



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109963868 B

(45) 授权公告日 2023. 11. 14

(21) 申请号 201780051790.8

(22) 申请日 2017.08.22

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109963868 A

(43) 申请公布日 2019.07.02

(30) 优先权数据
62/378,102 2016.08.22 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.02.22

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/048074 2017.08.22

(87) PCT国际申请的公布数据
W02018/039274 EN 2018.03.01

(73) 专利权人 酃基生医股份有限公司
地址 中国台湾台北市

(72) 发明人 林南宏 黄久珍 陈建有 朱国庆
翁启惠 吴汉忠

(74) 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限公司 11287
专利代理师 刘锋

(51) Int.Cl.
C07K 16/18 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)

(56) 对比文件
US 2016102151 A1,2016.04.14
WO 2016118090 A1,2016.07.28
CN 101652469 A,2010.02.17
Jianqiang Lei等.Potential antitumor applications of a monoclonal antibody specifically targeting human papilloma virus 16 E7 49-57 peptide.《Microbiology and Immunology》.2012,第56卷456-462.

审查员 李一峰

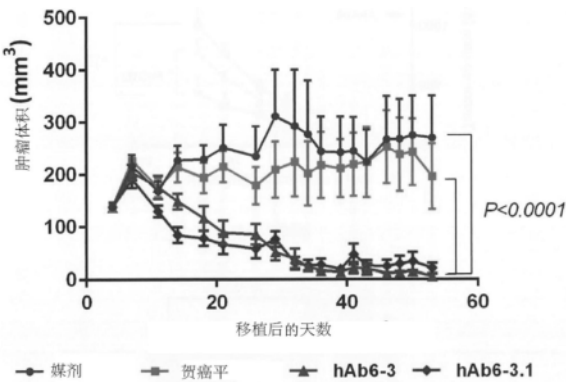
权利要求书2页 说明书55页
序列表68页 附图37页

(54) 发明名称

抗体、结合片段及使用方法

(57) 摘要

本发明涉及抗SSEA4抗体及其结合片段,其包含能够高亲和力结合至SSEA4分子及SSEA4相关表达肿瘤细胞(例如乳癌、胰脏癌及肾癌细胞)的特异性互补决定区。这些抗SSEA4抗体及结合片段会诱导靶向肿瘤细胞中的ADCC或CDC效应并抑制及/或减轻癌症/肿瘤增殖。本发明亦提供用于治疗癌症的呈医药组合物形式之抗SSEA4抗体及其结合片段。另外,这些抗SSEA4抗体及结合片段可用于诊断癌症。



1. 一种经分离单株抗体或其抗原结合片段,其中所述单株抗体或抗原结合片段特异性结合至具有以下结构的碳水化合物抗原SSEA4:

Neu5Aca2→3Galβ1→3GalNAcβ1→3Galα1→4Galβ1→4Glcβ1,其中所述抗体或其抗原结合片段包含H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3、L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3,其中

- (i) 所述H-CDR1的序列如SEQ ID No.10所示;
- (ii) 所述H-CDR2的序列如SEQ ID No.11所示;
- (iii) 所述H-CDR3的序列如SEQ ID No.12所示;
- (iv) 所述L-CDR1的序列如SEQ ID No.15所示;
- (v) 所述L-CDR2的序列如SEQ ID No.16所示;
- (vi) 所述L-CDR3的序列如SEQ ID No.17所示。

2. 如权利要求1的经分离抗体,其中所述抗体包含:

(a) 具有SEQ ID No.13的序列的重链可变结构域,其中SEQ ID No.13的第5、17、48、67及112位置分别经Gln、Thr、Ile、Val及Leu取代;及

(b) 具有SEQ ID No.18的序列的轻链可变结构域,其中SEQ ID No.18的第11、71、82及103位置分别经Gln、Thr、Ala及Val取代。

3. 如权利要求1或2的经分离抗体或抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段为:

- a) 嵌合抗体或其片段;或
- b) 人类化抗体或其片段;或
- c) 人类抗体或其片段;或
- d) 选自由以下组成的群的抗原结合片段:Fab、Fab'、Fv、scFv、dsFv、F(ab)₂、Fd及双价抗体。

4. 如权利要求3的经分离抗体或抗原结合片段,其中所述抗体为IgG。

5. 如权利要求3的经分离抗体或抗原结合片段,其中所述抗体当结合至靶细胞时具有CDC及/或ADCC诱导活性。

6. 一种医药组合物,其包含如权利要求3至5中任一项的经分离抗体或其抗原结合片段及医药上可接受的载剂。

7. 如权利要求6的医药组合物,其进一步包含一或多种治疗剂。

8. 如权利要求7的医药组合物,其中所述治疗剂选自治疗抗体、化学治疗剂或细胞介素。

9. 一种免疫偶联物,其包含如权利要求3的抗体及细胞毒性剂。

10. 如权利要求9的免疫偶联物,其具有式AB-(L-D)_p,其中:

- (a) AB是如权利要求3的抗体;
- (b) L是连接体;
- (c) D是适宜细胞毒性药物,且
- (d) p介于1至8范围内。

11. 如权利要求10的免疫偶联物(ADC),其中所述药物是MMAE或MMAF。

12. 如权利要求10的免疫偶联物,其中所述连接体是可裂解连接体。

13. 如权利要求12的免疫偶联物(ADC),其中所述可裂解连接体是烷氧基胺可裂解连接体。

14. 如权利要求13的免疫偶联物,其进一步包含另一治疗剂。
15. 一种经分离核酸,其编码如权利要求1至4中任一项的抗体。
16. 一种宿主细胞,其包含如权利要求15的核酸。
17. 一种产生抗体的方法,其包含培养如权利要求16的宿主细胞以使得产生所述抗体。
18. 一种如权利要求6-8中任一项的医药组合物、或如权利要求13或14的免疫偶联物的用途,其用于制备治疗患有SSEA4阳性癌症的个体的药剂。
19. 如权利要求18的用途,其中该SSEA4阳性癌症选自脑癌、肺癌、乳癌、口腔癌、食道癌、胃癌、肝癌、胆管癌、胰脏癌、结肠癌、肾癌、子宫颈癌、卵巢癌及前列腺癌。
20. 如权利要求18的用途,其中所述药剂进一步包含一或多种其他治疗方式或药剂或与一或多种其他治疗方式或药剂组合投予。
21. 如权利要求20的用途,其中所述组合治疗方式选自治疗抗体、细胞疗法、辐射、细胞介素或化学治疗剂。
22. 一种如权利要求6-8中任一项的医药组合物、或如权利要求13或14的免疫偶联物的用途,其用于制备抑制SSEA4阳性细胞增殖的药剂。
23. 一种如权利要求6-8中任一项的医药组合物、或如权利要求13或14的免疫偶联物的用途,其用于制备治疗患有SSEA4阳性癌症的个体的药剂,其中所述SSEA4阳性癌症对第一治疗剂有抗性。
24. 如权利要求23的用途,其中所述SSEA4阳性癌症是脑癌、肺癌、乳癌、口腔癌、食道癌、胃癌、肝癌、胆管癌、胰脏癌、结肠癌、肾癌、子宫颈癌、卵巢癌及/或前列腺癌。
25. 如权利要求23的用途,其中所述第一治疗剂包含结合除SSEA4以外的抗原的第一抗体/结合片段/ADC,及/或辐射及/或化学治疗剂。
26. 一种如权利要求1至4中任一项的抗SSEA4抗体用于制备检测生物样品中的SSEA4的药剂的用途。
27. 如权利要求26的用途,其中所述生物样品是癌症样品。
28. 一种如权利要求1至4中任一项的抗SSEA4抗体用于制备检测SSEA4阳性癌症的药剂的用途。
29. 一种如权利要求1至4中任一项的抗SSEA4抗体用于制备检测SSEA4阳性癌症的药剂的用途,其中所述抗SSEA4抗体为经标记抗SSEA4抗体。
30. 如权利要求3的经分离抗体,其中所述抗体以小于 10^{-7} M的亲合常数特异性结合至SSEA4。
31. 如权利要求3的经分离抗体,其中所述抗体是IgG₁、IgG₂、IgG₃或IgG₄。
32. 如权利要求3的经分离抗体,其中所述抗体是IgG_{1 λ} 或IgG_{1 κ} 。
33. 如权利要求3的经分离单株抗体或其抗原结合部分,其中所述单株抗体或其抗原结合部分以 1×10^{-7} M或更小的K_D结合至SSEA4,且其中所述K_D是通过表面电浆共振(Biacore)分析来量测。
34. 如权利要求33的经分离抗体或其抗原结合片段,其中结合亲和力为<50nM。

抗体、结合片段及使用方法

[0001] 相关申请案

[0002] 本申请案主张于2016年8月22日申请的美国临时申请案案号62/378,102的优先权,其全文内容以引用方式并入本文。

技术领域

[0003] 本发明涉及用于治疗增生性病症(包括癌症)的免疫疗法及诊断这些病症的方法的抗体及结合片段。具体而言,本发明涉及包含针对免疫原性寡糖SSEA4的抗体及/或结合片段的碳水化合物相关的免疫疗法及医药组合物。此外,本发明涉及过度增生性病况及在异常细胞上表现的肿瘤相关或特异性碳水化合物的检测及/或诊断。

背景技术

[0004] 阶段特异性胚胎抗原4(Stage-specific embryonic antigen 4;SSEA4)属球系列鞘糖脂(GSL)的六糖且包含Neu5Ac α 2 $\rightarrow$ 3Gal β 1 $\rightarrow$ 3GalNAc β 1 $\rightarrow$ 3Gal α 1 $\rightarrow$ 4Gal β 1 $\rightarrow$ 4Glc β 1的结构。自从1983年SSEA4首次自人类畸形瘤细胞分离(Kannagi R等人,1983),迄今为止其一直广泛用作表面标记物来定义人类胚胎干细胞(hESC)。在过去几十年中,越来越多的研究指示,GloboH与SSEA4共用核心结构Gal β 1 $\rightarrow$ 3GalNAc β 1 $\rightarrow$ 3Gal α 1 $\rightarrow$ 4Gal β 1 $\rightarrow$ 4Glc β 1(SSEA3)的GSL,其在许多上皮癌(包括卵巢癌、胃癌、前列腺癌、肺癌、乳癌及胰脏癌)中过表现(Zhang S等人,1997)。且在肾细胞癌(Saito S等人,1997)及多形性神经胶质母细胞瘤(Lou YW等人,2014)中观察到SSEA4的大量表现。更有趣的是,不仅在乳房肿瘤细胞中且亦在乳癌干细胞中发现SSEA4以及SSEA3及GloboH的表现(Chang WW等人,2008;Huang YL等人,2013)。

[0005] 然而,碳水化合物抗原通常为免疫系统可耐受,且因此诱导弱或非特异性免疫反应(Stein KE等人,1992;Snapper CM等人,1996.)。业内提出,碳水化合物抗原无法被抗原呈递细胞(APC)(例如巨噬细胞、B细胞或树突细胞)内化及消化,且因此无法呈递至辅助T(Th)细胞。自APC至T细胞缺少模拟导致不存在抗体成熟及同型切换。因此,主要产生针对碳水化合物抗原的低亲和力及非类别切换IgM抗体(Musher DM等人,1990;Lortan JE等人,1993)。业内已研发出多种方法来解决缺陷。自从1950年代即研发出偶联碳水化合物抗原与载体蛋白以改良免疫原性(Lindberg AA等人,1999)。该类高免疫原性蛋白包括白喉类毒素(DT)、破伤风类毒素(TT)、CRM197(白喉毒素的无毒变体)及来自脑膜炎双球菌(N.meningitides)的复合外膜蛋白(OMP)混合物(Ada G.等人,1999)。除这些蛋白质的固有免疫原性外,若接受者之前已经这些类毒素免疫,则预期加强效应。载体蛋白-碳水化合物抗原偶联物提供与欲处理且由APC经由MHC II分子呈递的某些碳水化合物抗原偶联的肽。藉由自Th细胞共模拟,针对某些碳水化合物抗原的T及B细胞则被活化。随后进行抗体同型切换及成熟,可进一步生成具有高亲和力及特异性的针对某些碳水化合物抗原的IgG抗体(Bazendale HE等人,2000)。WO 2016029071提供基于碳水化合物的疫苗,其包含经由连接体化学偶联至免疫原性载体白喉毒素交叉反应材料197(CRM 197)的合成SSEA4类似物。

[0006] 尽管载体蛋白在碳水化合物疫苗接种中提供改良免疫原性的解决方案,但该策略引起一些新的及现有问题(Ingale S等人,2007)。第一,外源载体蛋白及附接连接体可引发强免疫反应,由此导致抑制针对碳水化合物抗原的抗体反应。第二,化学偶联基本上处于蛋白质表面的离胺酸上。该实验过程难以控制,从而产生异质组成及最终结构。不明确的组成可能引起不同的免疫反应。第三,模拟细胞表面上的碳水化合物表现的偶联并不理想,由此经诱导抗体可能无法识别碳水化合物簇。研究替代性方法(例如碳水化合物聚乙二醇化)(Giorgi ME.等人,2014)来克服所存在问题。

[0007] 然而,上文所提及的活性免疫疗法在处于免疫低下状态的癌症患者中并不充分实用。尤其接受化学疗法或放射疗法之那些以及晚期癌症患者,活性免疫介入之效能通常有限。

[0008] 根据上文,业内需要研发出针对癌症碳水化合物表位的治疗抗体来替代疫苗接种以适应被动免疫。

发明内容

[0009] 本发明提供实例性经分离抗SSEA4单株抗体、其结合片段、编码其的核酸、及含有这些抗体及其片段的组合物、及其用于抑制及/或减少肿瘤生长及治疗癌症的方法。本文所提供的实例性单株抗SSEA4抗体及结合片段可调介抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)及/或补体依赖性细胞毒性(CDC)活性以靶向并杀死表现SSEA4的肿瘤细胞。另外,在实例性诊断应用中,本文所提供的单株抗SSEA4抗体可用于检测肿瘤样品及/或切片内的表现SSEA4的肿瘤细胞。

[0010] 因此,本文提供特异性结合至SSEA4或其衍生物的新颖重组抗SSEA4抗体及片段、及其用于抗肿瘤免疫疗法(例如癌症治疗)中的方法。结合至癌症抗原后,抗体可立即诱导抗体依赖性细胞介导的细胞毒性,活化补体系统,及抑制肿瘤生长。

[0011] 在一个实施例中,SSEA4在多个肿瘤细胞上高表现,这些肿瘤细胞包括脑瘤细胞、肺肿瘤细胞、乳房肿瘤细胞、口肿瘤细胞、食道肿瘤细胞、胃肿瘤细胞、肝肿瘤细胞、胆管肿瘤细胞、胰脏肿瘤细胞、结肠肿瘤细胞、肾肿瘤细胞、子宫颈肿瘤细胞、卵巢肿瘤细胞、前列腺肿瘤细胞。

[0012] 在一个实施例中,单株抗SSEA4抗体特异性结合至SSEA4分子及衍生物。

[0013] 在一个实施例中,包含本文所述抗SSEA4抗体的组合物可用于抗癌疗法中。具体而言,本实施例提供特异性抗SSEA4抗体的互补决定区(CDR)序列,其可用于多个抗SSEA4结合部分中。具体而言,本发明提供能够结合至SSEA4或其衍生物的人类化或嵌合抗体或其抗原结合片段。

[0014] 在某些实施例中,CDR序列由Kabat方法定义。

[0015] 在某些实施例中,抗SSEA4抗体具有在结合至SSEA4阳性或SSEA4表现细胞时抑制肿瘤生长的活性。

[0016] 在某些实施例中,经分离抗SSEA4抗体是单株抗体。针对SSEA4的单株抗体可根据业内的知识及技能制得。举例而言,其可藉由向测试个体注射人类胚胎癌细胞且然后分离具有期望序列或功能特征的杂交瘤表现抗体来制得。

[0017] 在一个实施例中,本发明提供结合至SSEA4的经分离单株抗体或其抗原结合部分,

其中在靶结合时抗体具有CDC诱导活性。

[0018] 在一个实施例中,本发明提供结合至SSEA4的经分离单株抗体或其抗原结合部分,其中在靶结合时抗体具有ADCC诱导活性。

[0019] 在一态样中,本发明提供经分离单株抗体或其抗原结合片段,其分别包含:

[0020] (i)选自SEQ ID No.10、40、50、60、70、80、100、120、130、140、150及170的H-CDR1、或其80%或更保守的序列同系物;

[0021] (ii)选自SEQ ID No.11、41、51、61、71、81、101、121、131、141、151及171的H-CDR2、或其80%或更保守的序列同系物;

[0022] (iii)选自SEQ ID No:12、42、52、62、72、82、102、122、132、142、152及172的H-CDR3、或其80%或更保守的序列同系物;

[0023] (iv)选自SEQ ID No.15、45、55、65、75、85、105、125、135、145、155及175的L-CDR1、或其80%或更保守的序列同系物;

[0024] (v)选自SEQ ID No.16、46、56、66、76、86、106、126、136、146、156及176的L-CDR2、或其80%或更保守的序列同系物,及

[0025] (vi)选自SEQ ID No:17、47、57、67、77、87、107、127、137、147、157及177的L-CDR3、或其80%或更保守的序列同系物。

[0026] 在一态样中,本发明提供经分离单株抗体或其抗原结合片段,其包含:

[0027] (i)选自SEQ ID No.10、40、50、60、70、80、100、120、130、140、150及170的H-CDR1或其含有少于5个氨基酸取代的保守序列同系物;

[0028] (ii)选自SEQ ID No.11、41、51、61、71、81、101、121、131、141、151及171的H-CDR2或其含有少于5个氨基酸取代的保守序列同系物;

[0029] (iii)选自SEQ ID No:12、42、52、62、72、82、102、122、132、142、152及172的H-CDR3或其含有少于5个氨基酸取代的保守序列同系物;及

[0030] (iv)选自SEQ ID No.15、45、55、65、75、85、105、125、135、145、155及175的L-CDR1或其含有少于5个氨基酸取代的保守序列同系物;

[0031] (v)选自SEQ ID No.16、46、56、66、76、86、106、126、136、146、156及176的L-CDR2或其含有少于5个氨基酸取代的保守序列同系物;及

[0032] (vi)选自SEQ ID No:17、47、57、67、77、87、107、127、137、147、157及177的L-CDR3或其含有少于5个氨基酸取代的保守序列同系物。

[0033] 在某些实施例中,经分离单株抗体或其抗原结合片段进一步包含选自重链上的A100R、N31 S、T62A中的一或多者及/或轻链上的S52Y的CDR上的氨基酸取代。

[0034] 在某些实施例中,经分离单株抗体或其抗原结合片段进一步包含选自重链上的V50A、G53A、S35T中的一或多者及/或轻链上的V30I/A、G91A、Y94F中的一或多者的CDR上的氨基酸取代。

[0035] 在一态样中,本发明提供经分离单株抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)选自SEQ ID No.13、23、33、43、53、63、73、83、103、123、133、143、153及173的重链可变结构域,或其80%或更保守的序列同系物;及(ii)选自SEQ ID No.18、28、38、48、58、68、78、88、108、128、138、148、158及178的轻链可变结构域,或其80%或更保守的序列同系物。

[0036] 在一个实施例中,技术方案1的经分离单株抗体或其抗原结合片段进一步包含:

(i) 选自SEQ ID No.13、23、33、43、53、63、73、83、103、123、133、143、153及173的重链可变结构域或其80%或更保守的序列同系物,其分别进一步包含选自SEQ ID No.10、40、50、60、70、80、100、120、130、140、150及170的H-CDR1;选自SEQ ID No.11、41、51、61、71、81、101、121、131、141、151及171的H-CDR2、选自SEQ ID No:12、42、52、62、72、82、102、122、132、142、152及172的H-CDR3,及(ii)选自SEQ ID No.18、28、38、48、58、68、78、88、108、128、138、148、158及178的轻链可变结构域或其80%或更保守的序列同系物,其进一步包含选自SEQ ID No.15、45、55、65、75、85、105、125、135、145、155及175的L-CDR1;及选自SEQ ID No.16、46、56、66、76、86、106、126、136、146、156及176的L-CDR2、及选自SEQ ID No:17、47、57、67、77、87、107、127、137、147、157及177的L-CDR3。

[0037] 在一态样中,本发明提供经分离单株抗体或其抗原结合片段,其包含:(i) 选自SEQ ID No.13、23、33、43、53、63、73、83、103、123、133、143、153及173的重链可变结构域或其含有少于10个氨基酸取代的保守序列同系物;及(ii)选自SEQ ID No.18、28、38、48、58、68、78、88、108、128、138、148、158及178的轻链可变结构域或其含有少于10个氨基酸取代的保守序列同系物。

[0038] 在一个实施例中,经分离单株抗体或其抗原结合片段进一步包含:(i) 选自SEQ ID No.13、23、33、43、53、63、73、83、103、123、133、143、153及173的重链可变结构域或其含有少于10个氨基酸取代的保守序列同系物,其分别进一步包含选自SEQ ID No.10、40、50、60、70、80、100、120、130、140、150及170的H-CDR1;选自SEQ ID No.11、41、51、61、71、81、101、121、131、141、151及171的H-CDR2、选自SEQ ID No:12、42、52、62、72、82、102、122、132、142、152及172的H-CDR3,及(ii)选自SEQ ID No.18、28、38、48、58、68、78、88、108、128、138、148、158及178的轻链可变结构域或其含有少于10个氨基酸取代的保守序列同系物,其进一步包含选自SEQ ID No.15、45、55、65、75、85、105、125、135、145、155及175的L-CDR1;及选自SEQ ID No.16、46、56、66、76、86、106、126、136、146、156及176的L-CDR2、及选自SEQ ID No:17、47、57、67、77、87、107、127、137、147、157及177的L-CDR3。

[0039] 在一态样中,本发明提供经分离单株抗体或其抗原结合片段,其进一步包含:(i) 选自SEQ ID No.13、23、33、43、53、63、73、83、103、123、133、143、153及173的重链可变结构域或其含有少于10个氨基酸取代的保守序列同系物;及(ii)选自SEQ ID No.18、28、38、48、58、68、78、88、108、128、138、148、158及178的轻链可变结构域或其含有少于10个保守氨基酸取代的序列同系物,其进一步包含选自SEQ ID No.15、45、55、65、75、85、105、125、135、145、155及175的L-CDR1;及选自SEQ ID No.16、46、56、66、76、86、106、126、136、146、156及176的L-CDR2、及选自SEQ ID No:17、47、57、67、77、87、107、127、137、147、157及177的L-CDR3。

[0040] 在一态样中,本发明提供经分离单株抗体或其抗原结合片段,其进一步包含:(i) 选自SEQ ID No.13、23、33、43、53、63、73、83、103、123、133、143、153及173的重链可变结构域或其含有少于10个氨基酸取代的保守序列同系物,其分别进一步包含选自SEQ ID No.10、40、50、60、70、80、100、120、130、140、150及170的H-CDR1;选自SEQ ID No.11、41、51、61、71、81、101、121、131、141、151及171的H-CDR2、选自SEQ ID No:12、42、52、62、72、82、102、122、132、142、152及172的H-CDR3;及(ii)选自SEQ ID No.18、28、38、48、58、68、78、88、108、128、138、148、158及178的轻链可变结构域;或其含有少于10个氨基酸取代的保守序列

同系物。

[0041] 在一态样中,本发明提供经分离单株抗体或其抗原结合片段,其包含如表2A-2D中的每一变体中所示的各别相应VH、VL及各别H-CDR及L-CDR。

[0042] 在某些实施例中,经分离抗体或抗原结合片段为:

[0043] a.嵌合抗体或其片段;或

[0044] b.人类化抗体或其片段;或

[0045] c.人类抗体或其片段;或

[0046] d.选自由以下组成的群的抗原结合片段:Fab、Fab'、Fv、scFv、dsFv、F(ab)₂、Fd及双价抗体。

[0047] 在某些实施例中,经分离抗体或抗原结合片段是IgG。

[0048] 在某些实施例中,经分离抗体或其抗原结合片段靶向具有结构Neu5Acα2→3Galβ1→3GalNAcβ1→3Galα1→4Galβ1→4Glcβ1的碳水化合物抗原SSEA4。

[0049] 在某些实施例中,本发明提供经分离抗体或抗原结合片段,其中抗体在结合至靶细胞时具有CDC及/或ADCC诱导活性。

[0050] 在某些实施例中,本发明提供医药组合物,其包含经分离抗体或其抗原结合片段及医药上可接受的载剂。

[0051] 在某些实施例中,本发明提供医药组合物,其进一步包含一或多种抗肿瘤剂。

[0052] 在某些实施例中,本发明提供医药组合物,其中抗肿瘤剂是化学治疗剂。

[0053] 在某些实施例中,本发明提供免疫偶联物,其包含抗体及细胞毒性剂。

[0054] 在某些实施例中,本发明提供免疫偶联物,其具有式AB-(L-D)_p,其中:(a)AB是技术方案1-10中任一者的抗体;(b)L是连接体;(c)D是适宜细胞毒性药物,且(d)p介于1至8范围内。

[0055] 在某些实施例中,本发明提供免疫偶联物,其中药物是MMAE。

[0056] 在某些实施例中,本发明提供免疫偶联物,其中连接体是可裂解连接体。

[0057] 在某些实施例中,本发明提供ADC,其中连接体是烷氧基胺可裂解连接体。

[0058] 在某些实施例中,本发明提供医药调配物,其包含技术方案的免疫偶联物及医药上可接受的载剂。

[0059] 在某些实施例中,本发明提供医药调配物,其进一步包含另一治疗剂。

[0060] 在某些实施例中,本发明提供经分离核酸(cDNA),其编码本文所揭示的抗体或结合片段。

[0061] 在某些实施例中,本发明提供宿主细胞,其包含编码本文所揭示的抗体或结合片段的核酸。

[0062] 在某些实施例中,本发明提供产生抗体的方法,其包含培养宿主细胞以使得产生抗体。

[0063] 在某些实施例中,本发明提供抗体,其藉由包含以下的步骤产生:

[0064] (a)提供编码3个具有以下序列的VL结构域CDR的核酸:分别为选自SEQ ID No.15、45、55、65、75、85、105、125、135、145、155及175的L-CDR1;及选自SEQ ID No.16、46、56、66、76、86、106、126、136、146、156及176的L-CDR2、及选自SEQ ID No.17、47、57、67、77、87、107、127、137、147、157及177的L-CDR3;

[0065] (b) 组合编码3个具有以下序列的VH结构域CDR的核酸谱系：分别为选自SEQ ID No.10、40、50、60、70、80、100、120、130、140、150及170的H-CDR1；选自SEQ ID No.11、41、51、61、71、81、101、121、131、141、151及171的H-CDR2、选自SEQ ID No.12、42、52、62、72、82、102、122、132、142、152及172的H-CDR3，

[0066] 与编码3个VL结构域CDR的核酸，以提供编码3个VL结构域CDR及3个VH结构域CDR谱系的核酸的产物谱系；

[0067] (c) 表现产物谱系的核酸；

[0068] (d) 选择包含特异性结合至SSEA4且自产物谱系的核酸表现的可变结构域的抗原结合片段；及

[0069] (e) 产生包含抗原结合片段的抗体。

[0070] 在某些实施例中，本发明提供治疗患有SSEA4阳性癌症的个体的方法，该方法包含向有需要的个体投与有效量的本文所揭示医药组合物。

[0071] 在某些实施例中，本发明提供方法，其中SSEA4阳性癌症选自脑癌、肺癌、乳癌、口腔癌、食道癌、胃癌、肝癌、胆管癌、胰脏癌、结肠癌、肾癌、子宫颈癌、卵巢癌及前列腺癌。

[0072] 在某些实施例中，本发明提供方法，其进一步包含向个体组合投与另一治疗方式或药剂。

[0073] 在某些实施例中，本发明提供方法，其中组合治疗方式选自治疗抗体、细胞疗法、辐射、细胞介素及/或化学治疗剂。

[0074] 在某些实施例中，本发明提供抑制SSEA4阳性细胞增殖的方法，该方法包含在容许抗体/片段/ADC与表现碳水化合物抗原的细胞表面上的SSEA4结合的条件下将细胞暴露于如本文所揭示的医药调配物，藉此抑制细胞增殖。

[0075] 在某些实施例中，本发明提供治疗患有SSEA4阳性癌症的个体的方法，其中SSEA4阳性癌症对第一治疗剂有抗性，该方法包含向个体投与有效量的本文所揭示医药调配物。

[0076] 在某些实施例中，本发明提供方法，其中SSEA4阳性癌症是脑癌、肺癌、乳癌、口腔癌、食道癌、胃癌、肝癌、胆管癌、胰脏癌、结肠癌、肾癌、子宫颈癌、卵巢癌及/或前列腺癌。

[0077] 在某些实施例中，本发明提供方法，其中第一治疗剂包含结合除SSEA4外的抗原的第一抗体/结合片段/ADC及/或辐射及/或化学治疗剂。

[0078] 在某些实施例中，本发明提供检测生物样品中的SSEA4的方法，其包含使生物样品与如本文所揭示的抗SSEA4抗体在容许抗SSEA4抗体与天然SSEA4结合的条件下接触，及检测在抗SSEA4抗体与生物样品中的天然SSEA4间是否形成复合物。

[0079] 在某些实施例中，本发明提供方法，其中生物样品是癌症样品。

[0080] 在某一态样中，本发明提供检测SSEA4阳性癌症的方法，其包含(i) 向患有或怀疑患有碳水化合物抗原表现肿瘤的个体投与经标记抗SSEA4抗体，其中经标记抗SSEA4抗体包含如本文所揭示的抗SSEA4抗体，及(ii) 检测个体中的经标记抗SSEA4抗体，其中检测到经标记抗SSEA4抗体指示个体中的SSEA4阳性癌症。

[0081] 在某些实施例中，本发明提供经分离抗体，其中抗体以小于 10^{-7} M的亲和常数特异性结合至SSEA4。

[0082] 在某些实施例中，本发明提供经分离抗体，其中抗体是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。

[0083] 在某些实施例中，本发明提供经分离抗体，其中抗体是IgG1 λ 或IgG1 κ 。

[0084] 在某些实施例中,本发明提供单株抗体或其抗原结合部分,其中单株抗体或其抗原结合部分以 1×10^{-7} M或更小的 K_D 结合至SSEA4,且其中 K_D 藉由表面电浆共振(Biacore)分析来量测。

[0085] 在某些实施例中,本发明提供经分离抗SSEA4抗体或其结合片段,其中结合亲和力为<50nM。

[0086] 本发明涉及根据本发明态样/实施例中任一者的特异性结合至SSEA4的抗体及其结合片段。在一态样中,本发明提供结合至SSEA4的经分离单株抗体或其结合片段,其中在靶结合时抗体具有ADCC诱导活性。

[0087] 根据某些实施例,抗体是单株抗体。

[0088] 根据某些实施例,抗体是嵌合或人类化抗体。

[0089] 根据某些实施例,抗体是双特异性抗体。

[0090] 根据某些实施例,本发明揭示选择性结合至SSEA4的嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor; CAR)。在此实施例中, CAR可包含具有可变重链(V_H)及可变轻链(V_L)的抗原结合结构域。

[0091] 在一态样中,藉由ELISA结合分析,抗体或其结合片段具有与SSEA4的半最大结合,且 EC_{50} 为约5奈克/mL、10奈克/mL、15奈克/mL、20奈克/mL、15奈克/mL、30奈克/mL、35奈克/mL、40奈克/mL、45奈克/mL、50奈克/mL、55奈克/mL、60奈克/mL、65奈克/mL、70奈克/mL、75奈克/mL、80奈克/mL、85奈克/mL、90奈克/mL、95奈克/mL、100奈克/mL、105奈克/mL、110奈克/mL、115奈克/mL、120奈克/mL、125奈克/mL、130奈克/mL、135奈克/mL、140奈克/mL、145奈克/mL、150奈克/mL、155奈克/mL、160奈克/mL、165奈克/mL、170奈克/mL、175奈克/mL、180奈克/mL、185奈克/mL、190奈克/mL、195奈克/mL、200奈克/mL、205奈克/mL、210奈克/mL、215奈克/mL、220奈克/mL、225奈克/mL、230奈克/mL、235奈克/mL、240奈克/mL、245奈克/mL、250奈克/mL或本文所列举两个值中任一者之间的值。

[0092] 在一态样中,经分离抗SSEA4抗体或其结合片段,其中结合亲和力为<50nM(小于50nM)。在某些实施例中,结合亲和力可介于<5nM、<10nM、<15nM、<20nM、<25nM、<30nM、<35nM、<40nM、<45nM或<50nM范围内。

[0093] 根据本发明的一实施例,医药组合物包含(1)治疗有效量的根据本发明态样/实施例中任一者的抗体或抗原结合片段,及视情况(2)医药上可接受的载剂。

[0094] 在一态样中,本发明涉及治疗有需要的个体的癌症的医药组合物,其包含包括如本文所揭示的实例性H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3、L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3的经分离抗体或其抗原结合片段及医药上可接受的载剂。

[0095] 在某些实施例中,医药组合物可用于治疗过度增生性疾病,例如癌症。例示性的过度增生性疾病可包含,例如,一或多种列于表4的肿瘤。

[0096] 表4: 肿瘤细胞系中球系列鞘糖脂的表现

[0097] 藉由流式细胞术测定球系列GSL的表现。将在流式细胞术中大于15%的总细胞呈阳性的细胞系标记为阳性。

	肿瘤起源	SSEA-4 ⁺	SSEA-3 ⁺	Globo H ⁺
	脑	12/17	9/17	6/17
	肺	13/20	5/20	13/20
	乳房	17/23	6/23	14/23
	口	8/13	2/13	11/13
	食道	1/2	0/2	2/2
	胃	4/6	3/6	6/6
[0098]	肝	6/10	4/10	9/10
	胆管	2/5	1/5	3/5
	胰脏	8/8	3/8	6/8
	结肠	5/7	0/7	6/7
	肾	5/6	0/6	5/6
	子宫颈	3/4	2/4	1/4
	卵巢	8/9	2/9	5/9
	前列腺	4/4	1/4	1/4

[0099] 表4.肿瘤细胞系上的球系列鞘糖脂表现的列表.表现高球系列鞘糖脂的多种肿瘤细胞,例如脑瘤细胞、肺肿瘤细胞、乳房肿瘤细胞、口肿瘤细胞、食道肿瘤细胞、胃肿瘤细胞、肝肿瘤细胞、胆管肿瘤细胞、胰脏肿瘤细胞、结肠肿瘤细胞、肾肿瘤细胞、子宫颈肿瘤细胞、卵巢肿瘤细胞、前列腺肿瘤细胞。

[0100] 在某些态样中,本发明提供治疗有需要的个体的癌症的方法,其中该方法包含向个体投与治疗有效量的代表性医药组合物,其中所投与抗体增强该个体中的ADCC或CDC活性。

[0101] 在某些实施例中,所提供方法治疗选自以下组成的群的癌症:脑癌、肺癌、乳癌、口腔癌、食道癌、胃癌、肝癌、胆管癌、胰脏癌、结肠癌、肾癌、骨癌、皮肤癌、子宫颈癌、卵巢癌及前列腺癌。

[0102] 根据本发明的实施例,该方法包括向个体投与有效量的包含抗体的医药组合物及/或根据本发明态样/实施例中任一者的医药组合物。

[0103] 在某些实施例中,本发明提供诊断癌症的方法。

[0104] 【图式简单说明】

[0105] 如本文所用,用于阐述聚糖及相关结构的符号、图形及文本术语在业内充分确立及理解,包括例如Ajit Varki等人的「Symbols Nomenclatures for Glycan Representation」,Proteomics.2009年12月;9(24):5398-5399。

[0106] 图1A-1E.1A:代表性Ab6抗体及/或结合片段的CDR序列.CDR序列分别由Kabat、AbM、Chothia、Contact及IMGT方法来定义.图1B:展示具有CDR修饰的抗SSEA4抗体.图1C:展示具有可变结构域修饰的抗SSEA4抗体.图1D.展示具有非保守CDR修饰的抗SSEA4抗体:hAb6-3、hAb6-3.1/2/3/4的序列比对.图1E.展示具有保守CDR修饰的抗SSEA4抗体:hAb6-3及hAb6-3.101/103/105/106/107/108/110的序列比对。

[0107] 图2.在可变结构域中具有6个或10个氨基酸取代的代表性人类化Ab6序列.CDR区

加下划线且经取代氨基酸以粗体表示。

[0108] 图3.chAb6重链可变结构域的Kabat编号.

[0109] 图4.chAb6轻链可变结构域的Kabat编号.

[0110] 图5.藉由表面电浆共振的实例性嵌合及人类化Ab6的动力学结合分析.使用Biacore系统测定hAb6-3.1、hAb6-3及chAb6的抗原结合亲和力.hAb6-3.1、hAb6-3及chAb6的经计算Kd值分别为23.1nM、17.8nM及10.11nM。

[0111] 图6A.藉由ELISA测定一实例性chAb6与SSEA4的结合亲和力.实例性嵌合Ab6(chAb6)以剂量依赖性方式结合至SSEA4.chAb6与SSEA4的结合EC₅₀为约50ng/mL。

[0112] 图6B.藉由ELISA测定其他实例性嵌合及人类化Ab6与SSEA4的结合亲和力.实例性嵌合及人类化Ab6以剂量依赖性方式结合至SSEA4.chAb6、hAb6-3及hAb6-3.1与SSEA4的结合EC₅₀分别为约106ng/mL、125ng/mL及98ng/mL。

[0113] 图6C-6D.图6C表示展示非保守修饰氨基酸取代的结合亲和力.图6D表示展示保守修饰氨基酸取代的结合亲和力。

[0114] 图7.通过聚糖阵列分析实例性chAb6与SSEA4的结合特异性.检查chAb6针对各种寡糖的结合特异性且结果指示chAb6结合至SSEA4(斑点A)及SSEA4类似物SSEA4 Gc(在SSEA4的胺基上经Gc取代的唾液酸,斑点B)。

[0115] 图8A-8B.chAb6及人类化Ab6与乳癌细胞系的结合.藉由流式细胞术分析表征chAb6、hAb6(hAb6-2、hAb6-3)与(图8A)MDA-MB-231及(图8B)MCF-7的结合。

[0116] 图9A-9B:实例性chAb6及人类化Ab6与乳癌细胞系的结合.藉由流式细胞术分析检查chAb6、hAb6-2及hAb6-3与(图9A)MDA-MB-231及(图9B)MCF7细胞的结合.用于染色的抗体浓度为1微克/毫升。

[0117] 图10A-10B.藉由流式细胞术分析测定实例性chAb6与胰脏癌细胞系HPAC的结合亲和力.(图10A)实例性嵌合Ab6(chAb6, 20μg/mL)以(如图10B中所显示)剂量依赖性方式以SSEA4高表现量结合至实例性胰脏肿瘤细胞系HPAC.与HPAC细胞的结合EC₅₀为约4μg/mL。

[0118] 图11A-11B:实例性嵌合及人类化Ab6与乳癌及胰脏癌细胞系的结合.藉由流式细胞术分析检查chAb6、hAb6-3及hAb6-3.1与(11A)MDA-MB-231及(11B)HPAC细胞的结合.用于染色的抗体浓度为5微克/毫升。

[0119] 图11C-图11D.图11C为具有非保守CDR修饰的实例性人类化Ab6与MDA-MB-231细胞系的结合展示.图11D为具有非保守CDR修饰的实例性人类化Ab6与MCF7细胞系的结合展示。

[0120] 图11E-图11F.图11E为具有保守CDR修饰的实例性人类化Ab6与MDA-MB-231细胞系的结合展示.图11F为具有保守CDR修饰的实例性人类化Ab6与MCF7细胞系的结合展示。

[0121] 图12.展示实例性chAb6对胰脏肿瘤细胞系HPAC的ADCC活性.代表性chAb6以剂量依赖性方式诱导ADCC以杀死HPAC细胞.EC₅₀为5ng/mL.使用人类IgG1κ(hIgG1κ)作为对照。

[0122] 图13.实例性chAb6及人类化Ab6对MDA-MB-231细胞的ADCC活性.实例性chAb6、hAb6以剂量依赖性方式调介ADCC以杀死MDA-MB-231细胞.chAb6及hAb6的EC₅₀分别为约5ng/mL及10ng/mL。

[0123] 图14A-14B:实例性人类化Ab6对乳癌细胞系的ADCC活性.实例性hAb6-3及实例性hAb6-3.1二者皆以剂量依赖性方式调介ADCC以杀死(图14A)MDA-MB-231及(图14B)MCF7细胞.在此研究中,hAb6-3介导的杀死MDA-MB-231及MCF7的ADCC的EC₅₀分别为39.2ng/mL及

39.5ng/mL。对于hAb6-3.1介导的杀死MDA-MB-231及MCF7的ADCC分别为32.6ng/mL及38.9ng/mL。

[0124] 图15A-15B.15A:展示实例性chAb6对HPAC细胞的CDC活性.代表性chAb6以剂量依赖性方式诱导CDC以杀死HPAC细胞。 EC_{50} 为3 μ g/mL。在此研究中使用人类IgG1 κ (hIgG1 κ)作为阴性对照。15B:展示实例性人类化Ab6对乳腺癌细胞系的CDC活性.实例性人类化抗SSEA4抗体hAb6-3及hAb6-3.1以剂量依赖性方式诱导CDC以杀死MCF7细胞。hAb6-3及hAb6-3.1的 EC_{50} 分别为约4.4 μ g/mL及约2.6 μ g/mL。

[0125] 图16A-16B.展示在HPAC异种移植物模型中代表性抗SSEA4抗体的活体内抗肿瘤效能.与媒介对照组相比,在经抗SSEA4抗体治疗的小鼠中肿瘤的生长受显著抑制。此外,如图中所显示,经chAb6治疗的小鼠中的平均肿瘤体积(图16A)及重量(图16B)显著小于经hMC41治疗的那些,此展示此实例性chAb6具有意外惊人的活体内抗肿瘤活性。

[0126] 图17.展示在MDA-MB-231原位模型中实例性人类化Ab6的活体内抗肿瘤效能.与对照组(媒介及贺癌平(Herceptin))相比,藉由用实例性抗SSEA4抗体hAb6-3及hAb6-3.1治疗带有肿瘤的小鼠显著抑制活体内肿瘤生长。在此研究中使用贺癌平作为对照抗体。

[0127] 图18:展示在MCF7原位模型中实例性人类化Ab6的活体内抗肿瘤效能.与媒介对照治疗相比,在hAb6-3.1治疗下肿瘤的生长以剂量依赖性方式受显著抑制。

[0128] 图19展示诊断效用:使用实例性chAb6检测肿瘤组织中的SSEA4表现.免疫组织化学染色的结果显示,chAb6可适用于检测肿瘤样品中的SSEA4表现。

[0129] 图20.藉由SDS-PAGE表征糖基工程化hAb6-3.1.泳道1,自哺乳动物细胞产生的天然抗体;泳道2,具有单-GlcNAc的抗体;泳道3-4,在30min及60min内产生的糖基工程化hAb6-3.1;泳道5,经纯化糖基工程化抗体。

[0130] 图21.藉由细胞流式细胞术测定糖基工程化hAb6-3.1的结合性质.糖基工程化抗体(红线)展现与天然抗体(蓝线)相似的与表现SSEA4的细胞系MDA-MB-231的结合性质。结果指示,糖基工程化并不影响hAb6-3.1的抗原结合性质。

[0131] 图22.Fc γ 受体IIIA结合.hAb6-3.1与Fc γ 受体IIIA的结合(EC_{50})藉由糖基工程化显著增强。天然及糖基工程化抗体的 EC_{50} 分别为0.84 μ g(微克)/mL及0.047 μ g(微克)/mL。

[0132] 图23.天然及糖基工程化hAb6-3.1对MDA-MB-231细胞的ADCC活性.天然及糖基工程化hAb6-3.1二者皆以剂量依赖性方式调介ADCC以杀死MDA-MB-231细胞。hAb6-3.1的ADCC活性藉由糖基工程化显著改良。天然及糖基工程化hAb6-3.1的 EC_{50} 分别为约50.29ng/ml及约6.02ng/ml。

[0133] 图24A.将药物肽连接至Fc聚糖上以形成ADC。图24B为ADC复合物形成的SDS-PAGE特征。泳道1:标记物,泳道2:加hAb6-3.1的标签的酮,泳道3:hAb6-3.1-A01。

[0134] 图25A及25B.图25A为hAb6-3.1-A01对表现SSEA4的细胞的结合能力(通过流式细胞术)。将表现SSEA4的细胞系MCF7及SKOV3以PBS清洗,且将 10^5 的细胞与10 μ g/mL的hAb6-3.1或hAb6-3.1-A01于冰上培育于FACS缓冲液中(包含2%FBS及0.1%NaN₃的PBS)1小时。以PBS清洗后,将这些细胞以经Alexa-Fluor 488标示的抗-人类IgG抗体染色并于冰上培育0.5小时。以流式细胞术侦测抗体的细胞结合信号(图XX11AB)。结果指示hAb6-3.1-A01对表现SSEA4的细胞的结合性质与母抗体hAb6-3.1相似。图25B为hAb6-3.1与hAb6-3.1-A01的细胞结合性质的比较。

[0135] 图26.比较hAb6-3.1-A01与抗体hAb6-3.1对表现SSEA4的乳房细胞系MCF7的细胞毒性的效能。

[0136] 图27.比较hAb6-3.1-A01与抗体hAb6-3.1对表现SSEA4的卵巢细胞系SKOV3的细胞毒性的效能。

[0137] 【实施方式】

[0138] 因此,提供针对标记物的抗体方法及组合物用于诊断及治疗广谱癌症。抗SSEA4抗体经研发且揭示于本文中。使用方法包括(但不限于)癌症疗法及诊断。本文所述的抗体可结合至广谱表现SSEA4的肿瘤细胞,由此帮助癌症诊断及治疗。可由抗体靶向的细胞包括癌瘤,例如脑癌、肺癌、乳癌、口腔癌、食道癌、胃癌、肝癌、胆管癌、胰脏癌、结肠癌、肾癌、子宫颈癌、卵巢癌、前列腺癌等中的那些。

[0139] 定义

[0140] 除非本文中另有定义,否则本发明中所用的科学及技术术语应具有熟习此项技术者通常理解且使用的含义。除非上下文另有要求,否则应理解,单数术语应包括其复数形式且复数术语应包括单数形式。具体而言,除非上下文另外明确指明,否则如本文及申请专利范围中所用的单数形式「一(a及an)」包括复数个指示物。另外,如本文及申请专利范围中所用的术语「至少一种」及「一或多种」具有相同含义且包括一种、两种、三种或更多种。

[0141] 尽管阐述本发明广泛范围的数值范围及参数是近似值,但尽可能精确地报告具体实例中所述的数值。然而,任一数值固有地含有必然由各别测试量测中发现的标准偏差引起的某些误差。另外,如本文所用的术语「约」通常意指在给定值或范围的10%、5%、1%或0.5%内。或者,术语「约」意指当由熟习此项技术者考虑时在平均值的可接受标准误差内。除在操作/工作实例中或除非另外明确说明,否则本文所揭示的所有数值范围、量、值及百分比(例如材料的量、持续时间、温度、操作条件、量比率及其类似物的那些)应理解为在所有情况下经术语「约」修饰。因此,除非指示相反情况,否则本发明及随附申请专利范围中所述的数值参数为可视需要改变的近似值。无论如何至少,每一数值参数应至少根据所报告有意义数字的数值并藉由应用普通四舍五入技术来解释。

[0142] 除非另有说明,否则在本文所用的多核苷酸注释中,根据标准用法及惯例,左手方向为5'末端且右手方向为3'末端;在本文所用的肽注释中,左手方向为胺基末端(N末端)方向且右手方向为羧基末端(C末端)方向。

[0143] 如本文所互换使用的术语「多核苷酸」或「核酸」是指任一长度的核苷酸的聚合物,且包括DNA及RNA。核苷酸可为去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、经修饰核苷酸或碱基及/或其类似物或可藉由DNA或RNA聚合酶或藉由合成反应纳入聚合物中的任一受质。

[0144] 如本文所用的术语「寡核苷酸」通常是指长度通常(但不必)小于约200个核苷酸的短、通常单链、通常合成多核苷酸。术语「寡核苷酸」及「多核苷酸」并不互斥。上文针对多核苷酸的描述同样且完全适用于寡核苷酸。

[0145] 如本文所用的术语「载体」欲指能够转运与其连接的另一核酸的核酸分子。一类载体为「质体」,其是指其他DNA区段可连接至其中的环形双链DNA环。另一类载体是噬菌体载体。另一类载体为病毒载体,其中其他DNA区段可连接至病毒基因体中。某些载体能够在已引入其的宿主细胞中进行自主复制(例如,具有细菌复制起点的细菌载体及游离型哺乳动物载体)。其他载体(例如非游离型哺乳动物载体)可在引入宿主细胞中时整合至宿主细胞

的基因体中,并藉此随宿主基因体一同复制。另外,某些载体能够引导与其可操作连接的基因的表现。这些载体在本文中称为「重组表现载体」(或简称「重组载体」)。一般而言,在重组DNA技术中可用的表现载体通常呈质体形式。在本说明书中,「质体」与「载体」可互换使用,此乃因质体是载体的最常用形式。

[0146] 术语「聚糖」是指多糖或寡糖。聚糖在本文中亦用于指糖偶联物(例如糖蛋白、糖脂、糖肽、糖蛋白质组、肽多糖、脂多糖或蛋白聚糖)的碳水化合物部分。聚糖通常仅由单糖之间的O-糖苷链接组成。聚糖可为单糖残基的均聚物或异聚物,且可为直链或具支链。可发现聚糖附接至蛋白质,如在糖蛋白及蛋白聚糖中。其通常发现于细胞的外表面上。O-及N-连接聚糖极常见于真核细胞中,但亦可发现(但较不常见)于原核细胞中。发现N-连接聚糖附接至序列子中天冬酰胺的R-基团氮(N)。序列子是Asn-X-Ser或Asn-X-Thr序列,其中X是除脯氨酸外的任一氨基酸。

[0147] 术语「万能聚糖」是指聚糖序列 $\text{Sia}_2(\alpha 2-6)\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ 。

[0148] 该结构是 其中 是唾液酸 (Sia); 是半乳糖 (Gal); 是N-乙酰基葡萄糖胺 (GlcNAc); 是甘露糖 (Man)。

[0149] 如本文中所用的术语「抗原」定义为能够引发免疫反应的物质。该免疫反应可涉及抗体产生或特异性免疫胜任细胞的活化或二者皆有。

[0150] 术语「表位」是指通常由免疫球蛋白 V_H/V_L 对结合的结构单元。表位定义抗体的最小结合位点,且因此代表抗体的特异性靶。

[0151] 如本文所用的术语「免疫原」是指能够诱导抗体产生的抗原。

[0152] 如本文所用的术语「免疫原性」通常是指免疫原或抗原刺激免疫反应的能力。

[0153] 术语「疫苗」是指含有由全致病性生物体(杀死或减弱)或这些生物体的组分(例如蛋白质、肽或多糖)组成的抗原的制剂,其用于赋予针对生物体引起的疾病的免疫性。疫苗制剂可为天然、合成或藉由重组DNA技术衍生而来。

[0154] 如本文所用的术语「抗原特异性」是指特定抗原或抗原片段的供应产生特异性细胞增殖的细胞群体的性质。

[0155] 如本文所用的术语「特异性结合」是指结合对(例如抗体与抗原)之间的相互作用。在各种情况下,特异性结合可体现为亲和常数为约 10^{-6} 莫耳/公升、约 10^{-7} 莫耳/公升或约 10^{-8} 莫耳/公升或更小。在另一或替代性实施例中,根据抗体特异性,抗体与其各别抗原的结合称为特异性。术语「特异性」在此处通常用于指以下情形:结合对的一个成员将不显示与除其特异性结合配偶体外的分子的任何显著结合,且例如具有与除本文所指定那些外的任何其他分子的小于约30%、较佳20%、15%、10%、5%或1%交叉反应性。

[0156] 术语「结合亲和力」通常是指分子(例如,抗体)的单一结合位点与其结合配偶体(例如,抗原)之间的全部非共价相互作用的总强度。除非另外指示,否则如本文所用「结合亲和力」是指反映结合对的成员(例如,抗体与抗原)之间的1:1相互作用的固有结合亲和力。分子X对其配偶体Y的亲和力通常可由解离常数(K_d)表示。亲和力可藉由业内已知的常用方法(包括本文所述的那些)来量测。低亲和力抗体通常缓慢地结合抗原且往往易于解离,而高亲和力抗体通常较快结合抗原且往往保持较长时间结合。多种量测结合亲和力的

方法为业内已知,其任一者皆可用于本发明目的。

[0157] 如本文所用的术语「解离常数 (K_d)」是在复合物分解成其组成分子时量测较大物体可逆地解离成较小组分的倾向的特定类型的平衡常数。对于反应 $A_x B_y \rightleftharpoons xA + yB$, 解离常数定义为 $K_d = [A]^x [B]^y / [A_x B_y]$, 其中 $[A]$ 、 $[B]$ 及 $[A_x B_y]$ 分别是 A、B 及 $A_x B_y$ 的浓度。具体而言, K_d 值是藉由 Biacore 表面电浆共振系统或酶联免疫吸附分析 (ELISA) 定义。

[0158] 如本文所用「特异性结合至 SSEA4」的抗体欲指以 $1 \times 10^{-7} M$ 或更小、更佳 $5 \times 10^{-8} M$ 或更小、更佳 $1 \times 10^{-8} M$ 或更小、更佳 $5 \times 10^{-9} M$ 或更小的 K_D 结合至 SSEA4 或以 $1 \times 10^{-8} M$ 与 $1 \times 10^{-10} M$ 之间或更小的 K_D 结合至 SSEA-4 的抗体。

[0159] 如本文所用的术语 K 「 $K_{\text{结合}}$ 」或「 K_a 」欲指特定抗体-抗原相互作用的缔合速率, 而如本文所用的术语「 $K_{\text{解离}}$ 」或「 K_d 」欲指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。如本文所用的术语「 K_D 」欲指解离常数, 其自 K_d 对 K_a 的比率 (即 K_d / K_a) 获得且以莫耳浓度 (M) 表示。可使用业内已充分确立的方法测定抗体的 K_D 值。测定抗体的 K_D 的较佳方法是藉由使用表面电浆共振, 较佳使用生物感测器系统 (例如 Biacore® 系统)。

[0160] 如本文所用的术语对 IgG 抗体的「高亲和力」是指抗体对靶抗原具有 $10^{-8} M$ 或更小、更佳 $10^{-9} M$ 或更小且甚至更佳 $10^{-10} M$ 或更小的 K_D 。然而, 对于其他抗体同型, 「高亲和力」结合可发生变化。举例而言, 对 IgM 同型的「高亲和力」结合是指抗体具有 $10^{-7} M$ 或更小、更佳 $10^{-8} M$ 或更小、甚至更佳 $10^{-9} M$ 或更小的 K_D 。

[0161] 术语「半最大有效浓度 (EC_{50})」是指药物、抗体或毒物在指定暴露时间后诱导在基线与最大效应之间的中途的反应的浓度。其用作药物功效的量度。

[0162] 术语「抗体」及「免疫球蛋白」在最广泛意义上可互换使用且包括单株抗体 (例如, 全长或完整单株抗体)、多株抗体、单价、多价抗体、多特异性抗体 (例如双特异性抗体) 且亦可包括某些抗体片段。大多数抗体是具有以下相同结构特征的糖蛋白: 两条重链及两条轻链藉由二硫键彼此连接。轻链包括可变结构域 (V_L) 及恒定结构域 (C_L); 而重链包括可变结构域 (V_H) 及三个恒定结构域 (C_{H1} 、 C_{H2} 及 C_{H3} , 统称为 C_H)。轻链 (V_L) 及重链 (V_H) 二者的可变区决定结合识别及对抗原的特异性。 V_H 及 V_L 区可进一步细分成具有超变性的区 (称为超变区 (HVR)) 及更保守的区 (称为框架区 (FR)), 二者间杂排列。轻链 (C_L) 及重链 (C_H) 的恒定区结构域赋予重要生物性质, 例如抗体链缔合、分泌、经胎盘活动性、补体结合及与 Fc 受体 (FcR) 的结合。端视其重链的恒定结构域的氨基酸序列, 可将抗体分配至不同类别。存在 5 大类免疫球蛋白: IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM, 且这些类别中的若干可进一步分成亚类 (同型), 例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 及 IgA2。对应于不同类别的免疫球蛋白的重链恒定结构域分别称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。不同类别的免疫球蛋白的亚单位结构及三维构形为业内所熟知且通常阐述于例如 Abbas 等人, Cellular and Mol. Immunology, 第 4 版 (2000)。抗体可为较大融合分子的一部分, 其是藉由抗体与一或多种其他蛋白质或肽的共价或非共价缔合来形成。抗体可为嵌合、人类、人类化及/或亲和力成熟抗体。

[0163] 基于抗体恒定结构域的氨基酸序列, 可将来自任何脊椎动物物种的抗体 (免疫球蛋白) 的「轻链」分配至两种完全不同类型 (称为卡帕 (κ) 及兰布达 (λ)) 中的一者。在一个实施例中, 链是 κ 型。在另一实施例中, 链是 λ 型。

[0164] 如本文所用「可变结构域」是指抗体分子轻链及重链的包括超变区 (HVR) 及框架区 (FR) 的氨基酸序列的部分。根据本文所述的方法, 分配至 HVR 及 FR 的氨基酸位置可根据

Kabat (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 美国国立卫生研究院, Bethesda, Md., 1987及1991) 定义。抗体或抗原结合片段的氨基酸编号亦根据Kabat定义。

[0165] 如本文所用的术语「如Kabat中的可变结构域残基编号」或「如Kabat中的氨基酸位置编号」及其变化形式是指在Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, Public Health Service, 美国国立卫生研究院, Bethesda, Md. (1991) 中用于抗体编译的重链可变结构域或轻链可变结构域的编号系统。使用此编号系统, 实际线性氨基酸序列可含有较少或额外的对应于可变结构域FR或HVR的缩短或插入的氨基酸。举例而言, 重链可变结构域可包括在H2的残基52后的单氨基酸插入(根据Kabat的残基52a)及重链FR残基82后的插入残基(例如, 根据Kabat的残基82a、82b及82c等)。可藉由将抗体序列的同源区与标准Kabat编号序列比对来确定给定抗体残基的Kabat编号。

[0166] 如本文所用的术语「框架区」(FR) 残基是除如本文所定义的超变区残基外的那些可变结构域残基。

[0167] 如本文所用的术语「超变区」(HVR或HV) 及「互补决定区」(CDR) 可互换使用, 在用于本文中时是指抗体可变结构域的序列具有超变性及/或形成结构上经定义的环的区域。通常, 抗体包含6个超变区; 三个在 V_H (H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3) 中, 且三个在 V_L (L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3) 中。本文使用且涵盖多个超变区的描绘。Kabat互补决定区(CDR) 是基于序列可变性且为最常用的(Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, Public Health Service, 美国国立卫生研究院, Bethesda, Md. (1991))。而Chothia是指结构环的位置(Chothia及Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))。AbM超变区代表Kabat CDR与Chothia结构环之间的折衷方案, 且用于Oxford Molecular的AbM抗体建模软体中。「接触」超变区是基于对可获得复杂晶体结构的分析。「IMGT」(国际ImMunoGeneTics资讯系统) 提供免疫球蛋白及T细胞受体可变结构域及Ig超家族V样结构域的独特编号。来自这些超变区中每一者的藉由Kabat、AbM、Chothia及Contact定义的残基注明于下文中; IMGT在网站<http://www.imgt.org/>上预测

环	Kabat	AbM	Chothia	Contact
L1	L24 -- L34	L24 -- L34	L24 -- L34	L30 -- L36
L2	L50 -- L56	L50 -- L56	L50 -- L56	L46 -- L55
L3	L89 -- L97	L89 -- L97	L89 -- L97	L89 -- L96
H1	H31 -- H35B	H26 -- H35B	H26 -- H32..34	H30 -- H35B
[0168]	(Kabat 编号)			
H1	H31 -- H35	H26 -- H35	H26 -- H32	H30 -- H35
	(Chothia 编号)			
H2	H50 -- H65	H50 -- H58	H52 -- H56	H47 -- H58
H3	H95 -- H102	H95 -- H102	H95 -- H102	H93 -- H101

[0169] 术语「全长抗体」、「完整抗体」与「全抗体」在本文中可互换使用, 其是指呈实质上完整形式的抗体, 且不为如下文所定义的抗体片段。这些术语尤其是指含有Fc区的重链的抗体。

[0170] 术语「抗体片段」仅包含完整抗体的一部分, 其中该部分保留至少一种及(至多)大

部分或所有通常存在于完整抗体中时与该部分相关的功能。在一实施例中,抗体片段包含完整抗体的抗原结合位点且因此保留结合抗原的能力。在另一实施例中,抗体片段(例如包含Fc区者)保留通常与存在于完整抗体中的Fc区相关的生物学功能中的至少一者,例如Fc γ 结合、抗体半衰期调节、ADCC功能及补体结合。在一个实施例中,抗体片段是活体内半衰期实质上与完整抗体类似的单价抗体。举例而言,该抗体片段可包含连接至能够赋予片段活体内稳定性的Fc序列的抗原结合臂。

[0171] 如本文所用的术语「Fc区」在本文中用于定义免疫球蛋白重链的C末端区域,包括天然序列Fc区及变体Fc区。尽管免疫球蛋白重链的Fc区的边界可发生变化,但通常将人类IgG重链Fc区界定为自Cys226位处的氨基酸残基或自Pro230延伸至其羧基末端。Fc区的C末端离胺酸(根据EU编号系统的残基447)可例如在抗体产生或纯化期间或藉由重组改造编码抗体重链的核酸来移除。因此,完整抗体的组合物可包含移除所有K447残基的抗体群体、未移除K447残基的抗体群体及具有含及不含K447残基的抗体的混合物的抗体群体。适用于本发明抗体中的天然序列Fc区包括人类IgG1、IgG2(IgG2A、IgG2B)、IgG3及IgG4。

[0172] 如本文所用的术语「Fv区」是含有完全抗原识别及结合位点的最小抗体片段。在双链Fv物质中,此区域是由一个重链可变结构域与一个轻链可变结构域的紧密非共价缔合二聚体组成。在单链Fv物质中,一个重链可变结构域及一个轻链可变结构域可藉由挠性肽连接体共价连接,使得这些轻链及重链可以与双链Fv物质中类似的「二聚」结构缔合。每一可变结构域的3个CDR以此构形相互作用以界定V_H-V_L二聚体的表面上的抗原结合位点。六个CDR共同赋予了该抗体抗原结合特异性。然而,即使单一可变结构域(或Fv的一半,其仅包含三个特异性针对抗原的CDR)具有识别并结合抗原的能力,但其亲和力低于完整结合位点。

[0173] 如本文所用的术语「Fab片段」含有Fv区、轻链的恒定结构域及重链的第一恒定结构域(C_H1)。Fab'片段与Fab片段的不同处在于在重链C_H1结构域的羧基末端添加几个残基,包括一或多个来自抗体铰链区的半胱胺酸。

[0174] 术语「抗原结合片段」是指抗体的保留特异性结合至抗原能力的全长或一或多个片段。已显示,抗体的抗原结合功能可由全长抗体的片段来实施。术语「抗原结合片段」内所涵盖结合片段的实例包括Fab片段;Fv片段;单链Fv(scFv)片段;双价抗体;Fab'-SH片段,其在本文中是针对其中恒定结构域的半胱胺酸残基带有游离硫醇基的Fab'命名;F(ab)₂片段,其为包含在铰链区藉由二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段;Fd片段,其由V_H及C_H1结构域组成;dAb片段(Ward等人,1989Nature341:544-546),其由V_H结构域组成;dsFv片段,其为藉由挠性连接体肽连接的两个不同的二硫键稳定的Fv抗体片段;及经分离互补决定区(CDR);或包含该抗原结合片段的任何融合蛋白。

[0175] 术语「单链Fv」或「scFv」抗体片段包含抗体的V_H及V_L结构域,其中这些结构域是以单一多肽链存在。通常,scFv多肽进一步包含V_H结构域与V_L结构域之间的多肽连接体,其使得scFv能够形成用于抗原结合的期望结构。关于scFv的综述,参见Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg及Moore编辑,Springer-Verlag, New York,第269-315页(1994)。

[0176] 术语「双价抗体」是指具有两个抗原结合位点的小抗体片段,这些片段包含在同一多肽链(V_H-V_L)中连接至轻链可变结构域(V_L)的重链可变结构域(V_H)。藉由使用过短而不允许在同一链上的两个结构域之间配对的连接体,迫使这些结构域与另一链的互补结构域配

对并产生两个抗原结合位点。双价抗体更全面阐述于例如EP 404,097;W093/1161;及Hollinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448(1993)中。

[0177] 如本文所用的术语「单株抗体(mAb)」是指自实质上同源抗体的群体获得的抗体,例如除可少量存在的可能天然突变外,构成该群体的个别抗体皆相同。因此,修饰语「单株」指示并非离散抗体混合物的抗体性质。该单株抗体通常包括包含结合靶的多肽序列的抗体,其中靶结合多肽序列藉由包括自复数个多肽序列选择单一靶结合多肽序列的过程获得。举例而言,选择过程可为自复数个纯系(例如一组杂交瘤纯系、噬菌体纯系或重组DNA纯系)选择独特纯系。应理解,可进一步改变所选靶结合序列以(例如)改良对靶的亲合力,人类化靶结合序列,改良其在细胞培养物中的产生,减小其活体内免疫原性,产生多特异性抗体等,且包含经改变靶结合序列的抗体亦为本发明的单株抗体。与通常包括针对不同表位的不同抗体的多株抗体制剂相比,单株抗体制剂的每一单株抗体针对抗原上的单个表位。除其特异性外,单株抗体制剂的优势在于其通常不受其他免疫球蛋白污染。修饰语「单株」指示抗体的特征在于自实质上同源的抗体群体获得,且不应理解为需要藉由任一特定方法来产生该抗体。举例而言,欲根据本发明使用的单株抗体可藉由多种技术制得,这些技术包括例如杂交瘤方法(例如,Kohler等人,Nature,256:495(1975);Harlow等人,Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press,第2版,1988); Hammerling等人,Monoclonal Antibodies and T-Cell hybridomas 563-681(Elsevier, N.Y.,1981))、重组DNA方法(例如,参见美国专利第4,816,567号)、噬菌体展示技术(例如,参见Clackson等人,Nature,352:624-628(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.222:581-597(1992);Sidhu等人,J.Mol.Biol.338(2):299-310(2004);Lee等人,J.Mol.Biol.340(5):1073-1093(2004);Fellouse,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101(34):12467-12472(2004);及Lee等人,J.Immunol.Methods284(1-2):119-132(2004),及用于在具有部分或全部人类免疫球蛋白基因座或编码人类免疫球蛋白序列的基因的动物中产生人类或人类样抗体的技术(例如,参见W098/24893;W096/34096;W096/33735;W091/10741;Jakobovits等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:2551(1993);Jakobovits等人,Nature 362:255-258(1993);Bruggemann等人,Year in Immunol.7:33(1993);美国专利第5,545,807号;第5,545,806号;第5,569,825号;第5,625,126号;第5,633,425号;第5,661,016号;Marks等人,Bio.Technology 10:779-783(1992);Lonberg等人,Nature 368:856-859(1994);Morrison,Nature 368:812-813(1994);Fishwild等人,Nature Biotechnol.14:845-851(1996);Neuberger,Nature Biotechnol.14:826(1996)以及Lonberg及Huszar,Intern.Rev.Immunol.13:65-93(1995)。

[0178] 术语「嵌合抗体」是指其中重链及/或轻链的一部分与衍生自特定物种或属特定抗体类别或亚类的抗体的相应序列一致或同源,而链的其余部分与衍生自另一物种或属另一抗体类别或亚类的抗体的相应序列一致或同源。具体而言,在本发明中,嵌合抗体可为其中非人类抗体的抗原结合序列/可变结构域已移植至人类抗体框架区上的人类化抗体。这些抗体只要展现期望生物活性即可(美国专利第4,816,567号;及Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-6855(1984))。

[0179] 如本文所用的术语「人类化抗体」是含有衍生自非人类免疫球蛋白的最小序列的嵌合抗体。在一实施例中,人类化抗体是如下人类免疫球蛋白(接受体抗体):其中来自接受

体超变区的残基经来自非人类物种(例如小鼠、大鼠、兔或非人类灵长类动物)超变区(供体抗体)的具有期望特异性、亲和力及/或能力的残基替代。在一些情况下,人类免疫球蛋白的框架区残基经相应的非人类残基替代。另外,人类化抗体可包含接受体抗体或供体抗体中不存在的残基。实施这些修饰以进一步细化抗体性能。通常,人类化抗体将包含实质上全部的至少一个且通常两个可变结构域,其中全部或实质上全部超变环对应于非人类免疫球蛋白的超变环,且全部或实质上全部FR为人类免疫球蛋白序列的FR。人类化抗体视情况亦包含免疫球蛋白恒定区(Fc)(通常为人类免疫球蛋白恒定区)的至少一部分。其他细节参见Jones等人,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-329(1988);及Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。亦参见下列综述文件及其中所引用的参考文献:Vaswani及Hamilton,Ann.Allergy,Asthma Immunol.1:105-115(1998);Harris,Biochem.Soc.Transactions 23:1035-1038(1995);Hurle及Gross,Curr.Op.Biotech.5:428-433(1994)。

[0180] 术语「人类抗体」是其具有的氨基酸序列对应于由人类产生的抗体的氨基酸序列及/或使用如本文所揭示制备人类抗体的任一技术制备。人类抗体的此定义明确排除包含非人类抗原结合残基的人类化抗体。

[0181] 「亲和力成熟抗体」是在其一或多个HVR中存在一或多处改变的抗体,这些改变会使抗体对抗原的亲和力与不具有那些改变的亲代抗体有所改良。在一实施例中,亲和力成熟抗体对靶抗原具有奈莫耳浓度或甚至皮莫耳浓度亲和力。亲和力成熟抗体是藉由业内已知的程序产生。Marks等人,BioTechnology 10:779-783(1992)阐述藉由 V_H 及 V_L 结构域改组的亲和力成熟。CDR及/或框架残基的随机诱变阐述于以下文献中:Barbas等人,Proc Nat.Acad.Sci.USA 91:3809-3813(1994);Schier等人,Gene 169:147-155(1995);Yelton等人,J.Immunol.155:1994-2004(1995);Jackson等人,J.Immunol.154(7):3310-9(1995);及Hawkins等人,J.Mol.Biol.226:889-896(1992)。

[0182] 「经分离抗体」为已经鉴别并自其自然环境组分分离及/或回收的抗体。其天然环境的污染物组分为会干扰抗体的研究、诊断或治疗用途的材料,且可包括酶、激素及其他蛋白质性或非蛋白质性溶质。在一个实施例中,抗体经纯化(1)至如藉由例如Lowry方法测定的大于90重量%的抗体、及在一些实施例中大于95重量%,2)至藉由使用例如旋杯式测序仪测定的足以获得N末端或内部氨基酸序列的至少15个残基,或(3)至藉由SDS-PAGE在还原或非还原条件下使用例如考马斯蓝(Coomassie blue)或银染色测定的均质性。经分离抗体包括重组细胞内的原位抗体,此乃因不存在抗体天然环境的至少一种组分。然而,经分离抗体通常将藉由至少一个纯化步骤制备。

[0183] 「阻断抗体」或「拮抗剂抗体」为抑制或降低所结合抗原的生物活性的抗体。某些阻断抗体或拮抗剂抗体实质上或完全抑制抗原的生物活性。

[0184] 如本文所用的「激动剂抗体」是模拟所关注多肽的功能活性中的至少一者的抗体。

[0185] 术语「嵌合抗原受体(CAR)」是人工构筑的杂合蛋白质或多肽,其含有抗体(例如scFv)的连接至T细胞信号传导结构域的抗原结合结构域。CAR的特征包括其利用单株抗体的抗原结合性质以非MHC限制性方式将T细胞特异性及反应性重定向至所选靶的能力。非MHC限制性抗原识别给予表现CAR的T细胞独立于抗原处理识别抗原的能力,因此绕过肿瘤逃逸的主要机制。另外,当在T细胞中表现时,CAR有利地不与内源T细胞受体(TCR) α 及 β 链发

生二聚化。

[0186] 「病症」是将受益于本发明抗体的治疗的任一病况。此包括慢性及急性病症或疾病,包括使哺乳动物易患所讨论病症的那些病理学病况。本文欲治疗病症的非限制性实例包括癌症。

[0187] 术语「细胞增生性病症」或「增生性病症」是指与一定程度的异常细胞增殖相关的病症。在一实施例中,细胞增生性病症是癌症。

[0188] 如本文所用的「肿瘤」是指所有肿瘤性细胞生长及增殖(无论是恶性的抑或是良性的)以及所有癌前期及癌性细胞及组织。如本文所提及的术语「癌症」、「癌性」、「细胞增生性病症」、「增生性病症」及「肿瘤」并不互斥。

[0189] 术语「癌症」或「癌性」是指或阐述哺乳动物中特征通常在于细胞生长/增殖失调的生理病况。癌症的实例包括(但不限于)癌瘤、淋巴瘤(例如霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)及非霍奇金氏淋巴瘤)、母细胞瘤、肉瘤及白血病。这些癌症的更具体实例包括脑癌、口腔癌、鳞状细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌、肺鳞状癌、腹膜癌、肝细胞癌、胃肠癌、胰脏癌、胶质母细胞瘤、子宫颈癌、卵巢癌、胃癌、胆管癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳癌、结肠癌、骨癌、结肠直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、肝癌(liver cancer)、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌(hepatic carcinoma)、白血病及其他淋巴组织增生性病症及各种类型的头颈癌。

[0190] 如本文所用的术语「个体(individual或subject)」意欲包括人类及非人类动物。较佳个体包括需要增强免疫及/或抗增生性及/或抗癌治疗反应的人类患者。这些方法尤其适于治疗适于活体内癌细胞治疗的人类患者。

[0191] 如本文所用的术语「治疗剂」的特征在于可降低及/或抑制过度增生性疾病的任一药剂。实例性治疗剂可包括(但不限于)细胞毒性剂、化学治疗剂、抗增生剂、免疫调节剂、激素调节剂、细胞介素以及其他抗癌物质及/或方式。

[0192] 如本文所用的术语「细胞毒性剂」是指抑制或阻止细胞功能及/或引起细胞破坏的物质。该术语意欲包括放射性同位素(例如 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} 及Lu的放射性同位素);化学治疗剂(例如胺甲喋呤(methotrexate)、阿霉素(adriamycin)、长春花生物碱(长春新碱(vincristine)、长春碱(vinblastine)、依托泊苷(etoposide)、多柔比星(doxorubicin)、美法仑(melphalan)、丝裂霉素C(mitomycin C)、氮芥苯丁酸(chlorambucil)、柔红霉素(daunorubicin)或其他嵌入剂);酶及其片段,例如溶核酶;抗生素;及毒素,例如来自细菌、真菌、植物或动物起源的小分子毒素或酶活性毒素,包括其片段及/或变体;及下文所揭示的各种抗肿瘤剂或抗癌剂。其他细胞毒性剂阐述于下文中。如本文所用的杀肿瘤剂引起肿瘤细胞破坏。细胞毒性剂及化学治疗剂并不互斥。

[0193] 另外或或者,细胞毒素或细胞毒性剂可包括对细胞有害(例如,杀死)的任一药剂。实例包括汰癌胜(taxol)、细胞松弛素B、短杆菌素D、溴乙锭、依米丁(emetine)、丝裂霉素、依托泊苷、替尼泊苷(tenoposide)、长春新碱、长春碱、秋水仙碱(colchicin)、多柔比星、柔红霉素、二羟基蒽醌二酮(dihydroxyanthracindione)、米托蒽醌(mitoxantrone)、光辉霉素(mithramycin)、放线菌素D、1-去氢睾酮(1-dehydrotestosterone)、甾皮质素、普鲁卡因(procaine)、四卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛尔(propranolol)及嘌呤霉素(puromycin)及其类似物或同系物。治疗剂亦包括例如抗代谢物(例如胺甲喋

呤、6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、阿糖胞苷(cytarabine)、5-氟尿嘧啶达卡巴嗪(5-fluorouracil decarbazine)、烷基化剂(例如甲基二氯乙基胺(mechlorethamine)、噻替派(thioepa)、氯芥苯丁酸、美法仑、卡莫司汀(carmustine) (BSNU) 及洛莫司汀(lomustine) (CCNU)、环磷酰胺、白消安(busulfan)、二溴甘露醇、链佐霉素(streptozotocin)、丝裂霉素C及顺式-二氯二胺铂(II) (DDP) (顺铂(cisplatin))、蒽环抗生素(例如柔红霉素(先前为道诺霉素(daunomycin))及多柔比星)、抗生素(例如放线菌素D(dactinomycin) (先前为放线菌素)、博来霉素(bleomycin)、光辉霉素及安曲霉素(anthracycline) (AMC))及抗有丝分裂剂(例如长春新碱及长春碱)。

[0194] 术语「化学治疗剂」是可用于治疗癌症的化学化合物。化学治疗剂的实例包括烷基化剂, 例如噻替派及CYTOXAN® (环磷酰胺); 磺酸烷基酯, 例如白消安、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan); 氮杂环丙烷, 例如苯并多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、米得哌(meturedopa)及乌得哌(uredopa); 伸乙基亚胺及甲基蜜胺, 包含六甲蜜胺(altretamine)、三伸乙基蜜胺、三伸乙基磷酰胺、三伸乙基硫代磷酰胺及三羟甲基蜜胺; 多聚乙酰(尤其布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone)); δ -9-四氢大麻酚(屈大麻酚(dronabinol)、MARINOL®); β -拉帕醌(lapachone); 拉帕醇(lapachol); 秋水仙碱(colchicine); 桦木酸; 喜树碱(camptothecin) (包括合成类似物托泊替康(topotecan) (HYCAMTIN®)、CPT-11(伊立替康(irinotecan), CAMPTOSAR®)、乙酰基喜树碱(acetylcamptothecin)、莨菪素(scopolectin)及9-氨基喜树碱); 苔藓虫素(bryostatin); 卡利司他汀(callystatin); CC-1065(包括其阿多来新(adozelesin)、卡折来新(carzelesin)及比折来新(bizelesin)合成类似物); 鬼臼毒素(podophyllotoxin); 鬼臼酸(podophyllinic acid); 替尼泊苷(teniposide); 念珠藻素(cryptophycin) (尤其念珠藻素1及念珠藻素8); 尾海兔素(dolastatin); 倍癌霉素(duocarmycin) (包括合成类似物KW-2189及CB1-TM1); 艾榴塞洛素(eleutherobin); 水鬼蕉碱(pancratistatin); 甬枝珊瑚醇(sarcodictyin); 海绵抑制素(spongistatin); 氮芥, 例如氮芥苯丁酸、萘氮芥(chlomaphazine)、氯磷酰胺(cholophosphamide)、雌氮芥(estramustine)、异环磷酰胺(ifosfamide)、甲基二氯乙基胺、盐酸氧氮芥、美法仑、新氮芥(novembichin)、胆甾醇对苯乙酸氮芥(phenesterine)、泼尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥; 亚硝基脲, 例如卡莫司汀、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀、尼莫司汀(nimustine)及雷莫司汀(ranimustine); 抗生素, 例如烯二炔抗生素(例如卡奇霉素(calicheamicin), 尤其卡奇霉素 γ 11及卡奇霉素 ω 11 (例如参见Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33:183-186(1994)); 达内霉素(dynemicin), 包括达内霉素A; 埃斯波霉素(esperamicin); 以及新制癌菌素发色团(neocarzinostatin chromophore)及相关色蛋白烯二炔抗生素发色团)、阿克拉霉素(aclacinomycin)、放线菌素、安曲霉素(authramycin)、偶氮丝胺酸、博来霉素、放线菌素C、卡拉霉素(carabycin)、洋红霉素(caminomycin)、嗜癌霉素(carzinophilin)、色霉素(chromomycinis)、放线菌素D、柔红霉素、地托比星(detorubicin)、6-重氮基-5-侧氧基-L-正白胺基、ADRIAMYCIN®多柔比星(包括吗啉基-多柔比星、氰基吗啉基-多柔比星、2-吡咯啉并-多柔比星及去氧阿霉素)、泛艾霉素(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、伊达比星(idarubicin)、麻西罗霉素

(marcellomycin)、丝裂霉素(例如丝裂霉素C)、霉酚酸、诺加霉素(nogalamycin)、橄榄霉素(olivomycin)、培洛霉素(peplomycin)、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素(puromycin)、三铁阿霉素(quelamycin)、罗多比星(rodorubicin)、链黑菌素(streptonigrin)、链佐霉素、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、净司他汀(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin);抗代谢剂,例如胺甲喋呤及5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物,例如二甲叶酸(denopterin)、胺甲喋呤、蝶罗呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate);嘌呤类似物,例如氟达拉滨(fludarabine)、6-硫嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鸟嘌呤;嘧啶类似物,例如安西他滨(ancitabine)、阿扎胞苷(azacitidine)、6-阿扎尿苷(azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷、二去氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨(enocitabine)、氟尿苷;雄激素,例如卡普睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、环硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾内酯(testolactone);抗肾上腺剂,例如胺鲁米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane);叶酸补充剂,例如亚叶酸;醋葡萄糖内酯;醛磷酸胺糖苷;胺基酮戊酸;恩尿嘧啶(eniluracil);安吡啶(amsacrine);贝斯特布西(bestrabucil);比生群(bisantrene);依达曲沙(edatraxate);地磷酰胺(defofamine);秋水仙胺(demecolcine);地吡醌(diaziquone);依氟鸟胺酸(elformithine);依利醋铵(elliptinium acetate);埃博霉素(epothilone);依托格鲁(etoglucid);硝酸镓;羟基脲;香菇多糖;氯尼达明(lonidainine);类美登素(maytansinoid),例如美登素(maytansine)及安丝菌素(ansamitocin);米托胍脘(mitoguazone);米托蒽醌;美得眠(mopidanmol);硝基胺;喷司他汀(pentostatin);蛋胺氮芥(phenamet);吡柔比星(pirarubicin);洛索蒽醌(losoxantrone);2-乙基酰肼;丙卡巴肼(procarbazine);**PSK®**多糖复合物(JHS Natural Products,Eugene,Oreg.);雷佐生(razoxane);利索新(rhizoxin);西左非兰(sizofuran);锗螺胺(spirogermanium);替奴佐酸(tenuazonic acid);三亚胺醌(triaziquone);2,2',2''-三氯三乙胺;单端孢霉烯(trichothecene)(尤其T-2毒素、疣孢菌素A(verracurin A)、杆孢菌素A(roridin A)及蛇形菌素e(anguidine));乌拉坦(urethan);长春地辛(vindesine)(**ELDISINE®**、**FILDESIN®**);达卡巴嗪(达卡巴嗪);甘露莫司汀(mannomustine);二溴甘露醇(mitobronitol);二溴卫矛醇(mitolactol);哌泊溴烷(pipobroman);加赛特辛(gacytosine);阿糖胞苷([Ara-C]);噻替哌;类紫杉醇(taxoid),例如**TAXOL®**太平洋紫杉醇(paclitaxel)(Bristol-Myers Squibb Oncology,Princeton,N.J.)、**ABRAXANE™**太平洋紫杉醇的无克列莫佛(Cremophor)、经白蛋白改造的奈米颗粒调配物(American Pharmaceutical Partners,Schaumburg,Ill.)及**TAXOTERE®**多西他赛(doxetaxel)(**Rhône-Poulenc Rorer**,Antony,France);氮芥苯丁酸(chloranbucil);吉西他滨(gemcitabine)(**GEMZAR®**);6-硫鸟嘌呤;硫嘌呤;胺甲喋呤;铂类似物,例如顺铂及卡铂;长春碱(**VELBAN®**);铂;依托泊苷(VP-16);异环磷酰胺;米托蒽醌;长春新碱(**ONCOVIN®**);奥沙利铂(oxaliplatin);醛氢叶酸;长春瑞滨(vinorelbine)(**NAVELBINE®**);能灭瘤(novantrone);依达曲沙;道诺霉素;胺喋呤(aminopterin);伊班膦酸盐(ibandronate);拓朴异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟胺酸(DMFO);类视色素,

例如视黄酸;卡培他滨(capecitabine) (XELODA®);上述药剂中任一者的医药上可接受的盐、酸或衍生物;以及上述药剂中的两者或更多者的组合,例如环磷酰胺、多柔比星、长春新碱及普赖苏浓(prednisolone)的组合疗法的缩写CHOP及利用与5-FU及醛氢叶酸组合的奥沙利铂(ELOXATIN™)的治疗方案的缩写FOLFOX。

[0195] 如本文所用的术语「细胞介素」包括(但不限于)Kiefer等人,2016, Immunol.Revs.270:178-192中所列示的实例。实例性适宜细胞介素包括(但不限于)G-CSF、GM-CSF、IFN γ 、IFN α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-9、IL-12、IL-13、IL-15、IL-17、IL-21、IL-23及TNF。

[0196] 在一个实施例中,细胞介素经由离胺酸残基之间的交联连接至结合结构域。

[0197] 术语「治疗抗体」是可用于治疗疾病的抗体。治疗抗体的实例是埃达珠单抗(etaracizumab)、阿塔珠单抗(atlizumab)、托珠单抗(tocilizumab)、他妥珠单抗替塞坦(tacatuzumab tetraxetan)、鲁利珠单抗(ruplizumab)、奥法木单抗(ofatumumab)、替非珠单抗(tefibazumab)、贝伐珠单抗(bevacizumab)、贝利木单抗(belimumab)、托西莫单抗(tositumomab)、布鲁珠单抗(blontuvetmab)、美泊利单抗(mepolizumab)、拉贝珠单抗(labetuzumab)、阿西莫单抗(arcitumomab)、聚乙二醇化赛妥珠单抗(certolizumab pegol)、雷莫芦单抗(ramucirumab)、TRBS07、西妥昔单抗(cetuximab)、比西单抗(biciromab)、奥妥珠单抗(obinutuzumab)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、克立瓦妥珠单抗替塞坦(clivatuzumab tetraxetan)、沃图莫单抗(votumumab)、扎木单抗(zanolimumab)、扎鲁木单抗(zalutumumab)、阿达木单抗(adalimumab)、芳妥珠单抗(fontolizumab)、喷替酸阿托珠单抗(altumomab pentetate)、卡那单抗(canakinumab)、伊戈伏单抗(igovomab)、曲妥珠单抗艾坦辛(trastuzumab emtansine)、阿伦单抗(alemtuzumab)、罗维珠单抗(rovelizumab)、硫索单抗(sulesomab)、兰尼单抗(ranibizumab)、FBTA05、贝妥莫单抗(bectumomab)、利妥昔单抗(rituximab)、依芬古单抗(efungumab)、吉妥珠单抗奥唑米星(gemtuzumab ozogamicin)、英西单抗(imciromab)、法索单抗(fanolesomab)、莫维珠单抗(motavizumab)、维西珠单抗(visilizumab)、帕妥珠单抗(pertuzumab)、尼沃鲁单抗(nivolumab)、莫罗单抗-cd3(muromonab-cd3)、奥戈伏单抗(oregovomab)、依决洛单抗(edrecolomab)、地诺单抗(denosumab)、卡罗单抗喷替肽(capromab pendetide)、依法利珠单抗(efalizumab)、英利昔单抗(infliximab)、卡妥索单抗(catumaxomab)、吉瑞妥昔单抗(girentuximab)、阿昔单抗(abciximab)、厄马索单抗(ertumaxomab)、巴利昔单抗(besilesomab)、戈利木单抗(golimumab)、巴利昔单抗(basiliximab)、依库珠单抗(eculizumab)、优特克单抗(ustekinumab)、帕利珠单抗(palivizumab)、塔托单抗(tamtuvetmab)、尼妥珠单抗(nimotuzumab)、帕图莫单抗(pemtumomab)、那他珠单抗(natalizumab)、帕尼单抗(panitumumab)、诺莫单抗默喷坦(nofetumomab merpentan)、奥马珠单抗(omalizumab)、伊匹单抗(ipilimumab)、达克珠单抗(daclizumab)、替伊莫单抗(ibritumomab tiuxetan)。

[0198] 如本文所用的「治疗」是指试图改变所治疗个体或细胞的自然过程的临床介入,且可用于预防或在临床病理学过程期间实施。期望治疗效应包括防止疾病发生或复发、缓解症状、减少疾病的任何直接或间接病理结果、防止或降低发炎及/或组织/器官损害、降低疾病进展速率、改善或缓和疾病况态及缓解或改良预后。在一些实施例中,使用本发明抗体来

延迟疾病或病症的发生。

[0199] 用于治疗目的的术语「哺乳动物」是指分类为哺乳动物的任何动物,包括人类、家畜及农场动物以及动物园动物、运动动物或宠物(例如狗、马、猫、牛等)。在某些实施例中,哺乳动物是人类。

[0200] 术语「有效量」是指在所需时间段内以所需剂量有效达成期望治疗或预防结果的量。

[0201] 如本文所用术语本发明的物质/分子的「治疗有效量」可根据诸如以下等因素而变化:疾病状态、个体的年龄、性别及体重以及物质/分子在个体内引发期望反应的能力。治疗有效量亦为物质/分子的治疗有益效应胜过其任何毒性或有害效应的量。「预防有效量」是指在所需时间段内以所需剂量有效达成期望预防结果的量。通常但未必,因预防剂量是在患病之前或患病早期用于个体中,故预防有效量将小于治疗有效量。

[0202] 如本文所用术语「预防有效量」是指在所需时间段内以所需剂量有效达成期望预防结果的量。通常但未必,因预防剂量是在患病之前或患病早期用于个体中,故预防有效量将小于治疗有效量。

[0203] 如本文所用的术语「医药上可接受的载剂」是适用于个体而无过度不良的副作用(例如毒性、刺激及过敏反应)并与合理益处/风险比相称者。另外,在与医药组合物的其他成分相容的意义上,每一载剂必须为「可接受」。载剂可呈固体、半固体或液体稀释剂、乳霜或胶囊形式。在与调配物的其他成分相容的意义上,载剂必须为「可接受」,且经选择以最小化活性剂的任何降解并最小化个体中的任何不良副作用。

[0204] 如本文所用的片语「实质上类似」、「实质上相同」、「等效」或「实质上等效」表示两个数值(例如一个值与分子相关且另一值与参照/比较分子相关)之间具有足够高相似度,使得熟习此项技术者会认为该两个值之间的差异在藉由这些值(例如 K_d 值、抗病毒效应等)所量测生物特征背景下具有较少或不具生物及/或统计学显著性。该两个值之间的差异是例如小于约50%、小于约40%、小于约30%、小于约20%及/或小于约10%,其随参照/比较分子的值而变化。

[0205] 如本文所用的片语「实质上减少」或「实质上不同」表示两个数值(通常一个值与分子相关且另一值与参照/比较分子相关)之间具有足够高差异度,使得熟习此项技术者会认为该两个值之间的差异在藉由这些值(例如 K_d 值)所量测生物学特征的背景下具有统计学显著性。该两个值之间的差异是例如大于约10%、大于约20%、大于约30%、大于约40%及/或大于约50%,其随参照/比较分子的值而变化。

[0206] 术语相对于本文所鉴别出的氨基酸序列的「氨基酸序列一致性百分比(%)」定义为,在比对序列并引入空位(若需要)以达成最大序列一致性百分数且不将任何保守取代视为序列一致性的一部分后,候选序列中与特定多肽序列中的氨基酸残基一致的氨基酸残基的百分比。出于确定序列一致性百分比的目的,比对可以熟习此项技术者所熟知的多种方式来达成,例如使用可公开获得的电脑软体,例如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软体。熟习此项技术者可测定用于量测比对的适当参数,包括在所比较序列的全长范围内达成最大比对所需的任何演算法。出于本文的目的,两条氨基酸序列之间的序列比较是藉由美国国家生物技术资讯中心(Nation Center for Biotechnology Information,NCBI)在线提供的电脑程式Blastp(蛋白-蛋白BLAST)来达成。具体而言,给定

胺基酸序列A与给定胺基酸序列B的胺基酸序列一致性百分比(或者,其可表达为给定胺基酸序列A与给定胺基酸序列B具有某一胺基酸序列一致性%)是藉由下式如下计算:

[0207] $(X \div Y) \times 100\%$ 。

[0208] 其中在A与B的程式比对中由序列比对程式BLAST评定为一致性匹配的胺基酸残基数,且其中Y是A或B(以较短者为准)中胺基酸残基的总数。

[0209] 相对于指定胺基酸序列的序列一致性或同源性在本文中定义为,在比对序列且引入空位(若需要)以达成最大同源性百分数且不将任何保守取代视为序列一致性的一部分后,候选序列中与指定残基一致的胺基酸残基的百分比。N末端、C末端或内部延伸、缺失或插入指定序列中皆不应理解为影响同源性。本发明中需要的所有序列比对皆为这些最大同源性比对。如本文所论述,预期蛋白质/多肽的胺基酸序列的微小变化涵盖于本文所揭示且主张的本发明概念中,条件是胺基酸序列的变化维持至少80%(例如至少81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%及99%)的变化。

[0210] 涵盖「保守修饰胺基酸取代」。保守修饰胺基酸取代是在其侧链相关的胺基酸家族内进行的那些。经遗传编码的胺基酸通常分成以下家族:

[0211] (1) 酸性:天冬胺酸盐(D)、麸胺酸盐(E);

[0212] (2) 碱性:离胺酸(K)、精胺酸(R)、组胺酸(H);

[0213] (3) 非极性:甘胺酸(G)、丙胺酸(A)、缬胺酸(V)、白胺酸(L)、异白胺酸(I)、脯胺酸(P)、苯丙胺酸(F)、甲硫胺酸(M)、色胺酸(W);及

[0214] (4) 不带电极性:天冬酰胺(N)、麸酰胺酸(Q)、半胱胺酸(C)、丝胺酸(S)、苏胺酸(T)、酪胺酸(Y)。

[0215] 更佳家族是:

[0216] (3-1) 脂肪族:丙胺酸、缬胺酸、白胺酸及异白胺酸;

[0217] (3-2) 芳香族:苯丙胺酸、色胺酸及酪胺酸;

[0218] (4-1) 脂肪族-羟基:丝胺酸及苏胺酸;

[0219] (4-2) 含酰胺:天冬酰胺及麸酰胺酸。

[0220] 举例而言,合理地预期异白胺酸或缬胺酸对白胺酸、麸胺酸盐对天冬胺酸盐、丝胺酸对苏胺酸的经分离取代或结构相关胺基酸对胺基酸的类似替代对所得分子的结合或性质不具主效应,尤其当取代不涉及框架位点内的胺基酸时。胺基酸变化是否产生功能肽可容易地藉由分析多肽衍生物的比活性来确定。蛋白质/多肽的片段或类似物可容易地由熟习此项技术者制备。片段或类似物的较佳胺基及羧基末端出现在功能结构域的边界附近。亦可利用例如Creighton(1984)Proteins:Structure and Molecular Properties(第2版,1993),W.H.Freeman and Company中所述的原则系统地阐述胺基酸的其他各群。

[0221] 在某些实施例中,保守胺基酸取代可包括与参照序列(例如CDR、VH、VL、框架、全长等)相差1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、21个、22个、23个、24个、25个、26个、27个、28个、29个或30或更多个经取代胺基酸残基的序列同系物。

[0222] 衍生物

[0223] 本发明亦提供获得特异性针对SSEA4的抗体的方法。这些抗体中的CDR并不限于表

2及本文别处所鉴别出的特定V_H及V_L序列且可包括这些序列的保留特异性结合SSEA4能力的变体。这些变体可衍生自熟习此项技术者使用业内所熟知的技术在下文列示的序列及其保守取代。

	原始	实例性	典型
	残基	取代	取代
[0224]			
	Ala (A)	Val、Leu、Ile	Val
	Arg (R)	Lys、Gln、Asn	Lys
	Asn (N)	Gln	Gln

	原始	实例性	典型
	残基	取代	取代
	Asp (D)	Glu	Glu
	Glu (E)	Asp	Asp
	Cys (C)	Ser、Ala	Ser
	Gln (Q)	Asn	Asn
	Gly (G)	Pro、Ala、Gly	Ala
	His (H)	Asn、Gln、Lys、Arg	Arg
[0225]	Ile (I)	Leu、Val、Met、Ala、Phe、正白胺酸	Leu
	Leu (L)	正白胺酸、Ile、Val、Met、Ala、Phe	Ile
	Lys (K)	Arg、1,4-二胺基-丁酸、Gln、Asn	Arg
	Met (M)	Leu、Phe、Ile	Leu
	Phe (F)	Leu、Val、Ile、Ala、Tyr	Leu
	Pro (P)	Ala、Gly	Gly
	Ser (S)	Thr、Ala、Cys	Thr
	Thr (T)	Ser	Ser
	Trp (W)	Tyr、Phe	Tyr
	Tyr (Y)	Trp、Phe、Thr、Ser	Phe
	Val (V)	Ile、Met、Leu、Phe、Ala、正白胺酸	Leu

[0226] 在某些实施例中,本发明抗体包含包括H-CDR1、H-CDR2及H-CDR3序列的重链可变区及包括L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3序列的轻链可变区,其中基于本文所述的较佳抗体或其保守修饰,这些CDR序列中的一或多者包含指定胺基酸序列,且其中这些抗体保留本发明抗SSEA4抗体的期望功能性质。因此,本发明提供经分离单株抗体或其抗原结合部分,其包含包括H-CDR1、H-CDR2及H-CDR3序列的重链可变区及包括L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3序列的轻链可变区以及其经保守胺基酸取代的变体以及包含所有3个重链及/或轻链CDR的全长序列及其同系物。

[0227] 经改造及经修饰抗体

[0228] 本发明的抗体另外可使用具有本文所揭示的 V_H 及/或 V_L 序列中的一或多者的抗体作为起始材料来制备以改造经修饰抗体,该经修饰抗体可具有自起始抗体改变的性质。抗

体可藉由修饰一或多个可变区(即 V_H 及/或 V_L)内、例如一或多个CDR区内及/或一或多个框架区内的一或多个残基来改造。另外或或者,抗体可藉由修饰恒定区内的残基来改造,例如以改变抗体的效应物功能。

[0229] 可实施的一类可变区改造是CDR移植。抗体与靶抗原主要经由位于六个重链及轻链互补决定区(CDR)中的氨基酸残基相互作用。出于此原因,在个别抗体之间CDR内的氨基酸序列比CDR外的序列更多样。由于CDR序列负责大部分抗体-抗原相互作用,故可藉由构筑包括来自移植至具有不同性质的不同抗体的框架序列上的特异性天然抗体的CDR序列的表现载体表现模拟特异性天然抗体的性质的重组抗体(例如参见Riechmann,L.等人(1998) *Nature* 332:323-327; Jones,P.等人(1986) *Nature* 321:522-525; Queen,C.等人(1989) *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 86:10029-10033; 颁予Winter的美国专利第5,225,539号以及颁予Queen等人的美国专利第5,530,101号、第5,585,089号、第5,693,762号及第6,180,370号)。

[0230] 因此,本发明的另一实施例涉及经分离单株抗体或其抗原结合部分,其包含包括H-CDR1、H-CDR2及H-CDR3序列的重链可变区及包括L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3序列的轻链可变区。因此,这些抗体含有本文所述单株抗体的 V_H 及 V_L CDR序列,亦可含有不同于这些抗体的框架序列。

[0231] 这些框架序列可自包括种系抗体基因序列的公共DNA数据库或公开参考文献来获得。举例而言,人类重链及轻链可变区基因的种系DNA序列可参见「VBase」人类种系序列数据库(可在网际网路www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase上获得)以及Kabat,E.A.等人(1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*,第5版,美国卫生及公共服务部(U.S.Department of Health and Human Services),NIH公开号91-3242; Tomlinson,I.M.等人(1992)「The Repertoire of Human Germline V_H Sequences Reveals about Fifty Groups of V_H Segments with Different Hypervariable Loops」*J.Mol.Biol.* 227:776-798; 及Cox,J.P.L.等人(1994)「A Directory of Human Germ-line V_H Segments Reveals a Strong Bias in their Usage」*Eur.J.Immunol.* 24:827-836; 这些文献各自的内容是以引用方式明确并入本文中。作为另一实例,人类重链及轻链可变区基因的种系DNA序列可参见基因库数据库。举例而言,在HCo7 HuMAb小鼠中发现的以下重链种系序列可以下列随附基因库登录号获得:1-69(NG_0010109、NT_024637及BC070333)、3-33(NG_0010109及NT_024637)及3-7(NG_0010109及NT_024637)。作为另一实例,在HCo12 HuMAb小鼠中发现的以下重链种系序列可以随附基因库登录号获得:1-69(NG_0010109、NT_024637及BC070333)、5-51(NG_0010109及NT_024637)、4-34(NG_0010109及NT_024637)、3-30.3(AJ556644)及3-23(AJ406678)。

[0232] 可将CDR1、CDR2及CDR3序列移植至具有与发现于衍生出框架序列的种系免疫球蛋白基因中的序列一致的序列的框架区上,或可将CDR序列移植至与种系序列相比含有一或多个突变的框架区上。举例而言,已发现,在某些情况下,有益地突变框架区内的残基以维持或增强抗体的抗原结合能力(例如,参见颁予Queen等人的美国专利第5,530,101号、第5,585,089号、第5,693,762号及第6,180,370号)。

[0233] 另一类型的可变区修饰是突变每一各别重链或轻链CDR1、CDR2及/或CDR3区内的氨基酸残基,藉此改良所关注抗体的一或多种结合性质(例如亲和力)。可实施定点诱变或

PCR介导的诱变以引入突变,且可在如本文所述且于实例中提供的活体外或活体内分析中评估对抗体结合的效应或所关注的其他功能性质。较佳引入保守修饰(如上文所论述)。突变可为氨基酸取代、添加或缺失,但较佳为取代。另外,通常改变CDR区内的不超过一个、两个、三个、四个或五个残基。

[0234] 本发明的经改造抗体包括已对 V_H 及/或 V_L 内的框架残基进行修饰以例如改良抗体性质的那些。通常,这些框架修饰经制备以降低抗体的免疫原性。举例而言,一种方式为将一或多个框架残基「回复突变」成相应的种系序列。更具体而言,已经历体细胞突变的抗体可含有与衍生出该抗体的种系序列不同的框架残基。这些残基可藉由比较抗体框架序列与衍生出该抗体的种系序列来鉴别。

[0235] 除在框架或CDR区内进行的修饰外或者,本发明抗体可经改造以包括Fc区内的修饰,通常以改变抗体的一或多种功能性质,例如血清半衰期、补体固定、Fc受体结合及/或抗原依赖性细胞毒性。另外,本发明抗体可经化学修饰(例如,可将一或多个化学部分附接至该抗体)或经修饰以改变其糖基化,以亦改变抗体的一或多种功能性质。

[0236] 在另一实施例中,修改抗体的糖基化。举例而言,可制备无糖基化抗体(即抗体缺少糖基化)。可改变糖基化以例如增加抗体对抗原的亲合力。另外或者,可制备具有经改变糖基化类型的抗体,例如具有降低量的岩藻糖基残基的低岩藻糖基化抗体或具有增加的二等分GlcNAc结构的抗体。已证实,这些经改变糖基化模式增加抗体的ADCC能力。

[0237] 本发明所涵盖本文抗体的另一修饰为聚乙二醇化。抗体可经聚乙二醇化以例如延长抗体的生物(例如血清)半衰期。为聚乙二醇化抗体,通常在其中一或多个PEG基团变得附接至抗体或抗体片段的条件下使抗体或其片段与聚乙二醇(PEG)(例如PEG的反应性酯或醚衍生物)反应。较佳地,聚乙二醇化为经由与反应性PEG分子(或类似反应性水溶性聚合物)的酰化反应或烷基化反应来实施。如本文所用的术语「聚乙二醇」意欲涵盖PEG的已用于衍生其他蛋白质的任一形式,例如单(C1-C10)烷氧基-或芳氧基-聚乙二醇或聚乙二醇-马来酰亚胺。在某些实施例中,欲经聚乙二醇化的抗体为无糖基化抗体。聚乙二醇化蛋白质的方法为业内已知且可适用于本发明抗体。例如参见Nishimura等人的EP 0 154 316及Ishikawa等人的EP 0 401 384。

[0238] 在改造本发明抗体的方法的某些实施例中,可沿抗PD-1抗体编码序列的全部或一部分随机或选择性引入突变,且可针对结合活性及/或如本文所述的其他功能性质筛选所得经修饰抗SSEA4抗体。突变方法已于业内有所阐述。举例而言,PCT公开案W0 02/092780简短阐述使用饱和诱变、合成连接组装或其组合产生及筛选抗体突变的方法。或者,Lazar等人的PCT公开案W0 03/074679阐述使用计算筛选方法最佳化抗体的物理化学性质的方法。

[0239] 编码本发明抗体的核酸分子

[0240] 本发明的另一态样涉及编码本发明抗体的核酸分子。这些核酸可存在于完整细胞中,存在于细胞溶解物中,或以部分纯化或实质上纯净的形式存在。当藉由标准技术实施纯化以清除其他细胞组分或其他污染物(例如其他细胞核酸或蛋白质)时,核酸是「经分离」或「使得实质上纯的」,这些标准技术包括碱/SDS处理、CsCl显带、管柱层析、琼脂糖凝胶电泳及业内熟知的其他方法。参见F.Ausubel等人编辑(1987)Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York。本发明的核酸可为例如DNA或RNA且可含或可不含内含子序列。在较佳实施例中,核酸为cDNA分子。在

某些实施例中,核酸由载体表现。

[0241] 本发明的核酸可使用标准分子生物学技术获得。对于由杂交瘤(例如自携带人类免疫球蛋白基因的转基因小鼠制备的杂交瘤,如下文进一步阐述)表现的抗体,编码藉由杂交瘤制备的抗体的轻链及重链的cDNA可藉由标准PCR扩增或cDNA选殖技术来获得。对于自免疫球蛋白基因文库(例如使用噬菌体展示技术)获得的抗体,可自该文库回收编码该抗体的核酸。

[0242] 本发明的实例性核酸分子为编码实例性Ab6单株抗体的V_H及V_L胺基酸序列的那些(参见表2A-2D)。

[0243] 框架区(FR)上含有实例性胺基酸取代的序列显示于表2B中。与SSEA4及SSEA4表现细胞的结合活性的确认藉由如实例部分中所说明的结合分析展示。确认结合亲和功能是保守的且甚至在各别实例性轻链及重链的框架上含有高达3/5胺基酸取代的实例性变体中得以保留。

[0244] CDR上含有实例性非保守修饰胺基酸取代的序列显示于表2C中。与SSEA4及SSEA4表现细胞的结合活性的确认藉由如实例部分中所说明的结合分析展示。确认结合亲和力及功能是保守的且在轻链及重链的CDR上含有以下非限制性实例性胺基酸取代(例如但不限于重链:A100R、N31S、T62A。轻链:S52Y)的实例性变体中得以保留。

[0245] CDR上含有实例性保守修饰胺基酸取代的序列显示于表2D中。与SSEA4及SSEA4表现细胞的结合活性的确认藉由如实例部分中所说明的结合分析展示。确认结合亲和力及功能是保守的且在轻链及重链的CDR上含有非限制性实例性胺基酸取代(例如但不限于重链:V50A、G53A、S35T。轻链:V30I/A、G91A、Y94F)的实例性变体中得以保留

[0246] 表2A:实例性亲代抗体chAb6序列(No.01x)

[0247]

抗体/序列	SEQ ID No:	胺基酸或核酸序列
H-CDR1	No.10	NYGVS
H-CDR2	No.11	VIWGDGSTNYHSTLRS
H-CDR3	No.12	PGAGYAMDY
重链可变结构域	No.13	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVS GFSLKNYGVSWVRQPPGKGLEWL

[0248]

		GVIWGDGSTNYHSTLRSRLTISKDN SKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKP GAGYAMDYWGQGTSVTVSS
重链的核苷酸	No.14	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCT GGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG TCCATCACATGCACTGTCTCAGGGTTCTCA TTAAAAAACTATGGTGTAAGCTGGGTTCTG CCAGCCTCCAGGAAAGGGTCTGGAGTG GCTGGGAGTAATATGGGGTGACGGGAG CACAAATTATCATTCAACTCTCAGATCCA GACTGACCATCAGCAAGGATAATTCCAA GAGCCAACTTTTCTTAAACTGAACAGAC TGCAAAGTATGACACAGCCACGTACTA CTGTGCCAAACCTGGGGCGGGTTATGCTA TGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTC ACCGTCTCCTCA
L-CDR1	No.15	SASSSVSYM
L-CDR2	No.16	DTSKLTS
L-CDR3	No.17	FQSGYPLT
轻链可变结构域	No.18	QIVLTQSPAIMSVYPGEKVTMTC SASSSVSYMHWYQKSSTSPKL WIYDTSKLTSGVPGRFSGSGSGN SYSLTISSMEAEDVATYYCFQSG YPLTFGGGTKLEIKR
轻链的核苷酸	No.19	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAA TCATGTCTGTATATCCAGGGGAAAAGGT CACCATGACCTGCAGTGCCAGCTCAAG TGTAAGTTACATGCACTGGTACCAGCAG AAGTCAAGCACCTCCCCAACTCTGGA TTTATGACACATCCAACTGACTTCTGG AGTCCCAGGTCGCTTCAGTGGCAGTGGG

[0249]

		TCTGGAAACTCTTACTCTCTCACGATCAG CAGCATGGAGGCTGAAGATGTTGCCACTT ATTACTGTTTTTCAGGGGAGTGGGTACCCA CTCACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTG GAAATAAAACGG
--	--	---

[0250] 表2B:含有框架区修饰的实例性抗体实施例hAb6-2序列(No.02x)

[0251]

重链可变结构域	No.23	QVQLKESGPGLVAPSQTLSITCTVS GFSLKNYGVSWVRQPPGKGLEWI GVIWGDGSTNYHSTLRSRVTISKD NSKSQFLKLNRLQTDDTATYYCAK PGAGYAMDYWGQGTSTVTVSS
轻链可变结构域	No.28	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSA SSSVSYMHWYQQKSSTSPKLWIYD TSKLTSGVPGRFSGSGSGNSYTLTIS SMEAEDVATYYCFQGSGLYPLTFGG GTKLEIKR

[0252] hAb6-3序列(No.03x)

[0253]

重链可变结构域	No.33	QVQLQESGPGLVAPSQTLSI TCTVSGFSLKNYGVSWVRQ PPGKGLEWIGVIWGDGSTN YHSTLRSRVTISKDNSKSQFL LKLNLRLQTDDTATYYCAKPG AGYAMDYWGQGTSLTVTVSS
轻链可变结构域	No.38	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCS ASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLW IYDTSKLTSGVPGRFSGSGSGNSY TLTISSMEAEDAATYYCFQGSGLYPLTFGG GTKVEIKR

[0254] 表2C:含有非保守CDR修饰的实例性抗体实施例

[0255] hAb6-3.1序列(No.04x,H-CDR3:A100R)

[0256]

H-CDR1	No.40	NYGVS
H-CDR2	No.41	VIWGDGSTNYHSTLRS
H-CDR3	No.42	PGR ₁ GYAMDY
重链可变结构域	No.43	QVQLQESGPGLVAPSQTLSI TCTVSGFSLKNYGVSWVRQ PPGKGLEWIGVIWGDGSTN YHSTLRSRVTISKDNSKSQLF LKLNRLQTDDTATYYCAKPG R ₁ GYAMDYWGQGLTVTVSS
重链的核苷酸	No.44	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGACCAG GACTGGTGGCTCCCAGCCAGACCCTGTCT ATCACCTGCACAGTGTCTGGCTTCTCCCTG AAGAACTACGGCGTGAGCTGGGTGAGAC AGCCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGAT CGGCGTGATCTGGGGCGACGGCTCTACC AATTATCACTCCCACTGAGGAGCCGGG TGACCATCTCCAAGGATAACTCCAAGAG CCAGCTGTTTCTGAAGCTGAATCGCCTG CAGACAGACGATACCGCCACATACTATT GCGCTAAGCCAGGCCGGGGCTACGCTA TGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCCTGG TGACAGTGTCCAGC
L-CDR1	No.45	SASSSVSYMH
L-CDR2	No.46	DTSKLTS
L-CDR3	No.47	FQGSgyPLT
轻链可变结构域	No.48	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCS ASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLW IYDTSKLTSGVPGRFSGSGSGNSY

[0257]

		TLTISSMEAEDAATYYCFQGS GYP LTFGGGTKVEIKR
轻链的核苷酸	No.49	GAGATCGTGCTGACCCAGTCTCCTGCCA TCCAGTCCGTGTACCCAGGCGAGAAGG TGACCATGACATGTTCCGCTTCTTCCAG CGTGAGCTACATGCATTGGTATCAGCAG AAGTCTTCCACATCTCCCAAGCTGTGGA TCTACGACACCTCTAAGCTGACATCCGG AGTGCCTGGCAGGTTCTCTGGATCCGGA AGCGGCAACAGCTATACCCTGACAATCA GCTCTATGGAGGCTGAGGATGCCGCTAC CTACTATTGTTTCCAGGGCTCTGGCTATC CCCTGACCTTTGGCGGCGGCACAAAGG TGGAGATCAAGCGT

[0258] hAb6-3.2序列 (No.05x, H-CDR1:N31 S及H-CDR3:A100R)

[0259]

H-CDR1	No.50	S ₁ YGV ₂ S
H-CDR2	No.51	VIWGDGSTNYHSTLRS
H-CDR3	No.52	PG ₁ R ₂ GYAMDY
重链可变结构域	No.53	QVQLQESGPGLVAPSQTLSI TCTVSGFSLK ₁ S ₂ YGVSWVRQ PPGKGLEWIGVIWGDGSTN YHSTLRSRVTISKDNSKSQLF LKLNRLQTDDTATYYCAKPG ₁ R ₂ GYAMDYWGQGT ₁ LVTVSS
重链的核苷酸	No.54	
L-CDR1	No.55	SASSSVSYMH
L-CDR2	No.56	DTSKLTS
L-CDR3	No.57	FQGS GYPLT
轻链可变结构域	No.58	EIVLTQSPA IQSVYPGEKVTMTCS ASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLW

[0260]

		IYDTSKLTSGVPGRFSGSGSGNSY TLTISSMEAEDAATYYCFQGSGYP LTFGGGGTKVEIKR
轻链的核苷酸	No.59	

[0261] hAb6-3.3序列 (No.06x, H-CDR2:T62A及H-CDR3:A100R)

H-CDR1	No.60	NYGVS
H-CDR2	No.61	VIWGDGSTNYHS ^A LRS
H-CDR3	No.62	PG ^R GYAMDY
重链可变结构域	No.63	QVQLQESGPGLVAPSQTLSI TCTVSGFSLKNYGVSWVRQ PPGKGLEWIGVIWGDGSTN YHS ^A LRSRVTISKDNSKSQLF LKLNLQTDDTATYYCAKPG ^R GYAMDYWGQGTLLTVSS
重链的核苷酸	No.64	
L-CDR1	No.65	SASSSVSYMH
L-CDR2	No.66	DTSKLT
L-CDR3	No.67	FQGSGYPLT
轻链可变结构域	No.68	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCS ASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLW IYDTSKLTSGVPGRFSGSGSGNSY TLTISSMEAEDAATYYCFQGSGYP LTFGGGGTKVEIKR
轻链的核苷酸	No.69	

[0263] hAb6-3.4序列 (No.07x, L-CDR2:S52Y及H-CDR3:A100R)

[0264]

H-CDR1	No.70	NYGVS
H-CDR2	No.71	VIWGDGSTNYHSTLRS
H-CDR3	No.72	PG ^R GYAMDY
重链可变结构域	No.73	QVQLQESGPGLVAPSQTLSI TCTVSGFSLKNYGVSWVRQ

[0265]

		PPGKGLEWIGVIWGDGSTN YHSTLRSRV TISKDNSKSQLF LKLNRLQTDDTATYYCAKPG R ₁ GYAMDYWGQGT ₁ LVTVSS
重链的核苷酸	No.74	
L-CDR1	No.75	SASSSVSYMH
L-CDR2	No.76	DTY ₁ KLTS
L-CDR3	No.77	FQSGGYPLT
轻链可变结构域	No.78	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCS ASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLW IYDTY ₁ KLTS ₁ GV ₁ PG ₁ RFSGSGSGNSY TLTISSMEAEDAATYYCFQSGGY ₁ P LTFGGGTKVEIKR
轻链的核苷酸	No.79	

[0266] 表2D:含有保守CDR修饰的实例性抗体实施例hAb6-3.101序列 (No.08x, H-CDR2: V50A及H-CDR3: A100R)

[0267]

H-CDR1	No.80	NYGVS
H-CDR2	No.81	A ₁ IWGDGSTNYHSTLRS
H-CDR3	No.82	PGRGYAMDY
重链可变结构域	No.83	QVQLQESGPGLVAPSQTLSI TCTVSGFSLKNYGVSWVRQ PPGKGLEWIG ₁ A ₁ IWGDGSTN YHSTLRSRV TISKDNSKSQLF LKLNRLQTDDTATYYCAKPG R ₁ GYAMDYWGQGT ₁ LVTVSS
重链的核苷酸	No.84	
L-CDR1	No.85	SASSSVSYMH
L-CDR2	No.86	DTSKLTS
L-CDR3	No.87	FQSGGYPLT
轻链可变结构域	No.88	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCS

[0268]

		ASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLW IYDTSKLTSGVPGRFSGSGSGNSY TLTISSMEAEDAATYYCFQGSGYP LTFGGGTKVEIKR
轻链的核苷酸	No.89	

[0269] hAb6-3.103序列 (No.10x, H-CDR2:G53A及H-CDR3:A100R)

[0270]

H-CDR1	No.100	NYGVS
H-CDR2	No.101	VIWADGSTNYHSTLRS
H-CDR3	No.102	PGRGYAMDY
重链可变结构域	No.103	QVQLQESGPGLVAPSQTLSI TCTVSGFSLKNYGVSWVRQ PPGKGLEWIGVIWADGSTN YHSTLRSRVTISKDNSKSQLF LKLNLQTDDTATYYCAKPG RGYAMDYWGQGTLLTVSS
重链的核苷酸	No.104	
L-CDR1	No.105	SASSSVSYMH
L-CDR2	No.106	DTSKLT
L-CDR3	No.107	FQGSGYPLT
轻链可变结构域	No.108	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCS ASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLW IYDTSKLTSGVPGRFSGSGSGNSY TLTISSMEAEDAATYYCFQGSGYP LTFGGGTKVEIKR
轻链的核苷酸	No.109	

[0271] hAb6-3.105序列 (No.12x, H-CDR1:S35T及H-CDR3:A100R)

[0272]

H-CDR1	No.120	NYGVIT
H-CDR2	No.121	VIWGDGSTNYHSTLRS
H-CDR3	No.122	PGRGYAMDY
重链可变结构域	No.123	QVQLQESGPGLVAPSQTLSI

[0273]

		TCTVSGFSLKNYGV ^T WVRQ PPGKGLEWIGVIWGDGSTN YHSTLRSRVTISKDNSKSQLF LKLNLRLQTDDTATYYCAKPG ^R GYAMDYWGQGT ^L LVTVSS
重链的核苷酸	No.124	
L-CDR1	No.125	SASSSVSYMH
L-CDR2	No.126	DTSKLT
L-CDR3	No.127	FQSGGYPLT
轻链可变结构域	No.128	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCS ASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLW IYDTSKLTSGVPGRFSGSGSGNSY TLTISSMEAEDAATYYCFQSGGYPLT LTFGGG ^T KVEIKR
轻链的核苷酸	No.129	

[0274] hAb6-3.106序列 (No.13x, L-CDR1:V30I及H-CDR3:A100R)

[0275]

H-CDR1	No.130	NYGVS
H-CDR2	No.131	VIWGDGSTNYHSTLRS
H-CDR3	No.132	PG ^R GYAMDY
重链可变结构域	No.133	QVQLQESGPGGLVAPSQTLSI TCTVSGFSLKNYGVSWVRQ PPGKGLEWIGVIWGDGSTN YHSTLRSRVTISKDNSKSQLF LKLNLRLQTDDTATYYCAKPG ^R GYAMDYWGQGT ^L LVTVSS
重链的核苷酸	No.134	
L-CDR1	No.135	SASS ^I SYMH
L-CDR2	No.136	DTSKLT
L-CDR3	No.137	FQSGGYPLT
轻链可变结构域	No.138	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCS

[0276]

		ASSS ¹ SYMHWYQQKSSTSPKLW IYDTSKLTSGVPGRFSGSGSGNSY TLTISSMEAEDAATYYCFQGSGYP LTFGGGTKVEIKR
轻链的核苷酸	No.139	

[0277] hAb6-3.107序列 (No.14x, L-CDR1:V30A及H-CDR3:A100R)

H-CDR1	No.140	NYGVS
H-CDR2	No.141	VIWGDGSTNYHSTLRS
H-CDR3	No.142	PG ^R GYAMDY
重链可变结构域	No.143	QVQLQESGPGLVAPSQTLSI TCTVSGFSLKNYGVSWVRQ PPGKGLEWIGVIWGDGSTN YHSTLRSRVTISKDNSKSQLF LKLNLQTDDTATYYCAKPG ^R GYAMDYWGQGTLLTVSS
重链的核苷酸	No.144	
L-CDR1	No.145	SASSS ^A SYMH
L-CDR2	No.146	DTSKLT
L-CDR3	No.147	FQGSGYPLT
轻链可变结构域	No.148	EIVLTQSPAISVYPGEKVTMTCS ASSS ^A SYMHWYQQKSSTSPKLW IYDTSKLTSGVPGRFSGSGSGNSY TLTISSMEAEDAATYYCFQGSGYP LTFGGGTKVEIKR
轻链的核苷酸	No.149	

[0279] hAb6-3.108序列 (No.15x, L-CDR3:G91 A及H-CDR3:A100R)

[0280]

H-CDR1	No.150	NYGVS
H-CDR2	No.151	VIWGDGSTNYHSTLRS
H-CDR3	No.152	PG ^R GYAMDY
重链可变结构域	No.153	QVQLQESGPGLVAPSQTLSI

[0281]

		TCTVSGFSLKNYGVSWVRQ PPGKGLEWIGVIWGDGSTN YHSTLRSRVTISKDNSKSQLF LKLNLRLQTDDTATYYCAKPG R ₁ GYAMDYWGQGTLLTVSS
重链的核苷酸	No.154	
L-CDR1	No.155	SASSSVSYMH
L-CDR2	No.156	DTSKLTS
L-CDR3	No.157	FQA ₁ SGYPLT
轻链可变结构域	No.158	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCS ASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLW IYDTSKLTSQVPGRFSGSGSGNSY TLTISSMEAEDAATYYCFQA ₁ SGYP LTFGGGTKVEIKR
轻链的核苷酸	No.159	

[0282] hAb6-3.110序列 (No.17x, L-CDR3:Y94F及H-CDR3:A100R)

[0283]

H-CDR1	No.170	NYGVS
H-CDR2	No.171	VIWGDGSTNYHSTLRS
H-CDR3	No.172	PGR ₁ GYAMDY
重链可变结构域	No.173	QVQLQESGPGLVAPSQTLSI TCTVSGFSLKNYGVSWVRQ PPGKGLEWIGVIWGDGSTN YHSTLRSRVTISKDNSKSQLF LKLNLRLQTDDTATYYCAKPG R ₁ GYAMDYWGQGTLLTVSS
重链的核苷酸	No.174	
L-CDR1	No.175	SASSSVSYMH
L-CDR2	No.176	DTSKLTS
L-CDR3	No.177	FQGS ₁ GF ₁ PLT
轻链可变结构域	No.178	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCS

[0284]		ASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLW IYDTSKLTSGVPGRFSGSGSNSY TLTISSMEAEDAATYYCFQGSGFP LTFGGGTKVEIKR
	轻链的核苷酸	No.179

[0285] 编码本发明抗体或其抗原结合部分的核酸分子以及包含这些核酸的表现载体及包含这些表现载体的宿主细胞亦涵盖于本发明中。另外,本发明提供包含人类免疫球蛋白重链及轻链转基因的转基因小鼠,其中小鼠表现本发明抗体,以及自该小鼠制备的杂交瘤,其中杂交瘤产生本发明抗体。

[0286] 本发明单株抗体的产生

[0287] 本发明的单株抗体 (mAb) 可藉由多种技术来产生,这些技术包括习用单株抗体方法,例如Kohler及Milstein(1975)Nature 256:495的标准体细胞杂交技术。尽管体细胞杂交程序较佳,但原则上,可采用产生单株抗体的其他技术,例如B淋巴球的病毒或致癌转变。

[0288] 用于制备杂交瘤的较佳动物系统是鼠类系统。小鼠中的杂交瘤产生是已充分确立的程序。业内已知分离融合用免疫脾细胞的免疫方案及技术。亦已知融合配偶体(例如鼠类骨髓瘤细胞)及融合程序。

[0289] 本发明的嵌合或人类化抗体可基于如上文所述制备的鼠类单株抗体的序列制备。编码重链及轻链免疫球蛋白的DNA可自所关注鼠类杂交瘤获得并使用标准分子生物学技术进行改造以含有非鼠类(例如人类)免疫球蛋白序列。举例而言,为产生嵌合抗体,可使用业内已知方法将鼠类可变区连接至人类恒定区(例如,参见颁予Cabilly等人的美国专利第4,816,567号)。为产生人类化抗体,可使用业内已知方法(例如,参见颁予Winter的美国专利第5,225,539号以及颁予Queen等人的美国专利第5,530,101号、第5,585,089号、第5,693,762号及第6,180,370号)将鼠类CDR区插入人类框架中。

[0290] 在实施例中,本发明抗体是人类单株抗体。可使用携带人类免疫系统而非小鼠系统的部分的转基因或转染色体小鼠来生成针对SSEA4的这些人类单株抗体。这些转基因及转染色体小鼠包括在本文中分别称为HuMAb小鼠及KM MiceTM的小鼠,且在本文中统称为「人类Ig小鼠」。

[0291] HuMAb小鼠(Medarex, Inc.)含有编码非重排人类重链(μ 及 γ)及 κ 轻链免疫球蛋白序列以及使内源 μ 及 κ 链基因座不活化的靶突变的人类免疫球蛋白基因微小基因座(例如,参见Lonberg等人(1994)Nature 368(6474):856-859)。因此,小鼠展现减少的小鼠IgM或K表现及免疫反应,所引入人类重链及轻链转基因经历类别转换及体细胞突变以生成高亲和力人类IgGk单株(Lonberg, N.等人(1994),上文文献;综述于Lonberg, N. (1994) Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101;Lonberg, N.及Huszar, D. (1995) Intern. Rev. Immunol. 13:65-93以及Harding, F.及Lonberg, N. (1995) Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:536-546中)。HuMAb小鼠及这些小鼠所携带的基因体修饰的制备及使用进一步阐述于以下文献中:Taylor, L.等人(1992)Nucleic Acids Research 20:6287-6295;Chen, J.等人(1993)International Immunology 5:647-656;Tuailon等人(1993)

Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:3720-3724;Choi等人(1993)Nature Genetics 4:117-123;Chen,J.等人(1993)EMBO J.12:821-830;Tuailon等人(1994)J.Immunol.152:2912-2920;Taylor,L.等人(1994)International Immunology 6:579-591;及Fishwild,D.等人(1996)Nature Biotechnology 14:845-851,其内容皆为全文以引用方式明确并入本文中。进一步参见皆颁予Lonberg及Kay的美国专利第5,545,806号;第5,569,825号;第5,625,126号;第5,633,425号;第5,789,650号;第5,877,397号;第5,661,016号;第5,814,318号;第5,874,299号;及第5,770,429号;颁予Surani等人的美国专利第5,545,807号;皆颁予Lonberg及Kay的PCT公开案第W0 92/03918号、第W0 93/12227号、第W094/25585号、第W0 97/13852号、第W0 98/24884号及第W0 99/45962号;及颁予Korman等人的PCT公开案第W0 01/14424号。

[0292] 在另一实施例中,本发明的人类抗体可使用在转基因及转染色体上携带人类免疫球蛋白序列的小鼠(例如携带人类重链转基因及人类轻链转染色体的小鼠)产生。在本文中称为「KM MiceTM」的这些小鼠详细阐述于颁予Ishida等人的PCT公开案W0 02/43478中。

[0293] 另外,业内可获得表现人类免疫球蛋白基因的替代性转基因动物系统且可使用其来产生本发明的抗PD-1抗体。举例而言,可使用称为Xenomouse (Abgenix, Inc.)的替代性转基因系统;这些小鼠阐述于例如颁予Kucherlapati等人的美国专利第5,939,598号;第6,075,181号;第6,114,598号;第6,150,584号及第6,162,963号中。

[0294] 另外,业内可获得表现人类免疫球蛋白基因的替代性转染色体动物系统且可使用其来产生本发明的抗SSEA4抗体。举例而言,可使用携带人类重链转染色体及人类轻链转染色体二者的小鼠,称为「TC小鼠」;这些小鼠阐述于Tomizuka等人(2000)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 97:722-727中。另外,携带人类重链及轻链转折染色体的牛已在业内加以阐述(Kuroiwa等人(2002)Nature Biotechnology 20:889-894)且可使用其来产生本发明的抗PD-1抗体。

[0295] 本发明的人类单株抗体亦可使用噬菌体展示方法筛选人类免疫球蛋白基因文库来制备。业内已建立分离人类抗体的这些噬菌体展示方法。参见例如:颁予Ladner等人的美国专利第5,223,409号;第5,403,484号;及第5,571,698号;颁予Dower等人的美国专利第5,427,908号及第5,580,717号;颁予McCafferty等人的美国专利第5,969,108号及第6,172,197号;以及颁予Griffiths等人的美国专利第5,885,793号;第6,521,404号;第6,544,731号;第6,555,313号;第6,582,915号及第6,593,081号。

[0296] 本发明的人类单株抗体亦可使用SCID小鼠来制备,其中人类免疫细胞已经重构,使得可在免疫后生成人类抗体反应。这些小鼠阐述于例如颁予Wilson等人的美国专利第5,476,996号及第5,698,767号中。

[0297] 产生本发明人类单株抗体的杂交瘤的生成

[0298] 为生成产生本发明人类单株抗体的杂交瘤,可自免疫小鼠分离脾细胞及/或淋巴结细胞并融合至适当永生细胞系,例如小鼠骨髓瘤细胞系。所得杂交瘤可经筛选用于产生抗原特异性抗体。

[0299] 产生本发明单株抗体的转染瘤的生成

[0300] 本发明的抗体亦可在宿主细胞转染瘤中使用例如如业内所熟知的重组DNA技术及基因转染方法的组合产生(例如Morrison,S.(1985)Science 229:1202)。

[0301] 术语「抗体依赖性细胞介导的细胞毒性」或「ADCC」是指一种形式的细胞毒性,其中

结合至存在于某些细胞毒性细胞(例如自然杀手(NK)细胞、嗜中性球及巨噬细胞)上的Fc受体(FcR)的分泌性Ig会使这些细胞毒性效应细胞能够特异性结合带抗原的靶细胞且随后利用细胞毒素杀死该靶细胞。抗体会「臂连」细胞毒性细胞,且为藉由此机制杀死靶细胞所必需。用于调介ADCC的原代细胞(NK细胞)仅表现Fc γ RIII,而单核球表现Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIII。造血细胞上的FcR表现汇总于Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991)的第464页表3中。为评价所关注分子的ADCC活性,可实施活体外ADCC分析,例如阐述于美国专利第5,500,362号或美国专利第5,821,337号中者。可用于这些分析的效应细胞包括末梢血单核细胞(PBMC)及天然杀手(NK)细胞。或者或另外,可在活体内(例如在诸如揭示于Clynes等人, *PNAS USA* 95:652-656 (1998)中的动物模型等动物模型中)评价所关注分子的ADCC活性。

[0302] 术语「补体依赖性细胞毒性」或「CDC」是指在补体存在下靶细胞的溶解。经典补体路径的活化是藉由补体系统的第一组分(C1q)与抗体(适当亚类)的结合来起始,这些抗体结合至其同族抗原。为评价补体活化,可实施CDC分析,例如如Gazzano-Santoro等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)中所述。具有经改变Fc区氨基酸序列及增加或减小的C1q结合能力的抗体变体阐述于美国专利第6,194,551B1号及第W099/51642号中。那些专利公开案的内容以引用方式明确并入本文中。亦参见Idusogie等人, *J. Immunol.* 164:4178-4184 (2000)。

[0303] 术语「抑制生长」(例如提及细胞,例如肿瘤细胞)意欲包括与抗SSEA4抗体接触时与不与抗SSEA4抗体接触的相同细胞的生长相比细胞生长的任何可量测的减缓,例如至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、99%或100%的细胞培养物的生长抑制。细胞生长的该减缓可藉由多种机制(例如效应细胞吞噬作用、ADCC、CDC及/或细胞凋亡)发生。

[0304] 在另一态样中,本发明的特征在于偶联至治疗部分(例如细胞毒素、药物(例如,免疫抑制剂)或放射性毒素)的抗SSEA4抗体或其片段。

[0305] 可偶联至本发明抗体的治疗性细胞毒素的其他实例包括倍癌霉素、卡奇霉素、美登素及奥里斯他汀及其衍生物。卡奇霉素抗体偶联物的实例在市面上有售(MylotargTM; Wyeth-Ayerst)。

[0306] 细胞毒素可使用连接体技术偶联至本发明抗体。已用于偶联细胞毒素与抗体的连接体类型的实例包括(但不限于)胺、硫醚、酯、二硫化物及含肽连接体。可选择例如易于藉由溶酶体隔室内的低pH裂解或易于藉由蛋白酶(例如优先在肿瘤组织中表现的蛋白酶,例如细胞自溶酶(例如,细胞自溶酶B、C、D))裂解的连接体。

[0307] 为进一步论述细胞毒素的类型,用于偶联治疗剂与抗体的连接体及方法亦参见Saito, G.等人(2003) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55:199-215; Trail, P. A.等人(2003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52:328-337; Payne, G. (2003) *Cancer Cell* 3:207-212; Allen, T. M. (2002) *Nat. Rev. Cancer* 2:750-763; Pastan, I. 及 Kreitman, R. J. (2002) *Curr. Opin. Investig. Drugs* 3:1089-1091; Senter, P. D. 及 Springer, C. J. (2001) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 53:247-264。

[0308] 抗体-药物偶联物(ADC)可包括靶向化学治疗分子,其藉由使强效细胞毒性药物靶向表现抗原的肿瘤细胞(Teicher, B. A. (2009) *Current Cancer Drug Targets* 9:982-

1004) 组合抗体及细胞毒性药物二者的性质,由此藉由最大化效能及最小化脱靶毒性来增强治疗指数(Carter, P.J. 及 Senter P.D. (2008) The Cancer Jour. 14(3):154-169; Chari, R.V. (2008) Acc. Chem. Res. 41:98-107。

[0309] 本发明的ADC化合物包括具有抗癌活性的那些。在一些实施例中,ADC化合物包括偶联、即共价附接至药物部分的抗体。在一些实施例中,抗体经由连接体共价附接至药物部分。本发明的抗体-药物偶联物(ADC)将有效剂量的药物选择性递送至肿瘤组织,藉此可达成更大选择性,即更低有效剂量,同时增加治疗指数(「治疗窗」)。

[0310] 在某些实施例中,ADC具有式AB-(L-D)_p,其中:AB是本文所述的抗体或结合片段,L是连接体;D是适宜细胞毒性药物,且p可介于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或更大范围内。

[0311] 适于ADC构筑的实例性连接体「L」可包括选自由以下组成的群的「L」:6-马来酰亚胺基己酰基(MC)、马来酰亚胺基丙酰基(MP)、缬氨酸-瓜氨酸(val-cit)、丙氨酸-苯丙氨酸(ala-phe)、对氨基苄基氧基羰基(PAB)、4-(2-吡啶基硫基)戊酸N-琥珀酰亚胺基酯(SPP)、4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1甲酸N-琥珀酰亚胺基酯(SMCC)、(4-碘-乙酰基)胺基苯甲酸N-琥珀酰亚胺基酯(STAB)、葡萄糖醛酸苷酶受质及PEG。

[0312] 抗体-药物偶联物(ADC)的药物部分(D)可包括具有细胞毒性或细胞生长抑制效应的任一化合物、部分或基团。药物部分可藉由包括(但不限于)以下机制赋予其细胞毒性及细胞生长抑制效应:微管蛋白结合、DNA结合或插入及RNA聚合酶、蛋白质合成及/或拓扑异构酶的抑制。实例性药物部分包括(但不限于)类美登素、尾海兔素、奥里斯他汀、卡奇霉素、吡咯并苯并二氮呋(PBD)、单甲基奥里斯他汀E(MMAE)、单甲基奥里斯他汀F(MMAF)、奈莫柔比星(nemorubicin)及其衍生物、PNU-159682、葱环、倍癌霉素、长春花生物碱、紫杉烷、单端孢霉烯、CC1065、喜树碱、依利奈法德(elinafide)及立体异构物、同电子排列体、其具有细胞毒性活性的类似物及衍生物。

[0313] 本发明的抗体亦可偶联至放射性同位素以生成细胞毒性放射性医药,亦称为放射性免疫偶联物。

[0314] 双特异性分子

[0315] 在另一态样中,本发明的特征在于包含本发明的抗SSEA4抗体或其片段的双特异性分子。本发明的抗体或其抗原结合部分可衍生或连接至另一功能分子,例如另一肽或蛋白质(例如另一抗体或针对一受体的配体),以生成结合至至少两个不同结合位点或靶分子的双特异性分子。本发明的抗体事实上可衍生或连接至一个以上的其他功能分子,以生成结合至两个以上不同结合位点及/或靶分子的多特异性分子;这些多特异性分子亦欲涵盖于如本文所用的术语「双特异性分子」中。为产生本发明的双特异性分子,本发明的抗体可在功能上连接(例如藉由化学偶合、遗传融合、非共价缔合或其他方式)至一或多个其他结合分子,例如另一抗体、抗体片段、肽或结合模拟物,使得产生双特异性分子。

[0316] 医药组合物

[0317] 在另一态样中,本发明提供含有本发明单株抗体中的一者或组合或其抗原结合部分与医药上可接受的载剂调配在一起的组合物,例如医药组合物。这些组合物可包括本发明抗体或免疫偶联物或双特异性分子中的一者或组合(例如两种或更多种不同者)。举例而言,本发明的医药组合物可包含结合至靶抗原上的不同表位或具有互补活性的抗体(或免

疫偶联物或双特异性分子)的组合。

[0318] 本发明的医药组合物亦可以组合疗法、即与其他药剂组合投与。举例而言,组合疗法可包括本发明抗SSEA4抗体与至少一种其他抗发炎或免疫抑制剂的组合。可用于组合疗法中的治疗剂的实例更详细阐述于下文关于本发明抗体的用途部分中。

[0319] 如本文所用「医药上可接受的载剂」包括任何及所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂及抗真菌剂、等渗剂及吸收延迟剂及生理上相容的类似试剂。较佳地,载剂适于静脉内、肌内、皮下、非经肠、脊柱或表皮投与(例如藉由注射或输注)。端视投与途径,可于材料中对活性化合物(即抗体、免疫偶联物或双特异性分子)进行包衣以保护化合物免受酸及可使化合物不活化的其他天然条件的作用。

[0320] 本发明的医药化合物可包括一或多种医药上可接受的盐。「医药上可接受的盐」是指保留母体化合物的期望生物活性且不赋予任何不期望毒理学效应的盐(例如,参见 Berge, S.M. 等人(1977) J. Pharm. Sci. 66:1-19)。这些盐的实例包括酸加成盐及碱加成盐。酸加成盐包括源自无毒无机酸(例如盐酸、硝酸、磷酸、硫酸、氢溴酸、氢碘酸、亚磷酸及诸如此类)以及源自无毒有机酸(例如脂肪族单羧酸及二羧酸、经苯基取代的烷酸、羟基烷酸、芳香族酸、脂肪族及芳香族磺酸及诸如此类)的那些。碱加成盐包括源自碱土金属(例如钠、钾、镁、钙及诸如此类)以及源自无毒有机胺(例如N,N'-二苄基乙二胺、N-甲基葡萄糖胺、氯普鲁卡因(chloroprocaine)、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、普鲁卡因及诸如此类)的那些。

[0321] 本发明的医药组合物亦可包括医药上可接受的抗氧化剂。医药上可接受的抗氧化剂的实例包括:(1)水溶性抗氧化剂,例如抗坏血酸、半胱胺酸盐、硫酸氢钠、偏亚硫酸氢钠、亚硫酸钠及诸如此类;(2)油溶性抗氧化剂,例如棕榈酸抗坏血酯、丁基化羟基苯甲醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚及诸如此类;及(3)金属螯合剂,例如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸及诸如此类。

[0322] 可用于本发明医药组合物中的适宜水性及非水性载剂的实例包括水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇、聚乙二醇及诸如此类)及其适宜混合物、植物油(例如橄榄油)及可注射有机酯(例如油酸乙酯)。举例而言,可藉由使用诸如卵磷脂等包衣材料、维持所需粒径(在分散剂的情形下)及使用表面活性剂维持适当流动性。

[0323] 这些组合物亦可含有佐剂,例如防腐剂、润湿剂、乳化剂及分散剂。藉由上述灭菌程序并纳入各种抗菌剂及抗真菌剂(例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸及诸如此类)二者可确保防止微生物的存在。亦可期望在这些组合物中纳入等渗剂,例如糖、氯化钠及诸如此类。另外,可注射医药形式的长效吸收可藉由纳入吸收延迟剂(例如单硬脂酸铝及明胶)来实现。

[0324] 医药上可接受的载剂包括无菌水溶液或分散液及用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉剂。业内已知用于医药活性物质的这些介质及药剂的使用。除与活性化合物不相容的任何习用介质或药剂外,本发明涵盖其于本发明医药组合物中的用途。这些组合物中亦可纳入补充活性化合物。

[0325] 治疗组合物通常必须无菌且在制造及储存条件下稳定。可将组合物调配成溶液、微乳液、脂质体或适于高药物浓度的其他有序结构。载剂可为溶剂或分散介质,其含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇及液体聚乙二醇及诸如此类)及其适宜混合物。可例如藉由使用诸如卵磷脂等包衣、维持所需粒径(在分散剂的情形下)及使用表面活性剂维持适

当流动性。在许多情形下, 较佳可将等渗剂 (例如糖、多元醇 (例如甘露醇、山梨醇) 或氯化钠) 纳入组合物中。可注射组合物的长效吸收可藉由向组合物中纳入吸收延迟剂 (例如单硬脂酸盐及明胶) 来实现。

[0326] 无菌可注射溶液可藉由以下步骤来制备: 将所需量的活性化合物纳入含有上文所列举成分中的一者或组合 (视需要) 的适当溶剂中, 随后进行无菌微滤。通常, 藉由将活性化合物纳入含有基本分散介质及来自上文所列举的那些的所需其他成分的无菌媒剂中来制备分散液。在使用无菌粉剂制备无菌可注射溶液的情形下, 较佳制备方法是真空干燥及冷冻干燥 (冻干), 其可自其预先经无菌过滤的溶液产生由活性成分加上任一额外期望成分构成的粉剂。

[0327] 可与载剂材料组合产生单一剂型的活性成分的量将端视所治疗个体及特定投与模式而变化。可与载剂材料组合产生单一剂型的活性成分的量通常为产生治疗效应的组合物的量。通常, 以100%计, 在与医药上可接受的载剂的组合中, 此量介于约0.01%至约99%活性成分、较佳约0.1%至约70%、最佳约1%至约30%活性成分范围内。

[0328] 投药及剂量

[0329] 对剂量方案进行调整以提供最佳期望反应 (例如治疗反应)。举例而言, 可投与单次浓注, 可随时间投与若干个分次剂量或可根据治疗状况的紧急程度所指示按比例减少或增加剂量。尤其有利的是将非经肠组合物调配成剂量单位形式以便于投与及剂量均匀性。如本文所用的剂量单位形式是指适于作为单位剂量供欲治疗个体使用的物理离散单元; 各单元含有预定量的活性化合物, 此预定量经计算与所需医药载剂一起产生期望治疗效应。本发明剂量单位形式的规格依赖于且直接取决于下列因素: (a) 活性化合物的独特特征及欲达成的特定治疗效应, 及 (b) 复合该活性化合物以治疗个体敏感性的技术中所固有的限制条件。

[0330] 对于抗体的投与, 剂量介于约0.0001mg/kg至100mg/kg、且更通常0.01mg/kg至5mg/kg宿主体重范围内。举例而言, 剂量可为0.3mg/kg体重、1mg/kg体重、3mg/kg体重、5mg/kg体重或10mg/kg体重或在1-10mg/kg范围内。实例性治疗方案需要每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每月一次、每3个月一次或每3至6个月一次投与。本发明抗PD-1抗体的较佳剂量方案包括经由静脉内投与1mg/kg体重或3mg/kg体重, 其中抗体是使用以下投药时间表中的一者给予: (i) 每四周共六个剂量, 随后每三个月; (ii) 每三周; (iii) 3mg/kg体重一次, 之后每三周1mg/kg体重。

[0331] 在一些方法中, 同时投与两种或更多种具有不同结合特异性的单株抗体, 在该情形下所投与每一抗体的剂量在所指示范围内。抗体通常是在多个情况下来投与。单一剂量之间的间隔可为例如每周、每月、每三个月或每年。间隔亦可如藉由量测患者的针对靶抗原的抗体血液含量所指示而不规则。在一些方法中, 对剂量进行调整以达成约1-1000 μ g/ml且在一些方法中约25-300 μ g/ml的血浆抗体浓度。

[0332] 或者, 抗体可以持续释放调配物来投与, 在该情形下需要较不频繁的投与。剂量及频率端视抗体在患者中的半衰期而变化。一般而言, 人类抗体显示最长半衰期, 其次为人类化抗体、嵌合抗体及非人类抗体。投与剂量及频率端视治疗为预防性抑或治疗性而变化。在预防性应用中, 以相对较不频繁的间隔经较长时间段投与相对较低的剂量。一些患者在其余生中持续接受治疗。在治疗性应用中, 有时需要相对较短间隔的相对较高的剂量直至疾

病进展减轻或终止为止,且较佳地直至患者显示疾病症状的部分或完全改善为止。此后,可向患者投与预防性方案。

[0333] 本发明医药组合物中的活性成分的实际剂量值可有所变化以便获得可有效达成对特定患者有期望治疗反应的量的活性成分、组合物及投与模式,而对患者无毒。所选剂量值将端视多种药物动力学因素而定,这些因素包括所用本发明特定组合物或其酯、盐或酰胺的活性、投与途径、投与时间、所用特定化合物的排泄速率、治疗的持续时间、与所用特定组合物组合使用的其他药物、化合物及/或材料、所治疗患者的年龄、性别、体重、状况、一般健康情况及先前病史及已为医学技术中所熟知的类似因素。

[0334] 本发明抗SSEA4抗体的「治疗有效剂量」较佳可降低疾病症状的严重程度,增加无疾病症状期的频率及持续时间或预防因感病性所致的损害或失能。举例而言,对于肿瘤治疗而言,「治疗有效剂量」较佳相对于未治疗个体将细胞生长或肿瘤生长抑制至少约20%、更佳至少约40%、甚至更佳至少约60%且更佳至少约80%。可在预测在人类肿瘤中的效能的动物模型系统中评估化合物抑制肿瘤生长的能力。或者,可藉由熟习此项技术者已知的分析检验化合物的抑制(例如活体外抑制)能力来评估组合物的此性质。治疗有效量的治疗化合物可减小肿瘤大小,或另外改善个体的症状。熟习此项技术者能够基于诸如以下等因素来确定这些量:个体大小、个体症状的严重程度及所选具体组合物或投与途径。

[0335] 在另一态样中,本发明提供包含抗SSEA4抗体的部件的医药套组,如本文所述。该套组亦可进一步包含用于治疗过度增生性疾病(例如如本文所述的癌症)的说明书。在另一实施例中,抗SSEA4抗体可共包装于单位剂型中,例如PD-1调节及/或CAR-T治疗剂。

[0336] 在另一态样中,本发明提供可与任何其他「细胞疗法」或授受性免疫治疗方式组合投与的治疗方法及其组合物。实例性授受性免疫治疗方式阐述于例如Maus等人,Annu.Rev.Immunol.2014.32:189-225中;且可包括嵌合抗原受体(CAR-T)疗法、抗PD-1疗法、抗PD-L1疗法及抗CTL4疗法等。

[0337] 本发明组合物可使用业内已知的多种方法中的一或多者经由一或多个投与途径投与。如熟习此项技术者应了解,投与途径及/或模式应视期望结果而变化。本发明抗体之较佳投与途径包括静脉内、肌内、皮内、腹膜内、皮下、脊柱或其他非经肠投与途径,例如藉由注射或输注。如本文所用的片语「非经肠投与」意指除经肠及局部投与外的投与模式,通常藉由注射,且包括(但不限于)静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外及胸骨内注射及输注。

[0338] 或者,本发明抗体可经由肠道途径投与,例如局部、表皮或黏膜投与途径,例如经鼻内、经口、经阴道、经直肠、经舌下或经局部。

[0339] 活性化合物可利用保护化合物免于快速释放的载剂制备,例如受控释放调配物,包括植入物、经皮贴剂及微囊封递送系统。可使用生物可降解的生物相容聚合物,例如乙烯基乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯及聚乳酸。用于制备这些调配物的许多方法已获得专利权或通常为熟习此项技术者已知。例如,参见Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems,J.R.Robinson编辑,Marcel Dekker,Inc.,New York,1978。

[0340] 可使用业内已知的医学器件投与治疗组合物。举例而言,在较佳实施例中,可使用无针皮下注射器件(例如揭示于美国专利第5,399,163号、第5,383,851号、第5,312,335号、

第5,064,413号、第4,941,880号、第4,790,824号或第4,596,556号中的器件)投与本发明的治疗组合物。可用于本发明中的熟知植入物及模组的实例包括:美国专利第4,487,603号,其揭示用于以可控速率分配药剂的可植入微输注帮浦;美国专利第4,486,194号,其揭示用于经由皮肤投与药剂的治疗器件;美国专利第4,447,233号,其揭示用于以精确输注速率递送药剂的药剂输注帮浦;美国专利第4,447,224号,其揭示用于连续药物递送的可变流量可植入输注装置;美国专利第4,439,196号,其揭示具有多室隔室的渗透药物递送系统;及美国专利第4,475,196号,其揭示渗透药物递送系统。这些专利皆以引用方式并入本文中。熟习此项技术者已知许多其他这些植入物、递送系统及模组。

[0341] 在某些实施例中,本发明的人类单株抗体可经调配以确保在活体内的合理分布。举例而言,血脑障壁(BBB)排斥许多高度亲水性化合物。为确保本发明的治疗化合物穿过BBB(若需要),可将其调配成例如脂质体形式。关于制造脂质体的方法参见例如美国专利第4,522,811号、第5,374,548号及第5,399,331号。脂质体可包含一或多个选择性转运至特定细胞或器官中的部分,由此增强靶向药物递送(例如参见V.V.Ranade(1989) J.Clin.Pharmacol.29:685)。实例性靶向部分包括叶酸或生物素(例如,参见颁予Low等人的美国专利5,416,016);甘露糖苷(Umezawa等人,(1988) Biochem.Biophys.Res.Comm.153:1038);抗体(P.G.Bloeman等人(1995)FEBS Lett.357:140;M.Owais等人(1995)Antimicrob.Agents Chemother.39:180);表面活性剂蛋白A受体(Briscoe等人(1995) Am.J.Physiol.1233:134);p120(Schreier等人(1994) J.Biol.Chem.269:9090);亦参见K.Keinanen;M.L.Laukkanen(1994)FEBS Lett.346:123; J.J.Killion;I.J.Fidler(1994) Immunomethods 4:273。

[0342] 本发明的用途及方法

[0343] 本发明的抗体、抗体组合物及方法涉及多种活体外及活体内效用。在较佳实施例中,本发明抗体是人类抗体。举例而言,可将这些分子活体外或离体投与培养物中的细胞,或例如活体内投与人类个体,以增强多种情况下的免疫性。因此,在一态样中,本发明提供改良个体的ADCC反应的方法,其包含向个体投与本发明的抗体或其抗原结合部分,使得改良个体的ADCC反应。较佳地,反应得以增强、刺激或上调。

[0344] 因此,在一实施例中,本发明提供抑制个体的肿瘤细胞生长的方法,其包含向该个体投与治疗有效量的抗SSEA4抗体或其抗原结合部分。较佳地,抗体是人类抗SSEA4抗体(例如本文所述的人类抗SSEA4抗体中的任一者)。另外或或者,抗体可为嵌合或人类化抗SSEA4抗体。

[0345] 在某些实施例中,本文所论述治疗抗体的组合可以单一组合物形式于医药上可接受的载剂中同时投与,或以单独组合物形式与医药上可接受的载剂中的每一抗体同时投与。

[0346] 抑制肿瘤生长的抗体

[0347] 本文提供特异性结合至SSEA4或其衍生物的新颖重组抗SSEA4抗体及其用于抗肿瘤免疫疗法(例如癌症治疗)中的方法。结合至癌症抗原后,抗体可立即诱导抗体依赖性细胞介导的细胞毒性,活化补体系统,及抑制肿瘤生长。

[0348] 在一个实施例中,SSEA4在多个肿瘤细胞上高表现,这些肿瘤细胞包括脑瘤细胞、肺肿瘤细胞、乳房肿瘤细胞、口肿瘤细胞、食道肿瘤细胞、胃肿瘤细胞、肝肿瘤细胞、胆管肿

瘤细胞、胰脏肿瘤细胞、结肠肿瘤细胞、肾肿瘤细胞、子宫颈肿瘤细胞、卵巢肿瘤细胞、前列腺肿瘤细胞。

[0349] 在一个实施例中,单株抗SSEA4抗体特异性结合至SSEA4分子。

[0350] 在一个实施例中,包含本文所述抗SSEA4抗体的组合物可用于抗癌疗法中。具体而言,本实施例提供特异性抗SSEA4抗体的互补决定区(CDR)序列,其可用于多个抗SSEA4结合部分中。具体而言,本发明提供能够结合至SSEA4或其衍生物的人类化或嵌合抗体或其抗原结合片段。

[0351] 在某些实施例中,CDR序列是由Kabat方法定义。

[0352] 在某些实施例中,抗SSEA4抗体具有抑制肿瘤生长的活性。

[0353] 在某些实施例中,经分离抗SSEA4抗体是单株抗体。针对SSEA4的单株抗体可根据业内的知识及技能制得。举例而言,其可藉由向测试个体注射人类胚胎癌细胞且然后分离具有期望序列或功能特征的杂交瘤表现抗体来制得。

[0354] 在一个实施例中,本发明提供结合至SSEA4的经分离单株抗体或其抗原结合部分,其中在靶结合时抗体具有CDC诱导活性。

[0355] 在一个实施例中,本发明提供结合至SSEA4的经分离单株抗体或其抗原结合部分,其中在靶结合时抗体具有ADCC诱导活性。

[0356] 在一态样中,本发明提供经分离单株抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)选自SEQ ID No.13、23、33、43、53、63、73、83、103、123、133、143、153及173的重链可变区、或其至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性的保守序列同系物;及(ii)选自SEQ ID No.18、28、38、48、58、68、78、88、108、128、138、148、158及178的轻链可变区、或其至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性的保守序列同系物。

[0357] 在一态样中,本发明提供经分离单株抗体或其抗原结合片段,其包含:(i)选自SEQ ID No.13、23、33、43、53、63、73、83、103、123、133、143、153及173的重链可变区或其含有少于或等于15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代的保守序列同系物;及(ii)选自SEQ ID No.18、28、38、48、58、68、78、88、108、128、138、148、158及178的轻链可变区或其含有少于或等于15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代的保守序列同系物。

[0358] 在一个实施例中,经分离单株抗体或其抗原结合片段进一步包含:(i)选自SEQ ID No.13、23、33、43、53、63、73、83、103、123、133、143、153及173的重链可变区或其80%或更保守的序列同系物,其分别进一步包含选自SEQ ID No.10、40、50、60、70、80、100、120、130、140、150及170的H-CDR1或其含有少于或等于5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代的保守序列同系物;选自SEQ ID No.11、41、51、61、71、81、101、121、131、141、151及171的H-CDR2或其含有少于或等于5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代的保守序列同系物;选自SEQ ID No.12、42、52、62、72、82、102、122、132、142、152及172的H-CDR3或其含有少于或等于5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代的保守序列同系物,及(ii)选自SEQ ID No.18、28、38、48、58、68、78、88、108、128、138、148、158及178的轻链可变区或其80%或更保守的序列同系物,其进一步包含选自SEQ ID No.15、45、55、65、75、85、105、125、135、145、155及175的L-CDR1或其含

有少于或等于5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代的保守序列同系物；及选自SEQ ID No.16、46、56、66、76、86、106、126、136、146、156及176的L-CDR2或其含有少于或等于5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代的保守序列同系物、及选自SEQ ID No:17、47、57、67、77、87、107、127、137、147、157及177的L-CDR3或其含有少于或等于5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代的保守序列同系物。

[0359] 在一个实施例中，经分离单株抗体或其抗原结合片段，其包含：(i) 选自SEQ ID No.13、23、33、43、53、63、73、83、103、123、133、143、153及173的重链可变区或其含有少于10个氨基酸取代的保守序列同系物，其分别进一步包含选自SEQ ID No.10、40、50、60、70、80、100、120、130、140、150及170的H-CDR1；选自SEQ ID No.11、41、51、61、71、81、101、121、131、141、151及171的H-CDR2、选自SEQ ID No:12、42、52、62、72、82、102、122、132、142、152及172的H-CDR3，及(ii) 选自SEQ ID No.18、28、38、48、58、68、78、88、108、128、138、148、158及178的轻链可变区或其含有少于10个氨基酸取代的保守序列同系物，其进一步包含选自SEQ ID No.15、45、55、65、75、85、105、125、135、145、155及175的L-CDR1；及选自SEQ ID No.16、46、56、66、76、86、106、126、136、146、156及176的L-CDR2、及选自SEQ ID No:17、47、57、67、77、87、107、127、137、147、157及177的L-CDR3。

[0360] 在一实施例中，本发明提供经分离单株抗体或其抗原结合片段，其包含：(i) 选自SEQ ID No.13、23、33、43、53、63、73、83、103、123、133、143、153及173的重链可变区，及(ii) 选自SEQ ID No.18、28、38、48、58、68、78、88、108、128、138、148、158及178的轻链可变区或其含有少于10个氨基酸取代的保守序列同系物，其进一步包含选自SEQ ID No.15、45、55、65、75、85、105、125、135、145、155及175的L-CDR1；及选自SEQ ID No.16、46、56、66、76、86、106、126、136、146、156及176的L-CDR2、及选自SEQ ID No:17、47、57、67、77、87、107、127、137、147、157及177的L-CDR3。

[0361] 在一实施例中，本发明提供经分离单株抗体或其抗原结合片段，其包含：(i) 选自SEQ ID No.13、23、33、43、53、63、73、83、103、123、133、143、153及173的重链可变区或其含有少于10个氨基酸取代的保守序列同系物，其分别进一步包含选自SEQ ID No.10、40、50、60、70、80、100、120、130、140、150及170的H-CDR1；选自SEQ ID No.11、41、51、61、71、81、101、121、131、141、151及171的H-CDR2、选自SEQ ID No:12、42、52、62、72、82、102、122、132、142、152及172的H-CDR3，及(ii) 选自SEQ ID No.18、28、38、48、58、68、78、88、108、128、138、148、158及178的轻链可变区。

[0362] 在一实施例中，本发明提供经分离单株抗体或其抗原结合片段，其包含如表2A-2D中的每一变体中所示的各别相应VH、VL及各别H-CDR及L-CDR。

[0363] 如本文所用，同系物或保守序列同系物可包括靶向SSEA4的经分离单株抗体或其抗原结合片段，其包含与如本文所揭示的参照序列相比具有至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性及/或与参照序列相比具有少于或等于40个、39个、38个、37个、36个、35个、34个、33个、32个、31个、30个、29个、28个、27个、26个、25个、24个、23个、22个、21个、20个、19个、18个、17个、16个、15个、14个、13个、12个、11个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代的各别相应VH、VL及各别H-CDR及L-CDR。

[0364] 在某些实施例中，抗SSEA4抗体是单株抗体。

- [0365] 在某些实施例中,抗SSEA4抗体是嵌合或人类化抗体。
- [0366] 在一态样中,框架序列衍生自人类共有框架序列或人类种系框架序列。
- [0367] 在另一态样中,重链可变结构域、抗体或抗原结合片段进一步包含至少C_H1结构域。
- [0368] 在另一态样中,重链可变结构域、抗体或抗原结合片段进一步包含C_H1、C_H2及C_H3结构域。
- [0369] 在另一态样中,可变区轻链、抗体或抗体片段进一步包含C_L结构域。
- [0370] 在另一态样中,抗体进一步包含C_H1、C_H2、C_H3及C_L结构域。
- [0371] 在另一特定态样中,抗体进一步包含人类或鼠类恒定结构域。
- [0372] 在另一态样中,人类恒定区选自由以下组成的群: IgG1、IgG2、IgG3、IgG4。
- [0373] 在另一态样中,核酸进一步包含适于表现编码任一前述抗SSEA4抗体的核酸的载体。在另一特定态样中,载体进一步包含适于表现核酸的宿主细胞。在另一特定态样中,宿主细胞是真核细胞或原核细胞。在特定态样中,真核细胞是哺乳动物细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)。在另一态样中,细胞是酵母细胞。
- [0374] 在实施例中,本发明提供制备抗SSEA4抗体或抗原其结合片段的方法,其包含在适于产生该抗体或片段的条件下以适于表现的形式培养含有编码任一前述抗SSEA4抗体或抗原结合片段的核酸的宿主细胞,及回收该抗体或片段。
- [0375] 在实施例中,本发明提供组合物,其包含如本文所提供的抗SSEA4抗体或其抗原结合片段及至少一种医药上可接受的载剂。
- [0376] 在一态样中,本发明提供结合至SSEA4的经分离单株抗体或其抗原结合部分,其中在靶结合时抗体具有ADCC及CDC诱导活性。
- [0377] 本文所述的任一抗体可为全长抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,抗原结合片段是Fab片段、F(ab')₂片段或单链Fv片段。在一些实施例中,抗原结合片段是Fab片段、F(ab')₂片段或单链Fv片段(scFv)。在一些实施例中,经分离抗体是人类抗体、人类化抗体、嵌合抗体或单链抗体。
- [0378] 本文所述的任一抗体具有以下一或多种特征:
- [0379] a) 为重组抗体、单株抗体、嵌合抗体、人类化抗体、人类抗体、抗体片段、双特异性抗体、单特异性抗体、单价抗体、IgG抗体或抗体的衍生物;b) 为人类、鼠类、人类化或嵌合抗体、抗体的抗原结合片段或衍生物;c) 为单链抗体片段、多抗体、Fab片段及/或免疫球蛋白IgG、IgM、IgA、IgE、IgD同型及/或其子类;d) 具有以下特征中的一或多者:(i) 调介癌细胞的ADCC及/或CDC;(ii) 诱导及/或促进癌细胞的细胞凋亡;(iii) 抑制癌细胞的靶细胞增殖;(iv) 诱导及/或促进癌细胞的吞噬作用;及/或(v) 诱导及/或促进细胞毒性剂的释放;e) 特异性结合肿瘤相关碳水化合物抗原,其为肿瘤特异性碳水化合物抗原;f) 不结合在非癌细胞、非肿瘤细胞、良性癌细胞及/或良性肿瘤细胞上表现的抗原;及/或g) 特异性结合在癌症干细胞及正常癌细胞上表现的肿瘤相关碳水化合物抗原。
- [0380] 抗体适于以高亲和力(低K_D值)结合至其靶表位,且较佳地K_D介于蔡莫耳浓度或更低范围内。亲和力可藉由业内已知的方法(例如表面电浆共振)来量测。
- [0381] 在某些实施例中,实例性抗SSEA4抗体或抗原结合片段藉由与一或多种细胞毒性剂、化学治疗剂或治疗抗体组合抑制或减缓肿瘤生长。

[0382] 在实施例中,本发明提供包含融合至或藉由间隔体连接至T细胞结合分子(包括但不限于抗CD3抗体或其抗原结合片段)的实例性抗SSEA4抗体或其抗原结合片段的双特异性抗体的组合物。

[0383] 在另一实施例中,本发明提供包含以下各项的嵌合抗原受体(CAR)的组合物:含有实例性抗SSEA4抗体或其抗原结合片段的细胞外结构域、使CAR锚定至细胞膜的跨膜结构域及在CAR与SSEA4接合后立即将活化信号传递至免疫细胞的细胞内结构域。CAR可遗传/人工表现于免疫细胞(包括但不限于T细胞、NK细胞及NKT细胞)上以靶向并杀死表现SSEA4的癌细胞。

[0384] 藉由以下实例进一步说明本发明,其不应理解为进一步限制本发明。本申请案通篇中所引用的所有图及所有参考文献、专利及公开专利申请案的内容皆以引用方式明确并入本文中。

[0385] 实例

[0386] 实例1.检测多个癌细胞系上的球系列鞘糖脂表现

[0387] 在冰上,用50 μ L FACS缓冲液(含有1% FBS的PBS溶液)中的0.5 μ g Alexa Flour 488偶联的抗SSEA3 mAb(MC-631)、抗SSEA4 mAb(MC813-70)或别藻蓝蛋白(APC)偶联的抗GloboH mAb(VK9,来自Philip O.Livingston,Memorial Sloan-Kettering Cancer Center,New York的馈赠)将多个癌细胞系(包括脑瘤细胞、肺肿瘤细胞、乳房肿瘤细胞、口腔肿瘤细胞、食道肿瘤细胞、胃肿瘤细胞、肝肿瘤细胞、胆管肿瘤细胞、胰脏肿瘤细胞、结肠肿瘤细胞、肾肿瘤细胞、子宫颈肿瘤细胞、卵巢肿瘤细胞、前列腺肿瘤细胞(表4))的细胞(1×10^5)染色30min。对于凝集素染色,将细胞在冰上在含有生物素化凝集素的凝集素结合缓冲液[1% BSA、0.5 $\times$ 不含Carbo的封阻缓冲液(Vector Laboratories)、2mM MgCl₂、2mM CaCl₂]中培育30min。用凝集素结合缓冲液洗涤两次后,将细胞与链霉抗生物素蛋白-APC(1:500稀释于FACS缓冲液中;Biolegend)一起培育。用200 μ L FACS缓冲液洗涤两次后,将细胞重悬浮于200 μ L含有1 μ g/mL碘化丙啶(PI)的FACS缓冲液中且经受分析。在FACSCanto(BD Biosciences)上用FACSDiva软体(BD Biosciences)实施数据获取,且使用FlowJo软体(TreeStar)实施数据分析。对活的PI⁻细胞设门以供分析。对于甲醇洗涤,在室温下用PBS中的4% (wt/vol) 多聚甲醛将细胞洗涤且固定15min,然后在甲醇中培育10min,随后用特异性抗体染色。

[0388] 实例2.生成及产生实例性单株抗SSEA4抗体的代表性方法

[0389] 采用杂交瘤技术来生成特异性针对及/或靶向SSEA4的单株抗体。举例而言,以2周间隔向6周龄的雌性Balb/c小鼠(Biolasco,Taiwan,China)腹膜内注射三次 10^7 个NCCIT细胞。在第3次免疫后一周收集血清,且藉由ELISA量测抗SSEA4 IgG及/或IgM抗体的效价。藉由使用经0.1 μ g BSA偶联的SSEA4包覆的96孔分析板实施ELISA。一周后,然后给予符合融合准则的小鼠 10^7 个NCCIT细胞的最终加强免疫。在最终加强免疫后3天,杀死小鼠且使用这些小鼠的脾细胞生成杂交瘤。选择对BSA偶联的SSEA4呈阳性且对BSA呈阴性的杂交瘤纯系来进一步亚选殖以确保每个杂交瘤纯系衍生自单一细胞。在一个实例性运行中,自5,000个以上的纯系选择总共10个SSEA4阳性杂交瘤纯系。在这些纯系中,仅Ab6为IgG抗体,且其他皆为IgM抗体。藉由抗体同型套组进一步确定Ab6的子类,且结果显示Ab6的同型为IgG3 κ 。测序后,对Ab6的鼠类可变区(V_H及V_L)进行PCR扩增且将其亚选殖至含有人类IgG1恒定区(C_H及

C₁) 的表现载体中以生成人类-小鼠嵌合抗体chAb6。

[0390] 实例3.

[0391] 藉由ELISA的实例性抗SSEA4抗体与SSEA4的结合

[0392] 藉由ELISA测定实例性嵌合及人类化抗SSEA4抗体对SSEA4的结合亲和力。简言之, 将抗体以所指示浓度稀释于PBS中且然后在室温下在96孔分析板中与BSA偶联的SSEA4一起培育1小时。洗涤周期后, 将HRP偶联的山羊抗人类IgG抗体(1:10,000稀释于PBS中, Jackson Immuno Research)添加至孔中且在室温下再培育1小时。洗涤周期后, 添加TMB ELISA受质(Abcam)用于显色, 且藉由添加等体积的2N H₂SO₄来终止反应。藉由M5 ELISA读取器(Molecular Device)读取0.D.450nm下的吸光度且记录。(图6A-6D)

[0393] 实例4.chAb6对胰脏癌细胞系HPAC的结合亲和力

[0394] 对于流式细胞术分析, 在4℃下将 5×10^5 个HPAC细胞与所指示浓度的chAb6在FACS缓冲液(1% FBS于PBS中)中一起培育30分钟。藉由FACS缓冲液洗涤后, 然后在4℃下将细胞与PE偶联的山羊抗人类IgG抗体(1:250稀释于FACS缓冲液中, Jackson Immuno Research)一起培育30分钟。然后藉由BD FACSVerse流式细胞计数器分析抗SSEA4抗体与细胞的结合。(图10A-10B)

[0395] 实例5.实例性抗SSEA4抗体的结合特异性

[0396] 藉由使用含有152种化学合成聚糖的聚糖微阵列分析实例性抗SSEA4抗体的结合特异性(图7)。简言之, 在37℃下将聚糖微阵列与所指示浓度的抗体一起培育1小时。藉由PBST(0.05% Tween 20于PBS中)洗涤后, 然后在室温下将聚糖微阵列与经FITC标记的山羊抗人类IgG抗体一起培育1小时。另一洗涤周期后, 风干聚糖微阵列且在635nm下藉由微阵列荧光晶片读取器(4000B, Genepix)扫描。然后藉由GenePix Pro-6.0(Axon Instruments)分析数据。

[0397] 实例6.chAb6对胰脏肿瘤细胞系HPAC的抗体依赖性细胞毒性(ADCC)活性

[0398] 首先将经钙黄绿素AM标记的HPAC细胞(一种具有高SSEA4表现的人类胰脏肿瘤细胞系)与PBMC混合, 然后添加所指示浓度的抗SSEA4抗体并在37℃下培育4hr。培育后, 收集培养物上清液且在ex.485nm/em.535nm下检测, 并将细胞毒性百分比计算为(实验值-自发溶解)/(最大溶解-自发溶解)×100。(图12)

[0399] 实例7.chAb6对胰脏肿瘤细胞系HPAC的补体依赖性细胞毒性(CDC)活性

[0400] 对于CDC分析, 在37℃下将 2×10^5 个HPAC细胞与15%的人类血清及所指示浓度的抗SSEA4抗体一起培育1小时。培育后, 在室温下藉由碘化丙啶(PI)将细胞染色5分钟, 且然后藉由BD FACSVerse流式细胞计数器计数并分析(图15A)。

[0401] 实例8.HPAC异种移植模型中实例性抗SSEA4抗体的活体内抗肿瘤效能

[0402] 为评估实例性抗SSEA4抗体的活体内抗肿瘤效能, 向8周龄的雄性CB17.SCID小鼠(Biolasco, Taiwan, China)皮下注射 5×10^6 个HPAC细胞。在肿瘤形成且体积达到50mm³至100mm³的同时, 将媒剂或实例性抗SSEA4抗体(20mpk)每周两次静脉内注射至尾静脉中。藉由用游标卡尺量测垂直肿瘤直径、长度(L)及宽度(W)每周两次监测肿瘤生长。藉由式 $V = LW^2/2$ 计算肿瘤体积(V)。在第24天(移植后24天), 杀死小鼠以量测肿瘤重量。所有结果显示为平均值±S.D.(对于每组n=3), 且使用司徒顿T测试(Student's t test)进行统计分析。(图16A-16B)

[0403] 实例9.藉由使用实例性chAb6检测肿瘤组织中的SSEA4表现

[0404] 采用免疫组织化学(IHC)来检测肿瘤组织中SSEA4的存在(图19)。简言之,首先在室温下用10%中性缓冲福马林(Sigma-Aldrich)将HPAC异种移植物肿瘤的冷冻切片固定10分钟,且藉由在室温下将切片于ddH₂O中的0.3%过氧化氢/0.1%迭氮化钠中浸没15min来淬灭内源过氧化酶活性。洗涤周期(PBS 3次,每次5分钟)后,在4℃下将切片与2μg/mL的经FITC标记的chAb6或人类IgG1κ一起培育过夜。过夜培育后,然后洗涤切片且在室温下与经HRP标记的山羊抗FITC抗体(1:200, KPL)一起培育1小时。另一洗涤周期后,使用DAB受质(Vector laboratories)显色,且使用苏木素(Sigma-Aldrich)对比染色。

[0405] 实例10病症的治疗

[0406] 可需要免疫反应强化的具有癌症风险或易患癌症的个体将受益于呈可溶形式的本发明SSEA4抗体的治疗。最通常而言,在门诊环境下藉由缓慢静脉内(IV)输注每周投与约0.1-10mg/kg剂量来投与抗体。拮抗剂的适宜治疗有效剂量由治疗临床医师选择且将大致介于1μg/kg至20mg/kg、1μg/kg至10mg/kg、1μg/kg至1mg/kg、10μg/kg至1mg/kg、10μg/kg至100μg/kg、100μg至1mg/kg及500μg/kg至5mg/kg范围内。预期本发明SSEA4抗体将以每月一次或更小的频率投与。治疗持续时间可介于一个月与几年之间。

[0407] 为测试人类中抗体的临床效能,鉴别出癌症个体且将其随机化至治疗组。治疗组包括安慰剂组及1至3个SSEA4抗体(不同剂量)治疗组。预期对个体随访1至3年。预期接受治疗的个体将展现改良。

[0408] 实例11:藉由表面电浆共振的实例性抗SSEA4抗体的动力学结合分析.

[0409] 使用Biacore T200系统藉由表面电浆共振(SPR)分析实例性抗SSEA4抗体的动力学结合。首先,将生物素化SSEA4固定于生物感测器晶片SA上。将代表性抗SSEA4抗体hAb6-3.1、hAb6-3及chAb6于运行缓冲液(含有0.05% Tween-20的1×PBS缓冲液,pH7.4)中连续稀释至100nM、33.3nM、11.1nM、3.7nM、1.2nM的浓度,且然后使用单周期模式以30uL/min注射5min。藉由BIA评估软体实施参数分析。(图5)

[0410] 实例12:

[0411] 藉由流式细胞术分析实例性抗SSEA4抗体与细胞的结合

[0412] 对于流式细胞术分析,在4℃下将 3×10^5 个癌细胞(例如乳癌细胞系MDA-MB-231、MCF7)与所指示浓度的实例性抗SSEA4抗体于FACS缓冲液(1%的FBS于PBS中)一起培育30分钟。藉由FACS缓冲液洗涤后,然后在4℃下将细胞与PE或Alexa Fluor488偶联的山羊抗人类IgG抗体(1:250至1:400稀释于FACS缓冲液中, Jackson Immuno Research)一起培育30分钟。然后藉由BD FACSVerse流式细胞计数器分析抗SSEA4抗体与细胞的结合。(参见图9A-9B及图11A-11F)

[0413] 实例13:

[0414] 实例性嵌合及人类化Ab6对乳房及胰脏癌细胞系的抗体依赖性细胞毒性(ADCC)活性.

[0415] 用20uM钙黄绿素AM将MDA-MB-231、MCF7及HPAC细胞标记30min。洗涤后,将经钙黄绿素-AM标记的靶细胞(1×10^4 个细胞/孔)与新鲜分离的人类PBMC(2.5×10^5 个细胞/孔,E/T比率=25/1)共培育,且在具或不具经连续稀释的抗SSEA4抗体下处理4hr。藉由M5 ELISA读取器(ex. 485, em. 520)检测钙黄绿素-AM的释放且用于评估相对细胞毒性。(图13、图14A-

14B)

[0416] 实例14:

[0417] 实例性嵌合及人类化Ab6对乳房及胰脏癌细胞系的补体依赖性细胞毒性 (CDC) 活性.

[0418] 对于HPAC,在37℃下将 2×10^5 个细胞与15%的人类血清及所指示浓度的抗SSEA4抗体一起培育1小时。培育后,在室温下藉由碘化丙啶 (PI) 将细胞染色5分钟,且然后藉由BD FACSVerse流式细胞计数器计数并分析。(图15A)

[0419] 对于MCF7,首先用20uM的钙黄绿素AM将细胞标记30min。洗涤后,将经钙黄绿素-AM标记的靶细胞(1×10^4 个细胞/分析)与10%的人类血清共培育,且在具或不具所指示浓度的抗SSEA4抗体下在37℃下处理2小时。藉由M5 ELISA读取器(ex.485,em.520)检测钙黄绿素-AM的释放且用于评估相对细胞毒性。(图15B)

[0420] 实例15:

[0421] MDA-MB-231异种移植物模型中抗SSEA4抗体的活体内抗肿瘤效能

[0422] 为评估抗SSEA4抗体的活体内抗肿瘤效能,为8周龄的雌性Balb/c裸小鼠(NLAC, Taiwan,China)正位注射 5×10^6 个MDA-MB-231细胞。在肿瘤形成且体积达到 100mm^3 至 150mm^3 的同时,将媒剂、贺癌平或抗SSEA4抗体(20mpk)每周两次静脉内注射至尾静脉中。藉由用游标卡尺量测垂直肿瘤直径、长度(L)及宽度(W)每周两次监测肿瘤生长。藉由式 $V=LW^2/2$ 计算肿瘤体积(V)。所有结果显示为平均值 $\pm$ SEM(对于每组n=8),且使用司徒顿T测试进行统计分析。(图17)

[0423] 实例16:

[0424] MCF7异种移植物模型中抗SSEA4抗体的活体内抗肿瘤效能

[0425] 为建立MCF7异种移植物模型,在第1天向雌性Balb/c裸小鼠(8周龄,购自Biolasco,Taiwan,China)皮下植入17- β -雌二醇丸剂。将5百万个MCF7细胞与基质胶混合,且然后正位注射至乳腺脂肪垫中。在肿瘤形成且体积达到 150mm^3 至 200mm^3 的同时,将媒剂或hAb6-3.1(以所指示剂量)每周两次静脉内注射至尾静脉中。藉由用游标卡尺量测垂直肿瘤直径、长度(L)及宽度(W)每周两次监测肿瘤生长。藉由式 $V=LW^2/2$ 计算肿瘤体积(V)。所有结果显示为平均值 $\pm$ SEM(对于每组n=7),且使用司徒顿T测试进行统计分析。(图18)

[0426] 实例17:研发糖基工程化hAb6-3.1的实例性方法

[0427] 产生糖基工程化hAb6-3.1

[0428] 经由与内源 β -N-乙酰基胺基葡萄糖苷酶及岩藻糖苷酶共培育使实例性抗SSEA4抗体hAb6-3.1的聚糖水解成单GlcNAc形式。藉由在内源 β -N-乙酰基胺基葡萄糖苷酶突变体存在下将万能聚糖转糖基化至单GlcNAc上、然后藉由rProtein A层析纯化产生糖基工程化抗体。藉由SDS-PAGE及流式细胞术分析实施糖基工程化Ab6-3.1的表征(分别为图20及21)。

[0429] 糖基工程化hAb6-3.1的活体外功能分析

[0430] 显示糖基工程化改良抗体对在免疫细胞上表现的Fc γ 受体的结合亲和力,此有助于免疫系统的保护功能。展示糖基工程化hAb6-3.1的Fc γ 受体IIIA结合及ADCC功能(抗体依赖性细胞介导的细胞毒性)如下。

[0431] Fc γ 受体IIIA结合

[0432] 将Fc γ 受体IIIA涂覆于ELISA板上,且与所指示浓度的天然及糖基工程化抗体一

起培育。然后藉由使用HRP偶联的抗人类IgG H+L及TMB受质测定结合活性。(图22)

[0433] ADCC分析

[0434] 首先将经钙黄绿素AM标记的MDA-MB-231细胞(一种具有高SSEA-4表现的人类三阴性乳癌细胞系)与PBMC混合,且然后添加所指示浓度的天然或糖基工程化抗SSEA-4抗体并在37℃下培育4小时。培育后,收集培养物上清液且在ex.485/em.535下检测,并将细胞毒性百分比计算为:(实验值-自发溶解)/(最大溶解-自发溶解)×100。(图23)

[0435] 抗SSEA-4抗体的糖基工程化显著增强抗体与Fc γ 受体IIIA的结合,此与天然抗体相比改良抗体依赖性细胞毒性(ADCC)活性。

[0436] 实例18:研发/形成抗体-药物偶联复合物的代表性方法

[0437] 若干化学方法可用于抗体-药物偶联,例如离胺酸及半胱胺酸残基上的硫醇-马来酰亚胺形成(Lewis Phillips等人,2008)、硒基半胱胺酸残基上的硒醇-马来酰亚胺形成(Hofer等人,2009)、胍连接至经修饰Fc聚糖(Zhou等人,2014)、点击化学(Axup等人,2012)、胍基-异-皮克特(Pictet)-施彭格勒(Spengler)连接至甲酰基甘胺酸残基(Drake等人,2014)。吾人修改使用代表性胍连接至经修饰Fc聚糖作为本发明实例性ADC形成方法。在25℃下在抗体(8mg/mL)及A01(3mM)存在下在100mM乙酸盐缓冲液(pH 4.5)中实施抗体上的经修饰聚糖与酰载化合物A1(具有烷氧基胺可裂解连接体的细胞毒性药物MMAE,M.W.:1348.7265)之间的胍连接。将反应物培育48小时且藉由rProtein A,Capto S及Capto Q管柱相继纯化产物。藉由SDS-PAGE分析hAb6-3.1-A01复合物形成的结果(图24A-B)。

[0438] 实例19:藉由流式细胞术的hAb6-3.1-A01与SSEA4表现细胞的结合能力

[0439] 用PBS洗涤SSEA4表现细胞系MCF7及SKOV3,且在冰上将 1×10^5 个细胞与FACS缓冲液(含有2% FBS及0.1% NaN_3 的PBS)中的10ug/mL hAb6-3.1或hAb6-3.1-A01一起培育1hr。用PBS洗涤后,用经Alexa-Fluor 488标记的抗人类IgG抗体对细胞染色且在冰上培育0.5hr。藉由流式细胞术检测抗体的细胞结合信号(图XX11AB)。结果指示,hAb6-3.1-A01与SSEA4表现细胞的结合性质与亲代抗体hAb6-3.1相似(图25A-B)。

[0440] 实例20

[0441] 乳癌细胞系中的活体外细胞毒性分析

[0442] 将MCF7(一种表现SSEA4的乳癌细胞系)接种于96孔白色板(1×10^3 个细胞/孔)中且在37℃下培育过夜。用经连续稀释的hAb6-3.1或hAb6-3.1-A01处理细胞且再培育5天。处理后,移除培养基且用CellTiter Glo试剂(Promega)处理细胞。培育10min后,藉由ELISA读取器(M5)检测发光信号,且计算细胞存活率(将未处理细胞的信号设定为100%存活率)。

[0443] 如图26中所显示,hAb6-3.1-A01以剂量依赖性方式发挥细胞毒性。ADC展现S型曲线,此指示特异性结合至靶SSEA-4。相比之下,单独hAb6-3.1不具较大细胞毒性。此结果指示,ADC达成特异性及细胞毒性二者的优点。保持的细胞毒性将达成预期治疗效应,同时特异性将靶向癌细胞且节省正常细胞,由此最小化不良效应。实例21.卵巢癌细胞系中的活体外细胞毒性分析

[0444] SKOV3(一种表现SSEA4的卵巢癌细胞系)适用于展示hAb6-3.1-A01的效能。细胞毒性分析的方法阐述于实例20中。hAb6-3.1-A01展现对SKOV3奈莫耳浓度程度的更强效细胞毒性效能。

[0445] 出于阐述及揭示例如这些公开案中所述可结合本发明使用的方法的目的,所鉴别

出的所有专利及其他公开案皆以引用方式明确并入本文中。这些公开案仅因其揭示内容先于本申请案的申请日期而提供。绝不能由于揭示内容为先前发明或任何其他原因而解释为承认本发明无权先于该揭示内容。所有关于日期的陈述或关于这些文件的内容的表述皆为基于申请者可获得的资讯,且并不构成关于这些文件的日期或内容的准确性的任何承认。

[0446] 除非另外定义,否则本文所用的所有技术及科学术语皆具有与熟习本发明所属技术领域者通常所理解含义相同的含义。尽管任何已知方法、器件及材料皆可用于本发明的实践或测试中,但本文阐述关于此的方法、器件及材料。

序列表

<110> 醴基生医股份有限公司

<120> 抗体、结合片段及使用方法

<130> G2112-00818

<140> PCT/US2017/048074

<141> 2017-08-22

<150> 62/378,102

<151> 2016-08-22

<160> 197

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<400> 1

[0001] 000

<210> 2

<400> 2

000

<210> 3

<400> 3

000

<210> 4

<400> 4

000

<210> 5

<400> 5
000

<210> 6

<400> 6
000

<210> 7

<400> 7
000

<210> 8

<400> 8
000

[0002]

<210> 9

<400> 9
000

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 10

Asn Tyr Gly Val Ser

1 5

<210> 11

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 11

Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 12

Pro Gly Ala Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

[0003]

<210> 13

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 13

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

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg
50 55 60

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

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

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

Val Thr Val Ser Ser
115

[0004]

<210> 14

<211> 351

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多核苷酸

<400> 14

caggtgcagc tgaaggagtc aggacctggc ctggtggcgc cctcacagag cctgtccatc 60

acatgcactg tctcagggtt ctattaaaa aactatggtg taagctgggt tcgccagcct 120

ccaggaaaagg gtctggagtg gctgggagta atatggggtg acgggagcac aaattatcat 180

tcaacttca gatccagact gacctcagc aaggataatt ccaagagcca actttctta 240

aaactgaaca gactgcaaac tgatgacaca gccacgtact actgtgcaa acctggggcg 300

ggttatgcta tggactactg gggtaagga acctcagtc cgtctctc a 351

<210> 15

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 15

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 16

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser

1 5

[0005]

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 17

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 18

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 18

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

[0006] Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 19

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多核苷酸

<400> 19

caaattgttc tcaccagtc tcagcaatc atgtctgtat atccagggga aaagtcacc 60

atgacctgca gtgccagtc aagtgtagt tacatgcact ggtaccagca gaagtaagc 120

acctcccca aactctggat ttatgacaca tccaaactga cttctggagt cccaggtcgc 180

	ttcagtgcca gtgggtctgg aaactcttac tctctcacga tcagcagcat ggaggctgaa	240
	gatgttgcca cttattactg ttttcagggg agtgggtacc cactcacgtt cggagggggg	300
	accaagctgg aaataaaacg g	321
	<210> 20	
	<211> 345	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列描述: 合成多核苷酸	
	<400> 20	
	caaattgttc tcaccagtc tccagcaatc atgtctgtat atccagggga aaaggtcacc	60
	atgacctgca gtgccagctc aagtgttaagt tacatgcact ggtaccagca gaagtaagc	120
	acctcccca aactctggat ttatgacaca tccaaactga cttctggagt cccaggtcgc	180
[0007]	ttcagtgcca gtgggtctgg aaactcttac tctctcacga tcagcagcat ggaggctgaa	240
	gatgttgcca cttattactg ttttcagggg agtgggtacc cactcacgtt cggagggggg	300
	accaagctgg aaataaaacg ggctgatgct gcaccaactg tatcc	345
	<210> 21	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列描述: 合成肽	
	<400> 21	
	Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His	
	1 5 10	
	<210> 22	

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 22

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser

1 5

<210> 23

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 23

[0008] Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 24

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 24

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

[0009] Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 25

<400> 25

000

<210> 26

<400> 26

000

<210> 27

<400> 27

000

<210> 28

<211> 107

[0010] <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 28

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

<400> 33

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

[0012] Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys Pro Gly Ala Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 34

<400> 34

000

<210> 35

<400> 35

000

<210> 36

<400> 36

000

<210> 37

<400> 37

000

<210> 38

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 38

[0013]

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

85

90

95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100

105

<210> 39

<400> 39

000

<210> 40

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

[0014]

<400> 40

Asn Tyr Gly Val Ser

1

5

<210> 41

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 41

Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg Ser

1

5

10

15

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 42

Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 43

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 43

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

[0015] Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 44

<211> 351

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多核苷酸

<400> 44

cagggtgcagc tgcaggagtc cggaccagga ctggtggctc ccagccagac cctgtctatc 60

acctgcacag tgtctggctt ctccctgaag aactacggcg tgagctgggt gagacagcca 120

cctggcaagg gactggagtg gatcggcgtg atctggggcg acggctctac caattatcac 180

tccacactga ggagccgggt gaccatctcc aaggataact ccaagagcca gctgtttctg 240

[0016] aagctgaatc gcctgcagac agacgatacc gccacatact attgcgctaa gccaggccgg 300

ggctacgcta tggactattg gggccagggc accctggtga cagtgtccag c 351

<210> 45

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 45

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 46

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 46

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser

1 5

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 47

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

1 5

[0017]

<210> 48

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 48

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

	50	55	60	
	Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu			
	65	70	75	80
	Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr			
		85	90	95
	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg			
		100	105	
	<210> 49			
	<211> 321			
	<212> DNA			
	<213> 人工序列			
	<220>			
[0018]	<223> 人工序列描述: 合成多核苷酸			
	<400> 49			
	gagatcgtgc tgaccagtc tctgccatc cagtccgtgt acccaggcga gaaggtgacc			60
	atgacatgtt ccgtcttc cagcgtgagc tacatgcatt ggtatcagca gaagtcttc			120
	acatctccca agctgtggat ctacgacacc tctaagctga catccggagt gcctggcagg			180
	ttctctggat ccggaagcgg caacagctat accctgacaa tcagctctat ggaggctgag			240
	gatgccgcta cctactattg ttccagggc tctggctatc ccctgacctt tggcggcggc			300
	acaaaggtgg agatcaagcg t			321
	<210> 50			
	<211> 5			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 人工序列描述: 合成肽			

	<400> 50	
	Ser Tyr Gly Val Ser	
	1 5	
	<210> 51	
	<211> 16	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列描述: 合成肽	
	<400> 51	
	Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg Ser	
	1 5 10 15	
	<210> 52	
	<211> 9	
	<212> PRT	
[0019]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列描述: 合成肽	
	<400> 52	
	Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr	
	1 5	
	<210> 53	
	<211> 117	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列描述: 合成多肽	
	<400> 53	
	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln	
	1 5 10 15	

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

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

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg
50 55 60

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

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

[0020] Lys Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 54

<400> 54

000

<210> 55

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 55

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 56

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 56

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser

1 5

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

[0021]

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 57

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 58

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 58

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

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

[0022]

<210> 59

<400> 59

000

<210> 60

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 60

Asn Tyr Gly Val Ser

1 5

<210> 61

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 61

Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Ala Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 62

Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

[0023] 1 5

<210> 63

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 63

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Ala Leu Arg
50 55 60

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

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

[0024]

<210> 64

<400> 64

000

<210> 65

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 65

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 66

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser

1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 67

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

1 5

[0025]

<210> 68

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 68

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50

55

60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65

70

75

80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

85

90

95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100

105

<210> 69

<400> 69

000

[0026]

<210> 70

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 70

Asn Tyr Gly Val Ser

1

5

<210> 71

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 71

Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 72

Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 73

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

[0027] <220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 73

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 74

<400> 74
000

[0028] <210> 75
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 75
Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1 5 10

<210> 76
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 76
Asp Thr Tyr Lys Leu Thr Ser
1 5

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 77

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 78

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

[0029] <400> 78

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Tyr Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

85

90

95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100

105

<210> 79

<400> 79

000

<210> 80

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

[0030]

<400> 80

Asn Tyr Gly Val Ser

1

5

<210> 81

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 81

Ala Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg Ser

1

5

10

15

<210> 82

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 82

Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 83

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 83

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

[0031] Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 84

<400> 84
000

<210> 85

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 85

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

[0032]

<210> 86

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 86

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser

1 5

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 87

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 88

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 88

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

[0033]

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 89

<400> 89
000

<210> 90

<400> 90
000

<210> 91

<400> 91
000

<210> 92

<400> 92
000

[0034]

<210> 93

<400> 93
000

<210> 94

<400> 94
000

<210> 95

<400> 95
000

<210> 96

<400> 96

000

<210> 97

<400> 97

000

<210> 98

<400> 98

000

<210> 99

<400> 99

000

[0035]

<210> 100

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 100

Asn Tyr Gly Val Ser

1 5

<210> 101

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 101

Val Ile Trp Ala Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg Ser

1	5	10	15
<210> 102 <211> 9 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列描述: 合成肽 <400> 102 Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr 1 5			
<210> 103 <211> 117 <212> PRT <213> 人工序列			
[0036]	<220> <223> 人工序列描述: 合成多肽 <400> 103 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln 1 5 10 15 Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr 20 25 30 Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile 35 40 45 Gly Val Ile Trp Ala Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg 50 55 60 Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Leu Phe Leu 65 70 75 80		

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 104

<400> 104
000

[0037] <210> 105
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 105
Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1 5 10

<210> 106
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 106
Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser
1 5

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 107

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 108

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

[0038] <400> 108

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

85

90

95

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

<210> 109

<400> 109
000

<210> 110

<400> 110
000

<210> 111

[0039] <400> 111
000

<210> 112

<400> 112
000

<210> 113

<400> 113
000

<210> 114

<400> 114
000

<210> 115

<400> 115
000

<210> 116

<400> 116
000

<210> 117

<400> 117
000

<210> 118

<400> 118
000

[0040]

<210> 119

<400> 119
000

<210> 120

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 120

Asn Tyr Gly Val Thr

1 5

<210> 121

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 121

Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 122

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 122

Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

[0041] 1 5

<210> 123

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 123

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr

20 25 30

Gly Val Thr Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg
50 55 60

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

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

[0042]

<210> 124

<400> 124

000

<210> 125

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 125

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 126

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 126

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser

1 5

<210> 127

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 127

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

1 5

[0043]

<210> 128

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 128

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50

55

60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65

70

75

80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

85

90

95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100

105

<210> 129

<400> 129

000

[0044]

<210> 130

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 130

Asn Tyr Gly Val Ser

1

5

<210> 131

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 131

Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 132

Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 133

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

[0045] <220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 133

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 134

<400> 134
000

[0046] <210> 135
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 135
Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met His
1 5 10

<210> 136
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 136
Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser
1 5

<210> 137

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 137

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 138

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

[0047]

<400> 138

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

85

90

95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100

105

<210> 139

<400> 139

000

<210> 140

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

[0048]

<400> 140

Asn Tyr Gly Val Ser

1

5

<210> 141

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 141

Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg Ser

1

5

10

15

<210> 142

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 142

Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 143

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 143

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

[0049] Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 144

<400> 144
000

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 145

Ser Ala Ser Ser Ser Ala Ser Tyr Met His

1 5 10

[0050]

<210> 146

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 146

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser

1 5

<210> 147

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 147

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 148

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 148

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ala Ser Tyr Met

20 25 30

[0051]

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 149

<400> 149

000

<210> 150

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 150

Asn Tyr Gly Val Ser

1 5

<210> 151

<211> 16

<212> PRT

[0052] <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 151

Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 152

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 152

Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 153

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 153

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

[0053]

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 154

<400> 154

000

<210> 155

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 155

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 156

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

[0054]

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 156

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser

1 5

<210> 157

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 157

Phe Gln Ala Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 158

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 158

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

[0055]

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Ala Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 159

<400> 159

000

<210> 160

<400> 160

000

<210> 161

<400> 161

000

<210> 162

<400> 162

000

<210> 163

<400> 163

000

[0056] <210> 164

<400> 164

000

<210> 165

<400> 165

000

<210> 166

<400> 166

000

<210> 167

<400> 167

000

<210> 168

<400> 168

000

<210> 169

<400> 169

000

<210> 170

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

[0057]

<400> 170

Asn Tyr Gly Val Ser

1 5

<210> 171

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 171

Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 172

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 172

Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 173

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 173

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

[0058] Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 174

<400> 174
000

<210> 175

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 175

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

[0059]

<210> 176

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 176

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser

1 5

<210> 177

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 177

Phe Gln Gly Ser Gly Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 178

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 178

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

[0060]

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Phe Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 179

<400> 179

000

<210> 180

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 180

Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr Gly Val Ser

1 5 10

<210> 181

<211> 9

<212> PRT

[0061] <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 181

Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr Gly Val

1 5

<210> 182

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 182

Lys Asn Tyr Gly Val Ser

1 5

<210> 183

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 183

Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr Gly

1 5

<210> 184

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

[0062]

<400> 184

Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn

1 5

<210> 185

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 185

Trp Gly Asp Gly Ser

1 5

<210> 186

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 186

Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn

1 5 10

<210> 187

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 187

Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr

1 5

[0063]

<210> 188

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 188

Ala Lys Pro Gly Ala Gly Tyr Ala Met Asp

1 5 10

<210> 189

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 189

Ala Lys Pro Gly Ala Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

	1	5	10
	<210> 190		
	<211> 7		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 人工序列描述: 合成肽		
	<400> 190		
	Val Ser Tyr Met His Trp Tyr		
	1	5	
	<210> 191		
	<211> 5		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
[0064]	<220>		
	<223> 人工序列描述: 合成肽		
	<400> 191		
	Ser Ser Val Ser Tyr		
	1	5	
	<210> 192		
	<211> 10		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 人工序列描述: 合成肽		
	<400> 192		
	Leu Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Thr		
	1	5	10
	<210> 193		
	<211> 8		

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 193

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu

1 5

<210> 194

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 194

[0065] Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

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

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

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg
50 55 60

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

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Pro Gly Arg Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 195

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 195

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

[0066] Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 196

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 196

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

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Lys Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

[0067] Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Thr Leu Arg

50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Leu Phe Leu

65 70 75 80

Lys Leu Asn Arg Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys Pro Gly Ala Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 197

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 197

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

[0068] 35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

分别在 Kabat、AbM、Chothia、Contact 及 IMGT 方法中代表性抗 SSEA4 抗体 chAb6 的 CDR

H-CDR1		
方法	定义	序列
Kabat	H31-H35B	NYGVS
AbM	H26-H35	GFSLKNYGV
Chothia	H26-H32...H34	GFSLKNY[GV]
Contact	H30-H35	KNYGV
IMGT	在线预测	GFSLKNY
H-CDR2		
方法	定义	序列
Kabat	H50-H65	VIWGDGSTNYHSTLRS
AbM	H50-H58	VIWGDGSTN
Chothia	H52-H56	WGDGS
Contact	H47-H58	WLGVIWGDGSTN
IMGT	在线预测	IWGDGST
H-CDR3		
方法	定义	序列
Kabat	H95-H102	PGAGYAMDY
AbM	H95-H102	PGAGYAMDY
Chothia	H95-H102	PGAGYAMDY
Contact	H93-H101	AKPGAGYAMD
IMGT	在线预测	AKPGAGYAMDY
L-CDR1		
方法	定义	序列
Kabat	L24-L34	SASSSVSYMH
AbM	L24-L34	SASSSVSYMH
Chothia	L24-L34	SASSSVSYMH
Contact	L30-L36	VSYMHWY
IMGT	在线预测	SSVSY
L-CDR2		
方法	定义	序列
Kabat	L50-L56	DTSKLT
AbM	L50-L56	DTSKLT
Chothia	L50-L56	DTSKLT
Contact	L46-L55	LWIYDTSKLT
IMGT	在线预测	DTS
L-CDR3		
方法	定义	序列
Kabat	L89-L97	FQGSYPLT
AbM	L89-L97	FQGSYPLT
Chothia	L89-L97	FQGSYPLT
Contact	L89-L96	FQGSYPL
IMGT	在线预测	FQGSYPLT

图1A

重链			
		H-CDR1	H-CDR2
chAb6	QVQLKESGPGLVAPSSQLSITCTVSGFSLKNYGVS	WVRQPPGKGLEWLGVI	WGDGSTNYH
hAb6-3.1	QVQLQESGPGLVAPSQTLSTCTVSGFSLKNYGVS	WVRQPPGKLEWIGVI	WGDGSTNYH
		H-CDR3	
chAb6	STLRSRLTISKDNSKSQLFLKLNRLQDDTATYYCAKPGAGY	AMDYWGQGT	SVTVSS
hAb6-3.1	STLRSRVTISKDNSKSQLFLKLNRLQDDTATYYCAKPGRGY	AMDYWGQGT	LVTVSS
轻链			
		L-CDR1	L-CDR2
chAb6	QIVLTQSPAIMSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQ	QKSSTSPKLWIYDTSKL	TSGVPGR
hAb6-3.1	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQ	QKSSTSPKLWIYDTSKL	TSGVPGR
		L-CDR3	
chAb6	FSGSGSGNSYSLTSSMEAEADVATYYCFQGS	GYPLTFGGG	TKLEIKR
hAb6-3.1	FSGSGSGNSYTLTSSMEAEADAATYYCFQGS	GYPLTFGGG	TKVEIKR

图1B

重链

chAb6	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLKNYGVSWVRQPPGKLEWLGVIWGDGSTNYH
hAb6-2	QVQLKESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLKNYGVSWVRQPPGKLEWLGVIWGDGSTNYH
hAb6-3	QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLKNYGVSWVRQPPGKLEWLGVIWGDGSTNYH

chAb6	STLRSRLTISKDNSKSQFLKLNRLQDDTATYYCAKPGAGYAMDYWGQGSVTVSS
hAb6-2	STLRSRVTISKDNSKSQFLKLNRLQDDTATYYCAKPGAGYAMDYWGQGSVTVSS
hAb6-3	STLRSRVTISKDNSKSQFLKLNRLQDDTATYYCAKPGAGYAMDYWGQGTITVTVSS

轻链

chAb6	QIVLTQSPAIMSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQOKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-2	EIVLTQSPAIO SVYPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQOKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-3	EIVLTQSPAIO SVYPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQOKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR

chAb6	FSGSGSGNSYSLTISSMEAEDVATYYCFQSGGYPLTFGGGTKLEIKR
hAb6-2	FSGSGSGNSYTLTISSMEAEDVATYYCFQSGGYPLTFGGGTKLEIKR
hAb6-3	FSGSGSGNSYTLTISSMEAEDAATYYCFQSGGYPLTFGGGTKVEIKR

图1C

重链

hAb6-3 QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLK^{NY}GVSWVRQPPGKGLEWIGVIWGDGSTNYH
hAb6-3.1 QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLK^{NY}GVSWVRQPPGKGLEWIGVIWGDGSTNYH
hAb6-3.2 QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLK^{NY}GVSWVRQPPGKGLEWIGVIWGDGSTNYH
hAb6-3.3 QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLK^{NY}GVSWVRQPPGKGLEWIGVIWGDGSTNYH
hAb6-3.4 QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLK^{NY}GVSWVRQPPGKGLEWIGVIWGDGSTNYH

hAb6-3 STLRSRVTISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGAGYAMDYWGQGLTVTVSS
hAb6-3.1 STLRSRVTISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGAGYAMDYWGQGLTVTVSS
hAb6-3.2 STLRSRVTISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGAGYAMDYWGQGLTVTVSS
hAb6-3.3 SLRSRVTISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGAGYAMDYWGQGLTVTVSS
hAb6-3.4 STLRSRVTISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGAGYAMDYWGQGLTVTVSS

轻链

hAb6-3 EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMH^{WY}QOKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-3.1 EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMH^{WY}QOKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-3.2 EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMH^{WY}QOKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-3.3 EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMH^{WY}QOKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-3.4 EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMH^{WY}QOKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR

hAb6-3 FSGSGSGNSYTLTIS^SMEADAATYYCFQGS^{GY}PLTFGGG^TKVEIKR
hAb6-3.1 FSGSGSGNSYTLTIS^SMEADAATYYCFQGS^{GY}PLTFGGG^TKVEIKR
hAb6-3.2 FSGSGSGNSYTLTIS^SMEADAATYYCFQGS^{GY}PLTFGGG^TKVEIKR
hAb6-3.3 FSGSGSGNSYTLTIS^SMEADAATYYCFQGS^{GY}PLTFGGG^TKVEIKR
hAb6-3.4 FSGSGSGNSYTLTIS^SMEADAATYYCFQGS^{GY}PLTFGGG^TKVEIKR

图1D

重链

hAb6-3	QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLKNYGVSWVRQPPGKGLEWIGVIWGDGSTNYH
hAb6-3.101	QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLKNYGVSWVRQPPGKGLEWIGAIWGDGSTNYH
hAb6-3.103	QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLKNYGVSWVRQPPGKGLEWIGVIWGDGSTNYH
hAb6-3.105	QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLKNYGVSWVRQPPGKGLEWIGVIWGDGSTNYH
hAb6-3.106	QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLKNYGVSWVRQPPGKGLEWIGVIWGDGSTNYH
hAb6-3.107	QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLKNYGVSWVRQPPGKGLEWIGVIWGDGSTNYH
hAb6-3.108	QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLKNYGVSWVRQPPGKGLEWIGVIWGDGSTNYH
hAb6-3.110	QVQLQESGPGLVAPSQTLSITCTVSGFSLKNYGVSWVRQPPGKGLEWIGVIWGDGSTNYH
hAb6-3	STLRSRVTIISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGAGYAMDYWGQGTILVTVSS
hAb6-3.101	STLRSRVTIISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGRGYAMDYWGQGTILVTVSS
hAb6-3.103	STLRSRVTIISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGRGYAMDYWGQGTILVTVSS
hAb6-3.105	STLRSRVTIISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGRGYAMDYWGQGTILVTVSS
hAb6-3.106	STLRSRVTIISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGRGYAMDYWGQGTILVTVSS
hAb6-3.107	STLRSRVTIISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGRGYAMDYWGQGTILVTVSS
hAb6-3.108	STLRSRVTIISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGRGYAMDYWGQGTILVTVSS
hAb6-3.110	STLRSRVTIISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGRGYAMDYWGQGTILVTVSS

轻链

hAb6-3	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-3.101	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-3.103	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-3.105	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-3.106	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-3.107	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-3.108	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-3.110	EIVLTQSPAIQSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGR
hAb6-3	FSGSGSGNSYTLTISSMEAEDAATYYCFQGSGLPLTFGGGTKVEIKR
hAb6-3.101	FSGSGSGNSYTLTISSMEAEDAATYYCFQGSGLPLTFGGGTKVEIKR
hAb6-3.103	FSGSGSGNSYTLTISSMEAEDAATYYCFQGSGLPLTFGGGTKVEIKR
hAb6-3.105	FSGSGSGNSYTLTISSMEAEDAATYYCFQGSGLPLTFGGGTKVEIKR
hAb6-3.106	FSGSGSGNSYTLTISSMEAEDAATYYCFQGSGLPLTFGGGTKVEIKR
hAb6-3.107	FSGSGSGNSYTLTISSMEAEDAATYYCFQGSGLPLTFGGGTKVEIKR
hAb6-3.108	FSGSGSGNSYTLTISSMEAEDAATYYCFQGSGLPLTFGGGTKVEIKR
hAb6-3.110	FSGSGSGNSYTLTISSMEAEDAATYYCFQGSGLPLTFGGGTKVEIKR

图1E

chAb6

重链

QVQLKESGPGLVAPSQSLTCTVSGFSLK^NYGVSWVRQPPGKGLEWLGVIWGDGSTNYHST
LRSRLTISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGAGYAMDYWGQGTSTVTVSS

轻链

QIVLTQSPAIMSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMH^WYQQKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGRFS
GSGSGNSYSLTISSMEAEDVATYYCFQSGGYPLTFGGGTKLEIKR

人类化 Ab6-2

重链

QVQLKESGPGLVAPSQ^TLSITCTVSGFSLK^NYGVSWVRQPPGKLEW^IGVWGDGSTNYHST
LRSR^VTISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGAGYAMDYWGQGTSTVTVSS

轻链

^EIVLTQSPAI^QSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMH^WYQQKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGRFS
GSGSGNSY^TLTISSMEAEDVATYYCFQSGGYPLTFGGGTKLEIKR

人类化 Ab6-3

重链

QVQL^QESGPGLVAPSQ^TLSITCTVSGFSLK^NYGVSWVRQPPGKLEW^IGVWGDGSTNYHST
LRSR^VTISKDNSKSQLFLKLNRLQTDDTATYYCAKPGAGYAMDYWGQGT^LTVTVSS

轻链

^EIVLTQSPAI^QSVYPGEKVTMTCSASSSVSYMH^WYQQKSSTSPKLWIYDTSKLTSGVPGRFS
GSGSGNSY^TLTISSMEAED^AATYYCFQSGGYPLTFGGGTK^VEIKR

图2

H01 H02 H03 H04 H05 H06 H07 H08 H09 H10 H11 H12 H13 H14 H15
Q V Q L K E S G P G L V A P S

H16 H17 H18 H19 H20 H21 H22 H23 H24 H25 H26 H27 H28 H29 H30
Q S L S I T C T V S G F S L K

H31 H32 H33 H34 H35 H36 H37 H38 H39 H40 H41 H42 H43 H44 H45
N Y G V S W V R Q P P G K G L

H46 H47 H48 H49 H50 H51 H52 H53 H54 H55 H56 H57 H58 H59 H60
E W L G V I W G D G S T N Y H

H61 H62 H63 H64 H65 H66 H67 H68 H69 H70 H71 H72 H73 H74 H75
S T L R S R L T I S K D N S K

H76 H77 H78 H79 H80 H81 H82 H82A H82B H82C H83 H84 H85 H86 H87 H88 H89 H90
S Q L F L K L N R L Q T D D T A T Y

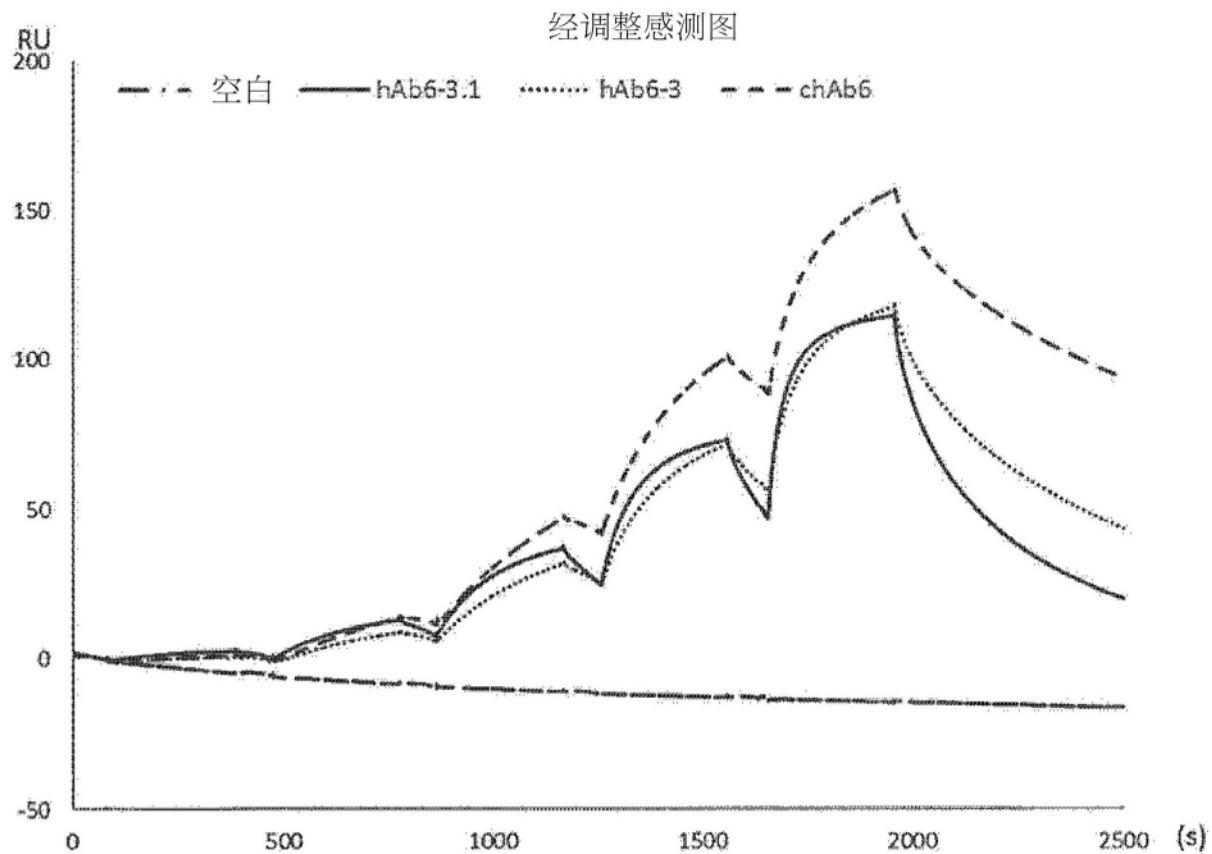
H91 H92 H93 H94 H95 H96 H97 H98 H99 H100 H100A H101 H102 H103 H104 H105
Y C A K P G A G Y A M D Y W G Q

H106 H107 H108 H109 H110 H111 H112 H113 H114
G T S V T V S S -

图3

L01	L02	L03	L04	L05	L06	L07	L08	L09	L10	L11	L12	L13	L14	L15
Q	I	V	L	T	Q	S	P	A	I	M	S	V	Y	P
L16	L17	L18	L19	L20	L21	L22	L23	L24	L25	L26	L27	L28	L29	L30
G	E	K	V	T	M	T	C	S	A	S	S	-	S	V
L31	L32	L33	L34	L35	L36	L37	L38	L39	L40	L41	L42	L43	L44	L45
S	Y	M	H	W	Y	Q	Q	K	S	S	T	S	P	K
L46	L47	L48	L49	L50	L51	L52	L53	L54	L55	L56	L57	L58	L59	L60
L	W	I	Y	D	T	S	K	L	T	S	G	V	P	G
L61	L62	L63	L64	L65	L66	L67	L68	L69	L70	L71	L72	L73	L74	L75
R	F	S	G	S	G	S	G	N	S	Y	S	L	T	I
L76	L77	L78	L79	L80	L81	L82	L83	L84	L85	L86	L87	L88	L89	L90
S	S	M	E	A	E	D	V	A	T	Y	Y	C	F	Q
L91	L92	L93	L94	L95	L96	L97	L98	L99	L100	L101	L102	L103	L104	L105
G	S	G	Y	P	L	T	F	G	G	G	T	K	L	E
L106	L107	L108	L109	L110	L111									
I	K	R	-	-	-									

图4



模式	1:1 结合				
参数	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)	Rmax (RU)	Chi ² (RU ²)
hAb6-3.1	2.4x10 ⁵	5.6x10 ⁻³	23.1	128.16	2.74
hAb6-3	1.7x10 ⁵	3.0x10 ⁻³	17.8	131.08	1.99
chAb6	0.9x10 ⁵	0.9x10 ⁻³	10.11	164.90	3.43

图5

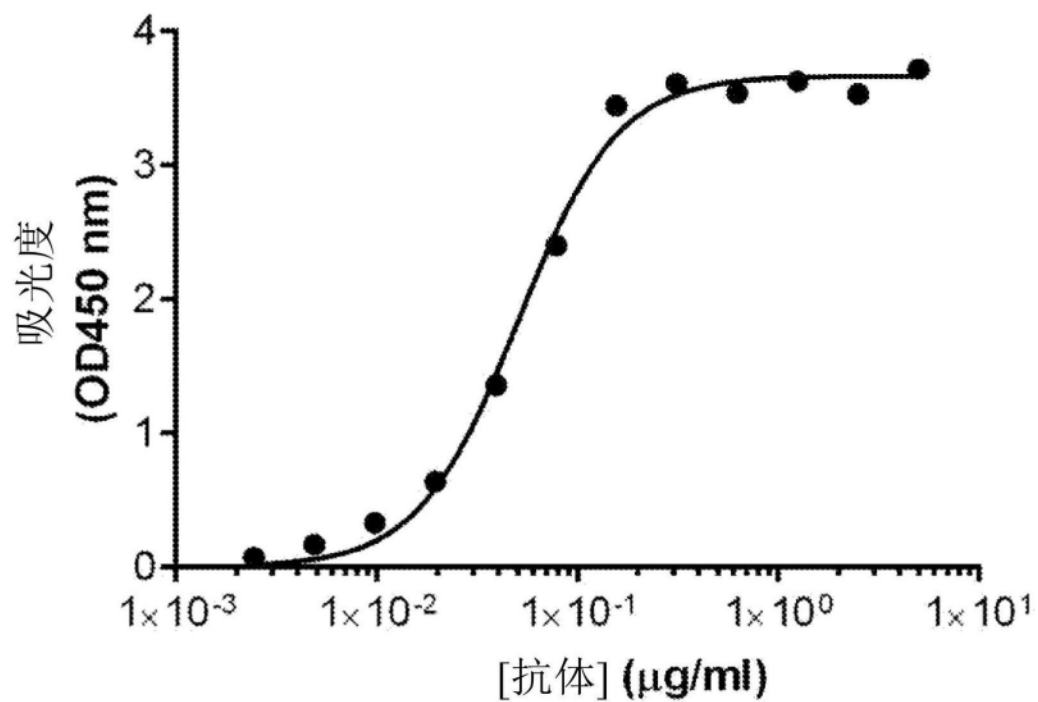


图6A

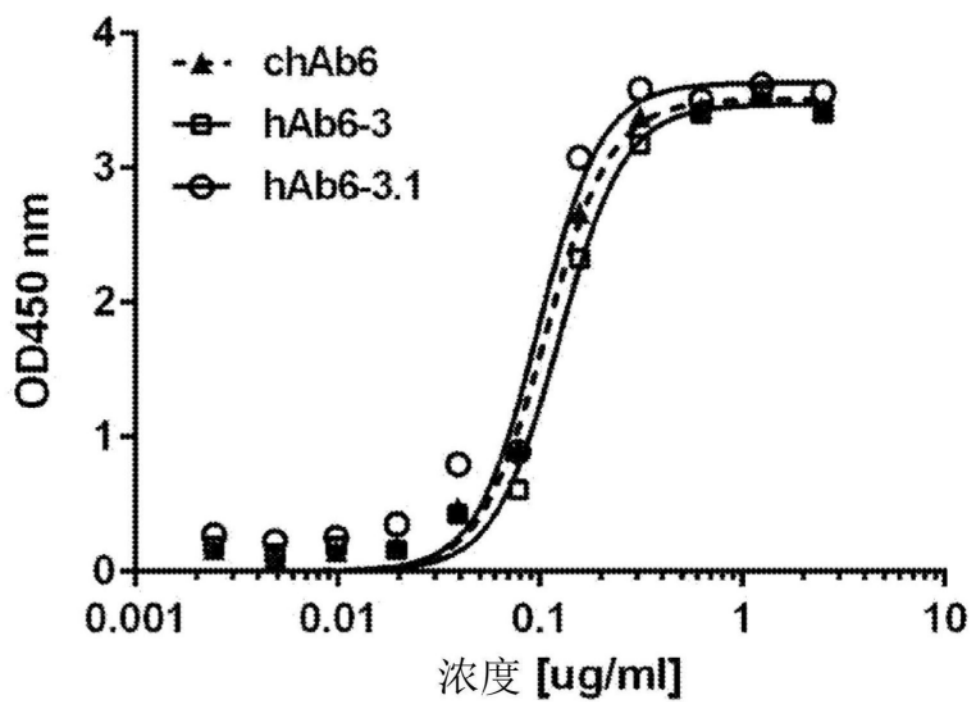


图6B

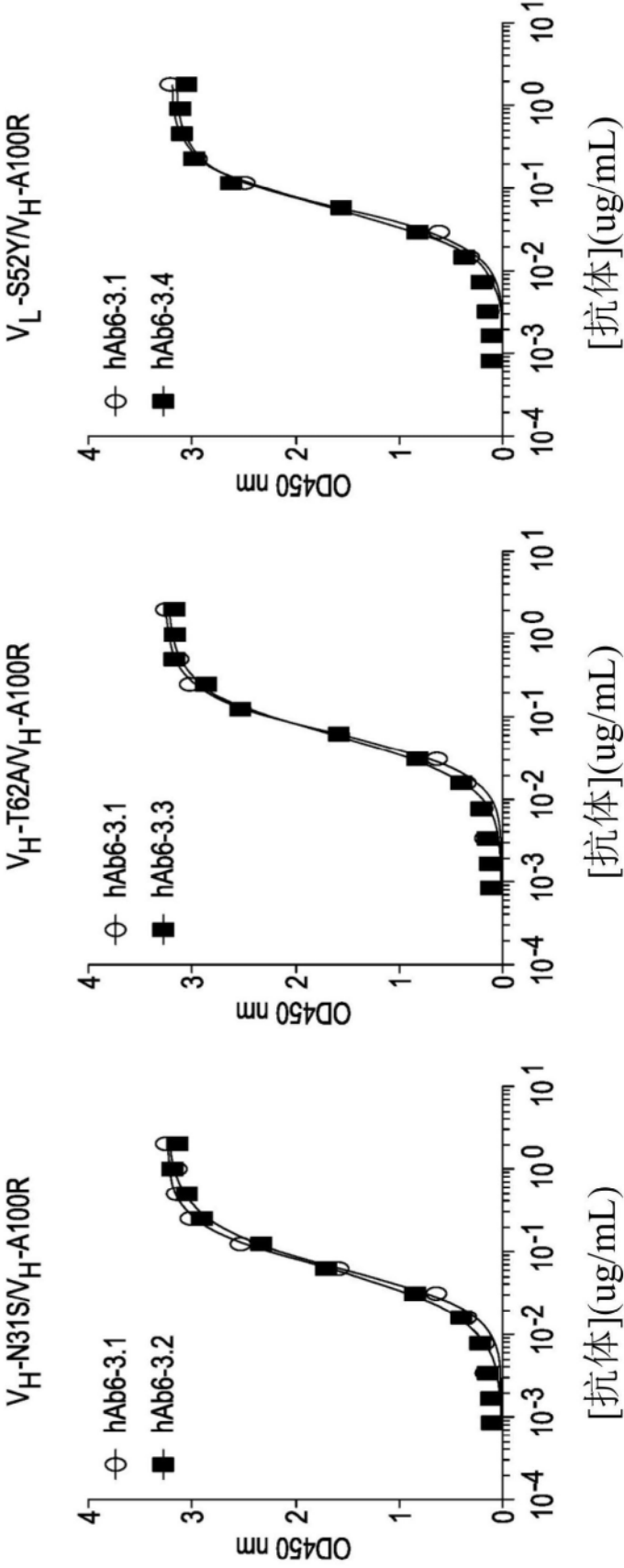


图6C

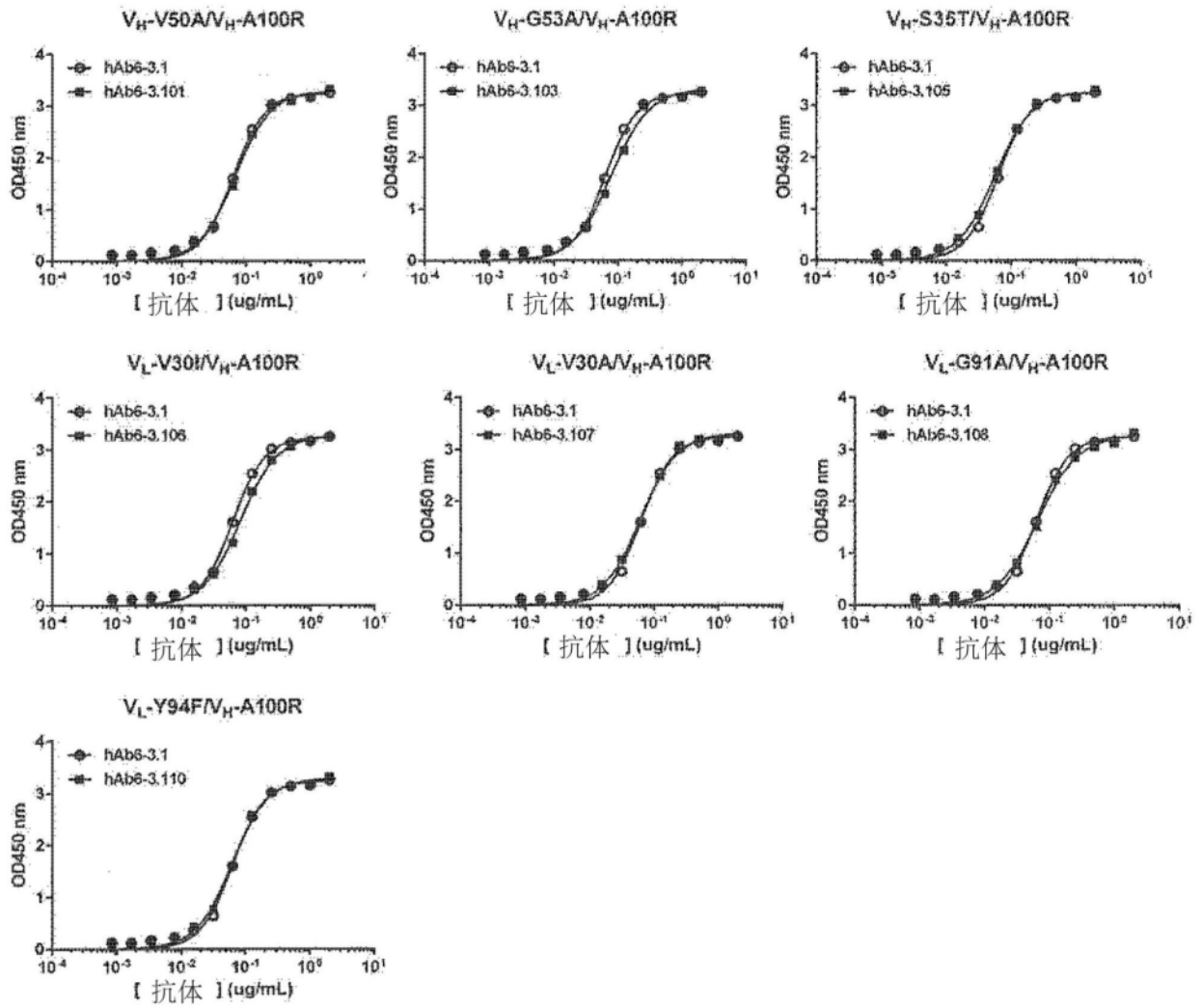


图6D

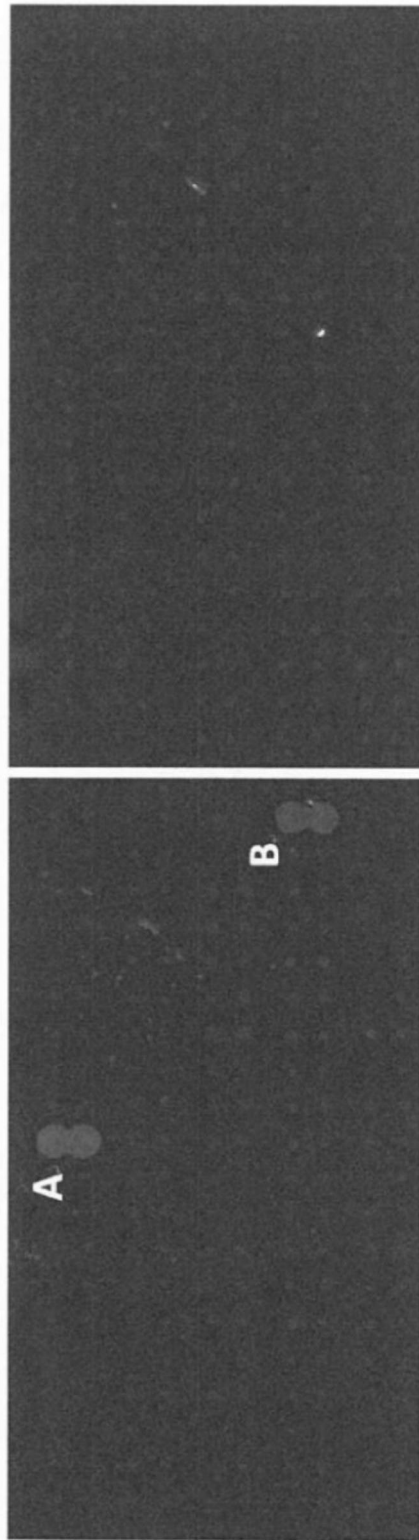


图7

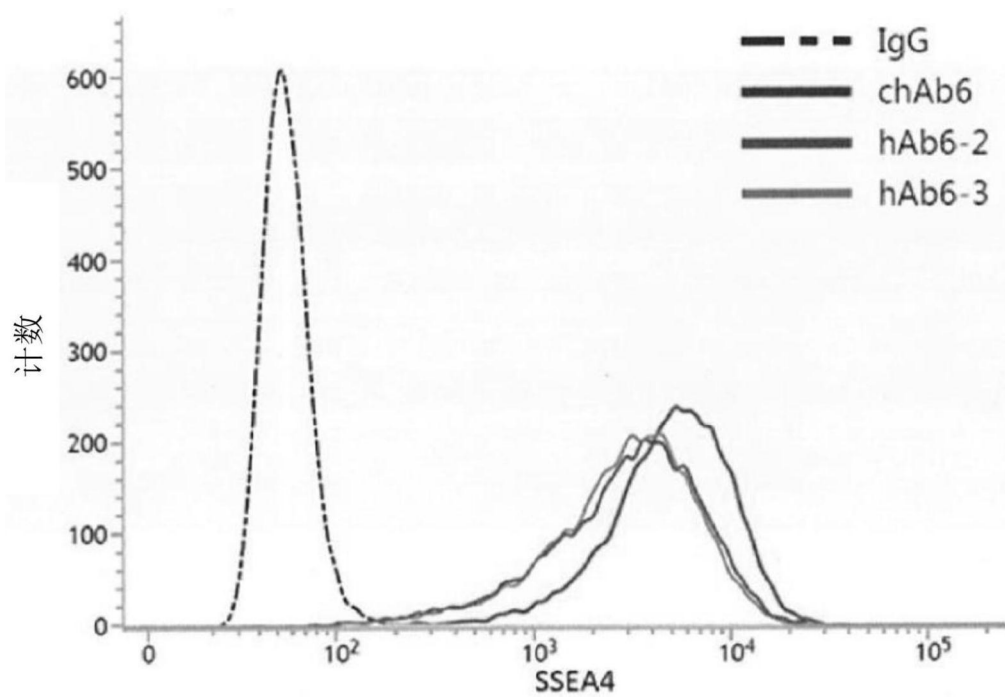


图8A

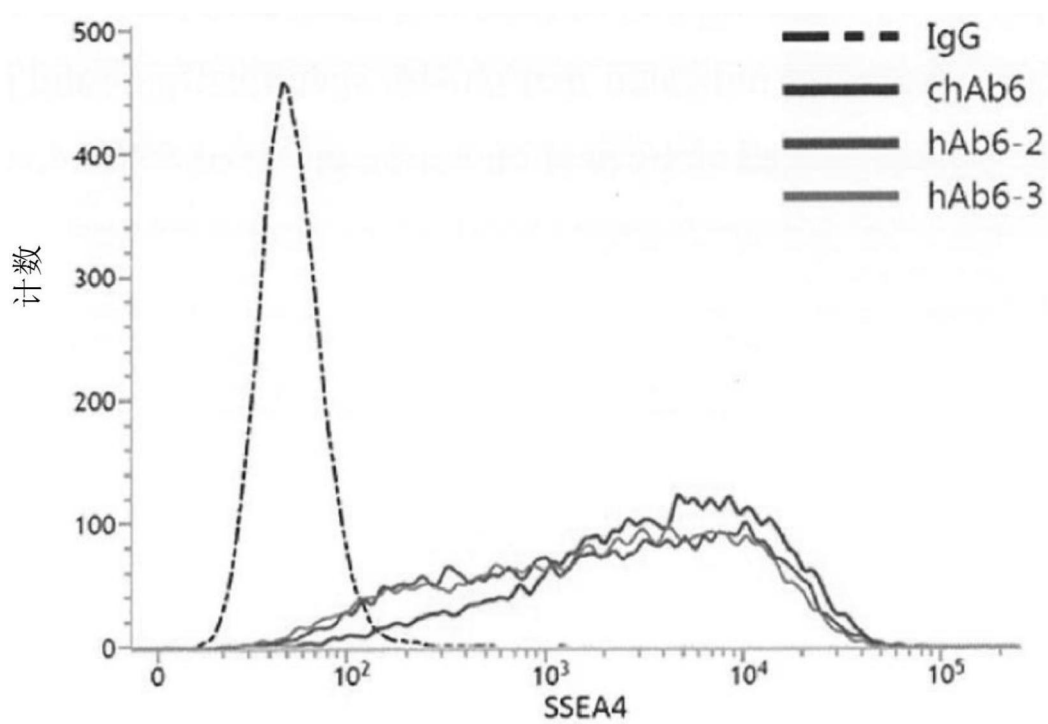


图8B

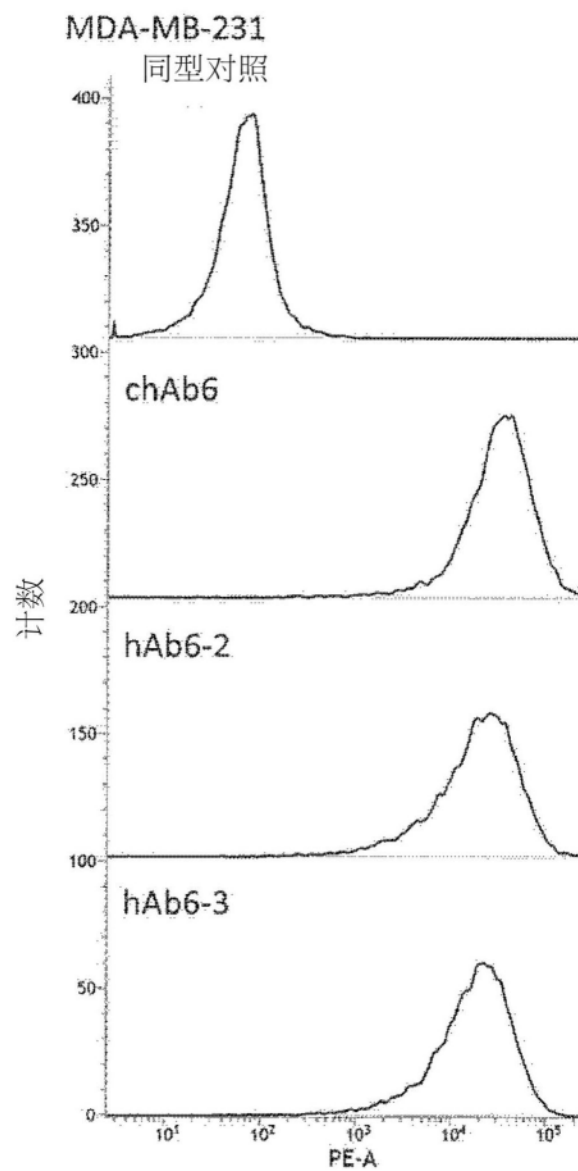


图9A

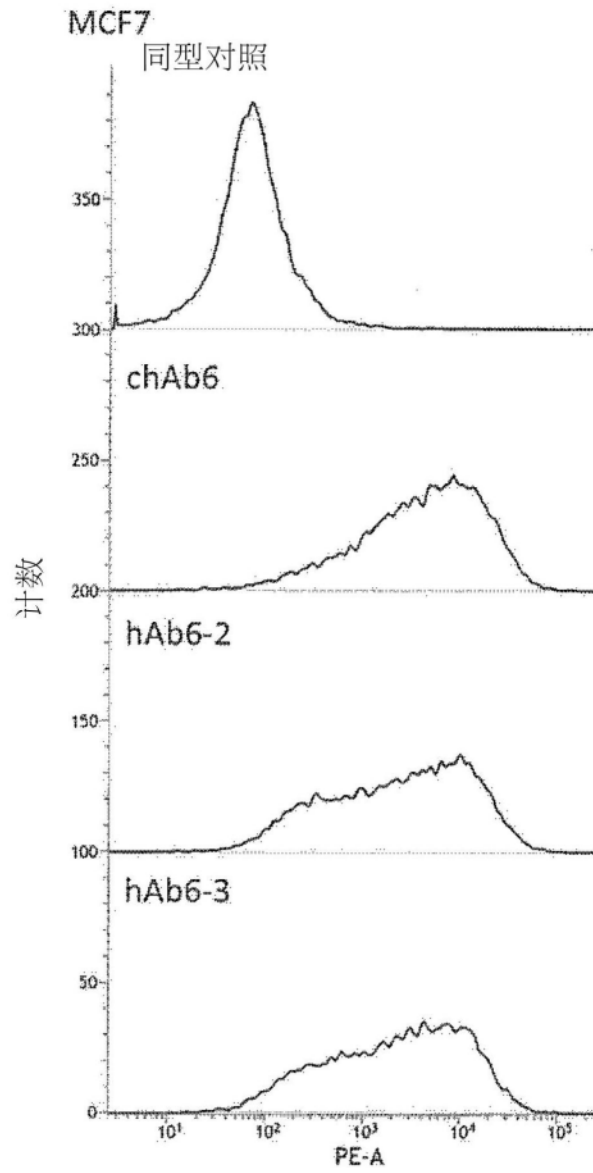


图9B

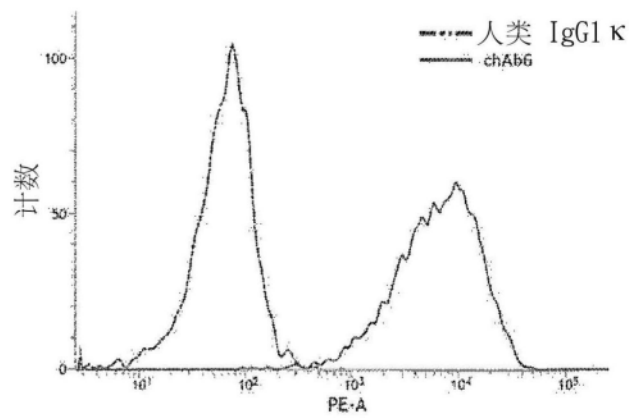


图10A

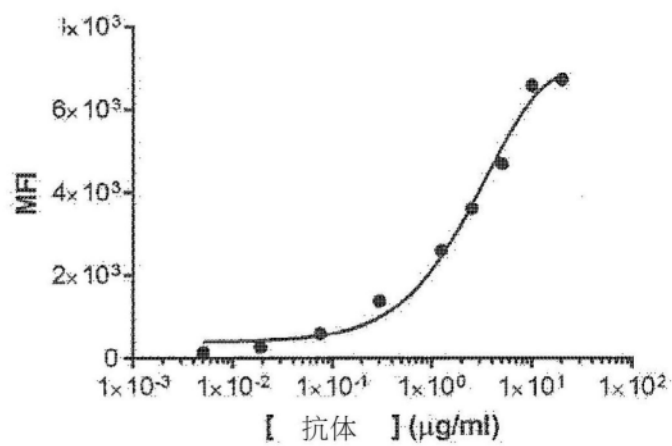


图10B

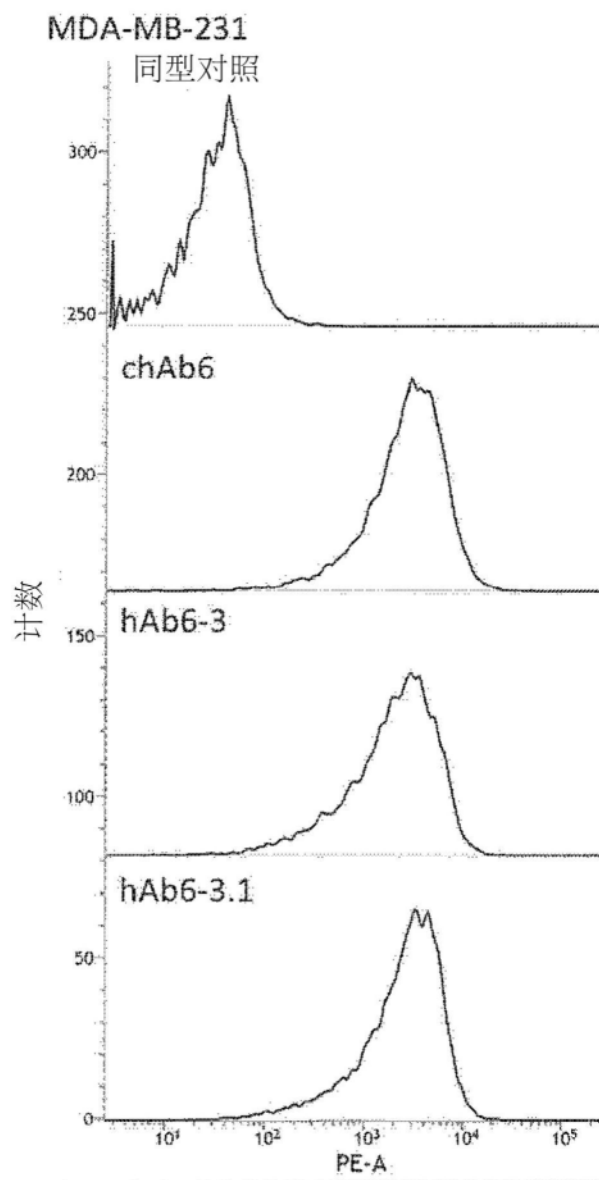


图11A

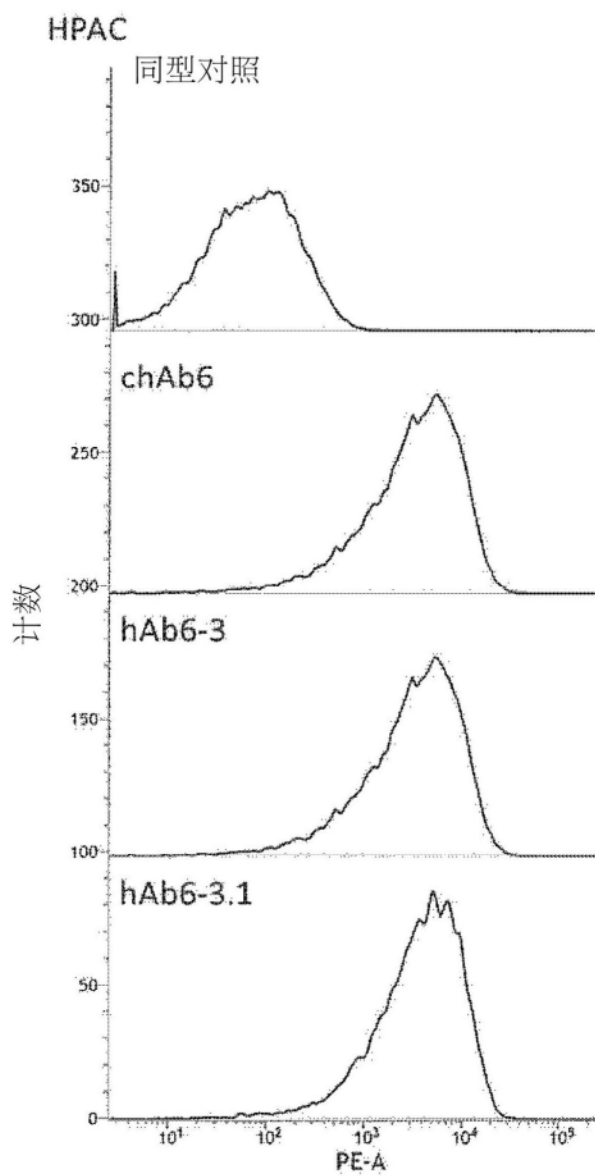


图11B

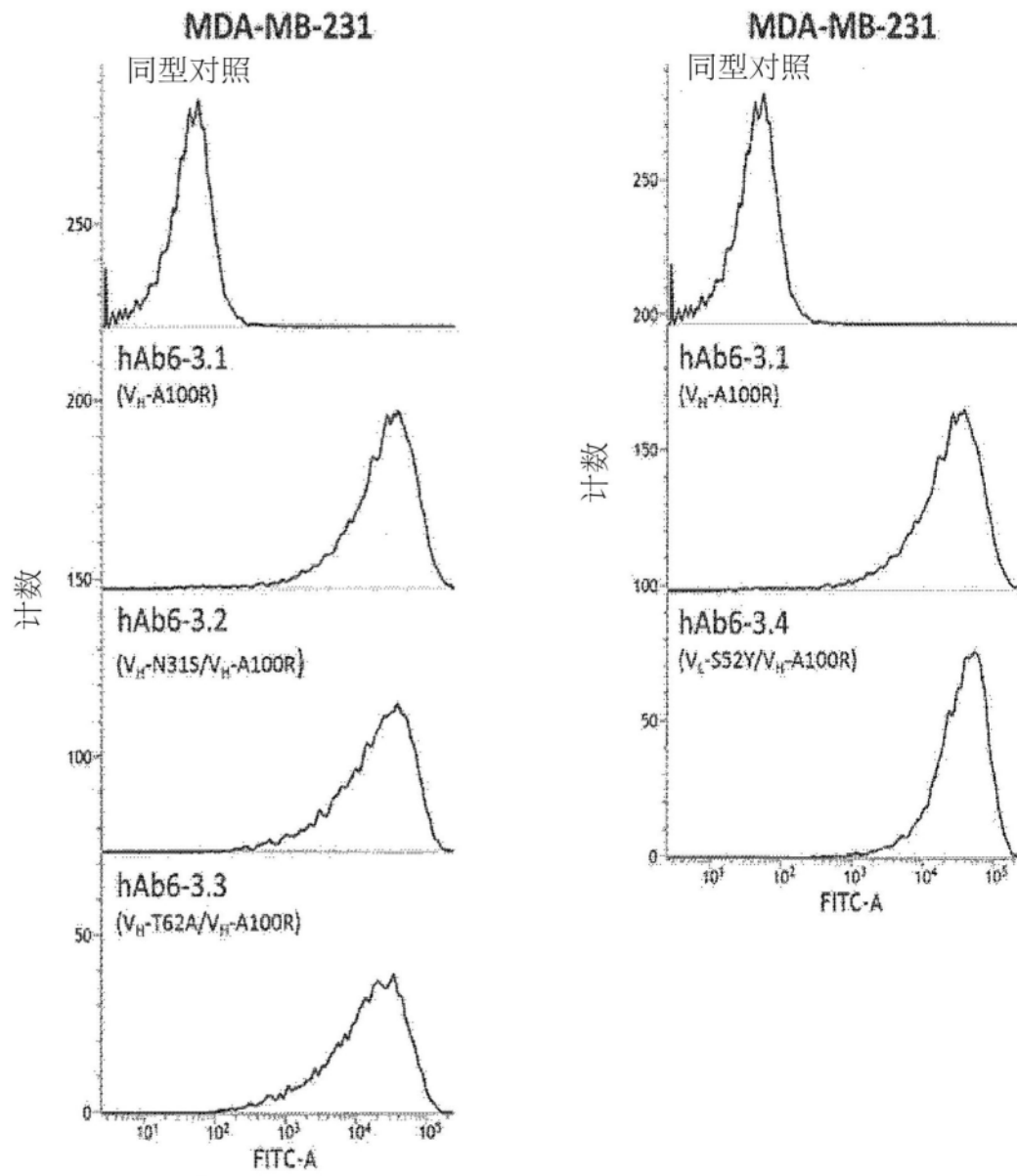


图11C

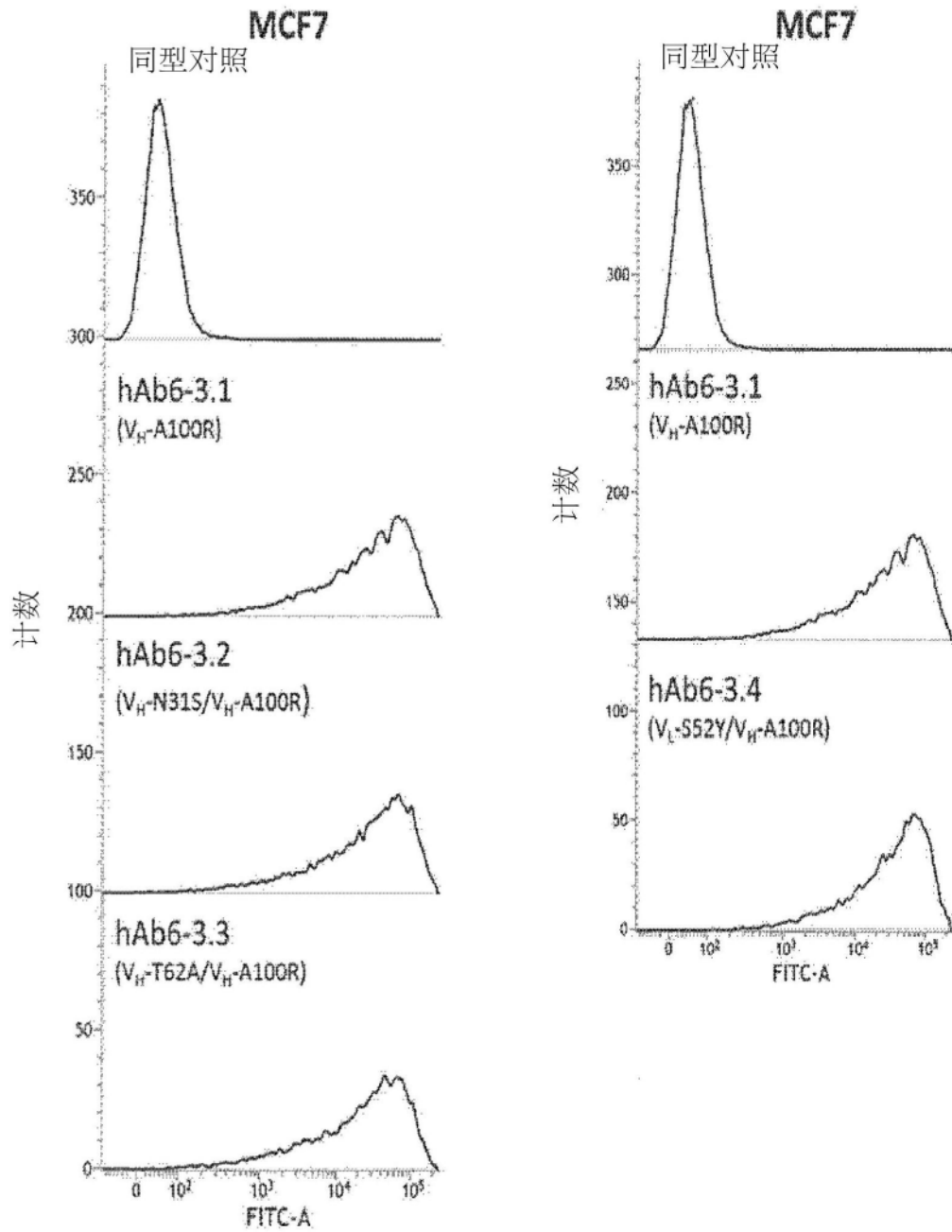


图11D

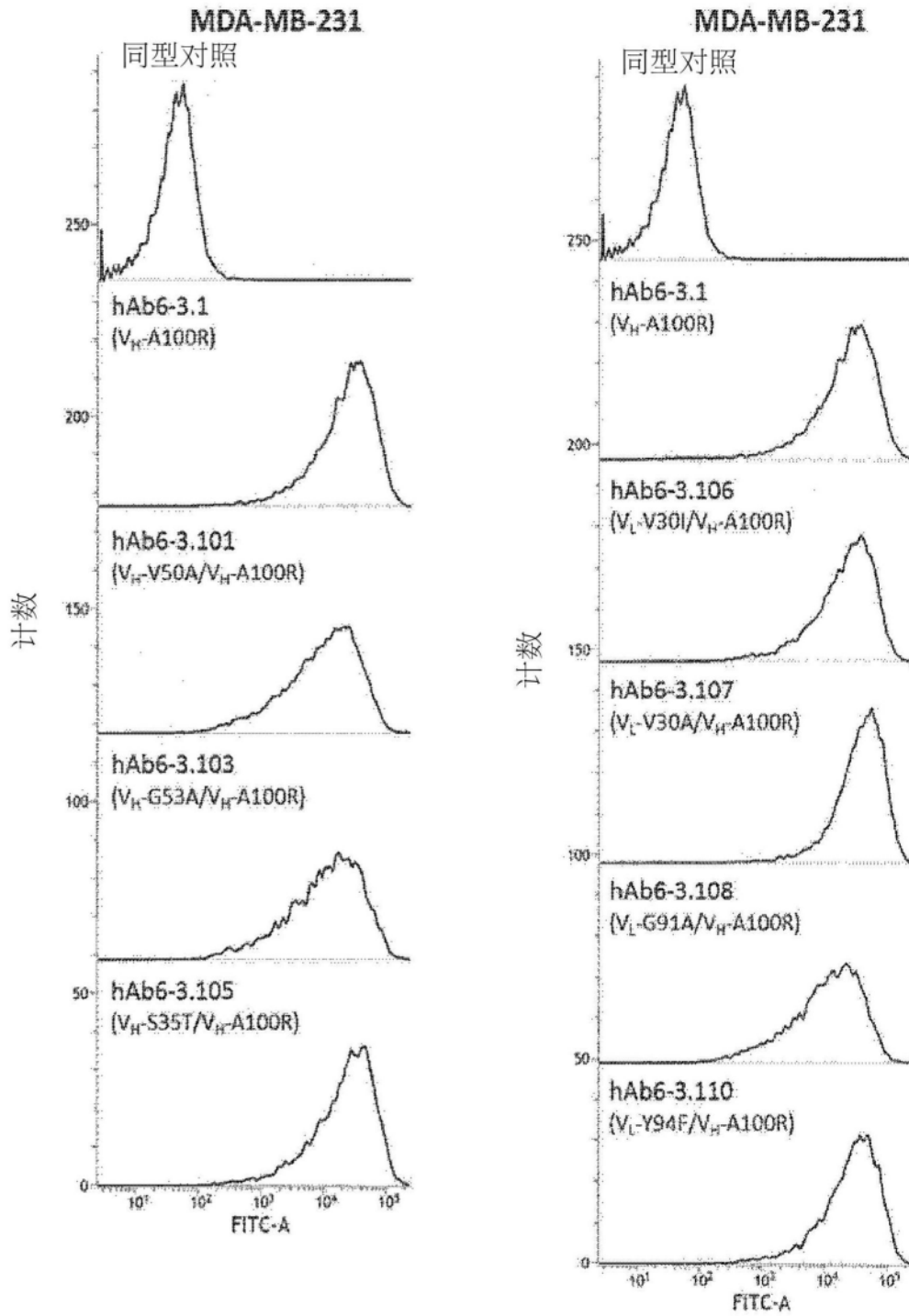


图11E

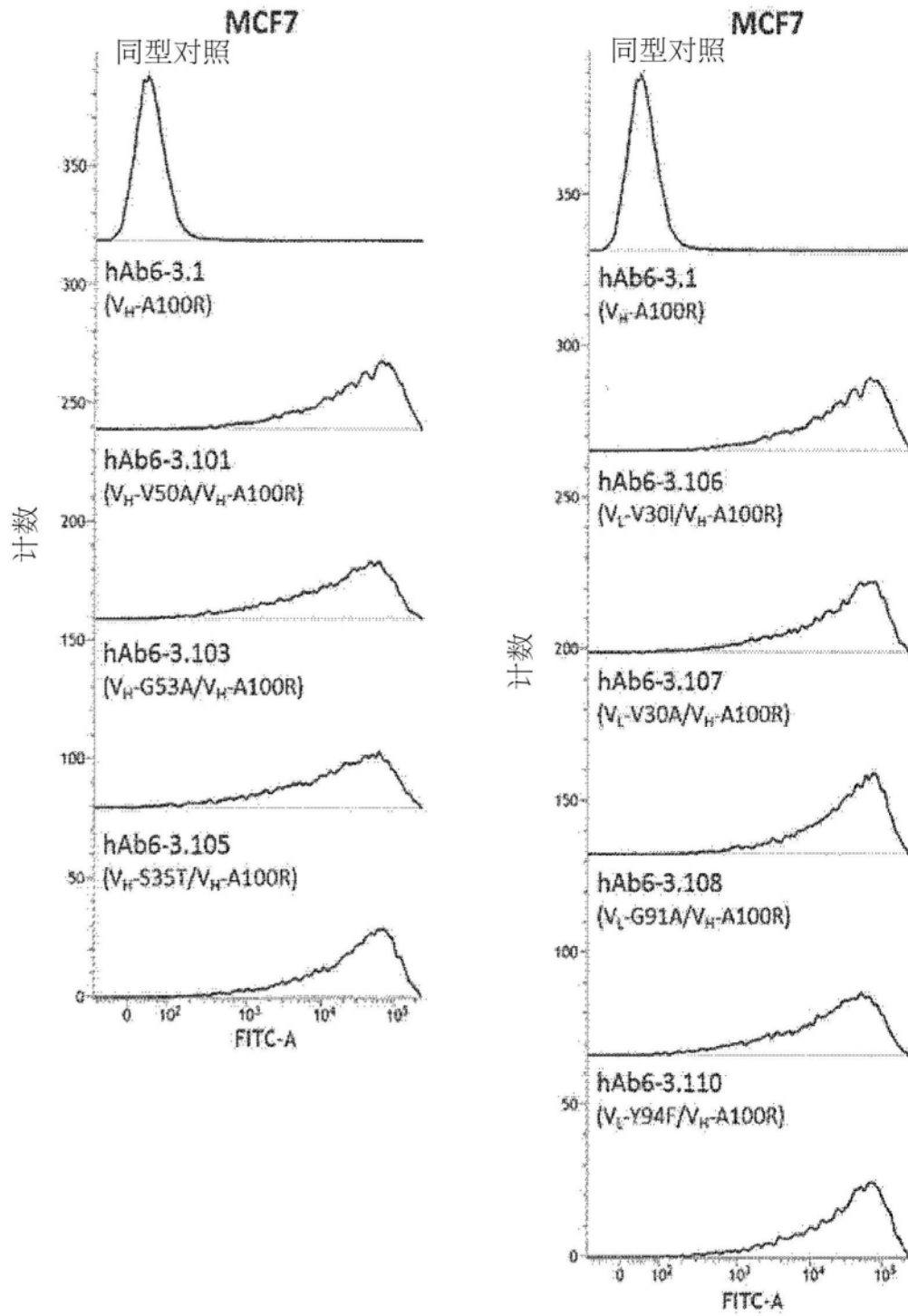


图11F

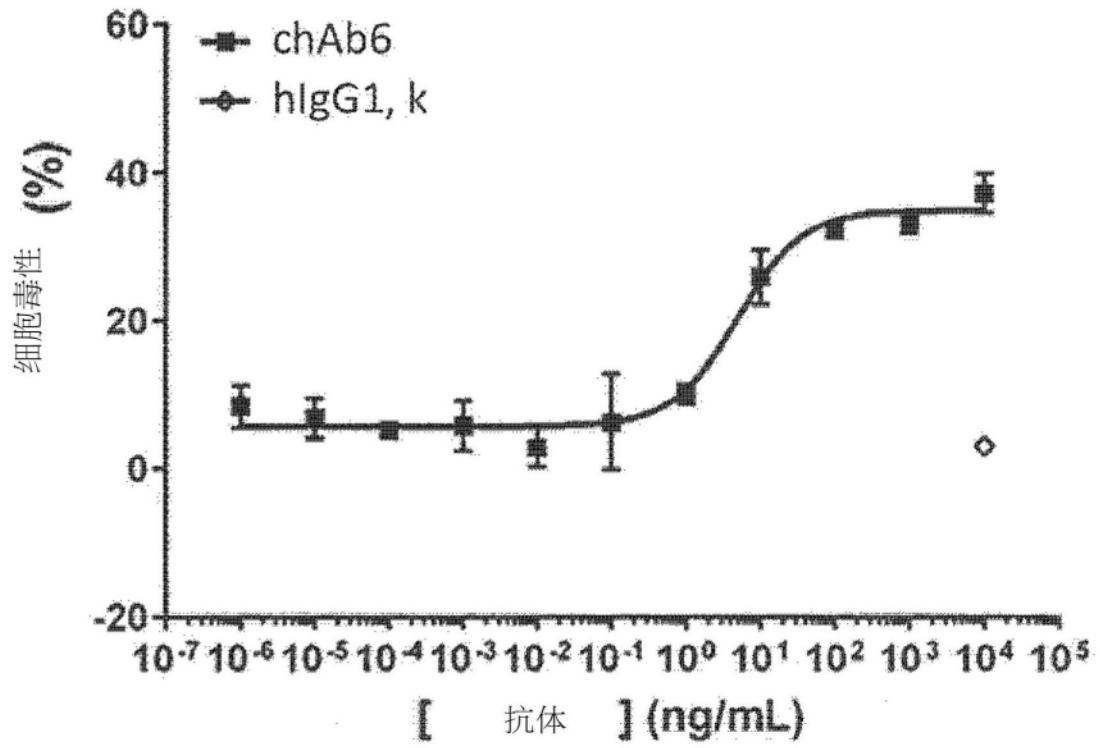


图12

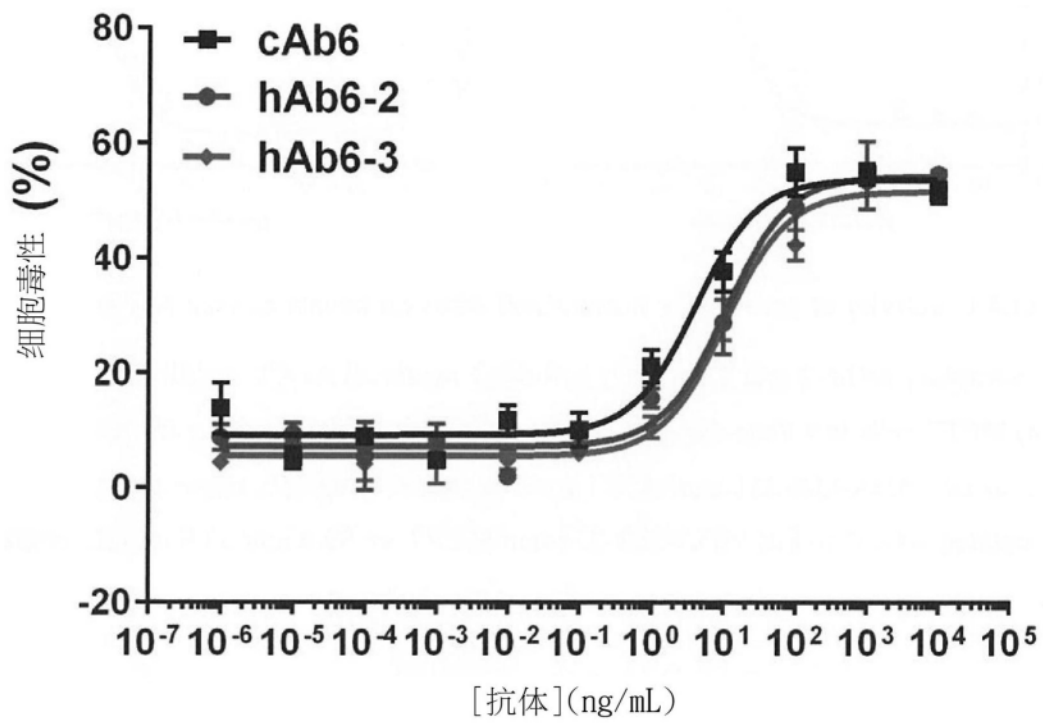


图13

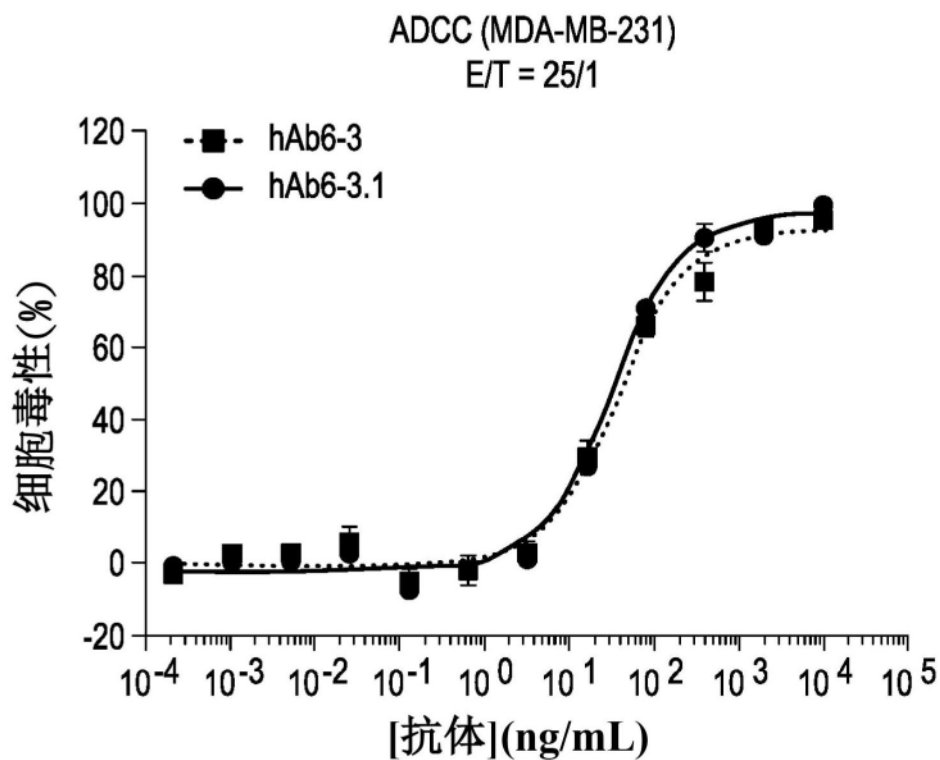


图14A

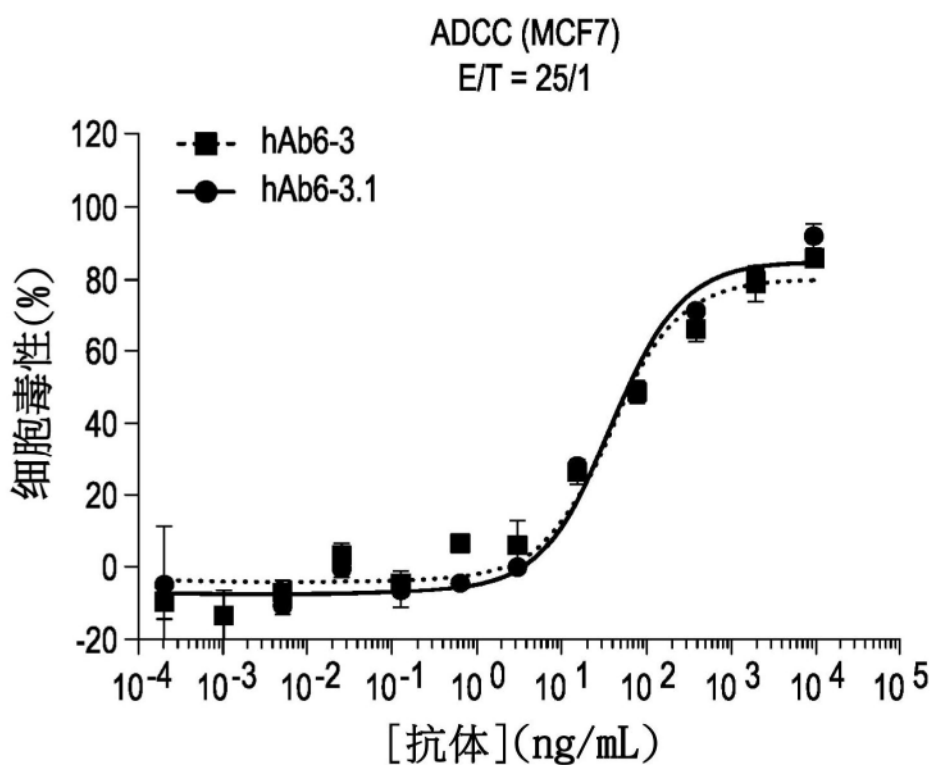


图14B

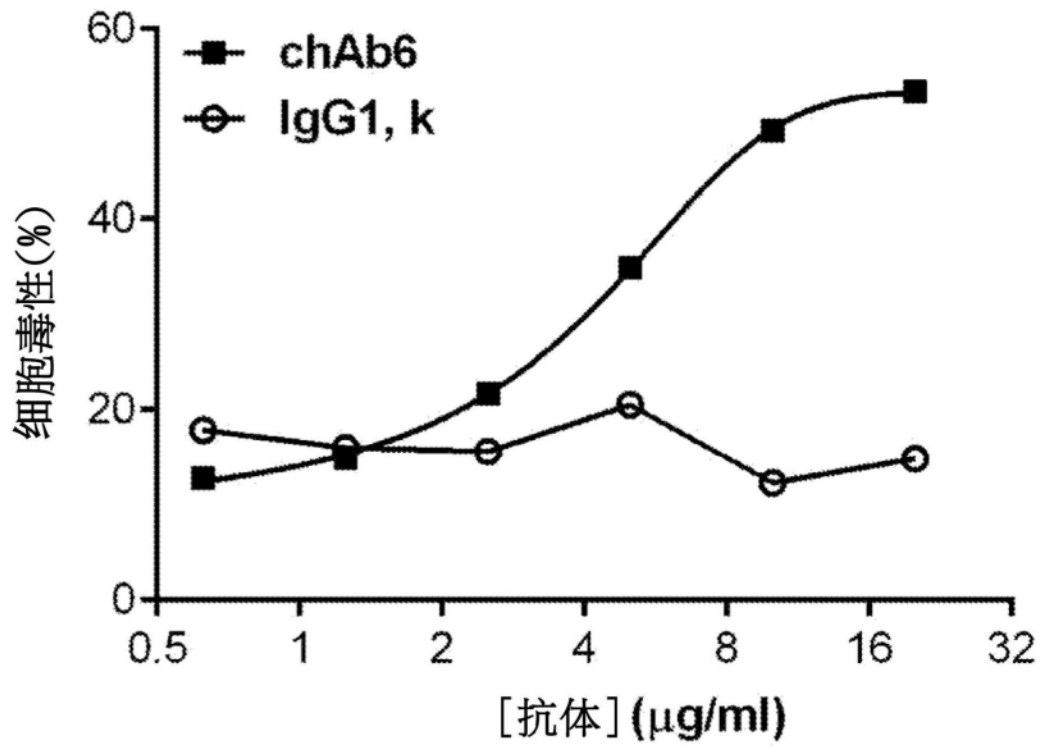


图15A

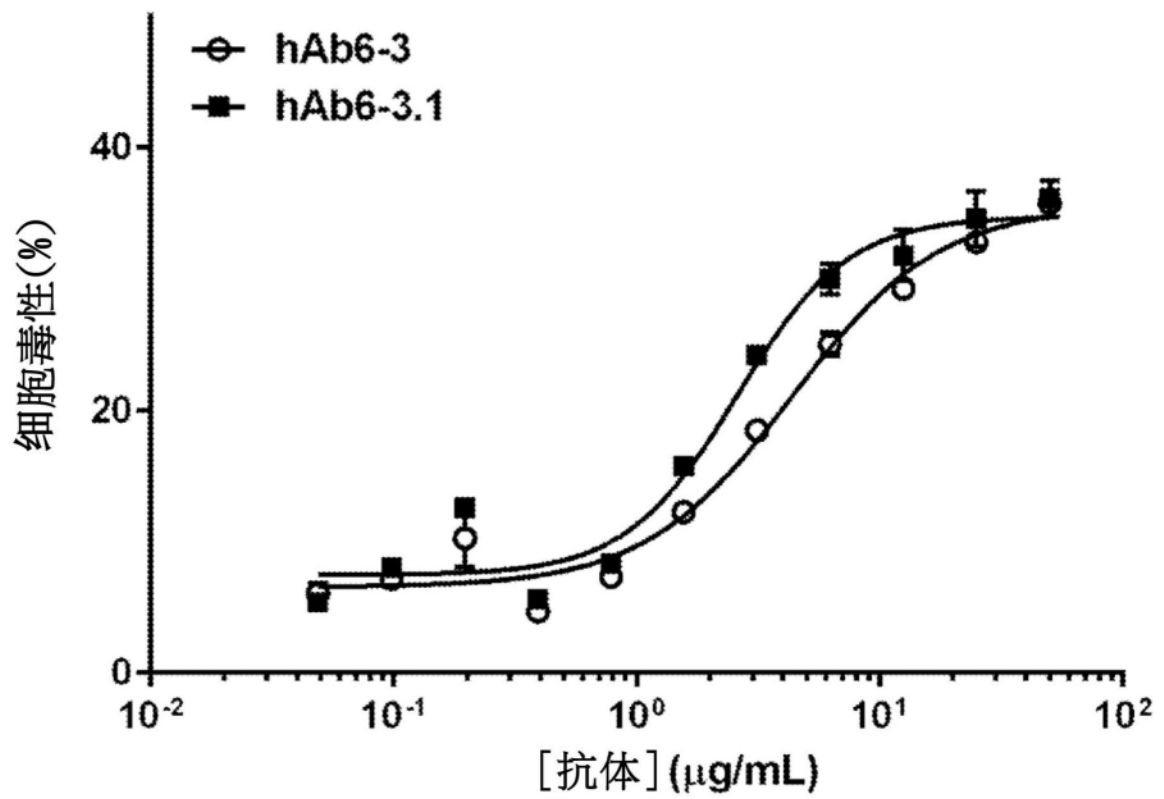


图15B

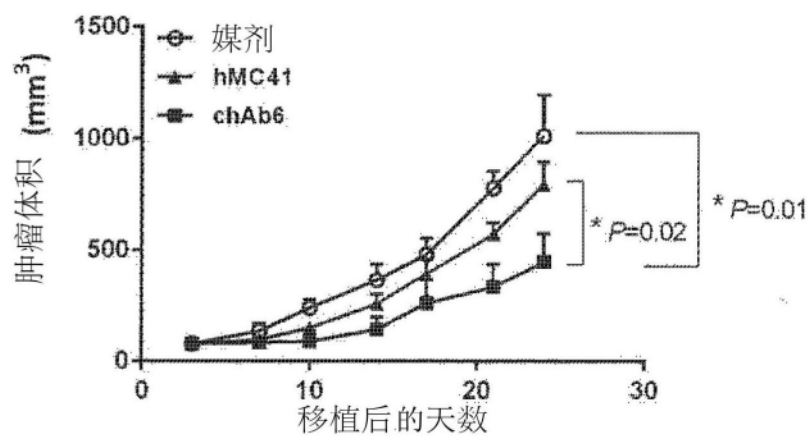


图16A

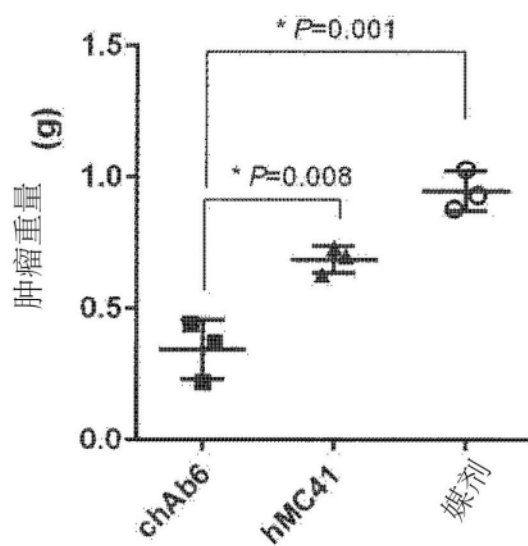


图16B

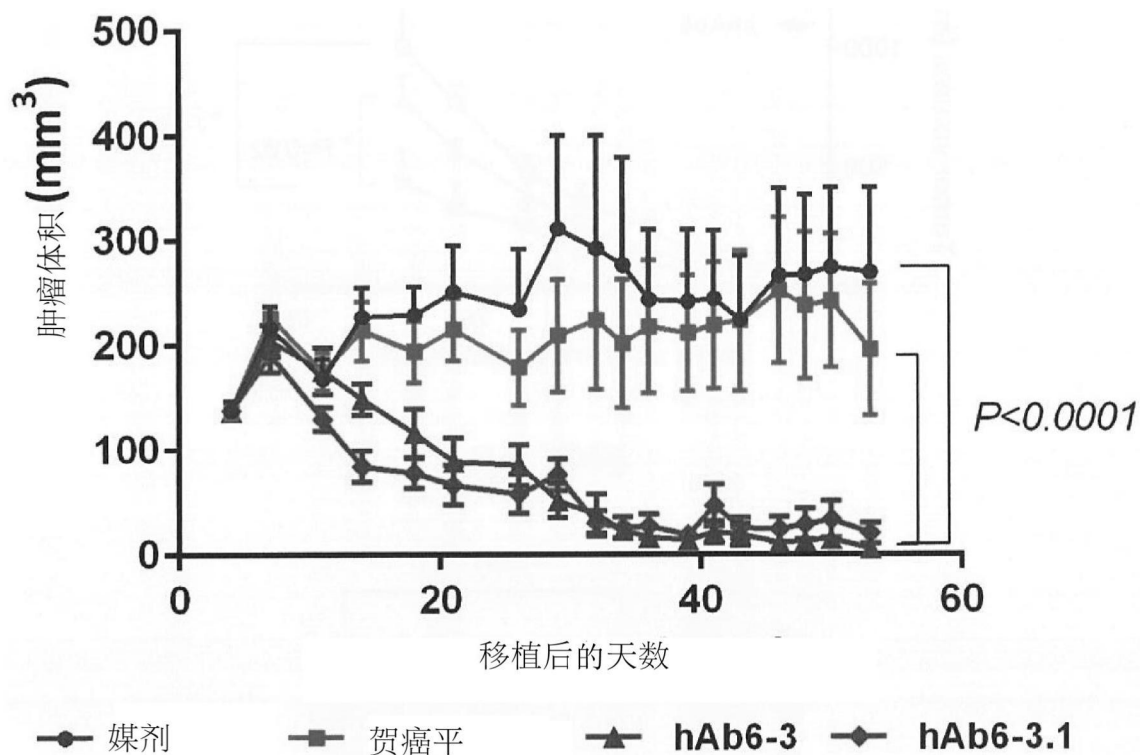


图17

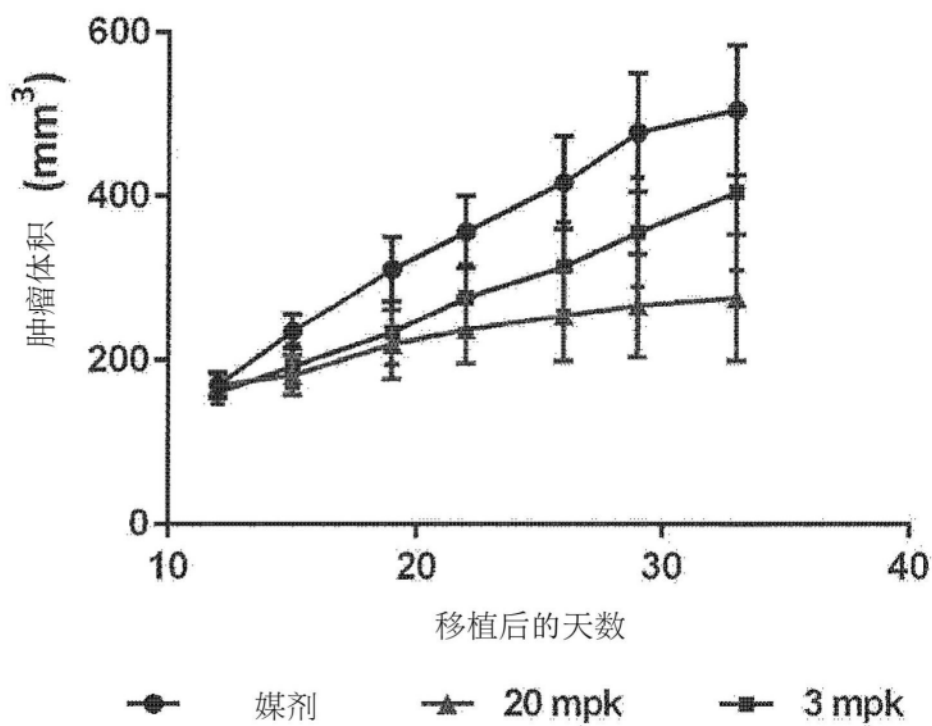


图18

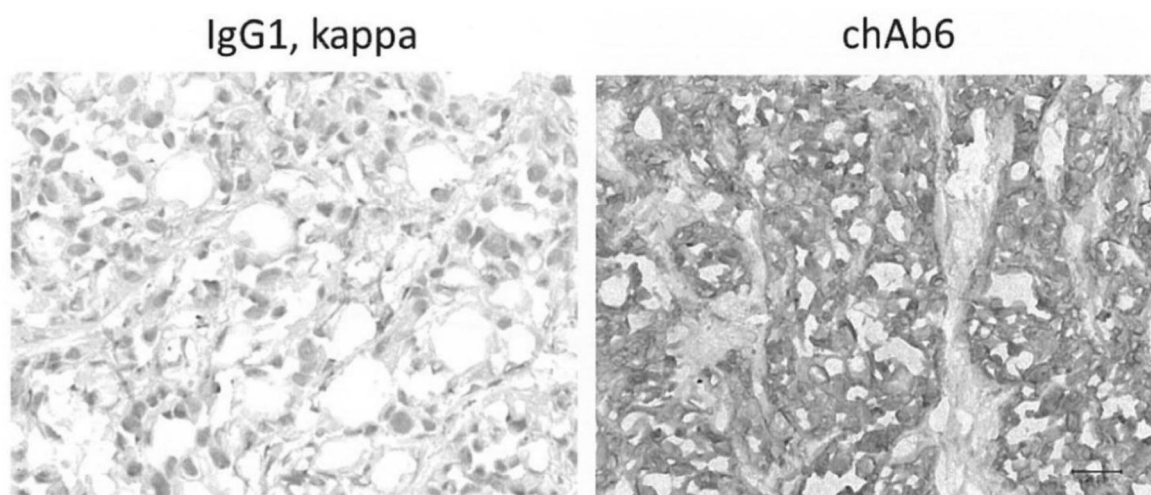


图19

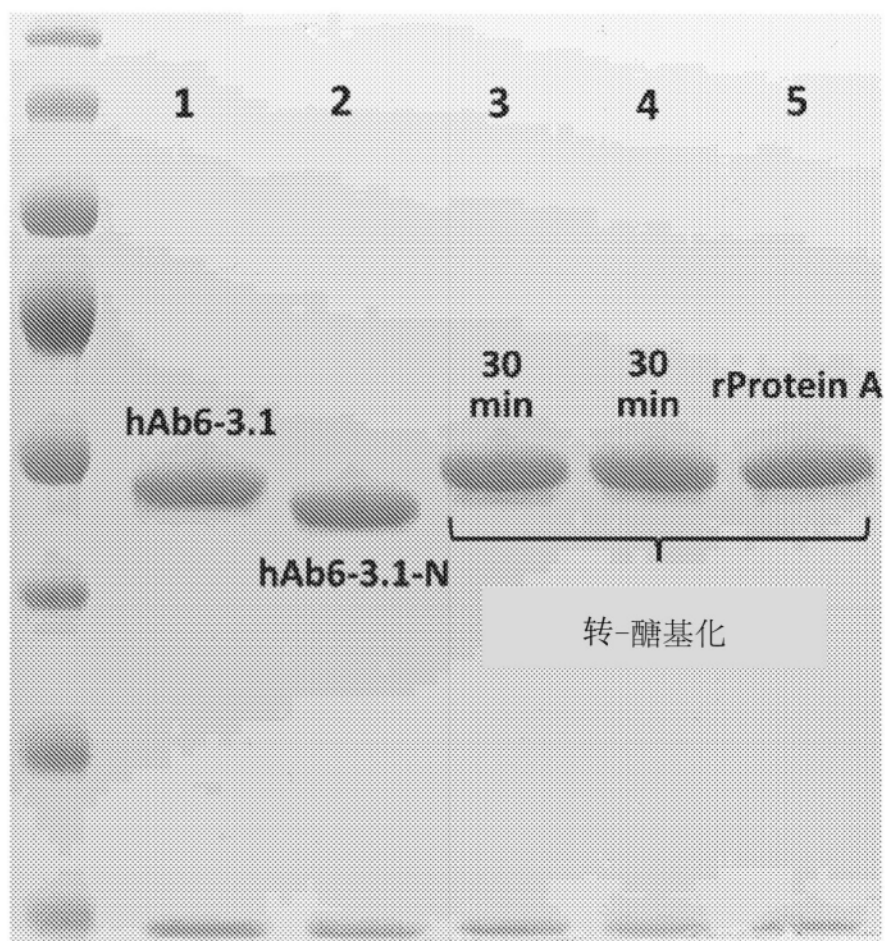


图20

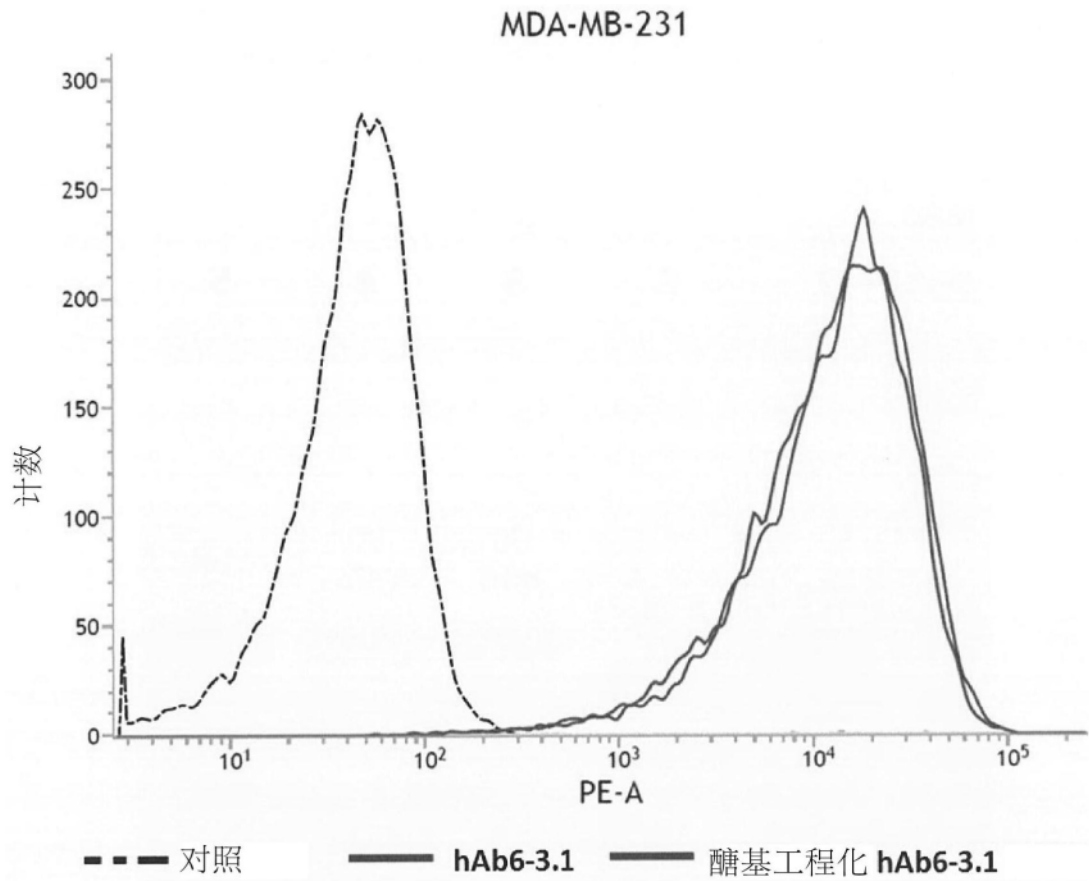


图21

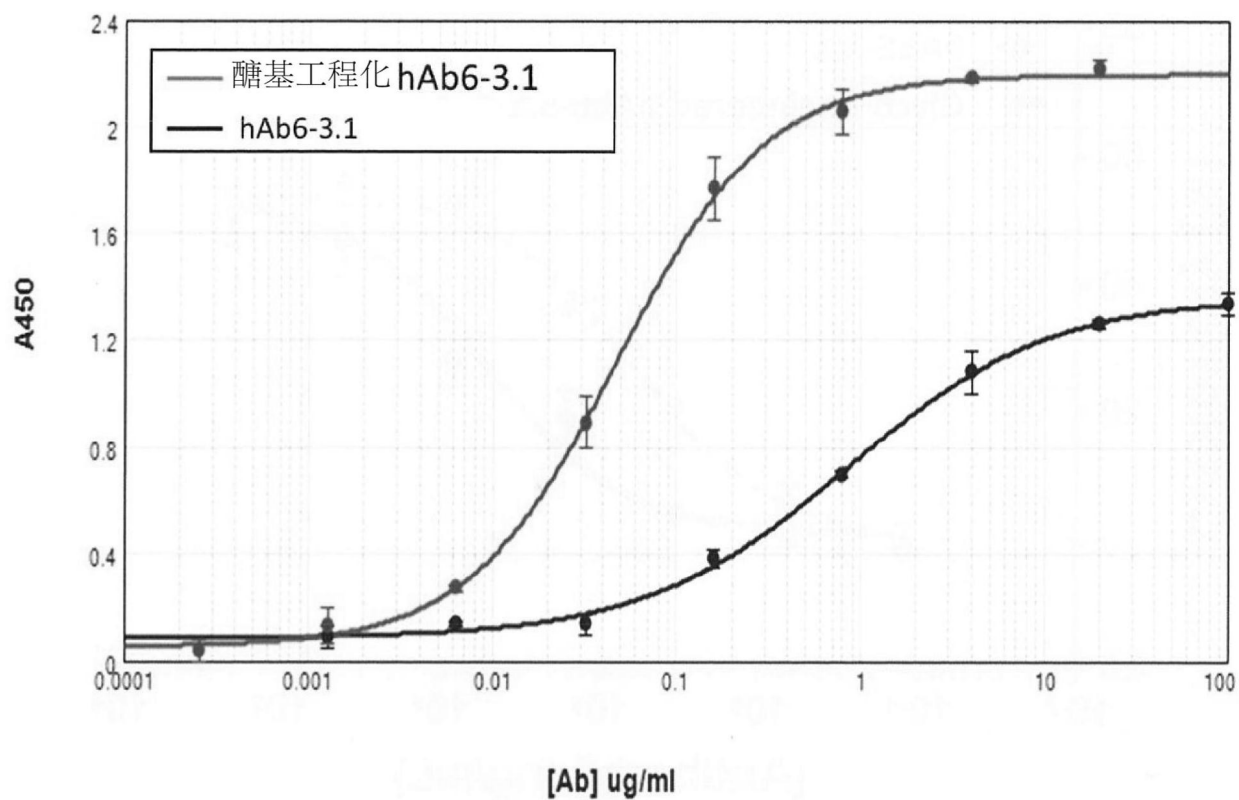


图22

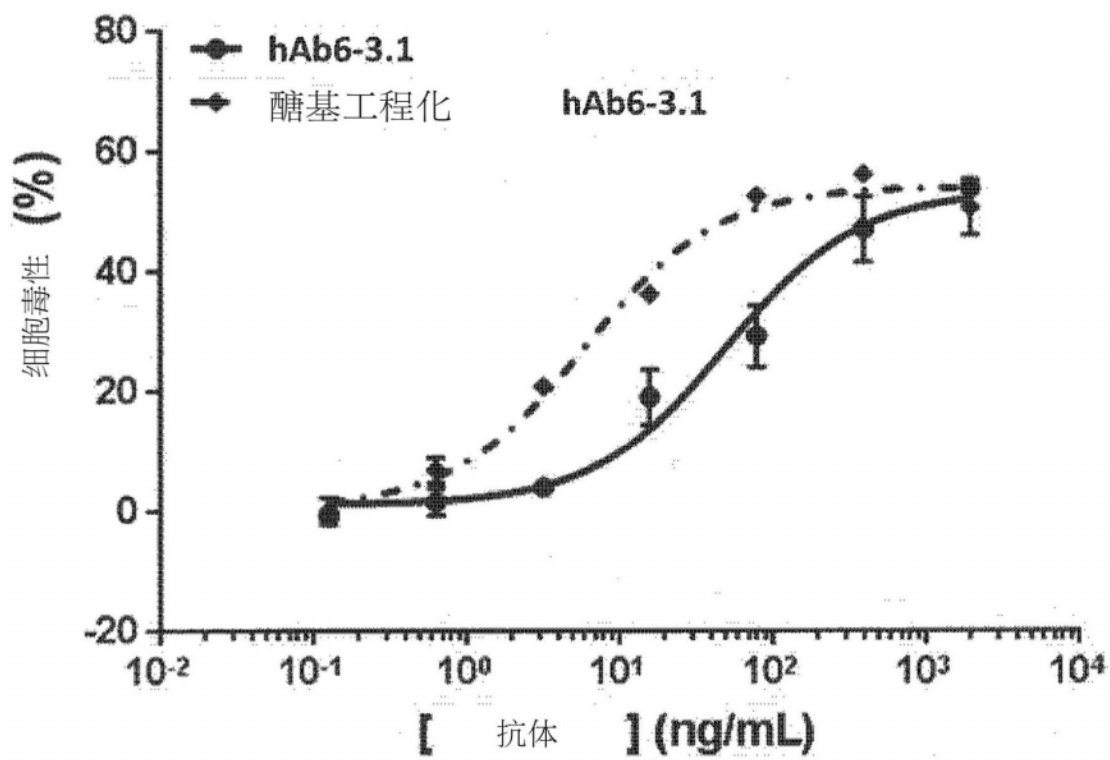


图23

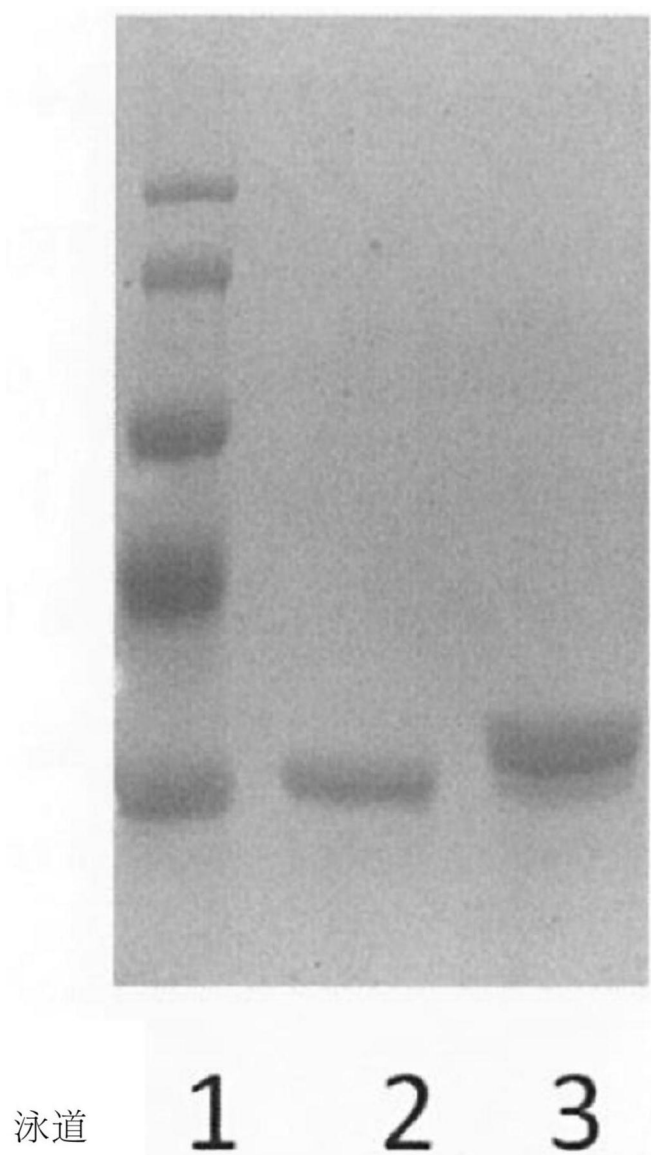


图24B

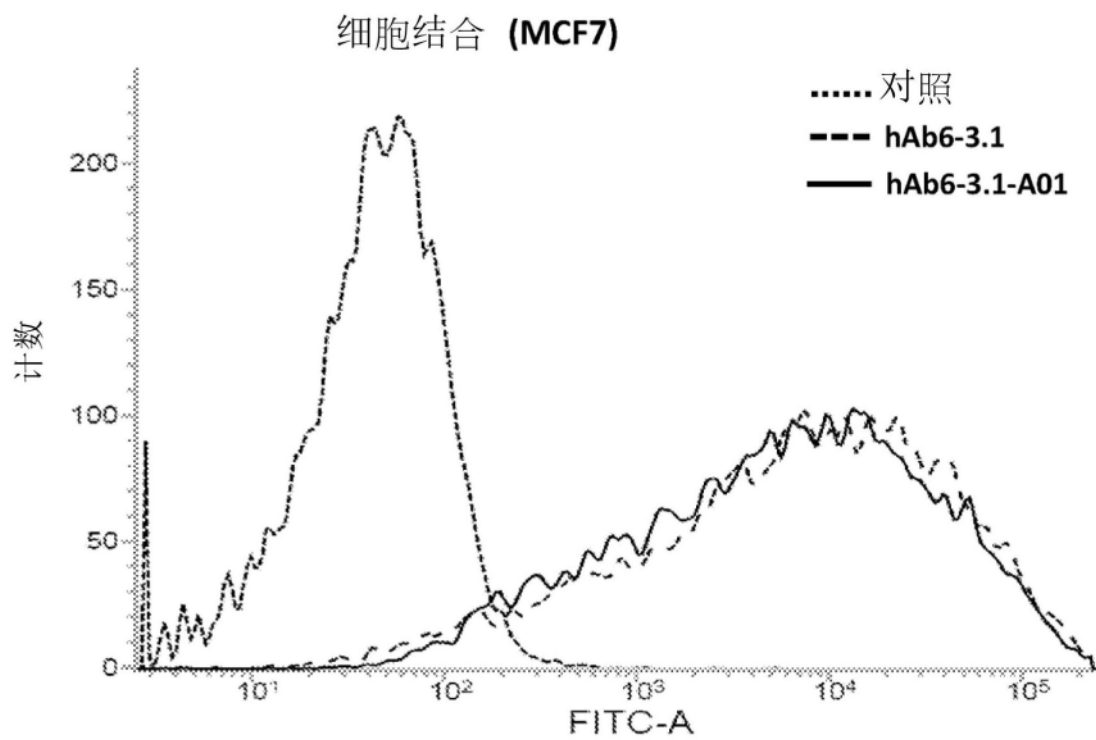


图25A

细胞结合 (SKOV3)

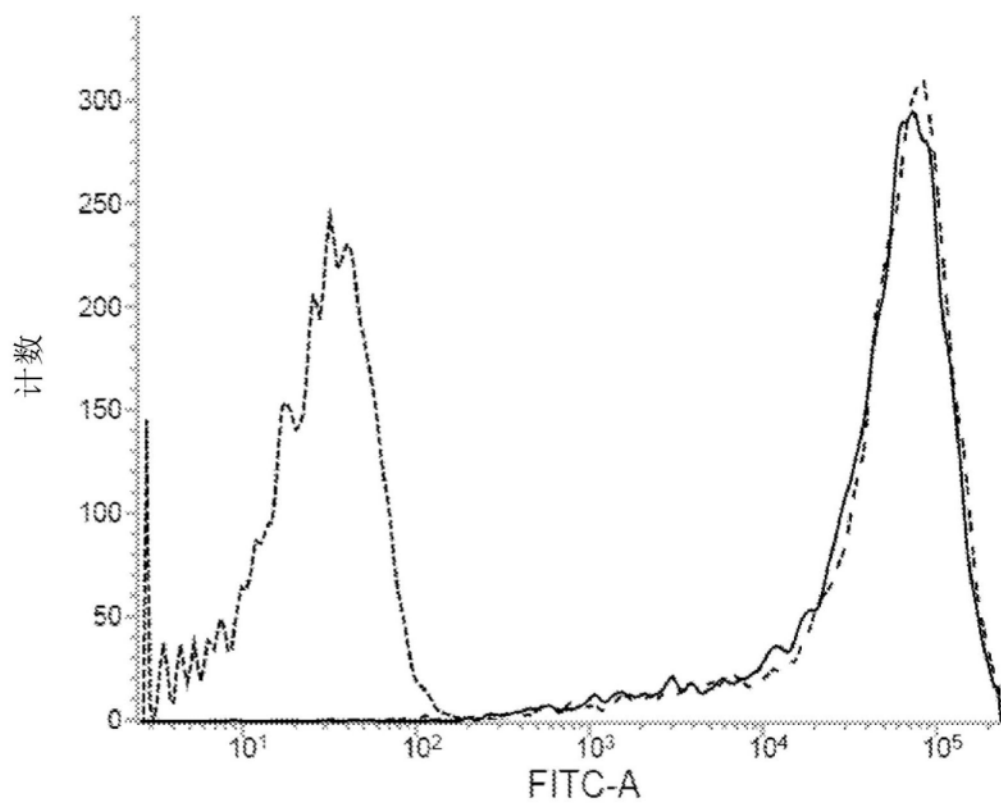


图25B

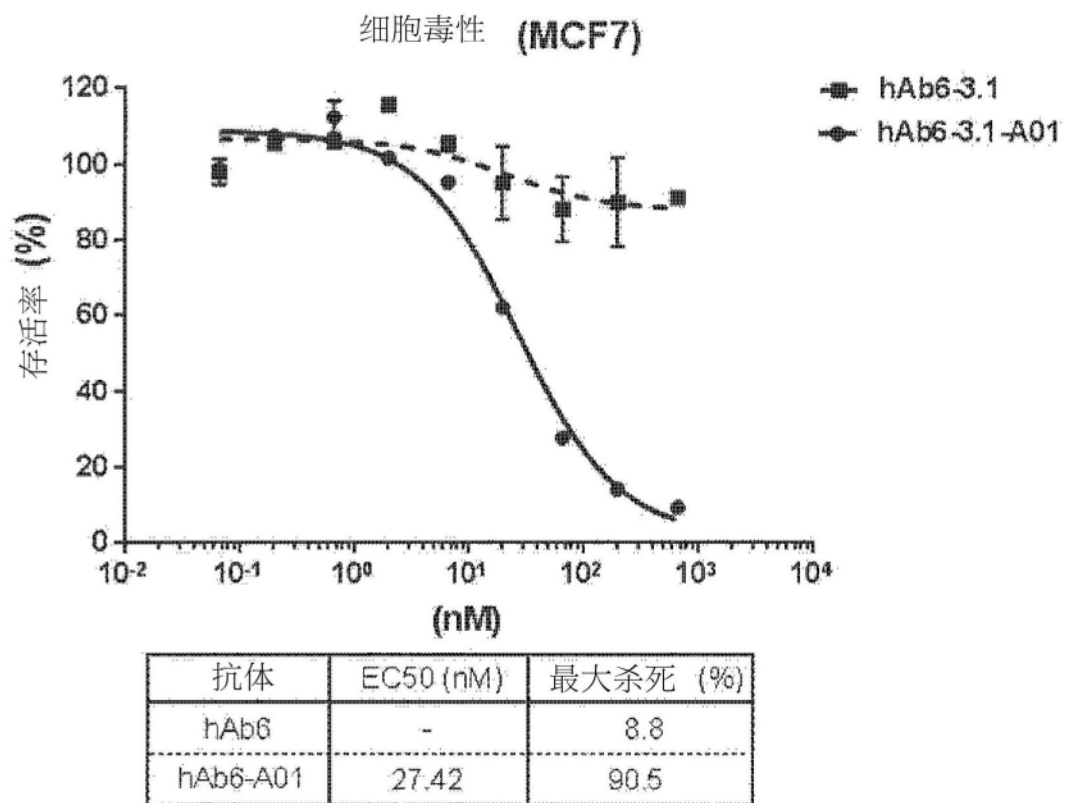


图26

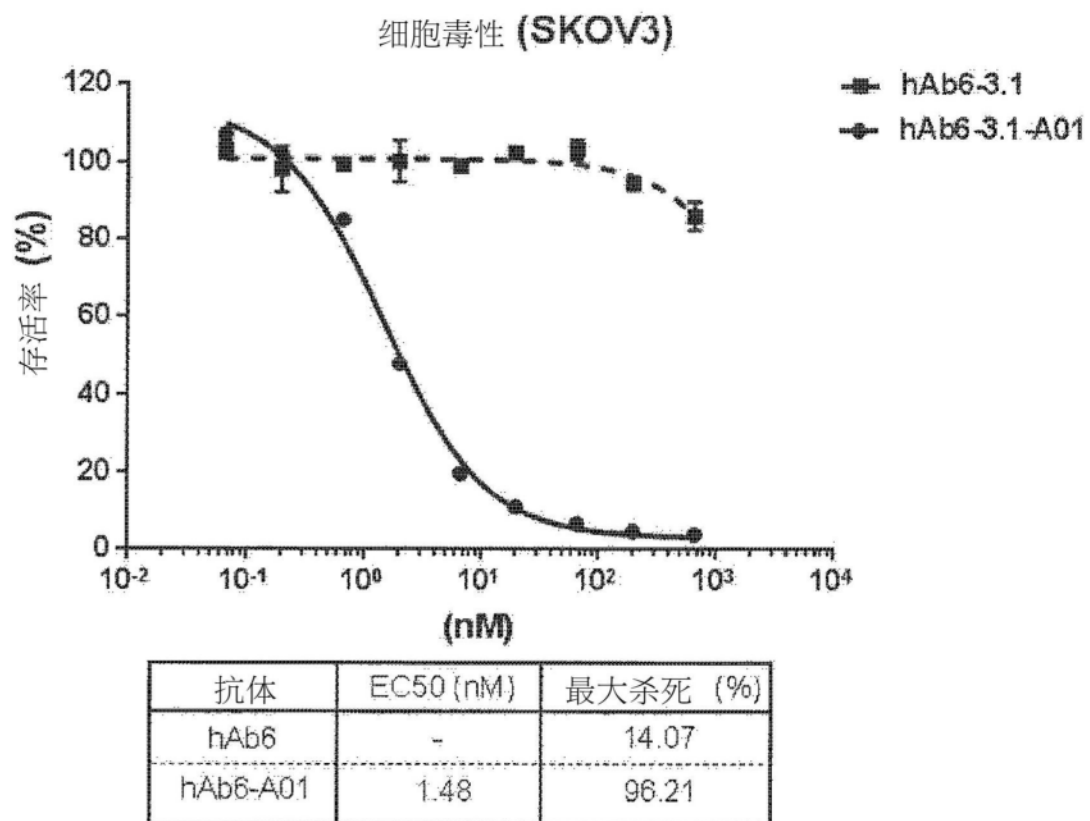


图27