



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I535734 B

(45)公告日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 01 日

(21)申請案號：100135799

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 10 月 03 日

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

C07K16/46 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/02 (2006.01)

A61P37/02 (2006.01)

(30)優先權：2010/10/04

歐洲專利局

10186468.4

(71)申請人：百靈佳殷格翰國際股份有限公司 (德國) BOEHRINGER INGELHEIM

INTERNATIONAL GMBH (DE)

德國

(72)發明人：克諾皮茲基 瑞納特 KONOPITZKY, RENATE (AT)；波傑斯 艾瑞克 BORGES, ERIC (DE)；亞當 保羅 ADAM, PAUL (GB)；海德 卡爾 漢茲 HEIDER, KARL-HEINZ (DE)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

Caron PC. et al. "Biological and immunological features of humanized M195 (anti-CD33) monoclonal antibodies." Cancer Res. 1992, 52(24):6761-7.

Caron PC. et al. "Murine and humanized constructs of monoclonal antibody M195 (anti-CD33) for the therapy of acute myelogenous leukemia." Cancer. 1994, 73(3 Suppl):1049-56.

Caron PC. et al. "Engineered humanized dimeric forms of IgG are more effective antibodies." J Exp Med. 1992, 176(4):1191-5.

審查人員：林佳慧

申請專利範圍項數：29 項 圖式數：5 共 154 頁

(54)名稱

CD 33 結合劑

CD33 BINDING AGENTS

(57)摘要

本發明係關於基於髓系細胞清除之免疫療法。本發明特別關於用於該等療法、例如用於治療髓系細胞惡性腫瘤及骨髓發育不良症候群(MDS)之 CD33 結合劑。

The present invention relates to immunotherapies that are based on myeloid cell depletion. In particular, the present invention relates to CD33 binding agents for use in such therapies, e.g. in the treatment of myeloid cell malignancies and myelodysplastic syndrome (MDS).

指定代表圖：

符號簡單說明：
(無元件符號說明)

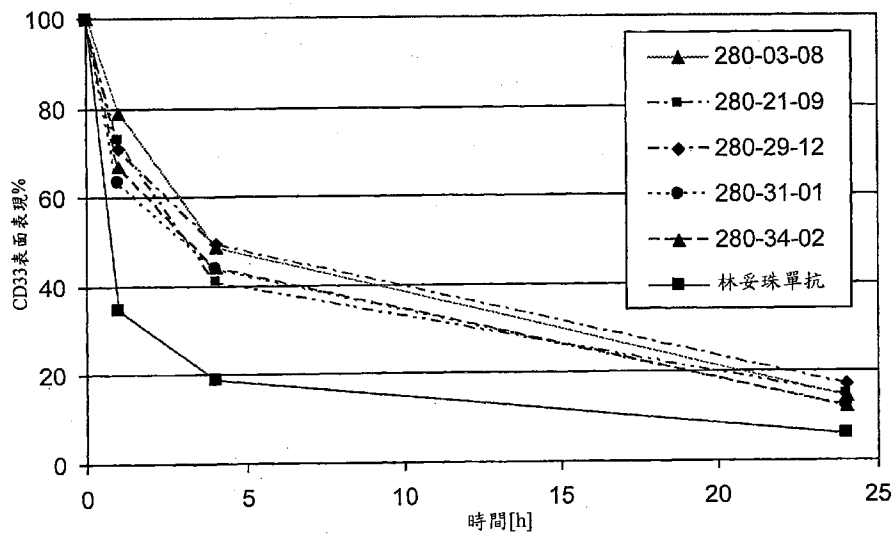
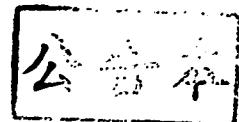


圖1

發明專利說明書



(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：100135799

※申請日：100.10.3

※IPC 分類：C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/46 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

A61K 39/395 (2006.01)

CD33結合劑

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

CD33 BINDING AGENTS

二、中文發明摘要：

本發明係關於基於髓系細胞清除之免疫療法。本發明特別關於用於該等療法、例如用於治療髓系細胞惡性腫瘤及骨髓發育不良症候群(MDS)之CD33結合劑。

三、英文發明摘要：

The present invention relates to immunotherapies that are based on myeloid cell depletion. In particular, the present invention relates to CD33 binding agents for use in such therapies, e.g. in the treatment of myeloid cell malignancies and myelodysplastic syndrome (MDS).

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於基於髓系細胞清除之免疫療法。具體而言，本發明係關於用於該等療法中之CD33結合劑，例如，用於治療髓系細胞惡性腫瘤及骨髓發育不良症候群(MDS)。

【先前技術】

在1980年代早期，將CD33鑒定為骨髓性白血病之標記(Andrews等人，Blood 62, 24-132, 1983)。CD33係在包括骨髓性白血病細胞在內之髓系細胞上特異性表現之細胞表面抗原。其係涎免凝集素(siglec)(結合唾液酸之Ig相關凝集素)家族之最小成員。CD33在早期多譜系造血祖細胞及骨髓單核細胞性前體上表現。其無多潛能造血幹細胞(Andrews等人，Journal of Experimental Medicine 169, 1721-1731, 1989)。其在成熟粒細胞上下調但保留於巨噬細胞、單核細胞及樹突細胞上(Andrews等人，Blood 62, 24-132, 1983)。除骨髓單核細胞性細胞外，發現CD33亦可在人類肥大細胞及血液嗜鹼性粒細胞上表現(Valent等人，Blood 15; 73 (7): 1778-85, 1989)。針對CD33之單株抗體用於診斷白血病以及用於治療性靶向及活體外吹掃骨髓用以急性骨髓性白血病(AML)中之自體移植(Duzkale等人，Biol Blood Marrow Transplant. 9 (6): 364-72, 2003)。治療性靶向之初始努力聚焦於使用與毒素蓖麻毒素偶聯之抗CD33抗體研發免疫毒素。由於CD33在結合抗體時快速內

化 (Audran 等人, J Immunol Methods. 188 (1): 147-54, 1995), 故免疫毒素方法顯而易見。

CD33 係 67 KD 跨膜糖蛋白。CD33 之結合唾液酸之細胞外結構域參與細胞-細胞黏著。細胞內免疫受體酪胺酸基抑制基元 (ITIM) 賦予細胞抑制信號, 從而影響增生及細胞存活。CD33 之實際信號傳導路徑缺乏瞭解但認為涉及 ITIM 及 ITIM 樣基元及酪胺酸磷酸酶之募集 (von Gunten 等人, Ann. N.Y. Acad. Sci. 1143: 61-82, 2008)。鼠類 CD33 直系同源基因已經定義但其與人類 CD33 之功能可比性仍受到質疑 (Brinkman-Van der Linden 等人, Mol Cell Biol., 23 (12): 4199-206, 2003)。人類 CD33 對正常及惡性白血球之功能作用仍未知。

若干出版物已闡述 CD33 係 70% 至 100% 測試患者在原代 AML 及 CML 細胞上表現之穩定細胞表面標記 (Plesa 等人, Cancer 112 (3), 572-80, 2007; Hauswirt 等人, Eur J Clin Invest. Jan 73-82, 2007; Scheinberg 等人, Leukemia, 第 3 卷, 440-445, 1989)。CD33 在惡性髓系母細胞 (其代表白血病患者之外周血及骨髓中的大多數惡性細胞) 及白血病幹細胞 (即骨髓中之相對較少數量之低分化細胞, 其特徵在於其能自我更新並維持白血病純系層級) 上表現。白血病幹細胞之清除被視為持久無腫瘤存活之關鍵機制。靶向 CD33 之免疫毒素 Mylotarg[®] (與毒素查敏素 (chaliceamicin) 偶聯之人類化 IgG₄ 抗體) 用於藉由將其毒性有效荷載遞送至 CD33 陽性 AML 細胞來治療 AML 患者 (Amadori 等人,

Cancer Treat Rev. 34 (1): 49-60, 2008)。在治療AML及MDS之II期臨床試驗中，利用得自I期劑量遞增研究之功效之初始臨床體徵及所報告之可耐受不良事件來評價林妥珠單抗(Lintuzumab)(SGN-33, HuM195, 「裸」CD33特異性人類化單株抗體)(Raza等人摘要第983號，EHA Congress，2009年6月4日至7日)。

利用CD33特異性HuM195活體外靶向AML細胞系會減少TNF- α 誘導之發炎性細胞因子(如IL-8、MCP-1及RANTES)之分泌(Sutherland等人，Mabs 1:5, 481-490, 2009)。針對AML療法之此效應的相關性尚未知，但調節腫瘤微環境之細胞因子環境可有利於抗體之治療功效。另外，抗體在活體外誘導AML細胞系之抗體依賴性細胞調介之細胞毒性(ADCC)及抗體依賴性細胞調介之吞噬作用(ADCP)(Sutherland等人，Mabs 1:5, 481-490, 2009)。將ADCC視為抗體之抗腫瘤活性在血液惡性腫瘤中之決定性機制。利用CD20特異性單株抗體利妥昔單抗(Rituximab)之臨床試驗的數據顯示，效應細胞調介之機制對關於響應於抗體治療之B細胞惡性腫瘤治療的重要性(Weng及Levy, J Clin Oncol. 21 (21): 3940-7, 2003)。

總之，已顯示，CD33抗原在骨髓單核細胞性譜系之正常細胞上表現且時常在骨髓性白血病中之腫瘤細胞上表現。在利用針對CD33之抗體(林妥珠單抗)的I期試驗中，觀察到功效之第一體徵而無嚴重不良事件。然而，在II期試驗與化學療法組合之結果不產生期望功效改良後，中斷

了林妥珠單抗之臨床研發。因此，顯然需要研發改良之靶向CD33之治療形式。

鑒於先前技術，需要提供用於髓系細胞惡性腫瘤及MDS、尤其急性骨髓性白血病之進一步改良之療法。

具體而言，需要提供用於治療癌症、尤其AML之針對CD33之進一步改良之拮抗結合劑。

【發明內容】

本發明提供結合人類CD33之新穎CD33結合劑，且其係藉由以下界定

- a) 具有包含CDR1、CDR2及CDR3之重鏈可變區及包含CDR4、CDR5及CDR6之輕鏈可變區，其中CDR1具有選自SeqID No:1-14之胺基酸序列，CDR2具有選自SeqID No:14-28之胺基酸序列，CDR3具有選自SeqID No:29-42之胺基酸序列，CDR4具有選自SeqID No:43-56之胺基酸序列，CDR5具有選自SeqID No:57-70之胺基酸序列，CDR6具有選自SeqID No:71-84之胺基酸序列，或
- b) 識別人類CD33之胺基酸序列FFHPIPYDKNSPVHGYW (SeqID No:141)內的表位。

本發明進一步提供CD33結合劑，其中CD33結合劑之內化動力學使得在培育後4小時抗體初始量之至少30%(較佳40%)保留於HL60細胞之細胞表面上。

本發明進一步提供CD33結合劑，其中重鏈可變區包含選自SeqID No:85-98之胺基酸序列且輕鏈可變區包含選自SeqID No:99-112之胺基酸序列。

本發明進一步提供CD33結合劑，其中重鏈具有選自SeqID No:113-126之胺基酸序列且輕鏈具有選自SeqID No:127-140之胺基酸序列。

本發明進一步提供在F_c結構域中具有可增強ADCC之突變的CD33結合劑。

在以下說明書及申請專利範圍中概述更佳實施例。

已發現本發明之CD33結合劑對人類CD33具有高親和力且進一步具有有利內化動力學，其特徵在於該等CD33結合劑在結合靶細胞表面上之CD33時可長期存在，此可轉變成有利ADCC活性。

本發明者亦已發現，與林妥珠單抗相比，本發明之CD33結合劑結合CD33之細胞外結構域的不同表位。不希望受限於任何特定理論，據信此為本發明之CD33結合劑與林妥珠單抗之不同內化動力學的原因。

【實施方式】

CD33結合劑

本文所用術語「結合劑」意指特異性結合靶抗原之蛋白質或肽。結合劑可為(例如)抗體、該抗體之衍生物或特異性結合靶抗原之另一試劑。結合劑亦可為包含Fv區或其一部分(例如，特異性結合靶抗原之抗體的V_H或V_L或CDR)之蛋白質。在本文之較佳實施例中，結合劑係抗體。

本文所用術語「CD33結合劑」係指特異性結合CD33、通常人類CD33之細胞外結構域之一部分的結合劑。

本文所用術語「抗體」係指(a)免疫球蛋白多肽及免疫球

蛋白多肽之免疫活性部分(即，含有免疫特異性結合特異性靶抗原之抗原結合位點的免疫球蛋白家族之多肽、或其片段)、或(b)免疫特異性結合靶抗原之該等免疫球蛋白多肽或片段的保守取代衍生物。抗體通常闡述於(例如)Harlow及Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988)中。術語「抗體」係指呈現期望生物活性(例如抗原結合)之完整單株抗體、多株抗體、單特異性抗體、多特異性抗體(例如，二特異性抗體)、及抗體片段。抗體可屬於任一類型或類別(例如，IgG、IgE、IgM、IgD及IgA)或子類(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)，較佳屬於IgG類、更佳IgG1。

「完整」抗體係視抗體類別需要包含抗原結合可變區以及輕鏈恆定結構域及重鏈恆定結構域者。恆定結構域可為天然序列恆定結構域(例如，人類天然序列恆定結構域)或其胺基酸序列變體。

「抗體片段」包含抗體之一部分，包括抗原結合區或可變區或其一部分。抗體片段之實例包括Fab、Fab'、F(ab')₂、及Fv片段、V_H及V_L抗原結合片段、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、單鏈抗體、scFv、scFv-Fc、SMTP、及自抗體片段形成之多特異性抗體。

「重鏈可變區」或「V_H」意指包含CDR1、CDR2及CDR3及周圍框架區之重鏈的部分。

「輕鏈可變區」或「V_L」意指包含CDR4、CDR5及CDR6及周圍框架區之輕鏈的部分。

「CDR」意指重鏈及輕鏈之超變區，其決定抗體或抗體片段之互補性/結合特異性。本申請案中CDR之次序僅係數字性的。

本文中之「表位」意指抗原之一部分，其由抗體或抗體片段識別。具體而言，此術語係指CD33中可由抗體識別之部分。

如本文所用「mAb」係指單株抗體。

抗體可具有一或多種「效應功能」，其係指彼等歸因於抗體之Fc區(天然序列Fc區或胺基酸序列變體Fc區)之生物活性。抗體效應功能之實例包括CIq結合；補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性細胞調介之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如，B細胞受體；BCR)之下調等。

「單鏈Fv」或「scFv」抗體片段包含抗體之 V_H 及 V_L 結構域，其中該等結構域存在於單一多肽鏈中。通常，Fv多肽進一步包含位於 V_H 與 V_L 結構域之間之多肽連接體，其使scFv能夠形成期望之抗原結合結構。scFv之綜述可參見Plückthun, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, 第113卷，Rosenburg及Moore編輯，Springer-Verlag, New York, 第269-315頁(1994)。

諸如「針對」、「結合」或「特異性結合」目標抗原(即靶抗原)之抗體等結合劑係能夠以足夠親和力結合該抗原以使該結合劑可用於靶向表現抗原之細胞者。通常，結合劑以至少約 $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 之親和力結合，且以比對結合除預定

抗原或緊密相關抗原外之非特異性抗原(例如，BSA、酪蛋白)之親和力大至少兩倍的親和力結合預定抗原。

如本文所用「抗體衍生物」係指如上文所定義之抗體，其係藉由共價連接異源分子(例如藉由連接異源多肽)、或藉由糖基化、去糖基化、乙醯化或磷酸化或通常與抗體無關之其他修飾進行修飾。在一些實施例中，異源分子並非治療劑。在一些實施例中，異源分子本身並不呈現細胞生長抑制或細胞毒性效應。

本文所用所有術語及程序之進一步全面參考文獻係 Sambrook 等人，*Molecular Cloning*，Cold Spring Harbor Laboratory Press；第3版(2001年1月15日)。

CD33結合劑特異性結合與給定靶細胞群締合之受體CD33。CD33係唾液酸黏附素家族之成員，其在造血譜系之細胞(包括髓系前體、單核細胞、巨噬細胞、樹突細胞及肥大細胞)上表現。CD33亦在與骨髓增生性或肥大細胞增生性疾病(包括急性骨髓性白血病及骨髓發育不良症候群)相關之腫瘤細胞、及白血病幹細胞上表現。已大體闡述靶向CD33之抗體及其用途(例如，參見Pierelli等人，1993，*Br. J. Haematol.* 84:24-30；Matutes等人，1985，*Hematol. Oncol.* 3: 179-186；Taussig等人，2005，*Blood* 106:4086-4092；Florian等人，2006，*Leuk. & Lymph.* 47: 207-222)。

在一些實施例中，CD33結合劑係抗體(例如單株抗體)。有用之單株抗體可為與CD33(例如，人類CD33之細胞外結

構域)同源之抗體群組。單株抗體(mAb)可藉由使用業內已知之任一技術製得。該等技術包括但不限於最初由Köhler及Milstein (1975, *Nature* 256:495-497)闡述之雜交瘤技術、人類B細胞雜交瘤技術(Kozbor等人, 1983, *Immunology Today* 4:72)、及EBV-雜交瘤技術(Cole等人, 1985, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss公司, 第77-96頁)。該等抗體可屬於任一免疫球蛋白類別, 包括IgG、IgM、IgE、IgA及IgD及其任一子類。可活體外或活體內培養產生單株抗體之雜交瘤。

有用之單株抗體包括但不限於人類單株抗體、人類化單株抗體、嵌合單株抗體及該等中之任一者之功能活性抗體片段。

有用之CD33抗體包括可藉由業內已知之各種機制(例如抗體依賴性細胞調介之細胞毒性(ADCC)、抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)及/或補體依賴性細胞毒性(CDC))達成治療效應之抗體。舉例而言, 抗體可藉由與免疫效應細胞(例如NK細胞、單核細胞及巨噬細胞)相互作用來調介ADCC。

重組抗體(例如嵌合及人類化單株抗體)包含人類及非人類部分, 其可使用標準重組DNA技術製得。(例如, 參見Cabilly等人, 美國專利第4,816,567號; 及Boss等人, 美國專利第4,816,397號; 兩個案件之全文皆以引用方式併入本文中)。「人類化抗體」係具有非人類物種之一或多個互補決定區(CDR)及人類免疫球蛋白分子之框架區之非人類物

種的抗體分子。(例如，參見Queen，美國專利第5,585,089號；該案件之全文以引用方式併入本文中)。該等嵌合及人類化單株抗體可藉由業內已知之重組DNA技術、例如使用以下中所闡述方法產生：國際公開案第WO 87/02671號；歐洲專利公開案第0184187號；歐洲專利公開案第0171496號；歐洲專利公開案第0173494號；國際公開案第WO 86/01533號；美國專利第4,816,567號；歐洲專利公開案第012023號；Berter等人，1988, Science 240:1041-1043；Liu等人，1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439-3443；Liu等人，1987, J. Immunol. 139:3521-3526；Sun等人，1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214-218；Nishimura等人，1987, Cancer. Res. 47:999-1005；Wood等人，1985, Nature 314:446-449；Shaw等人，1988, J. Natl. Cancer Inst. 80: 1553-1559；Morrison, 1985, Science 229: 1202-1207；Oi等人，1986, BioTechniques 4:214；美國專利第5,225,539號；Jones等人，1986, Nature 321:552-525；Verhoeyan等人，1988, Science 239:1534；及Beidler等人，1988, J. Immunol. 141:4053-4060：每一案件之全文皆以引用方式併入本文中。

人類單株抗體可藉由業內已知之各種技術中之任一者製得(例如，參見Teng等人，1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80:7308-7312；Kozbor等人，1983, Immunology Today 4:72-79；Olsson等人，1982, Meth. Enzymol. 92:3-16；及美國專利第5,939,598號及第5,770,429號)。

完全人類抗體可使用不能表現內源性免疫球蛋白重鏈及輕鏈基因但可表現人類重鏈及輕鏈基因之轉基因小鼠產生。以正常方式利用所選抗原(例如，CD33多肽之全部或一部分)對轉基因小鼠進行免疫。可使用習用雜交瘤技術獲得針對抗原之單株抗體。轉基因小鼠含有之人類免疫球蛋白轉基因在B細胞分化期間重排，且隨後經受類別轉換及體細胞突變。因此，可使用該技術產生治療有用之IgG、IgA、IgM及IgE抗體。關於產生人類抗體之此技術之綜述，參見(例如)Lonberg及Huszar (1995, *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93)。關於產生人類抗體及人類單株抗體之此技術及產生該等抗體之方案的詳細論述，參見(例如)美國專利第5,625,126號；第5,633,425號；第5,569,825號；第5,661,016號；及第5,545,806號。其他人類抗體可購自(例如)Medarex (Princeton, NJ)，其係藉由對小鼠進行免疫獲得。

亦可使用稱作「導向選擇」之技術生成識別所選表位之完全人類抗體。在此方法中，所選非人類單株抗體(例如小鼠抗體)用於引導識別相同表位之完全人類抗體的選擇。(例如，參見Jespers等人，1994, *Biotechnology* 12:899-903)。人類抗體亦可使用業內已知之各種技術(包括噬菌體展示文庫)產生(例如，參見Hoogenboom及Winter, 1991, *J. Mol. Biol.* 227:381; Marks等人，1991, *J. Mol. Biol.* 222:581; Quan及Carter, 2002, *The rise of monoclonal antibodies as therapeutics*, In *Anti-IgE and Allergic*

Disease, Jardieu及Fick Jr.編輯，Marcel Dekker, New York, NY，第20章，第427-469頁)。

有用之抗體片段包括但不限於F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv、單鏈抗體(SCA)(例如，如美國專利第4,946,778號：Bird, 1988, Science 242:423-42；Huston等人，1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883；及Ward等人1989，Nature 334:544-54中所述)、scFv、scFv-Fc、FvdsFv、微小抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、SMIP(例如，參見已公開美國專利申請案第2005-0238646號)及包含一或多個CDR且具有與抗體相同特異性之任一其他分子。

在其他實施例中，抗體係連結另一蛋白質之抗體之融合蛋白、或其功能活性片段。舉例而言，抗體或抗體片段可經由共價鍵(例如，肽鍵)在N末端或C末端與不為該抗體或抗體片段之另一蛋白質(或其部分，通常蛋白質之至少10、20或50個胺基酸部分)之胺基酸序列融合。在一些實施例中，抗體或其片段可在可變結構域或恆定結構域之C末端共價連接另一蛋白質。

抗體可藉由例如共價連接任一類型之分子來修飾，只要該共價連接允許抗體保留其結合抗原之免疫特異性。舉例而言，抗體之衍生物可為已經以下進一步修飾者：例如糖基化、去糖基化、乙醯化、聚乙二醇化、磷酸化、醯胺化、由已知保護/阻斷基團去現實化(derealization)、溶蛋白性裂解、與另一蛋白質鍵聯等。多種化學修飾之任一者

可藉由已知技術實施，包括(但不限於)特異性化學裂解、乙醯化、甲醯化、在衣黴素(tunicamycin)存在下之代謝合成，或諸如此類。另外，該衍生物可含有一或多個非天然胺基酸。

在具體實施例中，可能期望改良該抗體之結合親和性及/或其他生物特性。(例如，參見美國專利公開案第2006-0003412號及第2006-0008882號)。該等抗體之胺基酸序列變體係由向該抗體核酸中引入適宜核苷酸變化或由肽合成而製備。此等修飾包括例如該抗體之胺基酸序列中殘基之缺失及/或插入及/或取代。實施缺失、插入及/或取代之任一組合以獲得最終構造物，前提係最終構造物具有期望特徵。胺基酸變化亦可改變抗體之轉譯後過程，例如改變糖基化位點之數量或位置。

一種用於鑒定抗體中有利誘變位置之某些殘基或區域之有用方法稱為「丙胺酸掃描誘變」，如Cunningham及Wells (1989, Science 244: 1081-1085)中所述。此處，鑒定目標殘基之一個殘基或基團(例如帶電荷殘基，諸如arg、asp、his、lys及glu)並由一個中性或帶負電荷胺基酸(通常為丙胺酸或多丙胺酸)替代以影響該等胺基酸與抗原之相互作用。然後藉由在取代位點或針對取代位點引入另外或其他變體來改良該等顯示對取代具有功能敏感性之胺基酸位置。因此，在預定引入胺基酸序列變異之位點時，突變本身之性質無需預定。舉例而言，為分析給定位點突變之性能，在目標密碼子或區實施丙胺酸掃描誘變或隨機誘變並

以期望活性篩選所表現之抗體變體。

胺基酸序列插入可包括胺基及/或羧基-末端融合(長度介於1個殘基至含有上百或更多殘基之多肽的範圍內)以及單個或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有N-末端甲硫胺醯基殘基之抗體或與細胞毒性多肽融合之抗體。

另一類型之抗體係抗體之胺基酸取代變體。此等變體係抗體分子中至少一個胺基酸殘基為不同殘基所替代之變體。用於取代誘變之最受關注的位點包括超變區，但亦涵蓋框架區改變。

對抗體生物特性之實質修飾可藉由選擇在保持下列特徵之作用方面顯著不同的取代來實現：(a)取代區域中多肽主鏈之結構，例如，呈薄板或螺旋構象；(b)靶位點處分子之電荷或疏水性，或(c)側鏈之大小。根據常見側鏈特性將天然殘基分為以下各類：

- (1)疏水性：正白胺酸、met、ala、val、leu、ile；
- (2)中性親水性：cys、ser、thr；
- (3)酸性：asp、glu；
- (4)鹼性：asn、gin、his、lys、arg；
- (5)影響鏈取向之殘基：gly、pro；及
- (6)芳香族：trp、tyr、phe。

非保守性取代使得需要將該等類別中一者之成員交換為另一類別。

期望修飾抗體之效應功能以(例如)增強抗體之抗體依賴

性細胞調介之細胞毒性(ADCC)、抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)。具體而言，可藉由在抗體之恆定區中引入胺基酸突變來增強ADCC活性(Lazar等人，PNAS 103, 11, 4005-4010, 2006)。此可藉由在抗體之Fc區中引入一或多個胺基酸取代來達成，例如，參見已公開之美國專利申請案第2006-0160996號。或者或另外，可在Fc區中引入半胱胺酸殘基，藉此在此區中形成鏈間二硫鍵。由此產生之同源二聚體抗體可具有改良之內化能力及/或增強之CDC及ADCC。(例如，參見Caron等人，1992, J Exp. Med 176:1191-1195；及Shopes, 1992, J. Immunol. 148:2918-2922)。具有增強之抗腫瘤活性之同源二聚體抗體亦可使用異型雙功能交聯劑製得，如Wolff等人，1993, Cancer Research 53:2560-2565中所述，或者，可改造具有雙Fc區之抗體，該抗體藉此具有增強之補體溶解及ADCC能力。(例如，參見Stevenson等人，1989, Anti-Cancer Drug Design 3:219-230)。

業內已在科學文獻及專利文件二者中提出多種對Fc區之修飾，例如EP 0307434、WO 9304173、WO 9734631、WO 9744362、WO 9805787、WO 9943713、WO 9951642、WO 9958572、WO 02060919、WO 03074679、WO 2004016750、WO 2004029207、WO 2004063351、WO 2004074455、WO 2004035752、WO 2004099249、WO 2005077981、WO 2005092925、WO 2006019447、WO 2006031994、WO 2006047350、WO 2006053301、WO 2006088494及WO

2007041635。

在較佳實施例中，本發明抗體係在位置332及/或239及/或236處具有胺基酸取代之Fc變體。在較佳實施例中，本發明抗體在Fc結構域中具有選自以下之群之突變

- i) 位置332處之單一取代，較佳I332E；
- ii) 位置239及332處之取代之組合，較佳S239D/I332E；
- iii) 位置236及332處之取代之組合，較佳G236A/ I332E；
- iv) 位置236、239及332處之取代之組合，較佳G236A/S239D/I332E。

在此上下文中，根據Kabat EU編號索引尤佳在Fc結構域中選自位置332及/或239及/或236處之胺基酸之一或多個位置處引入突變。位置239及332處之取代、尤其S239D/I332E尤佳。

根據構成本發明抗體中之Fc變體之胺基酸修飾對其進行界定。因此，舉例而言，I332E係相對親本Fc多肽具有取代I332E之Fc變體。同樣，S239D/I332E界定相對於親本Fc多肽具有取代S239D之Fc變體且I332E及S239D/I332E/G236A界定具有取代S239D、I332E及G236A之Fc變體。

為延長抗體之血清半衰期，例如，可向抗體(尤其抗體片段)中納入補救受體結合表位，如美國專利第5,739,277號中所述。本文所用術語「補救受體結合表位」係指負責延長IgG分子之活體內血清半衰期之IgG分子(例如，IgG₁、IgG₂、IgG₃或IgG₄)Fc區的表位。

抗體可在其恆定區中之保守位置處糖基化(例如，參見

Jefferis及Lund, 1997, Chem. Immunol. 65:11 1-128; Wright及Morrison, 1997, TibTECH 15:26-32)。免疫球蛋白之寡糖側鏈可影響蛋白質之功能(例如, 參見Boyd等人, 1996, Mol. Immunol. 32: 1311-1318; Wittwe及Howard, 1990, Biochem. 29:4175-4180), 及糖蛋白各部分之間之分子內相互作用, 其可影響構象並提供糖蛋白之三維表面(例如, 參見Jefferis及Lund, 同上; Wyss及Wagner, 1996, Current Opin. Biotech. 7:409-416)。寡糖亦可用於將給定糖蛋白靶向某些基於特定識別結構之分子。舉例而言, 已報告, 在半乳糖化IgG中, 寡糖部分「翻轉」出內部-CH₂空間且末端N-乙醯葡萄糖胺殘基可用於結合甘露糖結合蛋白(例如, 參見Malhotra等人, 1995, Nature Med. 1: 237-243)。由糖肽酶自中國倉鼠卵巢(CHO)細胞中產生之CAMPATH-1H(重組人類化鼠類單株IgG1抗體, 其識別人類淋巴細胞之CDw52抗原)移除寡糖可完全降低補體調介之溶解(CMCL或CDC)(Boyd等人, 1996, Mol. Immunol. 32:131, 1-1318), 而使用神經胺酸酶選擇性移除唾液酸不降低CMCL。亦報告, 抗體之糖基化可影響ADCC。具體而言, 據報告, 具有 $\beta(1.4)$ -N-乙醯胺基葡萄糖轉移酶III(GnTIII)(催化等分GlcNAc形成之糖基轉移酶)之四環素調控表現的CHO細胞具有改良之ADCC活性(例如, 參見Umana等人, 1999, Nature Biotech. 17: 176-180)。

抗體之糖基化通常係N-連接或O-連接。N-連接係指碳水化合物部分連接至天冬醯胺殘基側鏈。三肽序列天冬醯

胺-X-絲胺酸及天冬醯胺-X-蘇胺酸(其中X係除脯胺酸外之任何胺基酸)係碳水化合物部分與天冬醯胺側鏈酶促連接之識別序列。因此，多肽中存在該等三肽序列中之任一者均可產生潛在糖基化位點。O-連接之糖基化係指糖N-乙醯基半乳糖胺、半乳糖或木糖中之一與羥基胺基酸(最常見為絲胺酸或蘇胺酸，但亦可使用5-羥基脯胺酸或5-羥基離胺酸)之連接。

抗體之糖基化變體係改變抗體之糖基化模式的變體。改變意指清除抗體中發現之一或多個碳水化合物部分、向抗體中增加一或多個碳水化合物部分、改變糖基化之組成(即糖基化模式)、糖基化程度或諸如此類。

可藉由改變胺基酸序列而使抗體中含有一或多個上述三肽序列(對於N-連接糖基化位點)來將糖基化位點容易地加入抗體中。亦可藉由在原始抗體序列中添加一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基(或用一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基取代)來達成改變(對於O-連接糖基化位點)。類似地，可藉由抗體之天然糖基化位點內之胺基酸改變完成糖基化位點之移除。

通常藉由改變基本核酸序列改變胺基酸序列。該等方法包括但不限於先前製備變體或非變體形式之抗體的自天然來源分離(在天然胺基酸序列變體之情形下)或藉由寡核苷酸調介(或定點)之突變製備、PCR突變、或盒式突變。

亦可改變抗體之糖基化(包括糖基化模式)，而不改變胺基酸序列或基本核苷酸序列。糖基化在很大程度上取決於

用於表現抗體之宿主細胞。由於用於表現作為潛在治療劑之重組糖蛋白(例如抗體)的細胞類型很少為天然細胞，故可期望抗體之糖基化模式的顯著變化。(例如，參見Hse等人，1997, Biol. Chem. 272:9062-9070)。除宿主細胞之選擇外，在抗體之重組產生期間影響糖基化之因素亦包括生長模式、培養基配方、培養密度、氧合、pH、純化方案及諸如此類。已提出改變特定宿主有機體中達成之糖基化模式的各種方法(包括引入涉及寡糖產生之某些酶或使其過表現)(例如，參見美國專利第5,047,335號；第5,510,261號；第5,278,299號)。可使用(例如)糖苷內切酶H (Endo H)以酶方式自糖蛋白移除糖基化、或某些類型之糖基化。另外，可遺傳改造重組宿主細胞，例如，使某些類型之多糖之處理產生缺陷。該等技術及類似技術已為業內所熟知。

可藉由習用碳水化合物分析技術(包括凝集素層析、NMR、質譜法、HPLC、GPC、單糖組成分析、依序酶消化、及基於電荷使用高pH陰離子交換層析分離寡糖之HPAEC-PAD)容易地分析抗體之糖基化結構。出於分析目的釋放寡糖之方法亦已知，且包括(但不限於)酶處理(通常使用肽-N-糖苷酶F/內- β -半乳糖苷酶實施)、使用苛刻鹼環境以主要釋放O-連接之結構的消除、及使用無水肼肼釋放N-連接及O-連接寡糖之化學方法。

抗體中胺基酸殘基亦可具有與Fc受體相互作用之修改(例如，取代、缺失或添加)。具體而言，抗體中胺基酸殘基可具有鑑別為涉及抗Fc結構域與FcRn受體之間之相互作

用的修改(例如，參見國際公開案第WO 97/34631號)。

在本發明之最寬廣態樣中，本發明係關於結合類CD33之CD33結合劑，且其係藉由以下界定

- a) 具有包含CDR1、CDR2及CDR3之重鏈可變區及包含CDR4、CDR5及CDR6之輕鏈可變區，其中CDR1具有選自SeqID No:1-14之胺基酸序列，CDR2具有選自SeqID No:15-28之胺基酸序列，CDR3具有選自SeqID No:29-42之胺基酸序列，CDR4具有選自SeqID No:43-56之胺基酸序列，CDR5具有選自SeqID No:57-70之胺基酸序列，CDR6具有選自SeqID No:71-84之胺基酸序列，或
- b) 識別人類CD33之胺基酸序列FFHPIPYDYDKNSPVHGYW (SeqID No: 141)內的表位。

本發明進一步提供CD33結合劑，其中CD33結合劑之內化動力學使得在培育後4小時抗體初始量之至少30%保留於HL60細胞之細胞表面上。

已發現，本發明之CD33結合劑與林妥珠單抗結合不同表位，參見本文中之實例4。兩個表位(SeqID No: 141及SeqID No: 142)均係非重疊表位。據信CD33之細胞外結構域上的不同表位(其由本發明CD33結合劑及林妥珠單抗識別)係本發明CD33結合劑與林妥珠單抗之不同內化行為及ADCC性能的原因(參見本文中之實例2及3)。

在一較佳實施例中，在培育後4小時時CD33結合劑之初始量之至少40%保留在細胞表面上。

在一較佳實施例中，重鏈可變區包含選自SeqID No:85-

98之胺基酸序列且輕鏈可變區包含選自 SeqID No:99-112之胺基酸序列。

在一較佳實施例中，CD33結合劑含有具有選自 SeqID No:113-126之胺基酸序列之重鏈及具有選自 SeqID No:127-140之胺基酸序列之輕鏈。

在一較佳實施例中，CD33結合劑對人類CD33及食蟹猴CD33二者之親和力為 K_D 等於或小於10 nM。

在一較佳實施例中，CD33結合劑係人類化結合劑。

在一較佳實施例中，CD33結合劑係完全人類結合劑。

在一較佳實施例中，CD33結合劑進一步包含效應功能。

在一較佳實施例中，效應功能係由 F_c 結構域調介。

在一較佳實施例中，CD33結合劑之 F_c 結構域中包含一或多個調節 F_c 結構域之功能的突變。

在一較佳實施例中， F_c 結構域之功能的調節係ADCC增強至少10%、較佳50%或100%。

本發明之尤佳CD33結合劑列舉於表1中：

編號	純系ID 編號	SeqID CDR1	SeqID CDR2	SeqID CDR3	SeqID CDR4	SeqID CDR5	SeqID CDR6	SeqID V _H	SeqID V _L	SeqID 重鏈	SeqID 輕鏈
1	280-03-08	1	15	29	43	57	71	85	99	113	127
2	280-21-09	2	16	30	44	58	72	86	100	114	128
3	280-29-12	3	17	31	45	59	73	87	101	115	129

4	280-31-01	4	18	32	46	60	74	88	102	116	130
5	280-31-01(mut)	5	19	33	47	61	75	89	103	117	131
6	280-34-02	6	20	34	48	62	76	90	104	118	132
7	280-50-01	7	21	35	49	63	77	91	105	119	133
8	280-50-01(mut)	8	22	36	50	64	78	92	106	120	134
9	280-61-07	9	23	37	51	65	79	93	107	121	135
10	283-03-03	10	24	38	52	66	80	94	108	122	136
11	283-05-01	11	25	39	53	67	81	95	109	123	137
12	283-07-03	12	26	40	54	68	82	96	110	124	138
13	283-11-03	13	27	41	55	69	83	97	111	125	139
14	283-14-01	14	28	42	56	70	84	98	112	126	140

表 1

癌症治療

若干出版物已將CD33闡述為在70%至100%患者之惡性細胞上表現之原代AML及CML細胞上的細胞表面標記(Scheinberg等人，1989，Hauswirt等人，2007，Plesa等人，2007，Webber等人，2008)。CD33在惡性髓系母細胞(其代表白血病患者之外周血及骨髓中的大多數惡性細胞)、及白血病幹細胞(即骨髓中之相對較少數量之低分化細胞，其特徵在於能自我更新並維持白血病純系層級)上



表現。使用抗體靶向CD33之臨床可行性已由Mylotarg[®](吉妥單抗(Gemtuzumab ozogamizin)，經許可用於治療不適於其他治療選擇之復發AML患者的抗體-刺孢黴素偶聯物)得以證實。針對CD33之替代方法係研發林妥珠單抗(SGN-33，HuM195)，顯示I期臨床試驗中之功效之早期體徵的人類化IgG1單株抗體(Raza等人，2009)。總之，存在大量臨床前及臨床數據，其強調靶向治療AML及其他CD33陽性惡性腫瘤之CD33的相關性及可行性。

急性骨髓性白血病(AML)係白血細胞之髓系譜系的惡性腫瘤。此血液贅瘤形成係若不經治療則通常在數週至數月內致命之血液及骨髓疾病。在美國有30000例AML且在歐盟有47000例AML之估計患病率(由Mattson-Jack，2010確認之2010年患病率數據)。AML係成年急性白血病之最流行形式(約90%)，其包含約33%新白血病病例。診斷患有AML之患者之中值年齡係67歲。在美國，AML佔癌症死亡之約1.2%。

AML引起非特異性症狀，例如體重損失、疲勞、發熱及盜汗。AML係藉由血液測試、骨髓檢查及實驗室測試來診斷以確定AML亞型及確定治療決定。

針對AML之療法高度取決於患者之年齡及體力狀況。利用細胞毒性藥物之組合強烈治療可耐受強化誘導(及隨後加固及維持)化學療法之患者。該等患者可能具有達成完全響應之約75%的可能。在此患者群中，治療目標係治癒。此外，在達成完全響應後一年內約一半患者發生AML

復發。長期治癒率在30%範圍內。

然而，在共病診斷或存在時較高年齡不容許投與強化誘導療法，其導致姑息性治療目標。因此，患有AML之老年患者中的緩解率顯著降低。患有AML之老年患者之中值存活期小於6個月。

在一個態樣中，CD33結合劑可用於藉由例如在哺乳動物(較佳人類患者)中延遲癌症進展及/或減少癌症相關惡病質、或防止或延遲血液惡性腫瘤(例如白血病)之復發來治療癌症。CD33結合劑可單獨投與或與另一治療劑共投與。在一些實施例中，CD33結合劑係與護理化學治療之標準物共投與。CD33結合劑可以未偶聯形式(即未與細胞毒素偶聯)或偶聯物形式投與。

在此分段中，「患者」係進行癌症治療或已診斷為患有癌症之人類或其他哺乳動物。

在一些實施例中，CD33結合劑可用於患者中延遲癌症進展及/或減少癌症相關惡病質，藉由向有需要之患者投與有效劑量之CD33結合劑。不受限於特定機制，CD33結合劑結合髓系或單核細胞譜系之效應或輔助細胞(例如單核細胞、巨噬細胞、樹突細胞、及嗜中性粒細胞)，藉此抑制或減少各種細胞因子、趨化因子及生長因子自效應或輔助細胞及/或腫瘤細胞產生。該等可促進腫瘤細胞生長及增生及/或導致癌症惡病質之細胞因子、趨化因子及生長因子包括(但不限於)介白素-1 β (IL-1 β)、腫瘤壞死因子- α (TNF- α)、介白素-6 (IL-6)、介白素-8 (IL-8)、干擾素- γ

(IFN- γ)、血管內皮生長因子(VEGF)、白血病抑制因子(LIF)、單核細胞化學吸引蛋白-1 (MCP-1)、RANTES、介白素-10 (IL-10)、介白素-12 (IL-12)、基質金屬蛋白酶2 (MMP2)、IP-10及/或巨噬細胞發炎蛋白1 α (MIP1 α)。CD33結合劑亦可減少巨噬細胞移動至腫瘤細胞之位點。

在一些實施例中，向患者投與有效劑量之CD33結合劑可降低至少一種細胞因子、趨化因子或生長因子之含量，該細胞因子、趨化因子或生長因子可促進腫瘤細胞之生長及增生、促進非惡性效應細胞(例如腫瘤相關性巨噬細胞(TAMS))向腫瘤位點附近遷移及/或導致癌症惡病質。在具體實施例中，細胞因子、趨化因子或生長因子係(例如)介白素-1 β (IL-1 β)、腫瘤壞死因子- α (TNF- α)、介白素-6 (IL-6)、介白素-8 (IL-8)、干擾素- γ (IFN- γ)、血管內皮生長因子(VEGF)、白血病抑制因子(LIF)、單核細胞化學吸引劑蛋白-1 (MCP-1)、RANTES、介白素-10 (IL-10)、介白素-12 (IL-12)、基質金屬蛋白酶2 (MMP2)、IP-10及/或巨噬細胞發炎蛋白1 α (MIP1 α)。

在另一實施例中，提供藉由向患者投與CD33結合劑之有效方案來延遲癌症進展的方法，該CD33結合劑可特異性結合CD33。由於CD33結合劑之投與，藉由(例如)減少腫瘤細胞之增生生長、減少轉移、降低至少一種細胞因子、趨化因子或生長因子之含量、減少腫瘤細胞附近之非惡性效應細胞或諸如此類來延遲癌症進展。

在另一實施例中，提供藉由向患者投與CD33結合劑之

有效方案來降低患者中之腫瘤負荷的方法，該CD33結合劑可特異性結合CD33。由於CD33結合劑之投與，藉由(例如)減小腫瘤之大小或質量、降低至少一種細胞因子、趨化因子或生長因子之含量、減少腫瘤細胞附近之非惡性效應細胞、抑制腫瘤細胞附近巨噬細胞之遷移、減少腫瘤中之非惡性效應細胞(例如，TAMS或巨噬細胞)之數量或諸如此類阻止或減少腫瘤負荷。

在另一實施例中，提供藉由向患者投與CD33結合劑之有效方案而在患者中降低腫瘤負荷或延遲癌症進展的方法，該CD33結合劑可特異性結合CD33。由於CD33結合劑之投與，藉由(例如)募集免疫效應細胞(如NK細胞或巨噬細胞或單核細胞)阻止或減少患者中之腫瘤負荷，該等免疫效應細胞可藉由免疫調介之機制損害腫瘤細胞。

抗體依賴性細胞毒性(ADCC)係可導致單株抗體之抗腫瘤活性之免疫效應細胞調介之機制(Weiner GJ. Monoclonal antibody mechanisms of action in cancer. Immunol Res. 2007; 39(1-3):271-8)。已以臨床前模型(例如，小鼠腫瘤模型)證實ADCC對抗腫瘤功效之相關性(例如，Clynes RA, Towers TL, Presta LG, Ravetch JV. Inhibitory Fc receptors modulate vivo cytotoxicity against tumor targets. Nat Med. 2000年4月；6(4):443-6)。臨床試驗數據支持ADCC對治療性抗體之臨床功效之相關性(例如，Weng WK, Levy R. Two immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms independently predict response to rituximab in patients with

follicular lymphoma. J Clin Oncol. 2003 年 11 月 1 日 ; 21(21):3940-7. Epub 2003 年 9 月 15 日)。單株抗體與Fc受體在免疫細胞上之相互作用有助於ADCC。抗體之Fc可經修飾以對Fc受體展示增強親和力(例如, Presta LG Engineering of therapeutic antibodies to minimize immunogenicity and optimize function. Adv Drug Deliv Rev. 2006 年 8 月 7 日 ; 58(5-6):640-56. Epub, 2006 年 5 月 23 日)。該對Fc受體之增強親和力產生增強之ADCC活性, 其可導致患者中之抗腫瘤功效增強。

在此段中所述之各種實施例中, CD33結合劑可用於治療CD33陽性癌症(即, 包含如下癌細胞之癌症: 在其細胞表面上過表現CD33或以視為對利用CD33抗體之療法可接受之程度表現CD33)。CD33結合劑亦可用於治療相對於相同類型之正常組織在非惡性效應細胞上不過表現CD33的癌症。癌症可為(例如)非血液惡性腫瘤或血液惡性腫瘤。在具體實例中, 血液惡性腫瘤可為CD33陽性腫瘤且可為(例如)急性淋巴樣白血病、急性骨髓性白血病、慢性骨髓單核細胞性白血病、紅血球白血病、急性成巨核細胞白血病、淋巴細胞性淋巴瘤、髓系肉瘤、肥大細胞增生病症或骨髓發育不良症候群(MDS)。在一些實施例中, 血液惡性腫瘤係CD33陽性惡性腫瘤, 例如急性骨髓性白血病或骨髓發育不良症候群(MDS)。

在此段中所述之各種實施例中, CD33結合劑可為未偶聯抗CD33抗體。舉例而言, 抗體可為完全人類、人類化

或嵌合抗體，例如嵌合或人類化M 195抗體。抗體亦可為另一抗體，例如與M 195抗體競爭特異性結合CD33之抗體。抗體亦可與M 195抗體結合相同表位或不同表位。

在其他實施例中，CD33結合劑可與細胞毒素結合(即偶聯)。細胞毒素可為(例如)肽毒素，例如皂草素、蓖麻毒素、氣毒素、假單胞菌(*pseudomonas*)外毒素、假單胞菌內毒素或白喉毒素。細胞毒素亦可為化學(即非肽基)毒素，例如卡奇黴素(calicheamicin)、多柔比星(doxorubicin)、喜樹鹼(camptothecin)、柔紅黴素(daunorubicin)或其他DNA結合劑。細胞毒素亦可為奧裏斯他汀(auristatin)、類美登素(maytansinoid)、多拉司他汀(dolastatin)或其他微管阻斷劑。

可以0.1 mg/kg或更小至約25 mg/kg、較佳1.0 mg/kg至約10 mg/kg之劑量向患者經靜脈內或皮下投與作為抗CD33抗體之CD33結合劑。可以等效於0.1 mg/kg至約25 mg/kg、1.0 mg/kg至約10 mg/kg完整抗體之劑量投與作為抗CD33抗體片段或另一CD33結合蛋白質之CD33結合劑。可按時間表向患者經靜脈內或皮下投與CD33結合劑，亦即以(例如)每日、每週、每兩週、每三週(即每三個週)或每月或其組合投與患者。若需要，可投與CD33結合劑達至少一個月、至少兩個月、至少三個月、至少四個月、至少五個月、至少六個月之時間或更長時間。在一些實施例中，在CD33結合劑之治療期(同上)後係維持期，其中以低於治療期期間之頻率投與CD33結合劑之劑量。舉例而言，可每

週、每兩週、每三週或每月投與維持劑量達1至6個月之時段。維持期中之劑量可與治療期中之劑量相同。

緩解中之血液惡性腫瘤治療

在另一態樣中，提供藉由向自血液惡性腫瘤緩解中之患者投與有效劑量之CD33結合劑(此可防止或延遲基本血液惡性腫瘤復發)來防止或延遲患者中之血液惡性腫瘤(例如白血病)之復發的方法。CD33結合劑特異性結合血液惡性腫瘤(即白血病細胞)表面上之CD33及/或結合非惡性效應細胞。

在本揭示內容中，「患者」通常係經歷血液惡性腫瘤治療或已診斷為患有血液惡性腫瘤之人類。在一些實施例中，血液惡性腫瘤係CD33陽性血液惡性腫瘤。血液惡性腫瘤包括但不限於白血病(例如，急性淋巴母細胞白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性骨髓單核細胞性白血病、毛細胞白血病)。相關血液病症包括但不限於骨髓發育不良症候群(MDS)、骨髓纖維化、骨髓增生性疾病(例如，真性紅血球增多(PV、PCV或PRV)、原發性血小板增多(ET))及輕鏈性澱粉樣病。

術語「CD33陽性血液惡性腫瘤」係指特徵在於在惡性細胞表面上表現CD33之血液惡性腫瘤。CD33陽性血液惡性腫瘤包括但不限於急性骨髓性白血病(AML)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性骨髓單核細胞性白血病、血小板白血病、骨髓發育不良症候群、骨髓增生性病症、難治性貧

血、白血病前期症候群、淋巴樣白血病、或未分化白血病。

在一些實施例中，該等方法包括向自CD33陽性血液惡性腫瘤緩解中之患者投與CD33結合劑之有效方案，藉此防止或延遲血液惡性腫瘤復發。在一些實施例中，患者無血液惡性腫瘤之可檢測細胞。如本文所用「無可檢測細胞」係藉由標準診斷或預後方法確定。自AML緩解中之患者通常呈現異常臨床特徵消退、返回正常血液計數及正常血細胞生成(骨髓中<5%母細胞、嗜中性粒細胞計數>1,000-1,500、血小板計數>100,000)、及白血病純系消失。例如，參見The Merck Manual, Sec. 11, Ch. 138(第17版，1997)：Estey, 2001, Cancer 92(5): 1059-1073。

CD33結合劑可為(例如)特異性結合CD33之抗體且血液惡性腫瘤可為急性骨髓性白血病(AML)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性骨髓單核細胞性白血病、胸腺系(thymoid)白血病、骨髓發育不良症候群、骨髓增生性病變、難治性貧血、白血病前期症候群、淋巴樣白血病、或未分化白血病。

在一些實施例中，自血液惡性腫瘤緩解中之患者不經歷骨髓移植。在其他實施例中，自血液惡性腫瘤緩解中之患者經歷骨髓移植。骨髓移植可為自體骨髓移植或異基因骨髓移植。

本發明抗體尤其適於治療以下癌症類型：

骨髓癌，包括但不限於：急性淋巴母細胞白血病

「ALL」、急性淋巴母細胞B細胞白血病、急性淋巴母細胞T細胞白血病、急性髓母細胞白血病「AML」、急性前髓細胞性白血病「APL」、急性成單核細胞性白血病、急性紅白血病、急性成巨核細胞白血病、急性骨髓單核細胞性白血病、急性非淋巴細胞性白血病、急性未分化白血病、慢性髓系細胞白血病「CML」、慢性淋巴細胞白血病「CLL」、毛細胞白血病、多發性骨髓瘤。

適於由CD33結合劑治療之急性及慢性白血病包括：淋巴母細胞、髓系、淋巴細胞、髓系細胞白血病及血小板白血病。其他脊髓發育不良症候群、骨髓增生性病變、難治性貧血、白血病前期症候群、淋巴樣白血病、或未分化白血病可由CD33結合劑治療。

與其他活性物質之組合

端視擬治療之病變，本發明之CD33結合劑可單獨或與一或多種其他治療劑組合使用，該等治療劑尤其選自DNA破壞劑、DNA去甲基化劑或微管蛋白結合劑、或抑制血管生成、信號轉導路徑或癌細胞有絲分裂關卡或具有免疫調節功能(IMiD)之治療活性化合物。

該其他治療劑可與CD33結合劑同時投與(視情況作為相同醫藥製劑之組份)，或在該CD33結合劑投與之前或之後投與。

在某些實施例中，其他治療劑可為(但不限於)一或多種選自EGFR家族、VEGFR家族、VEGF、IGF-1R、胰島素受體、AuroraA、AuroraB、PLK及PI3激酶、FGFR、

PDGFR、Raf、KSP或PDK1抑制劑之群之抑制劑。

其他治療劑之其他實例係CDK、Akt、Src、Bcr-Abl、cKit、cMet/HGF、Her2、Her3、c-Myc、Flt3、HSP90、刺蝟拮抗劑、JAK/STAT、Mek、mTor、NFκB、蛋白酶體、Rho抑制劑、Wnt信號傳導抑制劑或Notch信號傳導或泛素化路徑抑制劑

其他治療劑之其他實例係DNA聚合酶、拓撲異構酶II之抑制劑、多重酪胺酸激酶抑制劑、CXCR4拮抗劑、IL3RA抑制劑、RAR拮抗劑、KIR抑制劑、免疫治療疫苗、TUB抑制劑、Hsp70誘導劑、IAP家族抑制劑、DNA甲基轉移酶抑制劑、TNF抑制劑、ErbB1受體酪胺酸激酶抑制劑、多激酶抑制劑、JAK2抑制劑、RR抑制劑、細胞凋亡誘導劑、HGPRTase抑制劑、組胺H2受體拮抗劑及CD25受體激動劑。

Aurora抑制劑之實例係(但不限於)PHA-739358、AZD-1152、AT-9283、CYC-116、R-763、VX-667、MLN-8045、PF-3814735、SNS-314、VX-689、GSK-1070916、TTP-607、PHA-680626、MLN-8237、BI847325及ENMD-2076。

PLK抑制劑之實例係GSK-461364、BI2536及BI6727。

raf抑制劑之實例係BAY-73-4506(亦為VEGFR抑制劑)、PLX-4032、RAF-265(亦為VEGFR抑制劑)、索拉非尼(sorafenib)(亦為VEGFR抑制劑)、XL-281、Nevavar(亦為VEGFR抑制劑)及PLX4032。

KSP抑制劑之實例係伊帕尼西(ispinesib)、ARRY-520、AZD-4877、CK-1122697、GSK-246053A、GSK-923295、MK-0731、SB-743921、LY-2523355及EMD-534085。

src及/或bcr-abl抑制劑之實例係達沙替尼(dasatinib)、AZD-0530、博舒替尼(bosutinib)、XL-228(亦為IGF-1R抑制劑)、尼羅替尼(nilotinib)(亦為PDGFR及cKit抑制劑)、伊馬替尼(imatinib)(亦為cKit抑制劑)、NS-187、KX2-391、AP-24534(亦為EGFR、FGFR、Tie2、Flt3抑制劑)、KM-80及LS-104(亦為Flt3、Jak2抑制劑)。

PDK1抑制劑之實例係AR-12。

Rho抑制劑之實例係BA-210。

PI3激酶抑制劑之實例係PX-866、PX-867、BEZ-235(亦為mTor抑制劑)、XL-147、及XL-765(亦為mTor抑制劑)、BGT-226、CDC-0941。

cMet或HGF抑制劑之實例係XL-184(亦為VEGFR、cKit、Flt3抑制劑)、PF-2341066、MK-2461、XL-880(亦為VEGFR抑制劑)、MGCD-265(亦為VEGFR、Ron、Tie2抑制劑)、SU-11274、PHA-665752、AMG-102、AV-299、ARQ-197、MetMAb、CGEN-241、BMS-777607、JNJ-38877605、PF-4217903、SGX-126、CEP-17940、AMG-458、INCB-028060及E-7050。

c-Myc抑制劑之實例係CX-3543。

Flt3抑制劑之實例係AC-220(亦為cKit及PDGFR抑制劑)、KW-2449、LS-104(亦為bcr-abl及Jak2抑制劑)、MC-

2002、SB-1317、來他替尼(lestaurtinib)(亦為VEGFR、PDGFR、PKC抑制劑)、TG-101348(亦為JAK2抑制劑)、XL-999(亦為cKit、FGFR、PDGFR及VEGFR抑制劑)、舒尼替尼(sunitinib)(亦為PDGFR、VEGFR及cKit抑制劑)及坦度替尼(tandutinib)(亦為PDGFR及cKit抑制劑)。

HSP90抑制劑之實例係坦螺旋黴素(tanespimycin)、阿螺旋黴素(alvespimycin)、IPI-504、STA-9090、MEDI-561、AUY-922、CNF-2024及SNX-5422。

JAK/STAT抑制劑之實例係CYT-997(亦與微管蛋白相互作用)、TG-101348(亦為Flt3抑制劑)及XL-019。

Mek抑制劑之實例係ARRY-142886、AS-703026、PD-325901、AZD-8330、ARRY-704、RDEA-119及XL-518。

mTor抑制劑之實例係坦西莫司(temsirolimus)、德福莫司(deforolimus)(其亦起VEGF抑制劑作用)、依維莫司(everolimus)(亦為VEGF抑制劑)、XL-765(亦為PI3激酶抑制劑)及BEZ-235(亦為PI3激酶抑制劑)。

Akt抑制劑之實例係哌立福辛(perifosine)、GSK-690693、RX-0201及曲西立濱(triciribine)。

cKit抑制劑之實例係馬賽替尼(masitinib)、OSI-930(亦起VEGFR抑制劑作用)、AC-220(亦為Flt3及PDGFR抑制劑)、坦度替尼(亦為Flt3及PDGFR抑制劑)、阿西替尼(axitinib)(亦為VEGFR及PDGFR抑制劑)、舒尼替尼(亦為Flt3、PDGFR、VEGFR抑制劑)及XL-820(亦起VEGFR及PDGFR抑制劑作用)、伊馬替尼(亦為bcr-abl抑制劑)、尼羅

替尼(亦為 bcr-abl 及 PDGFR 抑制劑)。

刺蝟拮抗劑之實例係 IPI-609、CUR-61414、GDC-0449、IPI-926 及 XL-139。

CDK 抑制劑之實例係塞利西裏(seliciclib)、AT-7519、P-276、ZK-CDK(亦抑制 VEGFR2 及 PDGFR)、PD-332991、R-547、SNS-032、PHA-690509、PHA-848125 及 SCH-727965。

蛋白酶體抑制劑之實例係硼替佐米(bortezomib)、卡夫佐米(carfilzomib)及 NPI-0052(亦為 NFκB 抑制劑)。

蛋白酶體抑制劑/NFκB 路徑抑制劑之實例係硼替佐米(bortezomib)、卡非佐米(carfilzomib)、NPI-0052、CEP-18770、MLN-2238、PR-047、PR-957、AVE-8680 及 SPC-839。

泛素化路徑抑制劑之實例係 HBX-41108。

去甲基化劑之實例係 5-阿紫胞苷(5-azacitidine)及地西他濱(decitabine)。

抗血管生成劑之實例係 FGFR、PDGFR 及 VEGF(R) 抑制劑及沙立度胺(thalidomide)，該等藥劑選自(但不限於)貝伐單抗(bevacizumab)、莫特撒尼(motesanib)、CDP-791、SU-14813、替拉替尼(telatinib)、KRN-951、ZK-CDK(亦為 CDK 抑制劑)、ABT-869、BMS-690514、RAF-265、IMC-KDR、IMC-18F1、IMiD、沙立度胺、CC-4047、來那度胺(lenalidomide)、ENMD-0995、IMC-D11、Ki-23057、布瑞法尼(brivanib)、西地尼布(cediranib)、1B3、CP-868596、IMC-3G3、R-1530(亦為 Flt3 抑制劑)、舒尼替尼(亦為 cKit

及 Flt3 抑制劑)、阿西替尼(亦為 cKit 抑制劑)、來他替尼(亦為 Flt3 及 PKC 抑制劑)、瓦他拉尼(vatalanib)、坦度替尼(亦為 Flt3 及 cKit 抑制劑)、易瑞莎(pazopanib)、PF-337210、阿柏西普(aflibercept)、E-7080、CHIR-258、索拉非尼甲苯磺酸鹽(亦為 Raf 抑制劑)、凡德他尼(vandetanib)、CP-547632、OSI-930、AEE-788(亦為 EGFR 及 Her2 抑制劑)、BAY-57-9352(亦為 Raf 抑制劑)、BAY-73-4506(亦為 Raf 抑制劑)、XL-880(亦為 cMet 抑制劑)、XL-647(亦為 EGFR 及 EphB4 抑制劑)、XL-820(亦為 cKit 抑制劑)、尼羅替尼(亦為 cKit 及 bcr-abl 抑制劑)、CYT-116、PTC-299、BMS-584622、CEP-11981、多韋替尼(dovitinib)、CY-2401401、ENMD-2976 及 BIBF1120。

該其他治療劑亦可選自 EGFR 抑制劑，其可為小分子 EGFR 抑制劑或抗-EGFR 抗體。抗 EGFR 抗體之實例係(但不限於)西土西單抗(cetuximab)、帕尼單抗(panitumumab)、尼妥珠單抗(nimotuzumab)、紫妥木單抗(zalutumumab)；小分子 EGFR 抑制劑之實例係吉非替尼(gefitinib)、埃羅替尼(erlotinib)、凡德他尼(vandetanib)(亦為 VEGFR 抑制劑)及阿法替尼(afatinib)(亦為 Her2 抑制劑)。EGFR 調節劑之另一實例係 EGF 融合毒素。

可與本發明 CD33 結合劑組合使用之其他 EGFR 及/或 Her2 抑制劑係拉帕替尼(lapatinib)、曲司佐單抗(trastuzumab)、帕妥珠單抗(pertuzumab)、XL-647、來那替尼(neratinib)、BMS-599626、ARRY-334543、AV-412、mAB-806、BMS-

690514、JNJ-26483327、AEE-788(亦為VEGFR抑制劑)、AZD-8931、ARRY-380、ARRY-333786、IMC-11F8、Zemab、TAK-285、AZD-4769及阿法替尼(Her2及EGFR之雙重抑制劑)。

可與本發明CD33結合劑組合使用之DNA聚合酶抑制劑係Ara-C/阿糖胞苷(cytarabine)、Clolar/氯苯吩嗪(clofarabine)。

可與本發明CD33結合劑組合使用之DNA甲基轉移酶抑制劑係Vidaza/阿紫胞苷。

可與本發明CD33結合劑組合使用之細胞凋亡誘導劑係Trisenox/三氧化二砷。

可與本發明CD33結合劑組合使用之拓撲異構酶II抑制劑係伊達比星(idarubicin)、柔紅黴素及米托蒽醌(mitoxantrone)。

可與本發明CD33結合劑組合使用之RAR拮抗劑係Vesanoid/維生素A酸(tretinoin)。

可與本發明CD33結合劑組合使用之HGPRTase抑制劑係Mercapto/巯嘌呤(mercaptopurine)。

可與本發明CD33結合劑組合使用之組胺H2受體拮抗劑係Ceplene/組胺二鹽酸鹽。

可與本發明CD33結合劑組合使用之CD25受體激動劑係IL-2。

其他藥物亦可選自靶向IGF-1R及胰島素受體路徑之藥劑。該等藥劑包括與IGF-1R結合之抗體(例如CP-751871、

AMG-479、IMC-A12、MK-0646、AVE-1642、R-1507、BIIB-022、SCH-717454、rhu Mab IGFR)及靶向IGF1-R之激酶結構域的新穎化學個體(例如OSI-906或BMS-554417、XL-228、BMS-754807)。

可與本發明CD33結合劑有利地組合用於療法中之其他藥劑係靶向CD20之分子，包括CD20特異性抗體(如利妥昔單抗、LY-2469298、奧瑞珠單抗(ocrelizumab)、MEDI-552、IMMU-106、GA-101(=R7159)、XmAb-0367、奧法妥木單抗(ofatumumab))、放射標記之CD20抗體(如托西莫單抗(tositumumab)及替伊莫單抗(ibritumomab tiuxetan))或其他CD20定向蛋白質(如SMIP Tru015、PRO-131921、FBT-A05、維妥珠單抗(veltuzumab)、R-7159)。

CD33結合劑可與在白血球上表現之其他表面抗原之抑制劑組合，尤其抗體或抗體樣分子，例如抗CD2(西利珠單抗(siplizumab))、抗CD4(紫木單抗zanolimumab))、抗CD19(MT-103、MDX-1342、SAR-3419、XmAb-5574)、抗CD22(依派佐單抗(epratuzumab))、抗CD23(魯昔單抗(lumiliximab))、抗CD30(伊妥木單抗(iratumumab))、抗CD32B(MGA-321)、抗CD38(HuMax-CD38)、抗CD40(SGN40)、抗CD52(阿來組單抗(alemtuzumab))、抗CD80(加利昔單抗(galiximab))。

欲與CD33結合劑組合之其他藥劑係免疫毒素樣BL-22(抗CD22免疫毒素)、奧英妥珠單抗(inotuzumab ozogamicin)(抗CD23抗體-卡奇黴素偶聯物)、RFT5.dgA(A

鏈抗 CD25 蓖麻毒素毒素)、SGN-35(抗 CD30-奧裏斯他汀 E 偶聯物)、及吉妥單抗(抗 CD33 卡奇徵素偶聯物)、MDX-1411(抗 CD70 偶聯物)、或放射標記之抗體(如 ^{90}Y -依派佐單抗)(抗 CD22 放射免疫偶聯物)。

另外，CD33 結合劑可與免疫調節劑、誘導細胞凋亡或修飾信號轉導路徑之藥劑(例如抗體)組合，如 TRAIL 受體調節劑馬帕木單抗(mapatumumab)(TRAIL-1 受體激動劑)、來沙木單抗(lexatumumab)(TRAIL-2 受體激動劑)、替加珠單抗(tigatuzumab)、Apomab、AMG-951 及 AMG-655；抗 HLA-DR 抗體(如 1D09C3)、抗 CD74、破骨細胞分化因子配體抑制劑(如地舒單抗(denosumab))、BAFF 拮抗劑(如 AMG-623a)或 Toll 樣受體(例如 TLR-4 或 TLR-9)激動劑。

可與本發明 CD33 結合劑組合使用之其他藥物選自但不限于於激素、激素類似物及抗激素(例如他莫昔芬(tamoxifen)、托瑞米芬(toremifene)、雷洛昔芬(raloxifene)、氟維司群(fulvestrant)、乙酸甲地孕酮(megestrol acetate)、氟他胺(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、乙酸環丙孕酮(cyproterone acetate)、非那雄胺(finasteride)、乙酸布舍瑞林(buserelin acetate)、氟氫可的松(fludrocortisone)、氟甲孕酮(fluxymesterone)、甲羥孕酮(medroxyprogesterone)、己酸羥孕酮(hydroxyprogesterone caproate)、己烯雌酚(diethylstilbestrol)、丙酸孕酮(testosterone propionate)、氟羥甲孕酮(fluxymesterone)/ 等效物、奧曲肽

(octreotide) 、 阿 佐 昔 芬 (arzoxifene) 、 帕 瑞 肽 (pasireotide) 、 伐 普 肽 (vapreotide) 、 腎 上 腺 皮 質 類 固 醇 / 拮 抗 劑 、 強 的 松 (prednisone) 、 地 塞 米 松 (dexamethasone) 、 胺 魯 米 特 (aminoglutethimide) 、 芳 香 酶 抑 制 劑 (例 如 阿 那 曲 唑 (anastrozole) 、 來 曲 唑 (letrozole) 、 利 阿 唑 (liarozole) 、 依 西 美 坦 (exemestane) 、 阿 他 美 坦 (atamestane) 、 福 美 坦 (formestane)) 、 LHRH 激 動 劑 及 拮 抗 劑 (例 如 乙 酸 戈 舍 瑞 林 (goserelin acetate) 、 亮 丙 瑞 林 (leuprolide) 、 阿 巴 瑞 克 (abarelix) 、 西 曲 瑞 克 (cetorelix) 、 地 洛 瑞 林 (deslorelin) 、 組 胺 瑞 林 (histrelin) 、 曲 普 瑞 林 (triptorelin)) 、 抗 代 謝 物 (例 如 ， 如 甲 胺 蝶 呤 (methotrexate) 、 曲 美 沙 特 (trimetrexate) 、 培 美 曲 塞 (pemetrexed) 等 抗 葉 酸 藥 、 如 5- 氟 尿 嘧 啶 (5-fluorouracil) 、 氟 脫 氧 尿 苷 (fluorodeoxyuridine) 、 卡 培 他 濱 (capecitabine) 、 地 西 他 濱 、 耐 拉 濱 (nelarabine) 、 5- 氮 雜 胞 苷 (5-azacytidine) 、 及 吉 西 他 濱 (gemcitabine) 等 嘧 啶 類 似 物 、 諸 如 巯 嘌呤 、 硫 鳥 嘌呤 (thioguanine) 、 硫 唑 嘌呤 (azathioprine) 、 克 拉 屈 濱 (cladribine) 及 噴 司 他 丁 (pentostatin) 、 阿 糖 胞 苷 、 氟 達 拉 濱 (fludarabine) 、 氯 苯 吩 嗪 等 嘌呤 及 腺 苷 類 似 物) ； 抗 腫 瘤 抗 生 素 (例 如 蒽 環 抗 生 素 (anthracycline) ， 如 多 柔 比 星 、 柔 紅 黴 素 、 表 柔 比 星 (epirubicin) 及 伊 達 比 星 、 絲 裂 黴 素 (mitomycin-C) 、 博 來 黴 素 (bleomycin) 、 放 線 菌 素 D (dactinomycin) 、 普 卡 黴 素 (plicamycin) 、 splicamycin 、 放 線 菌 素 -D (actinomycin D) 、 米 托 蒽 醌 、 米 托 蒽 醌 伊 達 比 星 、 匹 克 生 瓊

(pixantrone)、鏈尿黴素(streptozocin)、阿非科林(aphidicolin)；鉑衍生物(例如順鉑、奧沙利鉑(oxaliplatin)、卡鉑(carboplatin)、洛鉑(lobaplatin)、沙鉑(satraplatin))；烷基化劑(例如雌莫司汀(estramustine)、司莫司汀(semustine)、美克洛噻胺(meclorethamine)、美法倫(melphalan)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、白消安(busulphan)、達卡巴嗪(dacarbazine)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、異環磷醯胺(ifosfamide)、羥基脲(hydroxyurea)、替莫唑胺(temozolomide)、諸如卡莫司汀(carmustine)及洛莫司汀(lomustine)等亞硝基脲類(nitrosoureas)、噻替派(thiotepa))；抗有絲分裂劑(例如長春花生物鹼，如長春鹼(vinblastine)、長春地辛(vindesine)、長春瑞濱(vinorelbine)、長春氟寧(vinflunine)及長春新鹼(vincristine)；及紫杉烷(taxane)，如紫杉醇(paclitaxel)、多西他賽(docetaxel)及其調配物、拉洛他賽(larotaxel)；西莫他賽(simotaxel)及埃坡黴素，如伊沙匹隆(ixabepilone)、帕妥匹隆(patupilone)、ZK-EPO)；拓撲異構酶抑制劑(例如表鬼柏毒素(epipodophyllotoxin)，如依託泊苷(etoposide)及凡畢複(etopophos)、替尼泊苷(teniposide)、安吖啶(amsacrine)、托泊替康(topotecan)、伊立替康(irinotecan)、巴諾萘醌(banoxantrone)、喜樹鹼)及各種化學藥物，例如視黃酸衍生物、胺磷汀(amifostine)、阿那格雷(anagrelide)、干擾素 α 、干擾素 β 、干擾素 γ 、介白素-2、丙卡巴肼(procarbazine)、N-甲基

胼、米托坦(mitotane)、及卟菲爾鈉(porfimer)、貝沙羅汀(bexarotene)、塞來昔布(celecoxib)、伸乙基亞胺/甲基-三聚氰胺、三伸乙基三聚氰胺、三伸乙基硫代磷醯胺、六甲基三聚氰胺、及酶L-天冬醯胺酶、L-精胺酸酶及甲硝唑(metronidazole)、醚醇硝唑(misonidazole)、去甲基醚醇硝唑(desmethylnisonidazole)、哌莫硝唑(pimonidazole)、依他硝唑(etanidazole)、硝唑嗎啉(nimorazole)、RSU 1069、EO9、RB 6145、SR4233、菸醯胺(nicotinamide)、5-溴脫氧尿苷(5-bromodeoxyuridine)、5-碘脫氧尿苷(5-iododeoxyuridine)、溴脫氧胞苷(bromodeoxycytidine)、赤型羥基壬基腺嘌呤(erythrohydroxynonyl-adenine)、蒽二酮(anthracenedione)、GRN-163L(競爭性端粒酶模板拮抗劑)、SDX-101(PPAR激動劑)、他波司他(talabostat)(DPP抑制劑)、呋咯地辛(forodesine)(PNP抑制劑)、阿塞西普(atacicept)(靶向TNF家族成員BLyS及APRIL之可溶性受體)、TNF- α 中和劑(Enbrel、Humira、Remicade)、XL-844(CHK1/2抑制劑)、VNP-40101M(DNA烷基化劑)、SPC-2996(反義bcl2抑制劑)、奧巴克拉(obatoclax)(bcl2抑制劑)、因紫斯道寧(enzastaurin)(PKC β 調節劑)、伏林司他(vorinostat)(HDAC抑制劑)、羅米地辛(romidepsin)(HDAC抑制劑)、AT-101(Bcl-2/Bcl-xL抑制劑)、普利肽新(plitidepsin)(多作用縮肽)、SL-11047(聚胺代謝調節劑)。

本發明CD33結合劑亦可與其他療法組合使用，該等療法包括包括外科手術、幹細胞已知、放射療法、內分泌療

法、生物反應調節劑、高溫療法及冷凍療法、及減少任何不利效應之藥劑(例如，止吐藥)、G-CSF、GM-CSF、諸如血卟啉衍生物、Photofrin、苯并卟啉衍生物、Npe6、初卟啉錫(tin etioporphyrin)、pheoboride-a細菌葉綠素-a、萘酞菁、酞菁、鋅酞菁等光敏劑。

醫藥組合物及投與方法

CD33結合劑可呈容許將組合物投與患者之任一形式。舉例而言，組合物可呈固態或液體形式。施用之較佳方式係藉由輸注或注射(靜脈內、肌內、皮下、腹膜腔內、皮內)之非經腸施用方式，但亦可採用諸如吸入、經皮、鼻內、含服、經口及腫瘤內等其他施用方式。非經腸投與包括皮下注射、靜脈內、肌內、胸骨內注射或輸注技術。在一個態樣中，非經腸投與組合物。在又一態樣中，靜脈內投與化合物。

醫藥組合物可經調配以使在投與患者組合物時化合物可供生物利用。組合物可採取一或多個劑量單元形式，例如，其中呈氣溶膠形式之化合物的容器可容納複數個劑量單元。

用於製備醫藥組合物之材料的所用量可為非毒性。彼等熟習此項技術者將明瞭，醫藥組合物中之活性成份的最佳劑量將取決於多個因素。相關因素包括但不限於患者類型(例如人類)、化合物之特定形式、投與方式及所用組合物。

醫藥上可接受之載劑或媒劑可為顆粒，以使組合物呈

(例如)粉末形式。載劑可為液體，其中組合物為(例如)可注射液體。組合物可呈(例如)用於非經腸注射之液體形式。在藉由注射投與之組合物中，亦可包括表面活性劑、防腐劑、潤濕劑、分散劑、懸浮劑、緩衝劑、穩定劑及等滲劑中之一或多者。

液體組合物不管係液體、懸浮液還是其他類似形式均亦可包括以下中之一或多者：無菌稀釋劑，例如注射用水、鹽水溶液(較佳生理鹽水)、林格氏溶液(Ringer's solution)、等滲氯化鈉、固定油(例如合成甘油單酯或甘油二酯，其可用作溶劑或懸浮介質)、聚乙二醇、甘油、環糊精、丙二醇或其他溶劑；穩定劑，例如胺基酸；表面活性劑，例如聚山梨醇酯；抗細菌劑，例如苺醇或對羥基苯甲酸甲酯；抗氧化劑，例如抗壞血酸或亞硫酸氫鈉；螯合劑，例如乙二胺四乙酸；緩衝劑，例如乙酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽；及用於調節等滲性之試劑，例如氯化鈉或右旋糖。非經腸組合物可封閉於安瓿(由玻璃、塑膠或其他材料製得之可棄式唧筒或多劑量小瓶)中。生理鹽水係例示性佐劑。可注射組合物較佳無菌。

CD33結合劑亦可經乾燥(冷凍乾燥、噴霧乾燥、噴霧冷凍乾燥、藉助近臨界或超臨界氣體乾燥、真空乾燥、風乾)、沉澱或結晶或俘獲於微膠囊、膠體藥物遞送系統(例如，脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)、粗滴乳液中或(例如)藉由pcmc技術(蛋白質塗覆微晶)沉澱或固定於載劑或表面上，該等微膠囊係藉由(例如)凝

聚技術或界面聚合分別使用(例如)羥甲基纖維素或明膠及聚-(甲基丙烯酸甲酯)製備。該等技術揭示於Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第21版(Hendrickson R.編輯)中。

可有效治療特定病症或病況之組合物之量將取決於該病症或病況之性質，且可藉由標準臨床技術測定。另外，可視情況採用活體外或活體內分析以有助於鑑別最佳劑量範圍。組合物中所用確切劑量亦將取決於投與途徑、及疾病或病症之嚴重性，且應根據從業醫師之判斷及各患者之情況來決定。

組合物包含有效量之藥物或藥劑以使得可獲得適宜劑量。通常，此量係以組合物之重量計至少約0.01%之藥物或藥劑。在意欲經口投與時，此量可變為以組合物之重量計約0.1%至約80%之範圍。在一個態樣中，經口組合物可包含以組合物之重量計約4%至約50%的化合物。在又一態樣中，製備本發明組合物以使非經腸劑量單元含有約0.01重量%至約2重量%化合物。

對於靜脈內投與而言，組合物可包含約1 mg至約50 mg藥物或藥劑/kg患者體重。在一個態樣中，組合物可包括約1 mg、1.5 mg或2.5 mg至約50 mg藥物或藥劑/kg患者體重。在另一態樣中，所投與量可在約1 mg、1.5 mg或2.5 mg至約25 mg藥物或藥劑/kg體重範圍內。

在一些實施例中，投與患者之劑量係0.1 mg/kg以下至約50 mg/kg患者體重。(關於至 mg/mm^2 之轉化，可使用 1.8 m^2

之BSA及80 kg之體重)。

如本文所論述，可以(例如)每日、每週、每兩週、每三週或每月之時間表向患者經靜脈內或皮下投與CD33結合劑。舉例而言，可每週投與CD33結合劑達2至10週、通常3至6週之時段。在一些實施例中，CD33結合劑之投藥方案將抗體之血清濃度在投藥循環期間維持為至少5 $\mu\text{g/ml}$ 或至少10 $\mu\text{g/ml}$ 。可投與CD33結合劑(例如)1至8或更多個循環。在一些實施例中，長期向個體投與CD33結合劑。

舉例而言，本發明包括治療癌症(例如骨髓性白血病)之方法，其係藉由每週投與0.1 mg/kg至50 mg/kg、例如約1.5-8或2.5-8 mg/kg本發明抗CD33抗體來完成。此治療通常可持續約1至3個月、通常約2個月。在一實施例中，維持投藥時間表直至注意到急劇降低。舉例而言，投藥可持續高達約6個月。此治療之後可進行較不頻繁投藥時間表，包括(例如)每兩週劑量(或每月兩次)。此投與時間表可維持1、2、3、4、5、6個月或更長時間以維持急劇降低及/或緩解。

在一些實施例中，預防性藥劑可與CD33結合劑一起投與以使輸注反應最小化。適宜預防性藥劑包括(例如)甲基潑尼松龍(methyl prednisolone)、苯海拉明(diphenhydramine)、對乙醯胺基酚(acetaminophen)或另一適宜藥劑。預防性藥劑可在CD33結合劑之前或同時投與。

可藉由任一方便途徑(例如，藉由輸注或濃注、藉由經

由上皮或皮膚黏膜襯裏(例如，口腔黏膜、直腸及腸黏膜等)吸收)投與藥物或藥劑。投與可為全身性或局部投與。已知各種遞送系統，例如，囊封於脂質體、微粒、微膠囊、膠囊等中，且其可用於投與化合物。在某些實施例中，向患者投與一種以上藥物或藥劑或組合物。

視藥物或藥劑之需要，可期望向需要治療之區域局部投與一或多種藥物或藥劑或組合物。此可藉由(例如，且不以限制方式)在外科手術期間局部輸注；在外科手術後外敷施用(例如，結合傷口敷料)；藉由注射：借助導管；借助栓劑；或借助植入體，該植入體為多孔、非多孔或凝膠狀材料，包括諸如矽橡膠膜(silastic membrane)等膜或纖維)來達成。在一個實施例中，投與可為在癌症、腫瘤或瘤形成或瘤形成前組織之位點(或前位點)直接注射而達成。

藥物或藥劑或組合物可以控制釋放系統(例如幫浦或各種聚合材料)遞送。在又一實施例中，控制釋放系統可靠近藥物或藥劑或組合物之靶放置，因此僅需要全身劑量的一部分(例如，參見 Goodson, Medical Applications of Controlled Release, 第2卷, 第115-138頁(1984))。可使用論述於 Langer 之綜述中之控制釋放系統(1990, Science 249: 1527-1533)。

視藥物或藥劑之需要，根據常規程序將藥物或藥劑調配為適於靜脈內投與動物(尤其人類)之醫藥組合物。通常，用於靜脈內投與之載劑或媒劑係無菌等滲緩衝液水溶液。

若需要，組合物亦可包括增溶劑。用於靜脈內投與之組合物可視需要包含局部麻醉劑(例如利多卡因(lignocaine)以減輕注射維持處之疼痛。通常，各成份係單獨或混合在一起以單位劑型來供應，例如，作為凍乾粉末或無水濃縮物存於諸如安瓿或藥囊等標明活性劑之量的密封容器中。若藥物或藥劑係藉由輸注來投與，則可將其分配至(例如)含有無菌醫藥級水或鹽水之輸注瓶中。若藥物或藥劑係藉由注射來投與，則可提供含有注射用無菌水或鹽水之安瓿以使得可在投與之前混合各成份。

亦可根據接受劑型以(例如)錠劑、菱形錠劑、水性或油性懸浮液、顆粒、粉末、乳液、膠囊、糖漿或酏劑形式投與治療劑之組合物。經口投與之組合物可含有一或多種可選試劑(例如，甜味劑，例如果糖、天冬甜素或糖精；矯味劑，例如薄荷、冬青油或櫻桃；著色劑；及防腐劑)以提供醫藥上可口之製劑。此外，若呈錠劑或丸劑形式，則組合物可經包衣以延遲在胃腸道中之崩解及吸收，藉此在延長時間段內提供持續作用。包圍滲透活性驅動化合物之選擇性可滲透膜亦適用於經口投與之藥物或藥劑。在此等稍後平臺中，藉由驅動化合物吸取膠囊周圍環境之流體，該驅動化合物會膨脹以經由孔轉移該藥劑或藥劑組合物。與即刻釋放調配物之有尖頂曲線相比，該等遞送平臺可提供實質上零級遞送曲線。亦可使用諸如甘油單硬脂酸酯或甘油硬脂酸酯等延時材料。

組合物可包括修飾固體或液體劑量單元之物理形式的各

種材料。舉例而言，組合物可包括在活性成份周圍形成包衣殼之材料。形成包衣殼之材料通常係惰性材料且可選自(例如)糖、蟲膠或其他腸溶包衣試劑。或者，可將活性成份封包於明膠膠囊中。

可以由主治醫師確定之頻率或持續時間段向有需要之患者投與組合物。可經1天、2天、3天、5天、7天、10天、14天、21天、28天、1個月、2個月時間或更長時間投與組合物。應理解，可經介於1天與兩個月或更長時間之間之任一時間段投與組合物。

抗體之產生

可使用用於抗體之合成的任一方法、具體而言例如藉由重組表現或化學合成產生抗體。

抗體或其片段或衍生物之重組表現通常包括編碼抗體之核酸之構建。若已知抗體之核苷酸序列，則編碼抗體或其多肽之核酸可自化學合成之核苷酸組裝(例如，如Kutmeier等人，1994，BioTechniques 17:242中所述)，其包括含有編碼抗體之序列之部分的重疊寡核苷酸之合成、彼等寡核苷酸之退火及連接、及隨後藉由(例如)PCR使連接寡核苷酸擴增。

或者，可自適宜來源生成編碼抗體或其多肽之核酸分子。若不能獲得含有編碼特定抗體之核酸之純系，但已知抗體之序列，則編碼抗體之核酸可自適宜來源(例如，自表現免疫球蛋白之任何組織或細胞生成之抗體cDNA文庫、或cDNA文庫)藉由(例如)使用可與序列之3'及5'末端雜

交之合成引物的PCR擴增或藉由使用對特定基因序列具有特異性之寡核苷酸探針選殖來獲得。

若特異性識別特定抗原之抗體不可購得(或用於選殖編碼該免疫球蛋白之核酸之cDNA文庫的來源不可購得)，則可藉由業內已知之任一方法(例如，藉由對患者進行免疫)、或適宜動物模型(例如兔或小鼠)以生成多株抗體、或更佳藉由生成單株抗體來生成對特異性抗原具有特異性之抗體，如(例如)Kohler及Milstein (1975, *Nature* 256:495-497)所述，或如Kozbor等人(1983, *Immunology Today* 4:72)或Cole等人(1985, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss公司，第77-96頁)所述。或者，編碼抗體之至少Fab部分之純系可藉由篩選結合特異性抗體之Fab片段之純系的Fab表現文庫(例如，如Huse等人，1989, *Science* 246, 1275-1281中所述)或藉由篩選抗體文庫(例如，參見Clackson等人，1991, *Nature* 352:624；Hane等人，1997, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:4937)獲得。

在獲得至少編碼抗體之可變結構域的核酸序列後，可將其引入含有編碼抗體之恆定區之核苷酸序列的載體中(例如，參見國際公開案第WO 86/05807號；第WO 89/01036號；及美國專利第5,122,464號)。可獲得含有完整輕鏈或重鏈，從而可表現完整抗體分子之載體。隨後，編碼抗體之核酸可用於引入核苷酸取代或缺失，該(等)取代或缺失對用不含巰基之胺基酸殘基取代(或缺失)一或多個參與鏈內二硫鍵之可變區半胱胺酸殘基而言係必需的。該等修飾

可藉由業內已知之在核苷酸序列中引入特定突變或缺失之任一方法(例如但不限於化學誘變及活體外定向誘變)來實施(例如, 參見 Hutchinson 等人, 1978, J. Biol. Chem. 253:6551)。

另外, 已研發產生「嵌合抗體」之技術(例如, 參見 Morrison 等人, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 851-855; Neuberger 等人, 1984, Nature 312:604-608; Takeda 等人, 1985, Nature 314:452-454)。嵌合抗體係不同部分源自不同動物物種之分子, 例如彼等具有源自鼠類單株抗體之可變區及人類免疫球蛋白恆定區(例如人類化抗體)者。

在獲得編碼抗體之核酸序列後, 可藉由使用業內已知之技術的重組DNA技術產生用於產生抗體之載體。彼等熟習此項技術者已知之方法可用於構建含有編碼抗體之序列及適當轉錄及轉譯控制信號的表現載體。該等方法包括(例如)活體外重組DNA技術、合成技術及活體內遺傳重組。舉例而言, 參見以下中所述技術: Sambrook 等人(1990, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY; 及 Sambrook 等人, 2001; Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 第3版, Cold Spring Harbor Publish., Cold Spring Harbor, N.Y.)及 Ausubel 等人(編輯, 1993-2006, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY)。

可藉由習用技術(例如, 電穿孔、脂質體異動、磷酸鈣沉澱或轉導)將包含抗原之核苷酸序列的表現載體或抗原

之核苷酸序列轉移至宿主細胞，且隨後藉由習用技術培養所得細胞以產生抗體。在具體實施例中，藉由組成型、誘導型或組織特異性啟動子調控抗體之表現。

尤其對於重組免疫球蛋白分子之表現而言，用於表現重組抗體之宿主細胞可為細菌細胞（例如大腸桿菌 (*Escherichia coli*））或較佳真核細胞。具體而言，哺乳動物細胞（例如中國倉鼠卵巢細胞 (CHO)）聯合含有來自人類巨細胞病毒之主要中早期基因啟動子元件的載體係免疫球蛋白之有效表現系統（例如，參見 Foecking 等人，1986, *Gene* 45:101；Cockett 等人，1990, *BioTechnology* 8:2）。CHO 細胞系可為（例如）DG44 或 CHO-S。在另一實例中，可使用 CHEF 系統表現抗體。（例如，參見美國專利第 5,888,809 號）。

可採用多種其他宿主-表現載體來表現抗體。該等宿主表現系統代表可產生且隨後純化抗體之編碼序列的媒劑，但亦代表在利用適當核苷酸編碼序列轉化或轉染時可原位表現抗體免疫球蛋白分子之細胞。該等系統包括但不限於經含有免疫球蛋白編碼序列之重組噬菌體 DNA、質粒 DNA 或黏粒 DNA 表現載體轉化之微生物（例如細菌，例如大腸桿菌及枯草芽孢桿菌 (*B. subtilis*)）；經含有抗體編碼序列之重組酵母表現載體轉化之酵母（例如，畢氏酵母 (*Saccharomyces pichia*)）；經含有免疫球蛋白編碼序列之重組病毒表現載體（例如，杆狀病毒）感染之昆蟲細胞系統；經重組病毒表現載體（例如，花椰菜花葉病毒 (CaMV) 及菸

草花葉病毒(TMV))感染或經含有抗體編碼序列之重組質粒表現載體(例如Ti質粒)轉化之植物細胞系統；或具有重組表現構築體之哺乳動物細胞系統(例如，COS、CHO、CHO-S、BH、293、293T或3T3細胞)，該等構築體含有源自哺乳動物細胞之基因組之啟動子(例如，金屬硫蛋白啟動子)或源自哺乳動物病毒之啟動子(例如，腺病毒晚期啟動子；疫苗病毒7.5K啟動子)。

在細菌系統中，可端視所表現抗體之既定用途有利地選擇多種表現載體。舉例而言，在欲產生大量該蛋白質時，可期望引導表現大量易純化融合蛋白產物之載體。該等載體包括但不限於大腸桿菌表現載體pUR278(Ruther等人，1983, EMBOJ. 2:1791-94)，其中可將抗體編碼序列個別地連接至載體中並與lac Z編碼區同框，從而使得可產生融合蛋白；pIN載體(Inouye及Inouye，1985, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109；Van Heeke及Schuster，1989, J. Biol. Chem. 24:5503-5509)；及諸如此類。pGEX載體亦可用於將外來多肽表現為與麩胱甘肽S-轉移酶(GST)之融合蛋白。一般而言，該等融合蛋白可溶且易於藉由以下方式自溶解細胞純化：吸附並結合至麩胱甘肽-瓊脂糖珠粒基質，之後在游離麩胱甘肽存在下洗脫。pGEX載體經設計以包括凝血酶或因子Xa蛋白酶裂解位點以使得可自GST部分釋放所選殖靶基因產物。

在昆蟲系統中，苜蓿銀紋夜蛾(*Autographa californica*)核型多角體病毒(AcNPV)或來自黑腹果蠅(*Drosophila*

melanogaster)之類似病毒可作為載體用於表現外來基因。病毒在福吉斜紋夜蛾(*Spodopiera frugipenta*)細胞中生長。可將抗體編碼序列個別地選殖至病毒之非必需區(例如,多角體蛋白基因)中並置於AcNPV啟動子(例如多角體蛋白啟動子)控制下。

在哺乳動物宿主細胞中,可採用多種基於病毒之表現系統。在使用腺病毒作為表現載體之情形下,可將目標抗體編碼序列連接至腺病毒轉錄/轉譯控制複合物(例如,晚期啟動子及三聯前導序列)。隨後可藉由活體外或活體內重組將此嵌合基因插入腺病毒基因組中。於病毒基因組之非必需區(例如,區E1至E3)中插入產生可行且能夠表現感染宿主中之免疫球蛋白分子的重組病毒。(例如,參見Logan及Shenk, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 :355-359)。亦可需要特異性起始信號以便有效轉譯插入之抗體編碼序列。該等信號包括ATG起始密碼子及毗鄰序列。此外,起始密碼子可運作地與期望編碼序列之讀碼框相關以確保完整插入之轉譯。該等外源性轉譯控制信號及起始密碼子可具有多種起源(天然及合成兩種)。可藉由納入適當轉錄增強子元件、轉錄終止子等增強表現效率(例如,參見Bittner等人, 1987, Methods in Enzymol. 153:51-544)。

另外,宿主細胞菌株可經選擇以調節插入序列之表現、或以期望特定方式修飾並處理基因產物。蛋白產物之該等修飾(例如糖基化)及處理(例如裂解)對於蛋白質之功能可為重要的。不同宿主細胞針對蛋白質及基因產物之轉譯後

處理及修飾具有獨特且特異性機制。適當細胞系或宿主系統可經選擇以確保所表現外來蛋白質之正確修飾及處理。為此，可使用對初級轉錄物之適宜加工、基因產物之糖基化及磷酸化具有細胞機制之真核宿主細胞。該等哺乳動物宿主細胞包括但不限於 CHO(例如 DG44 或 CHO-S)、VERY、BH、HeIa、COS、MDCK、293、293T、3T3、WI38、BT483、Hs578T、HTB2、BT20及 T47D、CRL7030 及 Hs578Bst。

對於重組蛋白之長期、高產率生產而言，穩定表現為較佳。舉例而言，可對穩定表現抗體之細胞系進行改造。與其使用含有病毒複製起源之表現載體，宿主細胞可用受適當表現控制元件(例如，啟動子、增強子、序列、轉錄終止子、聚腺苷酸化位點等)控制之 DNA 及選擇標記轉化。在引入外來 DNA 之後，可使經改造細胞在滋養培養基中生長 1 至 2 天且隨後轉換至選擇培養基。重組質粒之可選擇標記可賦予針對該選擇之抗性並容許細胞將質粒穩定地整合入其染色體中並生長形成隨後可經選殖並擴增成細胞系之轉化灶的細胞。此方法可有利地用於改造表現抗體之細胞系。該等經改造細胞系尤其可用於直接或間接與抗體相互作用之腫瘤抗原的篩選及評價。

可使用多種選擇系統。舉例而言，單純性皰疹病毒胸苷激酶(例如，參見 Wigler 等人，1977, Cell 11:223)、次黃嘌呤-鳥嘌呤磷酸核糖轉移酶(例如，參見 Szybalska 及 Szybalski，1992, Proc. Natl Acad. Sci. USA 48:202)及腺嘌呤

呤磷酸核糖轉移酶(例如，參見Lowy等人，1980, Cell 22:817)基因可分別用於tk-、hgprt-或aprt-細胞中。同樣，抗代謝物抗性可用作對於下列基因進行選擇之基礎：DHFR，其賦予胺甲蝶呤抗性(例如，參見Wigler等人，1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:3567-70；O'Hare等人，1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 1527-31)；gpt，其賦予噻吩酸抗性(例如，參見Mulligan及Berg，1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072-76)；neo，其賦予胺基糖苷G-418抗性(例如，參見 Clinical Pharmacy 12:488-505；Wu及Wu，1991, Biotherapy 3:87-95；Tolstoshev, 1993, Arm. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596；Mulligan, 1993, Science 260:926-932；Morgan及Anderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217；及May, 1993, TIB TECH 11(5): 155- 215)及hygro，其賦予潮黴素抗性(例如，參見Santerre等人，1984, Gene 30:147-50)。重組DNA技術領域通常習知之可使用之方法闡述於以下文獻中：Ausubel等人(編輯，1993-2006，Current Protocols in Molecular Biology. John Wiley & Sons, NY；Kriegler, 1990, Gene Transfer and Expression. A laboratory Manual, Stockton Press, NY；及第12及13章，Dracopoli等人(編輯，1994, Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY；及Colberre-Garapin等人，1981，7. Mol. Biol. 150:1-14)。

可藉由載體擴增提高抗體之表現程度(關於綜述，參見

Bebbington及Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, 第3卷(Academic Press, New York, 1987))。在表現抗體之載體系統中的標記可擴增時, 增加存於宿主細胞之培養物中之抑制劑的含量可增加標記基因之拷貝數。由於該擴增區與抗體之核苷酸序列締合, 因此亦可增加抗體之生產(例如, 參見Crouse等人, 1983, Mol. Cell. Biol. 3:257-66)。

宿主細胞可與兩個表現載體共轉染, 第一載體編碼重鏈衍生之多肽且第二載體編碼輕鏈衍生之多肽。兩個載體可含有使得重鏈及輕鏈多肽同等表現之相同或不同可選擇標記。或者, 單一載體可用於編碼重鏈及輕鏈兩種多肽。在該等情況中, 通常將輕鏈置於重鏈之前以避免過量毒性游離重鏈(例如, 參見Proudfoot, 1986, Nature 322:562-65; Kohler, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:2197-9)。重鏈及輕鏈之編碼序列可包含cDNA或基因組DNA。

在重組表現抗體後, 其可使用適於純化抗體之任一方法來純化, 例如藉由層析(例如, 離子交換層析、親和層析(尤其係用於特異性抗原之蛋白A親和層析)及分級管柱層析)、離心、差別性溶解或藉由用於純化蛋白之任一其他標準技術。

用於製備本發明單株抗體之所有步驟的全面參考文獻係Yokoyama等人, 「Production of Monoclonal Antibodies」, Current Protocols in Immunology, Unit 2.5, 2006。

實例

實例 1，對 CD33 之親和力

CD33 結合劑對細胞系 HL60 及 HEK293-食蟹猴 CD33 分別具有 10 nM 或更小之對人類及食蟹猴 CD33 之親和力 K_D 。

在 CD33 表現細胞 (AML 衍生之 HL60 細胞系、重組 HEK293-食蟹猴 CD33 細胞系) 上藉由 FACS 斯卡查德分析 (Scatchard analysis) (如 Brockhoff 等人 (Cytometry. 1994 年 9 月 1 日 ; 17(1):75-83) 所述) 來確定針對人類及食蟹猴 CD33 之 14 種 CD33 結合劑 (如表 1 中分別列舉為 1 至 14 號之完全人類單株抗體)。簡言之，在 96 孔中以第一孔中之 100-400 nM 開始製備 CD33 結合劑稀釋物 (80 μ l)，之後進行 11 個稀釋步驟 (1:2, 40+40 μ l)。向 FACS 管中添加 50 μ l CD33 結合劑稀釋物，向每一 FACS 管中添加 150 μ l 細胞 (0.8×10^6 / ml = 1.2×10^5 個細胞 / 孔)。輕柔混合各細胞並在冰上培育 1 h。其後，添加 50 μ l FITC 偶聯二級抗體 (濃度 15 μ g/ml；小鼠 mAb 抗人類 IgG)，混合並在冰上培育 30 min。其後添加 4 ml 含有 0.02% 酸之 PBS (pH 7.2)，使細胞沉澱並重新懸浮於 300 μ l PBS pH 7.2 中並使用 BD FACS Canto 進行分析。所有實驗步驟均係在濕冰上實施，所有 CD33 結合劑稀釋物均係在 PBS/0.5% BSA+0.02% 酸中製得。使用 Quantum FITC MESF (Premix) Beads (Bangs Laboratories) 實施 FACS 校正。使用相同 FACS 參數量測所有試樣。在不同 CD33 結合劑濃度下自 MFI 值計算結合 IgG 對游離 IgG 之比率並將其展示為斯卡查德圖。通過所得數據點繪示回歸線，此線之

斜率對應於締合常數之負值。結果列舉於表2中。

編號	純系ID編號	人類CD33 K_D (nM)	食蟹猴CD33 K_D (nM)
1	280-03-08	0.3	0.03
2	280-21-09	0.4	0.3
3	280-29-12	0.5	0.6
4	280-31-01	0.4	0.3
5	280-31-01(mut)	1	0.5
6	280-34-02	0.3	0.5
7	280-50-01	0.3	0.5
8	280-50-01(mut)	0.4	1.7
9	280-61-07	0.3	0.4
10	283-03-03	0.3	1.9
11	283-05-01	0.2	1.1
12	283-07-03	0.3	2.1
13	283-11-03	0.3	0.6
14	283-14-01	3.2	2.3

表 2

實例 2：內化動力學

抗體之內化係指在與抗體一起培育後靶細胞之細胞表面上之抗體/抗原複合物之量減少。利用表現CD33之HL60細胞系實施內化測試。於37°C下將細胞與固定量之CD33結合劑(10 µg/ml之如表1中列舉為1至14號之完全人類單株抗體)一起培育界定時間段(0 h、1 h、4 h、24 h)以使抗體/抗原複合物內化。在指定時間點時，向培育混合物中添加酸以防止進一步內化。其後，添加固定量之CD33結合劑以使細胞表面上之所有CD33抗原位點飽和。藉由FACS分析利用FITC偶聯抗人類IgG二級抗體測定結合細胞表面之

CD33結合劑之總量。時間點0 h用於測定表面上之CD33抗體/抗原複合物的初始含量且定義為100%。結果列舉於表3中且繪示於圖1-3中。

編號	純系ID編號	在與抗體培育4 h後細胞表面上剩餘之CD33抗體/抗原複合物(%)
1	280-03-08	49
2	280-21-09	41
3	280-29-12	49
4	280-31-01	44
5	280-31-01(mut)	52
6	280-34-02	44
7	280-50-01	53
8	280-50-01(mut)	55
9	280-61-07	47
10	283-03-03	45
11	283-05-01	51
12	283-07-03	48
13	283-11-03	46
14	283-14-01	47

表 3

包括林妥珠單抗作為參照抗體。根據公開資料，林妥珠單抗/CD33複合物在林妥珠單抗結合時快速內化。在4h培育時段後，僅CD33/林妥珠單抗複合物之初始量之約20%留在細胞表面上。其可證實，出人意料地，與林妥珠單抗相比，本發明之所有14種CD33結合劑之內化均減速。

實例3：ADCC活性

減速內化速率轉變成增強之活體外ADCC活性。為評定減速內化對CD33結合劑(如表1中列舉為1至14號之完全人



類單株抗體)之ADCC活性的效應，將靶細胞(HL60)與CD33結合劑一起培育0 h、1 h、4 h及24 h。隨後，利用IL-2刺激之PBMC作為效應細胞及經塗覆HL60細胞作為靶細胞實施ADCC分析。對於所有實驗而言，使用30 µg/ml之mAb濃度。在96孔圓底微量滴定板中以由存於RPMI中之10%人類血清及1% BSA(比率為1:1)組成之200 µl分析培養基/孔的最終體積一式四份或一式三份地實施效應細胞與靶細胞在CD33結合劑存在下之共培養。首先，平鋪效應細胞(新鮮分離之PBMC細胞，存於100 µl存於RPMI中之10%人類血清/孔中)，之後平鋪靶細胞及CD33結合劑溶液(稀釋於50 µl存於RPMI中之1% BSA中)。作為對照，在單獨分析培養基中培養效應細胞(效應細胞對照)且在單獨分析培養基中(自發溶解)或在補充有1% Triton X-100之分析培養基中(最大溶解)培養靶細胞。於37°C下將共培養物在濕CO₂培育箱中培育3小時。在培育結束時，於室溫下藉由離心(200×g，即1000 rpm；10 min)自培養基移出培育細胞。將無細胞之上清液(100 µl/孔)轉移至96孔平底板之相應孔中。為測定該等上清液中之LDH活性，向每一孔中添加100 µl反應混合物(新鮮混合之250 µl觸媒與11.25 ml染料溶液)並在室溫下於黑暗中培育30 min。隨後如下文所述量測吸光度。

使用細胞毒性檢測套組(LDH；Roche 11 644 793 001)量測ADCC活性。細胞毒性之檢測係基於自質膜受損細胞釋放之LDH酶活性的量測。釋放至培養物上清液中之LDH將

套組之四唑鹽還原為甲月替(formazan)。於490 nm下針對650 nm之參照波長在ELISA板讀數器中量測甲月替染料之最大吸收。為測定細胞調介之細胞毒性百分比，計算一式四份或一式三份之平均吸光度並減去背景。將該等校正值代入以下方程中以計算ADCC (%)：

(效應/靶細胞混合物-效應細胞對照-自發釋放)除以(最大釋放-自發釋放)

將時間點0 h(無靶細胞之抗體預培育)時之ADCC活性定義為100% ADCC活性。相對於時間點0 h計算抗體預培育之不同時間點的ADCC活性並展示為相對細胞毒性(%)。

CD33結合劑與林妥珠單抗相比之減速內化產生與林妥珠單抗相比增強之ADCC活性。總之，減速內化導致ADCC活性增強。所述CD33結合劑之內化與CD33結合劑之ADCC活性逆相關，其可指示關於該等CD33結合劑之臨床活性的優勢。針對此實驗中之內化動力學的結果繪示於圖4中且針對ADCC活性之結果繪示於圖5中。

實例4：表位之測繪

藉由氫交換質譜(HXMS)測定相對於林妥珠單抗之表位的本文所述CD33結合劑之結合表位。

此方法測定CD33蛋白質之醯胺骨架氫與D₂O交換之易感性。利用單獨重組CD33蛋白質及添加有CD33結合劑/林妥珠單抗之CD33蛋白質(在此實例之下文中稱作「一種抗體/多種抗體」)執行該等實驗。由此鑑別CD33蛋白質中由於結合抗體而顯示顯著抗交換保護的區。藉由利用胃蛋白酶

消化產生之肽測定該方法之解析度，例如，所得胺基酸序列可大於抗體之實際表位。藉由其他對照實驗利用使用標準精確質量及HPLC MS/MS技術之未變化試樣鑑別該等CD33衍生之肽。

對於蛋白質+抗體試樣而言，於室溫下將CD33蛋白質及抗體培育15分鐘。抗體/CD33之最終莫耳比係2:1。使用LEAP機器人系統(交換板保持在25°C下，試樣/淬滅板保持在4°C下)向80 µl交換緩衝液(10 mM NaH₂PO₄，存於D₂O中，pH=7或10 mM NaH₂PO₄，存於H₂O中，pH=7)中添加8 µl試樣，混合，並於25°C下交換不同時間(15、60、120、240、及600秒)。隨後於4°C下將80 µl此溶液轉移至80 µl淬滅緩衝液(1 M脲，0.1 M TCEP-HCl)並混合。隨後於4°C下將90 µl此溶液轉移至10 µl胃蛋白酶(4 mg/ml)並混合。2分鐘後，將60 µl此溶液注射至Michrom C18捕集柱上。將該柱用H₂O+0.1% TFA以100 µl/min洗滌2分鐘。隨後切換閥並將該柱洗脫於Phenomenex Jupiter C5管柱(1.0×50 mm，5 µm，300 Å)上。流動相A係水/乙腈/TFA (99/0.95/0.05)且流動相B係乙腈/水/TFA (95/4.95/0.05)。流速係100 µl/min。梯度係：0分鐘(0%B)、6分鐘(40%B)、7分鐘(40%B)、8分鐘(90%B)、10分鐘(90%B)、11分鐘(0%B)。LEAP系統將流動相預冷卻至4°C並亦維持捕集管柱及分析管柱於4°C下。對於MS實驗(用於定量與D₂O緩衝液之交換)而言，於60,000解析度下使用300-2000之單次掃描方法達14分鐘。對於MS/MS實驗(用於鑑別與H₂O緩衝液交換之

肽)而言，使用7次掃描之方法達14分鐘。第一掃描係30,000解析度下300-2000之全範圍掃描。隨後掃描係自第1次掃描之6種最強離子之CID掃描。隔離寬度係1.5 amu，碰撞能量係35 V，活化時間係30 msec。使用片段數據及程式Proteome Discoverer (Thermo)鑑別胃蛋白酶肽。使用計算交換肽之平均質量的內部程式分析所鑑別肽。

所有 CD33 結合劑均保護具有胺基酸序列 FFHPIPYDYDKNSPVHGYW (SeqID No:141)(表4)之相同肽片段。由本文所述CD33結合劑保護之CD33之序列與藉由結合林妥珠單抗保護之CD33之肽序列(MDPNFWLQVQE, SeqID No:142)不同且不重疊。在使用SIGLEC-5之晶體結構之電腦建模中，與CD33同源之SIGLEC家族成員揭示蛋白質之近端結構域中的所有抗體之結合表位，其中林妥珠單抗之結合表位不同於本文所述CD33結合劑之結合表位。總之，本專利申請案中闡述之CD33結合劑與林妥珠單抗結合不同表位。

編號	純系ID編號	CD33表位
1	280-03-08	FFHPIPYDYDKNSPVHGYW
2	280-21-09	FFHPIPYDYDKNSPVHGYW
3	280-29-12	FFHPIPYDYDKNSPVHGYW
4	280-31-01	FFHPIPYDYDKNSPVHGYW
5	280-31-01(mut)	FFHPIPYDYDKNSPVHGYW
6	280-34-02	FFHPIPYDYDKNSPVHGYW
7	280-50-01	FFHPIPYDYDKNSPVHGYW
8	280-50-01(mut)	FFHPIPYDYDKNSPVHGYW

9	280-61-07	FFHPIPIYYDKNSPVHGYW
10	283-03-03	FFHPIPIYYDKNSPVHGYW
11	283-05-01	FFHPIPIYYDKNSPVHGYW
12	283-07-03	FFHPIPIYYDKNSPVHGYW
13	283-11-03	FFHPIPIYYDKNSPVHGYW
14	283-14-01	FFHPIPIYYDKNSPVHGYW
15	林妥珠單抗	MDPNFWLQVQE

表 4

【圖式簡單說明】

圖 1-3 顯示本發明例示性 CD33 結合劑與林妥珠單抗相比在 HL60 細胞上之內化。

圖 4 顯示本發明之兩種例示性抗體與林妥珠單抗相比在 HL60 細胞上之內化比率。

圖 5 顯示本發明之兩種例示性抗體與林妥珠單抗相比在 HL60 細胞上之 ADCC 性能。

序列表

<110> 德商百靈佳殷格翰國際股份有限公司
 <120> CD33結合劑
 <130> 12-0321-FF
 <140> 100135799
 <141> 2011-10-03
 <150> 10186468.4
 <151> 2010-10-04

<160> 142

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 1

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 2
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 2

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 3
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 3

His Trp Leu Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 4
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 4

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 5
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 5

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 6
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 6

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 7
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 7

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 8
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 8

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 9
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 9

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 10
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 10

Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 11
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 11

Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 12
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 12

Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 13
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 13

Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 14
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 14

Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 15
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 15

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 16
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 16

Arg Ile Ile Pro Ile Ile Asn Ile Ala Ser Tyr Ala Gln Asn Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 17
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 17

Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 18
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 18

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 19
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 19

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 20
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 20

Arg Ile Ile Pro Ile Val Gly Ile Val Asn Tyr Ala Glu Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 21
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 21

Arg Val Ile Pro Ile Ile Gly Ile Ala Ser Tyr Ala Gln Asn Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 22
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 22

Arg Val Ile Pro Ile Ile Gly Ile Ala Ser Tyr Ala Gln Asn Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 23
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 23

Arg Val Ile Pro Ile Ile Gly Ile Ala Ser Tyr Ala Gln Asn Phe Glu
1 5 10 15

Gly

<210> 24
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 24

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Asp Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 25
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 25

Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 26
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 26

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 27

Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 28

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 29

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 29

Asp Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 30

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 30

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 31

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 31

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 32

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 32

Asp Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 33

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 33

Asp Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 34

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 34

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 35

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 35

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 36

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 36

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 37

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 37

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 38

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 38

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 39

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 39

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 40

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 40

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 41

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 41

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 42

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 42

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 43

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 43

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 44

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 44

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 45

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>
 <223> CDR
 <400> 45
 Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
 1 5

<210> 46
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR
 <400> 46

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
 1 5

<210> 47
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR
 <400> 47

Gln Gln Phe Asp Ser Ser Ile Thr
 1 5

<210> 48
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR
 <400> 48

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Tyr Thr
 1 5

<210> 49
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR
 <400> 49

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
 1 5

<210> 50
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 50

Gln Gln Phe Asp Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 51
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 51

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 52
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 52

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 53
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 53

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 54
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 54

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 55
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 55

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 56

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 56

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 57

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 58

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 58

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 59

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 60

<211> 7

<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 60

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 61
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 61

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 62
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 62

Asp Ala Ser Arg Leu Glu Ser
1 5

<210> 63
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 63

Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 64
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 64

Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 65

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 65

Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 66
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 66

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 67
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 67

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 68
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 68

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 69
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 69

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 70
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 70

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
 1 5

<210> 71
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 71

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
 1 5 10

<210> 72
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 72

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

<210> 73
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 73

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

<210> 74
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 74

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
 1 5 10

<210> 75
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 75

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
 1 5 10

<210> 76
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 76

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

<210> 77
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 77

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
 1 5 10

<210> 78
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 78

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
 1 5 10

<210> 79
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 79

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
 1 5 10

<210> 80
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 80

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

<210> 81
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 81

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

<210> 82
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 82

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

<210> 83
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 83

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

<210> 84
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> CDR

<400> 84

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 85
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 85

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 86
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 86

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 87
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 87

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

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

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

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

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

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

Ala Arg His Trp Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 88
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 88

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Arg Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 89
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> VH

<400> 89

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Arg Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 90
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 90

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

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

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

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Val Gly Ile Val Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 91
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 91

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 92
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 92

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 93
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>

<223> VH

<400> 93

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 94
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 94

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

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

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

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Asp Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 95
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 95

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 96
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 96

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

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

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

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 97
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 97

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

Ser Met Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 98
<211> 119
<212> PRT

<213> 人エ

<220>

<223> VH

<400> 98

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 99

<211> 107

<212> PRT

<213> 人エ

<220>

<223> VL

<400> 99

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

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

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

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

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

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

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

<210> 100
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 100

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

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

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

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

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

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

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

<210> 101
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 101

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

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

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

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50

55

60

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

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

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

<210> 102
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 102

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

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

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

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

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

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

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

<210> 103
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 103

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

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

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

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

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

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

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

<210> 104

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VL

<400> 104

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

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

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

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

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

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

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

<210> 105

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VL

<400> 105

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

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

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

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

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

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

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

<210> 106
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 106

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

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

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

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

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

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

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

<210> 107
<211> 107

<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 107

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

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

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

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

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

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

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

<210> 108
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 108

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

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

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

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

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

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

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

<210> 109
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 109

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

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

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

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

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

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

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

<210> 110
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 110

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

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

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

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

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

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

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

<210> 111
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 111

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

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

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

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

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

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

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

<210> 112
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 112

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Met Ile

35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105
 <210> 113
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> 人工
 <220>
 <223> VH
 <400> 113
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Arg Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435	440	445
<210> 114		
<211> 447		
<212> PRT		
<213> 人工		
<220>		
<223> VH		
<400> 114		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser		
1 5 10 15		
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr		
20 25 30		
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35 40 45		
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Ile Asn Ile Ala Ser Tyr Ala Gln Asn Phe		
50 55 60		
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr		
65 70 75 80		
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85 90 95		
Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met		
100 105 110		
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu		
115 120 125		
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys		
130 135 140		
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser		
145 150 155 160		
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
165 170 175		
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		
180 185 190		
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		
195 200 205		
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		
210 215 220		

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 115
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> 人工
 <220>
 <223> VH
 <400> 115
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg His Trp Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 116
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 116

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

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

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

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

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

Met Glu Leu Ser Ser₈₅ Leu Arg Ser Glu Asp₉₀ Thr Ala Val Tyr Tyr₉₅ Cys

Ala Arg Asn Trp₁₀₀ Ala Asp Ala Phe Asp₁₀₅ Ile Trp Gly Gln Gly₁₁₀ Thr Met

Val Thr Val₁₁₅ Ser Ser Ala Ser Thr₁₂₀ Lys Gly Pro Ser Val₁₂₅ Phe Pro Leu

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr₁₃₅ Ser Gly Gly Thr Ala₁₄₀ Ala Leu Gly Cys

Leu Val₁₄₅ Lys Asp Tyr Phe₁₅₀ Pro Glu Pro Val Thr₁₅₅ Val Ser Trp Asn Ser₁₆₀

Gly Ala Leu Thr Ser₁₆₅ Gly Val His Thr Phe₁₇₀ Pro Ala Val Leu Gln Ser₁₇₅

Ser Gly Leu Tyr₁₈₀ Ser Leu Ser Ser Val₁₈₅ Val Thr Val Pro Ser₁₉₀ Ser Ser

Leu Gly Thr₁₉₅ Gln Thr Tyr Ile Cys₂₀₀ Asn Val Asn His Lys₂₀₅ Pro Ser Asn

Thr Lys₂₁₀ Val Asp Lys Arg Val₂₁₅ Glu Pro Lys Ser Cys₂₂₀ Asp Lys Thr His

Thr Cys₂₂₅ Pro Pro Cys Pro₂₃₀ Ala Pro Glu Leu Leu₂₃₅ Gly Gly Pro Ser Val₂₄₀

Phe Leu Phe Pro Pro₂₄₅ Lys Pro Lys Asp Thr₂₅₀ Leu Met Ile Ser Arg₂₅₅ Thr

Pro Glu Val Thr₂₆₀ Cys Val Val Val Asp₂₆₅ Val Ser His Glu Asp₂₇₀ Pro Glu

Val Lys Phe₂₇₅ Asn Trp Tyr Val Asp₂₈₀ Gly Val Glu Val His₂₈₅ Asn Ala Lys

Thr Lys₂₉₀ Pro Arg Glu Glu Gln₂₉₅ Tyr Asn Ser Thr Tyr₃₀₀ Arg Val Val Ser

Val₃₀₅ Leu Thr Val Leu His₃₁₀ Gln Asp Trp Leu Asn₃₁₅ Gly Lys Glu Tyr Lys₃₂₀

Cys Lys Val Ser Asn₃₂₅ Lys Ala Leu Pro Ala₃₃₀ Pro Ile Glu Lys Thr₃₃₅ Ile

Ser Lys Ala Lys₃₄₀ Gly Gln Pro Arg Glu₃₄₅ Pro Gln Val Tyr Thr₃₅₀ Leu Pro

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 117
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 117

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 118
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 118

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

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

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

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Val Gly Ile Val Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 119
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> VH

<400> 119

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 120
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 120

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 121

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VH

<400> 121

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 122
<211> 449
<212> PRT
<213> 人エ

<220>
<223> VH

<400> 122

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

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

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

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Asp Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

<210> 123
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 123

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 124
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 124

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

1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr	20	25	30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	35	40	45
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe	50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Tyr Thr Ala Tyr	65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	85	90	95
Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly	100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe	115	120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu	130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp	145	150	155
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu	165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser	180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro	195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys	210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro	225	230	235
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser	245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp	260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn	275	280	285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 125
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 125

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

Ser Met Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Cys Thr Ala Tyr		
65	70	75 80
Met Glu Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90 95
Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly		
	100	105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe		
	115	120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu		
	130	135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp		
	145	150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
	165	170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
	180	185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
	195	200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
	210	215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
	225	230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
	245	250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
	260	265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
	275	280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
	290	295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
	305	310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
	325	330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 126

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VH

<400> 126

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly

100					105					110					
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
		115					120					125			
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
	130					135					140				
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
145					150					155					160
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
				165					170					175	
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
			180					185					190		
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
		195					200					205			
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys
	210					215					220				
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
225					230					235					240
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
				245					250					255	
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp
			260					265					270		
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
		275					280					285			
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
	290					295					300				
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
305					310					315					320
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys
				325					330					335	
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr
			340					345					350		
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr
		355					360					365			
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu
	370					375					380				

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 127
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 127

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu

145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 128
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 128

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 129
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 129

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 130
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 130

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 131
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 131

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe

	195	200	205
Asn Arg Gly Glu Cys			
210			
<210> 132			
<211> 213			
<212> PRT			
<213> 人工			
<220>			
<223> VL			
<400> 132			
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1 5 10 15			
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala			
20 25 30			
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
35 40 45			
Tyr Asp Ala Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50 55 60			
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65 70 75 80			
Glu Asp Phe Thr Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Tyr Thr			
85 90 95			
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro			
100 105 110			
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr			
115 120 125			
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys			
130 135 140			
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu			
145 150 155 160			
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser			
165 170 175			
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala			
180 185 190			
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe			
195 200 205			

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 133
<211> 213
<212> PRT
<213> 人エ

<220>
<223> VL

<400> 133

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 134
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 134

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 135
<211> 213

<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 135

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 136
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工

<220>

<223> VL

<400> 136

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 137

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VL

<400> 137

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 138

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VL

<400> 138

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1	5	10	15
Asp Arg Val	Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala		
	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Met Ile			
	35	40	45
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
	65	70	75
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr			
	85	90	95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro			
	100	105	110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr			
	115	120	125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys			
	130	135	140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu			
	145	150	155
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser			
	165	170	175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala			
	180	185	190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe			
	195	200	205
Asn Arg Gly Glu Cys			
	210		

<210> 139
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> VL

<400> 139

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 140
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL
<400> 140

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 141
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 表位範圍

<400> 141

Phe Phe His Pro Ile Pro Tyr Tyr Asp Lys Asn Ser Pro Val His Gly
1 5 10 15

Tyr Trp

<210> 142
<211> 11

<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 表位範圍

<400> 142

Met Asp Pro Asn Phe Trp Leu Gln Val Gln Glu
1 5 10

七、申請專利範圍：

1. 一種 CD33 結合劑，其係選自

包含 SeqID No:1 之 CDR1、SeqID No:15 之 CDR2、SeqID No:29 之 CDR3、SeqID No:43 之 CDR4、SeqID No:57 之 CDR5 及 SeqID No:71 之 CDR6 的抗體，

包含 SeqID No:2 之 CDR1、SeqID No:16 之 CDR2、SeqID No:30 之 CDR3、SeqID No:44 之 CDR4、SeqID No:58 之 CDR5 及 SeqID No:72 之 CDR6 的抗體，

包含 SeqID No:3 之 CDR1、SeqID No:17 之 CDR2、SeqID No:31 之 CDR3、SeqID No:45 之 CDR4、SeqID No:59 之 CDR5 及 SeqID No:73 之 CDR6 的抗體，

包含 SeqID No:4 之 CDR1、SeqID No:18 之 CDR2、SeqID No:32 之 CDR3、SeqID No:46 之 CDR4、SeqID No:60 之 CDR5 及 SeqID No:74 之 CDR6 的抗體，

包含 SeqID No:5 之 CDR1、SeqID No:19 之 CDR2、SeqID No:33 之 CDR3、SeqID No:47 之 CDR4、SeqID No:61 之 CDR5 及 SeqID No:75 之 CDR6 的抗體，

包含 SeqID No:6 之 CDR1、SeqID No:20 之 CDR2、SeqID No:34 之 CDR3、SeqID No:48 之 CDR4、SeqID No:62 之 CDR5 及 SeqID No:76 之 CDR6 的抗體，

包含 SeqID No:7 之 CDR1、SeqID No:21 之 CDR2、SeqID No:35 之 CDR3、SeqID No:49 之 CDR4、SeqID No:63 之 CDR5 及 SeqID No:77 之 CDR6 的抗體，

包含 SeqID No:8 之 CDR1、SeqID No:22 之 CDR2、

SeqID No:36 之 CDR3 、 SeqID No:50 之 CDR4 、 SeqID No:64 之 CDR5 及 SeqID No:78 之 CDR6 的抗體，

包含 SeqID No:9 之 CDR1 、 SeqID No:23 之 CDR2 、 SeqID No:37 之 CDR3 、 SeqID No:51 之 CDR4 、 SeqID No:65 之 CDR5 及 SeqID No:79 之 CDR6 的抗體，

包含 SeqID No:10 之 CDR1 、 SeqID No:24 之 CDR2 、 SeqID No:38 之 CDR3 、 SeqID No:52 之 CDR4 、 SeqID No:66 之 CDR5 及 SeqID No:80 之 CDR6 的抗體，

包含 SeqID No:11 之 CDR1 、 SeqID No:25 之 CDR2 、 SeqID No:39 之 CDR3 、 SeqID No:53 之 CDR4 、 SeqID No:67 之 CDR5 及 SeqID No:81 之 CDR6 的抗體，

包含 SeqID No:12 之 CDR1 、 SeqID No:26 之 CDR2 、 SeqID No:40 之 CDR3 、 SeqID No:54 之 CDR4 、 SeqID No:68 之 CDR5 及 SeqID No:82 之 CDR6 的抗體，

包含 SeqID No:13 之 CDR1 、 SeqID No:27 之 CDR2 、 SeqID No:41 之 CDR3 、 SeqID No:55 之 CDR4 、 SeqID No:69 之 CDR5 及 SeqID No:83 之 CDR6 的抗體，及

包含 SeqID No:14 之 CDR1 、 SeqID No:28 之 CDR2 、 SeqID No:42 之 CDR3 、 SeqID No:56 之 CDR4 、 SeqID No:70 之 CDR5 及 SeqID No:84 之 CDR6 的抗體。

2. 一種 CD33 結合劑，其係選自

包含 SeqID No:85 之重鏈可變區及 SeqID No:99 之輕鏈可變區的抗體，

包含 SeqID No:86 之重鏈可變區及 SeqID No:100 之輕鏈

可變區的抗體，

包含 SeqID No:87之重鏈可變區及 SeqID No:101之輕鏈可變區的抗體，

包含 SeqID No:88之重鏈可變區及 SeqID No:102之輕鏈可變區的抗體，

包含 SeqID No:89之重鏈可變區及 SeqID No:103之輕鏈可變區的抗體，

包含 SeqID No:90之重鏈可變區及 SeqID No:104之輕鏈可變區的抗體，

包含 SeqID No:91之重鏈可變區及 SeqID No:105之輕鏈可變區的抗體，

包含 SeqID No:92之重鏈可變區及 SeqID No:106之輕鏈可變區的抗體，

包含 SeqID No:93之重鏈可變區及 SeqID No:107之輕鏈可變區的抗體，

包含 SeqID No:94之重鏈可變區及 SeqID No:108之輕鏈可變區的抗體，

包含 SeqID No:95之重鏈可變區及 SeqID No:109之輕鏈可變區的抗體，

包含 SeqID No:96之重鏈可變區及 SeqID No:110之輕鏈可變區的抗體，

包含 SeqID No:97之重鏈可變區及 SeqID No:111之輕鏈可變區的抗體，及

包含 SeqID No:98之重鏈可變區及 SeqID No:113之輕鏈

可變區的抗體。

3. 一種CD33結合劑，其係選自

包含SeqID No:113之重鏈及SeqID No:127之輕鏈的抗體，

包含SeqID No:114之重鏈及SeqID No:128之輕鏈的抗體，

包含SeqID No:115之重鏈及SeqID No:129之輕鏈的抗體，

包含SeqID No:116之重鏈及SeqID No:130之輕鏈的抗體，

包含SeqID No:117之重鏈及SeqID No:131之輕鏈的抗體，

包含SeqID No:118之重鏈及SeqID No:132之輕鏈的抗體，

包含SeqID No:119之重鏈及SeqID No:133之輕鏈的抗體，

包含SeqID No:120之重鏈及SeqID No:134之輕鏈的抗體，

包含SeqID No:121之重鏈及SeqID No:135之輕鏈的抗體，

包含SeqID No:122之重鏈及SeqID No:136之輕鏈的抗體，

包含SeqID No:123之重鏈及SeqID No:137之輕鏈的抗體，

包含 SeqID No:124 之重鏈及 SeqID No:138 之輕鏈的抗體，

包含 SeqID No:125 之重鏈及 SeqID No:139 之輕鏈的抗體，及

包含 SeqID No:126 之重鏈及 SeqID No:140 之輕鏈的抗體。

4. 如請求項 1 至 3 中任一項之 CD33 結合劑，其中該 CD33 結合劑之內化動力學使得在培育後 4 小時該 CD33 結合劑之初始量之至少 30% 保留於 HL60 細胞之細胞表面上。
5. 如請求項 1 至 3 中任一項之 CD33 結合劑，其中該等 CD33 結合劑之內化動力學使得在培育後 4 小時該等 CD33 結合劑之初始量之至少 40% 保留於該細胞表面上。
6. 如請求項 1 至 3 中任一項之 CD33 結合劑，其中該 CD33 結合劑對人類 CD33 及食蟹猴(cynomolgus)CD33 二者具有 K_D 等於或小於 10 nM 之親和力。
7. 如請求項 1 至 3 中任一項之 CD33 結合劑，其中該 CD33 結合劑係人類化。
8. 如請求項 1 至 3 中任一項之 CD33 結合劑，其中該 CD33 結合劑係完全人類 CD33 結合劑。
9. 如請求項 1 至 3 中任一項之 CD33 結合劑，其中該 CD33 結合劑進一步包含效應功能。
10. 如請求項 9 之 CD33 結合劑，其中該效應功能係由 F_c 結構域調介。
11. 如請求項 9 之 CD33 結合劑，其中該 CD33 結合劑在該 F_c 結

構域中包含一或多個調節該Fc結構域功能之突變。

12. 如請求項11之CD33結合劑，其中該Fc結構域功能之調節係ADCC增強至少10%。
13. 如請求項12之CD33結合劑，其中該Fc結構域功能之調節係ADCC增強至少50%。
14. 如請求項13之CD33結合劑，其中該Fc結構域功能之調節係ADCC增強至少100%。
15. 如請求項11之CD33結合劑，其中該Fc結構域中之突變位於一或多個位置，選自根據Kabat EU編號索引之位置332及/或239及/或236的胺基酸。
16. 如請求項11之CD33結合劑，其中該Fc結構域中之突變係位置239及332之取代之組合。
17. 如請求項16之CD33結合劑，其中該Fc結構域中之突變係S239D/ I332E。
18. 一種DNA分子，其包含編碼如請求項1至17中任一項之CD33結合劑之重鏈可變區的區。
19. 一種DNA分子，其包含編碼如請求項1至17中任一項之CD33結合劑之輕鏈可變區的區。
20. 一種表現載體，其含有如請求項18或19之DNA分子。
21. 一種宿主細胞，其攜帶一或多種如請求項20之載體。
22. 一種產生如請求項1至17中任一項之CD33結合劑的方法，其包含用一或多種如請求項20之載體轉染宿主細胞、培養該宿主細胞及回收並純化該抗體分子。
23. 一種醫藥組合物，其包含作為活性成份之一或多種如請

求項1至17中任一項之CD33結合劑及至少一種生理上可接受之載劑。

24. 如請求項23之醫藥組合物，其進一步包含一或多種其他治療劑。

25. 如請求項23或24之醫藥組合物，其用於清除(depleting)表面上表現CD33之細胞。

26. 如請求項23或24之醫藥組合物，其用於治療髓系細胞惡性腫瘤及骨髓發育不良(myelodysplastic)症候群(MDS)。

27. 如請求項26之醫藥組合物，其中該髓系惡性腫瘤選自急性骨髓性白血病及慢性骨髓性白血病。

28. 如請求項23或24之醫藥組合物，其用於治療在病理學中涉及髓系細胞之自體免疫疾病及發炎疾病。

29. 一種如請求項1至17中任一項之CD33結合劑或如請求項23或24之醫藥組合物的用途，其用於製造用於清除患者中表現CD33之髓系細胞的藥劑。

八、圖式：

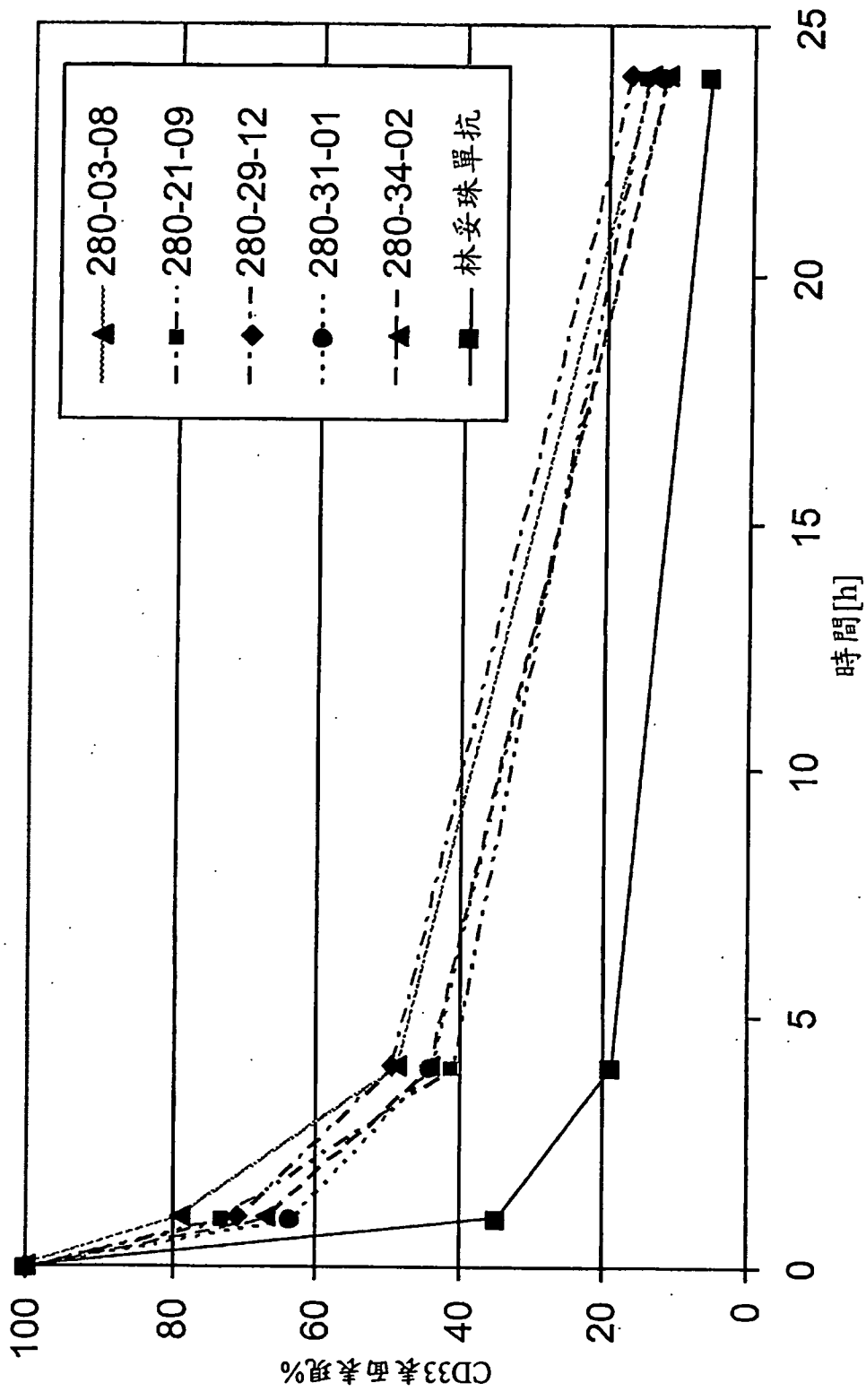


圖1

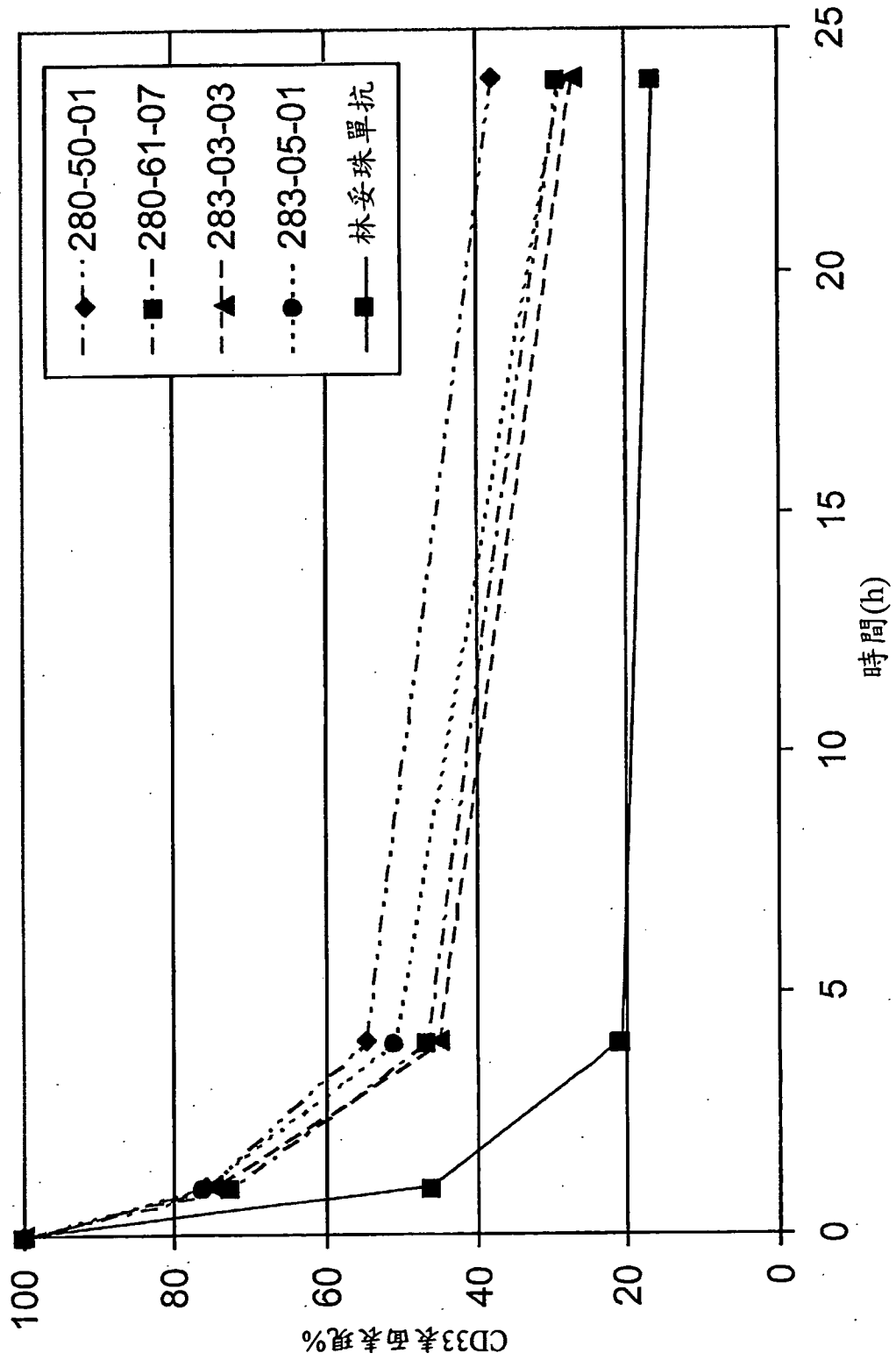


圖2

5

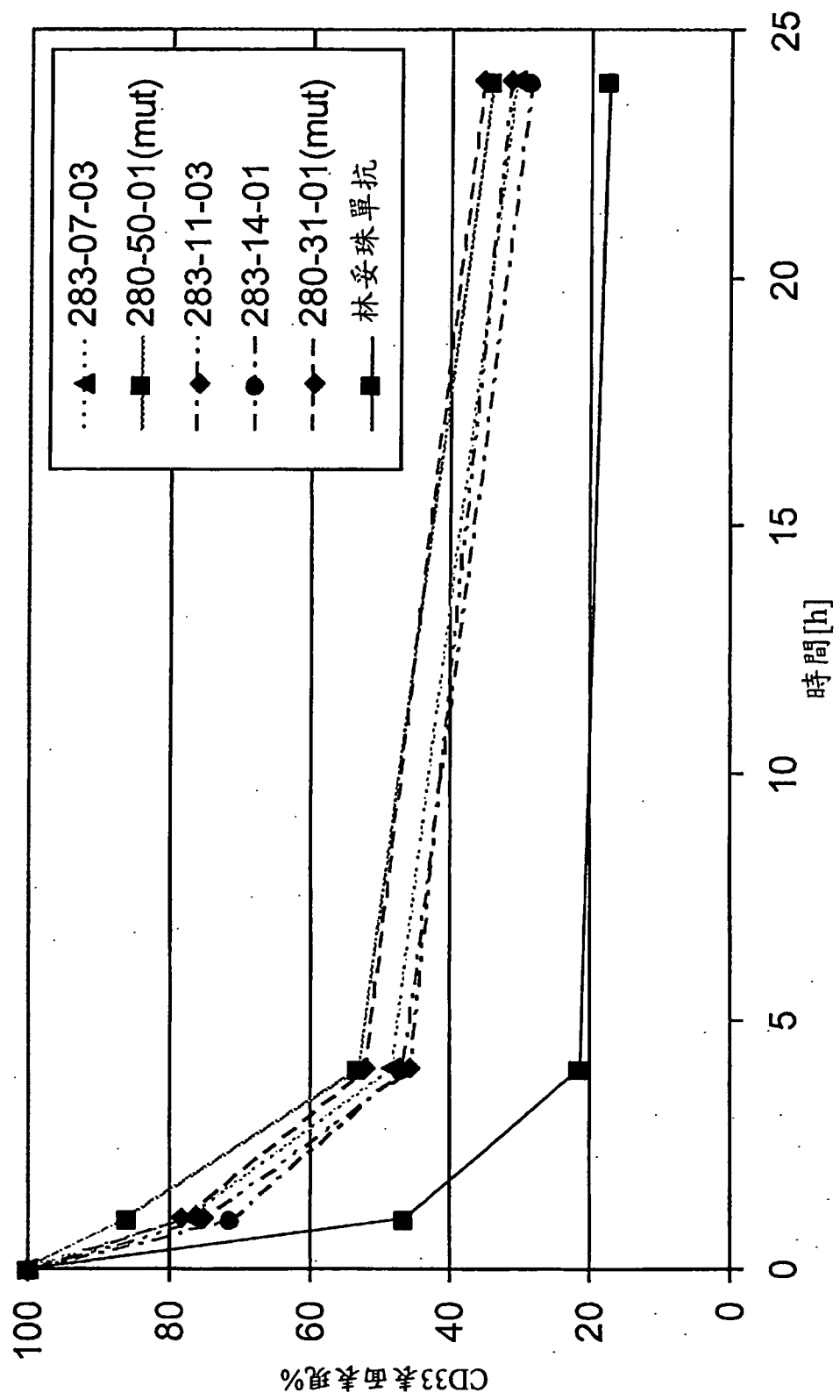


圖3

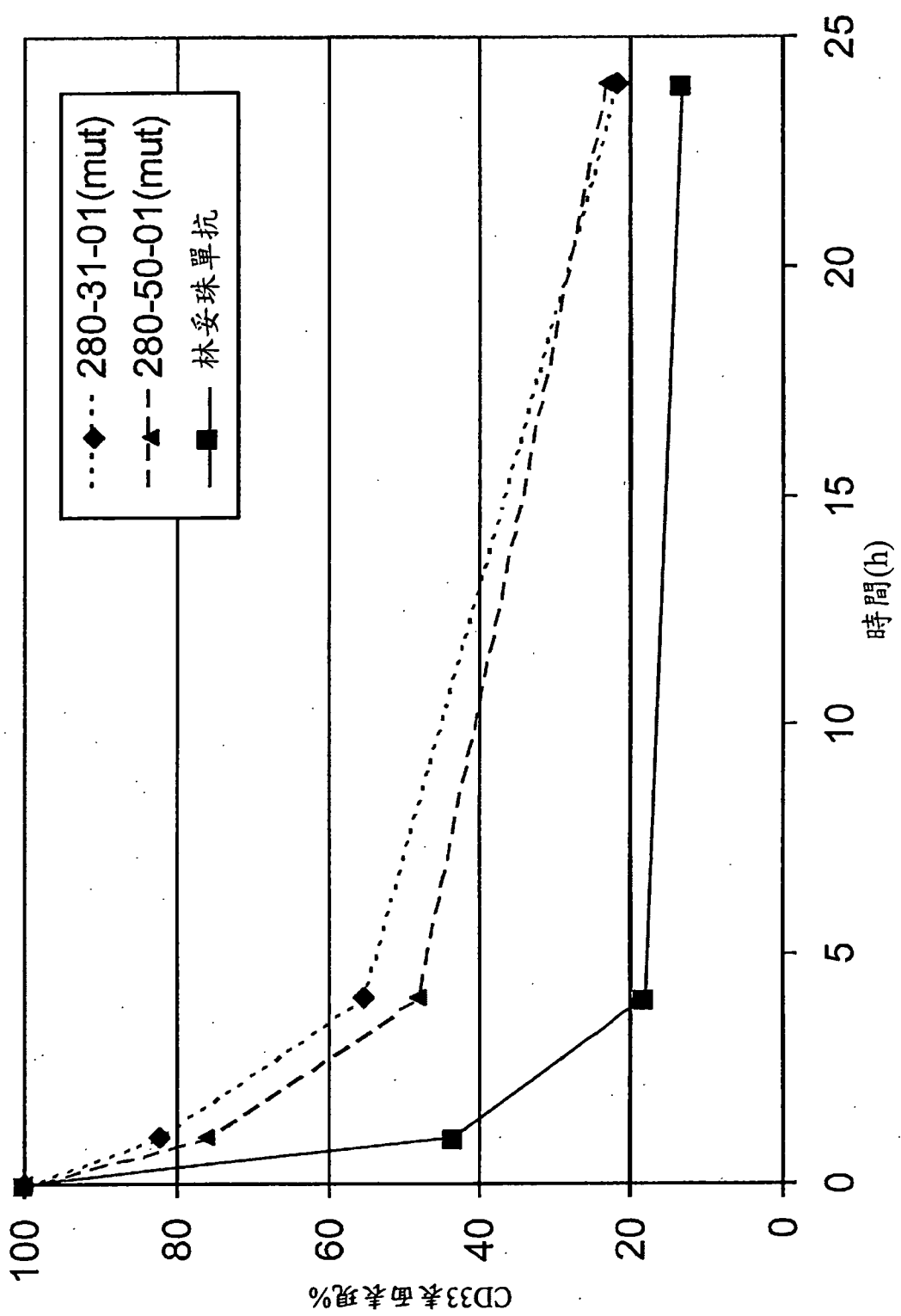


圖4



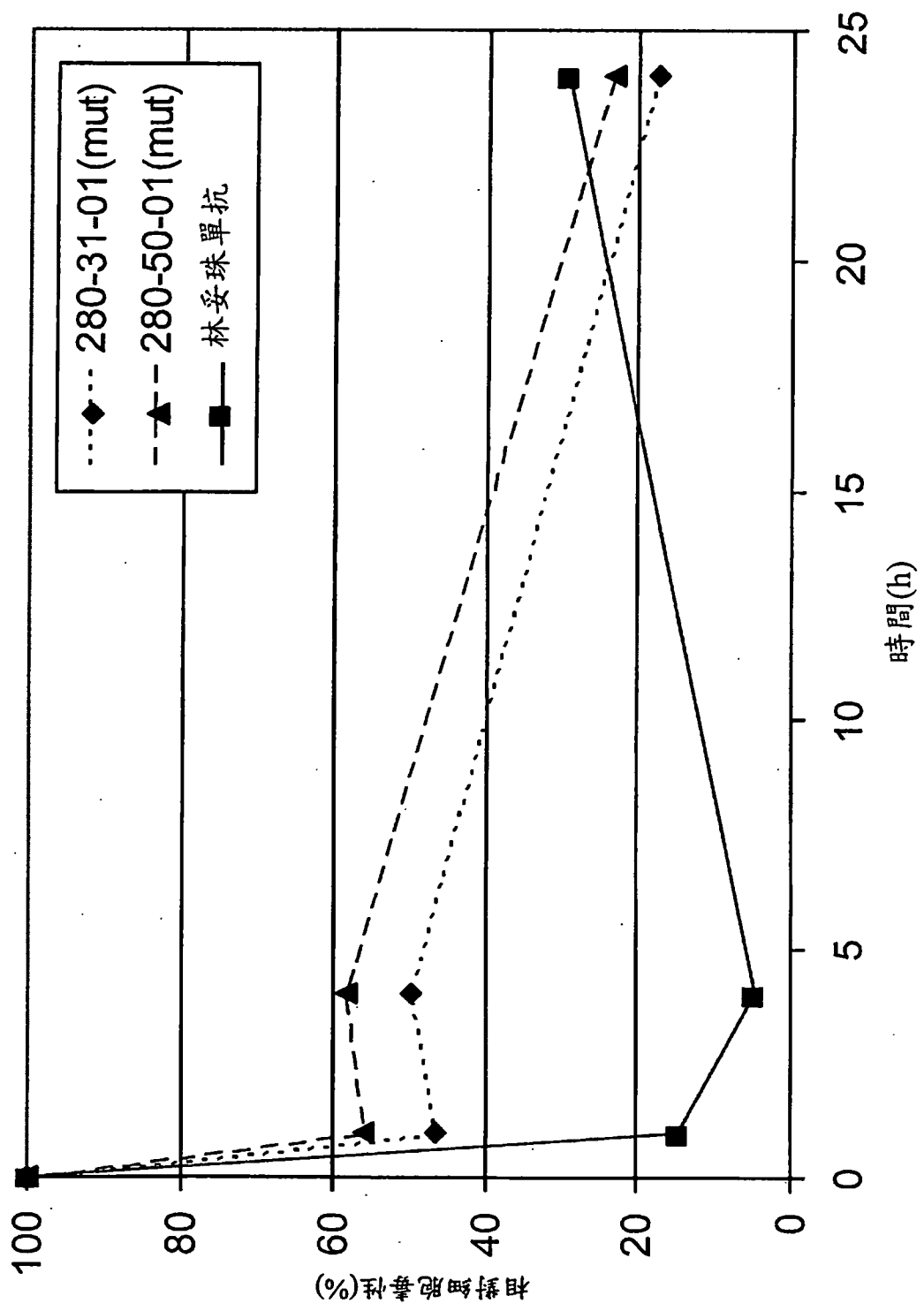


圖5