



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 201639891 A

(43) 公開日：中華民國 105 (2016) 年 11 月 16 日

(21) 申請案號：105107403

(22) 申請日：中華民國 105 (2016) 年 03 月 10 日

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

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2015/03/10 美國

62/131,227

(71) 申請人：索倫多醫療公司 (美國) SORRENTO THERAPEUTICS, INC. (US)

美國

(72) 發明人：葛羅斯 艾維格 GROS, EDWIGE (FR)；亞拉曼契里 史利帕 YALAMANCHILI

SILPA (US)；周賀鈺 ZHOU, HEYUE (CN)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：17 項 圖式數：4 共 87 頁

(54) 名稱

結合 P S M A 之抗體治療劑

ANTIBODY THERAPEUTICS THAT BIND PSMA

(57) 摘要

本發明揭示與抗-PSMA 抗體有關或源自於抗-PSMA 抗體之組合物及方法。更特定言之，本發明揭示結合 PSMA 之完全人類抗體、PSMA-抗體結合片段及此類抗體之衍生物，及包含此類片段之 PSMA 結合多肽。另外，本發明揭示編碼此類抗體、抗體片段以及衍生物及多肽之核酸，包含此類聚核苷酸之細胞，製備此類抗體、抗體片段以及衍生物及多肽之方法，以及使用此類抗體、抗體片段以及衍生物及多肽之方法，包括治療疾病之方法。本發明進一步揭示用於治療前列腺癌之靶向療法，其具有靶向治療劑或細胞的所揭示之抗-PSMA 抗體及其片段。

There is disclosed compositions and methods relating to or derived from anti-PSMA antibodies. More specifically, there is disclosed fully human antibodies that bind PSMA, PSMA-antibody binding fragments and derivatives of such antibodies, and PSMA-binding polypeptides comprising such fragments. Further still, there is disclosed nucleic acids encoding such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, cells comprising such polynucleotides, methods of making such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, and methods of using such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, including methods of treating a disease. There is further disclosed targeted therapies for treatment of prostate cancer having the disclosed anti-PSMA antibodies and fragments thereof targeting the therapeutic agent or cell.

指定代表圖：

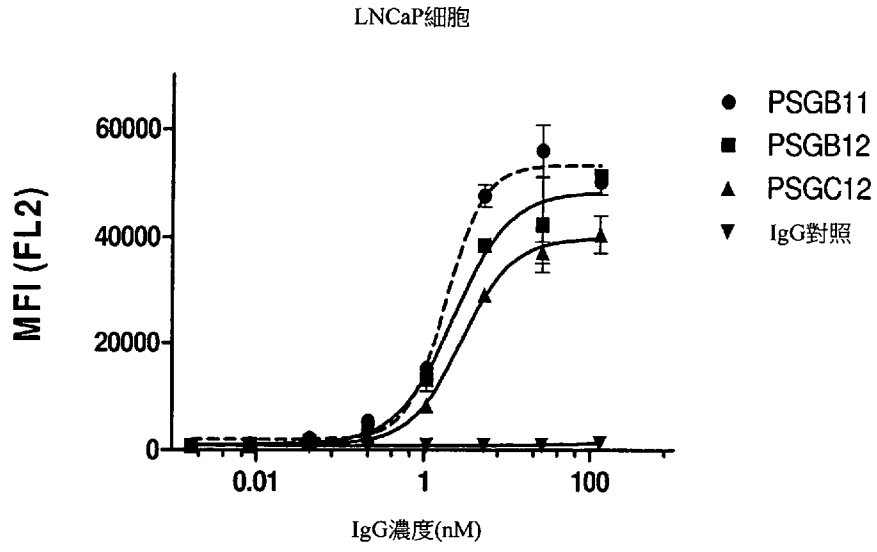


圖1A

## 發明摘要

※ 申請案號：105107403

※ 申請日：105.3.10

※IPC 分類：C07K <sup>16</sup>/<sub>28</sub> (2006.01)

A61K <sup>39</sup>/<sub>395</sub> (2006.01)

A61P <sup>35</sup>/<sub>60</sub> (2006.01)

## 【發明名稱】

結合PSMA之抗體治療劑

ANTIBODY THERAPEUTICS THAT BIND PSMA

## 【中文】

本發明揭示與抗-PSMA抗體有關或源自於抗-PSMA抗體之組合物及方法。更特定言之，本發明揭示結合PSMA之完全人類抗體、PSMA-抗體結合片段及此類抗體之衍生物，及包含此類片段之PSMA結合多肽。另外，本發明揭示編碼此類抗體、抗體片段以及衍生物及多肽之核酸，包含此類聚核苷酸之細胞，製備此類抗體、抗體片段以及衍生物及多肽之方法，以及使用此類抗體、抗體片段以及衍生物及多肽之方法，包括治療疾病之方法。本發明進一步揭示用於治療前列腺癌之靶向療法，其具有靶向治療劑或細胞的所揭示之抗-PSMA抗體及其片段。

**【英文】**

There is disclosed compositions and methods relating to or derived from anti-PSMA antibodies. More specifically, there is disclosed fully human antibodies that bind PSMA, PSMA-antibody binding fragments and derivatives of such antibodies, and PSMA-binding polypeptides comprising such fragments. Further still, there is disclosed nucleic acids encoding such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, cells comprising such polynucleotides, methods of making such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, and methods of using such antibodies, antibody fragments and derivatives and polypeptides, including methods of treating a disease. There is further disclosed targeted therapies for treatment of prostate cancer having the disclosed anti-PSMA antibodies and fragments thereof targeting the therapeutic agent or cell.

**【代表圖】**

**【本案指定代表圖】**：第（1A）圖。

**【本代表圖之符號簡單說明】**：

無

**【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】**：

（無）

# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

## 【發明名稱】

結合PSMA之抗體治療劑

ANTIBODY THERAPEUTICS THAT BIND PSMA

## 相關申請案

本申請案主張2015年3月10日申請之美國臨時申請案第62/131,227號的優先權，該臨時申請案之整個內容以全文引用的方式併入本文中。

## 【技術領域】

本發明提供與抗-PSMA (前列腺特異性膜抗原)抗體相關或源自於該等抗體之組合物及方法。更特定言之，本發明提供結合PSMA之完全人類抗體、PSMA-抗體結合片段及此類抗體之衍生物，以及包含此類片段之PSMA結合多肽。另外，本發明提供編碼此類抗體、抗體片段以及衍生物及多肽之核酸，包含此類聚核苷酸之細胞，製備此類抗體、抗體片段以及衍生物及多肽之方法，以及使用此類抗體、抗體片段以及衍生物及多肽之方法，包括治療疾病之方法。本發明進一步提供用於治療前列腺癌之靶向療法，其具有靶向治療劑或細胞的所揭示之抗-PSMA抗體及其片段。

## 【先前技術】

前列腺癌為最普遍類型之癌症且為美國男性中癌症死亡第二大原因(Landis, S. H.等人 *CA Cancer J. Clin.* 48:6-29 (1998))。由於老年男性群體增加以及對該疾病之意識更強，使得診斷更早，所以經診斷患有前列腺癌之男性數目不斷增加(Parker等人, 1997, *CA Cancer J. Clin.* 47:5-280)。出現前列腺癌之男性的壽命風險為高加索人約1/5，

非洲裔美國人約1/6。高風險組代表為前列腺癌陽性家族史或非洲裔美國人。

在生存期內，超過 $\frac{2}{3}$ 經診斷患有前列腺癌之男性死於該疾病 (Wingo等人, 1996, *CA Cancer J. Clin.* 46:113-25)。此外，未死於前列腺癌之許多患者需要連續治療以減輕例如疼痛、出血及泌尿阻塞之症狀。因此，前列腺癌亦代表痛苦之主要原因且健康護理費用增加。

放射療法亦用作根除性前列腺切除術之替代方案。一般藉由放射療法治療之患者為年老且不大健康者及具有更高級別之臨床上更晚期腫瘤者。尤其較佳之程序為外部光束療法，其包括三維共焦放射療法，其中放射線場經設計以貼合所治療組織之體積；間質放射療法，其中使用超音波引導植入放射性化合物之種子；以及外部光束療法與間質放射療法之組合。

為治療患有局部晚期疾病之患者，已在根除性前列腺切除術或放射療法之前或之後利用激素療法。激素療法為治療患有散播性前列腺癌之男性的主要形式。睪丸切除降低血清睪固酮濃度，而雌激素治療為類似有益的。來自雌激素之二乙基己烯雌酚為另一適用之激素療法，其具有引起心血管毒性之缺點。當投與促性腺激素釋放激素促效劑時，睪固酮濃度最終降低。氟他胺及其他非類固醇抗雄激素劑阻塞睪固酮與其細胞內受體結合。因此，其阻斷睪固酮之作用，增加血清睪固酮濃度且使患者保持有效，此為根除性前列腺切除術及放射線治療之後的重大問題。

細胞毒性化學療法基本上治療前列腺癌無效。其毒性使得此類療法不適於老年患者。另外，前列腺癌對細胞毒性劑具相對抗性。

復發或更晚期疾病亦用抗雄激素療法治療。不幸地，幾乎所有腫瘤變得對激素具抗性且在不存在任何有效療法下迅速進展。

因此，前列腺癌需要有效治療劑，其對患者正常組織無巨大毒

性，且有效地選擇性消除前列腺癌細胞。

### 【發明內容】

本發明係關於能夠結合於前列腺特異性膜抗原(PSMA)(例如人類PSMA)之結合蛋白，包括抗-PSMA抗體及其抗原結合片段。

在一個態樣中，本發明提供一種經分離之IgG類別完全人類抗-PSMA抗體，其結合於PSMA抗原決定基，該抗體包含與胺基酸序列SEQ ID NO. 1至少95%一致之重鏈可變域序列；及與選自由以下各者組成之群的胺基酸序列至少95%一致之輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 17。

在另一態樣中，本發明提供一種IgG類別完全人類抗體，其以至少 $10^{-6}$  M之結合親和力結合於PSMA抗原決定基，且包含與胺基酸序列SEQ ID NO. 1至少95%一致的重鏈可變域序列，且包含與由以下各者組成之胺基酸序列至少95%一致的輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17。在一個實施例中，完全人類抗體包含重鏈與輕鏈，其中抗體具有選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2 (本文中稱PSA11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3 (本文中稱PSGB11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4 (本文中稱PSGB12)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5 (本文中稱PSGC8)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6 (本文中稱PSGC9)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 7 (本文中稱PSGC12)、SEQ ID



NO. 1/SEQ ID NO. 8 (本文中稱PSGD3)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9 (本文中稱PSGD4)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10 (本文中稱PSGD6)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11 (本文中稱PSGE10)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12 (本文中稱PSGE11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13 (本文中稱PSGF9)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 14 (本文中稱PSGF11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15 (本文中稱PSGG6)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16 (本文中稱PSGH3)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 17 (本文中稱PSGH8)。

在另一態樣中，本發明提供一種抗-PSMA Fab完全人類抗體片段，其具有來自重鏈之可變域區域及來自輕鏈之可變域區域，其中重鏈可變域包含與SEQ ID NO. 1之胺基酸序列至少95%一致的胺基酸序列，且包含與選自由以下各者組成之群的胺基酸序列至少95%一致的輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17。在一個實施例中，完全人類抗體Fab片段包含重鏈可變域區域與輕鏈可變域區域，其中抗體具有選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 17。

在另一態樣中，本發明提供一種抗-PSMA單鏈人類抗體，其包含來自重鏈之可變域區域及來自輕鏈之可變域區域及連接重鏈與輕鏈可變域區域之肽連接子，其中重鏈可變域包含與SEQ ID NO. 1之胺基酸序列至少95%一致的胺基酸序列，且包含與選自由以下各者組成之群的胺基酸序列至少95%一致的輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17。在一個實施例中，完全人類單鏈抗體包含重鏈可變域區域與輕鏈可變域區域，其中該單鏈完全人類抗體包含選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 17。

在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之抗-PSMA抗體或其抗原結合片段，其包含含有如SEQ ID NO. 1中所闡述之互補決定區(CDR)之重鏈可變域；且包含含有如選自由以下各者組成之群的輕鏈可變區胺基酸序列中所闡述之CDR之輕鏈可變域：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID

NO. 15、SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 17。在一個實施例中，經分離之抗-PSMA抗體或其抗原結合片段為人類。

本發明進一步提供一種用於治療前列腺癌之方法，其包含投與用於靶向化學或細胞治療有效負載之抗-PSMA抗體，其中該抗-PSMA抗體具有與胺基酸序列SEQ ID NO. 1至少95%一致的重鏈可變域序列，且其具有與由以下各者組成之胺基酸至少95%一致的輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17、其組合。

本發明進一步提供一種用於治療前列腺癌之方法，其包含投與用於靶向化學或細胞治療有效負載之抗-PSMA抗體Fab完全人類片段，其中Fab完全人類抗體片段包含與胺基酸序列SEQ ID NO. 1至少95%一致的重鏈可變域序列，且包含與選自由以下各者組成之群的胺基酸序列至少95%一致的輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17。

本發明亦提供一種用於治療前列腺癌之方法，其包含投與用於靶向化學或細胞治療有效負載之抗-PSMA單鏈人類抗體，其中該抗-PSMA抗體單鏈人類抗體包含與胺基酸序列SEQ ID NO. 1至少95%一致的重鏈可變域序列，且包含與選自由以下各者組成之群的胺基酸序列至少95%一致的輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ

ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17。

在一個實施例中，完全人類抗體包含重鏈與輕鏈，其中抗體具有選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2 (本文中稱PSA11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3 (本文中稱PSGB11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4 (本文中稱PSGB12)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5 (本文中稱PSGC8)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6 (本文中稱PSGC9)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 7 (本文中稱PSGC12)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8 (本文中稱PSGD3)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9 (本文中稱PSGD4)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10 (本文中稱PSGD6)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11 (本文中稱PSGE10)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12 (本文中稱PSGE11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13 (本文中稱PSGF9)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 14 (本文中稱PSGF11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15 (本文中稱PSGG6)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16 (本文中稱PSGH3)及SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 17 (本文中稱PSGH8)。在一個實施例中，完全人類單鏈抗體具有重鏈可變域區域與輕鏈可變域區域，其中該單鏈完全人類抗體具有選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16及SEQ ID

NO. 1/SEQ ID NO. 17。

在另一態樣中，本發明進一步提供一種用於治療癌症之方法，該方法包含向有需要之個體投與本文中描述之任一態樣或實施例的抗-PSMA抗體或抗體片段。在一個實施例中，癌症係選自由以下各者組成之群：卵巢癌、結腸癌、乳癌、肺癌、骨髓瘤、神經母細胞衍生之CNS腫瘤、單核細胞性白血病、B細胞衍生之白血病、T細胞衍生之白血病、B細胞衍生之淋巴瘤、T細胞衍生之淋巴瘤及肥大細胞衍生之腫瘤。

在某些實施例中，抗-PSMA抗體用於治療廣泛範圍之哺乳動物癌症，包括例如卵巢癌、結腸癌、乳癌、肺癌、骨髓瘤、神經母細胞衍生之CNS腫瘤、單核細胞性白血病、B細胞衍生之白血病、T細胞衍生之白血病、B細胞衍生之淋巴瘤、T細胞衍生之淋巴瘤、肥大細胞衍生之腫瘤及其組合。

在另一態樣中，本發明亦提供一種用於治療前列腺癌之方法，該方法包含向有需要之個體投與本文中描述之任一態樣或實施例的抗-PSMA抗體或抗體片段。

在某些實施例中，本發明之抗體或其抗原結合片段具有至少 $1 \times 10^{-6}$  M之結合親和力( $K_D$ )。在其他實施例中，本發明之抗體或其抗原結合片段具有至少 $1 \times 10^{-7}$  M之 $K_D$ 。在其他實施例中，本發明之抗體或其抗原結合片段具有至少 $1 \times 10^{-8}$  M之 $K_D$ 。

在某些實施例中，抗體為IgG1同型。在其他實施例中，抗體為IgG4同型。

在某些實施例中，本文中描述之抗體或抗原結合片段為重組型。

在某些實施例中，本文中描述之抗體或抗原結合片段為人類抗體或抗體之抗原結合片段。

本發明亦提供醫藥組合物，其包含有效量之本文所揭示之抗-PSMA抗體或片段及醫藥學上可接受之載劑。

### 【圖式簡單說明】

圖 1A 至 1D 以圖形方式描繪抗-PSMA 抗體與 PSMA 陽性細胞 (LNCaP)(如圖 1A 及 1B 中所述)及 PSMA 陰性正常人類纖維母細胞 (PC3)(如圖 1C 及 1D 中所述)之結合。

圖 2A 至 2C 說明在過度表現 PSMA 之 LNCaP 癌細胞上與蛋白質 G (PG)-MMAF 分子複合的以下各者之細胞毒性潛能：抗-PSMA 抗體 PSGF9、PSGC9、PSGD6 (圖 2A 中展示)；PSGD3、PSGE10、PSGH3、PSGB11 (圖 2B 中展示)；以及 PSGD4 及 PSGB12 (圖 2C 中展示)。

圖 2D 說明在正常人類纖維母細胞(PC3)上觀測到之與蛋白質 G-MMAF 分子複合之各種抗-PSMA 抗體的非特異性細胞殺死作用。

圖 3 以圖形方式描繪抗-PSMA 抗體 PSA11 之親和力結合特徵。

圖 4 以圖形方式描繪抗-PSMA 抗體 PSGB11 之親和力結合特徵。

### 【實施方式】

#### 定義

術語「肽」、「多肽」及「蛋白質」各係指包含藉由肽鍵彼此接合之兩個或兩個以上胺基酸殘基之分子。此等術語涵蓋例如具有蛋白質序列之天然及人工蛋白質、蛋白質片段及多肽類似物(諸如突變蛋白質、變異體及融合蛋白質)以及轉譯後或共價或非共價修飾之蛋白質。肽、多肽或蛋白質可為單體或聚合物。

多肽之「變異體」(例如抗體之變異體)包含一種胺基酸序列，其中相對於另一多肽序列，一或多個胺基酸殘基插入該胺基酸序列、自該胺基酸序列缺失及/或取代至該胺基酸序列中。所揭示之變異體包括例如融合蛋白質。

多肽之「衍生物」為例如經由結合於另一化學部分(諸如聚乙二醇或白蛋白，例如人類血清白蛋白)、磷酸化及糖基化，經化學修飾之多肽(例如抗體)。除非另有指示，否則術語「抗體」除包含兩個全長重鏈及兩個全長輕鏈之抗體以外亦包括其衍生物、變異體、片段及突變蛋白質，其實例描述於下文中。

「抗原結合蛋白」為包含結合於抗原之部分及視情況存在之使抗原結合部分採用可促進抗原結合蛋白與抗原結合之構形的骨架或構架部分的蛋白質。抗原結合蛋白之實例包括抗體、抗體片段(例如抗體之抗原結合部分)、抗體衍生物及抗體類似物。抗原結合蛋白可包含例如具有接枝CDR或CDR衍生物之替代蛋白質骨架或人工骨架。此類骨架包括(但不限於)抗體衍生骨架，其包含引入以例如穩定抗原結合蛋白之三維結構的突變；以及完全合成骨架，其包含例如生物相容性聚合物。參見例如 Korndorfer 等人，2003, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 第53卷, 第1期:121-129；Roque 等人，2004, *Biotechnol. Prog.* 20:639-654。此外，可使用肽抗體模擬物(「PAM」)以及基於利用纖維結合蛋白組分作為骨架之抗體模擬物之骨架。

抗原結合蛋白可具有例如免疫球蛋白之結構。「免疫球蛋白」為由相同兩對多肽鏈構成之四聚分子，各對具有一個「輕鏈」(約25 kDa)及一個「重鏈」(約50-70 kDa)。各鏈之胺基端部分包括主要負責抗原識別之約100至110或更多個胺基酸之可變區。各鏈之羧基端部分界定主要負責效應功能之恆定區。將人類輕鏈分類為 $\kappa$ 或 $\lambda$ 輕鏈。重鏈分類為 $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\gamma$ 、 $\alpha$ 或 $\epsilon$ ，且抗體之同型分別定義為IgM、IgD、IgG、IgA及IgE。較佳地，本文中所揭示之抗-PSMA抗體之特徵在於其重鏈 $V_H$ 及輕鏈 $V_L$ 胺基酸序列中之可變域區域序列。在輕鏈及重鏈內，可變區及恆定區由具有約12個或更多個胺基酸之「J」區接合，

其中重鏈亦包括具有約10個以上胺基酸之「D」區。一般參見 *Fundamental Immunology* 第7章 (Paul, W.編輯, 第2版 Raven Press, N.Y. (1989))。各輕鏈/重鏈對之可變區形成抗體結合位點以使完整免疫球蛋白具有兩個結合位點。

免疫球蛋白鏈之可變區展現由三個高變區(亦稱為互補決定區或 CDR)接合之相對保守構架區(FR)之相同通用結構。自N端至C端, 輕鏈與重鏈皆包含結構域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。各結構域之胺基酸分配係根據 Kabat 等人於 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, NIH公開案第91-3242號, 1991中之定義。免疫球蛋白鏈中胺基酸之其他編號系統包括 IMGT.RTM. (國際 ImMunoGeneTics 資訊系統; Lefranc 等人, *Dev. Comp. Immunol.* 29:185-203; 2005) 及 AHO (Honegger 及 Pluckthun, *J. Mol. Biol.* 309(3):657-670; 2001)。

除非另外說明, 否則「抗體」係指與完整抗體競爭特異性結合之完整免疫球蛋白或其抗原結合部分。在一個實施例中, 抗體包含兩條相同重鏈, 每條包含重鏈可變域及重鏈恆定區  $C_{H1}$ 、 $C_{H2}$  及  $C_{H3}$ ; 且包含兩條相同輕鏈, 每條包含輕鏈可變域及輕鏈恆定區 ( $C_L$ )。在一個實施例中, 本發明之抗體包含選自本文表3中描述之彼等序列的重鏈及輕鏈可變域序列。

在某些實施例中, 可自諸如血清或血漿之含有具有不同抗原特異性之免疫球蛋白的來源獲得抗體。若此類抗體經歷親和力純化, 則其可因特定抗原特異性而富集。此類抗體富集製劑通常由小於約10%的具有針對特定抗原之特異性結合活性之抗體製成。使此等製劑經歷若干輪親和力純化可增加具有針對抗原之特異性結合活性之抗體的比例。以此方式製備之抗體通常稱為「單特異性」。



如本文所用，術語「單特異性」係指對一種特定抗原決定基顯示親和力之抗體。單特異性抗體製劑可由約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或99.9%的具有針對特定抗原之特異性結合活性的抗體組成。

在某些實施例中，諸如抗體之抗原結合蛋白可具有一或多個結合位點。若存在一個以上結合位點，則結合位點可彼此相同或可不同。舉例而言，天然存在之人類免疫球蛋白通常具有兩個一致結合位點，而「雙特異性」或「雙功能性」抗體具有兩個不同結合位點。

「抗體片段」或「抗體之抗原結合片段」包含完整抗體之一部分，且較佳包含抗體抗原結合或可變結構域。抗體片段之實例包括Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv片段及線抗體。

抗體之抗原結合部分(或片段)可藉由重組DNA技術或藉由完整抗體之酶促或化學裂解產生。抗原結合部分尤其包括Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、域抗體(dAb)及互補決定區(CDR)片段、單鏈抗體(scFv)、嵌合抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體及含有足以賦予特異性抗原以結合於多肽之免疫球蛋白之至少一部分的多肽。

Fab片段為具有V<sub>L</sub>、V<sub>H</sub>、C<sub>L</sub>及C<sub>H1</sub>域之單價片段；F(ab')<sub>2</sub>片段為具有兩個藉由二硫橋鍵於鉸鏈區連接之Fab片段之二價片段；Fd片段具有V<sub>H</sub>及C<sub>H1</sub>域；Fv片段具有抗體單臂之V<sub>L</sub>及V<sub>H</sub>域；且dAb片段具有V<sub>H</sub>域、V<sub>L</sub>域或V<sub>H</sub>或V<sub>L</sub>域之抗原結合片段(美國專利6,846,634；6,696,245；美國申請公開案20/0202512；2004/0202995；2004/0038291；2004/0009507；2003/0039958，及Ward等人，*Nature* 341:544-546 (1989))。

單鏈抗體(scFv)為一種抗體，其中V<sub>L</sub>及V<sub>H</sub>域經由連接子(例如胺基酸殘基之合成序列)接合以形成連續蛋白質鏈，其中連接子足夠長以允許蛋白質鏈自身回折且形成單價抗原結合位點(參見例如Bird等

人, (1988) *Science* 242:423-26及Huston等人, (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-83)。

雙功能抗體為包含兩個多肽鏈之二價抗體，其中各多肽鏈包含藉由連接子接合之 $V_H$ 及 $V_L$ 域，該連接子太短而不容許於相同鏈上之兩個域之間配對；因此允許各域與另一多肽鏈上之互補域配對(參見例如Holliger等人 (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-48, 及Poljak等人, (1994) *Structure* 2:1121-23)。若雙功能抗體之兩個多肽鏈一致，則由其配對產生之雙功能抗體將具有兩個一致抗原結合位點。具有不同序列之多肽鏈可用於製備具有兩個不同抗原結合位點之雙功能抗體。類似地，三功能抗體及四功能抗體為分別包含三條及四條多肽鏈，且分別形成三個及四個可相同或不同之抗原結合位點的抗體。

術語「人類抗體」包括具有一或多個源自於人類免疫球蛋白序列之可變區及恆定區之抗體。在一個實施例中，抗體之所有可變域及恆定域皆源自於人類免疫球蛋白序列(稱為「完全人類抗體」)。此等抗體可以多種方式製備，其實例描述於下文中，包括經由用經遺傳修飾以表現源自於人類重鏈及/或輕鏈編碼基因之抗體之小鼠的相關抗原進行免疫接種。在一個較佳實施例中，使用重組方法製備完全人類抗體使得抗體之糖基化模式與具有相同序列之抗體(若其在自然界中存在)不同。

「人類化抗體」具有與源自於非人類物種之抗體之序列的不同之處在於一或多個胺基酸取代、缺失及/或添加的序列，使得當其投與人類個體時，相比於非人類物種抗體，人類化抗體誘發免疫反應及/或誘發不太嚴重免疫反應之可能性較小。在一個實施例中，非人類物種抗體之重鏈及/或輕鏈之構架及恆定域中之某些胺基酸經突變以產生人類化抗體。在另一實施例中，來自人類抗體之恆定域與非人類物種之可變域融合。在另一實施例中，非人類抗體之一或多個CDR序

列中之一或多個胺基酸殘基經改變以在將非人類抗體投與人類個體時減小該抗體之可能免疫原性，其中改變之胺基酸殘基對於抗體與其抗原免疫特異性結合而言並非關鍵，或對胺基酸序列作出之改變為保守改變，使得人類化抗體與抗原之結合不比非人類抗體與抗原之結合顯著更差。如何製備人類化抗體之實例可見於美國專利6,054,297、5,886,152及5,877,293中。

術語「嵌合抗體」係指含有一或多個來自一種抗體之區域及一或多個來自一或多種其他抗體之區域的抗體。在一個實施例中，一或多個CDR源自於人類抗-PSMA抗體。在另一實施例中，所有CDR源自於人類抗-PSMA抗體。在另一實施例中，混合來自一種以上人類抗-PSMA抗體之CDR且在嵌合抗體中匹配。舉例而言，嵌合抗體可包含來自第一人類抗-PAR-2抗體之輕鏈的CDR1、CDR2及來自第二人類抗-PSMA抗體之輕鏈的CDR3，以及來自第三抗-PSMA抗體之重鏈的CDR。其他組合為可能的。

此外，構架區可源自於相同抗-PSMA抗體中之一者、源自於一或多種不同抗體(諸如人類抗體)或源自於人類化抗體。在嵌合抗體之一個實例中，重鏈及/或輕鏈之一部分與來自特定物種或屬於特定抗體類別或子類別之抗體一致、與其同源或由其衍生，而鏈之其餘部分與來自另一物種或屬於另一抗體類別或子類別之抗體一致、與其同源或由其衍生。亦包括此類抗體之片段，其展現所需生物活性(亦即特異性結合PSMA之能力)。

「中和抗體」或「抑制抗體」為當使用例如本文在實例中描述之彼等分析法的分析法，過量抗-PSMA抗體降低PSMA蛋白分解活化量達至少約20%時，抑制活化的抗體。在各種實施例中，抗原結合蛋白降低PSMA之蛋白分解活化量達至少30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%及99.9%。

「CDR移植抗體」為包含一或多個源自於特定物種或同型之抗體之CDR及相同或不同物種或同型之另一抗體之構架的抗體。

「多特異性抗體」為識別一或多個抗原上之一個以上抗原決定基的抗體。此類型抗體之子類別為「雙特異性抗體」，其識別相同或不同抗原上之兩個不同抗原決定基。

若抗原結合蛋白以1奈莫耳或1奈莫耳以下之解離常數結合於抗原，則其「特異性結合」於抗原(例如PSMA)。

「抗原結合域」、「抗原結合區」或「抗原結合位點」為含有與抗原相互作用且促進抗原結合蛋白針對抗原之特異性及親和力之胺基酸殘基(或其他部分)的抗原結合蛋白之一部分。對於特異性結合於其抗原之抗體，此將包括其至少一個CDR結構域之至少一部分。

術語「Fc多肽」包括源自於抗體Fc區之多肽之原生及突變蛋白形式。亦包括含有促進二聚化之鉸鏈區的此類多肽之截短形式。包含Fc部分(及由其形成之寡聚物)之融合蛋白提供藉由蛋白質A或蛋白質G管柱親和層析便捷純化的優勢。

「抗原決定基」為分子中由抗原結合蛋白(例如由抗體)結合之部分。抗原決定基可包含分子之非相鄰部分(例如在多肽中，在多肽一級序列中不相鄰，但在多肽三級及四級結構之情況下彼此足夠靠近以由抗原結合蛋白結合的胺基酸殘基)。

兩個聚核苷酸或兩個多肽序列之「一致性百分比」或「同源性百分比」係藉由使用GAP電腦程式(GCG Wisconsin Package之一部分，版本10.3 (Accelrys, San Diego, Calif.))，使用其預設參數比較序列來測定。

術語「聚核苷酸」、「寡核苷酸」及「核酸」始終可互換使用且包括DNA分子(例如cDNA或基因組DNA)、RNA分子(例如mRNA)、使用核苷酸類似物(例如肽核酸及非天然存在之核苷酸類似物)產生之

DNA或RNA之類似物及其混雜物。核酸分子可為單股或雙股。在一個實施例中，本發明之核酸分子包含編碼抗體或其片段、衍生物、突變蛋白或變異體之相鄰開放閱讀框架。

在不引入間隙及在任一序列之5'或3'端無不成對核苷酸之情況下，兩個單股聚核苷酸若其序列可在反平行方向中對準以使得一個聚核苷酸中之每一核苷酸與另一聚核苷酸中之其互補核苷酸相反，則彼此互為「補體」。若在中度嚴格條件下兩個聚核苷酸可彼此雜交，則聚核苷酸與另一聚核苷酸「互補」。由此，聚核苷酸可與另一聚核苷酸互補而不為其補體。

「載體」為可用於將與其連接之另一核酸引入細胞之核酸。載體之一種類型為「質體」，其係指其他核酸片段可接合至其中之線性或環形雙股DNA分子。載體之另一類型為病毒載體(例如複製缺陷反轉錄病毒、腺病毒及腺相關病毒)，其中可將其他DNA片段引入病毒基因組中。某些載體能夠在其引入之宿主細胞中自主複製(例如包含細菌複製起點之細菌載體及游離型哺乳動物載體)。其他載體(例如非游離型哺乳動物載體)可在引入宿主細胞中時整合至宿主細胞之基因組中，且藉此與宿主基因組一起複製。「表現載體」為可引導所選擇之聚核苷酸表現之載體類型。

若調節序列影響核苷酸序列之表現(例如表現之水準、時序或位置)，則核苷酸序列「可操作地連接」於調節序列。「調節序列」為影響其可操作地連接之核酸之表現(例如表現之水準、時序或位置)的核酸。調節序列可例如直接或經由一或多個其他分子(例如與調節序列及/或核酸結合之多肽)之作用對所調節之核酸發揮其效應。調節序列之實例包括啟動子、強化子及其他表現控制元件(例如聚腺苷酸化信號)。調節序列之其他實例描述於例如Goeddel, 1990, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego,

Calif.及Baron等人, 1995, *Nucleic Acids Res.* 23:3605-06中。

「宿主細胞」為可用以表現核酸，例如本發明之核酸的細胞。宿主細胞可為原核生物，例如大腸桿菌，或其可為真核生物，例如單細胞真核生物(例如酵母或其他真菌)、植物細胞(例如菸草或番茄植物細胞)、動物細胞(例如人類細胞、猴細胞、倉鼠細胞、大鼠細胞、小鼠細胞或昆蟲細胞)或融合瘤。宿主細胞之實例包括猴腎細胞之COS-7株系(ATCC CRL 1651)(參見Gluzman等人, 1981, *Cell* 23:175)；L細胞；C127細胞；3T3細胞(ATCC CCL 163)；中國倉鼠卵巢(Chinese hamster ovary；CHO)細胞或其衍生物，諸如Veggie CHO及在無血清培養基中生長之相關細胞株(參見Rasmussen等人, 1998, *Cytotechnology* 28:31)或CHO品系DX-B11，其在DHFR中缺失(參見Urlaub等人, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-20)；HeLa細胞；BHK (ATCC CRL10)細胞株；源自於非洲綠猴腎細胞株CV1之CV1/EBNA細胞株(ATCC CCL 70)(參見McMahan等人, 1991, *EMBO J.* 10:2821)；人胚腎細胞，諸如293、293 EBNA或MSR 293；人類表皮A431細胞；人類Colo205細胞；其他經轉型之靈長類動物細胞株；正常二倍體細胞；源自於初生組織之活體外培養物之細胞品系；初生外植體；HL-60；U937；HaK或Jurkat細胞。在一個實施例中，宿主細胞為哺乳動物原核細胞。在一個實施例中，宿主細胞為哺乳動物宿主細胞，但不為人類宿主細胞。通常，宿主細胞為可經可隨後在宿主細胞中表現之編碼多肽之核酸轉化或轉染的經培養之細胞。片語「重組宿主細胞」可用於表示已經待表現之核酸轉型或轉染之宿主細胞。宿主細胞亦可為一種細胞，其包含核酸，但不以所需水準表現該核酸，除非將調節序列引入宿主細胞使得其變成與該核酸可操作地連接。應瞭解，術語宿主細胞不僅指特定個體細胞，且亦指此類細胞之後代或潛在後代。因為某些修飾可能因例如突變或環境影響而出現在後代

中，所以該後代可能實際上不與親本細胞一致，然而仍包括在如本文所使用之術語的範疇內。

術語「重組抗體」係指根據標準重組表現方法製備之抗體。重組抗體可例如自經包含抗體編碼序列之表現載體(或可能超過一種表現載體)轉染的細胞或細胞株表現，其中該編碼序列不天然與細胞相關。在一個實施例中，重組抗體之糖基化模式與具有相同序列之抗體(若其在自然界中存在)之糖基化模式不同。在一個實施例中，重組抗體在非人類宿主細胞之哺乳動物宿主細胞中表現。值得注意地，個別哺乳動物宿主細胞具有獨特糖基化模式。

如本文所用，術語「有效量」係指結合PSMA之抗體或其抗原結合部分在投與個體時足夠實現疾病治療之量。本文提供之抗體或片段之治療有效量將視抗體之相對活性而變化，且視治療之個體及疾病病狀、個體體重及年齡、疾病病狀之嚴重程度、投藥方式等等而變化，其可由一般技術者容易測定。

術語「經分離」係指實質上不含其他細胞物質之蛋白質(例如抗體)。在一個實施例中，經分離之抗體實質上不含來自相同物種之其他蛋白質。在一個實施例中，經分離之抗體由來自不同物種之細胞表現且實質上不含來自不同物種之其他蛋白質。可使用在此項技術中熟知之蛋白質純化技術，藉由分離，使蛋白質實質上不含天然相關組分(或與用於產生抗體之細胞表現系統相關之組分)。在一個實施例中，分離本發明之抗-PSMA抗體或抗原結合片段。

### **PSMA抗原結合蛋白**

本發明係關於結合PSMA、例如人類PSMA之PSMA結合蛋白，尤其抗-PSMA抗體或其抗原結合部分，以及其用途。本發明之多種態樣係關於抗體及抗體片段、醫藥組合物、核酸、重組表現載體及用於製備此類抗體及片段之宿主細胞。本發明亦涵蓋使用本發明抗體活體外

或活體內偵測人類PSMA、抑制PSMA活性及預防或治療例如癌症之病症的方法。在一個實施例中，本發明之抗體為人類抗體。

如以下表3中所述，本發明中包括對PSMA具有特異性之新穎人類抗體重鏈及輕鏈可變區。在一個實施例中，本發明提供一種抗-PSMA抗體或其抗原結合片段，其包含具有包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之胺基酸序列之可變域的重鏈。在一個實施例中，本發明提供一種抗-PSMA抗體或其抗原結合片段，其包含具有包含如SEQ ID No: 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16及17任一者中所闡述之胺基酸序列之可變域的輕鏈。在一個實施例中，本發明提供一種抗-PSMA抗體或其抗原結合片段，其包含具有包含如SEQ ID No: 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16及17任一者中所闡述之胺基酸序列之可變域的輕鏈；以及具有包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之胺基酸序列之可變域的重鏈。

在輕鏈與重鏈可變結構域中，互補決定區(CDR)均稱為高變區。可變域之更高度保守部分稱為框架(FR)。可使用上文Kabat等人、上文Lefranc等人及/或上文Honegger及Pluckthun描述之系統，鑑別既定抗體之互補決定區(CDR)及構架區(FR)。熟習此項技術者亦熟悉Kabat等人 (1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Service, Springfield, Va.)中描述之編號系統。在此方面，Kabat等人定義適用於任何抗體之可變域序列之編號系統。一般技術者可將此「Kabat編號」系統明確地指定給任何可變域胺基酸序列，而不用依賴於除序列本身以外的任何實驗資料。

在某些實施例中，本發明提供一種抗-PSMA抗體，其包含表3中所描述之重鏈及輕鏈可變域之CDR (SEQ ID No: 1至17)。舉例而言，本發明提供一種抗-PSMA抗體或其抗原結合片段，其包含具有如SEQ ID NO: 1中所闡述之胺基酸序列中描述之CDR的重鏈可變區。在一個



實施例中，本發明提供一種抗-PSMA抗體或其抗原結合片段，其包含具有如SEQ ID No: 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16及17任一者中所闡述之胺基酸序列中描述之CDR的輕鏈可變區。在一個實施例中，本發明提供一種抗-PSMA抗體或其抗原結合片段，其包含具有如SEQ ID No: 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16及17任一者中所闡述之胺基酸序列中描述之CDR的輕鏈可變區；及具有如SEQ ID NO: 1中所闡述之胺基酸序列中描述之CDR的重鏈可變區。

在一個實施例中，本發明提供一種經分離之抗-PSMA抗體或其抗原結合片段，其包含含有包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之可變域的重鏈及含有包含選自由以下各者組成之群之胺基酸序列的可變域的輕鏈：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17。

在一個實施例中，本發明提供一種IgG類別完全人類抗體，其以 $10^{-6}$  M或更低之結合親和力結合於PSMA抗原決定基，具有與胺基酸序列SEQ ID NO. 1至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變域序列，且具有與由SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17及其組合組成之群之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變域序列。

在一個實施例中，完全人類抗體具有重鏈與輕鏈，其中抗體具

有選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2 (本文中稱PSA11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3 (本文中稱PSGB11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4 (本文中稱PSGB12)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5 (本文中稱PSGC8)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6 (本文中稱PSGC9)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 7 (本文中稱PSGC12)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8 (本文中稱PSGD3)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9 (本文中稱PSGD4)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10 (本文中稱PSGD6)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11 (本文中稱PSGE10)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12 (本文中稱PSGE11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13 (本文中稱PSGF9)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 14 (本文中稱PSGF11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15 (本文中稱PSGG6)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16 (本文中稱PSGH3)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 17 (本文中稱PSGH8)及其組合。

在一個實施例中，本發明提供一種抗-PSMA抗體或其抗原結合片段，其包含含有如SEQ ID NO: 1中所闡述之CDR3域，且包含含有與如SEQ ID NO: 1中所闡述之序列至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致之胺基酸序列的可變域的重鏈。在一個實施例中，本發明提供一種抗-PSMA抗體或其抗原結合片段，其包含含有如SEQ ID No: 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16及17任一者中所闡述之CDR3域且包含含有與如SEQ ID No: 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16及17任一者中所闡述之序列至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致之胺基酸序列的輕鏈可變域的輕鏈。因此，在某些實施例中，CDR3域保持恆定，而變異可引入至重鏈及/或輕鏈之剩餘CDR及/或構架區中，而抗體或其抗原結合片段保留結合於PSMA之能力且保留親本抗體之功能特性，例如結合親和力。

在一個實施例中，在至少95%一致(或至少96%一致，或至少97%一致，或至少98%一致，或至少99%一致)的重鏈或輕鏈內進行之取代為保守性胺基酸取代。「保守性胺基酸取代」為胺基酸殘基經側鏈(R基團)具有類似化學特性(例如電荷或疏水性)之另一胺基酸殘基取代的胺基酸取代。一般而言，保守性胺基酸取代基本上不改變蛋白質之功能特性。在其中兩個或超過兩個胺基酸序列彼此間差異為保守性取代的情況下，可向上調節序列一致性或相似性百分比以根據取代保守性質加以校正。進行此調節之方式為熟習此項技術者所熟知。參見例如 Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331，以引用的方式併入本文中。含有具有類似化學特性之側鏈的胺基酸之群之實例包括(1)脂族側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸；(2)脂族羥基側鏈：絲胺酸及蘇胺酸；(3)含有醯胺之側鏈：天冬醯胺及麩醯胺酸；(4)芳族側鏈：苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸；(5)鹼性側鏈：離胺酸、精胺酸及組胺酸；(6)酸性側鏈：天冬胺酸及麩胺酸，及(7)含硫側鏈為半胱胺酸及甲硫胺酸。

在一個實施例中，本發明係關於具有表3中描述之任一抗體之抗原結合區的抗體或其抗原結合片段。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSA11之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 2中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 2之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含

胺基酸序列與SEQ ID NO: 2中闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGB11之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 3中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 3之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 3中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGB12之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 4中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 4之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 4中闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變

區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGC8之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO:1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 5中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 5之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 5中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGC9之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 6中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 6之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 6中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGC12之抗原結

合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 7中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 7之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 7中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGD3之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 8中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 8之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 8中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGD4之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序

列及如SEQ ID NO: 9中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 9之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 9中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGD6之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 10中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 10之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 10中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGE10之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 11中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈

可變域及包含SEQ ID NO: 11之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 11中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGE11之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 12中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 12之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 12中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGF9之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 13中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 13之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其



包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 13中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGF11之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 14中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 14之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 14中闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGG6之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 15中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 15之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變

區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 15中闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGH3之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 16中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 16之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 16中闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

在一個實施例中，本發明係針對一種具有抗體PSGH8之抗原結合區之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其包含如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域序列及如SEQ ID NO: 17中所闡述之輕鏈可變域序列。在一個實施例中，本發明係針對一種抗體，其具有包含SEQ ID NO: 1之CDR的重鏈可變域及包含SEQ ID NO: 17之CDR的輕鏈可變域。在一個實施例中，本發明之特徵在於一種經分離之人類抗體或其抗原結合片段，其包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 1中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變區，且包含胺基酸序列與SEQ ID NO: 17中所闡述之序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的

輕鏈可變區。抗體可進一步為IgG1或IgG4同型。

抗原結合蛋白(例如抗體、抗體片段、抗體衍生物、抗體突變蛋白質及抗體變異體)為結合於PSMA之多肽。

本發明之抗原結合蛋白之抗原結合片段可藉由習知技術產生。此類片段之實例包括(但不限於) Fab及F(ab')<sub>2</sub>片段。

單鏈抗體可藉由經由胺基酸橋(短肽連接子)連接重鏈及輕鏈可變域(Fv區域)來形成，產生單一多肽鏈。此類單鏈Fv (scFv)已藉由使編碼肽連接子之DNA在編碼兩個可變域多肽(V<sub>L</sub>及V<sub>H</sub>)之DNA之間融合來製備。所得多肽可自身折回以形成抗原結合單體，或其可形成多聚體(例如二聚體、三聚體或四聚體)，視兩個可變域之間的可撓性連接子之長度而定(Kortt等人, 1997, *Prot. Eng.* 10:423; Kortt等人, 2001, *Biomol. Eng.* 18:95-108)。藉由組合包含不同V<sub>L</sub>及V<sub>H</sub>之多肽，可形成結合於不同抗原決定基之多聚scFv (Kriangkum等人, 2001, *Biomol. Eng.* 18:31-40)。經研發用於產生單鏈抗體之技術包括以下中描述之技術：美國專利4,946,778；Bird, 1988, *Science* 242:423；Huston等人, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879；Ward等人, 1989, *Nature* 334:544, de Graaf等人, 2002, *Methods Mol. Biol.* 178:379-87。

在某些實施例中，本發明提供一種Fab完全人類抗體片段，其具有來自重鏈之可變域區域及來自輕鏈之可變域區域，其中重鏈可變域序列與胺基酸序列SEQ ID NO. 1至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致，且其具有與由SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17及其組合組成之群之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致

或至少99%一致的輕鏈可變域序列。在一個實施例中，完全人類抗體 Fab 片段具有重鏈可變域區域與輕鏈可變域區域，其中抗體具有選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 17及其組合。

在一個實施例中，本發明提供一種單鏈人類抗體，其具有來自重鏈之可變域區域及來自輕鏈之可變域區域及連接重鏈與輕鏈可變域區域之肽連接子，其中重鏈可變域序列與胺基酸序列SEQ ID NO. 1至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致，且其中輕鏈可變域序列與由SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 17及其組合組成之群之胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致。在一個實施例中，完全人類單鏈抗體具有重鏈可變域區域與輕鏈可變域區域，其中該單鏈完全人類抗體具有選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO.

7、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 17及其組合。

已知用於自相關抗體衍生不同子類別或同型之抗體的技術，亦即子類別切換。因此，例如IgG抗體可衍生自IgM抗體，且反之亦然。該等技術允許製備具有既定抗體(親本抗體)之抗原結合特性且亦顯示與親本抗體不同之抗體同型或子類相關之生物特性的新穎抗體。可採用重組DNA技術。此類程序中可採用編碼特定抗體多肽之選殖DNA，例如編碼所需同型之抗體之恆定域的DNA (Lantto等人, 2002, *Methods Mol. Biol.* 178:303-16)。此外，若需要IgG4，則亦可能需要在鉸鏈區中引入點突變(CPSC->CPPC) (Bloom等人, 1997, *Protein Science* 6:407)以緩解形成內H鏈二硫鍵之傾向，該傾向可引起IgG4抗體中非均質性。因此，在一個實施例中，本發明之抗體為人類IgG1抗體。因此，在一個實施例中，本發明之抗體為人類IgG4抗體。

本發明提供多種抗體，其在結構上由其可變域區域之胺基酸序列表徵。然而，胺基酸序列可進行一些變化，同時保持其高程度結合於其特異性標靶。更特定言之，可藉由保守性取代改變可變域區域中之多個胺基酸，且可預測所得抗體之結合特徵將不會與野生型抗體序列之結合特徵不同。抗體可變域中存在多個不直接與抗原相互作用或影響抗原結合且對測定抗體結構而言不重要的胺基酸。舉例而言，任一種所揭示之抗體中之預測的非必需胺基酸殘基較佳由來自相同類別的另一種胺基酸殘基置換。鑑別不消除抗原結合之胺基酸保守性取代的方法在此項技術中熟知(參見例如Brummell等人, *Biochem.* 32: 1180-1187 (1993)；Kobayashi等人 *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999)；及

Burks等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:412-417 (1997))。Near等人 *Mol. Immunol.* 30:369-377, 1993解釋如何經由定點突變誘發影響或不影響結合。Near等人僅使其認為具有較高改變抗原結合之機率的殘基突變。大部分對結合親和力具有中度或不良作用(Near等人, 表3)且結合於地高辛(digoxin)之不同形式(Near等人, 表2)。因此, 在某些實施例中, 本發明亦包括與本文所揭示之彼等序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的可變序列。

在某些實施例中, 本文中提供之抗體或其抗原結合片段之結合親和力( $K_D$ )為 $1 \times 10^{-6}$  M或更低;  $5 \times 10^{-7}$  M或更低;  $1 \times 10^{-7}$  M或更低;  $5 \times 10^{-8}$  M或更低;  $1 \times 10^{-8}$  M或更低;  $5 \times 10^{-9}$  M或更低; 或 $1 \times 10^{-9}$  M或更低。在一個實施例中, 本發明之抗體或其抗原結合片段之 $K_D$ 為 $1 \times 10^{-7}$  M至 $1 \times 10^{-10}$  M。在一個實施例中, 本發明之抗體或其抗原結合片段之 $K_D$ 為 $1 \times 10^{-8}$  M至 $1 \times 10^{-10}$  M。

一般技術者將瞭解已知用於測定抗體或其片段之 $K_D$ 的標準方法。舉例而言, 在一個實施例中, 藉由放射性標記抗原結合分析(RIA)量測 $K_D$ 。在一個實施例中, 用相關抗體之Fab型式及其抗原進行RIA。舉例而言, Fab對抗原之溶液結合親和力藉由在一系列滴定未標記抗原存在下使Fab與最低濃度之( $^{125}$ I)標記抗原平衡, 接著用抗-Fab抗體塗佈之盤捕捉結合抗原來量測(參見例如Chen等人, *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999))。

根據另一實施例, 使用BIACORE表面電漿子共振分析法量測 $K_D$ 。如本文所用, 術語「表面電漿子共振」係指一種光學現象, 其允許例如使用BIACORE系統(Biacore Life Sciences division of GE Healthcare, Piscataway, NJ), 藉由偵測生物感測器基質內蛋白質濃度之變化來分析即時相互作用。

在特定實施例中，本發明之抗原結合蛋白針對PSMA具有至少 $10^6$ 之 $K_a$ 。在其他實施例中，抗原結合蛋白展現至少 $10^7$ 、至少 $10^8$ 、至少 $10^9$ 或至少 $10^{10}$ 之 $K_a$ 。在另一實施例中，抗原結合蛋白展現與本文在實例中所描述之抗體之 $K_a$ 實質上相同的 $K_a$ 。

在另一實施例中，本發明提供一種自PSMA解離之速率低之抗原結合蛋白。在一個實施例中，抗原結合蛋白具有 $1 \times 10^{-4}$ 至 $10^{-1}$ 或更低之 $K_{off}$ 。在另一個實施例中， $K_{off}$ 為 $5 \times 10^{-5}$ 至 $10^{-1}$ 或更低。在另一實施例中， $K_{off}$ 與本文中所描述之抗體實質上相同。在另一實施例中，抗原結合蛋白以與本文中所描述之抗體實質上相同的 $K_{off}$ 結合於PSMA。

在另一態樣中，本發明提供一種抑制PSMA之活性的抗原結合蛋白。在一個實施例中，抗原結合蛋白具有1000 nM或更低之 $IC_{50}$ 。在另一個實施例中， $IC_{50}$ 為100 nM或更低；在另一個實施例中， $IC_{50}$ 為10 nM或更低。在另一個實施例中， $IC_{50}$ 與本文在實例中描述之抗體的 $IC_{50}$ 實質上相同。在另一個實施例中，抗原結合蛋白以與本文中描述之抗體實質上相同之 $IC_{50}$ 抑制PSMA活性。

在另一態樣中，本發明提供一種抗原結合蛋白，其結合於在細胞表面上表現之PSMA且當如此結合時，在不引起細胞表面上PSMA量顯著降低的情況下抑制細胞中PSMA信號傳導活性。可使用任何用於測定或評估細胞表面上及/或細胞內PSMA之量的方法。在其他實施例中，抗原結合蛋白與表現PSMA之細胞之結合引起小於約75%、50%、40%、30%、20%、15%、10%、5%、1%或0.1%細胞表面PSMA內化。

在另一態樣中，本發明提供一種抗原結合蛋白，其活體外或活體內半衰期為至少一天(例如當投與人類個體時)。在一個實施例中，抗原結合蛋白之半衰期為至少三天。在另一實施例中，抗原結合蛋白

之半衰期為四天或更長。在另一實施例中，抗原結合蛋白之半衰期為八天或更長。在另一實施例中，抗原結合蛋白經衍生化或修飾使得其與未經衍生化或未經修飾之抗原結合蛋白相比具有更長半衰期。在另一實施例中，抗原結合蛋白含有一或多個點突變以增加血清半衰期，諸如以引用的方式併入本文中之WO00/09560中所描述。

本發明進一步提供多特異性抗原結合蛋白，例如雙特異性抗原結合蛋白，例如經由兩個不同抗原結合位點或區域結合於PSMA之兩個不同抗原決定基或結合於PSMA之一個抗原決定基及另一分子之一個抗原決定基的抗原結合蛋白。此外，如本文中所揭示之雙特異性抗原結合蛋白可包含來自本文中所描述之抗體之一的PSMA結合位點及來自另一個本文中所描述之抗體(包括本文中參考其他公開案所描述之抗體)之第二PSMA結合區。或者，雙特異性抗原結合蛋白可包含來自本文中所描述之抗體之一的抗原結合位點及來自此項技術中已知的另一個PSMA抗體或來自藉由已知方法或本文所描述之方法製備之抗體之第二抗原結合位點。

製備雙特異性抗體之多種方法為此項技術中已知。此類方法包括使用雜交融合瘤，如Milstein等人，1983, *Nature* 305:537所述；及抗體片段之化學偶合(Brennan等人，1985, *Science* 229:81；Glennie等人，1987, *J. Immunol.* 139:2367；美國專利6,010,902)。此外，雙特異性抗體可經由重組方式，例如藉由使用白胺酸拉鏈部分(亦即來自Fos及Jun蛋白質，其優先形成雜二聚體；Kostelny等人，1992, *J. Immunol.* 148:1547)或如美國專利5,582,996中所述之其他鎖鑰相互作用域結構來產生。其他適用技術包括美國專利5,959,083及5,807,706中所描述之技術。

在另一態樣中，抗原結合蛋白包含抗體之衍生物。衍生化抗體可包含賦予抗體所需性質(諸如特定用途中之半衰期增加)之任何分子



或物質。衍生化抗體可包含例如可偵測(或標記)部分(例如放射性、比色抗原或酶分子、可偵測珠粒(諸如磁性或電子緻密(例如金)珠粒)或與另一分子(例如生物素或抗生蛋白鏈菌素)結合之分子)、治療或診斷部分(例如放射性、細胞毒性或醫藥學活性部分)，或增加抗體用於特定用途(例如向諸如人類個體之個體投與，或其他活體內或活體外用途)之適合性的分子。可用於對抗體進行衍生化之分子的實例包括白蛋白(例如人類血清白蛋白)及聚乙二醇(PEG)。可使用此項技術中熟知之技術製備抗體之白蛋白連接及聚乙二醇化衍生物。在一個實施例中，抗體結合或以其他方式連接至甲狀腺素運載蛋白(TTR)或TTR變異體。TTR或TTR變異體可用例如選自由以下組成之群的化學物質進行化學修飾：聚葡萄糖、聚(n-乙基吡咯啉酮)、聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙基化多元醇及聚乙炔醇。

抗體靶向療法之一種替代性方法為利用本發明之抗-PSMA抗體特異性傳遞細胞毒性藥物至表現PSMA抗原之癌細胞。在一個實施例中，本發明之抗-PSMA抗體或片段經由連接子結合於細胞毒性劑以形成抗-PSMA抗體藥物結合物(ADC)。抗體靶向療法之一種替代性方法為利用抗-PSMA抗體特異性傳遞細胞毒性藥物至表現PSMA抗原之癌細胞。各種細胞毒性藥物為此項技術中已知，其可與本文所揭示之任一抗體結合以形成ADC，包括(但不限於)阿瑞他汀(auristatin)。奧瑞他汀，諸如單甲基奧瑞他汀E (MMAE)及單甲基阿瑞他汀F (MMAF)為藉由阻斷微管蛋白聚合來抑制細胞分裂之抗有絲分裂劑(Francisco等人 *Blood*. 2003年8月15日;102(4):1458-65；Smith等人 *Mol Cancer Ther* 2006年6月5日；1474-82)。如以下實例2中所述之由阿瑞他汀MMAF連接於抗-PSMA抗體構成之抗體-藥物結合物(ADC)展示在表現PSMA之腫瘤細胞株中有效的抗腫瘤活性。因此，在一個實施例中，

本發明之抗-PSMA抗體或其片段結合於阿瑞他汀，例如MMAF。

含有一或多種抗原結合蛋白之寡聚物可用作PSMA拮抗劑。寡聚物可呈共價連接或非共價連接之二聚體、三聚體或更高寡聚物形式。涵蓋使用包含兩種或兩種以上抗原結合蛋白之寡聚物，其中一個實例為均二聚體。其他寡聚物包括雜二聚體、均三聚體、雜三聚體、均四聚體、雜四聚體等。

一個實施例係針對寡聚物，其包含多個經由與抗原結合蛋白融合之肽部分之間的共價或非共價相互作用接合的抗原結合蛋白。此類肽可為肽連接子(間隔子)或具有促進寡聚化之特性的肽。如下文中更詳細描述，白胺酸拉鏈及源自於抗體之某些多肽屬於可促進連接於其上之抗原結合蛋白寡聚化的肽。

在特定實施例中，寡聚物包含兩個至四個抗原結合蛋白。寡聚物之抗原結合蛋白可呈任何形式，諸如上述形式中之任一種，例如變異體或片段。較佳地，寡聚物包含具有PSMA結合活性之抗原結合蛋白。

在一個實施例中，使用源自於免疫球蛋白之多肽製備寡聚物。包含與抗體衍生之多肽(包括Fc域)的各種部分融合之某些異源多肽的融合蛋白之製備已例如由Ashkenazi等人, 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:10535；Byrn等人, 1990, *Nature* 344:677；及Hollenbaugh等人, 1992「Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins」, *Current Protocols in Immunology*, 增刊4, 第10.19.1-10.19.11頁描述。

一個實施例係針對一種二聚體，其包含由抗-PSMA抗體之PSMA結合片段與抗體之Fc區融合所產生之兩個融合蛋白。二聚體可如下製得：將編碼融合蛋白之基因融合物插入適當表現載體中，在用重組表現載體轉型之宿主細胞中表現基因融合物，且使所表現之融合蛋白幾乎如抗體分子般組裝，隨後Fc部分之間形成鏈間雙硫鍵，得到二聚

體。

另一種用於製備寡聚抗原結合蛋白之方法涉及使用白胺酸拉鏈。白胺酸拉鏈域為促進發現該等白胺酸拉鏈域之蛋白質寡聚化的肽。白胺酸拉鏈最初在數種DNA結合蛋白中鑑別出(Landschulz等人, 1988, *Science* 240:1759), 且此後曾在多種不同蛋白質中發現。已知白胺酸拉鏈包括二聚或三聚之天然存在之肽及其衍生物。適用於產生可溶性寡聚蛋白之白胺酸拉鏈域之實例描述於WO 94/10308中, 且源自於肺表面活性蛋白D (SPD)之白胺酸拉鏈描述於Hoppe等人, 1994, *FEBS Letters* 344:191中。經修飾之白胺酸拉鏈允許與其融合之異源蛋白質穩定三聚之用途描述於Fanslow等人, 1994, *Semin. Immunol.* 6:267-78中。在一種方法中, 包含與白胺酸拉鏈肽融合之抗-PSMA抗體片段或衍生物的重組融合蛋白在適合宿主細胞中表現, 且所形成之可溶性寡聚抗-PSMA抗體片段或衍生物自培養物上清液回收。

針對PSMA之抗原結合蛋白可用於例如活體外或活體內偵測PSMA多肽之存在的分析法中。抗原結合蛋白亦可用於藉由免疫親和層析純化PSMA蛋白質。阻斷抗原結合蛋白可用於本文所揭示之方法中。此類充當PSMA拮抗劑之抗原結合蛋白可用於治療任何PSMA誘發之病狀, 包括(但不限於)多種癌症。

抗原結合蛋白可用於活體外程序, 或活體內投與以抑制PSMA誘發之生物活性。由此可治療藉由PSMA之蛋白分解活化引起或加劇(直接或間接)之病症, 本文提供該等病症之實例。在一個實施例中, 本發明提供一種治療方法, 其包含活體內向有需要之哺乳動物投與有效降低PSMA誘發之生物活性之量的阻斷PSMA之抗原結合蛋白。

在本發明之某些實施例中, 抗原結合蛋白包括抑制PSMA之生物活性的完全人類單株抗體。

抗原結合蛋白(包括本文中所描述之抗體及抗體片段)可藉由多種

習知技術中之任一種製備。舉例而言，其等可自天然表現其等之細胞純化(例如抗體可自產生其之融合瘤純化)，或使用此項技術中已知之任何技術在重組表現系統中產生。參見例如 *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses*, Kennet等人(編輯), Plenum Press, New York (1980)；及 *Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow及Land (編輯), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1988)。

此項技術中已知之任何表現系統可用於製備重組多肽，包括本文中所描述之本發明之抗體及抗體片段。一般而言，宿主細胞係經包含編碼所需多肽之DNA的重組表現載體轉型。其中，可採用之宿主細胞為原核生物、酵母或較高等真核細胞。原核生物包括革蘭氏陰性或革蘭氏陽性有機生物，例如大腸桿菌或芽孢桿菌。較高等真核細胞包括昆蟲細胞及已建立之哺乳動物來源之細胞株。適合哺乳動物宿主細胞株之實例包括猴腎細胞之COS-7系(ATCC CRL 1651) (Gluzman等人, 1981, *Cell* 23:175)、L細胞、293細胞、C127細胞、3T3細胞(ATCC CCL 163)、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、海拉細胞、BHK (ATCC CRL 10)細胞株及如McMahan等人, 1991, *EMBO J.* 10: 2821所述之源自非洲綠猴腎細胞株CV1 (ATCC CCL 70)之CV1/EBNA細胞株。適用於細菌、真菌、酵母及哺乳動物細胞宿主之選殖及表現載體由Pouwels等人(*Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, New York, 1985)描述。

經轉型之細胞可在促進多肽表現之條件下培養，且該多肽藉由習知蛋白質純化程序回收。一種此類純化程序包括例如在結合所有或一部分(例如細胞外域) PSMA之基質上使用親和層析。涵蓋用於本文中之多肽包括實質上均質的重組哺乳動物抗-PSMA抗體多肽，其實質上不含污染性內源性物質。

可藉由許多已知技術中之任一種製備抗原結合蛋白且針對所需特性進行篩選。某些技術包括分離編碼相關抗原結合蛋白(例如抗-PSMA抗體)之多肽鏈(或其部分)的核酸，且經由重組DNA技術操縱核酸。核酸可與另一相關核酸融合，或經改變(例如藉由突變誘發或其他習知技術)以例如添加、刪除或取代一或多個胺基酸殘基。

本發明之多肽可使用此項技術中已知之任何標準方法產生。在一個實例中，利用重組DNA方法，藉由將編碼多肽之核酸序列(例如cDNA)插入重組表現載體中且在促進表現之條件下表現DNA序列來產生多肽。

可以化學方式合成編碼本文中所揭示之多種多肽中之任一種的核酸。可選擇密碼子使用以提高細胞中之表現。此類密碼子使用將視所選擇之細胞類型而定。已針對大腸桿菌及其他細菌，以及哺乳動物細胞、植物細胞、酵母細胞及昆蟲細胞研發專用密碼子使用模式。參見例如Mayfield等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003 100(2):438-42；Sinclair等人 *Protein Expr. Purif.* 2002 (1):96-105；Connell N D. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2001 12(5):446-9；Makrides等人 *Microbiol. Rev.* 1996 60(3):512-38；及Sharp等人 *Yeast*. 1991 7(7):657-78。

在一個實施例中，本發明之特徵在於編碼本文中描述之抗體或抗體片段的核酸。舉例而言，在一個實施例中，本發明包括編碼如SEQ ID NO: 1中所闡述之重鏈可變域及/或如SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 17任一者中所闡述之輕鏈可變域的核酸。

用於核酸操作之一般技術描述於例如Sambrook等人 *Molecular*

*Cloning: A Laboratory Manual*, 第 1-3 卷, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第2版, 1989, 或F. Ausubel等人, *Current Protocols in Molecular Biology* (Green Publishing and Wiley-Interscience: New York, 1987)及週期性更新, 以引用的方式併入本文中。編碼多肽之DNA可操作地連接於源自於哺乳動物、病毒或昆蟲基因之適合轉錄或轉譯調節元件。此類調節元件包括轉錄啟動子、用於控制轉錄之視情況選用之操作序列、編碼適合mRNA核糖體結合位點之序列及控制轉錄及轉譯終止之序列。在宿主中複製之能力通常由複製起點賦予, 且可額外併入促進轉型體識別之選擇基因。

重組DNA亦可包括可用於純化蛋白質之任何類型蛋白質標籤序列。蛋白質標籤之實例包括(但不限於)組胺酸標籤、FLAG標籤、myc標籤、HA標籤或GST標籤。適用於細菌、真菌、酵母及哺乳動物細胞宿主之選殖及表現載體可見於 *Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, (Elsevier, N.Y., 1985)中。

使用適用於宿主細胞之方法將表現構築體引入宿主細胞中。此項技術中已知多種用於將核酸引入宿主細胞之方法, 包括(但不限於)電致孔; 採用氯化鈣、氯化銣、磷酸鈣、DEAE-聚葡萄糖或其他物質進行之轉染; 微彈轟擊; 脂質體轉染; 及感染(其中載體為感染物)。適合宿主細胞包括原核細胞、酵母、哺乳動物細胞或細菌細胞。

適合細菌包括革蘭氏陰性或革蘭氏陽性生物體, 例如大腸桿菌或芽孢桿菌屬。酵母, 較佳來自酵母(*Saccharomyces*)物種, 諸如釀酒酵母(*S. cerevisiae*), 亦可用於產生多肽。多種哺乳動物或昆蟲細胞培養系統亦可用於表現重組蛋白。用於在昆蟲細胞中產生異源蛋白質之桿狀病毒系統評述於Luckow及Summers, (*Bio/Technology*, 6:47, 1988)中。適合哺乳動物宿主細胞株之實例包括內皮細胞、COS-7猴腎細胞、CV-1、L細胞、C127、3T3、中國倉鼠卵巢(CHO)、人胚腎細

胞、HeLa、293、293T及BHK細胞株。藉由培養適合宿主/載體系統以表現重組蛋白質來製備經純化之多肽。在一些實施例中，本文中所揭示之多種多肽之小尺寸將使在大腸桿菌中表現成為較佳表現方法。接著自培養基或細胞提取物純化蛋白質。

本文中所揭示之蛋白質亦可使用細胞轉譯系統產生。出於此類目的，編碼多肽之核酸必須經修飾以允許活體外轉錄以產生mRNA，且允許使用不含特定細胞之系統中mRNA之無細胞轉譯(真核生物，諸如不含哺乳動物或酵母細胞之轉譯系統，或原核生物，諸如不含細菌細胞之轉譯系統)。PSMA結合多肽亦可藉由化學合成製備(例如藉由Solid Phase Peptide Synthesis, 第2版, 1984, The Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.中所描述之方法)。對蛋白質之修飾亦可藉由化學合成產生。

本發明之多肽可藉由蛋白質化學領域中通常已知之用於蛋白質之分離/純化方法來純化。非限制性實例包括提取、再結晶、鹽析(例如用硫酸銨或硫酸鈉)、離心、透析、超濾、吸附層析、離子交換層析、疏水性層析、正相層析、逆相層析、凝膠過濾、凝膠滲透層析、親和層析、電泳、逆流分佈或此等方法之任何組合。在純化之後，多肽可交換至不同緩衝液中及/或藉由此項技術中已知的多種方法中之任一種濃縮，包括(但不限於)過濾及透析。經純化之多肽較佳具有至少85%純度，更佳至少95%純度且最佳至少98%純度。無論純度之精確數值如何，多肽足夠純以用作醫藥產品。

在某些實施例中，本發明提供結合於PSMA之單株抗體。可使用此項技術中已知之任何技術，例如藉由在完成免疫時程之後使收集自轉殖基因動物之脾細胞永生來產生單株抗體。可使用此項技術中已知之任何技術使脾細胞永生，例如藉由使其與骨髓瘤細胞融合以產生融合瘤。用於產生融合瘤之融合程序中之骨髓瘤細胞較佳不產生抗

體，具有高融合效率且酶不足，使得其不能在僅支持所需融合細胞(融合瘤)生長之某些選擇性培養基中生長。小鼠融合物中適用之細胞株之實例包括Sp-20、P3-X63/Ag8、P3-X63-Ag8.653、NS1/1.Ag 4 1、Sp210-Ag14、FO、NSO/U、MPC-11、MPC11-X45-GTG 1.7及S194/5XX0 Bul；大鼠融合物中所用之細胞株之實例包括R210.RCY3、Y3-Ag 1.2.3、IR983F及48210。其他適用於細胞融合物之細胞株為U-266、GM1500-GRG2、LICR-LON-HMy2及UC729-6。

抗體之片段或類似物可由一般技術者根據本說明書之教示內容及使用此項技術中已知之技術容易地製備。片段或類似物之較佳胺基端及羧基端位於功能性結構域之邊界附近。可藉由比較核苷酸及/或胺基酸序列資料與公用或專用序列資料庫來鑑別結構及功能性結構域。可使用電腦化比較方法鑑別序列主結構或預測其他具有已知結構及/或功能之蛋白質中存在的蛋白質構形結構域。已知用於鑑別摺疊成已知三維結構之蛋白質序列的方法。參見Bowie等人, 1991, *Science* 253:164。

### 多肽之轉譯後修飾

在某些實施例中，本發明之結合多肽可進一步包含轉譯後修飾。例示性轉譯後蛋白質修飾包括磷酸化、乙醯化、甲基化、ADP-核糖基化、泛素化、糖基化、羰基化、蘇素化、生物素化或添加多肽側鏈或疏水性基團。因此，經修飾之可溶性多肽可含有非胺基酸元素，諸如脂質、多醣或單醣及磷酸鹽。較佳糖基化形式為唾液酸化，其使一或多個唾液酸部分與多肽結合。唾液酸部分改良可溶性及血清半衰期，同時亦降低蛋白質之可能免疫原性。參見Raju等人 *Biochemistry*. 2001 31; 40(30):8868-76。

在一個實施例中，標的可溶性多肽之經修飾之形式包含使標的可溶性多肽連接至非蛋白性聚合物。在一個實施例中，聚合物為聚乙



二醇(「PEG」)、聚丙二醇或聚氧化烯，以如美國專利4,640,835、4,496,689、4,301,144、4,670,417、4,791,192或4,179,337中所闡述之方式。

PEG為市售或可根據此項技術中熟知之方法藉由乙二醇之開環聚合製備的水溶性聚合物(Sandler及Karo, *Polymer Synthesis*, Academic Press, New York, 第3卷, 第138-161頁)。術語「PEG」概括性用於涵蓋任何聚乙二醇分子，與尺寸或PEG之一端的改質無關，且可由下式表示： $X-O(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2OH$  (1)，其中n為20至2300且X為H或末端修飾，例如C<sub>1-4</sub>烷基。在一個實施例中，本發明之PEG在一端由羥基或甲氧基封端，亦即X為H或CH<sub>3</sub>(「甲氧基PEG」)。PEG可含有結合反應所需之其他化學基團；該等基團由分子之化學合成產生；或其為分子各部分之最佳距離之間隔基。此外，此類PEG可由連接在一起之一或多個PEG側鏈組成。具有一個以上PEG鏈之PEG稱為多臂或分支鏈PEG。分支鏈PEG可例如藉由向多種多元醇(包括丙三醇、異戊四醇及山梨糖醇)添加聚氧化乙烯來製備。舉例而言，可由異戊四醇及環氧乙烷製備四臂分支鏈PEG。分支鏈PEG描述於例如EP-A 0 473 084及美國專利5,932,462中。PEG之一種形式包括經由離胺酸之一級胺基連接的兩個PEG側鏈(PEG<sub>2</sub>)(Monfardini等人, *Bioconjugate Chem.* 6 (1995) 62-69)。

與未經修飾之結合多肽之清除率相比，經PEG修飾之多肽之血清清除率可降低約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或甚至90%。與未經修飾之蛋白質之半衰期相比，經PEG修飾之多肽之半衰期(t<sub>1/2</sub>)可得到增強。相對於未經修飾之結合多肽之半衰期，PEG結合多肽之半衰期可增強至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、125%、150%、175%、200%、250%、300%、400%或500%或甚至1000%。在一些實施例中，活體外測定蛋

白質半衰期，諸如在緩衝鹽水溶液或血清中。在其他實施例中，蛋白質半衰期為活體內半衰期，諸如血清或動物之其他體液中蛋白質之半衰期。

### 治療方法、調配物及投藥模式

本發明提供一種用於治療癌症之方法，其包含投與如本文所述之抗-PSMA抗體或抗體片段。本發明進一步提供一種用於治療前列腺癌之方法，其包含投與如本文所述之抗-PSMA抗體或抗體片段。

研究已證實許多類型前列腺組織中PSMA表現及癌症組織中PSMA表現增加(Chang, S. Rev Urol. 2004; 6(增刊10): S13-S18 ; Silver等人 Clin Cancer Res. 1997;3:81-85 ; Troyer等人 Int J Cancer. 1995;62:552-558 ; Haffner等人 Hum Pathol. 2009年12月;40(12):1754-61)。因此，在一個實施例中，本發明之抗-PSMA抗體及抗體片段用於治療與PSMA表現增加相關之癌症。

本文中所揭示之任一抗體可用於此類方法中。舉例而言，方法可使用以至少 $10^{-6}$ M之結合親和力結合於PSMA抗原決定基的IgG類別完全人類抗體、具有來自重鏈之可變域區域及來自輕鏈之可變域區域的Fab完全人類抗體片段、具有來自重鏈之可變域區域及來自輕鏈之可變域區域及連接重鏈與輕鏈可變域區域之肽連接子(包括SEQ ID No.1-17(表3)中描述之重鏈及輕鏈可變區(及該等序列內CDR))的單鏈人類抗體進行。

在一個實施例中，本文所揭示之抗體用於靶向化學或細胞治療有效負載，其中抗-PSMA抗體包含與胺基酸序列SEQ ID NO. 1至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變域序列且包含與選自由以下各者組成之群的胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID

NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 17。

在一個實施例中，本文所描述之方法包括使用完全人類Fab抗體片段，該完全人類Fab抗體片段包含與胺基酸序列SEQ ID NO. 1至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變域序列且包含與選自由以下各者組成之群的胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 17。

在一個實施例中，本文所描述之方法包括使用單鏈人類抗體，該單鏈人類抗體包含與胺基酸序列SEQ ID NO. 1至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的重鏈可變域序列且包含與選自由以下各者組成之群的胺基酸序列至少95%一致、至少96%一致、至少97%一致、至少98%一致或至少99%一致的輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 17。

在一個實施例中，完全人類抗體具有重鏈與輕鏈，其中抗體包含選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO.

1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 17。

在一個實施例中，完全人類抗體Fab片段包含重鏈可變域區域與輕鏈可變域區域，其中抗體包含選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 17。

在一個實施例中，完全人類單鏈抗體包含重鏈可變域區域與輕鏈可變域區域，其中該單鏈完全人類抗體包含選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13、SEQ

ID NO. 1/SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 17。

在一個實施例中，可使用本文所揭示之抗體及片段治療之癌症包括(但不限於)卵巢癌、結腸癌、乳癌、肺癌、骨髓瘤、神經母細胞衍生之CNS腫瘤、單核細胞性白血病、B細胞衍生之白血病、T細胞衍生之白血病、B細胞衍生之淋巴瘤、T細胞衍生之淋巴瘤及肥大細胞衍生之腫瘤。

在一個實施例中，本發明之抗-PSMA抗體及抗體片段用於治療前列腺癌。

本文中所描述之PSMA抗體及抗體片段適用於治療癌症或其他贅生性病狀(包括血液學惡性病及/或PSMA+腫瘤)之症狀、延緩其進展、預防其復發或緩解其症狀。本文中描述之PSMA抗體適用於治療選自由以下各者組成之群的癌症：非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)、急性骨髓白血病(AML)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、多發性骨髓瘤(MM)、乳癌、卵巢癌、頭頸癌、膀胱癌、黑色素瘤、結腸直腸癌、胰臟癌、肺癌、平滑肌瘤、平滑肌肉瘤、神經膠質瘤、神經膠母細胞瘤及實體腫瘤，其中實體腫瘤係選自由以下各者組成之群：乳房腫瘤、卵巢瘤、肺腫瘤、胰臟腫瘤、前列腺腫瘤、黑色素瘤腫瘤、結腸直腸腫瘤、肺腫瘤、頭頸腫瘤、膀胱腫瘤、食道癌、肝臟腫瘤及腎腫瘤。

如本文所用，「血液學癌症」係指血液癌症，且尤其包括白血病、淋巴瘤及骨髓瘤。「白血病」係指一種血液癌症，其中形成過多在對抗感染中無效之白血球，因此擠出其他組成血液之部分，諸如血小板及紅血球。應瞭解，白血病之病例分類為急性或慢性。因而，本發明之抗體及片段可用於治療患有血液癌症之個體。

白血病之某些形式包括急性淋巴細胞性白血病(ALL)；急性骨髓白血病(AML)；慢性淋巴細胞性白血病(CLL)；慢性骨髓性白血病(CML)；骨髓增生病症/贅瘤(MPDS)；及骨髓發育不良症候群。「淋巴瘤」可尤其指霍奇金氏淋巴瘤、惰性及侵襲性非霍奇金氏淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)及濾泡性淋巴瘤(小細胞及大細胞)。骨髓瘤可指多發性骨髓瘤(MM)、巨細胞骨髓瘤、重鏈骨髓瘤及輕鏈或本-瓊氏骨髓瘤(Bence-Jones myeloma)。

本發明之特徵在於用於治療或預防金黃色葡萄球菌(*S. aureus*)感染之方法，其包含投與抗-PSMA多肽。用於投藥之技術及劑量視特定多肽之類型及所治療之特定病狀而變化，但可由熟習此項技術者容易地確定。通常，監管機構需要待用作治療劑之蛋白質試劑經調配以具有可接受的低熱原質含量。因此，治療調配物與其他調配物之區別通常在於其實質上無熱原質，或至少含有不超過可接受含量之熱原質，如由適合監管機構(例如FDA)所測定。

本發明之治療組合物可與醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑或賦形劑以單位劑型一起投與。作為非限制性實例，投藥可為非經腸(例如靜脈內、皮下)、經口或局部。此外，使用編碼本發明之多肽之核酸，可採用任何基因療法技術，諸如裸DNA傳遞、重組基因及載體、基於細胞之傳遞，包括患者細胞之離體操作，及其類似技術。

組合物可呈以下形式；用於口服投藥之丸劑、錠劑、膠囊、液體或持續釋放錠劑；或用於靜脈內、皮下或非經腸投藥之液體；用於局部投藥之凝膠、乳液、軟膏、乳膏或聚合物或其他持續釋放媒劑。

在某些實施例中，藉由吸入投與本發明之抗體，但完全IgG抗體之氣溶膠化可由於其分子尺寸(約150 kDa)而顯示限制性。

用於製備調配物之此項技術中熟知之方法見於例如「Remington: The Science and Practice of Pharmacy」(第20版, A. R. Gennaro A R.,

2000, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.)。用於非經腸投藥之調配物可例如含有賦形劑、無菌水、生理食鹽水、聚烷二醇(諸如聚乙二醇)、植物來源之油或氫化萘。生物可相容之可生物降解丙交酯聚合物、丙交酯/乙交酯共聚物或聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物可用於控制化合物之釋放。奈米顆粒調配物(例如可生物降解奈米粒子、固體脂質奈米粒子、脂質體)可用於控制化合物之生物分佈。其他潛在適用之非經腸傳遞系統包括乙烯-乙酸乙烯酯共聚物粒子、滲透泵、可植入輸注系統及脂質體。調配物中化合物之濃度視多種因素而變化，包括待投與之藥物之劑量及投藥途徑。

多肽可視情況以醫藥學上可接受之鹽形式投與，諸如醫藥行業中通常使用之無毒性酸加成鹽或金屬錯合物。酸加成鹽之實例包括有機酸，諸如乙酸、乳酸、雙羧萘酸、順丁烯二酸、檸檬酸、蘋果酸、抗壞血酸、丁二酸、苯甲酸、棕櫚酸、辛二酸、柳酸、酒石酸、甲烷磺酸、甲苯磺酸或三氟乙酸或其類似物；聚合酸，諸如鞣酸、羧基甲基纖維素或其類似物；及無機酸，諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、磷酸或其類似物。金屬錯合物包括鋅、鐵及其類似物。在一個實例中，多肽在乙酸鈉存在下調配以增加熱穩定性。

用於經口使用之調配物包括含有活性成分與無毒性醫藥學上可接受之賦形劑之混合物的錠劑。此等賦形劑可為例如惰性稀釋劑或填充劑(例如蔗糖及山梨糖醇)、潤滑劑、滑動劑及抗黏著劑(例如硬脂酸鎂、硬脂酸鋅、硬脂酸、二氧化矽、氫化植物油或滑石)。

用於經口使用之調配物亦可以咀嚼錠，或硬明膠膠囊(其中活性成分與惰性固體稀釋劑混合)，或軟明膠膠囊(其中活性成分與水或油介質混合)形式提供。

治療有效劑量係指產生投與其為達成之治療作用的劑量。精確劑量將視所治療之病症而定，且可由熟習此項技術者使用已知技術確

定。通常，以每天約0.01 µg/kg至約50 mg/kg，較佳每天0.01 mg/kg至約30 mg/kg，最佳每天0.1 mg/kg至約20 mg/kg投與多肽。多肽可每天(例如每天一次、兩次、三次或四次)或較佳不太頻繁地(例如每週一次、每兩週一次、每三週一次、每月一次或每季度一次)投與。此外，如此項技術中已知，可能需要視年齡以及體重、一般健康狀況、性別、飲食、投藥時間、藥物相互作用及疾病嚴重程度進行調節，且可由熟習此項技術者藉由常規實驗確定。

如本文中所揭示，PSMA結合多肽可單獨或與一或多種其他療法(諸如化學療法、放射線療法、免疫療法、手術介入或此等療法之任何組合)組合投與。如上文所描述，如其他治療策略之情形下之輔助療法一般，長期療法同樣為可能的。

在此類方法之某些實施例中，一或多種多肽治療劑可一起(同時)或在不同時間(依序)投與。此外，多肽治療劑可與另一類型用於治療癌症或用於抑制血管生成之化合物一起投與。

在某些實施例中，本發明之標的抗-PSMA抗體試劑可單獨使用。

在某些實施例中，其片段之結合多肽可經標記或未經標記以用於診斷目的。通常，診斷分析法需要偵測由結合多肽與PSMA之結合產生的複合物之形成。與抗體類似，結合多肽或片段可直接標記。可採用多種標記物，包括(但不限於)放射性核種、螢光劑、酶、酶受質、酶輔因子、酶抑制劑及配位體(例如生物素、半抗原)。熟習此項技術者已知多種適合的免疫分析法(參見例如美國專利3,817,827；3,850,752；3,901,654；及4,098,876)。當未經標記時，結合多肽可用於分析法中，諸如凝集分析法。未經標記之結合多肽亦可與另一種(一或多種)適合試劑組合使用，該試劑可用於偵測結合多肽，諸如與結合多肽或其他適合試劑(例如經標記之蛋白質A)具有反應性之經標記之抗體。



在一個實施例中，本發明之結合多肽可用於酶免疫分析法中，其中標的多肽與酶結合。當包含PSMA蛋白質之生物樣品與標的結合多肽組合時，結合在結合多肽與PSMA蛋白質之間發生。在一個實施例中，含有表現PSMA蛋白質之細胞(例如內皮細胞)之樣品與標的抗體組合，且結合多肽與攜有由結合多肽識別之PSMA蛋白質的細胞之間發生結合。此等結合細胞可與未結合之試劑分離，且可例如藉由使樣品與酶受質(其在由酶作用時產生顏色或其他可偵測之變化)接觸來測定特異性結合於細胞之結合多肽-酶結合物之存在。在另一實施例中，標的結合多肽可未經標記，且可添加可識別標的結合多肽之第二經標記之多肽(例如抗體)。

在某些態樣中，亦可製備用於偵測生物樣品中PSMA蛋白質之存在的套組。此類套組將包括PSMA結合多肽，其結合於PSMA蛋白質或該受體之部分，以及一或多種適用於偵測結合多肽與受體蛋白質或其部分之間的複合物之存在的輔助試劑。本發明之多肽組合物可以凍乾形式(單獨或與其他對其他抗原決定基具有特異性之抗體組合)提供。套組中可包括結合多肽及/或抗體(其可經標記或未經標記)以及輔助成分(例如緩衝劑，諸如Tris、磷酸鹽及碳酸鹽、穩定劑、賦形劑、殺生物劑及/或惰性蛋白質，例如牛血清白蛋白)。舉例而言，結合多肽及/或抗體可以與輔助成分之凍乾混合物形式提供，或輔助成分可單獨提供由使用者組合。通常以活性結合多肽或抗體之量計，此等輔助材料將以小於約5%重量存在，且通常以多肽或抗體濃度計，以至少約0.001重量%之總量存在。在採用能夠結合於結合多肽之第二抗體下，此類抗體可在套組(例如單獨小瓶或容器)中提供。第二抗體(若存在)通常經標記，且可以與上述抗體調配物類似的方式調配。

使用標準一字母或三字母縮寫表示多肽序列。除非另外指示，否則各多肽序列在左側具有胺基端且在右側具有羧基端；各單股核酸

序列及各雙股核酸序列之頂部股在左側具有5'端且在右側具有3'端。特定多肽序列亦可藉由說明其與參考序列不同之程度來描述。

現已詳細描述本發明，參考以下實例將更清楚地理解本發明，該等實例僅出於說明之目的包括在內且不意欲限制本發明。

### 實例1

鑑別人類抗-PSMA抗體且輕鏈及重鏈可變區之胺基酸序列描述於以下表3中。

此實例說明如藉由流動式細胞量測術分析，抗-PSMA抗體與LNCaP人類前列腺癌細胞上表現之內源性人類PSMA之結合。抗體之EC<sub>50</sub>值如下測定。

用無酶細胞解離緩衝液(GIBCO)收穫表現PSMA之LNCaP細胞且轉移至V形底96孔盤(50,000個細胞/孔)。細胞在冰上與抗-PSMA抗體PSGB11、PSGB12、PSGC12、PSGD4、PSGD6及PSA11於FACS緩衝液(PBS+2% FBS)+NaN<sub>3</sub>中之連續稀釋液一起培育45分鐘。對照抗體(cIg)為陰性對照且為同型匹配的非特異性(亦即不結合於PSMA且亦不結合細胞)抗體。在FACS緩衝液中洗滌1次之後，添加1:1000稀釋之藻紅素結合之抗人類IgG ( $\gamma$ -鏈特異性)且培育30分鐘。最終洗滌後，在Intellicyt高通量流式細胞儀(HTFC)上量測螢光強度。

使用Graphpad Prism軟體及非線性回歸擬合分析資料。資料點展示為陽性標記之細胞之中值螢光強度(MFI)+/-標準誤差。EC<sub>50</sub>值報導為實現最大PSMA抗體結合於表現PSMA之細胞的50%的抗體濃度。

同時，亦用相同方法在PC3 (不內源性表現人類PSMA且因此充當陰性對照之一種前列腺癌細胞株)上評估細胞結合。

來自癌症、PSMA特異性LNCaP細胞與陰性對照PC3細胞之結合分析的結果提供於圖1 (A-D)中。如圖1A及1B中所示，相對於陰性IgG對照，抗-PSMA抗體PSGB11、PSGB12、PSGC12、PSGD4、

PSGD6及PSA11強烈結合表現PSMA之LNCaP細胞(參見圖1A)。此外，如圖(C)及(D)中所述，抗-PSMA抗體PSGB11、PSGB12、PSGC12、PSGD4、PSGD6及PSA11展示幾乎不結合於不表現人類PSMA之細胞(PC3細胞)，因為該等細胞展示與陰性對照抗體類似的結果(參見圖1(C))。因此，圖1(A-D)中之結果展示抗體對包括表現PSMA之癌細胞的表現PSMA之細胞具有特異性。

另外，本文中鑑別之抗-PSMA抗體顯示對PSMA表現之LNCaP細胞在奈莫耳範圍內之 $EC_{50}$ 值，如下表1中所述。此等資料證實表3中描述之抗體與內源性PSMA之強烈且特異性結合。

表1：

抗-PSMA抗體	與LNCaP細胞之結合( $EC_{50}$ , nM)
PSA11	2.4
PSGF9	2.08
PSGC9	2.05
PSGD6	1.92
PSGD3	3.15
PSGE10	1.92
PSGH3	3.72
PSGD4	1.59
PSGB12	3.46
PSGB11	1.98
PSGE11	553.70
PSGC8	3.84
PSG6	6.95
PSGH8	2.13
PSGG6	1.3
PSGB11	1.83
PSGC12	2.84

## 實例2

此實例說明展示在細胞毒性分析中使用二級抗體-藥物結合物技術評估抗-PSMA抗體之活體外資料(「Secondary Antibody-Drug Conjugates as Tools for ADC Discovery」. Helen Mao, Poster, IBC 24<sup>th</sup> Annual, 2013)。此實例證實抗-PSMA抗體可用作抗體藥物結合物。

用無酶細胞解離緩衝液(GIBCO)收穫表現PSMA之前列腺癌細胞

(LNCaP, ATCC CRL-1740™), 接種至白色96孔透明底盤(90 μl中2,000個細胞/孔)且使其在37°C下黏附隔夜。在實驗中使用抗-PSMA抗體PSGF9、PSGC9、PSGD6、PSGD3、PSGE10、PSGH3、PSGB11、PSGD4、PSGB12及PSA11。抗體與蛋白質G(PG)-MMAF (單甲基阿瑞他汀F, Concortis Biosystems)在細胞培養基中以1:4莫耳比預先複合。對照抗體(cIg)為同型匹配、非特異性(亦即不結合於PSMA)抗體。單獨PGMMAF用作陰性對照。在室溫下10分鐘之後,在細胞培養基中製備抗體-蛋白質G-MMAF複合物之連續稀釋液,在室溫下再培育10分鐘且一式三份地添加至細胞(10微升/孔)中。在一些實驗中,培養盤在37°C下培育4天(「無洗滌方法」)。在其他實驗(「2小時洗滌方法」)中,培養盤在37°C下培育兩小時,抽吸培養基。接著細胞用完全培養基洗滌一次,且留在新鮮完全培養基中,接著在37°C下培育4天。對於所有實驗,接著如下分析細胞增殖:將100 μl Cell Titer Glo緩衝液(Promega)添加至各孔中。培養盤在震盪下在室溫下培育20分鐘。接著在Flexstation 3盤式讀取器(Molecular Device)上量測發光信號。資料報導為相對發光單元。在GraphPad prism中產生劑量反應曲線,且使用非線性回歸擬合計算IC<sub>50</sub>值(Log(抑制劑)對比反應-可變斜率等式)。

結果展示在圖2 (A-C)及以下表2中。圖2A-C中描述之結果展示包含以下抗體之抗-PSMA ADC可誘發LNCaP癌細胞中細胞殺死:PSGF9、PSGC9、PSGD6 (圖2A);PSGD3、PSGE10、PSGH3、PSGB11 (圖2B);PSGD4、PSGB12及PSA11 (圖2C),各結合於MMAF。相比之下,單獨MMAF及IgG對照(參見圖2A)對細胞死亡幾乎無作用且具有高細胞存活率。

PSMA陰性前列腺癌細胞(PC-3, ATCC CRL-1435)使用相同方法,以評估抗-PSMA抗體(PSGF9、PSGC9、PSGD6、PSGD3、

PSGE10、PSGH3、PSGB11、PSGD4、PSGB12及PSA11)/蛋白質G-MMAF複合物之細胞殺死的非特異性。圖2D中展示之結果指示在PSMA陰性癌細胞中當與例如MMAF之細胞毒素複合時抗-PSMA抗體不誘發細胞殺死。因此，圖1及圖2展示在不過度表現PSMA之細胞上幾乎未觀測到非特異性細胞殺死，表明將來PSMA抗體藥物結合物(ADC)之優良選擇性指數。總而言之，此說明PSMA抗體作為抗體-藥物結合物之潛能。

測定抗-PSMA-MMAF ADC之 $IC_{50}$ 值且描述於以下表2。為檢驗針對此等類型次要結合物觀測到之細胞殺死歸因於測試之特定內化結合物，洗滌未結合之結合物(表2中2小時洗滌方法)。如表2中所述， $IC_{50}$ 值在奈莫耳範圍內。

表2：

抗體	細胞殺死，無洗滌方法 ( $IC_{50}$ ，nM)	細胞殺死，2小時洗滌方法 ( $IC_{50}$ ，nM)
PSA11	0.08	1.55
PSGB11	0.04	1.60
PSGB12	0.05	1.66
PSGC9	0.06	1.22
PSGD3	0.12	2.24
PSGD4	0.06	2.09
PSGD6	0.04	1.13
PSGE10	0.08	1.58
PSGF9	0.13	1.33
PSGH3	0.06	1.51

### 實例3

除本文中描述之抗-PSMA抗體能夠結合於PSMA且當結合於毒素時亦誘發細胞死亡之外，在Octet上測定抗體PSA11及PSGB11之親和力值。如圖3中所述，抗-PSMA抗體PSA11具有約 $6.7 \times 10^{-10}$  M之 $K_D$ ，且抗體PSA11 (在圖4中描述)具有約 $6.8 \times 10^{-10}$  M之 $K_D$ 。

特定言之，胺反應性第二代(AR2G)感測器用抗體(乙酸緩衝液中15  $\mu$ g/ml，pH 5.0)使用磺酸基-N-羥基丁二醯亞胺/N-乙基-N'-(3-二甲

基胺基丙基)碳化二亞胺鹽酸鹽(磺酸基-NHS/EDC)偶合方法塗佈。感測器用1M pH 8.5乙醇胺淬滅。藉由移動感測器至連續稀釋之重組人類PSMA/His (PBS緩衝液中)孔收集資料，接著藉由轉移感測器至PBS孔分離資料。1:1結合模型用於擬合資料。來自分析之結果提供於圖3及4中。

表3. 胺基酸重鏈及輕鏈可變結構域

	重鏈可變域	輕鏈可變域
PSA11	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGTMTVSS SEQ ID NO. 1	VIWMTQSPSSVSASVGDRVITTCR ASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLL IYAASNLSQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQANSFP LTFGGGTKVDIK SEQ ID NO. 2
PSGB11	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGTMTVSS SEQ ID NO. 1	EIVLTQSPSTLSASVGDRVITTCRA SQSISSWLAWYQQKPGKAPRLLI YAASILQRGVPSRFSGSGSETDFT LTISSLQPEDLATYYCQETYSNLF TFGPGTKVDIK SEQ ID NO. 3
PSGB12	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGTMTVSS SEQ ID NO. 1	DVVMQTQSPSTLSASVGDRVITTCR ASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLL IFAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF LTISSLQPEDFATYYCQESYSIPWT FGQGTKVEIK SEQ ID NO. 4
PSGC8	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGTMTVSS SEQ ID NO. 1	AIRMTQSPSSVSASVGDRVITTCR ASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLKPEDFATYYCQQANSFP RALTFGGGTKVEIK SEQ ID NO. 5
PSGC9	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGTMTVSS SEQ ID NO. 1	AIRMTQSPSTLSASVGDRVITTCR ASQNIYGWLAWYQQKPGKAPKLL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINSLQPEDFATYYCQQSYTIP FTFGPGTKVDIK SEQ ID NO. 6
PSGC12	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN	DIVMTQSPSSVSASVGDRVITTCR ASQDVGTWLAWYQQKPGRAPKL LIYVASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDSATYYCQQAKGIP

	重鏈可變域	輕鏈可變域
	SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGMVTVSS SEQ ID NO. 1	YTFGQGTKLEIK SEQ ID NO. 7
PSGD3	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGMVTVSS SEQ ID NO. 1	DIVMTQSPSSVSASVGDRVITICR ASQDINNWLAWYQQKAGKAPKL LIYVATKLNQNGVPSRFSGSGSGTD FTLSISNLQPEDFATYYCQQAQSF PYTFGQGTKLEIK SEQ ID NO. 8
PSGD4	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGMVTVSS SEQ ID NO. 1	DIVMTQSPSSLSASVGDRVSITCR ASQGISTWLAWYQQKPGKAPDLL IYAASNLSQGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQANSFP LTFGGGKVEIK SEQ ID NO. 9
PSGD6	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGMVTVSS SEQ ID NO. 1	DIVMTQSPSSVSASVGDRVITICR ASQAISWLAWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQAYSFP VTFGPGTKVDIK SEQ ID NO. 10
PSGE10	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGMVTVSS SEQ ID NO. 1	DVVMTQSPSSVSASVGDRVITIC RASQGISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTINNLQPEDFATYYCQQTASF PINFGGKVEIK SEQ ID NO. 11
PSGE11	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGMVTVSS SEQ ID NO. 1	DIVMTQSPSTLSASVGDRVITICR ASQSISNLAWYQQKPGKPPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYRSL TFAGGKVEIK SEQ ID NO. 12
PSGF9	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGMVTVSS SEQ ID NO. 1	AIQMTQSPSSVSASVGDRVITICR ASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQESYSTPF TFGPGTKVDIK SEQ ID NO. 13
PSGF11	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGMVTVSS	DIQMTQSPSYVSASVGDRVITICR ASQGVSHWLAWYQQKPGKAPKL LIYAASRLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQAYSF PLTFGQGTKLEIK SEQ ID NO. 14

	重鏈可變域	輕鏈可變域
	SEQ ID NO. 1	
PSGG6	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGTMVTVSS SEQ ID NO. 1	EIVLTQSPSSLSASVGDRVITICRA SQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLI YAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDF LTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPR GITFGQGTKLEIK SEQ ID NO. 15
PSGH3	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGTMVTVSS SEQ ID NO. 1	DIVMTQSPSSVSASVGDRVITICR ASQGISNWLAWYQQKPGKAPKL LIYVASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQANSF PITFGQGRLEIK SEQ ID NO. 16
PSGH8	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMSWVRQAPG KGLEWVANIKQDGSEKYYVDS VKGRFTISRDNKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARVWDYYY DSSGDAFDIWGQGTMVTVSS SEQ ID NO. 1	DIVMTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTINSLQPEDFATYYCQQASGFP FTFGPGTKVDIK SEQ ID NO. 17

以引用的方式併入

本申請案通篇引用之所有參考文獻、專利、正在申請中之專利申請案及公開專利案之內容皆以引用的方式明確地併入本文中。

**【符號說明】**

無



## 【序列表】

<110> 美商索倫多醫療公司

<120> 結合PSMA之抗體治療劑

<130> 126036-04420

<140>

<141>

<150> 62/131,227

<151> 2015-03-10

<160> 19

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 1

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

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 2

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

&lt;400&gt; 2

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

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

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

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

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

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列之描述：合成多肽

&lt;400&gt; 3

Glu Ile Val Leu 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 Arg Leu Leu Ile  
35 40 45

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

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

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
100 105

<210> 4  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 4  
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser 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

Phe 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 Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

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

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

<210> 5  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 5  
 Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val 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 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 Lys Pro

65                                  70                                  75                                  80

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

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

<210> 6  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 6  
Ala Ile Arg 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 Asn Ile Tyr Gly Trp  
20    25    30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu 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 Asn Ser Leu Gln Pro  
65    70    75    80

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
100    105

<210> 7  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成多肽

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

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

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

Tyr Val 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 Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys Gly Ile Pro Tyr  
 85 90 95

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

<210> 8  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 8  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 9  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

&lt;400&gt; 9

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

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

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

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

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

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

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

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列之描述：合成多肽

&lt;400&gt; 10

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ala 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 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 Ala Tyr Ser Phe Pro Val  
 85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
 100 105

<210> 11  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 11  
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val 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 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 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Ala Ser Phe Pro Ile  
 85 90 95  
 Asn Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 12  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 12  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Trp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro 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 Arg Ser Leu Thr  
 85 90 95

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

<210> 13  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 13  
 Ala Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val 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 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 Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Glu Ser Tyr Ser Thr Pro Phe  
 85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
 100 105

<210> 14  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 14  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Val Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Ser His Trp  
 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 Arg 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 Ala Tyr Ser Phe Pro Leu  
85 90 95

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

<210> 15  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 15  
Glu Ile Val Leu 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 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 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 Leu Asn Ser Tyr Pro Arg  
85 90 95

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

<210> 16  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 16  
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1                    5                    10                    15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp  
                   20                                    25                                    30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
                   35                                    40                                    45  
 Tyr Val 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 Ala Asn Ser Phe Pro Ile  
                   85                                    90                                    95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
                   100                                    105

<210> 17  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 17  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1                    5                                    10                                    15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly 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 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 Asn Ser Leu Gln Pro  
                   65                                    70                                    75                                    80

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
                   100                                    105

<210> 18  
 <211> 4

<212> PRT  
<213> 未知

<220>  
<223> 未知描述：  
    鉸鏈區序列

<400> 18  
Cys Pro Ser Cys  
1

<210> 19  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 未知

<220>  
<223> 未知描述：  
    鉸鏈區序列

<400> 19  
Cys Pro Pro Cys  
1

## 申請專利範圍

1. 一種經分離之IgG類別完全人類抗-PSMA抗體，其結合於PSMA抗原決定基，該抗體包含：

與SEQ ID NO. 1之胺基酸序列至少95%一致的重鏈可變域序列；及

與選自由以下各者組成之群的胺基酸序列至少95%一致的輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 17。

2. 如請求項1之完全人類抗體，其中該抗體包含選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2 (PSA11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3 (PSGB11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4 (PSGB12)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5 (PSGC8)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6 (PSGC9)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 7 (PSGC12)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8 (PSGD3)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9 (PSGD4)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10 (PSGD6)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11 (PSGE10)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12 (PSGE11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13 (PSGF9)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 14 (PSGF11)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15 (PSGG6)、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16 (PSGH3)及SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 17 (PSGH8)。
3. 如請求項1或2之完全人類抗體，其中該抗體具有至少為 $1 \times 10^{-6} \text{M}$

之 $K_D$ 。

4. 一種抗-PSMA完全人類抗體Fab片段，其包含  
包含與胺基酸序列SEQ ID NO. 1至少95%一致之胺基酸序列的重鏈可變域；及  
包含與選自由以下各者組成之群的胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列的輕鏈可變域：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 17。
5. 如請求項4之完全人類抗體Fab片段，其中該抗體包含選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 17。
6. 如請求項4或5之完全人類抗體，其中該抗體具有至少為 $1 \times 10^{-6}$  M之 $K_D$ 。
7. 一種抗-PSMA單鏈人類抗體，其包含藉由肽連接子連接之重鏈可變域及輕鏈可變域，  
其中該重鏈可變域包含與胺基酸序列SEQ ID NO. 1至少95%一致之胺基酸序列；且

其中該輕鏈可變域包含與選自由以下各者組成之群的胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 17。

8. 如請求項7之完全人類單鏈抗體，其中該單鏈完全人類抗體包含選自由以下各者組成之群的重鏈/輕鏈可變域序列：SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 7、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 1/SEQ ID NO. 17。
9. 如請求項7或8之完全人類單鏈抗體，其中該抗體具有至少為 $1 \times 10^{-6}$  M之 $K_D$ 。
10. 一種用於治療前列腺癌之方法，該方法包含向有其需要之個體投與如請求項1至9中任一項之抗-PSMA抗體或抗體片段。
11. 一種用於治療癌症之方法，該方法包含向有其需要之個體投與如請求項1至9中任一項之抗-PSMA抗體或抗體片段。
12. 如請求項11之方法，其中該癌症係選自由以下各者組成之群：卵巢癌、結腸癌、乳癌、肺癌、骨髓瘤、神經母細胞衍生之CNS腫瘤、單核細胞性白血病、B細胞衍生之白血病、T細胞衍生之白血病、B細胞衍生之淋巴瘤、T細胞衍生之淋巴瘤及肥大細胞衍

生之腫瘤。

13. 一種經分離之抗-PSMA抗體或其抗原結合片段，其包含  
包含如SEQ ID NO. 1中所闡述之互補決定區(CDR)之重鏈可變域；及  
包含如選自由以下各者組成之群的輕鏈可變區胺基酸序列中所闡述之CDR的輕鏈可變域：SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5、SEQ ID NO. 6、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 8、SEQ ID NO. 9、SEQ ID NO. 10、SEQ ID NO. 11、SEQ ID NO. 12、SEQ ID NO. 13、SEQ ID NO. 14、SEQ ID NO. 15、SEQ ID NO. 16及SEQ ID NO. 17。
14. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1至9或13中任一項之抗-PSMA抗體或抗體片段及醫藥學上可接受之載劑。
15. 一種治療有其需要之人類個體的與PSMA表現相關之癌症的方法，其包含向該個體投與有效量之如請求項1至9或13中任一項之抗-PSMA抗體或其抗原結合片段，使得該癌症得以治療。
16. 如請求項15之方法，其中該癌症為前列腺癌。
17. 如請求項15之方法，其中該癌症係選自由以下各者組成之群：  
卵巢癌、結腸癌、乳癌、肺癌、骨髓瘤、神經母細胞衍生之CNS腫瘤、單核細胞性白血病、B細胞衍生之白血病、T細胞衍生之白血病、B細胞衍生之淋巴瘤、T細胞衍生之淋巴瘤及肥大細胞衍生之腫瘤。

圖式

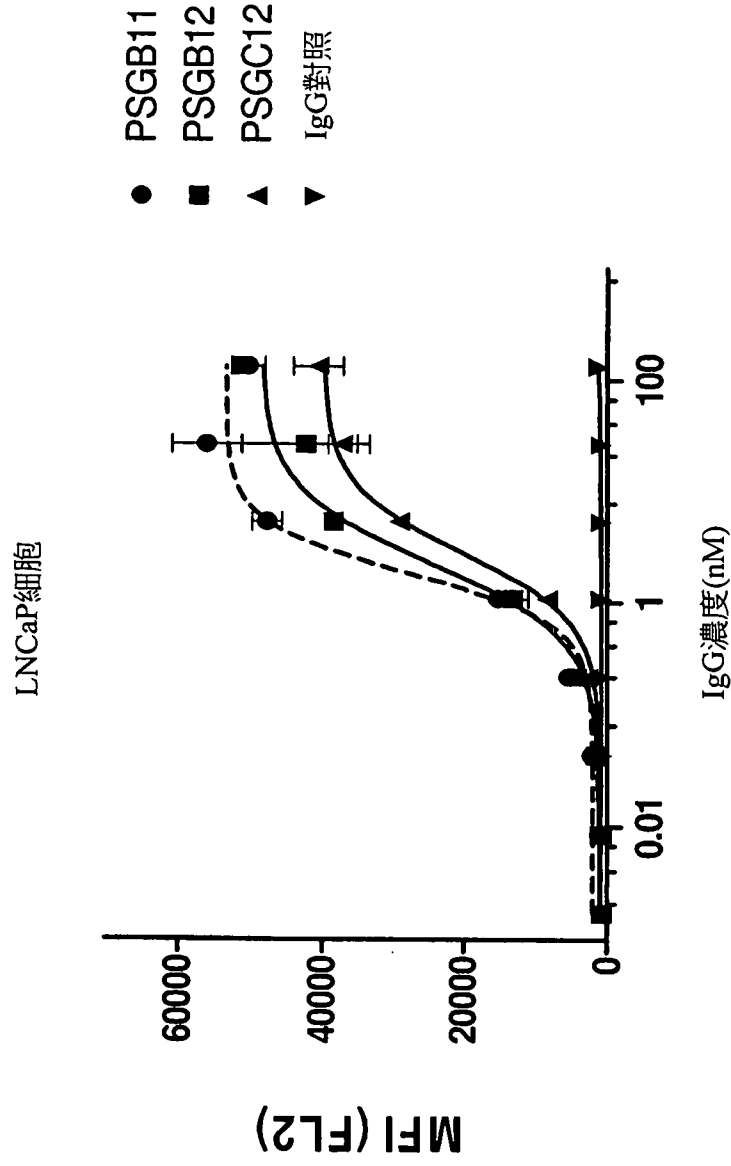


圖1A



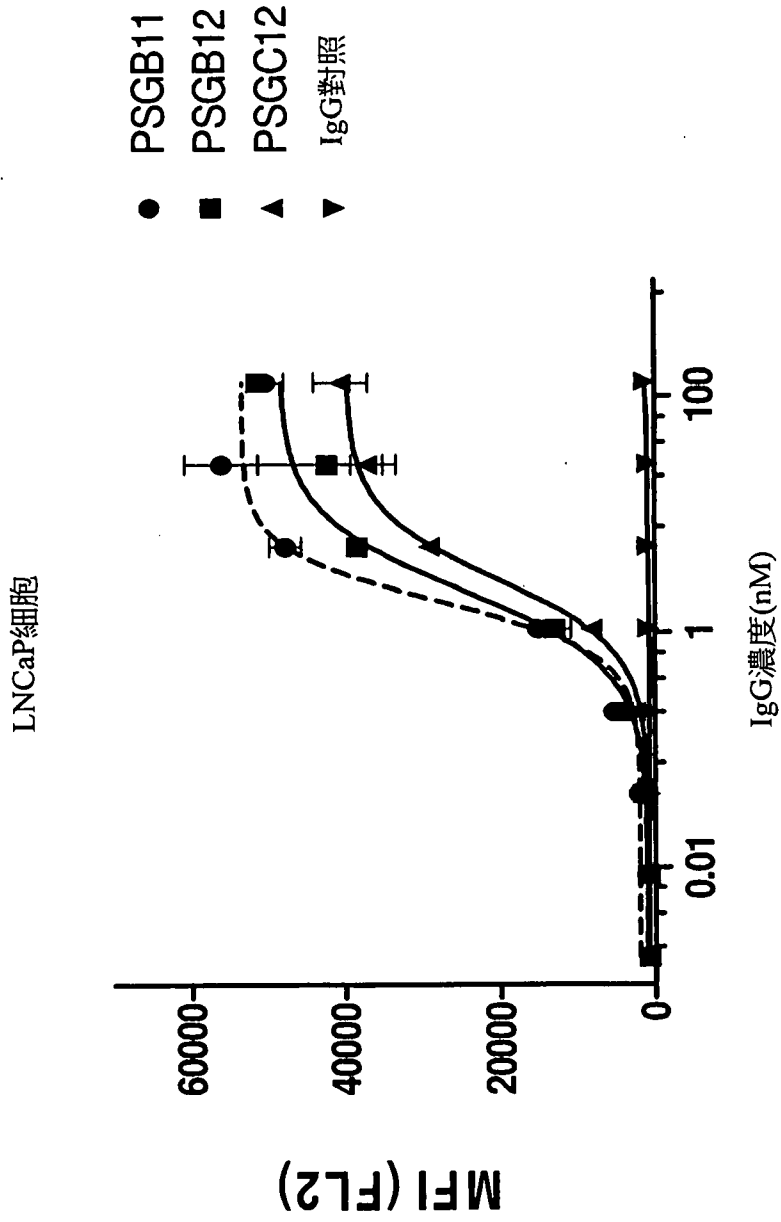


圖1B

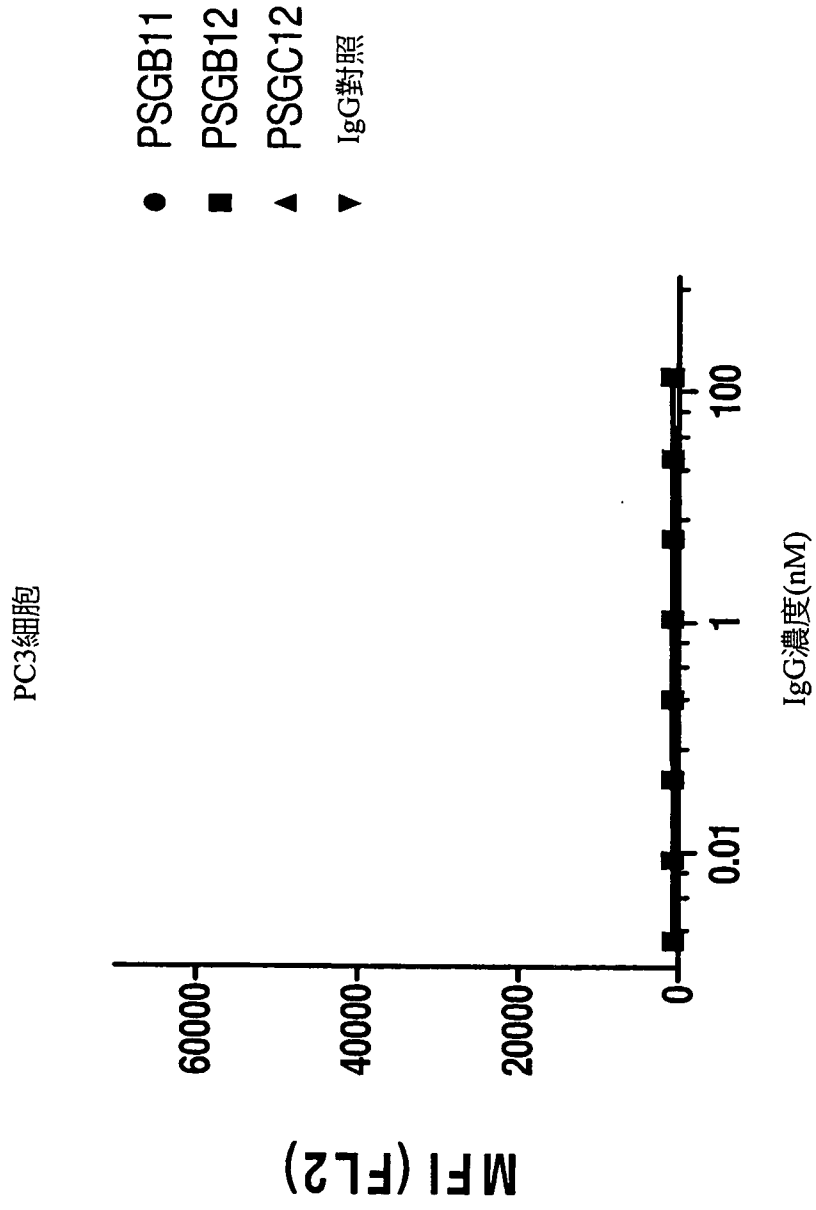


圖1C

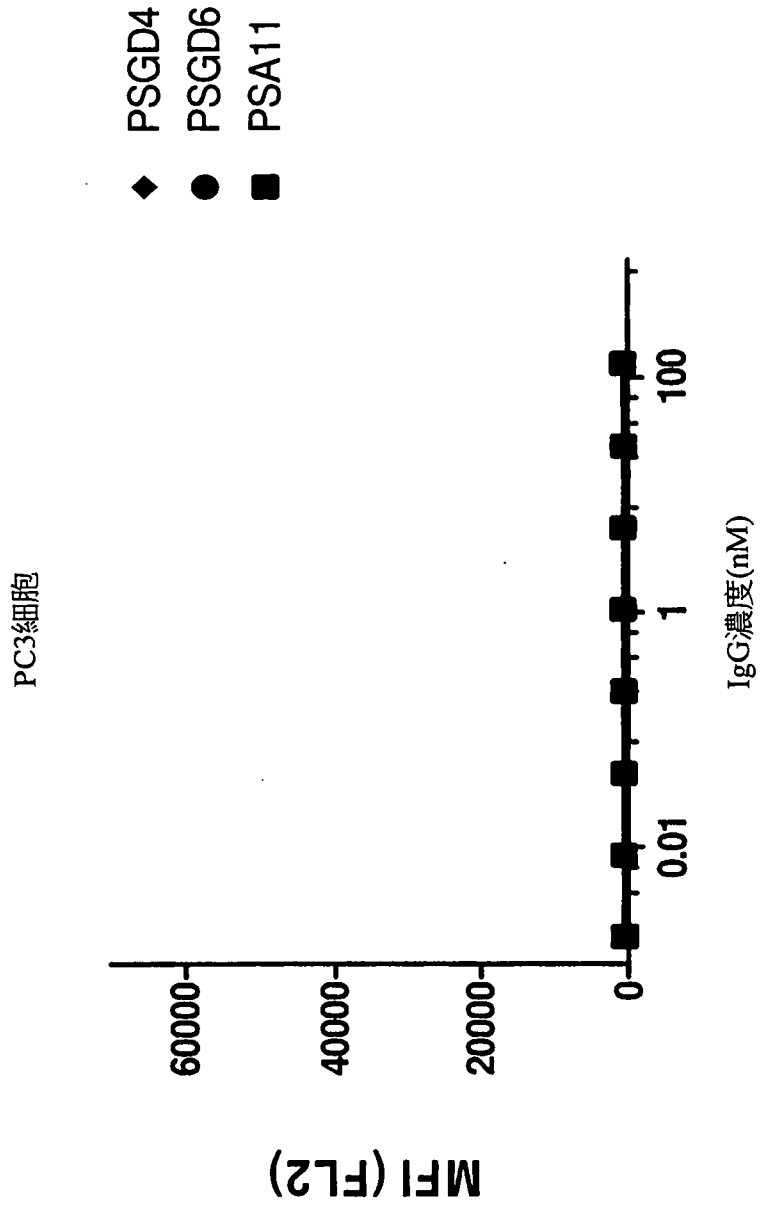


圖1D

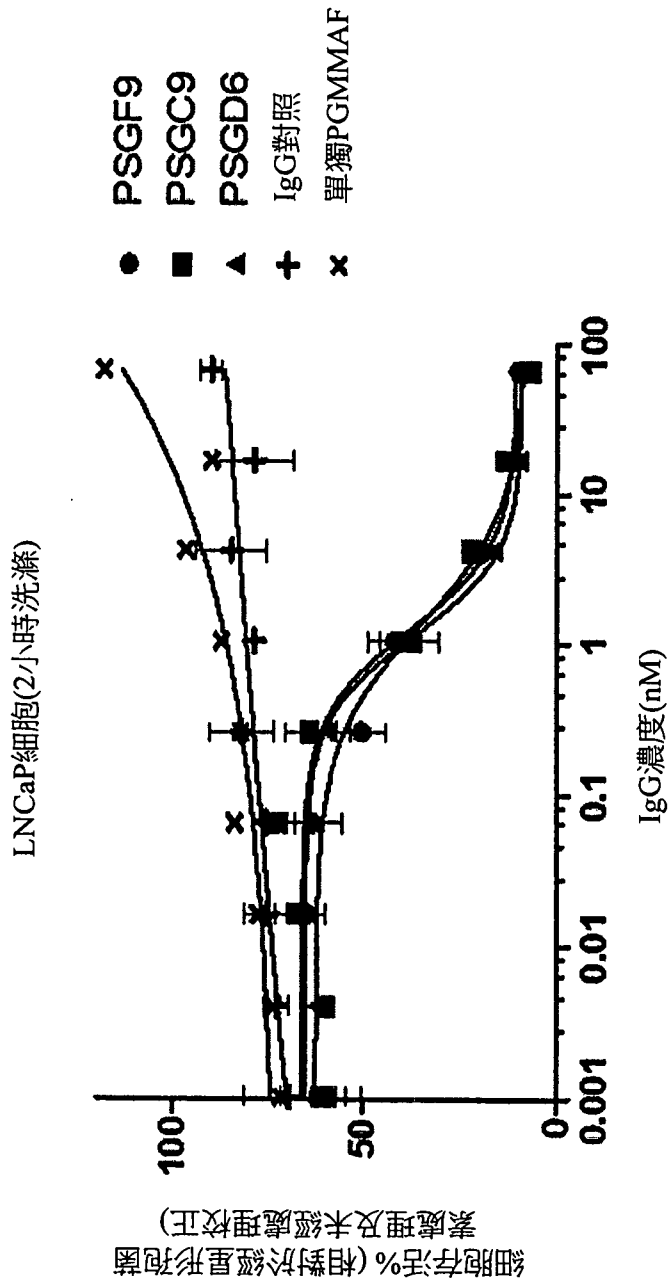


圖2A

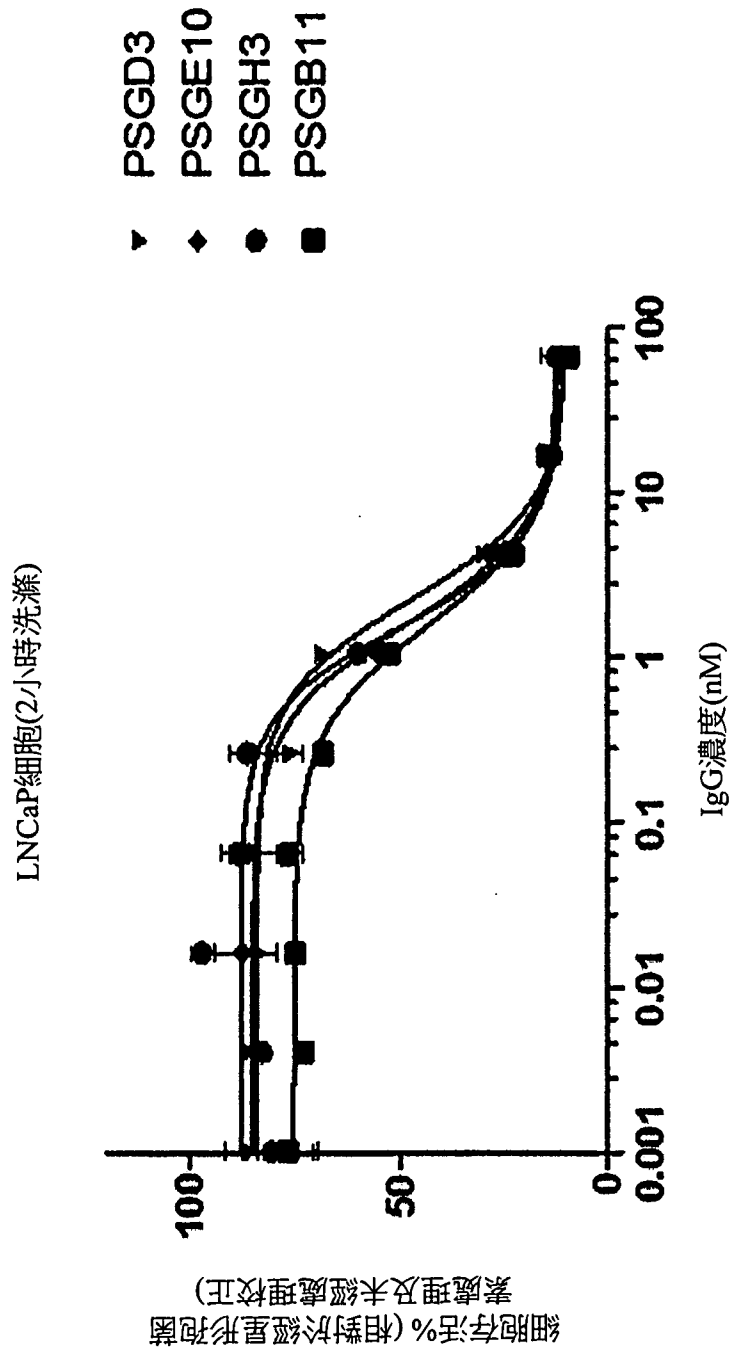


圖2B

LNCaP細胞(2小時洗滌)

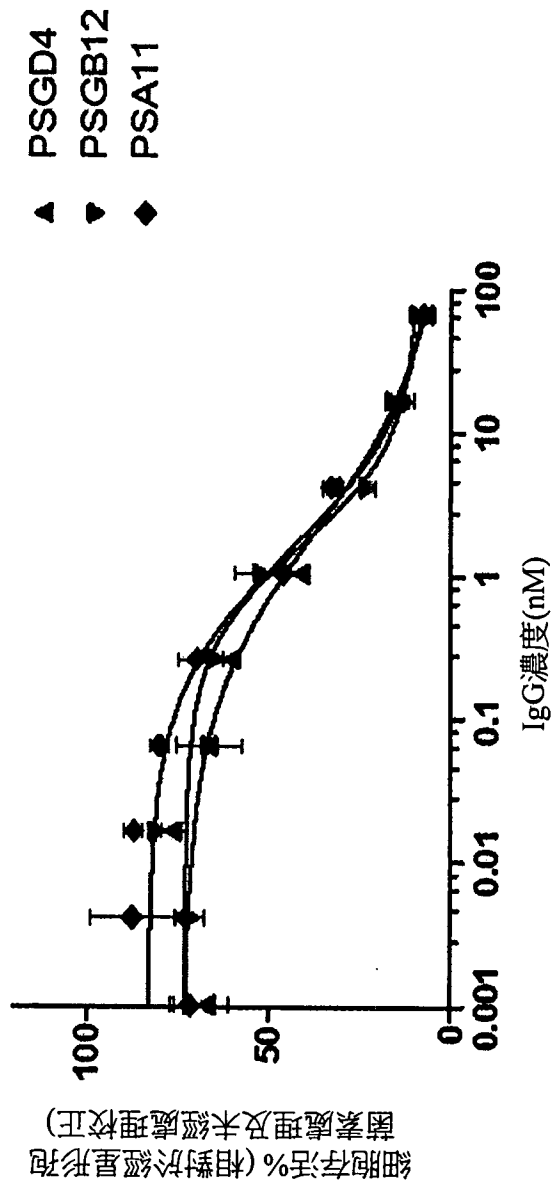


圖2C

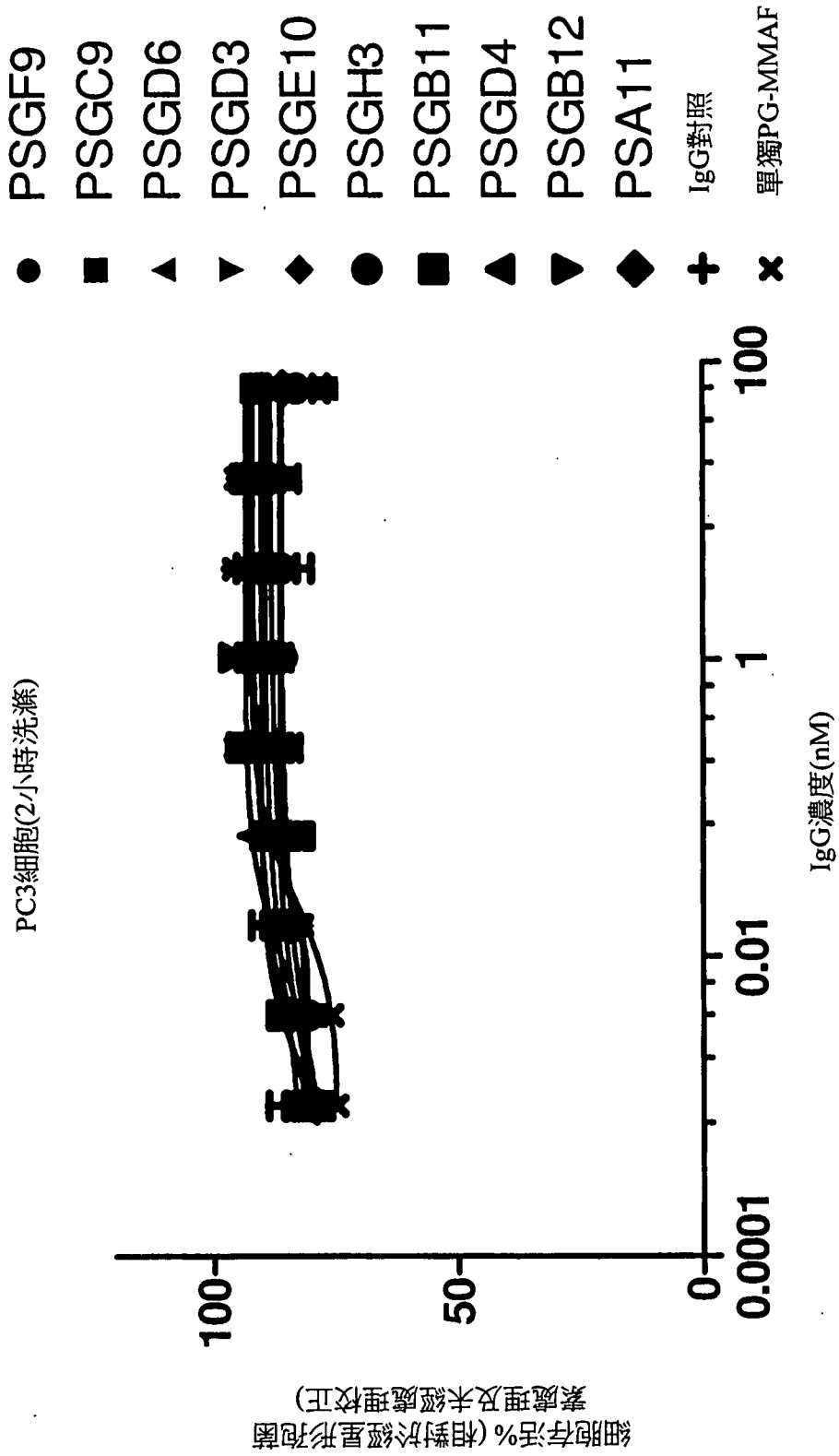


圖2D

擬合圖

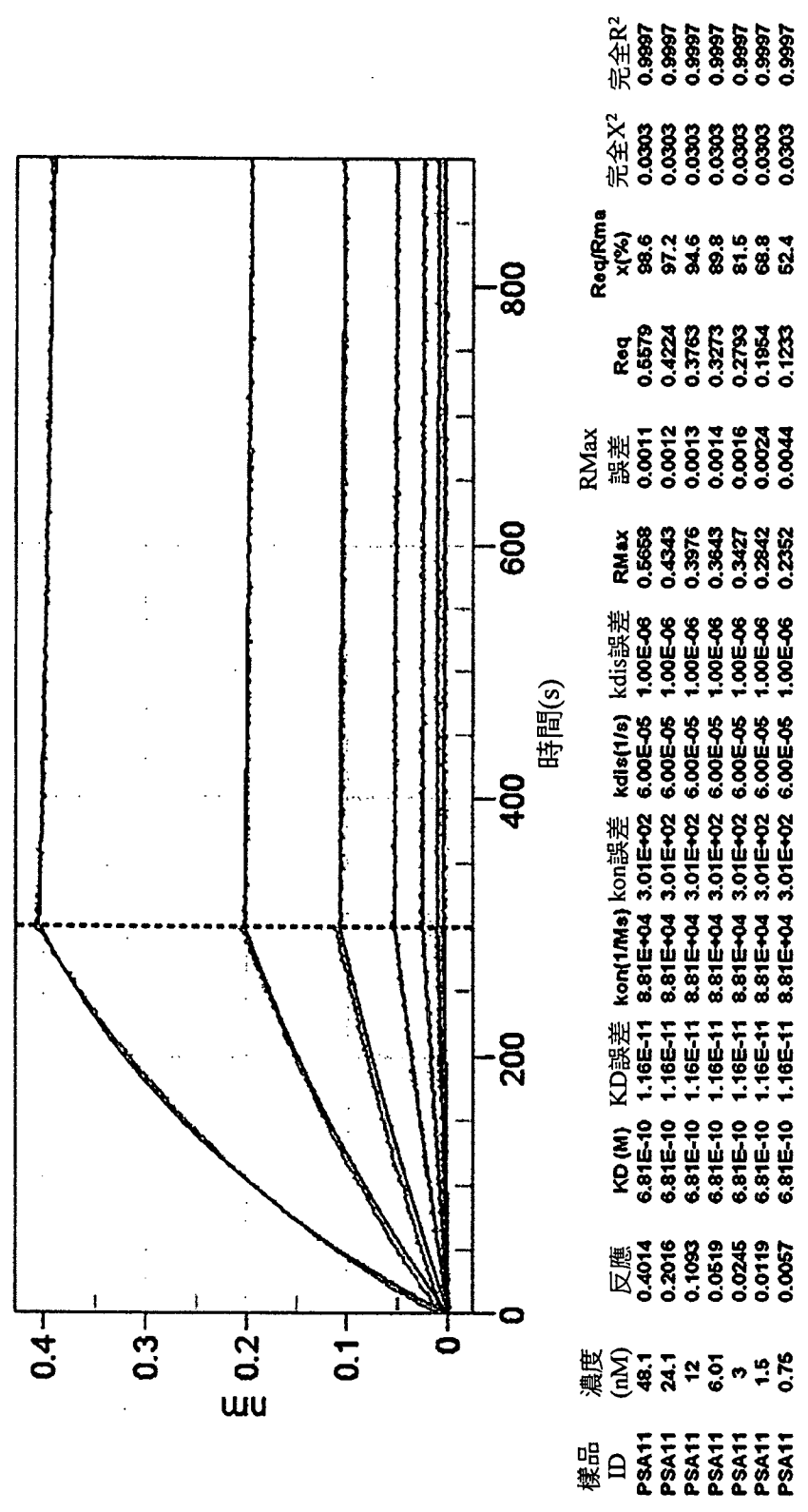
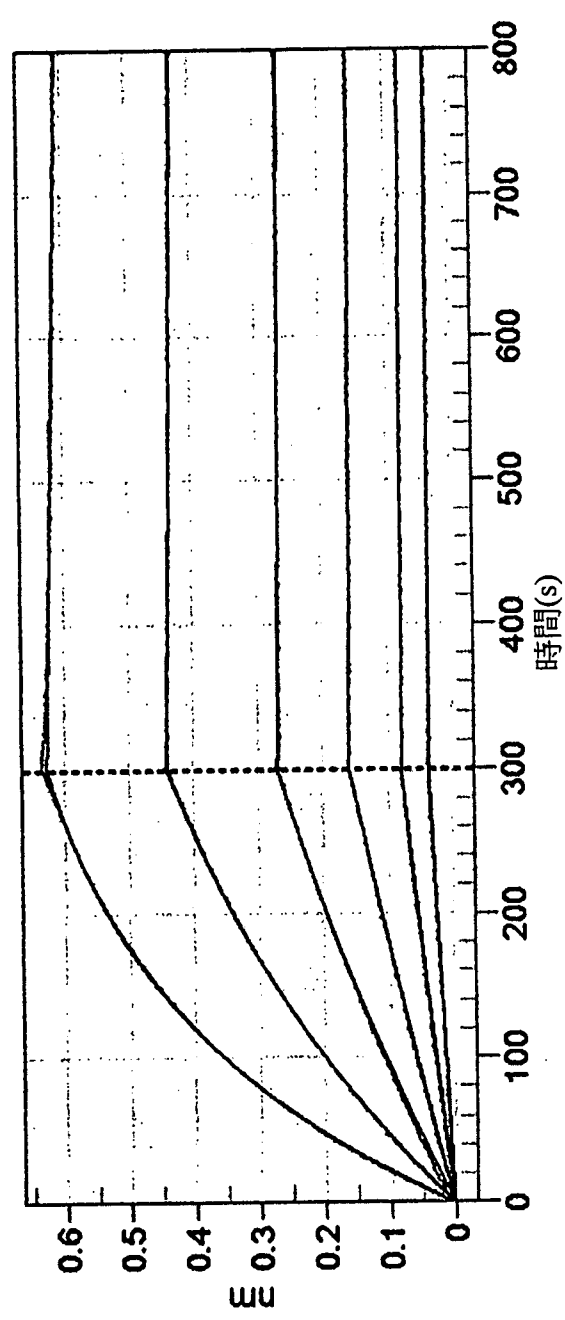


圖3



擬合圖



樣品 ID	濃度 (nM)	反應	KD (M)	KD 誤差	kon (1/Ms)	kon 誤差	kdis (1/s)	kdis 誤差	RMax 誤差	Req	Req/Rma x(%)	完全X <sup>2</sup>	完全R <sup>2</sup>
PSGB11	8.6	0.1648	6.77E-10	6.70E-12	9.70E+04	1.33E+02	6.57E-05	6.44E-07	0.722	0.6693	92.7	0.0188	0.9999
PSGB11	2.15	0.0369	6.77E-10	6.70E-12	9.70E+04	1.33E+02	6.57E-05	6.44E-07	0.5919	0.4501	76	0.0188	0.9999
PSGB11	34.4	0.4329	6.77E-10	6.70E-12	9.70E+04	1.33E+02	6.57E-05	6.44E-07	0.7033	0.6897	98.1	0.0188	0.9999
PSGB11	68.8	0.6273	6.77E-10	6.70E-12	9.70E+04	1.33E+02	6.57E-05	6.44E-07	0.7306	0.7235	99	0.0188	0.9999
PSGB11	4.3	0.0783	6.77E-10	6.70E-12	9.70E+04	1.33E+02	6.57E-05	6.44E-07	0.6712	0.5799	86.4	0.0188	0.9999
PSGB11	17.2	0.2636	6.77E-10	6.70E-12	9.70E+04	1.33E+02	6.57E-05	6.44E-07	0.6912	0.665	96.2	0.0188	0.9999

圖4