



(21)申請案號：112117412

(22)申請日：中華民國 112 (2023) 年 05 月 10 日

(51)Int. Cl. :

C07K16/18 (2006.01)A61K39/395 (2006.01)

C12N15/13 (2006.01)C12N15/63 (2006.01)

C12N15/64 (2006.01)A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2022/05/13美國63/341,944

(71)申請人：美商艾克塞里克斯公司 (美國) EXELIXIS, INC. (US)
美國

(72)發明人：漢默 波妮 HAMMER, BONNIE (US)；希加基 傑佛瑞 N HIGAKI, JEFFREY
N. (US)；坎特克 希瑪 KANTAK, SEEMA (US)；凱佩蘭 查爾斯 KAPLAN,
CHARLES (US)

(74)代理人：陳長文；張哲倫；姚金梅

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：30 項 圖式數：1 共 205 頁

(54)名稱

5T4 結合劑及其用途

(57)摘要

本發明提供 5T4 結合劑(例如抗體，包括多特異性抗體，諸如雙特異性抗體，及抗體-藥物結合物)及其用途。

The present disclosure provides 5T4 binding agents (e.g., antibodies, including multispecific antibodies such as bispecific antibodies, and antibody-drug conjugates) and uses thereof.

指定代表圖：

VH域									
Kabat	1	10	22	31--35	40	50--a-----60---65			
AbM	1	10	22	26-----35	40	50--a-----58	65		
Chothia	1	10	22	26-----32	40	a-55	65		
Contact	1	10	22	30---35	40	47-----a-----58	65		
IMGT	1		23	27-----38	41	56-----65	74		
mAbA4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYIHWVRQAPGKGLEWVA FISPGGSYTYADSVKG								
mAbA15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYIHWVRQAPGKGLEWVA YITSTGSYTEYADSVKG								
mAbA17	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYIHWVRQAPGKGLEWVA AIFPYSGSTLYADSVKG								
Kabat	70	80	abc	90	95-----102	110			
AbM	70	80	abc	90	95-----102	110			
Chothia	70	80	abc	90	96-----101	110			
Contact	70	80	abc	90	93-----101	110			
IMGT	75	89			105-----117				
mAbA4	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR EYYSMGVL----DY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:25)								
mAbA15	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR YDRSTRYSGL---DY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:44)								
mAbA17	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR SPSRSILPSGL--DY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:62)								

【圖1A】

VL域

Kabat	1	10	20	24-27-----34	40	50----	56
AbM	1	10	20	24-----30--34	40	50-----	56
Chothia	1	10	20	26-----32	40	50--	
Contact	1	10	20	30-----36	40	46-----	55
IMGT	1		23	27---38	41	56-65	69
mAbA4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSVSSAVA WYQQKPGKAPKLLIY SASSLYS						
mAbA15	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSVSSAVA WYQQKPGKAPKLLIY SASSLYS						
mAbA17	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSVSSAVA WYQQKPGKAPKLLIY SASSLYS						

Kabat	60	70	80	89-----97	
AbM	60	70	80	89-----97	
Chothia	60	70	80	91---96	
Contact	60	70	80	89-----96	
IMGT	70	89		105-----117	
mAbA4	GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQAYESPYT FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:26)				
mAbA15	GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQAYATPVT FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:45)				
mAbA17	GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQGDGSPYT FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:63)				

【圖1B】



【發明摘要】

【中文發明名稱】

5T4結合劑及其用途

【英文發明名稱】

5T4 BINDING AGENTS AND USES THEREOF

【中文】

本發明提供5T4結合劑(例如抗體，包括多特異性抗體，諸如雙特異性抗體，及抗體-藥物結合物)及其用途。

【英文】

The present disclosure provides 5T4 binding agents (*e.g.*, antibodies, including multispecific antibodies such as bispecific antibodies, and antibody-drug conjugates) and uses thereof.

【指定代表圖】

圖1A、圖1B

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

5T4結合劑及其用途

【英文發明名稱】

5T4 BINDING AGENTS AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明大體上係關於結合劑，諸如結合於包括人類5T4之5T4的抗體或其片段，及其使用方法。

【先前技術】

【0002】 5T4為含有八個富白胺酸重複序列之N-醣基化跨膜72 kDa醣蛋白。5T4 (亦稱為Wnt活化抑制因子1或WAI1)因其表現於胚胎滋養層中而通常稱為癌胚抗原(其首次發現於胚胎滋養層中)，或稱為滋養層醣蛋白(TPBG)。5T4發現於包括大腸直腸、卵巢及胃之腫瘤中。其表現用作預後助劑。5T4在正常組織中具有極有限表現，但在其整個發育過程中在惡性腫瘤中廣泛。儘管認為其受限表現將似乎提供5T4成為癌症療法中之目標的可能性，但尚未實現對結合劑及靶向5T4之疫苗的治療性成功。

【0003】 因此，此項技術中仍需要可靶向5T4以治療、預防或緩解5T4介導之疾病、病症或病況(包括涉及表現5T4之腫瘤細胞的彼等疾病、病症或病況)的藥劑。

【發明內容】

【0004】 本發明提供5T4結合劑，包括人類5T4結合劑。此類藥劑包括結合於5T4之抗體，例如結合於5T4之單特異性或多特異性(例如，雙特異性)抗體及抗體-藥物結合物(antibody-drug conjugate；ADC)。在一些

實施例中，此類結合劑結合於與包含本文所描述之CDR之抗體(例如，表1至表3)相同的人類5T4之抗原決定基。在一些實施例中，此類結合劑結合於與包含本文所描述之重鏈可變區及輕鏈可變區之抗體(例如，表1至表3)相同的人類5T4之抗原決定基。

【0005】 本發明亦提供包含5T4結合劑之組合物。在一些實施例中，此類組合物包括結合於5T4之抗體，例如結合於5T4之單特異性或多特異性(例如，雙特異性)抗體及ADC。在一些實施例中，此類組合物包括抗體及ADC，其結合於與包含本文所描述之CDR之抗體(例如，表1至表3)基本上相同的人類5T4之抗原決定基。在一些實施例中，此類組合物包括抗體及ADC，其結合於與包含本文所描述之重鏈可變區及輕鏈可變區之抗體(例如，表1至表3)基本上相同的人類5T4之抗原決定基。

【0006】 本發明亦提供用5T4結合劑或包含該藥劑之組合物治療、預防或緩解5T4介導之疾病、病症或病況(包括5T4介導之疾病、病症或病況之一或多種症狀)的方法。此類組合物包括結合於5T4之抗體，例如結合於5T4之單特異性或多特異性(例如，雙特異性)抗體及ADC。

【圖式簡單說明】

【0007】 圖1A及圖1B展示mAbA4、mAbA15及mAbA17之重鏈可變區及輕鏈可變區之序列比對，包括VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3。CDR之邊界由Kabat、AbM、Chothia、Contact、IMGT及AHon編號指示。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0008】 本申請案主張2022年5月13日申請的美國臨時申請案第

63/341,944號之權益，其揭示內容以全文引用的方式併入本文中。

序列表

【0009】 本申請案含有已以XML檔案格式與本申請案一起提交之電腦可讀序列表，該文獻之全部內容以全文引用之方式併入本文中。與本申請案一起提交之序列表XML檔案的名稱為「14529-107-185_SEQ_LISTING.xml」，創建於2023年5月8日，且大小為102,425個位元組。

【0010】 本發明提供5T4結合劑。此類藥劑包括結合於5T4之抗體(例如，單特異性或多特異性，包括雙特異性)及ADC，包括結合於人類5T4之抗體及ADC。此類結合劑適用於治療、預防或緩解5T4介導之疾病、病症或病況(包括疾病、病症或病況之一或多種症狀)的組合物及方法中。5T4介導之疾病、病症及病況包括多種癌症，包括但不限於其中腫瘤細胞表現或過度表現5T4之任何癌症。如本文所使用，術語「過度表現」意謂轉錄及轉譯的遺傳產物比正常(諸如正常細胞)的遺傳產物更多，其過程通常具有癌細胞之特徵。另外，本文所描述之5T4結合劑，諸如5T4結合抗體(例如，單特異性或多特異性抗體，包括雙特異性抗體)及5T4結合ADC，適用於殺滅及/或移除腫瘤細胞。本文所描述之5T4結合劑，諸如5T4結合抗體(例如，單特異性或多特異性抗體，包括雙特異性抗體)及5T4結合ADC，適用於治療癌症之組合物及方法中。

【0011】 除非另外指明，否則術語「5T4」係指來自任何脊椎動物來源的多肽(「多肽」與「蛋白質」在本文中可互換地使用)或任何原生5T4，包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如，人類、石蟹獼猴(獼猴))、犬及啮齒動物(例如，小鼠及大鼠)。5T4 (亦稱為「5T4癌胚滋養層糖蛋

白」或「Wnt1活化抑制因子1」或「ST4癌滋養層糖蛋白」或「ST4癌胚抗原」或「WAP1」或「M6P1」或「ST4-AG」或「ST4AG」或「TPBG」)為由TPBG基因編碼的糖蛋白。術語ST4涵蓋「全長」ST4，以及由細胞中之處理產生的任何形式之ST4或其任何片段。在一些實施例中，ST4包含訊息序列。在一些實施例中，ST4不包括訊息序列。在一些實施例中，術語ST4係指全長ST4之片段，其包含ST4胞外域。術語ST4亦涵蓋ST4之天然存在之變體，諸如SNP變體、剪接變體及對偶基因變體。

下文提供人類ST4之全長胺基酸序列(例示性訊息序列 斜體文字；例示性胞外域 加底線的文字)：

*MPGGCSRGPV AGDGRIRIAR IAI.VIIGWVS SSSPISASS PSSSAPIITAS AVSAQPIPIPI
QCPAT.CICSIK AARIVKCVNR NIPIIVPIPIPI AYVRNIITIC NQIAVITPACA IARRPIPIAIQ
AAINISGSRIT IDIVRAGAIQI IPSTIRQIIDS INPIAIITSPIT AIPSGSNASVS AIPSPITVIGIT
NIIVPIPIPIPI QNRSIIGMVV AAIIVAGRAIQ GIIIRIIGTASN IDIVPIPIPIPI AQIPSTIRIPI
ISNNISIVSIIT YVSIIRNIPIPI ISIIPIPIPIPI KVIINIGITAIK IQGIPIPIPIPI IDNNIPWVCIC
IMAIMVITWIK IDIVVQGIIR IICAIPIPIKMR NRVIIIGTISA IDIICPIPIPIPI SIQITSYVITIG
IVIAIIGAIPI IDIVIYINIRKG IKKWMINIRID ACRIDIMIGYII YRYKINAIPIPI IDNISNSIIV*

(SEQ ID NO:64)

下文提供石蟹獼猴(獼猴) ST4之全長胺基酸序列(例示性訊息序列 斜體文字；例示性胞外域 加底線的文字)：

*MPGGCSRGPV AGDGRIRIAR IAI.VIIGWVS SSSSISASS SSSSAPIITAS AASAQPIPIPIPI
QCPAT.CICSIK AARIVKCVNR NIPIIVPIPIPI IAYVRNIITIC NQIAVITPACA IARRPIPIAIQ
AAINISGSRIT IDIVRGAIIQI IPSTIRQIIDS INPIIAYISPII AIPSGSNASIS AIPSPITVIGIT
NIIVPIPIPIPI QNRSIIGMVA AAIIVAGRAIQ GIIIRIIGTASN IDIVPIPIPIPI AQIPSTIRYIPI
ISNNISIVSIIT YVSIIRNIPIPI ISIIPIPIPIPI KVIINIGITAIK IQGIPIPIPIPI IDNNIPWVCIC
IMAIMVITWIK QIIGVVQGIIR IICAIPIPIKMR NRVIIIGTISA IDIICPIPIPIPI SIQITSYVITIG
IVIAIIGAIPI IDIVIYINIRKG IKKWMINIRID ACRIDIMIGYII YRYKINAIPIPI IDNISNSIIV*

(SEQ ID NO:65)

下文提供小鼠ST4之全長胺基酸序列(例示性訊息序列 斜體文字；例

示性胞外域 (加底線的文字)：

```

MDGAGSRGSPS AGDGRIRIAR IAAVIGWVS ASAPSSSVPS SSTSPAAATA SGSAQPPPAIK
RCFAACHCSK AARIVKCVNR NDJJAVPADLP PYVRNDJFHG NQMIVIPAGA PARQPPFADN
KAINISGNDD KIVCAGAFQI DPGIRKIDIS DNPFDNISAP APAGSNASVS APSPIQDQID
NDIVPFDQIR QNGSIDGMVA DGMVAAAIR SCFAIRGFIIR DQASNDIDP DPKIDJAQID
STRYIDIRNN SINSTHYASIF RNDIDIDSTI DQDNADKVID NSTFAWIGI ADVKVIDNNN
PWVCDCYMAID MVAVIKQDIFV VIDKARIDICA DPKMRNRGI DQINSSIDDC DAVIDQSTQI
SYVIDGIVIA DGCADIDIVT YINRKGIKKW MDNIRIDACRD DMDGYIDRYD DNDIDPRIDND
SSNSIDV

```

(SEQ ID NO:66)

〔0012〕 如本文所使用，術語「結合劑」或其語法等效物係指具有一或多個結合抗原之抗原結合位的分子(例如，抗體)。在一些實施例中，如本文所描述之5T4結合劑為抗體、抗體片段或其他基於肽之分子，以及結合於5T4 (諸如人類5T4)之抗體、抗體片段或基於肽之分子(例如，ADC)之結合物。

〔0013〕 術語「抗體」、「免疫球蛋白」或「Ig」在本文中可互換使用，且以最廣泛意義使用且特定言之覆蓋例如多株抗體、單株抗體(包括促效劑、拮抗劑、中和抗體、全長單株抗體)、具有多抗原決定基或單抗原決定基特異性之抗體組合物、重組產生之抗體、單域(例如，VIII)抗體、單特異性抗體、多特異性抗體(包括雙特異性抗體)、合成抗體、嵌合抗體、人源化抗體或具有全長重鏈及/或輕鏈之抗體之人類型式。如本文所使用，VIII係指衍生自僅重鏈抗體之可變區的域抗體。例示性單域抗體包括但不限於天然缺乏輕鏈之抗體，諸如來自駱駝科物種(例如，駱馬)之抗體、衍生自習知4鏈抗體之單域抗體、經工程改造之抗體及除衍生自抗體之骨架以外的單域骨架。單域抗體可衍生自任何物種，包括但不限於小鼠、人類、駱駝、駱馬、山羊、兔及牛。VIII亦可衍生自除駱駝科以

外的可產生天然缺乏輕鏈之重鏈抗體的其他物種。抗體亦包括保留5T4結合特徵之抗體片段(及/或包含抗體片段之多肽)。抗體片段之非限制性實例包括抗體之抗原結合區及/或效應子區域，例如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、(scFv)₂、單鏈抗體分子、雙可變域抗體、單可變域抗體、線性抗體、V區、由抗體片段形成之多特異性抗體、F(ab)₂、Fd、Fc、雙功能抗體(diabody)、二-雙功能抗體(di-diabody)、二硫鍵連接的Fv (dsFv)、單域抗體(例如，奈米抗體)或其他片段(例如，由非共價偶合之重鏈及輕鏈之可變區組成的片段)。一般而言，可變(V)區域可為免疫球蛋白重(VH)及/或輕(VL)可變域之任何適合排列。舉例而言，抗體亦包括包含兩個重鏈及兩個輕鏈分子之四聚體抗體、抗體輕鏈單體及抗體重鏈單體。因此，舉例而言，V區可為二聚體且含有結合5T4之VHH-VHH、VH-VH、VH-VL或VL-VL二聚體。必要時，VH及VL可直接或經由連接子共價偶合以形成單鏈Fv (scFv)。為便於參考，將本文中提及的scFv蛋白包括於「抗體片段」類別中。抗體片段之另一種形式為包含抗體之一或多個互補決定區(CDR)的肽。CDR (亦稱為「最小識別單元」或「高變區」)可藉由構築編碼一或多個所關注CDR之聚核苷酸來獲得。此類聚核苷酸係例如藉由使用聚合酶鏈反應，使用抗體產生細胞之mRNA作為模板合成可變區來製備(參見例如，Larrick等人，Methods: A Companion to Methods in Enzymology, 2:106 (1991)；Courtenay-Luck, 「Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies」, Monoclonal Antibodies Production, Engineering and Clinical Application, Ritter等人(編)，第166頁，Cambridge University Press (1995)；及Ward等人，「Genetic Manipulation and Expression of Antibodies」, Monoclonal Antibodies:

Principles and Applications, Birch等人(編), 第137頁, Wiley-Liss, Inc. (1995))。抗體片段可併入例如單域抗體、最大抗體、微型抗體、胞內抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、新抗原受體之可變域(v-NAR)及雙-單鏈Fv區(參見例如, Hollinger及Hudson, Nature Biotechnology, 23(9):1126-1136, 2005)。在一些實施例中, 包含VH及/或VL之抗體含有輕鏈及/或重鏈恆定區, 諸如一或多個恆定區, 包括一或多個IgG1、IgG2、IgG3及/或IgG4恆定區。在一些實施例中, 抗體可包括上述任一者之抗原決定基結合片段。本文所描述之抗體可屬於免疫球蛋白分子之任何類別(例如, IgG、IgE、IgM、IgD及IgA)或任何子類別(例如, IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)。

【0014】 當參考如本文所使用之結合劑(例如, 抗體或ADC)使用時, 術語「單特異性」表示具有一或多個結合位之結合劑, 該一或多個結合位中之各者結合於相同抗原之相同抗原決定基。

【0015】 當參考結合劑(例如, 抗體或ADC)使用時, 術語「雙特異性」意謂結合劑能夠特異性結合於至少兩個不同抗原決定子, 例如各自由一對抗體重鏈可變域(VH)及抗體輕鏈可變域(VL)形成或各自由一對結合於不同抗原或相同抗原上之不同抗原決定基之VHH域形成的兩個結合位。此類雙特異性結合劑(例如, 抗體或ADC)可具有1+1格式(包含一個針對第一抗原或抗原決定基之結合位及一個針對第二抗原或抗原決定基之結合位)。其他雙特異性結合劑(例如, 抗體或ADC)格式可為2+1或1+2格式(包含兩個針對第一抗原或抗原決定基之結合位及一個針對第二抗原或抗原決定基之結合位)或2+2格式(包含兩個針對第一抗原或抗原決定基的結合位及兩個針對第二抗原或抗原決定基的結合位)。當雙特異性結合劑(例

如，抗體或ADC)包含兩個抗原結合位時，各自可結合於不同抗原決定子。此類雙特異性結合劑(例如，抗體或ADC)可結合於相同抗原上之兩個不同抗原決定基(例如，5T4上之抗原決定基)。

【0016】 術語「一致」或「一致性」百分比在兩種或更多種核酸或多肽之情形下係指兩個或更多個序列或子序列當根據最大一致性比較及比對(必要時，引入空隙)時為相同的或具有指定百分比之相同核苷酸或胺基酸殘基，不考慮任何保守性胺基酸取代作為序列一致性之部分。一致性百分比可使用序列比較軟體或演算法或藉由目視檢查來量測。此項技術中熟知可用於獲得胺基酸或核苷酸序列比對的各種算法及軟體。此等演算法及軟體包括但不限於BLAST、ALIGN、Megalign、BestFit、GCG Wisconsin Package及其變化形式。在一些實施例中，兩種核酸或多肽基本上一致，意謂其當根據最大一致性比較及比對時，具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%且在一些實施例中，具有至少95%、96%、97%、98%或99%核苷酸或胺基酸殘基一致性，如使用序列比較算法或藉由目視檢查所量測。在一些實施例中，一致性存在於胺基酸序列之一區域上，該區域之長度為至少約10個殘基、至少約20個殘基、至少約40-60個殘基、至少約60-80個殘基或其間的任何整數值。在一些實施例中，一致性存在於比60-80個殘基更長(諸如至少約80-100個殘基)的區域上，且在一些實施例中，序列在所比較之序列(諸如目標蛋白或抗體之編碼區)的全長上實質上一致。在一些實施例中，一致性存在於核苷酸序列之一個區域上，該區域之長度為至少約10個殘基、至少約20個殘基、至少約40-60個殘基、至少約60-80個殘基或其間的任何整數值。在一些實施例中，一致性存在於比60-80個鹼基更長(諸如至少約80-1000個鹼

基或更長)的區域上，且在一些實施例中，序列在所比較之序列(編碼所關注蛋白質之核苷酸序列)的全長上實質上一致。

【0017】 「保守胺基酸取代」為一個胺基酸殘基被具有類似化學特徵之側鏈之另一胺基酸殘基置換的取代。此項技術中通常已定義具有類似側鏈之胺基酸殘基家族，包括鹼性側鏈(例如，離胺酸、精胺酸、組胺酸)、酸性側鏈(例如，天冬胺酸、麩胺酸)、不帶電極性側鏈(例如，甘胺酸、天冬醯胺、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸)、非極性側鏈(例如，丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸)、 β 分支側鏈(例如，蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸)及芳族側鏈(例如，酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸)。舉例而言，用苯丙胺酸取代酪胺酸為保守取代。通常，本發明之多肽、可溶性蛋白質及/或抗體之序列中之保守性取代不消除含有該胺基酸序列之多肽、可溶性蛋白質或抗體與目標結合位之結合。鑑別不消除結合之胺基酸保守性取代的方法在此項技術中熟知。

【0018】 術語「多肽」係指任何長度之胺基酸之聚合物。聚合物可為直鏈或分支鏈，其可包含經修飾之胺基酸，且其可包括(例如，間雜有)非胺基酸。術語亦涵蓋已經天然修飾或藉由介入而經修飾的胺基酸聚合物；例如二硫鍵形成、醣基化、脂質化、乙醯化、磷酸化或任何其他操縱或修飾，諸如與諸如標記組分或藥物(例如，毒素)之部分連接或結合(直接地或間接地)。定義內亦包括例如含有胺基酸之一或多種類似物(包括例如非天然胺基酸)以及此項技術中已知之其他修飾的多肽。應瞭解，由於本發明之多肽可基於抗體或免疫球蛋白超家族之其他成員，但在一些實施例中，多肽可以單鏈或單鏈二聚體形式存在。

【0019】如本文所使用，「抗原」為含有結合劑(例如，抗體或ADC)可結合之抗原決定基的部分或分子。因此，抗原可由抗體結合。在一些實施例中，本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)結合之抗原為5T4 (例如，人類5T4)或其片段，包括包含5T4之一或多個域的片段。

【0020】如本文所使用，「抗原決定基」為此項技術中之術語且係指抗體可結合的抗原之局部化區。抗原決定基可為線性抗原決定基或構形、非線性或不連續的抗原決定基。舉例而言，在多肽抗原之情況下，抗原決定基可為多肽之鄰接胺基酸(「線性」抗原決定基)或抗原決定基可包含來自多肽之兩個或更多個非鄰接區域(「構形」、「非線性」或「不連續」抗原決定基)的胺基酸，例如人類5T4。熟習此項技術者應瞭解，一般而言，線性抗原決定基可或可不依賴於二級、三級或四級結構。舉例而言，在一些實施例中，抗體結合於一組胺基酸，不論其是否摺疊成天然三維蛋白質結構。在其他實施例中，抗體需要構成抗原決定基的胺基酸殘基展現特定構形(例如，彎曲、扭轉、轉彎或摺疊)以便識別及結合抗原決定基。

【0021】當兩個抗體識別三維空間中之相同、重疊或相鄰抗原決定基時，抗體與參考抗體結合「抗原決定基」或「基本上相同的抗原決定基」或「相同的抗原決定基」。用於測定兩個抗體是否結合於三維空間中之相同、重疊或相鄰抗原決定基之使用最廣泛及快速的方法為競爭分析，其可以許多不同格式組態，例如使用經標記之抗原或經標記之抗體。在一些分析中，抗原固定於96孔盤上，或表現於細胞表面上，且使用放射性、螢光或酶標記物量測未標記之抗體阻斷經標記之抗體之結合的能力。

【0022】「抗原決定基分組」為基於抗體所識別之抗原決定基而將

抗體分組的方法。更特定言之，抗原決定基分組包含利用競爭分析與計算方法的組合來區別不同抗體之抗原決定基識別特性的方法及系統，以便基於其抗原決定基識別特性而將抗體聚類且鑑別具有不同結合特異性的抗體。本文中描述了關於抗原決定基分組及測定抗體之抗原決定基結合之方法的其他細節，如實例5中所示。

【0023】 如本文所使用，術語「特異性結合」、「特異性識別」、「免疫特異性結合」、「選擇性結合」、「免疫特異性識別」及「免疫特異性」在抗體之情形下為類似術語且係指結合於抗原(例如，抗原決定基)之分子，因為此類結合為熟習此項技術者所理解。在一些實施例中，「特異性結合」意謂例如多肽或分子與抗原決定基、蛋白質或目標分子的相互作用比替代物質(包括相關及不相關蛋白質)更頻繁、更快速、持續時間更長、親和力更大或上述之一些組合。舉例而言，特異性結合於抗原之分子通常可以較低親和力結合於其他肽或多肽，如藉由例如免疫分析、BIACORE™、KinExA 3000儀器(Sapidyne Instruments, Boise, ID)、OctetQK384系統(ForteBio, Menlo Park, CA)或此項技術中已知之其他分析所測定。在一些實施例中，抗體或抗原結合域在其以比任何交叉反應抗原更高的親和力結合於一抗原時結合於或特異性結合於該抗原，如使用諸如放射免疫分析(RIA)及酶聯免疫吸附分析(ELISA)之實驗技術所測定。通常，特異性或選擇性反應將至少為兩倍背景訊息或雜訊且可超過10倍背景。關於結合特異性之論述，參見例如Fundamental Immunology 332-36 (Paul編, 第2版, 1989)。在一些實施例中，抗體或抗原結合域結合於「非目標」蛋白之程度小於抗體或抗原結合域結合於其特定目標抗原的約10%，例如，如藉由螢光活化細胞分選(FACS)分析或RIA所測定。在一些

實施例中，特異性結合於一抗原的分子以至少2 log、2.5 log、3 log、4 log的 K_a 或大於該分子結合於另一種抗原時的 K_a 結合於該抗原。在一些實施例中，特異性結合於抗原之分子不與其他蛋白質交叉反應。在另一特定實施例中，特異性結合於抗原之分子不與其他非5T4蛋白質交叉反應。在一些實施例中，「特異性結合」意謂例如多肽或分子以約0.1 mM或更小，但更通常小於約1 μ M之 K_D 結合蛋白質或目標。在一些實施例中，「特異性結合」意謂多肽或分子以至少約0.1 μ M或更小、至少約0.01 μ M或更小或至少約1 nM或更小的 K_D 結合目標。由於不同物種中同源蛋白質之間的序列一致性，因此特異性結合可包括識別超過一種物種中之蛋白質或目標的多肽或分子。同樣，由於不同蛋白質之多肽序列之某些區域內的同源性，因此特異性結合可包括識別超過一種蛋白質或目標的多肽或分子。應瞭解，在一些實施例中，特異性結合第一目標之抗體或分子可或可不特異性結合第二目標。因此，「特異性結合」不一定需要(儘管其可包括)排他性結合，例如結合於單一目標。因此，在一些實施例中，多肽或分子可特異性結合超過一種目標。在一些實施例中，多個目標可由多肽或分子上之相同抗原結合位結合。舉例而言，抗體可在某些情況下包含兩個相同抗原結合位，其中之各者特異性結合兩個或更多個蛋白質上之相同抗原決定基。在某些替代實施例中，抗體可為雙特異性的且包含至少兩個具有不同特異性之抗原結合位。一般而言，但未必，提及「結合」意謂「特異性結合」。

【0024】「結合親和力」一般係指分子(例如，結合劑，諸如抗體或ADC)之單一結合位與其結合搭配物(例如，抗原，諸如5T4)之間的非共價相互作用之總和之強度。除非另外指示，否則如本文所使用，「結合親和

力」係指反映結合對(例如，抗體與抗原)之成員之間的1:1相互作用之固有結合親和力。結合分子X針對其結合搭配物Y之親和力一般可由解離常數(K_D)表示。可藉由此項技術中已知之常用方法(包括本文所描述之彼等方法)來量測親和力。低親和力抗體一般緩慢結合抗原且傾向於容易解離，而高親和力抗體一般較快結合抗原且傾向於較長時間保持結合狀態。此項技術中已知多種量測結合親和力的方法，其中之任一者可用於本發明之目的。在一個實施例中，「 K_D 」或「 K_D 值」可藉由生物層干涉術(BLI)使用例如OctetQK384系統(ForteBio, Menlo Park, CA)來量測。替代地，亦可在放射性標記的抗原結合分析(RIA)中量測 K_D ，例如使用所關注之抗體之Fab版及其抗原(Chen等人, (1999) J. Mol Biol 293:865-881)或使用表面電漿子共振(SPR)分析，藉由BIACORE™，例如使用BIACORE™-2000或BIACORE™-3000 (BIACORE™, Inc., Piscataway, NJ)執行。「締合速率(on-rate)」或「締合之速率(rate of association)」或「締合速率(association rate)」或「 k_{on} 」以及「解離速率(off-rate)」或「解離之速率(rate of dissociation)」或「解離速率(dissociation rate)」或「 k_{off} 」亦可使用上文所描述之相同SPR或BLI技術分別使用例如OctetQK384系統(ForteBio, Menlo Park, CA)或BIACORE™-2000或BIACORE™-3000 (BIACORE™, Inc., Piscataway, NJ)來測定。

【0025】 當用於5T4結合劑(例如，抗體或ADC)之情形中時，術語「競爭」意謂競爭目標上之相同抗原決定基或結合位的結合劑，其包括如藉由以下分析所測定的此類結合劑之間的競爭：其中研究中之結合劑阻止或抑制參考分子(例如，參考配位體，或參考抗原結合蛋白，諸如參考抗體)與共同抗原(例如，5T4)之特異性結合。可使用多種類型之競爭結合分

析來測定測試結合劑是否與參考分子競爭結合於5T4 (例如，人類5T4)。可採用的分析之實例包括固相直接或間接放射免疫分析(RIA)、固相直接或間接酶免疫分析(EIA)、夾心競爭分析(參見例如Stahli等人(1983), *Methods in Enzymology* 9:242-253)；直接固相生物素-抗生物素蛋白EIA (參見例如Kirkland等人(1986), *J. Immunol.* 137:3614-3619或Cheung等人(1990) *Virology* 176:546-552)；固相直接標記分析；固相直接標記夾心分析(參見例如Harlow及Lane, (1988), *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press)；使用I-125標記之固相直接標記RIA (參見例如Morel等人(1988), *Molec. Immunol.* 25:7-15)；及直接標記RIA (Moldenhauer等人, (1990) *Scand. J. Immunol.* 32:77-82)。通常，此分析涉及使用結合於攜帶未經標記之測試抗原結合蛋白(例如，測試5T4抗體或ADC)或經標記之參考抗原結合蛋白(例如，參考5T4抗體或ADC)中之任一者的固體表面或細胞的經純化抗原(例如5T4，諸如人類5T4)。可藉由測定在測試抗原結合蛋白存在下結合於固體表面或細胞的標記之量來量測競爭性抑制。通常，測試抗原結合蛋白過量存在。藉由競爭分析(競爭抗體)鑑別之抗體包括結合於與參考抗體相同之抗原決定基的抗體及/或結合於鄰近抗原決定基的抗體，該鄰近抗原決定基足夠靠近參考抗體所結合之抗原決定基以致抗體出現空間位阻(例如，相似抗原決定基或重疊抗原決定基)。通常，當競爭抗體過量存在時，其將參考抗體與共同抗原之特異性結合抑制至少20%，例如至少20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%或75%。在一些實例中，結合被抑制至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更多。

【0026】 如本文所使用，術語「恆定區」或「恆定域」為項技術之

熟知抗體術語且係指抗體部分，例如輕鏈及/或重鏈之羧基端部分，其不直接參與抗體與抗原之結合，但其可展現各種效應子功能，諸如與Fc受體之相互作用。術語包括免疫球蛋白分子之部分，相對於免疫球蛋白可變域，該部分具有通常更保守的胺基酸序列。

【0027】 抗體「效應子功能」係指可歸因於抗體之Fc區(例如，原生序列Fc區或胺基酸序列變體Fc區)的彼等生物活性，且隨抗體同型而變化。抗體效應子功能之實例包括：C1q結合及補體依賴性細胞毒性；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；噬菌作用；細胞表面受體(例如，B細胞受體)之下調；及B細胞活化。

【0028】 在本文中，術語「Fc區」用於定義免疫球蛋白重鏈之C端區，包括例如原生序列Fc區、重組型Fc區及變體Fc區。儘管免疫球蛋白重鏈之Fc區之邊界可變化，但人類IgG重鏈Fc區通常定義為自位置Cys226處之胺基酸殘基(根據EU編號系統)或自Pro230 (根據EU編號系統)延伸至其羧基端。可例如在抗體之製備或純化期間或藉由以重組方式工程改造編碼抗體之重鏈的核酸來移除Fc區之C端離胺酸(殘基447，根據EU編號系統)。下文提供例示性Fc區序列(CH2域=粗體文字；CH3域=加底線的文字)：

CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ
ID NO:67)。

【0029】「功能性Fc區」具有原生序列Fc區之「效應子功能」。例示性「效應子功能」包括C1q結合；補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；噬菌作用；細胞表面受體(例如，B細胞受體；BCR)之下調等。此類效應子功能通常需要將Fc區與結合區或結合域(例如，抗體可變區或域)組合且可使用所揭示的各種分析加以評估。

【0030】「原生序列Fc區」包含與自然界中所發現之Fc區的胺基酸序列一致的胺基酸序列，且未被人類操縱、修飾及/或改變(例如，分離、純化、選擇，包括或與其他序列(諸如可變區序列)組合)。原生序列人類Fc區包括原生序列人類IgG1 Fc區(非A及A異型)；原生序列人類IgG2 Fc區；原生序列人類IgG3 Fc區；及原生序列人類IgG4 Fc區，以及其天然存在之變體。

【0031】「變體Fc區」包含藉助於至少一個胺基酸修飾(例如取代、添加或缺失)、較佳一或多個胺基酸取代與原生序列Fc區之胺基酸序列不同的胺基酸序列。在一些實施例中，相較於原生序列Fc區或親本多肽之Fc區，變體Fc區具有至少一個胺基酸取代，例如在原生序列Fc區中或在親本多肽之Fc區中具有約一個至約十個胺基酸取代，且較佳約一個至約五個胺基酸取代。本文所描述之變體Fc區與原生序列Fc區及/或親本多肽之Fc區可具有至少約80%同源性，或與其具有至少約90%同源性，例如與其具有至少約95%同源性。本文所描述之變體Fc區在本文中可喪失效應子功能(例如，靜默Fc)。下文提供例示性變體Fc區(「靜默Fc」)序列(CH2域=粗體文字，其中胺基酸變化加底線；CH3域=加底線的文字)：

CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH

**EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALKAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK** (SEQ
ID NO:68)。

【0032】如本文所使用，當參考抗體使用時，術語「重鏈」係指約50-70 kDa之多肽鏈，其中胺基端部分包括約120至130個或更多個胺基酸之可變區，且羧基端部分包括一或多個恆定區。「重鏈」可指任何不同類型，例如 α (alpha)、 δ (delta)、 ϵ (epsilon)、 γ (gamma)及 μ (mu)，基於恆定域之胺基酸序列，其分別產生抗體之IgA、IgD、IgE、IgG及IgM類別，包括IgG之子類別，例如IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。

【0033】如本文所使用，當參考抗體使用時，術語「輕鏈」可指約25 kDa之多肽鏈，其中胺基端部分包括約100至約110個或更多個胺基酸之可變區，且羧基端部分包括恆定區。輕鏈之大致長度為211至217個胺基酸。基於恆定域之胺基酸序列，存在兩種不同類型，稱為 κ (kappa)或 λ (lambda)。輕鏈胺基酸序列為此項技術中所熟知的。

【0034】術語「抗原結合片段」、「抗原結合域」、「抗原結合區」及類似術語係指抗體之一部分，其包含與抗原相互作用且賦予抗原(例如，CDR)其特異性及親和力之結合片段、域或區的胺基酸殘基。如本文所使用，「抗原結合片段」包括「抗體片段」，其包含抗體之一部分，該部分包括一或多個CDR，諸如抗體之抗原結合區或可變區。

【0035】本文所描述之抗體包括但不限於合成抗體、單株抗體、重組產生之抗體、多特異性抗體(例如，包括雙特異性抗體)、人類抗體、人

源化抗體、嵌合抗體、胞內抗體、單鏈Fv (scFv)(例如，包括單特異性、雙特異性及其類似者)、駱駝化抗體、Fab片段、F(ab')片段、二硫鍵連接的Fv (sdFv)、抗個體基因型(抗Id)抗體及上述任一者之抗原決定基結合片段。

【0036】 在一些實施例中，本文所描述之抗體包括免疫球蛋白分子及免疫球蛋白分子之免疫活性部分，包括含有一或多個結合於5T4抗原之抗原結合位的分子。

【0037】 抗體可為任何類型(例如，IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY)、任何類別(例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1或IgA2)或任何子類別(例如，IgG2a或IgG2b)之免疫球蛋白分子。在一些實施例中，本文所描述之抗體為IgG抗體(例如，人類IgG)或其類別(例如，人類IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)或子類別。

【0038】 在一些實施例中，抗體為包含兩個重(H)鏈/輕(L)鏈對的4鏈抗體單元，其中H鏈之胺基酸序列一致且L鏈之胺基酸序列一致。在一些實施例中，抗體為包含VHH-VHH對之2鏈抗體單元，其中VHH之胺基酸序列一致。在一些實施例中，H鏈及/或L鏈包含恆定區，例如人類恆定區。在一些實施例中，此類抗體之L鏈恆定區為κ或λ輕鏈恆定區，例如人類κ或λ輕鏈恆定區。在一些實施例中，此類抗體之H鏈恆定區包含γ重鏈恆定區，例如人類γ重鏈恆定區。在一些實施例中，此類抗體包含IgG恆定區，例如人類IgG恆定區(例如，IgG1、IgG2、IgG3及/或IgG4恆定區)。

【0039】 抗體或其片段可較佳結合於5T4，諸如人類5T4，意謂抗體或其片段以比其結合於不相關對照蛋白更大的親和力結合5T4及/或以比其

結合於不相關對照蛋白更大的親和力結合人類5T4。舉例而言，抗體或其片段可特異性識別且結合5T4或其部分。「特異性結合」意謂抗體或其片段以比對不相關對照蛋白(例如，雞卵白溶菌酶)之親和力大至少5、10、15、20、25、50、100、250、500、1000或10,000倍的親和力結合於5T4。在一些實施例中，抗體或其片段可實質上排他性的結合5T4(例如，能夠例如藉助於可量測的結合親和力差異來區別5T4與其他已知多肽)。在一些實施例中，5T4結合劑(例如，抗體或ADC)可與除人類5T4序列(例如，石蟹獼猴5T4序列)以外的5T4序列反應。

【0040】 術語「可變區」或「可變域」係指抗體之輕鏈或重鏈之一部分，其通常位於輕鏈或重鏈之胺基端處且在重鏈中長度為約120至130個胺基酸且在輕鏈中長度為約100至110個胺基酸，且用於各特定抗體對其特定抗原之結合及特異性。重鏈之可變區可稱為「VH」。輕鏈之可變區可稱為「VL」。術語「可變」係指可變區之某些區段在抗體中之序列方面廣泛不同之事實。V區介導抗原結合且定義特定抗體對其特定抗原之特異性。然而，可變性不均勻分佈於可變區之110個胺基酸跨距內。實際上，V區由約15-30個胺基酸的較小可變性(例如，相對無變化)鏈段(稱為構架區(FR))組成，該等鏈段被較大可變性(例如，極端可變性)的較短區域(稱為「高變區」或替代地稱為「互補決定區」)分隔。重鏈及輕鏈之可變區各自包含基本上採用β片組態之四個構架(FR1、FR2、FR3及FR4)，該等構架藉由三個高變區連接，其形成連接β片結構之環且在一些情況下形成β片結構之部分。各鏈中之高變區藉由構架緊密保持在一起且與來自其他鏈之高變區一起促成抗體之抗原結合位之形成(參見例如，Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, 公共衛生處

(Public Health Service), 美國國家衛生研究院(National Institutes of Health), Bethesda, MD, (1991))。恆定區不直接參與抗體與抗原之結合，但展現多種效應子功能，諸如使抗體參與抗體依賴性細胞細胞毒性(ADCC)及補體依賴性細胞毒性(CDC)。可變區在不同抗體之間的序列方面廣泛不同。序列中之可變性集中於CDR中，而可變區中較少可變部分稱為構架區(FR)。輕鏈及重鏈之CDR主要負責抗體與抗原之相互作用。在特定實施例中，可變區為人類可變區。

【0041】當在本文中使用时，術語「高變區」、「HVR」、「HV」、「互補決定區」或「CDR」係指在序列中高變及/或形成結構上定義之環的抗體可變區之區域。一般而言，抗體包含六個高變區：三個位於VH(H1或VH CDR1、H2或VH CDR2、H3或VH CDR3)中，且三個位於VL(L1或VL CDR1、L2或VL CDR2、L3或VL CDR3)中。本文中使用且涵蓋多種高變區描述。Kabat CDR係基於序列可變性且最常用(參見例如Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版，公共衛生處，美國國家衛生研究院, Bethesda, MD. (1991))。Chothia實際上係指結構環之位置(參見例如，Chothia及Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))。在使用Kabat編號規約進行編號時，Chothia CDR-H1環之末端在H32與H34之間變化，此視環之長度而定(此係因為Kabat編號方案將插入置於H35A及H35B處；若既不存在35A，亦不存在35B，則環末端位於32處；若僅存在35A，則環末端位於33處；若35A與35B均存在，則環末端位於34處)。AbM高變區表示Kabat CDR與Chothia結構環之間的平衡，且由Oxford Molecular's AbM抗體模型化軟體使用(參見例如，Martin, Antibody Engineering, 第2卷, 第3章, Springer Verlag)。「contact」高變區

係基於對可獲得的複雜晶體結構之分析。來自此等高變區或CDR中之各者的殘基標示於下文中。

【0042】 已開發及廣泛採用一種通用編號系統：ImMunoGeneTics (IMGT[®])資訊系統(Lafranc等人, Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77 (2003))。IMGT為專用於人類及其他脊椎動物之免疫球蛋白(IG)、T細胞受體(TR)及主要組織相容複合體(MHC)的整合式資訊系統。在本文中，依據胺基酸序列及輕鏈或重鏈內的位置提及CDR。由於免疫球蛋白可變域結構內之CDR之「位置」在物種之間為保守的且存在於稱為環之結構中，因此藉由使用根據結構特徵比對可變域序列的編號系統容易鑑別出CDR及構架殘基。此資訊可用於將來自一個物種之免疫球蛋白之CDR殘基移植及置換至通常來自人類抗體之受體架構中。Honegger及Plückthun, J. Mol. Biol. 309: 657-670 (2001)已開發出另一種編號系統(AHon)。編號系統(包括例如Kabat編號及IMGT獨特編號系統)之間的一致性已為熟習此項技術者熟知(參見例如，Kabat，同上；Chothia及Lesk，同上；Martin，同上；Lefranc等人，同上)且亦說明於下文。此項技術中已知或本文所描述之各種系統代表定界CDR的不同方法，且當其用於界定相同抗體時，其通常被視為等效的。本文中展示之例示性系統與Kabat及Chothia組合。

	例示性	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact
V_H CDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
V_H CDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	53-55	47-58
V_H CDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	96-101	93-101
V_L CDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	26-32	30-36
V_L CDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-52	46-55
V_L CDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	91-96	89-96

【0043】 高變區可包含如下「延伸的高變區」：VL中的24-36或24-34 (L1)、46-56或50-56 (L2)及89-97或89-96 (L3)；以及VH中的26-35或

26-35A (H1)、50-65或49-65 (H2)及93-102、94-102或95-102 (H3)。如本文所使用，術語「高變區」、「HVR」、「HV」、「互補決定區」及「CDR」可互換使用。

【0044】 術語「載體」係指用於運載或包括核酸序列(包括例如以將核酸序列引入宿主細胞中)之物質。適用的載體包括例如表現載體、質體、噬菌體載體、病毒載體、游離基因體及人工染色體，其可包括可操作以穩定整合至宿主細胞染色體中之選擇序列或標記。另外，載體可包括一或多個可選標記基因及適當的表現控制序列。可包括之可選標記基因例如提供針對抗生素或毒素、補體營養缺陷型缺乏之抗性，或供應培養基中不存在之關鍵營養。表現控制序列可包括此項技術中熟知之組成型及/或誘導型啟動子、轉錄增強子、轉錄終止子及其類似物。當共表現兩個或更多個核酸分子(例如抗體重鏈及輕鏈或抗體VH及VL)時，可將兩個核酸分子插入例如單個表現載體或單獨的表現載體中。對於單個載體表現而言，編碼核酸可操作地連接至一個共同表現控制序列，或連接至不同表現控制序列，諸如一個誘導型啟動子及一個組成型啟動子。可使用此項技術中熟知之方法證實將核酸分子引入宿主細胞中。此類方法包括例如核酸分析，諸如北方墨點法(Northern blots)或聚合酶鏈反應(PCR)擴增mRNA；或基因產物表現之免疫墨點法，或測試所引入之核酸序列或其對應基因產物之表現的其他適合分析方法。熟習此項技術者應瞭解，核酸分子以足以產生所需產物(例如，如本文所描述之5T4結合劑)之量表現，且應進一步理解，可使用此項技術中熟知之方法使表現量最佳化以獲得足夠的表現。

【0045】 「5T4介導之疾病」、「5T4介導之病症」及「5T4介導之病況」可互換使用且係指與表現5T4之細胞(諸如表現5T4之腫瘤細胞)相關

或表徵為其之任何疾病、病症或病況。5T4介導之疾病包括癌症，包括但不限於表現或過度表現5T4之癌症。

【0046】 「有效量」通常為足以達成以下效果的量：降低症狀之嚴重度及/或頻率、消除症狀及/或潛在病因、預防症狀及/或其潛在病因出現及/或改善或修復疾病、病症或病況所致或與疾病、病症或病況相關的損傷。在一些實施例中，有效量為治療有效量或預防有效量。

【0047】 如本文所使用，術語「治療有效量」係指足以降低及/或改善既定病症、疾病或病況及/或與其相關之症狀之嚴重程度及/或持續時間的藥劑(例如，本文所描述之抗體或ADC或本文所描述之任何其他藥劑)之量。藥劑(包括治療劑)之治療有效量可為以下所需之量：(i)減少或改善既定疾病、病症或病況之進展或進程，(ii)減少或改善既定疾病、病症或病況之復發、發展或發作，及/或(iii)改良或增強另一種療法(例如，除投與本文所描述之抗體或ADC以外的療法)之預防或治療作用。本發明之物質/分子/藥劑(例如，5T4抗體或ADC)之「治療有效量」可根據諸如個體之疾病狀態、年齡、性別及體重及物質/分子/藥劑在個體中誘發所需反應之能力的因素而變化。治療有效量涵蓋物質/分子/藥劑之治療有益作用超過任何毒性或有害作用的量。在某些實施例中，術語「治療有效量」係指有效「治療」個體或哺乳動物之疾病、病症或病況的抗體或其他藥劑(例如，ADC或藥物)之量。

【0048】 「預防有效量」為當投與至個體時，將具有預期預防作用，例如預防或延遲病症、疾病或病況之發作(或復發)，或減小疾病、病症或病況或相關症狀之發作(或復發)之可能性的醫藥組合物之量。

【0049】 完全治療或預防作用在投與一個劑量時未必會發生，且可

能僅在投與一系列劑量之後才發生。因此，治療或預防有效量可以一或多次投與來投與。

【0050】 如本文所使用，術語「醫藥學上可接受」意謂聯邦或州政府之監管機構批准或列於美國藥典(U.S. Pharmacopeia)、歐洲藥典(European Pharmacopeia)或其他公認藥典中用於動物，且更特定言之用於人類。

【0051】 如本文所使用，「載劑」包括載劑、賦形劑、穩定劑或防腐劑，其在所採用之劑量及濃度下對暴露於其之細胞或哺乳動物無毒性。載劑通常為水性pH緩衝溶液。載劑之實例包括：緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸；低分子量(例如，少於約10個胺基酸殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖醇，諸如甘露糖醇或山梨糖醇；成鹽抗衡離子，諸如鈉；及/或非離子界面活性劑，諸如TWEEN™、聚乙二醇(PEG)及PLURONICS™。術語「載劑」亦可指與治療劑一起投與之稀釋劑、佐劑(例如，弗氏佐劑(Freund's adjuvant) (完全或不完全))、賦形劑或媒劑。此類載劑可為無菌液體，諸如水及油，包括石油、動物、植物或合成來源之油，諸如花生油、大豆油、礦物油、芝麻油及其類似物。當靜脈內投與組合物(例如，醫藥組合物)時，水為例示性載劑。亦可使用鹽水溶液及右旋糖水溶液及甘油溶液作為液體載劑，尤其用於可注射溶液。適合賦形劑(例如醫藥賦形劑)包括澱粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明膠、麥芽、稻穀、粉末、白堊、矽膠、硬脂酸鈉、丙三醇單

硬脂酸酯、滑石、氯化鈉、無水脫脂牛奶、丙三醇、丙烯、二醇、水、乙醇及其類似物。必要時，組合物亦可含有少量濕潤劑或乳化劑，或pH緩衝劑。組合物可呈溶液、懸浮液、乳液、錠劑、丸劑、膠囊、散劑、持續釋放調配物及其類似物之形式。口服組合物(包括調配物)可包括標準載劑，諸如醫藥級甘露醇、乳糖、澱粉、硬脂酸鎂、糖精鈉、纖維素、碳酸鎂等。適合載劑之實例描述於Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA中。包括醫藥化合物之組合物可含有預防或治療有效量之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)，例如呈分離或純化形式，以及適合量的載劑，以便提供適當投與至個體(例如，患者)之形式。調配物應適合投與模式。

【0052】 在一些實施例中，本發明提供可在本文中用作治療劑之5T4結合劑。此類藥劑包括結合於5T4之抗體(例如，單特異性或多特異性，包括雙特異性)及ADC。例示性抗體包括多株、單株、人源化、人類、雙特異性及異結合抗體，以及其親和力或其他特性增加或降低之變體。

【0053】 在一些實施例中，本文描述結合於5T4之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)，包括5T4多肽、5T4多肽片段、5T4肽或5T4抗原決定基。在一些實施例中，5T4結合劑為結合5T4之人類或人源化抗體(例如，包含人類恆定區)，包括5T4多肽、5T4多肽片段、5T4肽或5T4抗原決定基。在一些實施例中，5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (諸如人類5T4結合劑)可結合於表現於哺乳動物(例如，人類)細胞(包括表現5T4之腫瘤細胞)之表面上的5T4。在一些實施例中，5T4結合劑(例如，抗體或ADC)結合在細胞(諸如腫瘤細胞(例如，5T4抗原決定基))上暴露的5T4胞外抗原決定

基。在一些實施例中，本文描述結合於5T4 (諸如人類5T4或其部分)之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)。在一些實施例中，5T4為人類5T4。在一些實施例中，5T4結合劑為人類5T4結合劑(例如，結合於人類5T4之抗體或ADC)。人類5T4之例示性胺基酸序列描述於本文中。

【0054】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)與包含本文所描述之抗體中之任一者之VH區、VL區、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3 (諸如表1至表3中所描繪之VH區、VL區、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3之胺基酸序列)的5T4結合劑(例如，抗體或ADC)競爭結合於5T4，諸如人類5T4。因此在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)與包含來自以下之一個、兩個及/或三個VH CDR及/或一個、兩個及/或三個VL CDR的5T4結合劑(例如，抗體或ADC)競爭結合於5T4，諸如人類5T4：(a)命名為mAbA4之抗體；(b)命名為mAbA15之抗體；及(c)命名為mAbA17之抗體，如表1至表3中所示。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)與包含來自以下之一個、兩個及/或三個VH CDR及一個、兩個及/或三個VL CDR的5T4結合劑(例如，抗體或ADC)競爭結合於5T4，諸如人類5T4：(a)命名為mAbA4之抗體；(b)命名為mAbA15之抗體；及(c)命名為mAbA17之抗體；如表1至表3中所示。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)與包含來自以下之VH區及VL區的5T4結合劑(例如，抗體或ADC)競爭結合於5T4，諸如人類5T4：(a)命名為mAbA4之抗體；(b)命名為mAbA15之抗體；及(c)命名為mAbA17之抗體，如表1至表3中所示。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)與

包含以下的5T4結合劑(例如，抗體或ADC)競爭結合於5T4，諸如人類5T4：(a)包含SEQ ID NO:25之胺基酸序列的VH區及包含SEQ ID NO:26之胺基酸序列的VL區；(b)包含SEQ ID NO:44之胺基酸序列的VH區及包含SEQ ID NO:45之胺基酸序列的VL區；及(c)包含SEQ ID NO:62之胺基酸序列的VH區及包含SEQ ID NO:63之胺基酸序列的VL區。

【0055】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體)包含本文所描述之抗體中之任一者之VH區、VL區、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3，諸如表1至表3中所描繪之VH區、VL區、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3之胺基酸序列。因此，在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)包含來自以下之一個、兩個及/或三個重鏈CDR及/或一個、兩個及/或三個輕鏈CDR：(a)命名為mAbA4之抗體；(b)命名為mAbA15之抗體；及(c)命名為mAbA17之抗體，如表1至表3中所示。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)包含來自以下之一個、兩個及/或三個重鏈CDR及一個、兩個及/或三個輕鏈CDR：(a)命名為mAbA4之抗體；(b)命名為mAbA15之抗體；及(c)命名為mAbA17之抗體，如表1至表3中所示。

【0056】 在一些實施例中，5T4結合劑(例如，抗體或ADC)包含本文所描述之結合劑中之任一者之VH區，其包含VH CDR1、VH CDR2及/或VH CDR3，及/或VL區，其包含VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3(參見例如，表1至表3中之任一者)。因此，在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)包含來自表1之一個、兩個及/或三個重鏈CDR及/或一個、兩個及/或三個輕鏈CDR。在一些實施例中，本文所描

述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)包含來自表2之一個、兩個及/或三個重鏈CDR及/或一個、兩個及/或三個輕鏈CDR。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)包含來自表3之一個、兩個及/或三個重鏈CDR及/或一個、兩個及/或三個輕鏈CDR。

【0057】 命名為mAbA4之抗體包含為SEQ ID NO:25之VH序列及為SEQ ID NO:26之VL序列。

【0058】 命名為mAbA15之抗體包含為SEQ ID NO:44之VH序列及為SEQ ID NO:45之VL序列。

【0059】 命名為mAbA17之抗體包含為SEQ ID NO:62之VH序列及為SEQ ID NO:63之VL序列。

表1：抗體mAbA4

		例示性	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
VH CDR 序列	VH CDR1	GFTFSRYYIH (SEQ ID NO:1)	GFTFSRYY (SEQ ID NO:7)	RYYIH (SEQ ID NO:12)	GFTFSRY (SEQ ID NO:13)	SRYYIH (SEQ ID NO:18)	GFTFSRYYIH (SEQ ID NO:1)
	VH CDR2	FISPGGSYTYAD SVKG (SEQ ID NO:2)	ISPGGSYT (SEQ ID NO:8)	FISPGGSYTYAD SVKG (SEQ ID NO:2)	PGGS (SEQ ID NO:14)	WVAFISPGGSY TY (SEQ ID NO:19)	FISPGGSYTY (SEQ ID NO:24)
	VH CDR3	EYYSMGVLDY (SEQ ID NO:3)	AREYYSMGVL DY (SEQ ID NO:9)	EYYSMGVLDY (SEQ ID NO:3)	YYSMGVLD (SEQ ID NO:15)	AREYYSMGVL D (SEQ ID NO:20)	EYYSMGVLDY (SEQ ID NO:3)
VL CDR序 列	VL CDR1	RASQSVSSAVA (SEQ ID NO:4)	QSVSSA (SEQ ID NO:10)	RASQSVSSAVA (SEQ ID NO:4)	SQSVSSA (SEQ ID NO:16)	SSAVAWY (SEQ ID NO:21)	RASQSVSSAVA (SEQ ID NO:4)
	VL CDR2	SASSLYS (SEQ ID NO:5)	SAS (SEQ ID NO:11)	SASSLYS (SEQ ID NO:5)	SAS (SEQ ID NO:11)	LLIYSASSLY (SEQ ID NO:22)	SASSLYS (SEQ ID NO:5)
	VL CDR3	QQAYESPYT (SEQ ID NO:6)	QQAYESPYT (SEQ ID NO:6)	QQAYESPYT (SEQ ID NO:6)	AYESPY (SEQ ID NO:17)	QQAYESPY (SEQ ID NO:23)	QQAYESPYT (SEQ ID NO:6)
VH序列： EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYYIHWVRQAPGKGLEWVAFISPGGSYTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYYSMGVLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:25)							
VL序列： DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAYESPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:26)							

表2：抗體mAbA15

		例示性	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
VH CDR 序列	VH CDR1	GFTFSSYYIH (SEQ ID NO:27)	GFTFSSYY (SEQ ID NO:31)	SYYIH (SEQ ID NO:34)	GFTFSSY (SEQ ID NO:35)	SSYYIH (SEQ ID NO:39)	GFTFSSYYIH (SEQ ID NO:27)
	VH CDR2	YITSTGSYTEYADS VKG (SEQ ID NO:28)	ITSTGSYT (SEQ ID NO:32)	YITSTGSYTEYAD SVKG (SEQ ID NO:28)	STGS (SEQ ID NO:36)	WVAYITSTGSYT E (SEQ ID NO:40)	YITSTGSYTE (SEQ ID NO:43)
	VH CDR3	YDRSTRYSGLDY (SEQ ID NO:29)	ARYDRSTRYSGLDY (SEQ ID NO:33)	YDRSTRYSGLDY (SEQ ID NO:29)	DRSTRYSGLD (SEQ ID NO:37)	ARYDRSTRYSGLD (SEQ ID NO:41)	YDRSTRYSGLDY (SEQ ID NO:29)
VL CDR 序列	VL CDR1	RASQSVSSAVA (SEQ ID NO:4)	QSVSSA (SEQ ID NO:10)	RASQSVSSAVA (SEQ ID NO:4)	SQSVSSA (SEQ ID NO:16)	SSAVAWY (SEQ ID NO:21)	RASQSVSSAVA (SEQ ID NO:4)
	VL CDR2	SASSLYS (SEQ ID NO:5)	SAS (SEQ ID NO:11)	SASSLYS (SEQ ID NO:5)	SAS (SEQ ID NO:11)	LLIYSASSLY (SEQ ID NO:22)	SASSLYS (SEQ ID NO:5)
	VL CDR3	QQAYATPVT (SEQ ID NO:30)	QQAYATPVT (SEQ ID NO:30)	QQAYATPVT (SEQ ID NO:30)	AYATPV (SEQ ID NO:38)	QQAYATPV (SEQ ID NO:42)	QQAYATPVT (SEQ ID NO:30)
VH序列： EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYIHWVRQAPGKGLEWVAYITSTGSYTEYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYDRSTRYSGLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:44)							
VL序列： DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAYATPVTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:45)							

表3：抗體mAbA17

		例示性	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
VH CDR 序列	VH CDR1	GFTFSRYWIH (SEQ ID NO:46)	GFTFSRYW (SEQ ID NO:50)	RYWIH (SEQ ID NO:53)	GFTFSRY (SEQ ID NO:13)	SRYWIH (SEQ ID NO:57)	GFTFSRYWIH (SEQ ID NO:46)
	VH CDR2	AIFPYSGSTLYAD SVKG (SEQ ID NO:47)	IFPYSGST (SEQ ID NO:51)	AIFPYSGSTLYA DSVKG (SEQ ID NO:47)	PYSG (SEQ ID NO:54)	WVA AIFPYSGSTL (SEQ ID NO:58)	AIFPYSGSTL (SEQ ID NO:61)
	VH CDR3	SPSR SILPSGLDY (SEQ ID NO:48)	ARSPSR SILPSG LDY (SEQ ID NO:52)	SPSR SILPSGLDY (SEQ ID NO:48)	PSR SILPSGLD (SEQ ID NO:55)	ARSPSR SILPSGLD (SEQ ID NO:59)	SPSR SILPSGLDY (SEQ ID NO:48)
VL CDR 序列	VL CDR1	RASQSVSSAVA (SEQ ID NO:4)	QSVSSA (SEQ ID NO:10)	RASQSVSSAVA (SEQ ID NO:4)	SQSVSSA (SEQ ID NO:16)	SSAVAWY (SEQ ID NO:21)	RASQSVSSAVA (SEQ ID NO:4)
	VL CDR2	SASSLYS (SEQ ID NO:5)	SAS (SEQ ID NO:11)	SASSLYS (SEQ ID NO:5)	SAS (SEQ ID NO:11)	LLIYSASSLY (SEQ ID NO:22)	SASSLYS (SEQ ID NO:5)
	VL CDR3	QQGDGSPYT (SEQ ID NO:49)	QQGDGSPYT (SEQ ID NO:49)	QQGDGSPYT (SEQ ID NO:49)	GDGSPY (SEQ ID NO:56)	QQGDGSPY (SEQ ID NO:60)	QQGDGSPYT (SEQ ID NO:49)
VH序列： EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWIHWVRQAPGKGLEWVAAIFPYSGSTLYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARSPSR SILPSGLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:62)							
VL序列： DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGDGSP YTFGGQGTKVEIK (SEQ ID NO:63)							

【0060】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含VH區或VH域。另外地或可替代地，在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含VL區或VL域。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)具有以下之組合：(i) VH域或VH區；及/或(ii) VL域或VL區。

【0061】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含具有以下之組合的重鏈(i)表1至表3中之任一者中所描述的VH；及(ii)一或多個重鏈恆定域(例如，CH1、鉸鏈、CH2及CH3)。例示性IgG重鏈包含如本文中所描述之任何VH序列及以下CH1、鉸鏈、CH2及CH3胺基酸序列：

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP
EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PGK (SEQ ID NO:69)。

另一例示性IgG重鏈包含如本文所描述之任何VH序列及以下CH1、鉸鏈、CH2及CH3胺基酸序列：

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG

ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALKAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK (SEQ ID NO:70)。

【0062】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含具有以下之組合的輕鏈：(i)表1至表3中之任一者中所描述的VL域；及(ii)輕鏈恆定域(CL)。例示性輕鏈(例如，用於與IgG重鏈配對)包含本文所描述之任何VL序列及以下CL胺基酸序列：

RTVAAPSVFIFPPSDSQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
QGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:71)。

【0063】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含(a)具有以下之組合的重鏈：(i)表1至表3中之任一者中所描述的VH，及(ii)一或多個重鏈恆定域(例如，CH1、鉸鏈、CH2及CH3)；及(b)具有以下之組合的輕鏈：(i)表1至表3中之任一者中所描述的VL，及(ii)呈IgG格式之輕鏈恆定域(CL或CL1)。例示性5T4結合劑(例如，抗體或ADC)包含IgG重鏈，其包含如本文所描述之任何VH序列及SEQ ID NO:69或70之胺基酸序列，及輕鏈，其包含如本文所描述之任何VL序列及SEQ ID NO:71之胺基酸序列。

【0064】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含一或多個CDR，包括六個CDR，例如表1中鑑別之VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含一或多個CDR，包括六個CDR，例如表2中鑑別之VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含一或多個CDR，包括六個CDR，例如表3中鑑別之VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含一或多個CDR，包括六個CDR，例如表1、表2及/或表3中鑑別之VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3。

【0065】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含一或多個CDR，包括三個VH CDR，例如表1中所列出之VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3。在其他實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含一或多個CDR，包括三個VL CDR，例如表1中所列出之VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3。在又其他實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含一或多個CDR，包括三個VH CDR，例如表1中所列出之VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3，及一或多個CDR，包括三個

VL CDR，例如表1中所列出之VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3。

【0066】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含一或多個CDR，包括三個VH CDR，例如表2中所列出之VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3。在其他實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含一或多個CDR，包括三個VL CDR，例如表2中所列出之VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3。在又其他實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含一或多個CDR，包括三個VH CDR，例如表2中所列出之VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3，及一或多個CDR，包括三個VL CDR，例如表2中所列出之VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3。

【0067】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含一或多個CDR，包括三個VH CDR，例如表3中所列出之VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3。在其他實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含一或多個CDR，包括三個VL CDR，例如表3中所列出之VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3。在又其他實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)包含一或多個CDR，包括三個VH CDR，例如表3中所列出之VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3，及一或多個CDR，包括三個VL CDR，例如表3中所列出之VL CDR1、VL CDR2及/或VL CDR3。

【0068】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體)包含一或多個互補決定區(CDR)，其包含選自由SEQ ID

NO: 1-24、27-43或46-61組成之群的胺基酸序列。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含兩個或更多個互補決定區(CDR)，其包含選自由SEQ ID NO: 1-24、27-43或46-61組成之群的胺基酸序列。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含三個或更多個互補決定區(CDR)，其包含選自由SEQ ID NO: 1-24、27-43或46-61組成之群的胺基酸序列。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含四個或更多個互補決定區(CDR)，其包含選自由SEQ ID NO: 1-24、27-43或46-61組成之群的胺基酸序列。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含五個或更多個互補決定區(CDR)，其包含選自由SEQ ID NO: 1-24、27-43或46-61組成之群的胺基酸序列。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含六個或更多個互補決定區(CDR)，其包含選自由SEQ ID NO: 1-24、27-43或46-61組成之群的胺基酸序列。

【0069】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含表1至表3中所列出之一或多個(例如，一個、兩個或三個) VH CDR。在其他實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含表1至表3中所列出之一或多個(例如，一個、兩個或三個) VL CDR。在又其他實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含表1至表3中所列出之一或多個(例如，一個、兩個或三個) VH CDR及表1至表3中所列出之一或多個VL CDR。因此，在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含具有SEQ ID NO:1、7、12、13、

18、27、31、34、35、39、46、50、53及57中之任一者之胺基酸序列的VH CDR1。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含具有SEQ ID NO:2、8、14、19、24、28、32、36、40、43、47、51、54、58及61中之任一者之胺基酸序列的VH CDR2。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含具有SEQ ID NO:3、9、15、20、29、33、37、41、48、52、55及59中之任一者之胺基酸序列的VH CDR3。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含VH CDR1及/或VH CDR2及/或VH CDR3，其獨立地選自如表1至表3中描繪之胺基酸序列中之任一者中所描繪的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含具有SEQ ID NO:4、10、16及21中之任一者之胺基酸序列的VL CDR1。在另一實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含具有SEQ ID NO:5、11及22中之任一者之胺基酸序列的VL CDR2。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含具有SEQ ID NO:6、17、23、30、38、42、49、56及60中之任一者之胺基酸序列的VL CDR3。在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體或ADC)包含VL CDR1及/或VL CDR2及/或VL CDR3，其獨立地選自如表1至表3中描繪之胺基酸序列中之任一者中所描繪的VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3。

【0070】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體，或ADC)包含重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有選自由

以下組成之群之胺基酸序列的VH CDR1：(i)SEQ ID NO:1、27或46，(ii) SEQ ID NO:7、31或50，(iii) SEQ ID NO:12、34或53，(iv) SEQ ID NO:13或35及(v) SEQ ID NO:18、39或57；(2)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH CDR2：(i) SEQ ID NO:2、28或47，(ii) SEQ ID NO:8、32或51，(iii) SEQ ID NO:14、36或54，(iv) SEQ ID NO:19、40或58，及(v) SEQ ID NO:24、43或61；及(3)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH CDR3：(i) SEQ ID NO:3、29或48，(ii) SEQ ID NO:9、33或52，(iii) SEQ ID NO:15、37或55，及(iv) SEQ ID NO:20、41或59；及/或輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL CDR1：(i) SEQ ID NO:4，(ii) SEQ ID NO:10，(iii) SEQ ID NO:16，及(iv) SEQ ID NO:21；(2)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL CDR2：(i) SEQ ID NO:5，(ii) SEQ ID NO:11，及(iii) SEQ ID NO:22；及(3)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL CDR3：(i) SEQ ID NO:6、30或49，(ii) SEQ ID NO:17、38或56，及(iii) SEQ ID NO:23、42或60。

【0071】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體，或ADC)包含重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH CDR1：(i) SEQ ID NO:1、27或46，(ii) SEQ ID NO:7、31或50，(iii) SEQ ID NO:12、34或53，(iv) SEQ ID NO:13或35及(v) SEQ ID NO:18、39或57；(2)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH CDR2：(i) SEQ ID NO:2、28或47，(ii) SEQ ID NO:8、32或51，(iii) SEQ ID NO:14、36或54，(iv)SEQ ID NO:19、40或58，及(v) SEQ ID NO:24、43或61；及(3)具有選自由以下組成之群之胺

基酸序列的VH CDR3：(i) SEQ ID NO:3、29或48，(ii) SEQ ID NO:9、33或52，(iii) SEQ ID NO:15、37或55，及(iv) SEQ ID NO:20、41或59。

【0072】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如抗體，諸如雙特異性抗體，或ADC)包含輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL CDR1：(i)SEQ ID NO:4，(ii) SEQ ID NO:10，(iii) SEQ ID NO:16，及(iv) SEQ ID NO:21；(2)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL CDR2：(i) SEQ ID NO:5，(ii) SEQ ID NO:11，及(iii) SEQ ID NO:22；及(3)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL CDR3：(i) SEQ ID NO:6、30或49，(ii) SEQ ID NO:17、38或56，及(iii) SEQ ID NO:23、42或60。

【0073】 在一些實施例中，本文描述一種結合於5T4之抗體或其片段，其中該抗體或其片段包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH CDR1：(i) SEQ ID NO:1、27或46，(ii) SEQ ID NO:7、31或50，(iii) SEQ ID NO:12、34或53，(iv) SEQ ID NO:13或35，及(v)SEQ ID NO:18、39或57；(2)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH CDR2：(i) SEQ ID NO:2、28或47，(ii) SEQ ID NO:8、32或51，(iii) SEQ ID NO:14、36或54，(iv) SEQ ID NO:19、40或58，及(v) SEQ ID NO:24、43或61；及(3)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH CDR3：(i) SEQ ID NO:3、29或48，(ii) SEQ ID NO:9、33或52，(iii) SEQ ID NO:15、37或55，及(iv) SEQ ID NO:20、41或59；及/或輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL CDR1：(i) SEQ ID NO:4，(ii) SEQ ID NO:10，(iii) SEQ ID NO:16，及(iv) SEQ ID NO:21；(2)具有選自由以下組成之群之胺

基酸序列的VL CDR2：(i) SEQ ID NO:5，(ii) SEQ ID NO:11，及(iii) SEQ ID NO:22；及(3)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL CDR3：(i) SEQ ID NO:6、30或49，(ii) SEQ ID NO:17、38或56，及(iii) SEQ ID NO:23、42或60。

【0074】 在一些實施例中，本文描述一種結合於5T4之抗體或其片段，其中該抗體或其片段包含重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH CDR1：(i) SEQ ID NO:1、27或46，(ii) SEQ ID NO:7、31或50，(iii) SEQ ID NO:12、34或53，(iv) SEQ ID NO:13或35，及(v)SEQ ID NO:18、39或57；(2)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH CDR2：(i) SEQ ID NO:2、28或47，(ii) SEQ ID NO:8、32或51，(iii) SEQ ID NO:14、36或54，(iv) SEQ ID NO:19、40或58，及(v) SEQ ID NO:24、43或61；及(3)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VH CDR3：(i) SEQ ID NO:3、29或48，(ii) SEQ ID NO:9、33或52，(iii) SEQ ID NO:15、37或55，及(iv) SEQ ID NO:20、41或59。

【0075】 在一些實施例中，本文描述一種結合於5T4之抗體或其片段，其中該抗體或其片段包含輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL CDR1：(i) SEQ ID NO:4，(ii) SEQ ID NO:10，(iii) SEQ ID NO:16，及(iv)SEQ ID NO:21；(2)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL CDR2：(i) SEQ ID NO:5，(ii) SEQ ID NO:11，及(iii) SEQ ID NO:22；及(3)具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的VL CDR3：(i) SEQ ID NO:6、30或49，(ii) SEQ ID NO:17、38或56，及(iii) SEQ ID NO:23、42或60。

【0076】 在一些實施例中，本文描述一種結合於5T4之抗體或其片段，其包含來自以下之所有三個重鏈互補決定區(CDR)及/或所有三個輕鏈CDR：命名為mAbA4之抗體，其包含為SEQ ID NO:25之VH序列及為SEQ ID NO:26之VL序列；命名為mAbA15之抗體，其包含為SEQ ID NO:44之VH序列及為SEQ ID NO:45之VL序列；或命名為mAbA17之抗體，其包含為SEQ ID NO:62之VH序列及為SEQ ID NO:63之VL序列。在一些實施例中，抗體或其片段包含來自命名為mAbA4之抗體的所有三個重鏈CDR及/或所有三個輕鏈CDR。在一些實施例中，抗體或其片段包含來自命名為mAbA15之抗體的所有三個重鏈CDR及/或所有三個輕鏈CDR。在一些實施例中，抗體或其片段包含來自命名為mAbA17之抗體的所有三個重鏈CDR及/或所有三個輕鏈CDR。

【0077】 在一些實施例中，本文描述一種結合於5T4之抗體或其片段，其中該抗體包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含表1至表3中描繪之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3胺基酸序列；及/或(b)輕鏈可變(VL)區，其包含表1至表3中描繪之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3胺基酸序列。在一些實施例中，抗體包含重鏈可變(VH)區，其包含表1至表3中描繪之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3胺基酸序列。在一些實施例中，抗體包含輕鏈可變(VL)區，其包含表1至表3中描繪之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3胺基酸序列。

【0078】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，其包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有選自由SEQ ID NO:1、7、12、13及18組成之群之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有選自由SEQ ID NO:2、8、14、19及24組成之群之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有選自由SEQ ID

NO:3、9、15及20組成之群之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有選自由SEQ ID NO:4、10、16及21組成之群之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有選自由SEQ ID NO:5、11及22組成之群之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有選自由SEQ ID NO:6、17及23組成之群之胺基酸序列的VL CDR3。

【0079】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:1之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:2之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:3之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:6之胺基酸序列的VL CDR3。

【0080】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，其包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:7之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:8之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:9之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:10之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:6之胺基酸序列的VL CDR3。

【0081】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:12之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:2之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:3之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:6之胺基酸序列的VL CDR3。

【0082】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:13之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:14之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:15之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:16之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:17之胺基酸序列的VL CDR3。

【0083】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:18之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:19之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:20之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:21之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:22之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:23之胺基酸序列的VL CDR3。

【0084】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:1之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:24之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:3之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:6之胺基酸序列的VL CDR3。

【0085】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，其包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有選自由SEQ ID NO:27、31、34、35及39組成之群之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有選自由SEQ ID NO:28、32、36、40及43組成之群之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有選自由SEQ ID NO:29、33、37及41組成之群之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可

變(VL)區，其包含：(1)具有選自由SEQ ID NO:4、10、16及21組成之群之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有選自由SEQ ID NO:5、11及22組成之群之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有選自由SEQ ID NO:30、38及42組成之群之胺基酸序列的VL CDR3。

【0086】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:27之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:28之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:29之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:30之胺基酸序列的VL CDR3。

【0087】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，其包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:31之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:32之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:33之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:10之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:30之胺基酸序列的VL CDR3。

【0088】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:34之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:28之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:29之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:30之胺基酸序列的VL CDR3。

【0089】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:35之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:36之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:37之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:16之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:38之胺基酸序列的VL CDR3。

【0090】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:39之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:40之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:41之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:21之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:22之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:42之胺基酸序列的VL CDR3。

【0091】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:27之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:43之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:29之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:30之胺基酸序列的VL CDR3。

【0092】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，其包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有選自由SEQ ID NO:13、46、50、53及57組成之群之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有選自由SEQ ID NO:47、51、54、58及61組成之群之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有選自由SEQ ID NO:48、52、55及59組成之群之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可

變(VL)區，其包含：(1)具有選自由SEQ ID NO:4、10、16及21組成之群之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有選自由SEQ ID NO:5、11及22組成之群之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有選自由SEQ ID NO:49、56及60組成之群之胺基酸序列的VL CDR3。

【0093】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:46之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:47之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:48之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:49之胺基酸序列的VL CDR3。

【0094】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，其包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:50之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:51之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:52之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:10之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:49之胺基酸序列的VL CDR3。

【0095】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:53之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:47之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:48之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:49之胺基酸序列的VL CDR3。

【0096】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:13之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:54之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:55之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:16之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:56之胺基酸序列的VL CDR3。

【0097】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:57之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:58之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:59之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:21之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:22之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:60之胺基酸序列的VL CDR3。

【0098】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，包含：(a)重鏈可變(VH)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:46之胺基酸序列的VH CDR1；(2)具有SEQ ID NO:61之胺基酸序列的VH CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:48之胺基酸序列的VH CDR3；及(b)輕鏈可變(VL)區，其包含：(1)具有SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1；(2)具有SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2；及(3)具有SEQ ID NO:49之胺基酸序列的VL CDR3。

【0099】 在一些實施例中，本文描述一種抗體，其包含本文所描述之VH區及/或VL區，其中VH及/或VL包含人類構架序列。在一些實施例中，VH區及/或VL區包含構架1 (FR1)、構架2 (FR2)、構架3 (FR3)及/或構架4 (FR4)序列，諸如人類FR1、人類FR2、人類FR3及/或人類FR4。

【0100】 在一些實施例中，本文所描述之抗體為單株抗體。在一些

實施例中，單株抗體為人源化、人類或嵌合抗體。在一些實施例中，本文所描述之抗體為Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、(scFv)₂、單鏈抗體分子、雙可變區抗體、單可變區抗體、線性抗體、V區或由抗體片段形成之多特異性抗體。

【0101】 在一些實施例中，本文描述一種結合於與本文所描述之抗體中之任一者之抗體或其片段基本上相同的抗原決定基的結合劑。在一些實施例中，本文描述一種與本文所描述之抗體中之任一者之抗體或其片段競爭結合於人類5T4的結合劑。在一些實施例中，結合劑為抗體或其片段或包含抗體或其片段之ADC。

【0102】 在某些態樣中，5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)之CDR可根據Kabat系統測定(Kabat等人(1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391及Kabat等人(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, 美國衛生與公眾服務部(U.S. Department of Health and Human Services), NIH公開案第91-3242號)。

【0103】 在某些態樣中，5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)之CDR可根據Chothia系統測定，其將在本文中稱為「Chothia CDR」(參見例如，Chothia及Lesk, 1987, J. Mol. Biol., 196:901-917；Al-Lazikani等人, 1997, J. Mol. Biol., 273:927-948；Chothia等人, 1992, J. Mol. Biol., 227:799-817；Tramontano A等人, 1990, J. Mol. Biol. 215(1):175-82；及美國專利第7,709,226號)。

【0104】 在某些態樣中，5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)之CDR可根據ImMunoGeneTics (IMGT[®])系統測定，例如，如Lefranc, M.-P., 1999, The Immunologist, 7:132-136及Lefranc, M.-P.等人,

1999, *Nucleic Acids Res.*, 27:209-212 (「IMGT CDR」)中所描述。

【0105】 在某些態樣中，5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)之CDR可根據AbM系統測定，其將在本文中稱為「AbM CDR」，例如，如MacCallum等人, 1996, *J. Mol. Biol.*, 262:732-745中所描述。亦參見例如Martin, A., 「Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains」, *Antibody Engineering*, Kontermann及Dübel編, 第31章, 第422-439頁, Springer-Verlag, Berlin (2001)。

【0106】 在某些態樣中，5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)之CDR可根據Contact系統測定，其將在本文中稱為「Contact CDR」(參見例如，MacCallum RM等人, 1996, *J Mol Biol* 5: 732-745)。
Contact CDR係基於對可獲得的複雜晶體結構之分析。

【0107】 在一些實施例中，只要保持結合於5T4 (例如，人類5T4) (例如，實質上保持例如至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%)，則沿本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)之VH (例如，CDR1、CDR2或CDR3)及/或VL (例如，CDR1、CDR2或CDR3)區域的一或多個CDR之位置可變化一個、兩個、三個、四個、五個或六個胺基酸位置。舉例而言，在一些實施例中，只要保持結合於5T4 (例如，人類5T4) (例如，實質上保持例如至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%)，則限定表1、表2或表3中之任一者之CDR的位置可藉由使CDR之N端及/或C端邊界相對於當前CDR位置移位一個、兩個、三個、四個、五個或六個胺基酸而變化。在其他實施例中，只要保持結合於5T4 (例如，人類5T4) (例如，實質上保持例如至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%)，則

沿本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)之VH (例如，CDR1、CDR2或CDR3)及/或VL (例如，CDR1、CDR2或CDR3)區域的一或多個CDR之長度可變化(例如，更短或更長)一個、兩個、三個、四個、五個或更多個胺基酸。舉例而言，在一些實施例中，只要保持結合於5T4 (例如，人類5T4) (例如，實質上保持例如至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%)，則本文所描述之VH及/或VL CDR1、CDR2及/或CDR3可比由SEQ ID NO: 1-24、27-43或46-61描述之CDR中之一或多者短一個、兩個、三個、四個、五個或更多個胺基酸。在其他實施例中，只要保持結合於5T4 (例如，人類5T4) (例如，實質上保持例如至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%)，則本文所描述之VH及/或VL CDR1、CDR2及/或CDR3可比由SEQ ID NO: 1-24、27-43或46-61描述之CDR中之一或多者長一個、兩個、三個、四個、五個或更多個胺基酸。在一些實施例中，只要保持結合於5T4 (例如人類5T4) (例如，實質上保持例如至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%)，則本文所描述之VH及/或VL CDR1、CDR2及/或CDR3之胺基端可相較於由SEQ ID NO: 1-24、27-43或46-61描述之CDR中之一或多者縮短或延長一個、兩個、三個、四個、五個或更多個胺基酸。另外地或可替代地，在一些實施例中，只要保持結合於5T4 (例如，人類5T4) (例如，實質上保持例如至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%)，則本文所描述之VH及/或VL CDR1、CDR2及/或CDR3之羧基端可相較於由SEQ ID NO: 1-24、27-43或46-61描述之CDR中之一或多者縮短或延長一個、兩個、三個、四個、五個或更多個胺基酸。此項技術中已知之任何方法可用於確定

是否保持結合於5T4 (例如，人類5T4)，例如本文所描述之「實例」章節中所描述的結合分析及條件。舉例而言，本文所描述之實例2描述一種用於量測與5T4 (例如，人類5T4)之結合的分析。

【0108】 在其他實施例中，本文所呈現之結合於5T4的5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)進一步包含保守序列修飾。關於作為5T4結合劑(例如，抗體) (諸如人類5T4結合劑)之多肽，保守序列修飾包括保守胺基酸取代，其包括其中胺基酸殘基經具有類似側鏈之胺基酸殘基置換的取代。此項技術中已定義具有類似側鏈之胺基酸殘基家族。因此，在一些實施例中，5T4中經預測非必需的胺基酸殘基經來自相同側鏈家族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及其編碼之核苷酸的方法為此項技術中熟知的(參見例如，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))。在一些實施例中，本文所描述之保守序列修飾使5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (包括人類5T4結合劑)之胺基酸序列修飾50%、或55%、或60%、或65%、或70%、或75%、或80%、或85%、或90%、或95%、或98%、或99%。在一些實施例中，胺基酸序列修飾係指CDR之至多1、2、3、4、5或6個胺基酸取代，諸如表1至表3中之任一者中所描述的彼等。因此，例如，各此類CDR可含有至多5個保守胺基酸取代，例如至多(不超過) 4個保守胺基酸取代，例如至多(不超過) 3個保守胺基酸取代，例如至多(不超過) 2個保守胺基酸取代或不超過1個保守胺基酸取代。在一些實施例中，5T4結合劑(例如，抗體) (包括人類5T4結合劑)含有一或多個(包括六個)與mAbA4、mAbA15或mAbA17之CDR具有至少75%、80%、

85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的CDR (參見例如，表1、表2或表3)。在一些實施例中，5T4結合劑(例如，抗體) (包括人類5T4結合劑)含有包含與mAbA4、mAbA15或mAbA17之CDR一致之CDR的VH及VL(參見例如，表1、表2或表3)。在一些實施例中，胺基酸序列修飾不包括SDR內之任何修飾。在一些實施例中，胺基酸序列修飾不包括CDR (諸如CDR1、CDR2、CDR3或其任何組合)內之任何修飾。在另外的實施例中，胺基酸序列修飾位於構架或恆定區中。

【0109】 在一些實施例中，本文提供一種抗體或其片段，其包含：VH，其包含與SEQ ID NO:25具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之胺基酸序列，及VL，其包含與SEQ ID NO:26具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之胺基酸序列，且保持抗體或其片段與5T4 (例如，人類5T4)之結合(例如，實質上保持例如至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%)。

【0110】 在一些實施例中，本文提供一種抗體或其片段，其包含：VH，其包含與SEQ ID NO:44具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之胺基酸序列，及VL，其包含與SEQ ID NO:45具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之胺基酸序列，且保持抗體或其片段與5T4 (例如，人類5T4)之結合(例如，實質上保持例如至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%)。

【0111】 在一些實施例中，本文提供一種抗體或其片段，其包含：VH，其包含與SEQ ID NO:62具有至少75%、80%、85%、90%、95%、

96%、97%、98%或99%一致性之胺基酸序列，及VL，其包含與SEQ ID NO:63具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之胺基酸序列，且保持抗體或其片段與5T4（例如，人類5T4）之結合（例如，實質上保持例如至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%）。

【0112】 本發明提供具有掩蔽部分及/或可裂解部分之5T4結合劑（例如，抗體），其中5T4結合劑（例如，抗體）之5T4結合域中之一或多者經掩蔽（例如，經由掩蔽部分）及/或可活化（例如，經由可裂解部分）。用於掩蔽5T4結合劑（例如，抗體）之技術為此項技術中熟知的，包括SAFEbody掩蔽技術（參見例如，美國專利申請公開案第2019/0241886號）及前抗體掩蔽技術（參見例如，美國專利申請公開案第2015/0079088號）。此類技術可用於產生經掩蔽及/或可活化之5T4結合劑（例如，抗體）。此類經掩蔽及/或可活化5T4結合劑（例如，抗體）適用於製備結合物，包括免疫結合物、ADC、經掩蔽ADC及可活化抗體-藥物結合物（AADC），包含本發明之5T4結合劑（例如，抗體）（諸如人類5T4結合劑）中之任一者，包括直接或間接連接另一種藥劑（諸如藥物）之彼等。舉例而言，本發明之5T4結合劑（例如，抗體）（諸如人類5T4結合劑）可藉由合成連接子共價結合於一或多種藥劑（諸如藥物）。

【0113】 視需要，5T4結合劑（例如抗體）（包括人類5T4結合劑）連接或結合（直接地或間接地）至具有效應子功能之部分，諸如細胞毒性活性（例如化學療法部分或放射性同位素）或免疫募集活性。連接或結合（直接地或間接地）之部分包括細胞毒性藥物（例如毒素，諸如奧瑞他汀（aurostatins））或非細胞毒性藥物（例如訊息轉導調節劑，諸如激酶或掩蔽

5T4結合劑(例如抗體)之一或多個結合域之掩蔽部分，或允許藉由裂解可裂解部分來揭開以掩蔽結合物之形式於腫瘤微環境中之5T4結合劑(例如抗體)之一或多個結合域來活化5T4結合劑之可裂解部分)。促進免疫募集之部分可包括其他抗原結合劑，諸如選擇性結合於先天性及/或適應性免疫系統之細胞的病毒蛋白。可替代地或另外，5T4結合劑(例如，抗體)(包括人類5T4結合劑)視情況連接或結合(直接地或間接地)至促進自混合物(例如，標籤)或具有報導子活性之部分(例如，偵測標籤或報導子蛋白)分離之部分。將瞭解，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體)(包括人類5T4結合劑)之特徵亦延伸至包含5T4結合劑片段之多肽。

【0114】 在一些實施例中，本文所描述之結合於人類5T4的5T4結合劑(例如，抗體)(包括5T4結合劑)可連接或結合(直接地或間接地)至多肽，此可引起可活化抗體之產生。在一些實施例中，5T4結合劑(例如，抗體)(包括人類5T4結合劑)連接或結合(直接地或間接地)至另外的藥劑。在一些實施例中，另外的藥劑為藥物，當ADC之抗體包含掩蔽部分及可裂解部分時，產生ADC或AADC。

【0115】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體)(包括人類5T4結合劑)結合或重組連接(直接地或間接地)至治療劑(例如，細胞毒性劑)或診斷劑或可偵測劑。結合或重組連接之抗體(包括掩蔽或可活化結合物)可為適用的，例如用於治療或預防疾病、病症或病況，諸如5T4介導之疾病、病症或病況。共軛或重組連接之5T4結合劑(例如，抗體)(包括掩蔽或可活化結合物)可為適用的，例如用於監測或預後5T4介導之疾病、病症或病況之發作、發展、進程及/或嚴重程度。

【0116】 此類診斷及偵測可例如藉由將5T4結合劑(例如，抗體)與

包括例如以下之可偵測物質偶合來實現：酶，包括但不限於辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙醯膽鹼酯酶；輔基，包括但不限於鏈酶抗生物素蛋白/生物素或抗生物素蛋白/生物素；螢光物質，包括但不限於傘酮、螢光素、異硫氰酸螢光素、若丹明(rhodamine)、二氯三吡基胺螢光素、丹磺醯氯或藻紅素；發光材料，包括但不限於流明諾(luminol)；生物發光材料，包括但不限於螢光素酶、螢光素或發光蛋白質(aequorin)；化學發光材料，包括但不限於基於吡啶之化合物或HALOTAG；放射性材料，包括但不限於碘(^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 及 ^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氚(^3H)、銦(^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 及 ^{111}In)、鎝(^{99}Tc)、鈦(^{201}Ti)、鎳(^{68}Ga 及 ^{67}Ga)、鈀(^{103}Pd)、鉬(^{99}Mo)、氙(^{133}Xe)、氟(^{18}F)、 ^{153}Sm 、 ^{177}Lu 、 ^{159}Gd 、 ^{149}Pm 、 ^{140}La 、 ^{175}Yb 、 ^{166}Ho 、 ^{90}Y 、 ^{47}Sc 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{142}Pr 、 ^{105}Rh 、 ^{97}Ru 、 ^{68}Ge 、 ^{57}Co 、 ^{65}Zn 、 ^{85}Sr 、 ^{32}P 、 ^{153}Gd 、 ^{169}Yb 、 ^{51}Cr 、 ^{54}Mn 、 ^{75}Se 、 ^{113}Sn 或 ^{117}Sn ；使用各種正子發射斷層攝影之正電子發射金屬；及非放射性順磁性金屬離子。

【0117】 本文亦描述5T4結合劑(例如抗體)重組連接或結合(直接地或間接地共價或非共價結合)至異源蛋白或多肽(或其片段)，例如多肽(例如約10、約20、約30、約40、約50、約60、約70、約80、約90或約100個胺基酸)以產生融合蛋白，以及其用途。特定言之，本文描述包含本文所描述之5T4結合劑(例如抗體) (包括人類5T4結合劑)之抗原結合片段(例如，包含VH及/或VL之CDR1、CDR2及/或CDR3)的融合蛋白及異源蛋白、多肽或肽。在一些實施例中，連接5T4結合劑(例如抗體)之異源蛋白、多肽或肽適用於使5T4結合劑靶向特定細胞(例如表現5T4之細胞，包括腫瘤細胞)。連接5T4結合劑(例如抗體)之其他非限制性異源蛋白、多肽

或肽可適用作內化訊息或免疫細胞接合子。

【0118】此外，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體)(包括人類5T4結合劑)可連接(直接地或間接地)至標記物或「標籤」序列(諸如肽)以促進純化。在一些實施例中，標記物或標籤胺基酸序列為六組胺酸肽，諸如pQE載體中所提供之標籤(參見例如，QIAGEN, Inc.)，以及市售的多種標籤。舉例而言，如Gentz等人, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-24中所描述，六組胺酸為融合蛋白之純化提供方便。適用於純化之其他肽標籤包括但不限於紅血球凝集素(「HA」)標籤，其對應於衍生自流感紅血球凝集素蛋白質之抗原決定基(Wilson等人, 1984, Cell 37:767-78)；及「FLAG」標籤。

【0119】用於將部分(包括多肽)連接或結合(直接地或間接地)至抗體的方法為此項技術中熟知的，其中之任一者可用於製備本文所描述之抗體-藥物結合物或融合蛋白。

【0120】在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體)為融合蛋白。如本文所使用，術語「融合蛋白」係指包含結合劑(例如，抗體)之胺基酸序列及異源多肽或蛋白(例如，多肽或蛋白質通常不為抗體之一部分)之胺基酸序列的多肽。在某些實施例中，融合蛋白保留5T4結合劑之生物活性。在某些實施例中，融合蛋白包含5T4抗體VH區、VL區、VH CDR (一個、兩個或三個VH CDR)及/或VL CDR (一個、兩個或三個VL CDR)，其中融合蛋白結合於5T4抗原決定基、5T4片段及/或5T4多肽。

【0121】融合蛋白可經由例如基因改組、模體改組、外顯子改組及/或密碼子改組(統稱為「DNA改組」)之技術產生。DNA改組可用於改變

如本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體) (包括人類5T4結合劑)，包括例如具有較高親和力及較低解離速率之5T4結合劑之活性(參見例如，美國專利第5,605,793號；第5,811,238號；第5,830,721號；第5,834,252號；及第5,837,458號；Patten等人, 1997, Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33；Harayama, 1998, Trends Biotechnol. 16(2):76-82；Hansson等人, 1999, J. Mol. Biol. 287:265-76；及Lorenzo及Blasco, 1998, Biotechniques 24(2):308-13)。在一些實施例中，5T4結合劑(包括人類5T4結合劑)可藉由在重組之前藉由易錯PCR、隨機核苷酸插入或其他方法進行隨機突變誘發而經改變。編碼本文所描述之5T4結合劑之聚核苷酸可與一或多種異源分子之一或多種組分、模體、區段、部分、域、片段等重組。

【0122】 本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體) (包括人類5T4結合劑)亦可連接至固體載體，其適用於目標抗原之免疫分析或純化。此類固體載體包括但不限於玻璃、纖維素、聚丙烯醯胺、耐綸、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

【0123】 本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體) (包括人類5T4結合劑)亦可連接或結合(直接地或間接地)至第二抗體以形成抗體異結合物。

【0124】 連接子可為促進連接或結合之藥劑在細胞中釋放的「可裂解部分」，但本文中亦考慮不可裂解連接子。用於本發明之結合物(例如，ADC或AADC)中的連接子包括但不限於酸不穩定連接子(例如，脘連接子)、含二硫鍵連接子、肽酶敏感性連接子(例如，肽連接子，包含胺基酸，例如纈胺酸及/或瓜胺酸，諸如瓜胺酸-纈胺酸或苯丙胺酸-離胺酸)、光不穩定連接子、二甲基連接子、硫醚連接子或經設計以逃避多藥物轉運體介導之抗性的親水性連接子。

【0125】 可使用多種雙官能蛋白質偶合劑來製備抗體及藥劑(包括其中藥劑為用於製備ADC或AADC之藥物)之結合物，該等雙官能蛋白質偶合劑諸如N-(β-順丁烯二醯亞胺基丙氧基)丁二醯亞胺酯(BMPS)；N-ε-順丁烯二醯亞胺基己醯基-氧基丁二醯亞胺酯(ECMS)；N-γ-順丁烯二醯亞胺基己醯基-氧基丁二醯亞胺酯(GMBS)；1,6-己烷-雙-乙烯基磺(HBVS)；4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧基-(6-醯胺基己酸丁二醯亞胺酯)) (LC-SMCC)；間順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基丁二醯亞胺酯(MBS)；4-(4-N-順丁烯二醯亞胺基苯基)丁酸醯肼(MPBH)；3-(溴乙醯胺基)丙酸丁二醯亞胺酯(SBAP)；碘乙酸丁二醯亞胺酯(SIA)；(4-碘乙醯基)胺基苯甲酸丁二醯亞胺酯(SIAB)；丁二醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸酯(SMCC)；4-(對順丁烯二醯亞胺基-苯基)丁酸丁二醯亞胺酯(SMPB)；丁二醯亞胺基-6-(β-順丁烯二醯亞胺基丙醯胺基)己酸酯(SMPH)；N-(ε-順丁烯二醯亞胺基己酸)磺基丁二醯亞胺酯(磺酸基-ECMS)；N-(γ-順丁烯二醯亞胺基丁醯氧基)磺基丁二醯亞胺酯(磺酸基-GMBS)；N-(κ-順丁烯二醯亞胺基十一醯氧基)磺基丁二醯亞胺酯(磺酸基-KMUS)；間順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基磺基丁二醯亞胺酯(磺酸基-MBS)；(4-碘-乙醯基)胺基苯甲酸磺基丁二醯亞胺酯(磺酸基-SIAB)；4-(N-順丁烯二醯亞胺基-甲基)環己烷-1-甲酸磺基丁二醯亞胺酯(磺酸基-SMCC)；4-(對馬來醯亞胺基苯基)丁酸磺基丁二醯亞胺酯(磺酸基-SMPB)；及丁二醯亞胺基-(4-乙烯基磺)苯甲酸酯) (SVSB)。

【0126】 本發明進一步涵蓋可使用如此項技術中所揭示之任何適合方法來製備抗體及藥劑(包括其中藥劑為用於製備ADC或AADC之藥物)之結合物(參見例如，Bioconjugate Techniques (Hermanson編，第2版，

2008))。

【0127】 抗體及藥劑(包括其中藥劑為用於製備ADC或AADC之藥物)之習知結合策略已基於涉及Lys殘基之 ϵ -胺基或Cys殘基之硫醇基的隨機結合化學反應，其產生非均質結合物。新近研發的技術允許與抗體定點結合，從而產生均質負載且避免結合物亞群的抗原結合或藥物動力學發生變化。此等技術包括「thiomab」之工程改造，其包含重鏈及輕鏈上之位置處的半胱胺酸取代，該等半胱胺酸取代提供反應性硫醇基且不破壞免疫球蛋白摺疊及組裝或改變抗原結合(參見例如，Junutula等人, 2008, J. Immunol. Meth. 332: 41-52；及Junutula等人, 2008, Nature Biotechnol. 26:925-32)。在另一種方法中，藉由將終止密碼子UGA自終止再編碼成硒半胱胺酸插入而以共轉譯方式將硒半胱胺酸插入抗體序列中，從而允許在其他天然胺基酸存在下在硒半胱胺酸之親核硫醇基團處發生位點特異性共價結合(參見例如，Hofer等人, 2008, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:12451-56；及Hofer等人, 2009, Biochemistry 48(50):12047-57)。

【0128】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體)(包括人類5T4結合劑)結合至細胞毒性劑。在一些實施例中，本文所揭示之5T4結合劑(例如，抗體)(包括人類5T4結合劑)可視情況與本文所揭示或此項技術中已知之一或多種細胞毒性劑結合以便產生ADC或AADC。在一些實施例中，細胞毒性劑為化學治療劑，包括但不限於甲胺喋呤(methotrexate)、阿黴素(adriamycin)、多柔比星(doxorubicin)、美法侖(melphalan)、絲裂黴素C、苯丁酸氮芥、道諾比星(daunorubicin)或其他插入劑。在一些實施例中，細胞毒性劑為細菌、真菌、植物或動物來源之酶活性毒素，或其片段，包括(但不限於)白喉A鏈、白喉毒素之非結合活

性片段、外毒素A鏈、蓖麻毒素A鏈、相思子毒素A鏈、莫迪素A鏈、 α -帚麴菌素、油桐(*Aleurites fordii*)蛋白質、康乃馨蛋白質、洋商陸(*Phytolaca americana*)蛋白質(PAPI、PAPII及PAP-S)、苦瓜(*Momordica charantia*)抑制劑、麻瘋樹毒蛋白、巴豆毒素、肥皂草(*Saponaire officinalis*)抑制劑、白樹素(gelonin)、有絲分裂素(mitogellin)、侷限麴菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、伊諾黴素(enomycin)及單端孢菌素(tricothecenes)。在一些實施例中，細胞毒性劑為放射性同位素，以產生放射性結合物或放射性結合劑。多種放射性核素可用於產生放射性結合劑，包括但不限於 ^{90}Y 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{123}I 、 ^{111}In 、 ^{131}In 、 ^{105}Rh 、 ^{153}Sm 、 ^{67}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{166}Ho 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 及 ^{212}Bi 。亦可使用多肽或分子及一或多種小分子毒素(諸如卡奇黴素(calicheamicin)、類美登素(maytansinoid)、單端孢菌素(trichothene)及CC1065)以及具有毒素活性之此等毒素之衍生物的結合物。使用多種雙官能蛋白質偶合劑來製備多肽或分子及細胞毒性劑之結合物，該等雙官能蛋白質偶合劑諸如N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶二硫醇)丙酸酯(SPDP)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、醯亞胺酯之雙官能衍生物(諸如己二醯亞胺酸二甲酯HCL)、活性酯(諸如辛二酸二丁二醯亞胺酯)、醛(諸如戊二醛)、雙疊氮基化合物(諸如雙(對疊氮基苯甲醯基)己二胺)、雙重氮衍生物(諸如雙-(對重氮苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙-活性氟化合物(諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。

【0129】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體)(包括人類5T4結合劑)結合至藥物，諸如訊息轉導調節劑、促凋亡劑、有絲分裂抑制劑、抗腫瘤抗生素、免疫調節劑、用於基因療法之核酸、烷基

化劑、抗血管生成劑、抗代謝物、含硼劑、化學保護劑、激素劑、抗激素劑、皮質類固醇、光活性治療劑、寡核苷酸、放射性核素劑、放射增敏劑、拓撲異構酶抑制劑及酪胺酸激酶抑制劑。在一些實施例中，有絲分裂抑制劑為尾海兔素(dolastatin)、奧瑞他汀(auristatin)、類美登素及植物生物鹼(plant alkaloid)。在一些實施例中，藥物為尾海兔素、奧瑞他汀、類美登素及植物生物鹼。奧瑞他汀之實例為單甲基奧瑞他汀F (MMAF)或單甲基奧瑞他汀E (MMAE)。類美登素之實例包括但不限於DM1、DM2、DM3及DM4。在一些實施例中，抗腫瘤抗生素係選自由以下組成之群：放線菌素(actinomycine)、蒽環黴素(anthracycline)、卡奇黴素及倍癌黴素(duocarmycin)。放線菌素之實例為吡咯并苯并二氮呋(PBD)。蒽環黴素之實例為PNU-蒽環黴素，諸如PNU-159682或衍生物。

【0130】 本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體)(包括人類5T4結合劑)可為單特異性、雙特異性、三特異性或更高多特異性。此類藥劑可包括單特異性或多特異性抗體或ADC。多特異性抗體(諸如雙特異性抗體)為單株抗體，其對至少兩個不同目標(例如，抗原)或相同目標上之兩個不同抗原決定基具有結合特異性(例如，針對5T4之雙特異性抗體，其具有用於5T4之第一抗原決定基的第一結合域及用於5T4之第二抗原決定基的第二結合域)。在一些實施例中，單特異性及多特異性(例如，雙特異性)抗體或ADC可基於本文所描述之抗體之序列，例如表1至3中所列出之CDR序列來構築。在一些實施例中，本文所描述之多特異性抗體為雙特異性抗體。在一些實施例中，雙特異性抗體為小鼠、嵌合、人類或人源化抗體。在一些實施例中，多特異性抗體之結合特異性中之一者係針對5T4且另一者係針對任何其他目標(例如，抗原)。在一些實施例中，多特異性(例

如，雙特異性)抗體可包含超過一個目標(例如，抗原)結合域，其中不同結合域對不同目標具有特異性(例如，結合於5T4之第一結合域及結合另一目標(例如，抗原)之第二結合域，諸如免疫檢查點調節劑(例如，陰性核查點調節劑))。在一些實施例中，多特異性(例如雙特異性)抗體分子可結合相同目標(例如抗原)上之多於一個(例如兩個或更多個)抗原決定基。在一些實施例中，結合特異性中之一者為5T4且另一者係針對以下中之一或多者：細胞毒性T淋巴球抗原-4 (CTLA-4)、CD80、CD86、計劃性細胞死亡1 (PD-1)、計劃性細胞死亡配位體2 (PD-L2)、淋巴球活化基因-3 (LAG-3；亦稱為CD223)、半乳糖凝集素-3、B及T淋巴球衰減因子(BTLA)、T細胞膜蛋白3 (TIM3)、半乳糖凝集素-9 (GAL9)、B7-H1、B7-H3、B7-H4、具有Ig域及ITIM域之T細胞免疫受體(TIGIT/Vstm3/WUCAM/VSIG9)、T細胞活化之V域Ig抑制因子(VISTA)、糖皮質激素誘導之腫瘤壞死因子受體相關(GITR)蛋白質、疱疹病毒侵入介體(Herpes Virus Entry Mediator；HVEM)、OX40、CD27、CD28、CD137、CGEN-15001T、CGEN-15022、CGEN-15027、CGEN-15049、CGEN-15052及CGEN-15092。

【0131】 用於製備多特異性抗體之方法為此項技術中已知的，諸如藉由兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈對之共表現，其中兩個重鏈具有不同特異性(參見例如，Milstein及Cuello, 1983, Nature 305:537-40)。關於產生多特異性抗體(例如，雙特異性抗體)之其他細節，參見例如Bispecific Antibodies (Kontermann編, 2011)。

【0132】 多特異性抗體之例示性結構為此項技術中已知的且進一步描述於Weidle等人, 2013, Cancer Genomics & Proteomics 10: 1-18；

Brinkman等人, 2017, MABS, 9:2, 182-212 ; Godar等人, 2018, Expert Opinion on Therapeutic Patents, 28:3, 251-276 ; 及Spiess等人, 2015, Mol. Immunol. 67 95-106中。

【0133】 舉例而言，雙特異性抗體分子可分類為不同結構組：(i)雙特異性免疫球蛋白G (BsIgG)；(ii)與另外的抗原結合部分附接之IgG；(iii)雙特異性抗體片段；(iv)雙特異性融合蛋白；及(v)雙特異性抗體結合物。作為非限制性實例，BsIgG格式可包括crossMab、DAF (二合一)、DAF (四合一)、DutaMab、DT-IgG、杵-臼(knobs-into-holes)共同LC、杵-臼組裝、電荷對、Fab-臂交換、SEED體、三功能單抗(triomab)、LUZ-Y、Fcab、κλ體及/或正交Fab。

【0134】 在一些實施例中，BsIgG包含以工程改造以用於異二聚之重鏈。舉例而言，重鏈可經工程改造以使用「杵-臼(knobs-into-holes)」策略、SEED平台、共同重鏈(例如，以κλ體形式)及異二聚體Fc區之用途進行異二聚。策略為此項技術中已知的，以避免BsIgG中同二聚體之重鏈配對，包括杵臼、雙抗體(duobody)、azymetric、電荷對、HA-TF、SEED體及差異蛋白質A親和力。

【0135】 另一雙特異性抗體格式為與另外的抗原結合部分附接之IgG。舉例而言，單特異性IgG可藉由將另外的抗原結合單元附接於單特異性IgG上(例如，在重鏈或輕鏈之N端或C端處)而經工程改造以具有雙特異性。例示性另外的抗原結合單元包括單域抗體(例如，可變重鏈或可變輕鏈)、經工程改造之蛋白質骨架及配對之抗體可變域(例如，單鏈可變片段或可變片段)。附接IgG格式之非限制性實例包括雙重可變域IgG (DVD-Ig)、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、

IgG(L,H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgG(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv4-Ig、zybody及DVI-IgG (四合一)。參見Spiess等人Mol. Immunol. 67(2015):95-106。在一些實施例中，例示性抗體格式為如例如國際專利申請公開案第WO 2018/075692號及美國專利申請公開案第2018/0118811號中所描述的單特異性或多特異性(例如，雙特異性抗體)之B體格式。

【0136】 雙特異性抗體片段(BsAb)為缺乏抗體恆定域中之一些或全部的雙特異性抗體分子之格式。舉例而言，一些BsAb缺乏Fc區。在實施例中，雙特異性抗體片段包括藉由肽連接子連接之重鏈及輕鏈區，該肽連接子准許BsAb在單一宿主細胞中之有效表現。雙特異性抗體片段之非限制性實例包括但不限於奈米抗體、奈米抗體-HAS、BiTE、雙功能抗體、DART、TandAb、sc雙功能抗體、sc雙功能抗體-CH3、雙功能抗體-CH3、三體(triple body)、微型抗體(miniantibody)、微抗體(minibody)、TriBi微抗體、scFv-CH3 KIH、Fab-scFv、scFv-CH-CL-scFv、F(ab')₂、F(ab')₂-scFv₂、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、四價HCAb、sc雙功能抗體-Fc、雙功能抗體-Fc、串聯scFv-Fc及胞內抗體(intrabody)。

【0137】 雙特異性融合蛋白包括連接至其他蛋白質之抗體片段。舉例而言，雙特異性融合蛋白可連接至其他蛋白質以添加另外的特異性及/或功能性。在一些實施例中，可使用鎖匙(dock-and-lock；DNL)方法來產生具有更高價數之雙特異性抗體分子。舉例而言，與白蛋白結合蛋白或人類血清白蛋白之雙特異性抗體融合物可延長抗體片段之血清半衰期。在實施例中，化學結合(例如，抗體及/或抗體片段之化學結合)可用於產生BsAb分子。例示性雙特異性抗體結合物包括CovX體格式，其中低分子量

藥物部位特異性結合於各Fab臂或抗體或其片段中之單一反應性離胺酸。
在一些實施例中，結合改良血清半衰期。

【0138】 產生多特異性抗體(包括雙特異性抗體)之方法為此項技術中已知的。舉例而言，多特異性抗體(包括雙特異性抗體)可藉由在不同宿主細胞中單獨表現組分抗體及後續純化/組裝或藉由在單一宿主細胞中表現組分抗體來產生。純化多特異性(例如，雙特異性)抗體分子可藉由此項技術中已知之各種方法(包括親和層析)進行。

【0139】 在一些實施例中，本文所揭示之5T4結合劑(例如，抗體)(包括人類5T4結合劑)可以本文所揭示或此項技術中已知之任何抗體格式提供。作為非限制性實例，在一些實施例中，5T4結合劑(例如，抗體)(包括人類5T4結合劑)可選自Fab串聯-Ig (FIT-Ig)；DVD-Ig；雜交融合瘤(四聯瘤或四體雜交瘤)；抗運載蛋白平台(Pieris)；雙功能抗體；單鏈雙功能抗體；串聯單鏈Fv片段；TandAb，三特異性Ab (Affimed)；Darts雙重親和力再靶向(Macrogenics)；雙特異性Xmab (Xencor)；雙特異性T細胞接合子(Bites；Amgen；55kDa)；三功能抗體；三功能抗體=Fab-scFv融合蛋白多官能性重組抗體衍生物(CreativeBiolabs)；雙抗體平台(Genmab)；鎖鑰結構平台；杵臼(KIH)平台；人源化雙特異性IgG抗體(REGN1979)(Regeneron)；Mab2雙特異性抗體(F-Star)；DVD-Ig=雙重可變域免疫球蛋白(Abbott)； κ - λ 體；TBTI=四價雙特異性串聯Ig；及CrossMab (Roche)。

【0140】 在一些實施例中，本文所揭示之多特異性(例如，雙特異性)抗體包含5T4結合域及一或多個另外的結合域，其結合於一或多個不為5T4之目標。在一些實施例中，本文所揭示之多特異性(例如，雙特異性)

抗體包含5T4結合域，其包含如本文所揭示之VH及/或VL胺基酸序列，諸如表1、表2或表3之彼等。

【0141】 在一些實施例中，本文描述一種多特異性(例如，雙特異性)抗體，其包含結合於包含本文所揭示之VH及VL CDR之5T4的結合域，諸如，如表1、表2或表3中所述之彼等。

【0142】 結合5T4之抗體可藉由任何適合方法獲得，諸如但不限於用包含5T4之全腫瘤細胞免疫接種及收集抗體、重組技術或使用5T4胞外域抗原決定基篩選抗體或抗體片段之文庫。可使用多種已知技術產生單株抗體(參見例如，Coligan等人(編), *Current Protocols in Immunology*, 1:2.5.12.6.7 (John Wiley & Sons 1991); *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses*, Plenum Press, Kennett, McKearn及Bechtol (編) (1980); *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow及Lane (編), Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988); 及Picksley等人, 「Production of monoclonal antibodies against proteins expressed in *E. coli*」, *DNA Cloning 2: Expression Systems*, 第2版, Glover等人(編), 第93頁(Oxford University Press 1995))。一種用於產生單株抗體之例示性技術包含用人類5T4抗原使動物免疫且由獲自動物之脾細胞產生融合瘤。融合瘤可產生結合5T4之單株抗體或抗體片段。

【0143】 在另一實施例中，可自使用例如*Antibody Phage Display: Methods and Protocols*, P.M. O'Brien及R. Aitken編, Humana Press, Totawa N.J., 2002中描述之技術產生的抗體噬菌體文庫分離單株抗體或抗體片段。原則上，合成抗體殖株藉由篩選含有噬菌體之噬菌體文庫來選擇，該等文庫呈現融合至噬菌體鞘蛋白之抗體可變區(Fv)之各種片段。針

對所需抗原篩選此類噬菌體文庫。能夠結合於所需抗原的表現Fv片段之殖株吸附至抗原且因此與文庫中之非結合殖株分離。結合殖株接著自抗原溶離，且可藉由額外抗原吸附/溶離循環進一步增濃。

【0144】 可變域可以單鏈Fv (scFv)片段形式(其中VH與VL經由短可撓性肽共價連接)或Fab片段形式(其中其各自與恆定域融合且非共價地相互作用)功能性地呈現於噬菌體上，如例如Winter等人, *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994)中所描述。

【0145】 VH及VL基因之譜系可藉由聚合酶鏈反應(PCR)單獨地選殖且在噬菌體文庫中隨機重組，其接著可搜尋抗原結合殖株，如Winter等人，見上文中所描述。來自免疫來源之文庫提供抗免疫原之高親和力抗體而無需構築融合瘤。替代地，可選殖原生譜系以提供針對廣泛範圍之非自體抗原以及自體抗原之單一人類抗體來源而無需任何免疫接種，如Griffiths等人, *EMBO J*, 12: 725-734 (1993)所描述。最終，亦可以合成方式如下製備原生文庫：自幹細胞選殖未重排V基因區段，且使用含有隨機序列之PCR引子編碼CDR3高度可變區及實現活體外重排，如Hoogenboom及Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)所描述。

【0146】 可藉由此項技術中已知的多種技術實現文庫之篩選。舉例而言，5T4 (例如，5T4多肽、片段或抗原決定基)可用於塗佈吸附盤之孔，在附著於吸附盤或用於細胞分選之宿主細胞上表現，或與生物素結合以用塗有鏈酶抗生物素蛋白之珠粒捕獲，或在用於淘選呈現庫之任何其他方法中使用。具有緩慢解離動力學(例如，良好結合親和力)之抗體選擇可藉由使用長時間洗滌及單價噬菌體呈現(如Bass等人, *Proteins*, 8: 309-314 (1990)及WO 92/09690中所描述)以及低抗原塗佈密度(如Marks等人，

Biotechnol., 10: 779-783 (1992)中所描述)促進。

【0147】 5T4結合劑(例如，抗體)可藉由設計適合抗原篩選程序以選擇所關注噬菌體殖株，隨後使用VH及/或VL序列(例如，Fv序列)或來自VH及VL序列之各種CDR序列由Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第五版, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), 第1-3卷中所描述之所關注噬菌體殖株及適合恆定區(例如，Fc)序列構築全長5T4結合劑(例如，抗體)殖株來獲得。

【0148】 同樣，結合5T4之人類抗體可藉由多種技術中之任一者產生，包括但不限於人類周邊血細胞(例如，含有B淋巴球)之埃-巴二氏病毒(EBV)轉型、人類B細胞之活體外免疫接種、融合來自攜帶經插入人類免疫球蛋白基因之免疫接種轉殖基因小鼠的脾細胞、自人類免疫球蛋白V區噬菌體文庫分離或此項技術中已知及基於本文中之揭示內容的其他程序。用於自轉殖基因動物獲得人類抗體之方法進一步描述於例如Bruggemann等人, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8: 455 58, 1997；Jakobovits等人, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 764: 525 35, 1995；Green等人, *Nature Genet.*, 7: 13-21, 1994；Lonberg等人, *Nature*, 368: 856-859, 1994；Taylor等人, *Int. Immun.* 6: 579-591, 1994；及美國專利第5,877,397號中。

【0149】 舉例而言，結合5T4之人類抗體可自已經工程改造以回應於抗原挑戰攻擊產生特異性人類抗體的轉殖基因動物獲得。舉例而言，國際專利公開案第WO 98/24893號揭示具有人類Ig基因座之轉殖基因動物，其中歸因於內源性重鏈及輕鏈基因座之失活，動物不產生功能性內源性免疫球蛋白。亦已描述能夠建立針對免疫原之免疫反應的轉殖基因非靈長類動物哺乳動物宿主，其中抗體具有靈長類動物恆定及/或可變區，且其中

編碼基因座之內源性免疫球蛋白經取代或不活化。國際專利公開案第WO 96/30498號揭示Cre/Lox系統修飾哺乳動物中之免疫球蛋白基因座的用途，以便置換恆定或可變區之全部或一部分以形成經修飾之抗體分子。國際專利公開案第WO 94/02602號揭示具有失活內源性Ig基因座及功能性人類Ig基因座之非人類哺乳動物宿主。美國專利第5,939,598號揭示製備轉殖基因小鼠之方法，其中小鼠缺乏內源性重鏈且表現包含一或多個異種恆定區之外源性免疫球蛋白基因座。使用基因轉殖動物(諸如本文所描述之基因轉殖動物)，可產生針對所選抗原分子之免疫反應，且產抗體細胞可自動物移除且用於產生分泌人類衍生之單株抗體的融合瘤。免疫接種方案、佐劑及類似物為此項技術中已知的，且用於如國際專利公開案第WO 96/33735號中所描述免疫接種例如轉殖基因小鼠。可測試單株抗體抑制或中和對應蛋白質之生物活性或生理學作用的能力。

【0150】 本發明提供結合5T4 (包括人類5T4)之人源化抗體。本發明之人源化抗體可包含一或多個來自本文所揭示之VH及/或VL的CDR，諸如，如表1至表3中所示之彼等。用於人源化非人類抗體之各種方法為此項技術中已知的。舉例而言，人源化抗體中可引入一或多個來自非人類來源的胺基酸殘基。此等非人類胺基酸殘基通常稱為「輸入」殘基，其通常獲自「輸入」可變域。結合5T4之人源化抗體可使用熟習此項技術者已知之技術產生(Zhang等人, *Molecular Immunology*, 42(12): 1445-1451, 2005；Hwang等人, *Methods*, 36(1): 35-42, 2005；Dall'Acqua等人, *Methods*, 36(1): 43-60, 2005；Clark, *Immunology Today*, 21(8): 397-402, 2000，以及美國專利第6,180,370號；第6,054,927號；第5,869,619號；第5,861,155號；第5,712,120號；及第4,816,567)。

【0151】 在一些情況下，人源化抗體藉由CDR移植來構築，其中親本非人類抗體(例如，啮齒動物)之V_H及V_L之六個CDR之胺基酸序列移植於人類抗體構架上。舉例而言，Padlan等人, (*FASEB J.*, 9:133-139, 1995) 測定CDR中僅約三分之一的殘基實際上接觸抗原，且將此等殘基稱為「特異性決定殘基」或SDR。在SDR移植之技術中，僅將SDR殘基移植至人類抗體構架上(參見例如，Kashmiri等人, *Methods* 36: 25-34, 2005)。

【0152】 選用於製備人源化抗體之人類可變域(輕鏈與重鏈)對於減少抗原性而言非常重要。舉例而言，根據所謂的「最佳擬合」方法，針對已知人類可變域序列之整個文庫篩選非人類(例如，啮齒動物)抗體之可變域序列。可選擇與啮齒動物序列最接近的人類序列作為人源化抗體之人類構架(Sims等人, (1993) *J. Immunol.* 151:2296；Chothia等人(1987) *J. Mol. Biol.* 196:901)。另一種方法使用衍生自輕鏈或重鏈之特定子組的所有人類抗體之共有序列的特定構架。若干不同人源化抗體可使用相同構架(Carter等人(1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285；Presta等人(1993) *J. Immunol.*, 151:2623)。在一些情況下，構架衍生自最豐富人類子類(V_L6子組I (V_L6I)及V_H子組III (V_HIII))之共有序列。在另一方法中，在構架區之來源使用人類生殖系基因。

【0153】 在基於比較CDR之一個替代範例(稱為超人源化)中，構架同源性為無關的。該方法由比較非人類序列與人類生殖系功能基因譜系組成。接著選擇編碼與鼠類序列相同或緊密相關之典型結構的彼等基因。接著，在與非人類抗體共有標準結構之基因內，選擇在CDR內具有最高同源性之基因作為構架供體。最終，將非人類CDR接枝至此等構架上(參見例如Tan等人, *J. Immunol.* 169: 1119-1125, 2002)。

【0154】 通常進一步需要抗體經人源化以保持其對抗原的親和力及其他有利生物特性。為了達成此目標，根據一種方法，人源化抗體係藉由一種使用親本及人源化序列的三維模型分析親本序列及各種概念性人源化產物的方法製備。三維免疫球蛋白模型通常可獲得，且為熟習此項技術者所熟悉。可利用說明且顯示所選擇之候選免疫球蛋白序列的可能三維構形結構之電腦程式。此等程式包括例如WAM (Whitelegg及Rees, *Protein Eng.* 13: 819-824, 2000)、Modeller (Sali及Blundell, *J. Mol. Biol.* 234: 779-815, 1993)及Swiss PDB Viewer (Guex及Peitsch, *Electrophoresis* 18: 2714-2713, 1997)。檢查此等呈現可分析殘基在候選免疫球蛋白序列之功能中的可能作用，亦即分析影響候選免疫球蛋白結合其抗原之能力的殘基。以此方式，可自受體及輸入序列選擇構架殘基且組合，使得達成所需抗體特徵，諸如對目標抗原之親和力增加。一般而言，高變區殘基直接且最實質性涉及影響抗原結合。

【0155】 另一種用於抗體人源化之方法係基於稱為人類鏈帶含量 (Human String Content ; HSC)之抗體人源化量度。此方法比較小鼠序列與人類生殖系基因之基因譜且對差異進行評分作為HSC。接著藉由最大化目標序列之HSC而非使用整體一致性量測值來人源化目標序列，以產生多個不同人源化變體。(Lazar等人, *Mol. Immunol.* 44: 1986-1998, 2007)。

【0156】 除上述方法以外，可使用經驗方法產生及選擇人源化抗體。此等方法包括使用富集技術或高輸送量篩選技術之基於人源化變體之大型文庫之產生及最佳殖株之選擇的方法。抗體變體可自噬菌體、核糖體及酵母呈現文庫以及藉由細菌群落篩選分離(參見例如，Hoogenboom, *Nat. Biotechnol.* 23: 1105-1116, 2005 ; Dufner等人, *Trends Biotechnol.*

24: 523-529, 2006 ; Feldhaus等人, *Nat. Biotechnol.* 21: 163-70, 2003 ; Schlapschy等人, *Protein Eng. Des. Sel.* 17: 847-60, 2004)。

【0157】 在構架文庫方法中，在構架中之特定位置處引入一組殘基變體，隨後選擇文庫以選擇最佳支持所移植CDR之構架。待取代之殘基可包括鑑別為潛在促進CDR結構之「維尼爾(Vernier)」殘基中的一些或全部(參見例如，Foote及Winter, *J. Mol. Biol.* 224: 487-499, 1992)，或來自由Baca等人(*J. Biol. Chem.* 272: 10678-10684, 1997)鑑別之目標殘基之更有限集合之殘基。

【0158】 在構架改組中，全部構架與非人類CDR組合而非產生所選擇之殘基變體之組合文庫(參見例如，Dall'Acqua等人, *Methods* 36: 43-60, 2005)。可在兩步驟選擇過程(首先人源化VL，接著VH)中針對結合來篩選文庫。替代地，可使用單步驟構架改組過程。已證實此類過程比兩步驟篩選更有效，因為所得抗體呈現改良之生物化學及物理化學特性，包括增強之表現、增加之親和力及熱穩定性(參見例如，Damschroder等人, *Mol. Immunol.* 44: 3049-60, 2007)。

【0159】 「人源化工程改造(humaneering)」方法係基於基本最小特异性決定子(MSD)之實驗鑑別且基於非人類片段依序置換至人類構架文庫中及對結合之評定。其以非人類VH及VL鏈之CDR3區域開始且將非人類抗體之其他區域漸進地置換至人類構架中，包括VH及VL兩者之CDR1及CDR2。此方法通常引起抗原決定基滯留及自具有不同人類V區段CDR之多個子類鑑別抗體。人源化工程改造允許分離與人類生殖系基因抗體具有91-96%同源性的抗體(參見例如，Alfenito, Cambridge Healthtech Institute's Third Annual PEGS, The Protein Engineering Summit, 2007)。

【0160】 「人類工程改造」方法涉及藉由使抗體之胺基酸序列產生特異性變化以便產生在人類中具有降低之免疫原性但仍保留所需原始非人類抗體之結合特性的經修飾抗體來改變非人類抗體或抗體片段，諸如小鼠或嵌合抗體或抗體片段。通常，該技術涉及將非人類(例如，小鼠)抗體之胺基酸殘基分類為「低風險」、「中等風險」或「高風險」殘基。使用整體風險/獎勵計算進行分類，其針對取代將影響所得抗體之摺疊及/或經人類殘基取代之風險來評估進行特定取代(例如，人類中之免疫原性)之所預測益處。可藉由將來自非人類抗體可變區的胺基酸序列與特定或共同人類抗體序列之相應區域進行比對來選擇在非人類(例如，小鼠)抗體序列之指定位置(例如，低或中等風險)待取代的特定人類胺基酸殘基。根據比對，非人類序列中低風險或中等風險位置處之胺基酸殘基可取代人類抗體序列中之對應殘基。用於製備人類工程改造之蛋白質的技術更詳細地描述於 Studnicka等人, *Protein Engineering*, 7: 805-814 (1994)、美國專利第 5,766,886號、第5,770,196號、第5,821,123號及第5,869,619號以及PCT申請公開案WO 93/11794中。

【0161】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑包含非抗體蛋白質骨架。此類非抗體蛋白質骨架之非限制性實例包括纖維結合蛋白骨架、抗運載蛋白、阿德奈汀(adnectin)、親和體(affibody)、DARPin、菲諾體(fynomer)、阿菲亭(affitin)、阿非林(affilin)、高親和性多聚體(avimer)、富含半胱胺酸之打結素肽或經工程改造之孔尼茲型抑制劑(Kunitz-type inhibitor)。用於產生此類非抗體蛋白質骨架之方法為此項技術中熟知的，其中之任一者可用於產生包含非抗體蛋白質骨架之5T4結合劑(參見例如，Simeon及Chen, *Protein Cell*, 9(1):3-14 (2018)；Yang等人，

Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif). 10(1):293-320 (2017))。

【0162】 另外提供編碼如本文所揭示之5T4結合劑(例如，抗體或抗體片段)或融合多肽之核酸、與其互補之核酸、包含如本文所揭示之核酸的載體、包含如本文所揭示之核酸或載體的細胞。在一些實施例中，細胞表現5T4結合劑。在一些實施例中，細胞複製核酸或載體。在一些實施例中，提供用於產生5T4結合劑(例如，人類5T4結合劑)及其片段之材料。舉例而言，經分離細胞可產生5T4結合劑(例如，抗體或抗體片段)。在此方面，細胞(例如，經分離細胞)可產生包含如本文所揭示之VH及VL的抗體或其片段。在一些實施例中，本文所描述之聚核苷酸可包含一或多個編碼5T4結合劑(例如，抗體或抗體片段)之核酸序列。在一些實施例中，聚核苷酸為經分離的及/或重組的聚核苷酸。在各種態樣中，經分離聚核苷酸包含編碼VH及/或VL之核苷酸序列，其中VH及VL包含與如本文所揭示之CDR一致的互補決定區(CDR)。

【0163】 在一些實施例中，一或多種載體(例如，表現載體)可包含一或多種用於在適合宿主細胞中表現一或多種聚核苷酸的聚核苷酸。使用重組技術，此類載體適用於例如擴增宿主細胞中之聚核苷酸以產生其適用數量，及用於表現結合劑，諸如抗體或抗體片段。

【0164】 在一些實施例中，一或多種載體為表現載體，其中一或多種聚核苷酸可操作地連接至包含表現控制序列之一或多種聚核苷酸。特別考慮了自控複製的重組表現構築體，諸如併有一或多種聚核苷酸的質體及病毒DNA載體，該等聚核苷酸編碼結合5T4之抗體序列。表現控制DNA序列包括啟動子、增強子及操縱子，且通常基於其中將使用表現構築體的表現系統來選擇。啟動子及增強子序列通常根據其增加基因表現的能力來

選擇，而操縱子序列通常根據其調節基因表現之能力來選擇。表現構築體亦可包括編碼一或多種可選標記物的序列，該等可選標記物允許鑑別攜載構築體的宿主細胞。表現構築體亦可包括有助於(且較佳促成)宿主細胞中之同源重組的序列。在一些實施例中，表現構築體亦可包括在宿主細胞中複製所必需的序列。

【0165】 例示性表現控制序列包括啟動子/增強子序列，例如巨細胞病毒啟動子/增強子(Lehner等人, *J. Clin. Microbiol.*, 29: 2494-2502, 1991; Boshart等人, *Cell*, 41: 521-530, 1985); 勞斯氏肉瘤病毒啟動子(Davis等人, *Hum. Gene Ther.*, 4: 151, 1993); Tie啟動子(Korhonen等人, *Blood*, 86(5): 1828-1835, 1995); 猿猴病毒40啟動子; DRA (在腺瘤中下調; Alrefai等人, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 293: G923-G934, 2007); MCT1 (單羧酸轉運蛋白1; Cuff等人, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, G977-G979, 2005); 及Math1 (小鼠無調性同源物1; Shroyer等人, *Gastroenterology*, 132: 2477-2478, 2007), 用於在哺乳動物細胞中表現，該啟動子可操作地連接於多肽編碼序列之上游(例如，5')。在另一變化形式中，啟動子為上皮特異性啟動子或內皮特異性啟動子。聚核苷酸亦可視情況包括可操作地連接於多肽編碼序列之下游(例如，3')的適合聚腺苷酸化序列(例如，SV40或人類生長激素基因聚腺苷酸化序列)。

【0166】 必要時，一或多種聚核苷酸亦視情況包含編碼分泌訊息肽之核苷酸序列，該等分泌訊息肽與多肽序列在框架內融合。分泌訊息肽藉由表現一或多種聚核苷酸之細胞引導抗體多肽分泌，且藉由細胞自身分泌多肽裂解。一或多種聚核苷酸可進一步視情況包含僅預期功能有助於載體

之大規模生產的序列。吾人可使用文獻中關於多種轉殖基因所描述之程序製造且投與聚核苷酸以用於基因療法。參見例如，Isner等人, *Circulation*, 91: 2687-2692, 1995；及Isner等人, *Human Gene Therapy*, 7: 989-1011, 1996。

【0167】 在一些實施例中，聚核苷酸可進一步包含額外序列以促進宿主細胞之吸收及抗體或其片段(及/或任何其他肽)之表現。在一些實施例中，採用編碼本文所描述之抗體或其片段的「裸」轉殖基因(例如，不具有病毒、脂質或促進轉染之其他載體的轉殖基因)。

【0168】 可使用任何適合的載體將一或多種編碼抗體或其片段之聚核苷酸引入宿主中。已描述之例示性載體包括複製缺陷型反轉錄病毒載體，包括但不限於慢病毒載體(Kim等人, *J. Virol.*, 72(1): 811-816, 1998；Kingsman & Johnson, *Scrip Magazine*, 1998年10月, 第43-46頁)；細小病毒載體，諸如腺相關病毒(AAV)載體(美國專利第5,474,935號；第5,139,941號；第5,622,856號；第5,658,776號；第5,773,289號；第5,789,390號；第5,834,441號；第5,863,541號；第5,851,521號；第5,252,479；Gnatenko等人, *J. Invest. Med.*, 45: 87-98, 1997)；腺病毒(AV)載體(美國專利第5,792,453號；第5,824,544號；第5,707,618號；第5,693,509號；第5,670,488號；第5,585,362號；Quantin等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 2581-2584, 1992；Stratford Perricaudet等人, *J. Clin. Invest.*, 90: 626-630, 1992；及Rosenfeld等人, *Cell*, 68: 143-155, 1992)；腺病毒腺相關病毒嵌合體(美國專利第5,856,152號)或牛痘病毒或疱疹病毒載體(美國專利第5,879,934號；第5,849,571號；第5,830,727號；第5,661,033號；第5,328,688號)；脂質體介導之基因轉移(BRL)；脂質載體

(美國專利第5,631,237號)；及其組合。此等表現載體中之任一者可使用描述於例如Sambrook等人, *Molecular Cloning, a Laboratory Manual*, 第2d版, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)及Ausubel等人, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates及John Wiley & Sons, New York, N.Y. (1994)中之標準重組DNA技術製備。視情況，病毒載體藉由例如缺失或中斷病毒複製所需之所選基因而呈現複製缺陷。

【0169】 所考慮之其他非病毒遞送機制包括磷酸鈣沈澱(Graham及Van Der Eb, *Virology*, 52: 456-467, 1973；Chen及Okayama, *Mol. Cell Biol.*, 7: 2745-2752, 1987；Rippe等人, *Mol. Cell Biol.*, 10: 689-695, 1990)、DEAE-聚葡萄糖(Gopal, *Mol. Cell Biol.*, 5: 1188-1190, 1985)、電穿孔(Tur-Kaspa等人, *Mol. Cell Biol.*, 6: 716-718, 1986；Potter等人, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 81: 7161-7165, 1984)、直接顯微注射(Harland及Weintraub, *J. Cell Biol.*, 101: 1094-1099, 1985)、DNA負載之脂質體(Nicolau及Sene, *Biochim. Biophys. Acta*, 721: 185-190, 1982；Fraley等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76: 3348-3352, 1979；Felgner, *Sci Am.*, 276(6): 102-6, 1997；Felgner, *Hum Gene Ther.*, 7(15): 1791-3, 1996)、細胞音波處理(Fechheimer等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84: 8463-8467, 1987)、使用高速度微彈進行基因轟擊(Yang等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 9568-9572, 1990)及受體介導之轉染(Wu及Wu, *J. Biol. Chem.*, 262: 4429-4432, 1987；Wu及Wu, *Biochemistry*, 27: 887-892, 1988；Wu及Wu, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 12: 159-167, 1993)。

【0170】 載體(或抗體或其片段或如本文所論述之核酸)可截留於脂

質體中。參見例如Ghosh及Bachhawat, *Liver diseases, targeted diagnosis and therapy using specific receptors and ligands*, Wu G, Wu C編, New York: Marcel Dekker, 第87-104 頁(1991); Radler等人, *Science*, 275 (5301): 810-814, 1997)。亦考慮涉及「脂質體轉染(lipofection)」技術之各種商業方法。在一些實施例中，脂質體可與血球凝集病毒(HVJ)複合。此已顯示促進與細胞膜融合且促進脂質體囊封之DNA之細胞進入(Kaneda等人, *Science*, 243: 375-378, 1989)。在一些實施例中，脂質體與細胞核非組蛋白染色體蛋白(HMG-1)複合或連合使用(Kato等人, *J. Biol. Chem.*, 266: 3361-3364, 1991)。在一些實施例中，脂質體與HVJ及HMG-1兩者複合或連合使用。此類表現構築體已成功地用於活體外及活體內核酸之轉移及表現。在一些實施例中，5T4結合劑(例如抗體)，包括人類5T4結合劑，包括於脂質體中以使脂質體靶向在表面上表現5T4之細胞(諸如腫瘤細胞)。

【0171】 細胞可包含一或多種聚核苷酸或一或多種載體，例如細胞經一或多種編碼5T4結合劑(例如抗體) (包括人類5T4結合劑)之聚核苷酸或一或多種包含一或多種聚核苷酸之載體轉型或轉染。在一些實施例中，細胞表現5T4結合劑(例如抗體)，包括人類5T4結合劑，其含有一或多個(包括六個)與mAbA4、mAbA15或mAbA17之CDR具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之CDR (參見例如表1、表2及/或表3)。在一些實施例中，細胞表現5T4結合劑(例如抗體)，包括人類5T4結合劑，其含有包含與mAbA4、mAbA15及/或mAbA17之CDR一致之CDR的VH及VL (參見例如表1、2及/或3)。細胞可為原核細胞，諸如大腸桿菌(*Escherichia coli*) (參見例如Pluckthun等人, *Methods*

Enzymol., 178: 497-515, 1989)；或真核細胞，諸如動物細胞((例如骨髓瘤細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或融合瘤細胞)；酵母菌(例如釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*))，或植物細胞(例如菸草、玉米、大豆或稻米細胞)。使用哺乳動物宿主細胞可提供轉譯修飾(例如醣基化、截斷、脂質化及磷酸化)，轉譯修飾可為賦予重組表現產物最佳生物活性所需。類似地，多肽(例如5T4結合劑(例如抗體)，包括人類5T4結合劑)可經醣基化或非醣基化及/或已經共價修飾以包括一或多種水溶性聚合物連接物，諸如聚乙二醇、聚氧乙二醇或聚丙二醇。

【0172】 用於將DNA或RNA引入宿主細胞中之方法為熟知的且包括轉型、轉染、電穿孔、細胞核注射或與載劑(諸如脂質體、膠束、空核細胞及原生質體)融合。此類宿主細胞適用於擴增聚核苷酸且亦用於表現由聚核苷酸編碼之多肽。在此方面，用於產生5T4結合劑(例如，抗體)之方法可包含培養宿主細胞且分離5T4結合劑。將裸DNA表現構築體轉移至細胞中可使用粒子轟擊實現，此視以下而定：使DNA塗佈之微彈加速至高速，從而允許其穿透細胞膜且進入細胞而不殺死細胞的能力(Klein等人, *Nature*, 327: 70-73, 1987)。已研發出用於加快速小粒子之若干裝置。一個此類裝置依賴於高電壓放電以產生電流，其轉而提供原動力(Yang等人, *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 87: 9568-9572, 1990)。所使用之微彈係由諸如鎢或金珠粒之生物學上惰性物質組成。可分離及/或純化宿主細胞。宿主細胞亦可為活體內轉型之細胞以在活體內引起多肽之短暫或永久性表現。宿主細胞亦可為離體轉型及轉型後引入例如以出於治療目的而在活體內產生多肽的經分離細胞。宿主細胞之定義明確地不包括轉殖基因人類。

【0173】 用於由聚核苷酸製備抗體之多種方法通常為熟知的。舉例

而言，基礎分子生物學程序由Maniatis等人, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1989描述(亦參見，Maniatis等人, 第3版, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 2001)。另外，許多公開案描述適用於藉由操控DNA、產生表現載體及轉型且培養適當細胞來製備抗體之技術(參見例如，Mountain及Adair, 第1章, *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, Tombs編, Intercept, Andover, UK, 1992；及*Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel編, Wiley Interscience, New York, 1999)。

【0174】 使用任何適合方法產生5T4結合劑(例如，抗體) (包括人類5T4結合劑)，例如自免疫接種動物分離、以重組方式或以合成方式產生或經基因工程改造，包括如上文所描述。藉由例如抗體之蛋白分解水解獲得衍生自抗體之抗體片段。舉例而言，整個抗體之木瓜酶或胃蛋白酶消化分別產生被稱為F(ab')₂之5S片段或兩個單價Fab片段及Fc片段。F(ab)₂可使用硫醇還原劑進一步裂解以產生3.5S Fab單價片段。產生抗體片段之方法進一步描述於例如Edelman等人, *Methods in Enzymology*, 1: 422 Academic Press (1967)；Nisonoff等人, *Arch. Biochem. Biophys.*, 89: 230-244, 1960；Porter, *Biochem. J.*, 73: 119-127, 1959；美國專利第4,331,647號；及Andrews, S.M.及Titus, J.A. *Current Protocols in Immunology* (Coligan等人編), John Wiley & Sons, New York (2003), 第2.8.1 2.8.10及2.10A.1 2.10A.5頁中。

【0175】 5T4結合劑(例如，抗體) (包括人類5T4結合劑)可經基因工程改造。舉例而言，5T4結合劑(例如，抗體) (包括人類5T4結合劑)包含例如由重組DNA工程改造技術產生之可變區域。在此方面，可變區視情

況藉由插入、缺失或改變抗體之胺基酸序列而經修飾以產生所關注抗體，包括如上文所描述。例如藉由使用聚合酶鏈反應以合成可變區使用產抗體細胞之mRNA作為模板來製備編碼所關注CDR之聚核苷酸(參見例如，Courtenay Luck, 「Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies」, *Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application*, Ritter等 人(編), 第166頁(Cambridge University Press 1995)；Ward等 人, 「Genetic Manipulation and Expression of Antibodies」, *Monoclonal Antibodies: Principles and Applications*, Birch 等人,(編), 第137頁(Wiley Liss, Inc. 1995)；及Larrick等人, *Methods: A Companion to Methods in Enzymology*, 2: 106-110, 1991)。當前抗體操縱技術允許構築經工程改造之可變區域，該等可變區域含有至少一個CDR及視情況存在之來自第一抗體之一或多個構架胺基酸及來自第二抗體之可變區域之其餘部分。此類技術用於例如使抗體人源化或改良其對結合目標之親和力。

【0176】 「人源化抗體」為其中非人類免疫球蛋白之重及輕可變鏈之CDR轉移至人類可變域中的抗體。恆定區無需存在，但若其存在，則其視情況與人類免疫球蛋白恆定區實質上一致，例如在一些實施例中至少約85-90%、約95%、96%、97%、98%、99%或更多一致。因此，在一些情況下，人源化免疫球蛋白之所有部分(除可能CDR以外)實質上與天然人類免疫球蛋白序列之對應部分一致。舉例而言，人源化抗體為人類免疫球蛋白(例如，宿主抗體)，其中宿主抗體之高變區殘基由來自非人類物種(供體抗體)(諸如具有所需特異性、親和力及能力之小鼠、大鼠、兔或非人類靈長類動物)之高變區殘基置換。

【0177】 在一些實施例中，本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)適合在治療、預防或緩解5T4介導之疾病、病症或病況(包括疾病、病症或病況之一或多種症狀)的組合物及方法中使用。5T4介導之疾病、病症及病況包括癌症，包括但不限於其中腫瘤細胞過度表現5T4之任何癌症。

【0178】 在一些實施例中，本文描述用於治療個體之腫瘤免疫的方法，其包含向個體投與本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物。在一些實施例中，本文提供本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物，其用於治療個體之腫瘤免疫。在一些實施例中，本文提供本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物在製造用於治療個體之腫瘤免疫之藥劑中的用途。

【0179】 在一些實施例中，本文描述用於治療個體之癌症或腫瘤的方法，其包含向個體投與本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物。在一些實施例中，本文提供本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物，其用於治療個體之癌症或腫瘤。在一些實施例中，本文提供本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物在製造用於治療個體之癌症或腫瘤之藥劑中的用途。

【0180】 在一些實施例中，本文描述用於緩解與個體之癌症或腫瘤相關之一或多種症狀的方法，其包含向個體投與本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物。在一些實施例中，本文提供本文中所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文中所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物，其用於緩解與個體之癌症或腫瘤相關之一或多種症狀。在一些實施例中，本文提供本文中所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文中所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物在製造用於緩解與個體之癌症或腫瘤相關之一或多種症狀之藥劑中的用途。

【0181】 在一些實施例中，本文描述用於減小患有腫瘤之個體之腫瘤大小的方法，其包含向個體投與本文中所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物。在一些實施例中，本文提供本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物，其用於減小患有腫瘤之個體之腫瘤大小。在一些實施例中，本文提供本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物在製造用於減小患有腫瘤之個體之腫瘤大小之藥劑中的用途。

【0182】 在一些實施例中，本文描述用於增強患有腫瘤之個體之腫瘤細胞移除的方法，其包含向個體投與本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物。在一些實施例中，本文提供本文中所描述之5T4結合劑(例如，

抗體或ADC)或其片段或包含本文中所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物，其用於增強患有腫瘤之個體之腫瘤細胞移除。在一些實施例中，本文提供本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物在製造用於增強患有腫瘤之個體之腫瘤細胞移除之藥劑中的用途。

【0183】 本文所描述之方法之個體可與本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或其片段或包含本文所描述之結合劑(例如，抗體或ADC)之醫藥組合物組合投與一或多種本文所描述之治療劑。

【0184】 在一些實施例中，抗體為人類抗體，包括但不限於具有其中構架區及CDR區均衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區的抗體，如例如Kabat等人(1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第五版, 美國衛生與公眾服務部(U.S. Department of Health and Human Services), NIH公開案第91-3242號中所描述。若抗體含有恆定區，則恆定區亦較佳地衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列。人類抗體可包含不由人類生殖系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基，例如以增強抗體之活性，但不包含衍生自其他物種之CDR(例如，置放於人類可變構架區內之小鼠CDR)。

【0185】 在一些實施例中，本文所描述之方法之癌症或腫瘤之細胞諸如在細胞表面上表現5T4。在另外的實施例中，癌症或腫瘤之細胞過度表現5T4。在一些實施例中，5T4結合劑(例如抗體或ADC)對於細胞培養物中之腫瘤細胞為細胞毒性的。此類細胞培養物可包括表現或過度表現5T4之腫瘤細胞。腫瘤細胞包括但不限於乳癌細胞、膀胱癌細胞、黑色素瘤細胞、前列腺癌細胞、間皮瘤細胞、肺癌細胞、睪丸癌細胞、甲狀腺癌

細胞、鱗狀細胞癌細胞、神經膠母細胞瘤細胞、神經母細胞瘤細胞、子宮癌細胞、大腸直腸癌細胞及胰臟癌細胞。

【0186】 在一些實施例中，本文描述增強個體之腫瘤細胞之移除的方法。舉例而言，該方法包含投與有效增強腫瘤細胞之移除之量的5T4結合劑(例如抗體或ADC)，諸如本文所描述之人類5T4結合劑。在一些實施例中，該方法包括投與5T4結合劑(例如抗體或ADC)，包括如下之5T4結合劑：(i)與mAbA4、mAbA15及/或mAbA17競爭結合(參見例如表1、表2及/或表3之CDR及VH/VL)，(ii)結合於人類5T4及/或(iii)結合由mAbA4、mAbA15及/或mAbA17識別之5T4之區域(參見例如表1、表2及/或表3之CDR及VH/VL)，使得增強腫瘤細胞之移除。在一些實施例中，如上文所描述之一或多種結合劑(例如抗體)、聚核苷酸、載體及/或細胞可用於增強活體內腫瘤細胞之移除的方法中(例如治療個體之癌症之方法中)。

【0187】 亦提供調節(例如，抑制、減少、預防)個體之腫瘤生長的方法。舉例而言，該方法包含以有效調節個體之腫瘤生長之量向個體投與包含5T4結合劑(例如，抗體或ADC)的組合物。

【0188】 如本文所使用，「腫瘤」係指任何瘤性細胞生長或增殖(無論惡性或良性)，且係指所有癌前及癌細胞及組織。術語「癌症」及「癌性」係指或描述哺乳動物中通常特徵為不受調節細胞生長之生理病況。癌症之實例包括但不限於：乳癌、大腸癌、腎癌、肺癌、鱗狀細胞骨髓白血病、血管瘤、黑色素瘤、星形細胞瘤及神經膠母細胞瘤以及其他細胞增生性疾病病況，包括但不限於：心肌：肉瘤(血管肉瘤、纖維肉瘤、橫紋肌肉瘤、脂肪肉瘤)、黏液瘤、橫紋肌瘤、纖維瘤、脂肪瘤及畸胎瘤；肺：支氣管癌(鱗狀細胞、未分化小細胞、未分化大細胞、腺癌)、肺泡(細支

氣管)癌瘤、支氣管腺瘤、肉瘤、淋巴瘤、軟骨瘤性錯構瘤、間皮瘤；胃腸道：食道(鱗狀細胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤)、胃(癌瘤、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胰臟(乳腺管腺癌、胰島素瘤、升糖素瘤、胃泌素瘤、類癌、血管活性腸肽瘤(vipoma))、小腸(腺癌、淋巴瘤、類癌、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、神經纖維瘤、纖維瘤)、大腸(腺癌、管狀腺瘤、絨毛狀腺瘤、錯構瘤、平滑肌瘤)；泌尿生殖道：腎(腺癌、威爾姆氏腫瘤(Wilm's tumor) (腎母細胞瘤)、淋巴瘤、白血病、腎細胞癌)、膀胱及尿道(鱗狀細胞癌、移行細胞癌、腺癌)、前列腺(腺癌、肉瘤、前列腺小細胞癌瘤)、睪丸(精原細胞瘤、畸胎瘤、胚胎性癌、畸胎癌、絨毛膜癌、肉瘤、間質細胞癌瘤、纖維瘤、纖維腺瘤、腺瘤樣腫瘤、脂肪瘤)；肝臟：肝細胞瘤(肝細胞癌)、膽管癌瘤、肝母細胞瘤、血管肉瘤、肝細胞腺瘤、血管瘤；骨骼：成骨性肉瘤(骨肉瘤)、纖維肉瘤、惡性纖維組織細胞瘤、軟骨肉瘤、尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、惡性淋巴瘤(網狀細胞肉瘤)、惡性巨細胞瘤脊索瘤、骨軟骨瘤(骨軟骨外生骨疣)、良性軟骨瘤、軟骨母細胞瘤、軟骨黏液性纖維瘤、骨樣骨瘤及巨細胞腫瘤；神經系統：顱骨(骨瘤、血管瘤、肉芽腫、黃瘤、畸形性骨炎)、腦膜(腦膜瘤、脊膜肉瘤、神經膠質瘤病)、腦(星形細胞瘤、神經管胚細胞瘤、神經膠質瘤、室管膜瘤、胚細胞瘤(松果體瘤)、多形性神經膠母細胞瘤、少枝膠質瘤、神經鞘瘤、視網膜母細胞瘤、先天性腫瘤)、脊髓神經纖維瘤、腦膜瘤、神經膠質瘤、肉瘤)；婦科：子宮(子宮內膜癌)、子宮頸(子宮頸癌、腫瘤前子宮頸發育不良)、卵巢(卵巢癌)漿液性囊腺癌、黏液性囊腺癌、類別不明癌瘤、濾泡膜細胞瘤、塞萊二氏細胞瘤(Sertoli-Leydig cell tumor)、無性細胞瘤、惡性畸胎瘤)、外陰(鱗狀

細胞癌、上皮內癌瘤、腺癌、纖維肉瘤、黑色素瘤)、陰道(透明細胞癌瘤、鱗狀細胞癌、葡萄樣肉瘤(胚胎性橫紋肌肉瘤)、輸卵管(癌瘤)；血液學：血液(骨髓白血病(急性及慢性)、急性淋巴母細胞性白血病、慢性淋巴球性白血病、骨髓增生性疾病、多發性骨髓瘤、骨髓發育不良症候群)、霍奇金氏病(Hodgkin's disease)、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma) (惡性淋巴瘤)；皮膚：惡性黑色素瘤、基底細胞癌、鱗狀細胞癌、卡波西氏肉瘤、痣發育不良痣(moles dysplastic nevi)、脂肪瘤、血管瘤、皮膚纖維瘤、癍痕瘤、牛皮癬；及腎上腺：神經母細胞瘤；以及甲狀腺癌，包括髓質甲狀腺癌。在一些實施例中，腫瘤或癌症為復發性腫瘤或癌症。在一些實施例中，腫瘤或癌症為轉移性腫瘤或癌症。在一些實施例中，腫瘤或癌症為原發性腫瘤或癌症。另外或替代地，腫瘤或癌症對化學療法或其他非5T4目標抗癌療法具有抗性。

【0189】 亦提供藉由單獨或與另一種藥劑組合向有需要之個體投與5T4結合劑(例如，抗體) (諸如人類5T4結合劑)來治療癌症的方法。

【0190】 「增強」腫瘤細胞移除不需要100%增強移除。考慮了移除速率之任何增強。類似地，「調節」腫瘤生長係指減小腫瘤之大小、減緩腫瘤生長或抑制現有腫瘤之大小的增加。不需要腫瘤完全消除；腫瘤大小之任何減小或減緩腫瘤生長構成個體之有益生物效應。在此方面，與在不存在該方法之情況下(例如，在不暴露於該方法之藥劑的生物學上匹配對照個體或試樣)中所觀測到的移除含量相比，腫瘤細胞移除可增強例如至少約5%、至少約10%或至少約20%。該作用係藉由例如以下來偵測：腫瘤大小之減小、腫瘤標記物含量之減少或維持或腫瘤細胞群之減少或維持。在一些實施例中，與在不存在該方法之5T4結合劑(例如，抗體)之情

況下腫瘤細胞之移除相比，腫瘤細胞之移除增強例如至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或更大(約100%)。

【0191】 另外，5T4結合劑(例如，抗體或ADC)可用於緩解或減少與癌症相關之副作用，諸如(例如)骨退化、椎骨塌陷及癱瘓。在一個態樣中，個體罹患骨轉移或處於罹患骨轉移之風險下且以減少周圍骨骼退化之量投與5T4結合劑(例如，抗體或ADC)。因此，在一些態樣中，5T4結合劑阻止歸因於骨轉移之骨退化，其中腫瘤細胞增殖減少或不減少。在一些態樣中，5T4結合劑(例如，抗體或ADC)均阻止歸因於骨轉移之骨退化且減少腫瘤細胞增殖。一般而言，對腫瘤細胞增殖的影響(例如，抑制增殖或對增殖無影響)依賴於特定轉移之微環境。舉例而言，可抑制位於具有大量1型膠原蛋白之微環境中的轉移增殖。相比之下，不可抑制位於缺乏大量1型膠原蛋白之微環境中的轉移增殖，但轉移附近的骨退化減少或被阻止。

【0192】 特定個體之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)之特定投與方案將部分地視所使用之藥劑、所投與藥劑之量、投與途徑及任何副作用之病因及程度而定。向個體(例如哺乳動物，諸如人類)投與的藥劑(例如，抗體或ADC)之量應足以在合理時間範圍內實現所需反應。因此，在一些實施例中，向個體投與的本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)或醫藥組合物之量為有效量。

【0193】 投與包含5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (諸如人類5T4結合劑(例如抗體或ADC))之組合物的適合途徑為此項技術中熟知的。儘管可使用超過於一種途徑投與藥劑(例如，抗體或ADC)，但特定途徑可提供

比另一途徑更直接且更有效的反應。

【0194】 本發明提供一種組合物，諸如醫藥組合物，其包含5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (諸如人類5T4結合劑)及載劑(例如，醫藥學上可接受之載劑)。所採用之特定載劑可視化學物理考慮因素而定，諸如溶解度及缺乏與結合劑或輔助療法之反應性以及投與途徑。醫藥學上可接受之載劑為本領域中熟知的，其實例在本文中描述。適合於可注射用途之示意性醫藥形式包括無菌水溶液或分散液及用於臨時製備無菌可注射溶液或分散液之無菌散劑。可注射調配物進一步描述於例如*Pharmaceutics and Pharmacy Practice*, J. B. Lippincott Co., Philadelphia. Pa., Banker及Chalmers.編，第238-250頁(1982)，及*ASHP Handbook on Injectable Drugs*, Toissel, 第4版，第622-630頁(1986)中。本文所提供之醫藥組合物之製備及其各種投與途徑可根據此項技術中熟知之方法進行。適用於本發明之情形的遞送系統包括定時釋放型、延遲釋放型及持續釋放型遞送系統，使得組合物之遞送發生於所治療之部位敏感化之前及足以引起所治療之部位敏感化的時間後。許多類型之釋放遞送系統為可用的且為一般熟習技術者所已知。適合的釋放遞送系統包括聚合物基質系統，諸如聚(丙交酯-乙交酯)、共聚草酸酯、聚己內酯、聚酯醯胺、聚原酸酯、聚羥丁酸及聚酸酐。含有前述聚合物之藥物之微膠囊描述於例如美國專利5,075,109中。遞送系統亦包括非聚合物系統，其為脂質，諸如固醇，諸如膽固醇、膽固醇酯及脂肪酸；或中性脂肪，諸如單酸甘油酯、二酸甘油酯及三酸甘油酯；水凝膠釋放系統；矽橡膠系統；基於肽之系統；蠟包衣；使用習知黏合劑及賦形劑之壓縮錠劑；部分融合之植入物；及其類似物。特定實例包括但不限於：(a)侵蝕系統，其中活性組合物以基質內之形式包含在

內，諸如美國專利4,452,775、4,667,014、4,748,034及5,239,660中所描述之彼等，及(b)擴散系統，其中活性成分以受控速率自聚合物滲透，諸如美國專利3,832,253及3,854,480中所描述。另外，可使用基於泵之硬體遞送系統，其中一些適用於植入。在一個態樣中，將包含5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (諸如人類5T4結合劑)之醫藥組合物連同提供關於此類醫藥組合物之使用之說明書的包裝材料一起置放於容器內。一般而言，此類說明書包括描述藥劑濃度以及在一些實施例中，復原醫藥組合物可能需要之賦形劑成分或稀釋劑(例如，水、鹽水或PBS)之相對量的有形表示。

【0195】 在一些態樣中，本文所描述之方法進一步包含投與一或多種另外的藥劑，包括治療劑，其可存在於組合物中或可與5T4結合劑(例如，抗體或ADC) (諸如人類5T4結合劑)一起投與或使用相同或不同投與途徑提供於單獨組合物中。一或多種另外的藥劑(包括治療劑)可與5T4結合劑(例如，抗體或ADC)一起或單獨(例如同時，替代地，依序)投與(例如，用於組合療法)。此類另外的治療劑包括但不限於治療抗體、免疫療法及免疫治療劑、細胞毒性劑、化學治療劑及抑制劑。

【0196】 可與如本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)一起使用(例如，用於組合療法)的治療抗體包括但不限於曲妥珠單抗(trastuzumab)；阿昔單抗(abciximab)；達利珠單抗(daclizumab)；BEC2；IMC-C22；維他欣(vitaxin)；Campath 1H/LDP-03；Smart M195；依帕珠單抗(epratuzumab)；貝妥莫單抗(bectumomab)；維西珠單抗(visilizumab)；CM3 (一種人源化抗ICAM3抗體)；IDEC-114；替伊莫單抗(ibritumomab tiuxetan)；IDEC-131；IDEC-151；IDEC-152；SMART抗CD3；艾庫組單抗(eculizumab)；阿達木單抗(adalimumab)；

賽妥珠單抗(certolizumab)； IDEC-1 51； MDX-CD4； CD20-鏈黴親和素； CDP571； LDP-02； OrthoClone OKT4A； 盧利珠單抗(ruplizumab)； 那他珠單抗(natalizumab)； 及樂德木單抗(lerdelimumab)； 或其生物類似藥。

【0197】 可與如本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)一起使用(例如，用於組合療法)的免疫療法及免疫治療劑包括但不限於細胞介素，諸如顆粒球-巨噬細胞群落刺激因子(GM-CSF)、顆粒球-群落刺激因子(G-CSF)、巨噬細胞發炎蛋白(MIP)-1- α 、介白素(包括IL-1、IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21及IL-27)、腫瘤壞死因子(包括TNF- α)及干擾素(包括IFN- α 、IFN- β 及IFN- γ)；氫氧化鋁(明礬)；卡介苗(Bacille Calmette-Guerin；BCG)；匙孔螺血氰蛋白(Keyhole limpet hemocyanin；KLH)；不完全弗氏佐劑(Incomplete Freund's adjuvant；IFA)；QS-21；DETOX；左旋咪唑；及二硝基苯基(DNP)，及其組合，諸如(例如)介白素(例如IL-2)與其他細胞介素(諸如IFN- α)之組合。在一些實施例中，免疫療法包括調節免疫反應之免疫治療劑，例如檢查點抑制劑或檢查點促效劑。在一些實施例中，免疫治療劑為靶向以下之抗體調節劑：PD-1、5T4、PD-L2、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、CTLA-4、TIM-3、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、TGF β 、OX40、41BB、LIGHT、CD40、GITR、TGF- β 、SIRP- α 、VSIG8、BTLA、SIGLEC7、SIGLEC9、ICOS、B7H3、B7H4、FAS及/或BTNL2以及此項技術中已知之其他者。在一些實施例中，免疫治療劑為增加自然殺手(NK)細胞活性之藥劑。在一些實施例中，免疫治療劑為抑制免疫反應之抑制的藥劑。在一些實施例

中，免疫治療劑為抑制抑制細胞或抑制細胞活性之藥劑。在一些實施例中，免疫治療劑為抑制Treg活性之藥劑或療法。在一些實施例中，免疫治療劑為抑制抑制性免疫檢查點受體之活性的藥劑。

【0198】 在一些實施例中，免疫治療劑包括選自共刺激分子之促效劑或活化劑的T或NK或NKT細胞調節劑。在一個實施例中，共刺激分子之促效劑係選自GITR、OX40、ICOS、SLAM（例如，SLAMF7）、HVEM、LIGHT、CD2、CD27、CD28、CDS、ICAM-1、LFA-1（CD11a/CD18）、ICOS（CD278）、4-1BB（CD137）、CD30、CD40、BAFFR、CD7、NKG2C、NKp80、CD160、B7-H3或CD83配位體之促效劑（例如，促效抗體或其抗原結合片段，或可溶性融合物）。在其他實施例中，效應細胞組合包括雙特異性T細胞接合子（例如，結合於CD3及腫瘤抗原之雙特異性抗體分子（例如，EGFR、PSCA、PSMA、EpCAM、HER2以及其他者）或雙特異性NK細胞接合子。

【0199】 可與如本文所描述之5T4結合劑（例如，抗體或ADC）一起使用（例如，用於組合療法）的細胞毒性劑包括抑制或阻止細胞功能及/或引起細胞死亡或破壞之物質。例示性細胞毒性劑包括但不限於放射性同位素（例如，At211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212及Lu之放射性同位素）；生長抑制劑；酶及其片段，諸如核分解酶；及毒素，諸如細菌、真菌、植物或動物來源之小分子毒素或酶活性毒素，包括其片段及/或變體。其他例示性細胞毒性劑可選自抗微管劑、鉑配位錯合物、烷基化劑、抗生素劑、拓撲異構酶II抑制劑、抗代謝物、拓撲異構酶I抑制劑、激素及激素類似物、訊息轉導路徑抑制劑、非受體酪胺酸激酶血管生成抑制劑、免疫治療劑、促凋亡劑、LDH-A之抑制

劑；脂肪酸生物合成之抑制劑；細胞循環傳訊抑制劑；HDAC抑制劑、蛋白酶體抑制劑；及癌症代謝抑制劑。

【0200】可與如本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)一起使用(例如，用於組合療法)的化學治療劑包括適用於治療癌症之化學化合物。化學治療劑之實例包括但不限於厄洛替尼(erlotinib)、硼替佐米(bortezomib)、二硫龍(disulfiram)、表沒食子兒茶素沒食子酸酯、鹽孢菌素A、卡非佐米(carfilzomib)、17-AAG (格爾德黴素(geldanamycin))、根赤殼菌素(radicicol)、乳酸脫氫酶A (LDH-A)、氟維司群(fulvestrant)、蘇尼替(sunitib)、來曲唑(letrozole)、甲磺酸伊馬替尼(imatinib mesylate)、氟馬舒酯(fmasunate)、奧賽力鉑(oxaliplatin)、5-FET (5-氟尿嘧啶)、甲醯四氫葉酸(leucovorin)、雷帕黴素(Rapamycin)、拉帕替尼(Lapatinib)、洛那法尼(Lonafamib) (SCH 66336)、索拉非尼(sorafenib) (Bayer Labs)、吉非替尼(gefitinib)、AG1478；烷基化劑，諸如噻替派(thiotepa)及CYTOXAN®；環磷醯胺；磺酸烷基酯，諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶，諸如苯唑多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、米特多巴(meturedopa)及尤利多巴(uredopa)；乙烯亞胺及甲基三聚氰胺，包括六甲蜜胺、三乙烯三聚氰胺、三仲乙基磷醯胺、三仲乙基硫代磷醯胺及三羥甲基三聚氰胺；乙醯精寧(acetogenins) (尤其布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone))；喜樹鹼(包括拓朴替康(topotecan)及伊立替康(irinotecan))；苔蘚抑素(bryostatin)；卡利士他汀(cally statin)；CC-1065 (包括其阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)及比折來新(bizelesin)合成類似物)；念珠藻環肽(尤其克瑞托欣(cryptophycin) 1及克

瑞托欣8)；腎上腺皮質類固醇(包括普賴松(prednisone)及普賴蘇稜(prednisolone))；乙酸環丙孕酮；5 α -還原酶(包括非那雄安(finasteride)及度他雄胺(dutasteride))；伏林司他(vorinostat)、羅米地新(romidepsin)、帕比司他(panobinostat)、丙戊酸、莫替司他尾海兔素(mocetinostat dolastatin)；阿地介白素(aldesleukin)、滑石倍癌黴素(talc duocarmycin) (包括合成類似物KW-2189及CB1-TM1)；艾榴塞洛素(eleutherobin)；水鬼蕉鹼(pancrati statin)；沙考地汀(sarcodictyin)；海綿抑素(spongistatin)；氮芥，諸如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷醯胺、雌莫司汀(estramustine)、異環磷醯胺、二氯甲二乙胺、二氯甲二乙胺氧化物鹽酸鹽、美法侖(melphalan)、新氮芥(novembichin)、膽固醇對苯乙酸氮芥(phenesterine)、潑尼氮芥(prednimustine)、曲洛磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥；亞硝基脲，諸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)及雷莫司汀(ranimustine)；抗生素，諸如烯二炔抗生素(例如，卡奇黴素(calicheamicin)，尤其卡奇黴素 γ II及卡奇黴素 ω I (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. 1994 33:183-186)；達米辛(dynemicin)，包括達米辛A；雙膦酸鹽，諸如氯屈膦酸鹽(clodronate)；埃斯培拉黴素(esperamicin)；以及新抑癌蛋白(neocarzinostatin)發色團及相關色蛋白烯二炔抗生素發色團)、阿克拉黴素(aclacinomycin)、放線菌素(actinomycin)、安麴黴素(authramycin)、偶氮絲胺酸(azaserine)、博來黴素(bleomycin)、放線菌素C (cactinomycin)、卡拉比辛(carubicin)、洋紅黴素(carminomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色黴素(chromomycin)、放線菌素D (dactinomycin)、道諾黴素(daunorubicin)、

地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-側氧基-L-正白胺酸、小紅莓(N-咪啉基-小紅莓、氰基-N-咪啉基-小紅莓、2-吡咯啉基-小紅莓及去氧小紅莓)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、艾達黴素(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(mitomycin) (諸如絲裂黴素C)、黴酚酸(mycophenolic acid)、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycin)、培洛黴素(peplomycin)、泊非黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、奎那黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑黴素(streptonigrin)、鏈脲黴素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、左柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺喋呤及5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如迪諾特寧(denopterin)、甲胺喋呤(methotrexate)、蝶羅呤(pteropterin)、曲美沙特(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巯基嘌呤、噻咪嘌呤、硫鳥嘌呤；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿紫胞苷(azacitidine)、氮雜尿苷(azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、雙去氧尿苷、去氧氟尿苷、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)；雄激素，諸如卡魯甾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、甾內酯(testolactone)；抗腎上腺藥，諸如胺魯米特(aminogluthimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，諸如亞葉酸(frolic acid)；醋葡醛內酯(aceglatone)；醛磷醯胺糖苷(aldophosphamide glycoside)；胺基乙醯丙酸(aminolevulinic acid)；恩尿嘧啶(eniluracil)；安吡啶(amsacrine)；貝斯布西(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；依達曲沙(edatraxate)；地磷醯胺(defofamine)；地美可辛

(demecolcine)；地吡醌(diaziquone)；依洛尼塞(elfomithine)；依利醋鉍(elliptinium acetate)；埃博黴素(epothilone)；乙環氧啉(etoglucid)；硝酸鎂；羥基脲；蘑菇多醣(lentinan)；氯尼達明(lonidainine)；類美登素(maytansinoid)，諸如美登素(maytansine)及安絲菌素(ansamitocin)；米托胍脲(mitoguazone)；米托蒽醌(mitoxantrone)；莫匹丹諾(mopidamol)；硝拉維林(nitraerine)；噴司他汀(pentostatin)；苯來美特(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；洛索蒽醌(losoxantrone)；鬼臼酸；2-乙基醯肼；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK®多醣複合物(JHS Natural Products, Eugene, Ore.)；雷佐生(razoxane)；根瘤菌素(rhizoxin)；西索菲蘭(sizofuran)；螺旋鍺(spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸；三亞胺醌(triaziquone)；2,2',2"-三氯三乙胺；單端孢黴烯，尤其T-2毒素、弗納庫林A (verracurin A)、桿孢菌素A(roridin A)及胺癸叮(anguidine)；烏拉坦(urethan)；長春地辛(vindesine)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露醇氮芥(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；加西托星(gacytosine)；阿拉伯糖苷(「Ara-C」)；環磷醯胺；塞替派；類紫杉醇，例如紫杉醇、ABRAXANE® (不含克列莫佛(Cremophor))、紫杉醇之白蛋白工程改造之奈米粒子調配物(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.)及多烯紫杉醇/多西他賽；苯丁酸氮芥；吉西他濱(gemcitabine)；6-硫鳥嘌呤；巯基嘌呤；甲胺嘌呤；鉑類似物，諸如順鉑(cisplatin)及卡鉑(carboplatin)；長春鹼(vinblastine)；依託泊苷(etoposide) (VP-16)；異環磷醯胺；米托蒽醌；長春新鹼(vincristine)；長春瑞濱(vinorelbine)；諾凡特龍(novantrone)；替尼泊甙(teniposide)；依達曲沙(edatrexate)；道諾黴素(daunomycin)；

胺基喋呤(aminopterin)；卡培他濱(capecitabine)；伊班膦酸鹽(ibandronate)；CPT-11；拓撲異構酶抑制劑RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；類視黃素，諸如視黃酸；及以上中之任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸及衍生物。化學治療劑亦包括(i)用於調節或抑制激素對腫瘤之作用的抗激素劑，諸如抗雌激素及選擇性雌激素受體調節劑(SERM)，包括例如他莫昔芬(tamoxifen) (包括檸檬酸他莫昔芬)、雷洛昔酚(raloxifene)、曲洛昔芬(droloxifene)、艾多昔芬(iodoxyfene)、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、那洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奧那司酮(onapristone)及檸檬酸托瑞米芬(toremifene citrate)；(ii)抑制芳香酶之芳香酶抑制劑，其調節腎上腺中之雌激素產生，諸如(例如)4(5)-咪唑、胺格魯米特、乙酸甲地孕酮、依西美坦(exemestane)、福美斯坦(formestane)、法屈唑(fadrozole)、伏羅唑(vorozole)、來曲唑及阿那曲唑(anastrozole)；(iii)抗雄激素，諸如氟他胺(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、亮丙立德(leuprolide)及戈舍瑞林(goserelin)；布舍瑞林(buserelin)、曲特瑞林(tripterelin)、乙酸甲羥孕酮、己烯雌酚、普雷馬林(premarin)、氟羥甲基酮(fluoxymesterone)、所有反式視黃酸、非瑞替尼(fenretinide)以及曲沙他濱(troxacitabine)(1,3-二氧戊環核苷胞嘧啶類似物)；(iv)蛋白激酶抑制劑；(v)脂質激酶抑制劑；(vi)反義寡核苷酸，尤其抑制涉及異常細胞增殖之傳訊路徑中之基因表現的彼等，諸如(例如) PKC- α 、Raf及H-Ras；(vii)核酶，諸如VEGF表現抑制劑(例如，ANGIOZYME®)及HER2表現抑制劑；(viii)疫苗，諸如基因療法疫苗，例如ALLOVECTIN®、LEUVECTIN®及VAXID®；PROLEUKIN®、rIL-2；拓撲異構酶1抑制劑，諸如

LEIRTOTECAN®；ABARELIX®；及(ix)以上中之任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸及衍生物。

【0201】化學治療劑亦包括如上文所描述之抗體，包括阿侖單抗(alemtuzumab)、貝伐珠單抗(bevacizumab)、西妥昔單抗(cetuximab)、帕尼單抗(panitumumab)、利妥昔單抗(rituximab)、帕妥珠單抗(pertuzumab)、托西莫單抗(tositumomab)及抗體藥結合物吉妥單抗奧唑米星(gemtuzumab ozogamicin)。具有作為藥劑與如本文中所描述之5T4結合劑(例如，抗體)組合之治療潛能的另外的人源化單株抗體包括：阿泊珠單抗(apolizumab)、阿塞珠單抗(aselizumab)、阿利珠單抗(atlizumab)、巴匹組單抗(bapineuzumab)、比伐珠單抗美坦辛(bivatuzumab mertansine)、坎妥珠單抗美坦辛(cantuzumab mertansine)、西利珠單抗(cedelizumab)、聚乙二醇化賽妥珠單抗(certolizumab pegol)、西弗絲妥珠單抗(cidfusituzumab)、西地妥珠單抗(cidtuzumab)、達利珠單抗、艾庫組單抗、依法珠單抗(efalizumab)、依帕珠單抗(epratuzumab)、厄利珠單抗(erlizumab)、泛維珠單抗(felvizumab)、芳妥珠單抗(fontolizumab)、吉妥單抗奧唑米星、英妥珠單抗奧唑米星(inotuzumab ozogamicin)、伊匹單抗(ipilimumab)、拉貝珠單抗(labetuzumab)、林妥珠單抗(lintuzumab)、馬妥珠單抗(matuzumab)、美泊利單抗(mepolizumab)、莫維珠單抗(motavizumab)、莫妥維珠單抗(motovizumab)、那他珠單抗、尼妥珠單抗(nimotuzumab)、納武單抗(nivolumab)、諾洛維珠單抗(nolovizumab)、努瑪維珠單抗(numavizumab)、奧瑞組單抗(ocrelizumab)、奧馬珠單抗(omalizumab)、帕利珠單抗、帕考珠單抗(pascolizumab)、派克福斯珠單

抗(pecfustuzumab)、佩妥珠單抗(pectuzumab)、培克珠單抗(pexelizumab)、雷利珠單抗(ralivizumab)、蘭尼單抗(ranibizumab)、雷珠單抗(reslivizumab)、瑞利珠單抗(reslizumab)、瑞伊維珠單抗(resyvizumab)、羅維珠單抗(rovelizumab)、盧利珠單抗(ruplizumab)、西羅珠單抗(sibrotuzumab)、西利珠單抗(siplizumab)、索土珠單抗(sontuzumab)、他卡珠單抗特拉克斯坦(tacatuzumab tetraxetan)、他度珠單抗(tadocizumab)、他利珠單抗(talizumab)、特非珠單抗(tefibazumab)、托西利單抗(tocilizumab)、托珠單抗(toralizumab)、土庫珠單抗西莫白介素(tucotuzumab celmoleukin)、土庫斯圖珠單抗(tucosituzumab)、烏瑪維珠單抗(umavizumab)、烏珠單抗(urtoxazumab)、優西努單抗(ustekinumab)、維西珠單抗(visilizumab)及抗介白素12 (ABT-8744695, Wyeth Research及Abbott Laboratories) (其為經遺傳修飾以識別介白素-12 p40蛋白質之專門重組人類序列全長IgG1 λ 抗體)。化學治療劑亦包括地塞米松(dexamethasone)、干擾素、秋水仙鹼(colchicine)、氯苯胺啶(metoprine)、環孢靈(cyclosporine)、兩性黴素(amphotericin)、甲硝噻唑(metronidazole)、阿侖單抗、亞利崔托寧(alitretinoin)、別嘌吟醇(allopurinol)、阿米福汀(amifostine)、三氧化二砷、天冬醯胺酶、活BCG、貝伐株單抗(bevacuzimab)、貝沙羅汀(bexarotene)、克拉屈濱(cladribine)、氯法拉濱(clofarabine)、阿法達貝泊汀(darbepoetin alfa)、地尼介白素(denileukin)、右雷佐生(dexrazoxane)、阿法依泊汀(epoetin alfa)、依洛替尼(elotinib)、非格司亭(filgrastim)、乙酸組胺瑞林(histrelin acetate)、替伊莫單抗、干擾素 α -2a、干擾素 α -2b、來那度胺(lenalidomide)、左旋咪唑(levamisole)、美司

鈉(mesna)、甲氧沙林(methoxsalen)、諾龍(nandrolone)、奈拉濱(nelarabine)、諾非妥莫單抗(nofetumomab)、奧普瑞介白素(oprelvekin)、帕利夫明(palifermin)、帕米膦酸鹽、培加酶(pegademase)、培門冬酶(pegaspargase)、派非格司亭(pegfilgrastim)、培美曲塞二鈉(pemetrexed disodium)、普卡黴素(plicamycin)、卟吩姆鈉(porfimer sodium)、奎納克林(quinacrine)、拉布立酶(rasburicase)、沙格司亭(sargramostim)、替莫唑胺(temozolomide)、VM-26、6-TG、托瑞米芬(toremifene)、維甲酸(tretinoin)、ATRA、伐柔比星(valrubicin)、唑來膦酸鹽及唑來膦酸，及其醫藥學上可接受之鹽。

【0202】化學治療劑亦包括氫皮質酮、乙酸氫皮質酮、乙酸皮質酮、特戊酸替可的松(tixocortol pivalate)、曲安奈德(triamcinolone acetonide)、曲安西龍醇(triamcinolone alcohol)、莫米松(mometasone)、安西奈德(amcinonide)、布地奈德(budesonide)、地奈德(desonide)、氟洛奈皮質醇(flucinonide)、丙酮氟洛皮質醇(flucinolone acetonide)、倍他米松(betamethasone)、倍他米松磷酸鈉、地塞米松、地塞米松磷酸鈉、氟可龍(flucortolone)、氫皮質酮-17-丁酸鹽、氫皮質酮-17-戊酸鹽、二丙酸阿氯米松(aclometasone dipropionate)、戊酸倍他米松、二丙酸倍他米松鹽、潑尼卡酯(prednicarbate)、可洛貝他松-17-丁酸鹽、倍氯松-17-丙酸鹽、己酸氟可龍、特戊酸氟可龍及乙酸氟潑尼定(fluprednidene acetate)；免疫選擇性消炎肽(ImSAID)，諸如苯丙胺酸-麩醯胺酸-甘胺酸(FEG)及其D-異構形式(feG) (IMULAN BioTherapeutics, LLC)；抗風濕性藥物，諸如硫唑嘌呤、環孢菌素(環孢靈A)、D-青黴胺、金鹽、羥基氯奎、來氟米特米諾環素(leflunomideminocycline)、柳氮磺胺吡啶

(sulfasalazine)；腫瘤壞死因子 α (TNF α)阻斷劑，諸如依那西普、英利昔單抗(infliximab)、阿達木單抗、聚乙二醇化賽妥珠單抗、戈利木單抗(golimumab)(Simponi)；介白素1 (IL-1)阻斷劑，諸如阿那白滯素；T細胞共刺激阻斷劑，諸如阿巴西普(abatacept)；介白素6(IL-6)阻斷劑，諸如托珠單抗；介白素13 (IL-13)阻斷劑，諸如來瑞組單抗(lebrikizumab)；干擾素 α (IFN)阻斷劑，諸如隆利組單抗(Rontalizumab)； β 7整合素阻斷劑，諸如rhuMAb β 7；IgE路徑阻斷劑，諸如抗M1 prime；分泌型均三聚LTa3及膜結合異三聚體LTa1/132阻斷劑，諸如抗淋巴毒素 α (LTa)；研究用藥劑，諸如硫鉑(thioplatin)、PS-341、苯丁酸鹽、ET-18-OCH3或法呢基轉移酶抑制劑(L-739749、L-744832)；多酚，諸如槲皮素、白藜蘆醇、白皮杉醇、表沒食子兒茶素沒食子酸酯、茶黃素、黃烷醇、原花青素、樺木酸及其衍生物；自噬抑制劑，諸如氯奎； δ -9-四氫大麻酚(屈大麻酚(dronabinol))； β -拉帕酮；拉帕醇(lapachol)；秋水仙鹼；樺木酸；乙醯基喜樹鹼、東莨菪素(scopolectin)及9-胺基喜樹鹼；鬼臼毒素；喃氟啶(tegafur)；貝沙羅汀(bexarotene)；雙膦酸鹽，諸如氯屈膦酸鹽、依替膦酸鹽、NE-58095、唑來膦酸/唑來膦酸鹽、阿侖膦酸鹽、帕米膦酸鹽、替魯膦酸鹽或利塞膦酸鹽；及表皮成長因子受體(EGF-R)；疫苗，諸如THERATOPE®疫苗；哌立福新(perifosine)、COX-2抑制劑(例如，塞內昔布(celecoxib)或依他昔布(etoricoxib))、蛋白酶體抑制劑(例如，PS341)；CCI-779；替法米布(tipifamib) (R11577)；索拉非尼(orafenib)、ABT510；Bcl-2抑制劑，諸如奧利默森鈉(oblimersen sodium)、匹蔥醌(pixantrone)；法呢基轉移酶抑制劑，諸如洛那法尼(lonafamib) (SCH 6636)；及以上中之任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸

或衍生物；以及上述中之兩者或更多者之組合，諸如CHOP (環磷醯胺、小紅莓、長春新鹼及普賴蘇穠之組合療法之縮寫)；及FOLFOX (奧賽力鉑與5-FU及甲醯四氫葉酸組合之治療方案之縮寫)。化學治療劑亦包括聚ADP核糖聚合酶(PARP)抑制劑：奧拉帕尼(olaparib)、盧卡帕尼(rucaprib)、尼拉帕尼(niraparib)、他拉唑帕尼(talzoparib)。

【0203】可與如本文所描述之5T4結合劑(例如抗體)一起使用(例如用於組合療法)的抑制劑包括(但不限於)激酶抑制劑，諸如伊馬替尼、巴瑞替尼(baricitinib)、吉非替尼、厄洛替尼、索拉非尼、達沙替尼(dasatinib)、舒尼替尼(sunitinib)、拉帕替尼(lapatinib)、尼羅替尼(nilotinib)、吡非尼酮(pirfenidone)、帕佐泮尼(pazopanib)、克卓替尼(crizotinib)、維羅非尼(vemurafenib)、凡德他尼(vandetanib)、盧利替尼(ruxolitinib)、阿西替尼(axitinib)、伯舒替尼(bosutinib)、瑞戈非尼(regorafenib)、托法替尼(tofacitinib)、卡博替尼(cabozantinib)、普納替尼(ponatinib)、曲美替尼(trametinib)、達拉非尼(dabrafenib)、阿法替尼(afatinib)、依魯替尼(ibrutinib)、塞利替尼(ceritinib)、艾德昔布(idelalisib)、尼達尼布(nintedanib)、帕柏西利(palbociclib)、樂伐替尼(lenvatinib)、考比替尼(cobimetinib)、阿貝力布(abemaciclib)、阿卡替尼(acalabrutinib)、阿來替尼(alectinib)、貝美替尼(binimetinib)、布加替尼(brigatinib)、恩拉非尼(encorafenib)、厄達替尼(erdafitinib)、依維莫司(everolimus)、福他替尼(fostamatinib)、吉爾特(gilter)、拉羅替尼(larotrectinib)、勞拉替尼(lorlatinib)、奈妥舒迪(netarsudil)、奧希替尼(osimertinib)、培米替尼(pemigatinib)、吡昔替尼(pexidartinib)、利波西利(ribociclib)、坦羅莫司(temsirrolimus)、XL-092、XL-147、XL-765、

XL-499及XL-880。在一些實施例中，如本文所描述之化合物可與以下組合使用：Hsp90抑制劑(例如XL888)、肝臟X受體(LXR)調節劑、類視黃素相關孤兒受體 γ (ROR γ)調節劑、檢查點抑制劑(諸如CK1抑制劑或aCK1 α 抑制劑)、Wnt路徑抑制劑(例如SST-215)或鹽皮質激素受體抑制劑(例如埃沙西林酮(esaxerenone))或XL-888，以用於治療本文所揭示之疾病，諸如癌症。在一些實施例中，如本文所揭示之5T4結合劑(例如抗體)可與以下激酶之一或多種抑制劑組合以用於治療癌症：Akt1、Akt2、Akt3、TGF- β R、PKA、PKG、PKC、CaM-激酶、磷酸化酶激酶、MEKK、ERK、MAPK、mTOR、EGFR、HER2、HER3、HER4、INS-R、IGF-1R、IR-R、PDGF α R、PDGF β /R、CSFIR、KIT、FLK-II、KDR/FLK-1、FLK-4、flt-1、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、Ron、Sea、TRKA、TRKB、TRKC、FLT3、VEGFR/Flt2、Flt4、EphA1、EphA2、EphA3、EphB2、EphB4、Tie2、Src、Fyn、Lck、Fgr、Btk、Fak、SYR、FRK、JAK (JAK1及/或JAK2)、ABL、ALK、CDK7、CDK12、KRAS及B-Raf。

【0204】 可與如本文所描述之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)一起使用(例如，用於治療癌症(例如用於組合療法))的抑制劑之另外的非限制性實例包括FGFR抑制劑(FGFR1、FGFR2、FGFR3或FGFR4，例如培米替尼)；EGFR抑制劑(亦稱為ErB-1或HER-1；例如厄洛替尼、吉非替尼、凡德他尼、奧希替尼(orsimertinib)、西妥昔單抗、耐昔妥珠單抗(necitumumab)或帕尼單抗)；VEGFR抑制劑或路徑阻斷劑(例如，貝伐珠單抗、帕佐泮尼、舒尼替尼、索拉非尼、阿西替尼瑞戈非尼、普納替尼、凡德他尼、雷莫蘆單抗(ramucirumab)、樂伐替尼、塞維-阿柏西普(ziv-

aflibercept))；PARP抑制劑(例如，奧拉帕尼、盧卡帕尼(rucaparib)、維利帕尼(veliparib)或尼拉帕尼)；JAK抑制劑(例如，盧利替尼、巴瑞替尼、伊他替尼(itacitinib))；IDO抑制劑(例如，艾卡噪司他(epacadostat)、NLG919或BMS-986205、MK7162)；LSD1抑制劑；TDO抑制劑；PI3K- δ 抑制劑(例如，帕薩西布(parsaclisib))；PI3K- γ 抑制劑，諸如PI3K- γ 選擇性抑制劑；Pim抑制劑；CSF1R抑制劑；TAM受體酪胺酸激酶(Tyro-3、Axl及Mer)；腺苷受體拮抗劑(例如，A2a/A2b受體拮抗劑)；HPK1抑制劑；趨化介素受體抑制劑(例如，CCR2或CCR5抑制劑)；SHP1/2磷酸酶抑制劑；組蛋白脫乙酰基酶抑制劑(HDAC)，諸如HDAC8抑制劑；血管生成抑制劑；介白素受體抑制劑；溴及額外末端家庭成員抑制劑(例如，溴域抑制劑或BET抑制劑)或其組合。

【0205】 在一些實施例中，如本文所揭示之5T4結合劑(例如，抗體或ADC)可與以下組合使用：PD-1之抑制劑或5T4之抑制劑，例如抗PD-1單株抗體或抗5T4單株抗體，例如納武單抗(Opdivo)、派姆單抗(pembrolizumab) (Keytruda, MK-3475)、阿替利珠單抗(atezolizumab)、阿維單抗(avelumab)、西米普利單抗(cemiplimab)、斯巴達珠單抗(spartalizumab)、卡瑞利珠單抗(camrelizumab)、西利單抗(cetrelimab)、特瑞普利單抗(toripalimab)、信迪利單抗(sintilimab)、AB122、JTX-4014、BGB-108、BCD-100、BAT1306、LZM009、AK105、HLX10及TSR-042、AMP-224、AMP-514、PDR001、度伐利尤單抗(durvalumab)、匹地利珠單抗(pidilizumab) (Imfinzi®, CT-011)、CK-301、BMS 936559、MPDL3280A、替雷利珠單抗(tislelizumab)、BMS-935559、MEDI4736、FAZ053、KN035、CS1001、CBT-502、

A167、STI-A101、BGB-A333、MSB-2311、HLX20、AUNP12、CA-170、BMS-986189、LY3300054及MSB0010718C。

【0206】 在一些實施例中，如本文所揭示之多特異性結合劑可與以下組合使用：CTLA-4抑制劑，例如抗CTLA-4抗體，例如伊匹單抗(Yervoy)、曲美木單抗(tremelimumab)及AGEN1884；或磷脂醯絲胺酸抑制劑，例如巴維妥昔單抗(bavituximab) (PGN401)；或針對細胞介素之抗體(IL-10、TGF- β 及類似物)；或結合於5T4及CTLA-4 (例如，AK104)或PD-1及CTLA-4之雙特異性抗體；或其他抗癌劑，諸如西米普利單抗。

【0207】 另外的藥劑可為上文所描述之此等治療劑中之任一者或其他藥劑之醫藥學上可接受之鹽、酯、醯胺、水合物及/或前驅藥。

【0208】 應理解，在本文所描述之主題之定義內亦提供實質上不影響本文所描述之各種實施例之活性的修改。因此，以下實例意欲說明而非限制本發明。

實例

實例1.抗體產生

【0209】 為了獲得針對人類5T4之結合劑，藉由噬菌體呈現來進行抗體發現。

A. 噬菌體呈現

【0210】 為了獲得針對人類5T4之結合劑，藉由對人類Fab文庫進行噬菌體呈現來進行抗體發現且使用標準方案進行。自Acro Biosystems (經生物素標記之人類5T4 His-Avitag Acro目錄號TPG-H83Eb)購得或產生人類5T4之胞外域。所產生的抗原由人類5T4、石蟹獼猴5T4及小鼠5T4組成，其皆選殖入含有C端6-his-Avi標籤的載體中且在可能的情況下，使用

共表現的生物素連接酶、使用標準程序、在活體外進行生物素標記。

【0211】 篩選出能夠結合於經生物素標記之人類5T4的噬菌體植株。簡言之，使用能夠在噬菌體(亦稱為噬菌質體)中複製及表現的表現載體構築Fab格式化噬菌體文庫。重鏈與輕鏈均在相同表現載體中編碼，其中重鏈與噬菌體鞘蛋白pIII之截斷變體融合。輕鏈及重鏈-pIII融合物係以各別多肽形式表現且組裝於細菌胞外質中，其中氧化還原電位能夠使二硫鍵形成，從而形成候選抗體之抗原結合域(Fab)。

【0212】 使用衍生自特定人類重鏈可變域及特定人類輕鏈可變域之序列建立文庫。在所篩選文庫內產生具有多樣性之輕鏈可變域，引入VL CDR3 (L3)中，且其中輕鏈VL CDR1 (L1)及CDR2 (L2)保留人類生殖系序列。對於所篩選文庫，VH域之所有三個CDR係藉由人類抗體譜系中發現的CDR長度多樣化，以與位置胺基酸頻率匹配。文庫中所使用的噬菌體呈現重鏈(SEQ ID NO:72)及輕鏈(SEQ ID NO:73)骨架列舉如下，其中「x」表示為了建立文庫而改變的CDR胺基酸，且粗斜體表示恆定的CDR序列。

SEQ	ID	NO:72之	序	列	為
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSXXXXXXWVRQAPGKGLE					
WVXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDT					
AVYYCARXXXXXXXXXXXXXXXXXXWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS					
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL					
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC。					

SEQ	ID	NO:73之	序	列	為
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC <i>RASQSVSSAV</i> AWYQQKPGKAPKLLI					

YSASSLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCXXXXXXXXXX
XFGQGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDSQLKSGTASVVCLLNNFYPREA
KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC。

【0213】經由使用簡併DNA寡核苷酸引子之突變誘發來產生多樣性，以將多樣性引入VL CDR3 (L3)及VH CDR1 (H1)、CDR2 (H2)及CDR3 (H3)中以模仿天然抗體譜系中發現之多樣性，如Kunkel, TA (PNAS 1985年1月1日. 82 (2) 488-492)中所更詳細地描述，其以全文引用之方式併入本文中。簡言之，利用標準程序、自經分離的噬菌體製備併有尿嘧啶的單股環狀DNA且進行Kunkel突變誘發以將多樣性引入四個CDR。接著經由電穿孔將化學合成的DNA引入TG1細胞中，隨後回收。對回收的細胞進行繼代培養且用M13K07輔助噬菌體感染以產生噬菌體文庫。

【0214】使用標準程序進行噬菌體淘選。簡言之，在PBST-2% BSA中，以1 mL的體積、利用所製備的文庫、對固著於鏈黴抗生物素蛋白磁性珠粒上的目標進行第一輪噬菌體淘選，該等磁性珠粒上存在大約 1×10^{12} 個噬菌體。培育一小時之後，使用磁性台架自上清液中分離出珠粒所結合的噬菌體。洗滌珠粒三次以移除非特異性結合的噬菌體且接著以大約0.6的OD₆₀₀添加至ER2738細胞(5 mL)中。在室溫下培育20分鐘之後，使感染細胞在25 mL 2xYT + 胺苄青黴素(Ampicillin)及M13K07輔助噬菌體(最終濃度為大約 1×10^{10} pfu/mL)中繼代培養且允許在37°C下、在劇烈搖振下生長隔夜。次日，使用標準程序，藉由PEG沈澱來製備噬菌體。淘選之前，預清除對SAV塗覆之珠粒具有特異性的噬菌體。使用KingFisher磁珠處置器，使用50或100 nM經珠粒固著的5T4抗原，使用標準程序進行第二輪淘

選(第3輪使用100 nM 5T4，第4輪使用50 nM 5T4)。總之，執行3至4輪噬菌體淘選，以富集呈現對5T4抗原具有特異性之Fab的噬菌體。使用多株ELISA證實5T4特異性富集，且分離出個別殖株且藉由執行單株噬菌體ELISA來進一步驗證。使用DNA定序來測定含有候選抗體之經分離Fab殖株的CDR序列。

【0215】 將編碼候選抗體之重鏈及輕鏈可變域的基因分別選殖至哺乳動物表現載體中以便作為全長IgG表現於哺乳動物細胞中。

對於全長IgG，重鏈恆定區(例如，CH1=常規文字；鉸鏈=斜體文字；CH2=粗體文字；及CH3=加底線文字)包括以下胺基酸序列：

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
KVDKKVEPKSCDK*TH*TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK (SEQ ID NO:74)。

對於全長IgG，輕鏈恆定區(例如，CL)包括以下胺基酸序列：

RTVAAPSVFIFPPSDSQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTH
QGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:75)。

【0216】 使用蛋白質A樹脂自培養上清液中純化IgG抗體。

實例2.篩選分析

【0217】 採用二價結合分析來提供實例1中藉由噬菌體呈現而獲得之具有VH/VL的抗體是否結合來自臨床上相關之所有三種物種的固著5T4：人類、石蟹獼猴(獼猴)及小鼠。對於二價結合及交叉反應性分析，使用來自蛋白質資料庫的序列合成人類、獼猴及小鼠5T4抗原且作為生物素標記之蛋白質表現，該等蛋白質使用his-avi標籤且活體內使用共表現之BirA酶進行生物素標記。

【0218】 使用基於Octet之標準分析定性地確定各種抗體是否結合於各抗原。對於等分析，使200 nM生物素標記抗原在1X動力學緩衝液(ForteBio)中固著於鏈黴抗生物素蛋白生物感測器上。接著將所負載的感測器浸漬於含有500 nM之所關注抗體的孔中且監測締合結合信號。締合步驟期間的信號增加高於陰性對照則被視為結合於抗原。

【0219】 對於使用Octet定性測定之結合親和力，測試的所有27種抗體皆展示結合於人類5T4，其中13種抗體亦展示結合於獼猴5T4，且其中13抗體亦展示結合於小鼠5T4。例示性抗體之資料展示於下表4中。

表4.藉由Octet定性測定的二價結合親和力

抗體	人類5T4 Octet (二價)	獼猴5T4 Octet (二價)	小鼠5T4 Octet (二價)
mAbA4	+	+	-
mAbA15	+	+	+
mAbA17	+	+	+

【0220】 利用單價結合分析來測定實例1中藉由噬菌體呈現而獲得之各種5T4結合劑對人類5T4的相對親和力。人類5T4係購自Acro Biosystems (Acro目錄號TPGH52E)且亦單獨產生。使用Octet (Pall ForteBio)儀器監測結合劑與人類5T4之單價相互作用。對於此等分析，使36 nM抗體在1X動力學緩衝液(ForteBio)中固著於抗人類Fc (AHC)感測器

上。接著將感測器浸漬於含有人類5T4之3X連續稀釋液(在1 μM至1.37 nM範圍內)的孔中。允許締合達至平衡。接著將感測器移至僅含有1X動力學緩衝液的孔中且允許解離至平衡。量測締合及解離速率且根據此等速率、使用內建分析軟體(ForteBio)計算單價K_D。

【0221】 在測試的所有27抗體中，大部分抗體在內部的單價結合親和力分析(批號20-019-62)中展示弱結合。在所有三個批次中，mAbA4、mAbA15及mAbA17為展現強或中度結合的彼等抗體。資料展示於下表5中。

表5. 藉由Octet定性測定的單價結合親和力

抗體	單價結合親和力 - Acro TPGH52E5 (批號B465-87AF1-K2)	單價結合親和力- 內部 (批號20-019-62)	單價結合親和力- Acro TPGH52E5 (批號B465-87AF1-JP)
	Octet	Octet	Octet
	K _D [nM]	K _D [nM]	K _D [nM]
mAbA4	0.01	83	30.2
mAbA15	3.62	10.4	11.2
mAbA17	2.81	9.34	21.1

實例3：另外的篩選及選擇

【0222】 評估經選擇用於結合於5T4之抗體(例如實例2中所描述的抗體)與表現5T4之細胞的結合。

【0223】 分析當天，收集70-90%滿度(confluence)的細胞。在+4℃，在v形底96孔盤(Costar 3897)中，將每孔100,000個細胞與每孔50 μL 8點或12點抗體稀釋系列一起培育30分鐘。培育之後，藉由200xg離心5分鐘，用PBS洗滌細胞一次。接著在+4℃下，將細胞與每孔50 μL Alexa Fluor 488山羊抗人類IgG Fab (Jackson Immuno Research 109-547-003)一起以1:100稀釋度培育30分鐘。藉由200xg離心5分鐘，用PBS洗滌細胞兩

次且在iQue Screener Plus (Sartorius)上獲取細胞。將BL1 (Alexa-Fluor-488)通道的平均螢光強度相對於抗體濃度作圖，以產生劑量反應曲線及EC50值。

【0224】 所測試27種抗體中的26種展示與HEK-5T4細胞之結合親和力，16種抗體展示與MCF-7細胞之結合親和力，且26種抗體展示與HEK-cyno-5T4細胞之結合親和力。

【0225】 進一步在使用HEK-5T4及MCF-7細胞之內化分析中評價經選擇用於結合於所有三種HEK-5T4、MCF-7及HEK-cyno-5T4細胞株(包括mAbA4、mAbA15及mAbA17)之抗體。

【0226】 收集70-90%滿度的黏附細胞且接種在96孔黑色、透明/平底半區域盤(Corning 3882)中以每孔20,000個細胞於50 μ L培養基中在37°C過夜。對於懸浮細胞株而言，在37°C用聚-L-鳥胺酸溶液(Millipore-Sigma)塗覆96孔盤1小時且在分析之前的約1-2小時，將細胞以每孔40,000個細胞的密度接種在50 μ L培養基中。抗體在細胞培養基中稀釋，與3X莫耳濃度的Incucyte人類FabFluor-pH紅色抗體標記試劑混合且在室溫下培育15分鐘。製備抗體/FabFluor混合物之2X最終濃度的所有稀釋液。接著將50 μ L的2X抗體/Fab-Fluor混合物一式兩份地直接添加至預接種有細胞的每個孔中，且快速地將盤轉移至Incucyte中。接著每30分鐘掃描盤，持續至多24小時。注意在抗體/FabFluor混合物添加至細胞的2-3 min內開始第一次掃描(0小時)。藉由讀取隨時間產生的紅色信號(標準化至該孔中的細胞匯合%)來分析盤。少數抗體係在不同濃度下針對目標細胞株測試，且基於良好的信號:雜訊比來選擇最佳濃度。

【0227】 在內化分析中，6種抗體(包括mAbA4及mAbA15)在HEK-

5T4細胞中展示強內化，一種抗體在HEK-5T4細胞中展示中度內化，且7種抗體在HEK-5T4細胞中未展示內化或展示非特異性內化。在另外的分析中，2種抗體在MCF-7細胞中展示強內化，4種抗體在HEK-5T4細胞中展示中度內化，且8種抗體在MCF-7細胞中未展示內化或展示非特異性內化。

實例4：可開發性分析

【0228】 在各種可開發性方法中測試經選擇用於結合於5T4之抗體，例如實例2及3中所描述之彼等抗體。舉例而言，採用各種層析方法(包括尺寸排阻層析(SEC)、疏水性相互作用層析(HIC)及立式單層吸附層析(SMAC))評估可開發性因素，諸如單體百分比、溶解性及抗體聚集或沈澱。

【0229】 在Agilent 1100 HPLC上，使用配有6 mm × 4 cm保護管柱(PN 08543)的7.8 mm ID × 30 cm TSKgel G3000SWXL管柱(Tosoh Bioscience LLC, PN 08541)進行尺寸排阻層析(SEC)分析。將抗體在杜爾貝科氏PBS (Dulbecco's PBS) (pH 7.4，無Ca²⁺/Mg²⁺)中標準化至1 mg/mL濃度且經由離心澄清以集結顆粒，同時仍保留可溶聚集體。移動相緩衝液為2X濃度(自10X儲備液濃度稀釋)的杜爾貝科氏PBS (pH 7.4，無Ca²⁺/Mg²⁺)。對於各樣品，負載10 µL且在環境溫度下以1.0 mL/min歷經20分鐘等度溶離。在280 nm下監測吸光度。對層析峰求積分以測定均一性百分比及滯留時間。除分子分級之外，管柱固定相以及移動相的選擇亦支持疏水性及靜電相互作用(二級相互作用比SMAC輕得多)。使用Agilent ChemStation B.04.03 SP1進行資料分析。

【0230】 結果展示，基於SEC分析，mAbA4、mAbA15及mAbA17

(在其他所測試的抗體中)具有強可開發性。

【0231】 在Agilent 1100 HPLC上，使用4.6 mm ID × 3.5 cm TSKgel 丁基-NPR管柱(Tosoh Bioscience LLC, PN 14947)進行疏水性相互作用層析(HIC)分析。抗體在杜爾貝科氏PBS (pH 7.4，無Ca²⁺/Mg²⁺)中標準化至1 mg/mL濃度。管柱在環境溫度下以1 mL/min之流速用100%移動相緩衝液A (2 M硫酸銨/20 mM磷酸鈉，pH 7.0)平衡。對於各樣品，負載10 µL且使用100%移動相緩衝液A至100%移動相緩衝液B (20 mM磷酸鈉，pH 7.0)之梯度以1.0 mL/min歷經15分鐘溶離，保持在100% B下3分鐘以洗滌管柱，且對於平衡，返回100% A持續2分鐘。在280 nm下監測吸光度。計算樣品滯留時間且與一組標準對照進行比較以鑑別出滯留時間增加(疏水性增加)且存在多個物種的抗體。使用Agilent ChemStation B.04.03 SP1進行資料分析。

【0232】 疏水性相互作用層析(HIC)分析結果展示，某些抗體具有強可開發性，而其他抗體具有中度可開發性。基於HIC分析，mAbA4、mAbA15及mAbA17為具有強可開發性的彼等物。抗體疏水性可影響抗體聚集、溶解性及黏度。結果指示此等抗體之聚集及沈澱傾向低。

【0233】 在Agilent 1100 HPLC上，使用配有4.6 mm × 50 mm保護管柱(PN 213300P-4605)的4.6 mm ID × 300 mm Zenix SEC 300管柱(Sepax Technologies, PN 213300P-4630)進行立式單層吸附層析(SMAC)分析。將抗體在杜爾貝科氏PBS (pH 7.4，無Ca²⁺/Mg²⁺)中標準化至1 mg/mL濃度且經由離心澄清以集結顆粒，同時仍保留可溶聚集體。移動相緩衝液為2X濃度(自10X儲備液濃度稀釋)的杜爾貝科氏PBS (pH 7.4，無Ca²⁺/Mg²⁺)。對於各樣品，負載10 µL且在環境溫度下以0.4 mL/min歷經

32分鐘等度溶離。在280 nm下監測吸光度。計算樣品滯留時間且與一組標準對照進行比較，以鑑別出滯留時間增加(形成聚集體的傾向增加及/或疏水性/靜電相互作用增加)的抗體，原因在於管柱固定相以及移動相選擇促進除分子分級之外的二級相互作用。使用Agilent ChemStation B.04.03 SP1進行資料分析。

【0234】 立式單層吸附層析(SMAC)分析結果展示，某些抗體具有強可開發性，而其他抗體具有中度可開發性。基於SMAC分析，mAbA4、mAbA15及mAbA17為具有強可開發性的彼等物。測定係基於良好的滯留時間，其表示膠體穩定性及低聚集傾向。

實例5：抗原決定基分組分析

【0235】 採用抗原決定基分組分析測定實例1中藉由噬菌體呈現而獲得之各種抗體結合於5T4的哪個抗原決定基。

【0236】 為了維持5T4蛋白之整體結構，同時仍能夠進行抗原決定基結合測定，藉由選殖人類5T4之七種鄰接序列(抗原決定基1-7)中之各者以置換對應小鼠序列中之各者來產生小鼠-人類嵌合體。對於嵌合體產生，藉由GenScript合成全長人類及小鼠5T4基因且選殖入具有6-His-Avi標籤之哺乳動物載體中。接著自人類基因中移除如本文所描述之七種序列(抗原決定基1-7)中之各者且使用適當引子分別選殖入小鼠基因中。人類5T4之抗原決定基1 (H1) 對應於SSPTSSASSFSSSAPFLASAVSAQPPLPDQCPALCECSEAART (SEQ ID NO:76)；人類5T4之抗原決定基2 (H2) 對應於VKCVNRNLTEVPTDLPAYVRNLFLTGNQLAVLPAGAFARRPPLAELAALNLSGSRLDEV R (SEQ ID NO:77)；人類5T4之抗原決定基3 (H3)對應

於AGAFEHLPSLRQLDL SHNPLADLSPFAFSG (SEQ ID NO:78)；人類5T4之抗原決定基4 (H4)對應於SNASVSAPSPLVELILNHIVPPEDERQNRSFEGMVVAALLAGRALQGLRRLE (SEQ ID NO:79)；人類5T4之抗原決定基5 (H5)對應於LASNHFLYLPRDVLAQLPSLRHLDLSNNSLVSLTYVSFRNLTHLESL (SEQ ID NO:80)；人類5T4之抗原決定基6 (H6)對應於HLEDNALKVLHNGTLAELQGLPHIRVFL (SEQ ID NO:81)；及人類5T4之抗原決定基7 (H7)對應於DNNPWVCDCHMADMVTWLKETEVVQGKDRLTCAYPEKMRNRVLL ELNSADLDCDPILPPSLQTS (SEQ ID NO:82)。使用Expi293蛋白質表現系統(Thermo Fisher)短暫表現抗原且在活體外使用共表現的BirA生物素連接酶進行生物素標記且使用Ni-NTA親和層析進行純化。如表6中所示，所產生之人類(H)及小鼠(M)序列之七種嵌合構築體為：(1) H1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 (SEQ ID NO:83)；(2) M1 H2 M3 M4 M5 M6 M7 (SEQ ID NO:84)；(3) M1 M2 H3 M4 M5 M6 M7 (SEQ ID NO:85)；(4) M1 M2 M3 H4 M5 M6 M7 (SEQ ID NO:86)；(5) M1 M2 M3 M4 H5 M6 M7 (SEQ ID NO:87)；(6) M1 M2 M3 M4 M5 H6 M7 (SEQ ID NO:88)；及(7) M1 M2 M3 M4 M5 M6 H7 (SEQ ID NO:89)。接著測試各抗體對嵌合構築體及全長人類蛋白中之各者的結合。對嵌合體的任何顯著結合信號指示抗體特異性結合的區域。

表6. 5T4嵌合構築體

人 類5T4 抗原決定 基1	<u>H1</u> M2 M3 M4 M5 M6 M7 (SEQ ID NO:83)	<u>SSPTSSASS</u> FSSSAPFLAS AVSAQPPLPD QCPALCECSE <u>AARTVKCVNR</u> NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVDCCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S
人 類5T4 抗原決定 基2	M1 <u>H2</u> M3 M4 M5 M6 M7 (SEQ ID NO:84)	SAPSSSVPS SSTSPAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLTEVPTDLP AYVRNLFLTG NQLAVLPAGA FARRPPLAEL AALNLSGSRL DEVRAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVDCCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S
人 類5T4 抗原決定 基3	M1 M2 <u>H3</u> M4 M5 M6 M7 (SEQ ID NO:85)	SAPSSSVPS SSTSPAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH <u>LPSLRQLDLS</u> <u>HNPLADLSPF</u> AFSGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYLDLRNN SLVSLTYASF RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVDCCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S
人 類5T4 抗原決定 基4	M1 M2 M3 <u>H4</u> M5 M6 M7 (SEQ ID NO:86)	SAPSSSVPS SSTSPAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLVELIL NHIVPPEDER <u>QNRSFEGMVV</u> <u>AALLAGRALQ</u> <u>GLRRLELASN</u> HFLFLPRDLL AQLPSLRYLD LRNNSLVSLT YASFRNLTHL ESLHLEDNAL KVLHNSTLAE WHGLAHVKVF LDNNPWVDCD YMADMVAWLK ETEVVPDKAR LTCAFPEKMR NRGLLDLNSS DLDCDAVLPQ SLQTS
人 類5T4 抗原決定 基5	M1 M2 M3 M4 <u>H5</u> M6 M7 (SEQ ID NO:87)	SAPSSSVPS SSTSPAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLY <u>LPRDVLAQLP</u> <u>SLRHLDLSNN</u> <u>SLVSLTYVSF</u> RNLTHLESLH LEDNALKVLH NSTLAEWHGL AHVKVFLDNN PWVDCCYMAD MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S

人 類5T4 抗原決定 基6	M1 M2 M3 M4 M5 <u>H6</u> M7 (SEQ ID NO:88)	SAPSSSVPS SSTS ~~P~~ AAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYL ~~D~~ LRNN SLVSLTYASF RNLTHLES <u>L</u> H <u>LEDNALKVLH</u> NGTLAELQGL PHIRVFLDNN PWVCD ~~C~~ YMA <u>D</u> MVAWLKETEV VPDKARLTCA FPEKMRNRGL LDLNSSDLDC DAVLPQSLQT S
人 類5T4 抗原決定 基7	M1 M2 M3 M4 M5 M6 <u>H7</u> (SEQ ID NO:89)	SAPSSSVPS SSTS ~~P~~ AAFLA SGSAQPPPAE RCPAACECSE AARTVKCVNR NLLEVPADLP PYVRNLFLTG NQMTVLPAGA FARQPPLADL EALNLSGNHL KEVCAGAFEH LPGLRRLDLS HNPLTNLSAF AFAGSNASVS APSPLEELIL NHIVPPEDQR QNGSFEGMVA FEGMVAAALR SGLALRGLTR LELASNHFLF LPRDLLAQLP SLRYL ~~D~~ LRNN SLVSLTYASF RNLTHLES <u>L</u> H <u>LEDNALKVLH</u> NSTLA ~~E~~ WHGL AHVKVFLDNN PWVCDCHMA <u>D</u> <u>MVTWLKETEV</u> VQ ~~G~~ KDRLTCA YPEKMRNRVL LELNSADLDC <u>DPILPPSLQT</u> S

【0237】 基於Octet之標準分析用於抗原決定基分組分析以確定各抗體之抗原決定基組。對於此等分析，使50 nM生物素標記抗原在1X動力學緩衝液(ForteBio)中固著於鏈黴抗生物素蛋白感測器上。接著將感測器浸漬於含有100 nM之所討論之抗體的孔中且監測締合信號。有效地剔除抗體結合的嵌合體接著對應於抗體所結合的特異性抗原決定基。分析中包括人類全長5T4作為參照。

【0238】 結果展示，9種抗體特異性結合於5T4之抗原決定基4，3種抗體特異性結合於5T4之抗原決定基7，且3種抗體特異性結合於5T4之抗原決定基2，一種抗體特異性結合於5T4之抗原決定基4及抗原決定基6，且11種抗體結合於全長5T4 (FL)。例示性抗原決定基分組結果(對於mAbA4、mAbA15及mAbA17)概述於表7中。

表7.抗原決定基分組分析

抗體	抗原決定基組
mAbA4	4
mAbA15	2
mAbA17	7

實例6：抗體選擇

【0239】 如上文所描述，在如實例1所描述自噬菌體文庫篩選的所有抗體中，在格式化IgG之後仍能夠結合於5T4的27種抗體進一步如實例2-5中所描述進行測試。命名為mAbA4、mAbA15及mAbA17的三種抗體係基於多種活性加以選擇，包括其對人類5T4結合之特異性、其對獼猴5T4之結合、其細胞表面結合信號及其強可開發性，如藉由多種方法(諸如SEC、HIC及SMAC)所評估。此等抗體之VH、VL及CDR序列展示於表1至表3中。

實例7.抗體與人類5T4之結合(ELISA)

【0240】 A.正常結合

【0241】 使用ELISA測試所選擇抗體結合於hu5T4之能力。在第1天，將具有c端聚組胺酸及Avi (AVITAG™)標籤(AcroBiosystems (Newark, DE, USA)，目錄號TPG-H52E5)的未結合之人類TPBG/5T4蛋白在PBS中稀釋至2 µg/mL，充分混合，在96孔盤(Nunc MAXISORP®)中每孔塗覆100 µL且在4℃下培育隔夜。

【0242】 在第2天，將盤用含0.1% Tween®-20之PBS (「PBS-T」)洗滌四次。孔用200 µL含酪蛋白之PBS (BLOCKER™酪蛋白，獲自ThermoFisher Scientific)阻斷且在室溫下、在搖振的同時培育2小時。

【0243】 在PBS中製備IgG-ADC之1:3稀釋系列且以每孔100 µL之體積添加於96孔盤中。在室溫下，在搖振的同時培育盤1小時。

【0244】 山羊抗人類IgG Fcγ 特異性HRP結合物(Jackson ImmunoResearch，目錄號109-035-098)在PBS中以1:15000之係數稀釋。使用洗盤器(BioTek ELx405)用PBS-T將ELISA盤洗滌六次，其後向各孔

中添加100 μL山羊抗人類IgG Fcγ特異性HRP結合物。接著在室溫下，在搖振的同時培育盤30分鐘。

【0245】 使用洗盤器(BioTek ELx405)用PBS-T將ELISA盤洗滌六次，其後向各孔中添加100 μL的3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(TMB)。使培養盤顯色直至深藍色變得可見。接著添加H₂SO₄ (2 N，100 μL)以淬滅反應且在讀盤器(獲自Molecular Devices的SpectraMax M5，其配備有SoftMaxPro軟體)讀取各孔之吸光度。

【0246】 B.應激測試

【0247】 1.高pH應激測試.使用ELISA，在鹼性(高pH)條件下測試抗體結合於5T4之能力。含有1 mg/mL抗體之0.1% w/w H₂O₂/1x PBS在室溫下、在暗處儲存24-48小時，其後添加50 mM甲硫胺酸。在如部分A中所描述經由ELISA進行分析之前，將樣品冷凍儲存。下表8報導針對各測試抗體計算之EC₅₀。

表8.抗體與hu5T4在高pH下之結合

mAb	條件	EC ₅₀ (nM)
mAbA4	pH 8.5，第0天	0.120
mAbA4	pH 8.5，第1天	0.127
mAbA4	pH 8.5，第4天	0.114
mAbA4	pH 8.5，第7天	0.128
mAbA4	pH 8.5，第14天	0.136
mAbA15	pH 8.5，第0天	0.134
mAbA15	pH 8.5，第1天	0.128
mAbA15	pH 8.5，第4天	0.133
mAbA15	pH 8.5，第7天	0.143
mAbA15	pH 8.5，第14天	0.131
mAbA17	pH 8.5，第0天	0.153
mAbA17	pH 8.5，第1天	0.174
mAbA17	pH 8.5，第4天	0.150
mAbA17	pH 8.5，第7天	0.158
mAbA17	pH 8.5，第14天	0.167

【0248】 **2.低pH應激測試.**使用ELISA，在酸性(低pH)條件下測試抗體結合於5T4之能力。製備抗體於20 mM Tris/10 mM EDTA中之1 mg/mL至10 mg/mL溶液(pH 8.5)且在37°C下儲存1至2週。在如部分A中所描述經由ELISA進行分析之前，將樣品冷凍儲存。下**表9**報導針對各測試抗體計算之EC₅₀。

表9.抗體與hu5T4在低pH下之結合

mAb	條件	EC ₅₀ (nM)
mAbA4	pH 5.5，第0天	0.133
mAbA4	pH 5.5，第1天	0.132
mAbA4	pH 5.5，第4天	0.125
mAbA4	pH 5.5，第7天	0.124
mAbA4	pH 5.5，第14天	0.122
mAbA15	pH 5.5，第0天	0.124
mAbA15	pH 5.5，第1天	0.134
mAbA15	pH 5.5，第4天	0.123
mAbA15	pH 5.5，第7天	0.132
mAbA15	pH 5.5，第14天	0.138
mAbA17	pH 5.5，第0天	0.164
mAbA17	pH 5.5，第1天	0.159
mAbA17	pH 5.5，第4天	0.157
mAbA17	pH 5.5，第7天	0.190
mAbA17	pH 5.5，第14天	0.153

【0249】 **3.氧化應激.**使用ELISA，在氧化環境中測試抗體結合於5T4之能力。製備抗體於20 mM檸檬酸鹽/50 mM NaCl中之1 mg/mL至10 mg/mL溶液(pH 5.5)且在37°C下儲存1至2週。在如部分A中所描述經由ELISA進行分析之前，將樣品冷凍儲存。下**表10**報導針對各測試抗體計算之EC₅₀。

表10.抗體與hu5T4在氧化應激下之結合

mAb	條件	EC ₅₀ (nM)
mAbA4	PBS時間0	0.182
mAbA4	PBS，時間24小時	0.200
mAbA4	PBS，時間48小時	0.189
mAbA4	PBS+H ₂ O ₂ ，時間0	0.225
mAbA4	PBS+H ₂ O ₂ ，時間24小時	0.393
mAbA4	PBS+H ₂ O ₂ ，時間48小時	0.386
mAbA15	PBS，時間0	0.229
mAbA15	PBS，時間24小時	0.212
mAbA15	PBS時間，48小時	0.203
mAbA15	PBS+H ₂ O ₂ ，時間0	0.191
mAbA15	PBS+H ₂ O ₂ ，時間24小時	0.190
mAbA15	PBS+H ₂ O ₂ ，時間48小時	0.189
mAbA17	PBS，時間0	0.198
mAbA17	PBS，時間24小時	0.186
mAbA17	PBS，時間48小時	0.185
mAbA17	PBS+H ₂ O ₂ ，時間0	0.188
mAbA17	PBS+H ₂ O ₂ ，時間24小時	0.183
mAbA17	PBS+H ₂ O ₂ ，時間48小時	0.207

實例8.抗體對獼猴、大鼠及小鼠5T4之交叉反應性(ELISA及OCTET)

【0250】 使用ELISA及Octet測試所選擇抗體結合於非人類5T4-Ts之能力。使用實例7中所描述之ELISA方案，將人類5T4抗原置換成重組獼猴5T4-Fc（源自R&D Systems (Minneapolis, MN, USA)，目錄號2280-TG-100或LSBio (Seattle, WA, USA)、目錄號LS-G137131)、重組小鼠5T4-Fc (R&D Systems，目錄號5049-TG-100)、具有N端標籤6His-SUMO之重組大鼠TPBG/5T4 (LSBio目錄號G56592)、具有N端標籤His之重組小鼠TPBG/5T4 (LSBio目錄號G12168)抗原。對於Octet分析，蛋白質A生物晶片用抗體塗覆，用PBS洗滌且接著與抗原反應，如上文所鑑

別。測試之所有抗體結合於人類、獼猴及大鼠5T4。未觀測到與小鼠5T4之顯著結合交叉反應性。

實例9.抗體與經5T4轉染之CHO及HEK293細胞的細胞結合

【0251】 測試所選擇抗體結合於HEK293及CHO細胞之能力，該等細胞經轉染以表現人類、獼猴、大鼠或小鼠5T4。未轉染的細胞作為對照用於觀測非特異性結合。mAbA4、mAbA15及mAbA17對經轉染以表現人類及獼猴5T4之HEK293及CHO細胞具有反應性，但對經轉染以表現大鼠或小鼠5T4之細胞無反應性。

* * * * *

【0252】 在通篇本申請案中，已提及多個公開案、專利、專利申請案及其他文獻。此等公開案、專利、專利申請案及其他文獻之揭示內容特此以引用之方式併入本申請案中以用於所有目的，包括為了更充分地描述本文中所揭示之主題所關於的目前先進技術。雖然所揭示之主題已結合上文提供之實例加以描述，但應瞭解，可在不偏離所揭示之主題精神的情況下進行各種修改。熟習此項技術者在審閱本說明書時將顯而易知許多變化形式。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en" dtdVersion="V1_3"
fileName="C256045SEQA.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0"
productionDate="2023-08-23">
  <ApplicantFileReference>14529-107-185</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>63/341,944</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-05-13</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">美商艾克塞里克斯公司(EXELIXIS,
INC.)</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>EXELIXIS, INC.</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">5T4結合劑及其用途</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>89</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q179">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH CDR1 (Exemplary,
AbM)</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q180">
              <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GFTFSRYYYIH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 2" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q181">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH CDR2 (Exemplary,
Kabat)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q182">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>FISPGGSYTTYADSVKG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 3" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql83">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH CDR3 (Exemplary, Kabat,
AbM)</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql84">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EYYSMGVLDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="ql85">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4, mAbA15, mAbA17 VL CDR1 (Exemplary,
Kabat, AbM)</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="ql86">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RASQSVSSAVA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql87">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4, mAbA15, mAbA17 VL CDR2 (Exemplary,
Kabat, AbM)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql88">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

        </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SASSLYS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 6">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q189">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VL CDR3 (Exemplary, IMGT, Kabat,
AbM)</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q190">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
        <INSDSeq_sequence>QQAYESPYT</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 7">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql91">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH CDR1 (IMGT)</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql92">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GFTFSRYY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql93">
```

```
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH CDR2 (IMGT)</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q194">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ISPGGSYT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q269">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH CDR3 (IMGT)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q270">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>AREYYSMGVLDY</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q271">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4, mAbA15, mAbA17 VL CDR1
(IMGF)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q272">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QSVSSA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q273">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH CDR1 (Kabat)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q274">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RYYIH</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
```

```

    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q275">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4, mAbA17 VH CDR1
(Chothia)</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q276">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GFTFSRY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q277">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH CDR2
(Chothia)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q278">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>PGGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q279">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH CDR3
(Chothia)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q280">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>YYSMGVLD</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q281">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4, mAbA15, mAbA17 VL CDR1
(Chothia)</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q282">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SQSVSSA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q283">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VL CDR3
(Chothia)</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q284">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AYESPY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q285">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH CDR1
(Contact)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q286">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SRYYIH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q287">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH CDR2
(Contact)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q288">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>WVAFISPGGSYTY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q289">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH CDR3
(Contact)</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q290">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AREYYSMGVLD</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q291">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4, mAbA15, mAbA17 VL CDR1
(Contact)</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q292">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SSAWAY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q293">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4, mAbA15, mAbA17 VL CDR2
(Contact)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q294">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>LLIYSASSLY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 23" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q295">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VL CDR3
(Contact)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q296">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QQAYESPY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 24" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q297">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH CDR2 (AbM)</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q298">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>FISPGGSYTY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q299">
```

```

    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VH Sequence</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q300">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYIIHWVRQAPGKGLEWVAFISPGGSYTTYAD
SVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYYSMGVLDYWGQGTLLTVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q301">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA4 VL Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q302">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
</INSDSeq>
</INSDSeq_feature-table>
</INSDSeq>
</INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRF
SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAYESPYTFGQGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 27" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q303">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR1 (Exemplary,
AbM)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q304">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GFTFSSYYIH</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 28" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q305">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR2 (Exemplary,
Kabat)</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q306">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>YITSTGSYTEYADSVKG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="29">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q307">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```

        <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR3 (Exemplary, Kabat,
AbM)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q308">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>YDRSTRYSGLDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="30">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q309">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VL CDR3 (Exemplary, IMGT, Kabat,
AbM)</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q310">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>

```

```
<INSDSeq_sequence>QQAYATPVT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 31">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q311">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR1 (IMGT)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q312">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GFTFSSYY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 32">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q313">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR2 (IMGT)</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q314">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ITSTGSGYT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="33">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q315">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR3 (IMGT)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q316">
```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ARYDRSTRYSGLDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 34" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q317">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR1
(Kabat)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q318">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SYYIH</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 35" >
```

```
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q319">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR1
(Chothia)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q320">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GFTFSSY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 36">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
```

```

    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q321">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR2
(Chothia)</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q322">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>STGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="37">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q323">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR3
(Chothia)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q324">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DRSTRYSGLD</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 38" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q325">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VL CDR3
(Chothia)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q326">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>AYATPV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 39" >
  <INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q327">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR1
(Contact)</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q328">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SSYYIH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q329">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR2
(Contact)</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q330">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>WVAYITSTGSYTE</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="41">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q331">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR3
(Contact)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q332">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ARYDRSTRYSGLD</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 42" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q333">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VL CDR3
(Contact)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q334">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QQAYATPV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 43" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q335">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH CDR2 (AbM)</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q336">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>YITSTGSYTE</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="44">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>121</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..121</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<INSDQualifier id="q337">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VH Sequence</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q338">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYIHWRQAPGKGLEWVAYITSTGSGYTEYAD
SVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYDRSTRYSGLDYWGQGTLLTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="45">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q339">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA15 VL Sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q340">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
```

```
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRF
SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAYATPVTFGQGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 46" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q341">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH CDR1 (Exemplary,
AbM)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q342">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GFTFSRYWIH</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 47" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q343">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH CDR2 (Exemplary,
Kabat)</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q344">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AIFPYSGSTLYADSVKG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="48">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q345">
```

```

    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH CDR3 (Exemplary, Kabat,
AbM)</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q346">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SPSR SILPSGLDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="49">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_quals>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q347">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VL CDR3 (Exemplary, IMGT, Kabat,
AbM)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q348">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_quals>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QQGDGSPYT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="50">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q349">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH CDR1 (IMGT)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q350">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GFTFSRYW</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q351">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH CDR2 (IMGT)</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q352">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>IFPYSGST</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="52">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q353">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH CDR3 (IMGT)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<INSDQualifier id="q354">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ARSPRSILPSGLDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="53">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q355">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH CDR1
(Kabat)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q356">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RYWIH</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 54">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q357">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH CDR2
(Chothia)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q358">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>PYSG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 55">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q359">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH CDR3
(Chothia)</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q360">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>PSRSILPSGLD</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="56">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q361">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VL CDR3
(Chothia)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q362">
```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GDGSPY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 57" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q363">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH CDR1
(Contact)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q364">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SRYWIH</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 58" >
```

```
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q365">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH CDR2
(Contact)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q366">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>WVAIFPYSGSTL</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="59">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
```

```

    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q367">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH CDR3
(Contact)</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q368">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ARSPRSILPSGLD</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="60">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q369">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VL CDR3
(Contact)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q370">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QQGDGSPY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="61">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q371">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH CDR2 (AbM)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q372">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>AIFPYSGSTL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="62">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>122</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..122</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q373">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VH Sequence</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q374">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWIHWVRQAPGKGLEWVAIFPYSGSTLYAD
SVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPSR SILPSGLDYWGQGT LVT VSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="63">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q375">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Antibody mAbA17 VL Sequence</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q376">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRF
SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDGSPYTFGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="64">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>420</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..420</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q377">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>full-length amino acid sequence of human
5T4</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q378">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MPGGCSRGAAGDGRRLRLARLALVLLGWVSSSSPTSSASSFSSSAPFLASAVSAQPPLPDQC
PALCECSEAARTVKCVNRNLTEVPTDLPAYVRNLFLTGNQLAVLPAGAFARRPPLAELAALNLSGSRLDEVRAFAFEHLP
SLRQLDLSHNPLADLSPFAFGSGNASVSAPSPLVELILNHIVPPEDERQNRSFEGMVVAALLAGRALQGLRRLELASNHF
LYLPRDVLALQPSLRHLDLSNNSLVSLTYVSFRNLTHLESLHLEDNALKVLHNGTLAELQGLPHIRVFLDNNPWVCDCHM
ADMVTWLKETEVVQKGDR LTCAYPEKMRNRVLELNSADLDCDPIPPSLQTSYVFLGIVLALIGAIFLLVLYLNRKG I K
KWMHNIRDACRDHMEGYHYRYEINADPRLTNLSSNSDV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 65" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>420</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..420</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q379">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>full-length amino acid sequence of cynomolgus
monkey (cyno) 5T4</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q380">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Macaca fascicularis</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>MPGGCSRGAAGDGRRLRLARLALVLLGWVSSSSSTSSASSSSSSAPFLASAASAQPPLPDQC
PALCECSEAARTVKCVNRNLTEVPTDLPYVRNLFLTGNQLAVLPAGAFARRPPLAELAALNLSGSRLDEVRGGAFAFEHLP
SLRQLDLSHNPLAYLSPFAFGSGNASISAPSPLVELILNHIVPPDDKRQNRSFEGMVAAALVAGRALQGLHLELASNHF
```

```
LYLPRDVL AQLPSRLYDL SNNSLVSLTYVSFRNLTHLESLHLEDNALKVLHNGTLAELQGLPHVRVFLDNNPWVCDCHM
ADMVTWLKQTGVVQKGKDRLTCAFPEKMRNRVLLELNSADLDCDPIPPSLQTSYVFLGIVLALIGAIFLLVLYLNRKGIK
KWMHNI RDACRDHMEGYHYRYEINADPRLTNLSSNSDV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="66">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>426</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..426</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q381">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>full-length amino acid sequence of mouse
5T4</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q382">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Mus musculus</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>MPGAGSRGPSAGDGRRLRLARLALVLLGWVSASAPSSSVPSSTSPAAFLASGSAQPPPAERC
PAACECSEAARTVKCVNRNLLEVPADLPYVRNLFLTGNQMTVLPAGAFARQPPLADLEALNLSGNHLKEVCAGAFEHLP
GLRRDL LSHNPLTNLSAFAGSNASVSAPSPLEELILNHI VPPEDQRQNGSFEGMVAFEGMVAAALRSGLALRGLTRLE
LASNHFLFLPRDLLAQLPSRLYDLRNNSLVSLTYASFRNLTHLESLHLEDNALKVLHNSTLAEWGHLAHVKVFLDNNPW
VCDCYMADMVAWLKETEVVPDKARLTCAFPEKMRNRGLLDLNSSDLDCDAVLPQSLQTSYVFLGIVLALIGAIFLLVLYL
NRKGIKKWMHNI RDACRDHMEGYHYRYEINADPRLTNLSSNSDV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 67">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>222</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..222</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q383">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>exemplary Fc region sequence</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q384">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNNWYVDGVEVHNA
    KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC
    LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
    </INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 68">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>222</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

<INSDFeature_location>1..222</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
 <INSDQualifier>
 <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
 <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
 </INSDQualifier>
 <INSDQualifier id="q385">
 <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
 <INSDQualifier_value>exemplary variant Fc region (silent
Fc)</INSDQualifier_value>
 </INSDQualifier>
 <INSDQualifier id="q386">
 <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
 <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
 </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALKAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="69">
 <INSDSeq>
 <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
 <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
 <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
 <INSDSeq_feature-table>
 <INSDFeature>
 <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_qual>
 <INSDQualifier>
 <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
 <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
 </INSDQualifier>
 <INSDQualifier id="q387">

```

<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>exemplary IgG heavy chain</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q388">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="70">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q389">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>exemplary IgG heavy chain</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q390">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>

```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALKAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="71">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q391">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>exemplary light chain (e.g., for pairing with an IgG
heavy chain)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q392">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RTVAAPSVFIFPPSDSQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>

```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="72">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>226</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..226</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q393">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>phage display heavy chain</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q394">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>31..35</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q395">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>X is any amino acid</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>50..66</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier id="q396">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>X is any amino acid</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>99..112</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q397">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>X is any amino acid</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSXXXXXWVRQAPGKGLEWVXXXXXXXXXXXXX
XXXXRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARXXXXXXXXXXXXXXXXXWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
PKSC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="73">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q398">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>phage display light chain</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q399">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>89..97</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q400">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>X is any amino acid</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRF
SGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXXFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDSQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="74">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<INSDQualifier id="q401">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>full length IgGs, the heavy chain constant
regions</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q402">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="75">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q403">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>full length IgGs, the light chain constant
region</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q404">
```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RTVAAPSVFIFPPSDSQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="76">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>43</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..43</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q405">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Epitope 1 of human 5T4 (H1)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q406">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SSPTSSASSFSSSAPFLASAVSAQPPLPDQCPALCECSEAART</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="77">
```

```
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>60</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..60</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q407">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Epitope 2 of human 5T4 (H2)</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q408">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>VKCVNRNLTEVPTDLPAYVRNLFLTGNQLAVLPAGAFARRPPLAELAALNLSGSRLDEV</
INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="78">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>30</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..30</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q409">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Epitope 3 of human 5T4 (H3)</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q410">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AGAFEHLPSLRQLDLSHNPLADLSPFAFSG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="79">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>52</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..52</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q411">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Epitope 4 of human 5T4 (H4)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q412">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SNASVSAPSPLVELILNHIVPPEDERQNRSFEGMVVAALLAGRALQGLRRLE</INSDSeq_
sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 80" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>47</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..47</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q413">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Epitope 5 of human 5T4 (H5)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q414">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>LASNHFLYLPRDVLAQLPSLRHLDSLNNLSVSLTYVSFRNLTHLESL</INSDSeq_seque
nce>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 81" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>28</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..28</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q415">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Epitope 6 of human 5T4 (H6)</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q416">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>HLEDNALKVLHNGTLAELQGLPHIRVFL</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="82">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>64</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..64</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<INSDQualifier id="q417">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Epitope 7 of human 5T4 (H7)</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q418">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DNNPWVCDCHMADMVTWLKETEVVQGDRLTCAYPEKMRNRVLELNSADLDCDPILPPSLQ
TS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 83">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q419">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Human 5T4 Epitope 1</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q420">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
```

```
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SSPTSSASSFSSSAPFLASAVSAQPPLPDQCPALCECSEAARTVKCVNRNLLEVPADLPPYV
RNLFLTGNQMTVLPAGAFARQPPLADLEALNLSGNHLKEVCAGAFEHLPLGLRRDLDSHNPLTNLSAFAGSNASVSAPS
PLEELILNHI VPPEDQRQNGSFEGMVAFEGMVAALRSGLALRGLTRLELASNHFLFLPRDLLAQLPSLRYLDRNNSLV
SLTYASFRNLTHLESLHLEDNALKVLHNSTLAEWHGLAHVKVFLDNNPWVDCYMADMVAWLKETEVVPDKARLTCAFPE
KMRNRGLLDLNSSDLDCDAVLPQSLQTS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 84" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q421">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Human 5T4 Epitope 2</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q422">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SAPSSSVSSSTSPAFLASGSAQPPPAERCPAAECSEAARTVKCVNRNLTEVPTDLPAYV
RNLFLTGNQLAVLPAGAFARRPPLAELAALNLSGSRLDEVRAAGAFEHLPLGLRRDLDSHNPLTNLSAFAGSNASVSAPS
PLEELILNHI VPPEDQRQNGSFEGMVAFEGMVAALRSGLALRGLTRLELASNHFLFLPRDLLAQLPSLRYLDRNNSLV
SLTYASFRNLTHLESLHLEDNALKVLHNSTLAEWHGLAHVKVFLDNNPWVDCYMADMVAWLKETEVVPDKARLTCAFPE
KMRNRGLLDLNSSDLDCDAVLPQSLQTS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 85">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q423">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Human 5T4 Epitope 3</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q424">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SAPSSSVPSSTSPAFLASGSAQPPPAERCPAAECSEAARTVKCVNRNLLEVPADLPPYV
RNLFLTGNQMTVLPAGAFARQPPLADLEALNLSGNHLKEVCAGAFEHLPSLRQLDLSHNPLADLSPFAFSGSNASVSAPS
PLEELILNHI VPPEDQRQNGSFEGMVAFEGMVAALRSLALRGLTRLELASNHFLFLPRDLLAQLPSLRYLDRNNSLV
SLTYASFRLTHLESLHLEDNALKVLHNSTLAEWHGLAHVKVFLDNNPWVCD CYMADMVAWLKETEVVPDKARLTCAFPE
KMRNRGLLDLNSSDLDCDAVLPQSLQTS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 86">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>324</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..324</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q425">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Human 5T4 Epitope 4</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q426">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SAPSSSVPSSTSPAFLASGSAQPPPAERCPAAECSEAARTVKCVNRNLLEVPADLPPYV
RNLFLTGNQMTVLPAGAFARQPPLADLEALNLSGNHLKEVCAGAFEHLPLRLDLNLSHNLPLNLSAFAGSNASVSAPS
PLVELILNHIVPEDERQNSFEGMVVAALLAGRALQGLRRLELASNHFLFLPRDLLAQLPSLRYLRLNNSLVSLTYAS
FRNLTHLESLHLEDNALKVLHNSTLAWEHGLAHVKVFLDNNPWVCDCYMADMVAWLKETEVVPDKARLTCAFPEKMRNRG
LLDLNSSDLDCDAVLPQSLQTS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="87">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q427">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Human 5T4 Epitope 5</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q428">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SAPSSSVSSSTSPAFLASGSAQPPPAERCPAAECSEAARTVKCVNRNLLEVPADLPPYV
RNLFLTGNQMTVLPAGAFARQPPLADLEALNLSGNHLKEVCAGAFEHLPGLRRLDLSHNPLTNLSAFAGSNASVSAPS
PLEELILNHI VPPEDQRQNGSFEGMVAFEGMVAALRSGLALRGLTRLELASNHFLYLPRDVLAQLPSLRHLDLSNNSLV
SLTYVSFRNLTHLESLHLEDNALKVLHNSTLAEWHGLAHVKVFLDNNPWVCD CYMADMVAWLKETEVVPDKARLTCAFPE
KMRNRGLLDLNSSDLDCDAVLPQSLQTS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="88">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q429">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Human 5T4 Epitope 6</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q430">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SAPSSSVSSSTSPAAFLASGSAQPPPAERCPAAECSEAARTVKCVNRNLLEVPADLPPYV
RNLFLTGNQMTVLPAGAFARQPPLADLEALNLSGNHLKEVCAGAFEHLPLRRLDLNPLTNLSAFAGSNASVSAPS
PLEELILNHI VPPEDQRQNGSFEGMVAFEGMVAALRSLALRGLTRLELASNHFLFLPRDLLAQLPSLRYLDRNNSLV
SLTYASFRNLTHLESLHLEDNALKVLHNGTLAELQGLPHIRVFLDNNPWVDCYMA DMVAWLKETEVVPDKARLTCAFPE
KMRNRGLLDLNSSDLDCDAVLPQSLQTS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="89">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q431">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Human 5T4 Epitope 7</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q432">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SAPSSSVSSSTSPAAFLASGSAQPPPAERCPAAECSEAARTVKCVNRNLLEVPADLPPYV
RNLFLTGNQMTVLPAGAFARQPPLADLEALNLSGNHLKEVCAGAFEHLPLRRLDLNPLTNLSAFAGSNASVSAPS
PLEELILNHI VPPEDQRQNGSFEGMVAFEGMVAALRSLALRGLTRLELASNHFLFLPRDLLAQLPSLRYLDRNNSLV
```

SLTYASFRNLTHLESLHLEDNALKVLHNSTLAEWHLAHVKVFLDNNPWVCDCHMADMVTWLKETEVVQGKDRLTCAYPE
KMRNRVLLELNSADLDCDPILPPSLQTS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
 </SequenceData>
</ST26SequenceListing>

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種結合於5T4之抗體或其片段，其中該抗體或其片段包含

(i) 如包含SEQ ID NO:25之胺基酸序列的VH中所述之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3及如包含SEQ ID NO:26之胺基酸序列的VL中所述之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3；

(ii) 如包含SEQ ID NO:44之胺基酸序列的VH中所述之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3及如包含SEQ ID NO:45之胺基酸序列的VL中所述之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3；或

(iii) 如包含SEQ ID NO:62之胺基酸序列的VH中所述之VH CDR1、VH CDR2及VH CDR3及如包含SEQ ID NO:63之胺基酸序列的VL中所述之VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3。

【請求項2】

一種結合於5T4之抗體或其片段，其中該抗體或其片段包含

(a) VH區，其包含：

(1) VH CDR1，其具有選自由SEQ ID NO:1、7、12、13及18組成之群的胺基酸序列；

(2) VH CDR2，其具有選自由SEQ ID NO:2、8、14、19及24組成之群的胺基酸序列；及

(3) VH CDR3，其具有選自由SEQ ID NO:3、9、15及20組成之群的胺基酸序列；

及

(b) VL區，其包含：

(1) VL CDR1，其具有選自由SEQ ID NO:4、10、16及21組成之群的胺基酸序列；

(2) VL CDR2，其具有選自由SEQ ID NO:5、11及22組成之群胺基酸序列；及

(3) VL CDR3，其具有選自由SEQ ID NO:6、17及23組成之群的胺基酸序列。

【請求項3】

一種結合於5T4之抗體或其片段，其中該抗體或其片段包含：

(i) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:1之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:2之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:3之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列的VL CDR3；

(ii) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:7之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:8之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:9之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:10之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列的VL CDR3；

(iii) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:12之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:2之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:3之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列的VL CDR3；

(iv) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:14之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:15之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:16之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:17之胺基酸序列的VL CDR3；

(v) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:18之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:19之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:20之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:21之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:22之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:23之胺基酸序列的VL CDR3；或

(vi) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:1之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:24之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:3之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:6之胺基酸序列的VL CDR3。

【請求項4】

一種結合於5T4之抗體或其片段，其中該抗體或其片段包含

(a) VH區，其包含：

(1) VH CDR1，其具有選自由SEQ ID NO:27、31、34、35及39組成之群的胺基酸序列；

(2) VH CDR2，其具有選自由SEQ ID NO:28、32、36、40及43組成之群的胺基酸序列；及

(3) VH CDR3，其具有選自由SEQ ID NO:29、33、37及41組成之

群的胺基酸序列；

及

(b) VL區，其包含：

(1) VL CDR1，其具有選自由SEQ ID NO:4、10、16及21組成之群的胺基酸序列；

(2) VL CDR2，其具有選自由SEQ ID NO:5、11及22組成之群胺基酸序列；及

(3) VL CDR3，其具有選自由SEQ ID NO:30、38及42組成之群的胺基酸序列。

【請求項5】

一種結合於5T4之抗體或其片段，其中該抗體或其片段包含：

(i) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:27之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:28之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:29之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:30之胺基酸序列的VL CDR3；

(ii) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:31之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:32之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:33之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:10之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:30之胺基酸序列的VL CDR3；

(iii) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:34之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:28之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID

NO:29之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:30之胺基酸序列的VL CDR3；

(iv) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:35之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:36之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:37之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:16之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:38之胺基酸序列的VL CDR3；

(v) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:39之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:40之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:41之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:21之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:22之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:42之胺基酸序列的VL CDR3；或

(vi) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:27之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:43之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:29之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:30之胺基酸序列的VL CDR3。

【請求項6】

一種結合於5T4之抗體或其片段，其中該抗體或其片段包含

(a) VH區，其包含：

(1) VH CDR1，其具有選自由SEQ ID NO:46、50、53、13及57組成之群的胺基酸序列；

(2) VH CDR2，其具有選自由SEQ ID NO:47、51、54、58及61組成之群的胺基酸序列；及

(3) VH CDR3，其具有選自由SEQ ID NO:48、52、55及59組成之群的胺基酸序列；

及

(b) VL區，其包含：

(1) VL CDR1，其具有選自由SEQ ID NO:4、10、16及21組成之群的胺基酸序列；

(2) VL CDR2，其具有選自由SEQ ID NO:5、11及22組成之群胺基酸序列；及

(3) VL CDR3，其具有選自由SEQ ID NO:49、56及60組成之群的胺基酸序列。

【請求項7】

一種結合於5T4之抗體或其片段，其中該抗體或其片段包含

(i) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:46之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:47之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:48之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:49之胺基酸序列的VL CDR3；

(ii) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:50之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:51之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:52之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:10之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列的VL CDR2

及包含SEQ ID NO:49之胺基酸序列的VL CDR3；

(iii) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:53之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:47之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:48之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:49之胺基酸序列的VL CDR3；

(iv) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:13之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:54之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:55之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:16之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:56之胺基酸序列的VL CDR3；

(v) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:57之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:58之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:59之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:21之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:22之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:60之胺基酸序列的VL CDR3；或

(vi) VH區，其包含：包含SEQ ID NO:46之胺基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:61之胺基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:48之胺基酸序列的VH CDR3；及VL區，其包含：包含SEQ ID NO:4之胺基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:5之胺基酸序列的VL CDR2及包含SEQ ID NO:49之胺基酸序列的VL CDR3。

【請求項8】

如請求項1至7中任一項之抗體或其片段，其中該抗體或其片段進一

步包含如SEQ ID NO:25、26、44、45、62及63中之任一者中所述的構架1 (FR1)、構架2 (FR2)、構架3 (FR3)及/或構架4 (FR4)序列。

【請求項9】

如請求項1至7中任一項之抗體或其片段，其中該抗體或其片段進一步包含人類構架序列。

【請求項10】

如請求項1至8中任一項之抗體或其片段，其中該抗體或其片段包含：

(i) 包含SEQ ID NO:25之胺基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:26之胺基酸序列的VL；

(ii) 包含SEQ ID NO:44之胺基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:45之胺基酸序列的VL；或

(iii) 包含SEQ ID NO:62之胺基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:63之胺基酸序列的VL。

【請求項11】

如請求項1至10中任一項之抗體或其片段，其中該抗體為單株抗體。

【請求項12】

如請求項1至11中任一項之抗體或其片段，其中該抗體為人源化、人類或嵌合抗體。

【請求項13】

如請求項1至12中任一項之抗體或其片段，其為Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、(scFv)₂、單鏈抗體分子、雙可變區抗體、單可變區抗體、線性抗體、V區，或由抗體片段形成之多特異性抗體。

【請求項14】

如請求項1至13中任一項之抗體或其片段，其與診斷劑、可偵測劑或治療劑結合或重組融合。

【請求項15】

如請求項14之抗體或其片段，其中該治療劑為化學治療劑、細胞毒素或藥物。

【請求項16】

一種結合劑，其與如請求項1至15中任一項之抗體或其片段結合於基本上相同的抗原決定基。

【請求項17】

如請求項16之結合劑，其為抗體或其片段。

【請求項18】

如請求項16之結合劑，其包含非抗體蛋白質骨架。

【請求項19】

如請求項18之結合劑，其中該非抗體蛋白質骨架包含纖維結合蛋白骨架、抗運載蛋白(anticalin)、阿德奈汀(adnectin)、親和體(affibody)、DARPin、菲諾體(fynomer)、阿菲亭(affitin)、阿非林(affilin)、高親和性多聚體(avimer)、富含半胱胺酸之打結素(knottin)肽，或經工程改造之孔尼茲型抑制劑(Kunitz-type inhibitor)。

【請求項20】

一種結合劑，其與如請求項1至15中任一項之抗體或其片段競爭結合於人類5T4。

【請求項21】

如請求項20之結合劑，其中該結合劑為抗體或其片段。

【請求項22】

一或多種載體，其包含一或多種編碼如請求項1至15中任一項之抗體或其片段的聚核苷酸或互補聚核苷酸。

【請求項23】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至15中任一項之抗體或其片段或如請求項16至21中任一項之結合劑及醫藥學上可接受之載劑。

【請求項24】

一種用於治療個體之癌症或腫瘤的方法，其包含向該個體投與如請求項1至15中任一項之抗體或其片段或如請求項23之醫藥組合物。

【請求項25】

一種用於緩解個體之一或多種與癌症或腫瘤相關之症狀的方法，其包含向該個體投與如請求項1至15中任一項之抗體或其片段或如請求項23之醫藥組合物。

【請求項26】

一種用於減小患有腫瘤之個體之腫瘤大小的方法，其包含向該個體投與如請求項1至15中任一項之抗體或其片段或如請求項23之醫藥組合物。

【請求項27】

一種用於增強患有腫瘤之個體之腫瘤細胞移除的方法，其包含向該個體投與如請求項1至15中任一項之抗體或其片段或如請求項23之醫藥組合物。

【請求項28】

一種用於治療個體之5T4相關疾病、病症或病況的方法，其包含向該個體投與如請求項1至15中任一項之抗體或其片段或如請求項23之醫藥組合物。

【請求項29】

如請求項24至28中任一項之方法，其中向該個體投與一或多種治療劑與該抗體或其片段或該醫藥組合物組合。

【請求項30】

如請求項24至29中任一項之方法，其中該個體為人類個體。

V	10	20	24-27-----34	40	50-----56
XaBa	10	20	24-----30==34	40	50-----56
AX	10	20	26-----32	40	50==
CcOtcJa	10	20	30-----36	40	46-----53
ComBaC	10	20	27==38	40	56=63 69
VG		23			
AA4	CQVQSPSSSASVGD RV	CCC	RASQSVSSAVA	WYQXPKGKAPK	SASSVS
AA15	CQVQSPSSSASVGD RV	CCC	RASQSVSSAVA	WYQXPKGKAPK	SASSVS
AA17	CQVQSPSSSASVGD RV	CCC	RASQSVSSAVA	WYQXPKGKAPK	SASSVS
XaBa	60	70	80	89-----97	
AX	60	70	80	89-----97	
CcOtcJa	60	70	80	9-----96	
ComBaC	60	70	80	89-----96	
VG	70		89	905-----117	
AA4	GVPSRFSGSRSGD	FFFFSSSQPEDIAVVC	QQA VESPV	FGQGKVEK	(SEQ CD NO:26)
AA15	GVPSRFSGSRSGD	FFFFSSSQPEDIAVVC	QQA VAPPV	FGQGKVEK	(SEQ CD NO:45)
AA17	GVPSRFSGSRSGD	FFFFSSSQPEDIAVVC	QQGCGSPV	FGQGKVEK	(SEQ CD NO:63)

[圖 3]