



(21) 申請案號：113128454 (22) 申請日：中華民國 113 (2024) 年 07 月 31 日

(51) Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01) A61K39/395 (2006.01)
C12N15/13 (2006.01) C12N15/63 (2006.01)
C12N15/64 (2006.01) A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2023/07/31 歐洲專利局 23315301.4
2024/03/01 歐洲專利局 24160978.3

(71) 申請人：法商賽諾菲公司 (法國) SANOFI (FR)
法國

(72) 發明人：雷米 伊莉莎白 REMY, ELISABETH (FR)；德斯麥克斯 克萊維 DESRUMEAUX, KLERVI (FR)；伯納沃克斯 海倫 BONNEVAUX, HELENE (FR)；梅洛尼 馬可 MELONI, MARCO (IT)；維羅內 奧多斯 安琪拉 VIRONE-ODDOS, ANGELA (FR)；凱龍布隆德 瑪莉艾爾 CHIRON BLONDEL, MARIELLE (FR)

(74) 代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：21 項 圖式數：12 共 119 頁

(54) 名稱

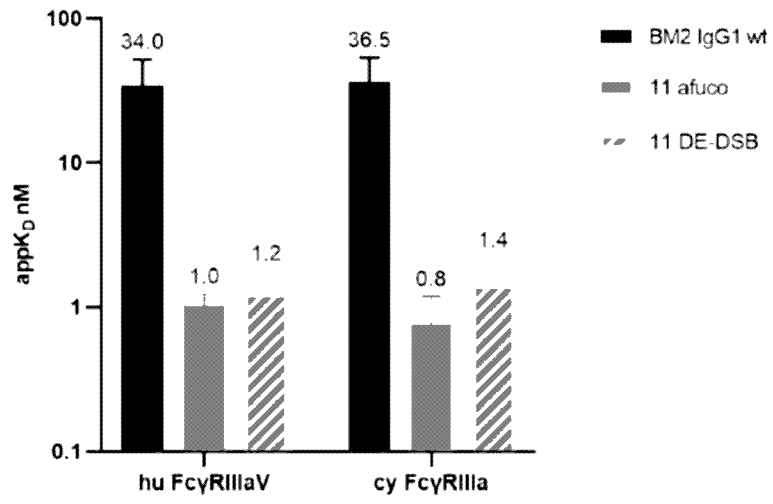
抗 G P R C 5 D 抗體及組成物

(57) 摘要

本發明提供特異性地結合 GPRC5D 之抗原結合蛋白，及增強抗體依賴性細胞毒性(ADCC)形式之個別抗體，以及使用其等來治療例如多發性骨髓瘤等癌症之方法。

The present disclosure provides antigen-binding proteins specifically binding GPRC5D, as well as respective antibodies in enhanced ADCC formats, and methods of using them to treat cancers such as multiple myeloma.

指定代表圖：



【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】 抗GPCR5D抗體及組成物

【英文發明名稱】 ANTI-GPCR5D ANTIBODIES AND COMPOSITIONS

【中文】

本發明提供特異性地結合GPCR5D之抗原結合蛋白，及增強抗體依賴性細胞毒性(ADCC)形式之個別抗體，以及使用其等來治療例如多發性骨髓瘤等癌症之方法。

【英文】

The present disclosure provides antigen-binding proteins specifically binding GPCR5D, as well as respective antibodies in enhanced ADCC formats, and methods of using them to treat cancers such as multiple myeloma.

【指定代表圖】圖1

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 抗GPRC5D抗體及組成物

【英文發明名稱】 ANTI-GPRC5D ANTIBODIES AND COMPOSITIONS

【技術領域】

【0001】 本發明提供特異性地結合GPRC5D之抗原結合蛋白，及增強抗體依賴性細胞毒性(ADCC)形式之個別的抗體，以及使用其等來治療例如多發性骨髓瘤等癌症之方法。

【先前技術】

【0002】 多發性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)為第二常見的血液惡性疾病(hematological malignancy)，其特徵在於骨髓中的漿細胞(plasma cell)的不受控增生。患者會出現例如虛弱、疲倦、貧血、體重減輕、免疫抑制、高血鈣及骨頭疼痛等症狀。儘管近年來多發性骨髓瘤的治療方法已有所改善，但其仍為難以治療的異質性疾病，且被視為無法治癒。

【0003】 GPRC5D為在多發性骨髓瘤患者的惡性漿細胞上強烈表現的孤兒G蛋白偶聯受體(GPCR)。將近80%的MM腫瘤細胞表現GPRC5D，而正常組織表現主要侷限在漿細胞及毛囊。由於GPRC5D在健康組織中的表現受限，其已被確定是治療多發性骨髓瘤的潛在免疫治療標靶。

【發明內容】

【0004】本發明提供一種抗原結合蛋白，特別是抗體或其抗原結合部分，其分別包含SEQ ID NO: 1-6之HCDR1-3及LCDR1-3胺基酸序列。在一些實施例中，抗原結合蛋白包含兩個可變域，第一可變域含有SEQ ID NO: 1之HCDR1、SEQ ID NO: 2之HCDR2及SEQ ID NO: 3之HCDR3，且第二可變域含有SEQ ID NO: 4之LCDR1、SEQ ID NO: 5之LCDR2及SEQ ID NO: 6之LCDR3。在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體)結合至人類GPCR5D、食蟹獼猴GPCR5D或兩者。亦提供一種結合蛋白，其包含本發明之抗原結合蛋白，特別是抗體或其抗原結合部分。

【0005】在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體)包含分別與SEQ ID NO: 7及8之胺基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99% (例如至少90%)一致的重鏈可變域(VH)胺基酸序列及輕鏈可變域(VL)胺基酸序列。在一些此等實施例中，HCDR1至HCDR3及LCDR1至LCDR3分別具有如SEQ ID NO: 1至6所述之胺基酸序列，亦即序列變異位於HCDR1至HCDR3及LCDR1至LCDR3的外部。在某些實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體)包含含有SEQ ID NO: 7之VH及含有SEQ ID NO: 8之VL。根據一實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體)可為人類IgG同型，較佳為人類IgG₁同型子類。

【0006】在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體)包含分別與SEQ ID NO: 9及11之胺基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99% (例如至少90%)一致的重鏈(HC)可變域胺基酸序列及輕鏈(LC)可變域胺基酸序列。在一些此等實施例中，HCDR1至HCDR3及LCDR1至LCDR3分別具有如SEQ ID NO: 1至6所述之胺基酸序列，亦即序列變異位於HCDR1至HCDR3

及LCDR1至LCDR3之外。在特定實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體)包含含有SEQ ID NO: 9之HC及含有SEQ ID NO: 11之LC。

【0007】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體)包含至少一個Fc域突變，較佳為增強抗原結合蛋白之結合的突變，特別是本文所述之抗體與人類FcγRIIIa之結合。Fc域突變可位於例如位置239 (例如S239D)、位置332 (例如I332E)或兩者(例如S239D及I332E)，其中該殘基係根據Eu編號系統編號 (Edelman, G.M.等人之*Proc. Natl. Acad. USA*, 63, 78-85 (1969))。根據一特定實施例，Fc域突變為S239D、I332E或雙突變S239D與I322E，更佳為S239D與I332E。

【0008】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體)包含至少一個增強抗體穩定性的Fc域突變。在某些實施例中，抗體包含一對突變為半胱胺酸的Fc域，例如位於位置292及302 (例如R292C及V302C)，其中該殘基係根據Eu編號系統編號。根據一較佳實施例，抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體)包含Fc域突變R292C及V302C。

【0009】 根據一特定實施例，抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體)包含Fc突變S239D、I332E、R292C及V302C，其中該殘基係根據Eu編號系統編號。

【0010】 在某些實施例中，抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體)包含分別與SEQ ID NO: 10及11之胺基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99% (例如至少90%)一致的HC胺基酸序列及LC胺基酸序列。在一些此等實施例中，HCDR1至HCDR3及LCDR1至LCDR3分別具有如SEQ ID NO: 1至6所述之胺基酸序列，亦即序列變異位於CDR之外。在特定實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體)包含含有SEQ ID NO: 10之重鏈及含有SEQ ID NO: 11之輕鏈。

【0011】 根據一具體實施例，抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體)包含一Fc，其為無岩藻醣基化Fc。

【0012】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體或其抗原結合部分，或含有該抗體或抗原結合部分的結合蛋白)具有選自以下之至少一個性質：

- a) 特異性地結合至表現人類GPRC5D之細胞；
- b) 特異性地結合至表現食蟹獼猴GPRC5D之細胞；
- c) 結合至表現人類FcγRIIIa之細胞；
- d) 結合至表現食蟹獼猴FcγRIIIa之細胞；
- e) 較佳為特異性地結合至具有SEQ ID NO: 12之胺基酸序列或具有N端缺失至多20個胺基酸(例如N端缺失1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個胺基酸)的人類GPRC5D；
- f) 較佳為特異性地結合至SEQ ID NO: 15；
- g) 較佳為特異性地結合至SEQ ID NO: 16；
- h) 較佳為特異性地結合至SEQ ID NO: 17；
- i) 促進NK細胞接合(engagement)；
- j) 促進NK細胞去顆粒化；
- k) 誘發NK細胞活化；
- l) 誘發初代漿細胞耗竭(depletion)；
- m) 在NK細胞存在下促進多發性骨髓瘤細胞的溶解；
- n) 在表現GPRC5D之細胞存在下誘發周邊血液單核細胞之IFN- γ 、IL-6及/或TNF- α 增加不超過5倍；

- o) 在血漿中可體內定量至少28天；
- p) 在體內具有至少9天的終末消除半衰期；
- q) 不會導致體內IFN- γ 、IL-8及TNF α 含量升高；
- r) 抑制體內腫瘤生長；
- s) 特異性地結合至GPCR5D二聚體；
- t) 在小鼠中顯示交叉反應性；以及
- u) 在食蟹獼猴中顯示交叉反應性。

【0013】 抗原結合蛋白(特別是抗體、抗原結合部分或結合蛋白)可具有該等性質之任何組合或所有該等性質。

【0014】 在一些實施例中，抗原結合蛋白或包含本文所述之抗體或其抗原結合部分的結合蛋白具有單特異性、雙特異性(例如雙特異性T細胞接合體)或多特異性。在一些實施例中，抗原結合蛋白為融合蛋白，例如嵌合抗原受體(CAR)。在一些實施例中，抗原結合蛋白為T細胞受體(TCR)或TCR之一部分。

【0015】 本發明亦提供一種醫藥組成物，其包含抗原結合蛋白，特別是本文所述之抗體、抗原結合部分或結合蛋白，以及一醫藥上可接受之賦形劑。

【0016】 本發明進一步提供單離的核酸分子，其包含一或多個編碼抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體或其抗原結合片段)之核苷酸序列。較佳地，核苷酸序列編碼包含第一可變域(例如重鏈可變域或重鏈)之蛋白質，且相同或不同的核苷酸序列編碼包含第二可變域(例如抗原結合部分(特別是本文所述之抗體或其抗原結合部分)之輕鏈或輕鏈可變域)之蛋白質，或包含編碼本文所述之結合蛋白的核苷酸序列。進一步提供了包含經分離之核酸分子之載體，其中載體可包含表現控制序列。亦提供一或多種包含經分離之核酸分子之宿主細胞，以及一種用

於產生抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體或其抗原結合部分或結合蛋白)之方法，其包含提供宿主細胞、在適合表現抗原結合蛋白之條件下培養該宿主細胞及從培養物中分離的所產生的抗原結合蛋白。

【0017】本發明進一步提供一種醫藥組成物，其包含本文所述之抗原結合蛋白、經分離之核酸分子、載體或宿主細胞，以及一醫藥上可接受之賦形劑。

【0018】本發明進一步提供本文所述之抗原結合蛋白、經分離之核酸分子、載體、宿主細胞或醫藥組成物，以用作一藥劑。根據一較佳實施例，藥劑係用於治療癌症，更佳為其中癌症為多發性骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、腎癌、乳癌、卵巢癌或胰臟癌。根據一特別較佳實施例，癌症為多發性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)。舉例而言，癌症可為燜燃型(smoldering)(無症狀型)多發性骨髓瘤或活動型(症狀型)多發性骨髓瘤。多發性骨髓瘤可為超二倍體(HMM)或非超二倍體或低二倍體。骨髓瘤亞型可為例如IgG、IgA、IgM、IgE或IgD骨髓瘤。進一步較佳之骨髓瘤形式包括輕鏈骨髓瘤、非分泌性骨髓瘤、孤立型漿細胞瘤(solitary plasmacytoma)、多發性孤立型漿細胞瘤、髓外骨髓瘤(extramedullary myeloma)及意義不明單株免疫球蛋白增高症(monoclonal gammopathy of undetermined significance, MGUS)。根據一特別較佳實施例，癌症為GPC5D陽性癌症。

【0019】本發明亦提供一種用於在患者(特別是有需求之人類患者)中治療癌症之方法，其包含向該患者投予一治療有效量之抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體、其抗原結合部分、結合蛋白)或醫藥組成物。在某些實施例中，癌症為多發性骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、腎癌、乳癌、卵巢癌或胰臟癌。在特定實施例中，癌症為多發性骨髓瘤。

【0020】 據了解，本發明亦提供一種本文所述之抗體、其抗原結合部分、結合蛋白或醫藥組成物，以用於在本文所述之治療方法中治療有需求之人類。亦提供一種抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體、其抗原結合部分、結合蛋白、經分離之核酸分子、載體、宿主細胞)或醫藥組成物之用途，以製造用於治療有需求之患者(較佳為患有癌症之患者)的藥劑。在某些實施例中，癌症為多發性骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、腎癌、乳癌、卵巢癌或胰臟癌。在特定實施例中，癌症為多發性骨髓瘤。

【0021】 本發明之其他特徵、目的及優點顯見於以下的詳細描述中。然而，應理解，詳細描述儘管表明本發明之實施例及態樣，但僅透過說明之方式給出，而非限制。根據詳細描述，本發明範疇內之各種變化及修改對於本領域具有通常知識者來說將變得顯而易見。

【圖式簡單說明】

【0022】 圖1為描繪無岩藻醣基化(「afuco」)及DE-DSB形式之殖株11以及比較物IgG₁野生型(「wt」)形式之抗GPCR5D抗體基準2(「BM2」)針對表現食蟹獼猴(「cy」)及人類(「hu」)FcγRIIIa之HEK293 T細胞的親和力(表觀K_D或「appK_D」)直方圖。數據代表三次實驗的平均值。

【0023】 圖2為描繪由FACS評估的不同濃度之抗體與MM.1R(表現GPCR5D之MM細胞株)結合的中位數螢光強度(median fluorescence intensity, MFI)線圖。11-afuco: 無岩藻醣基化形式之殖株11。11-DE-DSB: DE-DSB形式之殖株11。BM1-afuco: 無岩藻醣基化形式之基準1抗體。BM2-IgG₁-wt: IgG₁野生型形式之基準2抗體。IC: IgG₁同型對照。

【0024】圖3為顯示由溶解百分比(鈣黃綠素釋放讀值)評估的不同濃度之無岩藻醣基化(「afuco」)及DE-DSB形式之殖株11針對MM.1R細胞的抗體依賴性細胞毒性(antibody dependent cellular cytotoxicity, ADCC)活性線圖。同型對照IgG₁ DE-DSB (IC)係用作陰性對照。亦評估了無岩藻醣基化形式之基準1及2抗體(分別為BM1 afuco及BM2 afuco)以作為參考。所示數據係來自五次代表性實驗之一。

【0025】圖4為顯示由溶解百分比(鈣黃綠素釋放讀值)評估的不同濃度之無岩藻醣基化(「afuco」)及DE-DSB形式之殖株11針對EJM (一種MM細胞株)的ADCC活性線圖。同型對照IgG₁ DE-DSB (IC)係用作陰性對照。亦評估了無岩藻醣基化形式之基準1及2抗體(分別為BM1 afuco及BM2 afuco)以作為參考。所示數據係來自五次代表性實驗之一。

【0026】圖5為顯示在第4天時由溶解百分比(Incucyte成像讀值)評估的不同濃度之無岩藻醣基化(「afuco」)及DE-DSB形式之殖株11針對MM.1R MM細胞的ADCC活性線圖。同型對照IgG₁ DE-DSB (IC)係用作陰性對照。亦評估了無岩藻醣基化形式之基準1及2抗體(分別為BM1 afuco及BM2 afuco)以作為參考。所示數據係來自兩次代表性實驗之一。

【0027】圖6為描繪在4天內由測量的MM.1R計數正規化至第0天評估的無岩藻醣基化(「afuco」)及DE-DSB形式之殖株11針對MM.1R MM細胞的ADCC活性線圖。同型對照IgG₁ DE-DSB (IC)係用作陰性對照。亦評估了無岩藻醣基化形式之基準1及2抗體(分別為BM1 afuco及BM2 afuco)以作為參考。所示數據係來自在NK細胞及1 ng/mL之抗體存在下過夜培養後的一次代表性實驗。

【0028】圖7為顯示在MM.1R MM細胞存在下的PBMC環境中由DE-DSB形式之殖株11誘發的一組細胞激素IFN γ (圖7A)、IL-6 (圖7B)及TNF α (圖7C)釋放

直方圖。同型對照IgG₁ DE-DSB (IC)係用作陰性對照。評估了CD3-BCMA T細胞接合體(「TCE」)以作為比較物。各圖代表四至五次實驗的平均值。

【0029】 圖8為表明植入散播性人類MM.1R細胞之NK人源化hIL15tg-NOG小鼠在以無岩藻醣基化(「afuco」)及DE-DSB形式之殖株11及無岩藻醣基化形式(BM1-afuco)之基準1抗體處理後的存活率Kaplan-Meier繪圖。同型對照IgG₁野生型(IC IgG wt)係用作陰性對照。

【0030】 圖9為顯示雌性食蟹獼猴在單次30分鐘靜脈輸注5 mg/kg或25 mg/kg之DE-DSB形式之殖株11或皮下投予25 mg/kg之DE-DSB形式之殖株11後的一對平均(圖9A)及個別(圖9B)藥物動力學(PK)概況線圖。

【0031】 圖10示意性地顯示了實例11之新診斷出的原發性多發性骨髓瘤(NDMM)患者樣本的離體研究原理。

【0032】 圖11A顯示了來自NDMM患者之骨髓原發性樣本在11-DE-DSB離體處理後的漿細胞溶解。圖11B顯示BM MM新鮮患者樣本在抗GPRC5D過夜處理後NK細胞上CD107的誘發。

【0033】 圖12顯示11-DE-DSB針對5名健康捐贈者之MM.1R細胞的ADCP活性劑量反應曲線。實心圓形：11-DE-DSB，實心三角形：抗CD38-IgG₁，實心正方形：同型對照。X軸：濃度(pM)，y軸：溶解百分比。A：健康捐贈者1，B：健康捐贈者2，C：健康捐贈者3，D：健康捐贈者4，以及E：健康捐贈者5。

【實施方式】

【0034】 本發明提供新穎的抗GPRC5D抗原結合蛋白，特別是可用於治療患者之癌症(例如多發性骨髓瘤)的抗體，以及包含該抗體或該抗體之抗原結合部

分的GPRC5D結合蛋白。亦提供包含此等抗體或其抗原結合部分或結合蛋白之一或多者的醫藥組成物，以及抗原結合蛋白(特別是抗體或其抗原結合部分)、結合蛋白及醫藥組成物用以治療癌症(例如多發性骨髓瘤)之用途。抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體及其抗原結合部分)、結合蛋白及組成物可用於治療患者之癌症的方法中；可用於製造治療患者之癌症的藥劑；或可用於治療患者之癌症。在一具體實施例中，本發明提供抗原結合蛋白，特別是包含兩個可變域之抗體，第一可變域含有SEQ ID NO: 1之HCDR1、SEQ ID NO: 2之HCDR2及SEQ ID NO: 3之HCDR3，且第二可變域含有SEQ ID NO: 4之LCDR1、SEQ ID NO: 5之LCDR2及SEQ ID NO: 6之LCDR3。如本文所述，抗原結合蛋白特異性地結合至 GPRC5D，較佳為人類GPRC5D，更佳為具有如SEQ ID NO: 12所述之胺基酸序列的GPRC5D。本發明之抗原結合蛋白可用於治療患者之癌症(例如多發性骨髓瘤)。本發明之抗原結合蛋白較佳為GPRC5D結合蛋白，例如抗體或該抗體之抗原結合部分。亦提供包含此等抗原結合蛋白(特別是抗體或其抗原結合部分)或結合蛋白之一或多者的醫藥組成物，以及抗原結合蛋白(特別是抗體或其抗原結合部分)、結合蛋白及醫藥組成物，以用於治療癌症(例如多發性骨髓瘤)。因此，抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體及其抗原結合部分)、結合蛋白及組成物可用於治療患者之癌症的方法中；可用於製造治療患者之癌症的藥劑；或可用於治療患者之癌症。

【0035】 在一些實施例中，本發明之抗原結合蛋白為具有增強ADCC活性之抗GPRC5D抗體，其可例如用作自然殺手(NK)細胞接合體，亦即可同時結合標靶細胞(例如惡性漿細胞)上之GPRC5D及NK細胞上之細胞表面分子(例如Fc受體)的分子。由於NK細胞不太可能觸發細胞激素釋放症候群(cytokine release

syndrome, CRS)或移植抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD), 或引發神經毒性, 利用此類NK細胞接合體的治療預期會比基於T細胞的治療(例如BiTE (雙特異性T細胞接合體)及CAR-T療法)更安全。更安全的NK細胞接合體概況可進而導致更便利的投予, 且在積極治療期過程中較少或不需要住院觀察。

【0036】 在下面詳細描述本發明之前, 應理解的是, 本發明不限於本文所述之特定方法學、方案及試劑, 係因其等可變。亦應理解的是, 本文中所使用之用語僅為了描述特定實施例之目的, 且未旨在限制本發明之範疇, 其將僅侷限於所附申請專利範圍。除非另有定義, 否則本文中所使用之所有技術及科學用語具有與本領域中具有通常知識者所一般理解的含義相同。

【0037】 在本說明書之上下文中引用了數份文件。本文引用之每份文件(包括所有專利、專利申請案、科學出版物、製造商說明書、說明書等), 不論上文或下文, 皆通過引用整體併入本文。本文中之內容不應理解為承認本發明無權憑藉先前發明而早於此類公開案。若此類併入之參考資料的定義或教示與本說明書中所引用之定義或教示之間存在衝突, 則以本說明書之內容為準。

【0038】 為了實踐本發明, 除非另有表明, 否則採用化學、生物化學及重組DNA技術的常規方法, 此等方法在本領域之文獻中進行解釋(參見, 例如 *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第二版, J. Sambrook等人編輯, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor 1989)。

【0039】 在下文中, 提供本說明書中經常使用之用語的一些定義, 以表徵本發明。此等用語在其使用之各種情況下, 在說明書之其餘部分中將具有分別定義之含義及較佳之含義。在整份說明書及接下來的申請專利範圍中, 除非上下文中另有要求, 否則詞語「包含(comprise)」以及例如「包含(comprises)」及「包含

(comprising)」等變型將被理解為暗指包括所陳述之整數或步驟，或整數或步驟之群組，但不排除任何其他整數或步驟，或整數或步驟之群組。本文中所使用之用語「包含」的使用亦揭露了除了具體提及之特徵以外不存在任何特徵的實施例(亦即「由……組成」)。

【0040】 如本說明書及所附申請專利範圍中所使用的，除非所述內容另外明確指出，單數形式「一」、「一者」及「該」包括複數參考體。

【0041】 在本申請案中，用語「及/或」為語法連接詞，其被解釋為涵蓋了其所連接之一或多個情況可能發生。舉例而言，詞語「突變係位於位置239及/或位置332」表明突變係位於位置239或位於位置332，或位於兩者(位置239及位置332)。

【0042】 除非另有說明，否則「GPRC5D」係指人類GPRC5D。人類GPRC5D多肽序列可在UniProt登錄號Q9NZD1 (GPC5D_人類)(最後更新時間:2000-10-01)或NCBI登錄號NP_061124.1中找到，如以下所示：

```

MYKDCIESTG DYFLLCDAEG PWGIILESLA ILGIVVTILL
LLAFLFLMRK IQDCSQWNVL PTQLLFLLSV LGLFGLAFAF
IIELNQQTAP VRYFLFGVLF ALCFSCLLAH ASNLVKLVRG
CVSFSWTTIL CIAIGCSLLQ IIIATEYVTL IMTRGMMFVN
MTPCQLNVDF      VVLLVYVLFL      MALTFFVSKA
TFCGPCENWK QHGRLIFITV LFSIIIWVWV ISMLLRGNPQ
FQRQPQWDDP VVCIALVTNA WVFLLLYIVP ELCILYRSCR
QECPLQGNAC      PVTAYQHSFQ      VENQELSRAR
DSDGAEEDVA LTSYGTPIQP QTVDPTQECF IPQAKLSPQQ
DAGGV

```

(SEQ ID NO: 12)

【0043】本文中所使用之用語「抗原結合蛋白」係指包含能夠特異性地結合至抗原之抗原結合位點的多肽或二或多個多肽之複合物。如本說明書之上下文中所使用的，用語抗原結合蛋白包括如以下所述之多種不同形式的抗原結合蛋白，包括可溶性抗原結合蛋白、膜結合之抗原結合蛋白、單價、雙價及多價抗原結合蛋白、單特異性、雙特異性及多特異性抗原結合蛋白、單鏈抗原結合蛋白及包含二或多條鏈之抗原結合蛋白、融合蛋白及嵌合蛋白。所述用語包括具有以下之整體結構的抗原結合蛋白：例如T細胞受體(TCR)、抗體、嵌合抗原受體(chimeric antigen receptor, CAR)，或包含抗體、CAR及/或TCR之元件的融合蛋白。所述用語進一步包括具有以下之整體結構的抗原結合蛋白：例如B細胞受體(BCR)、單鏈抗體及單鏈TCR。根據本發明之抗原結合蛋白包含可變區或包含用於結合至個別表位之特異性互補決定區(complementary determining region, CDR)的域。可變區可為例如基於抗體之重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(LH)，或基於TCR之 α 及 β ，或 γ 及 δ 可變域(V_α 及 V_β ，或 V_γ 及 V_δ)。

【0044】本文中所使用之用語「抗體」(Ab)或「免疫球蛋白」(Ig)係指包含兩條重鏈(HC)(約50-70 kDa)及兩條輕鏈(LC)(約25 kDa)的四聚體，其由一或多個雙硫鍵互相連接。每條重鏈由重鏈可變域(VH)及重鏈恆定區(CH)組成。每條輕鏈由輕鏈可變域(VL)及輕鏈恆定區(CL)組成。VH域及VL域可進一步細分為高變異區，稱為「互補決定區」(CDR)，其散佈有較保守的區，稱為「框架區」(FR)。各個VH及VL由三個CDR (本文中之HCDR表示來自重鏈的CDR；且本文中之LCDR表示來自輕鏈的CDR)及四個FR組成，從胺基端至羧基端按以下順序排列：

FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。輕鏈存在兩種類型：拉目達(lambda, λ)及卡帕(kappa, κ)。決定抗體分子之功能活性的主要重鏈類別(或同型)有五種：IgM、IgD、IgG、IgA及IgE。用語「抗體」係指抗體及其片段，以及單域抗體及其片段和多特異性抗體及其片段，特別是單域抗體、嵌合抗體、人源化抗體、雙特異性抗體或多特異性抗體之可變重鏈。抗體之片段或抗原結合部分包含完整抗體之一部分，特別是抗體之抗原結合位點或可變區。抗體片段之非限制性實例包括Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、(dsFv)₂、scFv、sc(Fv)₂、雙鏈抗體(diabody)、由抗體片段形成之雙特異性及多特異性抗體。抗體之片段亦可為單域抗體，例如重鏈可變區(VH)。較佳地，「抗體之片段」包含完整抗體之一部分，特別是抗體之片段包含含有至少所述可變域之抗原結合位點。抗原結合蛋白或抗體之片段相較於其等之來源抗原結合蛋白或抗體，基本上發揮相同的功能，其意味著抗原結合蛋白或抗體之片段特異性地結合至與其等之來源抗原結合蛋白或抗體相同的標靶。

【0045】用語「T細胞受體」(TCR)在本發明之上下文中係指免疫球蛋白超家族之異二聚體細胞表面蛋白，其與參與媒介訊息傳遞之CD3複合物的非變異體蛋白相關聯。TCR存在 $\alpha\beta$ 形式及 $\gamma\delta$ 形式，其等在結構上類似，但具有截然不同的解剖位置(anatomical location)。天然異二聚體 $\alpha\beta$ TCR及 $\gamma\delta$ TCR之胞外部分各含有兩個多肽，其各具有近端膜恆定域及遠端膜可變域。恆定域及可變域各自包括鏈內雙硫鍵。可變域含有類似於抗體之互補決定區(CDR)的高度多型性環。天然 $\alpha\beta$ 異二聚體TCR具有 α 鏈及 β 鏈。每條 α 鏈包含可變區、連接區及恆定區，且 β 鏈通常在可變區與連接區之間亦含有短的多樣性區，但此多樣性區通常被視為連接區之一部分。TCR α 鏈及 β 鏈之恆定區或C區分別被稱為TRAC及TRBC (Lefranc,

(2001), *Curr Protoc Immunol*, 附錄1:附錄10)。各個可變區包含嵌入框架區之框架序列中的三個「互補決定區」(CDR)。

【0046】 在重鏈或輕鏈、或TCR可變域中之胺基酸編號及FR區與CDR區的指派可根據IMGT®定義(Lefranc等人之*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 & Lesk, *J Mol Biol.* (1987) 196:901-17; Chothia等人之*Nature* (1989) 342:878-83; MacCallum等人之*J Mol Biol.* (1996) 262:732-45; Honegger及Plückthun, *J Mol Biol.* (2001) 309(3):657-70; 或Abhinandan及Martin, *Mol. Immunol.* (2008), 45(14):3832-9。

【0047】 本文中所使用之用語「互補決定區」(CDR)係指在免疫球蛋白之可變域(例如VH、VL、V α 及V β)內發現的非連續抗原結合位點。上述文獻中之定義包括在相互比較時胺基酸殘基之重疊或子集。儘管如此,應用任一定義來指稱抗體、或移植抗體、或其變異體或片段之CDR,意欲落入如本文所定義及使用之用語的範疇內。如上述各參考文獻所定義的,涵蓋CDR之胺基酸殘基皆示例性地列於下表中以進行比較。

	Kabat¹	Chothia²	AbM³
HCDR1	31-35	26-32	26-35
HCDR2	50-65	52-56	50-58
HCDR3	95-102	95-102	95-102
LCDR1	24-34	24-34	24-34
LCDR2	50-56	50-56	50-56
LCDR3	89-97	89-97	89-97

	Contact⁴
HCDR1	30-35
HCDR2	47-58
HCDR3	93-101
LCDR1	31-36

LCDR2	46-55
LCDR3	89-96

- ¹ 殘基編號遵照Kabat等人之命名法，見上文
- ² 殘基編號遵照Chothia等人之命名法，見上文
- ³ 殘基編號遵照AbM，Abhinandan及Martin，見上文；
- ⁴ 殘基遵照Contact編號系統，MacCallum等人，見上文。

【0048】用語「HCDR1」、「HCDR2」及「HCDR3」係指抗原結合多肽(例如抗體或其功能片段)之重鏈可變域中的第一、第二及第三個CDR。本文中所使用之用語「LCDR1」、「LCDR2」及「LCDR3」分別係指抗原結合多肽(例如抗體或其功能片段)之輕鏈可變域中的第一、第二及第三個CDR。本文中所使用之用語「CDR1」、「CDR2」及「CDR3」分別係指抗原結合多肽(例如抗體或其抗原結合部分)之多肽鏈可變區或TCR之任一可變域的第一、第二及第三個CDR。

【0049】本文中所使用之用語「嵌合抗原受體」(CAR；亦稱為嵌合免疫受體、嵌合T細胞受體、人工T細胞受體)係指工程改造之受體，其將任意的特異性移植至免疫效應細胞上，較佳為T細胞。細胞在基因上配備有CAR，其為複合膜受體分子，並提供靶向特異性及T細胞活化功能。最常見的CAR形式為源自單株抗體之單鏈可變片段(scFv)的融合體，其融合至CD3跨膜域及胞內域。CAR經由胞外部分之抗體衍生的結合域將T細胞靶向所需之細胞標靶，且在遭遇標靶時T細胞經由胞內部分傳訊域發生活化。通常藉由反轉錄病毒或慢病毒載體促使此等受體之編碼序列轉移至適合的細胞(特別是T細胞)。

【0050】 用語「重組抗體」係指從包含編碼抗體之核苷酸序列的細胞或細胞株中表現的非天然存在之抗體，其中該核苷酸序列與細胞非天然相關。

【0051】 用語「經分離之蛋白質」、「經分離之多肽」或「經分離之抗體」係指蛋白質、多肽或抗體憑藉其起源或衍生來源：(1)不與其伴隨之天然狀態下的天然相關組分結合，(2)不含來自同一物種之其他蛋白質，(3)由來自不同物種之細胞表現，及/或(4)在自然界中不存在。因此，經化學合成或在不同於其天然來源之細胞的細胞系統中合成的多肽將從其天然相關組分中「經分離」。亦可使用本領域中熟習之蛋白質純化技術藉由分離使蛋白質實質上不含天然相關組分。

【0052】 用語「親和力」係指抗原與抗體之間吸引力的測量。抗體對抗原的內在吸引力通常以特定抗體-抗原相互作用之結合親和力平衡常數(K_D)表示。當結合之 $K_D \leq 1 \mu\text{M}$ (例如 $\leq 100 \text{ nM}$ 或 $\leq 10 \text{ nM}$)時，抗體會被視為特異性地結合至抗原。可藉由例如使用Biacore™ T200系統之表面電漿共振(SPR)(Biacore™)，來自IBIS Technologies之IBIS MX96 SPR系統，或Carterra LSA SPR平台，或藉由生物層干涉術(bio-layer interferometry)，例如使用來自ForteBio之Octet™系統，來測量 K_D 結合親和力常數。用於測定 K_D 之較佳方法為藉由使用Biacore™ T200儀器之SPR，較佳為如以下實例2中之更詳細描述。用於確定抗原結合蛋白之結合的替代性較佳方法為藉由流式細胞術結合試驗，較佳為如以下實例3中之更詳細描述。

【0053】 本文中所使用之用語「表位」係指特異性地結合至抗原結合蛋白(例如抗體或相關分子(例如雙特異性結合分子))之抗原的部分(決定簇(determinant))。表位決定簇通常由分子之化學活性表面基團(例如胺基酸或醣或

糖側鏈)組成，且通常具有特定三維結構特徵及特定電荷特徵。表位可為「線性」或「構形」表位。在線性表位中，蛋白質(例如抗原)與相互作用分子(例如抗體)之間的所有相互作用的點皆沿著蛋白質的一級胺基酸序列線性發生。在構形表位中，相互作用的點發生在蛋白質上的胺基酸殘基之間，該胺基酸殘基的一級胺基酸序列彼此分開。一旦確定抗原上所需之表位，則可使用本領域中熟習之技術來產生針對該表位的抗體。舉例而言，可例如藉由以具有線性表位之胺基酸殘基的肽免疫接種動物而產生針對線性表位的抗體。可例如藉由以含有構形表位之相關胺基酸殘基的微型域免疫接種動物而產生針對構形表位的抗體。亦可例如藉由以感興趣之標靶分子(例如GPRC5D)或其相關部分免疫接種動物而產生針對特定表位的抗體，隨後篩選與表位之結合。亦可使用噬菌體展示法來產生針對特定表位的抗體。

【0054】 本文中所使用之用語「特異性地結合」表明抗原結合蛋白(特別是抗體或其抗原結合片段)經由其抗原結合域結合至表位，且該結合需要抗原結合域與表位之間的一些互補性。因此，「特異性地結合」至人類GPRC5D (SEQ ID NO:12)之抗原結合蛋白(特別是抗體)亦可結合至來自其他物種之GPRC5D (例如食蟹獼猴、小鼠及/或大鼠GPRC5D)及/或由其他人類等位基因產生的GPRC5D蛋白，但與不相關之非GPRC5D蛋白的結合程度小於與抗原結合蛋白(特別是例如藉由放射免疫試驗(RIA)測量的針對GPRC5D之抗體)的約10%，較佳為小於1%，更佳為小於0.1%。

【0055】 藉由使用本領域中已知之方法，包括但不限於競爭試驗、表位分級(binning)及丙胺酸掃描，吾人可確定抗原結合蛋白(特別是抗體)是否與本發明之抗原結合蛋白(例如抗GPRC5D抗體)結合相同的表位或其競爭結合。在一些實

施例中，允許本發明之抗原結合蛋白(例如抗GPRC5D抗體)在飽和條件下結合至GPRC5D，隨後測量受測抗原結合蛋白(例如抗體)結合至GPRC5D的能力。若受測抗體能夠與參考抗GPRC5D抗體同時結合至GPRC5D，則受測抗體與參考抗GPRC5D抗體結合在不同的表位。然而，若受測抗體不能同時結合至GPRC5D，則受測抗體結合至相同表位、重疊的表位，或與由本發明抗GPRC5D抗體結合之表位非常接近的表位。本實驗可使用例如ELISA、RIA、Biacore™、SPR、生物層干涉術或流式細胞術來進行。為了測試抗GPRC5D抗體是否與另一抗GPRC5D抗體交叉競爭，吾人可在兩個方向上使用上述競爭方法，亦即確定已知之抗體是否阻斷受測抗體，反之亦然。可使用例如Biacore™ T200、IBIS MX96、或Carterra LSA SPR儀器或Octet™系統來進行此類交叉競爭實驗。

【0056】 本文中所使用之用語抗體之「抗原結合部分」或「抗原結合片段」係指保留特異性地結合至抗原(例如人類GPRC5D，較佳為SEQ ID NO: 12或其部分)之能力的抗體之一或多個部分或片段。已經證明，全長抗體的某些片段可進行抗體的抗原結合功能。因此，涵蓋在用語「抗原結合部分」內之結合片段的實例包括但不限於：(i) Fab片段：一種單價片段，其由VL、VH、CL及CH1域組成；(ii) F(ab')₂片段：一種雙價片段，其包含了在鉸鏈區處由雙硫鍵連接的兩個Fab片段；(iii) Fd片段，其由VH及CH1域組成；(iv) Fv片段，其由抗體單臂之VL及VH域組成；(v) dAb片段，其由VH域組成；以及(vi)能夠特異性地結合至抗原的經分離之互補決定區(CDR)。此外，儘管Fv片段的兩個域(VL及VH)由個別的基因所編碼，但其等可使用重組方法，藉由合成連接子連接，使其等能製成單一蛋白質鏈，其中VL及VH域配對形成單價分子(例如稱為單鏈Fv (scFv))。包含VH及/或VL之抗原結合分子亦落入本發明範疇內。在VH之情況下，所述分子亦可包含

CH1、鉸鏈、CH2或CH3區之一或多者。此類單鏈抗體亦旨在涵蓋在用語抗體之「抗原結合部分」之內。亦涵蓋其他形式的單鏈抗體，例如雙鏈抗體。雙鏈抗體為雙價之雙特異性抗體，其中VH及VL域在單一多肽鏈上表現，但所使用的連接子太短而不允許在相同的鏈上的兩個域之間配對，從而迫使所述域與另一鏈之互補域配對並產生兩個抗原結合位點。

【0057】 可使用常規技術從完整抗體中製備抗體部分(例如Fab及F(ab')₂片段)，該技術例如完整抗體的木瓜酶(papain)或胃蛋白酶(pepsin)消化。此外，可使用例如本文所述之標準重組DNA技術來獲得抗體、抗體部分及免疫黏附素(immunoadhesin)分子。

【0058】 可藉由本領域中已知之任何方法確定抗GPCR5D抗體之類別(同型)及子類。一般而言，可使用對抗體之特定類別及子類具有特異性的抗體來確定抗體之類別及子類。此類抗體可商購取得。可藉由ELISA或西方墨點法以及其他技術來確定類別及子類。或者，可藉由將抗體之重鏈及/或輕鏈的恆定區之全部或部分進行定序以確定類別及子類，將其胺基酸序列與免疫球蛋白之各種類別及子類的已知胺基酸序列進行比較，並確定抗體之類別及子類。

【0059】 本文中所使用之用語「核酸」旨在包括DNA及RNA，例如基因體DNA、cDNA、mRNA、重組產生及化學合成的分子。核酸可為單股或雙股。RNA包括體外轉錄的RNA (IVT RNA)或合成的RNA。根據本發明，核酸較佳為經分離之核酸。根據本發明，用語「核酸編碼」及類似表述係指若核酸存在於適當環境中(較佳為細胞內)，則可表現以產生由該核酸編碼的蛋白質或肽。

【0060】 本文中所使用之用語「患者」及「個體」係指個體，例如人類、非人類靈長類(例如黑猩猩及其他猿類與猴種)；農場動物，例如鳥類、魚類、牛、

綿羊、豬、山羊及馬；家畜，例如狗及貓；實驗動物，包括嚙齒類，例如小鼠、大鼠及天竺鼠。用語未表示特定年齡或性別，因此涵蓋成人、年長者、兒童及新生兒。根據一較佳實施例，患者或個體為哺乳動物，更佳地患者或個體為人類。

【0061】 在下文中，將更詳細描述本發明之元件。此等元件係以具體實施例列出；然而，應理解，其等可以任何方式及任何數量進行組合，以創建額外的實施例。各種描述之實例及較佳實施例不應理解為將本發明侷限於僅明確描述之實施例。此描述應理解為支持並涵蓋將明確描述之實施例與任何數量之揭露及/或較佳元件結合的實施例。此外，除非上下文另有表明，否則本申請案中所有描述之元件的任何排列及組合應被視為由本申請案之描述揭露。

I. 抗GPCR5D抗原結合蛋白，特別是抗體及結合蛋白

【0062】 本發明提供抗原結合蛋白，特別是針對GPCR5D之抗體及其抗原結合部分，以及包含該抗體或抗原結合部分之GPCR5D結合蛋白。在某些實施例中，抗體可含有Fc區修飾以增強ADCC、改善穩定性及/或增強表現在NK細胞上之Fc γ 受體(例如Fc γ RIIIa)的結合親和力。

【0063】 在某些實施例中，本發明提供抗原結合蛋白，其包含含有SEQ ID NO: 1之CDR1、SEQ ID NO: 2之CDR2及SEQ ID NO: 3之CDR3的第一可變域，以及含有SEQ ID NO: 4之CDR1、SEQ ID NO: 5之CDR2及SEQ ID NO: 6之CDR3的第二可變域。根據一實施例中，抗原結合蛋白包含含有SEQ ID NO: 7或與其至少90%一致之序列的第一可變域，以及含有SEQ ID NO: 8或與其至少90%一致之序列的第二可變域。根據一較佳實施例，抗原結合蛋白特異性地結合GPCR5D，較

佳為如SEQ ID NO: 12所示。因此，本發明提供特異性地結合GPRC5D之抗體及其抗原結合部分，以及包含該抗體或抗原結合部分之GPRC5D結合蛋白。

【0064】 在某些實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體)可含有Fc區修飾以增強ADCC、改善穩定性及/或增強表現在NK細胞上之Fc γ 受體(例如Fc γ RIIIa)的結合親和力。

【0065】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體或抗原結合部分)與包含含有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的VH及含有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列的VL的抗體競爭或交叉競爭結合至人類GPRC5D，或與包含含有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的VH及含有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列的VL的抗體結合至相同的人類GPRC5D的表位。

【0066】 在一些實施例中，抗體或抗原結合部分具有SEQ ID NO: 3之重鏈CDR3 (HCDR-3)胺基酸序列。

【0067】 在一些實施例中，抗體或抗原結合部分分別具有含有SEQ ID NO: 1-3之胺基酸序列的重鏈CDR1-3 (HCDR1-3)(亦即具有含有SEQ ID NO: 1之HCDR-1、含有SEQ ID NO: 2之HCDR-2及含有SEQ ID NO: 3之HCDR-3)。

【0068】 在一些實施例中，抗原結合蛋白包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的重鏈可變域(VH)胺基酸序列。在一些此等實施例中，HCDR1至HCDR3分別具有如SEQ ID NO: 1至3中所述之胺基酸序列，亦即序列變異位於HCDR1至HCDR3之外。

【0069】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體或抗原結合部分)具有含有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的VH。

【0070】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體)具有與SEQ ID NO: 9或10之胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的HC胺基酸序列。在一些此等實施例中，HCDR1至HCDR3分別具有如SEQ ID NO: 1至3所述之胺基酸序列，亦即序列變異位於HCDR1至HCDR3之外。

【0071】 在一些實施例中，抗體包含SEQ ID NO: 9或10之HC胺基酸序列。

【0072】 在一些實施例中，抗體或抗原結合部分具有SEQ ID NO: 6之輕鏈CDR3 (LCDR-3)胺基酸序列。

【0073】 在一些實施例中，抗體或抗原結合部分分別具有含有SEQ ID NO: 4-6之胺基酸序列的輕鏈CDR1-3 (LCDR1-3)(亦即具有含有SEQ ID NO: 4之LCDR-1、含有SEQ ID NO: 5之LCDR-2及含有SEQ ID NO: 6之LCDR-3)。

【0074】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體或抗原結合部分)具有與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的輕鏈可變域(VL)胺基酸序列。在一些此等實施例中，LCDR1至LCDR3分別具有如SEQ ID NO: 4至6所述之胺基酸序列，亦即序列變異位於LCDR1至LCDR3之外。

【0075】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體或抗原結合部分)具有含有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列的VL。

【0076】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體)具有與SEQ ID NO: 11之胺基酸序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的LC胺基酸序列。在一些此等實施例中，LCDR1至LCDR3

分別具有如SEQ ID NO: 4至6所述之胺基酸序列，亦即序列變異位於LCDR1至LCDR3之外。

【0077】 在一些實施例中，抗原結合蛋白具有SEQ ID NO: 11之LC胺基酸序列。

【0078】 在某些實施例中，抗原結合蛋白包含上述重鏈之任一者及上述輕鏈之任一者。

【0079】 在一些實施例中，本發明之抗體或抗原結合部分分別包含SEQ ID NO: 1-6之HCDR1-3及LCDR1-3胺基酸序列。換言之，抗體或抗原結合部分包含

SEQ ID NO: 1之HCDR-1胺基酸序列；

SEQ ID NO: 2之HCDR-2胺基酸序列；

SEQ ID NO: 3之HCDR-3胺基酸序列；

SEQ ID NO: 4之LCDR-1胺基酸序列；

SEQ ID NO: 5之LCDR-2胺基酸序列；以及

SEQ ID NO: 6之LCDR-3胺基酸序列。

【0080】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是本發明之抗體或抗原結合部分)包含分別與SEQ ID NO: 7及8之胺基酸序列80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致(例如90%一致)的VH及VL。在一些此等實施例中，HCDR1至HCDR3及LCDR1至LCDR3分別具有如SEQ ID NO: 1至6所述之胺基酸序列，亦即序列變異位於HCDR1至HCDR3及LCDR1至LCDR3之外。

【0081】 可藉由例如使用預設參數的BLAST[®] (取自美國國家醫學圖書館之國家生物技術資訊中心網站)來獲得兩個胺基酸序列(或兩個核酸序列)的一致

性百分比。在一些實施例中，為了比較目的而比對的參考序列長度為參考序列的至少60% (例如至少70%、至少80%、至少90%或100%)。舉例而言，若序列表示成與給定的SEQ ID NO (例如 SEQ ID NO: 7)至少90%一致，則該序列較佳為在SEQ ID NO: 7之全長內與SEQ ID NO: 7之序列進行比對，且相對於SEQ ID NO: 7之全長計算出一致性百分比，該實例係針對100%之參考序列長度進行比對。

【0082】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是本發明之抗體或抗原結合部分)包含分別含有SEQ ID NO: 7及8之胺基酸序列的VH及VL (亦即包含含有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的VH及含有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列的VL)。

【0083】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是本發明之抗體)包含：

- a) 含有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 9之序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的HC，以及含有SEQ ID NO: 11之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 11之序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的LC；或
- b) 含有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 10之序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的HC，以及含有SEQ ID NO: 11之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 11之序列至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的LC。

【0084】 根據更具體之實施例，抗原結合蛋白(特別是本發明之抗體)包含：

- a) 含有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的HC及含有SEQ ID NO: 11之胺基酸序列的LC；或

- b) 含有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的HC及含有SEQ ID NO: 11之胺基酸序列的LC。

【0085】 根據本發明之一特定較佳實施例，抗原結合蛋白為抗體或其抗原結合片段。

【0086】 藉由本文所述之方法獲得的抗體類別可變更或轉換為另一類別或子類。在本發明之一些實施例中，使用本領域中熟習之方法經分離之編碼VL或VH之核酸分子，使得其不包括分別編碼CL或CH之核酸序列。隨後，編碼VL或VH之核酸分子係分別可操作地連接至來自不同類別之免疫球蛋白分子之編碼CL或CH的核酸序列。此可使用包含CL或CH序列之載體或核酸分子來達成，如上所述。舉例而言，最初為IgM之抗體可能會轉換為IgG類別。此外，類別轉換可用於將一IgG子類轉換為另一者，例如從IgG₁轉換為IgG₂。κ輕鏈恆定區可變更為例如λ輕鏈恆定區，或反之亦然。用於產生具有所需之Ig同型的本發明抗體之示例性方法包括以下步驟：經分離之編碼抗體重鏈之核酸分子及編碼抗體輕鏈之核酸分子、獲得重鏈之可變域、將重鏈可變域之編碼序列與所需同型的重鏈恆定區之編碼序列連接、在細胞中表現由連接序列編碼的輕鏈及重鏈，以及收集具有所需之同型的抗體。

【0087】 本發明之抗體可為IgG、IgM、IgE、IgA或IgD分子，但通常為人類IgG同型，例如人類IgG子類IgG₁、IgG_{2a}或IgG_{2b}、IgG₃或IgG₄。在較佳實施例中，抗體為人類IgG₁子類。

【0088】 在某些較佳實施例中，本發明之抗體具有單特異性。

【0089】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體)可在Fc區中包含至少一個突變。舉例而言，在一些實施例中，抗體為同型子類IgG₁，且在Fc區中包

含至少一個突變，其增強了由細胞(例如自然殺手(NK)細胞)對經抗體塗佈之標靶細胞的溶解(抗體依賴性細胞媒介的毒性或ADCC)。在某些實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體)可為例如NK細胞接合體。在某些實施例中，根據Fc區之Eu編號方案，突變係位於位置239及332之一或多處。位於位置239處之突變較佳為S239D。位於位置332處之突變較佳為I332E。在特定實施例中，含於抗原結合蛋白(特別是抗體)中之Fc區包含S239D及I332E突變兩者。

【0090】 在一些實施例中，抗體可在Fc區中包含至少一個突變，以增強穩定性(例如熱穩定性)。舉例而言，抗體可包含至少一條重鏈，其包含由一對半胱胺酸媒介的工程改造鏈內雙硫鍵，例如根據Eu編號方案，取代了位於胺基酸位置292處之精胺酸(R)(R292C)及位於胺基酸位置302處之纈胺酸(V)(V302C)。可在一條重鏈或兩條重鏈上進行半胱胺酸取代。

【0091】 在某些實施例中，抗體在Fc區中具有突變，以便1)改變效應物功能，及2)增強穩定性。在一些實施例中，Fc域可含有PCT專利公開號WO 2022/249146中所述之任何突變或突變之組合，其全部內容以引用之方式併入本文中。舉例而言，抗體重鏈可包含1)位於位置239 (例如S239D)及/或332 (例如I332E)之突變，及2)一對形成鏈內雙硫鍵的半胱胺酸取代，例如R292C及V302C (Eu編號方案)。1)之突變及2)之突變可位於相同或不同的重鏈上。在一些實施例中，1)及2)之突變在一條重鏈上。在一些實施例中，1)之突變在一條重鏈上，且2)之突變在不同的重鏈上。在一些實施例中，1)及2)之突變在兩條重鏈上。S239D/I332E/R292C/V302C四重突變之組合在本文中亦稱為「DE-DSB」突變。在特定實施例中，抗體具有SEQ ID NO: 10之重鏈胺基酸序列。

【0092】 在一些實施例中，具有本文所述之任何Fc突變或Fc突變之組合(例如DE-DSB突變)的本文所述之抗體相較於具有野生型Fc域之相同抗體具有增強的與FcγRIIIa (CD16a；在NK細胞上高度表現)之結合、增強的體內穩定性(例如增強的血清半衰期及/或降低的清除率)、增強的NK細胞接合或其任何組合(例如全部三者)。本文中所使用之用語「體內穩定性」係指本文所述之抗體保持完整(例如受限的降解及/或解折疊(*unfolding*))及功能性(例如保留的結合活性)的能力，以及在血清中保留足夠高的濃度以引發可測量之活性(例如標靶腫瘤細胞殺傷力)的能力。

【0093】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體)可為無岩藻醣基化。在某些實施例中，無岩藻醣基化抗原結合蛋白(特別是抗體)相較於不具有無岩藻醣基化的相同抗體具有增強的ADCC。可根據本領域中已知之任何方法製備抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體)。舉例而言，可根據Pereira等人之*MAbs* (2018) 10(5):693-711中所揭露之方法來產生抗原結合蛋白(特別是抗體)。在一些實施例中，可使用細胞工程改造(例如藉由剔除FUT8基因，其編碼了負責IgG Fc之核心岩藻醣基化的酶)來產生抗原結合蛋白(特別是具有無岩藻醣基化Fc域之抗體)(Yamane-Ohnuki等人之*Biotechnol Bioeng.* (2004) 87:614-22)。在一些實施例中，可使用重新導向岩藻糖合成以耗用細胞內部之岩藻糖池的異源性酶來產生抗原結合蛋白(特別是具有無岩藻醣基化Fc域之抗體)(GlymaxX[®]技術，ProBioGen)。在一些實施例中，可藉由向細胞培養物添加一或多種岩藻醣基化抑制劑分子(例如基夫鹼(*kifunensine*))來產生抗原結合蛋白(特別是具有無岩藻醣基化Fc域之抗體)(Krahn等人之*PHASCI* (2017) 96:428-39)。在某些實施例中，使用GlymaxX[®]技術(ProBioGen)將抗原結合蛋白(特別是抗體)無岩藻醣基化。

【0094】 在任何本文所述之實施例中，抗原結合蛋白(特別是抗體)可具有本文所述之任何Fc突變，以便1)改變效應物功能，及/或2)增強穩定性(例如DE-DSB突變)，且額外地可為無岩藻醣基化。根據進一步之實施例，具有包含本文所述Fc突變(例如DE-DSB突變)之Fc區的抗原結合蛋白(特別是抗體)不含無岩藻醣基化Fc區。

【0095】 在一些實施例中，抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體，或包含該抗體或其抗原結合部分之結合蛋白)具有至少一個(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或全部21個)以下性質：

- a) 較佳為特異性地結合至表現人類GPRC5D之細胞；
- b) 較佳為特異性地結合至表現食蟹獼猴GPRC5D之細胞；
- c) 較佳為特異性地結合至表現人類FcγRIIIa之細胞；
- d) 較佳為特異性地結合至表現食蟹獼猴FcγRIIIa之細胞；
- e) 較佳為特異性地結合至如SEQ ID NO: 12所述之人類GPRC5D，其具有至多20個胺基酸的N端缺失，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個胺基酸的N端缺失；
- f) 較佳為特異性地結合至SEQ ID NO: 15；
- g) 較佳為特異性地結合至SEQ ID NO: 16；
- h) 較佳為特異性地結合至SEQ ID NO: 17；
- i) 促進NK細胞接合；
- j) 促進NK細胞去顆粒化；
- k) 誘發NK細胞活化；
- l) 誘發初代漿細胞耗竭；

- m) 在NK細胞存在下促進癌細胞(例如多發性骨髓瘤癌細胞)的溶解；
- n) 在表現GPRC5D之細胞(例如多發性骨髓瘤細胞)存在下誘發周邊血液單核細胞(PBMC)少量或不釋放細胞激素(例如IFN- γ 、IL-6及/或TNF- α)；
例如，其中細胞激素增加不超過1倍、2倍、3倍、4倍或5倍；
- o) 在血漿中可體內定量至少28天(例如當以單次IV或SC劑量之例如25 mg/kg向食蟹獼猴投予時)；
- p) 在體內具有至少9天的終末消除半衰期(例如當以單次IV劑量之例如25 mg/kg向食蟹獼猴投予時)；
- q) 不會導致體內IFN- γ 、IL-8及TNF α 含量升高(例如當以單次IV或SC劑量之例如25 mg/kg向食蟹獼猴投予時)；
- r) 抑制體內腫瘤生長(例如針對多發性骨髓瘤腫瘤)；
- s) 較佳為特異性地結合至GPRC5D二聚體；
- t) 在小鼠中顯示交叉反應性；以及
- u) 在食蟹獼猴中顯示交叉反應性。

【0096】 當抗體包含了增強Fc域對NK細胞上Fc γ RIIIa之結合親和力的Fc突變及/或醣基化模式時，所述抗體在此亦稱為NK細胞接合體。在一些較佳實施例中，NK細胞接合體在此為具有本文所述之DE-DSB突變的抗GPRC5D IgG₁。在其他較佳實施例中，NK細胞接合體在此為具有無岩藻醣基化Fc域的抗GPRC5D IgG₁。在進一步較佳實施例中，NK細胞接合體在此為具有DE-DSB突變及/或具有無岩藻醣基化Fc域的抗GPRC5D IgG₁。因此，本發明特別較佳之抗原結合蛋白為包含以下之抗體：1)含有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的HC及含有SEQ ID NO: 11之胺基酸序列的LC，或2)含有SEQ ID NO: 10 (DE-DSB突變)之胺基酸序列的

HC及含有SEQ ID NO: 11之胺基酸序列的LC。根據一特別較佳實施例，抗體之Fc域具有1)無岩藻醣基化。

【0097】 在一些實施例中，抗GPC5D抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體或其抗原結合部分)或包含該抗體或抗原結合部分之結合蛋白可抑制腫瘤生長及/或誘發體內腫瘤生長抑制。在一些實施例中，抗GPC5D抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體或其抗原結合部分或結合蛋白)可減緩或逆轉癌症患者的轉移。在一些實施例中，抗GPC5D 抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體或其抗原結合部分或結合蛋白)可減少或消除癌症患者的癌症復發。在一些實施例中，抗GPC5D抗原結合蛋白(特別是本文所述之抗體或其抗原結合部分或結合蛋白)可延長癌症患者的存活率。在某些實施例中，癌症患者患有多發性骨髓瘤。亦考慮了上述性質之任何組合。

【0098】 本發明之結合蛋白可為本文所述之抗GPC5D抗體或其抗原結合部分，或可包含衍生的或連接至另一分子(例如另一肽或蛋白質)的抗GPC5D抗體或抗原結合部分。一般而言，抗體或其抗原結合部分係經衍生或連接，使得GPC5D結合不受衍生或連接的不利影響。因此，本發明之結合蛋白旨在包括本文所述之抗GPC5D抗體或抗原結合部分的完整及修飾形式。舉例而言，本發明之抗體或抗體部分可功能性地連接(藉由化學偶聯、基因融合、非共價結合或其他方式)至一或多個其他分子實體，例如另一抗體(例如雙特異性抗體)、標記(例如放射性或螢光可偵測標記)或治療劑(例如細胞毒素或治療上有用的放射性同位素)。

【0099】 在一些實施例中，結合蛋白為融合蛋白，其中抗GPC5D抗體或其抗原結合部分係連接至另一多肽(例如Fc多肽，其二聚化以形成Fc域)。在某些

實施例中，僅抗GPCR5D抗體之可變域連接至多肽。在某些實施例中，抗GPCR5D抗體之VH域係連接至第一多肽，而抗GPCR5D抗體之VL域係連接至第二多肽，其藉由使得VH域與VL域可彼此相互作用以形成抗原-結合位點的方式來與第一多肽結合。在一些實施例中，VH域與VL域由連接子分開，使得VH域與VL域仍可彼此相互作用(例如單鏈抗體)。隨後，VH-連接子-VL抗體(例如scFv)係連接至感興趣之多肽(例如Fc多肽)。在scFv中，VH可位於VL的N端或C端，且其等之間的連接子可為可撓性連接子，例如富含Gly/Ser之連接子。舉例而言，連接子可含有一或多個(例如2、3、4或5個)GGGGS (SEQ ID NO: 13)模體(motif)。

【0100】 在一些實施例中，結合蛋白為雙特異性結合分子。在某些實施例中，雙特異性結合分子額外具有另一不同的抗GPCR5D抗體或靶向不同蛋白質(例如癌症抗原)的抗體、其活性媒介疾病狀況(例如癌症)之另一細胞表面分子或免疫細胞(例如NK細胞或T細胞)上之細胞表面分子的結合特異性。在一些實施例中，雙特異性結合分子結合GPCR5D及CD3。在一些實施例中，結合蛋白為雙特異性T細胞接合體。

【0101】 在一些實施例中，結合蛋白為嵌合抗原受體(CAR)。此種CAR可用於CAR-T療法，其中T細胞經工程改造以表現靶向GPCR5D之CAR。

【0102】 在一些實施例中，結合蛋白為融合抗體或免疫黏附素。

【0103】 本發明之抗原結合蛋白可為例如單鏈抗原結合蛋白、雙鏈抗原結合蛋白或包含超過兩條多肽鏈之抗原結合蛋白。

【0104】 本發明具體提供抗GPCR5D IgG₁，其包含含有SEQ ID NO: 10 (DE-DSB突變)之胺基酸序列的HC及含有SEQ ID NO: 11之胺基酸序列的LC。本發明

進一步具體提供包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的抗GPRC5D IgG₁及包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列的LC，其中Fc域係無岩藻醣基化。

【0105】 本發明之抗原結合蛋白較佳為在小鼠及/或猴子(特別是食蟹獼猴)中顯示交叉反應性。根據一特別較佳實施例，若抗原結合蛋白呈抗體形式或抗體片段形式(例如本文所述之抗GPRC5D IgG₁)，則其表現出此種交叉反應性。此種交叉反應性在試驗及臨床前測試(例如體外及體內測試)中特別有利，例如在或具有個別動物之樣本中。

【0106】 本文所述之抗原結合蛋白特別適合用作藥劑。根據一較佳實施例，藥劑係用於治療癌症，較佳為多發性骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、腎癌、乳癌、卵巢癌或胰臟癌。根據一特別較佳實施例，癌症為多發性骨髓瘤。舉例而言，癌症可為燜燃型(無症狀型)多發性骨髓瘤或活動型(症狀型)多發性骨髓瘤。多發性骨髓瘤可為超二倍體(HMM)或非超二倍體或低二倍體。骨髓瘤亞型可為例如IgG、IgA、IgM、IgE或IgD骨髓瘤。進一步較佳之骨髓瘤形式包括輕鏈骨髓瘤、非分泌性骨髓瘤、孤立型漿細胞瘤、多發性孤立型漿細胞瘤、髓外骨髓瘤及意義不明單株免疫球蛋白增高症(MGUS)。根據一特別較佳實施例，癌症為GPRC5D陽性癌症。

II. 抗體及結合蛋白之製造

【0107】 本發明之抗原結合蛋白(特別是抗體及其抗原結合部分，或包含該抗體或抗原結合部分之結合蛋白)可使用經分離之核酸分子(例如表現構築體)重組產生。個別可變多肽鏈(例如重鏈及輕鏈)可由相同或不同的經分離之核酸分子上的核苷酸序列編碼而成。在本文中稱為「(經)分離的」或「(經)純化的」

生物分子(例如核酸或多肽)為以下該等：(1)已從其來源生物分子(例如基因體DNA或細胞RNA之核酸，或多肽)中分離出來的生物分子；及/或(2)自然界中不存在的生物分子。可將每條多肽鏈的編碼序列選殖至單一載體或選殖至個別的載體中。因此，本發明亦提供一或多種編碼本發明之抗原結合蛋白的核酸分子。根據一實施例，編碼本發明之抗原結合蛋白的核酸分子為DNA或RNA，較佳為mRNA。本發明之核酸分子編碼抗原結合蛋白之一或多條多肽鏈。編碼超過一條肽鏈的核酸可為多順反子核酸(polycistronic nucleic acid)。較佳為藉由體外轉錄獲得個別RNA。

【0108】 可將編碼根據本發明之抗原結合蛋白的核酸(例如RNA)導入T細胞或其他具有溶解潛力的細胞(特別是淋巴樣細胞)中。因此，本發明亦涉及將一或多種編碼本發明之抗原結合蛋白的核酸分子體外或體內導入(亦即轉染)細胞(例如T細胞)中。根據本發明，較佳為以裸露形式或以載體投予編碼抗原結合蛋白的核酸分子。考慮用於本發明的個別載體(例如脂質載體)包括可與核酸分子(例如RNA)結合的任何物質或載劑，例如藉由與核酸形成複合物，或形成其中核酸經封閉或封裝的囊泡。相較於裸核酸，此有利地導致核酸穩定性增加。特別是，可增加血液中之核酸穩定性。舉例而言，可使用具有界定粒徑的奈米顆粒RNA調配物，例如來自RNA與微脂體的脂複合物(lipoplex)，例如包含DOTMA與DOPE、或DOTMA與膽固醇的脂複合物。

【0109】 根據本發明，核酸分子可單獨存在或與其他核酸組合，其可為同源性或異源性。在較佳實施例中，核酸係功能性連接至一或多種表現控制序列，其可與該核酸同源或異源。用語「同源」係指核酸亦天然地功能性連接，且用語「異源」係指核酸未天然地功能性連接。核酸與表現控制序列係彼此「功能性連

接」，若其等以此種方式彼此共價連接，則該核酸之表現或轉錄受到該表現控制序列的控制或影響。可使用適當表現的構築體在例如哺乳動物宿主細胞中產生抗原結合蛋白(特別是本發明之抗體或其抗原結合部分或結合蛋白)。本領域具有通常知識者可識別根據本發明之適合的宿主細胞。可用作表現宿主之哺乳動物細胞株包括許多可購自美國典型培養物保藏中心(ATCC)的永生細胞株。除其他事項外，此等細胞包括中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、NS0細胞、SP2細胞、HEK-293T細胞、293 Freestyle細胞(Invitrogen)、NIH-3T3細胞、HeLa細胞、幼倉鼠腎(BHK)細胞、非洲綠猴腎細胞(COS)、人類肝細胞癌細胞(例如Hep G2)、A549細胞及許多其他細胞株。其他可用的細胞株為昆蟲細胞株(例如Sf9或Sf21細胞)及酵母菌細胞株。可根據細胞株的表現量來選擇細胞株。可使用熟習的方法從宿主細胞培養物中經分離及純化抗原結合蛋白，該方法例如離心法、超離心法、蛋白A、蛋白G、蛋白A/G或蛋白L純化法及/或離子交換層析術。

【0110】 用於產生抗原結合蛋白(特別是抗體、抗原結合部分或結合蛋白)之宿主細胞亦稱為「重組宿主細胞」。本文中所使用之「重組宿主細胞」(或簡稱為「宿主細胞」)係指其中已導入重組表現構築體的細胞。根據定義，重組宿主細胞不存在於自然界。由表現構築體產生的蛋白質為重組蛋白質。

【0111】 本發明亦提供含有根據本發明之抗原結合蛋白、核酸分子或載體的免疫效應細胞。與本發明結合使用的免疫效應細胞較佳為選自由以下組成之群組：T細胞、自然殺手(NK)細胞、淋巴毒素活化殺手(LAK)細胞及細胞毒性T淋巴球(CTL)。在活化/刺激後，此等細胞毒性淋巴球之每一者皆觸發標靶細胞的破壞。根據一實施例中，免疫效應細胞為人類免疫效應細胞。

III. 醫藥組成物及用途

【0112】 本發明之另一態樣為醫藥組成物，其包含作為活性成分(或作為唯一活性成分)的抗原結合蛋白(特別是本發明之抗體或其抗原結合部分或結合蛋白)、本發明之經分離之核酸分子、載體或宿主細胞。醫藥組成物可額外包含一或多種醫藥上可接受之賦形劑。「醫藥上可接受之賦形劑」可包括適當的溶劑、分散介質、抗菌劑與抗真菌劑、等張劑及其類似物。醫藥上可接受之賦形劑的實例為水及鹽液(例如磷酸鹽緩衝鹽液)。

【0113】 本文之醫藥組成物可用於治療癌症，例如GPCR5D陽性癌症。在一些實施例中，癌症可選自例如多發性骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、腎癌、乳癌、卵巢癌及胰臟癌。在特定實施例中，癌症為多發性骨髓瘤。舉例而言，癌症可為燜燃型(無症狀型)多發性骨髓瘤或活動型(症狀型)多發性骨髓瘤。多發性骨髓瘤可為超二倍體(HMM)或非超二倍體或低二倍體。骨髓瘤亞型可為例如IgG、IgA、IgM、IgE或IgD骨髓瘤。在一些實施例中，本發明之抗體或其抗原結合部分或結合蛋白係用於治療輕鏈骨髓瘤、非分泌性骨髓瘤、孤立型漿細胞瘤、多發性孤立型漿細胞瘤、髓外骨髓瘤及意義不明單株免疫球蛋白增高症(MGUS)。

【0114】 「治療有效量」為結合蛋白(例如抗GPCR5D抗體或其抗原結合部分)或包含其之醫藥組成物的量，其將在一定程度上緩解待治療疾病之一或多種症狀。一治療有效量之抗癌治療劑可例如導致腫瘤生長延遲、癌細胞消除、腫瘤縮小、存活率增加、轉移減慢或減少，或其他健康照護專業人員期望的臨床終點。

【0115】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合部分或結合蛋白可與另一用於治療癌症之醫藥/藥物共同投予或調配。額外的治療劑治療可包含例如免疫刺

激劑、疫苗、化療劑、抗腫瘤劑、抗血管生成劑、皮質類固醇及/或放射線療法。在一些實施例中，額外的治療劑治療可包含不同的抗癌抗體。

【0116】 本文之醫藥組成物可透過非經口投予(例如靜脈輸注)而遞送至患者。

IV. 診斷用途

【0117】 抗原結合蛋白(特別是本發明之抗體及抗原結合部分或結合蛋白)亦可用於診斷過程(例如體外或離體)。舉例而言，抗原結合蛋白、抗體或其抗原結合部分、或結合蛋白可用於檢測及/或測量來自患者生物樣本(例如腫瘤活體組織切片、組織樣本或血液樣本)中之GPRC5D含量。適合的檢測及測量方法包括免疫學方法，例如流式細胞術、酵素結合免疫吸附分析法(ELISA)、化學發光分析法、放射免疫分析法及免疫組織化學法。本發明進一步涵蓋套組(例如診斷套組)，其包含本文所述之抗原結合蛋白、抗體、或其抗原結合部分、或結合蛋白、核酸分子、或宿主細胞。

V. 治療

【0118】 本發明進一步提供了根據本發明之抗原結合蛋白(特別是抗體或其抗原結合部分)、經分離之核酸分子、載體、宿主細胞或醫藥組成物，以用於醫學或作為藥劑，較佳為用於治療癌症。

【0119】 同樣地，本發明提供了根據本發明之抗原結合蛋白、經分離之核酸分子、載體、宿主細胞或醫藥組成物，以用於製備藥劑，較佳為其中所術藥劑係用於治療癌症。

【0120】本發明亦提供了治療疾病之方法，其包含向個體投予一治療有效量之根據本發明之抗原結合蛋白、經分離之核酸分子、載體、宿主細胞或醫藥組成物。所述疾病較佳為癌症。

【0121】根據本發明，癌症較佳為選自由以下組成之群組：多發性骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、腎癌、乳癌、卵巢癌或胰臟癌。多發性骨髓瘤可為超二倍體(HMM)或非超二倍體或低二倍體。骨髓瘤亞型可為例如IgG、IgA、IgM、IgE或IgD骨髓瘤。進一步較佳之骨髓瘤形式包括輕鏈骨髓瘤、非分泌性骨髓瘤、孤立型漿細胞瘤、多發性孤立型漿細胞瘤、髓外骨髓瘤及意義不明單株免疫球蛋白增高症(MGUS)。根據一特別較佳實施例，癌症為GPC5D陽性癌症。

【0122】本文所述之蛋白質及組成物可經由任何常規途徑投予，例如藉由非經口投予，包括藉由注射或輸注。投予較佳為非經口投予，例如靜脈、動脈、皮下、皮內或肌肉內投予。

【0123】適合非經口投予之組成物通常包含活性化合物之無菌水性或非水性製備物，其較佳為與接受者之血液大約等張。

【0124】本文所述之蛋白質及組成物較佳為以治療有效量投予。

【0125】在進一步之實施例中，本發明亦涉及：

1. 一種結合蛋白，其包含抗體之抗原結合部分，該抗體分別包含SEQ ID NO: 1-6之HCDR1-3及LCDR1-3胺基酸序列。
2. 如項目1所述之結合蛋白，其中該抗體包含分別與SEQ ID NO: 7及8之胺基酸序列至少90%一致的重鏈可變域(VH)胺基酸序列及輕鏈可變域(VL)胺基酸序列。

3. 如項目2所述之結合蛋白，其中該抗體包含含有SEQ ID NO: 7之VH及含有SEQ ID NO: 8之VL。
4. 如項目1至3中任一項所述之結合蛋白，其中該抗體為人類IgG同型。
5. 如項目4所述之結合蛋白，其中該抗體為人類IgG1同型子類。
6. 如項目1至5中任一項所述之結合蛋白，其中該抗體包含分別與SEQ ID NO: 9及11之胺基酸序列至少90%一致的重鏈(HC)胺基酸序列及輕鏈(LC)胺基酸序列。
7. 一種包含抗體之結合蛋白，該抗體包含含有SEQ ID NO: 9之重鏈(HC)及含有SEQ ID NO: 11之輕鏈(LC)。
8. 如項目1至6中任一項目所述之結合蛋白，其中該抗體包含至少一個Fc域突變。
9. 如項目8所述之結合蛋白，其中該抗體包含至少一個增強該抗體與人類FcγRIIIa之結合的Fc域突變。
10. 如項目8所述之結合蛋白，其中該Fc域突變係位於位置239 (視情況地S239D)或位置332 (視情況地I332E)，其中該殘基係根據Eu編號系統編號。
11. 如項目8所述之結合蛋白，其中該抗體包含位於位置239及332 (視情況地S239D及I332E)之Fc域突變，其中該殘基係根據Eu編號系統編號。
12. 如項目8至11中任一項目所述之結合蛋白，其中該抗體包含至少一個增強抗體穩定性的Fc域突變。

13. 如項目1至11中任一項目所述之結合蛋白，其中該抗體包含一對突變為半胱胺酸的Fc域，視情況地其中該突變發生在位置292及302 (視情況地其中該突變為R292C及V302C)，其中該殘基係根據Eu編號系統編號。
14. 如項目8至13中任一項目所述之結合蛋白，其中該抗體包含分別與SEQ ID NO: 10及11之胺基酸序列至少90%一致的重鏈(HC)胺基酸序列及輕鏈(LC)胺基酸序列。
15. 一種包含抗體之結合蛋白，該抗體包含含有SEQ ID NO: 10之重鏈及含有SEQ ID NO: 11之輕鏈。
16. 如項目1至15中任一項目所述之結合蛋白，其中該抗體係無岩藻醣基化。
17. 如項目1至16中任一項目所述之結合蛋白，其中該結合蛋白為融合蛋白。
18. 如項目1至17中任一項目所述之結合蛋白，其中該結合蛋白為雙特異性或多特異性結合分子。
20. 一種編碼如項目1至18中任一項目所述之結合蛋白的經分離之核酸分子。
21. 一種包含如項目20所述之經分離之核酸分子的載體，其中該載體視情況地包含表現控制序列。
22. 一種包含如項目20所述之經分離之核酸分子的宿主細胞。
19. 一種醫藥組成物，其包含如項目1至18中任一項目所述之結合蛋白及一醫藥上可接受之賦形劑。
23. 一種用於生產結合蛋白之方法，其包含

提供如項目22所述之宿主細胞，

在適合表現該結合蛋白之條件下培養該宿主細胞，以及

從該培養物中經分離之所產生的結合蛋白。

24. 一種用於在有需求之人類患者中治療癌症的方法，其包含向該患者投予一治療有效量之如項目1至18中任一項目所述之結合蛋白或如項目19所述之醫藥組成物。
25. 如項目24所述之方法，其中該癌症為多發性骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、腎癌、乳癌、卵巢癌或胰臟癌。
26. 如項目24所述之方法，其中該癌症為多發性骨髓瘤。
27. 如項目1至18中任一項目所述之結合蛋白或如項目19所述之醫藥組成物，以用於在項目24至26中任一項目所述之方法中治療有需求之人類。
28. 一種如項目1至18中任一項目所述之結合蛋白的用途，以製造用於在項目24至26中任一項目所述之方法中治療有需求之人類患者的藥劑。

【0126】 除非本文中另有定義，否則結合本發明所用的科學及技術用語應具有本領域中具有通常知識者通常理解的含義。以下描述了示例性方法及材料，儘管與本文所述方法及材料類似或等效之方法及材料亦可用於本發明之實踐或測試。在整份說明書及實施例中，詞語「具有(have)」及「包含(comprise)」，或變型例如「具有(has)」、「具有(having)」、「包含(comprises)」或「包含(comprising)」應被理解為暗指包括所陳述之整數或整數組，但不排除任何其他整數或整數組。本文中所使用之應用於一或多個感興趣之值的用語「大約」或「約」係指與所述之參考值類似的值。在某些實施例中，除非另有說明或另外從上下文中明顯看

出，否則該用語係指落入所陳述之參考值的任一方向(大於或小於) 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更少以內之值的範圍。

【0127】 根據本發明，附屬請求項中的回引(back-reference)係指對由回引指示之請求項的每一個組合的直接且明確的揭露的簡短書寫。另外，本文的標題是為了便於組織而創建的，並不旨在以任何方式限制所要求保護的發明的範圍。本文揭露之任何化合物可用於本文所述之任何治療方法，其中待治療之個體如本文任一處所定義。此外，本文之標題係為了便於組織而創建，且不旨在以任何方式限制所主張之發明的範疇。

【0128】 為了可更好地理解本發明，闡述了以下實例。此等實例僅用於說明目的，而不被解釋為以任何方式限制本發明之範疇。

實例

實例1：GPRC5D結合體之產生及經工程改造之增強ADCC活性之抗體的製備

【0129】 藉由噬菌體展示法(phage display)來產生GPRC5D結合體，隨後以IgG形式進行定序及篩選。藉由FACS測量用於特異性結合至表現GPRC5D之穩定細胞株的篩選。識別出幾種GPRC5D結合體，包括殖株11。

【0130】 一旦識別出特異性結合體，則發明人研究不同的「Fc增強」形式，以增加對CD16a的親和力而增強ADCC功能。具體而言，將IgG轉化為兩種形式：1) DE-DSB (Fc區的S239D/I332E突變，及R292C/V302C突變，以工程改造雙硫鍵來穩定分子；參見例如PCT公開號WO 2022/249146)，以及2)無岩藻醣基化形式(Glymax[®]技術，Probiogen)。DE-DSB形式之殖株11亦稱為11-DE-DSB，而無岩藻醣基化形式之殖株11亦稱為11-afuco。

【0131】 以不同形式製備針對不相關小分子標靶之抗體，以作為同型對照(IC)。不同形式之同型對照係稱為IC-wt-IgG₁、IC-afuco及IC-DE-DSB。

【0132】 作為比較參考，不同抗GPCR5D抗體之VH與VL序列(「基準1」或「BM1」、「基準2」或「BM2」、「基準3」或「BM3」及「基準4」或「BM4」)係用於製備比較抗體。BM1、BM2、BM3及BM4序列為公開可得的GPCR5D結合蛋白之抗GPCR5D部分的序列。比較抗體係製成野生型IgG₁形式(分別為「BM1 IgG₁ wt」或「BM2 IgG₁ wt」)、無岩藻糖基化IgG₁形式(分別為「BM1-afuco」及「BM2-afuco」)及DE-DSB形式(分別為「BM1-DE-DSB」及「BM2-DE-DSB」)。
BM1及BM2兩者皆被選為較佳的基準，係因其等皆為本文識別出之GPCR5D結合體(殖株11)的完全競爭劑，而BM3及BM4僅為部分競爭劑。

實例2：藉由表面電漿共振(SPR)來評估與FcγR的結合

【0133】 藉由SPR分析抗體與人類Fc受體之相互作用，其係於以下測試條件中使用Biacore™ T200儀器：

- 經由7種Fcγ受體之胺偶聯將抗His抗體固定在CM5感測器晶片上：
huFcγRI、huFcγRIIa_H131、huFcγRIIa_R131、huFcγRIIb/c、
huFcγRIIIa_V158、huFcγRIIIa_F158、huFcγRIIIb，或使用生物素CAPture
來進行huFcRn分析
- 捕獲各個Fc受體
- 藉由單循環動力學(single cycle kinetics, SCK)在0.6 nM至2000 nM之濃度範圍內測定親和力常數
- 在pH5.9及pH7.4下研究與huFcRn的相互作用

【0134】表2.1顯示了針對所列舉huFcγRIIIa (F158及V158多形體)之抗體的K_D值(兩次重複的平均值)。相較於野生型IgG₁，DE-DSB及afuco形式皆改善了對FcγRIIIa的兩種多形體的親和力。

表2.1. 抗GPC5D抗體與huFcγRIIIa的結合

	huFcγRIIIa_F158			huFcγRIIIa_V158		
	NormB	KD (M)	與 BM1 IgG ₁ wt 相比的倍數變化	NormB	KD (M)	與 BM1 IgG ₁ wt 相比的倍數變化
11-DE-DSB	45	2,27E-08	10	38	1,22E-08	4
11-afuco	37	2,90E-08	8	34	4,93E-09	10
BM1-afuco	41	2,13E-08	11	36	3,57E-09	13
BM1 IgG ₁ wt	16	2,35E-07	1	26	4,80E-08	1

【0135】表2.2顯示了針對所列舉huFcγRIIA(H167及R167多形體 (polymorphs))之抗體的K_D值(兩次重複的平均值)。相較於野生型，DE-DSB及afuco形式未觀察到對親和力的影響。

表2.2. 抗GPC5D抗體與huFcγRIIA之結合

	huFcγRIIA_H167			huFcγRIIA_R167		
	NormB	KD (M)	與 BM1 IgG ₁ wt 相比的倍數變化	NormB	KD (M)	與 BM1 IgG ₁ wt 相比的倍數變化
11-DE-DSB	15	2,58E-06	1	2	NB	NA

11-afuco	13	2,13E-06	1	2	NB	NA
BM1-afuco	8	NB	NA	-4	NB	NA
BM1 IgG₁ wt	16	1,83E-06	1	1	NB	NA

NB= 非結合體 NA=不適用

【0136】 表2.3顯示了針對所列舉huFcγRI之抗體的K_D值(兩次重複的平均值)。相較於野生型，DE-DSB及afuco形式未觀察到對親和力的影響。

表2.3. 抗GPC5D抗體與huFcγRI的結合

	huFcγRI		
	NormB	KD (M)	與 BM1 IgG ₁ wt 相比的 倍數變 化
11-DE-DSB	29	4,99E-10	2
11-afuco	24	1,17E-09	1
BM1-afuco	28	9,22E-10	1
BM1 IgG₁ wt	25	1,03E-09	1

【0137】 表2.4顯示了針對所列舉huFcRn之抗體在pH5.9及pH7.4下的K_D值(兩次重複的平均值)。相較於野生型，DE-DSB及afuco形式未觀察到對親和力的影響。

表2.4. 抗GPC5D抗體與huFcRn的結合

	huFcRn				
	NormB pH6	KD (M) pH5.9	與 BM1 IgG ₁ wt 相比的 倍數變 化	NormB pH7.4	KD (M) pH7.4
11-DE-DSB	94	9,82E-07	1	27	NB
11-afuco	103	4,08E-07	1	5	NB
BM1-afuco	84	BAD FIT	NA	6	NB
BM1 IgG ₁ wt	96	5,91E-07	1	9	NB

NB= 非結合體 NA=不適用

【0138】表2.5顯示了針對所列舉huFcγRIIIb之抗體的K_D值(兩次重複的平均值)。相較於野生型IgG₁，DE-DSB及afuco形式改善了對FcγRIIIb的親和力。

表2.5. 抗GPCR5D抗體與huFcγRIIIb的結合

	huFcγRIIIb		
	NormB	KD (M)	與 BM1 IgG ₁ wt 相比的倍 數變化
11-DE-DSB	35	5,29E-08	34
11-afuco	33	1,83E-07	10
BM1-afuco	32	BAD FIT	NA
BM1 IgG ₁ wt	21	1,82E-06	1

NA=不適用

實例3：ADCC增強抗體與過度表現人類及食蟹獼猴FcγRIIIa之HEK細胞的細胞結合

【0139】 使用FACS測試抗體結合細胞的能力，該細胞在其表面上表現人類或食蟹獼猴FcγRIIIa。所使用的細胞株為表現人類FcγRIIIa V158及食蟹獼猴FcγRIIIa的重組穩定HEK293 T細胞，以評估食蟹獼猴交叉反應性。

【0140】 藉由MACSQuant16 (Miltenyi Biotech)流式細胞儀，使用96孔盤來進行流式細胞術結合試驗。

【0141】 針對劑量反應曲線，將細胞與連續稀釋之抗體(0.0001 μg/mL至100 μg/mL)在4°C下培養1小時。在PBS 緩衝液中進行一次洗滌步驟後，按照製造商的建議，將細胞與二次檢測抗體(以1/1000稀釋)(與A488螢光染料接合的山羊抗人類IgG (H+L)；Jackson ImmunoResearch，目錄編號109-546-088)在4°C下培養30分鐘，隨後進行兩次洗滌步驟。針對活/死細胞存活率評估，根據製造商的方案，使用DAPI染液(4',6-二氨基-2-苯基吲哚(二鹽酸鹽)，Miltenyi Biotech，目錄編號130-111-170)將細胞染色。

【0142】 藉由VenturiOne[®]軟體進行分析。首先以FSC/SSC圈選(gated)細胞。從所得的細胞群中，圈選單一細胞及隨後的存活細胞。利用二次抗體之中位數螢光強度(MFI)來分析結合。

【0143】 藉由使用單位點特異性結合四參數模型及GraphPad Prism軟體繪製適當的非線性迴歸曲線來確定各個分子的表觀K_D (圖1)。

【0144】 表3.1顯示抗體與表現食蟹獼猴及人類FcγRIIIa之HEK293 T細胞之結合的FACS數據。將比較物抗GPCR5D抗體基準2 (BM2)導入IgG₁野生型形式中以作為參考。報導了三次實驗的平均值。

表3.1. 抗GPCR5D抗體與表現人類或食蟹獼猴FcγRIIIa之HEK293細胞的結合

	HEK293 T 人類 FcγRIIIa V158		HEK293 T 食蟹獼猴 FcγRIIIa	
	表觀 KD (nM)	與 IgG ₁ wt 相比的倍數 變化	表觀 KD (nM)	與 IgG ₁ wt 相比的倍數 變化
11-DE-DSB	1.22	28	1.4	26
11-afuco	1.04	33	0.76	48
BM2 IgG ₁ wt	34.04	1	36.5	1

【0145】兩種形式(DE-DSB及afuco)之殖株11顯示出對人類及食蟹獼猴FcγRIIIa的類似親和力(0.76至1.4 nM)。相較於野生型IgG₁形式，兩種形式對人類及食蟹獼猴FcγRIIIa的親和力皆獲得改善(增加26至48倍)。

實例4: ADCC增強抗體與多發性骨髓瘤MM.1R細胞株及過度表現人類GPCR5D (hGPCR5D)之HEK細胞的結合

結合至細胞株

【0146】進行FACS分析，以確定ADCC增強抗體與表面表現GPCR5D之細胞的結合能力。所使用之細胞株為：

- 多發性骨髓瘤細胞株MM.1R (購自ATCC - 美國典型培養物保藏中心)，
- 表現人類及食蟹獼猴GPCR5D之重組穩定Flp-In™-293細胞，以評估食蟹獼猴交叉反應性，
- 表現人類GPCR5D (全長或前15或20個殘基截短的N端缺失)之穩定HEK FITR細胞，以記錄GPCR5D結合域，以及
- 表現人類GPCR5A/GPCR5D嵌合體之FreeStyle™ 293-F細胞，其中GPCR5D之N端域及胞外環係由GPCR5A之該等取代，以記錄GPCR5D結合域。

【0147】亦研究了與REC-1細胞株(購自ATCC)(GPCR5D表現呈陰性)的結合，以評估所列舉之抗體的特異性。

【0148】藉由iQue Screener流式細胞儀使用384孔盤來進行流式細胞術結合試驗。

【0149】針對劑量反應曲線，將細胞與連續稀釋之數個濃度的抗體在4°C下培養1小時。在三次洗滌步驟後，將細胞與二次檢測抗體(山羊抗人類IgG A488)在4°C下培養30分鐘，隨後進行三次洗滌步驟。為了區分活/死細胞，根據製造商的方案，利用DAPI將細胞染色。

【0150】藉由Forecyt®軟體進行分析。首先以前散射 (forward scatter, FSC)/側散射(side scatter, SSC)圈選細胞。從所得的細胞群中圈選單一活細胞。利用二次抗體之中位數螢光強度(MFI)來分析結合。使用GraphPad Prism軟體來產生曲線及表觀 K_D (「App K_D 」)計算結果(圖2)。

【0151】表4.1呈現了所列舉之抗體與表現GPCR5D之食蟹獼猴及人類Flp-In™-293細胞之結合的FACS數據。使用未轉染的Flp-In™-293細胞來評估GPCR5D之結合特異性。野生型形式之同型對照IgG₁ (「IC-IgG₁-wt」)係用作陰性對照。導入BM1及BM2以作為參考。

表4.1. 抗GPCR5D抗體與人類及食蟹獼猴GPCR5D的結合

	表觀 K_D (nM)		
	Flp-In™-293 huGPCR5D	Flp-In™-293 cyGPCR5D	Flp-In™-293
11-afuco	2.2	1.3	NB
BM2-IgG ₁ -wt	4.4	> 10	NB
BM1-afuco	0.8	4.6	NB
BM3-IgG ₁ -wt	5.8	NB	NB
IC-IgG ₁ -wt	NB	NB	NB

NB=無結合

【0152】 11-afuco、BM1-afuco、BM2-IgG₁-wt及BM3-IgG₁-wt抗體全部結合至表現在Flp-In™-293細胞上的人類GPCR5D。11-afuco、BM1-afuco及BM2-IgG₁-wt抗體亦結合至表現在Flp-In™-293細胞上的食蟹獼猴GPCR5D，其中BM2-IgG₁-wt抗體以最低親和力結合。BM3-IgG₁-wt不結合至表現在Flp-In™-293細胞上的食蟹獼猴GPCR5D。

【0153】 表4.2呈現了所列舉之抗體與HEK FITR細胞中表現的人類GPCR5D之截短變異體之結合的FACS數據。IC-IgG₁-wt係用作陰性對照。導入BM1、BM2及BM3以作為參考。

表4.2. 抗GPCR5D抗體與GPCR5D之截短變異體的結合

	表觀 K _D (nM)		
	HEK FITR hGPCR5D (全長)	HEK FITR hGPCR5D (aa16-aa330)	HEK FITR hGPCR5D (aa21-aa330)
11-afuco	1,3	0,8	1,0
BM2-IgG ₁ -wt	0,9	0,9	1,1
BM1-afuco	1,0	NB	NB
BM3-IgG ₁ -wt	2,5	NB	NB
IC-IgG ₁ -wt	NB	NB	NB

NB=無結合

【0154】 此等結果凸顯了相較於BM1-afuco抗體，11-afuco抗體如何結合至GPCR5D的差異。

【0155】表4.3呈現了所列舉之抗體與表現GPCR5D/GPCR5A嵌合蛋白質之細胞結合的FACS數據。IC-IgG₁-wt係用作陰性對照。導入BM1及BM2以作為參考。SEQ：SEQ ID NO.。

表4.3. 抗GPCR5D抗體與GPCR5D/GPCR5A嵌合蛋白的結合

	MFI					未轉染的 FreeStyle TM 293-F
	hGPCR5D	hGPCR5D-GPCR5A嵌合體 (Nter) SEQ: 15	hGPCR5D-GPCR5A嵌合體 (aa85-aa93) SEQ: 16	hGPCR5D-GPCR5A嵌合體 (aa145-aa167) SEQ: 17	hGPCR5D-GPCR5A嵌合體 (aa226-aa239) SEQ: 18	
11-DE-DSB	587 493	217 763	507 810	289 111	497 561	18 091
11-afuco	600 694	147 291	483 366	248 171	526 500	14 527
BM2-afuco	900 821	156 546	54 632	19 919	373 870	11 911
BM1-afuco	717 740	20 861	195 703	696 229	288 061	15 635
IC-IgG ₁ -wt	27 418	24 667	29 669	32 504	29 760	16 933

【0156】此等結果凸顯了相較於BM1-afuco及BM2-afuco抗體，11抗體(DE-DSB及afuco)如何結合至GPCR5D的差異。

【0157】表4.4呈現了所列舉之抗體與GPCR5D陽性之多發性骨髓瘤MM.1R細胞之結合的FACS數據。導入BM1、BM2及BM3以作為參考。

表4.4. 抗GPCR5D抗體與多發性骨髓瘤細胞的結合

	表觀 KD (pM) MM.1R			
	N=1	N=2	N=3	平均值
11-DE-DSB	36	18	19	24

11-afuco	35	17	24	25
BM1-afuco	19370	6935	11000	12435
BM2-IgG ₁ -wt	869	365	426	553
BM3-IgG ₁ -wt	630			630

【0158】 此等結果證實，11-DE-DSB及11-afuco抗體結合至表現在MM.1R細胞上的GPCR5D，其親和力明顯高於BM1-afuco、BM2-IgG₁-wt或BM3-IgG₁-wt抗體。

實例5：針對具有不同GPCR5D密度之MM細胞株的體外短期ADCC活性

【0159】 為了確定每個細胞的GPCR5D分子數量，使用基於流式細胞術之GPCR5D受體試驗來量化GPCR5D表面表現量，隨後選出適合GPCR5D抗體下游分析的MM細胞株。從一組MM細胞株中選出MM.1R及EJM細胞株，係因其等的GPCR5D表現量分別為高的及中等的。

【0160】 簡言之，針對GPCR5D密度測定，按照製造商的建議，使用CELLQUANT校準器(BioCytex，目錄編號7208)。MM細胞與小鼠抗人類GPCR5D抗體(1/500)(單株小鼠IgG2B殖株編號571961，R&D Systems)一起培養。在以試劑R1連續兩次洗滌步驟後，細胞以抗小鼠IgG FITC二次抗體(試劑3，於BioCytex套組中，目錄編號7208)標記，該抗體以1/10稀釋於R1試劑中。同時，將校準珠粒添加至校準專用孔中，並在與細胞相同的染色條件下進行處理。隨後，將96孔盤在4°C之避光條件下培養20分鐘。

【0161】 在培養及洗滌步驟後，接著離心，將細胞重新懸浮於讀取緩衝液中，之後利用MACSQuant[®]分析儀10 (Miltenyi Biotec)進行讀取。

【0162】 為了確定MM細胞株上的GPC5D密度(基於FITC螢光)，使用校準珠粒資訊來產生線性校準曲線。使用以下公式來計算每個細胞的GPC5D密度：

$$\text{GPC5D密度} = 10^{(\log(\text{FITC GPC5D}) * a + b)} - 10^{(\log(\text{FITC 同型}) * a + b)}$$

【0163】 針對該組MM細胞株中每個細胞的GPC5D密度的計算顯示，相較於該組中使用的其他MM細胞株，MM.1R細胞株在細胞表面上具有最高水平的GPC5D密度(每個細胞約30,500個抗原)，且EJM細胞株在細胞表面上具有中等水平的GPC5D密度(每個細胞約8,500個抗原)。

【0164】 所有測試的MM細胞株及其GPC5D密度皆列於表5.1中(所示數據係根據6至7次實驗的平均值)。

表5.1. MM細胞株中的GPC5D密度

MM 細胞株名稱	細胞庫	每個細胞的 GPC5D 抗原數量
H929	ATCC	3,238
U266	DSMZ	455
OPM2	DSMZ	7,664
MM.1R	ATCC	30,526
JJN3	DSMZ	3,292
KMS12BM	DSMZ	0
L363	DSMZ	2,040
RPMI 8226	ATCC	421
LP1	DSMZ	402
MOLP8	DMSZ	1,748
KMS11	JCRB	0
EJM	DSMZ	8,560

【0165】 為了測量抗GPCR5D ADCC增強抗體的短期功能性，進行體外NK細胞的細胞毒性試驗。評估了不同Fc形式(Fc-無岩藻醣基化、Fc-DE-DSB)之抗GPCR5D ADCC增強的工程改造抗體在從健康捐贈者純化的NK細胞存在下促進MM腫瘤細胞溶解的能力。同時測試了兩種額外的抗GPCR5D抗體以作為基準(BM1及BM2)。

【0166】 詳言之，從Etablissement Français du Sang (EFS，法國血液服務中心，Rungis)提供的健康捐贈者膚色血球層中純化人類NK細胞。藉由Ficoll密度梯度離心從膚色血球層中經分離之周邊單核細胞(PBMC)。利用購自Miltenyi Biotec的基於珠粒之去除性選汰套組(MACSxpress[®]細胞分離套組，目錄編號130-098-185)從PBMC中純化人類NK細胞。MM.1R及EJM MM細胞株係購自ATCC。將細胞培養於完全RPMI培養基(含有10% FBS、2 mM L-麩醯胺酸的RPMI-1640)中。針對細胞毒性試驗，依照供應商的建議，標靶腫瘤細胞另外負載鈣黃綠素(Invitrogen 目錄編號C3100MP)。所有抗體及同型對照(IC)皆在0.00001至100 µg/mL之濃度範圍內進行測試。所有測試抗體及對應的IC皆分配在適當的圓底96孔盤各孔中。隨後，添加了來自健康捐贈者(新鮮或允許靜置過夜)的人類NK細胞(效應細胞，約100,000個細胞)及標記的腫瘤細胞(標靶細胞，約10,000個細胞)，以獲得10：1之E：T比率(效應:標靶細胞比率)。在一些孔中，添加了TRITON X-100 (Sigma-Aldrich)以作為腫瘤細胞溶解的陽性對照，係因其誘發100%的細胞溶解。在37°C及5% CO₂下共培養2小時後，將上清液轉移至黑色96孔盤中，並使用TECAN Infinite[®] 1000計數器來評估鈣黃綠素的釋放量。利用以下公式來計算特异性裂解百分比：

$$\text{特异性溶解(\%)} = (\text{處理的細胞} - \text{單獨的細胞}) / (\text{Triton處理的細胞} - \text{單獨的細胞}) \times 100$$

第54頁，共 86 頁(發明說明書)

【0167】藉由使用GraphPad Prism軟體繪製適當的非線性迴歸曲線(選擇「log(協同劑)與響應 - 可變斜率(四參數)」模型)來確定各自的EC50。所得結果以任意螢光單位(arbitrary fluorescent unit, AFU)表示。

【0168】表5.2呈現了所列舉之抗體針對MM.1R MM細胞的ADCC活性(圖3)。使用鈣黃綠素釋放讀值來評估溶解百分比。導入BM1 afuco及BM2 afuco以作為基準參考。

表5.2. 抗GPRC5D抗體針對MM.1R細胞的ADCC活性

	11 DE-DSB	11 afuco	BM2-afuco	BM1-afuco
數值之數量	4	5	5	4
relEC50 中位數 ng/mL (pM)	6.0 (40.1)	5.4 (36)	22.3 (154)	249.5 (1,663)
中位數之 95% CI				
實際信賴水準	87.50%	93.75%	93.75%	87.50%
信賴下限	2.6	0.3	10.1	51.8
信賴上限	10.6	11.1	45.3	1,151

【0169】DE-DSB及無岩藻醣基化形式之殖株11在NK細胞存在下針對MM MM1.R細胞顯示出高皮莫耳的ADCC活性(EC50分別為40.1及36 pM)。此活性優於抗GPRC5D基準BM2-afuco及BM1-afuco所觀察到的活性(relEC50分別為154及1,663 pM)。

【0170】表5.3呈現了所列舉之抗體針對EJM MM細胞的ADCC活性(圖4)。使用鈣黃綠素釋放讀值來評估溶解百分比。導入BM1 afuco及BM2 afuco以作為基準參考。

表5.3. 抗GPRC5D抗體針對EJM細胞的ADCC活性

	11 DE-DSB	11 afuco	BM2-afuco	BM1-afuco
數值之數量	4	5	4	3
relEC50 中位數 ng/mL (pM)	37.5 (259)	20.5 (141)	70.9 (489)	502.4 (3,460)
中位數之 95% CI				
實際信賴水準	87.50%	93.75%	87.50%	75.00%
信賴下限	26.55	14.24	16.7	347.5
信賴上限	57.21	128.7	130	974.2

【0171】 DE-DSB及無岩藻醣基化形式之殖株11在NK細胞存在下針對EJM細胞顯示出高皮莫耳的ADCC活性(EC50分別為259及141 pM)。此活性優於抗GPRC5D基準BM2-afuco及BM1-afuco所觀察到的活性(relEC50分別為489及3,460 pM)。

實例6：針對MM.1R MM細胞株的體外長期ADCC活性

【0172】 為了評估抗GPRC5D ADCC增強抗體的長期功能性，使用Incucyte® S3活細胞分析儀(Sartorius)在4天內進行體外NK細胞的細胞毒性試驗。評估了不同Fc形式(Fc-無岩藻醣基化、Fc-DE-DSB)之抗GPRC5D ADCC增強的工程改造抗體在從健康捐贈者純化的NK細胞存在下促進MM腫瘤細胞溶解的能力。同時測試了兩種額外的抗GPRC5D抗體以作為基準(BM1及BM2)。

【0173】 簡言之，從Etablissement Français du Sang (EFS，法國血液服務中心，Rungis)提供的健康捐贈者膚色血球層中純化人類NK細胞。藉由Ficoll密度梯

度離心從膚色血球層中經分離之周邊單核細胞(PBMC)。利用購自Miltenyi Biotec的基於珠粒之去除性選汰套組(MACSxpress全血NK細胞分離套組；目錄編號130-127-695)從PBMC中純化人類NK細胞。將純化的人類NK細胞培養於完全RPMI培養基(含有10% FBS、2 mM L-穀胱甘肽的RPMI-1640)中過夜。MM.1R MM細胞株係購自ATCC。藉由感染基於HIV之第三代慢病毒(VSV-G假型慢病毒，編碼RFP)(mKate2慢病毒試劑；Sartorius；目錄編號4625)而建立MM.1R-RFP (紅色螢光蛋白)穩定細胞株。經由添加嘌呤素二鹽酸鹽水合物(Thermo Scientific，Denmark，目錄編號10781691)來進行MM.1R-RFP細胞篩選，該嘌呤素在完全RPMI培養基(含有10% FBS、2 mM L-麩醯胺酸的RPMI-1640)中的最終濃度為1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。針對細胞毒性試驗，所有抗體皆在0.00001至100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之濃度範圍內進行測試。將稀釋的分子、標記的標靶細胞(6,000個細胞)及來自健康捐贈者的休憩人類NK細胞(18,000個細胞)依次添加至黑色384孔盤的各孔中，以獲得3：1之E：T比率(效應：標靶細胞比率)。將各盤培養在37°C、5% CO₂的Incucyte® S3活細胞分析儀(Sartorius)中，每4小時拍照一次，持續4天(相位及紅色影像通道；20倍放大倍率)。所得結果以對0d0h0m (%)正規化的每個影像的紅色物件計數(Red Object Count Per Image)表示。利用以下公式來計算特異性裂解百分比：

$$\text{特異性溶解}(\%) = (\text{不含NK的未處理細胞} - \text{含有NK的處理細胞}) / (\text{不含NK的未處理細胞}) \times 100$$

【0174】 藉由使用GraphPad Prism軟體繪製適當的非線性迴歸曲線(選擇「log(協同劑)與響應 - 可變斜率(四參數)」模型)來確定各自的相對EC50。

【0175】 表6.1表明了所列舉之抗體針對MM.1R MM細胞的ADCC活性。使用 Incucyte 成像讀值來評估溶解百分比。導入BM1 afuco及BM2 afuco以作為基準參考。

表6.1. 抗GPC5D抗體在四天內針對MM.1R的ADCC活性

	11 DE-DSB	11 afuco	BM2- afuco	BM1- afuco
數值之數量	3	3	3	3
relEC50 中位數 ng/mL (pM)	0.87 (6)	0.50 (3.45)	0.96 (6.62)	25.40 (175)
中位數之 95% CI				
實際信賴水準	75.00%	75.00%	75.00%	75.00%
信賴下限	0.83	0.42	0.08	22.21
信賴上限	0.88	0.93	0.99	29.80

【0176】 DE-DSB及無岩藻醣基化形式之殖株11在NK細胞存在下培養4天時間後針對MM.1R細胞顯示出高皮莫耳的ADCC活性(EC50中位數分別為6及3.5 pM)(圖5)。在DE-DSB及無岩藻醣基化形式中，殖株11在4天內針對MM.1R細胞顯示出比BM1-afuco及BM2-afuco 抗體更高的細胞毒性活性(圖6)。無岩藻醣基化形式之抗GPC5D抗體BM2顯示出類似的活性(relEC50中位數為6.6pM)。無岩藻醣基化形式之抗GPC5D抗體BM1顯示出更低的細胞毒性活性，其中relEC50中位數為175 pM。

實例7：MM.1R共培養於PBMC環境中的細胞激素釋放

【0177】本實驗評估了在GPRC5D及BCMA陽性細胞株(MM.1R多發性骨髓瘤細胞)存在下DE-DSB形式之殖株11對周邊血液單核細胞(PBMC)釋放細胞激素的體外影響。

【0178】簡言之，針對細胞激素釋放試驗，使用Ficoll密度梯度離心，從Etablissement Français du Sang (EFS，法國血液服務中心，Rungis)提供的健康人類捐贈者膚色血球層中經分離之PBMC。MM.1R多發性骨髓瘤細胞株係購自ATCC。將細胞培養於完全RPMI培養基(含有10% FBS、2 mM L-麩醯胺酸的RPMI-1640)中。以抗BCMAXCD3 T細胞接合體作為陽性對照，係因BCMA表現在MM.1R細胞上。DE-DSB形式之殖株11及對照以20 nM及20 pM進行測試。將標靶細胞(10,000個細胞)及來自健康捐贈者的人類PBMC細胞(500,000個細胞)依次接種在各個96孔盤中，以獲得50：1之E：T比率(效應：標靶細胞比率)。將測試分子及陽性對照添加至共培養物中。在37°C之5% CO₂下共培養過夜後，培養盤以300g離心5分鐘。隨後，每孔收集100 µL上清液，以進行細胞激素釋放分析。針對所述分析，依照供應商的建議，使用人類促發炎性I (4-Plex)套組V-PLEX (Mesoscale MSD，目錄編號K15052D-1)。將同一孔中的IFN γ 、IL-6及TNF α 細胞激素定量。使用校準曲線計算各個分析物的濃度，該校準曲線係藉由將來自校準器的訊號擬合於四參數邏輯模型而建立。藉由反向擬合於校準曲線，由ECL訊號確定分析物濃度(pg/mL)。

【0179】表7.1呈現了在GPRC5D陽性MM.1R細胞存在下由來自人類PBMC之DE-DSB形式之殖株11誘發的細胞激素釋放數據(五次實驗的平均值)。同型對照IgG₁ DE-DSB (IC)係用作陰性對照。導入抗BCMAXCD3 TCE以作為陽性對照。

表7.1. 由抗GPCR5D抗體誘發的細胞激素釋放

	IFN γ				IL-6				TNF- α			
	平均值 pg/m L	SD	N	FC	平均值 pg/m L	S D	N	FC	平均值 pg/m L	SD	N	FC
未處理 的基線	29	18	5		14	14	4		214	195	5	
IC 100nM	27	13	3	0.9	9	1	2	0.6	233	310	3	1.1
11 DE- DSB 100nM	90	21	3	3.1	17	3	3	1.2	486	474	4	2.3
11 DE- DSB 20nM	75	31	5	2.6	12	8	4	0.9	457	617	5	2.1
CD3- BCMA TCE 100nM	1223	71 2	3	42	36	27	3	2.6	2650	2839	4	12
CD3- BCMA TCE 20nM	733	43 2	5	25	51	39	4	1.8	1396	1619	5	6.5

FC：相較於基線的倍數變化。

【0180】 DE-DSB及無岩藻醣基化形式之殖株11在表現GPCR5D之MM.1R細胞存在下誘發人類PBMC的最小細胞激素釋放，其中相較於IFN γ 、IL-6及TNF α 的基線水平增加了1至3倍。此誘發比由抗BCMA TCE誘發的細胞激素釋放低得多(1.8至42倍變化)(圖7)。

實例8：抗GPC5D抗體針對植入NK人源化hIL15tg-NOG小鼠中之MM.1R多發性骨髓瘤細胞的體內活性

【0181】 評估了以人類NK細胞重建並植入播散性人類MM.1R細胞的hIL15tg-NOG免疫缺陷小鼠中抗GPC5D抗體的體內功效。含有人類IL15基因的hIL15tg-NOG小鼠品系已被用於在小鼠微環境中允許人類NK細胞的穩健發育。小鼠的NK人源化係藉由在亞致死照射後靜脈接受性轉移預擴增之人類NK (1000萬個)而進行(關於NK 人源化鼠科模型的更多細節，參見Rettman等人之*Cancer Res* (2022) 82 (12_補充資料)：摘要4247，以及Rettman等人之*Cancer Res* (2023) 83 (7_補充資料)：摘要2940)。

【0182】 NK人源化小鼠在第0天靜脈注射接種腫瘤細胞。在腫瘤植入後第1、4及7天進行腹腔注射(IP)治療。抗GPC5D抗體BM1-afuco、11-DE-DSB及11-afuco以10 mg/kg進行投予。對照組係以10 mg/kg的野生型IgG₁同型對照(「IC IgG wt」)處理。

【0183】 檢查小鼠並記錄不良臨床反應。每天對個別小鼠進行秤重，直至實驗結束(第110天)。根據預先確定的標準，當小鼠瀕死時進行安樂死，以避免動物遭受痛苦。與病理學相關且被視為關鍵的臨床徵象包括肢體麻痺、腹水、可觸及的內部腫瘤塊、發病率及體重減輕超過或等於20%。

【0184】 主要功效終點為以天數計之中位數存活時間(median survival time, MST)、壽命增加百分比(the percent increased lifespan, %ILS)及長期存活率(以%計)。

【0185】 報導每隻小鼠的個別死亡天數(若有的話)。確定各組的MST，並計算ILS比率且以百分比表示：

$$\%ILS = 100 \times (T-C)/C$$

其中T = 治療組之MST，且C = 對照組之MST。

【0186】 當%IL優於25%時，則一劑量被視為具有治療活性，而當%ILS優於50%時，則該劑量被視為具有高治療活性(Johnson等人之*Br J Cancer* (2001) **84(10):1424-31**)。

【0187】 長期存活率係定義為存活時間優於或等於對照組之MST兩倍的小鼠數量佔該組小鼠總數的百分比(以百分比表示)。

【0188】 藉由IgG野生型同型對照處理的組別表現出MST為53天且無長期存活者。

【0189】 BM1-afuco抗體在植入NK人源化hIL15tg-NOG小鼠的散播性人類MM細胞株(MM.1R)中以10 mg/kg之劑量誘發統計學上顯著的活性，其中相較於對照，ILS優於100%及50%的長期存活者。

【0190】 11-afuco抗體在植入NK人源化hIL15tg-NOG小鼠的散播性人類MM細胞株(MM.1R)中以10 mg/kg之劑量誘發統計學上顯著的活性，其中相較於對照，ILS優於100%及61%的長期存活者。

【0191】 11-DE-DSB抗體在植入NK人源化hIL15tg-NOG小鼠的散播性人類MM細胞株(MM.1R)中以10 mg/kg之劑量誘發統計學上顯著的活性，其中相較於對照，ILS優於100%及72%的長期存活者。

【0192】 總之，所有測試的抗GPC5D抗體在以10 mg/kg針對植入NK人源化hIL15tg-NOG小鼠的散播性人類MM細胞株(MM.1R)皆顯示出穩健的活性(圖8)。

【0193】表8.1呈現了所述抗GPRC5D抗體針對植入NK人源化hIL15tg-NOG小鼠的散播性人類MM細胞株MM.1R的體內活性數據。

表8.1. 抗GPRC5D抗體針對植入的MM.1R細胞的體內活性

組別	長期存活者 (%)	MST (天數)	ILS (%)	生物學評論
IC IgG wt (對照組)	0%	53	na	na
BM1-afuco	50%	109.5	> 100%	高活性
11-afuco	61%	> 110	> 100%	高活性
11-DE-DSB	72%	> 110	> 100%	高活性

MST：中位數存活時間(以天數計)；ILS：壽命延長百分比；na：不適用

實例9：ADCC增強的Fc工程改造之GPRC5D NKCE證實有利於縮短半衰期

【0194】本實例評估了作為自然殺手細胞接合體(NKCE)的DE-DSB (11-DE-DSB)及無岩藻醣基化(11-afuco)形式之殖株11在向雌性huFcRn Tg32轉基因小鼠單次靜脈注射(2.5 mg/kg)投予後的藥物動力學(PK)概況及參數。

材料及方法

【0195】小鼠實驗係於源自C57BL/6小鼠(購自Jackson Laboratory (Bar Harbor, Maine))的轉基因Tg32 (B6. Cg-Fcgrttm, 1Dcr Tg (FCGRT)32Dcr/DcrJ)小鼠中進行。FcRn^{-/-} hFcRn (品系32) Tg小鼠攜帶無效突變之小鼠基因及其天然人類啟動子控制下表現hFcRn α 鏈轉基因的轉基因。在研究開始時使用三隻Tg32同型合子的幼稚成年雌性小鼠(平均體重為23.7克)。

【0196】 針對給藥方案，將11-DE-DSB及11-afuco (1.5 mg/mL)分別製備在10 mM His、150 mM NaCl (pH6)及DPBS緩衝液中，臨時稀釋在相同緩衝液中，並作為單次靜脈注射劑量2.5 mg/kg投予至尾靜脈中，其中劑量體積為10 mL/kg。在28天的研究期間，使用連續採樣法對動物進行0.083、4、24、72、168、336、504及672小時的評估。在各個時間點，將血液樣本(約20 μ L - 連續採樣從隱靜脈抽取至K3-EDTA收集裝置中。在採集後立即將血液樣本置於濕冰上，隨後離心。隨後，將4 μ L的血漿稀釋在396 μ L PBS/0.5%BSA (磷酸鹽緩衝鹽液/0.05% Tween 20 /0.5%牛血清白蛋白)中。

【0197】 針對分析，使用探索性LBA (配體結合試驗)方法確定血漿中11-DE-DSB及11-afuco的濃度。兩種化合物皆由 MSD盤之鏈黴親和素孔上結合的生物素化驢抗 huIgGFc捕獲。在利用化學發光讀取前，使用山羊抗huIgG-sulfo標籤進行檢測。定量下限(LLOQ)值為0.2 μ g/mL。

統計分析

【0198】 藉由描述性統計(平均值、標準差(SD)及變異係數(CV%))來總結11-DE-DSB及11-afuco NKCE的個別血漿濃度值(以 μ g/mL表示)，並按採樣時間製表。除了不含小數位的CV%以外，所有結果皆以三位有效數字報導。

【0199】 如上所述，藉由描述性統計來總結個別PK參數。個別值及平均值皆以三位有效數字表示(除了 t_{max} 及 t_{last} 適當地四捨五入為時間值以外，其中僅報導中位數值及範圍[最小-最大]值)。

結果

【0200】 在研究期間未觀察到臨床徵兆或症狀。

【0201】 在向雌性huFcRn Tg32小鼠單次IV (2.5 mg/kg)投予後所獲得的11-DE-DSB NKCE之血漿濃度($\mu\text{g/mL}$)的平均值及個別值(N=3)皆報導於下表9.1中。

表9.1. huFcRn Tg32小鼠中11-DE-DSB的血漿濃度

	時間 (天數)								
	0.0035	0.17	1	3	7	10	14	21	28
動物 ID	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)								
F7	62.1	29.3	21.5	16.3	12.0	7.98	BLQ*	BLQ*	BLQ*
F8	59.5	31.6	18.4	15.6	10.6	9.69	5.88	0.550*	BLQ*
F9	60.1	27.6	19.1	17.3	10.5	6.31	4.57	2.86	2.26
平均值	60.6	29.5	19.7	16.4	11.0	7.99	5.23	2.86	2.26
SD	1.36	2.01	1.63	0.854	0.839	1.69	NA	NA	NA
CV%	2	7	8	5	8	21	NA	NA	NA

*：由描述性統計及PK分析所拒絕的異常值

【0202】 在單次靜脈注射(2.5 mg/kg)投予後血漿中11-DE-DSB之藥物動力學參數的平均值及個別值(N=3)皆如下表9.2中所示。

表9.2. 雌性huFcRn Tg32小鼠中11-DE-DSB的藥物動力學參數

動物 ID	C_0 ($\mu\text{g/mL}$)	AUC_{last} (天 * $\mu\text{g/mL}$)	t_{last} (天數)	AUC (天 * $\mu\text{g/mL}$)	AUC_{extr} _{ap} (%)	CL (mL/天 /kg)	V_{SS} (mL/kg)	$t_{1/2z}$ (天數)
F7	63.1	153	10	229	33.2	NC	NC	NC
F8	60.3	176	14	246	28.3	NC	NC	NC
F9	61.1	210	28	249	15.8	10.0	139	12.1

平均值	61.5	180	14	242	NA	10.0	139	12.1
SD	1.44	28.4	[10-28]	10.6	NA	NA	NA	NA
CV%	2	16	-	4	NA	NA	NA	NA

【0203】在靜脈注射投予2.5 mg/kg後，血漿中11-DE-DSB NKCE濃度可定量至多28天(最後採樣時間)。血漿清除率估計為10.0毫升/天/公斤，且穩態分佈體積為139 mL/kg，導致終末消除半衰期($t_{1/2}$)約12天。

【0204】在向雌性huFcRn Tg32小鼠單次IV (2.5 mg/kg)投予後所獲得的11-afuco NKCE之血漿濃度($\mu\text{g/mL}$)的平均值及個別值(N=3)皆報導於下表9.3中。

表9.3. huFcRn Tg32小鼠中11-afuco的血漿濃度

	時間 (天數)								
	0.0035	0.17	1	3	7	10	14	21	28
動物 ID	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)								
F1	118	51.7	11.9*	25.4	22.2	19.1	14.2	9.69	8.58
F2	87.4	45.3	30.9	32.6	21.8	19.7	18.0	8.88	4.07
F3	94.6	41.5	33.8	28.6	20.9	19.4	19.7	9.21	4.13
平均值	100	46.2	32.4	28.9	21.6	19.4	17.3	9.26	5.59
SD	16.0	5.15	NA	3.61	0.666	0.300	2.82	0.407	2.59
CV%	16	11	NA	12	3	2	16	4	46

【0205】在單次靜脈注射(2.5 mg/kg)投予後血漿中11-afuco NKCE的藥物動力學參數的平均值及個別值(N=3)皆如下表9.4中所示。

表9.4. 雌性huFcRn Tg32小鼠中11-afuco的藥物動力學參數。

動物 ID	C ₀ (µg/mL)	AUC _{las} _t (天 *µg/mL)	t _{last} (天數)	AUC (天 *µg/mL)	AUC _{extr} _{ap} (%)	CL (mL/天/kg)	V _{SS} (mL/kg)	t _{1/2z} (天數)
F1	120	495	28	676	26.8	3.70	75.2	14.7
F2	88.6	492	28	542	9.21	4.61	56.7	8.50
F3	96.3	491	28	543	9.60	4.61	58.5	8.74
平均值	102	493	28	587	NA	4.3	63.5	10.6
SD	16.4	2.1	[28-28]	77.3	NA	0.526	10.2	3.49
CV%	16	0	-	13	NA	12	16	33

【0206】在靜脈注射投予2.5 mg/kg後，血漿中11-afuco NKCE濃度可定量至多28天(最後採樣時間)。血漿清除率估計為4.30 ± 0.525毫升/天/公斤，且穩態分佈體積為63.5 ±10.2 mL/kg，導致終末消除半衰期(t_{1/2})約11天。

實例10：在食蟹獼猴中單次靜脈輸注或皮下投予11-DE-DSB NKCE後綜合探索性藥物動力學(PK)及安全性研究

【0207】本項探索性(非GLP)研究之目的在於確定當11-DE-DSB以下列條件向食蟹獼猴投予時，在四週觀察期後的藥物動力學(PK)及耐受性/毒性概況：

1)靜脈(IV)輸注單一劑量30分鐘，以及2)皮下(SC)注射單一劑量。

【0208】本研究納入總共八隻雌性食蟹獼猴(食蟹獼猴(*Macaca fascicularis*))，在開始給藥時年齡約31至33個月大)。研究設計如下表10.1中所示。

表10.1. 針對食蟹獼猴中之PK及耐受性/毒性概況研究的給藥方案

組別	測試項目	給藥方案	劑量水平 (mg/kg)	濃度(mg/mL)	體積 (mL/kg)	動物 ID 編號
						雌性
1	對照品 ^a	IV 輸注 30 分鐘	0	0	2.5	1-2
2	11-DE- DSB ^b	IV 輸注 30 分鐘	5	2	2.5	3-4
3	11-DE- DSB ^b	IV 輸注 30 分鐘	25	10	2.5	5-6
4	11-DE- DSB ^b	SC 推注	25	10	2.5	7-8

縮寫：IV: 靜脈；SC：皮下

^a 對照組：動物接受10 mM組胺酸(pH 6)、150 mM NaCl。

^b 提供濃度為10.75 mg/mL的11-DE-DSB儲液，其溶於10 mM組胺酸緩衝液(pH 6)、150 mM NaCl。

【0209】 動物根據最近的體重進行給藥。

【0210】 使用靜脈導管在隱靜脈上進行靜脈輸注，在動物背部(一注射點為肩胛間區)進行皮下注射。使用校準的注射幫浦來進行靜脈輸注。在投予後，仔細觀察注射部位，並在足以防止出血的時間內進行局部壓迫。

【0211】 所評估之參數包括死亡率、臨床徵兆、體重、食物消耗、體溫、注射部位檢查、血液學、凝血及臨床化學(包括CRP)。亦收集血液以評估PK及漿細胞激素含量。在四週觀察期結束後，所有猴隻皆被放回動物群落中。

PK評估

【0212】 根據以下預定日期及採樣時間點，從股靜脈、隱靜脈及/或頭靜脈(用於輸注而非採血目的之靜脈)採集血液樣本(0.4 mL，置於K2-EDTA採樣管中)：

組別	預定日期	時間點
1、2 及 3 (IV 組)	第 1 天	在開始輸注後 0.5 (結束輸注)、1.5、4、24、48、72、96、168、240、336、504 及 672 小時(亦即 0.021、0.063、0.17、1、2、3、4、7、10、14、21 及 28 天)
4 (SC 組)	第 1 天	在注射後 0.5、1.5、4、24、48、72、96、168、240、336、504 及 672 小時(亦即 0.021、0.063、0.17、1、2、3、4、7、10、14、21 及 28 天)

【0213】 對照動物(第1組)的血液樣本在採樣後即丟棄。

【0214】 在收集後，各個血液樣本在大約4°C下以1500g離心10分鐘。將所得的血漿樣本(至少150 µL)轉移至標記的聚丙烯試管中，並冷凍在大約-80°C下直至分析。

【0215】 使用探索性免疫試驗法來定量食蟹獼猴血漿樣本中的11-DE-DSB。本方法由逐步夾心(stepwise sandwich)形式組成。使用固定在的鏈黴親和素珠粒管柱上的生物素化山羊抗人類IgG猴Ads來進行捕獲，該管柱位於含有微結構的Gyrolab Bioaffy圓盤(CD200)內。使用山羊抗人類IgG猴Ads AlexaFluor® 647來進行檢測。在Gyrolab平台內進行管柱上螢光測量。定量範圍為200 ng/mL (定量下限，LLOQ)至500 000 ng/mL (定量上限，ULOQ)，使用1/100之最低要求稀釋度(minimum required dilution，MRD)。

【0216】 使用WinNonLin軟體(Phoenix 64 v8.2 Pharsight , Certara Inc.)來進行所測定之11-DE-DSB血漿濃度的PK評估及額外PK參數(劑量比例及生體可用率)的評估。計算各個採樣時間點的血漿濃度及PK參數的平均值(圖9)。

【0217】 表10.2呈現了在向雌性食蟹獼猴靜脈輸注30分鐘或皮下投予11-DE-DSB後觀察到的血漿中個別及平均(n=2) PK參數的數據。

表10.2

途徑	劑量 (mg/kg)	ID	C _{max} (µg/mL)	t _{max} (天數)	AUC _{last} (天數) *µg/mL	t _{last} (天數)	AUC (天) *µg/mL	CL (mL/天/kg)	V _{ss} (mL/kg)	t _{1/2z} (天數)
IV 輸注 30分鐘	5	3	146	0.02	714	28	784	6.38	67.7	8.62
		4	147	0.06	652	28	700	7.15	67.1	7.52
		平均值	147	0.04	683	28	742	6.76	67.4	8.07
IV 輸注 30分鐘	25	5	584	0.02	3790	28	4450	5.62	79.1	11.2
		6	658	0.02	3100	28	3440	7.27	82.7	9.25
		平均值	621	0.02	3440	28	3940	6.44	80.9	10.2
SC	25	7	199	2	2480	28	2760	NC	NC	8.49
		8	161	4	2110	28	2460	NC	NC	10.2
		平均值	180	3	2300	28	2610	NA	NA	9.37

縮寫：AUC：從零時至無限大，使用梯形法計算的濃度與時間曲線下面積；
AUC_{last}：從零時至即時t_{last}，使用梯形法計算的濃度與時間曲線下面積；CL：單次靜脈注射投予來自基質之藥物後的全身清除率；ID：動物ID；inf.：輸注；NC：不可計算；NA：不適用；C_{max}：最大觀察濃度；t_{1/2z}：表觀終末半衰期；t_{last}：

最後可測量濃度的時間； t_{\max} ：最大觀測濃度的時間； V_{ss} ：在單次靜脈給藥後穩態的分佈體積。

【0218】 不論劑量及投予途徑，可定量11-DE-DSB直至最後採樣時間(第28天)。

【0219】 在IV投予後，平均清除率為約6.6毫升/天/公斤，且平均分佈體積為約74 mL/kg，導致終末消除半衰期為約9天。

【0220】 在以5及25 mg/kg靜脈輸注30分鐘後，暴露量隨劑量增加而成比例增加。

【0221】 在以25 mg/kg皮下投予後，生體可用率為約65%。

細胞激素評估

【0222】 在第1天、處理前、開始給藥後4、24及48小時，從股靜脈、隱靜脈及/或頭靜脈(用於輸注而非採血目的之靜脈)採集血液樣本(0.5 mL，置於K2-EDTA採樣管中)。

【0223】 使用購自Mesoscale Discovery (U-PLEX Proinflam Combo 1 (NHP) SECTOR 試驗套組，目錄編號 K15070K-2) 的探索性 ECLIA (ElectroChemiluminescent ImmunoAssay)方法，進行猴血漿樣本中 $IFN\gamma$ 、IL-6、IL-8及 $TNF\alpha$ 的評估。

【0224】 所有變化皆以相較於基線值(亦即處理前的值)表示。由於分析變異性，當數值比相應的預測試值高出2倍以上且高於對照組中觀察到的最高值時，細胞激素的增加被視為可能與化合物有關。所用的分級如下：3至10倍變化：

非常小的增加；11至100倍變化：最小增加；101至1000倍變化：適度增加；且，
 ≥ 1001倍變化：顯著增加。

【0225】表10.3呈現了在向雌性食蟹獼猴靜脈輸注30分鐘或皮下投予11-DE-DSB後個別漿細胞激素含量(pg/mL)及對比基線之倍數變化的數據。

表10.3

途徑	劑量 (mg/kg)	ID	TP	IFN γ		IL-6		IL-8		TNF α	
				pg/mL	F/C	pg/mL	F/C	pg/mL	F/C	pg/mL	F/C
IV 輸注 30 分鐘	0	1	第 1 天 - BT	7.18	1	0.51	1	0.58	1	0.82	1
			第 1 天 - 4 小時	7.18	1	0.51	1	0.58	1	0.82	1
			第 1 天 - 24 小時	7.18	1	0.51	1	0.58	1	0.82	1
			第 1 天 - 48 小時	7.18	1	0.51	1	0.58	1	0.82	1
		2	第 1 天 - BT	7.18	1	4.63	1	0.58	1	0.82	1
			第 1 天 - 4 小時	- ^a	-	- ^a	-	- ^a	-	- ^a	-
			第 1 天 - 24 小時	7.18	1	3.83	1	0.58	1	0.82	1
			第 1 天 -	7.18	1	5.86	1	0.58	1	0.82	1

第72頁，共 86 頁(發明說明書)

			48 小時									
IV 輸注 30 分鐘	5	3	第 1 天 - BT	7.18	1	0.51	1	0.58	1	0.82	1	
			第 1 天 - 4 小時	7.18	1	1.49	3	0.58	1	0.82	1	
			第 1 天 - 24 小時	7.18	1	1.06	2	0.58	1	0.82	1	
			第 1 天 - 48 小時	7.18	1	0.85	2	0.58	1	0.82	1	
		4	第 1 天 - BT	7.18	1	0.74	1	0.98	1	0.82	1	
			第 1 天 - 4 小時	7.18	1	2.04	3	0.58	1	0.82	1	
			第 1 天 - 24 小時	7.18	1	0.51	1	0.58	1	0.82	1	
			第 1 天 - 48 小時	7.18	1	0.55	1	2.49	3	0.82	1	
	IV 輸注 30 分鐘	25	5	第 1 天 - BT	7.18	1	0.51	1	0.58	1	0.82	1
				第 1 天 - 4 小時	7.18	1	1.28	3	0.58	1	0.82	1
第 1 天 -				7.18	1	1.29	3	0.58	1	0.82	1	

			24小時								
			第1天-48小時	7.18	1	1.31	3	0.58	1	0.82	1
		6	第1天-BT	7.18	1	15.11	1	0.58	1	0.82	1
			第1天-4小時	7.18	1	12.81	1	0.58	1	0.82	1
			第1天-24小時	7.18	1	5.19	0	0.58	1	0.82	1
			第1天-48小時	7.18	1	2.97	0	0.58	1	0.82	1
				第1天-BT	7.18	1	0.51	1	0.58	1	0.82
SC	25	7	第1天-4小時	7.18	1	11.91	23	0.58	1	0.82	1
			第1天-24小時	7.18	1	2.56	5	0.58	1	0.82	1
			第1天-48小時	7.18	1	1.79	4	0.58	1	0.82	1
			第1天-BT	7.18	1	0.51	1	0.58	1	0.82	1
		8	第1天-BT	7.18	1	0.51	1	0.58	1	0.82	1

			第 1 天 - 4 小時	7.18	1	17.2 4	34	0.58	1	0.82	1
			第 1 天 - 24 小 時	7.18	1	7.10	14	0.58	1	0.82	1
			第 1 天 - 48 小 時	7.18	1	1.30	3	0.58	1	0.82	1

縮寫：BT：在處理前；FC：倍數變化；ID：動物ID；IV：靜脈；SC：皮下；TP：時間點；-：無數據。

^a：由於細胞激素分析的血漿體積不足，未報導結果。

將低於LLOQ的值替換為相應的LLOQ值：IFN- γ ：7.18 pg/mL、IL 6：0.51 pg/mL、IL 8：0.58 pg/mL，且TNF- α ：0.82 pg/mL。

【0226】 在至多25 mg/kg之單次IV劑量的11-DE-DSB或25 mg/kg之單次SC劑量的11-DE-DSB後，未觀察到值得注意的細胞激素升高。在11-DE-DSB投予後4小時僅觀察到短暫的非常小至最小的IL-6增加，且在11-DE-DSB投予後大約24小時內恢復至接近基線。在研究期間，任何動物在任何劑量下未觀察到與11-DE-DSB相關的IFN- γ 、IL-8及TNF α 含量變化。

【0227】 藉由IV輸注30分鐘(5或25 mg/kg)及SC途徑(25 mg/kg)向雌性食蟹獼猴投予11-DE-DSB在臨床上具有良好耐受性。未報導存在11-DE-DSB相關的臨床徵兆，包括任何與指甲及舌頭觀察、體溫、體重及動物臨床觀察相關的徵兆。報導了良好的局部及整體耐受性。血液學及臨床化學不存在被視為與11-DE-DSB相關的變化。

【0228】 因此，在此等研究條件下，以最高劑量25 mg/kg的11-DE-DSB作為單次30分鐘IV輸注(針對11-DE-DSB， C_{max} 及AUC的相應值為621 $\mu\text{g/mL}$ 及3 940 day* $\mu\text{g/mL}$)及單次SC注射(針對11-DE-DSB， C_{max} 及AUC的相應值為180 $\mu\text{g/mL}$ 及2 610 day* $\mu\text{g/mL}$)皆具有良好的耐受性，且不會引起任何不良影響。

實例11:在原發性NDMM患者樣本中抗GPCR5D抗體的離體活性及媒介的NK細胞活化

【0229】 從未治療之新確診的多發性骨髓瘤(MM)患者中獲得含有多發性骨髓瘤細胞及自體免疫效應細胞的骨髓(BM)及周邊血液樣本，以評估抗GPCR5D抗體的離體累積影響。藉由流式細胞術測定各個樣本的腫瘤漿細胞(PC)數量及NK細胞數量，其定義為SS^{low} / FS^{high} / CD45^{low} / CD138⁺ / CD38⁺ / CD56^{+/-} (漿細胞)及CD45⁺ / CD3⁻ / CD56⁺ / CD16^{+/-}。效應:標靶(E:T)比率係計算為NK濃度/PC 濃度。依照供應商的建議，使用小鼠抗人類GPCR5D 殖株571932 (R&D System)及鼠科Ig校準套組(Biocytex)測定來自BM之腫瘤漿細胞上GPCR5D的受體密度。將剩餘的BM樣本體積分配，以進行殺傷試驗及NK細胞活化試驗與去顆粒試驗。

【0230】 將含有腫瘤漿細胞(PC)及自體效應NK細胞的BM樣本與陰性同型對照同型(抗TNP-DE-DSB)或抗GPCR5D ADCC增強的11-DE-DSB (0.01及1 $\mu\text{g/ml}$)一起培養。在過夜培養結束時，利用表11.1中所示之抗體組進行細胞染色，以測定：1)剩餘的存活漿細胞，2)NK細胞活化，以及3)CD107a NK細胞去顆粒化。

【0231】表11.1顯示了在原始NDMM患者樣本中用於抗GPRC5D抗體離體活性及媒介的NK細胞活化的抗體組。

表11.1

第 0 天的 NK/ PC 比率之測定	PC 殺傷之測定	NK 細胞活化試驗	CD107a NK 細胞去顆粒化
CD45 PB	CD45 PB450	eFluor780 (存活率標記)	CD107a PE
CD138 APC	CD138 APC	CD138 APC Fire750	eFluor 780 (存活率標記)
CD38 FITC	CD38 FITC	CD3 APC Fire750	CD45 BV510
CD56 APC AF750	CD56 APC AF750	CD45 BV510	CD3 PerCP
CD3 PE	CD3 PE	CD56 BV421	CD56 BV421
CD16 BV510	CD19 BV510	CD16 FITC	CD16 FITC
CD107a	PI (存活率標記)	CD69 PE Cy5.5	
	計數珠粒 PE		

【0232】利用FlowJo軟體分析流式細胞儀數據。藉由CD45^{low} / CD138⁺ / CD38⁺ / CD56⁺細胞的消失來評估骨髓瘤細胞死亡。計算相對於同型陰性對照的溶解百分比(%), 正規化為B細胞數量(實驗過程中的穩定數量)。藉由表現在CD3⁺ / CD56⁺ NK細胞上的CD107a來評估NK細胞上的NK細胞去顆粒化標記。

【0233】圖10示意性地顯示了本項離體研究的原理。表11.2呈現了來自NDMM患者之骨髓(BM)細胞的流式細胞術分析結果，其顯示了腫瘤漿細胞(PC)上的GPRC5D受體密度(sABC: 特異性抗原結合能力)、NK:PC效應:標靶(E:T)比率及以11-DE-DSB離體過夜處理後的PC溶解。

表11.2

BM MM 樣本 ID	GPRC5D sABC	E:T 比率	PC 溶解%
#001	1184	14,3	43,4
#002	626	1,7	8,9
#003	6242	0,1	0
#004	814	27,7	27,5
#005	2888	0,2	39,9
#006	408	0,6	5,6
#007	3144	1,3	53,4
#008	903	2,8	47,6
#009	156	5,0	10,9
#010	3475	5,8	58,9
#011	491	0,2	35,2
#012	293	2,1	2,1

【0234】 圖11A以圖形方式顯示漿細胞(PC)溶解的結果。圖11B以圖形方式顯示骨髓(BM)患者樣本在抗GPRC5D過夜處理後NK細胞上的CD107誘發。

【0235】 BM MM患者的流式細胞術分析顯示出廣泛範圍的GPRC5D受體密度及E:T比率。利用抗GPRC5D ADCC增強的11-DE-DSB抗體治療的BM MM患者的分析顯示了骨髓瘤細胞溶解及活化的NK細胞增加，如藉由CD3⁺/CD56⁺ NK細胞上的CD107a表現來評估。此等數據證實，抗GPRC5D ADCC增強的11-DE-DSB抗體在具有多發性骨髓瘤細胞的自體試驗中離體活化來自MM患者之原發性樣本中的NK細胞以及來自相同患者的NK細胞。

實例12：與基準分子競爭結合至GPRC5D

【0236】 當與基準分子競爭時，在以下條件下，藉由FACS研究抗體與人類GPRC5D在細胞上的相互作用：

- 利用生物素標記基準抗體(人類IgG1形式)。經檢查該標記不會損害結合性質。
- 在受測抗體(人類無岩藻醣基化IgG1形式)之劑量遞增的情況下，標記的基準抗體以EC80濃度添加至GPRC5D細胞中。
- 測量基準抗體的結合，並確定競爭程度。

表12.1 殖株11與基準抗體之間在結合至GPRC5D細胞時的競爭程度

	競爭程度		
	生物素化 BM2-IgG ₁ wt	生物素化 BM3-IgG ₁ wt	生物素化 BM4-IgG ₁ wt
11-afuco	全部	部分	部分
BM1-IgG₁ wt	部分	部分	部分
BM2-IgG₁ wt	全部	部分	部分
IC	無	無	無

實例13：ADCP巨噬細胞媒介的針對MM.1R MM細胞株的吞噬活性

【0237】 使用MM.1R細胞(ATC參考號CRL-2975)及源自單核球的巨噬細胞來評估11-DE-DSB抗體的抗體依賴性細胞媒介的吞噬(ADCP)活性，該單核球從人類周邊血液單核細胞(PBMC)中純化，該人類周邊血液單核細胞從EFS (Etablissement Français du Sang)提供的5名不同健康捐贈者的膚色血球層中分離。

【0238】 首先從來自Etablissement Français du Sang (EFS)之健康捐贈者的膚色血球層中分離人類PBMC：先將血液收集在50 mL falcon試管中。將15 mL的Ficoll-Plaque™ PLUS 96% (GE Healthcare # 17-1440-02)非常輕盈地添加在Sepmate試管底部，隨後將血液緩慢添加至試管中，之後以1300 g離心10分鐘。隨後，收集PBMC環(ring)並以50 mL PBS緩衝液洗滌，並以300 g進行另一輪的離心5分鐘。根據製造商的說明(Miltenyi；參考編號130-050-201)，重複洗滌過程兩次，之後利用抗CD14磁珠將PBMC染色：在4°C下培養15分鐘，之後經由AutoMACS pro進行正向選汰(positive selection)。收集單核球，隨後利用50 mL PBS洗滌。將單核球培養在37°C及5% CO₂下的T150燒瓶中7天，該燒瓶中含有RPMI1640 (Invitrogen # 11875-093)、10%FBS (Invitrogen # 10500-056)、2%人類滅活血清(Fisher Bioreagents # 14-490E)、50 ng/ml顆粒球-巨噬細胞群落刺激因子(GM-CSF)(Miltenyi # 130-093-866)。在培養7天後，單核細胞分化為巨噬細胞。

【0239】 為了收集巨噬細胞，使用阿庫酶(accumase)(ThermoFisher，參考編號：A1110501)來使細胞脫附(在37°C下15分鐘)，隨後添加了20 mL的完全培養基RPMI1640、10% FBS、1% L-麩醯胺酸(Invitrogen # 25030)以停止其活性。

【0240】 將收集的細胞在350 g下離心10分鐘，接著在20 mL PBS中洗滌，並在350 g下進行另一輪的離心10分鐘。

【0241】 將 20×10^6 個巨噬細胞重新懸浮於2 ml的稀釋劑C (在購自Sigma Aldrich的染色套組 # PKH26GL-1KT中提供)加上10 μ l的PKH26 (Sigma Aldrich # PKH26GL-1KT)中，並在37°C的閉光條件下培養5分鐘。隨後添加10 mL FBS，進行1分鐘的染色過程滅活，之後使用RPMI1640 10% FBS補足至50 mL。將體積調整至達到每毫升 1.5×10^6 個巨噬細胞的濃度，相當於0.15個細胞/100 μ l。

【0242】 將 20×10^6 個MM.1R細胞重新懸浮於2 ml的稀釋劑C (在購自Sigma Aldrich的染色套組 # PKH26GL-1KT中提供)加上10 μ l的PKH67 (Sigma Aldrich # PKH67GL-1KT)中，並在37°C的閉光條件下培養5分鐘。隨後添加10 mL FBS，進行1分鐘的染色過程滅活，之後使用RPMI1640 10% FBS補足50 mL。將體積調整至達到每毫升 0.5×10^6 個巨噬細胞的濃度，相當於0.05個細胞/100 μ l。

【0243】 隨後，將每孔 5×10^4 個MM.1R細胞培養在37°C及5% CO₂的U底96孔聚丙烯盤中15分鐘，該盤中含有不同濃度的不同抗體，隨後添加巨噬細胞過夜，其中巨噬細胞/腫瘤細胞之比率設定在3:1 (150,000個巨噬細胞對比50,000個MM.1R)。ADCP試驗係於1 mg/mL人類多株IgG (Sigma # I4506)存在下進行，以模擬生理條件。

【0244】 化合物11-DE-DSB、抗CD38-IgG1及同型IgG1 DE-DSB以100 ng/mL至0.1 pg/mL範圍內的最終濃度(以1/10連續稀釋在PBS Dulbecco中)進行測試。藉由流式細胞術讀取11-DE-DSB、抗CD38-IgG1及同型IgG1 DE-DSB的ADCP活性。測定了由巨噬細胞吞噬的MM.1R細胞的百分比(%)。使用根據Ratkovsky及Reedy的四參數邏輯模型(Biometrics. 1986.Sep; 42(3):575-82)擬合劑量效應曲線。使用Marquardt演算法，藉由非線性迴歸獲得調整結果。相對EC50對應於在細胞溶解的最大與最小百分比之間產生半效應的濃度。若相對EC50超出範圍，則相對EC50可能高於測試的最強濃度，或低於測試的最弱濃度，取決於具體情況。計算出EC50_{rel}值的幾何平均值及95%水準的信賴區間(CI)。

【0245】 11-DE-DSB表現出針對MM.1R細胞株的ADCP活性，其中EC50_{rel}的幾何平均值為247.8 pM [CI95% 81.7; 751.1](相當於35.93 ng/mL)(n=5)。在同一實驗中，抗CD38-IgG1表現出針對MM.1R細胞株的ADCP活性，其中EC50_{rel}的

幾何平均值為21.7 pM [CI95% 2.9 ; 160.2](相當於3.15 ng/ml)(n=3)。同型對照未顯示任何ADCP活性。結果總結於表13.1及表13.2中；每名捐贈者的化合物劑量反應曲線係描述於圖12中。總之，11-DE-DSB誘發了針對表現GPC5D之MM.1R細胞株的ADCP，其中EC50_{rel}值為248 pM [CI95% 82 ; 751]。

表13.1 - 11-DE-DSB針對MM.1R細胞(5名健康捐贈者)的ADCP活性：EC50_{rel}評估

捐贈者 #	EC50 _{rel}	EC50 _{rel} (LCI95%)	EC50 _{rel} (UCI95%)	EC50 _{rel} (CV)	頂部 [CI95%]	底部 [CI95%]	斜率 [CI95%]
1 捐贈者 1	296.7	74.45	1183	68.5%	84.73 [75.91 ; 93.55]	47.50 [41.84 ; 53.16]	0.3044 [0.1382 ; 0.4707]
2 捐贈者 2	380.8	138.7	1045	47.7%	69.46 [63.12 ; 75.79]	32.64 [28.92 ; 36.36]	0.4610 [0.2401 ; 0.6818]
3 捐贈者 3	303.1	184.7	497.3	22.5%	91.81 [89.90 ; 93.73]	68.52 [67.11 ; 69.94]	0.7992 [0.5254 ; 1.073]
4 捐贈者 4	516.9	249.0	1073	33.7%	87.16 [84.44 ; 89.88]	66.34 [64.66 ; 68.02]	0.7251 [0.3770 ; 1.073]
5 捐贈者 5	52.76	30.87	90.17	24.4%	89.37 [87.11 ; 91.62]	56.31 [53.56 ; 59.07]	0.6990 [0.4542 ; 0.9438]

表13.2 - 11-DE-DSB、抗CD38-IgG1及同型對照針對MM.1R細胞的ADCP活性：

EC50_{rel}平均值

化合物	捐贈者	EC50 (pM)	EC50 幾何平均值[CI95%] (pM)
11-DE-DSB	捐贈者 1	296.7	2.478E+02 [8.174E+01 ; 7.511E+02] (n=5)
	捐贈者 2	380.8	
	捐贈者 3	303.1	
	捐贈者 4	516.9	
	捐贈者 5	52.76	
抗 CD38- IgG1	捐贈者 1	19.73	2.171E+01 [2.942E+00 ; 1.602E+02] (n=3)
	捐贈者 2	50.70	
	捐贈者 3	N/A	
	捐贈者 4	N/A	
	捐贈者 5	10.23	
同型對照	捐贈者 1	N/A	N/A
	捐贈者 2	>1.000E+05	
	捐贈者 3	N/A	
	捐贈者 4	<0.1000	
	捐贈者 5	N/A	

序列

SEQ	說明	序列
1	11 HCDR-1	GFTVSSNY
2	11 HCDR-2	IYSGGST
3	11 HCDR-3	ARGFLAFGRYYYYGMDV
4	11 LCDR-1	SSNIGSNY
5	11 LCDR-2	RNN
6	11 LCDR-3	AAWDDSLSGDV
7	11 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYM SWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGFLA FGRYYYYGMDVWGQGTTVTVSS
8	11 VL	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVY WYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSG TSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGDVFGG GTKLTVL
9	11 HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYM SWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGFLA FGRYYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
10	11 HC，含 有 Fc 突變 (DE-DSB)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYM SWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGFLA FGRYYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYR CVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS

		FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
11	11 LC	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVY WYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSG TSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGDVFGG GTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVC LISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTV EKTVAPECS
12	人類 GPCR5D	MYKDCIESTGDYFLLCDAEGPWGIILESLAILGIVV TILLLLAFLLMRKIQDCSQWNVLPTQLLFLLSVL GLFGLAFAFIILNQQTAPVRYFLFGVLFALCFSCCL LAHASNLVKLVRGCVSFSWTTILCIAIGCSLLQIIIA TEYVTLIMTRGMMFVNMTPCQLNVDFVLLVYV LFLMALTFFVSKATFCGPCENWKQHGRLLIFITVLF SIIIWVWVISMILLRGNPQFQRQPQWDDPVVCIALV TNAWVFLLYIVPELCILYRSCRQECPLQGNACPV TAYQHSFQVENQELSRARDSGDGAEDVALTSYGT PIQPQTVDPTECFIPQAKLSPQQDAGGV
13	(Gly ₄ -Ser) _n	(GGGGS) _n , n = 1 至 35
14	人類 GPCR5A	MATTVPDGCNRGLKSKYYRLCDKAEAWGIVLET VATAGVVTSVAFMLTLPILVCKVQDSNRRKMLPT QFLFLLGVLGIFGLTFAFIIGLDGSTGPTRFFLFGIL FSICFSCLLAHAVSLTKLVRGRKPLSLLVILGLAV GFSLVQDVIAIEYIVLTMNRTNVNVFSELSAPRRN EDFVLLLTYYVFLMALTFLMSSFTFCGSFTGWKR HGAHIYLTMLLSIAIWVAWITLLMLPDFDRRWDD TILSSALAANGWVFLLYVVSPEFWLLTKQRNPMD YPVEDAFCKPQLVKKS YGVENRAYSQEEITQGFE ETGDTLYAPYSTHFQLQNQPPQKEFSIPRAHAWPS PYKDYEYVKKEGSEYMPME
15	人類 GPCR5D-人 類 GPCR5A 嵌合體(N 端)	MATTVPDGCNRGLKSKYYRLCDKAEAWGIVLES LAILGIVVTILLLLAFLLMRKIQDCSQWNVLPTQ LLFLLSVLGLFGLAFAFIILNQQTAPVRYFLFGVL FALCFSCCLAHASNLVKLVRGCVSFSWTTILCIAI GCSLLQIIIA TEYVTLIMTRGMMFVNMTPCQLNV DFVLLVYVFLMALTFFVSKATFCGPCENWKQ HGRLIFITVLF SIIIWVWVISMILLRGNPQFQRQPQW DDPVVCIALVTNAWVFLLYIVPELCILYRSCRQE CPLQGNACPVTA YQHSFQVENQELSRARDSGAE EDVALTSYGTPIQPQTVDPTECFIPQAKLSPQQD AGGVEYMPME
16	人類 GPCR5D-人	MYKDCIESTGDYFLLCDAEGPWGIILESLAILGIVV TILLLLAFLLMRKIQDCSQWNVLPTQLLFLLSVL

	類 GPRC5A 嵌合體(85-93)	GLFGLAFAFIIELDGSTGPTRFFLFGVLFALCFSC LAHASNLVKLVRGCVSFSWTTILCIAIGCSLLQIIIA TEYVTLIMTRGMMFVNMTPCQLNVDFVLLVYV LFLMALFFVSKATFCGPCENWKQHGRLLIFITVLF SIIIWVWVWISMLLRGNPQFQRQPQWDDPVVCIALV TNAWVFLLLYIVPELCILYRSCRQECPLQGNACP TAYQHSFQVENQELSRARDSGDGAEEDVALTSYGT PIQPQTVDPQTQECFIPQAKLSPQQDAGGVEYMP E
17	人類 GPRC5D-人 類 GPRC5A 嵌合體(145-167)	MYKDCIESTGDYFLLCDAEGPWGIILESLAILGIVV TILLLLAFLFLMRKIQDCSQWNVLPTQLLFLLSVL GLFGLAFAFIIELNQQTAPVRYFLFGVLFALCFSC LAHASNLVKLVRGCVSFSWTTILCIAIGCSLLQIIIA IEYIVLTMNRTNVNVFSELSAPRRNVDFVLLVY VLFLMALFFVSKATFCGPCENWKQHGRLLIFITVL FSIIIWVWVWISMLLRGNPQFQRQPQWDDPVVCIAL VTNAWVFLLLYIVPELCILYRSCRQECPLQGNACP VTAYQHSFQVENQELSRARDSGDGAEEDVALTSY GTPIQPQTVDPQTQECFIPQAKLSPQQDAGGVEYMP ME
18	人類 GPRC5D-人 類 GPRC5A 嵌合體(226-239)	MYKDCIESTGDYFLLCDAEGPWGIILESLAILGIVV TILLLLAFLFLMRKIQDCSQWNVLPTQLLFLLSVL GLFGLAFAFIIELNQQTAPVRYFLFGVLFALCFSC LAHASNLVKLVRGCVSFSWTTILCIAIGCSLLQIIIA TEYVTLIMTRGMMFVNMTPCQLNVDFVLLVYV LFLMALFFVSKATFCGPCENWKQHGRLLIFITVLF SIIIWVWVWISMLLLPDFDRRWDDPVVCIALVTNA WVFLLLYIVPELCILYRSCRQECPLQGNACPVTAY QHSFQVENQELSRARDSGDGAEEDVALTSYGTPIQ PQTVDPQTQECFIPQAKLSPQQDAGGVEYMPME

SEQ = SEQ ID NO.

【符號說明】

【0246】 無。

【生物材料寄存】

【0247】 無。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="113347-發明序列
表.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0"
productionDate="2024-12-25">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>113128454</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2024-07-31</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>589-321 PCT</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>EP</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>23315301</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2023-07-31</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">法商賽諾菲公司</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>Sanofi</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">抗GPCR5D抗體及組成物</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>18</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier id="q1">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>Synthetic: 11 HCDR1</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
        <INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q2">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GFTVSSNY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q3">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic: 11 HCDR2</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q4">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>IYGGST</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q5">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic: 11 HCDR3</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q6">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ARGFLAFGRYYYYGMDV</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q7">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic: 11 LCDR1</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q8">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SSNIGSNY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 5" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 6" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q11">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic: 11 Lcdr3</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q12">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AAWDDSLSGDV</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 7" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>122</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..122</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q13">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic: 11 VH</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..122</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q14">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADS
  VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGFLAFGRYYYYGMDVWGQGTTVTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>

```

```

</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 8" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q15">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic: 11 VL</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q16">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDR
    FSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGDVFGGGTKLTVL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 9" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>451</INSDSeq_length>

```

```

<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..451</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q17">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Synthetic: 11 HC</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..451</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q18">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADS
VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGFLAFGRYYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG
GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEP
KSCDKHTHTCPPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_s
equence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
<INSDSeq>

```

```

<INSDSeq_length>451</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..451</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q19">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Synthetic: 11 HC with Fc
mutations</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..451</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q20">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADS
VKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGFLAFGRYYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG
GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEP
KSCDKHTHTCPPEPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYN
STYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_s
equence>
</INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

<SequenceData sequenceIDNumber=" 11" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>216</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..216</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q21">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic: 11 LC</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..216</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q22">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDR
    FSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGDVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD
    FYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS</INSD
    Seq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 12" >
  <INSDSeq>

```

```

<INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q23">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>misc_feature - human GPRC5D</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q24">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MYKDCIESTGDYFLLCDAEGPWGI ILESLAILGIVVTILLLLAFLFLMRKI QDCSQWNVLP
TQLLFLLSVLGLFGLAF I IELNQQTAPVRYFLFGVLFALCFSCLLAHASNLVKLVRCVSVSWTTILCIAIGCSLLQII
IATEYVTLIMTRGMMFVNMTPCQLNVDFVLLVYVFLMALTFVFSKATFCGPCENWKQHRLIFITVLF SII I WVVWIS
MLLRGNPQFQRQPQWDDPVVCI ALVTNAWVFLLYIVPELCILYRSCRQECPLQGNACPV TAYQHSFQVENQELSRARDS
DGAEE DVALTSYGTPIQPQTVDPTQECFIPQAKLSPQQDAGGV</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>175</INSDSeq_length>

```

```

<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..175</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q25">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Synthetic: (Gly4 Ser)n, n = 1 to
35</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>6..175</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q26">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>"GGGGS" may or may not be
present</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..175</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q27">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>

```



```

IWVAWITLLMLPDFRRWDDTILSSALAANGWVFLAYVSPEFWLLTKQRNPMDYPVEDAFCKPQLVKKSYGVENRAYSQ
EEITQGFEETGDTLYAPYSTHFQLQNQPQKEFSIPRAHAWPSYKDYEVKKEGSEYMPME</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>356</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..356</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q30">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Synthetic: human GPRC5D-human GPRC5A chimera (N-
term)</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..356</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q31">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MATTVPDGCNGLKSKYYRLCDKAEAWGIVLES LA ILGIVVTILLLLAFLFLMRKIQDCSQW
NVLPTQLLFLLSVLGLFGLAF AF I IELNQQTAPVRYFLFGVLFALCFSCLLAHASNLVKLVKRVGCVSFSWTTILCIAIGCS
LLQII IATEYVTLIMTRGMMFVNMTPCQLNVDFVVLVYVFLMALTFVSKATFCGPCENWKQHGRLIFITVLF S I I W
VWISMLLRGNPQFQRQPQWDDPVVCI ALVTNAWVFLLLYIVPELCILYRSCRQECPLQGNACPVTAYQHSFQVENQELS

```

```

RARDSGAEEDVALTSYGTPIQPQTVDPTEQECFIPQAKLSPQQDAGGVEYMPME</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>351</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..351</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q32">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic: human GPRC5D-human GPRC5A chimera (85-
93)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..351</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q33">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>MYKDCIESTGDYFLLCDAEGPWGIILESLAILGIVVTILLLLAFLFLMRKIQDCSQWNVLPT
QLLFLLSVLGLFGLAFAFI IELDGSTGPTRFFLFGVLFALCFSCLLAHASNLVCLVRCVSVSFWTTILCIAIGCSLLQII
IATEYVTLIMTRGMMFVNMTPCQLNVDFVLLVYVFLMALTFVSKATFCGPCENWKQHRLIFITVLFSSIIWVWVIS
MLLRGNPQFQRQPQWDDPVVCIALVTNAWVFLLYIVPELCLYRSCRQECPLQGNACPVTAHQHSFQVENQELSRARDS
DGAEEEDVALTSYGTPIQPQTVDPTEQECFIPQAKLSPQQDAGGVEYMPME</INSDSeq_sequence>

```

```

</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>353</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..353</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q34">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic: human GPRC5D-human GPRC5A chimera (145-
167)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..353</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q35">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>MYKDCIESTGDYFLLCDAEGPWGI ILESLA I L G I V V T I L L L L A F L F L M R K I Q D C S Q W N V L P T
Q L L F L L S V L G L F G L A F A F I I E L N Q Q T A P V R Y F L F G V L F A L C F S C L L A H A S N L V K L V R G C V S F S W T T I L C I A I G C S L L Q I I
I A I E Y I V L T M N R T N V N V F S E L S A P R R N V D F V V L L V Y V L F L M A L T F F V S K A T F C G P C E N W K Q H G R L I F I T V L F S I I I W V V W
I S M L L R G N P Q F Q R Q P Q W D D P V V C I A L V T N A W V F L L L Y I V P E L C I L Y R S C R Q E C P L Q G N A C P V T A Y Q H S F Q V E N Q E L S R A R
D S D G A E E D V A L T S Y G T P I Q P Q T V D P T Q E C F I P Q A K L S P Q Q D A G G V E Y M P M E </INSDSeq_sequence>

```

```

</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>347</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..347</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q36">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic: human GPRC5D-human GPRC5A chimera (226-
239)</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..347</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q37">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>MYKDCIESTGDYFLLCDAEGPWGI ILESLAILGIVVTILLLLAFLFLMRKIQDCSQWNVLPT
QLLFLLSVLGLFGLAFAFI IELNQQTAPVRYFLFGVLFALCFSCLLAHASNLVKLVRCVSVFSWTTILCIAIGCSLLQII
IATEYVTLIMTRGMMFVNMTPCQLNVDFVLLVYVLFMLALTFFVSKATFCGPCENWKQHGRILFITVLFSSIIWVWVWIS
MLLLPDFDRRWDDPVVCI ALVTNAWVFLLYIVPELCLILYRSCRQECPLQGNACPVTAHQHSFQVENQELSRARDSGAE
EDVALTSYGTPIQPQTVDPTQECFIPQAKLSPQQDAGGVEYMPME</INSDSeq_sequence>

```

</INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種抗原結合蛋白，其包含兩個可變域，第一可變域含有SEQ ID NO: 1之HCDR1、SEQ ID NO: 2之HCDR2及SEQ ID NO: 3之HCDR3，且第二可變域含有SEQ ID NO: 4之LCDR1、SEQ ID NO: 5之LCDR2及SEQ ID NO: 6之LCDR3。

【請求項2】 如請求項1所述之抗原結合蛋白，其包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列至少90%一致的重鏈可變域(VH)胺基酸序列及與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列至少90%一致的輕鏈可變域(VL)胺基酸序列。

【請求項3】 如請求項1或2所述之抗原結合蛋白，其中該抗原結合蛋白為抗體，較佳為人類IgG同型，更佳為其中該抗體為人類IgG₁同型子類。

【請求項4】 如請求項1至3中任一項所述之抗原結合蛋白，其包含分別與SEQ ID NO: 9及11之胺基酸序列至少90%一致的重鏈(HC)胺基酸序列及輕鏈(LC)胺基酸序列。

【請求項5】 如請求項1至4中任一項所述之抗原結合蛋白，其中該抗原結合蛋白為包含至少一個Fc域突變之抗體。

【請求項6】 如請求項5所述之抗原結合蛋白，其中該抗體包含至少一個增強該抗體與人類FcγRIIIa之結合的Fc域突變，較佳為其中該Fc域突變係位於位置239(視情況地S239D)及/或位置332(視情況地I332E)，其中該殘基係根據EU編號系統編號。

【請求項7】 如請求項5或6所述之抗原結合蛋白，其中該抗體包含至少一個增強抗體穩定性的Fc域突變。

【請求項8】 如請求項5所述之抗原結合蛋白，其中該抗體包含一對突變為半胱氨酸的Fc域，視情況地其中該突變係位於位置292及302 (視情況地其中該突變為R292C及V302C)，其中該殘基係根據EU編號系統編號。

【請求項9】 如請求項5至8中任一項所述之抗原結合蛋白，其中該抗體包含分別與SEQ ID NO: 10及11之胺基酸序列至少90%一致的重鏈(HC)胺基酸序列及輕鏈(LC)胺基酸序列。

【請求項10】 如請求項1至9中任一項所述之抗原結合蛋白，其中該抗原結合蛋白為無岩藻醣基化抗體。

【請求項11】 如請求項1至10中任一項所述之抗原結合蛋白，其中該抗原結合蛋白為融合蛋白。

【請求項12】 如請求項1至11中任一項所述之抗原結合蛋白，其中該抗原結合蛋白具有雙特異性或多特異性。

【請求項13】 一種經分離之核酸分子，其編碼如請求項1至12中任一項所述之抗原結合蛋白。

【請求項14】 一種載體，其包含如請求項13所述之經分離之核酸分子，其中該載體視情況地包含表現控制序列。

【請求項15】 一種宿主細胞，其包含如請求項13所述之經分離之核酸分子或如請求項14所述之載體。

【請求項16】 一種醫藥組成物，其包含如請求項1至12中任一項所述之抗原結合蛋白、如請求項13所述之經分離之核酸分子、如請求項14所述之載體或如請求項15所述之宿主細胞，以及一醫藥上可接受之賦形劑。

【請求項17】 一種如請求項1至12中任一項所述之抗原結合蛋白、如請求項13所述之經分離之核酸分子、如請求項14所述之載體、如請求項15所述之宿主細胞或如請求項16所述之醫藥組成物，其用作藥劑，較佳為用於治療癌症，更佳為其中該癌症為多發性骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、腎癌、乳癌、卵巢癌或胰臟癌。

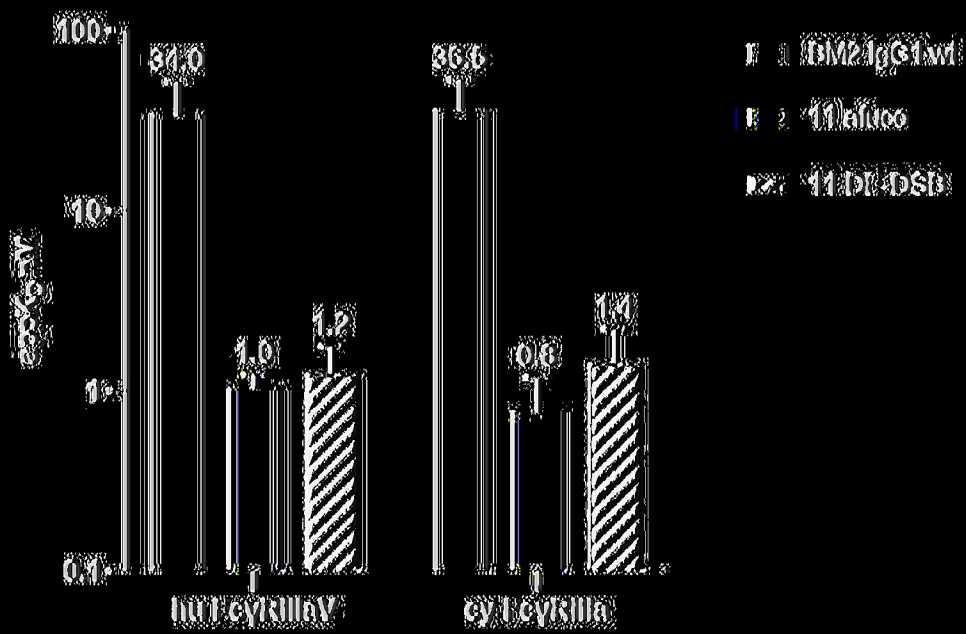
【請求項18】 一種用於產生抗原結合蛋白之方法，其包含提供如請求項15所述之宿主細胞，在適合表現該抗原結合蛋白之條件下培養該宿主細胞，以及從培養物中分離所產生的該抗原結合蛋白。

【請求項19】 一種用於在有需求之患者中治療癌症的方法，其包含向該患者投予一治療有效量之如請求項1至12中任一項所述之抗原結合蛋白或如請求項16所述之醫藥組成物。

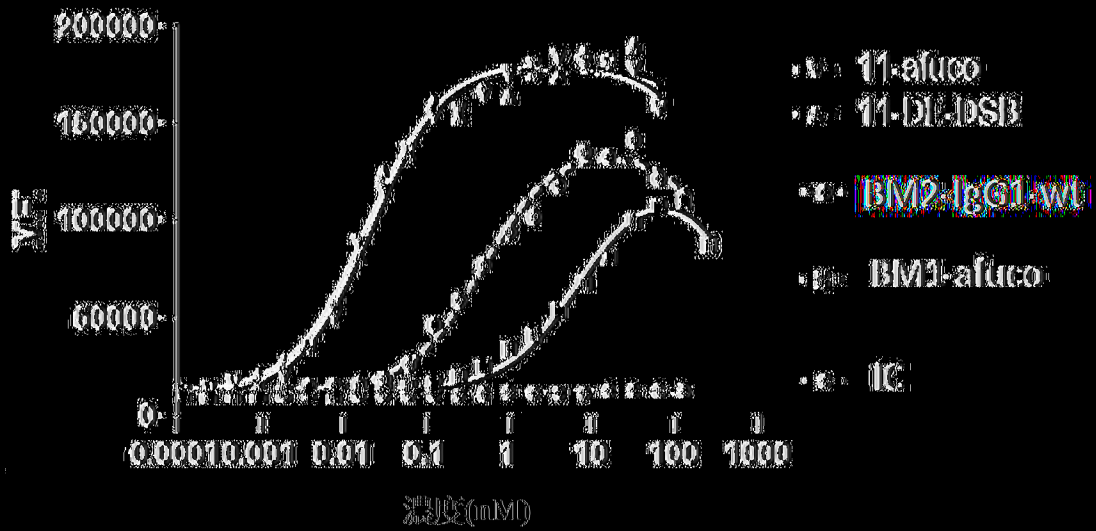
【請求項20】 如請求項19所述之方法，其中該癌症為多發性骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、腎癌、乳癌、卵巢癌或胰臟癌。

【請求項21】 一種如請求項1至12中任一項所述之抗原結合蛋白、如請求項13所述之經分離之核酸分子、如請求項14所述之載體或如請求項15所述之宿主細胞在製造用於治療有需求之患者的藥劑之用途，較佳為其中該患者患有癌症，更佳為其中該癌症為多發性骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、腎癌、乳癌、卵巢癌或胰臟癌。

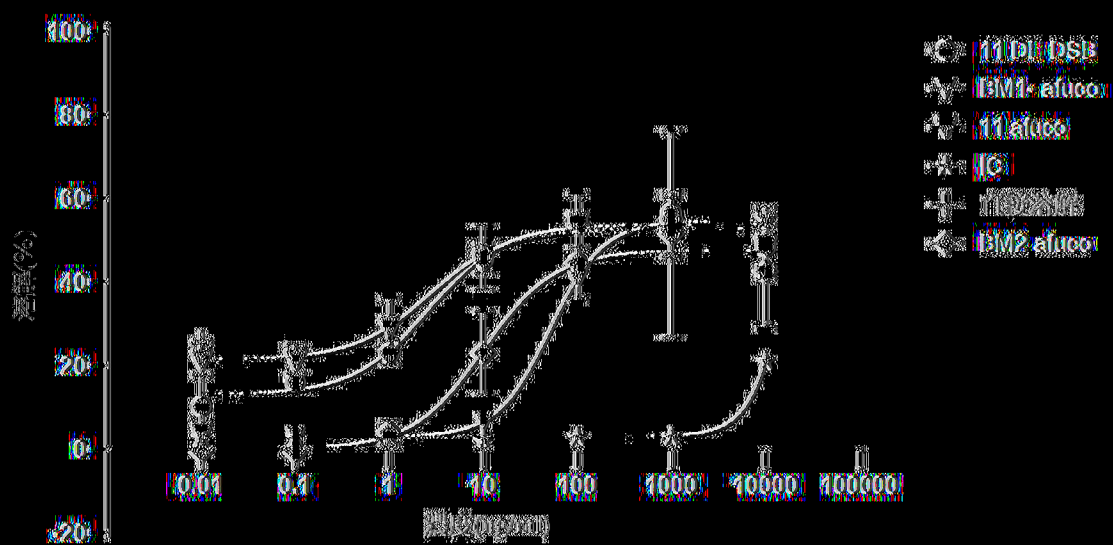
(發明圖式)



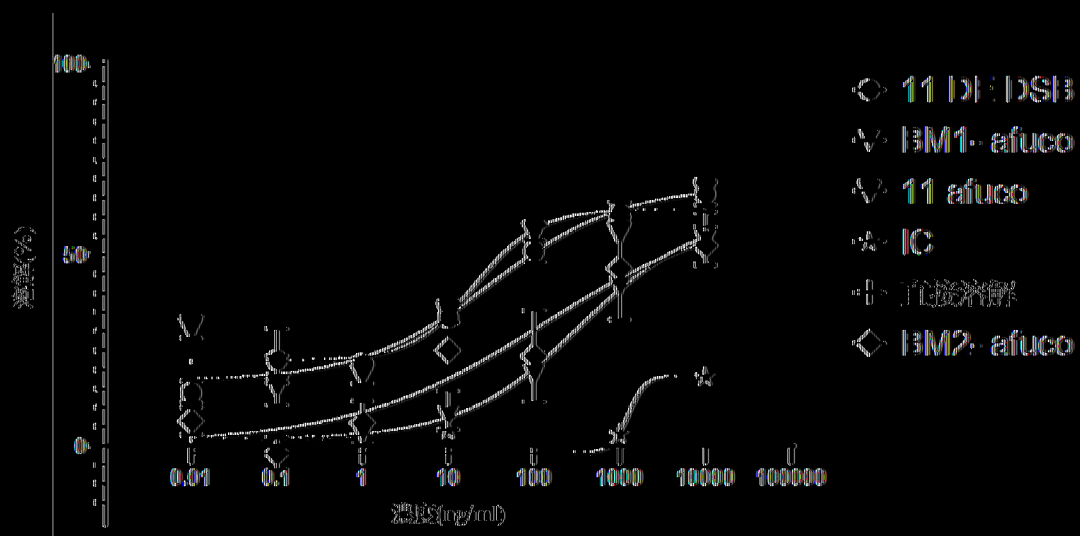
(圖1)



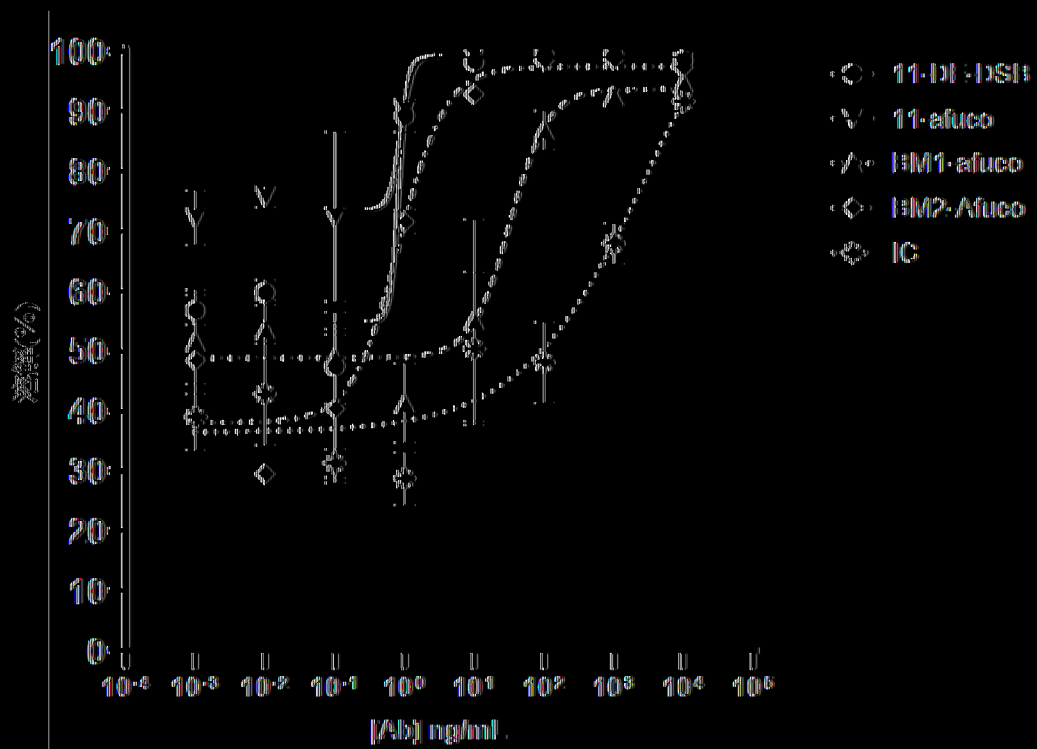
(圖2)



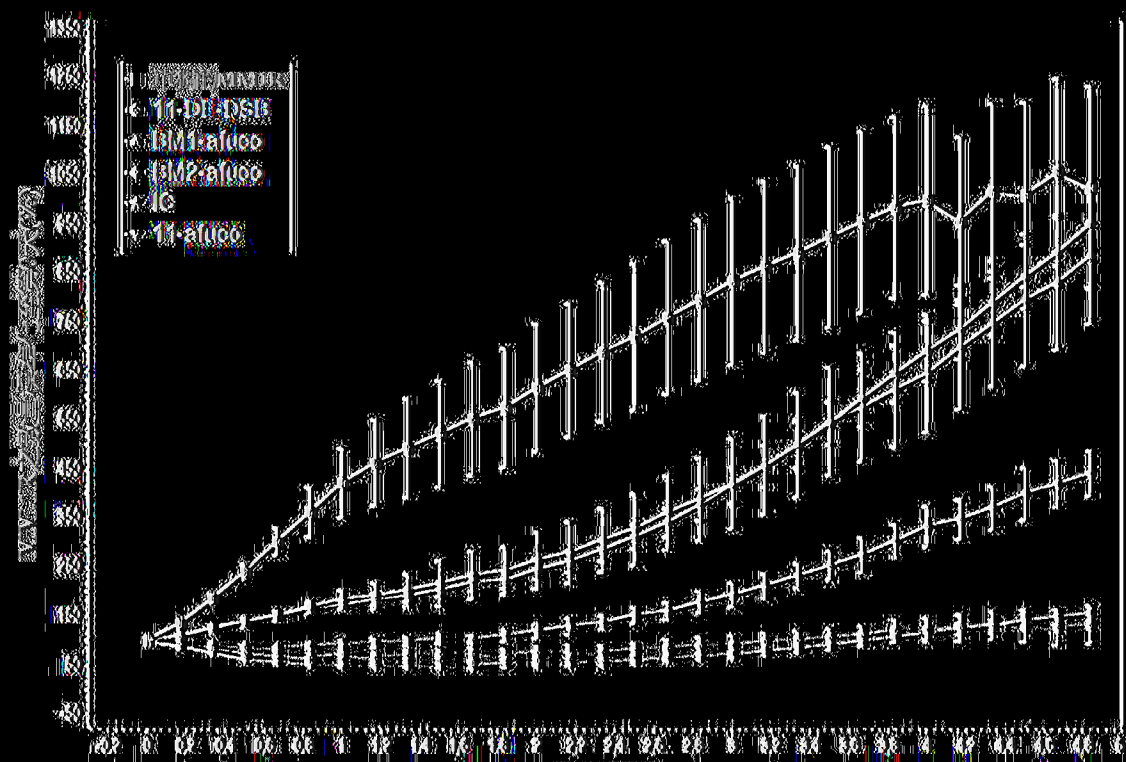
(圖3)



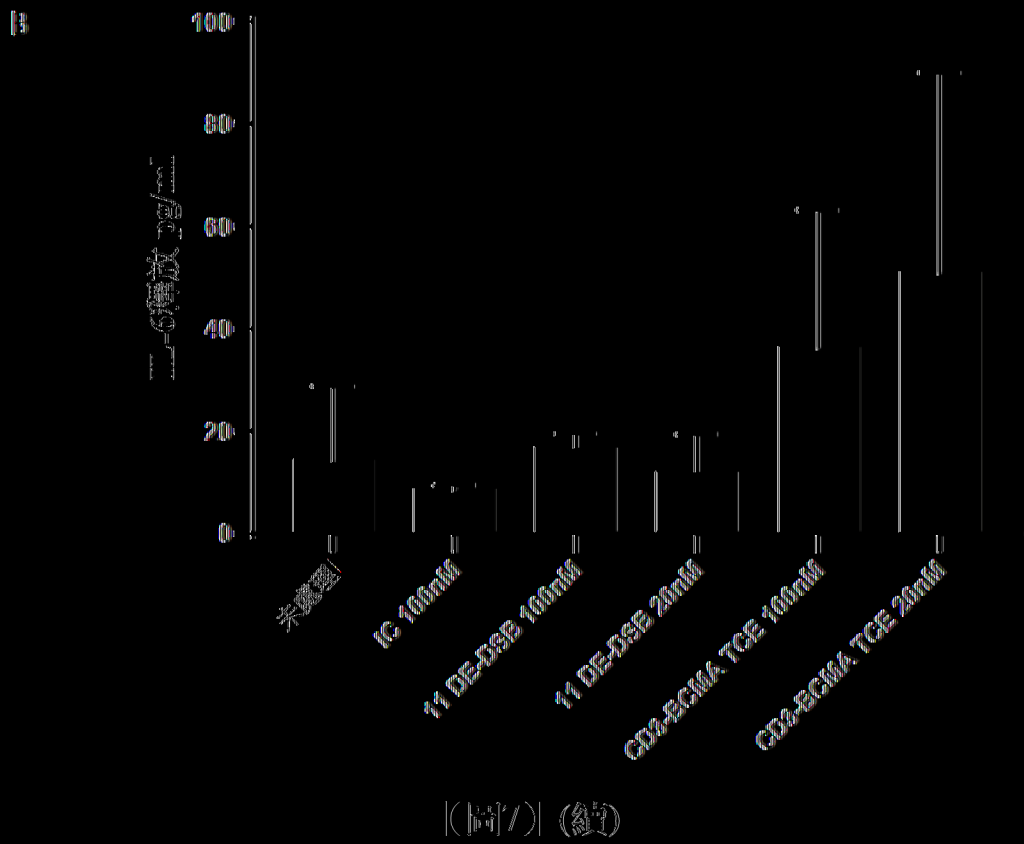
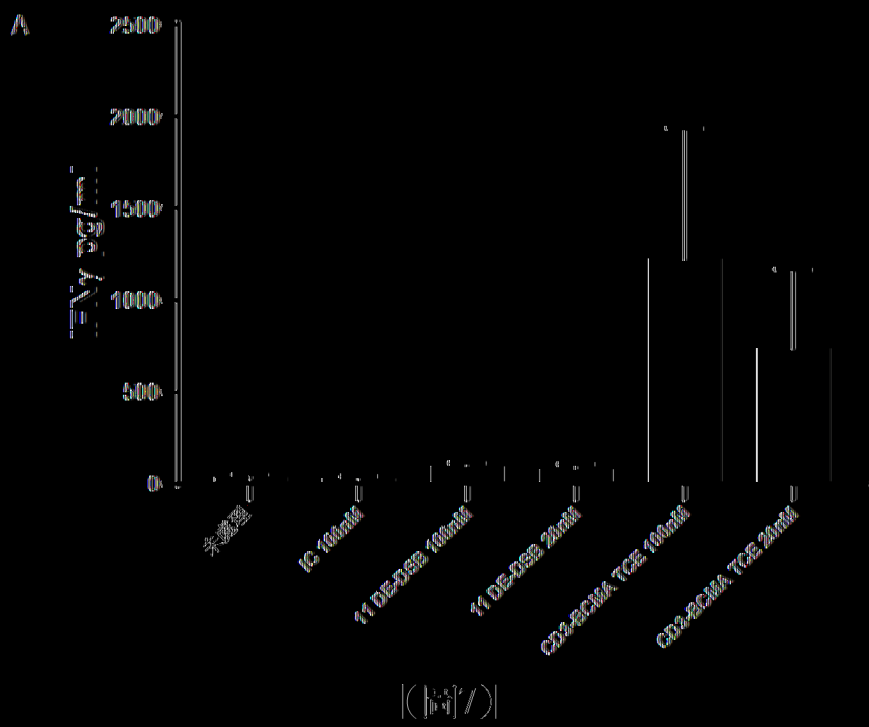
(圖4)

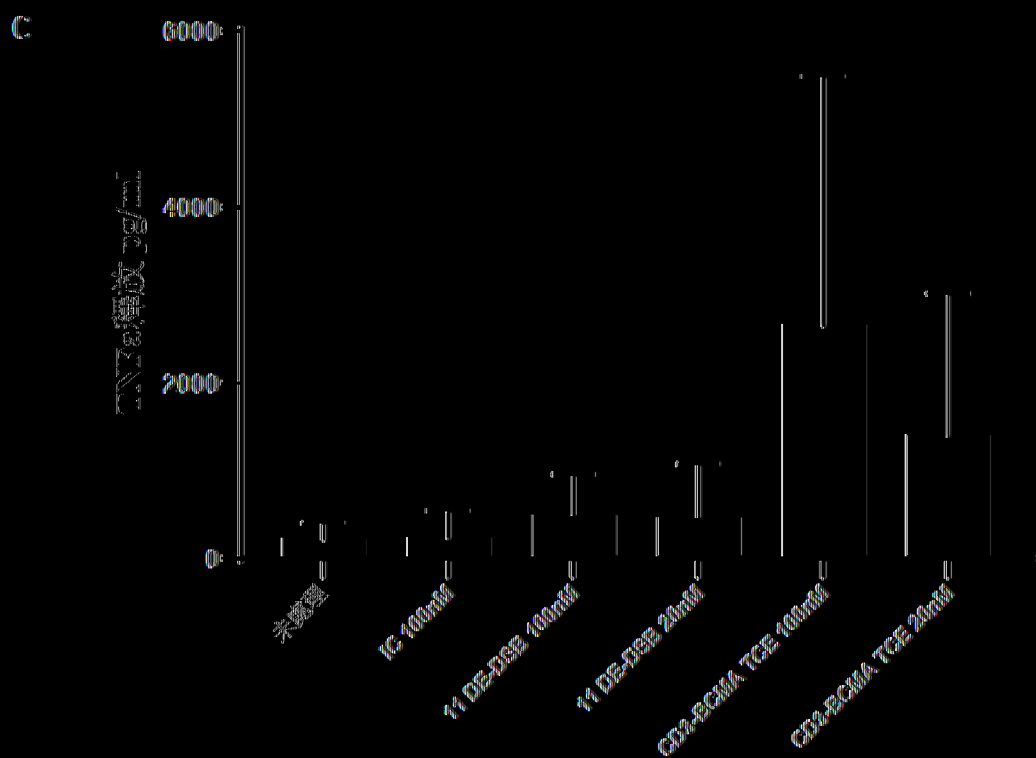


(圖5)

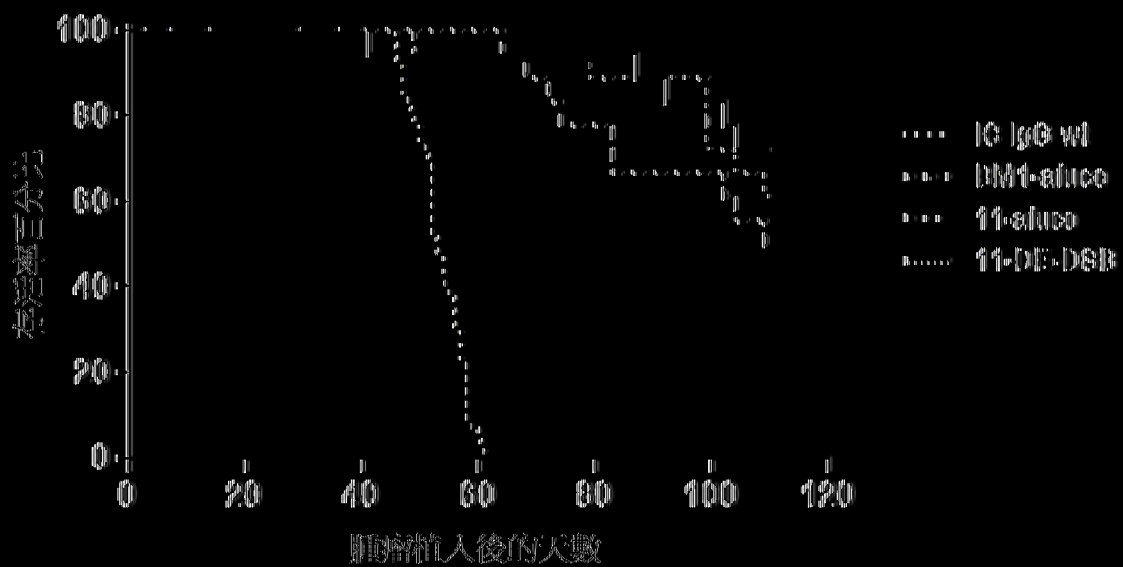


(圖6)

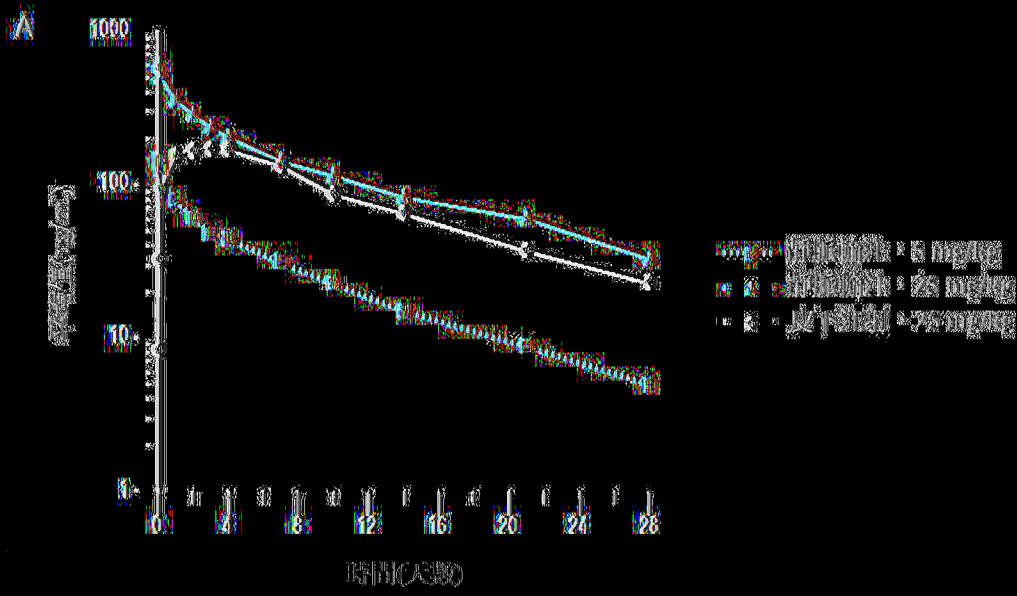




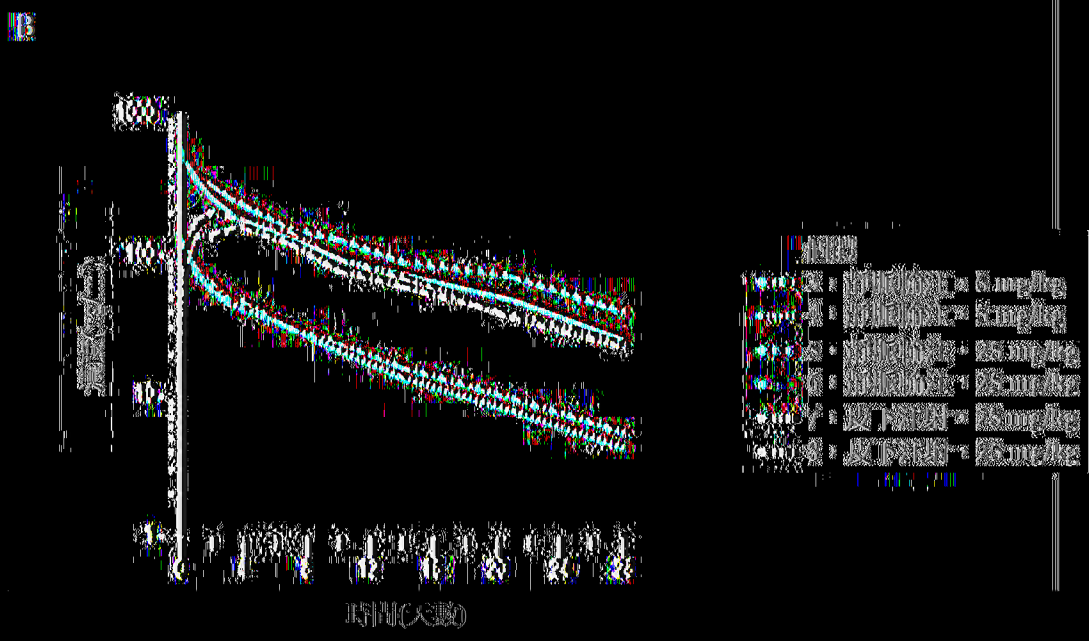
(圖7) (續)



(圖8)



(同9)



(同9) (續)

