



(21) 申請案號：110113434

(22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 04 月 14 日

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

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2020/04/14 美國

63/009,578

(71) 申請人：丹麥商賽門弗鎮公司 (丹麥) SYMPHOGEN A/S (DK)

丹麥

(72) 發明人：林德斯 特林 LINDSTED, TRINE (DK)；梅蘭德 瑪麗亞 卡爾森 MELANDER, MARIA CARLSEN (SE)；里瓦 馬特奧 RIVA, MATTEO (SE)；佩德森 米克爾 萬達 PEDERSEN, MIKKEL WANDAHN (DK)；威斯 韓森 蘭迪 WESTH HANSEN, RANDI (DK)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：38 項 圖式數：13 共 152 頁

(54) 名稱

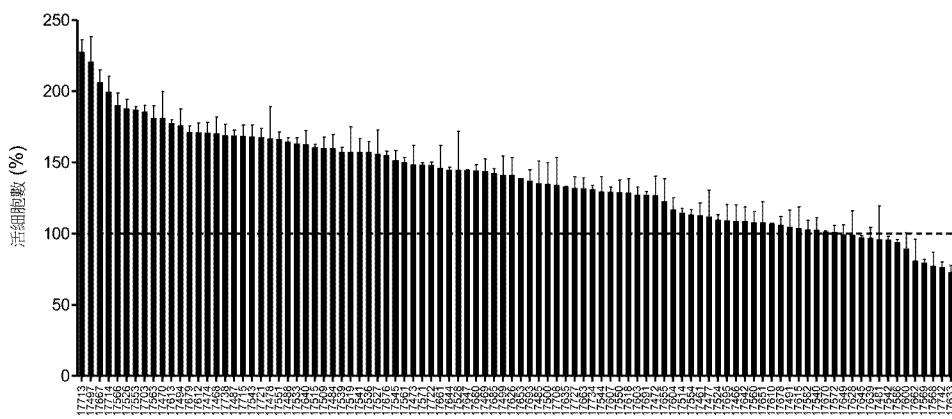
抗 FLT3 抗體及組合物

(57) 摘要

本發明係關於抗 FLT3 抗體及使用其於增強有需要患者之免疫力及於治療癌症中之方法。

This invention relates to anti-FLT3 antibodies and methods of using them in enhancing immunity in a patient in need thereof and in treating cancer.

指定代表圖：



【圖1】



202200620

## 【發明摘要】

### 【中文發明名稱】

抗FLT3抗體及組合物

### 【英文發明名稱】

ANTI-FLT3 ANTIBODIES AND COMPOSITIONS

### 【中文】

本發明係關於抗FLT3抗體及使用其於增強有需要患者之免疫力及於治療癌症中之方法。

### 【英文】

This invention relates to anti-FLT3 antibodies and methods of using them in enhancing immunity in a patient in need thereof and in treating cancer.

### 【指定代表圖】

圖1

### 【代表圖之符號簡單說明】

無

## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

抗FLT3抗體及組合物

### 【英文發明名稱】

ANTI-FLT3 ANTIBODIES AND COMPOSITIONS

### 【技術領域】

【0001】 本發明係關於抗FLT3抗體及將其用於增強有需要患者之免疫及於治療癌症中之方法。

### 【先前技術】

【0002】 類FMS酪胺酸激酶3 (FLT3)或CD135為在早期造血祖細胞表面上表現之III類受體酪胺酸激酶，其於免疫系統發育中起著重要作用。在結合至細胞激素FLT3配位體(FLT3L)後，FLT3二聚合及活化會控制細胞分化、增殖及生存之多重信號路徑。

【0003】 亦發現FLT3藉由樹突狀細胞(DC) (一類專業抗原呈遞細胞)表現。在與抗原接觸後，樹突狀細胞內在化及處理該抗原，及與MHC II類複合體相關聯將其呈遞至T細胞，從而導致T細胞活化。FLT3信號傳導於樹突狀細胞分化及擴增中起著主要作用。具有FLT3或FLT3配位體(FLT3L)缺陷之小鼠展示減少之DC數目，然而經FLT3L處理之小鼠展示增加之DC數目。此等觀察結果指示FLT3於穩態DC發展中之必不可少的作用。

### 【發明內容】

【0004】 本發明提供可刺激樹突狀細胞之活性之抗FLT3抗體。該等抗體可用於增強有需要患者(例如，患有癌症或免疫缺陷之患者)之免疫反

應。亦提供包含此等抗體中之一或多者之醫藥組合物，及抗體及醫藥組合物用於治療癌症之用途。本文中所述之抗體及組合物可用於治療患者之癌症之方法中；可用於製造用於治療患者之癌症之藥劑；或可用於治療患者之癌症。與此等癌症之目前可用治療(包括抗體治療)相比，考慮本文中所述之抗體及組合物單獨或與另一癌症治療劑組合可提供優越臨床反應。

**【0005】** 於一些實施例中，本發明提供抗FLT3抗體或其抗原結合部分，其與抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543或17497競爭結合或交叉競爭結合，或結合至人類FLT3之與抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543或17497相同之抗原決定基。於某些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分藉由該抗體之六個CDR、重鏈及輕鏈可變域或重鏈及輕鏈之胺基酸序列定義。

**【0006】** 於一些實施例中，本發明提供抗FLT3抗體或其抗原結合部分，其中：

a)該抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 5至7之胺基酸序列之重鏈互補決定區(H-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 3之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之重鏈可變域(VH)；

iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 3及75之胺基酸序列之重鏈(HC)；及

b)該抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 8至10之胺基酸序列之輕鏈互補決定區(L-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 4之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之輕鏈可變域(VL)；

iii)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 4及76之胺基酸序列之輕鏈(LC)。

**【0007】** 於一些實施例中，本發明提供抗FLT3抗體或其抗原結合部分，其中：

a)該抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 15至17之胺基酸序列之H-CDR-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 13之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之VH；

iii)包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 13及75之胺基酸序列之HC；及

b)該抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 18至20之胺基酸序列之L-CDR-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 14之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之VL；

iii)包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 14及76之胺基酸序列之LC。

**【0008】** 於一些實施例中，本發明提供抗FLT3抗體或其抗原結合部分，其中：

a)該抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 25至27之胺基酸序列之H-CDR-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 23之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列

之VH；

iii)包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 23及75之胺基酸序列之HC；及

b)該抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 28至30之胺基酸序列之L-CDR-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 24之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列

之VL；

iii)包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 24及76之胺基酸序列之LC。

**【0009】** 於一些實施例中，本發明提供抗FLT3抗體或其抗原結合部分，其中：

a)該抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 35至37之胺基酸序列之H-CDR-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 33之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列

之VH；

iii)包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 33及75之胺基酸序列之HC；及

b)該抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 38至40之胺基酸序列之L-CDR-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 34之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列

之VL；

iii)包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 34及76之胺基酸序列之LC。

**【0010】** 於一些實施例中，本發明提供抗FLT3抗體或其抗原結合部分，其中：

a)該抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 45至47之胺基酸序列之H-CDR-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 43之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之VH；

iii)包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 43及75之胺基酸序列之HC；及

b)該抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 48至50之胺基酸序列之L-CDR-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 44之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之VL；

iii)包含SEQ ID NO: 44之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 44及76之胺基酸序列之LC。

**【0011】** 於一些實施例中，本發明提供抗FLT3抗體或其抗原結合部分，其中：

a)該抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 55至57之胺基酸序列之H-CDR-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 53之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之VH；

iii)包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 53及75之胺基酸序列之HC；及

b)該抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 58至60之胺基酸序列之L-CDR-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 54之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之VL；

iii)包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 54及76之胺基酸序列之LC。

**【0012】** 於一些實施例中，本發明提供抗FLT3抗體或其抗原結合部分，其中：

a)該抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 65至67之胺基酸序列之H-CDR-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 63之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之VH；

iii)包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 63及75之胺基酸序列之HC；及

b)該抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 68至70之胺基酸序列之L-CDR-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 64之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之VL；

iii)包含SEQ ID NO: 64之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 64及76之胺基酸序列之LC。

**【0013】** 於一些實施例中，本發明提供抗FLT3抗體或其抗原結合部分，其中：

a)該抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 25至27之胺基酸序列之H-CDR-1至3；



ii)包含與SEQ ID NO: 73之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之VH；

iii)包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 73及75之胺基酸序列之HC；及

b)該抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 28至30之胺基酸序列之L-CDR-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 74之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之VL；

iii)包含SEQ ID NO: 74之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 74及76之胺基酸序列之LC。

**【0014】** 本發明亦提供經分離核酸分子、載體及宿主細胞，其包含編碼本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分之重鏈或其抗原結合部分、輕鏈或其抗原結合部分或二者之核苷酸序列。此外，本發明提供藉由培養該等宿主細胞來製備本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分之方法，以及藉由混合本文中所述之抗體或抗原結合部分來製備抗體組合物之方法。

**【0015】** 本發明之其他特徵、目標及優點於跟隨實施方式中顯然。然而，應瞭解，當指示本發明之實施例及態樣時，實施方式僅經由說明提供，非限制性。本發明範圍內之各種變化及修改將自實施方式對熟習此項技術者變得顯然。

#### **【圖式簡單說明】**

**【0016】** 圖1為顯示於利用指定抗FLT3抗體處理後EOL-1細胞之增殖之圖。數據經標準化至未經處理對照及各條表示平均值± SEM (n=3)。

【0017】 圖2為顯示指定抗FLT3抗體或對照與CHO-S細胞上表現之人類(上左)、食蟹猴(下左)或小鼠(上右) FLT3之結合之一組圖。經模擬轉染之CHO-S細胞(下右)係用作陰性對照。將數據呈現為平均值 $\pm$  SEM。

【0018】 圖3為顯示指定抗FLT3抗體之FLT3L阻斷性質之感測圖。His標記之FLT3 (FLT3-his)在penta-his生物感測器(「penta-his」揭示為SEQ ID NO: 79)上固定及抗FLT3抗體(mAb)在FLT3L及抗體(FLT3L+mAb)結合之前係締合。平行量測結合至FLT3之總FLT3L (僅FLT3L)。

【0019】 圖4為顯示指定抗FLT3抗體阻斷FLT3L-Fc結合至CHO-S細胞上表現之人類(上左)、食蟹猴(上右)或小鼠(下) FLT3之能力之一組圖。將數據表示為平均值 $\pm$  SEM。

【0020】 圖5為顯示經指定抗體或FLT3配位體處理之EOL-1細胞之增殖的圖。「對照mAb」為IgG<sub>1</sub>-LALA形式之針對不相關蛋白之抗體。數據經標準化至未經處理對照及曲線上之各數據點表示平均值 $\pm$  SEM (n=3)。

【0021】 圖6A及6B為顯示經指定抗體處理之EOL-1細胞(圖6A)或OCI-AML5細胞(圖6B)之增殖之圖。數據經標準化至未經處理對照及曲線上之各數據點表示平均值 $\pm$  SEM (n=3)。

【0022】 圖7為顯示經指定抗體或FLT3配位體處理之人類初代CD34<sup>+</sup>幹細胞之增殖的圖。左圖顯示IgG<sub>1</sub>-LALA形式之指定抗體之效應及右圖顯示IgG<sub>1</sub>-LALA或IgG<sub>2</sub>形式之指定抗體之效應。「對照mAb」為IgG<sub>1</sub>-LALA形式之針對不相關蛋白之抗體。將數據呈現為平均值 $\pm$  SEM (n=4)。

【0023】 圖8A至8C為顯示來自經指定抗體或FLT3配位體處理之兩個供體之人類初代CD34<sup>+</sup>幹細胞之分化的一組圖。將數據呈現為CD14<sup>+</sup> (圖8A)及CD1c<sup>+</sup> (圖8B)細胞及樹突狀細胞亞群(圖8C)如與未經處理對照相比之頻率。

【0024】 圖9A及9B為顯示與媒劑相比，於利用指定抗體或FLT3L處理後，Balb/c小鼠中之脾樹突狀細胞子集之絕對細胞數之增加倍數的一組圖。圖9A，左圖：cDC；右圖：cDC1。圖9B，左圖：cDC2；右圖：pDC。抗體治療以針對各抗體0.1 mg/kg、1 mg/kg或10 mg/kg之劑量投與(n=5隻/組)。應用Kruskal-Wallis與鄧恩氏(Dunn's)多重比較試驗。將數據呈現為平均值± SEM，\* p<0.05。

【0025】 圖10A至10D為顯示於CD34人源化NCG小鼠中，如與媒劑相比，於利用IgG<sub>1</sub>-LALA或IgG<sub>2</sub>形式之抗FLT3抗體或FLT3L處理後，隨著絕對細胞數之增加倍數，對脾(圖10A及10B)及骨髓(圖10C及10D) DC子集之影響的一組圖。抗體治療以針對各抗體1 mg/kg或10 mg/kg之劑量投與(n=5至6隻/組)。

【0026】 圖11為顯示利用IgG<sub>1</sub>-LALA形式(左圖)或IgG<sub>2</sub>形式(右圖)之指定抗體或FLT3配位體處理之人類初代CD34<sup>+</sup>幹細胞中之基因表現之變化之間之相關性的一對圖。將數據呈現為與陰性對照抗體相比之基因表現之log<sub>2</sub>變化倍數。

【0027】 圖12為顯示針對指定抗FLT3抗體之競爭模式及抗原決定基分箱之示意圖。連接黑線指示交叉阻斷活性。圓表示以兩個方向測試之抗體，而正方形表示以一個方向測試。根據與其他抗FLT3抗體之競爭模式將抗體分組。

【0028】圖13為顯示標測至FLT3配位體受體複合體(PDB條目：3QS9)之結構上之抗體17566 (圖A)及17497 (圖B)之結合抗原決定基的一系列結構。兩種FLT3受體(淺灰色)及FLT3配位體(白色)以卡通表示。FLT3之域1顯示為表面表示(深灰色)。線性抗原決定基顯示為白色及接觸殘基顯示為黑色。以如指示之不同方向觀察結構。自FLT3受體之N端頂部看，抗原決定基之間之距離為約90 Å (17566)及120 Å (17497)。

### 【實施方式】

#### 相關申請案之交互參照

【0029】本申請案主張2020年4月14日申請之美國臨時專利申請案63/009,578之優先權。該優先申請案之揭示內容之全文係以引用的方式併入本文中。

#### 序列表

【0030】本申請案含有序列表，其已以ASCII格式電子提交且其全文係以引用的方式併入本文中。在2021年4月9日創建之序列表之電子副本被命名為022675\_WO047\_SL.txt且大小為53,293位元組。

【0031】本發明提供可用於刺激患者(諸如癌症患者)之FLT3活性之新穎促效抗人類FLT3抗體。如本文中所用，除非另有指定，否則「FLT3」係指人類FLT3。人類FLT3多肽序列在UniProt寄存編號P36888 (FLT3\_HUMAN) (SEQ ID NO: 77)下可得，如下所示：

10	20	30	40	50
MPALARDGGQ	LPLLVVFSAM	IFGTITNQDL	PVIKCVLINH	KNNDSSVGKS
60	70	80	90	100
SSYPMVSESP	EDLGCALRPQ	SSGTVYEAAA	VEVDVSASIT	LQVLVDAPGN

110 120 130 140 150  
ISCLWVFKHS SLNCQPHFDL QNRGVVSMVI LKMTETQAGE YLLFIQSEAT

160 170 180 190 200  
NYTILFTVSI RNTLLYTLRR PYFRKMENQD ALVCISESVP EPIVEWVLCD

210 220 230 240 250  
SQGESCKEES PAVVKKEEKV LHELFGTDIR CCARNELGRE CTRLFTIDLN

260 270 280 290 300  
QTPQTTLPQL FLKVGEPWI RCKAVHVNHG FGLTWELENK ALEEGNYFEM

310 320 330 340 350  
STYSTNRTMI RILFAFVSSV ARNDTGYTC SSSKHPSQSA LVTIVEKGF

360 370 380 390 400  
NATNSSEYE IDQYEEFCFS VRFKAYPQIR CTWTFSRKSF PCEQKGLDNG

410 420 430 440 450  
YSISKFCNHK HQPGEYIFHA ENDDAQFTKM FTLNIRRK PQ VLAEASASQA

460 470 480 490 500  
SCFSDGYPLP SWTWKKCSDK SPNCTEEITE GVWNRKANRK VFGQWVSSST

510 520 530 540 550  
LNMSEAIKGF LVKCCAYNSL GTSCETILLN SPGPFPIQD NISFYATIGV

560 570 580 590 600  
CLLFIVLTL LICHKYKKQF RYESQLQMVQ VTGSSDNEYF YVDFREYEYD

610 620 630 640 650  
LKWEFPRENL EFGKVLGSGA FGKVMNATAY GISKTGVS IQVAVKMLKEKA

660 670 680 690 700

DSSEREALMS ELKMMTQLGS HENIVNLLGA CTLSGPIYLI FEYCCYGDLL

710 720 730 740 750

NYLRSKREKF HRTWTEIFKE HNFSFYPTFQ SHPNSSMPGS REVQIHPDSD

760 770 780 790 800

QISGLHGNSF HSEDEIEYEN QKRLEEEEDL NVLTFEDLLC FAYQVAKGME

810 820 830 840 850

FLEFKSCVHR DLAARNVLVT HGKVVKICDF GLARDIMSDS NYVVVRGNARL

860 870 880 890 900

PVKWMAPEL FEGIYTIKSD VWSYGILLWE IFSLGVNPYP GIPVDANFYK

910 920 930 940 950

LIQNGFKMDQ PFYATEEIIYI IMQSCWAFDS RKRPSFPNLT SFLGCQLADA

960 970 980 990

EEAMYQNVDG RVSECPHTYQ NRRPFSREMD LGLLSPQAQV EDS

**【0032】** 如本文中所用，術語「抗體」(Ab)或「免疫球蛋白」(Ig)係指包含藉由二硫鍵互連之兩條重(H)鏈(約50至70 kDa)及兩條輕(L)鏈(約25 kDa)之四聚體。各重鏈包含重鏈可變域(VH)及重鏈恆定區(CH)。各輕鏈包含輕鏈可變域(VL)及輕鏈恆定區(CL)。VH及VL域可進一步細分成高可變之區域，稱作「互補決定區」(CDR)，散佈著更保守之區域，稱作「框架區」(FR)。各VH及VL包含三個CDR (本文中H-CDR指定來自重鏈之CDR；及本文中L-CDR指定來自輕鏈之CDR)及四個FR，自胺基端至羧基端以下列順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。胺基酸編號及重鏈或輕鏈中之FR及CDR區之分配可根據IMGT®定義(Eu編號；Lefranc等人，*Dev Comp Immunol* (2003) **27(1)**:55-77)；或

Kabat之定義，*Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, MD (1987及1991))；Chothia及Lesk, *J. Mol. Biol.* (1987) **196**:901-17；Chothia等人，*Nature* (1989) **342**:878-83；MacCallum等人，*J. Mol. Biol.* (1996) **262**:732-45；或Honegger及Plückthun, *J. Mol. Biol.* (2001) **309**(3):657-70。

【0033】術語「重組抗體」係指自包含編碼抗體之該(等)核苷酸序列之細胞或細胞系表現之抗體，其中該(等)核苷酸序列不與該細胞自然相關聯。

【0034】術語「經分離蛋白」、「經分離多肽」或「經分離抗體」係指蛋白質、多肽或抗體，由於其起源或衍生來源(1)不與天然相關聯組分相關聯，該等天然相關聯組分以原生狀態伴隨其，(2)無來自相同物種之其他蛋白質，(3)藉由來自不同物種之細胞表現，及/或(4)不於自然中出現。因此，化學合成或於不同於其天然來源之細胞之細胞系統中合成之多肽將與其天然相關聯組分「分離」。藉由分離，使用此項技術中熟知之蛋白質純化技術亦可致使蛋白質實質上無天然相關聯之組分。

【0035】術語「親和力」係指抗原與抗體之間之吸引力量度。抗體對抗原之固有吸引力通常表示為特定抗體-抗原相互作用之結合親和力平衡常數( $K_D$ )。當 $K_D$ 係 $\leq 1$  mM，例如， $\leq 1$   $\mu$ M、 $\leq 100$  nM或 $\leq 10$  nM時，據稱抗體特異性結合至抗原。 $K_D$ 結合親和力常數可(例如)藉由表面電漿子共振(例如，BIAcore™)使用(例如)來自IBIS Technologies之IBIS MX96 SPR系統或Carterra LSA SPR平臺，或藉由生物層干涉法，例如使用來自ForteBio之Octet™系統來量測。

【0036】如本文中所用，術語「抗原決定基」係指特異性結合至抗

體或相關分子(諸如雙特異性結合分子)之抗原之部分(決定子)。抗原決定基決定子一般由分子(諸如胺基酸或碳水化合物或糖側鏈)之化學活性表面分組組成且一般具有特定三維結構特徵以及比電荷特徵。抗原決定基可係「線性」或「構象」。於線性抗原決定基中，蛋白質(例如，抗原)與相互作用分子(諸如抗體)之間之所有相互作用點沿著蛋白質之原始胺基酸序列線性產生。於構象抗原決定基中，相互作用點跨蛋白質上之胺基酸殘基出現，該等殘基於原始胺基酸序列中彼此分離。一旦確定抗原上之所需抗原決定基，可使用此項技術中熟知技術產生對該抗原決定基之抗體。例如，(例如)藉由利用具有線性抗原決定基之胺基酸殘基之肽使動物免疫可產生對線性抗原決定基之抗體。例如，藉由利用含有構象抗原決定基之相關胺基酸殘基之微小域使動物免疫可產生對構象抗原決定基之抗體。例如，藉由利用所關注標靶分子(例如，FLT3)或其相關部分使動物免疫，然後篩選用於結合至抗原決定基，亦可產生對特定抗原決定基之抗體。

**【0037】** 吾人可藉由使用此項技術中已知方法(包括但不限於競爭檢定、抗原決定基分箱及丙胺酸掃描)測定抗體是否結合至與本發明之抗FLT3抗體相同之抗原決定基或與該抗FLT3抗體競爭結合。於一些實施例中，吾人允許本發明之抗FLT3抗體在飽和條件下結合至FLT3，及然後量測測試抗體結合至FLT3之能力。若測試抗體能與參考抗FLT3抗體同時結合至FLT3，則測試抗體結合至與參考抗FLT3抗體不同的抗原決定基。然而，若測試抗體不能同時結合至FLT3，則測試抗體結合至與藉由本發明之抗FLT3抗體結合之抗原決定基相同的抗原決定基、重疊抗原決定基或處於其近接之抗原決定基。此實驗可使用(例如) ELISA、RIA、BIACORE™、SPR、生物層干涉法或流動式細胞測量術進行。為測試抗



FLT3抗體是否與另一抗FLT3抗體交叉競爭，吾人可使用上述在兩個方向之競爭方法，即，測定已知抗體是否阻斷測試抗體及反之亦然。此等交叉競爭實驗可(例如)使用IBIS MX96或Carterra LSA SPR儀器或Octet™系統進行。

**【0038】** 術語「人類抗體」係指其中可變域及恆定區序列源自人類序列之抗體。該術語包含具有源自人類基因但是已經修改之序列之抗體(例如)以減少免疫原性、增加親和力及/或增加穩定性。另外，該術語包含於非人類細胞中重組產生之抗體，其可賦予非典型人類細胞之糖基化。該術語亦包含於具有人類抗體基因之轉殖基因非人類有機體(例如，OmniRat®大鼠)中產生之抗體。

**【0039】** 如本文中所用，術語抗體之「抗原結合部分」(或簡單地「抗體部分」)係指抗體之保留特異性結合至抗原(例如，人類FLT3或其部分)之能力之一或多個部分或片段。已顯示，全長抗體之某些片段可進行抗體之抗原結合功能。包含於術語「抗原結合部分」內之結合片段之實例包括(i) Fab片段：由VL、VH、CL及CH1域組成之單價片段；(ii) F(ab')<sub>2</sub>片段：包含由鉸鏈區之二硫橋連接之兩個Fab片段之二價片段；(iii)由VH及CH1域組成之Fd片段；(iv)由抗體之單臂之VL及VH域組成之Fv片段；(v)由VH域組成之dAb片段；及(vi)能特異性結合至抗原之經分離互補決定區(CDR)。此外，雖然Fv片段之兩個域VL及VH藉由單獨基因編碼，但是其可使用重組方法藉由使其能作為單一蛋白鏈之合成連接子連接，其中該等VL及VH域配對以形成單價分子(稱作單鏈Fv (scFv))。亦於本發明中為包含VH及/或VL之抗原結合分子。於VH之情況下，該分子亦可包含CH1、鉸鏈、CH2或CH3區中之一或多者。此等單鏈抗體亦意欲包

含於術語抗體之「抗原結合部分」內。亦包含單鏈抗體之其他形式，諸如雙功能抗體。雙功能抗體為二價雙特異性抗體，其中VH及VL域在單一多肽鏈上表現，但是使用太短而不能允許在相同鏈上之兩個域之間之配對的连接子，從而迫使該等域與另一條鏈之互補域配對及創建兩個抗原結合位點。

**【0040】** 抗體部分(諸如Fab及F(ab')<sub>2</sub>片段)可使用習知技術(諸如完整抗體之木瓜蛋白酶或胃蛋白酶消化)自完整抗體製備。此外，抗體、抗體部分及免疫黏附分子可使用標準重組DNA技術(例如，如本文中所述)獲得。

**【0041】** 抗FLT3抗體之類別(同型)及子類別可藉由此項技術中已知之任何方法測定。一般而言，抗體之類別及子類別可使用特異性針對抗體之特定類別及子類別之抗體測定。此等抗體可自市面上購得。類別及子類別可藉由ELISA或西方墨點法(Western blot)以及其他技術測定。或者，類別及子類別可藉由將抗體之重鏈及/或輕鏈之恆定區之所有或一部分定序，將其胺基酸序列與免疫球蛋白之各種類別及子類別之已知胺基酸序列比較，及測定該等抗體之類別及子類別來測定。

**【0042】** 除非另有指定，否則於本發明中所有抗體胺基酸殘基編號係指根據IMGT<sup>®</sup>編號方案(Eu編號)之彼等。

### *抗FLT3抗體*

**【0043】** 本發明提供針對FLT3之抗體，及其抗原結合部分。於特定實施例中，本文中所揭示之抗體為自轉殖基因動物(例如，大鼠)產生之人類抗體，該等動物能產生藉由重排人類抗體基因編碼之抗體。於某些實施例中，人類抗體可含有某些突變，例如，以將源自引子之突變變回生殖系

序列(參見，例如，表1中之「Symplex校正」之變異體序列)。

【0044】於一些實施例中，本發明之抗FLT3抗體具有Fc區中之「LALA突變」(L234A/L235A)。此等突變阻礙抗體之結合至人類Fc $\gamma$ R (Fc  $\gamma$ 受體)。此等抗體係有利的，因為其具有低程度之二級效應功能及因此不耗盡效應T細胞或靶向其他非惡性細胞。

【0045】於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分與包含以下之抗體競爭結合或交叉競爭結合至人類FLT3，或結合至人類FLT3之與包含以下之抗體相同之抗原決定基：

a)包含SEQ ID NO: 3及75之胺基酸序列之重鏈(HC)及包含SEQ ID NO: 4及76之胺基酸序列之輕鏈(LC)；

b)包含SEQ ID NO: 13及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 14及76之胺基酸序列之LC；

c)包含SEQ ID NO: 23及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 24及76之胺基酸序列之LC；

d)包含SEQ ID NO: 33及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 34及76之胺基酸序列之LC；

e)包含SEQ ID NO: 43及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 44及76之胺基酸序列之LC；

f)包含SEQ ID NO: 53及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 54及76之胺基酸序列之LC；

g)包含SEQ ID NO: 63及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 64及76之胺基酸序列之LC；或

h)包含SEQ ID NO: 73及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 74

及76之胺基酸序列之LC。

**【0046】** 於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分具有SEQ ID NO: 7、17、27、37、47、57或67之重鏈CDR3 (H-CDR3)胺基酸序列。

**【0047】** 於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分具有各自包含SEQ ID NO: 5至7、15至17、25至27、35至37、45至47、55至57或65至67之胺基酸序列之重鏈CDR1至3 (H-CDR1至3)。

**【0048】** 於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分具有與SEQ ID NO: 3、13、23、33、43、53、63或73之胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同(例如，至少90%相同)之重鏈可變域(VH)胺基酸序列。

**【0049】** 於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分具有包含SEQ ID NO: 3、13、23、33、43、53、63或73之胺基酸序列之VH。

**【0050】** 於一些實施例中，該抗FLT3抗體具有與SEQ ID NO: 3、13、23、33、43、53、63或73之胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同(例如，至少90%相同)之VH胺基酸序列；及與SEQ ID NO: 75之胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同(例如，至少90%相同)之重鏈恆定區胺基酸序列。

**【0051】** 於一些實施例中，該抗FLT3抗體包含SEQ ID NO: 3、13、23、33、43、53、63或73之VH胺基酸序列及SEQ ID NO: 75之重鏈恆定區胺基酸序列。

**【0052】** 於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分具有SEQ

ID NO: 10、20、30、40、50、60或70之輕鏈CDR3 (L-CDR3)胺基酸序列。

【0053】於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分具有各自包含SEQ ID NO: 8至10、18至20、28至30、38至40、48至50、58至60或68至70之胺基酸序列之輕鏈CDR1至3 (L-CDR1至3)。

【0054】於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分具有與SEQ ID NO: 4、14、24、34、44、54、64或74之胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同(例如，至少90%相同)之輕鏈可變域(VL)胺基酸序列。

【0055】於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分具有包含SEQ ID NO: 4、14、24、34、44、54、64或74之胺基酸序列之VL。

【0056】於一些實施例中，該抗FLT3抗體具有與SEQ ID NO: 4、14、24、34、44、54、64或74之胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同(例如，至少90%相同)之VL胺基酸序列；及與SEQ ID NO: 76之胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同(例如，至少90%相同)之輕鏈恆定區胺基酸序列。

【0057】於一些實施例中，該抗FLT3抗體包含SEQ ID NO: 4、14、24、34、44、54、64或74之VL胺基酸序列及SEQ ID NO: 76之輕鏈恆定區胺基酸序列。

【0058】於某些實施例中，該抗FLT3抗體包含上述重鏈中之任一者及上述輕鏈中之任一者。

【0059】於一些實施例中，本發明之抗FLT3抗體或抗原結合部分包

含以下之H-CDR1至3及L-CDR1至3胺基酸序列：

- a)各自為SEQ ID NO: 5至10；
- b)各自為SEQ ID NO: 15至20；
- c)各自為SEQ ID NO: 25至30；
- d)各自為SEQ ID NO: 35至40；
- e)各自為SEQ ID NO: 45至50；
- f)各自為SEQ ID NO: 55至60；或
- g)各自為SEQ ID NO: 65至70。

**【0060】** 於一些實施例中，本發明之抗FLT3抗體或抗原結合部分包含與以下之胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同(例如，至少90%相同)之VH及VL：

- a)各自為SEQ ID NO: 3及4；
- b)各自為SEQ ID NO: 13及14；
- c)各自為SEQ ID NO: 23及24；
- d)各自為SEQ ID NO: 33及34；
- e)各自為SEQ ID NO: 43及44；
- f)各自為SEQ ID NO: 53及54；
- g)各自為SEQ ID NO: 63及64；或
- h)各自為SEQ ID NO: 73及74。

**【0061】** 於一些實施例中，本發明之抗FLT3抗體或抗原結合部分包含各自包含以下之胺基酸序列之VH及VL：

- a)SEQ ID NO: 3及4；

- b)SEQ ID NO: 13及14；
- c)SEQ ID NO: 23及24；
- d)SEQ ID NO: 33及34；
- e)SEQ ID NO: 43及44；
- f)SEQ ID NO: 53及54；
- g)SEQ ID NO: 63及64；或
- h)SEQ ID NO: 73及74。

**【0062】** 於一些實施例中，本發明之抗FLT3抗體包含：

- a)包含SEQ ID NO: 3及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 4及76之胺基酸序列之LC；
- b)包含SEQ ID NO: 13及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 14及76之胺基酸序列之LC；
- c)包含SEQ ID NO: 23及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 24及76之胺基酸序列之LC；
- d)包含SEQ ID NO: 33及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 34及76之胺基酸序列之LC；
- e)包含SEQ ID NO: 43及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 44及76之胺基酸序列之LC；
- f)包含SEQ ID NO: 53及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 54及76之胺基酸序列之LC；
- g)包含SEQ ID NO: 63及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 64及76之胺基酸序列之LC；或
- h)包含SEQ ID NO: 73及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 74

及76之胺基酸序列之LC。

【0063】 本發明亦提供與抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543或17497競爭結合或交叉競爭結合，或結合至與該抗體相同之抗原決定基之抗FLT3抗體或其抗原結合部分。

【0064】 於一些實施例中，本發明之抗FLT3抗體或抗原結合部分包含抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543或17497之H-CDR1至3及L-CDR1至3胺基酸序列。

【0065】 於一些實施例中，本發明之抗FLT3抗體或抗原結合部分包含各自與抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543或17497之VH及VL之胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同(例如，至少90%相同)之VH及VL。

【0066】 於一些實施例中，本發明之抗FLT3抗體或抗原結合部分包含各自為抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543或17497之VH及VL之VH及VL。

【0067】 於一些實施例中，本發明之抗FLT3抗體為抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543或17497或具有與該抗體相同胺基酸序列之抗體。

【0068】 藉由本文中所述方法獲得之抗FLT3抗體之類別可利用另一類別或子類別改變或切換。於本發明之一些實施例中，編碼VL或VH之核酸分子係使用此項技術中熟知方法分離使得其不包含各自編碼CL或CH之核酸序列。然後將編碼VL或VH之核酸分子以可操作方式連接至來自不同類別之免疫球蛋白分子之各自編碼CL或CH之核酸序列。此可使用包含CL



或CH序列之載體或核酸分子達成，如上所述。例如，最初為IgM之抗FLT3抗體可為切換成IgG之類別。另外，類別切換可用於將一個IgG子類別轉化成另一個，例如，自IgG<sub>1</sub>至IgG<sub>2</sub>。可將κ輕鏈恆定區改變成(例如)λ輕鏈恆定區，或反之亦然。用於產生具有所需Ig同型之本發明之抗體的示例性方法包括以下步驟：將編碼抗FLT3抗體之重鏈之核酸分子及編碼抗FLT3抗體之輕鏈之核酸分子分離，獲得重鏈之可變域，將重鏈之可變域之編碼序列與所需同型之重鏈之恆定區之編碼序列接合，於細胞中表現藉由接合序列編碼之輕鏈及重鏈，及收集具有所需同型之抗FLT3抗體。

**【0069】** 本發明之抗FLT3抗體可為IgG、IgM、IgE、IgA或IgD分子，但是通常為IgG同型，例如，IgG子類別IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2a</sub>或IgG<sub>2b</sub>、IgG<sub>3</sub>或IgG<sub>4</sub>。於一些實施例中，該抗體為同型子類別IgG<sub>1</sub>。

**【0070】** 於一些實施例中，該抗FLT3抗體可包含Fc區中之至少一個突變。許多不同Fc突變係已知，其中此等突變改變抗體之效應功能。例如，於一些實施例中，該抗FLT3抗體包含降低效應功能之Fc區中之至少一個突變，例如，位置228、233、234及235中之一或多者處之突變，其中胺基酸位置係根據IMGT<sup>®</sup>編號方案編號。

**【0071】** 於一些實施例中，例如，其中抗體為IgG<sub>1</sub>子類別，位置234及235處之胺基酸殘基中之一者或二者可突變，例如，自Leu突變為Ala (L234A/L235A)。此等突變降低IgG<sub>1</sub>抗體之Fc區之效應功能。胺基酸位置係根據IMGT<sup>®</sup>編號方案編號。

**【0072】** 於一些實施例中，例如，其中該抗體為IgG<sub>4</sub>子類別，其可包含突變S228P，其中胺基酸位置係根據IMGT<sup>®</sup>編號方案編號。已知此突變減少非所需Fab臂交換。

【0073】 於一些實施例中，本發明之抗FLT3抗體或抗原結合部分係促效。

【0074】 於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分刺激EOL-1細胞活體外增殖(例如，以5、10、15、20、25、30、35、40、45或50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 或更少之濃度，諸如以25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 或更少之濃度)。

【0075】 於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分刺激OCI-AML5細胞活體外增殖(例如，以5、10、15、20、25、30、35、40、45或50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 或更少之濃度，諸如以25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 或更少之濃度)。

【0076】 於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分特異性結合至人類FLT3及食蟹猴FLT3 (例如，在CHO-S細胞上表現者)。於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分特異性結合至人類FLT3、食蟹猴FLT3及小鼠FLT3 (例如，在CHO-S細胞上表現者)。

【0077】 於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分不阻斷FLT3L活體外結合至人類FLT3。於某些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分在飽和條件下不阻斷FLT3L結合至固定化FLT3。

【0078】 於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分不阻斷FLT3L-Fc活體外結合至細胞顯示之人類、食蟹猴及/或小鼠FLT3蛋白(例如，以至少0.1、0.5、1、5、10、30、50或100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之濃度，諸如以至少30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之濃度)。

【0079】 於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分刺激初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之增殖(例如，以5、10、15、20、25、30、35、40、45或50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 或更少之濃度，諸如以25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 或更少之濃度)。

【0080】 於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分刺激初代

人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之分化(例如，以5、10、15、20、25、30、35、40、45或50 µg/mL或更少之濃度，諸如以25 µg/mL或更少之濃度)。

【0081】於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分增加樹突狀細胞亞群，諸如CD14<sup>+</sup>、CD1c<sup>+</sup>、pDC、cDC、cDC1或cDC2細胞或其任何組合(例如，以5、10、15、20、25、30、35、40、45或50 µg/mL或更少之濃度，諸如以25 µg/mL或更少之濃度)。

【0082】於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分誘導免疫勝任小鼠(諸如Balb/c小鼠)中之樹突狀細胞擴增及/或動員(例如，以每週兩次0.1、1或10 mg/kg或更少之劑量)。

【0083】於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分誘導利用人類CD34<sup>+</sup>幹細胞重新構成之免疫功能不全小鼠中之樹突狀細胞擴增及/或動員(例如，以每週兩次0.1、1或10 mg/kg或更少之劑量)。於某些實施例中，樹突狀細胞擴增及/或動員於小鼠之脾、骨髓或二者中誘導。

【0084】於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分以約20、15、10、9、8、7、6、5、4或3 nM或更少(例如，9 nM或更少)之K<sub>D</sub>結合至人類FLT3。

【0085】於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分結合至人類FLT3之細胞外域(ECD)之域1 (D1)。於某些實施例中，該抗體或部分結合至D1之C端處(例如，在相對於FLT3配位體之D1之內表面上)之殘基。於某些實施例中，該抗體或部分結合至相對於FLT3配位體之D1之外表面上之殘基。於特定實施例中，FLT3配位體/受體複合體中之各D1上之兩個抗原決定基之間之距離為90至120 Å。

【0086】於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分結合至包

含人類FLT3胺基酸序列之殘基78至87、78至97或138至147之線性抗原決定基。於一些實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分結合至包含殘基A79與人類FLT3胺基酸序列之殘基A80及/或V81組合之抗原決定基。於特定實施例中，該抗FLT3抗體或抗原結合部分結合至包含人類FLT3胺基酸序列之下列殘基之抗原決定基：

- a) A79、A80、V81、T157、R161；
- b) A79、A80、V81、I89、T90、R161；
- c) A79、V81；
- d) A79、V81、V83、A87、I89、V125、T157；或
- e) N100、L104-V106、H109-S111、E140、L142、N151、T153。

該抗體或抗原結合部分可結合至(例如)如針對表8中之抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543或17497所示之抗原決定基。於某些實施例中，該抗體或抗原結合部分不結合至與抗體IMC-EB10相同之抗原決定基。

**【0087】** 本發明亦考慮具有以上性質之任何組合之本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分。

**【0088】** 於一些實施例中，本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分具有下列性質中之至少一者(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10者或所有11者)：

- a)刺激EOL-1細胞活體外增殖；
- b)刺激OCI-AML5細胞活體外增殖；
- c)以20 nM或更少之 $K_D$ 結合至人類FLT3；
- d)特異性結合至食蟹猴FLT3；

- e)特異性結合至小鼠FLT3；
- f)不阻斷FLT3配位體活體外結合至人類FLT3；
- g)不阻斷FLT3L-Fc活體外結合至細胞顯示之人類、食蟹猴或小鼠FLT3蛋白；
- h)刺激初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之增殖；
- i)刺激初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之分化；
- j)誘導Balb/c小鼠中之樹突狀細胞活體內動員；及
- k)誘導利用人類CD34<sup>+</sup>幹細胞重新構成之免疫功能不全小鼠中之樹突狀細胞活體內動員。

例如，於某些實施例中，本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分可具有性質a)及c)至h)；a)、c)、d)及f)至i)；a)、c)、d)及f)至h)；a)、c)及f)至h)；a)至c)、h)、i)及k)；a)至c)、h)及i)；或a)至c)及j)。

**【0089】** 於一些實施例中，本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分可增加患者中之樹突狀細胞增殖及/或活化。於一些實施例中，本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分增強樹突狀細胞吸收腫瘤抗原之能力。

**【0090】** 於一些實施例中，本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分可活體內抑制腫瘤生長及/或誘導腫瘤生長衰退。於一些實施例中，本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分可減慢或逆轉癌症患者中之轉移。於一些實施例中，本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分可延長癌症患者之生存。亦考慮以上性質之任何組合。

**【0091】** 於某些實施例中，本發明之抗體或其抗原結合部分可為藉由抗體或抗體部分與一或多種其他蛋白質或肽共價或非共價締合形成之較

大免疫黏附分子之部分。此等免疫黏附分子之實例包括使用鏈黴抗生物素 (streptavidin) 核區域製備四聚 scFv 分子 (Kipriyanov 等人, *Human Antibodies and Hybridomas* (1995) 6:93-101) 及使用半胱胺酸殘基、標記肽及C端聚組胺酸標記物製備二價及生物素化 scFv 分子 (Kipriyanov 等人, *Mol. Immunol.* (1994) 31:1047-58)。其他實例包括其中將來自抗體之一或多個 CDR 共價或非共價併入分子中, 使其成為特異性結合至所關注抗原之免疫黏附素。於此等實施例中, 該(等) CDR 可作為較大多肽鏈之部分併入, 可與另一多肽鏈共價連接, 或可非共價地併入。

**【0092】** 於另一實施例中, 可製備連接至另一多肽之包含本發明所有或一部分抗 FLT3 抗體之融合抗體或免疫黏附素。於某些實施例中, 僅抗 FLT3 抗體之可變域連接至多肽。於某些實施例中, 抗 FLT3 抗體之 VH 域連接至第一多肽, 而抗 FLT3 抗體之 VL 域則連接至與第一多肽締合之第二多肽, 其連接方式將使得該等 VH 及 VL 域可彼此相互作用以形成抗原結合位點。於一些實施例中, 該 VH 域藉由連接子與該 VL 域分離, 使得該等 VH 及 VL 域可彼此相互作用 (例如, 單鏈抗體)。然後將 VH-連接子-VL 抗體連接至所關注之多肽。此外, 可創建融合抗體, 其中兩個 (或更多個) 單鏈抗體彼此連接。若吾人想要在單一多肽鏈上創建二價或多價抗體, 或若吾人想要創建雙特異性抗體, 則此作法適用。

**【0093】** 為創建單鏈抗體 (scFv), 將編碼 VH 及 VL 之 DNA 片段以可操作方式連接至編碼撓性連接子, 例如, 編碼胺基酸序列 (Gly<sub>4</sub> -Ser)<sub>3</sub> (SEQ ID NO: 78) 之另一片段使得 VH 及 VL 序列可表現為連續單鏈蛋白, 其中 VL 及 VH 域藉由撓性連接子連接。參見, 例如, Bird 等人, *Science* (1988) 242:423-6; Huston 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1988)

85:5879-83；及McCafferty等人，*Nature* (1990) 348:552-4。若僅使用單一VH及VL，則單鏈抗體可係單價；若使用兩個VH及VL，則二價；或若使用超過兩個VH及VL，則多價。例如，可產生特異性結合至人類FLT3及另一分子之雙特異性或多價抗體。

【0094】於其他實施例中，其他經修飾抗體可使用編碼抗FLT3抗體之核酸分子製備。例如，「κ抗體」(Ill等人，*Protein Eng.* (1997) 10:949-57)、「微小抗體」(Martin等人，*EMBO J.* (1994) 13:5303-9)、「雙功能抗體」(Holliger等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1993) 90:6444-8)或「Janusin」(Traunecker等人，*EMBO J.* (1991) 10:3655-9及Traunecker等人，*Int. J. Cancer* (增刊) (1992) 7:51-2)可使用標準分子生物技術按照說明書之教示製備。

【0095】本發明之抗FLT3抗體或抗原結合部分可經衍化或連接至另一分子(例如，另一種肽或蛋白質)。一般而言，抗體或其部分經衍化使得FLT3結合不受衍化或標記之不利影響。因此，本發明之抗體及抗體部分意欲包含本文中所述之人類抗FLT3抗體之完整及經修飾形式二者。例如，本發明之抗體或抗體部分可官能上連接(藉由化學偶合、遺傳融合、非共價締合或以其他方式)至一或多個其他分子實體，諸如另一抗體(例如，雙特異性抗體或雙功能抗體)、檢測劑、醫藥劑及/或可介導抗體或抗體部分與另一分子(諸如鏈黴抗生物素核區域或聚組胺酸標記物)之締合之蛋白質或肽。

【0096】一種類型之衍化抗體藉由交聯兩個或更多個抗體(相同類型或不同類型，例如，以創建雙特異性抗體)產生。適宜交聯劑包括異雙官能，具有藉由適宜間隔子(例如，間-馬來醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基琥珀

醯亞胺酯)分離之兩個不同反應性基團或同雙官能(例如，辛二酸二琥珀醯亞胺酯)之彼等。此等連接子係(例如)自Pierce Chemical Company, Rockford, IL可得。

**【0097】** 抗FLT3抗體或抗原結合部分亦可利用化學基團，諸如聚乙二醇(PEG)、甲基或乙基或碳水化合物基團衍化。此等基團可用於改善抗體之生物特性，例如，增加血清半衰期。

**【0098】** 根據本發明之抗體或抗原結合部分亦可經標記。如本文中所示，術語「標記物」或「標記的」係指將另一分子併入抗體中。於一些實施例中，該標記物為可檢測標誌物，例如，併入放射性標記之胺基酸或附接至可藉由經標記抗生物素(例如，含有螢光標誌物或可藉由光學或比色方法檢測之酶活性之鏈黴抗生物素)檢測之生物素基部分之多肽。於一些實施例中，該標記物或標誌物可係治療性，例如，藥物結合物或毒素。標記多肽及醣蛋白之各種方法係此項技術中已知且可使用。多肽之標記物之實例包括(但不限於)下列：放射性同位素或放射性核素(例如， $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ )、螢光標記物(例如，FITC、羅丹明(rhodamine)、鏽系螢光粉)、酶標記物(例如，辣根過氧化物酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶、螢光素酶、鹼性磷酸酶)、化學發光標誌物、生物素基組、藉由二級報告基因(例如，亮胺酸拉鍊對序列、二級抗體之結合位點、金屬結合域、抗原決定基標籤)識別之預定之多肽抗原決定基、磁性劑(諸如釷螯合劑)、毒素(諸如百日咳毒素、紫杉醇(taxol)、細胞鬆弛素(cytochalasin) B、短桿菌肽(gramicidin) D、溴化乙錠、吐根鹼(emetine)、絲裂黴素(mitomycin)、依託泊苷(etoposide)、替尼泊苷(teniposide)、長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、秋水仙鹼



(colchicine)、多柔比星(doxorubicin)、道諾黴素(daunorubicin)、二羥基炭疽菌素(anthracin)二酮、米托蒽醌(mitoxantrone)、光神黴素(mithramycin)、放線菌素(actinomycin) D、1-去氫鞣醌、糖皮質激素、普魯卡因(procaine)、丁卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛爾(propranolol)、及嘌呤黴素(puromycin)及其類似物或同系物。於一些實施例中，標記物藉由各種長度之間隔臂附接以減少潛在位阻。

**【0099】** 於一些實施例中，根據本發明之抗體或抗原結合部分可與細胞毒性劑結合以形成免疫結合物。於一些實施例中，根據本發明之抗體或抗原結合部分可與放射性同位素結合。

**【0100】** 於某些實施例中，本發明之抗體可以中性形式(包括兩性離子形式)或作為帶正電或帶負電物質存在。於一些實施例中，抗體可與抗衡離子複合以形成醫藥上可接受之鹽。

#### *抗FLT3抗體組合物*

**【0101】** 本發明亦提供包含本文中所述之抗FLT3抗體或其抗原結合部分中之一者、二者、三者、四者或更多者之組合療法(例如，組合物)。於某些實施例中，該組合療法(例如，組合物)包含抗FLT3抗體或抗原結合部分中之二者。該組合療法可採取以下形式：例如，使用該等抗體或抗原結合部分之治療方法或包含該等抗體或抗原結合部分之醫藥組合物。

**【0102】** 於一些實施例中，本發明提供組合物，其包含第一抗FLT3抗體或其抗原結合部分及第二抗FLT3抗體或其抗原結合部分，其中該第一抗體及第二抗體為：

- 各自抗體17566及17526；
- 各自抗體17566及17667 (或17667-0)；

- 各自抗體17566及17679；
- 各自抗體17566及17494；
- 各自抗體17566及17543；
- 各自抗體17566及17497；
- 各自抗體17526及17667 (或17667-0)；
- 各自抗體17526及17679；
- 各自抗體17526及17494；
- 各自抗體17526及17543；
- 各自抗體17526及17497；
- 各自抗體17667 (或17667-0)及17679；
- 各自抗體17667 (或17667-0)及17494；
- 各自抗體17667 (或17667-0)及17543；
- 各自抗體17667 (或17667-0)及17497；
- 各自抗體17679及17494；
- 各自抗體17679及17543；
- 各自抗體17679及17497；
- 各自抗體17494及17543；
- 各自抗體17494及17497；
- 各自抗體17543及17497；或
- 各自抗體17667及17667-0。

**【0103】** 於一些實施例中，該組合物包含結合至與該第一及第二抗體相同之抗原決定基或與該第一抗體及第二抗體競爭結合之抗體或其抗原結合部分。

**【0104】** 於一些實施例中，該組合物包含包含該第一抗體之H-CDR1至3及L-CDR1至3胺基酸序列之抗體或其抗原結合部分，及包含該第二抗體之H-CDR1至3及L-CDR1至3胺基酸序列之抗體或其抗原結合部分。

**【0105】** 於一些實施例中，該組合物包含包含具有各自與該第一抗體之VH及VL胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同(例如，至少90%相同)之胺基酸序列之VH及VL的抗體或其抗原結合部分，及包含具有各自與該第二抗體之VH及VL胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同(例如，至少90%相同)之胺基酸序列之VH及VL的抗體或其抗原結合部分。

**【0106】** 於一些實施例中，該組合物包含包含該第一抗體之VH及VL胺基酸序列之抗體或其抗原結合部分，及包含該第二抗體之VH及VL胺基酸序列之抗體或其抗原結合部分。

**【0107】** 於一些實施例中，該組合物包含包含該第一抗體之HC及LC胺基酸序列之抗體或其抗原結合部分，及包含該第二抗體之HC及LC胺基酸序列之抗體或其抗原結合部分。

**【0108】** 於某些實施例中，該組合物可包含選自由以下組成之群之一種、兩種或更多種抗體或其抗原結合部分：

a)包含各自包含SEQ ID NO: 5至7、15至17、25至27、35至37、45至47、55至57或65至67之胺基酸序列之H-CDR1至3之抗體；

b)其VH在序列上與SEQ ID NO: 3、13、23、33、43、53、63或73之胺基酸序列至少90%相同之抗體；

c)其VH包含SEQ ID NO: 3、13、23、33、43、53、63或73之胺基酸序列之抗體；

d)其HC包含SEQ ID NO: 3及75、13及75、23及75、33及75、43及75、53及75、63及75、或73及75之胺基酸序列之抗體；

e)包含各自包含SEQ ID NO: 8至10、18至20、28至30、38至40、48至50、58至60或68至70之胺基酸序列之L-CDR1至3之抗體；

f)其VL在序列上與SEQ ID NO: 4、14、24、34、44、54、64或74之胺基酸序列至少90%相同之抗體；

g)其VL包含SEQ ID NO: 4、14、24、34、44、54、64或74之胺基酸序列之抗體；

h)其LC包含SEQ ID NO: 4及76、14及76、24及76、34及76、44及76、54及76、64及76、或74及76之胺基酸序列之抗體；

i)其H-CDR1至3及L-CDR1至3各自包含SEQ ID NO: 5至10、15至20、25至30、35至40、45至50、55至60或65至70之胺基酸序列之抗體；

j)包含各自包含與SEQ ID NO: 3及4、13及14、23及24、33及34、43及44、53及54、63及64、或73及74之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之VH及VL之抗體；

k)包含各自包含SEQ ID NO: 3及4、13及14、23及24、33及34、43及44、53及54、63及64、或73及74之胺基酸序列之VH及VL之抗體；及

l)包含各自包含3及75，及4及76；13及75，及14及76；23及75，及24及76；33及75，及34及76；43及75，及44及76；53及75，及54及76；63及75，及64及76；或73及75，及74及76之胺基酸序列之HC及LC之抗體。

【0109】於一些實施例中，本文中所述之抗FLT3抗體組合物可活體內抑制腫瘤生長及/或誘導腫瘤生長衰退。於一些實施例中，本文中所述之抗FLT3抗體組合物可減慢或逆轉癌症患者中之轉移。於一些實施例中，本文中所述之抗FLT3抗體組合物可延長癌症患者之生存。

【0110】本發明亦提供一種製備本文中所述之抗FLT3抗體組合物的方法，其包括提供第一抗FLT3抗體或抗原結合部分及第二抗FLT3抗體或抗原結合部分，及將該等兩種抗體或部分混合。

#### *雙特異性結合分子*

【0111】本發明亦提供雙特異性結合分子，其具有本文中所述之抗FLT3抗體之結合特異性(例如，包括抗原結合部分，諸如六個CDR或VH及VL)。於一些實施例中，該雙特異性結合分子另外具有另一不同抗FLT3抗體(例如，本文中所述之另一抗FLT3抗體)或靶向不同蛋白質(諸如癌症抗原或其活性介導疾病狀況(諸如癌症)之另一細胞表面分子)之抗體之結合特異性。此等雙特異性結合分子係此項技術中已知，及不同類型之雙特異性結合分子之實例於本文其他地方提供。

#### *核酸分子及載體*

【0112】本發明亦提供編碼本文中所述之抗FLT3抗體或其抗原結合部分之核酸分子及序列。於一些實施例中，不同核酸分子編碼抗FLT3抗體或抗原結合部分之重鏈及輕鏈胺基酸序列。於其他實施例中，相同核酸分子編碼抗FLT3抗體或抗原結合部分之重鏈及輕鏈胺基酸序列。

【0113】除非另有指定，否則核苷酸序列之參考包含其補體。因此，應瞭解，具有特定序列之核酸之參考包含其互補股，具有其互補序列。如本文中所提及，術語「多核苷酸」意指長度至少10個鹼基之核苷酸

(核糖核苷酸或去氧核苷酸)之聚合形式，或核苷酸之任一類型之修飾形式。該術語包含單股及雙股形式。

**【0114】** 於一些實施例中，本發明提供核酸分子，其包含編碼本文中所述之抗FLT3抗體或其抗原結合部分之重鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列，或編碼輕鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列，或二者。

**【0115】** 本發明亦提供與本文中詳述之一或多種核苷酸序列，例如，與選自由SEQ ID NO: 1、2、11、12、21、22、31、32、41、42、51、52、61、62、71及72組成之群之核苷酸序列，或與編碼選自由SEQ ID NO: 3、4、13、14、23、24、33、34、43、44、53、54、63、64、73及74組成之群之胺基酸序列之核苷酸序列至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%相同(例如，至少90%相同)之核苷酸序列。於核酸序列之背景下，術語「序列同一性%」係指當針對最大一致比對時，相同之兩個序列中之殘基。序列同一性比較之長度可為一段至少約9個核苷酸，通常至少約18個核苷酸，更通常至少約24個核苷酸，典型至少約28個核苷酸，更典型至少約32個核苷酸，及較佳地至少約36、48或更多個核苷酸。存在許多此項技術中已知之不同演算法，該等演算法可用於量測核苷酸序列同一性。例如，多核苷酸序列可使用FASTA、間隙或最佳擬合比較，其為Wisconsin Package版本10.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin中之程式。FASTA (其包含(例如)程式FASTA2及FASTA3)提供查詢序列與搜索序列之間之最佳重疊之區域的比對及序列同一性% (參見，例如，Pearson, *Methods Enzymol.* (1990) **183**:63-98；Pearson, *Methods Mol. Biol.* (2000) **132**:185-219；Pearson, *Methods Enzymol.* (1996) **266**:227-58；及Pearson, *J. Mol. Biol.* (1998)

276:71-84；其以引用的方式併入本文中)。除非另有指定，否則使用特定程序或演算法之預設參數。例如，核酸序列之間之序列同一性%可使用FASTA與其預設參數(6之字大小及評分矩陣之NOPAM因子)或使用間隙與如以引用的方式併入本文中之GCG版本6.1中所提供之其預設參數測定。

【0116】於一些實施例中，本發明提供核酸分子，其包含選自由SEQ ID NO: 1、2、11、12、21、22、31、32、41、42、51、52、61、62、71及72組成之群之核苷酸序列。於某些實施例中，該核酸分子包含SEQ ID NO: 1及2、11及12、21及22、31及32、41及42、51及52、61及62、或71及72之核苷酸序列。

【0117】於以上實施例中之任一者中，該等核酸分子可經分離。本文中稱作「經分離」或「經純化」之核酸分子為核酸，其(1)已自其原始來源之基因組DNA或細胞RNA之核酸分離出去；及/或(2)於自然中不出現。

【0118】於另一實施例中，本發明提供適用於表現如本文中所述之抗體或其抗原結合部分之鏈中之一者或二者的載體。如本文中所用，術語「載體」意指能將另一核酸運轉至連接其者之核酸分子。於一些實施例中，該載體為質粒，即，DNA之圓形雙股片，可將另外DNA片段連接至該DNA中。此外，某些載體能指導以可操作方式連接其之基因之表現。本文中此等載體被稱作「重組表現載體」(或簡單地，「表現載體」)。

【0119】本發明提供載體，其包含編碼如本文中所述之抗FLT3抗體或其抗原結合部分之重鏈、輕鏈或重鏈及輕鏈二者之核酸分子。於某些實施例中，本發明之載體包含本文中所述之核酸分子。本發明進一步提供載

體，其包含編碼融合蛋白、經修飾抗體、抗體片段及其探針之核酸分子。該載體可進一步包含表現控制序列。

**【0120】** 如本文中所用，術語「表現控制序列」意指影響連接其之編碼序列之表現及加工必需之多核苷酸序列。表現控制序列包括適宜轉錄起始、終止、啟動子及增強子序列；有效RNA加工信號(諸如剪接及聚腺苷酸化信號)；穩定細胞質mRNA之序列；增強轉譯效率之序列(即，Kozak共有序列)；增強蛋白質穩定性之序列；及當所需時，增強蛋白質分泌之序列。此等控制序列之性質取決於宿主有機體不同；於原核細胞中，此等控制序列一般包括啟動子、核糖體結合位點及轉錄終止序列；於真核細胞中，一般地，此等控制序列包括啟動子及轉錄終止序列。術語「控制序列」意欲最少包含其存在對表現及加工必不可少之所有組分，及亦可包含其存在係有利之另外組分，例如，前導序列及融合搭檔序列。

**【0121】** 於一些實施例中，如本文中所述之核酸分子包含框架內連接至編碼來自任何來源之重鏈恆定區之核苷酸序列之編碼來自如本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分之VH域的核苷酸序列。相似地，如本文中所述之核酸分子可包含框架內連接至編碼來自任何來源之輕鏈恆定區之核苷酸序列之編碼來自如本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分之VL域的核苷酸序列。

**【0122】** 於本發明之另一實施例中，編碼VH及/或VL之核酸分子可「轉化」成全長抗體基因。於一些實施例中，編碼VH或VL域之核酸分子藉由插入已各自編碼重鏈恆定(CH)區或輕鏈恆定(CL)區之表現載體，使得VH片段以可操作方式連接至載體內之該(等) CH片段，及/或VL片段以可操作方式連接至載體內之CL片段轉化成全長抗體基因。於另一實施例



中，編碼VH及/或VL域之核酸分子藉由連接，例如，使用標準分子生物技術將編碼VH及/或VL域之核酸分子連接至編碼CH及/或CL區之核酸分子轉化成全長抗體。編碼全長重鏈及/或輕鏈之核酸分子然後可自引入其及分離抗FLT3抗體之細胞表現。

**【0123】** 於一些實施例中，該(等)框架區突變使得該(等)所得框架區具有對應生殖系基因之胺基酸序列。突變可於框架區或恆定區中進行，例如，以增加抗FLT3抗體之半衰期。參見，例如，PCT公開案WO 00/09560。亦可進行框架區或恆定區中之突變以改變抗體之免疫原性，及/或提供與另一分子之共價或非共價結合之位點。根據本發明，抗體可具有CDR或可變域之框架區中之任一者或多者或恆定區中之突變。

#### *抗體及抗體組合物製備之宿主細胞及方法*

**【0124】** 本發明亦提供製備本文中所述之抗體組合物及抗體及其抗原結合部分之方法。於一些實施例中，本發明係關於一種製備如本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分之方法，其包括提供包含編碼本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分之重鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列，及編碼輕鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列之宿主細胞(例如，重組宿主細胞)；在適用於抗體或抗原結合部分之表現之條件下培育該宿主細胞；及分離所得抗體或抗原結合部分。藉由於此等重組宿主細胞中之此表現產生之抗體或抗原結合部分於本文中被稱作「重組」抗體或抗原結合部分。本發明亦提供此等宿主細胞之後代細胞，及藉由該等後代細胞產生之抗體或抗原結合部分。

**【0125】** 如本文中所用，術語「重組宿主細胞」(或簡單地「宿主細胞」)意指已引入重組表現載體之細胞。藉由定義，重組宿主細胞於自然

中不出現。本發明提供可包含(例如)如本文中所述之載體之宿主細胞。本發明亦提供包含(例如)編碼本文中所述之抗FLT3抗體或其抗原結合部分之重鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列，編碼輕鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列，或二者之宿主細胞。應瞭解「重組宿主細胞」及「宿主細胞」不僅意指特定個體細胞，而且意指此細胞之後代。因為某些修改可由於突變或環境影響於隨後代中發生，此後代事實上可與親本細胞不同，但是仍包含於如本文中所用之術語「宿主細胞」之範圍內。

**【0126】** 編碼抗FLT3抗體及其抗原結合部分之核酸分子及包含此等核酸分子之載體可用於轉染適宜哺乳動物、植物、細菌或酵母宿主細胞。轉形可係藉由用於將多核苷酸引入宿主細胞之任何已知方法。用於將異源多核苷酸引入哺乳動物細胞中之方法係此項技術中熟知且包括葡聚糖介導之轉染、磷酸鈣沉澱、聚凝胺介導之轉染、原生質體融合、電穿孔、脂質體中之該(等)多核苷酸之封裝及將DNA直接微注射至核。此外，核酸分子可藉由病毒載體引入哺乳動物細胞。

**【0127】** 藉由不同細胞系或於轉殖基因動物中表現之抗體將具有彼此不同之糖基化模式係可能。然而，藉由本文中所提供之核酸分子編碼或包含本文中所提供之胺基酸序列之所有抗體為本發明之部分，不管該等抗體之糖基化狀態，及更一般地，不管轉譯後修飾之存在或不存在。

### *醫藥組合物*

**【0128】** 本發明之另一實施例為醫藥組合物，其包含本發明之抗FLT3抗體或其抗原結合部分、抗體組合物、或雙特異性結合分子作為活性成分(或作為單獨活性成分)。該醫藥組合物可另外包含醫藥上可接受之賦形劑。於一些實施例中，該等醫藥組合物意欲改善、預防及/或治療癌

症，例如，本文中所述之癌症。於某些實施例中，該癌症係於組織，諸如皮膚、肺、腸、結腸、卵巢、腦、前列腺、腎、軟組織、造血系統、頭頸、肝、骨、膀胱、乳房、胃、子宮、子宮頸及胰臟中。

**【0129】** 本發明之醫藥組合物將包含本發明之一或多種抗FLT3抗體、抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子，例如，一種或兩種抗FLT3抗體、抗原結合部分或雙特異性結合分子。於一些實施例中，該組合物包含本發明之單一抗FLT3抗體或其抗原結合部分。於另一實施例中，該組合物包含本發明之兩種不同抗FLT3抗體或其抗原結合部分。

**【0130】** 於一些實施例中，該醫藥組合物可包含本發明之至少一種抗FLT3抗體或其抗原結合部分，例如，一種抗FLT3抗體或部分，及靶向一或多種相關細胞表面受體(例如，一或多種癌症相關受體)之一或多種另外抗體。

**【0131】** 於一些實施例中，該醫藥組合物可包含本發明之至少一種抗FLT3抗體或其抗原結合部分，例如，一種抗FLT3抗體或部分，及選自(例如)免疫調節劑、疫苗、化療劑、抗贅生劑、抗血管生成劑及酪胺酸激酶抑制劑之一或多種另外劑。

**【0132】** 一般地，本發明之抗體、抗原結合部分及雙特異性結合分子適於作為調配物與一或多種醫藥上可接受之賦形劑(例如，如下所述)聯合投與。

**【0133】** 本文中使用的術語「賦形劑」描述除了本發明之化合物外之任何成分。賦形劑之選擇將在大程度上取決於諸如特定投與模式、賦形劑對溶解度及穩定性之影響及劑型之性質之因素。如本文中所用，「醫藥上可接受之賦形劑」包括任何及所有溶劑、分散介質、塗料、抗細菌及抗真

菌劑、等滲及吸收延遲劑及生理上相容之類似者。醫藥上可接受之賦形劑之一些實例為水、鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水、右旋糖、甘油、乙醇及類似者，以及其組合。於許多情況下，較佳地包含等滲劑，例如，糖、多元醇(諸如甘露醇、山梨醇)或氯化鈉於組合物中。醫藥上可接受之物質之另外實例為潤濕劑或增強抗體之貨架壽命或有效性之少量輔助物質，諸如潤濕或乳化劑、防腐劑或緩衝劑。

**【0134】** 本發明之醫藥組合物及其製備方法將對熟習此項技術者顯而易見。此等組合物及其製備方法可見於(例如) *Remington's Pharmaceutical Sciences*，第19版(Mack Publishing Company, 1995)中。醫藥組合物較佳地在GMP(良好製造實務)條件下製造。

**【0135】** 本發明之醫藥組合物可以散裝、以單一單位劑量或以複數個單一單位劑量製備、包裝或銷售。如本文中所用，「單位劑量」為包含預定量之活性成分之醫藥組合物之離散量。活性成分之量一般等於將向個體投與之活性成分之劑量或此劑量之方便部分，諸如例如，此劑量之一半或三分之一。

**【0136】** 適用於非經腸投與之醫藥組合物之調配物通常包含活性成分與醫藥上可接受之載劑(諸如無菌水或無菌等滲鹽水)組合。此等調配物可以適用於團式投與或適用於連續投與之形式製備、包裝或銷售。可注射調配物可以單位劑型，諸如於安瓿中或於含有防腐劑之多劑量容器中製備、包裝或銷售。用於非經腸投與之調配物包括(但不限於)懸浮液、溶液、於油性或水性媒劑中之乳液、膏劑及類似者。此等調配物可進一步包含一或多種另外成分，該等成分包括(但不限於)懸浮劑、穩定劑或分散劑。於用於非經腸投與之調配物之一些實施例中，活性成分以乾(即，粉

末或顆粒)形式提供以在非經腸投與經重新構成之組合物之前利用適宜媒劑(例如，無菌無熱原水)重新構成。非經腸調配物亦包含水性溶液，其可含有賦形劑，諸如鹽、碳水化合物及緩衝劑(較佳地至3至9之pH)，但是針對一些應用，其可更適宜經調配成無菌非水性溶液或乾燥形式以結合適宜媒劑(諸如無菌無熱原水)使用。示例性非經腸投與形式包括含於無菌水性溶液中之溶液或懸浮液，例如，水性丙二醇或右旋糖溶液。若所需，則此等劑型可經適宜緩衝。可使用之其他可非經腸投與調配物包括包含呈微晶形式或脂質體製劑之活性成分之彼等。

#### *本發明之抗體及組合物之治療用途*

**【0137】** 於一些實施例中，本發明之抗FLT3抗體及其抗原結合部分、抗FLT3抗體組合物及雙特異性結合分子係用於增強或活化有需要患者(例如，哺乳動物，諸如人類)之免疫系統，例如，藉由刺激FLT3活性。於某些實施例中，該患者經免疫抑制。於某些實施例中，醫生可藉由投與如本文中所述之抗FLT3抗體或其抗原結合部分、組合物或雙特異性結合分子來促進患者之自身免疫系統之抗癌活性。例如，醫生可藉由單獨或與其他治療劑組合(依序或同時)投與本發明之抗FLT3抗體或抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子來促進患者之抗腫瘤活性。

**【0138】** 於某些實施例中，本發明之抗體或其抗原結合部分、組合物及雙特異性結合分子係用於治療癌症，例如，FLT3-陽性癌症。該癌症可於一或多個組織，諸如皮膚、肺、腸、結腸、卵巢、腦、前列腺、腎、軟組織、造血系統、頭頸、肝、骨、膀胱、乳房、胃、子宮、子宮頸及胰臟中。於一些實施例中，本發明之抗體或其抗原結合部分、組合物或雙特異性結合分子係用於治療具有低免疫細胞浸潤(例如，樹突狀細胞浸潤)之

腫瘤。

**【0139】** 於一些實施例中，藉由本發明之抗FLT3抗體、抗原結合部分、組合物及雙特異性結合分子治療之癌症可包括(例如)黑色素瘤(例如，皮膚、黏膜或眼黑色素瘤；晚期或轉移性黑色素瘤)、皮膚基底細胞癌、膠質母細胞瘤、膠質瘤、膠質肉瘤、星形細胞瘤、腦膜瘤、神經母細胞瘤、腎上腺皮質癌、頭頸鱗狀細胞癌、口癌、唾腺癌、鼻咽癌、乳癌、肺癌(例如，非小細胞肺癌(NSCLC)、小細胞肺癌及鱗狀細胞肺癌)、食道癌、胃食道連接處癌、胃癌、胃腸癌、原發性腹膜癌、肝癌、肝細胞癌、膽道癌、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、卵巢癌、輸卵管癌、膀胱癌、泌尿道癌、尿路上皮癌、腎細胞癌、腎癌、泌尿生殖器癌、子宮頸癌、前列腺癌、纖維肉瘤、脂肪肉瘤、橫紋肌肉瘤、骨肉瘤、組織細胞瘤、胰癌、子宮內膜癌、闌尾癌、晚期麥克爾(Merkel)細胞癌、多發性骨髓瘤、肉瘤、絨毛膜癌、紅白血病、急性淋巴母細胞性白血病、急性單核細胞性白血病、急性早幼粒細胞性白血病、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴細胞性白血病、肥大細胞白血病、小淋巴細胞性淋巴瘤、伯基特氏(Burkitt's)淋巴瘤、霍奇金氏(Hodgkin's)淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、單核細胞性淋巴瘤、HTLV相關聯之T細胞白血病/淋巴瘤、間皮瘤及實體腫瘤。該癌症可係(例如)處在早期、中間、晚期、局部晚期或轉移階段，及可復發或對其他治療劑(例如，其他抗FLT3療法，或檢查點抑制劑)難治或可不存在可用標準療法。

**【0140】** 於一些實施例中，藉由本發明之抗FLT3抗體、抗原結合部分、組合物及雙特異性結合分子治療之病狀可包括(例如)黑色素瘤(例

如，皮膚、黏膜或眼黑色素瘤)、膠質瘤、多形性膠質母細胞瘤、頭頸鱗狀細胞癌、乳癌、非小細胞肺癌、結腸直腸癌、腎細胞癌、腎癌、淋巴瘤(例如，B細胞淋巴瘤或非霍奇金氏淋巴瘤)、白血病(例如，急性骨髓性白血病)、多發性骨髓瘤、血漿細胞贅生物、及骨髓發育不良及/或骨髓增生性疾病。

【0141】於一些實施例中，本發明之抗體或其抗原結合部分、組合物或雙特異性結合分子係用於治療免疫病症。

【0142】於一些實施例中，該抗體或抗原結合部分、組合物或雙特異性結合分子可用於治療免疫功能不全或有免疫功能不全風險(例如，由於化療或放射療法)之患者。於一些實施例中，該抗體或抗原結合部分、組合物或雙特異性結合分子可用於於幹細胞移植後擴增患者之幹細胞。

【0143】於一些實施例中，該抗體或抗原結合部分、組合物或雙特異性結合分子係用於治療病毒及/或寄生蟲感染，例如，其中病原體抑制宿主免疫反應。該病原體可為(例如) HIV、肝炎(A、B或C型)、人類乳頭狀瘤病毒(HPV)、淋巴細胞性脈絡叢腦膜炎病毒(LCMV)、腺病毒、黃病毒、艾柯病毒(echovirus)、鼻病毒、柯薩奇(coxsackie)病毒、冠狀病毒、呼吸道合胞病毒、腮腺炎病毒、輪狀病毒、麻疹病毒、風疹病毒、細小病毒、牛痘病毒、人類T-細胞淋巴營養病毒(HTLV)、人類巨細胞病毒(HCMV)、登革病毒、軟疣病毒、脊髓灰質炎病毒、狂犬病病毒、John Cunningham (JC)病毒、蟲媒病毒性腦炎病毒、猿免疫缺陷病毒(SIV)、流感、胞疹、賈第蟲(Giardia)、瘧疾、利什曼蟲(Leishmania)、金黃色葡萄球菌 (Staphylococcus aureus)、結核分枝桿菌 (Mycobacterium tuberculosis)或銅綠假單胞菌(Pseudomonas aeruginosa)。

【0144】 「治療(Treat/treating/treatment)」係指緩解或廢除生物病症及/或其伴隨症狀中之至少一者之方法。如本文中所用，「緩解」疾病、病症或病狀意指降低該疾病、病症或病狀之症狀之嚴重度及/或發生頻率。另外，本文中提及「治療」包括提及治療、緩和及預防性治療。

【0145】 「治療上有效量」係指將在一定程度上減輕正在治療之病症之症狀中之一或多者之正在投與之治療劑的量。抗癌治療之治療上有效量可(例如)導致腫瘤生長延遲、腫瘤收縮、生存增加、癌細胞消除、疾病進展減慢或減少、轉移逆轉、或由醫療專業人員期望之其他臨床終點。

【0146】 本文中所述之抗FLT3抗體或其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子可單獨或與一或多種其他藥物或抗體(或以其任何組合)組合投與。因此，本文中所述之醫藥組合物、方法及用途亦包含與其他活性劑組合(共同投與)之實施例，如下詳述。

【0147】 如本文中所用，提及本發明之抗FLT3抗體及其抗原結合部分、抗體組合物及雙特異性結合分子與一或多種其他治療劑之術語「共同投與(co-administration/co-administered)」及「與...組合」意在意指，及的確係指且包含下列：

a)當此等組分一起經調配成單一劑型時，向需要治療之患者同時投與本發明之抗體/抗原結合部分/抗體組合物/雙特異性結合分子及治療劑之此組合，該劑型實質上同時向該患者釋放該等組分，

b)當此等組分彼此分離經調配成分開劑型時，向需要治療之患者依序同時投與本發明之抗體/抗原結合部分/抗體組合物/雙特異性結合分子及治療劑之此組合，該等劑型實質上同時由該患者攝取，因此該等組分實質上同時向該患者釋放，



c)當此等組分彼此分離經調配成分開劑型時，向需要治療之患者依序投與本發明之抗體/抗原結合部分/抗體組合物/雙特異性結合分子及治療劑之此組合，該等劑型在連續時間由該患者攝取，在各投與之間具有顯著時間間隔，因此該等組分在實質上不同時間向該患者釋放；及

d)當此等組分一起經調配成單一劑型時，向需要治療之患者依序投與本發明之抗體/抗原結合部分/抗體組合物/雙特異性結合分子及治療劑之此組合，該劑型以可控方式釋放該等組分，因此其在相同及/或不同時間向該患者同時、連續及/或重疊釋放，其中各部分可藉由相同或不同途徑投與。

**【0148】** 本發明之抗FLT3抗體或其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子可在無另外治療性治療下，即，作為單獨療法(單藥療法)投與。或者，利用本發明之抗FLT3抗體或其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子治療可包含至少一種另外治療劑治療(組合療法)，例如，另一種免疫刺激劑、抗癌劑(例如，化療劑、抗贅生物劑、抗血管生成劑或酪胺酸激酶抑制劑)或疫苗(例如，腫瘤疫苗)。

**【0149】** 於一些實施例中，該抗體或其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子可與另一種藥劑/藥物共同投與或調配用於治療癌症。另外治療性治療可包括(例如)免疫刺激劑、疫苗、化療、抗贅生物或抗血管生成劑、酪胺酸激酶抑制劑及/或放射療法。於一些實施例中，該另外治療劑治療可包含不同抗癌抗體。

**【0150】** 包含本文中所述之抗FLT3抗體或其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子及至少一種其他藥劑(例如，化療劑、抗贅生物劑或抗血管生成劑)之醫藥品可用作組合治療用於癌症療法中之同時、分

開或連續投與。該其他劑可為適用於治療所討論之特定癌症之任何劑，例如，選自由以下組成之群之劑：烷基化劑，例如，鉑衍生物，諸如順鉑(cisplatin)、卡鉑(carboplatin)及/或奧沙利鉑(oxaliplatin)；植物生物鹼，例如，紫杉醇(paclitaxel)、多西他賽(docetaxel)及/或伊立替康(irinotecan)；抗腫瘤抗生素，例如，多柔比星(阿黴素(adriamycin))、道諾黴素、表柔比星(epirubicin)、伊達比星(idarubicin)、米托蒽醌、更生黴素(dactinomycin)、博來黴素(bleomycin)、放線菌素、藤黃黴素(luteomycin)及/或絲裂黴素；拓撲異構酶抑制劑，諸如拓撲替康(topotecan)；抗代謝物，例如，氟尿嘧啶(flourouracil)及/或其他氟嘧啶；FOLFOX；奧希替尼(osimertinib)；環磷醯胺(cyclophosphamide)；蒽環黴素(anthracycline)；達卡巴嗪(dacarbazine)；吉西他濱(gemcitabine)；或其任何組合。於一些實施例中，本文中所述之抗FLT3抗體或其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子重新建立對其他藥劑之反應性。

**【0151】** 本發明之抗FLT3抗體或其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子亦可與其他抗癌療法(諸如疫苗、細胞激素、酶抑制劑、免疫刺激化合物及T細胞療法)組合使用。於疫苗之情況下，其可為(例如)含有與正在治療之癌症相關之一或多種抗原之蛋白質、肽或DNA疫苗，或包含樹突狀細胞連同抗原之疫苗。適宜細胞激素包括(例如) IL-2、IFN- $\gamma$ 及GM-CSF。具有抗癌活性之一種酶抑制劑之實例為吲哚胺-2,3-雙氧合酶(IDO)抑制劑，例如，1-甲基-D-色胺酸(1-D-MT)。亦考慮授受性T細胞療法，其係指涉及將患者自身之T細胞擴增或工程改造以識別及攻擊其腫瘤之各種免疫療法技術。

【0152】亦考慮本發明之抗FLT3抗體或其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子可聯合酪胺酸激酶抑制劑用於輔助療法中。此等為合成主要衍生自噻唑啉之低分子量分子，其與受體之細胞內酪胺酸激酶域相互作用及抑制配位體誘導之受體磷酸化，例如，藉由競爭細胞內Mg-ATP結合位點。

【0153】於一些實施例中，該抗體或其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子可與介導免疫系統活化之藥劑/藥物組合使用，該藥劑/藥物包括(但不限於)調節A2AR、A1AR、A2BR、A3AR、ADA、ALP、AXL、BTLA、B7-H3、B7-H4、CTLA-4、CD116、CD123、CD27、CD28、CD39、CD40、CD47、CD55、CD73、CD122、CD137、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、CTLA-3、CEACAM(例如，CEACAM-1及/或CEACAM-5)、EGFR、FLT3、FLT3L、GAL9、GITR、HVEM、LAG-3、LILRB1、LY108、LAIR1、ICOS、IDO、IL2R、IL4R、KIR、LAIR1、MET、NKG2A、PAP、PD-1/PD-L1/PD-L2、OX40、STING、TIGIT、TIM-3、TGFR- $\beta$ 、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9及TLR10、TNFR2、VEGF、VEGFR、VISTA、LILRB2、CMTM6及/或2B4之表現或活性之藥劑。於一些實施例中，該劑增強樹突狀細胞之活性、分化、增殖或動員。於某些實施例中，該劑為小分子抑制劑。於某些實施例中，該劑為結合至以上分子中之一者之抗體或其抗原結合片段。亦考慮本發明之抗FLT3抗體或其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子可與細胞激素(例如，IL-1、IL-2、IL-12、IL-15或IL-21)、EGFR抑制劑、VEGF抑制劑等組合使用。

【0154】於特定實施例中，該抗體或其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子可與調節FLT3L、CD40、AXL、TLR或PD-1之表現或活性之藥劑組合使用。

【0155】本發明亦考慮本文中所述之抗FLT3抗體或抗原結合部分之序列(例如，6個CDR或VH及VL序列)於製備嵌合抗原受體中之用途，該嵌合抗原受體可用於CAR-T技術中。

【0156】應瞭解，本發明之抗體及其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子可用於如本文中所述之治療方法中，可用於如本文中所述之治療中，及/或可用於製造用於如本文中所述之治療之藥劑中。

#### *劑量及投與途徑*

【0157】本發明之抗體或其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子可以用於治療所討論之病狀之有效量，即，以達成所需結果所需之劑量及持續時間段投與。治療上有效量可根據諸如以下之因素變化：正在治療之特定病狀、患者之年齡、性別及體重及抗體是否作為單獨治療或與一或多種另外抗癌治療組合投與。

【0158】可調整劑量方案以提供最佳所需反應。例如，可投與單一丸劑，可隨時間投與若干分開劑量或可如由治療情況之緊急狀態所指示按比例減少或增加劑量。以單位劑型調配非經腸組合物以便於劑量之投與及均勻性係尤其有利。如本文中所用，單位劑型係指適合作為單位劑量用於待治療之患者/個體之物理離散單元；各單元含有經計算以產生所需治療效應之預定量之活性化合物聯合所需醫藥載劑。本發明之單位劑型之規格一般由以下指定及直接依賴於以下：(a)治療劑之獨特特性及待達成之特定治療或預防效應，及(b)將此活性化合物混合用於治療個體之敏感性之

技術的固有限制。

**【0159】** 因此，熟習技工應瞭解，基於本文中所提供之揭示內容，劑量及給藥方案係根據治療技術中熟知方法調整。即，可容易建立最大耐受劑量，及亦可測定對患者提供可檢測治療效益之有效量，如同投與各劑以向患者提供可檢測治療效益之暫時要求。因此，雖然本文中例示某些劑量及投與方案，但是此等實例絕不限制可於實踐本發明中向患者提供之劑量及投與方案。

**【0160】** 應注意，劑量值可隨著待減輕之病狀之類型及嚴重度變化，及可包含單一劑量或多個劑量。應進一步瞭解，針對任何特定個體，特定劑量方案應隨時間根據個體需要及投與組合物或監督組合物投與者之專業判斷調整，及本文中所闡述之劑量範圍僅係示例性且不意欲限制呈現之組合物之範圍或實務。另外，利用本發明之組合物之劑量方案可基於各種因素，包括疾病類型、患者之年齡、體重、性別、醫療狀況、病狀之嚴重度、投與途徑及所採用之特定抗體。因此，劑量方案可廣泛變化，但是可使用標準方法常規測定。例如，劑量可基於藥物動力學或藥效動力學參數調整，該等參數可包含臨床效應，諸如毒性效應及/或實驗室值。因此，本發明包含如由熟習技工所確定之患者內劑量遞增。適宜劑量及方案之測定於相關技術中熟知及應理解為一旦提供本文中所揭示之教示，由熟習技工完成。

**【0161】** 用於腫瘤療法之有效量可藉由其穩定疾病進展及/或改善患者之症狀，及較佳地逆轉疾病進展(例如，藉由減少腫瘤大小)之能力量測。本發明之抗體、抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子抑制癌症之能力可藉由活體外檢定(例如，如實例中所述)，以及於預測於人類

腫瘤中之功效之適宜動物模型中評價。將選擇適宜劑量方案以於各特定情況中提供最佳治療反應，例如，呈單一丸劑或呈連續輸注投與，及具有如由各情況之緊急狀態所指示之劑量之可能調整。

**【0162】** 本發明之抗體或其抗原結合部分、抗體組合物或雙特異性結合分子可藉由此項技術中接受之用於投與肽、蛋白質或抗體之任何方法投與，及通常適用於非經腸投與。如本文中所示，「非經腸投與」包含特徵在於個體之組織之物理破壞之投與及通過組織缺口投與之任何途徑，因此一般導致直接投與至血流、至肌肉或至內臟器官。因此，非經腸投與包括(但不限於)藉由注射、藉由通過手術切口施覆、藉由通過組織滲透非手術傷口施覆及類似者投與。特定言之，考慮非經腸投與包括(但不限於)皮下、腹膜內、肌肉內、胸骨內、腦池內、靜脈內、動脈內、鞘內、尿道內、顱內、腫瘤內及滑膜內注射或輸注。特定實施例包括靜脈內及皮下途徑。

#### *診斷用途及組合物*

**【0163】** 本發明之抗體及抗原結合部分亦可用於診斷過程(例如，活體外或離體)中。例如，該等抗體及抗原結合部分可用於檢測及/或量測來自患者之樣品(例如，組織樣品或體液樣品，諸如發炎性滲出液、血液、血清、腸液、唾液或尿液)中之FLT3之含量。適宜檢測及量測方法包括免疫學方法，諸如流動式細胞測量術、酶聯免疫吸附檢定(ELISA)、化學發光檢定、放射免疫檢定及免疫組織學。本發明進一步包含套組(例如，診斷套組)，其包含本文中所述之抗體及抗原結合部分。

#### *製品及套組*

**【0164】** 本發明亦提供製品，例如，套組，其包含一或多個容器(例

如，單次使用或多次使用容器)，該等容器含有本文中所述之抗FLT3抗體或其抗原結合部分、組合物或雙特異性結合分子之醫藥組合物，視情況另外生物活性分子(例如，另一種治療劑)及使用說明。該抗體或抗原結合部分、組合物或雙特異性結合分子，及視情況另外生物活性分子可於適宜包裝(諸如由非反應性玻璃或塑膠製得之小瓶或安瓿)中分開包裝。於某些實施例中，該小瓶或安瓿容納抗體或抗原結合部分、組合物或雙特異性結合分子及視情況生物活性分子之濃縮原料(例如，2x、5x、10x或更多)。於某些實施例中，該等製品(諸如套組)包含用於投與抗體或抗原結合部分、組合物或雙特異性結合分子及/或生物活性分子之醫療裝置(例如，注射器及針)；及/或適宜稀釋劑(例如，無菌水及生理食鹽水)。本發明亦包含製造該等製品之方法。

**【0165】** 除非本文中另有指定，否則與本發明相關使用之科學及技術術語應具有彼等習此相關技術者通常所理解之含義。以下描述示例性方法及材料，但與本文中所述彼等相似或等效之方法及材料亦可用於實踐或測試本發明。若有衝突之情況下，則以本說明書(包含定義)為準。

**【0166】** 一般而言，與本文中所述之細胞及組織培養、分子生物學、免疫學、微生物學、遺傳學、分析化學、合成有機化學、醫藥化學、及蛋白質及核酸化學及雜交法相關所用之命名法及技術為此項技術中熟知且常用之彼等。根據製造商之說明進行酶促反應及純化技術，如此項技術中通常所執行或如本文中所述。

**【0167】** 另外，除非上下文另有要求，否則單數術語應包括複數，及複數術語應包括單數。整篇本說明書及實施例，單詞「具有(have)」及「包括(comprise)」或變化型，諸如「具有(has/having)」、「包括

(comprises/comprising)」應理解為暗示納入指定整數或整數群組，但是不排除任何其他整數或整數群組。

**【0168】** 本文中提及之所有出版物及其他參考之全文係以引用的方式併入。雖然本文中引用許多文件，但是此引用不構成承認此等文件中之任一者形成此項技術中之公知常識之部分。

**【0169】** 為了可更好理解本發明，闡述下列實例。此等實例係僅出於說明目的且不應解釋為以任何方式限制本發明之範圍。

### 實例

#### 實例1.抗FLT3抗體自大鼠B細胞之選殖

##### 材料及方法

**【0170】** 將針對人類FLT3之抗體自源自OmniRat<sup>®</sup>大鼠(Osborn等人, *J Immunol.* **190(4)**:1481-90 (2013)) 的抗體庫分離，該大鼠為產生具有全人類個體基因型之抗體之來自Ligand Pharmaceuticals Inc.之轉殖基因大鼠品系。藉助Symplex<sup>™</sup>抗體發現技術(Meijer等人, *J Mol Biol* **358(3)**:764-72 (2006))進行源自大鼠之抗體基因自單細胞分選抗體分泌B細胞(ASC)之選殖。

**【0171】** 將編碼IgG<sub>1</sub>-LALA形式(參見以下)之全人類免疫球蛋白之抗體庫構築體轉染至HEK293細胞。使用流動式細胞測量術以高通量形式篩選細胞上清液之結合至在CHO細胞表面上表現之FLT3。藉由DNA定序分析FLT3反應性純系及提取編碼抗體之DNA序列。將所選抗體純系如下所述表現及功能測試。

**【0172】** 將藉由於編碼抗體之cDNA片段之Symplex<sup>™</sup>選殖中使用簡併引子引入之重鏈及輕鏈之胺基端之錯義突變校正回生殖系序列。表1



顯示指定為17566、17526、17667、17679、17494、17543及17497之生殖系抗體之重鏈及輕鏈可變域核苷酸序列。校正過程涉及對生殖系之胺基端序列校正以及密碼子使用最佳化。與人類生殖系序列匹配之標靶藉由對重鏈及輕鏈可變區之blast同源性搜索識別。表1亦包含不經歷生殖系校正之抗體17667之一個形式(17667.0)之重鏈及輕鏈可變域序列。

【0173】 抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543及17497之可變域、恆定區及互補決定區(CDR)之蛋白質序列各自示於表2、表3及表4中。

## 結果

【0174】 表1顯示編碼抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543及17497之可變域之核苷酸序列。

**表1：抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543及17497之可變域核苷酸序列**

Ab	序列(5'至3')	SEQ
17566 VH	CAAGTGACACTGAAGGAGTCCGGCCAGTGCTGGTGAAGCCCACC GAGACACTGACCCTGACATGCACCGTGTCTGGCTTCTCCTTTAACA ATGCCAGGATGGGAGTGAAGTGGATCAGGCAGCCACCTGGCAAGG CCCTGGAGTGGCTGGCTCACATCTTCAGCAATGACGAGAAGTCCT ACAGCACATCTCTGAAGAGCAGGCTGACCATCTCTAAGGATATCT CCAAGAGCCAGGTGGTGTGCTGACAATGACCAACATGGACCCCGTGG ATACAGCCACCTACTATTGTGCTAGAATCGTGGGATAACGGATCTGG ATGGAGGCTGCTGGGCGACTATTGGGGACAGGGCACACTGGTGAC CGTCTCGAGT	1
17526 VH	CAAGTGACACTGAAGGAGTCTGGCCAGTGCTGGTGAAGCCCACC GAGACACTGACCCTGACATGCACCATCTCTGGCTTCTCCCTGGGCA ACGCCAGGATGGGCGTGTCTGGATCAGGCAGCCACCTGGCAAGG CCCTGGAGTGGCTGGCTCACATCTTTAGCAATGACGAGAAGTCCTA CAGCACCTCTCTGAAGAGCAGACTGACAATCTCTAAGGATACCTC CAAGAGCCAGGTGGTGTGCTGACAATGACCAACATGGACCCTGTGGA TACAGCCACCTACTATTGTGCTCGCATCGTGGGCTACGTGGACTGG CTGCTGCCATTCGATTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTCT CGAGT	11
17667 VH	CAAGTGACACTGAAGGAGTCTGGCCAGTGCTGGTGAAGCCCACC GAGACACTGACCCTGACATGCACCGTGTCCGGCTTCTCCCTGAGCA ACGCCAGGATGGGCGTGTGAGCTGGATCAGGCAGCCACCTGGCAAGG CCCTGGAGTGGCTGGCTCACATCTTTTCCAATGACGAGAGATCTTA	21

	CTCCCCAGCCTGAAGAGCCGCCTGACAATCTCTAAGGGCACCTCT AAGTCCCAGGTGGTGTGCTGACAATGACCAACATGGACCCTGTGGAT ACAGCCACCTACTATTGTGCTAGGATCGTGGGCTACGTGGACTGGC TGCTGCCATTTCGATTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTCTC GAGT	
17679 VH	CAAGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGACCAGGACTGGTGAAGCCTTCT CAGACCCTGTCCCTGACCTGCACAGTGAGCGGAGGATCTATCTCCA GCGGAGGATACTATTGGTCTTGATCAGACAGCACCCAGGCAAGG GCCTGGAGTGGATCGGCTACATCTACTATAGCGGCAGGACAACT ATAATCCCTCCCTGAAGAGCCGGGTGACCATCAGCGAGGACACAT CTAAGAACCAGTTCTCTCTGAAGGTGTCTTCCGTGACCGCCGCTGA TACAGCCGTGTACTATTGTGCTCGCGACCAGGATGGCTCCGGCTGG TACTTTGACTATTGGGGCCAGGGCGCCCTGGTGACCGTCTCGAGT	31
17494 VH	CAAGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGACCAGGACTGGTGAAGCCTAGC CAGACCCTGTCTCTGACCTGCACTGTGTCCGGAGGAAGCATCTCCA GCGGAGGATACTATTGGTCTTGATCAGGCAGCACCCAGGCAAGG GCCTGGAGTGGATCGGCTACATCTACTATAGCGGCTCTACATACTA TAACCCCTCTCTGAAGTCCCGGGTGACCATCTCCGTGGACACAAGC AAGAATCAGTTCTCTCTGAAGCTGTCTTCCGTGACCGCCGCTGATA CAGCCGTGTACTATTGTGCTAGGGACCTGGATGGCTCCGGCTGGTA CTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTCTCGAGT	41
17543 VH	CAAGTGACCCTGAAGGAGTCCGGCCCAGTGCTGGTGAAGCCCACC GAGACACTGACCCTGACATGCACCGTGTCTGGCTTCTCCCTGATCA ACGCCAGAATGGGAGTGACATGGATCAGGCAGCCACCTGGCAAGG CCCTGGAGTGGCTGGCTCACATCTTTAGCAATGACGAGAAGTCCTA CAGCACCTCTCTGAAGAGCAGGCTGACAATCTCTAAGGATACCTC CAAGAGCCAGGTGGTGTGACAATGACCAACATGGACCCTGTGGA TACAGCCACCTACTATTGTGCTAGGATCCCAGGCTATTCTCGGGGC TGGGACTACTATTACTATGGCATGGACGTGTGGGGCCAGGGCACA ATGGTGACCGTCTCGAGT	51
17497 VH	CAAGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGACCAGGACTGGTGAAGCCATCT GGCACCCCTGTCCCTGACATGCGCCGTGAGCGGAGGATCTATCTCCA GCACCAACTGGTGGTCTGGGTGAGACAGCCACCTGGCAAGGGAC TGGAGTGGATCGGCGAGATCAGCCACAGGGGCTCTACCAACTACA ATCCTTCCCTGAAGAGCCGGGTGACAATCTCCGTGGACAAGAGCA AGAATCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCTTCCGTGACCGCCGCTGACAC AGCCGTGTACTATTGTGCTCGCGATCCAGAGATGACCCTGTACTAT TACTATGGCATGGACGTGTGGGGCCAGGGCACCCACAGTGACAGTC TCGAGT	61
17667-0 VH	CAGGTGCAGCTACAGGAGTCTGGTCTGTGCTGGTGAACCCACA GAGACCCTCACGCTGACCTGCACCGTCTCTGGGTTCTCACTCAGCA ATGCTAGAATGGGTGTTAGCTGGATCCGTGAGCCCCAGGGAAGG CCCTGGAGTGGCTTGCACACATTTTTTCAAATGACGAAAGATCCTA CAGTCCATCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCTCCAAGGGCACCTCC AAAAGCCAGGTGGTCTTACCATGACCAACATGGACCCTGTGGAC ACAGCCACATATTACTGTGCACGGATAGTAGGATATGTTGACTGGT TATTACCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTACGGTCTC GAGT	71
17566 VL	GCCATCCAGATGACCCAGAGCCCTTCCAGCCTGTCCGCCTCCGTGG GCGACAGGGTGACCATCACATGCCGGGCCTCTCAGGGCATCACAA ACGATCTGGGCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCTCCTAAGC TGCTGATCTATGCCGCTTCTTCCCTGCAATCTGGCGTGCCATCCAG GTTCTCTGGATCCGGAAGCGGAACCGACTTTACCCTGACAATCAGC	2

	TCTCTGCAACCAGAGGACTTCGCCACATACTATTGTCTGCAAGATT ACAATTATCCCTGGACCTTTGGCCAGGGCACAAAGGTGGAGATCA AG	
17526 VL	GAGATCGTGATGACCCAGTCTCCAGCCACACTGAGCGTGTCTCCA GGAGAGAGGGCCACCCTGTCCTGCAGAGCTTCCCAGAGCGTGTCC AGCAACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCTCCTAGG CTGCTGATCTATGGCGCCAGCACCAGAGCTACAGGAATCCCTGCTC GTTTCTCTGGATCCGGAAGCGGCACAGAGTTTACCCTGACAATCTC TTCCCTGCAATCTGAGGACTTCGCCGTGTACTATTGTCAGCAATAC AATCACTGGCCAATGTATACCTTTGGCCAGGGCACAAAGCTGGAG ATCAAG	12
17667 VL	GAGATCGTGATGACCCAGTCTCCAGCCACACTGAGCGTGTCTCCA GGAGAGAGGGCCACCCTGTCCTGCAGAGCTTCCCAGAGCGTGTCC AGCAACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCTCCTAGG CTGCTGATCTATGGCGCCAGCACCAGAGCTACAGGAATCCCTGCTC GTTTCTCTGGATCCGGAAGCGGCACAGAGTTTACCCTGACAATCTC TTCCCTGCAATCTGAGGACTTCGCCGTGTACTATTGTCAGCAGTAC AACAAATTGGCCAATGTATACCTTTGGCCAGGGCACAAAGCTGGAG ATCAAG	22
17679 VL	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCAGCCACACTGTCTCTGTCCCCCG GAGAGAGGGCCACCCTGAGCTGCAGGGCCTCCCAGTCCGTGTCTCCT CCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCTCCTAGGC TGCTGATCTACGACGCCAGCAACAGAGCTACCGGAATCCCTGCTC GTTTCTCCGGAAGCGGATCTGGCACAGACTTTACCCTGACAATCAG GTCTCTGGAGCCAGAGGATTTGCGCGTGTACTATTGTCAGCAGAGA TCCAATTGGTGGACCTTTGGCCAGGGCACAAAGGTGGAGATCAAG	32
17494 VL	GAGATCGTGCTGACCCAGTCTCCTGCCACACTGAGCCTGTCTCCAG GAGAGAGGGCCACCCTGTCCTGCAGAGCTTCCCAGAGCGTGTCCA GCTACCTGGCCTGGTATCAGCAAAAGCCAGGCCAGGCTCCCAGGC TGCTGATCTACGACGCCAGCAACAGAGCTACCGGAATCCCAGCTC GTTTCTCTGGATCCGGAAGCGGCACAGACTTTACCCTGACAATCTC TTCCCTGGAGCCTGAGGATTTGCGCGTGTACTATTGTCAGCAGAGA TCTAATTGGCCCCCTCTGACCTTTGGCGGGCGGCACAAAGGTGGAG ATCAAG	42
17543 VL	GACATCCAGATGACACAGTCCCCTTCCAGCCTGAGCGCCTCTGTGG GCGACAGGGTGACCATCACATGCCGGGCTCCCAGGGCATCAGAA ACGATCTGGGCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCTAAGC GCCTGATCTATGCTGCTTCCACCCTGCAGAGCGGAGTGCCATCTAG GTTTCTCCGGCAGCGGCTCTGGCACAGAGTTTACCCTGACAATCTCT TCCCTGCAGCCAGAGGATTTGCTACCTACTATTGTCTGCAGCACA ATTCTTACCCCTGGACCTTTGGCCAGGGCACAAAGGTGGAGATCA AG	52
17497 VL	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTTCCAGCCTGTCCGCCAGCGTG GGCGACAGAGTGACCATCACATGCAGGGCTTCTCGGGGCATCAGA AACGATCTGGGCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCTAAG CGCCTGATCTATGCCGCTTCTTCCCTGCAATCTGGCGTGCCATCCA GATTCTCTGGATCCGGAAGCGGAACCGAGTTTACCCTGACAATCA GCTCTCTGCAGCCAGAGGATTTGCTACATACTATTGTCTGCAGCA CAATTCCTACCCCTGACCTTTGGCGGGCGGCACAAAGGTGGAGAT CAAG	62
17667-0 VL	GAAACGACTCACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGCGTTAGCA	72

	GCAACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGC TCCTCATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAG GTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCCTCTCACCATCAGC AGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGTATA ATAACTGGCCCATGTACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGA TTAAG	
--	--	--

SEQ : SEQ ID NO 。

【0175】表2顯示抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543及17497之推導之胺基酸序列。CDR為粗體/加底線。

表2：抗體17566、17526、17667、17679、17494、17543及17497之可變域胺基酸序列

Ab	序列(N端至C端)	SEQ
17566 VH	QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSFNNARMGVNWIROPKAL EWLAHIFSNDEKSYSTSLKSRLTISKDISKSQVVLMTNMDPVDATY YCARIVGYGSGWRLLGDYWGQGLTVTVSS	3
17526 VH	QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTISGFSLGNARMGVSWIROPKALE WLAHIFSNDEKSYSTSLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATYY CARIVGYVDWLLPFDYWGQGLTVTVSS	13
17667 VH	QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSNARMGVSWIROPKALE WLAHIFSNDEKSYSPSLKSRLTISKGTSKQVVLMTNMDPVDATYY CARIVGYVDWLLPFDYWGQGLTVTVSS	23
17679 VH	QVQLQESGPGVLVKPSQTLTCTVSGGSISSGGYYVSWIRQHPGKGLE WIGYIYYSGRTNYNPSLKSRTISEDTSKNQFSLKVSSVTAADTAVYY CARDQDGGWYFDYWGQGLTVTVSS	33
17494 VH	QVQLQESGPGVLVKPSQTLTCTVSGGSISSGGYYVSWIRQHPGKGLE WIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CARDLDGSGWYFDYWGQGLTVTVSS	43
17543 VH	QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLINARMGVTWIROPKALE WLAHIFSNDEKSYSTSLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATYY CARIPGYSRGWDYYYYYGMDVWGQGMVTVSS	53
17497 VH	QVQLQESGPGVLVKPSGTLTCAVSGGSISSSTNWSVWRQPPGKGLE WIGEISHRGSTNYNPSLKSRTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CARDPEMTLYYYYYGMDVWGQGTTVTVSS	63
17667-0 VH	QVQLQESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSNARMGVSWIROPKALE WLAHIFSNDEKSYSPSLKSRLTISKGTSKQVVLMTNMDPVDATYY CARIVGYVDWLLPFDYWGQGLTVTVSS	73
17566 VL	AIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGITNDLGWYQQKPKGAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQDYNYPW TFGQGTKVEIK	4
17526 VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIY GASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQOYNHWPMY TFGQGTKLEIK	14
17667 VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIY GASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQOYNNWPMY	24

	<u>TFGQGTKLEIK</u>	
17679 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS <u>QSVSSY</u> LAWYQQKPGQAPRLLIY <u>DASN</u> RATGIPARFSGSGSGTDFTLTIRSLEPEDFAVYY <u>COQRSNWWTF</u> GQGTKVEIK	34
17494 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS <u>QSVSSY</u> LAWYQQKPGQAPRLLIY <u>DASN</u> RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYY <u>COQRSNWPLT</u> FGGGTKVEIK	44
17543 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRAS <u>QGIRND</u> LGWYQQKPGKAPKRLI YA <u>AAS</u> TLSQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYY <u>CLOHNSYPWT</u> FGQGTKVEIK	54
17497 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRAS <u>RGIRND</u> LGWYQQKPGKAPKRLI YA <u>AAS</u> LQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYY <u>CLOHNSYPLT</u> FGGGTKVEIK	64
17667-0 VL	ETTLTQSPATLSVSPGERATLSCRAS <u>QSVSSN</u> LAWYQQKPGQAPRLLIY <u>GAS</u> TRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYY <u>COQYNNWPMY</u> <u>TFGQGTKLEIK</u>	74

SEQ : SEQ ID NO .

【0176】 表3顯示重鏈及輕鏈恆定區胺基酸序列(各自為CH及CL)。  
「IgG<sub>1</sub>-LALA」係指重鏈中存在「LALA」突變(L234A/L235A，根據IMGT®編號方案編號)，已知該等突變會減低IgG<sub>1</sub>抗體之Fc區之效應功能(Hezareh等人，*J Virol.* (2001) **75(24)**:12161-8；Hessell等人，*Nature* (2007) **449(7158)**:101-4)。

表3：抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543及  
17497之恆定區胺基酸序列

片段	序列(N端至C端)	SEQ
添加至VH之IgG <sub>1</sub> - LALA CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	75
添加至VL之κ CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVYACE VTHQGLSPVTKSFNRGEC	76

SEQ : SEQ ID NO .

【0177】 表4顯示抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、

17494、17543及17497之重鏈及輕鏈CDR胺基酸序列，其中該等CDR係根據IMGT®系統定義。

**表4：抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543及17497之CDR胺基酸序列**

Ab	序列(N端至C端)					
	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
17566	GFSFNNARMG SEQ: 5	IFSNDEK SEQ: 6	CARIVGYGSGWRLGDIYW	QGITND SEQ: 8	AAS SEQ: 9	CLQDYNYPWTF SEQ: 10
17526	GFSLGNARMG SEQ: 15	IFSNDEK SEQ: 16	CARIVGYVDWLLPFDYW	QSVSSN SEQ: 18	GAS SEQ: 19	CQQYNHWPMYTF SEQ: 20
17667、 17667-0	GFSLSNARMG SEQ: 25	IFSNDEK SEQ: 26	CARIVGYVDWLLPFDYW	QSVSSN SEQ: 28	GAS SEQ: 29	CQQYNNWPMYTF SEQ: 30
17679	GGSISSGGYY SEQ: 35	IYYSGRT SEQ: 36	CARDQDGSWYFDYW	QSVSSY SEQ: 38	DAS SEQ: 39	CQQRSNWWTTF SEQ: 40
17494	GGSISSGGYY SEQ: 45	IYYSGST SEQ: 46	CARDLDGSWYFDYW	QSVSSY SEQ: 48	DAS SEQ: 49	CQQRSNWPPLTF SEQ: 50
17543	GFSLINARMG SEQ: 55	IFSNDEK SEQ: 56	CARIPGYSRGWDYIIYGM DVW SEQ: 57	QGIRND SEQ: 58	AAS SEQ: 59	CLQHNSYPWTF SEQ: 60
17497	GGSISSSTNW SEQ: 65	ISHRGST SEQ: 66	CARDPEMTLYIIYGM DVW SEQ: 67	RGIRND SEQ: 68	AAS SEQ: 69	CLQHNSYPLTF SEQ: 70

SEQ：SEQ ID NO。

【0178】表5顯示抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543及17497之SEQ ID NO資訊。除非另有指定，否則該等序列為胺基酸序列。

**表5：抗體17566、17526、17667、17667-0、17679、17494、17543及17497之SEQ ID NO**

名稱	VH nt	VL nt	VH aa	VL aa	H- CDR1	H- CDR2	H- CDR3	L- CDR1	L- CDR2	L- CDR3
17566	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
17526	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
17667	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
17679	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
17494	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
17543	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
17497	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
17667-0	71	72	73	74	25	26	27	28	29	30

nt：核苷酸

aa：胺基酸

## 實例2.抗FLT3抗體於EOL-1增殖檢定中之活體外功能篩選

【0179】本實例描述抗FLT3單株抗體小組之活體外功能評價，目的為識別具有促效活性之主要候選。評價該等抗體刺激表現FLT3之癌細胞系EOL-1之增殖之能力。

### 材料及方法

【0180】評價抗FLT3抗體小組活體外誘導表現FLT3之癌細胞系EOL-1之增殖之能力。將EOL-1細胞接種於補充有0.5% FBS及1% P/S之RPMI 1640 Glutamax培養基中及利用25 µg/mL之最終濃度下之指定抗體培育5天。使用WST-1細胞增殖試劑(Roche)按照製造商之說明將細胞增殖定量。

### 結果

於利用抗FLT3抗體處理後EOL-1細胞之增殖示於圖1中。誘導EOL-1細胞之增殖之能力在測試抗體之間極大變化。一些抗體顯示於此檢定中無效應，而其他抗體具有刺激能力，如由其誘導EOL-1細胞之增殖之能力所示。

## 實例3.抗FLT3參考抗體類似物之選殖

### 材料及方法

【0181】編碼表6中之抗體類似物之重鏈及輕鏈可變域之胺基酸序列係獲自所列專利申請案。使用人類密碼子將蛋白質序列反向轉譯成DNA序列。對應DNA序列經基因合成及選殖至含有人類重鏈或輕鏈恆定區之表現載體，從而導致表現全長抗體鏈。用於表現所選之人類抗體同型

於抗體形式列中列出。使用標準蛋白質表現系統將CHO細胞用所得表現質粒轉染。使用標準蛋白質A純化管柱層析法將對應抗體上清液純化。

**表6：基因合成之抗體類似物及對應抗體形式之列表**

抗體	抗體形式	來源
IMC-EB10類似物	IgG <sub>1</sub> /κ	美國專利申請案2011/0091470 A1 (SEQ ID NO: 25及28)

#### **實例4.抗FLT3抗體與經人類、食蟹猴或小鼠FLT3蛋白轉染之CHO-S細胞之直接結合**

**【0182】** 本實例證實抗FLT3抗體與在細胞上短暫表現之人類、小鼠及食蟹猴FLT3蛋白之結合。

##### **材料及方法**

**【0183】** 評價七種抗FLT3抗體與在CHO-S細胞上表現之人類、食蟹猴或小鼠FLT3蛋白之結合及與IMC-EB10類似物之結合進行比較。

**【0184】** 在4°C下，將抗FLT3抗體與短暫表現人類、食蟹猴或小鼠FLT3之倉鼠CHO-S細胞系培育30分鐘。將細胞洗滌兩次及隨後與AF647結合之二級抗人類IgG (H+L)抗體再培育20分鐘。於洗滌步驟後，使用高通量流動式細胞測量儀iQue Screener PLUS (Sartorius)檢測抗體結合，其量測各孔中之AF647信號之幾何平均值。以一式三份檢定每個濃度及針對各抗體生成12-點滴定曲線。

##### **結果**

該等抗體與在細胞上表現之人類、食蟹猴或小鼠FLT3之結合曲線示於圖2中。所檢定抗體以不同效力及功效結合至細胞顯示之人類、食蟹猴或小鼠FLT3蛋白。

#### **實例5.藉由七種抗FLT3抗體阻斷FLT3配位體結合至人類FLT3**



## 材料及方法

【0185】 抗FLT3抗體與重組人類FLT3 ECD his標記之融合受體(Sino Biological)之結合及其阻斷/不阻斷FLT3L在Octet QK384儀器(ForteBio)上藉由生物層干涉法(BLI)量測。將His標記之FLT3在預平衡之抗Penta-HIS (HIS1K)生物感測器(ForteBio)上固定600秒，接著500 nM抗FLT3抗體之600秒締合，及100 nM FLT3L及500 nM mAbs之300秒締合。平行量測對經固定之FLT3之總FLT3L結合反應。於FortéBio資料分析(8.2)程式中分析資料。

## 結果

【0186】 抗體17543、17494、17679、17667、17526、17566、17497及對照mAb之阻斷特性示於圖3中。抗FLT3 mAb中無一者在飽和條件下阻斷FLT3L結合至FLT3，除了IMC-EB10類似物，其完全阻斷配位體結合至FLT3。

**實例6.藉由七種抗FLT3抗體阻斷FLT3配位體-Fc結合至經人類、食蟹猴或小鼠FLT3蛋白轉染之CHO-S細胞**

【0187】 本實例描述藉由抗FLT3抗體阻斷FLT3配位體-Fc蛋白結合至在CHO-S細胞上表現之人類、食蟹猴或小鼠FLT3蛋白。

## 材料及方法

【0188】 在存在FLT3配位體-Fc蛋白下，評價七種抗FLT3抗體與在CHO-S細胞上表現之人類、食蟹猴或小鼠FLT3蛋白之結合及與IMC-EB10類似物之結合進行比較。

【0189】 在4°C下，將抗FLT3抗體與短暫表現人類、食蟹猴或小鼠FLT3之倉鼠CHO-S細胞系培育30分鐘。將細胞洗滌兩次及隨後與結合

AF647之FLT3配位體-Fc再培育20分鐘。於洗滌步驟後，使用高通量流動式細胞測量儀iQue Screener PLUS (Sartorius)檢測結合AF647之FLT3配位體-Fc蛋白之殘留結合，其量測各孔中之AF647信號之幾何平均值。以一式三份檢定每個濃度及針對各抗體生成12-點滴定曲線。

## 結果

【0190】 該等抗體對在細胞上表現之人類、食蟹猴或小鼠FLT3之阻斷曲線示於圖4中。所檢定抗體在所測試之任何濃度下不阻斷AF647結合之FLT3配位體-Fc蛋白與細胞顯示之人類、食蟹猴或小鼠FLT3蛋白之結合。IMC-EB10類似物抗體部分阻斷AF647結合之FLT3配位體-Fc蛋白與細胞顯示之人類、食蟹猴或小鼠FLT3蛋白之結合。

## 實例7.抗FLT3抗體於EOL-1增殖檢定中之活體外功能活性

【0191】 本實例描述七種抗FLT3單株抗體之活體外功能評價，目的為證實劑量依賴性促效活性。評價該等抗體刺激表現FLT3之癌細胞系EOL-1之增殖之能力。包含FLT3配位體用於比較。

## 材料及方法

【0192】 進一步詳細評價七種抗FLT3抗體活體外誘導表現FLT3之癌細胞系EOL-1之增殖之能力。將EOL-1細胞接種於補充有0.5% FBS及1% P/S之RPMI 1640 Glutamax培養基中及利用自25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 開始之指定抗體之兩倍滴定培育5天。包含自1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 開始之FLT3配位體之兩倍滴定用於比較。使用WST-1細胞增殖試劑(Roche)按照製造商之說明將細胞增殖定量。

## 結果

【0193】 於利用抗FLT3抗體處理後EOL-1細胞之增殖示於圖5中。

所測試之所有七種抗體證實劑量依賴性刺激能力，如由其誘導EOL-1細胞之增殖之能力所示。

### **實例8.以不同IgG形式之抗FLT3抗體於細胞增殖檢定中之活體外功能活性**

**【0194】** 本實例描述IgG<sub>1</sub>-LALA或IgG<sub>2</sub>形式之抗FLT3單株抗體之活體外功能評價，目的為證實劑量依賴性促效活性。評價該等抗體刺激表現FLT3之癌細胞系EOL-1及OCI-AML5之增殖之能力。

#### **材料及方法**

**【0195】** 將EOL-1及OCI-AML5細胞接種於補充有0.5% FBS及1% P/S之RPMI 1640 Glutamax培養基中，及利用自25 µg/mL開始之指定抗體之兩倍滴定培育5天。使用WST-1細胞增殖試劑(Roche)按照製造商之說明將細胞增殖定量。

#### **結果**

於利用抗FLT3抗體處理後EOL-1細胞及OCI-AML5細胞之增殖各自示於圖6A及6B中。所選抗體之IgG<sub>1</sub>-LALA及IgG<sub>2</sub>同型二者證實劑量依賴性刺激能力，如由其誘導EOL-1及OCI-AML5細胞系二者之增殖之能力所示。

### **實例9.抗FLT3抗體對初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之增殖之影響**

**【0196】** 本實例描述七種抗FLT3單株抗體以及IgG<sub>1</sub>-LALA或IgG<sub>2</sub>形式之所選抗體之活體外功能評價，目的為確認對於初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞中之促效活性。評價該等抗體刺激初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之增殖之能力。包含FLT3配位體用於比較。

#### **材料及方法**

【0197】 源自初代人類骨髓之CD34<sup>+</sup>幹細胞係獲自美國模式培養保藏所(American Type Culture Collection/ATCC)。將CD34<sup>+</sup>幹細胞接種於補充有50 ng/mL促血小板生成素(TPO)及25 ng/mL IL-3之造血祖細胞(HPC)擴增培養基DXF (PromoCell)中及與指定抗體(25 µg/mL)或FLT3配位體(250 ng/mL)培育7天。使用WST-1細胞增殖試劑(Roche)按照製造商之說明將細胞增殖定量。

## 結果

【0198】 於利用抗FLT3抗體處理後初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之增殖示於圖7中。顯然，所有七種測試之抗FLT3抗體誘導初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之增殖，從而證實其刺激能力(左圖)。IgG<sub>1</sub>-LALA及IgG<sub>2</sub>形式之所選抗體亦誘導初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之增殖(右圖)。包含FLT3配位體作為陽性對照。

## 實例10.抗FLT3抗體對人類初代CD34<sup>+</sup>幹細胞之分化之影響

【0199】 本實例描述IgG<sub>1</sub>-LALA及IgG<sub>2</sub>形式之兩種抗FLT3單株抗體之活體外功能評價，目的為驗證於初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞中之促效活性。評價該等抗體誘導初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之分化之能力。包含FLT3配位體用於比較。

## 材料及方法

【0200】 源自初代人類骨髓之CD34<sup>+</sup>幹細胞係獲自美國模式培養保藏所(American Type Culture Collection/ATCC)。將CD34<sup>+</sup>幹細胞接種於含有10% FBS、1% PenStrep、10 mM HEPES、20 µM 2-巰基乙醇、20 ng/mL IL-3、20 ng/mL GM-CSF及20 ng/mL IL-4之IMDM培養基中。隨後，將抗FLT3抗體(25 µg/mL)或FLT3配位體(250 ng/mL)添加至培養物

中及將細胞培育2週。在2週培養期間添加含有補充劑及抗FLT3抗體或FLT3配位體之新鮮培養基兩次。收集細胞及藉由流動式細胞測量術分析CD14及CD1c之表現。簡言之，將細胞於PBS中洗滌兩次及在4°C下，用人類BD Fc Block及Zombie Aqua可固定活力染料(死細胞標誌物)染色20分鐘。隨後，將細胞洗滌及在暗處在4°C下用針對細胞表面標誌物之抗體(抗CD14-FITC、抗CD1c-PE-CF594、抗CD11c-BV421、抗CD123-PE、抗CD141-PerCPCy5.5)染色30分鐘。於兩次最終洗滌後，使用BD FACSCelesta流動式細胞測量儀及FacsDiva軟體分析細胞。使用GraphPad Prism 5.0進行資料分析。

## 結果

**【0201】** 通過兩種抗FLT3抗體誘導初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之分化之能力評價其促效活性。所測試抗FLT3抗體均能誘導初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之分化，如由其與未經處理對照相比增加CD14<sup>+</sup> (圖8A)及CD1c<sup>+</sup> (圖8B)細胞，以及樹突狀細胞亞群(pDC、cDC1及cDC2) (圖8C)之頻率之能力所示。包含FLT3配位體作為陽性對照。

## 實例11.抗FLT3抗體於Balb/c小鼠中之活體內功能活性

**【0202】** 本實例描述IgG<sub>1</sub>-LALA或IgG<sub>2</sub>形式之抗FLT3單株抗體之活體內功能評價，目的為驗證其於免疫勝任小鼠中誘導樹突狀細胞擴增及動員之能力。包含FLT3配位體用於比較。

## 材料及方法

**【0203】** 將40隻雌性Balb/c小鼠分成8個治療組，各組中具有5隻動物。在第0天開始及在第13天終止治療。小鼠接受媒劑；0.1 mg/kg、1 mg/kg或10 mg/kg之抗FLT3抗體每週兩次之腹膜內注射；或10 μg FLT3L

每週五次之腹膜內注射。在終止時，收集來自所有小鼠之脾及藉由流動式細胞測量術分析。將細胞用抗CD3-FITC、抗CD370-PE、抗CD8-PerCP-Cy5.5、抗CD11b-PE-Cy7、抗I-A/I-E-APC-Cy、抗CD11c-BV421、抗Ly6C-FITC、抗CD3-PerCP-Cy5.5及抗CD45R-APC抗體染色。Zombie Aqua係用於活/死細胞辨別。使用BD FACSVerse流動式細胞測量儀及FacsDiva軟體分析細胞。使用GraphPad Prism 5.0進行數據分析。

## 結果

【0204】 根據IgG<sub>1</sub>-LALA或IgG<sub>2</sub>形式之抗FLT3抗體於免疫勝任小鼠中以三個不同劑量誘導樹突狀細胞(DC)動員之能力評價其活體內促效活性。用於誘導大多數亞群之DC動員之IgG<sub>1</sub>-LALA或IgG<sub>2</sub>形式之抗FLT3抗體的最有效劑量為10 mg/kg，如由與媒劑相比細胞數之增加倍數所證實(圖9A及9B)。包含FLT3配位體作為陽性對照。

## 實例12.抗FLT3抗體於CD34人源化小鼠中之活體內功能活性

【0205】 本實例描述抗FLT3單株抗體之活體內功能評價，目的為驗證其於利用人類CD34<sup>+</sup>幹細胞重新構成之免疫功能不全小鼠(「CD34人源化小鼠」)中誘導樹突狀細胞動員之能力。包含FLT3配位體用於比較。

## 材料及方法

【0206】 使用自人類臍帶血分離之造血幹細胞(CD34<sup>+</sup>)將36隻雌性NOD/Shi-SCID/IL-2R $\gamma$ null (NCG)小鼠人源化。將僅具有25%以上之人源化率(hCD45/總CD45)之小鼠用於研究。基於人源化率及CD34供體將小鼠隨機分成6個治療組，各組中具有6隻動物。在第0天開始及在第11天終止治療。小鼠接受媒劑、1或10 mg/kg之抗FLT3抗體每週兩次之腹膜內注射，或10  $\mu$ g FLT3L每週五次之腹膜內注射。在終止時，收集來自所有小

鼠之脾及骨髓及藉由流動式細胞測量術分析。將細胞用抗CD1c-BV421、抗 CD11c-BV510、抗 CD14-BV650、抗 CD123-FITC、抗 CD3-PerCPVio700、抗 CD20-PerCPVio700、抗 CD56-PerCPVio700、抗 CD301-PE、抗 CD141-PE-Vio615、抗 hCD45-PE-Vio770、抗 CD370-APC及抗HLA-DR-APC-Cy7抗體染色。可固定黃色(Fixable Yellow)係用於活/死細胞辨別。使用Attune NxT流動式細胞測量儀及FacsDiva軟體分析細胞。使用GraphPad Prism 5.0進行數據分析。

## 結果

**【0207】** 根據IgG<sub>1</sub>-LALA或IgG<sub>2</sub>形式之抗FLT3抗體於CD34人源化小鼠中以兩個不同劑量誘導DC動員之能力評價其活體內促效活性。於兩種形式中在兩個劑量下，抗體能誘導脾(圖10A及10B)及骨髓(圖10C及10D)之子集中之大多數之DC動員，如與媒劑相比之增加倍數所證實。包含FLT3配位體作為陽性對照。

## 實例13.抗FLT3抗體及FLT3配位體對人類初代CD34<sup>+</sup>幹細胞中之基因表現之影響

**【0208】** 本實例證實，人類初代CD34<sup>+</sup>幹細胞經促效性抗FLT3抗體之活體外刺激會誘導與FLT3配位體相似之基因表現之變化，從而提供相似刺激途徑之證據。

## 材料及方法

**【0209】** 源自初代人類骨髓之CD34<sup>+</sup>幹細胞係獲自美國模式培養保藏所(American Type Culture Collection/ATCC)。將CD34<sup>+</sup>幹細胞接種於含有10% FBS、1% PenStrep、10 mM HEPES、20 μM 2-巰基乙醇、20 ng/mL IL-3、20 ng/mL GM-CSF及20 ng/mL IL-4之IMDM培養基中。隨

後，將抗FLT3抗體(25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )或FLT3配位體(250  $\text{ng}/\text{mL}$ )添加至培養物中及將細胞培育2週。在2週培養期間添加含有補充劑及抗FLT3抗體或FLT3配位體之新鮮培養基兩次。收集細胞，及使用RNeasy Micro套組(Qiagen)按照製造商之說明提取RNA。將100  $\text{ng}$  RNA用作輸入用於在nCounter SPRINT分析器上之基因表現分析。使用nCounter Myeloid先天免疫小組(XT\_PGX\_huV2\_Myeloid, NanoString Technologies)分析基因表現，及使用nSolver分析軟體用於數據品質控制、標準化及差別基因表現之分析。使用斯皮爾曼氏(Spearman's)秩相關分析所研究基因之間之關聯。

## 結果

**【0210】** 如圖11中所示，IgG<sub>1</sub>-LALA (左圖)及IgG<sub>2</sub> (右圖)形式二者之測試抗體誘導與FLT3配位體相似之基因表現變化。觀察到之藉由促效性抗FLT3抗體及FLT3配位體誘導之基因表現變化之間之強的相關指示其以相似方式刺激人類初代CD34<sup>+</sup>幹細胞。

## 實例14.抗FLT3 Fab片段與人類FLT3之結合動力學

**【0211】** 本實例評估抗FLT3 Fab片段與人類FLT3域1之結合，如由表面電漿子共振(SPR)所量測。

## 材料及方法

**【0212】** 合成編碼人類FLT3域1之cDNA (UniProt寄存編號P36888)及選殖至含有CMV啟動子及Ig Fc序列(殘基P101-K330)之載體，從而導致Ig Fc融合至C端，及於ExpiCHO™表現系統中短暫表現。於收穫後，針對結合至抗FLT3 Fab，藉由表面電漿子共振(SPR)使用Carterra LSA測試上清液。將HC200M (Carterra)晶片藉由山羊抗人類Ig Fc (Southern



Biotech)使用胺偶聯官能化。將晶片藉由新鮮製備之0.4M EDC、0.1M磺基-NHS及0.1M MES，pH 5.5 (1:1:1 v/v/v)活化5分鐘，利用含75  $\mu\text{g}/\text{mL}$  抗人類Ig Fc之10 mM乙酸鈉，pH 4.5偶聯10分鐘，及將過量反應性酯藉由注射1M乙醇胺，pH 8.5中止3分鐘。儀器於運行緩衝液(PBS pH 7.4，0.01% Tween-20，0.5 mg/ml BSA)中引發。於引發及洗滌後，將培養物上清液中之FLT3融合蛋白以一式兩份捕獲至晶片之個別點持續12分鐘。於運行緩衝液中各製備Fab分析物。藉由應用以增加濃度之單體Fab之動力滴定系列進行動力學分析。進行Fab締合5分鐘及記錄抗原解離5分鐘。於Fab注射之各循環後，將表面藉由0.45%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ 再生2 x 20秒及於運行緩衝液中洗滌5分鐘。將結合反應使用Carterra之KIT軟體工具處理及分析。將經處理之數據擬合至簡單朗格繆爾(Langmuir) 1:1結合模型用於計算結合速率( $k_{\text{on}}$ 或 $k_a$ )、解離速率( $k_{\text{off}}$ 或 $k_d$ )及親和力( $K_D$ )常數。

## 結果

【0213】 抗體17566、17526、17667、17543及17497之Fab片段與人類FLT3域1之結合動力學示於下表7中。將數據表示為平均值 $\pm$  SEM， $n = 4$ 。

表7：如藉由SPR量測之抗FLT3 Fab片段與人類FLT3域1之結合動力學

Fab	$k_{\text{on}}$ ( $\times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )	$k_{\text{off}}$ ( $\times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ )	$K_D$ (nM)
17566	$8.9 \pm 0.2$	$4.6 \pm 0.3$	$5.2 \pm 0.4$
17526	$11.5 \pm 0.3$	$7.6 \pm 0.3$	$6.6 \pm 0.4$
17667	$16.5 \pm 0.6$	$14.5 \pm 0.4$	$8.9 \pm 0.3$
17543	$5.2 \pm 0.9$	$9.9 \pm 0.6$	$19.3 \pm 1.4$
17497	$9.8 \pm 0.9$	$3 \pm 0.3$	$3.1 \pm 0.4$

## 實例15.抗FLT3抗體之抗原決定基分箱

【0214】 本實例描述藉由表面電漿子共振(SPR)量測之基於成對競爭模式，將抗FLT3抗體分組為抗原決定基分箱。屬於不同抗原決定基分

箱之抗體識別FLT3 ECD上之不同抗原決定基。

## 材料及方法

【0215】藉由SPR使用IBIS-MX96儀器(IBIS, Netherlands)進行成對抗體競爭之研究。將抗FLT3抗體於PBS中稀釋至3 µg/ml及藉由使用連續流動微量點儀捕獲15分鐘來在G-a-hu-IgG Fc SensEye®上成點，接著藉由赫賽汀(Herceptin) (曲妥珠單抗(trastuzumab))阻斷殘留結合位點及藉由SensEye FixIt套組(IBIS, Netherlands)化學交聯。於感測器準備後，使用經典混合檢定進行抗體競爭分析。將重組FLT3-his ECD抗原(Sino Biological Inc)於PBS、0.05% Tween 20、200 nM赫賽汀運行緩衝液中稀釋及以100 nM濃度注射，及藉由抗FLT3抗體之結合陣列捕獲。接下來，進行於運行緩衝液中稀釋至100 nM之FLT3抗體各者之個別注射以建立抗體競爭模式。包含重組FLT3配位體(100 nM)作為分析物以表徵配位體阻斷抗體。藉由抗原決定基分箱2.0 (Wasatch, USA)分析數據。

## 結果

【0216】圖12顯示抗FLT3 mAb 17667、17566、17526及17543、IMC-EB10類似物及FLT3配位體(FLT3L)之節點圖，如自抗原決定基分箱分析所得。抗FLT3抗體於三個離散組或分箱中分佈。分箱1 (淺灰色)包含抗體17526、17543、17566及17667，其所有彼此交叉阻斷，指示此等抗體結合FLT3細胞外域之相似抗原決定基。分箱2 (灰色)由IMC-EB10類似物組成，其阻斷FLT3L，與公開資料(美國專利公開案2011/0091470)一致。分箱3 (白色)僅由抗體17497組成，顯示此抗體識別不同於分析中之其他抗體之抗原決定基。

【0217】總之，測試抗體中無一者阻斷FLT3L，除了IMC-EB10類

似物。抗體 17526、17543、17566 及 17667 結合重疊抗原決定基，而 17497 結合單獨的抗原決定基。

### 實例16.抗FLT3抗體藉由誘變及表面電漿子共振之抗原決定基標測

【0218】 本實例說明藉由單株抗FLT3抗體17566、17526、17667、17543及17497識別之抗原決定基如何分佈在FLT3細胞外域(ECD)上。藉由誘變方法及表面電漿子共振(SPR)表徵線性及構象抗原決定基。

#### 材料及方法

【0219】 人類及大鼠(褐家鼠) FLT3之蛋白質序列係自UniProt (各自寄存編號為P36888及A0A0G2JW59)下載及比對。為標測線性抗原決定基，產生人類FLT3 ECD之域1之Fc融合蛋白，其具有藉由由片段重疊了5個胺基酸之對應大鼠FLT3序列依序交換之10個胺基酸。藉由FLT3域1之丙胺酸掃描誘變表徵構象抗原決定基。

【0220】 合成編碼人類FLT3域1之cDNA及選殖至含有CMV啟動子及人類Ig Fc序列(殘基P101-K330)之載體，從而導致Ig Fc融合至C端。藉由標準基因合成技術產生野生型(wt)及突變人類FLT3域1 Fc融合構築體及蛋白質於ExpiCHO™表現載體中短暫表現。於收穫後，針對結合至抗FLT3 Fab，藉由表面電漿子共振(SPR)使用Carterra LSA測試上清液。將HC200M (Carterra, Inc)晶片藉由山羊抗人類Ig Fc (Southern Biotech)使用胺偶聯官能化。將晶片藉由新鮮製備之0.4M EDC、0.1 M磺基-NHS及0.1 M MES，pH 5.5 (1:1:1 v/v/v)活化5分鐘，利用含75 µg/mL抗人類Ig Fc之10 mM乙酸鈉，pH 4.5偶聯10分鐘，及將過量反應性酯藉由注射1M乙醇胺，pH 8.5中止3分鐘。儀器於運行緩衝液(PBS pH 7.4，0.01% Tween-20，0.5 mg/ml BSA)中引發。於引發及洗滌後，將培養物上清液

中之FLT3融合蛋白以一式兩份捕獲至晶片之個別點持續12分鐘。於運行緩衝液中各製備Fab分析物。藉由應用增加濃度之單體Fab之動力滴定系列進行動力學分析。進行Fab締合5分鐘及記錄抗原解離5分鐘。於Fab注射之各循環後，將表面藉由0.45% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>再生2 x 20秒及於運行緩衝液中洗滌5分鐘。將結合反應使用Carterra之KIT軟體工具處理及分析。將經處理之數據擬合至簡單朗格繆爾1:1結合模型用於計算結合速率(k<sub>on</sub>或k<sub>a</sub>)、解離速率(k<sub>off</sub>或k<sub>d</sub>)及親和力(K<sub>D</sub>)常數。取消選擇針對所有Fab片段共有之產生失活蛋白之突變。為識別引起顯著結合損失之胺基酸，使用與野生型人類FLT3相比結合親和力減少至少5倍之截止值及/或具有3以上之z-評分來限定該等抗原決定基。

## 結果

【0221】 抗FLT3抗體17566、17526、17667、17543及17497之線性及構象抗原決定基示與表8中。

表8：抗FLT-3抗體抗原決定基

抗體	線性抗原決定基	接觸殘基
17566	A78-A87	A79、A80、V81、T157、R161
17526	A78-A87	A79、A80、V81、I89、T90、R161
17667	A78-A87	A79、V81
17543	A78-A97	A79、V81、V83、A87、I89、V125、T157
17497	A138-S147	N100、L104-V106、H109-S111、E140、L142、N151、T153

【0222】 FLT3之細胞外域由五個類免疫球蛋白(Ig)域(D1至D5)組成。本實例中之抗FLT3抗體全部結合FLT3 D1。如表8中所示，抗體17566、17526、17667及17543結合相似抗原決定基，而小鼠交叉反應性

抗體17497結合單獨的抗原決定基，如由抗原決定基分箱所預測(實例15)。

【0223】 該等抗原決定基經標測在FLT3配位體-受體複合體(PDB條目：3QS9，圖13)上。晶體結構由二價結合至FLT3配位體(FLT3L)之兩個受體分子組成，在FLT3 D3頂端處具有結合介面。該複合體形成開放環狀結構，其中N端D1係高度可撓，其在D1與D2之間之連接區周圍具有至少兩個不同取向，且與蛋白質複合體之其餘部分無相互作用(Verstrate等人，*Blood* (2011) 1:60-68)。

【0224】 17566、17526、17667及17543之抗原決定基中之共用部分位於D1之C端，正好在D2開始之前。此共用部分位於D1之內表面，而17497之抗原決定基相對於FLT3L位於D1之外表面。配位體-受體複合體中之各D1上之抗原決定基之間之距離針對抗原決定基各者為約90 Å至120 Å (圖13)，其於結合至兩個抗原決定基之IgG分子之最佳距離內(Zhang等人，*Nature Communication* (2020) 11:3114及Zhang等人，*Scientific Reports* (2015) 5:9803)。考慮到D1係高度可撓且可適應於不同取向(Verstrate等人，見上)，結合此等抗原決定基之抗體可將FLT3二聚合及與FLT3配位體無關地活化受體信號傳導。

【0225】 總之，抗原決定基標測分析顯示，抗體17566、17526、17667及17543之抗原決定基共用FLT3 D1之內表面上之殘基，而抗體17497結合D1之外表面上之單獨抗原決定基。位於FLT3 D1上之抗原決定基似乎最佳用於促效性抗FLT3抗體及受體活化。

## 【序列表】

<110> 丹麥商賽門弗鎮公司(SYMPHOGEN A/S)

<120> 抗FLT3抗體及組合物

<130> 022675.W0047

<140>

<141>

<150> 63/009,578

<151> 2020-04-14

<160> 79

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 372

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

<400> 1

caagtgcac tgaaggagtc cggcccagtg ctggtgaagc ccaccgagac actgaccctg 60

acatgcaccg tgtctggctt ctcctttaac aatgccagga tgggagtga ctggatcagg 120

cagccacctg gcaaggccct ggagtggctg gctcacatct tcagcaatga cgagaagtcc 180

tacagccat ctctgaagag caggctgacc atctctaagg atatctcaa gagccagggtg 240

gtgctgacaa tgaccaacat ggaccccgtg gatacagcca cctactattg tgctagaatc 300

gtgggatacg gatctggatg gaggctgctg ggcgactatt ggggacaggg cacactggtg 360

accgtctcga gt 372

<210> 2

<211> 321

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

&lt;400&gt; 2

gccatccaga tgaccagag cccttcagc ctgtccgect ccgtgggcga cagggtgacc 60

atcacatgcc gggcctctca gggcatcaca aacgatctgg gctggtacca gcagaagccc 120

ggcaaggctc ctaagctgct gatctatgcc gcttcttccc tgcaatctgg cgtgccatcc 180

aggttctctg gatccggaag cggaaccgac ttaccctga caatcagctc tctgcaacca 240

gaggacttcg ccacatacta ttgtctgcaa gattacaatt atccctggac ctttggccag 300

ggcacaaaagg tggagatcaa g 321

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 124

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

&lt;400&gt; 3

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Phe Asn Asn Ala

20 25 30

Arg Met Gly Val Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Ile Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Arg Leu Leu Gly Asp  
 100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 4

<211> 107

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

<400> 4

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 Gly Ile Thr Asn Asp  
 20 25 30

Leu Gly 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 Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Pro Trp  
 85 90 95

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

<210> 5

<211> 10

<212> PRT



<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 5

Gly Phe Ser Phe Asn Asn Ala Arg Met Gly  
1                   5                   10

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 6

Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys  
1                   5

<210> 7

<211> 18

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 7

Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Arg Leu Leu Gly Asp  
1                   5                   10                   15

Tyr Trp

<210> 8

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 8

Gln Gly Ile Thr Asn Asp

1 5

<210> 9

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 9

Ala Ala Ser

1

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 10

Cys Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Pro Trp Thr Phe

1 5 10

<210> 11

<211> 369

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

<400> 11

caagtgcac tgaaggagtc tggcccagtg ctggtgaagc ccaccgagac actgaccctg 60

acatgcacca tctctggctt ctccctgggc aacgccagga tgggcgtgtc ctggatcagg 120

cagccacctg gcaaggccct ggagtggctg getcacatct ttagcaatga cgagaagtec 180

tacagcacct ctctgaagag cagactgaca atctctaagg atacctccaa gagccagggtg 240  
 gtgctgacaa tgaccaacat ggaccctgtg gatacagcca cctactattg tgctcgcac 300  
 gtgggctacg tggactggct gctgccattc gattattggg gccagggcac actggtgacc 360  
 gtctcgagt 369

<210> 12

<211> 324

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

<400> 12

gagatcgtga tgaccagtc tccagccaca ctgagcgtgt ctccaggaga gagggccacc 60  
 ctgtcctgca gagcttccca gagcgtgtcc agcaacctgg cttggtacca gcagaagcca 120  
 ggacaggctc ctaggctgct gatctatggc gccagcacca gagctacagg aatccctgct 180  
 cgcttctctg gatccggaag cggcacagag ttaccctga caatctcttc cctgcaatct 240  
 gaggacttcg ccgtgtacta ttgtcagcaa tacaatcact ggccaatgta tacctttggc 300  
 cagggcacia agctggagat caag 324

<210> 13

<211> 123

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

<400> 13

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

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

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser  
 50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Val Asp Trp Leu Leu Pro Phe Asp Tyr  
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 14

<211> 108

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

<400> 14

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 His Trp Pro Met  
85 90 95

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

<210> 15

<211> 10

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 15

Gly Phe Ser Leu Gly Asn Ala Arg Met Gly  
1 5 10

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 16

Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys  
1 5

<210> 17

<211> 17

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

&lt;400&gt; 17

Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Val Asp Trp Leu Leu Pro Phe Asp Tyr

1 5 10 15

Trp

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 6

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

&lt;400&gt; 18

Gln Ser Val Ser Ser Asn

1 5

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 3

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

&lt;400&gt; 19

Gly Ala Ser

1

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

&lt;400&gt; 20

Cys Gln Gln Tyr Asn His Trp Pro Met Tyr Thr Phe

1 5 10

<210> 21  
 <211> 369  
 <212> DNA  
 <213> 人造序列

<220>  
 <221> source  
 <223> /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

<400> 21  
 caagtgcac tgaaggagtc tggcccagtg ctggtgaagc ccaccgagac actgaccctg 60  
 acatgcaccg tgtccggctt ctccctgagc aacgccagga tgggcgtgag ctggatcagg 120  
 cagccacctg gcaaggccct ggagtggtg gctcacatct tttccaatga cgagagatct 180  
 tactccccca gcctgaagag ccgcctgaca atctctaagg gcacctctaa gtcccaggtg 240  
 gtgctgacaa tgaccaacat ggaccctgtg gatacagcca cctactattg tgctaggatc 300  
 gtgggctacg tggactggct gctgccattc gattattggg gccagggcac actggtgacc 360  
 gtctcgagt 369

<210> 22  
 <211> 324  
 <212> DNA  
 <213> 人造序列

<220>  
 <221> source  
 <223> /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

<400> 22  
 gagatcgtga tgaccagtc tccagccaca ctgagcgtgt ctccaggaga gagggccacc 60  
 ctgtcctgca gagcttccca gagcgtgtcc agcaacctgg cttggtacca gcagaagcca 120  
 ggacaggctc ctaggctgct gatctatggc gccagcacca gagctacagg aatccctgct 180  
 cgcttctctg gatccggaag cggcacagag ttaccctga caatctcttc cctgcaatct 240  
 gaggacttcg ccgtgtacta ttgtcagcag tacaacaatt ggccaatgta tacctttggc 300  
 cagggcacia agctggagat caag 324

<210> 23

<211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <221> source  
 <223> /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

<400> 23  
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu  
 1 5 10 15

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

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Arg Ser Tyr Ser Pro Ser  
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Gly Thr Ser Lys Ser Gln Val  
 65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Val Asp Trp Leu Leu Pro Phe Asp Tyr  
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 24  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <221> source  
 <223> /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」



&lt;400&gt; 24

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 Met  
                   85                    90                    95

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

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

&lt;400&gt; 25

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala Arg Met Gly  
 1                    5                    10

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 26

Ile Phe Ser Asn Asp Glu Arg  
1 5

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 27

Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Val Asp Trp Leu Leu Pro Phe Asp Tyr  
1 5 10 15

Trp

<210> 28

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 28

Gln Ser Val Ser Ser Asn  
1 5

<210> 29

<211> 3

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 29

Gly Ala Ser



<400> 32  
gagatcgtgc tgaccacagtc cccagccaca ctgtctctgt cccccggaga gagggccacc 60  
ctgagctgca gggcctccca gtccgtgtcc tctacctgg cctggtatca gcagaagccc 120  
ggccaggctc ctaggctgct gatctacgac gccagcaaca gagctaccgg aatccctgct 180  
cgcttctccg gaagcggatc tggcacagac ttaccctga caatcaggtc tctggagcca 240  
gaggatttcg cctgtfacta ttgtcagcag agatccaatt ggtggacctt tggccagggc 300  
acaaaggtgg agatcaag 318

<210> 33  
<211> 121  
<212> PRT  
<213> 人造序列

<220>  
<221> source  
<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

<400> 33  
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Cys Ala Arg Asp Gln Asp Gly Ser Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100

105

110

Gln Gly Ala Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

&lt;210&gt; 34

&lt;211&gt; 106

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

&lt;400&gt; 34

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 Arg Ser Leu Glu Pro  
 65 70 75 80

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

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

&lt;210&gt; 35

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 35

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr  
1                   5                   10

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 36

Ile Tyr Tyr Ser Gly Arg Thr  
1                   5

<210> 37

<211> 15

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 37

Cys Ala Arg Asp Gln Asp Gly Ser Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr Trp  
1                   5                   10                   15

<210> 38

<211> 6

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 38

Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
1                   5

<210> 39  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <221> source  
 <223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 39  
 Asp Ala Ser  
 1

<210> 40  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <221> source  
 <223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 40  
 Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Trp Thr Phe  
 1                    5                    10

<210> 41  
 <211> 363  
 <212> DNA  
 <213> 人造序列

<220>  
 <221> source  
 <223> /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

<400> 41  
 caagtgcagc tgcaggagag cggaccagga ctggtgaagc ctagccagac cctgtctctg            60  
 acctgcactg tgtccggagg aagcatctcc agcggaggat actattggtc ttggatcagg            120  
 cagcacccag gcaagggcct ggagtggatc ggctacatct actatagcgg ctctacatac            180  
 tataaccctt ctctgaagtc ccgggtgacc atctccgtgg acacaagcaa gaatcagttc            240  
 tctctgaagc tgtcttccgt gaccgccgct gatacagccg tgiactattg tgctagggac            300  
 ctggatggct ccggetggta ctttgactat tggggccagg gcaccctggt gacagtctcg            360

agt

363

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 324

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

&lt;400&gt; 42

gagatcgtgc tgaccagtc tctgccaca ctgagcctgt ctccaggaga gagggccacc 60

ctgtcctgca gagcttccca gagcgtgtcc agctacctgg cctggtatca gcaaaagcca 120

ggccaggctc ccaggctgct gatctacgac gccagcaaca gagctaccgg aatcccagct 180

cgcttctctg gatccggaag cggcacagac ttaccctga caatctcttc cctggagcct 240

gaggatttcg ccgtgtacta ttgtcagcag agatctaatt ggccccctct gacctttggc 300

ggcggcacia aggtggagat caag 324

&lt;210&gt; 43

&lt;211&gt; 121

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

&lt;400&gt; 43

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser



50

55

60

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

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

Cys Ala Arg Asp Leu Asp Gly Ser Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

&lt;210&gt; 44

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

&lt;400&gt; 44

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 Pro

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

<210> 45  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <221> source  
 <223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 45  
 Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr  
 1 5 10

<210> 46  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <221> source  
 <223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 46  
 Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr  
 1 5

<210> 47  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列

<220>  
 <221> source  
 <223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 47  
 Cys Ala Arg Asp Leu Asp Gly Ser Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr Trp  
 1 5 10 15

<210> 48

<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人造序列

<220>  
<221> source  
<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 48  
Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
1 5

<210> 49  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人造序列

<220>  
<221> source  
<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 49  
Asp Ala Ser  
1

<210> 50  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人造序列

<220>  
<221> source  
<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 50  
Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Leu Thr Phe  
1 5 10

<210> 51  
<211> 381  
<212> DNA  
<213> 人造序列

<220>  
<221> source  
<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

<400> 51  
caagtgacc tgaaggagtc cggcccagtg ctggtgaagc ccaccgagac actgaccctg 60  
acatgcaccg tgtctggctt ctcctgatac aacgccagaa tgggagtgac atggatcagg 120  
cagccacctg gcaaggccct ggagtggctg gctcacatct ttagcaatga cgagaagtcc 180  
tacagcacct ctctgaagag caggctgaca atctctaagg atacctcaa gagccaggtg 240  
gtgctgacaa tgaccaacat ggacctgtg gatacagcca cctactattg tgctaggatc 300  
ccaggctatt ctcgggctg ggactactat tactatggca tggacgtgtg gggccagggc 360  
acaatggtga ccgtctcgag t 381

<210> 52  
<211> 321  
<212> DNA  
<213> 人造序列

<220>  
<221> source  
<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

<400> 52  
gacatccaga tgacacagtc cccttcagc ctgagcgctt ctgtgggcca cagggtgacc 60  
atcacatgcc gggcctccca gggcatcaga aacgatctgg gctggtacca gcagaagccc 120  
ggcaaggccc ctaagcgctt gatctatgct gcttccacc tgcagagcgg agtgccatct 180  
aggttctccg gcagcggctc tggcacagag ttaccctga caatctctt cctgcagcca 240  
gaggatttcg ctacctacta ttgtctgcag cacaattctt acccctggac ctttggccag 300  
ggcacaaaagg tggagatcaa g 321

<210> 53  
<211> 127  
<212> PRT  
<213> 人造序列

<220>  
<221> source  
<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

<400> 53  
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1                    5                    10                    15

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

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser  
           50                    55                    60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr  
                           85                    90                    95

Cys Ala Arg Ile Pro Gly Tyr Ser Arg Gly Trp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr  
                   100                    105                    110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
           115                    120                    125

<210> 54

<211> 107

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

<400> 54

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 Arg Asn Asp  
           20                    25                    30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg 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 Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp  
 85 90 95

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

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

&lt;400&gt; 55

Gly Phe Ser Leu Ile Asn Ala Arg Met Gly  
 1 5 10

&lt;210&gt; 56

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

&lt;400&gt; 56

Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys  
 1 5

&lt;210&gt; 57

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT



<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 60

Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp Thr Phe  
1 5 10

<210> 61

<211> 369

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

<400> 61

caagtgcagc tgcaggagtc tggaccagga ctggtgaagc catctggcac cctgtccctg 60  
acatgcgccg tgagcggagg atctatctcc agcaccaact ggtggtcctg ggtgagacag 120  
ccacctggca agggactgga gtggatcggc gagatcagcc acaggggctc taccaactac 180  
aatccttccc tgaagagccg ggtgacaatc tccgtggaca agagcaagaa tcagttctcc 240  
ctgaagctgt cttccgtgac cgccctgac acagccgtgt actattgtgc tcgcatcca 300  
gagatgacct tgtactatta ctatggcatg gacgtgtggg gccagggcac cacagtgaca 360  
gtctcgagt 369

<210> 62

<211> 321

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

<400> 62

gacatccaga tgaccagag cccttcagc ctgtccgcca gcgtgggcca cagagtgacc 60  
atcacatgca gggcttctcg gggcatcaga aacgatctgg gctggtacca gcagaagccc 120  
ggcaaggccc ctaagcgcct gatctatgcc gcttcttccc tgcaatctgg cgtgccatcc 180  
agattctctg gatccggaag cggaaccgag ttaccctga caatcagctc tctgcagcca 240



gaggatttcg ctacatacta ttgtctgcag cacaattect accccctgac ctttggcggc 300

ggcacaaaagg tggagatcaa g 321

<210> 63

<211> 123

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

<400> 63

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

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

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

Ile Gly Glu Ile Ser His Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu  
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Pro Glu Met Thr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
100 105 110

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

<210> 64

<211> 107

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

<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 Arg Ala Ser Arg Gly Ile Arg Asn Asp  
                  20                    25                    30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg 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 Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65                    70                    75                    80

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

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

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 65

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Thr Asn Trp  
1                    5

<210> 66

<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人造序列

<220>  
<221> source  
<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 66  
Ile Ser His Arg Gly Ser Thr  
1 5

<210> 67  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> 人造序列

<220>  
<221> source  
<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 67  
Cys Ala Arg Asp Pro Glu Met Thr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp  
1 5 10 15

Val Trp

<210> 68  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人造序列

<220>  
<221> source  
<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 68  
Arg Gly Ile Arg Asn Asp  
1 5

<210> 69  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

&lt;400&gt; 69

Ala Ala Ser

1

&lt;210&gt; 70

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

&lt;400&gt; 70

Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe

1

5

10

&lt;210&gt; 71

&lt;211&gt; 369

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

&lt;400&gt; 71

cagggtgcagc tacaggagtc tggtcctgtg ctggtgaaac ccacagagac cctcacgctg 60

acctgcaccg tctctgggtt ctcactcagc aatgctagaa tgggtgttag ctggatccgt 120

cagccccag ggaaggccct ggagtggctt gcacacattt tttcaaatga cgaaagatcc 180

tacagtccat ctctgaagag caggctcacc atctccaagg gcacctcaa aagccaggtg 240

gtccttacca tgaccaacat ggacctgtg gacacagcca catattactg tgcacggata 300

gtaggatatg ttgactgggtt attaccttt gactactggg gccagggaac cctggtcacg 360

gtctcgagt 369

&lt;210&gt; 72

&lt;211&gt; 324

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成多核苷酸」

&lt;400&gt; 72

gaaacgacac tcacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagcgttagc agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttactctca ccatcagcag cctgcagtct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggcccatgta cacttttggc 300

caggggacca agctggagat taag 324

&lt;210&gt; 73

&lt;211&gt; 123

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

&lt;400&gt; 73

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Arg Ser Tyr Ser Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Gly Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Val Asp Trp Leu Leu Pro Phe Asp Tyr  
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 74

<211> 108

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

<400> 74

Glu Thr Thr Leu 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 Met  
 85 90 95

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

&lt;210&gt; 75

&lt;211&gt; 330

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

&lt;400&gt; 75

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

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

Pro Ala Pro Glu Ala Ala 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> 76

<211> 107

<212> PRT

<213> 人造序列



&lt;220&gt;

&lt;221&gt; source

&lt;223&gt; /註釋=「人造序列之描述：合成多肽」

&lt;400&gt; 76

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

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

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

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

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

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

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

&lt;210&gt; 77

&lt;211&gt; 993

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 77

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

Phe Ser Ala Met Ile Phe Gly Thr Ile Thr Asn Gln Asp Leu Pro Val  
                   20                   25                   30

Ile Lys Cys Val Leu Ile Asn His Lys Asn Asn Asp Ser Ser Val Gly  
                   35                   40                   45

Lys Ser Ser Ser Tyr Pro Met Val Ser Glu Ser Pro Glu Asp Leu Gly  
50 55 60

Cys Ala Leu Arg Pro Gln Ser Ser Gly Thr Val Tyr Glu Ala Ala Ala  
65 70 75 80

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

Ala Pro Gly Asn Ile Ser Cys Leu Trp Val Phe Lys His Ser Ser Leu  
100 105 110

Asn Cys Gln Pro His Phe Asp Leu Gln Asn Arg Gly Val Val Ser Met  
115 120 125

Val Ile Leu Lys Met Thr Glu Thr Gln Ala Gly Glu Tyr Leu Leu Phe  
130 135 140

Ile Gln Ser Glu Ala Thr Asn Tyr Thr Ile Leu Phe Thr Val Ser Ile  
145 150 155 160

Arg Asn Thr Leu Leu Tyr Thr Leu Arg Arg Pro Tyr Phe Arg Lys Met  
165 170 175

Glu Asn Gln Asp Ala Leu Val Cys Ile Ser Glu Ser Val Pro Glu Pro  
180 185 190

Ile Val Glu Trp Val Leu Cys Asp Ser Gln Gly Glu Ser Cys Lys Glu  
195 200 205

Glu Ser Pro Ala Val Val Lys Lys Glu Glu Lys Val Leu His Glu Leu  
210 215 220

Phe Gly Thr Asp Ile Arg Cys Cys Ala Arg Asn Glu Leu Gly Arg Glu  
225 230 235 240

Cys Thr Arg Leu Phe Thr Ile Asp Leu Asn Gln Thr Pro Gln Thr Thr

245

250

255

Leu Pro Gln Leu Phe Leu Lys Val Gly Glu Pro Leu Trp Ile Arg Cys  
 260 265 270

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

Asn Lys Ala Leu Glu Glu Gly Asn Tyr Phe Glu Met Ser Thr Tyr Ser  
 290 295 300

Thr Asn Arg Thr Met Ile Arg Ile Leu Phe Ala Phe Val Ser Ser Val  
 305 310 315 320

Ala Arg Asn Asp Thr Gly Tyr Tyr Thr Cys Ser Ser Ser Lys His Pro  
 325 330 335

Ser Gln Ser Ala Leu Val Thr Ile Val Glu Lys Gly Phe Ile Asn Ala  
 340 345 350

Thr Asn Ser Ser Glu Asp Tyr Glu Ile Asp Gln Tyr Glu Glu Phe Cys  
 355 360 365

Phe Ser Val Arg Phe Lys Ala Tyr Pro Gln Ile Arg Cys Thr Trp Thr  
 370 375 380

Phe Ser Arg Lys Ser Phe Pro Cys Glu Gln Lys Gly Leu Asp Asn Gly  
 385 390 395 400

Tyr Ser Ile Ser Lys Phe Cys Asn His Lys His Gln Pro Gly Glu Tyr  
 405 410 415

Ile Phe His Ala Glu Asn Asp Asp Ala Gln Phe Thr Lys Met Phe Thr  
 420 425 430

Leu Asn Ile Arg Arg Lys Pro Gln Val Leu Ala Glu Ala Ser Ala Ser  
 435 440 445

Gln Ala Ser Cys Phe Ser Asp Gly Tyr Pro Leu Pro Ser Trp Thr Trp  
 450 455 460

Lys Lys Cys Ser Asp Lys Ser Pro Asn Cys Thr Glu Glu Ile Thr Glu  
 465 470 475 480

Gly Val Trp Asn Arg Lys Ala Asn Arg Lys Val Phe Gly Gln Trp Val  
 485 490 495

Ser Ser Ser Thr Leu Asn Met Ser Glu Ala Ile Lys Gly Phe Leu Val  
 500 505 510

Lys Cys Cys Ala Tyr Asn Ser Leu Gly Thr Ser Cys Glu Thr Ile Leu  
 515 520 525

Leu Asn Ser Pro Gly Pro Phe Pro Phe Ile Gln Asp Asn Ile Ser Phe  
 530 535 540

Tyr Ala Thr Ile Gly Val Cys Leu Leu Phe Ile Val Val Leu Thr Leu  
 545 550 555 560

Leu Ile Cys His Lys Tyr Lys Lys Gln Phe Arg Tyr Glu Ser Gln Leu  
 565 570 575

Gln Met Val Gln Val Thr Gly Ser Ser Asp Asn Glu Tyr Phe Tyr Val  
 580 585 590

Asp Phe Arg Glu Tyr Glu Tyr Asp Leu Lys Trp Glu Phe Pro Arg Glu  
 595 600 605

Asn Leu Glu Phe Gly Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Lys Val  
 610 615 620

Met Asn Ala Thr Ala Tyr Gly Ile Ser Lys Thr Gly Val Ser Ile Gln  
 625 630 635 640

Val Ala Val Lys Met Leu Lys Glu Lys Ala Asp Ser Ser Glu Arg Glu

645

650

655

Ala Leu Met Ser Glu Leu Lys Met Met Thr Gln Leu Gly Ser His Glu  
660 665 670

Asn Ile Val Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Leu Ser Gly Pro Ile Tyr  
675 680 685

Leu Ile Phe Glu Tyr Cys Cys Tyr Gly Asp Leu Leu Asn Tyr Leu Arg  
690 695 700

Ser Lys Arg Glu Lys Phe His Arg Thr Trp Thr Glu Ile Phe Lys Glu  
705 710 715 720

His Asn Phe Ser Phe Tyr Pro Thr Phe Gln Ser His Pro Asn Ser Ser  
725 730 735

Met Pro Gly Ser Arg Glu Val Gln Ile His Pro Asp Ser Asp Gln Ile  
740 745 750

Ser Gly Leu His Gly Asn Ser Phe His Ser Glu Asp Glu Ile Glu Tyr  
755 760 765

Glu Asn Gln Lys Arg Leu Glu Glu Glu Glu Asp Leu Asn Val Leu Thr  
770 775 780

Phe Glu Asp Leu Leu Cys Phe Ala Tyr Gln Val Ala Lys Gly Met Glu  
785 790 795 800

Phe Leu Glu Phe Lys Ser Cys Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn  
805 810 815

Val Leu Val Thr His Gly Lys Val Val Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu  
820 825 830

Ala Arg Asp Ile Met Ser Asp Ser Asn Tyr Val Val Arg Gly Asn Ala  
835 840 845

Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ser Leu Phe Glu Gly Ile  
 850 855 860

Tyr Thr Ile Lys Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Ile Leu Leu Trp Glu  
 865 870 875 880

Ile Phe Ser Leu Gly Val Asn Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Asp Ala  
 885 890 895

Asn Phe Tyr Lys Leu Ile Gln Asn Gly Phe Lys Met Asp Gln Pro Phe  
 900 905 910

Tyr Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Ile Ile Met Gln Ser Cys Trp Ala Phe  
 915 920 925

Asp Ser Arg Lys Arg Pro Ser Phe Pro Asn Leu Thr Ser Phe Leu Gly  
 930 935 940

Cys Gln Leu Ala Asp Ala Glu Glu Ala Met Tyr Gln Asn Val Asp Gly  
 945 950 955 960

Arg Val Ser Glu Cys Pro His Thr Tyr Gln Asn Arg Arg Pro Phe Ser  
 965 970 975

Arg Glu Met Asp Leu Gly Leu Leu Ser Pro Gln Ala Gln Val Glu Asp  
 980 985 990

Ser

<210> 78

<211> 15

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成肽」

<400> 78

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

<210> 79

<211> 5

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<221> source

<223> /註釋=「人造序列之描述：合成5xHis標記」

<400> 79

His His His His His  
1                    5

## 【發明申請專利範圍】

### 【請求項1】

一種抗FLT3抗體或其抗原結合部分，其中該抗體結合至人類FLT3之與包含以下之抗體相同之抗原決定基：

a)包含SEQ ID NO: 3及75之胺基酸序列之重鏈(HC)及包含SEQ ID NO: 4及76之胺基酸序列之輕鏈(LC)；

b)包含SEQ ID NO: 13及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 14及76之胺基酸序列之LC；

c)包含SEQ ID NO: 23及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 24及76之胺基酸序列之LC；

d)包含SEQ ID NO: 33及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 34及76之胺基酸序列之LC；

e)包含SEQ ID NO: 43及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 44及76之胺基酸序列之LC；

f)包含SEQ ID NO: 53及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 54及76之胺基酸序列之LC；

g)包含SEQ ID NO: 63及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 64及76之胺基酸序列之LC；或

h)包含SEQ ID NO: 73及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 74及76之胺基酸序列之LC。

### 【請求項2】

如請求項1之抗FLT3抗體或抗原結合部分，其中

a)該抗FLT3抗體之該重鏈包含：



i)各自包含SEQ ID NO: 5至7之胺基酸序列之重鏈互補決定區(H-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 3之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之重鏈可變域(VH)；

iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 3及75之胺基酸序列之重鏈(HC)；及

b)該抗FLT3抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 8至10之胺基酸序列之輕鏈互補決定區(L-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 4之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之輕鏈可變域(VL)；

iii)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 4及76之胺基酸序列之輕鏈(LC)。

### 【請求項3】

如請求項1之抗FLT3抗體或抗原結合部分，其中

a)該抗FLT3抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 15至17之胺基酸序列之重鏈互補決定區(H-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 13之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之重鏈可變域(VH)；

iii)包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 13及75之胺基酸序列之重鏈(HC)；及

b)該抗FLT3抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 18至20之胺基酸序列之輕鏈互補決定區(L-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 14之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之輕鏈可變域(VL)；

iii)包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 14及76之胺基酸序列之輕鏈(LC)。

#### 【請求項4】

如請求項1之抗FLT3抗體或抗原結合部分，其中

a)該抗FLT3抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 25至27之胺基酸序列之重鏈互補決定區(H-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 23之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之重鏈可變域(VH)；

iii)包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 23及75之胺基酸序列之重鏈(HC)；及

b)該抗FLT3抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 28至30之胺基酸序列之輕鏈互補決定區(L-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 24之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之輕鏈可變域(VL)；

iii)包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 24及76之胺基酸序列之輕鏈(LC)。

#### 【請求項5】

如請求項1之抗FLT3抗體或抗原結合部分，其中

a)該抗FLT3抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 35至37之胺基酸序列之重鏈互補決定區(H-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 33之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之重鏈可變域(VH)；

iii)包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 33及75之胺基酸序列之重鏈(HC)；及

b)該抗FLT3抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 38至40之胺基酸序列之輕鏈互補決定區(L-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 34之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之輕鏈可變域(VL)；

iii)包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 34及76之胺基酸序列之輕鏈(LC)。

#### 【請求項6】

如請求項1之抗FLT3抗體或抗原結合部分，其中

a)該抗FLT3抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 45至47之胺基酸序列之重鏈互補決定區(H-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 43之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之重鏈可變域(VH)；

iii)包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 43及75之胺基酸序列之重鏈(HC)；及

b)該抗FLT3抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 48至50之胺基酸序列之輕鏈互補決定區(L-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 44之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之輕鏈可變域(VL)；

iii)包含SEQ ID NO: 44之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 44及76之胺基酸序列之輕鏈(LC)。

#### 【請求項7】

如請求項1之抗FLT3抗體或抗原結合部分，其中

a)該抗FLT3抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 55至57之胺基酸序列之重鏈互補決定區(H-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 53之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之重鏈可變域(VH)；

iii)包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 53及75之胺基酸序列之重鏈(HC)；及

b)該抗FLT3抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 58至60之胺基酸序列之輕鏈互補決定區(L-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 54之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之輕鏈可變域(VL)；

iii)包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 54及76之胺基酸序列之輕鏈(LC)。

**【請求項8】**

如請求項1之抗FLT3抗體或抗原結合部分，其中

a)該抗FLT3抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 65至67之胺基酸序列之重鏈互補決定區(H-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 63之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之重鏈可變域(VH)；

iii)包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 63及75之胺基酸序列之重鏈(HC)；及

b)該抗FLT3抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 68至70之胺基酸序列之輕鏈互補決定區(L-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 64之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之輕鏈可變域(VL)；

iii)包含SEQ ID NO: 64之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 64及76之胺基酸序列之輕鏈(LC)。

**【請求項9】**

如請求項1之抗FLT3抗體或抗原結合部分，其中

a)該抗FLT3抗體之該重鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 25至27之胺基酸序列之重鏈互補決定區(H-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 73之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列

之重鏈可變域(VH)；

iii)包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列之VH；或

iv)包含SEQ ID NO: 73及75之胺基酸序列之重鏈(HC)；及

b)該抗FLT3抗體之該輕鏈包含：

i)各自包含SEQ ID NO: 28至30之胺基酸序列之輕鏈互補決定區(L-CDR)-1至3；

ii)包含與SEQ ID NO: 74之胺基酸序列至少90%相同之胺基酸序列之輕鏈可變域(VL)；

iii)包含SEQ ID NO: 74之胺基酸序列之VL；或

iv)包含SEQ ID NO: 74及76之胺基酸序列之輕鏈(LC)。

#### 【請求項10】

一種抗FLT3抗體或其抗原結合部分，其中該抗體包含以下之H-CDR1至3及L-CDR1至3胺基酸序列：

a)各自為SEQ ID NO: 5至10；

b)各自為SEQ ID NO: 15至20；

c)各自為SEQ ID NO: 25至30；

d)各自為SEQ ID NO: 35至40；

e)各自為SEQ ID NO: 45至50；

f)各自為SEQ ID NO: 55至60；或

g)各自為SEQ ID NO: 65至70。

#### 【請求項11】

如請求項10之抗FLT3抗體或抗原結合部分，其中該抗體包含與以下之胺基酸序列至少90%相同之重鏈可變域胺基酸序列及輕鏈可變域胺基酸

序列：

- a)各自為SEQ ID NO: 3及4；
- b)各自為 SEQ ID NO: 13及14；
- c)各自為SEQ ID NO: 23及24；
- d)各自為SEQ ID NO: 33及34；
- e)各自為SEQ ID NO: 43及44；
- f)各自為SEQ ID NO: 53及54；
- g)各自為SEQ ID NO: 63及64；或
- h)各自為SEQ ID NO: 73及74。

**【請求項12】**

如請求項10之抗FLT3抗體或抗原結合部分，其中該抗體包含含有以下胺基酸序列之重鏈可變域及輕鏈可變域：

- a)各自為SEQ ID NO: 3及4；
- b)各自為 SEQ ID NO: 13及14；
- c)各自為SEQ ID NO: 23及24；
- d)各自為SEQ ID NO: 33及34；
- e)各自為SEQ ID NO: 43及44；
- f)各自為SEQ ID NO: 53及54；
- g)各自為SEQ ID NO: 63及64；或
- h)各自為SEQ ID NO: 73及74。

**【請求項13】**

如請求項1至12中任一項之抗FLT3抗體，其中該抗體為IgG。

**【請求項14】**

如請求項13之抗FLT3抗體，其中該抗體為IgG<sub>1</sub>。

**【請求項15】**

如請求項1至14中任一項之抗FLT3抗體，其中該抗體包含Fc區中之至少一個突變。

**【請求項16】**

如請求項1至12中任一項之抗FLT3抗體，其中該抗體為IgG<sub>1</sub>且包含重鏈胺基酸位置234及235中之一或多者之突變，該等位置係根據IMGT<sup>®</sup>編號方案編號。

**【請求項17】**

如請求項16之抗FLT3抗體，其中位置234及235處之胺基酸殘基中之一者或二者自Leu突變為Ala。

**【請求項18】**

一種抗FLT3抗體，其包含：

a)包含SEQ ID NO: 3及75之胺基酸序列之重鏈(HC)及包含SEQ ID NO: 4及76之胺基酸序列之輕鏈(LC)；

b)包含SEQ ID NO: 13及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 14及76之胺基酸序列之LC；

c)包含SEQ ID NO: 23及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 24及76之胺基酸序列之LC；

d)包含SEQ ID NO: 33及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 34及76之胺基酸序列之LC；

e)包含SEQ ID NO: 43及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 44及76之胺基酸序列之LC；



f)包含SEQ ID NO: 53及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 54及76之胺基酸序列之LC；

g)包含SEQ ID NO: 63及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 64及76之胺基酸序列之LC；或

h)包含SEQ ID NO: 73及75之胺基酸序列之HC及包含SEQ ID NO: 74及76之胺基酸序列之LC。

**【請求項19】**

如請求項1至18中任一項之抗FLT3抗體或抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分具有選自以下之至少一種性質：

a)刺激EOL-1細胞活體外增殖；

b)刺激OCI-AML5細胞活體外增殖；

c)以20 nM或更少之 $K_D$ 結合至人類FLT3；

d)特異性結合至食蟹猴FLT3；

e)特異性結合至小鼠FLT3；

f)不阻斷FLT3配位體活體外結合至人類FLT3；

g)不阻斷FLT3L-Fc活體外結合至細胞顯示之人類、食蟹猴或小鼠FLT3蛋白；

h)刺激初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之增殖；

i)刺激初代人類CD34<sup>+</sup>幹細胞之分化；

j)誘導Balb/c小鼠中之樹突狀細胞活體內動員；及

k)誘導經人類CD34<sup>+</sup>幹細胞重新構成之免疫功能不全小鼠中之樹突狀細胞活體內動員。

**【請求項20】**

如請求項19之抗FLT3抗體或抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分具有該等性質中之至少兩者、三者、四者、五者、六者、七者、八者、九者、十者或所有。

**【請求項21】**

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至20中任一項之抗FLT3抗體或抗原結合部分及醫藥上可接受之賦形劑。

**【請求項22】**

如請求項21之醫藥組合物，其進一步包含免疫刺激劑、疫苗、化療劑、抗贅生劑、抗血管生成劑或酪胺酸激酶抑制劑。

**【請求項23】**

一種經分離核酸分子，其包含編碼如請求項1至20中任一項之抗FLT3抗體之該重鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列，或編碼如請求項1至20中任一項之抗FLT3抗體之該輕鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列，或二者。

**【請求項24】**

如請求項23之經分離核酸分子，其中該核酸分子包含SEQ ID NO: 1、2、11、12、21、22、31、32、41、42、51、52、61、62、71及72中任一者之核苷酸序列。

**【請求項25】**

一種載體，其包含如請求項23或24之經分離核酸分子，其中該載體進一步包含表現控制序列。

**【請求項26】**

一種宿主細胞，其包含編碼如請求項1至20中任一項之抗FLT3抗體

之該重鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列，及編碼如請求項1至20中任一項之抗FLT3抗體之該輕鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列。

**【請求項27】**

一種製備抗FLT3抗體或其抗原結合部分之方法，其包括提供如請求項26之宿主細胞，在適用於表現該抗體或部分之條件下培養該宿主細胞，及分離所得之抗體或部分。

**【請求項28】**

一種雙特異性結合分子，其包含如請求項1至20中任一項之一種或兩種不同抗FLT3抗體之該抗原結合域。

**【請求項29】**

一種於診斷過程中使用如請求項1至20中任一項之抗FLT3抗體或抗原結合部分、如請求項21或22之醫藥組合物或如請求項28之雙特異性結合分子之方法。

**【請求項30】**

一種增強有需要患者之免疫活性之方法，其包括向該患者投與治療上有效量之如請求項1至20中任一項之抗FLT3抗體或抗原結合部分、如請求項21或22之醫藥組合物或如請求項28之雙特異性結合分子。

**【請求項31】**

一種治療患者之癌症之方法，其包括向該患者投與治療上有效量之如請求項1至20中任一項之抗FLT3抗體或抗原結合部分、如請求項21或22之醫藥組合物或如請求項28之雙特異性結合分子。

**【請求項32】**

如請求項31之方法，其中該癌症係於選自由以下組成之群之組織

中：皮膚、肺、腸、結腸、卵巢、腦、前列腺、腎、軟組織、造血系統、頭頸、肝、骨、膀胱、乳房、胃、子宮、子宮頸及胰臟。

**【請求項33】**

如請求項30至32中任一項之方法，其中該患者患有黑色素瘤、膠質瘤、多形性膠質母細胞瘤、頭頸鱗狀細胞癌、乳癌、非小細胞肺癌、結腸直腸癌、腎細胞癌、腎癌、淋巴瘤、白血病、多發性骨髓瘤、血漿細胞贅生物、骨髓發育不良疾病或骨髓增生性疾病。

**【請求項34】**

如請求項30至33中任一項之方法，其進一步包括向該患者投與免疫刺激劑、疫苗、化療劑、抗贅生劑、抗血管生成劑、酪胺酸激酶抑制劑或放射療法。

**【請求項35】**

一種治療有需要患者之免疫病症之方法，其包括向該患者投與治療上有效量之如請求項1至20中任一項之抗FLT3抗體或抗原結合部分、如請求項21或22之醫藥組合物或如請求項28之雙特異性結合分子。

**【請求項36】**

一種如請求項1至20中任一項之抗FLT3抗體或抗原結合部分、如請求項21或22之醫藥組合物或如請求項28之雙特異性結合分子之用途，其用於製造根據如請求項30至35中任一項之方法用於以下之藥劑中：

- a) 增強患者之免疫活性；
- b) 治療患者之癌症；或
- c) 治療患者之免疫病症。

**【請求項37】**

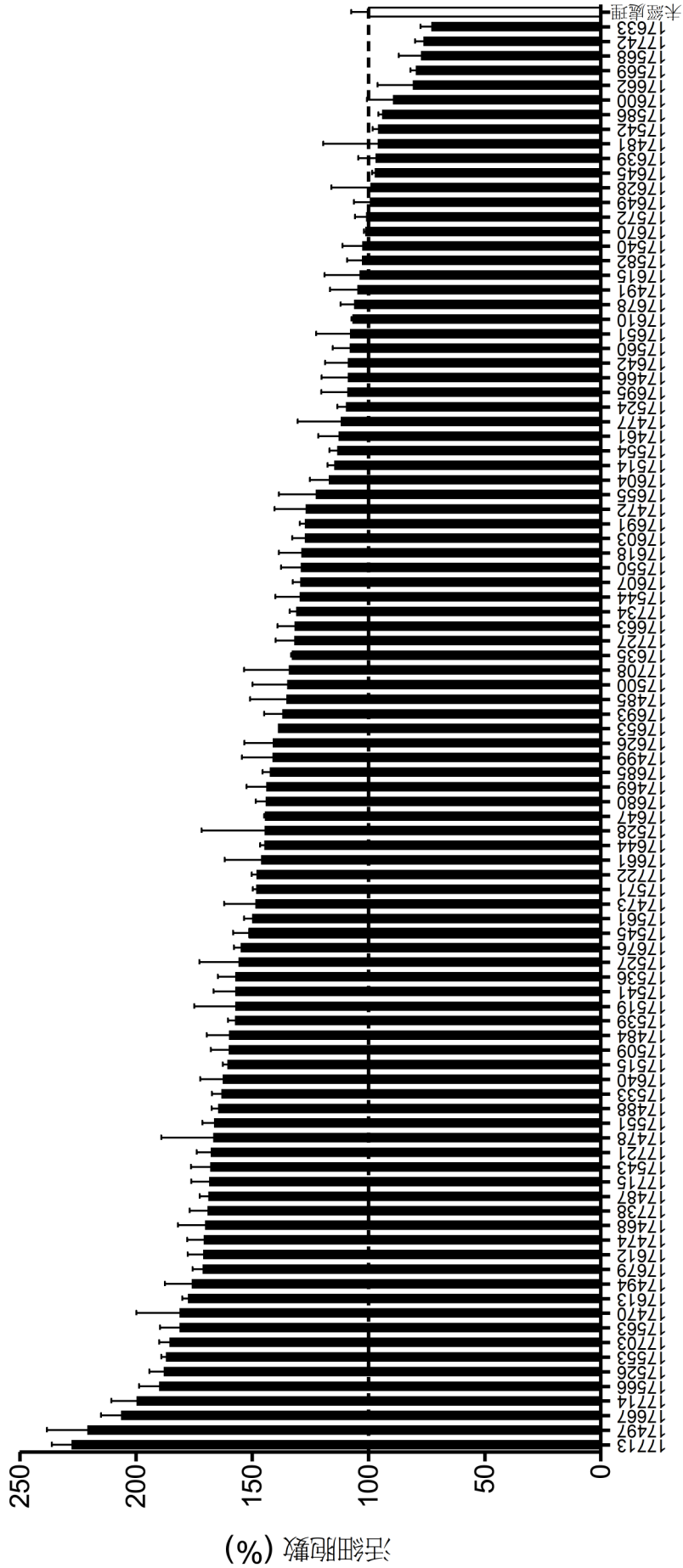
如請求項1至20中任一項之抗體或抗原結合部分、如請求項21或22之醫藥組合物或如請求項28之雙特異性結合分子，其根據如請求項30至35中任一項之方法用於：

- a) 增強患者之免疫活性；
- b) 治療患者之癌症；或
- c) 治療患者之免疫病症。

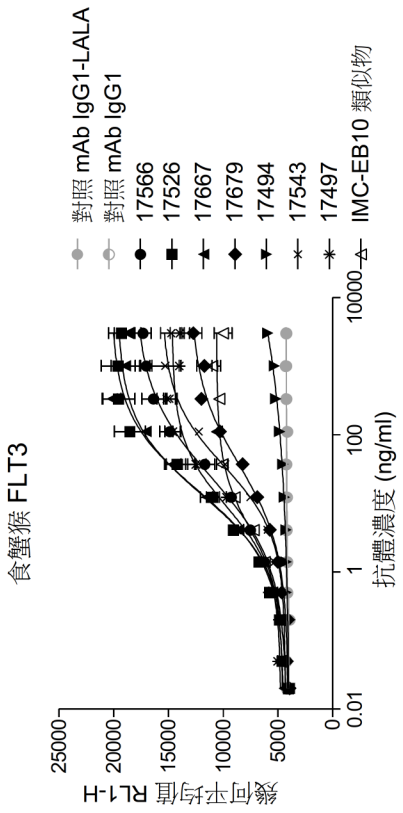
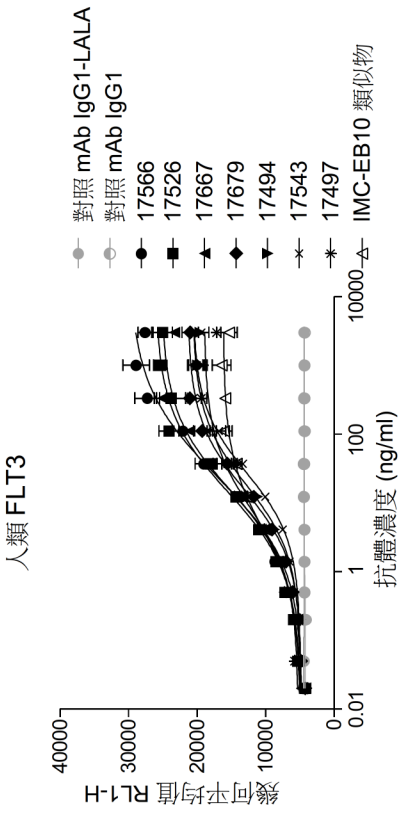
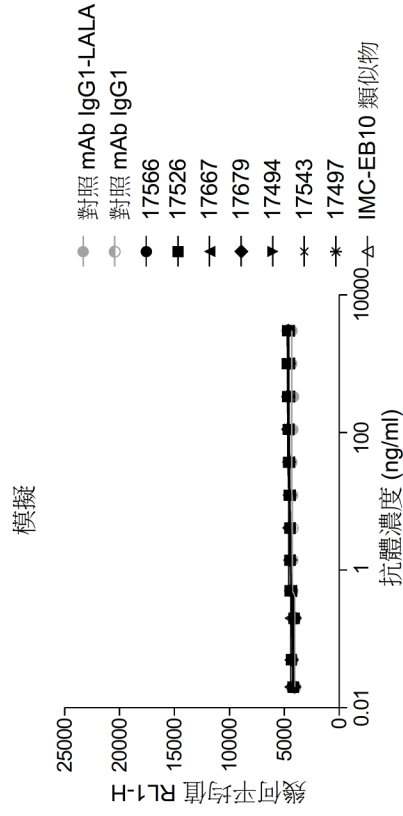
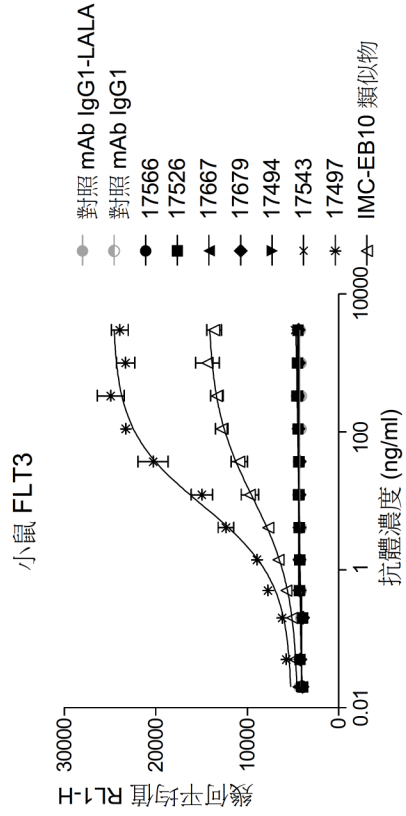
**【請求項38】**

如請求項30至35中任一項之方法，如請求項36之用途，或如請求項37使用之抗體或抗原結合部分、醫藥組合物或雙特異性結合分子，其中該患者為人類。

【發明圖式】

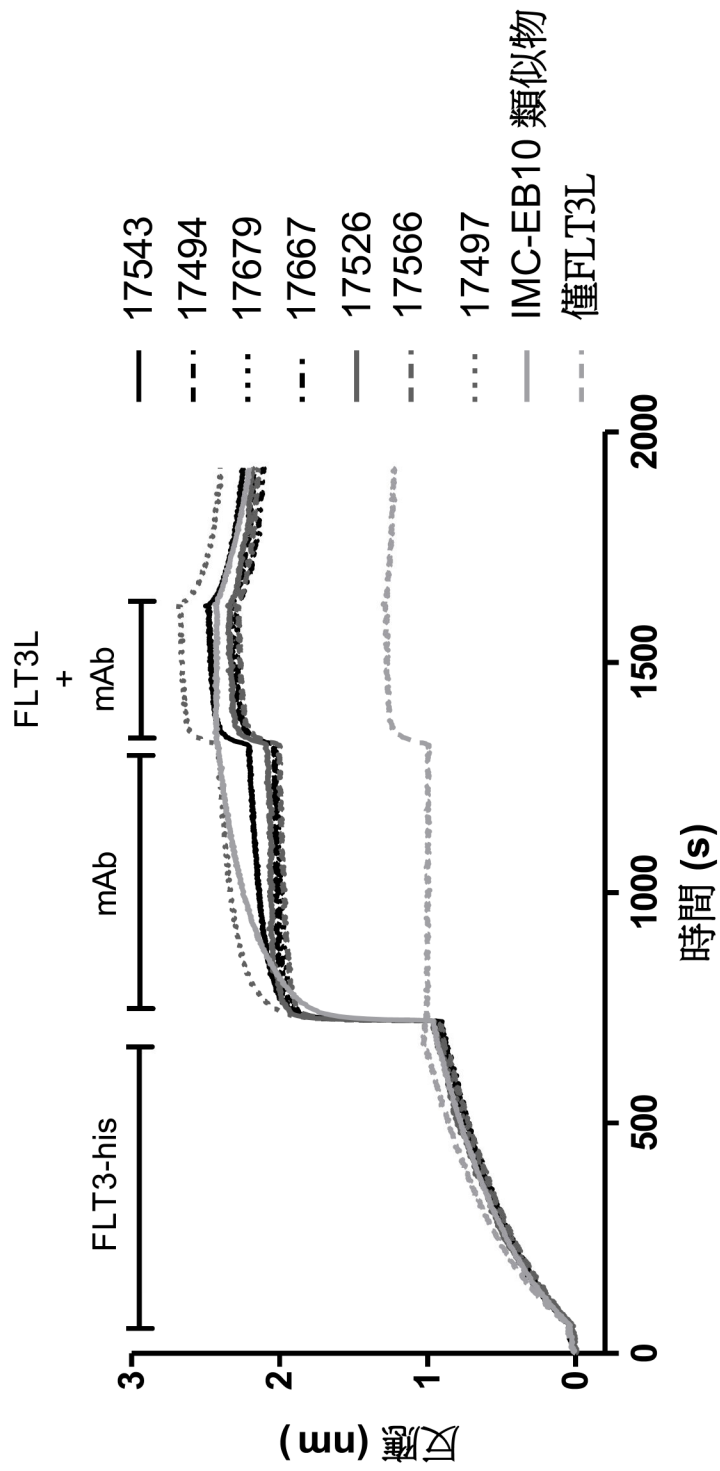


【圖1】



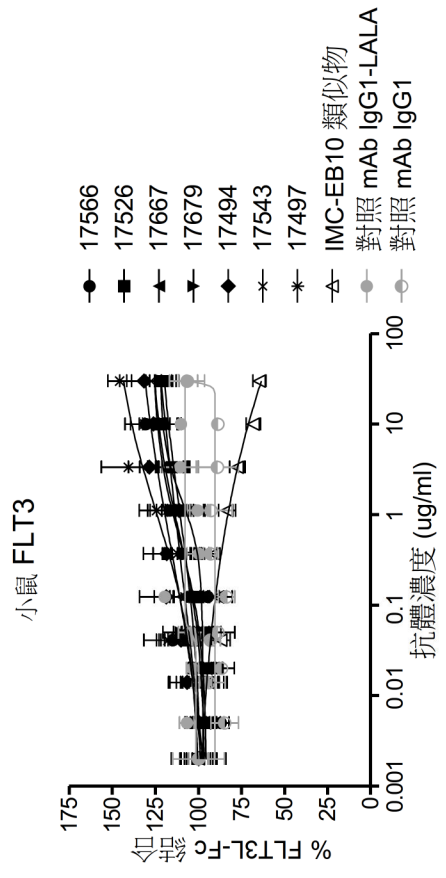
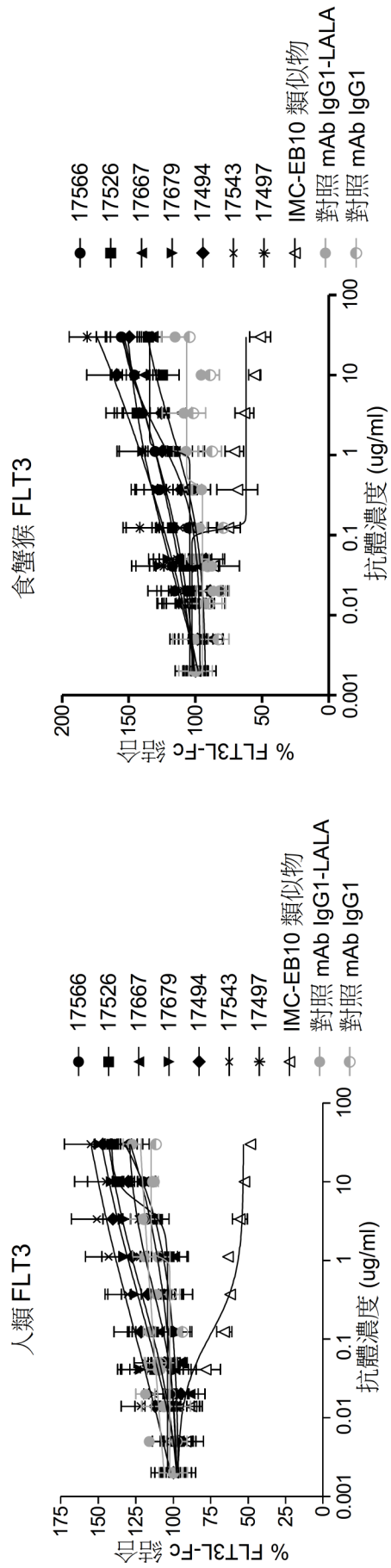
模擬

【圖2】

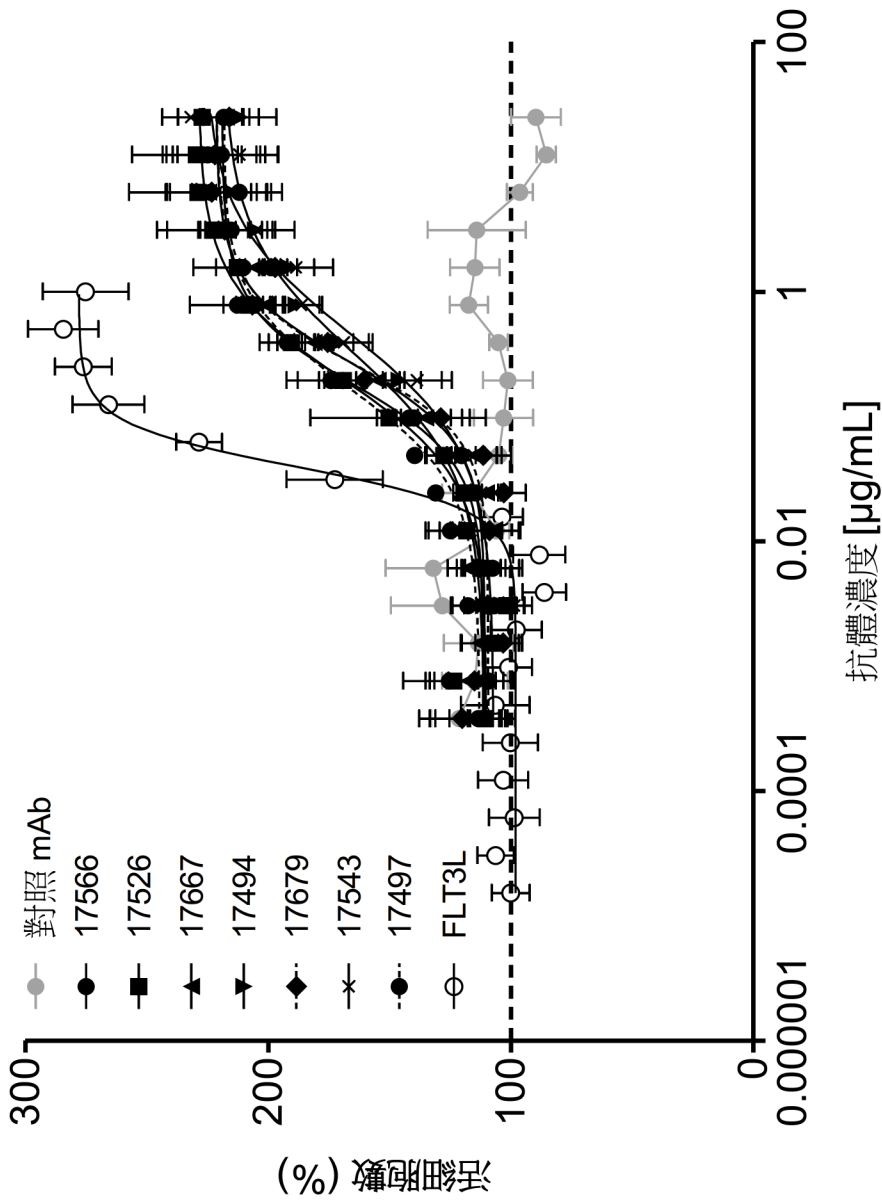


【圖3】



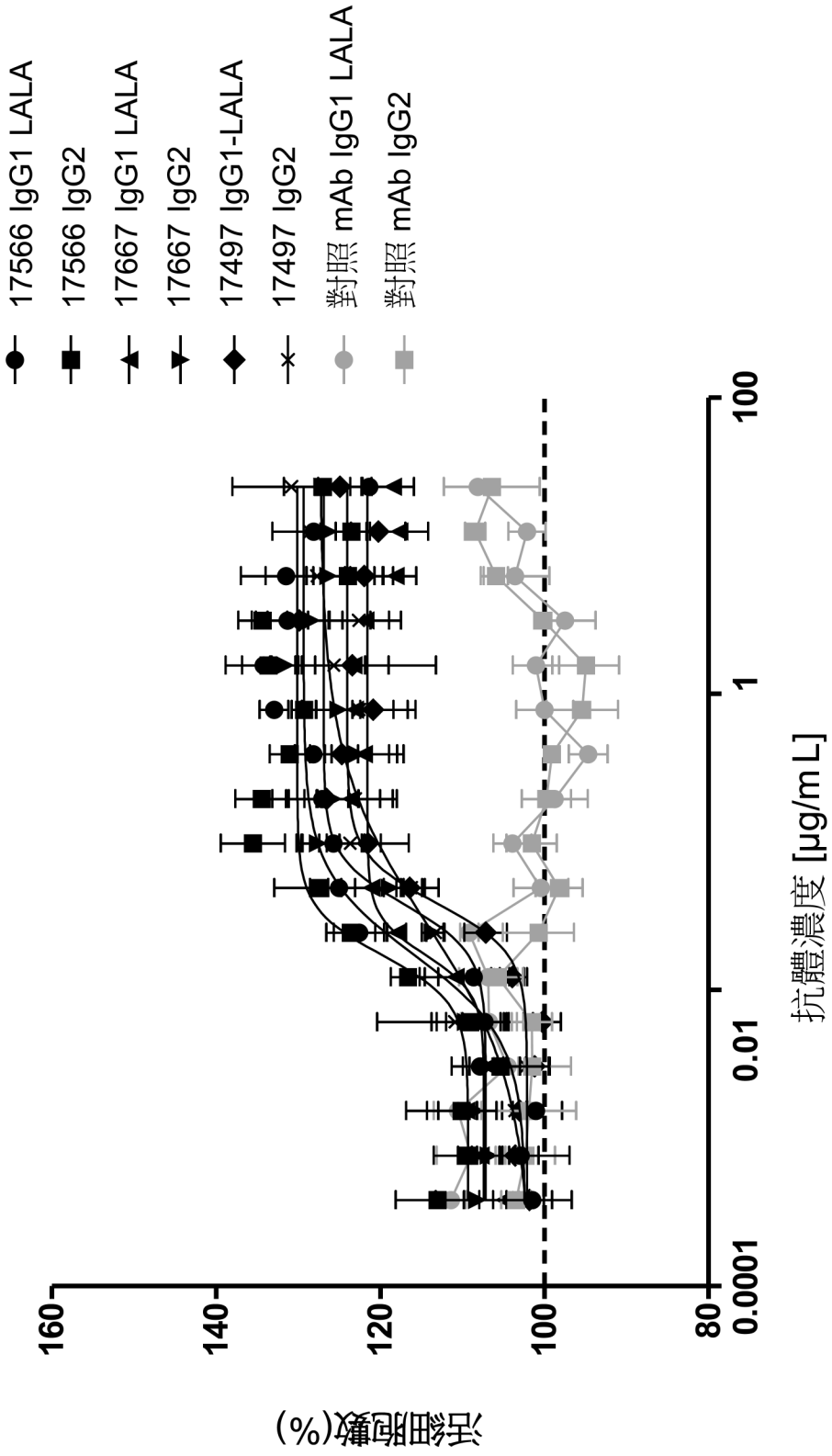


【圖4】

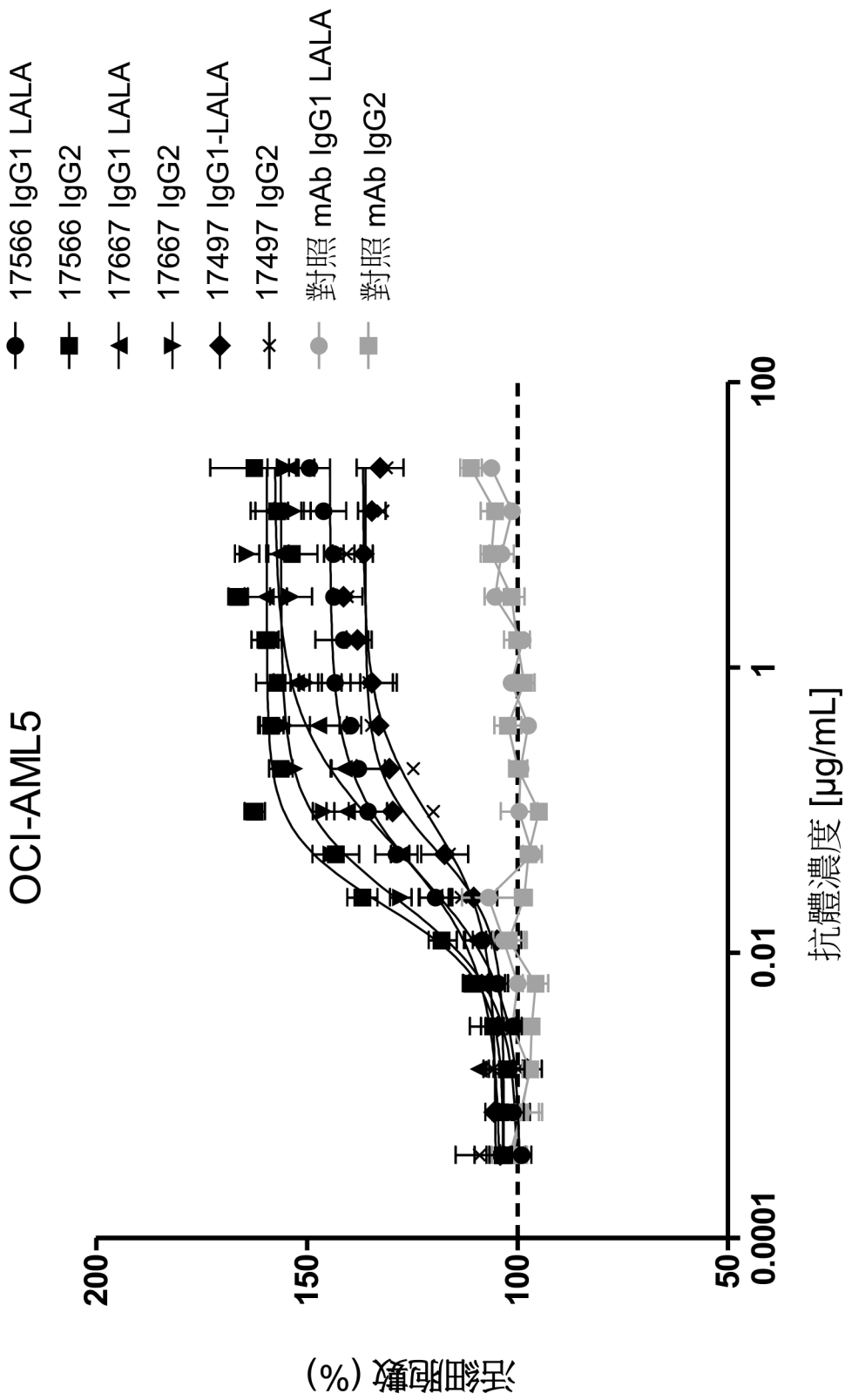


【圖5】

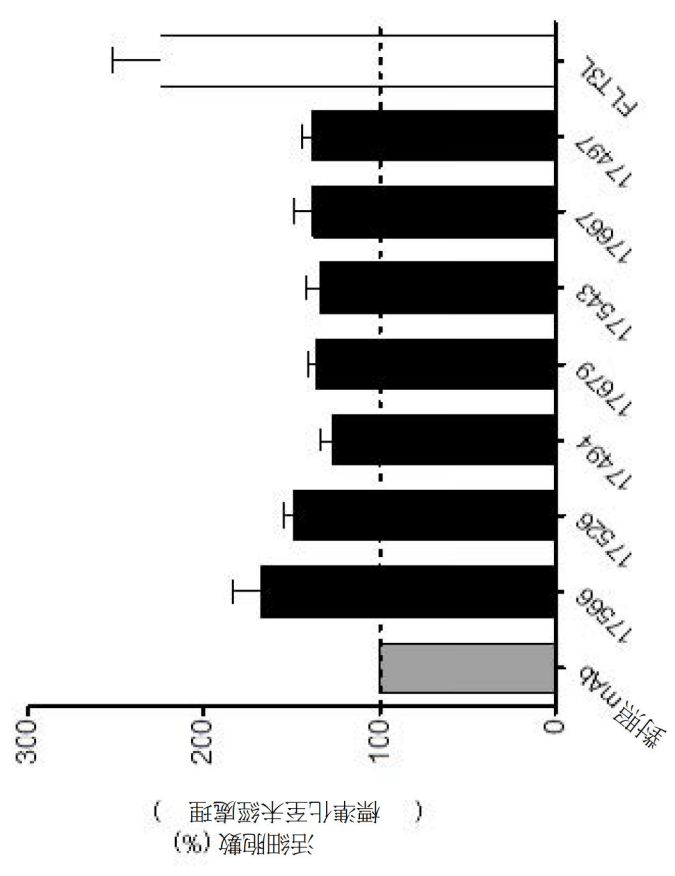
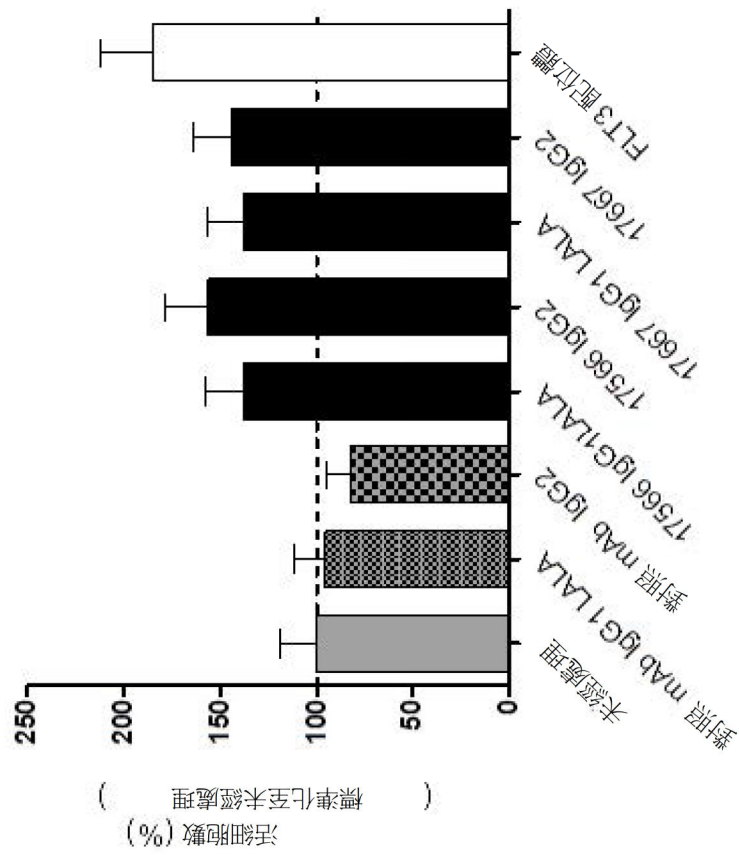
EOL-1



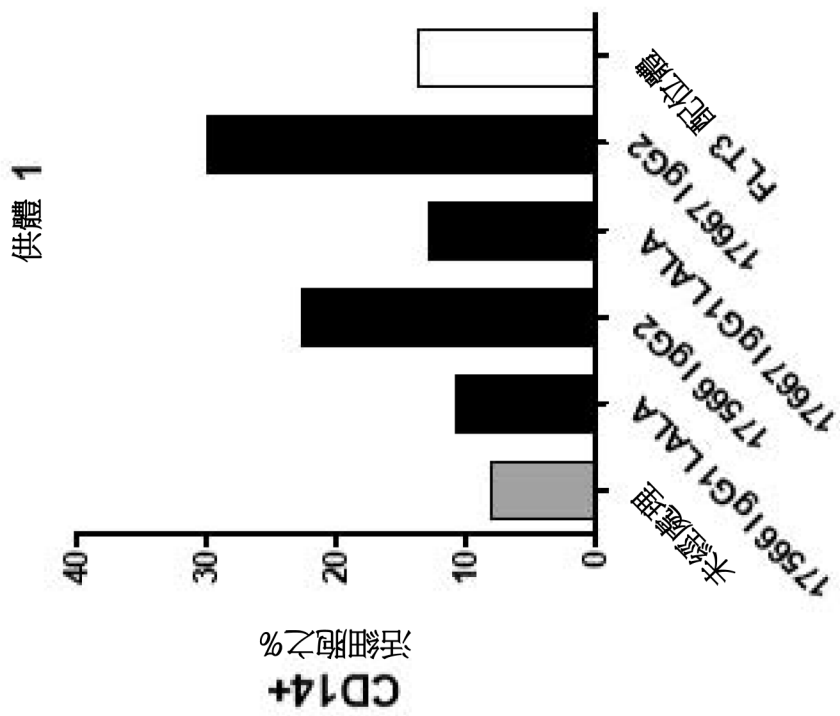
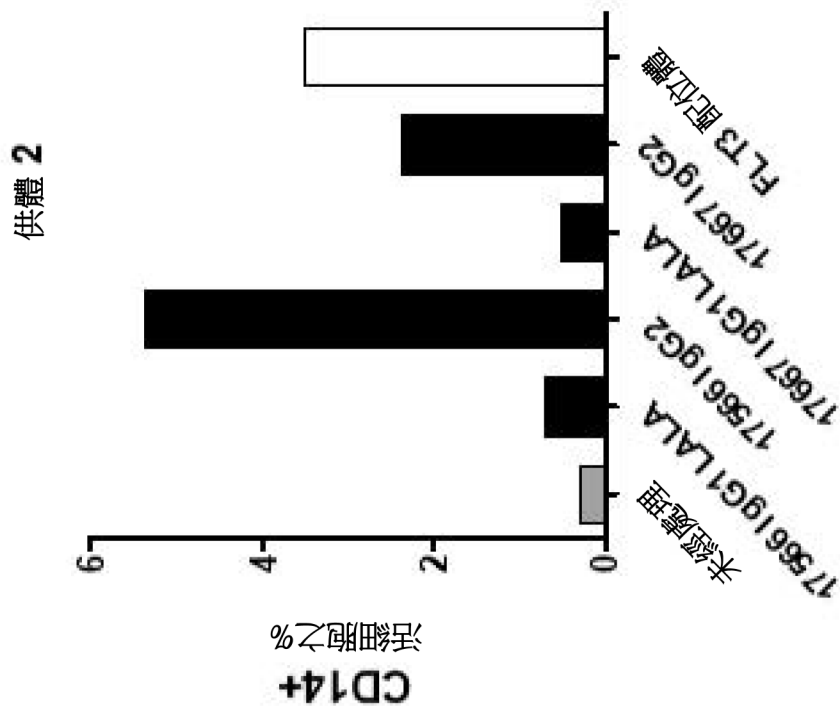
【圖6A】



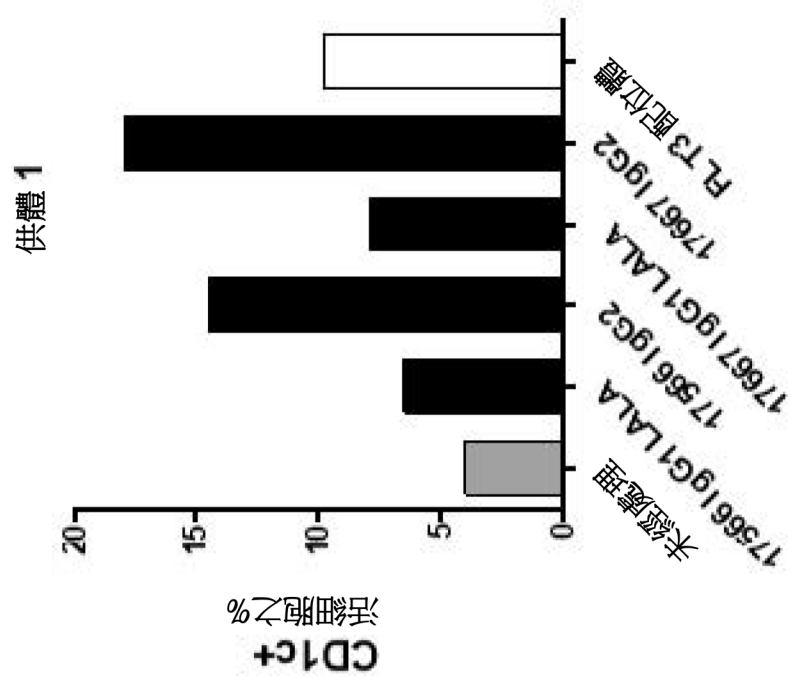
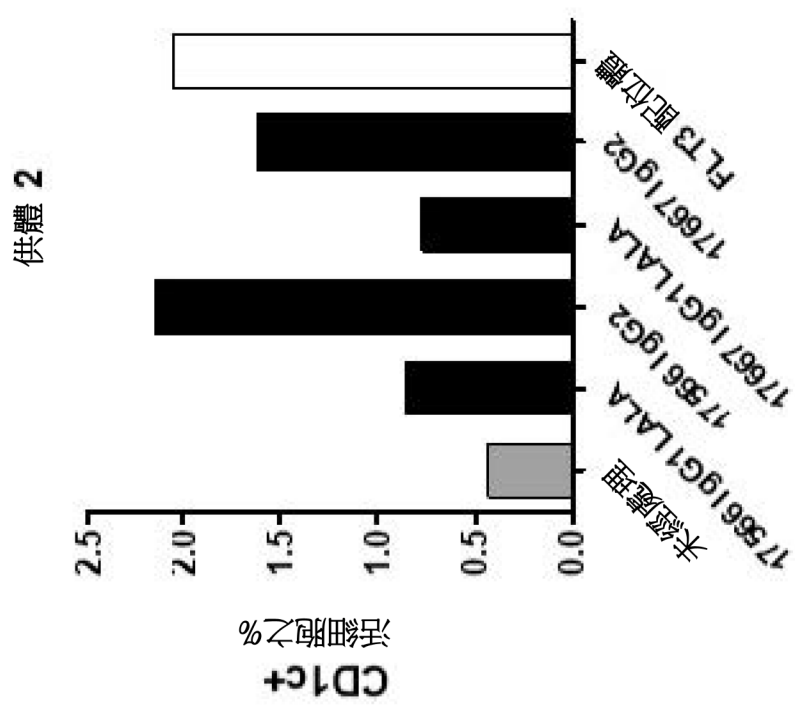
【圖6B】



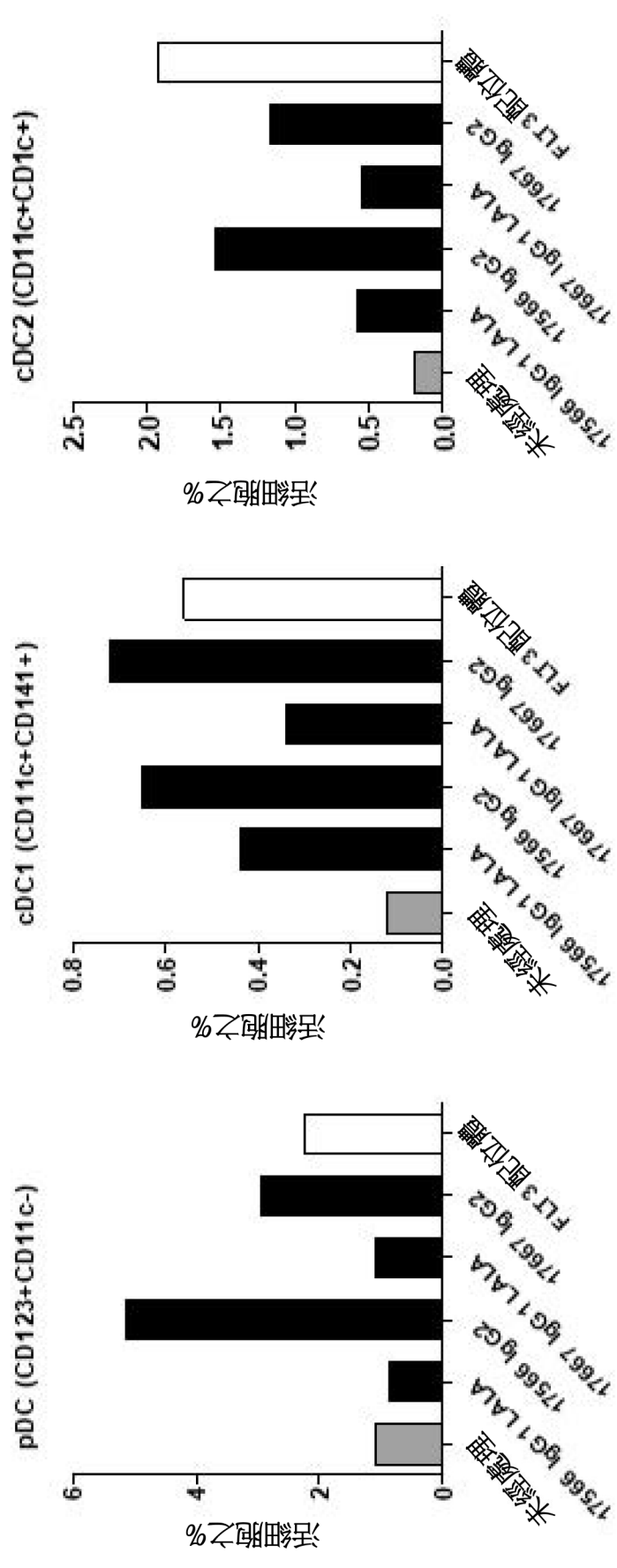
【圖7】



【圖8A】

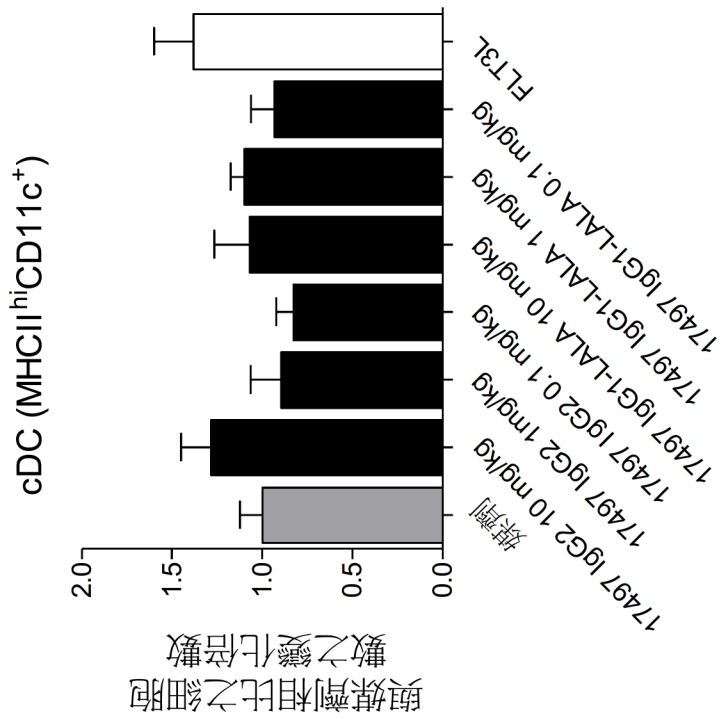
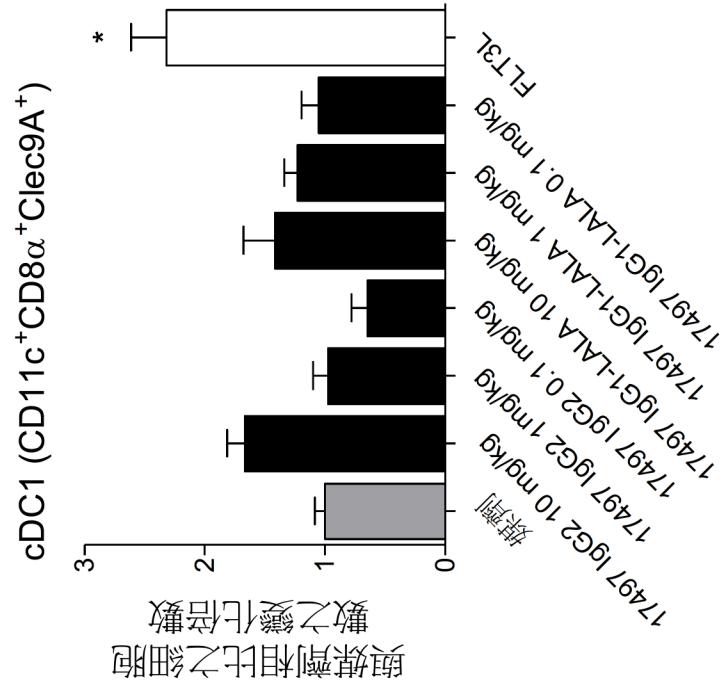


【圖 8B】

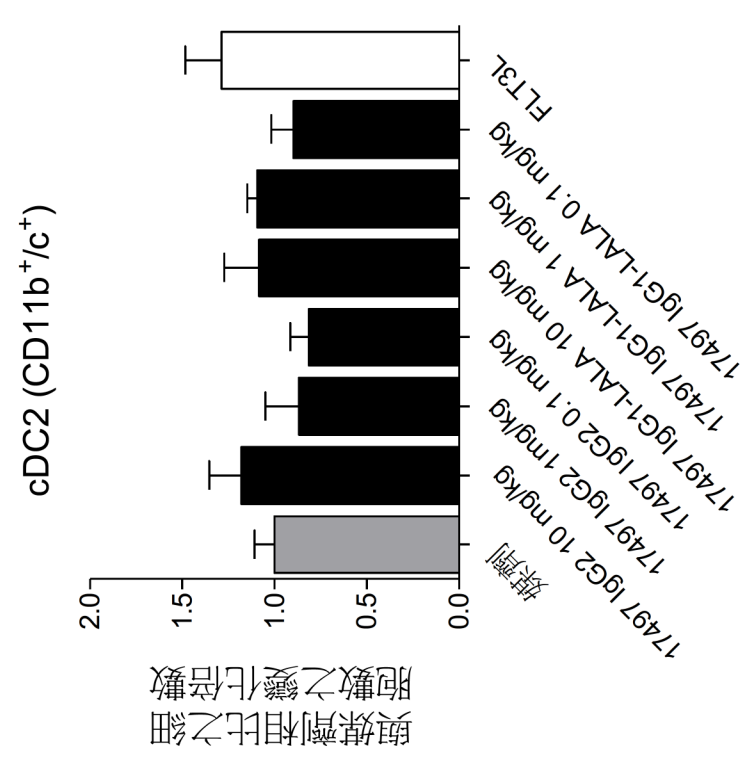
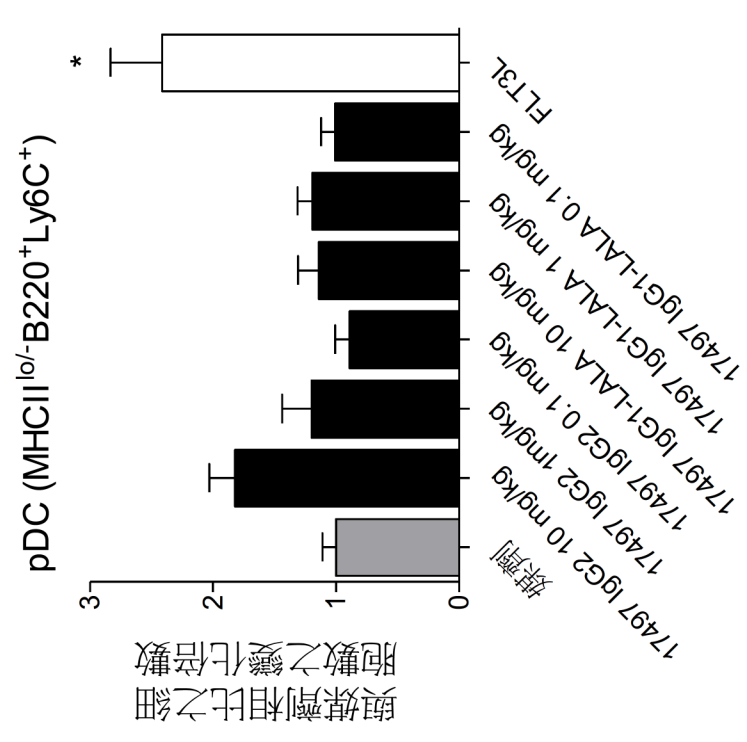


【圖8C】

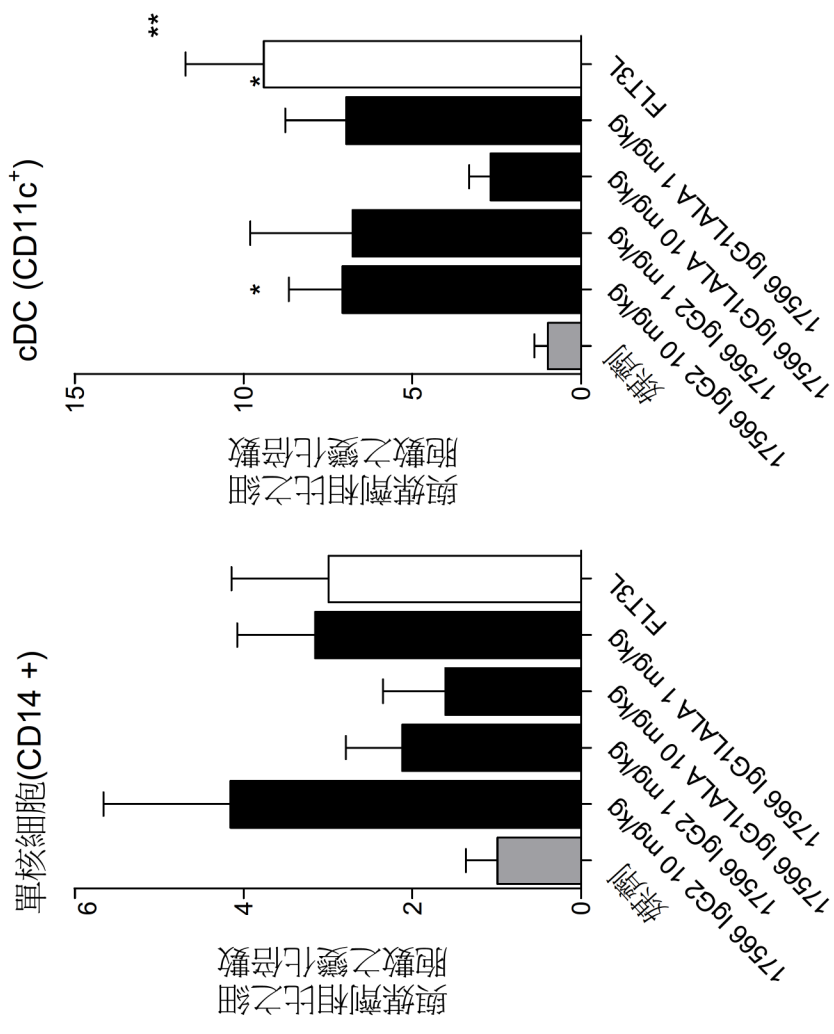




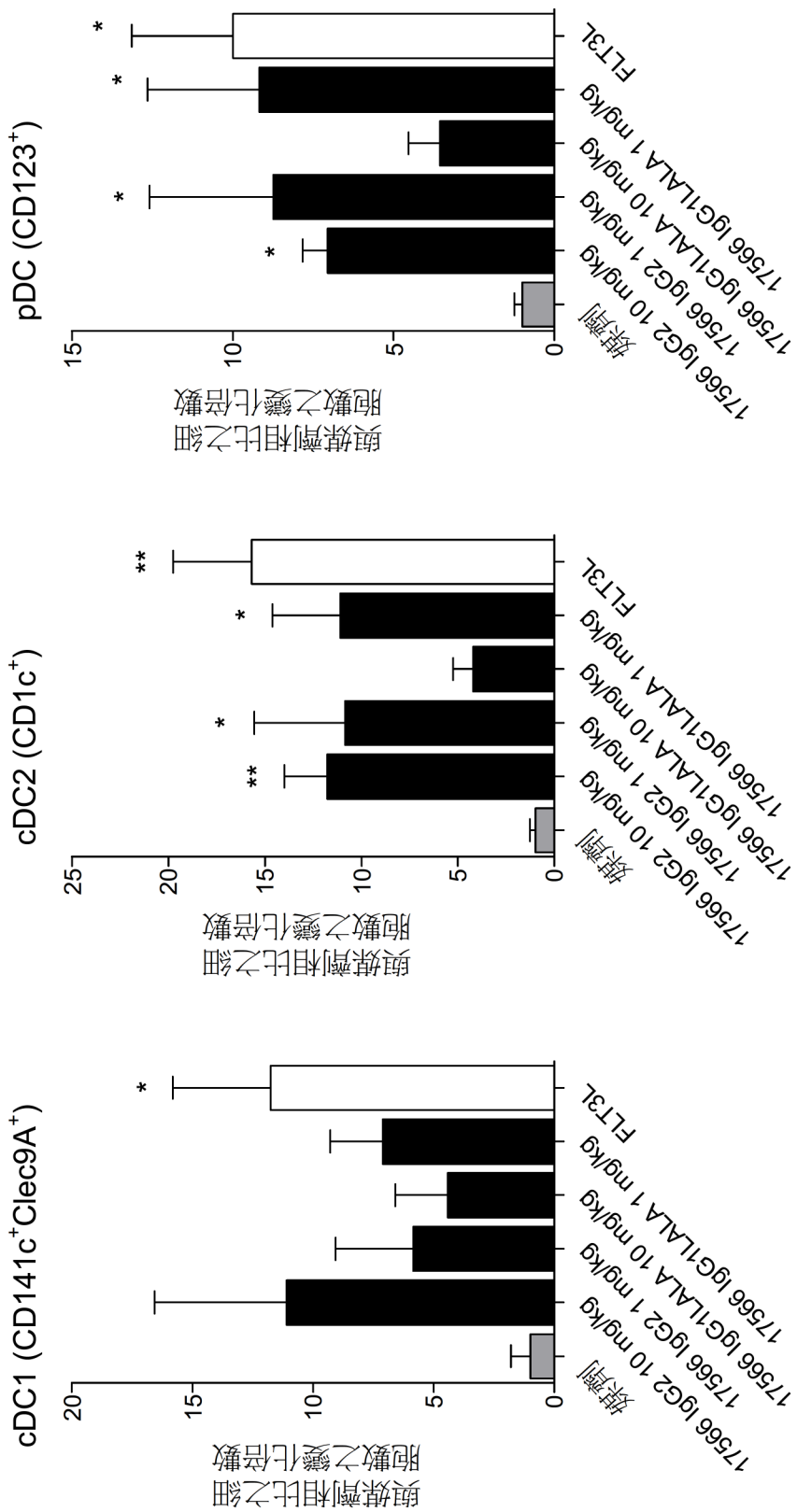
【圖9A】



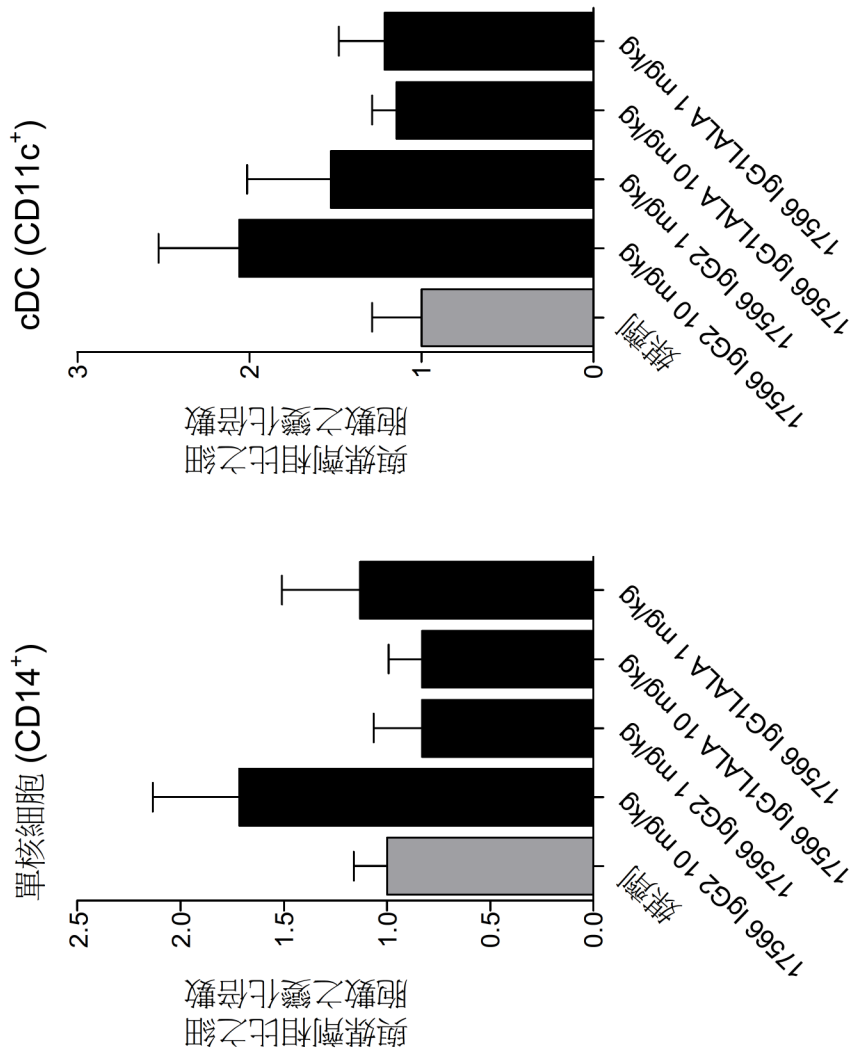
【圖9B】



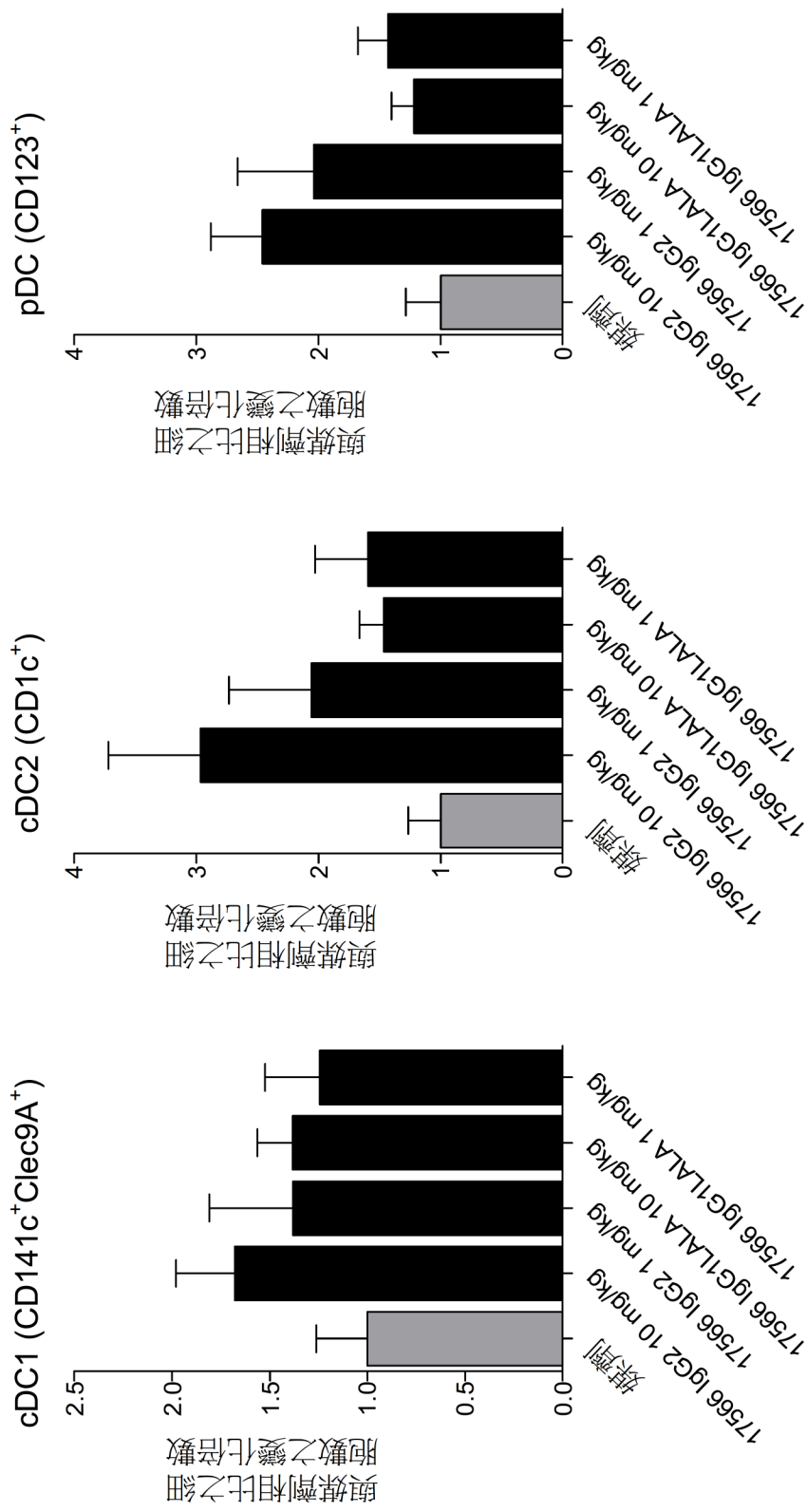
【圖10A】



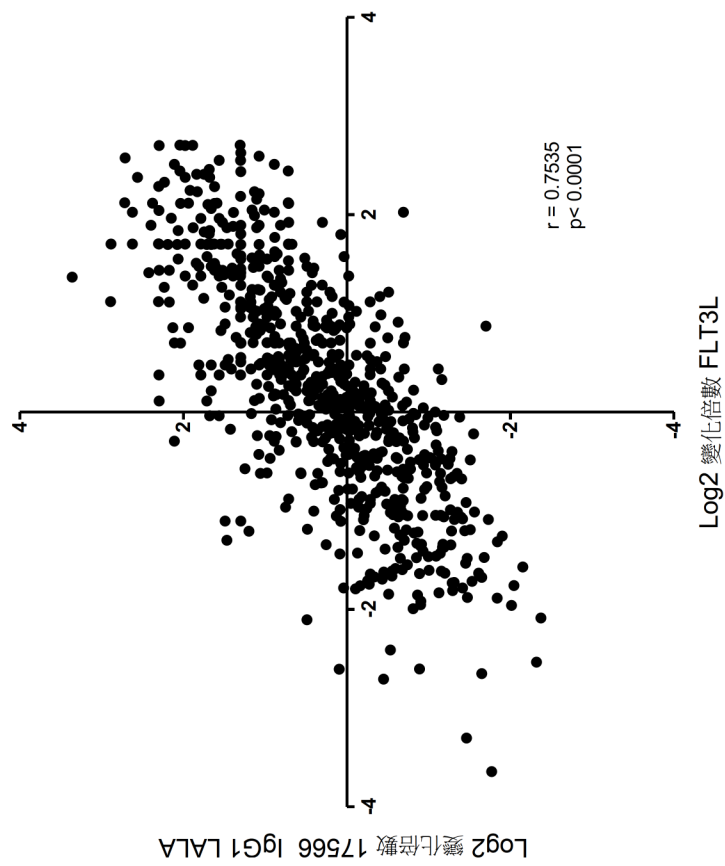
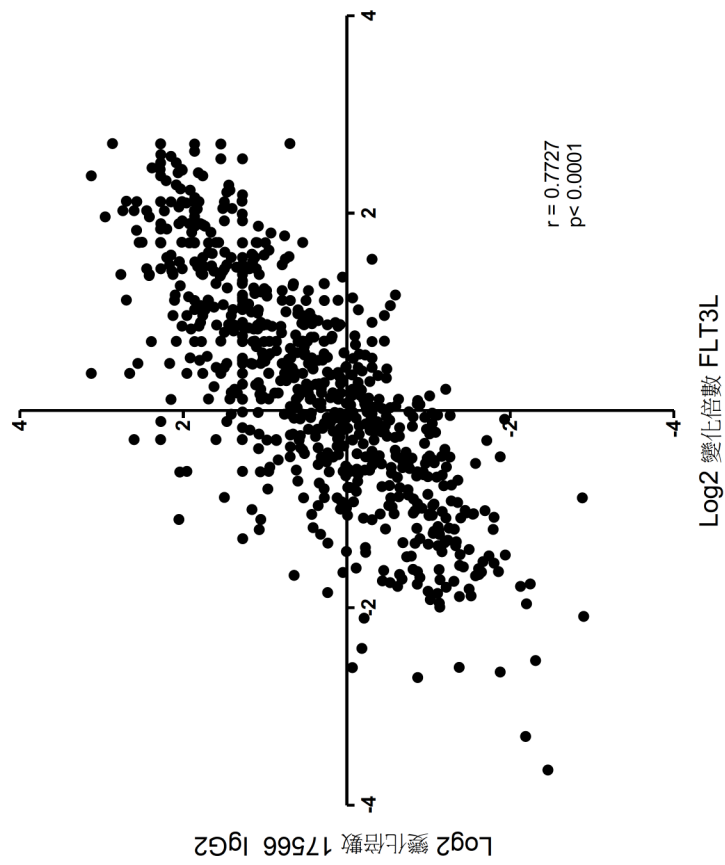
【圖10B】



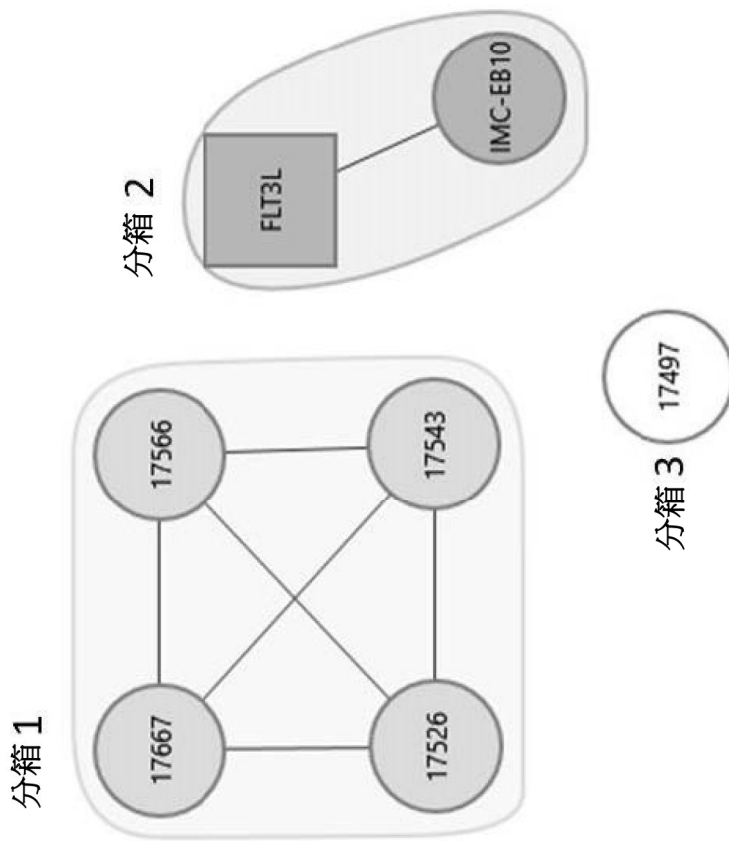
【圖10C】



【圖10D】

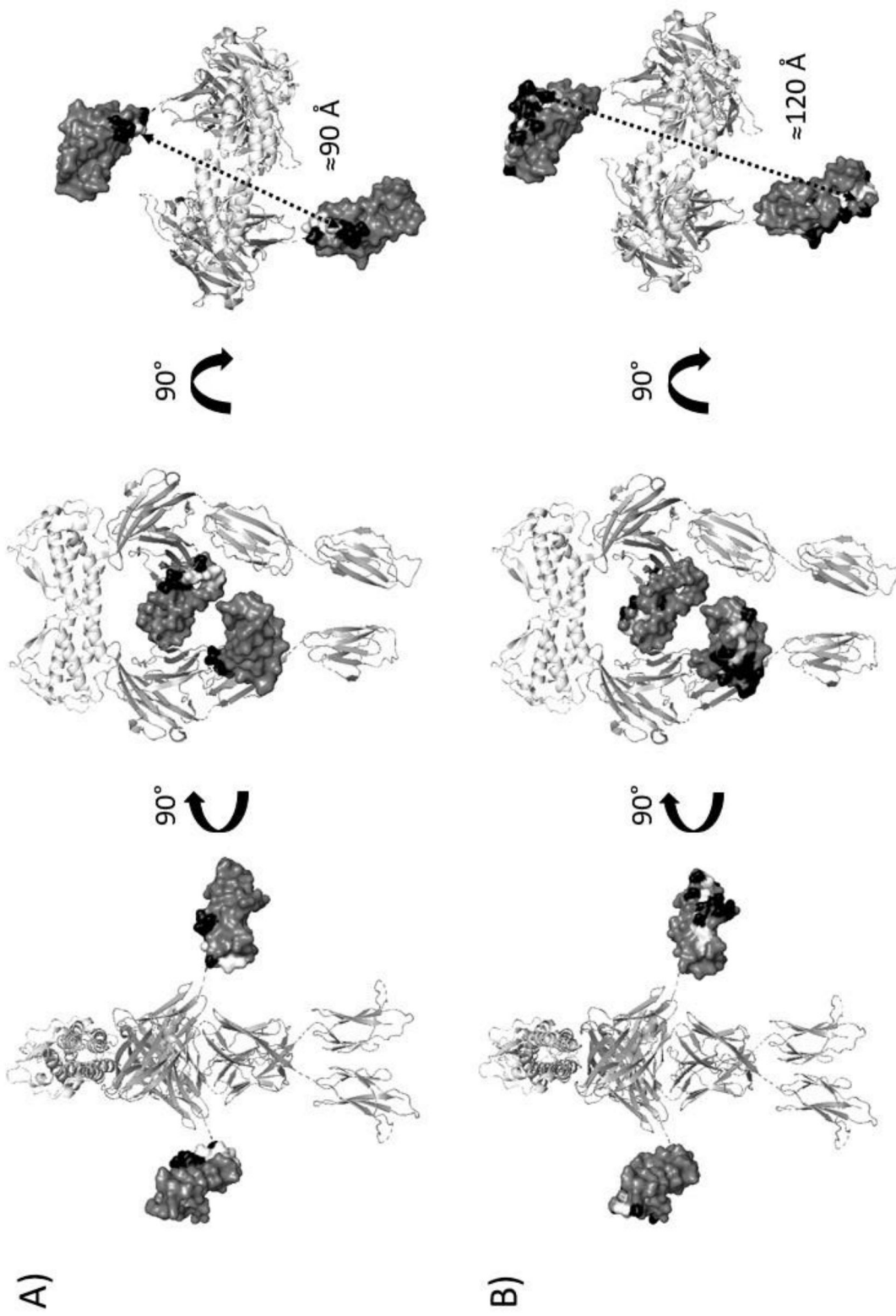


【圖11】



【圖12】





【圖13】