

公告本

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 96108184

※ 申請日期： 96.3.9

※IPC 分類：

C07K 16/30 (2006.01)
A61K 47/42 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

抗5T4抗體及其用途 / ANTI-5T4 ANTIBODIES AND USES THEREOF

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

惠氏公司 / WYETH

代表人：(中文/英文)

卡南 威廉 H. / CALNAN, WILLIAM H.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國紐澤西州麥迪遜市·吉拉達農場5號

Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940, U.S.A.

國 籍：(中文/英文)

美國 / U.S.A.

三、發明人：(共 9 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 波哈特 艾文 R. / BOGHAERT, ERWIN R.
2. 丹里 尼汀 K. / DAMLE, NITIN K.
3. 哈曼 菲力普 R. / HAMANN, PHILIP ROSS
4. 漢克 基蘭 / KHANDKE, KIRAN
5. 昆茲 亞瑟 / KUNZ, ARTHUR
6. 馬奎特 金貝利 A. / MARQUETTE, KIMBERLY A.
7. 席斯泰柯瓦 里奧米拉 / TCHISTIAKOVA, LIOUDMILA
8. 吉爾 戴文德 / GILL, DAVINDER
9. 史瑞庫瑪 柯丹葛堤 / SREEKUMAR, KODANGATTIL

國 籍：(中文/英文)

- | | |
|---------------------|-----------------|
| 1. 比利時 / BELGIUM | 7. 加拿大 / CANADA |
| 2.-6.8. 美國 / U.S.A. | 9. 印度 / INDIA |

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為：。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國、 2006/03/10、 60/781,346
2. 美國、 2007/02/23、 60/891,248

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☒ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☒ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

相關申請案

5 本案請求美國臨時專利申請案第60/891,248號，申請日2007年2月23日及美國臨時專利申請案第60/781,346號，申請日2006年3月10日之優先權，各案全文以引用方式併入此處。

發明領域

10 本發明大致上係有關腫瘤病症或惡性病症之診斷及/或治療用之抗5T4抗體及抗體/藥物軛合物(亦即免疫軛合物)。本發明亦係關於抗5T4抗體及抗體/藥物軛合物製備用之經分離的可變區核酸及多胜肽。

【先前技術】

發明背景

15 高度親和力單株抗體的利用性允許發展靶定之免疫治療。根據此種辦法，治療劑係耦合至對特定標靶細胞族群具有結合特異性之抗體。已經於單株抗體軛合之治療劑包括胞毒素、生物反應改性劑、酶(例如核糖核酸酶)、細胞凋亡誘導性蛋白質及胜肽及放射性同位素。抗體/胞毒素軛合
20 物通稱為免疫胞毒素。抗體耦合至低分子量藥物諸如胺甲喋呤(methothrexate)典型稱作為化學抗體/藥物軛合物。被描述為免疫調節劑之軛合物含有生物反應調節劑諸如淋巴激素、生長因子及補體活化眼鏡蛇蛇毒因子(CVF)。放射性標記抗體包括可用於放射性治療以及用於成像之放射性同

位素。

抗體媒介之藥物輸送至腫瘤細胞，藉由減少其被正常組織吸收，可擴大藥物功效。例如參考Reff等人(2002)癌症控制 9:152-66；(2001) Crit. Rev. Oncol. Hematol. 39:195-201。癌症化學治療藥理學。米洛塔格(MYLOTARG)(珍土祖邁(gemtuzumab)歐左加黴素(ozogamicin))為市售靶定免疫治療，米洛塔格係根據此項原理發揮功效，證實可用於老年病人治療骨髓性白血病。參考Sievers等人(1999)血液93:3678-84。於此種情況下，靶定分子為軛合至卡利黴素(calicheamicin)之抗-CD33單株抗體。

靶定免疫治療用於人體確實受限制，部分原因係由於對非人單株抗體出現不良反應之故。早期使用齧齒動物抗體進行臨床研究，顯示人抗小鼠抗體(HAMA)反應及人抗大鼠抗體(HARA)反應，結果導致抗體的快速清除。從此發展出免疫原性較低之抗體，包括嵌合型抗體、人化抗體、靈長類化抗體及使用轉移基因小鼠或噬菌體顯示存庫所製備之人類抗體。參考Morrison等人(1984) Proc. Natl. Acad. Sci.USA 81:6851-5; Queen等人(1989) Proc. Natl. Acad. Sci.USA 86:10029-33; Newman等人(1992)生物技術(NY) 10:1455-60; Green等人(1994) Nat. Genet. 7:13-21; Marks等人(1991) J.Mol.Biol.222:581-97。避免HAMA反應，允許投予高劑量及重複投予藥劑來達成治療反應。

候選之用於藥物靶定之抗體包括可辨識癌胚抗原之抗體，癌胚抗原亦即為存在於胎兒細胞和腫瘤細胞上之抗

原，且大半不存在於正常成人細胞。例如參考Magdelenat (1992)免疫方法期刊150:133-43。5T4癌胚抗原為包含42 kDa非糖化核心之72 kDa高度糖化穿膜糖蛋白(Hole等人(1988)英國癌症期刊57:239-46，Hole等人(1990)國際癌症期刊45:179-84；PCT國際公告案WO89/07947；美國專利案5,869,053)。5T4包括以兩個富白胺酸重複區(LRR)及一個介於中間之親水區為特徵之胞外功能部位，5T4為靶定治療可接近的部位(Myers等人(1994) J. Biol. Chem. 269:9319-24)。

人5T4表現於多種癌症類型，包括膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、子宮內膜癌、肺癌、食道癌、卵巢癌、胰癌、胃癌、及睪丸癌，人5T4大致上不存在於正常組織，但胎盤的融合滋胚層除外[例如參考Southall等人(1990)英國癌症期刊61:89-95(5T4抗原於正常組織及惡性組織之免疫組織學分佈)；Mieke等人(1997)臨床癌症研究3:1923-1930(低細胞間黏著分子1及高5T4於腫瘤細胞之表現與結腸直腸癌病人之無病存活率降低之交互關聯)；Starzynska等人(1994)英國癌症期刊69:899-902(5T4癌胚抗原於結腸直腸癌表現之預後之意義)；Starzynska等人(1992)英國癌症期刊66:867-869(5T4抗原於結腸直腸癌及胃癌之表現)；Jones等人(1990)英國癌症期刊61:96-100(5T4抗原於子宮頸癌之表現)；Connor及Stern (199)國際癌症期刊46:1029-1034(MHC類別-I於子宮頸癌表現之移漏)；Ali等人(2001)口腔腫瘤學37:57-64(5T4癌胚抗原於正常、失養、及惡性口腔黏膜之表現類型)；PCT國際公告案WO89/07947；美國專利案5,869,053]。

例如據報告不會表現於5T4之組織包括肝臟、皮膚、脾臟、胸腺、中樞神經系統(CNS)、腎上腺及卵巢。據報告有5T4病灶表現或低度表現之組織包括肝臟、皮膚、脾臟、淋巴結、扁桃腺、甲狀腺、攝護腺及貯精囊。5T4之微弱-中等瀰漫性表現報告於腎、肺、胰、咽及胃腸道。唯一報告有5T4之高度表現的組織為融合滋胚層；5T4也不存在於正常血清或孕婦血清(亦即濃度小於10奈克/毫升)。5T4於腫瘤過度表現係與疾病的進行有交互關聯性，5T4表現的評估也提示為識別有短期預後之病人之辦法[Mulder等人(1997)臨床癌症研究 3:1923-30，Naganuma等人(2002)抗癌研究 22:1033-1038，Starzynska等人(1994)英國癌症期刊 69:899-902，Starzynska等人(1998) Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 10:479-484，Wrigley等人(1995)國際婦癌期刊 5:269-274]。

曾經說明數種抗-5T4抗體，包括mAb5T4也稱作為H8抗體，其可識別5T4抗原之構象同位素(Shaw等人(2002) Biochem. J. 363:137-45，PCT國際公告案WO98/55607)、大鼠單株抗體(Woods等人(2002) Biochem. J. 366:353-65)、及稱作5T4之小鼠單株抗體(美國專利案5,869,053)。已經說明單鏈抗5T4抗體，以及包括抗5T4抗體序列融合至一個治療分子之融合蛋白質。例如抗5T4抗體序列融合至人IgG1恆定功能部位、或融合至鼠B7.1胞外功能部位，誘導5T4表現腫瘤細胞系的細胞分解[Myers等人(2002)癌症基因治療 9:884-896，Shaw等人(2000) Biochim. Biophys. Acta.

1524:238-246；美國專利申請公告案第2003/0018004號]。

同樣地，單鏈抗5T4抗體融合至超抗原，可於試管試驗中刺激非小細胞肺癌之T細胞依賴型細胞分解(Forsberg等人(2001)英國癌症期刊85:129-136)。使用PNU-214936亦即單株抗體5T4之鼠Fab片段融合至突變超抗原葡萄球菌(staphylococcal)腸胞毒素A(SEA)，進行第一期臨床研究顯示毒性有限且有若干抗腫瘤反應(Cheng等人(2004) J. Clin. Oncol. 22(4):602-9)。至於另一種治療辦法，也曾經提示重組5T4疫苗來治療癌症(Mulryan等人(2002)分子癌症治療1:1129-37；英國專利申請公告案第2,370,571及2,378,704號；EP專利申請公告案第1,160,323及1,152,060號)。

本發明提供新穎抗5T4抗體、抗5T4/藥物軛合物、所揭示之抗體及抗體/藥物軛合物之製法、及其供診斷用及治療用之用法。

【發明內容】

發明概要

本發明提供新穎抗5T4抗體、其軛合物及其用法。也提供經分離之抗5T4多胜肽及編碼該經分離之抗5T4多胜肽之經分離之核酸。

本發明之抗5T4抗體包括可特異性結合人5T4抗原之抗體，其中該抗體(a)包含鼠A1、A2或A3抗體之抗原結合功能部位；(b)與鼠A1、A2或A3抗體競爭5T4結合；(c)結合由A1、A2或A3抗體所結合之5T4功能部位；或(d)包含(a)-(c)之抗體之5T4結合片段。本發明之抗5T4抗體可為嵌合、人化、

單鏈、Fab片段、F(ab)₂片段、Fv片段、四元體、四價、多特異性、功能部位特異性、單功能部位抗體、融合蛋白質或鼠單株抗體。例如本發明之人化抗5T4抗體包括包含至少一個重鏈可變區或至少一個輕鏈可變區之抗體，其中該人化抗體或人化抗體片段：(a)包含鼠A1、A2或A3抗體之抗原結合功能部位；(b)與鼠A1、A2或A3抗體競爭5T4結合；(c)結合由A1、A2或A3抗體所結合之5T4功能部位；或(d)包含(a)-(c)之抗體之5T4結合片段。

本發明之抗5T4抗體至少約 1×10^{-7} M至約 1×10^{-12} M之對人5T4抗原之結合親和力。所揭示之抗5T4抗體及其軛合物經由於活體內靶定5T4表現細胞也可顯示特異性結合。

本發明之代表性抗5T4抗體包括抗體包含一重鏈可變區包含(a) SEQ ID NO:2之殘基20-138之胺基酸序列；(b)與SEQ ID NO:2之殘基20-138至少有85%相同性之胺基酸序列；(c) SEQ ID NO:6之殘基19-135之胺基酸序列；(d)與SEQ ID NO:6之殘基19-135至少有86%相同性之胺基酸序列；(e) SEQ ID NO:10之殘基20-141之胺基酸序列；(f)與SEQ ID NO:10之殘基20-141至少有91%相同性之胺基酸序列；(g) SEQ ID NO:49、51、52、54、56、77、78、81或82中之任一者之胺基酸序列；(h)與SEQ ID NO:51至少有91%相同度之胺基酸序列；(i)與SEQ ID NO:54至少有78%相同度之胺基酸序列；(j)與SEQ ID NO:77至少有89%相同度之胺基酸序列；(k)與SEQ ID NO:78至少有79%相同度之胺基酸序列；(l)與SEQ ID NO:81至少有80%相同度之胺基酸序列；

或(m)與SEQ ID NO:82至少有78%相同度之胺基酸序列。

本發明之代表性抗5T4抗體包括抗體包含一輕鏈可變區包含(a) SEQ ID NO:4之殘基21-127之胺基酸序列；(b)與SEQ ID NO:4之殘基21-127至少有94%相同性之胺基酸序列；(c) SEQ ID NO:8之殘基23-130之胺基酸序列；(d)與SEQ ID NO:8之殘基23-130至少有96%相同性之胺基酸序列；(e) SEQ ID NO:12之殘基21-127之胺基酸序列；(f)與SEQ ID NO:12之殘基21-127至少有98%相同性之胺基酸序列；(g) SEQ ID NO:58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、79、80、83或84中之任一者之胺基酸序列；(h)與SEQ ID NO:60至少有83%相同度之胺基酸序列；(i)與SEQ ID NO:70至少有93%相同度之胺基酸序列；(j)與SEQ ID NO:76至少有85%相同度之胺基酸序列；(k)與SEQ ID NO:76至少有85%相同度之胺基酸序列；(l)與SEQ ID NO:79至少有88%相同度之胺基酸序列；(m)與SEQ ID NO:80至少有84%相同度之胺基酸序列；(n)與SEQ ID NO:83至少有90%相同度之胺基酸序列；或(o)與SEQ ID NO:84至少有91%相同度之胺基酸序列。

舉例言之，抗5T4抗體可包含(a)包含SEQ ID NO:2之殘基20-138之胺基酸序列之一重鏈可變區，以及包含SEQ ID NO:4之殘基21-127之胺基酸序列之一輕鏈可變區；(b)包含SEQ ID NO:6之殘基19-135之胺基酸序列之一重鏈可變區，以及包含SEQ ID NO:8之殘基23-130之胺基酸序列之一輕鏈可變區；或(c)包含SEQ ID NO:10之殘基20-141之胺基

酸序列之一重鏈可變區，以及包含SEQ ID NO:12之殘基21-127之胺基酸序列之一輕鏈可變區。

本發明之嵌合型及人化抗5T4抗體可包含衍生自人恆定區之恆定區，諸如衍生自人 κ 輕鏈恆定區之一人輕鏈恆定區及衍生自人IgG1或人IgG4重鏈恆定區之一人重鏈恆定區。

代表性本發明之人化抗5T4抗體包括抗體包含(a)人抗體架構區之殘基之架構區；以及(b)一個或多個SEQ ID NO:4、8或12之輕鏈可變區之CDR，或一個或多個SEQ ID NO:2、6或10之重鏈可變區之CDR。舉例言之，人抗體架構區之殘基可包含(a) DPK24亞群IV生殖細胞系純株、V κ III亞群(DPK23、DPK22、DPK20、DPK21)或V κ I亞群生殖細胞系純株(DPK9、DPK1、O2、DPK7)之人抗體輕鏈架構區；(b)人抗體重鏈架構區，其係選自於由DP-21 (VH7)、DP-54 (VH3-07)、DP-47 (VH3-23)、DP-53 (VH-74)、DP-49 (VH3-30)、DP-48 (VH3-13)、DP-75、DP-8 (VH1-2)、DP-25、VI-2b、及VI-3 (VH1-03)、DP-15、及V1-8 (VH1-08)、DP-14、及V1-18 (VH1-18)、DP-5、及V1-24P (VH1-24)、DP-4 (VH1-45)、DP-7 (VH1-46)、DP-10、DA-6、及YAC-7 (VH1-69)、DP-88 (VH1-e)、DP-3及DA-8(VH1-f)所組成之組群；(c) (b)之重鏈架構區之同位序列；或(d)與(a)-(c)之架構區至少有63%相同性之一架構區。

本發明之代表性人化抗5T4抗體也包括兩個或多個SEQ ID NOs:SEQ ID NOs:2、4、6、8、10或12之CDR，諸

如 SEQ ID NO:4、8或12之輕鏈可變區之兩個或全部三個 CDR或SEQ ID NO:2、6或10之重鏈可變區之兩個或全部三個 CDR，或SEQ ID NO:4、8或12之輕鏈可變區之一個或多個 CDR及SEQ ID NO:2、6或10之重鏈可變區之一個或多個 CDR，或SEQ ID NOs:2、4、6、8、10或12之全部CDR。

代表性嵌合型及人化抗5T4抗體包括抗體包含一重鏈可變區序列包含(a) SEQ ID NO:2之殘基20-138之胺基酸序列；(b)與SEQ ID NO:2之殘基20-138至少有85%相同度之胺基酸序列；(c) SEQ ID NO:6之殘基19-135之胺基酸序列；(d)與SEQ ID NO:6之殘基19-135至少有86%相同度之胺基酸序列；(e) SEQ ID NO:10之殘基20-141之胺基酸序列；(f)與SEQ ID NO:10之殘基20-141至少有91%相同度之胺基酸序列；(g) SEQ ID NO:49之殘基1-119之胺基酸序列；(h)與SEQ ID NO:49之殘基1-119至少有90%相同度之胺基酸序列；或(i)第9A-9C圖所示人化重鏈可變區之胺基酸序列。

本發明之額外嵌合型及人化抗5T4抗體包括抗體，該抗體包含由一核酸所編碼之重鏈可變區，該核酸包含(a) SEQ ID NO:1之核苷酸58-414之核苷酸序列；(b) SEQ ID NO:5之核苷酸55-405之核苷酸序列；(c) SEQ ID NO:9之核苷酸58-423之核苷酸序列；(d) SEQ ID NO:48之核苷酸1-358之核苷酸序列；(e)第9A-9C圖所示編碼人化A1、A2或A3可變區之核酸序列；(f)與(a)-(e)中之任一者之核苷酸序列至少有90%相同度之核苷酸序列；或(g)於苛刻雜交條件下可與(a)-(e)之任一者之補體特異性雜交之核酸。

代表性之嵌合型及人化抗5T4抗體包括抗體包含一輕鏈可變區序列包含(a) SEQ ID NO:4之殘基21-127之胺基酸序列；(b)與SEQ ID NO:4之殘基21-127至少有94%相同度之胺基酸序列；(c) SEQ ID NO:8之殘基23-130之胺基酸序列；(d)與SEQ ID NO:8之殘基23-130至少有96%相同度之胺基酸序列；(e) SEQ ID NO:12之殘基21-127之胺基酸序列；(f)與SEQ ID NO:12之殘基21-127至少有98%相同度之胺基酸序列；或(g)第9A-9C圖所示之人化A1、A2或A3輕鏈可變區之胺基酸序列。

也提供藥物輸送用之抗體/藥物軛合物包含(a)本發明之嵌合型或人化抗5T4抗體或抗體片段；以及(b)藥物其係直接或間接與抗體結合。代表性藥物包括治療劑諸如胞毒素、放射性同位素、免疫調節劑、抗血管新生劑、抗增生劑、抗細胞凋亡劑、化學治療劑或治療性核酸。胞毒素例如為抗生素、微管素聚合抑制劑、烷化劑、蛋白質合成抑制劑、蛋白質激酶抑制劑、磷酸酶抑制劑、拓撲異構酶抑制劑、或酶。抗生素胞毒素諸如卡利黴素(calicheamicin)、卡利黴素、N-乙醯基- α -卡利黴素或其衍生物諸如N-乙醯基- α -卡利二甲醯肼特別可用於抗癌治療。

所揭示之抗5T4抗體/藥物軛合物包括可將抗體與藥品結合之鏈結劑。代表性鏈結劑包括4-(4'-乙醯基苯氧基)丁酸(AcBut)、3-乙醯基苯基羧基酸(AcPac)、及4-巯基-4-甲基戊酸(Amide)。抗體/藥物軛合物也包括聚乙二醇或其它可提升藥物的結合之作用劑。

用於輸送藥物至5T4-表現細胞，本發明提供細胞與抗體/藥物軛合物接觸之方法，該軛合物包含(i)嵌合型或人化抗5T4抗體，以及(ii)直接或間接與人化抗5T4抗體結合之藥物。根據所揭示之方法，藥物被內化於標靶細胞內部。治療方法也揭示於此處，其包含對患有5T4陽性癌症之個體投予治療有效量之抗5T4抗體/藥物軛合物，該軛合物包含(i)嵌合型或人化抗5T4抗體或抗體片段，以及(ii)直接或間接與人化抗5T4抗體或抗體片段結合之治療劑。本發明之抗5T4治療非與任何其它已知治療組合來改良效果。第二治療劑可同時或以任一種順序接續與抗5T4抗體/藥物軛合物組合投予。

也提供編碼人化抗5T4可變區之經分離之核酸，其可用於製造所揭示之人化抗5T4抗體。編碼人化抗5T4重鏈可變區之代表性核酸包括(a) SEQ ID NO:1之核苷酸58-414之核苷酸序列；(b) SEQ ID NO:5之核苷酸55-405之核苷酸序列；(c) SEQ ID NO:9之核苷酸58-423之核苷酸序列；(d)編碼SEQ ID NO:48、50、53、或55中之任一者之核苷酸序列；(e)當查詢覆蓋變量為100%時，核苷酸序列與SEQ ID NO:50之相同度為89%；(f)當查詢覆蓋變量為100%時，核苷酸序列與SEQ ID NO:53之相同度為82%；或(g)於苛刻雜交條件下與(a)-(d)中之任一者之補體特異性雜交之核酸。編碼人化抗5T4輕鏈可變區之代表性核酸包括(a) SEQ ID NO:3之核苷酸61-381之核苷酸序列；(b) SEQ ID NO:7之核苷酸67-390之核苷酸序列；(c) SEQ ID NO:11之核苷酸61-381之

核苷酸序列；(d)編碼SEQ ID NO:57、59、61、63、65、67、69、71、73或75之人化A1、A2或A3輕鏈可變區之核苷酸序列；(e)當查詢覆蓋變量為100%時，核苷酸序列與SEQ ID NO:59之相同度為84%；(f)當查詢覆蓋變量為100%時，核苷酸序列與SEQ ID NO:69之相同度為86%；(g)當查詢覆蓋變量為100%時，核苷酸序列與SEQ ID NO:75之相同度為85%；或(h)於苛刻雜交條件下與(a)-(d)中之任一者之補體特異性雜交之核酸。

圖式簡單說明

第1A-1C圖顯示鼠抗5T4抗體A1、A2及A3之重鏈可變區及輕鏈可變區之核苷酸及胺基酸序列。胺基酸序列以下方畫線標示來識別互補性決定區(CDR)，而以下方畫雙線來識別先導基因序列。

第2圖為使用CT26/5T4細胞溶解產物製備及以所指示之抗體探測之西方墨點。

第3A-3B圖為線圖，顯示H8抗體及A1抗體之兩個獨立製劑之反應曲線及結合動力學。製劑實質上相當。

第4A-4C圖為線圖顯示由MDAMB435/5T4細胞調節H8、A1、A2及A3抗體。於細胞表面之抗體含量隨著時間之經過而下降(第4A、4C圖(實心))，而於上清液中之抗體含量維持恆定(第4B、4C圖(空心))。MCF表示細胞螢光；supt表示上清液。

第5圖為人外功能部位5T4 Fc構築體、鼠外功能部位5T4 Fc構築體、及人/鼠5T4嵌合型構築體之示意圖。此等

構築體係如實例4所述用於抗原決定部位之映射。

第6A-6B圖顯示人化H8及對人5T4外功能部位Fc融合蛋白質之各個指示抗體之競爭結合之線圖結果。HuH8，人化H8抗體；ChiA1，嵌合型A1抗體；ChiA1+C67F，載有C67F突變之嵌合型A1抗體；ChiA2，嵌合型A2抗體；muA2，鼠A2抗體；ChiA3，嵌合型A3抗體；ChiA3+C91Y，載有C91Y突變之嵌合型A3抗體；muA3，鼠A3抗體；No Ab，無抗體(對照組)。

第7圖為線圖顯示由H8、A1、A2及A3所結合之人5T4抗原決定部位。所指示之殘基為如Myers等人(1994) J. Biol. Chem. 269(12):9319-9324所述之5T4抗原殘基，也可以基因存庫存取號碼Z29083(SEQ ID NO:87)。LRR，富含白胺酸重複本。

第8圖顯示如實例6所述進行之球體檢定分析之結果。使用A1抗體及A3抗體所製備之抗5T4/卡利黴素軛合物比較對照細胞(MDAMB435/neo)可顯著抑制可表現5T4之細胞(MDAMB435/5T4)之生長。CMA-676，抗-CD33/卡利黴素軛合物；huH8-AcBut-CalichDMH，使用4-(4'-乙醯基苯氧基)丁酸(AcBut)軛合至卡利黴素之人化H8抗體；CalichDMH，未軛合之卡利黴素；A1-AcBut-CalichDMH，使用4-(4'-乙醯基苯氧基)丁酸(AcBut)軛合至卡利黴素之人化A1抗體；A3-AcBut-CalichDMH，使用4-(4'-乙醯基苯氧基)丁酸(AcBut)軛合至卡利黴素之人化A3抗體。

第9A-9H圖顯示人化A1重鏈可變區版本1之核苷酸序

列及胺基酸序列(SEQ ID NO:48-49)；人化A1重鏈可變區(huA1VH)版本1.2及2.0之胺基酸序列；人化A1輕鏈可變區(huA1VL)版本1.0、2.0及3.0之胺基酸序列；人化A2重鏈可變區版本1.0及2.0(huA2 VH)之胺基酸序列；人化A2輕鏈可變區版本1.0及2.0(huA2VL)之胺基酸序列；人化A3重鏈可變區版本1.0及2.0(huA3 VH)之胺基酸序列；以及人化A3輕鏈可變區版本1.0及2.0(huA3VL)之胺基酸序列。CDR經下方畫線。

第10A-10B圖顯示可用於製備人化抗5T4抗體之代表性人重鏈可變區架構序列。第10A圖為亞群I之人重鏈可變區序列(SEQ ID NO:14-24)與由其中衍生之同位架構序列(SEQ ID NO:25-27)之校正。第10B圖顯示VH7亞群及VH3亞群之人生殖細胞系基因之序列(SEQ ID NO:88-93)。

第11圖為亞群V κ III之人輕鏈可變區序列之校正(SEQ ID NO:29-34)。框出序列為CDR。

第12圖為亞群V κ I之人輕鏈可變區序列之校正(SEQ ID NO:35-44)。框出序列為CDR。

第13圖顯示Vk1及Vk IV亞群之額外人生殖細胞系序列，其具有可用於製備人化抗5T4抗體之架構區(SEQ ID NO:94-99)。

第14圖顯示可用於製備嵌合型及人化抗5T4抗體之代表性人恆定區之胺基酸序列(SEQ ID NO:45-47)。

第15圖顯示全長馬來猴5T4抗原及部分黑尾獼猴5T4抗原之胺基酸序列。下方畫線之序列為先導基因序列。對各

序列而言，5T4外功能部位包括胺基酸30-356。

【實施方式】

較佳實施例之詳細說明

1. 抗5T4抗體

5 本發明提供可結合人5T4抗原且可用於發展靶定免疫治療之新穎鼠抗體。人5T4抗原為出現於滋養層細胞及多類癌細胞表面之72 kDa非糖化磷酸蛋白。參考Hole等人(1988)英國癌症期刊 57:239-46，Hole等人(1990)國際癌症期刊 45:179-84；PCT國際公告案 WO89/07947；美國專利案 10 5,869,053。

本發明之鼠抗5T4抗體標示為A1、A2及A3，且係如實例1所述製備。也提供衍生自A1、A2及A3之抗5T4抗體，其可與人5T4抗原特異性結合。例如本發明之抗5T4抗體包括包含得自A1、A2及A3抗體之抗原結合殘基之抗體；可與 15 A1、A2或A3抗體競爭與5T4結合之抗體；及可與A1、A2或A3抗體結合至相同5T4抗原決定部位之抗體。

特別，所揭示之A1、A2及A3抗體各自包含可辨識人5T4抗原上的一個獨特抗原決定基之抗原決定部位。此等抗體各自也結合至與H8所結合不同的抗原決定基，A1、A2及 20 A3各自無法與H8抗體競爭結合至人5T4。參考實例4-5及第6-7圖。如此，本發明提供可與人5T4之殘基30-163特異性結合之抗體(例如A3)，可與人5T4之殘基224-276特異性結合之抗體(例如A1)，以及可與人5T4之殘基224-355特異性結合之抗體(例如A2)。也提供包含可由A1、A2或A3抗體結

合之抗原之人5T4抗原。例如本發明提供包含天然5T4抗原或全長5T4抗原之殘基30-163、224-276及224-355之5T4抗原片段。

所揭示之抗5T4抗體之特異性結合係指於包含多個不同抗原之非同質樣本中抗體對人5T4抗原之偏好結合。典型地，若結合親和力至少約 10^{-7} M或以上，則出現特異性結合，諸如至少約 10^{-8} M或以上，包括至少約 10^{-9} M或以上，至少約 10^{-11} M或以上，或至少約 10^{-12} M或以上，則出現特異性結合。例如本發明之抗體特異性結合至人5T4抗原，包括至少約 1×10^{-7} M至約 1×10^{-12} M之範圍之結合，諸如於約 1×10^{-8} M至約 1×10^{-12} M之範圍，或約 1×10^{-8} M至約 1×10^{-11} M之範圍，約 1×10^{-8} M至約 1×10^{-10} M之範圍，約 1×10^{-9} M至約 1×10^{-10} M之範圍之結合。特異性結合也係指於抗體投予個體後，抗5T4抗體選擇性靶定5T4表現細胞。

本發明之抗5T4抗體具有四元體結構(例如類似天然抗體之結構)，或可包含任何其它有至少一個免疫球蛋白輕鏈可變區或至少一個免疫球蛋白重鏈可變區之任何其它結構，或其5T4片段(例如Fab、改性Fab、 $F(ab')_2$ 或Fv片段)。也包括單一功能部位抗體，其中一個或多個互補性決定區(CDR)但少於全部六個CDR組成一個抗原結合區。本發明也涵蓋嵌合型抗體、人化抗體、超人化抗體、二抗體、單鏈抗體、四價抗體及/或多重特異性抗體(例如雙特異性抗體)。此等抗體之描述因子並未彼此排它。

天然抗體為有兩個相同輕鏈(L)及兩個相同重鏈(H)所

組成之約150,000道耳頓之四元體(H_2L_2)糖蛋白。兩個重鏈係藉雙硫鍵彼此鍵聯，各個重鏈係藉雙硫鍵聯結至一個輕鏈。重鏈及輕鏈各自有胺基端及可變區及恆定區為特徵。可變區包括抗體間彼此徹底不同的序列，可實質上決定特定抗體對特定抗原之結合親和力及特異性。輕鏈和重鏈各自之可變區校準來形成抗原結合功能部位。

嵌合型抗體包含來自於至少兩種不同種屬之序列。舉例言之，重組轉殖技術可用來含括得自於非人抗體(亦即以抗原免疫化之非人種屬所製備之抗體之可變區其含有抗原決定部位)、及衍生自人免疫球蛋白之恆定區。

本發明之嵌合型抗5T4抗體包括包含A1、A2及A3抗體之重鏈可變區及輕鏈可變區之抗體亦即(a)具有SEQ ID NO:2之殘基20-138之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有SEQ ID NO:4之殘基21-127之胺基酸序列之輕鏈可變區；(b)具有SEQ ID NO:6之殘基19-135之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有SEQ ID NO:8之殘基23-130之胺基酸序列之輕鏈可變區；以及(c)具有SEQ ID NO:10之殘基20-141之胺基酸序列之重鏈可變區，及具有SEQ ID NO:12之殘基21-127之胺基酸序列之輕鏈可變區。代表性人化抗5T4抗體包括如SEQ ID NO:49所示之胺基酸1-119之重鏈可變區，或第9A-9C圖所示人化重鏈可變區中之任一者，及人化輕鏈可變區，也顯示於第9A-9C圖。本發明之代表性嵌合型及人化抗5T4抗體之製備顯示於實例7。

本發明之抗5T4抗體也包含一重鏈可變區及/或一輕鏈

可變區包含衍生自或實質上類似A1、A2或A3可變區或實質上類似人化A1、A2及A3可變區之胺基酸序列。至於實質上相同之重鏈可變區及輕鏈可變區，實質上相同序列係與SEQ ID NO:1-12中之任一者之可變區序列至少約90%相同度；或與第9A-9C圖所示人化A1、A2及A3可變區至少約90%相同度，諸如至少91%相同度，或至少92%相同度，或至少93%相同度，或至少94%相同度，或至少95%相同度，或至少96%相同度，或至少97%相同度，或至少98%相同度，或至少99%相同度。

10 代表性本發明之嵌合型抗5T4抗體，亦即與5T4抗原特異性結合之抗體也包括該等抗體具有(a)一重鏈可變區胺基酸序列列舉為SEQ ID NO:2之殘基20-138，SEQ ID NO:6之殘基19-135，SEQ ID NO:10之殘基20-141，或第9A-9C圖所示人化A1、A2或A3重鏈可變區中之任一者；(b)與SEQ ID
15 NO:2之殘基20-138至少有85%相同度之重鏈可變區胺基酸序列；(c)與SEQ ID NO:6之殘基19-135至少有86%相同度之重鏈可變區胺基酸序列；(d)與SEQ ID NO:10之殘基20-141至少有91%相同度之重鏈可變區胺基酸序列；(e)與SEQ ID NO:49之殘基1-119至少有90%相同度之重鏈可變區胺基酸
20 序列；或(f)衍生自第9A-9C圖所示人化A1、A2或A3可變區中之任一者之重鏈可變區胺基酸序列。

特異性結合至5T4抗原之嵌合型或人化抗5T4抗體之重鏈可變區可由下列核酸編碼：(a)包含SEQ ID NO:1之核苷酸58-414、SEQ ID NO:5之核苷酸55-405、SEQ ID NO:9之

核苷酸58-423、SEQ ID NO:48之核苷酸1-358之核苷酸序列之核酸；或編碼第9A-9C圖所示之人化A1、A2或A3重鏈可變區之核酸；(b)包含與包含SEQ ID NO:1之核苷酸58-414、SEQ ID NO:5之核苷酸55-405、或SEQ ID NO:9之核苷酸58-423之核苷酸序列之核酸有至少90%相同度之核苷酸序列之核酸。例如，嵌合型抗5T4抗體之重鏈可變區可藉下列核酸編碼：與SEQ ID NO:1之核苷酸58-414有至少98%相同度之核酸，與SEQ ID NO:5之核苷酸55-405有至少98%相同度之核酸，或與SEQ ID NO:48之核苷酸1-358有至少89%相同度之核酸。嵌合型抗5T4抗體之重鏈可變區也可藉一核酸編碼，該核酸於苛刻雜交條件下例如於65°C於0.1X SSC之最終洗滌條件下，特異性雜交至包含SEQ ID NO:1之核苷酸58-414、SEQ ID NO:5之核苷酸55-405、SEQ ID NO:9之核苷酸58-423、或SEQ ID NO:48之核苷酸1-358之核苷酸序列之核酸補體。

本發明之代表性嵌合型抗5T4抗體進一步包括該等抗體具有(a)一輕鏈可變區胺基酸序列列舉為SEQ ID NO:4之殘基21-127，SEQ ID NO:8之殘基23-130，SEQ ID NO:12之殘基21-127，或第9A-9C圖所示人化A1、A2或A3輕鏈可變區之殘基；或(b)與SEQ ID NO:4之殘基21-127，SEQ ID NO:8之殘基23-130，SEQ ID NO:12之殘基21-127有至少90%相同度之輕鏈可變區胺基酸序列。例如，一輕鏈可變區胺基酸序列可包含(a)與SEQ ID NO:4之殘基21-127至少有94%相同度之一輕鏈可變區胺基酸序列；(b)與SEQ ID

NO:8之殘基23-130至少有96%相同度之一輕鏈可變區胺基酸序列；(c)與SEQ ID NO:12之殘基21-127至少有98%相同度之一輕鏈可變區胺基酸序列；(d)或衍生自第9A-9C圖所示人化A1、A2或A3輕鏈可變區中之任一者之輕鏈可變區胺基酸序列。

特異性結合至5T4抗原之嵌合型抗5T4抗體之輕鏈可變區可由下列核酸編碼：(a)包含SEQ ID NO:3之核苷酸61-381，SEQ ID NO:7之核苷酸67-390，SEQ ID NO:11之核苷酸61-381，或編碼第9A-9C圖所示之人化A1、A2或A3輕鏈可變區中之任一者之之核苷酸之核苷酸序列之核酸；或(b)包含與SEQ ID NO:3之核苷酸61-381，SEQ ID NO:7之核苷酸67-390，SEQ ID NO:11之核苷酸61-381至少有90%相同度之核苷酸序列之核酸。例如，嵌合型抗5T4抗體之輕鏈可變區可由一核酸編碼，該核酸包含：(a)與SEQ ID NO:3之核苷酸61-381至少有97%相同度之核苷酸序列；(b)與SEQ ID NO:7之核苷酸67-390至少有98%相同度之核苷酸序列；或(c)與SEQ ID NO:11之核苷酸61-381至少有99%相同度之核苷酸序列。特異性結合至5T4抗原之嵌合型抗5T4抗體之輕鏈可變區也可由一核酸編碼，該核酸於苛刻雜交條件下例如於65°C於0.1X SSC之最終洗滌條件下，特異性結合至包含SEQ ID NO:3之核苷酸61-381，SEQ ID NO:7之核苷酸67-390，或SEQ ID NO:11之核苷酸61-381之核苷酸序列之一核酸補體。

人化抗體為一型嵌合型抗體，其中負責抗原結合之可

變區殘基(亦即互補性決定區之殘基，縮寫為互補性決定區，或任何其它參與抗原結合之殘基)係衍生自非人種屬，而其餘可變區殘基(亦即架構區之殘基)及恆定區係至少部分衍生自人抗體序列。人化抗體之架構區殘基及恆定區殘基之子集可衍生自非人來源。人化抗體之可變區也描述為人化(亦即人化輕鏈或重鏈可變區)。非人種屬典型為用於以抗原免疫接種之種屬，諸如小鼠、大鼠、兔、非人靈長類或其它非人哺乳動物種屬。人化抗體典型之免疫原性係低於傳統嵌合型抗體，投予人體後顯示改良之安定性。例如參考 Benincosa 等人 (2000) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 292:810-6; Kalofonos 等人 (1994) *歐洲癌症期刊* 30A:1842-50; Subramanian 等人 (1998) *Pediatr. Infect. Dis. J.* 17:110-5。

互補性決定區(CDR)為參與抗原結合之抗體可變區之殘基。常用數種識別CDR之編號系統。Kabat定義係基於序列變化性，Chothia定義係基於結構迴圈區之位置。Abm定義為Kabat定義與Chothia定義間之折衷。輕鏈可變區之CDR係根據Kabat、Chothia或Abm演繹法則由位置24及34(CDR1-L)、50及56 (CDR2-L)及89及97(CDR3-L)之殘基所結合。根據Kabat定義，重鏈可變區之CDR係由位置31及35B (CDR1-H)、50及65 (CDR2-H)、及95及102 (CDR3-H)之殘基所結合(係根據Kabat編號)。根據Chothia定義，重鏈可變區之CDR係由位置26及32 (CDR1-H)、52及56 (CDR2-H)、及95及102 (CDR3-H)之殘基所結合(係根據Chothia編號)。根據Abm定義，重鏈可變區之CDR係由位置26及35B

(CDR1-H)、50及58 (CDR2-H)、及95及102 (CDR3-H)之殘基所結合(係根據Abm編號)。參考Martin等人(1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272; Martin等人(1991)酶學方法 203:121-153; Pedersen等人(1992)免疫方法 1:126;及
 5 Rees等人(1996)於Sternberg M.J.E. (編輯)蛋白質結構預測, 牛津大學出版社, 牛津, 141-172頁。

特異性決定區(SDR)為CDR內部與抗原直接交互作用之殘基。SDR係與超可變之殘基相對應。參考(Padlan等人(1995) FASEB J. 9:133-139)。

10 架構殘基為除了超可變殘基或CDR殘基以外之抗體可變區之該等殘基。架構殘基可衍生自天然人抗體, 諸如實質上類似A1、A2或A3抗體之架構區之人架構。也可使用個別序列間表示同位之人工架構序列。當選擇用於人化之一架構區時, 於人體寬廣表現之序列優於較不普及的序列。
 15 人體架構接受者序列可進行額外突變來回復相信涉及抗原接觸之鼠殘基及/或涉及抗原結合部位之結構完好之殘基, 或改良抗體表現。可使用胜肽結構預測來分析人化可變重區序列及輕區序列, 來識別且避免由人化設計所導入之後轉譯蛋白質修改部位。

20 人化抗體可使用多種方法中之任一種製備, 該等方法包括切接法、互補性決定區(CDR)之接枝法、縮寫CDR之接枝法、特異性決定區(SDR)之接枝法及法蘭克斯汀(Frankenstein)組裝法, 說明如下。人化抗體也包括超人化抗體, 其中於CDR已經導入一種或多種變化。例如人殘基

可取代於CDR中之非人殘基。此種一般性方法可組合標準突變發生技術及合成技術來製造具有任何期望序列之抗5T4抗體。

切接法係基於減少齧齒類抗體或其它非人抗體之可能
 5 免疫原性胺基酸序列之構想，係經由以人胺基酸序列來再
 度形成抗體之溶劑可接近之外部表面。如此經過切接之抗
 體比較未經修改之非人抗體顯然對人細胞而言較非外來物
 質。參考Padlan (1991) Mol. Immunol. 28:489-98。非人抗體
 經切接，切接方式係識別於非人抗體中暴露出的外部架構
 10 區殘基，其係與人抗體之架構區中相同位置之殘基不同，
 以典型占據人抗體相同位置之胺基酸來置換所識別的殘
 基。

CDR之接枝法之進行方式係以捐贈者抗體(例如非人
 抗體)之CDR置換接受者抗體(例如人抗體或其它包含期望
 15 之架構殘基之抗體)之一個或多個CDR。接受者抗體可基於
 候選接受者抗體與以捐贈者抗體間之架構殘基之類似性來
 作選擇。例如根據法蘭克斯汀方法，人架構區被識別為具
 有與相關非人抗體之各個架構區實質序列同源性，非人抗
 體之CDR接枝於不同人架構區之複體上。也可用於製備本
 20 發明之抗體之相關方法係說明於美國專利申請公開案第
 2003/0040606號。

縮寫CDR之接枝法為相關方法。縮寫CDR包括特異性
 決定殘基及相鄰胺基酸，包括於輕鏈位置27d-34、50-55及
 89-96之該等胺基酸及於重鏈位置31-35b、50-58及95-101之

該等胺基酸(Kabat等人(1987)之編號慣例)。參考(Padlan等人(1995) FASEB J. 9:133-9)。特異性決定區(SDR)之接枝之先決條件為瞭解抗體結合部位之結合特異性及親和力係由各個互補性決定區(CDR)內部之最為高度可變殘基所決定。分析抗體-抗原複體之三度空間結構，加上分析可用胺基酸序列資料，可用來基於出現於CDR內部各個位置之胺基酸殘基之結構相依性形成序列可變性模型。SDR被識別為由接觸殘基所組成之最低免疫原性多胜肽序列。參考Padlan等人(1995) FASEB J. 9:133-139。

通常人接受者架構係基於實質上類似給予者抗體架構區來選擇，或最類似可變區亞族之同位序列來選擇。於接枝後，可於給予者序列及/或接受者序列做出額外變化來最佳化抗體結合、功能、密碼子之使用、表現位準等，包括將非人殘基導入架構區。例如參考PCT國際公告案第WO 91/09967號。

用於CDR接枝於重鏈可變架構區，有用的架構序列可衍生自DP-21 (VH7)、DP-54 (VH3-07)、DP-47 (VH3-23)、DP-53 (VH-74)、DP-49 (VH3-30)、DP-48 (VH3-13)、DP-75、DP-8 (VH1-2)、DP-25、VI-2b及VI-3 (VH1-03)、DP-15及V1-8 (VH1-08)、DP-14及V1-18 (VH1-18)、DP-5及V1-24P (VH1-24)、DP-4 (VH1-45)、DP-7 (VH1-46)、DP-10、DA-6及YAC-7 (VH1-69)、DP-88 (VH1-e)、DP-3及DA-8 (VH1-f)。含有人化架構殘基之代表性重鏈可變區列舉為SEQ ID NO:13-24及88-93。表示VH1架構殘基之同位殘基之代表性

架構列舉為SEQ ID NO:25-27。也參考第10A-10B圖。

5 用於將CDR接枝至輕鏈可變架構區上，有用之架構序列可衍生自DPK24亞群IV生殖細胞系純株、V κ III亞群(DPK23、DPK22、DPK20、DPK21)或V κ I亞群生殖細胞系純株(DPK9、DPK1、O2、DPK7)。含有人化架構殘基之代表性輕鏈可變區列舉為SEQ ID NO:28-34、35-44及94-99。參考第11-14圖。

10 本發明之代表性人化抗5T4抗體包括有選自於SEQ ID NO:2、6或10中之任一者之重鏈可變區之CDR或SEQ ID NO:4、8或12中之任一者之輕鏈可變區之CDR之非人抗5T4抗體之一個或多個CDR之抗體。例如人化抗5T4抗體可包含選自於SEQ ID NO:2、6或10中之任一者之重鏈可變區之CDR或SEQ ID NO:4、8或12中之任一者之輕鏈可變區之CDR之兩個或多個CDR。人化抗5T4抗體也包含一重鏈包含有SEQ ID NO: 2、6或10中之任一者之兩個或三個CDR之一可變區，以及包含一輕鏈包含有SEQ ID NO: 4、8或12中之任一者之兩個或三個CDR之一可變區。

20 本發明之人化抗5T4抗體可經組構，其中第一鏈之可變區(亦即輕鏈可變區或重鏈可變區)為人化，以及其中第二鏈之可變區為非人化(亦即於非人種屬所製造之抗體之可變區)。此等抗體為稱作為半人化抗體之一型人化抗體。可用於製備半人化抗體之非人抗5T4抗體包括如本文所揭示之A1、A2及A3抗體以及PCT國際公告案WO 98/55607及Forsberg等人(1997) J. Biol. Chem. 272(19):124430-12436所

述之H8抗體或Woods等人(2002) Biochem. J. 366:353-65所述之大鼠單株抗體。例如半人化抗5T4抗體可包含陳述為SEQ ID NO:49之胺基酸1-119或第9A-9C圖所示人化A1、A2或A3重鏈可變區之胺基酸之一重鏈可變區，以及SEQ ID NO:4、8或12中之任一者之一輕鏈可變區。

嵌合型及人化抗5T4抗體之恆定區可衍生自IgA、IgD、IgE、IgG、IgM、任何異構型(例如IgG之IgG1、IgG2、IgG3或IgG4異構型)及其突變版本中之任一者之恆定區。人異構型之選擇及於該異構型中之特定胺基酸之修改可促進或消除宿主防禦機轉之活化及變更抗體之生物分布。參考(Reff等人(2002)癌症控制9:152-66)。可用於製備本發明之嵌合型及人化抗體之代表性恆定區列舉為SEQ ID NO:45-47。也可使用人 λ 輕鏈恆定區，包括其變異版本或突變版本。用於編碼免疫球蛋白恆定區之序列之轉殖，可刪除插入序列。

嵌合型及人化抗5T4抗體可使用技藝界已知之標準技術建構。例如，可變區可經由將編碼可變區之疊置寡核苷酸共同煉合且將其接合入含人抗體恆定區之一表現載體來製備。例如參考Harlow & Lane (1988)抗體：實驗室手冊，冷泉港實驗室出版社，冷泉港紐約及美國專利案4,196,265; 4,946,778; 5,091,513; 5,132,405; 5,260,203; 5,677,427; 5,892,019; 5,985,279; 6,054,561。可製備包含兩個完好四元體抗體之四價抗體(H₄L₄)包括同質二元體及非同質二元體，例如可如PCT國際公告案第WO 02/096948號所述製備。抗體二元體也可透過將半胱胺酸殘基導入抗體恆定區

製備，經由使用非同質雙官能交聯劑可促進鏈間雙硫鍵的形成(Wolff等人(1993)癌症研究53:2560-5)，或藉重組製造來包括雙恆定區(Stevenson等人(1989)抗癌藥物研究3:219-30)。本發明之抗體之抗原結合片段例如可經由截頭
5 抗體序列表現或經由全長抗體之後轉譯消化而製備。

本發明之抗5T4抗體之變異株，亦即A1、A2及A3抗體
以及其嵌合型版本及人化版本也方便製備來包括多種變
化、取代、插入及刪失。例如抗體序列可經最佳化來供密
碼子用於抗體表現之細胞類型。為了增加抗體之血清半生
10 期，若非已經呈現，可結合救援受體結合抗原決定基之抗
體重鏈序列。參考美國專利案5,739,277。提高抗體安定性
之額外修改，包括IgG4之修改來以脯胺酸置換於殘基241
之絲胺酸。參考Angal等人(1993) Mol. Immunol.
30:105-108。其它有用之變化包括視需要取代來最佳化將抗
15 體與藥物軛合之效率。例如，抗體可與羧基端經修改來包
括胺基酸用於藥物附接，例如可加入一個或多個半胱胺酸
殘基。恆定區可經修改來導入用於碳水化合物或其它部分
結合之位置。本發明之抗5T4抗體之變異株可使用標準重組
技術包括位置導向突變發生技術或重組轉殖技術製造。抗
20 5T4抗體之多樣化表可透過基因排列及基因轉換方法於轉
移基因非人動物製備(美國專利公告案第2003/0017534
號)，然後使用功能檢定分析來測試相關活性。於本發明之
特定實施例中，使用突變CDR之親和力成熟方案(Yang等人
(1995) J. Mol. Biol. 254:392-403)、鏈穿梭(Marks等人(1992)

生物技術(NY) 10:779-783)、使用大腸桿菌(E.coli)之突變子種系之使用(Low等人(1996) J. Mol. Biol. 260:359-368)、DNA 穿梭 (Patten 等人 (1997) Curr. Opin. Biotechnol. 8:724-733), 噬菌體顯示(Thompson等人(1996) J. Mol. Biol. 256:77-88)及生殖PCR (Cramer等人(1998)自然391:288-291)來獲得抗5T4抗體變異株。用於免疫治療用途, 相關功能檢定分析包括特異性結合至人5T4抗原、抗體內化、及當投予載有腫瘤之動物時靶定於腫瘤部位, 容後詳述。

本發明進一步提供表現本發明之抗5T4抗體之細胞及細胞系。代表性宿主細胞包括哺乳動物細胞及人細胞諸如CHO細胞、HEK-293細胞、HeLa細胞、CV-1細胞及COS細胞。於非同源構築體轉形入宿主細胞後產生安定之細胞系之方法為技藝界所已知。代表性之非哺乳動物宿主細胞包括昆蟲細胞 (Potter 等人 (1993) Int. Rev. Immunol. 10(2-3):103-112)。抗體也可於轉移基因動物製造 (Houdebine (2002) Curr. Opin. Biotechnol. 13(6):625-629)及轉移基因植物製造(Schillberg等人(2003)細胞分子生命科學60(3):433-45)。

II. 抗-5T4核酸及多胜肽

本發明進一步提供編碼抗5T4重鏈可變區及輕鏈可變區之經分離之核酸, 及由所揭示之核酸所編碼之經分離之多胜肽。本發明之核酸及多胜肽包括A1、A2及A3可變區、人化A1、A2及A3可變區及其變異株之核酸序列及胺基酸序列。經分離之核酸及多胜肽也可用來製備嵌合型及人化抗

5T4抗體。

II.A. 抗5T4核酸

核酸為去氧核糖核苷酸或核糖核苷酸及其呈單股形式、雙股形式、或三倍體形式之聚合體。除非特別限制，否則核酸含有具有參考天然核酸之類似性質之天然核苷酸之已知之類似物。核酸包括基因、cDNA、mRNA、及cRNA。核酸可經合成，或可衍生自任何生物來源，包括任何有機體。轉殖編碼抗5T4抗體之核酸之代表性方法說明於實例1及實例7。

本發明之代表性核酸包含SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11及48中之任一者之核苷酸序列。特別，編碼A1、A2及A3重鏈可變區之核酸分別包含SEQ ID NO:1之核苷酸58-41、SEQ ID NO:5之核苷酸55-405、及SEQ ID NO:9之核苷酸58-423，其編碼具有列舉為SEQ ID NO:2殘基20-138、SEQ ID NO:6殘基19-135、及SEQ ID NO:10殘基20-141之胺基酸序列之重鏈可變區。編碼人化A1重鏈可變區之核酸包含SEQ ID NO:48之核苷酸1-358。編碼A1、A2及A3輕鏈可變區之核酸分別包含SEQ ID NO:3之核苷酸61-381、SEQ ID NO:7之核苷酸67-390、及SEQ ID NO:11之核苷酸61-382，其編碼具有列舉為SEQ ID NO:4殘基21-127、SEQ ID NO:8殘基23-130、及SEQ ID NO:12殘基21-127之胺基酸序列之輕鏈可變區。本發明之額外核酸包含編碼第9A-9C圖所示之人化A1、A2及A3可變區之核苷酸。

本發明之核酸也包含核苷酸序列其實質上係與SEQ ID

NO:1、3、5、7、9、11及48中之任一者相同，包括與SEQ ID NO:1、3、5、7、9及11中之任一者之可變區編碼序列有至少90%相同度之核苷酸序列，諸如至少約91%相同度或至少92%相同度，或至少93%相同度，或至少94%相同度，或至少95%相同度，或至少96%相同度，或至少97%相同度，或至少98%相同度，或至少99%相同度。例如本發明之核酸可包含(a)與SEQ ID NO:1之可變區編碼序列至少有98%相同度之核苷酸序列；(b)與SEQ ID NO:3之可變區編碼序列至少有97%相同度之核苷酸序列；(c)與SEQ ID NO:5之可變區編碼序列至少有98%相同度之核苷酸序列；(d)與SEQ ID NO:7之可變區編碼序列至少有98%相同度之核苷酸序列；(e)與SEQ ID NO:11之可變區編碼序列至少有99%相同度之核苷酸序列；或(f)與SEQ ID NO:48之可變區編碼序列至少有89%相同度之核苷酸序列。序列係使用SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11、48中之任一者之全長可變區編碼序列、或編碼第9A-9H圖所示人化A1、A2及A3可變區序列之核苷酸序列作為查詢序列(容後詳述)，使用序列比較演繹法則，或藉目測檢查來比較序列之最大對應關係。也參考實例1及表1及實例7及表11。

實質上相同序列可為多形性序列，亦即於一個族群中之其它序列或對偶基因。對偶基因差異可小至一個鹼基對。實質上相同序列也包含突變發生序列，包括包含無聲突變之序列。突變包含一個或多個殘基改變、一個或多個殘基刪失、或一個或多個額外殘基之插入。

實質上相同核酸進一步被識別為與SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11或48中之任一者之全長；SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11或48中之任一者之可變區編碼序列之全長；或於苛刻條件下編碼第9A-9H圖所示人化A1、A2及A3可變區序列之核苷酸序列特異性雜交或實質上雜交之核酸。於核酸雜交之上下文中，接受比較的兩個核酸序列可定名為探針及標靶。探針為參考核酸分子，標靶為測試核酸分子，經常係出現於核酸分子之非同質族群內部。標靶分子係與測試序列為同義字。

10 用於雜交研究，有用的探針係與本發明之核酸分子之至少約14個至40個核苷酸序列互補或模擬核苷酸序列。較佳，探針包含14個至20個核苷酸，於期望時甚至更長，諸如30、40、50、60、100、200、300或500核苷酸或長達SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11或48中之任一者之全長；SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11或48中之任一者之可變區編碼序列之全長；或第9A-9H圖所示編碼人化A1、A2及A3可變區序列之核苷酸序列。此等片段例如方便藉片段之化學分析、藉核酸擴大技術之應用、或藉將選定序列導入重組株製造之重組載體內而製備。

20 特異性雜交係指當序列係存在於複體核酸混合物(例如全細胞DNA或RNA)時，於苛刻條件下只結合、二倍體組合、或雜交至一特定核苷酸序列。依據雜交條件之苛刻而定，特定雜交可配合探針與標靶序列間之不匹配。

於核酸雜交實驗諸如南方墨點分析及北方墨點分析中

之苛刻雜交條件及苛刻雜交洗滌條件係與序列有關且與環境有關。較長的序列係於較高溫特異性雜交。核酸雜交之綜合性指南可參考Tijssen (1993)與核酸探針之生物化學及分子生物學雜交之實驗室技術，第I部第2章，Elsevier紐約州紐約。通常，高度苛刻的雜交條件和雜交洗滌條件係選定為對於特定離子強度及pH之特定序列之熱熔點(T_m)低約5°C。典型地，於苛刻條件下，探針將與其標靶子序列特異性雜交，但不會與其它序列特異性雜交。

T_m 為50%標靶序列雜交至完好匹配探針之溫度(於特定離子強度及pH下)。選定極為苛刻的條件係等於一個特定探針之 T_m 。有大於約100個互補殘基之互補核酸之南方墨點分析或北方墨點分析之苛刻雜交條件之實例為於50%甲醯胺與1毫克肝素於42°C雜交隔夜。高度苛刻的洗滌條件實例為於65°C於0.1X SSC中15分鐘。苛刻洗滌條件實例為於65°C於0.2X SSC中15分鐘。參考Sambrook等人編輯(1989)分子轉殖：實驗室手冊，冷泉港實驗室出版社，冷泉港紐約，有關SSC緩衝液之說明。經常高度苛刻洗滌之前先低度苛刻洗滌來去除背景探針信號。對於大於約100核苷酸之二倍體之中等苛刻洗滌條件為於45°C於1X SSC中15分鐘。對於大於約100核苷酸之二倍體之低等苛刻洗滌條件為於40°C於4X至6X SSC中15分鐘。對短探針(例如約10核苷酸至50核苷酸)而言，苛刻條件典型係涉及鹽濃度低於約1M Na^+ 離子濃度，典型係於pH 7.0-8.3約0.01M至1M Na^+ 離子濃度(或其它鹽)，溫度典型至少約為30°C。添加解除安定劑諸如甲醯

胺可達成苛刻條件。通常於特定雜交檢定分析中比非相關探針觀察得之信號對雜訊比高兩倍(或更高),指示檢測得特異性雜交。

後文為可用來識別實質上與本發明之參考核苷酸序列相同之核苷酸序列之雜交條件及洗滌條件實例：探針核苷酸序列較佳係於50°C於7%硫酸十二烷基酯鈉(SDS)、0.5M NaPO₄、1mM EDTA雜交至標靶核苷酸序列，接著於50°C於2X SSC、0.1% SDS中洗滌；更佳，探針序列與標靶序列係於50°C於7%硫酸十二烷基酯鈉(SDS)、0.5M NaPO₄、1mM EDTA雜交，接著於50°C於1X SSC、0.1% SDS中洗滌；更佳，探針序列與標靶序列係於50°C於7%硫酸十二烷基酯鈉(SDS)、0.5M NaPO₄、1mM EDTA雜交，接著於50°C於0.5X SSC、0.1% SDS中洗滌；更佳，探針序列與標靶序列係於50°C於7%硫酸十二烷基酯鈉(SDS)、0.5M NaPO₄、1mM EDTA雜交，接著於50°C於0.1X SSC、0.1% SDS中洗滌；更佳，探針序列與標靶序列係於50°C於7%硫酸十二烷基酯鈉(SDS)、0.5M NaPO₄、1mM EDTA雜交，接著於65°C於1X SSC、0.1% SDS中洗滌。

兩個核酸序列實質上完全相同之進一步指示為：核酸所編碼之蛋白質實質上相同；共享整體三度空間結構；或為生物功能相當物。此等術語進一步定義如下。若相對應之蛋白質實質上相同，則於苛刻條件下彼此不會雜交之核酸分子仍然實質上相同。例如可能出現於當兩個核苷酸序列包含基因密碼所允許的保留性取代變異株時。

保留性取代變異株為有簡併性密碼子取代之核酸序列，其中一個或多個選定的(或全部)密碼子第三個位置係經以混合鹼基及/或去氧核苷殘基取代。參考Batzer等人(1991)核酸研究 19:5081；Ohtsuka等人(1985) J. Biol. Chem. 260:2605-2608；及Rossolini等人(1994)分子細胞探針 8:91-98。

本發明之核酸也包含與SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、48中之任一者互補之核酸；或編碼第9A-9C圖所示人化A1、A2及A3可變區序列之核苷酸序列；及SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、48或編碼第9A-9C圖所示人化A1、A2及A3可變區序列之核苷酸序列之子序列及伸長之序列，及其互補序列。互補序列為兩個核苷酸序列，其包含當於鹼基對間形成輕鍵時可彼此成對之逆平行核苷酸序列。如此處使用，「互補序列」一詞表示實質上互補之核苷酸序列，可藉後述之相同核苷酸比較方法評估，或定義為於相對苛刻條件下，如本文所述條件下，可雜交至感興趣之核酸節段之核苷酸序列。互補核苷酸節段之特例為反訊息寡核苷酸。

此序列為包含較長的核酸序列之一部分之核酸序列。子序列之實例為探針，說明如前文或引子。如本文使用之引子一詞係指包含一個選定之核酸分子之約8個或更多個去氧核糖核苷酸或核糖核苷酸，較佳為10-20核苷酸及更佳為20-30核苷酸之接續序列。本發明之引子涵蓋有足夠長度及適當序列之寡核苷酸，因而提供引發於本發明之核酸分子上之聚合。

細長序列包含結合於核酸之額外核苷酸(或其它類似分子)。例如聚合酶(如DNA聚合酶)可添加序列於核酸分子之3'端。此外，核苷酸序列可與其它DNA序列組合，諸如啟動基因、啟動基因區、促進基因、腺苷酸化信號、插入序列、額外限制酶位置、多個轉殖位置及其它編碼節段。如此本發明也提供包含所揭示之核酸之載體，包括重組表現載體，其中本發明之核酸係工作式聯結至功能啟動基因。當工作式聯結至核酸時，啟動基因係與核酸呈功能組合，故核酸之轉錄係由啟動基因區控制與調節。載體係指可於宿主細胞中複製之核酸，諸如質體、黏接質體及病毒載體。

本發明之核酸可經轉殖、合成、變更、突變或其組合。用來分離核酸之標準重組DNA技術及分子轉殖技術為技藝界所已知。形成鹼基對改變、刪失或小量插入之位置專一性突變發生也為技藝界所已知。例如參考Sambrook等人(編輯)(1989)分子轉殖：實驗室手冊，冷泉港實驗室出版社，冷泉港紐約；Silhavy等人(1984)基因融合實驗。冷泉港實驗室出版社，冷泉港紐約；Glover & Hames (1995) DNA轉殖：實用辦法，第2版於牛津大學出版社之IRL出版所，牛津/紐約；Ausubel (編輯) (1995)分子生物學之短方案，第3版，威力公司，紐約。

II.B. 抗5T4多胜肽

本發明也提供經分離之抗5T4多胜肽。多胜肽及蛋白質分別係指由胜肽鍵接合之胺基酸單鏈所組成之化合物。代

表性重鏈可變區多胜肽列舉為SEQ ID NO:2之殘基20-138、SEQ ID NO:6之殘基19-135、SEQ ID NO:10之殘基20-141、及SEQ ID NO:49之殘基1-119。代表性輕鏈可變區多胜肽列舉為SEQ ID NO:4之殘基21-127、SEQ ID NO:8之殘基23-130、及SEQ ID NO:12之殘基21-127。額外本發明多胜肽包含第9A-9C圖所示人化A1、A2及A3可變區之胺基酸。

額外本發明之多胜肽包括重鏈可變區多胜肽及輕鏈可變區多胜肽，其實質上係類似所揭示之抗5T4多胜肽，諸如與SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12及49之可變區有至少約90%相同度，例如至少約91%相同度，至少92%相同度，至少93%相同度，至少94%相同度，至少95%相同度，至少96%相同度，至少97%相同度，至少98%相同度，或至少99%相同度。序列係使用SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、49中之任一者或第9A-9C圖所示人化A1、A2或A3可變區中之任一者之全長序列作為查詢序列或其可變區序列，使用序列比較演繹法則來比較最大相對應性，或藉目測檢查相對應性。本發明進一步涵蓋由本文揭示之核酸中之任一者所編碼之多胜肽。

例如代表性之本發明之多胜肽包含(a)具有與SEQ ID NO:2之殘基20-138至少85%類似性之胺基酸序列之多胜肽；(b)具有與SEQ ID NO:4之殘基21-127至少94%類似性之胺基酸序列之多胜肽；(c)具有與SEQ ID NO:6之殘基19-135至少86%類似性之胺基酸序列之多胜肽；(d)具有與SEQ ID

NO:8之殘基23-130至少96%類似性之胺基酸序列之多胜肽；(e)具有與SEQ ID NO:10之殘基20-141至少91%類似性之胺基酸序列之多胜肽；(f)具有與SEQ ID NO:12之殘基21-127至少98%類似性之胺基酸序列之多胜肽；以及(g)具有與SEQ ID NO:49之殘基1-119至少90%類似性之胺基酸序列之多胜肽。參考實例1及表2及實例7及表11。

本發明之多胜肽可包含天然胺基酸、合成胺基酸、基因編碼胺基酸、非基因編碼胺基酸及其組合。多胜肽包括L-形胺基酸及D-形胺基酸。

代表性之非基因編碼胺基酸包括但非限於2-胺基己二酸；3-胺基己二酸； β -胺基丙酸；2-胺基丁酸；4-胺基丁酸(哌啶甲酸)；6-胺基己酸；2-胺基庚酸；2-胺基異丁酸；3-胺基異丁酸；2-胺基庚二酸；2,4-二胺基丁酸；鎖鏈素(desmosine)；2,2'-二胺基庚二酸；2,3-二胺基丙酸；N-乙基甘胺酸；N-乙基天冬醯胺；羥基離胺酸；別羥基離胺酸；3-羥基脯胺酸；4-羥基脯胺酸；異鎖鏈素；別異白胺酸；N-甲基甘胺酸(肌胺酸)；N-甲基異白胺酸；N-甲基纈胺酸；正纈胺酸；正白胺酸；及鳥胺酸。

代表性經衍生之胺基酸包括其中自由態胺基經過衍生來形成胺鹽酸鹽、對甲苯磺醯基、苯酯基、第三丁氧羰基、氯乙醯基或甲醯基之該等分子。自由態羧基可經衍生來形成鹽類、甲酯及乙酯、或其它類型之酯類或醯肼類。自由態羥基經可衍生來形成O-醯基或O-烷基衍生物。組胺酸之咪唑氮可經衍生來形成N-咪唑基-苄基組胺酸。

本發明也提供本發明之抗5T4多胜肽片段，例如組成5T4抗原結合部位之片段。也提供比所揭示之序列更長之多胜肽序列。例如可將一個或多個胺基酸加至抗體多胜肽之N-端或C-端。此種額外胺基酸可用於多項用途，包括但非限於純化應用。延長的蛋白質之製法為技藝界所已知。

本發明之抗5T4多胜肽包括包含下列胺基酸之蛋白質，該等胺基酸為SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12或49中之任一者之保留性取代變異株。保留性取代變異株係指包含胺基酸其中一個或多個殘基已經以功能類似的殘基保留性取代之多胜肽。

保留性取代之實例包括一個非極性(疏水性)殘基諸如異白胺酸、纈胺酸、白胺酸或蛋胺酸取代另一個殘基；一個極性(親水性)殘基取代另一個殘基，諸如精胺酸與離胺酸間、麩胺與天冬醯胺間、甘胺酸與絲胺酸間之取代；一個鹼性殘基諸如離胺酸、精胺酸、或組胺酸取代另一個殘基；或一個酸性胺基酸諸如天冬酸或麩胺酸取代另一個殘基。

本發明之經分離之多胜肽可使用熟諳技藝人士已知之多種標準技術純化及決定特徵。例如參考Schröder & Lübke (1965)多胜肽。學術出版社，紐約；Bodanszky (1993)胜肽合成原理，第2修訂版，Springer-Verlag，柏林/紐約；Ausubel (編輯) (1995)分子生物學短方案，第3版，威力公司紐約。

II.C. 核苷酸及胺基酸序列之比較

於兩個或多個核苷酸序列或蛋白質序列之內文中之相同或百分比相同度等詞係指兩個或多個序列或子序列其當

比較且校準來獲得最大相應性時，為相同，或有特定百分比之胺基酸殘基或核苷酸為相同之兩個或多個序列或子序列，最大相對應性係使用本文揭示之序列比較演繹法則中之任一者或以目測檢查來測定。

- 5 就核苷酸序列或蛋白質序列而言，實質上相同一詞表示特定序列與天然序列之變化為一個或多個刪失、取代或添加，淨效果為保有抗5T4核酸或多胜肽之生物功能。

- 用於兩個或多個序列之比較，典型地，一個序列係作為參考序列，一個或多個試驗序列係與該參考序列比較。
10 當使用序列比較演繹法則時，試驗序列及參考序列載入電腦程式內，若有所需標示子序列座標，且選定序列演繹法則程式參數。然後序列比較演繹法則係基於所選定之程式參數，對該標示之試驗序列相對於該參考序列求出序列相同度百分比。

- 15 可進行比較用序列之最佳校準，採用之方式例如為藉Smith & Waterman (1981) Adv. Appl. Math 2:482-489之局部同源性演繹法則；藉Needleman&Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48:443-453之同源性校準演繹法則；藉Pearson & Lipman (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444-2448之類似性搜尋方法；藉此等演繹法則之運算實作(GAP、BESTFIT、FASTA、及TFASTA於威斯康辛遺傳小組套組軟體，遺傳電腦小組，威斯康辛州，麥迪遜)，或藉目測檢查進行。大致上參考Ausubel (編輯) (1995)分子生物之短方案，第3版，威力公司，紐約。
- 20

判定序列相同度百分比及序列類似性之較佳演繹法則為BLAST演繹法則係說明於Altschul等人(1990) J. Mol. Biol. 215:403-410。執行BLAST分析之軟體係透過國家生物技術資訊中心(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)公諸大眾。

5 BLAST演繹法則參數決定校準的敏感度和速度。用於兩個核苷酸序列之比較，BLASTn內設參數係設定於W=11(字長度)及E=10(期望)，也包括使用低度複雜度過濾器來遮罩具有低組成複雜度之查詢序列之殘基用於兩個胺基酸序列之比較。BLASTp程式內設參數係設定於W=3(字長度)，
10 E=10(預期值)，使用BLOSUM62計分矩陣，間隙成本存在=11及延長=1，使用低複雜度過濾器來遮罩具有低組成複雜度之查詢序列之殘基。參考實例1。

III. 抗5T4抗體/藥物軛合物

本發明進一步提供包含本發明之抗5T4抗體之抗體/藥物軛合物。也提供抗體/藥物軛合物之製備方法，讓藥物直接或間接結合至抗體。本發明之抗體/藥物軛合物具有通式
15 5T4Ab(-X-W)_m

其中：

5T4Ab為如本文所述之抗5T4抗體或抗體片段；

20 X為鍵聯基，包含可與抗5T4抗體或抗體片段反應之任何反應性基團之產物；

W為藥物；

m為經純化之軛合產物之平均載荷(例如m為藥物占軛合物之3-10%重量比)；以及

$(-X-W)_m$ 為藥物衍生物。

也提供本發明之抗體/藥物軛合物之製法。舉例言之，式5T4Ab $(-X-W)_m$ 之抗體/藥物軛合物可經由下列步驟製備：(a)添加藥物衍生物至抗5T4抗體，其中藥物係占抗5T4抗體之3-10%重量比；(b)藥物衍生物與抗5T4抗體於非親和之蛋白質可相容性緩衝溶液，具有pH於約7至9之範圍中培養來製造抗體/藥物軛合物，其中該溶液進一步包含：(i)適當有機助溶劑，以及(ii)包含至少一種膽酸及其鹽之一種或多種添加劑，以及其中該培養係於約30°C至約35°C範圍之溫度進行約15分鐘至約24小時範圍之一段時間；以及(c)將步驟(b)所製造之軛合物接受層析分離處理，來分離具有載荷量於3-10%重量比藥物之範圍，且具有得自未經軛合之抗5T4抗體、藥物衍生物及聚積軛合物之低軛合分量(LCF)之抗體/藥物軛合物。

III.A. 藥物

藥物為有生物活性或可檢測活性之任一種物質，諸如治療劑、可檢測標籤、結合劑等及於活體內代謝成為活性劑之前藥。藥物也可為藥物衍生物，其中藥物經過官能化來與本發明之抗體軛合。通常此等類型之軛合物稱作為免疫軛合物。

治療劑為可用於有需要之個體治療或預防病症之組成物。本發明有用之治療劑包括抗癌劑，亦即於可表現5T4之細胞有抗癌活性之藥劑，具有可表現5T4之細胞諸如得自鱗狀細胞/腺瘤肺癌(非小細胞肺癌)、侵入性乳癌、結腸直

腸癌、胃癌、鱗狀細胞子宮頸癌、侵入性子宮內膜腺癌、侵入性胰癌、卵巢癌、鱗狀細胞膀胱癌、及絨毛膜癌之癌細胞。

代表性治療藥物包括胞毒素、放射性同位素、化學治療劑、免疫調節劑、抗血管新生劑、抗增生劑、前細胞凋亡劑、及細胞抑制酶及細胞分解酶(例如RNase)。藥物也包括治療性核酸，諸如編碼免疫調節劑、抗血管新生劑、抗增生劑、或前細胞凋亡劑之基因。此等藥物之描述並非彼此排它，如此治療劑也可使用前述術語中之一者或多者說明。例如，選用之放射性同位素也可為胞毒素。治療劑可呈前文說明之任一種藥學上可接受之鹽、酸或衍生物製備。通常，有放射性同位素作為藥物之軛合物稱作為放射性免疫軛合物，有化學治療劑作為藥物之軛合物稱作為化學免疫軛合物。

用於免疫軛合物之適當藥物實例包括紫杉類(taxanes)、美塔辛(maytansines)、CC-1065及杜卡黴素類(duocarmycins)、卡利黴素類(calicheamicins)、及其它烯二炔類及金抑制素類(auristatins)。其它實例包括抗葉酸類、長春花生物鹼類及蒽環素類(anthracyclines)。植物毒素、其它生物活性蛋白質、酶(亦即ADEPT)、放射性同位素、光敏化劑(亦即光動力學治療)也可用於免疫軛合物。此外，軛合物可使用二次載劑作為細胞毒劑製造，諸如微脂粒或聚合物。

胞毒素一詞通常係指可抑制或阻止細胞功能及/或導

致細胞摧毀的藥劑。代表性之胞毒素包括抗生素、微管素聚合抑制劑、可與DNA結合且破壞DNA之烷化劑、及可破壞蛋白質合成或主要細胞蛋白質諸如蛋白質激酶、磷酸酶、拓撲異構酶、酶及週期素之合成或功能之藥劑。代表性之胞毒素包括但非限於多索魯比辛(doxorubicin)、道諾魯比辛(daunorubicin)、伊達魯比辛(idarubicin)、阿可拉魯比辛(aclarubicin)、左魯比辛(zorubicin)、米妥山左(mitoxantrone)、伊皮魯比辛(epirubicin)、卡魯比辛(carubicin)、諾嘉拉黴素(nogalamycin)、米諾嘉利(menogaril)、皮它魯比辛(pitarubicin)、凡魯比辛(valrubicin)、賽它拉比辛(cytarabine)、珍西塔賓(gemcitabine)、萃福瑞丁(trifluridine)、安西塔賓(ancitabine)、伊諾西塔賓(enocitabine)、阿薩西提丁(azacitidine)、朵西福瑞丁(doxifluridine)、潘妥史塔丁(pentostatin)、布組瑞丁(broxuridine)、卡普西塔賓(capecitabine)、克拉左賓(cladribine)、迪西塔賓(decitabine)、福組瑞丁(floxuridine)、福達拉賓(fludarabine)、古吉羅丁(gougerotin)、普羅黴素(puromycin)、地嘉福(tegafur)、提左福林(tiazofurin)、安左黴素(adriamycin)、西普拉丁(cisplatin)、卡伯普拉丁(carboplatin)、賽可羅福法米(cyclophosphamide)、達卡巴辛(dacarbazine)、維布拉司丁(vinblastine)、維克司丁(vincristine)、米妥薩左(mitoxantrone)、布歐黴素(bleomycin)、米可羅薩敏(mechlorethamine)、普尼松

(prednisone)、普卡巴辛(procarbazine)、胺甲喋啶(methotrexate)、福羅拉席(flurouracils)、伊妥普賽(etoposide)、紫杉醇(taxol)、紫杉醇類似物、鉑類諸如西伯丁(cis-platin)及卡伯伯丁(carbo-platin)、米妥黴素(mitomycin)、西提帕(thiotepa)、紫杉類、維克瑞司丁(vincristine)、道諾魯比辛、伊皮魯比辛、放線黴素(actinomycin)、歐索拉黴素(authramycin)、吡絲胺酸、布歐黴素(bleomycins)、塔莫西芬(tamoxifen)、伊達魯比辛(idarubicin)、朵拉司塔丁(dolastatins)/金抑制素類、海米史特林(hemiasterlins)、艾斯派拉黴素(esperamicins)及美坦希諾(maytansinoids)。

於本發明之特定實施例中，胞毒素為抗生素諸如卡利黴素也稱作為LL-E33288複體，例如 γ -卡利黴素(γ_1)或N-乙醯基 γ -卡利黴素。參考美國專利案4,970,198。適合用於製備本發明之抗體/藥物軛合物之卡利黴素類之額外實例係揭示於美國專利案4,671,958；5,053,394；5,037,651；5,079,233；及5,108,912，各案全文以引用方式併入此處。此等化合物含有甲基三硫化物，其可與適當硫醇反應來形成二硫化物，同時導入官能基諸如醯肼或其它可用來將卡利黴素軛合至抗5T4抗體之官能基。卡利黴素之二硫化物類似物也可用於美國專利案5,606,040及5,770,710所述之類似物，二案全文以引用方式併入此處。

用於放射性治療用途，本發明之抗5T4抗體包含高能放射性同位素。同位素可直接結合至抗體，例如結合於存在

於抗體之半胱胺酸殘基，或可使用螯合劑來媒介抗體與放射性同位素的結合。適合用於放射性治療之放射性同位素包括但非限於 α -發射體、 β -發射體及奧吉(auger)電子。供診斷應用，有用之放射性同位素包括正子發射體及 γ -發射體。本發明之抗5T4抗體可進一步例如於抗體之酪胺酸殘基上碘化來輔助抗體之檢測或治療效果。

可輻合至抗5T4抗體之代表性放射性同位素包括¹⁸氟、⁶⁴銅、⁶⁵銅、⁶⁷鎳、⁶⁸鎳、⁷⁷溴、^{80m}溴、⁹⁵釷、⁹⁷釷、¹⁰³釷、¹⁰⁵釷、^{99m}鎳、¹⁰⁷汞、²⁰³汞、¹²³碘、¹²⁴碘、¹²⁵碘、¹²⁶碘、¹³¹碘、¹³³碘、¹¹¹銥、¹¹³銥、^{99m}銥、¹⁰⁵銥、¹⁰¹銥、¹⁸⁶銥、¹⁸⁸銥、^{121m}碲、⁹⁹鎳、^{122m}碲、^{125m}碲、¹⁶⁵銻、¹⁶⁷銻、¹⁶⁸銻、⁹⁰釷及衍生得之氮化物形式及氧化物形式。其它適當之放射性同位素包括 α 發射體諸如²¹³鉍、²¹³鉛及²²⁵銻。

本發明之抗體/藥物輻合物可包括免疫調節劑，亦即可提引出免疫反應之藥劑，免疫反應包括體液免疫反應(例如製造抗原特異性抗體)及細胞媒介之免疫反應(例如淋巴細胞增生)。代表性免疫調節劑包括細胞激素類、黃素類、介白素類、干擾素類及生長因子(例如TNF、CSF、GM-CSF及G-CSF)及激素類諸如雌激素類(二乙基史提畢司左(diethylstilbestrol)、十二醇(estradiol))、雄激素類(睪固酮、哈羅提司丁(HALOTESTIN)福西美司特龍(flouxymesterone))、孕激素類(美嘉司(MEGACE)(美嘉司左(megestrol)乙酸鹽)、普維拉(PROVERA)美左普吉司特龍(medroxyprogesterone)乙酸鹽))、及皮質類固醇(普尼松、德

沙美沙松(dexamethasone)、氫可體松(hydrocortisone))。

本發明有用之免疫調節劑也包括可阻斷激素對腫瘤之作用之抗激素其可抑制細胞激素的製造、向下調節自我抗原表現或遮罩MHC抗原之免疫抑制劑。代表性之抗激素類包括抗雌激素類例如包括塔莫希芬(tamoxifen)、拉羅希芬(raloxifene)、芳香化酶抑制4(5)-咪唑類、4-羥基塔莫希芬、萃希芬(trioxifene)、吉希芬(keoxifene)、LY 117018、歐納史東(onapnstone)、及妥米芬(toremifene)；及抗雄激素類諸如福塔米(flutamide)、尼陸塔米(nilutamide)、畢卡陸塔米(bicalutamide)、陸普萊(leuprolide)、及果色林(goserelin)；及抗腎上腺作用劑。代表性免疫抑制劑包括2-胺基-6-芳基-5-經取代之嘧啶類、阿薩席普林(azathioprine)、賽可羅福法米(cyclophosphamide)、布莫奎丁(bromocryptine)、達納松(danazol)、達普松(dapsone)、戊二醛、MHC抗原及MHC片段之抗特應型抗體、環孢靈(cyclosporine)A、類固醇諸如糖皮質激素類、細胞激素或細胞激素受體拮抗劑(例如抗干擾素抗體、抗-IL10抗體、抗-TNF α 抗體、抗-IL2抗體)、鏈激酶(streptokinase)、TGF- β 、拉帕黴素(rapamycin)、T細胞受體、T細胞受體片段及T細胞受體抗體。

本發明有用之額外藥物包括可抑制血管形成之抗血管新生劑，例如法尼基轉移酶抑制劑、COX-2抑制劑、VEGF抑制劑、bFGF抑制劑、類固醇硫酸酶抑制劑(例如2-甲氧基雌二醇貳-胺基磺酸鹽(2-MeOE2bisMATE))、介白素-24、血栓史邦丁(thrombospondin)、金屬史邦丁(metallospodin)蛋

白質、第I類干擾素、介白素12、魚精蛋白、血管抑制素(angiotatin)、層黏連蛋白(laminin)、內抑制素(endostatin)及促泌乳激素片段。

5 抗增生劑及前細胞凋亡劑包括PPAR- γ 活化劑(例如環戊烯酮前列腺素類(cyPGs))、維生素A酸類、三萜類(例如賽可羅坦(cycloartane)、魯潘(lupane)、爾山(ursane)、歐里耐(oleanane)、費德蘭(friedelane)、達馬蘭(dammarane)、庫可畢塔辛(cucurbitacin)及檸檬苦素(limonoid)三萜類)、EGF受體抑制劑(例如HER4)、蘭帕黴素(rampamycin)、促鈣三醇(CALCITRIOL)、(1,25-二羥基膽促鈣醇(維生素D))、芳香酶抑制劑(費馬拉(FEMARA)里左松(letrozole))、端粒酶抑制劑、鐵螯合劑(例如3-胺基吡啶-2-羧醛胺基硫脲(萃平(Triapine))、凋亡素(apoptin)(病毒蛋白質3-得自雞貧血病毒之VP3)、Bcl-2及Bcl-X(L)抑制劑、TNF- α 、FAS配體、TNF-
10 相關細胞凋亡誘生配體(TRAIL/Apo2L)、TNF- α /FAS配體/TRAIL/Apo2L發訊抑制劑及PI3K-Akt存活徑路發訊抑制劑(例如UCN-01及決大拿黴素(geldanamycin))。

20 代表性化學治療劑包括烷化劑諸如希提帕(thiotepa)及賽可羅福法米；烷基磺酸酯類諸如布蘇芬(busulfan)、伊普蘇芬(improsulfan)及皮普蘇芬(piposulfan)；阿希丁類(aziidines)諸如本左朵帕(benzodopa)、卡伯奎恩(carboquone)、米土朵帕(meturedopa)及爾朵帕(uredopa)；伸乙基亞胺類及甲基蜜胺類(methylamines)包括阿萃塔明

(altretamine)、三伸乙基蜜胺、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基
 硫磷醯胺及三羥甲基蜜胺；氮芥子素諸如可羅拉布希
 (chlorambucil)、可羅納法辛(chloronaphazine)、可羅福法米
 (cholophosphamide)、艾司左木斯丁(estramustine)、伊福司
 5 法米(ifosfamide)、米奇瑞薩明(mechiorethamine)、米奇瑞薩
 明氧化物鹽酸鹽、美法蘭(melphalan)、諾夫比青
 (novembichin)、費尼斯特林(phenesterine)、普尼慕斯丁
 (prednimustine)、左福斯法尼(trofosfarnide)、尿嘧啶芥子
 素；亞硝基脲類諸如卡慕斯丁(carmustine)、可羅左妥辛
 10 (chlorozotocin)、福提慕斯丁(fotemustine)、羅慕斯丁
 (lomustine)、尼慕斯丁(nimustine)、拉尼慕斯丁
 (ranimustine)；抗生素類諸如阿可拉西諾黴素類
 (aclacinomysins)、放線黴素(actinomycin)、歐索拉黴素
 (authramycin)、吡絲胺酸、布歐黴素(bleomycins)、卡提諾
 15 黴素(cactinomycin)、卡利黴素、卡拉比辛(carabycin)、卡米
 諾黴素(carminomycin)、卡西諾菲林(carzinophilin)、可羅莫
 黴素(chromomycins)、達提諾黴素(dactinomycin)、道諾魯
 比辛、帝妥魯比辛(detorubicin)、6-重氮-5-酮-L-正白胺酸、
 多索魯比辛、伊皮魯比辛(epirubicin)、伊索魯比辛
 20 (esorubicin)、伊達魯比辛(idarubicin)、馬賽洛黴素
 (marcellomycin)、米妥黴素(mitomycins)、黴酚酸、諾嘉拉
 黴素(nogalamycin)、歐利福黴素(olivomycins)、派羅黴素
 (peplomycin)、普費洛黴素(potfiromycin)、普羅黴素
 (puromycin)、奎拉黴素(quelamycin)、羅朵魯比辛

(rodorubicin)、史萃普妥尼革(streptonigrin)、史萃普妥左辛(streptozocin)、土伯西丁(tubercidin)、烏本尼麥斯(ubenimex)、席諾史塔丁(zinostatin)、左魯比辛(zorubicin)；抗代謝劑諸如胺甲喋呤及5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物諸如地諾特林(denopterin)、胺甲喋呤、泰洛特林(pteropterin)、萃米左賽(trimetrexate)；嘌呤類似物諸如福達拉賓(fludarabine)、6-巰基嘌呤、賽米普林(thiamiprine)、硫鳥嘌呤；嘧啶類似物諸如阿西塔賓(ancitabine)、阿薩西提丁(azacitidine)、6-吡尿苷、卡慕福(carmofur)、賽塔拉賓(cytarabine)、二去氧尿苷、朵西福瑞丁(doxifluridine)、安妥西塔賓(enocitabine)、福組瑞丁(floxuridine)、5-EU；雄激素類諸如卡魯史特龍(calusterone)、左莫斯塔諾龍(dromostanolone)丙酸鹽、伊皮提司塔諾(epitiostanol)、美皮提斯坦(mepitiostane)、睪丸內酯(testolactone)；抗腎上腺諸如阿尼諾古提西麥(arninoglutethimide)、米妥坦(mitotane)、萃洛斯坦(trilostane)；葉酸補充劑諸如福里尼酸(frolinic acid)；艾西葛拉東(aceglatone)；艾朵福法奈(aldophospharnide)糖苷；阿尼諾里克酸(arninolevulinic acid)；阿薩奎(amsacrine)；畢司左布西(bestrabucil)；畢山萃(bisantrene)；伊達萃賽(edatraxate)；帝福法明(defofamine)；帝米可辛(demecolcine)；戴西奎(diaziquone)；伊福尼辛(elfornithine)；伊里提涅(elliptinium)乙酸鹽；伊妥谷西(etoglucid)；硝酸鎘；羥基脲；列提納(lentinan)；洛尼達明(lonidamine)；米妥谷松(mitoguazone)；米妥薩左

(mitoxantrone)；木皮達莫(mopidamol)；奈萃奎(nitracrine)；
 潘妥史塔丁(pentostatin)；費納麥(phenamet)；皮拉魯比辛
 (pirarubicin)；鬼臼毒酸(podophyllinic acid)；2-乙基醯肼；
 普卡巴辛(procarbazine)；拉左賽(razoxane)；西左費蘭
 5 (sizofiran)；史皮洛鍺(spirogermanium)；太努左尼酸
 (tenuazonic acid)；萃席奎(triaziquone)；2,2',2'-三氯三乙基
 胺；優里山(urethane)；凡地辛(vindesine)；達卡巴辛
 (dacarbazine)；馬諾慕斯丁(mannomustine)；米妥布尼妥
 (mitobronitol)；米妥拉妥(mitolactol)；皮普布曼
 10 (pipobroman)；嘉賽妥辛(gacytosine)；阿拉伯糖苷(Ara-C)；
 賽可羅福法米；席特帕(thiotepa)；紫杉類例如太平洋紫杉
 醇(paclitaxel) (塔左(TAXOL)、紐澤西州普林斯頓畢茲妥梅
 爾施貴寶公司(Bristol-Myers Squibb Oncology))及朵西紫杉
 醇(doxetaxel) (塔索塔爾(TAXOTERE)、法國安東尼之隆普
 15 蘭羅爾公司(Rhone-Poulenc Rorer))；可羅拉布西
 (chiorambucil)；潔西塔賓(gemcitabine)；6-硫基鳥嘌呤；巯
 基嘌呤；胺甲喋呤；鉑類似物諸如西普拉丁及卡伯普拉丁；
 維布拉司丁；鉑；伊妥普賽(VP-16)；伊福司法米；米妥黴
 素C；米妥山左；維克司丁；維諾瑞賓(vinorelbine)；那維
 20 賓(navelbine)；諾瓦左(novantrone)；太尼普賽(teniposide)；
 道諾黴素(daunomycin)；阿尼諾太林(aininopterin)；賽洛達
 (xeloda)；伊班左奈(ibandronate)；CPT-11；拓撲異構酶抑
 制劑RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；維生素A酸；伊
 派拉米西辛(esperamicins)；及卡皮西塔賓(capecitabine)。

可軛合至抗5T4抗體且根據本發明之治療方法使用之額外治療劑包括用於光動力學治療之光敏化劑(美國專利公開案第2002/0197262號及美國專利案5,952,329)；熱療用之磁性粒子(美國專利公告案第2003/0032995號)；結合劑諸如胜肽類、配體類、細胞黏著配體類等及前藥諸如含磷酸前藥、含硫代磷酸前藥、含硫酸前藥、含胜肽前藥、含 β -內醯胺前藥、含經取代之苯氧基乙醯胺前藥或含經取代之苯基乙醯胺前藥、5-氟胞嘧啶前藥及其它5-氟尿苷前藥，該等前藥可轉成有較高活性之胞毒性自由態藥物。

用於使用抗5T4抗體之診斷方法，藥物包含可檢測標記用來檢測於試管內及活體內之5T4表現細胞之存在。於活體內可檢測之放射性同位素，諸如使用閃爍攝影術、磁共振造影、或超音波可檢測之該等標記可用於臨床診斷用途。有用之閃爍攝影標記包括正子發射體及 γ 發射體。磁性來源造影用之代表性對比劑為順磁性離子或超順磁性離子(例如鐵、銅、錳、鉻、鉕、鎢、鎢、鈦、及釷)、氧化鐵粒子及水溶性對比劑。供超音波檢測之用，氣體或液體可捕捉於多孔無機粒子內，氣體及液體釋放作為微氣泡對比劑。供試管內檢測之用，有用之可檢測標記包括發螢光基團、可檢測之抗原決定基或結合劑及放射性標記。

III.B. 鍵聯基分子

藥物透過鍵聯基分子而直接或間接軛合至本發明之嵌合體及人化抗5T4抗體。鍵聯基分子可為安定或可水解，因此於進入細胞後釋放。藥物由抗體釋放的主要機轉包括於

溶小體之酸性pH中水解(脙類、縮醛類及順烏頭酸狀醯胺類)、藉溶小體酶裂解胜肽(組織蛋白酶及其它溶小體酶)及雙硫鍵之還原。由於各種裂解機轉的結果，藥物鍵聯至抗體的機轉也有寬廣變化，可使用任一種適當鍵聯基。較佳
 5 軛合方法可製造有最小低軛合物分量之樣本(LCF，大部分未經軛合抗體分量)，亦即低於約10%。

適當軛合程序之實例係仰賴醯肼及其它親和基團軛合至由抗體天然出現之碳水化合物氧化所產生之醛類。含脙軛合物可使用所導入之羰基製造，提供期望之藥物釋放性質。軛合物也可使用鍵聯基製造，該鍵聯基於一端有雙硫
 10 鍵、於中間有烷基鏈，以及另一端有肼衍生物。蔥環素類屬於可使用此項技術軛合至抗體之胞毒素之一個實例。

含有脙以外之官能基之鍵聯基可於溶小體之酸性環境下裂解。舉例言之，軛合物可由硫醇反應性鍵聯基製造，
 15 且含有脙以外之一個位置，該位置可於細胞內被裂解，諸如酯類、醯胺類及縮醛類/縮酮類。組織蛋白酶屬於一種可使用此等鍵聯基軛合之胞毒性劑。也可使用由5員至7員環酮且有其中一個氧附接至胞毒性劑及另一個氧附接至鍵聯基用來附著於抗體之縮酮。蔥環素類也屬於用於此等鍵聯
 20 基之適當胞毒素之實例。

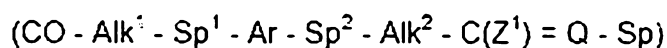
一類pH敏感鍵聯基之另一個實例為順烏頭酸鹽，具有羧酸並排於醯胺鍵。羧酸可加速於酸性溶小體的醯胺水解。也可使用可達成類似類型之水解速率，可使用數種其它類型結構加速之鍵聯基。美坦西諾伊(maytansinoids)屬於

可與附接於C-9之鍵聯基軛合之胞毒素之實例。

藥物軛合物之另一種可能之釋放方法為藉溶小體酶藉酶水解胜肽。於一個實例中，胜肽係透過醯胺鍵附接至對胺基苄醇，然後胺基甲酸根或碳酸根介於苄醇與胞毒劑間。胜肽裂解，結果導致胺基苄基胺基甲酸酯或胺基苄基碳酸酯之坍塌或自行死亡。此種策略舉例說明之胞毒劑包括蔥環素類、紫杉類、米妥黴素C、及金抑制素類。一實例中，酚也可藉鍵聯基的坍塌而非胺基甲酸之坍塌而釋放。於另一個變化例中，可使用雙硫鍵反應來引發對巰基苄基胺基甲酸酯或碳酸酯之坍塌。

多種軛合至抗體之胞毒劑極少(若有)溶解於水，由於軛合物的凝集可能限制藥物與軛合物上的負載量。克服此項問題之一種辦法係添加增溶基至鍵聯基。也可使用以由PEG及二胜肽所組成之鍵聯基製造之軛合物，包括具有PEG二酸、硫醇酸或順丁烯二醯亞胺-酸附接至抗體、二胜肽間隔基及醯胺鍵結至蔥環素或杜卡黴素(duocarmycin)類似物之軛合物。另一個實例為含PEG之鍵聯基雙硫鍵鍵結至胞毒劑及醯胺鍵結至抗體所製備之軛合物。結合PEG基團之辦法可克服藥物的凝集的藥物負載量的限制。

較佳用於製備本發明之抗體/藥物軛合物之代表性鍵聯基包括下式鍵聯基



其中

Alk^1 及 Alk^2 分別為鍵結或分支或未經分支(C_1 - C_{10})伸烷

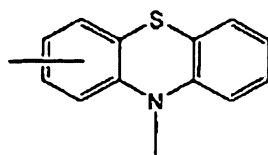
基鏈；

Sp^1 為鍵結、-S-、-O-、-CONH-、-NHCO-、-NR'-、
-N(CH₂CH₂)₂N-或-X-Ar'-Y-(CH₂)_n-Z其中X、Y及Z各自分別
為鍵結、-NR'-、-S-或-O-，但當n=0時，Y及Z中之至少一
者須為鍵結，Ar'為視需要可經以一個、兩個或三個下列基
團取代之1,2-伸苯基、1,3-伸苯基、或1,4-伸苯基：(C₁-C₅)
烷基、(C₁-C₄)烷氧基、(C₁-C₄)硫烷氧基、鹵素、硝基、
-COOR'、-CONHR'、-(CH₂)_nCOOR'、-S(CH₂)_nCOOR'、
-O(CH₂)_nCONHR'、或-S(CH₂)_nCONHR'，但當Alk¹為鍵結時
 Sp^1 為鍵結；

n為0至5之整數；

R'為視需要可經以一個或二個下列基團取代之分支或
未經分支之(C₁-C₅)鏈：-OH、(C₁-C₄)烷氧基、(C₁-C₄)硫烷
氧基、鹵素、硝基、(C₁-C₃)二烷基胺基、或(C₁-C₃)三烷基
銨-A⁻，此處A⁻為與鹽互補之藥學上可接受之陰離子；

Ar為視需要可經以一個、兩個或三個下列基團取代之
1,2-伸苯基、1,3-伸苯基、或1,4-伸苯基：(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₅)
烷氧基、(C₁-C₄)硫烷氧基、鹵素、硝基、-COOR'、-CONHR'、
-O(CH₂)_nCOOR'、-S(CH₂)_nCOOR'、-O(CH₂)_nCONHR'、或
-S(CH₂)_nCONHR'，其中n及R'係如前文定義或1,2-、1,3-、
1,4-、1,5-、1,6-、1,7-、1,8-、2,3-、2,6-、或2,7-亞萘基或



各個亞萘基或啡噻吡視需要可經以一個、兩個、三個或四個下列基團取代： (C_1-C_6) 烷基、 (C_1-C_5) 烷氧基、 (C_1-C_4) 硫烷氧基、鹵素、硝基、 $-COOR'$ 、 $-CONHR'$ 、 $-O(CH_2)_nCOOR'$ 、 $-S(CH_2)_nCOOR'$ 、或 $-S(CH_2)_nCONHR'$ ，
 5 其中 n 及 R' 係如前文定義，但先決條件為當 Ar 為啡噻吡時 Sp^1 為只聯結至氮之鍵結；

Sp^2 為鍵結、 $-S-$ 、或 $-O-$ ，限制條件為當 Alk^2 為鍵結時 Sp^2 為鍵結；

Z^1 為 H 、 (C_1-C_5) 烷基或視需要經以1、2或3個下列基團
 10 取代之苯基： (C_1-C_5) 烷基、 (C_1-C_5) 烷氧基、 (C_1-C_4) 硫烷氧基、鹵素、硝基、 $-COOR'$ 、 $-ONHR'$ 、 $-O(CH_2)_nCOOR'$ 、 $-S(CH_2)_nCOOR'$ 、 $-O(CH_2)_nCONHR'$ 、或 $-S(CH_2)_nCONHR'$ ，
 其中 n 及 R' 係如前文定義；

Sp 為直鏈或分支鏈二價或三價 (C_1-C_{18}) 基團、二價或三
 15 價芳基或雜芳基、二價或三價 (C_3-C_{18}) 環烷基、或雜環烷基、二價或三價芳基-或雜芳基-芳基 (C_1-C_{18}) 基團、二價或三價環烷基-或雜環烷基-烷基 (C_1-C_{18}) 基團、或二價或三價 (C_2-C_{18}) 不飽和烷基，其中雜芳基較佳為呋喃基、噻吩基、 N -甲基吡咯基、吡啶基、 N -甲基咪唑基、噁唑基、嘧啶基、
 20 喹啉基、異喹啉基、 N -甲基呋唑基、胺基香豆素基或啡吡基以及其中若 Sp 為三價基團，則 Sp 額外可經以低碳 (C_1-C_5) 二烷基胺基、低碳 (C_1-C_5) 烷氧基羥基、或低碳 (C_1-C_5) 烷硫基取代；以及

Q 為 $=NHNCO-$ 、 $=NHNCS-$ 、 $=NHNCONH-$ 、

=NHNCSNH-、或=NHO-。

較佳 Alk^1 為分支或未經分支之 $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ 伸烷基鏈； Sp^1 為鍵結、-S-、-O-、-CONH-、-NHCO-、或-NR' 其中 R' 係如前文定義，但當 Alk^1 為鍵結時 Sp^1 為鍵結；

5 Ar 為視需要可經以一個、兩個或三個下列基團取代之
1,2-伸苯基、1,3-伸苯基、或1,4-伸苯基： $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基、 $(\text{C}_1\text{-C}_5)$
烷氧基、 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ 硫烷氧基、鹵素、硝基、-COOR'、-CONHR'、
-O(CH₂)_nCOOR'、-S(CH₂)_nCOOR'、-O(CH₂)_nCONHR'、或
-S(CH₂)_nCONHR'，其中 n 及 R' 係如前文定義或 Ar 為1,2-、
10 1,3-、1,4-、1,5-、1,6-、1,7-、1,8-、2,3-、2,6-、或2,7-亞萘
基，其各自視需要可經以1、2、3或4個選自於下列之基團
取代： $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基、 $(\text{C}_1\text{-C}_5)$ 烷氧基、 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ 硫烷氧基、鹵
素、硝基、-COOR'、-CONHR'、-O(CH₂)_nCOOR'、
-S(CH₂)_nCOOR'、-O(CH₂)_nCONHR'、或-S(CH₂)_nCONHR'。

15 Z^1 為 H、 $(\text{C}_1\text{-C}_5)$ 烷基或視需要經以1、2或3個下列基團
取代之苯基： $(\text{C}_1\text{-C}_5)$ 烷基、 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ 烷氧基、 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ 硫烷氧
基、鹵素、硝基、-COOR'、-ONHR'、-O(CH₂)_nCOOR'、
-S(CH₂)_nCOOR'、-O(CH₂)_nCONHR'、或-S(CH₂)_nCONHR'；
 Alk^2 及 Sp^2 共同形成為鍵結；以及 Sp 及 Q 係恰如前文定義。

20 美國專利案 5,773,001 (前文併入此處以供參考) 揭示可
用於親核藥物特別由卡利黴素所製造之醯肼類及相關親核
基團之藥物之鍵聯基。此等鍵聯基特別可用於當藥物與鍵
聯基間所形成之聯結為可水解之該等情況。此等鍵聯基含
有兩個官能基，包括(1)與抗體反應之基團(例如羧酸)及(2)

與藥物反應之羰基(例如醛或酮)。羰基可與藥物上之醯肼基反應形成脎鍵聯。此種鍵聯為可水解，允許於結合至標靶細胞後由軛合物釋放治療劑。

舉個實例，抗5T4抗體可藉下列辦法軛合至胞毒性藥物：(1)添加胞毒性藥物衍生物至抗5T4抗體，其中該胞毒性藥物為4.5%-11%重量比含蛋白質載劑；(2)胞毒性藥物衍生物與抗5T4抗體於具有pH於約7至9之非親核且蛋白質可相容性緩衝溶液中培養，來製造單體胞毒性藥物/抗體軛合物，其中該溶液進一步包含(a)適當有機助溶劑，及(b)包含至少一種C₆-C₁₈羧酸或其鹽之添加劑，以及其中該培養係於約30°C至約35°C溫度進行約15分鐘至24小時之一段時間；以及(3)將步驟(2)所製造之軛合物接受層析分離處理來分離單體軛合物，有負載量係於3%至10%重量比胞毒性藥物之範圍，具有得自未經軛合抗體、胞毒性藥物衍生物及凝集軛合物之低軛合分量(LCF)低於10%。

步驟(3)之層析分離包括諸如尺寸排除層析術(SEC)、超濾/滲濾、HPLC、FPLC或西法克(Sephacryl) S-200層析術等方法。層析分離也可藉疏水交互作用層析術(HIC)完成，HIC係使用苯基西法羅斯(Phenyl Sepharose) 6快速流量層析介質、丁基西法羅斯4快速流量層析介質、辛基西法羅斯4快速流量層析介質、東洋珍珠(Toyo pearl) 醃-650M層析介質、巨型-製備(Macro-Prep) 甲基HIC介質、或巨型-製備第三丁基HIC介質完成。

抗5T4抗體/藥物軛合物之代表性製法包括同在審查中

之已公告的美國專利申請公告案2004-082764A1及美國專利申請案10/699,874(全文以引用方式併入此處)對CMC-544之製備所述之代表性製法。軛合可使用下列條件進行：10毫克/毫升抗體、8.5%(w/w)卡利黴素衍生物、37.5 mM癸酸鈉、9%(v/v)乙醇、50 mM HEPES (N-(2-羥乙基)哌
5 吡-N'-(4-丁磺酸))、pH 8.5、32°C、1小時。疏水交互作用層析術(HIC)可使用丁基西法羅斯FF樹脂、0.65M磷酸鉀負載緩衝液、0.49M磷酸鉀洗滌緩衝液及4 mM磷酸鉀洗提緩衝液進行。緩衝液交換可藉尺寸排除層析術、超濾/滲濾或
10 其它適當手術完成。抗體/藥物軛合物可於1.5%葡萄聚糖-40、0.9%蔗糖、0.01%吞恩(TWEEN)-80、20 mM Tris/50 mM NaCl、pH 8.0中調配。也可使用含有5%蔗糖、0.01%吞恩-80、20 mM Tris/10 mM NaCl、pH 8.0之另一種配方溶液。可基於配方調整凍乾週期。調配後之緩衝液濃度可為0.5毫
15 克軛合物/毫升。各個小瓶含有1毫克軛合物亦即2毫升填充量。視期望可製備其它填充量例如5毫升填充量。

其它代表性方法包括如美國專利公告案第20060002942號對CMD-193所述之方法。軛合可使用下列條件進行：10毫克/毫升抗體、7%(w/w)卡利黴素衍生物、10
20 mM去氧膽酸鹽、50 mM HEPES (N-(2-羥乙基)哌吡-N'-(4-丁磺酸))、9%(v/v)乙醇、pH 8.2、32°C、1小時。反應可以0.66 M磷酸鉀pH 8.56稀釋10倍，HIC可使用丁基西法羅斯FF樹脂，0.60M磷酸鉀負載緩衝液以及洗滌緩衝液及20 mM Tris/25 mM NaCl洗提緩衝液進行。緩衝液交換可使用超濾/

滲濾以再生纖維素膜達成。軛合物可對20 mM Tris/10 mM NaCl pH 8.0 (10滲析量)滲濾。抗體/藥物軛合物可於5%蔗糖、0.01%吞恩-80、20 mM Tris/10 mM NaCl、pH 8.0中調配。調配後之本體軛合物濃度為1毫克/毫升，小瓶填充量為5毫克/小瓶亦即5毫升填充量，若有所需可製備其它填充量。

於本發明之特定實施例中，所使用之鍵聯基為4-(4-乙醯基苯氧基)丁酸(AcBut)。抗體/藥物軛合物係經由 β -卡利黴素、 γ -卡利黴素或N-乙醯基 γ -卡利黴素或其衍生物與3-巰基-3-甲基丁醯肼、AuBut鍵聯基及本發明之抗5T4抗體反應而製備。例如參考美國專利案5,773,001。此種鍵聯基可製造軛合物，軛合物於循環中實質上穩定，每日釋放約2%NAc- γ DMH，容易於酸性溶小體釋放NAc- γ DMH。於本發明之其它實施例中，抗體/藥物軛合物係使用3-乙醯基苯基酸性酸(AcPac)或4-巰基-4-甲基-戊酸(Amide)作為鍵聯基分子而製備。

可用於軛合放射性同位素之代表性鍵聯基包括二伸乙基三胺五乙酸鹽(DTPA)-異硫氰酸酯、丁二醯亞胺基6-肼基菸鹼酸鹽酸鹽(SHNH)、及六甲基伸丙基胺肼(HMPAO) (Bakker等人(1990) J. Nucl. Med. 31:1501-1509, Chattopadhyay等人(2001) Nucl. Med. Biol. 28:741-744, Dewanjee等人(1994) J. Nucl. Med. 35:1054-63, Krenning等人(1989)刺絡針1:242-244, Sagiuchi等人(2001) Ann. Nucl. Med. 15:267-270)；美國專利案6,024,938)。另外，靶定分子

可經衍生，放射性同位素可直接結合(Yoo等人(1997) J. Nucl. Med. 38:294-300)。碘化方法也是技藝界所已知，參考性方案例如可參考Krenning等人(1989)刺絡針1:242-4及Bakker等人(1990) J. Nucl. Med. 31:1501-9。

5 為了進一步增加每個抗體/藥物軛合物之藥物分子數目，藥物可軛合至聚乙二醇(PEG)，包括直鏈或分支聚乙二醇聚合物及單體。PEG單體具有式： $-(CH_2CH_2O)-$ 。藥物及/或胜肽類似物可直接或間接結合至PEG，例如透過適當的間隔基如糖結合至PEG。PEG/抗體/藥物組成物也包括額外
10 親脂部分及/或親水部分，來輔助藥物安定性及藥物於活體內輸送至標靶位置。含PEG組成物之代表性製法可參考美國專利案6,461,603；6,309,633；及5,648,095及其它位置。

 例如為了增加於抗體-卡利黴素軛合物中之卡利黴素含量，抗體於與卡利黴素軛合前係軛合至PEG，例如使用
15 PEG-SPA、PEG-SBA或PEG-貳-順丁烯二醯亞胺製備。使用PEG製備之抗體/藥物軛合物顯示對標靶抗原之較低結合親和力，但由於藥物負載量增加結果仍然有效。諸如去氧膽酸鹽及癸酸鹽等添加劑可用來製造含低度未經軛合抗體及低度聚集體之抗體/卡利黴素軛合物。

20 多種藥物包括卡利黴素之疏水性質結果導致抗體/藥物軛合物的凝集。為了製造有較高藥物負載量/產率及較低聚集之單體抗體/藥物軛合物，軛合反應可於非親和、蛋白質可相容性之緩衝溶液中進行，緩衝溶液含有：(i)丙二醇作為助溶劑，以及(ii)包含至少一種 C_6 - C_{18} 羧酸之添加劑。

有用之酸包括C₇至C₁₂酸諸如辛酸或稱作卡普里酸(caprylic acid)或其鹽。也可使用丙二醇以外之其它蛋白質可相容之有機助溶劑，諸如乙二醇、乙醇、DMF、DMSO等。部分或全部有機助溶劑可用於將藥物移轉入軛合混合物內。使用N-羥基丁二醯亞胺(OSu)酯或其它比較上活性酯製備抗體/藥物軛合物有用之緩衝液包括磷酸鹽緩衝食鹽水(PBS)及N-(2-羥基乙基)哌咻-N'-2-乙磺酸(HEPES緩衝液)。用於軛合反應之緩衝溶液須實質上不含自由態胺類及親和基團。至於另一種辦法，軛合反應可於不含額外添加劑之含第三丁醇之非親和、蛋白質可相容性緩衝溶液內進行。例如參考美國專利案5,712,374及5,714,586。額外軛合方法及含卡利黴素軛合物係說明於美國專利案5,739,116及5,877,296。

形成單體軛合物之最適當反應條件可經由變更反應變數而以實驗方式測定，反應變數諸如溫度、pH、卡利黴素衍生物輸入量及添加劑濃度。丙二醇之代表性用量係占總溶液由10%至60%，例如10%至40%或於約30%體積比。包含至少一種C₆-C₁₈羧酸或其鹽之添加劑之代表性含量係於20 mM至100 mM諸如40 mM至90 mM或約60 mM至90 mM之範圍。C₆-C₁₈羧酸或其鹽之濃度可提高至150-300 mM，助溶劑濃度可降至1%至10%。於本發明之代表性實施例中，羧酸為辛酸、癸酸或對應之鹽類。例如200 mM卡普里酸可與5%丙二醇或乙醇一起使用。軛合反應可於略為升高溫度(30-35°C)及pH (8.2-8.7)進行。抗體濃度可於1至15毫克

/毫升之範圍，卡利黴素衍生物例如N-乙酰基 γ -卡利黴素DMH AcBut OSu酯之濃度可於占抗體之約4.5%至約11%重量比之範圍。適合用於軛合其它藥物之條件可由熟諳技藝人士無需經由不必要之實驗而確定。

5 III.C. 抗體/藥物軛合物之純化

軛合後，單體軛合物可藉習知方法例如尺寸排除層析術(SEC)、疏水交互作用層析術(HIC)、離子交換層析術(IEC)或層析聚焦(CF)，而由未經軛合之反應物及/或軛合物之聚集形式分離。純化後之軛合物為單體，通常含有3%至10%重量比藥物。抗體/藥物軛合物也可使用疏水交互作用層析術(HIC)純化，其提供若干優於SEC之優點，包括(1)可充分降低LCF含量及減少聚集體；(2)配合大量反應體積；以及(3)極少稀釋產物。適合製造規模使用之高容量HIC介質包括苯基西法羅斯6快速流量層析介質、丁基西法羅斯4快速流量層析介質、辛基西法羅斯4快速流量層析介質、東洋珍珠醚-650M層析介質、巨型-製備甲基HIC介質、或巨型-製備第三丁基HIC介質。超濾/滲濾也可用於緩衝液交換。

於代表性純化方法中，進行多個步驟，包括離心細胞去除步驟、蛋白質A親和捕捉步驟，接著為一個或兩個正交層析拋光步驟、病毒過濾步驟及切線流量過濾步驟用於濃縮及調配。純化程序較佳可獲得含少於5%聚積體、低於20 ppm蛋白質A、低於50 ppm宿主細胞蛋白質及大於50%之總回收率。

典型抗5T4/卡利黴素製劑主要(~95%)含有軛合抗體，

含5-7莫耳卡利黴素/莫耳抗體。軛合物係以實驗室規模(10-200毫克)可再現性製備。以微克卡利黴素/毫克單株抗體表現的藥物載荷量係由卡利黴素濃度(微克/毫升)除以抗體濃度(毫克/毫升)測定。此等數值係經由測量於280奈米及310奈米之軛合物溶液之紫外光吸光比測定。重要地須注意平均載荷量以及實際載荷量為仿高斯分布，取中於平均載荷值，亦即若干抗體之載荷量大於平均，若干抗體之載荷量低於平均。可使用分析HIC-HPLC(疏水交互作用高效液相層析術)測定之未經軛合之抗體(低軛合分量)為極少或不含軛合卡利黴素之抗體族群。本數值為抗體上卡利黴素分布之測量值，通常不影響卡利黴素劑量。可使用ELISA測定之未經軛合的卡利黴素係指未與抗體軛合之卡利黴素量，且以占卡利黴素總量之百分比表示。藥物載荷檢定分析無法區別未經軛合之卡利黴素及軛合之卡利黴素。當使用藥物載荷檢定分析時，無法檢測未經軛合之卡利黴素量，或該量為可忽略，因此此等檢定分析可有效測定軛合之卡利黴素量。

分析方法可用來檢定分析人化抗5T4卡利黴素軛合物之釋放及安定性測試。軛合物可評估身分(IEF)、強度(總蛋白及總卡利黴素載荷量)、純度(未經軛合之卡利黴素、低度軛合抗體、聚積體含量及SDS-PAGE減少)、及免疫親和力(抗原結合ELISA)。可使用熟諳技藝人士已知之額外檢定分析。使用此等檢定分析可於商業製造上維持各批次的一致性。

III.D. 抗體/藥物軛合物之藥力學

5T4靶定免疫軛合物之藥力學可於各種動物評估，且與未經軛合之卡利黴素藥力學作比較。例如可於雌裸鼠、雄史伯革拉利(Sprague-Dawley)大鼠及雌馬來猴以單次大劑量靜脈注射進行。抗5T4抗體之藥力學通常於各種屬具有低清除率、低分布量、及長期顯著終端半生期為特徵。未經軛合之卡利黴素衍生物之血清濃度預期係低於量化極限。此等軛合物於單劑毒性範圍研究之毒性側寫預期係類似其它抗體/卡利黴素軛合物使用可相媲美之劑量時所得之毒性。

IV. 抗5T4抗體及抗體/藥物軛合物之特徵化功能檢定分析

本發明進一步揭示於試管內及於活體內檢定分析來決定抗5T4抗體之活性包括5T4結合活性、結合至存在於細胞表面上的5T4後之細胞內化，以及於個體靶定於5T4表現細胞等各項特徵。當軛合至胞毒素時，本發明所揭示之抗體可提引出抗癌活性，包括抑制5T4表現癌細胞的生長及/或於5T4表現細胞誘導細胞死亡。本發明之抗5T4抗體包含前述一種或多種活性。

抗5T4抗體與5T4抗原結合之檢測技術所技藝界所已知，例如包括拜爾可(BIACORE)檢定分析，說明於實例2。額外代表性技術包括離心、親和層析術及其它免疫化學法。例如參考Manson (1992)免疫化學方案，Humana出版社，紐澤西州托托瓦，美國；Ishikawa (1999)超敏感及快速酶免疫檢定分析，阿姆斯特丹Elsevier/紐約。抗原結合檢定

分析可使用經分離之5T4抗原或5T4表現細胞進行。參考實例2。

5 抗5T4抗體之結合特異性進一步係藉結合抗原決定基之定義作說明，亦即殘基之識別作說明，包括參與抗原結合之非相鄰殘基及/或影響抗原結合之殘基之定義。參考實例4-5。

10 抗5T4抗體及抗體/藥物軛合物由5T4表現細胞之內化，可藉觀察隨著時間的經過，結合至5T4表現細胞表面之抗體量或軛合物量來檢定分析。評估抗體之膜局限化及抗體/藥物軛合物之代表性技術說明於實例3。

15 功能檢定分析也包括評估抗體/藥物軛合物之抗癌活性，例如摧毀既有的癌細胞之能力，或延遲或防止癌細胞的生長。由本發明之抗體/藥物軛合物所靶定之癌症包括個體體內任何組織之原發性及轉移性腫瘤及癌瘤，包括癌瘤及造血系統惡性病，諸如白血病及淋巴瘤。

具有生長抑制活性之抗5T4抗體可去除5T4表現細胞，或防止或減少5T4表現細胞的增生。於試管內快速評估細胞生長抑制之代表性方法係說明於Jones等人(2001)免疫方法期刊254:85-98。

20 抗5T4抗體也包含誘導細胞死亡之能力，例如以細胞核DNA分解、細胞核退化及濃縮、喪失細胞膜完好及細胞吞噬作用為特徵之規劃性細胞死亡。評估細胞之代表性檢定分析係說明於Hoves等人(2003)方法31:127-34; Peng等人(2002) Clin. Med. Sci. J. 17:17-21; Yasuhara等人(2003) J.

Histochem. Cytochem. 51:873-885。

例如，為於試管內評估抗5T4抗體/卡利黴素軛合物之胞毒性，MDAMB435/5T4細胞(過度表現人5T4抗原之人乳癌細胞)及MDAMB435/neo細胞(對照細胞)係於抗體-卡利黴素軛合物存在下或自由態卡利黴素存在下培養，大致上如Boghaert等人(2004) Clin. Cancer Res., 10:4538-4549所述。各個藥劑之胞毒性係以ED50 (奈克/毫升)報告，其為卡利黴素以軛合物形式或自由態藥物，相對於未經處理的對照組造成細胞培養減少50%之卡利黴素數量。培養中之細胞數目係使用細胞暴露後之維生染料(MTS)測定。也參考實例6。

抗體/卡利黴素軛合物之胞毒性也使用MDAMB 435/5T4細胞及MDAMB 435/neo細胞以適合球體生長之方式評估。細胞係於抗體/卡利黴素軛合物或自由態卡利黴素存在下培養。於藥物暴露後，測定各個球體之尺寸。各藥劑抑制球體生長之功效係以ED50(奈克/毫升)報告，亦即卡利黴素數量係以軛合物或自由態藥物造成相對於未經處理的對照組，可導致球體生長獲得50%抑制之卡利黴素數量表示。參考實例6。

為了評估於活體內之抗5T4抗體/卡利黴素軛合物之胞毒性。藉皮下注射MDAMB 435/5T4細胞(過度表現人5T4抗原之人乳癌細胞)、NCI-H157細胞(人非小細胞肺癌細胞)、PC14PE6細胞(人非小細胞肺癌細胞)、或N87細胞(人胃癌細胞)來製備腫瘤。抗體/卡利黴素軛合物及對照化合物係以4

日間隔例如第1、5及9日共三劑腹內注射投予載有腫瘤的小鼠。可測量之治療結果包括對腫瘤細胞生長之抑制。

為了進一步評估抗5T4抗體/卡利黴素軛合物之靶定能力，使用非小細胞肺癌及小細胞肺癌之原位模型，大致上係如Onn等人(2003)臨床癌症研究9(15):5532-5539所述。簡言之，人肺腺癌(PC14PE6)細胞注入裸鼠尾靜脈，然後遷移而於肺臟形成腫瘤。腫瘤呈現實心結節出現於肺實質，造成含有懸浮腫瘤細胞之出血性胸膜滲出液。對照化合物及抗體/卡利黴素軛合物投予載有腫瘤的小鼠，例如於注射腫瘤細胞後6日開始以每4日間隔例如第6、10及14日共三劑，腹內注射。可測量之治療效果包括胸膜滲出液的減少及存活率的增高。

V. 抗5T4抗體及抗體/藥物軛合物之用途

本發明之抗5T4抗體及抗體/藥物軛合物可於試管內及活體內用於5T4表現細胞相關之用途。可表現5T4之癌症包括鱗狀細胞肺癌/腺瘤肺癌(非小細胞肺癌)、侵入性乳癌、結腸直腸癌、胃癌、鱗狀細胞子宮頸癌、侵入性子宮內膜腺癌、侵入性胰癌、卵巢癌、鱗狀細胞膀胱癌、及絨毛膜癌。5T4可以高濃度於支氣管、乳房、結腸、直腸、胃、子宮頸、子宮內膜、胰、卵巢、絨毛膜及貯精囊之癌瘤檢測得。

V.A. 試管內應用

本發明提供試管內之抗5T4抗體之用法。例如所揭示之抗體可單獨或組合細胞毒劑或其它藥物用來與5T4陽性癌

細胞特異性結合來由細胞樣本中清除此等細胞。也提供透過5T4表現細胞與包含抗5T4抗體軛合至胞毒素之抗體/藥物軛合物，誘導細胞凋亡及/或抑制細胞增生之方法。代表性之試管內方法係於前文說明於「抗5T4抗體及抗體/藥物軛合物之特徵化之功能檢定分析」。

本發明之抗5T4抗體也可用於基於其特異性結合5T4抗原的能力來於試管內檢測5T4陽性細胞。檢測可表現5T4細胞之方法包含：(a)準備包含該細胞之生物樣本；(b)抗5T4抗體與生物樣本於試管內接觸；以及(c)檢測抗5T4抗體之結合。為了輔助檢測，抗體可與標籤軛合。

V.B. 活體內檢測及診斷

本發明之抗5T4抗體可用於活體內檢測方法，例如用於診斷，提供工作內輔助及/或劑量測定。於經標記之抗5T4抗體投予個體後，且經過充分結合之時間後，可目測觀察由抗體所結合之可表現5T4之細胞之生物分布。所揭示之診斷方法可與治療方法組合使用。此外，本發明之抗5T4抗體可投藥供檢測與治療之雙重用途。

代表性之非侵襲性檢測方法包括閃爍攝影術[例如SPECT(單光子發射電腦斷層掃描術)、PET(正子發射斷層掃描術)、 γ 攝影成像、及直線掃描]、磁振造影[例如習常磁振造影、磁化轉移造影(MTI)、質子磁振光譜術(MRS)、擴散加權造影(DWI)、及功能MR造影(fMRI)]及超音波。

V.C. 治療應用

本發明進一步係有關可用於個體誘生5T4表現性癌細

胞之細胞分解之方法及組成物。本發明之抗5T4抗體/藥物
軛合物可用於抑制癌細胞及非腫瘤增生病症細胞諸如過度
增生、化生或最特別發育異常之細胞之生長抑制作用(有關
異常生長病症之綜論，參考DeVita, Jr.等人(2001)，癌症：
5 原理及實務，第6版，Lippincott Williams & Wilkins)。

適合使用抗5T4抗體/藥物軛合物靶定之癌症包括下列
部位之可表現5T4之原發性腫瘤及轉移腫瘤：乳房、結腸、
直腸、肺、口咽、下咽、食道、胃、胰、肝、膽囊、膽管、
小腸、泌尿系統包括腎、膀胱及尿路上皮、女性生殖道、
10 子宮頸、子宮、卵巢、男性生殖道、攝護腺、貯精囊、睪
丸、內分泌腺、甲狀腺、腎上腺、攝護腺、皮膚、骨骼、
軟組織、血管、腦、神經、眼球、腦膜。其它相關癌症為
可表現5T4之血癌及淋巴瘤(例如何杰金氏淋巴瘤及非何杰
金氏淋巴瘤)，包括無痛性、激烈性、低階、中階、或高階
15 白血病或淋巴瘤。

特別，已知5T4表現於鱗狀細胞肺癌/腺瘤肺癌(非小細
胞肺癌)、侵入性乳癌、結腸直腸癌、胃癌、鱗狀細胞子宮
頸癌、侵入性子宮內膜腺癌、侵入性胰癌、卵巢癌、鱗狀
細胞膀胱癌、及絨毛膜癌之細胞。5T4可以高濃度於支氣
20 管、乳房、結腸、直腸、胃、子宮頸、子宮內膜、胰、卵
巢、絨毛膜及貯精囊之癌瘤檢測得。5T4抗原之細胞表面分
布可為均質或非均質。於結腸直腸癌、胃癌、及卵巢癌中，
5T4之表現係與疾病的進行有直接關聯。於乳癌中，觀察到
轉移結節之5T4染色強度增高，但5T4之表現非與疾病階段

有交互關聯性。癌症也可表現路易士Y碳水化合物抗原，該等癌症包括乳癌、結腸癌、胃癌、食道癌、胰癌、十二指腸癌、肺癌、膀胱癌及腎癌及胃癌及胰島神經內分泌腫瘤。參考美國專利案6,310,185。

5 如此使用本發明之抗5T4/藥物軛合物治療之病人可基於生物標記之表現來選擇，包括但非限於5T4抗原表現的升高，結果獲得對標靶表現豐富而非腫瘤來源或組織學所選用之病人族群。標靶表現可以染色細胞數目加上染色細胞強度之函數來測定。例如5T4高度表現分類包括藉免疫組織化學染色試驗有大於30% (亦即40%、50%、或60%)細胞具有5T4染色陽性程度為3+(以1至4評分)之該等病人，而5T4之中等表現包括有大於20%細胞染色為1+至2+之該等病人。

10

 5T4抗原表現以外之生物標記也可用於病人的選擇，例如包括基於多重藥物抗藥性(MDR)來將腫瘤特徵化。接近15 50%人類癌症對化學治療完全有抗藥性，或只有暫時有效，隨後則無法再藉常用抗癌藥物發揮功效。此種現象稱作為MDR，由某些腫瘤類型所表現，而其它腫瘤類型則可能於暴露於化學治療處理後獲得MDR。藥物送出幫浦P-糖蛋白媒介大部分與胞毒性化學治療相關聯之MDR。存在於20 癌症病人腫瘤檢體上之MDR機轉之表現型分析和功能分析可用來將特定MDR機轉與對特定腫瘤類型之化學治療之抗藥性相關聯。

 癌症生長或異常增生係指提示細胞內部對較為發展之

癌症形式或疾病狀態產生變化之多種指標中之任一者。癌細胞或非腫瘤增生病症細胞之生長抑制作用可藉技藝界已知之方法檢定分析，諸如延遲腫瘤的生長及腫瘤轉移的抑制。其它測量癌症生長的指標包括癌症細胞存活率的降低、腫瘤體積或腫瘤形態的縮小(例如使用電腦斷層(CT)、超音波攝影或其它成像方法來測定)、腫瘤血管床的摧毀、延遲型過敏皮膚試驗效能的改善、細胞分解作用T-淋巴細胞活性的增高、及腫瘤特異性抗原濃度的降低。

雖然不欲受任何單一操作模型所限，但抗原導引的靶定以及抗5T4抗體/藥物軛合物的被動靶定可促成抗腫瘤功效。抗原導引的靶定係指比較對照組織(亦即懷疑實質上缺乏5T4表現細胞的組織以及所投予的抗5T4/藥物軛合物結合及/或堆積的組織)，胜肽或胜肽類似物偏好移動及/或堆積於標靶組織(亦即可表現5T4之細胞之組織及/或抗5T4/藥物軛合物預期堆積部位)。抗體/藥物軛合物偏好侷限於該處，通常導致標靶組織中之抗體/藥物軛合物之含量約為對照組織中之抗體/藥物軛合物之含量的兩倍，讓該量約為5倍或5倍以上或約10倍或10倍以上。

被動靶定通常係指由於血管床的局部變化而讓抗體或抗體/藥物軛合物隱匿鉗合於腫瘤部位。舉例言之，抗5T4/藥物軛合物可能留下血管床與腫瘤部位(由於VEGF產量的增高而呈現網格狀)，結合至5T4表現細胞，且觸發抗5T4/藥物軛合物之內化。腫瘤的靜脈引流和淋巴引流的不良，結果也導致未經結合之抗5T4/藥物軛合物的鉗合。抗體以

酸不穩定性鍵聯基而軛合至藥物，可能釋放出藥物，隨後擴散入腫瘤細胞。被動靶定之抗腫瘤效果不持久，也不如抗原導引的靶定所誘導的抗腫瘤功效強，但被動靶定的抗腫瘤功效可促進整體功效。

5 V.D. 調配物

本發明之抗5T4抗體及抗5T4/藥物軛合物方便製備且調配供安全有效之臨床使用。適當投予個體之調配物包括水性及非水性無菌注射溶液劑，其含有抗氧化劑、緩衝劑、致菌劑、抗菌劑及抗真菌劑(例如對羥基苯甲酸酯類、氯丁醇、酚、抗壞血酸及硫柳汞)、讓調配物與預期接受者的體液調節成等張性之溶質(例如糖、鹽及多元醇)、懸浮劑及增稠劑。適當溶劑包括水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇及液體聚乙二醇)及其混合物。調配物可包裝於單劑容器或多劑容器，例如包裝於密封安瓿和小瓶，可於冷凍條件或冷凍乾燥(凍乾)條件下儲存，只需恰於投予個體前加入無菌液體載劑，或隨後使用適合期望應用用途之同位素加上放射性標記。本發明之抗5T4抗體及抗體/藥物軛合物較佳調配成有效劑量，說明如後。

舉個實例，代表性之抗5T4抗體或抗5T4/藥物軛合物調配物包含40毫克/毫升抗體或抗體/藥物軛合物，25 mM乙酸鹽、150 mM海藻糖、0.9%苯醇、0.02%波麗索貝(polysorbate)於pH 5.0之多劑調配物，該調配物有於2°C-8°C之儲存壽命至少為2年。舉另一個實例，抗5T4抗體或抗5T4/藥物軛合物調配物可包含10毫克/毫升抗體或抗體/藥物軛合物於

9.0毫克/毫升氯化鈉、7.35毫克/毫升檸檬酸鈉二水合物、0.7毫克/毫升波麗索貝80及無菌水pH 6.5。投予實驗小鼠模型之抗5T4/卡利黴素軛合物之代表性調配物包括2微克或4微克卡利黴素(參考實例3、4及7)，可據此計量來投予人體。

5 抗5T4抗體或抗5T4/藥物軛合物之適當凍乾調配物之製法係經由：(a)將抗體/藥物軛合物溶解於溶液至終濃度為0.5至2毫克/毫升，該溶液包含低溫保護劑之濃度為1.5%-5%重量比、聚合物膨脹劑之濃度為1.5%-5%重量比、電解質之濃度為0.01M至0.1M、溶解度輔助劑之濃度為10 0.005%至0.05%重量比、緩衝劑之濃度為5-50 mM，故溶液之最終pH為7.8-8.2及水；(b)於+5°C至+10°C之溫度將前述溶液配送入小瓶內；(c)於-35°C至-50°C之冷凍溫度冷凍溶液；(d)於20至80微米之一次乾燥壓力下於-10°C至-40°C之儲存溫度將經過冷凍的溶液接受初步冷凍步驟經歷24小時15 至78小時時間；以及(e)於乾燥壓力20至80微米，於儲存溫度+10°C至+35°C，將步驟(d)之凍乾產物接受二次乾燥步驟經歷15小時至35小時時間。

可用於低溫保護劑凍乾用之低溫保護劑包括：醛糖醇、甘露糖醇、山梨糖醇、肌糖醇、聚乙二醇、醛糖酸、20 糖醛酸、醛糖二酸、醛糖類、酮糖類、胺基糖類、醛糖醇類、肌糖醇類、甘油醛類、阿拉伯糖、來蘇糖、戊糖、核糖、木糖、半乳糖、葡萄糖、己糖、艾杜糖、塔羅糖、庚糖、葡萄糖、果糖、葡萄糖醛酸、山梨糖醇、乳糖、甘露糖醇、甲基 α -葡萄糖呷喃糖苷、麥芽糖、異抗壞血酸、抗

壞血酸、內酯、山梨糖、葡萄糖二酸、赤藻糖、異赤藻糖、阿拉伯糖、阿洛糖、阿卓糖、古洛糖、艾杜糖、塔羅糖、赤藻酮糖、核酮糖、木酮糖、阿洛酮糖、塔格糖、葡萄糖醛酸、葡萄糖酸、葡萄糖二酸、半乳糖醛酸、甘露糖醛酸、
 5 葡萄糖胺、半乳糖胺、蔗糖、海藻糖、神經胺酸、阿拉伯聚糖類、果聚糖類、岩藻聚糖類、半乳聚糖類、半乳糖醛酸甘聚糖類、葡萄聚糖類、甘露聚糖類、木聚糖類、果聚糖、岩藻多糖、鹿角菜膠、半乳糖、胡蘿蔔糖、果膠類、果膠酸類、戊糖、葡萄三聚糖、肝糖、戊糖果膠、纖維素、
 10 右旋聚糖、石耳糖、幾丁質、瓊脂、角質、軟骨素、皮膚素、玻尿酸、褐藻酸、黃膠、澱粉、蔗糖、葡萄糖、乳糖、海藻糖、乙二醇、聚乙二醇、聚丙二醇、甘油及季戊四醇。

例如防凍劑蔗糖之使用濃度為1.5%重量比，聚合物膨脹劑右旋聚糖40或羥乙基澱粉40之使用濃度為0.9%重量比，凍乾溶液所使用之電解質為氯化鈉，存在濃度為
 15 0.05M，緩衝劑左美沙明(tromethamine)之使用濃度為0.02M。溶解度輔助劑(例如界面活性劑諸如波麗索貝(Polysorbate) 80)也可於凍乾過程中使用。通常此種溶解促進劑為界面活性劑。代表性之凍乾調配物之製備步驟包括
 20 將小瓶於-45°C之溫度冷凍；凍乾溶液於初步乾燥壓力60微米及儲存溫度-30°C接受初步凍乾60小時；凍乾產物於60微米乾燥壓力於+25°C儲存溫度接受二次乾燥步驟24小時。

抗5T4抗體及抗體/藥物軛合物調配於藥學上可接受之載劑，例如大型緩衝代謝的巨分子，諸如蛋白質類、多胜

肽類、微脂粒類、多醣類、聚乳酸類、聚乙醇酸類、聚合物胺基酸類、胺基酸共聚物類及無活性病毒顆粒。也可使用藥學上可接受之鹽例如無機酸鹽諸如氫氯酸鹽、氫溴酸鹽、磷酸鹽及硫酸鹽或有機酸鹽諸如乙酸鹽、丙酸鹽、丙二酸鹽、及苯甲酸鹽。調配物可額外含有液體諸如水、食鹽水、甘油及乙醇及/或輔助物質諸如濕潤劑或乳化劑或pH緩衝物質可存在於此等組成物。此種載劑允許組成物調配為錠劑、丸劑、糖衣錠、膠囊劑、液劑、凝膠劑、糖漿劑、漿液劑、及懸浮液劑供由病人攝食使用。

10 V.E. 劑量與投藥

本發明之抗5T4抗體及抗5T4/藥物軛合物可經腸道外投藥，例如透過血管內、皮下、腹內或肌肉投藥。供組成物輸送至肺臟路徑，組成物可呈噴霧劑或粗噴霧劑投藥，亦即經鼻投藥。經鞘內、髓質內或腦室內投藥可用於治療中樞神經系統(CNS)癌症及CNS相關的癌症。抗5T4抗體及抗5T4/藥物軛合物也可經皮、穿皮、局部、腸道內、陰道內、舌下或經直腸投藥。臨床上例行使用靜脈投藥。藥物輸送方法係基於諸如欲治療的病情及部位、抗體形成之類型、組成物之治療效果等考量選用。

20 本發明提供將有效量之抗5T4抗體及抗5T4/藥物軛合物投予個體，亦即投予足夠提引出期望的生物反應之抗5T4抗體及抗5T4/藥物軛合物用量。例如當投予患癌症的個體時，有效量包含足夠提引出抗癌活性之量，抗癌活性包括癌細胞的細胞崩解、癌細胞增生的抑制、癌細胞凋亡的誘

導、癌細胞抗原的減少、延遲腫瘤生長及/或抑制腫瘤轉移。腫瘤縮小被明確接受為臨床功效的標記。另一種為眾人所接受的功效標記為疾病無進行之存活率。抗5T4/卡利黴素軛合物通常驗證關鍵功效參數至少改良25%，諸如存活率中間值改良腫瘤進行時間改良，總反應速率改良。

通常有效劑量係於約0.01毫克/平方米至約50毫克/平方米諸如由約0.1毫克/平方米至約20毫克/平方米或約15毫克/平方米之範圍，該劑量係基於抗5T4抗體之用量計算。有效劑量之抗5T4/藥物軛合物也可基於軛合藥物之數量計算。例如投予實驗動物模型之抗5T4/卡利黴素軛合物之代表性劑量包括2微克或4微克卡利黴素，可據此呈比例放大來投予人體。例如本發明之抗5T4/卡利黴素軛合物可以每3週一次高達6週期投予人類病人。用於放射性標記之抗5T4抗體，依據放射性同位素及抗體結合親和力而定，有效劑量典型係於約1 mCi至約300 mCi通常約5 mCi至約100 mCi之範圍。

用於使用所揭示之抗5T4抗體檢測5T4陽性細胞，可檢測量之本發明化合物投予個體，亦即抗5T4抗體之劑量讓抗體存在可於試管內或於活體內測定之劑量。用於使用放射性同位素之閃爍攝影成像，典型放射性同位素之劑量包括約10 μ Ci至約50 mCi或約100 μ Ci至25 mCi，或約500 μ Ci至約20 mCi或約1 mCi至10 mCi，或約10 mCi。

本發明組成物中活性成分之實際劑量含量可改變，因而投予可有效達成期望之診斷結果或治療結果之組成物用

量。投藥計劃也可改變。可採用單次注射或多次注射。選用之劑量及投藥計劃可依據多項因素決定，該等因素包括治療組成物之活性及安定性(亦即半生期)、配方、投藥途徑、與其它藥物或治療的組合、欲檢測及/或欲治療的疾病或病症，以及接受治療個體的身體情況以及先前的醫療病史。

對本發明之抗5T4抗體及抗5T4/藥物軛合物而言，治療有效劑量可於細胞培養檢定分析中或於動物研究模型中諸如齧齒類、兔、犬、豬及/或靈長類研究估計。動物研究模型也可用來判定適當濃度範圍及投藥途徑。然後此項資訊可用來確定於人體之有用劑量與投藥途徑。典型地投予最低劑量，於不存在有劑量限制性胞毒性之情況下可升高使用劑量。有效用量或劑量的決定及調整，以及何時以及如何作此種調整之評估為熟諳藥劑技藝界人士所已知。

供組合治療，抗5T4抗體、抗5T4/藥物軛合物及/或額外治療劑或診斷劑可於適合期望的治療或診斷效能之任何時框內投予。如此，單一作用劑可實質上同時投予(亦即呈單一調配物或於數分鐘或數小時以內投予)，或可以任何順序而接續投予。舉例言之，單一作用劑可於彼此間隔約1年以內投予，諸如約10、8、6、4或2個月以內，或4、3、2或1週以內，或約5、4、3、2或1日以內。

有關配方、劑量、投藥計劃、及可測量之治療結果之額外指南，可參考Berkow等人(2000)默克藥物資訊手冊，默克公司，紐澤西州白屋站；Ebadi (1998) CRC臨床藥理桌

面參考，CRC出版社，佛羅里達州玻卡雷頓；Gennaro (2000) 雷明頓：製藥科學及實務，Lippincott, Williams & Wilkins，賓州，費城；Katzung (2001)基礎與臨床藥理學，藍屈醫療書報公司/麥克羅希爾醫療出版分公司，紐約；Hardman等人(2001) Goodman & Gilman's治療學之藥理基礎，麥克羅希爾公司，俄亥俄州哥倫比亞；Speight & Holford (1997) Avery's藥物治療：藥物用於疾病管理上之性質、選擇、治療用途及經濟價值指南，Lippincott, Williams & Wilkins，賓州，費城。

10 V.F. 組合治療

所揭示之抗5T4抗體及抗5T4/藥物軛合物可呈初次治療投藥，或用於治療對習常使用之療法無反應的病情。此外，抗5T4抗體及抗5T4/藥物軛合物可組合其它治療(例如手術切除、放射性治療、額外抗癌藥物等)來提引出加成性或增強的治療效果，及/或降低若干抗癌藥物的肝毒性。本發明之抗5T4抗體及抗5T4/藥物軛合物可與額外作用劑共同投予或共同調配，或以任一種順序調配用於與額外藥劑接續投藥。

可供組合治療使用之代表性藥劑包括前述任一種可用於製備抗5T4/藥物軛合物之任一種藥物。本發明之抗5T4抗體及抗5T4/藥物軛合物也可組合其它治療性抗體及抗體/藥物軛合物使用，包括此處所揭示之抗5T4抗體以外之抗5T4抗體，以及靶定於不同抗原之抗體及軛合物。可單獨使用或呈抗體/藥物軛合物使用之代表性抗體包括抗-CD19抗

體、抗-CD20抗體(例如魯士山(RITUXAN)、賽凡尼(ZEVALIN)、比薩(BEXXAR))、抗-CD22抗體、抗-CD33抗體(例如米洛塔(MYLOTARG))、抗-CD33抗體/藥物軛合物、抗路威Y抗體(例如Hu3S193、Mthu3S193、AGmthu3S193)、抗-HER-2抗體(例如荷賽丁(HERCEPTIN)左土祖馬(trastuzumab)、MDX-210、歐尼塔(OMNITARG)派土祖馬(pertuzumab)、rhuMAb 2C4))、抗-CD52抗體(例如卡派斯(CAMPATH))、抗-EGFR抗體(例如爾比土(ERBITUX)賽土西馬(cetuximab))、ABX-EGF(潘尼土木馬(panitumumab))、抗-VEGF抗體(例如阿法司丁(AVASTIN)畢法西祖馬(bevacizumab))、抗-DNA/組織蛋白腓複體抗體(例如ch-TNT-1/b)、抗-CEA抗體(例如CEA-Cide、YMB-1003)hLM609、抗-CD47抗體(例如6H9)、抗-VEGFR2(或含激酶插子功能決定部位之受體，KDR)抗體(例如IMC-1C11)、抗Ep-CAM抗體(例如ING-1)、抗-FAP抗體(例如西布土祖馬(sibrotuzumab))、抗-DR4抗體(例如TRAIL-R)、抗-孕酮受體抗體(例如2C5)、抗-CA19.9抗體(例如吉法瑞斯(GIVAREX))及抗纖維蛋白抗體(例如MH-1)。

抗5T4抗體/藥物軛合物也可連同一種或多種胞毒性劑的組合投予作為治療計劃的一部分。可用於此項目的之有用胞毒性製劑包括CHOPP(賽可羅福法米、多索魯比辛、維克司丁、普尼松、及普卡巴辛)；CHOP(賽可羅福法米、多索魯比辛、維克司丁、及普尼松)；COP(賽可羅福法米、維克司丁、普尼松)；CAP-BOP(賽可羅福法米、多索魯比辛、

普卡巴辛、布歐黴素、維克司丁、及普尼松); m-BACOD(胺
 甲喋呤、布歐黴素、多索魯比辛、賽可羅福法米、維克司
 丁、德沙美沙松及路可福林(leucovorin)); ProMACE-MOPP
 (普尼松、胺甲喋呤、多索魯比辛、賽可羅福法米、伊妥普
 賽、路可福林、米可羅薩敏、維克司丁、普尼松及普卡巴
 辛); ProMACE-CytaBOM (普尼松、胺甲喋呤、多索魯比辛、
 賽可羅福法米、伊妥普賽、路可福林、賽塔拉賓、布歐黴
 素、及維克司丁); MACOP-B (胺甲喋呤、多索魯比辛、賽
 可羅福法米、維克司丁、普尼松、布歐黴素、及路可福林);
 MOPP (米可羅薩敏、維克司丁、普尼松及普卡巴辛); ABVD
 (安左黴素/多索魯比辛、布歐黴素、維布拉司丁、及達卡巴
 辛); MOPP (米可羅薩敏、維克司丁、普尼松及普卡巴辛)
 與ABV (安左黴素/多索魯比辛、布歐黴素、維布拉司丁)交
 替; MOPP (米可羅薩敏、維克司丁、普尼松及普卡巴辛)
 與ABVD (安左黴素/多索魯比辛、布歐黴素、維布拉司丁、
 及達卡巴辛)交替; ChIVPP (可羅拉布希、維布拉司丁、普
 卡巴辛、普尼松); IMVP-16 (伊福司法米、胺甲喋呤、伊
 妥普賽); MIME (甲基-gag、伊福司法米、胺甲喋呤、伊妥
 普賽); DHAP (德沙美沙松、高劑量賽塔拉賓及西普拉丁);
 ESHAP (伊妥普賽、甲基普迪松隆(methylpredisolone)、高
 劑量賽塔拉賓及西普拉丁); CEPP(B) (賽可羅福法米、伊妥
 普賽、普卡巴辛、普尼松及布歐黴素); CAMP (羅慕斯丁、
 米妥山左、賽塔拉賓及普尼松); 以及CVP-1 (賽可羅福法
 米、維克司丁、及普尼松); DHAP (西普拉丁、高劑量賽塔

拉賓及德沙美沙松)；CAP (賽可羅福法米、多索魯比辛、西普拉丁)；PV (西普拉丁、維布拉司丁或凡地辛)；CE (卡伯普拉丁、伊妥普賽)；EP (伊妥普賽、西普拉丁)；MVP (米妥黴素、維布拉司丁或凡地辛、西普拉丁)；PFL (西普拉丁、5-氟尿嘧啶、路可福林)；IM (伊福司法米、米妥黴素)；IE (伊福司法米、伊妥普賽)；IP (伊福司法米、西普拉丁)；MIP (米妥黴素、伊福司法米、西普拉丁)；ICE (伊福司法米、卡伯普拉丁、伊妥普賽)；PIE (西普拉丁、伊福司法米、伊妥普賽)；維諾瑞賓及西普拉丁；卡伯普拉丁及太平洋紫杉醇；CAV (賽可羅福法米、多索魯比辛、維克司丁)；CAE (賽可羅福法米、多索魯比辛、伊妥普賽)；CAVE (賽可羅福法米、多索魯比辛、維克司丁、伊妥普賽)；EP (伊妥普賽、西普拉丁)；以及CMC_cV (賽可羅福法米、胺甲喋呤、羅慕斯丁、維克司丁)。

抗5T4抗體及抗5T4/卡利黴素軛合物可與系統性抗癌藥物組合使用，諸如艾皮西隆(epithilones) (BMS-247550、Epo-906)、紫杉類之重新調配物(阿巴山(Abraxane)、賽塔司(Xyotax))、微管素抑制劑(MST-997、TTI-237)、或含有被靶定的胞毒素諸如CMD-193及SGN-15。額外有用的抗癌藥劑包括紫杉萜(TAXOTERE)、塔西法(TARCEVA)、健澤(GEMZAR) (珍西塔賓)、5-FU、阿法斯丁(AVASTIN)、爾比土(ERBITUX)、左法斯(TROVAX)、阿那土莫馬(anatumomab)馬法那妥(mafenatox)、里萃左(letrazole)、朵西塔賽(docetaxel)、及蔥環素類。

供組合治療，抗5T4抗體、抗5T4/藥物軛合物及/或額外治療劑或診斷劑可於適合期望的治療或診斷效能之任何時框內投予。如此，單一作用劑可實質上同時投予(亦即呈單一調配物或於數分鐘或數小時以內投予)，或可以任何順序而接續投予。舉例言之，單一作用劑可於彼此間隔約1年以內投予，諸如約10、8、6、4或2個月以內，或4、3、2或1週以內，或約5、4、3、2或1日以內。抗5T4抗體或抗5T4/卡利黴素軛合物組合第二治療劑投藥較佳可提引出比較單獨投藥更高的效果。

10 實例

含括下列實例供舉例說明本發明之模式。下列實例之若干態樣係就本共同發明人於實施本發明時發現或預期可獲得良好效果之技術及程序來說明。此等實例舉例說明共同發明人之標準實驗室規範。鑑於本文揭示及技藝界之一般技巧程度，熟諳技藝人士瞭解下列實例僅供舉例說明之用，可未悖離本發明之範圍做出多項變化、修改及替代。

實例1

鼠抗5T4抗體

抗5T4抗體係於小鼠使用人5T4抗原及標準免疫接種方法製備。經由個別B細胞與骨髓瘤細胞融合製造出可產生A1、A2及A3抗體之融合瘤細胞系。

A1、A2及A3抗5T4抗體重鏈可變區及輕鏈可變區係使用史馬特(SMART) cDNA合成系統(可隆科技實驗公司(Clontech Laboratories Inc.)加州山景市)轉殖，接著進行

PCR擴大。cDNA係由單離之A1、A2或A3融合瘤細胞之1微克全RNA合成，使用oligo (dT)及史馬特IIA oligo (可隆科技實驗公司)以動力版本(POWERSCRIPT)反錄酶(可隆科技實驗公司)進行。然後cDNA使用引子藉PCR擴大，該引子可煉合至史馬特IIA oligo序列及小鼠恆定區特異性引子(輕鏈之小鼠 κ ，A1重鏈之小鼠IgG2a，A2重鏈之小鼠IgG2b及A3重鏈之小鼠IgG1)，使用凡特(VENT)聚合酶(新英格蘭生物實驗室公司(New England Biolabs Inc.)麻省Ipswich)進行。重鏈可變區及輕鏈可變區PCR產物次轉殖入pED6表現載體，測定核酸序列。本方法之優點在於無需先前知曉DNA序列。此外所得DNA序列不會經由使用簡併性PCR引子而變更。

A1、A2及A3重鏈可變區之核苷酸序列分別列舉為SEQ ID NO: 1之核苷酸58-414，SEQ ID NO: 5之核苷酸55-405，及SEQ ID NO: 9之核苷酸58-423。A1、A2及A3重鏈可變區之胺基酸序列分別列舉為SEQ ID NO: 2之殘基20-138，SEQ ID NO: 6之殘基19-135，及SEQ ID NO: 10之殘基20-141。A1、A2及A3輕鏈可變區之核苷酸序列分別列舉為SEQ ID NO: 3之核苷酸61-381，SEQ ID NO: 7之核苷酸67-390，及SEQ ID NO: 11之核苷酸61-381。A1、A2及A3輕鏈可變區之胺基酸序列分別列舉為SEQ ID NO: 4之殘基21-127，SEQ ID NO: 8之殘基23-130，及SEQ ID NO: 12之殘基21-127。也參考第1A-1C圖。

為了評估A1、A2及A3抗5T4可變區序列之新穎性，使

用預期值=10、字元大小=3、低複雜度濾波及BLOSUM62矩陣之內設參數來進行BLASTp研究(研究蛋白質之查詢序列)，允許間隙成本存在=11及延長=1。使用預期值=10、字元大小=11、及低複雜度濾波之內設參數進行BLASTn研究(研究核苷酸查詢序列)。BLAST研究結果係以與查詢序列相關的序列表報告，以E值排序，E值為於資料庫中所識別之匹配統計意義的指標。與用於BLAST分析之可變區序列最密切相關的序列識別於表1(BLASTn)及表2(BLASTp)。

表 1

BLASTn 分析

查詢序列	最接近主旨序列之相似度(%)	最接近主旨序列之說明
A1 VH (SEQ ID NO:1)	97%	gi 31322165 gb AY169686.1 小鼠純株VGBC1.13 免疫球蛋白重鏈可變區前驅物，基因，部分cds
A1 VL (SEQ ID NO:3)	96%	gi 804922 dbj D50385.1 MUSIKCVRJ小鼠免疫球蛋白κ鏈可變區之mRNA，部分序列，細胞系:K3F10
A2 VH (SEQ ID NO:5)	97%	gi 11612012 gb AF303853.1 AF303853 小鼠純株J558.22免疫球蛋白重鏈可變區mRNA，部分cds
A2 VL (SEQ ID NO:7)	97%	gi 1556423 emb X79906.1 MMMABMST2小鼠單株抗體MST2輕鏈之mRNA
A3 VH (SEQ ID NO:9)	99%	gi 3420272 gb AF064445.1 AF064445 小鼠免疫球蛋白重鏈可變區(Vh10.2)基因，Vh10.2a對偶基因，部分cds
A3 VL (SEQ ID NO:11)	98%	gi 2906107 gb AF045512.1 AF045512 小鼠9E10單株抗體κ輕鏈可變區，(IgK) mRNA，部分cds

表 2
BLASTp 分析

查詢序列	最接近主旨序列之相似度(%)	最接近主旨序列之說明
A1 VH (SEQ ID NO:2)	84%	gi 15865327 emb CAC82228.1 免疫球蛋白重鏈[小鼠]
A1 VL (SEQ ID NO:4)	93%	gi 644862 gb AAA62143.1 抗- α 4接合素免疫球蛋白 κ 鏈V區
A2 VH (SEQ ID NO:6)	85%	gi 15149453 gb AAK85298.1 單鏈抗體 HFN7.1[合成構築體]
A2 VL (SEQ ID NO:8)	95%	gi 297678 emb CAA80086.1 免疫球蛋白可變區[家小鼠]
A3 VH (SEQ ID NO:10)	90%	gi 2906050 gb AAC04511.1 抗-poly(dC)單株抗體重鏈[小鼠]
A3 VL (SEQ ID NO:12)	97%	gi 2906108 gb AAC04540.1 單株抗體 κ 輕鏈[小鼠]

實例 2

5 鼠抗 5T4 抗體之結合特異性及親和力

為了評估 A1、A2 及 A3 抗體之結合特異性及親和力，使用制動於 CM5 晶片上之人 5T4 抗原進行拜爾可 (BIACORE) 分析。拜爾可技術係利用抗體與制動於該層上之 5T4 抗原結合時，表層的折射率變化。結合係藉由表面所折射之雷射光之表面質粒基因體共振 (SPR) 來檢測。信號動力學開速率及關速率的分析，允許區別非特異性及特異性交互作用。H8 抗 5T4 抗體用作為對照組。H8 為 PCT 國際公告案 WO 98/55607 及 Forsberg 等人 (1997) J. Biol. Chem. 272(19): 124430-12436 所述之融合瘤所產生之單株小鼠 IgG1 抗體。

表3
拜爾可檢定分析結果

抗體	KD(M)	KA(1/M)	kd(1/s)	ka(1/Ms)
H8	4.1×10^{-10}	2.5×10^9	5.1×10^{-5}	1.3×10^5
A1	6.4×10^{-10}	1.6×10^9	1.3×10^{-4}	2.0×10^5
A2	1.5×10^{-8}	6.5×10^7	8.7×10^{-4}	5.6×10^4
A3	2.2×10^{-9}	4.6×10^8	5.2×10^{-5}	2.4×10^4

拜爾可結果顯示H8及A1抗體比較A2及A3抗體具有對5T4之高度親和力。A2為相對低親和力抗體。不常見之半胱胺酸存在於A1重鏈可變區之殘基67及A3重鏈可變區之殘基91。以苯基丙胺酸(A1)或酪胺酸(A3)來置換此等殘基，不會改變抗體的結合性質或表現程度。

H8、A1、A2及A3抗體之結合親和力也可使用CT26/5T4細胞溶解產物以西方墨點分析來檢定，可識別出被H8、A1及A3強力結合。參考第2圖。

H8、A1、A2及A3抗體與可表現5T4抗原之細胞的結合能力係使用PC14PE6細胞之螢光活化細胞分選(FACS)檢定分析。全部抗體皆顯示與5T4表現PC14PE6細胞的特異性結合，但A2結合程度顯著低於H8、A1及A3之結合程度。參考表4。

表4
FACS分析結果

抗體	平均細胞螢光
對照(二次抗體)	4
對照(鼠IgG)	4
H8	24
A1	18
A2	7
A3	27

5 為了評估抗體製造可能的變化，測試A1及H8的兩個獨立製劑。各抗體之結合性質及動力學性質於各製劑比較並無顯著差異。參考第3A-3B圖。

實例3

藉5T4表現細胞之鼠抗5T4抗體之內化

10 為了評估抗體與5T4抗原結合時的內化情況，檢測細胞表面之H8及A1抗體量相對於上清液中之H8及A1抗體量，且以時間之函數測定。未經酶解離的MDAMB435/5T4細胞(人乳癌細胞)於4°C暴露於抗5T4抗體1小時。細胞係於37°C介質中洗滌及培養4小時或24小時。與細胞膜結合的抗體量相對於未結合的抗體(亦即存在於上清液中的抗體)量係使用FACS測定。5T4抗體由MDAMB435/5T4細胞表面消失證
15 實於細胞表面之5T4抗原/抗體複體之調節，指示內化及/或解離。參考第4A-4C圖。

實例4

使用5T4嵌合體之抗原決定部位的映射拼圖

為了識別A1、A2、A3及H8抗體各自所結合的抗原決定部位，使用下列進行ELISA檢定分析：(1)帶有經過刪失序列或突變序列之5T4外功能部位Fc構築體，及(2)於COS-1細胞中一過性表現之5T4嵌合體構築體。外功能部位包括胺基端區、兩個白胺酸豐富重複本，及介於中間之親水區。含有得自人IgG1之5T4外功能部位及Fc構築體之融合蛋白質係使用小鼠5T4(胺基酸1-361)、鼠5T4(胺基酸1-361)、馬來猴5T4(胺基酸1-355)、黑猩猩(胺基酸1-355)及黑尾狒狒(胺基酸1-355)製備。5T4嵌合體構築體顯示於第5圖。結合結果摘述於表5，指出由H8、A1、A2及A3抗體各自之特異性結合、部分結合或缺乏結合。人化H8抗體及嵌合體A1、A2及A3抗體分別顯示類似於鼠H8、A1、A2及A3之結合性質。

基於此等結果，判定人化H8抗體結合至殘基173與252間的人5T4。人化H8結合至於殘基344有或無N-鍵聯糖苷化之5T4，證實人化H8結合至人5T4並非於膜近端。A1抗體具有與殘基173至252間的人5T4之第一接點，以及由與殘基282至361間之人5T4間的第二接點。A2抗體結合殘基282與361間的人5T4。A3抗體結合殘基83至163間的人5T4之第一富含白胺酸重複區。由各個抗體所結合之抗原決定部位顯示於第7圖。

表5
使用5T4外功能部位Fc融合體及人/鼠5T4嵌合體之
抗原決定部位映射結果

5T4抗原構築體	抗體			
	H8	A1	A2	A3
人5T4外功能部位Fc	+	+	+	+
鼠5T4外功能部位Fc	-	-	-	-
大鼠5T4外功能部位Fc	-	+/-	-	-
馬來猴5T4外功能部位Fc	-	+	+	+
黑猩猩5T4外功能部位Fc	+	+	+	+
黑尾狒狒5T4外功能部位Fc	+/-	+	+	-
人/小鼠83-163	+	+	+	-
人/小鼠173-361	-	-	-	+
人/小鼠173-258	-	+/-	+	+
人/小鼠282-361(有或無於位置344之N-鍵聯)	+	+/-	-	+

(+)結合；(-)未結合；(+/-)部分結合

5

基於對得自人及馬來猴之5T4外功能部位觀察得之不同結合，進行靶定突變來區別參與抗體結合之殘基。人化H8抗體之結合係對下表6所指示之各個突變5T4外功能部位作檢定分析，換言之，於指示部位包括得自馬來猴殘基之人5T4外功能部位。此等結果顯示對人化H8所結合之抗原決定部位要求人5T4抗原之殘基213及214。

10

表6

使用具有靶定突變之人5T4外功能部位/Fc融合體之
抗原決定部位映射結果

突變	人化H8結合
E189K	+
V200K	+
L204V	+
R213H	+/-
R213H及R214L	-

(+)結合；(-)未結合；(+/-)部分結合

5

除了直接結合檢定分析之外，使用生物素化人化H8抗體及A1、A2或A3抗體各自進行競爭結合檢定分析。未觀察得與人5T4之結合受抑制，指示A1、A2及A3各自結合5T4抗原決定部位係與由H8抗體所結合的抗原決定部位不同。

10 參考第6A-6B圖。

實例5

使用拜爾可之抗原決定部位之映射

也使用拜爾可，使用帶有結合的人5T4抗原之CM5晶片進行H8、A1、A2及A3抗體之抗原決定部位的映射。晶片
15 也以H8、A1、A2或A3抗體飽和，測定第一反應。然後晶片以得自H8、A1、A2及A3抗體之第二抗體飽和，測定第二反應。用於多重實驗，經由結合抗體於10 mM甘胺酸、pH 1.5中解離，接著以緩衝液洗滌可再生晶片。結果摘述於下表7。所示百分比為第二抗體直接結合至CM5晶片時測量

得之反應單位除以第二抗體結合至以第一抗體飽和之CM5晶片時測量得之反應單位。結果顯示H8、A1、A2及A3各自結合於人5T4上的獨特抗原決定部位。由H8抗體及A3抗體所結合的抗原決定部位彼此就立體上接近，故當於A3存在之下檢定分析H8之結合時，於抗原之結合速率降低，反之亦然。使用嵌合體及人化H8、A1、A2及A3抗體獲得類似結果，分別係如下文實例7所述製備。參考表8。

表7

使用拜爾可之競爭檢定分析結果--於以第一抗體飽和後第二抗體之反應百分比

第二抗體	第一抗體			
	H8	A1	A2	A3
H8	-----	114%	102%	85%
A1	109%	-----	109%	98%
A2	99%	98%	-----	94%
A3	73%	104%	106%	-----

表 8

使用拜爾可之競爭檢定分析結果--於以第一抗體結合的
第二抗體百分比

結合的第二抗體/第一抗體	注射第二抗體後之時間(秒)					
	19	37.5	75	150	300	600
人化H8/嵌合體A3	44.9%	57.0%	69.1%	79.4%	86.6%	91.3%
嵌合體A3/人化H8	46.2%	51.2%	58.4%	67.5%	76.2%	83.6%
嵌合體A2/嵌合體A1	102.9%	93.5%	90.1%	89.0%	88.9%	89.1%
嵌合體A1/嵌合體A2	92.5%	90.6%	91.4%	92.7%	93.9%	95.5%
嵌合體A3/嵌合體A1	82.1%	82.0%	84.5%	87.8%	90.8%	92.8%
嵌合體A1/嵌合體A3	98.8%	96.5%	97.0%	98.0%	98.8%	99.6%
嵌合體A3/嵌合體A2	92.2%	88.6%	89.5%	91.5%	93.4%	94.6%
嵌合體A2/嵌合體A3	89.2%	88.4%	89.8%	91.5%	92.9%	94.3%
人化H8/嵌合體A1	93.2%	92.7%	94.2%	95.9%	96.9%	97.3%
嵌合體A1/人化H8	92.7%	92.4%	93.8%	95.8%	97.3%	98.7%
人化H8/嵌合體A2	93.8%	94.0%	96.0%	98.1%	99.8%	101.3%
嵌合體A2/人化H8	86.9%	84.7%	86.9%	90.5%	93.7%	96.7%

使用嵌合體構築體(參考實例4)及拜爾可測定之抗原決定部位映射研究之組合結果顯示於第7圖。

5

實例 6

抗5T4/卡利黴素輻合物之功效

活力染料(MTS)染色用來判定暴露於各項處理後的存活細胞數目。MTS(非放射性細胞增生檢定分析套件組)係購自普米嘉(Promega)公司(威斯康辛州麥迪遜)，根據製造商的規格來使用。對各細胞系，確定校準曲線(2小時後之細胞數目相對於光密度)，來估計適當初始播種密度。細胞以

10

抗5T4/卡利黴素軛合物之胞毒性也使用較為近似於活體內細胞環境之使用三度空間球狀體細胞培養來檢定分析。球狀體大致上係根據Yuhas等人(1977) Cancer Res. 37:3639-3643實作。簡言之， 10^5 細胞於5毫升培養基播種於事先塗覆有5毫升0.65%組織培養級瓊脂於培養基之60毫米聚苯乙烯細胞培養皿上(西革馬公司(Sigma)密蘇里州聖路易)。培養皿於37°C於5%二氧化碳於空氣中培養5-6日。直徑0.2毫米的球狀體經選出，置於24孔多孔板上。各孔含有0.5毫升瓊脂下層、1個球狀體以及1毫升培養基上層。然後球狀體暴露於各種濃度(0、0.091、0.365、1.46、5.86、23.44、93.75及375奈克)卡利黴素當量/毫升)使用A1及A3抗5T4抗體及AcBut鍵聯基所製備的卡利黴素、CMA-676、及抗5T4抗體/卡利黴素軛合物。兩種抗5T4/卡利黴素軛合物皆可顯著抑制MDAMB435/5T4細胞的生長。參考第8圖。

15 實例7

嵌合體及人化抗5T4抗體之製備及結合性質

嵌合體H8、A1、A2及A3抗體經構築成具有鼠H8重鏈及輕鏈可變區序列、及人IgG4重鏈恆定區及人 κ 輕鏈恆定區。存在於A1重鏈可變區之67位置的半胱胺酸視需要可改良苯基丙胺酸，存在於A3重鏈可變區之91位置的半胱胺酸視需要可改良酪胺酸，此等變異株顯示於SEQ ID NO: 2(A1 VH)及SEQ ID NO: 10(A3 VH)。插入序列的存在或不存在以及半胱胺酸殘基的置換並不影響抗體的表現。用於IgG恆定區編碼序列的轉殖，視需要可刪除插入序列。

人化H8係如PCT國際公告案WO2006/031653所述製備。人化A1抗體係藉CDR接枝如後文進一步說明而製備。鼠A1、A2及A3抗體之CDR係使用AbM定義識別，其係基於序列變化，以及基於結構回路區的所在位置。通常人受體架構的選擇通常係基於實質上類似鼠抗體的架構區，或基於最類似可變區亞族的同位序列來做選擇。也考慮於人體之架構位置的呈現，因此寬廣呈現序列通常係優於較不普及的序列。進行人架構受體序列的額外突變，來回復相信涉及抗原接觸點的鼠殘基，及/或回復涉及抗原結合位置之結構完好的殘基。胺基酸序列也對CHO細胞之密碼子的偏好最佳化，以及去除限剪酶位置。胜肽結構預測程式可用來分析人化可變重鏈區及人化可變輕鏈區序列，來識別且避免由人化設計所導入的後轉譯蛋白質修改位置。

人化A1重鏈可變區(A1 VH版本1.0)構築成含括鼠A1接枝於人DP-21架構區之CDR(VH7亞群，存取號碼CAA43346，SEQ ID NO: 88)，其含有架構突變(S82A)及一個反向突變(E46K)。經由移除反向突變而製備變異株(A1 VH版本1.1及1.2)。經由將A1 CDR接枝於人DP-54生殖細胞系架構區而製備第二人化A1重鏈可變區(A1 VH版本2.0)。進行六個反向突變來製造A1 VH版本2.1。容後詳述，兩個A1重鏈可變區保有5T4結合性質。DP-21和DP-54架構區顯示其長度有63%胺基酸序列一致性，指出可做出多個胺基酸變化而同時仍然保有抗體的結合特異性，包括可與特定抗原決定部位結合的能力。人化A1重鏈可變區的類似性顯

示於表10。編碼人化A1重鏈可變區之代表性核苷酸序列顯示為SEQ ID NO：48、50、53及55。編碼人化A1重鏈可變區之代表性胺基酸序列顯示為SEQ ID NO：49、51、52、54及56。也參考第9A-9B圖。

5 人化A1輕鏈可變區經構築來包括鼠A1接枝於人DPK24 (VKIV亞群)、DPK9 (VKI亞群)、及DPK23 (VKIII亞群)生殖細胞系架構區之CDR。於S67Y反向突變結合入人化A1輕鏈可變區後，製備架構，各個架構驗證5T4結合。參考下文，包括表13。DPK24架構區顯示其長度與DPK9及
10 DPK23分別有74%及73%胺基酸序列一致性。DPK9架構區顯示其長度與DPK23有74%胺基酸序列一致性。人化A1輕鏈可變區的類似性顯示於表10。人化輕鏈可變架構區的多個版本，驗證做出多個胺基酸變化，同時保有抗體的結合特異性，包括可結合特定抗原決定部位。人化A1輕鏈可變
15 區的編碼核苷酸序列之代表性序列顯示為SEQ ID NO：57、59、61、63、65、67、69、71、73及75。人化A1輕鏈可變區的編碼胺基酸序列之代表性序列顯示為SEQ ID NO：58、60、62、64、66、68、70、72、74及76。也參考第9C-9F圖。

表10
人化A1抗體的相關性

第一可變區/第二可變區	一致性百分比
HuA1 VL v1.1(SEQ ID NO : 60)/HuA1 VL v2.4蛋白質 (SEQ ID NO : 70)	86%
HuA1 VL v1.1(SEQ ID NO : 60)/HuA1 VL v3.1蛋白質 (SEQ ID NO : 75)	86%
HuA1 VL v2.4蛋白質(SEQ ID NO : 70)/HuA1 VL v3.1 蛋白質(SEQ ID NO : 75)	85%
HuA1 VL v1.1蛋白質(SEQ ID NO : 52)/HuA1 VL v2.0 蛋白質(SEQ ID NO : 54)	78%

人化A2抗體及A3抗體係使用類似的策略設計。人化A2
5 重鏈可變區及人化A2輕鏈可變區之代表性胺基酸序列分別
顯示為SEQ ID NO : 77-78及SEQ ID NO : 79-80。也參考第
9G圖。

人化A3重鏈可變區及人化A3輕鏈可變區之代表性胺
基酸序列分別顯示為SEQ ID NO : 81-82及SEQ ID NO :
10 83-84。也參考第9H圖。

為了評估人化A1、A2及A3重鏈可變區及輕鏈可變區之
新穎性，如實例1所述進行BLASTn分析及BLASTp分析。結
果顯示於表11。

表 11
BLASTn及BLASTp分析

查詢序列	最接近主旨序列之相似度(%)	最接近主旨序列之說明
人化A1 VL版本 1.1 DNA (SEQ ID NO : 59)	83%*	定義:免疫球蛋白 κ 鏈可變區之人部分 mRNA(IGKV2基因)。 存取:AM040532
人化A1 VL版本 1.1 蛋白質 (SEQ ID NO : 60)	82%	定義:Ig κ 鏈V-IV區B17前驅物。 存取:P06314
人化A1 VL版本 2.4 DNA (SEQ ID NO : 69)	85%*	定義:人純株SC4064抗狂犬病病毒免疫球蛋白輕鏈可變區mRNA, 完整cds。 存取:AY942044
人化A1 VL版本 2.4 蛋白質 (SEQ ID NO : 70)	92%	定義:抗 α 4 接合素人化免疫球蛋白 κ 鏈V區。 存取:AAA62146
人化A1 VL版本 3.1 DNA (SEQ ID NO : 75)	84%*	定義:人純株136e06抗破傷風類毒素免疫球蛋白輕鏈可變區(IGL@)mRNA 部分cds。 存取:AY867377
人化A1 VL版本 3.1 蛋白質 (SEQ ID NO : 76)	84%	定義:抗-Burkholderia mallei scFv抗體 [合成構築體]。 存取:AB197018
人化A1 VH版本 1.1 DNA (SEQ ID NO : 50)	88%*	定義:人ID:CLL097 IgA 重鏈可變區 mRNA, 部分cds。 存取:AF021940
人化A1 VH版本 1.1 蛋白質 (SEQ ID NO : 51)	90%	定義:IgA重鏈可變區[人] 存取:AAC09074
人化A1 VH版本 2.0 DNA (SEQ ID NO : 53)	81%*	定義:人純株23u-45免疫球蛋白重鏈可變區(IGH) mRNA, 部分cds。 存取:AF062241
人化A1 VH版本 2.0 蛋白質 (SEQ ID NO : 54)	77%	定義:鏈D, 洞察由ErbB2-Pertuzumab複體結構之ErbB發訊 存取:1S78_D
人化A2 VL版本 1.0 蛋白質 (SEQ ID NO : 79)	87%	定義:鏈A, 人單株Igm冷凝集素之Fab 片段之晶體結構 存取:1QLR_A
人化A2 VL版本 2.0 蛋白質 (SEQ ID NO : 80)	83%	定義: κ 1免疫球蛋白輕鏈[人] 存取:AAD29608
人化A2 VH版本 1.0 蛋白質 (SEQ ID NO : 77)	88%	定義:鏈A, 人化抗體Fv 528之晶體結構 存取:1WT5_A

人化A2 VH版本 2.0蛋白質 (SEQ ID NO：78)	78%	定義：鏈D，洞察由ErbB2-Pertuzumab複 體結構之ErbB發訊 存取：IS78_D
人化A3 VL版本 1.0蛋白質 (SEQ ID NO：83)	85%	定義：免疫球蛋白κ輕鏈VLJ區[人] 存取：BAC01708
人化A3 VL版本 2.0蛋白質 (SEQ ID NO：84)	90%	定義：HerMel[合成構築體] 存取：CAL47329
人化A3 VH版本 1.0蛋白質 (SEQ ID NO：81)	79%	定義：Igh-1a蛋白質[小鼠] 存取：AAH80671
人化A3 VH版本2.0 蛋白質 (SEQ ID NO：82)	77%	定義：Igh-1a蛋白質[小鼠] 存取：AAH80671

*查詢涵蓋率=100%

第10A-10B圖顯示可用作為製備人化A1、A2及A3抗5T4抗體的架構之額外重鏈可變區序列。第11-13圖顯示可用作為製備人化A1、A2及A3抗5T4抗體的架構之額外輕鏈可變區序列。第14圖顯示可用於製備嵌合體及人化A1、A2及A3抗5T4抗體之代表性恆定區。

為了評估嵌合及人化H8、A1、A2及A3抗體之結合特异性及親和力，使用制動於CM5晶片上的人5T4抗原進行拜爾可分析。參考實例2。嵌合A1、A2及A3抗體結果顯示於下表12。

表12
拜爾可檢定分析結果

抗體	KD (M)	KA (1/M)	kd (1/s)	ka (1/Ms)
人化H8	1.5×10^{-10}	6.5×10^9	4.0×10^{-5}	2.6×10^5
嵌合體A1	4.4×10^{-10}	2.3×10^9	6.7×10^{-5}	1.5×10^5
嵌合體A2	1.8×10^{-9}	5.7×10^8	2.5×10^{-4}	1.4×10^5
嵌合體A3	$\sim 1.8 \times 10^{-10}$	$\sim 5.4 \times 10^9$	$\sim 1.0 \times 10^{-5}$	$\sim 5.4 \times 10^4$
嵌合體 A1+C67F	3.8×10^{-10}	2.6×10^9	6.3×10^{-5}	1.7×10^5
嵌合體 A3+C91Y	5.9×10^{-9}	1.7×10^9	1.6×10^{-5}	2.7×10^4

大致上，嵌合/人化可提高H8、A1、A2及A3對人5T4
5 的親和力。比較表3。結合親和力的增高顯然主要係來自於
抗體與抗原的較為緩慢解離，而非較為快速解離。嵌合A2
及A3抗體顯示於嵌合後最為改良之結合性質。

全部人化A1重鏈可變區皆保有5T4結合性質。此外，
由人化A1重鏈可變區移除K46反向突變並不影響5T4結合
10 性質。人化A1輕鏈可變區顯示折衷的5T4結合性質。使用
與DPK9及DPK23架構結合的5T4所構築之人化A1輕鏈可變
區比較使用DPK24架構所構築的人化A1輕鏈可變區具有較
高親和力。結合反向突變來回復及/或最佳化5T4結合。如
鼠A1架構區可知，以酪胺酸殘基來置換於位置67的絲胺酸
15 殘基，可完全回復5T4抗原結合性質。參考表13。

表 13
藉 ELISA 抑制生物素化嵌合 A1 抗體與人 5T4 的結合

版本 A1 抗體	IC ₅₀
嵌合體 A1	16-20nM
huA1 V _H v2.0 + huA1 V _L v1.1	>1 μM
huA1 V _H v2.0 + huA1 V _L v1.1	28 nM
huA1 V _H v2.0 + huA1 V _L v2.0	>1 μM
huA1 V _H v2.0 + huA1 V _L v2.4	16 nM
huA1 V _H v2.0 + huA1 V _L v3.0	>1 μM
huA1 V _H v2.0 + huA1 V _L v3.1	27 nM

huA1，人化 A1
v，版本

5

實例 8

抗 5T4 抗體之種屬交叉反應性

此處揭示之抗 5T4 抗體之種屬交叉反應性經過檢定分析來測定相關種屬之活體內功效研究及毒理學分析。結合活性之交互關係及不同 5T4 外功能部位的關係也用來進一步說明各個抗體所結合的抗原決定部位。結合檢定分析係使用得自於人 IgG1 Fc 融合的各個種屬之 5T4 外功能部位進行檢定分析。各個外功能部位區與人 5T4 之一致性百分比顯示於表 14。

10

15

表 14
得自不同種屬之 5T4 之相關性

種屬	與人 5T4 之一致性百分比	外功能部位之胺基酸
人	100	1-355
鼠	84.0	1-361 ^a
大鼠	83.1	1-361 ^a
黑猩猩 (部分序列-396/420 胺基酸)	~99.5	1-355
馬來猴	96.7	1-355
黑尾狒狒 (部分序列 367/420 胺基酸)	~94.6	1-355
犬	87.9	1-355
牛	86.9	1-355

^a於親水功能部位內部含有 6 胺基酸直接重複本

5 先前已經揭示得自人、小鼠、大鼠、犬及牛之 5T4 之全
長序列或部分序列為基因存庫存取號碼 Z29083 (人、SEQ ID
NO: 87)、AJ012160 (小鼠)、BC087011 (大鼠)、XM539020 (犬)
及 XM593502 (牛)。黑猩猩之虛擬部分序列係使用 mRNA 與
基因體序列的校準來產生。5T4 蛋白質的編碼核酸係單離自
10 馬來猴及黑尾狒狒。額外 5T4 抗原之胺基酸序列顯示於第 15
圖，也顯示為 SEQ ID NO: 86 (馬來猴) 及 SEQ ID NO: 85 (黑
尾狒狒)。

為了評估馬來猴序列及黑尾狒狒序列的新穎性，如實
例 2 所述進行 BLAST 分析。當使用全長黑尾狒狒 5T4 胺基酸
15 序列作為查詢序列時，最接近的主旨序列被識別為人
5T4 (基因存庫存取號碼 NP_006661.1)，有 94% 一致性

(302/320胺基酸)。序列於羧基端有差異，SEQ ID NO：85之胺基酸1-19並未與最接近的主旨序列校準。當使用全長馬來猴5T4胺基酸序列作為查詢序列時，最接近的非虛擬主旨序列被識別為也是得自馬來猴之滋養層的糖蛋白前驅物
5 (基因存庫存取號碼BAE00432.1)，有99%一致性(364/366胺基酸)。該等序列與羧基端不同，SEQ ID NO：86之胺基酸1-25並未與最接近的非虛擬主旨序列校準。

為了評估抗5T4抗體的結合，5T4外功能部位/Fc融合蛋白質一過性轉移感染入COS-1細胞，且進行ELISA檢定分析。
10 使用非相關的人IgG4及IgG1抗體作為對照。抗5T4抗體之交叉種屬反應性摘述於表15。

表15
抗5T4抗體的交叉反應性(ED50，以nM表示)

	huH8 γ 4	huH8 γ 1	ChiA1 γ 4	ChiA2 γ 4	ChiA3 γ 4
人	0.19	0.20	0.28	0.21	0.20
黑猩猩	0.19	0.22	0.27	0.22	0.20
黑尾狒狒	+/-	+/-	0.24	0.22	-
馬來猴	-	-	0.18	0.18	0.23
大鼠	-	-	+/-	-	-
小鼠	-	-	-	-	-

huH8 γ 4，有IgG4恆定區之人化H8抗體
15 huH8 γ 1，有IgG1恆定區之人化H8抗體
ChiA1 γ 4，有IgG4恆定區之嵌合A1抗體
ChiA2 γ 4，有IgG4恆定區之嵌合A2抗體
ChiA3 γ 4，有IgG4恆定區之嵌合A3抗體
(+/-)，部分結合
20 (-)，未結合

【圖式簡單說明】

第1A-1C圖顯示鼠抗5T4抗體A1、A2及A3之重鏈可變區及輕鏈可變區之核苷酸及胺基酸序列。胺基酸序列以下方畫線標示來識別互補性決定區(CDR)，而以下方畫雙線來識別先導基因序列。

第2圖為使用CT26/5T4細胞溶解產物製備及以所指示之抗體探測之西方墨點。

第3A-3B圖為線圖，顯示H8抗體及A1抗體之兩個獨立製劑之反應曲線及結合動力學。製劑實質上相當。

第4A-4C圖為線圖顯示由MDAMB435/5T4細胞調節H8、A1、A2及A3抗體。於細胞表面之抗體含量隨著時間之經過而下降(第4A、4C圖(實心))，而於上清液中之抗體含量維持恆定(第4B、4C圖(空心))。MCF表示細胞螢光；supt表示上清液。

第5圖為人外功能部位5T4 Fc構築體、鼠外功能部位5T4 Fc構築體、及人/鼠5T4嵌合型構築體之示意圖。此等構築體係如實例4所述用於抗原決定部位之映射。

第6A-6B圖顯示人化H8及對人5T4外功能部位Fc融合蛋白質之各個指示抗體之競爭結合之線圖結果。HuH8，人化H8抗體；ChiA1，嵌合型A1抗體；ChiA1+C67F，載有C67F突變之嵌合型A1抗體；ChiA2，嵌合型A2抗體；muA2，鼠A2抗體；ChiA3，嵌合型A3抗體；ChiA3+C91Y，載有C91Y突變之嵌合型A3抗體；muA3，鼠A3抗體；No Ab，無抗體(對照組)。

第7圖為線圖顯示由H8、A1、A2及A3所結合之人5T4
 抗原決定部位。所指示之殘基為如Myers等人(1994) J. Biol.
 Chem. 269(12):9319-9324所述之5T4抗原殘基，也可以基因
 存庫存取號碼Z29083(SEQ ID NO:87)。LRR，富含白胺酸
 重複本。

第8圖顯示如實例6所述進行之球體檢定分析之結果。
 使用A1抗體及A3抗體所製備之抗5T4/卡利黴素軛合物比
 較對照細胞(MDAMB435/neo)可顯著抑制可表現5T4之細
 胞(MDAMB435/5T4)之生長。CMA-676，抗-CD33/卡利黴
 素軛合物；huH8-AcBut-CalichDMH，使用4-(4'-乙醯基苯
 氧基)丁酸(AcBut)軛合至卡利黴素之人化H8抗體；
 CalichDMH，未軛合之卡利黴素；A1-AcBut-CalichDMH，
 使用4-(4'-乙醯基苯氧基)丁酸(AcBut)軛合至卡利黴素之人
 化A1抗體；A3-AcBut-CalichDMH，使用4-(4'-乙醯基苯氧
 基)丁酸(AcBut)軛合至卡利黴素之人化A3抗體。

第9A-9H圖顯示人化A1重鏈可變區版本1之核苷酸序
 列及胺基酸序列(SEQ ID NO:48-49)；人化A1重鏈可變區
 (huA1VH)版本1.2及2.0之胺基酸序列；人化A1輕鏈可變區
 (huA1VL)版本1.0、2.0及3.0之胺基酸序列；人化A2重鏈可
 變區版本1.0及2.0 (huA2 VH)之胺基酸序列；人化A2輕鏈可
 變區版本1.0及2.0 (huA2VL)之胺基酸序列；人化A3重鏈可
 變區版本1.0及2.0 (huA3 VH)之胺基酸序列；以及人化A3輕
 鏈可變區版本1.0及2.0 (huA3VL)之胺基酸序列。CDR經下
 方畫線。

第10A-10B圖顯示可用於製備人化抗5T4抗體之代表性人重鏈可變區架構序列。第10A圖為亞群I之人重鏈可變區序列(SEQ ID NO:14-24)與由其中衍生之同位架構序列(SEQ ID NO:25-27)之校正。第10B圖顯示VH7亞群及VH3亞群之人生殖細胞系基因之序列(SEQ ID NO:88-93)。

第11圖為亞群V κ III之人輕鏈可變區序列之校正(SEQ ID NO:29-34)。框出序列為CDR。

第12圖為亞群V κ I之人輕鏈可變區序列之校正(SEQ ID NO:35-44)。框出序列為CDR。

第13圖顯示V κ I及V κ IV亞群之額外人生殖細胞系序列，其具有可用於製備人化抗5T4抗體之架構區(SEQ ID NO:94-99)。

第14圖顯示可用於製備嵌合型及人化抗5T4抗體之代表性人恆定區之胺基酸序列(SEQ ID NO:45-47)。

第15圖顯示全長馬來猴5T4抗原及部分黑尾狒狒5T4抗原之胺基酸序列。下方畫線之序列為先導基因序列。對各序列而言，5T4外功能部位包括胺基酸30-356。

【主要元件符號說明】

(無)

五、中文發明摘要：

抗5T4抗體、抗5T4抗體/藥物軛合物、及其製備及使用之方法。

六、英文發明摘要：

Anti-5T4 antibodies, anti-5T4 antibody/drug conjugates, and methods for preparing and using the same.

第 1A 圖

鼠A1 VH

ATGGATTGGCTGTGGAACCTTGCTATTCCTGATGGCAGCTGCCCAAAGTAT
CCAAGCACAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTG
GAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGATATACCTTCACAAAC
TTTGAATGAACTGGGTGAAGCAGGGTCCAGGAGAGGGTTTAAAGTGGAT
GGGCTGGATAAACACCAACACTGGAGAGCCAAGATATGCTGAAGAGTTCA
AGGGACGGT (G/T) TGCCTTTTCTTTGGAAACCACTGCCAGCACTGCCTATTTG
CAGATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAG
AGACTGGGACGGTGCCTACTTCTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTC
TCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:1)

MDWLWNLLFLMAAOSIQAIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTN
FGMNWVKQGPGEGLKWMGWINTNTGEPYAEFEKGR (C/F) AFSLETTASTAYL
QINNLIKNETATYFCARDWDGAYFFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:2)

鼠A1 VL

ATGAAGTCACAGACCCAGGTCTTCGTATTTCTACTGCTCTGTGTGTCTGG
TGCTCATGGGAGTATTGTGATGACCCAGACTCCCAAATTCCTGCTTGTTT
CAGCAGGAGACAGGGTGACCATAACCTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGAGT
AATGATGTAGCTTGGTACCAACAGAAGCCAGGGCAGTCTCCTAAACTGTT
GATAAACTTTGCAACCAATCGCTACACTGGAGTCCCTAATCGCTTCACTG
GCAGTGGATATGGGACGGATTTCACTTTACCATCAGCACTGTGCAGGCT
GAAGACCTGGCACTTTATTTCTGTGACGAGGATTATAGCTCTCCGTGGAC
GTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO:3)

MKSQTQVFVFLLLCVSGAHGSIVMTQTPKFLVSAGDRVITITCKASQSVS
NDVAWYQQKPGQSPKLLINFATNRYTGVPNRF TSGSYGTDFTFTISTVQA
EDLALYFCQDYSSPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:4)

第 1B 圖

鼠 A2 VH

ATGGAATGGAGGATCTTTCTCTTCATCCTGTCAGGAAGTGCAGGTGTCCA
CTCCCAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTAGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGG
CTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACTTTCACTGACTAT
GTTATAAGCTGGGTGAAGCAGAGAACTGGACAGGGCCTTGAGTGGATTGG
AGAGATTTATCCTGGAAGTAATAGTATTTATTACAATGAGAAGTTCAAGG
GCAGGGCCACACTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAG
CTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCAATGGG
GGGTAAGTACGGCTTTGACTATTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCT
CCTCA (SEQ ID NO:5)

MEWRIFLFILSGTAGVHSQVQLQQSRPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDY
VISWVKQRTGQGLEWIGEIYPGSNSIYYNEKFKGRATLTADKSSSTAYMQ
LSSLTSEDSAVYFCAMGGNYGFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:6)

鼠 A2 VL

ATGGATTTTCAGGTGCAGATTTTCAGCTTCCTGCTAATCAGTGCCTCAGT
CATAATGTCCAGAGGACAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGT
CTGCATCTCTAGGGGAACGGGTACCTTGACCTGCACTGCCAGCTCAAGT
GTAAATTCCAATTACTTACACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGATCCTCCCC
CAAACCTCTGGATTTATAGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCAGCTC
GCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGC
ATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCACCAGTATCATCGTTC
CCCGCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO:7)

MDFQVQIFSFLLISASVIMSRGQIVLTQSPAIMSASLGERVTLTCTASSS
VNSNYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISS
MEAEDAATYYCHQYHRSPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO:8)

第 1C 圖

鼠 A3 VH

ATGCTGTTGGGGCTGAAGTGGGTTTTCTTTGTTGTTTTTTATCAAGGTGT
GCATTGTGAGGTGCAGCTTGTGAGTCTGGTGGAGGATTGGTGCAGCCTA
AAGGGTCATTGAACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAATACC
TACGCCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTGGGAATGGGT
TGCTCGCATAAGAAGTAAAAGTAATAATTATGCAACATATTATGCCGATT
CAGTGAAAGACAGGTTACCATCTCCAGAGATGATTACAAAGCATGCTC
TATCTGCAAATGAACAACTTGAAAAGTGAAGACACAGCCATGTATT (G/A) CTG
TGTGAGACAGTGGGATTACGACGTCAGGGCTATGAACTACTGGGGTCAAG
GAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:9)

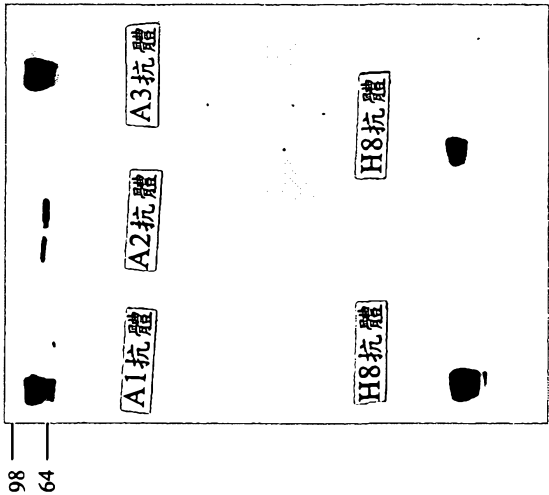
MLLGLKWVFFVVFYQGVHCEVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNT
YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKSNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSML
YLQMNNLKTEDTAMY (C/Y) CVRQWDYDVRAMNYWGQGSSVTVSS (SEQ ID
NO:10)

鼠 A3 VL

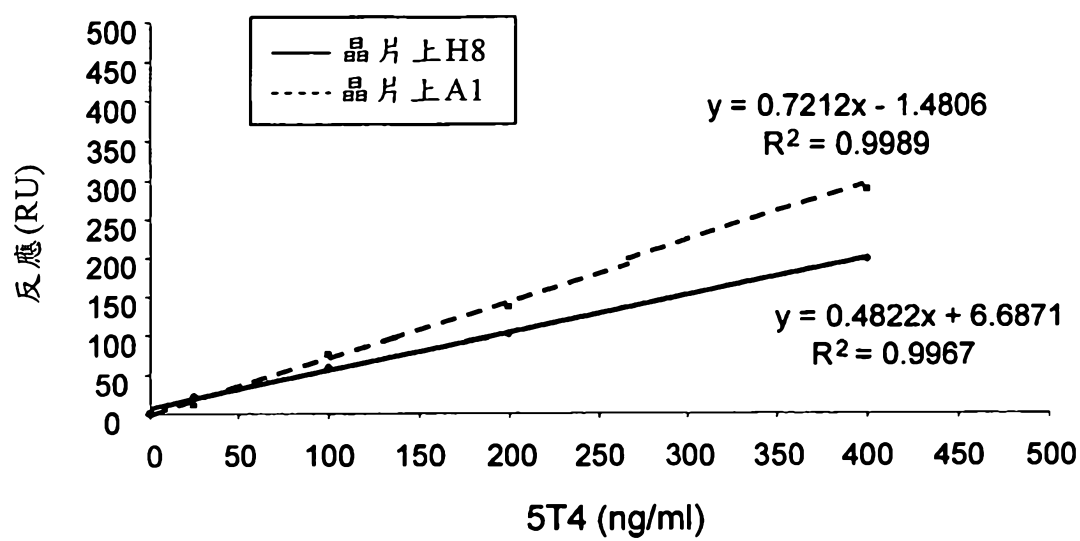
ATGGAGACACATTCTCAGGTCTTTGTATACATGTTGCTGTGGTTGTCTGG
TGTTGAAGGAGACATTGTGATGACCCAGTCTCACATATTCATGTCCACAT
CAGTAGGAGACAGGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGGAT
ACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAAACTACT
GATTTACTGGGCATCCACCCGGCTCACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAG
GCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTCTCACCATTAGCAATGTGCAGTCT
GAAGACTTGGCAGATTATTTCTGTCAGCAATATAGCAGCTATCCGTACAC
GTTTCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:11)

METHSOVFVYMLLWLSGVEGDIVMTQSHIFMSTSVGDRVSITCKASQDVD
TAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRLTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQS
EDLADYFCQQYSSYPYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:12)

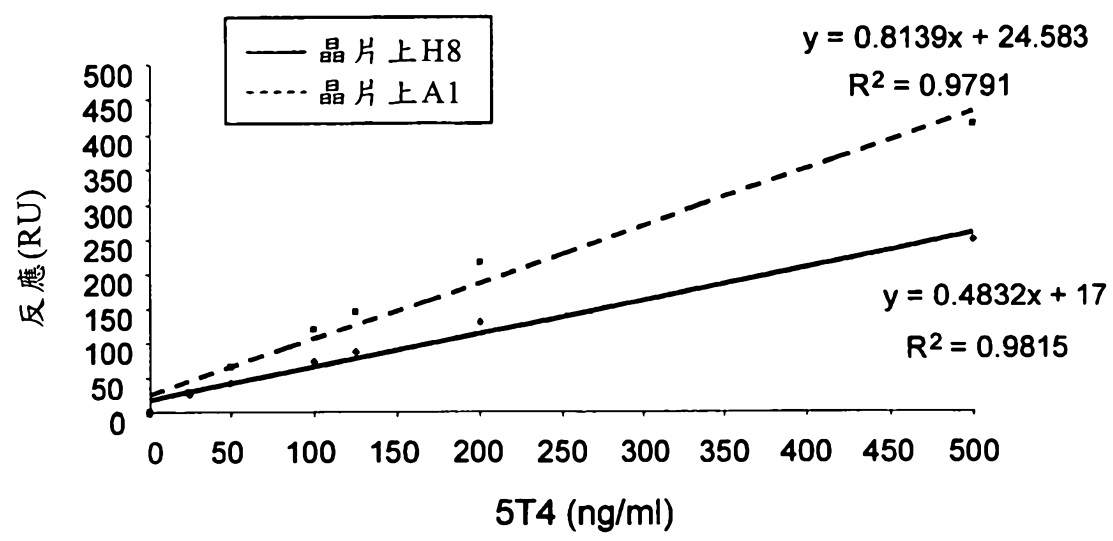
第 2 圖



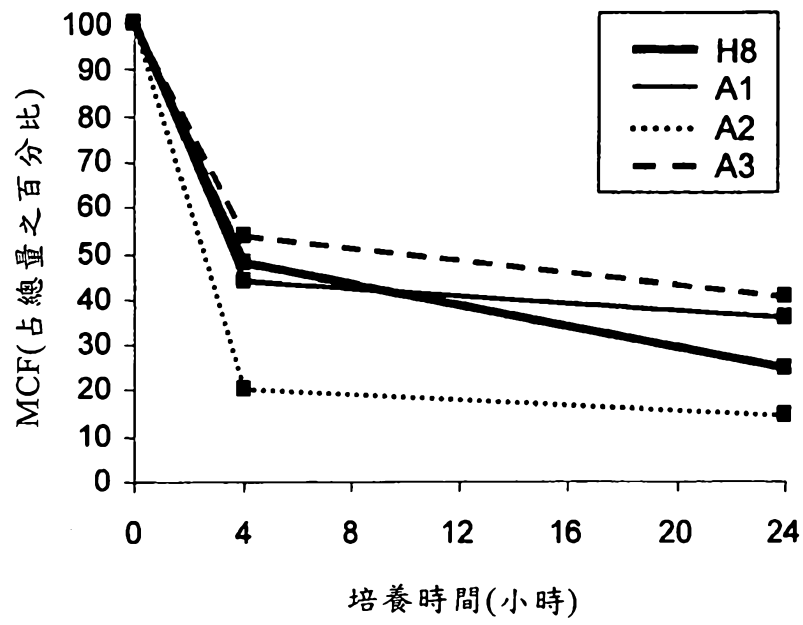
第 3A 圖



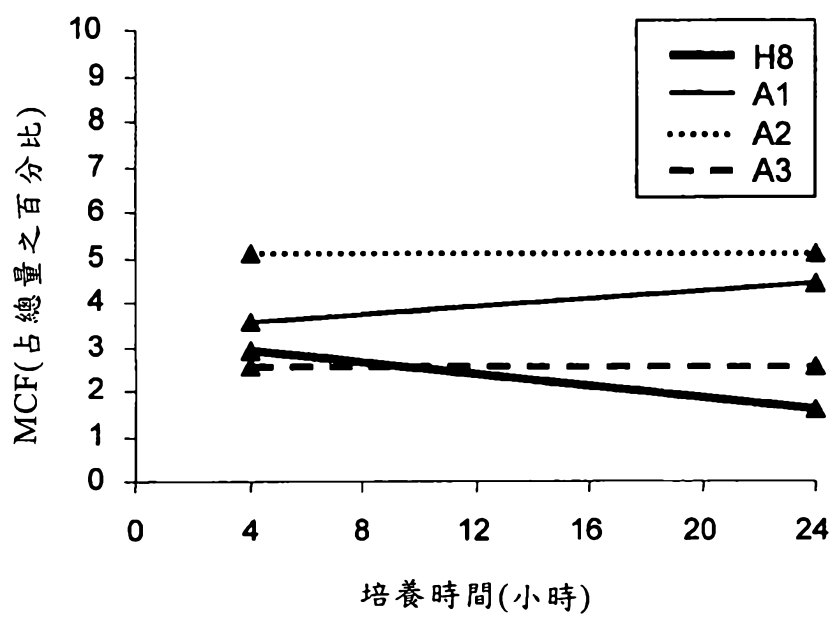
第 3B 圖



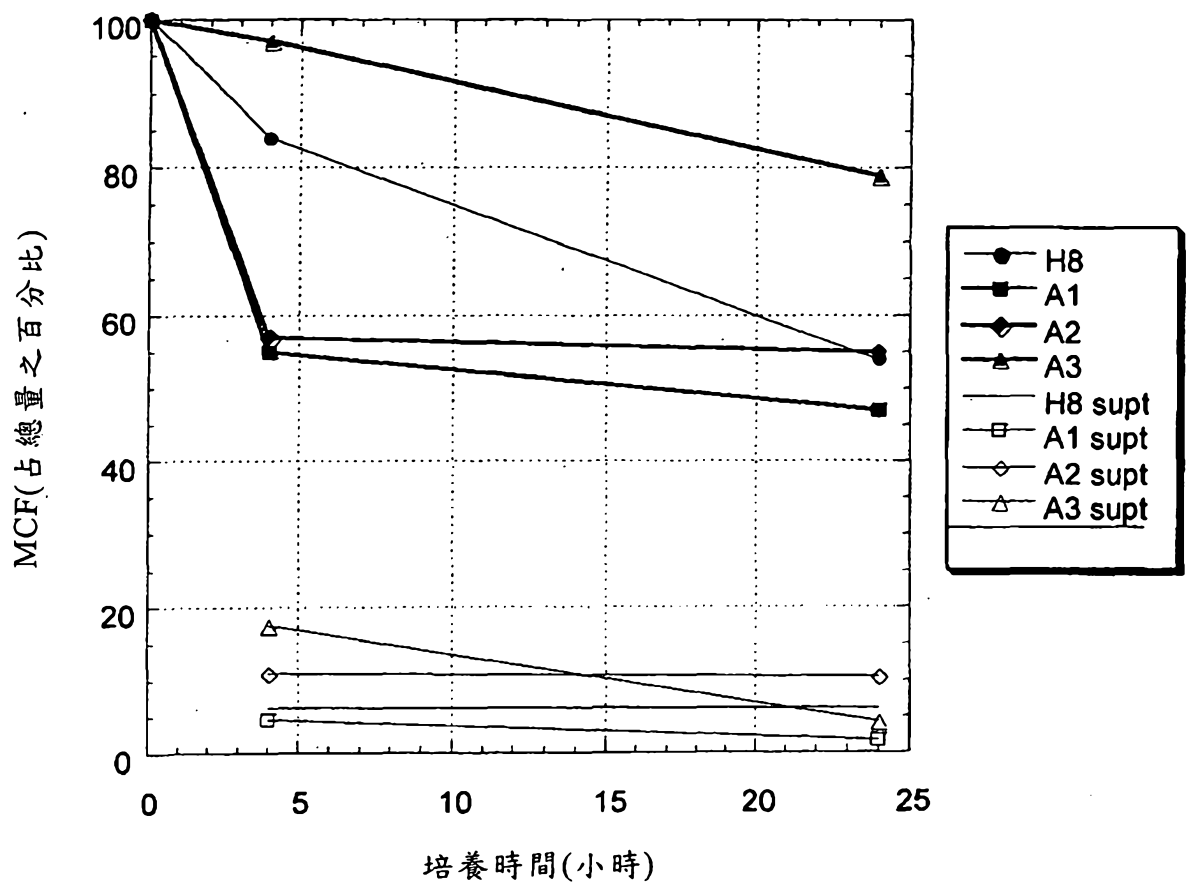
第 4A 圖



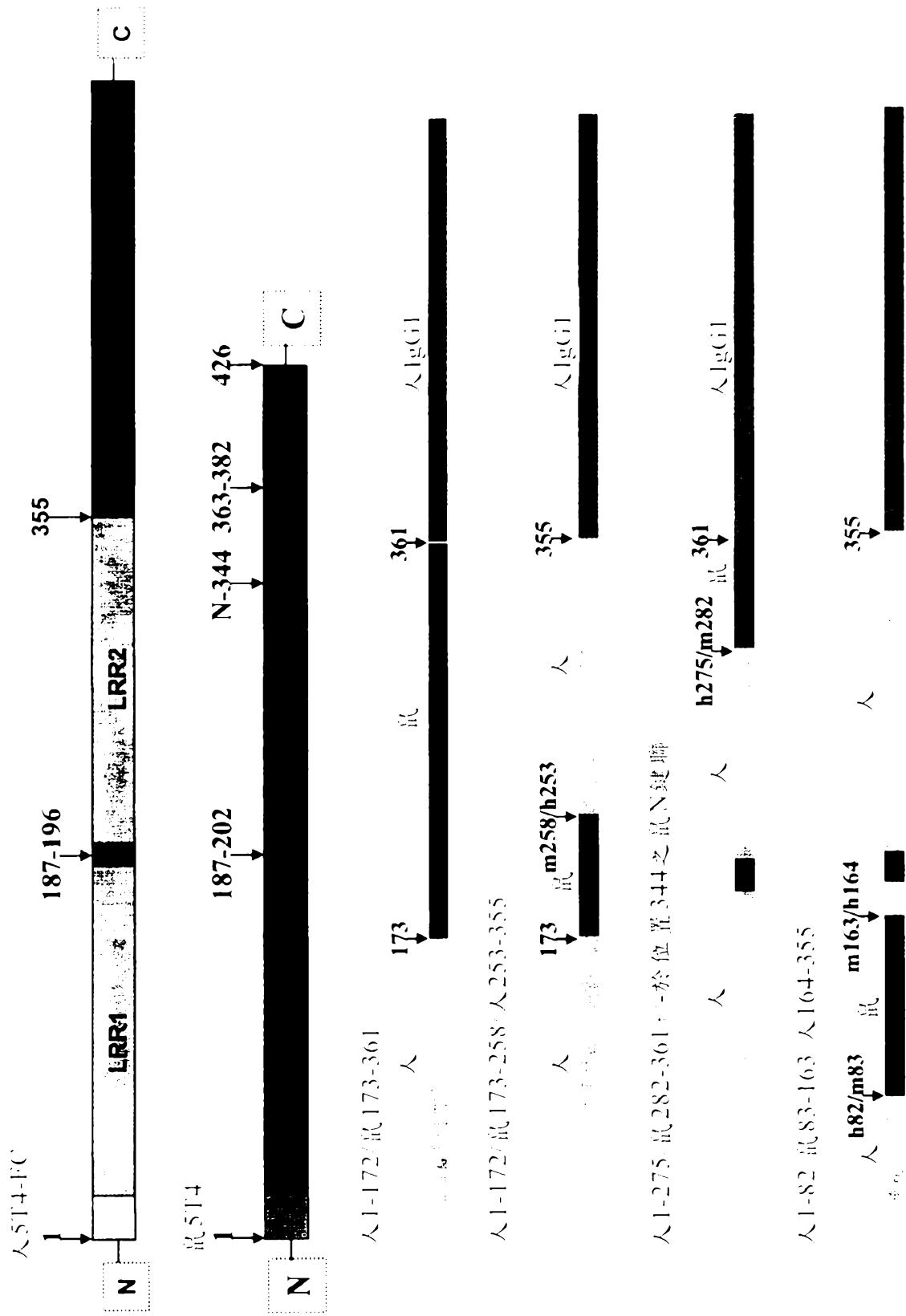
第 4B 圖



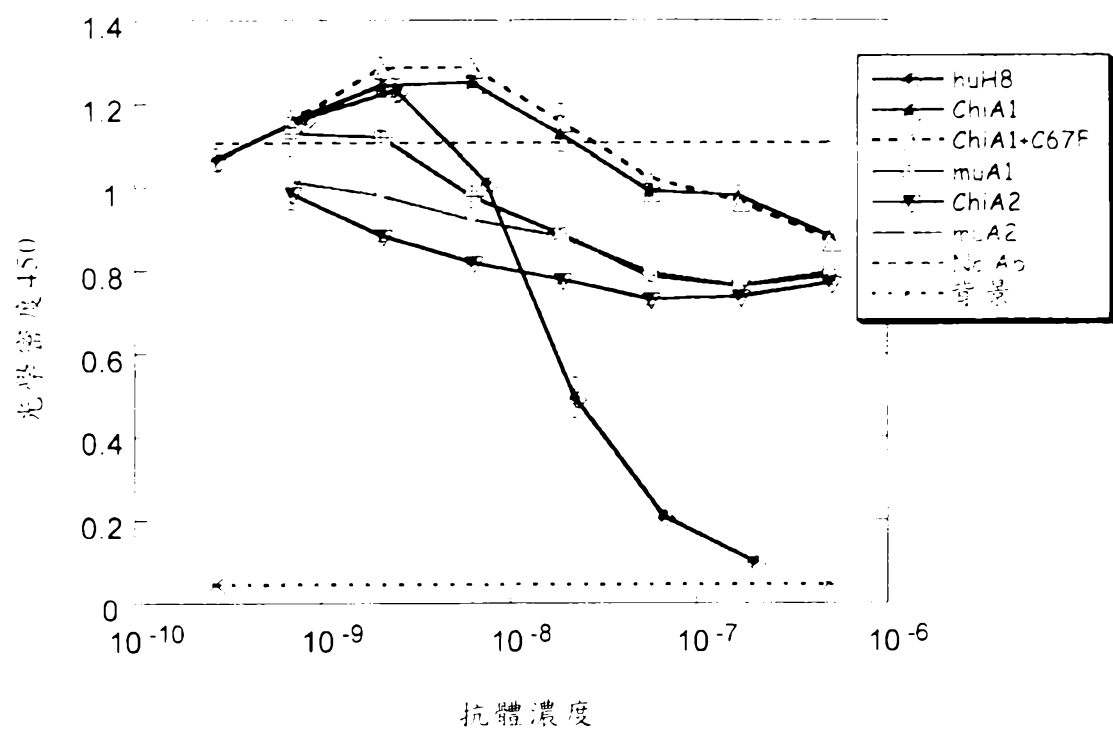
第4C圖



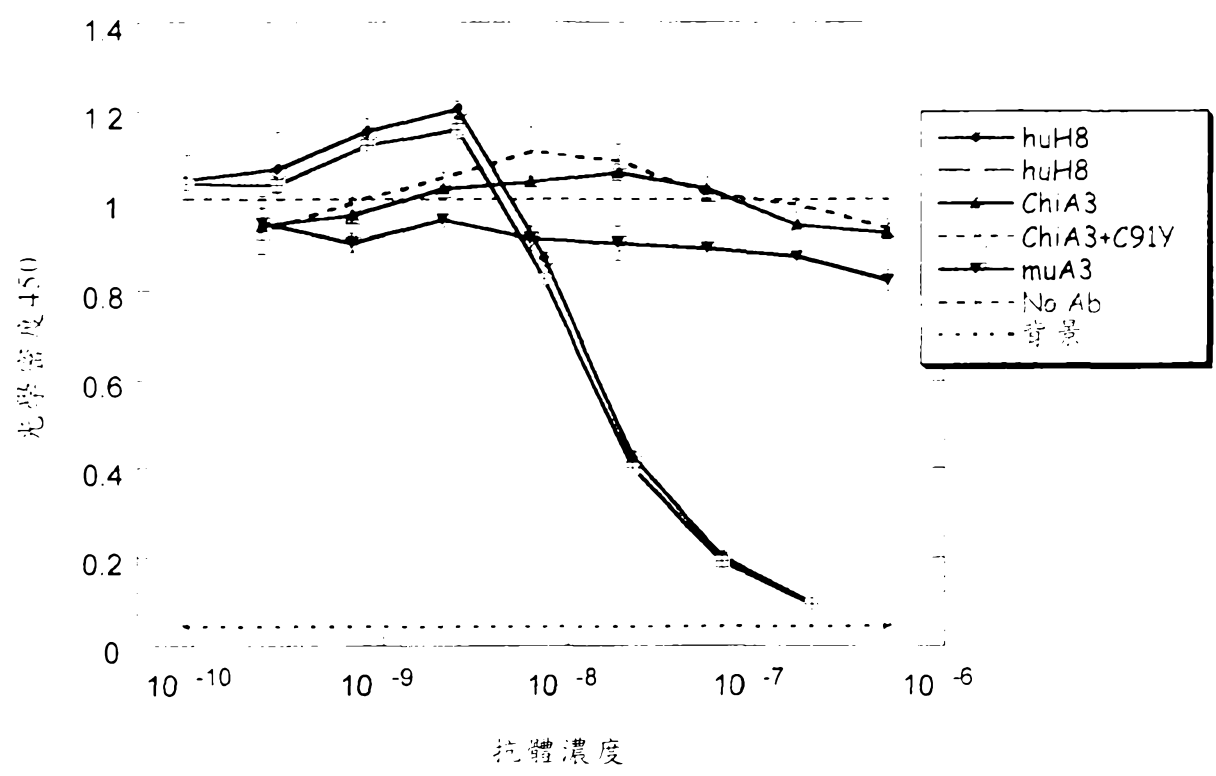
第 5 圖



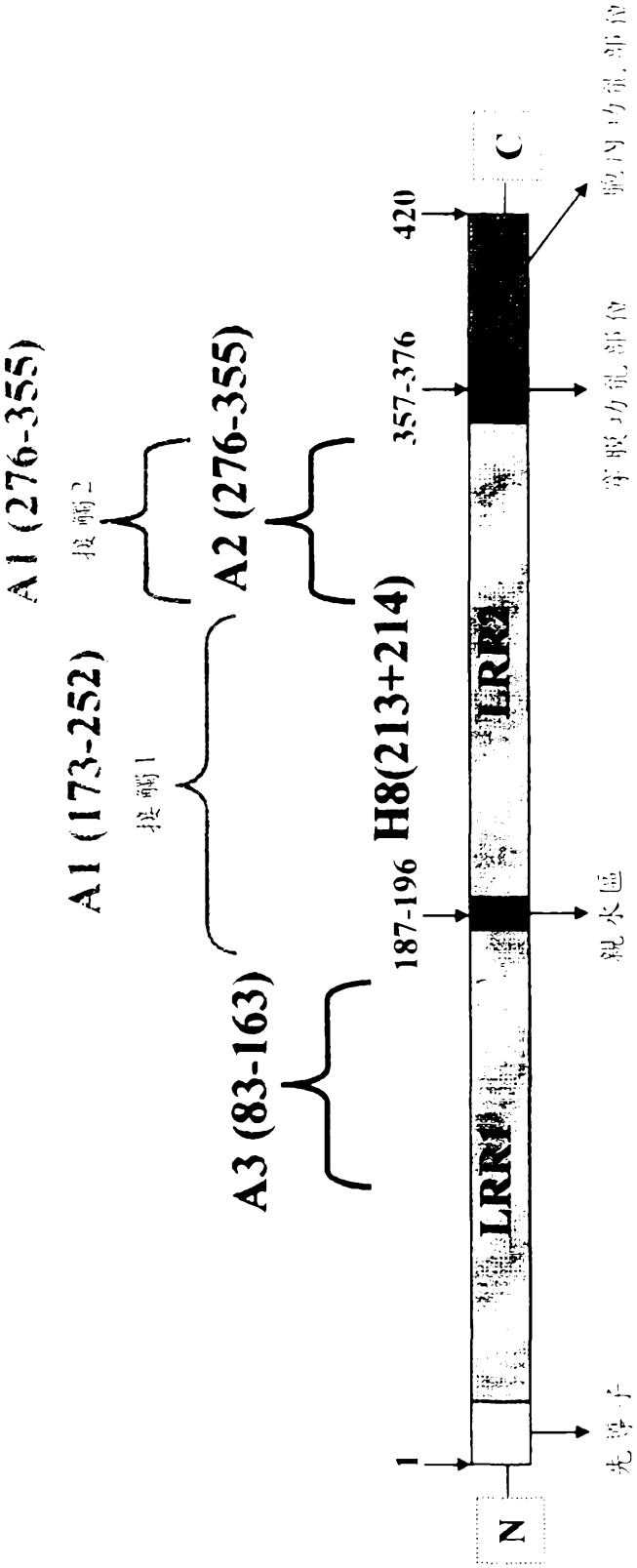
第 6A 圖



第 6B 圖



第 7 圖

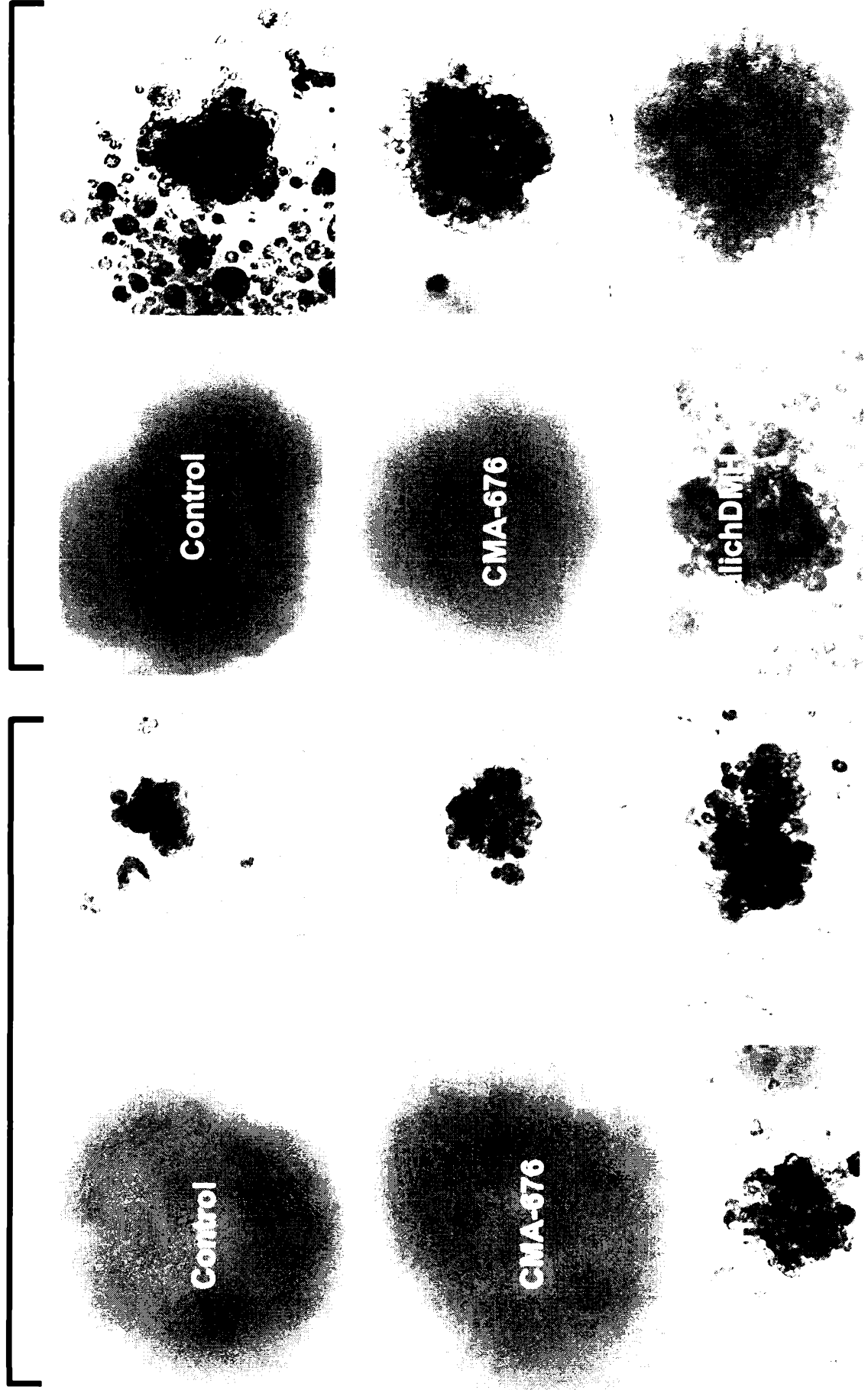




第 8 圖

MDAMB435/5T4

MDAMB435/neo



第 9A 圖

人化A1 VH-版本1.0 DNA

CAGGTGCAGCTGGTGCAATCTGGGTCTGAGTTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT
TTCCTGCAAGGCTTCTGGATATACCTTCACAACTTTGGAATGAACTGGGTGCGACAGG
CCCCTGGACAAGGGCTTAAGTGGATGGGATGGATAAACACCAACACTGGAGAGCCAAGA
TATGCTGAAGAGTTCAAGGGACGGTTTGTCTTCTCCTTGGACACCTCTGTCAGCACTGC
CTATCTGCAGATCTCCAGCCTGAAGGCTGAGGACACTGCCGTGTATTACTGTGCCAGAG
ACTGGGACGGTGCCTACTTCTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCCTTGTCACAGTCTCC
TCA (SEQ ID NO:48)

人化A1 VH-版本1.0 蛋白質

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNFGMNWVRQAPGQGLKWMGWINTNTGEPR
YAEFEKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDWDGAYFFDYWGQGLTVTS
S (SEQ ID NO:49)

人化A1 VH-版本1.1 DNA

CAGGTGCAGCTGGTGCAATCTGGGTCTGAGTTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT
TTCCTGCAAGGCTTCTGGATATACCTTCACAACTTTGGAATGAACTGGGTGCGACAGG
CCCCTGGACAAGGGCTTGAAGTGGATGGGATGGATAAACACCAACACTGGAGAGCCAAGA
TATGCTGAAGAGTTCAAGGGACGGTTTGTCTTCTCCTTGGACACCTCTGTCAGCACTGC
CTATCTGCAGATCTCCAGCCTGAAGGCTGAGGACACTGCCGTGTATTACTGTGCCAGAG
ACTGGGACGGTGCCTACTTCTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCCTTGTCACAGTCTCC
TCA (SEQ ID NO:50)

人化A1 VH-版本1.1 蛋白質

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGEPR
YAEFEKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDWDGAYFFDYWGQGLTVTS
S (SEQ ID NO:51)

人化A1 VH-版本1.2 (CDR接枝入DP-21生殖世系，VH7亞群)

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGEPR
YAEFEKGRFVFSLDTSVSTAYLQICSLKAEDTAVYYCARDWDGAYFFDYWGQGLTVTS
S (SEQ ID NO:52)

以下任一胺基酸皆可被取代於此等指定位置K46、C67、S82a和N82a。

第 9B 圖

人化A1 VH-版本2.0 DNA

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATATACCTTCACAACTTTGGAATGAACTGGGTCCGCCAGG
CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCTGGATAAACACCAACACCGGTGAGCCAAGA
TATGCTGAAGAGTTCAAGGGACGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCACT
GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCTGTGTATTACTGTGCCAGAG
ACTGGGACGGTGCCTACTTCTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCCTTGTCACAGTCTCC
TCA (SEQ ID NO:53)

人化A1 VH-版本2.0 蛋白質(CDR接枝入DP-54生殖世系，VH3亞群)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFNFGMNWVRQAPGKGLEWVAWINTNTGEPR
YAEFEKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDWDGAYFFDYWGQGLTVTS
S (SEQ ID NO:54)

以下任一胺基酸皆可被取代於此等指定位置K46、M48、G49、C67、
L71、T73、T74、A75、S76和A78。

人化A1 VH-版本2.1 DNA

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATATACCTTCACAACTTTGGAATGAACTGGGTCCGCCAGG
CTCCAGGGAAGGGGCTGAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCAACACCGGTGAGCCAAGA
TATGCTGAAGAGTTCAAGGGACGATTACCATCTCCCTGGACAACGCCAAGTCCTCAGC
CTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCTGTGTATTACTGTGCCAGAG
ACTGGGACGGTGCCTACTTCTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCCTTGTCACAGTCTCC
TCA (SEQ ID NO:55)

人化A1 VH-版本2.1 蛋白質

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFNFGMNWVRQAPGKGLKWMGWINTNTGEPR
YAEFEKGRFTISLDNAKSSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARDWDGAYFFDYWGQGLTVTS
S (SEQ ID NO:56)

第 9C 圖

人化A1 VL-版本1.0 DNA

GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCAC
 CATCAACTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGAGTAATGATGTGGCTTGGTACCAGCAGAAAC
 CAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTCTTTGCAACCAATCGCTACACTGGAGTCCCT
 GACCGCTTCTCCGGCAGCGGATCCGGCACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA
 GGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAGGATTATAGCTCTCCCTGGACCTTCG
 GTCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO:57)

人化A1 VL-版本1.0 蛋白質(CDR接枝入DPK24生殖世系，VKIV亞群)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSNDVAWYQQKPGQPPKLLIYFATNRYTGVP
 DRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQDYSSPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID
 NO: 58)

以下任一胺基酸皆可被取代於此等指定位置S43、N49、N60、T63、S43、
 Y67、F73、L85和F87。

人化A1 VL-版本1.1 DNA

GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCAC
 CATCAACTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGAGTAATGATGTGGCTTGGTACCAGCAGAAAC
 CAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTCTTTGCAACCAATCGCTACACTGGAGTCCCT
 GACCGCTTCTCCGGCAGCGGATACGGCACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA
 GGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAGGATTATAGCTCTCCCTGGACCTTCG
 GTCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO:59)

人化A1 VL-版本1.1蛋白質

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSNDVAWYQQKPGQPPKLLIYFATNRYTGVP
 DRFSGSGYGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQDYSSPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID
 NO: 60)

人化A1 VL-版本2.0 DNA

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTCGGAGACAGAGTCAC
 CATCACTTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGAGTAATGATGTGGCTTGGTATCAGCAGAAAC
 CAGGCAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATTTGCAACCAATCGCTACACTGGAGTCCCA
 TCCCGCTTCAGCGGCAGCGGATCCGGCACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA
 ACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAGGATTATAGCTCTCCCTGGACCTTCG
 GTCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO:61)

第 9D 圖

人化A1 VL-版本2.0 蛋白質(CDR接枝入DPK9生殖世系，VKI亞群)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVSNDAWYQQKPGKAPKLLIYFATNRYTGVP
SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQDYSSPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO: 62)

以下任一胺基酸皆可被取代於此等指定位置V3、Q42、S43、N49、N60、
Y67、F73、L85和F87。

人化A1 VL-版本2.1 DNA

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTCGGAGACAGAGTCAC
CATCACTTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGAGTAATGATGTGGCTTGGTATCAGCAGAAAC
CAGGCAAATCCCCTAAGCTCCTGATCTATTTTGCAACCAATCGCTACACTGGAGTCCCA
TCCCGCTTCAGCGGCAGCGGATCCGGCACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA
ACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAGGATTATAGCTCTCCCTGGACCTTCG
GTCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 63)

人化A1 VL-版本2.1蛋白質

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVSNDAWYQQKPGKSPKLLIYFATNRYTGVP
SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQDYSSPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO: 64)

人化A1 VL-版本2.2 DNA

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTCGGAGACAGAGTCAC
CATCACTTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGAGTAATGATGTGGCTTGGTATCAGCAGAAAC
CAGGCAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCaATTTTGCAACCAATCGCTACACTGGAGTCCCA
TCCCGCTTCAGCGGCAGCGGATCCGGCACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA
ACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAGGATTATAGCTCTCCCTGGACCTTCG
GTCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 65)

人化A1 VL-版本2.2蛋白質

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVSNDAWYQQKPGKAPKLLINFATNRYTGVP
SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQDYSSPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO: 66)

第 9E 圖

人化A1 VL-版本2.3 DNA

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTCGGAGACAGAGTCAC
CATCACTTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGAGTAATGATGTGGCTTGGTATCAGCAGAAAC
CAGGCAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATTTTGCAACCAATCGCTACACTGGAGTCCCA
AACCGCTTCAGCGGCAGCGGATCCGGCACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA
ACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAGGATTATAGCTCTCCCTGGACCTTCG
GTCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO:67)

人化A1 VL-版本2.3 蛋白質

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSVSNDVAWYQQKPGKAPKLLIYFATNRYTGVP
NRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQDYSSPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO:68)

人化A1 VL-版本2.4 DNA

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTCGGAGACAGAGTCAC
CATCACTTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGAGTAATGATGTGGCTTGGTATCAGCAGAAAC
CAGGCAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATTTTGCAACCAATCGCTACACTGGAGTCCCA
TCCCGCTTCAGCGGCAGCGGATACGGCACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA
ACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAGGATTATAGCTCTCCCTGGACCTTCG
GTCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO:69)

人化A1 VL-版本2.4蛋白質

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSVSNDVAWYQQKPGKAPKLLIYFATNRYTGVP
SRFSGSGYGTDFLTITISSLQPEDFATYYCQQDYSSPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO:70)

人化A1 VL-版本2.5 DNA

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTCGGAGACAGAGTCAC
CATCACTTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGAGTAATGATGTGGCTTGGTATCAGCAGAAAC
CAGGCAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATTTTGCAACCAATCGCTACACTGGAGTCCCA
TCCCGCTTCAGCGGCAGCGGATCCGGCACAGATTTCACTTTACCATCAGCAGCCTGCA
ACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAGGATTATAGCTCTCCCTGGACCTTCG
GTCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO:71)

人化A1 VL-版本2.5蛋白質

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSVSNDVAWYQQKPGKAPKLLIYFATNRYTGVP
SRFSGSGSGTDFTFTITISSLQPEDFATYYCQQDYSSPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO:72)

第 9F 圖

人化A1 VL-版本3.0 DNA

GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCCCTGTCTCCAGGCGAAAGAGCCAC
CCTCTCCTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGAGTAATGATGTGGCTTGGTACCAGCAGAAAC
CTGGGCAGGCTCCCAGGCTGCTGATCTATTTTGCAACCAATCGCTACACTGGCATCCCA
GCCCCGCTTCTCCGGCAGCGGCTCCGGCACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA
GCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTGTCAGCAGGATTATAGCTCTCCCTGGACCTTCG
GTCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO:73)

人化A1 VL-版本3.0 蛋白質(CDR接枝入DPK23生殖世系，VKIII亞群)

EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLIYFATNRYTGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQDYSSPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO:74)

以下任一胺基酸皆可被取代於此等指定位置F10、S43、N49、V58、
N60、Y67、F73、L85和F87。

人化A1 VL-版本3.1 DNA

GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCCCTGTCTCCAGGCGAAAGAGCCAC
CCTCTCCTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGAGTAATGATGTGGCTTGGTACCAGCAGAAAC
CTGGGCAGGCTCCCAGGCTGCTGATCTATTTTGCAACCAATCGCTACACTGGCATCCCA
GCCCCGCTTCTCCGGCAGCGGCTACGGCACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA
GCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTGTCAGCAGGATTATAGCTCTCCCTGGACCTTCG
GTCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO:75)

人化A1 VL-版本3.1蛋白質

EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSVSNDVAWYQQKPGQAPRLLIYFATNRYTGIP
ARFSGSGYGTDFLTISLQPEDFAVYYCQQDYSSPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID
NO:76)

第 9G 圖

huA2 VH版本1.0 (CDR接枝入DP-75生殖世系，VH1亞群)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYVISWVRQAPGQGLEWMGEIYPGSNSIY
YNEKFKGRVTMTRDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCARGGNYGFDYWGQGLTVTVSS
 (SEQ ID NO:77)

以下任一胺基酸皆可被取代於此等指定位置K38、R40、T41、I48、I69、T75、Q81、S82b、E85和M94。

huA2 VH版本2.0 (CDR接枝入DP-54生殖世系，VH3亞群)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTDYVISWVRQAPGKGLEWVAEIYPGSNSIY
YNEKFKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGNYGFDYWGQGLTVTVSS
 (SEQ ID NO:78)

以下任一胺基酸皆可被取代於此等指定位置K38、R40、T41、I48、I38、G49、A67、A71、K73、S74、S76、A78和M94。

huA2 VL版本1.0 (CDR接枝入DPK20生殖世系，VKIII亞群)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLCTASSSVNSNYLHWYQQKPGAPRLLIYSTSNLASGI
PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYHRSPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:79)

以下任一胺基酸皆可被取代於此等指定位置S43、W47、A60、S70、S77、M78和A80。

huA2 VL版本2.0 (CDR接枝入DPK9生殖世系，VKI亞群)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCTASSSVNSNYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCHQYHRSPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:80)

以下任一胺基酸皆可被取代於此等指定位置V3、L4、S43、W47、S70、和M78。

第 9H圖

huA3 VH版本1.0 (CDR接枝入DP-29生殖世系，VH3亞群)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKSNNYA
TTYADSVKDRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARQWDYDVRAMNYWGQGLV
 TVSS (SEQ ID NO:81)

以下任一胺基酸皆可被取代於此等指定位置A49、Q75、S76、M89、C91和V93。

huA3 VH版本2.0 (CDR接枝入DP-54生殖世系，VH3亞群)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKSNNYA
TTYADSVKDRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQWDYDVRAMNYWGQGLV
 TVSS (SEQ ID NO:82)

以下任一胺基酸皆可被取代於此等指定位置D73、Q75、S76、M89、C91和V93。

huA3 VL版本1.0 (CDR接枝入DPK24生殖世系，VKIV亞群)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQDVDTAVAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRLTGVP
DRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYSSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID
 NO:83)

以下任一胺基酸皆可被取代於此等指定位置S43、D85和F87。

huA3 VL版本2.0 (CDR接枝入DPK9生殖世系，VKI亞群)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVDTAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRLTGVP
SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYSSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID
 NO:84)

以下任一胺基酸皆可被取代於此等指定位置3V、Q42、S43、D60、D85和F87。

第 10A圖

FR1			CDR1	FR2	CDR2	FR3	SEQ ID NO.
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT				WVRQAPGQGLEWMG		RVTITRDTSTSTAYMELSSLRSED ~~TAVYYCAR~~	25-27
1-3	1-02	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	G--YYMH	WVRQAPGQGLEWMG	WINP--NSGGTNYAQKFQG	RVTMTRDTSTSTAYMELSSLRSDDTAVYYCAR	14
1-3	1-03	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	S--YAMH	WVRQAPGQRLWMG	WINA--GNGNTKYSQKFQG	RVTITRDTSTASTAYMELSSLRSED ~~TAVYYCAR~~	15
1-3	1-08	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	S--YDIN	WVRQATGQGLEWMG	WMNP--NSGNTGYAQKFQG	RVTMTRNTSISTAYMELSSLRSED ~~TAVYYCAR~~	16
1-2	1-18	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	S--YGIS	WVRQAPGQGLEWMG	WISA--YNGNTNYAQKLQG	RVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSDDTAVYYCAR	17
1-U	1-24	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLT	E--LSMH	WVRQAPGKGLEWMG	GFDP--EDGETIYAQKFQG	RVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSED ~~TAVYYCAT~~	18
1-3	1-45	QMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFT	Y--RYLH	WVRQAPGQALEWMG	WITP--FNGNTNYAQKFQD	RVTITRDRSMSTAYMELSSLRSED ~~TAMYYCAR~~	19
1-3	1-46	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	S--YYMH	WVRQAPGQGLEWMG	IINP--SGGSTSYAQKFQG	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED ~~TAVYYCAR~~	20
1-3	1-58	QMQLVQSGPEVKKPGTSVKVSCKASGFTFT	S--SAVQ	WVRQARGQRLWIG	WIVV--GSGNTNYAQKFQE	RVTITRDMSTSTAYMELSSLRSED ~~TAVYYCAA~~	21
1-2	1-69	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGCTFS	S--YAIS	WVRQAPGQGLEWMG	GIIP--IFGTANYAQKFQG	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED ~~TAVYYCAR~~	22
1-2	1-e	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGCTFS	S--YAIS	WVRQAPGQGLEWMG	GIIP--IFGTANYAQKFQG	RVTITADKSTSTAYMELSSLRSED ~~TAVYYCAR~~	23
1-2	1-f	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKVSGYTFT	D--YYMH	WVQQAPGKGLEWMG	LVDP--EDGETIYAQKFQG	RVTITADTSTDTAYMELSSLRSED ~~TAVYYCAT~~	24

第10B圖

VH 7亞群之人生殖世系之胺基酸序列

DP-21 (VH 7) GenBank Accession No. CAA43346 (SEQ ID NO:88)

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTSYAMNWVRQAPGQGLEWMGWIN
TNTGNPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDSEYDF
WSGYFYYYMDVWGKGTITVSS

VH 3亞群之人生殖世系之胺基酸序列

DP-54 (VH 3-07) GenBank Accession No. AB019440 (SEQ ID NO:89)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQ
DGSEKYYVDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

DP-47 (VH3-23) GenBank Accession No. AB019439 (SEQ ID NO:90)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS
GGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK

DP-49 (VH 3-30) GenBank Accession No. AB019439 (SEQ ID NO:91)

QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISY
DGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

DP-53 (VH3-74) GenBank Accession No. AB019437 (SEQ ID NO:92)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINS
DGSSTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

DP-48 (VH3-13) GenBank Accession No. AB019440 (SEQ ID NO:93)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVSAIGT
AGDTYYPGSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCAR

第 11 圖

SEQ ID NO.		CDR1	
29	L16_germline	...EIVMTQS	PATLSVSPGE RATLSCRASQ SVSS.NLAWY QQKPGQAPRL
30	L2_germline	...EIVMTQS	PATLSVSPGE RATLSCRASQ SVSS.NLAWY QQKPGQAPRL
31	A27_germl_VL	...EIVLTQS	PGTSLSPGE RATLSCRASQ SVSSSYLAWY QQKPGQAPRL
32	L6_germl_VL	...EIVLTQS	PATLSLSPGE RATLSCRASQ SVSS.YLAWY QQKPGQAPRL
33	L10_germl_VL	...EIVMTQS	PPTLSLSPGE RVTLSCRASQ SVSSSYLTWY QQKPGQAPRL
34	L25_geml_VL	EIVMTQS	PATLSLSPGE RATLSCRASQ SVSSSYLSWY QQKPGQAPRL
		CDR2	
29	L16_germline	LIYGASTRAT	GIPARFSGSG SGTEFTLTIS SLQSEDAVY YCQQYNNWPP TV
30	L2_germline	LIYGASTRAT	GIPARFSGSG SGTEFTLTIS SLQSEDAVY YCQQYNNWP.
31	A27_germl_VL	LIYGASSRAT	GIPDRFSGSG SGTDFTLTIS RLEPEDFAVY YCQYGSPP.
32	L6_germl_VL	LIYDASNRAT	GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCQQRSNWP.
33	L10_germl_VL	LIYGASTRAT	SIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLQPEDEAVY YCQQDHNLP.
34	L25_geml_VL	LIYGASTRAT	GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLQPEDEAVY YCQQDYNLP.
		CDR3	

第 12 圖

SEQ ID NO.		FR1		CDR1		FR2		CDR2		FR3		CDR3	
35	O12	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC		RASQSISS	-----YLN	WYQKPGKAPKLLIY		AASSLQS		GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC		QQSYSTP	
36	O2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC		RASQSISS	-----YLN	WYQKPGKAPKLLIY		AASSLQS		GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC		QQSYSTP	
37	O18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC		QASQDISN	-----YLN	WYQKPGKAPKLLIY		DASNLET		GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYC		QQYDNLP	
38	O8	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC		QASQDISN	-----YLN	WYQKPGKAPKLLIY		DASNLET		GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYC		QQYDNLP	
39	A20	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC		RASQGISN	-----YLA	WYQKPGKVPKLLIY		AASTLQS		GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYC		QKYN SAP	
40	L1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC		RASQGISN	-----YLA	WYQKPGKAPKSLIY		AASSLQS		GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC		QQYNSYP	
41	L15	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC		RASQGISS	-----WLA	WYQKPEKAPKSLIY		AASSLQS		GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC		QQYNSYP	
42	L8	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITTC		RASQGISS	-----YLA	WYQKPGKAPKLLIY		AASTLQS		GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC		QQLNSYP	
43	L12	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITTC		RASQSISS	-----WLA	WYQKPGKAPKLLIY		DASSLES		GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDEFATYYC		QQYNSYS	
44	L11	AIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC		RASQSISS	-----WLA	WYQKPGKAPKLLIY		DASSLES		GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC		QQYNSYS	

第 13 圖

Vk I亞群之人生殖世系之胺基酸序列

DPK9 (O12, Vk 1) GenBank Accession No. X59315 (SEQ ID NO:94)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTP

O2 (O2, Vk 1) GenBank Accession No. X59312 (SEQ ID NO:95)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTP

DPK 1 (Vk I,)18) GenBank Accession No. M64856 (SEQ ID NO:96)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE
TGVPSRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDATYYCQQYDNL

DPK 7 (Vk I, L15) GenBank Accession No. K01323 (SEQ ID NO:97)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYP

Vk IV亞群之人生殖世系之胺基酸序列

DPK24 (B3, VkIV) GenBank Accession No. Z00023 (SEQ ID NO:98)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPLLIY
WASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYYSTP

Vk III亞群之人生殖世系之胺基酸序列

DPK 23 (Vk-III, L25) GenBank Accession No. X72820 (SEQ ID NO:99)

EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLSWYQQKPGQAPRLLIYGASTRA
TGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQDYDNL

第 14 圖

人IgG4_突變(樞紐突變S241P) (SEQ ID NO:45)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP~~P~~CPAPEFLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS
RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

人IgG1 (SEQ ID NO:46)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

人κ (SEQ ID NO:47)

TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

第 15 圖

黑尾狒狒5T4

MPGGCSRGPAAGNGRLRLARLALVLLGWVSSSSPTSSASSSSSSAPFLASAVSAQPLL
GQCPALCECSEAARTVKCVNRNLTEVPTDLPPYVRNLFLTGNQLAVLPAGAFARVPPLA
ELAALNLSGSRLEDVQAGAFEHLPSLRQLDLSHNPLAVLSPFAFSGSNASVSAPSPLVE
LILNHIVPPEDERNRNSFEGMVVAALRAGGALHGLHRLELASNHFLYLPRDVLAQLPSL
RHLDSLNNSLVSLTYVSFRNLTHLESLHLEDNALKVLHNGTLAELQGLPHVRVFLDNNP
WVCDCHMADMVAWLKETEVVQGYQLTCAFPEKMRNRVLLELNSADLDCDPILPPSLQT
SYVFLGIVLALIG (SEQ ID NO:85)

馬來猴5T4

MPGGCSRGPAAGDGRRLRLARLALVLLGWVSSSSPTSSASSFSSSAPFLASAASAQPPLP
DQCPALCECSEAARTVKCVNRNLTEVPTDLPLYVRNLFLTGNQLAVLPAGAFARRPPLA
ELAALNLSGSRLEVRAGAFEHLPSLRQLDLSHNPLAYLSPFAFSGSNASISAPSPLVE
LILNHIVPPDDKRQNRNSFEGMVAAALVAGRALQGLHLELASNHFLYLPRDVLAQLPSL
RYLDLSNNSLVSLTYVSFRNLTHLESLHLEDNALKVLHNGTLAELQGLPHVRVFLDNNP
WVCDCHMADMVTWLKQTEVVQGDRLTCAFPEKMRNRVLLELNSADLDCDPILPPSLQT
SYVFLGIVLALIGAIFFLLVLYLNRKGIKKWMHNIRDACRDHMEGYHYRYEINADPRLTN
LSSNSDV (SEQ ID NO:86)

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (6A) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

每孔750至5,000細胞之密度播種於96孔多孔板。播種後，細胞暴露於各種濃度(0、0.01、0.05、0.1、1、10、100及500奈克卡利徵素當量/毫升)之卡利徵素、CMA-676、及抗5T4抗體之卡利徵素軛合物。於測定暴露於藥物96小時存活細胞數目後，基於衍生自劑量-反應曲線之邏輯迴歸參數來計算ED₅₀。ED₅₀係定義為暴露於藥物96小時後，造成細胞數目死亡50%之藥物(CalichDMH)之濃度。卡利徵素當量(cal.eq.)為以純物質表示或以軛合物表示之卡利徵素濃度。依據與抗體結合之卡利徵素數量而定(抗體藥物負載量)，不同的卡利徵素當量係指示不同的蛋白質濃度。

MTS檢定分析結果顯示於表9。使用A1及A3抗5T4檢定分析所製備之抗體/卡利徵素軛合物實質上可降低MDAMB435/5T4細胞的存活率。選擇性數值係比較軛合物之特異性活性與非特異性活性計算。換言之5T4表現細胞CalichDMN數值之倍數(fold)除以未表現5T4細胞CalichDMH值之倍數。當使用非特異性抗體例如hp67.6 (CMA-676)時，CalichDMH值之倍數約略相等，故選擇性為1。

表 9
MTS檢定分析結果

處理	細胞系	
	MDAMB435/neo ED50 (奈克/毫升)	MDAMB435/5T4 ED50 (奈克/毫升)
CalichDMH	3.3 - 5.0	5.0 - 8.0
huH8-ActBut-CalichDMH	0.4 - 0.8	0.08 - 0.1
CMA-676	34 - 60	50 -100
A1-ActBut-CalichDMH	22 - 34	0.4 - 0.6
A2-ActBut-CalichDMH	60	40
A3-ActBut-CalichDMH	20 - 20	0.3 - 20

處理	細胞系	
	MDAMB435/neo CalichDMH之 倍數	MDAMB435/5T4 CalichDMH之 倍數
CalichDMH	1.0-1.0	1.0-1.0
huH8-ActBut-CalichDMH	4.0-12.5	50-100
CMA-676	0.08-0.1	0.08-0.1
A1-ActBut-CalichDMH	0.14-0.15	13-13
A2-ActBut-CalichDMH	0.06	0.13
A3-ActBut-CalichDMH	0.17-0.25	0.4-17

選擇性：H8=8;hP67.6=1;A1=93;A3=1.6

- 5
- CalichDMH，未經軛合之卡利徵素
- huH8-AcBut-CalichDMH，使用4-(4'-乙醯基苯氧基)丁酸(AuBut)軛合至卡利徵素之人化H8抗體
- CMA-676，抗-CD33/卡利徵素軛合物
- A1-AcBut-CalichDMH，使用4-(4'-乙醯基苯氧基)丁酸(AuBut)軛合至卡利徵素之A1
- 10
- 抗體
- A2-AcBut-CalichDMH，使用4-(4'-乙醯基苯氧基)丁酸(AuBut)軛合至卡利徵素之A2
- 抗體
- A3-AcBut-CalichDMH，使用4-(4'-乙醯基苯氧基)丁酸(AuBut)軛合至卡利徵素之A3
- 抗體

序 列 表

10年04月26日修正表

<110> 惠氏藥廠
<120> 抗-5T4 抗體及其用途

<130> 對應於 040000-0359813

<140>
<141>

<150> 60/891,248
<151> 2007-02-23

<150> 60/781,346
<151> 2006-03-10

<160> 99

<170> PatentIn 版本 3.4

<210> 1
<211> 414
<212> DNA
<213> 小鼠

<220>
<221> 其他特徵
<222> (1)..(57)
<223> 先導子序列

<220>
<221> 其他特徵
<222> (58)..(414)
<223> 重鏈可變區

<220>
<221> 其他差異
<222> (260)..(260)
<223> n 為 g 或 t

<400> 1
atggattggc tgtggaactt gctattcctg atggcagctg cccaaagtat ccaagcacag 60
atccagttgg tgcagtctgg acctgagctg aagaagcctg gagagacagt caagatctcc 120
tgcaaggcctt ctggatatac cttcacaaac ttggaatga actgggtgaa gcagggtcca 180
ggagagggtt taaagtggat gggctggata aacaccaaca ctggagagcc aagatatgct 240

gaagagttca agggacggtn tgccitttct ttggaaacca ctgccagcac tgcctatttg 300
cagatcaaca acctcaaaaa tgaggacacg gctacatatt tctgtgcaag agactgggac 360
ggtgcctact tctttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctca 414

<210> 2
<211> 138
<212> PRT
<213> 小鼠

<220>
<221> 其他特徵
<222> (1)..(19)
<223> 先導子序列

<220>
<221> 其他特徵
<222> (20)..(138)
<223> 重鏈可變區

<220>
<221> 其他特徵
<222> (45)..(54)
<223> CDR1

<220>
<221> 其他特徵
<222> (69)..(85)
<223> CDR2

<220>
<221> 突變原
<222> (87)..(87)
<223> Xaa 為半胱胺酸(C)或苯丙胺酸(F); 此乃根據 Kabat 編碼位置 67

<220>
<221> 其他特徵
<222> (118)..(127)
<223> CDR3

<400> 2

Met Asp Trp Leu Trp Asn Leu Leu Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser
1 5 10 15

Ile Gln Ala Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asn Phe Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Gly Pro Gly Glu Gly Leu
50 55 60

Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Arg Tyr Ala
65 70 75 80

Glu Glu Phe Lys Gly Arg Xaa Ala Phe Ser Leu Glu Thr Thr Ala Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Trp Asp Gly Ala Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp
115 120 125

Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
130 135

- <210> 3
- <211> 381
- <212> DNA
- <213> 小鼠

- <220>
- <221> 其他特徵
- <222> (1)..(60)
- <223> 先導子序列

- <220>
- <221> 其他特徵
- <222> (61)..(381)
- <223> 輕鏈可變區

<400> 3
atgaagtcac agaccaggt cttcgtatit ctactgctct gtgtgtctgg tgctcatggg 60
agtattgtga tgaccagac tcccaaattc ctgcttgitt cagcaggaga cagggtgacc 120
ataacctgca aggccagtca gagtgtgagt aatgatgtag cttggtacca acagaagcca 180
gggcagtctc ctaaactggt gataaacttt gcaaccaatc gctacactgg agtccctaata 240
cgcttcactg gcagtggata tgggacggat ttactttca ccatcagcac tgtgcaggct 300
gaagacctgg cactttatit ctgtcagcag gattatagct ctccgtggac gticgggtga 360
ggcaccaagc tggaaatcaa a 381

<210> 4
<211> 127
<212> PRT
<213> 小鼠

<220>
<221> 其他特徵
<222> (1)..(20)
<223> 先導子序列

<220>
<221> 其他特徵
<222> (21)..(127)
<223> 輕鏈可變區

<220>
<221> 其他特徵
<222> (44)..(54)
<223> CDR1

<220>
<221> 其他特徵
<222> (70)..(76)
<223> CDR2

<220>
<221> 其他特徵
<222> (109)..(117)
<223> CDR3

<400> 4

Met Lys Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Phe Leu Leu Leu Cys Val Ser
1 5 10 15

Gly Ala His Gly Ser Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Lys Phe Leu Leu
20 25 30

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

Val Ser Asn Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Asn Phe Ala Thr Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asn
65 70 75 80

Arg Phe Thr Gly Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser
85 90 95

Thr Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Tyr
100 105 110

Ser Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
115 120 125

<210> 5
<211> 405
<212> DNA
<213> 小鼠

<220>
<221> 其他特徵
<222> (1)..(54)
<223> 先導子序列

<220>
<221> 其他特徵
<222> (55)..(405)
<223> 重鏈可變區

<400> 5

atggaatgga ggatctttct ctcatcctg tcaggaactg caggtgtcca ctcccaggtt	60
cagctgcagc agtctagacc tgagctgggtg aagcctgggg cttcagtga gatgtcctgc	120
aaggcttctg gatacacttt cactgactat gttataagct gggatgaagca gagaactgga	180
cagggccttg agtggattgg agagatttat cctggaagta atagtattta ttacaatgag	240
aagtccaagg gcagggccac actgactgca gacaaatcct ccagcacagc ctacatgcag	300
ctcagcagcc tgacatctga ggactctgcg gtctatttct gtgcaatggg gggtaactac	360
ggctttgact attggggcca aggcaccact ctacagttct cctca	405

<210> 6
 <211> 135
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<220>
 <221> 其他特徵
 <222> (1)..(18)
 <223> 先導子序列

<220>
 <221> 其他特徵
 <222> (19)..(135)
 <223> 重鏈可變區

<220>
 <221> 其他特徵
 <222> (44)..(53)
 <223> CDR1

<220>
 <221> 其他特徵
 <222> (68)..(84)
 <223> CDR2

<220>
 <221> 其他特徵
 <222> (117)..(124)
 <223> CDR3

<400> 6

Met Glu Trp Arg Ile Phe Leu Phe Ile Leu Ser Gly Thr Ala Gly Val

1	5	10	15
His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Arg Pro Glu Leu Val Lys Pro	20	25	30
Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr	35	40	45
Asp Tyr Val Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu	50	55	60
Trp Ile Gly Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Asn Ser Ile Tyr Tyr Asn Glu	65	70	75
Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr	85	90	95
Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr	100	105	110
Phe Cys Ala Met Gly Gly Asn Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly	115	120	125
Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser	130	135	

<210> 7
<211> 390
<212> DNA
<213> 小鼠

<220>
<221> 其他特徵
<222> (1)..(66)
<223> 先導子序列

<220>
<221> 其他特徵
<222> (67)..(390)

<223> 輕鏈可變區

<400> 7

atggatatttc aggtgcagat tttcagcttc ctgctaataca gtgcctcagt cataatgtcc	60
agaggacaaa ttgttctcac ccagtctcca gcaatcatgt ctgcatctct aggggaacgg	120
gtcaccttga cctgcactgc cagctcaagt gtaaattcca attacttaca ctggtaccag	180
cagaagccag gatcctcccc caaactctgg atttatagca catccaacct ggcttctgga	240
gtcccagctc gcttcagtgg cagtgggtct gggacctctt actctctcac aatcagcagc	300
atggaggctg aagatgctgc cacttattac tgccaccagt atcatcgttc cccgctcacg	360
ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa	390

<210> 8

<211> 130

<212> PRT

<213> 小鼠

<220>

<221> 其他特徵

<222> (1)..(22)

<223> 先導子序列

<220>

<221> 其他特徵

<222> (23)..(130)

<223> 輕鏈可變區

<220>

<221> 其他特徵

<222> (46)..(56)

<223> CDR1

<220>

<221> 其他特徵

<222> (73)..(79)

<223> CDR2

<220>

<221> 其他特徵

<222> (112)..(120)

<223> CDR3

<400> 8

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1 5 10 15

Val Ile Met Ser Arg Gly Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile
20 25 30

Met Ser Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser
35 40 45

Ser Ser Val Asn Ser Asn Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
50 55 60

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

Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu
85 90 95

Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His
100 105 110

Gln Tyr His Arg Ser Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
115 120 125

Leu Lys
130

<210> 9

<211> 423

<212> DNA

<213> 小鼠

<220>

<221> 其他特徵

<222> (1)..(57)

<223> 先導子序列

<220>

<221> 其他特徵

<222> (58)..(423)

<223> 重鏈可變區

<220>

<221> misc_difference

<222> (347)..(347)

<223> n i s g o r a

<400> 9

atgctgttgg ggctgaagtg ggttttcttt gttgtttttt atcaagggtg gcattgtgag 60

gtgcagcttg ttgagtctgg tggaggattg gtgcagccta aagggtcatt gaaactctca 120

tgtgcagcct ctggattcac ctccaatacc tacgccatga actgggtccg ccaggctcca 180

ggaaagggtt tggaatgggt tgctcgcata agaagtaaaa gtaataatta tgcaacatat 240

tatgccgatt cagtgaaga caggttcacc atctccagag atgattcaca aagcatgctc 300

tatctgcaaa tgaacaactt gaaaactgaa gacacagcca tgtattnctg tgtgagacag 360

tgggattacg acgtcagggc tatgaactac tgggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc 420

tca 423

<210> 10

<211> 141

<212> PRT

<213> 小鼠

<220>

<221> 其他特徵

<222> (1)..(19)

<223> 先導子序列

<220>

<221> 其他特徵

<222> (20)..(141)

<223> 重鏈可變區

<220>

<221> 其他特徵

<222> (45)..(54)

<223> CDR1

<220>

<221> 其他特徵

<222> (69)..(87)

<223> CDR2

<220>

<221> 突變原

<222> (116)..(116)

<223> Xaa 為半胱胺酸(C)或酪胺酸(Y); 此乃根據 Kabat 編碼位置 91

<220>

<221> 其他特徵

<222> (120)..(130)

<223> CDR3

<400> 10

Met Leu Leu Gly Leu Lys Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln Gly
1 5 10 15

Val His Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
85 90 95

Gln Ser Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Met Tyr Xaa Cys Val Arg Gln Trp Asp Tyr Asp Val Arg Ala Met
115 120 125

Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

<210> 11
<211> 381
<212> DNA
<213> 小鼠

<220>
<221> 其他特徵
<222> (1)..(60)
<223> 先導子序列

<220>
<221> 其他特徵
<222> (61)..(381)
<223> 輕鏈可變區

<400> 11
atggagacac attctcaggt ctttgtatac atgttgctgt ggttgtctgg tgttgaagga 60
gacattgtga tgaccacagtc tcacatatc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 120
atcacctgca aggccagtca ggatgtggat actgctgtag cctggatatca acagaaacca 180
gggcaatctc cttaaactact gatttactgg gcatccaccc ggctcactgg agtccctgat 240
cgcttcacag gcagtggatc tgggacggat ttactctca ccattagcaa tgtgcagtct 300
gaagacttgg cagattatct ctgtcagcaa tatagcagct atccgtacac gttcggaggg 360
gggaccaagc tggaaataaa a 381

<210> 12
<211> 127
<212> PRT
<213> 小鼠

<220>
<221> 其他特徵
<222> (1)..(20)
<223> 先導子序列

<220>
<221> 其他特徵

<222> (21)..(127)

<223> 輕鏈可變區

<220>

<221> 其他特徵

<222> (44)..(54)

<223> CDR1

<220>

<221> 其他特徵

<222> (70)..(76)

<223> CDR2

<220>

<221> 其他特徵

<222> (109)..(117)

<223> CDR3

<400> 12

Met Glu Thr His Ser Gln Val Phe Val Tyr Met Leu Leu Trp Leu Ser
1 5 10 15

Gly Val Glu Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Ile Phe Met Ser
20 25 30

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

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

Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Leu Thr Gly Val Pro Asp
65 70 75 80

Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser
100 105 110

Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

115	120	125
<210> 13		
<211> 98		
<212> PRT		
<213> 人		
<400> 13		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1 5 10 15		
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr		
20 25 30		
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35 40 45		
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe		
50 55 60		
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
65 70 75 80		
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85 90 95		
Ala Arg		

<210> 14		
<211> 98		
<212> PRT		
<213> 人		
<400> 14		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1 5 10 15		

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

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

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

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

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

Ala Arg

<210> 15
<211> 98
<212> PRT
<213> 人

<400> 15

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

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

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

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

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

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

Ala Arg

<210> 16
<211> 98
<212> PRT
<213> 人

<400> 16

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

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

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

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

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

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

Ala Arg

<210> 17
<211> 98
<212> PRT
<213> 人

<400> 17

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

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

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

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

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

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

Ala Arg

<210> 18

<211> 98

<212> PRT

<213> 人

<400> 18

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
20 25 30

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

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

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

Ala Thr

<210> 19
<211> 98
<212> PRT
<213> 人

<400> 19

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

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

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

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

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

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

Ala Arg

<210> 20
<211> 98
<212> PRT
<213> 人

<400> 20

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

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

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

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

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

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

Ala Arg

<210> 21
<211> 98
<212> PRT
<213> 人

<400> 21

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

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

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

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

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

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

Ala Ala

<210> 22
<211> 98
<212> PRT
<213> 人

<400> 22

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

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

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

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

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

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

85

90

95

Ala Arg

<210> 23

<211> 98

<212> PRT

<213> 人

<400> 23

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

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

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

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

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

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

Ala Arg

<210> 24

<211> 98

<212> PRT

<213> 人

<400> 24

102.4.26

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

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

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

Gly Leu Val Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Thr

<210>	25
<211>	30
<212>	PRT
<213>	人造

<220>
<223> 人 VH1 重鏈可變區架構 1 之同位序列

<400> 25

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

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

<210>	26
<211>	14
<212>	PRT
<213>	人造

<220>

<223> 人 VH1 重鏈可變區架構 2 之同位序列

<400> 26

Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly
1				5					10				

<210> 27

<211> 32

<212> PRT

<213> 人造

<220>

<223> 人 VH1 重鏈可變區架構 3 之同位序列

<400> 27

Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu
1				5				10						15	

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

<210> 28

<211> 101

<212> PRT

<213> 人

<400> 28

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

Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Asn	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Val	Leu	Tyr	Ser
			20					25					30		

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

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

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

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

Tyr Tyr Ser Thr Pro
100

<210> 29
<211> 98
<212> PRT
<213> 人

<400> 29

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

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

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

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

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

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

Thr Val

<210> 30
<211> 98
<212> PRT
<213> 人

<400> 30

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

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

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

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

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

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

Thr Val

<210> 31
<211> 96
<212> PRT
<213> 人

<400> 31

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

<210> 32

<211> 95

<212> PRT

<213> 人

<400> 32

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

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

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

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

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

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

<210> 33

<211> 96
<212> PRT
<213> 人

<400> 33

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

Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

<210> 34
<211> 96
<212> PRT
<213> 人

<400> 34

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

<210> 35
<211> 95
<212> PRT
<213> 人

<400> 35

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 Ser Ile Ser 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 Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro
85 90 95

<210> 36
<211> 95
<212> PRT
<213> 人

<400> 36

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 Ser Ile Ser 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 Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro
85 90 95

<210> 37
<211> 95
<212> PRT
<213> 人

<400> 37

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

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

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

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

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

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

<210> 38
<211> 95
<212> PRT
<213> 人

<400> 38

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

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

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

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

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

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

<210> 39
<211> 95
<212> PRT
<213> 人

<400> 39

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr

20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile		
35	40	45
Tyr Ala Ala Ser Thr 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro		
	85	90
		95

<210> 40
<211> 95
<212> PRT
<213> 人

<400> 40

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
		15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr		
	20	25
		30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser 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 Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro		
	85	90
		95

<210> 41
<211> 95
<212> PRT
<213> 人

<400> 41

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser 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 Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro
85 90 95

<210> 42
<211> 95
<212> PRT
<213> 人

<400> 42

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

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

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

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

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

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

<210> 43
<211> 95
<212> PRT
<213> 人

<400> 43

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

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

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

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

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

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

<210> 44
<211> 95
<212> PRT
<213> 人

<400> 44

Ala 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 Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

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

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

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

<210> 45

<211> 327

<212> PRT

<213> 人

<400> 45

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

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

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

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

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

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 46
<211> 330
<212> PRT
<213> 人

<400> 46

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

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

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

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

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 47
<211> 330
<212> PRT
<213> 人

<400> 47

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

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

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

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

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 48
<211> 357
<212> DNA
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 48
caggtgcagc tgggtgcaatc tgggtctgag ttgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
tcctgcaagg ctcttgata taccttcaca aactttggaa tgaactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttaagtg gatgggatgg ataaacacca aacttgaga gccaaagatat 180
gctgaagagt tcaaggagc gtttgtcttc tccttgaca cctctgtcag cactgcctat 240
ctgcagatct ccagcctgaa ggctgaggac actgccgtgt attactgtgc cagagactgg 300
gacggtgcct acttctttga ctactggggc caaggcaccc ttgtcacagt ctcctca 357

<210> 49
<211> 119
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<220>
<221> 其他特徵
<222> (23)..(35)
<223> CDR1

<220>
<221> 其他特徵
<222> (50)..(66)
<223> CDR2

<220>
<221> 其他特徵
<222> (99)..(108)
<223> CDR3

<400> 49

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Arg Tyr Ala Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

- <210> 50
- <211> 357
- <212> DNA
- <213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 50
caggtgcagc tgggtgcaatc tgggtctgag ttgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
tcctgcaagg ctcttgata taccttcaca aactttggaa tgaactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg ataaacacca aactggaga gccaaatat 180

gctgaagagt tcaagggacg gtttgtcttc tccttggaca cctctgtcag cactgcctat 240
ctgcagatct ccagcctgaa ggctgaggac actgccgtgt attactgtgc cagagactgg 300
gacggtgcct acttctttga ctactggggc caaggcaccc ttgtcacagt ctcctca 357

<210> 51
<211> 119
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 51

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Arg Tyr Ala Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 52
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人造

<220>
 <223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 52

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Arg Tyr Ala Glu Glu Phe
 50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 53
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> 人造

<220>

<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 53

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggata taccttcaca aactttggaa tgaactgggt ccgccaggct	120
ccagggaagg ggctggagtg ggtggcctgg ataaacacca acaccggtga gccaagatat	180
gctgaagagt tcaagggacg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac accgctgtgt attactgtgc cagagactgg	300
gacggtgcct acttctttga ctactggggc caaggcaccc ttgtcacagt ctctctca	357

<210> 54

<211> 119

<212> PRT

<213> 人造

<220>

<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 54

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 55
<211> 357
<212> DNA
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 55
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggata taccttcaca aactttggaa tgaactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctgaagtg gatgggctgg ataaacacca acaccggtga gccaaagatat 180
gctgaagagt tcaagggacg attcaccatc tccctggaca acgccaagtc ctcagcctat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac accgctgtgt attactgtgc cagagactgg 300
gacggtgcct acttccttga ctactggggc caaggcaccc ttgtcacagt ctctctca 357

<210> 56
<211> 119
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 56

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Arg Tyr Ala Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 57
<211> 321
<212> DNA
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 57
gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgca aggccagtca gagtgtgagt aatgatgtgg cttggtacca gcagaaacca 120
ggacagcctc ctaagctgct catctacttt gcaaccaatc gctacactgg agtccctgac 180
cgcttctccg gcagcggatc cggcacagat ttactctca ccatcagcag cctgcaggct 240
gaagatgtgg cagtttatta ctgtcagcag gattatagct ctccctggac cttcggtcag 300
ggcaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 58
<211> 107
<212> PRT

<213> 人造

<220>

<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 58

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 59

<211> 321

<212> PRT

<213> 人造

<220>

<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 59

Gly Ala Cys Ala Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Cys Thr Cys Cys Cys Thr
20 25 30

Gly Gly Cys Thr Gly Thr Gly Thr Cys Thr Cys Thr Gly Gly Gly Cys
35 40 45

Gly Ala Gly Ala Gly Gly Gly Cys Cys Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala
50 55 60

Ala Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Cys Ala Gly Thr Cys Ala
65 70 75 80

Gly Ala Gly Thr Gly Thr Gly Ala Gly Thr Ala Ala Thr Gly Ala Thr
85 90 95

Gly Thr Gly Gly Cys Thr Thr Gly Gly Thr Ala Cys Cys Ala Gly Cys
100 105 110

Ala Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Gly Gly Ala Cys Ala Gly Cys Cys
115 120 125

Thr Cys Cys Thr Ala Ala Gly Cys Thr Gly Cys Thr Cys Ala Thr Thr
130 135 140

Thr Ala Cys Thr Thr Thr Gly Cys Ala Ala Cys Cys Ala Ala Thr Cys
145 150 155 160

Gly Cys Thr Ala Cys Ala Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr Cys Cys Cys
165 170 175

Thr Gly Ala Cys Cys Gly Cys Thr Thr Cys Thr Cys Cys Gly Gly Cys
180 185 190

Ala Gly Cys Gly Gly Ala Thr Ala Cys Gly Gly Cys Ala Cys Ala Gly
195 200 205

Ala Thr Thr Thr Cys Ala Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr
210 215 220

Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Thr
225 230 235 240

Gly Ala Ala Gly Ala Thr Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr Thr Thr
245 250 255

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Gly Ala
260 265 270

Thr Thr Ala Thr Ala Gly Cys Thr Cys Thr Cys Cys Cys Thr Gly Gly
275 280 285

Ala Cys Cys Thr Thr Cys Gly Gly Thr Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala
290 295 300

Cys Cys Ala Ala Gly Gly Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Ala
305 310 315 320

Ala

<210> 60
<211> 107
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 60

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 61
<211> 321
<212> DNA
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 61
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cagagtcacc 60
atcacttgca aggccagtca gagtgtgagt aatgatgtgg cttggtatca gcagaaacca 120
ggcaaagccc ctaagctcct gatctatttt gcaaccaatc gctacactgg agtcccatcc 180
cgcttcagcg gcagcggatc cggcacagat ttactctca ccatcagcag cctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcag gattatagct ctccctggac cttcggtcag 300
ggcaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 62
<211> 107
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 62

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

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

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

Tyr Phe Ala Thr Asn Arg Tyr Thr 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 Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Trp
85 90 95

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

<210> 63
<211> 321
<212> DNA
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 63
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cagagtcacc 60
atcacttgca aggccagtca gagtgtgagt aatgatgtgg cttggtatca gcagaaacca 120
ggcaaatccc ctaagctcct gatctatitt gcaaccaatc gctacactgg agtcccatcc 180
cgcttcagcg gcagcggatc cggcacagat ttactctca ccatcagcag cctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcag gattatagct ctccctggac cttcggtcag 300
ggcaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 64
<211> 107
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 64

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

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

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

Tyr Phe Ala Thr Asn Arg Tyr Thr 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 Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Trp
85 90 95

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

<210> 65
<211> 321
<212> DNA
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 65

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cagagtcacc 60
atcacttgca aggccagtca gagtgtgagt aatgatgtgg cttggtatca gcagaaacca 120
ggcaaagccc ctaagctcct gatcaatttt gcaaccaatc gctacactgg agtcccatcc 180
cgcttcagcg gcagcggatc cggcacagat ttactctca ccatcagcag cctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcag gattatagct ctccctggac cttcggtcag 300
ggcaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 66
<211> 107
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 66

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

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

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

Asn Phe Ala Thr Asn Arg Tyr Thr 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 Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Trp
85 90 95

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

<210> 67
<211> 321
<212> DNA
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 67
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cagagtcacc 60
atcacttgca aggccagtca gagtgtgagt aatgatgtgg cttggtatca gcagaaacca 120
ggcaaagccc ctaagctcct gatctatitt gcaaccaatc gctacactgg agtcccaaac 180
cgcttcagcg gcagcggatc cggcacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcag gattatagct ctccctggac cttcgggtcag 300
ggcaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 68
<211> 107
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 68
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Phe Ala Thr Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asn 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 Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Trp
85 90 95

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

<210> 69
<211> 321
<212> DNA
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 69
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cagagtcacc 60
atcacttgca aggccagtca gagtgtgagt aatgatgtgg cttggtatca gcagaaacca 120
ggcaaagccc ctaagctcct gatctatttt gcaaccaatc gctacactgg agtcccatcc 180
cgcttcagcg gcagcggata cggcacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcag gattatagct ctccctggac cttcggtcag 300
ggcaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 70
<211> 107
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 70

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

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

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

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

Ser Gly Tyr 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 Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Trp
85 90 95

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

<210> 71
<211> 321
<212> DNA
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 71
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cagagtcacc 60
atcacttgca aggccagtca gagtgtgagt aatgatgtgg cttgggtatca gcagaaacca 120
ggcaaagccc ctaagctcct gatctatitt gcaaccaatc gctacactgg agtcccatcc 180
cgcttcagcg gcagcggatc cggcacagat ttacatttca ccatcagcag cctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcag gattatagct ctccctggac cttcggtcag 300
ggcaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 72
<211> 107
<212> PRT

<213> 人造

<220>

<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 72

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

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

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

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

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

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

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

<210> 73

<211> 321

<212> DNA

<213> 人造

<220>

<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 73

gaaattgtga tgacacagtc tccagccacc ctgtccctgt ctccaggcga aagagccacc 60

ctctcctgca aggccagtca gagtgtgagt aatgatgtgg ctgggtacca gcagaaacct 120

gggcaggctc ccaggctgct gatctatitit gcaaccaatc gctacactgg catcccagcc 180

cgcttctccg gcagcggctc cggcacagac ttactctca ccatcagcag cctgcagcct240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag gattatagct ctccctggac cttcggtcag300

ggcaccaagg tggaaatcaa a321

<210> 74
<211> 107
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 74

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

151015

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp

202530

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

354045

Tyr Phe Ala Thr Asn Arg Tyr Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

505560

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65707580

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Trp

859095

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100105

<210> 75
<211> 321
<212> DNA

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

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

<210> 77
<211> 117
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 77

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

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

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

Gly Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Asn Ser Ile Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 78
<211> 117
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 78

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

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

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

Ala Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Asn Ser Ile Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 79
<211> 108
<212> PRT
<213> 人造

<220>

<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 79

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

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

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

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

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

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

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

<210> 80

<211> 108

<212> PRT

<213> 人造

<220>

<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 80

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 Thr Ala Ser Ser Ser Val Asn Ser Asn
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 81
<211> 122
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列
<400> 81

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Ala Arg Gln Trp Asp Tyr Asp Val Arg Ala Met Asn Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 82

<211> 122

<212> PRT

<213> 人造

<220>

<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 82

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Ala Arg Gln Trp Asp Tyr Asp Val Arg Ala Met Asn Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83
<211> 107
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 83

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asp Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 84
<211> 107
<212> PRT
<213> 人造

<220>
<223> 衍生自人序列和小鼠序列

<400> 84

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

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Leu Thr 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 Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

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

- <210> 85
- <211> 367
- <212> PRT
- <213> 狨猿

- <220>
- <221> 其他特徵
- <222> (1)..(29)
- <223> 先導子序列

- <220>
- <221> mat_peptide
- <222> (30)..(367)
- <223> 成熟胜肽 - 部分序列

- <220>
- <221> 其他特徵

<222> (30)..(356)

<223> 外功能部位

<400> 85

Met Pro Gly Gly Cys Ser Arg Gly Pro Ala Ala Gly Asn Gly Arg Leu
 -25 -20 -15

Arg Leu Ala Arg Leu Ala Leu Val Leu Leu Gly Trp Val Ser Ser Ser
 -10 -5 -1 1

Ser Pro Thr Ser Ser Ala Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ala Pro Phe Leu
 5 10 15

Ala Ser Ala Val Ser Ala Gln Pro Leu Leu Pro Gly Gln Cys Pro Ala
 20 25 30 35

Leu Cys Glu Cys Ser Glu Ala Ala Arg Thr Val Lys Cys Val Asn Arg
 40 45 50

Asn Leu Thr Glu Val Pro Thr Asp Leu Pro Pro Tyr Val Arg Asn Leu
 55 60 65

Phe Leu Thr Gly Asn Gln Leu Ala Val Leu Pro Ala Gly Ala Phe Ala
 70 75 80

Arg Val Pro Pro Leu Ala Glu Leu Ala Ala Leu Asn Leu Ser Gly Ser
 85 90 95

Arg Leu Glu Asp Val Gln Ala Gly Ala Phe Glu His Leu Pro Ser Leu
 100 105 110 115

Arg Gln Leu Asp Leu Ser His Asn Pro Leu Ala Val Leu Ser Pro Phe
 120 125 130

Ala Phe Ser Gly Ser Asn Ala Ser Val Ser Ala Pro Ser Pro Leu Val
 135 140 145

Glu Leu Ile Leu Asn His Ile Val Pro Pro Glu Asp Glu Arg Asn Asn
150 155 160

Arg Ser Phe Glu Gly Met Val Val Ala Ala Leu Arg Ala Gly Gly Ala
165 170 175

Leu His Gly Leu His Arg Leu Glu Leu Ala Ser Asn His Phe Leu Tyr
180 185 190 195

Leu Pro Arg Asp Val Leu Ala Gln Leu Pro Ser Leu Arg His Leu Asp
200 205 210

Leu Ser Asn Asn Ser Leu Val Ser Leu Thr Tyr Val Ser Phe Arg Asn
215 220 225

Leu Thr His Leu Glu Ser Leu His Leu Glu Asp Asn Ala Leu Lys Val
230 235 240

Leu His Asn Gly Thr Leu Ala Glu Leu Gln Gly Leu Pro His Val Arg
245 250 255

Val Phe Leu Asp Asn Asn Pro Trp Val Cys Asp Cys His Met Ala Asp
260 265 270 275

Met Val Ala Trp Leu Lys Glu Thr Glu Val Val Gln Gly Lys Tyr Gln
280 285 290

Leu Thr Cys Ala Phe Pro Glu Lys Met Arg Asn Arg Val Leu Leu Glu
295 300 305

Leu Asn Ser Ala Asp Leu Asp Cys Asp Pro Ile Leu Pro Pro Ser Leu
310 315 320

Gln Thr Ser Tyr Val Phe Leu Gly Ile Val Leu Ala Leu Ile Gly
325 330 335

<210> 86

<400> 86

Phe Leu Thr Gly Asn Gln Leu Ala Val Leu Pro Ala Gly Ala Phe Ala
70 75 80

Arg Arg Pro Pro Leu Ala Glu Leu Ala Ala Leu Asn Leu Ser Gly Ser
85 90 95

Arg Leu Asp Glu Val Arg Ala Gly Ala Phe Glu His Leu Pro Ser Leu
100 105 110 115

Arg Gln Leu Asp Leu Ser His Asn Pro Leu Ala Tyr Leu Ser Pro Phe
120 125 130

Ala Phe Ser Gly Ser Asn Ala Ser Ile Ser Ala Pro Ser Pro Leu Val
135 140 145

Glu Leu Ile Leu Asn His Ile Val Pro Pro Asp Asp Lys Arg Gln Asn
150 155 160

Arg Ser Phe Glu Gly Met Val Ala Ala Ala Leu Val Ala Gly Arg Ala
165 170 175

Leu Gln Gly Leu His Leu Leu Glu Leu Ala Ser Asn His Phe Leu Tyr
180 185 190 195

Leu Pro Arg Asp Val Leu Ala Gln Leu Pro Ser Leu Arg Tyr Leu Asp
200 205 210

Leu Ser Asn Asn Ser Leu Val Ser Leu Thr Tyr Val Ser Phe Arg Asn
215 220 225

Leu Thr His Leu Glu Ser Leu His Leu Glu Asp Asn Ala Leu Lys Val
230 235 240

Leu His Asn Gly Thr Leu Ala Glu Leu Gln Gly Leu Pro His Val Arg
245 250 255

Val Phe Leu Asp Asn Asn Pro Trp Val Cys Asp Cys His Met Ala Asp
260 265 270 275

Met Val Thr Trp Leu Lys Gln Thr Glu Val Val Gln Gly Lys Asp Arg

280										285										290									
Leu	Thr	Cys	Ala	Phe	Pro	Glu	Lys	Met	Arg	Asn	Arg	Val	Leu	Leu	Glu														
295										300										305									
Leu	Asn	Ser	Ala	Asp	Leu	Asp	Cys	Asp	Pro	Ile	Leu	Pro	Pro	Ser	Leu														
310										315										320									
Gln	Thr	Ser	Tyr	Val	Phe	Leu	Gly	Ile	Val	Leu	Ala	Leu	Ile	Gly	Ala														
325										330										335									
Ile	Phe	Leu	Leu	Val	Leu	Tyr	Leu	Asn	Arg	Lys	Gly	Ile	Lys	Lys	Trp														
340										345										350									
Met	His	Asn	Ile	Arg	Asp	Ala	Cys	Arg	Asp	His	Met	Glu	Gly	Tyr	His														
360										365										370									
Tyr	Arg	Tyr	Glu	Ile	Asn	Ala	Asp	Pro	Arg	Leu	Thr	Asn	Leu	Ser	Ser														
375										380										385									
Asn	Ser	Asp	Val																										
390																													
<210> 87																													
<211> 420																													
<212> PRT																													
<213> 人																													
<400> 87																													
Met	Pro	Gly	Gly	Cys	Ser	Arg	Gly	Pro	Ala	Ala	Gly	Asp	Gly	Arg	Leu														
1				5					10					15															
Arg	Leu	Ala	Arg	Leu	Ala	Leu	Val	Leu	Leu	Gly	Trp	Val	Ser	Ser	Ser														
20										25										30									
Ser	Pro	Thr	Ser	Ser	Ala	Ser	Ser	Phe	Ser	Ser	Ser	Ala	Pro	Phe	Leu														
35										40										45									

Ala Ser Ala Val Ser Ala Gln Pro Pro Leu Pro Asp Gln Cys Pro Ala
50 55 60

Leu Cys Glu Cys Ser Glu Ala Ala Arg Thr Val Lys Cys Val Asn Arg
65 70 75 80

Asn Leu Thr Glu Val Pro Thr Asp Leu Pro Ala Tyr Val Arg Asn Leu
85 90 95

Phe Leu Thr Gly Asn Gln Leu Ala Val Leu Pro Ala Gly Ala Phe Ala
100 105 110

Arg Arg Pro Pro Leu Ala Glu Leu Ala Ala Leu Asn Leu Ser Gly Ser
115 120 125

Arg Leu Asp Glu Val Arg Ala Gly Ala Phe Glu His Leu Pro Ser Leu
130 135 140

Arg Gln Leu Asp Leu Ser His Asn Pro Leu Ala Asp Leu Ser Pro Phe
145 150 155 160

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

Glu Leu Ile Leu Asn His Ile Val Pro Pro Glu Asp Glu Arg Gln Asn
180 185 190

Arg Ser Phe Glu Gly Met Val Val Ala Ala Leu Leu Ala Gly Arg Ala
195 200 205

Leu Gln Gly Leu Arg Arg Leu Glu Leu Ala Ser Asn His Phe Leu Tyr
210 215 220

Leu Pro Arg Asp Val Leu Ala Gln Leu Pro Ser Leu Arg His Leu Asp
225 230 235 240

Leu Ser Asn Asn Ser Leu Val Ser Leu Thr Tyr Val Ser Phe Arg Asn
245 250 255

Leu Thr His Leu Glu Ser Leu His Leu Glu Asp Asn Ala Leu Lys Val
260 265 270

Leu His Asn Gly Thr Leu Ala Glu Leu Gln Gly Leu Pro His Ile Arg
275 280 285

Val Phe Leu Asp Asn Asn Pro Trp Val Cys Asp Cys His Met Ala Asp
290 295 300

Met Val Thr Trp Leu Lys Glu Thr Glu Val Val Gln Gly Lys Asp Arg
305 310 315 320

Leu Thr Cys Ala Tyr Pro Glu Lys Met Arg Asn Arg Val Leu Leu Glu
325 330 335

Leu Asn Ser Ala Asp Leu Asp Cys Asp Pro Ile Leu Pro Pro Ser Leu
340 345 350

Gln Thr Ser Tyr Val Phe Leu Gly Ile Val Leu Ala Leu Ile Gly Ala
355 360 365

Ile Phe Leu Leu Val Leu Tyr Leu Asn Arg Lys Gly Ile Lys Lys Trp
370 375 380

Met His Asn Ile Arg Asp Ala Cys Arg Asp His Met Glu Gly Tyr His
385 390 395 400

Tyr Arg Tyr Glu Ile Asn Ala Asp Pro Arg Leu Thr Asn Leu Ser Ser
405 410 415

Asn Ser Asp Val
420

<210> 88

<211> 130

<212> PRT

<213> 人

<400> 88

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

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

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

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

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

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

Ala	Arg	Asp	Ser	Arg	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Asp	Phe	Trp	Ser	Gly	Tyr	Phe
			100						105					110	

Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val
			115					120					125		

Ser	Ser
	130

<210> 89

<211> 98

<212> PRT

<213> 人

<400> 89

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

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

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

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

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

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

Ala Arg

<210> 90
<211> 98
<212> PRT
<213> 人

<400> 90

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

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

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

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

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

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

Ala Lys

<210> 91
<211> 98
<212> PRT
<213> 人

<400> 91

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

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

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

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

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

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

Ala Arg

<210> 92
<211> 98
<212> PRT
<213> 人

<400> 92

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

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

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

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

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

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

Ala Arg

<210> 93

<211> 97

<212> PRT

<213> 人

<400> 93

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

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

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Arg

<210> 94
<211> 95
<212> PRT
<213> 人

<400> 94

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 Ser Ile Ser 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 Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro
85 90 95

<210> 95

<211> 95
<212> PRT
<213> 人

<400> 95

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 Ser Ile Ser 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 Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro
85 90 95

<210> 96
<211> 95
<212> PRT
<213> 人

<400> 96

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

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

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

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

60

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

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

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

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

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

Tyr Tyr Ser Thr Pro
100

<210> 99
<211> 96
<212> PRT
<213> 人

<400> 99

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

十、申請專利範圍：

107年04月26日修正本

1. 一種特異性結合人5T4抗原之經分離的抗體或其片段，
其包括具有下列特定序列之重鏈可變區與輕鏈可變區
之抗體的抗原結合區，其會競爭與該具有特定序列之抗
體結合的5T4，或其會結合該具有特定序列之抗體所結
合之5T4抗原位決定區，該重鏈可變區具有如SEQ ID
NO: 2之胺基酸序列，該輕鏈可變區具有如SEQ ID NO:
4之胺基酸序列。
2. 如申請專利範圍第1項之抗體，其中該抗體為一嵌合抗
體、一人化抗體、一單鏈抗體、一Fab片段、一F(ab)₂
片段、一Fv片段、一四元體抗體、一四價抗體、一多特
異性抗體或一融合蛋白質。
3. 如申請專利範圍第1項之抗體，其為鼠單株抗體。
4. 如申請專利範圍第1項之抗體，其具有對人5T4抗原至少
約為 1×10^{-7} M至約 1×10^{-12} M之結合親和力。
5. 如申請專利範圍第1項之抗體，其於活體內係特異性靶
定於5T4表現細胞。
6. 如申請專利範圍第3項之抗體，其中該鼠單株抗體包括
一重鏈可變區，該重鏈可變區包含一SEQ ID NO: 2之
殘基20-138的胺基酸序列。
7. 如申請專利範圍第3項之抗體，其中該鼠單株抗體包括
一輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含一SEQ ID NO: 4之
殘基21-127的胺基酸序列。
8. 如申請專利範圍第3項之抗體，其中該鼠單株抗體包括

一重鏈可變區，該重鏈可變區包含一SEQ ID NO：2之殘基20-138之胺基酸序列，且其中該鼠單株抗體之該輕鏈可變區包含一SEQ ID NO：4之殘基21-127之胺基酸序列。

5 9. 如申請專利範圍第2項之抗體，其為嵌合或人化抗5T4抗體。

10. 如申請專利範圍第9項之抗體，其包含人恆定區。

11. 如申請專利範圍第10項之抗體，其包含人 κ 輕鏈恆定區。

10 12. 如申請專利範圍第10項之抗體，其包含人IgG1、IgG2、IgG3、或IgG4重鏈恆定區。

13. 如申請專利範圍第12項之抗體，其中該人IgG4重鏈恆定區包含於位置241之脯胺酸。

15 14. 如申請專利範圍第9項之抗體，其包含至少一輕鏈可變區及至少一重鏈可變區，其包括

包含一人抗體架構區人殘基之架構區；且

其中至少一輕鏈可變區包括SEQ ID NO：4之三個CDR。

20 15. 如申請專利範圍第14項之抗體，其中該人殘基為選自於由下列所組成之組群之人架構殘基：

(a) SEQ ID NOs:14-23、77及88-93之任合一者之人抗體重鏈架構區；

(b) SEQ ID NOs:28-34、35-44以及94-99之人抗體輕鏈架構區；

(c) (a) 之重鏈架構區之同位序列 (consensus sequence)；以及

(d) 與(a)-(c)之架構區至少有63%相似性之一架構區。

5 16. 如申請專利範圍第14項之抗體，其中該人化抗體之至少一重鏈包含一可變區，該可變區包含SEQ ID NO:2之三個CDR。

17. 如申請專利範圍第9項之抗體，其包括一包含以下之重鏈可變區序列：

10 (a) SEQ ID NO：2之殘基20-138之一胺基酸序列；
或

(b) SEQ ID NO：49、51、52、54或56、中之任一者之一胺基酸序列。

15 18. 如申請專利範圍第9項之抗體，其包括一包含以下之輕鏈可變區序列：

(a) SEQ ID NO：4之殘基21-127之一胺基酸序列；
或

(b) SEQ ID NO：58、60、62、64、66、68、70、72、74或76中之任一者之一胺基酸序列。

20 19. 一種用於藥物輸送之抗體/藥物軛合物(antibody/drug conjugate)，包含：

(a) 如申請專利範圍第1項之一抗體；以及

(b) 直接或間接與該抗體結合之一藥物。

20. 如申請專利範圍第19項之抗體/藥物軛合物，其中該藥

物係選自於由胞毒素、放射性同位素、免疫調節劑、抗血管新生劑、抗增生劑、前細胞凋亡劑、化學治療劑及治療性核酸所組成之組群之一治療劑。

5 21. 如申請專利範圍第20項之抗體/藥物軛合物，其中該治療劑為胞毒素。

22. 如申請專利範圍第20項之抗體/藥物軛合物，其中該胞毒素為抗生素、微管素聚合抑制劑、烷化劑、蛋白質合成抑制劑、蛋白質激酶抑制劑、磷酸酶抑制劑、拓撲異構酶抑制劑、或酶。

10 23. 如申請專利範圍第20項之抗體/藥物軛合物，其中該胞毒素為抗生素。

24. 如申請專利範圍第23項之抗體/藥物軛合物，其中該抗生素為卡利黴素(calicheamicin)。

15 25. 如申請專利範圍第24項之抗體/藥物軛合物，其中該卡利黴素為卡利黴素之N-乙醯基衍生物或二硫化物類似物。

26. 如申請專利範圍第25項之抗體/藥物軛合物，其中該卡利黴素為N-乙醯基- γ -卡利黴素。

20 27. 如申請專利範圍第19項之抗體/藥物軛合物，其中該藥物係透過一連接子(linker)與該抗體結合。

28. 如申請專利範圍第27項之抗體/藥物軛合物，其中該連接子係選自於由4-(4'-乙醯基苯氧基)丁酸(AcBut)、3-乙醯基苯基乙酸(AcPac)、4-巰基-4-甲基戊酸(Amide)及其衍生物所組成之組群。

29. 一種經分離的抗體，其特異性結合至一人5T4抗原決定位，該抗原決定位包含SEQ ID NO：87之殘基173-252及276-355。

5 30. 如申請專利範圍第9項之抗體，其包括：(a)一輕鏈可變區，其包含一胺基酸序列，該胺基酸序列係選自於由SEQ ID NO：4之殘基21-127以及SEQ ID NOs: 58、60、62、64、66、68、70、72、74或76之任何一者的胺基酸序列所組成之組群；以及(b)一重鏈可變區，其包含一胺基酸序列，該胺基酸序列係選自於由SEQ ID NO：2之
10 殘基20-138以及SEQ ID NOs: 49、51、52、54或56之任何一者所組成之組群。

31. 如申請專利範圍第9項之抗體，其包括(a)一輕鏈可變區，其包含SEQ ID NO：70的胺基酸序列；以及(b)一重鏈可變區，其包含SEQ ID NO：54的胺基酸序列。