



(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 I843184 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 05 月 21 日

(21)申請案號：111131339

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 03 月 04 日

(51)Int. Cl.：

C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P9/10 (2006.01)

A61P11/00 (2006.01)

A61P19/02 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2015/03/04

美國

62/128,462

(71)申請人：南韓商柳韓洋行股份有限公司 (南韓) YUHAN CORPORATION (KR)

南韓

(72)發明人：史旺森 芭芭拉 A SWANSON, BARBARA A. (US)；葛瑞 約翰 迪森 GRAY, JOHN DIXON (US)；周賀鉞 ZHOU, HEYUE (CN)

(74)代理人：陳長文；張哲倫；劉君怡

(56)參考文獻：

WO 2011/143624A2

WO 2013/119714A1

審查人員：吳佩諄

申請專利範圍項數：7 項 圖式數：4 共 128 頁

(54)名稱

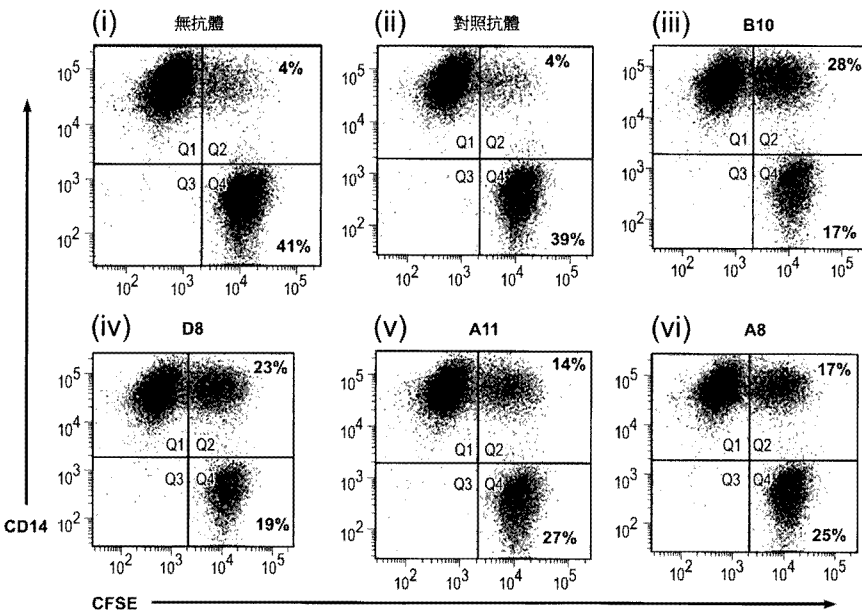
結合 CD47 之抗體治療劑

(57)摘要

本發明揭示關於或衍生自抗 CD47 抗體之組合物及方法。更特定而言，本發明係揭示結合 CD47 之完全人類抗體、該等抗體之 CD47-抗體結合片段及衍生物，及包含該等片段之 CD47 結合多肽。此外，本發明揭示編碼該等抗體、抗體片段及衍生物及多肽之核酸、包含該等多核苷酸之細胞、製備該等抗體、抗體片段及衍生物及多肽之方法及使用該等抗體、抗體片段及衍生物及多肽之方法 (包括治療疾病之方法)。

There is disclosed compositions and methods relating to or derived from anti-CD47 antibodies. More specifically, there is disclosed fully human antibodies that bind CD47, CD47-antibody binding fragments and derivatives of such antibodies, and CD47-binding polypeptides comprising such fragments. Further still, there is disclosed nucleic acids encoding such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, cells comprising such polynucleotides, methods of making such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, and methods of using such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, including methods of treating a disease.

指定代表圖：



【圖 1】



I843184

【發明摘要】

【中文發明名稱】

結合CD47之抗體治療劑

【英文發明名稱】

ANTIBODY THERAPEUTICS THAT BIND CD47

【中文】

本發明揭示關於或衍生自抗CD47抗體之組合物及方法。更特定而言，本發明係揭示結合CD47之完全人類抗體、該等抗體之CD47-抗體結合片段及衍生物，及包含該等片段之CD47結合多肽。此外，本發明揭示編碼該等抗體、抗體片段及衍生物及多肽之核酸、包含該等多核苷酸之細胞、製備該等抗體、抗體片段及衍生物及多肽之方法及使用該等抗體、抗體片段及衍生物及多肽之方法(包括治療疾病之方法)。

【英文】

There is disclosed compositions and methods relating to or derived from anti-CD47 antibodies. More specifically, there is disclosed fully human antibodies that bind CD47, CD47-antibody binding fragments and derivatives of such antibodies, and CD47-binding polypeptides comprising such fragments. Further still, there is disclosed nucleic acids encoding such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, cells comprising such polynucleotides, methods of making such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, and methods of using such antibodies, antibody fragments and

derivatives and polypeptides, including methods of treating a disease.

【指定代表圖】

圖 1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

結合CD47之抗體治療劑

【英文發明名稱】

ANTIBODY THERAPEUTICS THAT BIND CD47

【技術領域】

本發明提供關於或衍生自抗CD47抗體之組合物及方法。更特定而言，本發明提供結合CD47之完全人類抗體、該等抗體之CD47-抗體結合片段及衍生物及包含該等片段之CD47結合多肽。此外，本發明提供編碼該等抗體、抗體片段及衍生物及多肽之核酸、包含該等多核苷酸之細胞、製備該等抗體、抗體片段及衍生物及多肽之方法及使用該等抗體、抗體片段及衍生物及多肽之方法(包括治療疾病之方法)。

【先前技術】

CD47 (亦稱作整聯蛋白相關蛋白(IAP)、卵巢癌抗原OA3、Rh相關抗原及MER6)係屬免疫球蛋白超家族之多跨越跨膜受體。CD47表現及/或活性參與多種疾病及病症。因此，需要靶向CD47之療法。先前抗體之該等及其他缺陷係藉由由本發明向CD47提供完全人類抗體來克服。

【發明內容】

本發明提供以至少 10^{-6}M 之結合親和力結合至CD47表位之IgG類之完全人類抗體，其具有與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致之重鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、

SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32及其組合，且具有與由以下組成之胺基酸序列至少95%一致之輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30及其組合。在一個實施例中，完全人類抗體具有重鏈及輕鏈，其中該抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2 (本文中稱作C47A8)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作C47B10)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5 (本文中稱作C47B10-1H4S)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6 (本文中稱作C47B10-1F6S)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8 (本文中稱作C47B10-1)、SEQ ID NO. 7/SEQ ID NO. 8 (本文中稱作C47B10-2A9S)、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8 (本文中稱作C47B10-2B11S)、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作C47B10-2B8S)、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作C47B10-2C1S)、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作C47B10-2B9S)、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作2C4S)、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-B1C)、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-C6C)、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-C3C)、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-D3C)、SEQ ID NO. 19/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-C11C)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20 (本文中稱

作C47KD8)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21 (本文中稱作C47KD9)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.8 (C47B10-1H4S2)、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15 (C47B10-C3C)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19 (C47K11)、SEQ ID NO.22/SEQ ID NO.8 (C47B10-H3-D4)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.23 (C47B10-L1A-A10)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.8 (C47B10-H3-D3)、SEQ ID NO.1/ SEQ ID NO.25 (C47B10-L1A-A4)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO.26 (C47B10-L3-B2)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO. 27 (C47A8-CA)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 28 (C47A8-CL)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO.29 (C47-A8-CQ)及SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.30 (C47A8-CS)及其組合。

本發明提供具有重鏈之可變結構域區及輕鏈之可變結構域區之Fab完全人類抗體片段，其中重鏈可變結構域序列與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32及其組合，且其具有之輕鏈可變結構域序列與由以下組成之胺基酸序列至少95%一致：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID: 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30及其組合。

在一個實施例中，完全人類抗體Fab片段具有重鏈可變結構域區

及輕鏈可變結構域區，其中該抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 7/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 22/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 24/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 30及其組合。

本發明提供單鏈人類抗體，其具有重鏈之可變結構域區及輕鏈之可變結構域區及連接重鏈及輕鏈可變結構域區之肽連接體，其中重鏈可變結構域序列與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32，且其具有之輕鏈可變結構域序列與由以下組成之胺基酸序列至少95%一致：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO.

4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30及其組合。在一個實施例中，完全人類單鏈抗體具有重鏈可變結構域區及輕鏈可變結構域區，其中單鏈完全人類抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 7/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 22/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 24/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 30及其組合。

本發明進一步提供治療需要刺激免疫反應或阻抑之多種哺乳動物癌症或多種纖維變性疾病的方法，其包含投與抗CD47多肽，其中完全人類抗體具有與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致

之重鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32及其組合，且其具有與由以下組成之胺基酸至少95%一致之輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID: 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30、其組合；

其中Fab完全人類抗體片段具有與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致之重鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32及其組合，且其具有與由以下組成之胺基酸序列至少95%一致之輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30及其組合；且

其中單鏈人類抗體具有與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致之重鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、

SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32及其組合，且其具有與由以下組成之胺基酸序列至少95%一致之輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30及其組合。

在一個實施例中，完全人類抗體具有重鏈及輕鏈，其中抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2 (本文中稱作C47A8)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作C47B10)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5 (本文中稱作C47B10-1H4S)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6 (本文中稱作C47B10-1F6S)、SEQ ID NO. 7/SEQ ID NO. 8 (本文中稱作C47B10-2A9S)、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8 (本文中稱作C47B10-2B11S)、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作C47B10-2B8S)、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作C47B10-2C1S)、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作C47B10-2B9S)、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作2C4S)、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-B1C)、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-C6C)、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-C3C)、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-D3C)、SEQ ID NO.

19/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-C11C)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20 (本文中稱作C47KD8)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21 (本文中稱作C47KD9)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.8 (C47B10-1H4S2)、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15 (C47B10-C3C)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19 (C47K11)、SEQ ID NO.22/SEQ ID NO.8 (C47B10-H3-D4)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.23 (C47B10-L1A-A10)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.8 (C47B10-H3-D3)、SEQ ID NO.1/ SEQ ID NO.25 (C47B10-L1A-A4)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.26 (C47B10-L3-B2)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.27 (C47A8-CA)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.28 (C47A8-CL)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.29 (C47-A8-CQ)及SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.30 (C47A8-CS)及其組合。在一個實施例中，完全人類單鏈抗體具有重鏈可變結構域區及輕鏈可變結構域區，其中單鏈完全人類抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：

SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 7/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO.22/SEQ ID NO.8、SEQ ID

NO.1/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.29及SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.30及其組合。

在一個實施例中，欲治療之多種哺乳動物癌症係選自由以下組成之群：卵巢癌、結腸癌、乳癌、肺癌、骨髓瘤、神經胚細胞源CNS腫瘤、單核球白血病、B細胞源白血病、T細胞源白血病、B細胞源淋巴瘤、T細胞源淋巴瘤、肥胖細胞源腫瘤及其組合。

在一個實施例中，欲治療之多種纖維變性疾病係選自由以下組成之群：心肌梗塞、心絞痛、骨關節炎、肺纖維化、氣喘、囊性纖維化、支氣管炎、氣喘及其組合。

本發明係關於能夠結合至CD47之結合蛋白，包括抗CD47抗體及其抗原結合片段。

在一個態樣中，本發明提供IgG類經分離完全人類抗CD47抗體，其以至少 10^{-6} M之結合親和力結合至CD47表位，其具有與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致之重鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32；及與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致之輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ

ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30。在一個實施例中，完全人類抗體具有重鏈及輕鏈，其中抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2 (C47A8)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4 (C47B10)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5 (C47B10-1H4S)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.8 (C47B10-1)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6 (C47B10-1F6S)、SEQ ID NO. 7/SEQ ID NO. 8 (C47B10-2A9S)、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8 (C47B10-2B11S)、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4 (C47B10-2B8S)、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4 (C47B10-2C1S)、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4 (C47B10-2B9S)、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4 (2C4S)、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15 (C47B10-B1C)、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15 (本文中為C47B10-C6C)、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15 (C47B10-D3C)、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15 (C47B10-C11C)、SEQ ID NO. 19/SEQ ID NO. 15 (C47B10-C11C)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20 (C47KD8)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21 (C47KD9)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.8 (C47B10-1H4S2)、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15 (C47B10-C3C)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19 (C47K11)、SEQ ID NO.22/SEQ ID NO.8 (C47B10-H3-D4)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.23 (C47B10-L1A-A10)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.8 (C47B10-H3-D3)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.25 (C47B10-L1A-A4)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.26 (C47B10-L3-B2)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.27 (C47A8-CA)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.28 (C47A8-CL)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.29 (C47-A8-CQ)及SEQ ID

NO.1/SEQ ID NO.30 (C47A8-CS)。

在另一態樣中，本發明提供抗CD47 Fab完全人類抗體片段，其具有重鏈之可變結構域區及輕鏈之可變結構域區，其中重鏈可變結構域序列與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32，且其具有之輕鏈可變結構域序列與由以下組成之胺基酸序列至少95%一致：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30。在一個實施例中，完全人類抗體Fab片段具有重鏈可變結構域區及輕鏈可變結構域區，其中抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 7/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 22、SEQ

ID NO.1/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO.22/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.1/ SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.29及SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.30。

在另一態樣中，本發明提供抗CD47單鏈人類抗體，其具有重鏈之可變結構域區及輕鏈之可變結構域區及連接重鏈及輕鏈可變結構域區之肽連接體，其中重鏈可變結構域序列與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32，且其具有之輕鏈可變結構域序列與由以下組成之胺基酸序列至少95%一致：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30。

在一個實施例中，完全人類單鏈抗體具有重鏈可變結構域區及輕鏈可變結構域區，其中單鏈完全人類抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.8 (C47B10-1)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ

ID NO. 7/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 22/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 24/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 29 及 SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 30。

本發明中亦包括經分離抗CD47抗體或其抗原結合片段，其包含如選自由以下組成之群之重鏈可變區胺基酸序列中所述之包含互補決定區(CDR)的重鏈可變結構域：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32，且包含如選自由以下組成之群之輕鏈可變區胺基酸序列中所述之包含CDR的輕鏈可變區：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID

NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30。

本發明進一步提供治療癌症或纖維變性疾病之方法，該方法包含投與抗CD47多肽，其中抗CD47多肽係選自由以下組成之群：IgG類經分離完全人類抗體，其結合至CD47且包含重鏈可變結構域及輕鏈可變結構域；包含重鏈可變結構域及輕鏈可變結構域之抗CD47完全人類抗體Fab片段；及包含重鏈可變結構域及輕鏈可變結構域之單鏈人類抗體，其中重鏈可變結構域及輕鏈可變結構域經由肽連接體連接；其中重鏈可變結構域包含與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32，且其具有與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致之輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30。

在某些實施例中，完全人類抗體或抗體片段具有重鏈及輕鏈，其中抗體或抗體片段包含選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8

(C47B10-1)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 7/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 22/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 24/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 30。

在某些實施例中，本發明之抗體或其抗原結合片段具有至少 1×10^{-6} M之 K_D 。在其他實施例中，本發明之抗體或其抗原結合片段具有至少 1×10^{-7} M之 K_D 。在其他實施例中，本發明之抗體或其抗原結合片段具有至少 1×10^{-8} M之 K_D 。

在某些實施例中，抗體係IgG1同型。在其他實施例中，抗體係IgG4同型。

在某些實施例中，本文所述抗體或抗原結合片段係重組的。本發明亦提供包含有效量之本文揭示之抗CD47抗體或片段及醫藥上可接受之載劑的醫藥組合物。

在某些實施例中，本發明之特徵在於治療有需要之人類個體之

癌症或纖維變性疾病的方法，其包含向個體投與有效量之本文揭示之抗CD47抗體或其抗原結合片段，使得癌症經治療。

在一個實施例中，癌症係選自由以下組成之群：卵巢癌、結腸癌、乳癌、肺癌、骨髓瘤、神經胚細胞源CNS腫瘤、單核球白血病、B細胞源白血病、T細胞源白血病、B細胞源淋巴瘤、T細胞源淋巴瘤及肥胖細胞源腫瘤。

在另一實施例中，纖維變性疾病係選自由以下組成之群：心肌梗塞、心絞痛、骨關節炎、肺纖維化、氣喘、囊性纖維化、支氣管炎及氣喘。

【圖式簡單說明】

圖1展示抗CD47抗體而非對照抗體促進K562之吞噬作用的能力。圖1中所示結果係來自流式細胞術分析。右上方象限中之細胞群體代表具有經吞噬K562細胞之巨噬細胞。右下方象限中之細胞係尚未經吞噬之K562細胞。圖1中之各圖代表以下：(i) 無抗體；(ii) 對照抗體(同型匹配之陰性對照抗體(即，不僅不結合CD47而且不結合至細胞之抗體)；(iii) B10；(iv) D8；(v) A11；(vi) A8。所有經測試抗CD47抗體皆展現一定活性，其中B10 (iii)促進最大吞噬作用。

圖2顯示用於測定抗體A8及某些A8變體(A8-CL、A8-CA、A8-CS、A8-CQ)與CD47之結合特異性的ELISA分析之結果。

圖3顯示用於測定抗體B10及B10變體(B10-H3-D3、B10-L3-B2、B10-H3-D4、B-10-L1A-A4、B10-L1A-A10)與CD47之結合特異性的ELISA分析之結果。

圖4顯示用於測定抗體B10及B10變體(B10-B1C、B10-C6C、B10-

C11C、B10-D3C、B10-C3C、B10-2A9S、B10-F6S、B10-2B-9S)與CD47之結合特異性的ELISA分析之結果。

【實施方式】

相關申請案

本申請案主張於2015年3月4日提出申請之美國臨時申請案第62/128,462號之優先權，該案件之全部內容之全文以引用方式併入本文中。

定義

術語「肽」、「多肽」及「蛋白質」各自係指包含兩個或更多個彼此由肽鏈接合之胺基酸殘基的分子。該等術語涵蓋(例如)天然及人工蛋白質、蛋白質片段及蛋白質序列之多肽類似物(例如突變蛋白、變體及融合蛋白)以及轉譯後或原本共價或非共價經修飾之蛋白質。肽、多肽或蛋白質可為單體或聚合物。

多肽之「變體」(例如，抗體之變體)包含胺基酸序列，其中使胺基酸序列相對於另一多肽序列發生一或多個胺基酸殘基之插入、缺失及/或取代。所揭示變體包括(例如)融合蛋白。

多肽之「衍生物」係(例如)經由偶聯至另一化學部分(例如，聚乙二醇或白蛋白，例如，人類血清白蛋白)、磷酸化及糖基化經化學修飾之多肽(例如，抗體)。除非另外指示，否則術語「抗體」除包含兩條全長重鏈及兩條全長輕鏈之抗體外，亦包括其衍生物、變體、片段及突變蛋白，其實例闡述於下文中。

「抗原結合蛋白」係包含結合至抗原之部分、且視情況容許抗原結合部分採用促進抗原結合蛋白與抗原結合之構形的骨架或框架部

分的蛋白質。抗原結合蛋白之實例包括抗體、抗體片段(例如，抗體之抗原結合部分)、抗體衍生物及抗體類似物。抗原結合蛋白可包含(例如)具有移植CDR或CDR衍生物之替代性蛋白質骨架或人工骨架。該骨架包括(但不限於)包含經引入突變以(例如)穩定抗原結合蛋白之三維結構的抗體衍生骨架，以及包含(例如)生物相容性聚合物之全合成骨架。例如，參見 Korndorfer 等人，2003, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 第53卷，第1期：121-129；Roque 等人，2004, *Biotechnol. Prog.* 20:639-654。此外，可使用肽抗體模擬物(「PAM」)，以及基於採用纖連蛋白組份作為骨架之抗體模擬物的骨架。

抗原結合蛋白可具有(例如)免疫球蛋白之結構。「免疫球蛋白」係包括兩個相同多肽鏈對之分子，每一對具有一「輕鏈」(約25 kD)及一「重鏈」(約50 kD至70 kD)。每一鏈之胺基末端部分包括主要負責抗原識別之約100至110個或更多胺基酸的可變區。每一鏈之羧基末端部分界定主要負責效應物功能之恆定區。人類輕鏈分類為 κ 或 λ 輕鏈。重鏈分類為 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ ，且將抗體之同型分別定義為IgM、IgD、IgA及IgE。在一個實施例中，本文揭示之抗CD47抗體之特徵在於重V_H及輕V_L胺基酸序列中之其可變結構域區序列。在輕鏈及重鏈內，可變區及恆定區係由約12或更多胺基酸之「J」區接合，且重鏈亦包括約10或更多胺基酸之「D」區。通常參見 *Fundamental Immunology* 第7章(Paul, W.編輯，第2版，Raven Press, N.Y. (1989))。各輕鏈/重鏈對之可變區形成抗體結合位點，使得完整免疫球蛋白具有兩個結合位點。

免疫球蛋白之可變區展現由三個超變區(亦稱為互補決定區或CDR)接合之相對保守框架區(FR)之相同通用結構。輕鏈及重鏈二者自N末端至C末端包含結構域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。對每一結構域之胺基酸之分配係根據如下中之定義：Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH公開案第91-3242號，1991。免疫球蛋白鏈中之胺基酸之其他編號系統包括IMGT.RTM. (國際ImMunoGene資訊系統；Lefranc等人，Dev. Comp. Immunol. 29:185-203；2005)及AHO (Honegger及Pluckthun, J. Mol. Biol. 309(3):657-670；2001)。

除非另外說明，否則「抗體」係指完整免疫球蛋白或其可與完整抗體競爭特異性結合之抗原結合部分。在一個實施例中，抗體包括包含重鏈可變結構域及重鏈恆定區C_{H1}、C_{H2}及C_{H3}之重鏈及包含輕鏈可變結構域、輕鏈恆定區(C_L)之輕鏈，重鏈及輕鏈可變結構域序列可選自SEQ ID NO. 1至32中本文所述彼等序列。

抗體之抗原結合部分可藉由重組DNA技術或藉由完整抗體之酶或化學裂解產生。抗原結合部分尤其包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、結構域抗體(dAb)、及互補決定區(CDR)片段、單鏈抗體(scFv)、嵌合抗體、雙價抗體、三價抗體、四價抗體及至少含有足以賦予多肽特異性抗原結合之免疫球蛋白之一部分之多肽。

在某些實施例中，抗體可自血清或血漿等來源獲得，該等來源含有具有變化抗原特異性之免疫球蛋白。若該等抗體經受親和純化，則其可經富集用於特定抗原特異性。抗體之該等富集製劑通常係由小

於約10%對特定抗原具有特異性結合活性之抗體製得。使該等製劑經受若干輪親和純化可增加對抗原具有特異性結合活性之抗體的比例。以此方式製備之抗體通常稱作「單特異性」。

如本文所用術語「單特異性」係指對一個特定表位展現親和力之抗體。單特異性抗體製劑可由約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或99.9%對特定抗原具有特異性結合活性之抗體構成。

「抗體片段」或「抗體之抗原結合片段」包含完整抗體之一部分，且較佳包含抗體抗原結合或可變結構域。抗體片段之實例包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段及直鏈抗體。

Fab片段係具有V_L、V_H、C_L及C_{H1}結構域之單價片段；F(ab')₂片段係具有兩個於鉸鏈區處由二硫橋連接之Fab片段的二價片段；Fd片段具有V_H及C_{H1}結構域；Fv片段具有抗體之單臂之V_L及V_H結構域；且dAb片段具有V_H結構域、V_L結構域或V_H或V_L結構域之抗原結合片段(美國專利 6,846,634；6,696,245、美國申請 公開案 20/0202512；2004/0202995；2004/0038291；2004/0009507；20 03/0039958及Ward等人，*Nature* 341:544-546, 1989)。

單鏈抗體(scFv)係V_L及V_H區經由連接體(例如胺基酸殘基之合成序列)接合以形成連續蛋白質鏈的抗體，其中該連接體長至足以容許蛋白質鏈自身摺疊並形成單價抗原結合位點(例如，參見Bird等人，1988, *Science* 242:423-26及Huston等人，1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-83)。

雙價抗體係包含兩個多肽鏈之二價抗體，其中每一多肽鏈包含

藉由連接體接合之 V_H 及 V_L 結構域，該連接體過短從而使得兩個結構域不能在同一鏈上配對，因此使得每一結構域可與另一多肽鏈上之互補結構域配對(例如，Holliger等人，1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-48及Poljak等人，1994, *Structure* 2:1121-23)。若雙價抗體之兩個多肽鏈相同，則自其配對產生之雙價抗體將具有兩個相同抗原結合位點。亦可使用具有不同序列之多肽鏈來製備具有兩個不同抗原結合位點之雙價抗體。類似地，三價抗體及四價抗體係分別包含三個及四個多肽鏈並且分別形成三個及四個抗原結合位點之抗體，該多肽鏈及抗原結合位點可相同或不同。

抗原結合蛋白(例如抗體)可具有一或多個結合位點。若存在一個以上結合位點，則結合位點可彼此相同或可不同。舉例而言，天然人類免疫球蛋白通常具有兩個相同結合位點，而「雙特異性」或「雙功能性」抗體具有兩個不同結合位點。

術語「人類抗體」包括具有一或多個衍生自人類免疫球蛋白序列之可變區及恆定區的抗體。在一個實施例中，抗體之所有可變及恆定結構域均衍生自人類免疫球蛋白序列(稱作「完全人類抗體」)。該等抗體可以多種方式製備，其實例闡述於下文中，包括經由用經遺傳修飾以表現衍生自人類重鏈及/或輕鏈編碼基因之抗體之小鼠的目標抗原免疫。在較佳實施例中，完全人類抗體係使用重組方法製得，使得抗體之糖基化模式不同於具有相同胺基酸序列之抗體(若其係天然存在)。

「人類化抗體」之序列與衍生自非人類物種之抗體序列的差異在於一或多個胺基酸取代、缺失及/或增加，從而使得在投與人類個

體時，人類化抗體與非人類物種抗體相比誘發免疫反應之可能性較低，及/或誘發較不嚴重免疫反應。在一個實施例中，非人類物種抗體之重鏈及/或輕鏈之框架及恆定結構域中的某些胺基酸突變產生人類化抗體。在另一實施例中，使來自人類抗體之恆定結構域與非人類物種之可變結構域融合。在另一實施例中，改變非人類抗體之一或多個CDR序列中的一或多個胺基酸殘基以在將其投與人類個體時降低非人類抗體可能的免疫原性，其中所改變胺基酸殘基並不對抗體與其抗原之免疫特異性結合至關重要，或對胺基酸序列實施之改變係保守改變，從而使得人類化抗體與抗原之結合不顯著弱於非人類抗體與抗原之結合。如何製造人類化抗體之實例可參見美國專利 6,054,297、5,886,152及5,877,293。

術語「嵌合抗體」係指含有一或多個來自一個抗體之區及一或多個來自一或多個其他抗體之區的抗體。在一個實施例中，CDR中之一或多者係衍生自人類抗CD47抗體。在另一實施例中，所有CDR皆係衍生自人類抗CD47抗體。在另一實施例中，將來自一種以上人類抗CD47抗體之CDR混合並在嵌合抗體中匹配。舉例而言，嵌合抗體可包含來自第一人類抗CD47抗體之輕鏈的CDR1、來自第二人類抗CD47抗體之輕鏈的CDR2及CDR3及來自第三抗CD47抗體之重鏈的CDR。其他組合係可能的。

此外，框架區可衍生自相同抗CD47抗體中之一者、一或多種不同抗體(例如人類抗體)或人類化抗體。在嵌合抗體之一個實例中，重鏈及/或輕鏈之一部分與來自特定物種或屬特定抗體種類或亞類之抗體相同、同源、或衍生自該抗體，同時鏈之其餘部分與來自另一物種

或屬另一抗體種類或亞類之抗體相同、同源、或衍生自該抗體。亦包括展現期望生物活性(即，特異性結合CD47之能力)之該等抗體之片段。

「抑制性抗體」係抑制CD47之活性之抗體。在一個實施例中，若抗CD47抗體可防止CD47與其配體信號調控蛋白質- α (SIRP α)結合，則該抗體係抑制性抗體。在一個實施例中，在過量抗CD47抗體將CD47活化之量減少至少約20%時，抗CD47抑制性抗體抑制CD47之蛋白水解活化。CD47活化可藉由業內熟知之各種方法中之任一者、例如使用分析(例如實例中本文所述之彼等)來測定。在各個實施例中，抗原結合蛋白將CD47之蛋白水解活化之量減少至少30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%及99.9%。

「CDR移植抗體」係包含一或多個衍生自特定物種或同型之抗體之CDR及相同或不同物種或同型之另一抗體之框架的抗體。

「多特異性抗體」係識別一或多個抗原上之一個以上表位的抗體。此類型之抗體之亞類係識別相同或不同抗原上之兩個不同表位之「二特異性抗體」。

若抗原結合蛋白以1奈莫耳濃度或更小之解離常數結合至抗原，則抗原結合蛋白「特異性結合」至抗原(例如，人類CD47)。

「抗原結合結構域」、「抗原結合區」或「抗原結合位點」係含有與抗原相互作用且促使抗原結合蛋白對抗原之特異性及親和力之胺基酸殘基(或其他部分)的抗原結合蛋白之一部分。對於特異性結合至其抗原之抗體，此將至少包括其CDR結構域中之至少一者之一部

分。

術語「Fc多肽」包括衍生自抗體之Fc區之多肽的天然及突變蛋白質形式。亦包括該等多肽之含有鉸鏈區的截短形式，其可促進二聚作用。包含Fc部分(及自其形成之寡聚物)之融合蛋白提供可在蛋白質A或蛋白質G管柱上藉由親和層析容易純化的優勢。

「表位」係分子中由抗原結合蛋白(例如，由抗體)結合之部分。表位可包含分子之非連續部分(例如，在多肽中，在多肽之一級序列中不連續、但在多肽之三級及四級結構背景下彼此足夠近以由抗原結合蛋白結合的胺基酸殘基)。

兩個多核苷酸或兩個多肽序列之「一致性百分比」或「同源性百分比」係藉由使用GAP電腦程式(GCG Wisconsin Package之部分，10.3版(Accelrys, San Diego, Calif.))使用其缺省參數比較序列來測定。

術語「多核苷酸」、「寡核苷酸」及「核酸」通篇可互換使用且包括DNA分子(例如，cDNA或基因體DNA)、RNA分子(例如，mRNA)、使用核苷酸類似物(例如，肽核酸及非天然核苷酸類似物)生成之DNA或RNA之類似物及其雜合體。核酸分子可為單鏈或雙鏈。在一個實施例中，本發明之核酸分子包含編碼抗體、或其片段、衍生物、突變蛋白或變體之連續開放閱讀框。

若兩個單鏈多核苷酸之序列可在反平行定向中比對使得一個多核苷酸中之每一核苷酸與另一多核苷酸中之其互補核苷酸相對、未引入空隙且在任一序列之5'或3'端無成對核苷酸，則該兩個單鏈多核苷酸係彼此之「補體」。若兩個多核苷酸可在相當嚴格條件下彼此雜

交，則多核苷酸與另一多核苷酸「互補」。因此，多核苷酸可與並非其補體之另一多核苷酸互補。

「載體」係可用於將與其連接之另一核酸引入細胞中之核酸。一類載體為「質粒」，其係指額外核酸區段可連接至其中之直鏈或環形雙鏈DNA分子。另一類載體係病毒載體(例如，複製缺陷性反轉錄病毒、腺病毒及腺相關病毒)，其中額外DNA區段可引入病毒基因體中。某些載體能夠在已將其引入其中之宿主細胞中進行自主複製(例如，包含細菌複製起點之細菌載體及游離型哺乳動物載體)。其他載體(例如，非游離型哺乳動物載體)可在引入宿主細胞中時整合至宿主細胞之基因組中，並藉此隨宿主基因組一同複製。「表現載體」係可引導所選多核苷酸之表現之一類載體。

若調控序列影響核苷酸序列之表現(例如，表現之程度、定時或位置)，則核苷酸序列「可操作連接」至調控序列。「調控序列」係影響與其可操作連接之核酸之表現(例如，表現之程度、定時或位置)的核酸。調控序列可(例如)直接對調控核酸發揮其效應，或經由一或多個其他分子(例如，結合至調控序列及/或核酸之多肽)之作用發揮其效應。調控序列之實例包括啟動子、增強子及其他表達控制元件(例如，多聚腺苷酸化信號)。調控序列之其他實例闡述於(例如) Goeddel, 1990, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, Calif.及Baron等人，1995, *Nucleic Acid Res.* 23:3605-06中。

「宿主細胞」係可用於表現核酸(例如，本發明之核酸)之細胞。宿主細胞可為原核生物(例如大腸桿菌)，或其可為真核生物，例如單

細胞真核生物(例如，酵母或其他真菌)、植物細胞(例如，菸草或番茄植物細胞)、動物細胞(例如，人類細胞、猴細胞、倉鼠細胞、大鼠細胞、小鼠細胞或昆蟲細胞)或雜交瘤。宿主細胞之實例包括COS-7系猴腎細胞(ATCC CRL 1651) (參見Gluzman等人，1981, *Cell* 23:175), L細胞、C127細胞、3T3細胞(ATCC CCL 163)、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或其衍生物(例如Veggie CHO及在不含血清之培養基中生長之相關細胞系(參見Rasmussen等人，1998, *Cytotechnology* 28:31)或CHO菌株DX-B11(其缺乏DHFR (參見Urlaub等人，1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-20)))、HeLa細胞、BHK (ATCC CRL 10)細胞系、衍生自非洲綠猴腎細胞系CV1之CV1/EBNA細胞系(ATCC CCL 70) (參見McMahan等人，1991, *EMBO J.* 10:2821)、人類胚腎細胞(例如293、293 EBNA或MSR 293)、人類表皮A431細胞、人類Colo205細胞、其他經轉變靈長類動物細胞系、正常二倍體細胞、衍生自原代組織、原代植入體、HL-60、U937、HaK或Jurkat細胞之活體外培養物之細胞菌株。在一個實施例中，宿主細胞係哺乳動物宿主細胞，但並非人類宿主細胞。通常，宿主細胞係可經編碼多肽之核酸(其隨後在宿主細胞中表現)轉變或轉染之經培養細胞。片語「重組宿主細胞」可用於表示經欲表現之核酸轉變或轉染之宿主細胞。宿主細胞亦可為包含核酸但不使其以期望程度表現之細胞，除非調控序列引入宿主細胞中使得其與核酸可操作連接。應理解，術語宿主細胞不僅係指特定個體細胞，且亦係指該細胞之後代或潛在後代。由於因(例如)突變或環境影響可使後續各代發生某些改變，因此，此後代實際上可能與母細胞不同但卻仍涵蓋於本文所用術語之範疇內。

術語「重組抗體」係指自經包含抗體之編碼序列(或其部分)之表現載體(或可能一種以上表現載體)轉染之細胞或細胞系表現的抗體，其中該編碼序列並不與細胞天然相關。在一個實施例中，重組抗體之糖基化模式不同於具有相同序列之天然存在之抗體的糖基化模式。在一個實施例中，重組抗體係在哺乳動物宿主細胞(其並非人類宿主細胞)中表現。值得注意的是，個體哺乳動物宿主細胞具有獨特糖基化模式。

如本文所用術語「有效量」係指結合CD47之抗體或其抗原結合部分在投與個體時足以實現與如本文所述CD47依賴性信號傳導相關之疾病之治療、預後或診斷的量。本文提供之抗體之治療有效量在單獨或組合使用時可端視抗體之相對活性(例如，促進表現CD47之癌細胞之巨噬細胞介導之吞噬作用)且端視所治療之個體及疾病病況、個體之體重及年齡、疾病病況之嚴重程度、投與方式及諸如此類(其可由彼等熟習此項技術者容易地確定)變化。

如本文所用術語「經分離」係指實質上不含其他細胞物質之蛋白質(例如，抗體)。在一個實施例中，經分離抗體實質上不含來自相同物種之其他蛋白質。在一個實施例中，經分離抗體係由來自不同物種之細胞表現且實質上不含來自不同物種之其他蛋白質。可藉由使用業內熟知之蛋白質純化技術分離使得蛋白質實質上不含天然相關之組份(或與用於產生抗體之細胞表現系統相關之組份)。在一個實施例中，本發明之抗體或抗原結合片段經分離。

CD47抗原結合蛋白

本發明係關於CD47結合蛋白、具體而言結合至CD47之抗CD47

抗體或其抗原結合部分及其用途。本發明之各個態樣係關於抗體及抗體片段、醫藥組合物、用於製備該等抗體及片段之核酸、重組表現載體及宿主細胞。本發明亦涵蓋使用本發明抗體檢測人類CD47、在活體外或活體內抑制CD47活性及預防或治療諸如癌症等病症之方法。

如下表5中所述，本發明中包括對CD47具有特異性之新穎抗體重鏈及輕鏈可變區。在一個實施例中，本發明提供抗CD47抗體或其抗原結合片段，其包含具有包含如SEQ ID NO. 1、7、9、10、11、12、13、14、16、17、18、22、24及32中之任一者中所述胺基酸序列之可變結構域的重鏈。在一個實施例中，本發明提供抗CD47抗體或其抗原結合片段，其包含具有包含如SEQ ID NO. 2、4、5、6、8、15、19、20、21、23、25、26、27、28、29及30中之任一者中所述胺基酸序列之可變結構域的輕鏈。在一個實施例中，本發明提供抗CD47抗體或其抗原結合片段，其包含具有包含如SEQ ID NO. 2、4、5、6、8、15、19、20、21、23、25、26、27、28、29及30中之任一者中所述胺基酸序列之可變結構域的輕鏈；及具有包含如SEQ ID NO. 1、7、9、10、11、12、13、14、16、17、18、22、24及32中之任一者中所述胺基酸序列之可變結構域的重鏈。

互補決定區(CDR)稱作輕鏈及重鏈可變結構域二者中之超變區。可變結構域之保守程度較高之部分稱為框架(FR)。給定抗體之互補決定區(CDR)及框架區(FR)可使用由Kabat等人(見上文)、Lefranc等人(見上文)及/或Honegger及Pluckthun (見上文)所述之系統鑑別。彼等熟習此項技術者亦熟悉以下中所述之編號系統：Kabat等人 (1991, NIH 公開案91-3242, National Technical Information Service, Springfield,

Va.)。就此而言，Kabat等人定義用於可變結構域序列且適用於任一抗體之編號系統。熟習此項技術者可明確地將此「Kabat編號」系統指定給任何可變結構域胺基酸序列，除序列本身外不依賴於任何實驗數據。

在某些實施例中，本發明提供包含如表5中所述之重鏈及輕鏈可變結構域之CDR (SEQ ID NO. 1至32) 的抗CD47抗體。舉例而言，本發明提供抗CD47抗體或其抗原結合片段，其包含具有如SEQ ID NO. 1、7、9、10、11、12、13、14、16、17、18、22、24及32中之任一者中所述胺基酸序列中所述之CDR的重鏈可變區。在一個實施例中，本發明提供抗CD47抗體或其抗原結合片段，其包含具有如SEQ ID NO. 2、4、5、6、8、15、19、20、21、23、25、26、27、28、29及30中之任一者中所述胺基酸序列中所述之CDR的輕鏈可變區。在一個實施例中，本發明提供抗CD47抗體或其抗原結合片段，其包含具有如SEQ ID NO. 2、4、5、6、8、15、19、20、21、23、25、26、27、28、29及30中之任一者中所述胺基酸序列中所述之CDR的輕鏈可變區；及具有如SEQ ID NO. 1、7、9、10、11、12、13、14、16、17、18、22、24及32中之任一者中所述胺基酸序列中所述之CDR的重鏈可變區。

可將一或多個CDR以共價或非共價方式納入分子中以製得抗原結合蛋白。抗原結合蛋白可納入CDR作為較大多肽鏈之一部分，可共價連接CDR與另一多肽鏈，或可以非共價方式納入CDR。CDR允許抗原結合蛋白特異性結合特定目標抗原。

在一個實施例中，本發明提供IgG類完全人類抗體，其結合至

CD47表位且具有與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之重鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、22、SEQ ID NO. 24、SEQ ID NO.32及其組合，且具有與由以下組成之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30及其組合。在一個實施例中，結合至CD47之IgG類抗體對CD47具有 10^{-6} M或更小之結合親和力。在一個實施例中，完全人類抗體具有重鏈及輕鏈二者，其中抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2 (本文中稱作C47A8)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作C47B10)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5 (本文中稱作C47B10-1H4S)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.8 (本文中稱作C47B10-1)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6 (本文中稱作C47B10-1F6S)、SEQ ID NO. 7/SEQ ID NO. 8 (本文中稱作C47B10-2A9S)、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8 (本文中稱作C47B10-2B11S)、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作C47B10-2B8S)、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作C47B10-2C1S)、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作C47B10-

2B9S)、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4 (本文中稱作C47B10-2C4S)、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-B1C)、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-C6C)、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-C3C)、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-D3C)、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15 (本文中稱作C47B10-C11C)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19 (本文中稱作C47K11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20 (本文中稱作C47KD8)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21 (本文中稱作C47KD9)、SEQ ID NO.22/SEQ ID NO.8 (本文中稱作C47B10-H3-D4)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.23 (本文中稱作C47 B10-L1A-A10)、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.8 (稱作C47B10-H3-D3)、SEQ ID NO.1/ SEQ ID NO.25 (本文中稱作C47B10-L1A-A4)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.26 (本文中稱作C47B10-L3-B2)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.27 (本文中稱作C47-A8-CA)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.28 (本文中稱作C47-A8-CL)、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.29 (本文中稱作C47-A8-CQ)及SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.30 (本文中稱作C47A8-CS)及其組合。

應注意，通篇闡述之抗CD47抗體意指名稱前具有或無「C47」。舉例而言，C47KD8通篇中係以C47KD8及KD8互換地提及使用。

在一個實施例中，本發明提供抗CD47抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1、7、9、10、11、12、13、14、16、17、18、22、24及32中之任一者中所述包含CDR3結構域的重鏈，且包括包含與如SEQ ID NO. 1、7、9、10、11、12、13、14、16、17、18、22、24及32中之任一者中所述序列具有至少95%、至少96%、至少97%、

至少98%或至少99%一致性之胺基酸序列的可變結構域。在一個實施例中，本發明提供抗CD47抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 2、4、5、6、8、15、19、20、21、23、25、26、27、28、29及30中之任一者中所述包含CDR3結構域的輕鏈，且具有包含與如SEQ ID NO. 2、4、5、6、8、15、19、20、21、23、25、26、27、28及30中之任一者中所述序列至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變結構域。因此，在某些實施例中，CDR3結構域保持恆定，而可向重鏈及/或輕鏈之剩餘CDR及/或框架區中引入可變性，而抗體或其抗原結合片段保留結合至CD47之能力並保留母體之功能特徵(例如結合親和力)。

在一個實施例中，重鏈或輕鏈內進行之至少95%一致(或至少96%一致、或至少97%一致、或至少98%一致、或至少99%一致)之取代係保守胺基酸取代。「保守胺基酸取代」係胺基酸殘基由具有具有類似化學性質(例如，電荷或疏水性)之側鏈(R基團)的另一胺基酸殘基取代者。一般而言，保守胺基酸取代將不實質上改變蛋白質之功能性質。倘若兩個或更多個胺基酸序列因保守取代而彼此不同，則可向上調節序列一致性百分比或類似性程度以校正取代之保守性質。進行此調節之方式為彼等熟習此項技術者所熟知。參見(例如) Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331，其以引用方式併入本文中。具有具有化學性質之側鏈之胺基酸之基團的實例包括(1) 脂肪族側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸；(2) 脂肪族-羥基側鏈：絲胺酸及蘇胺酸；(3) 含有醯胺之側鏈：天冬醯胺及麩醯胺酸；(4) 芳香族側鏈：苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸；(5) 鹼性側鏈：離胺酸、

精胺酸及組胺酸；(6) 酸性側鏈：天冬胺酸鹽及麩胺酸鹽及(7) 含硫側鏈係半胱胺酸及甲硫胺酸。

在一個實施例中，本發明係關於具有表5中所述抗體中之任一者之抗原結合區的抗體或其抗原結合片段。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47A8之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 2中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 2之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 2中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 4中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 4之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與

SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 4中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-1H4S之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 5中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 5之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 5中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-1之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 8中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 8之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本

發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 8中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-1F6S之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 6中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 6之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 6中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-2A9S之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 7中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 8中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 7之CDR之重鏈可變結構域及

包含SEQ ID NO. 8之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 7中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 8中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-2B11S之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 9中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 8中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 9之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 8之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 9中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 8中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-2B8S之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 10中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 4中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例

中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 10之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 4之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 10中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 4中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-2C1S之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 11中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 4中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 11之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 4之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 11中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 4中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-2B9S之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 12中所述之重鏈可變結構域

序列及如SEQ ID NO. 4中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 12之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 4之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 12中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 4中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-2C4S之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 13中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 4中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 13之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 4之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 13中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 4中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-B1C之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或

其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 14中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 15中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 14之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 15之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 14中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 15中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-C6C之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 16中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 15中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 16之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 15之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 16中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 15中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-C3C之抗原結

合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 32中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 15中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 32之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 15之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 32中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 15中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-D3C之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 17中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 15中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 17之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 15之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 17中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 15中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-C11C之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 18中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 15中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 18之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 15之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 18中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 15中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47K11之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 19中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 19之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 19中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕

鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47KD8之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 20中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 20之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 20中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47KD8之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 21中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 21之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 21中所述之序列至少95%一致、至少96%一

致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-H3-D4之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 19中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 19之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 19中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-L1A-A10之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 23中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 23之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可

變區，且包含具有與SEQ ID NO. 23中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-H3-D3之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 24中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 8中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 24之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 8之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 24中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 8中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-L1A-A4之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 25中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 25之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至

少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 25中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47B10-L3-B2之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 26中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 26之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 26中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47A8-CA之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 27中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 27之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具

有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 27中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47A8-CL之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 28中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 28之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 28中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47A8-CQ之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 29中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 29之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例

中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 29中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係關於具有抗體C47A8-CS之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO. 1中所述之重鏈可變結構域序列及如SEQ ID NO. 30中所述之輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，本發明係關於具有包含SEQ ID NO. 1之CDR之重鏈可變結構域及包含SEQ ID NO. 30之CDR之輕鏈可變結構域的抗體。在一個實施例中，本發明之特徵在於經分離人類抗體或其抗原結合片段，其包含具有與SEQ ID NO. 1中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的重鏈可變區，且包含具有與SEQ ID NO. 30中所述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

如表5中所述，重鏈可變序列SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO.32彼此共享至少95%一致性。

如表5中所述，多個輕鏈可變結構域具有與SEQ ID NO.2至少95%一致之胺基酸序列，包括SEQ ID NO. 27 (如針對抗體C47A8-CA所述)、SEQ ID NO. 28 (如針對抗體C47A8-CL所述)、SEQ ID NO. 29 (如針對抗體C47A8-CQ所述)及SEQ ID NO. 30 (如針對抗體C47A8-CS所述)。

多個輕鏈可變結構域具有與SEQ ID NO.27至少95%一致之胺基酸序列，包括SEQ ID NO. 2 (如針對抗體C47A8所述)、SEQ ID NO. 28 (如針對抗體C47A8-CL所述)、SEQ ID NO. 29 (如針對抗體C47A8-CQ所述)及SEQ ID NO. 30 (如針對抗體C47A8-CS所述)。

多個輕鏈可變結構域具有與SEQ ID NO.28至少95%一致之胺基酸序列，包括SEQ ID NO. 2 (如針對抗體C47A8所述)、SEQ ID NO. 27 (如針對抗體C47A8-CA所述)、SEQ ID NO. 29 (如針對抗體C47A8-CQ所述)及SEQ ID NO. 30 (如針對抗體C47A8-CS所述)。

多個輕鏈可變結構域具有與SEQ ID NO.29至少95%一致之胺基酸序列，包括SEQ ID NO. 2 (如針對抗體C47A8所述)、SEQ ID NO. 27 (如針對抗體C47A8-CA所述)、SEQ ID NO. 28 (如針對抗體C47A8-CL所述)及SEQ ID NO. 30 (如針對抗體C47A8-CS所述)。

多個輕鏈可變結構域具有與SEQ ID NO.30至少95%一致之胺基酸序列，包括SEQ ID NO. 2 (如針對抗體C47A8所述)、SEQ ID NO. 27 (如針對抗體C47A8-CA所述)、SEQ ID NO. 28 (如針對抗體C47A8-CL所述)及SEQ ID NO. 29 (如針對抗體C47A8-CQ所述)。

多個輕鏈可變結構域具有與SEQ ID NO.8至少95%一致之胺基酸序列，包括SEQ ID NO. 26 (如針對抗體C47B10-L3-B2所述)、SEQ ID

NO. 25 (如針對抗體C47B10-L1A-A4所述)、SEQ ID NO. 23 (如針對抗體C47B10-L1A-A10所述)、SEQ ID NO. 15 (如針對抗體C47B10-C11C、C47B10-D3C、C47B10-C3C、C47B10-C6C、C47B10-B1C所述)、SEQ ID NO. 6 (如針對抗體C47B10-1F6S所述)、SEQ ID NO.5 (如針對抗體C47B10-1H4S所述)及SEQ ID NO. 4 (如針對抗體C47B10、C47B10-2B8S、C47B10-2C1S、C47B10-2B9S、C47B10-2C4S所述)。

多個輕鏈可變結構域具有與SEQ ID NO.4至少95%一致之胺基酸序列，包括SEQ ID NO. 26 (如針對抗體C47B10-L3-B2所述)、SEQ ID NO. 25 (如針對抗體C47B10-L1A-A4所述)、SEQ ID NO. 23 (如針對抗體C47B10-L1A-A10所述)、SEQ ID NO. 15 (如針對抗體C47B10-C11C、C47B10-D3C、C47B10-C3C、C47B10-C6C、C47B10-B1C所述)、SEQ ID NO. 6 (如針對抗體C47B10-1F6S所述)、SEQ ID NO.5 (如針對抗體C47B10-1H4S所述)及SEQ ID NO. 8 (如針對抗體C47B10-1、C47B10-2A9S、C47B10-2B11S、C47B10-H3-D4、C47B10-H3-D3所述)。

多個輕鏈可變結構域具有與SEQ ID NO.5至少95%一致之胺基酸序列，包括SEQ ID NO. 26 (如針對抗體C47B10-L3-B2所述)、SEQ ID NO. 25 (如針對抗體C47B10-L1A-A4所述)、SEQ ID NO. 23 (如針對抗體C47B10-L1A-A10所述)、SEQ ID NO. 15 (如針對抗體C47B10-C11C、C47B10-D3C、C47B10-C3C、C47B10-C6C、C47B10-B1C所述)、SEQ ID NO. 6 (如針對抗體C47B10-1F6S所述)、SEQ ID NO. 4 (如針對抗體C47B10、C47B10-2B8S、C47B10-2C1S、C47B10-

2B9S、C47B10-2C4S所述)及SEQ ID NO. 8 (如針對抗體C47B10-1、C47B10-2A9S、C47B10-2B11S、C47B10-H3-D4、C47B10-H3-D3所述)。

多個輕鏈可變結構域具有與SEQ ID NO.6至少95%一致之胺基酸序列，包括SEQ ID NO. 26 (如針對抗體C47B10-L3-B2所述)、SEQ ID NO. 25 (如針對抗體C47B10-L1A-A4所述)、SEQ ID NO. 23 (如針對抗體C47B10-L1A-A10所述)、SEQ ID NO. 15 (如針對抗體C47B10-C11C、C47B10-D3C、C47B10-C3C、C47B10-C6C、C47B10-B1C所述)、SEQ ID NO.5 (如針對抗體C47B10-1H4S所述)、SEQ ID NO. 4 (如針對抗體C47B10、C47B10-2B8S、C47B10-2C1S、C47B10-2B9S、C47B10-2C4S所述)及SEQ ID NO. 8 (如針對抗體C47B10-1、C47B10-2A9S、C47B10-2B11S、C47B10-H3-D4、C47B10-H3-D3所述)。

多個輕鏈可變結構域具有與SEQ ID NO.15至少95%一致之胺基酸序列，包括SEQ ID NO. 26 (如針對抗體C47B10-L3-B2所述)、SEQ ID NO. 25 (如針對抗體C47B10-L1A-A4所述)、SEQ ID NO. 23 (如針對抗體C47B10-L1A-A10所述)、SEQ ID NO.5 (如針對抗體C47B10-1H4S所述)、SEQ ID NO. 6 (如針對抗體C47B10-1F6S所述)、SEQ ID NO. 4 (如針對抗體C47B10、C47B10-2B8S、C47B10-2C1S、C47B10-2B9S、C47B10-2C4S所述)及SEQ ID NO. 8 (如針對抗體C47B10-1、C47B10-2A9S、C47B10-2B11S、C47B10-H3-D4、C47B10-H3-D3所述)。

多個輕鏈可變結構域具有與SEQ ID NO.23至少95%一致之胺基酸

序列，包括SEQ ID NO. 26 (如針對抗體C47B10-L3-B2所述)、SEQ ID NO. 25 (如針對抗體C47B10-L1A-A4所述)、SEQ ID NO. 15 (如針對抗體 C47B10-C11C 、 C47B10-D3C 、 C47B10-C3C 、 C47B10-C6C 、 C47B10-B1C所述)、SEQ ID NO.5 (如針對抗體C47B10-1H4S所述)、SEQ ID NO. 6 (如針對抗體C47B10-1F6S所述)、SEQ ID NO. 4 (如針對抗體 C47B10 、 C47B10-2B8S 、 C47B10-2C1S 、 C47B10-2B9S 、 C47B10-2C4S所述)及SEQ ID NO. 8 (如針對抗體C47B10-1、C47B10-2A9S、C47B10-2B11S、C47B10-H3-D4、C47B10-H3-D3所述)。

多個輕鏈可變結構域具有與SEQ ID NO.25至少95%一致之胺基酸序列，包括SEQ ID NO. 26 (如針對抗體C47B10-L3-B2所述)、SEQ ID NO. 23 (如針對抗體C47B10-L1A-A10所述)、SEQ ID NO. 15 (如針對抗體 C47B10-C11C 、 C47B10-D3C 、 C47B10-C3C 、 C47B10-C6C 、 C47B10-B1C所述)、SEQ ID NO.5 (如針對抗體C47B10-1H4S所述)、SEQ ID NO. 6 (如針對抗體C47B10-1F6S所述)、SEQ ID NO. 4 (如針對抗體 C47B10 、 C47B10-2B8S 、 C47B10-2C1S 、 C47B10-2B9S 、 C47B10-2C4S所述)及SEQ ID NO. 8 (如針對抗體 C47B10-1)、C47B10-2A9S、C47B10-2B11S、C47B10-H3-D4、C47B10-H3-D3所述)。

多個輕鏈可變結構域具有與SEQ ID NO.26至少95%一致之胺基酸序列，包括SEQ ID NO. 25 (如針對抗體C47B10-L1A-A4所述)、SEQ ID NO. 23 (如針對抗體C47B10-L1A-A10所述)、SEQ ID NO. 15 (如針對抗體 C47B10-C11C 、 C47B10-D3C 、 C47B10-C3C 、 C47B10-C6C 、 C47B10-B1C所述)、SEQ ID NO.5 (如針對抗體C47B10-1H4S所述)、

SEQ ID NO. 6 (如針對抗體C47B10-1F6S所述)、SEQ ID NO. 4 (如針對抗體C47B10、C47B10-2B8S、C47B10-2C1S、C47B10-2B9S、C47B10-2C4S所述)及SEQ ID NO. 8 (如針對抗體C47B10-1、C47B10-2A9S、C47B10-2B11S、C47B10-H3-D4、C47B10-H3-D3所述)。

抗原結合蛋白(例如，抗體、抗體片段、抗體衍生物、抗體突變蛋白及抗體變體)係結合至CD47之多肽。

本發明之抗原結合蛋白之抗原結合片段可藉由習用技術產生。該等片段之實例包括(但不限於)Fab及F(ab')₂片段。

單鏈抗體可藉由經由胺基酸橋(短肽連接體)連接重鏈及輕鏈可變結構域(Fv區)片段而產生單多肽鏈來形成。該單鏈Fv (scFv)可藉由將編碼肽連接體之DNA融合在編碼兩個可變結構域多肽(V_L及V_H)的DNA之間來製備。可使所得多肽自身摺疊以形成抗原結合單體，或根據兩個可變結構域之間之撓性連接體的長度而定，其可形成多聚體(例如二聚體、三聚體或四聚體)(Kortt等人，1997, *Prot. Eng.* 10:423；Kortt等人，2001, *Biomol. Eng.* 18:95-108)。藉由組合包含不同V_L及V_H之多肽，可形成結合至不同表位之多聚體scFv (Kriangkum等人，2001, *Biomol. Eng.* 18:31-40)。經研發用於產生單鏈抗體之技術包括彼等闡述於以下中者：美國專利4,946,778；Bird, 1988, *Science* 242:423；Huston等人，1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879；Ward等人，1989, *Nature* 334:544, de Graaf等人，2002, *Methods Mol. Biol.* 178:379-87。

在某些實施例中，本發明提供具有重鏈之可變結構域區及輕鏈之可變結構域區之Fab完全人類抗體片段，其中重鏈可變結構域序列

與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24、SEQ ID NO. 32及其組合，且其具有之輕鏈可變結構域序列與由以下組成之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30及其組合。在一個實施例中，完全人類抗體Fab片段具有重鏈可變結構域區及輕鏈可變結構域區，其中抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 7/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 22/SEQ ID NO. 8、SEQ ID

NO.1/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.29及SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.30。

在一個實施例中，本發明提供單鏈人類抗體，其具有重鏈之可變結構域區及輕鏈之可變結構域區及連接重鏈及輕鏈可變結構域區之肽連接體，其中重鏈可變結構域序列與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32，且其具有之輕鏈可變結構域序列與由以下組成之胺基酸序列至少95%一致：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30。在一個實施例中，完全人類單鏈抗體具有重鏈可變結構域區及輕鏈可變結構域區二者，其中單鏈完全人類抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 7/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 11/SEQ

ID NO. 4、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 22/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 24/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 29、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 30及其組合。

已知自目標抗體衍生不同亞類或同型之抗體的技術，即亞類切換。因此，IgG抗體可衍生自(例如) IgM抗體，且反之亦然。該等技術使得可製備新抗體，其具有給定抗體(親代抗體)之抗原結合性質，但亦呈現與不同於親代抗體之抗體同型或亞類相關的生物性質。可採用重組DNA技術。該等程序中可採用編碼特定抗體多肽之經選殖DNA，例如編碼期望同型之抗體之恆定結構域的DNA (Lantto等人，2002, *Methods Mol. Biol.* 178:303-16)。此外，若IgG4合意，則亦可期望在鉸鏈區中引入點突變(CPSC->CPPC) (分別SEQ ID NOS 30及31) (Bloom等人，1997, *Protein Science* 6:407)以緩和形成H鏈內二硫鍵之趨勢，其可導致IgG4抗體中之異質性。因此，在一個實施例中，本發明抗體係人類IgG1抗體。因此，在一個實施例中，本發明抗體係人類IgG4抗體。

本發明提供結構上特徵在於其可變結構域區之胺基酸序列之多

種抗體。然而，胺基酸序列可經歷一些改變，同時保留與其特異性靶標之高精度結合。更特定而言，可變結構域區中之許多胺基酸可經改變具有保守取代且可預測所得抗體之結合特徵將不會不同於野生型抗體序列之結合特徵。抗體可變結構域中存在許多並不與抗原直接相互作用或影響抗原結合之胺基酸且其並不對於測定抗體結構至關重要。舉例而言，所揭示抗體中之任一者中之預測非必需胺基酸殘基較佳經來自相同種類之另一胺基酸殘基置換。鑑別不消除抗原結合之胺基酸保守取代之方法為業內所熟知(例如，參見Brummell等人，*Biochem.* 32: 1180-1187 (1993)；Kobayashi等人 *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999)；及 Burks 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:412-417 (1997))。Near等人，*Mol. Immunol.* 30:369-377, 1993解釋如何經由定點誘變影響或不影響結合。Near等人僅使其認為具有改變抗體結合之高機率之殘基突變。大部分對結合親和力具有中等或陰性效應(Near等人，表3)且結合至地高辛(digoxin)之不同形式(Near等人表2)。因此，在某些實施例中，本發亦包括與本文揭示之彼等序列具有至少95%一致性之可變序列。

在某些實施例中，本文提供之抗體或其抗原結合片段之解離常數(K_D)為 1×10^{-6} M或更小； 5×10^{-7} M或更小； 1×10^{-7} M或更小； 5×10^{-8} M或更小； 1×10^{-8} M或更小； 5×10^{-9} M或更小；或 1×10^{-9} M或更小。在一個實施例中，本發明之抗體或其抗原結合片段以 K_D 表示係 1×10^{-7} M至 1×10^{-10} M。在一個實施例中，本發明之抗體或其抗原結合片段以 K_D 表示係 1×10^{-8} M至 1×10^{-10} M。

彼等熟習此項技術者將瞭解已知用於測定抗體或其片段之 K_D 之

標準方法。舉例而言，在一個實施例中， K_D 係藉由經放射標記之抗原結合分析(RIA)來量測。在一個實施例中，RIA係利用目標抗體及其抗原之Fab型式實施。舉例而言，Fab對抗原之溶液結合親和力係藉由以下來量測：在滴定系列之未標記抗原存在下，利用最低濃度之(^{125}I)標記之抗原平衡Fab，隨後利用抗Fab抗體塗佈之板捕獲所結合抗原(例如，參見Chen等人，J. Mol. Biol. 293:865-881(1999))。

根據另一實施例， K_d 係使用BIACORE表面電漿共振分析來量測。如本文所用術語「表面電漿共振」係指使得可藉由使用(例如)BIACORE系統(Biacore Life Sciences division of GE Healthcare, Piscataway, NJ)檢測生物感測器基質內之蛋白質濃度變化來分析實時相互作用之光學現象。

在特定實施例中，本發明之抗原結合蛋白對於CD47具有至少 10^6 M^{-1} 之結合親和力(K_a)。在其他實施例中，抗原結合蛋白展現至少 10^7 M^{-1} 、至少 10^8 M^{-1} 、至少 10^9 M^{-1} 或至少 10^{10} M^{-1} 之 K_a 。在另一實施例中，抗原結合蛋白展現與實例中本文所述抗體之 K_a 實質上相同之 K_a 。

在另一實施例中，本發明提供具有自CD47之低解離速率之抗原結合蛋白。在一個實施例中，抗原結合蛋白具有 1×10^{-4} 至 $^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 或更低之 K_{off} 。在另一實施例中， K_{off} 係 5×10^{-5} 至 $^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 或更低。在另一實施例中， K_{off} 與本文所述抗體實質上相同。在另一實施例中，抗原結合蛋白以與本文所述抗體實質上相同之 K_{off} 結合至CD47。

在另一態樣中，本發明提供抑制CD47之活性之抗原結合蛋白。在一個實施例中，抗原結合蛋白具有1000 nM或更低之 IC_{50} 。在另一實施例中， IC_{50} 係100 nM或更低；在另一實施例中， IC_{50} 係10 nM或更

低。在另一實施例中， IC_{50} 與實例中本文所述抗體之 IC_{50} 實質上相同。在另一實施例中，抗原結合蛋白以與本文所述抗體實質上相同之 IC_{50} 抑制CD47之活性。

在另一態樣中，本發明提供抗原結合蛋白，其結合至在細胞表面上表現之CD47且在如此結合時抑制細胞中之CD47信號傳導活性，而不引起細胞表面上之CD47之量顯著減少。可使用測定或估計表面上或細胞內部CD47之量的任何方法。在其他實施例中，抗原結合蛋白與表現CD47之細胞之結合引起小於約75%、50%、40%、30%、20%、15%、10%、5%、1%或0.1%之細胞表面CD47內化。

在一個實施例中，本文所述抗CD47抗體及抗體片段結合至CD47且促進表現CD47之腫瘤細胞之巨噬細胞介導之吞噬作用。由巨噬細胞之吞噬作用依賴於靶細胞上促吞噬(「吃我」)及抗吞噬(「不要吃我」)信號之細胞之識別。抗CD47封阻抗體及抗體片段(例如本文所述彼等)藉由抑制抗吞噬信號從而使促吞噬信號佔主導來誘導癌細胞之巨噬細胞吞噬作用(Majeti等人 (2009) *Cell* 138(2):286-299 ; Willingham等人 (2012) *Proc Natl Acad Sci USA*

109(17):6662-6667)。因此，在一個實施例中，本文揭示之抗體或抗體片段防止CD47與CD47配體SIRP α 相互作用。

在另一態樣中，本發明提供活體外或活體內半衰期為至少一天(例如，在投與人類個體時)之抗原結合蛋白。在一個實施例中，抗原結合蛋白之半衰期為至少3天。在另一實施例中，抗原結合蛋白之半衰期為4天或更長時間。在另一實施例中，抗原結合蛋白之半衰期為8天或更長時間。在另一實施例中，抗原結合蛋白經衍生或修飾以使其

與未衍生或未修飾之抗原結合蛋白相比具有較長半衰期。在另一實施例中，抗原結合蛋白含有一或多個點突變以增加血清半衰期，例如以引用方式併入本文中之WO00/09560中所述。

本發明進一步提供多特異性抗原結合蛋白，例如，雙特異性抗原結合蛋白，例如經由兩個不同抗原結合位點或區結合至CD47之兩個不同表位、或CD47之表位及另一分子之表位的抗原結合蛋白。此外，如本文揭示之雙特異性抗原結合蛋白可包含來自本文所述抗體中之一者之CD47結合位點及來自本文所述抗體中之另一者之第二CD47結合區，包括藉由參照其他公開案之本文所述彼等。或者，雙特異性抗原結合蛋白可包含來自本文所述抗體中之一者之抗原結合位點及來自業內已知之另一CD47抗體或來自藉由已知方法或本文所述方法製備之抗體的第二抗原結合位點。

多種製備雙特異性抗體之方法為業內已知。該等方法包括使用如由Milstein等人，1983, *Nature* 305:537所述之雜交-雜交瘤以及抗體片段之化學偶合(Brennan等人，1985, *Science* 229:81；Glennie等人，1987, *J. Immunol.* 139:2367；美國專利6,010,902)。此外，雙特異性抗體可經由重組方式、例如藉由使用白胺酸拉鍊部分(即，來自*Fos*及*Jun*蛋白，其優先形成異二聚體；Kostelny等人，1992, *J. Immunol.* 148:1547)或如美國專利5,582,996中所述之其他鎖與鑰匙相互作用性結構域結構來產生。其他有用之技術包括彼等闡述於美國專利5,959,083及5,807,706中者。

在另一態樣中，抗原結合蛋白包含抗體之衍生物。衍生之抗體可包含賦予抗體期望性質(例如特定用途中之增加半衰期)之任一分子

或物質。衍生之抗體可包含(例如)可檢測(或標記)部分(例如，放射性、比色、抗原性或酶分子)、可檢測珠粒(例如磁性或電子緻密(例如，金)珠粒)、或結合至另一分子(例如，生物素或鏈黴抗生物素)之分子、治療或診斷部分(例如，放射性、細胞毒性或醫藥活性部分)、或增加抗體對於特定用途(例如，投與個體(例如人類個體)、或其他活體內或活體外用途)之適用性之分子。可用於衍生化抗體之分子之實例包括白蛋白(例如，人類血清白蛋白)及聚乙二醇(PEG)。抗體之白蛋白連接及聚乙二醇化衍生物可使用業內熟知之技術製備。在一個實施例中，抗體偶聯或以其他方式連接至轉甲狀腺素蛋白(TTR)或TTR變體。TTR或TTR變體可經(例如)選自由以下組成之群之化學物質化學修飾：葡聚糖、聚(n-乙基吡咯啉酮)、聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙烯多元醇及聚乙醇。

可採用含有一或多種抗原結合蛋白之寡聚物作為CD47拮抗劑。寡聚物可呈共價連接或非共價連接之二聚體、三聚體或更高寡聚物形式。涵蓋使用包含兩種或更多種抗原結合蛋白之寡聚物，其中一個實例係同二聚體。其他寡聚物包括異二聚體、同三聚體、異三聚體、同四聚體、異四聚體等。

一個實施例係關於包含經由融合至抗原結合蛋白之肽部分之間之共價或非共價相互作用接合的多種抗原結合蛋白之寡聚物。該等肽可為肽連接體(間隔體)或具有促進寡聚化之性質的肽。白胺酸拉鍊及某些衍生自抗體之多肽屬可促進肽所附接抗原結合蛋白之寡聚化的肽，如下文更詳細地闡述。

在特定實施例中，寡聚物包含兩種至四種抗原結合蛋白。寡聚

物之抗原結合蛋白可呈任何形式，例如上文所述形式中之任一者，例如變體或片段。較佳地，寡聚物包含具有CD47結合活性之抗原結合蛋白。

在一個實施例中，使用衍生自免疫球蛋白之多肽來製備寡聚物。包含某些與抗體衍生多肽之各部分(包括Fc結構域)融合的異源多肽之融合蛋白的製備已闡述於(例如)以下文獻中：Ashkenazi等人，1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:10535；Byrn等人，1990, *Nature* 344:677；及 Hollenbaugh 等人，1992 「Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins」，*Current Protocols in Immunology*，第4增刊，第10.19.1-10.19.11頁。

一個實施例係關於包含藉由將抗CD47抗體之CD47結合片段融合至抗體之Fc區生成之兩種融合蛋白的二聚體。二聚體可藉由(例如)以下方式來製備：將編碼融合蛋白之融合基因插入適當表現載體中，在經重組表現載體轉變之宿主細胞中表現該融合基因，並使得可以非常類似抗體分子之方式裝配所表現融合蛋白，其後在Fc部分之間形成鏈間二硫鍵以產生二聚體。

製備寡聚物抗原結合蛋白之另一方法涉及使用白胺酸拉鍊。白胺酸拉鍊結構域係促進發現有該等結構域之蛋白質寡聚化的肽。白胺酸拉鍊最初係在若干種DNA結合蛋白中鑑別出(Landschultz等人，1988, *Science* 240:1759)，且此後發現其存於多種不同蛋白質中。已知白胺酸拉鍊係天然存在肽及其二聚化或三聚化之衍生物。適於產生可溶性寡聚物蛋白質之白胺酸拉鍊結構域的實例闡述於WO 94/10308中，且衍生自肺表面活性劑蛋白質D (SPD)之白胺酸拉鍊闡述於

Hoppe等人，1994, *FEBS Letters* 344:191中。允許異源蛋白之穩定三聚化的經修飾白胺酸拉鍊(異源蛋白與其融合)之使用闡述於Fanslow等人，1994, *Semin. Immunol.* 6:267-78中。在一種方法中，在適宜宿主細胞中表現包含融合至白胺酸拉鍊肽之抗CD47抗體片段或衍生物之重組融合蛋白，且自培養上清液回收形成之可溶性寡聚物抗CD47抗體片段或衍生物。

針對CD47之抗原結合蛋白可用於(例如)分析中以檢測活體外或活體內CD47多肽之存在。抗原結合蛋白亦可用於藉由免疫親和層析純化CD47蛋白。封阻抗原結合蛋白可用於本文揭示之方法中。用作CD47拮抗劑之該等抗原結合蛋白可用於治療任何CD47誘導之病況，包括(但不限於)各種癌症。

抗原結合蛋白可用於活體外程序，或活體內投與以抑制CD47誘導之生物活性。因此可治療受益於(直接或間接)(例如)CD47之蛋白水解活化之病況，本文提供該等實例。

在一個實施例中，本發明提供治療方法，其包含向有其需要之哺乳動物活體內投與有效降低CD47誘導之生物活性之量的CD47封阻抗原結合蛋白。

在本發明之某些實施例中，抗原結合蛋白包括抑制CD47之生物活性(例如CD47與SIRP α 之結合)之完全人類單株抗體。

包括本文所述抗體及抗體片段之抗原結合蛋白可藉由多種習用技術中之任一者製備。舉例而言，其可自天然表現其之細胞純化(例如，抗體可自產生其之雜交瘤純化)，或使用業內已知之任何技術在重組表現系統中產生。參見(例如) *Monoclonal Antibodies*,

Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses, Kennet等人 (編輯), Plenum Press, New York (1980); 及 Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow及Land (編輯), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1988)。

可使用業內已知之任何表現系統來製備重組多肽，包括本發明之本文所述抗體及抗體片段。一般而言，宿主細胞係經包含編碼期望多肽之DNA之重組表現載體轉型。其中可採用之宿主細胞係原核生物、酵母或更高級真核細胞。原核生物包括革蘭氏(gram)陰性或革蘭氏陽性有機體，例如大腸桿菌或芽孢桿菌。更高級真核細胞包括昆蟲細胞及哺乳動物來源之確立細胞系。適宜哺乳動物宿主細胞系之實例包括猴腎細胞之COS-7系(ATCC CRL 1651) (Gluzman等人，1981, *Cell* 23:175)、L細胞、293細胞、C127細胞、3T3細胞(ATCC CCL 163)、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、HeLa細胞、BHK (ATCC CRL 10)細胞系及衍生自非洲綠猴腎細胞系CV1之CV1/EBNA細胞系(ATCC CCL 70)，如由McMahan等人，1991, *EMBO J.* 10: 2821所述。與細菌、真菌、酵母及哺乳動物細胞宿主一起使用之適當選殖及表現載體係由Pouwels等人(*Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, N.Y., 1985)闡述。

經轉變細胞可在促進多肽之表現之條件下培養，且多肽係藉由習用蛋白質純化程序回收。一種此純化程序包括(例如)在上面結合全部或一部分(例如，細胞外結構域) CD47之基質上使用親和層析。本文使用所涵蓋之多肽包括實質上不含污染內源物質之實質上均相重組哺乳動物抗CD47抗體多肽。

可藉由多種已知技術中之任一者針對期望性質製備並篩選抗原結合蛋白。某些技術涉及分離編碼目標抗原結合蛋白(例如，抗CD47抗體)之多肽鏈(或其一部分)的核酸，及經由重組DNA技術操縱核酸。例如，可將核酸融合至另一目標核酸，或改變(例如，藉由誘變或其他習用技術)以增加、刪除或取代一或多個胺基酸殘基。

本發明之多肽可使用業內已知之任何標準方法製備。在一個實例中，多肽係藉由重組DNA方法藉由向重組表現載體中插入編碼多肽之核酸序列(例如，cDNA)及使DNA序列在促進表現之條件下表現來產生。

可化學合成編碼任一本文所揭示各種多肽之核酸。可選擇密碼子使用以改良在細胞中之表現。此等密碼子使用將取決於所選細胞類型。已針對大腸桿菌及其他細菌、以及哺乳動物細胞、植物細胞、酵母細胞及昆蟲細胞研發專門的密碼子使用模式。參見(例如)：Mayfield等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003 100(2):438-42；Sinclair等人 *Protein Expr. Purif.* 2002 (1):96-105；Connell N D. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2001 12(5):446-9；Makrides等人，*Microbiol. Rev.* 1996 60(3):512-38；及Sharp等人，*Yeast*. 1991 7(7):657-78。

核酸操縱之一般技術闡述於(例如)以下文獻中：Sambrook等人，*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*，第1至3卷，Cold Spring Harbor Laboratory Press，第2版，1989，或F. Ausubel等人，*Current Protocols in Molecular Biology* (Green Publishing and Wiley-Interscience: New York, 1987)及週期性更新，其以引用方式併入本文中。編碼多肽之DNA可操作地連接至衍生自哺乳動物、病毒或昆蟲基

因之適宜轉錄或轉譯調控元件。此等調控元件包括轉錄啟動子、控制轉錄之可選操縱子序列、編碼適宜mRNA核糖體結合位點之序列及控制轉錄及轉譯終止之序列。另外納入在宿主中複製之能力以幫助識別轉變體，該能力一般藉由複製起點及選擇基因賦予。

重組DNA亦可包括可用於純化蛋白質之任一類型之蛋白質標籤序列。蛋白質標籤之實例包括(但不限於)組胺酸標籤、FLAG標籤、myc標籤、HA標籤或GST標籤。與細菌、真菌、酵母及哺乳動物細胞宿主一起使用之適當選殖及表現載體可參見 *Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, (Elsevier, N.Y., 1985)。

使用適於宿主細胞之方法向宿主細胞中引入表現構築體。向宿主細胞中引入核酸之多種方法為業內已知，包括但不限於電穿孔；採用氯化鈣、氯化銣、磷酸鈣、DEAE-聚葡萄糖或其他受質之轉染；微粒轟擊；脂轉染；及感染(其中載體係傳染原)。適宜宿主細胞包括原核生物、酵母、哺乳動物細胞或細菌細胞。適宜細菌包括革蘭氏陰性或革蘭氏陽性有機體，例如大腸桿菌或芽孢桿菌屬(*Bacillus spp*)。較佳地，亦可使用來自酵母菌種之酵母(例如釀酒酵母(*S. cerevisiae*)來產生多肽。亦可採用各種哺乳動物或昆蟲細胞培養系統來表現重組蛋白質。用於在昆蟲細胞中產生異源蛋白質之桿狀病毒系統係由Luckow及Summers綜述(*Bio/Technology*, 6:47, 1988)。適宜哺乳動物宿主細胞系之實例包括內皮細胞、COS-7猴腎細胞、CV-1、L細胞、C127、3T3、中國倉鼠卵巢(CHO)、人類胚胎腎細胞、HeLa、293、293T及BHK細胞系。藉由培養適宜宿主/載體系統以表現重組蛋白質來製備經純化多肽。對於許多應用而言，本文揭示之許多多肽之小尺

寸將使在大腸桿菌中之表現成為較佳表現方法。隨後自培養基或細胞提取物純化蛋白質。

本文揭示之蛋白質亦可使用細胞轉譯系統產生。出於此等目的，編碼多肽之核酸必須經修飾以允許進行活體外轉錄，從而產生 mRNA，並允許 mRNA 在所用無特定細胞之系統(無真核生物(例如哺乳動物或酵母)細胞之轉譯系統或無原核生物(例如細菌細胞)之轉譯系統)中進行無細胞轉譯。結合 CD47 之多肽亦可藉由化學合成(例如，藉由闡述於 Solid Phase Peptide Synthesis, 第 2 版, 1984, The Pierce Chemical Co., Rockford, IL 中之方法)產生。蛋白質之修飾亦可藉由化學合成產生。本發明之多肽可藉由蛋白質化學領域中通常已知之用於蛋白質之分離/純化方法來純化。非限制性實例包括萃取、再結晶、鹽析(例如，利用硫酸銨或硫酸鈉)、離心、透析、超濾、吸附層析、離子交換層析、疏水層析、正相層析、反相層析、凝膠過濾、凝膠滲透層析、親和層析、電泳、反流分佈或該等方法之任何組合。在純化後，多肽可交換至不同緩衝液中及/或藉由業內已知多種方法中之任一者(包括但不限於過濾及透析)來濃縮。經純化多肽為較佳至少 85% 純、更佳至少 95% 純且最佳至少 98% 純。無論純度之確切數值為多少，多肽之純度均足以用作醫藥產品。

在某些實施例中，本發明提供結合至 CD47 之單株抗體。單株抗體可使用業內已知之任何技術、例如藉由使在免疫方案完成後自轉基因動物收穫之脾細胞無限增殖來產生。可使用業內已知之任何技術使脾細胞無限增殖，例如藉由將其與骨髓瘤細胞融合來產生雜交瘤。用於產生雜交瘤之融合程序中的骨髓瘤細胞較佳不產生抗體，具有高融

合效率，且具有使其不能在某些僅支持期望融合細胞(雜交瘤)生長之選擇性培養基中生長的酶缺陷。用於小鼠融合中之適宜細胞系的實例包括Sp-20、P3-X63/Ag8、P3-X63-Ag8.653、NS1/1.Ag 4 1、Sp210-Ag14、FO、NSO/U、MPC-11、MPC11-X45-GTG 1.7及S194/5XX0 Bul；用於大鼠融合之細胞系的實例包括R210.RCY3、Y3-Ag 1.2.3、IR983F及48210。用於細胞融合之其他細胞系係U-266、GM1500-GRG2、LICR-LON-HMy2及UC729-6。

抗體之片段或類似物可由彼等熟習此項技術者遵循本說明書之教示且使用業內已知之技術容易地製備。片段或類似物之較佳胺基-及羧基-末端出現在功能結構域之邊界附近。結構及結構域可藉由比較核苷酸及/或胺基酸序列數據與公共或專利序列資料庫來鑑別。可使用電腦化比較方法以鑑別在已知結構及/或功能之其他蛋白質中出現之序列基序或預測之蛋白質構象結構域。已知鑑別摺疊成已知三維結構之蛋白質序列的方法。參見Bowie等人，1991, *Science* 253:164。

多肽之轉譯後修飾

在某些實施例中，本發明之結合多肽可進一步包含轉譯後修飾。實例性轉譯後蛋白質修飾包括多肽側鏈或疏水基團之磷酸化、乙醯化、甲基化、ADP-核糖基化、泛蛋白化、糖基化、羰基化、sumo化、生物素化或添加。因此，經修飾可溶性多肽可含有非胺基酸元件，例如脂質、多糖或單糖及磷酸鹽。糖基化之較佳形式係唾液酸化，其將一或多個唾液酸部分偶聯至多肽。唾液酸部分改良溶解性及血清半衰期，同時亦降低蛋白質之可能免疫原性。參見Raju等人，*Biochemistry*. 2001 31；40(30):8868-76。

在一個實施例中，標的可溶性多肽之經修飾形式包含將標的可溶性多肽連接至非蛋白質性聚合物。在一個實施例中，以如美國專利 4,640,835；4,496,689；4,301,144；4,670,417；4,791,192 或 4,179,337 中所述方式，聚合物係聚乙二醇(「PEG」)、聚丙二醇或聚氧化烯。

PEG 係有市售或可藉由乙二醇之開環聚合根據業內熟知之方法製備的水溶性聚合物(Sandler及Karo, Polymer Synthesis, Academic Press, New York, 第3卷, 第138-161頁)。術語「PEG」廣泛地用於涵蓋任何聚乙二醇分子，而與PEG之大小或末端之修飾無關，且可由下式代表： $X-O(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2OH$ (1)，其中 n 係 20 至 2300 且 X 係 H 或末端修飾，例如 C_{1-4} 烷基。在一個實施例中，本發明之 PEG 在一端上以羥基或甲氧基封端，即 X 係 H 或 CH_3 (「甲氧基 PEG」)。PEG 可含有其他化學基團，其係結合反應所需；其自分子之化學合成產生；或其係分子之部分之最佳距離的間隔體。另外，此 PEG 可由一或多個連接在一起之 PEG 側鏈組成。具有一個以上 PEG 鏈之 PEG 稱作多臂或具支鏈 PEG。具支鏈 PEG 可(例如)藉由向各種多元醇(包括甘油、新戊四醇及山梨醇)添加聚氧化乙烯來製備。舉例而言，四臂具支鏈 PEG 可自新戊四醇及氧化乙烯製備。具支鏈 PEG 闡述於(例如) EP-A 0 473 084 及美國專利 5,932,462 中。PEG 之一種形式包括經由離胺酸之一級胺基連接之兩個 PEG 側鏈(PEG2) (Monfardini 等人, *Bioconjugate Chem.* 6 (1995) 62-69)。

相對於未經修飾之結合多肽之清除率，PEG 修飾之多肽之血清清除率可減少約 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80% 或甚至 90%。PEG 修飾之多肽之半衰期($t_{1/2}$)可相對於未經修飾蛋白質之半

衰期增強。相對於未經修飾之結合多肽之半衰期，PEG-結合多肽之半衰期可增強至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、125%、150%、175%、200%、250%、300%、400%或500%或甚至1000%。在一些實施例中，在活體外(例如在換成鹽水溶液或血清)中測定蛋白質半衰期。在其他實施例中，蛋白質半衰期係活體內半衰期，例如動物之血清或其他體液中之蛋白質之半衰期。

治療方法、調配物及投與方式

在某些實施例中，本發明進一步提供治療需要刺激免疫反應或阻抑之多種哺乳動物癌症或多種纖維變性疾病的方法，其包含投與抗CD47多肽。可在該等方法中使用本文所揭示之任一抗體。舉例而言，該等方法可使用選自由以下組成之群之抗CD47多肽實施：以至少 10^{-6} M之結合親和力結合至CD47表位之IgG類完全人類抗體、具有重鏈之可變結構域區及輕鏈之可變結構域區之Fab完全人類抗體片段、具有重鏈之可變結構域區及輕鏈之可變結構域區及連接重鏈及輕鏈可變結構域區(包括SEQ ID No. 1-32 (表5)中所述之重鏈及輕鏈可變區(及該序列內之CDR))之肽連接體的單鏈人類抗體。

舉例而言，在一個實施例中，本文揭示之方法包括使用完全人類抗體，其具有與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之重鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、

SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32，且其具有與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30。

在一個實施例中，本文所述方法包括使用完全人類Fab抗體片段，其具有與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之重鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32，且具有與由以下組成之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30；且

在一個實施例中，本文所述方法包括使用單鏈人類抗體，其具有與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之重鏈可變結構域

序列：SEQ ID NO. 1、SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、SEQ ID NO. 18、SEQ ID NO. 22、SEQ ID NO. 24及SEQ ID NO. 32，且具有與由以下組成之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致之輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 26、SEQ ID NO. 27、SEQ ID NO. 28、SEQ ID NO. 29及SEQ ID NO. 30。

在一個實施例中，完全人類抗體具有重鏈及輕鏈，其中該抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 7/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO. 22/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 23、SEQ ID NO. 24/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 25、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 26、

SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.29及SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.30。

在一個實施例中，完全人類抗體Fab片段具有重鏈可變結構域區及輕鏈可變結構域區，其中該抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 7/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO.22/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.29及SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.30。

在一個實施例中，完全人類單鏈抗體具有重鏈可變結構域區及輕鏈可變結構域區，其中單鏈完全人類抗體具有選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO.

7/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 10/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 11/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 12/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 13/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 14/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 32/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 17/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 18/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 19、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 20、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 21、SEQ ID NO.22/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.29及SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.30。

CD47與正常細胞相比在癌細胞上高度表現(Majeti等人 (2009) *Cell* 138(2):286-299；Willingham等人 (2012) *Proc Natl Acad Sci USA* 109(17):6662-6667)，且與巨噬細胞上之配體信號調控蛋白 α (SIRP- α)相互作用(Brown及Frazier (2001) *Trends Cell Biol* 11(3):130-135)。

因此，在一個實施例中，本發明之抗CD47抗體及抗體片段用於治療多種哺乳動物癌症。在一個實施例中，本文所述抗體及抗體片段用於治療癌症，包括卵巢癌、結腸癌、乳癌、肺癌、骨髓瘤、神經胚細胞源CNS腫瘤、單核球白血病、B細胞源白血病、T細胞源白血病、B細胞源淋巴瘤、T細胞源淋巴瘤、肥胖細胞源腫瘤及其組合。

在一個實施例中，本文所述抗CD47抗體可用於治療癌症或其他腫瘤病況(包括血液惡性病及/或CD47+ 腫瘤)、延遲其進展、預防其復發或緩和其症狀。

在一個實施例中，用本文揭示之抗CD47抗體或抗體片段治療具有過表現CD47之腫瘤之個體。在一個實施例中，本文揭示之方法用於治療具有與異常、例如過表現、CD47表現、活性或信號傳導相關之實體腫瘤的個體。實體腫瘤包括(例如)乳房腫瘤、卵巢腫瘤、肺腫瘤、胰臟腫瘤、前列腺腫瘤、黑色素瘤腫瘤、結腸直腸腫瘤、肺腫瘤、頭頸腫瘤、膀胱腫瘤、食道腫瘤、肝腫瘤及腎腫瘤。

本文所述CD47抗體可用於治療選自由以下組成之群之癌症：B細胞源淋巴瘤、T細胞源淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)、急性淋巴球性白血病(ALL)、急性類骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、多發性骨髓瘤(MM)、乳癌、卵巢癌、頭頸癌、膀胱癌、黑色素瘤、結腸直腸癌、胰臟癌、肺癌、平滑肌瘤、平滑肌肉瘤、神經膠質瘤、神經膠母細胞瘤及實體腫瘤，其中實體腫瘤係選自由以下組成之群：乳房腫瘤、卵巢腫瘤、肺腫瘤、胰臟腫瘤、前列腺腫瘤、黑色素瘤腫瘤、結腸直腸腫瘤、肺腫瘤、頭頸腫瘤、膀胱腫瘤、食道腫瘤、肝腫瘤、腎腫瘤、神經胚細胞源CNS腫瘤及肥胖細胞源腫瘤。

在一個實施例中，本發明之抗CD47抗體及抗體片段用於治療多種纖維變性疾病。舉例而言，在一個實施例中，欲治療之纖維變性疾病係選自由以下組成之群：心肌梗塞、心絞痛、骨關節炎、肺纖維化、氣喘、囊性纖維化、支氣管炎、氣喘及其組合。

本發明之特徵在於用於治療或預防金黃色葡萄球菌(*S. aureus*)感染之方法，其包含投與抗CD47多肽。投與之技術及劑量端視具體多肽類型及所治療具體病況而變，但可由熟習此項技術者容易地測定。

一般而言，管理機構要求欲用作治療劑之蛋白質試劑經調配以便具有可接受低含量之熱原。因此，治療調配物與其他調配物之區別之處通常在於其實質上不含熱原，或至少含有不超過可接受含量之熱原，如由適當管理機構(例如，FDA)所測定。

本發明之治療組合物可與醫藥上可接受之稀釋劑、載劑或賦形劑以單位劑型一起投與。作為非限制性實例，投與可為非經腸(例如，靜脈內、皮下)、經口或局部。另外，可採用使用編碼本發明多肽之核酸之任何基因療法技術，例如裸DNA遞送、重組基因及載體、基於細胞之遞送(包括患者之細胞之離體操控)及諸如此類。

組合物可呈如下形式：用於經口投與之丸劑、錠劑、膠囊、液體或持續釋放錠劑；或用於靜脈內、皮下或非經腸投與之液體；用於局部投與之凝膠、洗劑、軟膏劑、乳膏或聚合物或其他持續釋放媒劑。

在某些實施例中，所揭示抗體係藉由吸入投與，但全IgG抗體之氣溶膠化可由於其分子大小(約150kDa)證明限制性。為最大化市售氣溶膠化裝置，可能需要較小Fab片段。

業內熟知用於製備調配物之方法參見(例如)「Remington: The Science and Practice of Pharmacy」(第20版，編輯A. R. Gennaro A R., 2000, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.)。用於非經腸投與之調配物可(例如)含有賦形劑、無菌水、聚伸烷基二醇(例如聚乙二醇)、植物來源之油或氫化萘。可使用生物相容、生物可降解交酯聚合物、交酯/乙交酯共聚物或聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物來控制化合物之釋放。可使用奈米微粒調配物(例如，生物可降解奈米粒子、

固體脂質奈米粒子、脂質體)以控制化合物之生物分佈。其他潛在有用之非經腸遞送系統包括乙烯-乙酸乙烯酯共聚物粒子、滲透幫浦、可植入輸注系統及脂質體。調配物中之化合物之濃度端視多種因素變化，該等因素包括欲投與之藥物之劑量及投與途徑。

多肽可視情況以醫藥上可接受之鹽、例如通常用於醫藥工業中之無毒性酸加成鹽或金屬錯合物形式投與。酸加成鹽之實例包括有機酸，例如乙酸、乳酸、巴莫酸(pamoic)、馬來酸、檸檬酸、蘋果酸、抗壞血酸、琥珀酸、苯甲酸、棕櫚酸、辛二酸、柳酸、酒石酸、甲烷磺酸、甲苯磺酸或三氟乙酸或諸如此類；聚合酸，例如單寧酸、羧基甲基纖維素或諸如此類；及無機酸，例如鹽酸、氫溴酸、硫酸、磷酸或諸如此類。金屬錯合物包括鋅、鐵及諸如此類。在一個實例中，在乙酸鈉存在下調配多肽以增加熱穩定性。

經口使用之調配物包括含有活性成份與無毒性醫藥上可接受之賦形劑之混合物的錠劑。該等賦形劑可為(例如)惰性稀釋劑或填充劑(例如，蔗糖及山梨醇)、潤滑劑、助流劑及抗黏結劑(例如，硬脂酸鎂、硬脂酸鋅、硬脂酸、二氧化矽、氫化植物油或滑石)。

經口使用之調配物亦可以可嚼錠劑形式、或以硬質明膠膠囊(其中活性成份與惰性固體稀釋劑混合)形式或以軟質明膠膠囊(其中活性成份與水或油介質)形式提供。

治療有效劑量係指投與其會產生治療效應之劑量。精確劑量將取決於所治療病症，且可由熟習此項技術者使用已知技術來確定。一般而言，多肽係以約0.01 $\mu\text{g/kg}$ 至約50 mg/kg/天 、較佳0.01 mg/kg 至約30 mg/kg/天 、最佳0.1 mg/kg 至約20 mg/kg/天 投與。多肽可每日(例

如，每日一次、兩次、三次或四次)或較佳較不頻繁(例如，每週、每兩週、每三週、每月或每季度)給予。另外，如業內所知，可能需要針對年齡以及體重、一般健康狀況、性別、飲食、投與時間、藥物相互作用及疾病之嚴重程度進行調節，且彼等熟習此項技術者可使用常規實驗來確定。

如本文揭示之CD47結合多肽可單獨或與一或多種額外療法(例如化學療法、放射療法、免疫療法、手術介入或該等療法之任一組合)組合投與。長期療法同樣可能，如同在其他治療策略背景中之佐劑療法一般，如上文所述。

在該等方法之某些實施例中，一或多種多肽治療劑可一起(同時)或於不同時間(依序)投與。另外，多肽治療劑可與另一類型之化合物一起投與用於治療癌症或用於抑制血管生成。

在某些實施例中，本發明之標的抗CD47抗體試劑可單獨使用。

在某些實施例中，出於診斷目的，其片段之結合多肽可經標記或未經標記。通常，診斷分析需要檢測由結合多肽與CD47結合產生之複合物之形成。類似於抗體，結合多肽或片段可直接經標記。可採用多種標記，包括但不限於放射性核種、螢光劑、酶、酶受質、酶輔因子、酶抑制劑及配體(例如，生物素、半抗原)。多種適當免疫分析為熟習此項技術者所知(參見例如美國專利3,817,827；3,850,752；3,901,654；及4,098,876)。結合多肽在未經標記時可用於諸如凝集分析等分析中。未經標記之結合多肽亦可與另一(一或多種)可用於檢測結合多肽之適宜試劑組合使用，例如與結合多肽反應之經標記抗體或其他適宜試劑(例如，經標記蛋白質A)。

在一個實施例中，本發明之結合多肽可用於酶免疫分析中，其中標的多肽偶聯至酶。在包含CD47蛋白質之生物試樣與標的結合多肽組合時，結合多肽與CD47蛋白質之間發生結合。在一個實施例中，將含有表現CD47蛋白質之細胞(例如，內皮細胞)之試樣與標的抗體組合，且結合多肽與帶有由結合多肽識別之CD47蛋白質之細胞之間發生結合。該等結合細胞可與未結合試劑分離且特異性結合至細胞之結合多肽-酶偶聯物之存在可藉由(例如)使試樣與酶受質接觸(在由酶起作用時產生顏色或可檢測變化)來測定。在另一實施例中，標的結合多肽可未經標記，且可添加識別標的結合多肽之第二經標記多肽(例如，抗體)。

在某些態樣中，亦可製備用於檢測生物試樣中CD47蛋白質之存在之套組。該等套組將包括結合至CD47蛋白質或該受體之一部分之CD47結合多肽、以及一或多種適於檢測結合多肽與受體部分或其部分之間之複合物之存在之輔助試劑。本發明之多肽組合物可以凍乾形式單獨提供或與對其他表位具有特異性之額外抗體組合提供。可經標記或未經標記之結合多肽及/或抗體可包括於具有輔助成份(例如，緩衝劑(例如Tris、磷酸鹽及碳酸鹽)、穩定劑、賦形劑、殺生物劑及/或惰性蛋白質(例如牛血清白蛋白))之套組。舉例而言，結合多肽及/或抗體可以與輔助成份之凍乾混合物形式提供，或輔助成份可由使用者單獨提供用於組合。通常，該等輔助物質將以基於活性結合多肽或抗體之量小於約5重量%存在，且通常將以基於多肽或抗體濃度至少約0.001重量%之總量存在。若採用能夠結合至結合多肽之第二抗體，則該抗體可提供於套組中，例如單獨小瓶或容器中。第二抗體(若存在)

通常經標記，且可以與上述抗體調配物類似之方式調配。

使用標準單字母或三字母縮寫指示多肽序列。除非另外指示，否則每一多肽序列在左側具有胺基末端且在右側具有羧基末端；每一單鏈核酸序列、及每一雙鏈核酸序列之頂部鏈在左側具有5'末端且在右側具有3'末端。特定多肽序列亦可藉由解釋其如何不同於參照序列來闡述。

實例1

鑑別人類抗CD47抗體(包括抗體C47B10、C47A8、C47A11及C47D8)之重鏈及輕鏈可變結構域胺基酸序列。該等抗體之重鏈及輕鏈可變結構域序列闡述於下表5中(表5係本文揭示之所有序列之概述)。

以下實例闡述由巨噬細胞之抗CD47抗體介導之癌症之吞噬作用。特定而言，抗體A8、B10、A11及D8針對CD47之功能活性係藉由量測其促進巨噬細胞介導之腫瘤細胞吞噬作用之能力來測定。

藉由在含有巨噬細胞群落刺激因子(M-CSF)之培養基中以30 ng/ml培養純化CD14陽性單核球製備巨噬細胞。在培養5天後，細胞展現巨噬細胞之特徵且用於吞噬作用分析中。在吞噬作用分析之前當天，用CFSE (羧基螢光黃琥珀醯亞胺基酯)標記K562靶細胞(人類骨髓性白血病系)。在分析當天，將靶細胞與測試抗體以1微克/毫升一起預培育。15分鐘後，洗滌細胞並以兩個巨噬細胞對一個靶細胞之比率添加至巨噬細胞中。於37°C下三小時後，將細胞用於藻紅素偶聯之抗CD11b染色並再培育15分鐘。隨後自孔移出細胞並藉由流式細胞術進行分析。

圖1提供展示抗CD47抗體、而非對照抗體(同型匹配之陰性對照抗體，即不僅不結合CD47、且亦不結合細胞之抗體)促進K562癌細胞之吞噬作用之能力的數據。圖1之右上方象限中之細胞群體代表具有經吞噬K562細胞之巨噬細胞。右下方象限中之細胞係尚未經吞噬之K562細胞。所有所測試抗CD47抗體皆展現一定活性，其中C47B10(圖1中稱作B10)促進最大吞噬作用。

實例2

實施C47B10抗體(或「B10」抗體)之種系突變以增加穩定性並降低免疫原性之風險。B10抗體之種系化涉及改變某些框架殘基以匹配種系序列。在與種系序列比較時，輕鏈之第三胺基酸不同於種系序列。此係使用已知種系資料庫鑑別。因此，B10抗體之輕鏈中之第三胺基酸自V變為A。下表1顯示C47B10野生型序列(SEQ ID NO.1/ SEQ ID NO.4)及C47B10-1種系改變序列(SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.8)。

表1

名稱	重鏈可變結構域區	輕鏈可變結構域區
C47B10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTSYMHWRQA PGQGLEWMGIINPSGGSTSYA QKFQGRVTMTRDTSTSTVYM ELSSLRSEDNAVYYCARSTLW FSEFDYWGQGTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSVLTQPASVSGSPGQSSISIC TGTSSDVGGHNYVSWYQQHP GKAPKLMIYDVNRNRPSGVSN RFSGSKSGSTASLTISGLQTED EADYYCNSYTGSRITYVFGSG TKLTVL SEQ ID NO. 4
C47B10-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTSYMHWRQA PGQGLEWMGIINPSGGSTSYA QKFQGRVTMTRDTSTSTVYM ELSSLRSEDNAVYYCARSTLW FSEFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO.1)	QSALTQPASVSGSPGQSSISIC TGTSSDVGGHNYVSWYQQHP GKAPKLMIYDVNRNRPSGVSN RFSGSKSGSTASLTISGLQTED EADYYCNSYTGSRITYVFGSG TKLTVL (SEQ ID NO. 8)

實例3

經改良C47B10抗體

使用C47B10-1作為親代抗體用於進一步突變以試圖改良親和力特徵。簡言之，使C47B10-1之CDR（由Chothia或Kabat編號定義）（注意，C47B10及C47B10-1抗體具有相同CDR，此乃因其不同之處僅在於輕鏈可變區中之一個框架殘基）內之單一胺基酸突變，使得每一CDR內之每一位置突變成所有可能之20個胺基酸。隨後針對相對於C47B10-1親代抗體之親和力變化篩選該等B10變體抗體且對顯示結合差異之抗體進行測序。鑑別顯示相對於C47B10-1對CD47較差親和力之某些變體。該等較低親和力變體相對於C47B10-1僅具有單一突變且鑑別為抗體C47B10 H3-D4、C47B10 L1A-A10、C47B10H3-D3、C47B10 L1A-A4及C47B10L3-B2。抗體C47B10H3-D4及C47B10L1A-A10顯示根據ELISA選擇及測試之變體之最低親和力(下文更詳細闡述)。亦對具有增加親和力之擊中物進行測序且包括於組合庫中，隨後使其表現並針對甚至進一步改良之親和力抗體進行篩選。C47B10-1變體(增加及降低之親和力變體；上文未提及之彼等抗體係較高親和力變體)之輕鏈及重鏈可變結構域胺基酸序列闡述於下表2中。

表2

	重鏈可變結構域區	輕鏈可變結構域區
C47B10-H3-D4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWVSEFDYWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO.22)	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL (SEQ ID NO. 8)

	重鏈可變結構域區	輕鏈可變結構域區
C47B10-L1A-A10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO. 1)	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGWHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL (SEQ ID NO. 23)
C47B10-H3-D3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDWWG QGTLVTVSS (SEQ ID NO. 24)	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL (SEQ ID NO. 8)
C47B10-L1A-A4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO. 1)	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVVGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL (SEQ ID NO. 25)
C47B10-L3-B2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO. 1)	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCTSYTGSR TYVFGSGTKLTVL (SEQ ID NO. 26)
C47B10-1H4S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSVDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 5

	重鏈可變結構域區	輕鏈可變結構域區
C47B10-1F6S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCLSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 6
C47B10-2A9S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 7	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 8
C47B10-2B11S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSKLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 9	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 8
C47B10-2B8S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWYSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 10	QSVLTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 4
C47B10-2C1S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFTEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 11	QSVLTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 4

	重鏈可變結構域區	輕鏈可變結構域區
C47B10-2B9S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSAFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 12	QSVLTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 4
C47B10-2C4S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSSFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 13	QSVLTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 4
C47B10-B1C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSRLWYTEFDYWG QGTLVTVSS SEQ ID NO. 14	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSVDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCLS YTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 15
C47B10-C6C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSRLWYTAFDYWG QGTLVTVSS SEQ ID NO. 16	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSVDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCLS YTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 15
C47B10-C3C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSKLWYTAFDYWG QGTLVTVSS SEQ ID NO. 32	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSVDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCLS YTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 15

	重鏈可變結構域區	輕鏈可變結構域區
C47B10-D3C	VQLVQSGAEVKKPGASVKVSC ASGYTFTSYMHWRQAPGQGL EWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRV TMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARSKLWYTEFDYWGQG TLVTVSS SEQ ID NO. 17	QSALTQPASVSGSPGQSSIS CTGTSVDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMYDVRNRPS GVSNRFGSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCLSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 15
C47B10-C11C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCARSLWYSEFDYWG QGTLVTVSS SEQ ID NO. 18	QSALTQPASVSGSPGQSSIS CTGTSVDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMYDVRNRPS GVSNRFGSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCLSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 15

由於活體內血球凝集可引起急性貧血且應避免，故血球凝集測試可用作治療抗體之副作用之量度。

因此，使用活體外血球凝集分析來測定以測試上述B10變體抗體在血清中之活性。簡言之，將人類紅血球在PBS中稀釋成20%溶液並向96孔圓底板之孔中添加100微升此溶液。向該等孔中添加PBS中之測試抗體之連續稀釋物(100微升)並使其與紅血球混合。使用無抗體及同型匹配之非CD47結合抗體作為對照。將板於37℃下培育過夜並在凝集(此形成血球鈕扣)次日對其進行目視評估。相對於相對於親代抗體C47B10-1具有較高親和力之C47B10變體抗體，較低親和力抗體C47B10 H3-D4、C47B10 L1A-A10、C47B10H3-D3、C47B10 L1A-A4及C47B10L3-B2顯示較低程度之血球凝集。

經改良C47A8抗體

亦自C47A8抗體產生改良之抗體。選擇C47A8，此乃因其在活體外血球凝集分析(上文所述)中顯示低血球凝集。

C47A8在其輕鏈CDR3結構域中具有未成對之半胱胺酸。利用此位置處之一系列點突變移除此半胱胺酸以保存親代C47A8抗體之親和力。初始C47A8序列及C47A8之變體闡述於下表3中。自半胱胺酸至A/L/Q/或S之胺基酸變化在輕鏈中於表3中以粗體突出。

表3

名稱	重鏈	輕鏈
C47A8	QVQLVQSGAEVKKPGASVK VSCKASGYTFTSYMHWR QAPGQGLEWMGIINPSGGST SYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCA RSTLWFSEFDYWGQGLVT VSS SEQ ID NO. 1	QSVLTQPSSVSASPGQSITISCSG TSSDVGGHNYVSWYQQHPGKA PKLMIYDVTKRPSGVPDRFSGSK SGNTASLTVSGLQAEDEADYYC CSYAGSRVYVFGTGTKLTVL SEQ ID NO. 2
C47A8- CA	QVQLVQSGAEVKKPGASVK VSCKASGYTFTSYMHWR QAPGQGLEWMGIINPSGGST SYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCA RSTLWFSEFDYWGQGLVT VSS (SEQ ID NO.1)	QSVLTQPSSVSASPGQSITISCSG TSSDVGGHNYVSWYQQHPGKA PKLMIYDVTKRPSGVPDRFSGSK SGNTASLTVSGLQAEDEADYYC ASYAGSRVYVFGTGTKLTVL (SEQ ID NO. 27)
C47A8- CL	QVQLVQSGAEVKKPGASVK VSCKASGYTFTSYMHWR QAPGQGLEWMGIINPSGGST SYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCA RSTLWFSEFDYWGQGLVT VSS (SEQ ID NO.1)	QSVLTQPSSVSASPGQSITISCSG TSSDVGGHNYVSWYQQHPGKA PKLMIYDVTKRPSGVPDRFSGSK SGNTASLTVSGLQAEDEADYYC LSYAGSRVYVFGTGTKLTVL (SEQ ID NO. 28)
C47A8- CQ	QVQLVQSGAEVKKPGASVK VSCKASGYTFTSYMHWR QAPGQGLEWMGIINPSGGST SYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCA RSTLWFSEFDYWGQGLVT VSS (SEQ ID NO.1)	QSVLTQPSSVSASPGQSITISCSG TSSDVGGHNYVSWYQQHPGKA PKLMIYDVTKRPSGVPDRFSGSK SGNTASLTVSGLQAEDEADYYC Q SYAGSRVYVFGTGTKLTVL (SEQ ID NO. 29)
C47A8- CS	QVQLVQSGAEVKKPGASVK VSCKASGYTFTSYMHWR	QSVLTQPSSVSASPGQSITISCSG TSSDVGGHNYVSWYQQHPGKA

名稱	重鏈	輕鏈
	QAPGQGLEWMGIINPSGGST SYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDVAVYYCA RSTLWFSEFDYWGGTLVT VSS (SEQ ID NO.1)	PKLMIYDVTKRPSGVPDRFSGSK SGNTASLTVSGLQAEDEADYYC SSYAGSRVYVFGTGTKLTVL (SEQ ID NO. 30)

實例4

進行ELISA以評價抗體 C47A8及C47A8變體(示於表3中)與人類CD47之結合。於4℃下將ELISA板用PBS中之1 μg/ml山羊抗人類F_D抗體塗佈過夜。次日，將板用酪蛋白封阻1.5 h，洗滌並於酪蛋白中以1 μg/ml添加抗CD47 IgG抗體並保持2 h。將生物素化CD47與中性鏈親和素-AP預複合20分鐘，在酪蛋白中連續稀釋並添加至ELISA板。於室溫下培育1 h後，將板洗滌，用對硝基苯基磷酸酯(PNPP)受質顯影並量測吸光度。結果示於圖2中。如圖2中所示，C47A8-CL結合較C47A8更多CD47受體。在該等條件下，與C47 A8相比，C47 A8-CL似乎具有較好之與抗原之結合，而其他抗體較親代抗體C47A8對CD47抗原具有稍微較小親和力。

亦進行ELISA以評價所選C47B10變體與人類CD47之結合。於4℃下將ELISA板用PBS中之1 μg/ml山羊抗人類λ抗體塗佈過夜。次日，將板用酪蛋白封阻1.5 h。於酪蛋白中以1.3 μg/ml添加抗體並於室溫下培育4 h。在洗滌後，添加與中性鏈親和素-AP預複合之連續稀釋之生物素化CD47並於室溫下培育1 h。在洗滌後，將板與PBS-Tween一起培育20 min，之後洗滌，用PNPP受質顯影並量測吸光度。結果示於圖3中。如圖3中所示，該等B10變體皆展示對人類CD47較C47B10抗體小之親和力。在該等條件下，突變抗體與C47B10相比似乎具有與抗原之較弱結合。

亦進行ELISA以評價其他所選C47B10變體(即彼等鑑別為較親代抗體B10具有更高親和力者)之結合。於4℃下將ELISA板用PBS中之1 μg/ml山羊抗人類λ抗體塗佈過夜。次日，將其用酪蛋白封阻2 h。於酪蛋白中以1. μg/ml添加抗體並於室溫下培育2.5 h。在洗滌後，添加連續稀釋之生物素化CD47並於室溫下培育1 h。在洗滌後，將板與中性鏈親和素-AP一起培育25 min，隨後洗滌，用PNPP受質顯影並量測吸光度。結果示於圖4中。對照抗體係不結合至抗原之IgG1且用於顯示分析中無非特異性結合。如圖4中所示，與C47B10相比，測試之所有變體皆結合更多CD47靶標，其中C47B10-B1C (i), C47B10-C6C (ii), C47B10-C11C (iii), C47B10-DC3 (iv)及C47B10-C3C (v)顯示所測試C47B10變體之最高量之結合。在該等條件下，突變抗體與C47 B10相比似乎具有與抗原之較強結合。

在BIACORE親和力研究中進一步研究抗體CD47B10及CD47A8及A8變體C47A8-CS及C47A8-CQ。使用表面電漿共振(BIACORE)測定所測試抗體對人類CD47之親和力。研究之結果提供於下表4中。

表4

名稱	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
C47A8	5.76 10 ⁵	0.047	8.23 10 ⁻⁸
C47B10	1.06 10 ⁵	1.29E ⁻³	1.21 10 ⁻⁸
C47A8-CS	2.15 10 ⁵	0.034	1.56 10 ⁻⁷
C47A8-CQ	1.29 10 ⁵	0.02	1.56 10 ⁻⁷

表5. 重鏈及輕鏈可變結構域胺基酸序列

	重鏈可變結構域區	輕鏈可變結構域區
C47A8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSVLTQPSSVSASPGQSITIS CSGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVTKRPS GVPDRFSGSKSGNTASLTVS GLQAEDEADYYCCSYAGSR VYVFGTGTKLTVL SEQ ID NO. 2
C47B10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSVLTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 4
C47B10-1H4S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSVDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 5
C47B10-1 (種系改變)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 8
C47B10-1F6S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCLSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 6

	重鏈可變結構域區	輕鏈可變結構域區
C47B10-2A9S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSRLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 7	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 8
C47B10-2B11S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSKLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 9	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 8
C47B10-2B8S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWYSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 10	QSVLTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 4
C47B10-2C1S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFTEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 11	QSVLTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 4
C47B10-2B9S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSAFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 12	QSVLTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 4

	重鏈可變結構域區	輕鏈可變結構域區
C47B10-2C4S	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSSFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 13	QSVLTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 4
C47B10-B1C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSRLWYTEFDYWG QGTLVTVSS SEQ ID NO. 14	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSVDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCLS YTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 15
C47B10-C6C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSRLWYTAFDYWG QGTLVTVSS SEQ ID NO. 16	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSVDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCLS YTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 15
C47B10-C3C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSKLWYTAFDYWG QGTLVTVSS SEQ ID NO. 32	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSVDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCLS YTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 15
C47B10-D3C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSKLWYTEFDYWG QGTLVTVSS SEQ ID NO. 17	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSVDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCLS YTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 15

	重鏈可變結構域區	輕鏈可變結構域區
C47B10-C11C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSLWYSEFDYWG QGTLVTVSS SEQ ID NO. 18	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSVDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMYDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCLSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 15
C47K11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	DIQLTQSPSTLSASVGDRVTI TCRATQTTNSWLAWYQQK PGKAPKLLIYKASSLDGVP SRFSGSGSGTEFTLTISLQP DDFATYYCQQYNGFRMYT FGQGTKLEIK SEQ ID NO. 19
C47KD8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	DIVMTQTPSSLSASVGDRVT ITCRASQSSISRYLNWYQQK GKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTEFTLTISLQPD DFATYYCQQYNGFRMYTF GQGTKVEIK SEQ ID NO. 20
C47KD9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASI SCRSSQSLLHKNGNNYLDW YLQRPQGSPQLLIYLASNRA SGVPDRFSGSGSGTDFTLEIS RVQPEDVGVYYCMRGLQT PTFGPGTKVDIK SEQ ID NO. 21
C47B10-H3-D4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWVSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO.22	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMYDVRNRPS GVSNRFSGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 8

	重鏈可變結構域區	輕鏈可變結構域區
C47B10-L1A-A10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGWHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 23
C47B10-H3-D3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDWWG QGTLVTVSS SEQ ID NO. 24	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO. 8
C47B10-L1A-A4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVVGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCNSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO.25
C47B10-L3-B2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSALTQPASVSGSPGQSSISIS CTGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVRNRPS GVSNRFGSKSGSTASLTIS GLQTEDEADYYCTSYTGSR TYVFGSGTKLTVL SEQ ID NO.26
C47A8-CA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSVLTQPSSVSASPGQSITIS CSGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMIDVTKRPS GVPDRFSGSKSGNTASLTVS GLQAEDEADYYCASYAGSR VYVFGTGTKLTVL SEQ ID NO. 27

	重鏈可變結構域區	輕鏈可變結構域區
C47A8-CL	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSVLTQPSSVSASPGQSITIS CSGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMYDVTKRPS GVPDRFSGSKSGNTASLTVS GLQAEDEADYYCLSYAGSR VYVFGTGTKLTVL SEQ ID NO. 28
C47A8-CQ	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSVLTQPSSVSASPGQSITIS CSGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMYDVTKRPS GVPDRFSGSKSGNTASLTVS GLQAEDEADYYCQSYAGSR VYVFGTGTKLTVL SEQ ID NO. 29
C47A8-CS	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSTLWFSEFDYWGQ GTLVTVSS SEQ ID NO. 1	QSVLTQPSSVSASPGQSITIS CSGTSSDVGGHNYVSWYQ QHPGKAPKLMYDVTKRPS GVPDRFSGSKSGNTASLTVS GLQAEDEADYYCSSYAGSR VYVFGTGTKLTVL SEQ ID NO. 30

以引用方式併入

貫穿本申請案引用之所有參考文獻、專利、待決專利申請案及已公開專利之內容以引用方式明確併入本文中。

【序列表】

<110> 美商索倫多醫療公司 (SORRENTO THERAPEUTICS, INC.)

<120> 結合CD47之抗體治療劑

<130> TW 105106782; TW 110105132

<150> US 62/128,462

<151> 2015-03-04

<160> 32

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 1

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 Ser Thr Leu Trp Phe Ser Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100105110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 2
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Pro Gly Gln
151015

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly His
202530

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
354045

Met Ile Tyr Asp Val Thr Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
505560

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
65707580

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
859095

Arg Val Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100105110

<210> 3
<211> 4
<212> PRT
<213> 未知

<220>

<223> 未知之說明:鉸鏈區序列

<400> 3
Cys Pro Ser Cys
1

<210> 4
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 4
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Ser Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly His
 20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Arg Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Tyr Thr Gly Ser
 85 90 95

Arg Thr Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 5
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 5
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Ser Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Val Asp Val Gly Gly His
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Arg Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Tyr Thr Gly Ser
85 90 95

Arg Thr Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 6
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 6
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Ser Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly His
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Arg Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ser Tyr Thr Gly Ser
85 90 95

Arg Thr Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 7
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 7
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 Ser Arg Leu Trp Phe Ser Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 8
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 8
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Ser Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly His
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Arg Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Tyr Thr Gly Ser
85 90 95

Arg Thr Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 9
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 9

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 Ser Lys Leu Trp Phe Ser Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 10

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 10

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 Ser Thr Leu Trp Tyr Ser Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 11
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 11
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	Ser	Thr	Leu	Trp	Phe	Thr	Glu	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
			100						105				110		
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
		115													

<210> 12
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 12															
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 Ser Thr Leu Trp Phe Ser Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 13
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 13
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 Ser Thr Leu Trp Phe Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 14
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 14
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 Ser Arg Leu Trp Tyr Thr Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 15
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 15
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Ser Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Val Asp Val Gly Gly His
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Arg Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ser Tyr Thr Gly Ser
85 90 95

Arg Thr Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 16
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 16
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 Ser Arg Leu Trp Tyr Thr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 17
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 17
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

859095

Ala Arg Ser Lys Leu Trp Tyr Thr Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100105110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 18
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 18
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
151015

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
202530

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
354045

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
505560

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65707580

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
859095

Ala Arg Ser Arg Leu Trp Tyr Ser Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100105110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 19
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 19
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Gly Phe Arg Met
 85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 20
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 20

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
20 25

Ser Gln Ser Ile Ser Arg Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
30 35 40

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly
45 50 55

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu
60 65 70

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
75 80 85

Gln Tyr Asn Gly Phe Arg Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
90 95 100 105

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
110 115 120

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
125 130 135

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
140 145 150

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
155 160 165

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
170 175 180 185

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
190 195 200

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
205 210 215

<210> 21
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 21
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Lys
20 25 30

Asn Gly Asn Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Gln Pro Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Arg Gly
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 22
<211> 119
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 22

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 23

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 23

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

Ser Ile Ser Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Trp His
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Arg Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Tyr Thr Gly Ser
85 90 95

Arg Thr Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 24
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 24
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 Ser Thr Leu Trp Phe Ser Glu Phe Asp Trp Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 25
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 25
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Ser Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Val Gly His
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Arg Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Tyr Thr Gly Ser
85 90 95

Arg Thr Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100105110

<210> 26
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 26
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
151015

Ser Ile Ser Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly His
202530

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
354045

Met Ile Tyr Asp Val Arg Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
505560

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65707580

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Thr Gly Ser
859095

Arg Thr Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100105110

<210> 27
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 27
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Pro Gly Gln

1				5						10					15	
Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Gly	His	
			20					25					30			
Asn	Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	His	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	
		35					40					45				
Met	Ile	Tyr	Asp	Val	Thr	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	
	50					55					60					
Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Gly	Leu	
65					70					75					80	
Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ser	Tyr	Ala	Gly	Ser	
				85					90					95		
Arg	Val	Tyr	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu			
			100					105					110			

<210> 28
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 28
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Gly	His
		20						25					30		

Asn	Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	His	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu
		35					40					45			

Met	Ile	Tyr	Asp	Val	Thr	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe
		50				55					60				

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95

Arg Val Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 29
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 29
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly His
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Thr Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95

Arg Val Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 30
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 30
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly His
 20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Thr Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Ser
 85 90 95

Arg Val Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 31
<211> 4
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知之說明：鉸鏈區序列

<400> 31
Cys Pro Pro Cys
1

<210> 32
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明:合成多肽

<400> 32
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 Ser Lys Leu Trp Tyr Thr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種可結合至CD47之結合蛋白或其抗原結合片段，其中該結合蛋白或其抗原結合片段係選自由結合至CD47表位之IgG類之經分離完全人類抗CD47抗體及抗CD47完全人類抗體Fab片段所組成之群，且其中該結合蛋白或其抗原結合片段包含：

重鏈可變結構域序列，其與SEQ ID NO:1之胺基酸序列一致；及

輕鏈可變結構域序列，其與選自由以下組成之群之胺基酸序列一致：SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:29及SEQ ID NO:30。

【請求項2】

如請求項1之結合蛋白或其抗原結合片段，其中該結合蛋白或其抗原結合片段係結合至CD47表位之IgG類之經分離完全人類抗CD47抗體，其包含選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO:1/SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:1/SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:1/SEQ ID NO:29及SEQ ID NO:1/SEQ ID NO:30。

【請求項3】

如請求項1之結合蛋白或其抗原結合片段，其中該結合蛋白或其抗原結合片段係抗CD47完全人類抗體Fab片段，其包含選自由以下組成之群之重鏈/輕鏈可變結構域序列：SEQ ID NO:1/SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:1/SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:1/SEQ ID NO:29及SEQ ID NO:1/SEQ ID NO:30。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之結合蛋白或其抗原結合片段，其中該結合蛋白或其抗原結合片段之 K_D 為至少 1×10^{-6} M或更低。

【請求項5】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至4中任一項之結合蛋白或其抗原結合片段，及醫藥上可接受之載劑。

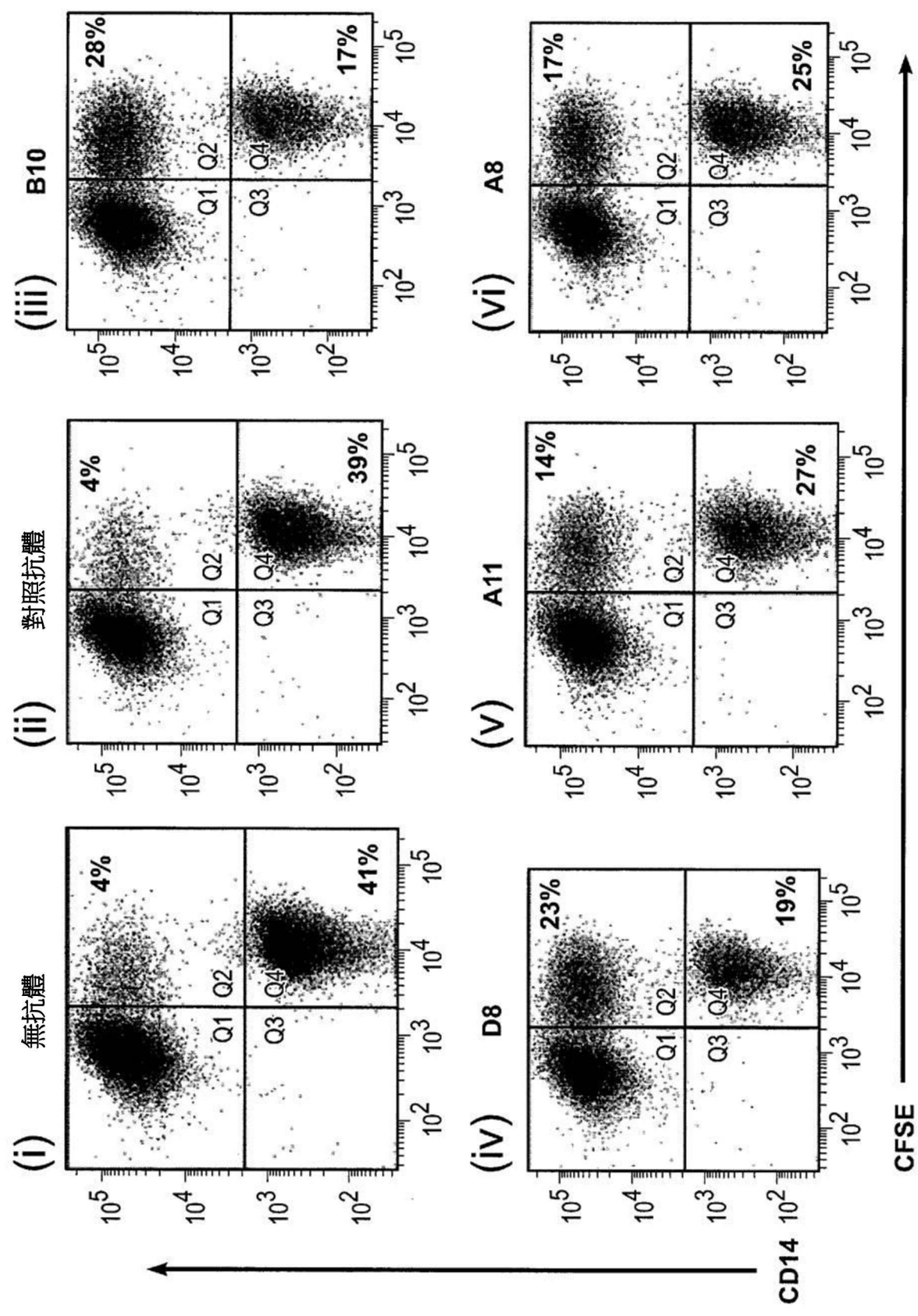
【請求項6】

一種如請求項1至4中任一項之結合蛋白或其抗原結合片段或如請求項5之醫藥組合物之用途，其係用於製備治療癌症之醫藥品。

【請求項7】

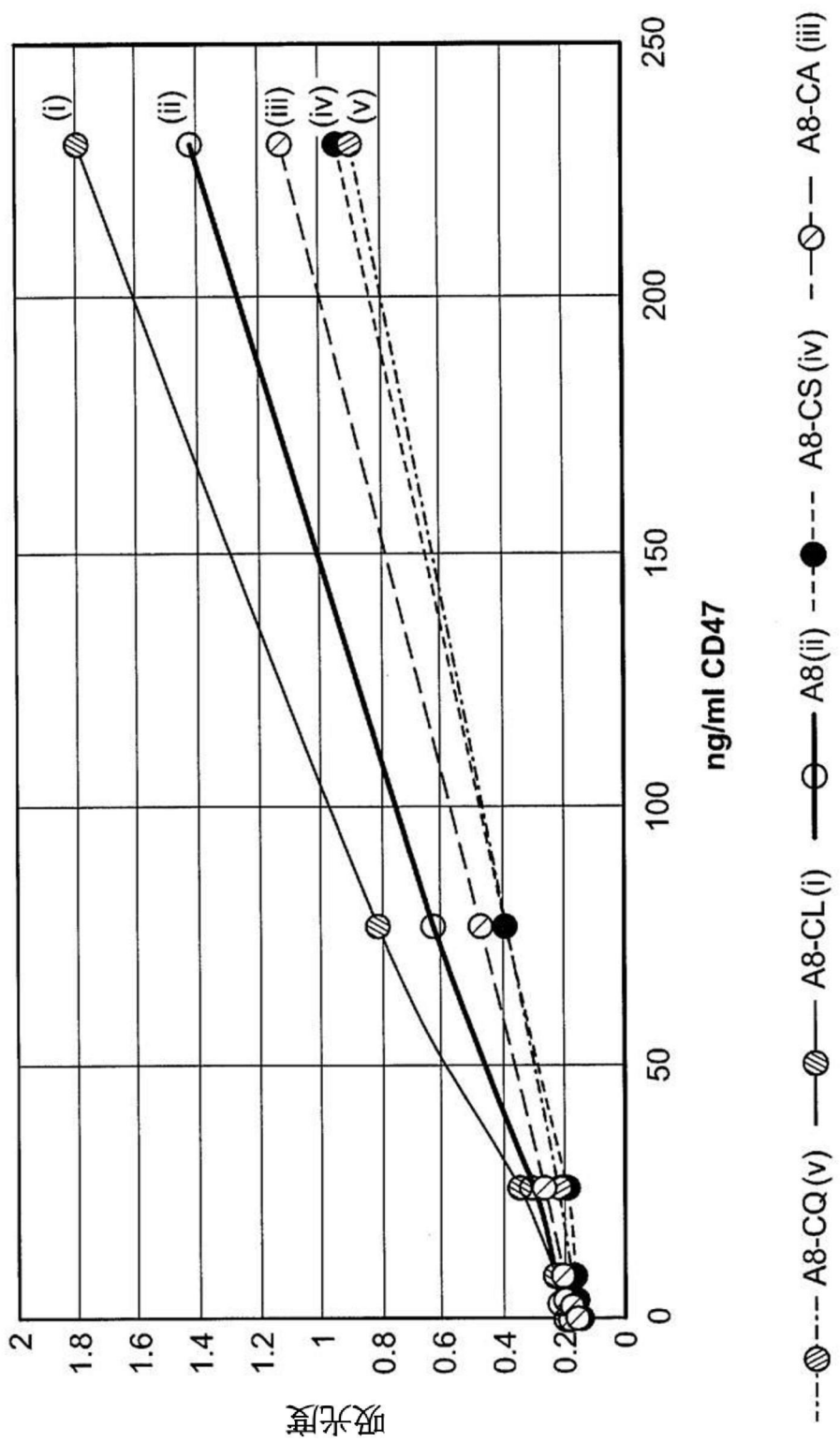
如請求項6之用途，其中該癌症係選自由以下組成之群：卵巢癌、結腸癌、乳癌、肺癌、骨髓瘤、神經胚細胞源CNS腫瘤、單核球白血病、B細胞源白血病、T細胞源白血病、B細胞源淋巴瘤、T細胞源淋巴瘤及肥胖細胞源腫瘤。

【發明圖式】



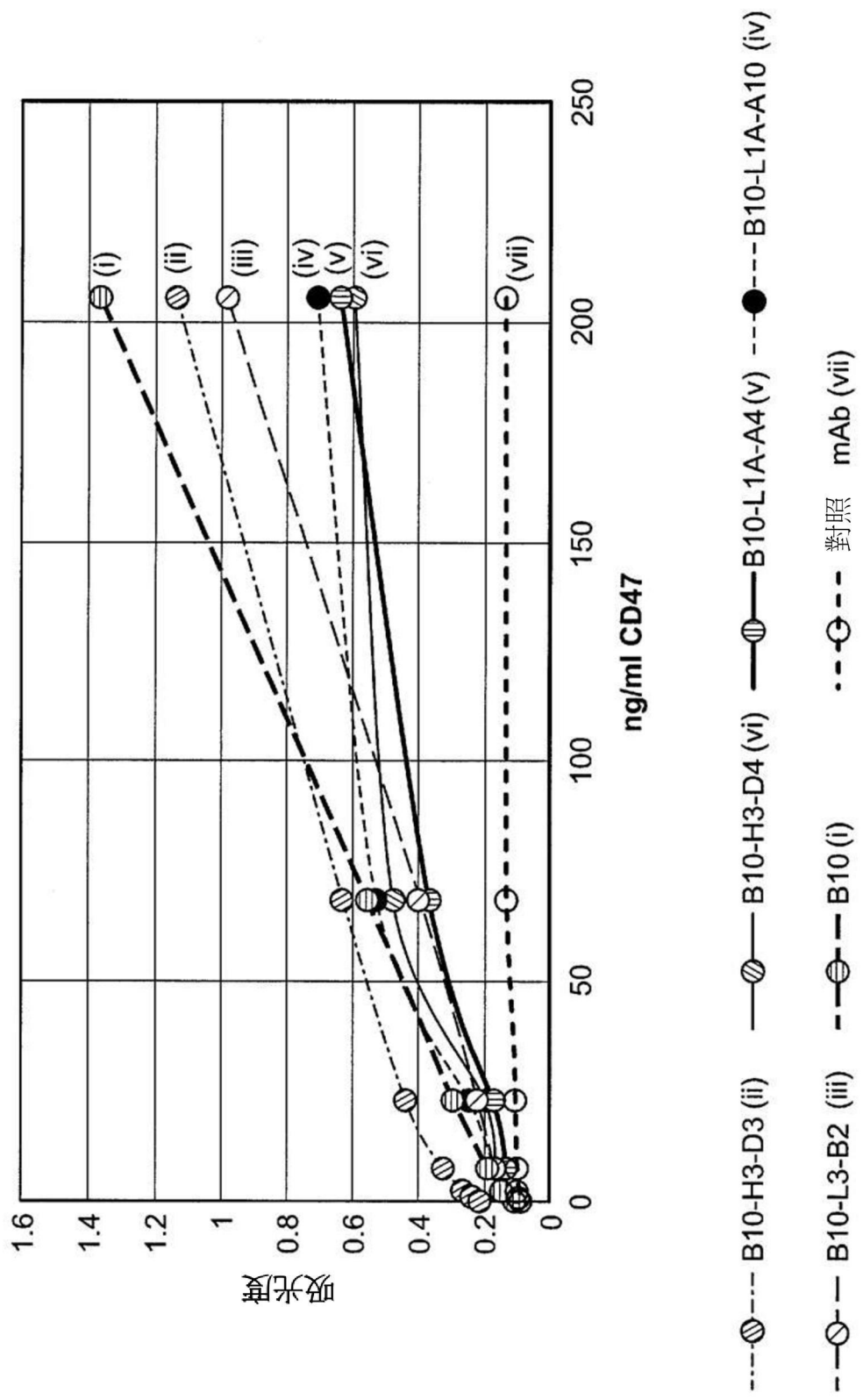
【圖 1】

結合至 CD47 之 A8 及 A8 變體



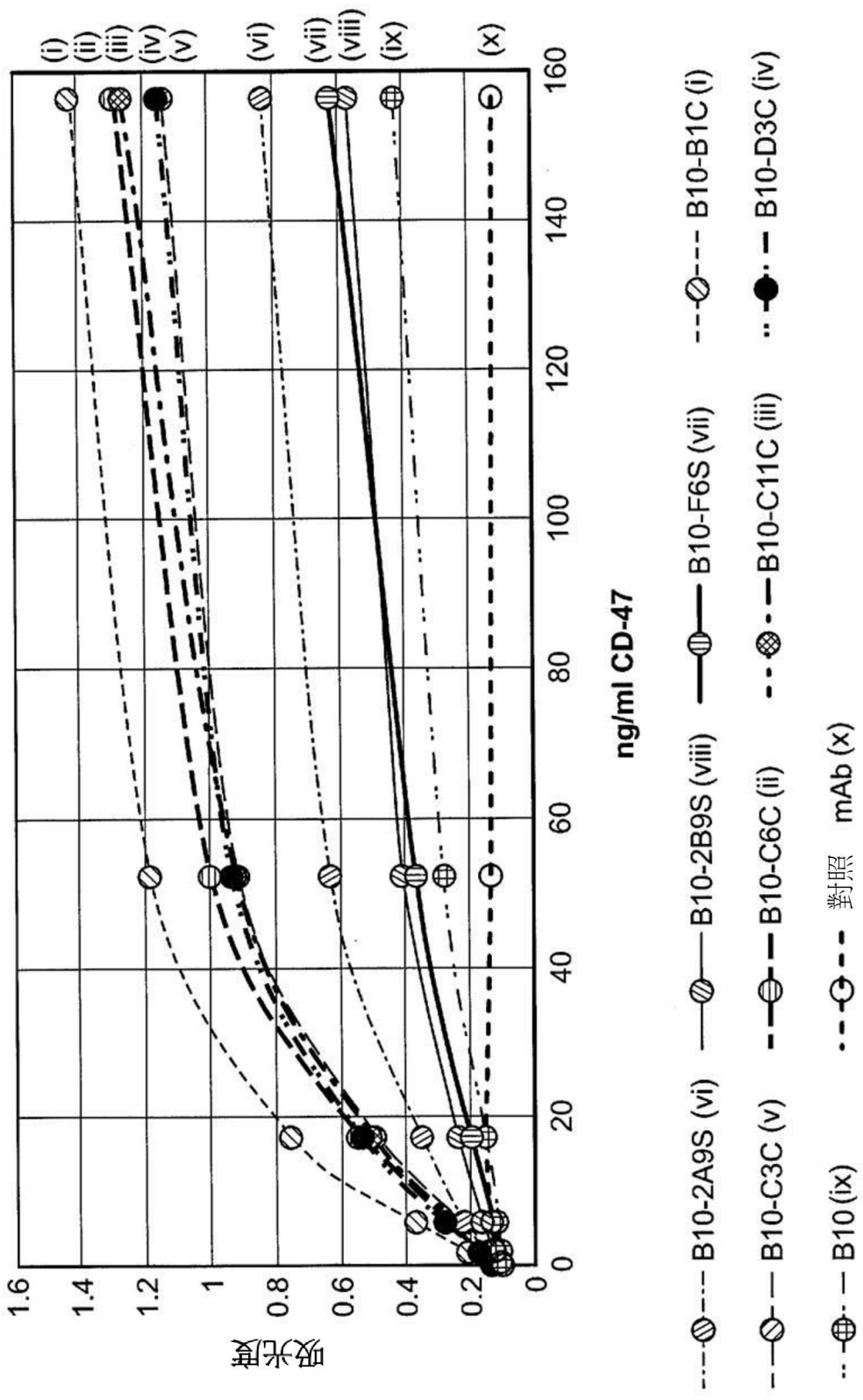
【圖 2】

結合至CD47之B10及B10變體



【圖 3】

結合至 CD-47 之 B10 及 B10 變體



【圖 4】