



(21)申請案號：110128219

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 07 月 30 日

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

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2020/07/31 英國

2011993.9

(71)申請人：瑞士商 A D C 醫療股份有限公司 (瑞士) ADC THERAPEUTICS SA (CH)
瑞士(72)發明人：凡 伯克 派翠西斯 亨利克斯 康納力斯 VAN BERKEL, PATRICIUS
HENDRIKUS CORNELIS (NL)；伯特利 方思瓦 BERTELLI, FRANCOIS (FR)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：17 項 圖式數：3 共 92 頁

(54)名稱

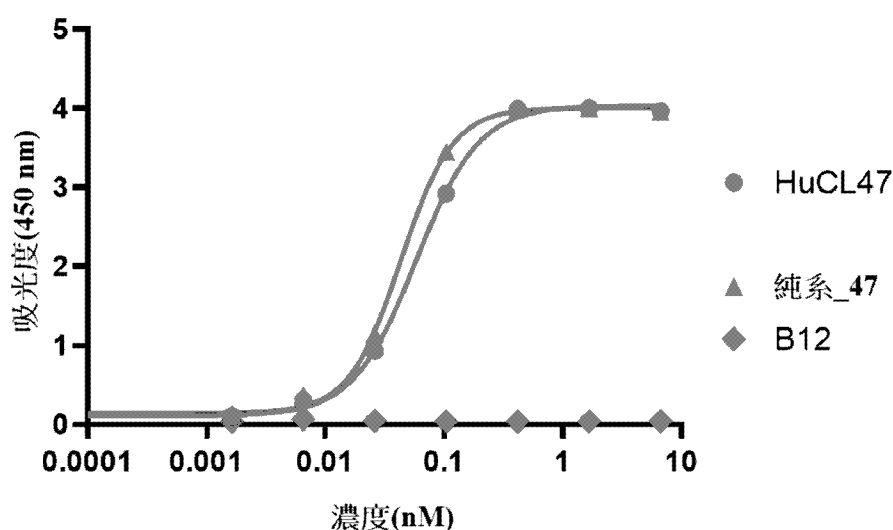
抗 I L 1 3 R α 2 抗體

(57)摘要

本揭示案係關於特異性地結合至介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2)蛋白之抗體以及相關用途及產生方法。

This disclosure relates to antibodies that specifically bind to the Interleukin-13 receptor subunit alpha-2 (IL13R α 2) protein, and associated uses and methods for production.

指定代表圖：



【圖 3】



【發明摘要】

【中文發明名稱】 抗 IL13R α 2 抗體

【英文發明名稱】 ANTI-IL13R α 2 ANTIBODIES

【中文】

本揭示案係關於特異性地結合至介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2) 蛋白之抗體以及相關用途及產生方法。

【英文】

This disclosure relates to antibodies that specifically bind to the Interleukin-13 receptor subunit alpha-2 (IL13R α 2) protein, and associated uses and methods for production.

【指定代表圖】 圖 3

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】抗 IL13R α 2 抗體

【英文發明名稱】ANTI-IL13R α 2 ANTIBODIES

【技術領域】

【0001】 本揭示案係關於特異性地結合至介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2)蛋白之抗體。亦揭示該等抗 IL13R α 2 抗體之產生及使用方法。

【先前技術】

IL13R α 2

【0002】 介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL-13R α 2；亦稱為分化簇 213A2、CD213A2)係一種膜結合蛋白，其與 IL-13R α 1 (與 IL-4R α 一起之介白素-13 I 型細胞介素受體複合物之亞單元)密切相關。

【0003】 IL13R α 1 與 IL-4R α 一起形成二聚體；IL-13 結合至 IL-13R α 1 鏈，而 IL-4R α 穩定此相互作用。此 IL-13 受體亦可激發 IL-4 信號傳導。在兩種情形下，此信號傳導均係經由使傑納斯激酶(Janus kinase, JAK)/信號轉導子及轉錄活化子(STAT)路徑活化，從而導致 STAT6 磷酸化而發生。磷酸化之 STAT6 二聚化，且作為轉錄因子使許多基因活化，諸如伊紅趨素。(Murata T 等人，Int J Mol Med. 1998 年 3 月;1(3):551-7；Chomarat P 等人，Int Rev Immunol. 1998;17(1-4):1-52)。

【0004】 IL-13R α 2 由 IL13RA2 基因編碼。IL-13R α 2 以極高之親和力結合 IL-13 (且因此可將其螯合)，但不容許 IL-4 結合。其起 IL-13 及 IL-4 二者之負調控劑之作用，然而此機制仍不確定(Seyfizadeh N 等人，Acta Microbiol Immunol Hung. 2015 年 12 月;62(4):341-78)。

【0005】 已發現 IL-13R α 2 在多種癌症中過表現，包括胰臟癌(Fujisawa 等人，Cancer Res. 2009 年 11 月 15 日;69(22):8678-85)、卵巢癌(Kioi 等人，Cancer. 2006 年 9 月 15 日;107(6): 1407-18)、黑色素瘤(Okamoto 等人，Sci Rep. 2019 年 2 月 4

日;9(1):1281)及惡性神經膠質瘤(Joshi 等人, Cancer Res. 2000 年 3 月 1 日;60(5):1168-72)。

抗 IL13R α 2 抗體

【0006】 藉由利用人類重組 IL13R α 2 融合蛋白使雌性 BALB/c 小鼠免疫而生成鼠類抗 IL13R α 2 單株抗體闡述於 Balyasnikova 等人(J Biol Chem. 2012 年 8 月 31 日;287(36): 30215-30227)中。在此出版物中生成並表徵之鼠類抗 IL13R α 2 抗體中,有一種抗體命名為「純系 47」。

抗體-藥物結合物

【0007】 抗體療法已被確立用於患有癌症、免疫及血管生成病症之患者之靶向治療(Carter, Nat Rev Immunol. 2006 年 5 月;6(5):343-57)。抗體-藥物結合物(ADC),亦即免疫結合物,用於在癌症治療中局部遞送細胞毒性劑或細胞生長抑制劑,亦即殺傷或抑制腫瘤細胞之藥物。該等 ADC 提供藥物部分至腫瘤之靶向遞送,及在其中的細胞內累積,而全身投與該等非結合藥物劑則可導致不可接受水準之對正常細胞之毒性(Xie 等人(2006) Expert. Opin. Biol. Ther. 6(3):281-291; Kovtun 等人(2006) Cancer Res. 66(6):3214-3121; Law 等人(2006) Cancer Res. 66(4):2328-2337; Wu 等人(2005) Nature Biotech. 23(9):1137-1145; Lambert J. (2005) Current Opin. in Pharmacol. 5:543-549; Hamann P. (2005) Expert Opin. Ther. Patents 15(9):1087-1103; Payne, G. (2003) Cancer Cell 3:207-212; Trail 等人(2003) Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337; Syrigos 及 Epenetos (1999) Anticancer Research 19:605-614)。

【0008】 由此尋求最大功效及最小毒性。設計並改進 ADC 之努力集中在單株抗體(mAb)之選擇性以及藥物作用機制、藥物連接、藥物/抗體比(負荷)及藥物釋放性質上(Junutula 等人, 2008b Nature Biotech., 26(8):925-932; Dornan 等人(2009) Blood 114(13):2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO2009/052249; McDonagh

(2006) Protein Eng. Design & Sel. 19(7): 299-307 ; Doronina 等人(2006) Bioconj. Chem. 17:114-124 ; Erickson 等人(2006) Cancer Res. 66(8):1-8 ; Sanderson 等人(2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852 ; Jeffrey 等人 (2005) J. Med. Chem. 48:1344-1358 ; Hamblett 等人(2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070)。藥物部分可藉由包括微管蛋白結合、DNA 結合、蛋白酶體及/或拓撲異構酶抑制在內之機制賦予其細胞毒性及細胞生長抑制效應。當與大抗體或蛋白質受體配位體結合時，一些細胞毒性藥物傾向於無活性或活性較低。

* * *

【0009】 鑑於 IL-13R α 2 在人類癌症中之作用，期望鑑別特異性地結合 IL-13R α 2 之具有有利性質之抗體。本揭示案係關於此等抗體。

【發明內容】

【0010】 本揭示案提供人類化抗 IL13R α 2 抗體，其源自 Balyasnikova 等人(J Biol Chem. 2012 年 8 月 31 日; 287(36): 30215-30227)中所闡述之鼠類抗 IL13R α 2 抗體「純系 47」之人類化。

【0011】 自鼠類「純系 47」開始，本發明作者已生成多種人類化重鏈及輕鏈序列，以期產生在人類個體中之免疫原性低於包含鼠類抗體之重鏈及輕鏈序列之嵌合抗體之抗體。

【0012】 令人驚訝地，已發現除較低之免疫原性以外，該等人類化變異體與鼠類純系 47 及/或其他人類化抗 IL13R α 2 抗體相比可具有其他有利性質，例如如本文中別處所概述之對人類 IL13R α 2 之親和力改良。

【0013】 因此，在第一態樣中，本揭示案提供結合至介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2)之人類化抗體，其中該抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 3；SEQ ID NO: 5；SEQ ID NO: 6；SEQ ID NO: 7；及 SEQ ID NO: 8。

【0014】 在一些實施例中，人類化抗體進一步包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 10；SEQ ID NO: 11。在一些實施例中，抗體進一步包含源自一或多種人類抗體之恆定區。

【0015】 在一些實施例中，抗體包含具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及：

- (i) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (ii) 具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (iii) 具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；或
- (iv) 具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0016】 在一些實施例中，抗體包含具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及：

- (i) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (ii) 具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (iii) 具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；或
- (iv) 具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0017】 在一些實施例中，抗體包含具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及：

- (i) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (ii) 具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (iii) 具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；或
- (iv) 具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0018】 在一些實施例中，抗體包含具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及：

- (i) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (ii) 具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (iii) 具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；或
- (iv) 具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0019】 在一些實施例中，抗體包含具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及：

- (i) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (ii) 具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (iii) 具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；或
- (iv) 具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0020】 在一些較佳實施例中，抗體包含：

- (i) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (ii) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (iii) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (iv) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (v) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (vi) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；或

(vii) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0021】 在一些更佳實施例中，抗體包含：

(i) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

(ii) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；及

(iii) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0022】 在一些尤佳實施例中，抗體包含具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0023】 在一些實施例中，人類化抗體以不大於 5×10^{-10} M (諸如不大於 2.5×10^{-10} M 或不大於 1.5×10^{-10} M) 之親和力(K_D)結合 IL13R α 2。在一些實施例中，人類化抗體以較包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區之抗體更高之親和力(K_D)結合 IL13R α 2。在一些實施例中，如藉由實例中所闡述之方案(例如藉由 Biacore 分析)來測定親和力(K_D)。

【0024】 在一些實施例中，人類化抗體競爭性地抑制如下抗體對 IL13R α 2 之結合：包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區。

【0025】 在一些實施例中，IL13R α 2 為人類 IL13R α 2。

【0026】 本文所揭示之抗體重鏈可變區及/或輕鏈可變區之序列可藉由(例如)插入、取代及/或缺失進行修飾，修飾程度為人類化抗體維持與 IL13R α 2 結合之

能力。熟習此項技術者藉由實施本文所闡述或此項技術中已知之功能分析可確定此活性之維持。

【0027】 因此，在一些實施例中，重鏈可變區包含不超過 20 個插入、取代及/或缺失，諸如不超過 15 個、不超過 10 個、不超過 9 個、不超過 8 個、不超過 7 個、不超過 6 個、不超過 5 個、不超過 4 個、不超過 3 個、不超過 2 個或不超過 1 個插入、取代及/或缺失。在一些實施例中，輕鏈可變區包含不超過 20 個插入、取代及/或缺失，諸如不超過 15 個、不超過 10 個、不超過 9 個、不超過 8 個、不超過 7 個、不超過 6 個、不超過 5 個、不超過 4 個、不超過 3 個、不超過 2 個或不超過 1 個插入、取代及/或缺失。

【0028】 在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體包括包含 VH 及 VL 結構域之抗體，該等結構域之胺基酸序列與本文所闡述之序列一致。

【0029】 在第二態樣中，本揭示案提供抗體藥物結合物，其包含根據本揭示案之第一態樣之人類化抗體。本揭示案之結合物包括結合之抗體，亦即藉由連接體共價連接至藥物部分。

【0030】 在第三態樣中，本揭示案提供醫藥組合物，其包含根據第一態樣之抗體或根據第二態樣之抗體藥物結合物及醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑或賦形劑。

【0031】 本揭示案亦提供用於治療方法中之此等抗體、結合物及醫藥組合物，及此等抗體、結合物及醫藥組合物在製造用於治療方法中之藥劑中之用途。

【0032】 本揭示案亦提供編碼本揭示案抗體之多核苷酸、包含此等多核苷酸之載體及包含此等載體之宿主細胞，以及產生本揭示案抗體之方法，該等方法包括在適於表現本揭示案抗體之條件下培養此等宿主細胞。

【圖式簡單說明】

【0033】

圖 1

鼠類「純系 47」及「HuCL47」重鏈可變結構域(VH)及輕鏈可變結構域(VK)之序列比較。CDR 加下劃線。

圖 2

鼠類純系 47、人類化變異體 HuCL47 及同型對照 B12 抗體與 NCI-H1299 細胞結合之比較。

圖 3

鼠類純系 47、人類化變異體 HuCL47 及同型對照 B12 抗體之 ELISA 結合比較。

【實施方式】

【0034】 本申請案主張 2020 年 7 月 31 日提出申請之英國申請案第 GB 2011993.9 號之優先權。

【0035】 現將參考附圖對本揭示案之態樣及實施例進行論述。其他態樣及實施例對熟習此項技術者而言將顯而易見。本文中所提及之所有文件均係以引用的方式併入本文中。

人類化抗體

【0036】 本揭示案提供人類化抗 IL13R α 2 抗體。

【0037】 「純系 47」係 Balyasnikova 等人(J Biol Chem. 2012 年 8 月 31 日; 287(36): 30215-30227)中所闡述之鼠類抗 IL13R α 2 抗體。自鼠類純系 47 之重鏈及輕鏈序列(分別 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 2)開始，本發明作者已生成多種人類化重鏈及輕鏈序列，以期產生在人類個體中之免疫原性低於包含鼠類抗體之重鏈及輕鏈序列之嵌合抗體之抗體。

【0038】 令人驚訝地，已發現如此產生之某些人類化變異體與嵌合純系 47 相比顯示改良之對人類 IL13R α 2 之親和力。本揭示案之人類化抗體亦可具有一或多種額外有利性質，諸如下文中所概述之改良之穩定性及/或細胞殺傷活性。

【0039】 因此，本揭示案提供結合至 IL13R α 2 之抗體，其中該抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 3 (VHA; HuCL47 VH)；SEQ ID NO: 5 (VHA 回復(VHAback))；SEQ ID NO: 6 (VHA1)；SEQ ID NO: 7 (VHA2)；及 SEQ ID NO: 8 (VHA3)。在一些較佳實施例中，抗體可包含有包含 SEQ ID NO: 3 (VHA; HuCL47 VH)之胺基酸序列之重鏈可變區。

【0040】 在一些實施例中，抗體可進一步包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 4 (VKA; HuCL47 VL)；SEQ ID NO: 9 (VKA 回復(VKAback))；SEQ ID NO: 10 (VKA1)；及 SEQ ID NO: 11 (VKA2)。在一些較佳實施例中，抗體可包含有包含 SEQ ID NO: 4 (VKA; HuCL47 VL)之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0041】 在本揭示案之一些實施例中，抗體可包含具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有以下胺基酸序列之輕鏈可變區：SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 10；或 SEQ ID NO: 11。

【0042】 在本揭示案之一些實施例中，抗體可包含具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有以下胺基酸序列之輕鏈可變區：SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 10；或 SEQ ID NO: 11。

【0043】 在本揭示案之一些實施例中，抗體可包含具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有以下胺基酸序列之輕鏈可變區：SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 10；或 SEQ ID NO: 11。

【0044】 在本揭示案之一些實施例中，抗體可包含具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有以下胺基酸序列之輕鏈可變區：SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 10；或 SEQ ID NO: 11。

【0045】 在本揭示案之一些實施例中，抗體可包含具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有以下胺基酸序列之輕鏈可變區：SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 10；或 SEQ ID NO: 11。

【0046】 因此，本揭示案之具體考慮之實施例包括抗體，其可包含：

- i) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- ii) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- iii) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- iv) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- v) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- vi) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- vii) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- viii) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- ix) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- x) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

- xi) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xii) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xiii) 具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xiv) 具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xv) 具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xvi) 具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xvii) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xviii) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xix) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；及
- xx) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0047】 本揭示案之具體考慮之一些較佳實施例包括抗體，其包含：

- 具有 SEQ ID NO: 3 (VHA; HuCL47 VH)之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 (VKA; HuCL47 VL)之胺基酸序列之輕鏈可變區；

- 具有 SEQ ID NO: 3 (VHA; HuCL47 VH)之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 (VKA1)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 3 (VHA; HuCL47 VH)之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 (VKA2)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 5 (VHA 回復)之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 (VKA; HuCL47 VL)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 5 (VHA 回復)之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 (VKA1)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 5 (VHA 回復)之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 (VKA2)之胺基酸序列之輕鏈可變區；及
- 具有 SEQ ID NO: 8 (VHA3)之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 (VKA2)之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0048】 本揭示案之其他較佳實施例包括抗體，其包含：

- 具有 SEQ ID NO: 3 (VHA; HuCL47 VH)之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 (VKA; HuCL47 VL)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 5 (VHA 回復)之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 (VKA; HuCL47 VL)之胺基酸序列之輕鏈可變區；及
- 具有 SEQ ID NO: 8 (VHA3)之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 (VKA2)之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0049】 在本揭示案之一些尤佳實施例中，抗體包含具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區。此等抗體在本文中可稱為「huCL47」。

【0050】 本揭示案之抗體為人類化或完全人類抗體，或包含人類化或完全人類之可變結構域。本揭示案之抗體可為經分離之人類化或完全人類抗體。在一

些實施例中，本揭示案之抗體可進一步包含源自一或多種人類抗體之抗體恆定區。

【0051】 在一個實施例中，本發明提供結合至介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2)之抗體，其包含重鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO: 14 及 SEQ ID: NO 15 中所示之互補決定區(CDR)；及/或輕鏈，該輕鏈包含(i) SEQ ID NO:16、SEQ ID NO: 17 及 SEQ ID: NO 18 中所示之 CDR；及(ii)在位置 30 處之絲胺酸殘基(參考 SEQ ID NO: 3 編號)，其中至少可變區為完全人類的。在一個實施例中，抗體為完全人類的，包括恆定區。在相關實施例中，本發明提供抗體結合物，其包含該抗體及吡咯并苯并二氮呋二聚體。在一個實施例中，輕鏈為人類 κ 輕鏈。

抗原結合

【0052】 本文所闡述之抗體係特異性地結合至 IL13R α 2 之抗體。

【0053】 如本文所用，「結合至 IL13R α 2」及「結合 IL13R α 2」用於意指抗體以較對非特異性搭配物(諸如牛血清白蛋白(BSA，Genbank 登錄號 CAA76847，版本號 CAA76847.1 GI:3336842，記錄更新日期：2011 年 1 月 7 日下午 02:30))更高之親和力結合 IL13R α 2。在一些實施例中，當在生理條件下量測時，抗體結合 IL13R α 2 之締合常數(Ka)為抗體對 BSA 之締合常數之至少 2、3、4、5、10、20、50、100、200、500、1000、2000、5000、104、105 或 106 倍。

【0054】 在一些實施例中，IL13R α 2 多肽對應於 UniProt 登錄號 Q14627 (條目版本 190)揭示之胺基酸序列或其片段。在一些實施例中，IL13R α 2 多肽對應於與 UniProt 登錄號 Q14627 (條目版本 190)揭示之胺基酸序列之全長或其片段具有至少 70%、80%、90%、95%、99%或 100%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，IL13R α 2 多肽具有 SEQ ID NO: 12 之序列。

抗體親和力

【0055】 令人驚訝地，本發明作者已發現，與嵌合(Ch)純系 47 相比，人類化過程增加人類化抗體對人類 IL13R α 2 之親和力，如在 Biacore 結合分析中所測定(參見實例 2)。

【0056】 因此，本發明之抗體可以高親和力結合 IL13R α 2。舉例而言，在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體可以如下解離常數(K_D)結合 IL13R α 2：不大於 10^{-6} M、不大於 5×10^{-6} M、不大於 10^{-7} M、不大於 5×10^{-7} M、不大於 10^{-8} M、不大於 5×10^{-8} M、不大於 10^{-9} M、不大於 5×10^{-9} M、不大於 10^{-10} M、不大於 5×10^{-10} M、不大於 10^{-11} M、不大於 5×10^{-11} M、不大於 10^{-12} M、不大於 5×10^{-12} M、不大於 10^{-13} M、不大於 5×10^{-13} M、不大於 10^{-14} M、不大於 5×10^{-14} M、不大於 10^{-15} M 或不大於 5×10^{-15} M。

【0057】 在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體可以不大於 0.52 nM、0.51 nM、0.50 nM、0.49 nM、0.48 nM、0.47 nM、0.46 nM、0.45 nM、0.44 nM、0.43 nM、0.42 nM、0.41 nM 或 0.40 nM 之解離常數(K_D)結合 IL13R α 2。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體可以不大於 0.40 nM、0.35 nM、0.30 nM、0.25 nM、0.20 nM、0.15 nM 或不大於 0.10 nM 之解離常數(K_D)結合 IL13R α 2。

【0058】 在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體可以 10^{-8} M 至 10^{-10} M、 10^{-10} M 至 10^{-12} M、 10^{-12} M 至 10^{-14} M 或 10^{-14} M 至 10^{-16} M 之解離常數(K_D)結合 IL13R α 2。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體可以 5×10^{-10} 至 5×10^{-11} M 之解離常數(K_D)結合 IL13R α 2。

【0059】 熟習此項技術者將熟知測定抗體親和力之適宜方法，例如酶聯免疫吸附分析(ELISA)及表面電漿子共振(SPR)技術。在一些實施例中，可藉由實例中所闡述之方法測定並計算 K_D 。

【0060】 在一些實施例中，人類化抗體可競爭性地抑制鼠類「純系 47」抗體與人類 IL13R α 2 之活體內及/或活體外結合。在一些實施例中，人類化抗體可競

爭性地抑制包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區之抗體與人類 IL13R α 2 之活體內及/或活體外結合。

【0061】 在一些實施例中，等莫耳劑量之本揭示案之人類化抗體可競爭性地抑制至少 20%之鼠類「純系 47」抗體結合，諸如至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%或至少 90%之結合。可藉由(例如)競爭性 ELISA 分析量測結合百分比，其中結合抑制%計算為 $[(1-\text{測試樣品之吸光度})/(\text{陰性對照之吸光度})]$ 。

【0062】 在一些實施例中，相較於鼠類「純系 47」抗體，本揭示案之人類化抗體可具有更高之對人類 IL13R α 2 抗原之親和力。在一些實施例中，相較於包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區之抗體，本揭示案之人類化抗體可具有更高之對人類 IL13R α 2 抗原之親和力。

【0063】 在一些實施例中，人類化抗體與人類 IL13R α 2 抗原之 K_D 將不超過鼠類「純系 47」抗體/包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區之抗體的 K_D 之 0.9。舉例而言，人類化抗體與人類 IL13R α 2 抗原之 K_D 可不超過上述一或多種抗體之 K_D 之 0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0.05、0.01 或 0.001。在一些較佳實施例中， K_D 可不超過上述一或多種抗體之 K_D 之 0.5 或不超過 0.2。

抗體等電點(pI)

【0064】 當周圍環境之 pH 等於分子 pI 時，分子不帶淨電荷。分子之淨電荷影響該分子之溶解度，生物分子(諸如蛋白質)在對應於其 pI 之 pH 下，通常具有最低之於水或鹽溶液中之溶解度。因此，pI 為 7.35 - 7.45 之蛋白質在人類血液(pH 通常在 7.35 - 7.45 範圍內)中之溶解度最低。

【0065】 當周圍環境之 pH 低於蛋白質之 pI 時，則分子攜帶淨正電荷。當周圍環境之 pH 高於蛋白質之 pI 時，則分子攜帶淨負電荷。一般而言，較高之抗體淨正電荷使得組織滯留及血液清除增加，半衰期較短，而較低之 pI/較低之淨正電荷使得組織滯留減少且半衰期較長(Boswell 等人，Bioconjug Chem. 2010 年 12 月 15 日; 21(12):2153-63)。

【0066】 在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之 pI 可小於鼠類「純系 47」抗體。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之 pI 可小於包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區之抗體。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之 pI 可不超過 9.0，諸如不超過 8.5、不超過 8.0 或不超過 7.5。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之 pI 可不超過 8.9、8.8、8.7、8.6、8.5、8.4、8.3、8.2 或 8.1。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之 pI 可不超過 7.9、7.8 或 7.7。

【0067】 在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之 pI 可大於鼠類「純系 47」抗體。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之 pI 可大於包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區之抗體。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之 pI 可為至少 7.5，諸如至少 8.0、至少 8.5 或至少 9.0。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之 pI 可為至少 7.5、7.6、7.7、7.8、7.9 或 8.0。在一些較佳實施例中，本揭示案之人類化抗體之 pI 可為至少 7.6。在一些較佳實施例中，本揭示案之人類化抗體之 pI 可為至少 7.63。

抗體穩定性

【0068】 令人驚訝地，本發明作者已發現，人類化過程可增加人類化抗體之穩定性，如藉由在 4°C 或 45°C 下培育 8 天後與 IL13R α 2 結合(如藉由 ELISA 所評價)所測定(參見實例 2)。

【0069】 因此，與非人類化之抗 IL13R α 2 抗體或其他人類化之抗 IL13R α 2 抗體相比，本揭示案之抗體可具有改良之穩定性性質。在一些實施例中，與包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區之抗體相比，人類化抗體可具有改良之穩定性性質。

【0070】 評價穩定性性質之適宜方式為熟習此項技術者所熟知，例如蛋白質熱位移及溫度穩定性分析。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之穩定性性質可藉由實例中所闡述之一或多種方法來測定。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之穩定性性質可藉由在 4°C 或 45°C 下培育 8 天後與 IL13R α 2 結合 (如藉由 ELISA 所評價) 來測定。

【0071】 在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體在 45°C 下培育 8 天後可展現出對 IL13R α 2 之結合親和力降低小於 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45% 或 50%。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體在 45°C 下培育 8 天後可展現出對 IL13R α 2 之結合親和力降低小於 4 倍，例如降低小於 3.5 倍、小於 3 倍、小於 2.5 倍、小於 2 倍或小於 1.5 倍。

細胞殺傷活性/細胞毒性

【0072】 在一些情形中，例如如藉由 EC50 值所確定，本揭示案之人類化抗體及/或包含本揭示案之人類化抗體之抗體-藥物結合物可具有高細胞殺傷活性。

【0073】 在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體及/或抗體-藥物結合物之 EC50 可低於鼠類「純系 47」抗體或包含鼠類「純系 47」抗體之抗體-藥物結合物。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體及/或抗體-藥物結合物之 EC50 可低於包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區之抗體或抗體-藥物結合物。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體及/或抗體-藥物結合物之 EC50 可較上述一或多種抗體/結合物之 EC50 低至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或 100%。

用於測定細胞殺傷活性/細胞毒性及 EC50 值之適宜方式為熟習此項技術者所熟知。在一些實施例中，該等值可藉由實例中所闡述之方法來測定。

對腫瘤生長之抑制

【0074】 在一些情形中，本揭示案之人類化抗體及/或包含本揭示案之人類化抗體之抗體-藥物結合物可阻抑或降低 IL13R α 2 表現腫瘤之生長速率。

【0075】 在一些實施例中，與對照腫瘤相比，本揭示案之人類化抗體可將腫瘤生長抑制至少 10%。亦即，抗體治療腫瘤之體積不超過對照腫瘤體積之 90%。舉例而言，在一些實施例中，與對照腫瘤相比，本揭示案之抗體可將腫瘤生長抑制至少 20%，諸如至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%或至少 90%。

【0076】 在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之腫瘤抑制效應可大於鼠類「純系 47」抗體或包含鼠類「純系 47」抗體之抗體-藥物結合物之腫瘤抑制效應。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之腫瘤抑制效應可大於包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區之抗體或抗體-藥物結合物之腫瘤抑制效應。

【0077】 在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之腫瘤抑制效應可大於上述一或多種抗體之腫瘤抑制效應。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之腫瘤抑制效應可較上述一或多種抗體之腫瘤抑制效應高至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或 100%。用於測定本揭示案之人類化抗體對腫瘤生長之效應之適宜方式為熟習此項技術者所熟知。

抗體免疫原性

【0078】 與具有相同特異性之非人類化抗體(例如人類化前之小鼠抗體前體)相比，本揭示案之人類化抗體在人類個體中具有降低之免疫原性。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體在人類個體中之免疫原性可低於在其他方面一致

之包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區之抗體或抗體片段。

【0079】 免疫原性低或降低之特徵可在於能夠治療患者達延長時期，具有可量測之症狀減輕以及低及/或可接受之毒性。低或可接受之免疫原性及/或高親和力以及其他適宜性質可有助於達成治療結果。「降低之免疫原性」在本文中定義為當用上文所闡述之抗體治療時，在少於 90% (諸如少於 80%、少於 70%、少於 60%、少於 50%、少於 40%、少於 30%、少於 20%、少於 10%)比例之顯示出明顯 HAHA、HACA 或 HAMA 反應之患者中產生明顯之 HAHA、HACA 或 HAMA 反應。

抗體產生

【0080】 本揭示案亦提供產生本揭示案之人類化抗體之方法及方式。

【0081】 因此，在另一態樣中，本揭示案提供編碼該等人類化抗體之核酸分子，以及與編碼該等人類化抗體之核酸分子互補之核酸分子。

【0082】 在另一態樣中，本揭示案提供醫藥組合物，其包含本揭示案之抗體，視情況進一步包含醫藥學上可接受之載劑或賦形劑。

【0083】 在另一態樣中，本揭示案提供載體(諸如表現載體)，其包含本揭示案之核酸。

【0084】 在另一態樣中，本揭示案提供經本揭示案之載體轉染之宿主細胞。宿主細胞可為原核或真核的。舉例而言，細胞可為細菌、真菌、昆蟲或哺乳動物(諸如小鼠、靈長類動物或人類)。

【0085】 在另一態樣中，本揭示案提供藉由培養本揭示案之宿主細胞製備抗體之方法。

【0086】 在一些情形中，當在本揭示案之宿主細胞中表現時，與非人類化抗 IL13R α 2 抗體或其他人類化抗 IL13R α 2 抗體相比，本揭示案之人類化抗體可以更高水準或以更高生產率或產量表現。

【0087】 在一些實施例中，相較於包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區之抗體，本揭示案之人類化抗體可以更高水準或以更高生產率或產量表現。在一些實施例中，相較於包含以下之抗體，本揭示案之人類化抗體可以更高水準或以更高生產率或產量表現：

- 具有 SEQ ID NO: 3 (VHA)之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 9 (VKA 回復)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 5 (VHA 回復)之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 9 (VKA 回復)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 6 (VHA1)之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 4 (VKA)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 6 (VHA1)之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 9 (VKA 回復)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 6 (VHA1)之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 10 (VKA1)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 6 (VHA1)之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 11 (VKA2)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 7 (VHA2)之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 4 (VKA)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 7 (VHA2)之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 9 (VKA 回復)之胺基酸序列之輕鏈可變區；

- 具有 SEQ ID NO: 7 (VHA2)之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 10 (VKA1)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 7 (VHA2)之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 11 (VKA2)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 8 (VHA3)之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 4 (VKA)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 8 (VHA3)之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 9 (VKA 回復)之胺基酸序列之輕鏈可變區；及
- 具有 SEQ ID NO: 8 (VHA3)之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 10 (VKA1)之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0088】 在一些實施例中，當在相同宿主細胞類型中表現且在相同條件下培養時，相較於上述一或多種抗體，本揭示案之人類化抗體可以更高之水準或以更高之生產率或產量表現。在一些實施例中，當在相同宿主細胞類型中表現且在相同條件下培養時，表現水準或生產率或產量可較上述一或多種抗體高至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或 100%。在一些實施例中，當在相同宿主細胞類型中表現且在相同條件下培養時，表現水準或生產率或產量可較上述一或多種抗體高至少 110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%或 200%。用於測定重組蛋白質之表現水準之適宜方式為熟習此項技術者所熟知，例如 ELISA 及西方墨點(Western Blot)技術。在一些實施例中，表現水準/生產率/產量可藉由實例中所闡述之方法來測定。

【0089】 在一些情形中，當在本揭示案之宿主細胞中表現時，與非人類化抗 IL13R α 2 抗體或其他人類化抗 IL13R α 2 抗體相比，本揭示案之人類化抗體之聚集或片段化水準可較低。在一些實施例中，本揭示案之人類化抗體之聚集或片段化水準可低於包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID

NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區之抗體。在一些實施例中，當在相同宿主細胞類型中表現且在相同條件下培養時，本揭示案之人類化抗體之聚集或片段化水準可低於非人類化抗 IL13R α 2 抗體或其他人類化抗 IL13R α 2 抗體。在一些實施例中，當在相同宿主細胞類型中表現且在相同條件下培養時，聚集或片段化水準可低至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或 100%。在一些實施例中，當在相同宿主細胞類型中表現且在相同條件下培養時，聚集或片段化水準可低至少 110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190% 或 200%。用於測定重組蛋白質之聚集或片段化之適宜方式為熟習此項技術者所熟知，例如粒徑篩析層析(SEC)。在一些實施例中，聚集或片段化水準可藉由實例中所闡述之方法來測定。

定義

抗體

【0090】 本文之術語「抗體」係以最廣泛意義使用且具體而言涵蓋單株抗體、多株抗體、二聚體、多聚體、多特異性抗體(例如雙特異性抗體)、完整抗體及抗體片段，只要其展現期望生物活性即可，例如能夠結合 IL13R α 2。抗體可為鼠類、人類、人類化、嵌合的，或源自其他物種。抗體係由免疫系統生成之能夠識別並結合至特異性抗原之蛋白質。(Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 第 5 版, Garland Publishing, New York)。靶抗原通常具有多個結合位點，亦稱為抗原決定基，其由多種抗體上之 CDR 識別。特異性地結合至不同抗原決定基之每一抗體具有不同結構。因此，一種抗原可能具有一種以上相應抗體。抗體包括全長免疫球蛋白分子或全長免疫球蛋白分子之免疫活性部分，亦即含有免疫特異性地結合所關注靶標之抗原或其一部分之抗原結合位點之分子，此等靶標包括(但不限於)一或多種產生與自體免疫疾病相關之自體免疫抗體之癌細胞。免疫球蛋白可為免疫球蛋白分子之任何類型(例如 IgG、

IgE、IgM、IgD 及 IgA)、類別(例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 及 IgA2)或亞類或同種異型(例如人類 G1m1、G1m2、G1m3、非 G1m1 [其為除 G1m1 以外之任何同種異型]、G1m17、G2m23、G3m21、G3m28、G3m11、G3m5、G3m13、G3m14、G3m10、G3m15、G3m16、G3m6、G3m24、G3m26、G3m27、A2m1、A2m2、Km1、Km2 及 Km3)。免疫球蛋白可源自任何物種，包括人類、鼠類或兔起源。

【0091】 「抗體片段」包含全長抗體之一部分，通常為其抗原結合區或可變區。抗體片段之實例包括 Fab、Fab'、F(ab')₂ 及 scFv 片段；雙價抗體；線性抗體；Fab 表現文庫產生之片段、抗個體遺傳型(抗 Id)抗體、CDR (互補決定區)及上述中免疫特異性地結合至癌細胞抗原、病毒抗原或微生物抗原之任一者之抗原決定基結合片段、單鏈抗體分子；及自抗體片段形成之多特異性抗體。

【0092】 如本文所用之術語「單株抗體」係指自實質上同源抗體之群體獲得之抗體，亦即，除可少量存在之可能天然突變外，構成該群體之個別抗體均相同。單株抗體具有高度特異性，其針對單一抗原位點。此外，與包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體之多株抗體製劑不同，每一單株抗體針對抗原上之單一決定子。除特異性以外，單株抗體之優勢在於其可在不受其他抗體污染之情形下合成。修飾詞「單株」指示抗體之特徵為自實質上同源之抗體群體獲得，且不應解釋為需要藉由任何特定方法來產生該抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由首先由 Kohler 等人(1975) *Nature* 256:495 所闡述之雜交瘤方法製得，或可藉由重組 DNA 方法(參見 US 4816567)製得。亦可使用 Clackson 等人(1991) *Nature*, 352:624-628；Marks 等人(1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 中所闡述之技術自噬菌體抗體文庫分離出單株抗體，或自攜帶完全人類免疫球蛋白系統之基因轉殖小鼠分離出(Lonberg (2008) *Curr. Opinion* 20(4):450-459)。

【0093】 單株抗體包括「嵌合」抗體，其中重鏈及/或輕鏈之一部分與源自特定物種或屬於特定抗體類別或亞類之抗體中的相應序列一致或同源，而該(等)鏈之其餘部分與源自另一物種或屬於另一抗體類別或亞類之抗體中的相應序列一致或同源；以及此等抗體之片段，只要其展現期望生物活性即可(US 4816567；及 Morrison 等人(1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855)。嵌合抗體包括「靈長類化」抗體，其包含源自非人類靈長類動物(例如舊大陸猴或猿)之可變結構域抗原結合序列及人類恆定區序列。

【0094】 本文之「完整抗體」係包含 VL 及 VH 結構域，以及輕鏈恆定結構域(CL)及重鏈恆定結構域 CH1、CH2 及 CH3 之抗體。恆定結構域可為天然序列恆定結構域(例如人類天然序列恆定結構域)或其胺基酸序列變異體。完整抗體可具有一或多種「效應功能」，其係指彼等可歸因於抗體 Fc 區(天然序列 Fc 區或胺基酸序列變異體 Fc 區)之生物活性。抗體效應功能之實例包括 C1q 結合；補體依賴性細胞毒性；Fc 受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；及細胞表面受體(諸如 B 細胞受體及 BCR)之下調。

【0095】 端視其重鏈恆定結構域之胺基酸序列而定，可將完整抗體指派為不同「類別」。存在五種主要類別之完整抗體：IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM，且可將該等類別中之若干種進一步分成「亞類」(同型)，例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA 及 IgA2。對應於不同抗體類別之重鏈恆定結構域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。不同免疫球蛋白類別之亞單元結構及三維構形係眾所周知的。

人類化

【0096】 如本文所用，「人類化」抗體包括本文所闡述抗 IL13R α 2 抗體之任何組合。在該等抗體中，來自嵌合 MSAb-1 及 X09.2 抗體之框架殘基已經來自人類免疫球蛋白之相應殘基大量置換。保留儘可能多的人類胺基酸殘基，但可視需要修飾關鍵人類殘基，以支持由 CDR 形成之抗原結合位點並重現嵌合抗體之

抗原結合效能。相對於未經修飾之抗體，此等改變或變化視情況且較佳地保留或降低在人類或其他靈長類動物物種中之免疫原性。

【0097】 「人類化抗體」係指包含人類抗體之經修飾之可變區之至少一部分之多肽，其中可變區之一部分、較佳實質上小於完整人類可變結構域之部分已經來自非人類物種之相應序列取代，且其中該經修飾之可變區連接至另一蛋白質之至少另一部分、較佳人類抗體之恆定區。表述「人類化抗體」包括人類抗體，其中一或多個互補決定區(「CDR」)胺基酸殘基及/或一或多個框架區(「FW」或「FR」)胺基酸殘基經來自齧齒類動物或其他非人類抗體中類似位點之胺基酸殘基取代。表述「人類化抗體」亦包括免疫球蛋白胺基酸序列變異體或其片段，其包含實質上具有人類免疫球蛋白之胺基酸序列之 **FR** 及實質上具有非人類免疫球蛋白之胺基酸序列之 **CDR**。

【0098】 非人類(例如鼠類)抗體之「人類化」形式係含有最少量的源自非人類免疫球蛋白之序列之嵌合抗體。或者，自另一角度來看，人類化抗體係亦含有選自非人類(例如鼠類)抗體之序列代替人類序列之人類抗體。人類化抗體可包括來自相同或不同物種之保守胺基酸取代或非天然殘基，其不會顯著地改變抗體之結合及/或生物活性。此等抗體係含有最少量的源自非人類免疫球蛋白之序列之嵌合抗體。

【0099】 存在一系列之人類化技術，包括『CDR 移植』、『引導選擇』、『去免疫化』、『表面重修』(亦稱為『鑲飾』)、『複合抗體』、『人類字串含量最佳化』及框架改組。

CDR 移植

【0100】 在此技術中，人類化抗體係人類免疫球蛋白(接受者抗體)，其中來自接受者抗體之互補決定區(CDR)之殘基經來自具有期望性質之非人類物種(諸如小鼠、大鼠、駱駝、牛、山羊或兔)(供體抗體)之 **CDR** 之殘基置換(實際上，非人

類 CDR 『移植』至人類框架上)。在一些情況下，人類免疫球蛋白之框架區(FR)殘基經相應非人類殘基置換(例如，當特定 FR 殘基對抗原結合具有顯著效應時，可能發生此種情況)。

【0101】 此外，人類化抗體可包含在接受者抗體及輸入 CDR 或框架序列中均未發現之殘基。進行該等修飾以進一步改善並最大化抗體性能。因此，一般而言，人類化抗體將包含全部之至少一個、且在一個態樣中兩個可變結構域，其中全部或實質上全部之超變環對應於非人類免疫球蛋白之彼等超變環，且全部或實質上全部之 FR 區係人類免疫球蛋白序列之彼等 FR 區。人類化抗體視情況亦將包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，或人類免疫球蛋白之至少一部分。

引導選擇

【0102】 該方法由以下組成：將對特定抗原決定基具有特異性之給定非人類抗體之 V_H 或 V_L 結構域與人類 V_H 或 V_L 文庫組合，且針對所關注抗原選擇特異性人類 V 結構域。接著將此所選之人類 VH 與 VL 文庫組合，以生成完全人類 $VH \times VL$ 組合。該方法闡述於 Nature Biotechnology (N.Y.) **12**, (1994) 899-903 中。

複合抗體

【0103】 在此方法中，將來自人類抗體之胺基酸序列之兩個或更多個區段組合在最終抗體分子內。其係藉由將呈組合之多個人類 VH 及 VL 序列區段組合而構築，該等組合限制或避免最終複合抗體 V 區中之人類 T 細胞抗原決定基。必要時，藉由用避免 T 細胞抗原決定基之替代區段交換有助於 T 細胞抗原決定基或編碼 T 細胞抗原決定基之 V 區區段來限制或避免 T 細胞抗原決定基。此方法闡述於 US 2008/0206239 A1 中。

去免疫化

【0104】 此方法涉及自治療性抗體(或其他分子)之 V 區去除人類(或其他第二物種) T 細胞抗原決定基。藉由例如與 MHC 結合基元之資料庫(諸如 www.wehi.edu.au 上之「基元」資料庫)進行比較，分析治療性抗體 V 區序列中 II 類 MHC 結合基元之存在。或者，可使用計算穿線方法(computational threading method)(諸如 Altuvia 等人(J. Mol. Biol. 249 244-250 (1995))所設計之彼等方法)來鑑別 II 類 MHC 結合基元；在該等方法中，測試來自 V 區序列之連續重疊肽與 II 類 MHC 蛋白質之結合能。接著可將此資料與關於成功呈遞之肽的其他序列特徵之資訊組合，諸如兩親性、Rothbard 基元以及組織蛋白酶 B 及其他加工酶之裂解位點。

【0105】 在鑑別出潛在之第二物種(例如人類) T 細胞抗原決定基後，藉由改變一或多個胺基酸將該等抗原決定基消除。經修飾之胺基酸通常在 T 細胞抗原決定基本身內，但就蛋白質之一級或二級結構而言亦可與抗原決定基毗鄰(且因此可能在一級結構中不毗鄰)。最通常地，藉助取代進行改變，但在一些情況下，胺基酸添加或缺失將更為適當。

【0106】 所有改變均可藉由重組 DNA 技術來完成，使得最終分子可藉由使用充分確立之方法(諸如定點誘變)自重組宿主中表現來製備。然而，亦可使用蛋白質化學或任何其他分子改變方式。

表面重修

【0107】 此方法涉及：

- (a) 藉由構築非人類抗體可變區之三維模型來確定非人類(例如齧齒類動物)抗體(或其片段)之可變區之構形結構；
- (b) 使用來自足夠數量之非人類及人類抗體可變區重鏈及輕鏈之 x 射線結晶結構之相對可及性分佈生成序列比對，以得到一組重鏈及輕鏈框架位置，其中比對位置在足夠數量之非人類抗體重鏈及輕鏈之 98% 中係一致的；

- (c) 使用步驟(b)中生成之框架位置組，為待人類化之非人類抗體定義一組重鏈及輕鏈表面暴露之胺基酸殘基；
- (d) 自人類抗體胺基酸序列中鑑別一組與步驟(c)中所定義之表面暴露之胺基酸殘基組最接近一致之重鏈及輕鏈表面暴露之胺基酸殘基，其中來自人類抗體之重鏈及輕鏈為天然配對的或不為天然配對的；
- (e) 在待人類化之非人類抗體之胺基酸序列中，用步驟(d)中鑑別之重鏈及輕鏈表面暴露之胺基酸殘基組取代步驟(c)中定義之重鏈及輕鏈表面暴露之胺基酸殘基組；
- (f) 構築由步驟(e)中所指定之取代產生的非人類抗體之可變區之三維模型；
- (g) 藉由比較步驟(a)及(f)中構築之三維模型，自在步驟(c)或(d)中所鑑別之組中鑑別位於待人類化之非人類抗體互補決定區之任何殘基之任何原子 5 埃內之任何胺基酸殘基；及
- (h) 將步驟(g)中所鑑別之任何殘基自人類改變為原始非人類胺基酸殘基，藉此定義表面暴露之胺基酸殘基之非人類抗體人類化組；前提係步驟(a)不需要首先進行，但必須在步驟(g)之前進行。

超人類化

【0108】 該方法將非人類序列與功能性人類生殖系基因庫進行比較。選擇編碼與非人類序列一致或密切相關之規範結構之彼等人類基因。選擇在 CDR 中同源性最高之彼等選定人類基因作為 FR 供體。最後，將非人類 CDR 移植至該等人類 FR 上。此方法闡述於專利 WO 2005/079479 A2 中。

人類字串含量最佳化

【0109】 此方法將非人類(例如小鼠)序列與人類生殖系基因之庫進行比較，且將差異評分為人類字串含量(HSC)，該 HSC 係在潛在 MHC/T 細胞抗原決定基之水準上對序列進行定量。接著藉由最大化靶序列之 HSC 而非使用全域一致性量

測來人類化靶序列，以生成多種不同的人類化變異體(闡述於 *Molecular Immunology*, 44, (2007) 1986-1998 中)。

框架改組

【0110】 使非人類抗體之 CDR 框內融合至涵蓋所有已知重鏈及輕鏈人類生殖系基因框架之 cDNA 庫。接著藉由(例如)淘選噬菌體展示之抗體文庫來選擇人類化抗體。此闡述於 *Methods* **36**, 43-60 (2005)中。

序列修飾

【0111】 本文所揭示之抗體重鏈可變區及/或輕鏈可變區之序列可由取代、插入或缺失修飾。與本文所闡述之序列實質上相同之胺基酸序列包括包含保守胺基酸取代以及胺基酸缺失及/或插入之序列。保守胺基酸取代係指用具有與第一胺基酸之化學及/或物理性質(例如電荷、結構、極性、疏水性/親水性)相似之彼等性質之第二胺基酸置換第一胺基酸。較佳保守取代係下文所指示之胺基酸組內之一個胺基酸取代另一胺基酸之彼等取代：

- 具有極性側鏈之胺基酸(Asp、Glu、Lys、Arg、His、Asn、Gln、Ser、Thr、Tyr 及 Cys)
- 具有非極性側鏈之胺基酸(Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Trp、Pro 及 Met)
- 具有脂肪族側鏈之胺基酸(Gly、Ala、Val、Leu、Ile)
- 具有環狀側鏈之胺基酸(Phe、Tyr、Trp、His、Pro)
- 具有芳香族側鏈之胺基酸(Phe、Tyr、Trp)
- 具有酸性側鏈之胺基酸(Asp、Glu)
- 具有鹼性側鏈之胺基酸(Lys、Arg、His)
- 具有醯胺側鏈之胺基酸(Asn、Gln)
- 具有羥基側鏈之胺基酸(Ser、Thr)
- 具有含硫側鏈之胺基酸(Cys、Met)，

- 中性、弱疏水性胺基酸(Pro、Ala、Gly、Ser、Thr)
- 親水性、酸性胺基酸(Gin、Asn、Glu、Asp)，及
- 疏水性胺基酸(Leu、Ile、Val)

【0112】 尤佳保守胺基酸取代基為：Val-Leu-Ile、Phe-Tyr、Lys-Arg、Ala-Val 及 Asn-Gln。

【0113】 在一些實施例中，本揭示案之抗體可包含重鏈，該重鏈具有與本文所闡述之重鏈具有 80%或更多胺基酸序列一致性(例如約 85%或更多、86%或更多、87%或更多、88%或更多、89%或更多、90%或更多、91%或更多、92%或更多、93%或更多、94%或更多、95%或更多、96%或更多、97%或更多、98%或更多、99%或更多序列一致性)之胺基酸序列。在一些實施例中，本揭示案之抗體可包含輕鏈，該輕鏈具有與本文所闡述之輕鏈具有 80%或更多胺基酸序列一致性(例如約 85%或更多、86%或更多、87%或更多、88%或更多、89%或更多、90%或更多、91%或更多、92%或更多、93%或更多、94%或更多、95%或更多、96%或更多、97%或更多、98%或更多、99%或更多序列一致性)之胺基酸序列。

【0114】 在一些實施例中，本揭示案之抗體可包含重鏈，該重鏈具有與本文所闡述重鏈之胺基酸序列一致之胺基酸序列，只是相對於本文所闡述重鏈之胺基酸序列，其包括 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個胺基酸修飾(例如取代、插入及/或缺失)。在一些實施例中，本揭示案之抗體可包含輕鏈，該輕鏈具有與本文所闡述輕鏈之胺基酸序列一致之胺基酸序列，只是相對於本文所闡述輕鏈之胺基酸序列，其包括 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個胺基酸修飾(例如取代、插入及/或缺失)。

抗體產生

【0115】 可藉由選殖編碼抗 IL13R α 2 抗體之 H 及 L 鏈抗原結合區之 DNA 區段，且將該等 DNA 區段分別與包括 CH 及 CL 區之 DNA 區段接合以產生全長免疫球蛋白編碼基因來產生人類化抗體、片段及區域。

【0116】 對於全長抗體分子，可自雜交瘤細胞株之 mRNA 獲得免疫球蛋白 cDNA。將抗體重鏈及輕鏈選殖在哺乳動物表現載體系統中。利用 DNA 序列分析記錄組裝。抗體構築體可在人類或其他哺乳動物宿主細胞株中表現。可藉由所表現抗體之瞬時轉染分析及免疫分析驗證構築體。可使用快速分析方法分離並篩選具有最高生產率之穩定細胞株。

治療方法

【0117】 本揭示案之抗體及結合物可用於療法中。亦提供治療方法，其包括向需要治療之個體投與治療有效量之本發明之抗體或結合物化合物。術語「治療有效量」係足以顯示對患者之益處之量。此益處可為至少改善至少一種症狀。所投與之實際量以及投與速率及時間進程將取決於所治療疾病之性質及嚴重程度。治療處方(例如劑量決定)係由全科從業者及其他醫師負責。

【0118】 取決於欲治療之疾患，本揭示案之抗體及結合物可單獨投與或與其他治療組合同時或依序投與。治療及療法之實例包括(但不限於)化學療法(投與活性劑，包括(例如)藥物，諸如化學治療劑)；手術；及輻射療法。

【0119】 「化學治療劑」係可用於治療癌症之化合物，與作用機制無關。化學治療劑之類別包括(但不限於)：烷基化劑、抗代謝物、紡錘體毒劑植物生物鹼、細胞毒素/抗腫瘤抗生素、拓撲異構酶抑制劑、抗體、光敏劑及激酶抑制劑。化學治療劑包括「靶向療法」及習用化學療法中使用之化合物。

【0120】 化學治療劑之實例包括：厄洛替尼(erlotinib)(TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.)、多西他賽(docetaxel)(TAXOTERE®, Sanofi-Aventis)、5-FU (氟尿嘧啶、5-氟尿嘧啶，CAS 編號 51-21-8)、吉西他濱(gemcitabine)(GEMZAR®, Lill

y)、PD-0325901 (CAS 編號 391210-10-9, Pfizer)、順鉑(cisplatin)(順式二胺二氯鉑(II), CAS 編號 15663-27-1)、卡鉑(carboplatin)(CAS 編號 41575-94-4)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、曲妥珠單抗(trastuzumab)(HERCEPTIN®, Genentech)、替莫唑胺(temozolomide)(4-甲基-5-側氧基-2,3,4,6,8-五氮雜雙環[4.3.0]壬-2,7,9-三烯-9-甲醯胺, CAS 編號 85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough)、他莫昔芬(tamoxifen)((Z)-2-[4-(1,2-二苯基丁-1-烯基)苯氧基]-N,N-二甲基乙胺, NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®)及多柔比星(doxorubicin)(ADRIAMYCIN®)、Akti-1/2、HP PD 及雷帕黴素(rapamycin)。

【0121】 化學治療劑之更多實例包括：奧沙利鉑(oxaliplatin)(ELOXATIN®, Sanofi)、硼替佐米(bortezomib)(VELCADE®, Millennium Pharm.)、舒癌特(sutent)(SUNITINIB®, SU11248, Pfizer)、來曲唑(letrozole)(FEMARA®, Novartis)、甲磺酸伊馬替尼(imatinib mesylate)(GLEEVEC®, Novartis)、XL-518 (Mek 抑制劑, Exelixis, WO 2007/044515)、ARRY-886 (Mek 抑制劑, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca)、SF-1126 (PI3K 抑制劑, Semafore Pharmaceuticals)、BEZ-235 (PI3K 抑制劑, Novartis)、XL-147 (PI3K 抑制劑, Exelixis)、PTK787/ZK 222584 (Novartis)、氟維司群(fulvestrant)(FASLODEX®, AstraZeneca)、甲醯四氫葉酸(醛葉酸)、雷帕黴素(西羅莫司(sirolimus), RAPAMUNE®, Wyeth)、拉帕替尼(lapatinib)(TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline)、洛那法尼(lonafarnib)(SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough)、索拉菲尼(sorafenib)(NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs)、吉非替尼(gefitinib)(IRESSA®, AstraZeneca)、伊立替康(irinotecan)(CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer)、替吡法尼(tipifarnib) (ZARNESTRA™, Johnson & Johnson)、ABRAXANE™ (不含克列莫佛(Cremophor))、太平洋紫杉醇之白蛋白工程化奈米粒子調配物(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Il)、

凡德他尼(vandetanib)(rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca)、苯丁酸氮芥、A G1478、AG1571 (SU 5271; Sugen)、替西羅莫司(temsirolimus)(TORISEL®, Wyeth)、帕唑帕尼(pazopanib)(GlaxoSmithKline)、坎磷醯胺(canfosfamide)(TELCYTA®, Telik)、噻替派(thiotepa)及環磷醯胺(CYTOXAN®, NEOSAR®); 烷基磺酸酯, 諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan); 氮丙啶(aziridine), 諸如苯并多巴(benzodopa)、卡波醯(carboquone)、美妥多巴(meturedopa)及烏瑞多巴(uredopa); 伸乙亞胺(ethylenimine)及甲基蜜胺(methylamelamine), 包括六甲蜜胺(altretamine)、三伸乙基蜜胺、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基硫代磷醯胺及三羥甲基蜜胺; 多聚乙醯(acetogenin)(尤其布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone)); 喜樹鹼(camptothecin)(包括合成類似物托泊替康(topotecan)); 苔蘚蟲素(bryostatin); 卡利斯他汀(callystatin); CC-1065 (包括其阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)及比折來新(bizelesin)合成類似物); 念珠藻素(cryptophycin) (具體而言念珠藻素 1 及念珠藻素 8); 尾海兔素(dolastatin); 多卡米星(duocarmycin) (包括合成類似物 KW-2189 及 CB1-TM1); 艾榴塞洛素(eleutherobin); 水鬼蕉鹼(pancratistatin); 匍枝珊瑚醇(sarcodictyin); 海綿抑制素(spongistatin); 氮芥, 諸如苯丁酸氮芥、萘氮芥(chlorophazine)、氯磷醯胺、雌莫司汀(estramustine)、異環磷醯胺、甲基二氯乙基胺(mechlorethamine)、甲基二氯乙基胺氧化物鹽酸鹽、美法侖(melphalan)、新氮芥(novembichin)、膽甾醇對苯乙酸氮芥(phenesterine)、潑尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥; 亞硝基脲, 諸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)及雷莫司汀(ranimustine); 抗生素, 諸如烯二炔抗生素(例如卡奇黴素(calicheamicin)、卡奇黴素 γ II、卡奇黴素 ω II (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186); 達內黴素(dynemicin)、達內黴素 A; 二膦酸鹽, 諸如氯膦酸鹽(clodronate); 埃斯波黴素(esperamicin);

以及新製癌菌素(neocarzinostatin)發色團及相關色蛋白烯二炔抗生素發色團)、阿
克拉黴素(aclacinomycin)、放線菌素(actinomycin)、安麴黴素(authramycin)、偶氮
絲胺酸、博來黴素(bleomycin)、放線菌素 C (cactinomycin)、卡拉比星(carabycin)、
洋紅黴素(caminomycin)、嗜癌黴素(carzinophilin)、色黴素(chromomycin)、放線
菌素 D (dactinomycin)、道諾黴素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮
基-5-側氧基-L-正白胺酸、嗎啉基-多柔比星、氰基嗎啉基-多柔比星、2-吡咯啉
并-多柔比星及去氧多柔比星)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、伊
達比星(idarubicin)、奈莫柔比星(nemorubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲
裂黴素(諸如絲裂黴素 C)、黴酚酸、諾拉黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycin)、
培洛黴素(peplomycin)、泊非黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、三
鐵阿黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑黴素(streptonigrin)、鏈脲黴
素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他汀(zinost
atin)、佐柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如胺甲喋呤及 5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉
酸類似物，諸如二甲葉酸(denopterin)、胺甲喋呤、蝶羅呤(pteropterin)、三甲曲
沙(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巯嘌呤、硫咪嘌呤
(thiamiprine)、硫鳥嘌呤；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿紮胞苷(az
acitidine)、6-阿紮尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、
二去氧尿苷、去氧氟尿苷、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)；雄激素，
諸如卡普甾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇
(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、甾內酯(testolactone)；抗腎上腺藥，諸如胺
魯米特(aminogluthimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，
諸如亞葉酸；醋葡醛內酯；醛磷醯胺糖苷；胺基乙醯丙酸；恩尿嘧啶(eniluracil)；
安吡啶(amsacrine)；倍曲布西(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；依達曲沙(edatra
xate)；地磷醯胺(defofamine)；秋水仙胺(demecolcine)；地吡醯(diaziquone)；依

氟鳥胺酸(elfornithine)；依利醋鉍(elliptinium acetate)；埃博黴素(epothilone)；依託格魯(etoglucid)；硝酸鎂；脛基脲；香菇多糖；氯尼達明(lonidamine)；類美登素(maytansinoid)，諸如美登素(maytansine)及安絲菌素(ansamitocin)；米托胍脲(mitoguazone)；米托蒽醌(mitoxantrone)；美得眠(mopidanmol)；尼曲吡啶(nitraerine)；噴司他汀(pentostatin)；蛋胺氮芥(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；洛索蒽醌(losoxantrone)；鬼臼酸；2-乙基醯肼；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK®多糖複合物(JHS Natural Products, Eugene, OR)；雷佐生(razoxane)；利索新(rhizoxin)；西佐喃(sizofiran)；鍺螺胺(spirogermanium)；替奴佐酸(tenuazonic acid)；三亞胺醌(triaziquone)；2,2',2''-三氯三乙胺；單端孢黴烯(trichothecene) (尤其 T-2 毒素、疣孢菌素 A (verracurin A)、桿孢菌素 A (roridin A)及蛇形菌素(anguidine))；烏拉坦(urethan)；長春地辛(vindesine)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露莫司汀(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；加賽特辛(gacytosine)；阿拉伯糖苷(arabinoside) (「Ara-C」)；環磷醯胺；噻替派；6-硫鳥嘌呤；巯嘌呤；胺甲喋呤；鉑類似物，諸如順鉑及卡鉑；長春花鹼(vinblastine)；依託泊苷(etoposide) (VP-16)；異環磷醯胺；米托蒽醌；長春新鹼(vincristine)；長春瑞濱(vinorelbine) (NAVELBINE®)；能滅瘤(novantrone)；替尼泊苷(teniposide)；依達曲沙(edatrexate)；道諾黴素(daunomycin)；胺喋呤(aminopterin)；卡培他濱(capecitabine) (XELODA®, Roche)；伊班膦酸鹽(ibandronate)；CP T-11；拓撲異構酶抑制劑 RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；類視色素，諸如視黃酸；及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸及衍生物。

【0122】 「化學治療劑」之定義中亦包括：(i)用以調控或抑制激素對腫瘤之作用之抗激素劑，諸如抗雌激素及選擇性雌激素受體調節劑(SERM)，包括(例如)他莫昔芬(包括 NOLVADEX®；檸檬酸他莫昔芬)、雷洛昔芬(raloxifene)、屈洛昔芬(droloxifene)、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、可莫昔芬(keoxifene)、

LY117018、奧那司酮(onapristone)及 FARESTON® (檸檬酸托瑞米芬(toremifene citrate))；(ii)抑制調控腎上腺中之雌激素產生之芳香酶之芳香酶抑制劑，諸如 4(5)-咪唑、胺魯米特、MEGASE® (乙酸甲地孕酮(megestrol acetate))、AROMASIN® (依西美坦(exemestane)；Pfizer)、福美坦(formestane)、法曲唑(fadrozole)、RIVISOR® (伏氯唑(vorozole))、FEMARA® (來曲唑；Novartis)及 ARIMIDEX® (阿那曲唑(anastrozole)；AstraZeneca)；(iii)抗雄激素，諸如氟他胺(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、柳培林(leuprolide)及戈舍瑞林(goserelin)；以及曲沙他濱(troxacitabine) (1,3-二氧雜環戊烷核苷胞嘧啶類似物)；(iv)蛋白質激酶抑制劑，諸如 MEK 抑制劑(WO 2007/044515)；(v)脂質激酶抑制劑；(vi)反義寡核苷酸，具體而言抑制信號傳導路徑中與異常細胞增殖有關的基因之表現之彼等反義寡核苷酸，例如 PKC- α 、Raf 及 H-Ras，諸如奧利默森(oblimersen) (GENASENSE®, Genta Inc.)；(vii)核酶，諸如 VEGF 表現抑制劑(例如 ANGIOZYME®)及 HER2 表現抑制劑；(viii)疫苗，諸如基因療法疫苗，例如 ALLOVECTIN®、LEUVECTIN®及 VAXID®；PROLEUKIN® rIL-2；拓撲異構酶 1 抑制劑，諸如 LURTOTECAN®；ABARELIX® rmRH；(ix)抗血管生成劑，諸如貝伐珠單抗(bevacizumab) (AVASTIN®, Genentech)；及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸及衍生物。

【0123】 「化學治療劑」之定義中亦包括治療性抗體，諸如阿倫單抗(alemtuzumab)(Campath)、貝伐珠單抗(AVASTIN®, Genentech)、西妥昔單抗(cetuximab)(ERBITUX®, Imclone)、帕尼單抗(panitumumab)(VECTIBIX®, Amgen)、利妥昔單抗(rituximab)(RITUXAN®, Genentech/Biogen Idec)、奧法木單抗(ofatumumab)(ARZERRA®, GSK)、帕妥珠單抗(pertuzumab)(PERJETA™, OMNITARG™, 2C4, Genentech)、曲妥珠單抗(HERCEPTIN®, Genentech)、托西

莫單抗(tositumomab)(Bexxar, Corixa)及抗體藥物結合物, 吉妥珠單抗奧唑米星(gemtuzumab ozogamicin)(MYLOTARG®, Wyeth)。

【0124】 具有作為化學治療劑之治療潛力之人類化單株抗體包括：阿倫單抗、阿泊珠單抗(apolizumab)、阿塞珠單抗(aselizumab)、阿塔珠單抗(atlizumab)、巴匹珠單抗(bapineuzumab)、貝伐珠單抗、比伐珠單抗莫登素(bivatuzumab mertansine)、坎妥珠單抗莫登素(cantuzumab mertansine)、西利珠單抗(cedelizumab)、培塞利珠單抗(certolizumab pegol)、西弗珠單抗(cidfusituzumab)、西杜珠單抗(cidtuzumab)、達克珠單抗(daclizumab)、依庫珠單抗(eculizumab)、依法珠單抗(efalizumab)、依帕珠單抗(epratuzumab)、厄利珠單抗(erlizumab)、非維珠單抗(felvizumab)、芳妥珠單抗(fontolizumab)、吉妥珠單抗奧唑米星、伊妥珠單抗奧唑米星(inotuzumab ozogamicin)、伊匹單抗(ipilimumab)、拉貝珠單抗(labetuzumab)、林妥珠單抗(lintuzumab)、馬妥珠單抗(matuzumab)、美泊利單抗(mepolizumab)、莫維珠單抗(motavizumab)、莫特珠單抗(motovizumab)、那他珠單抗(natalizumab)、尼妥珠單抗(nimotuzumab)、諾維珠單抗(nolovizumab)、努維珠單抗(numavizumab)、歐瑞珠單抗(ocrelizumab)、奧馬珠單抗(omalizumab)、帕利珠單抗(palivizumab)、帕考珠單抗(pascolizumab)、佩斯珠單抗(pecfusituzumab)、佩土珠單抗(pectuzumab)、帕妥珠單抗、培克珠單抗(pexelizumab)、拉維珠單抗(ralivizumab)、蘭尼單抗(ranibizumab)、瑞利珠單抗(reslivizumab)、來利珠單抗(reslizumab)、萊維珠單抗(resyvizumab)、羅維珠單抗(rovelizumab)、魯利珠單抗(ruplizumab)、西羅珠單抗(sibrotuzumab)、希普珠單抗(siplizumab)、索土珠單抗(sontuzumab)、他妥珠單抗替塞坦(tacatuzumab tetraxetan)、他度珠單抗(tadocizumab)、他利珠單抗(talizumab)、替非珠單抗(tefibazumab)、托珠單抗(tocilizumab)、托利珠單抗(toralizumab)、曲妥珠單抗、

西莫介白素單抗(tucotuzumab celmoleukin)、突西珠單抗(tucosituzumab)、烏維珠單抗(umavizumab)、烏珠單抗(urtoxazumab)及維西珠單抗(visilizumab)。

【0125】 除活性成分(亦即本揭示案之抗體或結合物化合物)以外，根據本揭示案及根據本揭示案使用之醫藥組合物亦可包含醫藥學上可接受之賦形劑、載劑、緩衝劑、穩定劑或熟習此項技術者所熟知之其他材料。此等材料應為無毒的，且不應干擾活性成分之功效。載劑或其他材料之確切性質將取決於投與途徑，其可為經口途徑，或藉由注射，例如經皮膚、皮下或靜脈內。

【0126】 供經口投與之醫藥組合物可呈錠劑、膠囊、粉末或液體形式。錠劑可包含固體載劑或佐劑。液體醫藥組合物通常包含液體載劑，諸如水、石油、動物或植物油、礦物油或合成油。可包括生理鹽水溶液、右旋糖或其他醣溶液或二醇(諸如乙二醇、丙二醇或聚乙二醇)。膠囊可包含固體載劑，諸如明膠。

【0127】 對於靜脈內、皮膚或皮下注射，或患病部位之注射，活性成分將呈非經腸可接受之水溶液形式，其無熱原且具有適宜 pH、等滲性及穩定性。熟習此項技術者完全能夠使用(例如)等滲媒劑(諸如氯化鈉注射液、林格氏注射液(Ringer's Injection)、乳酸林格氏注射液)製備適宜溶液。視需要，可包括防腐劑、穩定劑、緩衝劑、抗氧化劑及/或其他添加劑。

【0128】 如本文在治療疾患之背景中所用之術語「治療」概言之係指用於人類或動物(例如在獸醫學應用中)之治療及療法，其中達成一定之期望治療效應，例如抑制疾患之進展，且包括進展速率降低、進展速率停止、疾患消退、疾患改善及疾患治愈。亦包括作為預防措施之治療(亦即預防(prophylaxis、prevention))。

【0129】 如本文所用，術語「治療有效量」係指活性化合物或包含活性化合物之材料、組合物或劑型在根據期望治療方案投與時有效產生一定之期望治療效應且與合理益處/風險比相稱之量。

【0130】 類似地，如本文所用，術語「預防有效量」係指活性化合物或包含活性化合物之材料、組合物或劑型在根據期望治療方案投與時有效產生一定之期望預防效應且與合理益處/風險比相稱之量。

用途

【0131】 本揭示案之抗體可用於靶向靶位置。靶位置可較佳為增殖性細胞群體。

【0132】 本揭示案之抗體係針對增殖性細胞群體上所存在抗原之抗體。在一些實施例中，與增殖性細胞群體(例如腫瘤細胞群體)中所存在之抗原量相比，抗原在非增殖性細胞群體中不存在或以降低之水準存在。

【0133】 靶位置可為活體外、活體內或離體的。

【0134】 本揭示案之抗體包括具有抗癌活性效用之彼等抗體。因此，本揭示案提供用於療法中之如本文所闡述之人類化抗體。本揭示案亦提供用於治療增殖性疾病之如本文所闡述之人類化抗體。類似地，本揭示案提供如本文所闡述之人類化抗體之用途，其用於製造供治療增殖性疾病用之藥劑。

【0135】 本揭示案亦提供抗體藥物結合物，其包含與藥物部分結合之如本文所闡述之人類化抗體。此等結合物包括具有抗癌活性效用之彼等結合物。特定而言，本揭示案之結合物包括與藥物部分(可能為毒素)結合(亦即藉由連接體共價連接)之抗體。當藥物不與抗體結合時，藥物具有細胞毒性效應。因此，藥物部分之生物活性藉由與抗體結合來調節。本揭示案之抗體-藥物結合物(ADC)可選擇性地將有效劑量之細胞毒性劑遞送至腫瘤組織，藉此可達成更高之選擇性，亦即更低之有效劑量。

【0136】 因此，本揭示案提供用於療法中之如本文所闡述之結合物化合物。本揭示案亦提供用於治療增殖性疾病之如本文所闡述之結合物化合物，及如本文所闡述之結合物化合物用於製造供治療增殖性疾病用之藥劑之用途。

【0137】 熟習此項技術者能夠容易地確定候選結合物是否治療任何特定細胞類型之增殖性疾患。

【0138】 術語「增殖性疾病」係指過量或異常細胞之不希望或不受控制之細胞增殖，其係不期望的，諸如贅瘤或增生性生長，無論是在活體外還是在活體內。增殖性疾患之實例包括(但不限於)良性、惡化前及惡性細胞增殖，包括(但不限於)贅瘤及腫瘤(例如組織細胞瘤、神經膠質瘤、星形細胞瘤、骨瘤)、癌症(例如肺癌、小細胞肺癌、胃腸癌、腸癌、結腸癌、乳癌、卵巢癌、前列腺癌、睪丸癌、肝癌、腎癌、膀胱癌、胰臟癌、腦癌、肉瘤、骨肉瘤、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、黑色素瘤)、淋巴瘤、白血病、牛皮癬、骨疾病、纖維增殖性病(例如結締組織之纖維增殖性病)及動脈粥樣硬化。

【0139】 可治療任何類型之細胞，包括(但不限於)肺、胃腸(包括例如腸、結腸)、乳房(breast 或 mammary)、卵巢、前列腺、肝臟(肝)、腎臟(腎)、膀胱、胰臟、腦及皮膚。

【0140】 尤其關注之病症包括(但不限於)癌症，包括轉移性癌症及轉移性癌細胞，諸如循環性腫瘤細胞，可發現其在諸如血液或淋巴等體液中循環。尤其關注之癌症包括肺癌、乳癌、胰臟癌、卵巢癌、腎癌、頭頸癌、間皮瘤、神經膠母細胞瘤、黑色素瘤及腦瘤，諸如(但不限於)神經膠質瘤、髓母細胞瘤、星形細胞瘤及室管膜瘤。

【0141】 所關注之其他病症包括 IL13R α 2 過表現或 IL-13R α 2 拮抗作用將提供臨床益處之任何疾患，例如發炎性疾患，諸如(但不限於)發炎性腸病及纖維化。

【0142】 經考慮，本發明之抗體及抗體-藥物結合物(ADC)可用於治療各種疾病或病症，例如以腫瘤抗原過表現為特徵之疾病或病症。例示性疾患或過度增殖性病包括良性或惡性腫瘤；白血病、血液及淋巴樣惡性病。其他病症包括

神經元、神經膠質、星形細胞、下丘腦、腺體、巨噬細胞、上皮、基質、囊胚腔、發炎性、血管生成性及免疫性(包括自體免疫)病症。

【0143】 通常，欲治療之疾病或病症為過度增殖性疾病，諸如癌症。本文欲治療之癌症之實例包括(但不限於)癌、淋巴瘤、母細胞瘤、肉瘤及白血病或淋巴樣惡性病。此等癌症之更特定實例包括鱗狀細胞癌(例如上皮鱗狀細胞癌)；肺癌，包括小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌及肺鱗狀癌；腹膜癌；肝細胞癌；胃癌(gastric cancer 或 stomach cancer)，包括胃腸癌；胰臟癌；神經膠母細胞瘤；子宮頸癌；卵巢癌；肝癌；膀胱癌；肝細胞瘤；乳癌；結腸癌；直腸癌；結腸直腸癌；子宮內膜或子宮癌；唾液腺癌；腎癌(kidney cancer 或 renal cancer)；前列腺癌；外陰癌；甲狀腺癌；肝癌；肛門癌；陰莖癌；以及頭頸癌。

【0144】 可使用 ADC 化合物治療之自體免疫疾病包括風濕性病症(諸如類風濕性關節炎、薛格連氏症候群(Sjögren's syndrome)、硬皮症、狼瘡(諸如 SLE 及狼瘡性腎炎)、多發性肌炎/皮肌炎、冷凝球蛋白血症、抗磷脂抗體症候群及牛皮癬性關節炎)、骨關節炎、自體免疫性胃腸及肝臟病症(諸如發炎性腸病(例如潰瘍性結腸炎及克隆氏病(Crohn's disease))、自體免疫性胃炎及惡性貧血、自體免疫性肝炎、原發性膽汁性肝硬化、原發性硬化性膽管炎及乳糜瀉)、血管炎(諸如 ANCA 相關之血管炎，包括查格-施特勞斯血管炎(Churg-Strauss vasculitis)、韋格納氏肉芽腫(Wegener's granulomatosis)及多發性動脈炎)、自體免疫性神經病症(諸如多發性硬化、斜視眼陣攣肌陣攣症候群、重症肌無力、視神經脊髓炎、帕金森氏病(Parkinson's disease)、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)及自體免疫性多發性神經病變)、腎病症(諸如腎小球性腎炎、古巴士德氏症候群(Goodpasture's syndrome)及伯格氏病(Berger's disease))、自體免疫性皮膚病症(諸如牛皮癬、蕁麻疹(urticaria、hives)、尋常天庖瘡、大庖性類天庖瘡及皮膚紅斑狼瘡)、血液病症(諸如血小板減少性紫癍症、血栓性血小板減少性紫癍症、輸血後紫癍症及自

體免疫性溶血性貧血)、動脈粥樣硬化、眼色素層炎、自體免疫性聽力疾病(諸如內耳疾病及聽覺損失)、貝賽特氏病(Behcet's disease)、雷諾氏症候群(Raynaud's syndrome)、器官移植及自體免疫性內分泌病症(諸如糖尿病相關之自體免疫疾病, 諸如胰島素依賴性糖尿病(IDDM)、艾迪森氏病(Addison's disease)及自體免疫性甲狀腺疾病(例如格雷夫氏病(Graves' disease)及甲狀腺炎))。更佳之此等疾病包括(例如)類風濕性關節炎、潰瘍性結腸炎、ANCA 相關之血管炎、狼瘡、多發性硬化、薛格連氏症候群、格雷夫氏病、IDDM、惡性貧血、甲狀腺炎及腎小球性腎炎。

調配物

【0145】 儘管本揭示案之抗體及結合物化合物可單獨使用(例如投與), 但其通常較佳以組合物或調配物形式呈現。

【0146】 在一些實施例中, 組合物為包含如本文所闡述之抗體或結合物化合物及醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑之醫藥組合物(例如調配物、製劑、藥劑)。

【0147】 在一些實施例中, 組合物為包含以下之醫藥組合物: 如本文所闡述之至少一種抗體或結合物化合物, 以及熟習此項技術者所熟知之一或多種其他醫藥學上可接受之成分, 包括(但不限於)醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑、賦形劑、佐劑、填充劑、緩衝劑、防腐劑、抗氧化劑、潤滑劑、穩定劑、增溶劑、表面活性劑(例如潤濕劑)、掩蔽劑、著色劑、矯味劑及甜味劑。

【0148】 在一些實施例中, 組合物可進一步包含其他活性劑, 例如其他治療劑或預防劑。適宜載劑、稀釋劑、賦形劑等可參見標準醫藥文獻。例如, 參見 Handbook of Pharmaceutical Additives, 第 2 版(編輯 M. Ash 及 I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA); Remington's

Pharmaceutical Sciences，第 20 版，出版商 Lippincott, Williams & Wilkins, 2000；及 Handbook of Pharmaceutical Excipients，第 2 版，1994。

【0149】 亦揭示製備醫藥組合物之方法，其包括將如本文所定義之至少一種 [11C]放射性標記之結合物或結合物樣化合物與熟習此項技術者所熟知之一或多種其他醫藥學上可接受之成分(例如載劑、稀釋劑、賦形劑等)一起混合。若調配為離散單元(例如錠劑等)，則每一單元含有預定量(劑量)之活性化合物。

【0150】 如本文所用，術語「醫藥學上可接受」係指在合理醫學判斷範圍內適用於與所討論個體(例如人類)之組織接觸而無過度毒性、刺激性、過敏反應或其他問題或併發症且與合理益處/風險比相稱之化合物、成分、材料、組合物、劑型等。每一載劑、稀釋劑、賦形劑等在與調配物之其他成分相容之意義上亦必須為「可接受的」。

【0151】 本揭示案之調配物可藉由藥學技術中所熟知之任何方法來製備。此等方法包括使活性化合物與構成一或多種輔助性成分之載劑締合之步驟。一般而言，藉由以下方式來製備調配物：使活性化合物與載劑(例如液體載劑、精細固體載劑等)均勻且充分締合，且接著(若需要)使產物成形。

【0152】 調配物可經製備以提供快速或緩慢釋放；立即、延遲、定時或持續釋放；或其組合。

【0153】 適於非經腸投與(例如藉由注射)之調配物包括水性或非水性、等滲、無熱原、無菌液體(例如溶液、懸浮液)，其中活性成分溶解、懸浮或以其他方式提供(例如於脂質體或其他微粒中)。此等液體可額外含有其他醫藥學上可接受之成分，諸如抗氧化劑、緩衝劑、防腐劑、穩定劑、抑菌劑、懸浮劑、增稠劑及使調配物與預期接受者之血液(或其他相關體液)等滲之溶質。賦形劑之實例包括(例如)水、醇、多元醇、甘油、植物油及諸如此類。用於此等調配物中之適宜等滲載劑之實例包括氯化鈉注射液、林格氏溶液或乳酸林格氏注射液。通常，活

性成分在液體中之濃度為約 1 ng/ml 至約 10 µg/ml，例如約 10 ng/ml 至約 1 µg/ml。調配物可以單位劑量或多劑量密封容器(例如安瓿及小瓶)呈遞，且可儲存在冷凍乾燥(凍乾)條件下，從而僅需在即將使用前添加無菌液體載劑(例如注射用水)。臨時注射溶液及懸浮液可自無菌粉末、顆粒及錠劑製備。

劑量

【0154】 熟習此項技術者將瞭解，本揭示案之抗體、結合物化合物及組合物之適當劑量可因患者而異。確定最佳劑量通常將涉及平衡治療益處水準與任何風險或有害副作用。所選劑量水準將取決於多種因素，包括(但不限於)特定化合物之活性、投與途徑、投與時間、化合物之排泄速率、治療持續時間、組合使用之其他藥物、化合物及/或材料、疾患之嚴重程度以及患者之物種、性別、年齡、體重、狀況、一般健康狀況及先前病史。化合物之量及投與途徑最終將由醫師、獸醫師或臨床醫師決定，但通常將選擇劑量以在作用部位達成局部濃度，從而達成期望效應而不引起實質上危害或有害之副作用。

【0155】 可在整個治療過程中以一個劑量、連續或間歇地(例如在適當間隔下以分開之劑量)實現投與。確定最有效之投與方式及劑量之方法為熟習此項技術者所熟知，且將隨用於療法之調配物、療法目的、所治療之靶細胞及所治療之個體而變化。可進行單次或多次投與，由治療醫師、獸醫師或臨床醫師選擇劑量水準及模式。

【0156】 一般而言，活性化合物之適宜劑量在每天每公斤個體體重約 100 ng 至約 25 mg (更通常約 1 µg 至約 10 mg)範圍內。倘若活性化合物為鹽、酯、醯胺、前藥或諸如此類，則投與量係基於母體化合物計算，且因此所使用之實際重量成比例增加。

【0157】 在一個實施例中，根據以下劑量方案向人類患者投與活性化合物：約 100 mg，每天 3 次。

【0158】 在一個實施例中，根據以下劑量方案向人類患者投與活性化合物：約 150 mg，每天 2 次。

【0159】 在一個實施例中，根據以下劑量方案向人類患者投與活性化合物：約 200 mg，每天 2 次。

【0160】 然而在一個實施例中，根據以下劑量方案向人類患者投與結合物化合物：約 50 mg 或約 75 mg，每天 3 次或 4 次。

【0161】 在一個實施例中，根據以下劑量方案向人類患者投與結合物化合物：約 100 mg 或約 125 mg，每天 2 次。

【0162】 上述劑量可適用於抗體、結合物(包括藥物部分及與抗體之連接體)或適用於所提供藥物化合物之有效量，例如在連接體裂解後可釋放之化合物量。

【0163】 對於疾病之預防或治療，適當劑量將取決於如上文所定義之欲治療疾病之類型、疾病之嚴重程度及過程、投與分子用於預防性還是治療性目的、先前療法、患者之臨床病史及對抗體之反應以及主治醫師之決定。分子適於一次性或經一系列治療投與給患者。端視於疾病之類型及嚴重程度而定，約 1 µg/kg 至 15 mg/kg (例如 0.1 mg/kg-20 mg/kg)之分子為投與給患者之初始候選劑量，不論是例如藉由一或多次分開投與還是藉由連續輸注。端視於以上所提及之因素而定，典型日劑量之範圍可為約 1 µg/kg 至 100 mg/kg 或更多。欲投與給患者之 ADC 之例示性劑量在約 0.1 mg/kg 患者體重至約 10 mg/kg 患者體重範圍內。對於經若干天或更長時間重複投與而言，端視於疾患而定，治療持續至對疾病症狀之期望抑制出現為止。例示性投藥方案包含如下療程：投與約 4 mg/kg 之初始負荷劑量，之後每週、兩週或三週投與額外劑量之 ADC。其他劑量方案可能為有用的。此療法之進展易於藉由習用技術及分析來監測。

個體/患者

【0164】 個體/患者可為動物、哺乳動物、胎盤哺乳動物、有袋類動物(例如袋鼠、袋熊)、單孔類動物(例如鴨嘴獸)、齧齒類動物(例如天竺鼠、倉鼠、大鼠、小鼠)、鼠類(例如小鼠)、兔類動物(例如兔)、鳥類(例如鳥)、犬類(例如狗)、貓類(例如貓)、馬類(例如馬)、豬類(例如豬)、綿羊類(例如綿羊)、牛類(例如牛)、靈長類動物、猿類(例如猴或猿)、猴(例如狨猴、狒狒)、猿(例如大猩猩、黑猩猩、猩猩、長臂猿)或人類。

【0165】 此外，個體/患者可為其發育形式中之任一者，例如胎兒。在一個較佳實施例中，個體/患者為人類。

實施例

【0166】 本揭示案提供抗 IL13R α 2 抗體。本揭示案抗體之具體考慮之實施例包括：

一種結合至介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2)之抗體，其包含重鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO: 14 及 SEQ ID: NO 15 中所示之互補決定區(CDR)；及/或輕鏈，該輕鏈包含(i) SEQ ID NO:16、SEQ ID NO: 17 及 SEQ ID: NO 18 中所示之 CDR；及(ii)在位置 30 處之絲胺酸殘基(參考 SEQ ID NO: 3 編號)，其中可變區為完全人類的。在一個實施例中，抗體為完全人類的，包括恆定區。在相關實施例中，本發明提供抗體結合物，其包含該抗體及吡咯并苯并二氮呋二聚體。在一個實施例中，輕鏈為人類 κ 輕鏈。

【0167】 一種結合至介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2)之抗體，其中該抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 3；SEQ ID NO: 5；SEQ ID NO: 6；SEQ ID NO: 7；及 SEQ ID NO: 8。在一些此等實施例中，抗體進一步包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及/或具有 SEQ ID NO. 18 之胺基酸序列之 VL CDR3。在一些實施例中，

抗體進一步包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及具有 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列之 VL CDR3。在一些實施例中，可變區為完全人類的。在一些實施例中，抗體為完全人類的。舉例而言，抗體中所包含之任何恆定區亦可為完全人類抗體。

【0168】 因此，在一些實施例中，抗體包含：

- (i) 重鏈可變區，該重鏈可變區具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及具有 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列之 VL CDR3，視情況其中該等可變結構域及/或該抗體為完全人類的；
- (ii) 重鏈可變區，該重鏈可變區具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及具有 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列之 VL CDR3，視情況其中該等可變結構域及/或該抗體為完全人類的；
- (iii) 重鏈可變區，該重鏈可變區具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及具有 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列之 VL CDR3，視情況其中該等可變結構域及/或該抗體為完全人類的；
- (iv) 重鏈可變區，該重鏈可變區具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及具有 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列之 VL CDR3，視情況其中該等可變結構域及/或該抗體為完全人類的；或
- (v) 重鏈可變區，該重鏈可變區具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID

NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及具有 SEQ ID NO.18 之胺基酸序列之 VL CDR3，視情況其中該等可變結構域及/或該抗體為完全人類的。

【0169】 在一些實施例中，抗體進一步包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 10；SEQ ID NO: 11。

【0170】 一種結合至介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2)之抗體，其中該抗體包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 10；SEQ ID NO: 11。在一些此等實施例中，該抗體進一步包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列之 VH CDR1、具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列之 VH CDR2 及/或具有 SEQ ID NO.15 之胺基酸序列之 VH CDR3。在一些實施例中，該抗體進一步包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列之 VH CDR1、具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列之 VH CDR2 及具有 SEQ ID NO.15 之胺基酸序列之 VH CDR3。在一些實施例中，可變區為完全人類的。在一些實施例中，抗體為完全人類的。舉例而言，抗體中所包含之任何恆定區亦可為完全人類抗體。

【0171】 因此，在一些實施例中，抗體包含：

(i) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列之 VH CDR1、具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列之 VH CDR2 及具有 SEQ ID NO.15 之胺基酸序列之 VH CDR3，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列，視情況其中該等可變結構域及/或該抗體為完全人類的；

(ii) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列之 VH CDR1、具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列之 VH CDR2 及具有 SEQ ID NO.15 之胺基酸序列之 VH CDR3，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列，視情況其中該等可變結構域及/或該抗體為完全人類的；

(iii) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列之 VH CDR1、具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列之 VH CDR2 及具有 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列之 VH CDR3，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列，視情況其中該等可變結構域及/或該抗體為完全人類的；

(iv) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列之 VH CDR1、具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列之 VH CDR2 及具有 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列之 VH CDR3，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列，視情況其中該等可變結構域及/或該抗體為完全人類的。

【0172】 在一些實施例中，抗體進一步包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 3；SEQ ID NO: 5；SEQ ID NO: 6；SEQ ID NO: 7；及 SEQ ID NO: 8。

【0173】 因此，本揭示案之具體考慮抗體包括包含以下各項之彼等抗體：

i) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

ii) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

iii) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

iv) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

v) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

vi) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

- vii) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- viii) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- ix) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- x) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xi) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xii) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xiii) 具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xiv) 具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xv) 具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xvi) 具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xvii) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xviii) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

xix) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；及

xx) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0174】 本揭示案之較佳抗體包括包含以下各項之彼等抗體：

- 具有 SEQ ID NO: 3 (VHA; HuCL47 VH)之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 (VKA; HuCL47 VL)之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- 具有 SEQ ID NO: 5 (VHA 回復)之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 (VKA; HuCL47 VL)之胺基酸序列之輕鏈可變區；及
- 具有 SEQ ID NO: 8 (VHA3)之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 (VKA2)之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0175】 本揭示案之尤佳抗體包括包含具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區之彼等抗體。

【0176】 若適當，以特定形式或根據用於實施所揭示功能之方式或用於獲得所揭示結果之方法或製程表示的在上述說明書或下文申請專利範圍或附圖中所揭示之特徵，可單獨地或以此等特徵之任一組合用於實現呈多種形式之本發明。

【0177】 儘管已結合上文所闡述之例示性實施例闡述本發明，但當給出本揭示案時，許多等效修改形式及變化形式將對熟習此項技術者而言顯而易見。因此，上述本發明之例示性實施例視為闡釋性的且不具有限制性。可在不背離本發明之精神及範圍之情形下對所闡述之實施例進行各種改變。

【0178】 為避免任何疑問，本文所提供之任何理論揭示均係出於提高讀者理解之目的而提供。發明人不希望受該等理論解釋中之任一者束縛。

【0179】 本文所用之任何章節標題僅用於組織目的，而不應解釋為限制所描述之標的物。

【0180】 在整個本說明書、包括下文之申請專利範圍中，除非上下文另有要求，否則詞語「包含(comprise)」及「包括(include)」以及變化形式(諸如「包含(comprises、comprising)」及「包括(including)」)應理解為暗指包括所述整數或步驟或整數或步驟之群組，但並不排除任何其他整數或步驟或整數或步驟之群組。

【0181】 必須注意，除非上下文另外明確地指示，否則如本說明書及隨附申請專利範圍中所用，單數形式「一(a、an)」及「該(the)」包括複數個指示物。範圍在本文中可表述為自「約」一個特定值及/或至「約」另一特定值。當表述此一範圍時，另一實施例包括自一個特定值及/或至另一特定值。類似地，當藉由使用先行詞「約」將值表述為近似值時，應理解，該特定值形成另一實施例。與數值相關之術語「約」係視情況選用的，且意指例如 $\pm 10\%$ 。

序列

SEQ ID NO: 1 [鼠類 CL47 VH，CDR 加下劃線]

QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYTFSNYLMNWVKQRPEQDLDWIGRI
DPYDGDIDYNQNFKDKAILTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGYGT
AYGVDYWGQGTSVTVSS

SEQ ID NO: 2 [鼠類 CL47 VL，CDR 加下劃線]

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGQPPKLLIY
AASRQGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKEVPWTFGG
 GTKLEIK

SEQ ID NO: 3 [HuCL47 VH (純系 47 VHA)，CDR 加下劃線]

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYLMNWVRQAPGQGLEWMG
RIDPYDGDIDYNQNFKDRVTITRDTSASTAYMELSSLRSED~~TAVYYCARGYG~~
TAYGVVDYWGQGTSVTVSS

SEQ ID NO: 4 [HuCL47 VL (純系 47 VKA) , CDR 加下劃線]

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDNYGISFMNWYQQKPGQAPRLLIY
AASRQGSGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGGGT
 KLEIK

SEQ ID NO: 5 [純系 47 VHA 回復 , CDR 加下劃線]

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYLMNWVRQAPGQGLEWIGR
IDPYDGDIDYNQNFKDRATLTVDKSASTAYMELSSLRSED~~TAVYYCARGYG~~
TAYGVVDYWGQGTSVTVSS

SEQ ID NO: 6 [純系 47 VHA1 , CDR 加下劃線]

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYLMNWVRQAPGQGLEWIGR
IDPYDGDIDYNQNFKDRVTITRDTSASTAYMELSSLRSED~~TAVYYCARGYGT~~
AYGVVDYWGQGTSVTVSS

SEQ ID NO: 7 [純系 47 VHA2 , CDR 加下劃線]

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYLMNWVRQAPGQGLEWMG
RIDPYDGDIDYNQNFKDRVTITVDTSASTAYMELSSLRSED~~TAVYYCARGYG~~
TAYGVVDYWGQGTSVTVSS

SEQ ID NO: 8 [純系 47 VHA3 , CDR 加下劃線]

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYLMNWVRQAPGQGLEWMG
RIDPYDGDIDYNQNFKDRVTITRDKSASTAYMELSSLRSED~~TAVYYCARGYG~~
TAYGVVDYWGQGTSVTVSS

SEQ ID NO: 9 [純系 47 VKA 回復 , CDR 加下劃線]

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGQAPRLLIY
AASRQGSGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQSKEVPWTFGGGT
KLEIK

SEQ ID NO: 10 [純系 47 VKA1，CDR 加下劃線]

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGQAPRLLIY
AASRQGSGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGGGT
KLEIK

SEQ ID NO: 11 [純系 47 VKA2，CDR 加下劃線]

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGQAPRLLIY
AASRQGSGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQSKEVPWTFGGGT
KLEIK

SEQ ID NO: 12 [人類 IL13RA2 之細胞外結構域(27-343)(Uniprot Q14627)]

DTEIKVNPPQDFEIVDPGYLGYYLQWQPPLSLDHFKECTVEYELKYRNIGSE
TWKTIITKNLHYKDGFDLNKGIEAKIHTLLPWQCTNGSEVQSSWAETTYWIS
PQGIPETKVQDMDCVYYNWQYLLCSWKPGIGVLLDTNYNLFYWYEGLDHA
LQCVDYIKADGQNIGCRFPYLEASDYKDFYICVNGSSENKPIRSSYFTFQLQNI
VKPLPPVYLTFTRESSCEIKLKWSIPLGPIPARCFDYEIEIREDDTTLVTATVEN
ETYTLKTTNETRQLCFVVRSKVNIYCSDDGIWSEWSDKQCWEGEDLSKKTLL
Rhhhhhh

Hhhhhh = C 末端 His 標籤

SEQ ID NO: 13 [HuCL47 CDRH1]

NYLMN

SEQ ID NO: 14 [HuCL47 CDRH2]

RIDPYDGDIDYNQNFKD

SEQ ID NO: 15 [HuCL47 CDRH3]

GYGTAYGVDY

SEQ ID NO: 16 [HuCL47 CDRL1]

RASESVDNYGISFMN

SEQ ID NO: 17 [HuCL47 CDRL2]

AASRQGS

SEQ ID NO: 18 [HuCL47 CDRL3]

QQSKEVPWT

揭示聲明

【0182】 以下概述本揭示案之態樣之編號聲明係說明書之一部分。

【0183】 101. 一種結合至介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2)之抗體，其中該抗體包含：

重鏈可變區，其包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 3；SEQ ID NO: 5；SEQ ID NO: 6；SEQ ID NO: 7；及 SEQ ID NO: 8；及

輕鏈可變區，其包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 10；SEQ ID NO: 11。

【0184】 102. 如聲明 101 之抗體，其中該抗體包含具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及：

- (i) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (ii) 具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (iii) 具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；或
- (iv) 具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0185】 103. 如聲明 101 之抗體，其中該抗體包含具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及：

- (i) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (ii) 具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (iii) 具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；或
- (iv) 具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0186】 104. 如聲明 101 之抗體，其中該抗體包含具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及：

- (i) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (ii) 具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (iii) 具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；或
- (iv) 具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0187】 105. 如聲明 101 之抗體，其中該抗體包含具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及：

- (i) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (ii) 具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (iii) 具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；或
- (iv) 具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0188】 106. 如聲明 101 之抗體，其中該抗體包含具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及：

- (i) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (ii) 具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- (iii) 具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；或
- (iv) 具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0189】 107. 如聲明 101 或 102 之抗體，其中該抗體包含具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0190】 108. 如任一前述聲明之抗體，其中該抗體為選自由以下組成之群之抗體片段：Fab、Fab'、F(ab')₂ 及 scFv。

【0191】 109. 如任一前述聲明之抗體，其中該抗體進一步包含源自一或多種人類抗體之抗體恆定區。

【0192】 110. 如任一前述聲明之抗體，其中該抗體以不大於 5×10^{-10} M、諸如不大於 2.5×10^{-10} M 之親和力(K_D)結合 IL13R α 2。

【0193】 111. 如任一前述聲明之抗體，其中該抗體以不大於 1.5×10^{-10} M 之親和力(K_D)結合 IL13R α 2。

【0194】 112. 如任一前述聲明之抗體，其中該抗體競爭性地抑制包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區之抗體對 IL13R α 2 之結合。

【0195】 113. 如任一前述聲明之抗體，其中該抗體以較包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區之抗體更高之親和力(K_D)結合 IL13R α 2。

【0196】 114. 如任一前述聲明之抗體，其中該抗體在人類個體中之免疫原性低於包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區之抗體之免疫原性。

【0197】 115. 如任一前述聲明之抗體，其中該抗體與包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區之抗體相比具有改良之穩定性性質。

【0198】 116. 一種抗體藥物結合物，其包含與藥物部分結合之如任一前述聲明之抗體。

【0199】 117. 如聲明 116 之抗體藥物結合物，其中該藥物部分係細胞毒性藥物部分。

【0200】 118. 一種醫藥組合物，其包含如聲明 101 至 117 中之任一聲明之抗體或抗體藥物結合物以及醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑或賦形劑。

【0201】 119. 一種結合至介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2)之抗體，其中該抗體包含：

重鏈可變區，其包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 3；SEQ ID NO: 5；SEQ ID NO: 6；SEQ ID NO: 7；及 SEQ ID NO: 8；及

輕鏈可變區，其包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及/或具有 SEQ ID NO.18 之胺基酸序列之 VL CDR3。

【0202】 120. 如聲明 119 之抗體，其中該抗體包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及具有 SEQ ID NO.18 之胺基酸序列之 VL CDR3。

【0203】 121. 如聲明 119 或 120 之抗體，其中該抗體包含：

(i) 重鏈可變區，該重鏈可變區具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及具有 SEQ ID NO.18 之胺基酸序列之 VL CDR3；

(ii) 重鏈可變區，該重鏈可變區具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID

NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及具有 SEQ ID NO.18 之胺基酸序列之 VL CDR3；

(iii) 重鏈可變區，該重鏈可變區具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及具有 SEQ ID NO.18 之胺基酸序列之 VL CDR3；

(iv) 重鏈可變區，該重鏈可變區具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及具有 SEQ ID NO.18 之胺基酸序列之 VL CDR3；或

(v) 重鏈可變區，該重鏈可變區具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及具有 SEQ ID NO.18 之胺基酸序列之 VL CDR3。

【0204】 122. 如聲明 119 至 121 中之任一聲明之抗體，其中該抗體包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 10；SEQ ID NO: 11。

【0205】 123. 一種結合至介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2)之抗體，其中該抗體包含：

輕鏈可變區，其包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 4；SEQ ID NO: 9；SEQ ID NO: 10；SEQ ID NO: 11；及

重鏈可變區，其包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列之 VH CDR1、具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列之 VH CDR2 及/或具有 SEQ ID NO.15 之胺基酸序列之 VH CDR3。

【0206】 124. 如聲明 123 之抗體，其中該抗體包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列之 VH CDR1、具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列之 VH CDR2 及具有 SEQ ID NO. 15 之胺基酸序列之 VH CDR3。

【0207】 125. 如聲明 123 或 124 之抗體，其中該抗體包含：

(i) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列之 VH CDR1、具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列之 VH CDR2 及具有 SEQ ID NO.15 之胺基酸序列之 VH CDR3，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列；

(ii) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列之 VH CDR1、具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列之 VH CDR2 及具有 SEQ ID NO.15 之胺基酸序列之 VH CDR3，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；

(iii) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列之 VH CDR1、具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列之 VH CDR2 及具有 SEQ ID NO.15 之胺基酸序列之 VH CDR3，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；

(iv) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列之 VH CDR1、具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列之 VH CDR2 及具有 SEQ ID NO.15 之胺基酸序列之 VH CDR3，及輕鏈可變區，該輕鏈可變區具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列。

【0208】 126. 如聲明 123 至 125 中之任一聲明之抗體，其中該抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 3；SEQ ID NO: 5；SEQ ID NO: 6；SEQ ID NO: 7；及 SEQ ID NO: 8。

【0209】 127. 如聲明 119 至 126 中之任一聲明之抗體，其中該抗體包含：

- i) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- ii) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- iii) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- iv) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- v) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- vi) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- vii) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- viii) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- ix) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- x) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xi) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；
- xii) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

xiii) 具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

xiv) 具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

xv) 具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

xvi) 具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

xvii) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

xviii) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列之輕鏈可變區；

xix) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列之輕鏈可變區；或

xx) 具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0210】 128. 如聲明 119 至 127 中之任一聲明之抗體，其中該抗體包含具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0211】 129. 一種抗體，其包含：
重鏈可變區，其包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列之 VH CDR1、具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列之 VH CDR2 及/或具有 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列之 VH CDR3；及/或

輕鏈可變區，其包含具有 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列之 VL CDR1、具有 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列之 VL CDR2 及/或具有 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列之 VL CDR3。

【0212】 130. 如聲明 129 之抗體，其中該抗體結合至介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2)。

【0213】 131. 如聲明 129 或 130 中之任一者之抗體，其中該抗體包含在位置 30 處之絲胺酸殘基(參考 SEQ ID NO: 3 編號)。

【0214】 132. 如聲明 129 至 131 中之任一聲明之抗體，其中該等可變區為完全人類的。

【0215】 133. 如聲明 129 至 132 中之任一聲明之抗體，其中該抗體為完全人類抗體。

【0216】 134. 如聲明 129 至 133 中之任一聲明之抗體，其中該輕鏈為人類 κ 輕鏈。

【0217】 135. 如聲明 119 至 134 中之任一聲明之抗體，其中該抗體為選自由以下組成之群之抗體片段：Fab、Fab'、F(ab')₂ 及 scFv。

【0218】 136. 如聲明 119 至 134 中之任一聲明之抗體，其中該抗體進一步包含源自一或多種人類抗體之抗體恆定區。

【0219】 137. 如聲明 119 至 136 中之任一聲明之抗體，其中該抗體以不大於 5×10^{-10} M、諸如不大於 2.5×10^{-10} M 之親和力(K_D)結合 IL13R α 2。

【0220】 138. 如聲明 119 至 137 中之任一聲明之抗體，其中該抗體以不大於 1.5×10^{-10} M 之親和力(K_D)結合 IL13R α 2。

【0221】 139. 如聲明 119 至 138 中之任一聲明之抗體，其中該抗體競爭性地抑制包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區之抗體對 IL13R α 2 之結合。

【0222】 140. 如聲明 119 至 139 中之任一聲明之抗體，其中該抗體以較包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區之抗體更高之親和力(KD)結合 IL13R α 2。

【0223】 141. 如聲明 119 至 140 中之任一聲明之抗體，其中該抗體在人類個體中之免疫原性低於包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區之抗體之免疫原性。

【0224】 142. 如聲明 119 至 141 中之任一聲明之抗體，其中該抗體與包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區之抗體相比具有改良之穩定性性質。

【0225】 143. 一種抗體藥物結合物，其包含與藥物部分結合之如聲明 119 至 142 中之任一聲明之抗體。

【0226】 144. 如聲明 143 之抗體藥物結合物，其中該藥物部分係細胞毒性藥物部分。

【0227】 145. 如聲明 144 之抗體藥物結合物，其中該細胞毒性藥物部分係吡咯并苯并二氮呋二聚體。

【0228】 146. 一種醫藥組合物，其包含如聲明 119 至 145 中之任一聲明之抗體或抗體藥物結合物以及醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑或賦形劑。

【0229】 201. 如聲明 101 至 146 中之任一聲明之抗體、抗體藥物結合物或醫藥組合物，其用於治療方法中。

【0230】 202. 如聲明 101 至 146 中之任一聲明之抗體、抗體藥物結合物或醫藥組合物，其用於治療個體之增殖性疾病之方法中。

【0231】 203. 如聲明 202 之抗體、抗體藥物結合物或醫藥組合物，其中該增殖性疾病為癌症。

【0232】 204. 如聲明 203 之抗體、抗體藥物結合物或醫藥組合物，其中該癌症為選自由以下組成之群之癌症：肺癌、乳癌、胰臟癌、卵巢癌、腎癌、頭頸癌、間皮瘤、神經膠母細胞瘤、黑色素瘤及腦瘤，諸如(但不限於)神經膠質瘤、髓母細胞瘤、星形細胞瘤及室管膜瘤。

【0233】 205. 一種如聲明 101 至 146 中之任一聲明之抗體、抗體藥物結合物或醫藥組合物之用途，其用於製造供治療方法中使用之藥劑。

【0234】 206. 一種如聲明 101 至 146 中之任一聲明之抗體、抗體藥物結合物或醫藥組合物之用途，其用於製造供治療個體之增殖性疾病的方法中使用之藥劑。

【0235】 207. 如聲明 206 之用途，其中該增殖性疾病為癌症。

【0236】 208. 如聲明 207 之用途，其中該癌症為選自由以下組成之群之癌症：肺癌、乳癌、胰臟癌、卵巢癌、腎癌、頭頸癌、間皮瘤、神經膠母細胞瘤、黑色素瘤及腦瘤，諸如(但不限於)神經膠質瘤、髓母細胞瘤、星形細胞瘤及室管膜瘤。

【0237】 209. 一種治療增殖性疾病之方法，其包括向有需要之個體投與如聲明 101 至 146 中之任一聲明之抗體、抗體藥物結合物或醫藥組合物。

【0238】 210. 如聲明 209 之方法，其中向該個體投與化學治療劑與該抗體、抗體藥物結合物或醫藥組合物之組合。

【0239】 211. 如聲明 208 至 210 中之任一聲明之方法，其中該癌症為選自由以下組成之群之癌症：肺癌、乳癌、胰臟癌、卵巢癌、腎癌、頭頸癌、間皮瘤、神經膠母細胞瘤、黑色素瘤及腦瘤，諸如(但不限於)神經膠質瘤、髓母細胞瘤、星形細胞瘤及室管膜瘤。

【0240】 301. 一種多核苷酸，其編碼如聲明 101 至 115 或 119 至 142 中之任一聲明之抗體。

【0241】 302. 一種載體，其包含如聲明 301 之多核苷酸。

【0242】 303. 如聲明 302 之載體，其中該載體係表現載體。

【0243】 304. 一種宿主細胞，其包含如聲明 302 至 303 中之任一聲明之載體。

【0244】 305. 如聲明 304 之宿主細胞，其中該宿主細胞為原核細胞、真核細胞或哺乳動物細胞。

實例

材料及方法

抗體之表現及純化

【0245】 根據製造商之說明書培養並擴增細胞株；使 Expi293F™細胞在 Expi293™表現培養基(ThermoFisher A1435102)中生長。簡言之，於 37°C 定軌培育器中使細胞在 125 mL 振盪培養瓶(Corning™ 431143)中在 125 rpm 及 8% CO₂ 氣氛下培養，且在整個方法中維持在 $3-5 \times 10^6$ 個細胞/ml。使用 LUNA-II™自動細胞計數器(Logo Biosystems Ltd)，藉由台盼藍(Trypan blue)排除分析一式兩份測定細胞密度。兩種細胞株均遵循如 Thermo Fisher 方案中所闡述之 30 mL 體積之 DNA 轉染程序。在轉染當天，對於 Expi293F™，選擇存活率 $\geq 95\%$ (經由顯微鏡/細胞計數器檢查)之細胞，且在 25.5 mL 細胞特異性表現培養基中稀釋至 2.5×10^6 /ml。對於 Expi293F™，將 30 μ g 質體 DNA (15 μ g 重鏈+ 15 μ g 輕鏈)在 Opti-MEM® I 減血清培養基(ThermoFisher 31985070)中稀釋至總計 1.5 mL，同時在單獨小瓶中將 81 μ L ExpiFectamine™293 試劑在 Opti-MEM® I 減血清培養基中稀釋至總計 1.5 mL。各自輕輕混合且在室溫下培育 5 分鐘，接著小心地合併，

獲得 3 mL 之總體積。將此在室溫下再培育 20 分鐘，以容許形成 DNA-脂質複合物，在此之後將混合物小心地添加至細胞燒瓶中。在第 5 天收穫培養物，如先前所闡述使用 LUNA-II™自動細胞計數器量測細胞存活率及密度。將所收穫細胞離心(2000 G, 15 min, 4°C)，且去除上清液，且接著在純化前經由 0.22 µm 過濾器無菌過濾。藉由標準蛋白質 A 層析進行純化。

ELISA

【0246】 IL13RA2-6His (27-343)之重組人類細胞外結構域係自 Sino biological (Ref 10350-H08H)獲得。在 4°C下使 50 µl 於 PBS 中之 1 µg/ml 人類 IL13RA2 包覆在 MaxiSorp ELISA 板上隔夜。第二天早上，將板用 PBS/0.02% Tween20 洗滌。每一孔添加 200 µl Superblock 封阻緩衝液，且在室溫下於定軌振蕩器中以 120 rpm 培育 1 小時。製備每一抗體之稀釋系列，其中在 PBS/0.02% Tween20 中對每一抗體變異體進行稀釋。將抗體添加至封阻抗原包覆之板，且在室溫下於定軌振蕩器上以 120 rpm 振盪培育 1 小時。接著將板用 200 µl PBS/0.02% Tween20 洗滌 3 次，且將 75 µl 二級抗體(以 1:4000 稀釋於 PBS/0.02% Tween20 中之小鼠抗人類-HRP)添加至孔中並在室溫下於定軌振蕩器上以 120 rpm 振盪培育 1 小時。接著將板用 200 µl PBS/0.02% Tween20 洗滌 3 次。為進行 ELISA，將 75 µl TMB-Turbo 受質添加至孔中且在室溫下於定軌振蕩器上以 120 rpm 振盪培育，直至出現藍色，接著添加 75 µl 0.6 N HCl 終止反應。在 Envision 上在 450 nM 下讀板，且使用 GraphPad prism 軟體分析曲線。

熱位移分析

【0247】 將 2.5 µL 1:1000 稀釋度之蛋白質熱位移染料((Life Technologies，目錄號 446148)添加至 96 孔光學板中之樣品蛋白質中(17.5 µL，0.5 mg/mL 於 PBS 中)且充分混合。每個樣品為一式四份。將板用光學黏合膜密封且藉由在 500 g

下離心 1 min 去除孔中之氣泡，接著放置在冰上。將密封板引入 7500 即時 PCR 系統中，且隨後如下設置實驗：

反應體積	20 µl		
斜坡模式	連續		
步驟	斜坡速率	溫度°C	時間(mm:ss)
1	100%	25.0	02:00
2	1%	99.0	02:00

【0248】 使用 Protein thermal shift 第 1.2 版軟體(Life Technologies)對數據進行分析。

加速穩定性分析

【0249】 使抗體在 45°C 下於無菌 PBS 中培育 7-8 天，之後藉由 ELISA、SEC、HIC 及 RP 層析進行分析。

Biacore 分析

【0250】 利用使用人類 IL13RA2-6His 包覆之感測器之 Biacore 分析計算純系 47 變異體之表觀親和常數。將抗體變異體之稀釋系列施加至 IL13RA2 感測器表面達 600 秒分鐘以計算締合常數 Ka，且接著施加緩衝液(HBS-EP+)達 1800 秒以計算解離常數 Kd。該兩個常數之比率將提供表觀 KD，此乃因抗體之二價將影響結合動力學。

HPLC 粒徑篩析層析(SEC)

【0251】 使用 Shimadzu HPLC 系統(或等效系統)，使用 TSKgel Super SW mAb HTP 4 um 4.6 mm × 15 cm 管柱進行 SEC 分析。移動相為 200 mM 磷酸鉀、250 mM 氯化鉀、10% v/v 異丙醇，pH 6.95，流量為 0.5 ml/分鐘且在 280 nm 下偵測。

HPLC 疏水性相互作用層析(HIC)

【0252】 使用 Shimadzu HPLC 系統(或等效系統)，使用 Proteomix HIC 丁基-NP5，5 um，無孔 4.6×35 mm (Sepax)管柱進行 HIC 分析 SEC 分析。移動相 A

為 1.25 M (NH₄)₂SO₄、25 mM NaOAc (pH 5.50)且移動相 B 為 75% 25 mM NaOAc (pH 5.50)、25%異丙醇，流量為 0.8 ml/分鐘且在 214 nm 下偵測。

HPLC 反相層析

【0253】 使用 Shimadzu HPLC 系統(或等效系統)，使用 Aeris Widespore XB-C18，200Å，3.6 μm，2.1 × 150 mm (Phenomenex, 00F-4482-AN)管柱進行反相層析。移動相 A 為水+ 0.1% v/v TFA 且移動相 B 為乙腈+ 0.1% v/v TFA。在加載前，藉由向 40 μL 樣品(5 mg/ml)中添加 30 μl 水、20 μl 硼酸鈉及 10 μL DTT 製備樣品。接著將此樣品在 37°C下培育 30 min，添加 100 μl 49:49:2 乙腈/水/甲酸。管柱在 80°C之溫度下以 1 mL/分鐘運行，在 214 nm 下偵測。

活體外細胞毒性

【0254】 將 A375/NCI-H1299 細胞在完全生長培養基中稀釋至 5×10^4 個細胞/mL，將 100 μL 細胞添加至 EDGE 板之孔中。使細胞在 37°C/5% CO₂ 下培育 2-6 小時，以留出時間使細胞黏附。將 ADC 以 11 點 1:4 連續稀釋度自 50 μg/mL 稀釋至 47.7 pg/mL，留下最終陰性對照樣品(亦即無 ADC)，每一濃度以一式兩份運行。將經稀釋之 ADC 添加至含有靶細胞之 EDGE 板中，且使板在加濕培育器中培育 5 天(約 120 小時)。為測定 ADC 之細胞毒性效應，使用 Cell Titre Glow (Promega)，將 40 μL 讀取溶液添加至板上之每一孔中且在 37°C/5% CO₂ 下培育 1-5 小時。培育後，在光學讀取器(Molecular Devices Spectramax i3X)上讀板，且藉由機器所固有之軟體(Softmax Pro)分析數據。總之，數據為以一式三份運行之每一細胞株之結果。

FACS 分析

【0255】 將 NCI-H1299 細胞在分析緩衝液(0.1% BSA/ 0.1%疊氮化鈉於 PBS 中)中稀釋至 2×10^6 個細胞/mL，且向 96 孔板之每孔中添加 50 μL。將 HuCL47 及純系 47 抗體稀釋至 40 μg/ml (266 nM)之最高濃度，且以 1:4 稀釋獲得 7 種稀

釋液以及僅緩衝液。將 50 μ L 抗體添加至 50 μ L 細胞中，得到 20 μ g/ml 之濃度。使板在室溫下培育 1 小時，之後將板離心且洗滌三次。於分析緩衝液中以 1:250 之稀釋度使用山羊 F(ab')₂ 抗人類 IgG Alexa Fluor 488 結合之抗體 (Life Technologies 目錄號 H10120) 進行偵測，向細胞中添加 50 μ L 且在室溫下培育 1 小時後，如以前使細胞離心並洗滌，用 7.5% 甲醛固定且在流式細胞儀上分析，使用 FlowJo 進行數據分析。

實例 1 - 人類化抗體之設計及產生

【0256】 自鼠類抗 IL13R α 2 抗體「純系 47」開始，生成多種人類化抗介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2) 抗體變異體。鼠類「純系 47」之重鏈及輕鏈可變區序列分別為 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 2。將該等序列與人類可變片段資料庫進行比較，且選擇與純系 47 在微調殘基及規範殘基處具有最高同源性之人類框架區進行 CDR 移植。

【0257】 對於 VH 人類化，選擇 IGHV1-3 及 IGHJ1-01 框架用於 CDR 移植。原始 IGHV1-3 人類框架中之蘇胺酸 T30 由絲胺酸 S30 置換，絲胺酸 S30 在人類生殖系中之此位置處亦極常見，且其與在鼠類 VH 序列之此位置處發現之絲胺酸匹配。將所得人類化 VH 結構域 (SEQ ID NO: 3) 命名為「純系 47 VHA」。

【0258】 藉由將回復突變引入至「純系 47 VHA」(SEQ ID NO: 3) 序列中生成純系 47 VH 之其他人類化形式。將該等人類化 VH 結構域命名為「純系 47 VHA 回復」(SEQ ID NO: 5)、「純系 47 VHA1」(SEQ ID NO: 6)、「純系 47 VHA2」(SEQ ID NO: 7) 及「純系 47 VHA3」(SEQ ID NO: 8)。生成變異體「純系 47 VHA1」、「純系 47 VHA2」及「純系 47 VHA3」以分別評價鼠類 VCI 殘基 M48、V71 及 K73 之影響 (根據 Kabat 編號)。

【0259】 對於 VL 人類化，選擇 IGKV3-NL5 及 IGHJ2-01 框架用於 CDR 移植。將所得人類化 VL 結構域 (SEQ ID NO: 4) 命名為「純系 47 VKA」。

【0262】 藉由 ELISA 評價每一人類化純系與 IL13R α 2 之結合。所有測試純系在其與 IL13R α 2 之結合方面均看起來相似。

實例 2 -人類化抗體之表徵

【0263】 在 Biacore 上量測嵌合(Ch)純系 47 及所選人類化變異體對人類 IL13R α 2 之結合親和力。結果示於下表 2 中。表觀親和力顯示，與嵌合(Ch)純系 47 相比，人類化變異體顯示改良之與人類 IL13R α 2 之結合。

表 2

變異體	K _{結合} (1/Ms)	K _{解離} (1/s)	K _{D App} (nM)
嵌合純系 47	1.25×10 ⁵	6.58×10 ⁻⁵	0.53
VHA/VKA	1.12×10 ⁵	1.12×10 ⁻⁵	0.10
VHA/VKA1	1.24×10 ⁵	2.65×10 ⁻⁵	0.21
VHA/VKA2	1.31×10 ⁵	8.20×10 ⁻⁶	0.06
VHA 回復/VKA	1.15×10 ⁵	5.30×10 ⁻⁶	0.05

【0264】 藉由在 37°C下對 4°C下持續 8 天之蛋白質熱位移及溫度穩定性分析對嵌合純系 47 及所選人類化變異體之穩定性進行評價。結果示於下表 3 中。經受應力條件之所選人類化變異體顯示出與嵌合純系 47 相當之穩定性。

表 3

		8 天穩定性(PBS)					
		4°C			37°C		
純系	PTS T _m	SEC	RP	HIC	SEC	RP	HIC
嵌合純系 47	71.4	4.86/97.0	3.80/3.48	2.19	4.88/84.9	3.80/3.47	2.19
VHA/VKA	73.1	4.84/96.8	3.79/3.42	2.18	4.85/89.6	3.79/3.41	2.18
VHA/VKA1	70.3	4.84/96.6	3.79/3.45	2.19	4.84/89.2	3.79/3.55	2.18
VHA/VKA2	72.0	4.87/93.0	3.78/3.52	2.19	4.85/92.6	3.78/3.53	2.18
VHA 回復/VKA	74.1	4.82/97.3	3.78/3.40	2.19	4.83/93.1	3.78/3.39	2.18
VHA 回復/VKA1	72.3	4.82/97.8	3.79/3.43	2.19	4.83/91.2	3.80/3.54	2.19
VHA3/VKA2	71.9	4.83/97.5	3.76/3.42	2.19	4.84/92.1	3.75/3.52	2.19

蛋白質熱位移(PTS)：以°C表示之平均 T_m (一式四份)

SEC：溶析時間(min)/單體%

RP：HC/LC 滯留時間(min)

HIC：滯留時間(min)

【0265】 在 4°C或 45°C下培育 8 天後，亦藉由 ELISA 評價表 3 中所列示之變異體與 IL13R α 2 之結合。如表 4 中所示，在所測試之變異體中，僅 VHA/VKA 變異體顯示結合未因應力條件(在 45°C下培育 8 天)而減少，此指示其為最穩定的。該等結合數據亦指示，與嵌合純系 47 相比，人類化變異體 VHA 回復/VKA 及 VHA3/VKA2 具有改良之穩定性性質。

表 4

純系 47 變異體	EC ₅₀ 45°C (ng/ml)	EC ₅₀ 4°C (ng/ml)
嵌合純系 47	16.8	77.7
VHA/VKA	18.4	17.8
VHA/VKA1	12.3	58.1
VHA/VKA2	20.4	147.9
VHA 回復/VKA	16.4	45.6
VHA 回復/VKA1	12.8	1012.0
VHA3/VKA2	12.3	25.8

【0266】 基於此數據，包含 SEQ ID NO: 3 之 VH 及 SEQ ID NO: 4 之 VL 之 VHA/VKA 變異體(其為完全人類的，未引入小鼠回復突變)性能最佳。將此人類化抗 IL13R α 2 抗體命名為「HuCL47」。

【0267】 鼠類「純系 47」與「HuCL47」之序列比較示於圖 1 中。

實例 3 -抗 IL13R α 2 抗體之理論 pI

【0268】 上述某些抗 IL13R α 2 抗體之理論 pI 係基於其重鏈及輕鏈序列，使用可在 <https://web.expasy.org/protparam/>獲得之「Protparam」工具計算的。結果示於表 5 中。

表 5

抗體	VH / VL 序列	pI
嵌合純系 47	SEQ ID NO: 1 / SEQ ID NO: 2	6.95
VHA/VKA (HuCL47)	SEQ ID NO: 3 / SEQ ID NO: 4	7.63

VHA 回復 /VKA 回復	SEQ ID NO: 5 / SEQ ID NO: 9	7.64
VHA1/VKA1	SEQ ID NO: 6 / SEQ ID NO: 10	7.64
VHA2/VKA2	SEQ ID NO: 7 / SEQ ID NO: 11	7.28

實例 4 -純系 47 與 HuCL47 之比較

【0269】 使用 NCI-H1299 細胞及未經修飾之純化抗體，藉由標準 FACS 分析就與 NCI-H1299 細胞之結合比較嵌合純系 47 及 HuCL47。使用與嵌合純系 47 及 HuCL47 結合之吡咯并苯并二氮呋二聚體(PBD)彈頭，對 A375 及 NCI-1299 細胞二者實施活體外細胞毒性分析。

【0270】 結果示於以下中：圖 2 (與 NCI-H1299 細胞之結合)、圖 3 (與 IL13R α 2 之結合)、表 6 (對 NCI-H1299 細胞之細胞毒性)及表 7 (對 A-375 細胞之細胞毒性)。

表 6

ADC	EC ₅₀ (pM)
嵌合純系 47-PBD	135.3
VHA/VKA (HuCL47)-PBD	113.7
B12-PBD	12400

表 7

ADC	EC ₅₀ (pM)
嵌合純系 47-PBD	7.6
VHA/VKA (HuCL47)-PBD	7.8
B12-PBD	6864

參考文獻

【0271】 上文引用多種出版物以更全面地闡述並揭示本發明及本發明所屬之現有技術。本文中併入該等參考文獻各自之全文。

【0272】 關於標準分子生物學技術，參見 Sambrook, J., Russel, D.W. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*.，第 3 版，2001, Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press。

【序列表】

<110> 瑞士商ADC醫療股份有限公司(ADC THERAPEUTICS SA)

<120> 抗IL13R α 2抗體

<130> 007933831

<140> TW 110128219

<141> 2021-07-30

<150> GB 2011993.9

<151> 2020-07-31

<160> 18

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成構築體

<400> 1

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Leu Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Asp Leu Asp Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Gly Asp Ile Asp Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

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

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 2

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 Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

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

Pro Met Glu Glu Asp Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 3

<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 3

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

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

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

Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Gly Asp Ile Asp Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 4
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 4

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

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

Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

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

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

Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 5
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 5

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

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

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

Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Gly Asp Ile Asp Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 6
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 6

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

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

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

Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Gly Asp Ile Asp Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 7
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 7

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

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

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

Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Gly Asp Ile Asp Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 8
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 8

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

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

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

Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Gly Asp Ile Asp Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 9
<211> 111
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成構築體

<400> 9

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

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

Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

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

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

Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 10

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成構築體

<400> 10

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

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

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

Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 11
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 11

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

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

Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

202221032

65 70 75 80

Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys

 85 90 95

Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 12
<211> 323
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 12

Asp Thr Glu Ile Lys Val Asn Pro Pro Gln Asp Phe Glu Ile Val Asp
1 5 10 15

Pro Gly Tyr Leu Gly Tyr Leu Tyr Leu Gln Trp Gln Pro Pro Leu Ser
20 25 30

Leu Asp His Phe Lys Glu Cys Thr Val Glu Tyr Glu Leu Lys Tyr Arg
35 40 45

Asn Ile Gly Ser Glu Thr Trp Lys Thr Ile Ile Thr Lys Asn Leu His
50 55 60

Tyr Lys Asp Gly Phe Asp Leu Asn Lys Gly Ile Glu Ala Lys Ile His
65 70 75 80

Thr Leu Leu Pro Trp Gln Cys Thr Asn Gly Ser Glu Val Gln Ser Ser
85 90 95

Trp Ala Glu Thr Thr Tyr Trp Ile Ser Pro Gln Gly Ile Pro Glu Thr
100 105 110

Lys Val Gln Asp Met Asp Cys Val Tyr Tyr Asn Trp Gln Tyr Leu Leu
115 120 125

Cys Ser Trp Lys Pro Gly Ile Gly Val Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Asn
130 135 140

Leu Phe Tyr Trp Tyr Glu Gly Leu Asp His Ala Leu Gln Cys Val Asp
145 150 155 160

Tyr Ile Lys Ala Asp Gly Gln Asn Ile Gly Cys Arg Phe Pro Tyr Leu
165 170 175

Glu Ala Ser Asp Tyr Lys Asp Phe Tyr Ile Cys Val Asn Gly Ser Ser
180 185 190

Glu Asn Lys Pro Ile Arg Ser Ser Tyr Phe Thr Phe Gln Leu Gln Asn
195 200 205

Ile Val Lys Pro Leu Pro Pro Val Tyr Leu Thr Phe Thr Arg Glu Ser
210 215 220

Ser Cys Glu Ile Lys Leu Lys Trp Ser Ile Pro Leu Gly Pro Ile Pro
225 230 235 240

Ala Arg Cys Phe Asp Tyr Glu Ile Glu Ile Arg Glu Asp Asp Thr Thr
245 250 255

Leu Val Thr Ala Thr Val Glu Asn Glu Thr Tyr Thr Leu Lys Thr Thr
260 265 270

Asn Glu Thr Arg Gln Leu Cys Phe Val Val Arg Ser Lys Val Asn Ile
275 280 285

Tyr Cys Ser Asp Asp Gly Ile Trp Ser Glu Trp Ser Asp Lys Gln Cys
290 295 300

Trp Glu Gly Glu Asp Leu Ser Lys Lys Thr Leu Leu Arg His His His
305 310 315 320

His His His

<210> 13
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 13

Asn Tyr Leu Met Asn
1 5

<210> 14
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 14

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

Asp

<210> 15
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 15

Gly Tyr Gly Thr Ala Tyr Gly Val Asp Tyr
1 5 10

<210> 16
<211> 15

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 16

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Ile Ser Phe Met Asn
1 5 10 15

<210> 17
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 17

Ala Ala Ser Arg Gln Gly Ser
1 5

<210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成構築體

<400> 18

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Trp Thr
1 5

【發明申請專利範圍】

- 【請求項 1】 一種結合至介白素-13 受體亞單元 α -2 (IL13R α 2)之抗體，其中該抗體包含有包含 SEQ ID NO: 3 中所示之胺基酸序列之重鏈可變區。
- 【請求項 2】 如請求項 1 之抗體，其中該抗體進一步包含有包含 SEQ ID NO: 4 中所示之胺基酸序列之輕鏈可變區。
- 【請求項 3】 如請求項 1 或 2 之抗體，其中該抗體以不大於 5×10^{-10} M、諸如不大於 2.5×10^{-10} M 或不大於 1.5×10^{-10} M 之親和力(K_D)結合 IL13R α 2。
- 【請求項 4】 如請求項 1 或 2 之抗體，其中該抗體競爭性地抑制包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區之抗體對 IL13R α 2 之結合。
- 【請求項 5】 如請求項 1 或 2 之抗體，其中該抗體以較包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區之抗體更高之親和力(K_D)結合 IL13R α 2。
- 【請求項 6】 如請求項 1 或 2 之抗體，其中該抗體在人類個體中之免疫原性低於包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區之抗體之免疫原性。
- 【請求項 7】 如請求項 1 或 2 之抗體，其中該抗體與包含具有 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列之重鏈可變區及具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列之輕鏈可變區以及視情況抗體恆定區之抗體相比具有改良之穩定性性質。
- 【請求項 8】 如請求項 1 或 2 之抗體，其中該抗體包含同型 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 之恆定區或突變 IgG 恆定區，及視情況同型 κ 或 λ 之輕鏈恆定區。
- 【請求項 9】 如請求項 8 之抗體，其中該恆定區為人類恆定區。
- 【請求項 10】 如請求項 1 或 2 之抗體，其中該抗體為 Fab、Fab'、F(ab')₂ 或 scFv。

【請求項 11】 一種抗體藥物結合物，其包含與藥物部分結合之如請求項 1 至 10 中任一項之抗體，視情況其中該藥物部分為細胞毒性藥物部分。

【請求項 12】 如請求項 11 之抗體藥物結合物，其中該藥物部分包含吡咯并苯并二氮呋二聚體。

【請求項 13】 一種醫藥組合物，其包含如請求項 1 至 12 中任一項之抗體或抗體藥物結合物以及醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑或賦形劑。

【請求項 14】 一種如請求項 1 至 13 中任一項之抗體、抗體藥物結合物或醫藥組合物之用途，其用於製造供治療方法中使用之藥劑，視情況其中該治療方法為治療癌症之方法。

【請求項 15】 一種多核苷酸，其編碼如請求項 1 至 10 中任一項之抗體。

【請求項 16】 一種載體，其包含如請求項 15 之多核苷酸，視情況其中該載體為表現載體。

【請求項 17】 一種宿主細胞，其包含如請求項 16 之載體，視情況其中該宿主細胞為原核細胞、真核細胞或哺乳動物細胞。

(發明圖式)

V[K

80.2%一致性，111個殘基重疊；評分：483.0；空位頻率：0.0%

結系47
人類化結系47
1 DTVLTQSPASLAVSLGQRAITISCRASESDVWYGISFHWNFQQKPGQPXLLIYAASRQGS
1 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESDVWYGISFHWNYQQKPGQAPRIETIYAASRQGS

V[F

81.5%一致性，119個殘基重疊；評分：530.0；空位頻率：0.0%

結系47
人類化結系47
1 QVQLQQPGAEIVYPGASYKLSCKASGYTFSNYLMMWYKQRPEDLQWIGRIQPYDGEDIDY
1 QVQLVQSGAEVKKIPGASYKVSCKASGYTFSNYLMMWVROAPQEQLIEWGRIQPYDGEDIDY

V[F

結系47
人類化結系47
61 NQVFKDKAILLVDKSSSTAWQLSSLTSEDSAVVVCARGYGTAYGVQVWYKQGETSVTVSS
61 NQVFKQDRVTLITQTSQSTAWQLSSLTSEDTAVVVCARGYGTAYGVQVWYKQGETSVTVSS

(圖 1)

