



(21)申請案號：110124764

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 07 月 06 日

(51)Int. Cl.：

C07K16/28 (2006.01)

A61K39/00 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2020/07/07

美國

63/049,012

(71)申請人：美商康愈有限責任公司 (美國) CANCURE, LLC (US)

美國

(72)發明人：吳 冬蘭 WU, JENNIFER DONGLAN (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：76 項 圖式數：4 共 131 頁

(54)名稱

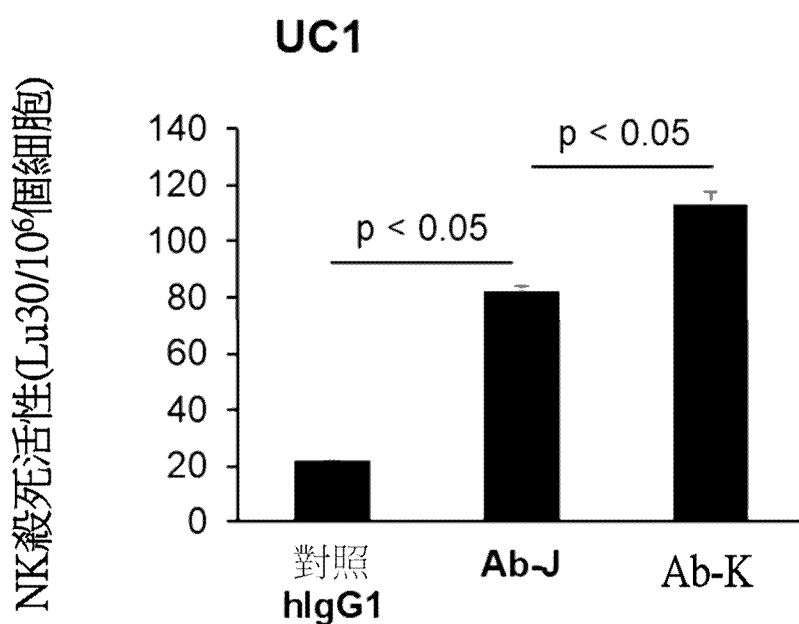
MIC 抗體及結合劑以及其使用方法

(57)摘要

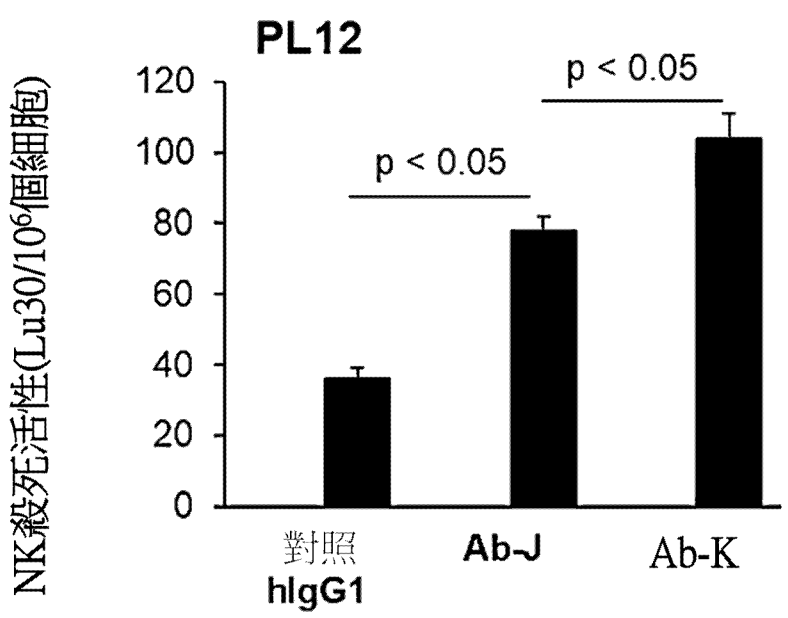
本發明提供 MIC 抗體、其抗原結合部分及其 MIC 結合劑，用於治療癌症。

The present invention provides MIC antibodies, antigen binding portions thereof and MIC binding agents thereof for use in the treatment of cancer.

指定代表圖：



【圖3A】



【圖3B】

【發明摘要】

【中文發明名稱】

MIC抗體及結合劑以及其使用方法

【英文發明名稱】

MIC ANTIBODIES AND BINDING AGENTS AND METHODS OF
USING THE SAME

【中文】

本發明提供MIC抗體、其抗原結合部分及其MIC結合劑，用於治療癌症。

【英文】

The present invention provides MIC antibodies, antigen binding portions thereof and MIC binding agents thereof for use in the treatment of cancer.

【指定代表圖】

圖3A及3B

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

MIC抗體及結合劑以及其使用方法

【英文發明名稱】

MIC ANTIBODIES AND BINDING AGENTS AND METHODS OF
USING THE SAME

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 與主要組織相容性複合體I類鏈有關的分子A及B（分別為MICA及MICB，一般稱為MIC）係結合至NKG2D之蛋白質家族。NKG2D係一種由自然殺手(NK)細胞、NKT細胞、 γ - δ T細胞子組及人類CD 8 T細胞表現的活化免疫受體。MIC結合至NK細胞或T細胞上的NKG2D尤其導致活體外活化NK細胞及共刺激CD8及 γ - δ T細胞之效應。

【0002】 據報導，MIC家族分子在腫瘤細胞上表現且據信參與抑制對腫瘤細胞之免疫反應。與MICB相比，MICA於腫瘤細胞表面上表現更頻繁且更豐富。MIC蛋白以膜結合形式及可溶形式sMIC兩種形式存在，後一形式係自腫瘤細胞脫落。sMIC之血清含量之升高與許多類型之癌症相關，包括：癌，諸如實體腫瘤，例如黑色素瘤、前列腺癌、卵巢癌、子宮頸癌、乳癌、肺癌、結腸癌、腎癌、胃腸道(GI)癌症及頭頸癌、及造血性癌症，諸如淋巴瘤及多發性骨髓瘤、及骨及軟組織起源之癌症，諸如肉瘤。據報導，MIC(B)之膜限制形式維持小鼠之NKG2D介導之保護性抗腫瘤免疫，而可溶形式與藉由降低NK細胞及CD8 T細胞上之NKG2D表現介導的腫瘤進展及NK細胞之周邊維持的受損相關。因此，結合至sMIC之藥

劑代表用於患者之潛在治療方法。然而，仍需要經最佳化用於治療人類之MIC+癌症之藥劑。

【發明內容】

【0003】 本文揭示的本發明部分基於MIC結合抗體、其抗原結合部分及相關結合劑，其特異性結合至可溶MIC (sMIC)及/或細胞膜結合之MIC (亦稱為膜結合MIC)且展現改良之治療性質。MIC，且特別是sMIC，係用於治療某些癌症之重要且有利之治療標靶。此等MIC結合抗體、其抗原結合部分及結合劑提供基於在治療MIC+癌症中使用此類抗體、其抗原結合部分及相關結合劑之組合物及方法。因此，本發明提供與MIC結合劑有關的方法、組合物、套組及製品。

【0004】 在一些實施例中，提供一種結合劑，其包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區，及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該重鏈及輕鏈框架區係視需要經1至8個胺基酸取代、缺失及插入在該等框架區中而修飾。結合劑特異性結合至MIC。在一些實施例中，結合劑以大於抗體B10G5之結合親和力之結合親和力特異性結合至MIC。在一些實施例中，結合劑包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區，及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區。結合劑特異性結合至MIC。在一些實施例中，結合劑以大於抗體B10G5之結合親和力之結合親和力特異性結合至MIC。

【0005】 在一些實施例中，提供包含重鏈可變(VH)區及輕鏈可變(VL)區之結合劑，其中該VH區包含具有SEQ ID NO:11所示的胺基酸序列之互補決定區HCDR1、具有SEQ ID NO:12所示的胺基酸序列之HCDR2及具有SEQ ID NO:13所示的胺基酸序列之HCDR3，及該VL區包

含具有SEQ ID NO:14所示的胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO:15所示的胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO:16所示的胺基酸序列之LCDR3，且其中該VH及VL區各包含人類化框架區。在一些實施例中，人類化VH框架區源自具有IMGT IGHV4-59*11 (SEQ ID NO:29)及IGHJ4*01 (SEQ ID NO:30)或IGHV4-30-4*01 (SEQ ID NO:31)及IGHJ4*01 (SEQ ID NO:30)所示的胺基酸序列之人類生殖系基因。在一些實施例中，人類化VL框架區源自具有IMGT IGKV1-NL1*01 (SEQ ID NO:32)及IMGT IGKJ1*01 (SEQ ID NO:33)、IMGT IGKV1-33*01 (SEQ ID NO:34)及IMGT IGKJ1*01 (SEQ ID NO:33)或IMGT IGKV1-5*01 (SEQ ID NO:35)及IMGT IGKJ1*01 (SEQ ID NO:33)所示的胺基酸序列之人類生殖系基因。結合劑特異性結合至MIC。在一些實施例中，結合劑以大於抗體B10G5之結合親和力之結合親和力特異性結合至MIC。

【0006】 在一些實施例中，結合劑係抗體或其抗原結合部分。在一些實施例中，結合劑係單株抗體、Fab、Fab'、F(ab')、Fv、二硫鍵連接之Fc、scFv、單域抗體、雙功能抗體、雙特異性抗體或多特異性抗體。

【0007】 在一些實施例中，結合劑具有連接至重鏈恆定區之重鏈可變區。在一些實施例中，該重鏈恆定區具有IgG同型。在一些實施例中，該重鏈恆定區係IgG1恆定區。在一些實施例中，該重鏈恆定區係IgG4恆定區。在一些實施例中，該重鏈可變區及恆定區具有SEQ ID NO:3所示的胺基酸序列。在一些實施例中，結合劑具有連接至輕鏈恆定區之輕鏈可變區。在一些實施例中，該輕鏈恆定區具有κ同型。在一些實施例中，該輕鏈可變區及恆定區具有SEQ ID NO:4所示的胺基酸序列。在一些實施例中，該重鏈恆定區進一步包含至少會增加對人類FcγRIII之結合親和力之

胺基酸修飾。在一些實施例中，該重鏈恆定區進一步包含至少會增加抗體相關性細胞毒性(ADCC)活性之胺基酸修飾。在一些實施例中，該重鏈恆定區進一步包含至少一個增加CDC活性之胺基酸修飾。

【0008】 在一些實施例中，結合劑係單特異性的。在一些實施例中，結合劑係單特異性且二價的。在一些實施例中，結合劑係二價的。在一些實施例中，結合劑係二價且雙特異性的或多價且多特異性的。

【0009】 在一些實施例中，提供一種醫藥組合物，其包含本文描述的實施例中之任何者之結合劑及醫藥上可接受之載劑。

【0010】 在一些實施例中，提供編碼結合劑之重鏈可變區之核酸，其具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列，視需要具有SEQ ID NO:21所示的核酸序列。在一些實施例中，提供編碼結合劑之輕鏈可變區之核酸，其具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列，視需要具有SEQ ID NO:22所示的核酸序列。在一些實施例中，提供編碼本文描述的任何實施例之結合劑之核酸，視需要具有SEQ ID NO:21及SEQ ID NO:22所示的核酸序列。在一些實施例中，提供包含編碼如本文所述的MIC結合劑多肽之任何核酸之載體。在一些實施例中，提供包含編碼本文描述的任何結合劑多肽之核酸或包含此類核酸之載體之細胞。

【0011】 在一些實施例中，提供一種治療MIC+癌症之方法，該方法包括向有此需要的個體投與治療有效量之結合劑，該結合劑包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區，及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該重鏈及輕鏈框架區係視需要經1至8個胺基酸取代、缺失或插入在該等框架區中而修飾，其中該結合劑特異性結合至sMIC及/或膜結合MIC。在一些實施例中，結合劑以大於抗體

B10G5之結合親和力之結合親和力特異性結合至MIC。

【0012】 在一些實施例中，提供一種治療MIC+癌症之方法，該方法包括向有此需要的個體投與治療有效量之結合劑，該結合劑包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區，及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該結合劑特異性結合至MIC。在一些實施例中，結合劑以大於抗體B10G5之結合親和力之結合親和力特異性結合至MIC。

【0013】 在一些實施例中，提供一種治療MIC+癌症之方法，該方法包括向有此需要的個體投與治療有效量之本文描述的任何結合劑實施例。在一些實施例中，該方法包括將結合劑呈包含醫藥上可接受之載劑之醫藥組合物投與。

【0014】 在一些實施例中，該癌症係癌、肉瘤、神經內分泌腫瘤或惡性血液病。在一些實施例中，該癌係實體腫瘤，視需要選自黑色素瘤、前列腺癌、卵巢癌、子宮頸癌、乳癌、肺癌、結腸癌、腎癌及頭頸癌。在一些實施例中，惡性血液病係淋巴瘤、白血病或多發性骨髓瘤。

【0015】 在一些實施例中，該方法進一步包括向個體投與免疫療法。在一些實施例中，該免疫療法係授受性細胞療法或檢查點抑制劑。在一些實施例中，該授受性細胞療法係選自自體NK細胞、同種異體NK細胞、自體T細胞、CAR修飾之T細胞及CAR修飾之NK細胞。在一些實施例中，該免疫療法包括檢查點抑制劑。在一些實施例中，該檢查點抑制劑係選自特異性結合至人類PD-1、人類PD-L1或人類CTLA4之抗體。在一些實施例中，該檢查點抑制劑係派立珠單抗(pembrolizumab)、納武單抗(nivolumab)、西米普利單抗(cemiplimab)或易普利單抗(ipilimumab)。

【0016】 在一些實施例中，該方法包括在投與結合劑之前至少四週、至少六週或至少八週不向個體投與化學療法之步驟。在一些實施例中，該結合劑經靜脈內投與。在一些實施例中，該結合劑係以約0.1 mg/kg至約100 mg/kg、或約0.1 mg/kg至約25 mg/kg、或約0.1 mg/kg至約20 mg/kg、或約0.1 mg/kg至約15 mg/kg、或約0.1 mg/kg至約10 mg/kg之劑量投與。

【0017】 在一些實施例中，提供一種降低患有癌症的個體之循環sMIC含量之方法，該方法包括投與治療有效量之本文描述的任何實施例之結合劑或本文描述的任何結合劑實施例之醫藥組合物，其中該結合劑特異性結合至循環sMIC。在一些實施例中，該癌症係癌、肉瘤、神經內分泌腫瘤或惡性血液病。在一些實施例中，該癌係選自實體腫瘤，包括但不限於黑色素瘤、前列腺癌、卵巢癌、子宮頸癌、乳癌、肺癌、結腸癌、腎癌及頭頸癌。在一些實施例中，該惡性血液病係淋巴瘤、白血病或多發性骨髓瘤。

【0018】 在一些實施例中，提供一種改良接受免疫療法的個體之治療結果之方法，該方法包括向患有癌症的該個體投與有效量之免疫療法；及投與治療有效量之本文描述的任何實施例之結合劑或本文描述的結合劑之任何實施例之醫藥組合物，其中該結合劑特異性結合至循環sMIC及/或細胞膜結合MIC；且其中與單獨投與免疫療法相比，該個體之治療結果改良。在一些實施例中，該改良之治療結果係選自穩定疾病、部分反應或完全反應之客觀反應。在一些實施例中，該改良之治療結果係減少之腫瘤負荷。在一些實施例中，該改良之治療結果係無進展存活期或無疾病存活期。在一些實施例中，該免疫療法係授受性細胞療法或檢查點抑制劑。在

一些實施例中，該授受性細胞療法係自體NK細胞、同種異體NK細胞、自體T細胞、CAR修飾之T細胞及CAR修飾之NK細胞。在一些實施例中，該檢查點抑制劑包含特異性結合至人類PD-1、人類PD-L1或CTLA4之抗體。在一些實施例中，該檢查點抑制劑係派立珠單抗、納武單抗、西米普利單抗或易普利單抗。

【0019】 在一些實施例中，包括在投與結合劑之前至少四週、至少六週或至少八週不向個體投與化學療法。在一些實施例中，該結合劑經靜脈內投與。在一些實施例中，該結合劑係以約0.01 mg/kg至約100 mg/kg、或約0.01 mg/kg至約25 mg/kg、或約0.01 mg/kg至約20 mg/kg、或約0.01 mg/kg至約15 mg/kg、約0.01 mg/kg至約10 mg/kg、約0.1 mg/kg至約100 mg/kg、或約0.1 mg/kg至約25 mg/kg、或約0.1 mg/kg至約20 mg/kg、或約0.1 mg/kg至約15 mg/kg、或約0.1 mg/kg至約10 mg/kg之劑量投與。

【0020】 藉由參考以下詳細描述、特定實施例之非限制性實例及附圖，可更充分地理解本發明之此等及其他態樣。

【圖式簡單說明】

【0021】 圖1顯示藉由FACS分析抗體B10G5之人類化變異體(連接至人類IgG1 Fc區)之結合親和力。與抗體J (Ab-J；一種組成於鼠類B10G5抗體及人類IgG1 Fc域之F(ab)₂上之B10G5嵌合抗體)相比，兩種人類化變異體抗體G及抗體K展現更高平均螢光強度(MFI)。

【0022】 圖2A至2B顯示與抗體K (Ab-K；圖2B)相比，抗體B10G5 (圖2A)具有更低(更弱)結合親和力，分別地， $K_d = 12.1$ nM相對於7.2 nM，如藉由使用Octet Red96 (ForteBio)的生物層干涉測量法(Bio-layer

interferometry)測定。

【0023】 圖3A至3B顯示，抗體K (Ab-K)證實與Ab-J (嵌合B10G5)相比，在增強MIC⁺甲狀腺嗜酸細胞瘤UC1腫瘤細胞(圖3A)；及胰臟PL12細胞(圖3B)之IL-2活化初級NK細胞殺死方面的更高活性。

【0024】 圖4A至4C顯示鼠抗體B10G5 (圖4A)、嵌合Ab-K抗體(ch-Ab-K、Ab-K可變域及鼠IgG1-Fc；圖4B)及抗體K (Ab-K；人類化；圖4C)之抗體單體含量及聚集體含量，如藉由動態光散射(DLS)檢定測定。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0025】 本申請案主張2020年7月7日申請之美國臨時申請案第63/049,012號之優先權，該案出於任何目的以其全文引用的方式併入本文中。

關於贊助資金之聲明

【0026】 本發明受政府支持根據由美國小型企業管理局(US Small Business Administration)授予的小型企業技術轉讓撥款1R41CA206688-01A1進行。政府對本發明具有特定權利。

定義

【0027】 為方便起見，此處定義本說明書、實施例及申請專利範圍中之某些術語。除非另有規定或從上下文中意指，否則以下術語及片語具有下文提供的含義。提供該等定義係為了幫助描述特定實施例，且並不意在限制所主張的發明，因為本發明之範疇僅受申請專利範圍限制。除非另有定義，否則本文使用的所有技術及科學術語具有與本發明所屬技術之一般技術者通常所理解相同的含義。

【0028】如本文所用且除非另有指示，否則術語「一」及「一個」用於意指「一個」、「至少一個」或「一或多個」。除非上下文另有要求，本文使用的單數術語應包括複數及複數術語應包括單數。

【0029】除非上下文另有明確要求，否則在整個說明書及申請專利範圍中，詞語「包括(comprise)」、「包括(comprising)」及類似者應解釋為在包含意義上而不是在排他性或窮盡性意義上；亦即，在「包括但不限於」之意義上。

【0030】術語「減少(decrease)」、「降低(reduce)」、「降低(reduced)」、「降低(reduction)」、「減少(decrease)」及「抑制(inhibit)」在本文中全部用於一般意指相對於參考減少統計學顯著量。

【0031】術語「增加(increased)」、「增加(increase)」或「增強(enhance)」或「活化(activate)」在本文中全部用於一般意指相對於參考增加統計顯著量。

【0032】術語「分離的」或「部分純化的」如本文所用在核酸、多肽或蛋白質之情況下係指自至少一種其他組分(例如核酸或多肽或蛋白質)分離的核酸、多肽或蛋白質，該至少一種其他組分係與在其天然來源中發現的核酸、多肽或蛋白質一起存在及/或將與當藉由細胞表現時或在分泌的多肽及蛋白質之情況下分泌的核酸、多肽或蛋白質一起存在。化學合成之核酸、多肽或蛋白質、或使用活體外轉錄/轉譯合成的核酸、多肽或蛋白質，被認為係「分離」。術語「純化的」或「實質上純化的」係指分離的核酸、多肽或蛋白質，其佔標題核酸、多肽或蛋白質至少95重量%，包括例如至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更多。

【0033】如本文所用，術語「蛋白質」及「多肽」在本文中可互換

使用以指代一系列胺基酸殘基，各胺基酸殘基經相鄰殘基之 α -胺基與羧基基團之間的肽鍵彼此連接。術語「蛋白質」及「多肽」亦指蛋白質胺基酸之聚合物，包括經修飾之胺基酸(例如磷酸化、糖化、醯基化等)及胺基酸類似物，無論其大小或功能如何。「蛋白質」及「多肽」常用於指相對大的多肽，而術語「肽」常用於指小多肽，但此等術語在此項技術中之使用重疊。當提及經編碼之基因產物及其片段時，術語「蛋白質」及「多肽」在本文中可互換使用。因此，示例性多肽或蛋白質包括基因產物、天然存在之蛋白質、同源物、異種同源物(ortholog)、同種同源物(paralog)、片段及前述之其他等效物、變異體、片段及類似物。

【0034】與主要組織相容性複合體I類鏈有關的(MIC)多肽係細胞表面跨膜蛋白。MIC多肽包括但不限於人類MICA同功異型物(例如同功異型物1，NCBI Ref Seq NP_000238.1 (SEQ ID NO:9)及001170990) (此等序列係以引用之方式併入本文中)及其他MICA同功異型物)、及人類MICB同功異型物(例如同功異型物1，NCBI Ref Seq: NP_005922.2 (SEQ ID NO:10) (該等序列係以引用之方式併入本文中)及其他MICB同功異型物)。在一些實施例中，MIC多肽係指MICA。在一些實施例中，MIC多肽係指MICB。在一些實施例中，MIC多肽係指MICA及MICB之共有結構特徵，亦即MICA及MICB共有的抗原決定基。

【0035】如本文所用，「可溶MIC」或「sMIC」係指MIC多肽(MICA或MICB)之一部分，其包含 $\alpha 1$ 及 $\alpha 2$ 域及 $\alpha 3$ 域或 $\alpha 3$ 域之一部分直至蛋白水解裂解位點且缺乏跨膜域(例如MIC之胞外部分)。在一些實施例中，可溶MICA可包含Genbank登錄號CAA77031.1 (SEQ ID NO:27)所述的胺基酸序列或其變異體，諸如Genbank登錄號AAU95072.1、

AAO45822.1、AFR69318.1、AFR69319.1或AAH16929.1之胺基酸殘基24至297所示的胺基酸序列或參考Seq.NP_000238.1或Genbank登錄號CAE45581.1之胺基酸1至274、或Genbank登錄號AAD52069.1, AAD52070.1或QDW65494.1之胺基酸1至273 (其揭示內容係以引用之方式併入本文中)。在一些實施例中，可溶MICB可包含Genbank登錄號：ARB08539.1 (SEQ ID NO:28)、AAB71646.1、AAB71647.1或AAB71644.1所示的胺基酸序列或其變異體，諸如Genbank登錄號ABO16470.1、ABB51802.1、AAB42011.1、AAB71643.1或Q29980.1之胺基酸殘基24至297所示的胺基酸序列、或參考SEQ No. NP_005922.2或Genbank登錄號AAC39848.1 AEK67483.1、AFR7773.1、AXY93666.1、CAB72098.1或AAC39849.1之胺基酸1至273 (其揭示內容係以引用之方式併入本文中)。除非另有註明，否則使用術語「MIC」意欲指MIC之細胞膜結合形式及可溶形式兩種形式。

【0036】如本文所用，抗體B10G5係指在描述於美國專利第9,803,017號(其揭示內容出於所有目的以引用的方式併入本文中)中之相同名稱的MIC抗體。

【0037】如本文所用，「抗原決定基」係指習知上藉由免疫球蛋白VH/VL對結合的胺基酸，諸如本文描述的抗體及結合劑。抗原決定基可由藉由蛋白質之三級折疊相鄰的連續胺基酸或非連續胺基酸形成於多肽上。由連續胺基酸形成的抗原決定基通常在暴露於變性溶劑時保留，而藉由三級折疊形成的抗原決定基通常在用變性溶劑處理時丟失。抗原決定基通常在獨特空間構型中包含至少3個，且更通常地，至少5個、約9或約8至10個胺基酸。抗原決定基定義抗體或其他結合劑之最小結合位點，且因

此代表抗體、其抗原結合部分或其他基於免疫球蛋白之結合劑之特異性的靶標。在單域抗體之情況下，抗原決定基代表經處於分離狀態下的可變域結合的結構單元。

【0038】如本文所用，「特異性結合」係指本文描述的結合劑(例如抗體或其部分)以KD 10^{-5} M (10000 nM)或更小，例如 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M或更小結合至標靶(諸如MIC)的能力。特異性結合可受例如結合劑之親和力及結合性及靶多肽之濃度的影響。熟習此項技術者可使用任何適宜方法，諸如在適宜細胞結合檢定中滴定結合劑，來確定本文描述的抗體及其他結合劑選擇性結合至MIC的適宜條件。特異性結合至MIC的結合劑不會被非相似競爭者所取代。在某些實施例中，MIC抗體或其抗原結合部分當其在蛋白質及/或大分子之複合混合物中優先識別其靶抗原MIC時稱為特異性結合至MIC。

【0039】在一些實施例中，如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑以 10^{-5} M (10000 nM)或更小，例如 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M或更小之解離常數(KD)特異性結合至MIC多肽。在一些實施例中，如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑以約 10^{-5} M至 10^{-6} M之解離常數(KD)特異性結合至MIC多肽。在一些實施例中，如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑以約 10^{-6} M至 10^{-7} M之解離常數(KD)特異性結合至MIC多肽。在一些實施例中，如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑以約 10^{-7} M至 10^{-8} M之解離常數(KD)特異性結合至MIC多肽。在一些實施例中，如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑以約 10^{-8} M至 10^{-9} M之解離常數(KD)特異性結合至MIC多肽。在一些實施例中，如本文

所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑以約 10^{-9} M至 10^{-10} M之解離常數(KD)特異性結合至MIC多肽。在一些實施例中，如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑以約 10^{-10} M至 10^{-11} M之解離常數(KD)特異性結合至MIC多肽。在一些實施例中，如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑以約 10^{-11} M至 10^{-12} M之解離常數(KD)特異性結合至MIC多肽。在一些實施例中，如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑以小於 10^{-12} M之解離常數(KD)特異性結合至MIC多肽。

【0040】如本文所用，短語「以大於抗體B10G5的結合親和力之結合親和力特異性結合至MIC」是指對可溶MIC的結合親和力。

【0041】如本文所用，術語「基本上由...組成」係指給定實施例所需的彼等要素。該術語允許存在不實質上影響該實施例之基本及新穎或功能特性之要素。

【0042】術語「由...組成」係指如本文所述的組合物、方法及其各自的組分，其不包括在實施例之該描述中未列舉的任何要素。

【0043】除了在該等實例中，或在另有指示之情況下，本文使用的所有表示成分的量或反應條件之數字均應理解為在所有情況下均以術語「約」修飾。術語「約」在與百分比結合使用時可意指 $\pm 1\%$ 。

【0044】術語「統計學顯著」或「顯著」係指統計學顯著性且一般意指高於或低於參考值的兩個標準偏差(2SD)差。

【0045】其他術語在本文中在本發明之各種態樣之描述內定義。

【0046】本文提供特異性結合至MIC之MIC結合抗體(亦稱為MIC抗體或MIC結合抗體)及其抗原結合部分。與抗體B10G5相比，MIC抗體令

人意外地展現改良之性質。在一些實施例中，MIC抗體降低個體之循環中之游離sMIC含量。在一些實施例中，MIC結合抗體或其抗原結合部分包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區，及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區。在一些實施例中，MIC結合抗體或其抗原結合部分包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該重鏈及輕鏈可變框架區係視需要經1至8個、1至6個、1至4個或1至2個保守胺基酸取代在該等框架區中而修飾，其中該等重鏈或輕鏈可變區之CDR未經修飾。在一些實施例中，MIC結合抗體或其抗原結合部分包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該重鏈及輕鏈可變框架區係視需要經1至8個、1至6個、1至4個或1至2個胺基酸取代、缺失或插入在該等框架區中而修飾，其中該等重鏈或輕鏈可變區之CDR未經修飾。在任何此等實施例之進一步態樣中，該MIC結合抗體或其抗原結合部分以大於抗體B10G5之結合親和力之結合親和力特異性結合至MIC。

【0047】 在一些實施例中，本文提供一種結合劑，其包含：(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區，及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該結合劑特異性結合至MIC。在一些實施例中，本文提供一種結合劑，其包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該重鏈及輕鏈可變框架區係視需要經1至8個、1至6個、1至4個或1至2個保守胺基酸取代在該等框架區中而修飾且其中該等重鏈或輕鏈可變區之CDR未經修飾。在一些實施例中，本文提供一種結合劑，其包

含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該重鏈及輕鏈可變框架區係視需要經1至8個、1至6個、1至4個或1至2個胺基酸取代、缺失或插入在該等框架區中而修飾且其中該等重鏈或輕鏈可變區之CDR未經修飾。如本文所述，結合劑包含MIC抗體或其抗原結合部分且可包含共價連接至該MIC抗體或其抗原結合部分之其他肽或多肽。在任何此等實施例中，該結合劑特異性結合至MIC。在一些實施例中，結合劑以大於抗體B10G5之結合親和力之結合親和力特異性結合至MIC。

【0048】 在一些實施例中，提供包含重鏈可變(VH)區及輕鏈可變(VL)區之結合劑，其中該VH區包含具有SEQ ID NO:11所示的胺基酸序列之互補決定區HCDR1、具有SEQ ID NO:12所示的胺基酸序列之HCDR2及具有SEQ ID NO:13所示的胺基酸序列之HCDR3，及該VL區包含具有SEQ ID NO:14所示的胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO:15所示的胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO:16所示的胺基酸序列之LCDR3，且其中各VH及VL包含人類化框架區。在一些實施例中，該VH框架區源自具有IMGT IGHV4-59*11 (SEQ ID NO:29)及IGHJ4*01 (SEQ ID NO:30)或IGHV4-30-4*01 (SEQ ID NO:31)及IGHJ4*01 (SEQ ID NO:30)所示的胺基酸序列之人類生殖系基因。在一些實施例中，該VL框架區源自具有IMGT IGKV1-NL1*01 (SEQ ID NO:32)及IMGT IGKJ1*01 (SEQ ID NO:33)、IMGT IGKV1-33*01 (SEQ ID NO:34)及IMGT IGKJ1*01 (SEQ ID NO:33)或IMGT IGKV1-5*01 (SEQ ID NO:35)及IMGT IGKJ1*01 (SEQ ID NO:33)所示的胺基酸序列之人類生殖系基因。

【0049】 在一些實施例中，提供包含重鏈可變(VH)區及輕鏈可變

(VL)區之結合劑，其中該VH區包含具有SEQ ID NO:11所示的胺基酸序列之互補決定區HCDR1、具有SEQ ID NO:12所示的胺基酸序列之HCDR2及具有SEQ ID NO:13所示的胺基酸序列之HCDR3，且其中該VH區包含與SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的胺基酸序列。

【0050】 在一些實施例中，提供包含重鏈可變(VH)區及輕鏈可變(VL)區之結合劑，其中該VL區包含具有SEQ ID NO:14所示的胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO:15所示的胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO:16所示的胺基酸序列之LCDR3，且其中該VL區包含與SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的胺基酸序列。

【0051】 在一些實施例中，提供包含重鏈可變(VH)區及輕鏈可變(VL)區之結合劑，其中該VH區包含具有SEQ ID NO:11所示的胺基酸序列之互補決定區HCDR1、具有SEQ ID NO:12所示的胺基酸序列之HCDR2及具有SEQ ID NO:13所示的胺基酸序列之HCDR3，且其中該VH區包含與SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的胺基酸序列；且其中該VL區包含具有SEQ ID NO:14所示的胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO:15所示的胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO:16所示的胺基酸序列之LCDR3，且其中該VL區包含與SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列至少

85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的胺基酸序列。

【0052】 在一些實施例中，提供一種結合劑，其包含包含重鏈可變(VH)區之重鏈及包含輕鏈可變(VL)區之輕鏈，其中該VH區包含具有SEQ ID NO:11所示的胺基酸序列之互補決定區HCDR1、具有SEQ ID NO:12所示的胺基酸序列之HCDR2及具有SEQ ID NO:13所示的胺基酸序列之HCDR3，且其中該VH區包含SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列；且其中該VL區包含具有SEQ ID NO:14所示的胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO:15所示的胺基酸序列之及具有SEQ ID NO:16所示的胺基酸序列之LCDR2，且其中該VL區包含SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列；且其中該重鏈包含與SEQ ID NO:3所示的胺基酸序列至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的胺基酸序列，且其中該輕鏈包含與SEQ ID NO:4所示的胺基酸序列至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%相同的胺基酸序列。在一些實施例中，本文提供一種結合劑，其包含包含SEQ ID NO:3所示的胺基酸序列之重鏈及包含SEQ ID NO:4所示的胺基酸序列之輕鏈。在一些此種實施例中，該結合劑係抗體。

【0053】 在一些實施例中，本文提供的結合劑，諸如MIC抗體，展現良好熱穩定性及/或低含量之聚集體(諸如高分子量(HMW)聚集體)。該MIC抗體之熱穩定性可例如藉由T_m及Tagg進行評估，其可分別藉由固有蛋白質螢光(IPF) (266 nm激發，280至450 nm發射掃描)及藉由在473 nm處的靜態光散射(SLS)使用Uncle系統(Unchained Labs)來獲得。該MIC抗

體之聚集物含量可例如藉由使用HPLC-SEC或藉由使用動態光散射(DLS)來測量。在一些實施例中，基於抗體之單體及HMW聚集體之峰面積計，MIC抗體之HMW聚集體含量(以MIC抗體總量之百分比表示)可為小於10%、9.5%、9%、8.5%、8%、7.5%、7%、6.5%、6%、5.5%、5%、4.5%、4%、3.5%、3%、2.5%、2%、1.5%、1%或0.5%。換言之，當含在溶液中時，至少90%、90.5%、91%、91.5%、92%、92.5%、93%、93.5%、94%、94.5%、95%、95.5%、96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%或99.5%之MIC抗體以單體形式存在。在一些實施例中，MIC抗體之多分散性指數(PDI)可小於0.1，如藉由DLS測定。

【0054】 在特定實施例中，MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑特異性結合至位於SEQ ID NO:27或28所示的胺基酸序列之約胺基酸位置66至77、136至144及247至258中的MICA及MICB上之構形抗原決定基。在特定實施例中，MIC抗體或抗原結合部分或其他結合劑具有(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區，及(ii)具有SEQ ID No:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，且具有如本文所述的視需要經取代之框架區，且與抗體B10G5競爭特異性結合，該抗體B10G5特異性結合至位於SEQ ID NO:27及28所示的胺基酸序列之約胺基酸66至77、136至144及247至258中的MICA及MICB位置上之構形抗原決定基。

【0055】 在一些實施例中，本文描述的組合物及方法係關於藉由MIC抗體、其抗原結合部分或其他結合劑活體內抑制sMIC之免疫抑制效應(例如，降低可與細胞受體NKG2D相互作用的sMIC之含量及/或活性)。在一些實施例中，sMIC之抑制可係未結合的MIC之血清含量的降低及NK及CD8 T細胞上細胞表面NKG2D表現的恢復。在一些實施例中，sMIC之

抑制可係MIC之含量(例如循環中之sMIC之含量)的降低。

【0056】 如本文所用，術語「抗體」係指免疫球蛋白分子及免疫球蛋白分子之免疫活性部分，亦即含有特異性結合至抗原之抗原結合位點之分子。該術語一般指由兩個免疫球蛋白重鏈可變區及兩個免疫球蛋白輕鏈可變區組成之抗體，其包括全長抗體(具有重鏈及輕鏈恆定區)及其抗原結合部分；包括例如完整單株抗體、Fab、Fab'、F(ab')²、Fv、二硫鍵連接之Fv、scFv、單域抗體(dAb)、雙功能抗體、多特異性抗體、雙重特異性抗體、雙特異性抗體及單鏈(參見，例如，Huston等人，Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.，85，5879至5883 (1988)及Bird等人，Science 242，423至426 (1988)，其等係以引用之方式併入本文中)。

【0057】 各重鏈均由可變區(簡稱為VH)及恆定區組成。該重鏈恆定區可包含三個域CH1、CH2及CH3及視需要第四域CH4。各輕鏈均由可變區(簡稱為VL)及恆定區組成。該輕鏈恆定區係CL域。該VH及VL區可進一步分為稱為互補決定區(CDR)之高度變異區且散佈有稱為框架區(FR)之保守區。各VH及VL區因此由按以下順序自N端至C端排列的三個CDR及四個FR組成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。此種結構為熟習此項技術者熟知。

【0058】 MIC抗體之VH CDR之胺基酸序列示於SEQ ID NO:1中胺基酸 26 至 34 (GYSITSDYA，HCDR1，SEQ ID NO:11)、50 至 58 (GYISYSGST，HCDR2，SEQ ID NO:12)及97至105 (ARGGTYFDY，HCDR3，SEQ ID NO:13)。MIC抗體之VL CDR之胺基酸序列示於SEQ ID NO:2中胺基酸24至32 (RASAHINNW，LCDR1，SEQ ID NO:14)、50 至 56 (DATSLES，LCDR2，SEQ ID NO:15)及98至107

(QHYWSTPWT, LCDR3, SEQ ID NO:16)。片語「其中該等重鏈或輕鏈可變區之CDR未經修飾」係指此等VH及VL CDR (SEQ ID NO:11至16)，其不具有胺基酸取代、缺失或插入。

【0059】如本文所用，MIC抗體之「抗原結合部分」係指如本文所述的MIC抗體的具有該MIC抗體之VH及VL序列(以SEQ ID NO:1及SEQ ID NO:2所示，視需要如本文所述經修飾)之部分。根據術語抗體之「抗原結合部分」，抗原結合部分之實例包括Fab、Fab'、F(ab')²、Fv、二硫鏈連接之Fv、scFv、單域抗體(dAb)、雙功能抗體及單鏈。如本文所用，術語Fab、F(ab')²及Fv係指下列：(i) Fab片段，亦即由VL、VH、CL及CH1域組成的單價片段；(ii) F(ab')²片段，亦即包含在鉸鏈區中經二硫橋彼此連接的兩個Fab片段之二價片段；及(iii)由MIC抗體之VL及VH域組成之Fv片段。儘管Fv片段之該兩個域亦即VL及VH由單獨編碼區編碼，其可使用合成連接子，例如聚-G4S胺基酸序列(「(G4S)_n」，揭示為SEQ ID NO:17，其中n = 1至5)進一步彼此連接，使得可將其製備為其中VL及VH區組合以形成單價分子的單蛋白質鏈(稱為單鏈Fv (ScFv))。術語抗體之「抗原結合部分」亦意圖包括此類單鏈抗體。此處同樣包括其他形式之單鏈抗體，諸如「雙功能抗體」。雙功能抗體係二價、雙特異性抗體，其中VH及VL域於單多肽鏈上表現，但使用將VH及VL域連接的連接子對於使得該兩個域能夠於相同鏈上組合而言過於短，藉此迫使該VH及VL域與不同鏈之互補域(分別為VL及VH)配對，且形成兩個抗原結合位點(參見，例如，Holliger, R等人 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448；Poljak, R. J等人 (1994) Structure 2:1121-1123)。

【0060】免疫球蛋白恆定區係指重鏈或輕鏈恆定區。人類重鏈及輕

鏈恆定區胺基酸序列係此項技術中已知的。恆定區可係任何適宜類型，其可選自免疫球蛋白IgA、IgD、IgE、IgG及IgM之類別。幾種免疫球蛋白類別可進一步分為同型，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或IgA1及IgA2。對應於不同類別之免疫球蛋白的重鏈恆定區(Fc)可分別係 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。該等輕鏈可係 κ 及 λ 中之一者。

【0061】 在一些實施例中，恆定區可具有IgG1同型。在一些實施例中，恆定區可具有IgG2同型。在一些實施例中，恆定區可具有IgG3同型。在一些實施例中，恆定區可具有IgG4同型。在一些實施例中，Fc域可具有包含來自兩種或更多種同型之恆定區之雜交同型。在一些實施例中，免疫球蛋白恆定區可係IgG1或IgG4恆定區。

【0062】 在一些實施例中，MIC抗體重鏈具有IgG1同型且具有SEQ ID NO:7所示的胺基酸序列。在一些實施例中，MIC抗體輕鏈具有 κ 同型且具有SEQ ID NO:8所示的胺基酸序列。

【0063】 此外，MIC抗體或其抗原結合部可係藉由抗體或抗體部分與一或多種其他蛋白質或肽共價或非共價締合形成的較大結合劑之一部分。與此類結合劑相關的是使用鏈黴親和素核心區以製備四聚體scFv分子(Kipriyanov, S. M.等人(1995) Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101)及使用半胱胺酸殘基(一種標誌物肽)及C端多組胺醯肽，例如六組胺酸基標籤(「六組胺酸標籤」，揭示為SEQ ID NO: 18)以產生二價及生物素化 scFv 分子 (Kipriyanov, S. M. 等人 (1994) Mol. Immunol. 31:10471058)。

【0064】 至於VH及VL胺基酸序列，熟習此項技術者將認識到，對編碼VH或VL的核酸或多肽中之胺基酸的改變經編碼之序列中之單個胺基

酸或某一小百分比之胺基酸的個別置換、缺失或添加(插入)改變係「經保守修飾之變異體」，其中該更改導致胺基酸經化學上相似的胺基酸取代(保守胺基酸取代)且該經改變之多肽保持以大於抗體B10G5之結合親和力之結合親和力特異性結合至MIC之能力。

【0065】 在一些實施例中，MIC抗體或其抗原結合部分之經保守修飾之變異體可在FR中(亦即除了CDR中之外)具有改變，例如MIC抗體之經保守修飾之變異體具有VH及VL CDR之胺基酸序列(以SEQ ID NO:11至16所示)且在FR中具有至少一個保守胺基酸取代。在一些實施例中，與VH及VL之胺基酸序列(分別為SEQ ID NO:1及2)相比，該VH及VL胺基酸序列(分別以SEQ ID NO:1及2所示)在FR中總共具有不超過8或6或4或2或1個保守胺基酸取代。在一些實施例中，與VH及VL之胺基酸序列(分別以SEQ ID NO:1及2所示)相比，該VH及VL胺基酸序列(分別以SEQ ID NO:1及2所示)在FR中具有8至1個、6至1個、4至1個或2至1個保守胺基酸取代。在任何此等實施例之進一步態樣中，該MIC抗體、其抗原結合部分或其他結合劑之經保守修飾之變異體展現大於抗體B10G5之結合親和力之對MIC之結合親和力。

【0066】 對於保守胺基酸取代，給定胺基酸可經具有相似生理化學特性之殘基置換，例如用一個脂族殘基取代另一個(諸如用Ile、Val、Leu或Ala取代另一個)或用一個極性殘基取代另一個(諸如在Lys與Arg之間；Glu及Asp；或Gln及Asn)。熟知其他此類保守胺基酸取代，例如具有相似疏水特性之整個區域之取代。可在本文描述的檢定中之任何一者中測試包含保守胺基酸取代之多肽以證實所需活性，例如保留天然或參考多肽之抗原結合活性及特異性，亦即對MIC (sMIC及/或膜結合MIC)。

【0067】對於保守取代，胺基酸可根據其側鏈性質之相似性進行分組(A. L. Lehninger, Biochemistry, 第二版, 第73至75頁, Worth Publishers, New York (1975)): (1)非極性: Ala (A)、Val (V)、Leu (L)、Ile (I)、Pro (P)、Phe (F)、Trp (W)、Met (M); (2)不帶電極性: Gly (G)、Ser (S)、Thr (T)、Cys (C)、Tyr (Y)、Asn (N)、Gln (Q); (3)酸性: Asp (D)、Glu (E); 及(4)鹼性: Lys (K)、Arg (R)、His (H)。

【0068】或者，對於保守取代，天然存在之殘基可基於常見側鏈性質分為幾組: (1)疏水性: 正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile; (2)中性親水性: Cys、Ser、Thr、Asn、Gln; (3)酸性: Asp、Glu; (4)鹼性: His、Lys、Arg; (5)影響鏈取向的殘基: Gly、Pro; 及(6)芳香族: Trp、Tyr、Phe。非保守取代將需要交換此等類別中之一個類別或另一類別之成員。

【0069】特定保守取代包括例如: Ala至Gly或至Ser; Arg至Lys; Asn至Gln或至His; Asp至Glu; Cys至Ser; Gln至Asn; Glu至Asp; Gly至Ala或至Pro; His至Asn或至Gln; Ile至Leu或至Val; Leu至Ile或至Val; Lys至Arg、至Gln或至Glu; Met至Leu、至Tyr或至Ile; Phe至Met、至Leu或至Tyr; Ser至Thr; Thr至Ser; Trp至Tyr; Tyr至Trp; 及/或Phe至Val、至Ile或至Leu。

【0070】在一些實施例中，MIC抗體或其抗原結合部分上的經保守修飾之變異體較佳與參考VH或VL序列至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更多相同，其中該VH及VL CDR (SEQ ID NO:11-16)未經修飾。參考序列與經修飾之序列之間的同源性程度(一致性百分比)可例如藉由將

兩個序列使用萬維網上出於此目的常用的免費可得電腦程式(例如具有預設設置之BLASTp或BLASTn)進行比較來測定。

【0071】 在一些實施例中，與VH及VL之胺基酸序列(分別以SEQ ID NO:1及2所示)相比，該VH及VL胺基酸序列(分別以SEQ ID NO:1及2所示)在框架區中總共具有不超過8或6或4或2或1個保守胺基酸取代。在一些實施例中，與VH及VL之胺基酸序列(分別以SEQ ID NO:1及2所示)相比，該VH及VL胺基酸序列(分別以SEQ ID NO:1及2所示)在框架區中總共具有8至1個、或6至1個、或4至1個、或2至1個保守胺基酸取代。在一些實施例中，與VH及VL之胺基酸序列(分別以SEQ ID NO:1及2所示)相比，該VH及VL胺基酸序列(分別以SEQ ID NO:1及2所示)在框架區中總共具有不超過8或6或4或2或1個胺基酸取代、缺失或插入。在一些實施例中，與VH及VL之胺基酸序列(分別以SEQ ID NO:1及2所示)相比，該VH及VL胺基酸序列(分別以SEQ ID NO: 1及2描述)在框架區中具有8至1個、6至1個、4至1個、或2至1個保守胺基酸取代。在一些實施例中，與VH及VL之胺基酸序列(分別以SEQ ID NO:1及2所示)相比，該VH及VL胺基酸序列(分別以SEQ ID NO:1及2所示)總共具有不超過8或6或4或2或1個胺基酸取代、缺失或插入。

【0072】 天然(或參考)胺基酸序列之修飾可藉由熟習此項技術者已知的多種技術中之任一者來達成。例如，可藉由合成含有所需突變序列側接能夠接合至天然序列之片段之限制位點的寡核苷酸而在特定位點引入突變。接合後，所得重建序列編碼具有所需胺基酸插入、取代或缺失之變異體。或者，可採用寡核苷酸導向定點誘變程序以提供具有根據所需取代、缺失或插入而改變的特定密碼子之經改變之核苷酸序列。用於進行此種改

變之技術非常成熟且包括例如以下揭示之技術：Walder等人 (Gene 42:133，1986)；Bauer等人 (Gene 37:73，1985)；Craik (BioTechniques，January 1985，12至19)；Smith等人 (Genetic Engineering: Principles and Methods，Plenum Press，1981)；及美國專利第4,518,584號及第4,737,462號，該等全部係以引用之方式併入本文中。

【0073】 在一些實施例中，MIC抗體或其抗原結合部分具有完全人類恆定區。在一些實施例中，MIC抗體或其抗原結合部分具有非人類恆定區。在一些實施例中，MIC抗體重鏈具有IgG1同型且具有SEQ ID NO:7所示的胺基酸序列。在一些實施例中，MIC抗體輕鏈具有 κ 同型且具有SEQ ID NO:8所示的胺基酸序列。

【0074】 在一些實施例中，MIC抗體或其抗原結合部分具有經修飾之恆定區(Fc區)或Fc域。Fc域(例如CH1、CH2、CH3及視需要CH4)係Fc區之部分。Fc域或區之部分可結合至細胞上的Fc受體(FcR)。基於FcR所識別的抗體之類別，將FcR組織成類別(例如伽瑪(gamma； γ)、阿爾法(alpha； α)及埃普西隆(epsilon； ϵ)。Fc α R類別可結合至IgA且包括幾種同功異型物，諸如Fc α RI (CD89)。Fc γ R類別可結合至IgG且包括幾種同功異型物Fc γ RI (CD64)、Fc γ RIIA (CD32a)、Fc γ RIIB (CD32b)、Fc γ RIIIA (CD16a)及Fc γ RIIIB (CD16b)。Fc γ RIIIA (CD16a)具有兩個主要變異體F158或V158。

【0075】 如與參考相比，Fc域或Fc區結合至FcR可改變免疫反應。類似地，如與參考相比，不存在Fc域結合至FcR可改變免疫反應。

【0076】 MIC抗體可具有Fc域，該Fc域具有如與野生型或參考序列

相比已經修飾的序列，以相對於相應野生型或參考序列改變至少一個恆定域或區介導之生物效應功能。例如，在一些實施例中，Fc域可經修飾以相對於未修飾之Fc域減少或增加至少一個恆定域或區介導之生物效應功能，例如減少或增加結合至Fc受體(FcR)。可藉由例如在參與(例如為必需或實現) FcR相互作用的特定位點處修飾抗體之免疫球蛋白恆定區片段來減少或增加FcR結合。在一些實施例中，該Fc域經修飾以減少結合至一或多個Fc γ 受體(例如Fc γ RI、Fc γ RIIA、Fc γ RIIB、Fc γ RIIIA、Fc γ RIIIB及/或FcRN中之一者或多者)。

【0077】 在一些實施例中，抗體恆定區或域經修飾以相對於未修飾之Fc域獲得或改良至少一種恆定區介導之生物效應功能，例如以增強Fc γ R相互作用。例如，抗體恆定區或域可經修飾以與相應野生型Fc域或區相比更大的親和力結合至Fc γ RIIA、Fc γ RIIB及/或Fc γ RIIIA。

【0078】 胺基酸序列Fc域中之修飾可改變FcR對Fc域或區之識別。然而，此類修飾仍可允許FcR介導之信號傳導。修飾可係將殘基處的胺基酸取代為該殘基處的不同胺基酸。修飾可允許FcR結合至Fc域或區上的FcR原本可能不會結合的位點。相對於參考序列之結合，修飾可增加FcR對Fc域或區之結合親和力。相對於參考序列之結合，修飾可降低FcR對Fc域上的位點之結合親和力。

【0079】 在一些實施例中，胺基酸序列Fc域中之修飾可改變FcR或多個FcR對Fc域或區之識別。此種修飾可改變抗體或抗原結合部分與免疫細胞相互作用之能力。對Fc域或區之此種修飾或一系列修飾可允許Fc域選擇性結合至免疫細胞上的FcR，或可降低或消除具有經修飾之域之抗體或抗原結合部分與免疫細胞之相互作用。例如，對Fc域之修飾可降低Fc

域結合至Fc γ 受體，但保留Fc域結合至FcRn之能力。

【0080】與野生型Fc區或域之序列相比，經修飾之Fc區或域可具有至少一種胺基酸變化。Fc區中之胺基酸變化可允許抗體或其抗原結合部分以與野生型或參考Fc區相比更大親和力結合至至少一個Fc受體。Fc域中之胺基酸變化可允許抗體以與野生型或參考Fc域相比更大親和力結合至至少一個Fc受體。Fc區中之胺基酸變化可允許抗體以與野生型或參考Fc區相比減小之親和力結合至至少一個Fc受體。Fc域中之胺基酸變化可允許抗體以與野生型或參考Fc域相比減小之親和力結合至至少一個Fc受體。

【0081】在一些實施例中，MIC抗體或其抗原結合部分可具有包含已自野生型IgG1序列經修飾的IgG1同功異型物之序列之Fc域或Fc區。修飾可包括在Fc域之一個或超過一個胺基酸殘基處，諸如在5個不同胺基酸殘基(包括根據Kabat之EU索引，L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L(IgG1VLPLL))處的取代。修飾可包括在一或多個胺基酸殘基處，諸如在Fc域之2個不同胺基酸殘基(包括根據Kabat之EU索引，S239D/I332E(IgG1DE))處的取代。修飾可包括在一或多個胺基酸殘基處，諸如在Fc域之3個不同胺基酸殘基(包括根據Kabat之EU索引，S298A/E333A/K334A(IgG1 AAA))處的取代。

【0082】在一些實施例中，MIC抗體或其抗原結合部分之Fc域或區可展現降低之對一或多種Fc受體之結合親和力。在一些實施例中，Fc域或區可展現降低之對一或多種Fc γ 受體之結合親和力。在一些實施例中，Fc域或區可展現降低之對FcRn受體之結合親和力。在一些實施例中，Fc域或區可展現降低之對Fc γ 及FcRn受體之結合親和力。在一些實施例中，Fc域係Fc空(null)域或區。如本文所用，「Fc空」係指展現弱結合或不結

合至任何Fc γ 受體之域。在一些實施例中，Fc空域或區展現對Fc γ 受體之結合親和力降低(例如Kd增加)至少1000倍。

【0083】 在一些實施例中，該MIC抗體之Fc域或區係包含撓性序列(諸如GGGS)之Fc空域或區。在一些實施例中，該MIC抗體具有IgG1同功異型物，且該撓性序列插入於人類IgG1重鏈之G237與G238之間。在一些實施例中，在該MIC抗體中包含撓性序列對於抗體之結合親和力幾乎沒有或沒有影響。在一些實施例中，在該MIC抗體中包含撓性序列降低抗體之ADCC活性。在一些實施例中，在該MIC抗體中包含撓性序列導致醣基化很少或沒有損失及/或抗體之聚醣譜的顯著變化。可測定該抗體之醣基化及/或聚醣譜，例如，藉由將該抗體進行PNG酶F消化，及使用親水相互作用層析(HILIC)與螢光偵測器來分析酶促產物。

【0084】 在某些實施例中，Fc域具有降低之對Fc γ RI (CD64)、Fc γ RIIA (CD32)、Fc γ RIIIA (CD 16a)、Fc γ RIIIB (CD 16b)或其任何組合中之一者或多者之結合親和力。為了降低Fc域或區對Fc受體之結合親和力，該Fc域或區可包含降低Fc域或區對Fc受體之結合親和力的一或多個胺基酸取代。

【0085】 在一些實施例中，根據Kabat編號之EU索引，該一或多個取代包含對應於E233P、L234V、L234A、L235A、L235E、AG236、G237A、E318A、K320A、K322A、A327G、A330S及/或P331S之IgG1重鏈取代中之任何一者或多者。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係E233、L234及L235之取代，諸如E233P/L234V/L235A或E233P/L234V/L235A/AG236。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係P238之取代，諸如P238A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索

引，修飾可係D265之取代，諸如D265A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係N297之取代，諸如N297A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係A327之取代，諸如A327Q。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係P329之取代，諸如P239A。

【0086】 在一些實施例中，與野生型或參考IgG Fc域相比，IgG Fc域或區包含降低其對FcγR1之結合親和力之至少一個胺基酸取代。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包含在F241處的取代，諸如F241A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包含在F243處的取代，諸如F243A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包含在V264處的取代，諸如V264A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包含在D265處的取代，諸如D265A。

【0087】 在一些實施例中，與野生型或參考IgG Fc域相比，IgG Fc域或區包含增加其對FcγR1之結合親和力之至少一個胺基酸取代。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包含在A327及P329處的取代，諸如A327Q/P329A。

【0088】 在一些實施例中，IgG Fc修飾包括降低IgG Fc域或區對FcγRII及FcγRIIIA受體之結合親和力之一或多個胺基酸之取代。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係D270之取代，諸如D270A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係Q295之取代，諸如Q295A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係A327之取代，諸如A237S。

【0089】 在一些實施例中，修飾包括增加IgG Fc域或區對FcγRII及FcγRIIIA受體之結合親和力之一或多個胺基酸之取代。在一些實施例

中，根據Kabat之EU索引，修飾可係T256之取代，諸如T256A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係K290之取代，諸如K290A。

【0090】 在一些實施例中，修飾包括增加IgG Fc域或區對FcγRII受體之結合親和力之一或多個胺基酸之取代。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係R255之取代，諸如R255A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係E258之取代，諸如E258A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係S267之取代，諸如S267A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係E272之取代，諸如E272A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係N276之取代，諸如N276A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係D280之取代，諸如D280A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係H285之取代，諸如H285A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係N286之取代，諸如N286A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係T307之取代，諸如T307A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係L309之取代，諸如L309A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係N315之取代，諸如N315 A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係K326之取代，諸如K326A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係P331之取代，諸如P331A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係S337之取代，諸如S337A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係A378之取代，諸如A378A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係E430之取代，諸如E430。

【0091】 在一些實施例中，修飾包括增加IgG Fc域或區對FcγRII受

體之結合親和力且降低對FcyRIIIA受體之結合親和力之一或多個胺基酸之取代。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係H268之取代，諸如H268A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係R301之取代，諸如R301A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係K322之取代，諸如K322A。

【0092】 在一些實施例中，修飾包括降低IgG Fc域或區對FcyRII受體之結合親和力但不顯著影響對FcyRIIIA受體之結合親和力之一或多個胺基酸之取代。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係R292之取代，諸如R292A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係K414之取代，諸如K414A。

【0093】 在一些實施例中，修飾包括降低IgG Fc域或區對FcyRII受體之結合親和力且增加對FcyRIIIA受體之結合親和力之一或多個胺基酸之取代。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係S298之取代，諸如S298A。在一些實施例中，修飾可係S239、I332及A330之取代，諸如S239D/I332E/A330L。在一些實施例中，修飾可係S239及I332之取代，諸如S239D/I332E。

【0094】 在一些實施例中，修飾包括降低IgG Fc域或區對FcyRIIIA受體之結合親和力之一或多個胺基酸之取代。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係F241及F243之取代，諸如F241 S/F243S或F241I/F243I。

【0095】 在一些實施例中，修飾包括降低IgG Fc域或區對FcyRIIIA受體之結合親和力且不顯著影響對FcyRII受體之結合親和力之一或多個胺基酸之取代。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係S239之取

代，諸如S239A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係E269之取代，諸如E269A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係E293之取代，諸如E293A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係Y296之取代，諸如Y296F。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係V303之取代，諸如V303A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係A327之取代，諸如A327G。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係K338之取代，諸如K338A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係D376之取代，諸如D376A。

【0096】 在一些實施例中，修飾包括增加IgG Fc域或區對FcyRIIIA受體之結合親和力且不影響對FcyRII受體之結合親和力之一或多個胺基酸之取代。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係E333之取代，諸如E333A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係K334之取代，諸如K334A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係A339之取代，諸如A339T。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係S239及I332之取代，諸如S239D/I332E。

【0097】 在一些實施例中，修飾包括增加IgG Fc域或區對FcyRIIIA受體之結合親和力之一或多個胺基酸之取代。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係L235、F243、R292、Y300及P396之取代，諸如L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L (IgG1 VLPLL)。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係S298、E333及K334之取代，諸如S298A/E333 A/K334A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可係K246之取代，諸如K246F。

【0098】 影響其與一或多個Fcy受體相互作用的IgG Fc域中之其他

取代揭示於美國專利第7,317,091號及第8,969,526號(該等案之揭示內容係以引用之方式併入本文中)中。

【0099】 在一些實施例中， IgG Fc域或區包含與野生型或參考IgG Fc域相比降低對FcRn之結合親和力之至少一個胺基酸取代。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包含在H435處的取代，諸如H435A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包含在I253處的取代，諸如I253A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包含在H310處的取代，諸如H310A。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包括在I253、H310及H435處的取代，諸如I253A/H310A/H435A。

【0100】 在一些實施例中，修飾可包括相對於野生型或參考IgG Fc域增加IgG Fc域對FcRn之結合親和力之一個胺基酸殘基之取代。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包含在V308處的取代，諸如V308P。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包含在M428處的取代，諸如M428L。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包括在N434處的取代，諸如N434A，或根據Kabat之EU索引，N434H。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包括在T250及M428處的取代，諸如T250Q及M428L。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包括在M428及N434處的取代，諸如M428L及N434S、N434A或N434H。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，修飾可包括在M252、S254及T256處的取代，諸如M252Y/S254T/T256E。在一些實施例中，修飾可係選自P257L、P257N、P257I、V279E、V279Q、V279Y、A281S、E283F、V284E、L306Y、T307V、V308F、Q31 IV、D376V及

N434H之一或多個胺基酸之取代。影響其與FcRn相互作用的IgG Fc域中之其他取代揭示於美國專利第9,803,023號(該案之揭示內容係以引用之方式併入本文中)中。

【0101】 在一些實施例中，MIC抗體或其抗原結合部分具有修改補體相關性細胞毒性(CDC)活性的經修飾之恆定區(Fc區)或Fc域。CDC係可由抗體導向之細胞殺死方法。IgM係補體活化之最有效同型。IgG1及IgG3在經由經典補體活化途徑導向CDC上亦均極有效。

【0102】 在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，Fc區具有在IgG1之胺基酸位置E318、K320、K322、P329及/或P331中之一者或多者處的修飾，諸如E318A、K320A、K322A、P329A及/或P331A，其降低CDC活性。在一些實施例中，根據Kabat之EU索引，Fc區具有在IgG1之胺基酸位置E430、E345及S440中之一者或多者處的修飾，諸如E430G、E345K、E430S、E430F、E430T、E345Q、E345R、E345Y、S440Y及/或S440W中之一者或多者，其增加CDC活性。

【0103】 在各種實施例中，MIC抗體、其抗原結合部分及其他結合劑可在人類、鼠類或其他動物來源之細胞系中產生。重組DNA表現可用於產生MIC抗體、其抗原結合部分及其他結合劑。此允許在選擇的宿主物種中產生MIC抗體以及一系列MIC抗原結合部分及其他結合劑(包括融合蛋白)。在細菌、酵母、轉殖基因動物及雞蛋中產生MIC抗體、其抗原結合部分及其他結合劑亦係基於細胞之產生系統的替代物。轉殖基因動物之主要優點係來自可再生資源之潛在高產率。

【0104】 在一些實施例中，具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之MIC VH多肽係藉由核酸編碼。在一些實施例中，具有SEQ ID NO: 2所示

的胺基酸序列之MIC VL多肽係藉由核酸編碼。在一些實施例中，具有SEQ ID NO: 1所示的胺基酸序列之MIC VH多肽係藉由具有SEQ ID NO:21所示的序列之核酸編碼。在一些實施例中，具有SEQ ID NO: 2所示的胺基酸序列之MIC VL多肽係藉由具有SEQ ID NO:22所示的序列之核酸編碼。

【0105】如本文所用，術語「核酸」或「核酸序列」或「多核苷酸序列」或「核苷酸」係指併入核糖核酸、脫氧核糖核酸或其類似物之單元的聚合物分子。該核酸可係單股或雙股的。單股核酸可係變性雙股DNA之一股核酸。在一些實施例中，該核酸係cDNA，例如缺乏內含子之核酸。

【0106】編碼MIC抗體、其抗原結合部分以及其他結合劑之胺基酸序列之核酸分子可藉由此項技術中已知的多種方法來製備。此等方法包括但不限於製備編碼MIC抗體、抗原結合部分或其他結合劑之合成核苷酸序列。此外，寡核苷酸介導之(或定點)誘變、PCR介導之誘變及盒式誘變可用於製備編碼MIC抗體或抗原結合部分以及其他結合劑之核苷酸序列。根據習知技術，諸如例如平末端或交錯末端以連接、限制酶消化以提供適宜末端、按需要填入黏性末端、鹼性磷酸酶處理以避免非所欲之接合、用適宜連接酶連接，可將編碼至少如本文所述的MIC抗體、其抗原結合部分、結合劑或其多肽之核酸序列與載體DNA再組合。此類操縱的技術揭示於例如，Maniatis等人，Molecular Cloning，Lab. Manual (Cold Spring Harbor Lab. Press，NY，1982及1989)及Ausubel等人，Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons)，1987至1993中，且可用於建構編碼MIC抗體或其抗原結合部分或其VH或VL多肽的核酸序

列及載體。

【0107】 若核酸分子(諸如DNA)包含含有轉錄及轉譯調節資訊之核苷酸序列且此類序列係「以可操作方式連接」至編碼多肽之核苷酸序列，則稱其為「能夠表現」多肽。以可操作方式連接係其中調節DNA序列及尋求待表現的DNA序列(例如，MIC抗體或其抗原結合部分)以此種允許多肽或抗原結合部分以可回收量基因表現之方式連接的連接。基因表現所需要的調節區之確切性質可能因生物體而異，如類似技術中所熟知。參見，例如，Sambrook等人，1989；Ausubel等人，1987至1993。

【0108】 因此，如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分之表現可發生在原核或真核細胞中。適宜宿主包括細菌或真核宿主，包括活體內或原位之酵母、昆蟲、真菌、鳥類及哺乳動物細胞或哺乳動物、昆蟲、鳥類或酵母起源之宿主細胞。哺乳動物細胞或組織可係人類、靈長類動物、倉鼠、兔、嚙齒動物、牛、豬、綿羊、馬、山羊、狗或貓起源，但可使用任何其他哺乳動物細胞。此外，藉由使用例如酵母泛素水解酶系統，可達成泛素跨膜多肽融合蛋白之活體內合成。如此產生的融合蛋白可在活體內經加工或在活體外經純化及加工，從而允許合成如本文所述的具有特定胺基端序列之MIC抗體或其抗原結合部分。此外，可避免與在直接酵母(或細菌)表現中保留起始密碼子衍生之甲硫胺酸殘基相關的問題。(參見，例如，Sabin等人，7 Bio/Technol. 705 (1989)；Miller等人，7 Bio/Technol. 698 (1989)。)可利用併入來自啟動子及終止元件的一系列酵母基因表現系統中之任何者以當酵母生長於富含葡萄糖之培養基中時獲得重組MIC抗體或其抗原結合部分，該啟動子及終止元件來自編碼以大量產生的糖酵解酶之活性表現之基因。已知的糖酵解基因亦可提供極有效之轉

錄控制信號。例如，可利用磷酸甘油酸激酶基因之啟動子及終止子信號。

【0109】 在昆蟲中產生MIC抗體或其抗原結合部分可例如藉由熟習此項技術者已知的方法使昆蟲宿主感染經工程化以表現多肽的桿狀病毒來達成。參見Ausubel等人，1987至1993。

【0110】 在一些實施例中，所引入的核酸序列(編碼MIC抗體或其抗原結合部分或其多肽)係併入至能夠在受體宿主細胞中自主複製的質體或病毒載體中。多種載體中之任何者均可用於此目的且係熟習此項技術者已知且可得的。參見，例如，Ausubel等人，1987至1993。在選擇特定質體或病毒載體方面具重要性之因素包括：含有載體的受體細胞可被識別且自彼等不含載體的受體細胞選擇之容易度；特定宿主中所需的載體之數；及是否期望能夠在不同物種之宿主細胞之間「穿梭」載體。

【0111】 此項技術中已知的示例性原核載體包含質體，諸如彼等能夠在大腸桿菌(*E. coli*)中複製之質體。可用於表現編碼MIC抗體或其抗原結合部分之DNA之其他基因表現元件包括但不限於(a)病毒轉錄啟動子及其增強子元件，諸如SV40早期啟動子。(Okayama等人，3 *Mol. Cell. Biol.* 280 (1983))、勞氏肉瘤病毒(Rous sarcoma virus) LTR (Gorman等人，79 *PNAS* 6777 (1982))及莫洛尼(Moloney)鼠白血病毒 LTR (Grosschedl等人，41 *Cell* 885 (1985))；(b)剪接區及多腺苷酸化位點，諸如彼等源自SV40晚期區者(Okayama等人，1983)、及(c)多腺苷酸化位點，諸如在SV40中(Okayama等人，1983)。編碼免疫球蛋白之DNA基因可如Liu等人(同前述)及Weidle等人，51 *Gene* 21 (1987)所述，使用SV40早期啟動子及其增強子、小鼠免疫球蛋白H鏈啟動子增強子、SV40晚期區mRNA剪接、兔S-球蛋白間插序列、免疫球蛋白及兔S-球蛋白多腺苷酸

化位點、及SV40多腺苷酸化元件作為表現元件進行表現。

【0112】 對於編碼免疫球蛋白之核苷酸序列，轉錄啟動子可係例如人類巨細胞病毒，該等啟動子增強子可係巨細胞病毒及小鼠/人類免疫球蛋白。

【0113】 在一些實施例中，為了在嚙齒動物細胞中表現DNA編碼區，該轉錄啟動子可係病毒LTR序列，該等轉錄啟動子增強子可係小鼠免疫球蛋白重鏈增強子及病毒LTR增強子中之任一者或二者、及多腺苷酸化及轉錄終止區。在其他實施例中，將編碼其他蛋白質之DNA序列與上述表現元件組合以達成哺乳動物細胞中蛋白質之表現。

【0114】 各編碼區或基因融合均組裝於或插入至表現載體中。能夠表現MIC可變區或其抗原結合部分（例如，如本文所述的具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之VH及/或具有SEQ ID NO:2所述的胺基酸序列之VL或其變異體）的受體細胞然後用編碼MIC抗體或抗體多肽或其抗原結合部分之核苷酸逐一轉染，或與編碼VH及VL鏈編碼區之多核苷酸共轉染。將經轉染受體細胞在允許所併入的編碼區之表現的條件下培養且自培養物回收經表現之抗體鏈或完整抗體或抗原結合部分。

【0115】 在一些實施例中，將含有編碼MIC抗體或其抗原結合部分（例如如本文所述的具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之VH及/或具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之VL或其變異體）之編碼區之核酸組裝於單獨表現載體中，然後使用該等表現載體以共轉染受體宿主細胞。各載體可包含一或多個可選擇之基因。例如，在一些實施例中，使用兩個可選擇之基因，設計用於在細菌系統中選擇的第一可選擇之基因及設計用於在真核系統中選擇的第二可選擇之基因，其中各載體具有一組編碼區。該策略

導致首先導向細菌系統中核苷酸序列之產生且允許擴增之載體。在細菌宿主中如此產生且經擴增的DNA載體隨後用於共轉染真核細胞，且允許選擇攜載所需經轉染核酸(例如含有MIC抗體重鏈及輕鏈)之經共轉染細胞。用於細菌系統中之可選擇之基因之非限制性實例係賦予胺苄西林(ampicillin)抗性之基因及賦予氯黴素(chloramphenicol)抗性之基因。用於真核轉染物中之可選擇之基因包括黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖轉移酶基因(命名為gpt)及來自Tn5之磷酸轉移酶基因(命名為neo)。或者，編碼VH及VL鏈之融合核苷酸序列可組裝於相同表現載體上。

【0116】對於表現載體之轉染及MIC抗體或其抗原結合部分之產生，受體細胞系可係中國倉鼠卵巢細胞系(例如DG44)或骨髓瘤細胞。骨髓瘤細胞可合成、組裝及分泌由經轉染免疫球蛋白基因編碼之免疫球蛋白且具有免疫球蛋白之醣基化之機制。例如，在一些實施例中，該受體細胞係重組Ig產生骨髓瘤細胞SP2/0 (ATCC #CRL 8287)。SP2/0細胞僅產生由經轉染基因編碼之免疫球蛋白。骨髓瘤細胞可生長於培養物或小鼠之腹腔中，其中分泌的免疫球蛋白可自腹水液(ascites fluid)獲得。

【0117】編碼MIC抗體或其抗原結合部分(例如如本文所述的具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之VH及/或具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之VL或其變異體)之表現載體可藉由多種適宜手段中之任何者引入至適宜宿主細胞中，包括生物化學手段，諸如轉形、轉染、原生質體融合、磷酸鈣沉澱及利用聚陽離子(諸如二乙基胺基乙基(DEAE)葡聚糖)之應用、及機械手段，諸如電穿孔、直接顯微注射及微彈轟擊。Johnston等人，240 Science 1538 (1988)，如熟習此項技術者已知。

【0118】酵母對於產生免疫球蛋白重鏈及輕鏈提供優於細菌的某些

優點。酵母進行轉譯後肽修飾，包括醣基化。存在許多重組DNA策略，其利用強啟動子序列及高複本數質體，其可用於在酵母中產生所需蛋白質。酵母識別經選殖哺乳動物基因產物之前導序列且分泌帶有前導序列之多肽(亦即前多肽)。參見，例如，Hitzman等人，11th Intl. Conf. Yeast, Genetics & Molec. Biol. (Montpelier, France, 1982)。

【0119】 酵母基因表現系統可針對抗體、及經組裝MIC抗體及其抗原結合部分之產生、分泌及穩定性之程度進行例行評估。可利用併入啟動子及終止元件之各種酵母基因表現系統，該等啟動子及終止元件來自編碼當酵母生長於富含葡萄糖之培養基中時以大量產生的糖酵解酶之活性表現基因。已知的糖酵解基因亦可提供極有效之轉錄控制信號。例如，可利用磷酸甘油酸激酶(PGK)基因之啟動子及終止子信號。另一個實例係轉譯延伸因子1 α 啟動子。可採用多種方法來評估用於在酵母中表現免疫球蛋白之最佳表現質體。參見II DNA Cloning 45, (Glover編, IRL Press, 1985) 及例如美國公開案第US 2006/0270045 A1號。

【0120】 細菌菌株亦可用作於產生本文描述的抗體分子或其抗原結合部分之宿主，可使用大腸桿菌K12菌株(諸如大腸桿菌W3110 (ATCC 27325))、芽孢桿菌(Bacillus)物種、腸內菌(諸如鼠傷寒沙門氏菌(Salmonella typhimurium)或黏質沙雷氏菌(Serratia marcescens))及各種假單胞菌(Pseudomonas)物種。將含有源自與宿主細胞相容之物種的複製子及控制序列之質體載體與此等細菌宿主結合使用。該載體攜載複製位點、以及能夠在經轉化細胞中提供表型選擇的特定基因。可採用多種方法來評估用於在細菌中產生MIC抗體及其抗原結合部分的表現質體(參見Glover, 1985; Ausubel, 1987, 1993; Sambrook, 1989; Colligan,

1992-1996)。

【0121】 宿主哺乳動物細胞可在活體外或活體內生長。哺乳動物細胞提供對免疫球蛋白分子之轉譯後修飾，包括前導肽移除、VH及VL鏈之折疊及組裝、抗體分子之醣基化及功能性抗體及/或其抗原結合部分之分泌。

【0122】 除了上文描述的淋巴起源之細胞外，可用作用於產生抗體蛋白之宿主的哺乳動物細胞包括纖維母細胞起源之細胞，諸如Vero (ATCC CRL 81)或CHO-K1 (ATCC CRL 61)細胞。可用於表現免疫球蛋白多肽的示例性真核細胞包括但不限於COS細胞，包括COS 7細胞；293細胞，包括293-6E細胞；CHO細胞，包括CHO--S及DG44細胞；PERC6TM細胞(Crucell)；及NSO細胞。在一些實施例中，特定真核宿主細胞係基於其對重鏈及/或輕鏈進行所需轉譯後修飾之能力來選擇。例如，在一些實施例中，CHO細胞產生具有與產生於293細胞中的相同多肽相比更高程度之唾液酸化之多肽。

【0123】 在一些實施例中，一或多種MIC抗體或其抗原結合部分(例如如本文所述的具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之VH及/或具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之VL或其變異體)可根據任何適宜方法在已用編碼該等多肽之一或多種核酸分子進行工程化或轉染的動物中活體內產生。

【0124】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合部分(例如如本文所述的具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之VH及/或具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之VL或其變異體)係在無細胞系統中產生。非限制性示例性無細胞系統描述於例如Sitaraman等人，Methods Mol. Biol. 498: 229-44

(2009)；Spirin，Trends Biotechnol. 22: 538-45 (2004)；Endo等人，Biotechnol. Adv. 21: 695至713 (2003)中。

【0125】許多載體系統可用於在哺乳動物細胞中表現VH及VL鏈(例如如本文所述的具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之VH及/或具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之VL或其變異體)(參見Glover，1985)。可遵循各種方法來獲得完整抗體。如上所論述，可在相同細胞中共同表現VH及VL鏈及視需要相關恆定區以達成使VH及VL鏈細胞內締合及連接成完全四聚體H₂L₂抗體或其抗原結合部分。可藉由在相同宿主中使用相同或不同質體來進行共同表現。編碼VH及VL鏈或其抗原結合部分(例如如本文所述的具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之VH及具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之VL或其變異體)之核酸可置於相同質體中，然後將該質體轉染至細胞中，藉此直接選擇表現兩條鏈的細胞。或者，可首先用編碼一條鏈(例如VL鏈)之質體轉染細胞，接著用含有第二可選擇之標誌物之VH鏈質體轉染所得細胞系。經由任一途徑產生抗體、其抗原結合部分的細胞系可用編碼肽、VH、VL、或VH加上VL鏈(例如如本文所述的具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之VH及/或具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之VL或其變異體)之另外複本之質體結合另外可選擇之標誌物進行轉染以產生具有增強之性質之細胞系，諸如經組裝MIC抗體或其抗原結合部分之更高產率或經轉染細胞系之增強之穩定性。

【0126】此外，植物已成為基於微生物或動物細胞之大規模培養的重組抗體產生之方便、安全且經濟之替代表現系統。MIC結合抗體或抗原結合部分可在植物細胞培養物或習知上生長的植物中表現。在植物中之表現可係全身性的，受限於亞細胞質體，或受限於種子(胚乳)。參見，例

如，美國專利公開案第2003/0167531號；美國專利第6,080,560號；美國專利第6,512,162號；WO 0129242。幾種植物來源之抗體已達成開發之高級階段，包括臨床試驗(參見，例如，Biolex, N.C.)。

【0127】對於完整抗體，MIC抗體之可變區(VH及VL) (例如如本文所述的具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之VH及/或具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之VL或其變異體)通常係連接至免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，通常係人類免疫球蛋白之恆定區。人類恆定區DNA序列可根據熟知程序自多種人類細胞(諸如永生化B細胞)分離(WO 87/02671；其全文係以引用之方式併入本文中)。MIC結合抗體可同時包含輕鏈及重鏈恆定區。該重鏈恆定區可包含CH1、鉸鏈、CH2、CH3，且有時包含CH4區。在一些實施例中，可刪除或省略該CH2域。

【0128】或者，描述用於產生單鏈抗體的技術(參見，例如美國專利第4,946,778號；Bird，Science 242:423-42 (1988)；Huston等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988)；及Ward等人，Nature 334:544-54 (1989)；該等案之全文係以引用之方式併入本文中)可適用於產生特異性結合至MIC的單鏈抗體。藉由將Fv區之重鏈及輕鏈可變區(例如如本文所述具有SEQ ID NO:1及2所示的胺基酸序列或其變異體(例如，視需要用1至8個胺基酸取代、缺失及/或插入修飾))經胺基酸橋連接而形成單鏈抗體，從而產生單鏈多肽。亦可使用用於在大腸桿菌中組裝功能性Fv片段之技術(參見，例如，Skerra等人，Science 242:1038-1041 (1988)；該案之全文係以引用之方式併入本文中)。

【0129】完整(例如全)抗體、其二聚體、個別輕鏈及重鏈、或其抗原結合部分可藉由已知技術回收及純化，例如免疫吸附或免疫親和層析、

層析方法(諸如HPLC (高效液相層析))、硫酸銨沉澱、凝膠電泳或此等之任何組合。一般參見 Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, N.Y., 1982)。具有至少約90%至95%同質性之實質上純MIC結合抗體或其抗原結合部分係有利的，彼等具有98%至99%或更高同質性者亦係有利的，特別是對於醫藥用途。一旦純化或部分純化至根據需要之同質性，完整MIC抗體或其抗原結合部分則可治療上使用或用於開發及進行檢定程序、免疫螢光染色及類似者。一般參見，Vols. I & II Immunol. Meth. (Lefkovits及Pernis編，Acad. Press，NY，1979及1981)。

【0130】 另外且如本文所述，可進一步最佳化MIC抗體或其抗原結合部分以降低潛在免疫原性，同時保持功能活性，用於人類中之療法。在一些實施例中，經最佳化之MIC結合抗體或其抗原結合部分係源自MIC抗體，其包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該重鏈及輕鏈可變框架區係視需要經1至8個、1至6個、1至4個或1至2個保守胺基酸取代在該等框架區中而修飾，其中該等重鏈或輕鏈可變區之CDR未經修飾。在一些實施例中，經最佳化之MIC結合抗體或其抗原結合部分係源自MIC結合抗體，其包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該重鏈及輕鏈可變框架區係視需要經1至8個、1至6個、1至4個或1至2個胺基酸取代、缺失或插入在該等框架區中而修飾，其中該等重鏈或輕鏈可變區之CDR未經修飾。就此而言，功能活性意指MIC抗體或其抗原結合部分，其能夠展現與MIC結合抗體或其抗原結合部分相關之一或多種已知功能活性，該MIC結合抗體或其抗原結合部分包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之

重鏈可變區及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區。在任何此等實施例中，該MIC結合抗體或其抗原結合部分之功能活性包括以大於抗體B10G5之結合親和力之結合親和力特異性結合至MIC。另外功能活性包括MIC之抑制及/或抗癌活性。另外，具有功能活性之MIC抗體或其抗原結合部分意指多肽展現與如本文所述的參考抗體或其抗原結合部分(例如，MIC結合抗體或其抗原結合部分，其包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區或其變異體，如本文所述)之活性相比相似或更佳之活性，如在特定檢定(諸如例如生物測定，具有或不具有劑量相關性)中測定。在確實存在劑量相關性之情況下，其不需要與參考抗體或其抗原結合部分相同，而是與如本文所述的參考抗體或其抗原結合部分相比，與給定活性之劑量相關性相比實質上相似或更佳(亦即候選多肽將展現相對於參考抗體更大的活性)。

【0131】 該等MIC抗體及其抗原結合部分或其他結合劑之其他態樣係關於包含活性成分之組合物(亦即，包括如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑或編碼如本文所述的抗體或其抗原結合部分或其他結合劑之核酸)。在一些實施例中，該組合物係醫藥組合物。如本文所用，術語「醫藥組合物」係指與醫藥上可接受之載劑組合的活性劑，該載劑被接受用於醫藥工業中。片語「醫藥上可接受之」在本文中用於指在合理醫學判斷範圍內適用於與人類及動物之組織接觸而無過度毒性、刺激、過敏反應或其他問題或併發症(符合合理的效益/風險比)之彼等化合物、材料、組合物及/或劑型。

【0132】 含有溶解或分散於其中的活性成分之藥理學組合物之製備

係此項技術中熟知的且不需要基於任何特定調配物受限制。通常，將此類組合物製備成可注射的，呈液體溶液或懸浮液；然而，亦可製備適合在使用前在液體中再水合或懸浮之固體形式。製劑亦可經乳化或呈現為脂質體組合物。可將MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑與醫藥上可接受且與活性成分相容之賦形劑且以適合用於本文描述的治療方法中之量混合。適宜賦形劑係例如水、鹽水、右旋糖、甘油、乙醇或類似者及其組合。此外，若需要，則醫藥組合物可包含少量輔助物質，諸如潤濕劑或乳化劑、pH緩衝劑及類似者，其增強或保持活性成分(例如MIC抗體或其抗原結合部分)之有效性)。如本文所述的醫藥組合物可包含其中組分之醫藥上可接受之鹽。醫藥上可接受之鹽包括與無機酸(諸如例如鹽酸或磷酸、或有機酸，諸如乙酸、酒石酸、扁桃酸及類似者)形成的酸加成鹽(與多肽之游離胺基形成)。與游離羧基基團形成的鹽亦可源自無機鹼，諸如例如氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化銨、氫氧化鈣或氫氧化鐵，及有機鹼，諸如異丙胺、三甲胺、2-乙基氨基乙醇、組胺酸、普魯卡因(procaine)及類似者。生理上可耐受之載劑係此項技術中熟知的。示例性液體載劑係含有活性成分(例如MIC抗體及/或其抗原結合部分)及水之無菌水溶液，且可含有緩衝液，諸如在生理pH值下之磷酸鈉、生理鹽水或二者，諸如磷酸鹽緩衝溶液。又進一步地，水性載劑可包含超過一種緩衝鹽、以及諸如氯化鈉及氯化鉀之鹽、右旋糖、聚乙二醇及其他溶質。除了水之外或水除外，液體組合物亦可包含液相。此種另外液相之示例係甘油、植物油(諸如棉籽油)及水-油型乳液。可有效治療特定病症或病狀的活性劑之量將取決於病症或病狀之性質，且可藉由標準臨床技術來確定。

【0133】 在一些實施例中，包含如本文所述的MIC抗體或其抗原結

合部分或編碼如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分之核酸之醫藥組合物可係凍乾產物。

【0134】 在一些實施例中，提供包含治療有效量之本文描述的MIC抗體或其抗原結合部分或醫藥組合物之注射器。

癌症之治療

【0135】 在一些態樣中，如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑可用於包括向有此需要的個體投與如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑之方法中。在一些實施例中，MIC結合抗體或其抗原結合部分包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區，及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區。在一些實施例中，該MIC結合抗體或其抗原結合部分包含：(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該重鏈及輕鏈可變框架區係視需要經1至8個、1至6個、1至4個或1至2個保守胺基酸取代在該等框架區中而修飾，其中該等重鏈或輕鏈可變區之CDR未經修飾。在一些實施例中，該MIC結合抗體或其抗原結合部分包含：(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該重鏈及輕鏈可變框架區係視需要經1至8個、1至6個、1至4個或1至2個胺基酸取代、缺失或插入在該等框架區中而修飾，其中該等重鏈或輕鏈可變區之CDR未經修飾。在任何此等實施例中，該MIC結合抗體以大於抗體B10G5之結合親和力之結合親和力特異性結合至MIC。

【0136】 在一些實施例中，該個體需要治療癌症及/或惡性病。在一些實施例中，該個體需要治療MIC+癌症或MIC+惡性病，諸如例如上皮細

胞癌、MIC+實體腫瘤或MIC+造血惡性病。在一些實施例中，該方法用於治療患有MIC+癌症或惡性病的個體。在一些實施例中，該方法用於治療個體之上皮細胞癌或造血惡性病。在一些實施例中，該方法用於治療個體之MIC+上皮細胞癌或MIC+造血惡性病。如本文所用，「上皮細胞癌」係指自上皮細胞發展出的癌症。

【0137】 本文描述的方法包括投與治療有效量之MIC結合抗體或其抗原結合部分或其他結合劑。如本文所用，片語「治療有效量」、「有效量」或「有效劑量」係指如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑之在治療、管理或預防腫瘤或惡性病復發上提供治療效益之量，例如使腫瘤或惡性病之至少一種症狀、體徵或標誌在統計學上顯著降低之量。確定治療有效量完全在熟習此項技術者之能力範圍內。一般而言，治療有效量可隨個體的病史、年齡、病狀、性別，以及個體之醫學病狀之嚴重度及類型，及其他醫藥活性劑之投與而變化。

【0138】 術語「癌症」及「惡性病」係指干擾身體器官及系統之正常功能之細胞之不受控制生長。癌症或惡性病可係原發性或轉移性的，亦即其已成為侵襲性，在遠離原始腫瘤部位的組織中播下腫瘤生長。「腫瘤」係指干擾身體器官及系統之正常功能之細胞之不受控制生長。患有癌症的個體係具有可客觀測量之癌細胞存在於體內之個體。該定義中包括良性腫瘤及惡性癌症、以及潛在休眠腫瘤及微轉移。自其原始部位遷移且播種其他重要器官之癌症可經由受影響器官之功能退化最終導致個體死亡。惡性血液病(造血性癌症)(諸如白血病及淋巴瘤)能夠例如與個體之正常造血隔室競爭，藉此導致造血衰竭(以貧血、血小板減少症及中性粒細胞減少症之形式)，最終導致死亡。

【0139】 癌症之實例包括(但不限於)癌、淋巴瘤、母細胞瘤、肉瘤及白血病。此類癌症之更特定實例包括(但不限於)基底細胞癌、膽道癌、膀胱癌、骨癌、腦及CNS癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌；絨毛膜癌、結腸及直腸癌症(結腸直腸癌)、結締組織癌、消化系統癌、子宮內膜癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、胃癌(gastric cancer) (包括胃腸癌及胃癌(stomach cancer))、膠質母細胞瘤(GBM)、肝癌(hepatic carcinoma)、肝腫瘤(hepatoma)、上皮內腫瘤、腎癌(kidney或renal cancer)、喉頭癌、白血病、肝癌、肺癌(例如小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌及肺鱗狀細胞癌)、淋巴瘤(包括霍奇金氏(Hodgkin's)及非霍奇金氏(non-Hodgkin's)淋巴瘤)、黑色素瘤、骨髓瘤、神經母細胞瘤、口腔癌(例如唇、舌、口及咽)、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、視網膜母細胞瘤、橫紋肌肉瘤、呼吸系統癌、唾液腺癌、肉瘤、皮膚癌、鱗狀細胞癌、睪丸癌、甲狀腺癌、子宮或子宮內膜癌、泌尿系統癌、外陰癌；以及其他癌及肉瘤、以及B細胞淋巴瘤(包括低惡性度/濾泡性非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、小淋巴細胞(SL) NHL、中惡性度/濾泡性NHL、中惡性度瀰漫性NHL、高惡性度免疫母細胞NHL、高惡性度淋巴母細胞NHL、高惡性度小非裂解細胞NHL、巨瘤症(bulky disease) NHL、套細胞淋巴瘤、AIDS相關淋巴瘤及華氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's Macroglobulinemia))、慢性淋巴細胞白血病(CLL)、急性淋巴母細胞白血病(ALL)、毛細胞白血病、慢性骨髓母細胞性白血病及移植後淋巴增生性病變(PTLD)，以及與母斑症(phakomatoses)、水腫(諸如與腦腫瘤相關之水腫)及梅氏症候群(Meigs' syndrome)相關之異常血管增殖。

【0140】 在一些實施例中，該癌係選自實體腫瘤，包括但不限於黑

色素瘤、前列腺癌、卵巢癌、子宮頸癌、乳癌、肺癌、結腸癌、腎癌及頭頸癌。

【0141】 在一些實施例中，該癌症或惡性病係MIC陽性(MIC+)。如本文所用，術語「MIC陽性」或「sMIC+」用於描述癌細胞、癌細胞簇、腫瘤塊或轉移細胞，其於細胞表面上表現MIC (膜結合MIC)及/或產生自癌細胞中釋放的sMIC蛋白。此等術語意欲涵蓋所有癌細胞及/或腫瘤塊，其MIC蛋白之全部或部分細胞外域脫落至腫瘤內空間或循環或淋巴系統中；因此此等細胞可僅展現其表面上的MIC蛋白一段短的時間期，亦即，該術語涵蓋透過外泌體或其他機制脫落sMIC蛋白或分泌sMIC的癌細胞及腫瘤細胞，不論可偵測之MIC蛋白是否仍存在於其細胞表面上。然而，能夠藉由脫落MIC來逃避先天免疫排斥的任何癌細胞或腫瘤均被視為是「MIC陽性癌症」，因為該術語在本文中使用了。MIC陽性癌症之一些非限制性實例包括上皮細胞癌及造血惡性病。在一些實施例中，該MIC陽性癌症或惡性病可係MIC陽性前列腺癌及/或其轉移。

【0142】 如本文所用，「個體」係指人類或動物。通常，該動物係脊椎動物，諸如靈長類動物、嚙齒動物、家養動物或狩獵動物。靈長類動物包括黑猩猩、食蟹獼猴、蜘蛛猴及獼猴，例如恒河猴(Rhesus)。嚙齒動物包括小鼠、大鼠、土撥鼠(woodchucks)、貂、兔及倉鼠。家養及狩獵動物包括牛、馬、豬、鹿、野牛(bison)、水牛(buffalo)、貓科物種(例如家貓)、犬科物種(例如狗)、狐狸、狼、鳥類物種(例如雞、鵝、鴿)及魚(例如鱒魚、鯰魚及鮭魚)。在某些實施例中，該個體係哺乳動物，例如靈長類動物，例如人類。術語「患者」、「個體(individual)」及「個體(subject)」在本文中可互換使用。

【0143】 較佳地，該個體係哺乳動物。該哺乳動物可係人類、非人類的靈長類動物、小鼠、大鼠、狗、貓、馬或牛，但不限於此等實例。例如，可有利地使用除人類之外的哺乳動物作為代表例如各種癌症之動物模型之個體。此外，本文描述的方法可用於治療家養動物及/或寵物。個體可係男性或女性。在某些實施例中，該個體係人類。

【0144】 個體可係先前已診斷患有或識別為罹患sMIC+或MIC+癌症且需要治療，但不必已經經歷針對sMIC+或MIC+癌症之治療之個體。或者，個體亦可係先前尚未被診斷為患有需要治療的sMIC+或MIC+癌症的個體。個體可係展現與sMIC+或MIC+癌症有關的病狀或一或多種併發症之一或多種風險因素的個體或不展現風險因素的個體。對於治療特定sMIC+癌症「有需要的個體」可係患有該病狀或診斷為患有該病狀的個體。在其他實施例中，對某一病狀「處於發展風險中」的個體係指診斷為處於發展出該病狀(例如sMIC+或MIC+癌症)風險中之個體。

【0145】 如本文所用，術語「治療(treat)」、「治療(treatment)」、「治療(treating)」或「改善」當用於指疾病、病症或醫學病狀時係指病狀之治療性治療，其中目標係逆轉、減輕、改善、抑制、減慢或停止症狀或病狀之進展或嚴重度。術語「治療」包括減少或減輕病狀之至少一種不良效應或症狀。若一或多種症狀或臨床標誌物減少，則治療一般係「有效」。或者，若病狀之進展減少或停止，則治療係「有效」。亦即，「治療」不僅包括症狀或標誌物之改良，而且包括停止或至少減緩在沒有治療下將預期的症狀進展或惡化。有益或期望之臨床結果包括但不限於與在沒有治療下將預期的相比，個體之游離sMIC含量的降低、一或多種症狀的減輕、缺陷程度的減小、癌症或惡性病的穩定(亦即不惡化)狀態、腫瘤生

長及/或轉移的延遲或減緩、及壽命的延長。如本文所用，術語「投與」係指藉由導致MIC結合抗體或其抗原結合部分或其他結合劑結合至MIC之方法及途徑將如本文所述的MIC結合抗體或其抗原結合部分或其他結合劑或編碼如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑之核酸提供至個體中。類似地，本文揭示之包含如本文所述的MIC結合抗體或其抗原結合部分或其他結合劑或編碼如本文所述的MIC抗體或其抗原結合部分或其他結合劑之核酸之醫藥組合物可藉由導致個體之有效治療的任何適宜途徑投與。

【0146】 MIC結合抗體或其抗原結合部分之劑量範圍取決於效力，且涵蓋足以產生所需效應，例如降低MIC含量、減緩腫瘤生長或減小腫瘤大小之量。該劑量不應大到引起不可接受之不良副作用。一般而言，該劑量將隨個體的年齡、病狀及性別而變化且可由熟習此項技術者確定。在任何併發症之情況下，該劑量亦可由個別醫生調整。在一些實施例中，劑量範圍為0.01 mg/kg體重至10 mg/kg體重。在一些實施例中，劑量範圍為0.05 mg/kg體重至5 mg/kg體重。在一些實施例中，劑量範圍為0.01 mg/kg體重至10 mg/kg體重。在一些實施例中，劑量範圍為0.05 mg/kg體重至5 mg/kg體重。或者，可調整劑量範圍以將血清含量保持在1 pg/mL與1000 ug/mL之間。對於全身投與，可向個體投與治療量，諸如例如0.01 mg/kg、0.1 mg/kg、0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg、2.5 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、15 mg/kg、20 mg/kg、25 mg/kg或更多。

【0147】 可重複上述劑量之投與。事實上，在清除游離或未結合的MIC可促進對於腫瘤、癌細胞或惡性細胞之免疫攻擊之程度上，經考慮長期投與，例如首先治療腫瘤、癌症或惡性病本身，且然後持續監測獲得脫

落MIC之能力的腫瘤細胞之發展。在一個較佳實施例中，上述劑量係每週、每兩週、每三週或每月投與持續數週或數月。治療之持續時間取決於個體的臨床進展及對治療之反應性。

【0148】 在一些實施例中，劑量可為約 0.01 mg/kg 至約 100 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 0.01 mg/kg 至約 25 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 0.01 mg/kg 至約 20 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 0.01 mg/kg 至約 15 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 0.01 mg/kg 至約 100 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 0.01 mg/kg 至約 25 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 0.01 mg/kg 至約 20 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 0.01 mg/kg 至約 15 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 0.1 mg/kg 至約 10 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 1 mg/kg 至約 100 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 1 mg/kg 至約 25 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 1 mg/kg 至約 20 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 1 mg/kg 至約 15 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 2 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 4 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 5 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 6 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 8 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 10 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 15 mg/kg。在一些實施例中，劑量可為約 100 mg/m² 至約 700 mg/m²。在一些實施例中，劑量可為約 250 mg/m²。在一些實施例中，劑量可為約 375 mg/m²。在一些實施例中，劑量可為約 400 mg/m²。在一些實施例中，劑量可為約 500 mg/m²。

【0149】 在一些實施例中，劑量可經靜脈內投與。在一些實施例中，靜脈內投與可在歷時約 10 分鐘至約 4 小時之時間段發生的輸注。在一

些實施例中，靜脈內投與可在歷時約30分鐘至約90分鐘之時間段發生的輸注。

【0150】 在一些實施例中，可每週投與一個劑量。在一些實施例中，可每兩週投與一個劑量。在一些實施例中，可約每2週投與一個劑量。在一些實施例中，可約每3週投與一個劑量。在一些實施例中，可每三週投與一個劑量。在一些實施例中，可每四週投與一個劑量。

【0151】 在一些實施例中，向個體投與總共約2至約10個劑量。在一些實施例中，投與總共4個劑量。在一些實施例中，投與總共5個劑量。在一些實施例中，投與總共6個劑量。在一些實施例中，投與總共7個劑量。在一些實施例中，投與總共8個劑量。在一些實施例中，投與總共9個劑量。在一些實施例中，投與總共10個劑量。在一些實施例中，投與總共超過10個劑量。

【0152】 包含MIC結合抗體或其抗原結合部分或其他MIC結合劑之醫藥組合物可以單位劑量投與。術語「單位劑量」當提及醫藥組合物使用時係指適合作為個體之單位劑量的物理離散單元，各單元含有經計算可產生所需治療效應的預定量之活性材料(例如MIC結合抗體或其抗原結合部分)、以及所需生理上可接受之稀釋劑(亦即載劑或媒劑)。

【0153】 在一些實施例中，MIC結合抗體或其抗原結合部分或此等其中之一者或二者之醫藥組合物係與免疫療法一起投與。如本文所用，「免疫療法」係指設計以誘導或增強個體的自身免疫系統以對抗癌症或惡性病之治療策略。免疫療法之實例包括但不限於授受性細胞療法(例如自體NK細胞、同種異體NK細胞、自體T細胞、CAR修飾之T細胞及CAR修飾之NK細胞)、抗體，諸如檢查點抑制劑、及干擾代謝信號傳導之抗體、免疫

細胞介素(諸如 γ 鏈家族細胞介素IL-2、IL15及其變異體)、化學毒素、放射療法及表觀遺傳修飾劑。參見，例如，Rohaani等人，Virchows Archiv 474:449至461 (2019)；Magalhaes等人，Expert Opinion on Biological Therapy 19:8，811至827 (2019)及Ott等人，2019 ASCO Educational Book，Developmental Immunotherapy and Tumor Immunobiology，e70-78 (2020)，該等案之揭示內容係以引用之方式併入本文中。

【0154】 在一些實施例中，授受性細胞療法係T細胞療法，諸如CAR T細胞療法，其中自個體血液移除T細胞，經遺傳修飾以表現針對癌細胞上的適宜標靶之嵌合抗原受體)且然後再投與給該個體。參見，例如，WO2019/018603；WO2019/090003；WO2020/033927；WO2019089969；WO2015/164675；WO2016064929；WO2019/032929；WO2016/115559；WO2016/033570；WO2014/130657；WO2016028896；WO2015/090230；及WO2014/153270。

【0155】 在一些實施例中，授受性細胞療法係其中自個體血液移除PBMC，經引發以對特定抗原反應，且然後再投與給該個體之細胞療法(例如司普樂爾(Sipuleucel)-T)。(參見，例如，WO2001/039594；WO2001/074855；及WO1999/063050。)

【0156】 在一些實施例中，授受性細胞療法係NK細胞療法。NK細胞可經工程化以表現針對癌細胞上的適宜標靶之嵌合抗原受體且然後將經工程化之NK細胞投與給該個體。(參見，例如WO2006/103569；WO2018/165291；WO2016/201304；WO2017/100709；WO2019/028337；WO2016/176651及WO2018/183385)。

【0157】 在一些實施例中，該免疫療法涉及投與檢查點抑制劑。在一些實施例中，該檢查點抑制劑係選自CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、B7-H3、B7-H4、BMA、HVEM、TIM3、GAL9、LAG3、VISTA、KIR、LILRB1、LILRB2、CD47、CD137、CD70、2B4、CD160、TIGIT、CGEN-15049、CHK1、CHK2、SIGLEC-15、NKG2A、CD39、CD73、A2AR及A2BR之抑制劑。在一些實施例中，該免疫檢查點抑制劑包括抑制CTLA-4、PD-1、PD-L1及類似者之藥劑。適宜抗CTLA-4療法藥劑包括例如抗CTLA-4抗體、人類抗CTLA-4抗體、小鼠抗CTLA-4抗體、哺乳動物抗CTLA-4抗體、人類化抗CTLA-4抗體、單株抗CTLA-4抗體、多株抗CTLA-4抗體、嵌合抗CTLA-4抗體、易普利單抗、曲美目單抗(tremelimumab)、抗CTLA-4阿地奈汀(adnectins)、抗CTLA-4域抗體、單鏈抗CTLA-4 mAb、重鏈抗CTLA-4 mAb、輕鏈抗CTLA-4 mAb、促效共刺激途徑之CTLA-4抑制劑、揭示於PCT公開案第WO 2001/014424號中之抗體、揭示於PCT公開案第WO 2004/035607號中之抗體、揭示於美國公開案第2005/0201994號中之抗體及揭示於經授權的歐洲專利第EP1212422B 1號中之抗體。其他抗CTLA-4抗體描述於美國專利第5,811,097號、第5,855,887號、第6,051,227號及第6,984,720號；PCT公開案第WO 01/14424號及第WO 00/37504號；及美國公開案第2002/0039581後及第2002/086014號中。可用於本發明方法中之其他抗CTLA-4抗體包括例如揭示於以下中之彼等抗體：WO 98/42752；美國專利第6,682,736號及第6,207,156號；Hurwitz等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA，95(17): 10067 至 10071 (1998)；Camacho等人，J. Clin.Oncology，22(145): Abstract No. 2505 (2004) (抗體CP-675206)；

Mokyr等人，Cancer Res，58:5301至5304 (1998)、美國專利第5,977,318號、第6,682,736號、第7,109,003號及第7,132,281號。

【0158】適宜抗PD-1及抗PD-L1療法藥劑包括例如抗PD-1及抗PD-L1抗體、人類抗PD-1及抗PD-L1抗體、小鼠抗PD-1及抗PD-L1抗體、哺乳動物抗PD-1及抗PD-L1抗體、人類化抗PD-1及抗PD-L1抗體、單株抗PD-1及抗PD-L1抗體、多株抗PD-1及抗PD-L1抗體、嵌合抗PD-1及抗PD-L1抗體、抗PD-1阿地奈汀及抗PD-L1抗體、抗PD-1域抗體及抗PD-L1域抗體、單鏈抗PD-1 mAb及單鏈抗PD-L1 mAb、重鏈抗PD-1 mAb及重鏈抗PD-L1 mAb、及輕鏈抗PD-1 mAb及輕鏈抗PD-L1 mAb。在特定實施例中，抗PD-1療法藥劑包括納武單抗、派立珠單抗、彼地利株單抗(pidilizumab)、MEDI0680及其組合。在其他特定實施例中，抗PD-L1療法藥劑包括阿特珠單抗(atezolizumab)、BMS-936559、MEDI4736、MSB0010718C及其組合。

【0159】適宜抗PD-1及抗PD-L1抗體亦揭示於Topalian等人，Immune Checkpoint Blockade：A Common Denominator Approach to Cancer Therapy，Cancer Cell 27: 450-61 (2015年4月13日)，其全文係以引用之方式併入本文中。

【0160】在一些實施例中，該檢查點抑制劑係易普利單抗(Yervoy)、納武單抗(Opdivo)、派立珠單抗(Keytruda)、阿特珠單抗(Tecentriq)、阿維單抗(Avelumab) (Bavencio) 或度伐魯單抗(Durvalumab) (Imfinzi)。

【0161】在一些實施例中，提供一種改良接受免疫療法的個體之治療結果之方法。該方法一般包括向患有癌症的個體投與有效量之免疫療

法；及向該個體投與治療有效量之結合劑或其醫藥組合物，其中該結合劑特異性結合至循環MIC；其中與投與單獨免疫療法相比，該個體之治療結果改良。在一些實施例中，該結合劑包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區，及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該重鏈及輕鏈框架區係視需要經1至8個胺基酸取代、缺失或插入在該等框架區中而修飾，其中該結合劑以大於抗體B10G5之結合親和力之結合親和力特異性結合至MIC。在一些實施例中，該結合劑包含(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區，及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區，其中該結合劑特異性結合至MIC。在一些實施例中，該結合劑係抗體或其抗原結合部分。在一些實施例中，該結合劑係單株抗體、Fab、Fab'、F(ab')、Fv、二硫鍵連接之Fc、scFv、單域抗體、雙功能抗體、雙特異性抗體或多特異性抗體。

【0162】 在一些實施例中，該改良之治療結果係選自穩定疾病、部分反應或完全反應之客觀反應，如藉由所治療的癌症之標準醫學標準確定。在一些實施例中，該改良之治療結果係減少之腫瘤負荷。在一些實施例中，該改良之治療結果係無進展存活期或無疾病存活期。

【0163】 在一些實施例中，該等方法進一步在投與化學療法或藉由消耗內源性NK細胞或T細胞或其前驅物損害免疫系統之其他治療至少四週、至少六週或至少8週後投與MIC抗體或其抗原結合部分。在一些此類實施例中，該化學療法或治療係選自由：放射療法或化學療法組成之群。化學治療劑之非限制性實例可包括：烷基化劑，諸如噻替哌(thiotepa)及CYTOXAN™環磷醯胺；烷基磺酸鹽，諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶，諸如苯唑達帕

(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、美托達帕(meturedopa)及烏瑞替哌(uredopa)；伸乙基亞胺及甲基蜜胺，包括六甲蜜胺、曲他胺(triethylenemelamine)、三亞乙基磷醯胺、三亞乙基硫基磷醯胺及三羥甲蜜胺；乙醯素(acetogenin) (尤其布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone))；喜樹鹼(包括合成類似物拓撲替康(topotecan))；苔蘚抑素(bryostatin)；卡裏斯他汀(callystatin)；CC-1065 (包括其阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)及比折來新(bizelesin)合成類似物)；克利特非辛(cryptophycin) (特別克利特非辛1及克利特非辛8)；多拉司他汀(dolastatin)；多卡米星(duocarmycin) (包括合成類似物、KW-2189及CB1-TM1)；艾榴素(eleutherobin)；水鬼蕉鹼(pancratistatin)；肉質網囊素(sarcodictyin)；海綿抑素(spongistatin)；氮芥(nitrogen mustards)，諸如苯丁酸氮芥(chlorambucil)、萘氮芥(chlornaphazine)、膽磷醯胺(cholophosphamide)、雌莫司汀(estramustine)、異環磷醯胺(ifosfamide)、甲氮芥(mechlorethamine)、氧化鹽酸甲氮芥(mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法侖(melphalan)、新氮芥(novembichin)、膽甾醇對苯乙酸氮芥(phenesterine)、潑尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard)；亞硝基脲(nitrosureas)，諸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲黴素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)及雷莫司汀(ranimustine)；抗體，諸如烯二炔抗生素(例如卡奇黴素(calicheamicin)，尤其卡奇黴素 γ II及卡奇黴素 ω II(參見，例如，Agnew, Chem. Intl. 編, Engl., 33: 183 至 186 (1994))；達內黴素(dynergicin)，包括達內黴素A (dynergicin A)；雙膦酸鹽，諸如氯膦酸鹽

(clodronate)；埃斯培拉黴素(esperamicin)；以及新抑癌素(neocarzinostatin)發色團及相關發色蛋白(chromoprotein)烯二炔抗生素發色團)、阿克拉黴素(aclacinomysins)、放線菌素(actinomycin)、安曲黴素(authramycin)、氮絲胺酸(azaserine)、博來黴素(bleomycins)、放線菌素C(cactinomycin)、卡拉比辛(carabycin)、洋紅黴素(caminomycin)、嗜癌黴素(carzinophilin)、色黴素(chromomycinis)、放線菌素(dactinomycin)、道諾黴素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮基-5-側氧基-L-正白胺酸、ADRIAMYCIN. RTM. 多柔比星(doxorubicin)(包括嗎啉基多柔比星、氰基嗎啉基多柔比星、2-吡咯啉并-多柔比星及去氧多柔比星)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、伊達比星(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素，諸如絲裂黴素C、麥考酚酸(mycophenolic acid)、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycins)、培洛黴素(peplomycin)、波福黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、三鐵阿黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑黴素(streptonigrin)、鏈脲黴素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他汀(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)；抗代謝產物，諸如甲胺喋呤及5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如二甲葉酸(denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤(pteropterin)、曲美沙特(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤(thioguanine)；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿札胞苷(azacitidine)、6-氮雜尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、二脫氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷

(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)；雄激素，諸如卡普甾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、甾內酯(testolactone)；抗腎上腺劑(anti-adrenals)，諸如氨魯米特(aminogluthimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充液，諸如亞葉酸；醋葡醛內酯(aceglatone)；醛磷醯胺糖苷；胺基乙醯丙酸；恩尿嘧啶(eniluracil)；安吡啶(amsacrine)；貝斯他布西(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；依達曲沙(edatraxate)；地佛法明(defofamine)；秋水仙胺(demecolcine)；地吡醯(diaziqune)；依氟烏胺酸(elformithine)；依利醋鉍(elliptinium acetate)；埃坡黴素(epothilone)；依託格魯(etoglucid)；硝酸鎂；羥基脲；蘑菇多糖(lentinan)；氯尼達明(lonidainine)；類美登素(maytansinoids)，諸如美登素(maytansine)及安絲菌素(ansamitocins)；米托胍脲(mitoguazone)；米托蒽醯(mitoxantrone)；莫哌達醇(mopidanmol)；蔡托厄蒽(nitraerine)；噴托他汀(pentostatin)；苯來美特(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；洛索蒽醯(losoxantrone)；鬼臼酸(podophyllinic acid)；2-乙基醯肼；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK™多醣複合物(JHS Natural Products，Eugene，Oreg.)；雷佐生(razoxane)；根黴素(rhizoxin)；西唑呋喃(sizofuran)；螺鍺胺(spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)；三亞胺醯(triaziquone)；2,2',2''-三氯三乙基胺；單端孢黴烯族毒素(trichothecenes) (尤其T-2毒素、韋拉卡瑞A (verracurin A)、桿孢菌素A (roridin A)及蛇形菌素(anguidine))；尿烷(urethan)；長春地辛(vindesine)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露莫司汀(mannomustine)；二溴

甘露醇 (mitobronitol) ; 二溴衛矛醇 (mitolactol) ; 哌泊溴烷 (pipobroman) ; 加塞特辛 (gacytosine) ; 阿拉伯糖苷 (arabinoside) (「Ara-C」) ; 環磷醯胺 ; 噻替哌 ; 類紫杉醇 (taxoids), 例如 TAXOL™ 太平洋紫杉醇 (paclitaxel) (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、ABRAXANE. RTM. (無氫化蓖麻油 (Cremophor-free))、太平洋紫杉醇之白蛋白工程化之奈米粒子調配物 (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.) 及 TAXOTERE™ 多西他賽 (doxetaxel) (Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France) ; 苯丁酸氮芥 ; GEMZAR™ 吉西他濱 (gemcitabine) ; 6-硫鳥嘌呤 ; 巯基嘌呤 ; 甲胺喋呤 ; 鉑類似物, 諸如順鉑、奧沙利鉑 (oxaliplatin) 及卡鉑 (carboplatin) ; 長春花鹼 (vinblastine) ; 鉑 ; 依託泊苷 (etoposide) (VP-16) ; 異環磷醯胺 ; 米托蒽醌 ; 長春新鹼 (vincristine) ; NAVELBINE™ 長春瑞濱 (vinorelbine) ; 諾消靈 (novantrone) ; 替尼泊苷 (teniposide) ; 依達曲沙 (edatrexate) ; 道諾黴素 (daunomycin) ; 胺基喋呤 (aminopterin) ; 希羅達 (xeloda) ; 伊班膦酸鹽 (ibandronate) ; 伊立諾替康 (irinotecan) (開普拓 (Camptosar), CPT-11) (包括伊立諾替康與 5-FU 及甲醯四氫葉酸 (leucovorin) 之治療方案) ; 拓撲異構酶抑制劑 RFS 2000 ; 二氟甲基鳥胺酸 (DMFO) ; 類視色素, 諸如視黃酸 ; 卡培他濱 (capecitabine) ; 考布他汀 (combretastatin) ; 甲醯四氫葉酸 (leucovorin) (LV) ; 奧沙利鉑 (oxaliplatin), 包括奧沙利鉑治療方案 (FOLFOX) ; 拉帕替尼 (lapatinib) (Tykerb™) ; 減少細胞增殖的 PKC- α 、Raf、H-Ras、EGFR 之抑制劑 (例如厄洛替尼 (erlotinib) (Tarceva™)) 及 VEGF-A、及醫藥上可接受之鹽、上述任何者之酸或鹼。

【0164】「放射療法」意指使用定向 γ 射線或 β 射線對細胞造成足夠

損傷以便限制其正常起作用或完全破壞細胞之能力。

【0165】 本發明實施例之描述並非意欲詳盡或將本發明限制於所揭示的精確形式。雖然本發明在本文中出於例示性目的描述本發明之特定實施例及實例，但如熟習相關技術者將認識到，在本發明之範疇內，各種等效修改係可能的。本文提供的本發明之教示可適宜地應用於其他程序或方法。可組合本文描述的各種實施例以提供進一步實施例。若需要，可修改本發明之態樣，以採用上述參考文獻及應用之組合物、功能及概念以提供本發明之又進一步實施例。根據詳細描述，可對本發明做出此等及其他改變。

【0166】 任何前述實施例之特定要素可組合或替代其他實施例中之要素。此外，雖然在此等實施例之上下文中已描述與本發明某些實施例相關之優點，但其他實施例亦可展現此種優點，且並非所有實施例均必須展現落入本發明之範疇內的此類優點。

【0167】 所識別的所有專利及其他公開案係出於描述及揭示之目的以引用之方式明確併入本文中，例如描述於此類公開案中之方法可能與本發明結合使用。提供此等公開案僅為了其在本申請案之申請日之前揭示。就此而言的任何內容均不應被解釋為承認發明者無權因先前發明或任何其他原因而先於此類揭示內容。關於日期的任何陳述或關於此等文件之內容的表示均基於申請人可獲得的資訊且並不構成對此等文件的日期及內容之正確性的任何承認。

非限制性示例性實施例

【0168】 藉由以下實施例進一步說明本發明，但不應將其理解為限制。

【0169】 1. 一種結合劑，其包含：(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變(VH)區，及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變(VL)區，其中該重鏈及輕鏈框架區係視需要經1至8個胺基酸取代、缺失或插入在該等框架區中而修飾。

【0170】 2. 一種結合劑，其包含：(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區，及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0171】 3. 一種包含重鏈可變(VH)區及輕鏈可變(VL)區之結合劑，其中該VH區包含具有SEQ ID NO:11所示的胺基酸序列之互補決定區HCDR1、具有SEQ ID NO:12所示的胺基酸序列之HCDR2及具有SEQ ID NO:13所示的胺基酸序列之HCDR3，且其中該VL區包含具有SEQ ID NO:14所示的胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO:15所示的胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO:16所示的胺基酸序列之LCDR3，且其中該等VH及VL區各包含人類化框架區。

【0172】 4. 如實施例3之結合劑，其中該人類化VH框架區源自具有IMGT IGHV4-59*11 (SEQ ID NO:29)及IGHJ4*01 (SEQ ID NO:30)或IGHV4-30-4*01 (SEQ ID NO:31)及IGHJ4*01 (SEQ ID NO:30)所示的胺基酸序列之人類生殖系基因。

【0173】 5. 如實施例3或4之結合劑，其中該人類化VL框架區源自具有IMGT IGKV1-NL1*01 (SEQ ID NO:32)及IMGT IGKJ1*01 (SEQ ID NO:33)、IMGT IGKV1-33*01 (SEQ ID NO:34)及IMGT IGKJ1*01 (SEQ ID NO:33)或IMGT IGKV1-5*01 (SEQ ID NO:35)及IMGT IGKJ1*01 (SEQ ID NO:33)所示的胺基酸序列之人類生殖系基因。

【0174】 6. 如實施例1至5中任一項之結合劑，其中該結合劑特異性結合至MIC。

【0175】 7. 如實施例1至6中任一項之結合劑，其中該結合劑係抗體或其抗原結合部分。

【0176】 8. 如實施例7之結合劑，其中該結合劑係單株抗體、Fab、Fab'、F(ab')、Fv、二硫鍵連接之Fc、scFv、單域抗體、雙功能抗體、雙特異性抗體或多特異性抗體。

【0177】 9. 如前述實施例中任一項之結合劑，其中該重鏈可變區進一步包含重鏈恆定區。

【0178】 10. 如實施例9之結合劑，其中該重鏈恆定區具有IgG同型。

【0179】 11. 如實施例10之結合劑，其中該重鏈恆定區係IgG1恆定區。

【0180】 12. 如實施例10之結合劑，其中該重鏈恆定區係IgG4恆定區。

【0181】 13. 如實施例11之結合劑，其中該重鏈可變區及恆定區具有SEQ ID NO:3所示的胺基酸序列。

【0182】 14. 如前述實施例中任一項之結合劑，其中該輕鏈可變區進一步包含輕鏈恆定區。

【0183】 15. 如實施例14之結合劑，其中該輕鏈恆定區具有κ同型。

【0184】 16. 如實施例15之結合劑，其中該輕鏈可變區及恆定區具有SEQ ID NO:4所示的胺基酸序列。

【0185】 17. 如實施例9至16中任一項之結合劑，其中該重鏈恆定區

進一步包含至少增加對人類FcγRIII之結合親和力之胺基酸修飾。

【0186】 18. 如實施例9至17中任一項之結合劑，其中該重鏈恆定區進一步包含至少一個會降低結合至一或多個Fcγ受體之胺基酸修飾。

【0187】 19. 如實施例9至17中任一項之結合劑，其中該重鏈恆定區進一步包含至少一個會增加CDC活性之胺基酸修飾。

【0188】 20. 如實施例中任一項之結合劑，其中該結合劑係單特異性的。

【0189】 21. 如實施例1至20中任一項之結合劑，其中該結合劑係二價的。

【0190】 22. 如實施例21之結合劑，其中該結合劑包含第二結合域且該結合劑係雙特異性的。

【0191】 23. 如實施例1至22中任一項之結合劑，其中該結合劑特異性結合至可溶MIC (sMIC)。

【0192】 24. 如實施例1至23中任一項之結合劑，其中該結合劑以大於抗體B10G5之結合親和力之結合親和力特異性結合至MIC。

【0193】 25. 一種醫藥組合物，其包含如前述實施例中任一項之結合劑及醫藥上可接受之載劑。

【0194】 26. 一種編碼重鏈可變區之核酸，該重鏈可變區具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列，視需要具有SEQ ID NO:21所示的核酸序列。

【0195】 27. 一種編碼輕鏈可變區之核酸，該輕鏈可變區具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列，視需要具有SEQ ID NO:22所示的核酸序列。

【0196】 28. 一種編碼如實施例1至24中任一項之結合劑之核酸，該結合劑視需要具有SEQ ID NO:21及SEQ ID NO:22所示的核酸序列。

【0197】 29. 一種包含如實施例26至28中任一項之核酸之載體。

【0198】 30. 一種包含如實施例26至28中任一項之核酸或如實施例29之載體之細胞系。

【0199】 31. 一種治療MIC+癌症之方法，該方法包括向有此需要的個體投與治療有效量之如實施例1至24中任一項之結合劑或如實施例25之醫藥組合物。

【0200】 32. 如實施例31之方法，其中該癌症係癌、肉瘤、神經內分泌腫瘤或惡性血液病。

【0201】 33. 如實施例33之方法，其中該癌症係癌。

【0202】 34. 如實施例33之方法，其中該癌係選自前列腺癌、卵巢癌、子宮頸癌、乳癌、肺癌、結腸癌及頭頸癌。

【0203】 35. 如實施例32之方法，其中該癌症係惡性血液病。

【0204】 36. 如實施例33之方法，其中該惡性血液病係淋巴瘤或多發性骨髓瘤。

【0205】 37. 如實施例31至36中任一項之方法，該方法進一步包括向該個體投與免疫療法。

【0206】 38. 如實施例37之方法，其中該免疫療法包括授受性細胞療法或檢查點抑制劑。

【0207】 39. 如實施例38之方法，其中該免疫療法包括授受性細胞療法。

【0208】 40. 如實施例39之方法，其中該授受性細胞療法係選自自

體NK細胞、同種異體NK細胞、自體T細胞、CAR修飾之T細胞及CAR修飾之NK細胞。

【0209】 41. 如實施例38之方法，其中該免疫療法包括檢查點抑制劑。

【0210】 42. 如實施例41之方法，其中該檢查點抑制劑係選自特異性結合至人類PD-1、人類PD-L1或人類CTLA4之抗體。

【0211】 43. 如實施例42之方法，其中該檢查點抑制劑係派立珠單抗、納武單抗、西米普利單抗或易普利單抗。

【0212】 44. 如實施例31至43中任一項之方法，其中在投與該結合劑之前向該個體投與化學療法至少四週。

【0213】 45. 如實施例31至44中任一項之方法，其中該結合劑係經靜脈內投與。

【0214】 46. 如實施例31至45中任一項之方法，其中該結合劑係以約0.1 mg/kg至約100 mg/kg之劑量投與。

【0215】 47. 一種降低患有癌症的個體之循環sMIC含量之方法，該方法包括投與治療有效量之如實施例1至24中任一項之結合劑或如實施例25之醫藥組合物。

【0216】 48. 如實施例47之方法，其中該癌症係癌、肉瘤、神經內分泌腫瘤或惡性血液病。

【0217】 49. 如實施例48之方法，其中該癌症係癌。

【0218】 50. 如實施例49之方法，其中該癌係選自前列腺癌、卵巢癌、子宮頸癌、乳癌、肺癌、結腸癌及頭頸癌。

【0219】 51. 如實施例48之方法，其中該癌症係惡性血液病。

【0220】 52. 如實施例51之方法，其中該惡性血液病係淋巴瘤或多發性骨髓瘤。

【0221】 53. 一種改良接受免疫療法的個體之治療結果之方法，該方法包括：

a. 向患有癌症的該個體投與有效量之免疫療法；及

b. 向該個體投與治療有效量之如實施例1至24中任一項之結合劑或如實施例25之醫藥組合物，其中該結合劑特異性結合至MIC；

其中與單獨投與該免疫療法相比，該個體之治療結果改良。

【0222】 54. 如實施例53之方法，其中該改良之治療結果係選自穩定疾病、部分反應或完全反應之客觀反應。

【0223】 55. 如實施例53之方法，其中該改良之治療結果係減少之腫瘤負荷。

【0224】 56. 如實施例53之方法，其中該改良之治療結果係無進展存活期或無疾病存活期。

【0225】 57. 如實施例53之方法，其中該免疫療法係授受性細胞療法或檢查點抑制劑。

【0226】 58. 如實施例57之方法，其中該免疫療法係授受性細胞療法。

【0227】 59. 如實施例58之方法，其中該授受性細胞療法包括自體NK細胞、同種異體NK細胞、自體T細胞、CAR修飾之T細胞及CAR修飾之NK細胞。

【0228】 60. 如實施例57之方法，其中該免疫療法係檢查點抑制劑。

【0229】 61. 如實施例60之方法，其中該檢查點抑制劑包括特異性結合至人類PD-1、人類PD-L1或CTLA4之抗體。

【0230】 62. 如實施例61之方法，其中該檢查點抑制劑係派立珠單抗、納武單抗、西米普利單抗或易普利單抗。

【0231】 63. 如實施例53至62中任一項之方法，其中在投與該結合劑之前不向該個體投與化學療法至少四週。

【0232】 64. 如實施例53至63中任一項之方法，其中該結合劑係經靜脈內投與。

【0233】 65. 如實施例53至64中任一項之方法，其中該結合劑係以約0.1 mg/kg至約10 mg/kg之劑量投與。

【0234】 66. 一種如實施例1至24中任一項之結合劑或如實施例25之醫藥組合物於治療個體之MIC+癌症之用途。

【0235】 67. 一種如實施例1至24中任一項之結合劑或如實施例25之醫藥組合物於治療接受免疫療法的個體之MIC+癌症之用途。

【0236】 68. 如實施例1及3至24中任一項之結合劑，其中該VH係選自具有SEQ ID NO:1、23及24所示的胺基酸序列之重鏈可變區且該VL係選自具有SEQ ID NO:2、25及26所示的胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0237】 69. 如實施例68之結合劑，其中該VH具有SEQ ID NO:24所示的胺基酸序列且該VL具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列。

實例

實例1：人類化抗體之產生

【0238】 以下實例描述抗體B10G5之人類化形式之製備。基於兩個不同重鏈及輕鏈人類受體框架設計三個人類化輕鏈及三個人類化重鏈。各

親本鏈之第一人類化鏈利用第一框架且包含最多人類序列與最少親本抗體框架序列(命名為人類化HC 1、LC 1)。各親本鏈之第二人類化鏈使用與之前相同的框架但包含另外親本序列(命名為人類化HC 2、LC 2)。各者之第三人類化鏈利用第二各自框架，且類似於HC 2/LC 2，亦包含與人類框架融合的另外親本序列(命名為人類化HC 3、LC 3)。

【0239】 該人類化輕鏈及重鏈然後準備經組合以產生變異體完全人類化抗體。如以下實例中所述，測試人類化輕鏈及重鏈之所有可能組合之表現程度及結合親和力測試。

【0240】 藉由首先合成可變區序列建構全長抗體基因。該等序列針對在哺乳動物細胞中表現進行最佳化。然後將此等可變區序列選殖至已經包含人類Fc域的表現載體中；對於重鏈，根據要求使用IgG1恆定區。此外，為了比較，使用相同主鏈Fc序列將親本抗體之重鏈及輕鏈建構成全長嵌合鏈。抗體之識別如下表1中所示。

表1. 人類化抗體組合

抗體鏈	親本HC	人類化HC1	人類化HC2	人類化HC3
親本LC	Ab-J			
人類化LC1		Ab-A	Ab-D	Ab-B
人類化LC2		Ab-H	Ab-C	Ab-E
人類化LC3		Ab-I	Ab-K	Ab-G

實例2：評估以小規模產生之人類化抗體

【0241】 所有9種人類化抗體均經歷0.01公升小規模產生。B10G5抗體亦經擴大規模用於直接比較。在不存在血清之情況下，使用化學上限定的培養基，將指定重鏈及輕鏈之質體轉染至培養於懸浮液中之HEK293細胞中。轉染後五天，收集來自各產生運行之經調理之培養基且使其澄清。使用MabSelect SuRe™蛋白質A培養基(GE Healthcare)純化經調理之培養基中之抗體。最終產量提供如下(表2)。

表2. 以小規模產生之抗體產量(mg)

抗體鏈	親本HC	人類化HC1	人類化HC2	人類化HC3
親本LC	0.99 (Ab-J)			
人類化LC1		1.95 (Ab-A)	2.5 (Ab-D)	2.25 (Ab-B)
人類化LC2		2.97 (Ab-H)	3.19 (Ab-C)	2.47 (Ab-E)
人類化LC3		2.88 (Ab-I)	3.11 (Ab-K)	3.45 (Ab-G)

【0242】 使用LabChip GXII (Perkin Elmer)在還原條件下於抗體上進行CE-SDS分析且分析所得電泳圖。對於經純化之人類化抗體觀測到重鏈及輕鏈之離散峰；重鏈及輕鏈之峰高[或曲線下面積]相似。抗體C (HC2/LC2)及K (HC2/LC3)產生最大的抗體產量。

實例3：人類化抗體之結合親和力測試

藉由FACS分析來自實例2之經純化之抗體對於人類前列腺腫瘤細胞系M12之結合親和力。測試三種不同抗體濃度(0.1 ug/mL、0.05 ug/mL及0.01 ug/mL)。為了比較結合親和力，測定各抗體在各濃度下之MFI且將該等結果繪製成如圖1中所顯示。在0.1 ug/mL濃度下，自頂部至底部，該等抗體係Ab-G、Ab-K、Ab-E、Ab-J、Ab-I及Ab-H (重疊)、Ab-D、Ab-B、Ab-A及Ab-C。驚人地，兩種抗體Ab-G及Ab-K具有與抗體J (具有人類IgG1 Fc區之嵌合B10G5)相比更高的MFI。

實例4：藉由BLI的抗體K之BLI分析

【0243】 一般如Kamat及Rafique，Analytical Biochemistry 536: 16至31 (2017)所述，使用Octet Red96 (ForteBio)進行生物層干涉測量法(BLI)。於動力學等級生物感測器上捕獲抗體樣品Ab-K及Ab-J (嵌合B10G5)。然後將經加載之生物感測器浸入至連續稀釋於具有0.1% BSA、0.02%吐溫(Tween)-20之PBS緩衝液(pH 7.2)中的含有抗原(MICB)之稀釋樣品系列中。觀測到締合持續150秒接著200秒解離。相同抗原濃度之一式二份注射顯示良好重疊。使用1:1結合模型及具有質量傳輸限制之全局

擬合使用Scrubber軟體來進行動力學分析。參考圖2A至2B，Ab-K (圖2B) 具有高於嵌合抗體B10G5 (Ab-J， $K_d = 12.1 \text{ nM}$)之親和力之親和力($K_d = 7.2 \text{ nM}$) (圖2A)。

實例5：NK細胞細胞毒性檢定

【0244】 測定抗體K刺激NK細胞細胞毒性之能力。使用來自Stem Cell Technologies (Vancouver, BC, Canada)之分離套組，自健康供體PBMC陰性選擇NK細胞。用IL-2 (1000 U/mL)活化經純化之NK細胞18小時，然後將其用於針對UC1腫瘤細胞或PL-12細胞之細胞毒性檢定，在37°C下將該等細胞與10 ug/ml對照人類IgG、抗體Ab-J (具有人類IgG1 Fc區之嵌合B10G5)或抗體K (Ab-K)預培養30分鐘。使用標準4小時 ^{51}Cr 釋放檢定(Jewett A.等人，Hum. Immunol. 2003；64:505至520)來測定NK細胞介導之細胞毒性。具體而言，在細胞培養物培養箱中將NK細胞與 ^{51}Cr 標記之UC1或PL12細胞以10:1比率共培養4小時。培養4小時後，自各樣品收穫上清液且於 γ 計數器上計數。使用下式計算特異性細胞毒性百分比：細胞毒性% = (實驗cpm - 自發cpm) / (總cpm - 自發cpm)。NK細胞殺死活性表示為裂解單位30/10⁶個細胞，其係使用裂解30%的靶細胞所需的NK細胞數的倒數 $\times 100$ 來確定。實驗中包括各條件的五個重複。

【0245】 參考圖3A至3B，抗體K (Ab-K)證實，與嵌合抗體B10G5相比在增強IL-2活化之初級NK細胞殺死MIC⁺甲狀腺嗜酸細胞瘤UC1腫瘤細胞(圖3A)；及胰臟PL12細胞(亦稱為Panc 10.05；圖3B)上更高之活性。

實例6：聚集檢定

【0246】 使用利用準彈性光散射儀器之動態光散射(DLS)來檢定鼠抗體B10G5、嵌合Ab-K抗體(ch-Ab-K，人類化可變區及鼠類Fc)及抗體K

(Ab-K，人類化)之樣品。將B10G5、ch-Ab-K或Ab-K分別於PBS緩衝液中稀釋至1.0 mg/mL之濃度，且體積為50 μ L。所有樣品均藉由旋轉過濾(SpinX®目錄號8160)過濾以移除不需要的大顆粒且在本檢定之前脫氣。使用5 μ L樣品以使用Unchained Lab nanoDLS pUNK機器加載相應可棄式比色皿用於DLS檢定。本檢定之詳細內容描述於例如 Berne 等人，*Dynamic Light Scattering with Applications to Chemistry, Biology and Physics*，Courier Dover Publications，ISBN 0-486-41155-9 (2000)中。在本檢定中，DLS測量由於散射粒子所致之散射光強度的波動。顆粒隨時間推移而聚集，表現為流體動力直徑(x軸)的增加。峰面積代表不同抗體種類(例如抗體單體或聚集體)的各自含量，表示為抗體總量之百分比。

【0247】圖4A至4C分別顯示鼠抗體B10G5 (鼠IgG1，圖4A)、嵌合Ab-K抗體(ch-Ab-K，由Ab-K人類化可變區與鼠IgG1-Fc組成)(圖4B)及Ab-K (人類化)(圖4C)之抗體單體及聚集體之含量。嵌合抗體ch-Ab-K及完全人類化抗體Ab-K在溶液中均比鼠抗體B10G5更穩定，如抗體嵌合Ab-K (圖4B，99.5%)及完全人類化抗體Ab-K (圖4C，99.95%)之更高單體含量所顯示。

實例7：免疫療法臨床試驗

【0248】在具有MIC+腫瘤樣品或為血清sMIC+之癌症患者中進行I期臨床試驗。使用調適劑量遞增3+3設計或時間-對-事件貝葉斯(Bayesian)最佳時間間隔設計來測定MIC抗體之安全性及最大耐受劑量(MTD)及主要功效。患者群體包括標準照護失敗但未經化學處理(chemo-naïve)的彼等患者。MIC抗體之試驗劑量範圍可為0.01 mg/Kg至100 mg/Kg，且每2至4週I.V.輸注長達90天時間且長達1年隨訪以確定MTD或推薦2期劑量

(RP2D)。對於沒有出現顯著不良效應的患者，將進行延長之輸注期與長達2年的臨床隨訪以確定主要功效。

【0249】 本發明之範疇不受本文描述的特定實施例限制。實際上，除了彼等本文描述者之外，熟習此項技術者自前述描述及附圖當可明瞭本發明之各種修改。此種修改意欲落入隨附申請專利範圍之範疇內。

【0250】 本文引用各種公開案，包括專利、專利申請公開案及科學文獻，該等之揭示內容係出於所有目的以全文引用的方式併入本文中。

SEQ ID NO: 12 VH CDR2

GYISYSGST

SEQ ID NO: 13 VH CDR3

ARGGTYFDY

SEQ ID NO: 14 VL CDR1

RASAHINNW

SEQ ID NO: 15 VL CDR2

DATSLES

SEQ ID NO: 16 VL CDR3

QHYWSTPWT

SEQ ID NO: 17

(Gly Gly Gly Gly Ser)_n，其中n = 1至5

SEQ ID NO: 18

His His His His His His

SEQ ID NO: 19 HC2之編碼序列

【序列表】

<110> 美商康愈有限責任公司(Cancure, LLC)

<120> MIC抗體及結合劑以及其使用方法

<130> 01301-0001-00PCT

<150> US 63/049,012

<151> 2020-07-07

<160> 37

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 116

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> HC2之VH胺基酸序列

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 107
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> LC3之VL胺基酸序列

<400> 2

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

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

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

Ser Asp Ala Thr Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Lys Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Trp Ser Thr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 3
<211> 445
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>

<223> VH-IgG1胺基酸序列

<400> 3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

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

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

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

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

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 4
<211> 214
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> VL-Ig κ 胺基酸序列

<400> 4

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

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

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

Ser Asp Ala Thr Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Lys Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Trp Ser Thr Pro Trp
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 5
<211> 24
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 信號序列

<400> 5

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly
20

<210> 6
<211> 20
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 信號序列

<400> 6

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly
20

<210> 7
<211> 469
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 具有信號序列之VH-IgG1胺基酸序列

<400> 7

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly
20 25 30

Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val
35 40 45

Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln
50 55 60

Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly
65 70 75 80

Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Arg
85					90					95					
Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala
100					105					110					
Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly	Gly	Thr	Tyr	Phe	Asp
115					120					125					
Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
130					135					140					
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly
145					150					155					160
Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
165					170					175					
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr
180					185					190					
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
195					200					205					
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn
210					215					220					
Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro
225					230					235					240
Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu
245					250					255					
Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp
260					265					270					
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
275					280					285					

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
290 295 300

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
305 310 315 320

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
325 330 335

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
340 345 350

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
405 410 415

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly
465

<210> 8
<211> 234
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 具有信號序列之VL-Ig κ 胺基酸序列

<400> 8

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ala His
35 40 45

Ile Asn Asn Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Ser Asp Ala Thr Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Lys Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Trp
100 105 110

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

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	
				165				170						175		
Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	
			180					185					190			
Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	
		195					200				205					
His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	
	210					215				220						
Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys							
225				230												
<210> 9																
<211> 383																
<212> PRT																
<213> 智人																
<400> 9																
Met	Gly	Leu	Gly	Pro	Val	Phe	Leu	Leu	Leu	Ala	Gly	Ile	Phe	Pro	Phe	
1				5					10					15		
Ala Pro Pro Gly Ala Ala Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu																
			20					25					30			
Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu																
		35					40					45				
Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys																
	50					55				60						
Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys																
65					70				75					80		
Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu																
				85				90					95			

Arg	Met	Thr	Leu	Ala	His	Ile	Lys	Asp	Gln	Lys	Glu	Gly	Leu	His	Ser	
			100					105					110			
Leu	Gln	Glu	Ile	Arg	Val	Cys	Glu	Ile	His	Glu	Asp	Asn	Ser	Thr	Arg	
	115						120					125				
Ser	Ser	Gln	His	Phe	Tyr	Tyr	Asp	Gly	Glu	Leu	Phe	Leu	Ser	Gln	Asn	
	130					135					140					
Leu	Glu	Thr	Lys	Glu	Trp	Thr	Met	Pro	Gln	Ser	Ser	Arg	Ala	Gln	Thr	
145					150					155					160	
Leu	Ala	Met	Asn	Val	Arg	Asn	Phe	Leu	Lys	Glu	Asp	Ala	Met	Lys	Thr	
			165						170					175		
Lys	Thr	His	Tyr	His	Ala	Met	His	Ala	Asp	Cys	Leu	Gln	Glu	Leu	Arg	
		180						185					190			
Arg	Tyr	Leu	Lys	Ser	Gly	Val	Val	Leu	Arg	Arg	Thr	Val	Pro	Pro	Met	
	195						200					205				
Val	Asn	Val	Thr	Arg	Ser	Glu	Ala	Ser	Glu	Gly	Asn	Ile	Thr	Val	Thr	
	210					215					220					
Cys	Arg	Ala	Ser	Gly	Phe	Tyr	Pro	Trp	Asn	Ile	Thr	Leu	Ser	Trp	Arg	
225				230					235					240		
Gln	Asp	Gly	Val	Ser	Leu	Ser	His	Asp	Thr	Gln	Gln	Trp	Gly	Asp	Val	
			245					250					255			
Leu	Pro	Asp	Gly	Asn	Gly	Thr	Tyr	Gln	Thr	Trp	Val	Ala	Thr	Arg	Ile	
		260					265						270			
Cys	Gln	Gly	Glu	Glu	Gln	Arg	Phe	Thr	Cys	Tyr	Met	Glu	His	Ser	Gly	
	275					280					285					
Asn	His	Ser	Thr	His	Pro	Val	Pro	Ser	Gly	Lys	Val	Leu	Val	Leu	Gln	

290										295										300									
Ser	His	Trp	Gln	Thr	Phe	His	Val	Ser	Ala	Val	Ala	Ala	Ala	Ala	Ile														
305					310					315					320														
Phe	Val	Ile	Ile	Ile	Phe	Tyr	Val	Arg	Cys	Cys	Lys	Lys	Lys	Thr	Ser														
				325					330						335														
Ala	Ala	Glu	Gly	Pro	Glu	Leu	Val	Ser	Leu	Gln	Val	Leu	Asp	Gln	His														
			340					345						350															
Pro	Val	Gly	Thr	Ser	Asp	His	Arg	Asp	Ala	Thr	Gln	Leu	Gly	Phe	Gln														
		355					360					365																	
Pro	Leu	Met	Ser	Asp	Leu	Gly	Ser	Thr	Gly	Ser	Thr	Glu	Gly	Ala															
	370					375					380																		
<210>	10																												
<211>	383																												
<212>	PRT																												
<213>	智人																												
<400>	10																												
Met	Gly	Leu	Gly	Arg	Val	Leu	Leu	Phe	Leu	Ala	Val	Ala	Phe	Pro	Phe														
1				5					10					15															
Ala	Pro	Pro	Ala	Ala	Ala	Ala	Glu	Pro	His	Ser	Leu	Arg	Tyr	Asn	Leu														
			20					25					30																
Met	Val	Leu	Ser	Gln	Asp	Gly	Ser	Val	Gln	Ser	Gly	Phe	Leu	Ala	Glu														
		35					40					45																	
Gly	His	Leu	Asp	Gly	Gln	Pro	Phe	Leu	Arg	Tyr	Asp	Arg	Gln	Lys	Arg														
	50					55						60																	
Arg	Ala	Lys	Pro	Gln	Gly	Gln	Trp	Ala	Glu	Asn	Val	Leu	Gly	Ala	Lys														
65					70					75				80															

Thr Trp Asp Thr Glu Thr Glu Asp Leu Thr Glu Asn Gly Gln Asp Leu
85 90 95

Arg Arg Thr Leu Thr His Ile Lys Asp Gln Lys Gly Gly Leu His Ser
100 105 110

Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys Glu Ile His Glu Asp Ser Ser Thr Arg
115 120 125

Gly Ser Arg His Phe Tyr Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn
130 135 140

Leu Glu Thr Gln Glu Ser Thr Val Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr
145 150 155 160

Leu Ala Met Asn Val Thr Asn Phe Trp Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr
165 170 175

Lys Thr His Tyr Arg Ala Met Gln Ala Asp Cys Leu Gln Lys Leu Gln
180 185 190

Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val Ala Ile Arg Arg Thr Val Pro Pro Met
195 200 205

Val Asn Val Thr Cys Ser Glu Val Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr
210 215 220

Cys Arg Ala Ser Ser Phe Tyr Pro Arg Asn Ile Thr Leu Thr Trp Arg
225 230 235 240

Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser His Asn Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val
245 250 255

Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile
260 265 270

Arg Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly
275 280 285

Asn His Gly Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Ala Leu Val Leu Gln
290 295 300

Ser Gln Arg Thr Asp Phe Pro Tyr Val Ser Ala Ala Met Pro Cys Phe
305 310 315 320

Val Ile Ile Ile Ile Leu Cys Val Pro Cys Cys Lys Lys Lys Thr Ser
325 330 335

Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu Val Ser Leu Gln Val Leu Asp Gln His
340 345 350

Pro Val Gly Thr Gly Asp His Arg Asp Ala Ala Gln Leu Gly Phe Gln
355 360 365

Pro Leu Met Ser Ala Thr Gly Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Thr
370 375 380

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> VH CDR1

<400> 11

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Ala
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> VH CDR2

<400> 12

Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> VH CDR3

<400> 13

Ala Arg Gly Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> VL CDR1

<400> 14

Arg Ala Ser Ala His Ile Asn Asn Trp
1 5

<210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> VL CDR2

<400> 15

Asp Ala Thr Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>

<223> VL CDR3

<400> 16

Gln His Tyr Trp Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 17

<211> 25

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 合成連接子

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(25)

<223> (G4S)_n連接子，其中n = 1至5

<400> 17

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 18

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 六組胺酸標籤

<400> 18

His His His His His His
1 5

<210> 19

<211> 1413

<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> HC2之編碼序列

<400> 19	
atggacccca agggcagcct gagctggaga atcctgctgt tcctgagcct ggccttcgag	60
ctgagctacg gcgaagtgca gctgcaggaa tctggccctg gcctcgtgaa gccttcccag	120
accctgtctc tgacctgcac cgtgtccggc tactccatca cctccgacta cgcttggaac	180
tggatccggc agcctcctgg caagggactg gaatggatcg gctacatctc ctactccggc	240
tccaccaact acaaccccag cctgaagtc agagtgacca tctcccggga caccitcaag	300
aaccagtctt ccctgaagct gtcctccgtg accgccgtg ataccgccgt gtactactgt	360
gctagaggcg gcacctactt cgactactgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcatct	420
gctagcacca agggccccag cgtgttccct ctggccccca gcagcaagag caccagcggc	480
ggaaccgccg ccctgggctg cctgggtgaag gactacttcc ccgagcccgt gaccgtgtcc	540
tggaacagcg gcgccttgac cagcggagtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagagcagc	600
ggcctgtact ccctgagcag cgtgggtgacc gtgcccagca gcagcctggg caccagacc	660
tacatctgca acgtgaacca caagccctcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct	720
aagagctgcg acaagacca cacctgccct ccctgccccg ccccgagct gctgggcgga	780
cccagcgtgt tcctgttccc tcccagccc aaggacacc tgatgatcag ccgcaccccc	840
gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgagc cagcaggacc ccgaggtgaa gttcaactgg	900
tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc aagaccaagc ctcgggagga gcagtacaac	960
tccacctacc gcgtggtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag	1020
gagtacaagt gcaaggtgag caacaaggcc ctgcccgtc ccatcgagaa gaccatcagc	1080
aaggccaagg gccagccccg ggagcctcag gtgtacacc tgccccccag ccgcgacgag	1140
ctgaccaaga accaggtgag cctgacctgc ctggtgaagg gcttctaccc ctccgacatc	1200
gccgtggagt gggagagcaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg	1260
ctggacagcg acggcagctt ctctctgtac agcaagctga ccgtggacaa gtcccgggtg	1320

cagcagggca acgtgttcag ctgcagcgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc 1380

cagaagagcc tgagcctgag ccccgatag taa 1413

<210> 20
<211> 705
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> LC3之編碼序列

<400> 20
atggagaccg acacctgct gctctgggtg ctgtgtctct gggtgcccg ctcaccgga 60

gacgtcgtga tgaccagtc cccctccaca ctgtctgcct ctgtgggcga cagagtgacc 120

atcacctgtc gggcctccgc ccacatcaac aactggctgg cctggtatca gcagaagccc 180

ggcaaggccc ctaagctgct gatctctgat gccacctccc tggaatccgg cgtgccctcc 240

agattctccg gctctggctc tggcaaggag tataacctga ccatcagctc cctgcagccc 300

gatgacttcg ccacctacta ctgccagcac tacttggtcca cccctggac ctttgccaa 360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcggaccgtg gccgccccca gcgtgttcat ctccctccc 420

agcgacgagc agctgaagtc tggcaccgcc agcgtggtgt gcctgtgaa caacttctac 480

ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggta gacaacgccc tgagagcgg caacagccag 540

gagagcgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccaggga 660

ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gctaa 705

<210> 21
<211> 348
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> VH編碼區

<400> 21
gaagtgcagc tgcaggaatc tggccctggc ctctgtaagc ctccccagac cctgtctctg 60

acctgcaccg tgtccggcta ctccatcacc tccgactacg cctggaactg gatccggcag 120

cctcctggca agggactgga atggatcggc tacatctcct actccggctc caccaactac 180

aaccccagcc tgaagtcag agtgaccatc tcccgggaca cctccaagaa ccagtctcc 240

ctgaagctgt cctccgtgac cgccgtgat accgccgtgt actactgtgc tagaggcggc 300

acctacttcg actactgggg ccagggcacc ctcgtagccg tgtcatct 348

<210> 22

<211> 321

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> VL編碼區

<400> 22

gacgtcgtga tgaccagtc cccctccaca ctgtctgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgtc gggcctccgc ccacatcaac aactggctgg cctggtatca gcagaagccc 120

ggcaaggccc ctaagctgct gatctctgat gccacctccc tggaatccgg cgtgccctcc 180

agattctccg gctctggctc tggcaaggag tataacctga ccatcagctc cctgcagccc 240

gatgacttcg ccacctacta ctgccagcac tactgggtcca cccctggac ctttggccaa 300

ggcaccaagg tggaatcaa g 321

<210> 23

<211> 116

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> HC1之VH胺基酸序列

<400> 23

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp

20 25 30

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

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

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 24
<211> 116
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> HC3之VH胺基酸序列

<400> 24

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

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

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

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

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 25
<211> 107
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> LC1之VL胺基酸序列

<400> 25

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 Arg Ala Ser Ala His Ile Asn Asn Trp
20 25 30

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

Ser Asp Ala Thr Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Trp Ser Thr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 26
<211> 107
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> LC2之VL胺基酸序列

<400> 26

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

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

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

Ser Asp Ala Thr Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Trp Ser Thr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 27
<211> 274
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27

Glu	Pro	His	Ser	Leu	Arg	Tyr	Asn	Leu	Thr	Val	Leu	Ser	Trp	Asp	Gly	
1				5					10						15	
Ser	Val	Gln	Ser	Gly	Phe	Leu	Ala	Glu	Val	His	Leu	Asp	Gly	Gln	Pro	
			20					25					30			
Phe	Leu	Arg	Cys	Asp	Arg	Gln	Lys	Cys	Arg	Ala	Lys	Pro	Gln	Gly	Gln	
		35					40					45				
Trp	Ala	Glu	Asp	Val	Leu	Gly	Asn	Lys	Thr	Trp	Asp	Arg	Glu	Thr	Arg	
	50					55					60					
Asp	Leu	Thr	Gly	Asn	Gly	Lys	Asp	Leu	Arg	Met	Thr	Leu	Ala	His	Ile	
65					70					75					80	
Lys	Asp	Gln	Lys	Glu	Gly	Leu	His	Ser	Leu	Gln	Glu	Ile	Arg	Val	Cys	
				85					90					95		
Glu	Ile	His	Glu	Asp	Asn	Ser	Thr	Arg	Ser	Ser	Gln	His	Phe	Tyr	Tyr	
		100						105					110			
Asp	Gly	Glu	Leu	Phe	Leu	Ser	Gln	Asn	Leu	Glu	Thr	Glu	Glu	Trp	Thr	
	115						120					125				
Met	Pro	Gln	Ser	Ser	Arg	Ala	Gln	Thr	Leu	Ala	Met	Asn	Ile	Arg	Asn	
	130					135					140					
Phe	Leu	Lys	Glu	Asp	Ala	Met	Lys	Thr	Lys	Thr	His	Tyr	His	Ala	Met	
145					150					155					160	
His	Ala	Asp	Cys	Leu	Gln	Glu	Leu	Arg	Arg	Tyr	Leu	Lys	Ser	Gly	Val	
			165					170						175		
Val	Leu	Arg	Arg	Thr	Val	Pro	Pro	Met	Val	Asn	Val	Thr	Arg	Ser	Glu	
		180						185					190			
Ala	Ser	Glu	Gly	Asn	Ile	Thr	Val	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gly	Phe	Tyr	

195200205

Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser
210215220

His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr
225230235240

Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg
245250255

Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val
260265270

Pro Ser

<210> 28
<211> 274
<212> PRT
<213> 智人

<400> 28

Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Met Val Leu Ser Gln Asp Gly
151015

Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu Gly His Leu Asp Gly Gln Pro
202530

Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln
354045

Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Ala Lys Thr Trp Asp Thr Glu Thr Glu
505560

Asp Leu Thr Glu Asn Gly Gln Asp Leu Arg Arg Thr Leu Thr His Ile
65707580

Lys Asp Gln Lys Gly Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys
85 90 95

Glu Ile His Glu Asp Ser Ser Thr Arg Gly Ser Arg His Phe Tyr Tyr
100 105 110

Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Gln Glu Ser Thr
115 120 125

Val Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Thr Asn
130 135 140

Phe Trp Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr Arg Ala Met
145 150 155 160

Gln Ala Asp Cys Leu Gln Lys Leu Gln Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val
165 170 175

Ala Ile Arg Arg Thr Val Pro Pro Met Val Asn Val Thr Cys Ser Glu
180 185 190

Val Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Ser Phe Tyr
195 200 205

Pro Arg Asn Ile Thr Leu Thr Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser
210 215 220

His Asn Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr
225 230 235 240

Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Arg Gln Gly Glu Glu Gln Arg
245 250 255

Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Gly Thr His Pro Val
260 265 270

Pro Ser

<210> 29
<211> 97
<212> PRT
<213> 智人

<400> 29

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

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

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

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

Arg

<210> 30
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 30

Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10 15

<210> 31
<211> 98

<212> PRT
<213> 智人

<400> 31

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

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

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

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

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

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

Ala Arg

<210> 32
<211> 95
<212> PRT
<213> 智人

<400> 32

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 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Ser
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

<210> 33
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 33

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 34
<211> 95
<212> PRT
<213> 智人

<400> 34

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 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

<210> 35
<211> 95
<212> PRT
<213> 智人

<400> 35

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser
85 90 95

<210> 36
<211> 116
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> B10G5 VH

<400> 36

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

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

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

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 37
<211> 107
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> B10G5 VL

<400> 37

Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Thr Ser Tyr Leu Ser Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Asp Ala Thr Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Ser Ile Thr Ser Leu Gln Thr
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Trp Ser Thr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種結合劑，其包含：(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變(VH)區，及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變(VL)區，其中該重鏈及輕鏈框架區係視需要於該等框架區中經1至8個胺基酸取代、缺失或插入而修飾。

【請求項2】

一種結合劑，其包含：(i)具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區，及(ii)具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區。

【請求項3】

一種包含重鏈可變(VH)區及輕鏈可變(VL)區之結合劑，其中該VH區包含具有SEQ ID NO:11所示的胺基酸序列之互補決定區HCDR1序列、具有SEQ ID NO:12所示的胺基酸序列之HCDR2及具有SEQ ID NO:13所示的胺基酸序列之HCDR3，且其中該VL區包含具有SEQ ID NO:14所示的胺基酸序列之LCDR1序列、具有SEQ ID NO:15所示的胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO:16所示的胺基酸序列之LCDR3，且其中該VH區及VL區各包含人類化框架區序列。

【請求項4】

如請求項3之結合劑，其中該人類化VH框架區源自具有IMGT IGHV4-59*11、IGHV4-30-4*01或IGHV4-30-4*08所示的胺基酸序列之人類生殖系基因。

【請求項5】

如請求項3或4之結合劑，其中該人類化VL框架區源自具有IMGT

IGKV1-5*01、IGKV1-5*02或IGKV1-5*03所示的胺基酸序列之人類生殖系基因。

【請求項6】

一種包含重鏈可變(VH)區及輕鏈可變(VL)區之結合劑，其中該VH區包含具有SEQ ID NO:11所示的胺基酸序列之互補決定區HCDR1序列、具有SEQ ID NO:12所示的胺基酸序列之HCDR2及具有SEQ ID NO:13所示的胺基酸序列之HCDR3，且其中該VL區包含具有SEQ ID NO:14所示的胺基酸序列之LCDR1序列、具有SEQ ID NO:15所示的胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO:16所示的胺基酸序列之LCDR3，其中該VH區包含與SEQ ID NO:1之胺基酸序列至少85%、至少87%、至少90%、至少92%或至少95%相同的胺基酸序列，及該VL區包含與SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列至少85%、至少87%、至少90%、至少92%或至少95%相同的胺基酸序列。

【請求項7】

如請求項1至6中任一項之結合劑，其中該結合劑特異性結合至MIC。

【請求項8】

如請求項1至7中任一項之結合劑，其中該結合劑係抗體或其抗原結合部分。

【請求項9】

如請求項1至8中任一項之結合劑，其中該結合劑係結合至MIC的抗體或其抗原結合部分。

【請求項10】

如請求項8或請求項9之結合劑，其中該結合劑係單株抗體、Fab、Fab'、F(ab')、Fv、二硫鍵連接之Fc、scFv、單域抗體、雙功能抗體(diabody)、雙特異性抗體或多特異性抗體。

【請求項11】

如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含含有VH區及重鏈恆定區之重鏈。

【請求項12】

如請求項11之結合劑，其中該重鏈恆定區具有IgG同型(isotype)。

【請求項13】

如請求項12之結合劑，其中該重鏈恆定區係IgG1恆定區。

【請求項14】

如請求項12之結合劑，其中該重鏈恆定區係IgG4恆定區。

【請求項15】

如請求項11至14中任一項之結合劑，其中該重鏈恆定區包含至少增加對人類FcγRIII之結合親和力之胺基酸修飾。

【請求項16】

如請求項11至15中任一項之結合劑，其中該重鏈恆定區包含至少一個增加CDC活性之胺基酸修飾。

【請求項17】

如請求項11至16中任一項之結合劑，其中該重鏈恆定區包含至少一個降低結合至一或多個Fcγ受體之胺基酸修飾。

【請求項18】

如請求項11之結合劑，其中該重鏈包含SEQ ID NO:3所示的胺基酸

序列。

【請求項19】

如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含含有VL區及輕鏈恆定區之輕鏈。

【請求項20】

如請求項19之結合劑，其中該輕鏈恆定區具有 κ 同型。

【請求項21】

如請求項19之結合劑，其中該輕鏈包含SEQ ID NO:4所示的胺基酸序列。

【請求項22】

如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑係單特異性的。

【請求項23】

如請求項1至22中任一項之結合劑，其中該結合劑係二價的。

【請求項24】

如請求項23之結合劑，其中該結合劑包含第二結合域且該結合劑係雙特異性的。

【請求項25】

一種結合MIC的結合劑，其中該結合劑係含有包含SEQ ID NO:3的胺基酸序列之重鏈及包含SEQ ID NO:4的胺基酸序列之輕鏈之抗體。

【請求項26】

如請求項1至25中任一項之結合劑，其中該結合劑特異性結合至可溶MIC。

【請求項27】

如請求項1至26中任一項之結合劑，其中該結合劑以大於抗體B10G5之結合親和力特異性結合至MIC，其含有包含SEQ ID NO:36的胺基酸序列之VH區及包含SEQ ID NO:37的胺基酸序列之VL區。

【請求項28】

一種醫藥組合物，其包含如前述請求項中任一項之結合劑及醫藥上可接受之載劑。

【請求項29】

一種編碼具有SEQ ID NO:1所示的胺基酸序列之重鏈可變區的核酸。

【請求項30】

如請求項29之核酸，其包含SEQ ID NO:21所示的核酸序列。

【請求項31】

一種編碼具有SEQ ID NO:2所示的胺基酸序列之輕鏈可變區的核酸。

【請求項32】

如請求項31之核酸，其包含SEQ ID NO:22所示的核酸序列。

【請求項33】

一種編碼如請求項1至24中任一項之結合劑之核酸。

【請求項34】

如請求項33之核酸，其包含SEQ ID NO:21及SEQ ID NO:22所示的核酸序列。

【請求項35】

一種包含如請求項29至34中任一項之核酸之載體。

【請求項36】

一種包含如請求項29至34中任一項之核酸或如請求項35之載體之細胞系。

【請求項37】

一種表現如請求項1至22中任一項之結合劑之細胞系。

【請求項38】

一種用於產生結合劑之方法，該方法包括如請求項36或請求項37之細胞系在適合表現該結合劑之條件下培養。

【請求項39】

如請求項38之方法，其進一步包括自該培養物回收該結合劑。

【請求項40】

一種治療MIC+癌症之方法，該方法包括向有此需要的個體投與治療有效量之如請求項1至27中任一項之結合劑或如請求項28之醫藥組合物。

【請求項41】

如請求項40之方法，其中該癌症係癌、肉瘤、神經內分泌腫瘤或惡性血液病。

【請求項42】

如請求項41之方法，其中該癌症係癌。

【請求項43】

如請求項42之方法，其中該癌係實體腫瘤，視需要選自黑色素瘤、前列腺癌、卵巢癌、子宮頸癌、乳癌、肺癌、結腸癌、腎癌及頭頸癌。

【請求項44】

如請求項41之方法，其中該癌症係惡性血液病。

【請求項45】

如請求項44之方法，其中該惡性血液病係淋巴瘤或多發性骨髓瘤。

【請求項46】

如請求項40至45中任一項之方法，該方法進一步包括向該個體投與免疫療法。

【請求項47】

如請求項46之方法，其中該免疫療法包括授受性細胞療法或檢查點抑制劑。

【請求項48】

如請求項47之方法，其中該免疫療法包括授受性細胞療法。

【請求項49】

如請求項48之方法，其中該授受性細胞療法係選自自體NK細胞、同種異體NK細胞、自體T細胞、CAR修飾之T細胞及CAR修飾之NK細胞。

【請求項50】

如請求項46之方法，其中該免疫療法包括檢查點抑制劑。

【請求項51】

如請求項50之方法，其中該檢查點抑制劑係選自特異性結合至人類PD-1、人類PD-L1或人類CTLA4之抗體。

【請求項52】

如請求項51之方法，其中該檢查點抑制劑係派立珠單抗(pembrolizumab)、納武單抗(nivolumab)、西米普利單抗(cemiplimab)或易普利單抗(ipilimumab)。

【請求項53】

如請求項40至52中任一項之方法，其中在投與該結合劑之前向該個體投與化學療法至少四週。

【請求項54】

如請求項40至53中任一項之方法，其中該結合劑係經靜脈內投與。

【請求項55】

如請求項40至54中任一項之方法，其中該結合劑係以約0.1 mg/kg至約10 mg/kg之劑量投與。

【請求項56】

一種降低患有癌症的個體之循環sMIC含量之方法，該方法包括投與治療有效量之如請求項1至27中任一項之結合劑或如請求項28之醫藥組合物。

【請求項57】

如請求項56之方法，其中該癌症係癌、肉瘤、神經內分泌腫瘤或惡性血液病。

【請求項58】

如請求項57之方法，其中該癌症係癌。

【請求項59】

如請求項58之方法，其中該癌係實體腫瘤，視需要選自黑色素瘤、前列腺癌、卵巢癌、子宮頸癌、乳癌、肺癌、結腸癌、腎癌及頭頸癌。

【請求項60】

如請求項57之方法，其中該癌症係惡性血液病。

【請求項61】

如請求項60之方法，其中該惡性血液病係淋巴瘤或多發性骨髓瘤。

【請求項62】

一種改良接受針對MIC+癌症之免疫療法之個體之治療結果的方法，該方法包括：

a) 向患有癌症的該個體投與有效量之免疫療法；及

b) 向該個體投與治療有效量之如請求項1至27中任一項之結合劑或如請求項28之醫藥組合物；

其中與單獨投與該免疫療法相比，該個體之至少一種治療結果改良。

【請求項63】

如請求項62之方法，其中至少一種改良之治療結果係選自穩定疾病、部分反應或完全反應之客觀反應。

【請求項64】

如請求項62或63之方法，其中至少一種改良之治療結果係減少之腫瘤負荷。

【請求項65】

如請求項62至64中任一項之方法，其中至少一種改良之治療結果係無進展存活期或無疾病存活期。

【請求項66】

如請求項62至65中任一項之方法，其中該免疫療法係授受性細胞療法或檢查點抑制劑。

【請求項67】

如請求項66之方法，其中該免疫療法係授受性細胞療法。

【請求項68】

如請求項67之方法，其中該授受性細胞療法包括自體NK細胞、同種異體NK細胞、自體T細胞、CAR修飾之T細胞及CAR修飾之NK細胞。

【請求項69】

如請求項66之方法，其中該免疫療法係檢查點抑制劑。

【請求項70】

如請求項69之方法，其中該檢查點抑制劑包括特異性結合至人類PD-1、人類PD-L1或CTLA4之抗體。

【請求項71】

如請求項70之方法，其中該檢查點抑制劑係派立珠單抗、納武單抗、西米普利單抗或易普利單抗。

【請求項72】

如請求項62至71中任一項之方法，其中在投與該結合劑之前不向該個體投與化學療法至少四週。

【請求項73】

如請求項62至72中任一項之方法，其中該結合劑係經靜脈內投與。

【請求項74】

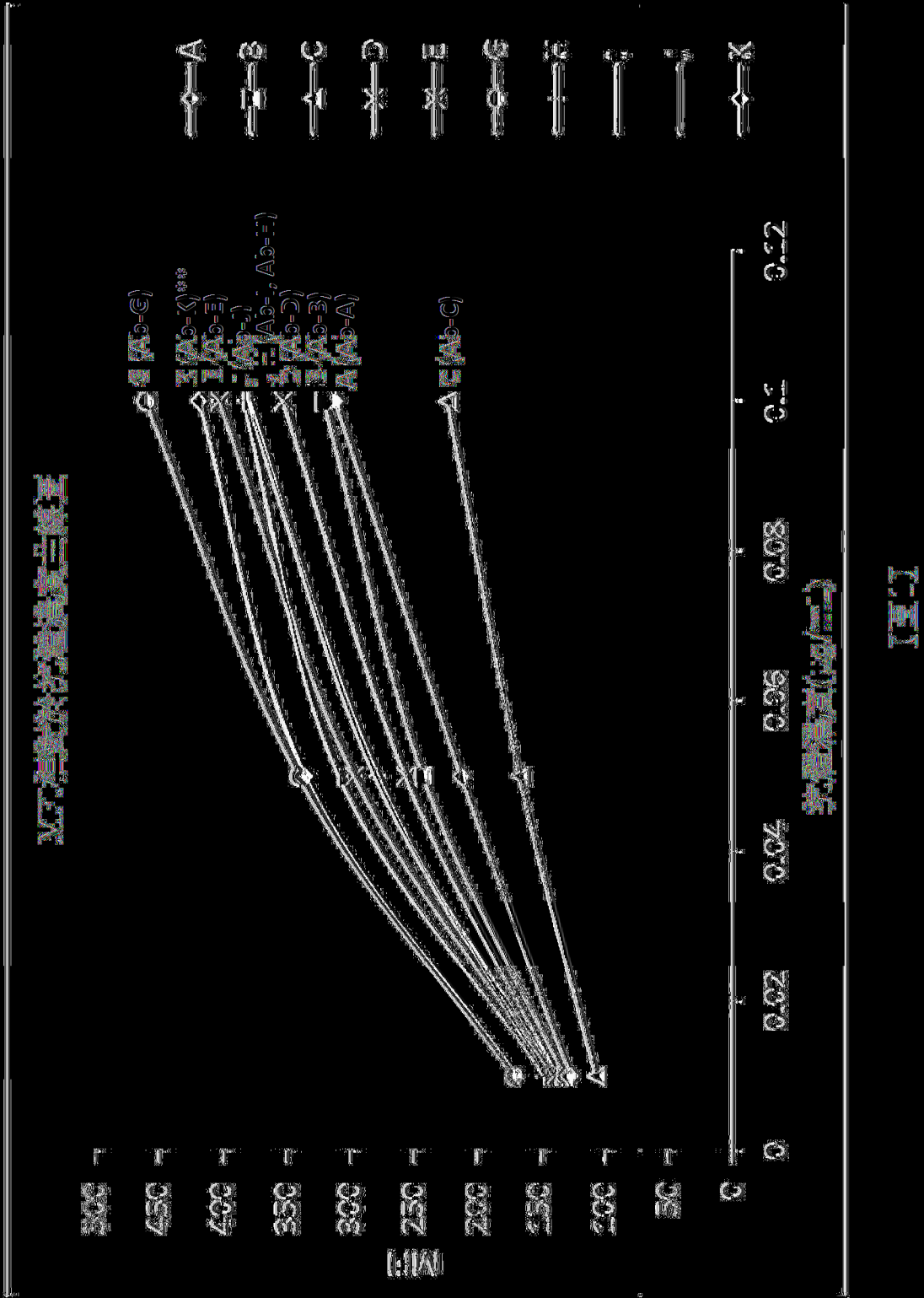
如請求項62至73中任一項之方法，其中該結合劑係以約0.1 mg/kg至約10 mg/kg之劑量投與。

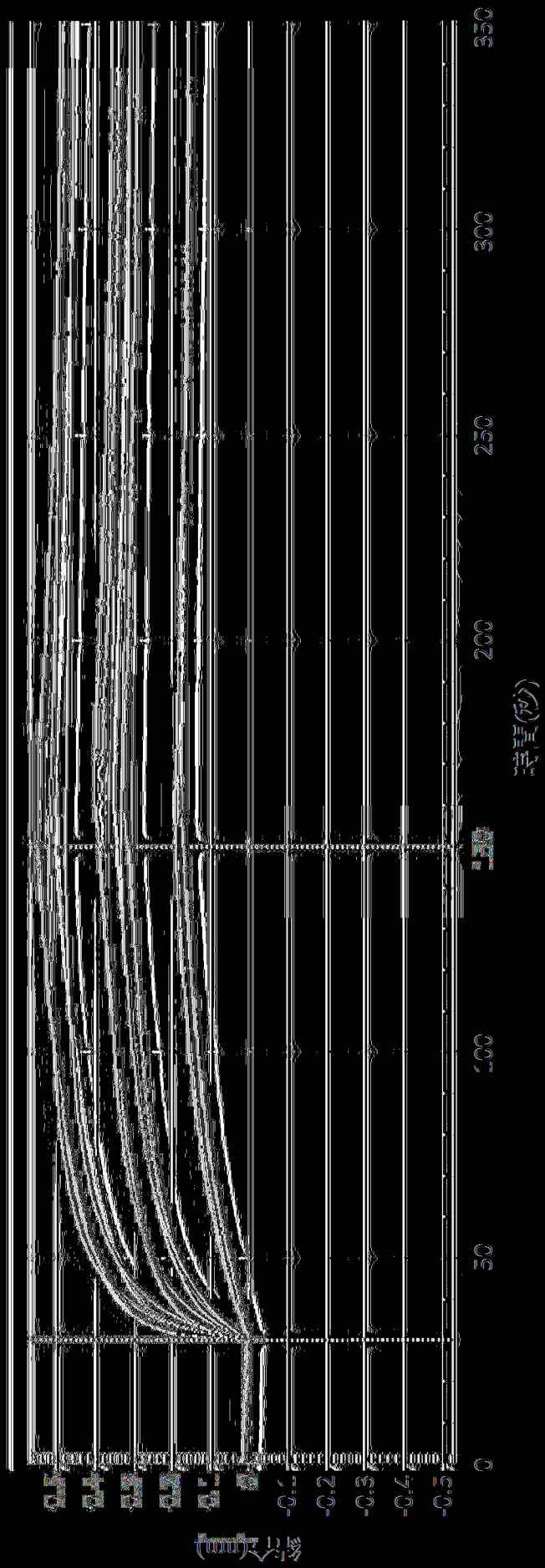
【請求項75】

一種如請求項1至27中任一項之結合劑或如請求項28之醫藥組合物於治療個體之MIC+癌症之用途。

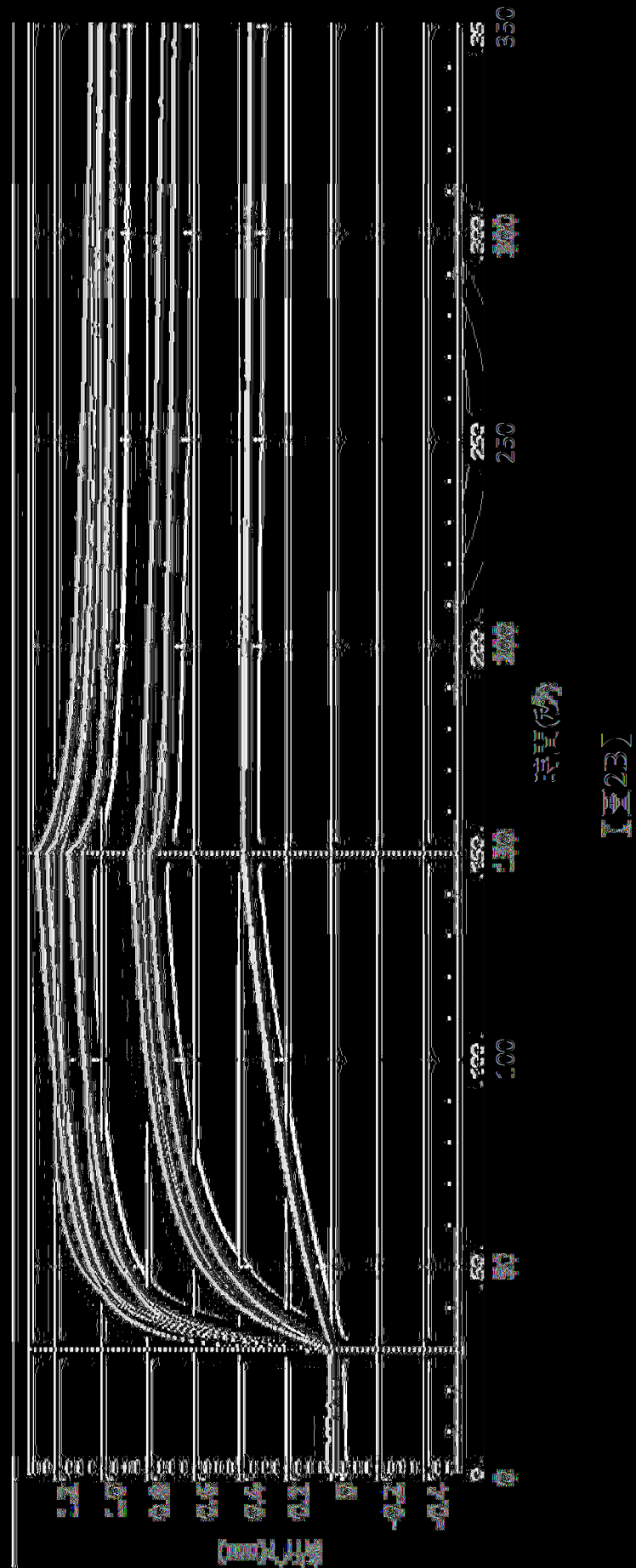
【請求項76】

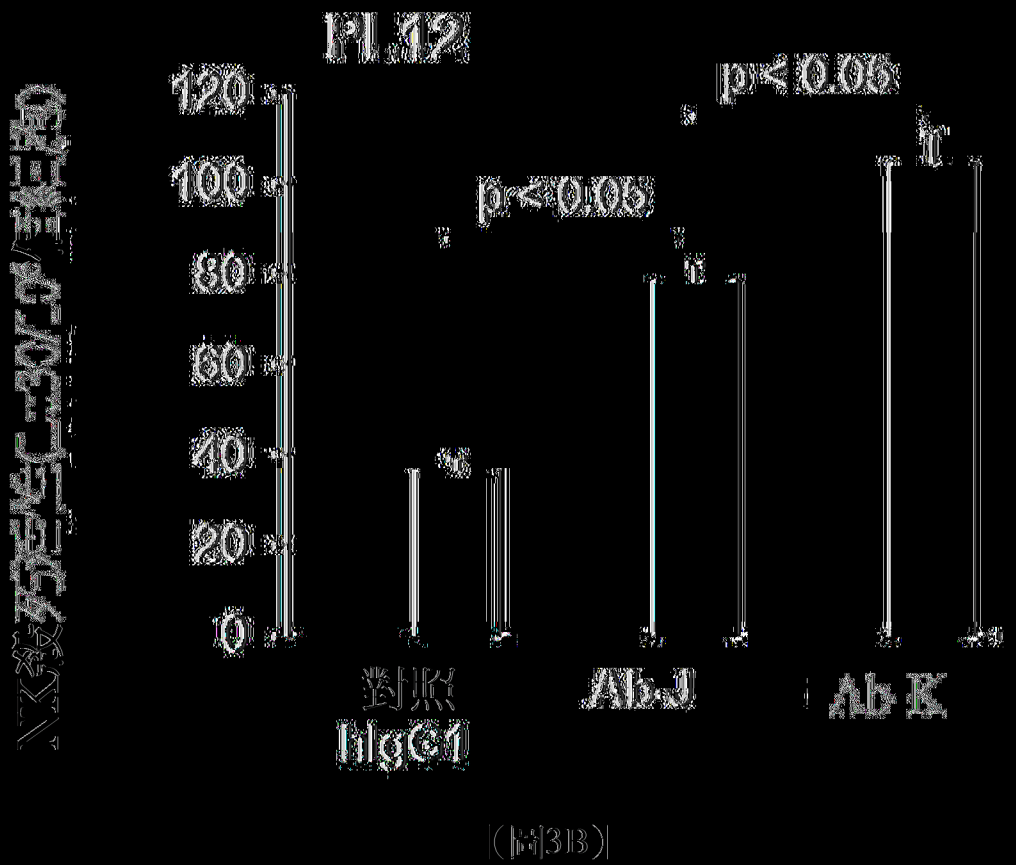
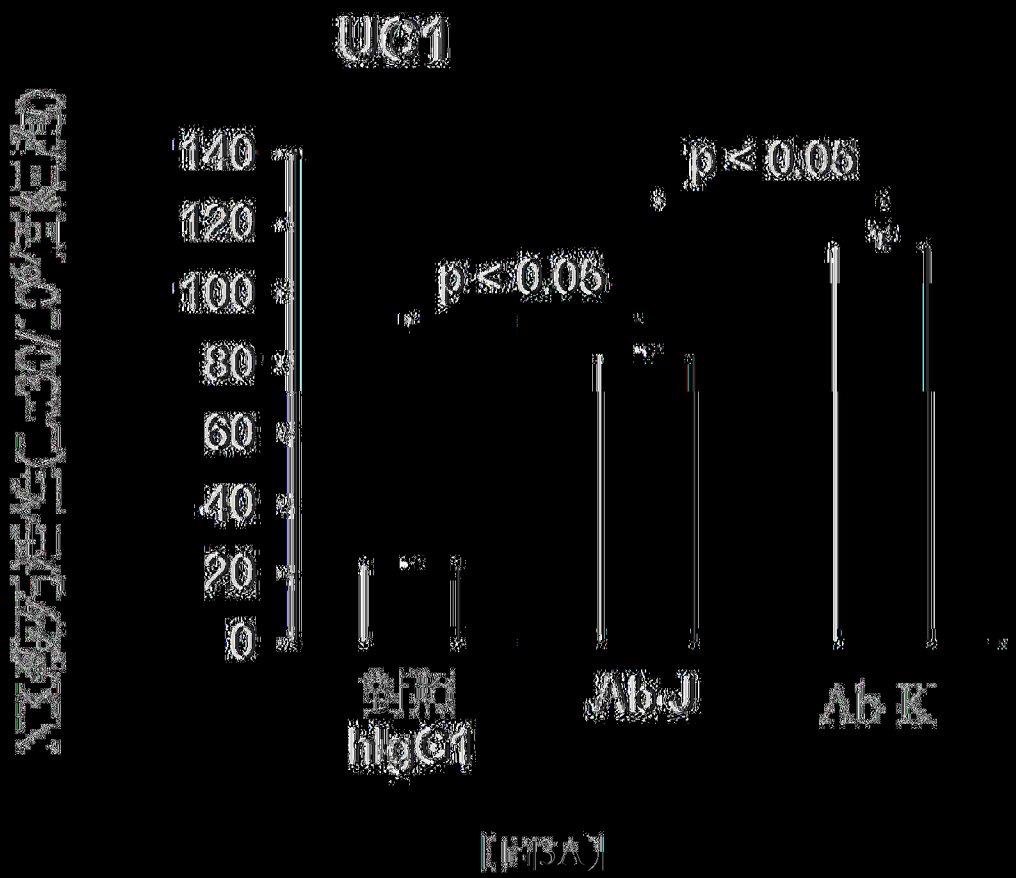
一種如請求項1至27中任一項之結合劑或如請求項28之醫藥組合物於治療接受免疫療法的個體之sMIC+癌症之用途。

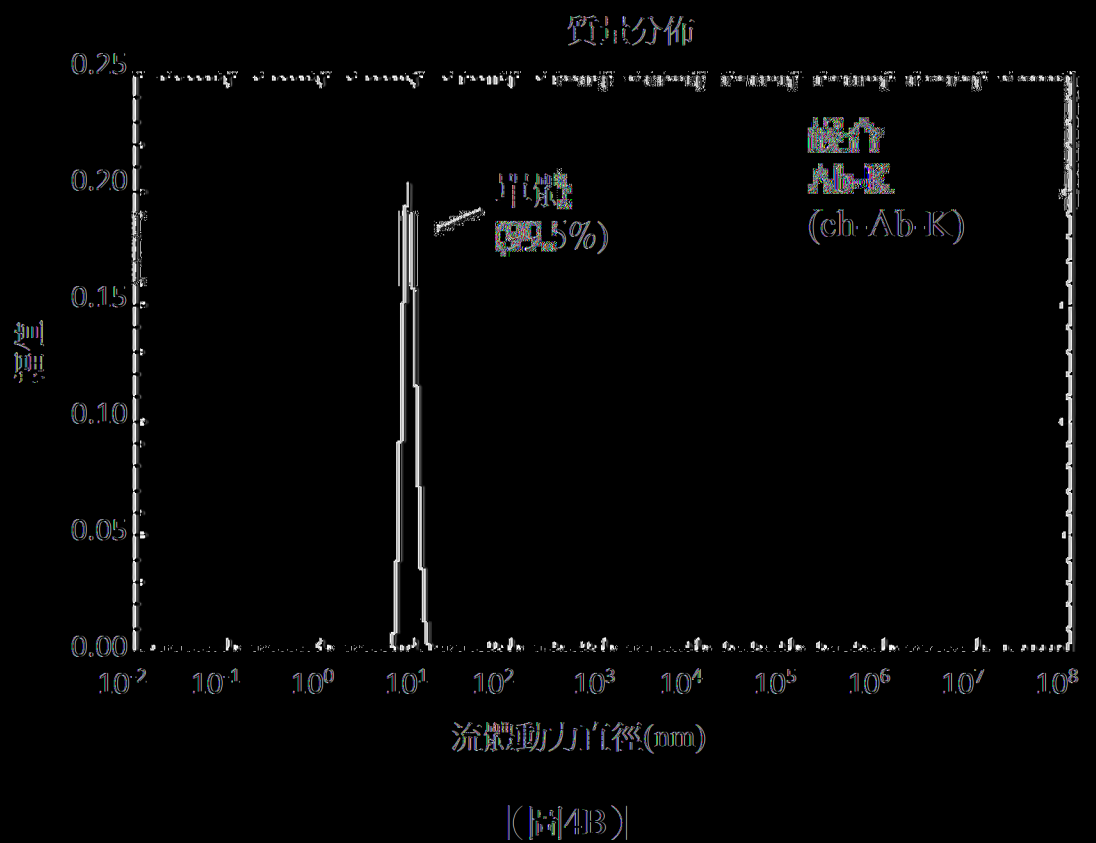
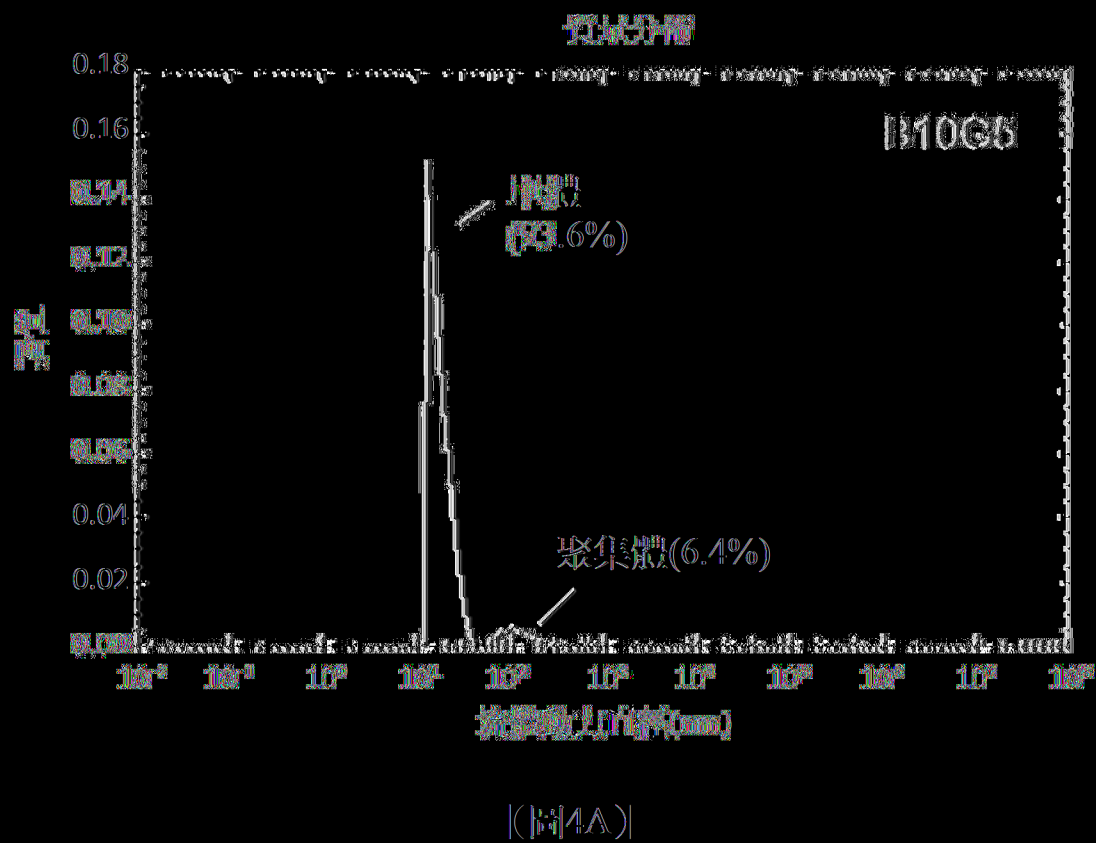


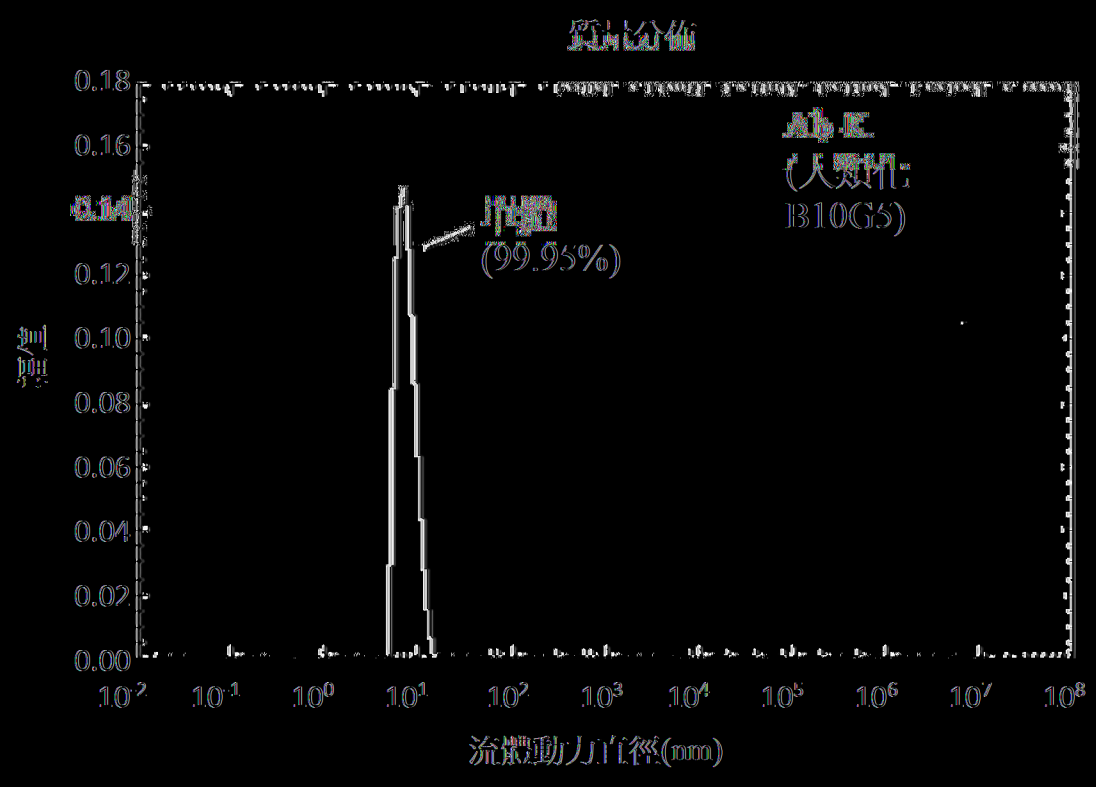


【圖2A】









(圖4C)