



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201822821 A

(43)公開日：中華民國 107 (2018) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：106145085

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 12 月 21 日

(51)Int. Cl.：

*A61K47/68 (2017.01)**A61K31/5517(2006.01)**A61K39/395 (2006.01)**A61P35/00 (2006.01)**C07K16/38 (2006.01)*

(30)優先權：2016/12/23

美國

62/438,488

2017/03/31

美國

62/480,201

(71)申請人：美商伊繆諾金公司(美國) IMMUNOGEN, INC. (US)

美國

美商宏觀基因股份有限公司(美國) MACROGENICS, INC. (US)

美國

(72)發明人：希克斯 史都華 威廉 HICKS, STUART WILLIAM (US)；優得 尼可拉斯 C YODER, NICHOLAS C. (US)；巴拉特 巴斯瓦提 BARAT, BHASWATI (US)；波維尼 艾吉歐 BONVINI, EZIO (US)；狄瑞奇 鋼多 DIEDRICH, GUNDO (DE)；強森 雷斯理 S JOHNSON, LESLIE S. (US)；後補 後補 LOO, DERYK (CA)；史納 強尼普 A SCRIBNER, JUNIPER A. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：115 項 圖式數：20 共 352 頁

(54)名稱

靶向 ADAM9 之免疫共軛物及其使用方法

IMMUNOCONJUGATES TARGETING ADAM9 AND METHODS OF USE THEREOF

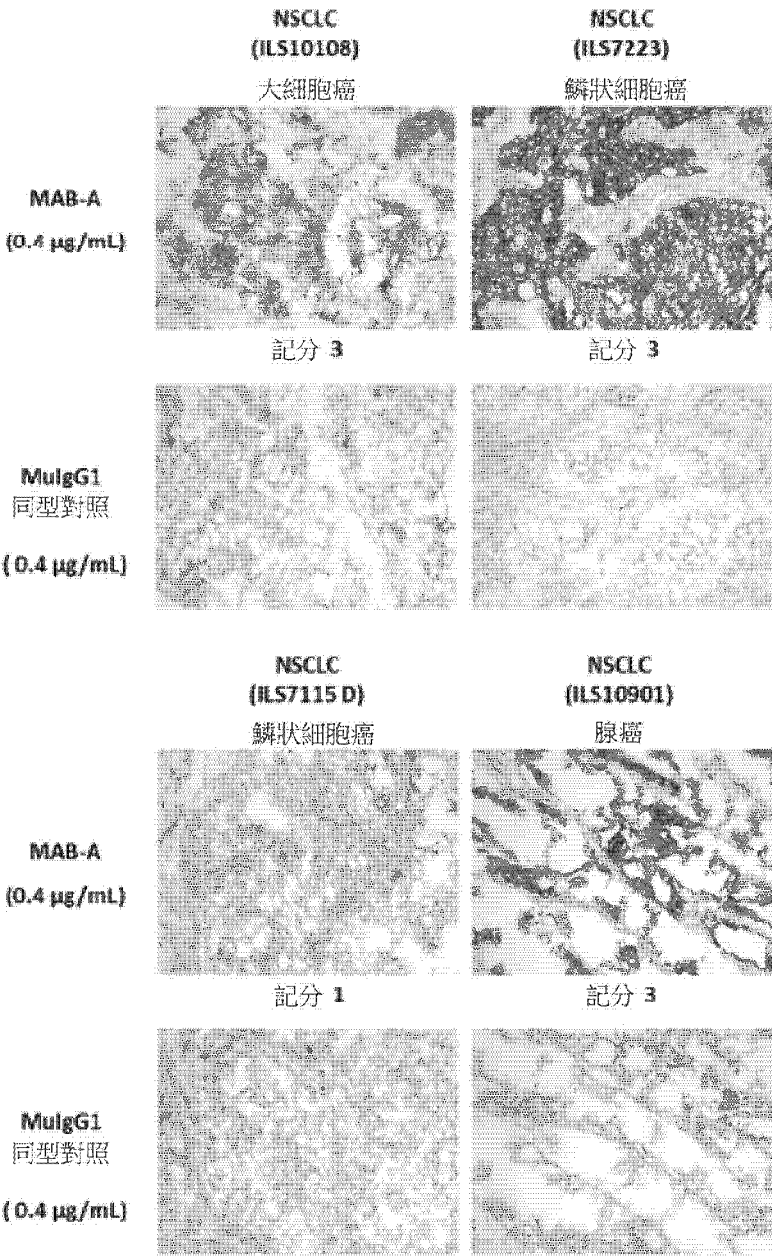
(57)摘要

本發明係關於包含能夠特異性結合至「含解整合素及金屬蛋白酶域之蛋白 9」(「ADAM9」)、共軛至至少一種藥理學藥劑之抗體或其片段的免疫共軛物。本發明特別關於與人類 ADAM9 及非人類靈長類(例如，食蟹獼猴)之 ADAM9 具有交叉反應性的此類免疫共軛物。本發明另外關於包含輕鏈可變(VL)域及/或重鏈可變(VH)域之所有此類免疫共軛物，該輕鏈可變(VL)域及/或重鏈可變(VH)域已經人源化及/或去免疫化以便在向接受受試者投與此類免疫共軛物時展現降低的免疫原性。本發明亦關於含有此類免疫共軛物中任一者之醫藥組成物，以及涉及此類免疫共軛物中任一者在治療癌症及其他疾病及病狀中之用途的方法。

The present invention is directed to immunoconjugates comprising an antibody or fragment thereof capable of specifically binding to “Disintegrin and Metalloproteinase Domain-containing Protein 9” (“ADAM9”) conjugated to at least one pharmacological agent. The invention particularly concerns such immunoconjugates that are cross-reactive with human ADAM9 and the ADAM9 of a non-human primate (e.g., a cynomolgus monkey). The invention additionally pertains to all such immunoconjugates that comprise a Light Chain Variable (VL) Domain and/or a Heavy Chain Variable (VH) Domain that has been humanized and/or deimmunized so as to exhibit reduced immunogenicity upon administration of such immunoconjugates to a recipient subject. The invention is also directed to pharmaceutical compositions that

contain any of such immunoconjugates, and to methods involving the use of any of such immunoconjugates in the treatment of cancer and other diseases and conditions.

指定代表圖：



【圖 1A】

【發明說明書】

【中文發明名稱】靶向 ADAM9 之免疫共軛物及其使用方法

【英文發明名稱】Immunoconjugates Targeting ADAM9 and Methods of Use Thereof

【技術領域】

【0001】 本發明係關於包含能夠特異性結合至「含解整合素及金屬蛋白酶域之蛋白 9」(「ADAM9」)、共軛至至少一種藥理學藥劑之抗體或其片段的免疫共軛物。本發明特別關於與人類 ADAM9 及非人類靈長類(例如，食蟹獼猴)之 ADAM9 具有交叉反應性的此類免疫共軛物。本發明另外關於包含輕鏈可變(VL)域及/或重鏈可變(VH)域之所有此類免疫共軛物，該輕鏈可變(VL)域及/或重鏈可變(VH)域已經人源化及/或去免疫化以便在向接受受試者投與此類免疫共軛物時展現降低的免疫原性。本發明亦關於含有此類免疫共軛物中任一者之醫藥組成物，以及涉及此類免疫共軛物中任一者在治療癌症及其他疾病及病狀中之用途的方法。

【先前技術】

【0002】 ADAM 為涉及各種生理及病理過程之蛋白質家族(Amendola, R.S. 等人 (2015) 「ADAM9 Disintegrin Domain Activates Human Neutrophils Through An Autocrine Circuit Involving Integrins And CXCR2,」 J. Leukocyte Biol. 97(5):951-962 ; Edwards, D.R. 等人 (2008) 「The ADAM Metalloproteases,」 Molec. Aspects Med. 29:258-289)。已鑒別出該家族之至少 40 個基因成員，且認為此類成員中之至少 21 個在人類中具有功能性(Li, J. 等人 (2016) 「Overexpression of ADAM9 Promotes Colon Cancer Cells Invasion,」 J. Invest. Surg. 26(3):127-133 ; Duffy, M.J. 等人 (2011) 「The ADAMs Family Of Proteases: New Biomarkers And Therapeutic Targets For Cancer?,」 Clin. Proteomics 8:9:1-13 ; 亦參見美國專利公開案第 2013/0045244

號)。

【0003】 ADAM 家族成員有具有 8 個域之相當保守的結構，在該 8 個域中有金屬蛋白酶域及整合素結合(解整合素)域(Duffy, M.J.等人 (2009) 「The Role Of ADAMs In Disease Pathophysiology,」 Clin. Chim. Acta 403:31-36)。ADAM 金屬蛋白酶域充當脫落酶(sheddase)且已報道藉由裂解跨膜蛋白來調節一系列生物學過程，該等跨膜蛋白接著可充當可溶性配體並調控細胞傳訊(Amendola, R.S.等人 (2015) 「ADAM9 Disintegrin Domain Activates Human Neutrophils Through An Autocrine Circuit Involving Integrins And CXCR2,」 J. Leukocyte Biol. 97(5):951-962 ; Ito, N.等人 (2004) 「ADAMs, A Disintegrin And Metalloproteinases, Mediate Shedding Of Oxytocinase,」 Biochem. Biophys. Res. Commun. 314 (2004) 1008-1013)。

【0004】 ADAM9 為 ADAM 分子家族之成員。其經合成為非活性形式，該非活性形式經蛋白水解裂解，產生活性酶。在上游位點處之加工對酶原之活化特別重要。ADAM9 在以下項中表現：纖維母細胞(Zigrino, P.等人 (2011) 「The Disintegrin-Like And Cysteine-Rich Domains Of ADAM-9 Mediate Interactions Between Melanoma Cells And Fibroblasts,」 J. Biol. Chem. 286:6801-6807)、經活化之血管平滑肌細胞(Sun, C.等人 (2010) 「ADAM15 Regulates Endothelial Permeability And Neutrophil Migration Via Src/ERK1/2 Signalling,」 Cardiovasc. Res. 87:348-355)、單核球(Namba, K.等人 (2001) 「Involvement Of ADAM9 In Multinucleated Giant Cell Formation Of Blood Monocytes,」 Cell. Immunol. 213:104-113)、經活化之巨噬細胞(Oksala, N.等人 (2009)「ADAM-9, ADAM-15, And ADAM-17 Are Upregulated In Macrophages In Advanced Human Atherosclerotic Plaques In Aorta And Carotid And Femoral Arteries - Tampere Vascular Study,」 Ann. Med. 41:279-290)。

【0005】 ADAM9 之金屬蛋白酶活性參與基質組分之降解，從而使腫瘤細胞遷移(Amendola, R.S.等人 (2015) 「ADAM9 Disintegrin Domain Activates Human Neutrophils Through An Autocrine Circuit Involving Integrins And CXCR2,」 J. Leukocyte Biol. 97(5):951-962)。ADAM9 之與許多蛇毒解整合素高度同源的解整合素域允許 ADAM9 與整合素之間的相互作用，且使 ADAM9 能夠積極或消極地調節細胞黏著事件(Zigrino, P.等人 (2011) 「The Disintegrin-Like And Cysteine-Rich Domains Of ADAM-9 Mediate Interactions Between Melanoma Cells And Fibroblasts,」 J. Biol. Chem. 286:6801-6807；Karadag, A.等人(2006)「ADAM-9 (MDC-9/Meltringamma), A Member Of The A Disintegrin And Metalloproteinase Family, Regulates Myeloma-Cell-Induced Interleukin-6 Production In Osteoblasts By Direct Interaction With The Alpha(v)Beta5 Integrin,」 Blood 107:3271-3278；Cominetti, M.R.等人(2009)「Inhibition Of Platelets And Tumor Cell Adhesion By The Disintegrin Domain Of Human ADAM9 To Collagen I Under Dynamic Flow Conditions,」 Biochimie, 91:1045-1052)。已顯示 ADAM9 解整合素域與 $\alpha 6\beta 1$ 、 $\alpha 6\beta 4$ 、 $\alpha v\beta 5$ 及 $\alpha 9\beta 1$ 整合素相互作用。

【0006】 已發現 ADAM9 之表現與疾病(尤其是癌症)相關。已發現 ADAM9 裂解並釋放眾多在腫瘤形成及血管生成方面具有重要作用的分子，諸如 TEK、KDR、EPHB4、CD40、VCAM1 及 CDH5。ADAM9 由許多類型的腫瘤細胞表現，該等腫瘤細胞包括乳癌、結腸癌、胃癌、神經膠質瘤、肝癌、非小細胞肺癌、黑色素瘤、骨髓瘤、胰腺癌及前列腺癌之腫瘤細胞(Yoshimasu, T.等人 (2004) 「Overexpression Of ADAM9 In Non-Small Cell Lung Cancer Correlates With Brain Metastasis,」 Cancer Res. 64:4190-4196；Peduto, L.等人(2005)「Critical Function For ADAM9 In Mouse Prostate Cancer,」 Cancer Res. 65:9312-9319；Zigrino, P.等人 (2005) 「ADAM-9 Expression And Regulation In Human Skin Melanoma And

Melanoma Cell Lines,」 Int. J. Cancer 116:853-859 ; Fritzsche, F.R. 等人 (2008)
 「ADAM9 Is Highly Expressed In Renal Cell Cancer And Is Associated With Tumour Progression,」 BMC Cancer 8:179:1-9 ; Fry, J.L. 等人 (2010) 「Secreted And Membrane-Bound Isoforms Of Protease ADAM9 Have Opposing Effects On Breast Cancer Cell Migration,」 Cancer Res. 70, 8187-8198 ; Chang, L. 等人 (2016)
 「Combined Rnai Targeting Human Stat3 And ADAM9 As Gene Therapy For Non -Small Cell Lung Cancer,」 Oncology Letters 11:1242-1250 ; Fan, X. 等人 (2016)
 「ADAM9 Expression Is Associate with Glioma Tumor Grade and Histological Type, and Acts as a Prognostic Factor in Lower-Grade Gliomas,」 Int. J. Mol. Sci. 17:1276:1-11)。

【0007】 顯著地，已經發現 ADAM9 表現增加與腫瘤惡性及轉移潛能正相關 (Amendola, R.S. 等人 (2015) 「ADAM9 Disintegrin Domain Activates Human Neutrophils Through An Autocrine Circuit Involving Integrins And CXCR2,」 J. Leukocyte Biol. 97(5):951-962 ; Fan, X. 等人 (2016) 「ADAM9 Expression Is Associate with Glioma Tumor Grade and Histological Type, and Acts as a Prognostic Factor in Lower-Grade Gliomas,」 Int. J. Mol. Sci. 17:1276:1-11 ; Li, J. 等人 (2016)
 「Overexpression of ADAM9 Promotes Colon Cancer Cells Invasion,」 J. Invest. Surg. 26(3):127-133)。另外，ADAM9 及其分泌之可溶性同功型似乎對於癌細胞散佈為至關重要的 (Amendola, R.S. 等人 (2015) 「ADAM9 Disintegrin Domain Activates Human Neutrophils Through An Autocrine Circuit Involving Integrins And CXCR2,」 J. Leukocyte Biol. 97(5):951-962 ; Fry, J.L. 等人 (2010) 「Secreted And Membrane-Bound Isoforms Of Protease ADAM9 Have Opposing Effects On Breast Cancer Cell Migration,」 Cancer Res. 70, 8187-8198 ; Mazzocca, A. (2005) 「A Secreted Form Of ADAM9 Promotes Carcinoma Invasion Through Tumor-Stromal

Interactions,」 Cancer Res. 65:4728-4738；亦參見美國專利第 9,150,656 號；第 7,585,634 號；第 7,829,277 號；第 8,101,361 號；及第 8,445,198 號以及美國專利公開案第 2009/0023149 號)。

【0008】 因此，眾多研究已經將 ADAM9 鑒別為抗癌療法之潛在標靶(Peduto, L. (2009) 「ADAM9 As A Potential Target Molecule In Cancer,」 Curr. Pharm. Des. 15:2282-2287；Duffy, M.J. 等人 (2009) 「Role Of ADAMs In Cancer Formation And Progression,」 Clin. Cancer Res. 15:1140-1144；Duffy, M.J. 等人 (2011) 「The ADAMs Family Of Proteases: New Biomarkers And Therapeutic Targets For Cancer?,」 Clin. Proteomics 8:9:1-13；Josson, S. 等人 (2011) 「Inhibition of ADAM9 Expression Induces Epithelial Phenotypic Alterations and Sensitizes Human Prostate Cancer Cells to Radiation and Chemotherapy,」 Prostate 71(3):232-240；亦參見美國專利公開案第 2016/0138113 號、第 2016/0068909 號、第 2016/0024582 號、第 2015/0368352 號、第 2015/0337356 號、第 2015/0337048 號、第 2015/0010575 號、第 2014/0342946 號、第 2012/0077694 號、第 2011/0151536 號、第 2011/0129450 號、第 2010/0291063 號、第 2010/0233079 號、第 2010/0112713 號、第 2009/0285840 號、第 2009/0203051 號、第 2004/0092466 號、第 2003/0091568 號及第 2002/0068062 號以及 PCT 公開案第 WO 2016/077505 號、第 WO 2014/205293 號、第 WO 2014/186364 號、第 WO 2014/124326 號、第 WO 2014/108480 號、第 WO 2013/119960 號、第 WO 2013/098797 號、第 WO 2013/049704 號及第 WO 2011/100362 號)。另外，亦已發現 ADAM9 之表現與肺部疾病及炎症相關(參見，例如，美國專利公開案第 2016/0068909 號；第 2012/0149595 號；第 2009/0233300 號；第 2006/0270618 號；及第 2009/0142301 號)。結合至 ADAM9 之抗體可自 Abcam、Thermofisher、Sigma-Aldrich 及其他公司商購獲得。

【0009】 然而，儘管存在所有先前進展，但仍需要高親和力靶向 ADAM9 之

免疫共軛物，該等免疫共軛物展現與正常組織之最小結合且能夠以類似的高親和力結合至人類及非人類 ADAM9。本發明解決此需要及對改善的癌症治療的需要。

【發明內容】

【0010】 本發明係關於包含能夠特異性結合至「含解整合素及金屬蛋白酶域之蛋白 9」(「ADAM9」)、共軛至至少一種藥理學藥劑之抗體或其片段的免疫共軛物。本發明特別關於與人類 ADAM9 及非人類靈長類(例如，食蟹獼猴)之 ADAM9 具有交叉反應性的此類免疫共軛物。本發明另外關於包含輕鏈可變(VL)域及/或重鏈可變(VH)域之所有此類免疫共軛物，該輕鏈可變(VL)域及/或重鏈可變(VH)域已經人源化及/或去免疫化以便在向接受受試者投與此類免疫共軛物時展現降低的免疫原性。本發明亦關於含有此類免疫共軛物中任一者之醫藥組成物，以及涉及此類免疫共軛物中任一者在治療癌症及其他疾病及病狀中之用途的方法。

【0011】 詳言之，本發明提供一種包含抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段之免疫共軛物：

(I) 其中該抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段共軛至藥理學藥劑；且

(II) 其中該抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含輕鏈可變(VL)域及重鏈可變(VH)域，其中該重鏈可變域包含 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域，且該輕鏈可變域包含 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域，其中：

(A) 該 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域具有 MAB-A 之經最佳化變異體之重鏈可變(VH)域之 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域之胺基酸序列；且該 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域具有 MAB-A 之輕鏈可變(VL)域之 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域之胺基酸序列；或

(B) 該 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域具有 MAB-A 之重鏈可變(VH)域之

CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域之胺基酸序列；且該 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域具有 MAB-A 之經最佳化變異體之輕鏈可變(VL)域之 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域之胺基酸序列；或

(C) 該 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域具有 MAB-A 之經最佳化變異體之重鏈可變(VH)域之 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域之胺基酸序列；且該 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域具有 MAB-A 之經最佳化變異體之輕鏈可變(VL)域之 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域之胺基酸序列。

【0012】 在某些實施例中，該抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含：

(A) (1) MAB-A 之該重鏈可變(VH)域之該 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域；及
(2) MAB-A 之人源化變異體之 VH 域之 FR1、FR2、FR3 及 FR4；或

(B) (1) MAB-A 之該輕鏈可變(VL)域之該 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域；及
(2) MAB-A 之人源化變異體之 VL 域之 FR1、FR2、FR3 及 FR4；或

(C) (1) MAB-A 之經最佳化變異體之重鏈可變(VH)域之該 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域；及

(2) MAB-A 之人源化變異體之該 VH 域之該 FR1、FR2、FR3 及 FR4；或

(D) (1) MAB-A 之經最佳化變異體之輕鏈可變(VL)域之該 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域；及

(2) MAB-A 之人源化變異體之該 VL 域之該 FR1、FR2、FR3 及 FR4；或

(E) (1) MAB-A 之人源化/經最佳化變異體之該重鏈可變(VH)域；及

(2) MAB-A 之人源化/經最佳化變異體之該 VL 輕鏈可變(VL)域。

【0013】 在某些實施例中，MAB-A 之經最佳化變異體之重鏈可變(VH)域之該 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域分別具有以下胺基酸序列：

(1) SEQ ID NO:47 (SYWX₁H)

其中：X₁ 為 M 或 I；

(2) **SEQ ID NO:48** (EIPIX₂GHTNYNEX₃FX₄X₅)

其中：**X₂**、**X₃**、**X₄**及**X₅**經獨立地選擇，且

其中：**X₂**為N或F；**X₃**為K或R；

X₄為K或Q；且

X₅為S或G；及

(3) **SEQ ID NO:49** (GGYYYYX₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁DY)

其中：**X₆**為P、F、Y、W、I、L、V、T、G或D，且**X₇**、**X₈**、**X₉**、**X₁₀**及**X₁₁**經選擇使得：

(A) 當**X₆**為P時：

X₇為K或R；**X₈**為F或M；**X₉**為G；

X₁₀為W或F；且**X₁₁**為M、L或K；

(B) 當**X₆**為F、Y或W時：

X₇為N或H；**X₈**為S或K；**X₉**為G或A；

X₁₀為T或V；且**X₁₁**為M、L或K；

(C) 當**X₆**為I、L或V時：

X₇為G；**X₈**為K；**X₉**為G或A；

X₁₀為V；且**X₁₁**為M、L或K；

(D) 當**X₆**為T時：

X₇為G；**X₈**為K、M或N；**X₉**為G；

X₁₀為V或T；且**X₁₁**為L或M；

(E) 當**X₆**為G時：

X₇為G；**X₈**為S；**X₉**為G；

X₁₀為V；且**X₁₁**為L；且

(F) 當**X₆**為D時：

X₇ 為 S ； **X₈** 為 N ； **X₉** 為 A ；

X₁₀ 為 V ； 且 **X₁₁** 為 L 。

【0014】 在某些實施例中，MAB-A 之經最佳化變異體之重鏈可變(VH)域包含
胺基酸序列 **SEQ ID NO:15**：

EVQLVESGGGLVKPGGSLRL SCAASGFTFS **SYWX₁HWVRQA**
PGKGLEWVGE IIPX₂GHTNY NEX₃FX₄X₅RFTI SLDNSKNTLY
LQMGSRLRAEDTAVYYCARGG YYYX₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁
DYWGQGTTVT VSS

其中： **X₁**、**X₂**、**X₃**、**X₄**、**X₅** 及 **X₆** 經獨立地選擇，

其中： **X₁** 為 M 或 I ； **X₂** 為 N 或 F ；

X₃ 為 K 或 R ； **X₄** 為 K 或 Q ；

X₅ 為 S 或 G ， 且 **X₆** 為 P 、 F 、 Y 、 W 、 I 、 L 、 V 、 T 、 G 或 D ；

其中： **X₇**、**X₈**、**X₉**、**X₁₀** 及 **X₁₁** 經選擇使得：

當 **X₆** 為 P 時； **X₇** 為 K 或 R ； **X₈** 為 F 或 M ； **X₉** 為 G ； **X₁₀** 為 W 或 F ； 且 **X₁₁** 為
M 、 L 或 K ；

當 **X₆** 為 F 、 Y 或 W 時； **X₇** 為 N 或 H ； **X₈** 為 S 或 K ； **X₉** 為 G 或 A ； **X₁₀** 為 T 或
V ； 且 **X₁₁** 為 M 、 L 或 K ；

當 **X₆** 為 I 、 L 或 V 時； **X₇** 為 G ； **X₈** 為 K ； **X₉** 為 G 或 A ； **X₁₀** 為 V ； 且 **X₁₁** 為 M 、
L 或 K ；

當 **X₆** 為 T 時； **X₇** 為 G ； **X₈** 為 K 、 M 或 N ； **X₉** 為 G ； **X₁₀** 為 V 或 T ； 且 **X₁₁** 為 L
或 M ；

當 **X₆** 為 G 時； **X₇** 為 G ； **X₈** 為 S ； **X₉** 為 G ； **X₁₀** 為 V ； 且 **X₁₁** 為 L ；

當 **X₆** 為 D 時； **X₇** 為 S ； **X₈** 為 N ； **X₉** 為 A ； **X₁₀** 為 V ； 且 **X₁₁** 為 L 。

【0015】 在某些實施例中，MAB-A 之經最佳化變異體之重鏈可變(VH)域係選

自由以下所組成之群組：

- (1) hMAB-A VH(1) (**SEQ ID NO:16**) ;
- (2) hMAB-A VH(2) (**SEQ ID NO:17**) ;
- (3) hMAB-A VH(3) (**SEQ ID NO:18**) ;
- (4) hMAB-A VH(4) (**SEQ ID NO:19**) ;
- (5) hMAB-A VH(2A) (**SEQ ID NO:20**) ;
- (6) hMAB-A VH(2B) (**SEQ ID NO:21**) ;
- (7) hMAB-A VH(2C) (**SEQ ID NO:22**) ;
- (8) hMAB-A VH(2D) (**SEQ ID NO:23**) ;
- (9) hMAB-A VH(2E) (**SEQ ID NO:24**) ;
- (10) hMAB-A VH(2F) (**SEQ ID NO:25**) ;
- (11) hMAB-A VH(2G) (**SEQ ID NO:26**) ;
- (12) hMAB-A VH(2H) (**SEQ ID NO:27**) ;
- (13) hMAB-A VH(2I) (**SEQ ID NO:28**) ; 及
- (14) hMAB-A VH(2J) (**SEQ ID NO:29**) 。

【0016】 在某些實施例中，MAB-A 之經最佳化變異體之輕鏈可變(VL)域之 CDR_{L1} 域、CDR_{L2} 域及 CDR_{L3} 域分別具有以下胺基酸序列：

(1) **SEQ ID NO:66** (X₁₂ASQSVDYX₁₃GDSYX₁₄N)

其中：X₁₂、X₁₃、X₁₄經獨立地選擇，且

其中：X₁₂為 K 或 R；X₁₃為 D 或 S；且 X₁₄為 M 或 L；

(2) **SEQ ID NO:13** (AASDLES)；及

(3) **SEQ ID NO:67** (QQSX₁₅X₁₆X₁₇PFT)

其中：X₁₅、X₁₆及 X₁₇經獨立地選擇，且其中：X₁₅為 H 或 Y；X₁₆為 E 或 S；且 X₁₇為 D 或 T。

【0017】 在某些實施例中，輕鏈可變(VL)域包含胺基酸序列 **SEQ ID NO:53**：

DIVMTQSPDS LAVSLGERAT ISCX₁₂ASQSVD

YX₁₃GDSYX₁₄NWY QKPGQPPKL LIYAASDLES

GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFATY

YCQQSX₁₅X₁₆X₁₇PF TFGQGKLEI K

其中：X₁₂、X₁₃、X₁₄、X₁₅、X₁₆及X₁₇經獨立地選擇，且

其中：X₁₂為K或R；X₁₃為D或S；

X₁₄為M或L；X₁₅為H或Y；

X₁₆為E或S；且X₁₇為D或T。

【0018】 在某些實施例中，MAB-A之經最佳化變異體之輕鏈可變(VL)域係選自由以下所組成之群組：

(1) hMAB-A VL(1) (**SEQ ID NO:54**)；

(2) hMAB-A VL(2) (**SEQ ID NO:55**)；

(3) hMAB-A VL(3) (**SEQ ID NO:56**)；

(4) hMAB-A VL(4) (**SEQ ID NO:57**)；

(5) hMAB-A VL(2A) (**SEQ ID NO:20**)。

【0019】 在某些實施例中，該CDR_{H1}域包含胺基酸序列 SYWMH (**SEQ ID NO:8**)，該CDR_{H2}域包含胺基酸序列 EIIPFGHTNYNEKFKS (**SEQ ID NO:35**)，且該CDR_{H3}域包含胺基酸序列 GGYYYYPRQGFLDY (**SEQ ID NO:45**)。

【0020】 在某些實施例中，該CDR_{L1}域包含胺基酸序列 KASQSVDYSGDSYMN (**SEQ ID NO:62**)，該CDR_{L2}域包含胺基酸序列 AASDLES (**SEQ ID NO:13**)，且該CDR_{L3}域包含胺基酸序列 QQSHEDPFT (**SEQ ID NO:14**)。

【0021】 在某些實施例中，免疫共軛物包含：

- (A) hMAB-A(2I.2)之重鏈可變(VH)域(SEQ ID NO:28)；或
- (B) hMAB-A(2I.2)之輕鏈可變(VL)域(SEQ ID NO:55)；或
- (C) hMAB-A(2I.2)之重鏈可變(VH)域(SEQ ID NO:28)及 hMAB-A(2I.2)之輕鏈可變(VL)域(SEQ ID NO:55)。

【0022】 在某些實施例中，免疫共軛物包含 Fc 區。在一些實施例中，Fc 區為包含以下之變異體 Fc 區：(a)減少該變異體 Fc 區對 FcγR 之親和力的一或多個胺基酸修飾；及/或(b)引入半胱胺酸殘基的一或多個胺基酸修飾。在某些實施例中，減少變異體 Fc 區對 FcγR 之親和力的一或多個胺基酸修飾包含：(A) L234A；(B) L235A；或(C) L234A 及 L235A；其中該編號為如 Kabat 中之 EU 索引之編號。在一些實施例中，引入半胱胺酸殘基的該一或多個胺基酸修飾包含 S442C，其中該編號為如 Kabat 中之 EU 索引之編號。

【0023】 在某些實施例中，本發明之免疫共軛物包含特異性結合至人類 ADAM9 及 cynoADAM9 之人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其中該人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段共軛至該藥理學藥劑。

【0024】 在一些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有選自由以下所組成之群組之序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域：

- (a) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 10 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (b) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 10 以及 SEQ ID NO: 63、13、14；
- (c) 分別 SEQ ID NO: 8、36 及 10 以及 SEQ ID NO: 63、13、14；及
- (d) 分別 SEQ ID NO: 34、36 及 10 以及 SEQ ID NO: 64、13、65。

【0025】 在一些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)，該重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)具有與選自由以下所組成之群組之序列至少 90%、至少 95%或至少 99%一致的序

列：

- (a) 分別 SEQ ID NO:17 及 SEQ ID NO:55；
- (b) 分別 SEQ ID NO:17 及 SEQ ID NO:56；
- (c) 分別 SEQ ID NO:18 及 SEQ ID NO:56；及
- (d) 分別 SEQ ID NO:19 及 SEQ ID NO:57。

【0026】 在某些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)，該重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)具有選自由以下所組成之群組之序列：

- (a) 分別 SEQ ID NO:17 及 SEQ ID NO:55；
- (b) 分別 SEQ ID NO:17 及 SEQ ID NO:56；
- (c) 分別 SEQ ID NO:18 及 SEQ ID NO:56；及
- (d) 分別 SEQ ID NO:19 及 SEQ ID NO:57。

【0027】 在某些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段經最佳化以相較於嵌合或鼠親代抗體與 cynoADAM9 之結合親和力有至少 100 倍增強並保留與人類 ADAM9 的高親和力結合。

【0028】 在某些實施例中，抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有選自由以下所組成之群組之序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域：

- (a) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 37 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (b) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 38 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (c) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 39 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (d) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 40 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (e) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 41 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (f) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 42 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；

- (g) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 43 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (h) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 44 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (i) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；及
- (j) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 46 以及 SEQ ID NO: 62、13、14。

【0029】 在某些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)，該重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)具有與選自由以下所組成之群組之序列至少 90%、至少 95%或至少 99%一致的序列：

- (a) 分別 SEQ ID NO:20 及 SEQ ID NO:55；
- (b) 分別 SEQ ID NO:21 及 SEQ ID NO:55；
- (c) 分別 SEQ ID NO:22 及 SEQ ID NO:55；
- (d) 分別 SEQ ID NO:23 及 SEQ ID NO:55；
- (e) 分別 SEQ ID NO:24 及 SEQ ID NO:55；
- (f) 分別 SEQ ID NO:25 及 SEQ ID NO:55；
- (g) 分別 SEQ ID NO:26 及 SEQ ID NO:55；
- (h) 分別 SEQ ID NO:27 及 SEQ ID NO:55；
- (i) 分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55；及
- (j) 分別 SEQ ID NO:29 及 SEQ ID NO:55。

【0030】 在某些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)，該重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)具有選自由以下所組成之群組之序列：

- (a) 分別 SEQ ID NO:20 及 SEQ ID NO:55；
- (b) 分別 SEQ ID NO:21 及 SEQ ID NO:55；
- (c) 分別 SEQ ID NO:22 及 SEQ ID NO:55；

- (d) 分別 SEQ ID NO:23 及 SEQ ID NO:55 ；
- (e) 分別 SEQ ID NO:24 及 SEQ ID NO:55 ；
- (f) 分別 SEQ ID NO:25 及 SEQ ID NO:55 ；
- (g) 分別 SEQ ID NO:26 及 SEQ ID NO:55 ；
- (h) 分別 SEQ ID NO:27 及 SEQ ID NO:55 ；
- (i) 分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55 ；及
- (j) 分別 SEQ ID NO:29 及 SEQ ID NO:55 。

【0031】 在某些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體為包含 Fc 區之全長抗體。在一些實施例中，Fc 區為包含以下之變異體 Fc 區：(a)減少該變異體 Fc 區對 Fc γ R 之親和的之一或多個胺基酸修飾，其選自由以下所組成之群組：L234A、L235A、及 L234A 及 L235A；及/或(b)在 S442 處引入半胱胺酸殘基的胺酸修飾，其中該編號為如 Kabat 中之 EU 索引之編號。

【0032】 在一些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體包含具有選自由以下所組成之群組之序列的重鏈及輕鏈：

- (a) 分別 SEQ ID NO:50 及 SEQ ID NO:68 ；
- (b) 分別 SEQ ID NO:51 及 SEQ ID NO:68 ；及
- (c) 分別 SEQ ID NO:52 及 SEQ ID NO:68 。

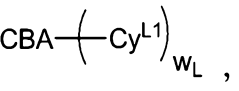
【0033】 在某些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體包含具有選自由以下所組成之群組之序列的重鏈及輕鏈：

- (a) 分別 SEQ ID NO:141 及 SEQ ID NO:68 ；
- (b) 分別 SEQ ID NO:142 及 SEQ ID NO:68 ；
- (c) 分別 SEQ ID NO:143 及 SEQ ID NO:68 ；
- (d) 分別 SEQ ID NO:151 及 SEQ ID NO:68 ；
- (e) 分別 SEQ ID NO:152 及 SEQ ID NO:68 ；

(f) 分別 SEQ ID NO:153 及 SEQ ID NO:68；及

(g) 分別 SEQ ID NO:154 及 SEQ ID NO:68。

【0034】 在某些實施例中，本發明之免疫共軛物由下式表示：

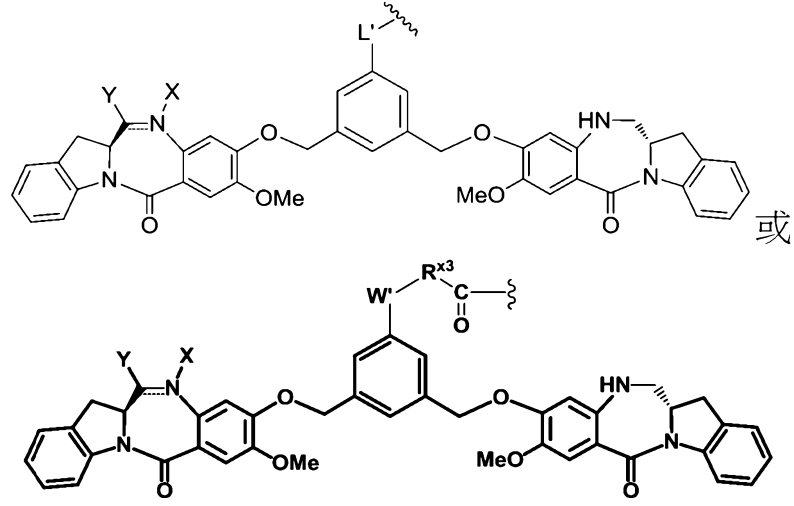


其中：

CBA 為本文所述之本發明之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過離胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{L1} ；

WL 為 1 至 20 之整數；且

Cy^{L1} 由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為 -H 或 (C₁-C₄) 烷基；且當其為單鍵時，X 為 -H 或胺保護部分，且 Y 為 -OH 或 -SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；

W' 為 -NR^{e'}，

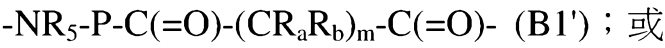
R^{e'} 為 -(CH₂-CH₂-O)_n-R^k；

n 為 2 至 6 之整數；

R^k 為 -H 或 -Me；

R^{x3} 為 (C₁-C₆) 烷基；

L'由下式表示：



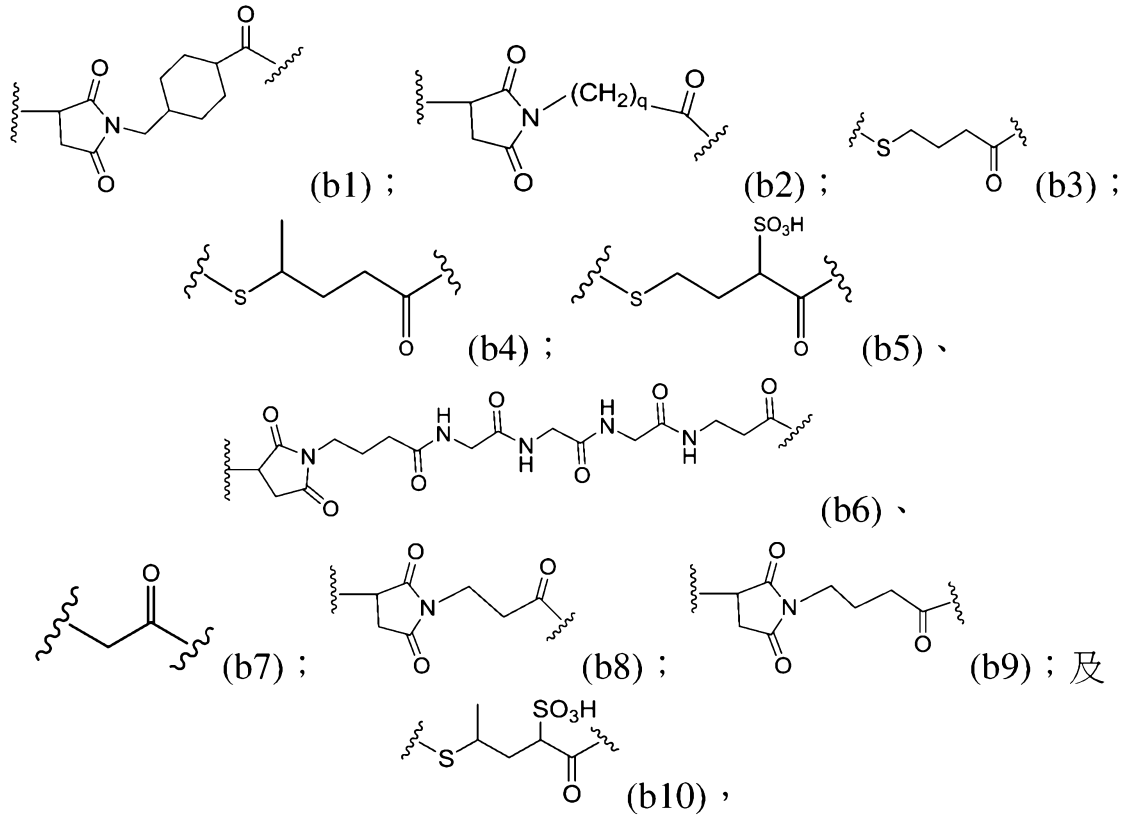
R₅ 為-H 或(C₁-C₃)烷基；

P 為胺基酸殘基或含有 2 至 20 之間個胺基酸殘基之肽；

R_a 及 R_b 在每次出現時各獨立地為-H、(C₁-C₃)烷基、或帶電取代基或可離子化基團 Q；

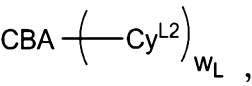
m 為 1 至 6 之整數；且

Z^{s1} 係選自下式中之任一者：



其中 q 為 1 至 5 之整數。

【0035】 在某些實施例中，本發明之免疫共軛物由下式表示：

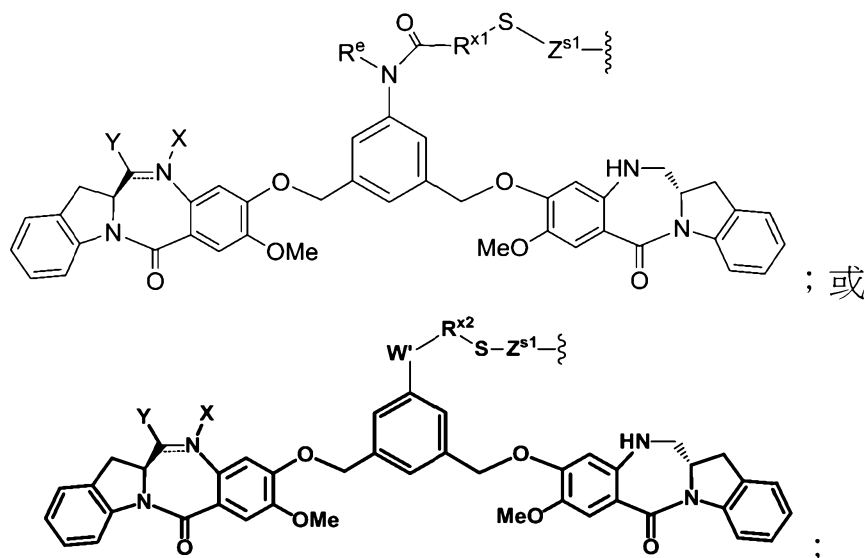


其中：

CBA 為本文所述之本發明之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過離胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{L2} ；

W_L 為 1 至 20 之整數；且

Cy^{L2} 由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為 -H 或 (C_1-C_4) 烷基；且當其為單鍵時，X 為 -H 或胺保護部分，且 Y 為 -OH 或 $-SO_3H$ ；

R^{x1} 及 R^{x2} 獨立地為 (C_1-C_6) 烷基；

R^e 為 -H 或 (C_1-C_6) 烷基；

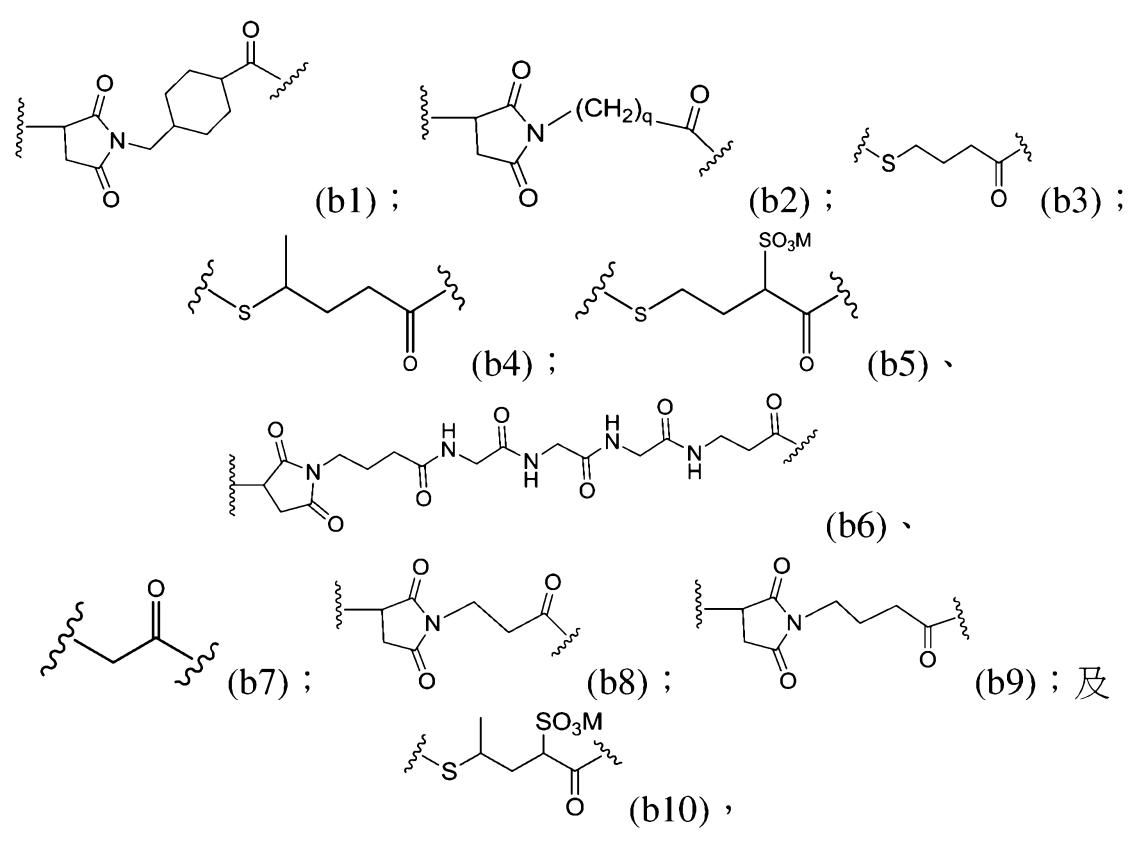
W' 為 $-NR^{e'}$ ，

$R^{e'}$ 為 $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ ；

n 為 2 至 6 之整數；

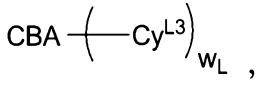
R^k 為 -H 或 -Me；

Z^{s1} 係選自下式中之任一者：



其中 q 為 1 至 5 之整數。

【0036】 在某些實施例中，本發明之免疫共軛物由下式表示：

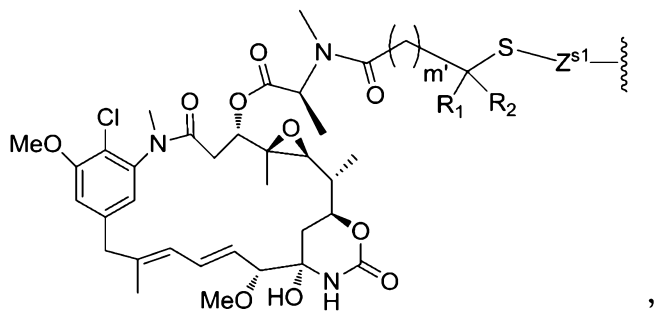


其中：

CBA 為本發明之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過離胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{L3}；

W_L 為 1 至 20 之整數；

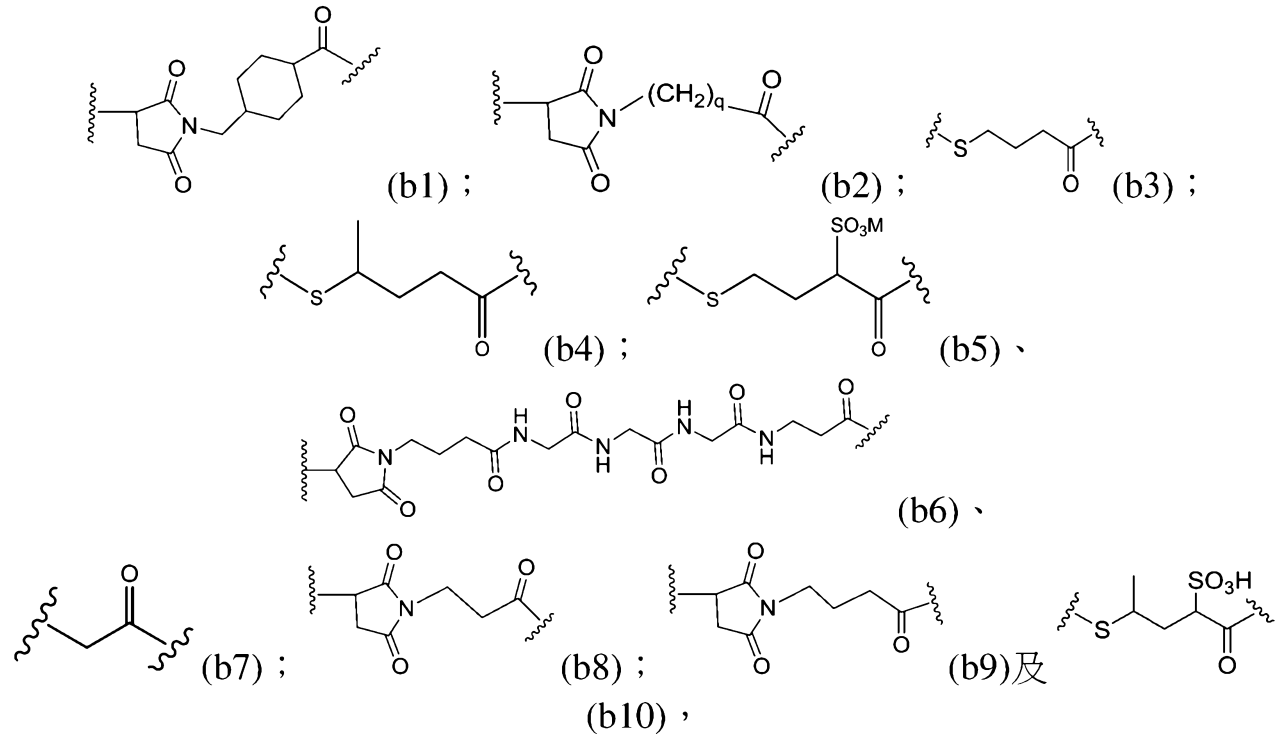
Cy^{L3} 由下式表示：



m' 為 1 或 2；

R_1 及 R_2 各自獨立地為 H 或 (C_1-C_3) 烷基；且

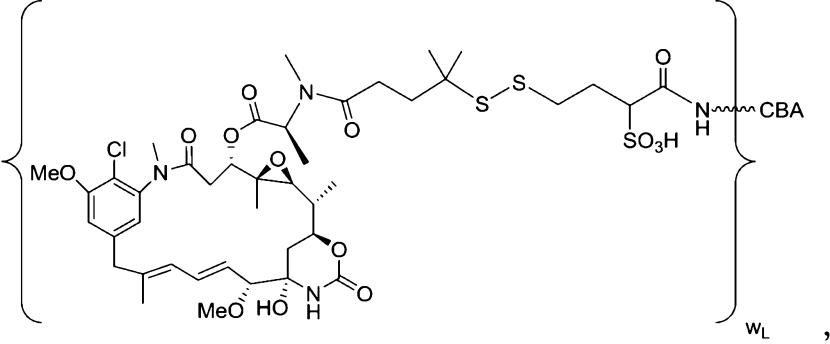
Z^{s1} 係選自下式中之任一者：



其中 q 為 1 至 5 之整數。

【0037】 在某些實施例中，本發明之免疫共軛物包含經由 N-琥珀醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫基)2-磺基丁酸酯(磺基-SPDB)鍵聯至美登木素生物鹼 DM4 的人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其中人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14 的序列的 CDR_H1 域、 CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、 CDR_L2 域及 CDR_L3 域。在某些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55 的序列的重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)。在一些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:52 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。在一些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:151 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。在一些實施例中，SEQ ID NO:52 或 SEQ ID NO:151 中之 X 為離胺酸。在一些實施例中，SEQ ID NO:52 或 SEQ ID NO:151 中之 X 不存在。

【0038】 在某些實施例中，本發明之免疫共軛物由下式表示：

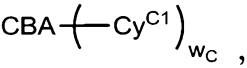


或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

W_L 為 1 至 10 之整數；

【0039】 CBA 為人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其包含具有分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14 的序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域。在某些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55 的序列的重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)。在一些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:52 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。在一些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:151 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。在一些實施例中，在 SEQ ID NO:52 或 SEQ ID NO:151 中之 X 為離胺酸。在一些實施例中，在 SEQ ID NO:52 或 SEQ ID NO:151 中之 X 不存在。在一些實施例中，包含免疫共軛物之組成物(例如，醫藥組成物)之 DAR 值處於以下範圍內：1.0 至 5.0、1.0 至 4.0、1.0 至 3.4、1.0 至 3.0、1.5 至 2.5、2.0 至 2.5 或 1.8 至 2.2。在一些實施例中，DAR 小於 4.0，小於 3.8，小於 3.6，小於 3.5，小於 3.0 或小於 2.5。

【0040】 在某些實施例中，本發明之免疫共軛物由下式表示：

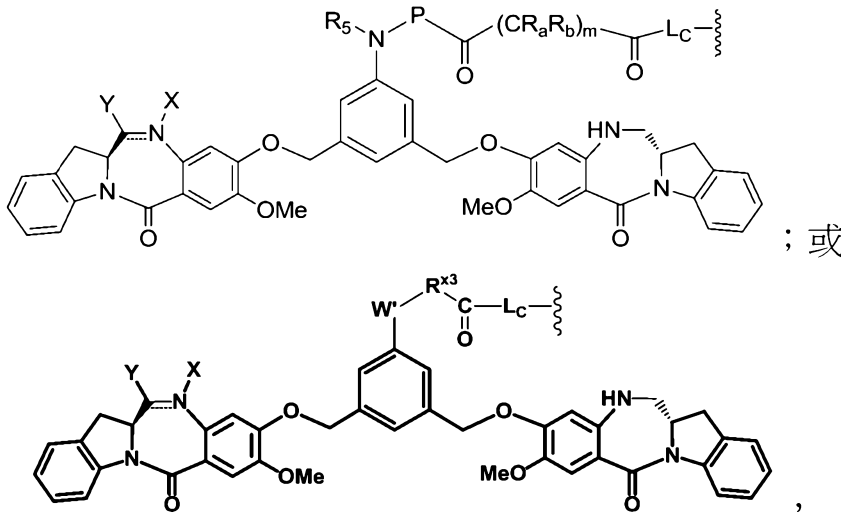


其中：

CBA 為本文所述之本發明之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過半胱胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{C1}；

W_C 為 1 或 2；

Cy^{C1} 由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H 或(C₁-C₄)烷基；且當其為單鍵時，X 為-H 或胺保護部分，Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；

R₅ 為-H 或(C₁-C₃)烷基；

P 為胺基酸殘基或含有 2 至 20 個胺基酸殘基之肽；

R_a 及 R_b 在每次出現時獨立地為-H、(C₁-C₃)烷基、或帶電取代基或可離子化基團 Q；

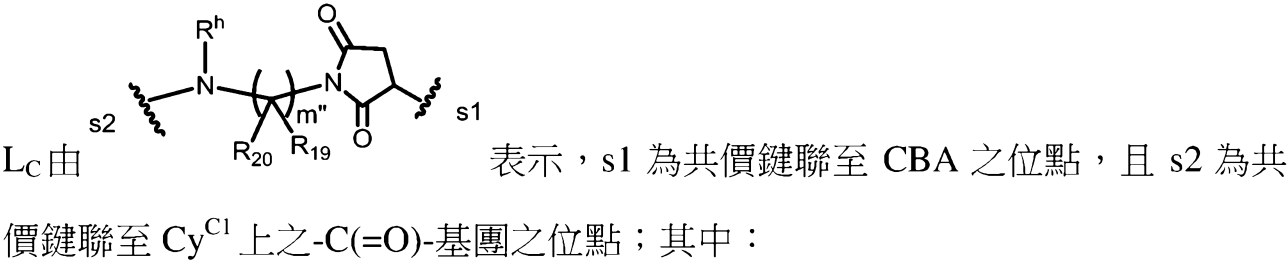
W' 為-NR^{e'}，

R^{e'} 為-(CH₂-CH₂-O)_n-R^k；

n 為 2 至 6 之整數；

R^k 為-H 或-Me；

R^{x3} 為(C₁-C₆)烷基；且，

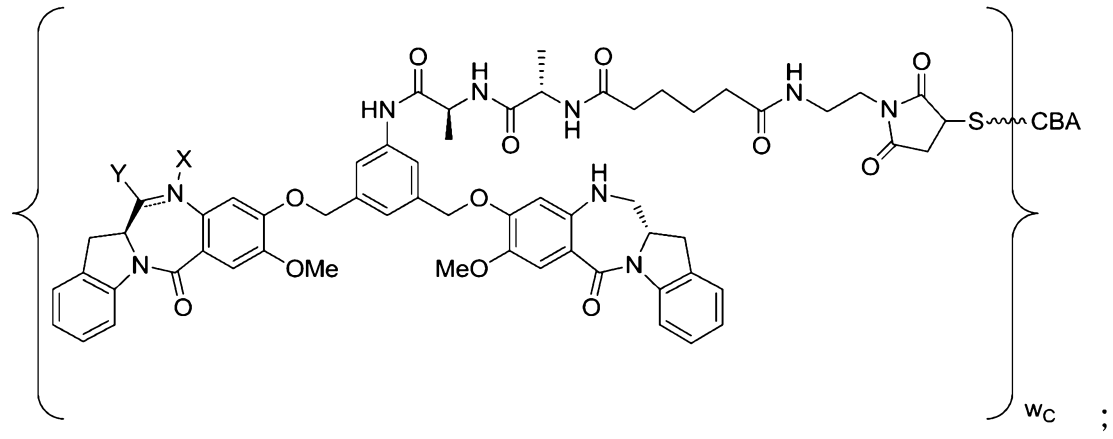


R_{19} 及 R_{20} 在每次出現時獨立地為-H 或(C₁-C₃)烷基；

m'' 為 1 與 10 之間的整數；且

R^h 為-H 或(C₁-C₃)烷基。

【0041】 在某些實施例中，本發明之免疫共軛物由下式表示：



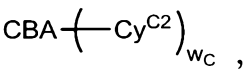
或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H，且當其為單鍵時，X 為-H，且 Y 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；

【0042】 CBA 為人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其包含具有分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14 的序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域。在某些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55 的序列的重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)。在一些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:142 及 SEQ ID NO:68 的序列的

重鏈及輕鏈。在一些實施例中，SEQ ID NO:142 中之 X 為離胺酸。在一些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:152 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。在一些實施例中，SEQ ID NO:142 或 SEQ ID NO:152 中之 X 為離胺酸。在一些實施例中，SEQ ID NO:142 或 SEQ ID NO:152 中之 X 不存在。

【0043】 在某些實施例中，免疫共軛物由下式表示：

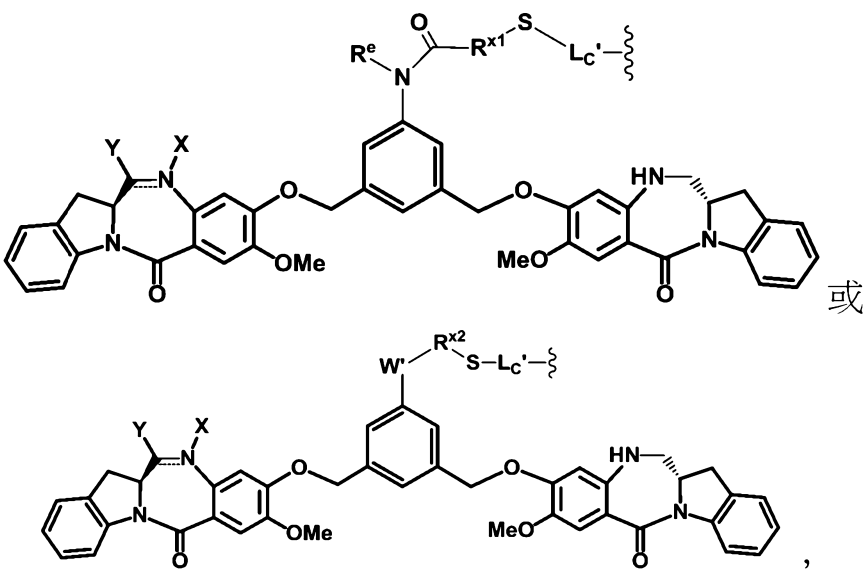


其中：

CBA 為本文所述之本發明之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過半胱胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{C2}；

W_C 為 1 或 2；

Cy^{C2} 由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H 或(C₁-C₄)烷基；且當其為單鍵時，X 為-H 或胺保護部分，Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；

R^{x1} 為(C₁-C₆)烷基；

R^e 為-H 或(C₁-C₆)烷基；

W' 為-NR^{e'}；

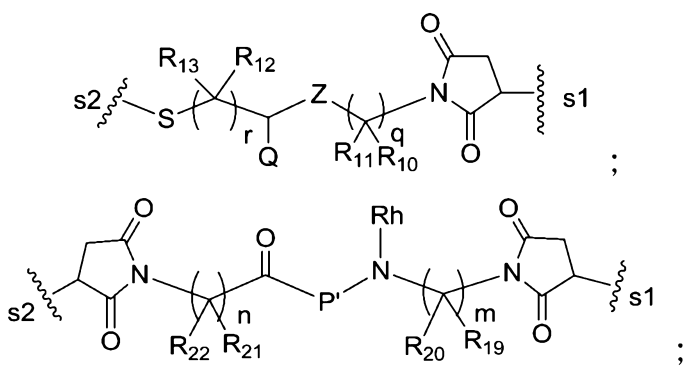
$R^{e'}$ 為-(CH₂-CH₂-O)_n-R^k；

n 為 2 至 6 之整數；

R^k 為-H 或-Me；

R^{x2} 為(C₁-C₆)烷基；

L_C' 由下式表示：



其中：

s1 為共價鍵聯至 CBA 之位點，且 s2 為共價鍵聯至 Cy^{C2} 上之-S-基團之位點；

Z 為-C(=O)-NR₉-或-NR₉-C(=O)-；

Q 為-H、帶電取代基或可離子化基團；

R₉、R₁₀、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₉、R₂₀、R₂₁ 及 R₂₂在每次出現時獨立地為-H 或(C₁-C₃)烷基；

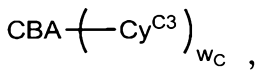
q 及 r 在每次出現時獨立地為 0 與 10 之間的整數；

m 及 n 各自獨立地為 0 與 10 之間之整數；

R^h 為-H 或(C₁-C₃)烷基；且

P'為胺基酸殘基或含有 2 至 20 個胺基酸殘基之肽。

【0044】 在某些實施例中，本發明之免疫共軛物由下式表示：

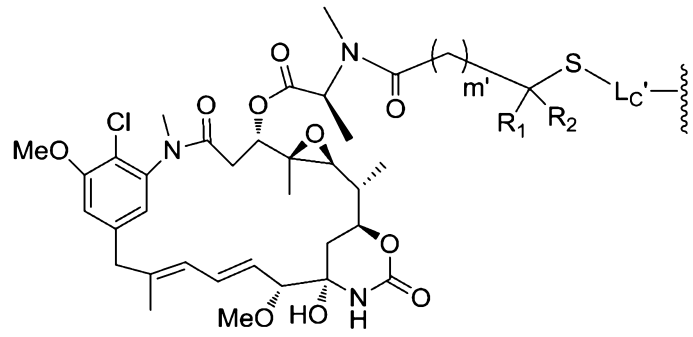


其中：

CBA 為本文所述之本發明之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過半胱胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{C3}；

W_C 為 1 或 2；

Cy^{C3} 由下式表示：

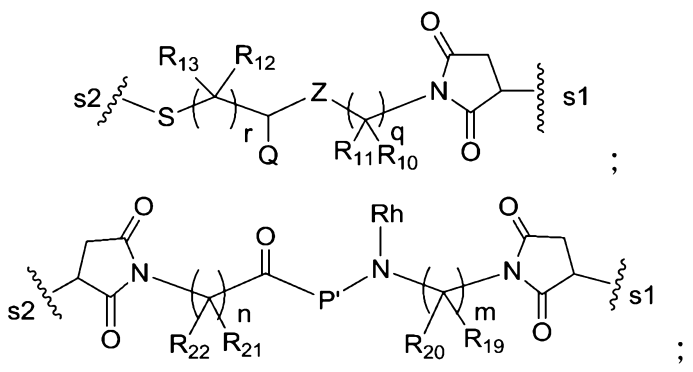


其中：

m' 為 1 或 2；

R₁ 及 R₂ 各自獨立地為 -H 或 (C₁-C₃) 烷基；

Lc' 由下式表示：



其中：

s1 為共價鍵聯至 CBA 之位點，且 s2 為共價鍵聯至 Cy^{C3} 上之 -S- 基團之位點；

Z 為 -C(=O)-NR₉- 或 -NR₉-C(=O)-；

Q 為 H、帶電取代基、或可離子化基團；

R₉、R₁₀、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₉、R₂₀、R₂₁ 及 R₂₂ 在每次出現時獨立地為 -H 或 (C₁-C₃) 烷基；

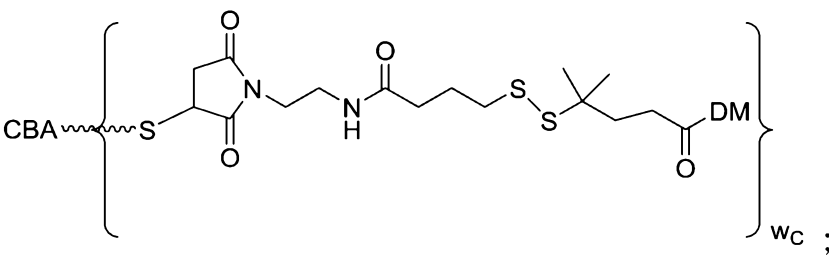
q 及 r 在每次出現時獨立地為 0 與 10 之間的整數；

m 及 n 各自獨立地為 0 與 10 之間之整數；

R^h 為-H 或(C₁-C₃)烷基；且

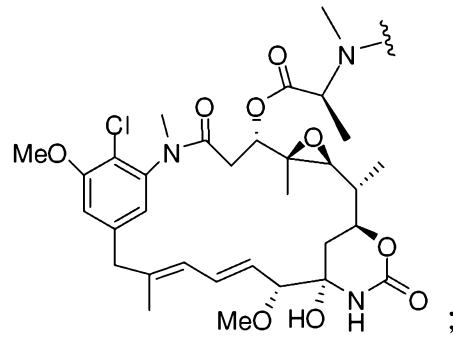
P'為胺基酸殘基或含有 2 至 20 個胺基酸殘基之肽。

【0045】 在某些實施例中，本發明之免疫共軛物由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

DM 為由下式表示之藥物部分：

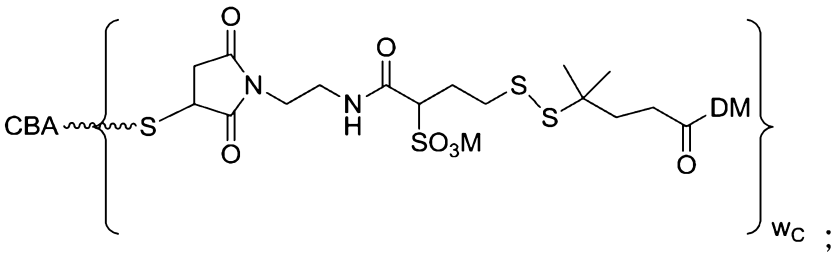


W_C為 1 或 2；

【0046】 CBA 為人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其包含具有分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14 的序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域。在某些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55 的序列的重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)。在一些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:142 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。在一些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:152 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。在一些實施例中，SEQ ID NO:142

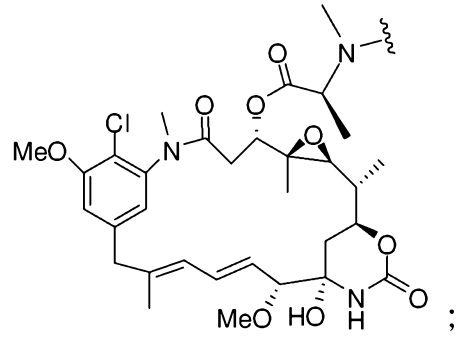
或 SEQ ID NO:152 中之 X 為離胺酸。在一些實施例中，SEQ ID NO:142 或 SEQ ID NO:152 中之 X 不存在。在一些實施例中， W_C 為 2。

【0047】 在某些實施例中，本發明之免疫共軛物由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

DM 為由下式表示之藥物部分：



CBA 為人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其包含具有分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14 的序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域。在某些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55 的序列的重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)。在一些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:142 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。在一些實施例中，人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:152 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈；且 W_C 為 1 或 2。在一些實施例中， W_C 為 2。

【0048】 本發明之另一態樣提供一種醫藥組成物，其包含有效量本文所述之本發明之免疫共軛物及醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑。

【0049】 在另一態樣中，本發明提供一種用於治療受試者之與 ADAM9 表現相關或特徵在於 ADAM9 表現之疾病或病狀的方法，其包含向該受試者投與有效量本文所述之本發明之免疫共軛物或醫藥組成物。在本發明中亦提供本文所述之本發明之免疫共軛物或醫藥組成物在治療受試者之與 ADAM9 表現相關或特徵在於 ADAM9 表現之疾病或病狀中之用途。本發明亦提供本文所述之本發明之免疫共軛物或醫藥組成物用於製造用於治療受試者之與 ADAM9 表現相關或特徵在於 ADAM9 表現之疾病或病狀的藥物之用途。

【0050】 在某些實施例中，與 ADAM9 表現相關或特徵在於 ADAM9 表現之疾病或病狀為癌症。在一些實施例中，癌症係選自由以下所組成之群組：非小細胞肺癌、結腸直腸癌、胃癌、胰腺癌、腎細胞癌、前列腺癌、食道癌、乳癌、頭頸癌、卵巢癌、肝癌、子宮頸癌、甲狀腺癌、睪丸癌、骨髓癌、黑色素瘤及淋巴癌。在某些實施例中，非小細胞肺癌為鱗狀細胞癌、腺癌或大細胞未分化癌。在某些實施例中，結腸直腸癌為腺癌、胃腸類癌瘤、胃腸基質瘤、原發性結腸直腸淋巴瘤、平滑肌肉瘤或鱗狀細胞癌。

【圖式簡單說明】

【0051】 圖 1A-1C 呈現免疫組織化學(IHC)研究之結果，且顯示 MAB-A 特異性標記多種非小細胞肺癌類型(圖 1A)、乳癌細胞、前列腺癌細胞、胃癌細胞(圖 1B)及結腸癌細胞(圖 1C)之能力，而同型對照未能特異性標記任何此等癌細胞類型(圖 1A-1C)。

【0052】 圖 2 呈現細胞染色研究之結果，且顯示 MAB-A 結合至在 293-FT 及 CHO-K 細胞(分別為上圖及下圖)之表面上暫時表現之人類 ADAM9(且在較小程度上結合至食蟹獼猴 ADAM9)之能力。

【0053】 圖 3A-3B 描繪與 MAB-A 之若干人源化/經最佳化變異體(圖 3A, SEQ ID NO:7、16、17、18、19、21、22、23 及 28)比對之鼠抗 ADAM9-VH 域以及

與 MAB-A 之若干人源化/經最佳化變異體(圖 3B，SEQ ID NO:11、51、52、53 及 54)比對之鼠抗 ADAM9-VL 域之胺基酸序列。初始經最佳化期間 CDR 內經取代之位置如下加下劃線：潛在的脫醯胺及異構化(isomeration)位點用單下劃線指示，離胺酸殘基用雙下劃線指示，另外的不穩定殘基用雙虛下劃線指示。

【0054】 圖 4A-4B 呈現包含 CDR_{H3} 變異體、親代 hMAB-A (2.2)及同型對照抗體之十個所選經最佳化 hMAB-A 殖株之 ELISA 結合曲線。圖 4A 呈現 cynoADAM9 之結合曲線，且圖 4B 呈現 huADAM9 之結合曲線。

【0055】 圖 5A-5B 呈現 Fc 變異體之 ELISA 結合曲線。圖 5A 呈現 cynoADAM9 之結合曲線，且圖 5B 呈現 huADAM9 之結合曲線。

【0056】 圖 6A-6B 分別顯示 20 個癌組織微陣列中之 ADAM9 IHC 膜染色以及八個所選適應症中之 ADAM9 IHC 膜及細胞質染色。

【0057】 圖 7A-7B 顯示各種抗 ADAM9 抗體共軛物之脈衝內化及連續內化。

【0058】 圖 8A-8D 顯示 chMAB-A、hMAB-A(2.2)、hMAB-A(2C.2) 及 hMAB-A(2I.2)抗體及其相應免疫共軛物之 FACS 結合曲線。

【0059】 圖 9A-9H 顯示各種抗 ADAM9 免疫共軛物 (hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4、hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4、hMAB-A(2.2)-DGN549 及 hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549)對一大組 ADAM9 陽性腫瘤細胞株之活體外細胞毒性。基於非靶向 IgG1 之共軛物作為陰性對照被包括在內。

【0060】 圖 10 顯示 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 (1.25 mg/kg、2.5 mg/kg、5 mg/kg，以抗體計)及 chMAB-A-DGN549 (10 µg/kg，以酬載計)在 Calu-3 人類非小細胞肺腺癌異種移植物模型中之抗腫瘤活性。

【0061】 圖 11 顯示 hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 (0.5 µg/kg、1 µg/kg、3 µg/kg 及 10 µg/kg，以酬載計)在 Calu-3 人類非小細胞肺腺癌異種移植物模型中之抗腫瘤活性。

【0062】 圖 12 顯示 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 (1.25 mg/kg、2.5 mg/kg、5 mg/kg，以抗體計)在 H1703 非小細胞肺鱗狀細胞癌異種移植模型中之抗腫瘤活性。

【0063】 圖 13 顯示 chMAB-A-sSPDB-DM4(1.25 mg/kg、2.5 mg/kg、5 mg/kg)在 Detroit562 頭頸鱗狀細胞癌模型(腫瘤體積 95.76 至 450.83 mm³)中之抗腫瘤活性。

【0064】 圖 14 顯示 chMAB-A-sSPDB-DM4(1.25 mg/kg 及 5 mg/kg)在 Detroit562 頭頸鱗狀細胞癌模型(腫瘤體積 277.51 至 503.49 mm³)中之抗腫瘤活性。

【0065】 圖 15 顯示 huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 在 SNU-5 胃癌異種移植模型中之抗腫瘤活性。

【0066】 圖 16 顯示 huMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 在 SNU-5 胃癌異種移植模型中之抗腫瘤活性。

【0067】 圖 17 顯示 huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 在 SW48 結腸直腸癌異種移植模型中之抗腫瘤活性。

【0068】 圖 18 顯示 huMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 在 SW48 結腸直腸癌異種移植模型中之抗腫瘤活性。

【0069】 圖 19A 顯示在 pH 6.0 下 250 nM 及 1000 nM huFcRn 與經捕捉之具有及沒有 YTE 突變之抗 ADAM9 抗體之結合。

【0070】 圖 19B 顯示在 pH 6.0 下 25 nM 及 100 nM 具有及沒有 YTE 突變之抗-ADAM9 抗體與固定化 FcRn 之結合。

【0071】 圖 20 顯示食蟹獼猴中 4 mg/kg 及 12 mg/kg (抗體劑量)的 hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4 及 hMAB-A(2I.2)-YTE-sSPDB-DM4 之抗體-藥物共軛物 PK 資料。

【實施方式】

相關申請案之交叉引用

【0072】 本申請案主張美國專利申請序列第 62/438,488 號(2016 年 12 月 23 日申請；待審)；及美國專利申請序列第 62/480,201 號(2017 年 3 月 31 日申請；待審)之優先權，該等申請案以全文引用之方式併入本文中。

對序列表之引用

【0073】 本申請案包括根據 37C.F.R. 1.821 及以下之一或多個序列表，該等序列表揭示於計算機可讀媒體中(文件名稱：NAME_Sequence_Listing_ST25.txt，創建於 2017 年 12 月##日，且大小為##個位元組)，該文件以全文引用之方式併入本文中。

【0074】 本發明係關於包含能夠特異性結合至「含解整合素及金屬蛋白酶域之蛋白 9」(「**ADAM9**」)、共軛至至少一種藥理學藥劑之抗體或其片段的免疫共軛物。本發明特別關於與人類 **ADAM9** 及非人類靈長類(例如，食蟹獼猴)之 **ADAM9** 具有交叉反應性的此類免疫共軛物。本發明另外關於包含輕鏈可變(VL)域及/或重鏈可變(VH)域之所有此類免疫共軛物，該輕鏈可變(VL)域及/或重鏈可變(VH)域已經人源化及/或去免疫化以便在向接受受試者投與此類免疫共軛物時展現降低的免疫原性。本發明亦關於含有此類免疫共軛物中任一者之醫藥組成物，以及涉及此類免疫共軛物中任一者在治療癌症及其他疾病及病狀中之用途的方法。

I. 抗體及其結合域

【0075】 本發明之免疫共軛物包含結合至 **ADAM9** 或其 **ADAM9** 結合片段之抗體。「**抗體**」為能夠透過位於免疫球蛋白分子之**可變域**中的至少一個抗原識別位點來特異性結合至標靶(諸如，碳水化合物、多核苷酸、脂質、多肽等)的免疫球蛋白分子。如本文所使用，術語「**抗體(antibody)**」及「**抗體(antibodies)**」係指單株抗體、多特異性抗體、人類抗體、人源化抗體、合成抗體、嵌合抗體、多株抗體、駱駝源化抗體、單鏈 Fv (scFv)、單鏈抗體、Fab 片段、F(ab')片段、

內抗體及以上任一者之抗原決定基結合片段。特別地，術語「抗體」包括免疫球蛋白分子及免疫球蛋白分子之免疫活性片段，亦即含有抗原決定基結合位點之分子。免疫球蛋白分子可具有任何類型(例如，IgG、IgE、IgM、IgD、IgA 及 IgY)、類別(例如，IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁ 及 IgA₂)或子類。近幾十年來已看到對抗體之治療潛能之關注的復興，且抗體已經成為生物技術衍生藥物之主要類別之一(Chan, C.E. 等人 (2009) 「The Use Of Antibodies In The Treatment Of Infectious Diseases,」Singapore Med. J. 50(7):663-666)。除了在診斷中之用途以外，已經顯示抗體可用作治療劑。超過 200 種基於抗體之藥物已經核准使用或處於開發中。

【0076】 抗體能夠「**免疫特異性結合**」至多肽或蛋白質或非蛋白質分子，這歸因於在此類分子上存在特定域或部分或構象(「**抗原決定基**」)。含抗原決定基之分子可具有免疫原性活性，使得其引起動物之抗體產生反應；此類分子被稱為「**抗原**」。如本文所用，若抗體相對於替代性抗原決定基更頻繁、更迅速、以更長的持續時間及/或以更大的親和力與抗原決定基反應或締合，則稱抗體「**免疫特異性**」結合另一分子之區(亦即，該抗原決定基)。例如，免疫特異性結合至病毒抗原決定基之抗體為與該抗體免疫特異性結合至其他病毒抗原決定基或非病毒抗原決定基相比，以更大親和力、親合力、更容易及/或以更長的持續時間結合該病毒抗原決定基之抗體。藉由閱讀此定義亦應理解，例如，免疫特異性結合至第一標靶之抗體(或部分或抗原決定基)可或可不特異性或優先地結合至第二標靶。因而，與特定抗原決定基之「**免疫特異性結合**」未必需要(儘管其可包括)與該抗原決定基之唯一結合。通常並非必要地，對結合之提及意指「**免疫特異性**」結合。若結合展現受體結合其各個配體的特異性，則稱兩個分子能夠以「**生理特異性**」方式彼此結合。

【0077】 術語「**單株抗體**」係指同源抗體群體，其中單株抗體包含涉及抗原

之選擇性結合的胺基酸(天然存在之胺基酸或非天然存在之胺基酸)。單株抗體針對單一抗原決定基(或抗原位點)具有高特異性。術語「單株抗體」不僅涵蓋完整單株抗體及全長單株抗體，而且涵蓋其片段(諸如 Fab、Fab'、F(ab')₂ Fv)、單鏈(scFv)、其突變體、包含抗體部分之融合蛋白、人源化單株抗體、嵌合單株抗體及免疫球蛋白分子之任何其他經修飾組態，該免疫球蛋白分子包含具有所要特異性及結合至抗原之能力的抗原識別位點。該術語並非意欲就抗體之來源或製成(例如，藉由融合瘤、噬菌體選擇、重組表現、基因轉殖動物等)該抗體之方式進行限制。該術語包括完整免疫球蛋白以及以上在「抗體」之定義下所述的片段等。製造單株抗體之方法為此項技術中已知的。一種可採用的方法為 Kohler, G. 等人 (1975) 「Continuous Cultures Of Fused Cells Secreting Antibody Of Predefined Specificity,」 Nature 256:495-497 之方法或其修改。通常，在小鼠、大鼠或兔中開發單株抗體。抗體藉由用免疫原性量的細胞、細胞提取物或含有所要抗原決定基之蛋白質製劑使動物免疫來產生。免疫原可為但不限於初代細胞、經培養細胞株、癌性細胞、蛋白質、肽、核酸或組織。用於免疫之細胞可在將其用作免疫原之前培養一段時間(例如，至少 24 小時)。細胞可自身用作免疫原或與非變性佐劑(諸如 Ribi)組合使用(參見，例如，Jennings, V.M. (1995) 「Review of Selected Adjuvants Used in Antibody Production,」 ILAR J. 37(3):119-125)。一般而言，細胞在用作免疫原時應保持完整且較佳保持活力。完整細胞與經免疫動物之破裂細胞相比可使抗原更好地被偵測到。使用變性或苛刻的佐劑(例如，弗氏佐劑)可使細胞破裂，且因此不受提倡。免疫原可以週期性間隔(諸如每兩週或每週)投與多次，或可以維持動物(例如，組織重組體)之活力的方式投與。或者，現有單株抗體及對所要病原性抗原決定基具有免疫特異性的任何其他等效抗體可藉由此項技術中已知的任何手段對來定序及重組產生。在一個實施例中，對這類抗體進行定序，且接著將多核苷酸序列選殖至載體中以供表現或繁殖。編

碼所關注抗體之序列可維持在宿主細胞中之載體中，且接著可將該宿主細胞擴增並冷凍以供未來使用。此類抗體之多核苷酸序列可用於遺傳操作以產生親和力經最佳化的嵌合抗體、人源化抗體及/或犬源化抗體，以改善抗體之親和力或其他特徵，以及產生本發明之免疫共軛物。將抗體人源化之一般原則涉及保留該抗體之抗原結合部分的基本序列，同時用人類抗體序列交換抗體之非人類其餘部分。

【0078】 天然抗體(諸如天然 IgG 抗體)由兩條與「**重鏈**」複合之「**輕鏈**」組成。各輕鏈含有可變域(「**VL**」)及恆定域(「**CL**」)。各重鏈含有可變域(「**VH**」)、三個恆定域(「**CH1**」、「**CH2**」及「**CH3**」)及位於 **CH1** 與 **CH2** 域之間的「**鉸鏈**」區(「**H**」)。相比之下，scFv 為藉由經由短鏈聯肽將輕鏈可變域及重鏈可變域鍵聯在一起所製成之單鏈分子。

【0079】 天然存在之免疫球蛋白(例如 IgG)之基本結構單元因此為具有兩條輕鏈及兩條重鏈之四聚體，其通常表現為約 150,000 Da 之醣蛋白。各鏈之胺基端(「**N 端**」)部分包括具有約 100 至 110 或更多個胺基酸之主要負責抗原識別的可變域。各鏈之羧基端(「**C 端**」)部分限定恆定區，其中輕鏈具有單個恆定域，且重鏈通常具有三個恆定域及鉸鏈區。因此，IgG 分子輕鏈之結構為 n-VL-CL-c，且 IgG 重鏈之結構為 n-VH-CH1-H-CH2-CH3-c(其中 n 及 c 分別表示多肽之 N 端及 C 端)。

A. 抗體可變域之特徵

【0080】 IgG 分子之可變域由 1、2 且最常見 3 個互補決定區(「**CDR**」，亦即分別為 **CDR1**、**CDR2** 及 **CDR3**)及非 CDR 區段(稱為**架構區**(「**FR**」)組成，該等互補決定區含有與抗原決定基接觸之殘基，該等架構區一般維持結構並決定 CDR 區之位置以容許此類接觸(儘管某些架構殘基亦可與抗原決定基接觸)。因此，VL 及 VH 域通常具有以下結構：

n-FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4-c(其中「n」表示 N 端，且「c」表示 C 端)。作為(或可用作)抗體輕鏈之第一、第二、第三及第四 FR 的多肽在本文中分別定名為：**FR_L1 域**、**FR_L2 域**、**FR_L3 域**及 **FR_L4 域**。類似地，作為(或可用作)抗體重鏈之第一、第二、第三及第四 FR 的多肽在本文中分別定名為：**FR_H1 域**、**FR_H2 域**、**FR_H3 域**及 **FR_H4 域**。作為(或可用作)抗體輕鏈之第一、第二及第三 CDR 的多肽在本文中分別定名為：**CDR_L1 域**、**CDR_L2 域**及 **CDR_L3 域**。類似地，作為(或可用作)抗體重鏈之第一、第二及第三 CDR 的多肽在本文中分別定名為：**CDR_H1 域**、**CDR_H2 域**及 **CDR_H3 域**。因此，術語 CDR_L1 域、CDR_L2 域、CDR_L3 域、CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域係關於在併入抗體中時使抗體能夠結合至特異性抗原決定基之多肽。

【0081】 在本說明書通篇，免疫球蛋白之成熟重鏈及輕鏈之可變域中殘基之編號由鏈中胺基酸之位置來定名。Kabat 描述抗體之眾多胺基酸序列，鑒別各亞組之胺基酸共同序列，且將殘基號分配至各胺基酸，且 CDR 係如由 Kabat 所定義來鑒別(應當理解，如由 Chothia, C.及 Lesk, A. M. ((1987)「Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins,」 J. Mol. Biol. 196:901-917)所定義之 CDR_H1 較早開始為五個殘基)。可藉由參考保守胺基酸將所論述之抗體與 Kabat 中之共同序列之一進行比對來將 Kabat 之編號方案擴展至未包括在其概要中的抗體。此用於分配殘基號之方法已成為本領域中之標準，且容易鑒別不同抗體(包括嵌合或人源化變異體)中等效位置處的胺基酸。例如，人類抗體輕鏈之位置 50 處的胺基酸佔據與小鼠抗體輕鏈之位置 50 處的胺基酸等效的位置。

【0082】 抗體結合抗原之抗原決定基的能力取決於抗體之 VL 及 VH 域之存在及胺基酸序列。抗體之輕鏈及重鏈之相互作用且特別是抗體之 VL 域及 VH 域之相互作用形成天然抗體(諸如 IgG)之兩個抗原決定基結合位點之一。天然抗體能夠結合至僅一種抗原決定基種類(亦即，該等天然抗體為單特異性的)，但是該等

天然抗體可結合該抗原決定基種類之多個拷貝(亦即，展現二價或多價)。

【0083】 因此，如本文所使用，術語「**抗原決定基結合片段**」意指能夠免疫特異性結合至抗原決定基的抗體片段，且術語「**抗原決定基結合位點**」係指分子之包含抗原決定基結合片段的部分。抗原決定基結合片段可含有抗體之 CDR 域中之任何 1、2、3、4 或 5 者，或可含有抗體之 CDR 域中之全部 6 者，且雖然能夠免疫特異性結合至此類抗原決定基，但是可對此類抗原決定基展現與此類抗體之免疫特異性、親和性或選擇性不同的免疫特異性、親和性或選擇性。然而，較佳的是，抗原決定基結合片段將含有此類抗體之 CDR 域中之全部 6 者。抗體之抗原決定基結合片段可為單個多肽鏈(例如，scFv)，或可包含二或更多個多肽鏈，該等多肽鏈各自具有胺基端及羧基端(例如，Fab 片段、Fab₂ 片段等)。除非具體指出，否則本文所述之蛋白質分子之域之順序係以「**N 端至 C 端**」方向。

【0084】 本發明亦涵蓋包含單鏈可變域片段(「**scFv**」)之免疫共軛物，該等單鏈可變域片段包含本發明之抗 ADAM9-VL 及/或 VH 域。單鏈可變域片段包含使用短「**連接子**」肽鏈聯在一起之 VL 及 VH 域。此類連接子可經修飾以提供額外的功能，諸如容許藥物連接或容許至固體支持物之連接。單鏈變異體可重組或合成產生。對於 scFv 之合成產生，可使用自動化合成儀。對於 scFv 之重組產生，可將含有編碼 scFv 之多核苷酸的合適質粒引入合適宿主細胞(真核細胞(諸如酵母、植物、昆蟲或哺乳動物細胞)或原核細胞(諸如大腸桿菌))中。編碼所關注 scFv 之多核苷酸可藉由常規操作(諸如，多核苷酸之連接)製成。所得 scFv 可使用此項技術中已知的標準蛋白質純化技術來分離。

【0085】 本發明亦特別涵蓋：包含本發明抗 ADAM9 抗體之人源化/經最佳化變異體之 CDR_H1、CDR_H2、CDR_H3、CDR_L1、CDR_L2 及 CDR_L3 域，以及含有此類 CDR_L中之任何 1、2 或 3 者的 VL 域及含有此類 CDR_H中之任何 1、2 或 3 者

的 VH 域的免疫共軛物；以及包含上述者之多特異性結合分子。術語「人源化」抗體係指具有來自非人類物種的免疫球蛋白之抗原決定基結合位點及基於人類免疫球蛋白之結構及/或序列的其餘免疫球蛋白結構的嵌合分子。一般使用重組技術製備人源化抗體。本發明之免疫共軛物可包含在本文中定名為「**MAB-A**」的抗體之人源化、嵌合或犬源化變異體。編碼 **MAB-A** 之可變域的多核苷酸序列可用於遺傳操作，以產生具有改善或改變的特徵(例如，親和力、交叉反應性、特異性等)之 **MAB-A** 衍生物。將抗體人源化之一般原則涉及保留該抗體之抗原決定基結合部分的基本序列，同時用人類抗體序列交換抗體之非人類其餘部分。使單株抗體人源化有四個一般步驟。此等步驟為：(1)判定起始抗體輕鏈可變域及重鏈可變域之核苷酸及經預測之胺基酸序列；(2)設計人源化抗體或犬源化抗體，亦即在人源化或犬源化過程期間決定使用哪個抗體架構區；(3)採用現行的人源化或犬源化方法/技術；及(4)轉染且表現人源化抗體。參見，例如美國專利第 4,816,567 號；第 5,807,715 號；第 5,866,692 號；及第 6,331,415 號。術語「**經最佳化**」抗體係指在輕鏈可變區或重鏈可變區中之至少一個互補決定區(CDR)中具有至少一個與親代抗體不同的胺基酸的抗體，此舉賦予比親代抗體高的與人類 ADAM9 及/或食蟹獼猴 ADAM9 之結合親和力，例如，高 2 倍或更多倍的結合親和力。從本文所提供之教示應理解，本發明之抗體可為人源化抗體、經最佳化抗體或人源化抗體及經最佳化抗體兩者。

【0086】 抗原決定基結合位點可包含融合至一或多個恆定域之完整可變域，或僅包含接枝至適當架構區之此類可變域之 CDR。抗原決定基結合位點可為野生型或可藉由一或多個胺基酸取代、插入或缺失來修飾。此類作用部分或完全消除恆定區充當接受者(例如，人類個體)之免疫原的能力，然而對外來可變域之免疫反應的可能性保持不變(LoBuglio, A.F.等人 (1989) 「Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response,」 Proc. Natl. Acad. Sci.

(U.S.A.) 86:4220-4224)。另一方法不僅關注提供來源於人類的恆定區，而且關注修飾可變域以便將該等可變域盡可能緊密地改造成見於人類免疫球蛋白中之形式。已知抗體之重鏈及輕鏈兩者之可變域含有三個 CDR，其回應於所論述之抗原而變化且決定結合能力，其側接有四個架構區，該等架構區在給定物種中相對保守且推定地提供用於 CDR 之骨架。當相對於特定抗原來製備非人類抗體時，可變域可藉由將來源於非人類抗體之 CDR 接枝於欲修飾之人類抗體中存在的 FR 上來「改造」或「人源化」。此方法於各種抗體之應用已由以下文獻報導：Sato, K. 等人 (1993) *Cancer Res* 53:851-856；Riechmann, L. 等人 (1988) 「Reshaping Human Antibodies for Therapy,」 *Nature* 332:323-327；Verhoeyen, M. 等人 (1988) 「Reshaping Human Antibodies: Grafting An Antilysozyme Activity,」 *Science* 239:1534-1536；Kettleborough, C. A. 等人 (1991) 「Humanization Of A Mouse Monoclonal Antibody By CDR-Grafting: The Importance Of Framework Residues On Loop Conformation,」 *Protein Engineering* 4:773-3783；Maeda, H. 等人 (1991) 「Construction Of Reshaped Human Antibodies With HIV-Neutralizing Activity,」 *Human Antibodies Hybridoma* 2:124-134；Gorman, S. D. 等人 (1991) 「Reshaping A Therapeutic CD4 Antibody,」 *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 88:4181-4185；Tempest, P.R. 等人 (1991) 「Reshaping A Human Monoclonal Antibody To Inhibit Human Respiratory Syncytial Virus Infection in vivo,」 *Bio/Technology* 9:266-271；Co, M. S. 等人 (1991) 「Humanized Antibodies For Antiviral Therapy,」 *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 88:2869-2873；Carter, P. 等人 (1992) 「Humanization Of An Anti-p185her2 Antibody For Human Cancer Therapy,」 *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 89:4285-4289；及 Co, M.S. 等人 (1992) 「Chimeric And Humanized Antibodies With Specificity For The CD33 Antigen,」 *J. Immunol.* 148:1149-1154。在一些實施例中，人源化抗體保留所有 CDR 序列(例如，人源化鼠抗體，其含有鼠抗體中存在之所有六個 CDR)。

在其他實施例中，人源化抗體具有相對於原始抗體之 CDR 在序列方面不同的一或多個 CDR(一、二、三、四、五或六個)。

【0087】 已經描述眾多包含來源於非人類免疫球蛋白之抗原決定基結合位點的人源化抗體分子，具有齧齒動物或經修飾齧齒動物可變域及其融合至人類恆定域之相關互補決定區(CDR)的嵌合抗體(參見，例如 Winter 等人 (1991) 「Man-made Antibodies,」 Nature 349:293-299；Lobuglio 等人 (1989) 「Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response,」 Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224；Shaw 等人 (1987) 「Characterization Of A Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody (17-1A) To A Colon Cancer Tumor-Associated Antigen,」 J. Immunol. 138:4534-4538；及 Brown 等人 (1987) 「Tumor-Specific Genetically Engineered Murine/Human Chimeric Monoclonal Antibody,」 Cancer Res. 47:3577-3583)。其他參考文獻描述在與適當人類抗體恆定區融合之前接枝至人類支持架構區(FR)中之齧齒動物 CDR(參見，例如 Riechmann, L. 等人 (1988) 「Reshaping Human Antibodies for Therapy,」 Nature 332:323-327；Verhoeyen, M. 等人 (1988) 「Reshaping Human Antibodies: Grafting An Antilysozyme Activity,」 Science 239:1534-1536；及 Jones 等人 (1986) 「Replacing The Complementarity-Determining Regions In A Human Antibody With Those From A Mouse,」 Nature 321:522-525)。另一參考文獻描述由重組鑲飾(veneered)齧齒動物架構區支持之齧齒動物 CDR(參見，例如歐洲專利公開案第 519,596 號)。此等「人源化」分子經設計成使對齧齒動物抗人類抗體分子之非所要免疫學反應最小化，這限制彼等部分在人類接受者中之治療應用的持續時間及有效性。亦可利用之使抗體人源化之其他方法由 Daugherty 等人 (1991) 「Polymerase Chain Reaction Facilitates The Cloning, CDR-Grafting, And Rapid Expression Of A Murine Monoclonal Antibody Directed Against The CD18 Component Of Leukocyte Integrins,」

Nucl. Acids Res. 19:2471-2476 揭示，且在美國專利第 6,180,377 號；第 6,054,297 號；第 5,997,867 號；及第 5,866,692 號中揭示。

B. 抗體恆定域之特徵

【0088】 在本說明書通篇，IgG 重鏈之恆定區中殘基之編號為如 Kabat 等人, SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 第 5 版 Public Health Service, NH1, MD (1991) (「**Kabat**」) 中的 EU 索引之編號，該文獻明確以引用方式併入本文中。術語「如 **Kabat** 中所闡明之 EU 索引」係指 Kabat 中提供之人類 IgG1 EU 抗體之恆定域之編號。此用於分配殘基編號之方法已成為本領域中之標準，且容易鑒別不同抗體同型之恆定區中之等效位置處的胺基酸。

1. 輕鏈之恆定區

【0089】 如上文所指示，抗體之各輕鏈含有可變域(「**VL**」)及恆定域(「**CL**」)。

【0090】 較佳 CL 域為人類 IgG CL κ 域。示範性人類 CL κ 域之胺基酸序列為 (SEQ ID NO:69)：

RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG
NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK
SFNRGEC

【0091】 或者，示範性 CL 域為人類 IgG CL λ 域。示範性人類 CL λ 域之胺基酸序列為 (SEQ ID NO:70)：

QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA
GVETTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP
TECS

2. 重鏈之恆定區

a. 天然存在之 Fc 區

【0092】 如本文所提供，本發明之免疫共軛物可包含 Fc 區。本發明之此類免

疫共軛物之 Fc 區可為任何同型(例如, IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4)。本發明之免疫共軛物可進一步包含 CH1 域及/或鉸鏈區。當存在時, CH1 域及/或鉸鏈區可為任何同型(例如, IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4), 且較佳為與所要 Fc 區相同的同型。

【0093】 本發明之含 Fc 區之免疫共軛物之 Fc 區可為完整 Fc 區(例如, 完整 IgG Fc 區)或僅為 Fc 區之片段。視情況, 本發明之含 Fc 區之免疫共軛物之 Fc 區缺乏 C 端離胺酸胺基酸殘基。

【0094】 抗體之兩條重鏈之 CH1 域與抗體輕鏈之「CL」恆定區複合, 且經由介入鉸鏈域連接至重鏈 CH2 域。

【0095】 示範性 CH1 域為人類 IgG1 CH1 域。示範性人類 IgG1 CH1 域之胺基酸序列為(SEQ ID NO:71) :

ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHNKPS NTKVDKRV

【0096】 示範性 CH1 域為人類 IgG2 CH1 域。示範性人類 IgG2 CH1 域之胺基酸序列為(SEQ ID NO:72) :

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVNHNKPS NTKVDKTV

【0097】 示範性 CH1 域為人類 IgG4 CH1 域。示範性人類 IgG4 CH1 域之胺基酸序列為(SEQ ID NO:73) :

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVNHNKPS NTKVDKRV

【0098】 一個示範性鉸鏈區為人類 IgG1 鉸鏈區。示範性人類 IgG1 鉸鏈區之胺基酸序列為(SEQ ID NO:74) : EPKSCDKTHTCPPCP。

【0099】 另一示範性鉸鏈區為人類 IgG2 鉸鏈區。示範性人類 IgG2 鉸鏈區之

胺基酸序列為(SEQ ID NO:75)：ERKCCVECPCP。

【0100】 另一示範性鉸鏈區為人類 IgG4 鉸鏈區。示範性人類 IgG4 鉸鏈區之胺基酸序列為(SEQ ID NO:76)：ESKYGPPCPSCP。如上文所述，IgG4 鉸鏈區可包含穩定化突變，諸如 S228P 取代。示範性穩定化 IgG4 鉸鏈區之胺基酸序列為(SEQ ID NO:77)：ESKYGPPCPPCP。

【0101】 抗體之兩條重鏈之 CH2 及 CH3 域相互作用以形成「Fc 區」，其為由細胞「Fc 受體」(包括但不限於 Fcγ 受體(「FcγR」))識別之域。如本文所使用，術語「Fc 區」用於定義 IgG 重鏈之包含該鏈之 CH2 及 CH3 域的 C 端區。若 Fc 區之胺基酸序列相對於其他 IgG 同型與一 IgG 同型之同源性最高，則稱該 Fc 區為特定 IgG 同型、類別或子類。

【0102】 示範性人類 IgG1 之 CH2-CH3 域之胺基酸序列為(SEQ ID NO:1)：

231	240	250	260	270	280
APELLGGPSV FLFPKPKET LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD					
290	300	310	320	330	
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA					
340	350	360	370	380	
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPDSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE					
390	400	410	420	430	
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE					
440	447				
ALHNHYTQKS LSLSPGX					

如藉由如 Kabat 所闡明之 EU 索引所編號，其中 X 為離胺酸(K)或不存在。

【0103】 示範性人類 IgG2 之 CH2-CH3 域之胺基酸序列為(SEQ ID NO:2)：

231 240 250 260 270 280
APPVA-GPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD

 290 300 310 320 330
GVEVHNAKTK FREEQFNSTF RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA

 340 350 360 370 380
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDISVE

 390 400 410 420 430
WESNGQPENN YKTPPEMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE

 440 447
ALHNHYTQKS LSLSPGX

如藉由如 Kabat 所闡明之 EU 索引所編號，其中 **X** 為離胺酸(K)或不存在。

【0104】 示範性人類 IgG3 之 CH2-CH3 域之胺基酸序列為(SEQ ID NO:3)：

231 240 250 260 270 280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFKWYVD

 290 300 310 320 330
GVEVHNAKTK FREEQYNSTF RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA

 340 350 360 370 380
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

 390 400 410 420 430
WESSGQPENN YNTTPPEMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NIFSCSVMHE

 440 447
ALHNRFTQKS LSLSPGX

如藉由如 Kabat 所闡明之 EU 索引所編號，其中 **X** 為離胺酸(K)或不存在。

【0105】 示範性人類 IgG4 之 CH2-CH3 域之胺基酸序列為(SEQ ID NO:4)：

231 240 250 260 270 280
APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD

 290 300 310 320 330
GVEVHNAKTK FREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS

 340 350 360 370 380
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

 390 400 410 420 430
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE

 440 447
ALHNHYTQKS LSLSLGX

如藉由如 Kabat 所闡明之 EU 索引所編號，其中 **X** 為離胺酸(K)或不存在。

【0106】 已經在抗體恆定區(例如，Fc 位置，包括但不限於如藉由如 Kabat 所闡明之 EU 索引所編號的位置 270、272、312、315、356 及 358)內的眾多不同位置處觀察到多形性，且因此所呈現之序列與現有技術之序列之間可存在輕微差異。人類免疫球蛋白之多形性形式已經良好表徵。目前，已知 18 個 Gm 同種異型：G1m (1、2、3、17)或 G1m (a、x、f、z)、G2m (23)或 G2m (n)、G3m (5、6、10、11、13、14、15、16、21、24、26、27、28)或 G3m (b1、c3、b3、b0、b3、b4、s、t、g1、c5、u、v、g5) (Lefranc, 等人, 「The Human IgG Subclasses: Molecular Analysis of Structure, Function And Regulation.」 Pergamon, Oxford,第 43-78 頁 (1990)；Lefranc, G. 等人, 1979, Hum. Genet.: 50, 199-211)。具體考慮，本發明之抗體可併入任何免疫球蛋白基因之任何同種異型、同族同種異型(isoallotype)或單倍型，且不限於本文所提供之序列之同種異型、同族同種異型或單倍型。此外，在一些表現系統中，CH3 域之 C 端胺基酸殘基(上文加粗)可經轉譯後移除。因此，CH3 域之 C 端殘基為本發明之免疫共軛物中之可選胺基酸殘基。本發明具體涵蓋缺乏 CH3 域之 C 端殘基的免疫共軛物。本發明亦具體涵蓋包含 CH3 域之 C 端離胺酸殘基之此類構築體。

b. Fc γ 受體(Fc γ R)

【0107】 在傳統免疫功能中，抗體-抗原複合物與免疫系統細胞之相互作用導致一系列廣泛的反應，其範圍為從效應功能(諸如抗體依賴性細胞毒性、肥大細胞去顆粒及吞噬作用)至諸如調控淋巴球增殖及抗體分泌之免疫調節訊息。所有此等相互作用皆透過抗體或免疫複合物之 Fc 區與造血細胞上之特化細胞表面受體且特別是與見於多種類型的免疫系統細胞(例如，B 淋巴球、濾泡樹狀細胞、自然殺手細胞、巨噬細胞、嗜中性球、嗜酸性球、嗜鹼性球及肥大細胞)之表面上的受體(單一地稱為「Fc γ 受體」「Fc γ R」，且共同稱為「Fc γ R」)之結合來起始。

【0108】 由抗體及免疫複合物觸發的細胞反應之多樣性係由以下三種 Fc 受體之結構異質性引起：Fc γ RI (CD64)、Fc γ RII (CD32)及 Fc γ RIII (CD16)。Fc γ RI (CD64)、Fc γ RIIA (CD32A)及 Fc γ RIII (CD16)為活化的(亦即，免疫系統增強)受體；Fc γ RIIB (CD32B)為抑制性(亦即，免疫系統阻抑)受體。另外，與新生兒 Fc 受體(FcRn)之相互作用介導 IgG 分子自胞內體循環至細胞表面且釋放至血液中。上文呈現示範性野生型 IgG1 (SEQ ID NO:1)、IgG2 (SEQ ID NO:2)、IgG3 (SEQ ID NO:3)及 IgG4 (SEQ ID NO:4)之胺基酸序列。

【0109】 不同 Fc γ R 介導完全相反功能之能力反映不同的 Fc γ R 之間的結構差異，且特別反映結合的 Fc γ R 是具有基於免疫受體酪胺酸之活化模體(「ITAM」)還是具有基於免疫受體酪胺酸之抑制模體(「ITIM」)。此等結構募集不同的細胞質酶決定 Fc γ R 介導之細胞反應之結果。含 ITAM 之 Fc γ R 包括 Fc γ RI、Fc γ RIIA、Fc γ RIIIA，且當結合至 Fc 區(例如，存在於免疫複合物中之聚集的 Fc 區)時活化免疫系統。Fc γ RIIB 為當前唯一已知的天然含 ITIM 之 Fc γ R；其在結合至聚集的 Fc 區時發揮作用以阻抑或抑制免疫系統。人類嗜中性球表現 Fc γ RIIA 基因。經由免疫複合物或特異性抗體交聯進行的 Fc γ RIIA 聚集用於使 ITAM 與促進 ITAM

磷酸化之受體相關激酶聚集。ITAM 磷酸化用作 Syk 激酶之停泊位點(docking site)，該 Syk 激酶之活化導致下游受質(例如， PI_3K)之活化。細胞活化導致促炎性介質之釋放。Fc γ RIIB 基因在 B 淋巴球上表現；其細胞外域與 Fc γ RIIA 96%一致，且以不可區分方式結合 IgG 複合物。ITIM 在 Fc γ RIIB 之細胞質域中之存在限定 Fc γ R 之此抑制性子類。最近確立了此抑制之分子基礎。當連同活化 Fc γ R 一起共連接時，Fc γ RIIB 中之 ITIM 變為磷酸化的，且吸引肌醇多磷酸 5'-磷酸酶(SHIP)之 SH2 域，該肌醇多磷酸 5'-磷酸酶水解由於含 ITAM 之 Fc γ R 介導之酪胺酸激酶活化而釋放的磷酸肌醇傳訊者，因此防止細胞內 Ca^{++} 流入。因此，Fc γ RIIB 之交聯阻抑對 Fc γ R 連接之活化反應且抑制細胞反應性。B 細胞活化、B 細胞增殖及抗體分泌因此被中止。

c. 變異體 Fc 區

【0110】 Fc 區之修飾可導致表型改變，例如血清半衰期改變、穩定性改變、對細胞酶之易感性改變或效應功能改變。因此，可能需要關於效應功能修飾本發明之含 Fc 區之分子，例如以增強此類分子在治療癌症方面之有效性。在某些情況下，例如在作用機制涉及阻斷或拮抗作用但不殺傷帶有靶抗原之細胞的抗體之情況下，需要減少或消除效應功能。當針對以低水準表現 Fc γ R 的非所要細胞(諸如腫瘤及外來細胞，例如具有低水準 Fc γ RIIB 之腫瘤特異性 B 細胞(例如，非何傑金氏淋巴瘤、CLL 及柏基特氏淋巴瘤))時，效應功能增加一般為所要的。具有此類經賦予或改變之效應功能活性之本發明之免疫共軛物可用於治療及/或預防需要增強的效應功能活性之功效的疾病、病症或感染。

【0111】 因此，在某些實施例中，本發明之含 Fc 區之免疫共軛物之 Fc 區可為經工程改造之變異體 Fc 區。儘管本發明之免疫共軛物之 Fc 區可具有結合至一或多種 Fc 受體(例如，Fc γ R)之能力，但是更佳的是，此類變異體 Fc 區與 Fc γ RIA (CD64)、Fc γ RIIA (CD32A)、Fc γ RIIB (CD32B)、Fc γ RIIIA (CD16a)或 Fc γ RIIIB

(CD16b)之結合(相對於由野生型 Fc 區展現之結合)改變，*例如*，與活化受體之結合將增強及/或結合至抑制性受體之能力實質上降低或無能力。因此，本發明之免疫共軛物之 Fc 區可包括完整 Fc 區之一些或全部 CH2 域及/或一些或全部 CH3 域，或可包含變異體 CH2 及/或變異體 CH3 序列(其可相對於完整 Fc 區之 CH2 或 CH3 域包括例如一或多個插入及/或一或多個缺失)。此類 Fc 區可包含非 Fc 多肽部分，或可包含非天然完整 Fc 區之部分，或可包含 CH2 及/或 CH3 域之非天然存在之取向(諸如，*例如*兩個 CH2 域或兩個 CH3 域，或在 N 端至 C 端方向上，CH3 域鍵聯至 CH2 域等)。

【0112】 鑒別為改變效應功能之 Fc 區修飾為此項技術中已知的，包括增加與活化受體(*例如*，FcγRIIA (CD16A)之結合且降低與抑制性受體(*例如*，FcγRIIB (CD32B)之結合的修飾(參見，*例如*，Stavenshagen, J.B. 等人 (2007)「Fc Optimization Of Therapeutic Antibodies Enhances Their Ability To Kill Tumor Cells In Vitro And Controls Tumor Expansion In Vivo Via Low-Affinity Activating Fcγgamma Receptors,」Cancer Res. 57(18):8882-8890)。表 1 列出增加與活化受體之結合及/或降低與抑制性受體之結合的示範性修飾之示範性單一、雙重、三重、四重及五重取代(編號為如 Kabat 中之 EU 索引之編號，且取代係相對於胺基酸序列 **SEQ ID NO:1**)。

表 1 較佳活化 Fc 區之變化			
單一位點變化			
F243L	R292G	D270E	R292P
Y300L	P396L		
雙重位點變化			
F243L 及 R292P	F243L 及 Y300L	F243L 及 P396L	R292P 及 Y300L
D270E 及 P396L	R292P 及 V305I	P396L 及 Q419H	P247L 及 N421K
R292P 及 P396L	Y300L 及 P396L	R255L 及 P396L	R292P 及 P305I
K392T 及 P396L			
三重位點變化			
F243L、P247L 及 N421K		P247L、D270E 及 N421K	
F243L、R292P 及 Y300L		R255L、D270E 及 P396L	
F243L、R292P 及 V305I		D270E、G316D 及 R416G	
F243L、R292P 及 P396L		D270E、K392T 及 P396L	

表 1 較佳活化 Fc 區之變化	
F243L、Y300L 及 P396L	D270E、P396L 及 Q419H
V284M、R292L 及 K370N	R292P、Y300L 及 P396L
四重位點變化	
L234F、F243L、R292P 及 Y300L	F243L、P247L、D270E 及 N421K
L234F、F243L、R292P 及 Y300L	F243L、R255L、D270E 及 P396L
L235I、F243L、R292P 及 Y300L	F243L、D270E、G316D 及 R416G
L235Q、F243L、R292P 及 Y300L	F243L、D270E、K392T 及 P396L
P247L、D270E、Y300L 及 N421K	F243L、R292P、Y300L 及 P396L
R255L、D270E、R292G 及 P396L	F243L、R292P、V305I 及 P396L
R255L、D270E、Y300L 及 P396L	F243L、D270E、P396L 及 Q419H
D270E、G316D、P396L 及 R416G	
五重位點變化	
L235V、F243L、R292P、Y300L 及 P396L	F243L、R292P、V305I、Y300L 及 P396L
L235P、F243L、R292P、Y300L 及 P396L	

【0113】 與 CD32B 之結合降低及/或與 CD16A 之結合增加的人類 IgG1 Fc 區之示範性變異體含有 F243L、R292P、Y300L、V305I 或 P396L 取代，其中編號為如 Kabat 中之 EU 索引之編號。此等胺基酸取代可以任何組合存在於人類 IgG1 Fc 區中。在一個實施例中，變異體人類 IgG1 Fc 區含有 F243L、R292P 及 Y300L 取代。在另一實施例中，變異體人類 IgG1 Fc 區含有 F243L、R292P、Y300L、V305I 及 P396L 取代。

【0114】 在某些實施例中，本發明之免疫共軛物之 Fc 區較佳展現與 FcγRIA (CD64)、FcγRIIA (CD32A)、FcγRIIB (CD32B)、FcγRIIIA (CD16a)或 FcγRIIIB (CD16b)之結合減少(或實質上無結合)(相對由野生型 IgG1 Fc 區(SEQ ID NO:1)所展現之結合)。在具體實施例中，本發明之免疫共軛物包含展現 ADCC 效應功能降低之 IgG Fc 區。在較佳實施例中，免疫共軛物之 CH2-CH3 域包括以下取代中之任何 1、2、3 或 4 者：L234A、L235A、D265A、N297Q 及 N297G，其中編號為如 Kabat 中之 EU 索引之編號。在另一實施例中，CH2-CH3 域含有 N297Q 取代、N297G 取代、L234A 及 L235A 取代或 D265A 取代，因為此等突變消除 FcR 結合。或者，利用固有地展現與 FcγRIIIA (CD16a)之結合減少(或實質上無

結合)及/或效應功能降低(相對於野生型 IgG1 Fc 區(SEQ ID NO:1)所展現之結合及效應功能))的天然存在之 Fc 區之 CH2-CH3 域。在具體實施例中，本發明之免疫共軛物包含 IgG2 Fc 區(SEQ ID NO:2)或 IgG4 Fc 區(SEQ ID:NO:4)。當利用 IgG4 Fc 區時，本發明亦涵蓋引入穩定化突變，諸如上文所述之鉸鏈區 S228P 取代(參見，例如，SEQ ID NO:77)。由於 N297G、N297Q、L234A、L235A 及 D265A 取代消除效應功能，所以在需要效應功能之情況下，較佳不採用此等取代。

【0115】 效應功能降低或消除的本發明之含 Fc 區之免疫共軛物之 CH2 及 CH3 域之較佳 IgG1 序列將包含取代 L234A/L235A (加下劃線示出)(SEQ ID NO:78)：

AFEEAAGGPSV FLFPKPKET LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPFSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPEVLES DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPGX

其中，X 為離胺酸(K)或不存在。

【0116】 本發明之含 Fc 區之免疫共軛物之 CH2 及 CH3 域之第二較佳 IgG1 序列包含 S442C 取代(加下劃線示出)，S442C 取代容許兩個 CH3 域經由二硫鍵彼此共價鍵結或醫藥藥劑之共軛。此類分子之胺基酸序列為(SEQ ID NO:79)：

AFELLGGPSV FLFPKPKET LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLT|VLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPFSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

WESNGQPENN YKTTPEVLES DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LCLSPGX

其中，X 為離胺酸(K)或不存在。

【0117】 本發明之含 Fc 區之免疫共軛物之 CH2 及 CH3 域之第三較佳 IgG1 序列包含 L234A/L235A 取代(加下劃線示出)及 S442C 取代(加下劃線示出)，L234A/L235A 取代降低或消除效應功能，S442C 取代容許兩個 CH3 域經由二硫鍵彼此共價鍵結或醫藥藥劑之共軛。此類分子之胺基酸序列為(SEQ ID

NO:80) :

APEAAGGPSV FLEPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVVDVSHED PEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
 PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
 ALHNHYTQKS LCLSPGX

其中，**X** 為離胺酸(K)或不存在。

【0118】 包含 Fc 區之蛋白質之血清半衰期可藉由增加 Fc 區對 FcRn 之結合親和力來增加。如本文所使用之術語「半衰期」意指分子之藥物動力學性質，其為分子在其投與之後的平均存活時間之量度。半衰期可表示為自受試者(例如，人類患者或其他哺乳動物)體內或其具體區室中消除百分之五十(50%)已知量的分子所需之時間，例如，如在血清中(亦即循環半衰期)或在其他組織中所量測。一般而言，半衰期之增加導致經投與分子在循環中之平均停留時間(MRT)之增加。

【0119】 在一些實施例中，本發明之免疫共軛物包含變異體 Fc 區，該變異體 Fc 區相對於野生型 Fc 區包含至少一個胺基酸修飾，使得該分子之半衰期增加(相對於包含野生型 Fc 區之分子)。在一些實施例中，本發明之免疫共軛物包含變異體 IgG Fc 區，其中該變異體 Fc 區包含在選自由以下所組成之群組之一或多個位置處的半衰期延長胺基酸取代：238、250、252、254、256、257、256、265、272、286、288、303、305、307、308、309、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、428、433、434、435 及 436，其中編號為如 Kabat 中之 EU 索引之編號。能夠增加含 Fc 區之分子之半衰期的眾多突變為此項技術中已知的，且包括例如 M252Y、S254T、T256E 及其組合。例如，參見以下文獻中所述之突變：美國專利第 6,277,375 號、第 7,083,784 號；第 7,217,797 號、第 8,088,376 號；美國公開案第 2002/0147311 號；第 2007/0148164 號；及 PCT 公開案第 WO 98/23289 號；第 WO 2009/058492 號；及第 WO

2010/033279 號，該等文獻以全文引用之方式併入本文中。半衰期增強的免疫共軛物亦包括具有包含在 Fc 區殘基 250、252、254、256、257、288、307、308、309、311、378、428、433、434、435 及 436 中之二或更多者處的取代的變異體 Fc 區的免疫共軛物，其中編號為如 Kabat 中之 EU 索引之編號。特別地，二或更多個取代係選自：T250Q、M252Y、S254T、T256E、K288D、T307Q、V308P、A378V、M428L、N434A、H435K 及 Y436I，其中編號為如 Kabat 中之 EU 索引之編號。

【0120】 在具體實施例中，本發明之免疫共軛物具有包含以下取代之變異體 IgG Fc 區：

(A) M252Y、S254T 及 T256E；

(B) M252Y 及 S254T；

(C) M252Y 及 T256E；

(D) T250Q 及 M428L；

(E) T307Q 及 N434A；

(F) A378V 及 N434A；

(G) N434A 及 Y436I；

(H) V308P 及 N434A；或

(I) K288D 及 H435K。

【0121】 在較佳實施例中，本發明之免疫共軛物具有包含以下取代中之任何 1、2 或 3 者之變異體 IgG Fc 區：M252Y、S254T 及 T256E。本發明進一步涵蓋具有包含以下之變異體 Fc 區的免疫共軛物：

(A) 改變效應功能及/或 FcγR 之一或多個突變；及

(B) 延長血清半衰期之一或多個突變。

【0122】 本發明之含 Fc 區之免疫共軛物之 CH2 及 CH3 域之第四較佳 IgG1

序列包含 M252Y、S254T 及 T256E 取代(加下劃線示出)，以便延長血清半衰期。

此類分子之胺基酸序列為(SEQ ID NO:147)：

APELLGGPSV FLFPPKPKDT LYITREPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK FREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPEVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSV MHE
ALHNHYTQKS LSLSPGX

其中，X 為離胺酸(K)或不存在。

【0123】 本發明之含 Fc 區之免疫共軛物之 CH2 及 CH3 域之第五較佳 IgG1 序列包含 M252Y、S254T 及 T256E 取代(加下劃線示出)以便延長血清半衰期，且包含 S442C 取代(加下劃線示出)，以便容許兩個 CH3 域經由二硫鍵彼此共價鍵結或容許藥物部分之共軛。此類分子之胺基酸序列為(SEQ ID NO: 148)：

APELLGGPSV FLFPPKPKET LYITREPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK FREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPEVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSV MHE
ALHNHYTQKS LCLSPGX

其中，X 為離胺酸(K)或不存在。

【0124】 本發明之含 Fc 區之免疫共軛物之 CH2 及 CH3 域之第六較佳 IgG1 序列包含降低或消除效應功能之 L234A/L235A 取代(加下劃線示出)，以及 M252Y、S254T 及 T256E 取代(加下劃線示出)，以便延長血清半衰期。此類分子之胺基酸序列為(SEQ ID NO: 149)：

APEAAGGPSV FLFPPKPKDT LYITREPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK FREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPEVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSV MHE
ALHNHYTQKS LSLSPGX

其中，X 為離胺酸(K)或不存在。

【0125】 本發明之含 Fc 區之免疫共軛物之 CH2 及 CH3 域之第七較佳 IgG1 序列包含降低或消除效應功能之 L234A/L235A 取代(加下劃線示出)，以及

M252Y、S254T 及 T256E 取代(加下劃線示出)以便延長血清半衰期，以及 S442C 取代(加下劃線示出)，以便容許兩個 CH3 域經由二硫鍵彼此共價鍵結或容許藥物部分之共軛。此類分子之胺基酸序列為(SEQ ID NO:150)：

APEAAGGPSV FLFPKPKDT LYITREPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK FREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPEVLDS DGSEFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LCLSPGX

其中，X 為離胺酸(K)或不存在。

II. 示範性抗 ADAM9 抗體

【0126】 本發明提供能夠特異性結合至 ADAM9、可用於產生本發明之免疫共軛物之特定抗體及其抗原結合片段。

【0127】 代表性人類 ADAM9 多肽(NCBI 序列 NP_003807，包括加下劃線示出之 28 個胺基酸殘基訊息序列)具有胺基酸序列(SEQ ID NO:5)：

MGSGARFPSG TLRVRWLLLL GLVGPVLGAA RPFQQTSHL SSYEIITPWR
LTRERREAPR PYSKQVSYVI QAEQKEHIIH LERNKDLLPE DFWVYTYNKE
GTLITDHPNI QNHCHYRGYV EGVHNSIAL SDCFGLRGLL HLENASYGIE
PLQNSSHFEH IIYRMDDVYK EPLKCGVSNK DIEKETAKDE EEEPPSMTQL
LRRRRRAVLPO TRYVELFIVV DKERYDMMGR NQTAVREEMI LLANYLDSMY
IMLNIRIVLV GLEIWTNGNL INIVGGAGDV LGNEVQWREK FLITRRRHDS
AQLVLKKGFG GTAGMAFVGT VCSRSHAGGI NVFGQITVET FASIVAHEL
HNLGMNHDDG RDCSCGAKSC IMNSGASGSR NFSSCSAEDF EKLTLNKGGN
CLLNIPKPDE AYSAPSCGNK LVDAGEECDG GTPKECELDG CCEGSTCKLK
SFAECAYGDC CKDCRFLPGG TLCRGKTSEC DVPEYCNGSS QFCQPDVFIQ
NGYPCQNNKA YCYNGMCQYY DAQCQVIFGS KAKAAPKDCF IEVNSKGDRF
GNCGFSGNEY KKCATGNALC GKLOCEVQIE IPVFGIVPAI IQTPSRGTRK
WGVDFQLGSD VPDPGMVNEG TKCGAGKICR NFQCVDAVL NYDCDVQKKC
HGHGVCNSNK NHCENGWAP PNCETKGYGG SVDSGPTYNE MNTALRDGLL
VFFFLIVPLI VCAIFIFIKR DQLWRSYFRK KRSQTYESDG KNQANPSRQP
GSVPRHVSPV TTPREVPIYA NRFAVPTYAA KQPQQFPSRP PPEQPKVSSQ
GNLIPARPAP APPLYSSLT

在 ADAM9 之 819 個胺基酸殘基(SEQ ID NO:5)中，殘基 1-28 為訊息序列，殘基 29-697 為細胞外域，殘基 698-718 為跨膜域，且殘基 719-819 為細胞內域。三個結構域位於以下細胞外域內：蛇毒金屬蛋白酶(Reprolysin) (M12B)家族鋅金屬蛋

白酶域(在約殘基 212-406 處);解整合素域(在約殘基 423-497 處);及類 EGF 域(在約殘基 644-697 處)。已鑒別出眾多轉譯後修飾及同功型，且蛋白質在其到達細胞膜以產生成熟蛋白質之前在高基氏體成熟面網(trans-Golgi network)中經蛋白水解裂解。前域(pro-domain)之移除經由在兩個不同位點處之裂解發生。最可能由前蛋白轉化酶(諸如弗林蛋白酶)在前域與催化域之間的邊界(Arg-205/Ala-206)處進行加工。另外的上游裂解前蛋白轉化酶位點(Arg-56/Glu-57)在 ADAM9 之活化中具有重要作用。

【0128】 代表性食蟹獼猴 ADAM9 多肽(NCBI 序列 XM_005563126.2，包括加下劃線示出之可能的 28 個胺基酸殘基訊息序列)具有胺基酸序列(SEQ ID NO:6)：

<u>M</u> GS <u>G</u> VGS <u>P</u> SG	<u>T</u> LR <u>V</u> R <u>W</u> LL <u>L</u> LL	<u>C</u> LV <u>G</u> PV <u>L</u> GAA	RPGEQQTSHL	SSYEIITPWR
LTRERREAPR	PYSKQVSYLI	QAEGKEHIIH	LERNKDLLPE	DFVVYTYNKE
GTVITDHPNI	QNHCHFRGYV	EGVYNSSVAL	SNCFGLRGLL	HLENASYGIE
PLQNSSHFEH	IIYRMDDVHK	EPLKCGVSNK	DIEKETTKDE	EEPPPSMTQL
LRRRRRAVLPO	TRYVELFIVV	DKERYDMMGR	NQTAVREEMI	LLANYLDSMY
IMLNIRIVLV	GLEIWTNGNL	INIAGGAGDV	LGNEVQWREK	FLITRRRHDS
AQLVLKKGFG	GTAGMAFVGT	VCSRSHAGGI	NVFGHITVET	FASIVAHEL
HNLGMNHDDG	RDCSCGAKSC	IMNSGASGSR	NFSSCSAEDF	EKLTLNKGGN
CLLNIPKPDE	AYSAPSCGNK	LVDAGEECD	GTPKECELD	CCEGSTCKLK
SFAECAYGDC	CKDCRFLPGG	TLCRGKTSEC	DVPEYCNGSS	QFCQPDVFIQ
NGYPCQNNKA	YCYNGMCQYY	DAQCQVIFGS	KAKAAPKDCF	IEVNSKGRF
GNCGFSGNEY	KKCATGNALC	GKLQCENVQE	IPVFGIVPAI	IQTSPSRGTKC
WGVDVQLGSD	VPDPGMVNEG	TKCGADKICR	NFQCVDASVL	NYDCDIQKKC
HGHGVCNSNK	NCHCENGWAP	PNCETKGYGG	SVDSGPTYNE	MNTALRDGLL
VFFFLIVPLI	VCAIFIFIKR	DQLWRRYFRK	KRSQTYESDG	KNQANPSRQP
VSVPRHVSPV	TPPREVPIYA	NREFVPTYAA	KQPQQFPSRP	PPEQPKVSSQ
GNLIPARPA	APPLYSSLT			

蛋白質之蛇毒金屬蛋白酶(M12B)家族鋅金屬蛋白酶域在約殘基 212-406 處；蛋白質之解整合素域在約殘基 423-497 處。

【0129】 在某些實施例中，本發明之抗 ADAM9 抗體及其 ADAM9 結合片段之特徵在於以下準則中之任何一、二、三、四、五、六、七、八或九者：

(1) 免疫特異性結合如癌細胞表面上所內源性表現之人類 ADAM9 之能力；

- (2) 以類似結合親和力特異性結合人類及非人類靈長類 ADAM9(例如，食蟹獼猴之 ADAM9)；
- (3) 以 4 nM 或更小的平衡結合常數(K_D)特異性結合人類 ADAM9；
- (4) 以 4 nM 或更小的平衡結合常數(K_D)特異性結合非人類靈長類 ADAM9；
- (5) 以 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$ 或更大的締合速率(k_a)特異性結合人類 ADAM9；
- (6) 以 $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$ 或更大的締合速率(k_a)特異性結合非人類靈長類 ADAM9；
- (7) 以 $1 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ 或更小的解離速率(k_d)特異性結合人類 ADAM9；
- (8) 以 $9 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ 或更小的解離速率(k_d)特異性結合非人類靈長類 ADAM9。
- (9) 經最佳化以相較於嵌合或鼠親代抗體與 cynoADAM9 之結合親和力(例如，如藉由 BIACORE®分析所量測)有至少 100 倍增強(例如，至少 100 倍、至少 150 倍、至少 200 倍、至少 250 倍、至少 300 倍、至少 350 倍、至少 400 倍、至少 450 倍、至少 500 倍、至少 550 倍或至少 600 倍增強)，並保留與人類 ADAM9 的高親和力結合(例如，BIACORE®分析)。

【0130】 如本文所述，抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段之結合常數可使用表面電漿共振例如經由 BIACORE®分析來判定。可將表面電漿共振資料擬合至 1:1 朗繆耳(Langmuir)結合模型(同時 k_a k_d)，且自速率常數之比 k_d/k_a 計算平衡結合常數 K_D 。可判定單價抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段(亦即，包含單個 ADAM9 抗原決定基結合位點之分子)、二價抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段(亦即，包含兩個 ADAM9 抗原決定基結合位點之分子)或具有更高價之抗 ADAM9 抗體及其 ADAM9 結合片段(例如，包含三、四或更多個 ADAM9 抗原決定基結合位點之分子)之此類結合常數。

【0131】 本發明特別涵蓋具有抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段之免疫共軛物，該抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含免疫特異性結合至人類 ADAM9 多肽之抗原決定基的抗 ADAM9 輕鏈可變(VL)域及抗 ADAM9 重鏈可變

(VL)域。除非另外說明，否則所有此類抗 ADAM9 抗體及其 ADAM9 結合片段皆能夠免疫特異性結合至人類 ADAM9。如本文所使用，此類 ADAM9 可變域分別稱為「抗 ADAM9-VL」及「抗 ADAM9-VH」。

A. 鼠抗人類 ADAM9 抗體

【0132】 已鑒別出阻斷 ADAM9 之靶蛋白加工活性、經內化且具有抗腫瘤活性的鼠抗 ADAM9 抗體(參見，*例如*，美國專利第 8,361,475 號)。此抗體在美國專利第 7,674,619 號及第 8,361,475 號中定名為由融合瘤殖株 ATCC PTA-5174 產生之「抗 KID24」抗體，在本文中定名為「**MAB-A**」。MAB-A 展現出優於正常組織的與腫瘤之強優先結合(參見圖 7A-7C)。MAB-A 跨大量正常細胞類型展現極少或無染色(表 2)。

表 2	
組織	MAB-A(1.25 µg/mL)
腎上腺	陰性
膀胱	陰性
骨髓	陰性
乳房	陰性
小腦	陰性
大腦	ND
子宮頸	陰性
結腸	陰性
食道	平滑肌+/-至 1+ (gr c) <5%
輸卵管(Ovaduct)	陰性
心臟	陰性
腎	陰性
肝	陰性
肺	陰性
淋巴結	陰性
卵巢	陰性

表 2	
組織	MAB-A(1.25 µg/mL)
胰腺	非常罕見(可能為腺泡性) 1+ (c)
副甲狀腺	上皮實質細胞 1+ (gr c) , 1% 細胞(偏主細胞) 2+ (m,c)5% 1+ (m,c) 10% 主要為頂端
垂體	後葉細胞(可能為神經細胞及/或垂體細胞 1+ (c>m) <5%
胎盤	絨毛膜板內之血管襯裡細胞(Vascular lining cell) 1+ (gr c>m) 絨毛膜板之間葉細胞 1-2+ (gr c),5%
前列腺	腺上皮 2+ (gr c)5%及 1+ (gr c) 5%
視網膜+睫狀體	偏陰性(色素上皮層 3-4+ (gr c) , 由於色素未染色)
頷下腺	導管上皮+/- (c) 10%
骨骼肌	陰性
皮膚	陰性
小腸	陰性
脊髓	神經纖維網 1+ (gr c) <1%
脾	陰性
胃	陰性
睪丸	細精管 1+ (gr c) <5% 間質細胞(可能為萊氏細胞)2-3+ (gr c) <5%及 1+ (gr c) 10%
甲狀腺	陰性
扁桃腺	內皮細胞 2-3+ (c,m) <5%及 1+ (m,c) 15%
輸尿管	移行上皮 1+ (m,c) <5%及 1+ (m,c) 5% ; 內皮細胞 1+ (c) <5%
子宮	陰性
A498 細胞團塊	2-3+ (m,c) , 50% , 1+ (m,c) 45%

【0133】 如圖 2 中所示，MAB-A 以高親和力結合人類 ADAM9，但在較低程度上結合非人類靈長類(例如，食蟹獼猴) ADAM9。

【0134】 下文提供 MAB-A 之 VL 及 VH 域之胺基酸序列。將 MAB-A 之 VH 及 VL 域人源化，並將 CDR 經最佳化以改善親和力及/或去除潛在的胺基酸不利

條件。將 CDR_H3 經進一步最佳化以增強與非人類靈長類 ADAM9 之結合，同時維持其對人類 ADAM9 之高親和力。

【0135】 本發明之較佳免疫共軛物包含 MAB-A 之經最佳化變異體之 VH 域之 1、2 或全部 3 個 CDR_H 及/或 VL 域之 1、2 或全部 3 個 CDR_L，且較佳進一步具有人源化 MAB-A 之 VH 及/或 VL 域之人源化架構區(「FR」)。本發明之其他較佳免疫共軛物具有 MAB-A 之人源化/經最佳化變異體之整個 VH 及/或 VL 域。

【0136】 本發明特別關於包含以下之免疫共軛物：

- (A) (1) MAB-A 之 VH 域之三 CDR_H；及
- (2) MAB-A 之人源化變異體之 VH 域之四個 FR；或
- (B) (1) MAB-A 之 VL 域之三 CDR_L；及
- (2) MAB-A 之人源化變異體之 VL 域之四個 FR；或
- (C) MAB-A 之經最佳化變異體之 VH 域之三 CDR_H；及 MAB-A 之 VL 域之三 CDR_L；或
- (D) MAB-A 之 VH 域之三 CDR_H；及經最佳化變異體 MAB-A 之 VL 域之三 CDR_L；或
- (E) MAB-A 之經最佳化變異體之 VH 域之三 CDR_H；及經最佳化 MAB-A 之 VL 域之三 CDR_L；或
- (F) (1) MAB-A 之經最佳化變異體之 VH 域之三 CDR_H；及
- (2) MAB-A 之人源化變異體之 VH 域之四個 FR；或
- (G) (1) MAB-A 之經最佳化變異體之 VL 域之三 CDR_L；及
- (2) MAB-A 之人源化變異體之 VL 域之四個 FR；或
- (H) (1) MAB-A 之人源化/經最佳化變異體之 VH 域；及
- (2) MAB-A 之人源化/經最佳化變異體之 VL 域。鼠抗體「MAB-A」

【0137】 鼠抗 ADAM9 抗體 MAB-A 之 VH 域之胺基酸序列為 SEQ ID NO:7

(CDR_H殘基經加下劃線示出)：

QVQLQQPGAE LVKPGASVKL SCKASGYTFT SYWMHWVKQR PGQGLEWIGE
IIIPINGHTNY NEKFKSKATL TLDKSSSTAY MQLSSLASED SAVYYCARGG
YYYYGSRDYF DYWGQGTTLT VSS

【0138】 MAB-A 之 CDR_{H1} 域之胺基酸序列為(SEQ ID NO:8)：SYWMH。

【0139】 MAB-A 之 CDR_{H2} 域之胺基酸序列為(SEQ ID NO:9)：
EIIPINGHTNYNEKFKS。

【0140】 MAB-A 之 CDR_{H3} 域之胺基酸序列為(SEQ ID NO:10)：
GGYYYYGSRDYFDY。

【0141】 鼠抗 ADAM9 抗體 MAB-A 之 VL 域之胺基酸序列為 SEQ ID NO:11
(CDR_L殘基經加下劃線示出)：

DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKKASQSVD YDGDSYMNWY QQIPGQPPKL
LIYAAASDLES GIPARFSGSG SGTDFTLNIH PVEEEDAATY YCQQSHEDPF
TFGGGTKLEI K

【0142】 MAB-A 之 CDR_{L1} 域之胺基酸序列為(SEQ ID NO:12)：
KASQSVDYDGDSYMN。

【0143】 MAB-A 之 CDR_{L2} 域之胺基酸序列為(SEQ ID NO:13)：AASDLES。

【0144】 MAB-A 之 CDR_{L3} 域之胺基酸序列為(SEQ ID NO:14)：
QQSHEDPFT。

B. 示範性人源化/經最佳化抗 ADAM9-VH 及 VL 域

1. MAB-A 之變異體 VH 域

【0145】 MAB-A 之某些較佳人源化/經最佳化抗 ADAM9-VH 域之胺基酸序列
為 MAB-A 之 ADAM9-VH 域(SEQ ID NO:7)之變異體，且由 SEQ ID NO:15 表
示(CDR_H殘基經加下劃線示出)：

EVQLVESGGG	LVKPGGSLRL	SCAASGFTFS	<u>SYWX₁HWVRQA</u>
PGKGLEWVGE	<u>IIPIX₂GHTNY</u>	<u>NEX₃FX₄X₅RFTI</u>	SLDNSKNTLY
LQMGSRLRAED	TAVYYCARGG	<u>YYYYX₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁</u>	<u>DYWGQGT</u> TVT
VSS			

其中： X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 及 X_6 經獨立地選擇，

- 其中：
- X_1 為 M 或 I；
 - X_2 為 N 或 F；
 - X_3 為 K 或 R；
 - X_4 為 K 或 Q；
 - X_5 為 S 或 G，且
 - X_6 為 P、F、Y、W、I、L、V、T、G 或 D；

其中： X_7 、 X_8 、 X_9 、 X_{10} 及 X_{11} 經選擇使得：

- (A) 當 X_6 為 P 時：
 - X_7 為 K 或 R；
 - X_8 為 F 或 M；
 - X_9 為 G；
 - X_{10} 為 W 或 F；且
 - X_{11} 為 M、L 或 K；
- (B) 當 X_6 為 F、Y 或 W 時：
 - X_7 為 N 或 H；
 - X_8 為 S 或 K；
 - X_9 為 G 或 A；
 - X_{10} 為 T 或 V；且
 - X_{11} 為 M、L 或 K；
- (C) 當 X_6 為 I、L 或 V 時：
 - X_7 為 G；
 - X_8 為 K；
 - X_9 為 G 或 A；
 - X_{10} 為 V；且
 - X_{11} 為 M、L 或 K；
- (D) 當 X_6 為 T 時：
 - X_7 為 G；
 - X_8 為 K、M 或 N；
 - X_9 為 G；
 - X_{10} 為 V 或 T；且
 - X_{11} 為 L 或 M；
- (E) 當 X_6 為 G 時： 且
 - X_7 為 G；
 - X_8 為 S；
 - X_9 為 G；
 - X_{10} 為 V；且
 - X_{11} 為 L；
- (F) 當 X_6 為 D 時：
 - X_7 為 S；
 - X_8 為 N；
 - X_9 為 A；
 - X_{10} 為 V；且
 - X_{11} 為 L。

【0146】 MAB-A 之較佳人源化抗 ADAM9 VH 域之胺基酸序列：
hMAB-AVH(1) (SEQ ID NO:16)及 MAB-A 之某些較佳人源化/經最佳化抗
ADAM9-VH 域之胺基酸序列：

hMAB-A VH(2)	(SEQ ID NO:17)	hMAB-A VH(2D)	(SEQ ID NO:23)
hMAB-A VH(3)	(SEQ ID NO:18)	hMAB-A VH(2E)	(SEQ ID NO:24)
hMAB-A VH(4)	(SEQ ID NO:19)	hMAB-A VH(2F)	(SEQ ID NO:25)
hMAB-A VH(2A)	(SEQ ID NO:20)	hMAB-A VH(2G)	(SEQ ID NO:26)
hMAB-A VH(2B)	(SEQ ID NO:21)	hMAB-A VH(2H)	(SEQ ID NO:27)
hMAB-A VH(2C)	(SEQ ID NO:22)	hMAB-A VH(2I)	(SEQ ID NO:28)
and hMAB-A VH(2J) (SEQ ID NO:29)			

呈現於下文(CDR_H殘基以單下劃線示出；相對於 hMAB-A VH(1) (SEQ ID NO:7)

之差異以雙下劃線示出)。

hMAB-A VH(1) (SEQ ID NO:16):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPINGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYGSRDYF DYWGQGTTVT VSS

hMAB-A VH(2) (SEQ ID NO:17):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYGSRDYF DYWGQGTTVT VSS

hMAB-A VH(3) (SEQ ID NO:18):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NERFQGRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYGSRDYF DYWGQGTTVT VSS

hMAB-A VH(4) (SEQ ID NO:19):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWIHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NERFQGRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYGSRDYF DYWGQGTTVT VSS

hMAB-A VH(2A) (SEQ ID NO:20):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYFNSGTL DYWGQGTTVT VSS

hMAB-A VH(2B) (SEQ ID NO:21):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYIGKGVL DYWGQGTTVT VSS

hMAB-A VH(2C) (SEQ ID NO:22):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYPRFGWL DYWGQGTTVT VSS

hMAB-A VH(2D) (SEQ ID NO:23):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYTGKGVL DYWGQGTTVT VSS

hMAB-A VH(2E) (SEQ ID NO:24):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYDSNAVL DYWGQGTTVT VSS

hMAB-A VH(2F) (SEQ ID NO:25):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYFHSGTL DYWGQGTTVT VSS

hMAB-A VH(2G) (SEQ ID NO:26):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYFNKAVL DYWGQGTTVT VSS

hMAB-A VH(2H) (SEQ ID NO:27):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYGGSGVL DYWGQGTTVT VSS

hMAB-A VH(2D) (SEQ ID NO:28):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYPRQGFL DYWGQGTTVT VSS

hMAB-A VH(2J) (SEQ ID NO:29):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYYNSGTL DYWGQGTTVT VSS

【0147】 MAB-A 之人源化及/或經最佳化抗 ADAM9-VH 域之 FR 的合適胺基酸序列為：

FR_{H1} 域(SEQ ID NO:30)： EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS

FR_{H2} 域(SEQ ID NO:31)： WVRQAPGKGLEWVG

FR_{H3} 域(SEQ ID NO:32)： RFTISLDNSKNTLYLQMGSRAEDTAVYYCAR

FR_{H4} 域(SEQ ID NO:33)： WGQGTDTVTVSS

【0148】 抗 ADAM9-VH 域之 CDR_{H1} 域的合適替代性胺基酸序列包括：

SEQ ID NO:8： SYWMH

SEQ ID NO:34： SYWIH

【0149】 抗 ADAM9-VH 域之 CDR_{H2} 域的合適替代性胺基酸序列包括：

SEQ ID NO:9： EIIPINGHTNYNEKFKS

SEQ ID NO:35： EIPIFGHTNYNEKFKS

SEQ ID NO:36 : EIIPFGHTNYNERFQG

【0150】 抗 ADAM9-VH 域之 CDR_{H3} 域的合適替代性胺基酸序列包括：

SEQ ID NO:10 : GGYYYYGSRDYFDY

SEQ ID NO:37 : GGYYYYFNSGTLDY

SEQ ID NO:38 : GGYYYYIGKGVLDY

SEQ ID NO:39 : GGYYYYPRFGWLDY

SEQ ID NO:40 : GGYYYYTGKGVLDY

SEQ ID NO:41 : GGYYYYDSNAVLDY

SEQ ID NO:42 : GGYYYYFHSGTLDY

SEQ ID NO:43 : GGYYYYFNKAVLDY

SEQ ID NO:44 : GGYYYYGGSGVLDY

SEQ ID NO:45 : GGYYYYPRQGFLDY

SEQ ID NO:46 : GGYYYYNSGTLDY

【0151】 因此，本發明涵蓋具有包含以下之 VH 域之 ADAM9 結合分子：

(1) CDR_{H1} 域，其具有以下胺基酸序列：

SEQ ID NO:47 : SYWX₁H

其中：X₁ 為 M 或 I；

(2) CDR_{H2} 域，其具有以下胺基酸序列：

SEQ ID NO:48 : EIPIX₂GHTNYNEX₃FX₄X₅

其中：X₂、X₃、X₄ 及 X₅ 經獨立地選擇，且

其中：X₂ 為 N 或 F；X₃ 為 K 或 R；

X₄ 為 K 或 Q；且 X₅ 為 S 或 G。

且

(3) CDR_{H3} 域，其具有以下胺基酸序列：

SEQ ID NO:49 : GGYYYYX₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁DY

其中：X₆ 為 P、F、Y、W、I、L、V、T、G 或 D，且 X₇、X₈、X₉、X₁₀ 及 X₁₁

經選擇使得：

- (A) 當 X₆ 為 P 時：

 X₇ 為 K 或 R；

 X₈ 為 F 或 M；

 X₉ 為 G；

 X₁₀ 為 W 或 F；且

 X₁₁ 為 M、L 或 K；
- (B) 當 X₆ 為 F、Y 或 W 時：

 X₇ 為 N 或 H；

 X₈ 為 S 或 K；

 X₉ 為 G 或 A；

 X₁₀ 為 T 或 V；且

 X₁₁ 為 M、L 或 K；
- (C) 當 X₆ 為 I、L 或 V 時：

 X₇ 為 G；

 X₈ 為 K；

 X₉ 為 G 或 A；

 X₁₀ 為 V；且

 X₁₁ 為 M、L 或 K；
- (D) 當 X₆ 為 T 時：

 X₇ 為 G；

 X₈ 為 K、M 或 N；

 X₉ 為 G；

 X₁₀ 為 V 或 T；且

 X₁₁ 為 L 或 M；
- (E) 當 X₆ 為 G 時：

 X₇ 為 G；

 X₈ 為 S；

 X₉ 為 G；

 X₁₀ 為 V；且

 X₁₁ 為 L；
- (F) 當 X₆ 為 D 時：

 X₇ 為 S；

 X₈ 為 N；

 X₉ 為 A；

 X₁₀ 為 V；且

 X₁₁ 為 L。

【0152】 MAB-A 之衍生物/變異體之第一示範性人源化/經最佳化 IgG1 重鏈含

有 hMAB-AVH (2) 域(SEQ ID NO:17)，且具有以下胺基酸序列(SEQ ID NO:50)：

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSLRAED TAVYYCARGG
YYYYGSRDYF DYWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC
LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG
TQTYICNVNH KPSNTKVDKR VEPKSCDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP
PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PFVLESDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSL
PGX

其中 X 為離胺酸(K)或不存在。

【0153】 MAB-A 之衍生物/變異體之第二示範性人源化/經最佳化 IgG1 重鏈含

有 hMAB-AVH (2C) 域(SEQ ID NO:22)，且具有以下胺基酸序列(SEQ ID NO:51)：

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFCSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRLRAED TAVYYCARGG
YYYYPRFGWL DYWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC
LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG
TQTYICNVNH KPSNTKVDKR VEPKSCDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP
PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PFVLESDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSL
PGX

其中 X 為離胺酸(K)或不存在。

【0154】 MAB-A 之衍生物/變異體之第三示範性人源化/經最佳化 IgG1 重鏈含有 hMAB-AVH (2I)域(SEQ ID NO:28)，且具有以下胺基酸序列(SEQ ID NO:52)：

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFCSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRLRAED TAVYYCARGG
YYYYPRQGFL DYWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC
LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG
TQTYICNVNH KPSNTKVDKR VEPKSCDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP
PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PFVLESDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSL
PGX

其中 X 為離胺酸(K)或不存在。

【0155】 如上文所提供，Fc 區之 CH2-CH3 域可經工程改造例如以降低效應功能及/或引入共軛位點及/或延長血清半衰期。在某些實施例中，本發明之示範性人源化/經最佳化 IgG1 重鏈之 CH2-CH3 域包含選自以下之一或多個取代：L234A、L235A、M252Y、S254T、T256E 及 S442C。

【0156】 因此，MAB-A 之衍生物/變異體之第四示範性人源化/經最佳化 IgG1 重鏈含有 hMAB-AVH (2I)域(SEQ ID NO:28)，且進一步包含 Fc 區之 CH2-CH3 域(SEQ ID NO:78)中之取代 L234A 及 L235A，且具有以下胺基酸序列(SEQ ID NO:141)

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFCSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYPRQGFL DYWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC
LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG
TQTYICNVNH KPSNTKVDKR VEPKSCDKTH TCPPCPAPEA AGGPSVFLFP
PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PFVLESDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSL
PGX

其中 X 為離胺酸(K)或不存在。

【0157】 MAB-A之衍生物/變異體之第五示範性人源化/經最佳化IgG1重鏈含有hMAB-AVH (2I)域(SEQ ID NO:28)，且進一步包含Fc區之CH2-CH3域(SEQ ID NO:79)中之S442C取代，且具有以下胺基酸序列(SEQ ID NO:142)：

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFCSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYPRQGFL DYWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC
LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG
TQTYICNVNH KPSNTKVDKR VEPKSCDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP
PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PFVLESDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLCLS
PGX

其中 X 為離胺酸(K)或不存在。

【0158】 MAB-A之衍生物/變異體之第六示範性人源化/經最佳化IgG1重鏈含有hMAB-AVH (2I)域(SEQ ID NO:28)，且進一步包含Fc區之CH2-CH3域(SEQ ID NO:80)中之取代L234A、L235A及S442C，且具有以下胺基酸序列(SEQ ID NO:143)：

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFCSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYPRQGFL DYWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC
LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG
TQTYICNVNH KPSNTKVDKR VEPKSCDKTH TCPPCPAPEA AGGPSVFLFP
PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT

PPVLESDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLCLS
PGX

其中 X 為離胺酸(K)或不存在。

【0159】 MAB-A 之衍生物/變異體之第七示範性人源化/經最佳化 IgG1 重鏈含有 hMAB-AVH (2I)域(SEQ ID NO:28)，且進一步包含 Fc 區之 CH2-CH3 域(SEQ ID NO:147)中之取代 M252Y、S254T 及 T256E，且具有以下胺基酸序列(SEQ ID NO:151)：

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYPRQGFL DYWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC
LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG
TQTYICNVNH KPSNTKVDKR VEPKSCDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP
PKPKETLYIT REPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PPVLESDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLX
PGX

其中 X 為離胺酸(K)或不存在。

【0160】 MAB-A 之衍生物/變異體之第八示範性人源化/經最佳化 IgG1 重鏈含有 hMAB-AVH (2I)域(SEQ ID NO:28)，且進一步包含 Fc 區之 CH2-CH3 域(SEQ ID NO:148)中之取代 M252Y、S254T、T256E 及 S442C，且具有以下胺基酸序列(SEQ ID NO:152)：

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFKSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYPRQGFL DYWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC
LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG
TQTYICNVNH KPSNTKVDKR VEPKSCDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP
PKPKETLYIT REPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PPVLESDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLCLS
PGX

其中 X 為離胺酸(K)或不存在。

【0161】 MAB-A 之衍生物/變異體之第九示範性人源化/經最佳化 IgG1 重鏈含有

有 hMAB-AVH (2I)域(SEQ ID NO:28)，且進一步包含 Fc 區之 CH2-CH3 域(SEQ ID NO:149)中之取代 L234A、L235A、M252Y、S254T 及 T256E，且具有以下胺基酸序列(SEQ ID NO:153)：

```
EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFCSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYPRQGFL DYWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC
LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG
TQTYICNVNH KPSNTKVDKR VEPKSCDKTH TCPFPCAPEA AGGPSVFLFP
PKPKETLYIT REPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGIFYF SDIAVEWESN GQFENNYKTT
PFVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSL
PGX
```

其中 X 為離胺酸(K)或不存在。

【0162】 MAB-A 之衍生物/變異體之第十示範性人源化/經最佳化 IgG1 重鏈含有 hMAB-AVH (2I)域(SEQ ID NO:28)，且進一步包含 Fc 區之 CH2-CH3 域(SEQ ID NO:150)中之取代 L234A、L235A、M252Y、S254T、T256E 及 S442C，且具有以下胺基酸序列(SEQ ID NO:154)：

```
EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMHWVRQA PGKGLEWVGE
IIPIFGHTNY NEKFCSRFTI SLDNSKNTLY LQMGSRAED TAVYYCARGG
YYYYPRQGFL DYWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC
LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG
TQTYICNVNH KPSNTKVDKR VEPKSCDKTH TCPFPCAPEA AGGPSVFLFP
PKPKETLYIT REPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGIFYF SDIAVEWESN GQFENNYKTT
PFVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLCLS
PGX
```

其中 X 為離胺酸(K)或不存在。

2. MAB-A 之變異體 VL 域

【0163】 MAB-A 之較佳人源化/經最佳化抗 ADAM9-VL 域之胺基酸序列為 MAB-A 之 ADAM9-VL 域(SEQ ID NO:11)之變異體，且由 SEQ ID NO:53 表示 (CDRL 殘基係加下劃線示出)：

DIVMTQSPDS	LAVSLGERAT	ISCX ₁₂ <u>ASQSVD</u>	<u>YX₁₃GDSYX₁₄NWY</u>
QQKPGQPPKL	LIYA <u>AASDLES</u>	GIPARFSGSG	SGTDFTLTIS
SLEPEDFATY	YC <u>QQSX₁₅X₁₆X₁₇PF</u>	<u>TFGQGTKLEI</u>	K

其中：X₁₂、X₁₃、X₁₄、X₁₅、X₁₆及X₁₇經獨立地選擇，且

其中：X₁₂為K或R；X₁₃為D或S；

X₁₄為M或L；X₁₅為H或Y；

X₁₆為E或S；且X₁₇為D或T。

【0164】 MAB-A之較佳人源化抗ADAM9-VL域之胺基酸序列(hMAB-AVL(1) (SEQ ID NO:54))及MAB-A之某些較佳人源化/經最佳化抗ADAM9-VL域之胺基酸序列(hMAB-A VL(2) (SEQ ID NO:55)、hMAB-A VL(3) (SEQ ID NO:56)及hMAB-A VL(4) (SEQ ID NO:57))呈現於下文(CDR_L殘基以單下劃線示出；相對於hMAB-A VL(1) (SEQ ID NO:54)之差異以雙下劃線示出)。

hMAB-A VL(1) (SEQ ID NO:54):

DIVMTQSPDS	LAVSLGERAT	ISCK <u>KASQSVD</u>	<u>YDGDSYMNWY</u>	QQKPGQPPKL
LIYA <u>AASDLES</u>	GIPARFSGSG	SGTDFTLTIS	SLEPEDFATY	YC <u>QQSHEDPF</u>
<u>TFGQGTKLEI</u>	K			

hMAB-A VL(2) (SEQ ID NO:55):

DIVMTQSPDS	LAVSLGERAT	ISCK <u>KASQSVD</u>	<u>YSGDSYMNWY</u>	QQKPGQPPKL
LIYA <u>AASDLES</u>	GIPARFSGSG	SGTDFTLTIS	SLEPEDFATY	YC <u>QQSHEDPF</u>
<u>TFGQGTKLEI</u>	K			

hMAB-A VL(3) (SEQ ID NO:56):

DIVMTQSPDS	LAVSLGERAT	ISCR <u>ASQSVD</u>	<u>YSGDSYMNWY</u>	QQKPGQPPKL
LIYA <u>AASDLES</u>	GIPARFSGSG	SGTDFTLTIS	SLEPEDFATY	YC <u>QQSHEDPF</u>
<u>TFGQGTKLEI</u>	K			

hMAB-A VL(4) (SEQ ID NO:57):

DIVMTQSPDS	LAVSLGERAT	ISCR <u>ASQSVD</u>	<u>YSGDSYLNWY</u>	QQKPGQPPKL
LIYA <u>AASDLES</u>	GIPARFSGSG	SGTDFTLTIS	SLEPEDFATY	YC <u>QQSYSTPF</u>
<u>TFGQGTKLEI</u>	K			

【0165】 因此，MAB-A 之人源化及/或經最佳化抗 ADAM9-VL 域之 FR 的合適胺基酸序列為：

FR_L1 域(SEQ ID NO:58)： DIVMTQSPDSLAVSLGERATISC

FR_L2 域(SEQ ID NO:59)： WYQQKPGQPPKLLIY

FR_L3 域(SEQ ID NO:60)： GIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFATYYC

FR_L4 域(SEQ ID NO:61)： FGQGTEKLEIK

【0166】 抗 ADAM9-VL 域之 CDR_L1 域的合適替代性胺基酸序列包括：

SEQ ID NO:12： KASQSVDYDGDSYMN

SEQ ID NO:62： KASQSVDYSGDSYMN

SEQ ID NO:63： RASQSVDYSGDSYMN

SEQ ID NO:64： RASQSVDYSGDSYLN

【0167】 抗 ADAM9-VL 域之 CDR_L3 域的合適替代性胺基酸序列包括：

SEQ ID NO:14： QQSHEDPFT

SEQ ID NO:65： QQSYSTPFT

【0168】 因此，本發明涵蓋包含以下之抗 ADAM9 抗體 VL 域：

(1) CDR_L1 域，其具有以下胺基酸序列：

SEQ ID NO:66： X₁₂ASQSVDYX₁₃GDSYX₁₄N

其中：X₁₂、X₁₃、X₁₄ 經獨立地選擇，且

其中：X₁₂ 為 K 或 R；X₁₃ 為 D 或 S；且 X₁₄ 為 M 或 L；

(2) CDR_L2 域，其具有以下胺基酸序列：

SEQ ID NO:13： AASDLES

且

(3) CDR_L3 域，其具有以下胺基酸序列：

SEQ ID NO:67： QQSX₁₅X₁₆X₁₇PFT

其中： X_{15} 、 X_{16} 及 X_{17} 經獨立地選擇，且

其中： X_{15} 為H或Y； X_{16} 為E或S；且 X_{17} 為D或T。

【0169】 MAB-A 之衍生物/變異體之示範性人源化/經最佳化 IgG1 輕鏈含有 hMAB-AVL (2)域(**SEQ ID NO:55**)，且具有以下胺基酸序列(**SEQ ID NO:68**)：

```
DIVMTQSPDS LAVSLGERAT ISCKASQSVD YSGDSYMNWY QOKPGQPPKL
LIYAASDLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFATY YCQQSHEDPF

TFGQGTKLEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV
QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLISKADY EKHKVYACEV
THQGLSSPVT KSFNRGEC
```

【0170】 本發明另外明確地考慮免疫特異性結合至人類 ADAM9 多肽之抗原決定基且包含上文提供之 MAB-A CDR_{H1}、CDR_{H2}、CDR_{H3}、CDR_{L1}、CDR_{L2}或 CDR_{L3}中之任一者的免疫共軛物，且特別考慮包含以下之此類免疫共軛物：上文提供之 MAB-A CDR_{H1}之一、上文提供之 MAB-A CDR_{H2}之一、上文提供之 MAB-A CDR_{H3}之一、上文提供之 MAB-A CDR_{L1}之一、上文提供之 MAB-A CDR_{L2}之一及上文提供之 MAB-A CDR_{L3}之一。本發明進一步考慮進一步包含上文提供之人源化 MAB-A FR_{H1}、FR_{H2}、FR_{H3}、或 FR_{H4}、FR_{L1}、FR_{L2}、FR_{L3}或 R_{L4}中任一者的此類免疫共軛物，且特別考慮包含 FR_{H1}、FR_{H2}、FR_{H3}及 FR_{H4}及/或包含 FR_{L1}、FR_{L2}、FR_{L3}、FR_{L4}及 FR_{H1}之此類免疫共軛物。

【0171】 在一些實施例中，人源化/經最佳化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包括具有選自由以下所組成之群組之序列的 CDR_{H1} 域、CDR_{H2} 域及 CDR_{H3} 域以及 CDR_{L1} 域、CDR_{L2} 域及 CDR_{L3} 域：

- (a) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 10 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (b) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 10 以及 SEQ ID NO: 63、13、14；
- (c) 分別 SEQ ID NO: 8、36 及 10 以及 SEQ ID NO: 63、13、14；
- (d) 分別 SEQ ID NO: 34、36 及 10 以及 SEQ ID NO: 64、13、65
- (e) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 37 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；

- (f) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 38 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (g) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 39 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (h) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 40 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (i) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 41 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (j) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 42 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (k) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 43 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (l) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 44 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (m) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；及
- (n) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 46 以及 SEQ ID NO: 62、13、14。

【0172】 在特定實施例中，人源化/經最佳化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包括具有分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14 的序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域。

【0173】 在一些實施例中，人源化/經最佳化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包括重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)，該重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)具有與如下序列至少 90%、至少 95%、至少 99%或 100%一致的序列：

- (a) 分別 SEQ ID NO:17 及 SEQ ID NO:55；
- (b) 分別 SEQ ID NO:17 及 SEQ ID NO:56；
- (c) 分別 SEQ ID NO:18 及 SEQ ID NO:56；
- (d) 分別 SEQ ID NO:19 及 SEQ ID NO:57；
- (e) 分別 SEQ ID NO:20 及 SEQ ID NO:55；
- (f) 分別 SEQ ID NO:21 及 SEQ ID NO:55；
- (g) 分別 SEQ ID NO:22 及 SEQ ID NO:55；
- (h) 分別 SEQ ID NO:23 及 SEQ ID NO:55；
- (i) 分別 SEQ ID NO:24 及 SEQ ID NO:55；

- (j) 分別 SEQ ID NO:25 及 SEQ ID NO:55；
- (k) 分別 SEQ ID NO:26 及 SEQ ID NO:55；
- (l) 分別 SEQ ID NO:27 及 SEQ ID NO:55；
- (m) 分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55；及
- (n) 分別 SEQ ID NO:29 及 SEQ ID NO:55

【0174】 「實質上一致的」或「一致的」意指展現與參考胺基酸序列(例如，本文所述之任何一種胺基酸序列)至少 50%一致性的多肽。較佳地，這種序列在胺基酸水準或核酸上與用於比較之序列至少 60%、更佳至少 80%或至少 85%、及更佳至少 90%、至少 95%至少 99%或甚至 100%一致。

【0175】 通常使用序列分析軟體(例如，序列分析軟體包 Genetics Computer Group (University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, Wis. 53705)、BLAST、BESTFIT、GAP 或 PILEUP/PRETTYBOX 程式)量測序列一致性。此類軟體藉由為各種取代、缺失及/或其他修飾分配同源性程度來對一致或類似的序列進行匹配。保守取代通常包括以下群組內之取代：甘胺酸、丙胺酸；纈胺酸、異白胺酸、白胺酸；天冬胺酸、麩胺酸、天冬醯胺、麩醯胺；絲胺酸、蘇胺酸；離胺酸、精胺酸；及苯丙胺酸、酪胺酸。在判定一致性程度之示範性方法中，可使用 BLAST 程式， e^{-3} 與 e^{-100} 之間的機率記分指示緊密相關之序列。

【0176】 在特定實施例中，人源化/經最佳化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包括重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)，該重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)具有與分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55 之序列至少 90%、至少 95%、至少 99%或 100%一致的序列。

【0177】 在某些實施例中，人源化/經最佳化抗 ADAM9 抗體包含如下之重鏈及輕鏈序列：

- (a) 分別 SEQ ID NO:50 及 SEQ ID NO:68 ；
- (b) 分別 SEQ ID NO:51 及 SEQ ID NO:68 ；
- (c) 分別 SEQ ID NO:52 及 SEQ ID NO:68 ；
- (d) 分別 SEQ ID NO:141 及 SEQ ID NO:68 ；
- (e) 分別 SEQ ID NO:142 及 SEQ ID NO:68 ；
- (f) 分別 SEQ ID NO:143 及 SEQ ID NO:68 ；
- (g) 分別 SEQ ID NO:151 及 SEQ ID NO:68 ；
- (h) 分別 SEQ ID NO:152 及 SEQ ID NO:68 ；
- (i) 分別 SEQ ID NO:153 及 SEQ ID NO:68 ；及
- (j) 分別 SEQ ID NO:154 及 SEQ ID NO:68 。

【0178】 在特定實施例中，人源化/經最佳化抗 ADAM9 抗體包含具有 SEQ ID NO:52 之序列的重鏈及具有 SEQ ID NO:68 之序列的輕鏈。在其他特定實施例中，人源化/經最佳化抗 ADAM9 抗體包含具有 SEQ ID NO:142 之序列的重鏈及具有 SEQ ID NO:68 之序列的輕鏈。在其他實施例中，人源化/經最佳化抗 ADAM9 抗體經工程改造以實現血清半衰期延長，且包含具有 SEQ ID NO:151 之序列的重鏈及具有 SEQ ID NO:68 之序列的輕鏈。在其他特定實施例中，人源化/經最佳化抗 ADAM9 抗體經工程改造以實現血清半衰期延長及位點特異性共軛，且包含具有 SEQ ID NO:152 之序列的重鏈及具有 SEQ ID NO:68 之序列的輕鏈。

【0179】 本發明亦明確考慮免疫特異性結合至人類 ADAM9 多肽之抗原決定基且包含上文提供之人源化/經最佳化抗 ADAM9 MAB-A VL 或 VH 域中之任一者的免疫共軛物。本發明特別考慮包含人源化/經最佳化抗 ADAM9 VL 或 VH 域之以下組合中任一者的此類抗 ADAM9 抗體及其 ADAM9 結合片段：

hMAB-A VH / hMAB-A VL 組合	
hMAB-A VH(1) / hMAB-A VL(1)	hMAB-A VH(2D) / hMAB-A VL(1)
hMAB-A VH(1) / hMAB-A VL(2)	hMAB-A VH(2D) / hMAB-A VL(2)
hMAB-A VH(1) / hMAB-A VL(3)	hMAB-A VH(2D) / hMAB-A VL(3)
hMAB-A VH(1) / hMAB-A VL(4)	hMAB-A VH(2D) / hMAB-A VL(4)
hMAB-A VH(2) / hMAB-A VL(1)	hMAB-A VH(2E) / hMAB-A VL(1)
hMAB-A VH(2) / hMAB-A VL(2)	hMAB-A VH(2E) / hMAB-A VL(2)
hMAB-A VH(2) / hMAB-A VL(3)	hMAB-A VH(2E) / hMAB-A VL(3)
hMAB-A VH(2) / hMAB-A VL(4)	hMAB-A VH(2E) / hMAB-A VL(4)
hMAB-A VH(3) / hMAB-A VL(1)	hMAB-A VH(2F) / hMAB-A VL(1)
hMAB-A VH(3) / hMAB-A VL(2)	hMAB-A VH(2F) / hMAB-A VL(2)
hMAB-A VH(3) / hMAB-A VL(3)	hMAB-A VH(2F) / hMAB-A VL(3)
hMAB-A VH(3) / hMAB-A VL(4)	hMAB-A VH(2F) / hMAB-A VL(4)
hMAB-A VH(4) / hMAB-A VL(1)	hMAB-A VH(2G) / hMAB-A VL(1)
hMAB-A VH(4) / hMAB-A VL(2)	hMAB-A VH(2G) / hMAB-A VL(2)
hMAB-A VH(4) / hMAB-A VL(3)	hMAB-A VH(2G) / hMAB-A VL(3)
hMAB-A VH(4) / hMAB-A VL(4)	hMAB-A VH(2G) / hMAB-A VL(4)
hMAB-A VH(2A) / hMAB-A VL(1)	hMAB-A VH(2H) / hMAB-A VL(1)
hMAB-A VH(2A) / hMAB-A VL(2)	hMAB-A VH(2H) / hMAB-A VL(2)
hMAB-A VH(2A) / hMAB-A VL(3)	hMAB-A VH(2H) / hMAB-A VL(3)
hMAB-A VH(2A) / hMAB-A VL(4)	hMAB-A VH(2H) / hMAB-A VL(4)
hMAB-A VH(2B) / hMAB-A VL(1)	hMAB-A VH(2I) / hMAB-A VL(1)
hMAB-A VH(2B) / hMAB-A VL(2)	hMAB-A VH(2I) / hMAB-A VL(2)
hMAB-A VH(2B) / hMAB-A VL(3)	hMAB-A VH(2I) / hMAB-A VL(3)
hMAB-A VH(2B) / hMAB-A VL(4)	hMAB-A VH(2I) / hMAB-A VL(4)
hMAB-A VH(2C) / hMAB-A VL(1)	hMAB-A VH(2J) / hMAB-A VL(1)
hMAB-A VH(2C) / hMAB-A VL(2)	hMAB-A VH(2J) / hMAB-A VL(2)
hMAB-A VH(2C) / hMAB-A VL(3)	hMAB-A VH(2J) / hMAB-A VL(3)
hMAB-A VH(2C) / hMAB-A VL(4)	hMAB-A VH(2J) / hMAB-A VL(4)

【0180】 本發明具體涵蓋包含如上文所提供之人源化/經最佳化抗 ADAM9-VL 及/或 VH 域的免疫共軛物。在特定實施例中，本發明之免疫共軛物包含(i)如上文所提供之人源化/經最佳化抗 ADAM9-VL 及/或 VH 域，及(ii)Fc 區。

【0181】 儘管抗 ADAM9 VH 及 VL 域之特定修飾在上文概述且在圖 3A-3B 中進行比較，但是在工程改造本發明之人源化及/或經最佳化抗 ADAM9-VH 或 VL 域時，不必對此等殘基中之全部或大部分進行修飾。本發明亦涵蓋此等 VH 及 VL 序列之較小變化，包括例如可引入以促進次選殖之 C 端及/或 N 端胺基酸殘基之胺基酸取代。

III. 抗體藥物共軛物

定義

【0182】 如本文所使用之術語「**免疫共軛物**」、「**共軛物**」或「**ADC**」係指鍵聯至或共軛至細胞結合劑(例如，本文所述之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段)之化合物或其衍生物(例如，藥理學藥劑)。

【0183】 「**連接子**」為能夠以穩定、共價方式將化合物(通常為藥物，諸如本文所述之細胞毒性劑或藥理學藥劑(例如，美登木素生物鹼或(吡啶啉并苯二氮平)化合物))鍵聯至細胞結合劑(諸如抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段)之任何化學部分。在化合物或抗體保持活性之條件下，連接子易受或實質上抵抗酸誘導之裂解、光誘導之裂解、肽酶誘導之裂解、酯酶誘導之裂解及二硫鍵裂解。合適連接子為此項技術中熟知的，且包括例如二硫化物基團、硫醚基團、酸不穩定基團、光不穩定基團、肽酶不穩定基團及酯酶不穩定基團。連接子亦包括如本文所述且此項技術中已知的帶電連接子及其親水性形式。

【0184】 如本文所使用之「**烷基**」係指具有一至二十個碳原子之飽和直鏈或分支鏈單價烴基。烷基之實例包括但不限於甲基、乙基、1-丙基、2-丙基、1-丁基、2-甲基-1-丙基、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、2-丁基、2-甲基-2-丙基、1-戊基、2-戊基、3-戊基、2-甲基-2-丁基、3-甲基-2-丁基、3-甲基-1-丁基、2-甲基-1-丁基、1-己基、2-己基、3-己基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、3-甲基-3-戊基、2-甲基-3-戊基、2,3-二甲基-2-丁基、3,3-二甲基-2-丁基、1-庚基、1-辛基及其類似基團。較佳地，烷基具有一至十個碳原子。更佳地，烷基具有一至四個碳原子。

【0185】 基團中之碳原子數可在本文中藉由字首「 C_{x-xx} 」指定，其中 x 及 xx 為整數。例如，「 C_{1-4} 烷基」為具有 1 至 4 個碳原子之烷基。

【0186】 術語「**化合物**」或「**細胞毒性化合物**」或「**細胞毒性劑**」可互換使

用。其擬包括結構或結構式或其任何衍生物已經揭示於本發明或者結構或結構式或其任何衍生物以引用方式併入的化合物。該術語亦包括本發明中揭示之所有式之化合物的立體異構物、幾何異構物、互變異構物、溶劑化物、代謝物及鹽(例如醫藥學上可接受之鹽)。該術語亦包括前述任一者之任何溶劑化物、水合物及多形體。在本申請案中所述本發明某些態樣中有關「立體異構物」、「幾何異構物」、「互變異構物」、「溶劑化物」、「代謝物」、「鹽」、「共軛物」、「共軛物鹽」、「溶劑化物」、「水合物」或「多形體」之具體陳述不應解釋為擬在未陳述此等其他形式之情況下使用術語「化合物」之本發明其他態樣中省略此等形式。

【0187】 術語「**對掌性**」係指分子具有與鏡像搭配物不可重疊之性質，而術語「非對掌性」係指分子可重疊於其鏡像搭配物上。

【0188】 術語「**立體異構物**」係指具有相同化學構成及連接性但原子之空間定向不同，無法藉由圍繞單鍵之旋轉而相互轉化的化合物。

【0189】 「**非鏡像異構物**」係指具有二或更多個對掌性中心且分子不互為鏡像之立體異構物。非鏡像異構物具有不同物理性質，例如熔點、沸點、光譜性質及反應性。非鏡像異構物之混合物可在諸如結晶、電泳及層析之高解析度分析程序下分離。

【0190】 「**鏡像異構物**」係指化合物之兩個互為不可重疊鏡像之立體異構物。

【0191】 本文中使用的立體化學定義及規則一般遵循 S. P. Parker 編輯, McGraw-Hill, Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York；及 Eliel, E.及 Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994。本發明化合物可含有不對稱或對掌性中心，且因此以不同立體異構形式存在。預期本發明化合物之所有立體異構形式，包

括但不限於非鏡像異構物、鏡像異構物及構型異構物，以及其混合物(諸如外消旋混合物)，皆形成本發明之一部分。許多有機化合物以光學活性形式存在，亦即其具有使平面偏振光之平面旋轉之能力。在描述光學活性化合物時，字首 D 及 L 或 R 及 S 用於表示分子圍繞其對掌性中心之絕對組態。字首 d 及 l 或 (+) 及 (-) 用於表示化合物旋轉平面偏振光之符號，其中 (-) 或 l 意指該化合物為左旋的。字首為 (+) 或 d 之化合物為右旋的。對於既定化學結構，此等立體異構物為相同的，例外之處為其互為鏡像。特定立體異構物亦可稱為鏡像異構物，且此等異構物之混合物常稱為鏡像異構混合物。鏡像異構物之 50:50 混合物稱為外消旋混合物或外消旋物，其可在化學反應或製程中不存在立體選擇或立體特異性時存在。術語「外消旋混合物」及「外消旋物」係指兩種鏡像異構物質之缺乏光學活性之等莫耳混合物。

【0192】 術語「互變異構物」或「互變異構形式」係指具有不同能量之結構異構物，其可經由低能障壁相互轉化。舉例而言，質子互變異構物(亦稱為質子轉移互變異構物)包括經由質子遷移發生之相互轉化，諸如酮基-烯醇及亞胺-烯胺異構化。價態互變異構物包括藉由一些鍵結電子之重排發生之相互轉化。

【0193】 術語「亞胺反應性試劑」係指能夠與亞胺基團反應之試劑。亞胺反應性試劑之實例包括但不限於亞硫酸根(H_2SO_3 、 H_2SO_2 或 HSO_3^- 、 SO_3^{2-} 或 HSO_2^- 與陽離子形成之鹽)、偏亞硫酸氫根($\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 或 $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ 與陽離子形成之鹽)、單、二、三及四-硫代磷酸根(PO_3SH_3 、 $\text{PO}_2\text{S}_2\text{H}_3$ 、 POS_3H_3 、 PS_4H_3 或 PO_3S^{3-} 、 $\text{PO}_2\text{S}_2^{3-}$ 、 POS_3^{3-} 或 PS_4^{3-} 與陽離子形成之鹽)、硫代磷酸酯($(\text{R}^i\text{O})_2\text{PS}(\text{OR}^i)$ 、 R^iSH 、 R^iSOH 、 $\text{R}^i\text{SO}_2\text{H}$ 、 $\text{R}^i\text{SO}_3\text{H}$)、各種胺(經基胺(例如 NH_2OH)、肼(例如 NH_2NH_2)、 $\text{NH}_2\text{O}-\text{R}^i$ 、 $\text{R}^i\text{NH}-\text{R}^i$ 、 NH_2-R^i)、 $\text{NH}_2-\text{CO}-\text{NH}_2$ 、 $\text{NH}_2-\text{C}(=\text{S})-\text{NH}_2$ 、硫代硫酸根($\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 或 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 與陽離子形成之鹽)、連二亞硫酸根($\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 或 $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ 與陽離子形成的鹽)、二硫代磷酸根($\text{P}(=\text{S})(\text{OR}^k)(\text{SH})(\text{OH})$ 或其與陽離子形成之鹽)、羥肟酸($\text{R}^k\text{C}(=\text{O})\text{NHOH}$ 或與陽離

子形成之鹽)、醯肼($R^k\text{CONHNH}_2$)、甲醛次硫酸根($\text{HOCH}_2\text{SO}_2\text{H}$ 或 $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-$ 與陽離子形成之鹽, 諸如 $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-\text{Na}^+$)、糖化核苷酸(諸如 GDP-甘露糖)、氟達拉濱(fludarabine)或其混合物, 其中 R^i 及 R^j 各獨立地為具有 1 至 10 個碳原子之直鏈或分支烷基且經至少一個選自 $-\text{N}(\text{R}^j)_2$ 、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 及 $-\text{PO}_3\text{H}$ 之取代基取代; R^i 及 R^j 可進一步視情況經本文所述之烷基之取代基取代; R^j 為具有 1 至 6 個碳原子之直鏈或分支烷基; 且 R^k 為具有 1 至 10 個碳原子之直鏈、分支或環狀烷基、烯基或炔基, 芳基、雜環基或雜芳基(較佳地, R^k 為具有 1 至 4 個碳原子之直鏈或分支烷基; 更佳地, R^k 為甲基、乙基或丙基)。較佳地, 陽離子為一價陽離子, 諸如 Na^+ 或 K^+ 。較佳地, 亞胺反應性試劑選自亞硫酸鹽、羥基胺、脲及肼。更佳地, 亞胺反應性試劑為 NaHSO_3 或 KHSO_3 。

【0194】 術語「陽離子」係指帶正電之離子。陽離子可為一價(例如, Na^+ 、 K^+ 、 NH_4^+ 等)、二價(例如, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等)或多價(例如, Al^{3+} 等)。較佳地, 陽離子為一價。

【0195】 如本文所使用之短語「**醫藥學上可接受之鹽**」係指本發明化合物之醫藥學上可接受之有機或無機鹽。示範性鹽包括但不限於硫酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、草酸鹽、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、酸式磷酸鹽、異菸酸鹽、乳酸鹽、水楊酸鹽、酸式檸檬酸鹽、酒石酸鹽、油酸鹽、丹寧酸鹽、泛酸鹽、酒石酸氫鹽、抗壞血酸鹽、琥珀酸鹽、順丁烯二酸鹽、龍膽酸鹽(gentisinate)、反丁烯二酸鹽、葡糖酸鹽、葡糖醛酸鹽、糖酸鹽(saccharate)、甲酸鹽、苯甲酸鹽、麩胺酸鹽、甲烷磺酸鹽「甲磺酸鹽」、乙烷磺酸鹽、苯磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽、帕莫酸鹽(pamoate)(亦即 1,1'-亞甲基-雙-(2-羥基-3-萘酸鹽))、鹼金屬(例如鈉及鉀)鹽、鹼土金屬(例如鎂)鹽及銨鹽。醫藥學上可接受之鹽可涉及包括另一分子, 諸如乙酸根離子、琥珀酸根離子或其他相對離子。該相對離子可為使母化合物上之電荷穩定的任何有機或無機部分。此外, 醫藥學上可接

受之鹽之結構中可具有一個以上帶電原子。多個帶電原子為醫藥學上可接受之鹽之一部分的情形可具有多個相對離子。因此，醫藥學上可接受之鹽可具有一或多個帶電原子及/或一或多個相對離子。

【0196】 若本發明化合物為鹼，則所要醫藥學上可接受之鹽可藉由此項技術中可用之任何適合方法製備，例如用諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、甲烷磺酸、磷酸及其類似酸之無機酸或用諸如乙酸、順丁烯二酸、琥珀酸、扁桃酸、反丁烯二酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水楊酸、吡喃糖苷酸(pyranosidyl acid)(諸如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸)、 α 羥基酸(諸如檸檬酸或酒石酸)、胺基酸(諸如天冬胺酸或麩胺酸)、芳族酸(諸如苯甲酸或肉桂酸)、磺酸(諸如對甲苯磺酸或乙烷磺酸)或其類似酸之有機酸處理遊離鹼。

【0197】 若本發明之化合物為酸，則所要醫藥學上可接受之鹽可藉由任何合適之方法製備，例如用諸如胺(一級、二級或三級胺)、鹼金屬氫氧化物或鹼土金屬氫氧化物或其類似鹼之無機或有機鹼處理遊離酸。合適的鹽之說明性實例包括但不限於衍生自胺基酸(諸如甘胺酸及精胺酸)、氨、一級胺、二級胺及三級胺、及環狀胺(諸如吡啶、嗎啉及哌嗪)之有機鹽，以及衍生自鈉、鈣、鉀、鎂、錳、鐵、銅、鋅、鋁及鋰之無機鹽。

【0198】 如本文所使用，術語「**溶劑化物**」意謂進一步包括藉由非共價分子間力結合之化學計量或非化學計量之量的溶劑(諸如水、異丙醇、丙酮、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸以及乙醇胺二氯甲烷、2-丙醇或其類似溶劑)的化合物。化合物之溶劑化物或水合物易於藉由將至少 1 莫耳當量羥基溶劑(諸如甲醇、乙醇、1-丙醇、2-丙醇或水)添加至化合物以引起亞胺部分之溶劑化或水合作用來製備。

【0199】 「**代謝物**」或「**分解代謝物**」為透過指定化合物、其衍生物、或其共軛物或其鹽在體內代謝或分解代謝產生之產物。化合物、其衍生物或其共軛

物之代謝物可使用此項技術中已知之常規技術鑒別，且其活性可使用諸如本文所述者之測試來判定。此類產物可例如由投與之化合物之氧化、經基化、還原、水解、胺化、脫醯胺、酯化、脫酯、酶促裂解及其類似反應產生。因此，本發明包括藉由包含使本發明化合物、其衍生物或其共軛物與哺乳動物接觸一段足以產生其代謝產物之時間之方法而製備的本發明化合物、其衍生物或其共軛物之代謝物(包括化合物、其衍生物或其共軛物)。

【0200】 短語「**醫藥學上可接受之**」表示物質或組成物必須與構成調配物之其他成分及/或用其治療之哺乳動物在化學上及/或毒理學上相容。

【0201】 術語「**保護基**」或「**保護部分**」係指常用於在化合物、其衍生物或其共軛物上之其他官能基反應時阻斷或保護特定官能基的取代基。舉例而言，「**胺保護基**」或「**胺基保護部分**」為連接至胺基以阻斷或保護化合物中之胺基官能基的取代基。此類基團為此項技術中熟知的(參見，例如 P. Wuts 及 T. Greene, 2007, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第 7 章, J. Wiley & Sons, NJ)且例證為胺基甲酸酯，諸如胺基甲酸甲酯及胺基甲酸乙酯、Fmoc、經取代胺基甲酸乙基酯、藉由 1,6-β-消除反應(亦稱「自消耗(self immolative)」)裂解之胺基甲酸酯；脲；醯胺；肽；烷基及芳基衍生物。合適之胺基保護基包括乙醯基、三氟乙醯基、第三丁氧羰基(BOC)、苯甲氧基羰基(CBZ)及 9-芴基亞甲基氧基羰基(Fmoc)。對於保護基及其用途之一般描述，參見 P. G.M. Wuts 及 T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York, 2007。

【0202】 術語「**胺基酸**」係指天然存在之胺基酸或非天然存在之胺基酸。在一個實施例中，胺基酸由 $\text{NH}_2\text{-C}(\text{R}^{\text{aa}}\text{R}^{\text{aa'}})\text{-C(=O)OH}$ 表示，其中 R^{aa} 及 $\text{R}^{\text{aa'}}$ 各自獨立地為 H，具有 1 至 10 個碳原子之視情況經取代直鏈、分支鏈或環狀烷基、烯基或炔基，芳基、雜芳基或雜環基，或 R^{aa} 及 N 端氮原子可一起形成雜環(例如，如脯胺酸中)。術語「**胺基酸殘基**」係指當一個氫原子自胺基酸之胺及/或羧基端

移除時得到之相應殘基，諸如-NH-C(R^{aa'}R^{aa})-C(=O)O-。

【0203】術語「**肽**」係指藉由肽(醯胺)鍵鍵聯之胺基酸單體之短鏈。在一些實施例中，肽含有 2 至 20 個胺基酸殘基。在其他實施例中，肽含有 2 至 10 個胺基酸殘基。在又其他實施例中，肽含有 2 至 5 個胺基酸殘基。如本文所使用，當肽為本文所述之由具體胺基酸序列表示之細胞毒性劑或連接子之一部分時，肽可在兩個方向上連接至細胞毒性劑或連接子之其餘部分。例如，二肽 X1-X2 包括 X1-X2 及 X2-X1。類似地，三肽 X1-X2-X3 包括 X1-X2-X3 及 X3-X2-X1，且四肽 X1-X2-X3-X4 包括 X1-X2-X3-X4 及 X4-X2-X3-X1。X1、X2、X3 及 X4 表示胺基酸殘基。

【0204】術語「**反應性酯基**」係指可易於與胺基反應以形成醯胺鍵之基團(酯基)。示範性反應性酯基包括但不限於 N-羥基琥珀醯亞胺酯、N-羥基鄰苯二甲醯亞胺酯、N-羥基磺基琥珀醯亞胺酯、對硝基苯基酯、二硝基苯基酯、五氟苯基酯及其衍生物，其中該等衍生物促進醯胺鍵形成。在某些實施例中，反應性酯基為 N-羥基琥珀醯亞胺酯或 N-羥基磺基琥珀醯亞胺酯。

【0205】術語「**胺反應性基團**」係指可與胺基反應以形成共價鍵之基團。示範性胺反應性基團包括但不限於反應性酯基、醯基鹵化物、磺醯基鹵化物、亞胺酯或反應性硫酯基。在某些實施例中，胺反應性基團為反應性酯基。在一個實施例中，胺反應性基團為 N-羥基琥珀醯亞胺酯或 N-羥基磺基琥珀醯亞胺酯。

【0206】術語「**硫醇反應性基團**」係指可與硫醇(-SH)基團反應以形成共價鍵之基團。示範性硫醇反應性基團包括但不限於順丁烯二醯亞胺、鹵乙醯基、鹵乙醯胺(alcoacetamide)、乙烯基磺、乙烯基磺醯胺或乙烯基吡啶(vinyl pyridine)。在一個實施例中，硫醇反應性基團為順丁烯二醯亞胺。

【0207】如本揭露及申請專利範圍中所使用，除非上下文另有明確說明，否則單數形式「**一個/種(a/an)**」及「**該**」包括複數形式。

【0208】 應理解，當在本文中用語言「**包含**」描述實施例時，亦提供以「**由...組成**」及/或「**基本上由...組成**」之術語描述的其他類似實施例。

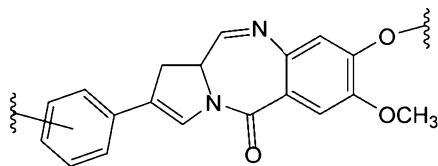
A. 示範性免疫共軛物

【0209】 在第二態樣中，本發明係關於包含共軛至至少一種藥理學藥劑之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段的免疫共軛物。藥理學藥劑包括但不限於細胞毒素(例如，細胞生長抑制劑或殺細胞劑)、治療劑及放射性金屬離子例如 α -發射體。細胞毒素或細胞毒性劑包括對細胞有害任何藥劑，諸如，例如綠膿桿菌外毒素(Pseudomonas exotoxin)、白喉毒素(Diphtheria toxin)、A 型至 F 型肉毒桿菌毒素(botulinum toxin)、蓖麻毒素(ricin)、相思豆毒素(abrin)、皂草素(saporin)及此類藥劑之細胞毒性片段。治療劑包括具有預防性或治療性地治療病症的治療效應的任何藥劑。此類治療劑可為化學治療劑、蛋白質或多肽治療劑，且包括具有所要生物活性及/或修飾既定生物反應的治療劑。治療劑之實例包括烷化劑、血管生成抑制劑、抗有絲分裂劑、激素療法劑及可用於治療細胞增殖性病變的抗體。在某些實施例中，治療劑為美登木素生物鹼化合物，諸如美國專利第 5,208,020 號及第 7,276,497 號中所述之化合物，該等專利以全文引用之方式併入本文中。在某些實施例中，治療劑為苯二氮平化合物，諸如吡咯并苯二氮平(PBD) (諸如 WO2010/043880、WO2011/130616、WO2009/016516、WO 2013/177481 及 WO 2012/112708 中所述者)及吲哚啉并苯二氮平(IGN)化合物(諸如 WO/2010/091150 及 WO 2012/128868 以及 2016 年 6 月 28 日申請之名稱為「CONJUGATES OF CYSTEINE ENGINEERED ANTIBODIES」的美國申請案第 15/195,269 號中所述者)。所有此等專利、專利公開案及申請案之全部教示以全文引用之方式併入本文中。

【0210】 如本文所使用，「**吡咯并苯二氮平**」(PBD)化合物為具有吡咯并苯二氮平核心結構之化合物。吡咯并苯二氮平可為經取代或未取代。其亦包括具有

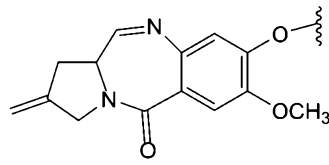
由連接子鍵聯之兩個吡咯并苯二氮平核心的化合物。可減少作為吲哚啉并苯二氮平核心之一部分的亞胺官能性(-C=N-)。

【0211】 在某些實施例中，吡咯并苯二氮平化合物包含由



表示之核心結構，其可視情況經取代。

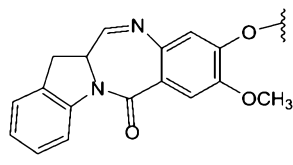
【0212】 在某些實施例中，吡咯并苯二氮平化合物包含由



表示之核心結構，其可視情況經取代。

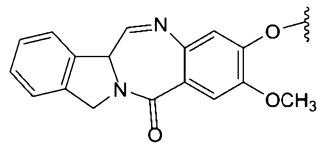
【0213】 如本文所使用，「吲哚并苯二氮平」(IGN)化合物為具有吲哚啉并苯二氮平核心結構之化合物。吲哚啉并苯二氮平可為經取代或未取代。其亦包括具有兩個由連接子鍵聯之吲哚啉并苯二氮平核心的化合物。可減少作為吲哚啉并苯二氮平核心之一部分的亞胺官能性(-C=N-)。

【0214】 在某些實施例中，吲哚啉并苯二氮平化合物包含由



表示之核心結構，其可視情況經取代。

【0215】 在一些實施例中，吲哚啉并苯二氮平化合物包含由



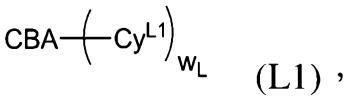
表示之核心結構，其可進一步經取代。

【0216】 藥理學藥劑可使用此項技術中已知的技術直接或透過連接子間接偶合或共軛至抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，以產生「免疫共軛物」、「共軛物」或「ADC」。

【0217】 在第一實施例中，本發明之免疫共軛物包含本文所述之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過位於該抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合

片段上之一或多個離胺酸殘基之 ϵ -胺基共價鍵聯至本文所述之藥理學藥劑。

【0218】 在第一實施例之第一具體實施例中，本發明之免疫共軛物由下式表示：

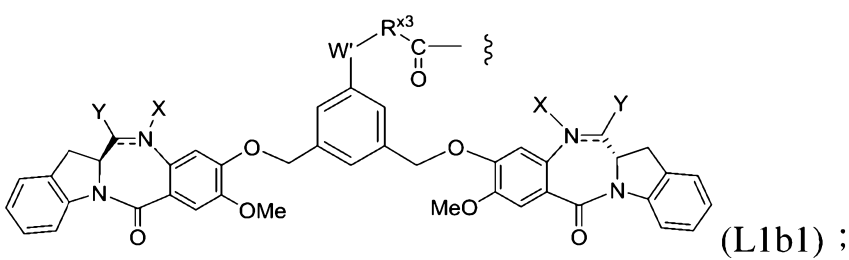
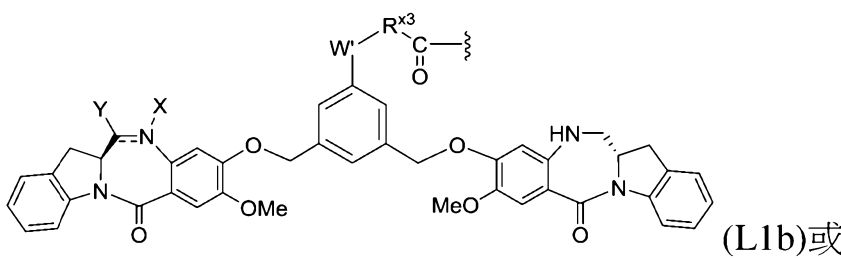
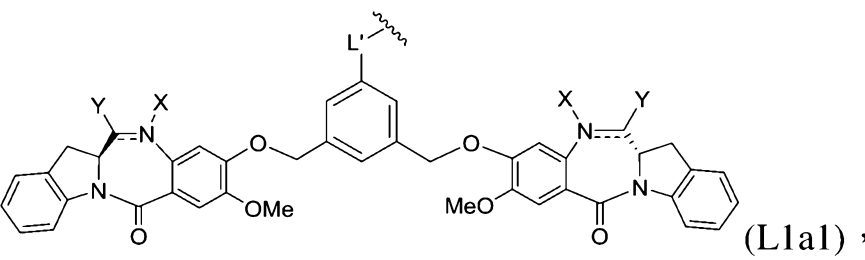
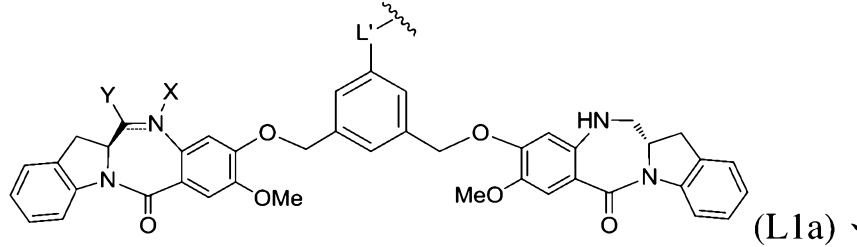


其中：

CBA 為本文上文所述之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過離胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{L1} ；

W_L 為 1 至 20 之整數；且

Cy^{L1} 為由下式表示之細胞毒性化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 $\equiv$ 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存

在，且 Y 為-H 或(C₁-C₄)烷基；且當其為單鍵時，X 為-H 或胺保護部分，且 Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；

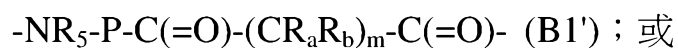
$$W' \text{ 為 } -NR^{e'},$$
$$R^{e'} \text{ 為 } -(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-R^k ;$$

n 為 2 至 6 之整數；

R^k 為-H 或-Me ;

R^{x3} 為(C₁-C₆)烷基；

L' 由下式表示：



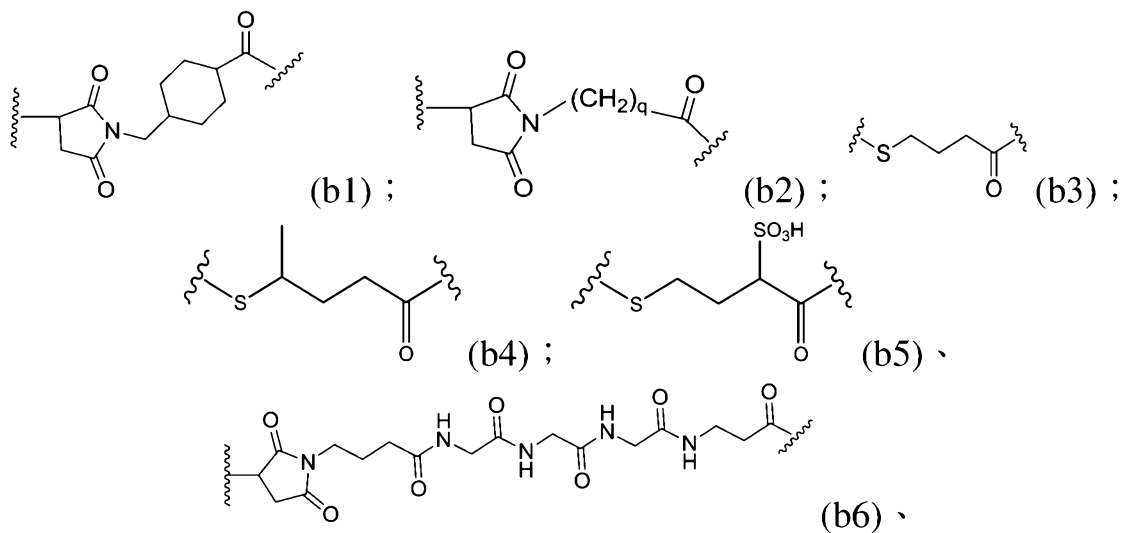
R₅ 為-H 或(C₁-C₃)烷基；

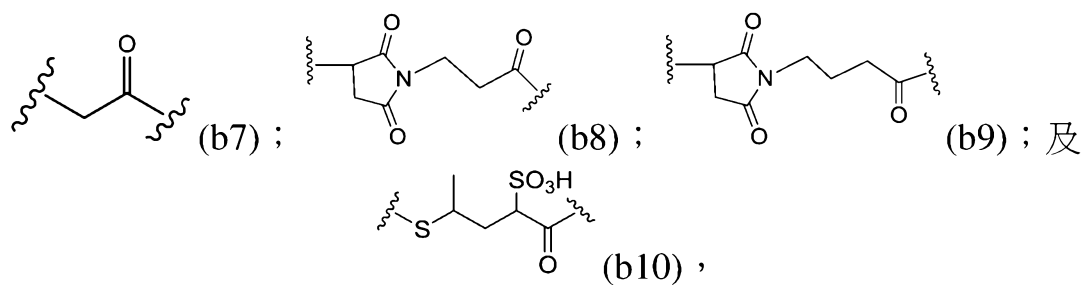
P 為胺基酸殘基或含有 2 至 20 之間個胺基酸殘基之肽；

R_a 及 R_b 在每次出現時各獨立地為 -H、 (C_1-C_3) 烷基、或帶電取代基或可離子化基團 Q；

m 為 1 至 6 之整數；且

Z^{s1} 係選自下式中之任一者：





其中 q 為 1 至 5 之整數。

【0219】 在第二具體實施例中，對於式(L1)之共軛物，Cy^{L1} 由式(L1a)或(L1a1)表示；且其餘變量如上文在第一具體實施例中所述。

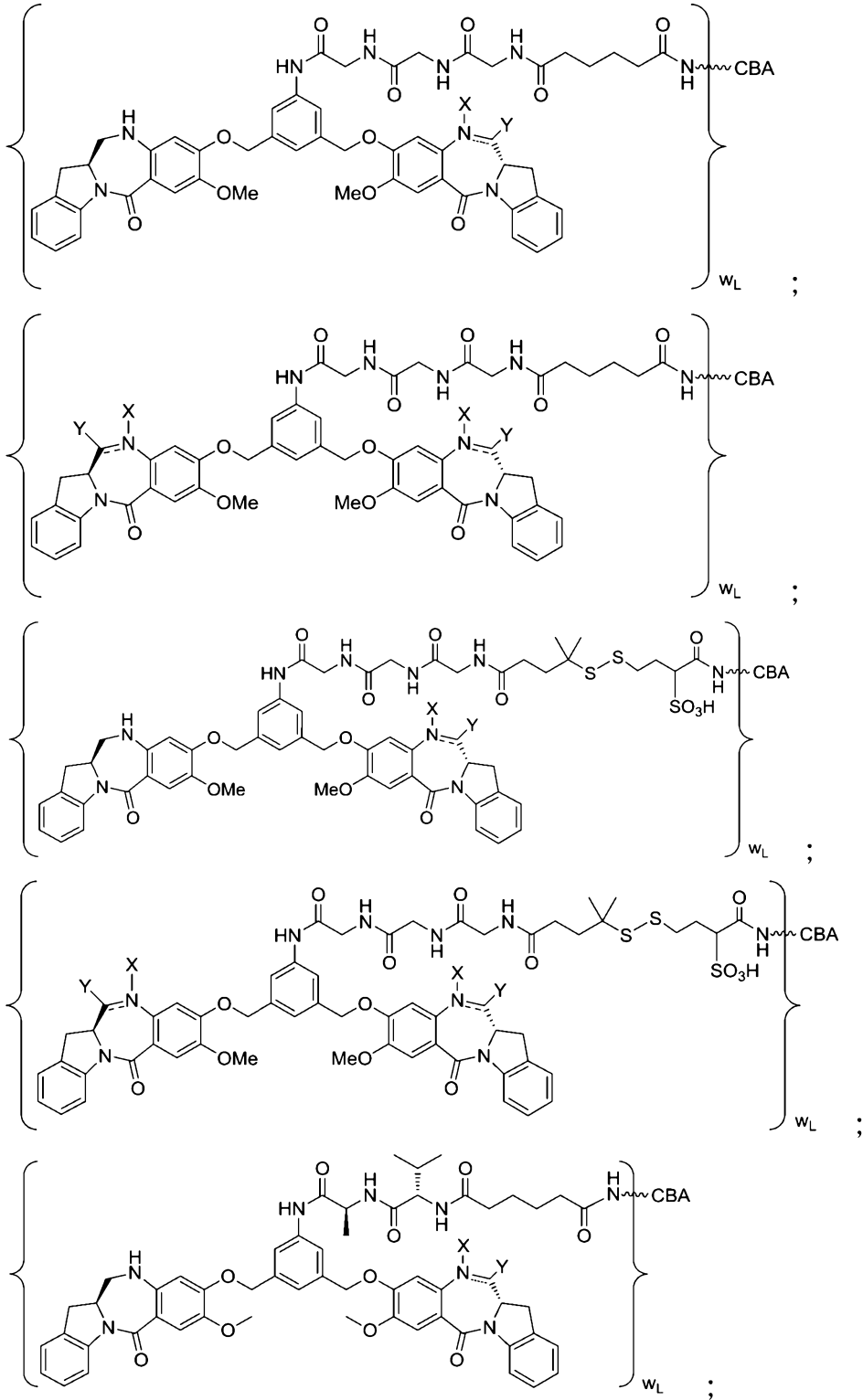
【0220】 在第三具體實施例中，對於式(L1)之共軛物，Cy^{L1} 由式(L1b)或(L1b1)表示；且其餘變量如上文在第一具體實施例中所述。更具體地，R^{x3} 為(C₂-C₄)烷基。

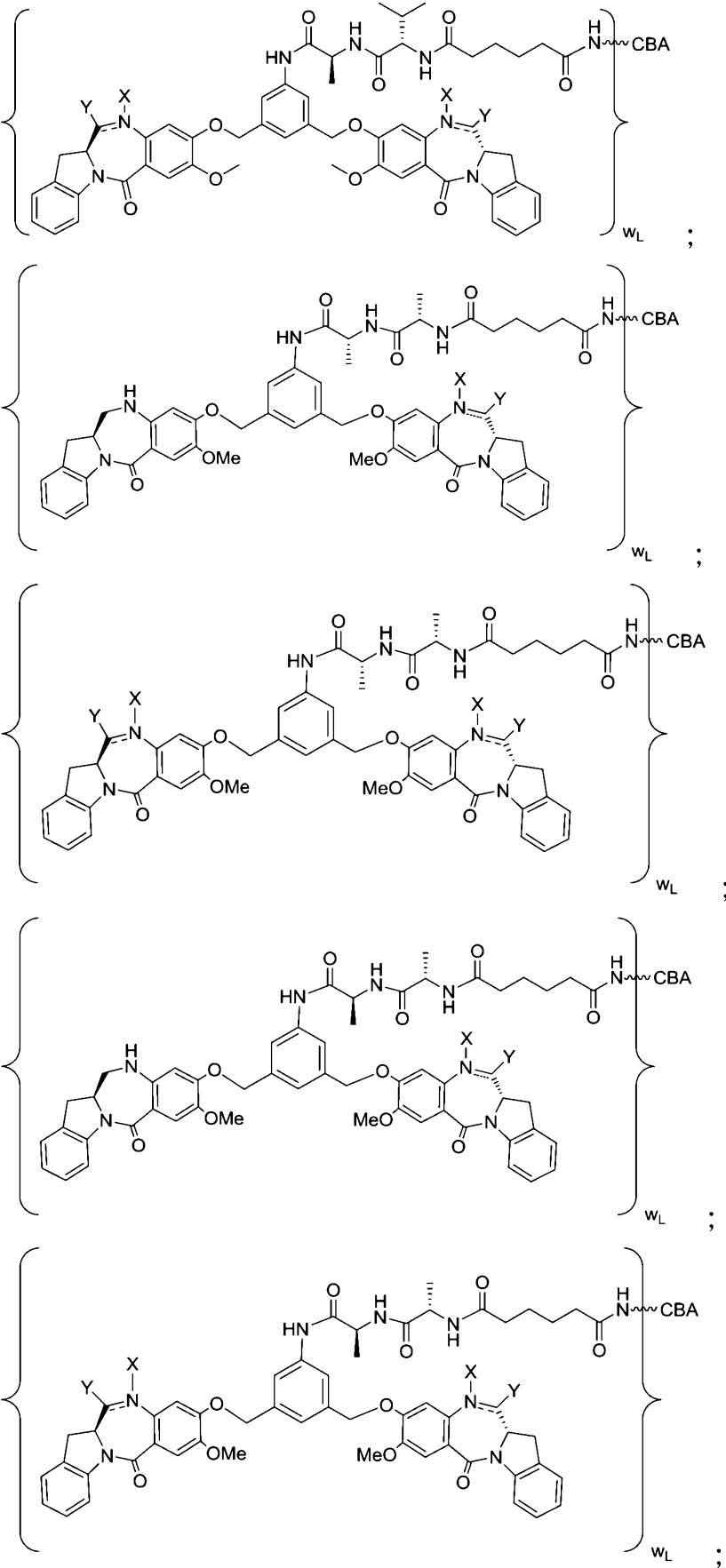
【0221】 在第四具體實施例中，對於式(L1)之共軛物，Cy^{L1} 由式(L1a)表示；R_a 及 R_b 兩者為 H；R₅ 為 H 或 Me，且其餘變量如上文在第一具體實施例中所述。

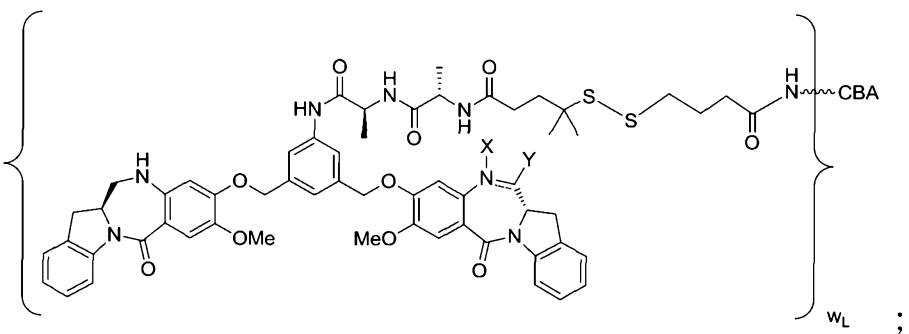
【0222】 在第五具體實施例中，P 為含有 2 至 5 個胺基酸殘基之肽；且其餘變量描述於上文第一具體實施例、第二具體實施例或第四具體實施例中。在更具體實施例中，P 係選自由以下所組成之群組：Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-N⁹-甲 苯 磺 醯 基 -Arg、Phe-N⁹-硝 基 -Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:144、β-Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:145)、Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO:146)、Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、D-Val-Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、D-Ala-D-Ala、Ala-Met、Met-Ala、Gln-Val、Asn-Ala、Gln-Phe 及 Gln-Ala。更具體地，P 為 Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala 或 D-Ala-D-Ala。

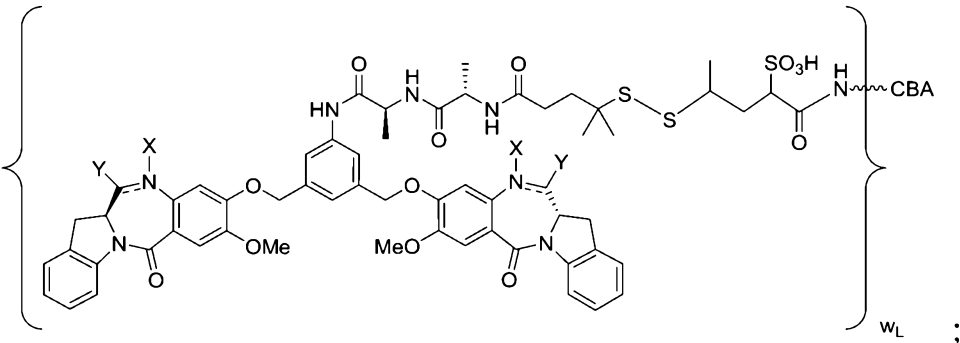
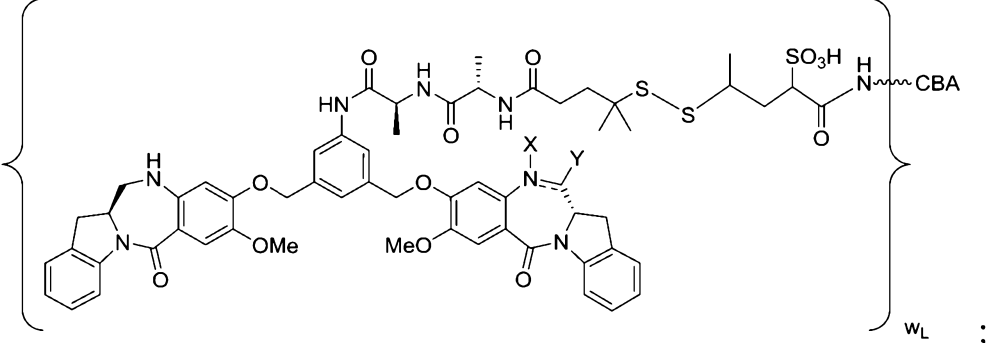
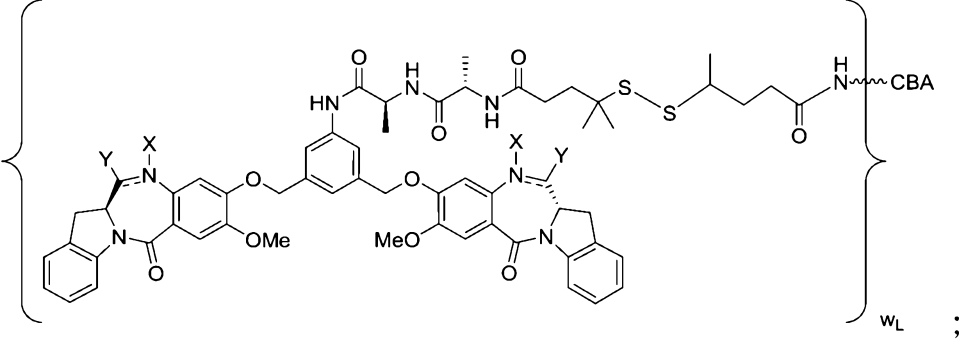
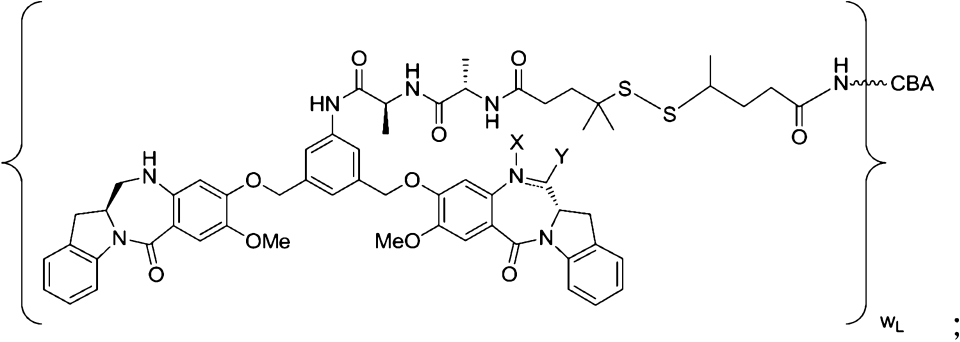
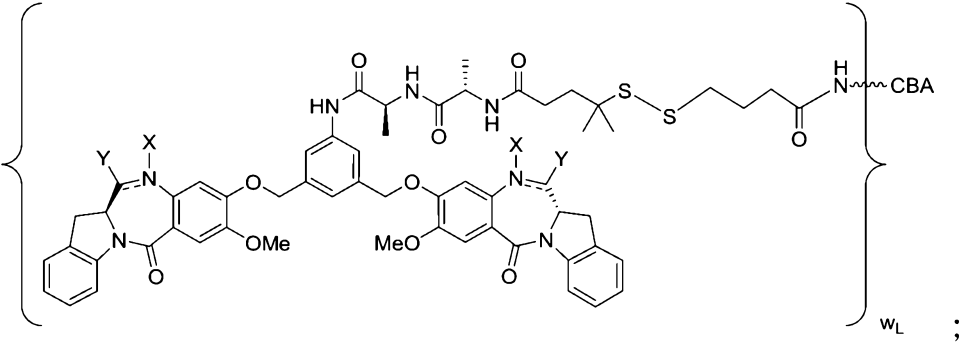
【0223】 在第六具體實施例中，Q 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；且其餘變量如上文在第一具體實施例、第二具體實施例、第四具體實施例或第五具體實施例或其中所述之任何更具體實施例中所述。

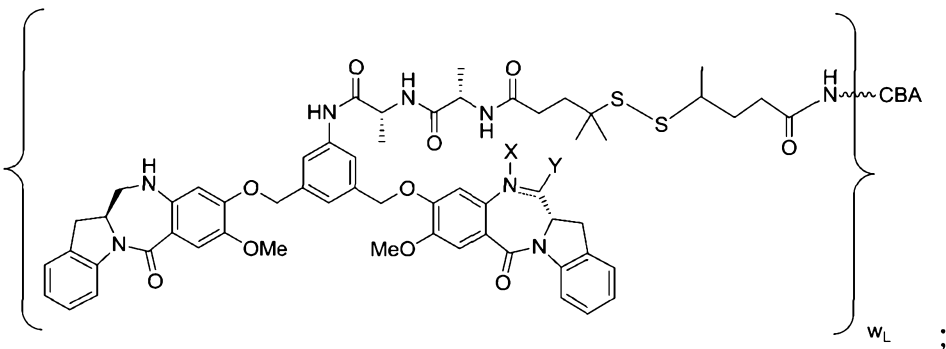
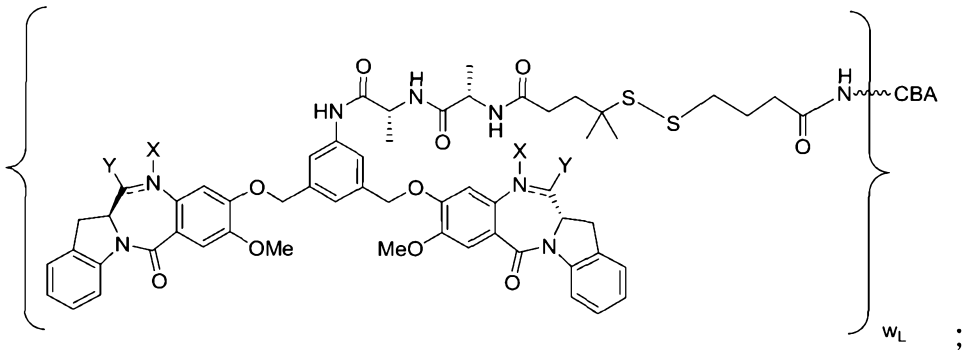
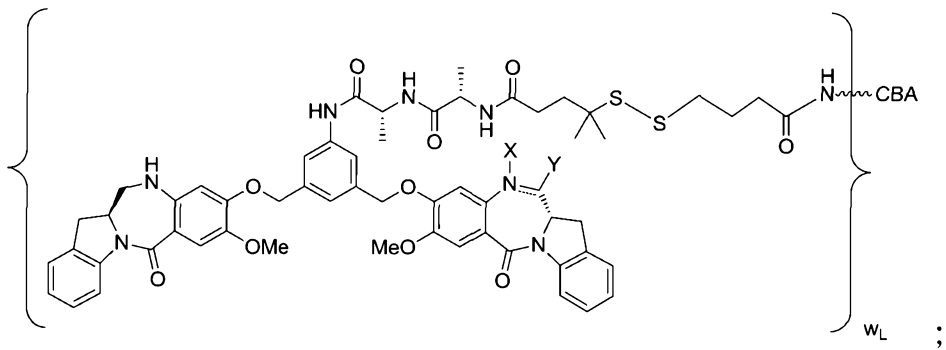
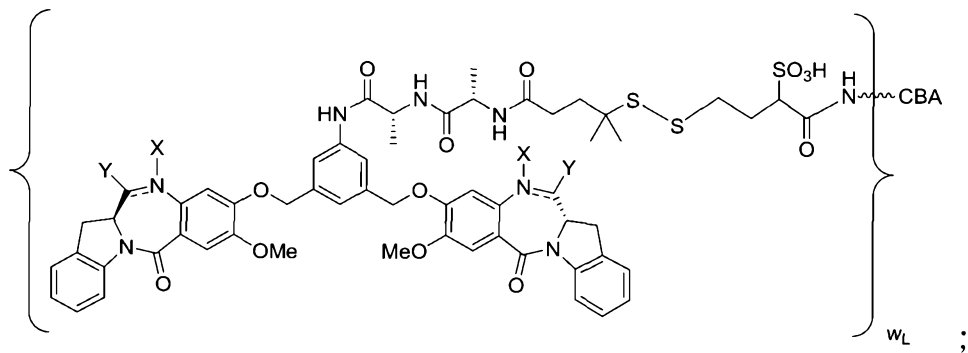
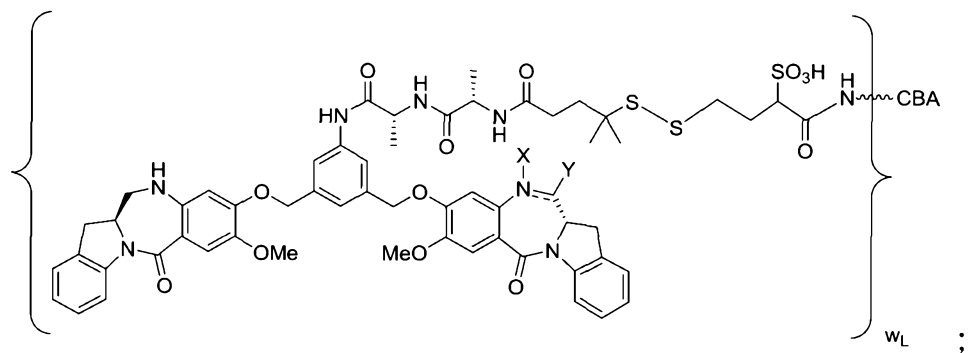
【0224】 在第七具體實施例中，第一實施例之免疫共軛物由下式表示：

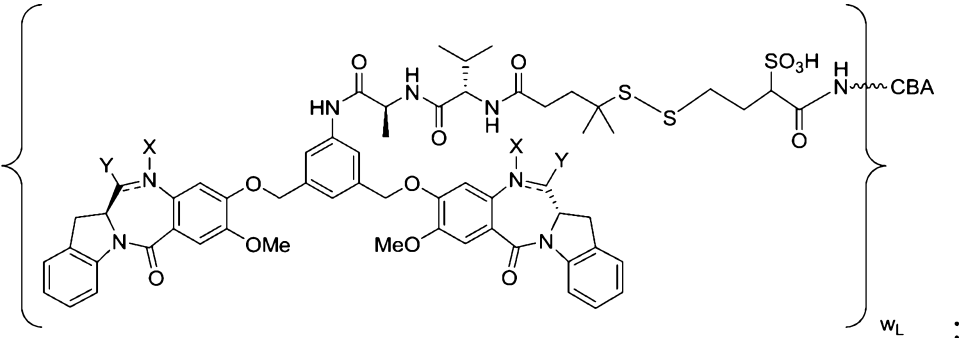
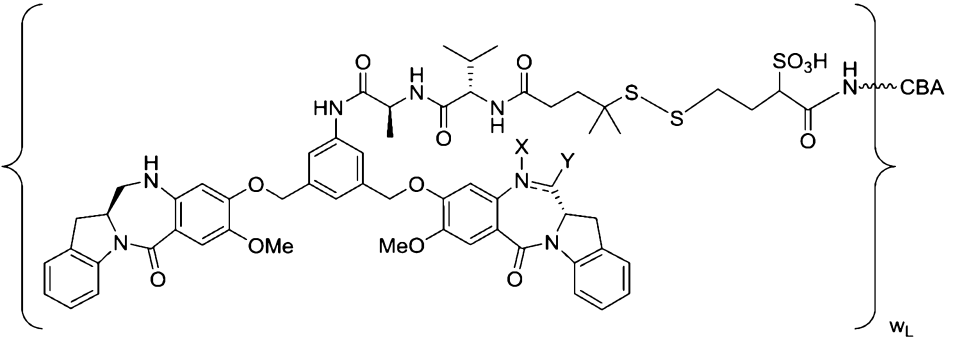
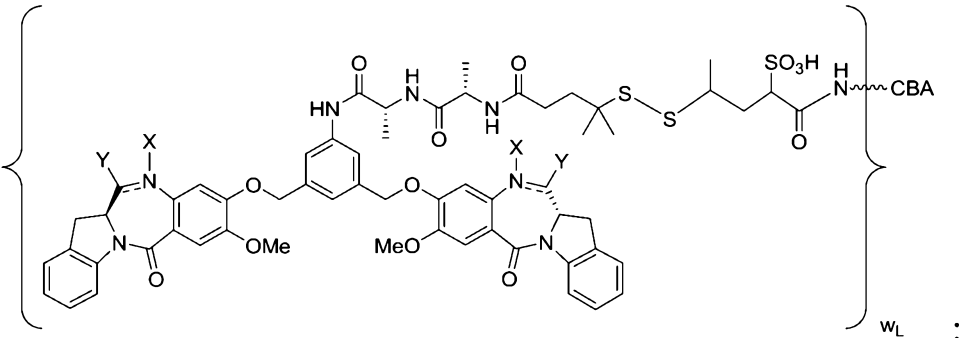
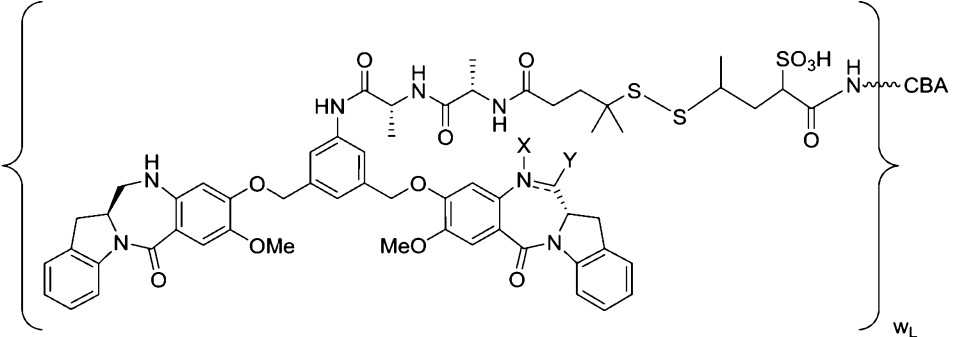
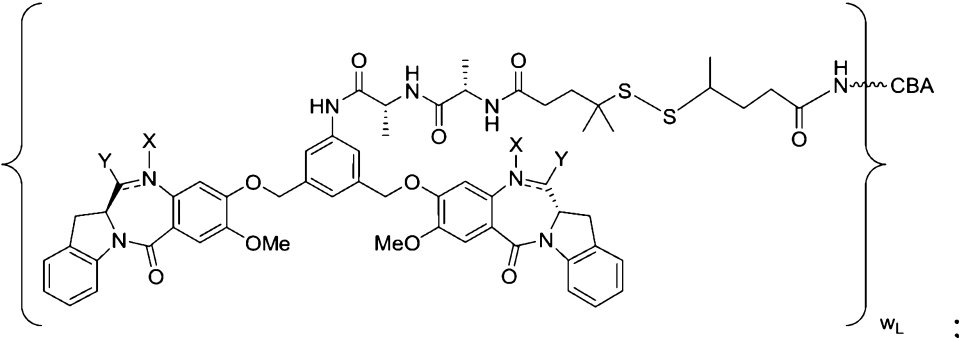


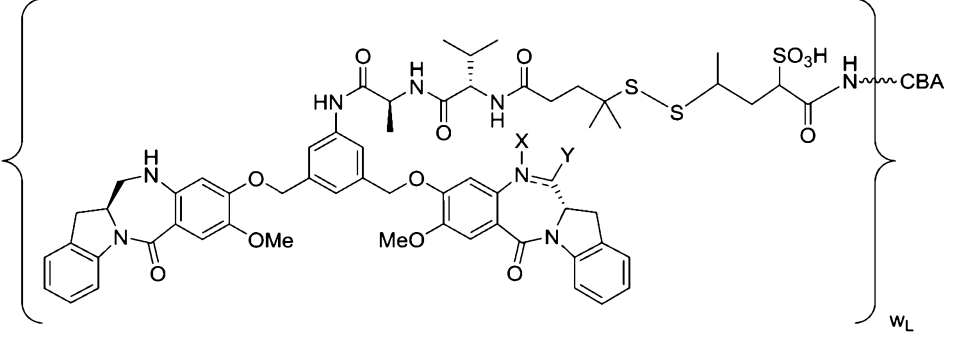
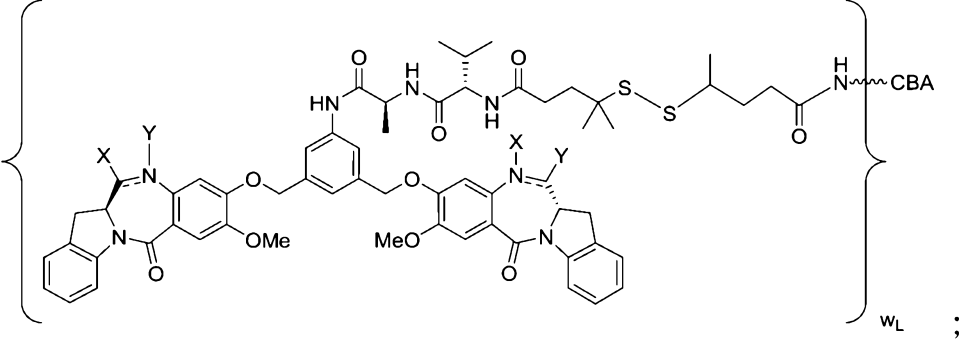
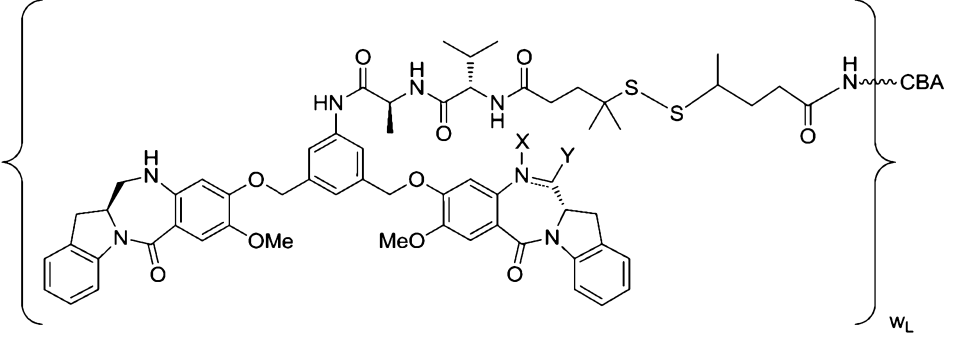
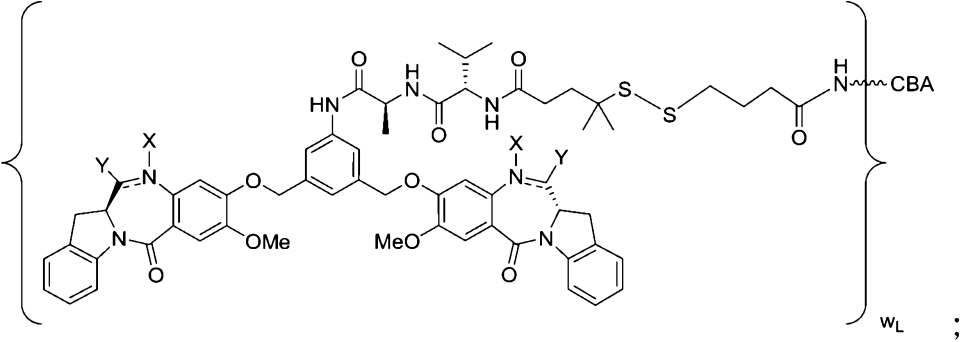
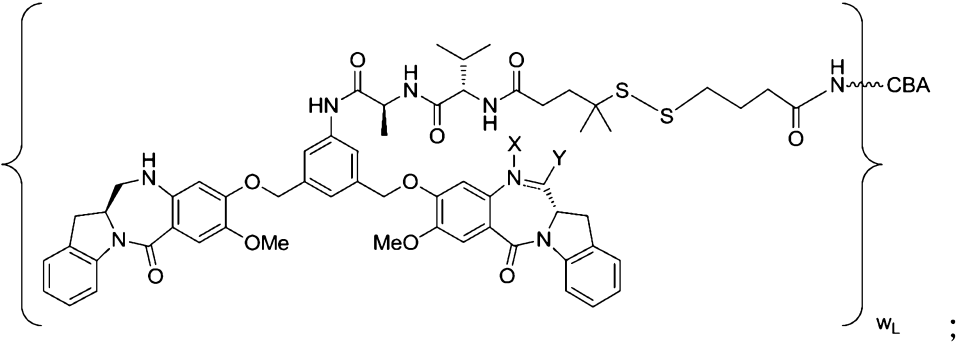


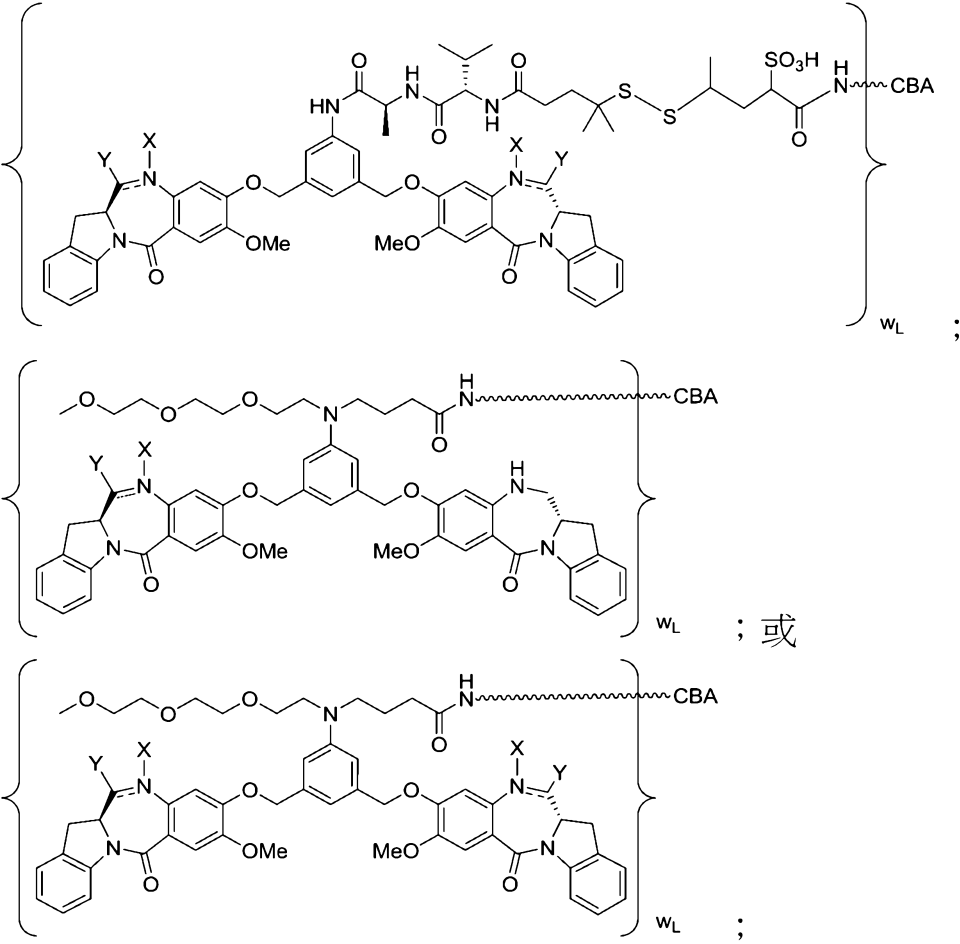






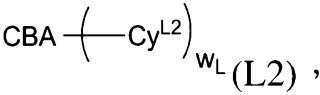






或其醫藥學上可接受之鹽，其中 W_L 為 1 至 10 之整數；N 與 C 之間的雙線 $\equiv$ 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H；且當其為單鍵時，X 為-H，且 Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。在更具體實施例中，N 與 C 之間的雙線 $\equiv$ 表示雙鍵，X 不存在，且 Y 為-H。在另一更具體實施例中，N 與 C 之間的雙線 $\equiv$ 表示單鍵，X 為-H，且 Y 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。

【0225】 在第八具體實施例中，第一實施例之免疫共軛物由下式表示：

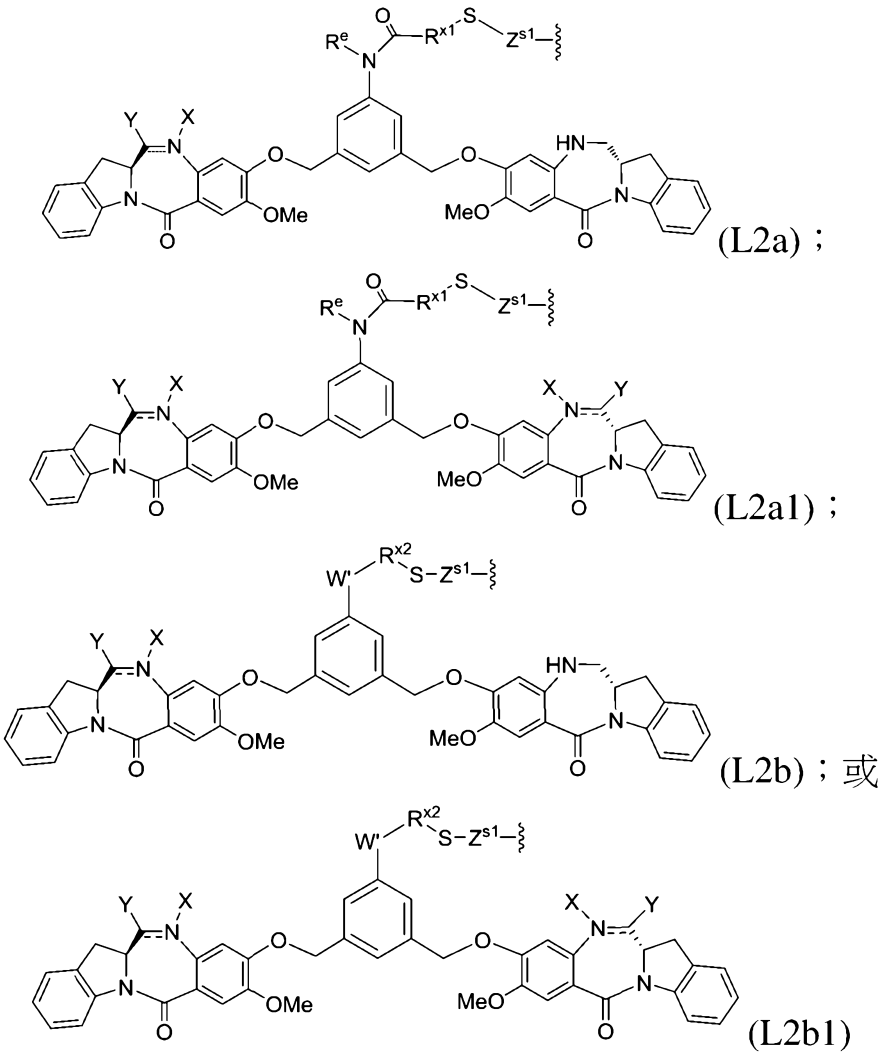


其中：

CBA 為本文上文所述之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過離胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{L2} ；

W_L 為 1 至 20 之整數；且

Cy^{L2} 為由下式表示之細胞毒性化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H 或(C₁-C₄)烷基；且當其為單鍵時，X 為-H 或胺保護部分，且 Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；

R^{x1} 及 R^{x2} 獨立地為(C₁-C₆)烷基；

R^e 為-H 或(C₁-C₆)烷基；

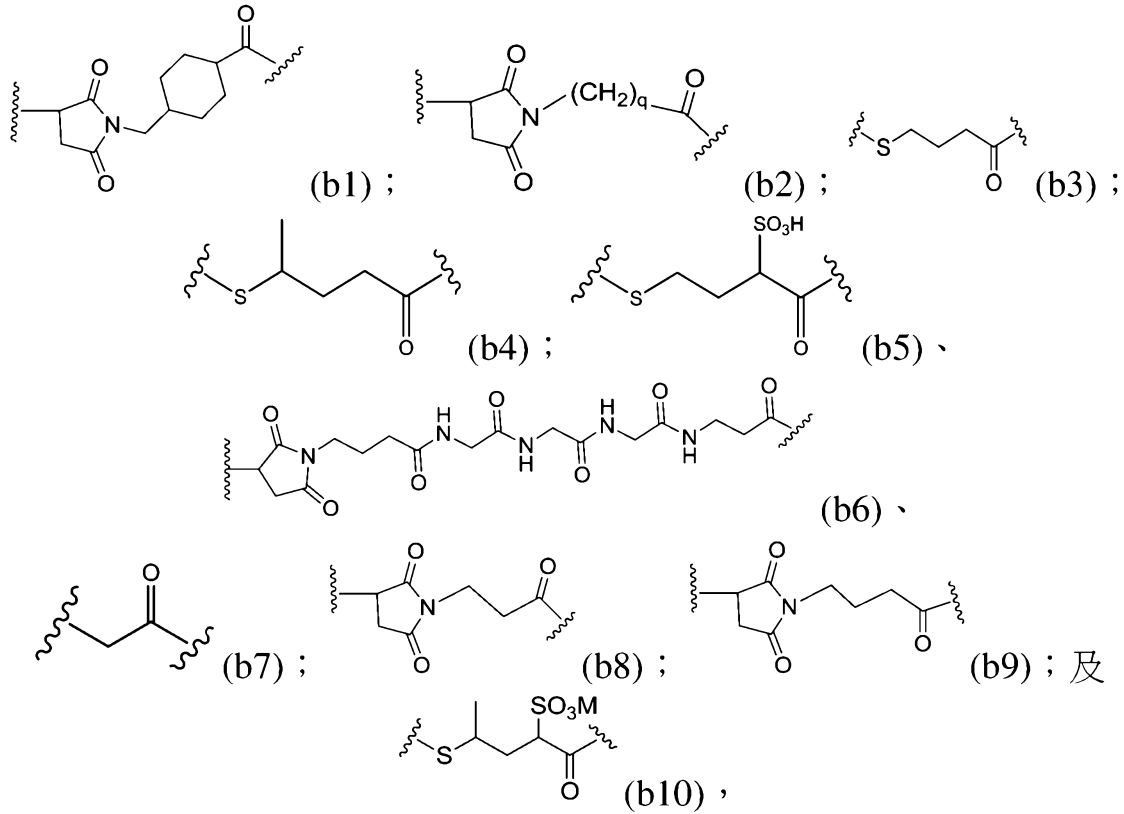
W' 為-NR^{e'}，

R^{e'} 為-(CH₂-CH₂-O)_n-R^k；

n 為 2 至 6 之整數；

R^k 為-H 或-Me；

Z^{s1} 係選自下式中之任一者：



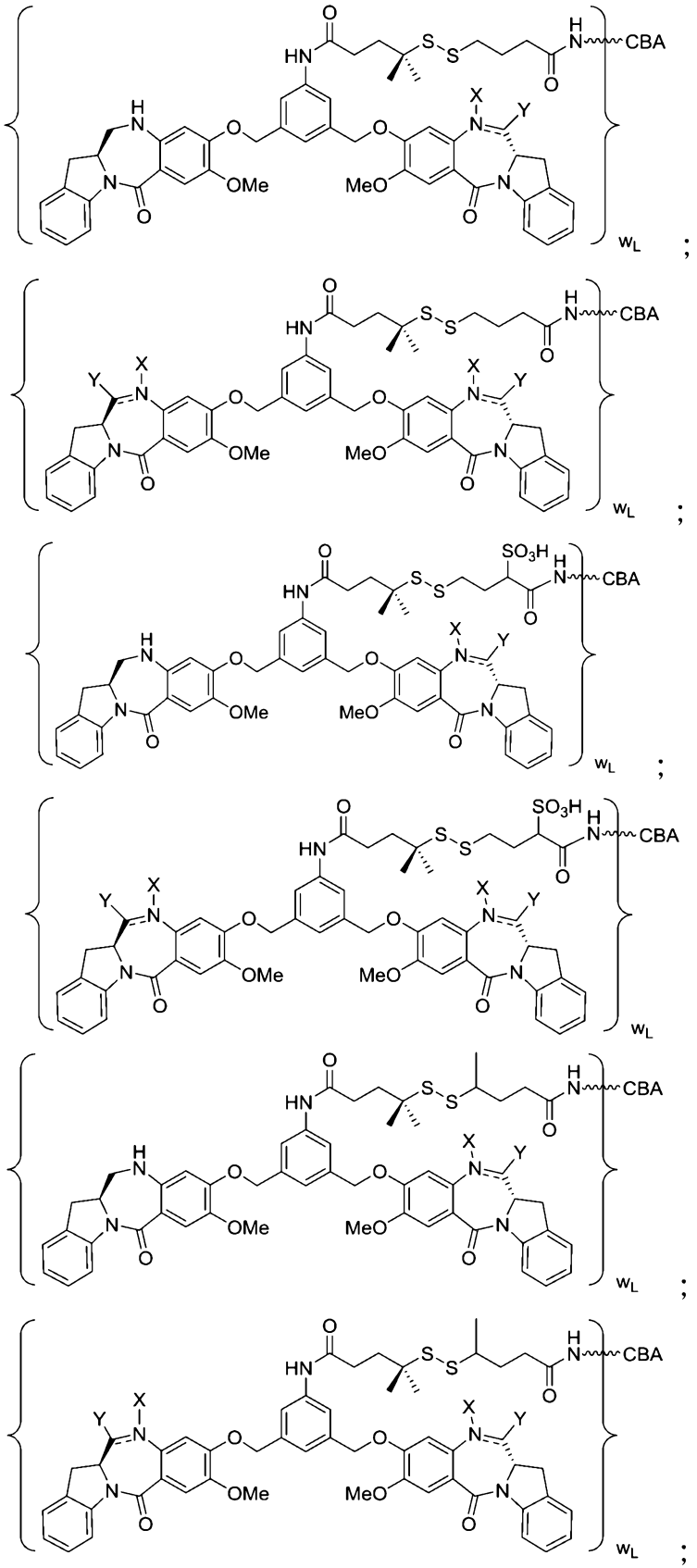
其中 q 為 1 至 5 之整數。

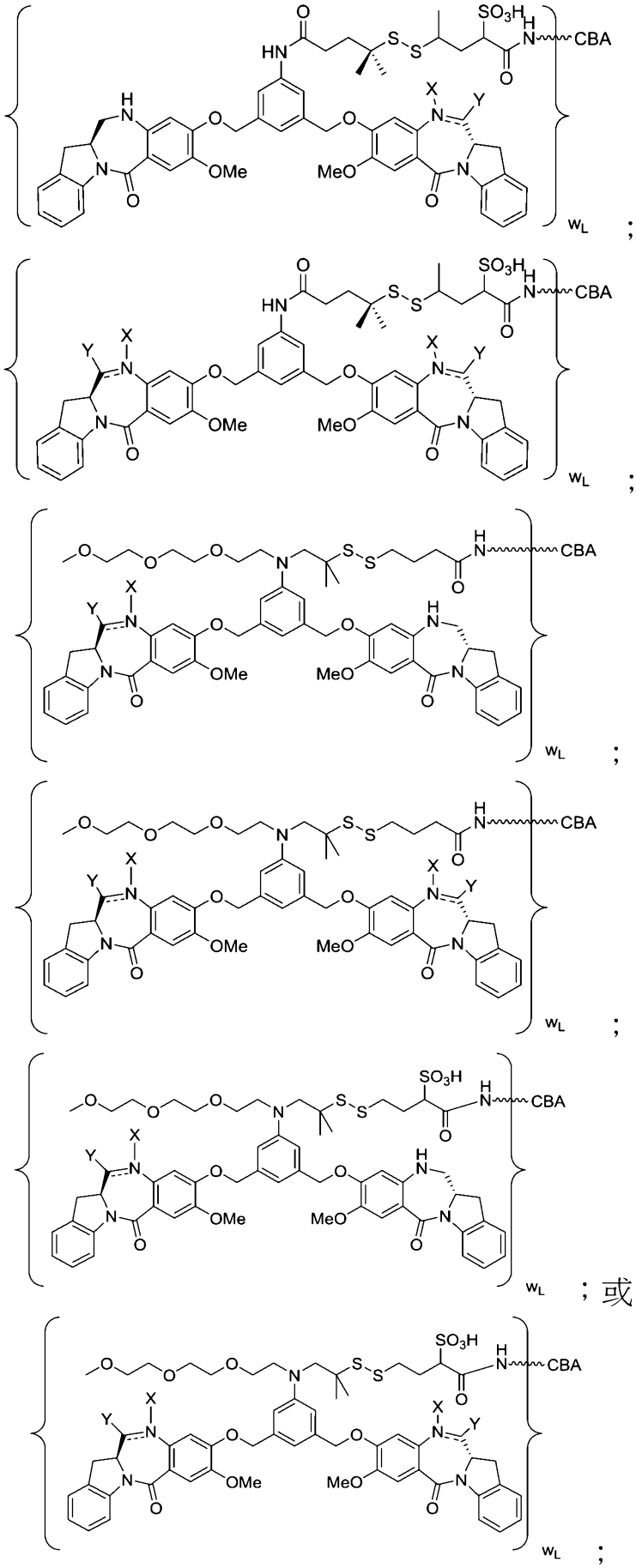
【0226】 在第九具體實施例中，對於式(L2)之免疫共軛物， Cy^{L2} 由式(L2a)或(L2a1)表示；且其餘變量如上文在第八具體實施例中所述。

【0227】 在第十具體實施例中，對於式(L2)之免疫共軛物， Cy^{L2} 由式(L2b)或(L2b1)表示；且其餘變量如上文在第八具體實施例中所述。

【0228】 在第十一具體實施例中，對於式(L2)之免疫共軛物， R^e 為 H 或 Me； R^{x1} 及 R^{x2} 獨立地為 $-(CH_2)_p-(CR^fR^g)-$ ，其中 R^f 及 R^g 各自獨立地為 -H 或 (C_1-C_4) 烷基；且 p 為 0、1、2 或 3；且其餘變量如上文在第八具體實施例、第九具體實施例或第十具體實施例中所述。更具體地， R^f 及 R^g 相同或不同，且選自 -H 及 -Me。

【0229】 在第十二具體實施例中，第一實施例之免疫共軛物由下式表示：

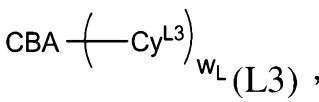




或其醫藥學上可接受之鹽，其中 w_L 為 1 至 10 之整數；N 與 C 之間的雙線 == 表

示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H；且當其為單鍵時，X 為-H，且 Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。在更具體實施例中，N 與 C 之間的雙線 = 表示雙鍵。在另一更具體實施例中，N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵，X 為-H，且 Y 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。

【0230】 在第十三具體實施例中，第一實施例之免疫共軛物由下式表示：

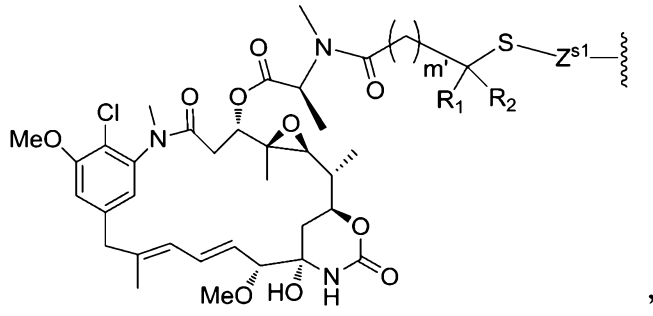


其中：

CBA 為本文上文所述之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過 Lys 殘基共價鍵聯至 Cy^{L3}；

W_L 為 1 至 20 之整數；

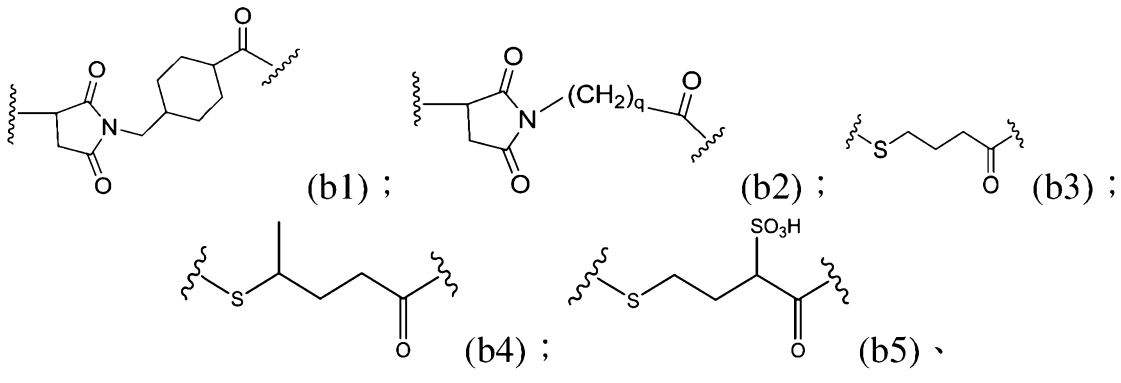
Cy^{L3} 由下式表示：

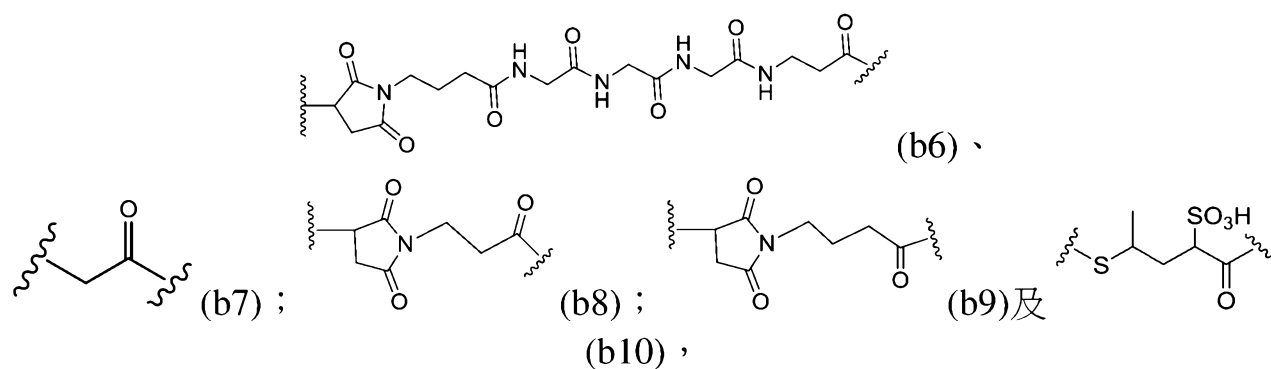


m' 為 1 或 2；

R₁ 及 R₂ 各自獨立地為 H 或(C₁-C₃)烷基；且

Z^{s1} 係選自下式中之任一者：



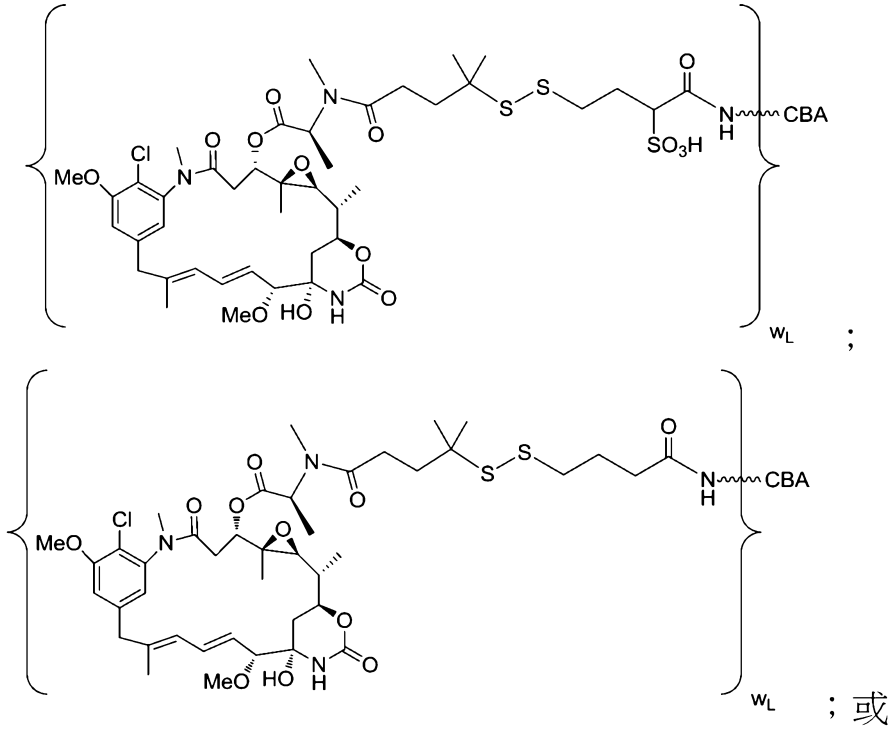


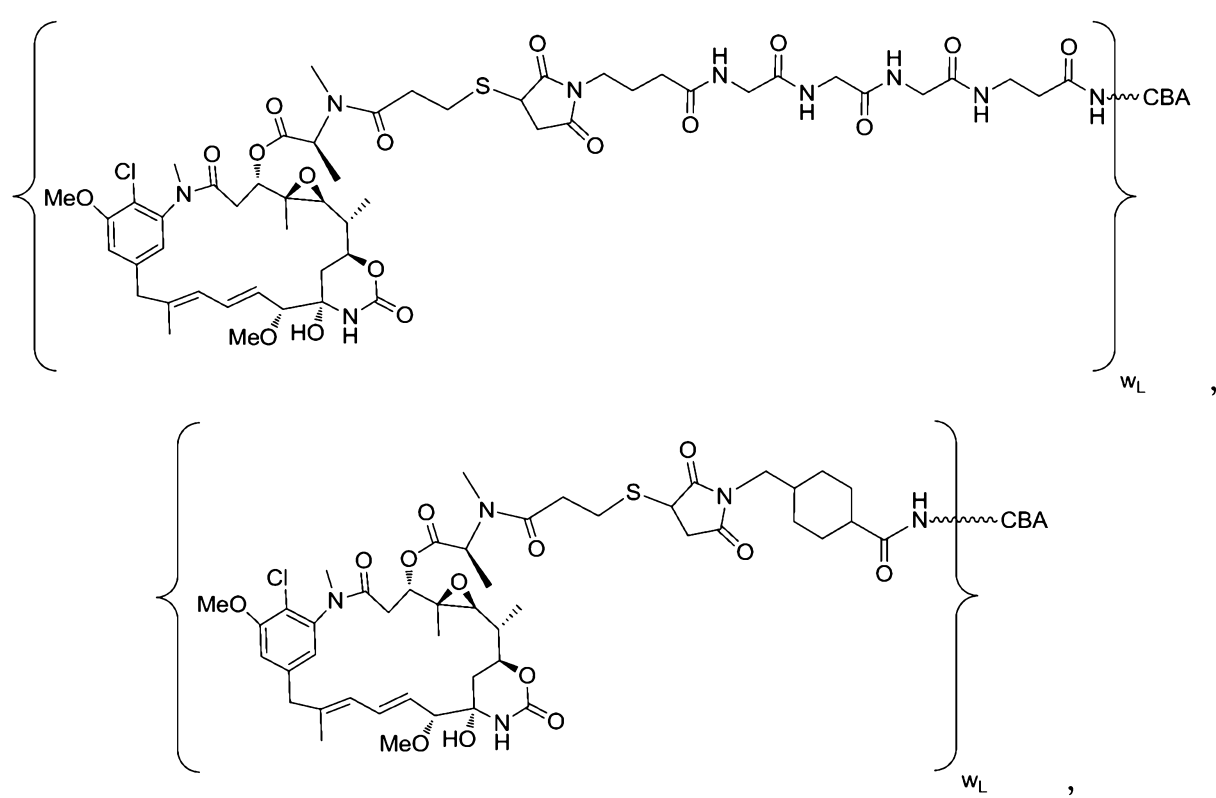
其中 q 為 1 至 5 之整數。

【0231】 在第十四具體實施例中，對於式(L3)之免疫共軛物， m' 為 1，且 R_1 及 R_2 兩者為 H；且其餘變量如上文在第十三具體實施例中所述。

【0232】 在第十五具體實施例中，對於式(L3)之免疫共軛物， m' 為 2，且 R_1 及 R_2 兩者為 Me；且其餘變量如上文在第十三具體實施例中所述。

【0233】 在第十六具體實施例中，第一實施例之免疫共軛物由下式表示：





或其醫藥學上可接受之鹽，其中 w_L 為 1 至 10 之整數。

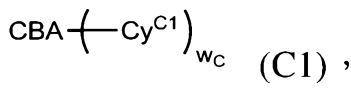
【0234】 在第十七具體實施例中，對於第一實施例之免疫共軛物，Y 為 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_3\text{Na}$ 或 $-\text{SO}_3\text{K}$ ；且其餘變量如上文在第一具體實施例至第十六具體實施例中之任一者或其中所述之任何更具體實施例中所述。在一個實施例中，Y 為 $-\text{SO}_3\text{Na}$ 。

【0235】 在某些實施例中，對於包含第一實施例或第一具體實施例、第二具體實施例、第三具體實施例、第四具體實施例、第五具體實施例、第六具體實施例、第七具體實施例、第八具體實施例、第九具體實施例、第十具體實施例、第十一具體實施例、第十二具體實施例、第十三具體實施例、第十四具體實施例、第十五具體實施例、第十六具體實施例或第十七具體實施例之免疫共軛物之組成物(例如，醫藥組成物)，組成物中每個抗體分子之細胞毒性劑之平均數(亦即，平均值 w_L)(亦稱為藥物-抗體比(DAR))處於 1.0 至 8.0 之範圍內。在一些實施例中，DAR 處於以下範圍內：1.0 至 5.0、1.0 至 4.0、1.0 至 3.4、1.0 至 3.0、1.5 至 2.5、2.0 至 2.5 或 1.8 至 2.2。在一些實施例中，DAR 小於 4.0，小於 3.8，小

於 3.6，小於 3.5，小於 3.0 或小於 2.5。

【0236】 在第二實施例中，本發明之免疫共軛物包含本文上文所述之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過位於該抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段上之一或多個半胱胺酸殘基之硫醇基(-SH)共價鍵聯至本文所述之細胞毒性劑。

【0237】 在第一具體實施例中，第二實施例之免疫共軛物由下式表示：

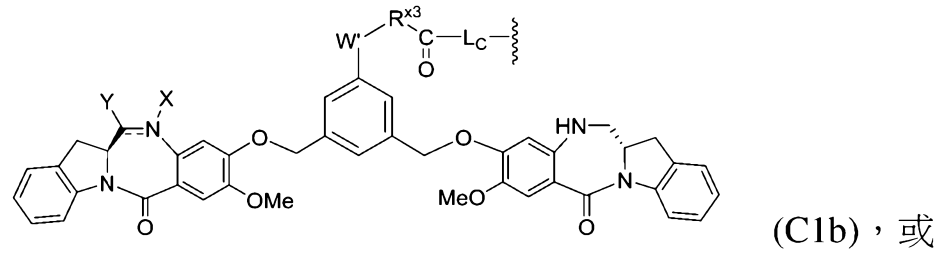
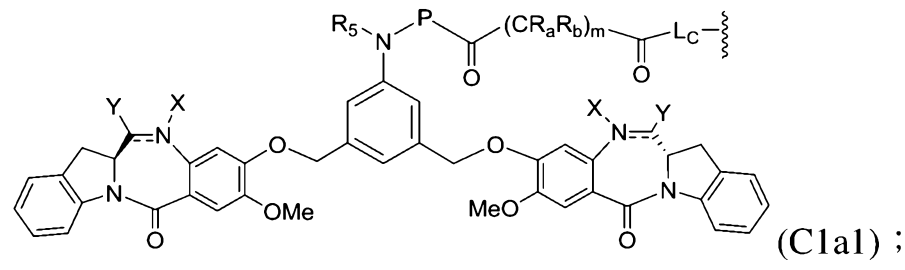
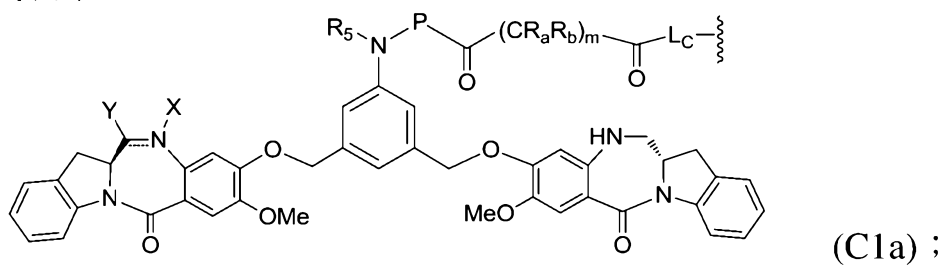


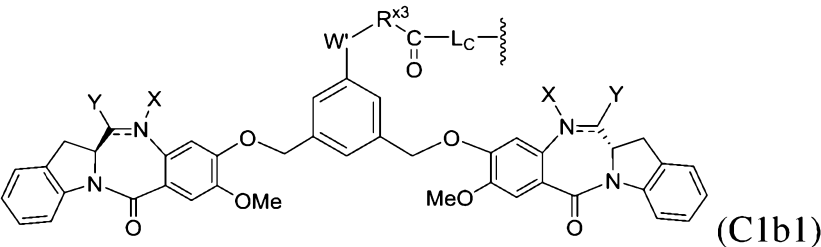
其中：

CBA 為本文所述之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過半胱胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{C1} ；

w_c 為 1 或 2；

Cy^{C1} 由下式表示：





或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H 或(C₁-C₄)烷基；且當其為單鍵時，X 為-H 或胺保護部分，Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；

R₅ 為-H 或(C₁-C₃)烷基；

P 為胺基酸殘基或含有 2 至 20 個胺基酸殘基之肽；

R_a 及 R_b 在每次出現時獨立地為-H、(C₁-C₃)烷基、或帶電取代基或可離子化基團 Q；

W' 為-NR^{e'}，

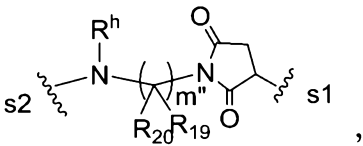
R^{e'} 為-(CH₂-CH₂-O)_n-R^k；

n 為 2 至 6 之整數；

R^k 為-H 或-Me；

R^{x3} 為(C₁-C₆)烷基；且，

L_c 由以下表示：



其中 s1 為共價鍵聯至 CBA 之位點，且 s2 為共價鍵聯至 Cy^{C1} 上之-C(=O)-基團之位點；其中：

R₁₉ 及 R₂₀ 在每次出現時獨立地為-H 或(C₁-C₃)烷基；

m'' 為 1 與 10 之間的整數；且

R^h 為-H 或(C₁-C₃)烷基。

【0238】 在第二具體實施例中，對於式(C1)之免疫共軛物， Cy^{C1} 由式(C1a)或(C1a1)表示；且其餘變量如上文在第二實施例之第一具體實施例中所述。

【0239】 在第三具體實施例中，對於式(C1)之免疫共軛物， Cy^{C1} 由式(C1b)或(C1b1)表示；且其餘變量如上文在第二實施例之第一具體實施例中所述。

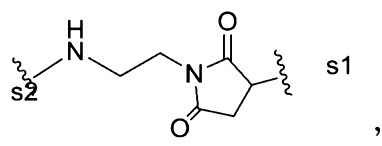
【0240】 在第四具體實施例中，對於式(C1)之免疫共軛物， Cy^{C1} 由式(C1a)或(C1a1)表示； R_a 及 R_b 兩者為 H；且 R_5 為 H 或 Me；且其餘變量如上文在第二實施例之第一具體實施例或第二具體實施例中所述。

【0241】 在第五具體實施例中，對於式(C1)之免疫共軛物，P 為含有 2 至 5 個胺基酸殘基之肽；且其餘變量如上文在第二實施例之第一具體實施例、第二具體實施例或第四具體實施例中所述。在更具體實施例中，P 係選自 Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe- N^9 -甲苯磺醯基-Arg、Phe- N^9 -硝基-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:144)、 β -Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:145)、Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO:146)、Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、D-Val-Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、D-Ala-D-Ala、Ala-Met、Met-Ala、Gln-Val、Asn-Ala、Gln-Phe 及 Gln-Ala。在另一更具體實施例中，P 為 Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala 或 D-Ala-D-Ala。

【0242】 在第六具體實施例中，對於式(C1)之免疫共軛物，Q 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；且其餘變量如上文在第二實施例之第一具體實施例、第二具體實施例、第四具體實施例或第五具體實施例或其中所述之任何更具體實施例中所述。

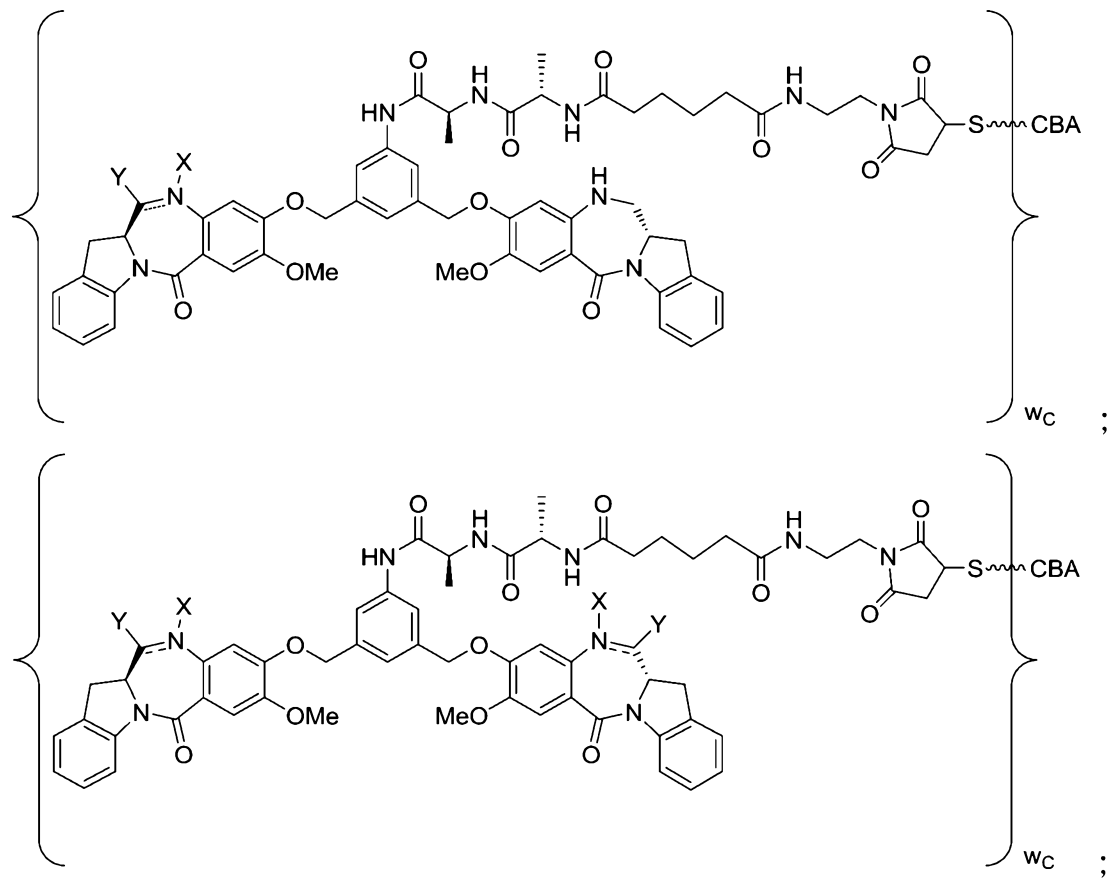
【0243】 在第七具體實施例中，對於式(C1)之免疫共軛物， R_{19} 及 R_{20} 兩者為 H；且 m'' 為 1 至 6 之整數；且其餘變量如上文在第二實施例之第一具體實施例、第二具體實施例、第三具體實施例、第四具體實施例、第五具體實施例或第六具體實施例或其中所述之任何更具體實施例中所述。

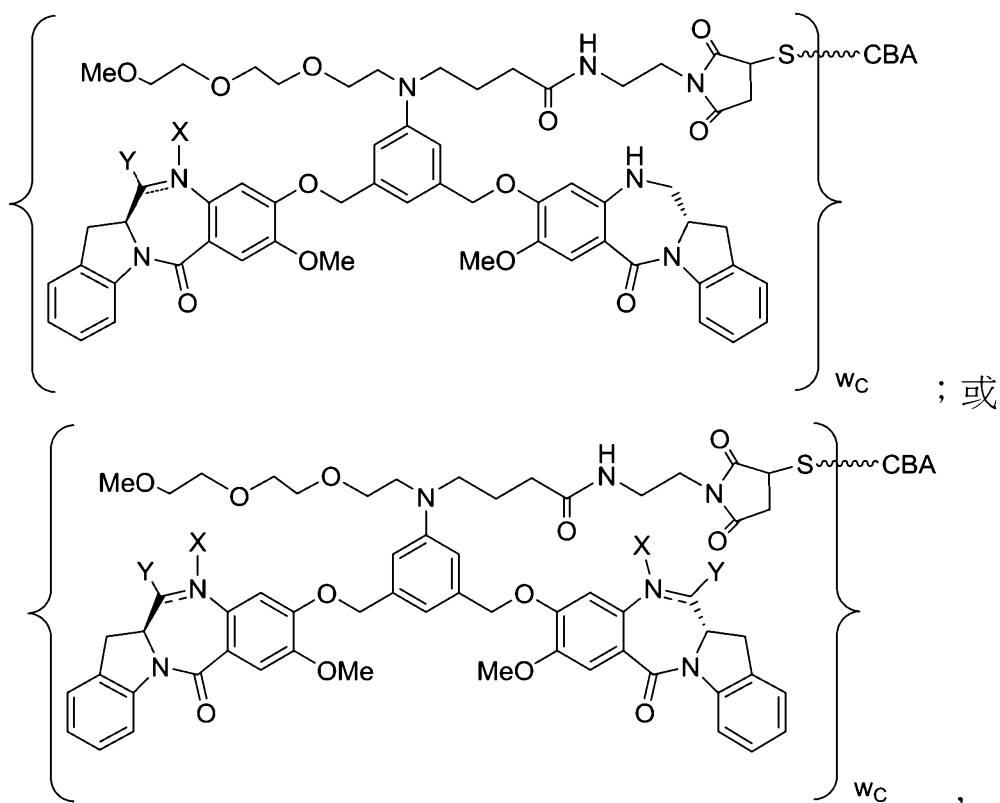
【0244】 在第八具體實施例中，對於式(C1)之免疫共軛物， $-L-L_C-$ 由下式表示：



且其餘變量如上文在第二實施例之第一具體實施例、第二具體實施例、第三具體實施例、第四具體實施例、第五具體實施例、第六具體實施例或第七具體實施例或其中所述之任何更具體實施例中所述。

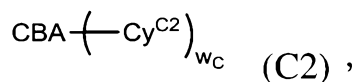
【0245】 在第九具體實施例中，第二實施例之免疫共軛物由下式表示：





或其醫藥學上可接受之鹽，其中 N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H，且當其為單鍵時，X 為-H，且 Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。在更具體實施例中，N 與 C 之間的雙線 = 表示雙鍵，X 不存在，且 Y 為-H。在另一更具體實施例中，N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵，X 為-H，且 Y 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。

【0246】 在第十具體實施例中，第二實施例之免疫共軛物由下式表示：

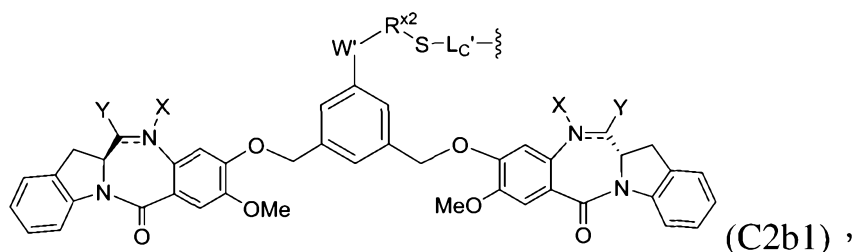
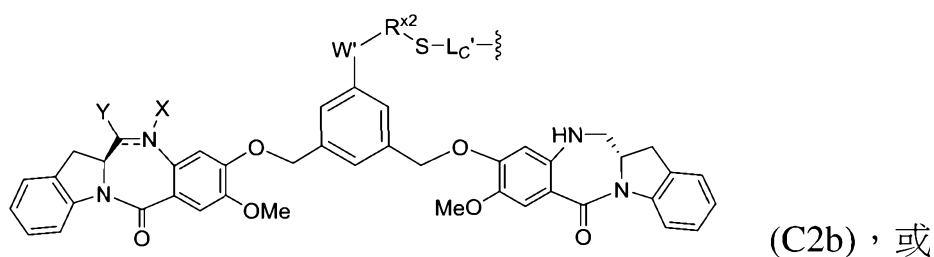
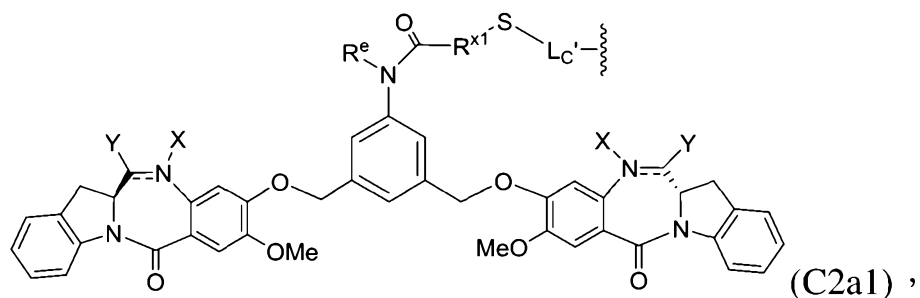
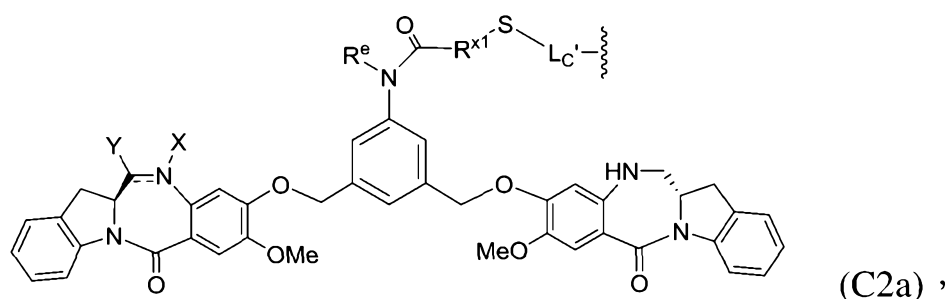


其中：

CBA 為本文上文所述之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過半胱胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{C2}；

W_C 為 1 或 2；

Cy^{C2} 由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H 或(C₁-C₄)烷基；且當其為單鍵時，X 為-H 或胺保護部分，Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；

R^{x1} 為(C₁-C₆)烷基；

R^e 為-H 或(C₁-C₆)烷基；

W' 為-NR^{e'}；

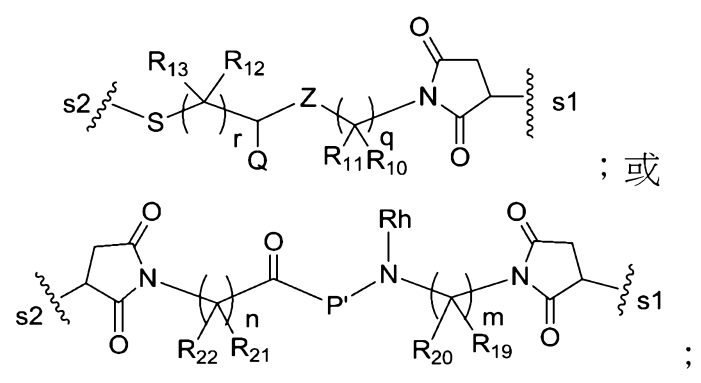
R^{e'} 為-(CH₂-CH₂-O)_n-R^k；

n 為 2 至 6 之整數；

R^k 為-H 或-Me；

R^{x2} 為(C₁-C₆)烷基；

L_{C'}由下式表示：



其中：

s1 為共價鍵聯至 CBA 之位點，且 s2 為共價鍵聯至 Cy^{C2} 上之-S-基團之位點；

Z 為-C(=O)-NR₉-或-NR₉-C(=O)-；

Q 為-H、帶電取代基或可離子化基團；

R₉、R₁₀、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₉、R₂₀、R₂₁ 及 R₂₂在每次出現時獨立地為-H 或(C₁-C₃) 烷基；

q 及 r 在每次出現時獨立地為 0 與 10 之間的整數；

m 及 n 各自獨立地為 0 與 10 之間之整數；

R^h 為-H 或(C₁-C₃)烷基；且

P'為胺基酸殘基或含有 2 至 20 個胺基酸殘基之肽。

【0247】 在更具體實施例中，q 及 r 各自獨立地為 1 至 6 之間之整數，更具體地為 1 至 3 之間之整數。甚至更具體地，R₁₀、R₁₁、R₁₂ 及 R₁₃ 皆為 H。

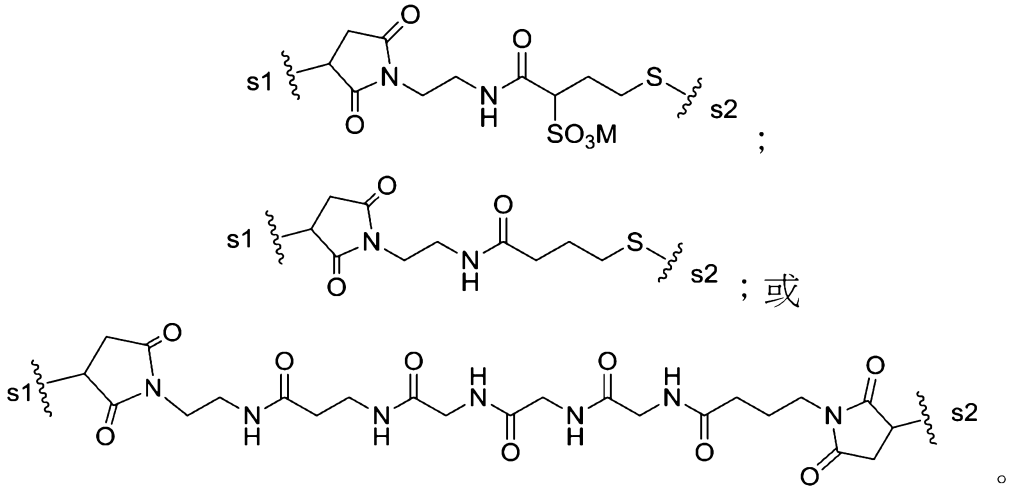
【0248】 在另一更具體實施例中，m 及 n 各自獨立地為 1 與 6 之間之整數，更具體地為 1 至 3 之間之整數。甚至更具體地，R₁₉、R₂₀、R₂₁ 及 R₂₂ 皆為 H。

【0249】 在第十一具體實施例中，對於式(C2)之免疫共軛物，Cy^{C2} 由式(C2a) 或(C2a1)表示；且其餘變量如以上在第二實施例之第十具體實施例或其中所述之任何更具體實施例中所述。

【0250】 在第十二具體實施例中，對於式(C2)之免疫共軛物，Cy^{C2} 由式(C2b)或(C2b1)表示；且其餘變量如以上在第二實施例之第十具體實施例中所述。

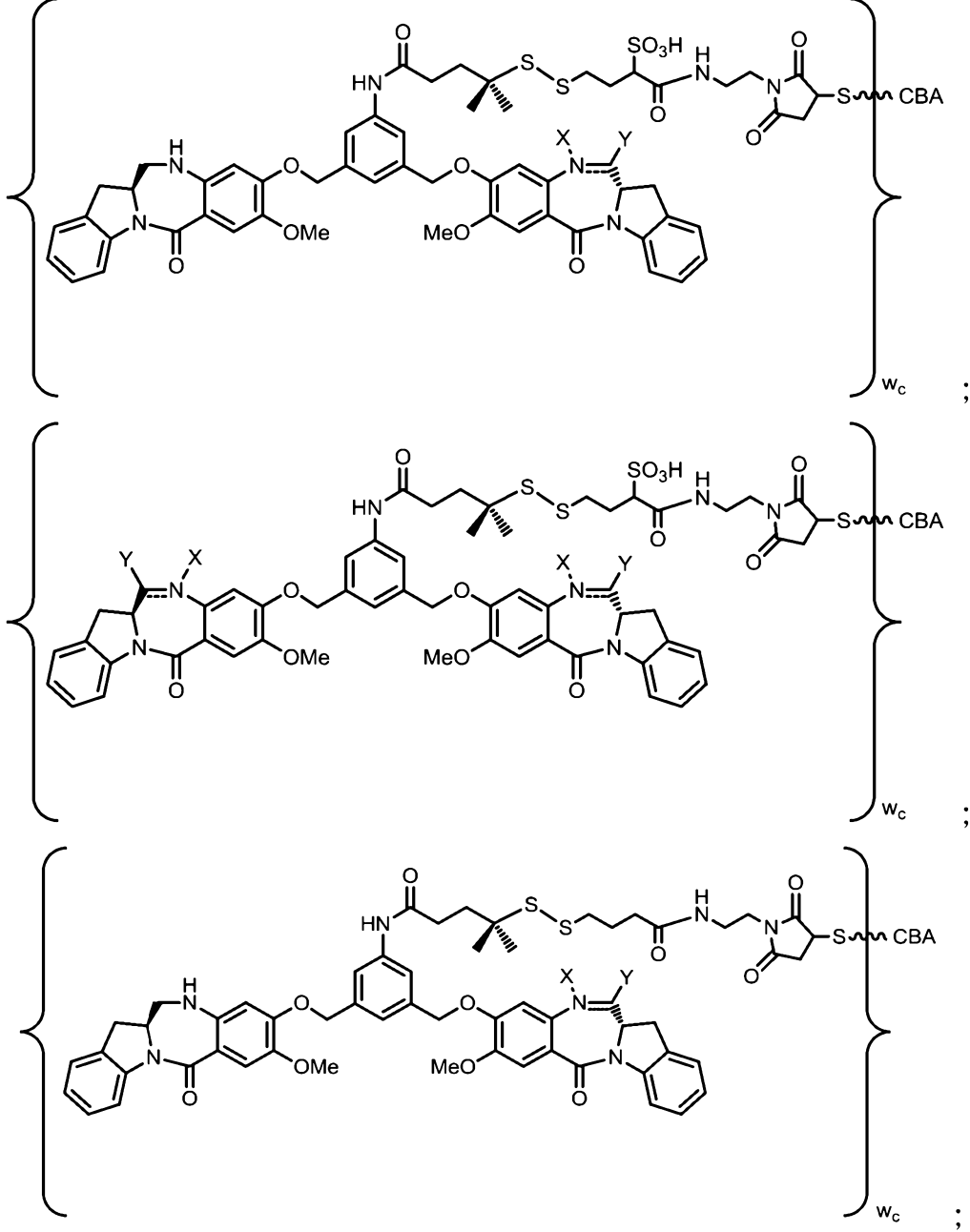
【0251】 在第 13 具體實施例中，對於式(C2)之免疫共軛物，P'為含有 2 至 5 個胺基酸殘基之肽；且其餘變量如在第二實施例之第十具體實施例、第十一具體實施例或第十二具體實施例或其中所述之任何更具體實施例中所述。在更具體實施例中，P'係選自 Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-N⁹-甲苯磺醯基-Arg、Phe-N⁹-硝基-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:144)、β-Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:145)、Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO:146)、Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、D-Val-Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、D-Ala-D-Ala、Ala-Met、Met-Ala、Gln-Val、Asn-Ala、Gln-Phe 及 Gln-Ala。在另一更具體實施例中，P'為 Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala 或 D-Ala-D-Ala。

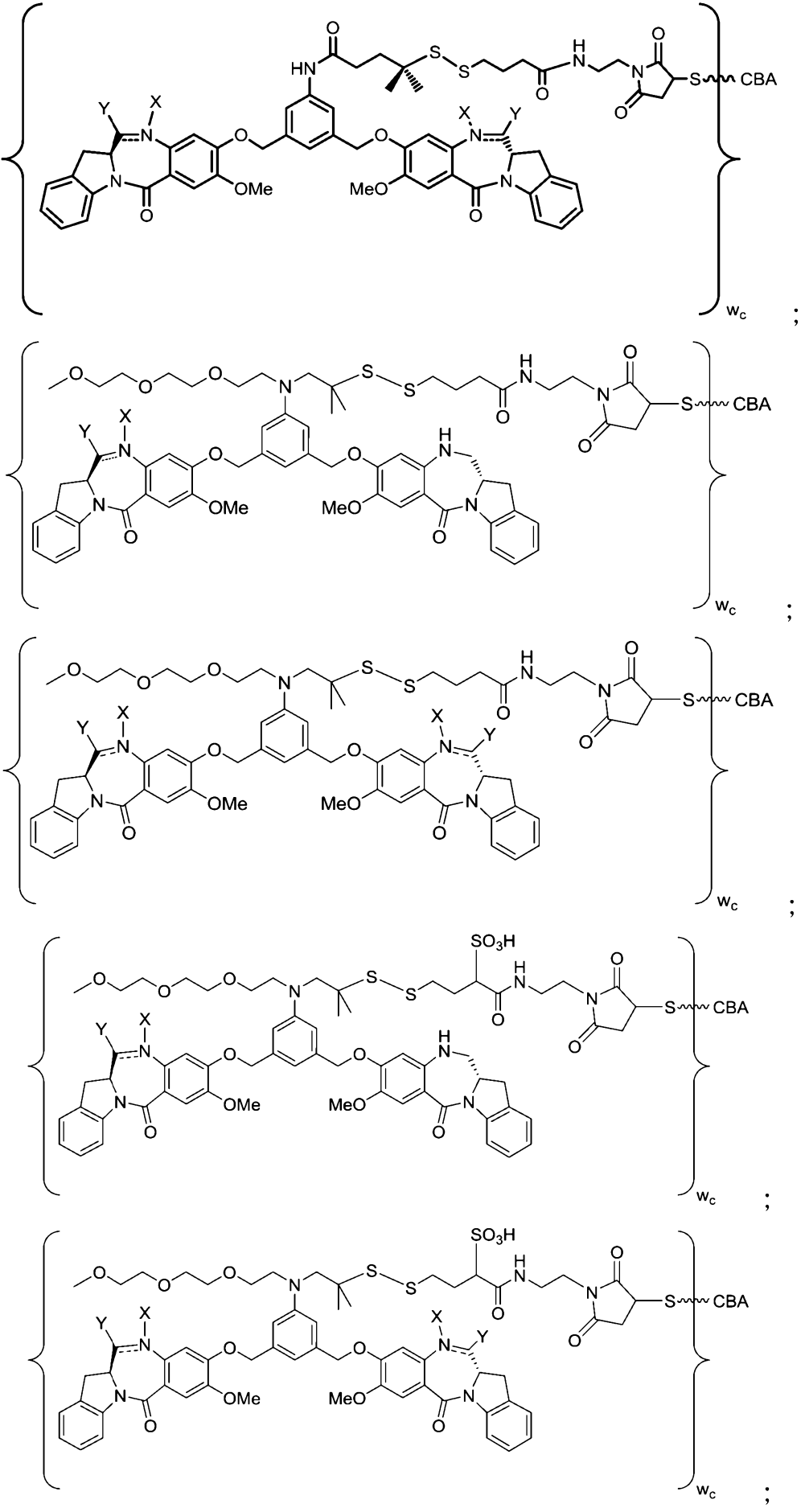
【0252】 在第十四具體實施例中，對於式(C2)之免疫共軛物，-Lc'-由下式表示：



【0253】 在第十五具體實施例中，對於(C2)之免疫共軛物， R^e 為 H 或 Me； R^{x1} 為 $-(CH_2)_p-(CR^fR^g)-$ ，且 R^{x2} 為 $-(CH_2)_p-(CR^fR^g)-$ ，其中 R^f 及 R^g 各自獨立地為-H 或 (C_1-C_4) 烷基；且 p 為 0、1、2 或 3；且其餘變量如上文在第二實施例之第十具體實施例、第十一具體實施例、第十二具體實施例、第十三具體實施例或第十四具體實施例中所述。更具體地， R^f 及 R^g 相同或不同，且選自-H 及-Me。

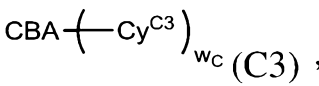
【0254】 在第十六具體實施例中，第二實施例之免疫共軛物由下式表示：





或其醫藥學上可接受之鹽，其中 N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H，且當其為單鍵時，X 為-H，且 Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。在更具體實施例中，N 與 C 之間的雙線 = 表示雙鍵，X 不存在，且 Y 為-H。在另一具體實施例中，N 與 C 之間的雙線表示單鍵，X 為-H，且 Y 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。

【0255】 在第十七具體實施例中，第二實施例之免疫共軛物由下式表示：

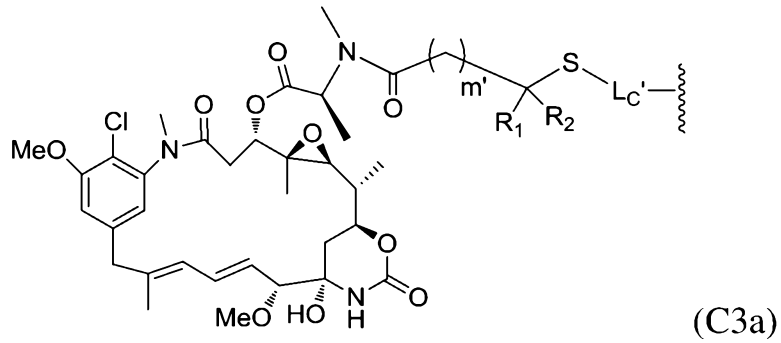


其中：

CBA 為本文上文所述之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過半胱胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{C3}；

W_C 為 1 或 2；

Cy^{C3} 由下式表示：

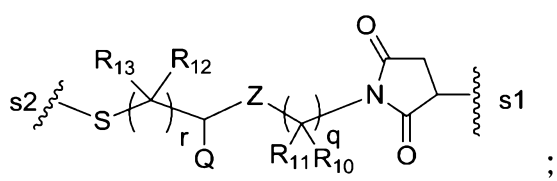


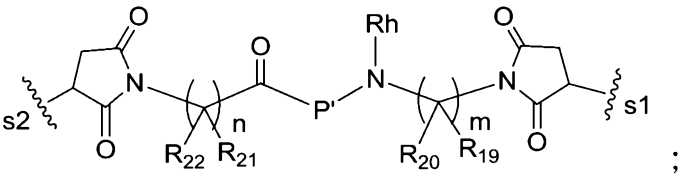
其中：

m' 為 1 或 2；

R₁ 及 R₂ 各自獨立地為-H 或(C₁-C₃)烷基；

L_{C'}由下式表示：





其中：

s1 為共價鍵聯至 CBA 之位點，且 s2 為共價鍵聯至 Cy^{C3} 上之-S-基團之位點；

Z 為-C(=O)-NR₉-或-NR₉-C(=O)-；

Q 為 H、帶電取代基、或可離子化基團；

R₉、R₁₀、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₉、R₂₀、R₂₁ 及 R₂₂ 在每次出現時獨立地為-H 或(C₁-C₃) 烷基；

q 及 r 在每次出現時獨立地為 0 與 10 之間的整數；

m 及 n 各自獨立地為 0 與 10 之間之整數；

R^h 為-H 或(C₁-C₃)烷基；且

P' 為胺基酸殘基或含有 2 至 20 個胺基酸殘基之肽。

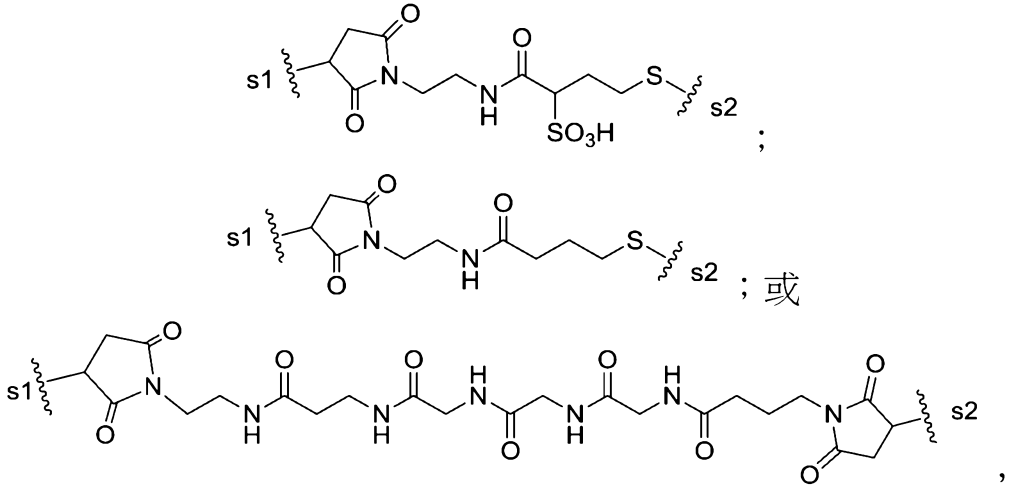
【0256】 在更具體實施例中，q 及 r 各自獨立地為 1 至 6 之間之整數，更具體地為 1 至 3 之整數。甚至更具體地，R₁₀、R₁₁、R₁₂ 及 R₁₃ 皆為 H。

【0257】 在另一更具體實施例中，m 及 n 各自獨立地為 1 與 6 之間之整數，更具體地為 1 至 3 之整數。甚至更具體地，R₁₉、R₂₀、R₂₁ 及 R₂₂ 皆為 H。

【0258】 在第十八具體實施例中，對於式(C3)之免疫共軛物，P' 為含有 2 至 5 個胺基酸殘基之肽；且其餘變量如上文在第二實施例之第十七具體實施例或其中所述之任何更具體實施例中所述。在更具體實施例中，P' 係選自 Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-N⁹-甲苯磺醯基-Arg、Phe-N⁹-硝基-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:144)、β-Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:145)、

Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO:146)、Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、D-Val-Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、D-Ala-D-Ala、Ala-Met、Met-Ala、Gln-Val、Asn-Ala、Gln-Phe 及 Gln-Ala。在另一更具體實施例中，P'為 Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala 或 D-Ala-D-Ala。

【0259】 在第十九具體實施例中，對於式(C3)之免疫共軛物，-Lc'-由下式表示：

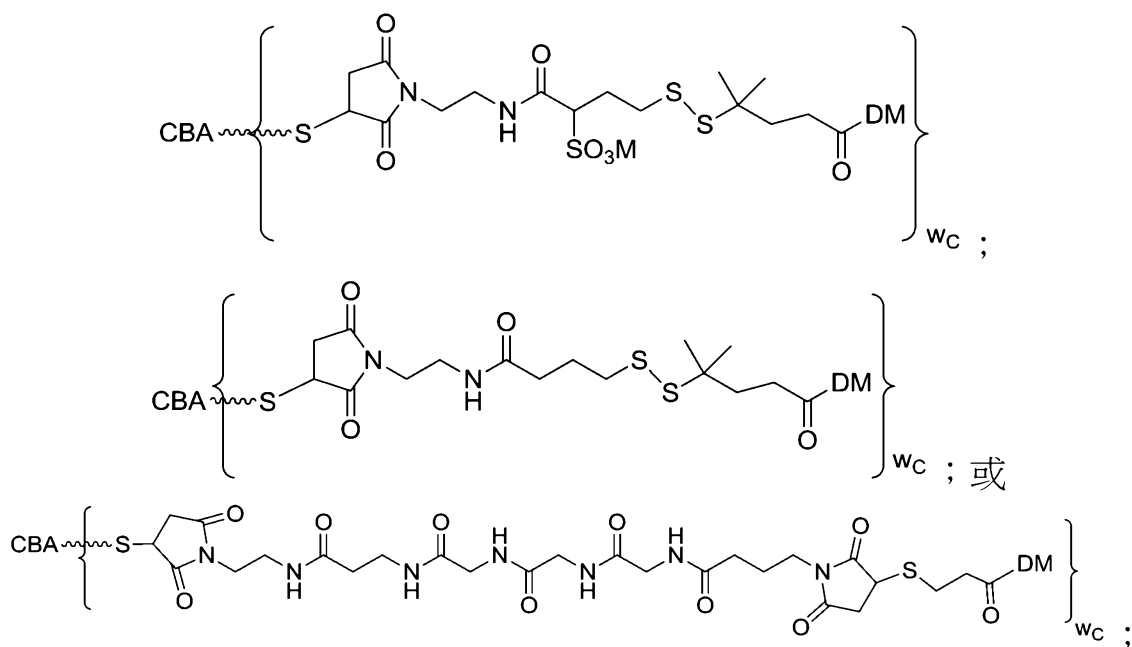


其中 M 為 H⁺或陽離子；且其餘變量如上文在第二實施例之第十七具體實施例或第十八具體實施例或其中所述之任何更具體實施例中所述。

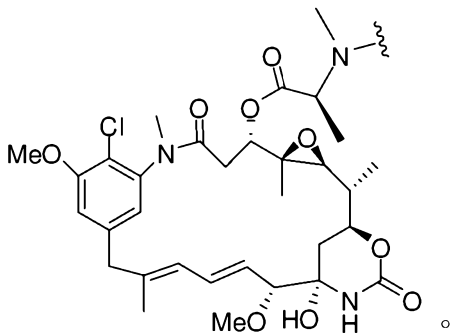
【0260】 在第二十具體實施例中，對於式(C3)之免疫共軛物，m'為 1，且 R₁及 R₂兩者為 H；且其餘變量如上文在第二實施例之第十七具體實施例、第十八具體實施例或第十九具體實施例或其中所述之任何更具體實施例中所述。

【0261】 在第二十一具體實施例中，對於式(C3)之免疫共軛物，m'為 2，且 R₁及 R₂兩者為 Me；且其餘變量如上文在第二實施例之第十七具體實施例、第十八具體實施例或第十九具體實施例或其中所述之任何更具體實施例中所述。

【0262】 在第二十二具體實施例中，第二實施例之免疫共軛物由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中 DM 為由下式表示之藥物部分：



【0263】 在第二十三具體實施例中，對於第二實施例之免疫共軛物，Y 為 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_3\text{Na}$ 或 $-\text{SO}_3\text{K}$ ；且其餘變量如在第二實施例之第一具體實施例至第二十二具體實施例中之任一者或其中所述之任何更具體實施例中所述。在一個實施例中，Y 為 $-\text{SO}_3\text{Na}$ 。

C. 示範性連接子分子

【0264】 此項技術中已知的任何合適連接子可用於製備本發明之免疫共軛物。在某些實施例中，連接子為雙官能連接子。如本文所使用，術語「**雙官能連接子**」係指具有兩個反應性基團之改質劑，該兩個反應性基團之一者能夠與細胞結合劑反應，而另一者與細胞毒性化合物反應，以將兩個部分鍵聯在一起。此類雙官能交聯劑為此項技術中熟知的(參見，例如 Isalm 及 Dent 於 Bioconjugation

第 5 章, 第 218-363 頁, Groves Dictionaries Inc. New York, 1999 中)。舉例而言，經由硫醚鍵實現鍵聯之雙官能交聯劑包括用以引入順丁烯二醯亞胺基之 N-琥珀醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)-環己烷-1-甲酸酯(SMCC)或用以引入碘代乙醯基之 N-琥珀醯亞胺基-4-(碘代乙醯基)-胺基苯甲酸酯(SIAB)。將順丁烯二醯亞胺基或鹵代乙醯基引入細胞結合劑上之其他雙官能交聯劑為此項技術中熟知的(參見，美國專利公開案第 2008/0050310 號、第 20050169933 號，可從 Pierce Biotechnology Inc. P.O. Box 117, Rockland, IL 61105, USA 獲得)且包括但不限於雙-順丁烯二醯亞胺基聚乙二醇(BMPEO)、BM(PEO)₂、BM(PEO)₃、N-(β-順丁烯二醯亞胺基丙氧基)琥珀醯亞胺酯(BMPS)、γ-順丁烯二醯亞胺基丁酸 N-琥珀醯亞胺酯(GMBS)、ε-順丁烯二醯亞胺基己酸 N-羥基琥珀醯亞胺酯(EMCS)、5-順丁烯二醯亞胺基戊酸 NHS、HBVS、N-琥珀醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)-環己烷-1-羧基-(6-醯胺基己酸酯)(其為 SMCC(LC-SMCC)之「長鏈」類似物)、間順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基琥珀醯亞胺酯(MBS)、4-(4-N-順丁烯二醯亞胺基苯基)-丁醯肼或鹽酸鹽(MPBH)、N-琥珀醯亞胺基 3-(溴乙醯胺基)丙酸酯(SBAP)、N-琥珀醯亞胺基碘代乙酸酯(SIA)、κ-順丁烯二醯亞胺基十一烷酸 N-琥珀醯亞胺酯(KMUA)、N-琥珀醯亞胺基 4-(對順丁烯二醯亞胺基苯基)-丁酸酯(SMPB)、琥珀醯亞胺基-6-(β-順丁烯二醯亞胺基丙醯胺)己酸酯(SMPH)、琥珀醯亞胺基-(4-乙基碲醯基)苯甲酸酯(SVSB)、二硫代雙-順丁烯二醯亞胺基乙烷(DTME)、1,4-雙-順丁烯二醯亞胺基丁烷(BMB)、1,4-雙順丁烯二醯亞胺基-2,3-二羥基丁烷(BMDB)、雙-順丁烯二醯亞胺基己烷(BMH)、雙-順丁烯二醯亞胺基乙烷(BMOE)、碲基琥珀醯亞胺基 4-(N-順丁烯二醯亞胺基-甲基)環己烷-1-甲酸酯(碲基-SMCC)、碲基琥珀醯亞胺基(4-碘-乙醯基)胺基苯甲酸酯(碲基-SIAB)、間順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基碲基琥珀醯亞胺酯(碲基-MBS)、N-(γ-順丁烯二醯亞胺基丁醯氧基)碲基琥珀醯亞胺酯(碲基-GMBS)、N-(ε-順丁烯二醯亞胺基己

醯氧基)磺基琥珀醯亞胺酯(磺基-EMCS)、N-(κ -順丁烯二醯亞胺基十一烷醯基)磺基琥珀醯亞胺酯(磺基-KMUS)、及磺基琥珀醯亞胺基 4-(對順丁烯二醯亞胺基苯基)丁酸酯(磺基-SMPB)。

【0265】 異雙官能交聯劑為具有兩個不同反應性基團之雙官能交聯劑。亦可使用含有胺反應性 N-羥基琥珀醯亞胺基(NHS 基團)及羰基反應性肼基之異雙官能交聯劑將本文所述細胞毒性化合物與細胞結合劑(例如抗體)連接。此類商購獲得之異雙官能交聯劑之實例包括琥珀醯亞胺基 6-肼基菸醯胺丙酮脒(SANH)、琥珀醯亞胺基 4-肼基對苯二甲酸酯鹽酸鹽(SHTH)及琥珀醯亞胺基肼菸酸酯鹽酸鹽(SHNH)。帶有酸不穩定鍵聯之共軛物亦可使用帶有肼之本發明苯二氮平衍生物製備。可用的雙官能交聯劑之實例包括琥珀醯亞胺基-對甲醯基苯甲酸酯(SFB)及琥珀醯亞胺基-對甲醯基苯氧基乙酸酯(SFPA)。

【0266】 經由二硫鍵實現細胞結合劑與細胞毒性化合物之鍵聯之雙官能交聯劑為此項技術中已知的，且包括用以引入二硫吡啶基之 N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、N-琥珀醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫基)戊酸酯(SPP)、N-琥珀醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫基)丁酸酯(SPDB)、N-琥珀醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫基)2-磺基丁酸酯(磺基-SPDB)。可用以引入二硫基團之其他雙官能交聯劑為此項技術中已知的，且揭示於美國專利 6,913,748、6,716,821 及美國專利公開案 20090274713 及 20100129314 中，所有該等專利皆以引用方式併入本文中。或者，亦可使用交聯劑，諸如 2-亞胺基硫雜環戊烷、高半胱胺酸硫內酯或 S-乙醯基琥珀酸酐引入硫醇基。

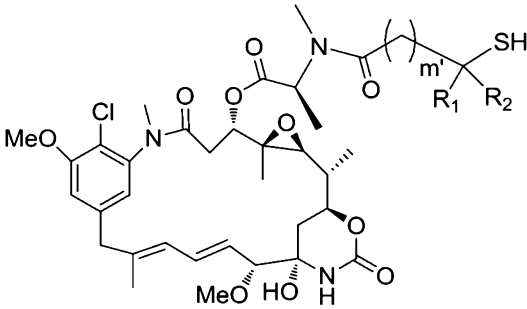
在某些實施例中，雙官能連接子由下文所述之式(a1L)-(a10L)中之任一者表示。

D. 示範性藥理學藥劑

1. 美登木素生物鹼

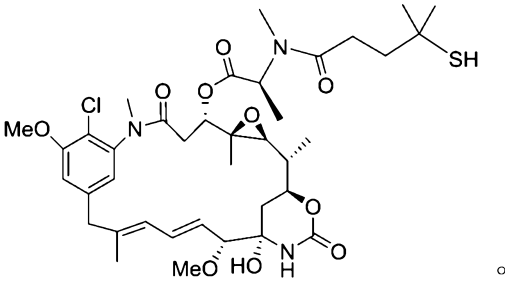
【0267】 在某些實施例中，藥理學藥劑為美登木素生物鹼化合物，諸如美國

專利第 5,208,020 號及第 7,276,497 號中所述之化合物，該等專利以全文引用之方式併入本文中。在某些實施例中，美登木素生物鹼化合物由下式表示：

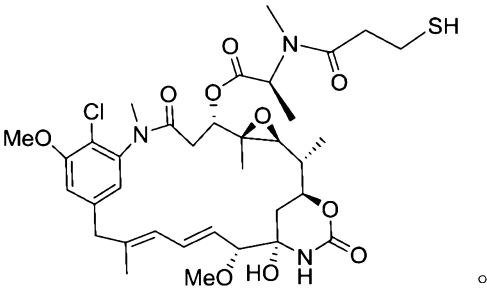


其中變量如上文在上文第一實施例之第十三具體實施例至第十七具體實施例中之任一者及其中所述之任何更具體實施例中所述。

【0268】 在更具體實施例中，美登木素生物鹼化合物為 DM4：



【0269】 在另一實施例中，美登木素生物鹼化合物為 DM1：



2. 苯二氮平

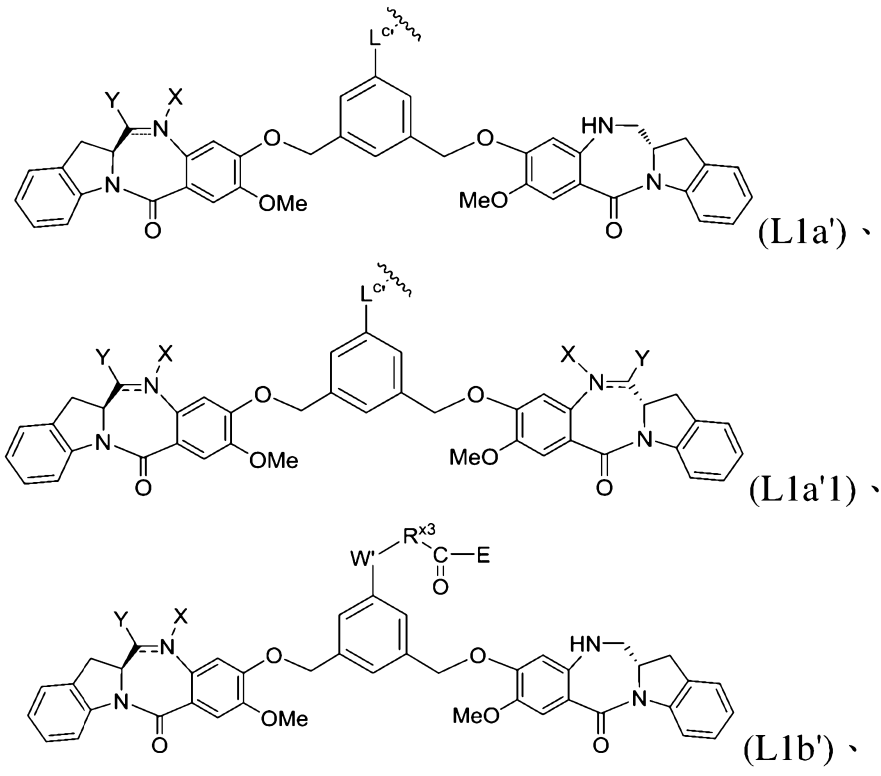
【0270】 在某些實施例中，藥理學藥劑為苯二氮平化合物，諸如吡咯并苯二氮平(PBD) (諸如 WO2010/043880、WO2011/130616、WO2009/016516、WO 2013/177481 及 WO 2012/112708 中所述者)及吡啶并苯二氮平(IGN)化合物(諸如 WO/2010/091150 及 WO 2012/128868 以及 2016 年 6 月 28 日申請之名稱為「CONJUGATES OF CYSTEINE ENGINEERED ANTIBODIES」的美國申請案第

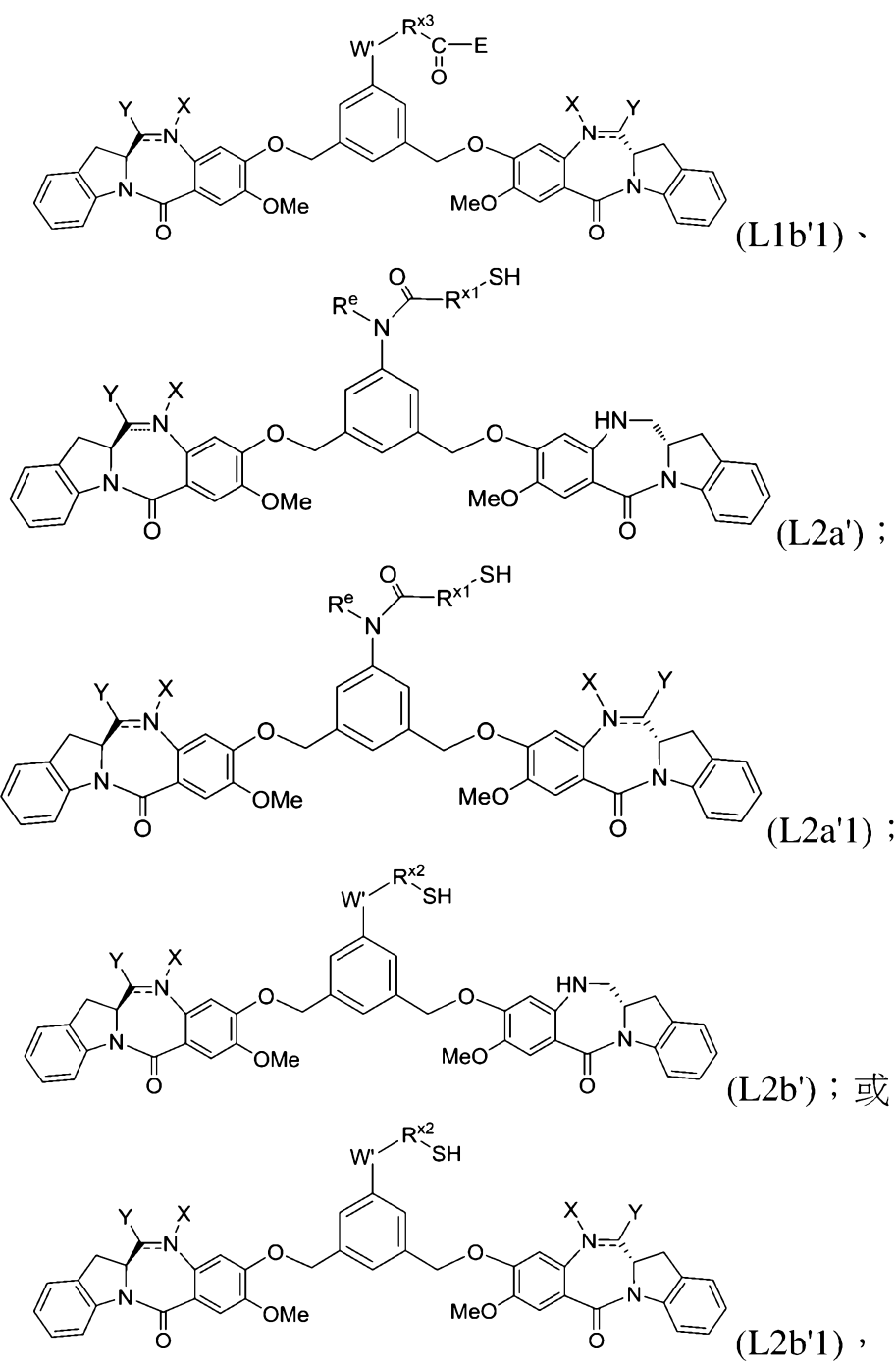
15/195,269 號中所述者)。所有此等專利、專利公開案及申請案之全部教示以全文引用之方式併入本文中。

【0271】 如本文所使用，「苯二氮平」化合物為具有苯二氮平核心結構之化合物。苯二氮平核心可為經取代或未取代，及/或與一或多個環結構稠合。其亦包括具有由連接子鍵聯之兩個苯二氮平核心的化合物。可減少作為苯二氮平核心之一部分的亞胺官能性(-C=N-)。

【0272】 如本文所使用，「吡咯并苯二氮平」(PBD)化合物為具有吡咯并苯二氮平核心結構之化合物。吡咯并苯二氮平可為經取代或未取代。其亦包括具有由連接子鍵聯之兩個吡咯并苯二氮平核心的化合物。可減少作為吡咯并苯二氮平核心之一部分的亞胺官能性(-C=N-)。

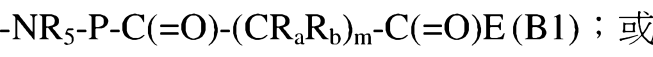
【0273】 在某些實施例中，藥理學藥劑為由下式表示之吡咯并苯二氮平化合物：





或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

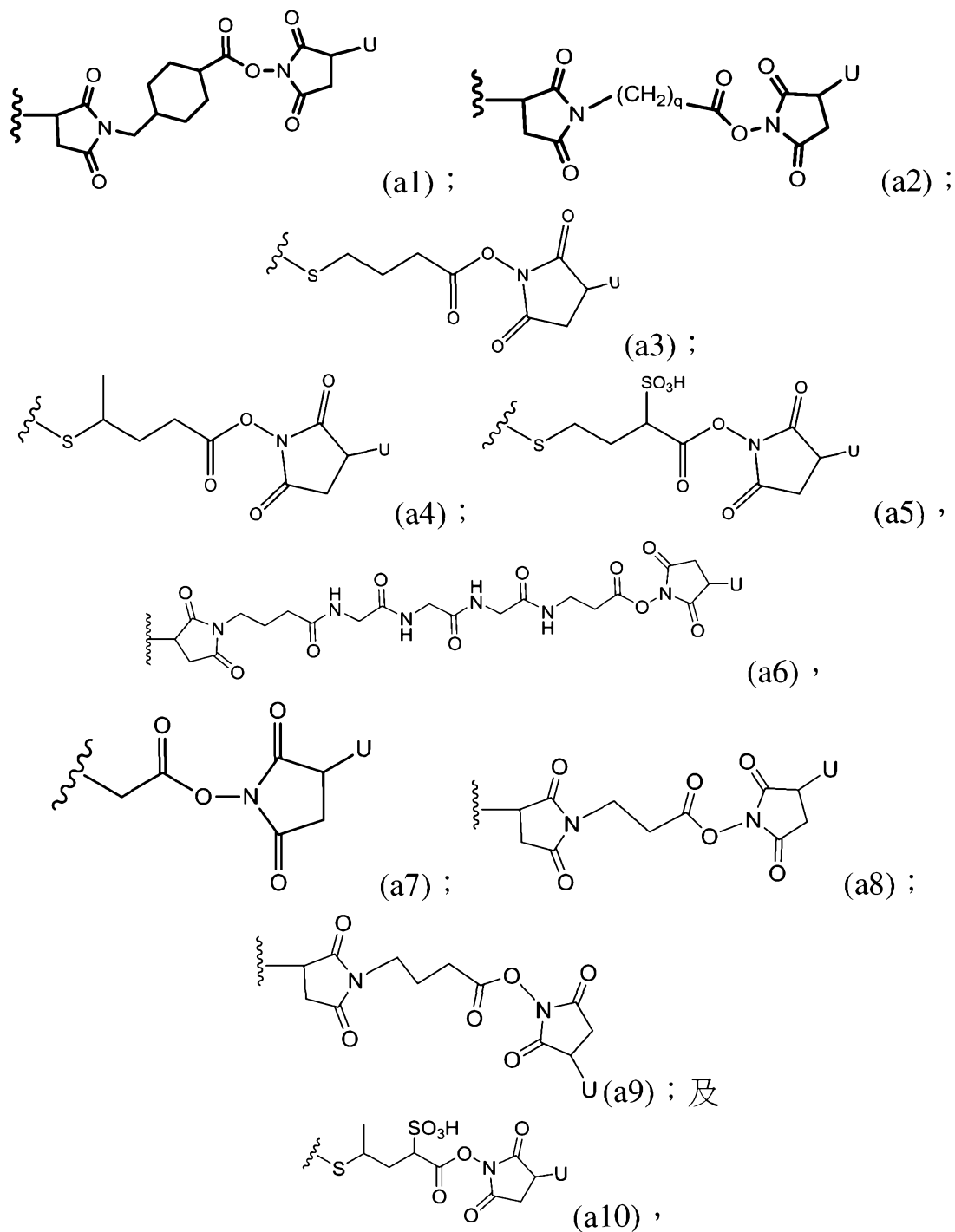
L^c由下式表示：



C(=O)E 為反應性酯基，諸如 N-羥基琥珀醯亞胺酯、N-羥基磺基琥珀醯亞胺酯、
硝基苯基(例如，2-硝基苯基或 4-硝基苯基)酯、二硝基苯基(例如，2,4-二硝基苯

基)酯、磺基-四氟苯基(例如，4-磺基-2,3,5,6-四氟苯基)酯或五氟苯基酯，較佳為 N-羥基琥珀醯亞胺酯；

Z^s 由下式表示：



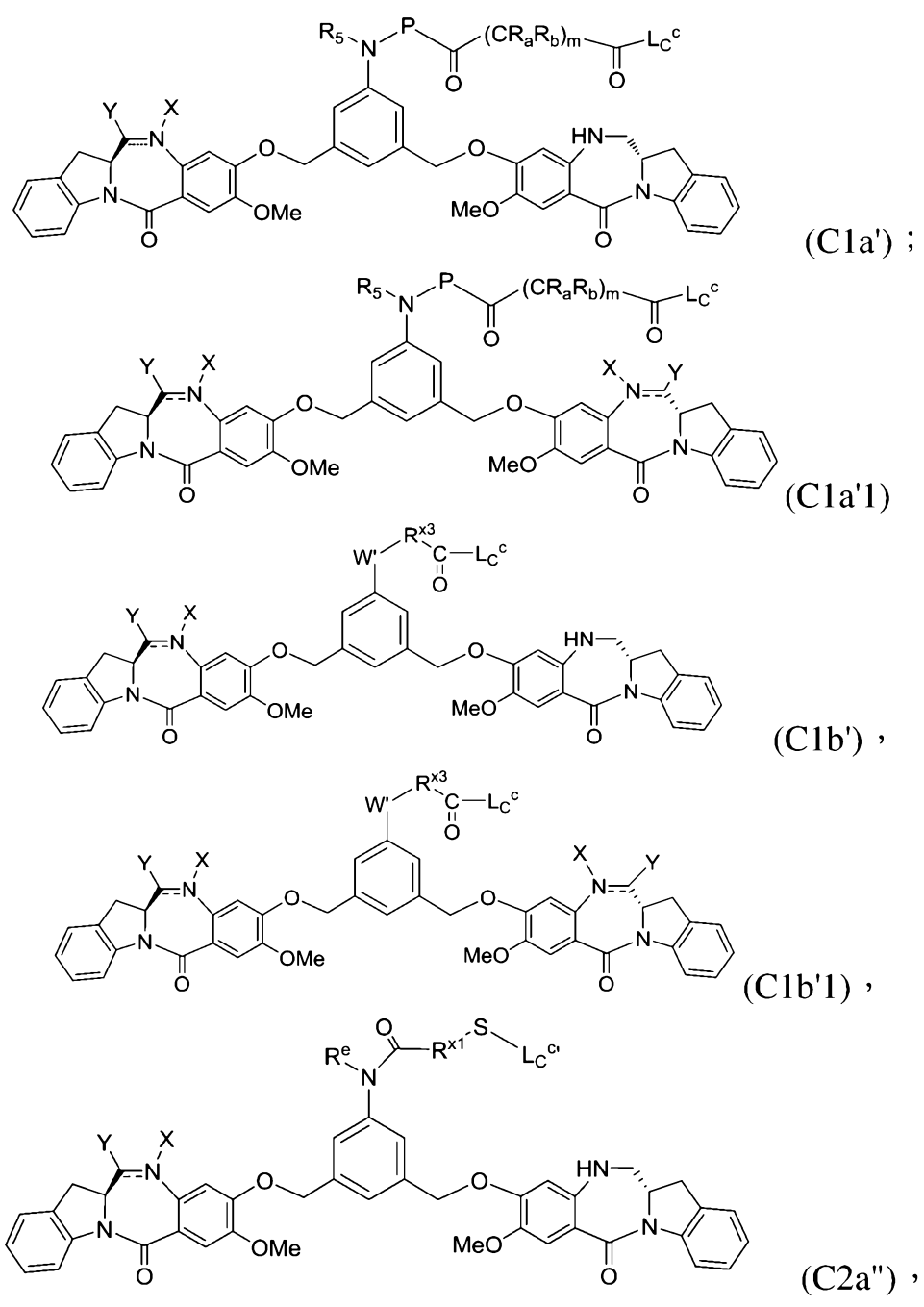
其中：

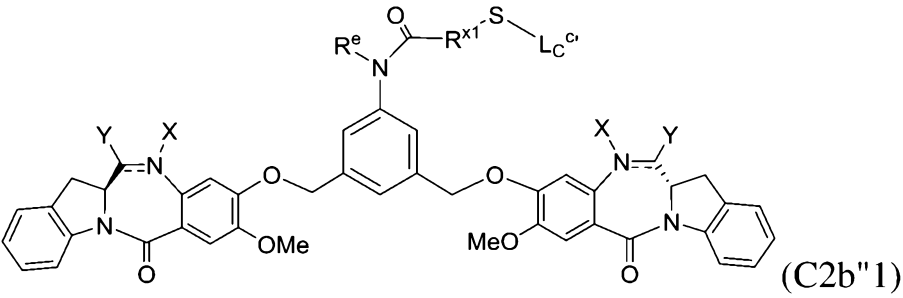
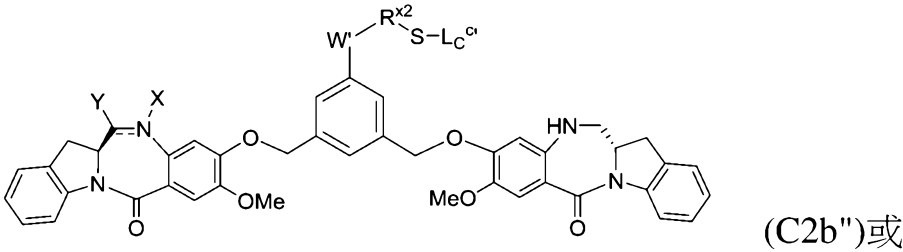
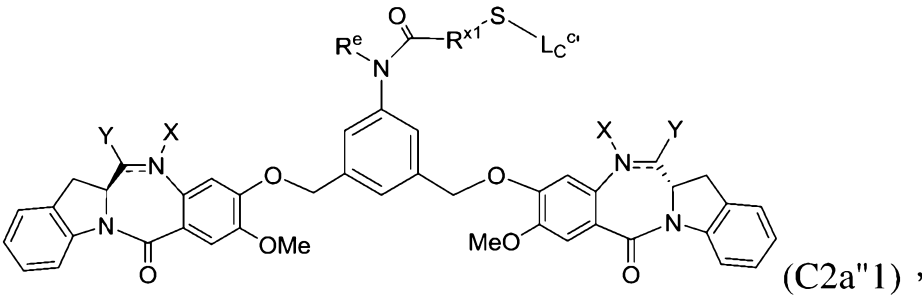
q 為 1 至 5 之整數；且

U 為-H 或 SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；且

其餘變量如在上文所述之第一實施例之第一具體實施例至第十二具體實施例及第十七具體實施例中之任一者或其中所述之任何更具體實施例中所述。

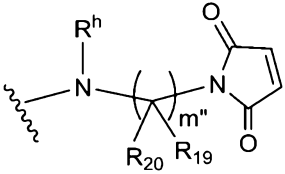
【0274】 在某些實施例中，藥理學藥劑為由下式表示之吡啶并苯二氮平化合物：





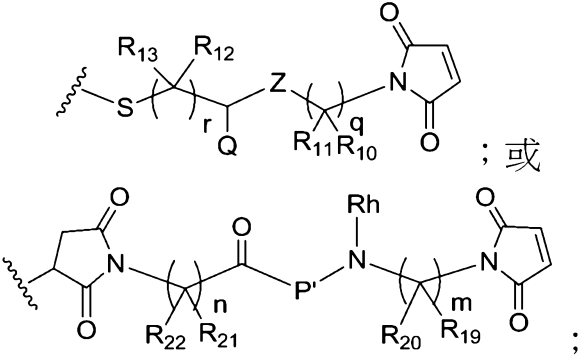
或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

式(C1a')、(C1a'1)、(C1b')及(C1b'1)之-Lc^c由下式表示：



其中變量如上文在第二實施例之第一具體實施例至第九具體實施例及第二十三具體實施例中之任一者或其中所述之任何更具體實施例中所述；且

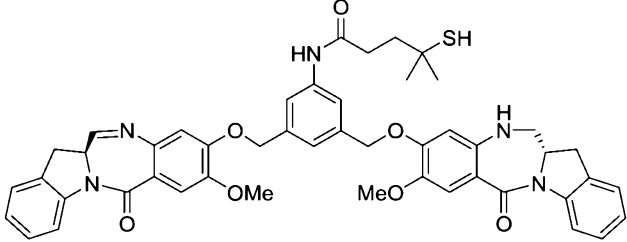
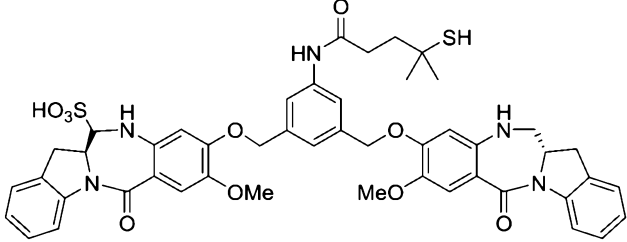
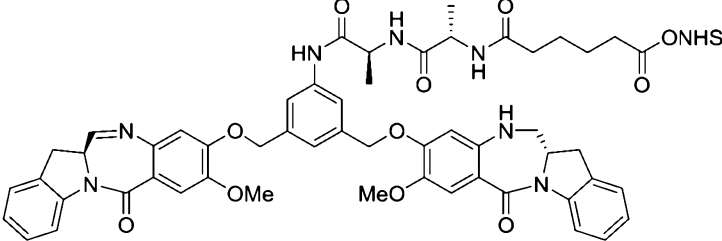
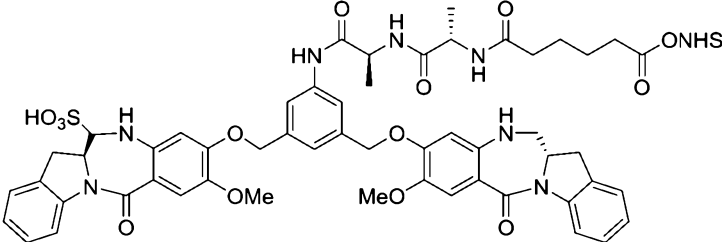
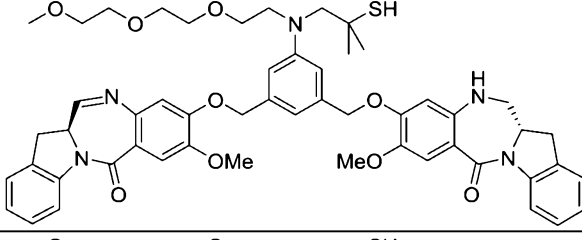
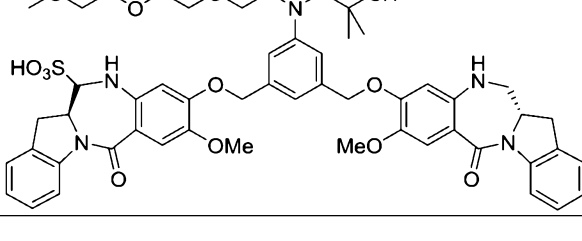
式(C2a'')、(C2a'1)、(C2b'')及(C2b'1)之 Lc^{c1}由下式表示：



其中變量如上文在第二實施例之第十具體實施例至第十六具體實施例及第二十

三具體實施例中之任一者或其中所述之任何更具體實施例中所述。

【0275】 在某些實施例中，藥理學藥劑為以下任一者之吡啶并苯二氮平化合物或其醫藥學上可接受之鹽：

化合物編號	結構
D1	
sD1	
D2	
sD2	
DGN462	
sDGN462	

D3	
sD3	
D4	
sD4	
D5	
sD5	

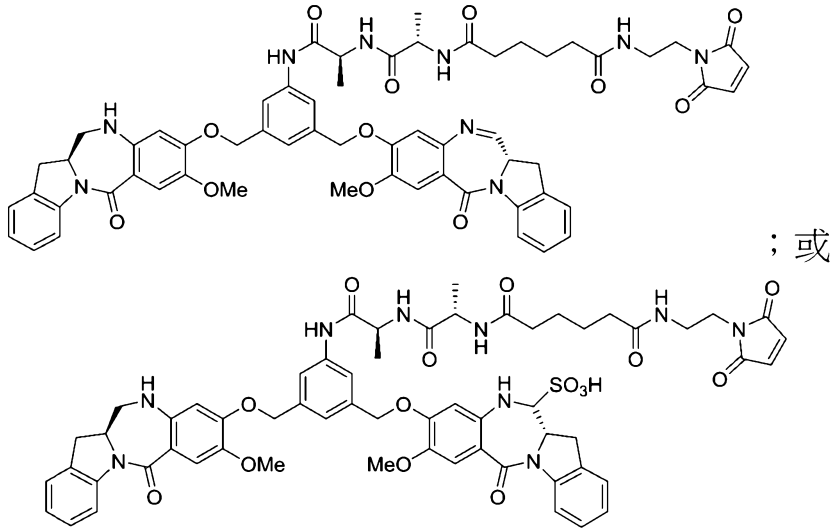
D5'	The structure of D5' consists of two indole-3-carboxamide derivatives linked by a 4,4'-biphenylene-2,2'-diyl ether bridge. Each indole ring has a methoxy group at the 6-position. The amide group of the left indole is substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group. The amide group of the right indole is substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group. The amide group of the right indole is further substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group.
sD5'	The structure of sD5' is similar to D5', but the amide group of the left indole is substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group, and the amide group of the right indole is substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group.
D6	The structure of D6 consists of two indole-3-carboxamide derivatives linked by a 4,4'-biphenylene-2,2'-diyl ether bridge. Each indole ring has a methoxy group at the 6-position. The amide group of the left indole is substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group. The amide group of the right indole is substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group. The amide group of the right indole is further substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group.
sD6	The structure of sD6 is similar to D6, but the amide group of the left indole is substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group, and the amide group of the right indole is substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group.
D7	The structure of D7 consists of two indole-3-carboxamide derivatives linked by a 4,4'-biphenylene-2,2'-diyl ether bridge. Each indole ring has a methoxy group at the 6-position. The amide group of the left indole is substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group. The amide group of the right indole is substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group. The amide group of the right indole is further substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group.
sD7	The structure of sD7 is similar to D7, but the amide group of the left indole is substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group, and the amide group of the right indole is substituted with a 4-(4-methoxyphenoxy)phenyl group.

【0276】 以上所示之化合物 D1、sD1、D2、sD2、DGN462、sDGN462、D3 及 sD3 可根據美國專利第 9,381,256 號、第 8,765,740 號、第 8,426,402 號及第

9,353,127 號以及美國申請公開案 US2016/0082114 中所述之程序來製備，所有該等文獻皆以全文引用之方式併入本文中。

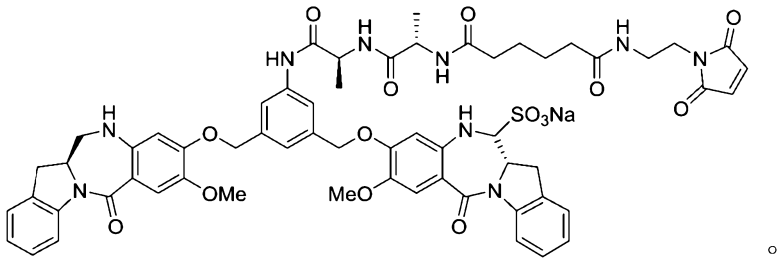
【0277】 在某些實施例中，以上所示之化合物(例如，sD1、sD2、sD4、sDGN462、sD3、sD4、sD5、sD5'、sD6 或 sD7)之醫藥學上可接受之鹽為鈉鹽或鉀鹽。更具體地，醫藥學上可接受之鹽為鈉鹽。

【0278】 在具體實施例中，藥理學藥劑由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽。在具體實施例中，醫藥學上可接受之鹽為鈉鹽或鉀鹽。

【0279】 在另一具體實施例中，藥理學藥劑由下式表示：



IV. 生產方法

【0280】 如此項技術中所熟知，本發明之抗 ADAM9 抗體及其 ADAM9 結合片段最佳透過編碼此類多肽之核酸分子之重組表現來生產。

【0281】 本發明之多肽可使用固相肽合成來方便地製備(Merrifield, B. (1986) 「Solid Phase Synthesis,」 Science 232(4748):341-347 ; Houghten, R.A. (1985)

「General Method For The Rapid Solid-Phase Synthesis Of Large Numbers Of Peptides: Specificity Of Antigen-Antibody Interaction At The Level Of Individual Amino Acids,」 Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 82(15):5131-5135 ; Ganesan, A. (2006)

「Solid-Phase Synthesis In The Twenty-First Century,」 Mini Rev. Med. Chem. 6(1):3-10)。

【0282】 在替代方案中，抗體可使用此項技術中已知的任何方法來重組製備及表現。抗體可藉由首先分離由宿主動物製成之抗體、獲得基因序列並使用該基因序列在宿主細胞(例如，CHO 細胞)中重組表現抗體來重組地製成。可採用之另一方法為在植物(例如，煙草)或轉基因奶中表現抗體序列。已經揭示用於在植物或奶中重組地表現抗體之合適方法(參見，例如 Peeters 等人 (2001)

「Production Of Antibodies And Antibody Fragments In Plants,」 Vaccine 19:2756 ; Lonberg, N.等人 (1995) 「Human Antibodies From Transgenic Mice,」 Int. Rev. Immunol 13:65-93 ; 及 Pollock 等人(1999) 「Transgenic Milk As A Method For The Production Of Recombinant Antibodies,」 J. Immunol Methods 231:147-157)。用於製造抗體衍生物(例如，人源化、單鏈等)之合適方法為此項技術中已知的，且已在上文描述。在另一替代方案中，抗體可藉由噬菌體顯示技術來重組地製成(參見，例如美國專利第 5,565,332 號；第 5,580,717 號；第 5,733,743 號；第 6,265,150 號；及 Winter, G.等人 (1994) 「Making Antibodies By Phage Display Technology,」 Annu. Rev. Immunol. 12:433-455)。

【0283】 含有所關注多核苷酸(例如，編碼本發明之抗 ADAM9 抗體及其 ADAM9 結合片段之多肽鏈的多核苷酸)之載體可藉由眾多適當手段中之任一者來引入宿主細胞中，該等手段包括電穿孔，採用氯化鈣、氯化銣、磷酸鈣、DEAE-葡聚糖或其他物質之轉染；微粒子炸射法(microprojectile bombardment)；脂轉染；及感染(例如，在載體為感染劑(諸如牛痘病毒)之情況下)。引入載體或多核苷酸

之選擇將常常取決於宿主細胞之特徵。

【0284】 能夠過表現異源 DNA 之任何宿主細胞可出於表現所關注多肽或蛋白質之目的來使用。合適哺乳動物宿主細胞之非限制性實例包括但不限於 COS、HeLa 及 CHO 細胞。

【0285】 本發明包括包含本發明之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段之胺基酸序列的免疫共軛物。本發明之多肽可藉由此項技術中已知的程序來製造。多肽可藉由抗體之蛋白水解或其他降解，藉由如上文所述之重組方法(亦即，單一或融合多肽)或藉由化學合成來產生。抗體之多肽，尤其是至多約 50 個胺基酸之較短多肽藉由化學合成來方便地製造。化學合成之方法為此項技術中已知的，且可商購獲得。

【0286】 本發明包括包含抗 ADAM9 抗體及其片段之變異體的免疫共軛物，包括不顯著影響此類分子之性質的功能上等效之多肽以及具有增強的或減少的活性之變異體。多肽之修飾為此項技術中之常規實踐，且不需要在本文中詳細描述。經修飾多肽之實例包括具有胺基酸殘基之保守取代、不顯著有害地改變功能活性的胺基酸之一或多個缺失或添加或使用化學類似物的多肽。可彼此保守地取代之胺基酸殘基包括但不限於：甘胺酸/丙胺酸；絲胺酸/蘇胺酸；纈胺酸/異白胺酸/白胺酸；天冬醯胺/麩醯胺酸；天冬胺酸/麩胺酸；離胺酸/精胺酸；及苯丙胺酸/酪胺酸。此等多肽亦包括糖基化及非糖基化多肽，以及具有其他轉譯後修飾之多肽，諸如，例如以不同糖之糖基化、乙醯化及磷酸化。較佳地，胺基酸取代將為保守的，亦即經取代之胺基酸將具有與原始胺基酸之化學性質類似的化學性質。此類保守取代為此項技術中已知的，且實例已在上文經提供。胺基酸修飾之範圍可為從改變或修飾一或多個胺基酸至區(諸如可變域)之完全重新設計。可變域之變化可改變結合親和力及/或特異性。其他修飾方法包括使用此項技術中已知的偶合技術，包括但不限於酶促手段、氧化取代及螯合。修

飾可用於例如用於免疫檢定之標記之連接，諸如用於放射免疫檢定之放射性部分之連接。經修飾多肽係使用此項技術中經建立之程序來製造，且可使用此項技術中已知的標準檢定來篩選。

【0287】 本發明涵蓋包含具有本發明之一或多種抗 ADAM9-VL 及/或 VH 之融合蛋白的免疫共軛物。在一個實施例中，提供融合多肽，其包含輕鏈、重鏈或輕鏈及重鏈兩者。在另一實施例中，融合多肽含有異源免疫球蛋白恆定區。在另一實施例中，融合多肽含有由公開保藏之融合瘤產生的抗體之輕鏈可變域及重鏈可變域。出於本發明之目的，抗體融合蛋白含有一或多個特異性結合至 ADAM9 之多肽域、及天然分子中不與之連接之另一胺基酸序列，例如來自另一區之異源序列或同源序列。

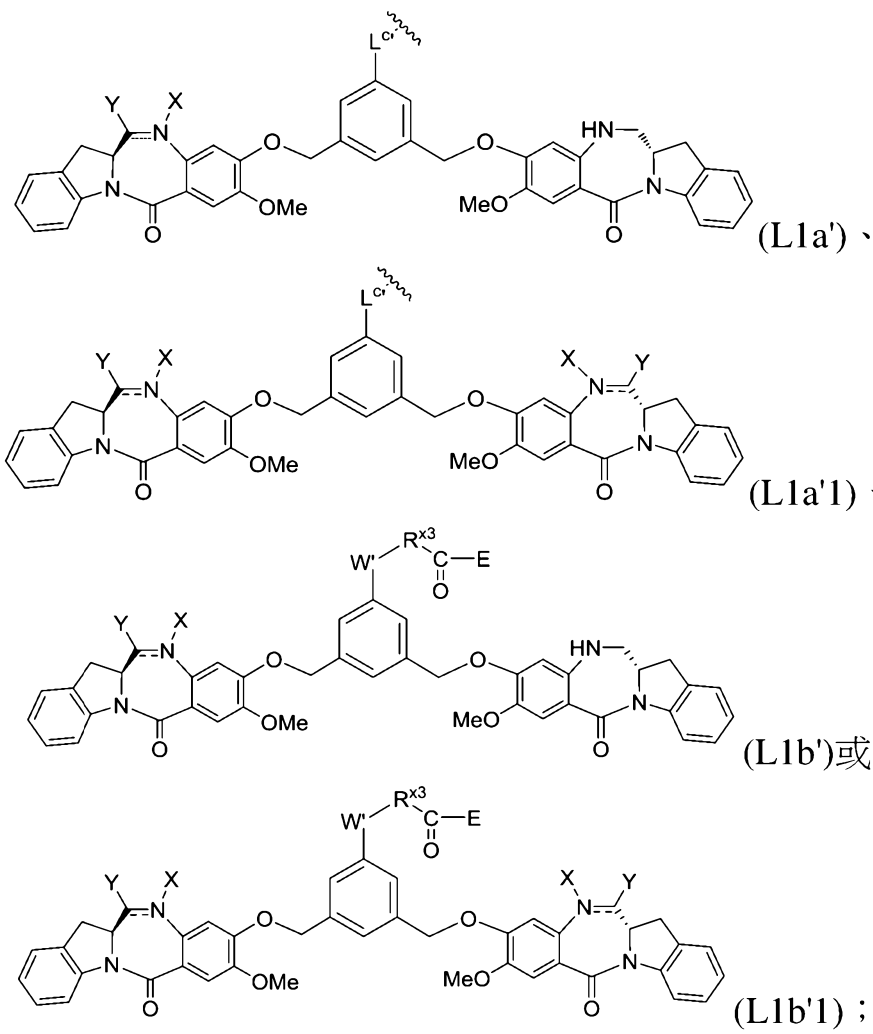
V. 藥物共軛

【0288】 如上文第一實施例或其中所述之任何具體實施例中所述之包含透過位於抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段上之一或多個離胺酸殘基之 ϵ -胺基共價鍵聯至藥理學藥劑的抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段的免疫共軛物可根據此項技術中已知的任何方法來製備，參見，例如 WO 2012/128868 及 WO2012/112687，該等文獻以引用之方式併入本文中。

【0289】 在某些實施例中，第一實施例之免疫共軛物可藉由第一方法製備，該第一方法包含使 CBA 與具有胺反應性基團之細胞毒性劑反應之步驟。

【0290】 在一個實施例中，對於上文所述之第一方法，反應在亞胺反應性試劑(諸如 NaHSO₃)之存在下進行。

【0291】 在一個實施例中，對於上文所述之第一方法，具有亞胺反應性基團之細胞毒性劑由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中對於變量之定義在上文針對式(L1a')、(L1a'1)、(L1b')及(L1b'1)經描述。

【0292】 在某些實施例中，第一實施例之免疫共軛物可藉由第二方法製備，該第二方法包含以下步驟：

- (a)使細胞毒性劑與具有胺反應性基團及硫醇基反應性基團之連接子化合物反應，以形成其上結合胺反應性基團的細胞毒性劑-連接子化合物；及
- (b)使 CBA 與細胞毒性劑-連接子化合物反應。

【0293】 在一個實施例中，對於上文所述之第二方法，步驟(a)中之反應在亞胺反應性試劑(例如 NaHSO₃)之存在下進行。

【0294】 在一個實施例中，對於上文所述之第二方法，細胞毒性劑-連接子化合物無需純化即與 CBA 反應。或者，細胞毒性劑-連接子化合物在與 CBA 反應

之前首先經純化。

【0295】 在某些實施例中，第一實施例之免疫共軛物可藉由第三方法製備，該第三方法包含以下步驟：

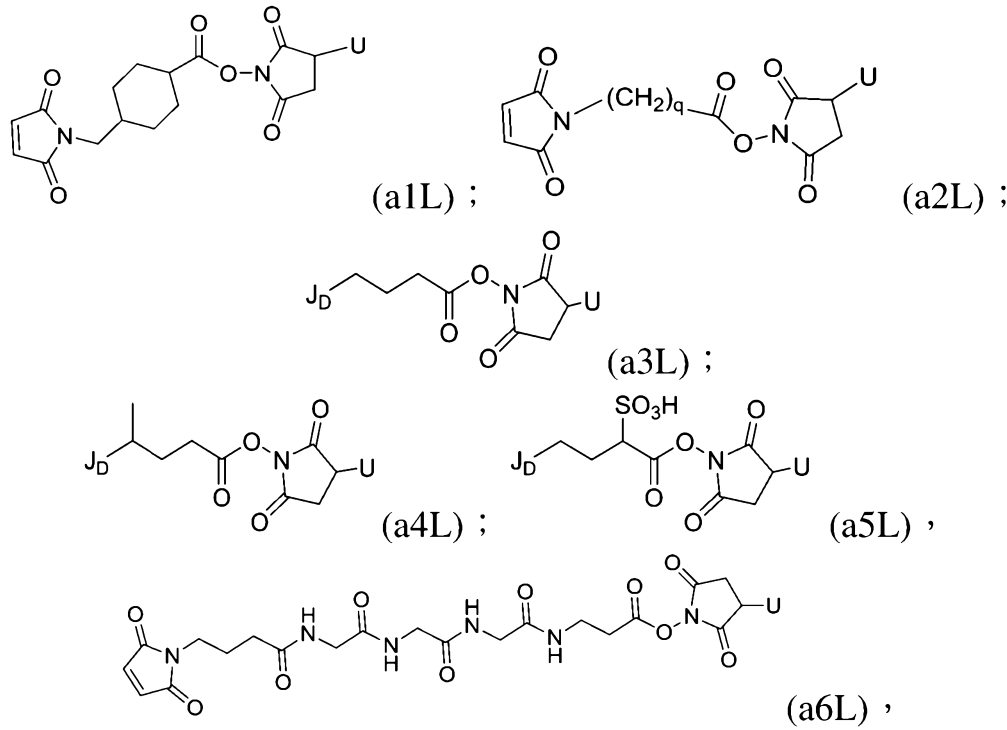
- (a)使 CBA 與具有胺反應性基團及硫醇基反應性基團之連接子化合物反應，以形成其上結合硫醇基反應性基團的經修飾 CBA；及
- (b)使經修飾 CBA 與細胞毒性劑反應。

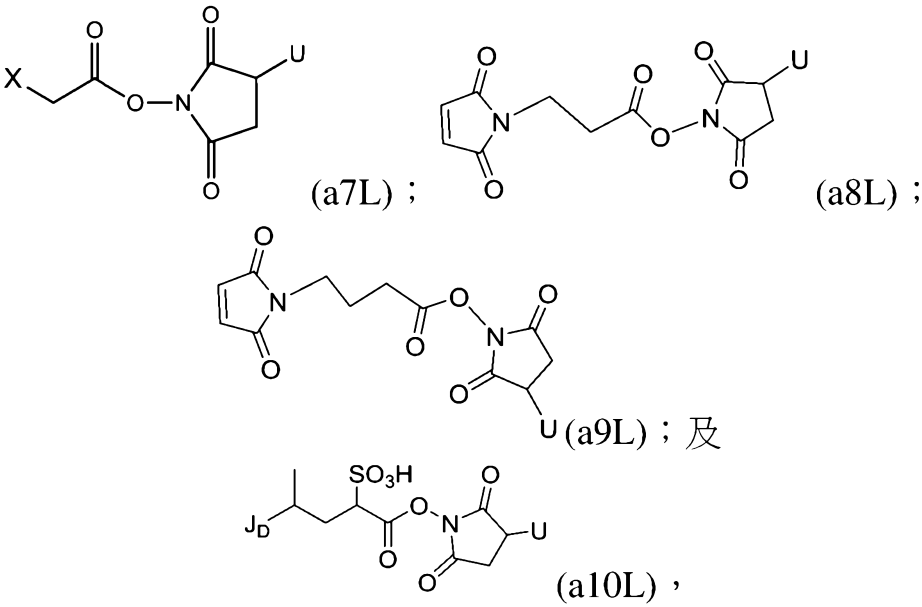
【0296】 在一個實施例中，對於上文所述之第三方法，步驟(b)中之反應在亞胺反應性試劑(例如 NaHSO₃)之存在下進行。

【0297】 在某些實施例中，第一實施例之免疫共軛物可藉由第四方法製備，該第四方法包含使 CBA、細胞毒性化合物以及具有胺反應性基團及硫醇基反應性基團之連接子化合物反應之步驟。

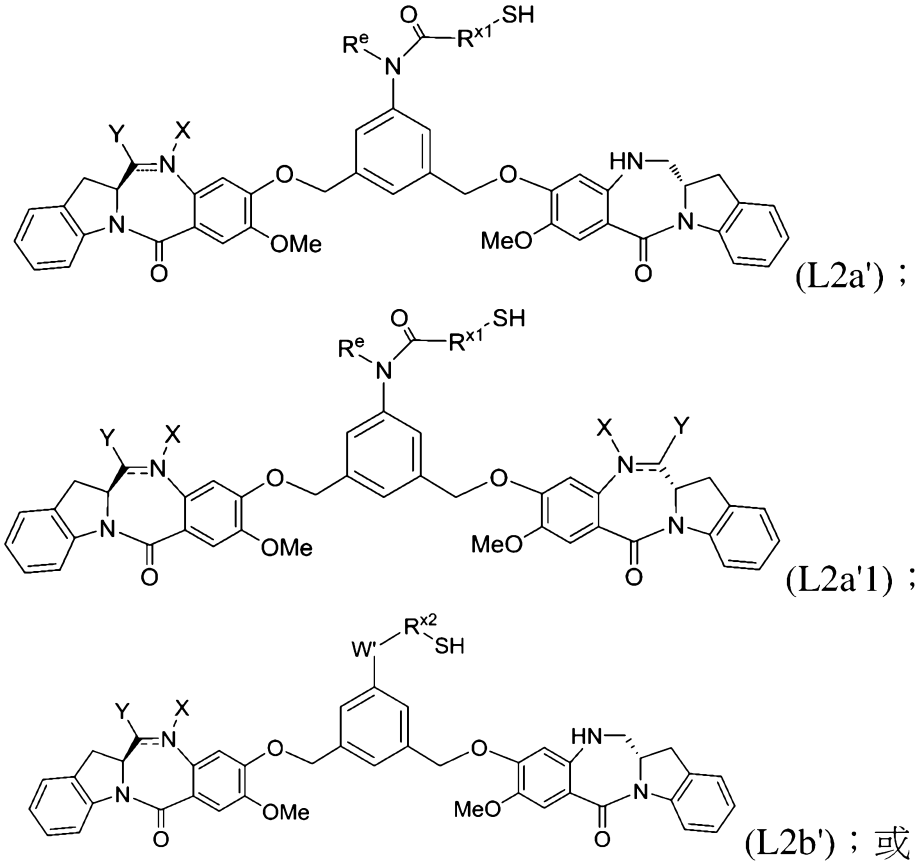
【0298】 在一個實施例中，對於第四方法，反應在亞胺反應性藥劑(例如 NaHSO₃)之存在下進行。

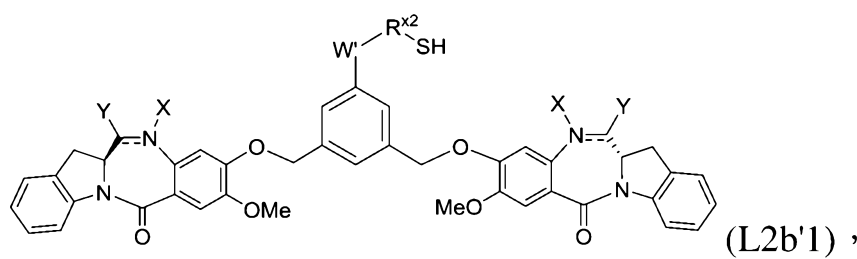
【0299】 在某些實施例中，對於上文所述之第二方法、第三方法或第四方法，具有胺反應性基團及硫醇基反應性基團之連接子化合物由下式表示：





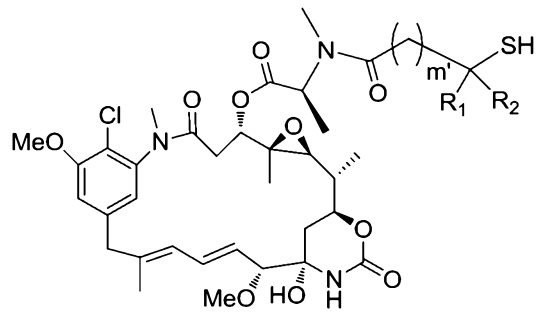
其中 X 為鹵素；J_D 為-SH、-SSR^d或-SC(=O)R^g；R^d 為苯基、硝基苯基、二硝基苯基、羧基硝基苯基、吡啶基或硝基吡啶基；R^g 為烷基；且其餘變量為如上文針對式(a1)-(a10)所述；且細胞毒性劑由下式表示：





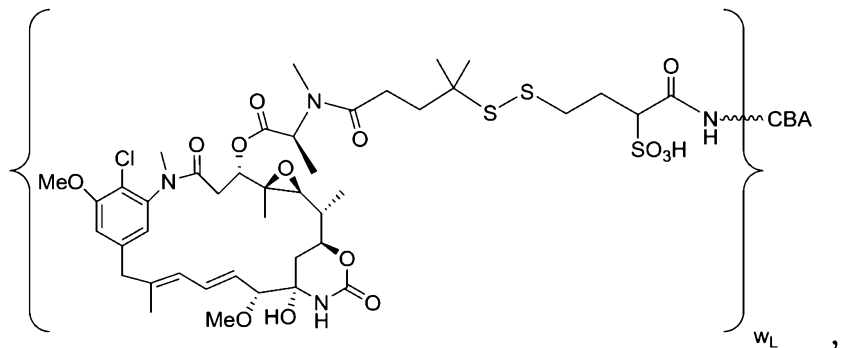
或其醫藥學上可接受之鹽，其中變量如上文針對式(L1a')、(L1a'1)、(L1b')、(L1b'1)、(L2a')、(L2a'1)、(L2b')及(L2b'1)所述。

【0300】 在某些實施例中，對於上文所述之第二方法、第三方法或第四方法，具有胺反應性基團及硫醇基反應性基團之連接子化合物由式(a1L)-(a10L)中之任一者表示，且細胞毒性劑由下式表示：



其中變量如上文在上文所述之第一實施例之第十三具體實施例至第十七具體實施例中之任一者及其中所述之任何更具體實施例中所述。

【0301】 在具體實施例中，對於上文所述之第二方法、第三方法或第四方法，連接子為磺基-SPDB，細胞毒性劑為 DM4，且免疫共軛物由下式表示：



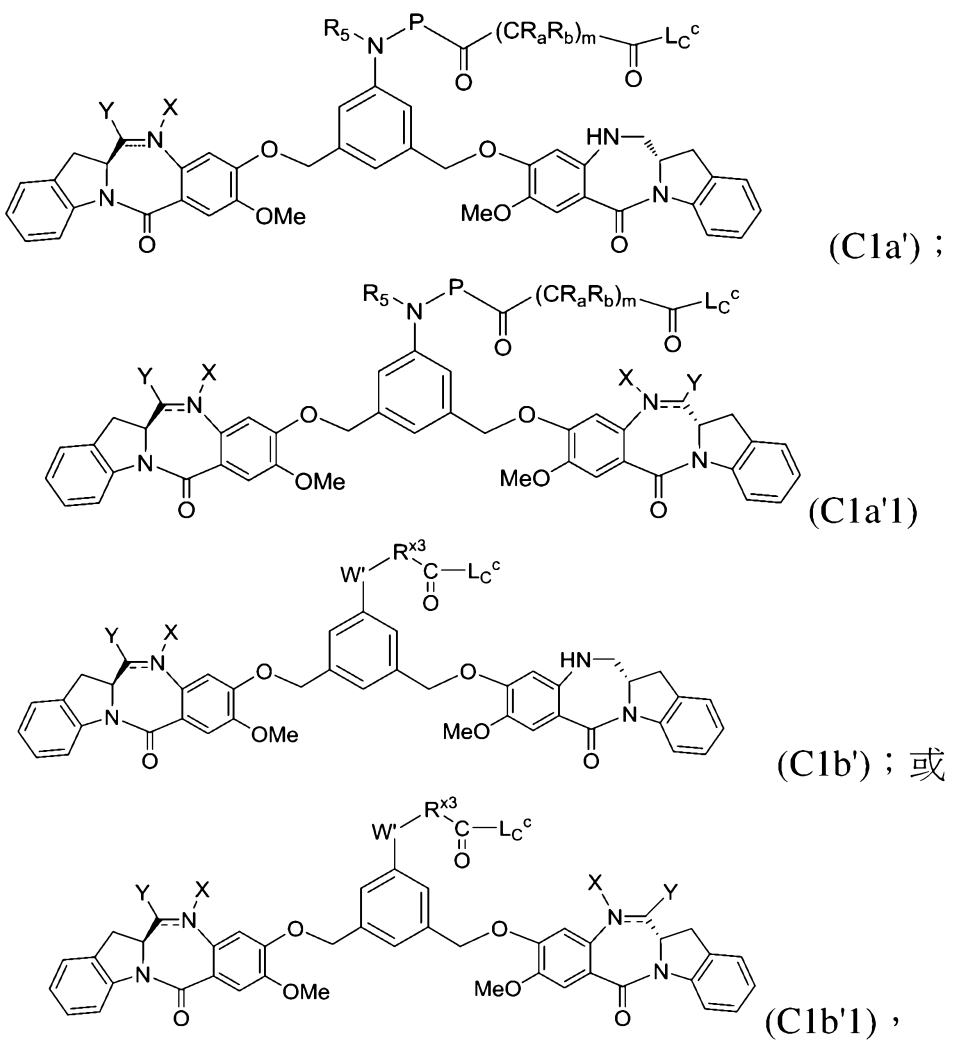
或其醫藥學上可接受之鹽，其中 W_L 為 1 至 10 之整數。

【0302】 如上文第二實施例中所述之包含透過位於抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段上之一或多個半胱胺酸殘基之硫醇基(-SH)共價鍵聯至細胞毒

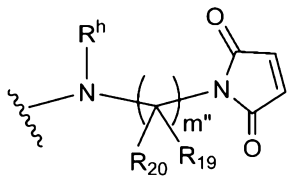
性劑之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段的免疫共軛物(例如，第一具體實施例至第二十三具體實施例中之任一者或其中所述之任何更具體實施例之免疫共軛物)可藉由使具有一或多個游離半胱胺酸之 CBA 與本文所述之具有硫醇反應性基團之細胞毒性劑反應來製備。

【0303】 在較佳實施例中，本發明之免疫共軛物具有包含另外半胱胺酸殘基之變異體 IgG Fc 區，以便容許藥理學藥劑共軛至此類分子(例如，SEQ ID NO: 79 及 80)。

【0304】 在一個實施例中，具有硫醇反應性基團之細胞毒性劑由下式表示：

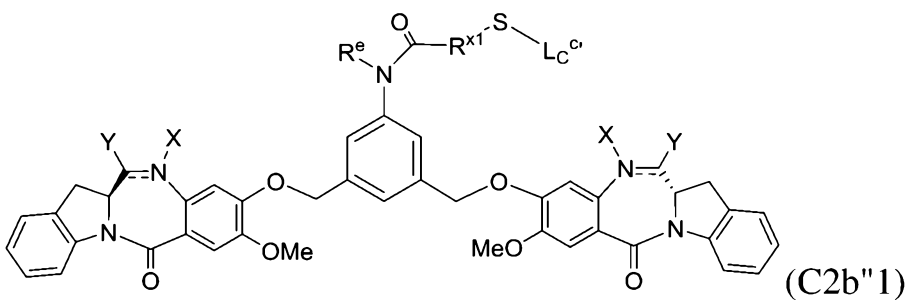
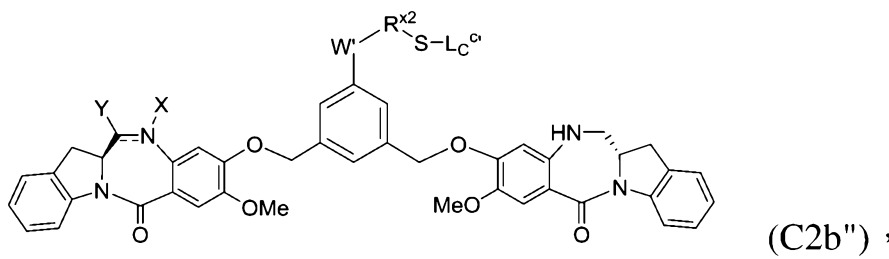
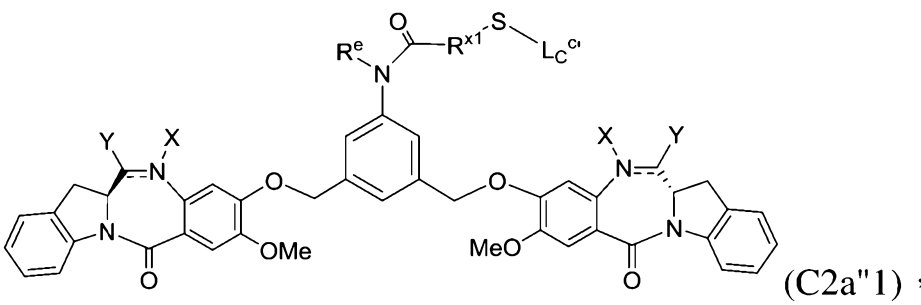
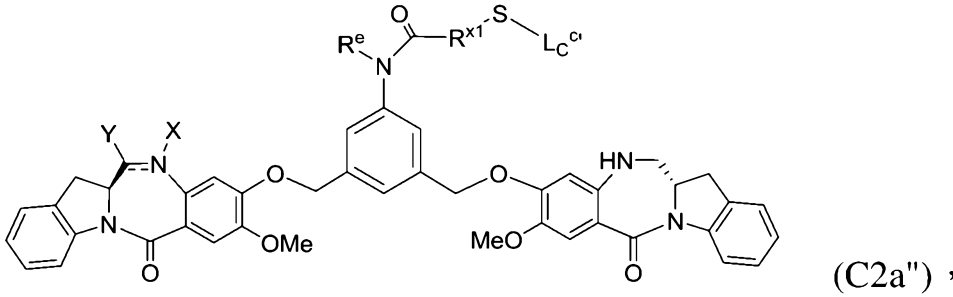


或其醫藥學上可接受之鹽，其中-Lc^c由下式表示：

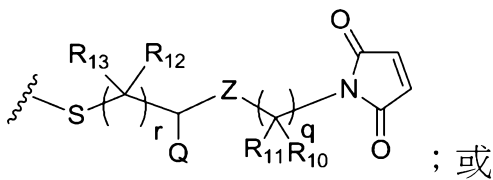


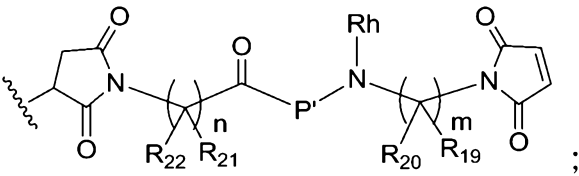
其中變量如上文在第二實施例之第一具體實施例至第九具體實施例及第二十三具體實施例中之任一者或其中所述之任何更具體實施例中所述。

【0305】 在另一實施例中，具有硫醇反應性基團之細胞毒性劑由下式表示：



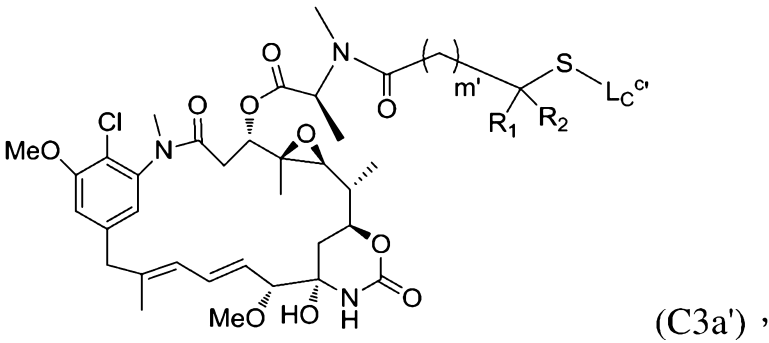
或其醫藥學上可接受之鹽，其中 Lc^{c1} 由下式表示：





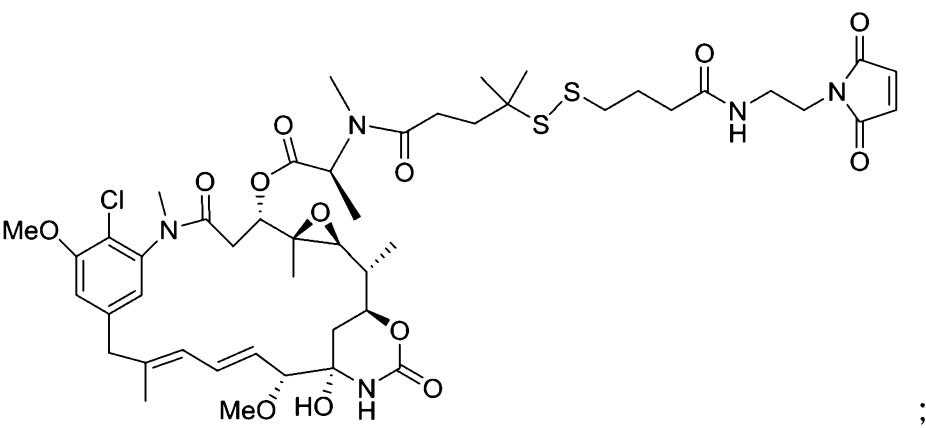
其中變量如上文在第二實施例之第十具體實施例至第十六具體實施例及第二十三具體實施例中之任一者或其中所述之任何更具體實施例中所述。

【0306】 在又一實施例中，具有硫醇反應性基團之細胞毒性劑由下式表示：



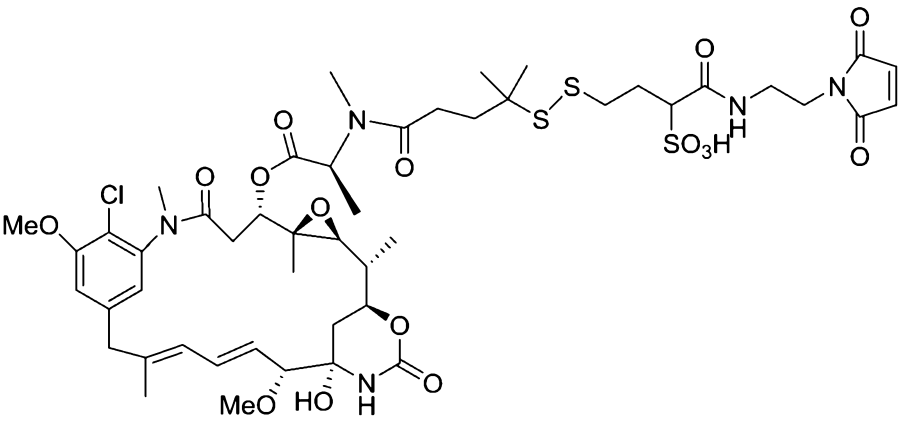
或其醫藥學上可接受之鹽，其中 L_c^c 在上文經描述，且其餘變量如上文在第二實施例之第十七具體實施例至第二十三具體實施例中之任一者或其中所述之任何更具體實施例中所述。

【0307】 在具體實施例中，具有硫醇反應性基團之細胞毒性劑由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽。

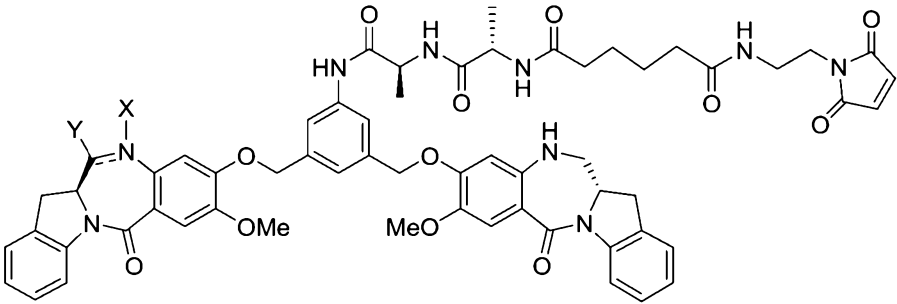
【0308】 在另一具體實施例中，具有硫醇基反應性基團之細胞毒性劑由下式表示：



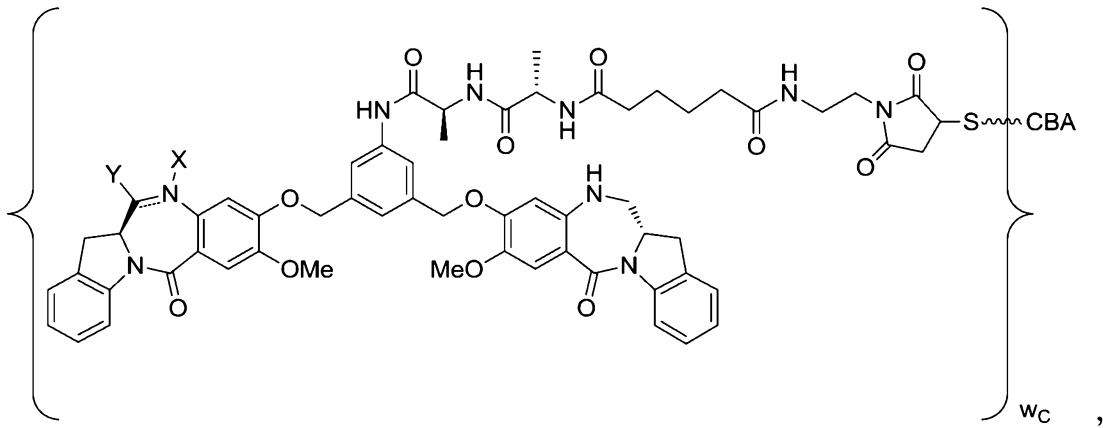
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0309】 在某些實施例中，在 CBA 及細胞毒性劑之反應中使用有機溶劑來溶解細胞毒性劑。示範性有機溶劑包括但不限於二甲基乙醯胺(DMA)、丙二醇等。在一個實施例中，CBA 及細胞毒性劑之反應在 DMA 及丙二醇之存在下進行。

【0310】 在具體實施例中，由下式表示之細胞毒性劑：



或其醫藥學上可接受之鹽與 CBA(例如, 抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段) 反應以形成由下式表示之免疫共軛物：

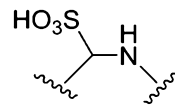


或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存

在，且 Y 為-H，且當其為單鍵時，X 為-H，且 Y 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；且 W_C 為 1 或 2。在更具體實施例中，N 與 C 之間的雙線 = 表示雙鍵，X 不存在，且 Y 為-H。在另一更具體實施例中，N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵，X 為-H，且 Y 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。甚至更具體地，醫藥學上可接受之鹽為鈉鹽或鉀鹽。

【0311】 在某些實施例中，當 Y 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽時，免疫共軛物可藉由以下來製備：(a)使上文所述之具有硫醇反應性基團的含亞胺之細胞毒性劑(亦即式(C1a')、(C1a'l)、(C1b')、(C1b'l)、(C2a'')、(C2a'l)、(C2b'')或(C2b'l)，其中 N 與 C 之間的雙線 = 表示雙鍵，X 不存在，且 Y 為-H)之亞胺部分與二氧化硫、亞硫酸氫鹽或偏亞硫酸氫鹽在 1.9 至 5.0 之 pH 的水溶液中反應，以形成經修飾細胞毒性劑，其包含由下式表示之經修飾亞胺部分：



或其醫藥學上可接受之鹽；及(b)使經修飾細胞毒性劑與本文所述之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段反應以形成免疫共軛物。

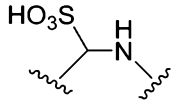
【0312】 在第一態樣中，對於上文所述之方法，步驟(a)之反應在 1.9 至 5.0 之 pH 下進行。更具體地，pH 為 2.5 至 4.9、1.9 至 4.8、2.0 至 4.8、2.5 至 4.5、2.9 至 4.5、2.9 至 4.0、2.9 至 3.7、3.1 至 3.5 或 3.2 至 3.4。在另一具體實施例中，步驟(a)之反應在 1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9 或 5.0 之 pH 下進行。在又一具體實施例中，步驟(a)之反應在 3.3 之 pH 下進行。

【0313】 如本文所使用，具體 pH 值意指具體值± 0.05。

【0314】 在一些實施例中，步驟(a)之反應在緩衝溶液之存在下進行。此項技

術中已知的任何合適緩衝溶液可用於本發明之方法中。合適緩衝溶液包括例如但不限於檸檬酸鹽緩衝液、乙酸鹽緩衝液、琥珀酸鹽緩衝液、磷酸鹽緩衝液、含甘胺酸之緩衝液(例如甘胺酸-HCl 緩衝液)、鄰苯二甲酸鹽緩衝液(例如，包含鄰苯二甲酸氫鈉或鄰苯二甲酸氫鉀之緩衝溶液)及其組合。在一些實施例中，緩衝溶液為琥珀酸鹽緩衝液。在一些實施例中，緩衝溶液為磷酸鹽緩衝液。在一些實施例中，緩衝液為檸檬酸鹽-磷酸鹽緩衝液。在一些實施例中，緩衝液為包含檸檬酸及 Na_2HPO_4 之檸檬酸鹽-磷酸鹽緩衝液。在其他實施例中，緩衝液為包含檸檬酸及 K_2HPO_4 之檸檬酸鹽-磷酸鹽緩衝液。在一些實施例中，上文所述之緩衝溶液之濃度可處於以下範圍內：10 至 250 mM、10 至 200 mM、10 至 150 mM、10 至 100 mM、25 至 100 mM、25 至 75 mM、10 至 50 mM 或 20 至 50 mM。

【0315】 在第二態樣中，反應步驟(a)在不存在緩衝溶液(例如，第一態樣中所述之緩衝液)之情況下進行。在一些實施例中，本發明方法包含以下步驟：(a)使上文所述之具有硫醇反應性基團的含亞胺之細胞毒性劑(亦即式(C1a')、(C1a'1)、(C1b')、(C1b'1)、(C2a'')、(C2a''1)、(C2b'')或(C2b''1)，其中 N 與 C 之間的雙線 == 表示雙鍵，X 不存在，且 Y 為-H)之亞胺部分與二氧化硫、亞硫酸氫鹽或偏亞硫酸氫鹽在水溶液中反應，以形成經修飾細胞毒性劑，其包含由下式表示之經修飾亞胺部分：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中水溶液不包含緩衝液；及(b)使經修飾細胞毒性劑與本文所述之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段反應以形成免疫共軛物。在一些實施例中，步驟(a)之反應在有機溶劑及水之混合物中進行。更具體地，步驟(a)之反應在二甲基乙醯胺(DMA)及水之混合物中進行。在一些實施例中，DMA 及水之混合物包含按體積計小於 60% 的 DMA。甚至更具體地，DMA 及水

之體積比為 1:1。

【0316】 在第三態樣中，對於上文所述或第一態樣或第二態樣中之方法，在步驟(a)之反應中，對於每 1 當量的含亞胺之細胞毒性劑使用 0.5 至 5.0 當量的亞硫酸氫鹽或 0.25 或 2.5 當量的偏亞硫酸氫鹽。在一些實施例中，對於每 1 當量的含亞胺之細胞毒性劑使用 0.5 至 4.5、0.5 至 4.0、0.5 至 3.5、0.5 至 4.0、0.5 至 3.5、0.5 至 3.0、0.5 至 2.5、0.8 至 2.0、0.9 至 1.8、1.0 至 1.7、1.1 至 1.6 或 1.2 至 1.5 當量的亞硫酸氫鹽或 0.25 至 2.25、0.25 至 2.0、0.25 至 1.75、0.25 至 2.0、0.25 至 1.75、0.25 至 1.5、0.25 至 1.25、0.4 至 1.0、0.45 至 0.9、0.5 至 0.85、0.55 至 0.8 或 0.6 至 0.75 當量的偏亞硫酸氫鹽。在其他實施例中，對於每 1 當量的含亞胺之細胞毒性劑使用 0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、4.0、4.5 或 5.0 當量的亞硫酸氫鹽或 0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1.0、1.05、1.1、1.15、1.2、1.25、1.3、1.35、1.4、1.45、1.5、1.55、1.6、1.65、1.7、1.75、2.0、2.25 或 2.5 當量的偏亞硫酸氫鹽。在又其他實施例中，對於每 1 當量的含亞胺細胞毒性劑使用 1.4 當量的亞硫酸氫鹽或 0.7 當量的偏亞硫酸氫鹽。在其他實施例中，對於每 1 當量的含亞胺之細胞毒性劑，使用 1.2 當量的亞硫酸氫鹽或 0.6 當量的偏亞硫酸氫鹽。

【0317】 如本文所使用，具體當量意指具體值 $\pm$ 0.05。

【0318】 在第四態樣中，對於上文所述之方法，步驟(a)之反應在 2.9 至 3.7 之 pH 下進行，且使 1.0 至 1.8 當量的亞硫酸氫鹽或 0.5 至 0.9 當量的偏亞硫酸氫鹽與 1 當量的含亞胺之細胞毒性劑反應。在一些實施例中，步驟(a)之反應在 3.1 至 3.5 之 pH 下進行，且使 1.1 至 1.6 當量的亞硫酸氫鹽或 0.55 至 0.8 當量的偏亞硫酸氫鹽與 1 當量的含亞胺之細胞毒性劑反應。在其他實施例中，步驟(a)之反應

在 3.2 至 3.4 之 pH 下進行，且使 1.3 至 1.5 當量的亞硫酸氫鹽或 0.65 至 0.75 當量的偏亞硫酸氫鹽與 1 當量的含亞胺之細胞毒性劑反應。在其他實施例中，步驟(a)之反應在 3.3 之 pH 下進行，且使 1.4 當量的亞硫酸氫鹽或 0.7 當量的偏亞硫酸氫鹽與 1 當量的含亞胺之細胞毒性劑反應。在又其他實施例中，步驟(a)之反應在 3.3 之 pH 下進行，且使 1.4 當量的亞硫酸氫鈉與 1 當量的含亞胺之細胞毒性劑反應。

【0319】 在第五態樣中，對於上文所述或第一態樣、第二態樣、第三態樣或第四態樣中之方法，步驟(a)之反應在有機溶劑及水之混合物中進行。可使用任何合適的有機溶劑。示範性有機溶劑包括但不限於醇(例如甲醇、乙醇、丙醇等)、二甲基甲醯胺(DMF)、二甲亞砜(DMSO)、乙腈、丙酮、二氯甲烷等等。在一些實施例中，有機溶劑可與水混溶。在其他實施例中，有機溶劑不可與水混溶，亦即步驟(a)之反應在雙相溶液中進行。在一些實施例中，有機溶劑為二甲基乙醯胺(DMA)。按水及有機溶劑之總體積之體積計，有機溶劑(例如，DMA)可以 1%-99%、1-95%、10-80%、20-70%、30-70%、1-60%、5-60%、10-60%、20-60%、30-60%、40-60%、45-55%、10-50%或 20-40%之量存在。在一些實施例中，步驟(a)之反應在 DMA 及水之混合物中進行，其中 DMA 及水之體積比為 1:1。

【0320】 在第六態樣中，對於上文所述或第一態樣、第二態樣、第三態樣、第四態樣或第五態樣中之方法，步驟(a)之反應可在任何合適的溫度下進行。在一些實施例中，反應係在以下溫度下進行：0℃至 50℃、10℃至 50℃、10℃至 40℃或 10℃至 30℃。在其他實施例中，反應係在以下溫度下進行：15℃至 30℃、20℃至 30℃、15℃至 25℃、16℃至 24℃、17℃至 23℃、18℃至 22℃或 19℃至 21℃。在又其他實施例中，反應係在 15℃、16℃、17℃、18℃、19℃、20℃、21℃、22℃、23℃、24℃或 25℃下進行。在一些實施例中，反應可在 0℃至 15℃、0℃至 10℃、1℃至 10℃、5℃至 15℃或 5℃至 10℃下進行。

【0321】 在第七態樣中，對於上文所述或第一態樣、第二態樣、第三態樣、第四態樣、第五態樣或第六態樣中之方法，步驟(a)之反應進行 1 分鐘至 48 小時、5 分鐘至 36 小時、10 分鐘至 24 小時、30 分鐘至 24 小時、30 分鐘至 20 小時、1 小時至 20 小時、1 小時至 15 小時、1 小時至 10 小時、2 小時至 10 小時、3 小時至 9 小時、3 小時至 8 小時、4 小時至 6 小時或 1 小時至 4 小時。在一些實施例中，使反應進行 4 至 6 小時。在其他實施例中，使反應進行 10 分鐘、15 分鐘、20 分鐘、30 分鐘、1 小時、2 小時、3 小時、4 小時、5 小時、6 小時、7 小時、8 小時、9 小時、10 小時、11 小時、12 小時、13 小時、14 小時、15 小時等。在其他實施例中，使反應進行 4 小時。在又其他實施例中，使反應進行 2 小時。

【0322】 在第八態樣中，對於本文所述或第一態樣、第二態樣、第三態樣、第四態樣、第五態樣、第六態樣或第七態樣中之本發明方法，步驟(b)之反應在 4 至 9 之 pH 下進行。在一些實施例中，步驟(b)之反應在以下 pH 下進行：4.5 至 8.5、5 至 8.5、5 至 8、5 至 7.5、5 至 7、5 至 6.5 或 5.5 至 6.5。在其他實施例中，步驟(b)之反應在 pH 5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9 或 8.0 下進行。

【0323】 在一些實施例中，對於上文所述或第一態樣、第二態樣、第三態樣、第四態樣、第五態樣、第六態樣、第七態樣或第八態樣中之方法，步驟(b)之反應在包含水及有機溶劑之混合物的水溶液中進行。可使用上文所述之任何合適的有機溶劑。更具體地，有機溶劑為 DMA。在一些實施例中，水溶液包含按體積計小於 50%、小於 40%、小於 30%、小於 25%、小於 20%、小於 15%、小於 10%、小於 5%、小於 3%、小於 2% 或小於 1% 的有機溶劑(例如 DMA)。

【0324】 在一些實施例中，對於本文所述或第一態樣、第二態樣、第三態樣、第四態樣、第五態樣、第六態樣、第七態樣或第八態樣中之方法，亞硫酸氫鹽

為亞硫酸氫鈉或亞硫酸氫鉀且偏亞硫酸氫鹽為偏亞硫酸氫鈉或偏亞硫酸氫鉀。
在具體實施例中，亞硫酸氫鹽為亞硫酸氫鈉，且偏亞硫酸氫鹽為偏亞硫酸氫鈉。

【0325】 在一些實施例中，對於本文所述或第一態樣、第二態樣、第三態樣、第四態樣、第五態樣、第六態樣、第七態樣或第八態樣中之方法，經修飾細胞毒性劑在步驟(b)中與細胞結合劑反應之前未經純化。或者，經修飾細胞毒性劑在步驟(b)中與細胞結合劑反應之前經純化。本文所述之任何合適的方法可用於純化經修飾細胞毒性劑。

【0326】 在一些實施例中，對於上文所述之方法，步驟(a)之反應不導致順丁烯二醯亞胺基團之實質磺化。在一些實施例中，小於 50%、40%、30%、20%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或 1%的順丁烯二醯亞胺基團為磺化的。順丁烯二醯亞胺磺化之百分比係等於順丁烯二醯亞胺磺化之細胞毒性劑(僅在順丁烯二醯亞胺上具有磺化之細胞毒性劑)及二磺化之細胞毒性劑(在順丁烯二醯亞胺及亞胺部分兩者上具有磺化之細胞毒性劑)之總量除以含亞胺之細胞毒性劑在與亞硫酸氫鹽或偏亞硫酸氫鹽反應之前的起始量。

【0327】 在一些實施例中，使藉由上文所述之任何方法製備的免疫共軛物經歷純化步驟。就此而言，可使用切向流過濾(TFF)、非吸附層析、吸附層析、吸附過濾、選擇性沉澱或任何其他合適的純化方法以及其組合來自混合物之其他組分中純化免疫共軛物。

【0328】 在一些實施例中，使用單一純化步驟(例如，TFF)來純化免疫共軛物。較佳地，使用單一純化步驟(例如，TFF)將共軛物純化且交換至適當調配物中。在本發明之其他實施例中，使用兩個連續的純化步驟純化免疫共軛物。例如，免疫共軛物可首先藉由選擇性沉澱、吸附過濾、吸附層析或非吸附層析來純化，隨後用 TFF 進行純化。一般熟習此項技術者將理解，免疫共軛物之純化實現包含化學偶合至細胞毒性劑之細胞結合劑的穩定共軛物之分離。

【0329】 任何合適的 TFF 系統皆可用於純化，該系統包括 Pellicon 型系統 (Millipore, Billerica, Mass.)、Sartocon 盒式系統(Sartorius AG, Edgewood, N.Y.)及 Centrasette 型系統(Pall Corp., East Hills, N.Y.)

【0330】 任何合適的吸附層析樹脂皆可用於純化。較佳吸附層析樹脂包括氫氧磷灰石層析、疏水性電荷誘導層析(HCIC)、疏水性相互作用層析(HIC)、離子交換層析、混合模式離子交換層析、固定化金屬親和層析(IMAC)、染料配體層析、親和層析、逆相層析及其組合。合適的氫氧磷灰石樹脂之實例包括陶瓷氫氧磷灰石(I型及 II 型 CHT, Bio-Rad Laboratories, Hercules, Calif.)、HA Ultrogel 氫氧磷灰石(Pall Corp., East Hills, N.Y.)及陶瓷氟磷灰石(I型及 II 型 CFT, Bio-Rad Laboratories, Hercules, Calif.)。合適的 HCIC 樹脂之實例為 MEP Hypercel 樹脂(Pall Corp., East Hills, N.Y.)。合適的 HIC 樹脂之實例包括丁基-瓊脂糖、己基-瓊脂糖、苯基-瓊脂糖及辛基瓊脂糖樹脂(全部來自 GE Healthcare, Piscataway, N.J.)以及 Macro-prep 甲基樹脂及 Macro-Prep 第三丁基樹脂(Biorad Laboratories, Hercules, Calif.)。合適的離子交換樹脂之實例包括 SP-瓊脂糖、CM-瓊脂糖及 Q-瓊脂糖樹脂(全部來自 GE Healthcare, Piscataway, N.J.)及 Unosphere S 樹脂(Bio-Rad Laboratories, Hercules, Calif.)。合適的混合模式離子交換劑之實例包括 Bakerbond ABx 樹脂(JT Baker, Phillipsburg N.J.)合適的 IMAC 樹脂之實例包括螯合瓊脂糖樹脂(GE Healthcare, Piscataway, N.J.)及 Profinity IMAC 樹脂(Bio-Rad Laboratories, Hercules, Calif.)。合適的染料配體樹脂之實例包括藍瓊脂糖樹脂(GE Healthcare, Piscataway, N.J.)及 Affi-gel 藍色樹脂(Bio-Rad Laboratories, Hercules, Calif.)。合適的親和樹脂之實例包括：蛋白 A 瓊脂糖樹脂(例如 MabSelect, GE Healthcare, Piscataway, N.J.)，其中細胞結合劑為抗體；及凝集素親和樹脂，例如扁豆凝集素瓊脂糖樹脂(GE Healthcare, Piscataway, N.J.)，其中細胞結合劑帶有適當凝集素結合位點。或者，可使用對細胞結合劑有特異性的抗體。這種抗體可經固定至

例如瓊脂糖 4 快速流樹脂(GE Healthcare, Piscataway, N.J.)上。合適的逆相樹脂之實例包括 C4、C8 及 C18 樹脂(Grace Vydac, Hesperia, Calif.)。

【0331】 任何合適的非吸附層析樹脂皆可用於純化。合適的非吸附層析樹脂之實例包括但不限於 SEPHADEX™ G-25、G-50、G-100、SEPHACRYL™ 樹脂(例如，S-200 及 S-300)、SUPERDEX™ 樹脂(例如，SUPERDEX™ 75 及 SUPERDEX™ 200)、BIO-GEL®樹脂(例如，P-6、P-10、P-30、P-60 及 P-100)及一般熟習此項技術者已知之其他樹脂。

VI. 本發明之免疫共軛物之用途

【0332】 本發明涵蓋包含本發明之免疫共軛物之組成物，包括醫藥組成物。

【0333】 如本文所提供，包含本文提供之人源化/經最佳化抗 ADAM9-VL 及/或 VH 域的本發明之免疫共軛物具有結合細胞表面上存在之 ADAM9 且介導細胞殺傷之能力。特別地，包含藥理學藥劑之本發明免疫共軛物經內化，且經由藥理學藥劑之活性介導細胞殺傷。此類細胞殺傷活性可藉由免疫共軛物誘導抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)來擴大。

【0334】 因此，包含本文提供之人源化/經最佳化抗 ADAM9-VL 及/或 VH 域的本發明之免疫共軛物具有治療與 ADAM9 表現相關或特徵在於 ADAM9 表現之任何疾病或病狀的能力。如上文所討論，ADAM9 為眾多血液及實體惡性腫瘤中表現之腫瘤-胚胎抗原，其與展現低分化形態學之高級腫瘤相關，且與不良臨床結果相關聯。因此，在無限制的情況下，本發明之免疫共軛物可用於治療癌症，特別是特徵在於 ADAM9 表現之癌症。

【0335】 在其他特定實施例中，本發明之免疫共軛物可用於治療肺癌(例如，非小細胞肺癌)、結腸直腸癌、膀胱癌、胃癌、胰腺癌、腎細胞癌、前列腺癌、食道癌、乳癌、頭頸癌、子宮癌、卵巢癌、肝癌、子宮頸癌、甲狀腺癌、睪丸

癌、骨髓癌、黑色素瘤及淋巴癌。

【0336】 在進一步實施例中，本發明之免疫共軛物可用於治療非小細胞肺癌(鱗狀細胞、腺癌或大細胞未分化癌)及結腸直腸癌(腺癌、胃腸類癌瘤、胃腸道基質瘤、原發性結腸直腸淋巴瘤、平滑肌肉瘤或鱗狀細胞癌)。

【0337】 除了其用於治療以外，本發明之免疫共軛物可經可偵測地標記，且用於癌症之診斷或腫瘤及腫瘤細胞之成像。

VII. 醫藥組成物

【0338】 本發明之組成物包括可用於製造醫藥組成物(例如，不純或非無菌組成物)的原料藥(bulk drug)組成物及可用於製備單位劑型的醫藥組成物(亦即合適於向受試者或患者投與之組成物)。此類組成物包含預防或治療有效量的本發明之免疫共軛物、或此類藥劑及醫藥學上可接受之載劑之組合。較佳地，本發明之組成物包含預防或治療有效量的本發明之免疫共軛物及醫藥學上可接受之載劑。本發明亦涵蓋此類醫藥組成物，其另外包括對特定癌症抗原有特異性的第二治療性抗體(例如，腫瘤特異性單株抗體)及醫藥學上可接受之載劑。

【0339】 在具體實施例中，術語「**醫藥學上可接受之**」意謂由聯邦政府或州政府之管理機構核准或列於美國藥典或其他通常認可之藥典中且在動物中，且更特定言之在人類中使用。術語「**載劑**」係指與治療劑一起投與的稀釋劑、佐劑(例如弗氏佐劑(完全及不完全))、賦形劑或媒劑。一般而言，本發明組成物之成分分別或以混合在一起之單位劑型(例如以乾燥凍乾粉末或無水濃縮物形式)在指示活性劑之量的密封容器(諸如安瓿或藥囊)中供應。在欲藉由輸注投與組成物之情況下，其可用含有無菌醫藥級水或鹽水之輸注瓶分配。在藉由注射投與組成物之情況下，可提供無菌注射用水或鹽水之安瓿以使得可於投與之前混合該等成分。

【0340】 本發明亦提供一種醫藥包裝或套組，其包含一或多個填充有本發明

之免疫共軛物(單獨或與此類醫藥學上可接受之載劑一起)之容器。另外，可用於治療疾病之一或多種其他預防劑或治療劑亦可容納於醫藥包裝或套組中。本發明亦提供一種醫藥包裝或套組，其包含一或多個填充有本發明之醫藥組成物之一或多種成分之容器。視情況，此類容器可附有管理藥物或生物製品之製造、使用或銷售之政府機構所規定形式的須知，該須知反映了該機構對製造、使用或銷售以供人類投與之批准。

【0341】 本發明提供可用於上文方法中之套組。套組可包含本發明之任何免疫共軛物。套組可在一或多個容器中進一步包含一或多種可用於治療癌症之其他預防劑及/或治療劑。

VIII. 投與方法

【0342】 可提供本發明之組成物以供藉由向受試者投與有效量的本發明之免疫共軛物來治療、預防及改善與疾病、病症相關之一或多種症狀。在較佳態樣中，此類組成物為實質上純的(亦即，實質上不含限制其作用或產生非所要副作用之物質)。在具體實施例中，受試者為動物，較佳為哺乳動物，諸如非靈長類(例如，牛、馬、貓、犬、齧齒動物等)或靈長類(例如，猴諸如食蟹獼猴、人類等)。在較佳實施例中，受試者為人類。

【0343】 各種遞送系統為已知的，且可用於投與本發明之組成物，例如，囊封於脂質體、微粒、微膠囊、能夠表現抗體或融合蛋白之重組細胞、受體介導之胞吞作用(參見，例如 Wu 等人 (1987) 「Receptor-Mediated In Vitro Gene Transformation By A Soluble DNA Carrier System,」 J. Biol. Chem. 262:4429-4432)、作為逆轉錄病毒或其他載劑之一部的核酸之構築等。

【0344】 投與本發明之免疫共軛物之方法包括但不限於腸胃外投與(例如，皮內、肌肉內、腹膜內、靜脈內及皮下)、硬膜外及黏膜(例如，鼻內及經口途徑)。在具體實施例中，本發明之免疫共軛物以肌肉內、靜脈內或皮下方式投與。組

成物可藉由任何方便途徑例如藉由輸注或推注注射來投與，且可與其他生物活性劑一起投與。投與可為全身性或局部。

【0345】 本發明亦提供，將本發明之免疫共軛物製劑包裝在指示分子之量的密封容器(諸如安瓿或藥囊)中。在一個實施例中，此類分子以乾燥經滅菌凍乾粉末或無水濃縮物形式在密封容器中供應，且可例如用水或鹽水復原至適當濃度以向受試者投與。較佳地，本發明之免疫共軛物以乾燥無菌凍乾粉末形式在密封容器中供應。

【0346】 本發明之免疫共軛物之凍乾製劑應在2°C與8°C之間在其原始容器中儲存，且分子應在復原後12小時內、較佳6小時內、5小時內、3小時內或1小時內投與。在替代性實施例中，此類分子以液體形式在指示分子、融合蛋白或共軛分子之量及濃度的密封容器中供應。較佳地，此類免疫共軛物當以液體形式提供時在密封容器中供應。

【0347】 如本文所使用，醫藥組成物之「有效量」為足以產生有益或所要結果之量，該等包括但不限於臨床結果，諸如減少由疾病引起之症狀、減輕感染之症狀(例如，病毒負荷、發熱、疼痛、敗血症等)或癌症之症狀(例如，癌細胞增殖、腫瘤存在、腫瘤轉移等)，從而增加罹患該疾病之患者之生活品質、減少治療疾病所需之其他藥物之劑量、諸如經由靶向及/或內化來增強另一藥物之作用、延遲疾病之進展及/或延長個體之存活。

【0348】 有效量可以一或多次投與形式投與。出於本發明之目的，藥物、化合物或醫藥組成物之有效量為足以殺傷癌細胞及/或減少癌細胞增殖、及/或消除、減少及/或延遲癌症原發部位之轉移發展的量。在一些實施例中，藥物、化合物或醫藥組成物之有效量可能結合另一種藥物、化合物或醫藥組成物來達成或可能不達成。因此，「有效量」可在投與一或多種化療劑之情形下考慮，且若結合一或多種其他藥劑，可達成或達成所要結果，則單一藥劑可被認為以有效量

給予。

【0349】 對於本發明所涵蓋之免疫共軛物，向患者投與之劑量較佳基於接受受試者之體重(kg)來判定。

【0350】 本發明免疫共軛物之投與之劑量及頻率可藉由修飾(諸如，例如脂化)而增強分子之攝取及組織滲透來降低或改變。

【0351】 可計算向患者投與之本發明免疫共軛物之劑量，以用作單一藥劑療法。或者，分子可與其他治療組成物組合使用，且向患者投與之劑量低於該等分子用作單一藥劑療法時的劑量。

【0352】 本發明之醫藥組成物可以局部方式向需要治療之區域投與；這可藉由例如但不限於局部輸注、藉由注射或藉助於植入物來達成，該植入物為多孔、非多孔或凝膠狀材料，包括膜(諸如 sialastic 膜)或纖維。較佳地，當投與本發明之免疫共軛物時，必須注意使用該分子不吸收之材料。

【0353】 本發明之組成物可在囊泡，特別是在脂質體中遞送(參見，Langer (1990) 「New Methods Of Drug Delivery,」 Science 249:1527-1533)；Treat 等人, 於 LIPOSOMES IN THE THERAPY OF INFECTIOUS DISEASE AND CANCER, Lopez-Berestein 及 Fidler (編), Liss, New York, 第 353-365 頁(1989)中；Lopez-Berestein, ibid.,第 317-327 頁)。

【0354】 以治療或預防有效量的本發明之免疫共軛物治療受試者可包括單次治療，或較佳可包括一系列治療。亦應當理解，用於治療之分子之有效劑量可在特定治療時程中增加或減少。

實例

【0355】 現在已經大致描述本發明，透過參考以下實例將更容易理解本發明。以下實例說明本發明之診斷或治療方法中組成物之各種方法。該等實例意欲說明，但絕不限制本發明之範疇。

實例 1

抗 ADAM9 抗體 MAB-A 之腫瘤細胞特異性

【0356】 已鑒別出鼠 ADAM9 抗體(在本文中定名為 MAB-A)，其：(1)阻斷 ADAM9 之靶蛋白加工活性；(2)經內化；及(3)具有抗腫瘤活性(參見，*例如*美國專利第 8361475 號)。藉由 IHC 研究 MAB-A 之腫瘤細胞特異性。使腫瘤組織與 MAB-A (0.4 $\mu\text{g/mL}$)或同型對照(0.4 $\mu\text{g/mL}$)接觸，且目視檢查染色程度。發現 MAB-A 強標記多種大細胞癌、鱗狀細胞癌及腺癌非小細胞肺癌細胞型(圖 1A)、乳癌細胞、前列腺癌細胞、胃癌細胞(圖 1B)以及結腸癌樣品(圖 1C)。使正常組織與 MAB-A (1.25 $\mu\text{g/mL}$)接觸，且目視檢查染色程度。如上文表 2 中所概述，MAB-A 展現多種多樣的正常組織之極少或無染色。應該指出，此等研究中使用之 MAB-A 之濃度為用於染色腫瘤細胞的濃度的幾乎 3 倍。此等 IHC 研究之結果指示，MAB-A 展現出優於正常細胞的與腫瘤細胞之強的優先結合。

實例 2

物種交叉反應性

【0357】 檢查 MAB-A 與人類 ADAM9 (huADAM9)及食蟹獼猴 ADAM9 (cynoADAM9)之結合。簡而言之，將暫時表現 huADAM9、cynoADAM9、無關抗原之 293-FT 及 CHO-K 細胞或未經轉染之親代細胞與 MAB-A 一起培育，隨後與山羊抗鼠-PE 二級抗體一起培育，且藉由 FACS 來分析。如圖 2 中所示，MAB-A 展現出與兩種細胞型上暫時表現之 huADAM9 之強結合。MAB-A 展現出與 cynoADAM9 之不良結合。MAB-A 不結合至親代細胞或表現無關抗原之細胞。在 ELISA 檢定中看到與 cynoADAM 之類似的低水準結合。

實例 3

人源化及初始最佳化

【0358】 MAB-A 之人源化產生人源化 VH 域(本文中定名為「hMAB-A VH(1)」)

及人源化 VL 域(本文中定名為「hMAB-A VL(1)」)。接著對人源化可變域進行最佳化以增強結合活性及/或去除潛在的不穩定胺基酸殘基，如下文所更詳細地描述。此第一輪最佳化產生三個另外的人源化 VH 域(本文中定名為「hMAB-A VH(2)」、「hMAB-A VH(3)」及「hMAB-A VH(4)」)及三個另外的人源化 VL 域(本文中定名為「hMAB-A VL(2)」、「hMAB-A VL(3)」及「hMAB-A VL(4)」)。另外，產生具有鼠 VH 及 VL 域以及人類恆定區的 MAB-A 之嵌合形式(「chMAB-A」)。上文提供鼠及人源化/經最佳化 VH 及 VL 域之胺基酸序列，在圖 3A 及圖 3B 中提供比對。上文提供此等人源化/經最佳化 VH 及 VL 域之共同序列。在產生多個人源化可變域之情況下，可以任何組合使用特定抗 ADAM9 抗體(例如，MAB-A)之人源化重鏈可變域及輕鏈可變域，且藉由引用具體 VH/VL 域之方式來提及人源化鏈之特定組合，例如，將包含 hMAB-A VH(1)及 hMAB-A VL(2)之抗體具體稱為「hMAB-A (1.2)」。

【0359】 產生具有來源於人類生殖系 VH3-21 及 VH3-64 之架構區之 hMAB-A VH(1)，且產生具有來源於人類生殖系 B3 及 L6 之架構區之 hMAB-A VL(1)。在此等人源化可變域中保留鼠 CDR。

【0360】 在 CDR_H2 中鑒別出潛在的脫醯胺位點(在圖 3A 中以單下劃線示出)，且在 CDR_L1 中鑒別出潛在的天冬胺酸異構化位點(在圖 3B 中以單下劃線示出)。檢查此等位置處的胺基酸取代以鑒別去除此等位點同時維持結合親和力之取代。選擇 CDR_H2 (存在於 hMAB-A VH(2)中)之位置 54 處之苯丙胺酸取代(N54F)及 CDR_L1 (存在於 hMAB-A VL(2)中)之位置 28 處之絲胺酸取代(D28S)，其中編號係根據 Kabat。可單獨或組合使用所鑒別之取代。驚人地發現，包含 N54F 取代之抗體展現出對人類 ADAM9 之親和力之 2 倍增加(參見，例如下文表 3)及輕微改善的與食蟹獼猴 ADAM9 之結合。

【0361】 另外，產生經最佳化變異體以使 CDR 中存在之離胺酸殘基之數目最

小化。兩個離胺酸殘基存在於 CDR_H2 中(在圖 3A 中用雙下劃線指示)，且一個離胺酸存在於 CDR_L1 中(在圖 3B 中用雙下劃線指示)。檢查此等位置處的胺基酸取代以鑒別維持結合親和力之取代。選擇 CDR_H2 (存在於 hMAB-A VH(3)中)之位置 62 處之精胺酸取代(K62R)、位置 64 處之麩醯胺酸取代(K64Q)及位置 65 處之絲胺酸取代(S65G)，其中編號係根據 Kabat。選擇 CDR_L1 (存在於 hMAB-A VL(3)中)之位置 24 處之精胺酸取代(K24R)。可單獨或組合使用所鑒別之取代。

【0362】 鑒別 CDR 中存在之其他潛在不穩定殘基(在圖 3A-3B 中用虛線下劃線指示)，CDR_H1 內位置 34 處之一個甲硫胺酸殘基(M34)、CDR_L1 內位置 33 處之一個甲硫胺酸殘基(M33)以及 CDR_L3 內位置 92 處之組胺酸殘基(H93)、位置 93 處之麩胺酸殘基(E93)及位置 94 處之天冬胺酸殘基(D94)，其中編號係根據 Kabat。檢查此等位置處的胺基酸取代以鑒別維持結合親和力之取代。選擇 CDR_H1 之位置 34 處之異白胺酸取代(M34I)，且選擇 CDR_L3 之位置 33 處之白胺酸取代(M33L)、位置 92 處之酪胺酸取代(H93Y)、位置 93 處之絲胺酸取代(E93S)及位置 94 處之蘇胺酸取代(D94T)，其中編號係根據 Kabat。此等位置中之各者可容易地與上文詳述之所有取代組合經取代，以產生 hMAB-A VH(4)及 hMAB-A VL(4)，其在配對在一起時產生相較於親代鼠抗體保留小的親和力改善之抗體，且該抗體之脫醯胺或氧化之可能性大大減小且 CDR 中無離胺酸殘基。

【0363】 使用 BIACORE®分析研究人源化/經最佳化抗體 hMAB-A (1.1)、hMAB-A (2.2)、hMAB-A (2.3)、hMAB-A (3.3)、hMAB-A (4.4)及嵌合 chMAB-A (具有鼠 VH/VL 域)與 huADAM 之相對結合親和力，其中將經 His 標記之可溶性人類 ADAM9 (「shADAM9-His」，含有融合至含組胺酸之蛋白的人類 ADAM9 之細胞外部分)在塗佈有固定化抗體之表面上通過。簡而言之，將各抗體捕捉在 Fab2 山羊抗人類 Fc 表面上，且接著在不同濃度(6.25-100 nM)之 shADAM9-His 蛋白存在下進行培育。經由 BIACORE®分析結合(經正規化之 1:1 朗格繆爾結合

模型)判定結合之動力學。此等研究之經計算之 k_a 、 k_d 及 K_D 呈現於表 3 中。藉由如上文所述之 FACS 且藉由 ELISA 來檢查與 cynoADAM9 之結合。

表 3.

抗體	pI	huADAM9		
		k_a ($\times 10^6$)	k_d ($\times 10^{-3}$)	KD (nM)
chMAB-A	6.61	1.3	4.7	3.6
hMAB-A (1.1)	6.44	1.5	5.2	3.5
hMAB-A (2.2)	6.58	1.1	1.5	1.4
hMAB-A (2.3)	6.58	1.3	1.7	1.3
hMAB-A (3.3)	6.44	1.1	1.5	1.4
hMAB-A (4.4)	6.73	1.0	2.0	2.0

【0364】 此等研究之結果說明，人源化/經最佳化抗體具有與親代鼠抗體相比相同或較高的與人類 ADAM9 之結合親和力。特別地，觀察到在人源化抗體中引入 N54F 突變得到與 huADAM9 (亦即，hMAB-A (2.2)、hMAB-A (2.3)及 hMAB-A (3.3))之結合改善。如藉由 FACS 及 ELISA 所判定，此突變亦提供與 cynoADAM9 之結合之輕微改善，然而，此等抗體繼續展現與 cynoADAM9 之不良結合。此等研究亦鑒別可經引入以自 CDR 中去除離胺酸殘基而不減少親和力的另外取代。鑒別另外的取代以去除對親和力具有最小影響的其他潛在不穩定殘基。

實例 4

與非人類靈長類 ADAM9 之結合之最佳化

【0365】 使用隨機突變誘發來在 hMAB-A (2.2)之重鏈 CDR_H2 (Kabat 位置 53-58)及 CDR_H3 (Kabat 位置 95-100 及 100a-100f)域內引入取代。對突變體進行篩選以鑒別具有增強的與非人類靈長類 ADAM9(例如，cynoADAM9)之結合且保留與 huADAM9 之高親和力結合的殖株。自 CDR_H3 (Kabat 位置 100a-100f)內突變之兩次獨立的篩選選擇 48 種殖株。表 4 提供自兩次獨立篩選針對增強的與 cynoADAM9 之結合所選擇的 hMAB-A (2.2)殖株之 CDR_H3 Kabat 殘基 100a-f 之胺基酸序列之比對。另外的殖株比對提供於表 5 中。如此類表中所指示，各實

驗中出現類似的殖株，該等殖株處於離散的取代模式中。

表 4 MAB-A 之重鏈 CDRH3 之子域內的取代 (Kabat 位置 100a-100f)					
篩選 1			篩選 2		
殖株 ID	SEQ ID NO	CDR _H 3 子域 序列	殖株 ID	SEQ ID NO	CDR _H 3 子域 序列
MAB-A	81	GSRDYF	MAB-A	81	GSRDYF
1	82	DGEGVM	1	112	DGKAVL
2	82	DGEGVM	2	113	FNKAVL
3	83	FHSGLL	3	84	FNSATL
4	84	FNSATL	4	114	FNSGTW
5	85	FNSGTL	5	115	FNTGVF
6	86	FNSSTL	6	116	GKSRFH
7	87	GKSKWL	7	91	IGKGVF
8	88	GMGGTL	8	92	IGKGVL
9	89	HAKGGM	9	117	IGKNVY
10	90	IGEAVL	10	118	MGKGVM
11	91	IGKGVF	11	119	NGESVF
12	91	IGKGVF	12	120	PDFGWM
13	92	IGKGVL	13	121	PGSGVM
14	93	KHDSVL	14	122	PKDAWL
15	94	LNTAVM	15	99	PKFGWK
16	95	NGEGTL	16	99	PKFGWK
17	96	NGKNTL	17	123	PKFGWL
18	97	NSAGIL	18	124	PKIGWH
19	98	PKEGWM	19	124	PKIGWH
20	99	PKFGWK	20	124	PKIGWH
21	100	PKMGWV	21	125	PKMGWA
22	101	PRLGHL	22	126	PKMGWM
23	102	PSFGWA	23	126	PKMGWM
24	103	QAKGTM	24	126	PKMGWM
25	104	RGMGVM	25	126	PKMGWM
26	105	RKEGWM	26	127	PQMGWL
27	106	TGKGVL	27	128	PRFGWL
28	107	TGMGTL	28	128	PRFGWL
29	108	TGNGVM	29	128	PRFGWL
30	108	TGNGVM	30	129	PRMGFL
31	109	WNAGTF	31	130	PRMGFM
32	110	YHHTPL	32	131	PSFGWM
33	110	YHHTPL	33	132	RREGWM
34	111	YQSATL	34	133	SGEGVL
			35	134	SGNGVM
			36	135	VGKAVL

表 5

MAB-A 之重鏈 CDRH3 之子域內的取代 (Kabat 位置 100a-100f)		
植株 ID	SEQ ID NO	CDR _H 3 子域 序列
MAB-AVH (2A)	85	FNSGTL
MAB-AVH (2B)	92	IGKGV L
MAB-AVH (2C)	128	PRFGWL
MAB-AVH (2D)	106	TGKGV L
MAB-AVH (2E)	136	DSNAVL
MAB-AVH (2F)	137	FHSGTL
MAB-AVH (2G)	113	FNKAVL
MAB-AVH (2H)	138	GGSGVL
MAB-AVH (2I)	139	PRQGFL
MAB-AVH (2J)	140	YNSGTL

【0366】 對於所有經檢查之植株，Gly 及 Ala 為位置 4 (P4)處之較佳胺基酸殘基，且 Leu、Met 及 Phe 為位置 6 (P6)處之較佳胺基酸殘基。其他位置(例如，位置 2 (P2)、位置 3 (P3)及位置 5 (P5))處之較佳胺基酸殘基取決於 P1 處發現之胺基酸殘基。對於在位置 1 (P1)處具有 Pro 殘基之植株，P2 處 Lys 及 Arg 為較佳的，P3 處 Phe 及 Met 為較佳的，P4 處 Gly 為較佳的，且 P5 處 Trp 或 Phe 為較佳的。對於在 P1 處具有 Phe、Tyr 或 Trp 之植株，P2 處 Asn 及 His 為較佳的，P3 處 Ser 及 His 為較佳的，且 P6 處 Leu 為較佳的。對於在 P1 處具有 Ile、Leu 或 Val 之植株，P2 處 Gly 為較佳的，P3 處 Lys 為較佳的，P5 處 Val 為較佳的，且 P6 處疏水性為較佳的。另外，如可在表 4 中看到，對於在 P1 處具有 Thr 殘基之植株，P2 處 Gly 為較佳的，P3 處 Lys、Met 及 Asn 為較佳的，P4 處 Gly 為較佳的，P5 處 Val 或 Thr 為較佳的，且 P6 處 Leu 及 Met 為較佳的。亦鑒別出以較低頻率的在 P1 處具有 Asp、Gly、Arg、His 或 Ser 殘基之另外植株(參見表 4 及表 5)。

【0367】 使用表 5 中所示之十個植株之 VH 域產生 hMAB-A (2.2)之經進一步最佳化之變異體，定名為 hMAB-A (2A.2)-(2J.2)。藉由 ELISA 檢定檢查所選植株之結合。簡而言之，使用結合至含組胺酸之肽且已塗佈至微量滴定板上之抗體捕捉經 His 肽標記之可溶性 cynoADAM9 (「cynoADAM9-His」) (1 µg/mL)或經

His 肽標記之可溶性 huADAM9 (1 µg/mL)，且檢查親代 hMAB-A (2.2)及十個 CDR_{H3} hMAB-A (2A.2)變異體之連續稀釋液之結合。結合曲線 cynoADAM9 及 huADAM9 分別呈現於圖 4A 及圖 4B 中。在 MAB-A VH(2B)、MAB-A VH(2C)、MAB-A VH(2D)及 MAB-A VH(2I)之情況下，包含各所選 VH 域之 hMAB-A (2A.2)變異體展現改善的與 cynoADAM9 之結合，顯示 cynoADAM9 結合之最大增強，同時維持與親代 hMAB-A (2.2)抗體類似的與 huADAM9 之結合。

【0368】基本上如上文所述使用 BIACORE®分析研究人源化/經進一步最佳化抗體 MAB-A VH(2B.2)、MAB-A VH(2C.2)、MAB-A VH(2D.2)及 MAB-A VH(2I.2)以及親代 hMAB-A (2.2)與 huADAM9-His 及 cynoADAM9-His 之相對結合親和力。此等研究之經計算之 k_a 、 k_d 及 K_D 呈現於表 6 中。

表 6						
抗體	huADAM9			cynoADAM9		
	k_a ($\times 10^5$) ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-4}$) (s^{-1})	KD (nM)	k_a ($\times 10^5$) ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d ($\times 10^{-4}$) (s^{-1})	KD (nM)
hMAB-A (2.2)	9.0	5.5	0.6	2.0	220	110
hMAB-A (2B.2)	6.1	3.9	0.6	3.4	0.66	0.2
hMAB-A (2C.2)	5.9	8.1	1.4	3.5	<0.1	<0.3
hMAB-A (2D.2)	6.9	5.8	0.8	4.2	3.0	0.7
hMAB-A (2I.2)	6.6	2.3	0.4	4.0	0.85	0.2

【0369】結合研究說明，四個最高殖株展現與 cynoADAM9 之結合親和力之 150-550 倍之間的增強，同時維持與親代抗體一樣高的與 huADAM9 之親和力結合。選擇 hMAB-A (2C.2)及 hMAB-A (2I.2)以進行進一步研究。

實例 5

抗體 hMAB-A (2I.2)之免疫組織化學研究

【0370】藉由 IHC 研究 hMAB-A (2I.2)之細胞特異性。使陽性及陰性對照細胞以及正常人類及食蟹獼猴組織與 hMAB-A (2I.2) (2.5 µg/mL)或同型對照(2.5 µg/mL)接觸，且目視檢查染色程度。研究之結果概述於表 7 中。

表 7		
細胞/組織	hMAB-A(2I.2) (2.5 µg/ml)	IgG1 陰性對照(2.5 µg/ml)
Cho-K 親代細胞	-	-

表 7		
細胞/組織	hMAB-A(2I.2) (2.5 µg/ml)	IgG1 陰性對照(2.5 µg/ml)
Cho-K/huADAM9 中等表現 P:1	2-4+ (gr c > m)罕見至偶爾，且 1+ (gr c > m)偶爾	-
Cho-K/huADAM9 高表現	2-4+ (gr c > m)頻繁	-
Cho-K/ cynoADAM9 殖株 2	2-4+ (gr c > m)頻繁	-
Cho-K/cynoADAM9 殖株#16	2-4+ (gr c > m)頻繁	-
A498 細胞	2-4+ (gr c > m)罕見至偶爾，且 1+ (gr c > m)偶爾至頻繁	-
殖株 MG06-CHTN-96 B	-	眾多 2-4+ (gr c)細胞，與巨噬細胞一致
肺 MG06-CHtN-162B1 A	-	偶爾 2-4+ (gr c)細胞，與巨噬細胞一致
肝 ILS11103 B	-	肝細胞 1+ (gr c)罕見至偶爾
胰腺 ILS10266	-	-
心臟人生遺贈 0910035D	-	具有眾多 1-3+ (gr c)之小病灶之心肌細胞，與脂褐質色素一致
腎 ILS10241 B	-	小管上皮 1+ (gr c)罕見
膀胱 ILSD8011 J	-	偶爾 2-4+ (gr c)細胞，與巨噬細胞一致
食蟹獼猴殖株#1	-	黏膜上皮(魯米那 m) 2-4+罕見至偶爾，且 1+罕見至偶爾；眾多 2-3+ (gr c)細胞，與主要在 LP 內之巨噬細胞一致
食蟹獼猴肺#1	-	非常罕見 2-4+ (gr c)細胞，與巨噬細胞一致
食蟹獼猴肝#1	-	-
食蟹獼猴胰腺#1	-	-
食蟹獼猴心臟#1	-	-
食蟹獼猴腎#070368M	-	小管上皮 2+ (gr c)罕見，且 1+ (gr c)罕見至偶爾
食蟹獼猴膀胱#1	移行細胞上皮± (gr c)罕見	罕見 1-4+ (gr c)細胞，與巨噬細胞一致
肺 CA ILS10108	H 記分 150	tu -
肺 CA ILS7223	H 記分 180	tu -
肺 CA ILS2156 A	H 記分 80	tu -
肺 CA ILS7295 A	H 記分 60	tu -

【0371】 亦進行 IHC 研究以評定在 12.5 µg/mL 之濃度(5x 最佳染色濃度)下人源化/經最佳化 hMAB-A (2I.2)之結合。此研究中採用陽性及陰性對照細胞以及正

常人類及食蟹獼猴組織。研究之結果概述於表 8 中。

表 8		
細胞/組織	hMAB-A(2I.2) (12.5 µg/ml)	IgG1 陰性對照(12.5 µg/ml)
Cho-K 親代細胞	-	-
Cho-K/huADAM9 中等表現 P:1	2-4+ (gr c > m)偶爾至頻繁	-
Cho-K/huADAM9 高表現	3-4+ (gr c > m)偶爾至頻繁	-
Cho-K/cynoADAM9 殖株 2	3-4+ (gr c > m)頻繁	-
Cho-K/cynoADAM9 殖株#16	3-4+ (gr c > m)頻繁	-
A498 細胞	2-4+ (gr c > m)偶爾至頻繁	-
殖株 MG06-CHTN-96 B	上皮± - 1+罕見至偶爾	眾多 2-4+ (gr c)細胞，與測試物品中主要在 LP 內之巨噬細胞及陰性對照一致
肺 MG06-CHtN-162B1 A	肺泡細胞(偏肺泡壁細胞) 2-3+ (gr c > m)罕見，1+ (gr c > m)罕見至偶爾；EC 2-4+ (c,m)罕見，1+ (c,m)罕見	偶爾散佈之 2-4+ (gr c)細胞，與測試物品中之巨噬細胞及陰性對照一致
肝 ILS11103 B	-	偶爾散佈之 2-4+ (gr c)細胞，與測試物品中之巨噬細胞及陰性對照一致
胰腺 ILS10266	導管上皮 1+ (gr c > m)非常罕見	細胞(偏腺泡細胞) 1+ (gr c)非常罕見；偶爾散佈之 2-4+ (gr c)細胞，與測試物品中之巨噬細胞及陰性對照一致
心臟人生遺贈 0910035D	-	在心肌細胞之情況下眾多小病灶 1-3+顆粒狀染色，與脂褐質色素一致，與測試物品中之假影及陰性對照一致
腎 ILS10241 B	小管上皮 1+ (gr c)罕見至偶爾	小管上皮± (gr c)罕見
膀胱 ILSD8011 J	移行細胞上皮 1+ (gr c)罕見	罕見 2-4+ (gr c)細胞，與測試物品中之巨噬細胞及陰性對照一致
食蟹獼猴殖株#1	-	黏膜上皮(魯米那 m) 2-4+偶爾，且 1+罕見至偶爾
食蟹獼猴肺#1	支氣管上皮 1+ (gr c > m)罕見至偶爾，且± (gr c > m)偶爾至頻繁	-
食蟹獼猴肝#1	-	-
食蟹獼猴胰腺#1	-	-
食蟹獼猴心臟#1	-	-
食蟹獼猴腎#070368M	-	小管上皮 1+ (gr c)罕見，且± (gr c)罕見

表 8		
細胞/組織	hMAB-A(2I.2) (12.5 µg/ml)	IgG1 陰性對照(12.5 µg/ml)
食蟹獼猴膀胱#1	移行細胞上皮 2+ (gr c > m)罕見， 且 1+ (gr c > m)罕見至偶爾	-
肺 CA ILS10108	H 記分 180	tu -
肺 CA ILS7223	H 記分 180	tu -
肺 CA ILS2156 A	H 記分 115	tu -
肺 CA ILS7295 A	H 記分 115	tu -

【0372】 進行比較性 IHC 研究以評定在 2.5 µg/mL 或 5 µg/mL 下 hMAB-A (2.2)、hMAB-A (2.3)、hMAB-A (2C.2)及 hMAB-A (2I.2)之結合差異。此研究中採用陽性及陰性對照細胞以及正常人類及食蟹獼猴組織。研究之結果概述於表 9 中。

表 9					
組織	hMAB-A(2.3) 5 ug/mL	hMAB-A(2.2) 2.5 µg/mL	hMAB-A(2C.2) 2.5 µg/mL	hMAB-A(2I.2) 2.5 µg/mL	同型對照 5 µg/mL
Cho-K 親代 P:3	-	-	-	-	-
Cho-K/hu ADAM9.2 中 等表現 P:1	1+ (c)偶爾	2-4+ (gr c > m)罕見， 且 1+ (gr c > m)罕見至偶爾	2-4+ (gr c > m)罕見至偶爾， 且 1+ (gr c > m)罕見至偶爾	2-4+ (gr c > m)罕見至偶爾， 且 1+ (gr c > m)偶爾	-
Cho-K/hu ADAM9.18 高 表現 P:1	3+ (m,c)頻繁	2-4+ (gr c > m)偶爾至頻繁， 且 1+ (gr c > m)偶爾	2-4+ (gr c > m)偶爾至頻繁， 且 1+ (gr c > m)偶爾	2-4+ (gr c > m)頻繁	-
Cho-K 食蟹獼 猴#2	1+ (c)偶爾	-	3-4+ (gr c > m)頻繁	2-4+ (gr c > m)頻繁	-
Cho-K 食蟹獼 猴#16	2+ (c,m)偶爾至頻繁	2-4+ (gr c > m)罕見， 且 1+ (gr c > m)罕見至偶爾	3-4+ (gr c > m)頻繁	2-4+ (gr c > m)頻繁	-
A498 072210	3-4+ (c,m)頻繁	2-4+ (gr c > m)罕見， 且 1+ (gr c > m)偶爾至頻繁	2-4+ (gr c > m)罕見， 且 1+ (gr c > m)偶爾	2-4+ (gr c > m)罕見至偶爾， 且 1+ (gr c > m)偶爾至頻繁	-
肺 CA ILS10108	IHC 記分 3	H 記分 55	H 記分 17	H 記分 150	-
肺 CA ILS7223	IHC 記分 3	H 記分 205	H 記分 160	H 記分 180	-
肺 CA ILS2156 A	IHC 記分 1	H 記分 5	H 記分 0	H 記分 80	-
肺 CA ILS7295 A	IHC 記分 1	H 記分 1	H 記分 0	H 記分 60	-

【0373】 進行進一步比較性 IHC 研究以評定在 2.5 µg/mL、5 µg/mL 或 12.5 µg/mL 下 hMAB-A (2.2)、hMAB-A (2.3)、hMAB-A (2C.2)及 hMAB-A (2I.2)以及

鼠 MAB-A 之結合差異。此研究中採用陽性及陰性對照細胞以及正常人類及食蟹
獼猴組織。研究之結果概述於表 10 中。

表 10					
組織	hMAB-A(2.3) 5 ug/mL	hMAB-A(2.2) 2.5 µg/mL	hMAB-A(2C.2) 2.5 µg/mL	hMAB-A(2I.2) 12.5 µg/ml	MAB-A 5 µg/mL
結腸 MG06-CHT N-96 B	上皮 1+ (c,m) 罕見；sm 陰性	-	-	上皮± - 1+罕見 至偶爾	上皮 1-3+ [m, c] (偶爾至頻 繁)；其他(陰 性)
肺 MG06-CHt N-162B1 A	肺泡壁細胞/巨 噬細胞 2+ (c,m)偶爾	-	-	肺泡細胞(偏肺 泡壁細胞) 2-3+ (gr c > m)罕 見，1+ (gr c > m)罕見至偶 爾；EC 2-4+ (c,m)罕見，1+ (c,m)罕見	單核球 (Monocyte)1+ [c] (罕見至偶 爾)；其他(陰 性)
肝 ILS11103 B	肝細胞 1+ (c)罕見至偶爾	肝細胞 1+ (gr c) 頻繁	肝細胞 2+ (gr c) 罕見，且 1+ (gr c)頻繁	-	庫弗細胞 3+ [c] (偶爾)；其 他(陰性)
胰腺 ILS10266	上皮 1+ (c)罕 見；胰島細胞 1+ (c)非常罕見	-	-	導管上皮 1+ (gr c > m)非常 罕見	導管上皮 1-2+ [c, m] (罕見至 偶爾)；原纖維 2+ (罕見)；其 他(陰性)
心臟人生遺 贈 0910035D	±	-	-	-	陰性
腎 ILS10241 B	上皮 2-3+ (c,m) 頻繁	小管上皮 2+ (gr c)罕見至偶 爾，且 1+ (gr c) 偶爾至頻繁	小管上皮 2+ (gr c)罕見至偶 爾，且 1+ (gr c) 偶爾至頻繁	小管上皮 1+ (gr c)罕見至偶 爾	上皮 1+ [c] (罕 見)；其他(陰 性)
膀胱 ILSD8011 J	移行上皮 1+ (c)罕見至偶爾	-	-	移行細胞上皮 1+ (gr c)罕見	移行上皮 2+ [c, m] (偶爾至 頻繁)；基質細 胞 3+ [c] (罕 見)；其他(陰 性)
食蟹獼猴殖 株#1	上皮 1+ (c,m) 罕見	-	-	-	
食蟹獼猴肺 #1	巨噬細胞及肺 泡壁細胞 1+ (c)非常罕見	-	支氣管上皮 3-4+ (gr c)罕 見，2+ (gr c)偶爾，且	支氣管上皮 1+ (gr c > m)罕見 至偶爾，且±(gr c > m)偶爾至頻	

表 10					
組織	hMAB-A(2.3) 5 ug/mL	hMAB-A(2.2) 2.5 µg/mL	hMAB-A(2C.2) 2.5 µg/mL	hMAB-A(2I.2) 12.5 µg/ml	MAB-A 5 µg/mL
			1+ (gr c)偶爾	繁	
食蟹獼猴肝 #1	肝細胞 1+ (c)頻繁	肝細胞 2+ (gr c) 罕見至偶爾，且 1+ (gr c)罕見至 偶爾	肝細胞 2+ (gr c) 罕見至偶爾，且 1+ (gr c)偶爾； 導管上皮 1+ (gr c)偶爾	-	
食蟹獼猴胰 腺#1	上皮及胰島細胞 1+ (c)非常 罕見	-	胰島細胞± (gr c)頻繁；導管上 皮 1+ (gr c)罕見 至偶爾	-	陽性
食蟹獼猴心 臟#1	心肌 1+ (c)頻繁	-	-	-	
食蟹獼猴腎 #070368M	上皮 2+ (c)頻 繁	小管上皮 2+ (gr c)罕見至偶 爾，且 1+ (gr c) 罕見至偶爾	小管上皮 2+ (gr c)罕見至偶 爾，且 1+ (gr c) 偶爾至頻繁	-	陽性
食蟹獼猴膀 胱#1	移行上皮± (c)；巨噬細胞 非常罕見	-	移行細胞上皮 2-3+ (gr c > m) 罕見，且 1+ (gr c > m)偶爾	移行細胞上皮 2+ (gr c > m)罕 見，且 1+ (gr c > m)罕見 至偶爾	

【0374】 結果因此說明，hMAB-A (2.2)展現出在最佳濃度下人類肝細胞及腎小管之總體低水準染色，在陰性對照中觀察到肝細胞及腎小管中較低染色強度/反應性頻率。hMAB-A (2.2)展現出在最佳濃度下類似的食蟹獼猴肝細胞及腎小管之低水準染色，在陰性對照中觀察到腎小管中較低染色強度/反應性頻率。

【0375】 結果亦說明，hMAB-A (2C.2)展現出在最佳濃度下人類肝細胞及腎小管之總體低水準染色，在陰性對照中觀察到肝細胞及腎小管中較低染色強度/反應性頻率。hMAB-A (2C.2)展現出在最佳濃度下類似的在食蟹獼猴肝細胞及腎小管中之低水準染色。相應人類組織中未觀察到 hMAB-A (2C.2)在食蟹獼猴肺上皮、胰島/上皮及膀胱上皮中之另外最小實驗值；陰性對照中在肺上皮、腎小管、膀胱上皮中觀察到較低染色強度/反應性頻率。結果亦說明，hMAB-A (2I.2)展現在最佳濃度下無人類或食蟹獼猴組織之染色，+/-膀胱移行細胞上皮染色罕見。

hMAB-A (2I.2)亦展現出在 5x 最佳濃度下人類肺泡細胞、胰腺導管上皮、腎小管、膀胱移行細胞上皮之總體低水準及頻率染色，以及在 5x 最佳濃度下食蟹獼猴支氣管上皮及膀胱移行細胞上皮之總體低水準染色。hMAB-A(2I.2)展現出所測試之人類正常組織之總體有利的 IHC 概況及相應食蟹獼猴組織之類似概況。

實例 6

包含變異體 Fc 區之 hMAB-A (2I.2)

【0376】 hMAB-A (2I.2)包含具有 κ 輕鏈恆定區之輕鏈(SEQ ID NO:68)及具有野生型 IgG 重鏈恆定區之重鏈(SEQ ID NO:52)。藉由將以下取代引入至 Fc 區中來產生 Fc 變異體：L234A/L235A (參見，*例如* SEQ ID NO: 78)，其定名為 hMAB-A (2I.2)(AA)；S442C (參見，*例如* SEQ ID NO: 79)，其定名為 hMAB-A (2I.2)(C)；及 L234A/L235A/S442C (參見，*例如* SEQ ID NO: 80)，其定名為 hMAB-A (2I.2)(AA/C)。藉由 ELISA 檢定檢查各 Fc 變異體與 huADAM9-His 及 cynoADAM9-His 之結合。簡而言之，使用結合至含組胺酸之肽且已塗佈至微量滴定板上之抗體捕捉經 His 肽標記之可溶性 cynoADAM9 或經 His 肽標記之可溶性 huADAM9 (0.5 $\mu\text{g/mL}$)，且檢查親代 hMAB-A (2.2)及 Fc 變異體之連續稀釋液之結合。結合曲線 huADAM9 及 cynoADAM9 分別呈現於圖 5A 及圖 5B 中，且顯示各 Fc 變異體保留具有野生型 Fc 區之 hMAB-A (2I.2)之結合親和力。

實例 7

標靶表現分析

【0377】 為了評估跨不同適應症之 ADAM9 表現，首先使用在 ImmunoGen 開發之 ADAM9 IHC 檢定評估具有 20 種不同腫瘤類型之組織微陣列(TMA)以用於初步研究用途。

【0378】 所有分析樣品為 FFPE(福爾馬林固定及石蠟包埋)樣品。500 個核心 20 種癌 TMA 購自 Folio Biosciences (目錄號 ARY-HH0212)。具有 80 個腺癌核心

及 80 個鱗狀細胞癌核心之 NSCLC TMA 購自 US Biomax (目錄號 LC1921A)。具有 80 個腺癌核心之結腸直腸癌 TMA 購自 Pantomics Inc. (目錄號 COC1261)。胃癌樣品購自 Avaden Biosciences。

【0379】 使用 Ventana Discovery Ultra 自動染色儀進行 ADAM9 之免疫組織化學染色。ADAM9 之一級抗體為可商購獲得之兔單株抗體。由受過記分算法訓練的委員會認證之病理學家對所有樣品進行評估並記分。記分需要存在至少 100 個有活力的腫瘤細胞。以 0 至 3 之半定量整數標度對染色強度進行記分，0 表示無染色，1 表示弱染色，2 表示中等，且 3 表示強染色。記錄在各強度水準下陽性染色之細胞之百分比。記分係基於 Adam9 至僅細胞膜上之定位，且評估係基於至細胞質及膜之定位。藉由 H 記分對染色結果進行分析，H 記分將染色強度之分量與陽性細胞之百分比組合。其具有介於 0 與 300 之間的值，且定義為：

$$\begin{aligned} &1 * (\text{以 } 1+\text{強度染色之細胞之百分比}) \\ &+ 2 * (\text{以 } 2+\text{強度染色之細胞之百分比}) \\ &+ 3 * (\text{以 } 3+\text{強度染色之細胞之百分比}) \\ &= \text{H 記分。} \end{aligned}$$

【0380】 對於各腫瘤類型，將具有 5 個正常組織對照之 500 個核心 20 種癌 TMA 染色且以兩種不同的方式記分：(1)單獨基於膜染色或(2)基於膜及細胞質染色。以下表 11 及圖 6A 概述針對所有二十種適應症的基於膜染色的 ADAM9 之盛行率，且表 12 及圖 6B 概述針對八種所選適應症的膜及細胞質染色之結果。

【0381】 基於多發性癌 TMA 之結果，選擇三種適應症以用於擴大的盛行率分析：非小細胞肺癌(NSCLC)、結腸直腸癌(CRC)及胃癌。對於 NSCLC，對一種具有 80 個腺癌核心及 80 個鱗狀細胞癌核心之 TMA 進行染色並評估。對於 CRC，分析一種具有 80 個腺癌核心之 TMA，該 80 個腺癌核心中有 78 個腺癌核心為可評估的。對於胃癌，分析腺癌之 15 個全組織切片。對所有此等樣品之膜及細胞

質染色進行記分，且結果概述於表 13 中。此等初步研究之結果顯示，ADAM9 在多種多樣的實體癌中表現，且支持抗 ADAM9 藥物共軛物在許多不同的表現 ADAM9 之實體瘤中的使用。

表 11：基於膜染色的 20 種不同適應症中 ADAM9 之盛行率

腫瘤類型	陽性% (H 記分>=1)	H 記分： 1-100	H 記分： 101-200
胰腺(n=17)	95%	24%	71%
子宮(n=18)	89%	67%	22%
甲狀腺(n=17)	88%	88%	0%
腎(n=17)	88%	59%	29%
睪丸(n=17)	83%	65%	18%
前列腺(n=20)	80%	45%	35%
結腸(n=16)	76%	38%	38%
膀胱(n=16)	76%	63%	13%
乳房(n=20)	75%	65%	10%
腦(n=19)	68%	63%	5%
胃(n=17)	59%	24%	35%
肺(n=19)	58%	58%	0%
食道(n=19)	43%	32%	11%
子宮頸(n=20)	40%	40%	0%
卵巢(n=18)	39%	33%	6%
頭頸(n=20)	35%	30%	2%
肝(n=19)	32%	32%	0%
皮膚(n=20)	10%	10%	0%
軟組織(n=20)	0%	0%	0%
淋巴瘤(n=20)	0%	0%	0%

表 12：基於膜及細胞質染色的 8 種所選適應症中 ADAM9 之盛行率

腫瘤類型	陽性% (H 記分>=1)	H 記分： 1-100	H 記分： 101-200	H 記分： 201-300
結腸	100%	31%	63%	6%
肺	100%	58%	42%	0%
胰腺	100%	18%	76%	6%
前列腺	95%	25%	55%	15%
食道	95%	58%	37%	0%
胃	94%	18%	71%	6%
乳房	70%	50%	20%	0%
卵巢	61%	44%	17%	0%

表 13：基於膜及細胞質染色的另外的 NSCLC、CRC 及胃癌樣品中 ADAM9 之盛行率

腫瘤類型	樣品數目	陽性% (H 記分 >=1)	H-記分分佈		
			1-100	101-200	201-300
NSCLC 腺癌	80	90%	46%	39%	5%
NSCLC 鱗狀	80	81%	65%	13%	3%
CRC 腺癌	78	91%	51%	41%	0%
胃 腺癌	15	100%	27%	53%	20%

實例 8

抗 ADAM9 抗體內化研究

【0382】 為了評定本發明之抗 ADAM9 抗體之內化，對共軛至 Alexa Fluor 488 之 hMAB-A(2.2)、hMAB-A(2I.2)及 hMAB-A(2I.2)-S442C 抗體進行基於流動式細胞測量術的內化實驗。

【0383】 根據製造商之說明書(Thermofisher)使用 Alexa Fluor 488 四氟苯基酯產生 hMAB-A(2.2)、hMAB-A(2I.2)、hMAB-A(2I.2)-S442C 之抗 ADAM9 Alexa488 抗體共軛物。在不含疊氮化鈉之 PBS (pH7.2)中溶離共軛物以實現內化檢定。由 280 nm 及 494 nm 處之吸收量測值計算標記之濃度及程度。進行 FACS 結合檢定以確保 Alexa488-標記未不利地影響靶結合。

【0384】 在連續及脈衝暴露於螢光共軛物之後判定抗 ADAM9-Alexa488 共軛物之內化。對於連續實驗，在冰上或在 37℃下用飽和濃度的指示之經 Alexa488 標記之抗體處理 NCI-H1703 細胞達整個指示之時間。而對於脈衝實驗，使抗 ADAM9-Alexa488 共軛物預先結合至冰上之細胞，且將過量共軛物洗去，之後轉移至 37℃並監測內化。在連續或脈衝暴露後指示之時間點，用維耳新(Thermofisher)使細胞提升，並用冰冷的 PBS 洗滌兩次，且將重複孔重懸浮於不具有(未淬滅樣品)或具有 300 nM 抗 A488 抗體(淬滅樣品)的冰冷 PBS 中。將所有樣品在冰上培育 30 m。接著使細胞成團，在 1%多聚甲醛中固定且藉由流動式細

胞測量術分析。在冰上培育 30 分鐘且接著與抗 Alexa488 抗體一起培育之細胞之螢光表示不可淬滅之螢光級分，且自所有其他樣品中減去，之後計算內化。將內化百分比計算為針對不完全表面淬滅進行校正之淬滅樣品之螢光(細胞內螢光)除以未淬滅細胞之螢光(總螢光)。對抗 ADAM9 抗體共軛物之內化進行作圖，且使用單相指數衰變方程(GraphPad Prism，5.01 版)對資料進行擬合。

【0385】 在 NCI-H1703 細胞中進行脈衝及連續處理之後，評估表面結合之經 Alexa488 標記之抗 ADAM9 抗體之內化。所測試之所有三種抗 ADAM9-Alexa488 共軛物顯示快速內化，約 39% 共軛物在第一個 15 分鐘內經內化，且總計約 77% 共軛物在 6 小時後經內化(圖 7A)。有趣的是，在連續暴露 24 小時之後，經內化之螢光訊息為 30 分鐘後結合至細胞表面之總初始螢光訊息之約 7 倍大(圖 7B)。因此，ADAM9 很可能在 37°C 下的培育期間自細胞內池補充在細胞表面，允許多輪的抗 ADAM9 抗體共軛物內化。抗 ADAM9 免疫共軛物之功效依賴於免疫共軛物之內化、細胞內運輸(intracellular trafficking)及降解。抗 ADAM9 免疫共軛物之效力可部分藉由抗 ADAM9 免疫共軛物之高度內化來解釋，高度內化可能引起產生大量的細胞毒性分解代謝物。

實例 9

抗 ADAM9 抗體細胞加工研究

【0386】 為了評定 chMAB-A 之細胞上結合、攝取及溶酶體降解，使用先前描述之經 ^3H -丙醯胺標記之抗體加工方法(Lai 等人, Pharm Res. 2015 年 11 月; 32(11):3593-603)。使用此方法，用氘化丙酸鹽經由離胺酸殘基對靶向 ADAM9 之 chMAB-A 抗體進行示蹤標記。先前已顯示，在細胞結合、攝取及向溶酶體運輸時，經 ^3H 丙酸鹽標記之 Ab (^3H -Ab)經降解，且離胺酸- ^3H 丙醯胺經釋放至細胞生長培養基中。添加有機溶劑使完整的經標記之抗體沉澱，且在溶液中留下離胺酸- ^3H 丙醯胺，允許方便且精確地量測抗體加工之程度。

【0387】 如先前所述，用 $[^3\text{H}]$ -丙酸鹽標記 chMAB-A。在經由結合曲線判定抗原飽和後，用 10 nM ^3H -chMAB-A 抗體處理 NSCLC 株 NCI-H1703 及 CRC 株 DLD-1。將一些細胞樣品用非靶向的氘化同型對照抗體 ^3H -chKTI 處理，而其他細胞樣品未經處理。將細胞鋪板於 6 孔板中並生長隔夜，且接著如先前所述用一(或多)種試劑進行脈衝處理。簡而言之，將細胞與 ^3H -chMAB-A 抗體或 ^3H -chKTI 一起培育 20 分鐘，之後在新鮮培養基中洗滌 3 次。在 37°C 下、在 5% CO_2 之情況下培育細胞隔夜。培育 20-24 小時之後，收穫細胞且用 4:3 體積丙酮:培養基/細胞混合物使蛋白質沉澱。在 -80°C 下將樣品冷凍最少 1 小時，之後解凍且藉由離心來分離。處理團塊以使蛋白質溶解，之後在 Tri-Carb 液體閃爍計數器(LSC)中計數 5 分鐘。按照製造商之方案，將 1 mL 的 SOLVABLE (Perkin Elmer)添加至各團塊樣品中，且在 50°C 水浴中培育隔夜。將樣品自水浴中移除，轉移至 20 mL 玻璃閃爍小瓶中，且將 EDTA 及 H_2O_2 添加至樣品中，隨後再進行 1 小時的 50°C 培育。用 HCl 使樣品淬滅，添加 15 mL 的 Optima Gold 液體閃爍液(Perkin Elmer)，且將樣品充分地渦旋。將樣品在黑暗中保持最少 4 小時，之後藉由 LSC 進行計數。將不含蛋白質之丙酮提取物樣品在真空下乾燥至 <1 mL 體積，且如上文所述使用 Solvable 加工，之後進行 LSC。由所得樣品 CPM 值計算經結合、經降解且完整的經標記抗體之量。

【0388】 在脈衝處理且在 37°C 下培育隔夜之後判定 ^3H -chMAB-A 抗體之加工水準。NCI-H1703 細胞顯示出在 24 小時內 93% 的 ^3H -chMAB-A 經加工，且 DLD-1 細胞顯示出在同一時間週期內 92% 的 ^3H -chMAB-A 經加工。 ^3H -chKTI 之結合及加工可忽略(總 CPM 低於靶向抗體之 CPM>100 倍)。此等細胞株之加工值較高，尤其是相較於先前針對支持本發明抗 ADAM9 抗體作為有效藥物共軛物之其他 ADC 標靶/抗體報導之 24 小時脈衝加工值亦然。

實例 10

人源化/經最佳化抗 ADAM9 抗體及藥物共軛物之結合親和力研究

【0389】 為了評估共軛對抗原結合之結果，藉由對異位表現人類 ADAM9 或食蟹獼猴 ADAM9 之 300-19 細胞進行 FACS 分析來判定各抗 ADAM9 免疫共軛物及其各個未共軛抗體與 ADAM9 之相對結合親和力。簡而言之，在 4℃ 下將表現 ADAM9 之 300-19 細胞與抗 ADAM9 抗體或免疫共軛物之稀釋系列一起在 FACS 緩衝液(PBS，0.1% BSA，0.01% NaN₃)中培育 30 min。接著將樣品洗滌，且在 4℃ 下與螢光標記之二級抗體一起培育 30 分鐘。對各濃度下經正規化之螢光強度平均值進行繪圖，且使用非線性迴歸分析(GraphPad Prims 4.0)計算結合之 EC50。此研究之結果概述於表 14 中。

【0390】 測試之所有抗 ADAM9 抗體及免疫共軛物以類似親和力與人類 ADAM9 結合，流動式細胞測量術量測 EC50 為約 1.4 nM，指示共軛未明顯改變抗體結合親和力(參見，圖 8A-8D)。雖然相對於嵌合抗體(chMAB-A)，人源化改善與食蟹獼猴 ADAM9 之結合，但進一步經最佳化變異體(hMAB-A(2C.2)、hMAB-A(2I.2)及 hMAB-A(2I.2) S442C)及其免疫共軛物展現出顯著改善的與食蟹獼猴 ADAM9 之結合。與食蟹獼猴 ADAM9 結合之顯著改善有利於驗證 ADAM9 免疫共軛物用作藥物療法的毒理學及安全性研究。

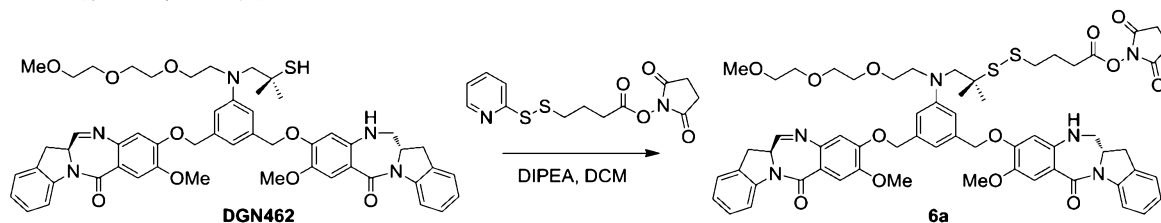
表 14

chMAB-A	0.41	112.2	273
chMAB-A-sSPDB-DM4	0.95	275.3	290
chMAB-A-DGN-549	1.24	153.2	123
hMAB-A(2.2)	0.69	32.7	47
hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4	1.11	13.3	12
hMAB-A(2.2)-DGN549	1.55	22.3	14
hMAB-A(2C.2)	1.22	3.8	3
hMAB-A(2C.2)-sSPDB-DM4	1.50	4.4	3
hMAB-A(2C.2)-DGN549	1.99	5.6	3

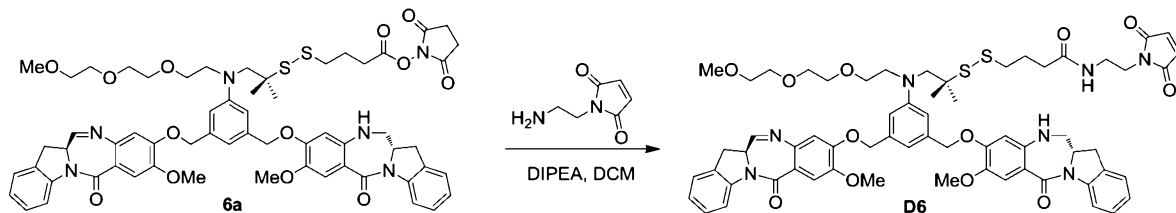
hMAB-A(2I.2)	1.49	4.1	3
hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4	1.55	4.9	3
hMAB-A(2I.2)-DGN549	2.25	6.6	3
hMAB-A(2I.2) S442C	1.33	3.8	3
hMAB-A(2I.2) S442C-DGN549	2.49	6.2	2

實例 11

合成 N-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙基)-11-(3-(((S)-8-甲氧基-6-側氧基-11,12,12a,13-四氫-6H-苯并[5,6][1,4]二氮平并[1,2-a]吡啉-9-基)氧基)甲基)-5-(((S)-8-甲氧基-6-側氧基-12a,13-二氫-6H-苯并[5,6][1,4]二氮平并[1,2-a]吡啉-9-基)氧基)甲基)苯基)-13,13-二甲基-2,5,8-三氧雜-14,15-二硫雜-11-氮雜十九烷-19-醯胺，化合物 D6



【0391】 步驟 1：向游離硫醇 DGN462 (40 mg，0.042 mmol)及 NHS 4-(2-吡啶基二硫基)丁酸酯(35 mg，80%純度，0.085 mmol)之無水二氯甲烷(0.5 mL)溶液中添加無水二異丙基乙胺(0.015 mL，0.085 mmol)，且在室溫下攪拌 16 小時。將反應混合物用飽和氯化銨淬滅並用二氯甲烷稀釋。將獲得之混合物於分液漏斗中分離。將有機層用鹽水洗滌，經無水硫酸鈉乾燥，過濾且在減壓下汽提。藉由半製備型逆相 HPLC (C18 管柱，CH₃CN/H₂O)純化殘餘物。將含有純產物之級分合併，冷凍且凍乾，得到所要 NHS 酯，化合物 6a (29.7 mg，60%產率)。LCMS = 9.1 min (15 min 方法)。MS (m/z)：1157.3 (M + 1)⁺。

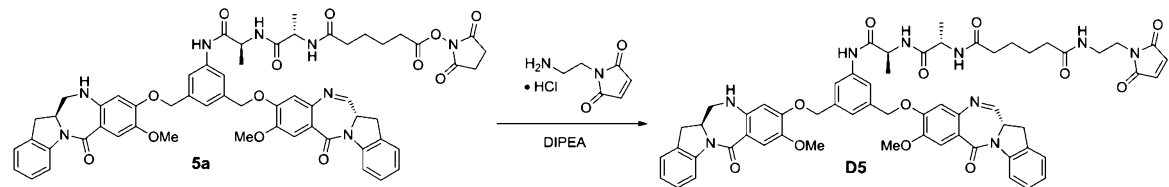


【0392】 步驟 2：向 NHS 酯(化合物 6a) (12.3 mg，0.011 mmol)及 N-(2-胺乙基)順丁烯二醯亞胺鹽酸鹽(2.0 mg，0.011 mmol)之無水二氯甲烷(0.3 mL)溶液中添加

DIPEA(0.0022 mL, 0.013 mmol)。將混合物在室溫下攪拌 3 小時，接著將其在減壓下汽提。藉由半製備型逆相 HPLC (C18 管柱, CH₃CN/H₂O)純化殘餘物。將含有純產物之級分合併，冷凍且凍乾，得到所要順丁烯二醯亞胺，化合物 D6 (10 mg, 80%產率)。LCMS = 8.3 min (15 min 方法)。MS (m/z) : 1181.8 (M + 1)⁺。

實例 12

合成 N1-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙基)-N6-(((S)-1-(((S)-1-((3-(((S)-8-甲氧基-6-側氧基-11,12,12a,13-四氫-6H-苯并[5,6][1,4]二氮平并[1,2-a]吡啉-9-基)氧基)甲基)-5-(((S)-8-甲氧基-6-側氧基-12a,13-二氫-6H-苯并[5,6][1,4]二氮平并[1,2-a]吡啉-9-基)氧基)甲基)苯基)胺基)-1-側氧基丙-2-基)胺基)-1-側氧基丙-2-基)己二醯二胺，化合物 D5

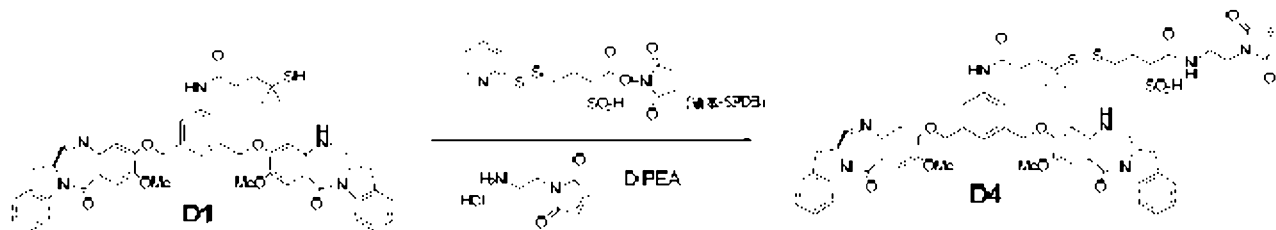


【0393】 在室溫下，將 NHS 酯(化合物 5a) (8.2 mg, 7.6 μmol)及 1-(2-胺乙基)-1H-吡咯-2,5-二酮鹽酸鹽(2.2 mg, 0.011 mmol)溶於無水二氯甲烷(305 μL)中。添加 DIPEA (2.66 μL, 0.015mmol)，且將反應攪拌 3.5 小時。將反應混合物濃縮且藉由 RPHPLC (C18 管柱, CH₃CN/H₂O, 梯度, 35%至 55%)純化。將所要產物級分冷凍且凍乾，得到呈固體白色粉末之順丁烯二醯亞胺，化合物 D5 (5.3 mg, 58%產率)。LCMS = 5.11 min (8 min 方法)。MS (m/z) : 1100.6 (M + 1)⁺。

實例 13

合成 1-((2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙基)胺基)-4-((5-((3-(((S)-8-甲氧基-6-側氧基-11,12,12a,13-四氫-6H-苯并[5,6][1,4]二氮平并[1,2-a]吡啉-9-基)氧基)甲基)-5-(((S)-8-甲氧基-6-側氧基-12a,13-二氫-6H-苯并[5,6][1,4]二氮平并[1,2-a]吡啉-9-基)氧基)甲基)苯基)胺基)-2-甲基-5-側氧基戊-2-基)二磺醯基)-1-側

氧基丁-2-磺酸，化合物 D4

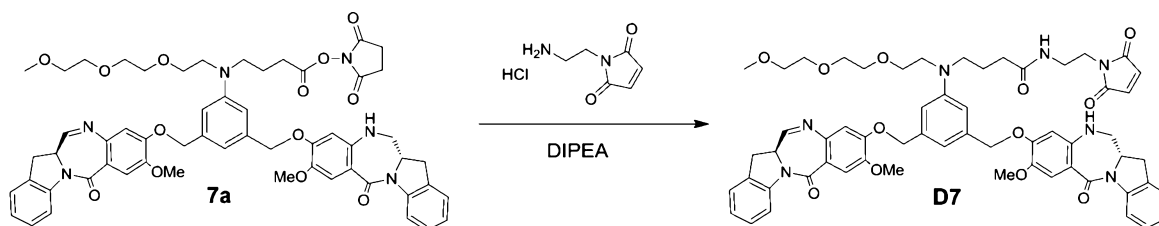


【0394】 在氮氣下、在室溫下向游離硫醇 D1 (88 mg, 0.105 mmol)及 1-((2,5-二側氧基吡咯啉-1-基)氧基)-1-側氧基-4-(吡啶-2-基二磺醯基)丁烷-2-磺酸(磺基-SPDB) (64.0 mg, 0.158 mmol)之無水二氯甲烷(2.10 mL)溶液中添加 DIPEA (55.0 μ L, 0.315 mmol)。將混合物攪拌 16 小時，且接著添加 1-(2-胺乙基)-1H-吡咯-2,5-二酮鹽酸鹽(55.6 mg, 0.315 mmol)、無水二氯甲烷(1.0 mL)及 DIPEA (0.055 mL, 0.315 mmol)。在室溫下再攪拌混合物 5 小時，之後將反應在真空中濃縮。藉由 RP-HPLC (C18, CH₃CN/H₂O)純化所得殘餘物。將含有所要產物之級分冷凍且凍乾，得到呈白色固體之順丁烯二醯亞胺，D4 (20 mg, 16%產率)。LCMS = 4.92 min (8 min 方法)。MS (m/z) : 1158.6 (M + 1)⁺。

實例 14

合成 N-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙基)-11-(3-(((S)-8-甲氧基-6-側氧基-11,12,12a,13-四氫-6H-苯并[5,6][1,4]二氮平并[1,2-a]吡啉-9-基)氧基)甲基)-5-(((S)-8-甲氧基-6-側氧基-12a,13-二氫-6H-苯并[5,6][1,4]二氮平并[1,2-a]吡啉-9-基)氧基)甲基)苯基)-8-二甲基-2,5,8-三氧雜-11-氮雜十五烷-15-醯胺，化合物

D7



【0395】 在氮氣下向 NHS 酯 7a (5 mg, 4.82 μ mol)及 1-(2-胺乙基)-1H-吡咯-2,5-二酮鹽酸鹽(1.7 mg, 9.64 μ mol)之無水二氯甲烷(200 μ L)溶液中添加 DIPEA (1.512

μL ，8.68 μmol)。在室溫下攪拌混合物 4 小時，且接著在真空中濃縮。藉由 RP-HPLC (C18， CH_3CN / H_2O)純化所得殘餘物。將含有所要產物之級分冷凍且凍乾，得到順丁烯二醯亞胺，化合物 **D7** (3.5 mg，68%產率)。LCMS = 4.61 min (15 min 方法)。MS (m/z)：1062.8 ($M + 1$)⁺。

實例 15

製備抗 ADAM9 抗體 hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 之半胱胺酸位點特異性共軛物

【0396】 hMAB-A(2I.2)-S442C 為具有輕鏈序列 SEQ ID NO:68(包含 VL 序列 SEQ ID NO:55)及重鏈序列 SEQ ID NO:142(包含 VH 序列 SEQ ID NO:28)之人源化/經最佳化抗體，其包括經工程改造之 Cys，該經工程改造之 Cys 在 X 為離胺酸時對應於 SEQ ID NO:142 之第 6 個至最後一個殘基，或在 X 不存在時對應於 SEQ ID NO:142 之第 5 個至最後一個殘基。

【0397】 使用標準程序減少 hMAB-A(2I.2)-S442C 抗體中之兩個未配對半胱胺酸殘基。向此中間體之磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)、5 mM N,N,N',N'-乙二胺四乙酸(EDTA) (pH 6.0)溶液中添加 N,N-二甲基乙醯胺(DMA)、丙二醇及 10 莫耳當量之 DGN549-C (化合物 D5)(呈於 DMA 中之儲備溶液)，得到最終溶劑組成為 2% v/v DMA 及 38% v/v 丙二醇於 PBS 5mM EDTA pH 6.0 中的反應混合物，且使反應在 25°C 下進行隔夜。

【0398】 使用配備有交聯葡聚糖凝膠 G-25 精細脫鹽管柱之快速蛋白質液相層析(FPLC)系統在流速設定為 5 mL/min 之情況下將共軛物純化至 20 mM 琥珀酸鹽、8.5%蔗糖、0.01% Tween-20、50 μM 亞硫酸氫鈉(pH 4.2)中。接著透過 0.22 μm 針筒過濾器(syringe filter)過濾共軛物。發現共軛物具有以下平均值：1.9 mol DGN549/mol 抗體，藉由 UV-vis；97.6%單體，藉由 SEC；及 0.8%未共軛 DGN549，藉由串聯 SEC/RP-UPLC。未顯示去糖基化共軛物之 LC-MS。

實例 16

製備抗 ADAM9 抗體之經離胺酸鍵聯之 IGN 共軛物

a. 製備 hMAB-A(2I.2)-DGN549

【0399】 hMAB-A(2I.2)為具有輕鏈序列 SEQ ID NO:68 及重鏈序列 SEQ ID NO:52 之人源化/經最佳化抗體。向含有 hMAB-A(2I.2)抗體之用 15 mM 2-[4-(羥乙基)哌嗪-1-基]乙磺酸(HEPES)在 pH 8.5 下緩衝之溶液中添加 N,N-二甲基乙醯胺(DMA)連同 4.8 當量 DGN549-L (化合物 D2)(呈於 DMA 中之儲備溶液)，使得最終溶劑組成為 10% (v/v) DMA 及 90% (v/v)水性緩衝液。使反應在 25℃下進行 4 hr。

【0400】 經由交聯葡聚糖凝膠 G-25 脫鹽管柱將共軛物純化至 20 mM 琥珀酸鹽、8.5%蔗糖、0.01% Tween-20、50 μM 亞硫酸氫鈉(pH 5.2)中，使用截留分子量(molecular weight cutoff)為 10 kDa 之膜針對此緩衝液加以透析，且透過 0.22 μm 針筒過濾器過濾。

【0401】 共軛物具有以下平均值：2.8 mol DGN549/mol 抗體，藉由 UV-vis；98.6%單體，藉由 SEC；及< 0.5%未共軛 DGN549，藉由串聯 SEC/RP-UPLC。未顯示去糖基化共軛物之 LC-MS。

b. 製備 hMAB-A(2.2)-DGN549

【0402】 hMAB-A(2.2)為具有輕鏈序列 SEQ ID NO:68 及重鏈序列 SEQ ID NO:50 之人源化抗體。使用與針對 hMAB-A(2I.2)-DGN549 所述之條件相同的條件將 hMAB-A(2.2)抗體共軛至 DGN549，例外之處為將 4.4 當量 DGN549-L (化合物 D2)添加至反應中。如針對 hMAB-A(2I.2)-DGN549 所述，以相同方式純化 hMAB-A(2.2)-DGN549。

【0403】 經純化 hMAB-A(2.2)-DGN549 具有以下平均值：2.7 mol DGN549/mol 抗體，藉由 UV-vis；95.6%單體，藉由 SEC；及 0.6%未共軛 DGN549，藉由串

聯 SEC/RP-UPLC。未顯示去糖基化共軛物之 LC-MS。

c. 製備 hMAB-A(2C.2)-DGN549

【0404】 hMAB-A(2C.2)為具有輕鏈序列 SEQ ID NO:68 及重鏈序列 SEQ ID NO:51 之人源化/經最佳化抗體。

【0405】 使用與針對 hMAB-A(2I.2)-DGN549 所述之條件相同的條件將 hMAB-A(2C.2)抗體共軛至 DGN549，例外之處為將 4.9 當量 DGN549-L (化合物 D2)添加至反應中。如針對 hMAB-A(2I.2)-DGN549 所述，以相同方式純化 hMAB-A(2C.2)-DGN549。

【0406】 經純化 hMAB-A(2C.2)-DGN549 具有以下平均值：2.8 mol DGN549/mol 抗體，藉由 UV-vis；98.6%單體，藉由 SEC；及<0.6%未共軛 DGN549，藉由串聯 SEC/RP-UPLC。未顯示去糖基化共軛物之 LC-MS。

d. 製備 chMAB-A-DGN549、chMAB-A-sSPDB-IGN137、chMAB-A-IGN23 及 chMAB-A-sSPDB-DGN462

【0407】 使用與針對 hMAB-A(2I.2)-DGN549 所述之條件相同的條件將 chMAB-A 抗體共軛至 DGN549，例外之處為將 3.4 當量 DGN549-L (化合物 D2)添加至反應中。如針對 hMAB-A(2I.2)-DGN549 所述，相同方式純化 chMAB-A-DGN549，例外之處為將共軛物純化至 20 mM 組胺酸、50 mM 氯化鈉、8.5% 蔗糖、0.01% Tween-20、50 μ M 亞硫酸氫鈉 (pH 6.2) 中。經純化 chMAB-A-DGN549 具有以下平均值：2.7 mol DGN549/mol 抗體，藉由 UV-vis；94.4%單體，藉由 SEC；及<0.4%未共軛 DGN549，藉由串聯 SEC/RP-UPLC。未顯示去糖基化共軛物之 LC-MS。

【0408】 如先前在美國專利第 9,381,256 號中所述，經由磺基-SPDB 連接子將 chMAB-A 抗體共軛至 IGN137 (化合物 D1)。如針對 hMAB-A(2I.2)-DGN549 所述，相同方式純化共軛物，例外之處為將共軛物純化至 20 mM 組胺酸、50 mM

氯化鈉、8.5%蔗糖、0.01% Tween-20、50 μ M 亞硫酸氫鈉(pH 6.2)中。共軛物具有以下平均值：2.9 mol IGN137/mol 抗體，藉由 UV-vis；88.4%單體，藉由 SEC；及 $\leq$ 0.4%未共軛 IGN137，藉由串聯 SEC/RP-UPLC。未顯示去糖基化共軛物之 LC-MS。

【0409】 如先前在美國專利第 8,426,402 號中所述，將 chMAB-A 抗體共軛至 IGN23 (化合物 D3)。如針對 hMAB-A(2I.2)-DGN549 所述，相同方式純化共軛物，例外之處為將共軛物純化至 20 mM 組胺酸、50 mM 氯化鈉、8.5%蔗糖、0.01% Tween-20、50 μ M 亞硫酸氫鈉(pH 6.2)中且未執行透析。共軛物具有以下平均值：3.2 mol IGN23/mol 抗體，藉由 UV-vis；97.9%單體，藉由 SEC；及 1.2%未共軛 IGN23，藉由逆相 HPLC 分析。未顯示去糖基化共軛物之 LC-MS。

【0410】 如先前在美國專利第 8765740 號中所述，經由磺基-SPDB 將 chMAB-A 抗體共軛至 DGN462。如針對 hMAB-A(2I.2)-DGN549 所述，相同方式純化共軛物，例外之處為將共軛物純化至 20 mM 組胺酸、50 mM 氯化鈉、8.5%蔗糖、0.01% Tween-20、50 μ M 亞硫酸氫鈉(pH 6.2)中且未執行透析。共軛物具有以下平均值：2.8 mol DGN462/mol 抗體，藉由 UV-vis；95.6%單體，藉由 SEC；及 0.5%未共軛 DGN462，藉由逆相 HPLC 分析。未顯示去糖基化共軛物之 LC-MS。

實例 17

製備抗 ADAM9 抗體之經離胺酸鍵聯之 DM 共軛物

a. 製備 hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4

【0411】 hMAB-A(2I.2)為具有輕鏈序列 SEQ ID NO:68 及重鏈序列 SEQ ID NO:52 之人源化/經最佳化抗體。

【0412】 為了製備 hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4 共軛物，以逐步方式執行磺基-SPDB (sSPDB)及 DM4 添加。首先，將含有 hMAB-A(2I.2)抗體之用 50 mM 4-(2-

經乙基)-1-哌嗪丙磺酸(EPPS)、50 mM 氯化鈉在 pH 8.1 下緩衝之溶液與 DMA 及來自 DMA 儲備溶液之 11.5 當量 sSPDB 混合，使得最終溶劑組成為 10% (v/v) DMA 及 90% (v/v)水性緩衝液。在使第一反應步驟在 25°C下進行 4 hr 之後，將來自 DMA 儲備溶液之 17.3 當量 DM4、DMA 及 500 mM EPPS/500 mM 氯化鈉 pH 8.1 緩衝液添加至反應混合物中，使得維持最終溶劑組成為第一反應步驟之 10% (v/v) DMA 及 90% (v/v)水性緩衝液。使第二反應步驟在 25°C下進行隔夜。

【0413】經由交聯葡聚糖凝膠 G-25 脫鹽管柱將共軛物純化至 10 mM 琥珀酸鹽、250 mM 甘胺酸、0.5%蔗糖、0.01% Tween-20(pH 5.5)中，使用截留分子量為 10 kDa 之膜針對此緩衝液加以透析，且透過 0.22 μm 針筒過濾器過濾。

【0414】共軛物具有以下平均值：3.5 mol DM4/mol 抗體，藉由 UV-vis；99.2% 單體，藉由 SEC；及≤1.7%未共軛 DM4，藉由混合模式 HPLC。未顯示去糖基化共軛物之 LC-MS。

b. 製備 hMAB-A(2C.2)-sSPDB-DM4

【0415】hMAB-A(2C.2)為具有輕鏈序列 SEQ ID NO:68 及重鏈序列 SEQ ID NO:51 之人源化/經最佳化抗體。

【0416】使用與針對 hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4 所述之方法相同的方法，經由 sSPDB 連接子將 hMAB-A(2C.2) 抗體共軛至 DM4。以與針對 hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4 所述之方式相同的方式純化共軛物。

【0417】共軛物具有以下平均值：3.2 mol DM4/mol 抗體，藉由 UV-vis；98.9% 單體，藉由 SEC；及 2.6%未共軛 DM4，藉由混合模式 HPLC。未顯示去糖基化共軛物之 LC-MS。

c. 製備 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4

【0418】hMAB-A(2.2)為具有輕鏈序列 SEQ ID NO:68 及重鏈序列 SEQ ID NO:50 之人源化抗體。

【0419】 使用與針對 hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4 所述之方法相同的方法，經由 sSPDB 連接子將 hMAB-A(2.2)抗體共軛至 DM4。使用配備有交聯葡聚糖凝膠 G-25 精細脫鹽管柱之快速蛋白質液相層析(FPLC)系統將共軛物純化至 10 mM 琥珀酸鹽、250 mM 甘胺酸、0.5%蔗糖、0.01% Tween-20(pH 5.5)中，且接著透過 0.22 μ m 針筒過濾器過濾。

【0420】 共軛物具有以下平均值：3.2 mol DM4/mol 抗體，藉由 UV-vis；97.4% 單體，藉由 SEC；及 $\leq$ 1.1%未共軛 DM4，藉由混合模式 HPLC。未顯示去糖基化共軛物之 LC-MS。

d. 製備 chMAB-A-sSPDB-DM4 及 chMAB-A-SMCC-DM1

【0421】 使用與針對 hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4 所述之方法相同的方法，經由磺基-SPDB 連接子將 chMAB-A 抗體共軛至 DM4，例外之處為在各個反應步驟中使用 6.4 當量 sSPDB 及 9.6 當量 DM4。以與針對 hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4 所述之方式相同的方式純化共軛物，例外之處為未執行透析。共軛物具有以下平均值：3.4 mol DM4/mol 抗體，藉由 UV-vis；97.0%單體，藉由 SEC；及 4.7% 未共軛 DM4，藉由混合模式 HPLC。未顯示去糖基化共軛物之 LC-MS。

【0422】 使用美國專利第 8624003 號中之先前所述方法，經由 SMCC 連接子將 chMAB-A 抗體共軛至 DM1。以與針對 hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4 所述之方式相同的方式純化共軛物，例外之處為未執行透析。共軛物具有以下平均值：3.9 mol DM1/mol 抗體，藉由 UV-vis；99.7%單體，藉由 SEC；及 4.9%未共軛 DM1，藉由混合模式 HPLC。未顯示去糖基化共軛物之 LC-MS。

實例 18

抗 ADAM9 抗體藥物共軛物之活體外細胞毒性

【0423】 將各種抗 ADAM9 抗體免疫共軛物針對一組表現 ADAM9 之細胞株的活體外細胞毒性與非靶向 IgG1 共軛物比較。具體而言，在處理之前 24 小時，

將 500 至 2000 個細胞/孔鋪板在 96 孔板中。使用 3 倍稀釋系列將共軛物稀釋至培養基中，且每孔添加 100 μL。各檢定板中包括含有細胞但缺乏共軛物之對照孔以及僅含有培養基之孔。一式三份執行各資料點之分析。將板在 37℃ 下在潮濕的 5% CO₂ 培育箱中培育 4 至 5 天。接著使用基於 WST-8 之細胞計數套組-8 (Dojindo Molecular Technologies) 判定各孔中有活力之細胞之相對數目。藉由以下計算各孔中細胞之存活分數：首先校正培養基背景吸光度，且接著將各值除以對照孔(未經處理之細胞)之值之平均值。針對共軛物濃度對存活細胞之百分比進行繪圖，且使用非線性迴歸分析(GraphPad Prims 4.0)計算活性之 EC₅₀。

【0424】 此等結果顯示，抗 ADAM9 免疫共軛物可殺死一大組 ADAM9 陽性腫瘤細胞株，包括肺腫瘤、胰腺腫瘤、腎腫瘤、前列腺腎腫瘤及結腸腫瘤細胞株(參見，圖 9A-9H)。在所測試之各情況下，觀察到良好的特異性窗口，表明細胞毒性為特異性抗 ADAM9 抗體結合至靶細胞之結果。特別地，抗 ADAM9-DGN549 共軛物 (hMAB-A(2.2)-DGN549 及 hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549) 極為有效，IC₅₀ 值之範圍為 1 至 115 pM，且活性比非靶向 IgG1 共軛物多約 3 個對數(參見，表 15)。

表 15

細胞株	疾病類型	抗 ADAM9 ADC	活體外細胞毒性 (IC ₅₀ nM)	倍-特異性 (IC ₅₀ 對照 ADC/ IC ₅₀ 抗 ADAM9 ADC)
NCI-H1703	NSCLS -鱗狀細胞	hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4	0.024	152
		hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4	0.028	132
		hMAB-A(2.2)-DGN549	0.002	>1000
		hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549	0.004	>1000
DLD-1	結腸直腸腺癌	hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4	2.729	9
		hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4	0.386	63
		hMAB-A(2.2)-DGN549	0.010	>1000
		hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549	0.045	>1000
A498	腎癌	hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4	0.119	27
		hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4	0.108	30

		hMAB-A(2.2)-DGN549	0.001	>1000
		hMAB-A(2I.2) S442C-DGN549	0.004	>1000
DU145	前列腺癌	hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4	0.570	25
		hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4	0.439	32
		hMAB-A(2.2)-DGN549	0.002	>1000
		hMAB-A(2I.2) S442C-DGN549	0.004	>1000
HPAF2	胰腺腺癌	hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4	0.622	9
		hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4	0.422	13
		hMAB-A(2.2)-DGN549	0.043	>1000
		hMAB-A(2I.2) S442C-DGN549	0.115	>1000
IGROV1	卵巢腺癌	hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4	4.078	3
		hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4	1.411	8
		hMAB-A(2.2)-DGN549	0.001	>1000
		hMAB-A(2I.2) S442C-DGN549	0.003	>1000
KATO III	胃癌	hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4	1.154	5
		hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4	0.480	11
		hMAB-A(2.2)-DGN549	0.031	>1000
		hMAB-A(2I.2) S442C-DGN549	0.065	>1000
HS578T	乳癌	hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4	0.119	16
		hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4	0.094	20
		hMAB-A(2.2)-DGN549	0.009	>1000
		hMAB-A(2I.2) S442C-DGN549	0.017	646

實例 19

抗 ADAM9 抗體藥物共軛物在攜帶 Calu3 人類非小細胞肺腺癌異種移植物之 SCID 小鼠中之抗腫瘤活性

【0425】 在攜帶 Calu3 細胞的雌性 SCID 小鼠(人類肺腺癌皮下異種移植物模型)中評估不同劑量的 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 及單劑量的 chMAB-A-DGN549 共軛物之抗腫瘤活性。

【0426】 收穫 Calu3 細胞以進行接種，藉由台盼藍排除判定活力為 99%。藉由在右後脅上之區域中之皮下注射來用在 0.2 ml 50% Matrigel/ 50%無血清培養基中之 5 x 10⁶個 Calu3 細胞對小鼠進行接種。八十四隻雌性 SCID 小鼠(6 週齡)係獲自 Charles River Laboratories。在收到後，先觀察動物 9 天，之後開始研究。

動物在到達時或在處理之前顯示無疾病或病痛之跡象。

【0427】 將八十四隻小鼠按腫瘤體積隨機分成 8 個組(每組 8 只小鼠)。腫瘤體積之範圍為 74.09 至 150.21 (106.41 ± 18.69 ，平均值 $\pm$ SD) mm^3 。在植入後第 6 天，基於腫瘤體積對小鼠進行量測及隨機分組。在植入後第 7 天對小鼠進行給藥。小鼠體重之範圍為 16.05 至 21.72 (18.64 ± 1.03 ，平均值 $\pm$ SD)公克。藉由打孔法對各組中之小鼠進行鑒別。藉由使用配備有 27 號 $\frac{1}{2}$ 吋針之 1.0 ml 針筒以靜脈內方式進行測試藥劑及媒劑之投與。該等組包括：對照組，用媒劑(PBS)進行給藥；5 mg/kg 的 chKTI-sSPDB-DM4，qdx1；1.25 mg/kg (以抗體計)的 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4，qdx1；2.5 mg/kg (以抗體計)的 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4，qdx1；5 mg/kg (以抗體計)的 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4，qdx1；及 10 $\mu\text{g/kg}$ (以酬載計；0.6 mg/kg，以抗體計)的 chMAB-A-DGN549，qdx1。

【0428】 使用測徑器以三個維度每週量測腫瘤大小兩次。使用式 $V = \text{長度} \times \text{寬度} \times \text{高度} \times \frac{1}{2}$ 以 mm^3 表述腫瘤體積。認為小鼠在腫瘤體積減小 50%或更大時具有部分消退(PR)；在不可偵測到可觸知腫瘤時具有完全腫瘤消退(CR)；且無腫瘤存活者(TFS)為研究結束時無腫瘤小鼠之數目。藉由 StudyLog 軟體判定腫瘤體積及體重。以式 $\text{LCK} = (T - C) / T_d \times 3.32$ 計算 Log_{10} 細胞殺傷(LCK)，其中(T - C)或腫瘤生長延遲(TGD)為處理組及對照組腫瘤達到預定大小 815 mm^3 (排除無腫瘤存活者)¹ 之中值時間(以天計)， T_d 為小鼠之腫瘤倍增時間(由對照腫瘤生長之每日中值之非線性指數曲線擬合估計)，且 x 為每細胞生長對數之細胞倍增數。T/C%(腫瘤生長抑制)為處理組在預定時間(亦即，對照腫瘤之中值 TV 達到最大腫瘤體積(亦即在約 1000 mm^3 下之 TV)時之時間，或腫瘤變得壞死時之時間，因此該時間為所有對照群組小鼠離開研究時之時間點)時之中值腫瘤體積(TV)與對照在對照之終點時之中值 TV 之比率。

【0429】 每週量測所有小鼠之體重兩次，作為藥物毒性之粗略指標。將小鼠之體重(BW)如下表述為與處理前體重之體重變化百分比： $BW \text{ 變化}\% = [(後 BW / 前 BW) - 1] \times 100$ ，其中後 BW 為處理後之體重，且前 BW 為處理前之起始體重。將體重損失百分比(BWL)表述為處理後體重之平均變化。當腫瘤體積大於 1000 mm³ 或壞死時，或若體重在研究中之任何點時下降 20%以上，則將動物處死。

【0430】 研究之結果示於圖 10 中。hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 共軛物在所有測試劑量下皆為活性的。hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 共軛物在 1.25 mg/kg 劑量下腫瘤生長抑制(T/C)值為 39%，T-C 值為 17，且 LCK 值為 0.5 (8 只小鼠中有 3 只為部分消退及完全消退)；在 2.5 mg/kg 劑量下 T/C 值為 25%，T-C 值為 22，且 LCK 值為 0.7 (8 只小鼠中有 3 只為部分消退且無完全消退)；且在 5 mg/kg 劑量下 T/C 值為 14%，T-C 值為 36，且 LCK 值為 1.1 (8 只小鼠中有 4 只為部分消退，且 8 只小鼠中有 1 只為完全消退)。chMAB-A-DGN549 在 10 µg/kg (以酬載計；0.6 mg/kg，以抗體計)下為高度活性的，8 只小鼠中有 8 只為完全消退。在指示劑量的 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4、或 chMAB-DGN549、或 chKTI-sSPDB-DM4 共軛物之情況下未觀察到顯著的體重損失，且因此所有三種共軛物在此研究中在指示劑量下在小鼠中耐受良好。結果顯示，hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 共軛物在此模型中在不同劑量下為活性的。結果亦顯示，chMAB-A-DGN549 在 10 µg/kg (以酬載計；0.6 mg/kg，以抗體計)下為高度活性的。

【0431】 亦在攜帶 Calu-3 腫瘤異種移植物之雌性 SCID 小鼠(NSCLC 模型)中評估呈單一 i.v.劑量之各種劑量 hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 之抗腫瘤活性。接種後 6 天，以腫瘤體積計將小鼠隨機分成 8 個組(每組 n=8)。處理組包括：對照組，以載劑(PBS)進行給藥；hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 共軛物，呈單一 i.v.劑量，以 0.5 (以酬載計；0.04 mg/kg，以抗體計)、1 (以酬載計；0.08 mg/kg，以抗體計)、3 (以酬載計；0.25 mg/kg，以抗體計)及 10 µg/kg (以酬載計；0.8 mg/kg，

以抗體計)進行給藥；以及 huKTI-S442C-DGN549 共軛物之非靶向對照，呈單一 i.v.劑量，以 1 (以酬載計；0.08 mg/kg，以抗體計)、3 (以酬載計；0.25 mg/kg，以抗體計)及 10 μ g/kg (以酬載計；0.8 mg/kg，以抗體計)進行給藥。

【0432】 如以上文所述量測腫瘤體積及體重，且結果示於圖 11 中。簡而言之，hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 在甚至 0.5 μ g/kg (以酬載計；0.04 mg/kg，以抗體計)之最低劑量下也為高度活性的，且在 1 (以酬載計；0.08 mg/kg，以抗體計)、3 (以酬載計；0.25 mg/kg，以抗體計)、10 μ g/kg (以酬載計；0.8 mg/kg，以抗體計)劑量下觀察到強效活性。非靶向對照 huKTI-S442C-DGN549 在此模型中在所有三種測試劑量下皆為非活性的，三種測試劑量亦即 1 (以酬載計；0.08 mg/kg，以抗體計)、3 (以酬載計；0.25 mg/kg，以抗體計)及 10 μ g/kg (以酬載計；0.8 mg/kg，以抗體計)。0.5 μ g/kg (以酬載計；0.04 mg/kg，以抗體計)的 hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 在研究終點時具有 7%之 T/C，7/8 PR 及 0/8 CR。1 μ g/kg (以酬載計；0.08 mg/kg，以抗體計)的 hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 在研究終點時具有 2%之 T/C，8/8 PR 及 2/8 CR。3 μ g/kg (以酬載計；0.25 mg/kg，以抗體計)的 hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 在研究終點時具有 0 %之 T/C，8/8 PR 及 8/8 CR，且 10 μ g/kg (以酬載計；0.8 mg/kg，以抗體計)的 hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 在研究終點時具有 0%之 T/C，8/8 PR 及 8/8 CR。

【0433】 hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 (0.5、1、3、10 μ g/kg，以酬載計)及 huKTI-S442C-DGN549 (1、3、10 μ g/kg，以酬載計)兩者在此研究中在所有指示劑量下在小鼠中耐受良好。在指示劑量的兩種共軛物中之任一者之情況下未觀察到顯著的體重損失。此研究之結果表明，hMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 共軛物顯示引人注目的抗腫瘤活性，且在 Calu-3 非小細胞肺癌腫瘤異種移植物模型中為高度有效的。

實例 20

抗 ADAM9 抗體藥物共軛物在攜帶 H1703 非小細胞肺鱗狀細胞癌異種移植植物之 SCID 小鼠中之抗腫瘤活性

【0434】 在攜帶 H1703 細胞的雌性 SCID 小鼠(NSCLC 鱗狀細胞癌異種移植植物模型)中評估不同劑量的 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 共軛物之抗腫瘤活性。

【0435】 收穫 H1703 細胞以進行接種，藉由台盼藍排除判定活力為 100%。藉由在右後脅上之區域中之皮下注射來用在 0.2 ml 50% Matrigel/ 50%無血清培養基中之 5×10^6 個 H1703 細胞對小鼠進行接種。七十二隻雌性裸鼠(6 週齡)係於 2016 年 3 月 24 日獲自 Charles River Laboratories。在收到後，先觀察動物 8 天，之後開始研究。動物在到達時或在處理之前顯示無疾病或病痛之跡象。

將四十八隻小鼠按腫瘤體積隨機分成 8 個組(每組 6 只小鼠)。腫瘤體積之範圍為 76.18 至 159.00 (115.19 ± 22.08 ，平均值 $\pm$ SD) mm^3 。在植入後第 19 天，基於腫瘤體積對小鼠進行量測及隨機分組。在植入後第 20 天(2016 年 4 月 21 日)對小鼠進行給藥。小鼠體重之範圍為 20.20 至 29.15 (23.88 ± 1.95 ，平均值 $\pm$ SD)公克。藉由打孔法對各組中之小鼠進行鑒別。藉由使用配備有 27 號 $\frac{1}{2}$ 吋針之 1.0 ml 針筒以靜脈內方式進行測試藥劑及媒劑之投與。該等組包括：對照組，用 150 μL /小鼠的媒劑(PBS)進行給藥，qdx1；；5 mg/kg 的 chKTI-sSPDB-DM4，qdx1；1.25 mg/kg 的 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4，qdx1；2.5 mg/kg 的 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4，qdx1；及 5 mg/kg 的 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4，qdx1。

【0436】 如實例 19 中所述判定腫瘤大小及體重量測值。研究之結果示於圖 12 中。hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 在 2.5 mg/kg 之低劑量下為高度活性的，T/C 為 6%，T-C 為 28，且 LCK 為 1.4 (6 只小鼠中有 3 只為部分消退且無完全消退)且在 5 mg/kg 劑量下為高度活性的，T/C 為 1%，T-C 為 63，且 LCK 為 3.2 (6 只小鼠中有 6 只為部分消退，6 只小鼠中有 3 只為完全消退，且 1 只為無腫瘤存活者)。

hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 共軛物在 1.25 mg/kg 劑量下為非活性的，且腫瘤生長抑制(T/C)為 79%，T-C 為 4，且 LCK 為 0.2 (6 只小鼠中有 1 只為部分消退且無完全消退)。在指示劑量的 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 或 chKTI-sSPDB-DM4 共軛物之情況下未觀察到顯著的體重損失，且因此兩種共軛物在此研究中在指示劑量下在小鼠中耐受良好。結果顯示，hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 共軛物在此模型中在低至 2.5 mg/kg 之劑量下為高度活性的。

實例 21

抗 ADAM9 抗體藥物共軛物在攜帶 Detroit562 鱗狀細胞頭頸癌異種移植植物之 SCID 小鼠中之抗腫瘤活性

【0437】 在攜帶 Detroit562 細胞的雌性 CD-1 免疫缺陷小鼠(咽癌異種移植植物模型)中評估不同劑量的 chMAB-A-sSPDB-DM4 共軛物之抗腫瘤活性。

【0438】 小鼠(6 週齡)係於 2014 年 7 月 1 日獲自 Charles River Laboratories。在收到後，先觀察動物 15 天，之後開始研究。動物在到達時或在研究開始之前顯示無疾病或病痛之跡象。收穫 Detroit562 細胞以進行接種，藉由台盼藍排除判定活力大於 90%。藉由在右後脅上之區域中之皮下注射來用在 0.2 ml 50% Matrigel/ 50%無血清培養基中之 5×10^6 個 Detroit562 細胞對小鼠進行接種。

【0439】 將四十二隻小鼠按腫瘤體積隨機分成 6 個組(每組 7 只小鼠)。腫瘤體積之範圍為 95.76 至 450.83 mm³。在植入後第 26 天，基於腫瘤體積對小鼠進行量測及隨機分組。在隨機分組之後第二天(研究第 0 天)藉由腹膜內注射使用配備有 27 號½吋針之 1.0 ml 針筒進行測試藥劑及媒劑之投與。該等組包括：對照組，用媒劑(PBS)進行給藥；5 mg/kg 的 chKTI-sSPDB-DM4，qdx1；2.5 mg/kg 的 chKTI-sSPDB-DM4，qdx1；5 mg/kg 的 chMAB-A-sSPDB-DM4，qdx1；2.5 mg/kg 的 chMAB-A-sSPDB-DM4，qdx1；1.25 mg/kg 的 chMAB-A-sSPDB-DM4，qdx1。

【0440】 如實例 19 中所述判定腫瘤大小及體重量測值。研究之結果示於圖 13

中。簡而言之，chMAB-A-sSPDB-DM4 在研究時程中在所有 3 種測試劑量水準 (5、2.5 及 1.25 mg/kg) 下為活性的。5 mg/kg 的 chMAB-A-sSPDB-DM4 在研究終點時具有 32% 之 T/C、及 6/7 PR 及 1/7 CR。2.5 mg/kg 的 chMAB-A-sSPDB-DM4 在研究終點時具有 27% 之 T/C、及 6/7 PR 及 2/7 CR。1.25 mg/kg 的 chMAB-A-sSPDB-DM4 在研究終點時具有 37% 之 T/C、及 5/7 PR 及 0/7 CR。5 mg/kg 的 chKTI-sSPDB-DM4 在研究終點時具有 89% 之 T/C、及 3/7 PR 及 0/7 CR。5 mg/kg 的 chKTI-sSPDB-DM4 在研究終點時具有 80% 之 T/C、及 3/7 PR 及 1/7 CR。

【0441】 chMAB-A-sSPDB-DM4 在此研究中檢查之所有劑量下在小鼠中皆耐受良好。在指示劑量下未觀察到顯著的體重損失。此研究之結果表明，chMAB-A-sSPDB-DM4 共軛物顯示抗腫瘤活性，且在 Detroit562 咽癌腫瘤異種移植物模型中為有效的。

【0442】 在第二研究中，在攜帶較大體積 Detroit562 腫瘤異種移植物的雌性 CD-1 免疫缺陷小鼠中評估不同劑量的 chMAB-A-sSPDB-DM4 共軛物之抗腫瘤活性。

【0443】 小鼠(5 週齡)係於 2014/9/17 獲自 Charles River Laboratories。在收到後，先觀察動物 7 天，之後開始研究。動物在到達時或在研究開始之前顯示無疾病或病痛之跡象。收穫 Detroit562 細胞以進行接種，藉由台盼藍排除判定活力大於 90%。藉由在右後脅上之區域中之皮下注射來用在 0.2 ml 50% Matrigel/ 50% 無血清培養基中之 5×10^6 個 Detroit562 細胞對小鼠進行接種。

【0444】 將十八隻小鼠按腫瘤體積隨機分成 3 個組(每組 6 只小鼠)。腫瘤體積之範圍為 277.51 至 503.49 mm³。在植入後第 35 天，基於腫瘤體積對小鼠進行量測及隨機分組。在隨機分組之後兩天(研究第 1 天)藉由腹膜內注射使用配備有 27 號 $\frac{1}{2}$ 吋針之 1.0 ml 針筒進行測試藥劑及媒劑之投與。該等組包括：對照組，用媒

劑(PBS)進行給藥；5 mg/kg 的 chMAB-A-sSPDB-DM4，qdx1；及 1.25 mg/kg 的 chMAB-A-sSPDB-DM4，qdx1。

【0445】 如實例 19 中所述判定腫瘤大小及體重量測值。研究之結果示於圖 14 中。簡而言之，chMAB-A-sSPDB-DM4 在研究時程中在 2 種測試劑量水準(5 及 1.25 mg/kg)下為活性的。5 mg/kg 的 chMAB-A-sSPDB-DM4 在研究終點時具有 3%之 T/C、及 6/6 PR 及 1/7 CR。1.25 mg/kg 的 chMAB-A-sSPDB-DM4 在研究終點時具有 14%之 T/C、及 6/6 PR 及 0/7 CR。

【0446】 chMAB-A-sSPDB-DM4 在此研究中檢查之兩種劑量下在小鼠中耐受良好。在指示劑量下未觀察到顯著的體重損失。此研究之結果表明，chMAB-A-sSPDB-DM4 共軛物顯示抗腫瘤活性，且在較大體積 Detroit562 咽癌腫瘤異種移植模型中為有效的。

實例 22

抗 ADAM9 抗體藥物共軛物在攜帶 SNU-5 胃癌異種移植之裸鼠中之抗腫瘤活性

【0447】 在攜帶 Snu-5 細胞的雌性裸鼠(人類胃癌異種移植模型)中評估不同劑量的 huMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 及單劑量的 huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 共軛物之抗腫瘤活性。

【0448】 收穫 Snu-5 細胞以進行接種，藉由台盼藍排除判定活力為 100%。藉由在右後脅上之區域中之皮下注射來用在 0.1ml 50% Matrigel/ 50%無血清培養基中之 5×10^6 個 Snu-5 細胞對小鼠進行接種。五十六隻雌性裸鼠(6 週齡)係於 2017 年 1 月 25 日獲自 Charles River Laboratories。在收到後，先觀察動物 8 天，之後開始研究。動物在到達時或在處理之前顯示無疾病或病痛之跡象。

【0449】 將五十六隻小鼠按腫瘤體積隨機分成 7 個組(每組 8 只小鼠)。腫瘤體積之範圍為 76.29 至 129.12 (130.58 ± 13.28 ，平均值 $\pm$ SD) mm^3 。在植入後第 13

天，基於腫瘤體積對小鼠進行量測及隨機分組。在植入後第 14 天(2017/2/17)對小鼠進行給藥。小鼠體重之範圍為 19.50 至 26.35 (22.69 ± 1.40 ，平均值 $\pm$ SD)公克。藉由打孔法對各組中之小鼠進行鑒別。藉由使用配備有 27 號 $\frac{1}{2}$ 吋針之 1.0 ml 針筒以靜脈內方式進行測試藥劑及媒劑之投與。該等組包括：對照組，用媒劑(PBS)進行給藥；5 mg/kg 的 chKTI-sSPDB-DM4；2.5 mg/kg 的 huMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4；5 mg/kg 的 huMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4；10 μ g/kg 的 huKTI-S442C-DGN549；3 μ g/kg 的 huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549；及 10 μ g/kg 的 huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549。

【0450】 使用測徑器以三個維度每週量測腫瘤大小兩次。使用式 $V = \text{長度} \times \text{寬度} \times \text{高度} \times \frac{1}{2}$ 以 mm^3 表述腫瘤體積。認為小鼠在腫瘤體積減小 50% 或更大時具有部分消退(PR)；在不可偵測到可觸知腫瘤時具有完全腫瘤消退(CR)；且無腫瘤存活者(TFS)為研究結束時無腫瘤小鼠之數目。藉由 StudyLog 軟體判定腫瘤體積及體重。以式 $\text{LCK} = (T - C) / T_d \times 3.32$ 計算 Log_{10} 細胞殺傷(LCK)，其中(T - C) 或腫瘤生長延遲(TGD)為處理組及對照組腫瘤達到預定大小 798 mm^3 (排除無腫瘤存活者)¹ 之中值時間(以天計)， T_d 為小鼠之腫瘤倍增時間(由對照腫瘤生長之每日中值之非線性指數曲線擬合估計)，且 x 為每細胞生長對數之細胞倍增數。 $T/C\%$ (腫瘤生長抑制)為處理組在預定時間(亦即，對照腫瘤之中值 TV 達到最大腫瘤體積(亦即在約 1000 mm^3 下之 TV)時之時間，或腫瘤變得壞死時之時間，因此該時間為所有對照群組小鼠離開研究時之時間點)時之中值腫瘤體積(TV)與對照在對照之終點時之中值 TV 之比率。

【0451】 每週量測所有小鼠之體重兩次，作為藥物毒性之粗略指標。將小鼠之體重(BW)如下表述為與處理前體重之體重變化百分比： $\text{BW 變化}\% = [(\text{後 BW} / \text{前 BW}) - 1] \times 100$ ，其中後 BW 為處理後之體重，且前 BW 為處理前之起始體重。將體重損失百分比(BWL)表述為處理後體重之平均變化。當腫瘤體積大於 1000

mm³ 或壞死時，或若體重在研究中之任何點時下降 20%以上，則將動物處死。

【0452】 研究之結果示於圖 15 及圖 16 中。huMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 共軛物在兩種測試劑量下皆為高度活性的。huMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 共軛物在 2.5 mg/kg 劑量下之腫瘤生長抑制(T/C)值為 5% (8 只小鼠中有 8 只為部分消退，且 2 只為完全消退)；在 5 mg/kg 下之 T/C 值為 1% (8 只小鼠中有 8 只為部分消退，且 6 只為完全消退)。huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 在兩種測試劑量下皆為高度活性的。huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 共軛物在 3 µg/kg 劑量下之(T/C)值為 7% (8 只小鼠中有 8 只為部分消退，且 4 只為完全消退)；在 5 mg/kg 下之 T/C 值為 4% (8 只小鼠中有 8 只為部分消退，且 5 只為完全消退)。在指示劑量的 huMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 、 或 huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 、 或 chKTI-sSPDB-DM4 或 huKTI-S442C-DGN549 共軛物之情況下未觀察到顯著的體重損失，且因此所有共軛物在此研究中在指示劑量下在小鼠中耐受良好。

實例 23

抗 ADAM9 抗體藥物共軛物在攜帶 SW48 結腸直腸癌細胞株異種移植物之小鼠中之抗腫瘤活性

【0453】 在攜帶 SW48 細胞的雌性裸鼠(結腸直腸癌細胞株異種移植物模型)中評估不同劑量的 hMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 及 huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN649 共軛物之抗腫瘤活性。

【0454】 收穫 SW48 細胞以進行接種。藉由在右後脅上之區域中之皮下注射來用 SW48 細胞對小鼠進行接種。動物在自實驗室到達時或在處理之前顯示無疾病或病痛之跡象。

【0455】 將四十二隻小鼠按腫瘤體積隨機分成 7 個組(每組 6 只小鼠)。腫瘤體積之範圍為 89 至 169 mm³。在植入後第 17 天，基於腫瘤體積對小鼠進行量測、隨機分組及給藥。藉由耳標對各組中之小鼠進行鑒別。以靜脈內方式進行測試

藥物及媒劑之投與。該等組包括：對照組，用媒劑(PBS)進行給藥；10 mg/kg 的 chKTI-sSPDB-DM4；5 mg/kg 的 huMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4；10 mg/kg 的 huMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4；5 µg/kg 的 huKTI-S442C-DGN549；2.5 µg/kg 的 huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549；及 5 µg/kg 的 huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549。

【0456】 如實例 22 中所述判定腫瘤大小及體重量測值。研究之結果示於圖 17 及圖 18 中。huMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 共軛物在兩種測試劑量下皆為活性的。huMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4 共軛物在 5 mg/kg 劑量下之腫瘤生長抑制(T/C)值為 13% (無部分消退或完全消退)；在 10 mg/kg 下之 T/C 值為 5% (6 只小鼠中有 6 只為部分消退)。huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 在 5 µg/kg 劑量下為活性的，且在所測試之 2.5 µg/kg 劑量下為非活性的。huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549 共軛物在 2.5 µg/kg 劑量下之(T/C)值為 92%；在 5 µg/kg 下之 T/C 值為 41% (6 只小鼠中有 2 只為部分消退)。在指示劑量的 huMAB-A(2.2)-sSPDB-DM4、或 huMAB-A(2I.2)-S442C-DGN549、或 chKTI-sSPDB-DM4 或 huKTI-S442C-DGN549 共軛物之情況下未觀察到顯著的體重損失，且因此所有共軛物在此研究中在指示劑量下在小鼠中耐受良好(需要由 MGNX 確認)。

實例 24

藉由改善 FcRn 結合來延長抗 ADAM9 抗體美登木素生物鹼共軛物之暴露

【0457】 為了使抗 ADAM9 抗體美登木素生物鹼共軛物驅動功效之潛能最大化，將取代 M252Y、S254T 及 T256E(「YTE 突變」)引入抗 ADAM9 抗體、hMAB-A(2I.2)及 hMAB-A(2I.2)-S442C 之 Fc 區中，以藉由改善 FcRn 結合來延長抗體藥物共軛物之暴露。FcRn 在維持血清 IgG 水準方面起主要作用。經非特異性胞吞之 IgGs 在胞內體中由於 pH 依賴性相互作用結合至 FcRn。FcRn 結合之 IgG 接著經分選至再循環胞內體中，且經運輸回到細胞表面，在細胞表面處 IgG 由於中性 pH 而釋放。增強 FcRn 結合可改善分選及經改善之藥物動力學。

【0458】 如實例 17a 中所詳述製備 hMAB-A(2I.2)-YTE-sSPDB-DM4 共軛物。如先前在 PCT 公開案第 WO2017/004025 號中所述製備 hMAB-A(2I.2)-S442C-YTE-sSPDB-DM4 共軛物。如在圖 19A 及 19B 中所見，YTE 突變增加 hMAB-A(2I.2)抗體與人類及食蟹獼猴 FcRn 之結合親和力及親合力。此外，hMAB-A(2I.2)-YTE-sSPDB-DM4 共軛物顯示出與親代 hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4 共軛物類似的在 NCI-H1703、SNU5 及 Calu3 中的活體外及活體內活性。

【0459】 執行食蟹獼猴 PK 及耐受性研究以特性化 hMAB-A(2I.2)-YTE-sSPDB-DM4 共軛物相較於親代 hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4 共軛物之耐受性及藥物動力學概況。以 4 及 12 mg/kg 之劑量(抗體劑量)呈 10 分鐘 IV 輸注向雄性食蟹獼猴投與兩種共軛物，以評定 PK 概況及急性耐受性。另外，以 4 mg/kg 之劑量向雄性食蟹獼猴投與裸抗體 hMAB-A(2I.2)及 hMAB-A(2I.2)-YTE，以解決共軛對 PK 參數之潛在影響。在 28 天之時程中收集血液，以允許量測 ADC、總抗體及游離酬載濃度。基於存活、臨床觀察、體重及臨床病理學判定耐受性。

【0460】 如圖 20 中所見，hMAB-A(2I.2)-YTE-sSPDB-DM4 共軛物相較於親代共軛物之食蟹獼猴 PK 資料顯示，YTE 突變相較於親代共軛物增加暴露。另外，裸 hMAB-A(2I.2)抗體及 hMAB-A(2I.2)-YTE 抗體之食蟹獼猴 PK 資料顯示，共軛對 PK 參數具有最小影響，且 YTE 突變改善裸抗體及共軛物 PK 參數。此外，hMAB-A(2I.2)-sSPDB-DM4 及 hMAB-A(2I.2)-YTE-sSPDB-DM4 共軛物在高達 12 mg/kg 之劑量下耐受良好，具有最小皮膚臨床觀察及對血液學參數之劑量依賴性影響。

【0461】 本說明書中提及之所有公開案及專利皆以引用之方式併入本文，達到如同明確及個別地指示將各個個別公開案或專利申請案以全文引用之方式併

入的相同程度。雖然本發明已結合其具體實施例予以描述，但是應理解其能夠進行進一步修改，且希望本申請案涵蓋本發明的通常遵循本發明原則且涉及與本申請案之偏差的任何變化形式、應用或改造，該等偏差處於本發明所屬技術之已知或習慣實務範圍內，且可適用於上文所闡明之基本特徵。

【序列表】

<110> 美商伊繆諾金公司
美商宏觀基因股份有限公司

<120> 靶向ADAM9之免疫共軛物及其使用方法

<130> 121162

<140>
<141>

<150> 62/480,201
<151> 2017-03-31

<150> 62/438,488
<151> 2016-12-23

<160> 154

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 1
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 2
<211> 216
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MOD_RES
<222> (216)..(216)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 2
Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
1 5 10 15

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
20 25 30

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
35 40 45

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
50 55 60

Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln
65 70 75 80

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
85 90 95

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
100 105 110

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
115 120 125

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

Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
145 150 155 160

Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
165 170 175

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
180 185 190

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
195 200 205

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 3
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MOD_RES
<222> (217)..(217)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 3
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 4
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MOD_RES
<222> (217)..(217)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 4
Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
210 215

<210> 5
<211> 819
<212> PRT
<213> 智人

<400> 5
Met Gly Ser Gly Ala Arg Phe Pro Ser Gly Thr Leu Arg Val Arg Trp
1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Gly Leu Val Gly Pro Val Leu Gly Ala Ala Arg Pro
20 25 30

Gly Phe Gln Gln Thr Ser His Leu Ser Ser Tyr Glu Ile Ile Thr Pro
35 40 45

Trp Arg Leu Thr Arg Glu Arg Arg Glu Ala Pro Arg Pro Tyr Ser Lys
50 55 60

Gln Val Ser Tyr Val Ile Gln Ala Glu Gly Lys Glu His Ile Ile His
65 70 75 80

Leu Glu Arg Asn Lys Asp Leu Leu Pro Glu Asp Phe Val Val Tyr Thr
85 90 95

Tyr Asn Lys Glu Gly Thr Leu Ile Thr Asp His Pro Asn Ile Gln Asn
100 105 110

His Cys His Tyr Arg Gly Tyr Val Glu Gly Val His Asn Ser Ser Ile
115 120 125

Ala Leu Ser Asp Cys Phe Gly Leu Arg Gly Leu Leu His Leu Glu Asn
130 135 140

Ala Ser Tyr Gly Ile Glu Pro Leu Gln Asn Ser Ser His Phe Glu His
145 150 155 160

Ile Ile Tyr Arg Met Asp Asp Val Tyr Lys Glu Pro Leu Lys Cys Gly
165 170 175

Val Ser Asn Lys Asp Ile Glu Lys Glu Thr Ala Lys Asp Glu Glu Glu
180 185 190

Glu Pro Pro Ser Met Thr Gln Leu Leu Arg Arg Arg Arg Ala Val Leu
195 200 205

Pro Gln Thr Arg Tyr Val Glu Leu Phe Ile Val Val Asp Lys Glu Arg
210 215 220

Tyr Asp Met Met Gly Arg Asn Gln Thr Ala Val Arg Glu Glu Met Ile
225 230 235 240

Leu Leu Ala Asn Tyr Leu Asp Ser Met Tyr Ile Met Leu Asn Ile Arg
245 250 255

Ile Val Leu Val Gly Leu Glu Ile Trp Thr Asn Gly Asn Leu Ile Asn
260 265 270

Ile Val Gly Gly Ala Gly Asp Val Leu Gly Asn Phe Val Gln Trp Arg
275 280 285

Glu Lys Phe Leu Ile Thr Arg Arg Arg His Asp Ser Ala Gln Leu Val
290 295 300

Leu Lys Lys Gly Phe Gly Gly Thr Ala Gly Met Ala Phe Val Gly Thr
305 310 315 320

Val Cys Ser Arg Ser His Ala Gly Gly Ile Asn Val Phe Gly Gln Ile
325 330 335

Thr Val Glu Thr Phe Ala Ser Ile Val Ala His Glu Leu Gly His Asn
340 345 350

Leu Gly Met Asn His Asp Asp Gly Arg Asp Cys Ser Cys Gly Ala Lys
355 360 365

Ser Cys Ile Met Asn Ser Gly Ala Ser Gly Ser Arg Asn Phe Ser Ser
370 375 380

Cys Ser Ala Glu Asp Phe Glu Lys Leu Thr Leu Asn Lys Gly Gly Asn
385 390 395 400

Cys Leu Leu Asn Ile Pro Lys Pro Asp Glu Ala Tyr Ser Ala Pro Ser
405 410 415

Cys Gly Asn Lys Leu Val Asp Ala Gly Glu Glu Cys Asp Cys Gly Thr
420 425 430

Pro Lys Glu Cys Glu Leu Asp Pro Cys Cys Glu Gly Ser Thr Cys Lys
435 440 445

Leu Lys Ser Phe Ala Glu Cys Ala Tyr Gly Asp Cys Cys Lys Asp Cys
450 455 460

Arg Phe Leu Pro Gly Gly Thr Leu Cys Arg Gly Lys Thr Ser Glu Cys
465 470 475 480

Asp Val Pro Glu Tyr Cys Asn Gly Ser Ser Gln Phe Cys Gln Pro Asp
485 490 495

Val Phe Ile Gln Asn Gly Tyr Pro Cys Gln Asn Asn Lys Ala Tyr Cys
500 505 510

Tyr Asn Gly Met Cys Gln Tyr Tyr Asp Ala Gln Cys Gln Val Ile Phe
515 520 525

Gly Ser Lys Ala Lys Ala Ala Pro Lys Asp Cys Phe Ile Glu Val Asn
530 535 540

Ser Lys Gly Asp Arg Phe Gly Asn Cys Gly Phe Ser Gly Asn Glu Tyr
545 550 555 560

Lys Lys Cys Ala Thr Gly Asn Ala Leu Cys Gly Lys Leu Gln Cys Glu
565 570 575

Asn Val Gln Glu Ile Pro Val Phe Gly Ile Val Pro Ala Ile Ile Gln
580 585 590

Thr Pro Ser Arg Gly Thr Lys Cys Trp Gly Val Asp Phe Gln Leu Gly
595 600 605

Ser Asp Val Pro Asp Pro Gly Met Val Asn Glu Gly Thr Lys Cys Gly
610 615 620

Ala Gly Lys Ile Cys Arg Asn Phe Gln Cys Val Asp Ala Ser Val Leu
625 630 635 640

Asn Tyr Asp Cys Asp Val Gln Lys Lys Cys His Gly His Gly Val Cys
645 650 655

Asn Ser Asn Lys Asn Cys His Cys Glu Asn Gly Trp Ala Pro Pro Asn
660 665 670

Cys Glu Thr Lys Gly Tyr Gly Gly Ser Val Asp Ser Gly Pro Thr Tyr
675 680 685

Asn Glu Met Asn Thr Ala Leu Arg Asp Gly Leu Leu Val Phe Phe Phe
690 695 700

Leu Ile Val Pro Leu Ile Val Cys Ala Ile Phe Ile Phe Ile Lys Arg
705 710 715 720

Asp Gln Leu Trp Arg Ser Tyr Phe Arg Lys Lys Arg Ser Gln Thr Tyr
725 730 735

Glu Ser Asp Gly Lys Asn Gln Ala Asn Pro Ser Arg Gln Pro Gly Ser
740 745 750

Val Pro Arg His Val Ser Pro Val Thr Pro Pro Arg Glu Val Pro Ile
755 760 765

Tyr Ala Asn Arg Phe Ala Val Pro Thr Tyr Ala Ala Lys Gln Pro Gln
770 775 780

Gln Phe Pro Ser Arg Pro Pro Pro Pro Gln Pro Lys Val Ser Ser Gln
785 790 795 800

Gly Asn Leu Ile Pro Ala Arg Pro Ala Pro Ala Pro Pro Leu Tyr Ser
805 810 815

Ser Leu Thr

<210> 6
<211> 819
<212> PRT
<213> 食蟹獼猴

<400> 6
Met Gly Ser Gly Val Gly Ser Pro Ser Gly Thr Leu Arg Val Arg Trp
1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Cys Leu Val Gly Pro Val Leu Gly Ala Ala Arg Pro
20 25 30

Gly Phe Gln Gln Thr Ser His Leu Ser Ser Tyr Glu Ile Ile Thr Pro
35 40 45

Trp Arg Leu Thr Arg Glu Arg Arg Glu Ala Pro Arg Pro Tyr Ser Lys
50 55 60

Gln Val Ser Tyr Leu Ile Gln Ala Glu Gly Lys Glu His Ile Ile His
65 70 75 80

Leu Glu Arg Asn Lys Asp Leu Leu Pro Glu Asp Phe Val Val Tyr Thr
85 90 95

Tyr Asn Lys Glu Gly Thr Val Ile Thr Asp His Pro Asn Ile Gln Asn
100 105 110

His Cys His Phe Arg Gly Tyr Val Glu Gly Val Tyr Asn Ser Ser Val
115 120 125

Ala Leu Ser Asn Cys Phe Gly Leu Arg Gly Leu Leu His Leu Glu Asn
130 135 140

Ala Ser Tyr Gly Ile Glu Pro Leu Gln Asn Ser Ser His Phe Glu His
145 150 155 160

Ile Ile Tyr Arg Met Asp Asp Val His Lys Glu Pro Leu Lys Cys Gly
165 170 175

Val Ser Asn Lys Asp Ile Glu Lys Glu Thr Thr Lys Asp Glu Glu Glu
180 185 190

Glu Pro Pro Ser Met Thr Gln Leu Leu Arg Arg Arg Arg Ala Val Leu
195 200 205

Pro Gln Thr Arg Tyr Val Glu Leu Phe Ile Val Val Asp Lys Glu Arg
210 215 220

Tyr Asp Met Met Gly Arg Asn Gln Thr Ala Val Arg Glu Glu Met Ile
225 230 235 240

Leu Leu Ala Asn Tyr Leu Asp Ser Met Tyr Ile Met Leu Asn Ile Arg
245 250 255

Ile Val Leu Val Gly Leu Glu Ile Trp Thr Asn Gly Asn Leu Ile Asn
260 265 270

Ile Ala Gly Gly Ala Gly Asp Val Leu Gly Asn Phe Val Gln Trp Arg
275 280 285

Glu Lys Phe Leu Ile Thr Arg Arg Arg His Asp Ser Ala Gln Leu Val
290 295 300

Leu Lys Lys Gly Phe Gly Gly Thr Ala Gly Met Ala Phe Val Gly Thr
305 310 315 320

Val Cys Ser Arg Ser His Ala Gly Gly Ile Asn Val Phe Gly His Ile
325 330 335

Thr Val Glu Thr Phe Ala Ser Ile Val Ala His Glu Leu Gly His Asn
340 345 350

Leu Gly Met Asn His Asp Asp Gly Arg Asp Cys Ser Cys Gly Ala Lys
355 360 365

Ser Cys Ile Met Asn Ser Gly Ala Ser Gly Ser Arg Asn Phe Ser Ser
370 375 380

Cys Ser Ala Glu Asp Phe Glu Lys Leu Thr Leu Asn Lys Gly Gly Asn
385 390 395 400

Cys Leu Leu Asn Ile Pro Lys Pro Asp Glu Ala Tyr Ser Ala Pro Ser
405 410 415

Cys Gly Asn Lys Leu Val Asp Ala Gly Glu Glu Cys Asp Cys Gly Thr
420 425 430

Pro Lys Glu Cys Glu Leu Asp Pro Cys Cys Glu Gly Ser Thr Cys Lys
435 440 445

Leu Lys Ser Phe Ala Glu Cys Ala Tyr Gly Asp Cys Cys Lys Asp Cys
450 455 460

Arg Phe Leu Pro Gly Gly Thr Leu Cys Arg Gly Lys Thr Ser Glu Cys
465 470 475 480

Asp Val Pro Glu Tyr Cys Asn Gly Ser Ser Gln Phe Cys Gln Pro Asp
485 490 495

Val	Phe	Ile	Gln	Asn	Gly	Tyr	Pro	Cys	Gln	Asn	Asn	Lys	Ala	Tyr	Cys	
			500					505					510			
Tyr	Asn	Gly	Met	Cys	Gln	Tyr	Tyr	Asp	Ala	Gln	Cys	Gln	Val	Ile	Phe	
		515					520					525				
Gly	Ser	Lys	Ala	Lys	Ala	Ala	Pro	Lys	Asp	Cys	Phe	Ile	Glu	Val	Asn	
	530					535					540					
Ser	Lys	Gly	Asp	Arg	Phe	Gly	Asn	Cys	Gly	Phe	Ser	Gly	Asn	Glu	Tyr	
545					550					555					560	
Lys	Lys	Cys	Ala	Thr	Gly	Asn	Ala	Leu	Cys	Gly	Lys	Leu	Gln	Cys	Glu	
				565					570					575		
Asn	Val	Gln	Glu	Ile	Pro	Val	Phe	Gly	Ile	Val	Pro	Ala	Ile	Ile	Gln	
			580					585					590			
Thr	Pro	Ser	Arg	Gly	Thr	Lys	Cys	Trp	Gly	Val	Asp	Phe	Gln	Leu	Gly	
		595					600					605				
Ser	Asp	Val	Pro	Asp	Pro	Gly	Met	Val	Asn	Glu	Gly	Thr	Lys	Cys	Gly	
	610					615					620					
Ala	Asp	Lys	Ile	Cys	Arg	Asn	Phe	Gln	Cys	Val	Asp	Ala	Ser	Val	Leu	
625					630					635					640	
Asn	Tyr	Asp	Cys	Asp	Ile	Gln	Lys	Lys	Cys	His	Gly	His	Gly	Val	Cys	
				645					650					655		
Asn	Ser	Asn	Lys	Asn	Cys	His	Cys	Glu	Asn	Gly	Trp	Ala	Pro	Pro	Asn	
			660					665					670			
Cys	Glu	Thr	Lys	Gly	Tyr	Gly	Gly	Ser	Val	Asp	Ser	Gly	Pro	Thr	Tyr	
		675					680					685				
Asn	Glu	Met	Asn	Thr	Ala	Leu	Arg	Asp	Gly	Leu	Leu	Val	Phe	Phe	Phe	
	690					695					700					
Leu	Ile	Val	Pro	Leu	Ile	Val	Cys	Ala	Ile	Phe	Ile	Phe	Ile	Lys	Arg	
705					710					715					720	
Asp	Gln	Leu	Trp	Arg	Arg	Tyr	Phe	Arg	Lys	Lys	Arg	Ser	Gln	Thr	Tyr	
				725					730					735		

Glu Ser Asp Gly Lys Asn Gln Ala Asn Pro Ser Arg Gln Pro Val Ser
740 745 750

Val Pro Arg His Val Ser Pro Val Thr Pro Pro Arg Glu Val Pro Ile
755 760 765

Tyr Ala Asn Arg Phe Pro Val Pro Thr Tyr Ala Ala Lys Gln Pro Gln
770 775 780

Gln Phe Pro Ser Arg Pro Pro Pro Pro Gln Pro Lys Val Ser Ser Gln
785 790 795 800

Gly Asn Leu Ile Pro Ala Arg Pro Ala Pro Ala Pro Pro Leu Tyr Ser
805 810 815

Ser Leu Thr

<210> 7
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 7
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Leu Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Asp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 8
Ser Tyr Trp Met His
1 5

<210> 9
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 9
Glu Ile Ile Pro Ile Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Ser

<210> 10
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 10
Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 11
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 11
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95

Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 12
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 12
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn
1 5 10 15

<210> 13
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 13
Ala Ala Ser Asp Leu Glu Ser
1 5

<210> 14

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 14
Gln Gln Ser His Glu Asp Pro Phe Thr
1 5

<210> 15
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (34)..(34)
<223> Met或Ile

<220>
<221> MOD_RES
<222> (55)..(55)
<223> Asn或Phe

<220>
<221> MOD_RES
<222> (63)..(63)
<223> Lys或Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (65)..(65)
<223> Lys或Gln

<220>
<221> MOD_RES
<222> (66)..(66)
<223> Ser或Gly

<220>
<221> MOD_RES
<222> (105)..(105)
<223> Pro、Phe、Tyr、Trp、Ile、Leu、Val、Thr、Gly或Asp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (106)..(106)
<223> Lys、Arg、Asn、His、Gly或Ser

<220>
<221> MOD_RES

<222> (107)..(107)
<223> Phe、Met、Ser、Lys或Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (108)..(108)
<223> Gly或Ala

<220>
<221> MOD_RES
<222> (109)..(109)
<223> Trp、Phe、Thr或Val

<220>
<221> MOD_RES
<222> (110)..(110)
<223> Met、Leu或Lys

<220>
<223> 取代及較佳實施例之詳述參見所提出之說明書

<400> 15
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Trp Xaa His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Xaa Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Xaa Phe
50 55 60

Xaa Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 16
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 16
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Asn Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Asp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 17
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 17
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Asp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 18
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 18
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Arg Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Asp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 19
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 19
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Arg Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Asp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 20
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 20
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

202530

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
505560

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65707580

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Phe Asn Ser Gly Thr Leu Asp Tyr
100105110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115120

<210> 21
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 21

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
151015

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
202530

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
505560

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65707580

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Ile Gly Lys Gly Val Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 22
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 22
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Arg Phe Gly Trp Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 23
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 23
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Thr Gly Lys Gly Val Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 24
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 24
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

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

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 25
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 25
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Phe His Ser Gly Thr Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 26
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 26
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Phe Asn Lys Ala Val Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 27
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 27
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Gly Val Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 28
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 28
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Arg Gln Gly Phe Leu Asp Tyr

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 29

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 29

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20

25

30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50

55

60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65

70

75

80

Leu Gln Met Gly Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Ser Gly Thr Leu Asp Tyr

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 30

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 30

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
20 25 30

<210> 31
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 31
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
1 5 10

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

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 32
Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Gly Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 33
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 33
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 34
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 34
Ser Tyr Trp Ile His
1 5

<210> 35
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 35
Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Ser

<210> 36
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 36
Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Arg Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 37
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 37
Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Phe Asn Ser Gly Thr Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 38
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 38
Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Ile Gly Lys Gly Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 39
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 39
Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Arg Phe Gly Trp Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 40
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 40
Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Thr Gly Lys Gly Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 41
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 41
Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asn Ala Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 42
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 42
Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Phe His Ser Gly Thr Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 43
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 43
Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Phe Asn Lys Ala Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 44
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 44
Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Gly Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 45
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 45
Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Arg Gln Gly Phe Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 46
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 46
Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Ser Gly Thr Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 47
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Met或Ile

<400> 47
Ser Tyr Trp Xaa His
1 5

<210> 48
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> Asn或Phe

<220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Lys或Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (16)..(16)
<223> Lys或Gln

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> Ser或Gly

<400> 48
Glu Ile Ile Pro Ile Xaa Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Xaa Phe Xaa
1 5 10 15

Xaa

<210> 49
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Pro、Phe、Tyr、Trp、Ile、Leu、Val、Thr、Gly或Asp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> Lys、Arg、Asn、His、Gly或Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
<223> Phe、Met、Ser、Lys或Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (10)..(10)
<223> Gly或Ala

<220>
<221> MOD_RES
<222> (11)..(11)
<223> Trp、Phe、Thr或Val

<220>
<221> MOD_RES
<222> (12)..(12)
<223> Met、Leu或Lys

<220>
<223> 取代及較佳實施例之詳述參見所提出之說明書

<400> 49
Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr
1 5 10

<210> 50
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (453)..(453)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 50
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Arg Asp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

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

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

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

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
325 330 335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 51
<211> 453

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (453)..(453)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 51
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Arg Phe Gly Trp Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

180										185										190									
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val														
		195					200					205																	
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys														
	210					215					220																		
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu														
225					230					235					240														
Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr														
				245					250					255															
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val														
			260					265						270															
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val														
		275					280					285																	
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser														
	290					295					300																		
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu														
305					310					315					320														
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala														
				325					330					335															
Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro														
			340					345					350																
Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln														
		355					360					365																	
Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala														
	370					375					380																		
Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr														
385					390					395					400														
Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu														
				405					410					415															

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 52
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (453)..(453)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 52
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Arg Gln Gly Phe Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	
	130					135					140					
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	
145					150					155					160	
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	
				165					170					175		
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	
			180					185					190			
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	
		195					200					205				
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	
	210					215					220					
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	
225					230					235					240	
Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	
				245					250					255		
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	
			260					265					270			
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	
		275					280					285				
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	
	290					295					300					
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	
305					310					315					320	
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	
				325					330					335		
Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	
			340					345					350			

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 53
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (24)..(24)
<223> Lys或Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (32)..(32)
<223> Asp或Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (37)..(37)
<223> Met或Leu

<220>
<221> MOD_RES
<222> (96)..(96)
<223> His或Tyr

<220>

<221> MOD_RES
<222> (97)..(97)
<223> Glu或Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (98)..(98)
<223> Asp或Thr

<400> 53
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Gly Asp Ser Tyr Xaa Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Xaa
85 90 95

Xaa Xaa Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 54
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 54
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95

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

<210> 55
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 55
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95

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

<210> 56
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 56
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95

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

<210> 57
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 57
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

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

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

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

Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 58
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 58
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys
20

<210> 59
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 59
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 60
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 60
Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 61
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 61
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 62
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 62
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Ser Gly Asp Ser Tyr Met Asn
1 5 10 15

<210> 63
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 63
Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Ser Gly Asp Ser Tyr Met Asn
1 5 10 15

<210> 64
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 64
Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Ser Gly Asp Ser Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 65
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 65
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 66
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Lys或Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
<223> Asp或Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Met或Leu

<400> 66
Xaa Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Xaa Gly Asp Ser Tyr Xaa Asn
1 5 10 15

<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> His或Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Glu或Ser

<220>
<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)
<223> Asp或Thr

<400> 67
Gln Gln Ser Xaa Xaa Xaa Pro Phe Thr
1 5

<210> 68
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 68
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95

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

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

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

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

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165170175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

180185190

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

195200205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210215

<210> 69
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 69

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

151015

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

202530

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

354045

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

505560

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

65707580

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

859095

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100105

<210> 70
<211> 104
<212> PRT
<213> 智人

<400> 70

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu

151015

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
50 55 60

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
65 70 75 80

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
85 90 95

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100

<210> 71
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<400> 71
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val

<210> 72
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<400> 72
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val

<210> 73
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<400> 73
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (217)..(217)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 78
Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 79
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (217)..(217)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 79
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Cys Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 80
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (217)..(217)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 80
Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85																90				95			
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln								
			100				105						110										
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met								
		115						120			125												
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro								
130					135						140												
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn								
145					150						155		160										
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu								
			165					170				175											
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val								
			180					185				190											
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln								
		195					200					205											
Lys	Ser	Leu	Cys	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys															
210					215																		

<210> 81
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 81
Gly Ser Arg Asp Tyr Phe
1 5

<210> 82
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 82
Asp Gly Glu Gly Val Met

1

5

<210> 83
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 83
Phe His Ser Gly Leu Leu
1 5

<210> 84
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 84
Phe Asn Ser Ala Thr Leu
1 5

<210> 85
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 85
Phe Asn Ser Gly Thr Leu
1 5

<210> 86
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 86
Phe Asn Ser Ser Thr Leu
1 5

<210> 87
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 87
Gly Lys Ser Lys Trp Leu
1 5

<210> 88
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 88
Gly Met Gly Gly Thr Leu
1 5

<210> 89
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 89
His Ala Lys Gly Gly Met
1 5

<210> 90
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 90
Ile Gly Glu Ala Val Leu
1 5

<210> 91
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 91

Ile Gly Lys Gly Val Phe
1 5

<210> 92
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 92
Ile Gly Lys Gly Val Leu
1 5

<210> 93
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 93
Lys His Asp Ser Val Leu
1 5

<210> 94
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 94
Leu Asn Thr Ala Val Met
1 5

<210> 95
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 95
Asn Gly Glu Gly Thr Leu
1 5

<210> 96
<211> 6

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 96
Asn Gly Lys Asn Thr Leu
1 5

<210> 97
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 97
Asn Ser Ala Gly Ile Leu
1 5

<210> 98
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 98
Pro Lys Glu Gly Trp Met
1 5

<210> 99
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 99
Pro Lys Phe Gly Trp Lys
1 5

<210> 100
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 100
Pro Lys Met Gly Trp Val
1 5

<210> 101
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 101
Pro Arg Leu Gly His Leu
1 5

<210> 102
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 102
Pro Ser Phe Gly Trp Ala
1 5

<210> 103
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 103
Gln Ala Lys Gly Thr Met
1 5

<210> 104
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 104
Arg Gly Met Gly Val Met
1 5

<210> 105

<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 105
Arg Lys Glu Gly Trp Met
1 5

<210> 106
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 106
Thr Gly Lys Gly Val Leu
1 5

<210> 107
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 107
Thr Gly Met Gly Thr Leu
1 5

<210> 108
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 108
Thr Gly Asn Gly Val Met
1 5

<210> 109
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 109
Trp Asn Ala Gly Thr Phe
1 5

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

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 110
Tyr His His Thr Pro Leu
1 5

<210> 111
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 111
Tyr Gln Ser Ala Thr Leu
1 5

<210> 112
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 112
Asp Gly Lys Ala Val Leu
1 5

<210> 113
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 113
Phe Asn Lys Ala Val Leu
1 5

<210> 114
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 114
Phe Asn Ser Gly Thr Trp
1 5

<210> 115
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 115
Phe Asn Thr Gly Val Phe
1 5

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

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 116
Gly Lys Ser Arg Phe His
1 5

<210> 117
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 117
Ile Gly Lys Asn Val Tyr
1 5

<210> 118
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 118
Met Gly Lys Gly Val Met
1 5

<210> 119
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 119
Asn Gly Glu Ser Val Phe
1 5

<210> 120
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 120
Pro Asp Phe Gly Trp Met
1 5

<210> 121
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 121
Pro Gly Ser Gly Val Met
1 5

<210> 122
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 122
Pro Lys Asp Ala Trp Leu
1 5

<210> 123
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 123
Pro Lys Phe Gly Trp Leu
1 5

<210> 124
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 124
Pro Lys Ile Gly Trp His
1 5

<210> 125
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 125
Pro Lys Met Gly Trp Ala
1 5

<210> 126
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 126
Pro Lys Met Gly Trp Met
1 5

<210> 127
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 127
Pro Gln Met Gly Trp Leu
1 5

<210> 128
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 128
Pro Arg Phe Gly Trp Leu
1 5

<210> 129
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 129
Pro Arg Met Gly Phe Leu
1 5

<210> 130
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 130
Pro Arg Met Gly Phe Met
1 5

<210> 131
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 131
Pro Ser Phe Gly Trp Met
1 5

<210> 132
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 132
Arg Arg Glu Gly Trp Met
1 5

<210> 133
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 133
Ser Gly Glu Gly Val Leu
1 5

<210> 134
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 134
Ser Gly Asn Gly Val Met
1 5

<210> 135
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 135
Val Gly Lys Ala Val Leu
1 5

<210> 136
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 136
Asp Ser Asn Ala Val Leu
1 5

<210> 137
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 137
Phe His Ser Gly Thr Leu
1 5

<210> 138
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 138
Gly Gly Ser Gly Val Leu
1 5

<210> 139
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 139
Pro Arg Gln Gly Phe Leu
1 5

<210> 140
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 140
Tyr Asn Ser Gly Thr Leu

1

5

<210> 141

<211> 453

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (453)..(453)

<223> 可能存在或可能不存在

<400> 141

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Gly Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Arg Gln Gly Phe Leu Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly

130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val

145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

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

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
225 230 235 240

Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

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

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
325 330 335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 142
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (453)..(453)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 142
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Arg Gln Gly Phe Leu Asp Tyr

100						105						110					
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly		
		115					120					125					
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly		
		130					135					140					
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val		
		145					150					155					
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe		
				165					170					175			
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val		
				180					185					190			
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val		
				195					200					205			
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys		
						215					220						
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu		
						230					235					240	
Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr		
						245					250					255	
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val		
						260					265					270	
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val		
								280					285				
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser		
								295					300				
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu		
								310					315			320	
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala		
														335			

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Cys
435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 143
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (453)..(453)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 143
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Arg Gln Gly Phe Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

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

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
225 230 235 240

Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

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

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
325 330 335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Cys
435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 144
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 144
Ala Leu Ala Leu

1

<210> 145
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> β -Ala

<400> 145
Ala Leu Ala Leu
1

<210> 146
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 146
Gly Phe Leu Gly
1

<210> 147
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (217)..(217)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 147
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 148
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>

<221> MOD_RES
<222> (217)..(217)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 148
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Cys Leu Ser Pro Gly Lys

210

215

<210> 149
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (217)..(217)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 149
Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 150
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (217)..(217)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 150
Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Cys Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 151
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (453)..(453)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 151
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Arg Gln Gly Phe Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

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

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

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

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
325 330 335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 152
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (453)..(453)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 152
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Arg Gln Gly Phe Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

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

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

225					230					235					240
Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
				245					250					255	
Leu	Tyr	Ile	Thr	Arg	Glu	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
			260					265					270		
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
		275					280					285			
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser
	290					295					300				
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu
305					310					315					320
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala
				325					330					335	
Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro
			340					345					350		
Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln
		355					360					365			
Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala
	370					375					380				
Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr
385					390					395					400
Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu
				405					410					415	
Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser
			420					425					430		
Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Cys
		435					440					445			
Leu	Ser	Pro	Gly	Lys											
	450														

<210> 153
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (453)..(453)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 153
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Arg Gln Gly Phe Leu Asp Tyr
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

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

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
225 230 235 240

Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

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

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
325 330 335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 154
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (453)..(453)
<223> 可能存在或可能不存在

<400> 154
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly His Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Arg Gln Gly Phe Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

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

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
225 230 235 240

Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

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

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
325 330 335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

340										345										350									
Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln														
		355					360					365																	
Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala														
		370					375					380																	
Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr														
		385					390					395																	
Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu														
				405							410					415													
Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser														
				420											430														
Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Cys														
				435											445														
Leu	Ser	Pro	Gly	Lys																									
				450																									



201822821

【發明摘要】

【中文發明名稱】靶向 ADAM9 之免疫共軛物及其使用方法

【英文發明名稱】Immunoconjugates Targeting ADAM9 and Methods of Use

Thereof

【中文】

本發明係關於包含能夠特異性結合至「含解整合素及金屬蛋白酶域之蛋白 9」(「**ADAM9**」)、共軛至至少一種藥理學藥劑之抗體或其片段的免疫共軛物。本發明特別關於與人類 ADAM9 及非人類靈長類(例如,食蟹獼猴)之 ADAM9 具有交叉反應性的此類免疫共軛物。本發明另外關於包含輕鏈可變(VL)域及/或重鏈可變(VH)域之所有此類免疫共軛物,該輕鏈可變(VL)域及/或重鏈可變(VH)域已經人源化及/或去免疫化以便在向接受受試者投與此類免疫共軛物時展現降低的免疫原性。本發明亦關於含有此類免疫共軛物中任一者之醫藥組成物,以及涉及此類免疫共軛物中任一者在治療癌症及其他疾病及病狀中之用途的方法。

【英文】

The present invention is directed to immunoconjugates comprising an antibody or fragment thereof capable of specifically binding to “Disintegrin and Metalloproteinase Domain-containing Protein 9” (“**ADAM9**”) conjugated to at least one pharmacological agent. The invention particularly concerns such immunoconjugates that are cross-reactive with human ADAM9 and the ADAM9 of a non-human primate (e.g., a cynomolgus monkey). The invention additionally pertains to all such immunoconjugates that comprise a Light Chain Variable (VL) Domain and/or a Heavy Chain Variable (VH) Domain that has been humanized and/or deimmunized so as to exhibit reduced immunogenicity upon administration of such immunoconjugates to a recipient subject. The invention is also directed to pharmaceutical compositions that

contain any of such immunoconjugates, and to methods involving the use of any of such immunoconjugates in the treatment of cancer and other diseases and conditions.

【指定代表圖】

圖 1A

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明申請專利範圍】

【第 1 項】一種包含抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段之免疫共軛物：

(I) 其中該抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段共軛至藥理學藥劑；且

(II) 其中該抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含輕鏈可變(VL)域及重鏈可變(VH)域，其中該重鏈可變域包含 CDR_{H1} 域、CDR_{H2} 域及 CDR_{H3} 域，且該輕鏈可變域包含 CDR_{L1} 域、CDR_{L2} 域及 CDR_{L3} 域，其中：

(A) 該 CDR_{H1} 域、CDR_{H2} 域及 CDR_{H3} 域具有 MAB-A 之經最佳化變異體之重鏈可變(VH)域之 CDR_{H1} 域、CDR_{H2} 域及 CDR_{H3} 域之胺基酸序列；且該 CDR_{L1} 域、CDR_{L2} 域及 CDR_{L3} 域具有 MAB-A 之輕鏈可變(VL)域之 CDR_{L1} 域、CDR_{L2} 域及 CDR_{L3} 域之胺基酸序列；或

(B) 該 CDR_{H1} 域、CDR_{H2} 域及 CDR_{H3} 域具有 MAB-A 之重鏈可變(VH)域之 CDR_{H1} 域、CDR_{H2} 域及 CDR_{H3} 域之胺基酸序列；且該 CDR_{L1} 域、CDR_{L2} 域及 CDR_{L3} 域具有 MAB-A 之經最佳化變異體之輕鏈可變(VL)域之 CDR_{L1} 域、CDR_{L2} 域及 CDR_{L3} 域之胺基酸序列；或

(C) 該 CDR_{H1} 域、CDR_{H2} 域及 CDR_{H3} 域具有 MAB-A 之經最佳化變異體之重鏈可變(VH)域之 CDR_{H1} 域、CDR_{H2} 域及 CDR_{H3} 域之胺基酸序列；且該 CDR_{L1} 域、CDR_{L2} 域及 CDR_{L3} 域具有 MAB-A 之經最佳化變異體之輕鏈可變(VL)域之 CDR_{L1} 域、CDR_{L2} 域及 CDR_{L3} 域之胺基酸序列。

【第 2 項】如申請專利範圍第 1 項之免疫共軛物，其中該抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含：

(A) (1) MAB-A 之該重鏈可變(VH)域之該 CDR_{H1} 域、CDR_{H2} 域及 CDR_{H3} 域；及

(2) MAB-A 之人源化變異體之 VH 域之 FR1、FR2、FR3 及 FR4；或

(B) (1) MAB-A 之該輕鏈可變(VL)域之該 CDR_{L1} 域、CDR_{L2} 域及 CDR_{L3}

域；及

(2) MAB-A 之人源化變異體之 VL 域之 FR1、FR2、FR3 及 FR4；或

(C) (1) MAB-A 之經最佳化變異體之重鏈可變(VH)域之該 CDR_{H1} 域、CDR_{H2} 域及 CDR_{H3} 域；及

(2) MAB-A 之人源化變異體之該 VH 域之該 FR1、FR2、FR3 及 FR4；或

(D) (1) MAB-A 之經最佳化變異體之輕鏈可變(VL)域之該 CDR_{L1} 域、CDR_{L2} 域及 CDR_{L3} 域；及

(2) MAB-A 之人源化變異體之該 VL 域之該 FR1、FR2、FR3 及 FR4；或

(E) (1) MAB-A 之人源化/經最佳化變異體之該重鏈可變(VH)域；及

(2) MAB-A 之人源化/經最佳化變異體之該 VL 輕鏈可變(VL)域。

【第 3 項】如申請專利範圍第 1 項或第 2 項中任一項之免疫共軛物，其中 MAB-A 之該經最佳化變異體之該重鏈可變(VH)域之該 CDR_{H1} 域、CDR_{H2} 域及 CDR_{H3} 域分別具有以下胺基酸序列：

(1) **SEQ ID NO:47** (SYWX₁H)

其中：X₁ 為 M 或 I；

(2) **SEQ ID NO:48** (EIPIX₂GHTNYNEX₃FX₄X₅)

其中：X₂、X₃、X₄及 X₅經獨立地選擇，且

其中：X₂ 為 N 或 F；X₃ 為 K 或 R；

X₄ 為 K 或 Q；且

X₅ 為 S 或 G；及

(3) **SEQ ID NO:49** (GGYYYYX₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁DY)

其中：X₆ 為 P、F、Y、W、I、L、V、T、G 或 D，且 X₇、X₈、X₉、X₁₀ 及 X₁₁ 經選擇使得：

(A) 當 X₆ 為 P 時：

X₇ 為 K 或 R；**X₈** 為 F 或 M；**X₉** 為 G；

X₁₀ 為 W 或 F；且 **X₁₁** 為 M、L 或 K；

(B) 當 **X₆** 為 F、Y 或 W 時：

X₇ 為 N 或 H；**X₈** 為 S 或 K；**X₉** 為 G 或 A；

X₁₀ 為 T 或 V；且 **X₁₁** 為 M、L 或 K；

(C) 當 **X₆** 為 I、L 或 V 時：

X₇ 為 G；**X₈** 為 K；**X₉** 為 G 或 A；

X₁₀ 為 V；且 **X₁₁** 為 M、L 或 K；

(D) 當 **X₆** 為 T 時：

X₇ 為 G；**X₈** 為 K、M 或 N；**X₉** 為 G；

X₁₀ 為 V 或 T；且 **X₁₁** 為 L 或 M；

(E) 當 **X₆** 為 G 時：

X₇ 為 G；**X₈** 為 S；**X₉** 為 G；

X₁₀ 為 V；且 **X₁₁** 為 L；且

(F) 當 **X₆** 為 D 時：

X₇ 為 S；**X₈** 為 N；**X₉** 為 A；

X₁₀ 為 V；且 **X₁₁** 為 L。

【第 4 項】如申請專利範圍第 1 項至第 3 項中任一項之免疫共軛物，其中

MAB-A 之該經最佳化變異體之該重鏈可變(VH)域包含胺基酸序列 **SEQ ID**

NO:15 之：

EVQLVESGGG	LVKPGGSLRL	SCAASGFTFS	<u>SYWX₁</u> HWVRQA
PGKGLEWVGE	<u>IIPIX₂</u> GHTNY	<u>NEX₃</u> <u>FX₄</u> <u>X₅</u> RETI	SLDNSKNTLY
LQMGSRLRAED	TAVYYCARGG	<u>YYYYX₆</u> <u>X₇</u> <u>X₈</u> <u>X₉</u> <u>X₁₀</u> <u>X₁₁</u>	
<u>DYWGQ</u> GTTVT	VSS		

其中：**X₁**、**X₂**、**X₃**、**X₄**、**X₅** 及 **X₆** 經獨立地選擇，

其中：**X₁** 為 M 或 I；**X₂** 為 N 或 F；

X₃ 為 K 或 R； X₄ 為 K 或 Q；

X₅ 為 S 或 G，且 X₆ 為 P、F、Y、W、I、L、V、T、G 或 D；

其中：X₇、X₈、X₉、X₁₀ 及 X₁₁ 經選擇使得：

當 X₆ 為 P 時；X₇ 為 K 或 R；X₈ 為 F 或 M；X₉ 為 G；X₁₀ 為 W 或 F；且 X₁₁ 為 M、L 或 K；

當 X₆ 為 F、Y 或 W 時；X₇ 為 N 或 H；X₈ 為 S 或 K；X₉ 為 G 或 A；X₁₀ 為 T 或 V；且 X₁₁ 為 M、L 或 K；

當 X₆ 為 I、L 或 V 時；X₇ 為 G；X₈ 為 K；X₉ 為 G 或 A；X₁₀ 為 V；且 X₁₁ 為 M、L 或 K；

當 X₆ 為 T 時；X₇ 為 G；X₈ 為 K、M 或 N；X₉ 為 G；X₁₀ 為 V 或 T；且 X₁₁ 為 L 或 M；

當 X₆ 為 G 時；X₇ 為 G；X₈ 為 S；X₉ 為 G；X₁₀ 為 V；且 X₁₁ 為 L；

當 X₆ 為 D 時；X₇ 為 S；X₈ 為 N；X₉ 為 A；X₁₀ 為 V；且 X₁₁ 為 L。

【第 5 項】如申請專利範圍第 4 項之免疫共軛物，其中 MAB-A 之該經最佳化變異體之該重鏈可變(VH)域係選自由以下所組成之群組：

(1) hMAB-A VH(1) (SEQ ID NO:16)；

(2) hMAB-A VH(2) (SEQ ID NO:17)；

(3) hMAB-A VH(3) (SEQ ID NO:18)；

(4) hMAB-A VH(4) (SEQ ID NO:19)；

(5) hMAB-A VH(2A) (SEQ ID NO:20)；

(6) hMAB-A VH(2B) (SEQ ID NO:21)；

(7) hMAB-A VH(2C) (SEQ ID NO:22)；

(8) hMAB-A VH(2D) (SEQ ID NO:23)；

(9) hMAB-A VH(2E) (SEQ ID NO:24)；

- (10) hMAB-A VH(2F) (SEQ ID NO:25) ;
- (11) hMAB-A VH(2G) (SEQ ID NO:26) ;
- (12) hMAB-A VH(2H) (SEQ ID NO:27) ;
- (13) hMAB-A VH(2I) (SEQ ID NO:28) ; 及
- (14) hMAB-A VH(2J) (SEQ ID NO:29) 。

【第 6 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 5 項中任一項之免疫共軛物，其中 MAB-A 之該經最佳化變異體之該輕鏈可變(VL)域之該 CDR_{L1} 域、CDR_{L2} 域及 CDR_{L3} 域分別具有以下胺基酸序列：

- (1) SEQ ID NO:66 (X₁₂ASQSVDYX₁₃GDSYX₁₄N)
其中：X₁₂、X₁₃、X₁₄經獨立地選擇，且
其中：X₁₂為 K 或 R；X₁₃為 D 或 S；且 X₁₄為 M 或 L；
- (2) SEQ ID NO:13 (AASDLES)；及
- (3) SEQ ID NO:67 (QQSX₁₅X₁₆X₁₇PFT)
其中：X₁₅、X₁₆及 X₁₇經獨立地選擇，且
其中：X₁₅為 H 或 Y；X₁₆為 E 或 S；且 X₁₇為 D 或 T。

【第 7 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 6 項中任一項之免疫共軛物，其中該輕鏈可變(VL)域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:53：

DIVMTQSPDS	LAVSLGERAT	ISCX ₁₂ <u>ASQSVD</u>
<u>YX₁₃GDSYX₁₄NWY</u>	QQKPGQPPKL	LIYA <u>AASDLES</u>
GIPARFSGSG	SGTDFTLTIS	SLEPEDFATY
YC <u>QQSX₁₅X₁₆X₁₇PF</u>	TFGQGTKLEI	K

- 其中： X₁₂、X₁₃、X₁₄、X₁₅、X₁₆及 X₁₇經獨立地選擇，且
- 其中： X₁₂為 K 或 R；X₁₃為 D 或 S；
- X₁₄為 M 或 L； X₁₅為 H 或 Y；
- X₁₆為 E 或 S；且 X₁₇為 D 或 T。

【第 8 項】 如申請專利範圍第 7 項之免疫共軛物，其中 MAB-A 之該經最佳化變異體之該輕鏈可變(VL)域係選自由以下所組成之群組：

- (1) hMAB-A VL(1) (SEQ ID NO:54)；
- (2) hMAB-A VL(2) (SEQ ID NO:55)；
- (3) hMAB-A VL(3) (SEQ ID NO:56)；
- (4) hMAB-A VL(4) (SEQ ID NO:57)；
- (5) hMAB-A VL(2A) (SEQ ID NO:20)。

【第 9 項】 如申請專利範圍第 1 項之免疫共軛物，其中該 CDR_{H1} 域包含胺基酸序列 SYWMH (SEQ ID NO:8)，該 CDR_{H2} 域包含胺基酸序列 EIPIFGHTNYNEKFKS (SEQ ID NO:35)，且該 CDR_{H3} 域包含胺基酸序列 GGYYYYPRQGFLDY (SEQ ID NO:45)。

【第 10 項】 如申請專利範圍第 1 項或第 9 項中任一項之免疫共軛物，其中該 CDR_{L1} 域包含胺基酸序列 KASQSVDYSGDSYMN (SEQ ID NO:62)，該 CDR_{L2} 域包含胺基酸序列 AASDLES (SEQ ID NO:13)，且該 CDR_{L3} 域包含胺基酸序列 QQSHEDPFT (SEQ ID NO:14)。

【第 11 項】 如申請專利範圍第 9 項或第 10 項中任一項之免疫共軛物，其中該免疫共軛物包含：

- (A) hMAB-A(2I.2)之重鏈可變(VH)域(SEQ ID NO:28)；或
- (B) hMAB-A(2I.2)之輕鏈可變(VL)域(SEQ ID NO:55)；或
- (C) hMAB-A(2I.2)之重鏈可變(VH)域(SEQ ID NO:28)及 hMAB-A(2I.2)之輕鏈可變(VL)域(SEQ ID NO:55)。

【第 12 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 11 項中任一項之免疫共軛物，其中該免疫共軛物包含 Fc 區。

【第 13 項】 如申請專利範圍第 12 項之免疫共軛物，其中該 Fc 區為包含以下

之變異體 Fc 區：

- (a) 減少該變異體 Fc 區對 FcγR 之親和力之一或多個胺基酸修飾；及/或
- (b) 引入半胱胺酸殘基之一或多個胺基酸修飾。

【第 14 項】 如申請專利範圍第 13 項之免疫共軛物，其中減少該變異體 Fc 區對 FcγR 之親和力的該一或多個胺基酸修飾包含：

- (A) L234A；
- (B) L235A；或
- (C) L234A 及 L235A；

其中該編號為如 Kabat 中之 EU 索引之編號。

【第 15 項】 如申請專利範圍第 13 項或第 14 項中任一項之免疫共軛物，其中引入半胱胺酸殘基的該一或多個胺基酸修飾包含 S442C，其中該編號為如 Kabat 中之 EU 索引之編號。

【第 16 項】 如申請專利範圍第 1 項之免疫共軛物，其中該免疫共軛物包含特異性結合至人類 ADAM9 及 cynoADAM9 之人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其中該人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段共軛至該藥理學藥劑。

【第 17 項】 如申請專利範圍第 16 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有選自由以下所組成之群組之序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域：

- (a) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 10 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (b) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 10 以及 SEQ ID NO: 63、13、14；
- (c) 分別 SEQ ID NO: 8、36 及 10 以及 SEQ ID NO: 63、13、14；及
- (d) 分別 SEQ ID NO: 34、36 及 10 以及 SEQ ID NO: 64、13、65。

【第 18 項】 如申請專利範圍第 16 項或第 17 項之免疫共軛物，其中該人源化

抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)，該重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)具有與選自由以下所組成之群組之序列至少 90%、至少 95%或至少 99%一致的序列：

- (a) 分別 SEQ ID NO:17 及 SEQ ID NO:55；
- (b) 分別 SEQ ID NO:17 及 SEQ ID NO:56；
- (c) 分別 SEQ ID NO:18 及 SEQ ID NO:56；及
- (d) 分別 SEQ ID NO:19 及 SEQ ID NO:57。

【第 19 項】 如申請專利範圍第 18 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)，該重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)具有選自由以下所組成之群組之序列：

- (a) 分別 SEQ ID NO:17 及 SEQ ID NO:55；
- (b) 分別 SEQ ID NO:17 及 SEQ ID NO:56；
- (c) 分別 SEQ ID NO:18 及 SEQ ID NO:56；及
- (d) 分別 SEQ ID NO:19 及 SEQ ID NO:57。

【第 20 項】 如申請專利範圍第 16 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段經最佳化以相較於嵌合或鼠親代抗體與 cynoADAM9 之結合親和力有至少 100 倍增強並保留與人類 ADAM9 的高親和力結合。

【第 21 項】 如申請專利範圍第 20 項之免疫共軛物，其中該抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有選自由以下所組成之群組之序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域：

- (a) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 37 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (b) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 38 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (c) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 39 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；

- (d) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 40 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (e) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 41 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (f) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 42 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (g) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 43 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (h) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 44 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；
- (i) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14；及
- (j) 分別 SEQ ID NO: 8、35 及 46 以及 SEQ ID NO: 62、13、14。

【第 22 項】 如申請專利範圍第 21 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)，該重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)具有與選自由以下所組成之群組之序列至少 90%、至少 95%或至少 99%一致的序列：

- (a) 分別 SEQ ID NO:20 及 SEQ ID NO:55；
- (b) 分別 SEQ ID NO:21 及 SEQ ID NO:55；
- (c) 分別 SEQ ID NO:22 及 SEQ ID NO:55；
- (d) 分別 SEQ ID NO:23 及 SEQ ID NO:55；
- (e) 分別 SEQ ID NO:24 及 SEQ ID NO:55；
- (f) 分別 SEQ ID NO:25 及 SEQ ID NO:55；
- (g) 分別 SEQ ID NO:26 及 SEQ ID NO:55；
- (h) 分別 SEQ ID NO:27 及 SEQ ID NO:55；
- (i) 分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55；及
- (j) 分別 SEQ ID NO:29 及 SEQ ID NO:55。

【第 23 項】 如申請專利範圍第 22 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)，該重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)具有選自由以下所組成之群組之序列：

- (a) 分別 SEQ ID NO:20 及 SEQ ID NO:55；
- (b) 分別 SEQ ID NO:21 及 SEQ ID NO:55；
- (c) 分別 SEQ ID NO:22 及 SEQ ID NO:55；
- (d) 分別 SEQ ID NO:23 及 SEQ ID NO:55；
- (e) 分別 SEQ ID NO:24 及 SEQ ID NO:55；
- (f) 分別 SEQ ID NO:25 及 SEQ ID NO:55；
- (g) 分別 SEQ ID NO:26 及 SEQ ID NO:55；
- (h) 分別 SEQ ID NO:27 及 SEQ ID NO:55；
- (i) 分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55；及
- (j) 分別 SEQ ID NO:29 及 SEQ ID NO:55。

【第 24 項】 如申請專利範圍第 16 項至第 23 項中任一項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體為包含 Fc 區之全長抗體。

【第 25 項】 如申請專利範圍第 24 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體包含具有選自由以下所組成之群組之序列的重鏈及輕鏈：

- (a) 分別 SEQ ID NO:50 及 SEQ ID NO:68；
- (b) 分別 SEQ ID NO:51 及 SEQ ID NO:68；及
- (c) 分別 SEQ ID NO:52 及 SEQ ID NO:68。

【第 26 項】 如申請專利範圍第 16 項至第 25 項中任一項之免疫共軛物，其中該 Fc 區為包含以下之變異體 Fc 區：

- (a) 減少該變異體 Fc 區對 FcγR 之親和的之一或多個胺基酸修飾，其選自由以下所組成之群組：L234A、L235A、及 L234A 及 L235A；及/或
- (b) 在 S442 處引入半胱胺酸殘基的胺酸修飾，其中該編號為如 Kabat 中之 EU 索引之編號；及/或
- (c) 延長該變異體 Fc 區對 FcRn 之半衰期之一或多個胺基酸取代，其選自

由以下所組成之群組：M252Y、S254T 及 T256E。

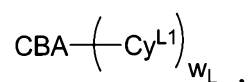
【第 27 項】 如申請專利範圍第 21 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體包含具有選自由以下所組成之群組之序列的重鏈及輕鏈：

- (a) 分別 SEQ ID NO:141 及 SEQ ID NO:68；
- (b) 分別 SEQ ID NO:142 及 SEQ ID NO:68；
- (c) 分別 SEQ ID NO:143 及 SEQ ID NO:68；
- (d) 分別 SEQ ID NO:151 及 SEQ ID NO:68；
- (e) 分別 SEQ ID NO:152 及 SEQ ID NO:68；
- (f) 分別 SEQ ID NO:153 及 SEQ ID NO:68；及
- (g) 分別 SEQ ID NO:154 及 SEQ ID NO:68。

【第 28 項】 如申請專利範圍第 27 項之免疫共軛物，其中 SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:151、SEQ ID NO:152、SEQ ID NO:153 或 SEQ ID NO:154 中之 X 為離胺酸。

【第 29 項】 如申請專利範圍第 27 項之免疫共軛物，其中 SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:151、SEQ ID NO:152、SEQ ID NO:153 或 SEQ ID NO:154 中之 X 不存在。

【第 30 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 14 項及第 16 項至第 29 項中任一項之免疫共軛物，其中該免疫共軛物由下式表示：

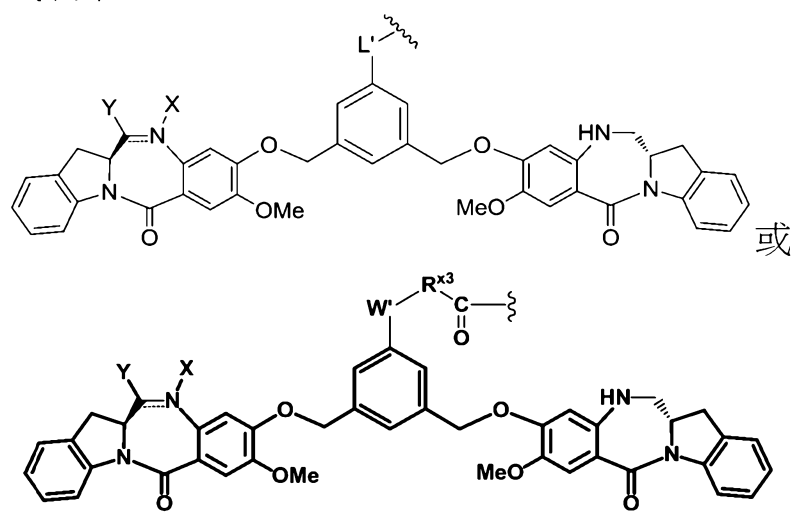


其中：

CBA 為如申請專利範圍第 1 項至第 14 項及第 16 項至第 29 項中任一項之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過離胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{L1} ；

W_L 為 1 至 20 之整數；且

Cy^{L1} 由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 $\equiv$ 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H 或(C₁-C₄)烷基；且當其為單鍵時，X 為-H 或胺保護部分，且 Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；

W' 為-NR^{e'}，

R^{e'} 為-(CH₂-CH₂-O)_n-R^k；

n 為 2 至 6 之整數；

R^k 為-H 或-Me；

R^{x3} 為(C₁-C₆)烷基；

L' 由下式表示：

-NR₅-P-C(=O)-(CR_aR_b)_m-C(=O)- (B1')；或

-NR₅-P-C(=O)-(CR_aR_b)_m-S-Z^{s1}- (B2')；

R₅ 為-H 或(C₁-C₃)烷基；

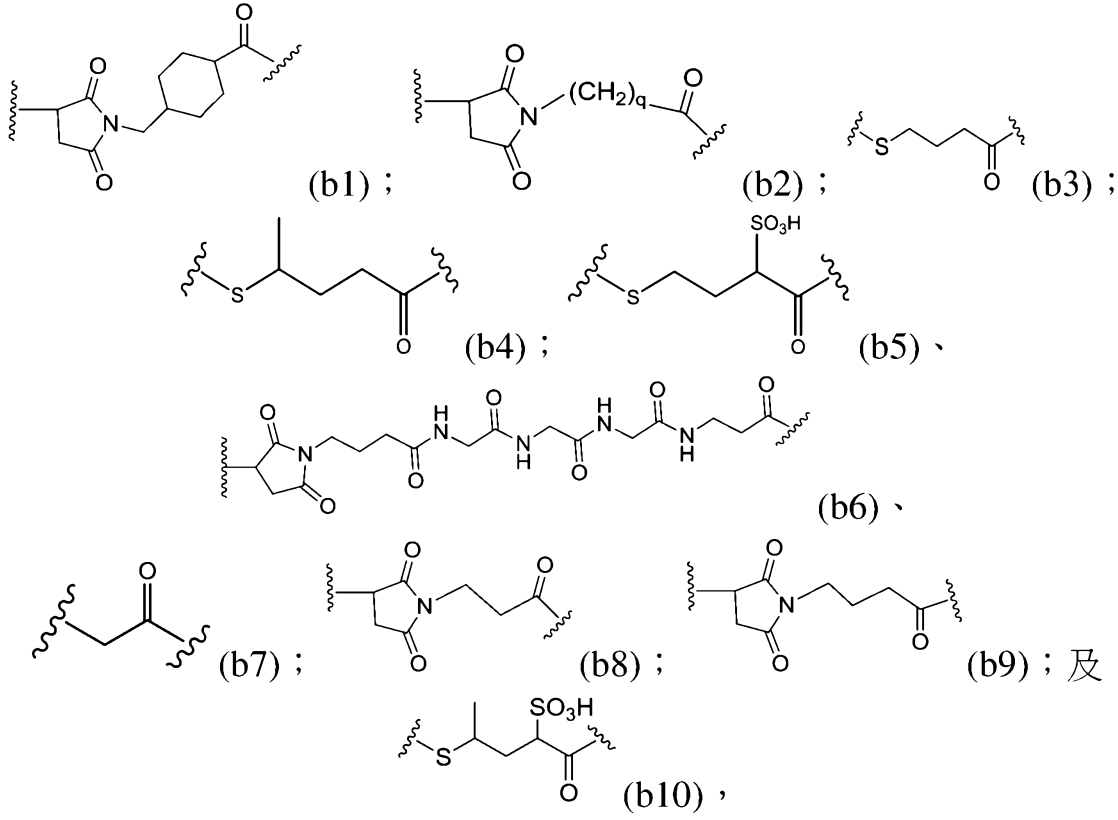
P 為胺基酸殘基或含有 2 至 20 之間個胺基酸殘基之肽；

R_a 及 R_b 在每次出現時各獨立地為-H、(C₁-C₃)烷基、或帶電取代基或可離

子化基團 Q；

m 為 1 至 6 之整數；且

Z^{sl} 係選自下式中之任一者：



其中 q 為 1 至 5 之整數。

【第 31 項】 如申請專利範圍第 30 項之免疫共軛物，其中 R_a 及 R_b 兩者為 H；
且 R₅ 為 H 或 Me。

【第 32 項】 如申請專利範圍第 30 項或第 31 項之免疫共軛物，其中 P 為含有
2 至 5 個胺基酸殘基之肽。

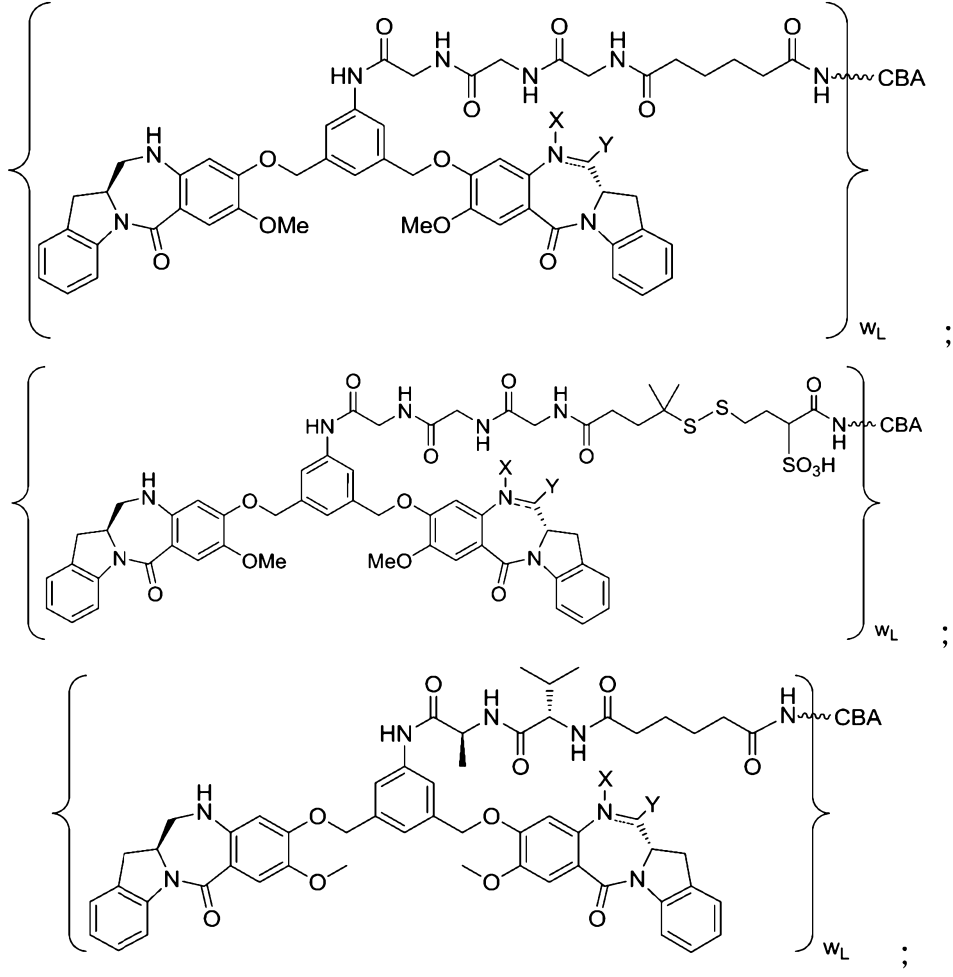
【第 33 項】 如申請專利範圍第 30 項至第 32 項中任一項之免疫共軛物，其中
P 係選自 Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、
Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-N⁹-甲苯磺醯
基-Arg、Phe-N⁹-硝基-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、
Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:144)、
β-Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:145)、Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO:146)、

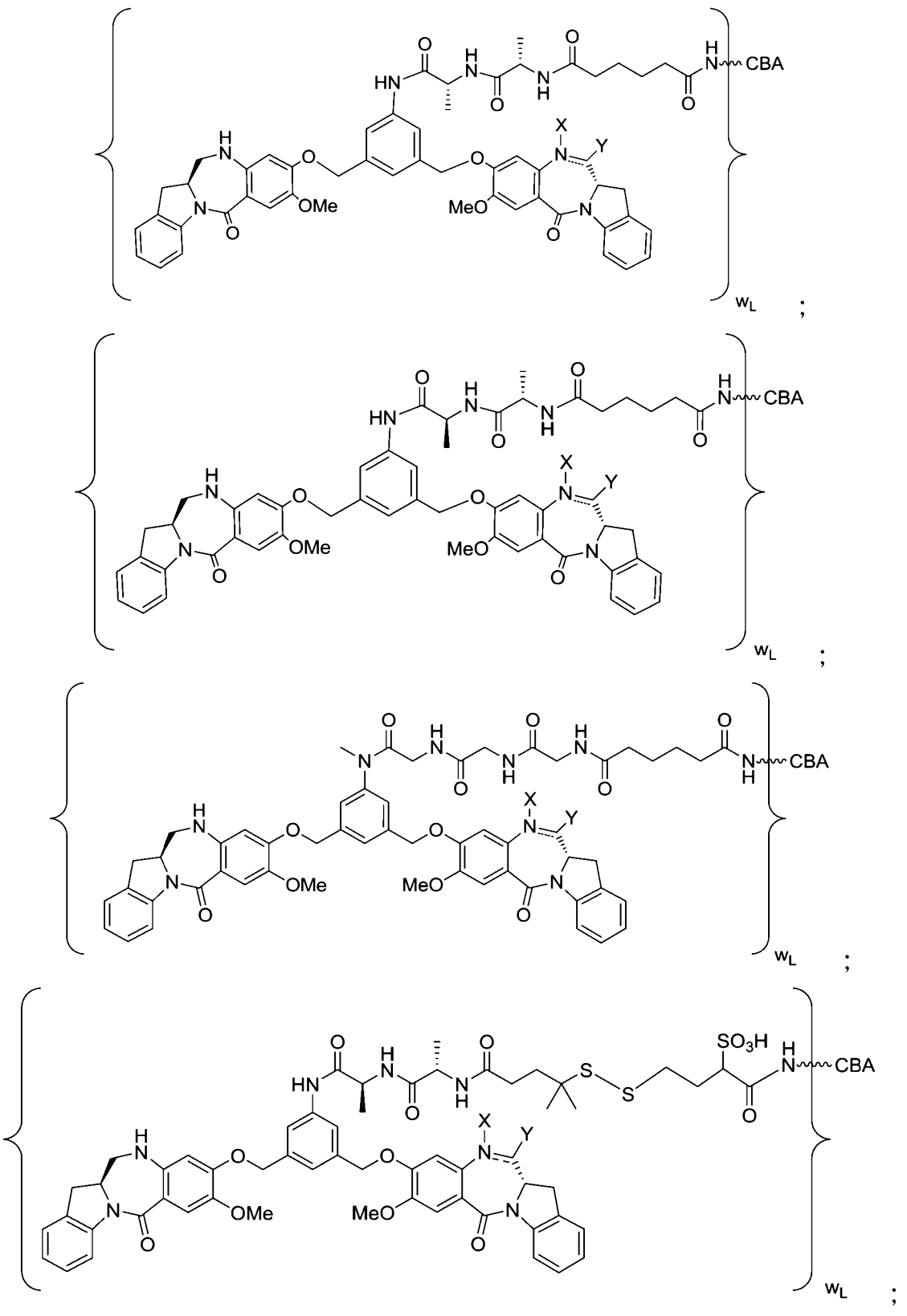
Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、
D-Val-Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、
D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、D-Ala-D-Ala、Ala-Met、
Met-Ala、Gln-Val、Asn-Ala、Gln-Phe 及 Gln-Ala。

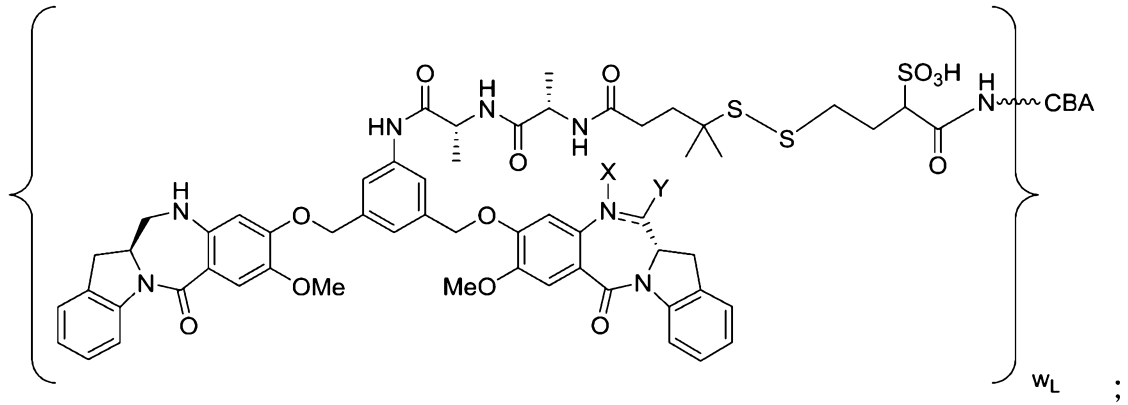
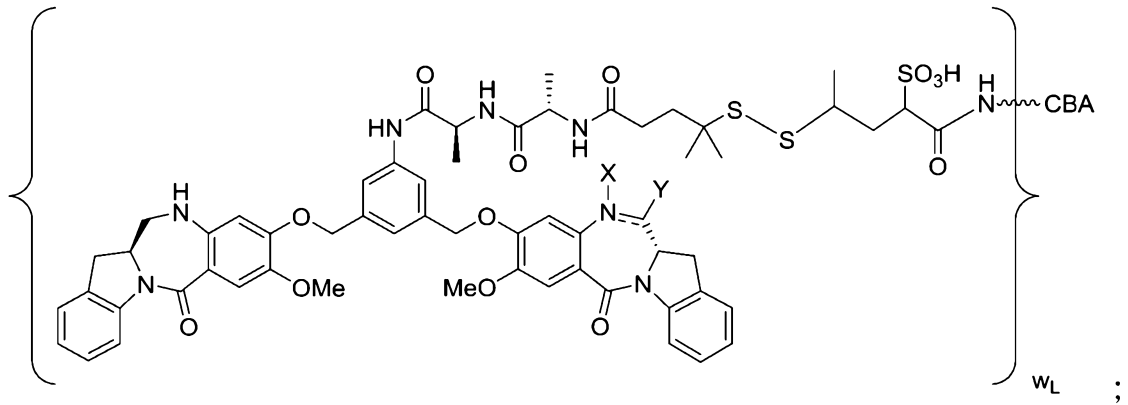
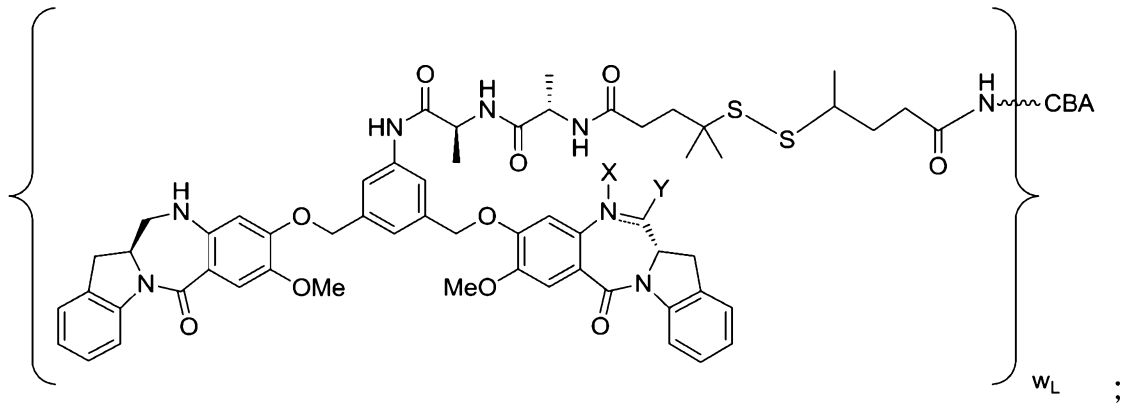
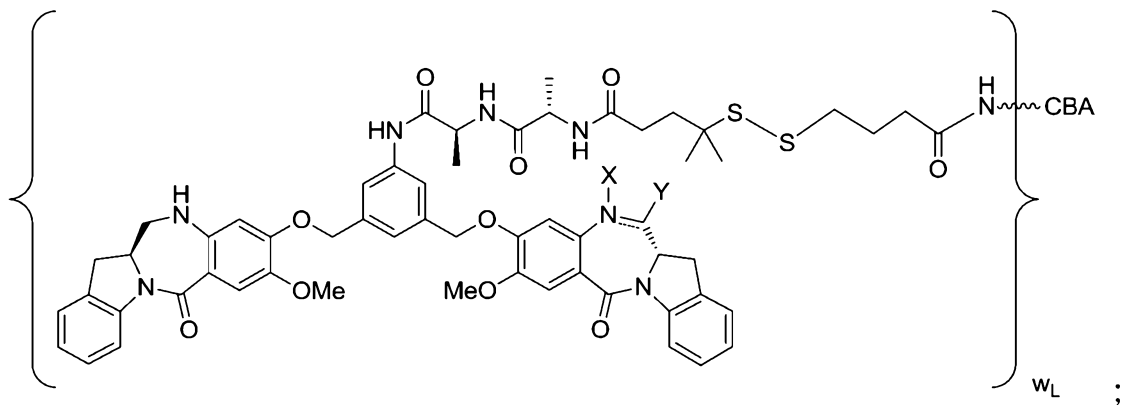
【第 34 項】 如申請專利範圍第 33 項之免疫共軛物，其中 P 為 Gly-Gly-Gly、
Ala-Val、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala 或 D-Ala-D-Ala。

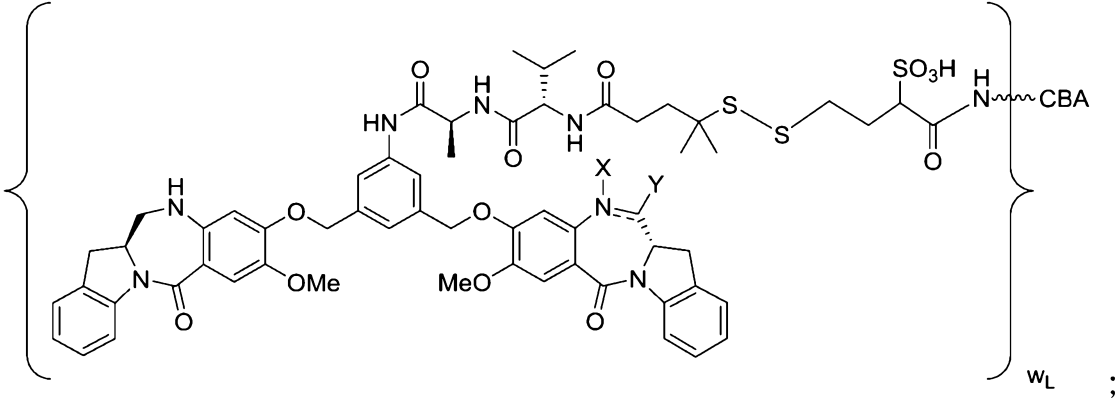
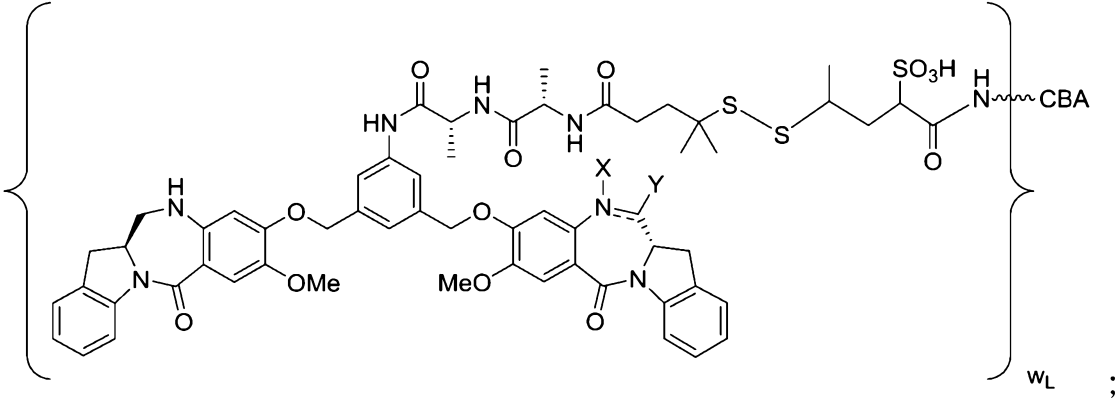
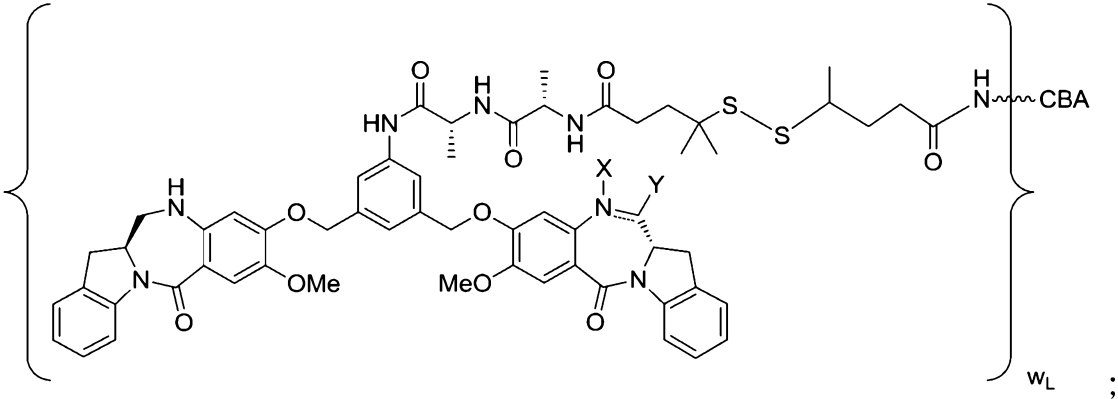
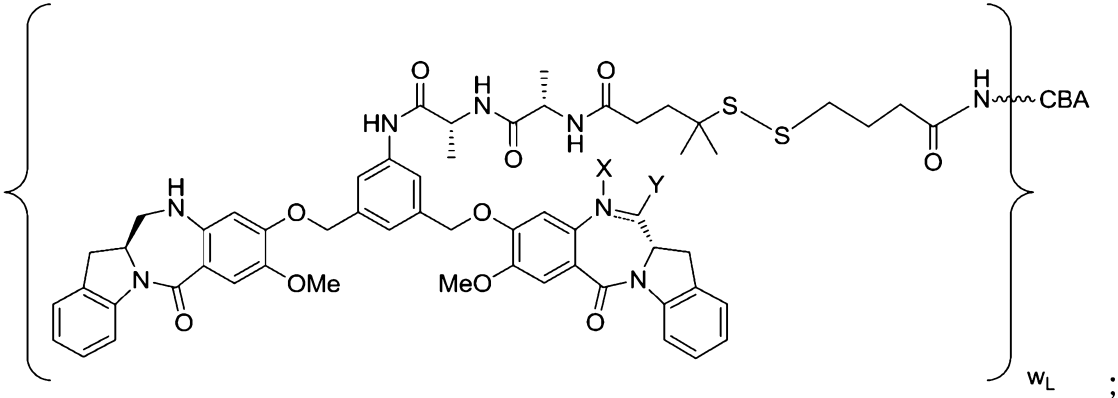
【第 35 項】 如申請專利範圍第 30 項至第 34 項中任一項之免疫共軛物，其中
Q 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。

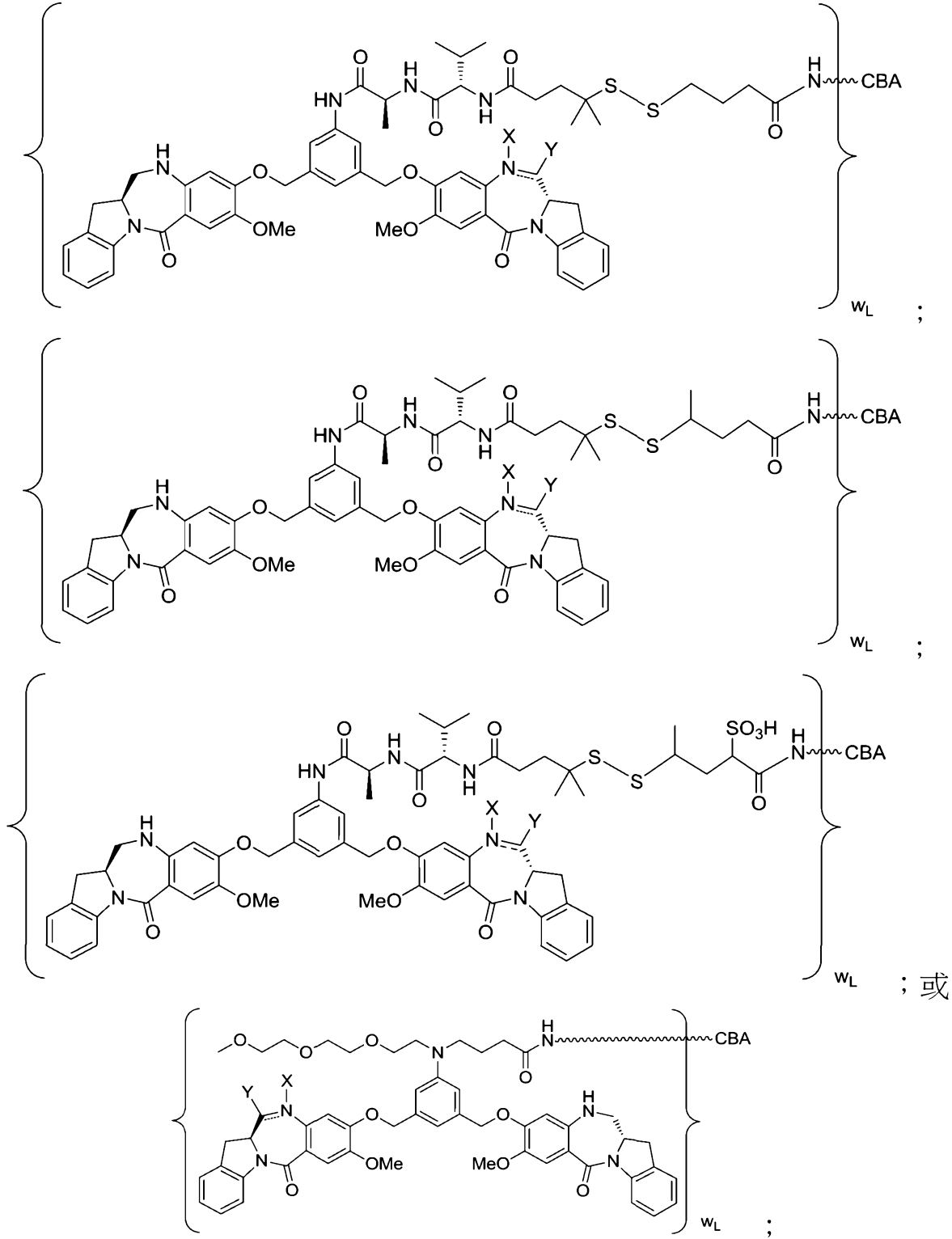
【第 36 項】 如申請專利範圍第 30 項之免疫共軛物，其中該免疫共軛物由下
式表示：







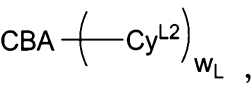




或其醫藥學上可接受之鹽，其中 w_L 為 1 至 10 之整數；N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H；且當其為單鍵時，X 為-H，且 Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。

【第 37 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 14 項及第 16 項至第 29 項中任一項

之免疫共軛物，其中該免疫共軛物由下式表示：

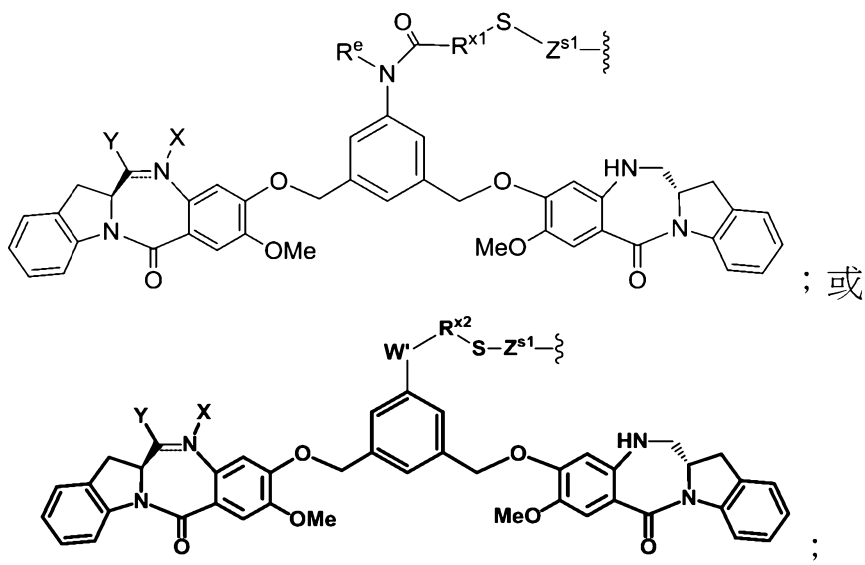


其中：

CBA 為如申請專利範圍第 1 項至第 14 項及第 16 項至第 29 項中任一項之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過離胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{L2} ；

WL 為 1 至 20 之整數；且

Cy^{L2} 由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H 或 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ 烷基；且當其為單鍵時，X 為-H 或胺保護部分，且 Y 為-OH 或 $\text{-SO}_3\text{H}$ ；

R^{x1} 及 R^{x2} 獨立地為 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基；

R^{e} 為-H 或 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基；

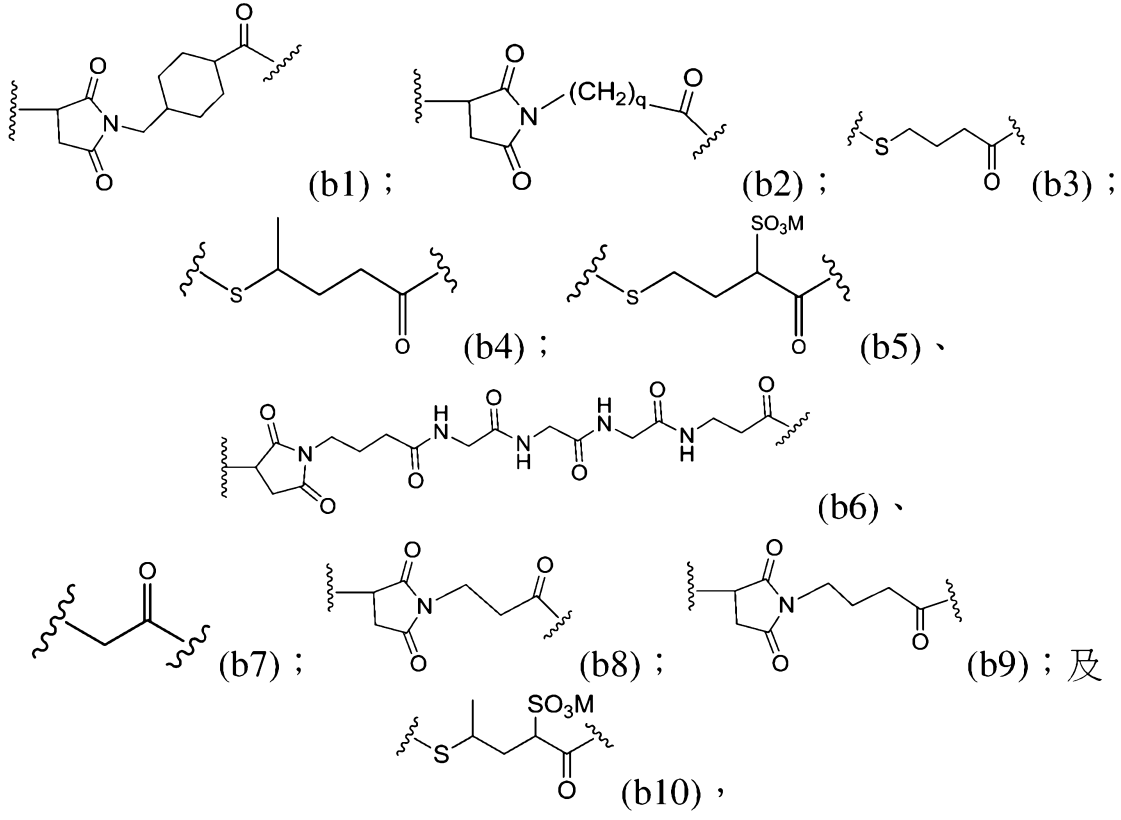
W' 為 $\text{-NR}^{\text{e'}}$ ，

$\text{R}^{\text{e'}}$ 為 $\text{-(CH}_2\text{-CH}_2\text{-O)}_n\text{-R}^{\text{k}}$ ；

n 為 2 至 6 之整數；

R^k 為 -H 或 -Me；

Z^{s1} 係選自下式中之任一者：

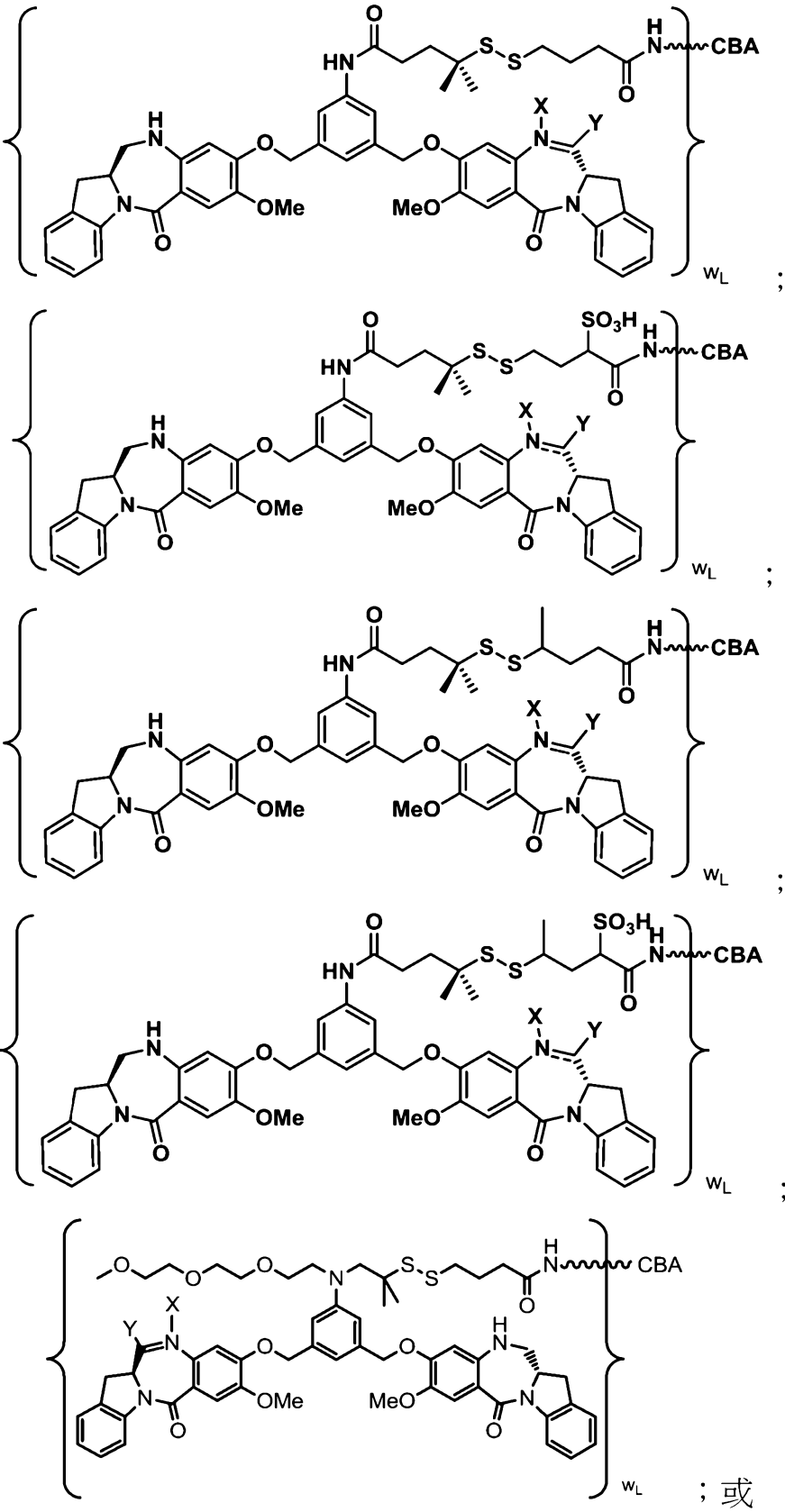


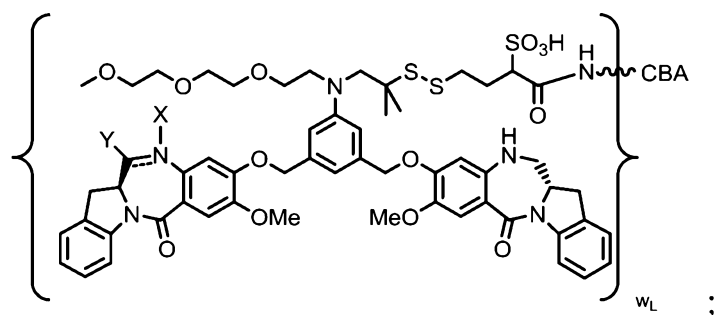
其中 q 為 1 至 5 之整數。

【第 38 項】 如申請專利範圍第 37 項之免疫共軛物，其中 R^e 為 H 或 Me； R^{x1} 及 R^{x2} 獨立地為 $-(CH_2)_p-(CR^fR^g)-$ ，其中 R^f 及 R^g 各自獨立地為 -H 或 (C_1-C_4) 烷基；且 p 為 0、1、2 或 3。

【第 39 項】 如申請專利範圍第 38 項之免疫共軛物，其中 R^f 及 R^g 相同或不同，且選自 -H 及 -Me。

【第 40 項】 如申請專利範圍第 37 項之免疫共軛物，其中該免疫共軛物由下式表示：





或其醫藥學上可接受之鹽，其中 W_L 為 1 至 10 之整數；N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為 -H；且當其為單鍵時，X 為 -H，且 Y 為 -OH 或 -SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。

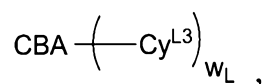
【第 41 項】 如申請專利範圍第 30 項至第 40 項之免疫共軛物，其中 N 與 C 之間的雙線 = 表示雙鍵，X 不存在，且 Y 為-H。

【第 42 項】 如申請專利範圍第 30 項至第 40 項之免疫共軛物，其中 N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵，X 為-H，且 Y 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。

【第 43 項】 如申請專利範圍第 42 項之免疫共軛物，其中 Y 為-SO₃H、-SO₃Na 或-SO₃K。

【第 44 項】 如申請專利範圍第 42 項之免疫共軛物，其中 Y 為-SO₃Na。

【第 45 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 14 項及第 16 項至第 29 項中任一項之免疫共軛物，其中該免疫共軛物由下式表示：

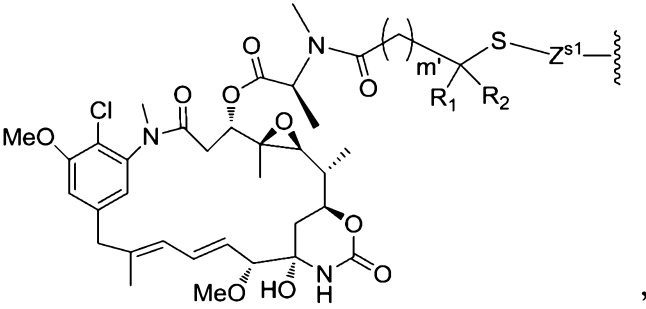


其中：

CBA 為如申請專利範圍第 1 項至第 14 項及第 16 項至第 29 項中任一項之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過離胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{L3} ；

W_1 為 1 至 20 之整數；

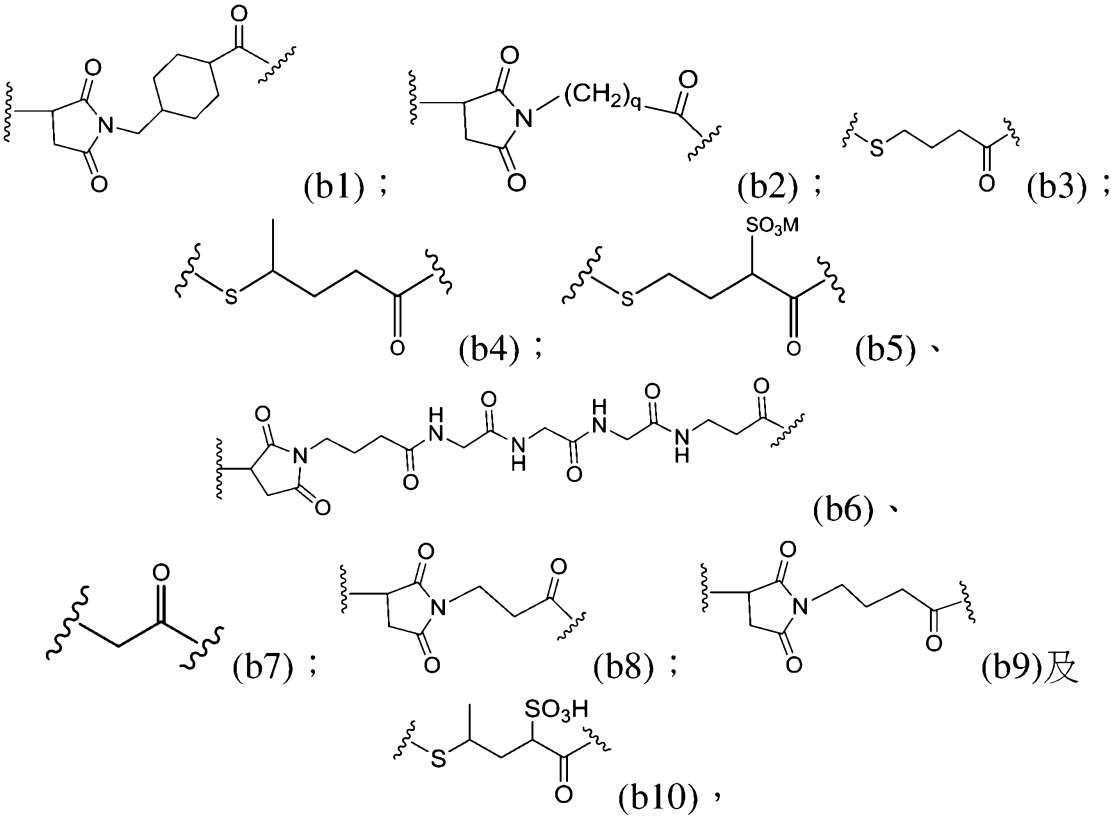
Cy^{L3} 由下式表示：



m'為 1 或 2；

R₁ 及 R₂ 各自獨立地為 H 或(C₁-C₃)烷基；且

Z^{s1} 係選自下式中之任一者：



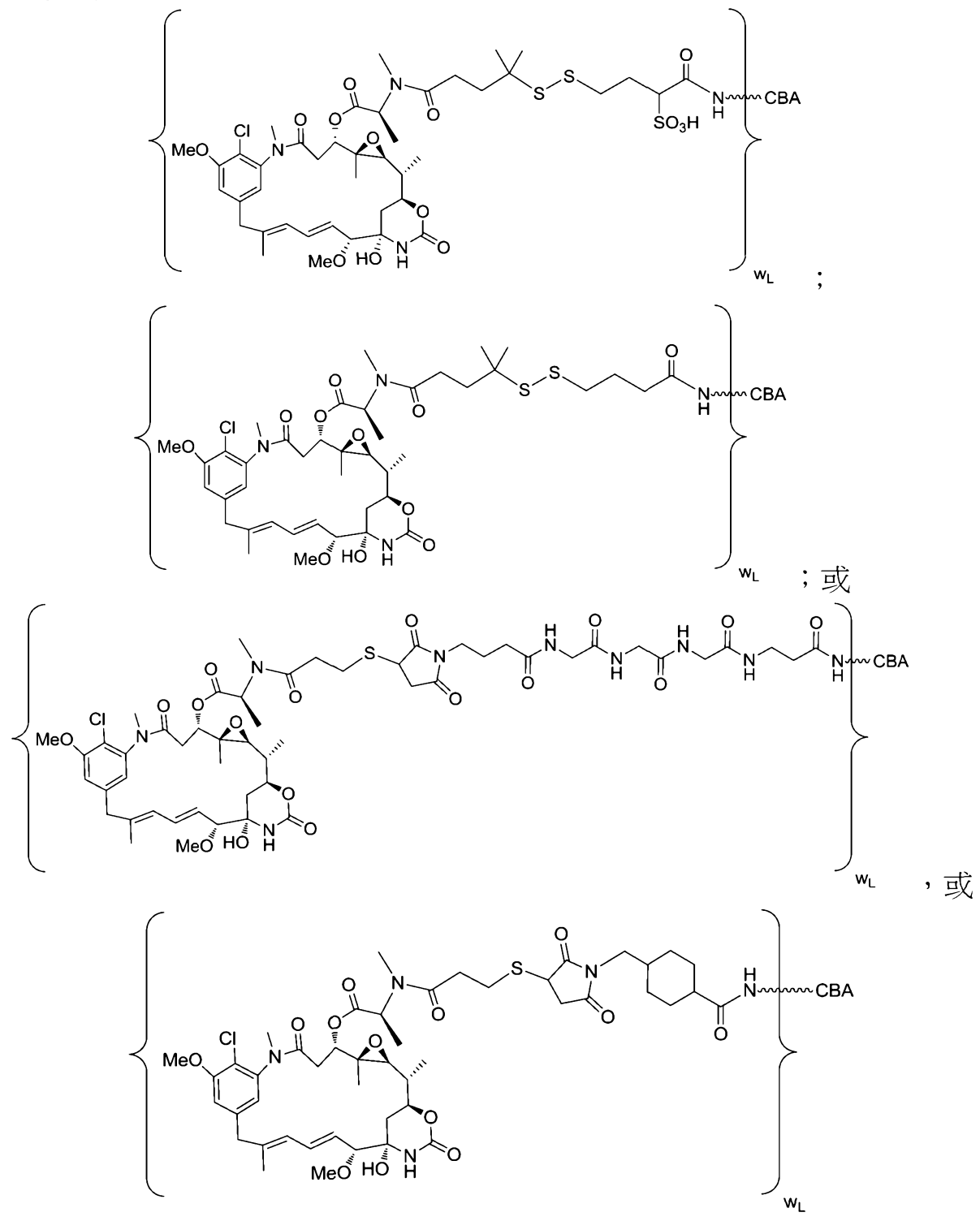
其中 q 為 1 至 5 之整數。

【第 46 項】 如申請專利範圍第 45 項之免疫共軛物，其中 m'為 1，且 R₁ 及 R₂兩者為 H。

【第 47 項】 如申請專利範圍第 45 項之免疫共軛物，其中 m'為 2，且 R₁ 及 R₂兩者為 Me。

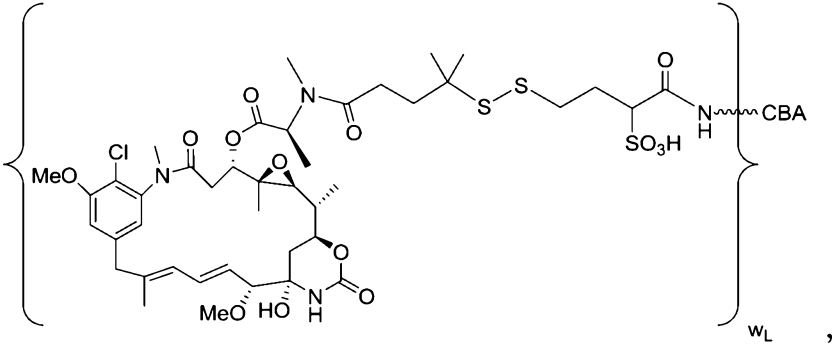
【第 48 項】 如申請專利範圍第 45 項之免疫共軛物，其中該免疫共軛物由下

式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中 w_L 為 1 至 10 之整數。

【第 49 項】 如申請專利範圍第 45 項之免疫共軛物，其中該免疫共軛物由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

w_L 為 1 至 10 之整數；

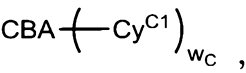
CBA 為人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其包含具有分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14 的序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域。

【第 50 項】 如申請專利範圍第 49 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55 的序列的重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)。

【第 51 項】 如申請專利範圍第 50 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:52 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。

【第 52 項】 如申請專利範圍第 49 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:151 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。

【第 53 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 24 項及第 26 項至第 29 項中任一項之免疫共軛物，其中該免疫共軛物由下式表示：

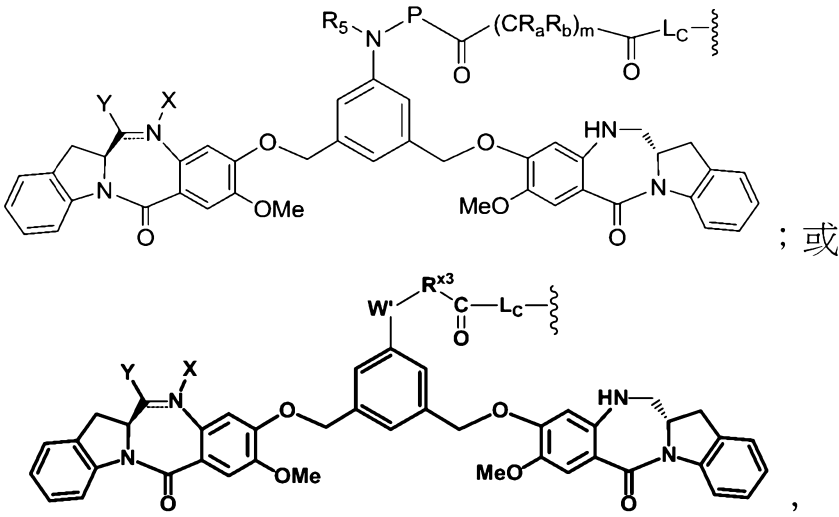


其中：

CBA 為如申請專利範圍第 1 項至第 24 項及第 26 項至第 29 項中任一項之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過半胱胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{C1} ；

W_C 為 1 或 2 ；

Cy^{Cl} 由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H 或(C₁-C₄)烷基；且當其為單鍵時，X 為-H 或胺保護部分，Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；

R₅ 為-H 或(C₁-C₃)烷基；

P 為胺基酸殘基或含有 2 至 20 個胺基酸殘基之肽；

R_a 及 R_b 在每次出現時獨立地為-H、(C₁-C₃)烷基、或帶電取代基或可離子化基團 Q ；

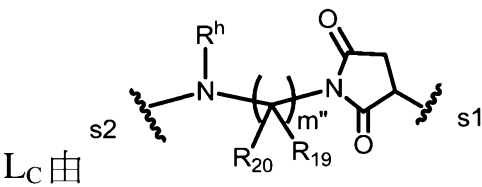
W' 為-NR^{e'}，

R^{e'} 為-(CH₂-CH₂-O)_n-R^k ；

n 為 2 至 6 之整數；

R^k 為-H 或-Me ；

R^{x3} 為(C₁-C₆)烷基；且，



表示，s1 為共價鍵聯至 CBA 之位點，且 s2

為共價鍵聯至 Cy^{Cl} 上之 $-C(=O)-$ 基團之位點；其中：

R_{19} 及 R_{20} 在每次出現時獨立地為 $-H$ 或 (C_1-C_3) 烷基；

m'' 為 1 與 10 之間的整數；且

R^h 為 $-H$ 或 (C_1-C_3) 烷基。

【第 54 項】 如申請專利範圍第 53 項之免疫共軛物，其中 R_a 及 R_b 兩者為 H ；
且 R_5 為 H 或 Me 。

【第 55 項】 如申請專利範圍第 53 項或第 54 項之免疫共軛物，其中 P 為含有
2 至 5 個胺基酸殘基之肽。

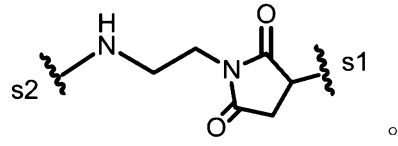
【第 56 項】 如申請專利範圍第 53 項至第 55 項中任一項之免疫共軛物，其中
 P 係選自 Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、
Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe- N^9 -甲苯磺醯
基-Arg、Phe- N^9 -硝基-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、
Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:144)、
 β -Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:145)、Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO:146)、
Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、
D-Val-Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、
D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、D-Ala-D-Ala、Ala-Met、
Met-Ala、Gln-Val、Asn-Ala、Gln-Phe 及 Gln-Ala。

【第 57 項】 如申請專利範圍第 56 項之免疫共軛物，其中 P 為 Gly-Gly-Gly、
Ala-Val、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala 或 D-Ala-D-Ala。

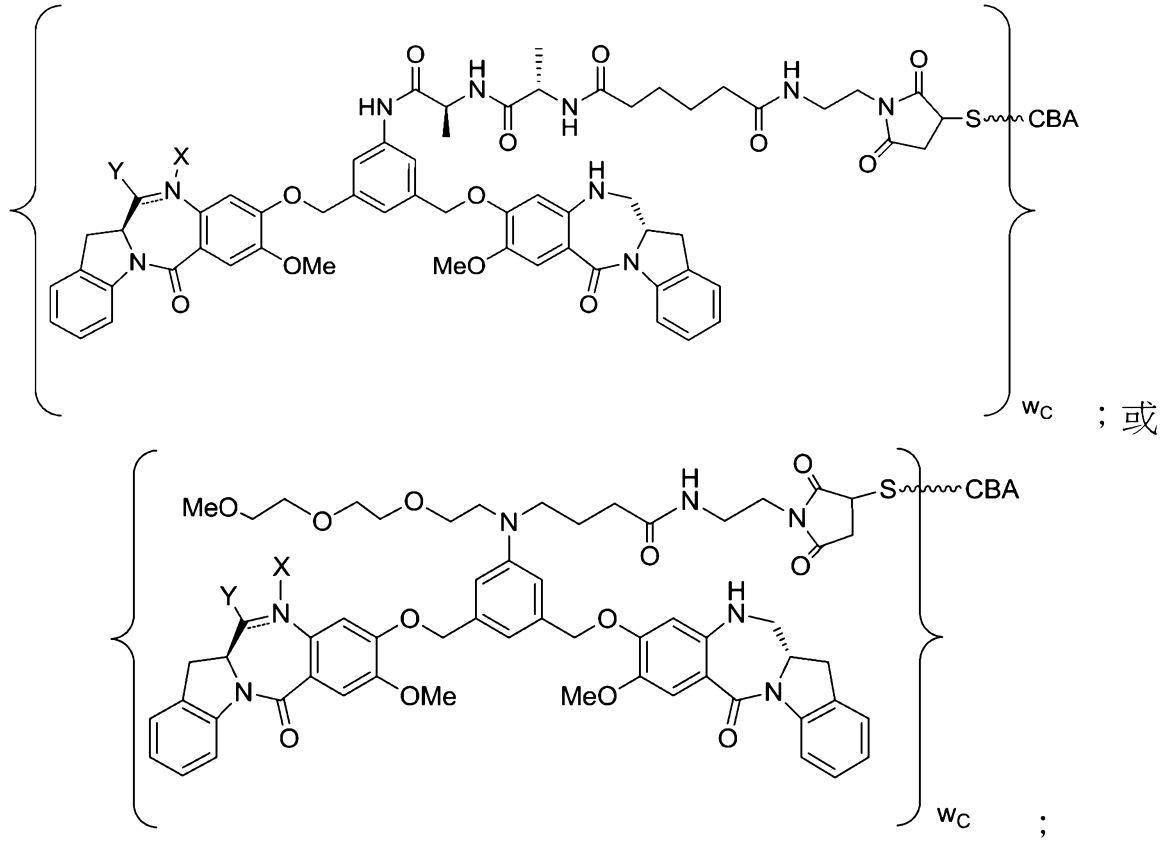
【第 58 項】 如申請專利範圍第 53 項至第 57 項中任一項之免疫共軛物，其中
 Q 為 $-SO_3H$ 或其醫藥學上可接受之鹽。

【第 59 項】 如申請專利範圍第 53 項至第 58 項中任一項之免疫共軛物，其中
 R_{19} 及 R_{20} 兩者為 H ；且 m'' 為 1 至 6 之整數。

【第 60 項】 如申請專利範圍第 59 項之免疫共軛物，其中-L_C-由下式表示：

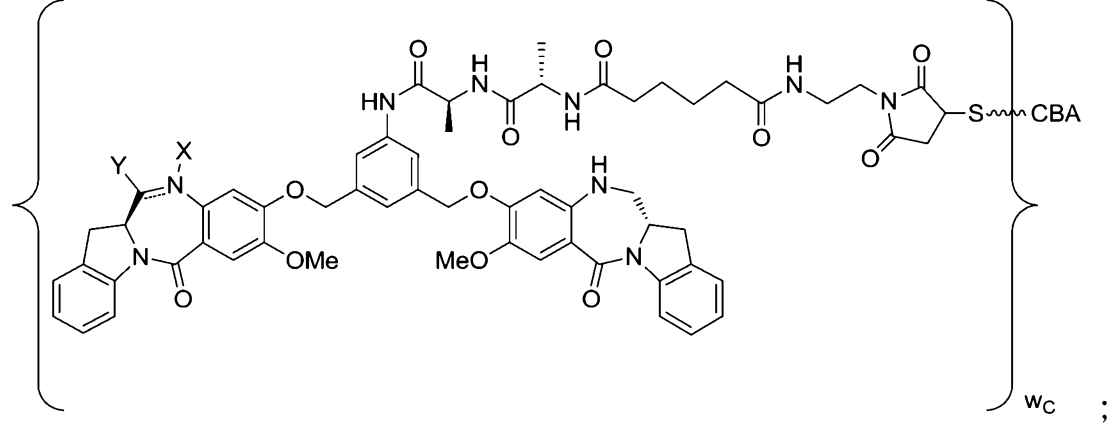


【第 61 項】 如申請專利範圍第 53 項之免疫共軛物，其由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中 N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H，且當其為單鍵時，X 為-H，且 Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。

【第 62 項】 如申請專利範圍第 53 項之免疫共軛物，其由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

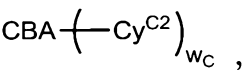
N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H，且當其為單鍵時，X 為-H，且 Y 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；

CBA 為人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其包含具有分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14 的序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域。

【第 63 項】 如申請專利範圍第 62 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55 的序列的重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)。

【第 64 項】 如申請專利範圍第 63 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:142 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。

【第 65 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 24 項及第 26 項至第 29 項中任一項之免疫共軛物，其中該免疫共軛物由下式表示：

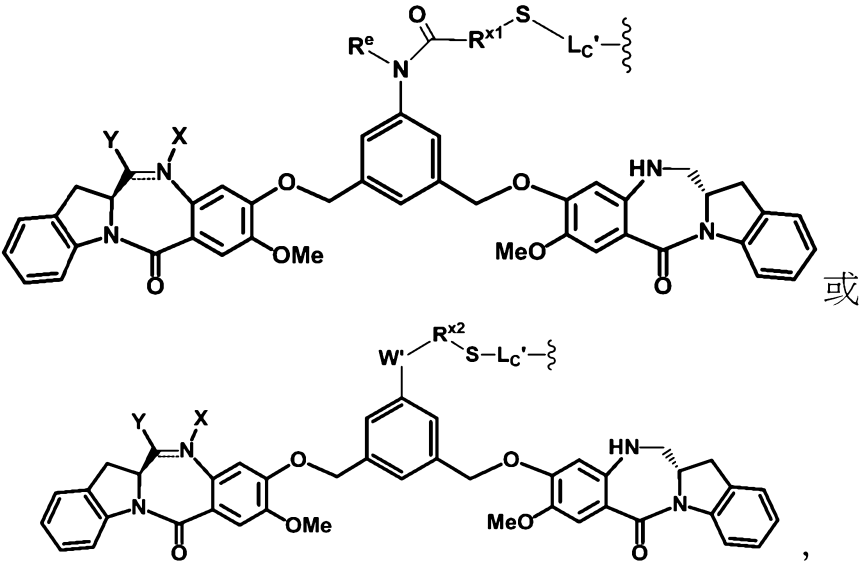


其中：

CBA 為如申請專利範圍第 1 項至第 24 項及第 26 項至第 29 項中任一項之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過半胱胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{C2}；

W_C 為 1 或 2；

Cy^{C2} 由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H 或(C₁-C₄)烷基；且當其為單鍵時，X 為-H 或胺保護部分，Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；

R^{x1} 為(C₁-C₆)烷基；

R^e 為-H 或(C₁-C₆)烷基；

W' 為-NR^{e'}；

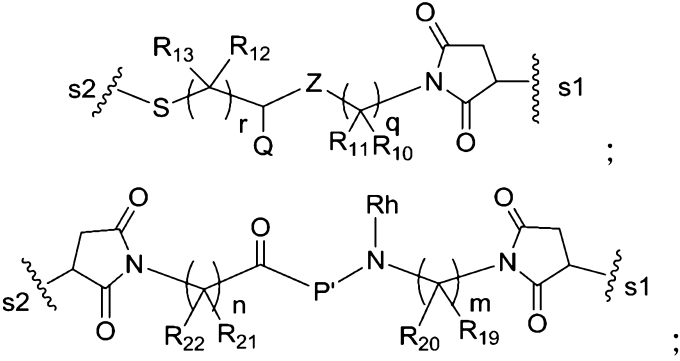
R^{e'} 為-(CH₂-CH₂-O)_n-R^k；

n 為 2 至 6 之整數；

R^k 為-H 或-Me；

R^{x2} 為(C₁-C₆)烷基；

Lc'由下式表示：



其中：

s1 為共價鍵聯至 CBA 之位點，且 s2 為共價鍵聯至 Cy^{C2} 上之-S-基團之位點；

Z 為-C(=O)-NR₉-或-NR₉-C(=O)-；

Q 為-H、帶電取代基或可離子化基團；

R₉、R₁₀、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₉、R₂₀、R₂₁ 及 R₂₂ 在每次出現時獨立地為-H 或(C₁-C₃)烷基；

q 及 r 在每次出現時獨立地為 0 與 10 之間的整數；

m 及 n 各自獨立地為 0 與 10 之間之整數；

R^h 為-H 或(C₁-C₃)烷基；且

P'為胺基酸殘基或含有 2 至 20 個胺基酸殘基之肽。

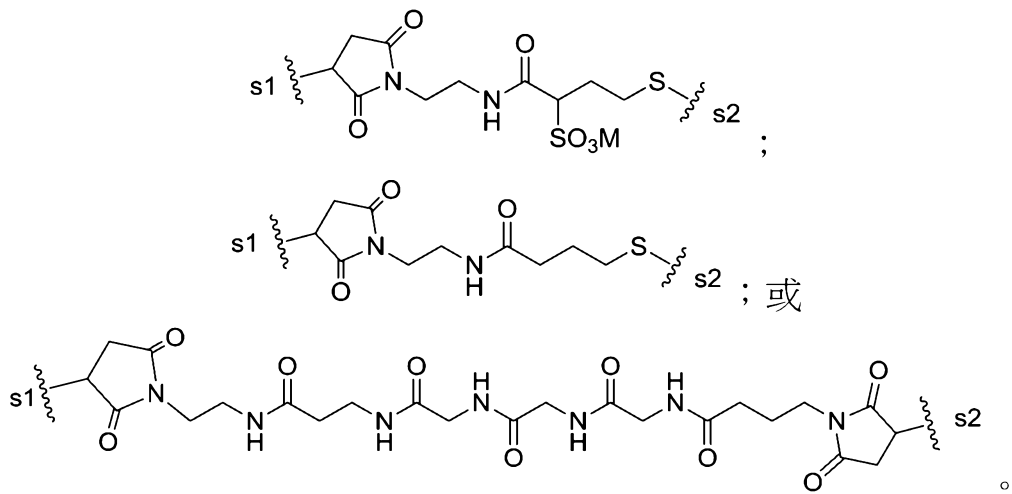
【第 66 項】 如申請專利範圍第 65 項之免疫共軛物，其中 P'為含有 2 至 5 個胺基酸殘基之肽。

【第 67 項】 如申請專利範圍第 65 項或第 66 項之免疫共軛物，其中 P'係選自 Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-N⁹-甲苯磺醯基-Arg、Phe-N⁹-硝基-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:144)、β-Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:145)、Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO:146)、Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、D-Val-Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、D-Ala-D-Ala、Ala-Met、Met-Ala、Gln-Val、Asn-Ala、Gln-Phe 及 Gln-Ala。

【第 68 項】 如申請專利範圍第 67 項之免疫共軛物，其中 P'為 Gly-Gly-Gly、

Ala-Val、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala 或 D-Ala-D-Ala。

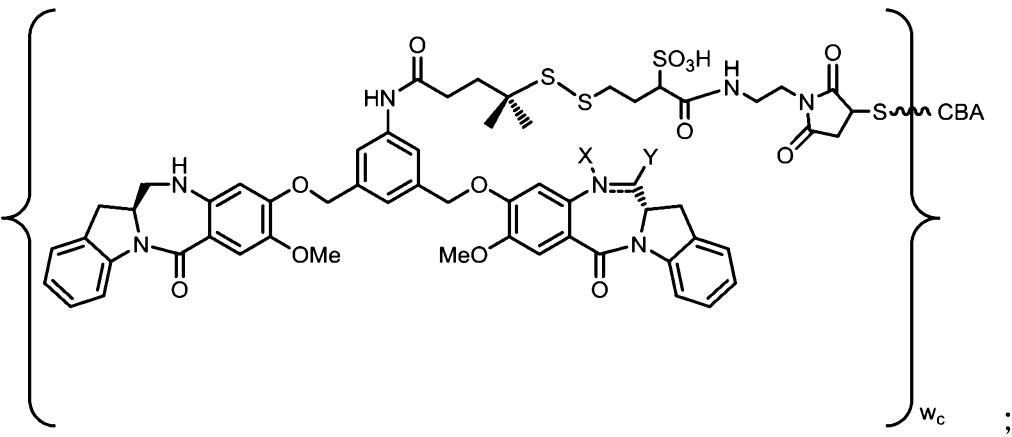
【第 69 項】 如申請專利範圍第 65 項之免疫共軛物，其中-Lc'-由下式表示：

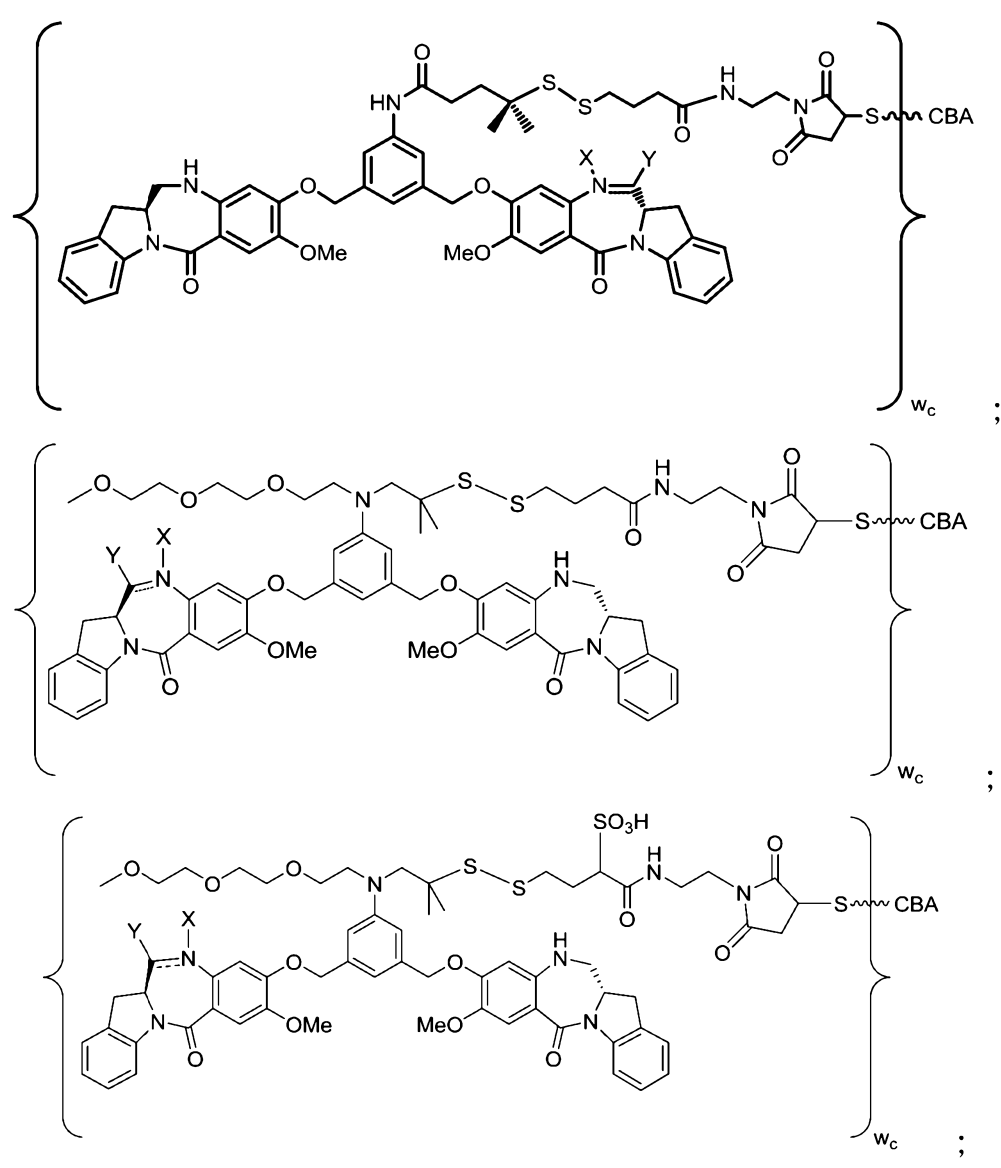


【第 70 項】 如申請專利範圍第 65 項至第 69 項中任一項之免疫共軛物，R^e 為 H 或 Me；R^{x1} 為-(CH₂)_p-(CR^fR^g)-，且 R^{x2} 為-(CH₂)_p-(CR^fR^g)-，其中 R^f 及 R^g 各自獨立地為-H 或(C₁-C₄)烷基；且 p 為 0、1、2 或 3。

【第 71 項】 如申請專利範圍第 70 項之免疫共軛物，其中 R^f 及 R^g 相同或不同，且選自-H 及-Me。

【第 72 項】 如申請專利範圍第 65 項之免疫共軛物，其由下式表示：





或其醫藥學上可接受之鹽，其中 N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H，且當其為單鍵時，X 為-H，且 Y 為-OH 或-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。

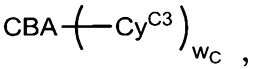
【第 73 項】 如申請專利範圍第 53 項至第 72 項之免疫共軛物，其中 N 與 C 之間的雙線 = 表示雙鍵，X 不存在，且 Y 為-H。

【第 74 項】 如申請專利範圍第 53 項至第 72 項之免疫共軛物，其中 N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵，X 為-H，且 Y 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽。

【第 75 項】 如申請專利範圍第 74 項之免疫共軛物，Y 為-SO₃H、-SO₃Na 或 -SO₃K。

【第 76 項】 如申請專利範圍第 74 項之免疫共軛物，其中 Y 為-SO₃Na。

【第 77 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 24 項及第 26 項至第 29 項中任一項之免疫共軛物，其中該免疫共軛物由下式表示：

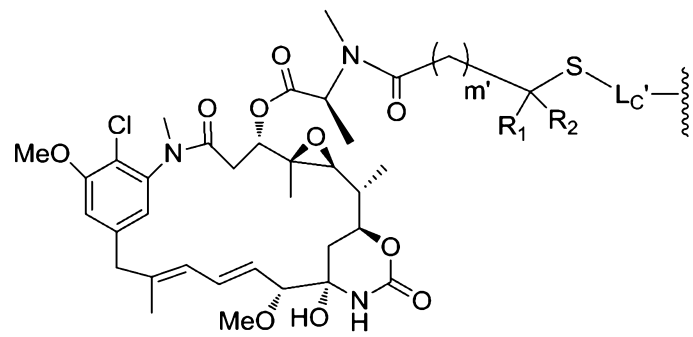


其中：

CBA 為如申請專利範圍第 1 項至第 24 項及第 26 項至第 29 項中任一項之抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其透過半胱胺酸殘基共價鍵聯至 Cy^{C3}；

W_C 為 1 或 2；

Cy^{C3} 由下式表示：

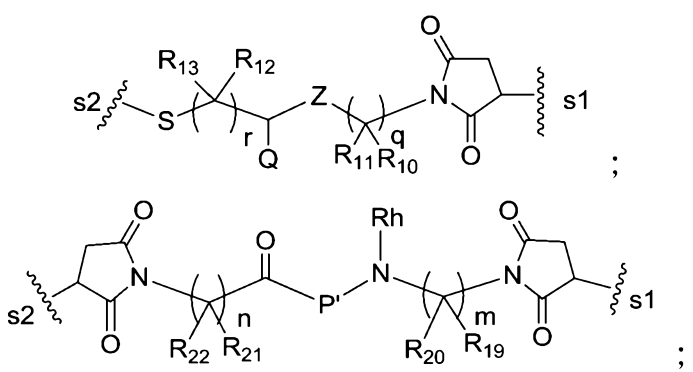


其中：

m' 為 1 或 2；

R₁ 及 R₂ 各自獨立地為-H 或(C₁-C₃)烷基；

Lc'由下式表示：



其中：

s1 為共價鍵聯至 CBA 之位點，且 s2 為共價鍵聯至 Cy^{C3} 上之-S-基團之位點；

Z 為 $-C(=O)-NR_9-$ 或 $-NR_9-C(=O)-$ ；

Q 為 H、帶電取代基、或可離子化基團；

R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{19} 、 R_{20} 、 R_{21} 及 R_{22} 在每次出現時獨立地為-H 或 (C_1-C_3) 烷基；

q 及 r 在每次出現時獨立地為 0 與 10 之間的整數；

m 及 n 各自獨立地為 0 與 10 之間之整數；

R^h 為-H 或 (C_1-C_3) 烷基；且

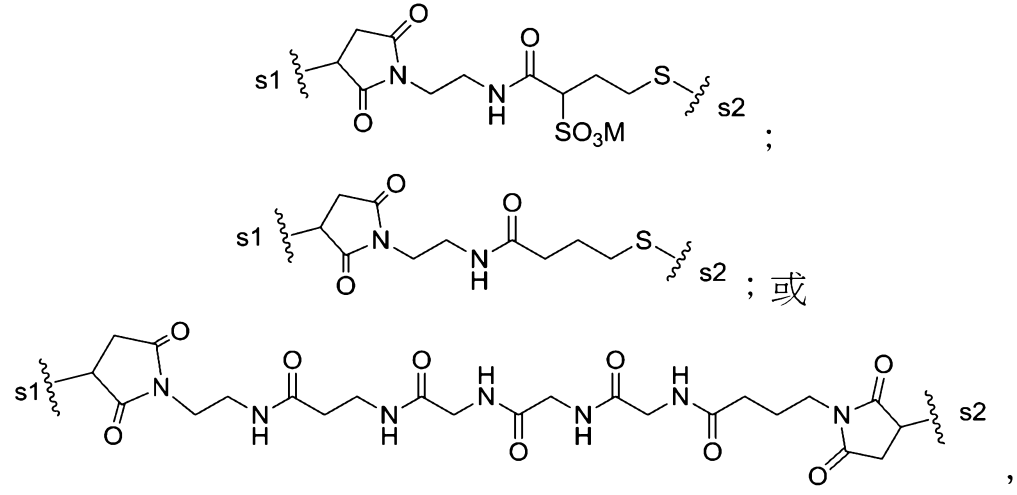
P' 為胺基酸殘基或含有 2 至 20 個胺基酸殘基之肽。

【第 78 項】 如申請專利範圍第 77 項之免疫共軛物，其中 P' 為含有 2 至 5 個胺基酸殘基之肽。

【第 79 項】 如申請專利範圍第 77 項或第 78 項之免疫共軛物，其中 P' 係選自 Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Lle-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe- N^9 -甲苯磺醯基-Arg、Phe- N^9 -硝基-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:144)、 β -Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:145)、Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO:146)、Val-Arg、Arg-Val、Arg-Arg、Val-D-Cit、Val-D-Lys、Val-D-Arg、D-Val-Cit、D-Val-Lys、D-Val-Arg、D-Val-D-Cit、D-Val-D-Lys、D-Val-D-Arg、D-Arg-D-Arg、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala、D-Ala-D-Ala、Ala-Met、Met-Ala、Gln-Val、Asn-Ala、Gln-Phe 及 Gln-Ala。

【第 80 項】 如申請專利範圍第 79 項之免疫共軛物，其中 P' 為 Gly-Gly-Gly、Ala-Val、Ala-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala 或 D-Ala-D-Ala。

【第 81 項】 如申請專利範圍第 77 項之免疫共軛物，其中-Lc'-由下式表示：

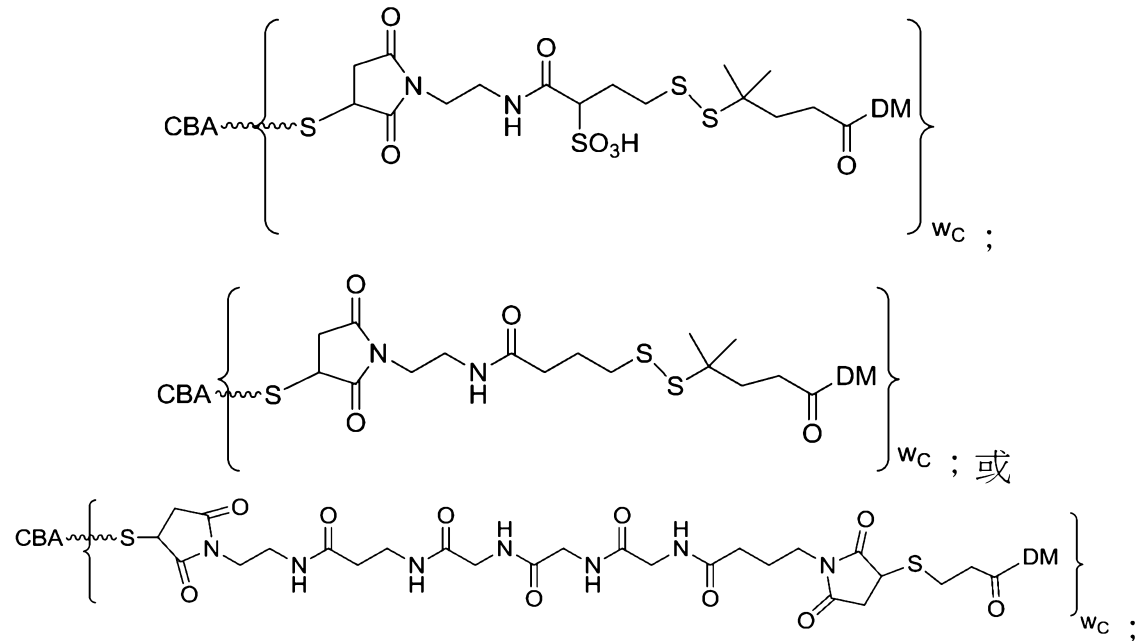


其中 M 為 H^+ 或陽離子。

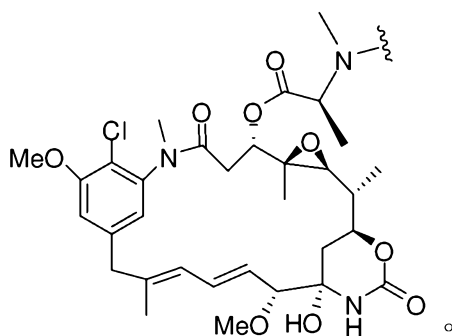
【第 82 項】 如申請專利範圍第 77 項至第 81 項中任一項之免疫共軛物，其中 m' 為 1，且 R_1 及 R_2 兩者為 H。

【第 83 項】 如申請專利範圍第 77 項至第 81 項中任一項之免疫共軛物，其中 m' 為 2，且 R_1 及 R_2 兩者為 Me。

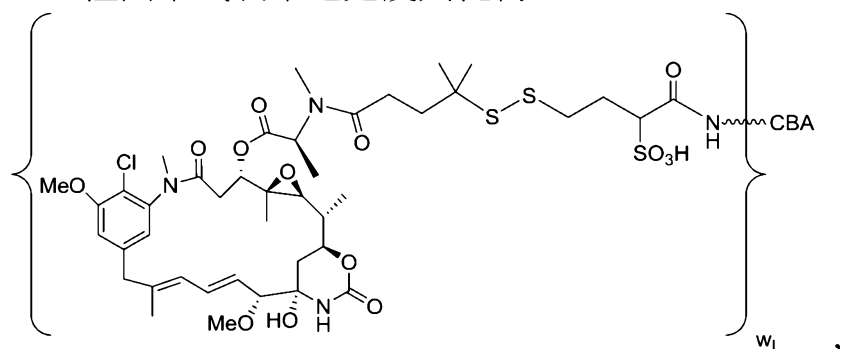
【第 84 項】 如申請專利範圍第 77 項之免疫共軛物，其中該免疫共軛物由下式表示：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中 DM 為由下式表示之藥物部分：



【第 85 項】 一種由下式表示之免疫共軛物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

W_L 為 1 至 10 之整數；

CBA 為人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其包含具有分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14 的序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域。

【第 86 項】 如申請專利範圍第 85 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55 的序列的重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)。

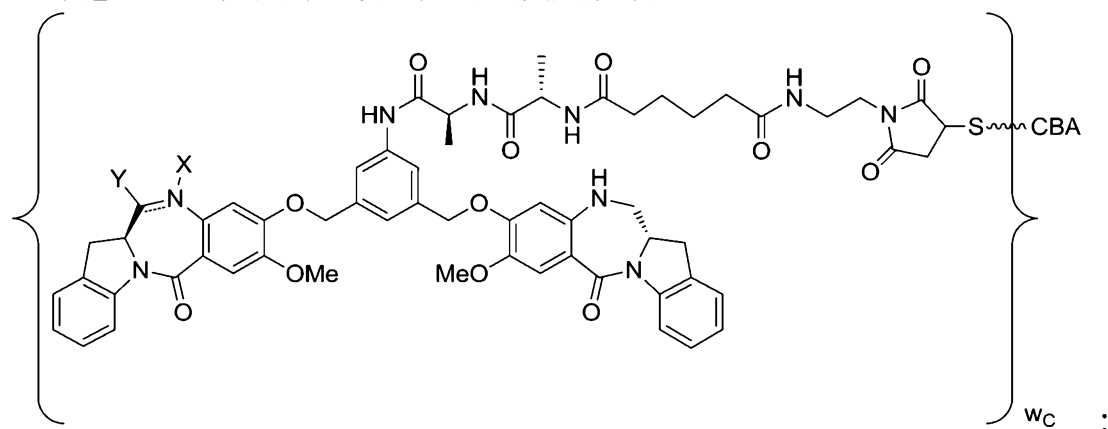
【第 87 項】 如申請專利範圍第 86 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:52 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。

【第 88 項】 如申請專利範圍第 86 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:151 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。

【第 89 項】 如申請專利範圍第 87 項或第 88 項之免疫共軛物，其中 SEQ ID NO:52 或 SEQ ID NO:151 中之 X 為離胺酸。

【第 90 項】 如申請專利範圍第 87 項或第 88 項之免疫共軛物，其中 SEQ ID NO:52 或 SEQ ID NO:151 中之 X 不存在。

【第 91 項】 一種由下式表示之免疫共軛物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

N 與 C 之間的雙線 = 表示單鍵或雙鍵，其限制條件為，當其為雙鍵時，X 不存在，且 Y 為-H，且當其為單鍵時，X 為-H，且 Y 為-SO₃H 或其醫藥學上可接受之鹽；

CBA 為人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其包含具有分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14 的序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域。

【第 92 項】 如申請專利範圍第 91 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55 的序列的重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)。

【第 93 項】 如申請專利範圍第 92 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:142 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。

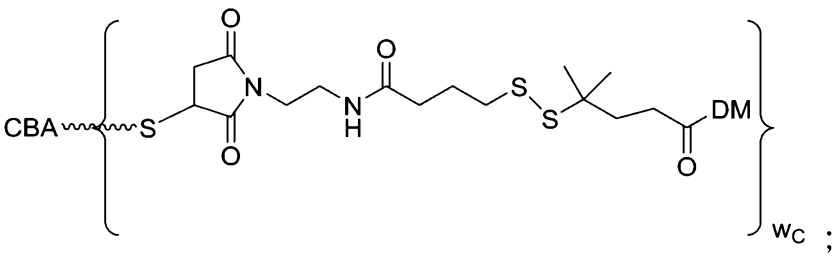
【第 94 項】 如申請專利範圍第 92 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:152 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。

【第 95 項】 如申請專利範圍第 93 項或第 94 項之免疫共軛物，其中 SEQ ID

NO:142 或 SEQ ID NO:152 中之 X 為離胺酸。

【第 96 項】 如申請專利範圍第 93 項或第 94 項之免疫共軛物，其中 SEQ ID NO:142 或 SEQ ID NO:152 中之 X 不存在。

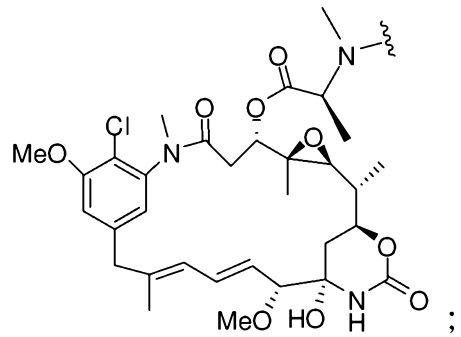
【第 97 項】 一種由下式表示之免疫共軛物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

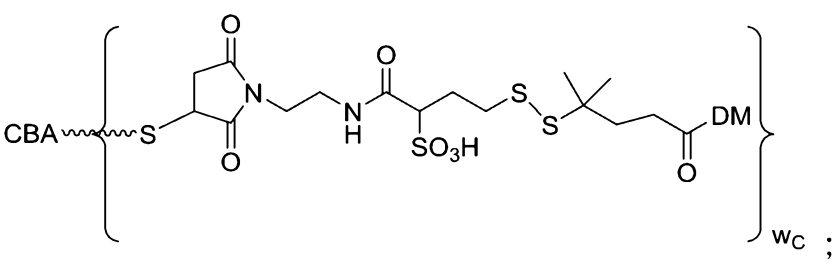
w_C 為 1 或 2；

DM 為由下式表示之藥物部分：



CBA 為人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其包含具有分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14 的序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域。

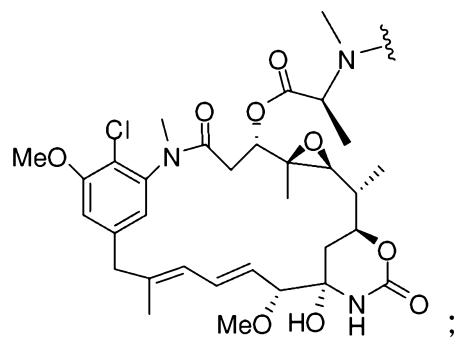
【第 98 項】 一種由下式表示之免疫共軛物：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

w_C 為 1 或 2；

DM 為由下式表示之藥物部分：



CBA 為人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段，其包含具有分別 SEQ ID NO: 8、35 及 45 以及 SEQ ID NO: 62、13、14 的序列的 CDR_H1 域、CDR_H2 域及 CDR_H3 域以及 CDR_L1 域、CDR_L2 域及 CDR_L3 域。

【第 99 項】 如申請專利範圍第 97 項或第 98 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體或其 ADAM9 結合片段包含具有分別 SEQ ID NO:28 及 SEQ ID NO:55 的序列的重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)。

【第 100 項】 如申請專利範圍第 97 項或第 98 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:142 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。

【第 101 項】 如申請專利範圍第 97 項或第 98 項之免疫共軛物，其中該人源化抗 ADAM9 抗體包含具有分別 SEQ ID NO:152 及 SEQ ID NO:68 的序列的重鏈及輕鏈。

【第 102 項】 如申請專利範圍第 100 項或第 101 項之免疫共軛物，其中 SEQ ID NO:142 或 SEQ ID NO:152 中之 X 為離胺酸。

【第 103 項】 如申請專利範圍第 100 項或第 101 項之免疫共軛物，其中 SEQ ID NO:142 或 SEQ ID NO:152 中之 X 不存在。

【第 104 項】 如申請專利範圍第 30 項至第 103 項中任一項之免疫共軛物，其中該醫藥學上可接受之鹽為鈉或鉀鹽。

- 【第 105 項】 一種醫藥組成物，其包含有效量如申請專利範圍第 1 項至第 104 項中任一項之免疫共軛物及醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑。
- 【第 106 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 104 項中任一項之免疫共軛物或如申請專利範圍第 105 項之醫藥組成物在治療與 ADAM9 表現相關或特徵在於 ADAM9 表現之疾病或病狀中的用途。
- 【第 107 項】 如申請專利範圍第 106 項之用途，其中與 ADAM9 表現相關或特徵在於 ADAM9 表現之該疾病或病狀為癌症。
- 【第 108 項】 如申請專利範圍第 107 項之用途，其中該癌症係選自由以下所組成之群組：非小細胞肺癌、結腸直腸癌、膀胱癌、胃癌、胰腺癌、腎細胞癌、前列腺癌、食道癌、乳癌、頭頸癌、子宮癌、卵巢癌、肝癌、子宮頸癌、甲狀腺癌、睪丸癌、骨髓癌、黑色素瘤及淋巴癌。
- 【第 109 項】 如申請專利範圍第 108 項之用途，其中該非小細胞肺癌為鱗狀細胞癌、腺癌或大細胞未分化癌。
- 【第 110 項】 如申請專利範圍第 108 項之用途，其中該結腸直腸癌為腺癌、胃腸類癌瘤、胃腸基質瘤、原發性結腸直腸淋巴瘤、平滑肌肉瘤或鱗狀細胞癌。
- 【第 111 項】 一種用於治療受試者之與 ADAM9 表現相關或特徵在於 ADAM9 表現之疾病或病狀的方法，其包含向該受試者投與有效量如申請專利範圍第 1 項至第 104 項中任一項之免疫共軛物或如申請專利範圍第 105 項之醫藥組成物。
- 【第 112 項】 如申請專利範圍第 111 項之方法，其中與 ADAM9 表現相關或特徵在於 ADAM9 表現之該疾病或病狀為癌症。
- 【第 113 項】 如申請專利範圍第 112 項之方法，其中該癌症係選自由以下所組成之群組：非小細胞肺癌、結腸直腸癌、膀胱癌、胃癌、胰腺癌、腎細胞癌、前列腺癌、食道癌、乳癌、頭頸癌、子宮癌、卵巢癌、肝癌、子宮頸癌、甲

狀腺癌、睪丸癌、骨髓癌、黑色素瘤及淋巴癌。

【第 114 項】 如申請專利範圍第 113 項之方法，其中該非小細胞肺癌為鱗狀細胞癌、腺癌或大細胞未分化癌。

【第 115 項】 如申請專利範圍第 113 項之方法，其中該結腸直腸癌為腺癌、胃腸類癌瘤、胃腸基質瘤、原發性結腸直腸淋巴瘤、平滑肌肉瘤或鱗狀細胞癌。

