



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201323443 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：102102551

(22)申請日：中華民國 95 (2006) 年 12 月 12 日

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

A61K39/395 (2006.01)

(30)優先權：2005/12/12 美國

60/749,716

(71)申請人：拜耳保健有限責任公司 (美國) BAYER HEALTHCARE LLC (US)

美國

(72)發明人：塔柏尼 TAMBURINI, PAUL (US)；瑞恩格 RANGES, GERALD (US)；安那奈
ADNANE, LILA (MA)；麥提斯 MCCABE, TIMOTHY (US)；特瑞利 TRAIL,
PAMELA (US)

(74)代理人：黃慶源；陳彥希

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：32 項 圖式數：23 共 184 頁

(54)名稱

抗-MN 抗體及使用彼等之方法

ANTI-MN ANTIBODIES AND METHODS OF USING SAME

(57)摘要

本發明提供具有被專一性地引導對抗 MN 蛋白的抗原結合部位之抗體，及使用此等抗體治療及診斷 MN 相關疾病之方法。



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201323443 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：102102551

(22)申請日：中華民國 95 (2006) 年 12 月 12 日

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

A61K39/395 (2006.01)

(30)優先權：2005/12/12 美國

60/749,716

(71)申請人：拜耳保健有限責任公司 (美國) BAYER HEALTHCARE LLC (US)

美國

(72)發明人：塔柏尼 TAMBURINI, PAUL (US)；瑞恩格 RANGES, GERALD (US)；安那奈
ADNANE, LILA (MA)；麥提斯 MCCABE, TIMOTHY (US)；特瑞利 TRAIL,
PAMELA (US)

(74)代理人：黃慶源；陳彥希

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：32 項 圖式數：23 共 184 頁

(54)名稱

抗-MN 抗體及使用彼等之方法

ANTI-MN ANTIBODIES AND METHODS OF USING SAME

(57)摘要

本發明提供具有被專一性地引導對抗 MN 蛋白的抗原結合部位之抗體，及使用此等抗體治療及診斷 MN 相關疾病之方法。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

抗-MN 抗體及使用彼等之方法

ANTI-MN ANTIBODIES AND METHODS OF USING SAME

【技術領域】

【0001】 本申請案主張2005年12月12日申請的美國臨時申請案No. 60/749,716之優先權。

【0002】 前述申請案、其中引用之所有文獻與其中引用或參照之所有文獻、本文中引用或參照之所有文獻(“本文引用文獻”)、本文引用文獻中引用或參照之所有文獻、以及任何廠商之操作指南、於本文或本文參照併入的任何文獻中述及之任何產品之說明、產品規格、與產品相關資源，均併入本文以資參考，及可用於實施本發明。

【0003】 本發明係有關對MN蛋白具專一性之抗體及/或片段。本發明進一步係有關抗體及/或免疫接合組成物及其於治療、預防、及/或診斷MN相關疾病(例如癌症)上之用途。

【先前技術】

【0004】 癌症之發生最常見者係與老化相關，據記載所有新癌症病例之65%，其病患年齡為65歲或65歲以上。在美國，癌症僅次於心臟疾病，係引致死亡之第二主要原因。確實，美國癌症協會(American Cancer Society)已估算出，假設死亡率維持不動，4個美國人中將有1人死於癌症。單僅美國，2006年即預期有1,399,790個新病例及564,830人死於癌症。彼等新病例大多數被預期為結腸癌(106,680)、肺癌(172,570)及乳癌(214,640)。此外，未來十年

間，癌症之發生率與普遍率預料將增加大約15%，反映出1.4%之平均成長率 (American Cancer Society, 2006)。

【0005】 頃發現，一新近被鑑定出之腫瘤相關抗原，MN，一種細胞表面蛋白質，在許多臨床癌症中表現。例如，MN被發現在100%腎細胞癌 (Liao, SY, Cancer Res., 1997, 57:2827-2831)、100%食道癌(Turner JR, Hum. Pathol., 199, 28:740-744)、大於90%子宮頸癌(Liao, SY, Cancer Res., 1997, 57:2827-2831)、76%惡性結腸癌(Saarnio, J. et al., Am. J. Path., 1997, 153:279-285)、80%小細胞肺癌(Vermeylen P. et al., Eur. Respir. J., 1999, 14:806-811)、及48%乳癌(Chia SK et al., J. Clin. Oncol., 2001, 19:3660-3668)中異位表現。與其他腫瘤相關抗原同樣地，MN蛋白亦出現於有限數量之正常組織之細胞上，包括，例如，胃、膽管黏膜及位於小腸中之高度增殖之正常細胞(Saarnio J. et al., J. Histochem. Cytochem., 1998, 46:497-504)。

【0006】 人類MN cDNA已被轉殖及定序(Pastorek, et al., Oncogene, 1994, 9:2877-2888)。該預測蛋白質由訊息肽、蛋白多醣相關序列、碳酸脫水酶功能部位(碳酸脫水酶IX或CA IX)、跨膜斷片、及短的細胞內尾部組成。該碳酸脫水酶IX功能部位催化二氧化碳成為碳酸之可逆性水合反應。此活性可能於腫瘤環境胞外部分的局部酸化之調控上具有作用，可能因此導使蛋白酶活化，最後導致轉移。

【0007】 MN表現之調控作用亦已被研究。於一態樣中，舉例而言，MN表現被組織缺氧正向調控。所謂組織缺氧-誘導因子-1 (HIF-1)之轉錄複合物係MN表現之調控子。因此，MN係所謂HIF-1反應基因，於對組織缺氧的腫瘤反應之理解中被涉及(Wykoff CC et al., Cancer Res., 2000, 60:7075-7083)。

再者，MN表現與腫瘤缺氧程度相關聯，為子宮頸癌總存活率與無轉移存活率之預後指標(Loncaster, JA et al., Cancer Res., 2000, 60:7075-7083)。MN表現亦與高平均血管密度、末期癌症、頭與頸癌之壞死程度(Beasley NJP et al., Cancer Res., 2001, 61:5262-5267)、鼻咽癌之存活率不佳(Hui EP et al., Clin. Cancer Res., 2002, 8:2595-2604)、腫瘤壞死、較末期、負向雌激素受體狀況、較高復發率、與侵入性乳癌存活率不佳(Chia SK et al., J. Clin. Oncol., 2001, 19:3660-3668)相關聯。因此，MN抗原表現與存活預後不佳、及較末期癌症相關聯。

【0008】 彼等侵犯性癌症之新穎及增進之療法，特別是以攻擊MN表現為目標者，乃業界之高度需求且象徵此項技藝之提升。因此，本發明揭示用於治療、預防及/或診斷MN相關癌症之新穎之抗體組成物及其免疫接合體。

【發明內容】

【0009】 本發明係有關一種與細胞表面蛋白質MN結合之抗體，例如，單株抗體、或抗體片段，其可用於治療、預防及/或診斷癌症。本發明抗體可進一步與胞毒劑[例如，單甲基奧利他汀(auristatin)-E]接合，及/或與一或多種附加之抗癌劑一起投與或調配。本發明之抗-MN抗體與免疫接合體可於本發明方法中使用，以治療及/或診斷及/或偵測癌症(例如硬塊腫瘤)。

【0010】 於一態樣中，本發明提供一種抗體或抗體片段、或包含該抗體或抗體片段之組成物，其中該抗體或片段具有被專一性地引導對抗MN蛋白之抗原結合部位。此抗原結合部位可包含至少一個CDR1、CDR2、或CDR3，或CDR1連同CDR2或CDR3，或CDR2連同CDR1或CDR3，或CDR3連同CDR1或CDR2，或其任何組合。該CDR1可選自下述組群：SEQ ID NOS:

57、58、59、60、61、62、77、80、81、86、87、88、89、98、99、104、107、與108。該CDR2可選自下述組群：SEQ ID NOS: 63、64、65、66、67、68、69、78、82、83、90、91、92、93、100、101、105、109、與110。該CDR3可選自下述組群：SEQ ID NOS: 70、71、72、73、74、75、76、79、84、85、94、95、96、97、102、103、106、111、與112。本發明此態樣之諸CDR序列亦可包含胺基酸序列，彼等較佳為與各CDR1、CDR2或CDR3所示任何上述序列具有大於約80%序列同一性，更佳為大於約85%序列同一性，又更佳為約90%序列同一性，還又更佳為約95%或甚至約99%序列同一性，及甚至高達約100%序列同一性。

【0011】 於另一態樣中，該抗原結合部位可具有重鏈可變區CDR，其係選自下述組群：SEQ ID NOS: 57-85及與SEQ ID NOS: 57-85任一者具有大於約80%序列同一性之胺基酸序列。

【0012】 該抗原結合部位亦可具有選自下述組群之輕鏈可變區CDR：SEQ ID NOS: 86-112及與SEQ ID NOS: 86-112任一者具有大於約80%序列同一性之胺基酸序列。

【0013】 該抗原結合部位亦可選自包括下述六CDRs組之特定CDR序列組：

- (a) [3ee9] SEQ ID NOS: 57、63、70、89、93、與 97；
- (b) [3ef2] SEQ ID NOS: 58、64、71、107、109、與 111；
- (c) [1e4] SEQ ID NOS: 59、65、72、107、109、與 111；
- (d) [3a4] SEQ ID NOS: 60、66、73、108、110、與 112；
- (e) [3ab4] SEQ ID NOS: 61、67、74、87、91、與 95；

- (f) [3ah10] SEQ ID NOS: 61、68、75、88、92、與 96；
- (g) [3bb2] SEQ ID NOS: 62、69、76、98、100、與 102；
- (h) [1aa1] SEQ ID NOS: 77、78、79、86、90、與 94；
- (i) [5a6] SEQ ID NOS: 80、82、84、99、101、與 103；及
- (j) [5aa3] SEQ ID NOS: 81、83、85、104、105、與 106。

【0014】 該抗原結合部位亦可包括選自下述組群之重鏈CDR序列組：

- (a) [3ee9] SEQ ID NOS: 57、63、與 70；
- (b) [3ef2] SEQ ID NOS: 58、64、與 71；
- (c) [1e4] SEQ ID NOS: 59、65、與 72；
- (d) [3a4] SEQ ID NOS: 60、66、與 73；
- (e) [3ab4] SEQ ID NOS: 61、67、與 74；
- (f) [3ah10] SEQ ID NOS: 61、68、與 75；
- (g) [3bb2] SEQ ID NOS: 62、69、與 76；
- (h) [1aa1] SEQ ID NOS: 77、78、與 79；
- (i) [5a6] SEQ ID NOS: 80、82、與 84；及
- (j) [5aa3] SEQ ID NOS: 81、83、與 85。

【0015】 該抗原結合部位亦可包括選自下述組群之輕鏈CDR序列組：

- (a) [3ee9] SEQ ID NOS: 89、93、與 97；
- (b) [3ef2] SEQ ID NOS: 107、109、與 111；
- (c) [1e4] SEQ ID NOS: 107、109、與 111；
- (d) [3a4] SEQ ID NOS: 108、110、與 112；
- (e) [3ab4] SEQ ID NOS: 87、91、與 95；

- (f) [3ah10] SEQ ID NOS: 88、92、與 96；
- (g) [3bb2] SEQ ID NOS: 98、100、與 102；
- (h) [1aa1] SEQ ID NOS: 86、90、與 94；
- (i) [5a6] SEQ ID NOS: 99、101、與 103；及
- (j) [5aa3] SEQ ID NOS: 104、105、與 106。

【0016】 於又另一態樣中，本發明提供具有抗原結合部位之抗體或抗體片段，該抗原結合部位含有選自下述組群之一對重鏈可變區與輕鏈可變區：

- (a) SEQ ID NO:133 重鏈可變區與 SEQ ID NO:134 輕鏈可變區；
- (b) SEQ ID NO:135 重鏈可變區與 SEQ ID NO:136 輕鏈可變區；
- (c) SEQ ID NO:137 重鏈可變區與 SEQ ID NO:138 輕鏈可變區；
- (d) SEQ ID NO:139 重鏈可變區與 SEQ ID NO:140 輕鏈可變區；
- (e) SEQ ID NO:141 重鏈可變區與 SEQ ID NO:142 輕鏈可變區；
- (f) SEQ ID NO:143 重鏈可變區與 SEQ ID NO:144 輕鏈可變區；
- (g) SEQ ID NO:145 重鏈可變區與 SEQ ID NO:146 輕鏈可變區；
- (h) SEQ ID NO:147 重鏈可變區與 SEQ ID NO:148 輕鏈可變區；
- (i) SEQ ID NO:149 重鏈可變區與 SEQ ID NO:150 輕鏈可變區；及
- (j) SEQ ID NO:151 重鏈可變區與 SEQ ID NO:152 輕鏈可變區。

【0017】 本發明之抗體或抗體片段可以較佳為約0.15 nM至約50 nM之解離常數與MN蛋白結合。

【0018】 於另一態樣中，本發明之抗體或片段係IgG抗體或IgG片段。該等抗體或片段亦可為IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM、IgD、IgE、IgA、

IgM抗體、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv片段、Fv片段、雙功能抗體、直鏈抗體、單鏈抗體、生物專一性抗體、多專一性抗體、或嵌合抗體(例如包含嫁接於人類或非人類抗體結合區域之人類抗體架構，或嫁接於人類或非人類抗體結合區域之非人類抗體架構)。該嵌合抗體可包含，例如，得自非人類來源(舉例而言，如，牛、小鼠、美洲駝、駱駝、或兔)之抗體架構區域。建造抗體之進一步資訊見述於文獻，例如，Holliger and Hudson, *Nature Biotechnology*, (Sep, 2005) 23:1126-1136中，此文獻併入本文以資參考。前述片段可得自免疫球蛋白或利用適當方法(例如重組表現法)，呈片段形式予以製造。

【0019】 本發明之抗體或抗體片段亦可被人類化，其中諸CDR序列或區域(例如CDR1、CDR2、CDR3)可為非人類，例如鼠類。

【0020】 本發明之抗體或抗體片段，或包含該抗體或片段之組成物可含有與該抗體或片段接合之胞毒劑。於一態樣中，該胞毒劑為單甲基奧利他汀-E (MMAE)，然而，亦可提供其他胞毒劑，包括，例如，MMAE之功能類似物(例如單甲基奧利他汀-F)、及其他胞毒劑，例如，阿匹利定(aplidin)、阿扎利平(azaribine)、安美達錠(anastrozole)、氮胞苷、博來黴素(bleomycin)、硼替左米(bortezomib)、苔蘚蟲素(bryostatin)-1、馬利蘭(busulfan)、硝磺黴素(calicheamycin)、喜樹鹼、10-羥基喜樹鹼、亞硝基脲氮芥(carmustine)、塞勒昔布(celebrex)、苯丁酸氮芥、順鉑錠(cisplatin)、伊立替康(irinotecan)(CPT-11)、SN-38、卡鉑錠(carboplatin)、克拉屈濱(cladribine)、環磷醯胺、胞嘧啶阿拉伯糖苷(cytarabine)、氮烯咪胺(dacarbazine)、克癌易(docetaxel)、更生黴素、道諾黴素(daunomycin)葡萄糖苷酸、道諾紅黴素(daunorubicin)、地塞米松

(dexamethasone)、二乙基己烯雄酚、小紅莓(doxorubicin)、小紅莓葡萄糖苷酸、依匹紅黴素(epirubicin)葡萄糖苷酸、炔雌醇、雌莫司汀(estramustine)、依托泊苷(etoposide)、依托泊苷葡萄糖苷酸、磷酸依托泊苷、5-氟去氧尿苷(floxuridine)(FUdR)、3',5'-O-二油醯基-FudR (FUdR-dO)、氟達拉濱(fludarabine)、氟他胺(flutamide)、氟尿嘧啶、氟羧甲甾酮(fluxymesterone)、吉西他濱(gemcitabine)、己酸羧基黃體酮、羧基脲、依達紅黴素(idarubicin)、異環磷醯胺(ifosfamide)、L-天冬醯胺酶、菊百葉酸、洛莫司汀(lomustine)、氮芥、甲孕酮、甲地孕酮、苯丙胺酸氮芥、巯基嘌呤、6-巯基嘌呤、胺甲喋呤、米托蒽醌(mitoxantrone)、光神黴素(mithramycin)、絲裂黴素、米托坦(mitotane)、丁酸苯酯、潑尼松、丙卡巴肼(procarbazine)、紫杉醇、噴司他丁(pentostatin)、PSI-341、西莫司汀(semustine)、鏈佐星(streptozocin)、他莫昔芬(tamoxifen)、紫杉烷類、紫杉醇、丙酸甾酮、酞胺哌啶酮(thalidomide)、硫代鳥嘌呤、噻替哌(thiotepa)、替尼泊苷(teniposide)、拓撲替康(topotecan)、尿嘧啶芥、萬科(velcade)、長春花鹼、長春瑞濱(vinorelbine)、長春新鹼、蓖麻蛋白、雞母珠毒蛋白、核糖核酸酶、抗腫瘤酶(onconase)、rapLR1、DNase I、葡萄球菌腸毒素-A、美洲商陸凍瓊蠟蛋白(gelonin)、白喉毒素、假單胞菌外毒素、與假單胞菌內毒素、或其組合。任一胞毒劑亦可包含其功能類似物。

【0021】 本發明組成物除了抗體及片段(含或不含前述接合胞毒劑)外，可包含各種抗癌劑，包括，例如，博來黴素、克癌易(Taxotere)、小紅莓、依達曲沙(edatrexate)、爾洛替尼(erlotinib)(Tarceva)、依托泊苷、柔沛(finasteride)(Proscar)、氟他胺(Eulexin)、吉西他濱(Gemzar)、健替尼(genitinib)(Iressa)、乙酸戈舍瑞林(goserelin)(Zoladex)、格拉司瓊

(granisetron)(Kytril)、依馬替尼(imatinib)(Gleevec)、伊立替康(Campto/Camptosar)、昂丹司瓊(ondansetron)(Zofran)、紫杉醇(Taxol)、培門冬酶(pegaspargase)(Oncaspar)、鹽酸毛果鹼(Salagen)、卟吩姆鈉(porfimer)(Photofrin)、介白素-2 (Proleukin)、利妥昔單抗(rituximab)(Rituxan)、拓模替康(Hycamtin)、搓杜滋單抗(trastuzumab)(Herceptin)、Triapine、長春新鹼、與酒石酸長春瑞濱(Navelbine)、或其治療抗體或片段，或抗-血管新生劑舉例而言，如，血管阻斷素、貝瓦珠單抗(bevacizumab)(Avastin®)、索拉非尼(sorafenib)(Nexavar®)、桿狀他汀(baculostatin)、康他汀(canstatin)、麻思平(maspin)、抗-VEGF抗體或肽類、抗-胎盤生長因子抗體或肽類、抗-Flk-1抗體、抗-Flt-1抗體或肽類、層黏連蛋白(laminin)肽類、纖維網蛋白肽類、胞漿素原活化子抑制劑、組織金屬蛋白酶抑制劑、干擾素、介白素12、IP-10、Gro- β 、凝血因子、2-甲氧雌二醇、增殖蛋白相關蛋白質、甲醯胺三唑、CM101、Marimastat、多硫酸戊聚糖、血管生成素2、干擾素- α 、除莠黴素A、PNU145156E、16K催乳激素片段、Linomide、酞胺哌啶酮、己酮可可鹼、染料木黃酮、TNP-470、恩司汀(endostatin)、紫杉醇、阿庫停(accutin)、西多福韋(cidofovir)、長春新鹼、博來黴素、AGM-1470、血小板因子4或二甲胺四環素。

【0022】 於另一態樣中，本發明進一步提供一種藉由投與治療有效量之本發明抗體及/或片段、或包含本發明本發明抗體及/或片段之組成物，以治療MN相關疾病之方法。該MN相關疾病包括，舉例而言，癌症，例如硬塊腫瘤癌症。該硬塊腫瘤可能存在或源自乳房、呼吸道、肺、腦、生殖器官、消化道、結腸、尿道系統、腎、食道、子宮頸、眼睛、肝、皮膚、頭、

頸、甲狀腺、與副甲狀腺。

【0023】 於另一態樣中，本發明提供一種用於診斷其特徵為MN量異常之MN相關疾病之方法，該方法包括比較有嫌疑之疾病組織或細胞中MN之量與對應之健康組織或細胞中MN之量，其中有嫌疑之疾病組織或細胞中異常之MN量為MN相關疾病之指標，該比較步驟進一步包括以本發明之抗體或抗體片段，利用免疫測定法檢測疾病組織與健康組織之MN含量。

【0024】 於特定態樣中，本發明提供一種診斷MN相關疾病之方法，其中該免疫測定法包括下述步驟：(a)檢測健康組織中之MN蛋白量；(b)檢測有嫌疑疾病組織中之MN蛋白量；及(c)比較得自(a)與(b)之MN蛋白量。相較於健康組織中之MN蛋白量，有嫌疑疾病組織中升高之MN蛋白量為存在MN相關疾病之指標。

【0025】 本發明亦提供一種套組，其包含本發明抗體或抗體片段、或者本發明組成物，及於MN相關疾病治療方法或診斷MN相關疾病中使用該套組之一組操作指南。

【0026】 茲於下文揭示彼等及其他具體實例，其涵蓋於下述詳細說明並由其中顯見。

【圖式簡單說明】

【0027】 上文經由實例之詳細說明，不擬僅將本發明侷限於所敘述之特定具體實例，茲結合隨附之圖示俾使更瞭解本發明，其中：

圖 1 描述防止腫瘤細胞黏著於與抗-MN 抗體一起培育產生之 MN 塗覆盤；

圖 2 描述含有以抗-MN 單株抗體 1e4 構成之免疫接合體處理產生的

MaTu 腫瘤之異種移植模式之活體內抗-腫瘤活性；

圖 3 描述抗-MN 抗體與於其表面表現 MN 蛋白之 PC3mm2 細胞株的結合作用之 FACS 測定；

圖 4 概要地描述抗體接合體(抗-MN 抗體接合於 MMAE)；

圖 5a 顯示描述 3ee9/MMAE 與 MN+ (MaTu)細胞結合，惟不與 MN- (DLD)細胞結合之 FACS 作圖；

圖 5b 顯示描述 1E4 免疫接合體與 MN+ (PC3mm2)細胞結合，惟不與 MN- (DLD)細胞結合之 FACS 作圖；

圖 5c 顯示描述 1aa1 免疫接合體與 MN+ (PC3mm2)細胞結合，惟不與 MN- (DLD)細胞結合之 FACS 作圖；

圖 6a 顯示描述 3ee9/MMAE 被 MN+細胞內化而不被 MN-細胞內化之免疫螢光染色圖像。內化之 3ee9/MMAE 以螢光顯示；

圖 6b 顯示描述 1E4 免疫接合體被 MN+細胞內化而不被 MN-細胞內化之免疫螢光染色圖像。內化之 1E4 免疫接合體以螢光顯示；

圖 7 顯示描述生物素化之細胞表面蛋白質被 MN 抗體專一性免疫沉澱之免疫墨點；

圖 8a 以圖表描述 3ee9/MMAE 對抗 MN+細胞，惟未對抗 MN-細胞之胞毒性；

圖 8b 以圖表描述 1E4 免疫接合體對抗 MN+細胞，惟未對抗 MN-細胞之胞毒性；

圖 8c 以圖表描述 1aa1 免疫接合體對抗 MN+細胞，惟未對抗 MN-細胞之胞毒性；

圖 9 顯示描述 3ee9/MMAE 利用微管蛋白抑制作用防止形成正常紡錘體之免疫螢光染色圖像；

圖 10 以圖表描述 3ee9/MMAE 對抗 MaTu 異種移植植物之抗-腫瘤效力；

圖 11 以圖表描述 1E4 免疫接合體對抗已建立的 MaTu 乳房腫瘤之抗-腫瘤效力；

圖 12 以圖表描述 1aa1 免疫接合體對抗 MaTu 異種移植植物之抗-腫瘤效力；

圖 13 以圖表描述 3ee9/MMAE 對抗 MaTu 異種移植植物之治療指數(TI)；

圖 14 以圖表描述 3ee9/MMAE 與游離 MMAE 對抗 HT-29 異種移植植物之抗-腫瘤效力；

圖 15 以圖表描述根據 Q7Dx2 療程，3ee9/MMAE 對抗 HT-29 異種移植植物之抗-腫瘤效力；

圖 16 以圖表描述根據 Q1Dx1 療程，3ee9/MMAE 對抗 HT-29 異種移植植物之抗-腫瘤效力；

圖 17 以圖表描述 3ee9/MMAE 對抗 PC3mm2 異種移植植物之抗-腫瘤效力；

圖 18 以圖表描述 3ee9/MMAE 對抗 Colo-205 異種移植植物之抗-腫瘤效力；

圖 19 以圖表描述 3ee9/MMAE 對抗 HCT-15 異種移植植物之抗-腫瘤效力；

圖 20 以圖表描述 3ee9/MMAE 對抗 MN- (上圖)及 MN+ (下圖) MIAPaca2 異種移植植物之抗-腫瘤效力；

圖 21a 與 21b 以圖表描述不同劑量之 3ee9/MMAE 組合 Xeloda®對抗 Colo-205 CRC 異種移植植物之抗-腫瘤效力；

圖 22 顯示描述 3ee9 於 huMN- MIAPaca2 與 MIAPaca2 腫瘤中活體內定位

之免疫螢光染色圖像；及

圖 23 顯示描述 HT-29 CRC 異種移植物中兩種劑量 3ee9/MMAE 對微管蛋白聚合之抑制作用之(組織學試樣)免疫螢光染色圖像。

【實施方式】

【0028】 須瞭解的是，如本文敘述之本發明不擬受限於本文提出之有關本發明任何態樣之特定細節，包括，抗-MN抗體、免疫接合體、處理方法、實驗流程、細胞株、動物物種或屬別、構築體、及所述試劑，就其本身而論，均可變化。亦須瞭解的是，本文所用之術語僅供敘述特定具體實例之目的，而不擬對本發明範圍構成侷限。

界定

【0029】 除非另行界定，否則本文使用之所有技術與科學術語具有熟習本發明所屬技藝人士通常瞭解之意義。然而，下述參考文獻可提供熟習本發明所屬技藝人士本發明所用術語之一般界定，只要該等界定與此項技藝中通常瞭解之意義一致，即可參考與使用。此等參考文獻包括，惟不限於，Singleton *et al.*, Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (2d ed. 1994)；The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988)；Hale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991)；Lackie *et al.*, The Dictionary of Cell & Molecular Biology (3d ed. 1999)；與Cellular and Molecular Immunology, Eds. Abbas, Lichtman and Pober, 2nd Edition, W.B. Saunders Company。熟習此項技藝人士可用之具有此項技藝中通常瞭解的意義之提供本文所用術語界定之任何附加之技術資源均可查閱。為了本發明之目的，乃進一步界定下述術語。附加之術語於說明書中別處另行界定。

【0030】 除非說明書中清楚指定，否則本文及隨附申請專利範圍中使用之單數形式均涵蓋複數意義。因此，舉例而言，提及「基因」則意指一或多個基因且包括熟習此項技藝人士已知之其對等物等。

【0031】 本文所用「抗體」一詞包含天然單離或利用重組方法製備之免疫球蛋白分子(例如，任何類型，包括IgG、IgE、IgM、IgD、IgA與IgY，及/或任何類型，包括，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1與IgA2)。抗體亦意欲涵蓋抗原-結合抗體片段，例如Fab、F(ab')₂、scFv (單鏈Fvs)、Fv、單鏈抗體、雙功能抗體、連接二硫化物之Fvs (sdFv)，及包含V_L或V_H功能部位之片段，彼等係以完整免疫球蛋白製備或利用重組方法製備。

【0032】 本發明之抗體及/或抗原-結合抗體片段可為單專一性(例如單株)、雙專一性、三專一性或多專一性。多專一性抗體可對一抗原之不同抗原決定部位具專一性或可對一個以上抗原之諸抗原決定部位具專一性。參閱，例如，PCT公告案WO 93/17715；WO 92/08802；WO 91/00360；WO 92/05793；Tutt, et al., 1991, J. Immunol. 147:60-69；美國專利案4,474,893；4,714,681；4,925,648；5,573,920；5,601,819；Kostelny et al., 1992, J. Immunol. 148:1547-1553，各者併入本文以資參考。

【0033】 抗原-結合抗體片段單獨或與全部或部分下述區域結合可包含(諸)可變區：鉸合區、CH1、CH2、CH3與CL功能部位。本發明亦涵蓋也包含(諸)可變區與鉸合區、CH1、CH2、CH3與CL功能部位之任何組合之抗原-結合抗體片段。

【0034】 較佳為，該等抗體或抗原-結合抗體片段源自人類、人類化、鼠類(例如，小鼠與大鼠)、驢、綿羊、兔、山羊、天竺鼠、駱駝、馬、或雞。

本文所用之「人類抗體」包括具有人類免疫球蛋白胺基酸序列之抗體，及包括自人類免疫球蛋白庫、人類B細胞、或如後文及例如Kucherlapati等於美國專利案5,939,598中所述自一或多種人類免疫球蛋白之轉殖動物單離之抗體。抗體一詞亦延伸至與於天然抗體所見一樣，能將抗體CDR插入物定位於相同活性結合構形中，俾使所觀察到之標靶抗原與彼等嵌合蛋白之結合維持於相較於衍生該等CDRs的天然抗體之結合活性之其他蛋白質架構。

【0035】 本文所用非人類(例如，鼠類)抗體之「人類化」形式一詞為含有衍生自非人類免疫球蛋白的最小序列之嵌合抗體。大多數情形下，人類化抗體係其中接受者之高度變異區殘基(例如互補決定區“CDR”)被得自非人類物種(供者抗體)[例如具有符合所需之專一性、親和性、與接受能力(capacity)之小鼠、大鼠、兔、或非人類靈長類]之高度變異區殘基(CDRs)置換之人類免疫球蛋白(接受者抗體)。於一些情形下，人類免疫球蛋白之架構區(FR)殘基可被對應之非人類殘基置換。再者，人類化抗體可含有未於接受者抗體或供者抗體中發現之殘基。此等修飾作用係為了進一步精製抗體性能。一般而言，人類化抗體實質上可含至少一個或典型地兩個可變功能部位之全部，其中全部或實質上整個高度變異區與非人類免疫球蛋白者相符合；全部或實質上整個FRs為人類免疫球蛋白序列之FRs。該人類化抗體視需要地亦可含至少部分免疫球蛋白恒定區(Fc)，典型地為人類免疫球蛋白之Fc。有關其綜述，請參閱Jones, et al., (Nature 321:522-525, 1986)；Reichmann, et al., (Nature 332:323-329, 1988)；及Presta, (Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596, 1992)。人類化抗體之製備見述於美國專利案7,049,135、6,828,422、6,753,136、6,706,484、6,696,248、6,692,935、6,667,150、6,653,068、6,300,064、6,294,353、

與5,514,548，各者全部內容併入本文以資參考。

【0036】 本文所用「單鏈Fv」或「sFv」抗體片段等詞包含抗體之V_H與V_L功能部位，其中彼等功能部位係出現於單多肽鏈中。通常，Fv多肽進一步於V_H與V_L功能部位間含有俾使sFv形成符合所需之供抗原結合的結構之多肽連接基。有關其綜述，請參閱Pluckthun (The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Vol. 113, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315, 1994)，其全部內容併入本文以資參考。

【0037】 「雙功能抗體」係指具有兩個抗原-結合位置之小抗體片段，該片段含有連接於相同多肽鏈(V_H-V_L)中的輕鏈可變功能部位(V_L)之重鏈可變功能部位(V_H)。由於所用連接基太短，未能於相同鏈之二功能部位間配對，因此該等功能部位被強迫與其他鏈之互補功能部位配對而產生兩個抗原-結合位置。雙功能抗體於例如EP 404,097；WO 93/11161；及Hollinger, et al., (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448, 1993)中有更完整之敘述，各文獻均併入本文以資參考。

【0038】 表現「直鏈抗體」係指敘述於此項技藝，例如，Zapata, et al., (Protein Eng. 8(10):1057-1062, 1995)中之抗體，該文獻併入本文以資參考。簡言之，該等抗體含有形成一對抗原結合區之一對串聯Fd斷片(V_H-C_{H1}-V_H-C_{H1})。直鏈抗體可具雙專一性或單專一性。

【0039】 本文所用之「單株抗體」係指得自實質上同源的抗體群之抗體，亦即，除了存在少量可能天然發生的突變外，含有完全相同的母體(population)之個別抗體。單株抗體具高度專一性，亦即，被引導對抗單一抗原位置。再者，對照於典型地包含被引導對抗不同決定子(抗原決定部位)

的不同抗體之習知(多株)抗體製劑，各單株抗體係被引導對抗抗原上之單一決定子。修飾詞「單株」表示該抗體之特性係得自實質上同源的抗體群，而不擬被解釋為需要利用任何特定方法產生該抗體。例如，根據本發明所用之單株抗體可利用最早由Kohler, et al., (Nature 256:495, 1975)敘述之融合法製造，或可利用重組DNA法(參閱，例如，美國專利案4,816,567)。單株抗體亦可使用見述於，例如，Clackson, et al., (Nature 352:624-628, 1991)與Marks, et al., (J. Mol. Biol. 222:581-597, 1991)之技術，自噬菌體抗體庫單離。

【0040】 本文之單株抗體亦包含其中部分重鏈及/或輕鏈與衍生自特定物種或屬於特定抗體類型或亞型抗體中之對應序列相同或同源，其餘鏈則與衍生自另一物種或屬於另一抗體類型或亞型抗體中之對應序列相同或同源之「嵌合」抗體，以及該等抗體之片段，只要彼等表現符合所需之生物活性(參閱，例如，美國專利案4,816,567；及Morrison, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855, 1984，各者併入本文以資參考)。

【0041】 本文所用之「生物試樣」或「病患試樣」等詞係指得自生物或生物組成(例如，細胞)之試樣。該試樣可屬任何生物組織或流體；亦可為「臨床試樣」，係衍生自病患之試樣。此等試樣包含，惟不限於，痰、血液、血清、血漿、血液細胞(例如，白細胞)、組織試樣、切片試樣、尿、腹膜流體、與胸膜流體、唾液、精液、乳房分泌物、腦脊髓流體、眼淚、黏液、淋巴、細胞溶質、腹水、羊膜流體、膀胱洗液、及支氣管肺泡灌洗液或其細胞，以及其他體液試樣。該等病患試樣可未經加工處理或經凍結，及可使用肝素、檸檬酸鹽、或EDTA處理。生物試樣亦包括組織片段，例如供組織學用途之冷凍片段。

【0042】 「癌症」一詞包含，惟不限於，硬塊腫瘤，例如乳房癌、呼吸道癌、腦癌、生殖器官癌、消化道癌、尿道系統癌、眼癌、肝癌、皮膚癌、頭與頸癌、甲狀腺癌、副甲狀腺癌、及其遠處轉移癌症；該名詞亦包含、淋巴瘤、白血病、及血漿細胞骨髓癌。

【0043】 乳癌之實例包含，惟不限於，侵入性乳管癌、侵入性小葉乳癌、原位乳管癌、及原位小葉乳癌。呼吸道癌症之實例包含，惟不限於，小-細胞與非-小-細胞肺癌、以及支氣管腺瘤與肋膜肺臟原胚瘤。腦癌之實例包含，惟不限於，腦幹與眼下(hypophtalmic)神經膠質瘤、小腦與大腦星狀細胞瘤、神經管胚細胞瘤、室管膜瘤、以及神經外胚層與松果體腫瘤。男性生殖器官腫瘤包含，惟不限於，前列腺癌與睪丸癌。女性生殖器官腫瘤包含，惟不限於，子宮內膜癌、子宮頸癌、卵巢癌、陰道癌、與外陰癌、以及子宮瘤。消化道腫瘤包含，惟不限於，肛門癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、膽囊癌、胃癌、胰臟癌、直腸癌、小腸癌、與唾腺癌。尿道系統之腫瘤包含，惟不限於，膀胱癌、陰莖癌、腎臟癌、腎盂癌、輸尿管癌、及尿道癌。眼睛癌症包含，惟不限於，眼內黑色素瘤與視網膜母細胞瘤。肝癌之實例包含，惟不限於，肝細胞癌(具有或未具纖維板層變異體之肝細胞癌)、膽管癌 (肝內膽管癌)、及混合型肝細胞膽管癌。皮膚癌包含，惟不限於，鱗狀細胞癌、卡波西氏(Kaposi)肉瘤、惡性黑色素瘤、默克爾氏(Merkel)細胞皮膚癌、及非黑色素瘤皮膚癌。頭-與-頸癌包含，惟不限於，喉頭/下咽/鼻咽/口咽癌、及嘴唇與口腔癌。淋巴瘤包含，惟不限於，AIDS相關淋巴瘤、非-何杰金氏(Hodgkin)淋巴瘤、皮膚T-細胞淋巴瘤、何杰金氏症、及中樞神經系之淋巴瘤。肉瘤包含，惟不限於，軟組織肉瘤、骨肉瘤、惡性纖維組

織細胞瘤、淋巴肉瘤、及橫紋肌肉瘤。白血病包含，惟不限於，急性骨髓性白血病、急性淋巴細胞白血病、慢性淋巴細胞白血病、慢性骨髓性白血病、及髮狀細胞性白血病。

【0044】 本文所用之「抗原決定部位」一詞意指抗原上之任何抗原決定子，例如MN蛋白，抗體經由抗原結合部位與其結合。決定子或抗原決定子通常由具化學活性之表面分子群組(例如胺基酸或糖側鏈)所組成，且通常具有特定之三維結構特性，以及特定之電荷特性。

【0045】 「專一免疫反應性」係指抗體與具有被抗體之抗原結合部位識別的抗原決定部位之蛋白質、化合物、或抗原間之結合反應。於存在異源蛋白質群其他生物性產物間，此結合反應決定具有識別抗原決定部位的蛋白質、抗原或抗原決定部位之存在。於免疫測定法中，專一免疫反應性抗體可結合於具有識別抗原決定部位之蛋白質，而以可檢測之較小程度與試樣中存在之缺少抗原決定部位之其他蛋白質結合。於活體內環境中，「專一免疫反應性」則係指於動物中形成對疫苗或抗原之免疫反應之條件，例如對抗原之體液反應(於免疫性反應條件下，對抗其中存在之疫苗、蛋白質、化合物、或抗原而產生抗體)或由細胞傳介者(於本文中亦稱為「細胞性免疫反應」，亦即由T淋巴細胞對抗其中存在之疫苗、蛋白質、化合物、或抗原而傳介之反應)。

【0046】 本文所用之「免疫性反應條件」一詞係用於免疫測定法或試管內反應環境，其中係提供或調整反應之物理條件(包括，例如，溫度、鹽濃度、pH、試劑與其濃度、抗原濃度及與該抗原產生專一性免疫反應的同源抗體之濃度)，而容許同源抗體與抗原結合。免疫性反應條件視抗體結合

反應形式而不同，典型地為免疫分析實驗流程中所使用者。關於免疫測定法版式及條件之說明，參閱Harlow and Lane (1988)抗體：A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New York。

【0047】 本文所用之「病患」或「實驗對象」等詞包含哺乳動物(例如，人類及動物)。

抗體

【0048】 本發明係有關與MN結合之抗體。彼等抗體可用於多種治療及診斷用途。

【0049】 熟習此項技藝者通常將察知，抗體選擇性與結合親和性最關鍵之決定子係互補區域(CDRs)之序列及產生之構形。多數抗體含有六個CDRs，三個在重鏈可變區(VH)內，三個在輕鏈可變區(VL)內。在VH與VL內諸CDRs間之介入序列定位該等CDRs之架構區域。該等CDRs一起形成抗體內之抗原結合部位。彼等CDRs於決定抗體功能性質上之關鍵作用一直在抗體人類化及抗體最適化之方法中被探討。於前者方法中，將得自單株抗體(例如，小鼠抗體)之CDRs轉移至具有類似架構設計之人類抗體，從而產生具有相同功能性質及於男性中之較小免疫原性之抗體。

【0050】 此方法之成功由已成功商品化成為人類治療劑的人類化抗體之數量得以顯見，彼等包括Herceptin® [搓杜珠單抗(trastuzumab)，Genentech, Inc., South San Francisco, CA]、Synagis® [帕維珠單抗(palivizumab)，Medimmune, Inc., Gaithersburg, MD]、Campath® [阿侖珠單抗(alemtuzumab)，Genzyme Oncology, Cambridge, MA]、Zenapax® [達利珠單抗(daclizumab)，Roche Pharmaceuticas, Nutley, NJ]、Xolair® [奧馬珠單抗(omalizumab)，

Genentech, Inc., South San Francisco, CA]、Raptiva® [依法珠單抗(efalizumab)，Genentech, Inc., South San Francisco, CA]、Avastin® (貝瓦珠單抗，Genentech, Inc., South San Francisco, CA]、與Mylotarg® [吉姆單抗奧佐米星(gemtuzumab ozogamicin)，Wyeth-Ayerst, Madison, NJ]。其他實例已見述於Singer, et al., (J. Immunol, 150:2844-2857, 1993)；Luo, et al., (J. Immunol Meth., 275:31-40, 2002)；及Kostelny, et al., (Int. J. Cancer 93；556-565, 2001)。

【0051】 抗體最適化方法集中於透過專一性改變CDRs之序列而增進抗體選擇性或結合親和性。於抗體開發領域內，一般公認CDRs編碼治療與診斷用途所需之結合親和性與選擇性等性質；使用熟習此項技藝者已知之標準方法，彼等CDR序列可用以賦予寬廣範圍之交替抗體架構該等符合所需之功能性質。亦可能利用嫁接抗體CDRs至具有似免疫球蛋白團(folds)之其他蛋白質(例如免疫球蛋白超族系中之其他蛋白質及具有免疫球蛋白類似團之非-免疫球蛋白)以轉移抗體結合活性(Nicaise, et al., Protein Science 13:1882-1891, 2004)。

【0052】 本發明涵蓋用於製備本發明抗體及結合抗原之抗體片段之任何已知或適當技術。

【0053】 舉例而言，噬菌體呈現技術可用於獲得本發明之高親和性抗-MN抗體或結合抗原之抗體片段，以供診斷及/或處理MN相關疾病(例如，MN相關癌症)之用途。此技術，被稱為親和性成熟，係利用突變形成或CDR移動(walking)與再選擇，使用MN抗原來鑑定相較於初始或親代抗體，以較高親和性與抗原結合之抗體(參閱，例如，Glaser et al., 1992, J. Immunology 149:3903)。整體密碼子而非單一核苷酸之突變形成產生胺基酸突變之半隨機

指令系統(repertoire)。可構築諸變異株之集中組成庫，各變異株之不同在於單一CDR中之單一胺基酸改變，該組成庫含有代表各CDR殘基之各種可能胺基酸取代之諸變異體。對抗原具有增加的結合親和性之突變體可利用與含有標記抗原之固定化突變體接觸予以篩選。可使用此項技藝中已知之任何篩選方法來鑑定對抗原具有增加的親和性之突變抗體(例如，ELISA) (參閱Wu et al., 1998, Proc Natl. Acad. Sci. USA 95:6037；Yelton et al., 1995, J. Immunology 155:1994，併入本文以資參考)。亦可使用CDR移動法使輕鏈隨機化(參閱Schier et al., 1996, J. Mol. Bio. 263:551，併入本文以資參考)。

【0054】 於特定實例中，MorphoSys AG (Germany)提供可用於充分產生人類抗體之噬菌體-抗體技術。與先前技術版本(Knappik, et al., J. Mol. Biol. 296:57-86, 2000，併入本文以資參考)包括見述於Rauchenberger, et al., (J. Biol. Chem. 278:38194-38205, 2003，併入本文以資參考)之HuCAL-Fab 1庫相較下，Morphosys HuCAL GOLD庫提供一些進展。與先前版本同樣地，HuCAL GOLD併入人類抗體設計，其特徵為模擬天然人類序列多樣性之具CDR變異性之人類一致架構序列與樣式。然而，於HuCAL GOLD中，多樣性延伸至包括所有六個抗體CDRs。此外，由於該CysDisplay™特徵，高親和性抗體之回收增加(Kretzschmar and von Ruden, Curr. Opin. Biotechnol. 13:598-602, 2002)。以此技術獲得之抗體表現大為減少之免疫原性概率。

【0055】 噬菌體-呈現技術，例如得自Morphosys者，已為此項技藝中悉知，及可進一步參考Boehncke WH et al., Br J Dermatol. (2005), Nov;153(5): 1092；Simon Moroney et al., Modern Biopharmaceuticals，Edited by J. Knaeblein, Wiley-VCH Verlag (2005)；Ralf Ostendorp et al., Antibodies, Volume 2: Novel

technologies and therapeutic use, p. 13-52, (2004), Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York ; R. Rauchenberger et al., J Biol Chem., (2003), Oct 3, 278(40): 38194-38205 ; T. Kretzschmar et al., Curr Opin Biotechnol., (2002), Dec, 13(6):598-602 ; Krebs B et al, J Immunol Methods, (2001), Aug 1, 254(1-2) ; M. Marget et al., Tissue Antigens, (2000), 56: 1-9 ; A. Knappik et al., J. Mol Biol., (2000), Feb 11, 296 (1):57-86 ; 及A. Plückthum et al., Immunotechnology, (1997), Jun; 3(2): 83-105 ; 各文獻全部內容均併入本文以資參考。

【0056】 舉例而言，具有MN結合作用與細胞黏著-中和活性之抗體可使用MorphoSys技術予以鑑定。將MN蛋白塗覆於微量測試盤或磁性珠粒上，與MorphoSys HuCAL-GOLD Fab噬菌體庫一起培育。不與MN結合而連接噬菌體之Fabs可自盤中沖洗掉，僅留下與MN結合之噬菌體。該結合噬菌體可利用添加硫醇還原劑例如二硫蘇糖醇(DTT)予以溶洗，造成將抗體連接於噬菌體之二硫鍵結之裂離。回收之噬菌體群可使用表現MN結合抗體片段之噬菌體增殖(enriched)，及可利用感染大腸桿菌宿主予以擴增。此淘選過程(panning process)可使用經增殖之噬菌體群重複進行，以進一步增殖連接結合於MN的抗體之噬菌體群。接著使用標準轉殖技術割除編碼Fabs之基因序列，將其轉移至表現載體，例如用於轉形宿主細胞株(例如CHO或大腸桿菌表現細胞株)之細菌(例如，大腸桿菌)表現載體、或哺乳類表現載體。然後表現及純化得自該增殖集中物之Fabs。

【0057】 替代地，使用MN表現細胞作為抗原進行淘選。舉例而言，經MN抗原轉染之細胞可使用生物素予以標記。然後使彼等轉染細胞與未標記、非-MN轉染細胞以1:10之標記對未標記比率混合。添加噬菌體庫至該等

細胞中，使用結合抗生物素鏈菌素之連接磁場之磁性珠粒捕捉該等經生物素化、帶有MN之細胞。將非-專一性噬菌體沖掉，藉由移除磁場使帶有MN之細胞進行專一性溶洗。彼等專一性結合之噬菌體可進一步進行數回合細胞淘選予以擴增或可交替進行胜肽及/或蛋白質淘選。

【0058】 抗體可利用如下文敘述之多種其他技術製造。舉例而言，獲得抗體之另一方法係自如Dower, et al., (WO 91/17271，併入本文以資參考)及McCafferty, et al., (WO 92/01047) (各者全部內容併入本文以資參考)敘述之B細胞中篩選DNA庫。於彼等方法中，製造出其中成員於其外表面呈現不同抗體之噬菌體庫。抗體通常呈Fv或Fab片段呈現。利用結合於選定蛋白質之親和性強化法挑選呈現噬菌體之抗體。

【0059】 於噬菌體-呈現之變異方法中，可產生具有所選擇鼠類抗體的結合專一性之人類抗體(例如，WO 92/20791，併入本文以資參考)。此方法中，可使用所選擇鼠類抗體(例如，5C7.29)之重鏈或輕鏈可變區作為起始物質。假設，例如，選定輕鏈可變區為起始物質，則可構築出其成員呈現相同輕鏈可變區(亦即，該鼠類起始物質)及不同重鏈可變區之噬菌體庫。重鏈可變區可得自經重排之人類重鏈可變區庫。挑選對蛋白質顯示強烈專一結合作用(例如，至少10 nM或至少1 nM)之噬菌體。然後以得自此噬菌體之人類重鏈可變區作為構築進一步噬菌體庫之起始物質。於此庫中，各噬菌體呈現相同重鏈可變區(亦即，自第一呈現庫鑑定出之區域)及不同輕鏈可變區。輕鏈可變區可得自經重排之人類可變輕鏈區庫。再一次，挑選顯示強烈專一結合作用之噬菌體。

【0060】 舉另一實例，抗體亦可使用三瘤法(trioma methodology)產

生；其基本方法及此方法中所用之例示細胞融合搭擋，SPAZ-4，已由Oestberg, et al., (Hybridoma 2:361-367, 1983；美國專利案4,634,664，各者併入本文以資參考)；及Engleman, et al., (美國專利案4,634,666，併入本文以資參考)敘述。利用此方法獲得之產生抗體之細胞株稱之為三瘤，因為彼等係起源於三細胞--二人類細胞及一小鼠細胞。最初，使小鼠骨髓瘤株與人類B-淋巴細胞融合，獲得產生非-抗體之異種雜合細胞，例如SPAZ-4細胞株。接著使該異種細胞與經免疫處理之人類B-淋巴細胞融合，獲得產生抗體之三瘤細胞株。發現三瘤物產生比自人類細胞製得之平常融合瘤更為穩定之抗體。

【0061】 B-淋巴細胞得自人類供者之血液、脾臟、淋巴節、或骨髓。以蛋白質進行活人類之活體內免疫處理由於具有引發有害反應之風險而不符合需求。因此，B-淋巴細胞通常以蛋白質(例如，MN)或其抗原片段、或具有該蛋白質(例如，MN)之細胞進行試管內免疫處理。進行試管內免疫處理時，可使用結合於例示鼠類抗體之一者之主要由胺基酸斷片組成之專一抗原決定片段。典型地，於培養基[例如補充10%人類血清之RPMI-1640 (參閱，例如，美國專利案4,634,666)]中，使B-淋巴細胞暴露於抗原7至14天。

【0062】 可利用此項技藝中已知之方法，使經免疫處理之B-淋巴細胞融合於異種雜合細胞，例如SPAZ-4。舉例而言，於約37°C，以分子量1,000-4,000之40-50%聚乙二醇處理該等細胞約5-10分鐘。使細胞與融合混合物分離，於為所需雜合體(例如，HAT或AH)挑選之培養基中增殖。可使用如上述用於非人類抗體之相同方法，藉由分析三瘤培養基結合蛋白質(例如，MN)之能力，鑑定出分泌具有所需結合專一性的抗體之細胞株。將產生具有符合所需專一性的人類抗體之三瘤物次轉殖，例如，利用限數稀釋技

術及使其於培養基中進行試管內生長。

【0063】 三瘤物於基因上雖穩定，惟彼等無法產生很高量抗體。表現量則可利用將抗體基因從該三瘤轉殖入一或多個表現載體中，再將該載體轉形至細胞株(例如用於表現重組或人類化免疫球蛋白之細胞株)中而增加。

【0064】 與蛋白質(例如，MN)具交叉反應性之人類抗體亦可自具有編碼至少一部分人類免疫球蛋白基因座的轉殖基因之非人類基因轉殖哺乳動物產生。此等基因轉殖哺乳動物之內源免疫球蛋白基因座通常於功能上不具活性。該部分人類免疫球蛋白基因座可包含重鏈與輕鏈組成之未重排序列。內源免疫球蛋白基因之失活及外源免疫球蛋白基因之引入二者均可利用標靶同源重組法，或利用引入YAC染色體達成。以此方法產生之基因轉殖哺乳動物能功能重排免疫球蛋白組成序列，表現由人類免疫球蛋白基因編碼的各種同型之抗體指令系統，而不表現內源免疫球蛋白基因。具有彼等性質的哺乳動物之製造與性質為Lonberg, et al., (WO 93/12227)；與Kucherlapati, (WO 91/10741) (各of which is 併入本文以資參考 in its entirety) 所詳述。交叉反應之MN人類抗體可如上述，利用免疫處理基因轉殖非人類哺乳動物獲得。單株抗體之製備，舉例而言，可使用習知Kohler-Milstein技術(Kohler and Milstein, Nature 256:495-497, 1975，併入本文以資參考)，使得自該等哺乳動物之B-細胞融合於適當骨髓癌細胞株。

【0065】 與蛋白質(例如，MN)具交叉反應性之小鼠或其他非人類抗體可使用多種免疫處理策略獲得。於一些策略中，可使用MN抗原對非人類動物(通常為非人類哺乳動物例如小鼠)進行免疫處理。免疫原可包括以MN穩定轉染及於其細胞表面表現MN之細胞，及結合於例示交叉反應抗體之含

有彼等分子諸斷片之MN蛋白或抗原決定片段。從免疫處理動物獲得之產生抗體之細胞可進行胚質永存處理，經挑選以產生專一性結合於MN之抗體(例如，Harlow & Lane, Antibodies, A Laboratory Manual, C.S.H.P., N.Y., 1988，併入本文以資參考)。可檢測結合作用，例如，使用具有第二標記之適當二次抗體。然後可進一步篩檢交叉反應抗體指引選擇性細胞毒性至表現MN之細胞之能力。

【0066】 本發明亦有關對選定之小鼠或其他非人類抗體具有類似結合專一性與親和性之人類化抗體。人類化抗體之形成可利用重組DNA技術，使非人類抗體之CDR區域(例如，CDR1、CDR2、與CDR3)連接於人類架構及恒定區(例如，Queen, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:10029-10033,1989；WO 90/07861；各者全部內容均併入本文以資參考)，亦即CDR嫁接法。彼等人類化免疫球蛋白具有實質上得自人類免疫球蛋白(稱為接受者免疫球蛋白)之可變區架構殘基及實質上得自小鼠免疫球蛋白(稱為供者免疫球蛋白)之互補決定區(CDRs)。(諸)恒定區，若存在，亦可實質上得自人類免疫球蛋白。

【0067】 原則上，得自任何人類抗體之架構序列可作為CDR嫁接之模板用。然而，頃證明直接於該等架構上進行CDR取代常導致對抗原結合親和性之明顯喪失(Glaser, et al., J. Immunol. 149:2606, 1992；Tempest, et al., Biotechnology 9:266, 1992；Shalaby, et al., J. Exp. Med. 17: 217, 1992)。人類抗體與原先鼠類抗體愈為同源，則鼠類CDRs與人類架構之組合愈不可能於CDRs中引入會減少親和性之變形(distortions)。因此建議人類化抗體可變區架構與供者抗體可變區架構間之同質性(亦即，序列同一性百分比)較佳為至少約

65%，更佳為至少約75%，又更佳為至少約85%，尚又更佳為約95%或約99%。

【0068】 重鏈及輕鏈可變區架構殘基可衍生自相同或不同人類抗體序列。然而，選自相同人類抗體之重鏈及輕鏈架構序列減少於聚集該二鏈時不相容之可能性。人類抗體序列可為天然存在之人類抗體序列，或可為數個人類抗體之一致序列(例如，WO 92/22653，併入本文以資參考)。根據其對CDR構形及/或與抗原的結合之可能影響，可自人類可變區架構殘基挑選特定胺基酸供取代用。此等可能影響之分析可利用製造模型、檢查特定位置胺基酸之特性、或從經驗上觀察特定胺基酸之取代或突變形成之影響而達成。

【0069】 舉例而言，當鼠類可變區架構殘基與選定之人類可變區架構殘基間之胺基酸不同時，若合理地預期該胺基酸：

- (1) 直接接觸抗原、
- (2) 與序列中之 CDR 區域相鄰、或
- (3) 除此以外與 CDR 區域互相影響(例如，在 CDR 區域之約 4-6 Å 之內)，

則人類架構胺基酸可由得自小鼠抗體之對等架構胺基酸取代。

【0070】 供取代用之其他候選者為，例如，於該位置對人類免疫球蛋白而言為不尋常之接受者人類架構胺基酸。彼等胺基酸可被得自供者抗體對等位置或得自更具代表性的人類免疫球蛋白對等位置之胺基酸取代。人類化免疫球蛋白之可變區架構可與人類可變區架構序列或此等序列之一致序列具有，例如，較佳為至少約85%序列同一性，更佳為至少約90%序列同一性，又更佳為至少約95%序列同一性，尚又更佳至少約99%序列同一性。

【0071】 本發明亦有關具有專一性結合於蛋白質(例如，MN)之一結合位置及專一性結合於第二部分之第二結合位置之雙專一性或雙功能抗體。於雙專一性抗體中，一重鏈與輕鏈對通常得自，例如，MN結合抗體，另一對則得自由對抗另一抗原決定部位引起之抗體；如此產生多功能價，亦即，同時結合至少兩個不同抗原決定部位之能力。

結合測定法

【0072】 可使用敘述本發明抗體或抗體片段與本發明抗原(MN蛋白)間之結合強度(或親和性)之任何有用方法。舉例而言，可利用此項技藝中已知之標準動力學分析測定解離常數， K_d ($K_d = k_2/k_1 = [\text{抗體}][\text{抗原}] / [\text{抗體-抗原複合物}]$)。一般熟習此項技藝者將察知，解離常數表示抗體與抗原間之結合強度(就多容易分離該複合物而言)。如果需要高濃度抗體與抗原形成複合物，則結合之強度或親和性低，產生較高之 K_d ；因而 K_d (以濃度單位例如莫耳濃度或奈米莫耳濃度表示)愈小，結合作用愈強。

【0073】 親和性可利用多種已知技術及免疫測定法予以評估及/或測定，包括，例如，酵素連結免疫專一性測定法(ELISA)、雙分子互相作用分析(BIA) (例如，Sjolander and Urbaniczky, Anal. Chem. 63:2338-2345, 1991; Szabo, et al., Curr. Opin. Struct. Biol. 5:699-705, 1995，各者併入本文以資參考)、及用於定量與表現MN的細胞結合之抗體之螢光活化細胞分類法(FACS)。BIA乃用於分析即時生物專一性相互作用而不需標記任一相互作用物之技術(例如，BIAcore™)。BIAcore係根據測定生物分子間(例如，本發明抗體與MN蛋白抗原間)之即時反應中光學現象表面電漿共振(SPR)之變化。有關BIAcore技術之參考文獻進一步見述於美國公告申請案：2006/0223113、

2006/0134800、2006/0094060、2006/0072115、2006/0019313、2006/0014232、與2005/0199076，各者全部內容併入本文以資參考。

【0074】 使用於免疫化學測定法時，專一性結合於蛋白質(例如，MN)之本發明抗體或結合抗原之抗體片段所提供之檢測訊號，相較於其他蛋白質提供之檢測訊號，舉例而言，較佳為至少高約5倍，更佳為至少高約10倍，又更佳為至少高約20倍。就其本身而論，彼等抗體可用於從溶液中使蛋白質(例如，MN)產生免疫沉澱。

【0075】 本發明抗體與片段可利用此項技藝中已知之任何適當方法分析其免疫專一性結合作用(或本文界定之具「專一免疫反應性」之結合作用)。涉及抗體與抗原之測定法係所謂「免疫測定法」，可於本發明中用以鑑定本發明之抗體及抗原二者。可使用之免疫測定法包括惟不限於，舉例而言，使用例如西方墨點技術之競爭性及非-競爭性分析系統、輻射免疫測定法、ELISA (酵素連結免疫吸附測定法)、「三明治」免疫測定法、免疫沉澱測定法、沉澱素反應、凝膠擴散沉澱素反應、免疫擴散測定法、凝集測定法、補體結合測定法、免疫放射測定測定法、螢光免疫測定法、蛋白A免疫測定法。此等測定法係例行程序且為此項技藝所悉知(參閱，例如，Ausubel et al., eds, 1994, Current protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York，其全部內容併入本文以資參考)，不需過度實驗即可進行。茲於下文簡單敘述例示之免疫測定法(惟不擬構成侷限)。

【0076】 免疫沉澱實驗流程通常包括於溶胞緩衝液例如補充蛋白質磷酸酶及/或蛋白酶抑制劑(例如，EDTA、PMSF、抑肽酶、鈣酸鈉)之RIPA緩衝液[1%NP-40或Triton X-100、1%脫氧膽酸鈉、0.1%SDS、0.15 M NaCl、

0.01 M磷酸鈉(pH 7.2)、1%Trasylo]溶解細胞群；添加所關注抗體至該溶胞液中，於4°C培育一段時間(例如，1至4小時)；添加蛋白A及/或蛋白G瓊脂糖珠粒至該溶胞液中，於4°C培育約1小時或1小時以上；於溶胞緩衝液中洗滌該等珠粒，並使其再懸浮於SDS/試樣緩衝液中。所關注抗體免疫沉澱特定抗原之能力可利用例如西方墨點分析法予以評估。熟習此項技藝者對於有關可被修飾以增加抗體與抗原之結合作用及降低背景(例如以瓊脂糖珠粒先行清除溶胞液)之參數具有豐富知識。有關免疫沉澱實驗流程之進一步討論參閱，例如，Ausubel et al., eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York at 10.16.1，將其併入本文以資參考。

【0077】 西方墨點分析法通常包括製備蛋白質試樣；於聚丙烯醯胺凝膠(例如，8%至20%SDS-PAGE，視抗原原子量而定)中進行蛋白質試樣之電泳；將蛋白質試樣從聚丙烯醯胺凝膠轉移至膜件例如硝基纖維素、PVDF或尼龍；於封阻溶液(例如，具有3%BSA之PBS或脫脂奶)中進行該膜件之封阻；於洗滌緩衝液(例如，PBS-Tween 20)中洗滌模件；以於封阻緩衝液中稀釋之一次抗體(所關注抗體)封阻模件；於洗滌緩衝液中洗滌膜件；以於封阻緩衝液中稀釋之與酵素基質(例如，辣根過氧化酶或鹼性磷酸酶)或放射性分子(例如，³²P或¹²⁵I)接合之二次抗體(其識別一次抗體，例如，抗-人類抗體)封阻膜件；於洗滌緩衝液中洗滌膜件；及檢測抗原之存在。熟習此項技藝者對於有關可被修飾以增加所檢測訊號及減少背景雜訊之參數具有豐富知識。有關西方墨點實驗流程之進一步討論參閱，例如，Ausubel et al., eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York at 10.8.1，將其併入本文以資參考。

【0078】 ELISAs典型地包括製備抗原；以抗原塗覆96槽微量測試盤之槽盤；於該槽盤添加接合於可檢測化合物例如酵素基質(例如辣根過氧化酶或鹼性磷酸酶)之所關注抗體，培育一段時間；及檢測抗原之存在。於ELISAs中，所關注抗體並不一定須與可檢測化合物接合；替代地，可於槽中添加接合於可檢測化合物之二次抗體(其識別所關注抗體)。再者，除了以抗原塗覆槽盤外，也可替代地將抗體塗覆於槽盤。此情形下，可於添加所關注抗原至該塗覆槽後，再添加接合於可檢測化合物之二次抗體。熟習此項技藝者對於有關可被修飾以增加所檢測訊號之參數以及此項技藝中已知之ELISAs之其他變化具有豐富知識。關於ELISAs之進一步討論參閱，例如，Ausubel et al., eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York at 11.2.1，將其併入本文以資參考。

【0079】 於一態樣中，本發明包含一些利用篩選MorphoSys HuCAL GOLD Fab庫鑑定出之具MN結合特性之不同抗體。於本發明之一態樣中，鑑定出人類抗體VH區三個CDRs之胺基酸序列(SEQ ID NOS: 57-85；表6)。於本發明另一具體實例中，鑑定出人類MN抗體VL區三個CDRs之胺基酸序列(SEQ ID NOS: 86-112；表6)。本發明亦有關CDRs、架構、與VH/VL對之組合。此等組合之實例示於表7 (SEQ ID NOS: 113-132為編碼核苷酸序列)與表8 (SEQ ID NOS 133-152為蛋白質序列)。具有MN結合之諸抗體亦示於表8。篩選方法之細節見述於本文敘述之實例中。關於高活性專一抗體或抗體片段之其他篩選方法可為熟習此項技藝者構想及用以鑑定人類MN抗體。

【0080】 本發明之抗體及/或結合抗原之抗體片段亦可自表現該抗體之任何細胞(包括已被編碼抗體之表現構築體轉染之宿主細胞)純化。宿主細

胞可於藉以表現該等抗體之條件下進行培養。經純化之抗體及/或結合抗原之抗體片段可使用此項技藝中悉知之方法，與細胞中可能與該等抗體有關之細胞組成(例如特定蛋白質、碳水化合物、或脂質)分離。此等方法包含，惟不限於，分級排除層析法、硫酸銨分級分離法、離子交換層析法、親和性層析法、與製備性凝膠電泳法。製劑之純度可利用此項技藝中已知之任何方法(例如SDS-聚丙烯醯胺凝膠電泳法)進行評估。純化抗體之製備可能含有一種類型以上之抗體(例如，具有MN結合作用及中和特性之諸抗體)。

【0081】 替代地，可使用化學方法合成其胺基酸序列或抗體序列(例如CDR序列)之諸部分而製造抗體，例如藉由使用固體技術之直接勝肽合成法(例如，Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 85:2149-2154, 1963；Roberge, et al., Science 269:202-204, 1995；各者併入本文以資參考)。蛋白質合成可使用手工技術或利用自動化技術進行。自動化技術合成可使用，例如，Applied Biosystems 431A Peptide Synthesizer (Perkin Elmer)完成。視需要地，可分別合成諸抗體片段，再使用化學方法組合以產生全長分子。

【0082】 一旦舉例而言，利用本文敘述之任一方法，例如，包括製造抗體、製造單株抗體之傳統方法(例如動物免疫處理法)、或利用重組DNA法鑑定出或獲得根據本發明之抗體或片段時，最好進行深一層之步驟以確認及/或純化及/或修飾該抗體。例如，可能期望製備免疫反應性抗體片段或製備所鑑定、符合所需抗體之純化、高力價組成物，以測試所鑑定抗體或其片段之免疫活性。本發明涵蓋用於確認、純化、或試驗本發明抗體之任何已知且適當之方法，一般預期通常熟習本發明所屬技藝之任何人士將具有必要程度之專門技術與資源，例如技術手冊或專著，以達成本發明抗體任

何進一步之確認、純化及/或試驗而不需過度實驗。

【0083】 於特定態樣中，本發明抗體及/或抗體片段可利用悉知方法，自重組細胞培養物中回收及純化，該等方法包括，惟不限於，蛋白A純化法、硫酸銨或乙醇沉澱法、酸萃取法、陰離子或陽離子交換層析法、磷酸纖維素層析法、疏水性相互作用層析法、親和性層析法、羧磷灰石層析法與凝集素層析法。高效能液相層析法(“HPLC”)亦可用於純化。參閱，例如，Colligan, Current Protocols in Immunology、或Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, N.Y., (1997 2001)，例如，第1、4、6、8、9、10章，各者全部內容併入本文以資參考。

【0084】 抗體上下文中之「單離」一詞係指此項技藝中已知用於純化抗體之任何方法。純化抗體之方法為此項技藝所悉知，本發明涵蓋熟習技藝人士已知且不需過度實驗之任何適當方法。舉例而言，層析法例如，免疫-親和性層析法(經固定化之配位體結合及捕捉所關注抗體)、親和性層析法、蛋白質沉澱法、離子交換層析法、疏水性相互作用層析法、分級排除層析法、以及電泳法等均已見述於技術性文獻，例如，Methods in Enzymology, Volume 182, Guide to Protein Purification, Eds. J. Abelson, M. Simon, Academic Press, 1st Edition, 1990，將其併入本文以資參考。因此，供進行此等純化步驟(例如層析步驟)用之適當物質均為熟習此項技藝者所知。該等方法適用於純化如本文所述之根據本發明之任何抗體、抗原或其任何片段。

【0085】 特定具體實例可能需要自宿主細胞或其部分純化或單離經表現之蛋白質或抗體或其片段。本發明涵蓋用於自轉形宿主細胞單離重組蛋白之習知方法。此等方法包括，例如，首先從細胞沉澱物或從細胞培養

基中利用抽取法單離出所關注蛋白質或片段，隨後進行鹽析及一或多個層析步驟，包括水性離子交換層析法、分級排除層析步驟、高效能液相層析法(HPLC)、及親和性層析法等均可用於單離該重組蛋白質或片段。有關蛋白質純化程序之指引見述於技術性文獻，包括，例如，Methods in Enzymology, Volume 182, Guide to Protein Purification, Eds. J. Abelson, M. Simon, Academic Press, 1st Edition, 1990，此文獻已併入本文供參考。

【0086】 化學合成之分子實質上可利用製備性高效能液相層析法純化(參閱，例如，Creighton, Proteins: Structures and Molecular Principles, WH Freeman and Co., New York, N.Y., 1983，將其併入本文以資參考)。合成多肽之組成可利用胺基酸分析或定序法(例如，使用Edman降解法)予以證實。

多核苷酸

【0087】 於另一態樣中，本發明係有關編碼本發明抗體(例如，對抗MN之抗體)或結合抗原之抗體片段之多核苷酸。彼等多核苷酸可用於，例如，產生大量供治療或診斷用途之本發明抗體或產生供免疫分析用之本發明抗體或片段之試樣。

【0088】 可用於編碼例如抗體VH區三個CDRs之各者之多核苷酸如SEQ ID NOS: 1-29所述。可用於編碼例如抗體VL區三個CDRs之各者之多核苷酸如SEQ ID NOS: 30-56所述。編碼例如諸抗體之完整重鏈與輕鏈可變區之多核苷酸如SEQ ID NOS: 113-132 (表7)所述。

【0089】 本發明多核苷酸亦可根據此項技藝中任何已知或適當方法，從不含其他細胞組成例如膜成分、蛋白質、與脂質之宿主細胞單離。多核苷酸可使用標準核酸純化技術單離，或使用擴增技術例如聚合酶鏈反

應(PCR)或藉使用自動合成器合成。用於單離多核苷酸之方法係例行程序且為此項技藝中已知。任何此等用於獲得多核苷酸之技術均可用於獲得編碼本發明抗體之單離多核苷酸。例如，限制切割酵素與探針可用於單離編碼抗體之多核苷酸。

【0090】 編碼抗體之cDNA分子可使用mRNA為模板，以標準分子生物技術製造。之後，cDNA分子可使用此項技藝中已知及揭示於手冊例如 Sambrook, et al., (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press ; Cold Spring Harbor, N.Y. ; 1989, Vol. 1-3，併入本文以資參考)中之分子生物技術進行複製。擴增技術例如PCR，可用於獲得更多套多核苷酸。

【0091】 替代地，合成化學技術可用於合成編碼本發明抗體之多核苷酸。基因密碼子之簡併俾使將編碼具有例如 VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2、VL-CDR3、完整VH或完整VL胺基酸序列(例如，SEQ ID NOS: 57-112與133-152)之一者的抗體之替代(alternate)核苷酸序列得以合成。

【0092】 欲表現編碼抗體之多核苷酸，可將該多核苷酸插入含有轉錄及轉譯該插入編碼序列必要元件之表現載體內。可使用熟習此項技藝者悉知之方法構築含有抗體編碼序列及適當轉錄與轉譯控制元件之表現載體。彼等方法包括試管內重組DNA技術、合成技術、及活體內基因重組。此等技術見述於，例如，Sambrook, et al. (1989) and in Ausubel, et al., (Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, N.Y., 1995，將其併入本文以資參考)。

【0093】 可利用各種表現載體/宿主系以含有及表現編碼抗體之序列。彼等包含，惟不限於，微生物例如經重組噬菌體、質體、或黏接質體DNA表現載體轉形之細菌；經酵母表現載體轉形之酵母；經病毒表現載體(例如，桿狀病毒)感染之昆蟲細胞系；經病毒表現載體(例如，花椰菜鑲嵌病毒，CaMV；菸草鑲嵌病毒，TMV)轉形之植物細胞系；或細菌表現載體(例如，Ti或pBR322質體)、或動物細胞系。

【0094】 控制元件或調控序列係載體之彼等非-轉譯區域--促進子、啟動子、5'與3'末轉譯區域--其與宿主細胞蛋白質相互作用以進行轉錄及轉譯。此等元件之強度與專一性可不同。視所用載體系與宿主而定，可使用任何數量之適當轉錄及轉譯元件，包括構成性及誘導性啟動子。舉例而言，於細菌系中轉殖時，可使用誘導性啟動子例如BLUESCRIPT噬菌質體(Stratagene, LaJolla, Calif.)之雜合lacZ啟動子、pSPORT1質體(Life Technologies)等。桿狀病毒多面體蛋白啟動子可於昆蟲細胞中使用。可將衍生自植物細胞基因體(例如，熱休克、RUBISCO、與貯存蛋白等基因)或植物病毒(例如，病毒啟動子或先導序列)之啟動子或促進子轉殖入載體中。於哺乳類細胞系中，可使用得自哺乳類基因或得自哺乳類病毒之啟動子，例如CMV啟動子。若需要產生含有多套編碼抗體的核苷酸序列之細胞株，則可使用以SV40或EBV為基底之具適當篩選標記之載體。

【0095】 因此，本發明亦有關包含本發明之單離核酸分子(例如具SEQ ID NOS: 113-132之重鏈及輕鏈可變區)之重組載體、經該重組載體基因改造之宿主細胞、及本發明重組抗體或其片段之產生及/或表現。

【0096】 表現構築體可進一步含有轉錄起始、終止部位，及於轉錄區

中含有供轉譯用之核糖體結合部位。由構築體表現的成熟轉錄本之編碼部分可進一步於被轉譯的mRNA開端含有轉譯起點及於末端適當部位含有終止密碼子(例如，UAA、UGA或UAG)，供哺乳類或真核生物細胞表現時，以UAA及UAG較佳。

【0097】 表現載體亦可含有至少一個篩選標記。此等標記包含，惟不限於，哺乳類細胞標記例如胺甲喋呤(MTX)、二氫葉酸還原酶(DHFR)(參閱，例如，美國專利案4,399,216；4,634,665；4,656,134；4,956,288；5,149,636；及5,179,017；各者均併入本文以資參考)、胺苄青黴素、新黴素(G418)、黴酚酸、或麩胺醯胺合成酶(GS)(參閱，例如，美國專利案5,122,464；5,770,359；5,827,739；各者均併入本文以資參考)；及細菌細胞標記例如四環素或胺苄青黴素耐性基因。上述宿主細胞之適當培養基及培養條件於此項技藝為已知。適當載體對於熟習此項技藝者亦為顯見易知。

【0098】 可使用將本發明DNA (例如含有一或多個具SEQ ID NOS: 113-132之抗體編碼序列之DNA表現載體)引入宿主細胞中之任何適當之已知方法。一些已知方法包括磷酸鈣轉染、DEAE-葡聚糖傳介之轉染、陽離子性脂質傳介之轉染、電穿孔法、轉導、感染或其他已知方法。此等方法見述於此項技藝中，例如Sambrook, et al., (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Cold Spring Harbor, N.Y.; 1989) Vol. 1-3，第14、16與18章)。

【0099】 熟習此項技藝人士對於可用於表現編碼本發明抗體或其部分之核酸具有豐富知識。

【00100】 用於產生本發明抗體或抗體片段之細胞培養物實例為哺乳

動物細胞。哺乳動物細胞系常呈單層細胞之形式，惟亦可使用哺乳動物細胞懸浮液或生物反應器。此項技藝中已開發一些能表現完整糖基化蛋白質之適當宿主細胞株，包括CHO、CHO-S、COS-1(例如，ATCC CRL 1650)、COS-7(例如，ATCC CRL-1651)、HEK293、BHK21(例如，ATCC CRL-10)、CHO(例如，ATCC CRL 1610)與BSC-1 (例如，ATCC CRL-26)細胞株、Cos-7細胞、CHO細胞、hep G2細胞、P3X63Ag8.653、SP2/0-Ag14、293細胞、HeLa細胞等，彼等可容易地得自，例如，美國菌種保存中心(American Type Culture Collection)。

【00101】 彼等細胞之表現載體可包含一或多個下述表現控制序列，例如，惟不限於複製來源；啟動子[例如，晚期或早期SV40啟動子、CMV啟動子(例如，美國專利案5,168,062、5,385,839)、HSV tk啟動子、pgk(磷酸甘油酸激酶)啟動子、EF-1 α 啟動子(例如，美國專利案5,266,491)、免疫球蛋白啟動子]；促進子；及/或處理資訊部位，例如核糖體結合部位、RNA接合部位、聚腺苷酸化作用部位(例如，SV40大T Ag多腺苷酸添加部位)；及轉錄終結子序列。用於產生本發明核酸或蛋白質之其他細胞為已知及/或可購自，例如，American Type Culture Collection Catalogue of Cell Lines and Hybridomas或其他已知或商業來源。

【00102】 使用真核生物宿主細胞時，可將聚腺苷酸化或轉錄終結子序列併入載體中。終止子序列之實例為得自牛生長激素基因之聚腺苷酸化序列。亦可包含精確接合轉錄本之序列。接合序列之實例為得自SV40之VP1插入序列(Sprague, et al., J. Virol. 45:773-781 (1983))。附加地，如此項技藝中已知，可將宿主細胞中控制複製之基因序列併入載體中。

【00103】 敘述本文可用之附加分子生物技術(包括抗體之製備)之一般文獻包含Berger and Kimmel (Guide to Molecular Cloning Techniques, Methods in Enzymology, Vol. 152, Academic Press, Inc.) ; Sambrook, et al., (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press ; Cold Spring Harbor, N.Y. ; 1989) Vol. 1-3) ; Current Protocols in Molecular Biology, (F. M. Ausabel et al. [Eds.], Current Protocols, Green Publishing Associates, Inc.與John Wiley & Sons, Inc.間之合營企業(2000年之補編附錄)) ; Harlow et al., (Monoclonal Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988), Paul [Ed.]) ; Fundamental Immunology, (Lippincott Williams & Wilkins (1998)) ; 與Harlow, et al., (Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1998)) ; 全部併入本文以資參考。

【00104】 於另一具體實例中，本發明亦有關使用定量免疫測定法測定病患試樣中之MN蛋白含量。可改造許多測定法版式以與本發明方法一起使用。於此項技藝中一般已知之其他測定法中，舉例而言，可利用酵素連結免疫吸附測定法、放射免疫測定法、雙抗體三明治測定法、凝集測定法、螢光免疫測定法、免疫電子與掃描顯微鏡技術等進行病患試樣中MN蛋白之檢測及定量。可利用此項技藝中已知之習用方法改造此等測定法中MN蛋白之定量。於一具體實例中，循環MN蛋白量之連續變化可利用三明治測定法予以檢測及定量，其中捕捉抗體已使用習知技術固定於支撐體表面。

【00105】 適當支撐體包括，例如，合成之聚合物支撐體，例如聚丙烯、聚苯乙烯、經取代之聚苯乙烯、聚丙烯醯胺類(例如聚醯胺類與聚乙烯氧)、玻璃珠粒、瓊脂糖、及硝基纖維素。

【00106】 可於本發明方法中使用之ELISA三明治免疫測定法之實例係使用小鼠抗-人類MNN單株抗體作為捕捉抗體，及使用生物素化之山羊抗-人類MN多株抗體作為偵測抗體。捕捉單株抗體固定於微量測試盤槽盤上。於槽中培育經稀釋之人類血清/血漿試樣或MN標準試樣(重組野生型MN蛋白)，俾使MN抗原得以被捕捉單株抗體結合。洗滌諸槽後，使固定之MN抗原暴露於生物素化之偵測抗體，其後再洗滌諸槽。接著添加抗生物素鏈菌素-辣根過氧化酶接合體。經最後一次洗滌後，添加TMB Blue Substrate於諸槽，以檢測結合之過氧化酶活性。藉添加2.5 N硫酸終止該反應，並測量450奈米處之吸光率。聯繫試樣之吸光率數值與MN標準試樣即可決定每毫升血清或血漿中之MN定量值(微微克)。

【00107】 用於鑑定MN蛋白之抗體可用任何習知方法予以標記。一標記實例為辣根過氧化酶；抗體標記方法之一實例係使用生物素-抗生物素鏈菌素複合物。

【00108】 適當時，可用任何方式直接或間接標記作為示蹤劑用之本發明免疫測定法所用之抗體，以產生可看見或俾使看見之訊號。可檢測之標記物質包括放射性核素，例如 ^3H 、 ^{125}I 與 ^{131}I ；螢光劑例如螢光黃異硫氰酸鹽與其他螢光染料、藻膽蛋白、藻紅蛋白、稀土元素螯合物、德克薩斯紅(Texas red)、丹醯(dansyl)與若丹明(rhodamine)；比色試劑(色原)；電子-不透明物質，例如膠金；生物發光劑；化學發光劑；染料；酵素，例如辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶、葡萄糖氧化酶、葡萄糖-6-磷酸脫氫酶、乙醯膽鹼酯酶、 α -、 β 3-半乳糖苷酶等；輔酶；酵素基質；酵素輔因子；酵素抑制劑；酵素次單元；金屬離子；自由基；或提供檢測或測量所形成免疫複合物存在或量

之任何其他免疫活性或惰性物質。例示之酵素基質組合為辣根過氧化酶與四甲基聯苯胺(TMB)、及鹼性磷酸酶與對硝苯基磷酸鹽(pNPP)。

【00109】 根據本發明之另一檢測及定量系統產生發光訊號，生物發光(BL)或化學發光(CL)。於化學發光(CL)或生物發光(BL)測定法中，測量強度或總發光量，並聯繫未知分析物之濃度。光可使用光度計(以光電倍增管作為檢測器)或電聯裝置定量測定，或利用攝影或X射線片定性測量。使用此等測定法之主要優點為其簡易性及俾使得以檢測及/或定量很小量分析物之分析靈敏度。

【00110】 例示之發光標記為吖啶酯類、吖啶磺醯基羧醯胺類、魯米諾(luminol)、繖形酮、異魯米諾衍生物、光蛋白例如水母素、與得自螢火蟲之蟲螢光素酶、海洋細菌Vargulla與Renilla。魯米諾可視需要與促進子分子例如4-碘苯酚或4-羥基-肉桂酸一起使用。典型地，CL訊號係於鹼性條件下，以氧化劑處理而產生。

【00111】 附加之發光檢測系統為其中訊號(可檢測標記)係利用基質之酵素反應產生者。業界已開發測定鹼性磷酸酶(AP)、葡萄糖氧化酶、葡萄糖6-磷酸脫氫酶、辣根過氧化酶(HRP)、與黃嘌呤-氧化酶標記等之CL與BL檢測方案。AP與HRP係可定量一系列CL與BL反應之二酵素標記。舉例而言，AP可與基質例如金剛烷基1,2-環氧丙烷芳基磷酸鹽基質(例如AMPPD或CSPD；Kricka, L.J., "Chemiluminescence and Bioluminescence, Analysis by,"Molecular Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference (ed. R.A. Meyers) (VCH Publishers；N.Y., N.Y.；1995))；例如，含或不含促進子分子例如二氯化1-(三辛磷甲基)-4-(三基磷甲基)苯之4-甲氧-4-(3-磷酸苯基)螺

[1,2-環氧丙烷-3,2'-金剛烷]之二鈉鹽一起使用。HRP可與基質例如2',3',6'-三氟苯基-甲氧-10-甲基吡啶滿-9-甲酸酯一起使用。

【00112】 可改造CL與BL反應使其不僅供分析酵素用，亦可分析其他基質、輔因子、抑制劑、金屬離子等。舉例而言，魯米諾、螢光蟲螢光素酶、與海洋細菌螢光素酶等反應分別為產生或消耗過氧化物、ATP、與NADPH之指標反應。彼等可與涉及氧化酶、激酶、與脫氫酶之其他反應偶合，及可用於測定該偶合反應之任何組成(酵素、基質、輔因子)。

【00113】 該檢測標記可直接或間接連接於本發明測定法中所用之抗體。例示之可檢測標記之間接連結係使用抗體與標記物間之結合對，或使用訊號擴增系統。

【00114】 可用以連接抗體與可檢測標記的結合對之實例為生物素/抗生物素蛋白、抗生物素鏈菌素、或抗-生物素；抗生物素蛋白/抗-抗生物素蛋白；甲狀腺素/甲狀腺素-結合球蛋白；抗原/抗體；抗體/抗-抗體；碳水化合物/凝集素；附著素/抗-附著素抗體；染料與疏水性分子/疏水性蛋白質結合部位；酵素抑制劑、輔酶或輔因子/酵素；多核酸/同源多核酸序列；螢光黃/抗-螢光黃；二硝基苯酚/抗-二硝基苯酚；維生素B12/內因子；可體松(cortisone)、皮質固醇/結合皮質固醇之蛋白質；及專一受體蛋白之配位體/膜相關專一受體蛋白。

【00115】 使標記直接或間接連接於抗體之各種方法為此項技藝中已知。舉例而言，可使標記進行共價或非共價結合。例示之抗體接合方法見述於Avarmeas, et al., Scan. J. Immunol. 8(Suppl. 7): 7, 1978)；Bayer, et al., Meth. Enzymol. 62:308, 1979；Chandler, et al., J. Immunol. Meth. 53:187, 1982；Ekeke and

Abuknesha, J. Steroid Biochem. 11:1579, 1979 ; Engvall and Perlmann, J. Immunol. 109:129, 1972 ; Geoghegan, et al., Immunol. Comm. 7:1, 1978 ; 與Wilson and Nakane, Immunofluorescence and Related Techniques, Elsevier/North Holland Biomedical Press; Amsterdam (1978) ; 各者併入本文以資參考。

【00116】 視標記之性質而定，可使用多種技術以檢測與定量該標記。就螢光劑而言，可使用許多螢光計；就化學發光劑而言，可使用光度計或膠片；使用酵素時，則可以螢光光度計、光度計、光譜光度計、或直觀測定或測量螢光、化學發光、或有顏色產物。

【00117】 具有吡啶、苯并吡啶、或吡啶滿類型雜環系之各種化學發光化合物為標記之其他實例。吡啶酯類之實例包括含有正氧化狀態雜原子之具雜環或環系之彼等化合物，包括例如吡啶、苯并[a]吡啶、苯并[b]吡啶、苯并[c]吡啶、苯并咪唑陽離子、喹啉、異喹啉、喹啉、環狀經取代之喹啉、啡啶、與喹啉等環系。

【00118】 如熟習此項技藝者所悉知，示蹤劑可利用直接或間接連接吡啶或苯并吡啶酯上出現的反應性官能基於選定抗體而製備(參閱，例如，Weeks, et al., Clin. Chem. 29(8):1474-1479, 1983)。彼等化合物之實例為芳環離基與反應性官能基出現於芳環之對位或間位之吡啶與苯并吡啶酯類(例如，美國專利案4,745,181與WO 94/21823，併入本文以資參考)。

使用方法

【00119】 「治療」一詞包括任何程序、動作、施敷、治療等，其中係提供對象(或病患)(包括人類)醫療支援，目的在於直接或間接改進該對象之症狀，或減緩該對象症狀或疾病之進展，或改善經處理的疾病或失調症之

至少一症狀。

【00120】 「組合治療」或「共同治療」等詞意指投與二或多種治療劑以處理疾病、症狀、及/或失調症。此等投與涵蓋以實質上同時之方式共同投與二或多種治療劑，例如呈具有固定比率之諸活性成分之單一膠囊，或呈各抑制劑之多個個別膠囊。此外，此等投與涵蓋以連續方式使用各種治療劑。連續共同投與二或多種治療劑之投與順序並未受限。

【00121】 「治療有效量」一詞意指達成改善疾病、狀況、及/或失調症嚴重性、及/或其症狀之目標，同時避免或使所給予治療處理相關副作用減至最小所投與各製劑之量。

【00122】 「醫藥上可接受」意指主題項目適用於醫藥產品。

【00123】 本發明抗體被預期具有作為治療劑之價值。因此，本發明之具體實例包含治療病患(包括哺乳動物)各種症狀之方法，該方法包括投與該病患含有治療該標的症狀有效量之本發明抗體之組成物。

【00124】 本發明抗體可用於治療或預防與MN蛋白相關之疾病及/或變化。彼等疾病及/或變化包括，例如，癌症如腎癌、食道癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、與肺癌。本發明亦有關改善其中MN升高或者表現異常之疾病症狀之方法。彼等疾病包括，惟不限於腎癌、食道癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、與肺癌(參閱，例如，(Liao, Cancer Res. 57:2827-2831, 1997；Turner, Hum. Pathol. 28:740-744, 1997；Liao, et al., Am. J. Pathol. 145:598-609, 1994；Saarnio, et al., Am. J. Pathol. 153:279-285, 1998；Vermylen, et al., Eur. Respir. J. 14:806-811, 1999)。於本發明之一具體實例中，係投與具有MN升高疾病之病患治療有效量之本發明抗體。

【00125】 本發明抗體可單獨投與或與一或多種附加治療劑組合投與。組合治療包括投與含有本發明抗體與一或多種附加治療劑之單一醫藥劑量調配物，以及投與本發明抗體與呈其自己個別醫藥劑量調配物之各附加治療劑。例如，本發明抗體與治療劑可呈單一口服劑量組成物一起投與病患，或各製劑可呈個別口服劑量調配物投與。

【00126】 於使用個別劑量調配物之情形下，本發明抗體與一或多種附加治療劑可於實質上相同時間(例如，同時)或個別錯開時間(例如，相繼)投與。諸治療劑之投與順序並未受限。

【00127】 舉例而言，於一態樣中，慮及本發明抗-MN抗體或抗體片段與一或多種抗癌劑一起共同投與，用以治療MN相關疾病(例如癌症)，俾使該抗體/片段或抗癌劑或二者之作用可行。

【00128】 此等組合治療亦可用於預防癌症、預防癌症復發、預防癌症擴散或轉移、或減少或改善與癌症相關之症狀。

【00129】 該一或多種抗癌劑可包括此項技藝中任何已知及適當之化合物，舉例而言，如，化學劑、其他免疫治療劑、癌症疫苗、抗-血管新生劑、細胞介素、荷爾蒙療法、基因療法、及放射療法、化學劑(或「抗癌劑」或「抗-腫瘤劑」或「癌症治療劑」)係指幫助處理癌症之任何分子或化合物。本發明所涵蓋之化學劑之實例包括，惟不限於，胞嘧啶阿拉伯糖苷、紫杉烷類(例如，紫杉醇、克癌易)、抗-微管蛋白劑[例如，紫杉醇、克癌易、依波西隆(epothilones)B、或其類似物]、大環內酯類[例如，利索新(rhizoxin)]順鉑錠、卡鉑錠、亞德里亞黴素(adriamycin)、替諾泊苷(tenoposide)、米托蒽醌(mitozantron)、狄可德莫(discodermolide)、愛柳洛平(eleutherobine)、2-氯脫氧

腺苷酸、烷化劑[例如，環磷醯胺、氮芥、噻艾哌(thioepa)、苯丁酸氮芥、苯丙胺酸氮芥、亞硝基脲氮芥(BSNU)、洛莫司汀(CCNU)、環磷醯胺、馬利蘭、二溴甘露糖醇、鏈脲佐菌素、絲裂黴素C、與順式二氯二胺鉑(II) (DDP)順鉑錠、噻替哌(thio-tepa)]、抗生素[例如，更生黴素(先前之放線菌素)、博來黴素、光神黴素、蒽黴素(anthracycline)]、抗代謝物[例如，胺甲喋呤、6-巰基喋呤、6-硫代鳥喋呤、胞嘧啶阿拉伯糖苷、黃匹利多(flavopiridol)、5-氟尿嘧啶、氟達拉濱、吉西他濱、氮烯咪胺、替莫唑胺(temozolamide)]、天冬醯胺酶、Bacillus Calmette 與 Guérin、白喉毒素、六甲基蜜胺、羥基脲、LYSODREN.RTM.、核苷類似物、植物生物鹼類[例如，Taxol、紫杉醇、喜樹鹼、拓撲替康、伊立替康(CAMPTOSAR、CPT-11)、長春新鹼、長春花生物鹼類例如長春花鹼]、鬼臼素[包括衍生物例如差向鬼臼素、VP-16 (依托泊苷)、VM-26 (替尼泊苷)]、細胞鬆弛素B、秋水仙鹼、短桿菌素D、溴化乙錠、吐根鹼、絲裂黴素、丙卡巴肼(procarbazine)、氮芥、蒽環素類[例如，道諾紅黴素(先前之道諾黴素)、小紅莓、小紅莓微脂粒劑]、二羥基炭疽桿菌素二酮、米托蒽醌、光神黴素、放線菌素 D、普魯卡因(procaine)、丁卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、心得安(propranolol)、喋呤黴素、抗-有絲分裂劑、雞母珠毒蛋白、蓖麻蛋白A、假單胞菌外毒素、神經生長因子、血小板衍生之生長因子、組織胞漿素原活化劑、阿地白介素(aldesleukin)、阿洛他命(allutamine)、安美達錠(anastrozole)、比卡魯胺(bicalutamide)、必歐黴素(biaomycin)、馬利蘭、截瘤達(capecitabine)、卡鉑錠、氯布西(chlorabutil)、克拉屈濱、賽拉賓(cytarabine)、達利黴素(daclinomycin)、雌莫司汀(estramusine)、5-氟脫氧尿苷(floxuridine)、健擇(gamcitabine)、戈舍瑞因(gosereline)、依達紅黴

素、異環磷醯胺、乙酸柳菩林(lauprolide)、左旋四咪唑、洛莫司林(lomusline)、氮芥、甲地孕酮、巯基嘌呤、羥乙磺酸鈉、米托蘭(mitolanc)、培門冬酶、噴司他丁、皮卡黴素(picamycin)、利索單抗(riuxlmab)、坎帕(campath)-1、鏈佐星、硫代鳥嘌呤、維生素A酸、長春瑞濱、或其任何片段、族員、或衍生物，包括其醫藥上可接受之鹽。本發明亦涵蓋包含一或多種化學劑(例如，FLAG、CHOP)之組成物。FLAG含有氟達拉濱、胞嘧啶阿拉伯糖苷(Ara-C)與G-CSF。CHOP含有環磷醯胺、長春新鹼、小紅莓、與潑尼松。

【00130】 化學劑可為抗-血管新生劑，舉例而言如血管阻斷素、貝瓦珠單抗(Avastin®)、索拉非尼(Nexavar®)、桿狀他汀、康他汀、麻思平、抗-VEGF抗體或肽類、抗-胎盤生長因子抗體或肽類、抗-Flk-1抗體、抗-Flt-1抗體或肽類、層黏連蛋白肽類、纖維網蛋白肽類、胞漿素原活化子抑制劑、組織金屬蛋白酶抑制劑、干擾素、介白素 12、IP-10、Gro- β 、凝血因子、2-甲氧雌二醇、增殖蛋白相關蛋白質、甲醯胺三唑、CM101、Marimastat、多硫酸戊聚糖、血管生成素2、干擾素- α 、除莠黴素A、PNU145156E、16K催乳激素片段、Linomide、酞胺哌啶酮、己酮可可鹼、染料木黃酮、TNP-470、恩司汀、紫杉醇、阿庫停、西多福韋、長春新鹼、博來黴素、AGM-1470、血小板因子4或二甲胺四環素。不拘泥於理論下，共同投與抗-血管新生劑可有利地導使增加腫瘤中之MN表現，從而使該腫瘤更易受本發明抗體及抗體接合體之影響。

【00131】 於一態樣中，該化學劑係吉西他濱，其劑量為每週期100至1000毫克/平方米不等。於一具體實例中，該化學劑係氮烯咪胺，其劑量為每週期200至4000毫克/平方米不等；於另一態樣中，該劑量為每週期700至

1000毫克/平方米不等。於又另一態樣中，該化學劑係氟達拉濱，其劑量為每週期25至50毫克/平方米不等。於另一態樣中，該化學劑係胞嘧啶阿拉伯糖苷(Ara-C)，其劑量為每週期200至2000毫克/平方米不等。於又另一態樣中，該化學劑係克癌易，其劑量為每週期1.5至7.5毫克/公斤不等。於又另一態樣中，該化學劑係紫杉醇，其劑量為每週期5至15毫克/公斤不等。於進一步態樣中，該化學劑係順鉑錠，其劑量為每週期5至20毫克/公斤不等。於又進一步態樣中，該化學劑係5-氟尿嘧啶，其劑量為每週期5至20毫克/公斤不等。於另一態樣中，該化學劑係小紅莓，其劑量為每週期2至8毫克/公斤不等。於另一進一步態樣中，該化學劑係差向鬼臼素，其劑量為每週期40至160毫克/公斤不等。於又另一態樣中，該化學劑係環磷醯胺，其劑量為每週期50至200毫克/公斤不等。於進一步態樣中，該化學劑係伊立替康，其劑量為每週期50至150毫克/平方米不等。於又進一步態樣中，該化學劑係長春花鹼，其劑量為每週期3.7至18.5毫克/平方米不等。於另一態樣中，該化學劑係長春新鹼，其劑量為每週期0.7至2毫克/平方米不等。於一態樣中，該化學劑係胺甲喋呤，其劑量為每週期3.3至1000毫克/平方米不等。

【00132】 於另一態樣中，本發明之抗-MN抗體及/或抗體片段係組合一或多種免疫治療劑(例如抗體或免疫調節劑)投與，包括，惟不限於，Herceptin®、Retuxan®、OvaRex、Panorex、BEC2、IMC-C225、Vitaxin、Campath I/H、Smart MI95、LymphoCide、Smart I D10、與Oncolym、Rituxan (利妥昔單抗)、吉姆單抗、或搓杜滋單抗。

【00133】 本發明亦涵蓋投與本發明之抗-MN抗體及/或抗體片段以及一或多種抗-血管新生劑包括，惟不限於，血管阻斷素、酞胺哌啶酮、克林

格(kringle) 5、恩司汀、Serpín (絲胺酸蛋白酶抑制劑)、抗-凝血酶、纖維網蛋白之29 kDa N端與40 kDa C端蛋白水解片段、催乳激素之16 kDa蛋白水解片段、血小板因子-4之7.8 kDa蛋白水解片段、相當於血小板因子-4之片段之 β -胺基酸胜肽(Maione et al., 1990, Cancer Res. 51:2077)、相當於膠原I之片段之14個胺基酸胜肽(Tolma et al., 1993, J. Cell Biol. 122:497)、相當於凝血因子I之片段之19個胺基酸胜肽(Tolsma et al., 1993, J. Cell Biol. 122:497)、相當於SPARC之片段之20個胺基酸胜肽(Sage et al., 1995, J. Cell. Biochem. 57:1329-)、或其任何片段、成員、或衍生物，包括其醫藥上可接受之鹽。

【00134】 抑制血管新生且相當於層黏連蛋白、纖維網蛋白、溶膠原、與EGF之片段之其他肽類亦被敘述(參閱Cao, 1998, Prog. Mol. Subcell. Biol. 20:161之綜述)。封阻結合RGD蛋白的特定整合素(亦即，具有Arg-Gly-Asp胜肽主結構)之單株抗體及環狀五肽類已被證明具有抗-血管化活性(Brooks et al., 1994, Science 264:569；Hammes et al., 1996, Nature Medicine 2:529)。此外，拮抗劑對尿激酶胞漿素原活化劑受體之抑制作用會抑制血管新生、腫瘤生長及轉移(Min et al., 1996, Cancer Res. 56:2428-33；Crowley et al., 1993, Proc Natl Acad. Sci. USA 90:5021)。本發明亦涵蓋此等抗-血管新生劑之用途。

【00135】 於另一態樣中，本發明之抗-MN抗體及/或抗體片段係組合放射療法投與。

【00136】 本發明之抗-MN抗體及/或抗體片段亦可組合一或多種細胞介素投與，其包括，惟不限於，淋巴細胞活素、腫瘤壞死因子、類似腫瘤壞死因子之細胞介素、淋巴細胞毒素- α 、淋巴細胞毒素- β 、干擾素- β 、巨噬細胞炎性蛋白、粒性細胞單核球聚落刺激因子、介白素(包括，惟不限

於，介白素-1、介白素-2、介白素-6、介白素-12、介白素-15、介白素-18)、OX40、CD27、CD30、CD40或CD137配位體、Fas-Pas配位體、4-1BBL、內皮單核球活化蛋白或其任何片段、成員、或衍生物，包括其醫藥上可接受之鹽。

【00137】 本發明之抗-MN抗體及/或抗體片段亦可組合癌症疫苗投與，其實例包括，惟不限於，自體細胞或組織、非-自體細胞或組織、癌胚抗原、 α -胎兒蛋白、人類絨毛膜促性腺激素、BCG活疫苗、黑素細胞系蛋白(例如，gp100、MART-1/MelanA、TRP-1 (gp75)、酪胺酸酶、廣泛共享之腫瘤相關(包括腫瘤專一性)抗原(例如，BAGE、GAGE-1、GAGE-2、MAGE-1、MAGE-3、N-乙酰基葡萄糖胺基轉移酶-V、p15)、與腫瘤相關之突變抗原[β -連鎖素(catenin)、MUM-1、CDK4]、非黑色素瘤抗原(例如，HER-2/neu (乳癌與卵巢癌)、人類乳頭狀瘤病毒-E6、E7 (子宮頸癌)、MUC-1 (乳癌、卵巢癌與胰臟癌)。有關被T細胞識別之人類腫瘤抗原，通常參閱Robbins and Kawakami, 1996, Curr. Opin. Immunol. 8:628。癌症疫苗可為經純化或未純化之製劑。

【00138】 於又另一具體實例中，本發明之抗-MN抗體及/或抗體片段與荷爾蒙療法結合。荷爾蒙治療處理包含荷爾蒙促效劑、荷爾蒙拮抗劑[例如，氟他胺、他莫昔芬、乙酸柳菩林(LUPRON)、LH-RH拮抗劑]、荷爾蒙合成與處理之抑制劑、及類固醇類[例如，地塞米松、類視黃類、貝他米松(betamethasone)、皮質固醇、可體松、潑尼松、脫氫睪酮、糖皮質激素類、礦物皮質激素類、雌激素、睪酮、妊娠素類]、抗促孕素類[例如，美服培酮(mifepristone)、奧那司酮(onapristone)]、與抗雄激素類(例如，乙酸環丙氯地

孕酮)。

【00139】 本發明之抗-MN抗體及/或片段可與抗-MDR (多重抗藥性)表現型製劑組合使用(例如共同投與)。

【00140】 儘管各藥物類別具有不同結構及作用機制,許多人類癌症同時對數種類別之抗癌藥物從本質上表現或自然地逐漸產生抗性。此現象,可於培養之哺乳類細胞中模擬,通常稱為多重抗藥性("MDR")或多重抗藥性表現型。MDR表現型對於人類病患癌症成功之治療處理造成明顯障礙。惡性腫瘤對多種化學治療劑之抗性為處理失敗之主因(Wittes et al., Cancer Treat. Rep. 70:105 (1986); Bradley, G. et al., Biochim. Biophys. Acta 948:87 (1988); Griswald, D. P. et al., Cancer Treat. Rep. 65(S2):51 (1981); Osteen, R. T. (ed.), Cancer Manual, (1990))。最初對胞毒劑敏感之腫瘤經常復發或成為對多種化學治療藥物具抵抗力(Riordan et al., Pharmacol. Ther. 28:51 (1985); Gottesman et al., Trends Pharmacol. Sci. 9:54 (1988); Moscow et al., J. Natl. Cancer Inst. 80:14 (1988); Croop, J. M. et al., J. Clin. Invest. 81:1303 (1988))。從腫瘤獲得並於挑選的胞毒藥物存在下生長之細胞或組織會對該類別之其他藥物以及其他類別藥物包括,惟不限於,蔥環素類、長春花生物鹼類、與差向鬼臼素類產生交叉抗性(Riordan et al., Pharmacol. Ther. 28:51 (1985); Gottesman et al., J. Biol. Chem. 263:12163 (1988))。因此,對單一藥物產生之抗性導致對結構與功能無關聯的不同類藥物之同步抗性。此等抗性對固體型腫瘤與液體型腫瘤(例如血液系或淋巴系癌症)均產生問題。

【00141】 於哺乳類細胞中,多重抗藥性之一主要機制涉及170 kDa血漿膜醣蛋白泵系之增加表現(Juranka et al., FASEB J 3:2583 (1989); Bradley, G.

et al., Blochem. Biophys. Acta 948:87 (1988))。編碼此泵系之基因，有時稱為多重藥物運輸子(transporter)，係從培養之人類細胞轉殖，通常稱為*mdr1*。此基因於數種類別正常組織中表現，惟於彼等組織中運輸供該*mdr1*基因產物用之生理基質尚未被鑑定出。MDR1產物為ABC運輸蛋白超族系(具有依賴能量之輸出功能一群蛋白質)之成員。

【00142】 *mdr1* 基因之蛋白質產物，一般所謂P-醣蛋白("P-170"、"P-gp")，係構成前述依賴能量之流出泵之170 kDa跨細胞膜蛋白。P-gp於細胞表面之表現足以使細胞對多種胞毒藥物(包括許多抗癌劑)產生抗性。由P-gp傳介之MDR似為不同類型腫瘤中腫瘤抗性之重要臨床組成，*mdr1*基因表現與對不同類型癌症化療之抗性相關聯。

【00143】 *mdr1*基因之核苷酸序列(Gros, P. et al., Cell 47:371 (1986)；Chen, C. et al., Cell 47:381 (1986))顯示其編碼與P-醣蛋白類似或相同之多肽，彼等為類似細菌運輸子之高度保守類膜蛋白之成員，並涉及正常之生理運輸過程。*mdr1*基因之序列分析顯示，Pgp由分佈於兩個同源(43%同一性)對半間之1280個胺基酸組成。該分子之各半具有六個疏水性跨膜功能部位，於大細胞質圈內各具有ATP結合部位。該分子僅有約8%在細胞外，碳水化合物部分(大約30 kDa)結合於此區域之諸部位。

【00144】 因此，一般將察知，哺乳類細胞具有「多重藥物-抗性」或「多重藥物-抗性之」表現型，其特徵為具有從細胞內周圍環境隔離、輸出或驅除多種胞毒物質(例如，化學治療藥物)之能力。細胞可能由於暴露於單一化療藥物強加之挑選壓力(挑選毒素)而獲得此表現型。替代地，細胞可能在毒素暴露之前即展現表現型，因為胞毒物質之輸出可能涉及與細胞分泌

物、代謝物等之正常輸出一樣之機制。多重抗藥性與單僅獲得對挑選毒素之抗性之不同在於，細胞獲得輸出該細胞先前未曾暴露之附加細胞毒素(其他化療藥物)之能力。例如，Mirski et al. (1987), 47 Cancer Res. 2594-2598敘述於作為挑選毒素用的亞德里亞黴素(小紅莓)存在下，藉由培養衍生自人類小細胞肺癌之H69細胞株，單離多重藥物抗性細胞群；發現存活之細胞抵抗蒽環素類似物[例如，道諾黴素、依匹紅黴素、美諾立爾(menogaril)與米托蒽醌]、阿西維辛(acivicin)、依托泊苷、短桿菌素D、秋水仙素與長春花-衍生之生物鹼(長春新鹼與長春花鹼)以及亞德里亞黴素之胞毒作用。可運用類似之挑選培養技術以產生附加之多重藥物抗性細胞群。

【00145】 因此，本發明之醫藥組成物可附加地包含具有抑制MDR表現型及/或與MDR表現型相關症狀之作用之化合物。此等化合物可包含此項技藝中已知之任何MDR抑制劑化合物，例如，對MDR組成具專一性之抗體(例如抗-MDR運輸子抗體)或MDR運輸子之小分子抑制劑，包括特別是他莫昔芬、異搏停(verapamil)與環孢素A，彼等為已知會徹底改變或抑制多重抗藥性之製劑(Lavie et al. J. Biol. Chem. 271: 19530-10536, 1996，併入本文以資參考)。此等化合物可見述於美國專利案5,773,280、6,225,325、與5,403,574，各者併入本文以資參考。此等MDR抑制劑化合物可與本發明之抗-MN抗體及/或片段共同投與以供多種用途包括，於檢測MDR表現型後徹底改變該MDR表現型以協助或增進化學治療處理。MDR抑制劑舉例而言，如，他莫昔芬、異搏停或環孢素A，可與本發明化合物組合使用以幫助檢測MDR表現型。根據此態樣，由於於MDR抑制劑存在下，MDR運輸系運輸或「抽出」相應於基質功能部位之想像化合物之能力將會減少，因此MDR抑制劑可增加本發

明化合物於MDR癌症細胞中之攝取與堆積。

【00146】 於又另一具體實例中，本發明之抗-MN抗體及/或抗體片段係與基因治療方案結合使用以治療癌症。使用分泌介白素-2的重組細胞之基因治療可與本發明抗體組合投與以預防或治療癌症，特別是乳癌(參閱，例如，Deshmukh et al., 2001, J. Neurosurg. 94:287)。

【00147】 為了評估特定抗體於治療上有用地治療癌症之能力，舉例而言，可於小鼠異種移植腫瘤模式中活體內測試抗體。如果需要，則可於進行治療評估之前，將MN抗體轉化為IgG₁抗體。此轉化反應敘述於實例5，治療模式之實例則詳述於實例9。亦可如實例12所述，使用由抗體依賴性細胞傳介之胞毒性測定法測試抗體活性。

【00148】 本發明亦提供一種診斷方法，使用此診斷方法可於病患試樣或生物試樣中檢測MN。此等診斷方法可用於，例如，診斷MN升高之疾病。此等疾病包括，惟不限於，腎癌、食道癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、與肺癌。供診斷用時，得自病患的試樣中檢測出之抗體-MN複合物若大於正常試樣之複合物量，則確認病患很可能罹患疾病。於癌症組織中檢測MN之免疫組織化學方法敘述於實例11。

【00149】 於本發明另一態樣中，係提供檢測及/或顯現表現MN蛋白異常量之MN相關癌症之方法。此等方法可包括使該MN相關癌症細胞與本發明之抗-MN抗體或片段接觸；使用醫學影像形式製作影像，其中該抗-MN抗體或片段含有能被醫學影像形式檢測之標記功能部位。

【00150】 本發明之檢測方法可於試管內進行。癌症細胞或組織可得自任何適當來源，例如，舉例而言，切片或細胞或組織培養。獲得切片與維

持及/或繁殖移除組織及/或細胞之方法為熟習此項技藝人士所悉知。多重抗藥性之試管內檢測可具多種應用，舉例而言，如，於處理之前、處理期間或其後，測定特定對象之癌症是否已逐漸產生多重藥物表現型。

【00151】 用於檢測本發明化合物之影像形式種類將取決於本發明化合物所用之特定標記功能部位。舉例而言，若標記功能部位含有釷螯合物，則典型地可使用MRI檢測本發明之顯像劑。若使用放射核素螯合物作為標記功能部位，則可使用核子顯像法(例如PET)。若係使用螢光系標記功能部位，則可使用光學顯像系統，舉例而言，如，FACS系或螢光顯微鏡術或螢光自動化盤式測讀儀。選擇供本發明試管內檢測方法所用之適當影像形式完全在熟習此項技藝人士之知識範圍內。

【00152】 此外，本發明試管內檢測方法所用顯像劑之量可由一般熟習此項技藝者決定，及取決於MDR表現型存在的程度，例如MDR運輸系統(例如P-糖蛋白)表現的程度。熟習此項技藝人士不需過度實驗即可決定足以檢測MDR表現型之新穎顯像化合物之量，亦可檢測之足夠量。

【00153】 所用影像形式類型並未受侷限於任何特定類型，可包括，例如MRI、核子顯像(例如PET或SPECT)、光學顯像、聲納發光顯像或光音顯像(超音波)。熟習此項技藝人士將察知，本發明顯像化合物之特定標記功能部位應與所用特定影像形式相容。

【00154】 於較佳具體實例中，該檢測方法係利用能被MRI檢測之抗-MN抗體或其片段及適當標記。舉例而言，本發明之抗體或片段可含有為MR對比劑(舉例而言，如，順磁性金屬螯合物或任何本文所述者)之標記功能部位。顯像劑亦可含有供利用核子影像形式[例如，正子放射型斷層攝影

法(PET)或單光子放射型電腦斷層攝影法(SPECT)]顯像或檢測用之放射核素(舉例而言,如, ^{199}Au 、 ^{72}As 、 ^{141}Ce 、 ^{67}Cu 、 ^{60}Cu 、 ^{52}Fe 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{51}Cr 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{51}Mn 、 ^{203}Pb 、 ^{188}Re 、 ^{97}Ru 、 ^{47}Sc 、 $^{177\text{m}}\text{Sn}$ 、 $^{94\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{167}Tm 、與 ^{90}Y)標記功能部位。放射核素可被適當螯合劑,或被多重螯合劑舉例而言,如,HYNIC、DRPA、EDTA、DOTA、TETA、DTPA與BAT螯合。螯合劑與金屬配位之條件見述於,例如,Gansow et al.之美國專利案4,831,175、4,454,106與4,472,509,各者併入本文以資參考。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (鎝-99m)係供治療與診斷應用特別引人注目之放射性同位素,因其通常用於核子醫學部門、價格低廉、給與病患最小之輻射劑量、及具有理想的核子顯像性質。

【00155】 可使病患試樣與本發明抗體接觸,然後分析該病患試樣中抗體-MN複合物之存在。如上述,抗體可包含檢測標記,例如螢光、放射性同位素、化學發光或酵素標記(例如辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶、或蟲螢光素酶)。

【00156】 視需要地,可使抗體結合於能提供自動化測定法之固體支撐體。適當固體支撐體包括,惟不限於,玻璃或塑料載片、組織培養盤、微量測試槽、管、矽晶片、或微粒例如珠粒(包括,惟不限於,乳膠、聚苯乙烯、或玻璃珠粒)。可使用此項技藝中已知之任何方法使抗體連接於固體支撐體,包括使用連接於抗體與固體支撐體之共價與非-共價鍵結、被動吸收、或成對之結合基團。MN與抗體之結合可於適用於含該等反應物之任何容器中達成。此等容器之實例包括微量滴定盤、試管、與微量離心管。

醫藥組成物與劑量

【00157】 本文敘述之抗體可提供於包含醫藥上可接受之載體之醫藥

組成物中。醫藥上可接受之載體可為非-熱原性。該組成物可單獨投與，或組合至少一種其他製劑(例如穩定性化合物)於任何無菌、生物相容之醫藥載體(包括，惟不限於，鹽水、緩衝鹽水、葡萄糖、與水)中投與。可使用多種水性載體包括，惟不限於鹽水、甘胺酸等。彼等溶液為無菌，通常不含微粒物質。彼等溶液可利用習用、悉知之殺菌技術(例如，過濾)予以滅菌。

【00158】 概括而言，「醫藥上可接受之載體」一詞為此項技藝所識別，其包括適用於投與本發明化合物至哺乳動物之醫藥上可接受之物質、組成物或載劑。載體包括涉及將主題製劑從身體之一器官或部分運送或運輸至身體之另一器官或部分之液體或固體填充劑、稀釋劑、賦形劑、溶劑或包覆材料。各載體必須為「可接受」，意指與調配物之其他成分相容且對病患無害。可作為醫藥上可接受載體用之物質之一些實例包括糖類，例如乳糖、葡萄糖與蔗糖；澱粉，例如玉米澱粉與馬鈴薯澱粉；纖維素及其衍生物，例如羧甲基纖維素鈉、乙基纖維素與乙酸纖維素；粉末狀之黃耆膠；麥芽；明膠；滑石；賦形劑，例如可可油與栓劑蠟；油類，例如花生油、棉籽油、紅花油、芝麻油、橄欖油、玉米油與黃豆油；二醇類，例如丙二醇；多元醇類、例如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇與聚乙二醇；酯類，例如油酸乙酯與月桂酸乙酯；洋菜；緩衝劑，例如氫氧化鎂與氫氧化鋁；海藻酸；無熱原之水；等滲壓鹽水；林格氏(Ringer's)溶液；乙醇；磷酸鹽緩衝液；及醫藥調配物中所用之其他無毒相容物質。

【00159】 潤濕劑、乳化劑與潤滑劑(例如硫酸月桂酯鈉與硬脂酸鎂)、以及著色劑、釋放劑、塗覆劑、甜味劑、調味劑與芳香劑、防腐劑及抗氧化劑亦可存在本發明之抗體組成物中。

【00160】 醫藥上可接受之抗氧化劑之實例包括：水溶性抗氧化劑，例如抗壞血酸、半胱胺酸鹽酸鹽、硫酸氫鈉、偏亞硫酸氫鈉、亞硫酸鈉等；油溶性抗氧化劑，例如棕櫚酸抗壞血酸酯、丁基化之羥基茴香醚(BHA)、丁基化之羥基甲苯(BHT)、卵磷脂、沒食子酸丙酯、 α -生育酚等；及金屬螯合劑，例如檸檬酸、伸乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸等。

【00161】 組成物可依需要含有醫藥上可接受之輔助物質(例如pH調節劑與緩衝劑等)，俾使接近生理條件。於此等醫藥調配物中，本發明抗體之濃度可廣泛不同，基本上可根據流體容積、黏度等，根據挑選之特定投與方式有所選擇。如果需要，則醫藥組成物中可包含一種以上抗體(例如，對於MN結合具有不同 K_d 之抗體)。

【00162】 組成物可單獨、或組合其他製劑、藥物或荷爾蒙投與病患。除了活性成分之外，彼等醫藥組成物可含有適當之醫藥上可接受之載體，包括有助於活性化合物加工成為醫藥上可用之製劑之賦形劑與輔助劑。本發明醫藥組成物可利用多種途徑投與，包括，惟不限於，經口、靜脈內、肌內、動脈內、脊髓內、椎管內、心室內、經皮、皮下、腹膜內、鼻內、非經腸、局部、經舌下、或直腸等方式。

【00163】 本發明組成物附加地包含適當免疫載體，例如，蛋白質、多肽類或胜肽類例如白蛋白、血藍質、甲狀腺球蛋白及其衍生物，特別是牛血清白蛋白(BSA)與鎖眼帽貝血藍質(KLH)、多醣類、碳水化合物、聚合物、及固相類。其他蛋白質衍生或非-蛋白質衍生物質為熟習此項技藝者已知。

【00164】 於涉及疫苗(例如癌症疫苗)以及本發明抗體之態樣中，本發明組成物可含或不含輔助劑而投與。可於缺少輔助劑下進行投與，以避免

輔助劑引起之任何毒性。一般熟習本發明所屬技藝人士，例如專攻癌症之醫師，將察知及瞭解如何確定是否應使用輔助劑，及可取決於對象之病歷、家族資料、毒性數據、過敏症相關試驗結果等。於使用輔助劑之具體實例中，有利的為輔助劑促進保護性抗體(例如保護性IgG抗體)之形成。一般熟習此項技藝者已知之任何適當輔助劑均涵蓋於本發明且容易地適用於本發明。進行動物接種疫苗所用之適當輔助劑可包括，惟不限於，氫氧化鋁、皂素及其純化成分Quit A、佛氏(Freund's)完全佐劑(CFA)與佛氏不完全佐劑(IFA)。葡聚糖硫酸鹽已被證實為IgG₂抗體對抗葡萄球菌細胞表面抗原之強力激發劑，亦為適當之輔助劑。熟習技藝人士將察知，若干輔助劑可能較適用於獸醫用途，而其他輔助劑則較適用於人類，輔助劑毒性為將化合物投與人類之前，熟習技藝人士之主要考量。

【00165】 適用於供非經腸、皮下、靜脈內、肌內等之調配物；適當醫藥載體；及調配與投與等技術可利用此項技藝中悉知之任何方法予以製備(參閱，例如，Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 20th edition, 2000)。供經口投與用之本發明化合物之液體劑量型包括醫藥上可接受之乳液、微乳化液、溶液、懸浮液、糖漿與酞劑。除了活性成分外，該等液體劑量型可含有此項技藝中常用之惰性稀釋劑，舉例而言，如，水或其他溶劑、增溶劑與乳化劑例如乙醇、異丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苧酯、苯甲酸苧酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油類(特別是棉籽油、落花生油、玉米油、胚芽油、橄欖油、蓖麻油與芝麻油)、甘油、四氫呋喃醇、聚乙二醇類與山梨聚糖之脂肪酸酯類、及其混合物。

【00166】 本文所用之「非經腸投與」意指經腸及局部投與以外之其他

投與方式，通常係利用注射，包括，惟不限於，靜脈內、肌內、動脈內、椎管內、囊內、眼窩內、心臟內、皮膚內、腹膜內、經氣管、皮下、角質層下、關節內、包膜下、蛛網膜下、脊椎內與胸骨內注射及輸注。

【00167】 治療有效劑量之決定係在熟習此項技藝者之能力範圍內。治療有效劑量係指相較於缺乏治療有效劑量下明顯可見之效力，可用於有效處理疾病(例如，癌症)的抗體之量。

【00168】 該治療有效劑量最先可於動物模式(例如，大鼠、小鼠、兔、狗、或豬)中進行評估。該動物模式亦可用於決定適當濃度範圍與投與途徑。然後可使用此等資訊決定投與人類之有用劑量與途徑。

【00169】 抗體之治療效力及毒性(例如，ED₅₀ - 對總數之50%治療有效之劑量；LD₅₀ - 使總數之50%致命之劑量)可利用於細胞培養或實驗動物中之標準醫藥程序決定。毒性對治療效果之劑量比為治療指標，可以LD₅₀/ED₅₀比表示。從動物研究獲得之數據可用於調配供人類用途之劑量範圍。此等組成物所含劑量可在包含ED₅₀而不具毒性或極少毒性之循環濃度之範圍內。視所用劑量型、病患敏感性、與投與途徑而定，劑量可於此範圍內有所不同。

【00170】 確切劑量可由開業醫師按照需要治療病患之相關因素決定。劑量及投與可予以調節以提供足量之抗體或維持所需效應。可慮及之因素包括疾病狀況之嚴重性、處理對象之健康狀況、年齡、體重、與性別、飲食、投與時間及頻率、藥物組合、反應敏感性、及對治療之耐受性/反應。

【00171】 編碼本發明抗體之多核苷酸可使用已為大家接受之技術包括，惟不限於，鐵傳遞蛋白-聚陽離子-傳介之DNA遞送、使用裸露或包覆核

酸之轉染、脂質體-傳介之細胞融合、塗覆DNA的乳膠珠粒之細胞內運輸、原生質體融合、病毒感染、電穿孔、「基因槍」、及DEAE-或磷酸鈣-傳介之轉染，進行活體外或活體內構築及引入細胞中。

【00172】 抗體之有效活體內劑量每公斤病患體重在約5微克至約500微克之範圍內。於投與編碼抗體之多核苷酸時，有效活體內劑量在約100奈克至約500微克DNA之範圍內。

【00173】 本發明含抗體醫藥組成物之投與方式可為將抗體遞送給宿主之任何適當途徑。舉例而言，本發明醫藥組成物可用於非經腸投與(例如，皮下、肌內、靜脈內、或鼻內投與)。

【00174】 本揭示內容所引用之所有專利及專利申請案均特意併入本文以資參考。上述揭示內容概括性地敘述本發明。茲參照下述具體實例可對本發明獲得更完整之瞭解，惟彼等實例之提供僅供說明用途而不擬對本發明範圍構成侷限。

實施例

【00175】 本文敘述之結構、物質、組成物、及方法意指本發明之代表性實例，一般瞭解本發明範圍不受該等實例所侷限。熟習此項技藝人士將認知，本發明可就所揭示結構、物質、組成物、及方法稍作變化而實施，該等變化均視為屬於本發明範疇之內。

實例 1：人類組合 Fab 庫(HuCAL Gold)之構築

【00176】 HuCAL® GOLD 係根據 HuCAL® 技術(Human Combinatorial Antibody Library；MorphoSys AG, Martinsried/Planegg, Germany)之抗體庫。此

抗體庫結合呈Fab版式之合成、完整人類抗體庫，使用挑選高親和性抗體之呈現技術，CysDisplay™ (MorphoSys AG, Martinsried/Planegg, Germany)測定六個不同CDR區域之特徵。CysDisplay™係根據經由二硫鍵之表現型-基因型鍵結之單價噬菌體呈現技術，使用此技術得以以高親和性回收專一性抗體。

【00177】 噬菌體呈現載體 pMORPH®23 係容許 Fab 片段單價 CysDisplay™之噬菌質體載體，其編碼全長gIIIp、Fd鏈(V_H-C_H1)、及輕鏈(V_L-C_L)，彼等全部備有引導對應蛋白質鏈至大腸桿菌胞質週緣區(periplasm)之不同分泌訊號序列。ompA與phoA二訊號序列均用於運輸重鏈與輕鏈至胞質週緣區，彼等鏈在此處經由發生非-共價作用而聚集。此呈現載體帶有誘導性lac啟動子/操縱子區域。用於壓制表現之laqI⁺基因產物由大腸桿菌宿主株TG1供應。誘導Cys-gIIIp及Fab表現係藉添加IPTG (異丙基-β-D-硫基-半乳吡喃糖苷)達成。使用限制切割酶XbaI與EcoRI，將增殖之Fab集中物從pMORPH®23次轉殖至Fab表現載體pMORPH®x9。利用此步驟，於Fd鏈C端之半胱氨酸與連接子-His6部分被移開，gIIIp被割除。表現載體pMORPH®x9_Fab_FH提供兩個C端標籤，FLAG與6xHis，因而有助於Fab蛋白之檢測及純化。

挽救噬菌質體及擴增噬菌體

【00178】 於補充34微克/毫升氯黴素與1%葡萄糖之2xTY培養基中，擴增TG1細胞中之HuCAL GOLD Fabs噬菌質體。於37°C進行幫手噬菌體感染(VCSM13 ~2-6x10¹¹ pfu/毫升) 30分鐘後，離心濃縮TG1細胞。於22°C，在含有34微克/毫升氯黴素、50微克/毫升卡那黴素(kanamycin)、與0.25 mM IPTG之2xTY培養基中培養經感染之TG1細胞隔夜，以擴增噬菌體。使用含有上澄

液之噬菌體進行相淘選。

實例 2：固相淘選

【00179】 以於PBS中之人類MN蛋白(1微克/槽或1微克/1毫克珠粒)塗覆 MaxiSorp™ 盤 (Nalgene Nunc International, Rochester, NY) 或 Dynabeads™ (Invitrogen, Carlsbad, CA)進行固相淘選。MN蛋白代表具有供純化用之C端his標籤之蛋白質整個胞外功能部位。使用熟習此項技藝者悉知之標準方法，於哺乳類細胞株HKB-11中表現MN蛋白，並利用Ni-NTA層析法進行純化。以於PBS中之5%牛乳封阻含結合MN蛋白之諸槽，於PBS中洗滌，隨後與含有 1×10^{12} HuCAL GOLD Fab噬菌體之部分預先-封阻之HuCAL GOLD噬菌體庫於室溫一起培育2小時。洗滌經結合之噬菌體，然後以於10 mM Tris緩衝液(pH 8.0)中之20 mM DTT洗滌。如上述進行三回合淘選，於各回合間進行噬菌體擴增。於各回合淘選間增加洗滌嚴苛性以降低非專一性結合作用。

實例 3：次轉殖挑選之 Fab 片段以於大腸桿菌中表現

【00180】 將挑選之 Fabs 從 pMORPH®23 呈現載體轉殖至 pMORPH®x9_Fab_FH表現載體，以幫助用於ELISA篩選之可溶性Fab之迅速表現。pMORPH®23載體之DNA製備係以EcoRI與XbaI進行分解，從而切割出整個Fab-編碼片段(ompA-VL-VL與phoA-Fd)；予以純化後，將該片段連接於所製備之pMORPHx9_Fab_FH載體(亦以EcoRI/XbaI分解並純化)。利用電穿孔法將含有Fab嵌入物之載體轉染入能勝任之大腸桿菌TG1 F-細胞中。37°C下，使該轉形之大腸桿菌細胞於含有34微克/毫升氯黴素與1%葡萄糖之LB盤上

生長。挑出菌落，將其置於含有34微克/毫升氯黴素與1%葡萄糖之培養基中。添加甘油至20%，於-80°C儲存彼等貯存菌配培養物至供ELISA之需為止。為了獲得純化之Fabs，乃使用熟習此項技藝者悉知方法，典型地使帶有此載體之大腸桿菌轉形株生長於多個1升振盪瓶培養基中，收獲，以Ni-NTA親和性層析法純化。

實例 4：利用 ELISA 鑑定結合 MN 之 Fab 片段

【00181】 以濃度5微克/毫升之純化人類MN蛋白之PBS溶液塗覆Maxisorp 96槽ELISA盤。使用得自菌配貯存培養物之於含34微克/毫升氯黴素之2xTY培養基中生長之大腸桿菌轉形株表現Fabs。收獲之前12小時，藉添加IPTG (0.5 mM最終濃度)誘導Fab表現。使細胞溶解，於預塗覆MN及以牛乳封阻的Maxisorp盤之槽內使100微升溶胞液於室溫培育2小時。然後於TBS及含Tween之TBS中洗滌諸盤以去除非專一性結合。經結合之Fabs以接合於鹼性磷酸酶之山羊抗-人類(Fab')₂抗體(Pierce Chemical, Rockford, IL)進行檢測。根據廠商操作指南指引使用基質AttoPhos (Roche Diagnostics, Alameda, CA)，於430奈米處激發並讀取535奈米處之放射光譜。

【00182】 大量大腸桿菌轉形株表現於ELISA中訊號雜訊比> 10之Fabs。VH與VL區域之DNA定序鑑定出超過50個獨特之MN-結合Fabs。十個抗體的全部VH與VL之DNA與蛋白質序列(根據其功能性質)分別示於表7與8。使彼等十個揭示抗體之各者利用ELISA結合於單離自哺乳類表現細胞株(HKB-11)之純化MN蛋白(表9)。亦使所檢測之抗體與自sf9昆蟲細胞單離、已被編碼MN胞外功能部位之桿狀病毒感染之純化MN反應(表9)，證明ELISA

作用對該MN蛋白而不對蛋白質製劑中之任何微量污染物具專一性。於BIAcore™測定法中，本發明抗體以在1奈米(1×10^{-9} M)至約50奈米(5.0×10^{-8} nM)範圍內之 K_d 專一性地結合於人類MN (表9)。

實例 5：與 MN 結合之 Fabs 與 IgGs 之鑑定

【00183】 於BIAcore 3000儀器(BIAcore, Uppsala, Sweden)上，使用表面電漿共振技術分析MN蛋白與本發明抗體間之結合作用。結合全長IgGs (1e4、1aa1、與3ee9)時，使用標準胺偶合套組(BIAcore, Uppsala, Sweden)，以高密度使山羊抗-人類IgG Fc共價偶聯於CM5生物感應器晶片。然後使用捕捉測定法，對準300反應單位BIAcore訊號，使彼等IgG結合於抗-人類IgG Fc-固定化表面。於25°C，含有PBS/0.05%Tween 20、或含有10mM Na-HEPES、pH 7.5/150mM NaCl/3mM EDTA/0.005%Tween 20的流動緩衝液流速10微升/分鐘下，操作BIAcore。於配位體結合後，將流速增加為25微升/分鐘，使不同濃度之MN分析物(例如，50 nM至1 nM不等)流動於表面10分鐘，俾使得以偵測結合相。然後進行解離作用35分鐘，隨後使用100微升10 mM磷酸，100微升/分鐘下，使抗-人類IgG Fc-固定化表面再生。使用a 1:1 Langmuir結合模式安裝感應曲線圖以計算速率常數。以類似方法測定Fabs與MN之結合，惟於評估MN結合作用之前，將抗-人類-Fab IgG固定於晶片上，用以捕捉Fabs。表9顯示所揭示之抗體結合於純化MN蛋白所得之結合常數。各個結合MN之抗體展現介於0.15與50 nM範圍內之 K_d 值。

實例 6：於 293 F 細胞中供短暫表現抗體表現用之 HuCAL 免疫球蛋白表現

載體之構築

【00184】 **重鏈表現載體** -- 移除(NheI/ApaI) pcDNA3.1+ (Invitrogen, Carlsbad, CA)之多重轉殖部位，插入與供HuCAL用之限制切割位置相容之部位，以供先導序列(NheI/EcoRI)、VH-功能部位(EcoRI/BlpI)、與免疫球蛋白恒定區域(BlpI/ApaI)連接用。該先導序列(EMBL M83133)備有Kozak序列(Kozak, Nucleic Acid Res. 15:8125-8148,1987)。將人類IgG1 (PIR J00228)、IgG4 (EMBL K01316)、與血清IgA1 (EMBL J00220)之恒定區域切成長度約70個鹼基之重疊寡核苷酸。引入無聲突變以去除與HuCAL設計不相容之限制切割位點。利用使延伸-PCR重疊，接合寡核苷酸。

【00185】 **輕鏈表現載體** -- 以兩個不同部位代替pcDNA3.1/Zeo+ (Invitrogen, Carlsbad, CA)之多重轉殖部位。 κ -部位提供插入 κ -先導序列(NheI/EcoRV)、HuCAL-scFv V κ -功能部位(EcoRV/BsiWI)與 κ -鏈恒定區(BsiWI/ApaI)用之限制切割位點。 λ -部位中之對應限制切割位點為NheI/EcoRV(I-先導序列)、EcoRV/HpaI(VI-功能部位)、與HpaI/ApaI(λ -鏈恒定區域)。 κ -先導序列(EMBL Z00022)以及 λ -先導序列(EMBL L27692)二者均備有Kozak序列。如上述，人類 κ -鏈(EMBL J00241)與 λ -鏈(EMBL M18645)之恒定區域利用重疊延伸-PCR而聚合。

【00186】 **從Fabs產生全長IgG** -- 以MfeI/BlpI切割出大腸桿菌表現載體pMORPHx9_Fab_FH內所含Fab重鏈序列，並連接成為上述已被EcoRI/BlpI切割之重鏈表現載體。以EcoRV/BsiWI切割pMORPHx9_Fab_FH內所含Fab κ 輕鏈序列，並連接成為上述亦已被EcoRV/BsiWI切割之 κ 輕鏈表現載體。以EcoRV/HpaI切割pMORPHx9_Fab_FH內所含Fab λ 輕鏈序列，並連接成為上述

λ 表現載體。

【00187】 大規模短暫表現全長IgGs -- 於9.3升Freestyle 293表現培養基(Invitrogen)中，以每毫升 0.25×10^6 293F個細胞接種Cellbag 20L/0 (Wave Biotech LLC, Somerset, NJ)。使細胞生長至密度為 1×10^6 /毫升，藉添加於含有293fectin試劑(Invitrogen)之350毫升Optimem (Invitrogen)中之5毫克編碼全長抗體之各輕鏈表現載體與重鏈表現載體進行轉染。於37°C發酵96小時後，離心收取細胞培養上澄液，無菌過濾，利用調至pH 7.6之切向流過濾進行濃縮，然後進行標準蛋白管柱層析法(Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)。

實例 7：細胞黏著測定法

【00188】 於4°C，使50微升純化MN之PBS溶液(1微克/毫升)吸附於未經處理之96槽盤隔夜。移除溶液，以PBS清洗諸槽3次。彼等槽以於RPMI1640培養基中之200微升50%FBS封阻1小時。然後以於1%BSA之PBS溶液中之100微克 $1e4$ 抗-MN抗體、於1%BSA之PBS溶液中之對照組IgG、或1%BSA之PBS溶液處理諸槽。以PBS洗滌後，添加5000 MaTu細胞(MN+細胞)於諸槽，於5%CO₂、37°C下，培育槽盤隔夜。以PBS洗滌後，評估抗-MN抗體封阻MaTu細胞黏著於諸MN-塗覆槽之能力。此實驗之實例示於圖1，其中100微克抗-MN抗體 $1e4$ 抑制細胞黏著，而對照組IgG或緩衝液載劑則不然。

實例 8：使用免疫接合體之皮下異種移植癌症模式

【00189】 使用此項技藝中已知之實驗流程，使抗-MN抗體接合於胞毒小分子(例如，Liu, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 93:8618-8623, 1996.)。於補充

10%FBS之RPMI中，使人類乳腺異種移植物，MaTu細胞，保持黏著培養物狀。以於0.1毫升80%基底膜膠(matrigel)/20%HBSS中之 5×10^6 個細胞，自Ncr裸鼠(8-12週齡)右脅腹進行皮下接種。當腫瘤達到平均大小為~180毫克(6天)時，開始處理。以10毫克/公斤之劑量，每隔四天(Q4Dx3)一次，i.v.投與接合於胞毒小分子之單株抗體。對照組小鼠以PBS或未接合之單株抗體處理。每天針對各動物之健康狀況進行檢查。各實驗組由10隻小鼠組成，用劑量為0.1毫升/10克體重。每週使用電子測徑器測量腫瘤長與寬2-3次，根據公式[長(毫米) x 寬(毫米)²]/2計算腫瘤重量(毫克)。建立整個研究過程獲得的所有數據(包括每日觀察資料)之文件。根據 $1 - T/C \times 100$ 計算腫瘤生長抑制作用(TGI)，其中T = 得自處理組之最終腫瘤重量，C = 得自對照組之最終腫瘤重量。圖2顯示，當單株IgG1 1e4接合於胞毒藥物時，於30毫克/公斤免疫接合體下，產生明顯之抗-腫瘤作用；未接合抗體時則無作用。彼等數據證明抗體作為遞送至腫瘤的胞毒藥物之載劑，被引導對抗MN蛋白之治療效力。

實例 9：螢光-活化細胞挑選測定法(FACS 測定法)

【00190】 可分析細胞作為診斷工具用之MN表現。以1:10胰蛋白酶/Versene之PBS溶液處理5至10分鐘，使黏著之MN-表現PC-3 mm2細胞與非-MN表現DLD1細胞自其燒瓶中分離。離心使細胞沉澱(1000 rpm，5分鐘)，以冰冷RPMI 10%FBS洗滌一次，使其再懸浮於冰冷染色緩衝液(不含Ca⁺ Mg⁺之PBS、2%BSA、與0.05%疊氮化鈉)中，濃度為 6×10^6 個細胞/毫升。於冰上，使25微克/毫升之一次抗體，人類抗-MN IgG1，或對照組人類IgG1抗體與 6×10^5 個細胞培育1小時。以冰冷之染色緩衝液自細胞中洗滌未結合之抗體。以

2%甲醛之PBS溶液固定細胞10分鐘，然後以染色緩衝液洗滌兩次。使細胞沉澱物再懸浮於含有抗-人類Alexa螢石488二次抗體(最終濃度1:200，Molecular Probes/Invitrogen, Carlsbad, CA)之100微升冰冷染色緩衝液中，於冰上培育1小時。以流動緩衝液(含有2%BSA之PBS)自細胞中洗滌未結合之抗體，使細胞再懸浮於1毫升流動緩衝液中。於Beckman FACS Caliber儀器上進行該等再懸浮細胞之FACS分析。圖3顯示，根據FACS之測定，PC-3 mm2人類前列腺癌細胞表現MN，而DLD-1細胞則不然。

實例 10：抗體-依賴性細胞傳介之胞毒性測定法(ADCC 測定法)

【00191】 抗-MN IgGs之抗-腫瘤活性可由ADCC活性傳介。表現MN之PC-3 mm2細胞和非-MN表現HCT-116細胞與250奈克/毫升、1000奈克/毫升、或2000奈克/毫升人類抗-MN IgG1、或對照組人類IgG1抗-地高辛(digoxin)抗體一起培育。以50:1、25:1、與5:1之效應子:標靶比，添加人類PBMCs於彼等細胞。進行鉻-51釋放分析法以測定標靶細胞之溶胞量。於DLD與PC-3 mm2細胞存在下，與對照組抗體或無抗體培育時，觀察到少量之溶胞。50:1、25:1、與5:1標靶效應子比之此自然溶胞量分別為10-15%、5-10%、或2-3%。同樣地，非-MN表現DLD細胞於與抗-MN抗體一起培育時，溶胞量在0-10%之範圍內。然而，與人類抗-MN IgGs培育時，PC-3 mm2細胞之溶胞明顯地較對照組高。於50:1標靶:效應子比下，使用250奈克/毫升、1000奈克/毫升、與2000奈克/毫升時，觀察到40、50、與60%之溶胞。同樣地，於25:1比率下，觀察到30、33、與38%溶胞，最後，於5:1標靶:效應子比時，觀察到8、10、與15%溶胞。彼等實驗顯示，人類抗-MN抗體傳介抗-腫瘤ADCC活性，及可用於癌

症之治療處理。

實例 11. 免疫接合體

製備

【00192】 使用編碼各種人類Fabs之噬菌體呈現庫(Morphosys)產生於MN細胞表面抗原被引導之人類抗體。使此抗體接合於單甲基奧利他汀E (MMAE) (Fransisco et al., Blood, 2003, 102:1458-1465) (圖4)。

試管內活性與選擇性

【00193】 利用經純化之細胞外人類MN功能部位對抗由 10^{10} 個人類Fab片段組成之MorphoSys噬菌體庫(Fabs係抗體之抗原結合部分)之試管內「淘選法」鑑定 3×10^9 /MMAE (3×10^9)之抗體部分。彼等具活性之Fabs進一步檢測其於添加至MN陽性細胞後，選擇性結合及進行內化之能力。然後使所得具活性之Fabs轉化為全長人類IgG1抗體，於CHO細胞中表現，純化，然後接合於毒性基團，MMAE (Liu et al, Proc Natl Acad Sci, 1996, 93:8618-8623)。接著測試經接合抗體殺害表現MN的細胞之能力。從所測試一組七個全長抗體中，根據其結合性質、選擇性及效力，無論試管內或活體內測定法均挑選出 3×10^9 /MMAE。

表面電漿共振(Biacore)材料與方法

【00194】 於BIAcore 3000儀器(BIAcore, Uppsala, Sweden)上，使用表面電漿共振技術，分析表現HKB11之人類MN蛋白與人類全長抗-MN MAbs間之結合作用。製備晶片時，使用標準胺偶合套組(BIAcore, Uppsala, Sweden)，使山羊抗-人類IgG Fc共價偶合於CM5生物感應器晶片。然後使用捕捉測定

法，對準300反應單位BIAcore訊號，使所關注抗體結合於抗-人類IgG Fc-固定化表面。於25°C，含有10mM Na-HEPES、pH 7.5/ 150mM NaCl/ 3mM EDTA/ 0.005%Tween 20的流動緩衝液流速10微升/分鐘下，操作BIAcore。於配位體結合後，將流速增加為25微升/分鐘，使MN分析物(50 nM至1 nM)流動於表面10分鐘，俾使得以偵測結合相。然後進行解離作用35分鐘，隨後使用10 mM 磷酸，100微升/分鐘下，使抗-人類IgG Fc-固定化表面再生。使用a 1:1 Langmuir 結合模式安裝感應曲線圖以計算速率常數(下文表1)。

表 1

利用表面電漿共振法(Biacore)測定淘選-衍生的抗體對可溶性 MN 之親和性

	1 E4	3EE9	1AA1	3A4	5AA3	3EF2
親和性(Kd, nM)	5	4	27	1	1	6

抗體結合作用

【00195】 使用Biacore技術，證實3ee9/MMAE對於純化MN蛋白具有3.6nM之kD，與未接合抗體3ee9之親和性相同。對MN (CA IX)之結合作用似具專一性，因為13個其他碳酸酐酶均無可檢測之結合作用。觀察到與粒線體-相關的CA5之結合作用，惟此同功酶於活體內難以接近抗體。

【00196】 利用FACS分析，證實3ee9/MMAE與表現MN之MaTu細胞結合，惟不與MN-陰性之DLD細胞結合(圖5a)。整個試管內研究中，使用MN抗體G250 (Wilex)，一種人類化之IgG1抗體，作為參照物質；其以5.3nM之Kd結合MN，及與3ee9/MMAE具有類似之MN+和MN-細胞株結合性質。

【00197】 抗體1E4與1aa1免疫接合體亦獲得類似結果(分別為圖5b與

5c)，其展現與MN+細胞之結合作用，惟不與MN-細胞結合。

抗體內化

【00198】 如同Cellomics之測定，3ee9/MMAE選擇性地被表現MN之細胞(PC3mm2)內化，惟不被MN-陰性細胞(DLD1)內化(圖6a)。同樣地，發現1E4免疫接合體被MN+細胞(PC3mm2)內化，惟不被MN- (DLD1)細胞內化(圖6b)。

免疫沉澱

【00199】 為了進一步探討專一性，乃使多種候選抗體，包括3ee9/MMAE之抗體部分(3ee9)和參照抗體G250，與已選擇性地以生物素標記之MN+ (Pc3mm2)和MN- (DLD-1)細胞株之溶胞液一起培育。使諸抗體與細胞蛋白產生免疫沉澱，共沉澱之抗原使用以酵素連結抗生物素鏈菌素顯影之免疫墨點法來顯現。G250與3ee9/MMAE之3ee9抗體二者均以和得自MN+細胞之MN相同大小之單一色帶選擇性地結合及免疫共沉澱(圖7)。較不具專一性之抗體，例如3ef2、5aa3與5A6，除了MN之外，亦與其他蛋白質產生免疫共沉澱。

胞毒性

【00200】 進行試管內胞毒性測定法，發現3ee9/MMAE對表現MN之PC3mm2細胞具高度胞毒性($EC_{50} = 50 \text{ nM}$)，對MN-陰性MIAPaca2細胞則不然(圖8a)；即使劑量高達1uM，亦看到低於10%之MN-陰性細胞殺害。於試管內胞毒性測定法中，亦發現1A4免疫接合體對MN+細胞(PC3mm2與MaTu)具選擇胞毒性，對MN-細胞(MIAPaca2與DLD1)則不然(圖8b)；此外，發現1aa1免疫接合體對MN+細胞(PC3mm2)具選擇胞毒性，對MN-細胞(MIAPaca2)則不然(圖8c)。

【00201】 由3ee9/MMAE遞送之胞毒藥物MMAE係微管蛋白抑制劑，其防止細胞有絲分裂期間紡錘體形成而產生G2/M阻滯。以3ee9/MMAE處理表現MN細胞(Pc3mm2)與不表現MN細胞(H460)之效力示於圖9。微管蛋白以螢光標記抗體染色。未經處理之細胞顯示正常紡錘體形成，而經處理之MN表現細胞顯示由微管蛋白與MMAE結合及預防正常紡錘體形成產生之不完整纖維。於不表現MN細胞中未看到活性。彼等研究證實，抗體藥物接合體3ee9/MMAE經由標靶導向之微管蛋白瓦解而殺害細胞。

實例 12. 免疫接合體之活體內活性

3ee9/MMAE 對抗皮下植入之人類異種移植癌症模式之活體內藥理學

【00202】 於無胸腺小鼠中，依間歇性療程經由靜脈內途徑投與時，3ee9/MMAE對於多種人類異種移植腫瘤模式之生長具有顯著及一致之抗-腫瘤作用。在6個不同人類異種移植腫瘤模式中，檢測3ee9/MMAE之活體內抗-腫瘤效力。彼等模式係經由皮下移植人類腫瘤細胞至無胸腺NCr (*nu/nu*)母小鼠(Taconic, NY)中而建立。經評估之人類腫瘤異種移植模式包括MaTu人類乳腺癌模式、HT-29與結腸-205人類結腸-直腸癌(CRC)模式、PC3MM2前列腺癌模式、HCT-15多重抗藥性(P-gp) CRC模式、與MiaPaCa2人類胰臟模式。使用PBS作為載劑，用藥溶液每天新鮮製備。用藥量為0.1毫升/10克(10毫升/公斤)。

【00203】 每週使用電子測徑器測量腫瘤長與寬2-3次，根據公式[長(毫米) x 寬(毫米)²]/2計算腫瘤重量(毫克)。以Anti-tumor Data Acquisition System (ADAS)建立整個研究過程獲得的所有數據(包括每日觀察資料)之文件。最大

耐受劑量(MTD)係界定為不產生大於20%致死率及/或20%體重淨減量之最高劑量。根據 $1-T/C \times 100$ 計算腫瘤生長抑制作用(TGI)，其中T = 得自處理組之最終腫瘤重量，C = 得自對照組之最終腫瘤重量。此外，抗-腫瘤效力係根據界定為具有 $\leq 50\%$ 其最初大小的腫瘤之反應(或良好反應或復原)發生率予以測定。被視為具持久性之反應最少需要7天期間。

3ee9/MMAE 於 MaTu 異種移植模式中之效力

【00204】 於補充10%FBS之RPMI中，使人類乳腺異種移植物，MaTu細胞，保持黏著培養物狀。以於0.1毫升80%基底膜膠/20%HBSS中之 5×10^6 個細胞，自Ncr裸鼠(8-12週齡)右脅腹進行皮下接種。當腫瘤達到平均大小為~180毫克(7天)時，開始處理。以1、3與10毫克/公斤之劑量，每隔四天(Q4Dx3)一次，i.v.投與BAY 79-4620 (3ee9-IC)。對照組小鼠以PBS或未接合之單株抗體處理，劑量為10毫克/公斤。

【00205】 每天針對各動物之健康狀況進行檢查。各實驗組由10隻小鼠組成，用劑量為0.1毫升/10克體重。每週使用電子測徑器測量腫瘤長與寬2-3次，根據公式 $[\text{長(毫米)} \times \text{寬(毫米)}^2]/2$ 計算腫瘤重量(毫克)。建立整個研究過程獲得的所有數據(包括每日觀察資料)之文件。根據 $1-T/C \times 100$ 計算腫瘤生長抑制作用(TGI)，其中T = 得自處理組之最終腫瘤重量，C = 得自對照組之最終腫瘤重量。

【00206】 3ee9/MMAE於所有劑量下，對所有經處理之動物均具良好耐受性，未顯示明顯之減重。3ee9/MMAE於MaTu腫瘤模式中之代表性效力示於圖10。於所有動物中，未經處理及以載劑處理的對照組之腫瘤日益增加地生長；對照組與載劑組動物之平均加倍時間為11.2天。於用藥終止時，在

所有檢測劑量下，3ee9/MMAE顯示強力之抗-腫瘤效力。詳言之，BAY 79-4620 (3ee9-IC)於1、3及10毫克/公斤劑量下，分別獲得67、72及78%TGI。對照之下，未接合之3ee9 mAb於抑制此乳腺異種移植腫瘤生長上，沒有顯著作用。

【00207】 於完成先已決定之用藥療程(Q4Dx3)後，測定3ee9/MMAE對腫瘤生長延緩及復原之作用。如圖10所示，3ee9/MMAE之處理產生顯著之腫瘤生長延緩及復原。於所檢測之最低劑量(1毫克/公斤)下，處理中斷後，腫瘤於~2週期間保持穩定，其後開始增長。整體而言，30%腫瘤對此1毫克/公斤之處理具良好反應。對照之下，100%動物對3及10毫克/公斤之激發均具良好反應。值得注意的是，即使中斷處理~3個月後，於3及10毫克/公斤組別，分別只有3及1個腫瘤顯示再生長之徵兆，證實即使於中斷處理~90天後，仍有70及90%動物維持無腫瘤。

【00208】 單株IgG1 1E4，接合於胞毒藥物時，在劑量為30毫克/公斤免疫接合體下，對於對抗人類乳腺異種移植物(MaTu)產生顯著之抗-腫瘤效果；而未接合之抗體則無作用(圖11)。於使用相同實驗流程，惟替換抗體1aa1 (圖12)、3ee9與5aa3之接合體型之進一步實驗中，得到類似結果。附加地，使用3ee9之接合體型時，於衍生自各種組織學類型之其他人類異種移植模式(包括HT-29與Colo-205人類結腸-直腸癌症異種移植模式及PC3-mm2人類前列腺異種移植模式)中亦觀察到抗-腫瘤效果。彼等數據指出抗體作為遞送至腫瘤的胞毒藥物之載劑，被引導對抗MN蛋白之治療效力。

實例 13. 3ee9/MMAE 於 MaTu 異種移植模式中之治療指數測定

【00209】 使用具有MaTu異種移植腫瘤之小鼠測定3ee9/MMAE之最大

耐受劑量(MTD)、最小有效劑量(MED)及治療指數(TI)。TI係界定為MTD除以MED之比值。每隔4天(第4天)一次，自靜脈內投與3ee9/MMAE，總共進行3次注射(Q4Dx3)。3ee9/MMAE之投與劑量為0.625、1.25、2.5、5.0、10、30與60毫克/公斤。對照組小鼠以PBS或未接合之單株抗體處理，劑量為60毫克/公斤。60毫克/公斤之3ee9/MMAE劑量似為MTD，因為此處理之反應為10%致死率及~20%減重。所有其他處理組別均具良好之耐受性。

【00210】 3ee9/MMAE之抗-腫瘤活性呈現於圖13。於用藥終止時，0.625及1.25毫克/公斤之3ee9/MMAE劑量分別產生62及81抑制%。2.5、5、10、30及60毫克/公斤之劑量產生更大之腫瘤生長抑制率(~90%)，同時多數腫瘤開始顯示復原。根據所觀察之數據，3ee9/MMAE之MED為0.625毫克/公斤。於完成先已決定之用藥療程(Q4Dx3)後，測定3ee9/MMAE對腫瘤生長延緩及復原之作用。使用0.625毫克/公斤劑量未見腫瘤復原。對照之下，80%動物反應1.25毫克/公斤劑量而展現腫瘤復原。此外，於2.5毫克/公斤及更高劑量下，100%動物對處理有良好反應。3ee9/MMAE之治療指數測定為~96。

實例 14. 3ee9/MMAE 於 HT-29 異種移植模式中之效力

【00211】 以於0.1毫升HBSS中之 5×10^6 個細胞，自右脅腹進行皮下接種人類CRC異種移植物，HT-29細胞。當腫瘤達到平均大小為~120毫克(5天)時，開始處理。以0.625、1.25、2.5、5.0、10毫克/公斤之劑量，每隔四天(Q4Dx3)一次，i.v.投與3ee9/MMAE。對照組小鼠以PBS或未接合之單株抗體處理，劑量為10毫克/公斤。此外，於0.1、0.2及1毫克/公斤劑量下，評估作為游離藥物之MMAE。0.1及0.2毫克/公斤之MMAE劑量分別代表此藥物出現於5及10

毫克/公斤3ee9/MMAE之相同量。

【00212】 3ee9/MMAE於所有劑量下，對所有經處理之動物均具良好耐受性，未顯示明顯之減重。同樣地，較低劑量之MMAE，亦即，0.1及0.2毫克/公斤，亦具良好之耐受性，同時無明顯減重(減重量最小)。然而，於1毫克/公斤之最高劑量下，觀察到50%致死率，同時剩餘動物展現嚴重之減重，因此被認為具有毒性。

【00213】 3ee9/MMAE及游離MMAE於HT-29腫瘤模式中之代表性效力說明於圖14。於所有動物中，未經處理及以載劑處理的對照組之腫瘤日益增加地生長；對照組與載劑組動物之平均加倍時間為6.4天。於用藥終止時，在所有檢測劑量下，3ee9/MMAE顯示強力之抗-腫瘤效力。詳言之，3ee9/MMAE於0.625、1.25、2.5、5及10毫克/公斤劑量下，分別獲得54、72、97、100及100%TGI。相較下，0.2毫克/公斤之游離MMAE產生顯著之60%TGI，而0.1毫克/公斤對於抑制此異種移植模式之生長則沒有明顯作用。就腫瘤反應而言，1.25毫克/公斤劑量下之3ee9/MMAE有20%動物顯示復原。較高劑量下，腫瘤反應更大，2.5毫克/公斤顯示90%復原；5及10毫克/公斤導致100%反應。對照之下，游離MMAE未誘導如上文界定之任何腫瘤反應。

【00214】 亦於不同療程中，評估3ee9/MMAE之抗-腫瘤效果，亦即，一週用藥一次，共計兩個劑量(Q7Dx2,圖15)及於開始處理時之單一劑量(Q1Dx1,圖16)。於此二療程中，3ee9/MMAE之劑量均為0.625、1.25、2.5、5及10毫克/公斤。無論何種療程，3ee9/MMAE均高度有效地抑制此CRC異種移植模式之生長。

【00215】 下文表2摘述3ee9/MMAE之抗-腫瘤效力。此抗-腫瘤效力與

3ee9/MMAE於Q4Dx3療程中觀察所得很相似，顯示在所檢測之療程中，
3ee9/MMAE之抗-腫瘤效力似乎與療程不相關。

表 2

3ee9/MMAE 之抗-腫瘤效力

化合物	劑量 (毫克/公斤)	處理 療程	抑制% (1-T/D)*100 (第 18 天)	復原 百分比
對照組	N/A	N/A	N/A	0
PBS	0	Q4D x 3	-17	0
3ee9 Ab	10	Q4D x 3	-11	0
3EE9IC	0.625	Q4D x 3	54	0
3EE9IC	1.25	Q4D x 3	72	2
3EE9IC	2.5	Q4D x 3	97	9
3EE9IC	5	Q4D x 3	100	10
3EE9IC	10	Q4D x 3	100	10
3EE9IC	0.625	Q7D x 2	48	0
3EE9IC	1.25	Q7D x 2	71	0
3EE9IC	2.5	Q7D x 2	92	4
3EE9IC	5	Q7D x 2	96	7
3EE9IC	10	Q7D x 2	100	10
3EE9IC	0.625	Q1D x 1	42	0
3EE9IC	1.25	Q1D x 1	48	0
3EE9IC	2.5	Q1D x 1	93	5
3EE9IC	5	Q1D x 1	98	8
3EE9IC	10	Q1D x 1	100	10
MMAE	1	Q4D x 3	具毒性	N/A
MMAE	0.1	Q4D x 3	27	0
MMAE	0.2	Q4D x 3	60	0

實例 15. 3ee9/MMAE 於 PC3mm2 與 Colo-205 異種移植模式中之效力

【00216】 接下來評估3ee9/MMAE對抗人類前列腺(PC-3mm2)與CRC

(Colo-205)腫瘤異種移植之抗-腫瘤活性。以 5×10^6 個PC3mm2或Colo-205細胞自皮下(s.c.)植入NCR *nu/nu*母小鼠中。當腫瘤達到平均大小大約125-150毫克時，開始處理。每天偵測及記錄小鼠之健康狀況。從處理第一天，即開始記錄腫瘤大小與體重。

【00217】 於PC3mm2與Colo-205之研究中，分別係以1、3、10與30毫克/公斤及1.25、2.5、5與10毫克/公斤之劑量，每隔4天(第4天)一次，自靜脈內(i.v.)投與3ee9/MMAE，總共進行3次注射(Q4Dx3)。與其他研究相同地，於評估之所有劑量下，3ee9/MMAE均具良好耐受性。當投與劑量為10與30毫克/公斤時，3ee9/MMAE抑制已確立的PC3MM2前列腺腫瘤之生長，100%動物具有反應(圖17)。於較低劑量1與3毫克/公斤下，只看到溫和作用，因為至用藥終止時，觀察到45至50%之TGI；然而，於3毫克/公斤組別中，確實有20%動物具有反應。

【00218】 同樣地，於Colo-205 CRC異種移植模式中，3ee9/MMAE高度有效地抑制腫瘤生長(圖18)。於用藥終止時，5及10毫克/公斤劑量下，觀察到>90%之TGI；2.5毫克/公斤劑量下，觀察到>70%之TGI。最低劑量，1毫克/公斤之3ee9/MMAE，於對抗此CRC模式時，相當不具效力。就復原而言，5及10毫克/公斤劑量之3ee9/MMAE分別產生40及80%反應。

實例 16. 3ee9/MMAE 於 HCT-15 異種移植模式中之效力

【00219】 為了檢測3ee9/MMAE於多重抗藥性模式中之效力，乃以 5×10^6 個HCT-15細胞自皮下(s.c.)植入NCR *nu/nu*母小鼠中。HCT-15係大量表現P-醣蛋白(P-gp)之多重藥物抗性(MDR)株。就其本身而論，此細胞株展現多重

抗藥性表現型，對Taxol[®]、小紅莓及依托泊苷具有抗性。當小鼠具有平均重量為~150毫克之確立腫瘤時，進行3ee9/MMAE、紫杉醇、及吉西他濱投與。使用吉西他濱，一種非P-gp基質之嘧啶類似物，作為正對照組。如預期地，吉西他濱(120毫克/公斤，i.p.，QDx10)於此MDR模式中具高活性(圖19)。對照之下，3ee9/MMAE (MMAE係P-gp之已知基質)與Taxol[®]無法產生任何明顯之抗-腫瘤作用。

實例 17. 3ee9/MMAE 於 huMN-MIAPaCa2 與 MIAPaCa2 異種移植模式中之效力

【00220】 為了更加瞭解MN表現與抗腫瘤效力間之關係，乃使用低MN-表現之胰臟模式，MIAPaCa2，及高MN-表現之huMN-MIAPaCa2模式，進行異種移植效力研究。後者細胞株係將MIAPaCa2株建造成穩定表現MN而衍生。3ee9/MMAE對於抑制此低MN-表現之MIAPaCa2株之生長具有最小作用(圖20)。10毫克/公斤劑量之3ee9/MMAE僅產生50%TGI。對照之下，觀察到3ee9/MMAE對抗huMN-MIAPaCa2模式之顯著抗-腫瘤活性，其中，於用藥終止時，2.5、5及10毫克/公斤之劑量分別獲得63、82及94%之TGI。此外，10毫克/公斤劑量誘發100%反應，顯示藉由大量表現腫瘤中之MN量，敏感度大為轉移。

實例 18. 於 Colo-205 異種移植模式中組合 Xeloda[®]

【00221】 針對3ee9/MMAE組合其他癌症化療劑使用之可行性進行研究。Xeloda[®]用於罹患轉移性結腸直腸癌病患之第一線處理。評估使用

3ee9/MMAE與Xeloda[®]組合治療之活性及耐受性。3ee9/MMAE係以1.25、2.5及10毫克/公斤之劑量，使用Q4Dx3療程，進行i.v.投與。Xeloda[®]則以250及500毫克/公斤之劑量，每天一次，經口投與9天。於2.5及10毫克/公斤劑量下，單獨投與3ee9/MMAE，產生強力之腫瘤生長抑制(TGI分別為73及96%) (圖21a)。然而，1.25毫克/公斤組之3ee9/MMAE則相當不具效力，只得到31%TGI。單獨投與劑量250及500毫克/公斤之Xeloda[®]亦分別產生強力之78及86%之TGI。

【00222】 就反應而言，10毫克/公斤組之3ee9/MMAE誘發80%反應率，而Xeloda之二劑量組別竟沒有動物顯現任何復原。所有組合處理組別均具良好耐受性且產生明顯之腫瘤生長抑制作用及反應率。組合此二製劑之TGI及腫瘤反應定量數據細節示於圖21a與21b、以及下文表3。於檢測之劑量中，3ee9/MMAE組合Xeloda[®]之抗-腫瘤活性遠優於單獨投與3ee9/MMAE或Xeloda[®]者。最後，關於耐受性，彼等治療劑之投與具良好耐受性無不利反應。

表 3

BAY 79-4620 (3ee9-IC)組合 Xeloda®之抗-腫瘤活性

處理	療程	劑量 毫克/公 斤/注射	抑制% (T/C) (第 17 天)	減重% (第 17 天)	復原 %
未處理	-	-	-	0.3	0
79-4620 (3ee9 cj)	Q4DX3 ; IV	1.25	30.6	0.5	0
79-4620 (3ee9 cj)	Q4DX3 ; IV	2.5	73	0.1	0
79-4620 (3ee9 cj)	Q4DX3 ; IV	10	96.2	0.9	80
Xeloda	Q1DX9 ; PO	250	78	-0.5	0
Xeloda	Q1DX9 ; PO	500	86.1	-5.6	0
<i>Xeloda (250 毫克/公斤)</i>					
79-4620 (3ee9cj)+Xeloda	Q4DX3 ; IV/Q1DX9 ; PO	1.25	92.1	-2	50
79-4620 (3ee9 cj)+Xeloda	Q4DX3 ; IV/Q1DX9 ; PO	2.5	91.4	-0.9	60
79-4620 (3ee9 cj)+Xeloda	Q4DX3 ; IV/Q1DX9 ; PO	10	97.5	-0.4	100
<i>Xeloda (500 毫克/公斤)</i>					
79-4620 (3ee9 cj)+Xeloda	Q4DX3 ; IV/Q1DX9 ; PO	1.25	94.2	-0.3	70
79-4620 (3ee9 cj)+Xeloda	Q4DX3 ; IV/Q1 DX9 ; PO	2.5	95.7	-3.2	90
79-4620 (3ee9 cj)+Xeloda	Q4DX3 ; IV/Q1DX9 ; PO	10	97.3	-1.4	100

實例 19 3ee9 mAb 對抗雙邊移植之人類異種移植癌症模式之活體內分佈/腫瘤定位

【00223】 為了測定3ee9/MMAE的mAb組成之活體內分佈及腫瘤定位，乃於接受展現高及低MN表現之腫瘤雙邊移植之小鼠中，使用CRI Maestro™進行非-侵入性活體內顯像研究。具有多頻譜顯像及分析之Maestro™活體內顯像系統(CRI, Woburn, MA)係設計用以消除自體螢光背景。根據廠商操作指南，使BAY 79-4620之Mabs 3ee9、M75 (單株識別MN之小鼠)及對照組人類IgG與Alexa Fluor750 (Invitrogen Cat# A20011)接合。3ee9之蛋白質/AF750(莫耳/莫耳)比為1/5.9，人類IgG為8.9及M75為6.0。

【00224】 於注射各螢光-標記抗體12天前，以MIAPaCa-2 (低MN表現；於50%Matrigel中之 7.5×10^6 個細胞)，自右脅腹皮下植入Harlan Balb/C裸鼠，並以huMN-MIAPaCa2 (MN轉染之穩定細胞株；於50%Matrigel中之 5×10^6 個細胞)自左脅腹皮下植入。於第0天(植入後12天)，注射4微克接合抗體於各動物。第4天、第5天及第10天進行顯像。使用經麻醉(100毫克/公斤氯胺酮/10毫克/公斤甲苯噻吡，i.p.)之動物收集數據，將動物置入顯像系統內。於包含近紅外線(NIR)範圍之680至950奈米整個光譜範圍內，每隔10奈米擷取影像，獲得多頻譜影像體(影像序列)。

【00225】 使各影像曝光5秒鐘；使用Maestro軟體自該頻譜體合成假色(False-colored)影像，並使用ImagePro Plus 6.0按比例調至可看見之亮度。所有影像調整尺度相同，使最亮之影像稍低於飽和量。多數螢光標記抗體有定位於肝臟及膀胱之傾向。4至5天後，多數訊號於是從肝臟及膀胱降低，使

腫瘤穩定。第5天拍攝之影像獲得最高之訊號背景比(圖22)。五天後，從注射hIgG動物產生之訊號很少，表示hIgG未能定位於腫瘤組織。對照之下，M75與3ee9二者均專一性地定位於高MN-表現(huMN-MIAPaCa2)之腫瘤。相同動物於低MN-表現之MIAPaCa2腫瘤中未觀察到定位。

實例 20. 活體內作用機制

【00226】 為了探測3ee9/MMAE之活體內作用機制，以 5×10^6 個HT-29腫瘤細胞自小鼠右脅腹進行皮下植入。八天後，具有HT-29腫瘤之無胸腺小鼠以載劑或以3ee9/MMAE處理，劑量為1.25及5毫克/公斤(Q1Dx1)。於投與3ee9/MMAE 1、3及5小時後，收集腫瘤，於福馬林中固定4小時。然後將試樣包埋於石蠟中，切成5微米片段，脫石蠟，使用標準實驗流程進行使用小鼠抗體：抗- α/β -微管蛋白、抗-磷酸-Histone H3、及DNA的人類組織之螢光免疫組織化學染色。然後於螢光顯微鏡下觀察載片，經由三個不同顏色通道(color channels)拍攝代表性影像。

【00227】 於該等4小時試樣中，3ee9/MMAE對於細胞機制之影響作用很小。然而，於第1天，呈G2/M阻滯之細胞數增加，多極紡錘體清楚可見。此外，可觀察到微管蛋白染色量降低。彼等作用接著於第3天及第5天試樣中高度增強。事實上，於第5天，幾乎所有5毫克/公斤3ee9/MMAE劑量組之細胞均嚴重地受處理之影響(圖23)。彼等數據明確地表示，3ee9/MMAE利用微管蛋白抑制作用，導致G2/M阻滯及細胞凋亡而影響癌症細胞之生長。

【00228】 下文表4摘述3ee9/MMAE之作用概況。

表 4

3ee9/MMAE 概況

測定法	3ee9/MMAE 之結果
親和性(Kd)	3.6 nM
細胞結合作用(FACS)：MN+/MN-	+++/-
內化作用：MN+/MN-	+++/-
胞毒性：MN+/MN- (ec50)	50 nM/>1 μ M
免疫沉澱	具專一性
IHC	具專一性
活體內分佈	正常
活體內活性：MED	1 毫克/公斤
活體內活性：MTD	60 毫克/公斤

實例 21. 使用穩定之 CHO 細胞表現系之以 3ee9 輕鏈及重鏈 CDR 可變區為基底之抗-MN IgGs 之表現載體構築、轉、表現與純化

表現載體 3ee9_{H+Lp}CMV_{UCOE8} 之構築

【00229】 如下述，將得自載體3ee9pMORPHx9 (根據實例1-3獲得)之 κ 及重鏈CDR可變區(分別為SEQ ID NOS: 126及125)插入載體H+LpattB (ML Laboratories)中。將得自3ee9pMORPHx9 (根據先前實例，例如實例1-3獲得)之大約350個鹼基對EcoRV - BsiWI限制切割酶片段插入H+LpattB之EcoRV - BsiWI限制切割酶部位以產生載體3ee9 κ pAttB。接著，將得自3ee9pMORPHx9 之大約350個鹼基對Mfel-BllpI限制切割酶片段插入3ee9 κ pAttB之EcoRI - BlnI限制切割酶部位以產生3ee9H+LpattB。然後使用Gateway BP Clonase II酵素混合物(Invitrogen Cat.# 11789-100)，使3ee9重鏈及輕

鏈編碼序列(分別為SEQ ID NOS: 126及125)與pDONR221 (Invitrogen Cat.# 12536-017)重組，產生載體3ee9H+LpENTR。載體3ee9H+LpCMV_{UCOE8}係使用 Gateway LR Clonase II 酵素混合物 (Invitrogen Cat.# 11791-100)，利用 3ee9H+LpENTR與pCMV_UCOE8_DEST間之重組而產生。

【00230】 pCMV_UCOE8_DEST之構築如下。將Gateway載體轉換匣 (Invitrogen Cat.# 11828-029) 插入 pCET906 之 SmaI 部位以產生載體 pCET906_gw。載體pCET906得自ML Laboratories，並於Williams et al., BMC Biotechnology, (2005), 5:17中有完整之敘述，將該文獻併入本文以資參考。然後將得自pCET906_gw之大約2900個鹼基對AgeI限制切割酶片段轉殖入pCET1015之AgeI部位以產生pCMV_UCOE8_DEST。載體pCET1015亦得自ML Laboratories，並見述於Williams et al., 文獻同上。使載體pCMV_UCOE8_DEST在對ccdB毒素基因具抗性(例如，得自Invitrogen (cat.#: C7510-03)之標註為 “One Shot ccdB Survival T1 cells” 者)之大腸桿菌菌株中增殖。3ee9H+LpCMV_{UCOE8}插入序列之完整核苷酸序列示於序列表中，亦即得自載體3ee9pMORPHx9之含有分別為SEQ ID NOS: 126及125之 κ 及重鏈CDR可變區之編碼人類IgG抗-MN抗體之完整核苷酸序列。

細胞轉殖體 3ee9.25 之單離

【00231】 欲以載體3ee9H+LpCMV_{UCOE8}轉染CHO-S細胞時，使60微克DNA於補充8mM L-麩胺鹽胺與HT (Invitrogen)及缺少PenStrep之2毫升CD CHO (Invitrogen #10743-029)中稀釋。接著，於250毫升錐形瓶中添加2毫升CD CHO完整培養基。然後，於該瓶中添加150微升DMRIE-C (Invitrogen

cat#10459-014)，於室溫培育10分鐘。接著，使稀釋後之DNA與稀釋後之DMRIE-C混合，以5%CO₂沖洗，於室溫培育30分鐘。培育期間，於CD CHO完整培養基(無P/S)中製備濃度為 5×10^6 個細胞/毫升(總細胞數 2×10^7 個)之4毫升CHO-S細胞。培育後，添加細胞至具有DNA-DMRIE-C複合物之錐形瓶中，然後輕輕旋轉使混合。然後以5%CO₂沖洗該瓶，於125 rpm，37°C振盪4小時。接著，於瓶中添加無PenStrep之32毫升CD CHO完整培養基，以5%CO₂沖洗，然後放回振盪器中(37°C)隔夜。24小時後，計數細胞，離心，使其以供盤培養用之適當細胞密度再懸浮於加上具有20%條件培養基之5.5毫升/升PenStrep與抗生素(12.5微克/毫升嘌呤黴素)之CD CHO完整培養基中。於96槽盤中，以每槽100、300、900、及2700個細胞密度進行盤培養。於5%CO₂培養箱中培養諸盤大約3週，培養期間小心地不造成干擾。

【00232】 從得自盤上小於20%之槽含有單一菌落之槽盤擴充個別轉殖株。使細胞擴增至未經組織處理之24槽盤，每槽具有1毫升選擇性培養基。培養細胞約1週，其間依需要添加500微升新鮮培養基。經單一稀釋即測試抗體表現，以排除未表現之轉殖株。利用ELISA (二重複)測試轉殖株，使用1:5稀釋(5微升上澄液，於95微升TBS/tween中)。排除OD (光密度)低於0.1之轉殖株。將正轉殖株擴增至未經組織處理之6槽盤。接著以 4×10^4 個細胞/毫升之濃度接種5毫升細胞。培養4天後，利用ELISA測定蛋白質表現。使用1:50、1:100、1:200、及1:400之稀釋比率測試轉殖株。轉殖株3ee9.25展現最高之分泌抗體濃度。將該等3ee9.25細胞移入125毫升錐形振盪瓶中，使細胞適應懸浮液生長，接種濃度為 2×10^5 個細胞/毫升。

抗-MN IgGs 之表現

【00233】 以500,000個細胞/毫升之濃度，將轉染之CHO-S細胞接種入 Wave 10 Liter Bioreactor (Wave Biotech, 300 Franklin Square Drive, Somerset, New Jersey, 08873, USA)中。37°C、5%CO₂氛圍、生物反應器以25 rpm擺動下，於50% CD-CHO培養基(Invitrogen 10743)、50% Sigma CHO培養基Number 5 (Sigma 0363)、1%FCS、1x HT補充物(Invitrogen 11067-030)、青黴素/鏈黴素(Invitrogen 15140-122)、8 mM L-麩胺鹽胺(Invitrogen 25030-081)、與12.5微克/毫升嘌呤黴素(BD 631305)中，培養該等細胞7天。發酵期結束時，離心獲取耗盡之培養基，於IgG純化前，予以無菌過濾(0.2 μ M)。

抗-MN IgGs 之純化

【00234】 典型地，使用Prep-Scale TFF-2 30 kD Cartridge (Millipore)，將10至20升含IgG之細胞培養基濃縮2至5倍。添加1M Tris-Cl緩衝液(pH 7.5)至該濃縮培養基中，至最終濃度為50 mM。接著添加5.0 M NaCl至最終濃度為150 mM。典型地將該濃縮培養基裝填於以PBS (pH 7.4)平衡之30毫升Protein Sepharose管柱。以含0.1% Tween 20及1 mM EDTA之PBS (pH 7.4)洗滌管柱。接著以PBS洗滌管柱，及以100 mM甘胺酸緩衝液(pH 3.0)溶洗。收集溶離份後，以1M Tris-Cl (pH 7.8)將其中和至pH 7.5。利用透析將已純化之IgGs移入PBS中，進行無菌過濾(0.2 μ M)。將最終之純化抗體製劑調至濃度介於1及5 毫克/毫升之間，利用以科麥西(coomassie)藍染色之SDS PAGE凝膠測定結果，展現 $\geq 95\%$ 之純度，其中蛋白質呈相當於Mr = 50 kDa之重鏈及Mr = 25 kDa之輕鏈之二色帶移動；經SEC HPLC測定，具有其量小於1 EU/毫克蛋白

質之內毒素，及小於10%之蛋白質聚集體。亦進行製劑之功能性品管分析：利用表面電漿共振法測定抗原結合作用；利用FACS測定與MN表現細胞之結合作用；及利用自動顯像法(Cellomics)測定至MN表現細胞中之內化作用。20升之組合發酵典型地獲得1克純化蛋白質，總回收率為50至75%。使用ABI Procise 494 HT定序儀進行255微微莫耳經純化之全長3ee9抗體最終製劑之N端定序，獲得368微微莫耳成熟 κ 輕鏈之下述預期序列：

DIQMTQSPSSLASVGDRVITRASQDINNYLSWYQQKP-；與相當於 mAb 3ee9 成熟 V κ 1 輕鏈(SEQ ID NO: 146)之 N 端序列相同。以 Edman 定序法未檢測出重鏈，證實其序列被封阻。

【00235】 經詳加敘述本發明之較佳具體實例後，須瞭解的是，上述章節所界定之本發明不擬受限於上文說明書提出之特定細節，在不偏離本發明精神或範圍下，可能於其中進行許多顯見之變化。

【00236】 下列表5至表9中，表5為上述抗體互補決定區(CDRs)之諸DNA序列；表6為上述抗體互補決定區(CDRs)之諸蛋白質序列；表7為上述描述特定抗體輕鏈及重鏈可變區之諸DNA序列，各者均含CDRs與架構區二者；表8為上述特定抗體輕鏈(VL)及重鏈(VH)可變區之諸蛋白質序列，各者均含CDRs與架構區二者；表9為上述有關本發明MN抗體之MN - 結合性質。

表 5a

SEQ ID NO	CDR	DNA 序列	Fab 代號
	VH3-CD R1		

SEQ ID NO	CDR	DNA 序列	Fab 代號
1	1	GGATTTACCTTTTCTTCTTATGGTATGTCT	3ee9
2	2	GGATTTACCTTTTCTTCTTATGGTATGCAT	3ef2
3	3	GGATTTACCTTTTCTAATAATGCTATGAAT	1e4
4	4	GGATTTACCTTTTCTGATTATTCTATTAAT	3a4
5	5	GGATTTACCTTTTCTTCTTATGGTATTTCT	3ab4, 3ah10
6	6	GGATTTACCTTTTCTAATTATGGTATTTCT	3bb2
	VH3-CD R2		
7	1	GGTATCTCTTCTCTTGGTAGCACTACCTAT TATGCGGATAGCGTGAAAGGC	3ee9
8	2	GCTATCTCTTATTCTTCTAGCTCTACCTCTT ATGCGGATAGCGTGAAAGGC	3ef2
9	3	GGTATCTCTTATGATTCTAGCAAGACCTAT TATGCGGATAGCGTGAAAGGC	1e4
10	4	AATATCTCTTATTCTGGTAGCTCTACCTAT TATGCGGATAGCGTGAAAGGC	3a4
11	5	GGTATCTCTTATTCTGGTAGCTCTACCTAT TATGCGGATAGCGTGAAAGGC	3ab4
12	6	TCTATCTCTTATTCTGGTAGCAATACCTAT TATGCGGATAGCGTGAAAGGC	3ah10
13	7	GCTATCTCTTATTATGGTAGCAATACCTAT TATGCGGATAGCGTGAAAGGC	3bb2
	VH3-CD R3		
14	1	ACTGGTTCTCCTGGTACTTTTATGCATGGT GATCAT	3ee9
15	2	CTTTCTTATACTGGTTTTGCTGTT	3ef2
16	3	CTTACTTATACTGGTGCTTATCGT	1e4
17	4	TTTAAGTATTCTGGTGGTTCTGATTCT	3a4

SEQ ID NO	CDR	DNA 序列	Fab 代號
18	5	CTTAAGCCTTATCGTCATAAGAATGGTTGGTTTGATTAT	3ab4
19	6	ATGAAGCCTATGCGTGGTTATTCTGGTGCTGTT	3ah10
20	7	CTTAAGGGTGGTTCTGGTTTTGTT	3bb2

表 5b

SEQ ID NO	CDR	DNA 序列	Fab 代號
	VH1b-C DR1		
21	1	GGATATACCTTTACTACTAATTATATGCAT	1aa1
	VH1b-C DR2		
22	1	ATTATCAATCCGCATAATGGCTCTACGTCTTACGCGCAGAAGTTTCAGGGC	1aa1
	VH1b-C DR3		
23	1	GGTCGTTATTTTCTTATGGATGTT	1aa1
	VH5-CD R1		
24	1	GGATATTCCTTTTCTAAGTATTGGATTGGT	5a6
25	2	GGATATTCCTTTACTGGTTATATTTCT	5aa3
	VH5-CD R2		
26	1	ATTATCTATCCGACTGATAGCTATAACCCGT TATTCTCCGAGCTTTCAGGGC	5a6
27	2	ATTATCTATCCGGGTGATAGCTATAACCAAT TATTCTCCGAGCTTTCAGGGC	5aa3
	VH5-CD R3		
28	1	ACTCATGGTTATTATAAGAATGGTCGTATG GATGTT	5a6
29	2	TATTCTGGTCCTAATTGGGATGTTATGGAT TCT	5aa3
SEQ ID NO	CDR	DNA 序列	Fab 代號
	Vk1-CD		

SEQ ID NO	CDR	DNA 序列	Fab 代號
	R1		
30	1	AGAGCGAGCCAGAATATTCTTTCTTATCTG AAT	1aa1
31	2	AGAGCGAGCCAGAATATTCTAATTATCTG AAT	3ab4
32	3	AGAGCGAGCCAGGATATTCTAATCGTCT GGCT	3ah10
33	4	AGAGCGAGCCAGGATATTAATAATTATCT GTCT	3ee9

表 5c

SEQ ID NO	CDR	DNA 序列	Fab 代號
	VLk1-C DR2		
34	1	TATGCTGCTTCTTCTTTGCAAAGC	1aa1
35	2	CATAAGGTTTCTAATTTGCAAAGC	3ab4
36	3	TATGATGCTAATTCTTTGCAAAGC	3ah10
37	4	TATGGTGCTTCTAATTTGCAAAGC	3ee9
	VLk1-C DR3		
38	1	CAGCAGTATGGTTCTGTTTCCT	1aa1
39	2	CTTCAGTATGATGATTTTCCTCGT	3ab4
40	3	TTTCAGTATTCTGGTCCT	3ah10
41	4	CAGCAGTATTATGGTCGTCCTACT	3ee9
	VLk2-C DR1		
42	1	AGAAGCAGCCAAAGCCTGGTTTATTCTAA TGGCAATACTACTCTGTCT	3bb2
43	2	AGAAGCAGCCAAAGCCTGGTTCATTCTAA TGGCTATAATTATCTGTCT	5a6
	VLk2-C DR2		
44	1	TATGGTGTTTCTAATCGTGCCAGT	3bb2
45	2	TATCTTGGTTCTAATCGTGCCAGT	5a6
	VLk2-C DR3		
46	1	CAGCAGTATAATTCTTTTCCTCGT	3bb2
47	2	CATCAGTATGGTGATTTTCTGAT	5a6
	VLλ1-C DR1		
48	1	AGCGGCAGCAGCAGCAACATTGGTTCTTA TTATGTGAAT	5aa3
	VLλ1-C DR2		

SEQ ID NO	CDR	DNA 序列	Fab 代號
49	1	CTTCTGATTTATGCTGATGATAAGCGTCCC TCA	5aa3

表 5d

SEQ ID NO	CDR	DNA 序列	Fab 代號
	VL λ 1-C DR3		
50	1	CAGTCTTATGATTCTACTAAGGATGATTCT	5aa3
	VL λ 3-C DR1		
51	1	AGCGGCGATAATCTTGGTTCTTATTATGTT CAT	1e4, 3ef2
52	2	AGCGGCGATAATCTTCCTGATTTTTATGTT CAT	3a4
	VL λ 3-C DR2		
53	1	CTTGTGATTTATGATGATAATAATCGTCCC TCA	1e4, 3ef2
54	2	CTTGTGATTTCTGAGGATAATAAGCGTCCC TCA	3a4
	VL λ 3-C DR3		
55	1	CAGTCTTATGATTTTGGTAAGGTT	1e4, 3ef2
56	2	TCTACTTATGGTTATACTTATTCTTATTCT	3a4

表 6a

SEQ ID NO	CDR	胺基酸序列	Fab 代號
	VH3-CD R1		
57	1	GFTFSSYGMS	3ee9
58	2	GFTFSSYGMH	3ef2
59	3	GFTFSNNAMN	1e4
60	4	GFTFSDYSIN	3a4
61	5	GFTFSSYGIS	3ab4, 3ah10
62	6	GFTFSNYGIS	3bb2
	VH3-CD R2		
63	1	GISSLGSTTTYADSVKG	3ee9
64	2	AISSSSSTSYADSVKG	3ef2
65	3	GISYDSSKTTYADSVKG	1e4
66	4	NISYSGSSTTYADSVKG	3a4
67	5	GISYSGSSTTYADSVKG	3ab4
68	6	SISYSGSNTTYADSVKG	3ah10
69	7	AISSYGSNTTYADSVKG	3bb2

	VH3-CD R3		
70	1	TGSPGTFMHGDH	3ee9
71	2	LSYTGFVAV	3ef2
72	3	LTYTGAYR	1e4
73	4	FKYSGGSDS	3a4
74	5	LKPYRHKNGWFDY	3ab4
75	6	MKPMRGYSGAV	3ah10
76	7	LKGGSGFV	3bb2
	VH1b-CD R1		
77	1	GYTFTTNMYH	1aa1
	VH1b-CD R2		
78	1	IINPHNGSTSYAQKFQG	1aa1
	VH1b-CD R3		
79	1	GRYFLMDV	1aa1
	VH5-CD R1		
80	1	GYSFSKYWIG	5a6
81	2	GYSFTGYIS	5aa3

表 6b

SEQ ID NO	CDR	胺基酸序列	Fab 代號
	VH5-CD R2		
82	1	IYPTDSYTRYSPSFOG	5a6
83	2	IYPGDSYTNYSFSFOG	5aa3
	VH5-CD R3		
84	1	THGYKNGRMDV	5a6
85	2	YSGPNWDVMDV	5aa3
	VLk1-CD R1		
86	1	RASONILSYLN	1aa1
87	2	RASONISNYLN	3ab4
88	3	RASQDISNRLA	3ah10
89	4	RASQDINNYLS	3ee9
	VLk1-CD R2		
90	1	YAASSLOS	1aa1
91	2	HKVSNLOS	3ab4
92	3	YDANSLOS	3ah10
93	4	YGASNLOS	3ee9
	VLk1-CD R3		
94	1	QOYGSVP	1aa1
95	2	LOYDDFPR	3ab4
96	3	FOYSGP	3ah10
97	4	QOYYGRPT	3ee9
	VLk2-CD R1		
98	1	RSSQSLVYSNGNTLS	3bb2

99	2	RSSQSLVHSNGYNYLS	5a6
	VLK2-CD R2		
100	1	YGVSNRAS	3bb2
101	2	YLGSNRAS	5a6
	VLK2-CD R3		
102	1	QQYNSFPR	3bb2
103	2	HQYGDFSD	5a6

表 6c

SEQ ID NO	CDR	胺基酸序列	Fab 代號
	VLλ1-CD R1		
104	1	SGSSSNIGSYIVN	5aa3
	VLλ1-CD R2		
105	1	LLIYADDKRPS	5aa3
	VLλ1-CD R3		
106	1	QSYDSTKDDS	5aa3
	VLλ3-CD R1		
107	1	SGDNLGSYYVH	1e4, 3ef2
108	2	SGDNLPDFYVH	3a4
	VLλ3-CD R2		
109	1	LVIYDDNNRPS	1e4, 3ef2
110	2	LVI SEDNKRPS	3a4
	VLλ3-CD R3		
111	1	QSYDFGKV	1e4, 3ef2
112	2	STYGYTYSYS	3a4

表 7a

SEQ ID NO	抗體鏈	DNA 序列	Fab 代號
113	VH1b	GAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAA AAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGTGAGCTGC AAAGCCTCCGGATATACCTTTACTACTAATT ATATGCATTGGGTCCGCCAAGCCCCTGGGCA GGGTCTCGAGTGGATGGGCATTATCAATCCG CATAATGGCTCTACGTCTTACGCGCAGAAGT TTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATAC CAGCATTAGCACCGCGTATATGGAAGTGAAGC AGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATT ATTGCGCGCGTGGTCGTTATTTTCTTATGGAT GTTTGGGGCCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTA GCTCAGC	1a1

114	Vk1	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGTCTAGCC TGAGCGCGAGCGTGGGTGATCGTGTGACCAT TACCTGCAGAGCGAGCCAGAATATTCTTTCT TATCTGAATTGGTACCAGCAGAAACCAGGTA AAGCACCGAAACTATTAATTTATGCTGCTTC TTCTTTGCAAAGCGGGGTCCCGTCCCGTTT AGCGGCTCTGGATCCGGCACTGATTTTACCC TGACCATTAGCAGCCTGCAACCTGAAGACTT TGCGGTTTATTATTGCCAGCAGTATGGTTCT GTTCTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTG AAATTAAACGTACG	1aa1
115	VH3	GAATTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTG CAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGC GCGGCCTCCGGATTTACCTTTTCTAATAATG CTATGAATTGGGTGCGCCAAGCCCCCTGGGAA GGGTCTCGAGTGGGTGAGCGGTATCTCTTAT GATTCTAGCAAGACCTATTATGCGGATAGCG TGAAAGGCCGTTTTACCATTTCACGTGATAA TTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAAC AGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGTATT ATTGCGCGCGTCTTACTTATACTGGTGCTTA TCGTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTT AGCTCAGC	1e4
116	VL3	GATATCGAACTGACCCAGCCGCCTTCAGTGA GCGTTGCACCAGGTCAGACCGCGCGTATCTC GTGTAGCGGCGATAATCTTGGTTCTTATTAT GTTCAATTGGTACCAGCAGAAACCCGGGCAG GCGCCAGTTCTTGTGATTTATGATGATAATA ATCGTCCCTCAGGCATCCCGGAACGCTTTAG CGGATCCAACAGCGGCAACACCGCGACCCT GACCATTAGCGGCACTCAGGCGGAAGACGA AGCGGATTATTATTGCCAGTCTTATGATTTT GGTAAGGTTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGT TAAC	1e4

表 7b

SEQ ID NO	抗體鏈	DNA 序列	Fab 代號
117	VH3	GAATTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTG CAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGC GCGGCCTCCGGATTTACCTTTTCTGATTATTC TATTAATTGGGTGCGCCAAGCCCCCTGGGAAG GGTCTCGAGTATGTGAGCAATATCTCTTATT CTGGTAGCTCTACCTATTATGCGGATAGCGT GAAAGGCCGTTTTACCATTTCACGTGATAAT TCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACA GCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGTATTA TTGCGCGCGTTTTAAGTATTCTGGTGGTTCTG ATTCTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGT TAGCTCAGC	3a4
118	VL3	GATATCGAACTGACCCAGCCGCCTTCAGTGA GCGTTGCACCAGGTCAGACCGCGCGTATCTC GTGTAGCGGCGATAATCTTCTGATTTTAT GTTCAATTGGTACCAGCAGAAACCCGGGCAG	3a4

		GCGCCAGTTCTTGTGATTCTGAGGATAATA AGCGTCCCTCAGGCATCCCGGAACGCTTTAG CGGATCCAACAGCGGCAACACCGCGACCCCT GACCATTAGCGGCACTCAGGCGGAAGACGA AGCGGATTATTATTGCTCTACTTATGGTTAT ACTTATTCTTATTCTGTGTTTGGCGGCGGCA CGAAGTTAAC	
119	VH3	GAATTGGTGGAAAGCGGCGGGCGGCCTGGTG CAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGC GCGGCCTCCGGATTACCTTTTCTTCTTATGG TATTTCTTGGGTGCGCCAAGCCCCCTGGGAAG GGTCTCGAGTGGGTGAGCGGTATCTCTTATT CTGGTAGCTCTACCTATTATGCGGATAGCGT GAAAGGCCGTTTTACCATTTACGTGATAAT TCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACA GCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGTATTA TTGCGCGCGTCTTAAGCCTTATCGTCATAAG AATGGTTGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCA CCCTGGTGACGGTTAGCTCAGC	3ab4
120	Vk1	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGTCTAGCC TGAGCGCGAGCGTGGGTGATCGTGTGACCAT TACCTGCAGAGCGAGCCAGAATATTTCTAAT TATCTGAATTGGTACCAGCAGAAACCAGGTA AAGCACCGAAACTATTAATTCATAAGGTTTC TAATTTGCAAAGCGGGGTCCCGTCCCGTTTT AGCGGCTCTGGATCCGGCACTGATTTTACCC TGACCATTAGCAGCCTGCAACCTGAAGACTT TGCGGTTTTATTATTGCCTTCAGTATGATGATT TTCCTCGTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGT TGAAATTAAACGTACG	3ab4

表 7c

SEQ ID NO	抗體鏈	DNA 序列	Fab 代號
121	VH3	GAATTGGTGGAAAGCGGCGGGCGGCCTGGTG CAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGC GCGGCCTCCGGATTACCTTTTCTTCTTATGG TATTTCTTGGGTGCGCCAAGCCCCCTGGGAAG GGTCTCGAGTGGGTGAGCTCTATCTCTTATT CTGGTAGCAATACCTATTATGCGGATAGCGT GAAAGGCCGTTTTACCATTTACGTGATAAT TCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACA GCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGTATTA TTGCGCGCGTATGAAGCCTATGCGTGGTTAT TCTGGTGCTGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGG TGACGGTTAGCTCAGC	3ah10
122	Vk1	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGTCTAGCC TGAGCGCGAGCGTGGGTGATCGTGTGACCAT TACCTGCAGAGCGAGCCAGGATATTTCTAAT CGTCTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGTA AAGCACCGAAACTATTAATTTATGATGCTAA TTCTTTGCAAAGCGGGGTCCCGTCCCGTTTT AGCGGCTCTGGATCCGGCACTGATTTTACCC TGACCATTAGCAGCCTGCAACCTGAAGACTT TGCGACTTATTATTGCTTTCAGTATTCTGGTC	3ah10

		CTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAAAT TAAACGTACG	
123	VH3	GAATTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTG CAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGC GCGGCCTCCGGATTTACCTTTTCTAATTATG GTATTTCTTGGGTGCGCCAAGCCCCCTGGGAA GGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCTATCTCTTAT TATGGTAGCAATACCTATTATGCGGATAGCG TGAAAGGCCGTTTTACCATTTCACGTGATAA TTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAAC AGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGTATT ATTGCGCGCGTCTTAAGGGTGGTTCTGGTTT TGTTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTT AGCTCAGC	3bb2
124	Vk2	GATATCGTGATGACCCAGAGCCCACTGAGCC TGCCAGTGACTCCGGGCGAGCCTGCGAGCAT TAGCTGCAGAAGCAGCCAAAGCCTGGTTTAT TCTAATGGCAATACTACTCTGTCTTGGTACC TTCAAAAACCAGGTCAAAGCCCCGCAGCTATT AATTTATGGTGTTCCTAATCGTGCCAGTGGG GTCCCGGATCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCG GCACCGATTTTACCCTGAAAATTAGCCGTGT GGAAGCTGAAGACGTGGGCGTGTATTATTGC CAGCAGTATAATTCTTTTCTCGTACCTTTGG CCAGGGTACGAAAGTTGAAATTAAACGTAC G	3bb2

表 7d

SEQ ID NO	抗體鏈	DNA 序列	Fab 代號
125	VH3	GAATTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTG CAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGC GCGGCCTCCGGATTTACCTTTTCTTCTTATGG TATGTCTTGGGTGCGCCAAGCCCCCTGGGAAAG GGTCTCGAGTGGGTGAGCGGTATCTCTTCTC TTGGTAGCACTACCTATTATGCGGATAGCGT GAAAGGCCGTTTTACCATTTCACGTGATAAT TCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACA GCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGTATTA TTGCGCGCGTACTGGTTCTCCTGGTACTTTTA TGCATGGTGATCATTGGGGCCAAGGCACCCT GGTGACGGTTAGCTCAGC	3ee9
126	Vk1	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGTCTAGCC TGAGCGCGAGCGTGGGTGATCGTGTGACCAT TACCTGCAGAGCGAGCCAGGATATTAATAAT TATCTGTCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGTA AAGCACCGAAACTATTAATTTATGGTGCTTC TAATTTGCAAAGCGGGGTCCCGTCCCGTTTT AGCGGCTCTGGATCCGGCACTGATTTTACCC TGACCATTAGCAGCCTGCAACCTGAAGACTT TGCGGTTTATTATTGCCAGCAGTATTATGGT CGTCCTACTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAG TTGAAATTAAACGTACG	3ee9
127	VH5	GAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAA	5a6

		AAACCGGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGC AAAGGTTCCGGATATTCTTTTCTAAGTATT GGATTGGTTGGGTGCGCCAGATGCCTGGGA AGGGTCTCGAGTGGATGGGCATTATCTATCC GACTGATAGCTATAACCGTTATTCTCCGAGC TTTCAGGGCCAGGTGACCATTAGCGCGGATA AAAGCATTAGCACCGCGTATCTTCAATGGAG CAGCCTGAAAGCGAGCGATACGGCCATGTA TTATTGCGCGCGTACTCATGGTTATTATAAG AATGGTCGTATGGATGTTTGGGGCCAAGGCA CCCTGGTGACGGTTAGCTCAGC	
128	Vk2	GATATCGTGATGACCCAGAGCCCCACTGAGCC TGCCAGTGACTCCGGGGCGAGCCTGCGAGCAT TAGCTGCAGAAGCAGCCAAAGCCTGGTTCAT TCTAATGGCTATAATTATCTGTCTTGGTACCT TCAAAAACCGAGGTCAAAGCCCCGCAGCTATT AATTTATCTTGGTTCTAATCGTGCCAGTGGG GTCCCGGATCGTTTTAGCGGCTCTGGATCCG GCACCGATTTTACCCTGAAAATTAGCCGTGT GGAAGCTGAAGACGTGGGCGTGTATTATTGC CATCAGTATGGTGATTTTTCTGATACCTTTGG CCAGGGTACGAAAGTTGAAATTAAACGTAC G	5a6

表 7e

SEQ ID NO	抗體鏈	DNA 序列	Fab 代號
129	VH5	GAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAA AAACCGGGCGAAAGCCTGAAAATTAGCTGC AAAGGTTCCGGATATTCTTTTACTGGTTATA TTTCTTGGGTGCGCCAAGCCCCCTGGGAAGGG TCTCGAGTGGATGGGCATTATCTATCCGGGT GATAGCTATAACCAATTATTCTCCGAGCTTTC AGGGCCAGGTGACCATTAGCGCGGATAAAA GCATTAGCACCGCGTATCTTCAATGGAGCAG CCTGAAAGCGAGCGATACGGCCATGTATTAT TGCGCGCGTTATTCTGGTCCTAATTGGGATG TTATGGATTCTTGGGGCCAAGGCACCCTGGT GACGGTTAGCTCAGC	5aa3
130	VL1	GATATCGTGCTGACCCAGCCGCCTTCAGTGA GTGGCGCACCAGGTGAGCGTGTGACCATCTC GTGTAGCGGCAGCAGCAGCAACATTGGTTCT TATTATGTGAATTGGTACCAGCAGTTGCCCG GGACGGCGCCGAAACTTCTGATTTATGCTGA TGATAAGCGTCCCTCAGGCGTGCCGGATCGT TTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGCGCG AGCCTTGCGATTACGGGCCTGCAAAGCGAA GACGAAGCGGATTATTATTGCCAGTCTTATG ATTCTACTAAGGATGATTCTGTGTTTGGCGG CGGCACGAAGTTAAC	5aa3
131	VH3	GAATTGGTGGAAAGCGGCGGGCGGCCTGGTG CAACCGGGCGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGC GCGGCCTCCGGATTACCTTTTCTTCTTATGG TATGCATTGGGTGCGCCAAGCCCCCTGGGAAG GGTCTCGAGTATGTGAGCGCTATCTCTTATT	3ef2

		CTTCTAGCTCTACCTCTTATGCGGATAGCGT GAAAGGCCGTTTTACCATTTACAGTGATAAT TCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACA GCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTGTATTA TTGCGCGCGTCTTTCTTATACTGGTTTTGCTG TTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAG CTCAGC	
132	VL3	GATATCGAACTGACCCAGCCGCTTCAGTGA GCGTTGCACCAGGTCAGACCGCGCGTATCTC GTGTAGCGGCGATAATCTTGGTTCTTATTAT GTTCAATTGGTACCAGCAGAAACCCGGGCAG GCGCCAGTTCTTGTGATTTATGATGATAATA ATCGTCCCTCAGGCATCCCGGAACGCTTTAG CGGATCCAACAGCGGCAACACCGCGACCCT GACCATTAGCGGCACTCAGGCGGAAGACGA AGCGGATTATTATTGCCAGTCTTATGATTTT GGTAAGGTTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGT TAAC	3ef2

表 8a

SEQ ID NO	抗體鏈	蛋白質序列	Fab 代號
133	VH1b	ELVOSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTNY MHWVROAPGOOGLEWMGIINPHNGSTSYAOK FQGRVTMTRDTSISTA YMELSSLRSED TAVYY CARGRYFLMDVWGOGTLVTVSS	1aa1
134	Vk1	DIOMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASONILSYL NWYQOKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYGSVPTF GOGTKVEIKRT	1aa1
135	VH3	ELVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNNAM NWVROAPGKGLEWVSGISYDSSKTYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLOMNSLRAEDTAVYYC ARLTYTGAYRWGOGTLVTVSS	1e4
136	VL3	DIELTOPPSVSVAPGOTARISCSGDNLGSYVH WYQOKPGQAPVLVIYDDNNRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYDFGKVVF GGGKLTVL	1e4
137	VH3	ELVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYSIN WVROAPGKGLE YVSNISYSGSSTYYADSVKG RFTISRDN SKNTLYLOMNSLRAEDTAVYYCA RFKYSGGSDSWGOGTLVTVSS	3a4
138	VL3	DIELTOPPSVSVAPGOTARISCSGDNLPDFYVH WYQOKPGQAPVLVISEDNKRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISGTQAEDEADYYCSTYGYTYSYS VFGGGTKL	3a4
139	VH3	ELVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGIS WVROAPGKGLEWVSGISYSGSSTYYADSVKG RFTISRDN SKNTLYLOMNSLRAEDTAVYYCA RLKPYRHKNGWFDYWGOGTLVTVSS	3ab4
140	Vk1	DIOMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASONISNYL NWYQOKPGKAPKLLIHKVSNLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCLQYDDFPRTF GOGTKVEIKRT	3ab4

141	VH3	ELVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGIS WVROAPGKGLEWVSSISYSGSNTYYADSVKG RFTISRDN SKNTLYLOMNSLRAEDTAVYYCA RMKPMRGYSGAVWGQGTLVTVSS	3ah10
142	Vk1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDISNRL AWYQOKPGKAPKLLIYDANSLOSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQYSGPTFGQ GTKVEIKRT	3ah10

表 8b

SEQ ID NO	抗體鏈	蛋白質序列	Fab 代號
143	VH3	ELVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGIS WVROAPGKGLEWVSAISYSGSNTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLOMNSLRAEDTAVYYC ARLKGGSGFVWGQGTLVTVSS	3bb2
144	Vk2	DIVMTQSPSLPVTTPGEPASISCRSSOSLVYSN GNTTLSWYLOKPGOSPOLLIYGVSNRASGVDP RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQYN SFPRTFGQGTKVEIKRT	3bb2
145	VH3	ELVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGM SWVROAPGKGLEWVSGISLGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLOMNSLRAEDTAVYYC ARTGSPGTFMHGDHWGQGTLVTVSS	3ee9
146	Vk1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDINNYL SWYQOKPGKAPKLLIYGASNLOSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYYGRPTT FGQGTKVEIKRT	3ee9
147	VH5	ELVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSKYWI GWVROMPGKGLEWMGIIYPTDSYTRYSPSFQ QVTISADKSISTAYLOWSSLKASDTAMYCYC ARTHGYKNGRMDVWGQGTLVTVSS	5a6
148	Vk2	DIVMTQSPSLPVTTPGEPASISCRSSOSLVHSN GYNYSWYLOKPGOSPOLLIYLGSNRASGVDP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCHQY GDFSDFGQGTKVEIKRT	5a6
149	VH5	ELVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTGYIS WVROAPGKGLEWMGIIYPGDSYTNYSFSFQ QVTISADKSISTAYLOWSSLKASDTAMYCYCAR YSGPNWDVMDSWGQGTLVTVSS	5aa3
150	VL1	DIVLTQPPSVSGAPGQRTVITSCSGSSSNIGSYY VNWYQQLPGTAPKLLIYADDKRPSGVDPDRFS GSKSGTSASLAITGLQSEDEADYYCQSYDSTK DDSVFGGGTKL	5aa3
151	VH3	ELVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGM HWVROAPGKGLEYSASISYSSSSTSYADSVKG RFTISRDN SKNTLYLOMNSLRAEDTAVYYCA RLSYTGFAVWGQGTLVTVSS	3ef2

表 8c

SEQ ID NO	抗體鏈	蛋白質序列	Fab 代號
152	VL3	DIELTOPPSVSVAPGOTARISCSGDNLGSYYVH WYQOKPGQAPVLVIYDDNNRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYDFGKVVF GGGTKL	3ef2

表 9

抗體	所用抗體形式	與於 HKB-11 細胞中表現之純化人類 MN 之 ELISA 結合作用	與於 Sf9 細胞中表現之純化人類 MN 之 ELISA 結合作用	與於 HKB-11 細胞中表現之純化人類 MN 之結合親合性 Kd (M)
1aa1	純 Fab	確定	確定	1.5×10^{-10}
1aa1	純 IgG1	確定	ND ¹	4.9×10^{-8}
1e4	純 Fab	確定	ND	1.4×10^{-9}
1e4	純 IgG1	確定	ND	1.0×10^{-9}
3a4		確定	確定	
3ab4	純 Fab	確定	確定	5.0×10^{-8}
3ah10	純 Fab	確定	ND	1.6×10^{-8}
3bb2	純 Fab	確定	ND	2.7×10^{-8}
3ee9	粗 Fab	確定	確定	1.6×10^{-8}
3ee9	純 IgG1	確定	ND	5.9×10^{-9}
5a6	粗 Fab	確定	確定	3.4×10^{-9}
5aa3	粗 Fab	確定	確定	2.5×10^{-8}
3ef2	粗 Fab	確定	確定	4.1×10^{-9}

¹ND = 未測定

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

無

102100-BAYHCLLC-序列表
序列表

<110> 拜耳保健有限責任公司

<120> 抗-MN抗體及使用彼等之方法

<130> TW95146346

<140>

<141>

<150>

<151>

<160> 153

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 30

<212> DNA

<213> 智人

<400> 1

ggatttacct tttcttctta tggatgtct

30

<210> 2

<211> 30

<212> DNA

<213> 智人

<400> 2

ggatttacct tttcttctta tggatgcat

30

<210> 3

<211> 30

<212> DNA

<213> 智人

<400> 3

ggatttacct tttctaataa tgctatgaat

30

<210> 4

<211> 30

<212> DNA

<213> 智人

<400> 4

ggatttacct tttctgatta ttctattaat

30

102100-BAYHCLLC-序列表

<210> 5
<211> 30
<212> DNA
<213> 智人

<400> 5
ggatttacct tttcttctta tggatatttct 30

<210> 6
<211> 30
<212> DNA
<213> 智人

<400> 6
ggatttacct tttctaatta tggatatttct 30

<210> 7
<211> 51
<212> DNA
<213> 智人

<400> 7
ggtatctctt ctcttggttag cactacctat tatgcggata gcgtgaaagg c 51

<210> 8
<211> 51
<212> DNA
<213> 智人

<400> 8
gctatctctt attcttcttag ctctacctct tatgcggata gcgtgaaagg c 51

<210> 9
<211> 51
<212> DNA
<213> 智人

<400> 9
ggtatctctt atgattcttag caagacctat tatgcggata gcgtgaaagg c 51

<210> 10
<211> 51
<212> DNA
<213> 智人

<400> 10
aatactctctt attcttggttag ctctacctat tatgcggata gcgtgaaagg c 51

<210> 11

102100-BAYHCLLC-序列表

<211> 51	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 11	
ggtatctcttt attctggtag ctctacctat tatgcggata gcgtgaaagg c	51
<210> 12	
<211> 51	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 12	
tctatctcttt attctggtag caataacctat tatgcggata gcgtgaaagg c	51
<210> 13	
<211> 51	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 13	
gctatctcttt attatggtag caataacctat tatgcggata gcgtgaaagg c	51
<210> 14	
<211> 36	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 14	
actggttctc ctggtacttt tatgcatggt gatcat	36
<210> 15	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 15	
ctttcttata ctggttttgc tggt	24
<210> 16	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 16	
cttacttata ctggtgctta tcgt	24
<210> 17	
<211> 27	

102100-BAYHCLLC-序列表

<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 17	
tttaagtatt ctggtggttc tgattct	27
<210> 18	
<211> 39	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 18	
cttaagcctt atcgtcataa gaatggttgg ttgattat	39
<210> 19	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 19	
atgaagccta tgcgtggtta ttctggtgct gtt	33
<210> 20	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 20	
cttaaggggtg gttctgggttt tggt	24
<210> 21	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 21	
ggatatacct ttactactaa ttatatgcat	30
<210> 22	
<211> 51	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 22	
attatcaatc cgcataatgg ctctacgtct tacgcgaga agtttcaggg c	51
<210> 23	
<211> 24	
<212> DNA	

102100-BAYHCLLC-序列表

<213> 智人		
<400> 23		
ggtcggttatt ttcttatgga tggt		24
<210> 24		
<211> 30		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 24		
ggatattcct tttctaagta ttggattggt		30
<210> 25		
<211> 27		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 25		
ggatattcct ttactggtta tatttct		27
<210> 26		
<211> 51		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 26		
attatctatc cgactgatag ctatacccggt tattctccga gctttcaggg c		51
<210> 27		
<211> 51		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 27		
attatctatc cgggtgatag ctataccaat tattctccga gctttcaggg c		51
<210> 28		
<211> 36		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 28		
actcatggtt attataagaa tggtcgtatg gatgtt		36
<210> 29		
<211> 33		
<212> DNA		
<213> 智人		

102100-BAYHCLLC-序列表

<400> 29	
tattctgggc ctaattggga tgttatgat tct	33
<210> 30	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 30	
agagcgagcc agaattattct ttcttatctg aat	33
<210> 31	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 31	
agagcgagcc agaattattc taattatctg aat	33
<210> 32	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 32	
agagcgagcc aggatatttc taatcgtctg gct	33
<210> 33	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 33	
agagcgagcc aggatattaa taattatctg tct	33
<210> 34	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 34	
tatgctgctt cttctttgca aagc	24
<210> 35	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	

102100-BAYHCLLC-序列表

<400> 35	
cataaggttt ctaatttgca aagc	24
<210> 36	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 36	
tatgatgcta attctttgca aagc	24
<210> 37	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 37	
tatggtgctt ctaatttgca aagc	24
<210> 38	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 38	
cagcagtatg gtctgttcc t	21
<210> 39	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 39	
cttcagtatg atgattttcc tcgt	24
<210> 40	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 40	
tttcagtatt ctggtcct	18
<210> 41	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 41	

102100-BAYHCLLC-序列表

cagcagtatt atggtcgtcc tact	24
<210> 42	
<211> 48	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 42	
agaagcagcc aaagcctggc ttattctaataa ggcaataacta ctctgtct	48
<210> 43	
<211> 48	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 43	
agaagcagcc aaagcctggc tcattctaataa ggctataatt atctgtct	48
<210> 44	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 44	
tatggctgttt ctaatcgtgc cagt	24
<210> 45	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 45	
tatcttgggtt ctaatcgtgc cagt	24
<210> 46	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 46	
cagcagtata attctttttcc tcgt	24
<210> 47	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 47	
catcagtatg gtgatttttc tgat	24

102100-BAYHCLLC-序列表

<210> 48	
<211> 39	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 48	
agcggcagca gcagcaacat tggttcttat tatgtgaat	39
<210> 49	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 49	
cttctgattt atgctgatga taagcgtccc tca	33
<210> 50	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 50	
cagtcttatg attctactaa ggatgattct	30
<210> 51	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 51	
agcggcgata atcttggttc ttattatggt cat	33
<210> 52	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 52	
agcggcgata atcttcctga tttttatggt cat	33
<210> 53	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 53	
cttgtgattt atgatgataa taatcgtccc tca	33

102100-BAYHCLLC-序列表

<210> 54	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 54	
cttgtgattt ctgaggataa taagcgtccc tca	33
<210> 55	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 55	
cagtcttatg attttggtaa gggt	24
<210> 56	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 56	
tctacttatg gttatactta ttcttattct	30
<210> 57	
<211> 10	
<212> PRT	
<213> 智人	
<400> 57	
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Ser	
1 5 10	
<210> 58	
<211> 10	
<212> PRT	
<213> 智人	
<400> 58	
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His	
1 5 10	
<210> 59	
<211> 10	
<212> PRT	
<213> 智人	
<400> 59	
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Asn Ala Met Asn	

10

10

<400> 64
Ala Ile Ser Tyr Ser Ser Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

102100-BAYHCLLC-序列表

Gly

<210> 65
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 65
Gly Ile Ser Tyr Asp Ser Ser Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 66
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 66
Asn Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 67
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 67
Gly Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 68
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 68
Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

201323443

102100-BAYHCLLC-序列表

1 5 10 15

Gly

<210>	69
<211>	17
<212>	PRT
<213>	智人

<400> 69
Ala Ile Ser Tyr Tyr Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210>	70
<211>	12
<212>	PRT
<213>	智人

<400> 70
Thr Gly Ser Pro Gly Thr Phe Met His Gly Asp His
1 5 10

<210>	71
<211>	8
<212>	PRT
<213>	智人

<400> 71
Leu Ser Tyr Thr Gly Phe Ala Val
1 5

<210>	72
<211>	8
<212>	PRT
<213>	智人

<400> 72
Leu Thr Tyr Thr Gly Ala Tyr Arg
1 5

<210>	73
<211>	9
<212>	PRT
<213>	智人

102100-BAYHCLLC-序列表

<400> 73

Phe Lys Tyr Ser Gly Gly Ser Asp Ser
1 5

<210> 74

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人

<400> 74

Leu Lys Pro Tyr Arg His Lys Asn Gly Trp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 75

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 75

Met Lys Pro Met Arg Gly Tyr Ser Gly Ala Val
1 5 10

<210> 76

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人

<400> 76

Leu Lys Gly Gly Ser Gly Phe Val
1 5

<210> 77

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 77

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Asn Tyr Met His
1 5 10

<210> 78

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<400> 78

Ile Ile Asn Pro His Asn Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 79
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 79
Gly Arg Tyr Phe Leu Met Asp Val
1 5

<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 80
Gly Tyr Ser Phe Ser Lys Tyr Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 81
Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Ile Ser
1 5

<210> 82
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 82
Ile Ile Tyr Pro Thr Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 83
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 83

102100-BAYHCLLC-序列表

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 84
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 84
Thr His Gly Tyr Tyr Lys Asn Gly Arg Met Asp Val
1 5 10

<210> 85
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 85
Tyr Ser Gly Pro Asn Trp Asp Val Met Asp Ser
1 5 10

<210> 86
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 86
Arg Ala Ser Gln Asn Ile Leu Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 87
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 87
Arg Ala Ser Gln Asn Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 88
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 88
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Arg Leu Ala

102100-BAYHCLLC-序列表

1

5

10

<210> 89
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 89
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 90
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 90
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 91
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 91
His Lys Val Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 92
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 92
Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 93
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 93
Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 94
<211> 7

102100-BAYHCLLC-序列表

<212> PRT
<213> 智人

<400> 94
Gln Gln Tyr Gly Ser Val Pro
1 5

<210> 95
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 95
Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Arg
1 5

<210> 96
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 96
Phe Gln Tyr Ser Gly Pro
1 5

<210> 97
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 97
Gln Gln Tyr Tyr Gly Arg Pro Thr
1 5

<210> 98
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 98
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser Asn Gly Asn Thr Thr Leu Ser
1 5 10 15

<210> 99
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 99
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Ser

102100-BAYHCLLC-序列表

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 100
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 100
Tyr Gly Val Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 101
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 101
Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 102
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 102
Gln Gln Tyr Asn Ser Phe Pro Arg
1 5

<210> 103
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 103
His Gln Tyr Gly Asp Phe Ser Asp
1 5

<210> 104
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 104
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Tyr Tyr Val Asn
1 5 10

<210> 105
<211> 11

102100-BAYHCLLC-序列表

<212> PRT
<213> 智人

<400> 105
Leu Leu Ile Tyr Ala Asp Asp Lys Arg Pro Ser
1 5 10

<210> 106
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 106
Gln Ser Tyr Asp Ser Thr Lys Asp Asp Ser
1 5 10

<210> 107
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 107
Ser Gly Asp Asn Leu Gly Ser Tyr Tyr Val His
1 5 10

<210> 108
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 108
Ser Gly Asp Asn Leu Pro Asp Phe Tyr Val His
1 5 10

<210> 109
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 109
Leu Val Ile Tyr Asp Asp Asn Asn Arg Pro Ser
1 5 10

<210> 110
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 110
Leu Val Ile Ser Glu Asp Asn Lys Arg Pro Ser

102100-BAYHCLLC-序列表

1 5 10

<210> 111
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 111
Gln Ser Tyr Asp Phe Gly Lys Val
1 5

<210> 112
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 112
Ser Thr Tyr Gly Tyr Thr Tyr Ser Tyr Ser
1 5 10

<210> 113
<211> 347
<212> DNA
<213> 智人

<400> 113
gaattggttc agagcggcgc ggaagtgaaa aaaccgggcg cgagcgtgaa agtgagctgc 60
aaagcctccg gatataacctt tactactaat tatatgcatt gggtccgcca agccccctggg 120
cagggtctcg agtggatggg cattatcaat ccgcataatg gctctacgtc ttacgcgcag 180
aagtttcagg gccgggtgac catgaccctg gataccagca ttagcaccgc gtatatggaa 240
ctgagcagcc tgcgtagcga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtgg tcgttatattt 300
cttatggatg tttagggcca aggcaccctg gtgacggtta gctcagc 347

<210> 114
<211> 324
<212> DNA
<213> 智人

<400> 114
gatatccaga tgaccagag cccgtctagc ctgagcgcga gcgtgggtga tcgtgtgacc 60
attacctgca gagcgagcca gaatatctt tcttatctga attggtacca gcagaaacca 120
ggtaaagcac cgaaactatt aatttatgct gcttcttctt tgcaaagcgg ggtcccgtcc 180
cgtttttagcg gctctggatc cggcactgat ttaccctga ccattagcag cctgcaacct 240

102100-BAYHCLLC-序列表

gaagactttg cggtttatta ttgccagcag tatggttctg ttcctacctt tggccagggt 300
acgaaagtig aaattaaacg tacg 324

<210> 115
<211> 347
<212> DNA
<213> 智人

<400> 115
gaatttggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60
gcggcctccg gatttacctt ttctaataat gctatgaatt ggggtgcgcca agcccctggg 120
aagggctctcg agtgggtgag cggatatctt tatgattcta gcaagacctt ttatgcggat 180
agcgtgaaaag gccgtttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct tacttatact 300
ggtgcttatac gttggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctcagc 347

<210> 116
<211> 311
<212> DNA
<213> 智人

<400> 116
gatatacgaac tgacccagcc gccttcagtg agcgttgac caggtcagac cgcgcgtatc 60
tcgtgtagcg gcgataatct tggttcttat tatgttcatt ggtaccagca gaaacccggg 120
caggcgccag ttcttgtgat ttatgatgat aataatcgtc cctcaggcat cccggaacgc 180
tttagcggat ccaacagcgg caacaccgcg accctgacca ttagcggcac tcaggcggaa 240
gacgaagcgg attattattg ccagtcctat gatatttgta aggttgtgtt tggcggcggc 300
acgaagttaa c 311

<210> 117
<211> 350
<212> DNA
<213> 智人

<400> 117
gaatttggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60
gcggcctccg gatttacctt ttctgattat tctattaatt ggggtgcgcca agcccctggg 120
aagggctctcg agtatgtgag caatatctct tattctggta gctctacctt ttatgcggat 180

102100-BAYHCLLC-序列表

agcgtgaaag gccgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa	240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgttt taagtattct	300
ggtggttctg attcttgggg ccaaggcacc ctggtgacgg ttagctcagc	350

<210> 118
 <211> 317
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 118 gatatcgaac tgaccagcc gccttcagtg agcgttgac caggtcagac cgcgcgatc	60
tctgttagcg gcgataatct tcttgatttt tatgttcatt ggtaccagca gaaacccggg	120
caggcgccag ttcttgtgat ttctgaggat aataagcgtc cctcaggcat cccggaacgc	180
tttagcggat ccaacagcgg caacaccgcg accctgacca ttagcggcac tcaggcggaa	240
gacgaagcgg attattattg ctctacttat gggtatactt attcttattc tgtgtttggc	300
ggcggcacga agttaac	317

<210> 119
 <211> 362
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 119 gaattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc	60
gcggcctccg gatttacctt ttcttcttat ggtatttctt gggtgcgcca agcccctggg	120
aagggtctcg agtgggtgag cggtatctct tattctggta gctctaccta ttatgcggat	180
agcgtgaaag gccgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa	240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct taagccttat	300
cgtcataaga atggttgggt tgattattgg ggccaaggca ccctggtgac ggtagctca	360
gc	362

<210> 120
 <211> 327
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 120 gatattcaga tgaccagag cccgtctagc ctgagcgcga gcgtgggtga tctgtgacc	60
--	----

102100-BAYHCLLC-序列表

```

attacctgca gagcgagcca gaatatctct aattatctga attggtacca gcagaaacca    120
ggtaaagcac cgaaactatt aattcataag gtttctaatt tgcaaagcgg ggtcccgctcc    180
cgtttttagcg gctctggatc cggcactgat ttaccctga ccattagcag cctgcaacct    240
gaagactttg cggtttatta ttgccttcag tatgatgatt ttctcgtac ctttggccag    300
ggtacgaaag ttgaaattaa acgtacg                                         327

```

<210> 121
 <211> 356
 <212> DNA
 <213> 智人

```

<400> 121
gaattggtgg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc    60
gcggcctccg gatctacctt ttcttcttat ggtatttctt ggggtgcgcca agcccctggg    120
aagggtctcg agtgggtgag ctctatctct tattctggta gcaataccta ttatgcggat    180
agcgtgaaaag gccgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa    240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtat gaagcctatg    300
cgtggttatt ctggtgctgt ttggggccaa ggcaccctgg tgacggttag ctcagc       356

```

<210> 122
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 智人

```

<400> 122
gatatccaga tgaccagag cccgtctagc ctgagcgca gcgtgggtga tcgtgtgacc    60
attacctgca gagcgagcca ggatatctct aatcgtctgg ctggtacca gcagaaacca    120
ggtaaagcac cgaaactatt aatttatgat gctaattctt tgcaaagcgg ggtcccgctcc    180
cgtttttagcg gctctggatc cggcactgat ttaccctga ccattagcag cctgcaacct    240
gaagactttg cgacttatta ttgctttcag tattctggtc ctacctttgg ccagggtacg    300
aaagttgaaa ttaaactgtac g                                         321

```

<210> 123
 <211> 347
 <212> DNA
 <213> 智人

102100-BAYHCLLC-序列表

<400> 123

gaattgggtgg aaagcggcgg cggcctgggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc	60
gcggcctccg gatttacctt ttctaattat ggtatttctt ggggtgcgcca agcccctggg	120
aagggctctcg agtgggtgag cgctatctct tattatggta gcaataccta ttatgcggat	180
agcgtgaaaag gccgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa	240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct taagggtggt	300
tctggttttg ttgggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctcagc	347

<210> 124

<211> 342

<212> DNA

<213> 智人

<400> 124

gatatcgtga tgaccagag cccactgagc ctgccagtga ctccgggcga gcctgcgagc	60
attagctgca gaagcagcca aagcctgggtt tattctaattg gcaatactac tctgtcttgg	120
taccttcaaa aaccagggtca aagcccgag ctattaattt atgggtgttc taatcgtgcc	180
agtgggggtcc cggatcgttt tagcggctct ggatccggca ccgattttac cctgaaaatt	240
agccgtgtgg aagctgaaga cgtgggcgtg tattattgcc agcagtataa ttcttttctt	300
cgtacctttg gccagggtac gaaagttgaa attaaacgta cg	342

<210> 125

<211> 359

<212> DNA

<213> 智人

<400> 125

gaattgggtgg aaagcggcgg cggcctgggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc	60
gcggcctccg gatttacctt ttcttcttat ggtatgtctt ggggtgcgcca agcccctggg	120
aagggctctcg agtgggtgag cggtatctct tctcttggtg gcactaccta ttatgcggat	180
agcgtgaaaag gccgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa	240
atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtac tggttctcct	300
ggtactttta tgcattggtga tcattggggc caaggcacc tggtgacggt tagctcagc	359

<210> 126

<211> 327

<212> DNA

102100-BAYHCLLC-序列表

<213> 智人

<400> 126

gatatccaga tgacccagag cccgtctagc ctgagcgcga gcgtgggtga tcgtgtgacc	60
attacctgca gagcgagcca ggatattaat aattatctgt cttggtacca gcagaaacca	120
ggtaaagcac cgaaactatt aatttatggg gcttctaatt tgcaaagcgg ggtcccgtcc	180
cgtttttagcg gctctggatc cggcactgat ttaccctga ccattagcag cctgcaacct	240
gaagactttg cggtttatta ttgccagcag tattatggtc gtcctactac ctttggccag	300
ggtacgaaag ttgaaattaa acgtacg	327

<210> 127

<211> 359

<212> DNA

<213> 智人

<400> 127

gaattgggttc agagcggcgc ggaagtgaag aaaccgggcg aaagcctgaa aattagctgc	60
aaagggttccg gatattcctt ttctaagtat tggattgggt gggtgcgcca gatgcctggg	120
aagggtctcg agtggatggg cattatctat ccgactgata gctatacccg ttattctccg	180
agctttcagg gccagggtgac cattagcgcg gataaaagca ttagcaccgc gtatcttcaa	240
tggagcagcc tgaaagcgag cgatacggcc atgtattatt gcgcgcgtac tcatggttat	300
tataagaatg gtcgtatgga tgittggggc caaggcacc tggtgacggt tagctcagc	359

<210> 128

<211> 342

<212> DNA

<213> 智人

<400> 128

gatatcgtga tgacccagag cccactgagc ctgccagtga ctccgggcga gcctgagcgc	60
attagctgca gaagcagcca aagcctgggt cattctaatt gctataatta tctgtcttgg	120
taccttcaaa aaccagggtca aagcccgag ctattaattt atcttgggtc taatcgtgcc	180
agtgggggtcc cggatcgttt tagcggctct ggatccggca ccgattttac cctgaaaatt	240
agccgtgtgg aagctgaaga cgtgggcgtg tattattgcc atcagtatgg tgatttttct	300
gataaccttg gccagggtac gaaagttgaa attaaacgta cg	342

<210> 129

102100-BAYHCLLC-序列表

<211> 353
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 129
 gaattggttc agagcggcgc ggaagtgaaa aaaccgggcg aaagcctgaa aattagctgc 60
 aaaggttccg gatattcctt tactggttat atttcttggg tgcgccaagc ccctgggaag 120
 ggtctcgagt ggatgggcat tatctatccg ggtgatagct ataccaatta ttctccgagc 180
 tttcagggcc aggtgaccat tagcgcggat aaaagcatta gcaccgcgta tcttcaatgg 240
 agcagcctga aagcgagcga tacggccatg tattattgcg cgcgttattc tggtcctaat 300
 tgggatgtta tggattcttg gggccaaggc accctggtga cggttagctc agc 353

<210> 130
 <211> 323
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 130
 gatatcgtgc tgaccagcc gccttcagt agtggcgcac caggtcagcg tgtgaccatc 60
 tcgtgtagcg gcagcagcag caacattggg tcttattatg tgaattggta ccagcagttg 120
 cccgggacgg cgccgaaact tctgatttat gctgatgata agcgtccctc aggcgtgccg 180
 gatcgtttta gcggatccaa aagcggcacc agcgcgagcc ttgcgattac gggcctgcaa 240
 agcgaagacg aagcggatta ttattgccag tcttatgatt ctactaagga tgattctgtg 300
 tttggcggcg gcacgaagtt aac 323

<210> 131
 <211> 347
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 131
 gaattggttg aaagcggcgg cggcctggtg caaccgggcg gcagcctgcg tctgagctgc 60
 gcggcctccg gatttacctt ttcttcttat ggtatgcatt gggtgcgcca agcccctggg 120
 aagggtctcg agtatgtgag cgctatctct tattcttcta gctctacctc ttatgcggat 180
 agcgtgaaag gccgttttac catttcacgt gataattcga aaaacaccct gtatctgcaa 240
 atgaacagcc tgcgtgcgga agatacggcc gtgtattatt gcgcgcgtct ttcttatact 300
 ggttttgctg tttggggcca aggcaccctg gtgacggtta gctcagc 347

102100-BAYHCLLC-序列表

<210> 132
<211> 311
<212> DNA
<213> 智人

<400> 132
gatatcgaac tgaccagcc gccttcagtg agcgttgcac caggtcagac cgcgcgatc 60
tcgtgtagcg gcgataatct tggttcttat tatgttcatt ggtaccagca gaaacccggg 120
caggcgccag ttcttgtgat ttatgatgat aataatcgtc cctcaggcat cccggaacgc 180
tttagcggat ccaacagcgg caacaccgcg accctgacca ttagcggcac tcaggcggaa 240
gacgaagcgg attattattg ccagtcttat gatitttgta aggttgtgtt tggcggcggc 300
acgaagttaa c 311

<210> 133
<211> 115
<212> PRT
<213> 智人

<400> 133
Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val
1 5 10 15
Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Asn Tyr Met
20 25 30
His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile
35 40 45
Ile Asn Pro His Asn Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly
50 55 60
Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu
65 70 75 80
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
85 90 95
Gly Arg Tyr Phe Leu Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser

115

<210> 134
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 134
 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 Asn Ile Leu Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 135
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 135
 Glu Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
 1 5 10 15

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Asn Ala Met
 20 25 30

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

102100-BAYHCLLC-序列表

Ile Ser Tyr Asp Ser Ser Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 50 55 60

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

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

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

Val Ser Ser
 115

<210> 136
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 136
 Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

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

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

Asp Asp Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
 65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 137

102100-BAYHCLLC-序列表

<211> 116
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 137
 Glu Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
 1 5 10 15

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

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

Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 138
 <211> 105
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 138
 Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

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

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

102100-BAYHCLLC-序列表

Glu Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr Tyr Gly Tyr Thr Tyr Ser Tyr
 85 90 95

Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 100 105

<210> 139

<211> 120

<212> PRT

<213> 智人

<400> 139

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

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

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

Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 50 55 60

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

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

Leu Lys Pro Tyr Arg His Lys Asn Gly Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 140

102100-BAYHCLLC-序列表

<211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 140

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 Asn 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

His Lys Val Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

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

<210> 141
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 141

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

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

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

Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 50 55 60

102100-BAYHCLLC-序列表

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

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

Met Lys Pro Met Arg Gly Tyr Ser Gly Ala Val Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 142

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<400> 142

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

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

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

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

<210> 143

<211> 115

<212> PRT

<213> 智人

102100-BAYHCLLC-序列表

<400> 143
Glu Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
1 5 10 15

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

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

Ile Ser Tyr Tyr Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
50 55 60

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 144
<211> 114
<212> PRT
<213> 智人

<400> 144
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser
20 25 30

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

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

102100-BAYHCLLC-序列表

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
 85 90 95

Asn Ser Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Thr

<210> 145

<211> 119

<212> PRT

<213> 智人

<400> 145

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

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

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

Ile Ser Ser Leu Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 50 55 60

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

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

Thr Gly Ser Pro Gly Thr Phe Met His Gly Asp His Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 146

102100-BAYHCLLC-序列表

<211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 146
 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 Asp Ile Asn Asn Tyr
 20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Gly Arg Pro Thr
 85 90 95

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

<210> 147
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 147
 Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu
 1 5 10 15

Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ser Lys Tyr Trp Ile
 20 25 30

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

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

102100-BAYHCLLC-序列表

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

Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg
85 90 95

Thr His Gly Tyr Tyr Lys Asn Gly Arg Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 148

<211> 114

<212> PRT

<213> 智人

<400> 148

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr
85 90 95

Gly Asp Phe Ser Asp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr

<210> 149

102100-BAYHCLLC-序列表

<211> 117
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 149

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

Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Ile Ser
 20 25 30

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

Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln
 50 55 60

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

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

Ser Gly Pro Asn Trp Asp Val Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 150
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 150

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

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

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

102100-BAYHCLLC-序列表

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

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

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

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

<210> 151

<211> 115

<212> PRT

<213> 智人

<400> 151

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

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

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

Ile Ser Tyr Ser Ser Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 50 55 60

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

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

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

Val Ser Ser
 115

<210> 152

102100-BAYHCLLC-序列表

<211> 103
<212> PRT
<213> 智人

<400> 152
Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

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

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

Asp Asp Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
100

<210> 153
<211> 6675
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列說明：合成核苷酸構造

<400> 153
aattggaggc tacagtcagt ggagaggact ttcactgact gactgactgc gtctcaacct 60
ggggacaagt ttgtacaaaa aagcaggctc tgtctagagg gcaccatggt gttgcagacc 120
caggtcttca tttctctgtt gctctggatc tctggtgcct acggggatat ccagatgacc 180
cagagcccgt ctagcctgag cgcgagcgtg ggtgatcgtg tgaccattac ctgcagagcg 240
agccaggata ttaataatta tctgtcttgg taccagcaga aaccaggtaa agcaccgaaa 300
ctattaatit atggtgcttc taatttgcaa agcgggggtcc cgtcccgttt tagcggctct 360
ggatccggca ctgattttac cctgaccatt agcagcctgc aacctgaaga ctttgcggtt 420

102100-BAYHCLLC-序列表

tattattgcc agcagtatta tggtcgtcct actacctttg gccagggtac gaaagttgaa	480
attaaacgta cgggtggctgc accatctgtc ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg	540
aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa	600
gtacagtggga aggtggataa cgccctccaa tcgggttaact cccaggagag tgtcacagag	660
caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc c tgacgtgtc taaagcagac	720
tacgagaaac acaaagtcta cgcttgcgaa gtcacccatc agggcctgag ctgccccgtc	780
acaaagagct tcaacagggg agagtgttag gcggccgcgc ctgactgtg ctttctagtt	840
gccagccatc tgttgtttgc ccttcccccg tgccttcctt gaccttgga ggtgccactc	900
ccactgtcct ttccctaataa aatgaggaaa ttgcatcgca ttgtctgagt aggtgtcatt	960
ctattctggg ggggtgggtg gggcaggaca gcaaggggga ggattgggaa gacaatagca	1020
ggcatgctgg ggatgcggtg ggctctatgg gatgcttata gccacgttcg gcgcgccgtc	1080
gacgatgtac gggccagata tacgcgttga cattgattat tgactagtta ttaatagtaa	1140
tcaattacgg ggtcattagt tcatagccca tatatggagt tccgcgttac ataacttacg	1200
gtaaatggcc cgcttggctg accgccccac gacccccgcc cattgacgtc aataatgacg	1260
tatgttccca tagtaacgcc aatagggact ttccattgac gtcaatgggt ggactattta	1320
cggtaaacctg cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata tgccaagtac gccccctatt	1380
gacgtcaatg acggtaaatg gcccgcctgg cattatgccc agtacatgac cttatgggac	1440
tttcttactt ggcagtacat ctacgtatta gtcatcgcta ttacatgggt gatgcggttt	1500
tggcagtaca tcaatgggcg tggatagcgg ttgactcac ggggatttcc aagtctccac	1560
cccatlgacg tcaatgggag tttgttttgg caccaaaatc aacgggactt tccaaaatgt	1620
cgtaacaact ccgccccatt gacgcaaatg ggcggtaggc gtgtacggtg ggaggtctat	1680
ataagcagag ctctctggct aactagagaa cccactgctt actggcttat cgaaattaat	1740
acgactcact atagggagac ccaagctggc tagcgccacc atgaaacacc tgtggttctt	1800
cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag gtggaattgg tggaaagcgg	1860
cggcggcctg gtgcaaccgg gcggcagcct gcgtctgagc tgcgcggcct ccggatttac	1920
cttttcttct tatgggtatgt cttgggtgcg ccaagcccc tgggaagggtc tcgagtgggt	1980
gagcgggtatc tcttctcttg gtagcactac ctattatgcg gatagcgtga aaggccgttt	2040

102100-BAYHCLLC-序列表

taccatttca	cgtgataatt	cgaaaaacac	cctgtatctg	caaatagaaca	gcctgcgtgc	2100
ggaagatacg	gccgtgtatt	attgcgcgcg	tactggttct	cctgggtactt	ttatgcatgg	2160
tgatcattgg	ggccaaggca	ccctgggtgac	ggttagctca	gcctccacca	agggtccatc	2220
ggctcttcccc	ctggcaccct	cctccaagag	cacctctggg	ggcacagcgg	ccctgggctg	2280
cctgggtcaag	gactacttcc	ccgaaccggg	gacgggtgtcg	tggaactcag	gcgccctgac	2340
cagcggcgtg	cacaccttcc	cggctgtcct	acagtccctca	ggactctact	ccctcagcag	2400
cgtgggtgacc	gtgccctcca	gcagcttggg	caccagacc	tacatctgca	acgtgaatca	2460
caagcccagc	aacaccaagg	tggacaagaa	agttgagccc	aaatcttgtg	acaaaactca	2520
cacatgcccc	ccgtgcccag	cacctgaact	cctgggggga	ccgtcagtct	tcctcttccc	2580
cccaaaaacc	aaggacaccc	tcatgatctc	ccggaccct	gaggtcacat	gcgtgggtgt	2640
ggacgtgagc	cacgaagacc	ctgaggtcaa	gttcaactgg	tacgtggacg	gcgtggaggt	2700
gcataatgcc	aagacaaagc	cgcgggagga	gcagtacaac	agcacgtacc	gggtgggtcag	2760
cgtccctcacc	gtccctgcacc	aggactggct	gaatggcaag	gagtacaagt	gcaaggctctc	2820
caacaaagcc	ctcccagccc	ccatcgagaa	aaccatctcc	aaagccaaag	ggcagccccg	2880
agaaccacag	gtgtacaccc	tgtcccatc	ccgggatgag	ctgaccaaga	accaggtcag	2940
cctgacctgc	ctgggtcaaag	gcttctatcc	cagcgacatc	gccgtggagt	gggagagcaa	3000
tgggcagccg	gagaacaact	acaagaccac	gcctcccgtg	ctggactccg	acggctcctt	3060
cttccctctac	agcaagctca	ccgtggacaa	gagcaggtgg	cagcagggga	acgtcttctc	3120
atgctccgtg	atgcatgagg	ctctgcacaa	ccactacacg	cagaagagcc	tctccctgtc	3180
tccgggtaaa	tgaggggccc	tttaaaccgg	ctgatcagcc	tcgactgtgc	cttctagtgt	3240
ccagccatct	gttgtttgcc	ccctccccgt	gccttccctg	accctggaag	gtgccactcc	3300
cactgtcctt	tcctaataaa	atgaggaaat	tgcacgcac	tgtctgagta	ggtgtcattc	3360
tattctgggg	gggtgggtgg	ggcaggacag	caagggggag	gattgggaag	acaatagcag	3420
gcatgctggg	gatgcgggtg	gctctatggc	ttctgaggcg	gaaagaacca	gcctcacgtg	3480
gaccagctt	tcttgtacaa	agtgggtccc	ctacagagac	gactgactga	ctgactggaa	3540
agaggaaggg	ctggaagagg	aaggagcttg	gcgtaatcat	ggtcatagct	gtttcctgtg	3600
tgaattgtt	atccgctcac	aattccacac	aacatacgag	ccggaagcat	aaagtgtaaa	3660
gcctgggggtg	cctaattgagt	gagctaactc	acattaattg	cgttgcgctc	actgcccgtc	3720

102100-BAYHCLLC-序列表

tccagtcgg gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga	3780
ggcggtttgc gtattgggcg ctcttccgct tcctcgctca ctgactcgct gcgctcggtc	3840
gttcggctgc ggcgagcggc atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa	3900
tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt	3960
aaaaaggccg cgttgcctggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa	4020
aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt	4080
ccccctggaa gctccctcgt gcgctctcct gtccgaccc tgccgcttac cggatacctg	4140
tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc	4200
agttcggtgt aggtcgctcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc	4260
gaccgctgcg ccttatccgg taactatcgt cttaggtcca acccggttaag acacgactta	4320
tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggatatgt aggcggtgct	4380
acagagttct tgaagtgggt gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttgggtatc	4440
tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa	4500
caaaccaccg ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa	4560
aaaggatctc aagaagatcc ttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa	4620
aactcacgtt aagggtattt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt	4680
ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttgggtctgac	4740
agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcaccc	4800
atagttgcct gactccccgt cgtgtagata actacgatac gggagggcct accatctggc	4860
cccagtgctg caatgatacc gcgagacca cgctcaccgg ctccagattt atcagcaata	4920
aaccagccag ccggaagggc cgagcgcaga agtggtcctg caactttatc cgcctccatc	4980
cagtctatta attgttgccg ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgcgc	5040
aacgttgttg ccattgctac aggcatcgtg gtgtcacgct cgtcgttttg tatggcttca	5100
ttcagctccg gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat ccccatgtt gtgcaaaaaa	5160
gcggttagct ccttcgggtc tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtggttatca	5220
ctcatggtta tggcagcact gcataattct ctactgtca tgccatccgt aagatgcttt	5280
tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt	5340

102100-BAYHCLLC-序列表

tgctcttgcc cggcgtcaat acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagt	5400
ctcatcattg gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga	5460
tccagttcga tgtaaccac tcgtgcaccc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc	5520
agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg aataagggcg	5580
acacggaaat gttgaatact catactcttc ctttttcaat attattgaag catttatcag	5640
ggttattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg	5700
gttccgcgca catttccccg aaaagtgcc aatgacgtct aagaaacat tattatcatg	5760
acattaacct ataaaaatag gcgtatcacg aggccctttc gtctcgcgcg ttccggtgat	5820
gacggtgaaa acctctgaca catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg tctgtaagcg	5880
gatgccggga gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttggcgg gtgtcggggc	5940
tggcttaact atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgcaccataa aattgtaaac	6000
gttaatatit tgttaaaatt cgcgttaaat tttgtttaa tcagctcatt tttaaccaa	6060
taggccgaaa tcggcaaaat cccttataaa tcaaaagaat agcccgagat agggttgagt	6120
gttgttccag tttggaacaa gagtccacta ttaaagaacg tggactccaa cgtcaaaggg	6180
cgaaaaaccg tctatcaggg cgatggccca ctacgtgaac catcacccaa atcaagtttt	6240
ttgggggtcga ggtgccgtaa agcactaaat cggaacccta aaggagagccc ccgatttaga	6300
gcttgacggg gaaagccggc gaacgtggcg agaaaggaag ggaagaaagc gaaaggagcg	6360
ggcgctaggg cgctggcaag tgtagcggc acgctgcgcg taaccaccac acccgccgcg	6420
cttaatgcgc cgctacaggg cgcgtactat ggttgctttg acgtatgcgg tgtgaaatac	6480
cgcacagatg cgtaaggaga aaataccgca tcaggcgcca ttcgccattc aggctgcgca	6540
actgttggga agggcgatcg gtgcgggcct cttcgctatt acgccagctg gcgaaagggg	6600
gatgtgctgc aaggcgatta agttgggtaa cgccagggtt ttcccagtca cgacgttgta	6660
aaacgacggc cagtg	6675

發明摘要

分割案

※ 申請案號：102102555 (由95146346分割)

※ 申請日：95.12.12

※IPC 分類：C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

抗-MN 抗體及使用彼等之方法

ANTI-MN ANTIBODIES AND METHODS OF USING SAME

【中文】

本發明提供具有被專一性地引導對抗 MN 蛋白的抗原結合部位之抗體，及使用此等抗體治療及診斷 MN 相關疾病之方法。

【英文】

The invention provides antibodies having an antigenic binding site specifically directed against an MN protein, and methods for using such antibodies in treating and diagnosing an MN-related disorder.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

申請專利範圍

1. 一種具有被專一性地引導對抗 MN 蛋白的抗原結合部位之抗體或抗體片段，其中該抗原結合部位包含之互補決定區(CDR)序列組為：

[3ef2] SEQ ID NOS: 58、64、71、107、109 及 111；

[1e4] SEQ ID NOS: 59、65、72、107、109 及 111；

[3a4] SEQ ID NOS: 60、66、73、108、110 及 112；

[3ab4] SEQ ID NOS: 61、67、74、87、91 及 95；

[3ah10] SEQ ID NOS: 61、68、75、88、92 及 96；

[3bb2] SEQ ID NOS: 62、69、76、98、100 及 102；

[1aa1] SEQ ID NOS: 77、78、79、86、90 及 94；

[5a6] SEQ ID NOS: 80、82、84、99、101 及 103；及

[5aa3] SEQ ID NOS: 81、83、85、104、105 及 106。

2. 如請求項第 1 項之抗體或抗體片段，其中該抗體或抗體片段以約 0.15 nM 至約 50 nM 之解離常數與 MN 蛋白結合。
3. 如請求項第 1 項之抗體或抗體片段，其中該抗體為 IgG。
4. 如請求項第 1 項之抗體或抗體片段，其中該抗體為 IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM、IgD、IgE、IgA、IgM Fab 片段、F(ab')₂ 片段、scFv 片段、Fv 片段、雙功能抗體、直鏈抗體、單鏈抗體、生物專

一性抗體、嵌合抗體或多專一性抗體。

5. 如請求項第 1 項之抗體或抗體片段，其中該抗體或抗體片段經人類化。
6. 如請求項第 1 項之抗體或抗體片段，其中 CDR1、CDR2 及 CDR3 為非人類化。
7. 一種組成物，其包含請求項第 1 項之抗體或其抗體片段及一或多種醫藥輔助劑。
8. 一種反應性地對抗 MN 蛋白之組成物，其包含接合於胞毒劑之具有被專一性地引導對抗 MN 蛋白的抗原結合部位之抗體或抗體片段，其中該抗原結合部位包含之 CDR 序列為：

[3ef2] SEQ ID NOS: 58、64、71、107、109 及 111；

[1e4] SEQ ID NOS: 59、65、72、107、109 及 111；

[3a4] SEQ ID NOS: 60、66、73、108、110 及 112；

[3ab4] SEQ ID NOS: 61、67、74、87、91 及 95；

[3ah10] SEQ ID NOS: 61、68、75、88、92 及 96；

[3bb2] SEQ ID NOS: 62、69、76、98、100 及 102；

[1aa1] SEQ ID NOS: 77、78、79、86、90 及 94；

[5a6] SEQ ID NOS: 80、82、84、99、101 及 103；及

[5aa3] SEQ ID NOS: 81、83、85、104、105 及 106。

9. 如請求項第 8 項之組成物，其中該胞毒劑係選自下述組群：單甲基奧利他汀-E 或其功能類似物、單甲基奧利他汀-F 或其功能類似物、阿匹利定、阿扎利平、安美達錠、氮胞苷、博來黴素、硼替左米、苔蘚蟲素-1、馬利蘭、硝磺黴素、喜樹鹼、10-羥基喜樹鹼、亞硝基脲氮芥、塞勒昔布、苯丁酸氮芥、順鉑錠、伊立替康(CPT-11)、SN-38、卡鉑錠、克拉屈濱、環磷醯胺、胞嘧啶阿拉伯糖苷、氮烯咪胺、克癌易、更生黴素、道諾黴素葡萄糖苷酸、道諾紅黴素、地塞米松、二乙基己烯雄酚、小紅莓、小紅莓葡萄糖苷酸、依匹紅黴素葡萄糖苷酸、炔雌醇、雌莫司汀、依托泊苷、依托泊苷葡萄糖苷酸、磷酸依托泊苷、5-氟去氧尿苷 (FUdR)、3',5'-O-二油醯基-FudR (FUdR-dO)、氟達拉濱、氟他胺、氟尿嘧啶、氟脛甲酮、吉西他濱、己酸羥基黃體酮、羥基脲、依達紅黴素、異環磷醯胺、L-天冬醯胺酶、菊百葉酸、洛莫司汀、氮芥、甲孕酮、甲地孕酮、苯丙胺酸氮芥、巯基嘌呤、6-巯基嘌呤、胺甲喋呤、米托蒽醌、光神黴素、絲裂黴素、米托坦、丁酸苯酯、潑尼松、丙卡巴肼、紫杉醇、噴司他丁、PSI-341、西莫司汀、鏈佐星、他莫昔芬、紫杉烷類、紫杉醇、丙酸孕酮、酞胺哌啶酮、硫代鳥嘌呤、噻替哌、替尼泊苷、拓撲替康、尿嘧啶芥、萬科、長春花鹼、長春瑞濱、長春新鹼、蓖麻蛋白、雞母珠毒蛋白、核糖核酸酶、

抗腫瘤酶、rapLR1、DNase I、葡萄球菌腸毒素-A、美洲商陸抗病毒蛋白、凍瓊蠟蛋白、白喉毒素、假單胞菌外毒素、假單胞菌內毒素、及其組合。

10. 如請求項第 8 項之組成物，其中該胞毒劑係單甲基奧利他汀-E 或其功能類似物。
11. 如請求項第 8 項之組成物，其中該抗體或抗體片段以約 0.15 nM 至約 50 nM 之解離常數與 MN 蛋白結合。
12. 如請求項第 8 項之組成物，其中該抗體為 IgG。
13. 如請求項第 8 項之組成物，其中該抗體或抗體片段為 IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM、IgD、IgE、IgA、或 IgM 同型、Fab 片段、F(ab')₂ 片段、scFv 片段、Fv 片段、雙功能抗體、直鏈抗體、單鏈抗體、生物專一性抗體、嵌合抗體、或多專一性抗體。
14. 如請求項第 8 項之組成物，其中該抗體或抗體片段經人類化。
15. 如請求項第 8 項之組成物，其中 CDR1、CDR2 及 CDR3 為非人類化。
16. 一種用於治療具有 MN 相關癌症對象之組成物，其包含抗癌劑及接合於胞毒劑之具有被專一性地引導對抗 MN 蛋白的抗原結合部位之抗體或其抗體片段，其中該抗原結合部位包含之 CDR 序列為：

[3ef2] SEQ ID NOS: 58、64、71、107、109 及 111；

[1e4] SEQ ID NOS: 59、65、72、107、109 及 111；

[3a4] SEQ ID NOS: 60、66、73、108、110 及 112；

[3ab4] SEQ ID NOS: 61、67、74、87、91 及 95；

[3ah10] SEQ ID NOS: 61、68、75、88、92 及 96；

[3bb2] SEQ ID NOS: 62、69、76、98、100 及 102；

[1aa1] SEQ ID NOS: 77、78、79、86、90 及 94；

[5a6] SEQ ID NOS: 80、82、84、99、101 及 103；及

[5aa3] SEQ ID NOS: 81、83、85、104、105 及 106。

17. 如請求項第 16 項之組成物，其中該抗癌劑係選自下述組群：截瘤達(capecitabine)、博來黴素、克癌易(Taxotere)、小紅莓、依達曲沙、爾洛替尼(Tarceva)、依托泊苷、柔沛(Proscar)、氟他胺(Eulexin)、吉西他濱(Gemzar)、健替尼(Irresa)、乙酸戈舍瑞林(Zoladex)、格拉司瓊(Kytril)、依馬替尼(Gleevec)、伊立替康(Campto/Camptosar)、昂丹司瓊((Zofran)、紫杉醇(Taxol)、培門冬酶(Oncaspar)、鹽酸毛果鹼(Salagen)、卟吩姆鈉(Photofrin)、介白素-2 (Proleukin)、利妥昔單抗(Rituxan)、拓撲替康(Hycamtin)、搓杜滋單抗(Herceptin)、Triapine、長春新鹼、酒石酸長春瑞濱(Navelbine)、及其治療用抗體或片段。

18. 如請求項第 16 項之組成物，其中該抗癌劑係選自下述組群之抗-血管新生劑：血管阻斷素、貝瓦珠單抗(Avastin®)、索拉非尼(Nexavar®)、梣狀他汀、康他汀、麻思平、抗-VEGF 抗體或肽類、抗-胎盤生長因子抗體或肽類、抗-Flk-1 抗體、抗-Flt-1 抗體或肽類、層黏連蛋白肽類、纖維網蛋白肽類、胞漿素原活化子抑制劑、組織金屬蛋白酶抑制劑、干擾素、介白素 12、IP-10、Gro- β 、凝血因子、2-甲氧雌二醇、增殖蛋白相關蛋白質、甲醯胺三唑、CM101、Marimastat、多硫酸戊聚糖、血管生成素 2、干擾素- α 、除莠黴素 A、PNU145156E、16K 催乳激素片段、Linomide、酞胺哌啶酮、己酮可可鹼、染料木黃酮、TNP-470、恩司汀、紫杉醇、阿庫停、西多福韋、長春新鹼、博來黴素、AGM-1470、血小板因子 4 與二甲胺四環素。
19. 如請求項第 16 項之組成物，其中該抗癌劑係選自下述組群之封阻或抑制多重抗藥性表現型之製劑：他莫昔芬、異搏停與環孢素 A。
20. 如請求項第 16 項之組成物，其中該胞毒劑係單甲基奧利他汀-E 或其功能類似物。
21. 如請求項第 16 項之組成物，其中該抗體或抗體片段以約 0.15 nM 至約 50 nM 之解離常數與 MN 蛋白結合。

22. 如請求項第 16 項之組成物，其中該抗體為 IgG。
23. 如請求項第 16 項之組成物，其中該抗體或抗體片段為 IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM、IgD、IgE、IgA、或 IgM 同型、Fab 片段、F(ab')₂ 片段、scFv 片段、Fv 片段、雙功能抗體、直鏈抗體、單鏈抗體、生物專一性抗體、嵌合抗體、或多專一性抗體。
24. 如請求項第 16 項之組成物，其中該抗體或抗體片段經人類化。
25. 如請求項第 16 項之組成物，其中 CDR1、CDR2 及 CDR3 為非人類化。
26. 如請求項第 16 項之組成物，其中該癌症係呈硬塊腫瘤之形式。
27. 如請求項第 26 項之組成物，其中該硬塊腫瘤係存在或源自乳房、呼吸道、肺、腦、生殖器官、消化道、結腸、尿道系統、腎、食道、子宮頸、眼睛、肝、皮膚、頭、頸、甲狀腺、及副甲狀腺。
28. 一種套組，其包含請求項第 1 項之抗體或抗體片段，及於 MN 相關疾病處理方法中使用該套組之一組操作指南。
29. 一種套組，其包含請求項第 8 項之抗體或抗體片段，及於 MN 相關疾病處理方法中使用該套組之一組操作指南。
30. 一種套組，其包含請求項第 16 項之抗體或抗體片段，及於 MN 相關疾病處理方法中使用該套組之一組操作指南。

31. 一種具有被專一性地引導對抗 MN 蛋白的抗原結合部位之抗體或抗體片段，其中該抗原結合部位含有選自下述組群之一對重鏈可變區與輕鏈可變區：

SEQ ID NO:133 重鏈可變區與 SEQ ID NO:134 輕鏈可變區；

SEQ ID NO:135 重鏈可變區與 SEQ ID NO:136 輕鏈可變區；

SEQ ID NO:137 重鏈可變區與 SEQ ID NO:138 輕鏈可變區；

SEQ ID NO:139 重鏈可變區與 SEQ ID NO:140 輕鏈可變區；

SEQ ID NO:141 重鏈可變區與 SEQ ID NO:142 輕鏈可變區；

SEQ ID NO:143 重鏈可變區與 SEQ ID NO:144 輕鏈可變區；

SEQ ID NO:147 重鏈可變區與 SEQ ID NO:148 輕鏈可變區；

SEQ ID NO:149 重鏈可變區與 SEQ ID NO:150 輕鏈可變區；及

SEQ ID NO:151 重鏈可變區與 SEQ ID NO:152 輕鏈可變區。

32. 一種抗-MN IgG 抗體，其係由 SEQ ID NO: 153 之核苷酸序列編碼。

圖式



抗-MN Mab 1e4



對照組 IgG



緩衝液載劑

圖 1

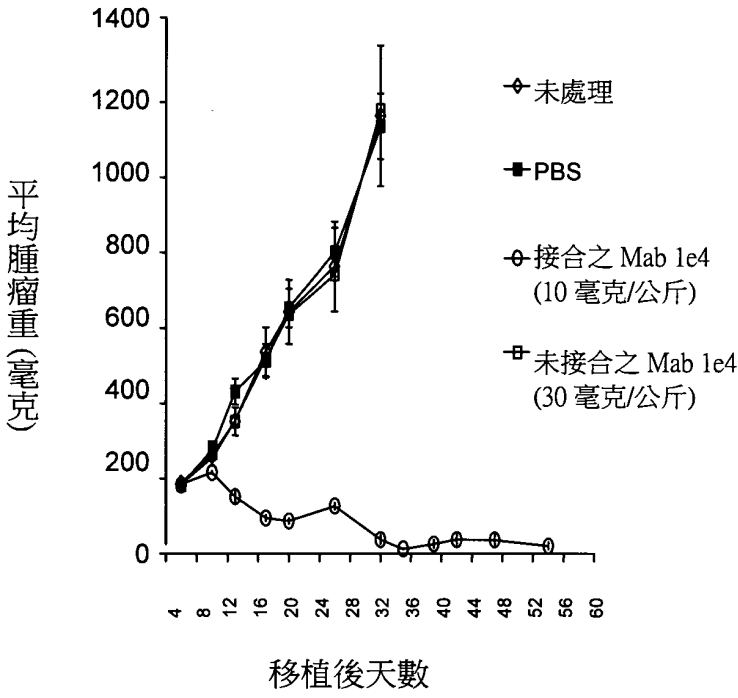


圖 2

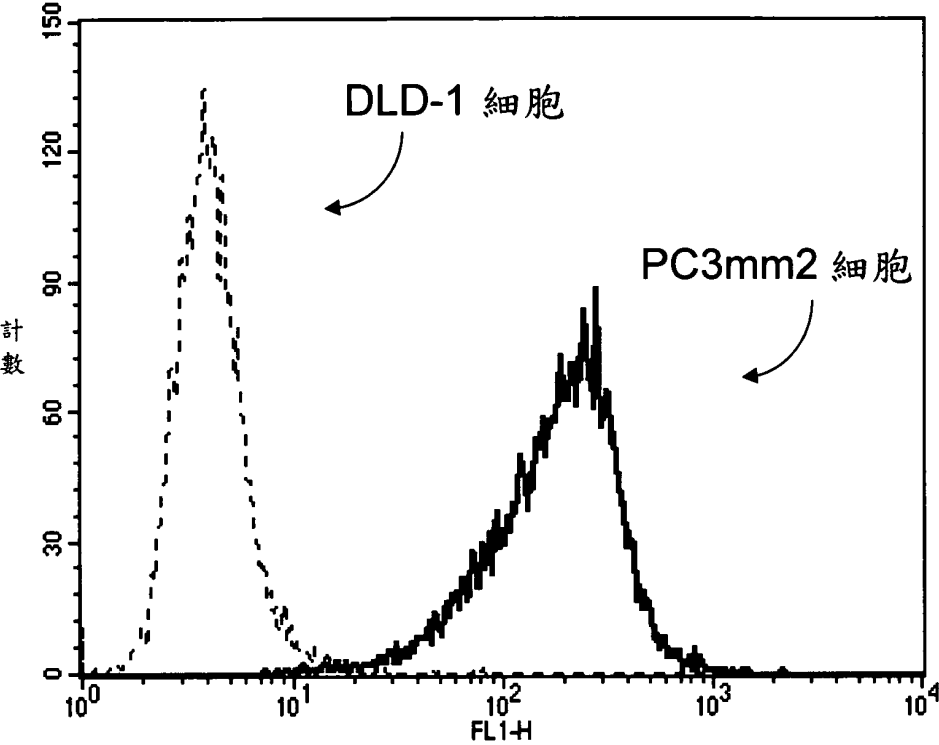


圖 3

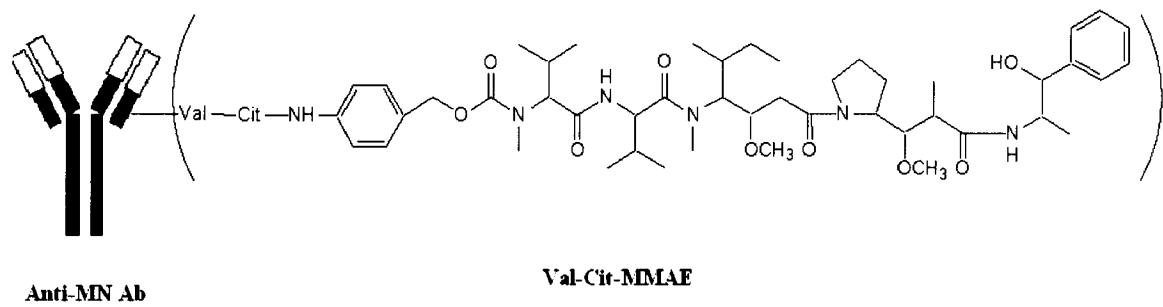


圖 4

3ee9

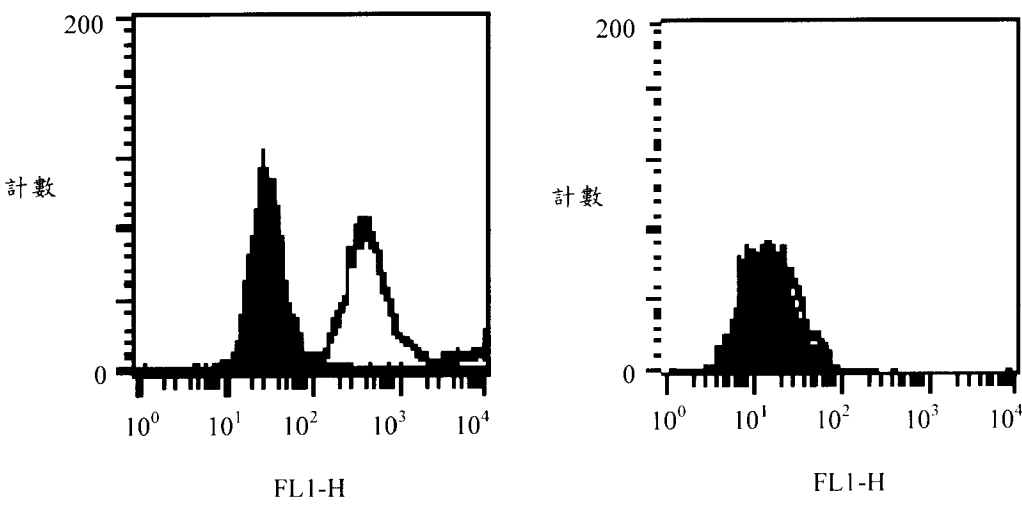


圖 5a

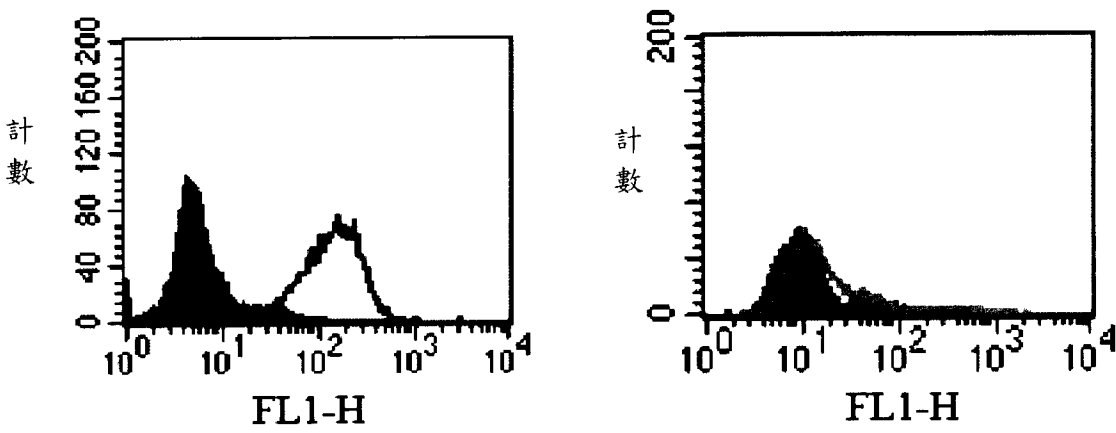


圖 5b

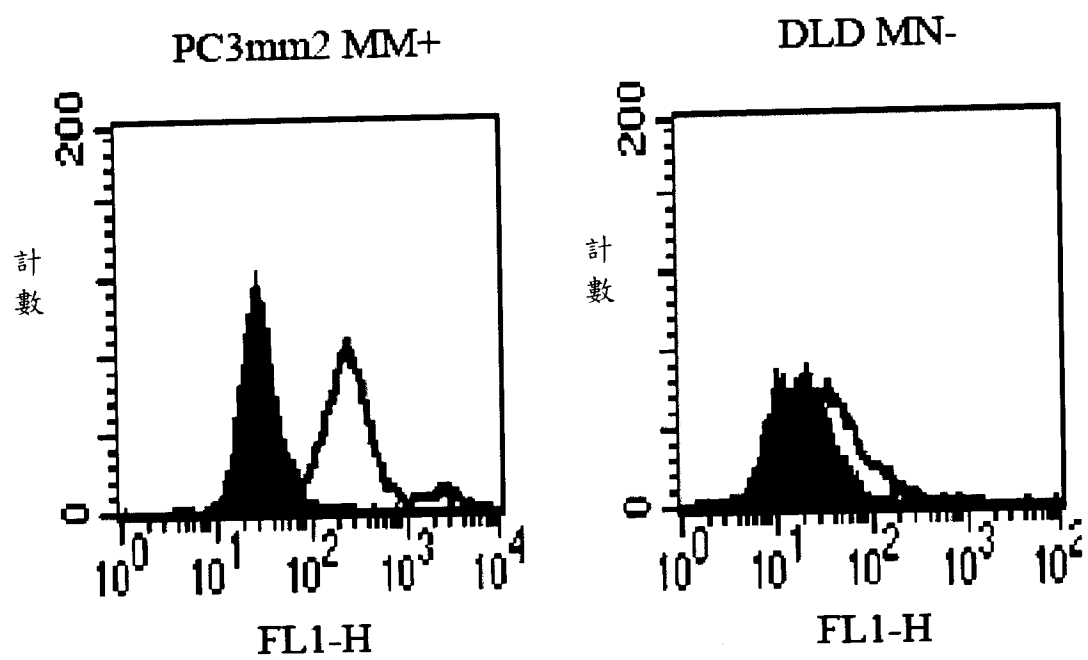


圖 5c

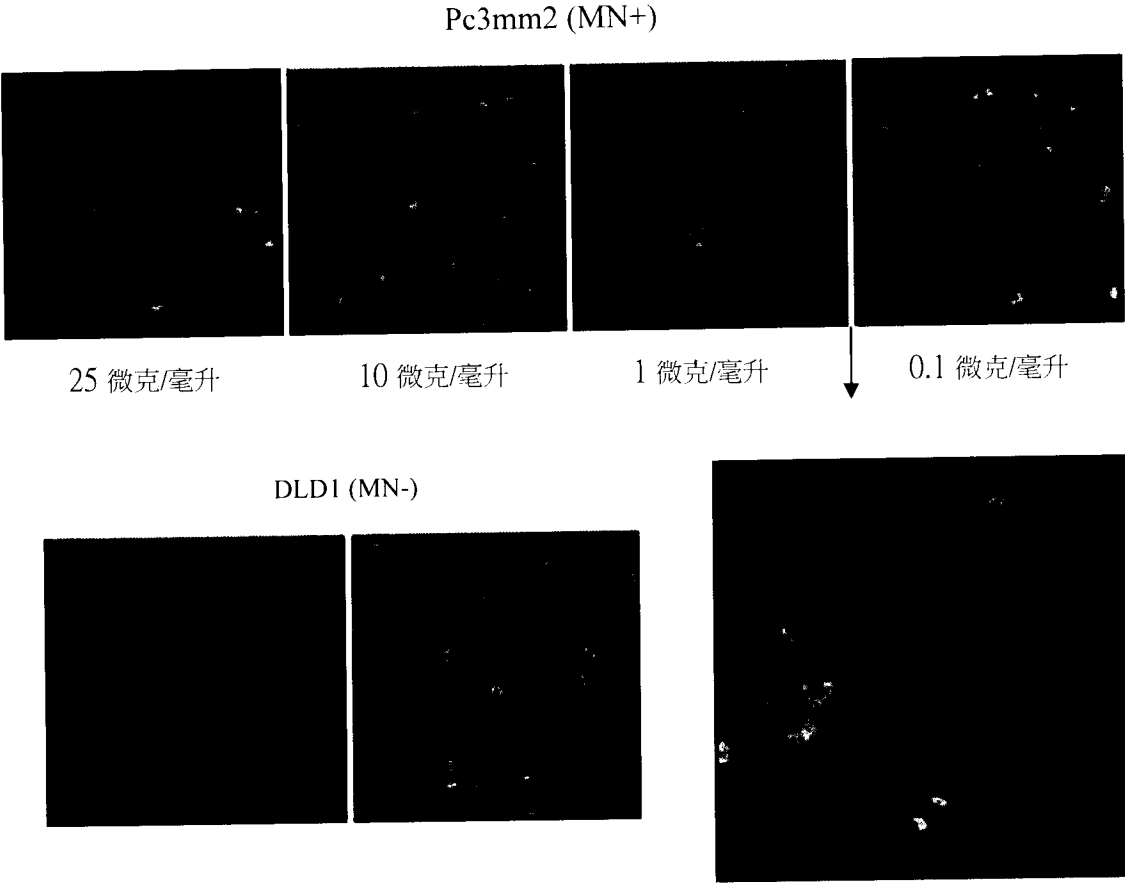


圖 6a

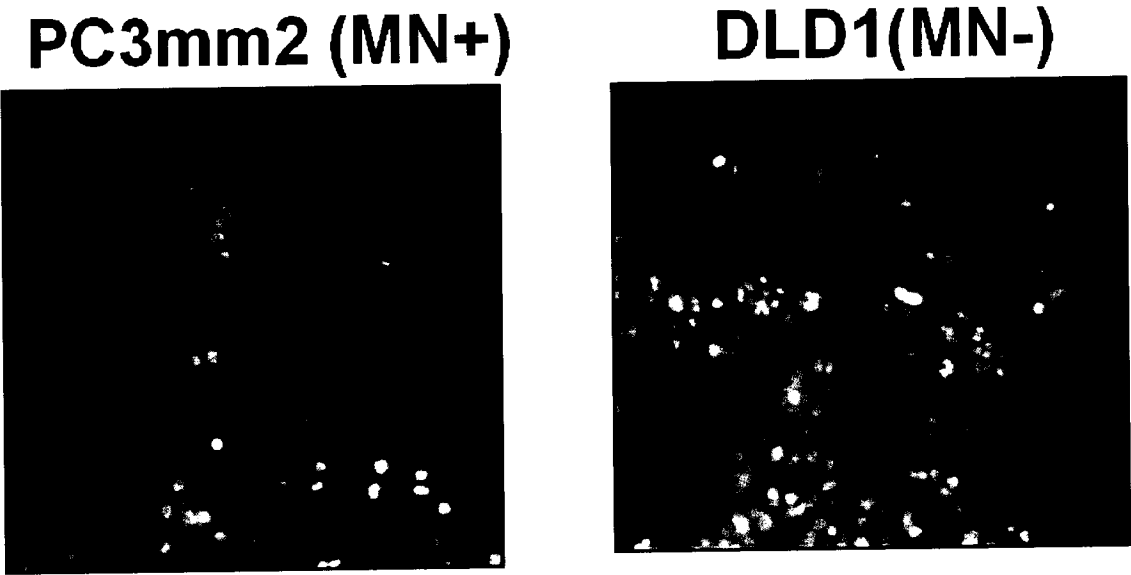


圖 6b

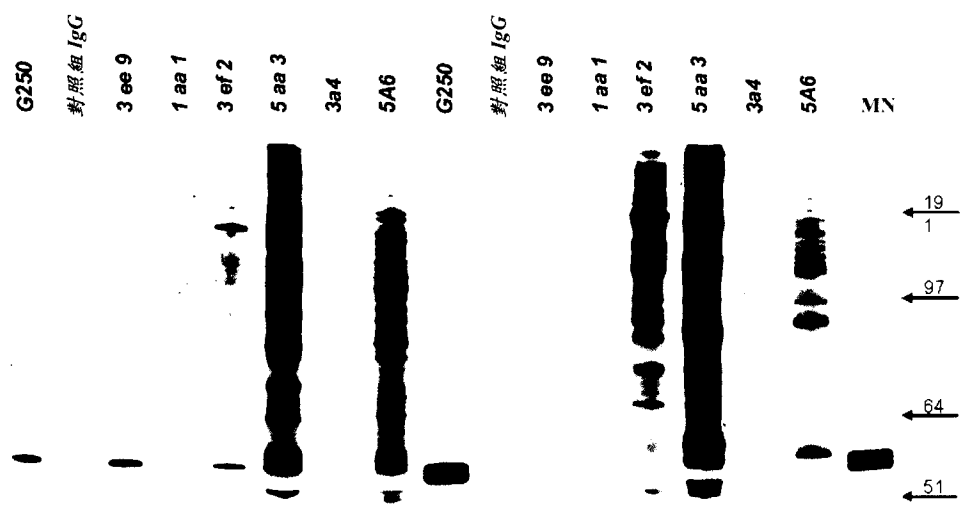


圖 7

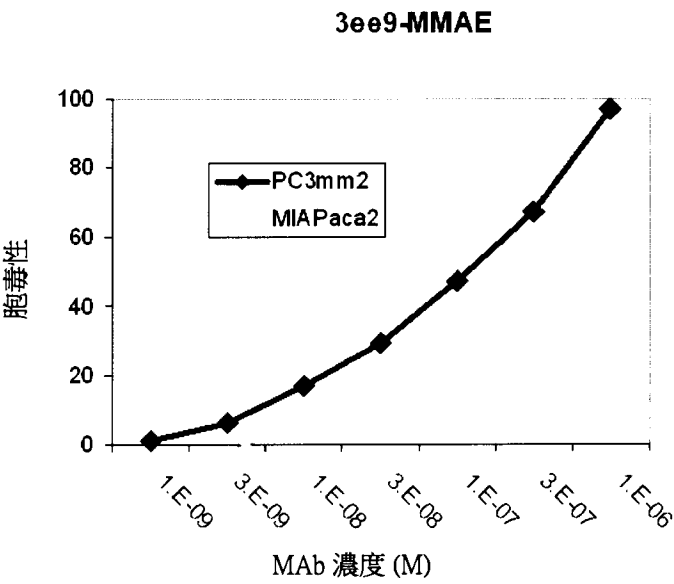


圖 8a

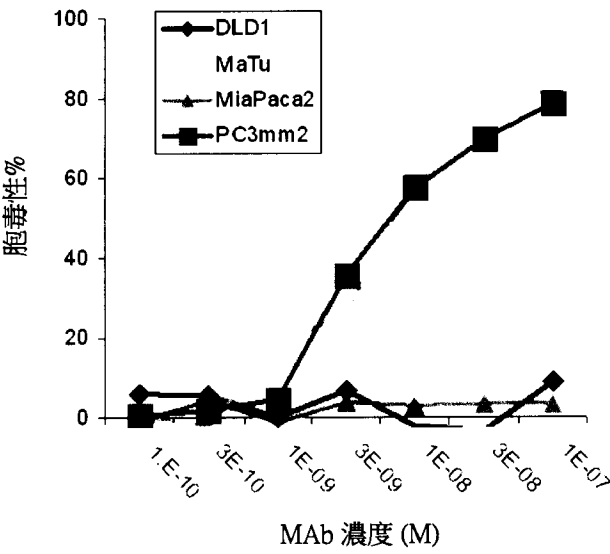


圖 8b

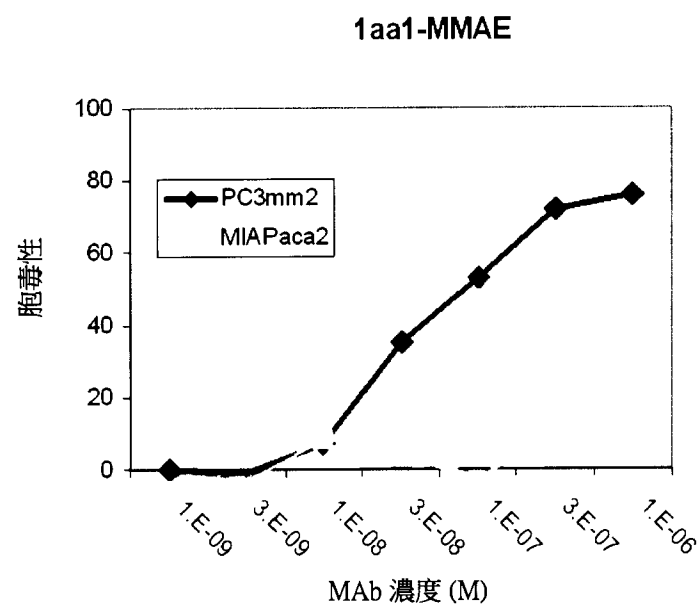
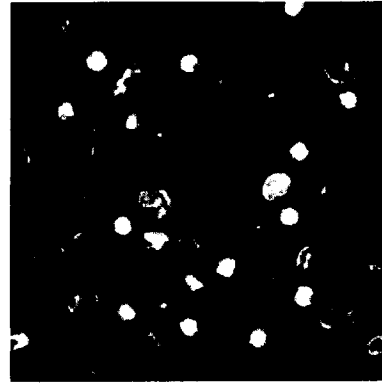


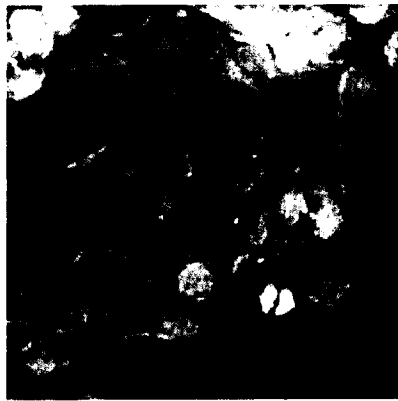
圖 8c



(MN+) PC3MM2 未處理



PC3MM2 以 3eep-MMAE 處理



(MN-) H460 未處理



H460 以 3eep9-MMAE 處理

圖 9

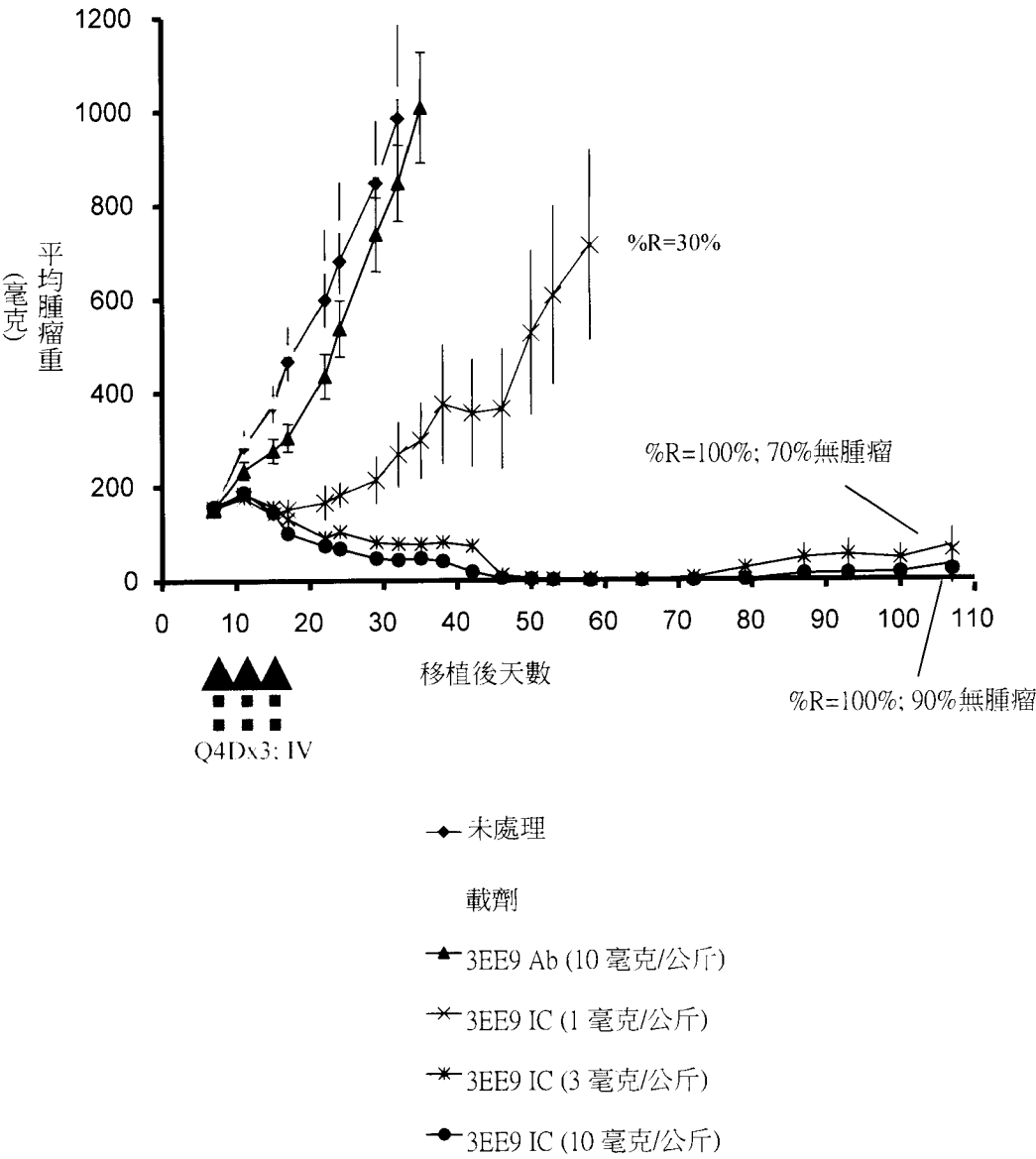
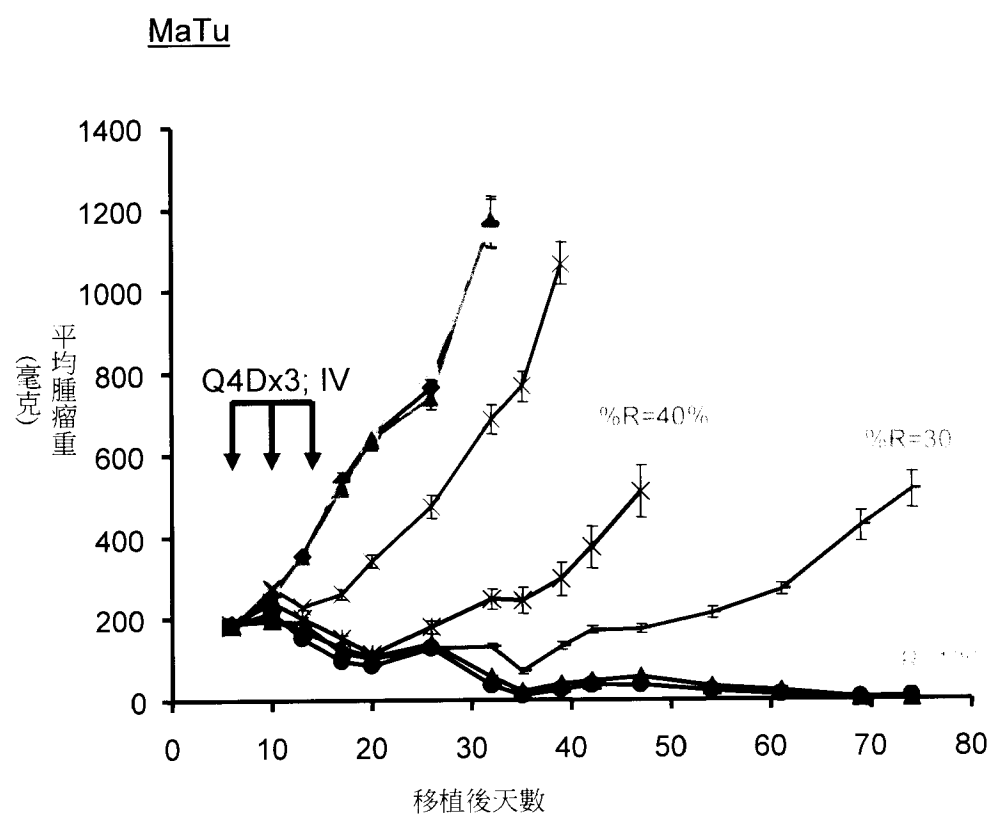


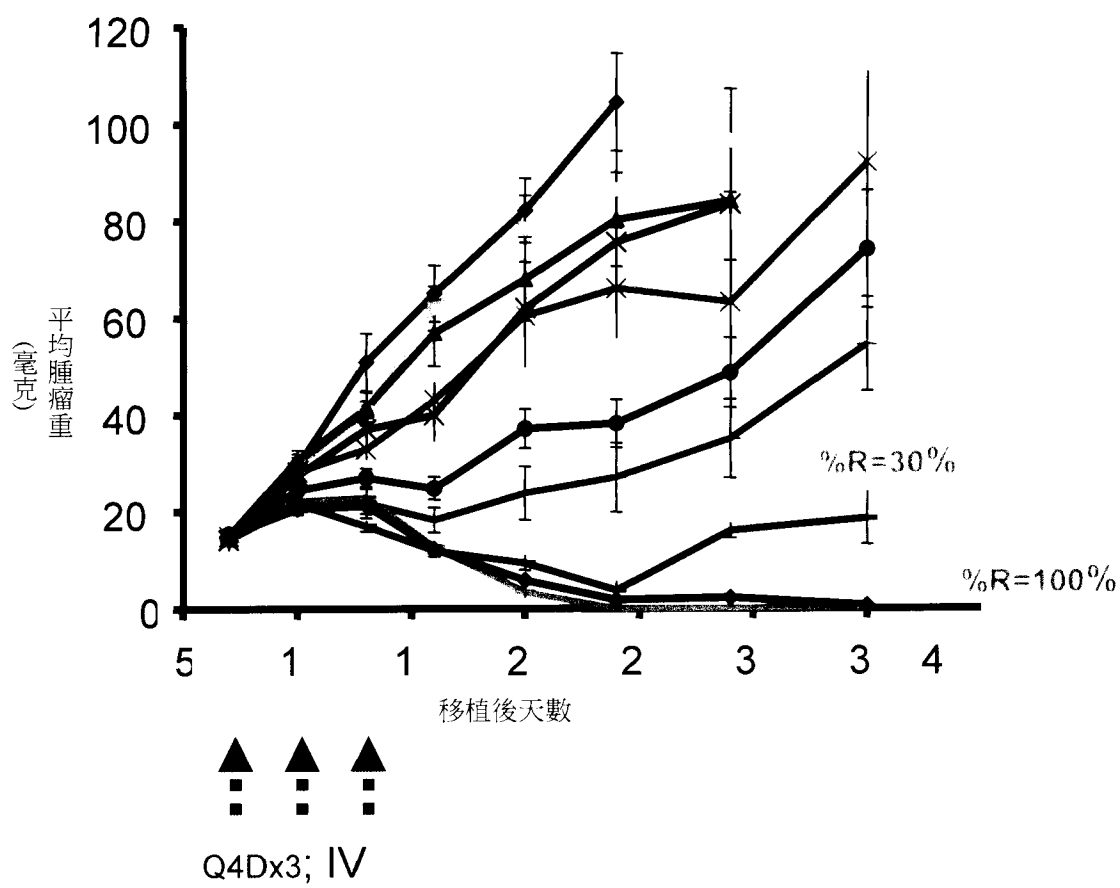
圖 10



%R = %反應良好者

- ◆ 對照組
- 載劑
- ▲ MN-Ab 30 毫克/公斤
- ✕ MN-IC 1 毫克/公斤
- ✱ MN-IC 3 毫克/公斤
- MN-IC 10 毫克/公斤
- ▲ MN-IC 30 毫克/公斤
- 紫杉醇 10 毫克/公斤

圖 11



- 未處理
- PBS
- ▲ 1a1 mAb 60毫克/公斤
- ✕ 1a1 IC 0.625毫克/公斤
- ✱ 1a1 IC 1.25毫克/公斤
- 1a1 IC 2.5毫克/公斤
- ✚ 1a1 IC 5毫克/公斤
- 1a1 IC 10毫克/公斤
- ⋯ 1a1 IC 30毫克/公斤
- ◆ 1a1 IC 60毫克/公斤

圖 12

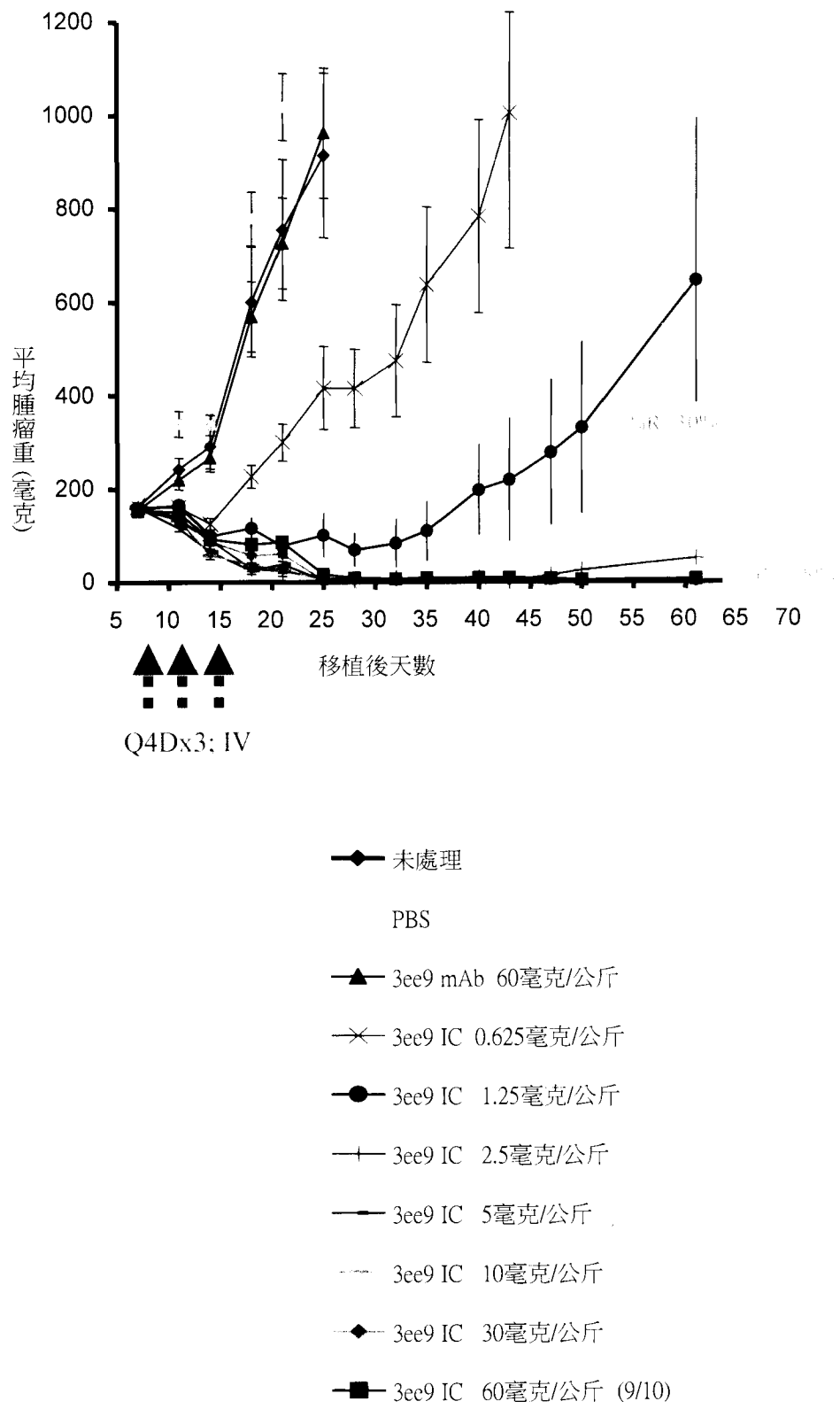


圖 13

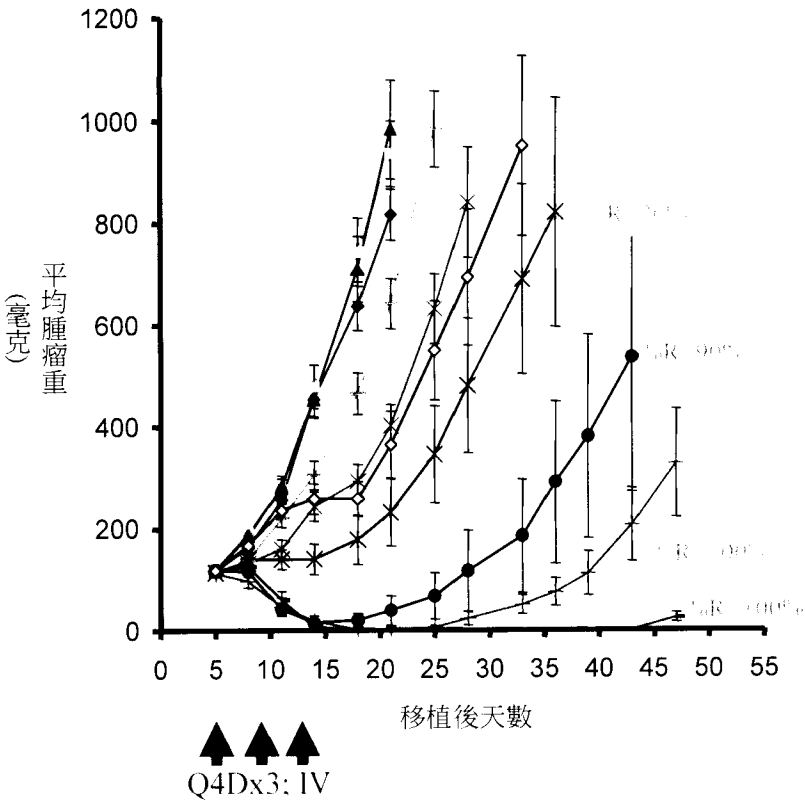
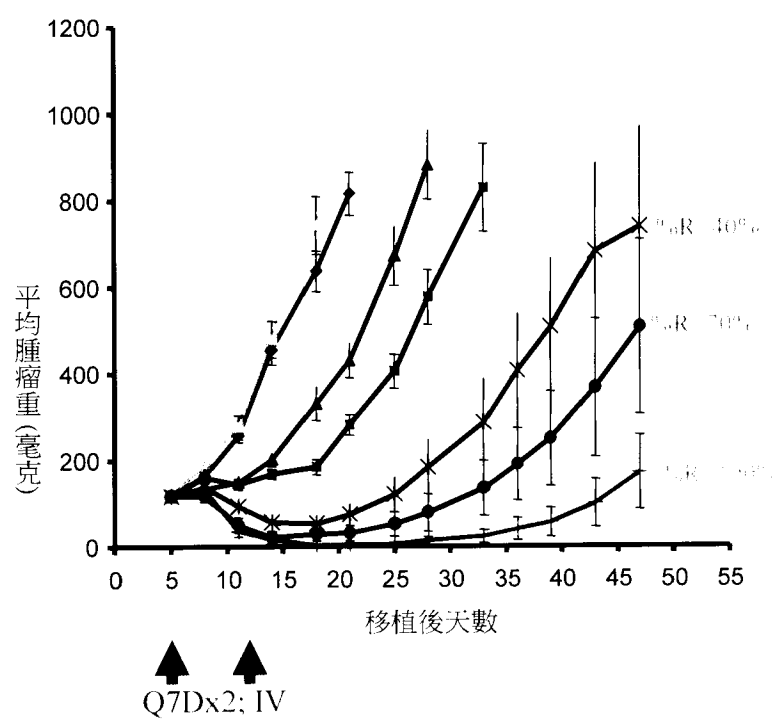
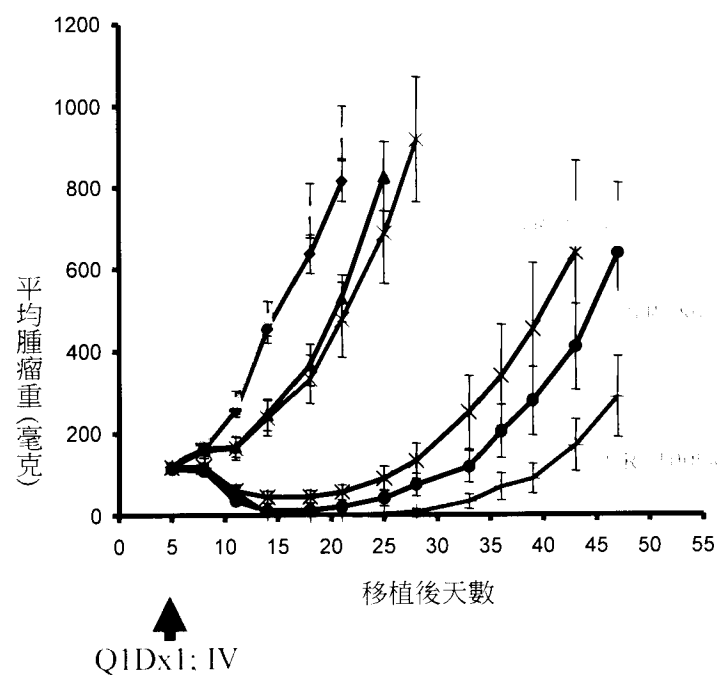


圖 14



- ◆ 未處理
- 載劑
- ▲ 3e9 Conj 0.625毫克/公斤
- 3e9 Conj 1.25毫克/公斤
- ✱ 3e9 Conj 2.5毫克/公斤
- 3e9 Conj 5毫克/公斤
- ✶ 3e9 Conj 10毫克/公斤

圖 15



- ◆ 未處理
- 載劑
- ▲ 3e9 Conj 0.625毫克/公斤
- ✱ 3e9 Conj 1.25毫克/公斤
- ✱ 3e9 Conj 2.5毫克/公斤
- 3e9 Conj 5毫克/公斤
- ✱ 3e9 Conj 10毫克/公斤

圖 16

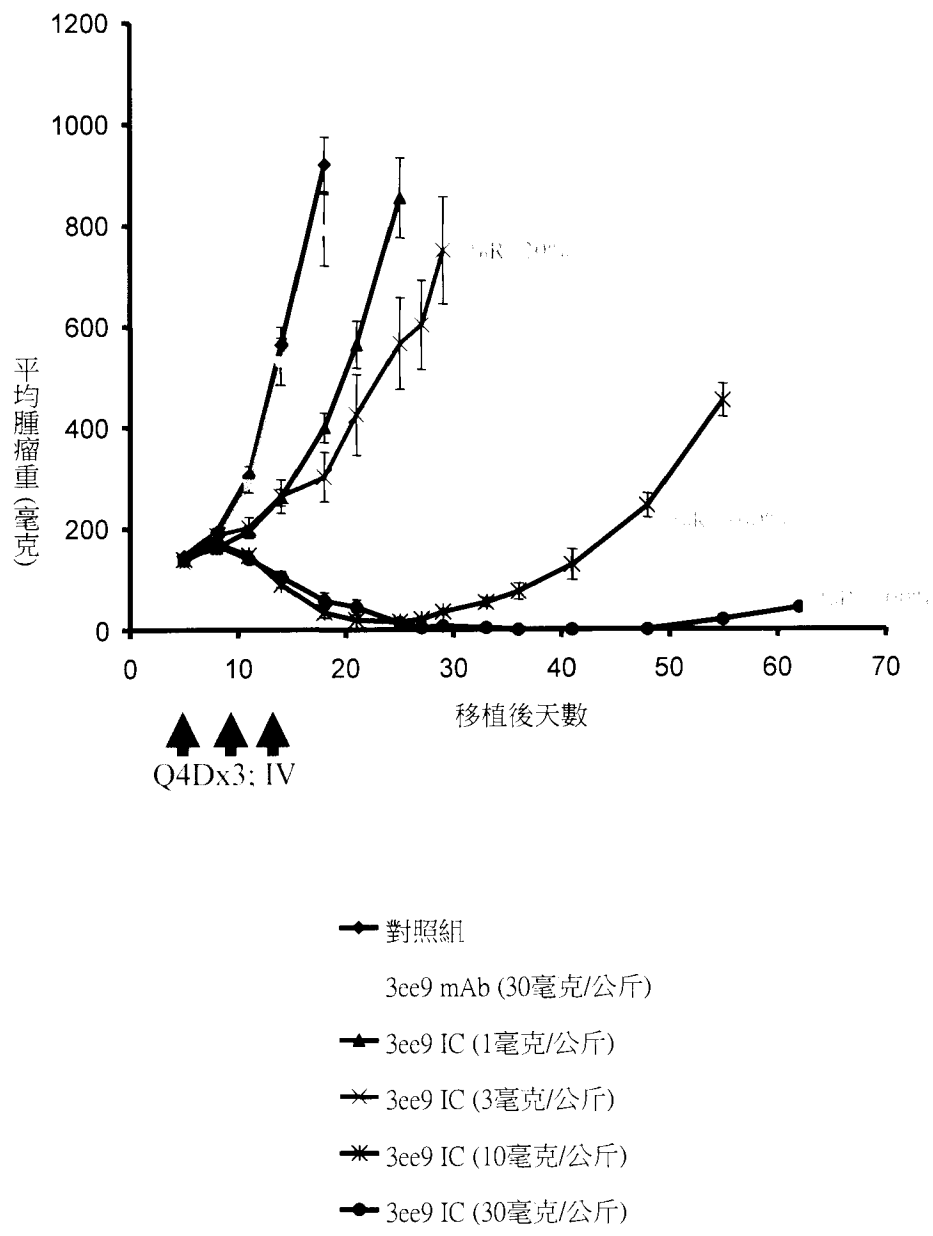
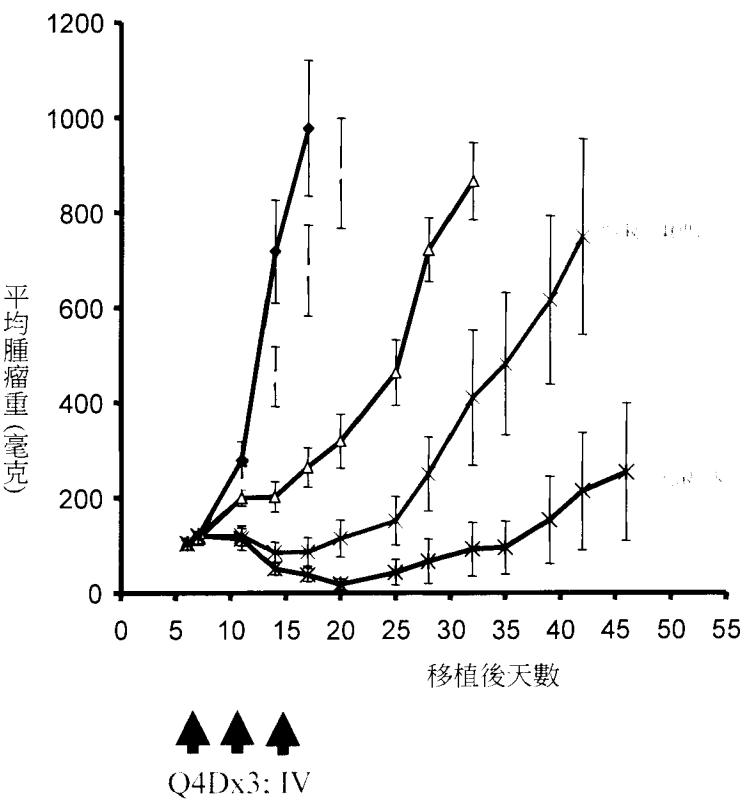
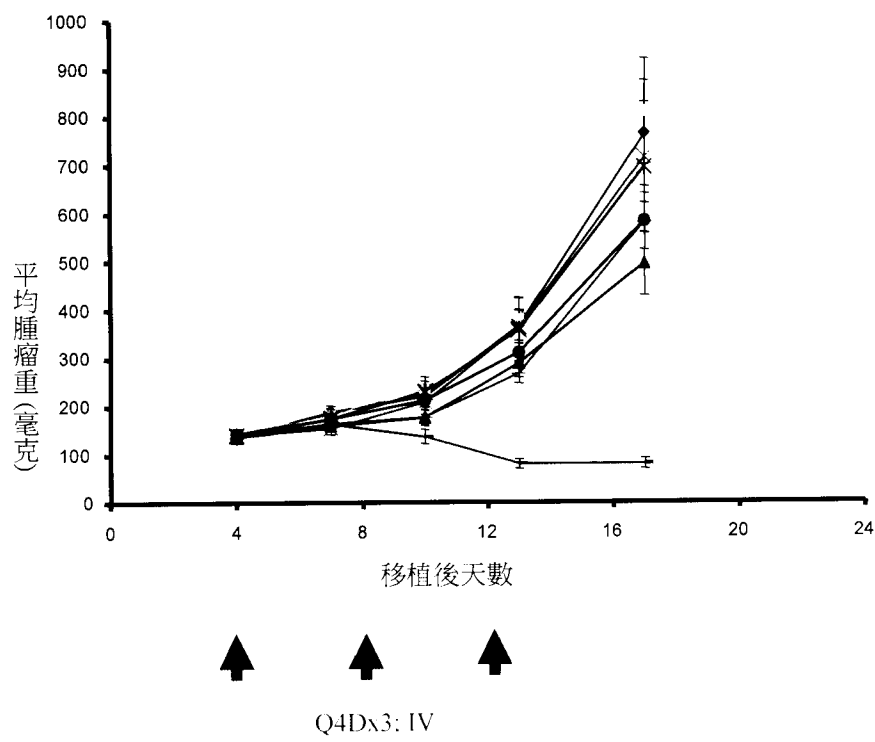


圖 17



- ◆ 未處理
- △ 79-4620 1.25毫克/公斤
- ▲ 79-4620 2.5毫克/公斤
- ✕ 79-4620 5.0毫克/公斤
- ✱ 79-4620 10.0毫克/公斤

圖 18



- ◆ 未處理
- ◆ PBS, IV, Q4Dx3
- ◆ 3e9 MMAE 1.25毫克/公斤, IV, Q4Dx3
- ◆ 3e9 MMAE 2.5毫克/公斤, IV, Q4Dx3
- ◆ 3e9 MMAE 5毫克/公斤, IV, Q4Dx3
- ◆ 3e9 MMAE 10毫克/公斤, IV, Q4Dx3
- ◆ 紫杉醇 15毫克/公斤, IV, Q4Dx3
- ◆ 吉西他濱 120毫克/公斤, IP, Q4Dx3

圖 19

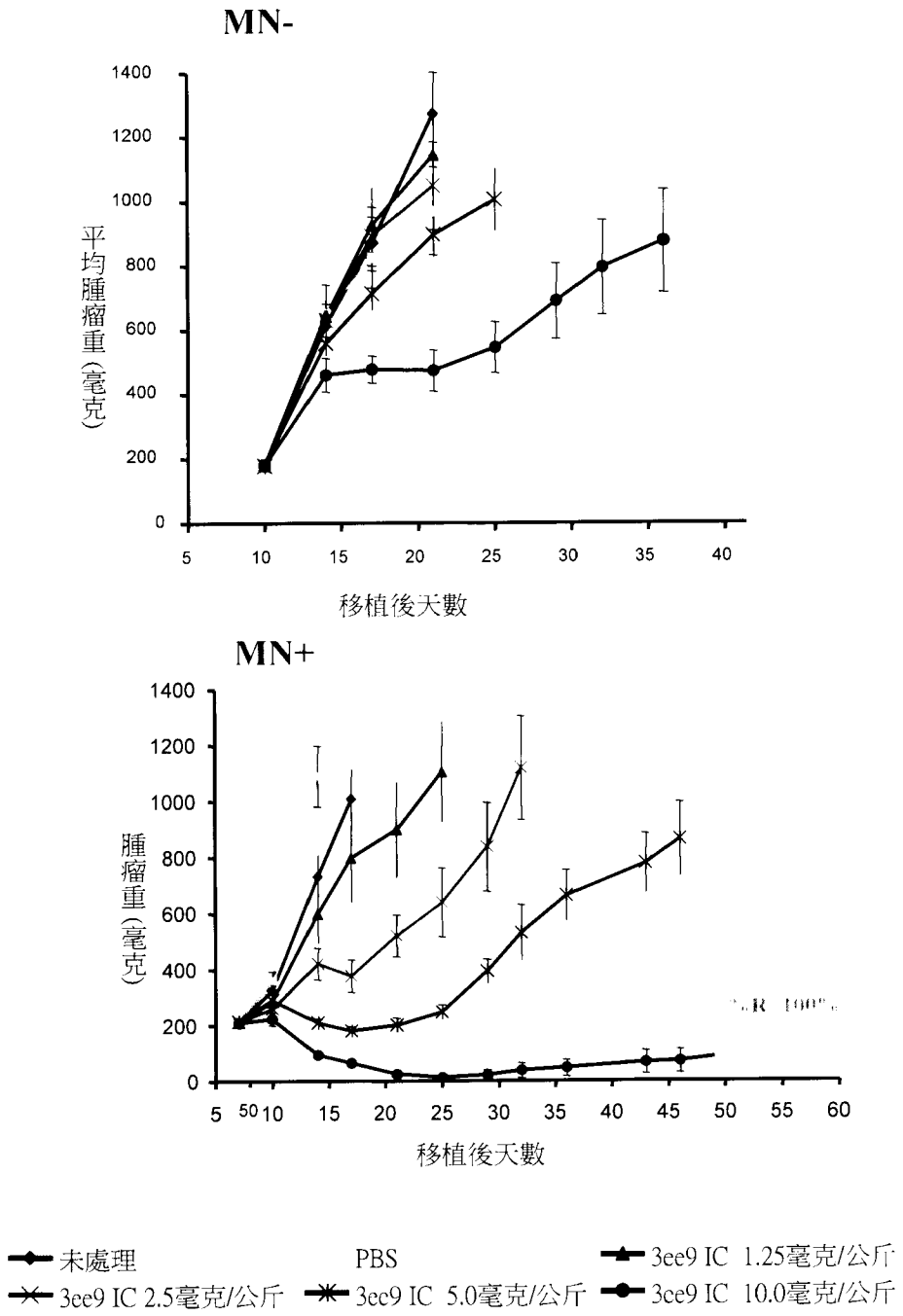


圖 20

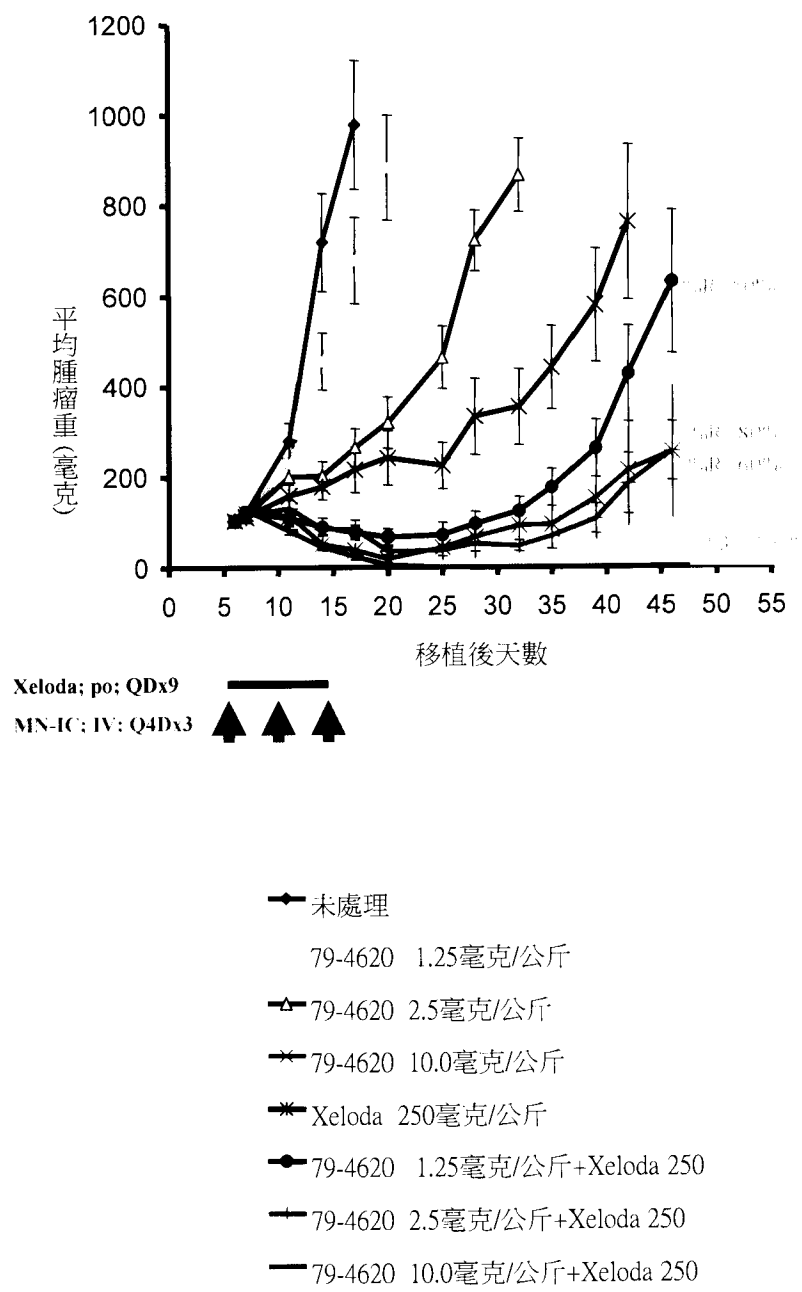
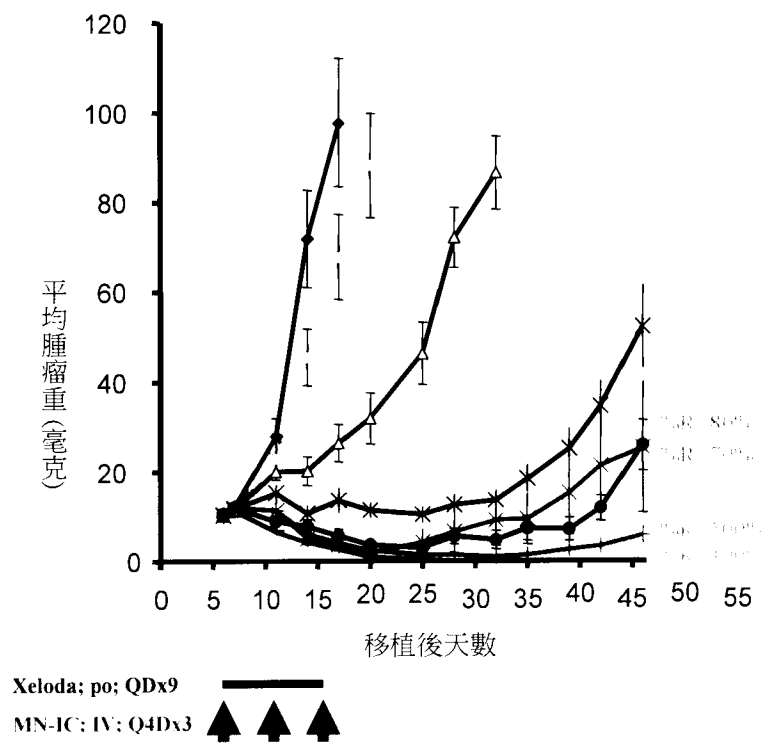


圖 21a



- 未處理
- 79-4620 1.25毫克/公斤
- △ 79-4620 2.5毫克/公斤
- × 79-4620 10.0毫克/公斤
- ✱ Xeloda 500毫克/公斤
- 79-4620 1.25毫克/公斤+Xeloda 500
- ✱ 79-4620 2.5毫克/公斤+Xeloda 500
- 79-4620 10.0毫克/公斤+Xeloda 500

圖 21b

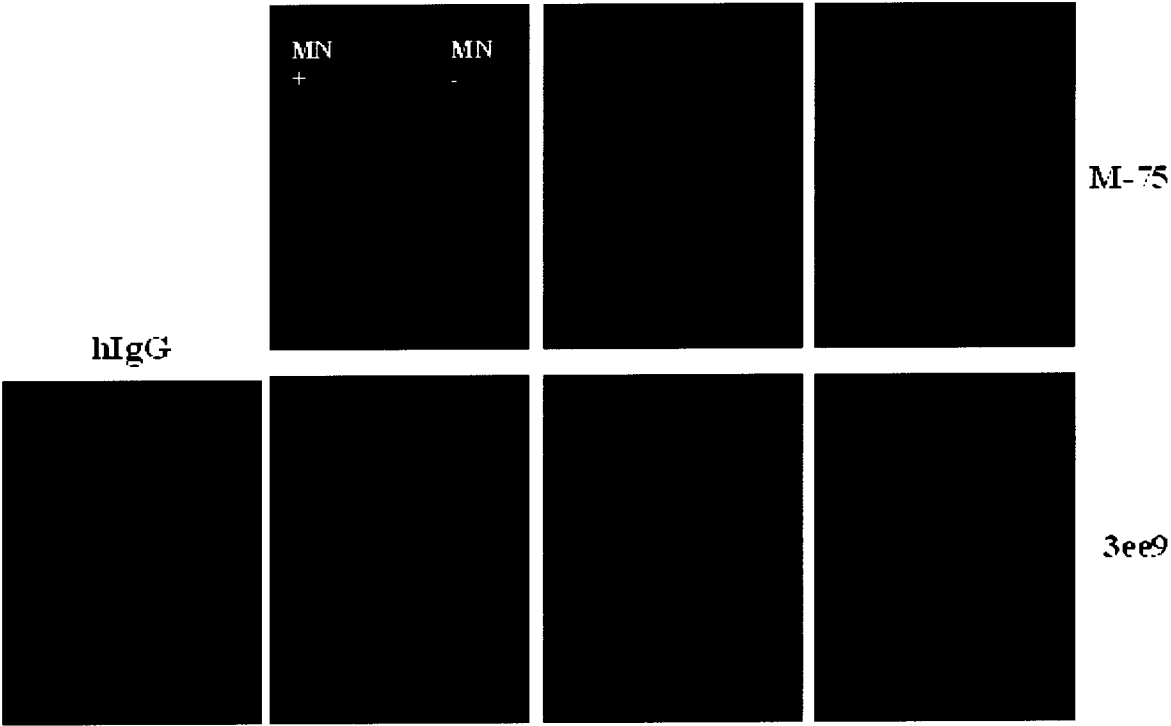


圖 22



圖 23

發明摘要

分割案

※ 申請案號：102102555 (由95146346分割)

※ 申請日：95.12.12

※IPC 分類：C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

抗-MN 抗體及使用彼等之方法

ANTI-MN ANTIBODIES AND METHODS OF USING SAME

【中文】

本發明提供具有被專一性地引導對抗 MN 蛋白的抗原結合部位之抗體，及使用此等抗體治療及診斷 MN 相關疾病之方法。

【英文】

The invention provides antibodies having an antigenic binding site specifically directed against an MN protein, and methods for using such antibodies in treating and diagnosing an MN-related disorder.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無