



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103781493 A

(43) 申请公布日 2014. 05. 07

(21) 申请号 201280035071. 4

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2012. 06. 29

A61K 39/395 (2006. 01)

C07K 16/28 (2006. 01)

(30) 优先权数据

61/503, 513 2011. 06. 30 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 01. 15

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/044829 2012. 06. 29

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/003680 EN 2013. 01. 03

(71) 申请人 霍夫曼 - 拉罗奇有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 B. 卡巴科夫 刘骏 N. 皮罗斯

朱青 B. 德姆勒

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 张红春

权利要求书2页 说明书53页

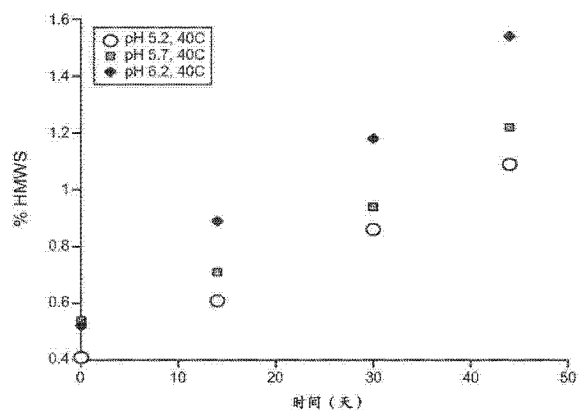
序列表12页 附图8页

(54) 发明名称

抗 C-MET 抗体配制剂

(57) 摘要

本文中提供包含单臂抗 c-met 抗体的药物配制剂及其用途, 其中所述抗 c-met 抗体包含: 包含序列 KSSQSLLYTSSQKNYLA (SEQ ID NO:1) 的 HVR-L1, 包含序列 WASTRES (SEQ ID NO:2) 的 HVR-L2, 包含序列 QQYYAYPWT (SEQ ID NO:3) 的 HVR-L3, 包含序列 GYTFTSYWLH (SEQ ID NO:4) 的 HVR-H1, 包含序列 GMIDPSNSDTRFNPFD (SEQ ID NO:5) 的 HVR-H2, 和包含序列 ATYRSYVTPLDY (SEQ ID NO:6) 的 HVR-H3。



1. 一种药物配制剂,其包含:

(a) 一种抗 c-met 抗体,其中该抗 c-met 抗体包含:包含序列 KSSQSLLYTSSQKNYLA (SEQ ID NO:1) 的 HVR-L1,包含序列 WASTRES (SEQ ID NO:2) 的 HVR-L2,包含序列 QQYYAYPWT (SEQ ID NO:3) 的 HVR-L3,包含序列 GYTFTSYWLH (SEQ ID NO:4) 的 HVR-H1,包含序列 GMIDPSNSDTRFNPNFKD (SEQ ID NO:5) 的 HVR-H2,和包含序列 ATYRSYVTPLDY (SEQ ID NO:6) 的 HVR-H3,且其中该抗 c-met 抗体包含单个抗原结合臂且包含 Fc 区,其中该 Fc 区包含第一和第二 Fc 多肽,且其中该第一和第二 Fc 多肽存在于复合物中;

(b) pH5.0-5.4 的组氨酸缓冲剂;

(c) 糖类;和

(d) 聚山梨酯,其中该聚山梨酯以大于 0.02%w/v 存在。

2. 权利要求 1 的药物配制剂,其中该抗 c-met 抗体包含 (a) 包含序列 EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGYFTSYWLHWVRQAPGKLEWV GMIDPSNSDTRFNPNFKDRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCAT YRSYVTPLDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:19) 的重链可变域和 (b) 包含序列 DIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLLYTSSQKNYLAWYQQKPGKAP KLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQYYAYP WTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:20) 的轻链可变域。

3. 权利要求 2 的药物配制剂,其中该第一和第二 Fc 多肽形成与包含所述抗原结合臂的 Fab 分子相比提高所述抗体片段的稳定性的 Fc 区。

4. 权利要求 1-3 任一项的药物配制剂,其中该抗 c-met 抗体包含 (a) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:19、CH1 序列和第一 Fc 多肽的第一多肽和 (b) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:20 和 CL1 序列的第二多肽。

5. 权利要求 4 的药物配制剂,其中该抗 c-met 抗体进一步包含 (c) 包含第二 Fc 多肽的第三多肽。

6. 权利要求 1-5 任一项的药物配制剂,其中该第一 Fc 多肽包含图 2 (SEQ ID NO:17) 所示 Fc 序列且该第二 Fc 多肽包含图 3 (SEQ ID NO:18) 所示 Fc 序列。

7. 权利要求 1-6 任一项的药物配制剂,其中该抗 c-met 抗体为 onartuzumab。

8. 权利要求 1-7 任一项的药物配制剂,其中该抗 c-met 抗体与 onartuzumab 结合相同表位。

9. 权利要求 1-8 任一项的药物配制剂,其中该抗 c-met 抗体以介于约 10mg/mL 和约 100mg/mL 之间(例如约 15mg/mL 和约 75mg/mL) 的浓度存在。

10. 权利要求 9 的药物配制剂,其中该抗 c-met 抗体以约 60mg/mL 的浓度存在。

11. 权利要求 1-10 任一项的药物配制剂,其中该糖类以约 75mM 至约 200mM (例如约 100mM 至约 150mM) 的浓度存在。

12. 权利要求 11 的药物配制剂,其中该糖类以约 120mM 的浓度存在。

13. 权利要求 1-12 任一项的药物配制剂,其中该糖类为二糖。

14. 权利要求 13 的药物配制剂,其中该二糖为海藻糖。

15. 权利要求 13 的药物配制剂,其中该二糖为蔗糖。

16. 权利要求 1-15 任一项的药物配制剂,其中该组氨酸缓冲剂处于约 1mM 至约 50mM (例如约 1mM 至约 25mM) 的浓度。

17. 权利要求 16 的药物配制剂,其中该组氨酸缓冲剂处于约 10mM 的浓度。

18. 权利要求 1-17 任一项的药物配制剂,其中该组氨酸缓冲剂为组氨酸乙酸酯。
19. 权利要求 1-18 任一项的药物配制剂,其中该聚山梨酯以大于 0.02% 且小于约 0.1% 的浓度存在。
20. 权利要求 19 的药物配制剂,其中该聚山梨酯以约 0.04% 的浓度存在。
21. 权利要求 1-20 任一项的药物配制剂,其中该聚山梨酯为聚山梨酯 20。
22. 权利要求 1-21 任一项的药物配制剂,其中该配制剂是用稀释剂(例如 0.9%NaCl)稀释的。
23. 权利要求 22 的药物配制剂,其中该抗 c-met 抗体以约 1mg/mL 的浓度存在。
24. 一种抑制 c-met 激活的细胞增殖的方法,所述方法包括使细胞或组织与有效量的权利要求 1-23 任一项的药物配制剂接触。
25. 一种调控与 HGF/c-met 信号传导轴失调有关的疾病的方法,所述方法包括对受试者施用有效量的权利要求 1-23 任一项的药物配制剂。
26. 一种治疗具有增殖性病症的受试者的方法,所述方法包括对该受试者施用有效量的权利要求 1-23 任一项的药物配制剂。
27. 权利要求 26 的方法,其中该增殖性病症为癌症。
28. 权利要求 27 的方法,其中该癌症为肺癌(例如非小细胞肺癌(NSCLC))、成胶质细胞瘤、胰腺癌、肉瘤、肾细胞癌、肝细胞癌、胃癌、结肠直肠癌、和 / 或乳腺癌。
29. 权利要求 24-28 任一项的方法,进一步包括第二治疗剂。
30. 一种制备权利要求 1-23 任一项的药物配制剂的方法。
31. 一种制品,其包括容器,该容器中装有权利要求 1-23 任一项的药物配制剂。
32. 一种制备权利要求 31 的制品的方法。

抗 C-MET 抗体配制剂

[0001] 对相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2011 年 6 月 30 日提交的美国专利申请 61/503,513 的优先权,通过述及其完整内容完整收入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有序列表,已经以 ASCII 格式经 EFS-WEB 提交且通过述及完整收入本文。2012 年 2 月 16 日创建的所述 ASCII 拷贝命名为 P4690R1W0.txt,并且大小为 22,553 个字节。

发明领域

[0005] 本文中提供包含抗 c-met 抗体的药物配制剂及其用途。

[0006] 发明背景

[0007] 将赋形剂添加至药物配制剂以帮助稳定活性化合物。赋形剂与活性化合物的相容性对于药物配制剂的品质和稳定性是至关重要的。在赋形剂在稳定活性化合物中是重要的同时,赋形剂可引起问题:赋形剂可降解且因此丧失其稳定机制,或者它可生成与活性化合物相互作用的降解物。

[0008] 其中的活性化合物为多肽(例如抗体)的药物配制剂可造成特殊的问题,因为多肽一般比传统的有机和无机分子更大且更复杂(例如,在复杂的三维结构之外,多肽还拥有多种官能团)。另外,对于多肽保留生物学活性,药用多肽配制剂必须至少保持多肽核心氨基酸序列构象整体的完整性,同时维持药学多肽配制剂的物理和化学稳定性。赋形剂在水溶液中一般是稳定的;然而,药用多肽配制剂中的赋形剂能与多肽相互作用而在配制剂中经历降解,而且能阻止蛋白质的稳定化,或者降解物能与多肽相互作用而造成挑战(诸如活性的损失)。因此,评估药物配制剂的非活性成分和多肽活性剂的相互作用对于确保化学和物理稳定性是至关重要的。

[0009] 聚山梨酯是用于针对界面诱导的聚集和表面吸附稳定活性化合物的非离子型表面活性剂。聚山梨酯针对多种压力可以是有效的,诸如搅动(例如摇动或搅拌),冷冻/融化,和冻干。在药用多肽配制剂中,聚山梨酯最小化对表面的吸附且降低空气-液体界面表面张力及因此降低蛋白质变性速率。药物配制剂中聚山梨酯的损失可导致配制剂的不稳定性。而且,聚山梨酯可因氧化和水解而降解,这可导致药物配制剂中聚山梨酯的表观浓度随长贮存期而降低。聚山梨酯(例如聚山梨酯 20)可被切割而生成降解物(例如游离月桂酸和山梨聚糖聚氧乙烯侧链)。这些聚山梨酯降解物的表面活性不如未降解聚山梨酯,因此药物配制剂的化学和物理稳定性可能受损。而且,一些聚山梨酯降解物是不溶性的,而且如果它们没有被完整聚山梨酯溶解的话,即如果降解聚山梨酯 20:完整聚山梨酯 20 比率太高的话,可形成颗粒。

[0010] 聚山梨酯降解的速率和程度受到活性化合物的化学和物理特性影响,而且聚山梨酯的稳定能力可以在包含不同活性化合物的不同药物配制剂之间变化。特别地,由于蛋白质配制剂中包括聚山梨酯来稳定蛋白质,因此药用多肽配制剂中聚山梨酯浓度的降低和降

解物分子的积累对于蛋白质稳定性而言是潜在关注的。

[0011] 已经报告了众多靶向 HGF/c-met 途径的分子。这些分子包括 c-met 的胞外域的一部分和抗 c-met 抗体诸如 US5,686,292;Martens,T. et al.,Clin. Cancer Res. 12(20Pt.1):6144 (2006);US6,468,529;WO2006/015371;WO2007/063816;和 WO2010/045345 中记载的那些。二价形式的抗 c-met 抗体显示出促进 c-met 二聚化且导致活化(激动功能),而相反,单价抗体显示出抑制 c-met 活性(拮抗功能)。对于治疗需要拮抗功能的病理状况,抗 c-met 抗体的二价性可导致不想要的激动效应,且因此要求单价性状来确保抗 c-met 抗体结合靶来治疗病理状况时的拮抗活性。Fab 片段和单臂抗体是单价抗体的例子。单臂抗体一般具有比 Fab 更长的半衰期。然而,因为单臂抗体包含单一轻链和单一重链(以及另外的 Fc 区),如果单臂抗体结构没有得到稳定化,那么多肽能潜在形成具有两条重链和两条轻链的二价抗体。包含抗 c-met 抗体的药物配制剂中单价抗体聚集(形成多聚体和寡聚体)和/或维持单价结构失败可导致不想要的激动效应。最小化药物配制剂中的抗 c-met 抗体聚集因而是特别重要的。因此,尽管靶向 HGF/c-met 途径的分子有显著进步,仍然需要最小化 c-met 抗体聚集的稳定的药物配制剂。

[0012] 通过述及完整收录本文中引用的所有参考文献,包括专利申请和出版物。

[0013] 发明概述

[0014] 本文中提供药物配制剂包含抗 c-met 抗体。在一些实施方案中,该药物配制剂为液体药物配制剂。在一些实施方案中,该药物配制剂为稳定的药物配制剂。在一些实施方案中,该药物配制剂为稳定的液体药物配制剂。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为拮抗性抗 c-met 抗体。

[0015] 例如,本文中提供药物配制剂包含:(a) 抗 c-met 抗体;(b) pH5.0-5.4 的组氨酸缓冲剂;(c) 糖类;和(d) 聚山梨酯,其中该聚山梨酯以大于 0.02%w/v 存在。

[0016] 在任何配制剂的一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含:包含序列 KSSQSLLYTSSQKNYLA (SEQ ID NO:1) 的 HVR-L1,包含序列 WASTRES (SEQ ID NO:2) 的 HVR-L2,包含序列 QQYYAYPWT (SEQ ID NO:3) 的 HVR-L3,包含序列 GYTFTSYWLH (SEQ ID NO:4) 的 HVR-H1,包含序列 GMIDPSNSDTRFNPNFKD (SEQ ID NO:5) 的 HVR-H2,和包含序列 ATYRSYVTPLDY (SEQ ID NO:6) 的 HVR-H3。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含 (a) 包含序列:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWLHWVRQAPGKGLEWV GMIDPSNSDTRFNPNFKDRFT ISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAT YRSYVTPLDYWGQGTLTVSS (SEQ ID NO:19) 的重链可变域和 (b) 包含序列:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLLYTSSQKNYLAWYQQKPGKAP KLLIYWAST RESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYAYP WFTGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:20) 的轻链可变域。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含单一抗原结合臂且包含 Fc 区,其中该 Fc 区包含第一和第二 Fc 多肽,且其中该第一和第二 Fc 多肽存在于复合物中。在一些实施方案中,该第一和第二 Fc 多肽形成与包含所述抗原结合臂的 Fab 分子相比提高所述抗体片段的稳定性的 Fc 区。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含 (a) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:19、CH1 序列和第一 Fc 多肽的第一多肽和 (b) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:20 和 CL1 序列的第二多肽。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体进一步包含 (c) 包含第二 Fc 多肽的第三多肽。在一些实施方案中,该第一 Fc 多肽包含图 2 (SEQ ID NO:17) 所示 Fc 序列且该第二 Fc 多肽包含图 3 (SEQ ID NO:18) 所示 Fc 序列。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为

onartuzumab。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体与 onartuzumab 结合相同表位。

[0017] 在任何配制剂的一些实施方案中,该抗 c-met 抗体以介于约 10mg/mL 和约 100mg/mL 之间(例如约 15mg/mL 和约 75mg/mL) 的浓度存在。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体以约 60mg/mL 的浓度存在。

[0018] 在任何配制剂的一些实施方案中,该糖类以约 75mM 至约 200mM (例如约 100mM 至约 150mM) 的浓度存在。在一些实施方案中,该糖类以约 120mM 的浓度存在。在一些实施方案中,该糖类为二糖。在一些实施方案中,该二糖为海藻糖。在一些实施方案中,该二糖为蔗糖。

[0019] 在任何配制剂的一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂处于约 1mM 至约 50mM (例如约 1mM 至约 25mM) 的浓度。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂处于约 10mM 的浓度。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂为组氨酸乙酸酯。

[0020] 在任何配制剂的一些实施方案中,该聚山梨酯以大于 0.02% 且小于约 0.1% 的浓度存在。在一些实施方案中,该聚山梨酯以约 0.04% 的浓度存在。在一些实施方案中,该聚山梨酯为聚山梨酯 20。

[0021] 在任何配制剂的一些实施方案中,该配制剂是用稀释剂(例如 0.9%NaCl) 稀释的。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体以约 1mg/mL 的浓度存在。

[0022] 本文中提供抑制 c-met 激活的细胞增殖的方法,所述方法包括使细胞或组织与有效量的本文所述药物配制剂接触(例如在稀释后)。

[0023] 本文中还提供调控与 HGF/c-met 信号传导轴失调有关的疾病的方法,所述方法包括对受试者施用有效量的本文所述药物配制剂(例如在稀释后)。

[0024] 进一步提供治疗具有增殖性病症的受试者的方法,所述方法包括对该受试者施用有效量的本文所述药物配制剂(例如在稀释后)。在一些实施方案中,该增殖性病症为癌症。在一些实施方案中,该癌症为肺癌(非小细胞肺癌(NSCLC))、成胶质细胞瘤、胰腺癌、肉瘤、肾细胞癌、肝细胞癌、胃癌、结肠直肠癌、和 / 或乳腺癌。在一些实施方案中,该方法进一步包括第二治疗剂。

[0025] 本文提供制备本文所述药物配制剂的方法。

[0026] 另外,本文中提供制品,其包括容器,该容器中装有本文所述药物配制剂(例如在稀释后)。本文中还提供制备包含本文所述药物配制剂(例如在稀释后) 的制品的方法。

[0027] 附图简述

[0028] 图 1 描绘 c-Met 的短半衰期和长半衰期激动剂和拮抗剂的一般结构。

[0029] 图 2 描绘 MetMAb (onartuzumab 或 OA5D5.v2) 的框架(FR),高变区(HVR),第一恒定域(CL 或 CH1)和 Fc 区(Fc)的氨基酸序列。描绘的 Fc 序列包含“穴”(空腔)突变 T366S, L368A 和 Y407V,如 W02005/063816 中记载的。

[0030] 图 3 描绘包含“节”(隆起)突变 T366W 的 Fc 多肽的序列,如 W02005/063816 中记载的。在一些实施方案中,包含这种序列的 Fc 多肽与包含图 1 中的 Fc 序列的 Fc 多肽形成复合物以生成 Fc 区。图 3 中公开的序列代表 SEQ ID NO:18 的残基 6-227。

[0031] 图 4 描绘 pH5.2, 5.7, 和 6.2 的配制剂 20mg/mL onartuzumab, 10mM 组氨酸乙酸酯, 120mM 海藻糖, 和 0.02% 聚山梨酯 20 于 40℃ 的聚集物形成速率,如高分子量种类(HMWS)随时间(天) 的百分比所示。

[0032] 图 5 描绘 pH5.1, 5.4, 和 5.7 的配制剂 40mg/mL onartuzumab, 10mM 组氨酸乙酸酯, 120mM 海藻糖, 和 0.02% 聚山梨酯 20 于 25℃ 的聚集物形成速率, 如高分子量种类 (HMWS) 随时间 (天) 的百分比所示。

[0033] 图 6 描绘 pH5.1, 5.4, 和 5.7 的配制剂 40mg/mL onartuzumab, 10mM 组氨酸乙酸酯, 120mM 海藻糖, 和 0.02% 聚山梨酯 20 于 40℃ 的聚集物形成速率, 如高分子量种类 (HMWS) 随时间 (天) 的百分比所示。

[0034] 图 7 描绘 pH5.1, 5.4, 和 5.7 的配制剂 40mg/mL onartuzumab, 10mM 组氨酸乙酸酯, 120mM 海藻糖, 和 0.02% 聚山梨酯 20 于 25℃ 和 40℃ 的化学稳定性, 通过离子交换层析 (IEC) 测量, 如主峰随时间 (天) 的百分比所示。

[0035] 图 8 描绘配制剂 60mg/mL onartuzumab, 10mM 组氨酸乙酸酯, pH5.4, 和 120mM 蔗糖及 0.02% 聚山梨酯 20 或 0.04% 聚山梨酯 20 于 40℃ 时完整聚山梨酯随时间 (周) 的百分比。

[0036] 图 9 描绘在装有 0.9%NaCl 的 IV 袋中稀释至 1mg/mL 的 onartuzumab 的聚集物形成速率。下述经过稀释的配制剂的聚集速率如高分子量种类 (HMWS) 随搅动时间 (小时) 的百分比所示, (a) 保持于室温的 pH5.4 的 60mg/mL onartuzumab, 10mM 组氨酸乙酸酯, 120mM 海藻糖, 和 0.02% 聚山梨酯 20 以方框表示, 和 (b) 保持于 30℃ 的 pH5.4 的 60mg/mL onartuzumab, 10mM 组氨酸乙酸酯, 120mM 蔗糖, 和 0.04% 聚山梨酯 20 以圆圈表示。

[0037] 发明详述

[0038] 本文中提供包含抗 c-met 抗体的稳定的药物配制剂。在一些实施方案中, 该抗 c-met 抗体为拮抗性抗 c-met 抗体。在一些实施方案中, 该抗 c-met 抗体为单价抗 c-met 抗体。另外, 提供包含抗 c-met 抗体药物配制剂的试剂盒和制品及抗 c-met 抗体药物配制剂的用途。

[0039] I. 定义

[0040] 术语“药物配制剂”指处于如下的形式, 使得容许其中含有的活性成分的生物学活性是有效的, 且不含对会接受配制剂施用的受试者具有不可接受的毒性的别的组分的制剂。“药学可接受”赋形剂 (媒介、添加剂) 为那些可合理施用于受试者以提供有效剂量的活性化合物。

[0041] “稳定”配制剂为一种其中的多肽在贮藏后和 / 或施用期间 (例如在 IV 袋中稀释后) 基本上保留其物理稳定性和 / 或化学稳定性和 / 或生物学活性的。多种用于测量蛋白质稳定性的分析技术是本领域可得的且综述于例如 Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N. Y., Pubs. (1991) 及 Jones, A. Adv. Drug Delivery Rev. 10:29-90 (1993)。可测量在预定温度贮藏预定时间段后的稳定性。

[0042] 若在给定时间的化学稳定性使得蛋白质被认定为仍然保留其生物学活性且可接受的安全概况, 例如人用药物注册技术要求国际协调会议指南确定的 (例如在视觉检查颜色和 / 或澄清度时或根据 UV 光散射或大小排阻层析的测量, 例如商业可接受水平的聚集、沉淀和 / 或变性), 则多肽在药物配制剂中“保留其物理稳定性”。

[0043] 若在给定时间的化学稳定性使得蛋白质被认定为仍然保留其生物学活性, 则多肽在药物配制剂中“保留其化学稳定性”。化学稳定性可通过检测和定量蛋白质的化学改变形式来评估。化学改变可涉及大小修饰 (例如修剪), 这可使用例如大小排阻层析、SDS-PAGE

和 / 或基质辅助激光解吸电离 / 飞行时间质谱术 (MALDI/TOF MS) 来评估。其它类型的化学改变包括电荷改变,其可通过例如离子交换层析来评估。

[0044] “药学可接受载体”指药物配制剂中与活性成分不同的,且对受试者无毒的成分。药学可接受载体包括但不限于缓冲剂、赋形剂、稳定剂、或防腐剂。

[0045] “组氨酸缓冲剂”指包含组氨酸离子的缓冲剂。

[0046] 本文中的“糖类”包含一般组成 $(CH_2O)_n$ 及其衍生物。

[0047] 术语“抗 c-met 抗体”和“结合 c-met 的抗体”指能够以足够亲和力结合 c-met,使得该抗体可作为诊断剂和 / 或治疗剂用于靶向 c-met 的抗体。在一些实施方案中,根据例如通过放射免疫测定法 (RIA) 的测量,抗 c-met 抗体结合无关的、非 c-met 的蛋白质的程度小于该抗体对 c-met 的结合的约 10%。在一些实施方案中,结合 c-met 的抗体具有 $\leq 1 \mu M$ 、 $\leq 100 nM$ 、 $\leq 10 nM$ 、 $\leq 1 nM$ 、 $\leq 0.1 nM$ 、 $\leq 0.01 nM$ 、或 $\leq 0.001 nM$ (例如 $10^{-8} M$ 或更少,例如 $10^{-8} M$ 到 $10^{-13} M$,例如 $10^{-9} M$ 到 $10^{-13} M$) 的解离常数 (Kd)。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体结合在来自不同物种的 c-met 中保守的 c-met 表位。

[0048] 术语“抗体”以最广义使用,具体涵盖单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)、单价抗体、多价抗体、及抗体片段,只要它们展现出期望的生物学活性(例如 Fab 和 / 或单臂抗体)。

[0049] 抗体的“类”指其重链拥有的恒定域或恒定区的类型。抗体有 5 大类: IgA、IgD、IgE、IgG、和 IgM,并且这些中的几种可以进一步分成亚类(同种型),例如, IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁、和 IgA₂。与不同类免疫球蛋白对应的重链恒定域分别称作 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、和 μ 。

[0050] “抗体片段”指与完整抗体不同的分子,其包含完整抗体的一部分且结合完整抗体结合的抗原。抗体片段的例子包括但不限于 Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂; 双抗体; 线性抗体; 单链抗体分子(例如 scFv); 和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0051] 术语“全长抗体”、“完整抗体”、和“全抗体”在本文中可互换使用,指与天然抗体结构具有基本上类似的结构或者具有含有如本文中所限定的 Fc 区的重链的抗体。

[0052] “阻断性”抗体或“拮抗性”抗体指显著抑制(部分地或完全地)其所结合的抗原的生物学活性的抗体。

[0053] 与参照抗体“结合相同表位的抗体”指在竞争测定法中将参照抗体对其抗原的结合阻断 50% 或更多的抗体,且相反,参照抗体在竞争测定法中将该抗体对其抗原的结合阻断 50% 或更多。本文中提供了例示性的竞争测定法。

[0054] 出于本文中的目的,“受体人框架”指包含自人免疫球蛋白框架或如下文定义的人共有框架衍生的轻链可变域 (VL) 框架或重链可变域 (VH) 框架的氨基酸序列的框架。自人免疫球蛋白框架或人共有框架“衍生”的受体人框架可以包含其相同的氨基酸序列,或者它可以含有氨基酸序列变化。在一些实施方案中,氨基酸变化的数目是 10 或更少、9 或更少、8 或更少、7 或更少、6 或更少、5 或更少、4 或更少、3 或更少、或 2 或更少。在一些实施方案中,VL 受体人框架与 VL 人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列在序列上相同。

[0055] 术语“可变区”或“可变域”指抗体重或轻链中牵涉抗体结合抗原的域。天然抗体的重链和轻链可变域(分别为 VH 和 VL)一般具有类似的结构,其中每个域包含 4 个保守的框架区 (FR) 和 3 个高变区 (HVR)。(见例如 Kindt 等 Kubly Immunology, 第 6 版, W. H. Freeman and Co., 第 91 页 (2007))。单个 VH 或 VL 域可以足以赋予抗原结合特异性。

此外,可以分别使用来自结合抗原的抗体的 VH 或 VL 域筛选互补 VL 或 VH 域的文库来分离结合特定抗原的抗体。见例如,Portolano 等, *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson 等, *Nature* 352:624-628 (1991)。

[0056] 在用于本文时,术语“高变区”或“HVR”指抗体可变域中在序列上高变的和 / 或形成结构上限定的环(“高变环”)的每个区。一般地,天然的 4 链抗体包含 6 个 HVR;三个在 VH 中(H1、H2、H3),且三个在 VL 中(L1、L2、L3)。HVR 一般包含来自高变环和 / 或来自“互补决定区”(CDR)的氨基酸残基,后一种是最高序列变异性的和 / 或牵涉抗原识别。例示性高变区存在于氨基酸残基 26-32(L1)、50-52(L2)、91-96(L3)、26-32(H1)、53-55(H2)、和 96-101(H3) (Chothia 和 Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))。例示性 CDR (CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、和 CDR-H3) 存在于氨基酸残基 L1 的 24-34、L2 的 50-56、L3 的 89-97、H1 的 31-35B、H2 的 50-65、和 H3 的 95-102 (Kabat 等, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第 5 版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))。除了 VH 中的 CDR1 外,CDR 一般包含形成高变环的氨基酸残基。CDR 还包含“特异性决定残基”,或“SDR”,其是接触抗原的残基。SDR 包含在称作缩短的 -CDR,或 a-CDR 的 CDR 区内。例示性的 a-CDR (a-CDR-L1、a-CDR-L2、a-CDR-L3、a-CDR-H1、a-CDR-H2、和 a-CDR-H3) 存在于 L1 的氨基酸残基 31-34、L2 的 50-55、L3 的 89-96、H1 的 31-35B、H2 的 50-58、和 H3 的 95-102 (见 Almagro 和 Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008))。除非另有指示,可变域中的 HVR 残基和其它残基(例如,FR 残基)在本文中依照 Kabat 等,见上文编号。

[0057] “框架”或“FR”指除高变区 (HVR) 残基外的可变域残基。一般地,可变域的 FR 由 4 个 FR 域组成:FR1、FR2、FR3、和 FR4。因而,HVR 和 FR 序列在 VH (或 VL) 中一般以如下的顺序出现:FR1-H1 (L1)-FR2-H2 (L2)-FR3-H3 (L3)-FR4。

[0058] 如本文中使用的,短语“N 端截短的重链”指包含部分但非整个全长免疫球蛋白重链的多肽,其中缺失的部分是那些在正常情况中位于重链 N 端区的。缺失的部分可包括但不限于可变域、CH1、和部分或整个铰链序列。一般地,如果野生型铰链序列不存在,那么 N 端截短的重链中的剩余恒定域会包含能够连接另一 Fc 序列(即本文中描述的“第一”Fc 多肽)的成分。例如,所述成分可以是能够形成二硫化物连接的添加的半胱氨酸残基或经修饰残基。

[0059] 如本文中所使用的,术语“Fc 区”一般指包含免疫球蛋白重链 C 端多肽序列的二聚体复合物,其中 C 端多肽序列是通过木瓜蛋白酶消化完整抗体可获得的。Fc 区可包含天然或变体 Fc 序列。虽然免疫球蛋白重链的 Fc 序列的边界可以有所变化,但是人 IgG 重链 Fc 序列通常定义为 Fc 序列自位于大约位置 Cys226 的氨基酸残基,或自大约位置 Pro230,至羧基端的区段。然而,Fc 序列的 C 端赖氨酸(Lys447)可以存在或不存在。免疫球蛋白的 Fc 序列一般包含两个恒定域,CH2 域和 CH3 域,且任选包含 CH4 域。“Fc 多肽”在本文中指构成 Fc 区的多肽之一。可以自任何合适的免疫球蛋白获得 Fc 多肽,诸如 IgG₁, IgG₂, IgG₃, 或 IgG₄ 亚型, IgA, IgE, IgD 或 IgM。在一些实施方案中, Fc 多肽包含部分或整个野生型铰链序列(一般位于其 N 端)。在一些实施方案中, Fc 多肽不包含功能性或野生型铰链序列。

[0060] “Fc 受体”或“FcR”描述能结合抗体 Fc 区的受体。在一些实施方案中, FcR 是天然人 FcR。在一些实施方案中, FcR 是能结合 IgG 抗体的 FcR (γ 受体),包括 Fc γ RI、

Fc γ RII 和 Fc γ RIII 亚类的受体,包括那些受体的各等位变体和各可变剪接形式。Fc γ RII 受体包括 Fc γ RIIA (“活化受体”)和 Fc γ RIIB (“抑制受体”),它们具有相似的氨基酸序列,区别主要在于其胞质结构域。活化受体 Fc γ RIIA 在其胞质结构域中包含免疫受体基于酪氨酸的活化基序 (ITAM)。抑制受体 Fc γ RIIB 在其胞质结构域中包含免疫受体基于酪氨酸的抑制基序 (ITIM) (参见例如 Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234(1997))。FcR 的综述参见例如 Ravetch 和 Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492(1991); Capel 等, *Immunomethods* 4:25-34(1994); 及 de Haas 等, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-341(1995)。术语“FcR”在本文中涵盖其它 FcR,包括那些未来将会鉴定的。

[0061] 术语“Fc 受体”或“FcR”还包括新生儿受体, FcRn, 其负责将母体 IgG 转移给胎儿 (Guyer 等, *J. Immunol.* 117:587(1976); 及 Kim 等, *J. Immunol.* 24:249(1994)) 和调节免疫球蛋白的体内稳态。测量对 FcRn 的结合的方法是已知的 (参见例如 Ghetie and Ward, *Immunol. Today* 18(12):592-598(1997); Ghetie et al., *Nature Biotechnology*, 15(7):637-640(1997); Hinton et al., *J. Biol. Chem.* 279(8):6213-6216(2004); WO2004/92219 (Hinton et al.))。

[0062] 可以测定人 FcRn 高亲和力结合多肽对人 FcRn 的体内结合和血清半衰期,例如在表达人 FcRn 的转基因小鼠或经转染人细胞系中,或者在施用了带有变异 Fc 区的多肽的灵长类动物中。WO2000/42072 (Presta) 记载了对 FcR 的结合得到改进或消除的抗体变体。还可参见 Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604(2001)。

[0063] 如本文中所使用的,“铰链区”,“铰链序列”,及其变化形式包括本领域知道的含义,其例示于例如 Janeway 等, *Immuno Biology: the immune system in health and disease*, (Elsevier Science Ltd., NY) (第 4 版, 1999); Bloom 等, *Protein Science* (1997), 6:407-415; Humphreys 等, *J. Immunol. Methods* (1997), 209:193-202。

[0064] 除非另有说明,表述“多价抗体”贯穿本说明书用于指包含三个或更多抗原结合位点的抗体。优选地,多价抗体改造成具有三个或更多个抗原结合位点,而且一般不是天然序列 IgM 或 IgA 抗体。

[0065] “Fv”片段是包含完整抗原识别和结合位点的抗体片段。该区域由紧密结合 (该结合的本质可以是共价的,例如在 scFv 中) 的一个重链可变域和一个轻链可变域的二聚体组成。正是在这种构造中,每个可变域的三个 CDR 相互作用而在 V_H - V_L 二聚体表面上限定了抗原结合位点。六个 CDR 或其子集 (subset) 一起赋予抗体以抗原结合特异性。然而,即使是单个可变域 (或是只包含对抗原特异性的三个 CDR 的半个 Fv) 也具有识别和结合抗原的能力,只是通常亲和力低于完整结合位点。

[0066] “Fab”片段包含轻链的可变域和恒定域及重链的可变域和第一恒定域 (CH1)。F(ab')₂ 抗体片段包含一对 Fab 片段,这对 Fab 片段一般通过它们之间的铰链半胱氨酸在它们羧基末端附近共价连接。本领域还知道抗体片段的其它化学偶联形式。

[0067] 如本文中所使用的,短语“抗原结合臂”指抗体片段有能力特异性结合感兴趣靶分子的组成部分。一般地且优选地,抗原结合臂是免疫球蛋白多肽序列 (例如免疫球蛋白轻链和重链 HVR 和 / 或可变域序列) 的复合物。

[0068] “单链 Fv”或“scFv”抗体片段包含抗体的 V_H 和 V_L 结构域,其中这些结构域存在于一条多肽链上。一般而言, Fv 多肽在 V_H 与 V_L 结构域之间进一步包含多肽接头,其使得 scFv

能够形成结合抗原的期望结构。关于 scFv 的综述参见 Pluckthun, 于《The Pharmacology of Monoclonal Antibodies》, 第 113 卷, Rosenberg 和 Moore 编, Springer-Verlag, New York, 第 269-315 页, 1994。

[0069] 术语“双抗体”指具有两个抗原结合位点的小型抗体片段, 该片段在同一条多肽链 (V_H 及 V_L) 中包含相连的重链可变域 (V_H) 和轻链可变域 (V_L)。通过使用过短的接头使得同一条链上的两个结构域之间不能配对, 迫使这些结构域与另一条链的互补结构域配对, 从而产生两个抗原结合位点。双抗体更完整的记载于例如 EP404, 097 ; W093/11161 ; Hollinger 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA90:6444-6448 (1993)。

[0070] 表述“线性抗体”指 Zapata 等, Protein Eng., 8(10):1057-1062 (1995) 中所描述的抗体。简言之, 这些抗体包含一对串联的 Fd 区段 (V_H - C_H1 - V_H - C_H1), 该区段与互补的轻链多肽一起形成一对抗原结合区。线性抗体可以是双特异性的, 或者是单特异性的。

[0071] 在用于本文时, 术语“单克隆抗体”指从一群基本上同质的抗体获得的抗体, 即构成群体的各个抗体是相同的和 / 或结合相同表位, 除了例如含有天然存在的突变或在单克隆抗体制备物的生成期间发生的可能的变体抗体外, 此类变体一般以极小量存在。与通常包含针对不同决定簇 (表位) 的不同抗体的多克隆抗体制备物不同, 单克隆抗体制备物的每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。如此, 修饰语“单克隆”指示抗体自一群基本上同质的抗体获得的特性, 而不应解释为要求通过任何特定方法来生成抗体。例如, 可以通过多种技术来生成单克隆抗体, 包括但不限于杂交瘤方法、重组 DNA 方法、噬菌体展示方法、和利用含有所有或部分人免疫球蛋白基因座的转基因动物的方法, 本文中描述了用于生成单克隆抗体的此类方法和其它例示性方法。

[0072] 术语“嵌合”抗体指其中的重和 / 或轻链的一部分自特定的来源或物种衍生, 而重和 / 或轻链的剩余部分自不同来源或物种衍生的抗体。

[0073] “人共有框架”指代表人免疫球蛋白 VL 或 VH 框架序列选集中最常存在的氨基酸残基的框架。通常, 人免疫球蛋白 VL 或 VH 序列选集来自可变域序列亚组。通常, 序列亚组是如 Kabat 等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, NIH Publication91-3242, Bethesda MD (1991), 第 1-3 卷中的亚组。在一个实施方案中, 对于 VL, 亚组是如 Kabat 等, 见上文中的亚组 κI 。在一个实施方案中, 对于 VH, 亚组是如 Kabat 等, 见上文中的亚组 III。

[0074] “人源化”抗体指包含来自非人 HVR 的氨基酸残基和来自人 FR 的氨基酸残基的嵌合抗体。在某些实施方案中, 人源化抗体会包含至少一个, 通常两个基本上整个可变域, 其中所有或基本上所有 HVR (例如, CDR) 对应于非人抗体的那些, 且所有或基本上所有 FR 对应于人抗体的那些。任选地, 人源化抗体可以至少包含自人抗体衍生的抗体恒定区的一部分。抗体, 例如非人抗体的“人源化形式”指已经经历人源化的抗体。

[0075] “人抗体”指拥有与由人或人细胞生成的或利用人抗体全集或其它人抗体编码序列自非人来源衍生的抗体的氨基酸序列对应的氨基酸序列的抗体。人抗体的此定义明确排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

[0076] “裸抗体”指未与异源模块 (例如细胞毒性模块) 或放射性标记物缀合的抗体。裸抗体可以存在于药物配制剂中。

[0077] “天然抗体”指具有不同结构的天然存在的免疫球蛋白分子。例如, 天然 IgG 抗体

是约 150,000 道尔顿的异四聚糖蛋白,由二硫化物键合的两条相同轻链和两条相同重链构成。从 N 至 C 端,每条重链具有一个可变区 (VH),又称作可变重域或重链可变域,接着是三个恒定域 (CH1、CH2、和 CH3)。类似地,从 N 至 C 端,每条轻链具有一个可变区 (VL),又称作可变轻域或轻链可变域,接着是一个恒定轻 (CL) 域。根据其恒定域氨基酸序列,抗体轻链可归入两种类型中的一种,称作卡帕 (κ) 和拉姆达 (λ)。

[0078] “亲和力”指分子(例如抗体)的单一结合位点与其结合配偶体(例如抗原)之间全部非共价相互作用总和的强度。除非另有指示,如本文中使用的,“结合亲和力”指反映结合对的成员(例如抗体和抗原)之间 1:1 相互作用的内在结合亲和力。分子 X 对其配偶体 Y 的亲和力通常可以用解离常数 (Kd) 来表述。亲和力可以通过本领域知道的常用方法来测量,包括本文中所描述的方法。下文描述了用于测量结合亲和力的具体的说明性和例示性的实施方案。

[0079] “亲和力成熟的”抗体指在一个或多个 HVR 中具有一处或多处改变的抗体,与不拥有此类改变的亲本抗体相比,此类改变导致该抗体对抗原的亲和力改善。

[0080] 具有指定抗体的“生物学特征”的抗体指拥有该指定抗体区别于其它结合相同抗原的抗体的一项或多项生物学特征的抗体。

[0081] 抗体的“功能性抗原结合位点”指能够结合靶抗原的位点。抗原结合位点的抗原结合亲和力不必像衍生该抗原结合位点的亲本抗体那样强,但是结合抗原的能力必须是使用已知用于评估抗体对抗原结合的多种方法之任一可测量到的。此外,本文中多价抗体的每个抗原结合位点的抗原结合亲和力不必在量上相同。对于本文中的多聚体抗体,功能性抗原结合位点的数目可以使用超速离心分析来评估,如美国专利申请公开文本 No. 20050186208 中所记载的。依照这种分析方法,将靶抗原与多聚体抗体以不同比例混合,并计算复合物的平均分子量,其中假设不同数目的功能性结合位点。将这些理论值与得到的实际实验值进行比较以评估功能性结合位点的数目。

[0082] “物种依赖性抗体”指这样一种抗体,其对来自第一哺乳动物物种的抗原具有强于对来自第二哺乳动物物种的该抗原同系物的结合亲和力。通常,物种依赖性抗体“特异性结合”人类抗原(即具有不超过约 $1 \times 10^{-7} \text{M}$,优选不超过约 $1 \times 10^{-8} \text{M}$,最优选不超过约 $1 \times 10^{-9} \text{M}$ 的结合亲和力 (K_d)),但对来自第二非人哺乳动物物种的该抗原同系物具有比其对人类抗原的结合亲和力弱至少约 50 倍,或至少约 500 倍,或至少约 1000 倍的结合亲和力。物种依赖性抗体可以是如上定义的各种类型的抗体。在一个实施方案中,物种依赖性抗体是人源化抗体或人抗体。

[0083] “分离的”抗体指已经与其天然环境的组分分开的抗体。在一些实施方案中,抗体纯化至大于 95% 或 99% 的纯度,如通过例如电泳(例如, SDS-PAGE、等电聚焦 (IEF)、毛细管电泳)或层析(例如,离子交换或反相 HPLC)测定的。关于用于评估抗体纯度的方法的综述,见例如 Flatman 等, J. Chromatogr. B848:79-87 (2007)。

[0084] 短语“基本上相似”或“基本上相同”在用于本文时指两个数值之间足够高的相似程度(例如一个与抗体有关,另一个与参照/比较抗体有关),以致本领域技术人员将认为在用所述数值(例如 Kd 值)所测量的生物学特性背景内两个数值之间的差异具有很小的或没有生物学和/或统计学显著性。

[0085] 短语“实质性降低”或“实质性不同”在用于本文时指两个数值之间足够高的差异

程度(通常一个与分子有关,另一个与参照/比较分子有关),以致本领域技术人员将认为在用所述数值(例如 Kd 值)所测量的生物学特性背景内两个数值之间的差异具有统计学显著性。

[0086] “效应器功能”指那些可归于抗体 Fc 区且随抗体同种型而变化的生物学活性。抗体效应器功能的例子包括:Clq 结合和补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc 受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如 B 细胞受体)下调;和 B 细胞活化。

[0087] “免疫缀合物”指与一种或多种异源分子,包括但不限于细胞毒剂缀合的抗体。

[0088] 在用于本文时,术语“细胞毒剂”指抑制或阻止细胞功能和/或引起细胞死亡或破坏的物质。细胞毒剂包括但不限于:放射性同位素(例如 At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹² 和 Lu 的放射性同位素);化学治疗剂或药物(例如甲氨蝶呤(methotrexate)、阿霉素(adriamycin)、长春花生物碱类(vinca alkaloids)(长春新碱(vincristine)、长春碱(vinblastine)、依托泊苷(etoposide)、多柔比星(doxorubicin)、美法仑(melphalan)、丝裂霉素(mitomycin)C、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、柔红霉素(daunorubicin)或其它嵌入剂);生长抑制剂;酶及其片段,诸如溶核酶;抗生素;毒素,诸如小分子毒素或者细菌、真菌、植物或动物起源的酶活性毒素,包括其片段和/或变体;及下文公开的各种抗肿瘤或抗癌剂。

[0089] “病症”指任何会受益于本文所述物质/分子或方法的治疗的疾患。这包括慢性和急性病症或疾病,包括那些使哺乳动物倾向于所讨论病症的病理状况。本文中待治疗的病症的非限制性例子包括恶性和良性肿瘤;非白血病(non-leukemia)和淋巴样恶性肿瘤;神经元、神经胶质、星形细胞、下丘脑和其它腺体、巨噬细胞、上皮、基质(stromal)和囊胚腔病症;及炎性、免疫性和其它血管发生相关的病症。

[0090] 术语“细胞增殖性病症”和“增殖性病症”指与一定程度的异常细胞增殖有关的病症。在一个实施方案中,细胞增殖性病症指癌症。

[0091] 如本文中使用的,“肿瘤”指所有赘生性(neoplastic)细胞生长和增殖,无论是恶性的还是良性的,及所有癌前(pre-cancerous)和癌性细胞和组织。术语“癌症”、“癌性”、“细胞增殖性病症”、“增殖性病症”和“肿瘤”在本文中提到时并不互相排斥。

[0092] 术语“癌症”和“癌性”指向或描述哺乳动物中特征通常为细胞生长/增殖不受调控的生理疾患。癌症的例子包括但不限于癌、淋巴瘤(例如何杰金氏(Hodgkin)淋巴瘤和非何杰金氏淋巴瘤)、母细胞瘤、肉瘤和白血病。此类癌症的更具体例子包括鳞状细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺的腺癌、肺的鳞癌、腹膜癌、肝细胞癌、胃肠癌、胰腺癌、胶质瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌(liver cancer)、膀胱癌、肝瘤(hepatoma)、乳腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌(hepatic carcinoma)、白血病和其它淋巴增殖性病症、及各种类型的头和颈癌。在一些实施方案中,癌症是三重阴性(ER-、PR-、HER2-)癌症。在一些实施方案中,癌症是三重阴性转移性乳腺癌,包括任何经组织学确认的具有局部复发性或转移性疾病的三重阴性(ER-、PR-、HER2-)乳腺癌,例如局部复发疾病不适合具有治愈目的的切除术的情况。

[0093] “转移”指癌自其原发部位传播至身体中的其它位置。癌细胞能脱离原发性肿瘤,渗透入淋巴和血管,经由血流而循环和在身体中其它地方的正常组织中的远端病灶(转移)

中生长。转移可以是局部的或远端的。转移是一个连续过程,视肿瘤细胞自原发性肿瘤脱落、经由血流而传播、并在远端部位停止而定。在新的部位,该细胞建立血供且能生长至形成危及生命的团块。

[0094] 在用于本文时,“治疗”(及其语法变化形式,诸如“处理”或“处置”)指试图改变所治疗个体的自然进程的临床干预,可以是为了预防或在临床病理学的进程中进行。治疗的期望效果包括但不限于预防疾病的发生或复发、缓解症状、削弱疾病的任何直接或间接病理学后果、预防转移、减缓疾病进展的速率、改善或减轻疾病状态、及免除或改善预后。在一些实施方案中,使用抗体来延迟疾病的发生/发展,或用于减缓疾病的进展。

[0095] 药剂(例如药物配制剂)的“有效量”指在必需的剂量和时段上有效实现期望的治疗或预防结果的量。

[0096] “治疗有效量”指治疗剂在哺乳动物中治疗或预防疾病或病症的量。在癌症的情况下,治疗有效量的治疗剂可减少癌细胞的数目;缩小原发性肿瘤的尺寸;抑制(即一定程度的减缓,优选阻止)癌细胞浸润入周围器官;抑制(即一定程度的减缓,优选阻止)肿瘤转移;一定程度的抑制肿瘤生长;和/或一定程度的减轻一种或多种与病症有关的症状。根据药物可阻止现有癌细胞生长和/或杀死现有癌细胞的程度,它可以是细胞抑制性的和/或细胞毒性的。对于癌症疗法,体内功效可以通过例如评估存活持续时间、距疾病进展的时间(TTP)、响应率(RR)、响应持续时间、和/或生活质量来测量。

[0097] “个体”或“受试者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于驯养的动物(例如,牛、绵羊、猫、犬、和马)、灵长类(例如,人和非人灵长类诸如猴)、家兔、和啮齿类(例如,小鼠和大鼠)。在某些实施方案中,个体或受试者是人。

[0098] 术语“抗癌疗法”指在治疗癌症中有用的疗法。抗癌治疗剂的例子包括但不限于例如化疗剂、生长抑制剂、细胞毒剂、放射疗法中所使用的药剂、抗血管发生剂、凋亡剂、抗微管蛋白剂、和其它治疗癌症的药剂,抗CD20抗体、血小板衍生生长因子抑制剂(例如GleevecTM(Imatinib Mesylate))、COX-2抑制剂(例如celecoxib)、干扰素、细胞因子、结合一种或多种以下靶物的拮抗剂(例如中和性抗体)(PDGFR- β 、BlyS、APRIL、BCMA受体、TRAIL/Apo2)、和其它生物活性和有机化学剂,等。本发明还包括它们的组合。

[0099] 在用于本文时,术语“细胞毒剂”指抑制或阻止细胞功能和/或引起细胞破坏的物质。该术语意图包括放射性同位素(例如At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹²和Lu的放射性同位素);化学治疗剂(例如甲氨蝶呤(methotrexate)、阿霉素(adriamycin)、长春花生物碱类(vinca alkaloids)(长春新碱(vincristine)、长春碱(vinblastine)、依托泊苷(etoposide))、多柔比星(doxorubicin)、美法仑(melphalan)、丝裂霉素(mitomycin)C、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、柔红霉素(daunorubicin)或其它嵌入剂);酶及其片段,诸如溶核酶;抗生素;毒素,诸如小分子毒素或者细菌、真菌、植物或动物起源的酶活性毒素,包括其片段和/或变体;及下文公开的各种抗肿瘤或抗癌剂。下文描述了其它细胞毒剂。杀肿瘤剂引起肿瘤细胞破坏。

[0100] “化疗剂”指可用于治疗癌症的化学化合物。化疗剂的实例包括烷化剂类(alkylating agents),诸如塞替派(thiotepa)和环磷酰胺(cyclophosphamide)(CYTOXAN[®]);磺酸烷基酯类(alkyl sulfonates),诸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan);氮丙啶类(aziridines),诸

如苯佐替派 (benzodepa)、卡波醌 (carboquone)、美妥替派 (meturedepa) 和乌瑞替派 (uredepa); 乙撑亚胺类 (ethylenimines) 和甲基蜜胺类 (methylamelamines), 包括六甲蜜胺 (altretamine)、三乙撑蜜胺 (triethylenemelamine)、三乙撑磷酰胺 (triethylenephosphoramidate)、三乙撑硫代磷酰胺 (triethylenethiophosphoramidate) 和三羟甲蜜胺 (trimethylolomelamine); 番荔枝内酯类 (acetogenin) (尤其是布拉他辛 (bullatacin) 和布拉他辛酮 (bullatacinone)); δ -9-四氢大麻酚 (tetrahydrocannabinol) (屈大麻酚 (dronabinol), **MARINOL®**); β -拉帕醌 (lapachone); 拉帕醇 (lapachol); 秋水仙素类 (colchicines); 白桦脂酸 (betulinic acid); 喜树碱 (camptothecin) (包括合成类似物托泊替康 (topotecan) (**HYCAMTIN®**))、CPT-11 (伊立替康 (irinotecan), **CAMPTOSAR®**)、乙酰喜树碱、东莨菪亭 (scopoletin) 和 9-氨基喜树碱); 苔藓抑素 (bryostatin); callystatin; CC-1065 (包括其阿多来新 (adozelesin)、卡折来新 (carzelesin) 和比折来新 (bizelesin) 合成类似物); 鬼臼毒素 (podophyllotoxin); 鬼臼酸 (podophyllinic acid); 替尼泊苷 (teniposide); 隐藻素类 (cryptophycins) (特别是隐藻素 1 和隐藻素 8); 多拉司他汀 (dolastatin); duocarmycin (包括合成类似物, KW-2189 和 CB1-TM1); 艾榴塞洛素 (eleutherobin); pancratistatin; sarcodictyin; 海绵抑素 (spongistatin); 氮芥类 (nitrogen mustards), 诸如苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、萘氮芥 (chlornaphazine)、胆磷酰胺 (cholophosphamide)、雌莫司汀 (estramustine)、异环磷酰胺 (ifosfamide)、双氯乙基甲胺 (mechlorethamine)、盐酸氧氮芥 (mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法仑 (melphalan)、新氮芥 (novembichin)、苯芥胆甾醇 (phenesterine)、泼尼莫司汀 (prednimustine)、曲磷胺 (trofosfamide)、尿嘧啶氮芥 (uracil mustard); 亚硝脲类 (nitrosoureas), 诸如卡莫司汀 (carmustine)、氯脲菌素 (chlorozotocin)、福莫司汀 (fotemustine)、洛莫司汀 (lomustine)、尼莫司汀 (nimustine) 和雷莫司汀 (ranimustine); 抗生素类, 诸如烯二炔类抗生素 (enediyne) (如加利车霉素 (calicheamicin), 尤其是加利车霉素 γ II 和加利车霉素 ω II (参见例如 Nicolaou 等人, Angew. Chem. Intl. Ed. Engl., 33:183-186(1994))); CDP323, 一种口服 α -4 整联蛋白抑制剂; 蒽环类抗生素 (dynemicin), 包括 dynemicin A; 埃斯波霉素 (esperamicin); 以及新制癌素 (neocarzinostatin) 发色团和相关色蛋白烯二炔类抗生素发色团)、阿克拉霉素 (aclacinomycin)、放线菌素 (actinomycin)、氨茴霉素 (anthramycin)、偶氮丝氨酸 (azaserine)、博来霉素 (bleomycin)、放线菌素 C (cactinomycin)、carabycin、洋红霉素 (carminomycin)、嗜癌霉素 (carzinophilin)、色霉素 (chromomycin)、放线菌素 D (dactinomycin)、柔红霉素 (daunorubicin)、地托比星 (detorubicin)、6-二氮-5-氧-L-正亮氨酸、多柔比星 (doxorubicin) (包括 **ADRIAMYCIN®**、吗啉代多柔比星、氰基吗啉代多柔比星、2-吡咯代多柔比星、盐酸多柔比星脂质体注射剂 (**DOXIL®**)、脂质体多柔比星 TLC D-99 (**MYOCET®**)、PEG 化脂质体多柔比星 (**CAELYX®**)、和脱氧多柔比星)、表柔比星 (epirubicin)、依索比星 (esorubicin)、伊达比星 (idarubicin)、麻西罗霉素 (marcellomycin)、丝裂霉素类 (mitomycins) 诸如丝裂霉素 C、霉酚酸 (mycophenolic acid)、诺拉霉素 (nogalamycin)、橄榄

霉素 (olivomycin)、培洛霉素 (peplomycin)、泊非霉素 (potfiromycin)、嘌呤霉素 (puromycin)、三铁阿霉素 (quelamycin)、罗多比星 (rodorubicin)、链黑菌素 (streptonigrin)、链佐星 (streptozocin)、杀结核菌素 (tubercidin)、乌苯美司 (ubenimex)、净司他丁 (zinostatin)、佐柔比星 (zorubicin); 抗代谢物类, 诸如甲氨蝶呤、吉西他滨 (gemcitabine) (**GEMZAR®**)、替加氟 (tegafur) (**UFTORAL®**)、卡培他滨 (capecitabine) (**XELODA®**)、埃坡霉素 (epothilone) 和 5- 氟尿嘧啶 (5-FU); 叶酸类似物, 诸如二甲叶酸 (denopterin)、甲氨蝶呤、蝶酰三谷氨酸 (pteropterin)、三甲曲沙 (trimetrexate); 嘌呤类似物, 诸如氟达拉滨 (fludarabine)、6- 巯基嘌呤 (mercaptopurine)、硫咪嘌呤 (thiamiprine)、硫鸟嘌呤 (thioguanine); 嘧啶类似物, 诸如安西他滨 (ancitabine)、阿扎胞苷 (azacitidine)、6- 氮尿苷、卡莫氟 (carmofur)、阿糖胞苷 (cytarabine)、双脱氧尿苷 (dideoxyuridine)、去氧氟尿苷 (doxifluridine)、依诺他滨 (enocitabine)、氟尿苷 (floxuridine); 雄激素类, 诸如卡鲁睾酮 (calusterone)、丙酸屈他雄酮 (dromostanolone propionate)、表硫雄醇 (epitio stanol)、美雄烷 (mepitio stanane)、睾内酯 (testolactone); 抗肾上腺类, 诸如氨鲁米特 (aminoglutethimide)、米托坦 (mitotane)、曲洛司坦 (trilostane); 叶酸补充剂, 诸如亚叶酸 (folinic acid); 醋葡萄糖内酯 (aceglatone); 醛磷酰胺糖苷 (aldophosphamide glycoside); 氨基乙酰丙酸 (aminolevulinic acid); 恩尿嘧啶 (eniluracil); 安吡啶 (amsacrine); bestrabucil; 比生群 (bisantrene); 依达曲沙 (edatraxate); 地磷酰胺 (defosfamide); 地美可辛 (demecolcine); 地吡醌 (diaziquone); elfornithine; 依利醋铵 (elliptinium acetate); epothilone; 依托格鲁 (etoglucid); 硝酸镓; 羟脲 (hydroxyurea); 香菇多糖 (lentinan); 氯尼达明 (lonidamine); 美登木素生物碱类 (maytansinoids), 诸如美登素 (maytansine) 和安丝菌素 (ansamitocin); 米托胍脲 (mitoguazone); 米托蒽醌 (mitoxantrone); 莫哌达醇 (mopidamol); 二胺硝吡啶 (nitracrine); 喷司他丁 (pentostatin); 蛋氨酸芥 (phenamet); 吡柔比星 (pirarubicin); 洛索蒽醌 (losoxantrone); 2- 乙基酰肼 (ethylhydrazide); 丙卡巴肼 (procarbazine); **PSK®** 多糖复合物 (JHS Natural Products, Eugene, OR); 雷佐生 (razoxane); 根霉素 (rhizoxin); 西索菲兰 (sizofiran); 螺旋锗 (spirogermanium); 细交链孢菌酮酸 (tenuazonic acid); 三亚胺醌 (triaziquone); 2, 2', 2''- 三氯三乙胺; 单端孢菌素类 (trichothecenes) (尤其是 T-2 毒素、疣孢菌素 (verrucarin) A、杆孢菌素 (roridin) A 和蛇行菌素 (anguidin)); 乌拉坦 (urethan); 长春地辛 (vindesine) (**ELDISINE®**, **FILDESIN®**); 达卡巴嗪 (dacarbazine); 甘露醇氮芥 (mannomustine); 二溴甘露醇 (mitobronitol); 二溴卫矛醇 (mitolactol); 哌泊溴烷 (pipobroman); gacytosine; 阿糖胞苷 (arabinoside) ("Ara-C"); 塞替派 (thiotepa); 类紫杉醇 (taxoids), 例如帕利他塞 (paclitaxel) (**TAXOL®**)、清蛋白改造的纳米颗粒剂型帕利他塞 (ABRAXANE™) 和多西他塞 (doxorubicin) (**TAXOTERE®**); 苯丁酸氮芥 (chlorambucil); 6- 硫鸟嘌呤 (thioguanine); 巯基嘌呤 (mercaptopurine); 甲氨蝶呤 (methotrexate); 铂类似物, 诸如顺铂 (cisplatin)、奥沙利铂 (oxaliplatin) (例如

ELOXATIN®) 和卡铂 (carboplatin); 长春药类 (vincas), 其阻止微管蛋白聚合形成微管, 包括长春碱 (vinblastine) (**VELBAN®**)、长春新碱 (vincristine) (**ONCOVIN®**)、长春地辛 (vindesine) (**ELDISINE®**, **FILDESIN®**)、和长春瑞滨 (vinorelbine) (**NAVELBINE®**); 依托泊苷 (etoposide) (VP-16); 异环磷酰胺 (ifosfamide); 米托蒽醌 (mitoxantrone); 亚叶酸 (leucovorin); 能灭瘤 (novantrone); 依达曲沙 (edatrexate); 道诺霉素 (daunomycin); 氨基蝶呤 (aminopterin); 伊本膦酸盐 (ibandronate); 拓扑异构酶抑制剂 RFS2000; 二氟甲基鸟氨酸 (DMF0); 类维 A 酸 (retinoids), 诸如维 A 酸 (retinoic acid), 包括贝沙罗汀 (bexarotene) (**TARGRETIN®**); 二膦酸盐类 (bisphosphonates), 诸如氯膦酸盐 (clodronate) (例如 **BONEFOS®** 或 **OSTAC®**)、依替膦酸钠 (etidronate) (**DIDROCAL®**)、NE-58095、唑来膦酸 / 唑来膦酸盐 (zoledronic acid/zoledronate) (**ZOMETA®**)、阿伦膦酸盐 (alendronate) (**FOSAMAX®**)、帕米膦酸盐 (pamidronate) (**AREDIA®**)、替鲁膦酸盐 (tiludronate) (**SKELID®**) 或利塞膦酸盐 (risedronate) (**ACTONEL®**); 以及曲沙他滨 (troxacitabine) (1, 3- 二氧戊环核苷胞嘧啶类似物); 反义寡核苷酸, 特别是抑制牵涉异常细胞增殖的信号途经中的基因表达的反义寡核苷酸, 诸如例如 PKC- α 、Raf、H-Ras 和表皮生长因子受体 (EGF-R); 疫苗, 诸如 **THERATOPE®** 疫苗和基因疗法疫苗, 例如 **ALLOVECTIN®** 疫苗、**LEUVECTIN®** 疫苗和 **VAXID®** 疫苗; 拓扑异构酶 1 抑制剂 (例如 **LURTOTECAN®**); rmRH (例如 **ABARELIX®**); BAY439006 (sorafenib; Bayer); SU-11248 (sunitinib, **SUTENT®**, Pfizer); 哌立福辛 (perifosine), COX-2 抑制剂 (如塞来考昔 (celecoxib) 或艾托考昔 (etoricoxib)), 蛋白体抑制剂 (例如 PS341); bortezomib (**VELCADE®**); CCI-779; tipifarnib (R11577); orafenib, ABT510; Bcl-2 抑制剂, 诸如 oblimersen sodium (**GENASENSE®**); pixantrone; EGFR 抑制剂 (见下文定义); 酪氨酸激酶抑制剂 (见下文定义); 丝氨酸 - 苏氨酸激酶抑制剂, 诸如雷帕霉素 (rapamycin) (sirolimus, **RAPAMUNE®**); 法尼基转移酶抑制剂, 诸如 lonafarnib (SCH6636, SARASARTM); 及任何上述各项的药学可接受盐、酸或衍生物; 以及两种或更多种上述各项的组合, 诸如 CHOP (环磷酰胺、多柔比星、长春新碱和泼尼松龙联合疗法的缩写) 和 FOLFOX (奥沙利铂 (**ELOXATIN™**) 联合 5-FU 和亚叶酸的治疗方案的缩写)。

[0101] 如本文中定义的化疗剂包括起调节、降低、阻断或抑制可促进癌生长的激素效果作用的“抗激素剂”或“内分泌治疗剂”类。它们自身可以是激素, 包括但不限于: 具有混合的激动剂 / 拮抗剂特性的抗雌激素类, 包括他莫昔芬 (tamoxifen) (**NOLVADEX**)、4- 羟基他莫昔芬、托瑞米芬 (toremifene) (**FARESTON®**)、艾多昔芬 (idoxifene)、屈洛昔芬 (droloxifene)、雷洛昔芬 (raloxifene) (**EVISTA®**)、曲沃昔芬 (trioxifene)、那洛昔芬 (keoxifene), 和选择性雌激素受体调节剂类 (SERM), 诸如 SERM3; 没有激动剂

特性的纯的抗雌激素类, 诸如氟维司群 (fulvestrant) (**FASLODEX®**) 和 EM800 (此类药剂可阻断雌激素受体 (ER) 二聚化、抑制 DNA 结合、提高 ER 周转、和 / 或遏制 ER 水平); 芳香酶抑制剂类, 包括类固醇芳香酶抑制剂类, 诸如福美坦 (formestane) 和依西美坦 (exemestane) (**AROMASIN®**), 和非类固醇芳香酶抑制剂类, 诸如阿那曲唑 (anastrozole) (**ARIMIDEX®**)、来曲唑 (letrozole) (**FEMARA®**) 和氨鲁米特 (aminoglutethimide), 和其它芳香酶抑制剂类, 包括伏氯唑 (vorozole) (**RIVISOR®**)、醋酸甲地孕酮 (megestrol acetate) (**MEGASE®**)、法倔唑 (fadrozole) 和 4(5)-咪唑; 促黄体生成激素释放激素激动剂类, 包括亮丙瑞林 (leuprolide) (**LUPRON®** 和 **ELIGARD®**)、戈舍瑞林 (goserelin)、布舍瑞林 (buserelin) 和曲普瑞林 (triptorelin); 性类固醇类 (sex steroids), 包括妊娠素类 (progestine), 诸如醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮 (medroxyprogesterone acetate), 雌激素类, 诸如二乙基己烯雌酚 (diethylstilbestrol) 和普雷马林 (premarin), 和雄激素类 / 类视黄酸类, 诸如氟甲睾酮 (fluoxymesterone)、所有反式视黄酸 (transretionic acid) 和芬维 A 胺 (fenretinide); 奥那司酮 (onapristone); 抗孕酮类; 雌激素受体下调剂类 (ERD); 抗雄激素类, 诸如氟他米特 (flutamide)、尼鲁米特 (nilutamide) 和比卡米特 (bicalutamide); 及任何上述物质的药剂学可接受的盐、酸或衍生物; 以及两种或多种上述物质的组合。

[0102] 术语“前体药物”在用于本申请时指与母药 (parent drug) 相比对肿瘤细胞的细胞毒性较小并能够酶促活化或转变为更具活性母药形式的药用活性物质的前体或衍生物形式。参见例如 Wilman, “Prodrugs in Cancer Chemotherapy”, Biochemical Society Transactions, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast (1986) 和 Stella 等, “Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery”, Directed Drug Delivery, Borchardt 等, (ed.), pp. 247-267, Humana Press (1985)。前体药物包括但不限于含磷酸盐 / 酯前体药物、含硫代磷酸盐 / 酯前体药物、含硫酸盐 / 酯前体药物、含肽前体药物、D-氨基酸修饰前体药物、糖基化前体药物、含 β -内酰胺前体药物、含任选取代苯氧基乙酰胺的前体药物或含任选取代苯乙酰胺的前体药物、可转化为更具活性而无细胞毒性的药物的 5-氟胞嘧啶和其它 5-氟尿苷前体药物。可衍生为使用的前体药物形式的细胞毒性药物的例子包括但不限于上文描述的那些化疗剂。

[0103] “生长抑制剂”在用于本文时指抑制细胞 (例如其生长依赖于 HGF/c-met 活化的细胞, 或在体外或在体内) 生长的化合物或组合物。因此, 生长抑制剂可以是显著降低处于 S 期的 HGF/c-met 依赖性细胞百分比的药剂。生长抑制剂的例子包括阻断细胞周期行进 (处于 S 期以外的位置) 的药剂, 诸如诱导 G1 停滞和 M 期停滞的药剂。经典的 M 期阻断剂包括长春药类 (vincas) (长春新碱 (vincristine) 和长春碱 (vinblastine))、紫杉烷类 (taxanes)、和拓扑异构酶 II 抑制剂诸如多柔比星 (doxorubicin)、表柔比星 (epirubicin)、柔红霉素 (daunorubicin)、依托泊苷 (etoposide) 和博来霉素 (bleomycin)。那些阻滞 G1 的药剂也溢出进入 S 期停滞, 例如 DNA 烷化剂类诸如他莫昔芬 (tamoxifen)、泼尼松 (prednisone)、达卡巴嗪 (dacarbazine)、双氯乙基甲胺 (mechlorethamine)、顺铂 (cisplatin)、甲氨蝶呤 (methotrexate)、5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil) 和 ara-C。更多信息可参见《The

Molecular Basis of Cancer》，Mendelsohn 和 Israel 编，第 1 章，题为“Cell cycle regulation, oncogenes, and antiepioplastic drugs”，Murakaini 等 人，WB Saunders, Philadelphia, 1995，尤其是第 13 页。紫杉烷类(紫杉醇 (paclitaxel) 和多西他赛 (docetaxel)) 是衍生自紫杉树的抗癌药。衍生自欧洲紫杉的多西他赛 (**TAXOTERE®**, Rhone-Poulenc Rorer) 是紫杉醇 (**TAXOL®**, Bristol-Myers Squibb) 的半合成类似物。紫杉醇和多西他赛促进由微管蛋白二聚体装配成微管并通过防止解聚使微管稳定，导致对细胞中有丝分裂的抑制。

[0104] “放射疗法”或“放疗”指使用定向伽马射线或贝塔射线来诱发对细胞的足够损伤，以限制细胞正常发挥功能的能力或全然破坏细胞。应当领会，本领域知道许多方式来确定治疗的剂量和持续时间。典型的治疗作为一次施用来给予，而典型的剂量范围为每天 10-200 个单位(戈瑞 (Gray))。

[0105] 术语“并行”在本文中用于指使用两种或更多种治疗剂，其中至少部分施用在时间上交叠。因而，并行施用包括如下的剂量给药方案，一种或多种药剂的施用中断后施用一种或多种其它药剂。

[0106] “降低或抑制”指引起 20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或更多的总体降低的能力。降低或抑制可以指所治疗的病症的症状、转移的存在或大小、或原发性肿瘤的大小。

[0107] 术语“包装插页”用于指治疗产品的商业包装中通常包含的用法说明书，其含有关于涉及此类治疗产品应用的适应症、用法、剂量、施用、联合疗法、禁忌症和 / 或警告的信息。

[0108] 要理解，本文所述发明的方面和实施方案包括“由 组成”和 / 或“基本上由 组成”方面和实施方案。

[0109] 如本文中所使用的，单数形式“一个”、“一种”、和“所述”包括复数所指物，除非另有说明。

[0110] 本领域技术人员会理解，本文中提及“约”数值或参数包括(并描述)涉及该数值或参数本身的实施方案。例如，提及“约 X”的描述包括“X”的描述。

[0111] II. 药物配制剂

[0112] 本文中提供包含抗 c-met 抗体的药物配制剂。在一些实施方案中，该药物配制剂为液体药物配制剂。在一些实施方案中，该药物配制剂为稳定的药物配制剂。在一些实施方案中，该药物配制剂为稳定的液体药物配制剂。在一些实施方案中，该抗 c-met 抗体为拮抗性抗 c-met 抗体。在一些实施方案中，该抗 c-met 抗体为单价抗 c-met 抗体。药物配制剂中抗 c-met 抗体聚集的最小化是特别重要的。已经显示了抗 c-met 抗体的二价形式促进二聚化且导致 c-met 活化(激动功能)，而相反，单价抗体抑制 c-met 活性(拮抗功能)。包含抗 c-met 抗体的药物配制剂中单价抗体聚集(形成多聚体和寡聚体)和 / 或未能维持单价结构可导致不想要的激动效应。

[0113] 特别地，本文中提供药物配制剂，其包含 (a) 抗 c-met 抗体和 (b) 聚山梨酯，其中该聚山梨酯浓度大于 0.02%w/v。在一些实施方案中，该药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体；(b) 聚山梨酯，其中该聚山梨酯浓度大于 0.02%w/v；和 (c) 组氨酸缓冲剂(例如 pH 介于

5.0 和 5.4 之间的组氨酸缓冲剂)。在一些实施方案中,该药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体;(b)pH5.0-5.4 的组氨酸缓冲剂;(c) 糖类;和 (d) 聚山梨酯,其中该聚山梨酯浓度大于 0.02%w/v。在一些实施方案中,该药物配制剂为液体药物配制剂。在一些实施方案中,该药物配制剂为稳定的药物配制剂。在一些实施方案中,该药物配制剂为稳定的液体药物配制剂。

[0114] 小节 III 中描述在药物配制剂中有用的抗 c-met 抗体。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为拮抗性抗 c-met 抗体。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为单价抗 c-met 抗体。例如,在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含单一抗原结合臂。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含单一抗原结合臂且包含 Fc 区,其中该 Fc 区包含第一和第二 Fc 多肽,其中该第一和第二 Fc 多肽存在于一个复合物中。在一些实施方案中,该第一和第二 Fc 多肽形成与包含所述抗原结合臂的 Fab 分子相比提高所述抗体片段的稳定性的 Fc 区。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含:包含氨基酸序列 SEQ ID NO:1 的 HVR-L1,包含氨基酸序列 SEQ ID NO:2 的 HVR-L2,包含氨基酸序列 SEQ ID NO:3 的 HVR-L3,包含氨基酸序列 SEQ ID NO:4 的 HVR-H1,包含氨基酸序列 SEQ ID NO:5 的 HVR-H2,和包含氨基酸序列 SEQ ID NO:6 的 HVR-H3。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含 (a) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:19 的重链可变域和 (b) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:20 的轻链可变域。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含 (a) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:19、CH1 序列、和第一 Fc 多肽的第一多肽, (b) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:20 和 CL1 序列的第二多肽,和 (c) 包含第二 Fc 多肽的第三多肽。在一些实施方案中,该第一 Fc 多肽包含图 2 (SEQ ID NO:17)所示 Fc 序列且该第二 Fc 多肽包含图 3 (SEQ ID NO:18)中所示 Fc 序列。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为 onartuzumab。

[0115] 在本文所述任何药物配制剂的一些实施方案中,药物配制剂中的抗 c-met 抗体以介于约 10mg/mL 和约 100mg/mL 之间的浓度存在。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab) 的浓度介于约 10mg/mL 至 50mg/mL, 10mg/mL 至 75mg/mL, 25mg/mL 至 75mg/mL, 50mg/mL 至 100mg/mL, 50mg/mL 至 75mg/mL, 和 / 或 75mg/mL 至 100mg/mL 任一之间。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab)的浓度大于约 20mg/mL, 30mg/mL, 40mg/mL, 50mg/mL, 60mg/mL, 70mg/mL, 或 100mg/mL 任一。例如,在一些实施方案中,该药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab), 其中该抗 c-met 抗体以介于约 50mg/mL 和约 75mg/mL 之间的浓度存在;(b)pH5.0-5.4 的组氨酸缓冲剂;(c) 糖类;和 (d) 聚山梨酯,其中该聚山梨酯浓度大于 0.02%w/v。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab) 的浓度小于约 150mg/mL, 125mg/mL, 100mg/mL, 或 75mg/mL 任一。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab) 的浓度为约 20mg/mL, 30mg/mL, 40mg/mL, 50mg/mL, 60mg/mL, 70mg/mL, 或 80mg/mL 任一。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab) 的浓度为约 60mg/mL。

[0116] 药物配制剂优选包含聚山梨酯。一般以降低聚集物形成(诸如摇动或运输时发生的)的量包括聚山梨酯。聚山梨酯的例子包括但不限于聚山梨酯 20 (聚氧乙烯 (20) 山梨聚糖单月桂酸酯),聚山梨酯 40 (聚氧乙烯 (20) 山梨聚糖单棕榈酸酯),聚山梨酯 60 (聚氧乙烯 (20) 山梨聚糖单硬脂酸酯),和 / 或聚山梨酯 80 (聚氧乙烯 (20) 山梨聚糖单油酸酯)。在一些实施方案中,聚山梨酯为聚山梨酯 20 (聚氧乙烯 (20) 山梨聚糖单月桂酸酯)。在本

文所述任何药物配制剂的一些实施方案中,聚山梨酯浓度足以在长期储存时和/或在施用期间(例如在 IV 袋中稀释之后)最小化聚集和/或维持稳定性。在一些实施方案中,聚山梨酯浓度大于 0.02%w/v,大于或等于约 0.03%w/v,或大于或等于约 0.04%w/v。在一些实施方案中,聚山梨酯浓度大于 0.02%w/v 且小于约 0.1%w/v。在一些实施方案中,聚山梨酯浓度大于 0.03%w/v 且小于约 0.1%w/v。在一些实施方案中,聚山梨酯浓度为约 0.03%w/v,0.04%w/v,或 0.05%w/v 任一。在一些实施方案中,聚山梨酯以约 0.04%w/v 的浓度存在。例如,在一些实施方案中,该药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab);(b) pH5.0-5.4 的组氨酸缓冲剂;(c) 糖类;和 (d) 聚山梨酯 20,其中该聚山梨酯 20 浓度为约 0.04%w/v。

[0117] 药物配制剂优选包含糖类。糖类包括单糖,二糖,三糖,多糖,糖醇,还原糖,非还原糖,等。糖类的别的例子包括但不限于葡萄糖,蔗糖,海藻糖,乳糖,果糖,麦芽糖,右旋糖酐,甘油(glycerin),右旋糖酐,赤藻糖醇,甘油(glycerol),阿糖醇,syllitol,山梨糖醇,甘露醇,蜜二糖,松三糖,棉子糖,甘露三糖,水苏糖,麦芽糖,乳果糖,麦芽酮糖,glucitol,麦芽糖醇,乳糖醇,异麦芽酮糖,等。在一些实施方案中,该糖类为二糖。在一些实施方案中,该糖类为非还原二糖。在一些实施方案中,该糖类为海藻糖。在一些实施方案中,该糖类为蔗糖。例如,在一些实施方案中,该药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab);(b) pH5.0-5.4 的组氨酸缓冲剂;(c) 蔗糖;和 (d) 聚山梨酯,其中该聚山梨酯浓度大于 0.02%w/v。

[0118] 一般以降低聚集物形成的量包括糖类。在本文所述任何药物配制剂的一些实施方案中,糖类以介于约 50mM 至 250mM,75mM 至 200mM,75mM 至 150mM,100mM 至 150mM,或 110mM 至 130mM 任一之间的浓度存在。在一些实施方案中,糖类以大于约 50mM,75mM,100mM,110mM,或 115mM 任一的浓度存在。在一些实施方案中,糖类以约 100mM,110mM,120mM,130mM,或 140mM 任一的浓度存在。在一些实施方案中,糖类以约 120mM 的浓度存在。例如,在一些实施方案中,药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab);(b) pH5.0-5.4 的组氨酸缓冲剂;(c) 蔗糖,其中该蔗糖以约 120mM 的浓度存在;和 (d) 聚山梨酯,其中该聚山梨酯浓度大于 0.02%w/v。

[0119] 药物配制剂优选包含组氨酸缓冲剂。组氨酸缓冲剂的例子包括但不限于组氨酸氯化物,组氨酸琥珀酸酯,组氨酸乙酸酯,组氨酸磷酸酯,组氨酸硫酸酯。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂为组氨酸乙酸酯。在本文所述任何药物配制剂的一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂浓度介于约 1mM 至 50mM,1mM 至 35mM,1mM 至 25mM,1mM 至 20mM,7.5mM 至 12.5mM,或 5mM 至 15mM 任一之间。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂浓度大于或等于约 5mM,7.5mM,或 10mM 任一。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂浓度为约 5mM,7.5mM,10mM,12.5mM,或 15mM 任一。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂浓度为约 10mM。在本文所述任何药物配制剂的一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂处于介于 pH5.0 和 5.4 之间的 pH,例如约 pH5.0, pH5.1, pH5.2, pH5.3, 或 pH5.4 任一。在一些实施方案中,该 pH 介于 pH5.1 和 5.4 之间。例如,在一些实施方案中,药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab);(b) pH5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于约 10mM 的浓度;(c) 糖类;和 (d) 聚山梨酯,其中该聚山梨酯浓度大于 0.02%w/v。

[0120] 在一些实施方案中,药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以介于约 50mg/mL 和约 75mg/mL 之间的浓度存在;(b) pH5.0-5.4 的组氨酸

乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于介于约 1mM 和约 20mM 之间的浓度;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于介于约 100mM 至约 150mM 之间的浓度;和 (d) 聚山梨酯 20,其中该聚山梨酯 20 浓度大于 0.02%w/v。在一些实施方案中,该药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以约 60mg/mL 的浓度存在;(b) pH5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于约 10mM 的浓度;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于约 120mM 的浓度;和 (d) 聚山梨酯 20,其中该聚山梨酯 20 浓度为约 0.04%w/v。

[0121] 如果对于所治疗的具体适应证而言必要的话,本文中的药物配制剂还可含有超过一种活性化合物,优选那些活性互补且彼此没有不利影响的。合适地,此类分子以对于预定目的有效的量组合存在。

[0122] 而且,本文中提供装有本文所述药物配制剂的管形瓶和填充管形瓶的方法。在一些实施方案中,在具有注射器可刺穿的塞子的管形瓶中提供该药物配制剂,优选处于含水形式。期望将管形瓶于约 2-8℃ 以及直至 30℃ 储存 24 小时,直到将它施用于需要它的受试者。管形瓶可例如为 15cc 管形瓶(例如用于 600mg 剂量)或 20cc 管形瓶(例如用于 900mg 剂量)。

[0123] 用于施用的药物配制剂优选为液体配制剂(未冻干)且尚未进行在先冻干。虽然该药物配制剂可以冻干,但是优选它是未冻干的。在药物配制剂的一些实施方案中,该药物配制剂为冻干药物配制剂。在一些实施方案中,该药物配制剂为液体配制剂。在一些实施方案中,该药物配制剂不含致张力变化(tonicifying)量的盐诸如氯化钠。在任何药物配制剂的一些实施方案中,该药物配制剂是稀释的。

[0124] 在任何药物配制剂的一些实施方案中,包含抗 c-met 抗体的药物配制剂是稳定的。在一些实施方案中,包含抗 c-met 抗体的药物配制剂是物理稳定的。在一些实施方案中,包含抗 c-met 抗体的药物配制剂是化学稳定的。在一些实施方案中,包含抗 c-met 抗体的药物配制剂是物理稳定的且化学稳定的。在一些实施方案中,该药物配制剂包含拮抗性抗 c-met 抗体且基本上检测不到药物配制剂的激动活性。检测激动和/或拮抗活性的方法是本领域已知的,例如美国专利 No. 6,207,152,通过述及将其完整收录。在一些实施方案中,该药物配制剂是基本上无免疫原性的。

[0125] 在任何药物配制剂的一些实施方案中,该药物配制剂于约 40℃ 储存约 2 周或约 4 周,于约 25℃ 储存约 1 个月或约 3 个月;于约 5℃ 储存约 6 个月,约 1 年,或约 2 年,和/或于约 -20℃ 储存约 3 个月,约 6 个月,或约 1 年后没有显著导致聚集物形成增加。在一些实施方案中,该药物配制剂于约 40℃ 储存约 2 周或约 4 周,于约 25℃ 储存约 1 个月或约 3 个月;于约 5℃ 储存约 6 个月,约 1 年,或约 2 年,和/或于约 -20℃ 储存约 3 个月,约 6 个月,或约 1 年后具有降低或更低水平的聚集物形成(例如与 pH5.7 的相似配制剂相比)。

[0126] 高分子量种类(HMWS)一般大于参照分子。例如,onartuzumab 为约 100kDa(99,161 道尔顿),因此 HMWS 大于约 100kDa。二价抗体的大小为大约 150kDa,而 onartuzumab 的二聚体为约 200kDa。在任何药物配制剂的一些实施方案中,该药物配制剂包含小于约 1.5%,1.25%,1%,0.75%,0.5%,0.25%,0.20% 或 0.15% 任一的 HMWS(例如在储存后)。在任何药物配制剂的一些实施方案中,该药物配制剂于约 40℃ 储存约 2 周或约 4 周,于约 25℃ 储存约 1 个月或约 3 个月;于约 5℃ 储存约 6 个月,约 1 年,或约 2 年,和/或于约 -20℃ 储存约 3 个月,约 6 个月,或约 1 年后没有显著提高 HMWS 的百分比。在一些实施方案中,该药物配制剂于

约 40℃ 储存约 2 周或约 4 周, 于约 25℃ 储存约 1 个月或约 3 个月; 于约 5℃ 储存约 6 个月, 约 1 年, 或约 2 年, 和 / 或于约 -20℃ 储存约 3 个月, 约 6 个月, 或约 1 年后具有降低或更低水平的 HMWS (例如与 pH5.7 的相似配制剂相比)。在任何药物配制剂的一些实施方案中, 该药物配制剂于约 40℃ 储存约 15 天, 30 天, 45 天, 或 60 天任一或于约 25℃ 储存约 30 天或约 60 天后没有显著提高 HMWS 的百分比。在一些实施方案中, 该药物配制剂于约 40℃ 储存约 15 天, 30 天, 45 天, 或 60 天任一或于约 25℃ 储存约 30 天或约 60 天后具有降低或更低水平的 HMWS (例如与 pH5.7 的相似配制剂相比)。

[0127] 低分子量种类 (LMWS) 一般小于参照分子。例如, onartuzumab 为约 100kDa (99, 161 道尔顿), 因此 LMWS 小于约 100kDa。在任何药物配制剂的一些实施方案中, 该药物配制剂于约 40℃ 储存约 2 周或约 4 周, 于约 25℃ 储存约 1 个月或约 3 个月; 于约 5℃ 储存约 6 个月, 约 1 年, 或约 2 年, 和 / 或于约 -20℃ 储存约 3 个月, 约 6 个月, 或约 1 年后没有显著提高降解和 / 或 LMWS 的百分比 (例如与 pH5.7 的相似配制剂相比)。在任何药物配制剂的一些实施方案中, 该药物配制剂于约 40℃ 储存约 15 天, 30 天, 45 天, 或 60 天任一, 于约 25℃ 储存约 30 天或约 60 天后没有显著提高降解和 / 或 LMWS 的百分比 (例如与 pH5.7 的相似配制剂相比)。

[0128] 在任何药物配制剂的一些实施方案中, 药物配制剂中完整聚山梨酯的百分比于约 40℃ 储存约 2 周或约 4 周, 于约 25℃ 储存约 1 个月或约 3 个月; 于约 5℃ 储存约 6 个月, 约 1 年, 或约 2 年, 和 / 或于约 -20℃ 约 3 个月, 约 6 个月, 或约 1 年后大于约 75%, 80%, 85%, 或 90% 任一。在一些实施方案中, 药物配制剂中完整聚山梨酯的百分比于约 40℃ 储存约 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 或 8 周任一后大于约 75%, 80%, 85%, 或 90% 任一。

[0129] 在任何药物配制剂的一些实施方案中, 药物配制剂中降解聚山梨酯的百分比于约 40℃ 储存约 2 周或约 4 周, 于约 25℃ 储存约 1 个月或约 3 个月; 于约 5℃ 储存约 6 个月, 约 1 年, 或约 2 年, 和 / 或于约 -20℃ 储存约 3 个月, 约 6 个月, 或约 1 年后小于约 25%, 20%, 15%, 或 10% 任一。在一些实施方案中, 药物配制剂中降解聚山梨酯的百分比于约 40℃ 储存 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 或 8 周后小于约 25%, 20%, 15%, 或 10% 任一。

[0130] 在一些实施方案中, 药物配制剂中降解聚山梨酯对完整聚山梨酯的比于约 40℃ 储存约 2 周或约 4 周, 于约 25℃ 储存约 1 个月或约 3 个月; 于约 5℃ 储存约 6 个月, 约 1 年, 或约 2 年, 和 / 或于约 -20℃ 储存约 3 个月, 约 6 个月, 或约 1 年后小于约 0.25, 0.20, 0.15 或 0.10 任一。在一些实施方案中, 药物配制剂中降解聚山梨酯对完整聚山梨酯的比于约 40℃ 储存约 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 或 8 周任一后小于约 0.25, 0.20, 0.15 或 0.10 任一。在一些实施方案中, 包含抗 c-met 抗体的药物配制剂比 pH5.7 和 / 或聚山梨酯浓度 0.02% 或更低的相似配制剂更加稳定。

[0131] 此外, 药物配制剂期望是证明在储存后和 / 或在施用期间 (例如在 IV 袋中稀释后) 稳定的药物配制剂。熟练技术人员有各种稳定性测定法可用于确认配制剂的稳定性。例如, 配制剂可以是发现于约 25℃ 储存至少约 1 个月或至少约 3 个月, 约 5℃ 储存至少约 6 个月或至少约 1 年; 和 / 或于约 -20℃ 储存至少约 6 个月或至少约 1 年后稳定的配制剂。而且, 药物配制剂优选是在冷冻 (至例如 -70℃) 和融化的药物配制剂后稳定的。本文中具体涵盖在没有冷冻 - 干燥期间发生的同步干燥的情况中, 含水药物配制剂的冷冻, 促进其更长期储存, 例如在不锈钢罐中。本文中具体涵盖药物配制剂的冷冻。因此, 可以在冷冻和融化后

对药物配制剂测试稳定性。在另一个实施方案中,在不锈钢罐中提供配制剂。不锈钢罐中的配制剂任选是冷冻的且不是冷冻-干燥的。

[0132] 要用于体内施用的药物配制剂应当是无菌的。这可以依照技术人员知道的用于生成适合施用于人类受试者的无菌药物配制剂的规程来实现,包括在制备配制剂之前或之后经过无菌过滤膜过滤。

[0133] 在任何药物配制剂的一些实施方案中,包含抗 c-met 抗体的药物配制剂在用稀释剂(例如盐水)稀释后是稳定的。例如,本文中提供装有本文所述稀释药物配制剂的 IV 袋。在一些实施方案中,该稀释剂为盐水(例如 0.9% 氯化钠)。在一些实施方案中,将抗 c-met 抗体的浓度稀释至约 0.5mg/mL, 1mg/mL, 1.5mg/mL, 2mg/mL, 3mg/mL, 4mg/mL 或 5mg/mL 任一。在一些实施方案中,将抗 c-met 抗体的浓度稀释至介于约 0.5-5mg/mL, 0.5-2.5mg/mL, 或 0.5-1.5mg/mL 任一之间。因此,例如,本文中提供药物配制剂,其包含 (a) 抗 c-met 抗体,其中该抗体浓度为约 1mg/mL, 和 (b) 聚山梨酯,其中该聚山梨酯浓度大于 0.00033%w/v。在一些实施方案中,该药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体,其中该抗体浓度为约 1mg/mL; (b) 聚山梨酯,其中该聚山梨酯浓度大于 0.00033%w/v; (c) 组氨酸缓冲剂(例如 pH 介于 5.0 和 5.4 之间的组氨酸缓冲剂)。在任何药物配制剂的一些实施方案中,该药物配制剂在 IV 袋和 / 或 IV 施用套组中是稳定的(例如物理稳定)。

[0134] 在任何药物配制剂的一些实施方案中,该药物配制剂(例如在稀释后)以约 75, 100, 125, 或 150rpm 搅动约 30 分钟, 1 小时, 1.5 小时, 或 2 小时任一后是稳定的。在任何药物配制剂的一些实施方案中,该药物配制剂(例如在稀释后)包含小于约 1.5%, 1.25%, 1%, 0.75%, 0.5%, 0.25%, 0.20% 或 0.15% 的 HMWS 任一(例如在搅动后)。

[0135] 本文中还提供制备药物配制剂的方法,包括如本文所述制备配制剂。在一些实施方案中,该方法进一步包括评估配制剂中抗 c-met 抗体的物理稳定性,化学稳定性,或生物学活性。

[0136] 可以通过于所述温度在配制时间左右以及储存后,施用期间,和 / 或搅动后评估配制剂中抗体的物理稳定性,化学稳定性,和 / 或生物学活性来测试稳定性。可以以多种不同方式定性和 / 或定量评估物理和 / 或化学稳定性,包括评估聚集物形成(例如使用大小排阻层析,通过测量浊度,和 / 或通过目视检查);通过使用阳离子交换层析或毛细管区带电泳来评估电荷异质性;氨基末端或羧基末端序列分析;质谱分析;SDS-PAGE 分析来比较还原的和完整的抗体;肽图谱(例如胰蛋白酶或 LYS-C)分析;评估抗体的生物学活性或抗原结合功能;等。不稳定性可导致聚集,脱酰胺(例如 Asn 脱酰胺),氧化(例如 Met 氧化),异构化(例如 Asp 异构化),裁剪 / 水解 / 片段化(例如铰链区片段化),琥珀酰亚胺形成,不配对半胱氨酸, N 端延伸, C 端加工,糖基化差异,等。可以使用熟练从业人员可用的各种技术来评估生物学活性或抗原结合功能。

[0137] 配制剂中可包括一种或多种其它药学可接受载体,赋形剂或稳定剂,诸如第 18 版 Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro, A. 编(1990)中记载的那些,前提是它们没有不利影响配制剂的期望特征。可接受载体,赋形剂或稳定剂在所采用的剂量和浓度对接受者是无毒的且包括:别的缓冲剂;共溶剂;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;螯合剂,诸如 EDTA;金属复合物(例如 Zn-蛋白质复合物);生物可降解聚合物,诸如聚酯;防腐剂;和 / 或成盐反荷离子,诸如钠。

[0138] III. 抗 C-Met 抗体

[0139] 本文中提供供本文所述药物配制剂中使用的抗 c-met 抗体。有用的抗 c-met 抗体包括以足够亲和力和特异性结合 c-met 和能降低或抑制一种或多种 c-met 活性的抗体。药物配制剂中的抗 c-met 抗体可用于调控 HGF/c-met 相关效应的一个或多个方面,包括但不限于 c-met 活化,下游分子信号传导(例如丝裂原活化的蛋白质激酶(MAPK)磷酸化),细胞增殖,细胞迁移,细胞存活,细胞形态发生和血管发生。可以通过任何生物学相关机制来调控这些效应,包括破坏配体(例如 HGF)结合 c-met, c-met 磷酸化和 / 或 c-met 多聚化。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为拮抗性抗 c-met 抗体。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体干扰其中涉及 c-met/HGF 活性的疾病或状况。

[0140] 在任何本文所述抗 c-met 抗体配制剂的一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为抗 c-met 抗体片段。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为拮抗性抗 c-met 抗体。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体是单价的。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体片段可包含单一抗原结合臂和 Fc 区。本文中描述了且本领域知道单臂形式的抗 c-met 抗体片段。因而,在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体片段为包含 Fc 区的单臂抗体(即重链可变域和轻链可变域形成单一抗原结合臂),其中该 Fc 区包含第一和第二 Fc 多肽,其中该第一和第二 Fc 多肽存在于复合物中。在一些实施方案中,该第一和第二 Fc 多肽形成与包含所述抗原结合臂的 Fab 分子相比提高抗 c-met 抗体稳定性的 Fc 区。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含 (a) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:19, CH1 序列,和第一 Fc 多肽的第一多肽和 (b) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:20 和 CL1 序列的第二多肽。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体进一步包含 (c) 包含第二 Fc 多肽的第三多肽。

[0141] 在一些实施方案中,本文所述药物配制剂的抗 c-met 抗体片段包含二价抗体的抗原结合位点且如此保留结合抗原的能力。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体片段包含 Fc 区且保留至少一项正常情况下 Fc 区存在于二价抗体中时与之有关的生物学功能,诸如 FcRn 结合,抗体半衰期调控,ADCC 功能和补体结合。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体片段不具有 ADCC 功能和 / 或补体结合活性。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体片段是具有与二价抗体实质性相似的体内半衰期的单价抗体。例如,此类抗体片段可包含连接至能够赋予该片段以体内稳定性的 Fc 序列的抗原结合臂。在一些实施方案中, Fc 多肽包含部分或整个野生型铰链序列(一般位于其 N 端)。在一些实施方案中, Fc 多肽不包含功能性或野生型铰链序列。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体片段为 W02005/063816 中记载的单臂抗体。在一些实施方案中,该单臂抗体包含 W02005/063816 ;Ridgeway, J et al, Prot Eng (1996) 9:617-21 ;及 Zhu Z et al, Prot Sci (1997) 6:781-8 中记载的构成“节”和“穴”的 Fc 突变。在一些实施方案中,该 Fc 区包含至少一处隆起(节)和至少一处空腔(穴),其中隆起和空腔的存在增强包含隆起的 Fc 多肽和包含空腔的 Fc 多肽之间的复合物形成,例如 W02005/063816 中记载的。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体的 Fc 区包含第一和第二 Fc 多肽,其中该第一和第二多肽相对于野生型人 Fc 各自包含一处或多处突变。在一些实施方案中,空腔突变为 T366S, L368A 和 / 或 Y407V。在一些实施方案中,隆起突变为 T366W。在一些实施方案中,该第一多肽包含图 2 中所示 Fc 序列且该第二多肽包含图 3 中所示 Fc 序列。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体可包含至少一项促进抗体片段内的 Fc 序列异二聚化,同时最小化同二聚化的特征。

[0142] 在任何本文所述抗 c-met 抗体的一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为拮抗性抗 c-met 抗体。在一些实施方案中,阻断性抗 c-met 抗体或拮抗性抗 c-met 抗体完全抑制抗原的生物学活性。对于要求拮抗功能且抗 c-met 抗体的二价性在结合靶抗原时导致不想要的激动效应(尽管它作为 Fab 片段是拮抗性抗 c-met 抗体)的病理状况的治疗,单臂抗体的单价性状(即抗体包含单一抗原结合臂)导致和 / 或确保抗 c-met 抗体结合靶分子时的拮抗功能。而且,包含 Fc 区的单臂抗体特征在于与具有相似 / 基本上相同的抗原结合特征的 Fab 形式相比卓越的药动学属性(诸如增强的半衰期和 / 或降低的体内清除速率),如此克服使用常规单价 Fab 抗体时的主要缺点。

[0143] 可用于本文所述药物配制剂的抗 c-met 抗体(其可作为单臂抗体提供)包括本领域已知的那些(参见例如 Martens, T. et al., Clin. Cancer Res. 12 (20Pt. 1):6144 (2006); US6,468,529; W02006/015371; W02007/063816, 及 W02010/045345, 通过述及将其完整收录)。在一些实施方案中,用于本文所述药物配制剂的抗 c-met 抗体包含由以登录号 ATCC HB-11894 (杂交瘤 1A3.3.13)或 HB-11895 (杂交瘤 5D5.11.6)保藏于美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)的杂交瘤细胞系生成的单克隆抗体的一种或多种 HVR 序列。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为包含 ATCC 登录号 ATCC HB-11894 (杂交瘤 1A3.3.13)或 HB-11895 (杂交瘤 5D5.11.6)的轻链可变域的一种或多种 HVR 和 / 或重链可变域的一种或多种 HVR 和 Fc 多肽的单臂抗体。

[0144] 在抗 c-met 抗体药物配制剂的一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含轻链可变域,该轻链可变域包含图 2 (SEQ ID NO:1-3)中所示 HVR1-LC, HVR2-LC 和 HVR3-LC 序列中的一项或多项。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含重链可变域,该重链可变域包含图 2 (SEQ ID NO:4-6)中所示 HVR1-HC, HVR2-HC 和 HVR3-HC 序列中的一项或多项。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含轻链可变域,该轻链可变域包含图 2 (SEQ ID NO:1-3)中所示 HVR1-LC, HVR2-LC 和 HVR3-LC 序列中的一项或多项,及图 2 (SEQ ID NO:4-6)中所示 HVR1-HC, HVR2-HC 和 HVR3-HC 序列中的一项或多项。在一些实施方案中,该重链可变域包含图 2 (SEQ ID NO:4-6)中所示 HVR1-HC, HVR2-HC 和 HVR3-HC 序列中的一项或多项及图 2 (SEQ ID NO:11-14)中所示 FR1-HC, FR2-HC, FR3-HC 和 FR4-HC 序列中的一项或多项。在一些实施方案中,该轻链可变域包含图 2 (SEQ ID NO:1-3)中所示 HVR1-LC, HVR2-LC 和 HVR3-LC 序列中的一项或多项及图 2 (SEQ ID NO:7-10)中所示 FR1-LC, FR2-LC, FR3-LC 和 FR4-LC 序列中的一项或多项。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为包含一种或多种轻链可变域 HVR (SEQ ID NO:1-3)和 / 或一种或多种重链可变域 HVR (SEQ ID NO:4-6)和 Fc 多肽的单臂抗体。

[0145] 在抗 c-met 抗体药物配制剂的一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含:(a)至少一种,两种,三种,四种,或五种选自下组的 HVR 序列:(i)包含序列 A1-A17 的 HVR-L1,其中 A1-A17 为 KSSQSLLYTSSQKNYLA (SEQ ID NO:23);(ii)包含序列 B1-B7 的 HVR-L2,其中 B1-B7 为 WASTRES (SEQ ID NO:24);(iii)包含序列 C1-C9 的 HVR-L3,其中 C1-C9 为 QQYYAYPWT (SEQ ID NO:25);(iv)包含序列 D1-D10 的 HVR-H1,其中 D1-D10 为 GYTFTSYWLH (SEQ ID NO:26);(v)包含序列 E1-E18 的 HVR-H2,其中 E1-E18 为 GMIDPSNSDTRFNPNFKD (SEQ ID NO:27);和(vi)包含序列 F1-F11 的 HVR-H3,其中 F1-F11 为 XYGSYVSPLDY (SEQ ID NO:28)且 X 不为 R;和(b)至少一种变体 HVR,其中该变体 HVR 序列包含 SEQ ID NO:23,24,25,26,27,

或 28 中所示序列中至少一个残基的修饰。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体的 HVR-L1 包含序列 SEQ ID NO:23。在一些实施方案中,HVR-L2 包含序列 SEQ ID NO:24。在一些实施方案中,HVR-L3 包含序列 SEQ ID NO:25。在一些实施方案中,HVR-H1 包含序列 SEQ ID NO:26。在一些实施方案中,HVR-H2 包含序列 SEQ ID NO:27。在一些实施方案中,HVR-H3 包含序列 SEQ ID NO:28。在一些实施方案中,HVR-H3 包含 TYGSYVSPLDY (SEQ ID NO:29)。在一些实施方案中,HVR-H3 包含 SYGSYVSPLDY (SEQ ID NO:30)。在一些实施方案中,包含这些序列(以本文所述组合)的抗 c-met 抗体是人源化的或人的。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为包含一种或多种轻链可变域中的 HVR (SEQ ID NO:23-25)和/或一种或多种重链可变域中的 HVR (SEQ ID NO:26-30)和 Fc 多肽的单臂抗体。

[0146] 本文中还提供可用于药物配制剂的抗 c-met 抗体,其包含一种,两种,三种,四种,五种或六种 HVR,其中每种 HVR 包含选自 SEQ ID NO:23,24,25,26,27,28,和 29 的序列,或者由选自 SEQ ID NO:23,24,25,26,27,28,和 29 的序列组成,或者基本上由选自 SEQ ID NO:23,24,25,26,27,28,和 29 的序列组成,且其中 SEQ ID NO:23 对应于 HVR-L1,SEQ ID NO:24 对应于 HVR-L2,SEQ ID NO:25 对应于 HVR-L3,SEQ ID NO:26 对应于 HVR-H1,SEQ ID NO:27 对应于 HVR-H2,且 SEQ ID NO:26,27,或 28 对应于 HVR-H3。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含 HVR-L1,HVR-L2,HVR-L3,HVR-H1,HVR-H2,和 HVR-H3,其中每种依次包含 SEQ ID NO:23,24,25,26,27 和 29。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含 HVR-L1,HVR-L2,HVR-L3,HVR-H1,HVR-H2,和 HVR-H3,其中每种依次包含 SEQ ID NO:23,24,25,26,27 和 30。

[0147] 变体 HVR 可具有 HVR 内一个或多个残基的修饰。在一些实施方案中,HVR-L2 变体包含下述位置任意组合的 1-5 (1,2,3,4 或 5)处替代:B1 (M 或 L),B2 (P,T,G 或 S),B3 (N,G,R 或 T),B4 (I,N 或 F),B5 (P,I,L 或 G),B6 (A,D,T 或 V)和 B7 (R,I,M 或 G)。在一些实施方案中,HVR-H1 变体包含下述位置任意组合的 1-5 (1,2,3,4 或 5)处替代:D3 (N,P,L,S,A,I),D5 (I,S 或 Y),D6 (G,D,T,K,R),D7 (F,H,R,S,T 或 V)和 D9 (M 或 V)。在一些实施方案中,HVR-H2 变体包含下述位置任意组合的 1-4 (1,2,3 或 4)处替代:E7 (Y),E9 (I),E10 (I),E14 (T 或 Q),E15 (D,K,S,T 或 V),E16 (L),E17 (E,H,N 或 D)和 E18 (Y,E 或 H)。在一些实施方案中,HVR-H3 变体包含下述位置任意组合的 1-5 (1,2,3,4 或 5)处替代:F1 (T,S),F3 (R,S,H,T,A,K),F4 (G),F6 (R,F,M,T,E,K,A,L,W),F7 (L,I,T,R,K,V),F8 (S,A),F10 (Y,N)和 F11 (Q,S,H,F)。每个位置后面括弧中的字母指示示例性替代(即替换)氨基酸;正如对本领域技术人员会显而易见的是,可以使用本领域已知和/或本文所述技术例行评估其它氨基酸作为本文所述背景中替代氨基酸的适宜性。在一些实施方案中,HVR-L1 包含序列 SEQ ID NO:23。在一些实施方案中,变体 HVR-H3 中的 F1 为 T。在一些实施方案中,变体 HVR-H3 中的 F1 为 S。在一些实施方案中,变体 HVR-H3 中的 F3 为 R。在一些实施方案中,变体 HVR-H3 中的 F3 为 S。在一些实施方案中,变体 HVR-H3 中的 F7 为 T。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含变体 HVR-H3,其中 F1 为 T 或 S,F3 为 R 或 S,且 F7 为 T。

[0148] 在一些实施方案中,药物配制剂中的抗 c-met 抗体包含变体 HVR-H3,其中 F1 为 T,F3 为 R 且 F7 为 T。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含变体 HVR-H3,其中 F1 为 S。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含变体 HVR-H3,其中 F1 为 T,且 F3 为 R。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含变体 HVR-H3,其中 F1 为 S,F3 为 R 且 F7 为 T。在一些实施方

案中,该抗 c-met 抗体包含变体 HVR-H3,其中 F1 为 T, F3 为 S, F7 为 T,且 F8 为 S。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含变体 HVR-H3,其中 F1 为 T, F3 为 S, F7 为 T,且 F8 为 A。在一些实施方案中,所述变体 HVR-H3 抗体进一步包含 HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3, HVR-H1 和 HVR-H2,其中每个依次包含 SEQ ID NO:1,2,3,4 和 5 中所示序列。在一些实施方案中,这些抗体进一步包含人亚组 III 重链框架共有序列。在这些抗体的一些实施方案中,框架共有序列包含第 71,73 和 / 或 78 位处的替代。在这些抗体的一些实施方案中,第 71 位为 A,第 73 位为 T 和 / 或第 78 位为 A。在这些抗体的一些实施方案中,这些抗体进一步包含人 κ I 轻链框架共有序列。

[0149] 在一些实施方案中,药物配制剂中的抗 c-met 抗体包含变体 HVR-L2,其中 B6 为 V。在一些实施方案中,所述变体 HVR-L2 抗 c-met 抗体进一步包含 HVR-L1, HVR-L3, HVR-H1, HVR-H2 和 HVR-H3,其中每个依次包含 SEQ ID NO:23,25,26,27 和 28 中所示序列。在一些实施方案中,所述变体 HVR-L2 抗 c-met 抗体进一步包含 HVR-L1, HVR-L3, HVR-H1, HVR-H2 和 HVR-H3,其中每个依次包含 SEQ ID NO:23,25,26,27 和 29 中所示序列。在一些实施方案中,所述变体 HVR-L2 抗 c-met 抗体进一步包含 HVR-L1, HVR-L3, HVR-H1, HVR-H2 和 HVR-H3,其中每个依次包含 SEQ ID NO:23,25,26,27 和 30 中所示序列。在一些实施方案中,这些抗 c-met 抗体进一步包含人亚组 III 重链框架共有序列。在这些抗 c-met 抗体的一些实施方案中,框架共有序列包含第 71,73 和 / 或 78 位处的替代。在这些抗 c-met 抗体的一些实施方案中,第 71 位为 A,第 73 位为 T 和 / 或第 78 位为 A。在这些抗 c-met 抗体的一些实施方案中,这些抗体进一步包含人 κ I 轻链框架共有序列。

[0150] 在一些实施方案中,药物配制剂中的抗 c-met 抗体包含变体 HVR-H2,其中 E14 为 T,E15 为 K 且 E17 为 E。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体包含变体 HVR-H2,其中 E17 为 E。在一些实施方案中,所述变体 HVR-H3 抗 c-met 抗体进一步包含 HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3, HVR-H1, 和 HVR-H3,其中每个依次包含 SEQ ID NO:23,24,25,26,和 28 中所示序列。在一些实施方案中,所述变体 HVR-H2 抗 c-met 抗体进一步包含 HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3, HVR-H1, 和 HVR-H3,其中每个依次包含 SEQ ID NO:23,24,25,26,和 29 中所示序列。在一些实施方案中,所述变体 HVR-H2 抗 c-met 抗体进一步包含 HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3, HVR-H1, 和 HVR-H3,其中每个依次包含 SEQ ID NO:23,24,25,26 和 30 中所示序列。在一些实施方案中,这些抗 c-met 抗体进一步包含人亚组 III 重链框架共有序列。在这些抗 c-met 抗体的一些实施方案中,框架共有序列包含第 71,73 和 / 或 78 位处的替代。在这些抗 c-met 抗体的一些实施方案中,第 71 位为 A,第 73 位为 T 和 / 或第 78 位为 A。在这些抗体的一些实施方案中,这些抗 c-met 抗体进一步包含人 κ I 轻链框架共有序列。

[0151] 在一些实施方案中,药物配制剂中的抗 c-met 抗体包含 (a) 包含下述序列的重链可变域:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWLHWVRQAPGKGLEWV GMIDPSNSDTRFNPFKDRFT ISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAT YRSYVTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:19)和 / 或 (b) 包含下述序列的轻链可变域:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLLYTSSQKNYLAWYQQKPGKAP KLL IYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYAYP WTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:20)。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为单臂抗体,其包含 (a) 轻链可变域(SEQ ID NO:20)和 / 或 (b) 重链可变域(SEQ ID NO:19)和 (c)Fc 多肽。

[0152] 在一些实施方案中,药物配制剂中的抗 c-met 抗体包含 (a) 包含下述序列的重链

可变域的 HVR-H1, HVR-H2, 和 HVR-H3 :EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWLHWVRQAPGKG LEWV GMIDPSNSDTRFNPFPKDRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAT YRSYVTPLDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO :19)和 / 或 (b) 包含下述序列的轻链可变域的 HVR-L1, HVR-L2, 和 HVR-L3 :DIQM TQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLLYTSSQKNYLAWYQQKPGKAP KLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYCQQYYAYP WTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO :20)。在一些实施方案中, 该抗 c-met 抗体为单臂抗体, 其包含 (a) 轻链可变域 (SEQ ID NO :20) 和 / 或 (b) 重链可变域 (SEQ ID NO :19) 和 (c) Fc 多肽。

[0153] 在一些实施方案中, 药物配制剂中的抗 c-met 抗体为抗 c-met 抗体片段, 其中该抗体片段包含 (a) 第一多肽, 其包含含有 SEQ ID NO :19 的重链可变域, CH1 序列 (例如 SEQ ID NO :16), 和第一 Fc 多肽 ; 和 (b) 第二多肽, 其包含含有 SEQ ID NO :20 的轻链可变域, 和 CL1 序列 (例如 SEQ ID NO :15)。

[0154] 在一些实施方案中, 药物配制剂中的抗 c-met 抗体为抗 c-met 抗体片段, 其中该抗体片段包含 (a) 第一多肽, 其包含含有 SEQ ID NO :19 的重链可变域, CH1 序列 (例如 SEQ ID NO :16), 和第一 Fc 多肽 ; (b) 第二多肽, 其包含含有 SEQ ID NO :20 的轻链可变域, 和 CL1 序列 (例如 SEQ ID NO :15); 和 (c) 第三多肽, 其包含第二 Fc 多肽, 其中该重链可变域和该轻链可变域以复合物存在且形成单一抗原结合臂, 且其中该第一和第二 Fc 多肽存在于复合物中。在一些实施方案中, 该第一和第二 Fc 多肽形成与包含所述抗原结合臂的 Fab 分子相比提高所述抗体片段的稳定性的 Fc 区。在一些实施方案中, 该 Fc 区属于人 IgG (例如 IgG1, 2, 3 或 4)。在一些实施方案中, 该第一 Fc 多肽包含图 2 (SEQ ID NO :17) 中所示 Fc 序列且该第二 Fc 多肽包含图 3 (SEQ ID NO :18) 中所示 Fc 序列。在一些实施方案中, 该第一 Fc 多肽包含图 3 (SEQ ID NO :18) 中所示 Fc 序列且该第二 Fc 多肽包含图 2 (SEQ ID NO :17) 中所示 Fc 序列。

[0155] 在一些实施方案中, 抗 c-met 抗体为抗 c-met 抗体或其抗体片段, 其中该抗体包含 (a) 第一多肽, 其包含含有 SEQ ID NO :19 的重链可变域, CH1 序列, 和第一 Fc 多肽 ; (b) 第二多肽, 其包含含有 SEQ ID NO :20 的轻链可变域, 和 CL1 序列 ; 和 (c) 第三多肽, 其包含第二 Fc 多肽, 其中该重链可变域和该轻链可变域作为复合物存在且形成单一抗原结合臂, 其中该第一和第二 Fc 多肽存在于复合物中且形成与包含所述抗原结合臂的 Fab 分子相比提高所述抗体片段的稳定性的 Fc 区。

[0156] 在一些实施方案中, 抗 c-met 抗体包含 (a) 第一多肽, 其包含重链可变域, 所述多肽包含序列 :EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWLHWVRQAPGKGLEWV GMIDPSNSDTRFNPFPK DRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAT YRSYVTPLDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP VLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSP GK (SEQ ID NO :21); (b) 第二多肽, 其包含轻链可变域, 该多肽包含序列 DIQMTQSPSSL SASVGDRTITCKSSQSLLYTSSQKNYLAWYQQKPGKAP KLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYYAYP WTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO :22); 和

第三多肽,其包含 Fc 序列,该多肽包含序列 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L W C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (SEQ ID NO :18),其中该重链可变域和该轻链可变域作为复合物存在且形成单一抗原结合臂,且其中该第一和第二 Fc 多肽存在于一个复合物中。在一些实施方案中,该第一和第二 Fc 多肽形成与包含所述抗原结合臂的 Fab 分子相比提高所述抗体片段的稳定性的 Fc 区。

[0157] 在一些实施方案中,表达编码任何本文所述抗 c-met 抗体的多核苷酸,使得该抗 c-met 抗体生成。在一些实施方案中,在体外或在体内(例如在 CHO 细胞或大肠杆菌细胞中)表达编码任何抗 c-met 抗体的多核苷酸。

[0158] 在一些实施方案中,供本文所述药物配制剂中使用的抗 c-met 抗体是 onartuzumab (可互换地称作 MetMAb),一种包含 Fc 区的单臂抗体。MetMAb 的序列显示于图 2 和 3。MetMAb (也称作 OA5D5v2 和 onartuzumab)还记载于例如 WO2006/015371; WO2010/04345;及 Jin et al, Cancer Res (2008) 68 :4360。本文还涵盖 MetMAb 的生物学相似形式,供配制剂中使用。

[0159] 在一些实施方案中,药物配制剂中的抗 c-met 抗体特异性结合 c-met Sema 域的至少一部分或其变体。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为拮抗剂。在一些实施方案中,该抗 c-met 拮抗性抗体特异性结合至少一种选自下组的序列:LDAQT (SEQ ID NO :31) (例如 c-met 的残基 269-273),LTEKRKKRS (SEQ ID NO :32) (例如 c-met 的残基 300-308),KPDSAEPM (SEQ ID NO :33) (例如 c-met 的残基 350-357)和 NVRCLQHF (SEQ ID NO :34) (例如 c-met 的残基 381-388)。在一些实施方案中,该抗 c-met 拮抗性抗体特异性结合由至少一种选自下组的序列中的一部分或全部形成的构象表位:LDAQT (SEQ ID NO :31) (例如 c-met 的残基 269-273),LTEKRKKRS (SEQ ID NO :32) (例如 c-met 的残基 300-308),KPDSAEPM (SEQ ID NO :33) (例如 c-met 的残基 350-357)和 NVRCLQHF (SEQ ID NO :34) (例如 c-met 的残基 381-388)。在一些实施方案中,拮抗性抗体特异性结合与序列 LDAQT (SEQ ID NO :31),LTEKRKKRS (SEQ ID NO :32),KPDSAEPM (SEQ ID NO :33)和 / 或 NVRCLQHF (SEQ ID NO :34) 具有至少 50%,60%,70%,80%,90%,95%,98% 序列同一性或相似性的氨基酸序列。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为拮抗性抗 c-met 抗体。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体为单臂抗体。为了筛选结合抗原上由感兴趣抗体所结合的表位的抗体,可实施例行的交叉阻断测定法,诸如 Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988) 中记载的。

[0160] 在任何本文所述抗 c-met 抗体的一些实施方案中,该抗 c-met 抗体可干扰 HGF/c-met 活化,包括但不限于干扰 HGF 结合 c-met 的细胞外部分和受体多聚化。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体可用于治疗或诊断与异常或不想要的 HGF/c-met 途径信号传导有关的病理状况。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体可调控 HGF/c-met 途径,包括调控 c-met 配体结合, c-met 二聚化,活化,和其它与 HGF/c-met 信号传导有关的生物学 / 生理学活性。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体可破坏 HGF/c-met 信号传导途径。在任何本文所述抗 c-met 抗体的一些实施方案中,抗 c-met 抗体对 c-met 的结合抑制 HGF 对 c-met 的活化。在任何本文所述抗 c-met 抗体的一些实施方案中,细胞中抗 c-met 抗体对 c-met 的结合抑制

细胞的增殖,存活,发散(scattering),形态发生和 / 或活动性。

[0161] 在一些情况中,抗 c-met 抗体不干扰配体(诸如 HGF)结合 c-met 可能是有利的。因而,在一些实施方案中,抗 c-met 抗体不结合 c-met 上的 HGF 结合位点。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体不实质性抑制 HGF 结合 c-met。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体不实质性与 HGF 竞争对 c-met 的结合。在一个例子中,抗 c-met 抗体可以与一种或多种其它拮抗剂联合使用,其中所述拮抗剂靶向 HGF/c-met 轴内的不同过程和 / 或功能。如此,在一些实施方案中,抗 c-met 抗体结合 c-met 上与另一种 c-met 拮抗剂(诸如由以美国典型培养物保藏中心登录号 ATCC HB-11894 (杂交瘤 1A3.3.13) 保藏的杂交瘤细胞系生成的单克隆抗体的 Fab 片段)所结合的表位不同的表位。在另一个实施方案中,抗 c-met 抗体不同于(即它不是)由以美国典型培养物保藏中心登录号 ATCC HB-11894 (杂交瘤 1A3.3.13) 保藏的杂交瘤细胞系生成的单克隆抗体的 Fab 片段。

[0162] 在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体结合第一动物物种的 c-met,且不特异性结合第二动物物种的 c-met。在一些实施方案中,该第一动物物种为人和 / 或灵长类动物(例如猕猴),而该第二动物物种为鼠(例如小鼠)和 / 或犬。在一些实施方案中,该第一动物物种为人。在一些实施方案中,该第一动物物种为灵长类动物,例如猕猴。在一些实施方案中,该第二动物物种为鼠,例如小鼠。在一些实施方案中,该第二动物物种为犬。

[0163] 在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体在所述受试者中引发很小的免疫原性应答至不引发免疫原性应答。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体引发处于或小于临床可接受水平的免疫原性应答。

[0164] 在任何本文所述抗 c-met 抗体的一些实施方案中,经过改变的抗体拥有一些但非所有效应器功能。在一些实施方案中,该抗 c-met 抗体不拥有补体消减和 / 或 ADCC 活性。在一些实施方案中,测量生成的免疫球蛋白的 Fc 活性以确保只维持期望的特性(例如半衰期,但非补体消减和 / 或 ADCC 活性)。可以进行体外和 / 或体内细胞毒性测定法以确认 CDC 和 / 或 ADCC 活性的降低 / 消减。例如,可以进行 Fc 受体(FcR)结合测定法以确保抗体缺乏 Fc γ R 结合(因此有可能缺乏 ADCC 活性),但保留 FcRn 结合活性。用于介导 ADCC 的主要细胞, NK 细胞,只表达 Fc γ RIII,而单核细胞表达 Fc γ RI, Fc γ RII 和 Fc γ RIII。Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9 :457-92 (1991) 第 464 页表 3 总结了造血细胞上的 FcR 表达。美国专利 No. 5,500,362 或 5,821,337 中记载了评估感兴趣分子的 ADCC 活性的体外测定法的一个例子。可用于此类测定法的效应器细胞包括完整性单个核细胞(PBMC)和天然杀伤(NK)细胞。或者 / 另外,可以体内测定感兴趣分子的 ADCC 活性,例如在动物模型中,诸如 Clynes et al., PNAS(USA) 95 :652-656 (1998) 中披露的。也可以进行 C1q 结合测定法来确认抗体不能结合 C1q 并因此缺乏 CDC 活性。为了评估补体活化,可以实施 CDC 测定法,例如 Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202 :163 (1996) 中记载的。也可以使用本领域已知方法实施 FcRn 结合和体内清除 / 半衰期测定。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体是糖基化的。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体是基本上无糖基化的。

[0165] 可以通过本领域已知的各种测定法对本文所述配制剂中的抗 c-met 抗体表征它们的物理 / 化学特性和生物学功能。可以通过一系列测定法进一步表征经过纯化的抗 c-met 抗体,包括但不限于 N 端测序,氨基酸分析,非变性大小排阻高压液体层析(HPLC),质谱术,离子交换层析和木瓜蛋白酶消化。

[0166] 在任何本文所述抗 c-met 抗体的一些实施方案中,该抗 c-met 抗体可纯化 (1) 根据 Lowry 法的测定,抗体重量大于 95%,最优选重量大于 99%, (2) 至通过使用转杯式测序仪足以获得至少 15 个残基的 N 端或内部氨基酸序列的程度,或 (3) 根据还原性或非还原性条件下的 SDS-PAGE,使用考马斯蓝或银染色,达到同质。

[0167] 此外,在一些实施方案中,依照任何上述实施方案的抗 c-met 抗体可单一地或组合地掺入下文 1-8 节中描述的任何特征:

[0168] 1. 抗体亲和力

[0169] 在一些实施方案中,本文中提供的抗 c-met 抗体具有 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$ 、或 $\leq 0.001\text{nM}$ 的解离常数 (Kd) (例如 10^{-8}M 或更少,例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M ,例如, 10^{-9}M 至 10^{-13}M)。

[0170] 配体对其受体的结合亲和力可以使用多种测定法来测定,而且以多种定量数值来表述。本领域已知的并且可以在本文中使用的抗原结合测定法包括但不限于利用诸如以下技术的任何直接的或竞争性的结合测定法:Western 印迹、放射免疫测定法、酶联免疫吸附测定法 (ELISA)、“夹心式/三明治式”免疫测定法、基于表面等离子共振的测定法 (诸如 PCT 申请公开文本 No. W02005/012359 中所记载的 BIAcore 测定法)、免疫沉淀测定法、荧光免疫测定法、和蛋白 A 免疫测定法。

[0171] 因而,在一些实施方案中,结合亲和力表述成 Kd 值,而且反映了内在结合亲和力 (例如具有最小化的亲合效应)。所选择的抗 c-met 抗体正常情况下会具有足够强的对 c-met 的结合亲和力,例如抗体可以以约 $100\text{nM}^1\text{pM}$ 的 Kd 值结合人 c-met。

[0172] 2. 抗体片段

[0173] 在一些实施方案中,本文中描述的药物配制剂中的抗 c-met 抗体是抗体片段。抗体片段包括但不限于 Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、单臂抗体、和 scFv 片段,及下文所描述的其它片段。关于某些抗体片段的综述,见 Hudson 等 Nat. Med. 9:129-134 (2003)。关于 scFv 片段的综述,见例如 Pluckthün, 于 The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 第 113 卷, Rosenberg 和 Moore 编, (Springer-Verlag, New York), 第 269-315 页 (1994); 还可见 W093/16185; 及美国专利 No. 5,571,894 和 5,587,458。关于包含补救受体结合表位残基,并且具有延长的体内半衰期的 Fab 和 F(ab')₂ 片段的讨论,见美国专利 No. 5,869,046。

[0174] 其它单价抗体形式记载于例如 W02007048037, W02008145137, W02008145138, 和 W02007059782。单臂抗体记载于例如 W02005/063816。双抗体是具有两个抗原结合位点的抗体片段,其可以是二价的或双特异性的。见例如 EP404,097; W01993/01161; Hudson 等, Nat. Med. 9:129-134 (2003); 及 Hollinger 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA90:6444-6448 (1993)。三抗体和四抗体也记载于 Hudson 等, Nat. Med. 9:129-134 (2003)。

[0175] 单域抗体是包含抗体的整个或部分重链可变域或整个或部分轻链可变域的抗体片段。在一些实施方案中,单域抗体是人单域抗体 (Domantis, Inc., Waltham, MA; 见例如美国专利 No. 6,248,516B1)。

[0176] 可以通过多种技术,包括但不限于对完整抗体的蛋白水解消化及重组宿主细胞 (例如大肠杆菌或噬菌体) 的生成来生成抗体片段,如本文中所描述的。

[0177] 3. 嵌合的和人源化的抗体

[0178] 在一些实施方案中,本文中描述的药物配制剂中的抗 c-met 抗体是嵌合抗体。某

些嵌合抗体记载于例如美国专利 No. 4, 816, 567; 及 Morrison 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855(1984))。在一个例子中, 嵌合抗体包含非人可变区(例如, 自小鼠、大鼠、仓鼠、家兔、或非人灵长类, 诸如猴衍生的可变区) 和人恒定区。在又一个例子中, 嵌合抗体是“类转换的”抗体, 其中类或亚类已经自亲本抗体的类或亚类改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0179] 在一些实施方案中, 嵌合抗体是人源化抗体。通常, 将非人抗体人源化以降低对人的免疫原性, 同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。一般地, 人源化抗体包含一个或多个可变域, 其中 HVR, 例如 CDR (或其部分) 自非人抗体衍生, 而 FR (或其部分) 自人抗体序列衍生。任选地, 人源化抗体还会至少包含人恒定区的一部分。在一些实施方案中, 将人源化抗体中的一些 FR 残基用来自非人抗体(例如衍生 CDR 残基的抗体)的相应残基替代, 例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0180] 人源化抗体及其生成方法综述于例如 Almagro 和 Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633(2008), 并且进一步记载于例如 Riechmann 等, Nature 332:323-329(1988); Queen 等, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033(1989); 美国专利 No. 5, 821, 337, 7, 527, 791, 6, 982, 321 和 7, 087, 409; Kashmiri 等, Methods 36:25-34(2005) (描述了 SDR(a-HVR) 嫁接); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498(1991) (描述了“重修表面”); Dall'Acqua 等, Methods 36:43-60(2005) (描述了“FR 改组”); 及 Osbourn 等, Methods 36:61-68(2005) 和 Klinika 等, Br. J. Cancer, 83:252-260(2000) (描述了 FR 改组的“引导选择”方法)。

[0181] 可以用于人源化的人框架区包括但不限于: 使用“最佳拟合 (best-fit)”方法选择的框架区(见例如 Sims 等 J. Immunol. 151:2296(1993)); 自轻或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列衍生的框架区(见例如 Carter 等 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285(1992); 及 Presta 等 J. Immunol., 151:2623(1993)); 人成熟的(体细胞突变的)框架区或人种系框架区(见例如 Almagro 和 Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633(2008)); 和通过筛选 FR 文库衍生的框架区(见例如 Baca 等, J. Biol. Chem. 272:10678-10684(1997) 及 Rosok 等, J. Biol. Chem. 271:22611-22618(1996))。

[0182] 4. 人抗体

[0183] 在一些实施方案中, 本文中描述的药物配制剂中的抗 c-met 抗体是人抗体。可以使用本领域中已知的多种技术来生成抗体。一般地, 人抗体记载于 van Dijk 和 van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74(2001) 及 Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459(2008)。

[0184] 可以通过对转基因动物施用免疫原来制备人抗体, 所述转基因动物已经修饰为响应抗原性攻击而生成完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。此类动物通常含有所有或部分人免疫球蛋白基因座, 其替换内源免疫球蛋白基因座, 或者其在染色体外存在或随机整合入动物的染色体中。在此类转基因小鼠中, 一般已经将内源免疫球蛋白基因座灭活。关于自转基因动物获得人抗体的方法的综述, 见 Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125(2005)。还可见例如美国专利 No. 6, 075, 181 和 6, 150, 584, 其描述了 XENOMOUSE™ 技术; 美国专利 No. 5, 770, 429, 其描述了 HUMAB® 技术; 美国专利 No. 7, 041, 870, 其描述了 K-M MOUSE® 技术, 和美国专利申请公开文本 No. US2007/0061900, 其描述了

VELOCIMOUSE®技术)。可以例如通过与不同人恒定区组合进一步修饰来自此类动物生成的完整抗体的人可变区。

[0185] 也可以通过基于杂交瘤的方法生成抗体。已经描述了用于生成人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人异骨髓瘤细胞系(见例如 Kozbor J. Immunol., 133:3001(1984); Brodeur 等, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 第 51-63 页 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 及 Boerner 等, J. Immunol., 147:86(1991))。经由人 B 细胞杂交瘤技术生成的人抗体也记载于 Li 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562(2006)。其它方法包括那些例如记载于美国专利 No. 7, 189, 826 (其描述了自杂交瘤细胞系生成单克隆人 IgM 抗体) 和 Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268(2006) (其描述了人-人杂交瘤) 的。人杂交瘤技术(Trioma 技术)也记载于 Vollmers 和 Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937(2005) 及 Vollmers 和 Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91(2005)。

[0186] 也可以通过分离自人衍生的噬菌体展示文库选择的 Fv 克隆可变域序列生成抗体。然后, 可以将此类可变域序列与期望的人恒定域组合。下文描述了自抗体文库选择抗体的技术。

[0187] 5. 文库衍生的抗体

[0188] 可以通过对组合文库筛选具有期望的一种或多种活性的抗体来分离本文中描述的药物配制剂中的抗 c-met 抗体。例如, 用于生成噬菌体展示文库并对此类文库筛选拥有期望结合特征的抗体的多种方法是本领域中已知的。此类方法综述于例如 Hoogenboom 等, Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien 等编, Human Press, Totowa, NJ, 2001), 并且进一步记载于例如 McCafferty 等, Nature 348:552-554; Clackson 等, Nature 352:624-628(1991); Marks 等, J. Mol. Biol. 222:581-597(1992); Marks 和 Bradbury, 于 Methods in Molecular Biology 248:161-175(Lo 编, Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu 等, J. Mol. Biol. 338(2):299-310(2004); Lee 等, J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093(2004); Felloose, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34):12467-12472(2004); 及 Lee 等, J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132(2004)。

[0189] 在一些噬菌体展示方法中, 将 VH 和 VL 基因的全集分别通过聚合酶链式反应 (PCR) 克隆, 并在噬菌体文库中随机重组, 然后可以对所述噬菌体文库筛选抗原结合噬菌体, 如记载于 Winter 等, Ann. Rev. Immunol., 12:433-455(1994) 的。噬菌体通常以单链 Fv (scFv) 片段或以 Fab 片段展示抗体片段。来自经免疫的来源的文库提供针对免疫原的高亲和力抗体, 而不需要构建杂交瘤。或者, 可以(例如自人)克隆天然全集以在没有任何免疫的情况下提供针对一大批非自身和还有自身抗原的抗体的单一来源, 如由 Griffiths 等, EMBO J, 12:725-734(1993) 描述的。最后, 也可以通过自干细胞克隆未重排的 V 基因区段, 并使用含有随机序列的 PCR 引物编码高度可变的 CDR3 区并在体外实现重排来合成生成未免疫文库, 如由 Hoogenboom 和 Winter, J. Mol. Biol., 227:381-388(1992) 所描述的。描述人抗体噬菌体文库的专利公开文本包括例如: 美国专利 No. 5, 750, 373、和美国专利公开文本 No. 2 005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764,

2007/0292936 和 2009/0002360。

[0190] 认为自人抗体文库分离的抗体或抗体片段是本文中的人抗体或人抗体片段。

[0191] 6. 多特异性抗体

[0192] 在一些实施方案中,本文中描述的药物配制剂中的抗 c-met 抗体是多特异性抗体,例如双特异性抗体。多特异性抗体是对至少两个不同位点具有结合特异性的单克隆抗体。在一些实施方案中,结合特异性之一针对某种抗原,而另一种针对任何其它抗原。在一些实施方案中,双特异性抗体可以结合某种抗原的两个不同表位。也可以使用双特异性抗体来将细胞毒剂定位于表达某种抗原的细胞。双特异性抗体可以以全长抗体或抗体片段制备。

[0193] 用于生成多特异性抗体的技术包括但不限于具有不同特异性的两对免疫球蛋白重链-轻链对的重组共表达(见 Milstein 和 Cuello, Nature 305:537 (1983))、W093/08829、和 Traunecker 等, EMBO J. 10:3655 (1991)、和“突起-入-空穴”工程化(见例如美国专利 No. 5,731,168)。也可以通过用于生成抗体 Fc-异二聚体分子的工程化静电操纵效应(W02009/089004A1);交联两个或更多个抗体或片段(见例如美国专利 No. 4,676,980,及 Brennan 等, Science, 229:81 (1985));使用亮氨酸拉链来生成双特异性抗体(见例如 Kostelny 等, J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992));使用用于生成双特异性抗体片段的“双抗体”技术(见例如 Hollinger 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993));及使用单链 Fv(scFv) 二聚体(见例如 Gruber 等, J. Immunol., 152:5368 (1994));及例如 Tuttle 等 J. Immunol. 147:60 (1991) 中所描述的,制备三特异性抗体来生成多特异性抗体。

[0194] 本文中还包括具有三个或更多个功能性抗原结合位点的工程化改造抗体,包括“章鱼抗体”(见例如 US2006/0025576A1)。

[0195] 本文中的抗体或片段还包括包含结合 c-met 及另一种不同抗原的抗原结合位点的“双重作用 FAb”或“DAF”(见例如 US2008/0069820)。

[0196] 7. 抗体变体

[0197] 在一些实施方案中,涵盖本文中描述的药物配制剂中的抗 c-met 抗体的氨基酸序列变体。例如,可以期望改善抗体的结合亲和力和/或其它生物学特性。可以通过将合适的修饰引入编码抗体的核苷酸序列中,或者通过肽合成来制备抗体的氨基酸序列变体。此类修饰包括例如对抗体的氨基酸序列内的残基的删除、和/或插入和/或替代。可以进行删除、插入、和替代的任何组合以得到最终的构建体,只要最终的构建体拥有期望的特征,例如,抗原结合。

[0198] a) 替代、插入、和删除变体

[0199] 在一些实施方案中,提供了具有一处或多处氨基酸替代的抗 c-met 抗体变体,供本文中描述的药物配制剂中使用。替代诱变感兴趣的位点包括 HVR 和 FR。保守替代在表 1 中在“保守的替代”的标题下显示。更实质的变化在表 1 中在“例示性替代”的标题下提供,并且如下文参照氨基酸侧链类别进一步描述的。可以将氨基酸替代引入感兴趣的抗体中,并且对产物筛选期望的活性,例如保留/改善的抗原结合、降低的免疫原性、或改善的 ADCC 或 CDC。

[0200] 表 1

[0201]

初始残基	例示性替代	优选的替代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln

[0202]

初始残基	例示性替代	优选的替代
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	Norleucine; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸	Leu

[0203] 依照共同的侧链特性,氨基酸可以如下分组:

[0204] (1) 疏水性的:正亮氨酸, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0205] (2) 中性、亲水性的:Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0206] (3) 酸性的:Asp, Glu;

[0207] (4) 碱性的:His, Lys, Arg;

[0208] (5) 影响链取向的残基:Gly, Pro;

[0209] (6) 芳香族的:Trp, Tyr, Phe。

[0210] 非保守替代会需要用这些类别之一的成员替换另一个类别的。

[0211] 一类替代变体牵涉替代亲本抗体(例如人源化或人抗体)的一个或多个高变区残

基。一般地,为进一步研究选择的所得变体相对于亲本抗体会具有某些生物学特性的改变(例如改善)(例如升高的亲和力、降低的免疫原性)和/或会基本上保留亲本抗体的某些生物学特性。例示性的替代变体是亲和力成熟的抗体,其可以例如使用基于噬菌体展示的亲和力和成熟技术诸如本文中所描述的那些技术来方便地生成。简言之,将一个或多个 HVR 残基突变,并将变体抗体在噬菌体上展示,并对其筛选特定的生物学活性(例如结合亲和力)。

[0212] 可以对 HVR 做出变化(例如,替代),例如以改善抗体亲和力。可以对 HVR “热点”,即由在体细胞成熟过程期间以高频率经历突变的密码子编码的残基(见例如 Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)),和/或 SDR (a-CDR) 做出此类变化,其中对所得的变体 VH 或 VL 测试结合亲和力。通过次级文库的构建和再选择进行的亲和力成熟已经记载于例如 Hoogenboom 等于 *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien 等编, Human Press, Totowa, NJ, (2001))。在亲和力成熟的一些实施方案中,通过多种方法(例如,易错 PCR、链改组、或寡核苷酸指导的诱变)将多样性引入为成熟选择的可变基因。然后,创建次级文库。然后,筛选文库以鉴定具有期望的亲和力的任何抗体变体。另一种引入多样性的方法牵涉 HVR 指导的方法,其中将几个 HVR 残基(例如,一次 4-6 个残基)随机化。可以例如使用丙氨酸扫描诱变或建模来特异性鉴定牵涉抗原结合的 HVR 残基。特别地,经常靶向 CDR-H3 和 CDR-L3。

[0213] 在一些实施方案中,可以在一个或多个 HVR 内发生替代、插入、或删除,只要此类变化不实质性降低抗体结合抗原的能力。例如,可以对 HVR 做出保守变化(例如,保守替代,如本文中提供的),其不实质性降低结合亲和力。此类变化可以在 HVR “热点”或 SDR 外部。在上文提供的变体 VH 和 VL 序列的一些实施方案中,每个 HVR 是未改变的,或者含有不超过 1、2 或 3 处氨基酸替代。

[0214] 一种可用于鉴定抗体中可以作为诱变靶位的残基或区域的方法称作“丙氨酸扫描诱变”,如由 Cunningham 和 Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085 所描述的。在此方法中,将残基或靶残基的组(例如,带电荷的残基诸如 arg、asp、his、lys、和 glu)鉴定,并用中性或带负电荷的氨基酸(例如,丙氨酸或多丙氨酸)替换以测定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可以在对初始替代表明功能敏感性的氨基酸位置引入进一步的替代。或者/另外,利用抗原-抗体复合物的晶体结构来鉴定抗体与抗原间的接触点。作为替代的候选,可以靶向或消除此类接触残基和邻近残基。可以筛选变体以确定它们是否含有期望的特性。

[0215] 氨基酸序列插入包括长度范围为 1 个残基至含有 100 或更多个残基的多肽的氨基和/或羧基端融合,及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的例子包括具有 N 端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的其它插入变体包括抗体的 N 或 C 端与酶(例如对于 ADEPT)或延长抗体的血清半衰期的多肽的融合物。

[0216] b) 糖基化变体

[0217] 在一些实施方案中,改变本文中描述的药物配制剂中的抗 c-met 抗体以提高或降低抗体糖基化的程度。可以通过改变氨基酸序列,使得创建或消除一个或多个糖基化位点来方便地实现对抗体的糖基化位点的添加或删除。

[0218] 在抗体包含 Fc 区的情况中,可以改变其附着的碳水化合物。由哺乳动物细胞生成的天然抗体通常包含分支的、双触角寡糖,其一般通过 N 连接附着于 Fc 区的 CH2 域的 Asn297。见例如 Wright 等 *TIBTECH* 15:26-32 (1997)。寡糖可以包括各种碳水化合物,例如,

甘露糖、N-乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc)、半乳糖、和唾液酸,以及附着于双触角寡糖结构“主干”中的 GlcNAc 的岩藻糖。在一些实施方案中,可以对抗体中的寡糖进行修饰以创建具有某些改善的特性的抗体变体。

[0219] 在一些实施方案中,提供了抗体变体,其具有缺乏附着(直接或间接)于 Fc 区的岩藻糖的碳水化合物结构。例如,此类抗体中的岩藻糖量可以是 1% 至 80%、1% 至 65%、5% 至 65% 或 20% 至 40%。通过相对于附着于 Asn297 的所有糖结构(例如,复合的、杂合的和甘露糖的结构)的总和,计算 Asn297 处糖链内岩藻糖的平均量来测定岩藻糖量,如通过 MALDI-TOF 质谱术测量的,例如如记载于 W02008/077546 的。Asn297 指位于 Fc 区中的约第 297 位(Fc 区残基的 Eu 编号方式)的天冬酰胺残基;然而,Asn297 也可以由于抗体中的微小序列变异而位于第 297 位上游或下游约 ± 3 个氨基酸,即在第 294 位和第 300 位之间。此类岩藻糖基化变体可以具有改善的 ADCC 功能。见例如美国专利公开文本 No. US2003/0157108(Presta, L.);US2004/0093621(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。涉及“脱岩藻糖基化的”或“岩藻糖缺乏的”抗体变体的出版物的例子包括:US2003/0157108;W02000/61739;W02001/29246;US2003/0115614;US2002/0164328;US2004/0093621;US2004/0132140;US2004/0110704;US2004/0110282;US2004/0109865;W02003/085119;W02003/084570;W02005/035586;W02005/035778;W02005/053742;W02002/031140;Okazaki 等 J. Mol. Biol. 336:1239-1249(2004);Yamane-Ohnuki 等 Biotech. Bioeng. 87:614(2004)。能够生成脱岩藻糖基化抗体的细胞系的例子包括蛋白质岩藻糖基化缺陷的 Lec13CHO 细胞(Ripka 等 Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545(1986);美国专利申请 No. US2003/0157108A1, Presta, L.;及 W02004/056312A1, Adams 等,尤其在实施例 11),和敲除细胞系,诸如 α -1,6-岩藻糖基转移酶基因 FUT8 敲除 CHO 细胞(见例如 Yamane-Ohnuki 等 Biotech. Bioeng. 87:614(2004);Kanda, Y. 等, Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688(2006);及 W02003/085107)。

[0220] 进一步提供了具有两分型寡糖的抗体变体,例如其中附着于抗体 Fc 区的双触角寡糖是通过 GlcNAc 两分的。此类抗体变体可以具有降低的岩藻糖基化和/或改善的 ADCC 功能。此类抗体变体的例子记载于例如 W02003/011878 (Jean-Mairet 等);美国专利 No. 6,602,684 (Umana 等);及 US2005/0123546 (Umana 等)。还提供了在附着于 Fc 区的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的抗体变体。此类抗体变体可以具有改善的 CDC 功能。此类抗体变体记载于例如 W01997/30087 (Patel 等);W01998/58964 (Raju, S.);及 W01999/22764 (Raju, S.)。

[0221] c)Fc 区变体

[0222] 在一些实施方案中,可以将一处或多处氨基酸修饰引入本文中描述的药物配制剂中的抗 c-met 抗体的 Fc 区中,由此生成 Fc 区变体。Fc 区变体可以包含在一个或多个氨基酸位置包含氨基酸修饰(例如替代)的人 Fc 区序列(例如,人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4Fc 区)。

[0223] 在一些实施方案中,涵盖拥有一些但不是所有效应器功能的抗体变体,所述效应器功能使其成为如下应用的期望候选物,其中抗体的体内半衰期是重要的,而某些效应器功能(诸如补体和 ADCC)是不必要的或有害的。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定法以确认 CDC 和/或 ADCC 活性的降低/消减。例如,可以进行 Fc 受体 (FcR) 结合测定法以确保抗体缺乏 Fc γ R 结合(因此有可能缺乏 ADCC 活性),但是保留 FcRn 结合能力。介导 ADCC 的主

要细胞NK细胞仅表达Fc γ RIII,而单核细胞表达Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII。在Ravetch和Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492(1991) 的第464页上的表3中汇总了造血细胞上的FcR表达。评估感兴趣分子的ADCC活性的体外测定法的非限制性例子记载于美国专利No. 5, 500, 362 (见例如Hellstrom, I. 等 Proc. Nat'l Acad. Sci. USA83:7059-7063(1986)) 和 Hellstrom, I 等, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA82:1499-1502(1985); 5, 821, 337 (见Bruggemann, M. 等, J. Exp. Med. 166:1351-1361(1987))。或者,可以采用非放射性测定方法(见例如用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定法(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA;和CytoTox 96®非放射性细胞毒性测定法(Promega, Madison, WI))。对于此类测定法有用的效应细胞包括外周血单个核细胞(PBMC)和天然杀伤(NK)细胞。或者/另外,可以在体内评估感兴趣分子的ADCC活性,例如在动物模型中,诸如披露于Clynes等 Proc. Nat'l Acad. Sci. USA95:652-656(1998) 的。也可以实施C1q结合测定法以确认抗体不能结合C1q,并且因此缺乏CDC活性。见例如W02006/029879和W02005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体激活,可以实施CDC测定法(见例如Gazzano-Santoro等, J. Immunol. Methods202:163(1996); Cragg, M. S. 等, Blood101:1045-1052(2003); 及Cragg, M. S. 和 M. J. Glennie, Blood103:2738-2743(2004))。也可以使用本领域中已知的方法来实施FcRn结合和体内清除/半衰期测定(见例如Petkova, S. B. 等, Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769(2006))。

[0224] 具有降低的效应器功能的抗体包括那些具有Fc区残基238, 265, 269, 270, 297, 327和329中的一个或多个的替代的(美国专利No. 6, 737, 056)。此类Fc突变体包括在氨基酸位置265、269、270、297和327中的两处或更多处具有替代的Fc突变体,包括残基265和297替代成丙氨酸的所谓的“DANA”Fc突变体(美国专利No. 7, 332, 581)。

[0225] 描述了具有改善的或降低的对FcR的结合的某些抗体变体(见例如美国专利No. 6, 737, 056;W02004/056312,及Shields等, J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604(2001))。

[0226] 在一些实施方案中,抗体变体包含具有改善ADCC的一处或多处氨基酸替代,例如Fc区的位置298、333、和/或334(残基的EU编号方式)的替代的Fc区。

[0227] 在一些实施方案中,对Fc区做出改变,其导致改变的(即,改善的或降低的)C1q结合和/或补体依赖性细胞毒性(CDC),例如,如记载于美国专利No. 6, 194, 551、W099/51642、及Idusogie等J. Immunol. 164:4178-4184(2000) 的。

[0228] 具有延长的半衰期和改善的对新生儿Fc受体(FcRn)的结合的抗体记载于US2005/0014934A1(Hinton等),新生儿Fc受体(FcRn)负责将母体IgG转移至胎儿(Guyer等, J. Immunol. 117:587(1976)及Kim等, J. Immunol. 24:249(1994))。那些抗体包含其中具有改善Fc区对FcRn结合的一处或多处替代的Fc区。此类Fc变体包括那些在Fc区残基238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424或434中的一处或多处具有替代,例如, Fc区残基434的替代的(美国专利No. 7, 371, 826)。

[0229] 还可见Duncan和Winter, Nature322:738-40(1988);美国专利No. 5, 648, 260;美国专利No. 5, 624, 821;及W094/29351,其关注Fc区变体的其它例子。

[0230] d) 经半胱氨酸工程化改造的抗体变体

[0231] 在一些实施方案中,可以期望创建经半胱氨酸工程化改造的抗体,例如,

“thioMAb”,其中本文中描述的药物配制剂中的抗 c-met 抗体的一个或多个残基用半胱氨酸残基替代。在具体的实施方案中,替代的残基存在于抗体的可接近位点。通过用半胱氨酸替代那些残基,反应性硫醇基团由此定位于抗体的可接近位点,并且可以用于将抗体与其它模块,诸如药物模块或接头-药物模块缀合,以创建免疫缀合物,如本文中进一步描述的。在一些实施方案中,可以用半胱氨酸替代下列残基之任一个或多个:轻链的 V205 (Kabat 编号方式);重链的 A118 (EU 编号方式);和重链 Fc 区的 S400 (EU 编号方式)。可以如例如美国专利 No. 7, 521, 541 所述生成经半胱氨酸工程化改造的抗体。

[0232] e) 抗体衍生物

[0233] 在一些实施方案中,可以进一步修饰本文中描述的药物配制剂中的抗 c-met 抗体以含有本领域知道的且易于获得的额外非蛋白质性质模块。适合于抗体衍生化的模块包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性例子包括但不限于聚乙二醇 (PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、右旋糖苷、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧戊环、聚-1,3,6-三口恶烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或随机共聚物)、和右旋糖苷或聚(n-乙烯吡咯烷酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。由于其在水中的稳定性,聚乙二醇丙醛在生产中可能具有优势。聚合物可以是任何分子量,而且可以是分支的或不分支的。附着到抗体上的聚合物数目可以变化,而且如果附着了超过一个聚合物,那么它们可以是相同或不同的分子。一般而言,可根据下列考虑来确定用于衍生化的聚合物的数目和/或类型,包括但不限于抗体要改进的具体特性或功能、抗体衍生物是否将用于指定条件下的治疗等。

[0234] 在另一个实施方案中,提供了抗 c-met 抗体和可以通过暴露于辐射选择性加热的非蛋白质性质模块的缀合物。在一些实施方案中,非蛋白质性质模块是碳纳米管(Kam 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:11600-11605 (2005))。辐射可以是任何波长的,并且包括但不限于对普通细胞没有损害,但是将非蛋白质性质模块加热至抗体-非蛋白质性质模块附近的细胞被杀死的温度的波长。

[0235] 8. 免疫缀合物

[0236] 涵盖包含与一种或多种细胞毒剂,诸如化疗剂或药物、生长抑制剂、毒素(例如蛋白质毒素,细菌、真菌、植物或动物起源的酶活性毒素,或其片段)、或放射性同位素缀合的抗 c-met 抗体的免疫缀合物,供本文中描述的药物配制剂中使用。

[0237] 在一些实施方案中,免疫缀合物是抗体-药物缀合物 (ADC),其中抗体与一种或多种药物缀合,包括但不限于美登木素生物碱(见美国专利 No. 5, 208, 020、5, 416, 064 和欧洲专利 EP0 425 235B1);auristatin 诸如单甲基 auristatin 药物模块 DE 和 DF (MMAE 和 MMAF) (见美国专利 No. 5, 635, 483 和 5, 780, 588 及 7, 498, 298);多拉司他汀 (dolastatin);加利车霉素 (calicheamicin) 或其衍生物(见美国专利 No. 5, 712, 374, 5, 714, 586, 5, 739, 116, 5, 767, 285, 5, 770, 701, 5, 770, 710, 5, 773, 001 和 5, 877, 296;Hinman 等, Cancer Res. 53:3336-3342 (1993);及 Lode 等, Cancer Res. 58:2925-2928 (1998));蒽环类抗生素诸如道诺霉素 (daunomycin) 或多柔比星 (doxorubicin) (见 Kratz 等, Current Med. Chem. 13:477-523 (2006);Jeffrey 等, Bioorganic&Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006);Torgov 等, Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005);Nagy 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000);Dubowchik 等, Bioorg. & Med. Chem.

Letters 12:1529-1532 (2002); King 等, J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002); 及美国专利 No. 6,630,579); 甲氨蝶呤; 长春地辛 (vindesine); 紫杉烷 (taxane) 诸如多西他赛 (docetaxel)、帕利他塞、larotaxel、tesetaxel、和 ortataxel; 单端孢霉素 (trichothecene); 和 CC1065。

[0238] 在一些实施方案中, 免疫缀合物包含与酶活性毒素或其片段缀合的如本文中所描述的抗 c-met 抗体, 所述酶活性毒素包括但不限于白喉 A 链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素 A 链 (来自铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒蛋白 (ricin) A 链、相思豆毒蛋白 (abrin) A 链、蒴莲根毒蛋白 (modeccin) A 链、 α -帚曲霉素 (sarcin)、油桐 (*Aleutites fordii*) 毒蛋白、香石竹 (dianthin) 毒蛋白、美洲商陆 (*Phytolaca americana*) 蛋白 (PAPI、PAPII 和 PAP-S)、苦瓜 (*Momordica charantia*) 抑制物、麻疯树毒蛋白 (curcin)、巴豆毒蛋白 (croton)、肥皂草 (*saponaire officinalis*) 抑制剂、白树毒蛋白 (gelonin)、丝林霉素 (mitogellin)、局限曲菌素 (restrictocin)、酚霉素 (phenomycin)、依诺霉素 (enomycin) 和单端孢菌素 (trichothecenes)。

[0239] 在一些实施方案中, 免疫缀合物包含与放射性原子缀合以形成放射性缀合物的如本文中所描述的抗 c-met 抗体。多种放射性同位素可用于生成放射性缀合物。例子包括 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} 和 Lu 的放射性同位素。在使用放射性缀合物进行检测时, 它可以包含供闪烁法研究用的放射性原子, 例如 Tc99m 或 I123, 或供核磁共振 (NMR) 成像 (又称为磁共振成像, MRI) 用的自旋标记物, 诸如再一次的碘-123、碘-131、钼-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、钆、锰或铁。

[0240] 可以使用多种双功能蛋白质偶联剂来生成抗 c-met 抗体和细胞毒剂的缀合物, 诸如 N-琥珀酰亚氨基 3-(2-吡啶基二硫代) 丙酸酯 (SPDP), 琥珀酰亚氨基-4-(N-马来酰亚氨基甲基) 环己烷-1-羧酸酯 (SMCC), 亚氨基硫烷 (IT), 亚氨酸酯 (诸如盐酸己二酰亚氨酸二甲酯)、活性酯类 (诸如辛二酸二琥珀酰亚氨基酯)、醛类 (诸如戊二醛)、双叠氮化合物 (诸如双 (对-叠氮苯甲酰基) 己二胺)、双重氮衍生物 (诸如双 (对-重氮苯甲酰基)-乙二胺)、二异硫氰酸酯 (诸如甲苯 2,6-二异硫氰酸酯)、和双活性氟化合物 (诸如 1,5-二氟-2,4-二硝基苯) 的双功能衍生物。例如, 可以如 Vitetta 等, Science 238:1098 (1987) 中所述制备蓖麻毒蛋白免疫毒素。碳-14 标记的 1-异硫氰酸苄基-3-甲基二亚乙基三胺五乙酸 (MX-DTPA) 是用于将放射性核苷酸与抗体偶联的例示性螯合剂。参见 W094/11026。接头可以是便于在细胞中释放细胞毒性药物的“可切割接头”。例如, 可使用酸不稳定接头、肽酶敏感性接头、光不稳定接头、二甲基接头或含二硫化物接头 (Chari 等, Cancer Res 52:127-131 (1992); 美国专利 No. 5,208,020)。

[0241] 本文中的免疫缀合物或 ADC 明确涵盖, 但不限于用交联试剂制备的此类缀合物, 所述交联试剂包括但不限于 BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、sulfo-EMCS、sulfo-GMBS、sulfo-KMUS、sulfo-MBS、sulfo-SIAB、sulfo-SMCC、和 sulfo-SMPB, 及 SVSB (琥珀酰亚氨基-(4-乙烯基苄基) 苯甲酸酯), 它们是商品化的 (例如, 来自 Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A.)。

[0242] B. 重组方法和组合物

[0243] 可以使用重组方法和组合物来生成本文中描述的药物配制剂中的抗 c-met 抗体, 例如, 如记载于美国专利 No. 4,816,567 的。在一个实施方案中, 提供了编码抗体的分离的

核酸。此类核酸可以编码包含抗体 VL 的氨基酸序列和 / 或包含 VH 的氨基酸序列(例如,抗体的轻和 / 或重链)。在又一个实施方案中,提供了包含此类核酸的一种或多种载体(例如,表达载体)。在又一个实施方案中,提供了包含此类核酸的宿主细胞。在一个此类实施方案中,宿主细胞包含(例如,已经用下列载体转化):(1) 包含核酸的载体,所述核酸编码包含抗体的 VL 的氨基酸序列和包含抗体的 VH 的氨基酸序列,或 (2) 第一载体和第二载体,所述第一载体包含编码包含抗体的 VL 的氨基酸序列的核酸,所述第二载体包含编码包含抗体的 VH 的氨基酸序列的核酸。单臂抗体的生成记载于例如 W02005/063816。

[0244] 在一个实施方案中,宿主细胞是真核的,例如中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞或淋巴样细胞(例如, Y0、NS0、Sp20 细胞)。在一个实施方案中,提供了生成抗体的方法,其中该方法包括在适合于表达抗体的条件下培养包含编码抗体的核酸的宿主细胞,如上文提供的,并且任选地,自宿主细胞(或宿主细胞培养液)回收抗体。

[0245] 对于抗体的重组生成,将编码抗体的核酸(例如如上文所描述的)分离,并插入一种或多种载体中,以在宿主细胞中进一步克隆和 / 或表达。可以使用常规规程将此类核酸容易地分离并测序(例如,通过使用寡核苷酸探针来进行,所述寡核苷酸探针能够特异性结合编码抗体的重和轻链的基因)。

[0246] 适合于克隆或表达抗体编码载体的宿主细胞包括本文中所描述的原核或真核细胞。例如,可以在细菌中生成抗体,特别是在不需要糖基化和 Fc 效应器功能时。对于抗体片段和多肽在细菌中的表达,见例如美国专利 No. 5,648,237, 5,789,199 和 5,840,523, W0/05/063816 (还可见 Charlton, Methods in Molecular Biology, 第 248 卷 (B. K. C. Lo 编, Humana Press, Totowa, NJ, 2003), 第 245-254 页,其描述了抗体片段在大肠杆菌 (E. coli.) 中的表达)。表达后,可以将抗体在可溶性级分中自细菌细胞团糊分离,并可以进一步纯化。

[0247] 在原核生物外,真核微生物诸如丝状真菌或酵母是适合于抗体编码载体的克隆或表达宿主,包括其糖基化途径已经“人源化”,导致生成具有部分或完全人的糖基化样式的抗体的真菌和酵母菌株。见 Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004), 及 Li 等, Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)。

[0248] 适合于表达糖基化抗体的宿主细胞也自多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)衍生。无脊椎动物细胞的例子包括植物和昆虫细胞。已经鉴定出许多杆状病毒株,其可以与昆虫细胞一起使用,特别是用于转染草地夜蛾 (*Spodoptera frugiperda*) 细胞。

[0249] 也可以利用植物细胞培养物作为宿主。见例如美国专利 No. 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, 7,125,978 和 6,417,429 (其描述了用于在转基因植物中生成抗体的 PLANTIBODIES™ 技术)。

[0250] 也可以使用脊椎动物细胞作为宿主。例如,适合于在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系可以是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其它例子是经 SV40 转化的猴肾 CV1 系 (COS-7); 人胚肾系 (293 或 293 细胞,如记载于例如 Graham 等, J. Gen Virol. 36:59 (1977) 的); 幼年仓鼠肾细胞 (BHK); 小鼠塞托利 (sertoli) 细胞 (TM4 细胞,如记载于例如 Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980) 的); 猴肾细胞 (CV1); 非洲绿猴肾细胞 (VERO-76); 人宫颈癌细胞 (HELA); 犬肾细胞 (MDCK); 牛鼠 (buffalo rat) 肝细胞 (BRL3A); 人肺细胞 (W138); 人肝细胞 (Hep G2); 小鼠乳房肿瘤 (MMT060562); TRI 细胞,如记载于例

如 Mather 等, *Annals N. Y. Acad. Sci.* 383:44-68(1982) 的;MRC5 细胞;和 FS4 细胞。其它有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞,包括 DHFR-CHO 细胞 (Urlaub 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216(1980));和骨髓瘤细胞系诸如 Y0、NS0 和 Sp2/0。关于适合于抗体生成的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,见例如 Yazaki 和 Wu, *Methods in Molecular Biology*, 第 248 卷 (B. K. C. Lo 编, Humana Press, Totowa, NJ), 第 255-268 页 (2003)。

[0251] V. 治疗方法和用途

[0252] 本文中提供的包含抗 c-met 抗体的药物配制剂可用于调控与 HGF/c-met 信号传导轴失调有关的疾病状态。HGF/c-met 信号传导途径涉及多种生物学和生理学功能,包括例如细胞增殖和血管发生。

[0253] 本文中提供抑制 c-met 激活的细胞增殖的方法,所述方法包括使细胞或组织与包含有效量的抗 c-met 抗体的本文所述药物配制剂接触(例如在稀释后(例如经过稀释的本文所述药物配制剂)),由此与 c-met 激活有关的细胞增殖受到抑制。在一些实施方案中,细胞增殖性病症与升高的 c-met 表达或活性或肝细胞生长,或二者有关。在一些实施方案中,癌症为 c-met 阳性的(表达高水平的 c-met,例如根据免疫组织化学)。在一些实施方案中,细胞增殖为癌症。在一些实施方案中,癌症为非小细胞肺癌(NSCLC),成胶质细胞瘤,胰腺癌,肉瘤,肾细胞癌,肝细胞癌,胃癌,结肠直肠癌,或乳腺癌。在一些实施方案中,癌症为 IIIb 期和 / 或 IV 期。在一些实施方案中,癌症为局部晚期或转移性癌症。在一些实施方案中,疗法为二线或三线疗法(例如二线或三线 NSCLC 疗法)。在一些实施方案中,癌症为 EGFR 突变型的。在一些实施方案中,癌症为 EGFR 野生型的。在一些实施方案中,癌症为 c-met 阳性的(表达高水平的 c-met,例如根据免疫组织化学(IHC))。在一些实施方案中,药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以介于约 50mg/mL 和约 75mg/mL 之间的浓度存在;(b) pH5.0-5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于介于约 1mM 和约 20mM 之间的浓度;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于介于约 100mM 至约 150mM 之间的浓度;和 (d) 聚山梨酯,其中该聚山梨酯浓度大于 0.02%w/v。

[0254] 本文中提供治疗受试者中与 c-met 激活失调有关的病理状况的方法,所述方法包括对受试者施用包含有效量的 c-met 抗体的本文所述药物配制剂(例如在稀释后(例如经过稀释的本文所述药物配制剂)),由此所述状况得到治疗。在一些实施方案中,病理状况为癌症。在一些实施方案中,癌症为非小细胞肺癌(NSCLC),成胶质细胞瘤,胰腺癌,肉瘤,肾细胞癌,肝细胞癌,胃癌,结肠直肠癌,或乳腺癌。在一些实施方案中,癌症为 IIIb 期和 / 或 IV 期癌症。在一些实施方案中,癌症为局部晚期或转移性癌症。在一些实施方案中,疗法为二线或三线疗法(例如二线或三线 NSCLC 疗法)。c-met 激活(和由此信号传导)失调可源自多种细胞变化,包括例如 HGF (c-met 的关联配体) 和 / 或 c-met 自身的过表达。在一些实施方案中,癌症为 EGFR 突变型的。在一些实施方案中,癌症为 EGFR 野生型的。在一些实施方案中,癌症为 c-met 阳性的(表达高水平的 c-met,例如根据 IHC)。在一些实施方案中,药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以介于约 50mg/mL 和约 75mg/mL 之间的浓度存在;(b) pH5.0-5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于介于约 1mM 和约 20mM 之间的浓度;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于介于约 100mM 至约 150mM 之间的浓度;和 (d) 聚山梨酯 20,其中该聚山梨酯 20 浓度大于 0.02%w/v。

[0255] 本文中还提供抑制表达 c-met 或肝细胞生长因子,或二者的细胞生长的方法,所述方法包括使所述细胞与包含抗 c-met 抗体的本文所述药物配制剂接触(例如在稀释后(例如经过稀释的本文所述药物配制剂)),由此引起所述细胞生长抑制。在一些实施方案中,所述细胞的生长至少部分依赖于 c-met 或肝细胞生长因子,或二者的生长强化效应。在一些实施方案中,细胞接触由不同细胞表达的 HGF(例如经由旁分泌效应)。在一些实施方案中,药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以介于约 50mg/mL 和约 75mg/mL 之间的浓度存在;(b) pH5.0-5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于介于约 1mM 和约 20mM 之间的浓度;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于介于约 100mM 至约 150mM 之间的浓度;和 (d) 聚山梨酯 20,其中该聚山梨酯 20 浓度大于 0.02%w/v。

[0256] 本文中还提供用于治疗或预防癌症的方法,包括包括施用如下的药物配制剂,其包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以介于约 50mg/mL 和约 75mg/mL 之间的浓度存在;(b) pH5.0-5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于介于约 1mM 和约 20mM 之间的浓度;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于介于约 100mM 至约 150mM 之间的浓度;和 (d) 聚山梨酯 20,其中该聚山梨酯 20 浓度大于 0.02%w/v (例如在稀释至约 0.75,1,或 1.25mg/mL 任一后(例如经过稀释的本文所述药物配制剂))。在一些实施方案中,药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以约 60mg/mL 的浓度存在;(b) pH5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于约 10mM 的浓度;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于约 120mM 的浓度;和 (d) 聚山梨酯 20,其中该聚山梨酯 20 浓度为约 0.04%w/v。在一些实施方案中,癌症为非小细胞肺癌(NSCLC),成胶质细胞瘤,胰腺癌,肉瘤,肾细胞癌,肝细胞癌,胃癌,结肠直肠癌,或乳腺癌。在一些实施方案中,癌症为 IIIb 期和 / 或 IV 期癌症。在一些实施方案中,癌症为局部晚期或转移性癌症。在一些实施方案中,疗法为二线或三线疗法(例如二线或三线 NSCLC 疗法)。在一些实施方案中,癌症为 EGFR 突变型的。在一些实施方案中,癌症为 EGFR 野生型的。在一些实施方案中,癌症为 c-met 阳性的(表达高水平的 c-met,例如根据 IHC)。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为约 15mg/kg。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为 21 天周期第 1 天施用的约 15mg/kg。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为约 10mg/kg。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为 28 天周期第 1 天和第 15 天施用的约 10mg/kg。

[0257] 本文所述方法可用于改变任何合适的病理状态,例如与 HGF/c-met 信号传导途径失调有关的细胞和 / 或组织。在任何本文所述方法的一些实施方案中,本文所述方法中靶定的细胞是癌细胞。例如,癌细胞可以是选自下组的癌细胞:乳腺癌细胞,结肠直肠癌细胞,肺癌细胞,乳头状癌细胞(例如甲状腺的),结肠癌细胞,胰腺癌细胞,卵巢癌细胞,宫颈癌细胞,中枢神经系统癌细胞,骨源性肉瘤细胞,肾癌细胞,肝细胞癌细胞,膀胱癌细胞,胃癌细胞,头和颈鳞癌细胞,黑素瘤细胞和白血病细胞。在一些实施方案中,本文所述方法中靶定的细胞是增殖性和 / 或增生性细胞。在一些实施方案中,本文所述方法中靶定的细胞是发育异常细胞。在还有另一个实施方案中,本文所述方法中靶定的细胞是转移细胞。

[0258] 在任何本文所述方法的一些实施方案中,该方法进一步包含别的治疗步骤。例如,在一些实施方案中,该方法进一步包含如下的步骤,其中将靶定的细胞和 / 或组织(例如癌细胞)保留于放射治疗或第二治疗剂(例如化疗剂)。例如,提供治疗或预防癌症的方法,其

包括施用 (i) 如下的药物配制剂,其包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以介于约 50mg/mL 和约 75mg/mL 之间的浓度存在 ;(b) pH5.0-5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于介于约 1mM 和约 20mM 之间的浓度 ;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于介于约 100mM 至约 150mM 之间的浓度 ;和 (d) 聚山梨酯 20,其中该聚山梨酯 20 浓度大于 0.02%w/v (例如在稀释至约 0.75,1,或 1.25mg/mL 任一后(例如经过稀释的本文所述药物配制剂)) 和 (ii) 第二治疗剂。在一些实施方案中,第二治疗剂为 EGFR 抑制剂(例如厄洛替尼),VEGF 抑制剂(例如贝伐单抗),紫杉烷(例如帕利他赛)。

[0259] 在任何本文所述方法的一些实施方案中,该方法进一步包括施用有效量的第二治疗剂。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为约 15mg/kg。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为约 10mg/kg。

[0260] 在一些实施方案中,第二治疗剂为 EGFR 抑制剂。在一些实施方案中,EGFR 抑制剂为厄洛替尼(N-(3-乙炔基苯基)-6,7-二(2-甲氧基乙氧基)-4-喹唑啉胺)。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为 21 天周期第 1 天施用的约 15mg/kg。例如,提供治疗癌症(例如 NSCLC)的方法,其包括施用 (i) 如下的药物配制剂,其包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以介于约 50mg/mL 和约 75mg/mL 之间的浓度存在 ;(b) pH5.0-5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于介于约 1mM 和约 20mM 之间的浓度 ;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于介于约 100mM 至约 150mM 之间的浓度 ;和 (d) 聚山梨酯 20,其中该聚山梨酯 20 浓度大于 0.02%w/v (例如在稀释至约 0.75,1,或 1.25mg/mL 任一后(例如经过稀释的本文所述药物配制剂)),其中以每三周 15mg/kg 的剂量施用该抗 c-met 抗体 ;和 (ii) 厄洛替尼(N-(3-乙炔基苯基)-6,7-二(2-甲氧基乙氧基)-4-喹唑啉胺),其中以三周周期每天 150mg 的剂量施用厄洛替尼。

[0261] 在一些实施方案中,第二治疗剂为紫杉烷(例如帕利他赛)。在一些实施方案中,癌症为乳腺癌。在一些实施方案中,乳腺癌为 ER 阴性,PR 阴性,且 HER2 阴性(ER-, PR-, 和 HER2- ;或三重阴性)转移性乳腺癌。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为 28 天周期第 1 天和第 15 天的约 10mg/kg。例如,提供治疗癌症(例如乳腺癌)的方法,其包括施用 (i) 如下的药物配制剂,其包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以介于约 50mg/mL 和约 75mg/mL 之间的浓度存在 ;(b) pH5.0-5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于介于约 1mM 和约 20mM 之间的浓度 ;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于介于约 100mM 至约 150mM 之间的浓度 ;和 (d) 聚山梨酯 20,其中该聚山梨酯 20 浓度大于 0.02%w/v (例如在稀释至约 0.75,1,或 1.25mg/mL 任一后(例如经过稀释的本文所述药物配制剂)),其中以 28 天周期第 1 天和第 15 天 10mg/kg 的剂量施用该抗 c-met 抗体 ;和 (ii) 帕利他赛,其中以 28 天周期第 1 天,第 8 天,和第 15 天 IV 输注 90mg/m² 的剂量施用帕利他赛。在一些实施方案中,该方法延长患者的存活,降低患者癌症复发的风险和 / 或提高患者存活的可能性。在一些实施方案中,该方法进一步包括施用抗 VEGF 抗体(例如贝伐单抗)。例如,提供用于治疗癌症(例如乳腺癌)的方法,其包括施用 (i) 如下的药物配制剂,其包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以介于约 50mg/mL 和约 75mg/mL 之间的浓度存在 ;(b) pH5.0-5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于介于约 1mM 和约 20mM 之间的浓度 ;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于介于约 100mM 至约 150mM 之间的浓度 ;和 (d) 聚山梨酯 20,其中该聚山梨酯 20 浓度大于 0.02%w/v (例如在稀释至约

0.75, 1, 或 1.25mg/mL 任一后(例如经过稀释的本文所述药物配制剂)), 其中以 28 天周期第 1 天和第 15 天 10mg/kg 的剂量施用该抗 c-met 抗体; (ii) 抗 VEGF 抗体(例如贝伐单抗), 其中以 28 天周期第 1 天和第 15 天 10mg/kg 的剂量施用该抗 VEGF 抗体; 和 (iii) 帕利他赛, 其中以 28 天周期第 1 天, 第 8 天, 和第 15 天 IV 输注 90mg/m² 的剂量施用帕利他赛。

[0262] 包含抗 c-met 抗体的药物配制剂可以单独或与其它药剂组合在治疗中使用。例如, 包含抗 c-met 抗体的药物配制剂可以与第二治疗剂(例如另一种抗体, 化疗剂(包括化疗剂混合物), 其它细胞毒剂, 抗血管发生剂, 细胞因子, 和 / 或生长抑制剂)共施用。在一些实施方案中, 第二治疗剂是并行或序贯施用的。第二治疗剂可以与包含抗 c-met 抗体的药物配制剂分开, 但是作为同一治疗方案的一部分施用。在药物配制剂中的抗 c-met 抗体抑制肿瘤生长的情况中, 将它与一种或多种也抑制肿瘤生长的其它治疗剂组合可能是特别期望的。例如, 包含抗 c-met 抗体的药物配制剂可以在治疗方案中, 例如在治疗任何本文所述疾病(包括结肠直肠癌, 转移性乳腺癌和肾癌)时与 EGFR 抑制剂, 抗 VEGF 抗体和 / 或抗 ErbB 抗体组合。

[0263] 上文所述此类联合疗法涵盖联合施用(其中同一配制剂或分开的配制剂中包括两种或更多种药剂), 同时, 和分开施用, 在这种情况下, 药物配制剂的施用可以在别的治疗剂和 / 或佐剂的施用之前和 / 或之后发生。

[0264] 因而, 在任何本文所述方法的一些实施方案中, 该方法包括如下的靶向细胞, 其中与相同组织起源的正常细胞相比, 所述细胞(例如癌细胞)表达 c-met 或肝细胞生长因子或二者丰度更高。表达 c-met 的细胞可受到来自各种来源的 HGF 的调控, 即自分泌或旁分泌方式。c-met 活化和 / 或信号传导也可不依赖配体而发生。因此, 在任何方法的一些实施方案中, 靶细胞中的 c-met 活化不依赖配体而发生。

[0265] 可以为了治疗目的将包含抗 c-met 抗体的药物配制剂施用于人受试者。此外, 可以为了兽医目的或作为人疾病的动物模型将包含抗 c-met 抗体的药物配制剂施用于表达免疫球蛋白与之交叉反应的抗原的非人哺乳动物(例如灵长类动物, 猪或小鼠)。

[0266] 包含抗 c-met 抗体的药物配制剂可用于治疗, 抑制, 改善, 预防与一种或多种抗原分子的异常表达和 / 或活性有关的疾病, 病症或状况, 延迟其进展, 或预防 / 延迟其复发, 包括但不限于恶性和良性肿瘤; 非白血病和淋巴样恶性肿瘤; 神经元, 神经胶质, 星形胶质细胞, 下丘脑和其它腺体, 巨噬细胞, 上皮, 基质和囊胚腔病症; 及炎性, 血管发生性和免疫学病症。

[0267] 在任何方法的一些实施方案中, 将包含免疫偶联物的药物配制剂施用于患者, 其中该免疫偶联物包含与细胞毒剂缀合的抗 c-met 抗体。在一些实施方案中, 免疫偶联物和 / 或它所结合的抗原被细胞内化, 导致免疫偶联物在杀伤它结合的癌细胞方面的治疗功效升高。在一些实施方案中, 细胞毒剂靶向或干扰靶细胞中的核酸。

[0268] 可通过任何合适手段来施用包含抗 c-met 抗体的药物配制剂(和任何别的治疗剂), 包括胃肠外、肺内、和鼻内, 及损伤内(如果希望局部治疗的话)施用。胃肠外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内、或皮下施用。在一些实施方案中, 静脉内施用药物配制剂。可通过任何合适路径给药, 例如通过注射, 诸如静脉内或皮下注射, 这部分取决于施药是短期的还是长期的。本文中涵盖各种剂量给药日程表, 包括但不限于单次施用或在多个时间点里的多次施用、推注施用、和脉冲输注。

[0269] 包含抗 c-met 抗体的药物配制剂以符合良好的医学实践的方式确定剂量及施用。在此内容中考虑的因素包括所治疗的具体病症、所治疗的具体哺乳动物、患者个体的临床状况、病症的起因、递送药剂的部位、施药的方法、施药的日程安排、和医学从业人员知道的其它因素。不是必需而是任选将包含抗 c-met 抗体的药物配制剂与目前用于预防或治疗所讨论病症的一种或多种药剂一起配制。此类其它药剂的有效量取决于配制剂中存在的抗体的量、病症或治疗的类型、和上文讨论的其它因素。这些一般是以与上文所述相同剂量和施用路径使用,或是本文所述之前采用的剂量的约 1-99%,或者凭经验 / 临床上确定为适宜的任何剂量和任何路径。

[0270] 为了预防或治疗疾病,药物配制剂中抗 c-met 抗体(当单独或与一种或多种别的治疗剂组合使用时)的合适剂量会取决于要治疗的疾病的类型、抗体的种类、疾病的严重性和病程、施用药物配制剂中的抗 c-met 抗体是出于预防还是治疗目的、之前的疗法、患者的临床史和对抗 c-met 抗体的响应、及主治医师的斟酌决定。合适的是,包含抗 c-met 抗体的药物配制剂在一次或一系列的治疗中施用于患者。根据疾病的类型和严重性,将约 10mg/kg,约 15mg/kg 或更大(例如 15-20mg/kg)剂量的抗 c-met 抗体施用于患者,无论是例如通过一次或多次分开的施用或是通过连续输注。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为约 15mg/kg。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为 21 天周期第 1 天施用的约 15mg/kg。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为约 10mg/kg。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为 28 天周期第 1 天和第 15 天施用的约 10mg/kg。

[0271] 剂量可间歇给予,例如约每周,每 2 周,每 3 周,或每 4 周任一。

[0272] 对于持续几天或更长时间的重复施药,根据状况,治疗通常会持续直至疾病症状出现期望的抑制。然而,可使用其它剂量方案。通过常规技术和测定法,易于监测这种疗法的进展。

[0273] VI. 制品

[0274] 提供了制品,其包含含有本文所述抗 c-met 抗体的药物配制剂,用于治疗,预防和 / 或诊断上文所述病症。制品包括容器和在容器上或与容器相关的标签或包装插页。合适的容器包括例如瓶,管形瓶,注射器,IV 溶液袋等。容器可以由多种材料形成,诸如玻璃或塑料。容器装有包含抗 c-met 抗体的药物配制剂,其自身或在与另一种组合物组合时有效治疗,预防和 / 或诊断状况且可具有无菌存取口(例如容器可以是具有皮下注射针头可刺穿的塞子的静脉内溶液袋或管形瓶)。例如,本文中提供制品和试剂盒,其包括其中装有药物配制剂的容器,该药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以介于约 50mg/mL 和约 75mg/mL 之间的浓度存在;(b) pH5.0-5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于介于约 1mM 和约 20mM 之间的浓度;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于介于约 100mM 至约 150mM 之间的浓度;和 (d) 聚山梨酯 20,其中该聚山梨酯 20 浓度大于 0.02%w/v。在一些实施方案中,该药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以约 60mg/mL 的浓度存在;(b) pH5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于约 10mM 的浓度;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于约 120mM 的浓度;和 (d) 聚山梨酯,其中该聚山梨酯浓度为约 0.04%w/v。标签或包装插页指示组合物用于治疗选择的状况,诸如癌症。在一些实施方案中,该癌症为非小细胞肺癌(NSCLC),成胶质细胞瘤,胰腺癌,肉瘤,肾细胞癌,胃癌,结肠直肠癌,或乳腺癌。在一些实施

方案中,该癌症为 IIIb 期和 / 或 IV 期癌症。在一些实施方案中,该癌症为局部晚期或转移性癌症。在一些实施方案中,该疗法为二线或三线疗法(例如二线或三线 NSCLC 疗法)。在一些实施方案中,该癌症为 EGFR 突变型的。在一些实施方案中,该癌症为 EGFR 野生型的。在一些实施方案中,该癌症为 c-met 阳性的(表达高水平的 c-met,例如根据免疫组织化学)。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为约 15mg/kg。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为 21 天周期第 1 天施用的约 15mg/kg。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为约 10mg/kg。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为 28 天周期第 1 和 15 天施用的约 10mg/kg。

[0275] 在这个实施方案中,制品可进一步包括包装插页,其指示第一和第二抗体组合物可用于治疗特定状况,例如癌症。在一些实施方案中,该癌症为非小细胞肺癌(NSCLC),成胶质细胞瘤,胰腺癌,肉瘤,肾细胞癌,胃癌,结肠直肠癌,或乳腺癌。在一些实施方案中,该癌症为 IIIb 期和 / 或 IV 期的。在一些实施方案中,该癌症为局部晚期或转移性癌症。在一些实施方案中,该疗法为二线或三线疗法(例如二线或三线 NSCLC 疗法)。在一些实施方案中,该癌症为 EGFR 突变型的。在一些实施方案中,该癌症为 EGFR 野生型的。在一些实施方案中,该癌症为 c-met 阳性的(表达高水平的 c-met,例如根据免疫组织化学)。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为约 15mg/kg。在一些实施方案中,抗 c-met 抗体的剂量为 21 天周期第 1 天施用的约 15mg/kg。

[0276] 或者 / 另外,在任何制品的一些实施方案中,该制品可进一步包括第二(或第三)容器,其装有药学可接受缓冲剂,诸如注射用抑菌水(BWFI),磷酸盐缓冲盐水, Ringer 氏溶液和右旋糖溶液。它可进一步包括从商业和用户立场看想要的其它材料,包括其它缓冲剂,稀释剂,滤器,针头,和注射器。

[0277] 此外,该制品可包括 (a) 其中装有本文所述药物配制剂的第一容器,该药物配制剂包含抗 c-met 抗体;和 (b) 其中装有组合物的第二容器,其中该组合物包含别的细胞毒剂。例如,该制品可包括 (i) 装有药物配制剂的第一容器,该药物配制剂包含 (a) 抗 c-met 抗体(例如 onartuzumab),其中该抗 c-met 抗体以介于约 50mg/mL 和约 75mg/mL 之间的浓度存在;(b) pH5.0-5.4 的组氨酸乙酸酯缓冲剂,其中该组氨酸乙酸酯缓冲剂处于介于约 1mM 和约 20mM 之间的浓度;(c) 蔗糖,其中该蔗糖处于介于约 100mM 至约 150mM 之间的浓度;和 (d) 聚山梨酯 20,其中该聚山梨酯 20 浓度大于 0.02%w/v;和 (ii) 其中装有组合物的第二容器,其中该组合物包含第二治疗剂。

[0278] 在一些实施方案中,该第二治疗剂为 EGFR 抑制剂。在一些实施方案中,该 EGFR 抑制剂为依洛替尼(erlotinib, N-(3-乙炔基苯基)-6,7-二(2-甲氧基乙氧基)-4-喹唑啉胺)。在一些实施方案中,该制品包括 21 天周期第 1 天施用约 15mg/kg 抗 c-met 抗体配制剂且 3 周周期每天施用 150mg 依洛替尼的使用说明。在一些实施方案中,该制品包括治疗癌症(例如 NSCLC)的使用说明。

[0279] 在一些实施方案中,第二治疗剂为紫杉烷(例如帕利他赛(paclitaxel))。在一些实施方案中,该制品包括 28 天周期第 1 天和第 15 天施用约 10mg/kg 抗 c-met 抗体配制剂且 28 天周期第 1 天,第 8 天、和第 15 天通过 IV 输注施用 90mg/m² 帕利他赛的使用说明。在一些实施方案中,该制品包括其中装有组合物的第三容器,其中该组合物包含第三治疗剂,其中该第三治疗剂为抗 VEGF 抗体(例如贝伐单抗(bevacizumab))。在一些实施方案中,该

制品包括 28 天周期第 1 天和第 15 天施用约 10mg/kg 抗 c-met 抗体配制剂, 28 天周期第 1 天, 第 8 天, 和第 15 天通过 IV 输注施用 90mg/m² 帕利他赛, 且 28 天周期第 1 天和第 15 天施用 10mg/kg 抗 VEGF 抗体(例如贝伐单抗)的使用说明。在一些实施方案中, 该制品包括治疗癌症的使用说明。在一些实施方案中, 该癌症为乳腺癌(例如 ER 阴性, PR 阴性, 且 HER2 阴性(ER-, PR-, 且 HER2-; 或三重阴性)转移性乳腺癌)。在一些实施方案中, 该方法延长患者的存活, 降低患者癌症复发的风险和 / 或提高患者存活的可能性。

[0280] 要理解, 任何上述制品可包括本文中公开的抗 c-met 抗体的免疫偶联物作为抗 c-met 抗体的替代或补充。

[0281] 而且, 本文中提供生成任何本文所述制品的方法。

[0282] 例示性实施方案

[0283] 1. 一种药物配制剂, 其包含:

[0284] (a) 一种抗 c-met 抗体;

[0285] (b) pH5.0-5.4 的组氨酸缓冲剂;

[0286] (c) 糖类; 和

[0287] (d) 聚山梨酯, 其中该聚山梨酯以大于 0.02%w/v 存在。

[0288] 2. 实施方案 1 的药物配制剂, 其中该抗 c-met 抗体包含: 包含序列 KSSQSLLYTSSQKNYLA (SEQ ID NO:1) 的 HVR-L1, 包含序列 WASTRES (SEQ ID NO:2) 的 HVR-L2, 包含序列 QQYYAYPWT (SEQ ID NO:3) 的 HVR-L3, 包含序列 GYTFTSYWLH (SEQ ID NO:4) 的 HVR-H1, 包含序列 GMIDPSNSDTRFNPNFKD (SEQ ID NO:5) 的 HVR-H2, 和包含序列 YRSYVTPLDY (SEQ ID NO:6) 的 HVR-H3。

[0289] 3. 实施方案 1-2 任一项的药物配制剂, 其中该抗 c-met 抗体包含 (a) 包含序列 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWLHWVRQAPGKGLEWV GMIDPSNSDTRFNPNFKDRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCAT YRSYVTPLDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:19) 的重链可变域和 (b) 包含序列 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLLYTSSQKNYLAWYQQKPGKAP KLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQYYAYP WTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:20) 的轻链可变域。

[0290] 4. 实施方案 1-3 任一项的药物配制剂, 其中该抗 c-met 抗体包含单个抗原结合臂且包含 Fc 区, 其中该 Fc 区包含第一和第二 Fc 多肽, 且其中该第一和第二 Fc 多肽存在于复合物中

[0291] 5. 实施方案 4 的药物配制剂, 其中该第一和第二 Fc 多肽形成与包含所述抗原结合臂的 Fab 分子提高所述抗体片段的稳定性的 Fc 区。

[0292] 6. 实施方案 1-5 任一项的药物配制剂, 其中该抗 c-met 抗体包含 (a) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:19、CH1 序列和第一 Fc 多肽的第一多肽和 (b) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:20 和 CL1 序列的第二多肽。

[0293] 7. 实施方案 6 的药物配制剂, 其中该抗 c-met 抗体进一步包含 (c) 包含第二 Fc 多肽的第三多肽。

[0294] 8. 实施方案 1-7 任一项的药物配制剂, 其中该第一 Fc 多肽包含图 2 (SEQ ID NO:17) 所示 Fc 序列且该第二 Fc 多肽包含图 3 (SEQ ID NO:18) 所示 Fc 序列。

[0295] 9. 实施方案 1-8 任一项的药物配制剂, 其中该抗 c-met 抗体为 onartuzumab。

[0296] 10. 实施方案 1-8 任一项的药物配制剂, 其中该抗 c-met 抗体与 onartuzumab 结合

相同表位。

[0297] 11. 实施方案 1-10 任一项的药物配制剂,其中该抗 c-met 抗体以介于约 10mg/mL 和约 100mg/mL 之间(例如约 15mg/mL 和约 75mg/mL)的浓度存在。

[0298] 12. 实施方案 11 的药物配制剂,其中该抗 c-met 抗体以约 60mg/mL 的浓度存在。

[0299] 13. 实施方案 1-12 任一项的药物配制剂,其中该糖类以约 75mM 至约 200mM (例如约 100mM 至约 150mM)的浓度存在。

[0300] 14. 实施方案 13 的药物配制剂,其中该糖类以约 120mM 的浓度存在。

[0301] 15. 实施方案 1-14 任一项的药物配制剂,其中该糖类为二糖。

[0302] 16. 实施方案 15 的药物配制剂,其中该二糖为海藻糖。

[0303] 17. 实施方案 15 的药物配制剂,其中该二糖为蔗糖。

[0304] 18. 实施方案 1-17 任一项的药物配制剂,其中该组氨酸缓冲剂处于约 1mM 至约 50mM (例如约 1mM 至约 25mM)的浓度。

[0305] 19. 实施方案 18 的药物配制剂,其中该组氨酸缓冲剂处于约 10mM 的浓度。

[0306] 20. 实施方案 1-19 任一项的药物配制剂,其中该组氨酸缓冲剂为组氨酸乙酸酯。

[0307] 21. 实施方案 1-20 任一项的药物配制剂,其中该聚山梨酯以大于 0.02% 且小于约 0.1% 的浓度存在。

[0308] 22. 实施方案 21 的药物配制剂,其中该聚山梨酯以约 0.04% 的浓度存在。

[0309] 23. 实施方案 1-22 任一项的药物配制剂,其中该聚山梨酯为聚山梨酯 20。

[0310] 24. 实施方案 1-23 任一项的药物配制剂,其中该配制剂是用稀释剂(例如 0.9%NaCl)稀释的。

[0311] 25. 实施方案 24 的药物配制剂,其中该抗 c-met 抗体以约 1mg/mL 的浓度存在。

[0312] 26. 一种抑制 c-met 激活的细胞增殖的方法,所述方法包括使细胞或组织与有效量的实施方案 1-25 任一项的药物配制剂接触。

[0313] 27. 一种调控与 HGF/c-met 信号传导轴失调有关的疾病的方法,所述方法包括对受试者施用有效量的实施方案 1-25 任一项的药物配制剂。

[0314] 28. 一种治疗具有增殖性病症的受试者的方法,所述方法包括对该受试者施用有效量的实施方案 1-25 任一项的药物配制剂。

[0315] 29. 实施方案 28 的方法,其中该增殖性病症为癌症。

[0316] 30. 实施方案 29 的方法,其中该癌症为肺癌(例如非小细胞肺癌(NSCLC))、成胶质细胞瘤、胰腺癌、肉瘤、肾细胞癌、肝细胞癌、胃癌、结肠直肠癌、和 / 或乳腺癌。

[0317] 31. 实施方案 26-30 任一项的方法,进一步包括第二治疗剂。

[0318] 32. 一种制备实施方案 1-25 任一项的药物配制剂的方法。

[0319] 33. 一种制品,其包括容器,该容器中装有实施方案 1-25 任一项的药物配制剂。

[0320] 34. 一种制备实施方案 33 的制品的方法。

[0321] 下面是药物配制剂的实施例。应当理解,根据上文提供的一般描述,可实施各种其它实施方案。

实施例

[0322] 实施例 1-pH 和缓冲剂对液体 Onartuzumab 配制剂中的聚集和化学稳定性的影响

[0323] 根据大小排阻层析(SEC)的检测,初始抗 c-met 抗体, onartuzumab, 配制剂当于 5℃贮存时显示随时间升高的低分子量种类(LMWS)。由于 LMWS 的升高,最初没有致力于液体配制剂,以 20mg/mL onartuzumab, 10mM 琥珀酸组氨酸, 4%海藻糖二水合物, 0.02%聚山梨酯 20, pH5.7 开发了冻干配制剂。

[0324] 在开发液体配制剂和确定其可行性及提高抗体浓度的努力中,实施了 pH 和赋形剂筛选。

[0325] 在不同缓冲剂中评估了 Onartuzumab 在各种浓度(20-100mg/mL)的粘度和稳定性:a) 10mM 组氨酸-乙酸酯, 0.02%聚山梨酯 20, 和 120mM 海藻糖, b) 10mM 组氨酸-琥珀酸, 0.02%聚山梨酯 20, 和 120mM 海藻糖, 和 c) 200mM 精氨酸-琥珀酸和 0.02%聚山梨酯 20。包括精氨酸琥珀酸的配制剂在加速温度具有更快的聚集物形成(数据未显示)。所有评估的配制剂的粘度是可接受的。

[0326] 用下述液体配制剂评估 pH 对 onartuzumab 聚集和化学稳定性的影响:a) 20mg/mL onartuzumab, 在 10mM 组氨酸乙酸酯, 120mM 海藻糖, 0.02%聚山梨酯 20, pH5.2 中, b) 20mg/mL onartuzumab, 在 10mM 组氨酸乙酸酯, 120mM 海藻糖, 0.02%聚山梨酯 20, pH5.7 中, 和 c) 20mg/mL onartuzumab, 在 10mM 组氨酸乙酸酯, 120mM 海藻糖, 0.02%聚山梨酯 20, pH6.2 中。将样品保持于 25℃或 40℃一段时间,并大约每 15 天评估聚集物配制剂和化学稳定性。使用 TSK G3000SWXL 大小排阻柱,使用表征大小异质性变化的大小排阻层析来测量聚集物形成。

[0327] 如图 4 所示,根据 % 高分子量种类(HMWS)的指示,于 40℃,与 pH5.2 或 5.7 任一相比,更高的 pH6.2 导致升高的聚集物形成。根据 %HMWS 的指示,pH5.2 的配制剂展示最低的聚集物形成。

[0328] 使用更高的抗体浓度用下述液体配制剂进一步评估 pH 对 onartuzumab 聚集和化学稳定性的影响:a) 40mg/mL onartuzumab, 在 10mM 组氨酸乙酸酯, 120mM 海藻糖, 0.02%聚山梨酯 20, pH5.1 中, b) 40mg/mL onartuzumab, 在 10mM 组氨酸乙酸酯, 120mM 海藻糖, 0.02%聚山梨酯 20, pH5.4 中, 和 c) 40mg/mL onartuzumab, 在 10mM 组氨酸乙酸酯, 120mM 海藻糖, 0.02%聚山梨酯 20, pH5.7 中。将样品保持于 25℃或 40℃一段时间,并大约每四周评估聚集物配制剂和化学稳定性。如上文详述地测量聚集物形成。如图 5 和 6 所示,根据于加速温度(25℃和 40℃)的 %HMWS 的指示,与 pH5.7 相比,更低的 pH(例如 pH5.4 和 5.1)导致降低的聚集物形成。

[0329] 使用 Dionex WCX-10 离子交换柱(IEC)和盐梯度洗脱,使用表征电荷异质性变化的阳离子交换层析来测量化学稳定性。

[0330] 如图 7 所示,根据 IEC 的测量,于加速温度于 25℃和 40℃,虽然更低的 pH 导致降低的聚集物形成,但是介于 pH5.1 和 5.7 之间有相似的化学稳定性。基于这些发现,利用包括组氨酸缓冲剂(例如组氨酸乙酸酯)且 pH5.4 的配制剂来进行进一步实验。

[0331] 实施例 2- 聚山梨酯浓度对聚山梨酯降解速率和程度的影响

[0332] 多肽配制剂中利用聚山梨酯来最小化表面吸附及降低空气-液体面间表面张力和如此蛋白质变性的速率。药物配制剂中聚山梨酯的损失可导致配制剂的不稳定性。而且,聚山梨酯可因氧化和水解而降解,这可导致药物配制剂中聚山梨酯的表观浓度随长贮存期而降低。这些聚山梨酯降解物的表面活性不如未降解聚山梨酯,因此药物配制剂的化学和

物理稳定性可能受损。而且,一些聚山梨酯降解物是不溶性的,而且如果它们没有被完整聚山梨酯溶解的话,即如果降解聚山梨酯 20: 完整聚山梨酯 20 比率太高的话,可形成颗粒。

[0333] 在 10mM 组氨酸乙酸酯,120mM 蔗糖,0.02% 聚山梨酯 20, pH5.4 中包括 60mg/mL onartuzumab 的 onartuzumab 配制剂中评估了于 40℃ 随时间的聚山梨酯降解的速率和程度。通过混合模式离子交换柱和随后分步梯度洗脱,用基于聚山梨酯保持的测定法评估了聚山梨酯 20 的浓度。使用蒸发式光散射检测仪(ELSD)实施了检测。onartuzumab 配制剂于 40℃ 随时间的降解速率和降解聚山梨酯 20: 完整聚山梨酯 20 比率比预期高。高于预期的降解速率和降解聚山梨酯 20: 完整聚山梨酯 20 比率可导致长期储存后 onartuzumab 配制剂的不稳定性和颗粒形成。

[0334] 提高了 onartuzumab 配制剂中聚山梨酯 20 的百分比,并如上所述在下述 onartuzumab 配制剂中评估了于 40℃ 随时间的聚山梨酯降解的速率和程度:a) 在 10mM 组氨酸乙酸酯,120mM 蔗糖,0.02% 聚山梨酯 20, pH5.4 中的 60mg/mL onartuzumab 和 b) 在 10mM 组氨酸乙酸酯,120mM 蔗糖,0.04% 聚山梨酯 20, pH5.4 中的 60mg/mL onartuzumab。令人惊讶的是,如图 8 所示,聚山梨酯 20 浓度的升高不仅提高聚山梨酯 20 可用于稳定 onartuzumab 配制剂的总体水平,而且还降低于 40℃ 随时间的降解聚山梨酯 20: 完整聚山梨酯 20 比率,由此进一步提高 onartuzumab 配制剂在长期储存后的稳定性。

[0335] 实施例 3- 聚山梨酯浓度对稀释和搅动后 % 高分子量种类的影响

[0336] 在施用前,用稀释剂(例如盐水溶液)稀释 onartuzumab 配制剂来进行静脉内输注。在稀释后,聚山梨酯 20 浓度显著降低,而且配制剂中 onartuzumab 的稳定性可能受损,例如因为当摇动(例如在运输期间)经过稀释的 onartuzumab 配制剂(例如 IV 袋和 / 或 IV 施用套组)时的多肽聚集,表现为 %HMWS。如先前讨论的,单价 onartuzumab 聚集(形成多聚体和寡聚体)和 / 或维持单价结构失败可导致不想要的激动效应。

[0337] 为了评估稀释后多肽的稳定性和聚集的程度,将下述 onartuzumab 配制剂在装有 0.9%NaCl 的 IV 袋(PVC)中稀释至 1mg/mL,a) 10mM 组氨酸乙酸酯,120mM 海藻糖,0.02% 聚山梨酯 20, pH5.4 中的 60mg/mL onartuzumab 和 b) 10mM 组氨酸乙酸酯,120mM 蔗糖,0.04% 聚山梨酯 20, pH5.4 中的 60mg/mL onartuzumab。于室温(对于配制剂(a))和 30℃(对于配制剂(b))摇动(定轨摇床,100rpm)袋。

[0338] 如图 9 所示,在搅动后,与包含 0.02% 聚山梨酯的配制剂(a)相比,包含 0.04% 聚山梨酯 20 的配制剂(b)中的 %HMWS 显著降低。

[0339] 部分参考文献列表

[0340] Angeloni,D. et al. (2003).The soluble sema domain of the Ron receptor inhibits MSP-induced receptor activation.J Biol Chem.

[0341] Antipenko,A. et al. (2003).Structure of the semaphorin-3A receptor binding module. Neuron39, 589-598.

[0342] Bardelli,A. et al. (1997).Gabl coupling to the HGF/Met receptor multifunctional docking site requires binding of Grb2 and correlates with the transforming potential. Oncogene15, 3103-3111.

[0343] Bertotti,A., and Comoglio,P.M. (2003).Tyrosine kinase signal specificity:lessons from the HGF receptor. Trends Biochem Sci28, 527-533.

- [0344] Bladt, F. et al. (1995). Essential role for the c-met receptor in the migration of myogenic precursor cells into the limb bud. *Nature* 376, 768-771.
- [0345] Blechman, J. M. et al. (1995). The fourth immunoglobulin domain of the stem cell factor receptor couples ligand binding to signal transduction. *Cell* 80, 103-113.
- [0346] Boix, L. et al. (1994). c-met mRNA overexpression in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 19, 88-91.
- [0347] Bottaro, D. P. et al. (1991). Identification of the hepatocyte growth factor receptor as the c-met proto-oncogene product. *Science* 251, 802-804.
- [0348] Bussolino, F. et al. (1992). Hepatocyte growth factor is a potent angiogenic factor which stimulates endothelial cell motility and growth. *J Cell Biol* 119, 629-641.
- [0349] Coltella, N. et al. (2003). Role of the MET/HGF receptor in proliferation and invasive behavior of osteosarcoma. *Faseb J* 17, 1162-1164.
- [0350] Cooper, C. S. et al. (1984). Molecular cloning of a new transforming gene from a chemically transformed human cell line. *Nature* 311, 29-33.
- [0351] Di Renzo, M. F. et al. (1995). Overexpression and amplification of the met/HGF receptor gene during the progression of colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 1, 147-154.
- [0352] Ferguson, K. M. et al. (2003). EGF activates its receptor by removing interactions that autoinhibit ectodomain dimerization. *Mol Cell* 11, 507-517.
- [0353] Furge, K. A. et al. (2000). Met receptor tyrosine kinase: enhanced signaling through adapter proteins. *Oncogene* 19, 5582-5589.
- [0354] Garrett, T. P. et al. (2002). Crystal structure of a truncated epidermal growth factor receptor extracellular domain bound to transforming growth factor alpha. *Cell* 110, 763-773.
- [0355] Gherardi, E. et al. (2003). Functional map and domain structure of MET, the product of the c-met protooncogene and receptor for hepatocyte growth factor/scatter factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*.
- [0356] Giancotti, F. G., and Ruoslahti, E. (1999). Integrin signaling. *Science* 285, 1028-1032.
- [0357] Giordano, S. et al. (2002). The semaphorin4D receptor controls invasive growth by coupling with Met. *Nat Cell Biol* 4, 720-724.
- [0358] Giordano, S. et al. (1989). Biosynthesis of the protein encoded by the c-met proto-oncogene. *Oncogene* 4, 1383-1388.
- [0359] Giordano, S. et al. (2000). Different point mutations in the met oncogene elicit distinct biological properties. *Faseb J* 14, 399-406.
- [0360] Hamanoue, M. et al. (1996). Neurotrophic effect of hepatocyte growth factor on central nervous system neurons in vitro. *J Neurosci Res* 43, 554-564.

- [0361] Hartmann, G. et al. (1994). The motility signal of scatter factor/hepatocyte growth factor mediated through the receptor tyrosine kinase met requires intracellular action of Ras. *J Biol Chem* 269, 21936-21939.
- [0362] Jeffers, M. et al. (1996). Enhanced tumorigenicity and invasion-metastasis by hepatocyte growth factor/scatter factor-met signaling in human cells concomitant with induction of the urokinase proteolysis network. *Mol Cell Biol* 16, 1115-1125.
- [0363] Jeffers, M., Schmidt et al. (1997). Activating mutations for the met tyrosine kinase receptor in human cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 11445-11450.
- [0364] Jin, L. et al. (1997). Expression of scatter factor and c-met receptor in benign and malignant breast tissue. *Cancer* 79, 749-760.
- [0365] Kuniyasu, H. et al. (1993). Aberrant expression of c-met mRNA in human gastric carcinomas. *Int J Cancer* 55, 72-75.
- [0366] Lev, S., et al. (1992). A recombinant ectodomain of the receptor for the stem cell factor (SCF) retains ligand-induced receptor dimerization and antagonizes SCF-stimulated cellular responses. *J Biol Chem* 267, 10866-10873.
- [0367] Liu, C. et al. (1992). Overexpression of c-met proto-oncogene but not epidermal growth factor receptor or c-erbB-2 in primary human colorectal carcinomas. *Oncogene* 7, 181-185.
- [0368] Lokker, N. A. et al. (1992). Structure-function analysis of hepatocyte growth factor: identification of variants that lack mitogenic activity yet retain high affinity receptor binding. *Embo J* 11, 2503-2510.
- [0369] Lorenzato, A. et al. (2002). Novel somatic mutations of the MET oncogene in human carcinoma metastases activating cell motility and invasion. *Cancer Res* 62, 7025-7030.
- [0370] Love, C. A. et al. (2003). The ligand-binding face of the semaphorins revealed by the high-resolution crystal structure of SEMA4D. *Nat Struct Biol* 10, 843-848.
- [0371] Maina, F. et al. (1996). Uncoupling of Grb2 from the Met receptor in vivo reveals
- [0372] complex roles in muscle development. *Cell* 87, 531-542.
- [0373] Matsumoto, K., and Nakamura, T. (1993). Roles of HGF as a pleiotropic factor in organ regeneration. *Exs* 65, 225-249.
- [0374] Maulik, G. et al. (2002). Role of the hepatocyte growth factor receptor, c-Met, in oncogenesis and potential for therapeutic inhibition. *Cytokine Growth Factor Rev* 13, 41-59.
- [0375] Meiners, S. et al. (1998). Role of morphogenetic factors in metastasis of mammary carcinoma cells. *Oncogene* 16, 9-20.

- [0376] Morello, S. et al. (2001). MET receptor is overexpressed but not mutated in oral squamous cell carcinomas. *J Cell Physiol* 189, 285–290.
- [0377] Naka, D. et al. (1992). Activation of hepatocyte growth factor by proteolytic conversion of a single chain form to a heterodimer. *J Biol Chem* 267, 20114–20119.
- [0378] Naldini, L. et al. (1991). Scatter factor and hepatocyte growth factor are indistinguishable ligands for the MET receptor. *Embo J* 10, 2867–2878.
- [0379] Natali, P. G. et al. (1996). Overexpression of the met/HGF receptor in renal cell carcinomas. *Int J Cancer* 69, 212–217.
- [0380] Nguyen, L. et al. (1997). Association of the multisubstrate docking protein Gab1 with the hepatocyte growth factor receptor requires a functional Grb2 binding site involving tyrosine 1356. *J Biol Chem* 272, 20811–20819.
- [0381] Nusrat, A. et al. (1994). Hepatocyte growth factor/scatter factor effects on epithelia. Regulation of intercellular junctions in transformed and nontransformed cell lines, basolateral polarization of c-met receptor in transformed and natural intestinal epithelia, and induction of rapid wound repair in a transformed model epithelium. *J Clin Invest* 93, 2056–2065.
- [0382] Ogiso, H. et al. (2002). Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. *Cell* 110, 775–787.
- [0383] Olivero, M. et al. (1996). Overexpression and activation of hepatocyte growth factor/scatter factor in human non-small-cell lung carcinomas. *Br J Cancer* 74, 1862–1868.
- [0384] Olivero, M. et al. (1999). Novel mutation in the ATP-binding site of the MET oncogene tyrosine kinase in a HPRCC family. *Int J Cancer* 82, 640–643.
- [0385] Orian-Rousseau, V. et al. (2002). CD44 is required for two consecutive steps in HGF/c-Met signaling. *Genes Dev* 16, 3074–3086.
- [0386] Park, M. et al. (1986). Mechanism of met oncogene activation. *Cell* 45, 895–904.
- [0387] Peek, M. et al. (2002). Unusual proteolytic activation of pro-hepatocyte growth factor by plasma kallikrein and coagulation factor XIa. *J Biol Chem* 277, 47804–47809.
- [0388] Pelicci, G. et al. (1995). The motogenic and mitogenic responses to HGF are amplified by the Shc adaptor protein. *Oncogene* 10, 1631–1638.
- [0389] Plotnikov, A. N. et al. (1999). Structural basis for FGF receptor dimerization and activation. *Cell* 98, 641–650.
- [0390] Ponzetto, C. et al. (1994). A multifunctional docking site mediates signaling and transformation by the hepatocyte growth factor/scatter factor receptor family. *Cell* 77, 261–271.
- [0391] Ponzetto, C. et al. (1996). Specific uncoupling of GRB2 from the Met

receptor. Differential effects on transformation and motility. *J Biol Chem* 271, 14119-14123.

[0392] Robertson, S. C. et al. (2000). RTK mutations and human syndromes when good receptors turn bad. *Trends Genet* 16, 265-271.

[0393] Royal, I., and Park, M. (1995). Hepatocyte growth factor-induced scatter of Madin-Darby canine kidney cells requires phosphatidylinositol3-kinase. *J Biol Chem* 270, 27780-27787.

[0394] Schmidt, C. et al. (1995). Scatter factor/hepatocyte growth factor is essential for liver development. *Nature* 373, 699-702.

[0395] Schmidt, L. et al. (1997). Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. *Nat Genet* 16, 68-73.

[0396] Schmidt, L. et al. (1999). Novel mutations of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. *Oncogene* 18, 2343-2350.

[0397] Suzuki, K. et al. (1994). Expression of the c-met protooncogene in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 20, 1231-1236.

[0398] Tamagnone, L. et al. (1999). Plexins are a large family of receptors for transmembrane, secreted, and GPI-anchored semaphorins in vertebrates. *Cell* 99, 71-80.

[0399] Tempest, P. R. et al. (1988). Structure of the met protein and variation of met protein kinase activity among human tumour cell lines. *Br J Cancer* 58, 3-7.

[0400] Trusolino, L. et al. (2001). A signaling adapter function for alpha6beta4 integrin in the control of HGF-dependent invasive growth. *Cell* 107, 643-654.

[0401] Uehara, Y. et al. (1995). Placental defect and embryonic lethality in mice lacking hepatocyte growth factor/scatter factor. *Nature* 373, 702-705.

[0402] Van Vactor, D. V., and Lorenz, L. J. (1999). Neural development: The semantics of axon guidance. *Curr Biol* 9, R201-204.

[0403] Weidner, K. M. et al. (1996). Interaction between Gab1 and the c-Met receptor tyrosine kinase is responsible for epithelial morphogenesis. *Nature* 384, 173-176.

[0404] Wiesmann, C. et al. (1997). Crystal structure at 1.7 Å resolution of VEGF in complex with domain 2 of the Flt-1 receptor. *Cell* 91, 695-704.

[0405] Wiesmann, C. et al. (1999). Crystal structure of nerve growth factor in complex with the ligand-binding domain of the TrkA receptor. *Nature* 401, 184-188.

[0406] 虽然出于清楚理解的目的, 前述发明已经作为例示和例子相当详细地进行了描述, 但是说明书和实施例不应解释为限制本发明的范围。通过提及而明确将本文中引用的所有专利和科学文献的公开内容完整收录。

[0001]

序列表

<110> 基因泰克公司 (GENENTECH, INC.) ET AL.
<120> 抗 C-MET 抗体配制剂
<130> P4690R1-W0
<140>
<141>
<150> 61/503,513
<151> 2011-06-30
<160> 34
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 1
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 2
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 2
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 3
Gln Gln Tyr Tyr Ala Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 4
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Leu His
1 5 10

[0002]

<210> 5
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 5
Gly Met Ile Asp Pro Ser Asn Ser Asp Thr Arg Phe Asn Pro Asn Phe
1 5 10 15

Lys Asp

<210> 6
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 6
Ala Thr Tyr Arg Ser Tyr Val Thr Pro Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 7
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 7
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 8
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 8
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 9
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

[0003]

<400> 9
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 10
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 10
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
1 5 10

<210> 11
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 11
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 12
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 12
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10

<210> 13
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

<400> 13
Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

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

<210> 14
<211> 11
<212> PRT

[0004]

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 14

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 15

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

<400> 15

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

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

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 16

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

<400> 16

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

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

[0005]

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 100 105
 <210> 17
 <211> 222
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"
 <400> 17
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 1 5 10 15
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 20 25 30
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 35 40 45
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 50 55 60
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 65 70 75 80
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 85 90 95
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 100 105 110
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 115 120 125
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
 130 135 140
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 145 150 155 160
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 165 170 175
 Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 180 185 190
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 195 200 205
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215 220
 <210> 18
 <211> 227
 <212> PRT

[0006]

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

<400> 18

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 19

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

<400> 19

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

[0007]

```

1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
          20          25          30

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115

<210> 20
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
          多肽"

<400> 20
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr
          20          25          30

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

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
          50          55          60

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

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
          85          90          95

Tyr Tyr Ala Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
          100         105         110

Lys Arg

```

```

<210> 21
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

```

[0008]

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

<400> 21

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

[0009]

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser
 355 360 365
 Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys
 <210> 22
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的
 多肽"
 <400> 22
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr
 20 25 30
 Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 35 40 45
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95
 Tyr Tyr Ala Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

[0010]

```

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 115                      120                      125

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

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

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

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

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210                      215                      220

<210> 23
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
      肽"

<400> 23
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu
1          5          10          15

Ala

<210> 24
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
      肽"

<400> 24
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1          5

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的
      肽"

<400> 25
Gln Gln Tyr Tyr Ala Tyr Pro Trp Thr
1          5

<210> 26
<211> 10
<212> PRT

```

[0011]

<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 26
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Leu His
1 5 10

<210> 27
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 27
Gly Met Ile Asp Pro Ser Asn Ser Asp Thr Arg Phe Asn Pro Asn Phe
1 5 10 15

Lys Asp

<210> 28
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<220>
<221> MOD. RES
<222> (1).. (1)
<223> 除 Arg 以外的任意氨基酸

<400> 28
Xaa Tyr Gly Ser Tyr Val Ser Pro Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 29
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 29
Thr Tyr Gly Ser Tyr Val Ser Pro Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 30
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 30
Ser Tyr Gly Ser Tyr Val Ser Pro Leu Asp Tyr
1 5 10

[0012]

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 31
Leu Asp Ala Gln Thr
1 5

<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 32
Leu Thr Glu Lys Arg Lys Lys Arg Ser
1 5

<210> 33
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 33
Lys Pro Asp Ser Ala Glu Pro Met
1 5

<210> 34
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 34
Asn Val Arg Cys Leu Gln His Phe
1 5

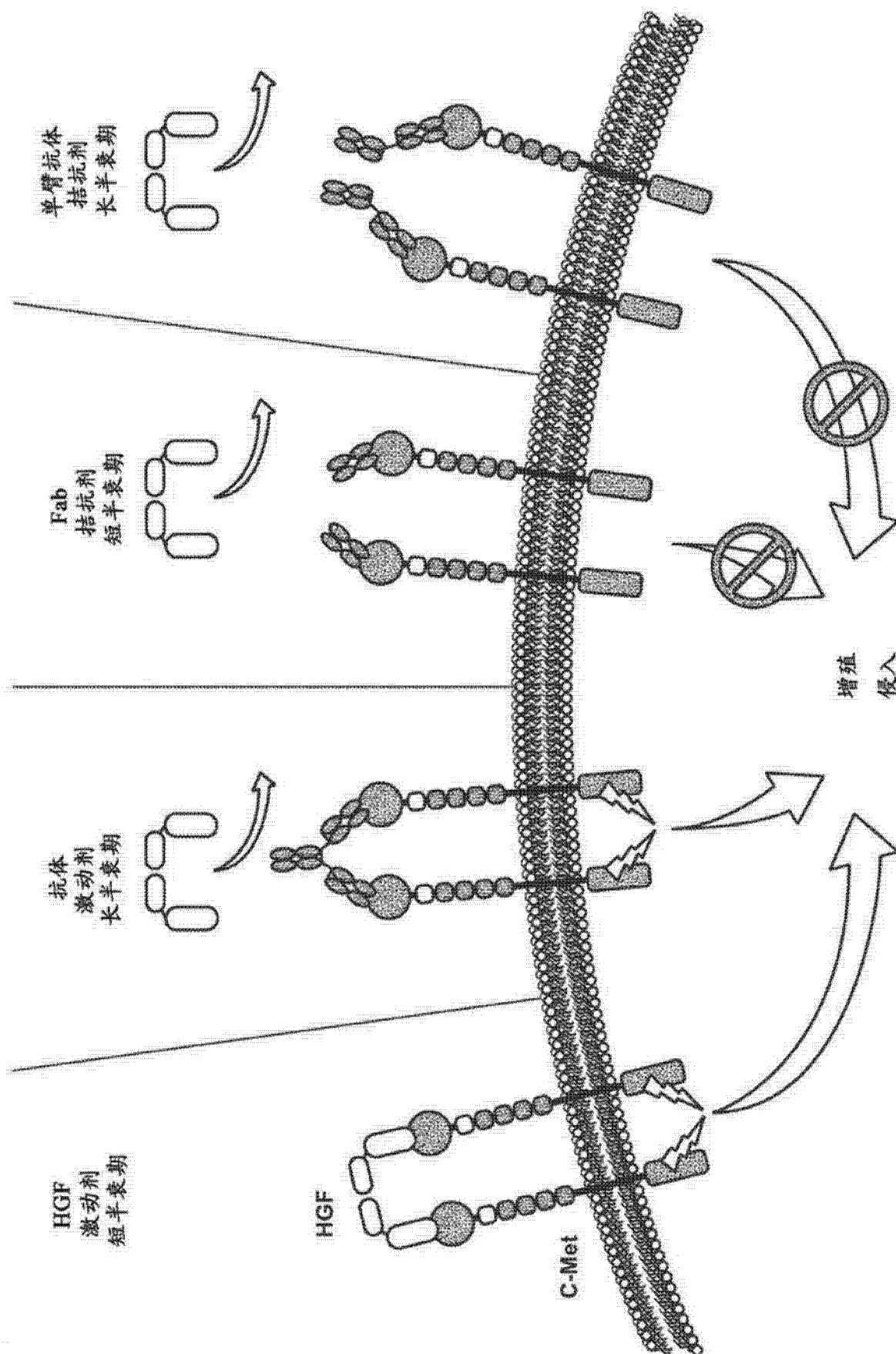


图 1

5D5.v2 轻链
FR1-LC: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:7)
FR2-LC: WYQOKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:8)
FR3-LC: GVPSTRFSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:9)
FR4-LC: FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:10)
HVR1-LC: KSSQSLLYTSSQKNYLA (SEQ ID NO:1)
HVR2-LC: WASTRES (SEQ ID NO:2)
HVR3-LC: QQYAYPWT (SEQ ID NO:3)
CL1: TVAAPSVFIFFPSDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEK
HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC (SEQ ID NO:15)

5D5.v2 重链
FR1-HC: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:11)
FR2-HC: WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:12)
FR3-HC: RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:13)
FR4-HC: WGQGTLTVSS (SEQ ID NO:14)
HVR1-HC: GYTFTSYWLH (SEQ ID NO:4)
HVR2-HC: GMIDPSNSDTRFNPFKD (SEQ ID NO:5)
HVR3-HC: ATYRSYVTPLDY (SEQ ID NO:6)
CH1: ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWVTPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO:16)
Fc: CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVWS
VLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPREEMTKNQVSLSCAVKGFPYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPPVLDSDGSFFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:17)

CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVSVL
TVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPPVLDSDGSFFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:18)

图 2

图 3

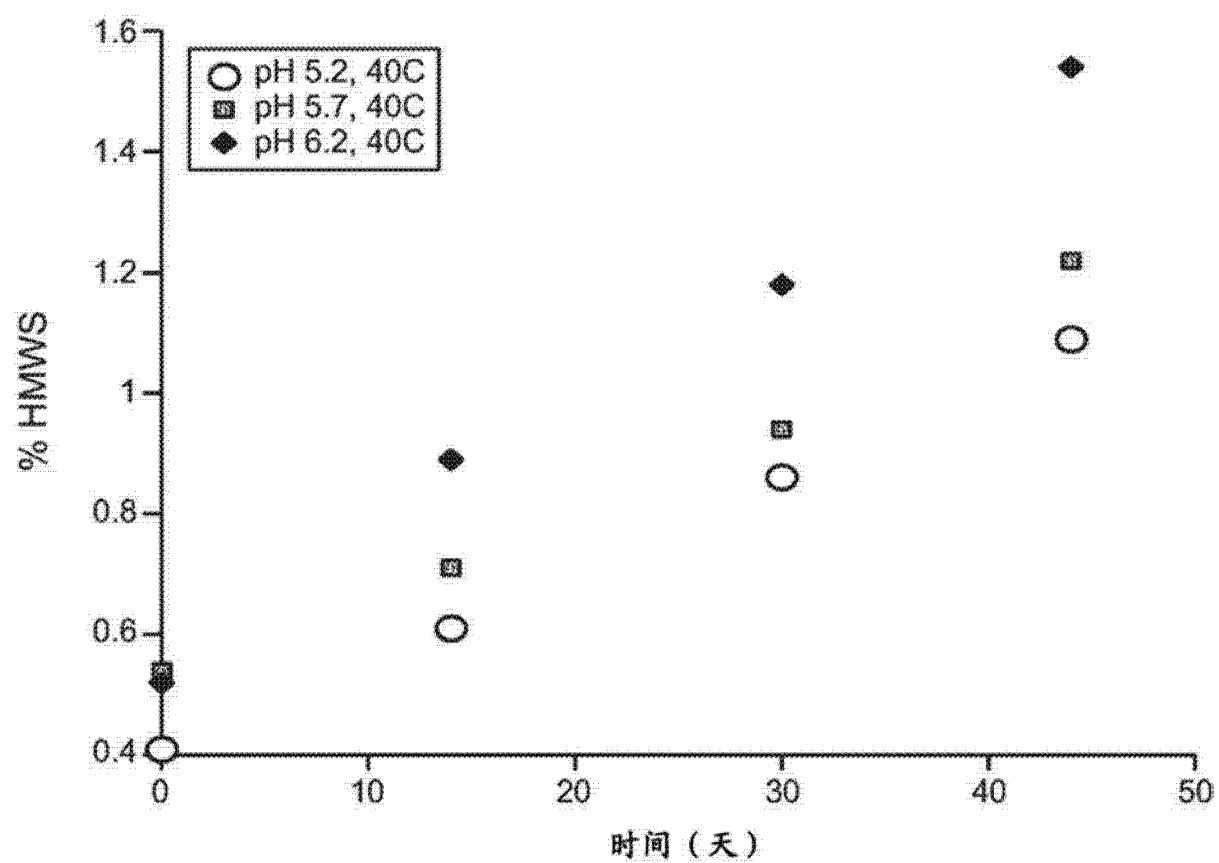


图 4

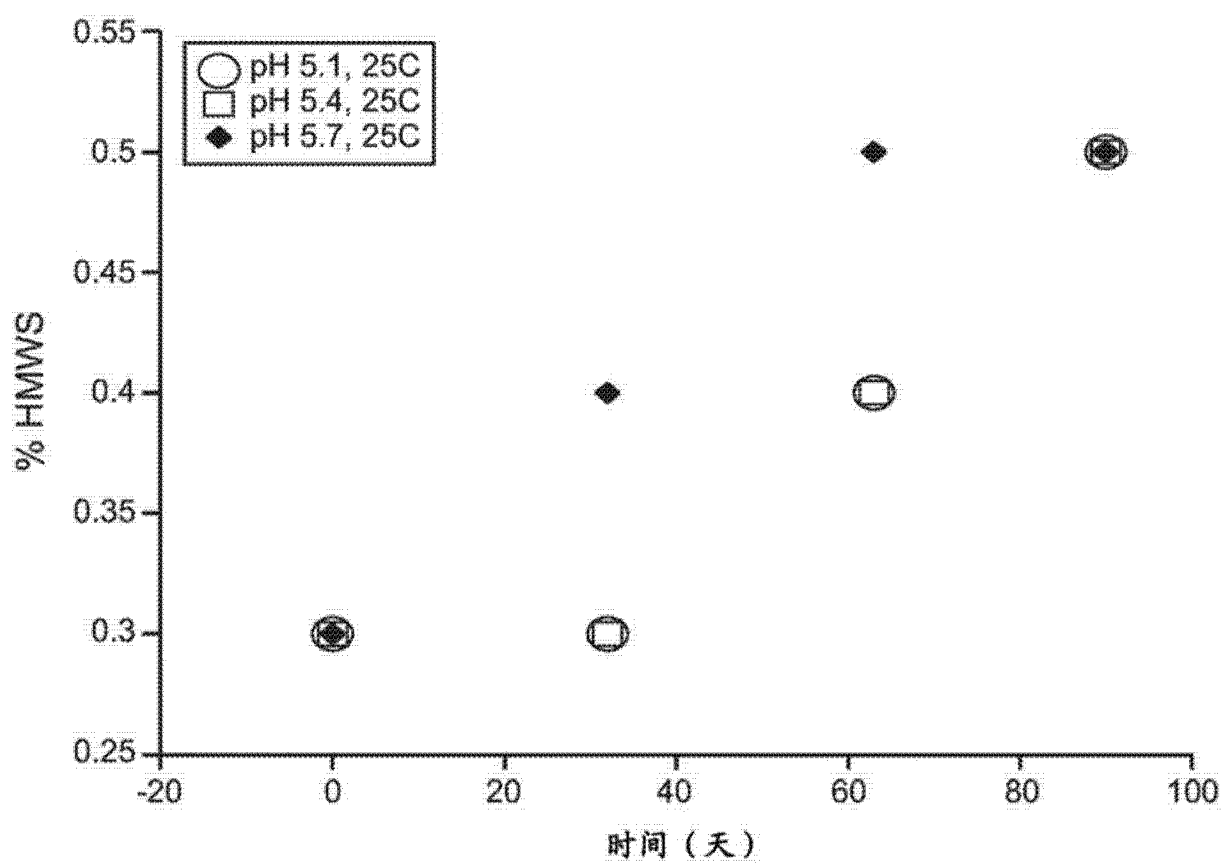


图 5

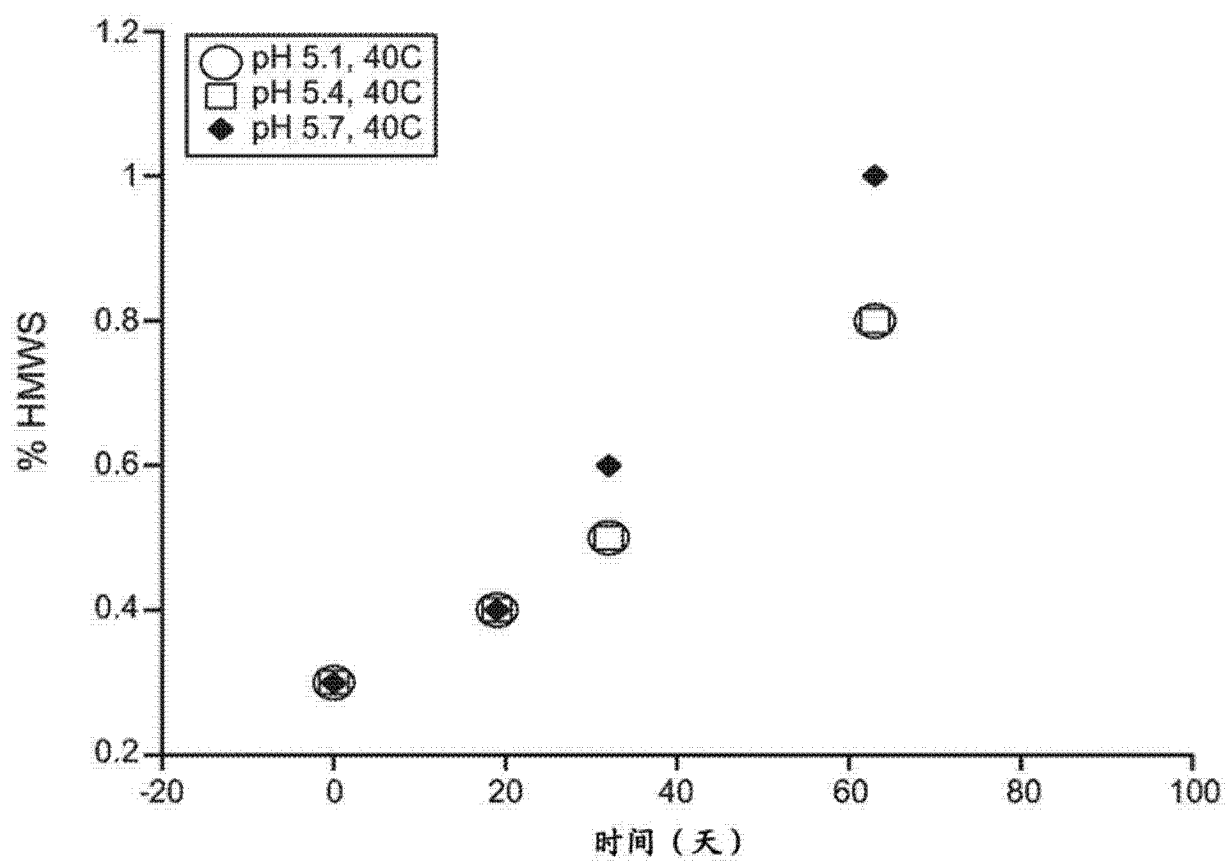


图 6

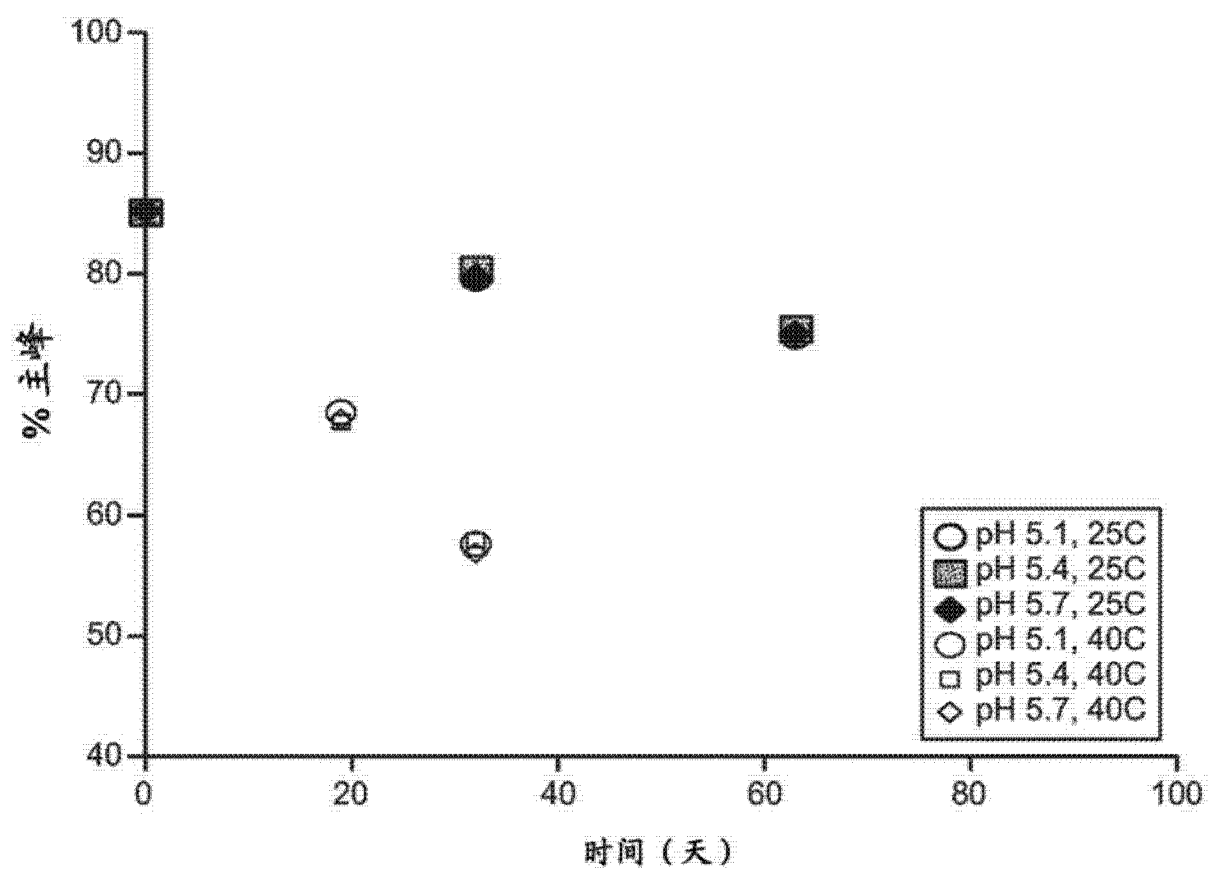


图 7

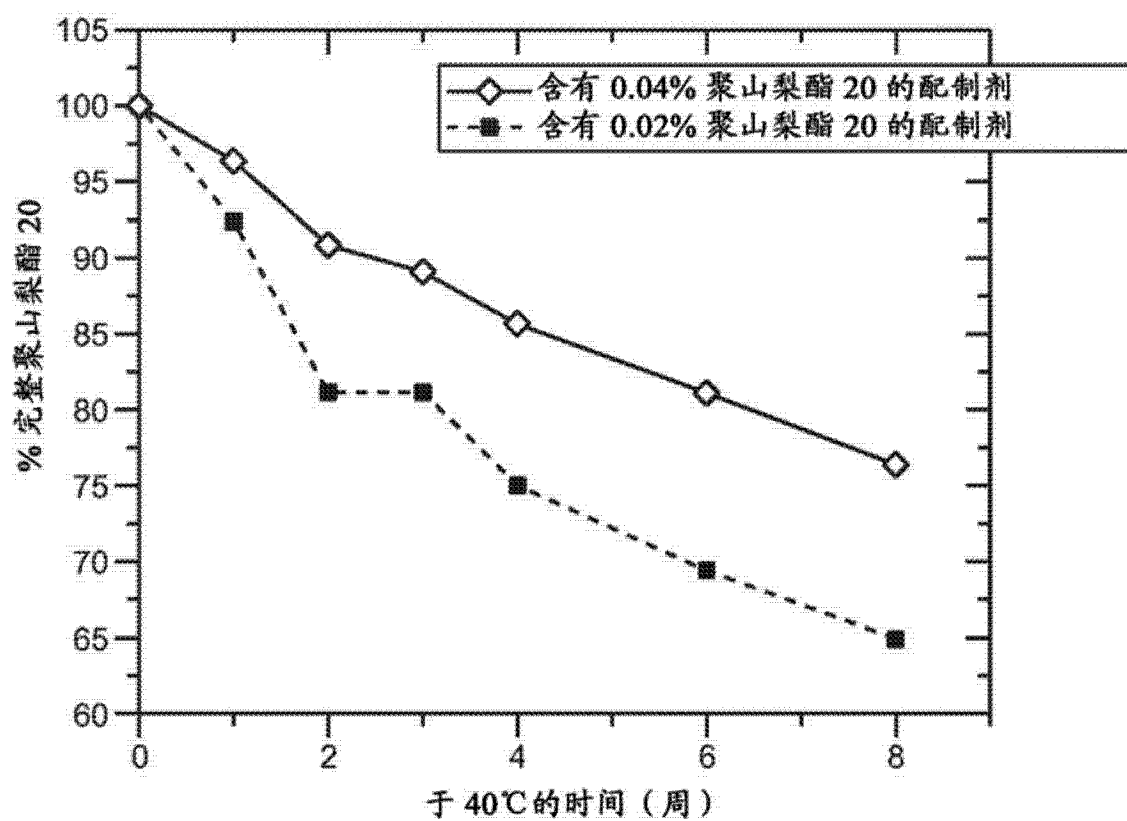


图 8

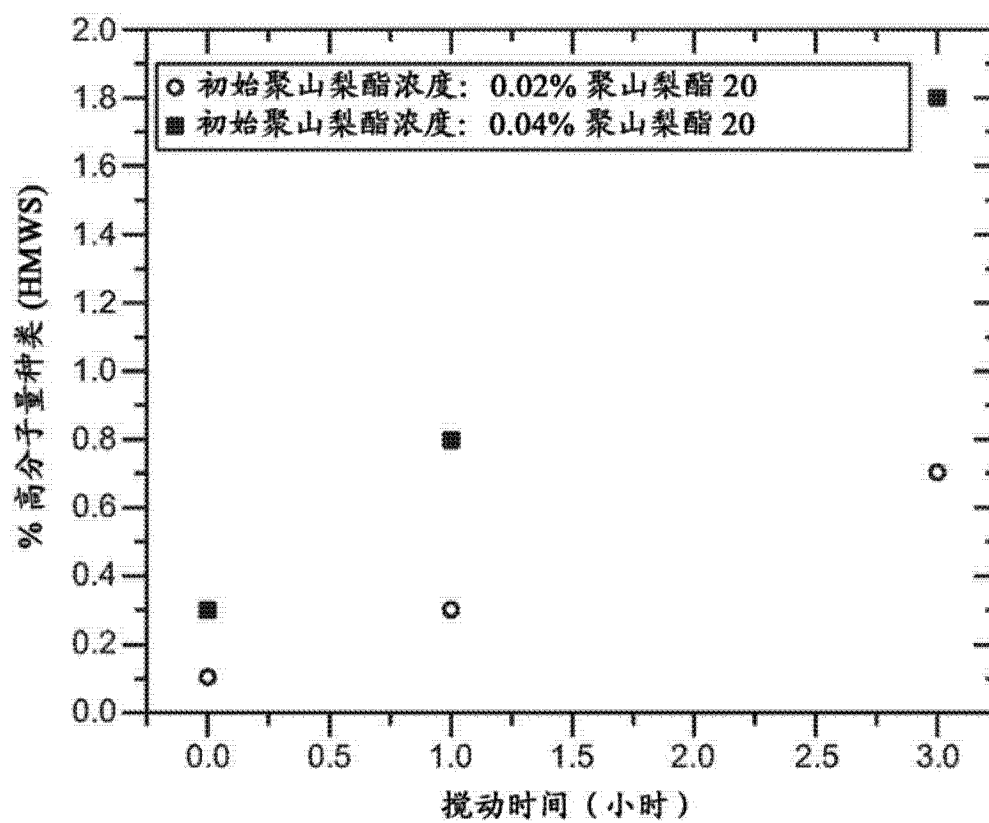


图 9