAPGQGLEWIGVNDPKYCT
RYNQKFKGRATLTVDKPTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCIRGYNWVNWGQGTLLTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVDFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 23 - h2A2 LA輕鏈

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASLNWYQQKPGKAPKLLIYNLADGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDATYYCFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVCLLNDFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTL
TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 24 - h2A2 LB輕鏈

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASLNWYQQKPGKAPKLLIYNLADGVP
SRFSGSGSGRDYFTFTISLQPEDATYYCFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVCLLNDFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTL
TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 25 - h2A2 LC輕鏈

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASLNWYQQKPGKAPKLLIYNLATGVP
SRFSGSGSGRDYFTFTISLQPEDATYYCFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVCLLNDFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTL
TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 26 - h2A2 LD輕鏈

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASLNWYQQKPGKAPKLLIYNLADGVP
SRFSGSGSGTDYFTFTISLQPEDATYYCFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVCLLNDFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTL
TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 27 - h2A2 LE輕鏈

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASLNWYQQKPGKAPKLLIYNLADGVP
SRFSGSGSGRDYFTFTISLQPEDATYYCFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVCLLNDFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTL
TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 28 - h2A2 LF輕鏈

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASLNWYQQKPGKAPKLLIYNLATGVP
SRFSGSGSGTDYFTFTISLQPEDATYYCFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVCLLNDFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTL
TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 29 - h2A2 LG輕鏈

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASLNWYQQKPGKAPKLLIYNLEDGVP
SRFSGSGSGRDYFTFTISLQPEDATYYCFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVCLLNDFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTL
TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 30 - h2A2 LH輕鏈

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGAS LNWYQQKPGKAPKLLIY NLADGVP
SRFSGSGSGRDFRTFTISSLQPEDATYYC FGQGTKLEIKRTVAAPSVEFPPS
DEQLKSGTASVCLLNFPYFQAPKVVQWVNDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT
TLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 31 - HA, HB, HC, HD CDR1, KABAT

DYNVN

SEQ ID NO: 32 - HA, HB, HC, HD CDR2, KABAT

VINPKYGTTRYNQKFKG

SEQ ID NO: 33 - HA, HB, HC, HD CDR3, KABAT

GLNAWDY

SEQ ID NO: 34 - HA, HB, HC, HD CDR1, IMGT

GYSFTDYN

SEQ ID NO: 35 - HA, HB, HC, HD CDR2, IMGT

INPKYGT

SEQ ID NO: 36 - HA, HB, HC, HD CDR3, IMGT

TRGLNAWDY

SEQ ID NO: 37 - LA, LB, LC, LD, LG, LH CDR1, KABAT

GASENIYGALN

SEQ ID NO: 38 - LA, LB, LD, LE, LH CDR2, KABAT

GATNLAD

SEQ ID NO: 39 - LA, LB, LC, LD, LE, LF, LG, LH CDR3, KABAT

QNVLTTPYT

SEQ ID NO: 40 - LE, LF CDR1, KABAT

QASENIYGALN

SEQ ID NO: 41 - LC, LF CDR2, KABAT

GATNLAT

SEQ ID NO: 42 - LG CDR2, KABAT

GATNLED

SEQ ID NO: 43 - LA, LB, LC, LD, LE, LF, LG, LH CDR1, IMGT

ENIYGA

SEQ ID NO: 44 - LA, LB, LC, LD, LE, LF, LG, LH CDR2, IMGT

GAT

SEQ ID NO: 45 - LA, LB, LC, LD, LE, LF, LG, LH CDR3, IMGT

QNVLTTPYT

【序列表】

<110> 美商西健公司(Seagen Inc.)

<120> 抗 α V β 6抗體及抗體-藥物結合物

<140> TW 109142793

<141> 2020-12-04

<150> US 62/943,959

<151> 2019-12-05

<150> 63/012,584

<151> 2020-04-20

<160> 45

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> m2A2 vH

<400> 1

Glu Phe Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Val Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Gly Thr Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Pro Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Leu Asn Ala Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ala Ser Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> mIGHV1-39 (最接近的鼠類生殖系V基因)

<400> 2

Glu Phe Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Asn Tyr Gly Thr Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Gln Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg

<210> 3
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hIGHV1-46/HJ4

<400> 3

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 4
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 vHA

<400> 4

Gln Phe Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Gly Thr Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Leu Asn Ala Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 5

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> h2A2 vHB

<400> 5

Gln Phe Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Gly Thr Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Pro Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Leu Asn Ala Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 6
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 vHC

<400> 6

Gln Phe Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Gly Thr Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Leu Asn Ala Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 7
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 vHD

<400> 7

Gln Phe Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Gly Thr Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Pro Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Leu Asn Ala Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 8
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> m2A2 vL

<400> 8

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Arg Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Met Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Gln Tyr Ser Phe Lys Ile Ser Ser Leu His Pro
65 70 75 80

Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 9
<211> 95

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> mIGKV12-89 (最接近的鼠類生殖系V基因)

<400> 9

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Arg Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Met Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Ser Ser Leu His Pro
65 70 75 80

Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Ser Thr Pro
85 90 95

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hIGKV1D-33/KJ2

<400> 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 11
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 vLA

<400> 11

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 12
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 vLB

<400> 12

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 13
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 vLC

<400> 13

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 14
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 vLD

<400> 14

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 15
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 vLE

<400> 15

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 16
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 vLF

<400> 16

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 17
<211> 107

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 vLG

<400> 17

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 18
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 vLH

<400> 18

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 19
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 HA重鏈

<400> 19

Gln Phe Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Gly Thr Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90					95	
Thr	Arg	Gly	Leu	Asn	Ala	Trp	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
			100					105						110	
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
		115					120					125			
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
	130					135					140				
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
145					150					155					160
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
			165						170					175	
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
		180						185					190		
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
	195						200					205			
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
	210					215					220				
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
225					230					235					240
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
				245					250					255	
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
		260						265					270		

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 20
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 HB重鏈

<400> 20

Gln Phe Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Gly Thr Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Pro Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Leu Asn Ala Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 21
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 HC重鏈

<400> 21

Gln Phe Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Val Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Gly Thr Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Leu Asn Ala Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 22
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 HD重鏈

<400> 22

Gln	Phe	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	
1				5					10					15		
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Asp	Tyr	
			20					25						30		
Asn	Val	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	
			35					40					45			
Gly	Val	Ile	Asn	Pro	Lys	Tyr	Gly	Thr	Thr	Arg	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	
		50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Pro	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	
65					70					75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
					85					90					95	
Thr	Arg	Gly	Leu	Asn	Ala	Trp	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	
			100					105						110		
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	
			115					120					125			
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	
			130				135					140				
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	
145						150				155					160	
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	
				165					170					175		
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	
			180					185					190			
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	
			195				200					205				

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	
				405					410					415		
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	
			420					425					430			
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
		435					440					445				
<210> 23																
<211> 214																
<212> PRT																
<213> 人工序列																
<220>																
<223> h2A2 LA輕鏈																
<400> 23																
Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	
1				5					10					15		
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gly	Ala	Ser	Glu	Asn	Ile	Tyr	Gly	Ala	
			20					25					30			
Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	
		35					40					45				
Tyr	Gly	Ala	Thr	Asn	Leu	Ala	Asp	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	
	50					55					60					
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	
65					70					75				80		
Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Asn	Val	Leu	Thr	Thr	Pro	Tyr	
				85						90				95		
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	
			100					105					110			

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 24
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 LB輕鏈

<400> 24

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 25
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> h2A2 LC輕鏈

<400> 25

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 26
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 LD輕鏈

<400> 26

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 27
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 LE輕鏈

<400> 27

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 28
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 LF輕鏈

<400> 28

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 29
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 LG輕鏈

<400> 29

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 30
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h2A2 LH輕鏈

<400> 30

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HA, HB, HC, HD CDR1, KABAT

<400> 31

Asp Tyr Asn Val Asn
1 5

<210> 32
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HA, HB, HC, HD CDR2, KABAT

<400> 32

Val Ile Asn Pro Lys Tyr Gly Thr Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 33
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HA, HB, HC, HD CDR3, KABAT

<400> 33

Gly Leu Asn Ala Trp Asp Tyr
1 5

<210> 34
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HA, HB, HC, HD CDR1, IMGT

<400> 34

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Asn
1 5

<210> 35
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HA, HB, HC, HD CDR2, IMGT

<400> 35

Ile Asn Pro Lys Tyr Gly Thr Thr
1 5

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HA, HB, HC, HD CDR3, IMGT

<400> 36

Thr Arg Gly Leu Asn Ala Trp Asp Tyr
1 5

<210> 37
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LA, LB, LC, LD, LG, LH CDR1, KABAT

<400> 37

Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala Leu Asn
1 5 10

<210> 38
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LA, LB, LD, LE, LH CDR2, KABAT

<400> 38

Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp
1 5

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LA, LB, LC, LD, LE, LF, LG, LH CDR3, KABAT

<400> 39

Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LE, LF CDR1, KABAT

<400> 40

Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala Leu Asn
1 5 10

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LC, LF CDR2, KABAT

<400> 41

Gly Ala Thr Asn Leu Ala Thr
1 5

<210> 42

<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LG CDR2, KABAT

<400> 42

Gly Ala Thr Asn Leu Glu Asp
1 5

<210> 43
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LA, LB, LC, LD, LE, LF, LG, LH CDR1, IMGT

<400> 43

Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
1 5

<210> 44
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LA, LB, LC, LD, LE, LF, LG, LH CDR2, IMGT

<400> 44

Gly Ala Thr
1

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LA, LB, LC, LD, LE, LF, LG, LH CDR3, IMGT

<400> 45

Gln Asn Val Leu Thr Thr Pro Tyr Thr
1 5

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種經分離抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體或其抗原結合片段，其包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含：

- (i)包含SEQ ID NO:31之胺基酸序列的CDR-H1；
- (ii)包含SEQ ID NO:32之胺基酸序列的CDR-H2；及
- (iii)包含SEQ ID NO:33之胺基酸序列的CDR-H3；且

其中該輕鏈可變區包含：

- (i)包含SEQ ID NO:37之胺基酸序列的CDR-L1；
- (ii)包含SEQ ID NO:42之胺基酸序列的CDR-L2；及
- (iii)包含SEQ ID NO:39之胺基酸序列的CDR-L3

其中該等CDR係藉由Kabat確定。

【請求項2】

一種經分離抗 $\alpha\text{v}\beta 6$ 抗體或其抗原結合片段，其包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含：

- (i)包含SEQ ID NO:34之胺基酸序列的CDR-H1；
- (ii)包含SEQ ID NO:35之胺基酸序列的CDR-H2；及
- (iii)包含SEQ ID NO:36之胺基酸序列的CDR-H3；且

其中該輕鏈可變區包含：

- (i)包含SEQ ID NO:43之胺基酸序列的CDR-L1；
- (ii)包含SEQ ID NO:44之胺基酸序列的CDR-L2；及
- (iii)包含SEQ ID NO:45之胺基酸序列的CDR-L3

其中該等CDR係藉由IMGT確定。

【請求項3】

如請求項1或請求項2之抗體或抗原結合片段，其中該抗體經人類化。

【請求項4】

如請求項1或2之抗體或抗原結合片段，其中該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 6之胺基酸序列具有至少90%序列一致性的胺基酸序列，且該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 17之胺基酸序列具有至少90%序列一致性的胺基酸序列。

【請求項5】

如請求項1或2之抗體或抗原結合片段，其中該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 6之胺基酸序列具有至少95%序列一致性的胺基酸序列，且該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 17之胺基酸序列具有至少95%序列一致性的胺基酸序列。

【請求項6】

如請求項1或2之抗體或抗原結合片段，其中該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 6之胺基酸序列具有至少99%序列一致性的胺基酸序列，且該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 17之胺基酸序列具有至少99%序列一致性的胺基酸序列。

【請求項7】

如請求項1或2之抗體或抗原結合片段，其中該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列且該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列。

【請求項8】

如請求項4之抗體或抗原結合片段，其中H2經F佔據，H28經S佔據，H48經I佔據，H67經A佔據，H69經L佔據，H71經V佔據，H73經K佔據，H78經A佔據，H93經T佔據，L69經R佔據且L71經Y佔據，且其中編號係經由Kabat編號系統進行。

【請求項9】

如請求項1或2之抗體或抗原結合片段，其包含重鏈及輕鏈，該重鏈包含含有SEQ ID NO:21之胺基酸序列，且該輕鏈包含含有SEQ ID NO:29之胺基酸序列。

【請求項10】

如請求項1或2之抗體或抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段為抗原結合片段，且其中該抗原結合片段係選自由以下組成之群：Fab、Fab'、F(ab')₂、Fab'-SH、Fv、雙功能抗體及單鏈抗體片段。

【請求項11】

如請求項1或2之抗體或抗原結合片段，其中該抗體之該重鏈可變區稠合至重鏈恆定區且該輕鏈可變區稠合至輕鏈恆定區。

【請求項12】

如請求項11之抗體或抗原結合片段，其中該重鏈恆定區屬於IgG1同型。

【請求項13】

一種抗體-藥物結合物，其包含將如請求項1至12中任一項之抗體或抗原結合片段結合於細胞毒性劑或細胞生長抑制劑。

【請求項14】

如請求項13之抗體-藥物結合物，其中該抗體或抗原結合片段係經由

連接子結合於該細胞毒性劑或細胞生長抑制劑。

【請求項15】

如請求項13或14之抗體-藥物結合物，其中該細胞毒性劑或細胞生長抑制劑為單甲基奧瑞他汀(monomethyl auristatin)。

【請求項16】

如請求項13或14之抗體-藥物結合物，其中該單甲基奧瑞他汀為單甲基奧瑞他汀E (MMAE)。

【請求項17】

如請求項16之抗體-藥物結合物，其中該抗體或其抗原結合片段係經由可酶裂解連接子單元結合於MMAE。

【請求項18】

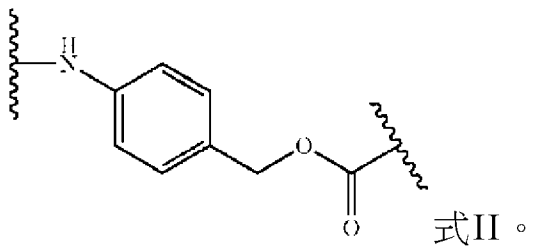
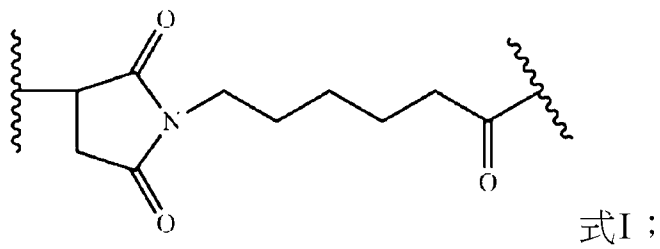
如請求項17之抗體-藥物結合物，其中該可酶裂解連接子單元包含Val-Cit連接子。

【請求項19】

如請求項18之抗體-藥物結合物，其中該抗體或其抗原結合片段經由連接子單元結合於MMAE，該連接子單元具有下式： $-A_a-W_w-Y_y-$ ；其中-A-為延伸子單元，a為0或1；-W-為胺基酸單元，w為介於0至12範圍內的整數；且-Y-為間隔子單元，y為0、1或2。

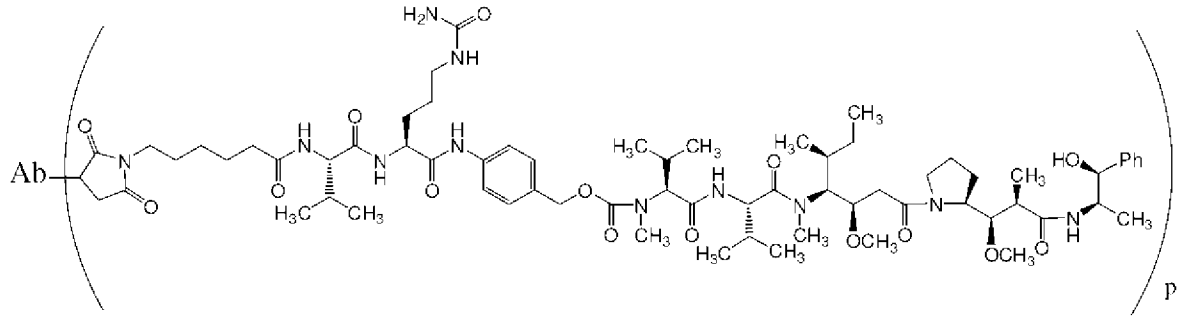
【請求項20】

如請求項19之抗體-藥物結合物，其中該延伸子單元具有下式I之結構；其中該胺基酸單元為Val-Cit；且其中該間隔子單元為具有下式II之結構的對胺基苯甲醇(p-aminobenzyl alcohol；PAB)基團；



【請求項21】

如請求項14之抗體-藥物結合物，其中該連接子與單甲基奧瑞他汀E連接，形成具有以下結構之抗體-藥物結合物：



其中Ab為包含以下之抗體：包含含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列之重鏈及包含含有SEQ ID NO: 29之胺基酸序列之輕鏈，且p表示1至16之數值。

【請求項22】

如請求項21之抗體-藥物結合物，其中該抗體-藥物結合物群體中之p的平均值為約4。

【請求項23】

一種核酸，其編碼如請求項1至12中任一項所定義之重鏈可變區及輕鏈可變區。

【請求項24】

一種載體，其包含如請求項23之核酸。

【請求項25】

如請求項24之載體，其中該載體為表現載體。

【請求項26】

一種宿主細胞，其包含如請求項25之核酸。

【請求項27】

如請求項26之宿主細胞，其中該宿主細胞為中國倉鼠卵巢(Chinese hamster ovary；CHO)細胞。

【請求項28】

一種產生抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體或其抗原結合片段之方法，其包含在適用於產生該抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體或其抗原結合片段之條件下培養如請求項26或27之宿主細胞。

【請求項29】

如請求項28之方法，其進一步包含分離出藉由該宿主細胞所產生之該抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體或其抗原結合片段。

【請求項30】

一種產生抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體-藥物結合物之方法，其包含在適用於產生抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體之條件下培養如請求項26或27之宿主細胞；分離出由該宿主細胞產生之該抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體；及使該抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體結合至細胞毒性劑或細胞生長抑制劑。

【請求項31】

如請求項30之方法，其中該抗 $\alpha v \beta 6$ 抗體經由連接子結合至該細胞毒性劑或細胞生長抑制劑。

【請求項32】

如請求項31之方法，其中該連接子為Val-Cit連接子。

【請求項33】

如請求項30至32中任一項之方法，其中該細胞毒性劑或細胞生長抑制劑為單甲基奧瑞他汀E (MMAE)。

【請求項34】

一種如請求項1至12中任一項之抗體或抗原結合片段或如請求項13至22中任一項之抗體-藥物結合物之用途，其係用於製備用於治療個體中癌症之藥物。

【請求項35】

如請求項34之用途，其中該癌症係選自由以下組成之群：非小細胞肺癌(non-small cell lung cancer；NSCLC)、頭頸癌、食道癌、乳癌、卵巢癌、膀胱癌、皮膚癌(skin cancer；SCC)、卵巢癌、子宮頸癌、胃癌及胰臟癌。

【請求項36】

如請求項34之用途，其中該肺癌為非小細胞肺癌。

【請求項37】

如請求項34之用途，其中該癌症為頭頸癌。

【請求項38】

如請求項34至37中任一項之用途，其中該抗體或抗原結合片段或抗體-藥物結合物係呈醫藥組合物形式，該醫藥組合物包含該抗體或抗原結合片段或抗體-藥物結合物及醫藥學上可接受之載劑。

【請求項39】

如請求項34至37中任一項之用途，其中該個體為人類。

【請求項40】

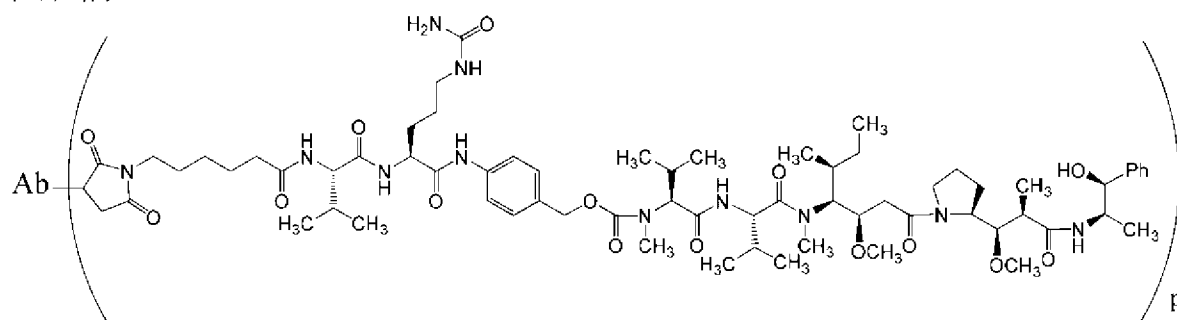
一種醫藥組合物，其包含如請求項1至12中任一項之抗體或抗原結合片段或如請求項13至22中任一項之抗體-藥物結合物，及一或多種選自由以下組成之群的試劑：生理學上可接受之載劑、稀釋劑、賦形劑及助劑。

【請求項41】

如請求項40之醫藥組合物，其中該組合物係與輻射或化學治療劑組合投與。

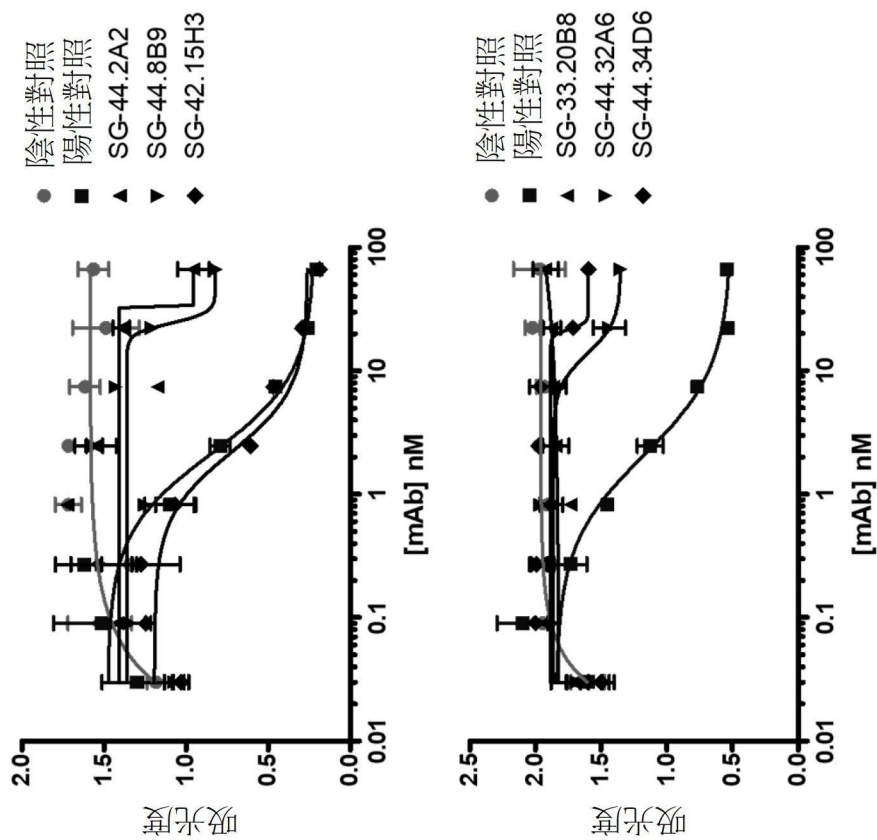
【請求項42】

一種抗體-藥物結合物，其包含結合於vcMMAE之經分離抗 $\alpha v\beta 6$ 抗體，其中該抗體具有包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列的輕鏈可變區，且其中該抗體-藥物結合物具有以下結構：

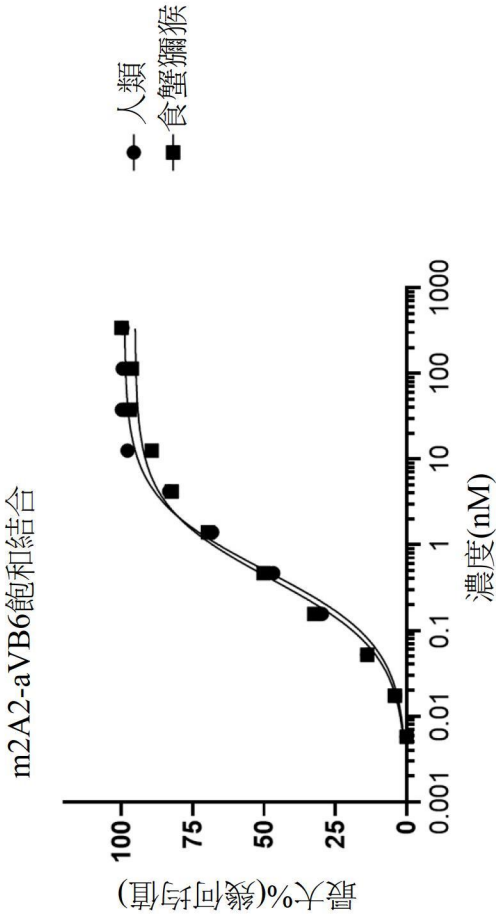


其中Ab為該抗體且p表示1至16之數值。

【發明圖式】



【圖1】



mAb	人類aVB6 EC50 (nM)	食蟹獼猴aVB6 EC50 (nM)
m2A2-AF647	0.5	0.4

【圖2】

h2A2重鏈變異體與人類受體序列IGHV1 46/HJ4之比對。

	10	20	30	40	50
m2A2 vH					
IGHV1-46/HJ4	EF..Q...P.LV.....I.....S..D.NVN..K.SN.KS...I.V...KY.T.R.				
h2A2 vHA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSY				
h2A2 vHB	.F.....S..D.NVN.....V...KY.T.R.				
h2A2 vHC	.F.....S..D.NVN.....V...KY.T.R.				
h2A2 vHD	.F.....S..D.NVN.....I.V...KY.T.R.				
Kabat CDRs					
IMGT CDRs	+++++++				
					+++++++
	60	70	80	90	101
m2A2 vH					
IGHV1-46/HJ4	N...K.KA.L.V.KPS..A..Q.N..T...S.....T.GLNAW.....AS.....				
h2A2 vHA	AQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCAR--YFDYWGQGTILVTVSS				
h2A2 vHB	N...K.....T.GLNAW.....				
h2A2 vHC	N...K.....P.....T.GLNAW.....				
h2A2 vHD	N...K..A.L.V.K...A.....T.GLNAW.....				
Kabat CDRs	N...K..A.L.V.KP...A.....T.GLNAW.....				
IMGT CDRs	*****				

					+++++++

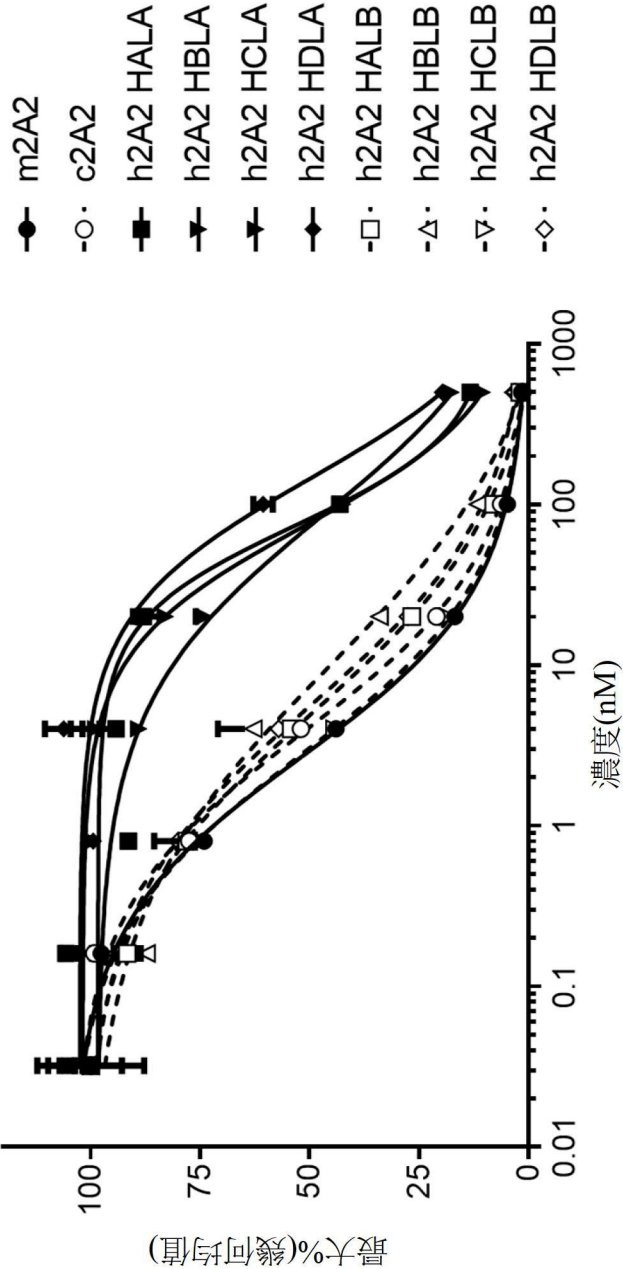
【圖3】

h2A2輕鏈變異體與人類受體序列IGKV1D-33/KJ2之比較。

	10	20	30	40	50	60
m2A2 vL						
h1GKv1D-33/KJ2	A.....ET.....G..EN.YGA.....R.Q..S.Q.....G.T..AD.MS.					
h2A2 vL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPS					
h2A2 vL						
h2A2 vL	G..EN.YGA.....G..EN.YGA.....G.T..AD.....					
h2A2 vL	G..EN.YGA.....G..EN.YGA.....G.T..AD.....					
h2A2 vL	G..EN.YGA.....G..EN.YGA.....G.T..A.....					
h2A2 vL	G..EN.YGA.....G..EN.YGA.....G.T..AD.....					
h2A2 vL	EN.YGA.....EN.YGA.....G.T..AD.....					
h2A2 vL	EN.YGA.....EN.YGA.....G.T..A.....					
h2A2 vL	G..EN.YGA.....G..EN.YGA.....G.T..D.....					
h2A2 vL	G..EN.YGA.....G..EN.YGA.....G.T..AD.....					
Kabat CDRs	*****					
IMGT CDRs	+++++					

[illegible]

【4回】



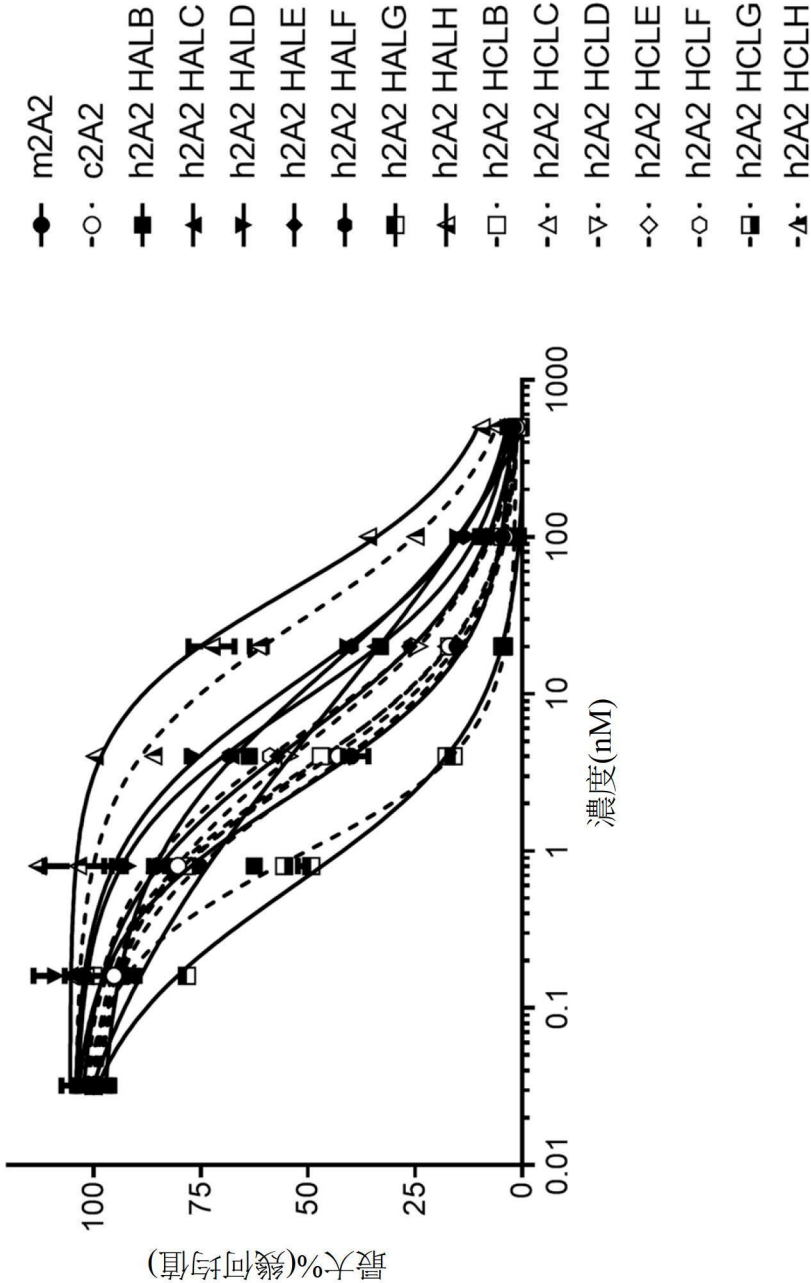
【圖5】

mAb	EC50 (nM)
m2A2	3
c2A2	4
h2A2 HALA	74
h2A2 HBLA	85
h2A2 HCLA	74
h2A2 HDLA	147
h2A2 HALB	5
h2A2 HBLB	9
h2A2 HCLB	3
h2A2 HDLB	6

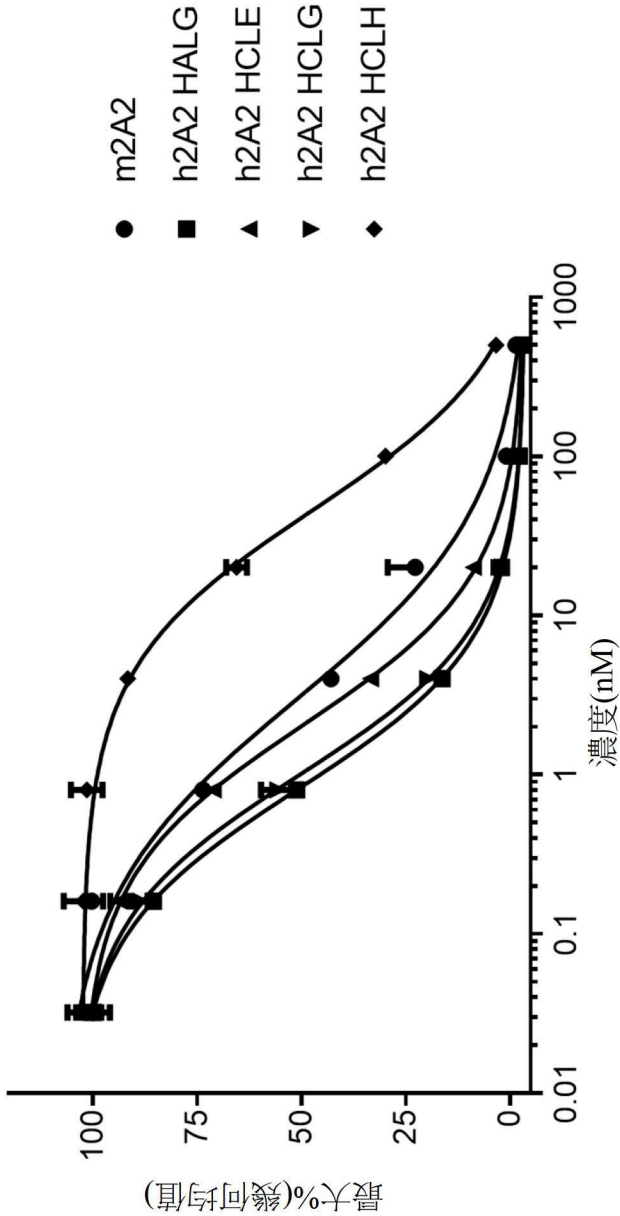
2nM m2A2-AF647競爭者

mAb	EC50 (nM)
m2A2	2
c2A2	3
h2A2 HALB	8
h2A2 HALC	9
h2A2 HALD	12
h2A2 HALE	5
h2A2 HALF	14
h2A2 HALG	1
h2A2 HALH	46
h2A2 HCLB	3
h2A2 HCLC	3
h2A2 HCLD	5
h2A2 HCLE	3
h2A2 HCLF	6
h2A2 HCLG	1
h2A2 HCLH	30

2nM m2A2-AF647競爭者



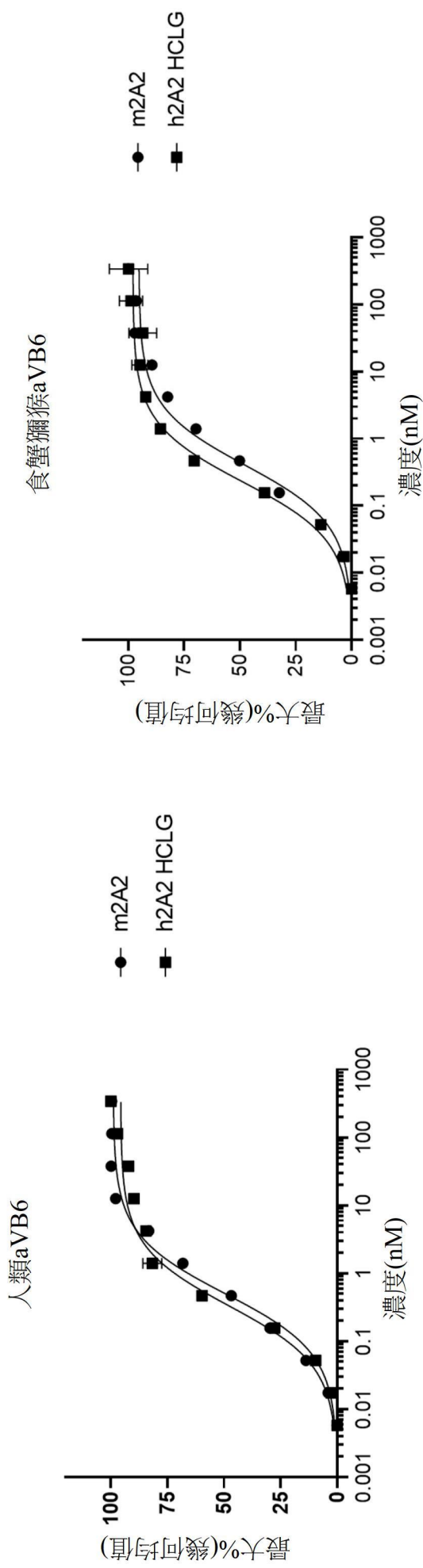
【圖6】



mAb	EC50 (nM)
m2A2	3
h2A2 HALG	1
h2A2 HCLE	2
h2A2 HCLG	1
h2A2 HCLH	46

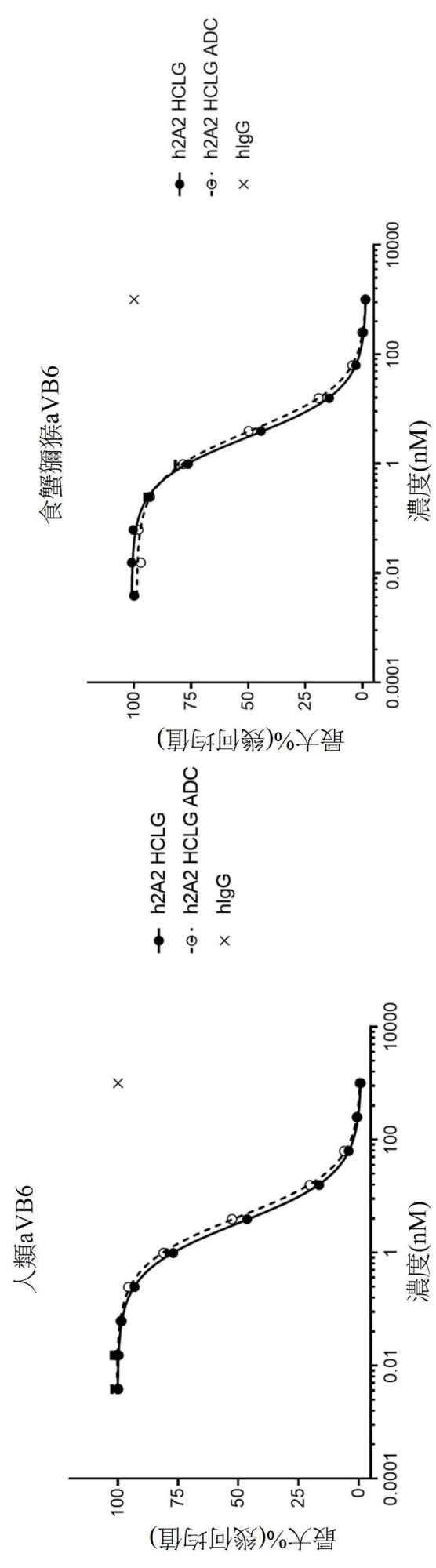
2nM m2A2-AF647競爭者

【圖7】



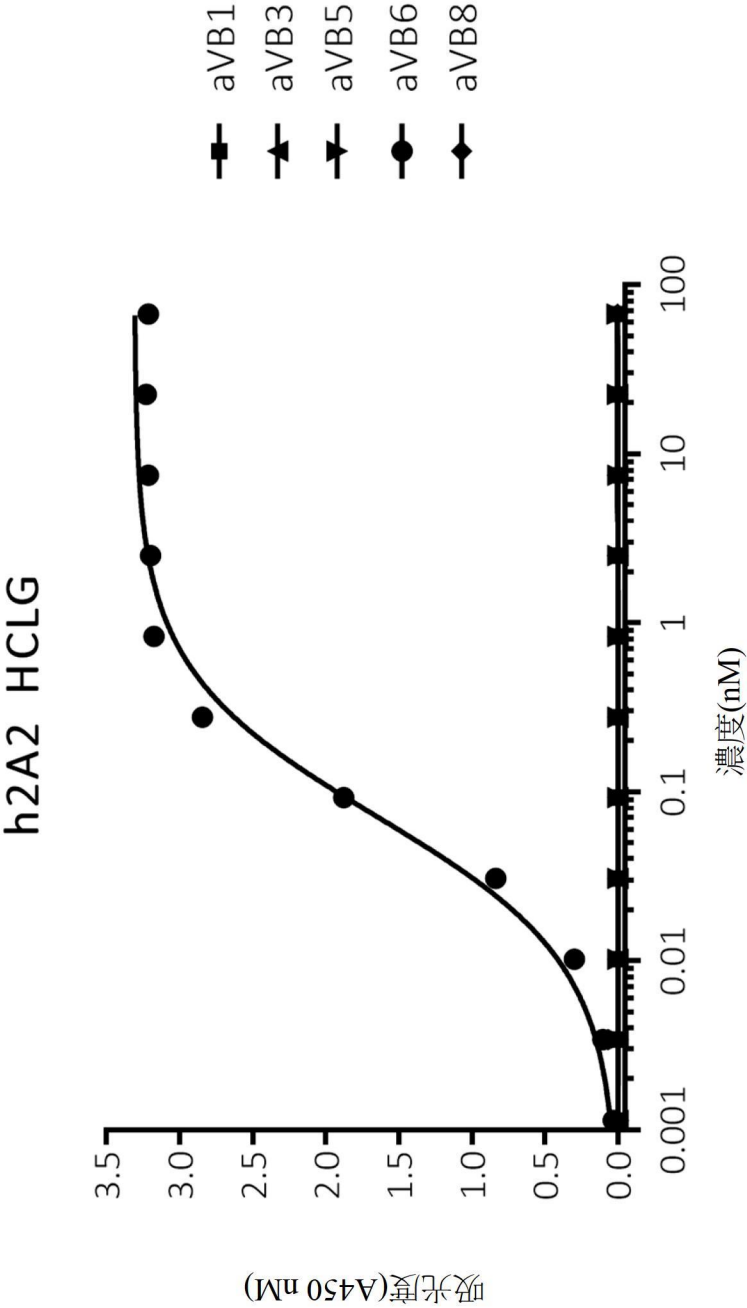
mAb	人類a/b6 EC50 (nM)	食蟹獼猴a/b6 EC50 (nM)
m2A2-AF647	0.5	0.4
h2A2 HCLG-AF647	0.3	0.2

【圖8】

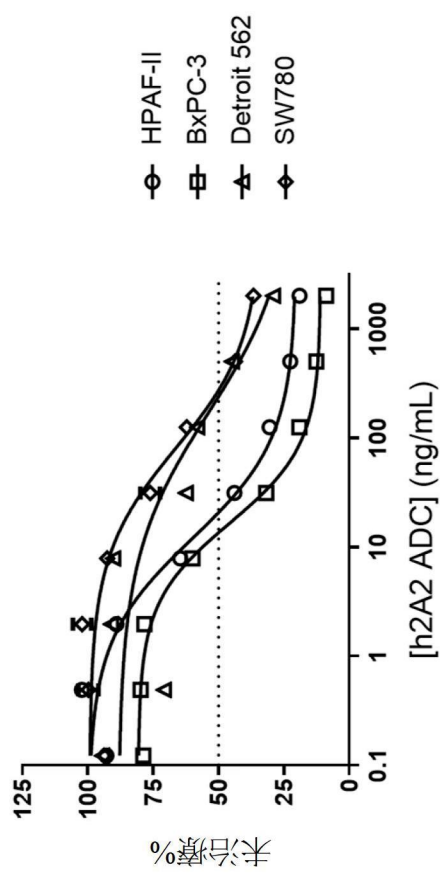


mAb	人類aVB6 EC50 (nM)	食蟹獼猴 aVB6 EC50 (nM)
h2A2 HCLG	3	3
h2A2 HCLG ADC	4	4

【圖9】

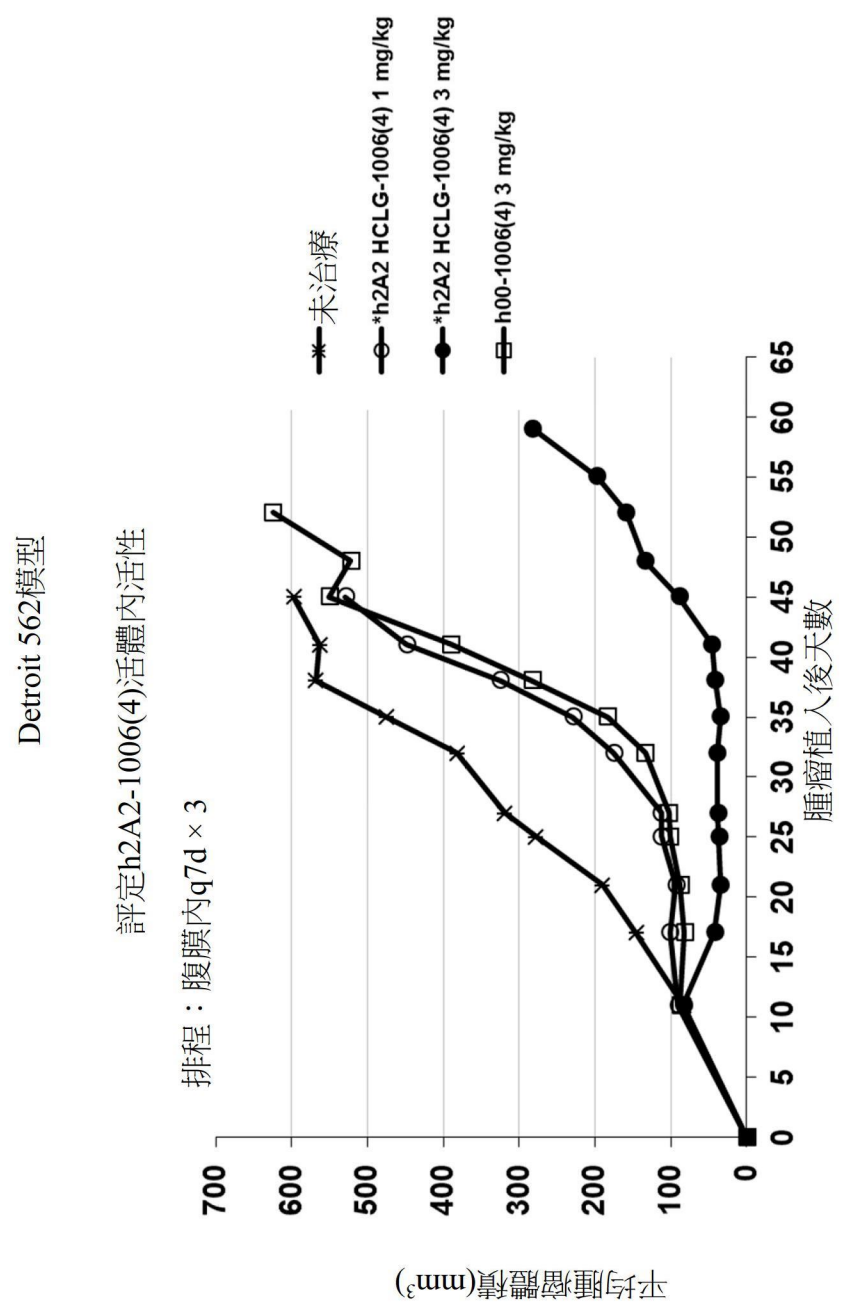


【圖10】



細胞株	癌症類型	QFACS復本編號
HPAFII	胰臟癌	22K
BxPC-3	胰臟癌	37K
Detroit 562	頭頸癌	43K
SW780	膀胱癌	80K

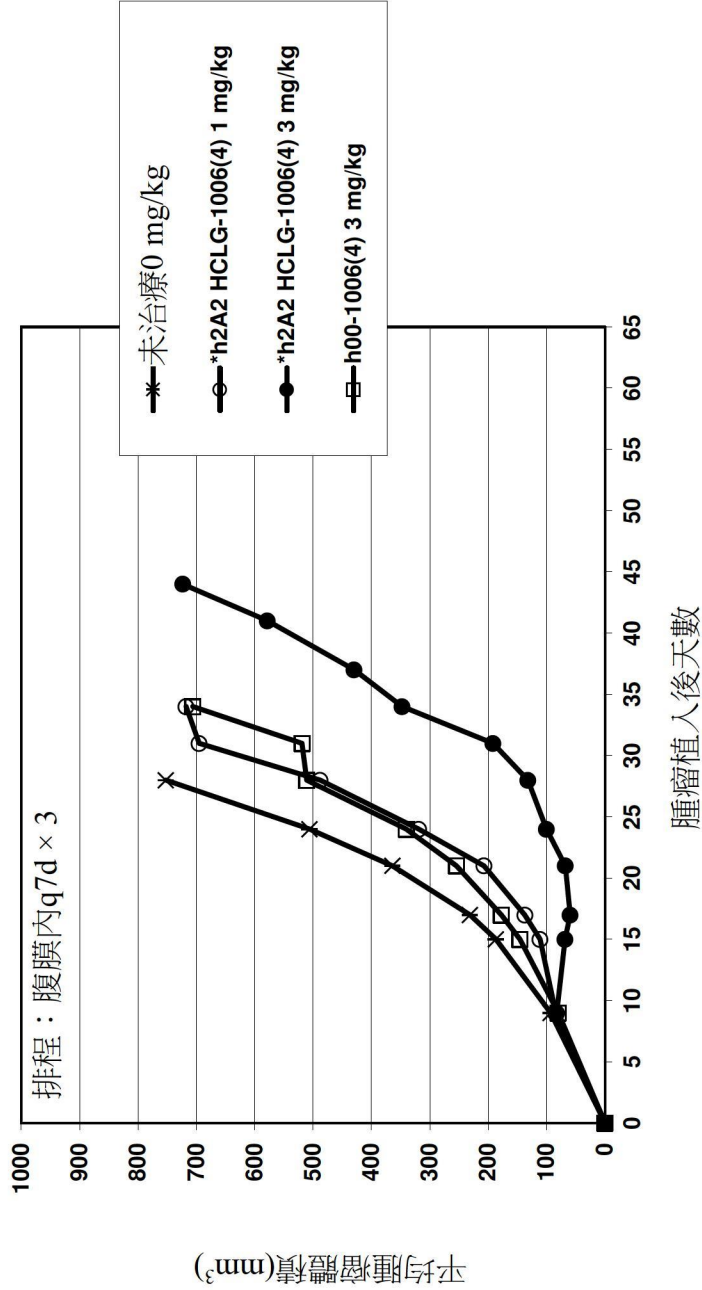
【圖11】



【圖12】

HPAF-II模型

評定h2A2-1006(4)活體內活性

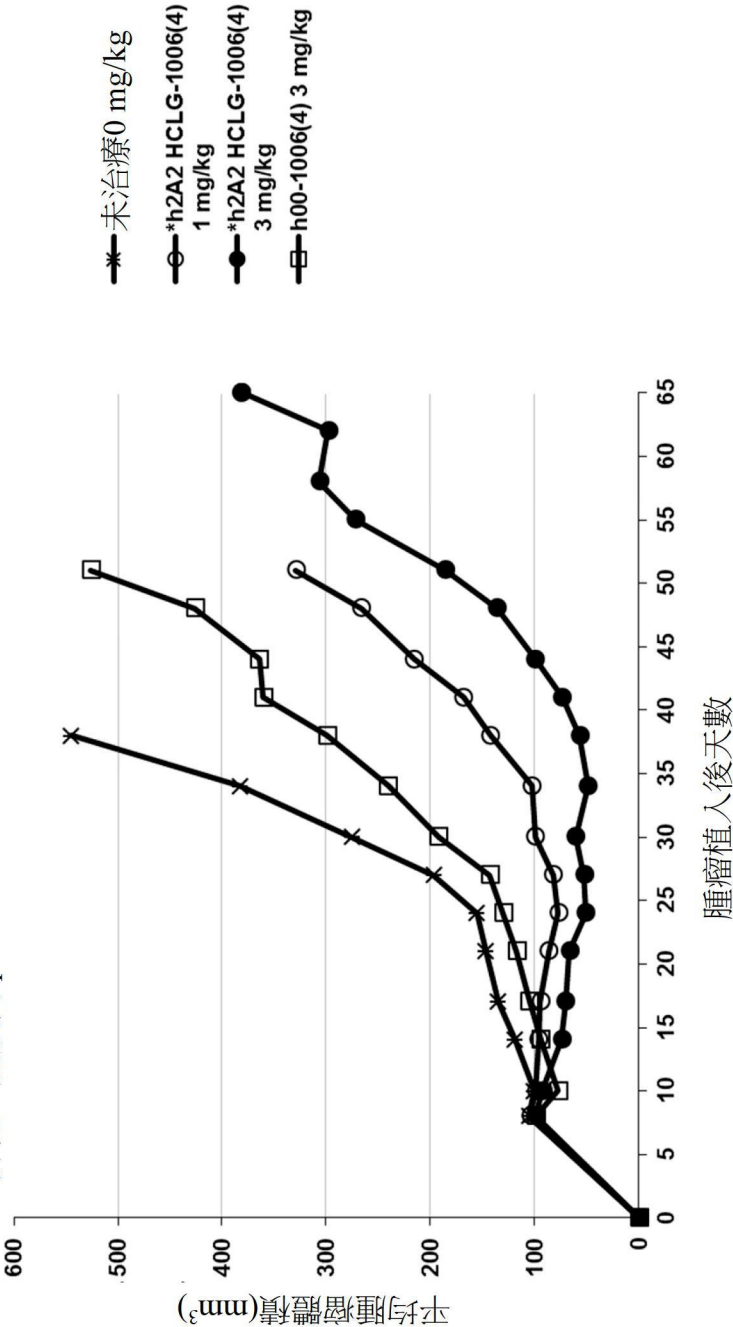


【圖13】

BxPC3模型

評定h2A2-vcMMAE活體內活性

排程：腹膜內q7d × 3

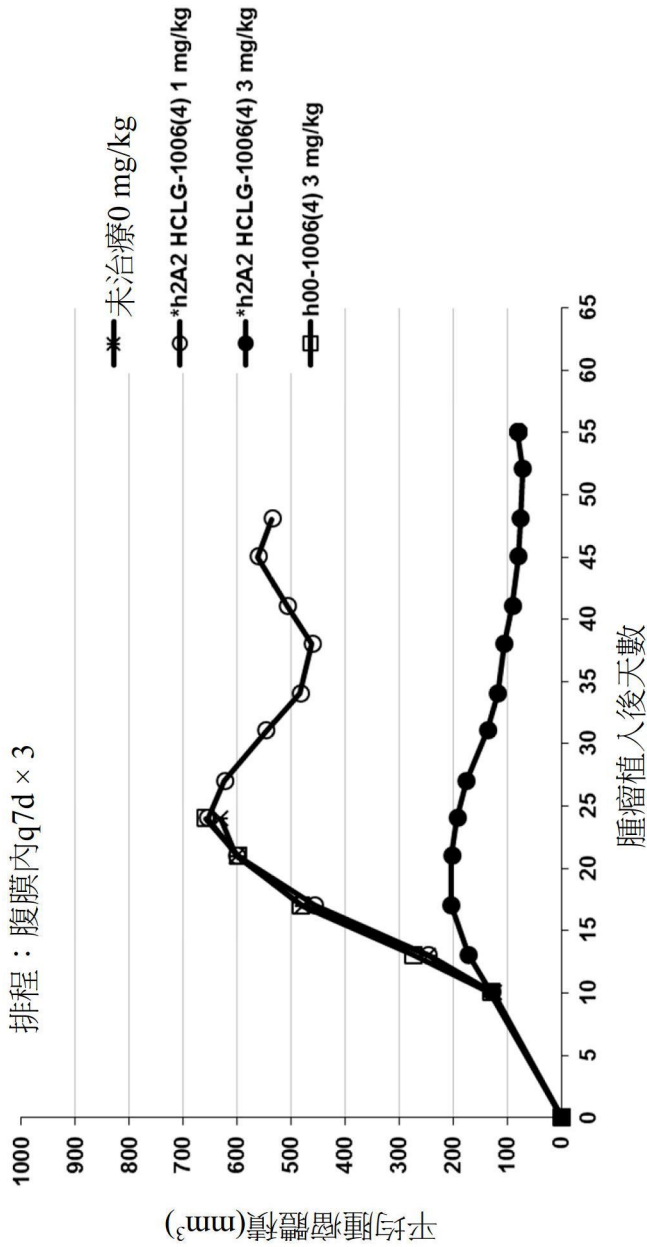


【圖14】

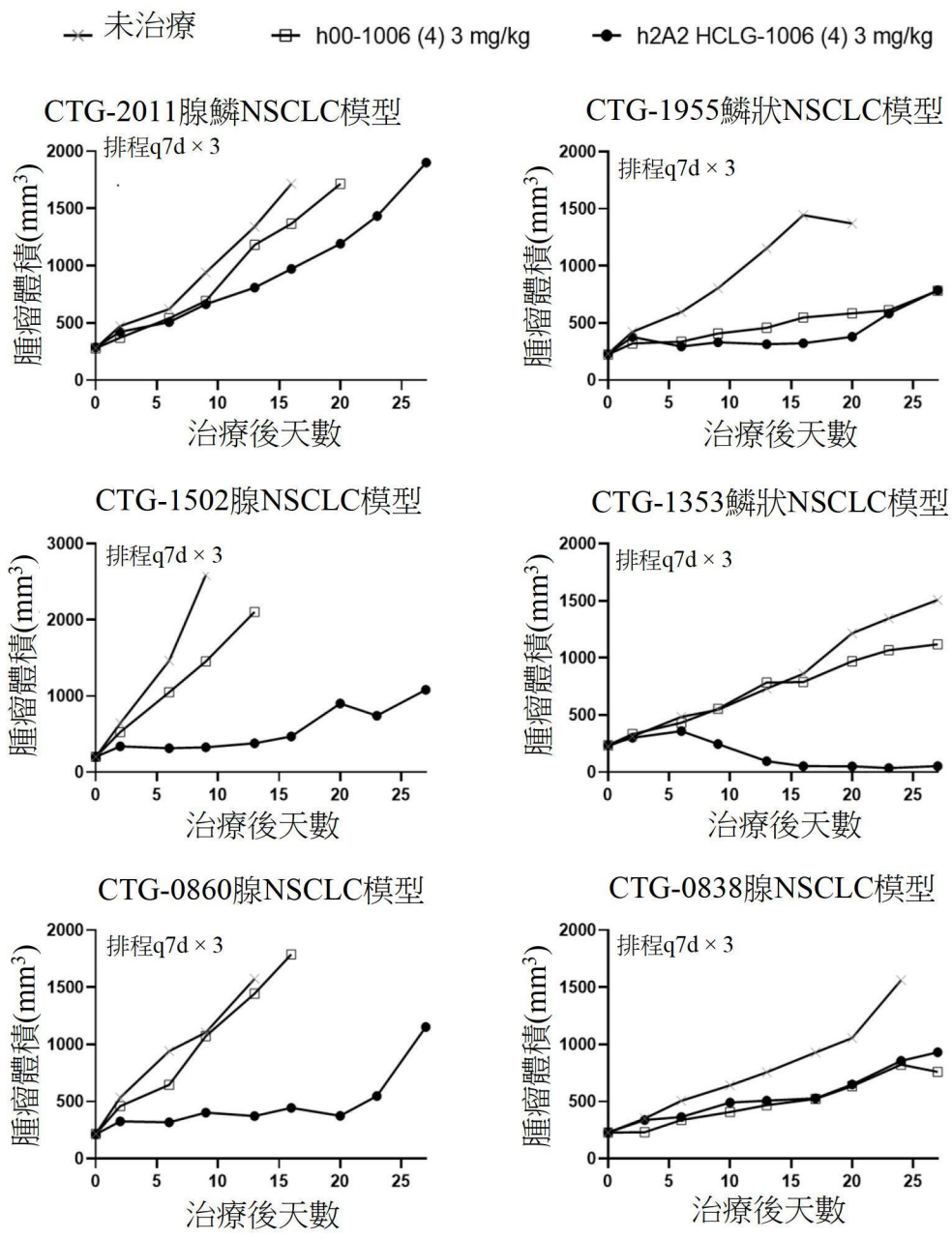
SW780模型

評定h2A2-1006(4)活體內活性

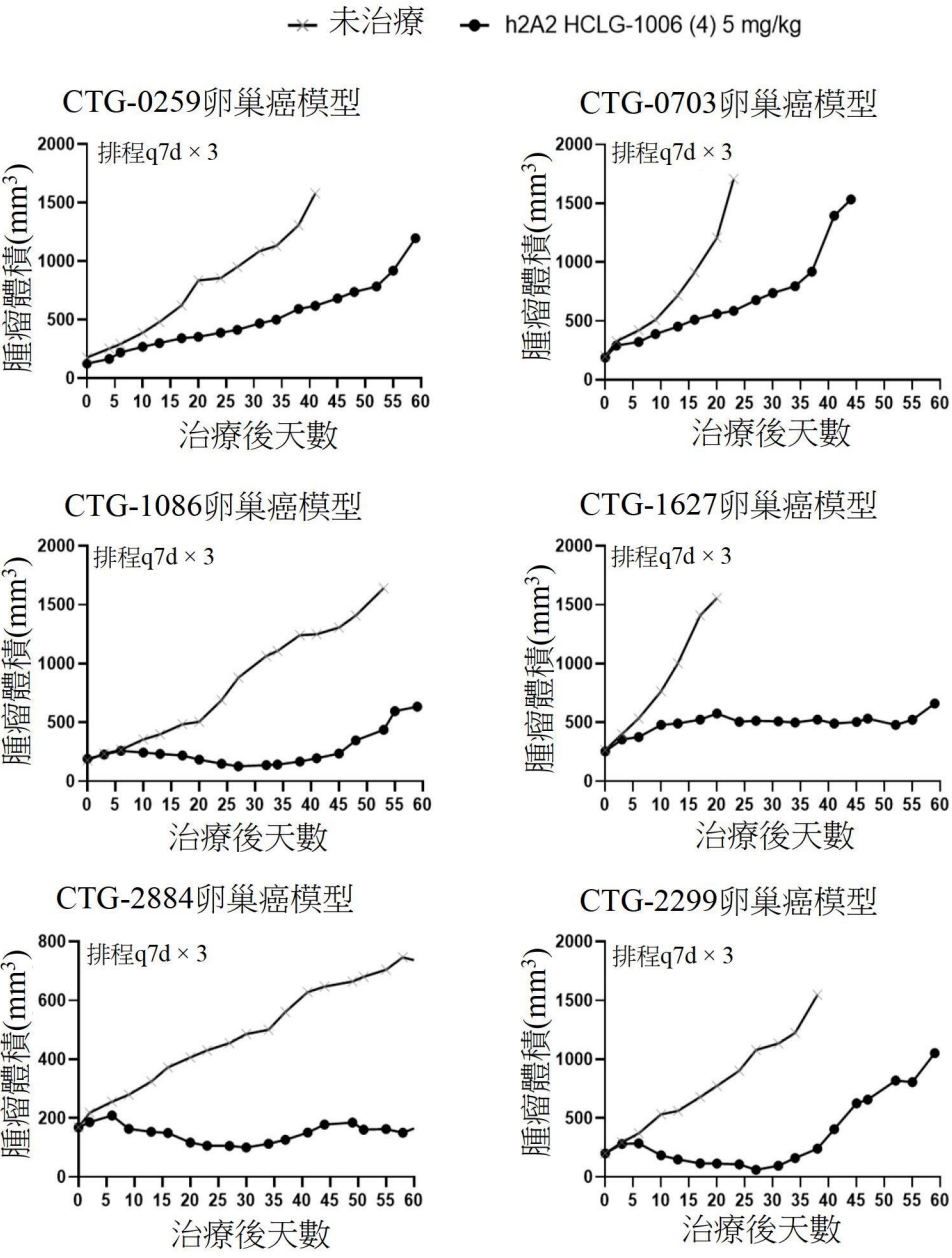
排程：腹膜內q7d × 3



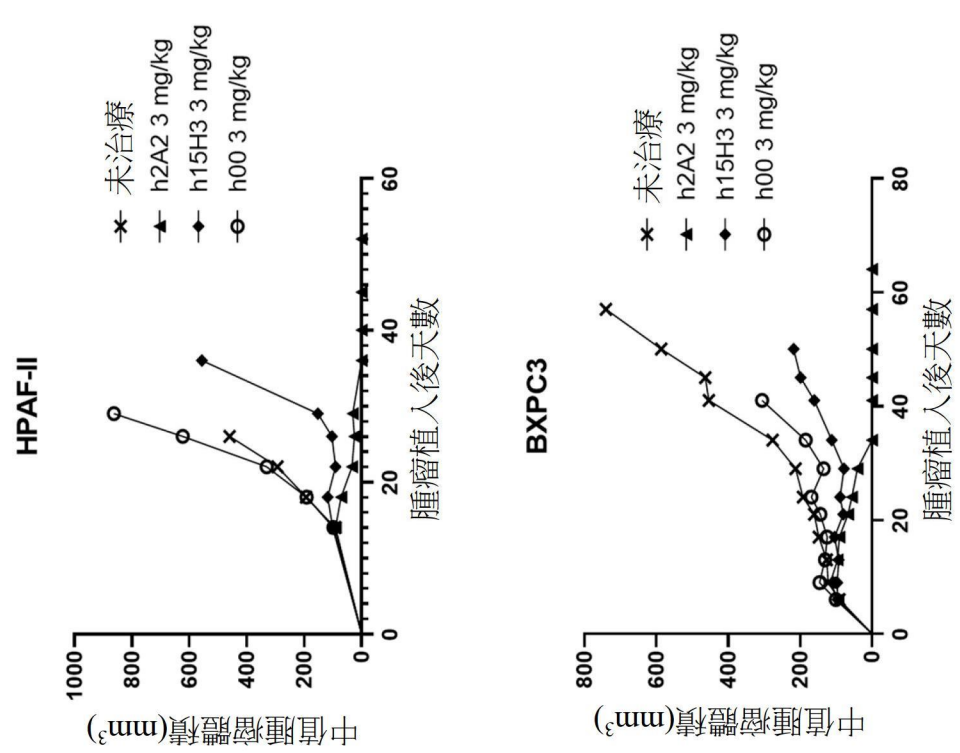
【圖15】



【圖16】



【圖17】



【圖18】