



(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 201833133 A

(43) 公開日：中華民國 107 (2018) 年 09 月 16 日

(21) 申請案號：107106855

(22) 申請日：中華民國 107 (2018) 年 03 月 01 日

(51) Int. Cl. : C07K14/705 (2006.01)

C07K16/28 (2006.01)

A61K47/65 (2017.01)

A61K47/68 (2017.01)

C12N15/12 (2006.01)

C12N15/63 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2017/03/08 新加坡

10201701883R

(71) 申請人：新加坡科技研究局 (新加坡) AGENCY FOR SCIENCE, TECHNOLOGY AND  
RESEARCH (SG)

新加坡

(72) 發明人：汪 正一 WANG, CHENG-I (US) ; 羅 利昂內爾 LOW, LIONEL (SG) ; 吳 喜  
華 GOH, ANGELINE (SG) ; 王 貝 WANG, BEI (SG) ; 李 文辛 LEE, WEN-HSIN  
(NZ) ; 黃靖雯 HUANG, CHING-WEN (TW)

(74) 代理人：劉法正；尹重君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：35 項 圖式數：19 共 169 頁

(54) 名稱

類 T 細胞受體之抗體

T CELL RECEPTOR LIKE ANTIBODIES

(57) 摘要

揭示與勝肽-MHC 複合體結合之抗體及其片段，尤其是包含一 p53 勝肽與 MHC 第 I 類分子之勝肽-MHC 複合體。亦揭示包含該等抗體與片段之組成物，及其等的用途與使用方法。

Antibodies and fragments thereof which bind to peptide-MHC complexes are disclosed, in particular peptide-MHC complex comprising a peptide of p53 and MHC class I molecule. Also disclosed are compositions comprising such antibodies and fragments, and uses and methods using the same.

指定代表圖：

**P1C1**

QAVLTQPSSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGADYETHWYQHLPGTAPKLLIYGNTNRPSGVP  
 DRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDADYYCQSYDSNLSAWVFGGGTKLTLSPKAAPSVTL  
 FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYL  
 SLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECs (序列辨識編號:1)

LC-CDR1: TGSSSNIGADYETH (序列辨識編號:17)  
 LC-CDR2: GNTNRPS (序列辨識編號:18)  
 LC-CDR3: QSYDSNLSAWV (序列辨識編號:19)

**P1C1\_g1; P1C1\_dm; 2E3; 1E11**

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGADYETHWYQQLPGTAPKLLIYGNTNRPSGVP  
 DRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDADYYCQSYDSNLSAWVFGGGTKLTLSPKAAPSVTL  
 FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYL  
 SLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECs (序列辨識編號:2)

LC-CDR1: TGSSSNIGADYETH (序列辨識編號:17)  
 LC-CDR2: GNTNRPS (序列辨識編號:18)  
 LC-CDR3: QSYDSNLSAWV (序列辨識編號:19)

**1G7; P1C1\_tm**

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCAGSYSNIGDDYETHWYQQLPGTAPKLLIYGNTNRPSGVP  
 DRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDADYYCQSYDSNLSAWVFGGGTKLTLSPKAAPSVTL  
 FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYL  
 SLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECs (序列辨識編號:3)

LC-CDR1: AGSYSNIGDDYETH (序列辨識編號:20)  
 LC-CDR2: GNTNRPS (序列辨識編號:18)  
 LC-CDR3: QSYDSNLSAWV (序列辨識編號:19)

**P1H4**

EIVMTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSIGTDLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARF  
 SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGGATKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ  
 LKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTSLKA  
 DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (序列辨識編號:4)

LC-CDR1: RASQSIGTDLA (序列辨識編號:21)  
 LC-CDR2: DASN RAT (序列辨識編號:22)  
 LC-CDR3: QR SNWPPT (序列辨識編號:23)

【圖1】

**P1B11**

QAVLTQPSSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGV  
PDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDADYYCQSYDSNLSDTWVFGGGTKLTVLGQPKAAPS  
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAAS  
SYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (序列辨識編號:5)

LC-CDR1: TGSSSNIGAGYDVH (序列辨識編號:24)  
LC-CDR2: GNNNRPS (序列辨識編號:25)  
LC-CDR3: QSYDSNLSDTWV (序列辨識編號:26)

**P1A8**

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVNWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGV  
PDRFSGNSGTSVSLAITGLQPEDEADYYCQSYDSSLSAWVFGGGTKLAVLGQPKAAPS  
TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASS  
YLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS (序列辨識編號:6)

LC-CDR1: TGSSSNIGAGYDVN (序列辨識編號:27)  
LC-CDR2: GNNNRPS (序列辨識編號:25)  
LC-CDR3: QSYDSSLSAWV (序列辨識編號:28)

**P2B4**

QSALTQPASVSGSLGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQQAGKAPKLMYDVSSRPSGV  
SDRFSGSKSGNTASLTISGLQADDEADYYCSSYTVFSTLVFGGGTKLTVLGQPKAAPS  
FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYL  
SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS (序列辨識編號:7)

LC-CDR1: TGTSSDVGGYNYVS (序列辨識編號:29)  
LC-CDR2: DVSSRPS (序列辨識編號:30)  
LC-CDR3: SSYTVFSTLV (序列辨識編號:31)

【圖1】(續)

## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

類T細胞受體之抗體

### 【英文發明名稱】

T CELL RECEPTOR LIKE ANTIBODIES

### 【技術領域】

**【0001】** 本申請案主張於2017年3月8日提申之SG申請案第10201701883R號的優先權，就所有目的在此將該申請案的內容與元件併入本案作為參考資料。

### 【0002】 發明領域

本發明係有關於與胜肽-MHC複合體結合之抗體，尤其是包含一p53胜肽與MHC第I類分子之胜肽-MHC複合體。

### 【先前技術】

#### 【0003】 發明背景

腫瘤抑制因子p53係惡性疾病中最常見發現的突變基因。在藉由涉及細胞凋亡、衰老、細胞週期停滯及基因體穩定性的調節性基因之腫瘤阻抑作用上，P53轉錄因子扮演重要角色。p53之突變導致功能喪失，及因此增加腫瘤發生的易感受性。

**【0004】** 在抗腫瘤免疫性方面，免疫系統的一關鍵組分係CD8陽性T細胞回應腫瘤細胞時之細胞毒性。胞毒型CD8陽性T細胞係藉由辨識細胞內作用所衍生的胜肽來分辨腫瘤細胞與正常健康細胞，該胜肽係藉由MHC第I類

分子(例如HLA\*A24)呈現於細胞表面上。

【0005】 然而，若要藉由CD8陽性T細胞賦予有效的免疫反應，該勝肽-MHC複合體必須為外來或“非自身”，方能破除耐受性。p53突變作用有可能導致產生不同於正常健康細胞之獨特的勝肽，因此可被T細胞辨識而觸發強力的抗腫瘤免疫回應。此外，突變型p53在腫瘤細胞中之累積能導致p53降解過程的改變，其進而導致產生不同的抗原性勝肽譜型，使得以分辨腫瘤細胞與正常細胞。

【0006】 雖然治療性單株抗體在癌症治療領域之成功已獲得證明，其等仍受限於癌細胞表面的標的分子之可利用性。細胞內蛋白諸如p53係典型抗體方法無法支用的。當細胞內蛋白所衍生的抗原性抗原決定位係以在細胞表面表現的勝肽-MHC複合體形式呈現時，這提供了用單株抗體靶向該等抗原之機會。

【0007】 不同團隊已研發出抗體，以靶向MHC第I類分子在癌症期間所異常表現的細胞內標的。然而，該等抗體大部分專注在HLA\*A02上，HLA\*A02是白種人中的主要對偶基因，例如在歐洲最常見的14種HLA\*A類型中，HLA\*A02佔了約30%。在亞洲，HLA-A的分布較為分散，且HLA\*A24與HLA\*A11亦同為常見的對偶基因。

## 【發明內容】

### 【0008】 發明概要

於本發明的一個態樣中，提供一種抗體或抗原結合片

段，其選擇性地為分離形式，其能與一細胞內蛋白的一勝肽及一MHC第I類分子之一複合體結合。在一些實施例中，該細胞內蛋白係p53。

**【0009】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種抗體或抗原結合片段，其選擇性地為分離形式，其能與包含一p53勝肽及一MHC第I類分子之一勝肽-MHC複合體結合。

**【0010】** 在如本發明的各種態樣之些實施例中，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈。在一些實施例中，該p53勝肽包含序列辨識編號：75之胺基酸序列或在胺基酸序列中具有一個或二個或三個胺基酸取代作用之變異體，或由其所組成。在一些實施例中，該抗體或抗原結合片段包含胺基酸序列i)至vi)：

i)LC-CDR1:

X<sub>1</sub>GSX<sub>2</sub>SNIGX<sub>3</sub>X<sub>4</sub>YX<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub> (序列辨識編號：46)；

TGTSSDVGGYNYS (序列辨識編號：29)；或

RASQSIGTDLA (序列辨識編號：21)；

ii)LC-CDR2:

GNX<sub>8</sub>NRPS (序列辨識編號：47)；

DASNRAT (序列辨識編號：22)；或

DVSSRPS (序列辨識編號：30)

iii)LC-CDR3:

QSYDSX<sub>9</sub>LSX<sub>10</sub>X<sub>11</sub>WV (序列辨識編號：48)；

QQRSNWPPT(序列辨識編號：23)；或

SSYTVFSTLV(序列辨識編號：31)；

iv)HC-CDR1:

SGGYYWX<sub>12</sub>(序列辨識編號：49)；或

X<sub>13</sub>YYX<sub>14</sub>H(序列辨識編號：50)；

v)HC-CDR2:

YIYYSGX<sub>15</sub>TYYNPSLKS(序列辨識編號：51)；

WX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>PX<sub>18</sub>SX<sub>19</sub>X<sub>20</sub>TX<sub>21</sub>YAQKFQG(序列辨識編號：52)；

vi)HC-CDR3:

ENFGX<sub>22</sub>X<sub>23</sub>DX<sub>24</sub>(序列辨識編號：53)；

EGADGIYYFDY(序列辨識編號：39)；或

DTYGHDY(序列辨識編號：45)；

或其一變異體，其中序列i)至vi)中的一或多者之一個或二個或三個胺基酸係經另一個胺基酸置換；

其中X<sub>1</sub>為T或A，X<sub>2</sub>為S或Y，X<sub>3</sub>為A或D，X<sub>4</sub>為G或D，X<sub>5</sub>為D或E，X<sub>6</sub>為V或T，X<sub>7</sub>為H或N，X<sub>8</sub>為N或T，X<sub>9</sub>為N或S，X<sub>10</sub>係不存在或為D，X<sub>11</sub>為A或T，X<sub>12</sub>為S或A，X<sub>13</sub>為G或D，X<sub>14</sub>為M或I，X<sub>15</sub>為S或T，X<sub>16</sub>為I或M，X<sub>17</sub>為N或S，X<sub>18</sub>為N或D，X<sub>19</sub>為A或G，X<sub>20</sub>為G或A，X<sub>21</sub>為N或Y，X<sub>22</sub>為A或S，X<sub>23</sub>為F或Y，及X<sub>24</sub>為H或Y。

【0011】在一些實施例中，LC-CDR1係TGSSSNIGA DYETH(序列辨識編號：17)、

AGSYSNIGDDYETH(序列辨識編號：20)、  
TGSSSNIGAGYDVH(序列辨識編號：24)、  
TGSSSNIGAGYDVN(序列辨識編號：27)、TGTSSD  
VGGYNYVS(序列辨識編號：29)或RASQSIGTDLA(序  
列辨識編號：21)中之一者。在一些實施例中，LC-CDR2  
係GNTNRPS(序列辨識編號：18)、GNNNRPS(序列辨  
識編號：25)、DASN RAT(序列辨識編號：22)或  
DVSSRPS(序列辨識編號：30)中之一者。在一些實施例  
中，LC-CDR3係QSYDSNLSAWV(序列辨識編號：  
19)、QSYDSNLSDT WV(序列辨識編號：26)、  
QSYDSSL SAWV(序列辨識編號：28)、  
QQRSNWPPT(序列辨識編號：23)或SSYTVFST LV(序  
列辨識編號：31)中之一者。在一些實施例中，  
HC-CDR1係SGGYYWS(序列辨識編號：32)、  
SGGYYWA(序列辨識編號：35)、SGGYYWS(序列辨識  
編號：40)、GYYMH(序列辨識編號：37)或DYYIH(序  
列辨識編號：43)中之一者。在一些實施例中，  
HC-CDR2係YIYYSGST YYNPSLKS(序列辨識編號：  
33)、YIYYSGTTYYNPSL KS(序列辨識編號：41)、  
WINPNSAGTNYAQKFQG(序列辨識編號：38)或  
WMSPD SGA TYYA QKFQG(序列辨識編號：44)中之一  
者。在一些實施例中，HC-CDR3係ENFG AFDH(序列辨  
識編號：34)、ENFGSYDY(序列辨識編號：36)、  
EGADGIYYFDY(序列辨識編號：39)或DTYGH DY(序

列辨識編號：45)中之一者。

【0012】 在一些實施例中，該抗體或抗原結合片段  
係具有至少一含有下列CDR的輕鏈可變區：

LC-CDR1: TGSSSNIGADYETH(序列辨識編號：17)

LC-CDR2: GNTNRPS(序列辨識編號：18)

LC-CDR3: QSYDSNLSAWV(序列辨識編號：19)；

或

LC-CDR1: AGSYSNIGDDYETH(序列辨識編號：20)

LC-CDR2: GNTNRPS(序列辨識編號：18)

LC-CDR3: QSYDSNLSAWV(序列辨識編號：19)；

或

LC-CDR1: RASQSIGTDLA(序列辨識編號：21)

LC-CDR2: DASN RAT(序列辨識編號：22)

LC-CDR3: QQR SNWPPT(序列辨識編號：23)；

或

LC-CDR1: TGSSSNIGAGYDVH(序列辨識編號：24)

LC-CDR2: GN NN RPS(序列辨識編號：25)

LC-CDR3: QSYDSNLSDTWV(序列辨識編號：26)；

或

LC-CDR1: TGSSSNIGAGYDVN(序列辨識編號：27)

LC-CDR2: GN NN RPS(序列辨識編號：25)

LC-CDR3: QSYDSSL SAWV(序列辨識編號：28)；

或

LC-CDR1: TGTSSDVGGYNYVS(序列辨識編號：29)

LC-CDR2: DVSSRPS(序列辨識編號：30)

LC-CDR3: SSYTVFSTLV(序列辨識編號：31)。

【0013】 在一些實施例中，該抗體或抗原結合片段係具有至少一含有下列CDR的重鏈可變區：

HC-CDR1: SGYYWWS(序列辨識編號：32)

HC-CDR2: YIYYSGSTYYNPSLKS(序列辨識編號：33)

HC-CDR3: ENFGAFDH(序列辨識編號：34)；

或

HC-CDR1: SGYYWA(序列辨識編號：35)

HC-CDR2: YIYYSGSTYYNPSLKS(序列辨識編號：33)

HC-CDR3: ENFGAFDH(序列辨識編號：34)；

或

HC-CDR1: SGYYWWS(序列辨識編號：32)

HC-CDR2: YIYYSGSTYYNPSLKS(序列辨識編號：33)

HC-CDR3: ENFGSYDY(序列辨識編號：36)；

或

HC-CDR1: SGYYWA(序列辨識編號：35)

HC-CDR2: YIYYSGSTYYNPSLKS(序列辨識編號：33)

HC-CDR3: ENFGSYDY(序列辨識編號：36)；

或

HC-CDR1: GYYMH(序列辨識編號：37)

HC-CDR2: WINPNSAGTNYAQKFQG(序列辨識編號：38)

HC-CDR3: EGADGIYYFDY(序列辨識編號：39)；

或

HC-CDR1: SGYYWS(序列辨識編號：40)

HC-CDR2: YIYYSGTTYYNPSLKS(序列辨識編號：41)

HC-CDR3: ENFGAFDY(序列辨識編號：42)；

或

HC-CDR1: DYYIH(序列辨識編號：43)

HC-CDR2: WMSPDSGATYYAQKFQG(序列辨識編號：44)

HC-CDR3: DTYGHDY(序列辨識編號：45)。

**【0014】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種抗體或抗原結合片段，其選擇性地為分離形式，其能與包含一 p53 胜肽及一 MHC 第 I 類分子之一胜肽-MHC 複合體結合，其包含一輕鏈與一重鏈可變區序列，其中：

該輕鏈包含一LC-CDR1、LC-CDR2、LC- CDR3，其等與下列具有至少 85% 的整體 (overall) 序列一致性：

LC-CDR1 與  $X_1GSX_2SNIGX_3X_4YX_5X_6X_7$ (序列辨識編號：46)、TGTSSDVGGYNYVS(序列辨識編號：29)或RAS QSIGTDLA(序列辨識編號：21)中之一者；LC-CDR2 與  $GNX_8NRPS$ (序列辨識編號：47)、DASN RAT(序列辨識編號：22)或DVSSRPS(序列辨識編號：30)中之一者；LC-CDR3 與  $QSYDSX_9LSX_{10}X_{11}WV$ (序列辨識編號：48)、QQRSNWPPT(序列辨識編號：23)或SSYTVFSTLV(序列辨識編號：31)中之一者；及

該重鏈包含一HC-CDR1、HC-CDR2、HC-CDR3，其等與下列具有至少85%的整體序列一致性：HC-CDR1與  $SGGYYWX_{12}$ (序列辨識編號：49)或  $X_{13}YYX_{14}H$ (序列辨識編號：50)中之一者；HC-CDR2與  $YIYYSGX_{15}T$ YYNPSLKS(序列辨識編號：51)或  $WX_{16}X_{17}PX_{18}SX_{19}X_{20}TX_{21}YAQKFQG$ (序列辨識編號：52)中之一者；HC-CDR3與  $ENFGX_{22}X_{23}DX_{24}$ (序列辨識編號：53)，EGADGI YYFDY(序列辨識編號：39)或DTYGHDY(序列辨識編號：45)中之一者；

其中  $X_1$  為 T 或 A， $X_2$  為 S 或 Y， $X_3$  為 A 或 D， $X_4$  為 G 或 D， $X_5$  為 D 或 E， $X_6$  為 V 或 T， $X_7$  為 H 或 N， $X_8$  為 N 或 T， $X_9$  為 N 或 S， $X_{10}$  係不存在或為 D， $X_{11}$  為 A 或 T， $X_{12}$  為 S 或 A， $X_{13}$  為 G 或 D， $X_{14}$  為 M 或 I， $X_{15}$  為 S 或 T， $X_{16}$  為 I 或 M， $X_{17}$  為 N 或 S， $X_{18}$  為 N 或 D， $X_{19}$  為 A 或 G， $X_{20}$  為 G 或 A， $X_{21}$  為 N 或 Y， $X_{22}$  為 A 或 S， $X_{23}$  為 F 或 Y，及  $X_{24}$  為 H 或

Y。

**【0015】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種抗體或抗原結合片段，其選擇性地為分離形式，其能與包含一p53勝肽及一MHC第I類分子之一勝肽-MHC複合體結合，其包含一輕鏈與一重鏈可變區序列，其中：

該輕鏈序列與序列辨識編號：1至7中之一者的輕鏈序列具有至少85%的序列一致性，及；

該重鏈序列與序列辨識編號：8至16中之一者的重鏈序列具有至少85%的序列一致性。

**【0016】** 在如本發明的各種態樣之些實施例中，該抗體或抗原結合片段係對於包含或表現勝肽-MHC複合體之細胞展現抗體依賴型細胞介導式細胞毒性(ADCC)，及該勝肽-MHC複合體包含一p53勝肽與一MHC第I類分子。在一些實施例中，包含或表現勝肽-MHC複合體之細胞係將該抗體或抗原結合片段內化，及該勝肽-MHC複合體包含一p53勝肽與一MHC第I類分子。在一些實施例中，該抗體或抗原結合片段係一全人抗體或一全人抗體片段。在一些實施例中，該抗體或抗原結合片段係與一藥物部分(moiety)或一可檢測部分接合。

**【0017】** 在如本發明的各種態樣之些實施例中，該抗體或抗原結合片段係進一步包含對於勝肽-MHC複合體以外的一標的具特異性之一抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，對於勝肽-MHC複合體以外的一標的具特異性之該抗體或抗原結合片段係能與一免疫細胞表面分子結

合之一抗體或抗原結合片段，亦即勝肽-MHC複合體以外的該標的係一種免疫細胞表面分子。

**【0018】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種嵌合抗原受體(CAR)，其包含如本發明的一抗原結合片段。

**【0019】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種試管內複合體，其選擇性地為分離形式，其包含與一勝肽-MHC複合體結合之如本發明的一抗體、抗原結合片段或嵌合抗原受體，及該勝肽-MHC複合體包含一p53勝肽及一MHC第I類分子。

**【0020】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種組成物，其包含如本發明的抗體、抗原結合片段或嵌合抗原受體及至少一藥學上可接受的載劑。

**【0021】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種編碼如本發明的抗體、抗原結合片段或嵌合抗原受體之分離型核酸。

**【0022】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種載體，其包含如本發明的核酸。

**【0023】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種細胞，其包含如本發明的核酸或如本發明的載體。

**【0024】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種用於生產如本發明之一抗體或抗原結合片段的方法，其包括在適合該抗體或抗原結合片段或嵌合抗原受體表現之條件下，培養本發明的細胞。

**【0025】** 於本發明的另一個態樣中，提供用於療法

(therapy)或用於一種醫學治療方法(a method of medical treatment)中之如本發明的一抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、組成物、核酸、載體或細胞。

**【0026】** 於本發明的另一個態樣中，提供用於治療或預防一癌症之如本發明的一抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、組成物、核酸、載體或細胞。

**【0027】** 於本發明的另一個態樣中，提供如本發明的一抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、組成物、核酸、載體或細胞在製造用於治療或預防一癌症的一藥劑之用途。

**【0028】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種治療或預防一癌症之方法，其包括對於一個體投予一治療或預防有效量之如本發明的抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、組成物、核酸、載體或細胞。

**【0029】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種治療或預防在一個體中之一癌症的方法，其包括：

- (a)從一個體分離出至少一細胞；
- (b)改造該至少一細胞，使其表現或包含如本發明的抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、核酸或載體；及
- (c)將該經改造的至少一細胞投予至一個體。

**【0030】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種治療或預防一個體中之一癌症的方法，其包括：

- (a)從一個體分離出至少一細胞；
- (b)將如本發明的核酸或如本發明的載體導入該至少

一細胞中，藉此改造該至少一細胞；及

(c)將該經改造的至少一細胞投予至一個體。

**【0031】** 於本發明的另一個態樣中，提供一部件套組，其包含一預定量之如本發明的抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、組成物、核酸、載體或細胞。

**【0032】** 於本發明的另一個態樣中，提供一種診斷一個體中之一疾病或病況的方法，該方法包括將含有或疑似含有勝肽-MHC複合體之一樣本與如請求項1至21中任一項之一抗體或抗原結合片段接觸，及檢測抗體或抗原結合片段與勝肽-MHC複合體所形成的一複合體。

### 【實施方式】

**【0033】** 說明

本發明係有關於與勝肽-MHC複合體結合之抗體及抗原結合片段，尤其是能與勝肽-MHC複合體結合之抗體，該勝肽-MHC複合體包含與一MHC第I類分子結合(亦即藉其呈現)之一p53勝肽。

**【0034】** 模擬T細胞受體對於腫瘤相關性勝肽-MHC複合體(例如p53/HLA\*A24)的特異性之抗體/片段，係適於作為腫瘤特異性靶向劑。該等物種本身即可作為有效的治療劑，或可有效作為特異性遞輸有效載荷諸如藥物與毒素之靶向工具，及亦有效作為診斷工具。

### 勝肽-MHC複合體

**【0035】** T細胞受體(TCR)辨識藉由MHC分子所呈現的抗原勝肽。藉由抗原呈現細胞(APC)對於勝肽之分子方

法處理抗原，其然後成為與MHC分子相關聯及接胜肽-MHC複合體的形式呈現在細胞表面。對於不同的胜肽-MHC複合體，不同的T細胞受體所展現的結合能力亦不相同，及因此展現出不同的反應性。抗原之處理、在MHC上的載荷與呈現係例如詳述於美國紐約的加蘭科學(Garland Science)出版社(2001年)出版及由Janeway CA Jr、Travers P、Walport M等人所著之“免疫生物學(Immunobiology)”乙書第五版第五章，其在此完整併入本案以為參考資料。

**【0036】** 本發明尤其涉及類T細胞受體之抗體，其能與胜肽-MHC複合體進行特異性結合。尤其，本發明係涉及能與胜肽-MHC複合體結合之抗體，該胜肽-MHC複合體包含藉由一MHC第I類分子所呈現之一細胞內蛋白的一胜肽。

**【0037】** 一‘細胞內蛋白’可為在表現該蛋白的一細胞表面上並無顯著的表現程度之蛋白。一細胞內蛋白的次細胞位置可能主要位於表現該蛋白之一細胞的細胞質或核，或位於表現該蛋白之一細胞的一胞器，例如內質網、高基氏體等。

**【0038】** 在一些實施例中，本發明的抗體係能與包含一細胞內蛋白的一胜肽之胜肽-MHC複合體結合，在一疾病(例如一癌症)中，藉由MHC第I類所呈現的該胜肽係被向上調控。在一些實施例中，本發明的抗體係能與包含一癌症相關胜肽之胜肽-MHC複合體結合。

【0039】 在一些實施例中，本發明的抗體係能與包含一p53胜肽之胜肽-MHC複合體結合。

【0040】 P53腫瘤抑制因子係在人類中藉由TP53基因所編碼的一蛋白。在細胞對於DNA損傷與其他基因體畸變的回應中，P53扮演一關鍵角色。p53之活化導致細胞週期停滯、DNA修復或細胞凋亡。

【0041】 在本說明書中，“p53”係指來自任一物種的p53及包括來自任一物種之p53的同功型、片段、變異體或同系物。在一些實施例中，該p53係人類p53、靈長類動物p53、人類以外的靈長類動物p53、齧齒動物p53、鼠類p53或哺乳類動物p53。

【0042】 在一些實施例中，p53可包含全球蛋白資源資料庫(UniProt)之KB-P04637(P53\_人類)的胺基酸序列或由其所組成：

MEEPQSDPSVEPLSQETFSDLWKLLPENNVLSP  
PLPSQAMDDMLMLSPDDIEQWFTEDPGPDEAPRMPE  
AAPPVAPAPAAPTPAAPAPAPAPS  
WPLSSVPSQKTYQ  
GSYGFRLGFLHSGTAKSVTCTYSPALNKMFCQLAK  
TCPVQLWVDSTPPPGTRVRAMAIYKQSQHMTEVVR  
RCPHHERCSDSDGLAPPQHLIRVEGNLRVEYLDDRN  
TFRHSVVVPYEPPEVGSDCTTIHYNYMCNSSCMGG  
MNRRPILTIITLEDSSGNLLGRNSFEVRVCACPGRDR  
RTEEENLRKKGEPHHELPPGSTKRALPNNTSSSPQP  
KKKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQ

AGKEPGGSRAHSSHLKSKKGQSTS RHKKLMFKTEG

PDSD(序列辨識編號：70)

【0043】 在一些實施例中，p53所包含或由其所組成之胺基酸序列與序列辨識編號：70之胺基酸序列具有至少60%，更佳為至少65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%中之一者的序列一致性。

【0044】 已發現編碼p53的基因之突變涉及不同癌症的發生與進程(Muller與 Vousden於2014年期刊“Cancer Cell”第25卷第304-317頁乙文)。如Sakakura等人於2007年期刊“Clin Immunol.”第125(1)卷第43-51頁乙文中所說明，p53功能之喪失係人類癌症中最常見的異常現象，及超過80%的腫瘤顯示出p53的缺陷，及該等變異在腫瘤細胞上導致藉由HLA第I類型分子所呈現的野生型p53抗原決定位(從p53蛋白所衍生的非突變型勝肽序列)之增加，供HLA第I類限制型T細胞之辨識。

【0045】 已找出辨識MHC第I類所呈現的不同p53抗原決定位之CD8陽性T細胞。其等包括HLA-A\*02(HLA-A2)限制型抗原決定位p53<sub>65-73</sub>、p53<sub>149-157</sub>、p53<sub>264-272</sub>及p53<sub>217-225</sub>，及HLA-A\*24(HLA-A24)限制型抗原決定位p53<sub>125-134</sub>、p53<sub>161-169</sub>及p53<sub>204-212</sub>(參見例如Chikamatsu等人於2008年期刊“Oral Oncol.”第44(9)卷第870-877頁乙文)。該等p53勝肽的胺基酸序列係如下所示。

p53<sub>65-73</sub>：RMPEAAPV(序列辨識編號：71)

$p53_{149-157}$  : STPPPGTRV(序列辨識編號：72)

$p53_{264-272}$  : LLGRNSFEV(序列辨識編號：73)

$p53_{217-225}$  : VVPYEPPEV(序列辨識編號：74)

$p53_{125-134}$  : TYSPALNKMF(序列辨識編號：75)

$p53_{161-169}$  : AIYKQSQHM(序列辨識編號：76)

$p53_{204-212}$  : EYLDDRNTF(序列辨識編號：77)

【0046】如本申請案所用之“胜肽”，係指二或多個胺基酸單體藉由胜肽鍵所連接成之一鏈。在一些實施例中，一胜肽的長度可為50個胺基酸或較短。如本申請案所用之“多肽”，係指二或多個胜肽藉由胜肽鍵所連接成之一鏈。

【0047】在一些實施例中，一p53胜肽可包含具有5至20個、5至18個、5至15個、5至14個、5至13個、5至12個、5至11或5至10個胺基酸之一鄰接序列或由其所組成。在一些實施例中，該胜肽的長度可為5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15個胺基酸中之一者。

【0048】在一些實施例中，p53胜肽包含序列辨識編號：71至77中之一者的序列或其在胺基酸序列中具有一或二或三項胺基酸取代作用之變異體，或由其所組成。在一些實施例中，該胜肽在胺基酸序列的一端或二端另外包含1、2、3、4、5個胺基酸。在一些實施例中，該胜肽在胺基酸序列的一端或二端另外包含1至2個、1至3個、1至4個或1至5個胺基酸。

【0049】在一些實施例中，p53胜肽並非由序列辨識

編號：73所組成。

**【0050】** 在一些實施例中，p53勝肽包含序列辨識編號：75之序列或其在胺基酸序列中具有一或二或三項胺基酸取代作用之變異體，或由其所組成。

**【0051】** 該勝肽係藉由一MHC分子(例如一MHC第I類分子)呈現。MHC第I類分子係由一 $\alpha$ 鏈與一 $\beta 2$ 微球蛋白所組成的異型二聚體。 $\alpha$ 鏈具有稱為 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 及 $\alpha 3$ 的三個域。 $\alpha 1$ 與 $\alpha 2$ 域一起形成供MHC第I類分子所呈現的勝肽結合之凹槽，而形成勝肽-MHC複合體。MHC第I類 $\alpha$ 鏈係多型性，而不同的 $\alpha$ 鏈能結合及呈現不同的勝肽。人類的MHC第I類 $\alpha$ 鏈係由人類白血球抗原(HLA)基因所編碼。

**【0052】** 在本說明書中，MHC第I類 $\alpha$ /HLA可來自任何物種，及包括來自任何物種的同功型、片段、變異體或同系物。在一些實施例中，MHC第I類 $\alpha$ /HLA係來自人類、靈長類動物、人類以外的靈長類動物、嚙齒動物、鼠類或哺乳類動物。

**【0053】** 在一些實施例中，該MHC第I類分子包含在HLA-A基因座所編碼的一 $\alpha$ 鏈。在一些實施例中，該 $\alpha$ 鏈係由一HLA-A對偶基因所編碼，其係對偶基因群組HLA-A2或HLA-A24中的一成員。在一些實施例中，該 $\alpha$ 鏈係由一HLA-A對偶基因所編碼，其係對偶基因群組HLA-A24(例如HLA-A2402或HLA-A2403)中的一成員。在一些實施例中，該 $\alpha$ 鏈係由HLA-A2402所編碼。

【0054】 在一些實施例中，該MHC第I類分子包含一 $\alpha$ 鏈，其並非HLA-A201所編碼。在一些實施例中，該MHC第I類分子包含一 $\alpha$ 鏈，其並非由對偶基因群組HLA-A2中的一成員所編碼。

【0055】 在特定的實施例中，本發明係針對能與一胜肽：MHC複合體結合之一抗體或抗原結合片段，該胜肽：MHC複合體所包含的一胜肽包含序列辨識編號：75之胺基酸序列或由其所組成，及其所包含的一MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類 $\alpha$ 鏈。

#### 抗體/抗原結合片段

【0056】 如本發明的抗體與抗原結合片段係與由一p53胜肽與一MHC第I類分子所組成之胜肽-MHC複合體結合。

【0057】 藉由“抗體”一詞，吾等意欲包括其片段或衍生物，或一合成抗體或合成抗體片段。如本申請案所用的“抗體”一詞，係指能按特異性方式與相關標的分子(即抗體對其具特異性之抗原)結合之一多肽。可按分離形式提供如本發明的抗體。

【0058】 鑑於當今單株抗體科技的相關技術，已可針對大部分的抗原製備抗體。抗原結合部分可為一抗體的一部分(例如一Fab片段)或為一合成抗體片段(例如一單鏈Fv片段[ScFv])。可藉由已知技術製備所選抗原的適宜單株抗體，例如在H Zola所著的“單株抗體：技術手冊

(Monoclonal Antibodies: A manual of techniques)"乙書(CRC出版社於1988年出版)及在J G R Hurrell所著的“單株融合瘤抗體：技術與應用(Monoclonal Hybridoma Antibodies: Techniques and Applications)"乙書(CRC出版社於1982年出版)中所揭示者。Neuberger等人曾論及嵌合抗體(於1988年第八屆國際生物科技研討會刊論文集第二部第792-799頁乙文)。

**【0059】** 適合在本發明的方法中使用單株抗體(mAbs)，其係抗體的一同質群體及按特異性方式靶向一抗原上的單一抗原決定位。

**【0060】** 亦可使用/提供抗體的抗原結合片段，諸如Fab與Fab<sub>2</sub>片段，正如可使用/提供基因工程式抗體與抗體片段。抗體的重鏈可變域(V<sub>H</sub>)與輕鏈可變域(V<sub>L</sub>)係涉及抗原之辨識，這項事實最初由早期的蛋白酶消化實驗所發現。進一步的確認係來自嚙齒動物抗體的“人化作用”。可將源自嚙齒動物的可變域與源自人類的固定域融合，而使得所產生的抗體保有嚙齒動物親本抗體的抗原特異性(Morrison等人(1984年)於期刊“Proc. Natl. Acad. Sd. USA”第81卷第6851-6855頁乙文)。

**【0061】** 在一些實施例中，該抗體/片段係一全人抗體/片段。一全人抗體/片段係由人類核酸序列所編碼。全人抗體/片段係不具有非人類的胺基酸序列。

**【0062】** 二種最常用於產生全人抗體之技術為(i)噬菌體呈現法，其中人類抗體基因係在噬菌體呈現庫中表

現；及(ii)在經基因工程而具有人類抗體基因之基因轉殖小鼠中產生抗體(Park與Smolen於2001年期刊“*Advances in Protein Chemistry*”第56卷第369-421頁乙文中所述)。簡言之，在人類抗體基因的噬菌體呈現技術中，藉由PCR擴增作用及從“純真”人類淋巴細胞選殖來產生編碼VH與VL鏈之基因，及組裝成一庫，該等基因可從該庫表現為二硫化物所連接的Fab片段或單鏈Fv(scFv)片段之形式。將編碼Fab或scFv的基因與絲狀噬菌體的一表面外殼蛋白融合，然後藉由用抗原篩選該庫來辨識出能與所關注的標的結合之Fab或scFv。可採用分子演化或親和性成熟程序，以增進Fab/scFv片段的親和性。在基因轉殖小鼠之技術中，其中內源性鼠類Ig基因座已被其等的人類同系物之同源性重組作用所置換之小鼠，係用抗原進行免疫化，及藉由習用的融合瘤技術製備單株抗體，來產生全人單株抗體。

【0063】 在涉及細菌性表現抗體片段且所有抗體片段皆含有一或多個可變域之實驗中得知，抗原特異性係由可變域所賦予並且與固定域無關。該等分子包括Fab樣分子(Better等人(1988年)於期刊“*Science*”第240卷第1041頁乙文)；Fv分子(Skerra等人(1988年)於期刊“*Science*”第240卷第1038頁乙文)；單鏈Fv (ScFv)分子，其中V<sub>H</sub>與V<sub>L</sub>夥伴域係經由一撓性寡肽連接(Bird等人(1988年)於期刊“*Science*”第242卷第423頁乙文；Huston等人(1988年)於期刊“*Proc. Natl. Acad. Sd. USA*”第85卷第5879頁

乙文)；及包含分離型V域的單域抗體(dAbs)(Ward等人(1989年)於期刊“Nature”第341卷第544頁乙文)。涉及合成保有其等特異性結合位點的抗體片段之技術，可見於Winter與Milstein(1991年)於期刊“Nature”第349卷第293-299頁乙文中之綜合評論。

**【0064】** 藉由“ScFv分子”一詞，吾等係指其中V<sub>H</sub>與V<sub>L</sub>夥伴域係例如藉由一撓性寡肽而共價連接之分子。

**【0065】** Fab、Fv、ScFv及dAb抗體片段皆可在大腸桿菌(E. coli)中表現及分泌出來，因而得以容易地大量生成該片段。

**【0066】** 全抗體與F(ab')<sub>2</sub>片段係“二價”。吾等藉由“二價”一詞係指該抗體與F(ab')<sub>2</sub>片段具有二個抗原結合位。反之，Fab、Fv、ScFv及dAb片段係單價，即僅具有一抗原結合位。

**【0067】** 如本發明的一抗原結合片段可為能與標的抗原結合之一多肽的任何片段。

**【0068】** 在一些實施例中，一抗原結合片段包含至少三個輕鏈互補決定區(CDR)(亦即LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3；在本申請案中亦稱作LC-CDR 1-3)及三個重鏈互補決定區(亦即HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3；在本申請案中亦稱作HC-CDR 1-3)，其等一起界定一抗體或抗原結合片段的抗原結合區。在一些實施例中，一抗原結合片段可包含一抗體或抗原結合片段的輕鏈可變域與重鏈可變域。在一些實施例中，一抗原結合

片段可包含一抗體或抗原結合片段的輕鏈多肽與重鏈多肽。

**【0069】** 本發明亦提供一種嵌合抗原受體(CAR) ，其包含如本發明的一或多種抗原結合片段或多肽。

**【0070】** 嵌合抗原受體(CAR)係同時提供抗原結合及T細胞活化等功能之重組型受體。例如，Dotti等人曾於2014年期刊“Immunol Rev”第257(1)卷乙文中綜合評論嵌合抗原受體結構及基因工程設計，該文獻在此完整併入本案以為參考資料。本申請案中所提供之如本發明的抗原結合片段係一嵌合抗原受體(CAR)的抗原結合域。一嵌合抗原受體典型包含與一細胞膜錨定區連接之一細胞外的抗原結合區，例如一跨膜區；及包含一訊號傳導區。可選擇性地提供一樞紐或間隔區，以分隔該抗原結合區與細胞膜錨定區，及可作用為一撓性連接子。

**【0071】** 在本申請案中，按一嵌合抗原受體(CAR)的抗原結合域之形式，提供如本發明的抗原結合片段或多肽。在一些實施例中，該嵌合抗原受體包含如本申請案所述之一抗體、抗原結合片段或多肽的任何實施例之一VL域與一VH域。如本發明的一嵌合抗原受體之抗原結合區可按任何適宜格式提供，例如scFv、scFab等。

**【0072】** 所提供的細胞膜錨定區或跨膜區係位於嵌合抗原受體的抗原結合區與傳訊區之間，及供用於將嵌合抗原受體錨定於表現一嵌合抗原受體之一細胞的細胞膜，使得該抗原結合區位於細胞外，而傳訊區位於該細胞內。

在一些實施例中，嵌合抗原受體所包含的一細胞膜錨定區包含一胺基酸序列或由其所組成，而該胺基酸序列包含、由其所組成或衍生自CD3- $\zeta$ 、CD4、CD8或CD28的跨膜區胺基酸序列。如本申請案所用之‘衍生自’一參考胺基酸序列之一區所包含的一胺基酸序列與該參考序列具有至少60%，更佳為至少65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，99%或100%中之一者的序列一致性。

**【0073】** 該細胞膜錨定區或跨膜區可為跨越細胞膜之疏水性 $\alpha$ 螺旋。通常使用與訊號傳導區聯結之跨膜區；或可挑選跨膜區及藉由胺基酸取代作用進行改造，以避免該等域與相同或不同的表面膜蛋白的跨膜域結合，而將與該受體複合體的其他成員之交互作用降至最低。

**【0074】** 嵌合抗原受體可與共同刺激型配位體、嵌合共同刺激型受體或細胞介素組合，以進一步提高T細胞的效力、特異性及安全性(Sadelain等人於2013年4月期刊“Cancer Discov.”第3(4)卷第388-398頁之“嵌合抗原受體(CAR)設計之基本原則”乙文，doi:10.1158/2159-8290.CD-12-0548，其明確在此併入本案以為參考資料)。

**【0075】** 亦提供包含如本發明的嵌合抗原受體之一細胞。如本發明的嵌合抗原受體可用於產生表現嵌合抗原受體的免疫細胞，例如T細胞。該等細胞可靶向癌細胞，例如腫瘤細胞，其表現該嵌合抗原受體對其具特異性之抗

原。可在針對轉導與擴增作用所進行的試管內培養期間，藉由基因工程讓嵌合抗原受體進入T細胞中，諸如在供過繼性T細胞療法所用的T細胞擴增期間所發生者。

**【0076】** 本發明亦提供雙特異性抗體與雙特異性抗原結合片段，其包含如本發明的一抗體或抗原結合片段。該雙特異性抗體或雙特異性抗原結合片段可包含(i)如本發明的一抗體或抗原結合片段，及(ii)對於勝肽-MHC複合體以外的一標的具特異性之一抗體或抗原結合片段。

**【0077】** 在一些實施例中，雙特異性抗體與雙特異性抗原結合片段包含如本發明的一抗原或抗原結合片段，及包含能與一免疫細胞表面分子結合之一抗體或抗原結合片段。在本申請案中，一免疫細胞表面分子係在一免疫細胞的細胞表面表現之一分子，及可為任何勝肽/多肽、醣蛋白、脂蛋白、聚醣、醣脂質、脂質或其片段。

**【0078】** 免疫細胞表面分子可表現在任何免疫細胞的細胞表面。在一些實施例中，該免疫細胞可為源自造血系統之一細胞，例如嗜中性白血球、嗜伊紅白血球、嗜鹼性白血球、樹突細胞、淋巴細胞或單核白血球。淋巴細胞可為例如T細胞、B細胞、自然殺手(NK)細胞、自然殺手T細胞或先天性淋巴樣細胞(ILC)或其一前驅細胞(例如胸腺細胞或前驅B細胞)。該細胞可表現一或多種CD3多肽(例如CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\gamma$ 、CD3 $\delta$ 、CD3 $\zeta$ 及/或CD3 $\eta$ )；TCR多肽(TCR $\alpha$ 、TCR $\beta$ 、TCR $\gamma$ 及/或TCR $\delta$ )；CD27；CD28；CD4；CD8；CD16；CCR5；CCR7；CD2；CD7；

PD-1及/或CTLA4。

**【0079】** 在一些實施例中，該免疫細胞係一種T細胞。在一些實施例中，該T細胞係一種CD3陽性T細胞。在一些實施例中，該T細胞係一種CD3陽性、CD8陽性T細胞。在一些實施例中，該T細胞係一種CD3陽性、CD4陽性T細胞。在一些實施例中，該T細胞係一種胞毒型T細胞(例如一種胞毒型T淋巴細胞(CTL))、一種T輔助細胞(例如Th1、Th2、Th9、Th17、Th22或Tfh細胞)、一種調節性T細胞(T<sub>reg</sub>)、一種中樞記憶性細胞(T<sub>cm</sub>)或一種作用型記憶細胞(T<sub>em</sub>)。

**【0080】** 在一些實施例中，該免疫細胞係一種自然殺手細胞。在一些實施例中，該T細胞係一種CD16陽性自然殺手細胞。

**【0081】** 在一些實施例中，該免疫細胞表面分子係選自一或多種CD3多肽(例如CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\gamma$ 、CD3 $\delta$ 、CD3 $\zeta$ 或CD3 $\eta$ )；TCR多肽(TCR $\alpha$ 、TCR $\beta$ 、TCR $\gamma$ 及/或TCR $\delta$ )；CD27；CD28；CD4；CD8；CCR5；CCR7；CD2；CD7；PD-1及CTLA4。

**【0082】** CD3係在T淋巴細胞表面所表現的多肽之一複合體。在哺乳類動物中，該CD3複合體含有一CD3 $\gamma$ 鏈、一CD3 $\delta$ 鏈及二CD3 $\epsilon$ 鏈。該等鏈與TCR多肽(TCR $\alpha$ 與TCR $\beta$ )及CD3 $\zeta$ /CD3 $\eta$ 鏈聯結而形成CD3-TCR複合體，其在T淋巴細胞中產生活化訊號。

**【0083】** 在一些實施例中，該免疫細胞表面分子係

在T細胞的細胞表面表現之一分子。在一些實施例中，該免疫細胞表面分子係CD3-TCR複合體的一種多肽。在一些實施例中，該免疫細胞表面分子係一種CD3多肽(例如CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\gamma$ 、CD3 $\delta$ 、CD3 $\zeta$ 或CD3 $\eta$ )；含有CD3多肽的一種複合體；一種TCR多肽(TCR $\alpha$ 、TCR $\beta$ 、TCR $\gamma$ 及/或TCR $\delta$ )；或含有TCR多肽的一種複合體。

【0084】 在一些實施例中，雙特異性抗體與雙特異性抗原結合片段包含如本發明的一抗體或抗原結合片段及一CD3結合域。在一些實施例中，雙特異性抗體與雙特異性抗原結合片段包含如本發明的一抗體或抗原結合片段及一CD3-TCR複合體多肽結合域。在一些實施例中，該CD3-TCR複合體多肽結合域係一種CD3多肽結合域。在一些實施例中，該CD3-TCR複合體多肽結合域係一種CD3 $\epsilon$ 結合域。

【0085】 可按任何適宜的形式提供雙特異性抗體/片段，諸如Kontermann於2012年期刊“MAbs”第4(2)卷第182-197頁乙文中所述的該等形式，該文獻的全部內容在此併入本案以為參考資料。例如，雙特異性抗體或雙特異性抗原結合片段可為一種雙特異性抗體接合物(例如IgG2、F(ab')<sub>2</sub>或CovX-Body)；一種雙特異性IgG或IgG樣分子(例如IgG、scFv<sub>4</sub>-Ig、IgG-scFv、scFv-IgG、DVD-Ig、IgG- sVD、sVD-IgG、二合一型IgG、mAb<sup>2</sup>或串聯抗體共同輕鏈)；一種非對稱雙特異性IgG或IgG樣分子(例如kih IgG、kih IgG共同輕鏈、CrossMab、kih

IgG-scFab、mAb-Fv、電荷對或SEED體)；一種小型雙特異性抗體分子(例如雙鏈抗體(Db)、DsDb、DART、scDb、tandAbs、串聯型scFv(taFv)、串聯型dAb/VHH、三鏈抗體、三頭式抗體、Fab-scFv或F(ab')<sub>2</sub>-scFv<sub>2</sub>)；一種雙特異性Fc與C<sub>H</sub>3融合蛋白(例如taFv-Fc、二(雙鏈抗體)、scDb-C<sub>H</sub>3、scFv-Fc-scFv、HCAb-VHH、scFv-kih-Fc或scFv-kih-C<sub>H</sub>3)；或一種雙特異性融合蛋白(例如scFv<sub>2</sub>-白蛋白、scDb-白蛋白、taFv-毒素、DNL-Fab<sub>3</sub>、DNL-Fab<sub>4</sub>-IgG、DNL-Fab<sub>4</sub>-IgG-細胞介素<sub>2</sub>)。尤其參見Kontermann於2012年期刊“MAbs”第4(2)卷第182-19頁乙文中之圖2。該雙特異性抗體或抗原結合片段可為一種雙特異性T細胞銜接子(BiTE)。

**【0086】** 在一些實施例中，對於勝肽-MHC複合體以外的一標的具特異性之抗體或抗原結合片段，係位於本申請案中所述的一種雙特異性抗體或雙特異性抗原結合片段之可結晶區(Fc區)。在一些實施例中，雙特異性抗體或雙特異性抗原結合片段之Fab區包含對於勝肽-MHC複合體以外的一標的具特異性之抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，對於勝肽-MHC複合體以外的一標的具特異性之抗體或抗原結合片段，係置換本申請案中所述的一種雙特異性抗體或雙特異性抗原結合片段之一Fab區。

**【0087】** 用於產生雙特異性抗體之方法包括例如使用可還原性二硫鍵或不可還原性硫醚鍵，以化學方式交聯

抗體或抗體片段，例如 Segal 與 Bast 於 2001 年期刊“Current Protocols in Immunology”第 14:IV:2.13 卷第 2.13.1-2.13.16 頁之“雙特異性抗體之產生”乙文中所述，該文獻在此完整併入本案以為參考資料。例如，可使用 N-琥珀醯亞胺基-3-(-2-吡啶基二硫基)-丙酸酯 (SPDP)，經由樞紐區 SH 基而以化學方式交聯例如 Fab 片段，來產生由二硫化物連接的雙特異性  $F(ab)_2$  異二聚體。其他方法包括例如用聚乙二醇將產生抗體的融合瘤融合，來產生能分泌雙特異性抗體之四元融合瘤細胞，例如 D. M. 與 Bast, B. J. 於 2001 年期刊“Current Protocols in Immunology”第 14:IV:2.13 卷第 2.13.1-2.13.16 頁之“雙特異性抗體之產生”乙文中所述。亦能以重組方式產生雙特異性抗體與雙特異性抗原結合片段，例如藉由編碼該抗原結合分子的多肽之一核酸建構物的表現，例如“抗體工程：方法與操作程序 (Antibody Engineering: Methods and Protocols)”乙書 (胡馬納 (Humana) 出版社於 2012 年出版) 第二版第 40 章之“雙特異性抗體之產生：雙鏈抗體與串聯型 scFv”乙文 (Hornig 與 Färber-Schwarz 所著) 或 French 於 2000 年期刊“Methods Mol. Med.”第 40 卷第 333-339 頁之“如何製備雙特異性抗體”乙文中所述，其等的全部內容在此併入本案以為參考資料。

【0088】可藉由一種親和性成熟方法產生抗體，其中所產生的一改質抗體對於抗原的親和性係高於未改質的親本抗體。可藉由技藝中的已知程序產生親和性成熟型抗

體，例如Marks等人於1992年期刊“Bio/Technology”第10卷第779-783頁乙文；Barbas等人於1994年期刊“Proc Nat. Acad. Sci. USA”第91卷第3809-3813頁乙文；Schier等人於1995年期刊“Gene”第169卷第147-155頁乙文；Yelton等人於1995年期刊“J. Immunol.”第155卷第1994- 2004頁乙文；Jackson等人於1995年期刊“J. Immunol.”第154(7)卷第3310-159頁乙文；及Hawkins等人於1992年期刊“J. Mol. Biol.”第226卷第889-896頁乙文。

【0089】 本發明係提供本申請案所述之已進一步進行鏈替換之抗體，例如輕鏈替換及/或重鏈替換。用於增進抗體親和性之鏈替換作用係詳述於胡馬納(Humana)出版社於2004年出版之“抗體工程方法與操作手冊(Antibody Engineering Methods and Protocols)”第248卷第327- 343頁之由Marks所著的“藉由鏈替換之抗體親和性成熟作用(Antibody Affinity Maturation by Chain Shuffling)”乙文中，該文獻在此完整併入本案以為參考資料，尤其輕鏈替換係詳述及其3.1與3.2節。在輕鏈替換時，抗體的重鏈可變區係與一譜型的輕鏈可變區夥伴組合，以辨識出對於所關注的標的蛋白具有高親和性之新的VL/VH組合。按這種方式將抗體/片段最佳化，而使其具有非常高的結合親和性。

【0090】 於一些態樣中，本發明的抗體/片段包含本申請案所述之一抗體殖株的一VH及/或VL域之CDR(即

CDR 1-3)或其一變異體。在一些實施例中，本發明的抗體/片段包含本申請案所述之一抗體殖株的HC-CDR 1-3或其一變異體。在一些實施例中，本發明的抗體/片段包含本申請案所述之一抗體殖株的LC-CDR 1-3或其一變異體。

【0091】 本揭示內容之抗體殖株的HC-CDR 1-3與LC-CDR 1-3係依據Kabat界定((Kabat等人於“美國國家衛生院出版物(NIH Publication)” 91-3242(1991)中所述，該文獻在此完整併入本案以為參考資料)。

【0092】 如本申請案所用之一CDR的變異體可在CDR的胺基酸序列中包含例如1或2或3項取代作用。如本申請案所用之一VL或VH域的變異體可在該域的胺基酸序列中包含例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10項取代作用。

【0093】 在一些實施例中，本發明的抗體/片段包含本申請案所述之一抗體殖株的HC-CDR 1-3或其一變異體，及包含本申請案所述之一抗體殖株的LC-CDR 1-3或其一變異體。

【0094】 於一些態樣中，本發明的抗體/片段包含本申請案所述之一抗體殖株的VH及/或VL域之CDR或其一變異體。於一些態樣中，本發明的抗體/片段包含本申請案所述之一抗體殖株的VH及/或VL域或其一變異體。

【0095】 於一些態樣中，本發明的抗體/片段包含一殖株的VH及/或VL域之CDR或其一變異體，該殖株係選

自 P1C1 、 P1C1\_g1 、 P1C1\_dm 、 P1C1\_tm 、 1G7 、 2E3 、 1E11 、 P1H4 、 P1B11 、 P1A8 或 P2B4 。

【0096】 於一些態樣中，本發明的抗體/片段包含一殖株的 VH 及/或 VL 域或其一變異體，該殖株係選自 P1C1 、 P1C1\_g1 、 P1C1\_dm 、 P1C1\_tm 、 1G7 、 2E3 、 1E11 、 P1H4 、 P1B11 、 P1A8 或 P2B4 。

【0097】 於一些態樣中，本發明的抗體/片段包含本申請案所述一抗體殖株的 VH 域之 HC-CDR 1-3 或其一變異體。於一些態樣中，本發明的抗體/片段包含一殖株的 VH 域或其一變異體。

【0098】 於一些態樣中，本發明的抗體/片段包含本申請案所述一抗體殖株的 VL 域之 LC-CDR 1-3 或其一變異體。於一些態樣中，本發明的抗體/片段包含一殖株的 VL 域或其一變異體。

【0099】 在一些實施例中，本發明的抗體/片段包含一抗體殖株的 VH 域之 HC-CDR 1-3，該抗體殖株係選自 P1C1 、 P1C1\_g1 、 P1C1\_dm 、 P1C1\_tm 、 1G7 、 2E3 、 1E11 、 P1H4 、 P1B11 、 P1A8 或 P2B4 。

【0100】 在一些實施例中，本發明的抗體/片段包含一抗體殖株的 VL 域之 LC-CDR 1-3 或 VL 域，該抗體殖株選自 P1C1 、 P1C1\_g1 、 P1C1\_dm 、 P1C1\_tm 、 1G7 、 2E3 、 1E11 、 P1H4 、 P1B11 、 P1A8 或 P2B4 。

【0101】 抗體殖株 P1C1 、 P1C1\_g1 、 P1C1\_dm 、 P1C1\_tm 、 1G7 、 2E3 、 1E11 、 P1H4 、 P1B11 、 P1A8 或

P2B4的VL域之胺基酸序列係示於圖1，LC-CDR 1-3亦然，LC-CDR 1-3係依據Kabat系統界定((Kabat等人於“美國國家衛生院出版物(NIH Publication)”91-3242(1991)中所述)。P1C1、P1C1\_g1、P1C1\_dm、P1C1\_tm、1G7、2E3、1E11、P1H4、P1B11、P1A8或P2B4的VH域之胺基酸序列係示於圖2，HC-CDR 1-3亦然，HC-CDR 1-3係依據Kabat系統界定。

**【0102】**如本發明的抗體/片段可包含VL及/或VH鏈，該VL及/或VH鏈包含一胺基酸序列，該胺基酸序列與本申請案所述之VL及/或VH胺基酸序列中的一或多者具有高百分比的序列一致性。例如，如本發明的抗體包括具有一VL鏈之抗體，該VL鏈所包含的一胺基酸序列與序列辨識編號：1至7中之一者的VL鏈胺基酸序列具有至少70%，更佳為至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%中之一者的序列一致性。如本發明的抗體/片段包括具有一VH鏈之抗體，該VH鏈所包含的一胺基酸序列與序列辨識編號：8至16中之一者的VH鏈胺基酸序列具有至少70%，更佳為至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%中之一者的序列一致性。

**【0103】**如本發明的抗體/片段可包含由一核酸序列所編碼之VL及/或VH鏈，其與本申請案所述VL及/或VH

核酸序列中的一或更多者，或與因密碼子簡併所產生之編碼該相同胺基酸序列的核酸序列，具有高百分比的序列一致性。例如，如本發明的抗體包括具有由一核酸序列所編碼的一VL鏈之抗體，其與序列辨識編號：54至60中之一者的VL鏈核酸序列或與因密碼子簡併所產生之編碼序列辨識編號：54至60中之一者的相同胺基酸序列之核酸序列具有至少70%，更佳為至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%中之一者的序列一致性。如本發明的抗體/片段包括具有由一核酸序列所編碼的一VH鏈之抗體，其與序列辨識編號：61至69中之一者的VH鏈核酸序列或與因密碼子簡併所產生之編碼序列辨識編號：61至69中之一者的相同胺基酸序列之核酸序列具有至少70%，更佳為至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%中之一者的序列一致性。

**【0104】** 本申請案中所揭示的輕鏈與重鏈CDR亦可能特別適合與若干不同的架構區聯合使用。因此，具有LC- CDR1-3或HC-CDR1-3的輕鏈及/或重鏈可能擁有一任擇的架構區。適宜的架構區係技藝中眾所周知，及例如述於學術出版社(Academic Press)於2001年出版及由M. Lefranc與G. Lefranc所著之“免疫球蛋白紀實叢書(The Immunoglobulin FactsBook)”乙書，其在此併入本案以

為參考資料。

**【0105】** 如本發明的抗體/片段可具有可檢測的標記，或至少可進行檢測。例如，可在該抗體上標記一放射性原子或一有色分子或一螢光分子，或者標記即可藉由其他任何方式檢測之一分子。可供檢測的適宜分子包括螢光蛋白、螢光素酶、酵素受質、放射性標記及結合部分。可藉由與該抗體/片段接合來進行標記。可用一種可供檢測的標記直接標記該抗原結合分子，或可間接標記。在一些實施例中，該標記可選自放射性核苷酸、正子發射型放射性核種(例如用於正子斷層造影(PET))、MRI造影劑或螢光標記。

**【0106】** 如本發明的抗體與抗原結合片段可與一效應因子部分(例如藥物部分)接合，諸如一種胞毒型小型分子。該等接合物係適於經由靶向遞送該效應因子部分而將表現該標的之細胞靶向殺滅，該抗體/抗原結合片段對於該標的具有特異性。

**【0107】** 任擇地，在一些實施例中，如本發明的抗體與抗原結合片段可適用於與能與該抗體/片段結合之一種二級結合劑(例如二級抗體)接合，該結合劑係與一藥物部分接合，例如一種胞毒型小型分子。

**【0108】** 在一些實施例中，該部分係選自如Vankemmelbeke與Durrant於2016年期刊“Ther. Deliv.”第7(3)卷第141-144頁乙文或Diamantis與Banjeri於2016年期刊“British Journal of Cancer”第114卷第362-367頁乙文中所述之一部分，該二文獻在此完整併入本案以為參

考資料。在一些實施例中，該藥物部分係選自PNU159682 (PNU)與吡咯并苯二氮平(PBD)。在一些實施例中，該藥物部分係一種蔥環素衍生物。

**【0109】** 本發明亦提供分離型重鏈可變區多肽與分離型輕鏈可變區多肽。

**【0110】** 於一些態樣中，提供一分離型輕鏈可變區多肽，其包含本申請案所述之任一抗體殖株的LC-CDR1-3。於一些態樣中，提供一分離型輕鏈可變區多肽，其所包含的一胺基酸序列與本申請案所述之任一抗體殖株的輕鏈可變區之胺基酸序列具有至少70%，更佳為至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%中之一者的序列一致性。

**【0111】** 於一些態樣中，提供一分離型重鏈可變區多肽，其包含本申請案所述之任一抗體殖株的HC-CDR1-3。於一些態樣中，提供一分離型重鏈可變區多肽，其所包含的一胺基酸序列與本申請案所述之任一抗體殖株的重鏈可變區之胺基酸序列具有至少70%，更佳為至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%中之一者的序列一致性。

抗體/片段的功能性質

**【0112】** 可針對特定功能性質，進行本發明的抗體與片段之特徵分析。尤其，如本發明之一抗體或抗原結合

片段可具有下列一或多種性質：

- a) 與包含一p53勝肽及一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體的特異性結合，例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈；
- b) 與包含一p53勝肽及一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體(例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)結合及結合親和性係≤5 μM，例如藉由表面電漿共振(SPR)所測定；
- c) 在一p53勝肽不存在下(例如在p53<sub>125-134</sub>不存在下)，不與MHC第I類分子(例如包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈之MHC第I類分子)特異性結合；
- d) 對於不包含一p53勝肽(例如p53<sub>125-134</sub>)之勝肽-MHC複合體(例如包含一MHC第I類分子，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)，不進行特異性結合；
- e) 在一MHC第I類分子不存在下(例如在包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈之MHC第I類分子不存在下)，不與一p53勝肽(例如p53<sub>125-134</sub>)特異性結合；
- f) 對於包含/表現含有一p53勝肽與一MHC第I類分子

之胜肽-MHC複合體(例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之胜肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)之細胞，展現抗體依賴型細胞介導式細胞毒性(ADCC)；

g)在一p53胜肽不存在下(例如在p53<sub>125-134</sub>不存在下)，對於包含/表現MHC第I類分子(例如包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈之MHC第I類分子)之細胞，並不展現抗體依賴型細胞介導式細胞毒性；

h)對於所包含/表現的胜肽-MHC複合體(例如包含一MHC第I類分子，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)並不包含一p53胜肽(例如p53<sub>125-134</sub>)之細胞，不展現抗體依賴型細胞介導式細胞毒性；

i)藉由包含/表現胜肽-MHC複合體之細胞展現內化作用，該胜肽-MHC複合體包含一p53胜肽與一MHC第I類分子(例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之胜肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)；

j)在一p53胜肽不存在下(例如在p53<sub>125-134</sub>不存在下)，包含/表現MHC第I類分子(例如包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈之MHC第I類分子)之細胞並未展現內化作用；

k)所包含/表現的胜肽-MHC複合體(例如包含一MHC

第I類分子，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)並不包含一p53勝肽(例如p53<sub>125-134</sub>)之細胞，並未展現內化作用；

**【0113】** 按特異性方式與包含一p53勝肽及一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體(例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)結合之一抗體/片段當與該標的分子結合時，係比與其他非標的分子/複合體結合時之親和性更高及/或持續時間更長。

**【0114】** 在一些實施例中，本發明的抗體/片段與包含一p53勝肽及一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體(例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)之結合親和性，可高於在一p53勝肽不存在下(例如在p53<sub>125-134</sub>不存在下)與一MHC第I類分子(例如包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈之MHC第I類分子)之結合親和性，及/或其親和性係高於與不包含一p53勝肽(例如p53<sub>125-134</sub>)之一勝肽-MHC複合體(例如包含一MHC第I類分子，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)之結合親和性。

**【0115】** 在一些實施例中，一抗體與一非標的之結合程度，係低於該抗體與標的結合作用之約10%，例如藉

由ELISA、SPR、生物薄膜干涉技術(BLI)、微量熱泳技術(MST)或藉由放射性免疫分析(RIA)所測得。任擇地，結合特異性可反映在結合親和性上，其中本發明的抗體/片段與包含一p53勝肽及一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體(例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)結合的K<sub>D</sub>，係比該抗體對於一非標的分子/複合體的K<sub>D</sub>大至少0.1數量級(亦即0.1×10<sup>n</sup>，其中n為代表該數量級之一整數)。其選擇性地可為至少0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.5或2.0中之一者。

【0116】通常藉由解離常數(K<sub>D</sub>)來說明一抗體或抗原結合片段對其標的之結合親和性。可藉由技藝中所知的方法測量結合親和性，諸如藉由ELISA、表面電漿共振(SPR；參見例如Hearty等人於2012年期刊“Methods Mol Biol”第907卷第411-442頁乙文或Rich等人於2008年2月1日期刊“Anal Biochem.”第373(1)卷第112-20頁乙文)、生物薄膜干涉技術(參見例如Lad等人於2015年期刊“J Biomol Screen”第20(4)卷第498-507頁乙文或Concepcion等人於2009年9月期刊“Comb Chem High Throughput Screen.”第12(8)卷第791-800頁乙文)、微量熱泳(MST)分析(參見例如Jerabek-Willemsen等人於2011年8月期刊“Assay Drug Dev Technol.”第9(4)卷第342-353頁乙文)或藉由用該抗體與抗原分子的Fab形式所

進行之一種放射性標記抗原結合分析(RIA)。

**【0117】** 在一些實施例中，如本發明的抗體/片段與包含一p53勝肽及一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體(例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)結合的K<sub>D</sub>為10 μM或更低，較佳係下列中之一者： $\leq 5 \mu M$ 、 $\leq 1 \mu M$ 、 $\leq 900 nM$ 、 $\leq 800 nM$ 、 $\leq 700 nM$ 、 $\leq 600 nM$ 、 $\leq 500 nM$ 、 $\leq 400 nM$ 、 $\leq 300 nM$ 、 $\leq 200 nM$ 、 $\leq 100 nM$ 、 $\leq 75 nM$ 、 $\leq 50 nM$ 、 $\leq 40 nM$ 、 $\leq 30 nM$ 、 $\leq 20 nM$ 、 $\leq 15 nM$ 、 $\leq 12.5 nM$ 、 $\leq 10 nM$ 、 $\leq 9 nM$ 、 $\leq 8 nM$ 、 $\leq 7 nM$ 、 $\leq 6 nM$ 、 $\leq 5 nM$ 、 $\leq 4 nM$ 、 $\leq 3 nM$ 、 $\leq 2 nM$ 、 $\leq 1 nM$ 、 $\leq 500 pM$ ，例如，如藉由SPR分析所測定。

**【0118】** 在一些實施例中，如本發明的抗體/片段與包含一p53勝肽及一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體(例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)的結合親和性(例如藉由ELISA所測定)係EC50=1000奈克/毫升或更低，較佳係下列中之一者： $\leq 900$ 奈克/毫升、 $\leq 800$ 奈克/毫升、 $\leq 700$ 奈克/毫升、 $\leq 600$ 奈克/毫升、 $\leq 500$ 奈克/毫升、 $\leq 400$ 奈克/毫升、 $\leq 300$ 奈克/毫升、 $\leq 200$ 奈克/毫升、 $\leq 100$ 奈克/毫升、 $\leq 90$ 奈克/毫升、 $\leq 80$ 奈克/毫升、 $\leq 70$ 奈克/毫升、 $\leq 60$ 奈克/毫升、 $\leq 50$ 奈克/毫升、 $\leq 40$ 奈克/毫升、 $\leq 30$ 奈克/毫升、 $\leq 20$

奈克/毫升、≤15奈克/毫升、≤10奈克/毫升、≤7.5奈克/毫升、≤5奈克/毫升、≤2.5奈克/毫升或≤1奈克/毫升。

【0119】 可藉由ELISA分析法，在試管內分析一抗體/片段的結合親和性。適宜的分析係技藝中眾所周知及可由嫻熟技術人員進行，例如，如施普林格(Springer)公司於2010年出版之施普林格操作手冊(Springer Protocols)第V部的“抗體工程(Antibody Engineering)”乙書第一冊(第二版)第657-665頁中所述。

【0120】 在一些實施例中，該抗體/抗原結合片段對於包含/表現含有一p53勝肽與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體(例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)之細胞，展現出抗體依賴型細胞介導式細胞毒性(ADCC)。對於包含/表現含有一p53勝肽與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體(例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)之細胞展現出ADCC之一抗體/抗原結合片段，係典型包含一Fc區。

【0121】 抗體依賴型細胞介導式細胞毒性(ADCC)係指一種細胞介導式免疫回應，其中作用性免疫細胞將塗覆有抗體之標的細胞裂解，來該抗體係與該標的細胞所表現的抗原結合。作用性免疫細胞包括例如自然殺手細胞，其典型地經由抗體的Fc區與作用細胞所表現的Fc受體之結

合來辨識塗覆有抗體的細胞。Fc受體的交聯作用導致從作用細胞釋出細胞毒性因子諸如穿孔蛋白與顆粒酶，而造成標的細胞之裂解。

【0122】可藉由例如使用一種試管內細胞殺滅分析法之分析，測量一特定抗體/抗原結合片段引發ADCC之能力。該等分析法通常涉及在該抗體與作用性免疫細胞存在下，在試管內培養表現該標的抗原之細胞，及測量在一段時間後所殺滅的細胞量。ADCC分析法例如包括<sup>51</sup>鉻釋出分析，例如Nelson等人於2001年“現行免疫學操作程序(Curr Protoc Immunol.)”第7章第7.27單元所述，該文獻在此完整併入本案以為參考資料。簡言之，用<sup>51</sup>鉻處理標的細胞，及標的細胞將<sup>51</sup>鉻內化。標的細胞因著抗體依賴型細胞介導式細胞毒性(ADCC)而裂解，其導致放射性<sup>51</sup>鉻釋出至細胞培養上清液中，及可進行<sup>51</sup>鉻之檢測與量化。一抗體/抗原結合片段若對於一特定標的細胞展現出ADCC，則造成更多的細胞裂解，其高過在該抗體/抗原結合片段不存在下所觀察到的細胞裂解位準，或高過在對不被該細胞表現的標的抗原具特異性的一抗體/片段的存在下所觀察到的細胞裂解位準。

【0123】在一些實施例中，在一可比較的分析法中，如本發明的抗體/抗原結合片段對於包含/表現含有一p53勝肽與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體(例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一

MHC第I類α鏈)的細胞所產生之細胞殺滅位準，係在該抗體/抗原結合片段不存在下，或在對不被該細胞表現的標的抗原具特異性的一抗體/片段的存在下之細胞殺滅位準之1倍以上，例如 $\geq 1.01$ 倍、 $\geq 1.02$ 倍、 $\geq 1.03$ 倍、 $\geq 1.04$ 倍、 $\geq 1.05$ 倍、 $\geq 1.1$ 倍、 $\geq 1.2$ 倍、 $\geq 1.3$ 倍、 $\geq 1.4$ 倍、 $\geq 1.5$ 倍、 $\geq 1.6$ 倍、 $\geq 1.7$ 倍、 $\geq 1.8$ 倍、 $\geq 1.9$ 倍、 $\geq 2$ 倍、 $\geq 3$ 倍、 $\geq 4$ 倍、 $\geq 5$ 倍、 $\geq 6$ 倍、 $\geq 7$ 倍、 $\geq 8$ 倍、 $\geq 9$ 倍或 $\geq 10$ 倍。

**【0124】** 在一些實施例中，包含/表現勝肽-MHC複合體的細胞係將如本發明的抗體/抗原結合片段內化，該勝肽-MHC複合體包含一p53勝肽與一MHC第I類分子(例如包含 $p53_{125-134}$ 與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)。

**【0125】** 內化作用係指將抗體攝入細胞中，例如藉由細胞將與該細胞表面所表現的抗原結合之抗體吞噬。可藉由嫻熟技術人員眾所周知的方法，分析抗體內化作用，包括分析抗體之定位/運輸，例如分析標記有一可檢測部分之抗體。例如，可如本申請案的實驗實例所述，使用經pH值敏感性染料標記及當運輸至胞內體時產生一可檢測訊號之抗體，測量抗體內化作用。用於分析抗體內化作用之分析法例如述於Nath等人於2016年期刊“J Immunol Methods”第431卷第11-21頁乙文及Liao-Chan等人於2015年期刊“PLoS One”第10(4)卷第e0124708頁乙文，該二文獻在此完整併入本案以為參考資料。

【0126】 在一些實施例中，在一可比較的分析法中，包含/表現含有一p53勝肽與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體(例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)之細胞對於如本發明的抗體/抗原結合片段之內化程度，係該等細胞對於一適當的對照組抗體/片段(例如同型對照組)之內化位準之1倍以上，例如≥1.01倍、≥1.02倍、≥1.03倍、≥1.04倍、≥1.05倍、≥1.1倍、≥1.2倍、≥1.3倍、≥1.4倍、≥1.5倍、≥1.6倍、≥1.7倍、≥1.8倍、≥1.9倍、≥2倍、≥3倍、≥4倍、≥5倍、≥6倍、≥7倍、≥8倍、≥9倍或≥10倍。

【0127】 在一些實施例中，在一可比較的分析法中，包含/表現含有一p53勝肽與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體(例如包含p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)之細胞對於如本發明的抗體/抗原結合片段之內化作用，係不包含/表現含有一p53勝肽與一MHC第I類分子之勝肽-MHC複合體(例如不包含/表現含有p53<sub>125-134</sub>與一MHC第I類分子的勝肽-MHC複合體之細胞，該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈)的細胞之內化位準之1倍以上，例如≥1.01倍、≥1.02倍、≥1.03倍、≥1.04倍、≥1.05倍、≥1.1倍、≥1.2倍、≥1.3倍、≥1.4倍、≥1.5倍、≥1.6倍、≥1.7倍、≥1.8倍、≥1.9倍、

$\geq 2$  倍、 $\geq 3$  倍、 $\geq 4$  倍、 $\geq 5$  倍、 $\geq 6$  倍、 $\geq 7$  倍、 $\geq 8$  倍、 $\geq 9$  倍或 $\geq 10$  倍。

#### 核酸/載體

**【0128】** 本發明提供編碼如本發明的一抗體、抗原結合片段或嵌合抗原受體之一核酸。在一些實施例中，該核酸係例如從其他核酸或天然存在的生物材料純化或分離而得。

**【0129】** 本發明亦提供一載體，其包含編碼如本發明的一抗體、抗原結合片段或嵌合抗原受體之核酸。

**【0130】** 如本申請案中所用的“載體”係一核酸(DNA或RNA)，其係作為將外源性核酸轉移至一細胞內之媒介物。載體可為用於在該細胞中表現該核酸之表現載體。該等載體可包括一啟動子序列，其係與編碼待表現的序列之核酸操作連鎖。載體亦可包括一終止密碼子與表現增強子。技藝中所知之任何適宜的載體、啟動子、增強子及終止密碼子皆可用於表現來自如本發明的一載體之如本發明的一抗體、抗原結合片段或嵌合抗原受體。

**【0131】** 在本說明書中，“操作連鎖”一詞包括其中所選的一核酸序列與調節性核酸序列(例如啟動子及/或增強子)共價連接之情況，使得該核苷酸序列的表現落在該調節序列的影響或控制之下(從而形成一表現組合體)。因而，若調節序列能影響該核酸序列之轉錄作用，則該調節序列係與該核酸序列操作連鎖。然後在適當情況下，可將所產生的轉錄本轉譯成所欲的多肽。

【0132】可將如本發明的核酸及/或載體導入一細胞中，例如一種初代人類免疫細胞。適宜的載體包括質體；二元載體；DNA載體；mRNA載體；病毒載體(例如 $\gamma$ 逆轉錄病毒載體(例如鼠類白血病病毒(MLV)所衍生的載體)、慢病毒載體、腺病毒載體、腺相關病毒載體、牛痘病毒載體及帶狀疱疹病毒載體)；轉位子式載體及人工染色體(例如酵母菌人工染色體)，如Maus等人於2014年期刊“Annu Rev Immunol”第32卷第189-225頁乙文或Morgan與Boyerinas於2016年期刊“Biomedicines”第4卷第9頁乙文所述，該二文獻在此完整併入本案以為參考資料。在一些實施例中，該病毒載體可為一種慢病毒、逆轉錄病毒、腺病毒或單純疱疹病毒載體。在一些實施例中，該慢病毒載體可為pELNS或可衍生自pELNS。在一些實施例中，該載體可為編碼CRISPR/ Cas9之一載體。

包含/表現該抗體/片段/嵌合抗原受體之細胞

【0133】本發明亦提供包含或表現如本發明的一抗體、抗原結合片段或嵌合抗原受體之一細胞。亦提供包含或表現如本發明的一核酸或載體之一細胞。

【0134】該細胞可為真核細胞，例如一種哺乳類動物細胞。該哺乳類動物可為人類，或為人類以外的哺乳類動物(例如兔、天竺鼠、大鼠、小鼠或其他齶齒動物(包括齶齒目(Rodentia)的任何動物)、貓、狗、豬、綿羊、山羊、牛(包括母牛例如乳用母牛或牛屬(Bos)的任何動物)、馬(包括馬科(Equidae)的任何動物)、驢及人類以外

的靈長動物)。

**【0135】** 在一些實施例中，該細胞可來自一人類個體，或可從一人類個體取得。

**【0136】** 該細胞可為一免疫細胞。該細胞可為源自造血系統的一細胞，例如嗜中性白血球、嗜伊紅白血球、嗜鹼性白血球、樹突細胞、淋巴細胞或單核白血球。淋巴細胞可為例如T細胞、B細胞、自然殺手細胞、自然殺手T細胞或先天性淋巴樣細胞(ILC)或其一前驅細胞。該細胞可表現例如CD3多肽(例如CD3 $\gamma$ 、CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\zeta$ 或CD3 $\delta$ )；TCR多肽(TCR $\alpha$ 或TCR $\beta$ )；CD27；CD28；CD4或CD8。在一些實施例中，該細胞係一種T細胞。在一些實施例中，該T細胞係一種CD3陽性T細胞。在一些實施例中，該T細胞係一種CD3陽性、CD8陽性T細胞。在一些實施例中，該T細胞係一種胞毒型T細胞(例如一種胞毒型T淋巴細胞(CTL))。

**【0137】** 在一些實施例中，該細胞係一種抗原特異性T細胞。在本申請案的實施例中，“抗原特異性”T細胞係在回應T細胞對其具特異性的一抗原或表現該抗原的一細胞時，展現T細胞的特定功能性質之一細胞。在一些實施例中，該等性質係與作用性T細胞(例如胞毒型T細胞)相關聯之功能性質。在一些實施例中，一抗原特異性T細胞可展現下列性質中之一或者者：例如對於包含/表現T細胞對其具特異性的抗原之一細胞的細胞毒性；例如在回應T細胞對其具特異性的抗原或包含/表現T細胞對其具特

異性的抗原之一細胞時之增生、IFN $\gamma$ 的表現、CD107a的表現、IL-2的表現、TNF $\alpha$ 的表現、穿孔蛋白的表現、顆粒酶的表現、顆粒溶解素的表現及/或FAS配位體(FASL)的表現。在一些實施例中，T細胞對其具特異性之抗原可為一病毒之一種勝肽或多肽，例如艾司坦氏-巴爾氏(Epstein-Barr)病毒、流感病毒、麻疹病毒、B型肝炎病毒(HBV)、C型肝炎病毒(HCV)、人類免疫不全症病毒(HIV)、淋巴脈絡叢腦炎病毒(LCMV)、單純疱疹病毒(HSV)及人類乳頭狀瘤病毒(HPV)。

**【0138】** 本發明亦提供一種用於產生包含如本發明的一核酸或載體之一細胞的方法，其包括將如本發明的一核酸或載體導入一細胞中。本發明亦提供一種用於產生表現如本發明的一抗體、抗原結合片段或嵌合抗原受體之一細胞的方法，其包括將如本發明的一核酸或載體導入一細胞中。在一些實施例中，該等方法另外包括在適合該細胞表現該核酸或載體的條件下培養細胞。在一些實施例中，該等方法係在試管內進行。

**【0139】** 在一些實施例中，將如本發明之一種分離型核酸或載體導入一細胞之過程包括轉導作用，例如逆轉錄病毒的轉導作用。因此，在一些實施例中，所分離的核酸或載體包含在一病毒載體中，或者該載體係一病毒載體。在一些實施例中，該方法包括藉由電穿孔來導入如本發明的一核酸或載體，例如Koh等人於2013年期刊“Molecular Therapy-Nucleic Acids”第2卷第e114頁乙

文中所述，該文獻在此完整併入本案以為參考資料。

**【0140】** 本發明亦提供藉由用於產生如本發明的一細胞之方法所獲得或可獲得的細胞。

### 治療性應用

**【0141】** 如本發明的抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、核酸、載體、細胞及組成物，可被供用於醫學治療，或預防一疾病/病況，或緩解一疾病/病況的症狀之方法。其等可被投予至罹患一需要治療之疾病/病況的個體，及/或具有發生或感染該疾病/病況風險之個體。

**【0142】** 該個體可為任何動物或人類。該個體較佳為哺乳類動物，更佳為人類。該個體可為人類以外的哺乳類動物，但更佳為人類。該個體可為雄性或雌性。該個體可為一病患。可能已診斷出該個體罹患需要治療的一疾病或病況，或疑似罹患該疾病或病況。

**【0143】** 該疾病/疾患的治療或緩解可有效預防該疾病/疾患的進程，例如預防病情惡化或減緩進程速度。在一些實施例中，治療或緩解可導致該疾病/疾患的改善，例如減輕該疾病/疾患的症狀，或減輕其他一些與該疾病/疾患的嚴重性/作用相關者。

**【0144】** 預防一疾病/疾患可能係指預防病情惡化或預防該疾病/疾患之發生，例如預防一早期疾病/疾患發展成為晚期、慢性階段。例如，就癌症而言，預防例如可為預防癌症之發生，或預防轉移。

**【0145】** 在一些實施例中，該疾病/病況可為與p53

相關聯之一疾病/病況，例如與TP53突變作用相關聯之一疾病/病況。在一些實施例中，與TP53突變作用相關聯之一疾病/病況可為TP53突變作用係該疾病/病況的發生與進程之一風險因子之一疾病/病況。

**【0146】** 與MHC第I類複合的一p53勝肽之表現可能與該疾病/病況相關聯。在一些實施例中，該疾病/病況的作用細胞(例如直接或間接涉及該疾病/病況的病理之細胞)係表現MHC第I類所複合的一p53勝肽。在一些實施例中，該疾病/病況係與MHC第I類所複合的一p53勝肽之表現相關聯，MHC第I類包含一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一 $\alpha$ 鏈。在一些實施例中，該疾病/病況係與MHC第I類所複合的 $p53_{125-134}$ 之表現相關聯，MHC第I類包含一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一 $\alpha$ 鏈。

**【0147】** 如本申請案中所論述及例如Royd等人於2006年期刊“Cell Death Differ.”第13(6)卷第1017-26頁乙文及Vousden與Lane於2007年期刊“Nat Rev Mol Cell Biol”第8卷第275-283頁乙文中所綜合評論，p53係一種腫瘤抑制因子，TP53突變作用涉及廣泛種類癌症的發生/進程。編碼或表現一突變型p53勝肽/多肽之癌細胞通常在細胞表面呈現與MHC第I類複合之p53勝肽。

**【0148】** 在一些實施例中，如本發明之待治療/預防的疾病/病況係一癌症。在一些實施例中，該癌症係與TP53突變作用相關聯。在一些實施例中，該癌症包含編碼/表現一突變型p53勝肽/多肽之細胞。

【0149】 可藉由本技術領域的嫻熟技術人員眾所周知的任何適宜方式，例如以一生物樣本之分析為基礎，判定一癌症是否編碼或表現一突變型p53勝肽/多肽。可在檢測編碼該突變作用的核酸之基礎上，例如藉由DNA定序等，辨識出編碼一突變型p53多肽之一癌症。可藉由檢測一突變型p53勝肽/多肽之表現，辨識出編碼一突變型p53多肽之一癌症。表現作用可為基因之表現或蛋白之表現。例如可藉由定量式即時PCR(qRT-PCR)檢測編碼一突變型p53勝肽/多肽之mRNA來測定基因之表現。例如可藉由抗體式方法檢測突變型p53勝肽/多肽，例如藉由西方印漬術、免疫組織化學法、免疫細胞化學法、流動式細胞測量術、ELISA來測定蛋白之表現。

【0150】 在本申請案的實施例中，一癌症的一或多個細胞可來自一腫瘤。

【0151】 在一些實施例中，該癌症所包含的細胞係表現MHC第I類所複合的一p53勝肽。在一些實施例中，該癌症所包含的細胞係表現MHC第I類，MHC第I類包含一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一 $\alpha$ 鏈。在一些實施例中，該癌症所包含的細胞係表現MHC第I類所複合的一p53勝肽，MHC第I類包含一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一 $\alpha$ 鏈。在一些實施例中，該癌症所包含的細胞係表現MHC第I類所複合的p53<sub>125-134</sub>，MHC第I類包含一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一 $\alpha$ 鏈。

【0152】 在一些實施例中，本發明的抗體/片段能與

表現該標的胜肽-MHC複合體之細胞結合，及引起抗體依賴型細胞介導式細胞毒性(ADCC)。在一些實施例中，該等抗體/片段係與表現該標的胜肽-MHC複合體的細胞結合及被細胞內化，及因此適用於將例如一藥物部分如一胞毒型小型分子靶向輸送至表現該標的胜肽-MHC複合體之細胞。

**【0153】** 在一些實施例中，治療的目標可在於將表現如本發明的抗體/片段/嵌合抗原受體的標的抗原之細胞數目減少。

**【0154】** 在一些實施例中，該治療可包括改造一細胞或細胞群體，使其包含/表現本發明的一抗體/抗原結合片段、嵌合抗原受體、核酸或載體，然後其可適用於將表現該抗體/片段/嵌合抗原受體的標的抗原之細胞數目減少。在一些實施例中，該治療可包括對於一個體投予一細胞或細胞群體，該細胞或細胞群體係經改造而包含/表現本發明的一抗體/抗原結合片段、嵌合抗原受體、核酸或載體。

**【0155】** 該癌症可為任何非所欲的細胞增生(或藉由非所欲的細胞增生而表現出來之任何疾病)、贅生物或腫瘤，或者發生非所欲的細胞增生、贅生物或腫瘤之風險或傾向升高。該癌症可為良性或惡性，及可為原發性或繼發性(轉移性)。贅生物或腫瘤可為任何細胞異常生長或增生，及可位於任何組織。該等組織的實例包括腎上腺、腎上腺髓質、肛門、闌尾、膀胱、血液、骨、骨髓、腦、乳

房、盲腸、中樞神經系統(包括或不包括腦)、小腦、子宮頸、結腸、十二指腸、子宮內膜、上皮細胞(例如腎上皮細胞)、膽囊、食道、神經膠細胞、心臟、迴腸、空腸、腎、淚腺、喉、肝、肺、淋巴、淋巴結、淋巴母細胞、上頷骨、縱膈、腸繫膜、子宮肌層、鼻咽、網膜、口腔、卵巢、胰臟、腮腺、周邊神經系統、腹膜、胸膜、攝護腺、唾液腺、乙狀結腸、皮膚、小腸、軟組織、脾、胃、睪丸、胸腺、甲狀腺、舌、扁桃腺、氣管、子宮、陰門、白血球。

**【0156】** 待治療的腫瘤可為神經系統或非神經系統腫瘤。神經系統腫瘤可源自中樞或周邊神經系統，例如神經膠瘤、神經管胚細胞瘤、腦脊髓膜瘤、神經纖維瘤、室管膜瘤、神經鞘瘤、神經纖維肉瘤、星狀細胞瘤及寡樹突神經膠細胞瘤。非神經系統癌症/腫瘤可源自其他任何非神經組織，其實例包括黑色素瘤、惡性間皮瘤、淋巴瘤、骨髓瘤、白血病、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、何杰金氏(Hodgkin)淋巴瘤、慢性骨髓性白血病(CML)、急性髓球性白血病(AML)、骨髓發育不良症候群(MDS)、皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、肝細胞瘤、表皮樣瘤、攝護腺癌、乳癌、肺癌、結腸癌、卵巢癌、胰臟癌、胸腺癌、NSCLC、血液系統癌症及肉瘤。

**【0157】** 在一些實施例中，該等方法係用於治療/預防一癌症，例如上皮細胞癌、乳癌、胃腸癌症(例如食道癌、胃癌、胰癌、肝癌(例如HCC)、膽囊癌、結腸直腸

癌、肛門癌、胃腸類癌腫瘤)及肺癌(例如非小細胞肺癌(NSCLC)或小細胞肺癌(SCLC))。

**【0158】** 在一些實施例中，待治療的癌症可為下列之一或更多者：鼻咽癌(NPC；例如艾司坦氏-巴爾氏(EpsteinBarr)病毒(EBV)陽性鼻咽癌)；子宮頸癌(CC；例如人類乳頭狀瘤病毒(HPV)陽性子宮頸癌)；口咽癌(OPC；例如HPV陽性口咽癌)；胃癌(GC；例如EBV陽性胃癌)；肝細胞癌(HCC；例如B型肝炎病毒(HBV)陽性肝細胞癌)；肺癌(例如非小細胞細胞肺癌(NSCLC))；及頭頸癌(例如源自唇、口、鼻、鼻竇、咽或喉組織之癌症，例如頭頸鱗狀細胞癌(HNSCC))。

**【0159】** 在一些實施例中，該癌症可能與p53基因或蛋白表現之增加相關聯。例如，相較於可相比的非癌細胞，癌細胞的p53表現可能增加；或者相較於可相比的細胞在癌症不存在下的表現位準(如在一健康的對照組個體中)，可能與其他細胞(例如非癌細胞)的p53表現之增加相關聯。

**【0160】** 在本發明的實施例中，一種治療或預防性方法可包括免疫細胞的過繼性細胞轉移。過繼性細胞轉移(ACT)一般係指一種從一個體獲得細胞(例如免疫細胞)之方法，典型藉由抽取一血液樣本及將其中的細胞分離出來。然後通常以某種方式處理或改變該等細胞，然後投至同一個體或不同個體中。該項治療的典型目標係在於將具有特定所欲特徵的細胞群體提供給一個體，或者增加該個

體中具有該等特徵的細胞之頻率。T細胞的過繼性轉移係例如述於Kalos與June於2013年期刊“Immunity”第39(1)卷第49-60頁乙文中，其在此完整併入本案以為參考資料。

**【0161】** 在本發明中，進行過繼性轉移之目標係將一細胞或細胞群體導入一個體中，及/或增加一個體中的一細胞或細胞群體之頻率。在一些實施例中，過繼性轉移係導入包含/表現如本發明的一抗體、片段或嵌合抗原受體之一細胞。

**【0162】** 該細胞例如可為嗜中性白血球、嗜伊紅白血球、嗜鹼性白血球、樹突細胞、淋巴細胞或單核白血球。淋巴細胞可為例如T細胞、B細胞、自然殺手細胞、自然殺手T細胞或先天性淋巴樣細胞(ILC)或其一前驅細胞。在一些實施例中，該細胞係一種T細胞。在一些實施例中，該T細胞係一種CD3陽性T細胞。在一些實施例中，該T細胞係一種CD3陽性、CD8陽性T細胞。在一些實施例中，該T細胞係一種胞毒型T細胞(例如一種胞毒型T淋巴細胞(CTL))。在一些實施例中，該T細胞係一種病毒特異性T細胞。在一些實施例中，該T細胞係對於EBV、HPV、HBV、HCV或HIV具特異性。

**【0163】** 本發明係提供一種治療或預防一個體中的一疾病或病況之方法，該方法包括改造從一個體所獲得的至少一細胞，使其表現或包含如本發明的一抗體、片段、嵌合抗原受體、核酸或載體，選擇性地擴增該經改造的至

少一細胞，及將該經改造的至少一細胞投予至一個體。

**【0164】** 本發明亦提供一種殺滅腫瘤細胞之方法，該方法包括對於該細胞投予一治療有效量之如本發明的一抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、核酸、載體或組成物。該方法可在試管內或活體內進行。亦提供一種殺滅一個體中的一腫瘤細胞之方法，該方法包括對於該個體投予一治療有效量的如本發明的一抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、核酸、載體或組成物。在一些實施例中，殺滅腫瘤細胞之方法包括組合投予抗體、片段、嵌合抗原受體、核酸、載體或組成物及本申請案中所述的一治療劑。例如，可因為膜破裂、細胞裂解、引發細胞凋亡、抗體依賴型細胞介導式細胞毒性(ADCC)、補體依賴型細胞毒性(CDC)之故，或者經由抗體或抗原結合片段所接合的一藥物之作用，來殺滅腫瘤細胞。

**【0165】** 在一些實施例中，該方法包括：

- (a) 從一個體分離出至少一細胞；
- (b) 改造該至少一細胞，使其表現或包含如本發明的抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、核酸或載體；
- (c) 選擇性地擴增該經改造的至少一細胞；及
- (d) 對於一個體投予經改造的至少一細胞

**【0166】** 在一些實施例中，從其中分離出該等細胞之個體，即為投予該經改造的細胞之個體(即所過繼性轉移的細胞係自體同源細胞)。在一些實施例中，從其中分離出該等細胞之個體，係不同於投予該經改造的細胞之個

體(即所過繼性轉移的細胞係同種異體細胞)。

**【0167】** 可依據嫻熟技術人員眾所周知之方法，進行如本發明改造的至少一細胞之改造作用。該改造作用可包括供永久或暫時表現所轉移核酸之核酸轉移作用。

**【0168】** 可使用任何適宜的基因工程改造平臺，進行如本發明之細胞改造。適用於改造細胞之方法包括使用基因工程改造平臺，諸如 $\gamma$ 逆轉錄病毒載體、慢病毒載體、腺病毒載體、DNA轉染作用、轉位子式基因遞送及RNA轉染作用，例如Maus等人於2014年期刊“Annu Rev Immunol”第32卷第189-225頁乙文中所述，其在上文中併入本案以為參考資料。

**【0169】** 在一些實施例中，該方法可包括下列一或多個步驟：從一個體採取一血液樣本；從該血液樣本分離及/或擴增至少一細胞；在試管內或離體的細胞培養中培養該至少一細胞；將如本發明的一抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、核酸或載體導入該至少一細胞中，從而改造該至少一細胞；擴增該至少一經改造的細胞，收集該至少一經改造的細胞；將該經改造的細胞與一佐劑、稀釋劑或載劑混合；將該經改造的細胞投予至一個體。

**【0170】** 在一些實施例中，該等方法可附加地包括處理細胞，以引發/增進該抗體/片段、嵌合抗原受體、核酸或載體之表現。例如，該核酸/載體可包含一控制元件，供核酸/載體回應一特定作用劑處理時之誘導性向上調節該抗體/片段或嵌合抗原受體的表現。在一些實施例

中，可藉由對於已投予如本發明的一改造細胞之一個體投予該作用劑，來在活體內進行該項處理。在一些實施例中，可藉由對於離體或在試管內培養的細胞投予該作用劑，來離體或在試管內進行該項處理。

**【0171】** 嫌熟技術人員可判定適用於本發明的細胞過繼性轉移所用之試劑與程序，例如藉由參考Dai等人於2016年期刊“J Nat Cancer Inst”第108(7)卷第djv439頁乙文，其在此完整併入本案以為參考資料。

**【0172】** 於一相關態樣中，本發明提供一種用於製備一經改造的細胞之方法，該方法包括將如本發明之一嵌合抗原受體、核酸或載體導入一細胞中，從而改造該至少一細胞。該方法較佳在試管內進行，或離體進行。

**【0173】** 於一個態樣中，本發明提供一種治療或預防一個體中的一疾病或病況之方法，其包括：

- (a)從一個體分離出至少一細胞；
- (b)將如本發明的核酸或載體導入該至少一細胞中，從而改造該至少一細胞；及
- (c)將該經改造的至少一細胞投予至一個體。

**【0174】** 在一些實施例中，該方法另外包括用於治療或預防一癌症之治療性或預防性介入處置。在一些實施例中，該治療性或預防性介入處置係選自化學療法、免疫療法、放射線療法、外科手術、疫苗接種及/或荷爾蒙療法。

**【0175】** 本申請案中所述的治療方法可選擇性地包

括共同投予生物佐劑(例如介白素、細胞介素、卡介苗、單磷醯脂A等)，及與用於治療癌症的傳統療法併用，諸如用於治療癌症的一作用劑(例如化學療法)、放射線療法或外科手術。醫學治療方法亦可涉及體內、體外及過繼性免疫療法，包括該等使用自體同源細胞及/或異體細胞或永生細胞系者。本申請案中所述的治療方法可選擇性地涉及提高MHC第I類之表現，例如藉由干擾素之處置或HDAC抑制劑之處置。

**【0176】**如本發明之嵌合抗原受體、核酸、載體及細胞可調配作為供臨床使用的藥學組成物或藥劑，及可包含一種藥學上可接受的載劑、稀釋劑、賦形劑或佐劑。可調配該組成物供用於局部、非經腸、全身性、體腔內、靜脈內、動脈內、肌內、髓鞘內、眼內、結膜內、腫瘤內、皮下、皮內、鞘內腔、口服或透皮之投藥途徑，及可包括注射或輸注在內。適宜的調配物可包含位於一無菌或等張介質中的抗體、片段、嵌合抗原受體、核酸、載體或細胞。可將藥劑與藥學組成物調配成包括凝膠在內的液態形式。可調配液態調配物，供藉由注射或輸注(例如經由導管)投藥至人類或動物身體的一所選區域。

**【0177】**如本發明，亦提供複數個用於製造藥學上適用的組成物之方法，該等製造方法可包含選自下列之一或多個步驟：將如本申請案所述之一抗體、片段、嵌合抗原受體、核酸、載體或細胞分離；及/或將如本申請案所述之一抗體、片段、嵌合抗原受體、核酸、載體或細胞與

一種藥學上可接受的載劑、佐劑、賦形劑或稀釋劑混合。

**【0178】** 例如，本發明的另一個態樣係有關於一種調配或製造供用於一醫學治療方法中的一藥劑或藥學組成物之方法，該方法包括藉由將如本申請案中所述之一抗體、片段、嵌合抗原受體、核酸、載體或細胞與一種藥學上可接受的載劑、佐劑、賦形劑或稀釋劑混合，來調配一藥學組成物或藥劑。

**【0179】** 較佳投予一“治療有效量”或“預防有效量”之如本發明的一抗體、片段、嵌合抗原受體、核酸、載體、細胞或組成物，該量係足以顯明對該個體的益處。實際投藥量及投藥速率與期程將依所治療的疾病或疾患之性質與嚴重性而定。治療處方例如關於劑量等的決定係屬全科執業醫生及其他醫生的責任範圍，及通常將待治療的疾病/疾患、個別病患的情況、遞輸部位、投藥方法及執業醫生所知的其他因素納入考量。如上所提及的技術與操作程序的實例可見於利平科特・威廉斯及威爾金斯(Lippincott Williams & Wilkins)公司於2000年出版之雷明頓製藥學(Remington's Pharmaceutical Sciences)乙書第20版。

**【0180】** 依待治療的病況而定，可單獨投藥或與其他治療合併投藥，可同時或循序投藥。如本發明的抗體、片段、嵌合抗原受體、核酸、載體、細胞或組成物可與一治療劑同時或循序投藥。

**【0181】** 在一些實施例中，在例如疫苗接種之預防

性介入處置的一種方法中，使用本發明的一抗體、片段、嵌合抗原受體、核酸、載體、細胞或組成物進行治療。

**【0182】** 在一些實施例中，使用本發明的一抗體、片段、嵌合抗原受體、核酸、載體、細胞或組成物所進行之治療，可伴隨著其他治療性或預防性介入處置，例如化學療法、免疫療法、放射線療法、外科手術、疫苗接種及/或荷爾蒙療法。

**【0183】** 同時投藥係指將抗體、片段、嵌合抗原受體、核酸、載體、細胞或組成物與治療劑一起投予，例如以含有該二藥劑的藥學組成物形式(組合製劑)投藥，或彼此緊接著投藥及選擇性地經由相同的投藥途徑，例如投藥至相同的動脈、靜脈或其他血管。循序投藥係指投予抗體、片段、嵌合抗原受體、核酸、載體、細胞或組成物或治療劑中之一者，接著在一特定時間間隔後，分開投予另一藥劑。該二藥劑並不需要藉由相同途徑投藥，雖然在一些實施例中確實藉由相同途徑投藥。時間間隔可為任一時間間隔。

**【0184】** 化學療法與放射線療法係分別指用一藥物或用電離化輻射(例如使用X射線或 $\gamma$ 射線之放射線療法)治療一癌症。該藥物可為一化學實體，例如小分子藥劑、抗生素、DNA嵌入劑、蛋白抑制劑(例如激酶抑制劑)；或為一生物劑，例如抗體、抗體片段、核酸或胜肽適配體、核酸(例如DNA、RNA)、胜肽、多肽或蛋白。可將該藥物調配成一藥學組成物或藥劑。該調配物可包含一或

多種藥物(例如一或多種活性劑)連同一或多種藥學上可接受的稀釋劑、賦形劑或載劑。

**【0185】** 治療可涉及投予一種以上的藥物。一藥物可單獨投予或與其他治療併用，可同時或循序投藥，依待治療的病況而定。例如，化學療法可為涉及投予二種藥物之協同療法，藥物中的一或多者可能旨在治療該癌症。

**【0186】** 化學療法可藉由一或多種投藥途徑投予，例如非經腸、靜脈注射、口服、皮下、皮內或腫瘤內途徑。

**【0187】** 可依據一治療方案投予化學療法。治療方案可為投予化學療法之預定時間表、計劃、流程或期程，可由醫師或醫學從業人員預備治療方案，及可量身訂制來配合該名需要治療的病患。

**【0188】** 治療方案可能表明下列一或多者：對該病患所投予的化療類型；各藥物或輻射的劑量；各次投藥之間的時間間隔；各次治療的時間長度；若有任何停止治療期，則其次數與性質為何等等。就協同療法而言，可提供單一的治療方案，其中表明如何投予各藥物。

**【0189】** 化學治療藥物與生物製劑可選自：烷化劑，諸如順鉑、卡鉑(carboplatin)、甲基二(氯乙基)胺、環磷醯胺、氮芥苯丁酸、依弗醯胺(ifosfamide)；嘌呤或嘧啶抗代謝物，諸如硫唑嘌呤或疏基嘌呤；生物鹼類與萜類，諸如長春花生物鹼類(例如長春新鹼、長春花鹼、長春瑞濱(vinorelbine)、長春地辛(vindesine))、鬼臼毒

素、依托泊昔(etoposide)、替尼泊昔(teniposide)、紫杉烷類諸如太平洋紫杉醇(Taxol<sup>TM</sup>)、歐洲紫杉醇；拓樸異構酶抑制劑，諸如作為第I型拓樸異構酶抑制劑之喜樹鹼類伊立替康(irinotecan)與托泊替康(topotecan)，或者作為第II型拓樸異構酶抑制劑之安吖啶(amsacrine)、依托泊昔(etoposide)、磷酸依托泊昔、替尼泊昔(teniposide)；抗腫瘤抗生素(例如蔥環類抗生素)，諸如放線菌素、多柔比星(doxorubicin)(Adriamycin<sup>TM</sup>)、表柔比星(epirubicin)、博萊黴素(bleomycin)、雷帕黴素(rapamycin)；抗體式藥劑，諸如抗PD-1抗體、抗PD-L1抗體、抗TIM-3抗體、抗CTLA-4、抗4-1BB、抗GITR、抗CD27、抗BLTA、抗OX43、抗VEGF、抗TNF $\alpha$ 、抗介白素2、抗GpIIb/IIIa、抗CD-52、抗CD20、抗RSV、抗HER2/neu(erbB2)、抗TNF受體、抗EGFR抗體、單株抗體或抗體片段，其實例包括：西妥昔單株抗體(cetuximab)、帕尼單株抗體(panitumumab)、英夫利昔單株抗體(infliximab)、巴利昔單株抗體(basiliximab)、貝伐珠單株抗體(bevacizumab)(Avastin<sup>®</sup>)、阿昔單株抗體(abciximab)、達利珠單株抗體(daclizumab)、吉妥珠單株抗體(gemtuzumab)、阿來組單株抗體(alemtuzumab)、利妥昔單株抗體(rituximab)(Mabthera<sup>®</sup>)、帕利珠單株抗體(palivizumab)、曲妥珠單株抗體(trastuzumab)、依那西普(etanercept)、阿達木單株抗體(adalimumab)、尼妥珠

單株抗體(nimotuzumab)；EGFR抑制劑諸如厄洛替尼(erlotinib)、西妥昔單株抗體(cetuximab)及吉非替尼(gefitinib)；抗血管生成劑諸如貝伐珠單株抗體(bevacizumab)(Avastin®)；癌症疫苗諸如西普魯塞(Sipuleucel)-T(Provenge®)。

【0190】其他的化療藥物可選自：13-順維生素A酸、2-氯去氧腺昔、5-阿紿胞昔(Azacitidine)5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤、6-硫鳥嘌呤、白蛋白結合型紫杉醇(Abraxane)、Accutane®、放線菌素D、Adriamycin®、Adrucil®、Afinitor®、Agrylin®、Ala-Cort®、阿地介白素(Aldesleukin)、阿來組單株抗體(Alemtuzumab)、愛寧達(ALIMTA)、阿里維生素A酸(Alitretinoin)、Alkaban-AQ®、Alkeran®、全反維生素A酸、 $\alpha$ 干擾素、六甲蜜胺、胺甲喋呤、氨磷汀(Amifostine)、氨基魯米特(Aminoglutethimide)、阿那格雷(Anagrelide)、Anandron®、阿那羅唑(Anastrozole)、阿拉伯糖基胞嘧啶、Aranesp®、Aredia®、Arimidex®、Aromasin®、Arranon®、三氧化二砷、天門冬醯胺酶、ATRA Avastin®、阿紿胞昔(Azacitidine)、BCG、BCNU、苯達莫司汀(Bendamustine)、貝伐珠單株抗體(Bevacizumab)、貝沙羅汀(Bexarotene)、BEXXAR®、比卡魯胺(Bicalutamide)、BiCNU、Blenoxane®、博萊黴素、硼替佐米(Bortezomib)、白消安(Busulfan)、Busulfex®、甲醯四氫葉酸鈣、Campath®、

Camptosar®、喜樹鹼-11、卡培他濱(Capecitabine)、Carac™、卡鉑(Carboplatin)、卡莫司汀(Carmustine)、Casodex®、CC-5013、CCI-779、CCNU、CDDP、CeeNU、Cerubidine®、西妥昔單株抗體(Cetuximab)、氮芥苯丁酸、順鉑、嗜橙菌因子、克拉立濱(Cladribine)、可體松(Cortisone)、Cosmegen®、CPT-11、環磷醯胺、Cytadren®、阿糖胞昔Cytosar-U®、Cytoxan®、達珂(Dacogen)、放線菌素、阿法達貝泊汀(Darbepoetin)、達沙替尼(Dasatinib)、道諾黴素(Daunomycin)、柔紅黴素(Daunorubicin)、鹽酸柔紅黴素、柔紅黴素(Daunorubicin)微脂體、DaunoXome®、地卡特隆(Decadron)、地西他濱(Decitabine)、Delta-Cortef®、Deltasone®、Denileukin diftitox、DepoCyt™、地塞米松(Dexamethasone)、醋酸地塞米松、地塞米松磷酸鈉、德沙松(Dexasone)、右雷佐生(Dexrazoxane)、DHAD、DIC、迪奧戴斯(Diodex)、歐洲紫杉醇、Doxil®、多柔比星(Doxorubicin)、多柔比星(Doxorubicin)微脂體、Droxia™、DTIC、DTIC-Dome®、Duralone®、Eligard™、Ellence™、Eloxatin™、Elspar®、Emcyt®、表柔比星(Epirubicin)、阿法依泊汀(EpoetinAlfa)、爾必得舒(Erbritux)、厄洛替尼(Erlotinib)、伊文氏桿菌屬(Erwinia)的L-天門冬醯胺酶、雌莫司汀(Estramustine)、Ethyol Etopophos®、依

托泊昔(Etoposide)、磷酸依托泊昔、Eulexin®、依維莫司(Everolimus)、Evista®、依西美坦(Exemestane)、Faslodex®、Femara®、非格司亭(Filgrastim)、氟脲昔(Floxuridine)、Fludara®、氟達拉濱(Fludarabine)、Fluoroplex®、氟尿嘧啶、氟甲翠酮(Fluoxymesterone)、氟他胺(Flutamide)、醛葉酸、FUDR®、氟維司群(Fulvestrant)、吉非替尼(Gefitinib)、吉西他濱(Gemcitabine)、吉妥珠單株抗體奧唑米星(ozogamicin)、Gleevec™、Gliadel®片、戈舍瑞林(Goserelin)、顆粒球-群落刺激因子、顆粒球巨噬細胞群落刺激因子、Herceptin®、Hexadrol、Hexalen®、六甲基三聚氰胺、HMM、Hycamtin®、Hydrea®、Hydrocort Acetate®、氫化可體松、氫化可體松磷酸鈉、氫化可體松琥珀酸鈉、磷酸氫化可的松(Hydrocortone)、羥基尿素、伊莫單株抗體(Ibritumomab)、替伊莫單株抗體(IbritumomabTiuxetan)、Idamycin®、伊達比星(Idarubicin)、Ifex®、IFN- $\alpha$ 、依弗醯胺(Ifosfamide)、IL-11、IL-2、甲磺酸伊馬替尼(Imatinib)、咪唑甲醯胺、干擾素 $\alpha$ 、干擾素 $\alpha$ -2b(PEG接合物)、介白素-2、介白素-11、IntronA®(干擾素 $\alpha$ -2b)、Iressa®、伊立替康(Irinotecan)、異維生素A酸(Isotretinoin)、伊沙匹隆(Ixabepilone)、Ixempra™、天門冬醯胺酶(Kidrolase)、Lanacort®、拉帕替尼(Lapatinib)、L-天

門冬醯胺酶、LCR、來那度胺(Lenalidomide)、來羅唑(Letrozole)、甲醯四氫葉酸、瘤可寧(Leukeran)、Leukine™、柳菩林(Leuprolide)、長春新鹼(Leurocristine)、Leustatin™、微脂體阿糖胞昔、Liquid Pred®、洛莫司汀(Lomustine)、L-PAM、L-溶肉瘤素、Lupron®、Lupron Depot®、Matulane®、美習德(Maxidex)、甲基二(氯乙基)胺、鹽酸甲基二(氯乙基)胺、Medralone®、Medrol®、Megace®、甲地孕酮(Megestrol)、醋酸甲地孕酮、黴法蘭(Melphalan)、毓基嘌呤、美司那(Mesna)、Mesnex™、胺甲喋呤、胺甲喋呤鈉、甲基去氫皮質醇、Meticorten®、絲裂黴素、絲裂黴素-C、米托蒽醌(Mitoxantrone)、M-Prednisol®、MTC、MTX、Mustargen®、氮芥、Mutamycin®、Myleran®、Mylocel™、Mylotarg®、Navelbine®、奈拉濱(Nelarabine)、Neosar®、Neulasta™、Neumega®、Neupogen®、Nexavar®、Nilandron®、尼魯米特(Nilutamide)、Nipent®、氮芥子氣、Novadex®、Novantrone®、體抑素勝肽(Octreotide)、醋酸體抑素勝肽、Oncospar®、Oncovin®、Ontak®、Onxal™、奧普瑞白介素(Oprelvekin)、Orapred®、Orasone®、奧沙利鉑(Oxaliplatin)、太平洋紫杉醇、蛋白結合型太平洋紫杉醇、帕米麟酸鹽(Pamidronate)、帕尼單株抗體(panitumumab)、Panretin®、Paraplatin®、Pediapred®、PEG干擾素、培門冬酶(Pegaspargase)、

培非司亭(Pegfilgrastim)、PEG-INTRON™、PEG-L-天門冬醯胺酶、培美曲塞(PEMETREXED)、噴司他汀(Pentostatin)、苯丙胺酸氮芥、Platinol®、Platinol-AQ®、潑尼松龍(Prednisolone)、潑尼松(Prednisone)、Prealone®、丙卡巴肼(Procarbazine)、PROCERIT®、Proleukin®、具有卡莫司汀(Carmustine)植入物Purinethol®之普利司盤(Prolifeprospan) 20、雷洛昔芬(Raloxifene)、Revlimid®、Rheumatrex®、Rituxan®、利妥昔單株抗體(rituximab)、Roferon-A®(干擾素 $\alpha$ -2a)、Rubex®、鹽酸紅比黴素(Rubidomycin)、Sandostatin®、SandostatinLAR®、沙格司亭(Sargramostim)、Solu-Cortef®、Solu-Medrol®、索拉非尼(Sorafenib)、SPRYCEL™、STI-571、鏈佐星(Streptozocin)、SU11248、舒尼替尼(Sunitinib)、Sutent®、泰莫西芬(Tamoxifen)、Tarceva®、Targretin®、Taxol®、Taxotere®、Temodar®、替莫唑胺(Temozolomide)、泰西羅莫司(Temsirolimus)、替尼泊昔(teniposide)、TESPA、沙利竇邁(Thalidomide)、Thalomid®、TheraCys®、硫鳥嘌呤、硫鳥嘌呤Tabloid®、硫代磷醯胺、Thioplex®、噻替哌(Thiotepa)、TICE®、Toposar®、托泊替康(topotecan)、托瑞米芬(Toremifene)、Torisel®、托西莫單株抗體(Tositumomab)、曲妥珠單株抗體(trastuzumab)、Treanda®、維生素A酸(Tretinoin)、

Trexall™、Trisenox®、TSPA、TYKERB®、VCR、Vectibix™、Velban®、Velcade®、VePesid®、Vesanoid®、Viadur™、Vidaza®、長春花鹼、硫酸長春花鹼、VincasarPfs®、長春新鹼、長春瑞濱(vinorelbine)、酒石酸長春瑞濱、VLB、VM-26、伏立諾他(Vorinostat)、VP-16、Vumon®、Xeloda®、Zanosar®、Zevalin™、Zinecard®、Zoladex®、唑來膦酸(Zoledronic acid)、容立莎(Zolinza)、Zometa®。

**【0191】** 可提供抗體/片段、嵌合抗原受體、核酸、載體、細胞或組成物的多次劑量。該等劑量中之一或者或者可伴隨著另一治療劑來同時或循序投藥。

**【0192】** 在多次劑量之間可間隔一預定的時間，該時間間隔可選自下列中之一者：1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30或31天，或者1、2、3、4、5或6個月。舉例而言，可每7天、14天、21天或28天(加減3天、2天或1天)投予劑量。

#### 診斷上之應用

**【0193】** 本申請案中所述的抗體與抗原結合片段可用於涉及體或抗原結合片段與標的抗原結合之方法中。該等方法包括診斷一個體中的一疾病或病況。該等方法可涉及檢測抗體或抗原結合片段與標的所結合之複合體。因此，在一實施例中提供一種方法，該方法包括將含有或疑似含有勝肽-MHC複合體(例如與MHC第I類複合的一p53

胜肽分子及諸如與MHC第I類複合的p53<sub>125-134</sub>並且MHC第I類包含一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一α鏈)的一樣本，與本申請案中所述之一抗體或抗原結合片段接觸，及檢測抗體或抗原結合片段與胜肽-MHC複合體所形成的一複合體。

**【0194】** 適宜的方法格式係技藝中眾所周知，其包括免疫分析諸如夾心式分析法，例如ELISA。該方法可能涉及用一可檢測的標記例如螢光性、發光性或放射性標記，標記該抗體/抗原結合片段或胜肽-MHC複合體，或者標記二者。例如可在活體組織檢查所取得的一組織樣本上，藉由進行免疫組織化學分析(IHC)來測量胜肽-MHC複合體的表現。在一些實施例中，該標記可選自放射性核苷酸、正子發射型放射性核種(例如用於正子斷層造影(PET))、MRI造影劑或螢光標記。

**【0195】** 胜肽-MHC複合體之分析可在試管內或活體內進行，及可涉及例如藉由螢光成像、正子斷層造影(PET)或磁共振造影(MRI)之分析，例如藉由檢測經適當標記的物種。

**【0196】** 對於需要進行胜肽-MHC複合體的檢測及/或定量之一種疾病或病況而言，這類方法可提供診斷方法之基礎。該等方法可在試管內的一個體樣本上進行，或在處理一個體樣本之後進行。一旦採集了樣本，該試管內診斷方法之進行並不需要該個體在場，因此該方法可為一種不在人類或動物身上操作之方法。 本發明提供本申請案

中所述的抗體或抗原結合片段供在試管內檢測勝肽-MHC複合體之用途。

**【0197】** “在試管內”一詞係意欲涵蓋用培養細胞進行之實驗，而“在活體內”一詞係意欲涵蓋用完整的多細胞生物體進行之實驗及/或在該生物體中所進行之治療。

**【0198】** 該等方法亦可在活體內進行，例如在對於一個體投予如本發明的一抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、核酸、載體、細胞或組成物之後進行。

**【0199】** 該等方法可涉及測定一個體或個體樣本中是否存在勝肽-MHC複合體及/或測定其量。該方法可進一步包括將所測定量與一標準或參考值相比，來作為診斷過程的一部分。其他用於診斷之檢測法可與本申請案中所述者聯合使用，以提高診斷或預後的準確性，或確認藉由本申請案所述檢測所獲得的結果。

**【0200】** 在一些情況下，用於檢測勝肽-MHC複合體是否存在之試管內或活體內方法可涉及提高MHC第I類之表現，例如藉由干擾素之處置或HDAC抑制劑之處置。

**【0201】** 一個體樣本中若存在勝肽-MHC複合體或該勝肽-MHC複合體的存在位準可能表示一個體患有一疾病/病況，例如本申請案中所述的一疾病或病況。可針對下列目的檢測勝肽-MHC複合體(例如在從一個體所獲得的一樣本中)：診斷該個體的一癌症病況；診斷易罹患一癌症病況的傾向；或用於提供一癌性病況的預後(未來預期狀況)。該診斷或預後可能有關於現有(先前診斷出)的癌

性病況。

**【0202】** 一個體樣本中若存在勝肽-MHC複合體或該勝肽-MHC複合體的存在位準可能表示一個體可能對於如本發明的一抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、核酸、載體、細胞或組成物之治療有反應。可使用檢測出勝肽-MHC複合體之存在或者檢測出勝肽-MHC複合體的一特定位準來篩選一個體，以供進行如本發明的抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、核酸、載體、細胞或組成物之治療。可使用檢測出勝肽-MHC複合體之存在或者檢測出勝肽-MHC複合體的一特定位準，來篩選一個體，以供進行用於治療一疾病/病況的另一作用劑之治療。

**【0203】** 可從任何組織或體液中取得一樣本。該樣本可包含或可衍生自：一定量的血液；自該個體血液所衍生之一定量的血清，其可包含在移除血纖維蛋白血塊與血液細胞之後所得之血液的液體部分；一組織樣本或生物檢體；胸腔積液；腦脊髓液(CSF)；或從該個體所分離的細胞。在一些實施例中，該樣本可得自或衍生自受該疾病/疾患影響的一或多種組織(例如顯現該疾病的症狀之一或多種組織，或涉及該疾病/疾患的致病機轉之一或多種組織)。在一些實施例中，該樣本可得自或衍生自一癌細胞或腫瘤生物檢體。

蛋白之表現

**【0204】** 適用於在細胞中產生如本發明的蛋白(例如抗體、抗原結合片段及嵌合抗原受體)之分子生物學技術

係技藝中眾所周知，諸如在美國紐約州冷泉港實驗室出版公司(Cold Spring Harbor Laboratory Press)於1989年出版之 Sambrook 等人所著之“分子選殖：實驗室手冊 (Molecular Cloning: A Laboratory Manual)”乙書中所記載者。多肽可由一核酸序列表現。該核酸序列可包含在一細胞中所存在的一載體中，或可包含於該細胞的基因體中。

【0205】可使用適於表現多肽的任何細胞來產生如本發明之多肽。該細胞可為一種原核細胞或真核細胞。適宜的原核細胞包括大腸桿菌(E.coli)。真核細胞的實例包括酵母細胞、植物細胞、昆蟲細胞或哺乳類動物細胞(例如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞)。在一些情況下，該細胞並非原核細胞，因為有些原核細胞無法如同真核細胞般地進行轉譯後修飾。此外，在真核細胞中可能達到非常高的表現位準，並且藉由使用適當的標記，可以較容易地從真核細胞中純化蛋白。亦可使用特定質體，來提高分泌至培養基中的蛋白。

【0206】生產所關注的多肽之方法可能涉及經改造而表現該多肽的一細胞之培養或發酵作用。該培養或發酵作用可在生物反應器中進行，其中適當地供應營養素、空氣/氧氣及/或生長因子。可藉由將培養基/發酵液與細胞分離，提取蛋白內容物，將個別蛋白分開及將所分泌的多肽分離出來，來收集所分泌的蛋白。培養、發酵及分離技術係本技術領域的嫻熟技術人員所眾所周知。

**【0207】** 生物反應器包括一或多個器皿，在其中可培養細胞。藉著反應物持續流入反應器，及所培養的細胞持續流出反應器，可在生物反應器中持續進行培養。任擇地，可分批進行培養。監測與控制生物反應器的環境條件，諸如該器皿內的pH值、氧氣、流入與流出的流速及器皿內的攪拌作用，使得以提供最佳的細胞培養條件。

**【0208】** 表現所關注的多肽之細胞在培養之後，較佳將多肽分離出來。可使用技藝中所知用於分離細胞培養物中的多肽之任何適宜方法。為了從培養物中分離出所關注的多肽，首先可能需要從含有所關注的多肽之培養基中，將所培養的細胞分離出來。若所關注的多肽係細胞所分泌，則可藉由離心，將細胞從含有所分泌的多肽之培養基中分離出來。若所關注的多肽係聚集在該細胞內，則必需在離心前先破壞細胞，例如使用超音波處理、快速冷凍-解凍或滲透性溶胞作用。離心後將產生一片狀沈澱物及其中含有培養的細胞或所培養細胞的細胞碎片，及產生含有培養基與所關注的多肽之上清液。

**【0209】** 然後，可能需要將所關注的多肽從上清液或培養基中分離出來，上清液或培養基中可能含有其他蛋白與非蛋白組分。從上清液或培養基中分離多肽組分的常見方法係藉由沉澱作用。溶解度不同的多肽/蛋白係在不同的沈澱劑濃度沉澱，沈澱劑諸如硫酸銨。例如，在低的沈澱劑濃度提取出水溶性蛋白。因此，藉由添加濃度遞增的沈澱劑，可區分出溶解度不同的蛋白。之後可使用透

析，從所分離的蛋白中除去硫酸銨。

**【0210】** 用於區分不同的多肽/蛋白之其他方法係技藝中所知，例如離子交換層析法與尺寸層析法。其等可取代沉澱作用，或可在沉澱作用之後進行。

**【0211】** 當從培養物中分離出所關注的多肽之後，可能需要濃縮該蛋白。技藝中已知用於濃縮所關注的蛋白之數種方法，諸如超過濾作用或冷凍乾燥法。

套組

**【0212】** 就一些態樣而言，本發明提供一部件套組。在一些實施例中，該套組可具有至少一容器，其中包含一預定量之如本發明的一抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、組成物、核酸、載體或細胞。

**【0213】** 該套組可提供該抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、組成物、核酸、載體或細胞，及可連同投藥說明書提供予一個體，以治療所指定的一疾病/疾況，例如一癌症。可調配該抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、組成物、核酸、載體或細胞，使之適於注射或輸注至一腫瘤或血液中。

**【0214】** 在一些實施例中，該套組可包含用於產生如本發明的一細胞之材料。例如，該套組可包含用於改造一細胞之材料，使得該細胞表現或包含如本發明的一抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、核酸或載體；或包含用於將如本發明的核酸或載體導入一細胞之材料。

**【0215】** 在一些實施例中，該套組可進一步包含至

少一容器，其中具有一預定量的另一治療劑(例如抗感染劑或化學治療劑)。在該等實施例中，該套組亦可包含第二藥劑或藥學組成物，使得該二種藥劑或藥學組成物可同時或分開投藥，其等從而針對該特定疾病或病況提供合併治療。可調配該治療劑，使之適於注射或輸注至一腫瘤或血液中。

#### 序列一致性

【0216】可按本技術領域的嫻熟技術人員所知的不同方法，完成為了測定二或多個胺基酸或核酸序列之間的一致性百分比之成對與多重序列排比，例如使用公開可取得的電腦軟體諸如ClustalOmega(Söding J.於2005年期刊“Bioinformatics”第21卷第951-960頁乙文)、T-coffee(Notredame等人於2000年期刊“J. Mol. Biol.”第302卷第205-217頁乙文)、Kalign(Lassmann 與 Sonnhammer於2005年期刊“BMC Bioinformatics”第6卷第298頁乙文)及MAFFT(Katoh 與 Standley於2013年期刊“Molecular Biology and Evolution”第30(4)卷第772-780頁乙文之軟體)。當使用該軟體時，較佳採用系統內定參數，例如系統內定的缺口罰分與延伸罰分。

【0217】本發明包括所述的各態樣與較佳特性之組合，除非該組合係顯然不允許或明確表示需避免者。

【0218】本申請案中所用各節標題僅為了組織編排之目的，而不應解釋為侷限所述主題。

【0219】現在將藉由實例及參照所附圖式說明本發

明的各態樣與各實施例。其他態樣與實施例將為本技術領域的嫻熟技術人員所顯而易見。內文中所提及的所有文獻皆在此併入本案以為參考資料。

**【0220】** 在本說明書中及包括其後的申請專利範圍在內，除非上下文另有要求，否則應理解“包含(comprise)”一詞及其變體諸如“包含(comprises)”與“包含(comprising)”係意味著包括所述整數或步驟或者整數或步驟之群組，但不排除其他整數或步驟或者整數或步驟之群組。

**【0221】** 必須注意如說明書與所附申請專利範圍中所用之單數形式的“一(a)”、“一(an)”及“該”包括複數的描述對象，除非上下文另有明確說明。在本申請案中，範圍可示為自“約”一特定數值及/或至“約”另一特定數值。當表達該範圍時，另一實施例包括自一特定數值及/或至另一特定數值。類似地，當數值係以近似值方式表達時，藉由使用前述詞“約”，將瞭解該特定數值構成另一實施例。

### 圖式簡單說明

**【0222】** 現在將參照所附圖式，論述用於說明本發明的原理之實施例與實驗。

**【0223】** 圖1. 抗p53-A24抗體殖株的輕鏈可變域序列。在CDR處劃有底線並另外列出。

圖2. 抗p53-A24抗體殖株的重鏈可變域序列。在CDR處劃有底線並另外列出。

圖3.該表係顯示抗p53-A24抗體殖株的輕鏈CDR序列。

圖4.該表係顯示抗p53-A24抗體殖株的重鏈CDR序列。

圖5.該等表係顯示抗p53-A24抗體殖株的輕鏈CDR序列與共有序列，(A)LC-CDR1、(B)LC-CDR2及(C)LC-CDR3。

圖6.該等表係顯示抗p53-A24抗體殖株的重鏈CDR序列與共有序列，(A)HC-CDR1、(B)HC-CDR2及(C)HC-CDR3。

圖7.編碼抗p53-A24抗體殖株的VL區之核昔酸序列。

圖8.編碼抗p53-A24抗體殖株的VH區之核昔酸序列。

圖9.該等圖係顯示針對於抗p53-A24抗體殖株與(A)p53<sub>125-134</sub>-A24單體及與(B)負對照組抗原結合之ELISA分析的結果。

圖10.該等圖係顯示(A)P1C1、(B)P1H4及(C)P2B4與下列表現HLA\*A24的HT29細胞之結合：未致敏(1)；經不相關勝肽hTERT<sub>324-332</sub>、hTERT<sub>461-469</sub>、WT1<sub>235-243</sub>、WT1<sub>417-425</sub>或p53<sub>204-212</sub>致敏(2至6)；或經p53<sub>125-134</sub>致敏(7)。

圖11.該等圖係顯示P1C1與下列之結合：(A)經p53勝肽致敏(上圖)或未致敏(下圖)的野生型MDA-MB-231

細胞(左圖)或HLA\*A24轉導型MDA-MB-231細胞(右圖)；及(B)經各種hTERT、WT1或p53勝肽致敏之前或之後的HLA\*A24陽性SoaS2細胞。顯示MFI直方圖。

圖12.該表係顯示抗體P1C1所衍生的抗體殖株與p53-A24之結合親和性。

圖13.該等圖係顯示P1C1所衍生及為生殖細胞形式的殖株(P1C1\_g1)及2種親和性成熟型殖株(P1C1\_dm及P1C1\_tm)與未致敏的HT29細胞之結合。顯示MFI直方圖；左側的狹窄峰係代表負對照組(僅二級抗體)，而右側的寬廣峰係代表試驗殖株。

圖14.該等條形圖係顯示在ADCC分析法中，HLA\*A24陽性細胞在P1C1\_g1或P1C1\_tm存在下之特異性殺滅作用。顯示三重複實驗的平均細胞毒性±標準差。

圖15.該等圖與條形圖係顯示HT29致敏細胞對於與p53-A24複合的抗體之內化作用。(A)HT29細胞與pH值敏感型染料所標記的P1C1\_tm(左圖)或與一種有標記的同型對照組抗體(右圖)在冰上(上圖)或在37°C(下圖)培養之MFI曲線。(B)與pH值敏感型染料所標記的P1C1\_tm或與一種有標記的同型對照組抗體培養之細胞在不同時間點的細胞MFI數值。

圖16.該條形圖係顯示在P1C1\_tm抗體不存在(僅二級PNU/PBD)或存在下(PNU/PBD)之PNU與PBD對於HT29細胞的細胞毒性效應之增加。細胞係與P1C1\_tm及接合抗Fc抗體的PNU或PBD胞毒型藥物一起培養。以三種抗

體濃度進行試驗，其中各者的P1C1\_tm/抗Fc抗體比例為1:1。相較於未處理孔中的細胞數目，顯示培養72小時後的存活細胞比例。

圖17.該等照片係顯示P1C1\_tm抗體的活體內特異性。使用該抗體來追蹤注射至NSG小鼠中的人類腫瘤細胞系。(A)將表現p53與HLA\*A24的HT29細胞接種至該等動物的右腹脇中，及將HLA\*A24-/p53+對照組細胞接種至左腹脇中。(B)將表現p53與HLA\*A24的HT29細胞接種至該等動物的右腹脇及將HLA\*A24+/p53-對照組細胞接種至左腹脇中。在注射經螢光標記的P1C1\_tm抗體所示時數後，顯示確立腫瘤的活體內影像之代表性照片。

圖18.該圖係顯示藉由p53嵌合抗原受體T細胞、對照組T細胞或無T細胞之HT29腫瘤細胞的細胞溶解%。使用一種阻抗式T細胞介導式細胞毒性分析法(xCELLigence系統)，測量在40小時期間的細胞溶解%。

圖19.評估抗p53-A24/CD3雙特異性抗體經由人類初代T細胞引發腫瘤細胞殺滅作用之能力。(A)試驗二種不同格式的雙特異性抗體：BsAb1與BsAb2。(B)試驗BsAb1與BsAb2對抗下列二者之特異性細胞毒性：HLA-A24+/p53突變體+細胞株HT29(BsAb1：右側曲線，BsAb2：左側曲線)與HLA-A24+/p53無效細胞株SaOS2。

## 實例

【0224】 在下列實例中，本案發明者述及能與p53

肽:MHC第I類複合體結合的抗體之分離及其特徵分析。

例1：抗p53:MHC第I類複合體抗體之分離

【0225】 將  $p53_{125-134}$  胜肽附加至可溶性 HLA\*A2402 (p53-A24)，以形成一可溶性胜肽MHC複合體(pMHC)。然後經由試管內挑選，從人類抗體噬菌體呈現庫中分離出能與該pMHC複合體結合之抗體。在所篩選的190個殖株中，分離出ELISA分析法所顯示與pMHC的結合作用最高之36個殖株，及將其中4個選殖成為IgG格式以供進一步特徵分析：P1C1、P1H4、P1A8及P1B11。

【0226】 輕鏈與重鏈可變區的胺基酸序列係分別示於圖1與圖2。

例2：對於p53-A24的親和強度與特異性

【0227】 藉由ELISA分析法分析抗體殖株P1C1、P1H4、P1A8及P1B11與53-A24單體的結合作用，及分析與不相關抗原的結合作用，以測定親和強度與特異性。

【0228】 除了P1A8以外，所有殖株皆顯示與p53-A24的結合親和性高(圖9A)。該等抗體並未展現非特異性結合作用，或者展現有限的非特異性結合作用(圖9B)。

例3：與表現HLA\*A24的細胞上之p53特異性結合

【0229】 使用HT29細胞，測量辨識細胞表面所表現的53-A24 pMHC及與其結合之能力。該等細胞持續表現 HLA\*A24。

【0230】 簡言之，HT29細胞係在室溫中用 $p53_{125-134}$  胜肽、選自一組不相關勝肽的勝肽進行致敏1小時或未進

行致敏。細胞然後與P1C1、P1H4或P2B4一起培養，及藉由使用一種有標記的二級抗體之單流動式細胞測量術，測量結合作用。

**【0231】** 結果係示於圖10A至10C。P1C1、P1H4或P2B4抗體僅與用p53<sub>125-134</sub>勝肽致敏的細胞結合，表明其等對於p53<sub>125-134</sub>抗原之特異性(圖10A至10C)。此外，由該等抗體並不與未致敏的HT29細胞結合之事實表明，其等僅與呈現p53抗原的HLA\*A24結合，而不與未呈現p53抗原的HLA\*A24結合。

例4：對於HLA\*A24 MHC第I類分子及對於p53-A24之特異性

**【0232】** 為確認對於HLA\*A24單倍型之特異性，在表現不同HLA\*A類型的細胞即MDA-MB-231細胞上，評估結合作用，MDA-MB-231細胞持續表現HLA\*A02與p53。MDA-MB-231細胞亦進行轉導而表現HLA\*A24。

**【0233】** 然後分析P1C1在用p53<sub>125-134</sub>勝肽致敏或未致敏的轉導型與非轉導型MDA-MB-231細胞上之結合作用。藉由使用一種有標記的二級抗體之流動式細胞測量術，測量結合作用。

**【0234】** 結果係示於圖11A。P1C1僅與表現HLA\*A24的細胞(亦即轉導型MDA-MB-231)結合，而在表現HLA\*A02的非轉導型MDA-MB-231細胞上未觀察到結合作用，這確認對於HLA\*A24所呈現的p53<sub>125-134</sub>勝肽之特異性。

【0235】 使用p53陰性的SaoS2細胞，進行類似的實驗。該等細胞持續表現HLA\*A24。該等細胞係用p53、WT1、hTERT的不同胜肽致敏或未進行致敏。分析P1C1抗體與該等細胞的結合作用，藉由觀察到僅與用p53<sub>125-134</sub>致敏的細胞結合，來確認該抗體對於該抗原之特異性(圖11B)。

【0236】 綜合考慮該等結果，證實該抗體對於HLA\*A24所呈現的p53<sub>125-134</sub>之特異性。

例5：親和性成熟型抗體

【0237】 將P1C1序列逆突變成一生殖系架構以產生殖株P1C1\_g1，其隨後進行親和性成熟作用。保留2種親和性成熟型殖株供重鏈(2E3與1E11)之用，及保留1種親和性成熟型殖株供輕鏈(1G7)之用。

【0238】 建構一種雙重突變體，其在2E3與1E11同時存在取代作用，及稱為殖株P1C1\_dm。產生一種三重突變體，其在2E3、1E11及1G7存在取代作用，及稱為殖株P1C1\_tm。

【0239】 經由表面電漿共振分析，測量P1C1所衍生的不同殖株對於p53-A24複合體之親和性。結果係示於圖12，及顯示P1C1\_tm對於p53-A24的親和性係比P1C1\_g1高約10倍。

【0240】 藉由流動式細胞測量術，分析P1C1\_dm、P1C1\_tm及P1C1\_g1與未致敏的HT29細胞結合之能力。顯示P1C1\_dm與P1C1\_tm殖株與未致敏的HT29細胞之結合

作用係高於原始的生殖系殖株(圖13)。

例6：試管內活性：引發抗體依賴型細胞介導式細胞毒性(ADCC)

【0241】為評估該抗體引發ADCC之能力，按1:10的比例將HLA\*A24陽性HT29與PBMC混合，在P1C1\_g1或P1C1\_tm存在或不存在下培養過夜，及測量細胞殺滅作用。該等細胞係未致敏或用p53勝肽致敏。

【0242】使用非轉導型或用HLA\*A24轉導的HLA\*A24陰性MDA-MB-231細胞，評估該抗體所引發的ADCC之特異性。

【0243】結果係示於圖14。相較於未致敏的細胞，在用p53勝肽致敏的HLA\*A24陽性細胞中觀察到更高效率之劑量依賴性殺滅作用。在HLA\*A24陰性MDA-MB-231細胞中並未觀察到顯著的ADCC。相較於P1C1\_g1，P1C1\_tm展現更強力的ADCC。

例7：HT29細胞對於P1C1\_tm之內化作用

【0244】在藉由流動式細胞測量術分析內化作用之前，用pH敏感性pHrodo-Red染料標記P1C1\_tm抗體，及與用p53勝肽致敏的HT29細胞一起在37°C或在冰上培養不同的時間。相較於表面結合的抗體，內化抗體由於胞內體的酸性環境而產生顯著的螢光。

【0245】結果係示於圖15A與15B。在與p53-A24 pMHC結合之際，當複合體被回收時，該抗體連同複合體被內化，例如在P1C1\_tm抗體存在下及在37°C培養之用

p53胜肽致敏的HT29細胞中的螢光位移所證明(圖15A的左側下圖)。在一非特異性對照組抗體情況下(圖15A的右側下圖)，或在冰上培養及因此未回收p53-A24 pMHC的細胞中(圖15A的左側上圖)，並未觀察到該位移。

#### 例8：將藥物遞輸至腫瘤細胞

【0246】 可使用抗體與p53-A24複合體的內化作用作為藥物遞輸工具，以特異性靶向腫瘤細胞。其係使用與P1C1\_tm結合之藥物接合型二級抗體進行試驗。簡言之，HT29細胞係與P1C1\_tm連同胞毒型藥物PNU159682(PNU)或吡咯并苯二氮平(PBD)所接合的抗人類Fc特異性二級抗體一起培養。在72小時之後，藉由MTT分析法分析細胞生存力。一些細胞係在P1C1\_tm不存在下僅與藥物接合型抗體一起培養而作為對照組。

【0247】 實驗結果係示於圖16。發現P1C1\_tm大幅增進PNU與PBD的細胞毒性效應。所增進的效應可能歸因於該藥物的內化作用，該藥物係以作為p53-A24複合體所結合的P1C1\_tm/藥物接合型抗Fc抗體之免疫複合體的一部分之形式被內化。

【0248】 該等數據顯示P1C1\_tm可在癌症治療中用於將藥物靶向遞輸至腫瘤，及藉由迫使藥物內化至標的細胞中來增加其功效。

#### 例9：HT29在NSG小鼠體內的影像

【0249】 類T細胞受體之抗體的應用之一係藉由辨識出在p53存在下及經由MHC第I類交叉呈現細胞內分子之

腫瘤細胞，來協助診斷癌症。

【0250】 為評估 P1C1\_tm 作為診斷性抗體之有效性，將 HT29 細胞(同為 A24 與 p53 陽性)與非轉導型 MDA-MB-231 細胞(表現 p53 但為 A24 陰性)或 SaoS2 細胞(表現 A24 但不表現 p53)植入 NSG 小鼠的腹脇，如圖 17A 與 17B 示意顯示及如圖標所說明。

【0251】 在藉由靜脈注射投予 50 微克之經 AF680 標記的 P1C1\_tm 抗體之前，讓腫瘤確立及成長達到 100 至 200 mm<sup>3</sup>。在 48 小時與 120 小時之後，藉由活體內螢光成像，擷取腫瘤標記。

【0252】 如圖 17A 與 17B 所示，該抗體得以檢測 HLA\* A24 陽性 HT29 細胞，但無法追蹤表現 HLA\* A02 的腫瘤(圖 9A)，亦無法追蹤不表現 p53 的 HLA\* A24 陽性腫瘤細胞(圖 9B)。

例 10：對抗 HT29 腫瘤細胞之 T 細胞介導式細胞毒性

【0253】 評估表現一嵌合抗原受體(CAR)的 T 細胞對於 HT29 腫瘤細胞之殺滅能力，該 T 細胞包含一種類 T 細胞受體的抗原結合片段。

【0254】 藉由添加 TransAct<sup>TM</sup>(CD3/CD28 促效劑)，將來自健康捐贈者的 T 細胞活化，及在增補 50 奈克/毫升的 IL2 之 TexMACS<sup>TM</sup> 培養基中，按  $1-2 \times 10^6$  個細胞/毫升之密度維持 72 小時。在刺激之際，細胞係在具有或不具有慢病毒式 p53 嵌合抗原受體質體(每百萬個細胞有 2 微克)之情況下，進行電穿孔。

【0255】由於質體DNA電穿孔作用造成顯著量的細胞死亡，在電穿孔之後48小時，藉由免疫磁性去除性選汰，從細胞培養中除去凋亡細胞(膜聯蛋白V陽性)。

【0256】在一種T細胞介導式細胞毒性分析法(xCELLigence)進行分析之前，讓細胞在培養中再休息24小時。在該分析法中，測量腫瘤細胞的細胞指標值。藉由腫瘤細胞附著對於流過電晶體板的電流所造成之阻抗，測定細胞指標。

【0257】使用xCELLigence阻抗式系統，在40小時期間評估連續的腫瘤細胞殺滅作用。在一96孔式、以電阻器為底的平皿中，按每孔15,000個細胞將HT29腫瘤細胞接種在完全生長培養基中。在18至24小時之後，添加3,750個作用性T細胞(1:4接種比例)，在這時間點將與HT29附著相關的細胞指標值標準化。每10分鐘記錄標準化細胞指標之阻抗式測量，及轉換成為細胞溶解%。數據係按三重複的平均值(±標準差)呈現。

【0258】結果係示於圖18。相較於對照組T細胞，P53嵌合抗原受體T細胞能殺滅顯著較多的HLA\*A24陽性HT29腫瘤細胞。

例11：抗p53-A24/CD3雙特異性抗體對於HT29腫瘤細胞之試管內細胞毒性

【0259】二種不同格式的抗p53-A24/CD3雙特異性抗體(BsAb)係與人類初代T細胞及腫瘤細胞共同培養，及評估其等引發腫瘤細胞殺滅作用之能力。該二BsAb格式

(1與2)係示於圖19A。

**【0260】** 用俄勒岡綠(Oregon Green)標記腫瘤細胞(標的細胞)及在96孔式半區平底平皿培養過夜，以讓細胞附著。隔天，按效應因子相對於標的為10:1之比例(E:T=10:1)，添加從人類PBMC所分離的初代T細胞。亦使用供8個點的10倍滴定作用，製備BsAb及添加至各孔中，以達到所示的最終濃度。然後在37°C與5%二氧化碳中培養該平皿達3天。為讀取FACS讀數，用細胞消化液(Accutase)將腫瘤細胞溫和剝離，及用碘化丙啶(PI)將死亡細胞染色。在共同培養3天之後，使用MACSQuant分析儀，用FACS讀數測量BsAb所引發的細胞毒性。細胞毒性%係等於死亡細胞的細胞計數除以標的細胞的細胞計數。

**【0261】** 結果係示於圖19B。在HLA-A24陽性/p53突變體陽性細胞株HT29中，在二種雙特異性建構物中皆觀察到標的特異性細胞毒性。BsAb2(EC50=0.48 nM；左側曲線)所顯示的效力係高於BsAb1(EC50=3.05 nM；右側曲線)。另一方面，在HLA-A24陽性/p53無效細胞株SaOS2的細胞殺滅作用上，在該二建構物中皆未觀察到非特異性細胞毒性，顯示用於靶向p53-A24複合體的雙特異性建構物之特異性。

## 序列表

<110> 新加坡科技研究局

<120> 類T細胞受體之抗體

<130> RIC/FP7336001

<150> SG 10201701883R

<151> 2017-08-03

<160> 77

<170> 專利申請軟體3.5版

<210> 1

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1C1

<400> 1

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

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

Tyr Glu Thr His Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

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

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

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

Leu Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Ile Leu Ser  
 100 105 110

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

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val  
 145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys  
 165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
 180 185 190

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

Lys Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 2  
 <211> 217  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> P1C1\_g1; P1C1\_dm; 2E3; 1E11

<400> 2

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

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

Tyr Glu Thr His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu  
 35 40 45

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

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

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

Leu Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Ile Leu Ser  
 100 105 110

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

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val  
 145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys  
 165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
 180 185 190

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

Lys Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 3

<211> 217

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 1G7; P1C1\_tm

&lt;400&gt; 3

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

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

Tyr Glu Thr His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu  
 35 40 45

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

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

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

Leu Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Ile Leu Ser  
 100 105 110

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

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val  
 145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys  
 165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
 180 185 190

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

Lys Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 4

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1H4

<400> 4

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asp  
 20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro  
 85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 5

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1B11

<400> 5

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

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

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu  
 35 40 45

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

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

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

Leu Ser Asp Thr Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 100 105 110

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

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp  
 130 135 140

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

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn  
 165 170 175

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
 180 185 190

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

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 6  
 <211> 217  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P1A8

&lt;400&gt; 6

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

Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ala	Gly
														30
20														

Tyr	Asp	Val	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu
															45
35															

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

Ser	Gly	Ser	Asn	Ser	Gly	Thr	Ser	Val	Ser	Leu	Ala	Ile	Thr	Gly	Leu
															80
65															

Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Tyr	Asp	Ser	Ser
															95
85															

Leu	Ser	Ala	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Ala	Val	Leu	Gly	
															110
100															

Gln	Pro	Lys	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu
															125
115															

Glu	Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe
															140
130															

Tyr	Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Gly	Ser	Pro	Val
															160
145															

Lys	Ala	Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Lys	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys
															175
165															

201833133

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser  
180 185 190

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

Lys Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser  
210 215

<210> 7  
<211> 216  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> P2B4

<400> 7

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

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

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

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

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

Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Val Phe  
85 90 95

Ser Thr Leu Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln  
100 105 110

201833133

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

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr  
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys  
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr  
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His  
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys  
195 200 205

Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser  
210 215

<210> 8

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1C1

<400> 8

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

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

201833133

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe  
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Ala Arg Glu Asn Phe Gly Ala Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 9

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1C1\_g1; 1G7

<400> 9

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe  
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Ala Arg Glu Asn Phe Gly Ala Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 10

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 2E3

<400> 10

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly  
 20 25 30

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Ala Arg Glu Asn Phe Gly Ala Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

201833133

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 11

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 1E11

<400> 11

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Glu Asn Phe Gly Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 12

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

201833133

<220>

<223> P1C1\_dm; P1C1\_tm

<400> 12

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly  
20 25 30

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe  
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Ala Arg Glu Asn Phe Gly Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 13

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1H4

<400> 13

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Ala Asp Gly Ile Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 14

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1B11

<400> 14

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Ile Thr Met Ser Ile Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Ala Arg Glu Asn Phe Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 15

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1A8

<400> 15

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly  
 20 25 30

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Leu  
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Ala Arg Glu Asn Phe Gly Ala Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 16

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P2B4

<400> 16

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

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

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

Gly Trp Met Ser Pro Asp Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 17  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> P1C1; P1C1\_g1; P1C1\_dm; 2E3; 1E11 LC-CDR1

<400> 17

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Asp Tyr Glu Thr His  
1 5 10

<210> 18  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> P1C1; P1C1\_g1; P1C1\_dm; 2E3; 1E11 LC-CDR2

<400> 18

Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser  
1 5

<210> 19  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> P1C1; P1C1\_g1; P1C1\_dm; 2E3; 1E11 LC-CDR3

<400> 19

Gln Ser Tyr Asp Ser Asn Leu Ser Ala Trp Val  
1 5 10

<210> 20  
<211> 14

201833133

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 1G7; P1C1\_tm LC-CDR1

<400> 20

Ala Gly Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Asp Asp Tyr Glu Thr His

1 5 10

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1H4 LC-CDR1

<400> 21

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asp Leu Ala

1 5 10

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1H4 LC-CDR2

<400> 22

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1H4 LC-CDR3

<400> 23

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr

1 5

<210> 24

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1B11 LC-CDR1

<400> 24

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His

1 5 10

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1B11 LC-CDR2

<400> 25

Gly Asn Asn Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 26

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1B11 LC-CDR3

<400> 26

Gln Ser Tyr Asp Ser Asn Leu Ser Asp Thr Trp Val

1 5 10

<210> 27

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P1A8 LC-CDR1

&lt;400&gt; 27

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val Asn

1 5 10

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P1A8 LC-CDR3

&lt;400&gt; 28

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val

1 5 10

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 14

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P2B4 LC1-CDR1

&lt;400&gt; 29

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser

1 5 10

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P2B4 LC-CDR2

&lt;400&gt; 30

Asp Val Ser Ser Arg Pro Ser

1 5

&lt;210&gt; 31

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P2B4 LC-CDR3

&lt;400&gt; 31

Ser Ser Tyr Thr Val Phe Ser Thr Leu Val

1 5 10

&lt;210&gt; 32

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P1C1; P1C1\_g1; 1G7; P1A8 HC-CDR1

&lt;400&gt; 32

Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser

1 5

&lt;210&gt; 33

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P1C1; P1C1\_g1; 1G7; P1A8 HC-CDR2

&lt;400&gt; 33

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

&lt;210&gt; 34

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> P1C1; P1C1\_g1; 1G7; P1A8 HC-CDR3

<400> 34

Glu Asn Phe Gly Ala Phe Asp His  
1 5

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 2E3 HC-CDR1

<400> 35

Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ala  
1 5

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 1E11 HC-CDR3

<400> 36

Glu Asn Phe Gly Ser Tyr Asp Tyr  
1 5

<210> 37

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1H4 HC-CDR1

<400> 37

Gly Tyr Tyr Met His  
1 5

201833133

<210> 38

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1H4 HC-CDR2

<400> 38

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

1

5

10

15

Gly

<210> 39

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1H4 HC-CDR3

<400> 39

Glu Gly Ala Asp Gly Ile Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P1B11 HC-CDR1

<400> 40

Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser

1

5

<210> 41

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P1B11 HC-CDR2

&lt;400&gt; 41

Tyr	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser
1															
														15	

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P1B11 HC-CDR3

&lt;400&gt; 42

Glu	Asn	Phe	Gly	Ala	Phe	Asp	Tyr
1							
							5

&lt;210&gt; 43

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P2B4 HC-CDR1

&lt;400&gt; 43

Asp	Tyr	Tyr	Ile	His
1				
				5

&lt;210&gt; 44

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P2B4 HC-CDR2

&lt;400&gt; 44

Trp	Met	Ser	Pro	Asp	Ser	Gly	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1															
														15	

Gly

<210> 45

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P2B4 HC-CDR3

<400> 45

Asp Thr Tyr Gly His Asp Tyr

1 5

<210> 46

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列家族LC-CDR1-1之家族共有序列

<220>

<221> 其他特徵

<222> (1)..(1)

<223> Xaa為T或A

<220>

<221> 其他特徵

<222> (4)..(4)

<223> Xaa為S或Y

<220>

<221> 其他特徵

<222> (9)..(9)

<223> Xaa為A或D

<220>

<221> 其他特徵

<222> (10)..(10)

<223> Xaa為G或D

<220>

<221> 其他特徵

<222> (12)..(12)

<223> Xaa爲D或E

<220>

<221> 其他特徵

<222> (13)..(13)

<223> Xaa爲V或T

<220>

<221> 其他特徵

<222> (14)..(14)

<223> Xaa爲H或N

<400> 46

Xaa Gly Ser Xaa Ser Asn Ile Gly Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa

1 5 10

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列家族LC-CDR2-1之家族共有序列

<220>

<221> 其他特徵

<222> (3)..(3)

<223> Xaa爲N或T

<400> 47

Gly Asn Xaa Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 48

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列家族LC-CDR3-1之家族共有序列

<220>

<221> 其他特徵

<222> (6)..(6)

<223> Xaa為N或S

<220>

<221> 其他特徵

<222> (9)..(9)

<223> Xaa為Absent或D

<220>

<221> 其他特徵

<222> (10)..(10)

<223> Xaa為A或T

<400> 48

Gln Ser Tyr Asp Ser Xaa Leu Ser Xaa Xaa Trp Val

1 5 10

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列家族HC-CDR1-1之家族共有序列

<220>

<221> 其他特徵

<222> (7)..(7)

<223> Xaa為S或A

<400> 49

Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Xaa

1 5

<210> 50

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列家族HC-CDR1-2之家族共有序列

<220>

<221> 其他特徵

<222> (1)..(1)

<223> Xaa爲G或D

<220>

<221> 其他特徵

<222> (4)..(4)

<223> Xaa爲M或I

<400> 50

Xaa Tyr Tyr Xaa His

1 5

<210> 51

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列家族HC-CDR2-1之家族共有序列

<220>

<221> 其他特徵

<222> (7)..(7)

<223> Xaa爲S或T

<400> 51

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Xaa Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 52

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列家族HC-CDR2-2之家族共有序列

<220>

<221> 其他特徵

<222> (2)..(2)

<223> Xaa爲I或M

<220>

<221> 其他特徵

<222> (3)..(3)

<223> Xaa爲N或S

<220>

<221> 其他特徵

<222> (5)..(5)

<223> Xaa爲N或D

<220>

<221> 其他特徵

<222> (7)..(7)

<223> Xaa爲A或G

<220>

<221> 其他特徵

<222> (8)..(8)

<223> Xaa爲G或A

<220>

<221> 其他特徵

<222> (10)..(10)

<223> Xaa爲N或Y

<400> 52

Trp Xaa Xaa Pro Xaa Ser Xaa Xaa Thr Xaa Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 53

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列家族HC-CDR3-1之家族共有序列

<220>

<221> 其他特徵

<222> (5)..(5)

<223> Xaa爲A或S

<220>

<221> 其他特徵

&lt;222&gt; (6)..(6)

&lt;223&gt; Xaa爲F或Y

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 其他特徵

&lt;222&gt; (8)..(8)

&lt;223&gt; Xaa爲H或Y

&lt;400&gt; 53

Glu Asn Phe Gly Xaa Xaa Asp Xaa

1 5

&lt;210&gt; 54

&lt;211&gt; 651

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P1C1

&lt;400&gt; 54

caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60

tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcagattatg agacacactg gtaccagcac 120

cttccaggaa cggccccc aa actcctcatt tatggttaaca ccaatcggcc ctcagggtc 180

cctcaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240

caggctgagg atgaggctga ttattattgc cagtcctatg acagcaatct gagtgcttgg 300

gtgttcggcg gagggaccaa gctgaccatc ctaagtctgc ccaaggctgc cccctcggtc 360

actctgttcc caccctcctc tgaggagctt caagccaaca aggccacact ggtgtgtctc 420

ataagtgact tctacccggg agccgtgaca gtggcctgga aggcaatct cagccccgtc 480

aaggcgggag tggagaccac cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgccggccagc 540

agctacactga gcctgacgcc tgagcagtgg aagtcccaca aaagctacag ctgccaggtc 600

acgcatgaag ggagcaccgt ggagaagaca gtggccctg cagaatgttc a 651

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 651

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; P1C1\_g1; P1C1\_dm; 2E3; 1E11

&lt;400&gt; 55

cagtctgigc tgactcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60
tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcagattatg agacacactg gtaccagcaa	120
cttccaggaa cggccccc aa actcctcatt tatgtaaca ccaatcgcc ctcaggggtc	180
cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240
caggctgagg atgaggctga ttattattgc cagtcctatg acagcaatct gagtgcttgg	300
gtgttcggcg gagggaccaa gctgaccatc ctaagtcagc ccaaggctgc cccctcggtc	360
actctgttcc caccctcctc tgaggagctt caagccaaca aggccacact ggtgtgtctc	420
ataagtgact tctacccggg agccgtgaca gtggcctgga aggagatag cagccccgtc	480
aaggcgggag tggagaccac cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgccggccagc	540
agctacctga gcctgacgcc tgagcagtgg aagtcccaca aaagctacag ctgccaggta	600
acgcataaag ggagcaccgt ggagaagaca gggccctg cagaatgttca	651

&lt;210&gt; 56

&lt;211&gt; 651

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 1G7; P1C1\_tm

&lt;400&gt; 56

cagtctgtgc tgactcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc	60
tcctgcgtcg ggtcttattc taatattggg gatgattatg aaactcatgg gtaccagcaa	120
cttccaggaa cggccccc aa actcctcatt tatgtaaca ccaatcgcc ctcaggggtc	180
cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc	240
caggctgagg atgaggctga ttattattgc cagtcctatg acagcaatct gagtgcttgg	300
gtgttcggcg gagggaccaa gctgaccatc ctaagtcagc ccaaggctgc cccctcggtc	360
actctgttcc caccctcctc tgaggagctt caagccaaca aggccacact ggtgtgtctc	420

ataagtgact tctacccggg agccgtgaca gtggcctgga aggagatag cagccccgtc 480

aaggcgggag tggagaccac cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgcggccagc 540

agctacctga gcctgacgcc tgagcagtgg aagtcccaca aaagctacag ctgccaggtc 600

acgcatgaag ggagcaccgt ggagaagaca gtggccctg cagaatgttc a 651

<210> 57

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> P1H4

<400> 57

gaaattgtga tgacgcagtc tcctggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtc gagtattggg accgacttag cctggtacca gcagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctcct catctatgtat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagtaact ggcctccac tttcggcgga 300

gcgaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtgaaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtac ccatcaggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac agggagagt gt 642

<210> 58

<211> 654

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> P1B11

201833133

<400> 58  
caggctgtgc tgactcagcc gtcctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60  
tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcaggtttagt atgtacactg gtaccaacag 120  
cttccaggaa cagccccaa actcctcatt tatggtaaca acaatcgacc ctcaggggtc 180  
cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc 240  
caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcaacct gagtgacacc 300  
tgggtattcg gcggagggac caagctgacc gtcctaggtc agcccaaggc tgccccctcg 360  
gtcactctgt tcccgccctc ctctgaggag cttcaagcca acaaggccac actggtgtgt 420  
ctcataagtg acttctaccc gggagccgtg acagtggcct ggaaggcaga tagcagcccc 480  
gtcaaggcgg gagtgagac caccacaccc tccaaacaaa gcaacaacaa gtacgccc 540  
agcagctacc tgagcctgac gcctgagcag tggaaagtccc acaaaagcta cagctgccag 600  
gtcacgcatt aaggagcac cgtggagaag acagtggccc ctacagaatg ttca 654

<210> 59  
<211> 651  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> P1A8

<400> 59  
cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60  
tcctgcactg ggagtagctc caacatcggg gcaggtttagt atgtaaactg gtaccagcaa 120  
cttccaggaa cagccccaa actcctcattc tatggaaaca acaatcgcc ctcaggggtc 180  
cctgaccgat tctctggctc caactctggc acctcagtc ccctggccat cactgggctc 240  
cagcctgagg atgaggctga ttactactgc cagtcctacg acagcagcct gagtgctgg 300  
gtgttcggcg gagggacgaa gctggccgtc ctaggtcagc ccaaggctgc cccctcggtc 360  
actctgttcc cgccctcctc tgaggagctc caagccaaca aggccacact agtgtgtctg 420  
atcagtgact tctacccggg agctgtgaca gtggcctgga aggcagatgg cagccccgtc 480  
aaggcgggag tggagaccac caaacccctcc aaacagagca acaacaagta cgccggccagc 540

agctacactga gcctgacgcc tgagcagtgg aagtcccaca aaagctacag ctgccaggc 600

acgcatgaag ggagcaccgt ggagaagaca gtggccctg cagaatgctc t 651

<210> 60

<211> 648

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> P2B4

<400> 60

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ttggacagtc gatcaccatc 60

tcctgcactg ggaccagcag tgacgttgggt ggttataact atgtctcctg gtaccaacag 120

caggcaggca aagcccccaa actcatgatt tatgatgtca gtagtcggcc ctcaggggtt 180

tctgatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240

caggctgacg acgaggctga ttattactgc agctcatata cagtcttag cactctagta 300

ttcggcggag ggaccaagtt gaccgtccia ggtagccccca aggctgcccc ctgggtcact 360

ctgttcccac cctcctctga ggaactccaa gccaacaagg ccacactagt gtgtctgatc 420

agtgacttct acccgggagc tgtgacagtg gcctggaagg cagatggcag ccccgtaag 480

gcgggagttt agaccaccaa accctccaaa cagagcaaca acaagtacgc ggccagcagc 540

tacctgagcc tgacgcctga gcagtggaaag tcccacagaa gctacagctg ccaggtaac 600

catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg gcccctgcag aatgctca 648

<210> 61

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> P1C1

<400> 61

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtaagc cttcacagac cctgtccctc 60

acctgcgtg tctctggtgg ctccatcagc agtggtggtt actactggag ctggatccgc 120

cagcgtccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacatct attacagtgg gagcacctac 180

tacaacccgt ccctcaagag tcgacttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240

tccctgaaac tgagctctgt gactgccgac gacacggccg tgtattactg tgcgagagaa 300

aattttggag cgtttgacca ctggggccag ggcaccctgg tcaccgtctc aagc 354

<210> 62

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> P1C1\_g1; 1G7

<400> 62

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtaaaggc cttcacagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtggtt actactggag ctggatccgc 120

cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacatct attacagtgg gagcacctac 180

tacaacccgt ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240

tccctgaaac tgagctctgt gactgccgac gacacggccg tgtattactg tgcgagagaa 300

aattttggag cgtttgacca ctggggccag ggcaccctgg tcaccgtctc aagc 354

<210> 63

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 2E3

<400> 63

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtaaaggc cttcacagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc tctggtggtt attattgggc ttggatccgc 120

cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacatct attacagtgg gagcacctac 180

tacaacccgt ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240

tccctgaaac tgagctctgt gactgccgac gacacggccg tgtattactg tgcgagagaa 300

201833133

aattttggag cggttgcacca ctggggccag ggcaccctgg tcaccgtctc aagc 354

<210> 64

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 1E11

<400> 64

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtaaagc cttcacagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtgggtggtt actactggag ctggatccgc 120

cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacatct attacagtgg gagcacctac 180

tacaacccgt ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240

tccctgaaac tgagctctgt gactgccgac gacacggccg tgtattactg tgcgagagaa 300

aattttggat cttatgatta ttggggccag ggcaccctgg tcaccgtctc aagc 354

<210> 65

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> P1C1\_dm; P1C1\_tm

<400> 65

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtaaagc cttcacagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtgggtggtt actactgggc ctggatccgc 120

cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacatct attacagtgg gagcacctac 180

tacaacccgt ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240

tccctgaaac tgagctctgt gactgccgac gacacggccg tgtattactg tgcgagagaa 300

aattttggat cttatgatta ttggggccag ggcaccctgg tcaccgtctc aagc 354

<210> 66

<211> 360

201833133

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> P1H4

<400> 66

caggtccagc tggtgcaagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggc 60

tcctgcaagg cttctggata cacccaccggctactata tgcactgggt ggcacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatggatgg atcaatccta acagtgcgtgg cacaactat 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagctac 240

atggagctga ggagcctgag atctgaggac acggctgtgtt attactgtgc gagagagggc 300

gcggacggga tttactactt tgactactgg ggccagggca ccctggtcac cgtctcaagc 360

<210> 67

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> P1B11

<400> 67

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctgggtgaagc cttcgagac cctgtccctc 60

acgtgcagtg tctctggta ctccattagt agtgggtgtt actactggag ctggatccgc 120

cagcacccag agaaggccct ggagtggatt gggtacatct attacagtgg gaccacctac 180

tacaacccgt ccctcaagag tcgaataacc atgtcaatag acacgtctaa gaaccagttc 240

tccctgaaag tgagctctgt gactgcccg gacacggccg tttattactg tgcgagagaa 300

aattttggag cgtttgacta ctggggccag ggcaccctgg tcaccgtctc aagc 354

<210> 68

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> P1A8

<400> 68  
 cagctgcagc tgcaggagtc cggcccagga ctgggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60  
 acctgcagtg tctctggtgg ctccatcagc agtgggtggtt actactggag ctggatccgc 120  
 cagcgccca ggaaggccct ggagtggtt ggttacatct attacagtgg gagcacctac 180  
 tacaacccgt ccctcaagag tcgacttacc atatcagtagt acacgtctaa gaaccagctc 240  
 tccctgaaac ttagctctgt gactgccgac gacacggccg tgtattactg tgcgagagaa 300  
 aattttgggg cgtttgacca ctggggccag ggcaccctgg tcaccgtctc aagc 354

<210> 69  
 <211> 348  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> P2B4

<400> 69  
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggacctc agtgcacggtc 60  
 tcctgcaggg cttctggatt caccttcagc gactactata tacactgggt ggcacaggcc 120  
 cctggacaag gacttgagtg gatgggatgg atgagccctg acagtgggtgc cacatactat 180  
 gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccaccaa cacagcctac 240  
 atggaactga gcagactcac atctgacgac acggccgtgtt attattgtgt gagagatact 300  
 tatggccatg actactgggg ccagggacc ctggtcaccg tctcaagc 348

<210> 70  
 <211> 393  
 <212> PRT  
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 70

Met	Glu	Glu	Pro	Gln	Ser	Asp	Pro	Ser	Val	Glu	Pro	Pro	LLeu	Ser	Gln
1															

Glu	Thr	Phe	Ser	Asp	Leu	Trp	Lys	Leu	Leu	Pro	Glu	Asn	Asn	Val	Leu
20															

Ser	Pro	Leu	Pro	Ser	Gln	Ala	Met	Asp	Asp	Leu	Met	Leu	Ser	Pro	Asp
35															
Asp	Ile	Glu	Gln	Trp	Phe	Thr	Glu	Asp	Pro	Gly	Pro	Asp	Glu	Ala	Pro
50															
Arg	Met	Pro	Glu	Ala	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Pro	Ala	Pro	Ala	Ala	Pro
65															
Thr	Pro	Ala	Ala	Pro	Ala	Pro	Ser	Trp	Pro	Leu	Ser	Ser	Ser		
85															
Val	Pro	Ser	Gln	Lys	Thr	Tyr	Gln	Gly	Ser	Tyr	Gly	Phe	Arg	Leu	Gly
100															
Phe	Leu	His	Ser	Gly	Thr	Ala	Lys	Ser	Val	Thr	Cys	Thr	Tyr	Ser	Pro
115															
Ala	Leu	Asn	Lys	Met	Phe	Cys	Gln	Leu	Ala	Lys	Thr	Cys	Pro	Val	Gln
130															
Leu	Trp	Val	Asp	Ser	Thr	Pro	Pro	Pro	Gly	Thr	Arg	Val	Arg	Ala	Met
145															
Ala	Ile	Tyr	Lys	Gln	Ser	Gln	His	Met	Thr	Glu	Val	Val	Arg	Arg	Cys
165															
Pro	His	His	Glu	Arg	Cys	Ser	Asp	Ser	Asp	Gly	Leu	Ala	Pro	Pro	Gln
180															
His	Leu	Ile	Arg	Val	Glu	Gly	Asn	Leu	Arg	Val	Glu	Tyr	Leu	Asp	Asp
195															
Arg	Asn	Thr	Phe	Arg	His	Ser	Val	Val	Val	Pro	Tyr	Glu	Pro	Pro	Glu
210															
Val	Gly	Ser	Asp	Cys	Thr	Thr	Ile	His	Tyr	Asn	Tyr	Met	Cys	Asn	Ser

225

230

235

240

Ser Cys Met Gly Gly Met Asn Arg Arg Pro Ile Leu Thr Ile Ile Thr  
 245 250 255

Leu Glu Asp Ser Ser Gly Asn Leu Leu Gly Arg Asn Ser Phe Glu Val  
 260 265 270

Arg Val Cys Ala Cys Pro Gly Arg Asp Arg Arg Thr Glu Glu Glu Asn  
 275 280 285

Leu Arg Lys Lys Gly Glu Pro His His Glu Leu Pro Pro Gly Ser Thr  
 290 295 300

Lys Arg Ala Leu Pro Asn Asn Thr Ser Ser Ser Pro Gln Pro Lys Lys  
 305 310 315 320

Lys Pro Leu Asp Gly Glu Tyr Phe Thr Leu Gln Ile Arg Gly Arg Glu  
 325 330 335

Arg Phe Glu Met Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp  
 340 345 350

Ala Gln Ala Gly Lys Glu Pro Gly Gly Ser Arg Ala His Ser Ser His  
 355 360 365

Leu Lys Ser Lys Lys Gly Gln Ser Thr Ser Arg His Lys Lys Leu Met  
 370 375 380

Phe Lys Thr Glu Gly Pro Asp Ser Asp  
 385 390

&lt;210&gt; 71

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; p53 胜肽

<400> 71

Arg Met Pro Glu Ala Ala Pro Pro Val  
1 5

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> p53 胜肽

<400> 72

Ser Thr Pro Pro Pro Gly Thr Arg Val  
1 5

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> p53 胜肽

<400> 73

Leu Leu Gly Arg Asn Ser Phe Glu Val  
1 5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> p53 胜肽

<400> 74

Val Val Pro Tyr Glu Pro Pro Glu Val  
1 5

<210> 75

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> p53 胜肽

<400> 75

Thr Tyr Ser Pro Ala Leu Asn Lys Met Phe  
1 5 10

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> p53 胜肽

<400> 76

Ala Ile Tyr Lys Gln Ser Gln His Met  
1 5

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> p53 胜肽

<400> 77

Glu Tyr Leu Asp Asp Arg Asn Thr Phe  
1 5



201833133

## 【發明摘要】

### 【中文發明名稱】

類T細胞受體之抗體

### 【英文發明名稱】

T CELL RECEPTOR LIKE ANTIBODIES

### 【中文】

揭示與胜肽-MHC複合體結合之抗體及其片段，尤其是包含一p53胜肽與MHC第I類分子之胜肽-MHC複合體。亦揭示包含該等抗體與片段之組成物，及其等的用途與使用方法。

### 【英文】

Antibodies and fragments thereof which bind to peptide-MHC complexes are disclosed, in particular peptide-MHC complex comprising a peptide of p53 and MHC class I molecule. Also disclosed are compositions comprising such antibodies and fragments, and uses and methods using the same.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】

(無)

【特徵化學式】

(無)

## 【發明申請專利範圍】

**【第1項】** 一種抗體或抗原結合片段，其選擇性地為分離形式，其能結合至包含一p53勝肽及一MHC第I類分子的一勝肽-MHC複合體。

**【第2項】** 如請求項1之抗體或抗原結合片段，其中該MHC第I類分子包含由一HLA-A\*24對偶基因所編碼的一MHC第I類α鏈。

**【第3項】** 如請求項1或請求項2之抗體或抗原結合片段，其中該p53勝肽包含下列或由下列的胺基酸序列所組成：序列辨識編號：75，或在胺基酸序列中具有一個或二個或三個胺基酸取代作用的變異體。

**【第4項】** 如請求項1至3中任一項之抗體或抗原結合片段，其包含胺基酸序列i)至vi)：

i)LC-CDR1:

X<sub>1</sub>GSX<sub>2</sub>SNIGX<sub>3</sub>X<sub>4</sub>YX<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>(序列辨識編號：46)；  
TGTSSDVGGYNYVS(序列辨識編號：29)；或  
RASQSIGTDLA(序列辨識編號：21)；

ii)LC-CDR2:

GNX<sub>8</sub>NRPS(序列辨識編號：47)；  
DASN RAT(序列辨識編號：22)；或  
DVSSRPS(序列辨識編號：30)

iii)LC-CDR3:

QSYDSX<sub>9</sub>LSX<sub>10</sub>X<sub>11</sub>WV(序列辨識編號：48)；  
QQRSNWPPT(序列辨識編號：23)；或

SSYTVFSTLV(序列辨識編號：31)；

iv)HC-CDR1:

SGGYYW $X_{12}$ (序列辨識編號：49)；或

$X_{13}$ YY $X_{14}$ H(序列辨識編號：50)；

v)HC-CDR2:

YIYYSG $X_{15}$ TYYNPSLKS(序列辨識編號：51)；或

WX $X_{16}$ X $X_{17}$ PX $X_{18}$ SX $X_{19}$ X $X_{20}$ TX $X_{21}$ YAQKFQG(序列辨識編號：52)；

vi)HC-CDR3:

ENFG $X_{22}$ X $X_{23}$ DX $X_{24}$ (序列辨識編號：53)；

EGADGIYYFDY(序列辨識編號：39)；或

DTYGHDY(序列辨識編號：45)；

或其之一變異體，在其中序列i)至vi)中的一或多者之一個或二個或三個胺基酸係經另一個胺基酸置換；

其中 $X_1$ 為T或A， $X_2$ 為S或Y， $X_3$ 為A或D， $X_4$ 為G或D， $X_5$ 為D或E， $X_6$ 為V或T， $X_7$ 為H或N， $X_8$ 為N或T， $X_9$ 為N或S， $X_{10}$ 係不存在或為D， $X_{11}$ 為A或T， $X_{12}$ 為S或A， $X_{13}$ 為G或D， $X_{14}$ 為M或I， $X_{15}$ 為S或T， $X_{16}$ 為I或M， $X_{17}$ 為N或S， $X_{18}$ 為N或D， $X_{19}$ 為A或G， $X_{20}$ 為G或A， $X_{21}$ 為N或Y， $X_{22}$ 為A或S， $X_{23}$ 為F或Y，及 $X_{24}$ 為H或Y。

**【第5項】** 如請求項4之抗體或抗原結合片段，其中LC-CDR1係TGSSSNIGADYETH(序列辨識編號：17)、AGSYSNIGDDYETH(序列辨識編號：20)、

TGSSSNIGA GYDVH(序列辨識編號：24)、  
 TGSSSNIGAGYDVN(序列辨識編號：27)、  
 TGTSSDVGGYNYVS(序列辨識編號：29)或  
 RASQSIGTDLA(序列辨識編號：21)中之一者。

**【第6項】** 如請求項4或請求項5之抗體或抗原結合片段，其中LC-CDR2係GNTNRPS(序列辨識編號：18)、GNNNRPS(序列辨識編號：25)、DASN RAT(序列辨識編號：22)或DVSSRPS(序列辨識編號：30)中之一者。

**【第7項】** 如請求項4至6中任一項之抗體或抗原結合片段，其中LC-CDR3係QSYDSNLSAWV(序列辨識編號：19)、QSYDSNLSDTWV(序列辨識編號：26)、QSYDS SLSAWV(序列辨識編號：28)、QQRSNWPPT(序列辨識編號：23)或SSYTVFSTLV(序列辨識編號：31)中之一者。

**【第8項】** 如請求項4至7中任一項之抗體或抗原結合片段，其中HC-CDR1係SGGYYWS(序列辨識編號：32)、SGGYYWA(序列辨識編號：35)、SGGYYWS(序列辨識編號：40)、GYYMH(序列辨識編號：37)或DYYIH(序列辨識編號：43)中之一者。

**【第9項】** 如請求項4至8中任一項之抗體或抗原結合片段，其中HC-CDR2係YIYYSGSTYYNPSLKS(序列辨識編號：33)、YIYYSGTYYNPSLKS(序列辨識編號：41)、WINPNSAGTNYAQKFQG(序列辨識編號：

38)或WMSPDSGATYYAQKFQG(序列辨識編號：44)中之一者。

**【第10項】** 如請求項4至9中任一項之抗體或抗原結合片段，其中HC-CDR3係ENFGAFDH(序列辨識編號：34)、ENFGSYDY(序列辨識編號：36)、EGADGIYYFDY(序列辨識編號：39)或DTYGHHDY(序列辨識編號：45)中之一者。

**【第11項】** 如請求項1至10中任一項之抗體或抗原結合片段，其具有至少一含有下列CDR的輕鏈可變區：

LC-CDR1: TGSSSNIGADYETH(序列辨識編號：17)

LC-CDR2: GNTNRPS(序列辨識編號：18)

LC-CDR3: QSYDSNLSAWV(序列辨識編號：19)；

或

LC-CDR1: AGSYSNIGDDYETH(序列辨識編號：20)

LC-CDR2: GNTNRPS(序列辨識編號：18)

LC-CDR3: QSYDSNLSAWV(序列辨識編號：19)；

或

LC-CDR1: RASQSIGTDLA(序列辨識編號：21)

LC-CDR2: DASNRAT(序列辨識編號：22)

LC-CDR3: QQRSNWPPT(序列辨識編號：23)；

或

LC-CDR1: TGSSSNIGAGYDVH(序列辨識編號：24)

LC-CDR2: GNNNRPS(序列辨識編號：25)

LC-CDR3: QSYDSNLSDTWV(序列辨識編號：26)；

或

LC-CDR1: TGSSSNIGAGYDVN(序列辨識編號：27)

LC-CDR2: GNNNRPS(序列辨識編號：25)

LC-CDR3: QSYDSSLSSAWV(序列辨識編號：28)；

或

LC-CDR1: TGTSSDVGGYNYVS(序列辨識編號：29)

LC-CDR2: DVSSRPS(序列辨識編號：30)

LC-CDR3: SSYTVFSTLV(序列辨識編號：31)。

【第12項】 如請求項1至11中任一項之抗體或抗原結合片段，其具有至少一含有下列CDR的重鏈可變區：

HC-CDR1: SGYYWWS(序列辨識編號：32)

HC-CDR2: YIYYSGSTYYNPSLKS(序列辨識編號：33)

HC-CDR3: ENFGAFDH(序列辨識編號：34)；

或

HC-CDR1: SGYYWA(序列辨識編號：35)

HC-CDR2: YIYYSGSTYYNPSLKS(序列辨識編號：33)

HC-CDR3: ENFGAFDH(序列辨識編號：34)；

或

HC-CDR1: SGYYWWS(序列辨識編號：32)

HC-CDR2: YIYYSGSTYYNPSLKS(序列辨識編號：33)

HC-CDR3: ENFGSYDY(序列辨識編號：36)；

或

HC-CDR1: SGGYYWA(序列辨識編號：35)

HC-CDR2: YIYYSGSTYYNPSLKS(序列辨識編號：33)

HC-CDR3: ENFGSYDY(序列辨識編號：36)；

或

HC-CDR1: GYYMH(序列辨識編號：37)

HC-CDR2: WINPNSAGTNYAQKFQG(序列辨識編號：38)

HC-CDR3: EGADGIYYFDY(序列辨識編號：39)；

或

HC-CDR1: SGGYYWS(序列辨識編號：40)

HC-CDR2: YIYYSGTTYYNPSLKS(序列辨識編號：41)

HC-CDR3: ENFGAFDY(序列辨識編號：42)；

或

HC-CDR1: DYYIH(序列辨識編號：43)

HC-CDR2: WMSPDSGATYYAQKFQG(序列辨識編號：44)

HC-CDR3: DTYGHDY(序列辨識編號：45)。

**【第13項】** 一種抗體或抗原結合片段，其選擇性地為分離形式，其能與包含一p53勝肽及一MHC第I類分子之一勝肽-MHC複合體結合，其包含一輕鏈與一重鏈可變區序列，其中：

該輕鏈包含一LC-CDR1、LC-CDR2、LC- CDR3，其等與下列具有至少85%的整體序列一致性：LC-CDR1與 $X_1GSX_2SNIGX_3X_4YX_5X_6X_7$ (序列辨識編號：46)、TGTSSDVGGYNYVS(序列辨識編號：29)或RASQSIGTDLA(序列辨識編號：21)中之一者；LC-CDR2與GNX<sub>8</sub>NRPS(序列辨識編號：47)、DASN RAT(序列辨識編號：22)或DVSSRPS(序列辨識編號：30)中之一者；LC- CDR3與QSYDSX<sub>9</sub>LSX<sub>10</sub>X<sub>11</sub>WV(序列辨識編號：48)、QQRSNWPPT(序列辨識編號：23)或SSYTVFSTLV(序列辨識編號：31)中之一者；及

該重鏈包含一HC-CDR1、HC-CDR2、HC- CDR3，其等與下列具有至少85%的整體序列一致性：HC-CDR1與SGGYYWX<sub>12</sub>(序列辨識編號：49)或X<sub>13</sub>YY X<sub>14</sub>H(序列辨識編號：50)中之一者；HC-CDR2與YIYYSGX<sub>15</sub>TYYNPSLKS(序列辨識編號：51)或WX<sub>16</sub>X<sub>17</sub>PX<sub>18</sub>SX<sub>19</sub>X<sub>20</sub>TX<sub>21</sub>YAQKFQG(序列辨識編號：52)中之一者；HC-CDR3與ENFGX<sub>22</sub>X<sub>23</sub>DX<sub>24</sub>(序列辨識編號：53)，EGA DGIYYFDY(序列辨識編號：39)或DTYGHDY(序列辨識編號：45)中之一者；

其中X<sub>1</sub>為T或A，X<sub>2</sub>為S或Y，X<sub>3</sub>為A或D，X<sub>4</sub>為G或D，X<sub>5</sub>為D或E，X<sub>6</sub>為V或T，X<sub>7</sub>為H或N，X<sub>8</sub>為N或T，X<sub>9</sub>為N或S，X<sub>10</sub>係不存在或為D，X<sub>11</sub>為A或T，X<sub>12</sub>為S或A，X<sub>13</sub>為G或D，X<sub>14</sub>為M或I，X<sub>15</sub>為S或T，X<sub>16</sub>為I或M，X<sub>17</sub>為N或S，X<sub>18</sub>為N或D，X<sub>19</sub>為A或G，X<sub>20</sub>為G或

A，X<sub>21</sub>為N或Y，X<sub>22</sub>為A或S，X<sub>23</sub>為F或Y，及X<sub>24</sub>為H或Y。

**【第14項】** 一種抗體或抗原結合片段，其選擇性地為分離形式，其能與包含一p53勝肽及一MHC第I類分子之一勝肽-MHC複合體結合，其包含一輕鏈與一重鏈可變區序列，其中：

該輕鏈序列與序列辨識編號：1至7中之一者的輕鏈序列具有至少85%的序列一致性，及；

該重鏈序列與序列辨識編號：8至16中之一者的重鏈序列具有至少85%的序列一致性。

**【第15項】** 如請求項1至14中任一項之抗體或抗原結合片段，其對於包含或表現勝肽-MHC複合體之細胞展現抗體依賴型細胞介導式細胞毒性(ADCC)，該勝肽-MHC複合體包含一p53勝肽與一MHC第I類分子。

**【第16項】** 如請求項1至15中任一項之抗體或抗原結合片段，其係被包含或表現勝肽-MHC複合體之細胞內化，該勝肽-MHC複合體包含一p53勝肽與一MHC第I類分子。

**【第17項】** 如請求項1至16中任一項之抗體或抗原結合片段，其係一全人抗體或一全人抗體片段。

**【第18項】** 如請求項1至17中任一項之抗體或抗原結合片段，其被接合至一藥物部分(moiet)或一可檢測部分。

**【第19項】** 如請求項1至18中任一項之抗體或抗原結

合片段，其進一步包含對於勝肽-MHC複合體以外的一標的具特異性之一抗體或抗原結合片段。

**【第20項】** 如請求項19之抗體或抗原結合片段，其中勝肽-MHC複合體以外的該標的係一免疫細胞表面分子。

**【第21項】** 一種嵌合抗原受體(CAR)，其包含如請求項1至20中任一項之一抗原結合片段。

**【第22項】** 一種試管內複合體，其選擇性地為分離形式，其包含被結合至一勝肽-MHC複合體之如請求項1至21中任一項之一抗體、抗原結合片段或嵌合抗原受體，該勝肽-MHC複合體包含一p53勝肽及一MHC第I類分子。

**【第23項】** 一種組成物，其包含如請求項1至21中任一項之抗體、抗原結合片段或嵌合抗原受體及至少一藥學上可接受的載劑。

**【第24項】** 一種分離型核酸，其編碼如請求項1至21中任一項之抗體、抗原結合片段或嵌合抗原受體。

**【第25項】** 一種載體，其包含如請求項24之核酸。

**【第26項】** 一種細胞，其包含如請求項24之核酸或如請求項25之載體。

**【第27項】** 一種用於產生如請求項1至21中任一項之一抗體、抗原結合片段或嵌合抗原受體之方法，其包括在適合該抗體或抗原結合片段或嵌合抗原受體表現之條件下，培養如請求項26之細胞。

**【第28項】** 如請求項1至21或23至26中任一項之一抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、組成物、核酸、載體或細胞，其係供用於療法(therapy)或用於一醫學治療方法(a method of medical treatment)中。

**【第29項】** 如請求項1至21或23至26中任一項之一抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、組成物、核酸、載體或細胞，其係供用於治療或預防一癌症。

**【第30項】** 如請求項1至21或23至26中任一項之一抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、組成物、核酸、載體或細胞在製造用於治療或預防一癌症的一藥劑之用途。

**【第31項】** 一種治療或預防一癌症之方法，其包括對於一個體投予一治療或預防有效量之如請求項1至21或23至26中任一項之抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、組成物、核酸、載體或細胞。

**【第32項】** 一種治療或預防一個體中之一癌症的方法，其包括：

- (a) 從一個體分離出至少一細胞；
- (b) 改造該至少一細胞，使其表現或包含如請求項1至21或24至26中任一項之抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、核酸或載體；及
- (c) 將該經改造的至少一細胞投予至一個體。

**【第33項】** 一種治療或預防一個體中之一癌症的方法，其包括：

- (a) 從一個體分離出至少一細胞；

(b) 將如請求項24之核酸或如請求項25之載體導入該至少一細胞中，藉此改造該至少一細胞；及

(c) 將該經改造的至少一細胞投予至一個體。

**【第34項】** 一種部件套組，其包含一預定量之如請求項1至21或23至26中任一項之抗體、抗原結合片段、嵌合抗原受體、組成物、核酸、載體或細胞。

**【第35項】** 一種診斷一個體的一疾病或一病況之方法，該方法包括將含有或疑似含有勝肽-MHC複合體之一樣本與如請求項1至21中任一項之一抗體或抗原結合片段接觸，及檢測抗體或抗原結合片段與勝肽-MHC複合體所形成的一複合體。















































