



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 120157765 A

(43) 申请公布日 2025. 06. 17

(21) 申请号 202510314674.7

C12N 15/13 (2006.01)

(22) 申请日 2020.01.30

A61K 39/395 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 45/06 (2006.01)

62/799,851 2019.02.01 US

A61P 37/06 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

202080012091.4 2020.01.30

(71) 申请人 瑞泽恩制药公司

地址 美国纽约州

(72) 发明人 杰米·M·奥伦戈

安德鲁·J·墨菲

(74) 专利代理机构 北京世峰知识产权代理有限公司

11713

专利代理师 王建秀 刘小立

(51) Int. Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

权利要求书2页 说明书109页

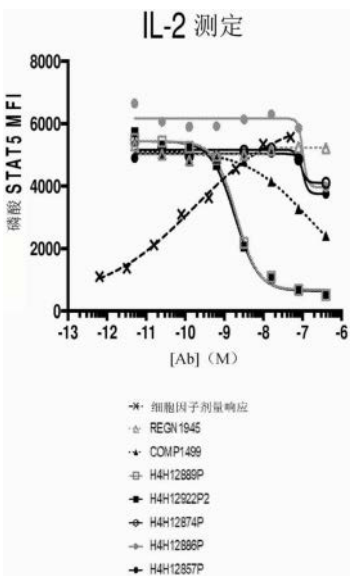
序列表(电子公布) 附图18页

(54) 发明名称

抗IL2受体 γ 抗原结合蛋白

(57) 摘要

本申请提供了抗IL2受体 γ 抗原结合蛋白。本发明涉及与抗IL2受体 γ 蛋白结合的抗体及其使用方法。本发明提供了与人IL2受体 γ (IL2R γ) 特异性结合的抗体和抗原结合片段(例如,人抗体)。还提供了用于使用该抗体和片段来治疗或预防由IL2R γ 介导的疾病(例如,移植物抗宿主病)的方法以及制备该抗体和片段的方法。



1. 与白细胞介素-2受体 γ (IL2R γ) 特异性结合的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 (HCVR) 和轻链可变区 (LCVR),所述重链可变区包含三个重链互补决定区 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3,所述轻链可变区包含三个轻链互补决定区 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3,其中 CDR-H1 包含 SEQ ID NO:337 的氨基酸序列,CDR-H2 包含 SEQ ID NO:339 的氨基酸序列,CDR-H3 包含 SEQ ID NO:341 的氨基酸序列,CDR-L1 包含 SEQ ID NO:72 的氨基酸序列,CDR-L2 包含 SEQ ID NO:54 的氨基酸序列,且 CDR-L3 包含 SEQ ID NO:184 的氨基酸序列。

2. 权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其是抗体。

3. 权利要求2所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是人抗体。

4. 权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其是抗体的抗原结合片段。

5. 权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述HCVR包含SEQ ID NO:335的氨基酸序列和/或所述LCVR包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列。

6. 权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述HCVR包含SEQ ID NO:335的氨基酸序列且所述LCVR包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列。

7. 权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其包含含有SEQ ID NO:343的氨基酸序列的重链和/或含有SEQ ID NO:188的氨基酸序列的轻链。

8. 权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:343的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列。

9. 权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述HCVR包含与SEQ ID NO:335的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和/或所述LCVR包含与SEQ ID NO:182的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

10. 权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其包含:包含与SEQ ID NO:343的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列的重链;和/或包含与SEQ ID NO:188的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列的轻链。

11. 权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其为多特异性的。

12. 复合物,其包含结合至IL2R γ 多肽或其抗原片段的权利要求1至11中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

13. 用于制备权利要求1至11中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的方法,其包括:

(a) 将编码所述抗体或其抗原结合片段的HCVR和LCVR的一种或更多种多核苷酸引入宿主细胞中;

(b) 在有利于所述多核苷酸表达的条件下培养所述宿主细胞;以及

(c) 从所述宿主细胞和/或培养了所述宿主细胞的培养基中分离所述抗体或其抗原结合片段。

14. 权利要求13所述的方法,其中所述宿主细胞是中国仓鼠卵巢细胞。

15. 抗体或其抗原结合片段,其是权利要求13至14中任一项所述的方法的产物。

16. 多核苷酸,其编码权利要求1至11中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

17. 载体,其包含权利要求16所述的多核苷酸。

18. 宿主细胞,其包含权利要求1至11中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求16所述的多核苷酸或权利要求17所述的载体。

19. 组合物或药盒,其包含权利要求1至11和15中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

20. 权利要求19所述的组合物或药盒,其还包含另外的治疗剂。

21. 药物制剂,其包含权利要求1至11和15中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和可药用载体或赋形剂。

22. 权利要求21所述的药物制剂,其还包含另外的治疗剂。

23. 权利要求20所述的组合物或药盒或权利要求22所述的制剂,其中所述另外的治疗剂为抗炎剂。

24. 权利要求20所述的组合物或药盒或权利要求22所述的制剂,其中所述另外的治疗剂是选自以下的一个或更多个成员:英夫利昔单抗、阿达木单抗、依那西普、戈利木单抗、泼尼松龙、甲泼尼龙、抗胸腺细胞球蛋白、阿仑单抗、达利珠单抗、他克莫司、环孢素、霉酚酸酯、西罗莫司、喷司他丁、间充质干细胞、伊诺莫单抗、地尼白介素和巴利昔单抗。

25. 权利要求20所述的组合物或药盒或权利要求22所述的制剂,其中所述另外的治疗剂是选自以下的一个或更多个成员:抗TNF α 抗体或结合蛋白和肾上腺皮质激素。

26. 容器或注射装置,其包含权利要求1至11和15中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或者权利要求19、20和23-25中任一项所限定的组合物或权利要求21至25中任一项所限定的制剂。

27. 权利要求1至11和15中任一项所述的抗体或其抗原结合片段在制备用于在有此需要的对象中治疗或预防IL2R γ 介导的疾病或病症的药物中的用途,其中所述IL2R γ 介导的疾病或病症是移植物抗宿主病或自身免疫性疾病。

28. 权利要求27所述的用途,其中所述自身免疫性疾病是类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮或I型糖尿病。

29. 权利要求27所述的用途,其中所述抗体或其抗原结合片段用于通过皮下、静脉内或肌肉注射至所述对象体内来施用。

30. 权利要求1至11和15中任一项所述的抗体或其抗原结合片段在制备用于在有此需要的对象中治疗或预防IL2R γ 介导的疾病或病症的药物中的用途,其中所述IL2R γ 介导的疾病或病症是b-胰岛细胞移植排斥、皮肤移植排斥、心脏移植排斥、肺移植排斥、肾移植排斥或肝移植排斥。

31. 权利要求30所述的用途,其中所述抗体或其抗原结合片段用于通过皮下、静脉内或肌肉注射至所述对象体内来施用。

抗IL2受体 γ 抗原结合蛋白

[0001] 本申请是与母案发明名称相同的分案申请,母案的中国申请号是202080012091.4,国际申请号是PCT/US2020/015841,申请日是2020年1月30日。

[0002] 本申请要求于2019年2月1日提交的美国临时专利申请No.62/799,851的权益,其全部内容通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本发明涉及与抗IL2受体 γ 蛋白结合的抗体及其使用方法,例如用于治疗或预防疾病的方法。

背景技术

[0004] 共同细胞因子受体 γ 链(γc)最初被鉴定为白细胞介素2(interleukin-2, IL-2)受体复合物的第三链,并命名为IL-2R γ 。同一亚基被鉴定为以下数种另外的细胞因子受体复合物的一部分:IL-4、IL-7、IL-9、IL-15和IL-21,并且因此可被称为 γc (共同细胞因子受体 γ 链)。 γc 参与这些细胞因子受体的信号转导以及配体结合。

[0005] 细胞因子与其受体的结合激活Janus激酶(Janus kinase, JAK)家族蛋白酪氨酸激酶JAK1和JAK3,并且触发JAK1和JAK3对酪氨酸进行转磷酸化。JAK1与受体的独特的 α 或 β 链缔合,并且JAK3与受体的 γc 缔合。磷酸化的JAK转而可激活信号转导及转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)蛋白,其共同形成JAK/STAT信号通路。STAT的磷酸化导致STAT的二聚化,其现在采用高亲和力DNA结合活性并易位至细胞核。在此,其充当转录因子诱导靶基因的转录。

[0006] γc 基因(IL2RG)位于染色体Xq13上。IL-2R γ 在患有X连锁重症联合免疫缺陷(X-linked severe combined immunodeficiency, X-SCID)的患者中突变。由于缺乏T细胞、NK细胞和完全成熟B细胞,患有该疾病的患者表现出严重的免疫缺陷。

[0007] IL-7、IL-9和IL-15与银屑病和类风湿性关节炎有关(Pathak, The expanding role of IL-7 and thymic stromal lymphopoietin as therapeutic target for rheumatoid arthritis. Expert Opin Ther Targets. 18(5):581-94(2014); Hughes-Austin et al., Multiple cytokines and chemokines are associated with rheumatoid arthritis-related autoimmunity in first-degree relatives without rheumatoid arthritis; Studies of the Aetiology of Rheumatoid Arthritis (SERA), Ann Rheum Dis.; 72(6):901-7(2013); Dantas et al., Increased Serum Interleukin-9 Levels in Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus: Pathogenic Role or Just an Epiphenomenon?, Dis Markers. 2015; 2015:519638; Yang et al., Therapeutic potential of IL-15 in rheumatoid arthritis, Hum Immunol. 2015 Nov; 76(11):812-8; Lesiak et al., Are interleukin-15 and -22 a new pathogenic factor in pustular palmoplantar psoriasis?, Postepy Dermatol Alergol. 33(5):336-339(2016); Raeber et al., The role of cytokines in T-cell memory in health and

disease, Immunol Rev. 283(1):176-193(2018))。

[0008] IL-4和IL-9阻断已显示改善小鼠的哮喘症状(Generoso et al., Prospects for Monoclonal Antibody Therapy in Pediatric Asthma, Curr Allergy Asthma Rep. 18(9):45(2018); Tashkin&Wechsler, Role of eosinophils in airway inflammation of chronic obstructive pulmonary disease, Int J Chron Obstruct PulmoB Dis. 13:335-349(2018); Buzney et al., Asthma and Atopic Dermatitis: A Review of Targeted Inhibition of Interleukin-4 and Interleukin-13 As Therapy for Atopic Disease, J Drugs Dermatol. 15(2):165-71(2016); Lloyd&Harker, Epigenetic Control of Interleukin-9 in Asthma, N Engl J Med. 379(1):87-89(2018); Neurath&Finotto, IL-9 signaling as key driver of chronic inflammation in mucosal immunity, Cytokine Growth Factor Rev. 29:93-9(2016))。

[0009] IL-21与多种炎症病症相关,包括克罗恩病(Crohn's disease)和类风湿性关节炎。(Holm et al., Evaluating IL-21 as a Potential Therapeutic Target in Crohn's Disease, Gastroenterol Res Pract. 2018:5962624(2018); Dinesh&Rasool Multifaceted role of IL-21 in rheumatoid arthritis: Current understanding and future perspectives, J Cell Physiol. 233(5):3918-3928(2018))。

发明内容

[0010] 本发明提供了分离的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段,例如,其是单特异性或多特异性的),其特征在于以下一项或更多项:在25℃下以约 2.75×10^{-9} M至约 3.36×10^{-7} M的 K_D 与人IL2R γ 结合;在37℃下以约 6.42×10^{-9} M至约 3.53×10^{-7} M的 K_D 与人IL2R γ 结合;或以小于约 3.53×10^{-7} M的 K_D 结合;在25℃下以约 3.18×10^{-9} M至约 2.38×10^{-7} M的 K_D 与食蟹猴(Macaca fascicularis)IL-2R γ 结合;在37℃下以约 8.29×10^{-9} M至约 3.20×10^{-7} M的 K_D 与食蟹猴IL-2R γ 结合;或以小于约 3.20×10^{-7} M的 K_D 结合;在25℃下以约 2.45×10^{-9} M至约 1.20×10^{-8} M的 K_D 与人IL2R γ 结合;或以小于约 1.20×10^{-8} M的 K_D 结合;在37℃下以约 1.86×10^{-11} M至约 3.00×10^{-8} M的 K_D 与人IL2R γ 结合;或以小于约 3.00×10^{-8} M的 K_D 结合;在25℃下以约 1.84×10^{-8} M、 3.76×10^{-9} M、 1.08×10^{-7} M、 2.17×10^{-8} M、 6.02×10^{-9} M或 7.93×10^{-8} M的 K_D 与小鼠IL2R γ 结合;或无可检测的结合;在37℃下以约 5.59×10^{-8} M、 6.11×10^{-9} M、 3.87×10^{-7} M、 5.16×10^{-8} M、 8.70×10^{-9} M或 2.15×10^{-7} M的 K_D 与小鼠IL2R γ 结合;或无可检测的结合;在25℃下以约 3.32×10^{-9} M至约 1.97×10^{-7} M的 K_D 与人IL2R γ 结构域1结合;或无可检测的结合;在37℃下以约 4.13×10^{-9} M至约 2.25×10^{-7} M的 K_D 与人IL2R γ 结构域1结合;或无可检测的结合;在25℃下以约 2.91×10^{-7} M至约 5.35×10^{-10} M的 K_D 与人IL2R γ 结构域2结合;或无可检测的结合;在37℃下以约 1.14×10^{-8} 或约 1.27×10^{-8} 的 K_D 与人IL2R γ 结构域2结合;或无可检测的结合;阻断由IL-2、IL-4、IL7、IL-15和/或IL-21诱导的T细胞中STAT磷酸化;阻断由IL-9诱导的肥大细胞中STAT磷酸化;减少注射至小鼠中的人免疫细胞的数量;降低具有人免疫细胞的小鼠中血清人细胞因子和/或小鼠血清细胞因子的水平;与小鼠或大鼠IL2R γ 无可检测的结合;在GvHD小鼠模型中保护小鼠免于因GvHD导致的体重减轻和/或死亡;阻断包含与细胞因子特异性受体亚基复合的IL2R γ 的杂合受体与IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15和/或IL-21结合的结合;和/或减少对象的血液或血清中CD45+细胞、B细胞、T细胞和/或NK细胞

(但任选地,不是例如中性粒细胞)的数目。以下与IL2R γ 特异性结合的抗体和抗原结合片段构成了本发明的一部分,其是序列在本文中具体地示出的任意抗体或片段的变体并且其特征在于上述一个或更多个特征。

[0011] 本发明还提供了以下分离的抗原结合蛋白,例如,其是抗体或其抗原结合片段,该抗原结合蛋白:(i) 特异性地与参考抗体或其抗原结合片段结合IL2R γ 上的相同表位;或(ii) 与参考抗体或其抗原结合片段竞争与IL2R γ 多肽结合,其中该参考抗体或其抗原结合片段包含:(a) 免疫球蛋白重链或其可变区,其包含含有SEQ ID NO:2、18、22、38、42、58、62、77、81、97、101、115、119、134、138、152、156、170、174、186、190、198、200、208、210、216、218、234、238、254、258、272、276、284、286、294、296、311、315、331、335、343、345、357、361和/或376中所示氨基酸序列或其变体的免疫球蛋白重链或其可变区的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;和/或(b) 免疫球蛋白轻链或其可变区,其包含含有SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、79、89、99、109、117、127、136、146、154、164、172、182、188、226、236、246、256、266、274、304、313、323、333、353、359、368和/或378中所示氨基酸序列或其变体的免疫球蛋白轻链或其可变区的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。在本发明的一个实施方案中,参考抗体或片段在添加抗原结合蛋白之前与IL2R γ 抗原预先结合,并且针对结合进行评价。在本发明的一个实施方案中,抗原结合蛋白在添加参考抗体或片段之前与抗原预先结合,并且针对结合进行评价。

[0012] 本发明还提供了以下分离的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段),其包含:(a) 免疫球蛋白重链或其可变区,其包含含有SEQ ID NO:2、18、22、38、42、58、62、77、81、97、101、115、119、134、138、152、156、170、174、186、190、198、200、208、210、216、218、234、238、254、258、272、276、284、286、294、296、311、315、331、335、343、345、357、361和/或376中所示氨基酸序列或其变体的免疫球蛋白重链或其可变区的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;和/或(b) 免疫球蛋白轻链或其可变区,其包含含有SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、79、89、99、109、117、127、136、146、154、164、172、182、188、226、236、246、256、266、274、304、313、323、333、353、359、368和/或378中所示氨基酸序列或其变体的免疫球蛋白轻链或其可变区的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0013] 在本发明的一个实施方案中,包含(a) 免疫球蛋白重链或其可变区,其包含与SEQ ID NO:2、18、22、38、42、58、62、77、81、97、101、115、119、134、138、152、156、170、174、186、190、198、200、208、210、216、218、234、238、254、258、272、276、284、286、294、296、311、315、331、335、343、345、357、361和/或376中所示氨基酸序列具有至少90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;和/或(b) 免疫球蛋白轻链或其可变区,其包含与SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、79、89、99、109、117、127、136、146、154、164、172、182、188、226、236、246、256、266、274、304、313、323、333、353、359、368和/或378中所示氨基酸序列具有至少90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。例如,在本发明的一个实施方案中,抗原结合蛋白包含:(a) 免疫球蛋白重链或其可变区,其包含含有SEQ ID NO:2、18、22、38、42、58、62、77、81、97、101、115、119、134、138、152、156、170、174、186、190、198、200、208、210、216、218、234、238、254、258、272、276、284、286、294、296、311、315、331、335、343、345、357、361和/或376中所示氨基酸序列以及 SEQ ID NO:2、18、22、38、42、58、62、77、81、97、101、115、119、134、138、152、156、170、174、186、190、198、200、208、210、216、218、234、238、254、258、272、276、284、286、294、296、311、315、331、335、343、345、357、361和/或376中所示氨基酸序列具有至少90%氨基酸

序列同一性的氨基酸序列的免疫球蛋白重链或其可变区的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3；和/或(b)免疫球蛋白轻链或其可变区，其包含含有SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、79、89、99、109、117、127、136、146、154、164、172、182、188、226、236、246、256、266、274、304、313、323、333、353、359、368和/或378中所示氨基酸序列以及与SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、79、89、99、109、117、127、136、146、154、164、172、182、188、226、236、246、256、266、274、304、313、323、333、353、359、368和/或378中所示氨基酸序列具有至少90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的免疫球蛋白轻链或其可变区的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0014] 在本发明的一个实施方案中，抗原结合蛋白包含：

[0015] (i) 重链CDR组：含有SEQ ID NO:4中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:6中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:8中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:24中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:26中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:28中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:44中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:46中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:48中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:64中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:66中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:68中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:83中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:85中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:87中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:103中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:105中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:107中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:121中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:123中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:125中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:140中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:142中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:158中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:160中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:162中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:176中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:178中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:180中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:192中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:194中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:196中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:202中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:204中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:206中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:176中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:212中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:214中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:220中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:222中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:224中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:240中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:242中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:244中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:260中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:262中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:264中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:278中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:280中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:282中所示氨基酸序列的CDR-H3；和/或含有SEQ ID NO:288中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:290中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID

NO:292中所示氨基酸序列的CDR-H3;和/或含有SEQ ID NO:298中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:300中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:302中所示氨基酸序列的CDR-H3;和/或含有SEQ ID NO:317中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:319中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:321中所示氨基酸序列的CDR-H3;和/或含有SEQ ID NO:337中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:339中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:341中所示氨基酸序列的CDR-H3;和/或含有SEQ ID NO:347中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:349中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:351中所示氨基酸序列的CDR-H3;和/或含有SEQ ID NO:363中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:66中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:366中所示氨基酸序列的CDR-H3;和/或

[0016] (ii) 轻链CDR组:含有SEQ ID NO:12中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:14中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:16中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:32中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:34中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:36中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:52中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:56中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:75中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:91中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:93中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:95中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:111中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:113中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:129中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:132中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:148中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:150中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:166中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:14中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:168中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:228中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:230中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:232中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:248中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:250中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:252中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:268中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:270中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有

SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:306中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:230中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:309中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:325中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:327中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:329中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:355中所示氨基酸序列的CDR-L3;和/或含有SEQ ID NO:370中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:372中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:374中所示氨基酸序列的CDR-L3。

[0017] 在本发明的一个实施方案中,本发明的抗原结合蛋白包含如下重链CDR组和轻链CDR组:

[0018] (i) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:4中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:6中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:8中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:12中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:14中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:16中所示氨基酸序列的CDR-L3; (ii) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:24中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:26中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:28中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:32中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:34中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:36中所示氨基酸序列的CDR-L3; (iii) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:44中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:46中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:48中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:52中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:56中所示氨基酸序列的CDR-L3; (iv) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:64中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:66中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:68中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:75中所示氨基酸序列的CDR-L3; (v) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:83中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:85中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:87中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:91中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:93中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:95中所示氨基酸序列的CDR-L3; (vi) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:103中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:105中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:107中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:111中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:113中所示氨基酸序列的CDR-L3; (vii) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:121中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:123中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:125中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:129中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中

所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:132中所示氨基酸序列的CDR-L3; (vii) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:140中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:142中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:148中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:154中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:150中所示氨基酸序列的CDR-L3; (viii) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:158中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:160中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:162中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:166中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:164中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:168中所示氨基酸序列的CDR-L3; (ix) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:176中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:178中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:180中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:172中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:154中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3; (x) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:192中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:194中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:196中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:172中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:154中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3; (xi) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:202中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:204中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:206中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:172中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:154中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3; (xii) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:176中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:212中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:214中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:172中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:154中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3; (xiii) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:220中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:222中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:224中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:228中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:230中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:232中所示氨基酸序列的CDR-L3; (xiv) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:240中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:242中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:244中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:248中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:250中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:252中所示氨基酸序列的CDR-L3; (xv) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:260中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:262中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:264中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:268中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:154中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:270中所示氨基酸序列的CDR-L3; (xvi) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:278中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:280中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:282中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:172中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:154中所示氨

氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3; (xvii) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:288中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:290中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:292中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3; (xviii) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:298中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:300中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:302中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:306中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:230中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:309中所示氨基酸序列的CDR-L3; (xix) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:317中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:319中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:321中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:325中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:327中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:329中所示氨基酸序列的CDR-L3; (xx) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:337中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:339中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:341中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3; (xxi) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:347中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:349中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:351中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:355中所示氨基酸序列的CDR-L3; (xxii) 重链可变区,其包含含有SEQ ID NO:363中所示氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:66中所示氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:366中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及轻链可变区,其包含含有SEQ ID NO:370中所示氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:372中所示氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:374中所示氨基酸序列的CDR-L3。

[0019] 包含与IL2R γ 多肽或其抗原片段结合的本发明的抗原结合蛋白的复合物也是本发明的一部分。

[0020] 本发明还提供了用于制备抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段)或其免疫球蛋白链(例如, V_H 、 V_L 、HC或LC)的方法,其包括:(a)将编码所述抗原结合蛋白的一种或更多种免疫球蛋白链的一种或更多种多核苷酸(或包含这样的多核苷酸的载体)引入宿主细胞(例如,CHO细胞)中;(b)在有利于多核苷酸表达的条件下培养宿主细胞;以及(c)任选地,从宿主细胞和/或其中培养了宿主细胞的培养基中分离抗原结合蛋白或免疫球蛋白链。为这样的方法的产物的抗原结合蛋白或免疫球蛋白链也构成了本发明的一部分。

[0021] 本发明还提供了多肽,其包含:(a)含有SEQ ID NO:2、18、22、38、42、58、62、77、81、97、101、115、119、134、138、152、156、170、174、186、190、198、200、208、210、216、218、234、238、254、258、272、276、284、286、294、296、311、315、331、335、343、345、357、361和/或376中所示氨基酸序列或其变体的免疫球蛋白重链或其可变区的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;和/或(b)含有SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、79、89、99、109、117、127、136、146、154、164、172、182、188、226、236、246、256、266、274、304、313、323、333、353、359、368和/或378中所示

氨基酸序列或其变体的免疫球蛋白轻链或其可变区的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3;或者(c)选自SEQ ID NO:1至378的成员中所示的氨基酸序列或其变体。本发明还提供了编码一种或更多种这样的多肽的多核苷酸或包含这样的多核苷酸的载体(例如,质粒)。

[0022] 本发明还提供了宿主细胞(例如,CHO细胞),其包含本文所示的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段)或免疫球蛋白链(例如, V_H 、 V_L 、HC或LC)或多肽或多核苷酸或载体。

[0023] 本发明还提供了组合物或药盒,其包含任选地与另外的治疗剂(例如,抗炎剂、抗TNF α 抗体或结合蛋白、英夫利昔单抗(infliximab)、阿达木单抗(adalimumab)、依那西普(etanercept)、戈利木单抗(golimumab)、肾上腺皮质激素(corticoid)、泼尼松龙(prednisolone)、甲泼尼龙(methylprednisolone)、抗胸腺细胞球蛋白、阿仑单抗(alemtuzumab)、达利珠单抗(daclizumab)、体外光泳(extracorporeal photophoresis)、霉酚酸酯(mycophenolate mofetil)、西罗莫司(sirolimus)、喷司他丁(pentostatin)、间充质干细胞、伊诺莫单抗(inolimomab)、地尼白介素(denileukin)或巴利昔单抗(basiliximab))联合的一种或更多种本文所示的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段)。

[0024] 本发明还提供了药物制剂,其包含本文所示的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段)和可药用载体,以及任选地,另外的治疗剂(例如,抗炎剂、抗TNF α 抗体或结合蛋白、英夫利昔单抗、阿达木单抗、依那西普、戈利木单抗、肾上腺皮质激素、泼尼松龙、甲泼尼龙、抗胸腺细胞球蛋白、阿仑单抗、达利珠单抗、体外光泳、霉酚酸酯、他克莫司(tacrolimus)、环孢素(cyclosporine)、西罗莫司、喷司他丁、间充质干细胞、伊诺莫单抗、地尼白介素或巴利昔单抗)。

[0025] 本发明还提供了容器或注射装置(例如,小瓶、注射器、预填充注射器或自动注射器),其包含本文所示的抗原结合蛋白或组合物(例如,药物制剂)。

[0026] 本发明还提供了用于向对象(例如人)施用本文所示的抗原结合蛋白或组合物的方法,其包括将所述抗原结合蛋白或组合物引入、例如注射(例如,皮下、静脉内或肌内)到对象体内。本发明还提供了用于在有此需要的对象中治疗或预防IL2R γ 介导的疾病或病症(例如,移植物抗宿主病、器官移植排斥、皮肤移植排斥、心脏移植排斥、肺移植排斥、肾移植排斥、肝移植排斥、鸟枪弹样脉络膜视网膜炎(birdshot chorioretinopathy)、多发性硬化、葡萄膜炎、自身免疫性疾病、I型糖尿病(Type I diabetes)、多发性硬化、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮和/或重症肌无力)的方法,其包括施用、例如注射有效量的本文所示的抗原结合蛋白或组合物。

[0027] 本发明还提供了用于在对象中进行以下的方法:阻断由细胞因子(例如,IL-2、IL-4、IL-7、IL-15和/或IL-21)诱导的外周血单个核细胞(例如,T细胞)中STAT磷酸化;阻断由细胞因子(例如,IL-9)诱导的肥大细胞中STAT(例如,STAT3)磷酸化;降低干扰素- γ 、肿瘤坏死因子- α 、IL-6、IL-8、IL-10和/或mKC/GRO的血清水平(例如,在接受移植物的对象中);阻断由IL2R γ 家族中的细胞因子(例如,IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15和/或IL-21)诱导的JAK-STAT介导的(例如,STAT3)胞内信号传导(例如,在NK细胞中);和/或降低CD45+免疫细胞、NK细胞、T细胞和/或B细胞(例如,不包括中性粒细胞)的血清水平;所述方法包括向对象施用有效量的本文所示的抗IL2R γ 抗原结合蛋白或其组合物或其制剂。在本发明的一个实

施方案中,对象患有IL2R γ 介导的疾病或病症,例如移植物抗宿主病、器官移植排斥、b-胰岛细胞移植排斥、皮肤移植排斥、心脏移植排斥、肺移植排斥、肾移植排斥、肝移植排斥、鸟枪弹样脉络膜视网膜炎、多发性硬化、葡萄膜炎、自身免疫性疾病、I型糖尿病、多发性硬化、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、重症肌无力、再生障碍性贫血、特应性皮炎、哮喘、肥大细胞激活障碍、肥大细胞激活综合征(mastcell activation syndrome,MCAS)、系统性肥大细胞增多症(systemic mastocytosis,SM)和/或肥大细胞性白血病(mast cell leukemia,MCL)。

附图说明

[0028] 图1的小图(A)至小图(E).通过多种浓度的抗IL-2R γ 抗体H4H12857P、H4H12874P、H4H12886P、H4H12889P和H4H12922P2、以及抗体REGN1945和COMP1499的人CD4+T细胞中人(小图(A))IL-2、(小图(B))IL-4、(小图(C))IL7、(小图(D))IL-15和(小图(E))IL-21诱导的STAT磷酸化的阻断。

[0029] 图2.通过抗IL-2R γ 抗体H4H12874P、H4H12886P、H4H12889P、H4H12922P2、以及抗体COMP1499和REGN1945的体外分化人肥大细胞中人IL-9诱导的STAT3磷酸化的阻断。

[0030] 图3的小图(A)至小图(F).施用了抗IL2R γ 抗体(小图(E))H4H12889P和(小图(F))H4H12922P2以及抗体(小图(D))COMP1499的具有人PBMC的小鼠随时间的初始体重百分比。还示出了在(小图(B))未施用抗体、(小图(C))施用了同种型对照抗体或(小图(A))不含人PBMC的小鼠中的对照实验。通过虚线指示在第21天的抗体注射开始和在第59天的抗体注射结束。

[0031] 图4.示出了注射有抗IL2R γ 抗体H4H12889P和H4H12922P2、抗体COMP1499、抗体REGN1945以及未注射抗体的小鼠随时间的生存。未示出无huPBMC组。通过Mantel-Cox对数秩检验分析相对于同种型对照抗体组的动物生存差异。P值<0.05被认为是统计学上显著的。**,P值<0.0021;****,P值<0.0001。通过虚线指示在第21天的抗体注射开始和在第59天的抗体注射结束。

[0032] 图5的小图(A)至小图(D).在未施用抗体(无IgG)、施用了REGN1945、COMP1499或者抗IL2R γ 抗体H4H12889P或H4H12922P2的小鼠注射huPBMC之后第35天血液中的绝对人细胞数((小图(A))人CD45细胞;(小图(B))人T细胞;(小图(C))人CD4 T细胞;和(小图(D))人CD8 T细胞)。未示出“无huPBMC”组;#,与“无huPBMC”组显著不同;†,与“huPBMC-无IgG”组显著不同;*,与“huPBMC-REGN1945”组显著不同。每个符号代表一只小鼠。出于绘图目的(对数尺度),零值被任意更改为值0.01。

[0033] 图6的小图(A)至小图(D).在施用了抗IL2R γ 抗体H4H12889P或H4H12922P2、或者COMP1499或同种型对照抗体的小鼠中人(小图(A))CD45+细胞、(小图(B))T细胞、(小图(C))CD4+T细胞和(小图(D))CD8+T细胞在一段时间内的血液计数。通过虚线指示在第21天的抗体注射开始和在第59天的抗体注射结束。

[0034] 图7的小图(A)至小图(I).在未施用抗体(无IgG)、施用了REGN1945、COMP1499或者抗IL2R γ 抗体H4H12889P或H4H12922P2的小鼠中注射huPBMC之后第42天或在无人PBMC的小鼠中的人和小鼠细胞因子((小图(A))人干扰素- γ ;(小图(B))人TNF α ;(小图(C))人IL-6;(小图(D))人IL-8;(小图(E))人IL-10;(小图(F))小鼠TNF α ;(小图(G))小鼠IL-6;(小图

(H)) 小鼠KC/GRO;和(小图(I)) 小鼠IL-10)的血清水平。#,与“无huPBMC”组显著不同;†,与“huPBMC-无IgG”组显著不同;* ,与“huPBMC-REGN1945”组显著不同。每个符号代表一只小鼠。

[0035] 图8的小图(A)至小图(D).在施用了抗IL2R γ 抗体H4H12889P或H4H12922P2、或者COMP1499或同种型对照抗体的小鼠中(小图(A)) 人IFN- γ 、(小图(B)) 人TNF α 、(小图(C)) 小鼠TNF α 和(小图(D)) 小鼠IL-6随时间的血清水平。

[0036] 图9的小图(A)至小图(E).在用多种剂量的抗体REGN1945或H4H12889P处理的小鼠的血液中总人抗体或CD45+免疫细胞(小图iA))、NK细胞(小图(B))、T细胞(小图(C))、B细胞(小图(D))或中性粒细胞(小图(E))的水平。

[0037] 图10.用于体内皮肤移植物排斥实验的实验设计。

[0038] 图11.在未施用抗体、施用了REGN1945或H4H12889P的小鼠中皮肤移植物排斥的发作时间。

[0039] 图12.在未施用抗体、施用了REGN1945或H4H12889P的小鼠中完全皮肤移植物排斥的时间。

[0040] 图13.在未移植小鼠或者未施用抗体、施用了REGN1945或H4H12889P的移植小鼠中的总供体特异性IgG抗体。

具体实施方式

[0041] 本发明提供了抗体及其抗原结合片段,其与人和食蟹猴IL2R γ 特异性结合并且显示出独特的生物活性,尤其是在阻断T细胞中细胞因子诱导的STAT磷酸化以及阻断适用小鼠模型中的移植物抗宿主病方面。

[0042] 根据本发明,可采用本领域技术中的常规分子生物学、微生物学和重组DNA技术。这样的技术在文献中有充分的解释。参见,例如,Sambrook,Fritsch&Maniatis,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第二版(1989)Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor,N.Y.(本文中为“Sambrook,et al.,1989”);DNA Cloning:A Practical Approach,Volumes I and II(D.N.Glover编辑,1985);Oligonucleotide Synthesis(M.J.Gait编辑,1984);Nucleic Acid Hybridization(B.D.Hames&S.J.Higgins编辑(1985));Transcription And Translation(B.D.Hames&S.J.Higgins,编辑(1984));Animal Cell Culture(R.I.Freshney,编辑(1986));Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press,(1986));B.Perbal,A Practical Guide To Molecular Cloning(1984);F.M.Ausubel,et al.(编辑),Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley& Sons,Inc.(1994)。

[0043] IL-2R γ

[0044] 白细胞介素-2受体亚基 γ 也称为CD132、共同细胞因子受体 γ c链、IL-2RG、IL-2Rg、IL2R伽马、IL-2R γ 、IMD4、P64、SCIDX、或SCIDX1。IL2R γ 是数种白细胞介素受体(包括IL-2R、IL-4R、IL-7R、IL-9R、IL-15R和IL21R)共有的亚基。

[0045] 在本发明的一个实施方案中,人IL2R γ 由Genbank登录号NM_000206所示的核苷酸序列编码。在本发明的一个实施方案中,人IL2R γ 包含Genbank登录号NP_000197所示的氨基酸序列。

[0046] 抗原结合蛋白

[0047] 本发明提供了与IL2R γ 蛋白或其抗原片段(例如,IL2R γ 的胞外结构域)特异性结合的抗原结合蛋白,例如抗体(例如,人抗体、单克隆抗体和重组抗体)及其抗原结合片段。与本文所示的任意抗原结合蛋白与IL2R γ 上相同表位结合或与本文所示的任意抗原结合蛋白竞争与IL2R γ 结合的抗原结合蛋白也是本发明的一部分。

[0048] 本发明还提供了包含以下中所示氨基酸序列或其变体的任何多肽:

[0049] SEQ ID NO:2,4,6,8,10,12,14,16,18,20,22,24,26,28,30,32,34,36,38,40,42,44,46,48,50,52,54,56,58,60,62,64,66,68,70,72,75,77,79,81,83,85,87,89,91,93,95,97,99,101,103,105,107,109,111,113,115,117,119,121,123,125,127,129,132,134,136,138,140,142,144,146,148,150,152,154,156,158,160,162,164,166,168,170,172,174,176,178,180,182,184,186,188,190,192,194,196,198,200,202,204,206,208,210,212,214,216,218,220,222,224,226,228,230,232,234,236,238,240,242,244,246,248,250,252,254,256,258,260,262,264,266,268,270,272,274,276,278,280,282,284,286,288,290,292,294,296,298,300,302,304,306,309,311,313,315,317,319,321,323,325,327,329,331,333,335,337,339,341,343,345,347,349,351,353,355,357,359,361,363,366,368,370,372,374,376和/或378

[0050] 任选地,所述多肽与一种或更多种另外的多肽、例如人Fc(例如人IgG例如IgG1或IgG4(例如,包含S108P突变))融合。

[0051] 本文中使用的术语“抗体”是指包含四个多肽链:通过二硫键互相连接的两条重链(heavy chain,HC)和两条轻链(light chain,LC)的免疫球蛋白分子(即,“完全抗体分子”(例如IgG)-例如

[0052] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2。

[0053] 在本发明的一个实施方案中,每条抗体重链(HC)包含重链可变区(“HCVR”或“V_H”(例如,SEQ ID NO:2、22、42、62、81、101、119、138、156、174、190、200、210、218、238、258、276、286、296、315、335、345或361或其变体)和重链恒定区(包含结构域C_H1、C_H2和C_H3);并且每条抗体轻链(LC)包含轻链可变区(“LCVR”或“V_L”(例如,SEQ ID NO:10、30、50、70、89、109、127、146、164、182、226、246、266、304、323、353或368或其变体)和轻链恒定区(C_L)。V_H和V_L区可进一步细分为称为互补决定区(complementarity determining region,CDR)的高变区,其散布着称为框架区(framework region,FR)的更保守的区域。V_H和V_L各自包含从氨基末端至羧基末端按以下顺序排列的三个CDR和四个FR:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本发明的某些实施方案中,抗体(或其抗原结合片段)的FR与人种系序列相同或者是经天然或人工修饰的。

[0054] 通常,免疫球蛋白重链和轻链二者的可变结构域包含三个也称为互补决定区(CDR)的位于相对保守的框架区(FR)内的高变区。通常,从N末端至C末端,轻链和重链二者的可变结构域包含FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。在本发明的一个实施方案中,根据以下中的限定将氨基酸分配至每个结构域: Sequences of Proteins of

Immunological Interest, Kabat, et al.; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 第5版; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32:1-75; Kabat, et al., (1977) J. Biol. Chem. 252:6609-6616; Chothia, et al., (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917 或 Chothia, et al., (1989) Nature 342:878-883。因此, 本发明包括含有 V_H 的CDR和 V_L 的CDR的抗体和抗原结合片段, 所述 V_H 和 V_L 包含如本文所示的氨基酸序列(或其变体), 其中CDR根据Kabat和/或Chothia来限定。

[0055] 本文中使用的术语抗体或抗原结合蛋白的“抗原结合部分”或“抗原结合片段”等包括与抗原特异性结合形成复合物的任何天然存在的、可酶促获得的、合成的或遗传改造的多肽或糖蛋白。抗原结合片段的非限制性实例包括: (i) Fab片段; (ii) $F(ab')_2$ 片段; (iii) Fd片段(用木瓜蛋白酶切割的Fab片段的重链部分); (iv) Fv片段(V_H 或 V_L); 和(v) 单链Fv(single-chain Fv, scFv)分子; 由模拟抗体高变区的氨基酸残基组成(例如, 分离的互补决定区(CDR), 例如CDR3肽)或受限FR3-CDR3-FR4肽。其他改造分子, 例如结构域特异性抗体、单域抗体、结构域缺失抗体、嵌合抗体、CDR接枝抗体、双抗体、三抗体、四抗体、微抗体和小模块免疫药物(small modular immunopharmaceutical, SMIP), 也包括在本文中使用的表述“抗原结合片段”内。在本发明的一个实施方案中, 抗原结合片段包含以下的三个或更多个CDR(例如, CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3; 或CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3):

[0056] H4H12857P; H4H12858P; H4H12859P; H4H12863P; H4H12874P; H4H12871P; H4H12884P; H4H12886P; H4H12889P; H4H12890P; H4H12899P; H4H12900P; H4H12908P; H4H12913P2; H4H12922P2; H4H12924P2; H4H12926P2; H4H12927P2; H4H12934P2; H4H13538P; H4H13541P; H4H13544P2; 或H4H13545P2。

[0057] 在本发明的一个实施方案中, 本发明的抗原结合蛋白(例如, 抗体或其抗原结合片段)包含: 含有 V_H (例如, HC)的免疫球蛋白重链, 该 V_H 包含在下表A中所示的重链CDR的组合(CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3); 和/或含有 V_L (例如, LC)的免疫球蛋白轻链, 该 V_L 包含在下表B中所示的轻链CDR的组合(CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3)。

[0058] 表A. 本发明的免疫球蛋白中的重链CDR

[0059]

CDR-H组合	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
1	4	6	8
2	24	26	28
3	44	46	48
4	64	66	68
5	83	85	87
6	103	105	107
7	121	123	125
8	140	142	144
9	158	160	162
10	176	178	180
11	192	194	196
12	202	204	206
13	176	212	214

14	220	222	224
15	240	242	244
16	260	262	264
17	278	280	282
18	288	290	292
19	298	300	302
20	317	319	321
21	337	339	341
22	347	349	351
23	363	66	366

[0060] *编号对应于该SEQ ID NO中所示的氨基酸序列。

[0061] 表B.本发明的免疫球蛋白中的轻链CDR

CDR-L 组合	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3
1	12	14	16
2	32	34	36
3	52	54	56
4	72	54	75
5	91	93	95

[0062]

6	111	54	113
7	129	54	132
8	148	54	150
9	166	14	168
10	72	54	184
11	228	230	232
12	248	250	252
13	268	54	270
14	306	230	309
15	325	327	329
16	72	54	355
17	370	372	374

[0063]

[0064] *编号对应于该SEQ ID NO中所示的氨基酸序列。

[0065] 在本发明的一个实施方案中,本发明的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段)包含相应地含有V_H(例如,HC)和V_L(例如,LC)的免疫球蛋白重链和轻链,其包含在下表C中所示的重链和轻链CDR的组合(CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;以及CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3)。

[0066] 表C.本发明的免疫球蛋白中的重链和轻链CDR

[0067]

CDR 组合	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3
1	4	6	8	12	14	16
2	24	26	28	32	34	36
3	44	46	48	52	54	56
4	64	66	68	72	54	75
5	83	85	87	91	93	95
6	103	105	107	111	54	113
7	121	123	125	129	54	132
8	140	142	144	148	54	150
9	158	160	162	166	14	168
10	176	178	180	72	54	184
11	192	194	196	72	54	184
12	202	204	206	72	54	184
13	176	212	214	72	54	184
14	220	222	224	228	230	232
15	240	242	244	248	250	252
16	260	262	264	268	54	270
17	278	280	282	72	54	184

[0068]

18	288	290	292	72	54	184
19	298	300	302	306	230	309
20	317	319	321	325	327	329
21	337	339	341	72	54	184
22	347	349	351	72	54	355
23	363	66	366	370	372	374

[0069] *编号对应于该SEQ ID NO中所示的氨基酸序列。

[0070] 本发明包括包含含有以下V_H和V_L氨基酸序列的多肽对的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段):

[0071] SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:10;

[0072] SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:30;

[0073] SEQ ID NO:42和 SEQ ID NO:50;

[0074] SEQ ID NO:62和SEQ ID NO:70;

[0075] SEQ ID NO:81和SEQ ID NO:89;

[0076] SEQ ID NO:101和SEQ ID NO:109;

[0077] SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:127;

[0078] SEQ ID NO:138和 SEQ ID NO:146;

[0079] SEQ ID NO:156和SEQ ID NO:164;

[0080] SEQ ID NO:174和SEQ ID NO:182;

[0081] SEQ ID NO:190和SEQ ID NO:182;

[0082] SEQ ID NO:200和SEQ ID NO:182;

[0083] SEQ ID NO:210和SEQ ID NO:182;

[0084] SEQ ID NO:218和SEQ ID NO:226;

[0085] SEQ ID NO:238和SEQ ID NO:246;

[0086] SEQ ID NO:258和SEQ ID NO:266;

[0087] SEQ ID NO:276和SEQ ID NO:182;
[0088] SEQ ID NO:286和SEQ ID NO:182;
[0089] SEQ ID NO:296和SEQ ID NO:304;
[0090] SEQ ID NO:315和SEQ ID NO:323;
[0091] SEQ ID NO:335和SEQ ID NO:182;
[0092] SEQ ID NO:345和SEQ ID NO:353;或
[0093] SEQ ID NO:361和SEQ ID NO:368。。
[0094] 本发明包括包含以下编码HC和LC的氨基酸序列对的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段):

[0095] SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:20;
[0096] SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:40;
[0097] SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:60;
[0098] SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:79;
[0099] SEQ ID NO:97和SEQ ID NO:99;
[0100] SEQ ID NO:115和SEQ ID NO:117;
[0101] SEQ ID NO:134和SEQ ID NO:136;
[0102] SEQ ID NO:152和SEQ ID NO:154;
[0103] SEQ ID NO:170和SEQ ID NO:172;
[0104] SEQ ID NO:186和SEQ ID NO:188;
[0105] SEQ ID NO:198和SEQ ID NO:188;
[0106] SEQ ID NO:208和SEQ ID NO:188;
[0107] SEQ ID NO:216和SEQ ID NO:188;
[0108] SEQ ID NO:234和SEQ ID NO:236;
[0109] SEQ ID NO:254和SEQ ID NO:256;
[0110] SEQ ID NO:272和SEQ ID NO:274;
[0111] SEQ ID NO:284和SEQ ID NO:188;
[0112] SEQ ID NO:294和SEQ ID NO:188;
[0113] SEQ ID NO:311和SEQ ID NO:313;
[0114] SEQ ID NO:331和SEQ ID NO:333;
[0115] SEQ ID NO:343和SEQ ID NO:188;
[0116] SEQ ID NO:357和SEQ ID NO:359;或
[0117] SEQ ID NO:376和SEQ ID NO:378。。

[0118] 本发明的一些实施方案还包括含有免疫球蛋白V_H和V_L、或HC和LC的抗原结合蛋白,例如抗IL2R γ 抗体及其抗原结合片段,所述免疫球蛋白V_H和V_L、或HC和LC包含与对应的本文中具体所示的V_H、V_L、HC或LC的氨基酸序列具有70%或更多(例如,80%、85%、90%、95%、97%或99%)总体氨基酸序列同一性或相似性的变体氨基酸序列,但其中这样的免疫球蛋白的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3不是变体并且包含本文中所示的氨基酸序列。因此,在这样的一些实施方案中,在变体抗原结合蛋白中的CDR本身不是变体。

[0119] 本发明包括单克隆抗IL2R γ 抗原结合蛋白,例如抗体及其抗原结合片段,以及包

含多个分离的单克隆抗原结合蛋白的单克隆组合物。本文中使用的术语“单克隆抗体”或“mAb”是指基本上同质的抗体的群体中的成员,即,该群体包含的抗体分子在除了可能天然存在的可少量存在的突变之外在氨基酸序列上是相同的。组合物中这样的单克隆抗体和片段的“多个”指相同的(即,如上文所讨论的,在除了可能天然存在的可少量存在的突变之外在氨基酸序列上相同的)抗体和片段的浓度高于天然(例如在宿主生物体(例如小鼠或人)的血液中)在正常情况下存在的浓度。

[0120] 在本发明的一个实施方案中,抗IL2R γ 抗原结合蛋白(例如抗体或抗原结合片段)包含重链恒定结构域,例如IgA(例如IgA1或IgA2)、IgD、IgE、IgG(例如,IgG1、IgG2、IgG3和IgG4(例如,包含S228P和/或S108P突变))或IgM类型的重链恒定结构域。在本发明的一个实施方案中,抗原结合蛋白(例如抗体或抗原结合片段)包含轻链恒定结构域,例如K或 λ 类型的轻链恒定结构域。本发明包括以下抗原结合蛋白,其包含与重链和/或轻链恒定结构域(例如,如上文所示)连接的本文所示的可变结构域(例如,H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2)。

[0121] 本文中使用的术语“人”抗原结合蛋白,例如抗体或抗原结合片段,包括具有来源于人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体和片段,无论是在人细胞中还是移植至非人细胞(例如小鼠细胞)中。参见例如US8502018、US6596541或US5789215。在本发明的一个实施方案中,本发明的人抗体和抗原结合片段可包含不是由人种系免疫球蛋白序列(例如,具有通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)编码的氨基酸残基,例如在CDR中,特别是在CDR3中。然而,本文中使用的术语“人抗体”不旨在包括其中来源于另一哺乳动物物种(例如,小鼠)的种系的CDR序列已接枝到人FR序列上的mAb。该术语包括在非人哺乳动物或非人哺乳动物的细胞中重组产生的抗体。该术语不旨在包括从人对象分离或在人对象中产生的抗体。本发明包括人抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段,例如H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2)。

[0122] 本发明包括抗IL2R γ 嵌合抗原结合蛋白,例如抗体及其抗原结合片段,及其使用方法。本文中使用的“嵌合抗体”是具有来自第一抗体的可变结构域和来自第二抗体的恒定结构域的抗体,其中第一抗体和第二抗体来自不同物种。(参见例如,US4816567;和Morrison et al, (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855)。本发明包括含有本文所示的可变结构域(例如,来自H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2的可变结构域)的嵌合抗体。

[0123] 术语“重组”抗原结合蛋白,例如抗体或其抗原结合片段,是指通过本领域已知的作为重组DNA技术的技术或方法产生、表达、分离或获得的这样的分子,该重组DNA技术包括

例如,DNA剪接和转基因表达。该术语包括在非人哺乳动物(包括转基因非人哺乳动物,例如转基因小鼠)或宿主细胞(例如中国仓鼠卵巢(Chinese hamster ovary,CHO)细胞)或细胞表达系统中表达的抗体,或从重组组合人抗体文库中分离的抗体。本发明包括如本文所示的重组抗原结合蛋白(例如,H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2)。

[0124] 在本发明的一个实施方案中,抗体的抗原结合片段包含至少一个可变结构域。可变结构域可以是任意大小或氨基酸组成并且通常包含与一个或更多个框架序列相邻或在框内的至少一个(例如,3个)CDR。在具有与 V_L 结构域缔合的 V_H 结构域的抗原结合片段中, V_H 和 V_L 结构域可以以任何合适的排列相对于彼此定位。例如,可变区可以是二聚的并且含有 V_H - V_H 、 V_H - V_L 或 V_L - V_L 二聚体。或者,抗体的抗原结合片段可包含非共价结合的单体 V_H 和/或 V_L 结构域。

[0125] 在某些实施方案中,抗体的抗原结合片段可包含与至少一个恒定结构域共价连接的至少一个可变结构域。可在本发明抗体的抗原结合片段中存在的可变结构域和恒定结构域的非限制性示例性构型包括:(i) V_H - C_H1 ; (ii) V_H - C_H2 ; (iii) V_H - C_H3 ; (iv) V_H - C_H1 - C_H2 ; (v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (vi) V_H - C_H2 - C_H3 ; (vii) V_H - C_L ; (viii) V_L - C_H1 ; (ix) V_L - C_H2 ; (x) V_L - C_H3 ; (xi) V_L - C_H1 - C_H2 ; (xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (xiii) V_L - C_H2 - C_H3 ;和(xiv) V_L - C_L 。在包括以上列出的示例性构型中的任一个的可变结构域和恒定结构域的任何构型中,可变结构域和恒定结构域可彼此直接连接或可通过完全或部分铰链区或接头区连接。铰链区可由至少2个(例如,5、10、15、20、40、60或更多个)氨基酸组成,其导致在单个多肽分子中相邻的可变和/或恒定结构域之间柔性或半柔性连接。此外,本发明的抗体的抗原结合片段可包含以上列出的任何可变和恒定结构域构型彼此非共价缔合和/或与一个或更多个单体 V_H 或 V_L 结构域(例如,通过一个或更多个二硫键)的同二聚体或异二聚体(或其他多聚体)。本发明包括本文所示的抗原结合蛋白的抗原结合片段,例如,

[0126] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2。。

[0127] 抗原结合蛋白(例如,抗体和抗原结合片段)可以是单特异性的或多特异性的(例如,双特异性的)。多特异性抗原结合蛋白在本文中进一步讨论。本发明包括单特异性以及多特异性(例如双特异性)抗原结合片段,其包含来自本文具体所示的抗原结合蛋白(例如,H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2)的一个或更多个可变结构域。

[0128] 术语“特异性结合”是指那些针对抗原(例如IL2R γ 蛋白)的以 K_D 表示的结合亲和力为至少约 10^{-7} M(例如, 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M或 10^{-12} M)的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段),如通过实时、无标记生物层干涉测定、例如在25℃或37℃下,例如

Octet® HTX生物传感器,或通过表面等离子体共振、例如BIAcore™,或通过溶液亲和ELISA测量的。本发明包括与IL2R γ 蛋白特异性结合的抗原结合蛋白。在本发明的一个实施方案中,抗IL2R γ 抗原结合蛋白包含用于与人和/或小鼠和/或食蟹猴和/或大鼠IL2R γ 或其结构域结合的 K_D 值,该值在表3-1至3-12中的任一个中示出。“抗IL2R γ ”是指与IL2R γ 特异性结合的抗原结合蛋白(或其他分子),例如抗体或其抗原结合片段。

[0129] “分离的”抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段)、多肽、多核苷酸和载体至少部分不含来自产生其的细胞或细胞培养物的其他生物分子。这样的生物分子包括核酸、蛋白质、其他抗体或抗原结合片段、脂质、碳水化合物、或其他物质例如细胞碎片和生长培养基。分离的抗原结合蛋白还可至少部分不含表达系统组分,例如来自宿主细胞的或其生长培养基中的生物分子。通常,术语“分离的”不是旨在意指:完全不存在这样的生物分子(例如,可能残留少量或不显著量的杂质);或者不存在水、缓冲液或盐;或者包含抗原结合蛋白(例如,抗体或抗原结合片段)的药物制剂的组分。

[0130] 本发明包括与本发明的抗原结合蛋白(例如,H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2)结合相同表位的抗原结合蛋白,例如抗体或抗原结合片段。

[0131] 抗原是例如抗体与其结合的分子,例如肽(例如IL2R γ 或其片段(抗原片段))。抗体识别并结合的抗原上特定区域称为表位。与这样的抗原特异性结合的本发明的抗原结合蛋白(例如,抗体)是本发明的一部分。

[0132] 术语“表位”是指与抗原结合蛋白的特异性抗原结合位点,例如称为互补位的抗体分子的可变区相互作用的抗原决定簇(例如,IL2R γ 上)。单个抗原可具有多于一个表位。因此,不同的抗体可与抗原上的不同区域结合,并且可具有不同的生物效应。术语“表位”还可指抗原上B细胞和/或T细胞对其作出响应的位点,和/或指被抗体结合的抗原区域。表位可限定为结构性或功能性的。功能性表位通常是结构性表位的子集,并且具有直接促成相互作用的亲和力的那些残基。表位可以是线性的或构象的,即由非线性氨基酸构成。在某些实施方案中,表位可包含作为分子例如氨基酸、糖侧链、磷酸基或磺酰基的化学活性表面基团的决定簇,并且在某些实施方案中可具有特定的三维结构特征和/或特定的电荷特性。本发明的抗原结合蛋白结合的表位可包含在IL2R γ (例如人IL2R γ) 的片段、例如其胞外结构域、结构域1或结构域2中。与这样的表位结合的本发明的抗原结合蛋白(例如,抗体)是本发明的一部分。

[0133] 用于确定抗原结合蛋白、例如抗体或片段或多肽的表位的方法,包括丙氨酸扫描突变分析、肽印迹分析(Reineke(2004)Methods Mol.Biol.248:443-63)、肽切割分析、晶体学研究和NMR分析。此外,也可以采用例如抗原的表位切除、表位提取和化学修饰的方法(Tomer i2000)Prot.Sci.9:487-496)。可用于鉴定多肽中与抗原结合蛋白(例如抗体或片段或多肽)相互作用的氨基酸的另一种方法是通过质谱检测氢/氘交换。参见,例如,Ehring(1999)Analytical Biochemistry 267:252-259;Engen and Smith(2001)Anal.Chem.73:256A-265A。

[0134] 本发明包括与例如以下的本发明抗原结合蛋白竞争结合IL2R γ 、例如如本文讨论

的变体IL2R γ 表位的抗原结合蛋白:

[0135] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2。本文中使用的术语“竞争”是指与抗原(例如,IL2R γ)结合并抑制或阻断另一抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段)与该抗原结合的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段)。除非另有说明,否则该术语还包括两种抗原结合蛋白、例如抗体之间的在两个方向上的竞争,即第一抗体结合抗原并阻断第二抗体的结合,反之亦然。因此,在本发明的一个实施方案中,竞争发生在一个这样的方向上。在某些实施方案中,第一抗原结合蛋白(例如,抗体)和第二抗原结合蛋白(例如,抗体)可与相同表位结合。替代地,第一和第二抗原结合蛋白(例如,抗体)可与不同但例如重叠或不重叠的表位结合,其中一个的结合抑制或阻断,例如通过空间位阻来抑制或阻断第二抗体的结合。抗原结合蛋白(例如,抗体)之间的竞争可通过本领域已知的方法,例如通过实时、无标记生物层干涉测定来测量。此外,抗IL2R γ 抗原结合蛋白(例如,单克隆抗体(mAb))之间的结合竞争可使用在Octet RED384生物传感器(Pall ForteBio Corp.)上进行实时、无标记生物层干涉测定来确定。

[0136] 通常,以某种方式修饰的本发明的抗体或抗原结合片段保留与IL2R γ 特异性结合的能力,例如,保留其IL2R γ 结合活性的至少10%(当与亲本抗体相比时),当该活性以摩尔为基础表示时。优选地,本发明的抗体或抗原结合片段保留亲本抗体的IL2R γ 结合亲和力的至少20%、50%、70%、80%、90%、95%或100%或更多。还预期的是,本发明的抗体或抗原结合片段可包含基本上不改变其生物学活性的保守或非保守氨基酸替换(称为抗体的“保守变体”或“功能保守变体”)。

[0137] 多肽、例如免疫球蛋白链(例如,H4H12857P、H4H12858P、H4H12859P、H4H12863P、H4H12874P、H4H12871P、H4H12884P、H4H12886P、H4H12889P、H4H12890P、H4H12899P、H4H12900P、H4H12908P、H4H12913P2、H4H12922P2、H4H12924P2、H4H12926P2、H4H12927P2、H4H12934P2、H4H13538P、H4H13541P、H4H13544P2或H4H13545P2 V_H 、 V_L 、HC或LC或其CDR,其包含上文具体所示的氨基酸序列)的“变体”是指以下多肽,其包含与本文所示的参考氨基酸序列(例如,SEQ ID NO:2,4,6,8,10,12,14,16,18,20,22,24,26,28,30,32,34,36,38,40,42,44,46,48,50,52,54,56,58,60,62,64,66,68,70,72,75,77,79,81,83,85,87,89,91,93,95,97,99,101,103,105,107,109,111,113,115,117,119,121,123,125,127,129,132,134,136,138,140,142,144,146,148,150,152,154,156,158,160,162,164,166,168,170,172,174,176,178,180,182,184,186,188,190,192,194,196,198,200,202,204,206,208,210,212,214,216,218,220,222,224,226,228,230,232,234,236,238,240,242,244,246,248,250,252,254,256,258,260,262,264,266,268,270,272,274,276,278,280,282,284,286,288,290,292,294,296,298,300,302,304,306,309,311,313,315,317,319,321,323,325,327,329,331,333,335,337,339,341,343,345,347,349,351,353,355,357,359,361,363,366,368,370,372,374,376或378中的任一个)至少约70%至99.9%(例如,至少70%、72%、74%、75%、76%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%)相同或相似的

氨基酸序列;当比较通过BLAST算法进行时,其中选择算法的参数以在相应参考序列的整个长度上给出相应序列之间的最大匹配(例如,期望阈值:10;字长:3;在查询范围内的最大匹配:0;BLOSUM 62矩阵;空位罚分:存在11,扩展1;条件组合评分矩阵调整)。

[0138] 此外,多肽的变体可包括以下多肽,例如免疫球蛋白链(例如,H4H12857P、H4H12858P、H4H12859P、H4H12863P、H4H12874P、H4H12871P、H4H12884P、H4H12886P、H4H12889P、H4H12890P、H4H12899P、H4H12900P、H4H12908P、H4H12913P2、H4H12922P2、H4H12924P2、H4H12926P2、H4H12927P2、H4H12934P2、H4H13538P、H4H13541P、H4H13544P2、或H4H13545P2 V_H、V_L、HC或LC或其CDR),其可含有氨基酸序列在本文中具体示出的参考多肽的氨基酸序列,但存在一个或更多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)突变,例如一个或更多个错义突变(例如,保守替换)、无义突变、缺失或插入。例如,本发明包括抗IL2R γ 抗原结合蛋白,其包含:含有SEQ ID NO:10中所示氨基酸序列但具有一个或更多个这样的突变的免疫球蛋白轻链(或V_L)变体,和/或含有SEQ ID NO:2中所示氨基酸序列但具有一个或更多个这样的突变的免疫球蛋白重链(或V_H)变体。在本发明的一个实施方案中,抗IL2R γ 抗原结合蛋白包含:含有CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的免疫球蛋白轻链变体,其中这样的CDR中的一个或更多个(例如,1或2或3个)具有一个或更多个这样的突变(例如,保守替换);和/或含有CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的免疫球蛋白重链变体,其中这样的CDR中的一个或更多个(例如,1或2或3个)具有一个或更多个这样的突变(例如,保守替换)。

[0139] 以下参考文献涉及经常用于序列分析的BLAST算法:BLASTALGORITHMS:Altschul et al. (2005) FEBS J. 272 (20): 5101-5109; Altschul, S.F., et al., (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410; Gish, W., et al., (1993) Nature Genet. 3: 266-272; Madden, T.L., et al., (1996) Meth. Enzymol. 266: 131-141; Altschul, S.F., et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402; Zhang, J., et al., (1997) Genome Res. 7: 649-656; Wootton, J.C., et al., (1993) Comput. Chem. 17: 149-163; Hancock, J.M. et al., (1994) Comput. Appl. Biosci. 10: 67-70; ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M.O., et al., "A model of evolutionary change in proteins." Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3. M.O. Dayhoff (编辑), pp. 345-352, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.; Schwartz, R.M., et al., "Matrices for detecting distant relationships." Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3. "M.O. Dayhoff (编辑), pp. 353-358, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.; Altschul, S.F., (1991) J. Mol. Biol. 219: 555-565; States, D.J., et al., (1991) Methods 3: 66-70; Henikoff, S., et al., (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915-10919; Altschul, S.F., et al., (1993) J. Mol. Evol. 36: 290-300; ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S., et al., (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 2264-2268; Karlin, S., et al., (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5877; Dembo, A., et al., (1994) Ann. Prob. 22: 2022-2039; 和 Altschul, S.F. "Evaluating the statistical significance of multipledistinct local alignments." Theoretical and Computational Methods in Genome Research (S. Suhai 编辑), (1997) pp. 1-14, Plenum, N.Y.

[0140] (例如本文所示的免疫球蛋白链的)“保守修饰变体”或“保守替换”是指其中存在用具有相似特征(例如电荷、侧链大小、疏水性/亲水性、骨架构象和刚性等)的其他氨基酸

对多肽中的氨基酸进行一个或更多个替换的变体。这样的变化可经常在不显著破坏抗体或片段的生物活性的情况下进行。本领域技术人员认识到,通常,在多肽的非必需区域中的单个氨基酸替换基本上不改变生物活性(参见,例如,Watson et al. (1987) *Molecular Biology of the Gene*, The Benjamin/Cummings Pub.Co., 第224页(第4版))。此外,结构或功能上相似的氨基酸的替换不太可能显著破坏生物活性。本发明包括含有这样的经保守修饰变体免疫球蛋白链的抗IL2R γ 抗原结合蛋白。

[0141] 带有具有类似化学性质的侧链的氨基酸的组群的实例包括:1) 脂肪族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;2) 脂肪族羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;3) 含酰胺侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;4) 芳香族侧链:苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;5) 碱性侧链:赖氨酸、精氨酸和组氨酸;6) 酸性侧链:天冬氨酸和谷氨酸,以及7) 含硫侧链:半胱氨酸和甲硫氨酸。作为替代地,保守替换是Gonnet et al. (1992) *Science* 256:1443-45中公开的在PAM250对数似然矩阵中具有正值的任何变化。

[0142] 本文所示的抗IL2R γ 抗原结合蛋白,例如,包含变体免疫球蛋白链的抗IL2R γ 抗原结合蛋白,可表现出以下特性中的一种或更多种:

[0143] • 在25°C下以约 2.75×10^{-9} M至约 3.36×10^{-7} M的 K_D 与人IL2R γ (例如,其融合体,例如myc-myc-His6融合体)结合;

[0144] • 在37°C下以约 6.42×10^{-9} M至约 3.53×10^{-7} M的 K_D 与人IL2R γ (例如,其融合体,例如myc-myc-His6融合体)结合(或以小于约 3.53×10^{-7} M的 K_D 结合);

[0145] • 在25°C下以约 3.18×10^{-9} M至约 2.38×10^{-7} M的 K_D 与食蟹猴IL-2R γ (例如,其融合体,例如myc-myc-His6融合体)结合;

[0146] • 在37°C下以约 8.29×10^{-9} M至约 3.20×10^{-7} M的 K_D 与食蟹猴IL-2R γ (例如,其融合体,例如myc-myc-His6融合体)结合(或以小于约 3.20×10^{-7} M的 K_D 结合);

[0147] • 在25°C下以约 2.45×10^{-9} M至约 1.20×10^{-8} M的 K_D 与人IL2R γ (例如,其融合体,例如与C末端小鼠IgG2a Fc标签的融合体)结合(或以小于约 1.20×10^{-8} M的 K_D 结合);

[0148] • 在37°C下以约 1.86×10^{-11} M至约 3.00×10^{-8} M的 K_D 与人IL2R γ (例如,其融合体,例如与C末端小鼠IgG2a Fc标签的融合体)结合(或以小于约 3.00×10^{-8} M的 K_D 结合);

[0149] • 在25°C下以约 1.84×10^{-8} M、 3.76×10^{-9} M、 1.08×10^{-7} M、 2.17×10^{-8} M、 6.02×10^{-9} M或 7.93×10^{-8} M的 K_D 与小鼠IL2R γ (例如,其融合体,例如myc-myc-His6融合体)结合(或不结合);

[0150] • 在37°C下以约 5.59×10^{-8} M、 6.11×10^{-9} M、 3.87×10^{-7} M、 5.16×10^{-8} M、 8.70×10^{-9} M或 2.15×10^{-7} M的 K_D 与小鼠IL2R γ (例如,其融合体,例如myc-myc-His6融合体)结合(或不结合);

[0151] • 在25°C下以约 3.32×10^{-9} M至约 1.97×10^{-7} M的 K_D 与人IL2R γ 结构域1(例如,其融合体,例如myc-myc-His6融合体)结合(或不结合);

[0152] • 在37°C下以约 4.13×10^{-9} M至约 2.25×10^{-7} M的 K_D 与人IL2R γ 结构域1(例如,其融合体,例如myc-myc-His6融合体)结合(或不结合);

[0153] • 在25°C下以约 2.91×10^{-7} M至约 5.35×10^{-10} M的 K_D 与人IL2R γ 结构域2(例如,其融合体,例如myc-myc-His6融合体)结合(或不结合);

[0154] • 在37°C下以约 1.14×10^{-8} 或约 1.27×10^{-8} M的 K_D 与人IL2R γ 结构域2(例如,其融合

体,例如myc-myc-His6融合体)结合(或不结合);

[0155] • 阻断T细胞(例如人CD4⁺T细胞)中的STAT磷酸化、例如由IL-2(例如,以约10nM)、IL-4(例如,以约50pM)、IL7(例如,以约1pM)、IL-15(例如,以约0.5nM)和/或IL-21(例如,以约50pM)诱导的STAT磷酸化,例如以约1nM至约0.5nM的IC₅₀;

[0156] • 阻断肥大细胞(例如,分化的人肥大细胞)中的STAT磷酸化、例如由IL-9(例如,以约2nM)诱导的STAT磷酸化,例如以约 4×10^{-10} M的IC₅₀;

[0157] • 减少用人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)注射之后小鼠(例如, NOD-scid IL2r γ null (NSG) 小鼠)中人免疫细胞(例如,人PBMC(外周血单个核细胞),例如人CD45⁺细胞、人T细胞、人CD4⁺T细胞和/或人CD8⁺T细胞)的数目;

[0158] • 降低用人外周血单个核细胞(PBMC)注射之后小鼠(例如, NOD-scid IL2r γ null (NSG) 小鼠)中血清人细胞因子(例如,人IFN- γ 、人TNF α 、人IL-6、人IL-8和/或人IL-10)和/或小鼠细胞因子(例如,小鼠TNF α 、小鼠IL-6、小鼠KC/GRO和/或小鼠IL-10)的水平;

[0159] • 与本文所示的任意一种或更多种抗IL2R γ 抗体竞争结合人IL-2R γ ,例如在细胞表面上的人IL-2R γ (例如,经C末端myc-myc-六聚组氨酸标签标记);

[0160] • 与本文所示的任意一种或更多种抗IL2R γ 抗体结合IL2R γ 、例如在细胞表面上的IL2R γ (例如,经C末端myc-myc-六聚组氨酸标签标记)上的相同表位;

[0161] • 不与小鼠或大鼠IL2R γ 可检测地结合(例如,如通过Biacore在37°C下测量的);

[0162] • 在GvHD小鼠模型中保护小鼠免于因GvHD导致的体重减轻和/或死亡;

[0163] • 阻断包含与细胞因子特异性受体亚基复合的IL2R γ 的杂合受体与细胞因子例如IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15和/或IL-21结合的结合;和/或

[0164] • 抑制由例如IL2、IL4、IL7、IL9、IL15和/或IL21诱导的通过JAK-STAT通路的IL2R γ 胞内信号传导(例如,在人B淋巴细胞或人自然杀伤细胞中),例如,如通过包含与STAT3响应元件可操作地连接的荧光素酶基因的细胞中的荧光素酶表达测量的。

[0165] 除非另有说明,否则“H4H12857P”、“H4H12858P”、“H4H12859P”、“H4H12863P”、“H4H12874P”、“H4H12871P”、“H4H12884P”、“H4H12886P”、“H4H12889P”、“H4H12890P”、“H4H12899P”、“H4H12900P”、“H4H12908P”、“H4H12913P2”、“H4H12922P2”、“H4H12924P2”、“H4H12926P2”、“H4H12927P2”、“H4H12934P2”、“H4H13538P”、“H4H13541P”、“H4H13544P2”或“H4H13545P2”是指抗IL2R γ 抗原结合蛋白,例如抗体及其抗原结合片段(包括多特异性抗原结合蛋白),其分别包含:含有本文针对H4H12857P、H4H12858P、H4H12859P、H4H12863P、H4H12874P、H4H12871P、H4H12884P、H4H12886P、H4H12889P、H4H12890P、H4H12899P、H4H12900P、H4H12908P、H4H12913P2、H4H12922P2、H4H12924P2、H4H12926P2、H4H12927P2、H4H12934P2、H4H13538P、H4H13541P、H4H13544P2或H4H13545P2具体示出的氨基酸序列(例如,SEQ ID NO:2、18、22、38、42、58、62、77、81、97、101、115、119、134、138、152、156、170、174、186、190、198、200、208、210、216、218、234、238、254、258、272、276、284、286、294、296、311、315、331、335、343、345、357、361或376)(或其变体)的免疫球蛋白重链或其可变区(V_H),和/或含有本文针对H4H12857P、H4H12858P、H4H12859P、H4H12863P、H4H12874P、H4H12871P、H4H12884P、H4H12886P、H4H12889P、H4H12890P、H4H12899P、H4H12900P、H4H12908P、H4H12913P2、H4H12922P2、H4H12924P2、H4H12926P2、H4H12927P2、H4H12934P2、H4H13538P、H4H13541P、H4H13544P2或H4H13545P2具体示出的氨基酸序列(例如,SEQ ID

N0:10、20、30、40、50、60、70、79、89、99、109、117、127、136、146、154、164、172、182、188、226、236、246、256、266、274、304、313、323、333、353、359、368或378) (或其变体)的免疫球蛋白轻链或其可变区(V_L);和/或包含:含有其CDR(CDR-H1(或其变体)、CDR-H2(或其变体)和CDR-H3(或其变体))的重链或 V_H ,和/或含有其CDR(CDR-L1(或其变体)、CDR-L2(或其变体)和CDR-L3(或其变体))的轻链或 V_L 。在本发明的一个实施方案中, V_H 与IgG恒定重链结构域、例如人IgG恒定重链结构域(例如,IgG1或IgG4(例如,包含S228P和/或S108P突变))连接;和/或 V_L 与轻链恒定结构域、例如人轻链恒定结构域(例如, λ 或K恒定轻链结构域)连接。编码任何这样的免疫球蛋白链中一个或更多个(例如, V_H 、 V_L 、HC和/或LC)的多核苷酸构成本发明的一部分。

[0166] 本发明包括“中和”或“拮抗剂”抗IL2R γ 抗原结合蛋白(例如,抗体或抗原结合片段),其包括以任何可检出的程度抑制IL2R γ 活性(例如抑制包含与细胞因子特异性受体亚基复合的IL2R γ 的杂合受体与细胞因子例如IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15和/或IL-21结合的结合)的分子。

[0167] 本发明的抗体和抗原结合片段(例如,H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2)包含含有本文具体示出的氨基酸序列(及其变体)的免疫球蛋白链以及针对抗体或片段的细胞和体外翻译后修饰。例如,本发明包括与IL2R γ 特异性结合的抗体及其抗原结合片段,其包含本文所示的重链和/或轻链氨基酸序列;以及其中一个或更多个天冬酰胺、丝氨酸和/或苏氨酸残基糖基化、一个或更多个天冬酰胺残基脱酰胺、一个或更多个残基(例如,Met、Trp和/或His)被氧化、N-末端谷氨酰胺是焦谷氨酸(pyroE)和/或C-末端赖氨酸或其他氨基酸缺失的抗体和片段。

[0168] 本发明提供了容器(例如,塑料或玻璃小瓶(例如,具有帽或色谱柱)、空心针或注射器筒),其包含本发明的抗IL2R γ 抗原结合蛋白,例如,

[0169] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2。

[0170] 本发明还提供了注射装置,其包含与IL2R γ 特异性结合的一种或更多种抗原结合蛋白(例如,抗体或抗原结合片段),例如

[0171] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2

[0172] ,或其药物制剂。注射装置可包装成药盒。注射装置是通过肠胃外途径例如眼内、玻璃体内、肌内、皮下或静脉内将物质引入对象体内的装置。例如,注射装置可以是注射器或自动注射器(例如,预先填充有药物制剂),其例如包含用于容纳待注射流体(例如,包含抗体或片段或其药物制剂)的筒或桶;用于刺穿皮肤、血管或其他组织用于注射流体的针;

以及用于将流体推出筒并且通过针孔并进入对象体内的塞子。

[0173] 本发明还提供了用于向对象施用本发明的抗IL2R γ 抗原结合蛋白,例

[0174] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;

[0175] 如H4H13544P2;或H4H13545P2的方法,其包括将抗原结合蛋白引入对象(例如,人)体内,例如,肠胃外。例如,该方法包括用注射器的针刺穿对象机体并将抗原结合蛋白注射到对象体内,例如注射到对象的静脉、动脉、眼、肌肉组织或皮下组织中。

[0176] 多核苷酸及制备方法

[0177] 多核苷酸包括DNA和RNA。本发明包括本发明的任何多核苷酸,例如,编码

[0178] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2的免疫球蛋白V_H、V_L、CDR-H、CDR-L、HC或LC的任何多核苷酸,任选地,其与启动子或其他表达控制序列可操作地连接。例如,本发明提供了包含以下中所示的核苷酸序列的任何多核苷酸(例如DNA):

[0179] SEQ ID NO:1,3,5,7,9,11,13,15,17,19,21,23,25,27,29,31,33,35,37,39,41,43,45,47,49,51,53,55,57,59,61,63,65,67,69,71,73,74,76,78,80,82,84,86,88,90,92,94,96,98,100,102,104,106,108,110,112,114,116,118,120,122,124,126,128,130,131,133,135,137,139,141,143,145,147,149,151,153,155,157,159,161,163,165,167,169,171,173,175,175,177,179,181,183,185,187,189,191,193,195,197,199,201,203,205,207,209,211,213,215,217,219,221,223,225,227,229,231,233,235,237,239,241,243,245,247,249,251,253,255,257,259,261,263,265,267,269,271,273,275,277,279,281,283,285,287,289,291,293,295,297,299,301,303,305,307,308,310,312,314,316,318,320,322,324,326,328,330,332,334,336,338,340,342,344,346,348,350,352,354,356,358,360,362,364,365,367,369,371,373,375或377.

[0180] 在本发明的一个实施方案中,本发明的多核苷酸与分泌信号序列融合。由这样的多核苷酸编码的多肽也在本发明的范围内。

[0181] 一般来说,“启动子”或“启动子序列”是能够结合细胞中的RNA聚合酶(例如,直接或通过其他启动子结合的蛋白质或物质)并启动编码序列的转录的DNA调控区域。启动子可与包括增强子和阻遏子序列的其他表达控制序列和/或与本发明的多核苷酸可操作地连接。可用于控制基因表达的启动子包括但不限于巨细胞病毒(cytomegalovirus,CMV)启动子(第5385839和5168062号美国专利)、SV40早期启动子区(Benoist,et al.,(1981)Nature 290:304-310)、包含在Rous肉瘤病毒3' 长末端重复序列中的启动子(Yamamoto,et al.,(1980)Cell 22:787-797)、疱疹胸苷激酶启动子(Wagner,et al.,(1981)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 78:1441-1445)、金属硫蛋白基因的调控序列(Brinster,et al.,(1982)Nature 296:39-42);原核表达载体,例如 β -内酰胺酶启动子(VIIIa-Komaroff,et al.,(1978)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 75:3727-3731),或tac启动子(DeBoer,et al.,

(1983)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 80:21-25);另见“Useful proteins from recombinant bacteria”,Scientific American(1980)242:74-94;以及来自酵母或其他真菌的启动子元件,例如Gal4启动子、ADC(乙醇脱氢酶)启动子、PGK(磷酸甘油激酶)启动子或碱性磷酸酶启动子。

[0182] 编码多肽的多核苷酸与启动子或其他表达控制序列“可操作地连接”,此时在细胞或其他表达系统中,该序列指导RNA聚合酶介导的编码序列转录成RNA,优选mRNA,其然后可进行RNA剪接(如果其含有内含子的话)并且任选地,翻译成由编码序列编码的蛋白质。

[0183] 本发明包括包含以下编码 V_H 和 V_L 的多核苷酸对的多核苷酸:

[0184] SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:9;

[0185] SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:29;

[0186] SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:49;

[0187] SEQ ID NO:61和SEQ ID NO:69;

[0188] SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:88;

[0189] SEQ ID NO:100和SEQ ID NO:108;

[0190] SEQ ID NO:118和SEQ ID NO:126;

[0191] SEQ ID NO:137和SEQ ID NO:145;

[0192] SEQ ID NO:155和SEQ ID NO:163;

[0193] SEQ ID NO:173和SEQ ID NO:181;

[0194] SEQ ID NO:189和SEQ ID NO:181;

[0195] SEQ ID NO:199和SEQ ID NO:181;

[0196] SEQ ID NO:209和SEQ ID NO:181;

[0197] SEQ ID NO:217和SEQ ID NO:225;

[0198] SEQ ID NO:237和SEQ ID NO:245;

[0199] SEQ ID NO:257和SEQ ID NO:265;

[0200] SEQ ID NO:275和SEQ ID NO:181;

[0201] SEQ ID NO:285和SEQ ID NO:181;

[0202] SEQ ID NO:295和SEQ ID NO:303;

[0203] SEQ ID NO:314和SEQ ID NO:322;

[0204] SEQ ID NO:334和SEQ ID NO:181;

[0205] SEQ ID NO:344和SEQ ID NO:352;或

[0206] SEQ ID NO:360和SEQ ID NO:367。

[0207] 本发明包括包含以下编码CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的多核苷酸组的多核苷酸:

[0208] SEQ ID NO:3、5、7、11、13和15;

[0209] SEQ ID NO:23、25、27、31、33和35;

[0210] SEQ ID NO:43、45、47、51、53和55;

[0211] SEQ ID NO:63、65、67、71、73和74;

[0212] SEQ ID NO:82、84、86、90、92和94;

[0213] SEQ ID NO:102、104、106、110、73和112;

- [0214] SEQ ID NO:120、122、124、128、130和131；
- [0215] SEQ ID NO:139、141、143、147、73和149；
- [0216] SEQ ID NO:157、159、161、165、13和167；
- [0217] SEQ ID NO:175、177、179、71、73和183；
- [0218] SEQ ID NO:191、193、195、71、73和183；
- [0219] SEQ ID NO:201、203、205、71、73和183；
- [0220] SEQ ID NO:175、211、213、71、73和183；
- [0221] SEQ ID NO:219、221、223、227、229和231；
- [0222] SEQ ID NO:239、241、243、247、249和251；
- [0223] SEQ ID NO:259、261、263、267、73和269；
- [0224] SEQ ID NO:277、279、281、71、73和183；
- [0225] SEQ ID NO:287、289、291、71、73和183；
- [0226] SEQ ID NO:297、299、301、305、307和308；
- [0227] SEQ ID NO:316、318、320、324、326和328；
- [0228] SEQ ID NO:336、338、340、71、73和183；
- [0229] SEQ ID NO:346、348、350、71、73和354；或
- [0230] SEQ ID NO:362、364、365、369、371和373。
- [0231] 本发明包括包含以下编码HC和LC的多核苷酸对的多核苷酸：
- [0232] SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:19；
- [0233] SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:39；
- [0234] SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:59；
- [0235] SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:78；
- [0236] SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:98；
- [0237] SEQ ID NO:114和SEQ ID NO:116；
- [0238] SEQ ID NO:133和SEQ ID NO:135；
- [0239] SEQ ID NO:151和SEQ ID NO:153；
- [0240] SEQ ID NO:169和SEQ ID NO:171；
- [0241] SEQ ID NO:185和SEQ ID NO:187；
- [0242] SEQ ID NO:197和SEQ ID NO:187；
- [0243] SEQ ID NO:207和SEQ ID NO:187；
- [0244] SEQ ID NO:215和SEQ ID NO:187；
- [0245] SEQ ID NO:233和SEQ ID NO:235；
- [0246] SEQ ID NO:253和SEQ ID NO:255；
- [0247] SEQ ID NO:271和SEQ ID NO:273；
- [0248] SEQ ID NO:283和SEQ ID NO:187；
- [0249] SEQ ID NO:293和SEQ ID NO:187；
- [0250] SEQ ID NO:310和SEQ ID NO:312；
- [0251] SEQ ID NO:330和SEQ ID NO:332；
- [0252] SEQ ID NO:342和SEQ ID NO:187；

[0253] SEQ ID NO:356和SEQ ID NO:358;或

[0254] SEQ ID NO:375和SEQ ID NO:377。

[0255] 本发明包括编码免疫球蛋白多肽链的多核苷酸,这些多核苷酸是核苷酸序列在本文中具体示出的那些的变体。多核苷酸的“变体”指包含与本文所示参考核苷酸序列至少约70-99.9% (例如,70%、72%、74%、75%、76%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%) 相同的核苷酸序列的多核苷酸;当通过BLAST算法进行比较时,其中选择该算法的参数以在各个参考序列的整个长度上给出各个序列之间的最大匹配 (例如,期望阈值:10;字长:28;查询范围内的最大匹配数:0;匹配/不匹配评分:1,-2;空位罚分:线性)。在本发明的一个实施方案中,本文具体所示的核苷酸序列的变体包含一个或更多个核苷酸的一个或更多个 (例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个) 点突变、插入 (例如,框内插入) 或缺失 (例如,框内缺失)。在本发明的一个实施方案中,这样的突变可以是错义突变或无义突变。在本发明的一个实施方案中,这样的变体多核苷酸编码免疫球蛋白多肽链,其可并入抗IL2R γ 抗原结合蛋白中,即,使得该蛋白质保留与IL2R γ 的特异性结合。

[0256] 真核和原核宿主细胞,包括哺乳动物细胞,可用作表达抗IL2R γ 抗原结合蛋白 (例如,抗体或其抗原结合片段) 的宿主。这样的宿主细胞在本领域中是众所周知的,并且许多可从美国模式培养物保藏中心 (American Type Culture Collection, ATCC) 获得。这些宿主细胞尤其包括中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞、NS0、SP2细胞、HeLa细胞、幼仓鼠肾 (baby hamster kidney, BHK) 细胞、猴肾细胞 (monkey kidney cell, COS)、人肝细胞癌细胞 (例如 Hep G2)、A549细胞、3T3细胞、HEK-293细胞和许多其他细胞系。哺乳动物宿主细胞包括人、小鼠、大鼠、狗、猴、猪、山羊、牛、马和仓鼠的细胞。可使用的另一些细胞系为昆虫细胞系 (例如草地贪夜蛾 (*Spodoptera frugiperda*) 或粉纹夜蛾 (*Trichoplusia ni*))、两栖动物细胞、细菌细胞、植物细胞和真菌细胞。真菌细胞包括酵母和丝状真菌的细胞,包括例如毕赤酵母 (*Pichia*)、巴斯德毕赤酵母 (*Pichia pastoris*)、芬兰毕赤酵母 (*Pichia finlandica*)、喜海藻糖毕赤酵母 (*Pichia trehalophila*)、柯达毕赤酵母 (*Pichia koclamae*)、膜醭毕赤酵母 (*Pichia membranaefaciens*)、微小毕赤酵母 (*Pichia minuta*) (*Ogataea minuta*、*Pichia lindneri*)、仙人掌毕赤酵母 (*Pichia opuntiae*)、耐热毕赤酵母 (*Pichia thermotolerans*)、水杨毕赤酵母 (*Pichia salictaria*)、槲皮毕赤酵母 (*Pichia guercuum*)、皮杰普氏毕赤酵母 (*Pichia pijperi*)、树干毕赤酵母 (*Pichia stiptis*)、甲醇毕赤酵母 (*Pichia methanolica*)、毕赤酵母属 (*Pichia sp.*)、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、酵母属 (*Saccharomyces sp.*)、多形汉逊酵母 (*Hansenula polymorpha*)、克鲁维酵母属 (*Kluyveromyces sp.*)、乳酸克鲁维酵母 (*Kluyveromyces lactis*)、白色念珠菌 (*Candida albicans*)、构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、米曲霉 (*Aspergillus oryzae*)、里氏木霉 (*Trichoderma reesei*)、鲁克文金孢子菌 (*Chrysosporium lucknowense*)、镰孢霉属 (*Fusarium sp.*)、禾谷镰孢霉 (*Fusarium gramineum*)、镶片镰孢霉 (*Fusarium venenatum*)、小立碗藓 (*Physcomitrella patens*) 和粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*)。本发明包括分离的宿主细胞 (例如,CHO细胞或上述任何类型的宿主细胞),其包含抗原结合蛋白、 V_H 、 V_L 、HC、LC或其CDR (或其变体),例如H4H12857P; H4H12858P; H4H12859P; H4H12863P; H4H12874P; H4H12871P; H4H12884P; H4H12886P;

H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2;

[0257] ;和/或编码一个或更多个其免疫球蛋白链的多核苷酸(例如,如本文所讨论的)。

[0258] 本发明还包括表达IL2R γ 或其与例如以下的本发明抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段)结合的抗原片段或融合物(例如,His₆、Fc和/或myc)的细胞:H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2,例如,其中所述细胞在对象的体内或在体外。

[0259] 此外,本发明还提供了复合物,其包含与IL2R γ 多肽或其抗原片段或其融合体和/或与和抗IL2R γ 抗体或片段特异性结合的二抗或其抗原结合片段(例如,可检测标记的二抗)复合的如本文所讨论的抗IL2R γ 抗原结合蛋白,例如抗体或其抗原结合片段。在本发明的一个实施方案中,复合物在体外(例如,固定在固体基底上)或在对象体内。

[0260] 本文公开的重组抗IL2R γ 抗原结合蛋白,例如抗体和抗原结合片段,也可在大肠杆菌(E.coli)/T7表达系统中产生。在该实施方案中,编码本发明的抗IL2R γ 抗体免疫球蛋白分子(例如

[0261] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2的HC、LC、V_H和/或V_L或其CDR)的多核苷酸可插入基于pET的质粒中并在大肠杆菌/T7系统中表达。例如,本发明包括用于在宿主细胞(例如,细菌宿主细胞例如大肠杆菌例如BL21或BL21DE3)中表达抗体或其抗原结合片段或其免疫球蛋白链的方法,该方法包括在细胞中表达T7RNA聚合酶,该细胞还包含与T7启动子可操作地连接的编码免疫球蛋白链的多核苷酸(例如,包括以下中的任意一个或更多个中的核苷酸序列、或其变体:

[0262] SEQ ID NO:1,3,5,7,9,11,13,15,17,19,21,23,25,27,29,31,33,35,37,39,41,43,45,47,49,51,53,55,57,59,61,63,65,67,69,71,73,74,76,78,80,82,84,86,88,90,92,94,96,98,100,102,104,106,108,110,112,114,116,118,120,122,124,126,128,130,131,133,135,137,139,141,143,145,147,149,151,153,155,157,159,161,163,165,167,169,171,173,175,177,179,181,183,185,187,189,191,193,195,197,199,201,203,205,207,209,211,213,215,217,219,221,223,225,227,229,231,233,235,237,239,241,243,245,247,249,251,253,255,257,259,261,263,265,267,269,271,273,275,277,279,281,283,285,287,289,291,293,295,297,299,301,303,305,307,308,310,312,314,316,318,320,322,324,326,328,330,332,334,336,338,340,342,344,346,348,350,352,354,356,358,360,362,364,365,367,369,371,373,375或377)。例如,在本发明的一个实施方案中,细菌宿主细胞,例如大肠杆菌,包含与lac启动子可操作地连接的编码T7 RNA聚合酶基因的多核苷酸,并且通过用IPTG(异丙基- β -D-硫代半乳糖吡喃糖苷)孵育宿主细胞来诱导聚合酶和链的表达。参见US4952496和US5693489或Studier&Moffatt, Use of

bacteriophage T7 RNA polymerase to direct selective high-level expression of cloned genes, J. Mol. Biol. 1986年5月5日; 189(1): 113-30。

[0263] 本领域已知几种产生重组抗体的方法。US4816567公开了用于抗体的重组生产的方法的一个实例。

[0264] 转化可以通过用于将多核苷酸引入宿主细胞中的任何已知方法进行。用于将异源多核苷酸引入哺乳动物细胞中的方法在本领域中是众所周知的, 并且包括葡聚糖介导的转染、磷酸钙沉淀、聚凝胺介导的转染、原生质体融合、电穿孔、将多核苷酸(多种多核苷酸)包封在脂质体中、生物射弹注射和将DNA直接微注射到细胞核中。此外, 可以通过病毒载体将核酸分子引入哺乳动物细胞中。转化细胞的方法在本领域中是众所周知的。参见例如第4399216号、第4912040号、第4740461号和第4959455号美国专利。因此, 本发明包括用于制备本发明的抗IL2R γ 抗原结合蛋白、例如抗体或其抗原结合片段、或其免疫球蛋白链的重组方法, 该方法包括 (i) 将一种或更多种编码抗原结合蛋白、例如

[0265] H4H12857P; H4H12858P; H4H12859P; H4H12863P; H4H12874P; H4H12871P; H4H12884P; H4H12886P; H4H12889P; H4H12890P; H4H12899P; H4H12900P; H4H12908P; H4H12913P2; H4H12922P2; H4H12924P2; H4H12926P2; H4H12927P2; H4H12934P2; H4H13538P; H4H13541P; H4H13544P2; 或H4H13545P2的免疫球蛋白轻链和/或重链的多核苷酸(例如, 包括以下中任意一个或更多个中的核苷酸序列、或其变体:

[0266] SEQ ID NO: 1, 9, 17, 19, 21, 29, 37, 39, 41, 49, 57, 59, 61, 69, 76, 78, 80, 88, 96, 98, 100, 108, 114, 116, 118, 126, 133, 135, 137, 145, 151, 153, 155, 163, 169, 171, 173, 181, 185, 187, 189, 197, 199, 207, 209, 215, 217, 225, 233, 235, 237, 245, 253, 255, 257, 265, 271, 273, 275, 283, 285, 293, 295, 303, 310, 312, 314, 322, 330, 332, 334, 342, 344, 352, 356, 358, 360, 367, 375或377) 引入宿主细胞中, 例如, 其中所述多核苷酸在载体中; 和/或整合到宿主细胞染色体中和/或与启动子可操作地连接; (ii) 在有利于多核苷酸表达的条件下培养宿主细胞(例如, CHO或毕赤酵母或巴斯德毕赤酵母), 以及 (iii) 任选地, 从宿主细胞和/或其中培养了宿主细胞的培养基中分离抗原结合蛋白(例如, 抗体或抗原结合片段) 或链。当制备包含多于一条免疫球蛋白链的抗原结合蛋白(例如抗体或抗原结合片段)、例如制备包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链的抗体时, 这些链在单个宿主细胞中的共表达导致链的缔合, 例如, 在细胞内或细胞表面上或在细胞外(如果这样的链被分泌的话), 以形成抗原结合蛋白(例如抗体或抗原结合片段)。本发明的方法包括其中在细胞中表达仅免疫球蛋白重链或表达仅免疫球蛋白轻链或两者的那些方法(例如, 本文讨论的那些方法中的任何一种包括成熟片段和/或其可变结构域)。例如, 这样的单个链是可用的, 例如可用作表达包含这样的链的抗体或抗原结合片段中的中间体。例如, 本发明还包括抗IL2R γ 抗原结合蛋白, 例如抗体及其抗原结合片段, 它们是本文所述生产方法的产物, 并且任选地是本文所述纯化方法的产物。

[0267] 在本发明的一个实施方案中, 用于制备抗IL2R γ 抗原结合蛋白(例如抗体或其抗原结合片段)的方法包括纯化抗原结合蛋白、例如通过柱色谱、沉淀和/或过滤来纯化抗原结合蛋白的方法。如所讨论的, 这样的方法的产物也构成本发明的一部分。

[0268] 人抗体的制备

[0269] 本发明的抗IL2R γ 抗体可以是完全人抗体。用于产生单克隆抗体(包括完全人单

克隆抗体)的方法是本领域已知的。任何这样的已知方法均可在本发明的上下文中用于制备与人IL2R γ 特异性结合的人抗体。

[0270] 使用例如VELOCIMMUNE™技术或用于产生完全人单克隆抗体的任何其他类似已知方法,首先分离出具有人可变区和小鼠恒定区的针对IL2R γ 的高亲和力嵌合抗体。如在下文的实验部分中所述,对抗体进行表征并针对期望的特征(包括亲和力、配体阻断活性、选择性、表位等)进行选择。如有必要,用期望的人恒定区、例如野生型或经修饰的IgG1或IgG4置换小鼠恒定区,以产生完全人抗IL2R γ 抗体。虽然所选择的恒定区可根据特定用途而变化,但高亲和力抗原结合和靶标特异性特征在于可变区。在某些情况下,完全人抗IL2R γ 抗体直接从抗原阳性的B细胞中分离。例如,参见US 6,596,541,Regeneron Pharmaceuticals, **VELOCIMMUNE®**。

[0271] 包含Fc变体的抗IL2R γ 抗体

[0272] 根据本发明的某些实施方案,提供了包含Fc结构域的抗IL2R γ 抗体,所述Fc结构域包含增强或减弱、例如与中性pH相比在酸性pH下增强或减弱抗体与FcRn受体结合的一个或更多个突变。例如,本发明包括在Fc结构域的C_H2或C_H3区域中包含突变的抗IL2R γ 抗体,其中一个或更多个突变提高在酸性环境中(例如,在pH范围为约5.5至约6.0的核内体中)Fc结构域对FcRn的亲和力。当施用于动物时,这样的突变可导致抗体的血清半衰期延长。

[0273] 这样的Fc修饰的非限制性实例包括,例如,以下位点处的修饰:

[0274] • 250(例如E或Q);

[0275] • 250和428(例如L或F);

[0276] • 252(例如L/Y/F/W或T);

[0277] • 254(例如S或T);和/或

[0278] • 256(例如S/R/Q/E/D或T);

[0279] 和/或以下位点处的修饰:

[0280] • 428和/或433(例如H/L/R/S/P/Q或K),和/或

[0281] • 434(例如H/F或Y);

[0282] 和/或以下位点处的修饰:

[0283] • 250和/或428;

[0284] 和/或以下位点处的修饰:

[0285] • 307或308(例如308F、V308F),和/或

[0286] • 434。

[0287] 在本发明的一个实施方案中,所述修饰包括:

[0288] • 428L(例如M428L)和434S(例如N434S)修饰;

[0289] • 428L、259I(例如V259I),和308F(例如V308F)修饰;

[0290] • 433K(例如H433K)和434(例如434Y)修饰;

[0291] • 252、254和256(例如252Y、254T和256E)修饰;

[0292] • 250Q和428L修饰(例如T250Q和M428L);和/或

[0293] • 307和/或308修饰(例如308F或308P)。

[0294] 例如,本发明包括包含Fc结构域的抗IL2R γ 抗体,所述Fc结构域包含选自以下的一个或更多个突变对或突变组::

[0295] • 250Q和248L(例如T250Q和M248L) ;

[0296] • 252Y、254T和256E(例如M252 γ 、S254T和T256E) ;

[0297] • 428L和434S(例如M428L和N434S) ;和

[0298] • 433K和434F(例如H433K和N434F) 。

[0299] 在本发明的一个实施方案中,重链恒定结构域是包含S228P和/或S108P突变的 γ 4。参见Angal et al.A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human(IgG4)antibody,Mol Immunol.1993 Jan;30(1):105-108.

[0300] 上述Fc结构域突变和本文所公开的抗体可变结构域内的其他突变的所有可能的组合预期在本发明的范围内。

[0301] 本发明的抗IL2R γ 抗体可包含具有降低的效应功能的经修饰的Fc结构域。如本文所用,“具有降低的效应功能的经修饰的Fc结构域”意指相对于野生型、天然存在的Fc结构域来说已被修饰、突变、截短等的免疫球蛋白的任何Fc部分,使得包含该经修饰的Fc的分子相对于包含野生型、天然存在形式的Fc部分的比较分子表现出选自细胞杀伤(例如,ADCC和/或CDC)、补体激活、吞噬作用和调理作用的至少一种效应的严重性或程度的降低。在某些实施方案中,“具有降低的效应功能的经修饰的Fc结构域”是与Fc受体(例如,Fc γ R)的结合降低或减弱的Fc结构域。

[0302] 在本发明的某些实施方案中,经修饰的Fc结构域是变体IgG1 Fc或变体IgG4 Fc,其包含铰链区中的替代。例如,用于本发明背景的经修饰的Fc可包含变体IgG1 Fc,其中IgG1 Fc铰链区的至少一个氨基酸被来自IgG2 Fc铰链区的相应氨基酸置换。或者,用于本发明背景的经修饰的Fc可包含变体IgG4 Fc,其中IgG4 Fc铰链区的至少一个氨基酸被来自IgG2Fc铰链区的相应氨基酸置换。美国专利申请公开No.2014/0243504中阐述了可在本发明背景下使用的非限制性、示例性的经修饰的Fc区域以及其中所述的经修饰的Fc区的任何功能等同变体,该专利申请的公开内容在此通过引用整体并入。

[0303] 可在本发明背景下使用的其他经修饰的Fc结构域和Fc修饰包括如US2014/0171623、US8697396、US2014/0134162、W02014/043361中所述的任何修饰,其公开内容在此通过引用整体并入。构建包含如本文所述的经修饰的Fc结构域的抗体或其他抗原结合融合蛋白的方法是本领域已知的。

[0304] 多特异性抗原结合蛋白

[0305] 本发明包括抗IL2R γ 抗原结合蛋白,例如抗体及其抗原结合片段,以及其使用方法和制备这样的抗原结合蛋白的方法。术语“抗-IL2R γ ”或“抗-IL2R伽马”抗原结合蛋白,例如抗体或抗原结合片段,包括多特异性(例如,双特异性或双互补位(biparatopic))分子,该分子包含至少一个与IL2R γ 特异性结合的第一抗原结合结构域(例如,来自H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2的抗原结合结构域)和至少一个第二抗原结合结构域,该第二抗原结合结构域与不同的抗原或不同于第一抗原结合结构域的表位的IL2R γ 中表位结合。在本发明的一个实施方案中,第一和第二表位重叠。在本发明的另一个实施方案中,第一和第

二表位不重叠。

[0306] 多特异性结合是指与两个或更多个不同的表位结合,所述表位可在同一抗原或不同抗原上。多特异性包括双特异性、三特异性和四特异性。

[0307] “H4H12857P”; “H4H12858P”; “H4H12859P”; “H4H12863P”; “H4H12874P”; “H4H12871P”; “H4H12884P”; “H4H12886P”; “H4H12889P”; “H4H12890P”; “H4H12899P”; “H4H12900P”; “H4H12908P”; “H4H12913P2”; “H4H12922P2”; “H4H12924P2”; “H4H12926P2”; “H4H12927P2”; “H4H12934P2”; “H4H13538P”; “H4H13541P”; “H4H13544P2”; 或 “H4H13545P2”

[0308] 包括多特异性分子,例如抗体或抗原结合片段,其各自包含

[0309] “H4H12857P”; “H4H12858P”; “H4H12859P”; “H4H12863P”; “H4H12874P”; “H4H12871P”; “H4H12884P”; “H4H12886P”; “H4H12889P”; “H4H12890P”; “H4H12899P”; “H4H12900P”; “H4H12908P”; “H4H12913P2”; “H4H12922P2”; “H4H12924P2”; “H4H12926P2”; “H4H12927P2”; “H4H12934P2”; “H4H13538P”; “H4H13541P”; “H4H13544P2”; 或 “H4H13545P2” 的HCDR和LCDR、 V_H 和 V_L 、或HC和LC,以及一个或更多个与不同表位结合的抗原结合结构域。

[0310] 在本发明的一个实施方案中,可包含在多特异性分子中的与IL2R γ 特异性结合的抗原结合结构域包含:

[0311] (1)

[0312] (i) 重链可变结构域(V_H)序列,其包含来自免疫球蛋白重链的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,所述免疫球蛋白重链包含选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、22、42、62、81、101、119、138、156、174、190、200、210、218、238、258、276、286、296、315、335、345和361(或其变体);以及

[0313] (ii) 轻链可变结构域(V_L)序列,其包含来自免疫球蛋白轻链的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,所述免疫球蛋白轻链包含选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、30、50、70、89、109、127、146、164、182、226、246、266、304、323、353和368(或其变体);

[0314] 或者,

[0315] (2)

[0316] (i) 重链可变结构域(V_H),其包含选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、22、42、62、81、101、119、138、156、174、190、200、210、218、238、258、276、286、296、315、335、345和361(或其变体);以及

[0317] (ii) 轻链可变结构域(V_L),其包含选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:10、30、50、70、89、109、127、146、164、182、226、246、266、304、323、353和368(或其变体);

[0318] 以及

[0319] 一个或更多个与不同表位结合的抗原结合结构域。

[0320] 在本发明的一个实施方案中,双特异性抗原结合片段包含对第一表位(例如,IL2R γ)具有结合特异性的第一scFv(例如,包含

[0321] H4H12857P; H4H12858P; H4H12859P; H4H12863P; H4H12874P; H4H12871P; H4H12884P; H4H12886P; H4H12889P; H4H12890P; H4H12899P; H4H12900P; H4H12908P; H4H12913P2; H4H12922P2; H4H12924P2; H4H12926P2; H4H12927P2; H4H12934P2; H4H13538P; H4H13541P; H4H13544P2; 或H4H13545P2的 V_H 和 V_L)和对第二、不同表位具有结合特异性的第二scFv。例如,在本发明的一个实施方案中,第一和第二scFv通过接头、例如肽接头(例如,

GS接头,例如(GGGGS)_n(SEQ ID NO:386),其中n是例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)连接。

[0322] 其他双特异性抗原结合片段包括双特异性IgG抗体的F(ab)₂,其包含

[0323] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2的重链和轻链CDR和另一与不同表位结合的抗体的重链和轻链CDR。

[0324] 免疫缀合物

[0325] 本发明涵盖与另一部分、例如治疗部分缀合的抗IL2R γ 抗原结合蛋白、例如抗体或抗原结合片段(“免疫缀合物”)。在本发明的一个实施方案中,抗IL2R γ 抗原结合蛋白(例如抗体或抗原结合片段)与本文所述的任意其他治疗剂缀合。如本文所用,术语“免疫缀合物”指以下抗原结合蛋白、例如抗体或抗原结合片段,其化学或生物地与另一抗原结合蛋白、药物、放射活性剂、报道子部分、酶、肽、蛋白质或治疗剂连接。

[0326] 施用和治疗

[0327] 本发明提供了用于治疗或预防对象中IL2R γ 介导的疾病或病症的方法,该方法包括向对象施用治疗有效剂量的抗IL2R γ 抗原结合蛋白

[0328] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或(H4H13545P2)。

[0329] “IL2R γ 介导的疾病或病症”指其症状由细胞因子IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15和IL-21中的一种或更多种和/或结合这样的细胞因子的受体的活性介导的任何疾病病症;例如,由这样的细胞因子和/或受体介导的自身免疫和/或炎症。例如,IL2R γ 介导的疾病或病症包括移植物抗宿主病(GvHD)、器官移植排斥(例如,皮肤移植(皮肤移植物)、b-胰岛细胞移植物、心脏移植、肺移植、肾移植和/或肝移植)、鸟枪弹样脉络膜视网膜病变、多发性硬化、葡萄膜炎、自身免疫性疾病(例如I型糖尿病、多发性硬化、类风湿关节炎、系统性红斑狼疮和重症肌无力)、再生障碍性贫血;特应性皮炎;哮喘;和肥大细胞激活障碍(例如肥大细胞激活综合征(MCAS)、系统性肥大细胞增多症(SM)或肥大细胞性白血病(MCL))。

[0330] 本发明还包括用于向对象、例如患有IL2R γ 介导的疾病或病症的对象施用与IL2R γ 特异性结合的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段),例如

[0331] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2的方法,该方法包括将抗原结合蛋白引入对象体内、例如通过注射来进行。

[0332] GvHD是同种异体移植之后可能发生的一种病症。例如,在GvHD中,捐献的骨髓或外周血干细胞可将接受者的机体视为外来的,并且捐献的细胞/骨髓攻击机体。GvHD可发生例如在造血细胞移植(hematopoietic cell transplantation,HCT;例如,在患有急性髓性白血病(acute myeloid leukemia,AML)或急性淋巴细胞白血病(acute lymphocytic

leukemia, ALL) 和/或骨髓增生异常综合征或骨髓增殖性肿瘤的对象中)、输血、胸腺移植之后或在患有胸腺瘤的患者中发生。GvHD的类型包括类固醇难治性GvHD、急性移植物抗宿主病(aGvHD)和慢性移植物抗宿主病(cGvHD)。同种异体移植接受者可能经历aGvHD或cGvHD或两者形式兼有,或两者都不经历。本发明包括用于在对象中治疗或预防GvHD(任何种类)的方法,其包括向对象施用治疗有效剂量的抗IL2R γ 抗原结合蛋白。

[0333] aGvHD的症状可包括皮疹或皮肤上发红区域(皮肤aGvHD的体征);皮肤和/或眼的黄色变色、和血检结果异常(肝aGvHD的体征);恶心、呕吐、腹泻或腹部绞痛(消化道或“肠”中aGvHD的体征);和/或眼的干燥/刺激增加(眼GvHD的体征)。

[0334] cGvHD的症状可包括疹、凸起或变色区域、皮肤增厚或变紧(皮肤cGvHD的体征);腹胀、皮肤和/或眼的黄色变色、和血检结果异常(肝cGvHD的体征);目涩或视力改变(眼cGvHD的体征);口干、口腔内白斑、疼痛或对辛辣食物敏感(口cGvHD—口部的体征);气短或胸部X线上看到改变(干咳肺cGvHD—肺部的体征);吞咽困难、吞咽疼痛或体重减轻(消化道或“肠”cGvHD的体征);疲劳、肌无力或疼痛(神经肌肉cGvHD—神经与肌肉的体征);和/或排尿需求增加(尿频)、排尿时烧灼或出血、阴道干燥/变紧或阴茎功能障碍(泌尿生殖系统、膀胱或性器官的cGvHD的体征)。

[0335] 器官移植排斥是指接受者的免疫系统对移植的器官的排斥。超急性排斥发生在移植之后几分钟内,急性排斥发生在移植之后一周至3个月内,慢性排斥经过多年才发生。被移植的器官包括例如皮肤、胰、肾、肝、心脏和肺的实体器官。本发明包括用于治疗或预防对象中器官移植(任何种类)的方法,该方法包括向对象施用治疗有效剂量的抗IL2R γ 抗原结合蛋白。

[0336] 鸟枪弹样脉络膜视网膜病变是后葡萄膜炎——一种葡萄膜炎症的一种罕见形式,葡萄膜是眼的为视网膜提供其大部分血液供应的部位。鸟枪弹样脉络膜视网膜病变可以由自身免疫引起的。鸟枪弹样脉络膜视网膜病变的症状可包括夜盲、色觉问题、对强光敏感、看到闪光、视觉扭曲、眼中疼痛以及深度知觉和/或周边视觉丧失。本发明包括用于在对象中治疗或预防鸟枪弹样脉络膜视网膜病变或葡萄膜炎的方法,该方法包括向对象施用治疗有效剂量的抗IL2R γ 抗原结合蛋白、例如通过眼内施用、例如玻璃体内注射来进行。

[0337] 本发明还提供了用于通过抑制IL2R γ 来治疗或预防任何自身免疫性疾病或病症的方法。阻断 γ c家族中一种或更多种细胞因子的信号传导可有益于由于对炎性细胞因子的分泌和自身抗体的产生的抑制剂效应而遭受自身免疫的患者。多发性硬化(MS)是一种脑和脊髓(中枢神经系统(central nervous system, CNS))的疾病,其中免疫系统攻击神经纤维髓鞘并且导致脑和机体其他部分之间的通信问题。最终,该疾病可导致神经本身恶化或变得永久受损。类风湿性关节炎(RA)是一种自身免疫性疾病,其中机体的免疫系统攻击关节。这产生了炎症,炎症导致衬于关节内侧的组织(滑膜)增厚,从而导致关节内和其周围肿胀和疼痛。银屑病是一种主要表现为影响皮肤的自身免疫性疾病。炎症也可以影响银屑病患者关节、血管系统和眼。1型糖尿病是一种自身免疫性疾病,其中免疫系统攻击胰腺中产生胰岛素的 β 细胞并破坏它们。然后胰腺产生很少的或不产生胰岛素。系统性红斑狼疮(SLE)是一种在机体免疫系统攻击其自身组织和器官时发生的系统性自身免疫性疾病。由狼疮引起的炎症可以影响许多不同的机体系统——包括关节、皮肤、肾、血细胞、脑、心脏和肺。重症肌无力是一种自身免疫性疾病,其中抗体阻断神经肌肉连接处乙酰胆碱的受体,这

阻止肌肉收缩。在大多数患有重症肌无力的个体中,这是由针对乙酰胆碱受体自身的抗体引起的。然而,针对其他蛋白质、例如MuSK (肌肉特异性激酶) 蛋白的抗体也会导致神经肌肉连接处的传递受损。本发明包括用于治疗或预防对象中自身免疫性疾病或病症(例如,多发性硬化或任意其他中枢神经系统炎症、类风湿性关节炎、银屑病、I型糖尿病、系统性红斑狼疮和/或重症肌无力)的方法,该方法包括向对象施用治疗有效剂量的抗IL2R γ 抗原结合蛋白。

[0338] 用于治疗或预防IL2R γ 介导的疾病或病症的抗IL2R γ 抗原结合蛋白、例如抗体或抗原结合片段的有效剂量或治疗有效剂量指足以缓解所治疗对象中该疾病或病症的一种或更多种体征和/或症状的抗原结合蛋白的量,无论是通过诱导这些体征和/或症状的消退或消除,还是通过抑制这些体征和/或症状的进展。在本发明的一个实施方案中,抗IL2R γ 抗原结合蛋白的有效剂量或治疗有效剂量为约0.05-50mg/kg体重。剂量的量可根据待施用对象的年龄和尺寸、目标疾病、条件、施用途径等而变化。在某些实施方案中,可在初始剂量之后施用第二或多个后续剂量的抗原结合蛋白,后续剂量的量可大致等于或小于或大于初始剂量,其中后续剂量相隔至少1天至3天、至少一周、至少2周、至少3周、至少4周、至少5周、至少6周、至少7周、至少8周、至少9周、至少10周、至少12周、或者至少14周。

[0339] 如本文所用,术语“对象”指哺乳动物(例如,大鼠、小鼠、猫、狗、牛、羊、马、山羊、兔),优选人,其例如需要预防和/或治疗IL2R γ 介导的疾病。对象可患有IL2R γ 介导的疾病或易于发生这样的疾病。

[0340] “预防”IL2R γ 介导的疾病或病症当其涉及本发明的抗IL2R γ 抗原结合蛋白的使用时是指在疾病或病症在对象体内表现之前向对象施用,以停止这样的表现发生。

[0341] 组合和药物制剂

[0342] 本发明提供了包含与一种或更多种成分联合的抗IL2R γ 抗原结合蛋白的组合物;以及其使用方法和制备这样的组合物的方法。包含抗IL2R γ 抗原结合蛋白和可药用载体或赋形剂的药物制剂是本发明的一部分。

[0343] 为了制备抗IL2R γ 抗原结合蛋白、例如抗体及其抗原结合片段(例如

[0344] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2)的药物制剂,将抗原结合蛋白与可药用载体或赋形剂混合。参见例如Remington's Pharmaceutical Sciences and U.S.Pharmacopeia: National Formulary,Mack Publishing Company,Easton,Pa. (1984)、Hardman,et al. (2001)Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics,McGraw-Hill,New York,N.Y.;Gennaro (2000)Remington:The Science and Practice of Pharmacy,Lippincott,Williams,and Wilkins,New York,N.Y.;Avis,et al. (eds.) (1993)Pharmaceutical Dosage Forms:Parenteral Medications,Marcel Dekker,NY;Lieberman,et al. (eds.) (1990)Pharmaceutical Dosage Forms:Tablets,Marcel Dekker,NY;Lieberman,et al. (eds.) (1990)Pharmaceutical Dosage Forms:Disperse Systems,Marcel Dekker,NY;Weiner and Kotkoskie (2000)Excipient Toxicity and Safety,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y..在本发明的一个实施方案中,药物制剂是无

菌的。这样的组合物是本发明的一部分。

[0345] 本发明的药物制剂包含抗IL2R γ 抗原结合蛋白和可药用载体,所述载体包括例如水、缓冲剂、防腐剂和/或洗涤剂。

[0346] 本发明的范围包括经干燥的,例如冻干的包含抗IL2R γ 抗原结合蛋白、例如抗体或其抗原结合片段(例如H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2)的组合物,或其包含可药用载体但基本上缺乏水的药物制剂。

[0347] 在本发明的另一个实施方案中,根据Physicians' Desk Reference 2003(Thomson Healthcare;第57版(Nov.1,2002))来将与本文公开的抗IL2R γ 抗原结合蛋白、例如抗体或其抗原结合片段(例如,

[0348] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2)联合施用给对象的另一治疗剂施用于对象。

[0349] 抗IL2R γ 抗原结合蛋白或其组合物的施用模式可以改变。施用途包括肠胃外、非肠胃外、经口、直肠、透粘膜、肠、肠胃外、肌内、皮下、皮内、髓内、鞘内、直接脑室内、静脉内、腹膜内、鼻内、眼内、吸入、吹入、表面、皮肤、眼内、玻璃体内、透皮或动脉内。

[0350] 本发明提供了用于向对象施用抗IL2R γ 抗原结合蛋白、例如抗体或其抗原结合片段(例如H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2)的方法,该方法包括将所述蛋白质或其药物制剂引入对象体内。例如,在本发明的一个实施方案中,该方法包括刺穿、例如用注射器的针来刺穿对象的机体并将抗原结合蛋白或其药物制剂注射到对象体内,例如注射到对象的眼中、静脉中、动脉中、肌肉组织中或皮下。

[0351] 本发明提供了容器(例如,塑料瓶或玻璃瓶、例如具有盖或色谱柱、空芯针或注射器筒),其包含任意抗IL2R γ 抗原结合蛋白、例如抗体或其抗原结合片段(例如,H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2),或其包含可药用载体的药物制剂。

[0352] 本发明包括组合,该组合包括与一种或更多种另外的治疗剂联合的本发明的抗IL2R γ 抗原结合蛋白、例如抗体或其抗原结合片段(例如H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2)。所述抗IL2R γ 抗原结合蛋白和所述另外的治疗剂可以是在单一组合物中或

在分开的组合物中。例如,在本发明的一个实施方案中,另外的治疗剂是免疫抑制药物。在本发明的一个实施方案中,另外的治疗剂是抗TNF α 抗体或结合蛋白(例如英夫利昔单抗、阿达木单抗、依那西普或戈利木单抗)、他克莫司、环孢素、肾上腺皮质激素、泼尼松龙、甲泼尼龙、抗胸腺细胞球蛋白、阿仑单抗、达利珠单抗、体外光泳、霉酚酸酯、西罗莫司、喷司他丁、间充质干细胞、伊诺莫单抗、地尼白介素、结合BCMA(B细胞成熟抗原)和CD3的多特异性(例如,双特异性)抗体或其抗原结合片段和/或巴利昔单抗。

[0353] 用于通过与另外的治疗剂联合施用抗IL2R γ 抗原结合蛋白(例如H4H12857P; H4H12858P; H4H12859P; H4H12863P; H4H12874P; H4H12871P; H4H12884P; H4H12886P; H4H12889P; H4H12890P; H4H12899P; H4H12900P; H4H12908P; H4H12913P2; H4H12922P2; H4H12924P2; H4H12926P2; H4H12927P2; H4H12934P2; H4H13538P; H4H13541P; H4H13544P2; 或 H4H13545P2)来在需要治疗或预防IL2R γ 介导的疾病的对象中进行所述治疗或预防的方法是本发明的一部分。

[0354] 术语“与……联合”表示组分:本发明的抗IL2R γ 抗原结合蛋白(例如抗体或其抗原结合片段)与另一药剂(例如氨甲蝶呤)可配制成单一组合物,例如用于同时递送,或单独地配制成两种或更多种组合物(例如,包含每种成分的药盒)。彼此联合施用的组分可在与施用另一组分时不同的时间施用于对象;例如,可以在给定的时间段内以间隔非同时地(例如,单独地或顺序地)给予每次施用。彼此联合施用的分开的组分也可以在同一施用时段期间顺序但基本上同时施用。此外,可通过相同或不同的途径将彼此联合施用的分开的组分施用给对象。

[0355] 本文的公开内容包含如下所示的实施方案:

[0356] 1. 与IL2R γ 或其抗原片段特异性结合的分离的抗原结合蛋白,其特征在于以下一个或更多个::

[0357] • 在25°C下以约 2.75×10^{-9} M至约 3.36×10^{-7} M、约 2.45×10^{-9} M至约 1.20×10^{-8} M、或小于约 1.20×10^{-8} M的 K_D 与人IL2R γ 胞外结构域结合;

[0358] • 在37°C下以约 6.42×10^{-9} M至约 3.53×10^{-7} M、约 1.86×10^{-11} M至约 3.00×10^{-8} M、小于约 3.00×10^{-8} M、或小于约 3.53×10^{-7} M的 K_D 与人IL2R γ 胞外结构域结合;

[0359] • 在25°C下以约 3.18×10^{-9} M至约 2.38×10^{-7} M的 K_D 与食蟹猴IL-2R γ 胞外结构域结合;

[0360] • 在37°C下以约 8.29×10^{-9} M至约 3.20×10^{-7} M的 K_D 与食蟹猴IL-2R γ 胞外结构域结合;或以小于约 3.20×10^{-7} M的 K_D 结合;

[0361] • 在25°C下以约 1.84×10^{-8} M、 3.76×10^{-9} M、 1.08×10^{-7} M、 2.17×10^{-8} M、 6.02×10^{-9} M或 7.93×10^{-8} M的 K_D 与小鼠IL2R γ 胞外结构域结合;或无可检测的结合;

[0362] • 在37°C下以约 5.59×10^{-8} M、 6.11×10^{-9} M、 3.87×10^{-7} M、 5.16×10^{-8} M、 8.70×10^{-9} M或 2.15×10^{-7} M的 K_D 与小鼠IL2R γ 胞外结构域结合;或无可检测的结合;

[0363] • 在25°C下以约 3.32×10^{-9} M至约 1.97×10^{-7} M的 K_D 与人IL2R γ 结构域1结合;或无可检测的结合;

[0364] • 在37°C下以约 4.13×10^{-9} M至约 2.25×10^{-7} M的 K_D 与人IL2R γ 结构域1结合;或无可检测的结合;

[0365] • 在25°C下以约 2.91×10^{-7} M至约 5.35×10^{-10} M的 K_D 与人IL2R γ 结构域2结合;或无

可检测的结合；

[0366] • 在37℃下以约 1.14×10^{-8} 或约 1.27×10^{-8} 的 K_D 与人IL2R γ 结构域2结合；或无可检测的结合；

[0367] • 与小鼠或大鼠IL2R γ 无可检测的结合；

[0368] • 阻断由IL-2、IL-4、IL7、IL-15和/或IL-21诱导的T细胞中STAT磷酸化；

[0369] • 阻断由IL-9诱导的肥大细胞中STAT磷酸化；

[0370] • 减少注射有人外周血单个核细胞(PBMC)的免疫缺陷小鼠的血液或血清中这样的细胞和/或人细胞因子的数目；

[0371] • 在GvHD小鼠模型中保护小鼠免于因GvHD导致的体重减轻和/或死亡；

[0372] • 阻断包含与细胞因子特异性受体亚基复合的IL2R γ 的杂合受体与IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15和/或IL-21结合的结合；

[0373] • 抑制由IL2、IL4、IL7、IL9、IL15和/或IL21诱导的通过JAK-STAT通路的IL2R γ 胞内信号传导；

[0374] • 特异性地与参考抗体或其抗原结合片段结合IL2R γ 上的相同表位,其中所述参考抗体或其抗原结合片段为H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12886P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934P2;H4H13538P;H4H13541P;H4H13544P2;或H4H13545P2;

[0375] • 与参考抗体或其抗原结合片段竞争与IL2R γ 多肽或其抗原片段结合,其中所述参考抗体或其抗原结合片段为

[0376] H4H12857P;H4H12858P;H4H12859P;H4H12863P;H4H12874P;H4H12871P;H4H12884P;H4H12888P;H4H12889P;H4H12890P;H4H12899P;H4H12900P;H4H12908P;H4H12913P2;H4H12922P2;H4H12924P2;H4H12926P2;H4H12927P2;H4H12934.P2;H4H13538P;H4H1354.1P;H4H13544P2;或H4H1354.5P2;和/或

[0377] • 减少血液或血清中的CD45+细胞、B细胞、T细胞和/或NK细胞。

[0378] 2.实施方案1所述的抗原结合蛋白,其与IL2R γ ,或其抗原片段特异性结合,所述抗原结合蛋白是抗体或其抗原结合片段。

[0379] 3.实施方案2所述的抗原结合蛋白,其与IL2R γ ,或其抗原片段特异性结合,所述抗原结合蛋白是抗体。

[0380] 4.与IL2R γ 或其抗原片段特异性结合的分离的抗原结合蛋白,其包含:

[0381] (a)免疫球蛋白重链或其可变区,其包含含有SEQ ID NO:2、18、22、38、42、58、62、77、81、97、101、115、119、134、138、152、156、170、174、186、190、198、200、208、210、216、218、234、238、254、258、272、276、284、286、294、296、311、315、331、335、343、345、357、361或376中所示氨基酸序列或其变体的免疫球蛋白重链或其可变区的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;和/或

[0382] (b)免疫球蛋白轻链或其可变区,其包含含有SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、79、89、99、109、117、127、136、146、154、164、172、182、188、226、236、246、256、266、274、304、313、323、333、353、359、368或378中所示氨基酸序列或其变体的免疫球蛋白轻链或其可变区的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0383] 5. 实施方案1至4中任一项所述的抗原结合蛋白,其与IL2R γ 或其抗原片段特异性结合,所述抗原结合蛋白包含:

[0384] (a) 免疫球蛋白重链或其可变区,其包含与SEQ ID NO:2、18、22、38、42、58、62、77、81、97、101、115、119、134、138、152、156、170、174、186、190、198、200、208、210、216、218、234、238、254、258、272、276、284、286、294、296、311、315、331、335、343、345、357、361或376中所示氨基酸序列具有至少90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;和/或

[0385] (b) 免疫球蛋白轻链或其可变区,其包含与SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、79、89、99、109、117、127、136、146、154、164、172、182、188、226、236、246、256、266、274、304、313、323、333、353、359、368或378中所示氨基酸序列具有至少90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0386] 6. 实施方案1至5中任一项所述的抗原结合蛋白,其与IL2R γ 或其抗原片段特异性结合,所述抗原结合蛋白包含:

[0387] (a) 免疫球蛋白重链或其可变区,其包含含有SEQ ID NO:2、18、22、38、42、58、62、77、81、97、101、115、119、134、138、152、156、170、174、186、190、198、200、208、210、216、218、234、238、254、258、272、276、284、286、294、296、311、315、331、335、343、345、357、361或376中所示氨基酸序列以及与SEQ ID NO:2、18、22、38、42、58、62、77、81、97、101、115、119、134、138、152、156、170、174、186、190、198、200、208、210、216、218、234、238、254、258、272、276、284、286、294、296、311、315、331、335、343、345、357、361或376中所示氨基酸序列具有至少90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的免疫球蛋白重链或其可变区的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;和/或

[0388] (b) 免疫球蛋白轻链或其可变区,其包含含有SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、79、89、99、109、117、127、136、146、154、164、172、182、188、226、236、246、256、266、274、304、313、323、333、353、359、368或378中所示氨基酸序列以及与SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、79、89、99、109、117、127、136、146、154、164、172、182、188、226、236、246、256、266、274、304、313、323、333、353、359、368或378中所示氨基酸序列具有至少90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的免疫球蛋白轻链或其可变区的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0389] 7. 实施方案1至6中任一项所述的抗原结合蛋白,其与IL2R γ 或其抗原片段特异性结合,所述抗原结合蛋白包含:

[0390] (i)

[0391] 含有SEQ ID NO:4中所示氨基酸序列的CDR-H1;

[0392] 含有SEQ ID NO:6中所示氨基酸序列的CDR-H2;和

[0393] 含有SEQ ID NO:8中所示氨基酸序列的CDR-H3;

[0394] 和/或

[0395] 含有SEQ ID NO:24中所示氨基酸序列的CDR-H1;

[0396] 含有SEQ ID NO:26中所示氨基酸序列的CDR-H2;和

[0397] 含有SEQ ID NO:28中所示氨基酸序列的CDR-H3;

[0398] 和/或

[0399] 含有SEQ ID NO:44中所示氨基酸序列的CDR-H1;

[0400] 含有SEQ ID NO:46中所示氨基酸序列的CDR-H2;和

- [0401] 含有SEQ ID NO:48中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0402] 和/或
- [0403] 含有SEQ ID NO:64中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0404] 含有SEQ ID NO:66中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0405] 含有SEQ ID NO:68中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0406] 和/或
- [0407] 含有SEQ ID NO:83中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0408] 含有SEQ ID NO:85中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0409] 含有SEQ ID NO:87中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0410] 和/或
- [0411] 含有SEQ ID NO:103中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0412] 含有SEQ ID NO:105中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0413] 含有SEQ ID NO:107中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0414] 和/或
- [0415] 含有SEQ ID NO:121中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0416] 含有SEQ ID NO:123中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0417] 含有SEQ ID NO:125中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0418] 和/或
- [0419] 含有SEQ ID NO:140中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0420] 含有SEQ ID NO:142中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0421] 含有SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0422] 和/或
- [0423] 含有SEQ ID NO:158中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0424] 含有SEQ ID NO:160中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0425] 含有SEQ ID NO:162中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0426] 和/或
- [0427] 含有SEQ ID NO:176中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0428] 含有SEQ ID NO:178中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0429] 含有SEQ ID NO:180中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0430] 和/或
- [0431] 含有SEQ ID NO:192中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0432] 含有SEQ ID NO:194中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0433] 含有SEQ ID NO:196中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0434] 和/或
- [0435] 含有SEQ ID NO:202中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0436] 含有SEQ ID NO:204中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0437] 含有SEQ ID NO:206中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0438] 和/或
- [0439] 含有SEQ ID NO:176中所示氨基酸序列的CDR-H1;

- [0440] 含有SEQ ID NO:212中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0441] 含有SEQ ID NO:214中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0442] 和/或
- [0443] 含有SEQ ID NO:220中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0444] 含有SEQ ID NO:222中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0445] 含有SEQ ID NO:224中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0446] 和/或
- [0447] 含有SEQ ID NO:240中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0448] 含有SEQ ID NO:242中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0449] 含有SEQ ID NO:244中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0450] 和/或
- [0451] 含有SEQ ID NO:260中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0452] 含有SEQ ID NO:262中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0453] 含有SEQ ID NO:264中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0454] 和/或
- [0455] 含有SEQ ID NO:278中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0456] 含有SEQ ID NO:280中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0457] 含有SEQ ID NO:282中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0458] 和/或
- [0459] 含有SEQ ID NO:288中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0460] 含有SEQ ID NO:290中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0461] 含有SEQ ID NO:292中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0462] 和/或
- [0463] 含有SEQ ID NO:298中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0464] 含有SEQ ID NO:300中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0465] 含有SEQ ID NO:302中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0466] 和/或
- [0467] 含有SEQ ID NO:317中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0468] 含有SEQ ID NO:319中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0469] 含有SEQ ID NO:321中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0470] 和/或
- [0471] 含有SEQ ID NO:337中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0472] 含有SEQ ID NO:339中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0473] 含有SEQ ID NO:341中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0474] 和/或
- [0475] 含有SEQ ID NO:347中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0476] 含有SEQ ID NO:349中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0477] 含有SEQ ID NO:351中所示氨基酸序列的CDR-H3;
- [0478] 和/或

- [0479] 含有SEQ ID NO:363中所示氨基酸序列的CDR-H1;
[0480] 含有SEQ ID NO:66中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
[0481] 含有SEQ ID NO:366中所示氨基酸序列的CDR-H3;
[0482] 和/或
[0483] (ii)
[0484] 含有SEQ ID NO:12中所示氨基酸序列的CDR-L1;
[0485] 含有SEQ ID NO:14中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
[0486] 含有SEQ ID NO:16中所示氨基酸序列的CDR-L3;
[0487] 和/或
[0488] 含有SEQ ID NO:32中所示氨基酸序列的CDR-L1;
[0489] 含有SEQ ID NO:34中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
[0490] 含有SEQ ID NO:36中所示氨基酸序列的CDR-L3;
[0491] 和/或
[0492] 含有SEQ ID NO:52中所示氨基酸序列的CDR-L1;
[0493] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
[0494] 含有SEQ ID NO:56中所示氨基酸序列的CDR-L3;
[0495] 和/或
[0496] 含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1;
[0497] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
[0498] 含有SEQ ID NO:75中所示氨基酸序列的CDR-L3;
[0499] 和/或
[0500] 含有SEQ ID NO:91中所示氨基酸序列的CDR-L1;
[0501] 含有SEQ ID NO:93中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
[0502] 含有SEQ ID NO:95中所示氨基酸序列的CDR-L3;
[0503] 和/或
[0504] 含有SEQ ID NO:111中所示氨基酸序列的CDR-L1;
[0505] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
[0506] 含有SEQ ID NO:113中所示氨基酸序列的CDR-L3;
[0507] 和/或
[0508] 含有SEQ ID NO:129中所示氨基酸序列的CDR-L1;
[0509] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
[0510] 含有SEQ ID NO:132中所示氨基酸序列的CDR-L3;
[0511] 和/或
[0512] 含有SEQ ID NO:148中所示氨基酸序列的CDR-L1;
[0513] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
[0514] 含有SEQ ID NO:150中所示氨基酸序列的CDR-L3;
[0515] 和/或
[0516] 含有SEQ ID NO:166中所示氨基酸序列的CDR-L1;
[0517] 含有SEQ ID NO:14中所示氨基酸序列的CDR-L2;和

- [0518] 含有SEQ ID NO:168中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0519] 和/或
- [0520] 含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0521] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0522] 含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0523] 和/或
- [0524] 含有SEQ ID NO:228中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0525] 含有SEQ ID NO:230中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0526] 含有SEQ ID NO:232中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0527] 和/或
- [0528] 含有SEQ ID NO:248中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0529] 含有SEQ ID NO:250中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0530] 含有SEQ ID NO:252中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0531] 和/或
- [0532] 含有SEQ ID NO:268中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0533] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0534] 含有SEQ ID NO:270中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0535] 和/或
- [0536] 含有SEQ ID NO:306中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0537] 含有SEQ ID NO:230中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0538] 含有SEQ ID NO:309中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0539] 和/或
- [0540] 含有SEQ ID NO:325中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0541] 含有SEQ ID NO:327中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0542] 含有SEQ ID NO:329中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0543] 和/或
- [0544] 含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0545] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0546] 含有SEQ ID NO:355中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0547] 和/或
- [0548] 含有SEQ ID NO:370中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0549] 含有SEQ ID NO:372中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0550] 含有SEQ ID NO:374中所示氨基酸序列的CDR-L3。
- [0551] 8.实施方案1至7中任一项所述的抗原结合蛋白,其与IL2R γ 或其抗原片段特异性结合,所述抗原结合蛋白包含选自以下的一个或更多个成员:
 - [0552] (i) 重链可变区,其包含:
 - [0553] 含有SEQ ID NO:4中所示氨基酸序列的CDR-H1;
 - [0554] 含有SEQ ID NO:6中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
 - [0555] 含有SEQ ID NO:8中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及

- [0556] 轻链可变区,其包含:
- [0557] 含有SEQ ID NO:12中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0558] 含有SEQ ID NO:14中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0559] 含有SEQ ID NO:16中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0560] (ii) 重链可变区,其包含:
- [0561] 含有SEQ ID NO:24中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0562] 含有SEQ ID NO:26中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0563] 含有SEQ ID NO:28中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0564] 轻链可变区,其包含:
- [0565] 含有SEQ ID NO:32中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0566] 含有SEQ ID NO:34中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0567] 含有SEQ ID NO:36中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0568] (iii) 重链可变区,其包含:
- [0569] 含有SEQ ID NO:44中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0570] 含有SEQ ID NO:46中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0571] 含有SEQ ID NO:48中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0572] 轻链可变区,其包含:
- [0573] 含有SEQ ID NO:52中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0574] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0575] 含有SEQ ID NO:56中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0576] (iv) 重链可变区,其包含:
- [0577] 含有SEQ ID NO:64中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0578] 含有SEQ ID NO:66中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0579] 含有SEQ ID NO:68中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0580] 轻链可变区,其包含:
- [0581] 含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0582] 含有SEQ ID NO:74中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0583] 含有SEQ ID NO:75中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0584] (v) 重链可变区,其包含:
- [0585] 含有SEQ ID NO:83中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0586] 含有SEQ ID NO:85中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0587] 含有SEQ ID NO:87中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0588] 轻链可变区,其包含:
- [0589] 含有SEQ ID NO:91中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0590] 含有SEQ ID NO:93中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0591] 含有SEQ ID NO:95中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0592] (vi) 重链可变区,其包含:
- [0593] 含有SEQ ID NO:103中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0594] 含有SEQ ID NO:105中所示氨基酸序列的CDR-H2;和

- [0595] 含有SEQ ID NO:107中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0596] 轻链可变区,其包含:
- [0597] 含有SEQ ID NO:111中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0598] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0599] 含有SEQ ID NO:113中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0600] (vi) 重链可变区,其包含:
- [0601] 含有SEQ ID NO:121中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0602] 含有SEQ ID NO:123中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0603] 含有SEQ ID NO:125中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0604] 轻链可变区,其包含:
- [0605] 含有SEQ ID NO:129中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0606] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0607] 含有SEQ ID NO:132中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0608] (vii) 重链可变区,其包含:
- [0609] 含有SEQ ID NO:140中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0610] 含有SEQ ID NO:142中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0611] 含有SEQ ID NO:144中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0612] 轻链可变区,其包含:
- [0613] 含有SEQ ID NO:148中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0614] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0615] 含有SEQ ID NO:150中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0616] (viii) 重链可变区,其包含:
- [0617] 含有SEQ ID NO:158中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0618] 含有SEQ ID NO:160中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0619] 含有SEQ ID NO:162中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0620] 轻链可变区,其包含:
- [0621] 含有SEQ ID NO:166中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0622] 含有SEQ ID NO:14中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0623] 含有SEQ ID NO:168中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0624] (ix) 重链可变区,其包含:
- [0625] 含有SEQ ID NO:176中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0626] 含有SEQ ID NO:178中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0627] 含有SEQ ID NO:180中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0628] 轻链可变区,其包含:
- [0629] 含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0630] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0631] 含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0632] (x) 重链可变区,其包含:
- [0633] 含有SEQ ID NO:192中所示氨基酸序列的CDR-H1;

- [0634] 含有SEQ ID NO:194中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0635] 含有SEQ ID NO:196中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0636] 轻链可变区,其包含:
- [0637] 含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0638] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0639] 含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0640] (xi) 重链可变区,其包含:
- [0641] 含有SEQ ID NO:202中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0642] 含有SEQ ID NO:204中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0643] 含有SEQ ID NO:206中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0644] 轻链可变区,其包含:
- [0645] 含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0646] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0647] 含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0648] (xii) 重链可变区,其包含:
- [0649] 含有SEQ ID NO:176中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0650] 含有SEQ ID NO:212中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0651] 含有SEQ ID NO:214中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0652] 轻链可变区,其包含:
- [0653] 含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0654] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0655] 含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0656] (xiii) 重链可变区,其包含:
- [0657] 含有SEQ ID NO:220中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0658] 含有SEQ ID NO:222中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0659] 含有SEQ ID NO:224中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0660] 轻链可变区,其包含:
- [0661] 含有SEQ ID NO:228中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0662] 含有SEQ ID NO:230中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0663] 含有SEQ ID NO:232中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0664] (xiv) 重链可变区,其包含:
- [0665] 含有SEQ ID NO:240中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0666] 含有SEQ ID NO:242中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0667] 含有SEQ ID NO:244中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0668] 轻链可变区,其包含:
- [0669] 含有SEQ ID NO:248中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0670] 含有SEQ ID NO:250中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0671] 含有SEQ ID NO:252中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0672] (xv) 重链可变区,其包含:

- [0673] 含有SEQ ID NO:260中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0674] 含有SEQ ID NO:262中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0675] 含有SEQ ID NO:264中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0676] 轻链可变区,其包含:
- [0677] 含有SEQ ID NO:268中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0678] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0679] 含有SEQ ID NO:270中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0680] (xvi) 重链可变区,其包含:
- [0681] 含有SEQ ID NO:278中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0682] 含有SEQ ID NO:280中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0683] 含有SEQ ID NO:282中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0684] 轻链可变区,其包含:
- [0685] 含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0686] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0687] 含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0688] (xvii) 重链可变区,其包含:
- [0689] 含有SEQ ID NO:288中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0690] 含有SEQ ID NO:290中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0691] 含有SEQ ID NO:292中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0692] 轻链可变区,其包含:
- [0693] 含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0694] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0695] 含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0696] (xviii) 重链可变区,其包含:
- [0697] 含有SEQ ID NO:298中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0698] 含有SEQ ID NO:300中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0699] 含有SEQ ID NO:302中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0700] 轻链可变区,其包含:
- [0701] 含有SEQ ID NO:306中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0702] 含有SEQ ID NO:230中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0703] 含有SEQ ID NO:309中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0704] (xix) 重链可变区,其包含:
- [0705] 含有SEQ ID NO:317中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0706] 含有SEQ ID NO:319中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0707] 含有SEQ ID NO:321中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0708] 轻链可变区,其包含:
- [0709] 含有SEQ ID NO:325中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0710] 含有SEQ ID NO:327中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0711] 含有SEQ ID NO:329中所示氨基酸序列的CDR-L3;

- [0712] (xx) 重链可变区,其包含:
- [0713] 含有SEQ ID NO:337中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0714] 含有SEQ ID NO:339中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0715] 含有SEQ ID NO:341中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0716] 轻链可变区,其包含:
- [0717] 含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0718] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0719] 含有SEQ ID NO:184中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0720] (xxi) 重链可变区,其包含:
- [0721] 含有SEQ ID NO:347中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0722] 含有SEQ ID NO:349中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0723] 含有SEQ ID NO:351中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0724] 轻链可变区,其包含:
- [0725] 含有SEQ ID NO:72中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0726] 含有SEQ ID NO:54中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0727] 含有SEQ ID NO:355中所示氨基酸序列的CDR-L3;
- [0728] (xxii) 重链可变区,其包含:
- [0729] 含有SEQ ID NO:363中所示氨基酸序列的CDR-H1;
- [0730] 含有SEQ ID NO:66中所示氨基酸序列的CDR-H2;和
- [0731] 含有SEQ ID NO:366中所示氨基酸序列的CDR-H3;以及
- [0732] 轻链可变区,其包含:
- [0733] 含有SEQ ID NO:370中所示氨基酸序列的CDR-L1;
- [0734] 含有SEQ ID NO:372中所示氨基酸序列的CDR-L2;和
- [0735] 含有SEQ ID NO:374中所示氨基酸序列的CDR-L3。
- [0736] 9. 与IL2R γ 或其抗原片段特异性结合的抗原结合蛋白,其为抗体或抗原结合片段,其包含:
- [0737] 含有SEQ ID NO:2中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:10中所示氨基酸序列的轻链可变区;
- [0738] 含有SEQ ID NO:22中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:30中所示氨基酸序列的轻链可变区;
- [0739] 含有SEQ ID NO:42中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:50中所示氨基酸序列的轻链可变区;
- [0740] 含有SEQ ID NO:62中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:70中所示氨基酸序列的轻链可变区;
- [0741] 含有SEQ ID NO:81中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:89中所示氨基酸序列的轻链可变区;
- [0742] 含有SEQ ID NO:101中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:109中所示氨基酸序列的轻链可变区;
- [0743] 含有SEQ ID NO:119中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:127中所

示氨基酸序列的轻链可变区；

[0744] 含有SEQ ID NO:138中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:146中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0745] 含有SEQ ID NO:156中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:164中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0746] 含有SEQ ID NO:174中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:182中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0747] 含有SEQ ID NO:190中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:182中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0748] 含有SEQ ID NO:200中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:182中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0749] 含有SEQ ID NO:210中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:182中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0750] 含有SEQ ID NO:218中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:226中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0751] 含有SEQ ID NO:238中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:246中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0752] 含有SEQ ID NO:258中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:266中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0753] 含有SEQ ID NO:276中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:182中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0754] 含有SEQ ID NO:286中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:182中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0755] 含有SEQ ID NO:296中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:304中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0756] 含有SEQ ID NO:315中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:323中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0757] 含有SEQ ID NO:335中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:182中所示氨基酸序列的轻链可变区；

[0758] 含有SEQ ID NO:345中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:353中所示氨基酸序列的轻链可变区；和/或

[0759] 含有SEQ ID NO:361中所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:368中所示氨基酸序列的轻链可变区。

[0760] 10. 与IL2R γ 或其抗原片段特异性结合的抗原结合蛋白,其为抗体或抗原结合片段,其包含:

[0761] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

- [0762] QVQLVQSGAEVKKFGASVPV3CRASGYTFTDYLHWVRQAPGHGLEWM3WINFNSGGTNYAQKFGQPVMTTRDTSISTVYMDL
SPLKSDDTAVYYCARADYSSSYYYGMDVWQGGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK
PKDTILMISRTPEVTCVVDV3QEDPEVQFNWYVDGVEVHNARTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLP
SSIEKTIISKARGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTV
DKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
(SEQ ID NO: 18);
- 及
- [0763] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:
- [0764] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSKNKNSLSWYQKPGQPPKLLIYWASTREFGVFDRFSGRSGTDFTLTIS
LQAEDEVAVYYCQYYTTPYTFGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPEAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKSTYSLSSSTLTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 20);
- [0765] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:
- QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCTASGFTFRSYDMYVWRQAPGKGLEWVSVITYDGNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQM
SSLRPEDTAVYYCAKRGLIWVGESFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVDV3QEDPEVQFNWYVDGVEVHNARTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSS
IEKTIISKARGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDK
SRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
(SEQ ID NO: 38)
- [0767] 以及
- [0768] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:
- [0769] DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSIINSLAWYQKPGKAPNLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDE
ATYYCQYKSYSWTFGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPEAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKSTYSLSSSTLTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 40);
- [0770] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:
- QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFRFNGMRWVQAPGKGLEWVAGILYDGSSKYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQM
NSLPAEDTAMYYCAKEEDTAMVPFDSWGPGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDV3QEDPEVQFNWYVDGVEVHNARTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSI
EKTISKARGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS
RWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
(SEQ ID NO: 58);
- 及
- [0772] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:
- [0773] DIQLTQSPSFSLASVGDRTITCWASQGISSYLAWYQKPGKAPTLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDF
ASYCQQLKSYPLTFGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPEAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKSTYSLSSSTLTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 60);
- [0774] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

[0775] QVQLQESGPGLVKPQSLTSLTCTVSGGSISSGGYYNSWIRQHPGKLEWIGFLYYSGKTYYNFSLKSRLTISVDTSKSKQFSLK
LRSVTAADTAVTYCARLGITNSAGWDFWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALITSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKP
KDTILMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLP
SIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV
DKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGK
(SEQ ID NO: 77);

[0776] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

[0777] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNNWYQQKPKAPNLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDL
ATYYCQQSYTTPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 79);

[0778] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

[0779] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFTAWMSWVPQSPGRGLEWVGRMKSCTDGGTTFYAAPVKGRTISRDDSKNTLYL
QMNSLKTEDTAVYYCTTGLVFAFYKYIGVDVWGGITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFEP
PKPKDTILMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLP
LPSSTIERTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGK
(SEQ ID NO: 97);

及

[0780] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

[0781] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDITNYLNNWYQQKPKAPNLLIYDASNLVTGVPSPFSGSGSGTDFTFTILSLQPEDL
ATYYCQQYDGLLTFPGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 99);

[0782] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

[0783] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMHWVQAPGKLEYVSSISSSGGSTYYEDSVKGRFTISRDNKNTLYLQM
GSLPAEDMAVYYCARSFYSGTYDFTDMWGGQTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK
PKDTILMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLP
SSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV
DKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGK
(SEQ ID NO: 115);

及

[0784] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

[0785] DIQMTQSPSSLSASIGDRVTITCRASQSISSYLNNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSASGSGTDFTLTISLQPEDE
ATYYCQQSYSTPFTFGQGIKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 117);

[0786] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

[0787] QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFSDFYMTWIRQAPGKGLEWISYISNSGSIYKYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM
NSLPAEDTAIYYCARFYGDRWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLAHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTIISK
AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFFVLDSDGGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN
VFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLGLK

(SEQ ID NO: 134);

[0788] 以及

[0789] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

[0790] DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCWASQGISFLAWYQQRPGKAPKLLIYAASITLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDF
ATYHCQQLNNYPWTFGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

(SEQ ID NO: 136);

[0791] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

[0792] QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEASGFTFNDFYMTWIRQAPGKGLEWIAIYISKSGDKMRYADSVKGRFTISRDNAKNSLSLQM
NSLPAEDTAVYYCARFYGDIWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLAHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTIISK
AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFFVLDSDGGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN
VFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLGLK

(SEQ ID NO: 152);

及

[0793] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

[0794] DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCWASQDISSFLVWYQQRPGKAPNLLIYAASALQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTITSSLPEDF
ASYICEQLNNYPWTFGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

(SEQ ID NO: 154);

[0795] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

[0796] EVQLVESGGRLVQPGGSLRLSCEASGFTFSNYGMTWVRQAPGKGLEWVSVISGSDNRKYYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQM
NSLPAEDTAVYYCAKLGYSFSSKDFYGMVWVGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLF
PKPKDTLMISRTPPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLAHQDWLNGKEYCKVSNKGL
LPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLGLK

(SEQ ID NO: 170);

及

[0797] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

[0798] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYNSNNRNLYLVWYQQRPGQSPKLLIYWRSTPESGVPDRFSGSGSGTDFTLTITSS
LQAEDEVAVYYCQYYNVPYTFGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPEAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTRQGLSPVTKSFNRGEC

(SEQ ID NO: 172);

[0799] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

- [0800] EVQLVESGGGVVFRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMSSWRQAPGKGLEWISSINRNGGSADYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQM
SSLRAEDTALYHCASGEFRFDYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSVTVFPSSSLGKTKYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQE
[0801] GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK (SEQ ID NO: 186) 以及 ,
- [0802] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISISLQPEDF
ATYYCQQSYSTPPITFQQGTLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCILNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
[0803] QDSKDSSTYLSSTLTLSKADYERKRVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 188); ;
- [0804] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:
EVQLVESGGGLVQPGSRSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNRGSTGYADSVKGRFTISPDNAKNSLYLQM
TSLRAEDTALYCAKGFYSMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSVTVFPSSSLGKTKYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
[0805] SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI 以及
SKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQE
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK (SEQ ID NO: 198);
- [0806] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISISLQPEDF
ATYYCQQSYSTPPITFQQGTLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCILNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
[0807] QDSKDSSTYLSSTLTLSKADYERKRVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 188); 以及
- [0808] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:
QVQLQSGFGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNLAAWNWIPLSPSRGLEWLGRTFFRSTWTFYDYSLSVKGRTINPDTSKNQFS
LHLNVTLPEDAAYVYCARTRPWSLDYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPCSPSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVFPSSSLGKTKYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
[0809] DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSS 以及
IEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSRLTVDK
SPWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK (SEQ ID NO: 208);
- [0810] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISISLQPEDF
ATYYCQQSYSTPPITFQQGTLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCILNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
[0811] QDSKDSSTYLSSTLTLSKADYERKRVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 188); ;
- [0812] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:
EVQLVESGGGVVFRPGGSLRLSCATSGFTFDDYGMSSVNRQVPGKGLEWVSSVNRNGGTTDYADSVKGRFTISRDNAKRSLFLQM
NSLRAEDTALYHCATGELFFDYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSVTVFPSSSLGKTKYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
[0813] SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQE
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK (SEQ ID NO: 216); ,

[0814] 以及

[0815] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDF
ATYYCQQSYSTPPITFGQSTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKSDSTYSLSSITLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0816]

(SEQ ID NO: 188);

;

[0817] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCRASGYFTTGHYMHVVRQAPGQGLEWMGWLYPHSGHTNYAKRFQGRVMTTRDTSITTAYMEI
IPLRSDDTAVYYCARRSGPSWYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTCTYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVSVLTVLAQDWLNGKEYCKVSNRGLPSSIE
KTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR
WQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0818]

(SEQ ID NO: 234);

以

及

[0819] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQKPKGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED
FAVYYCQQYSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKSDSTYSLSSITLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0820]

(SEQ ID NO: 236);

;

[0821] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

EVQLVESGGGLVQPGGSLGLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLWVSASVGGGGGTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVLLQM
NSLRAEDTAVYYCARGPTGGLDYWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTCTYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVSVLTVLAQDWLNGKEYCKVSNRGLPSSIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ
EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0822]

(SEQ ID NO: 254);

以及

[0823] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

DVMTQSPFLSLPVIFGQPASISCRSSQSLVDSGNTYLNWLQPPGQSPRPLIYEVSNPDGSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISR
EAEDVGIYYCMQTRWPPTFGGCTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
SVTEQDSKSDSTYSLSSITLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0824]

(SEQ ID NO: 256);

;

[0825] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

EVQLVESGGGVVPPGGSLRLSCAASGFTFDDYDMSWVRQPPGRLWVSGIDWFGGTRGYADSMKGRFTISRDNKNSLYLQM
NSLPVEDTAVYYCARGGAIVGAVTPFDYWGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTCTYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
KDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVSVLTVLAQDWLNGKEYCKVSNRGLPS
SIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTV
KSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0826]

(SEQ ID NO: 272);

以及

[0827] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

[0828]

DIQMTQSPSSLSASVGNRVTLSCRASQSIINTYLSWYQQRPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGAGTDFTLTITSSLPEDF
ATYYCQQSYSAFLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DQSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 274);

;

[0829]

含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIKKNYYWGWRQPPGKLEWIGSIYYSGTTYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLK
LSSVTAADTAVYHCAHGYSYGHGWEDFWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTITKTYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPCCPAPAEFLGGPSVFLFPPK
KDTILMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS
SIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0830]

以

(SEQ ID NO: 284);

及

[0831]

含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDF
ATYYCQQSYSTPPITFGQGTGLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0832]

(SEQ ID NO: 188);

;

[0833]

含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTLCTDISGDSVSSNIATNWIRQSPSFGLEWLGPTYYRSKWYKDYAVSVKSRITINPDTSKNQFS
LQVNSVTPEDTAVYYCARMTGFERYFEYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTITKTYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPCCPAPAEFLGGPSVFLFPPK
KDTILMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS

[0834]

SIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 294)

,

[0835]

以及

[0836]

含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDF
ATYYCQQSYSTPPITFGQGTGLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0837]

(SEQ ID NO: 188);

;

[0838]

含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

EVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDFDMSWVRQGPGRGLEWVSGINWRGSSSTGYADSVKGRFTISPDNAKNSLYLQM
SSLRAEDTALYHCVRGGITVGAITPLDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTITKTYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPCCPAPAEFLGGPSVFLFPPK
KDTILMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS
SIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0839]

以

(SEQ ID NO: 311);

及

[0840]

含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

[0841] DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASRTISSYLSWYQQKSGKVPNLLIFGASSLQSGVPSRFSAASGSGTDFTLIISLQPEDF
ATYYCQQSYSSPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSSTYLSSTLTLSKADYERKVKYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 313);

[0842] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCTASGFIIRNYAMNWVRQAPGKGLEWLSGILGSNDNTYYVDSVKGRFTISPDNSRNTLYLQM
NSLRAEDSAVYYCAKGDAGGFDYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTITCTNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQ
EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
(SEQ ID NO: 331);

及

[0844] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

DVMTQSPFLSLPVILGQPASISCRSSQSLVSSDNTYINWFQRPQQSPRRLLIYKVSNRDSGVPLDRFSGSGSGTDFTLKISR
EAEDVGAAYCMQGSYWPPTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
[0845] SVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYERKVKYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 333);

[0846] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

QVQLVESGGGVVVKPGGSLRLSCAASGFTFSNSGIHWVRQAPGKGLEWVALISYAGSNKYADSVKGFPTISRDNKNTLSLQM
NSLRAEDTAVYYCAKEVWTGTYSDFDMWGRGIMVTVSSEASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTITCTNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
[0847] DTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSS
IEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSRLTVDK
SRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
(SEQ ID NO: 343);

及

[0848] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDF
ATYYCQQSYSTPPIITFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
[0849] QDSKDSSTYLSSTLTLSKADYERKVKYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 188);

[0850] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFISSYEMHWVRQAPGKLEWISYISSGTTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLHM
NSLRAEDTAVYYCTRARITGTFDVFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTITCTNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
[0851] DTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSS
IEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSRLTVDK
SRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
(SEQ ID NO: 357);

[0852] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDF
ATYYCQQNYNIPYTFGQGTKEIKPTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
[0853] DSKDSSTYLSSTLTLSKADYERKVKYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 359);

和/或

[0854] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白重链:

```
QVQLQESGPGGLVKPSQTLISLTCTVSGGSIISGGYYWSWIRQYPGQGLEWIGYIYYSGKITYNPSFTSPITISVDTSKQPSLK  
MSSVTAADTAVYYCARAGFTSSNGWEDFWGQGTLVTVSSASTKGPVFFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG  
ALTSGVHTFFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK  
[0855] KDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS 以及  
SIEKTIISKARGQPPEPQVYTLPPSQSEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVD  
KSRWQEGNVFSCSVMEALRNHYTQKSLSLGLK  
(SEQ ID NO: 376);
```

[0856] 含有以下氨基酸序列的免疫球蛋白轻链:

```
DIQMTQSPSSLSASVGDPRVTITCRASQNIKSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYSASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF  
PTTYCQQITYSSPWTFGPGTKVEIKRTVAAPSVFIEFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ  
[0857] DSKUSTYLSSTLTLSKADYERKRVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC  
(SEQ ID NO: 378)。
```

[0858] 11. 实施方案1至10中任一项所述的抗原结合蛋白,其为多特异性的。

[0859] 12. 复合物,其包含结合至IL2R γ 多肽或其抗原片段的实施方案1至11中任一项所述的抗原结合蛋白。

[0860] 13. 用于制备实施方案1至11中任一项所述的抗原结合蛋白或其免疫球蛋白链的方法,其包括:

[0861] (a) 将编码所述抗原结合蛋白的免疫球蛋白链的一种或更多种多核苷酸引入宿主细胞中;

[0862] (b) 在有利于所述多核苷酸表达的条件下培养所述宿主细胞;以及

[0863] (c) 任选地,从所述宿主细胞和/或其中培养了所述宿主细胞的培养基中分离所述抗原结合蛋白或免疫球蛋白链。

[0864] 14. 实施方案13所述的方法,其中所述宿主细胞是中国仓鼠卵巢细胞。

[0865] 15. 抗原结合蛋白或免疫球蛋白链,其是实施方案13至14中任一项所述的方法的产物。

[0866] 16. 多肽,其包含:

[0867] (a) 含有SEQ ID NO: 2、18、22、38、42、58、62、77、81、97、101、115、119、134、138、152、156、170、174、186、190、198、200、208、210、216、218、234、238、254、258、272、276、284、286、294、296、311、315、331、335、343、345、357、361和/或376中所示氨基酸序列或其变体的免疫球蛋白重链或其可变区的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;和/或

[0868] (b) 含有SEQ ID NO: 10、20、30、40、50、60、70、79、89、99、109、117、127、136、146、154、164、172、182、188、226、236、246、256、266、274、304、313、323、333、353、359、368和/或378中所示氨基酸序列或其变体的免疫球蛋白轻链或其可变区的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3;

[0869] 或者,

[0870] (c) 选自SEQ ID NO: 1至385的成员中所示的氨基酸序列或其变体。

[0871] 17. 多核苷酸,其编码一种或更多种实施方案16所述的多肽。

[0872] 18. 载体,其包含实施方案17所述的多核苷酸。

[0873] 19. 宿主细胞,其包含实施方案1至11和15至18中任一项所述的抗原结合蛋白、免疫球蛋白链、多肽、多核苷酸和/或载体。

[0874] 20. 组合物或药盒,其包含任选地与另外的治疗剂联合的一种或更多种实施方案1至11和15中任一项所述的抗原结合蛋白。

[0875] 21. 药物制剂,其包含实施方案1至11和15中任一项所述的抗原结合蛋白和可药用载体或赋形剂,以及任选地,另外的治疗剂。

[0876] 22. 实施方案20至21中任一项所述的组合物或药盒或制剂,其与另外的治疗剂联合,所述另外的治疗剂为抗炎剂。

[0877] 23. 实施方案20至21中任一项所述的组合物或药盒或制剂,其与另外的治疗剂联合,所述另外的治疗剂是选自以下的一个或多个成员:抗TNF α 抗体或结合蛋白、英夫利昔单抗、阿达木单抗、依那西普、戈利木单抗、肾上腺皮质激素、泼尼松龙、甲泼尼龙、抗胸腺细胞球蛋白、阿仑单抗、达利珠单抗、他克莫司、环孢素、体外光泳、霉酚酸酯、西罗莫司、喷司他丁、间充质干细胞、伊诺莫单抗、地尼白介素和巴利昔单抗。

[0878] 24. 容器或注射装置,其包含实施方案1至11、15、20、21、22或23中任一项所述的抗原结合蛋白或组合物或制剂。

[0879] 25. 用于向对象施用实施方案1至11、15、20、21、22或23中任一项所述的抗原结合蛋白、组合物或制剂的方法,其包括将所述抗原结合蛋白、组合物或制剂注射到所述对象体内。

[0880] 26. 用于在有此需要的对象中治疗或预防IL2R γ 介导的疾病或病症的方法,其包括施用有效量的实施方案1至11、15、20、21、22或23中任一项所述的抗原结合蛋白或组合物或制剂。

[0881] 27. 实施方案26所述的方法,其中所述IL2R γ 介导的疾病或病症是移植物抗宿主病、器官移植排斥、b-胰岛细胞移植排斥、皮肤移植排斥、心脏移植排斥、肺移植排斥、肾移植排斥、肝移植排斥、鸟枪弹样脉络膜视网膜病变、多发性硬化、葡萄膜炎、自身免疫性疾病、I型糖尿病、多发性硬化、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、重症肌无力、再生障碍性贫血、特应性皮炎、哮喘、肥大细胞激活障碍、肥大细胞激活综合征(MCAS)、系统性肥大细胞增多症(SM)和/或肥大细胞性白血病(MCL)。

[0882] 28. 实施方案25至27中任一项所述的方法,其中所述抗原结合蛋白通过皮下、静脉内或肌内注射至所述对象体内来施用。

[0883] 29. 用于在对象中进行以下的方法:

[0884] -阻断由细胞因子诱导的外周血单个核细胞中STAT磷酸化;

[0885] -阻断由细胞因子诱导的肥大细胞中STAT磷酸化;

[0886] -降低干扰素- γ 、肿瘤坏死因子- α 、IL-6、IL-8、IL-10和/或mKC/GRO的血清水平;

[0887] -阻断由ILR γ 家族中的细胞因子诱导的JAK-STAT介导的胞内信号传导;和/或

[0888] -降低CD45⁺免疫细胞、NK细胞、T细胞和/或B细胞的血清水平;所述方法包括向所述对象施用有效量的实施方案1至11、15、20、21、22或23中任一项所述的抗原结合蛋白或组合物或制剂。

[0889] 30. 实施方案29所述的方法,其中所述对象患有IL2R γ 介导的疾病或病症。

[0890] 31. 实施方案30所述的方法,其中所述IL2R γ 介导的疾病或病症是移植物抗宿主病、器官移植排斥、b-胰岛细胞移植排斥、皮肤移植排斥、心脏移植排斥、肺移植排斥、肾移植排斥、肝移植排斥、鸟枪弹样脉络膜视网膜病变、多发性硬化、葡萄膜炎、自身免疫性疾

病、I型糖尿病、多发性硬化、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、重症肌无力、再生障碍性贫血、特应性皮炎、哮喘、肥大细胞激活障碍、肥大细胞激活综合征 (MCAS)、系统性肥大细胞增多症 (SM) 和/或肥大细胞性白血病 (MCL)。

[0891] 实施例

[0892] 提出以下实施例是为了向本领域普通技术人员提供如何制造和使用本发明的方法和组合物的完整公开内容和描述,并且不旨在限制发明人视为其发明的范围。

[0893] 实施例1:抗IL2R γ 抗体的鉴定和分离

[0894] 用包含IL2R γ 胞外序列 (胞外 (ecto) 结构域) 的IL2R γ 蛋白免疫原免疫接种 VELOCIMMUNE®小鼠 (即,包含编码人免疫球蛋白重链和K轻链可变区的DNA的改造小鼠) 获得抗IL2R γ 抗体。

[0895] 具体而言,免疫原人IL2R γ 胞外-mmh包含:

[0896] • 氨基酸 (1-240): 人IL2R γ 胞外 (NP_000197.1的L23-A262), 和

[0897] • 氨基酸 (241-268): Myc-Myc-六聚组氨酸标签 (加有下划线);

[0898] 其包含氨基酸序列:

```
LNTTILTPNGNEDTTADFFLTMTPTDSLVSSTLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLTLHYWYKNSDNDKV  
QKCSHYLFSEEITSGCQLQKKEIHLYQTFVVQLQDPREPRRQATQMLKLQNLVIPWAPENLT LHKLSSESQLELNWNN  
RFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVDYRHKFSLPSVDGQKRYTFRVRSRFPNPLCGSAQHWSEWSHP IHWGSNTSKE  
NPFLFALEAEQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHH
```

(SEQ ID NO: 379)

[0900] *表达带有mROR信号序列

[0901] 用IL2R γ 特异性免疫测定监测抗体免疫应答。分离并纯化了完全人抗IL2R γ 抗体。

[0902] 表1-1. 抗IL2R γ VH、VK和CDR氨基酸序列简述*

[0903]

名称	VH			CDR1			CDR2			CDR3			VK			CDR1			CDR2			CDR3			HC			LC		
	DNA	PEP		DNA	PEP		DNA	PEP		DNA	PEP		DNA	PEP		DNA	PEP		DNA	PEP		DNA	PEP		DNA	PEP		DNA	PEP	
H4H12859P	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20										
H4H12863P	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40										
H4H12874P	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60										
H4H12884P	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79											
H4H12886P	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99										
H4H12890P	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117												
H4H12899P	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136											
H4H12900P	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154												
H4H12908P	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172												
H4H12913P2	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188														
H4H12924P2	189	190	191	192	193	194	195	196	181	182	71	72	73	54	183	184	197	198	187	188										
H4H12926P2	199	200	201	202	203	204	205	206	181	182	71	72	73	54	183	184	207	208	187	188										
H4H12927P2	209	210	211	212	213	214	215	216	181	182	71	72	73	54	183	184	215	216	187	188										
H4H12934P2	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236										
H4H13538P	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256										
H4H13541P	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274												
H4H13544P2	275	276	277	278	279	280	281	282	181	182	71	72	73	54	183	184	283	284	187	188										
H4H13545P2	285	286	287	288	289	290	291	292	181	182	71	72	73	54	183	184	293	294	187	188										
REGN9432 (H4H12857P)	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313											
REGN9433 (H4H12858P)	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333										
REGN7256 (H4H12922P2)	334	335	336	337	338	339	340	341	181	182	71	72	73	54	183	184	342	343	187	188										
REGN7257 (H4H12889P)	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359														
REGN9434 (H4H12871P)	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377	378											

[0904] *编号是指与所指示序列相对应的SEQ ID NO。

[0905] 表1-2. 抗IL2R γ 重链和轻链氨基酸序列简述*

[0906]

名称	<u>HC</u>		<u>LC</u>	
	DNA	PEP	DNA	PEP
H4H12859P	17	18	19	20
H4H12863P	37	38	39	40
H4H12874P	57	58	59	60
H4H12884P	76	77	78	79
H4H12886P	96	97	98	99
H4H12890P	114	115	116	117
H4H12899P	133	134	135	136
H4H12900P	151	152	153	154
H4H12908P	169	170	171	172
H4H12913P2	185	186	187	188
H4H12924P2	197	198	187	188
H4H12926P2	207	208	187	188
H4H12927P2	215	216	187	188
H4H12934P2	233	234	235	236
H4H13538P	253	254	255	256
H4H13541P	271	272	273	274
H4H13544P2	283	284	187	188
H4H13545P2	293	294	187	188
REGN9432 (H4H12857P)	310	311	312	313
REGN9433 (H4H12858P)	330	331	332	333
REGN7256 (H4H12922P2)	342	343	187	188
REGN7257 (H4H12889P)	356	357	358	359
REGN9434 (H4H12871P)	375	376	377	378

[0907] *编号是指与所指示序列相对应的SEQ ID NO。

[0908] 抗IL2R γ 抗体免疫球蛋白重链和轻链的氨基酸序列在下面所示 (CDR加有下划线; 可变区以粗体表示)。[0909] H4H12857P[0910] 重链 (SEQ ID NO:311)

EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDFDMSWVRQGP**KGLEWVSGINWHGSSTGYADSVKGRFTISRDN****AKNSLY**
LQMSSSLRAEDTALYHCVRG**GTIVGATTPLDYWGQ****GLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT**

[0911] VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVL
DSDGSSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0912] 轻链 (SEQ ID NO:313)

- [0913] DIQMTQSPSSLSASVGDRTMTCSRSTISSYLSWYQQKSGKVPNLLIFGASSLQSGVPSRFSASGSGTDFTLISSSLQPEDFATYYCQQSYSSPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0914] H4H12858P
- [0915] 重链 (SEQ ID NO:331)
EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCTASGFIFRNYAMNWVRQAPGKGLEWLSGILGSNDNTYYVDSVKGRFTISRDNRSNTLYLQMNSLRAEDSAVYYCAKGDAGGFDYWGGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0916] 轻链 (SEQ ID NO:333)
DVVMTQSPSLSLPVLGQPASISCRSSQSLVSSDGNLYLNWFQQRPQGQSPRRLIYKVSNRDSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGGYYCMQGSYWPPTFGGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0917] H4H12859P
- [0920] 重链 (SEQ ID NO:18)
QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCKASGYTFDYDIHWVRQAPGHGLEWMMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTVYMDLSRLRSDDTAVYYCARADYSSSYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0921] 轻链 (SEQ ID NO:20)
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSKNKNYLSWYQQKPGQPPLLIYWASTREFGVDPDRFSGRSGTDFTLTIDISSLAEDVAVYYCQQYYTTPYTFGGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0922] H4H12863P
- [0925] 重链 (SEQ ID NO:38)
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFRSYDMYWVRQAPGKGLEWVSVITYDGNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLF LQMSSLRPEDTAVYYCAKRLIHWGESFDYWGGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0926] 轻链 (SEQ ID NO:40)
DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSINSLAWYQQKPGKAPNLLIYKASSLESQGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDDFATYYCQQYKSYSWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0927] H4H12874P
- [0930] 重链 (SEQ ID NO:58)

- [0931] QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGFNFRNFGMHWVRQAPGKGLEWVAGILYDGSSKYYADSVKDRFTISRDN SKNTLF
LQMNSLRAEDTAMYYCAKEEDTAMVPFDSWGPGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD S
DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0932] 轻链 (SEQ ID NO:60)
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCWASQGISSYLAWYQQKPGKAP TLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQ P
[0933] EDFASYICQQLKSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0934] H4H12871P
- [0935] 重链 (SEQ ID NO:376)
QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSITSGGYYSWIRQYPQGLEWIGIYYSGKTYNPSFTSRITISVDTSKKQF
SLKMSSVTAADTAVYYCARAGFTSSNGWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGP
SVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0936] 轻链 (SEQ ID NO:378)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQNIRSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ P
[0938] EDFPTYICQQYSSPWTFGPGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0939] H4H12884P
- [0940] 重链 (SEQ ID NO:77)
QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYSWIRQHPGKGLEWIGFIYYSGKTYNPSLKSLTISVDTSKSQF
SLKLRSVTAADTAVYYCARLGYTNSAGWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGP
SVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0941] 轻链 (SEQ ID NO:79)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ P
[0943] EDLATYICQQSYTPTFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0944] H4H12886P
- [0945] 重链 (SEQ ID NO:97)
EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFTSTAWMSWVRQSPGRGLEWVGRMKSKTDGGTTFYAAPVKGRFTISRDDS KNT
LYLQMNSLKTEDTAVYYCTTGLVPAFYKYGVDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFL
GGPSVFLLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0946] 轻链 (SEQ ID NO:99)

- [0948] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITTCQASQDITNYLNWYQQKPKAPNLLIYDASNLVTGPVSRFSGSGSGTDFTLTISLQP
EDIATYYCQQYDSLLTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0949] H4H12889P
- [0950] 重链 (SEQ ID NO:357)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFISSYEMHWVRQAPGKGLEWISYISSSGTTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLY
LHMNSLRAEDTAVYYCTRARITGTFDVFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT
SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS
VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0951] 轻链 (SEQ ID NO:359)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIFAASNLQSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQP
EDFATYYCQNYNIPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0952] H4H12890P
- [0953] 重链 (SEQ ID NO:115)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNMYAMHWVRQAPGKGLVYVSSISSSGGSTYYEDSVKGRFTISRDNKNTLY
LQMGSLRAEDMAVYYCARSYFGSGTYDTFDMWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGG
PSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0954] 轻链 (SEQ ID NO:117)
DIQMTQSPSSLSASIGDRTITCRASQISRYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSSAGSGTDFTLTISLQP
EDFATYYCQSYSTPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0955] H4H12899P
- [0956] 重链 (SEQ ID NO:134)
QVQLVESGGDLVKPGGSLRLSCATSGFTFSDFYMTWIRQAPGKGLEWISYISNSGSIVKYADSVKGRFTISRDNAKNSLY
LQMNSLRAEDTAIYYCARFYGDRWGQGTITLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK
PKDITLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
GLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0957] 轻链 (SEQ ID NO:136)
DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCWASQGISFLAWYQQKPKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP
EDFATYHCQQLNNYPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0958] H4H12900P
- [0959] 重链 (SEQ ID NO:152)

- [0966] QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCEASGFTFNDFYMTWIRQAPGKGLEWIAIYISKSGDKMRYADSVKGRFSTSRDNAKNSLS
LQMNSLRAEDTAVYYCARFYGDIWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
- [0967] GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL
YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0968] DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCWASQDISSFLVWYQQKPKGKAPNLLIYAASALQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS
EDFASYCEQLNNYPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0969] H4H12908P
- [0970] 重链 (SEQ ID NO:170)
EVQLVESGGRLVQPGGSLRLSCEASGFTFSNYGMTWVRQAPGKGLEWVSVISGSDNRKYAESVKGRFTISRDN
LQMNSLRAEDTAVYYCAKLGYSRSSKDFYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP
PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0971] 轻链 (SEQ ID NO:172)
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYNSNNRNLVWYQQKPKGQSPKLLIYWASTRESGV
ISSLQAEDVAVYYCQYYNVPYTFGQGTLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNAL
QSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0972] H4H12913P2
- [0973] 重链 (SEQ ID NO:186)
EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQAPGKGLEWISSINRNGGSADYADSVKGRFTISR
LQMSSLRAEDTALYHCASGEFRFDYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0974] 轻链 (SEQ ID NO:188)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF
EDFATYYCQSYSTPPITFGQGTREIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0975] H4H12922P2
- [0976] 重链 (SEQ ID NO:343)
QVQLVESGGGVKPGGSLRLSCAASGFTFSNIGHWVRQAPGKGLEWVALISYAGSNKYADSVKGRFTISR
LQMNSLRAEDTAVYYCAKEVWTGTYSDFDMWGRGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD
SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0977]
- [0978]
- [0979]
- [0980]
- [0981]

- [0982] 轻链 (SEQ ID NO:188)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP
- [0983] EDFATYYCQQSYSTPPITFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0984] H4H12924P2
- [0985] 重链 (SEQ ID NO:198)
EVQLVESGGGLVQPGSRSLRSCAASGFTLEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNRGSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLY
LQMTSLRAEDTALYYCAKGFYSMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPKNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKGFLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0986]
- [0987] 轻链 (SEQ ID NO:188)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP
- [0988] EDFATYYCQQSYSTPPITFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0989] H4H12926P2
- [0990] 重链 (SEQ ID NO:208)
QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSNIAAWNIRLSPSRGLEWLGRTFFRSTWFYDYSLSVKGRITINPDTSKN
QFSLHLNSVTPEDAAVYYCARTGRRWSDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV
SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPKNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0991]
- [0992] 轻链 (SEQ ID NO:188)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP
- [0993] EDFATYYCQQSYSTPPITFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0994] H4H12927P2
- [0995] 重链 (SEQ ID NO:216)
EVQLVESGGGVVRPQGSLRLSCATSGFTFDDYGMWVRQVPGKGLEWVSSVNRNGGTTDYADSVKGRFTISRDNAKRSIF
LQMNSLRAEDTALYHCATGELFFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPKNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKGFLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
- [0996]
- [0997] 轻链 (SEQ ID NO:188)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP
- [0998] EDFATYYCQQSYSTPPITFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0999] H4H12934P2
- [1000] 重链 (SEQ ID NO:234)

- [1001] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGHYMHVWRQAPGQGLEWMGWIYPHSGHTNYAKRFQGRVTMTRDTSITTAY
MELIRLRSDDTAVYYCARRSGRSWYFDLWGRGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVF
LFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNGKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD
GSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK
- [1002] 轻链 (SEQ ID NO:236)
EIVLTQSPGTLSTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE
- [1003] PEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [1004] H4H13538P
- [1005] 重链 (SEQ ID NO:254)
EVQLVESGGGLVQPGGSLGLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAVSGGGGGTYADSVKGRFTISRDNKNTVL
LQMNSLR AEDTAVYYCARGRTGGLDYWGPGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLF
PPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKV
SNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK
- [1006] 轻链 (SEQ ID NO:256)
DVVMTQSPSLPFIQGPASISCRSSQSLVDSGNTYLNWLQQRPGQSPRRLIYEVSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLT
SRVEAEDVGIYYCMQGRWPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
- [1007] 重链 (SEQ ID NO:272)
EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFIQDDYDMSVVRQPPGRGLEWVSGIDWFGGTRGYADSMKGRFTISRDNKNSLY
LQMNSLRVEDTAVYYCARGGAIVGAVTPFDYWGGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGP
SVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK
- [1008] 轻链 (SEQ ID NO:274)
DIQMTQSPSSLSASVGNRVTLSCRASQISINTYLSWYQQRPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGAGTDFTLTISLQ
EDFATYYCQSYSAPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [1009] H4H13541P
- [1010] 重链 (SEQ ID NO:284)
QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSISIKNYYGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGTTYNP SLKSRVTISVDTSKNQF
SLKLSVTAADTAVYHCARHGYSYGHGWFDWPGGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGP
SVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK
- [1011] 轻链 (SEQ ID NO:188)

[1018] DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQSYSTPPITFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[1019] H4H13545P2

[1020] 重链 (SEQ ID NO:294)

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCDISGDSVSSNIATWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYKDYAVSVKSRITINPDTSKN
QFSLQVNSVTPEDTAVYYCARMTGPRYYFEYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVTLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV
LDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK

[1022] 轻链 (SEQ ID NO:188)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQSYSTPPITFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[1024] *这些实施例中提及的抗体是具有含有实施例1中具体所示的氨基酸序列的免疫球蛋白链的抗体。

[1025] 实施例2:表面等离子体共振结合测定

[1026] 使用基于实时表面等离子体共振的Biacore 4000生物传感器平台,确定了IL-2R γ 试剂与经纯化的抗IL2R γ 单克隆抗体结合的解离速率常数 (k_d)。所有结合研究均在25°C和37°C下使用两种运行缓冲液进行:(i) 1.9mM NaH₂PO₄, 8.1mM Na₂HPO₄, 2.7mM KCl, 137mM NaCl, 0.03% NaN₃, 0.05% v/v表面活性剂吐温-20, pH7.4 (PBS-T-pH7.4) 和(ii) 8.8mM NaH₂PO₄, 1.2mM Na₂HPO₄, 2.7mM KCl, 137mM NaCl, 0.03% NaN₃, 0.05% v/v表面活性剂吐温-20, pH6.0 (PBS-T-pH6.0)。使用与单克隆小鼠抗人Fc抗体 (GE, 目录#BR-1008-39) 偶联的胺衍生的CM5 Biacore传感器表面捕获表达带有人IgG4 Fc的抗IL2R γ 单克隆抗体。所有的IL2R γ 试剂都表达带有C-末端myc-myc-六聚组氨酸标签 (随后用-MMH后缀表示)。不同浓度的表达带有C-末端myc-myc-六聚组氨酸标签的人IL2R γ 胞外结构域 (hIL-2Rg-MMH; SEQ ID NO:379) 或表达带有C-末端myc-myc-六聚组氨酸标签的食蟹猴IL2R γ 胞外结构域 (mfIL-2Rg-MMH; SEQ ID NO:380) 在PBS-T-pH7.4运行缓冲液 (100nM-11.11nM, 3倍连续稀释) 中制备,并以30 μ L/分钟的流速进样4分钟。结合的IL-2Rg-MMH的解离在PBS-T-pH7.4或PBS-T-pH6.0运行缓冲液中进行6分钟。

[1027] 通过使用Scrubber 2.0c曲线拟合软件将实时结合传感图拟合成1:1结合模型,确定了在两种运行缓冲液中的解离速率常数 (k_d)。在PBS-T-pH7.4和PBS-T-pH6.0中在25°C和37°C下抗血幼素 (Hemojuvelin) mAb与hIL-2RG-MMH和mfIL-2RG-MMH结合的解离速率值示于表2-1至表2-8中。

[1028] 表2-1.在PBS-T-pH7.4中在25°C下抗IL-2R γ mAb与hIL-2Rg-MMH结合的解离速率常数

[1029]

捕获的mAb	mAb捕获水平 (RU)	100nM Ag 结合 (RU)	kd (1/s)	t _{1/2} (分钟)
H4H13538P	167 ± 0.3	82	1.39E-04	83
H4H13541P	195 ± 0.7	72	1.65E-04	70
H4H13544P2	273 ± 0.2	57	6.02E-04	19
H4H13545P2	319 ± 0.1	15	2.13E-02	0.5
H4H12924P2	331 ± 0.4	124	4.79E-04	24
H4H12926P2	413 ± 0.6	29	1.33E-02	0.9
H4H12913P2	218 ± 0.6	56	3.03E-04	38
H4H12922P2	408 ± 1.1	164	2.04E-04	57
H4H12857P	266 ± 0.4	79	1.70E-04	68
H4H12858P	272 ± 1.8	111	1.84E-04	63
H4H12859P	344 ± 0.7	54	1.11E-03	10
H4H12863P	422 ± 0.8	151	1.72E-04	67
H4H12871P	413 ± 0.6	121	5.96E-04	19
H4H12874P	275 ± 0.3	72	1.62E-04	71
H4H12884P	530 ± 1.4	161	6.40E-04	18
H4H12886P	303 ± 0.7	113	1.55E-04	75
H4H12889P	360 ± 0.7	118	1.38E-04	84
H4H12890P	336 ± 0.6	72	1.92E-04	60
H4H12899P	327 ± 2.2	118	1.74E-04	66
H4H12900P	348 ± 1.9	130	1.75E-04	66
H4H12908P	402 ± 1.5	31	1.77E-04	65
H4H12927P2	271 ± 0.5	36	1.63E-03	7
H4H12934P2	602 ± 1.4	87	3.41E-03	3.4

[1030]

常数

表2-2.在PBS-T-pH6.0中在25℃下抗IL-2Rg mAb与hIL-2Rg-MMH结合的解离速率

[1031]

捕获的mAb	mAb捕获水平 (RU)	100nM Ag 结合 (RU)	kd (1/s)	t _{1/2} (分钟)
H4H13538P	203 ± 1.5	93	4.17E-04	28
H4H13541P	192 ± 0.3	66	4.69E-04	25
H4H13544P2	259 ± 0.3	45	1.75E-03	7
H4H13545P2	278 ± 0.9	11	3.34E-02	0.3
H4H12924P2	381 ± 1	136	3.67E-03	3
H4H12926P2	410 ± 0.6	24	2.97E-02	0.4
H4H12913P2	203 ± 0.4	43	1.05E-03	11
H4H12922P2	349 ± 0.7	126	1.18E-03	10
H4H12857P	318 ± 1.2	88	5.49E-04	21
H4H12858P	265 ± 0.7	103	3.77E-04	31
H4H12859P	324 ± 1	39	5.03E-03	2.3
H4H12863P	366 ± 0.8	116	7.62E-04	15
H4H12871P	454 ± 1.2	129	1.36E-03	8
H4H12874P	272 ± 0.7	66	7.24E-04	16
H4H12884P	516 ± 1	135	1.99E-03	6
H4H12886P	250 ± 1.3	84	6.34E-04	18
H4H12889P	409 ± 1.2	130	4.37E-04	26
H4H12890P	330 ± 0.5	64	6.36E-04	18
H4H12899P	301 ± 2.2	96	5.68E-04	20
H4H12900P	280 ± 1	101	6.92E-04	17
H4H12908P	450 ± 5.3	34	5.05E-04	23
H4H12927P2	267 ± 0.5	30	4.99E-03	2.3
H4H12934P2	601 ± 1.6	71	1.32E-02	0.9

[1032] 表2-3. 在PBS-T-pH7.4中在37℃下抗IL-2R γ mAb与hIL-2R γ -MMH结合的解离速率常数

[1033]

捕获的mAb	mAb捕获水平 (RU)	100 nM Ag结合 (RU)	kd (1/s)	t _{1/2} (分钟)
H4H13538P	255 ± 1.2	110	5.99E-04	19
H4H13541P	281 ± 1.8	98	5.32E-04	22
H4H13544P2	371 ± 1.5	54	4.10E-03	2.8
H4H13545P2	408 ± 2.2	7	IC	IC
H4H12924P2	463 ± 1.2	133	3.02E-03	4
H4H12926P2	533 ± 0.5	14	3.08E-02	0.4
H4H12913P2	318 ± 0.2	82	1.16E-03	10
H4H12922P2	552 ± 0.7	184	7.73E-04	15
H4H12857P	388 ± 2.1	117	6.21E-04	19
H4H12858P	378 ± 3.4	141	6.61E-04	17
H4H12859P	476 ± 2	55	4.54E-03	2.5
H4H12863P	544 ± 2	176	6.72E-04	17
H4H12871P	536 ± 0.8	139	1.11E-03	10
H4H12874P	381 ± 0.3	99	5.72E-04	20
H4H12884P	691 ± 1.9	171	1.51E-03	8
H4H12886P	420 ± 0.6	146	5.19E-04	22
H4H12889P	502 ± 1.6	147	6.36E-04	18
H4H12890P	450 ± 1.4	90	6.61E-04	17
H4H12899P	460 ± 3.5	158	6.68E-04	17
H4H12900P	475 ± 3.3	162	7.11E-04	16
H4H12908P	530 ± 3.3	54	6.71E-04	17
H4H12927P2	377 ± 1.8	23	9.82E-03	1.2
H4H12934P2	763 ± 1.3	63	1.61E-02	0.7

[1034] 表2-4.在PBS-T-pH6.0中在37℃下抗IL-2R γ mAb与hIL-2R γ -MMH结合的解离速率常数

[1035]

捕获的mAb	mAb捕获水平 (RU)	100 nM Ag结合 (RU)	kd (1/s)	t _{1/2} (分钟)
H4H13538P	284 ± 1.4	120	1.48E-03	8
H4H13541P	284 ± 0.7	95	1.58E-03	7
H4H13544P2	335 ± 1.6	39	8.27E-03	1.4
H4H13545P2	364 ± 1	6	IC	IC
H4H12924P2	506 ± 1.2	133	1.43E-02	0.8
H4H12926P2	549 ± 0.4	14	3.12E-02	0.4
H4H12913P2	277 ± 1.1	59	3.83E-03	3
H4H12922P2	486 ± 3.2	147	3.74E-03	3
H4H12857P	429 ± 1.7	123	2.07E-03	6
H4H12858P	372 ± 2.6	136	1.72E-03	7
H4H12859P	424 ± 1.4	36	1.32E-02	0.9
H4H12863P	485 ± 0.5	145	2.26E-03	5
H4H12871P	566 ± 1.1	141	2.46E-03	5
H4H12874P	381 ± 0.4	91	2.61E-03	4
H4H12884P	634 ± 3.1	136	3.79E-03	3.0
H4H12886P	350 ± 1.6	115	2.16E-03	5
H4H12889P	538 ± 1.2	153	1.88E-03	6
H4H12890P	447 ± 1	82	2.86E-03	4
H4H12899P	400 ± 2.9	125	2.19E-03	5
H4H12900P	393 ± 1.8	133	2.71E-03	4
H4H12908P	566 ± 4.2	52	1.63E-03	7
H4H12927P2	374 ± 0.9	19	2.39E-02	0.5
H4H12934P2	712 ± 3.7	51	2.97E-02	0.4

[1036] 表2-5. 在PBS-T-pH7.4中在25℃下抗IL-2R γ mAb与mf IL-2Rg-MMH结合的解离速率常数

[1037]

捕获的mAb	mAb捕获水平 (RU)	100 nM Ag结合 (RU)	kd (1/s)	t _{1/2} (分钟)
H4H13538P	167 ± 0.7	94	1.79E-04	65
H4H13541P	194 ± 0.3	80	2.22E-04	52
H4H13544P2	272 ± 0.8	67	5.84E-04	20
H4H13545P2	317 ± 0.5	30	7.51E-03	1.5
H4H12924P2	330 ± 0.2	130	3.85E-04	30
H4H12926P2	411 ± 1.4	43	7.82E-03	1.5
H4H12913P2	218 ± 0.2	57	2.72E-04	43
H4H12922P2	406 ± 0.1	168	1.91E-04	61
H4H12857P	264 ± 0.8	80	1.81E-04	64
H4H12858P	269 ± 0.7	111	1.71E-04	68
H4H12859P	342 ± 0.6	51	8.71E-04	13
H4H12863P	418 ± 1	155	1.94E-04	59
H4H12871P	411 ± 0.9	125	4.81E-04	24
H4H12874P	276 ± 0.6	73	1.64E-04	70
H4H12884P	528 ± 0.6	160	5.16E-04	22
H4H12886P	302 ± 0.4	113	1.75E-04	66
H4H12889P	358 ± 0.5	123	1.57E-04	74
H4H12890P	335 ± 1.2	71	2.03E-04	57
H4H12899P	325 ± 0.8	117	1.67E-04	69
H4H12900P	345 ± 0.4	129	1.75E-04	66
H4H12908P	399 ± 1.2	37	2.08E-04	56
H4H12927P2	270 ± 0.3	38	9.84E-04	12
H4H12934P2	601 ± 0.7	89	3.05E-03	3.8

[1038] 表2-6. 在PBS-T-pH6.0中在25℃下抗IL-2R γ mAb与mf IL-2Rg-MMH结合的解离速率常数

[1039]

捕获的mAb	mAb捕获水平 (RU)	100 nM Ag结合 (RU)	kd (1/s)	t _{1/2} (分钟)
H4H13538P	202 ± 0.2	96	4.39E-04	26
H4H13541P	192 ± 0.5	69	4.97E-04	23
H4H13544P2	258 ± 0.5	52	1.70E-03	7
H4H13545P2	278 ± 1.1	20	9.35E-03	1.2
H4H12924P2	381 ± 0.7	131	3.05E-03	4
H4H12926P2	410 ± 1.1	32	1.85E-02	0.6
H4H12913P2	203 ± 0.8	44	9.92E-04	12
H4H12922P2	349 ± 0.7	129	1.11E-03	10
H4H12857P	317 ± 1	80	5.01E-04	23
H4H12858P	263 ± 0.6	100	3.85E-04	30
H4H12859P	323 ± 0.5	37	4.13E-03	2.8
H4H12863P	365 ± 1.9	118	7.61E-04	15
H4H12871P	455 ± 3.6	128	1.16E-03	10
H4H12874P	272 ± 0.6	64	7.29E-04	16
H4H12884P	513 ± 2.1	133	1.59E-03	7
H4H12886P	251 ± 0.2	83	6.82E-04	17
H4H12889P	408 ± 1.6	126	4.34E-04	27
H4H12890P	329 ± 0.5	60	6.68E-04	17
H4H12899P	300 ± 0.7	95	7.03E-04	16
H4H12900P	280 ± 0.4	100	6.71E-04	17
H4H12908P	445 ± 0.8	34	4.88E-04	24
H4H12927P2	267 ± 0.1	30	3.20E-03	3.6
H4H12934P2	597 ± 2.5	64	1.01E-02	1.1

[1040]

常数

表2-7. 在PBS-T-pH7.4中在37℃下抗IL-2R γ mAb与mf IL-2Rg-MMH结合的解离速率

[1041]

捕获的mAb	mAb捕获水平 (RU)	100 nM Ag结合 (RU)	kd (1/s)	t _{1/2} (分钟)
H4H13538P	254 ± 0.3	119	5.10E-04	23
H4H13541P	280 ± 0.6	100	5.12E-04	23
H4H13544P2	368 ± 1.1	58	3.62E-03	3.2
H4H13545P2	406 ± 1	17	IC	IC
H4H12924P2	461 ± 0.5	133	2.67E-03	4
H4H12926P2	529 ± 2.1	25	2.79E-02	0.4
H4H12913P2	318 ± 0.6	76	8.94E-04	13
H4H12922P2	548 ± 1.1	185	6.93E-04	17
H4H12857P	386 ± 0.7	111	5.53E-04	21
H4H12858P	374 ± 0.9	143	5.42E-04	21
H4H12859P	473 ± 1	47	3.97E-03	2.9
H4H12863P	542 ± 1	177	6.06E-04	19
H4H12871P	532 ± 1	143	1.02E-03	11
H4H12874P	381 ± 0.5	92	5.41E-04	21
H4H12884P	690 ± 1.3	171	1.47E-03	8
H4H12886P	418 ± 0.6	145	4.71E-04	25
H4H12889P	500 ± 1.3	147	5.78E-04	20
H4H12890P	448 ± 0.1	82	6.24E-04	19
H4H12899P	458 ± 0.8	160	5.52E-04	21
H4H12900P	474 ± 1.1	166	6.23E-04	19
H4H12908P	527 ± 0.8	55	5.14E-04	22
H4H12927P2	374 ± 0.4	27	5.96E-03	1.9
H4H12934P2	762 ± 1.1	70	1.24E-02	0.9

[1042] 表2-8. 在PBS-T-pH6.0中在37℃下抗IL-2R γ mAb与mf IL-2Rg-MMH结合的解离速率常数

[1043]

捕获的mAb	mAb捕获水平 (RU)	100 nM Ag结合 (RU)	kd (1/s)	t _{1/2} (分钟)
H4H13538P	282 ± 0.4	122	1.39E-03	8
H4H13541P	282 ± 1.4	91	1.50E-03	8
H4H13544P2	334 ± 1.1	43	7.81E-03	1.5
H4H13545P2	364 ± 0.2	13	IC	IC
H4H12924P2	506 ± 0.7	126	1.24E-02	0.9
H4H12926P2	548 ± 1.5	20	3.03E-02	0.4
H4H12913P2	277 ± 1.1	54	2.96E-03	4
H4H12922P2	483 ± 1	146	3.44E-03	3.4
H4H12857P	426 ± 0.6	109	1.78E-03	6
H4H12858P	369 ± 2.2	134	1.55E-03	7
H4H12859P	423 ± 1	31	1.23E-02	0.9
H4H12863P	482 ± 0.8	141	2.08E-03	6
H4H12871P	565 ± 1.4	141	2.27E-03	5
H4H12874P	380 ± 0.6	82	2.55E-03	5
H4H12884P	633 ± 2.4	135	3.35E-03	3.4
H4H12886P	349 ± 0.7	109	1.97E-03	6
H4H12889P	537 ± 0.7	148	1.83E-03	6
H4H12890P	447 ± 0.5	71	2.76E-03	4
H4H12899P	398 ± 1.4	122	2.11E-03	5
H4H12900P	390 ± 1.5	130	2.77E-03	4
H4H12908P	561 ± 0.3	52	1.31E-03	9
H4H12927P2	372 ± 0.9	22	1.29E-02	0.9
H4H12934P2	711 ± 3.2	50	2.65E-02	0.4

[1044] 实施例3:结合动力学

[1045] 使用配备有实时表面等离子体共振生物传感器的Biacore 4000仪器确定IL-2R γ 与经纯化的抗IL-2R γ 单克隆抗体结合的平衡解离常数 (K_D 值)。所有结合研究均在10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA和0.05% v/v表面活性剂吐温-20、pH 7.4 (HBS-ET) 运行缓冲液中于25℃和37℃下进行。Biacore传感器表面首先通过与单克隆小鼠抗人Fc抗体 (GE, # BR-1008-39) 偶联的胺进行衍生化,以捕获抗IL2R γ 单克隆抗体。

[1046] 对以下IL-2R γ 试剂进行结合研究:

[1047] • 表达带有C末端myc-myc-六聚组氨酸标签的人IL2R γ 胞外结构域 (hIL-2Rg-MMH; SEQ ID NO:379), 其包含:

- [1048] 氨基酸(1-240):人IL2R γ 胞外(NP_000197.1的L23-A262)
- [1049] 氨基酸(241-268):Myc-Myc-六聚组氨酸标签(加有下划线)
- [1050] 其包含氨基酸序列:
- LNTTILTPNGNEDTTADFFLTMTDLSLSVSTLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLTLLHYWYKNSDND
KVQKCSHYLFSEEITSGCQLQKKEIHLYQTFVVQLQDPPREPRRQATQMLKLQNLVIPWAPENLTLLHKLSESQLEL
- [1051] NWNRRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVDIRHKFSLPSVDGQKRYTFRVRSRFPNLCGSAQHWSEWSHP IHWG
SNTSKENPFLFALEAEQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHH
- [1052] *表达带有mROR信号序列
- [1053] • 表达带有C末端myc-myc-六聚组氨酸标签的食蟹猴IL2R γ 胞外结构域(mfIL-2Rg-MMH;SEQ ID NO:380),其包含:
- [1054] 氨基酸(1-240):食蟹猴IL2R γ 胞外(XP_005593949.1的L23-A262)
- [1055] 氨基酸(241-268):Myc-Myc-六聚组氨酸标签(加有下划线)
- [1056] 其包含氨基酸序列:
- LNTTILTPNGNEDATTDFFLTSMPTDLSLSVSTLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLTLLHYWYKNSDND
KVQKCSHYLFSEEITSGCQLQKKEIHLYQTFVVQLQDPPREPRRQATQMLKLQNLVIPWAPENLTLLRKLSESQLEL
- [1057] NWNRRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVDIRHKFSLPSVDGQKRYTFRVRSRFPNLCGSAQHWSEWSHP IHWG
SNSSKENPFLFALEAEQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHH
- [1058] • 表达带有C末端小鼠IgG2a Fc标签的人IL2R γ 胞外结构域(hIL-2Rg-mFc;SEQ ID NO:381),其包含:
- [1059] 氨基酸(1-240):人IL2R γ 胞外(NP_000197.1的L23-A262)
- [1060] 氨基酸(241-473):小鼠IgG2a Fc标签(加有下划线)
- [1061] 其包含氨基酸序列:
- LNTTILTPNGNEDTTADFFLTMTDLSLSVSTLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLTLLHYWYKNSDND
KVQKCSHYLFSEEITSGCQLQKKEIHLYQTFVVQLQDPPREPRRQATQMLKLQNLVIPWAPENLTLLHKLSESQLEL
NWNRRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVDIRHKFSLPSVDGQKRYTFRVRSRFPNLCGSAQHWSEWSHP IHWG
SNTSKENPFLFALEAEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMIISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQ
ISWFVNNVEVHTAQQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVY
VLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTPEVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYS
CSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
- [1062] *表达带有mROR信号序列
- [1063] • 表达带有C末端myc-myc-六聚组氨酸标签的人IL-2R γ 胞外结构域的D1结构域(hIL-2Rg_D1-MMH;SEQ ID NO:382),其包含:
- [1064] 氨基酸(1-131):人IL2R γ 结构域1(NP_000197.1的L23-I153)
- [1065] 氨基酸(132-159):Myc-Myc-六聚组氨酸标签(加有下划线)
- [1066] 其包含氨基酸序列:
- LNTTILTPNGNEDTTADFFLTMTDLSLSVSTLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLTLLHYWYKNSDNDKVQKCSHY
LFSEEITSGCQLQKKEIHLYQTFVVQLQDPPREPRRQATQMLKLQNLVIEQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHH
- [1067] *表达带有mROR信号序列
- [1068] • 表达带有C末端myc-myc-六聚组氨酸标签的人IL2R γ 胞外结构域的D2结构域(hIL-2Rg_D2-MMH;SEQ ID NO:383),其包含:
- [1069] 氨基酸(1-88):人IL2R γ 结构域2(NP_000197.1的P154-S241)

- [1072] 氨基酸 (89-116) :Myc-Myc-六聚组氨酸标签 (加有下划线)
- [1073] 其包含氨基酸序列:
 PWAPENLTLLHKLSESQLELNWNNRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVDYRHKFSLPSVDGQKRYTFRVRSRFN
- [1074] PLCGSAQHWSEWSEQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHH
- [1075] *表达带有mROR信号序列
- [1076] • 表达带有C末端myc-myc-六聚组氨酸标签的小鼠IL2R γ 胞外结构域 (mIL-2Rg-MMH; SEQ ID NO:384), 其包含:
- [1077] 氨基酸 (1-241) :小鼠IL2Rg胞外 (NP_038591.1的W23-A263)
- [1078] 氨基酸 (242-269) :Myc-Myc-六聚组氨酸标签 (加有下划线)
- [1079] 其包含氨基酸序列:
 WSSKVLMSANEDIKADLILTSTAPEHLISAPTLPLPEVQCFFVFNIEYMNCTWNSSSEPQATNLTLYRYKVSDNN
 TFQECSHYLFKEITSGCQIQKEDIQLYQTFVVQLQDPQKQRRRAVQKLNQLNLVIPRAPENLTLSNLSESQLEL
- [1080] RWKSRIKERCLQYLQYRSNRDRSWTELIVNHEPRFSLPSVDELKRYTFRVRSRYNPICGSSQQWSKWSQPVHW
GSHTVEENPSLFALEAEQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHH
- [1081] • 表达带有C末端myc-myc-六聚组氨酸标签的大鼠IL2R γ 胞外结构域 (rIL-2Rg-MMH; SEQ ID NO:385), 其包含:
- [1082] 氨基酸 (1-240) :大鼠IL2Rg胞外 (NP_543165.1的W23-A262)
- [1083] 氨基酸 (241-268) :Myc-Myc-六聚组氨酸标签 (加有下划线)
- [1084] 其包含氨基酸序列:
 WSSKVLMSNGEDTKSDLLLTSMDLKHLSPVTLPLPEVQCFFVFNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLTMYRYKGSDDN
 TFQECSHYLFKEITSGCQIQKEDIQLYQTFVVQLQDPQKQRRRAEQKLNQLNLVIPWAPENLTLYNLSESQVEL
- [1085] RWKSRYIERCLQYLQYRSNRDRSWTEQIVDHEPRFSLPSVDEQKLYTFRVRSRFNPICGSTQQWSKWSQPIHWG
SHTAENPSLFALEAEQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHH
- [1086] *表达带有mROR信号序列
- [1087] 在HBS-ET运行缓冲液 (100nM-6.25nM; 4倍连续稀释或50nM-3.125nM; 对于hIL-2Rg-mFc 4倍连续稀释) 中制备不同浓度的IL2R γ 试剂, 并以30 μ L/分钟的流速在抗人Fc捕获的抗IL2R γ 单克隆抗体表面上进样4分钟。在HBS-ET运行缓冲液中监测单克隆抗体结合的IL2R γ 试剂的解离8至10分钟。动力学缔合 (k_a) 和解离 (k_d) 速率常数通过使用Scrubber 2.0c曲线拟合软件将实时传感图拟合到1:1结合模型来确定。结合解离平衡常数 (K_D) 和解离半衰期 ($t_{1/2}$) 如下由动力学速率常数计算:
- [1088] $K_D (M) = \frac{k_d}{k_a}$ 和 $t_{1/2} (分钟) = \frac{\ln(2)}{60 \cdot k_d}$
- [1089] 在25°C和37°C下多种IL-2R γ 试剂与不同IL2R γ 单克隆抗体结合的动力学参数示于表3-1至3-14中。
- [1090] 表3-1. 在25°C下hIL-2Rg-MMH与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1091]

捕获的mAb	mAb捕获 水平 (RU)	100 nM Ag结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	183 ± 1	56	8.19E+04	2.25E-04	2.75E-09	51
H4H12858P	181 ± 0.3	67	2.57E+05	3.16E-04	1.23E-09	37
H4H12859P	195 ± 0.4	27	3.66E+04	3.21E-03	8.76E-08	4
H4H12863P	283 ± 4.7	91	2.26E+05	3.84E-04	1.70E-09	30
H4H12871P	291 ± 4	77	1.99E+05	1.00E-03	5.03E-09	12
H4H12874P	199 ± 0.8	57	8.52E+04	3.05E-04	3.57E-09	38
H4H12884P	367 ± 2.1	84	1.99E+05	1.39E-03	6.96E-09	8
H4H12886P	166 ± 0.6	60	1.34E+05	2.70E-04	2.02E-09	43
H4H12889P	215 ± 0.5	64	2.98E+05	4.20E-04	1.41E-09	28
H4H12890P	219 ± 1.8	48	6.79E+04	3.33E-04	4.91E-09	35
H4H12899P	189 ± 0.7	61	1.82E+05	4.58E-04	2.51E-09	25
H4H12900P	248 ± 1.4	79	2.93E+05	3.79E-04	1.29E-09	30
H4H12908P	266 ± 1.1	19	3.31E+04	2.85E-04	8.61E-09	41
H4H12913P2	182 ± 0.5	42	6.20E+04	6.91E-04	1.12E-08	17
H4H12922P2	218 ± 0.7	79	2.97E+05	3.86E-04	1.30E-09	30
H4H12924P2	237 ± 0.5	78	3.22E+05	1.74E-03	5.38E-09	7
H4H12926P2	239 ± 0.5	13	2.00E+05	2.64E-02	1.32E-07	0.4
H4H12927P2	151 ± 0.5	18	5.75E+04	5.55E-03	9.65E-08	2.1
H4H12934P2	363 ± 1.1	33	9.48E+04	1.06E-02	1.12E-07	1.1
H4H13538P	154 ± 0.4	68	2.22E+05	2.27E-04	1.02E-09	51
H4H13541P	199 ± 1	72	1.05E+05	2.52E-04	2.41E-09	46
H4H13544P2	274 ± 0.9	51	4.72E+04	1.35E-03	2.87E-08	9
H4H13545P2	322 ± 1.1	12	1.71E+05	5.75E-02	3.36E-07	0.2

[1092] 表3-2. 在37℃下hIL-2R γ -MMH与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1093]

捕获的mAb	mAb捕获 水平 (RU)	100 nM Ag结合	ka (1/MS)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	95 ± 0.6	23	1.54E+05	9.86E-04	6.42E-09	12
H4H12858P	169 ± 4.5	57	3.86E+05	1.74E-03	4.52E-09	7
H4H12859P	177 ± 4.9	18	6.90E+04	1.29E-02	1.87E-07	0.9
H4H12863P	273 ± 7	77	3.67E+05	1.51E-03	4.11E-09	8
H4H12871P	266 ± 5.5	61	2.50E+05	2.66E-03	1.06E-08	4
H4H12874P	184 ± 4.4	52	1.20E+05	1.25E-03	1.04E-08	9
H4H12884P	319 ± 6.2	62	2.57E+05	3.36E-03	1.31E-08	3.4
H4H12886P	151 ± 4.4	52	6.19E+04	9.56E-04	1.54E-08	12
H4H12889P	125 ± 1.6	32	4.65E+05	1.85E-03	3.99E-09	6
H4H12890P	134 ± 1.2	27	9.51E+04	1.33E-03	1.40E-08	9
H4H12899P	114 ± 1.7	36	3.42E+05	2.49E-03	7.27E-09	5
H4H12900P	183 ± 2.2	43	5.03E+05	1.84E-03	3.66E-09	6
H4H12908P	169 ± 2	16	4.83E+04	1.41E-03	2.92E-08	8
H4H12913P2	114 ± 1.6	24	1.04E+05	3.48E-03	3.34E-08	3.3
H4H12922P2	130 ± 1.7	44	4.07E+05	1.05E-03	2.58E-09	11
H4H12924P2	142 ± 2.1	26	8.71E+05	1.57E-02	1.80E-08	0.7
H4H12926P2	105 ± 1.5	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12927P2	74 ± 1.1	5	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12934P2	221 ± 2.3	9	2.16E+05	7.63E-02	3.53E-07	0.2
H4H13538P	231 ± 1.5	99	3.19E+05	1.08E-03	3.40E-09	11
H4H13541P	282 ± 2.1	103	1.56E+05	7.80E-04	5.01E-09	15
H4H13544P2	366 ± 1.8	49	7.60E+04	7.82E-03	1.03E-07	1.5
H4H13545P2	410 ± 1.9	7	6.11E+05	6.91E-02	1.13E-07	0.2

[1094] *NB表示在目前的实验条件下没有观察到结合。

[1095] 表3-3. 在25℃下mf IL-2Rg-MMH与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1096]

捕获的mAb	mAb捕获 水平 (RU)	100 nM Ag结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	183 ± 1.4	42	7.17E+04	2.28E-04	3.18E-09	51
H4H12858P	179 ± 0.3	58	1.14E+05	2.69E-04	2.36E-09	43
H4H12859P	193 ± 0.3	17	4.03E+04	5.07E-03	1.26E-07	2.3
H4H12863P	280 ± 5.1	81	1.89E+05	3.60E-04	1.91E-09	32
H4H12871P	288 ± 2.8	72	1.74E+05	9.05E-04	5.19E-09	13
H4H12874P	196 ± 0.9	50	7.15E+04	3.06E-04	4.28E-09	38
H4H12884P	364 ± 1.7	82	1.74E+05	1.21E-03	6.98E-09	10
H4H12886P	165 ± 0.8	57	1.09E+05	2.66E-04	2.45E-09	43
H4H12889P	214 ± 0.2	59	2.33E+05	4.04E-04	1.74E-09	29
H4H12890P	218 ± 0.4	37	6.06E+04	3.13E-04	5.16E-09	37
H4H12899P	188 ± 0.7	54	1.02E+05	4.07E-04	4.01E-09	28
H4H12900P	246 ± 1.2	71	2.32E+05	3.35E-04	1.44E-09	34
H4H12908P	268 ± 4.1	14	3.22E+04	2.37E-04	7.37E-09	49
H4H12913P2	180 ± 0.8	34	4.49E+04	6.33E-04	1.41E-08	18
H4H12922P2	217 ± 0.3	76	2.35E+05	3.86E-04	1.64E-09	30
H4H12924P2	235 ± 0.6	73	2.51E+05	1.65E-03	6.58E-09	7
H4H12926P2	236 ± 1.2	11	2.44E+05	2.61E-02	1.07E-07	0.4
H4H12927P2	151 ± 0.4	12	2.88E+04	6.86E-03	2.38E-07	1.7
H4H12934P2	362 ± 1.6	31	9.27E+04	1.14E-02	1.23E-07	1.0
H4H13538P	154 ± 0.6	81	1.33E+05	3.04E-04	2.28E-09	38
H4H13541P	198 ± 0.3	82	1.70E+05	3.15E-04	1.85E-09	37
H4H13544P2	274 ± 0.6	60	5.17E+04	1.27E-03	2.46E-08	9
H4H13545P2	322 ± 1.4	26	9.78E+04	1.40E-02	1.43E-07	0.8

[1097] 表3-4. 在37℃下mfIL-2Rg-MMH与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1098]

捕获的mAb	mAb捕获 水平 (RU)	100 nM Ag结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	93 ± 1	18	1.30E+05	1.08E-03	8.29E-09	11
H4H12858P	155 ± 3.6	47	3.09E+05	1.48E-03	4.77E-09	8
H4H12859P	162 ± 3.9	10	6.28E+04	2.01E-02	3.20E-07	0.6
H4H12863P	253 ± 2.1	63	2.66E+05	1.47E-03	5.51E-09	8
H4H12871P	246 ± 5.1	55	2.06E+05	2.61E-03	1.27E-08	4
H4H12874P	169 ± 3.6	43	9.33E+04	1.16E-03	1.24E-08	10
H4H12884P	296 ± 5.3	59	2.00E+05	3.21E-03	1.61E-08	4
H4H12886P	138 ± 3.2	47	4.78E+04	8.46E-04	1.77E-08	14
H4H12889P	118 ± 1.4	29	3.69E+05	1.71E-03	4.63E-09	7
H4H12890P	128 ± 1.5	20	9.36E+04	1.31E-03	1.40E-08	9
H4H12899P	107 ± 1.6	31	3.22E+05	2.16E-03	6.71E-09	5
H4H12900P	175 ± 2.2	38	4.83E+05	1.54E-03	3.18E-09	8
H4H12908P	162 ± 2.7	13	3.71E+04	1.48E-03	3.98E-08	8
H4H12913P2	109 ± 1.3	20	7.93E+04	2.96E-03	3.73E-08	4
H4H12922P2	124 ± 1.7	44	3.08E+05	1.29E-03	4.18E-09	9
H4H12924P2	135 ± 1.9	24	6.62E+05	1.37E-02	2.07E-08	0.8
H4H12926P2	100 ± 1.2	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12927P2	71 ± 1	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12934P2	212 ± 2.3	7	5.73E+05	7.59E-02	1.32E-07	0.2
H4H13538P	231 ± 1.9	115	1.69E+05	9.32E-04	5.50E-09	12
H4H13541P	281 ± 0.6	111	1.06E+05	7.55E-04	7.10E-09	15
H4H13544P2	363 ± 1.6	60	1.18E+05	6.12E-03	5.21E-08	1.9
H4H13545P2	409 ± 1.3	21	1.46E+05	1.29E-02	8.86E-08	0.9

[1099] *NB表示在目前的实验条件下没有观察到结合。

[1100] 表3-5. 在25℃下hIL-2R γ -mFc与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1101]

捕获的mAb	mAb捕获 水平 (RU)	50 nM Ag结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	180 ± 0.5	20	3.11E+04	7.62E-05	2.45E-09	152
H4H12858P	175 ± 1.2	46	1.16E+05	9.94E-05	8.55E-10	116
H4H12859P	190 ± 1.1	5	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12863P	280 ± 0.6	115	3.99E+05	3.41E-05	8.53E-11	339
H4H12871P	284 ± 2.7	103	3.63E+05	5.22E-05	1.44E-10	221
H4H12874P	193 ± 0.9	15	2.00E+04	8.35E-05	4.18E-09	138
H4H12884P	359 ± 2	112	3.55E+05	4.02E-05	1.13E-10	287
H4H12886P	162 ± 1.1	23	5.34E+04	6.70E-05	1.26E-09	172
H4H12889P	209 ± 0.9	69	3.47E+05	1.55E-05	4.47E-11	746
H4H12890P	213 ± 0.2	12	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12899P	184 ± 0.6	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12900P	241 ± 2.6	4	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12908P	261 ± 1.5	11	7.62E+04	1.00E-05 [#]	1.31E-10	1155
H4H12913P2	177 ± 0.3	12	4.12E+04	5.34E-05	1.30E-09	216
H4H12922P2	213 ± 1	82	3.10E+05	1.75E-05	5.64E-11	661
H4H12924P2	232 ± 1.8	28	7.26E+04	4.11E-04	5.66E-09	28
H4H12926P2	232 ± 0.9	46	1.85E+05	9.62E-04	5.21E-09	12
H4H12927P2	147 ± 0.2	7	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12934P2	357 ± 1.7	75	1.67E+05	3.94E-04	2.36E-09	29
H4H13538P	157 ± 0.1	38	1.17E+05	1.16E-04	9.96E-10	99
H4H13541P	199 ± 0.5	24	4.92E+04	8.84E-05	1.80E-09	131
H4H13544P2	274 ± 0.3	63	1.11E+05	2.46E-04	2.21E-09	47
H4H13545P2	321 ± 1.1	64	1.75E+05	2.11E-03	1.20E-08	5

[1102] *NB表示在目前的实验条件下没有观察到结合。

[1103] [#]表示在目前的实验条件下没有观察到解离,并且k_d值人工固定在1.00E-05s⁻¹。[1104] 表3-6.在37℃下hIL-2R γ -mFc与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1105]

捕获的mAb	mAb捕获水平 (RU)	50 nM Ag结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	83 ± 0.8	12	IC ^{\$}	IC ^{\$}	IC ^{\$}	IC ^{\$}
H4H12858P	126 ± 2.1	37	1.67E+05	2.50E-04	1.49E-09	46
H4H12859P	130 ± 2.2	5	NB [*]	NB [*]	NB [*]	NB [*]
H4H12863P	216 ± 4.1	93	5.37E+05	1.00E-05 [#]	1.86E-11	1155
H4H12871P	205 ± 2.9	81	4.73E+05	2.39E-05	5.05E-11	484
H4H12874P	138 ± 2.3	14	3.30E+04	1.00E-05 [#]	3.03E-10	1155
H4H12884P	246 ± 3.6	85	4.86E+05	2.69E-05	5.54E-11	429
H4H12886P	111 ± 2	19	7.08E+03	9.09E-05	1.28E-08	127
H4H12889P	101 ± 1.5	39	2.38E+05	1.00E-05 [#]	4.20E-11	1155
H4H12890P	112 ± 1.2	8	NB [*]	NB [*]	NB [*]	NB [*]
H4H12899P	91 ± 1.6	2	NB [*]	NB [*]	NB [*]	NB [*]
H4H12900P	158 ± 2.1	4	NB [*]	NB [*]	NB [*]	NB [*]
H4H12908P	140 ± 2.3	8	1.93E+04	1.00E-05 [#]	5.18E-10	1155
H4H12913P2	95 ± 1	9	7.32E+04	1.85E-04	2.53E-09	62
H4H12922P2	107 ± 1	47	2.23E+05	1.00E-05 [#]	4.48E-11	1155
H4H12924P2	118 ± 1.3	13	1.50E+04	1.83E-04	1.22E-08	63
H4H12926P2	87 ± 1.1	11	2.04E+05	3.26E-03	1.60E-08	4
H4H12927P2	63 ± 0.7	4	NB [*]	NB [*]	NB [*]	NB [*]
H4H12934P2	189 ± 1.5	39	1.85E+05	5.90E-04	3.19E-09	20
H4H13538P	233 ± 0.9	70	1.44E+05	1.87E-04	1.29E-09	62
H4H13541P	281 ± 0.5	42	5.60E+04	1.22E-04	2.18E-09	94
H4H13544P2	361 ± 2.6	88	1.26E+05	8.01E-04	6.33E-09	14
H4H13545P2	408 ± 1.5	59	2.46E+05	7.37E-03	3.00E-08	1.6

[1106] *NB表示在目前的实验条件下没有观察到结合。

[1107] [#]表示在目前的实验条件下没有观察到解离,并且k_d值人工固定在1.00E-05s⁻¹。[1108] ^{\$}表示结合数据对于产生可靠的结合动力学值和K_D是不确定的。

[1109] 表3-7. 在25℃下mIL-2Rg-MMH与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1110]

捕获的mAb	mAb捕获水平 (RU)	100 nM Ag结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	178 ± 0.1	5	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12858P	175 ± 0.4	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12859P	190 ± 1.1	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12863P	271 ± 3	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12871P	281 ± 8.8	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12874P	191 ± 0.5	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12884P	357 ± 3	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12886P	160 ± 1.2	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12889P	208 ± 0.3	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12890P	212 ± 0.8	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12899P	183 ± 0	51	9.06E+04	1.67E-03	1.84E-08	7
H4H12900P	240 ± 0.6	76	1.24E+05	4.67E-04	3.76E-09	25
H4H12908P	262 ± 6.7	25	3.41E+04	3.67E-03	1.08E-07	3.1
H4H12913P2	176 ± 0.5	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12922P2	213 ± 1.8	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12924P2	230 ± 0.3	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12926P2	231 ± 0.4	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12927P2	147 ± 0.2	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12934P2	354 ± 2.1	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13538P	157 ± 0.5	4	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13541P	199 ± 0.7	5	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13544P2	273 ± 0.3	3	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13545P2	322 ± 0.6	4	NB *	NB *	NB *	NB *

[1111] *NB表示在目前的实验条件下没有观察到结合。

[1112] 表3-8. 在37℃下mIL-2R γ -MMH与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1113]

捕获的mAb	mAb捕获 水平 (RU)	100 nM Ag结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	80 ± 0.2	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12858P	120 ± 0.8	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12859P	123 ± 0.5	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12863P	208 ± 2.1	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12871P	196 ± 1.3	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12874P	132 ± 1.3	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12884P	235 ± 1.3	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12886P	105 ± 0.8	-2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12889P	97 ± 0.8	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12890P	108 ± 0.9	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12899P	87 ± 0.4	19	1.93E+05	1.08E-02	5.59E-08	1.1
H4H12900P	154 ± 0.6	32	5.19E+05	3.17E-03	6.11E-09	4
H4H12908P	135 ± 0.1	6	7.57E+04	2.93E-02	3.87E-07	0.4
H4H12913P2	91 ± 0	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12922P2	104 ± 0.9	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12924P2	114 ± 0.5	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12926P2	84 ± 0.5	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12927P2	61 ± 0	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12934P2	182 ± 0.5	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13538P	232 ± 0.8	5	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13541P	281 ± 0.4	4	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13544P2	361 ± 2.7	4	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13545P2	407 ± 0.4	2	NB *	NB *	NB *	NB *

[1114] *NB表示在目前的实验条件下没有观察到结合。

[1115] 表3-9. 在25℃下大鼠IL-2R γ -MMH与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1116]

捕获的mAb	mAb捕获水平 (RU)	100 nM Ag结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	178 ± 0.5	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12858P	174 ± 0	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12859P	190 ± 1	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12863P	279 ± 1.6	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12871P	283 ± 0.4	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12874P	191 ± 0.6	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12884P	355 ± 1.3	4	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12886P	160 ± 0.9	3	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12889P	208 ± 0.2	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12890P	211 ± 0.2	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12899P	183 ± 0.4	39	7.04E+04	1.53E-03	2.17E-08	8
H4H12900P	239 ± 0.8	57	1.03E+05	6.19E-04	6.02E-09	19
H4H12908P	261 ± 0.3	19	2.98E+04	2.37E-03	7.93E-08	5
H4H12913P2	176 ± 0.3	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12922P2	213 ± 0.1	3	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12924P2	229 ± 0.8	3	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12926P2	230 ± 0.6	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12927P2	147 ± 0	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12934P2	354 ± 6.6	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13538P	157 ± 0.2	3	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13541P	198 ± 0	4	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13544P2	274 ± 0.1	3	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13545P2	320 ± 1	4	NB *	NB *	NB *	NB *

[1117] *NB表示在目前的实验条件下没有观察到结合。

[1118] 表3-10. 在37℃下大鼠IL-2R γ -MMH与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1119]

捕获的mAb	mAb捕获 水平 (RU)	100 nM Ag结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	79 ± 0.8	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12858P	117 ± 1.2	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12859P	121 ± 1.3	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12863P	199 ± 3.7	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12871P	190 ± 3.4	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12874P	128 ± 0.9	3	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12884P	231 ± 1.5	4	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12886P	103 ± 0.6	4	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12889P	95 ± 0.7	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12890P	107 ± 0.6	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12899P	86 ± 1.3	16	1.46E+05	7.53E-03	5.16E-08	1.5
H4H12900P	152 ± 0.3	27	4.17E+05	3.63E-03	8.70E-09	3.2
H4H12908P	134 ± 1.3	8	3.89E+04	8.35E-03	2.15E-07	1.4
H4H12913P2	90 ± 0.5	3	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12922P2	102 ± 0.3	5	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12924P2	113 ± 0.7	3	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12926P2	83 ± 0.8	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12927P2	60 ± 0.2	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12934P2	180 ± 1.4	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13538P	233 ± 0.3	5	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13541P	282 ± 0.1	5	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13544P2	361 ± 2.2	4	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13545P2	408 ± 0.7	3	NB *	NB *	NB *	NB *

[1120] *NB表示在目前的实验条件下没有观察到结合。

[1121] 表3-11. 在25℃下hIL-2Rg_D1-MMH与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1122]

捕获的mAb	mAb捕获 水平 (RU)	100 nM Ag结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	181 ± 0.7	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12858P	178 ± 0.2	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12859P	192 ± 0.4	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12863P	291 ± 4.5	55	1.14E+05	5.38E-04	4.74E-09	21
H4H12871P	287 ± 3.2	47	9.40E+04	1.11E-03	1.18E-08	10
H4H12874P	196 ± 1.2	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12884P	364 ± 0.5	51	1.66E+05	1.96E-03	1.18E-08	6
H4H12886P	164 ± 0.7	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12889P	213 ± 0.6	38	2.00E+05	1.07E-03	5.34E-09	11
H4H12890P	217 ± 0.6	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12899P	187 ± 0.4	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12900P	246 ± 1.9	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12908P	264 ± 2.5	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12913P2	180 ± 0.6	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12922P2	216 ± 0.4	50	2.52E+05	8.39E-04	3.32E-09	14
H4H12924P2	234 ± 1	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12926P2	235 ± 0.5	8	1.40E+05	2.73E-02	1.95E-07	0.4
H4H12927P2	150 ± 0.4	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12934P2	359 ± 2.9	15	5.53E+04	1.09E-02	1.97E-07	1.1
H4H13538P	155 ± 0.8	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13541P	199 ± 0.2	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13544P2	273 ± 0.7	24	3.58E+04	2.07E-03	5.78E-08	6
H4H13545P2	322 ± 0.6	8	NB *	NB *	NB *	NB *

[1123] *NB表示在目前的实验条件下没有观察到结合。

[1124] 表3-12. 在37℃下hIL-2R_g_D1-MMH与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1125]

捕获的mAb	mAb捕获水平 (RU)	100 nM Ag结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	88 ± 0.5	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12858P	143 ± 2.7	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12859P	149 ± 3.4	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12863P	237 ± 7.1	39	2.54E+05	2.21E-03	8.69E-09	5
H4H12871P	231 ± 3.5	33	1.70E+05	3.60E-03	2.12E-08	3.2
H4H12874P	157 ± 3.2	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12884P	276 ± 5.1	32	1.34E+05	4.42E-03	3.29E-08	2.6
H4H12886P	127 ± 2.5	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12889P	112 ± 1.3	16	2.54E+05	5.07E-03	2.00E-08	2.3
H4H12890P	122 ± 1.1	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12899P	101 ± 1.4	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12900P	169 ± 1.7	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12908P	153 ± 1.8	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12913P2	104 ± 1.2	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12922P2	118 ± 1.4	26	4.07E+05	1.68E-03	4.13E-09	7
H4H12924P2	129 ± 1.6	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12926P2	96 ± 1.3	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12927P2	68 ± 0.7	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12934P2	204 ± 1.8	4	9.21E+05	1.09E-01	1.19E-07	0.1
H4H13538P	231 ± 0.6	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13541P	282 ± 0.3	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13544P2	363 ± 1.8	22	4.64E+04	1.05E-02	2.25E-07	1.1
H4H13545P2	408 ± 0.9	4	NB *	NB *	NB *	NB *

[1126] *NB表示在目前的实验条件下没有观察到结合。

[1127] 表3-13. 在25℃下hIL-2Rg_D2-MMH与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1128]

捕获的mAb	mAb捕获 水平 (RU)	100 nM Ag结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	181 ± 1	6	2.60E+05	7.56E-02	2.91E-07	0.2
H4H12858P	177 ± 0.3	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12859P	191 ± 0.6	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12863P	281 ± 1.7	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12871P	285 ± 1.2	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12874P	194 ± 1.3	10	2.03E+05	4.35E-02	2.14E-07	0.3
H4H12884P	360 ± 1.2	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12886P	162 ± 0.5	35	2.76E+05	1.48E-04	5.35E-10	78
H4H12889P	211 ± 0.5	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12890P	215 ± 0.4	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12899P	186 ± 1	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12900P	244 ± 0.6	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12908P	263 ± 1.5	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12913P2	179 ± 0.4	37	2.56E+05	7.08E-04	2.76E-09	16
H4H12922P2	215 ± 1	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12924P2	233 ± 1.1	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12926P2	233 ± 0.4	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12927P2	149 ± 0.5	14	2.38E+05	1.66E-02	6.99E-08	0.7
H4H12934P2	358 ± 0.6	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13538P	156 ± 0.5	6	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13541P	199 ± 0.2	10	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13544P2	273 ± 0.3	5	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13545P2	321 ± 0.3	5	NB *	NB *	NB *	NB *

[1129] *NB表示在目前的实验条件下没有观察到结合。

[1130] 表3-14. 在37℃下hIL-2Rg_D2-MMH与IL-2R γ 单克隆抗体结合的结合动力学参数

[1131]

捕获的mAb	mAb捕获水平 (RU)	100 nM Ag结合	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (M)	t _{1/2} (分钟)
H4H12857P	85 ± 0.5	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12858P	134 ± 2	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12859P	140 ± 2	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12863P	226 ± 4.4	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12871P	217 ± 3.4	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12874P	147 ± 2.4	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12884P	261 ± 3.8	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12886P	119 ± 1.9	26	3.31E+04	3.77E-04	1.14E-08	31
H4H12889P	106 ± 1.2	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12890P	117 ± 1.5	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12899P	96 ± 1.4	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12900P	164 ± 2.3	1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12908P	145 ± 2.6	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12913P2	99 ± 0.9	16	2.66E+05	3.37E-03	1.27E-08	3.4
H4H12922P2	113 ± 1.4	3	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12924P2	124 ± 1.6	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12926P2	91 ± 1.3	0	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12927P2	66 ± 0.5	2	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H12934P2	196 ± 2.9	-1	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13538P	234 ± 4.8	6	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13541P	282 ± 0.6	7	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13544P2	363 ± 2	4	NB *	NB *	NB *	NB *
H4H13545P2	409 ± 0.6	3	NB *	NB *	NB *	NB *

[1132] *NB表示在目前的实验条件下没有观察到结合。

[1133] 实施例4:不同抗IL-2R γ 单克隆抗体之间的Octet交叉竞争

[1134] 在Octet HTX生物传感器平台 (Pall ForteBio公司) 上使用实时、无标记生物层干涉术测定确定一组抗IL2R γ 单克隆抗体之间的结合竞争。整个实验在25℃下在10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA和0.05% v/v表面活性剂吐温-20、1mg/mL BSA、pH 7.4 (HBS-EBT) 缓冲液中使用1000rpm的板振动器速度进行。为了评估2种抗体是否相互竞争结合其在表达带有C端myc-myc-六聚组氨酸标签的人IL2R γ 胞外结构域 (hIL-2Rg-MMH; SEQ ID:379) 上的各自表位,使用抗-五-组氨酸抗体包被的Octet生物传感器尖端 (ForteBio Inc, #18-5122) 通过将生物传感器尖端浸入含有10 μ g/mL hIL-2Rg-MMH的孔中3分钟来捕获约0.27nM hIL-2Rg-MMH。然后将捕获抗原的生物传感器尖端用第一抗IL2R γ 单克隆抗体 (随后称为mAb-1) 通过浸入含有50 μ g/mL mAb-1的孔中300秒饱和。然后,随后将生物传感器尖端浸入含有50 μ g/mL第二抗IL2R γ 单克隆抗体 (随后称为mAb-2) 的孔中240秒。在实验的每一步之间,在HBS-ETB缓冲液中洗涤生物传感器尖端。在整个实验过程中监测实时结合响应,并记录每一步结束时的结合响应。比较mAb-2与和mAb-1预复合的hIL-2Rg-MMH结合的响应,并确

定不同抗IL2R γ 单克隆抗体的竞争/非竞争行为,如表4-1所示。

[1135] 表4-1. 抗IL-2R γ 单克隆抗体之间的交叉竞争

[1136]

mAb-1	mAb-2与mAb-1竞争
H4H12889P	H4H12922P2
H4H12922P2	H4H12889P
H4H12863P	H4H12871P
	H4H12884P
	H4H12926P2
	H4H12934P2

[1137]

H4H12871P	H4H12863P
	H4H12884P
	H4H12926P2
	H4H12934P2
H4H12884P	H4H12863P
	H4H12871P
	H4H12926P2
	H4H12934P2
H4H12926P2	H4H12863P
	H4H12871P
	H4H12884P
	H4H12934P2
H4H12934P2	H4H12863P
	H4H12871P
	H4H12884P
	H4H12926P2
H4H12899P	H4H12900P
	H4H12908P
	H4H12858P
H4H12900P	H4H12899P
	H4H12908P
	H4H12858P
H4H12908P	H4H12899P
	H4H12900P
	H4H12858P
H4H12858P	H4H12899P
	H4H12900P
	H4H12908P
H4H12924P2	H4H12899P
	H4H12900P
	H4H12908P

[1138]

	H4H12858P
	H4H12890P
	H4H12859P
	H4H12857P
	H4H12874P
	H4H12886P
	H4H12913P2
	H4H12927P2
H4H12890P	H4H12924P2
	H4H12859P
	H4H12857P
	H4H12874P
	H4H12886P
	H4H12913P2
H4H12859P	H4H12927P2
	H4H12924P2
	H4H12890P
	H4H12857P
	H4H12874P
	H4H12886P
	H4H12913P2
H4H12857P	H4H12927P2
	H4H12924P2
	H4H12890P
	H4H12859P
	H4H12874P
	H4H12886P
	H4H12913P2
H4H12874P	H4H12927P2
	H4H12924P2
	H4H12858P
	H4H12890P

[1139]

	H4H12859P
	H4H12857P
	H4H12886P
	H4H12913P2
	H4H12927P2
H4H12886P	H4H12924P2
	H4H12890P
	H4H12859P
	H4H12857P
	H4H12874P
	H4H12913P2
	H4H12927P2
H4H12913P2	H4H12924P2
	H4H12890P
	H4H12859P
	H4H12857P
	H4H12874P
	H4H12886P
	H4H12927P2
H4H12927P2	H4H12924P2
	H4H12890P
	H4H12859P
	H4H12857P
	H4H12874P
	H4H12886P
	H4H12913P2

[1140] 实施例5: 人CD4⁺T细胞(人PBMC)中STAT磷酸化的流式细胞术分析

[1141] 为了评估本发明的IL2R γ 抗体的体外特性,通过流式细胞术(BDTMPhosflow测定)测量了它们阻断由IL-2、IL-4、IL-7、IL-15和IL-21诱导的CD4⁺T细胞活化的能力。BDTMPhosflow允许同时分析细胞内磷酸蛋白(例如STAT蛋白)和细胞表面标志物,以分析离散细胞亚群中的细胞信号传导。该技术用于分析人CD4⁺T细胞中在来自 γ c家族的细胞因子刺激之后的STAT磷酸化。

[1142] 通过密度梯度离心从新鲜全血(BioreclammationIVT)中分离人外周血单个核细胞(PBMC)。将K2 EDTA全血在X-VIVOTM 15培养基(Lonza)中1:1稀释,添加至含有FicollPaquePLUS(Healthcare)的SepMate管(StemCell)中并离心以分离PBMC。将含有PBMC的上层转移到新管中,并用DPBS(Life Technologies)洗涤两次。然后将PBMC以浓度为约 5.0×10^6 细胞/mL重悬在X-VIVOTM 15培养基中,平板接种在96孔板中(50 μ L细胞/孔;约250,

000个细胞/孔),并在添加细胞因子和抗体之前在37℃下孵育2小时。

[1143] 在预热的X-VIVO™ 15培养基中制备抗体的连续稀释液(1:5),并将其添加到细胞(50μL),最终抗体浓度从400nM开始。在预热的X-VIVO™ 15培养基中制备固定的细胞因子浓度,并将其添加到细胞(100μL):IL-7(R&D Systems)的最终浓度为1pM,IL-4(R&D Systems)和IL-21(eBioscience)的最终浓度为50pM,IL-15(R&D Systems)的最终浓度为0.5nM,IL-2(R&D Systems)的最终浓度为10nM;每个孔的最终体积为200μL。

[1144] 对于细胞因子剂量响应,每种细胞因子的连续稀释液(1:5)也在预热的X-VIVO™ 15培养基中制备,IL-4、IL-7和IL-21的最终细胞因子浓度从5nM开始,或IL-2和IL-15的最终细胞因子浓度从50nM开始。首先,向细胞添加50μL X-VIVO™ 15培养基,然后添加100μL细胞因子的连续稀释液,每个孔的总体积为200μL。在向细胞添加细胞因子和抗体之后,将它们在37℃下孵育15分钟以允许PBMC激活(STAT磷酸化)。然后通过向每个孔添加200μL温的Cytofix(BD)停止刺激,并在37℃下孵育细胞10分钟(固定步骤)。然后用染色缓冲液(BD)洗涤细胞两次,并在4℃下保持过夜。第二天,将细胞离心并通过缓慢地向丸粒添加100μL冷渗透缓冲液III(BD)来使细胞透化。细胞在4℃下孵育30分钟,然后用染色缓冲液洗涤两次。为了能够分析用于测量STAT磷酸化的CD4⁺T细胞群,用在染色缓冲液中制备的人FcR结合抑制剂(eBioscience;1/10)、抗CD33-PE(BD;1/200)、抗CD4-PacificBlue(BD;1/200)、抗CD3-PECy7(BD;1/200)和相关的抗磷酸-STAT-AlexaFluor647(BD)的混合物对细胞染色:

[1145] -抗磷酸STAT3(1/10):用于被IL-21刺激的细胞,

[1146] -抗磷酸STAT5(1/20):用于被IL-2、IL-7和IL-15刺激的细胞,

[1147] -抗磷酸STAT6(1/10):用于被IL-4刺激的细胞。

[1148] 将样品在室温下在暗处保持1小时。然后对细胞离心,并用染色缓冲液洗涤两次。使用HTS附件(BD)在LSR Fortessa X-20细胞分析仪上获取样品数据。使用FlowJo X软件(Tree Star,OR)进行数据分析。将CD4⁺T细胞限定为完整细胞、单线态(singlet)、CD33⁻、CD3⁺、CD4⁺;并在该细胞群中分析STAT磷酸化(MFI=平均荧光强度)。

[1149] H4H12889P和H4H12922P2两者类似地且有效地阻断了由在该测定中测试的所有细胞因子(IL-2、IL-4、IL-7、IL-15和IL-21)诱导的STAT磷酸化,而H4H12874P、H4H12886P、H4H12857P以及比较抗体COMP1499(抗IL2R γ 抗体CP.B8,参见US2002/0028202)仅部分阻断或不阻断细胞因子诱导的STAT磷酸化。

[1150] 表5-1.抗IL-2R γ 抗体H4H12889P和H4H12922P2阻断人CD4⁺T细胞中人IL-2、IL-4、IL7、IL-15和IL-21诱导的STAT磷酸化

[1151]	IC50[M]	IL-2	IL-4	IL-7	IL-15	IL-21
	恒定	10nM	50pM	1pM	0.5nM	50pM
	H4H12889P	2.06E-09	1.10E-09	8.92E-10	2.55E-09	2.28E-09
	H4H12922P2	1.87E-09	8.54E-10	5.80E-10	2.46E-09	2.21E-09

[1152] *针对两种抗体测量的IC50值在指定浓度下在不同的白细胞介素下显示。

[1153] 另参见图1的小图(A)-小图(E),其中确定了每种受测抗体浓度下的STAT磷酸化水平。

[1154] 实施例6:体外分化的人肥大细胞中STAT3磷酸化的流式细胞术分析

[1155] 为了评估本发明的抗IL2R γ 抗体的体外特性,通过流式细胞术(BD™Phosflow测

定)测量了它们阻断由IL-9诱导的人肥大细胞激活的能力。我们使用这项技术观察了体外分化的人肥大细胞中在人IL-9刺激之后的STAT3磷酸化。

[1156] 简而言之,人肥大细胞是由在补充了人SCF、IL-6和IL-3的StemSpan无血清培养基中培养6周的骨髓CD133⁺祖细胞体外产生的。

[1157] 人肥大细胞以浓度为约 4.0×10^6 细胞/mL在X-VIVOTM 15培养基中重悬,平板接种在96孔板中(50 μ L细胞/孔;约200,000个细胞/孔),并在添加细胞因子和抗体之前在37℃下孵育2小时。

[1158] 在预热的X-VIVOTM 15培养基中制备抗体的连续稀释液(1:5),并将其添加到细胞(50 μ L),最终抗体浓度从400nM开始。在预热的X-VIVOTM 15培养基中制备固定的IL-9(R&D)浓度,并将其添加到细胞(100 μ L),最终浓度为2nM;每个孔的最终体积为200 μ L。

[1159] 对于细胞因子剂量响应,IL-9的连续稀释液(1:5)也在预热的X-VIVOTM 15培养基中制备,最终细胞因子浓度从100nM开始。首先,向细胞添加50 μ L X-VIVOTM 15培养基,然后添加细胞因子的100 μ L连续稀释液,每个孔的总体积为200 μ L。

[1160] 在向细胞添加细胞因子和抗体之后,将它们在37℃下孵育15分钟以允许肥大细胞激活(如通过STAT3磷酸化测量的)。然后通过向每个孔添加200 μ L温的Cytotfix(BD)停止刺激,并在37℃下孵育细胞10分钟(固定步骤)。然后用染色缓冲液(BD)洗涤细胞两次,并在4℃下保持过夜。第二天,将细胞离心并通过缓慢地向丸粒添加100 μ L冷渗透缓冲液III(BD)来使细胞透化。细胞在4℃下孵育30分钟,然后用染色缓冲液洗涤两次。然后,将肥大细胞用在染色缓冲液中制备的人FcR结合抑制剂(eBioscience;1/10)、抗-c-Kit-PE(BD;1/100)和抗磷酸STAT3-AlexaFluor647(BD;1/10)的混合物染色。

[1161] 将样品在室温下在暗处保持1小时。然后对细胞离心,并用染色缓冲液洗涤两次。使用HTS附件(BD)在LSR Fortessa X-20细胞分析仪上获取样品数据。使用FlowJo X软件(Tree Star,OR)进行数据分析。将肥大细胞限定为完整细胞、单线态、c-Kit⁺;并在该细胞群中分析STAT3磷酸化(MFI=平均荧光强度)。

[1162] H4H12889P和H4H12922P2两者类似地且有效地阻断了由IL-9诱导的STAT3磷酸化。

[1163] 表6-1.抗IL-2R γ 抗体H4H12889P和H4H12922P2阻断体外分化的人肥大细胞中人IL-9诱导的STAT3磷酸化

[1164]	IC50 [M]	IL-9
	恒定	2nM
	H4H12889P	4.41E-10
	H4H12922P2	4.16E-10

[1165] *示出了当IL-9浓度为2nM时针对两种抗体测得的IC50值。

[1166] 另参见图2,其中确定了每种受测抗体浓度下IL-9诱导的STAT磷酸化水平。

[1167] 实施例7:评估IL-2R γ 抗体作为治疗性处理的阻断活性的体内模型:异种急性移植植物抗宿主病模型中的单克隆抗体测试

[1168] 为了确定我们的抗IL2R γ 抗体H4H12889P和H4H12922P2以及比较物IL-2R γ 抗体COMP1499在相关的体内模型中的作用,进行了异种急性移植植物抗宿主病(GvHD)研究。简而言之,为了在小鼠中诱导GvHD,将人外周血单个核细胞(huPBMC)注射到NOD-scid IL2r γ^{null} (NSG)小鼠(Jackson实验室)中。在移植之后,人免疫细胞将小鼠宿主识别为异种,并

对其组织产生强烈的免疫应答。

[1169] 在该实验中,对NSG小鼠 (Jackson Lab) 眶后注射1000万个重悬在DPBS中的huPBMC (ReachBio) (1000万细胞/100μL; 5组, 每组10只小鼠)。简而言之, 在注射当天, 将人PBMC在补充有10%FBS (Seradigm) 的IMDM培养基 (Irvine Scientific) 中解冻, 并在37℃下在该补充的培养基中孵育2小时。然后在DPBS (Life Technologies) 中洗涤细胞, 并以1000万个细胞/100μl重悬用于注射。向对照组 (10只小鼠) 眶后注射100μL的PBS。四组huPBMC移植NSG小鼠在huPBMC注射之后3周开始皮下注射25mg/kg H4H12889P、H4H12922P2、COMP1499或同种型对照抗体 (REGN1945; 人抗-家猫 (Felis domesticus) Fel d1抗体 (IgG4 (S108P) /K)), 然后每周两次, 持续6周。实验在huPBMC移植之后第161天通过处死剩余的小鼠终止。各组小鼠的实验给药和处理方案示于表7-1中。

[1170] 表7-1. 各组小鼠的实验给药和处理方案

[1171]

组	NSG小鼠	huPBMC注射	抗体
1	10	无	无
2	10	1000万	无
3	10	1000万	同种型对照抗体 (REGN1945)
4	10	1000万	IL-2R γ 抗体 (COMP1499)
5	10	1000万	IL-2R γ 抗体 (H4H12889P)
6	10	1000万	IL-2R γ 抗体 (H4H12922P2)

[1172] 在整个实验过程中, 每周两次监测小鼠的体重减轻和死亡 (以评估治疗性抗体对生存的影响)。在不同时间点评估血液中的细胞因子水平以及血清小鼠和人细胞因子水平, 如表7-2所示。

[1173] 表7-2. 血液/血清采集日期和读出

[1174]

huPBMC注射之后的天数	血清细胞因子水平	血液人细胞
14		+
20	+	
35		+
42	+	
56		+
62	+	
104		+
112	+	
148	+	
168		+

[1175] 在整个实验过程中, 每周两次监测小鼠的体重减轻 (图3的小图 (A) - 小图 (F) ; %

huPBMC移植当天的初始体重)和死亡(图4;以评估治疗性抗体对生存的影响)。对显示体重减轻了初始体重的20%的动物实施安乐死。

[1176] 在huPBMC注射之后的不同时间点,将来自小鼠的血液样品收集到Microtainer管(BD,Cat#3659740)中,并通过流式细胞术观察血液中的人绝对细胞数来评估人细胞移植。简而言之,将50 μ L的每个血液样品在室温下在ACK裂解缓冲液(Gibco)中孵育5分钟以裂解红细胞。然后在DPBS中洗涤细胞,用LIVE/DEAD可固定死细胞染色剂(Invitrogen)染色,在MACS缓冲液(Miltenyi Biotec)中洗涤,并用用于鉴定人CD45⁺细胞、T细胞、CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞的抗体混合物(以1/50稀释于brilliant染色缓冲液[BD]中的抗人CD45、抗人CD3、抗人CD4和抗人CD8[BD],以及人和小鼠Fc抑制剂抗体[分别为eBioscience和BD])进行标记。最后,样品在MACS缓冲液中洗涤,在BD CytoFix(BD)中固定,然后在含有CountBright珠(Life Technologies)的MACS缓冲液中重悬,以计算每个样品中的绝对细胞数。使用HTS附件(BD)在LSR Fortessa X-20细胞分析仪上获取样品数据。使用FlowJo X软件(Tree Star, OR)进行数据分析。人CD45⁺T细胞被限定为活细胞、单线态、CD45⁺,在这个群内,CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞被进一步分别限定为CD3⁺,CD4⁺和CD3⁺,CD8⁺。

[1177] 表7-3.huPBMC注射之后第35天和56天的血液人免疫细胞(平均值 $\pm$ SD,以细胞/ μ L血液计)

[1178]

组:	CD45 ⁺ 细胞		T细胞		CD4 ⁺ T细胞		CD8 ⁺ T细胞	
	D35	D56	D35	D56	D35	D56	D35	D56
1. 无huPBMC	0.07 ± 0.11 (n=8) ***	0.29 ± 0.37 (n=8) ***	0.02 ± 0.04 (n=8) ***	0.15 ± 0.36 (n=8) ***	0.01 ± 0.03 (n=8) ***	0.10 ± 0.28 (n=8) ***	0 ± 0 (n=8) ***	0.03 ± 0.08 (n=8) ***
2. huPBMCs – 无抗体	1801 ± 1910 (n=8)	5047 ± 6745 (n=8)	1722 ± 1784 (n=8)	5037 ± 6732 (n=8)	724 ± 800 (n=8)	3053 ± 4427 (n=8)	772.6 ± 865.2 (n=8)	1446 ± 1856 (n=8)
3. huPBMCs – 同种型 对照抗体	2626 ± 2648 (n=9)	2549 ± 2094 (n=6)	2622 ± 2646 (n=9)	2544 ± 2090 (n=6)	1810 ± 2005 (n=9)	1505 ± 1354 (n=6)	638.6 ± 622 (n=9)	830.3 ± 706.1 (n=6)
4. huPBMCs – COMP1499	549.5 ± 637.5 (n=10)	2526 ± 5130 (n=8)	547.7 ± 636.1 (n=10)	2524 ± 5127 (n=8)	354.1 ± 415.2 (n=10)	2018 ± 4633 (n=8)	123.9 ± 130 (n=10)	370.1 ± 341.6 (n=8)
5. huPBMCs – H4H12889P	7.79 ± 8.32 (n=9) ***	9.29 ± 18.16 (n=10) **	7.57 ± 8.10 (n=9) ***	9.13 ± 18.16 (n=10) **	5.33 ± 5.57 (n=9) ***	3.28 ± 3.57 (n=10) **	1.49 ± 2.05 (n=9) **	5.41 ± 14.71 (n=10) **
6. huPBMCs – H4H12922P2	48.4 ± 65.76 (n=10) *	119.1 ± 301.5 (n=10)	48.14 ± 65.71 (n=10) *	118.8 ± 301.1 (n=10)	39.33 ± 57.03 (n=10) *	43.73 ± 82.06 (n=10)	6.71 ± 8.50 (n=10) *	73.6 ± 217.7 (n=10)

[1179] 注意:显示了由Kruskal-Wallis单因素ANOVA和Dunn多重比较事后检验确定的统计学显著性(*=p<0.05,**=p<0.01,***=p<0.001,与第3组:huPBMC-同种型对照抗体相

比)。n=分析的小鼠的数量。

[1180] 作为一个实例,图5的小图(A)-小图(D)中显示了huPBMC注射之后第35天血液中的绝对人细胞数。人CD45⁺细胞、T细胞、CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞在一段时间内的血液计数示于图6的小图(A)-小图(D)中。

[1181] 在huPBMC注射之后的不同天数采集来自小鼠的血清,并评估小鼠和人细胞因子的血清水平。简而言之,将全血收集到Microtainer管(BD,Cat#365967)中,并通过将其在室温下不受干扰至少30分钟使其凝块。通过在4℃下以15,000x g离心10分钟将凝块的血液和细胞制成丸粒。将产生的上清液(称为血清)转移到干净的板中,并使用两个促炎(小鼠和人)多重免疫测定试剂盒(Meso Scale Discovery)根据制造商的说明书测量血清中的细胞因子浓度。用含有0.05% (w/v) 吐温-20(Life Technologies)的PBS洗涤板。在MSD Sceptor仪器上立即读取电化学发光。使用FlowJo X软件(Tree Star,OR) 进行数据分析。

[1182] 表7-4.huPBMC注射之后第42天和第62天的血清人细胞因子浓度(平均值±SD,以pg/mL计)

[1183]

组:	hIFN- γ		hTNF α		hIL-6		hIL-8		hIL-10	
	D42	D62	D42	D62	D42	D62	D42	D62	D42	D62
1. 无huPBMC	0.62 ±0.74 (n=9) ***	0.50 ±0.94 (n=9) ***	0.04 ±0.13 (n=9) ***	0.09 ±0.15 (n=9) **	0.02 ±0.03 (n=9) ***	0.06 ±0.04 (n=9) **	0.05 ±0.06 (n=9) ***	0.06 ±0.10 (n=9) ***	0.00 ±0.00 (n=9) ***	0.04 ±0.05 (n=9) ***
2. huPBMCs – 无抗体	14617 ±14370 (n=10)	18851 ±11943 (n=7)	14.8 ±10.09 (n=10)	13.25 ±7.33 (n=7)	0.79 ±0.58 (n=10)	0.32 ±0.22 (n=7)	10.36 ±10.1 (n=10)	4.70 ±4.42 (n=7)	12.57 ±7.70 (n=10)	8.17 ±4.08 (n=7)
3. huPBMCs – 同种型 对照抗体	14143 ±6273 (n=10)	15369 ±7915 (n=7)	14.2 ±6.38 (n=10)	12.33 ±5.86 (n=7)	2.28 ±3.99 (n=10)	0.74 ±0.49 (n=7)	8.89 ±3.91 (n=10)	5.38 ±2.97 (n=7)	16.39 ±9.93 (n=10)	9.11 ±4.25 (n=7)
4. huPBMCs – COMP1499	8891 ±10438 (n=10)	8568 ±8388 (n=8)	7.18 ±6.16 (n=10)	6.61 ±6.35 (n=8)	0.85 ±0.65 (n=10)	0.25 ±0.20 (n=8)	5.64 ±5.06 (n=10)	2.73 ±2.52 (n=8)	6.74 ±4.41 (n=10)	8.17 ±5.59 (n=8)
5. huPBMCs – H4H12889P	418.6 ±1315 (n=10) ***	126.1 ±361.2 (n=10) **	0.53 ±1.67 (n=10) ***	0.20 ±0.38 (n=10) **	0.08 ±0.12 (n=10) ***	0.05 ±0.04 (n=10) ***	1.65 ±1.61 (n=10) **	0.3 ±0.36 (n=10) **	0.57 ±1.79 (n=10) ***	0.49 ±0.88 (n=10) **
6. huPBMCs – H4H12922P2	31.66 ±32.61 (n=10) *	42.86 ±33.48 (n=10)	0.08 ±0.18 (n=10) ***	0.22 ±0.25 (n=10) *	0.12 ±0.06 (n=10) *	0.06 ±0.06 (n=10) **	0.59 ±0.43 (n=10)	0.42 ±0.35 (n=10)	0.48 ±0.55 (n=10) **	0.65 ±0.38 (n=10)

[1184] 注意:显示了由Kruskal-Wallis单因素ANOVA和Dunn多重比较事后检验确定的统计学显著性(*=p<0.05,**=p<0.01,***=p<0.001,与第3组:huPBMC-同种型对照抗体相比)。n=分析的小鼠的数量。

[1185] 表7-5.huPBMC注射之后第42天和第62天的血清小鼠细胞因子浓度(平均值±SD,以pg/mL计)

[1186]

组:	mTNF α		mIL-6		mKC/GRO		mIL-10	
	D42	D62	D42	D62	D42	D62	D42	D62
1. 无huPBMC	5.31 ± 1.35 (n=9) *	9.44 ± 9.63 (n=9)	13.14 ± 4.24 (n=9) **	16.09 ± 7.01 (n=9) *	33.02 ± 6.72 (n=9) ***	57.47 ± 21.14 (n=9)	6.16 ± 1.65 (n=9) **	7.01 ± 1.96 (n=9) **
2. huPBMCs – 无抗体	20.68 ± 10.72 (n=10)	25.83 ± 11.95 (n=7)	91.12 ± 48.9 (n=10)	50.42 ± 29.96 (n=7)	129.5 ± 51.28 (n=10)	76.51 ± 33.48 (n=7)	14.11 ± 5.75 (n=10)	18.3 ± 7.64 (n=7)
3. huPBMCs – 同种型 对照抗体	20.7 ± 9.30 (n=10)	25.44 ± 11.31 (n=7)	77.91 ± 55.73 (n=10)	95.06 ± 35.59 (n=7)	106.8 ± 35.56 (n=10)	128.7 ± 93.29 (n=7)	15.47 ± 10.12 (n=10)	17.98 ± 4.05 (n=7)
4. huPBMCs – COMP1499	13.82 ± 6.96 (n=10)	20.96 ± 21 (n=8)	69.83 ± 49.04 (n=10)	32.67 ± 29.2 (n=8)	101 ± 60.19 (n=10)	88.56 ± 30.26 (n=8)	10.1 ± 4.67 (n=10)	12.21 ± 3.64 (n=8)
5. huPBMCs – H4H12889P	4.43 ± 1.16 (n=10) ***	12.02 ± 13.94 (n=10)	12.4 ± 3.96 (n=10) **	13.24 ± 7.64 (n=10) ***	40.22 ± 15.65 (n=10) **	55.33 ± 34.05 (n=10) *	6.46 ± 1.21 (n=10) **	7.22 ± 2.42 (n=10) **
6. huPBMCs – H4H12922P2	6.45 ± 3.37 (n=10) **	7.77 ± 5.28 (n=10) *	17.89 ± 8.94 (n=10)	14.78 ± 8.12 (n=10) **	40.83 ± 8.6 (n=10) *	65.77 ± 74.79 (n=10) *	5.93 ± 0.90 (n=10) ***	8.69 ± 5.13 (n=10) *

[1187] 注意:显示了由Kruskal-Wallis单因素ANOVA和Dunn多重比较事后检验确定的统计学显著性(*=p<0.05,**=p<0.01,***=p<0.001,与第3组:huPBMC-同种型对照抗体相比)。n=分析的小鼠的数量。

[1188] 另外,作为一个实例,在huPBMC注射之后第42天的血清人和小鼠细胞因子水平示于图7的小图(A)-小图(I)中。图8的小图(A)-小图(D)中示出了人IFN- γ 、人TNF α 、小鼠TNF α 和小鼠IL-6在一段时间内的血清水平。

[1189] 这项体内研究表明了抗IL2R γ 抗体H4H12889P和H4H12922P2当在移植物抗宿主病模型中治疗性施用时的效力。H4H12889P和H4H12922P2两者均能有效阻断小鼠中GvHD的发生,而COMP1499则不能。用这两种抗体中的任一种治疗性处理的小鼠都免于体重减轻和死亡,并且这与小鼠和人血清细胞因子水平以及血液中人T细胞数量的急剧减少有关。参见表7-3、7-4和7-5。

[1190] 实施例8:使用NK92/hIL7R/STAT3-Luc和Ramos.2G6.4C10/STAT3-Luc细胞进行的生物测定

[1191] IL2R γ 细胞因子家族:IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15和IL-21通过JAK-STAT (Janus 激酶-信号转导与转录激活蛋白) 通路进行信号传导 (Rochman et al., New insights into the regulation of T cells by gamma(c) family cytokines. Nat Rev Immunol. 2009 Jul; 9(7):480-90)。为了评估抗IL2R γ 抗体对细胞因子信号传导的抑制,使

用稳定表达萤光素酶报道子 (STAT3-Luc; SABiosciences, #CLS-6028L) 的NK-92细胞 (人自然杀伤细胞系, ATCC) 开发了一种生物测定。NK-92内源性表达IL2R γ 和介导IL-2、IL-9、IL-15和IL-21信号传导的配体选择性受体。为了还评估IL-7信号传导的调节, 用含有人IL-7R的慢病毒转导NK-92细胞, 并在G418中选择和维持稳定表达的细胞。所得细胞系在下文中称为NK-92/hIL7R/STAT3-Luc。为了测试IL-4介导的信号传导的调节, 用STAT3-luc报道子转导内源性表达IL2R γ 和IL-4R受体的Ramos.2G6.4C10 (人B淋巴细胞系, ATCC) 细胞, 并且所得细胞系称为Ramos.2G6.4C10/STAT3-Luc。

[1192] 通过在96孔板中在生长培养基 (根据ATCC的说明书制备, 但不含IL-2) 中每孔平板接种20,000个NK-92/hIL7R/STAT3-Luc细胞, 并在37°C下在5%CO₂中孵育过夜, 测试了本发明的抗IL2 γ 抗体对人IL-2 (hIL-2)、人IL-7 (hIL-7)、人IL-9 (hIL-9)、人IL-15 (hIL-15) 或人IL-21 (hIL-21) 信号传导的抑制。第二天, 将抗IL2R γ 抗体或同种型对照在测定缓冲液中从500至0.008nM连续稀释 (加上仅含有缓冲液而不含受试分子的样品), 添加到细胞并孵育30分钟。孵育后, 将配体以以下最终浓度加到细胞: 30pM hIL-2、50pM hIL-7、20pM hIL-9、60pM或100pM hIL-15、或5pM或3pM hIL-21。使用配体的连续稀释 (从10nM至0.2pM) (加上仅含有缓冲液而不含配体的样品) 添加到细胞来确定剂量依赖性激活。在37°C下在5%CO₂中孵育5小时之后, 用OneGlo™试剂 (Promega, #E6031) 和Victor™ X多标记读板器 (Perkin Elmer) 测量萤光素酶活性。

[1193] 为了测试本发明的抗IL2 γ 抗体对人IL-4 (hIL-4) 信号传导的抑制, 将Ramos.2G6.4C10/STAT3-Luc细胞以每孔100,000个细胞的密度在96孔板中平板接种于生长培养基 (根据ATCC的说明书制备) 中。将抗IL2R γ 抗体或同种型对照在测定缓冲液中从500至0.008nM连续稀释 (加上仅含有缓冲液而不含受试分子的样品), 添加到细胞并孵育20分钟。孵育后, 以250pM或200pM的最终浓度将hIL-4添加到细胞。使用hIL-4的连续稀释 (从10nM到0.2pM) (加上仅含有缓冲液而不含配体的样品) 添加到细胞来确定剂量依赖性激活。在37°C下在5%CO₂中过夜孵育后, 用OneGlo™试剂 (Promega, #E6031) 和Victor™ X多标记读板器 (Perkin Elmer) 测量萤光素酶活性。

[1194] 用Prism 5软件 (GraphPad) 使用非线性回归 (4参数逻辑) 对结果进行分析, 得到EC₅₀和IC₅₀值。通过使用以下等式用RLU值计算抑制百分比:

$$[1195] \quad \% \text{ 抑制} = 100 \times \frac{RLU_{\text{基线}} - RLU_{\text{抑制}}}{RLU_{\text{基线}} - RLU_{\text{背景}}}$$

[1196] 在这个等式中, “RLU_{基线}”是来自于无抗体的情况下用恒定量的配体处理的细胞的发光值, “RLU_{抑制}”是来自于特定配体浓度下用特定抗体的剂量响应处理的细胞的最小发光值, “RLU_{背景}”是来自没有用任何配体或抗体处理的细胞的发光值。

[1197] 表8-1. 使用NK-92/hIL7R/STAT3-Luc和Ramos.2G6.4C10/STAT3-Luc细胞进行的生物测定中19种抗IL2 γ 抗体对IL2R γ 信号传导的抑制

[1198]

细胞	NK92/hIL7R /STAT3-luc		Ramos.2G6.4 C10/STAT3- luc		NK92/hIL7R /STAT3-luc		NK92/hIL7R /STAT3-luc		NK92/hIL7R /STAT3-luc		NK92/hIL7R /STAT3-luc	
配体	IL-2		IL-4		IL-7		IL-9		IL-15		IL-21	
EC50 [M]	3.3E-11		1.6E-10		3.9E-11		2.0E-11		1.5E-10		3.1E-12	
恒定配体	30pM		250pM		50pM		20pM		60pM		5pM	
Ab PID #	IC50 [M]	最大 抑制 (%)	IC50 [M]	最大 抑制 (%)	IC50 [M]	最大 抑制 (%)	IC50 [M]	最大 抑制 (%)	IC50 [M]	最大 抑制 (%)	IC50 [M]	最大 抑制 (%)
H4H12857P	>1.0 E-07	44	3.8E- 08	96	1.6E- 08	94	>1.0 E-07	83	>1.0 E-07	78	NB	NB
H4H12858P	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB
H4H12859P	WB	29	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB
H4H12863P	4.3E- 10	48	3.6E- 10	70	1.5E- 09	42	4.7E- 10	38	WB	30	>1.0 E-07	28
H4H12871P	NB	NB	WB	31	8.2E- 10	36	NB	NB	NB	NB	NB	NB
H4H12874P	WB	26	>1.0E -07	70	4.1E- 08	93	>1.0 E-07	50	>1.0 E-07	55	NB	NB
H4H12884P	WB	13	WB	19	2.3E- 09	34	NB	NB	NB	NB	NB	NB
H4H12886P	WB	27	>1.0E -07	92	>1.0 E-07	81	>1.0 E-07	84	>1.0 E-07	64	WB	18
H4H12889P	2.7E- 08	81	1.9E- 09	101	3.0E- 09	100	7.1E- 09	100	8.5E- 09	92	>1.0 E-07	35
H4H12890P	WB	15	>1.0E -07	54	>1.0 E-07	66	WB	36	WB	35	NB	NB
H4H12899P	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB
H4H12900P	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB
H4H12908P	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB
H4H12913P2	WB	24	>1.0E -07	55	>1.0 E-07	77	>1.0 E-07	57	>1.0 E-07	58	NB	NB
H4H12922P2	1.6E- 08	85	1.3E- 09	100	2.6E- 09	98	3.1E- 09	99	9.3E- 09	91	>1.0 E-07	49
H4H12924P2	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB
H4H12926P2	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB
H4H12927P2	WB	18	WB	33	>1.0 E-07	46	NB	NB	WB	34	NB	NB
H4H12934P2	NB	NB	WB	22	WB	12	NB	NB	NB	NB	NB	NB
同种型 对照mAb	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB

[1199] NB:无阻断

[1200] WB:弱阻断

[1201] 表8-2.使用NK-92/hIL7R/STAT3-Luc和Ramos.2G6.4C10/STAT3-Luc细胞进行的生物测定中四种抗IL27抗体对IL2R γ 信号传导的抑制

[1202]

细胞	NK92/hIL7R/ STAT3-luc		Ramos.2G6. 4C10/STAT3- luc		NK92/hIL7R/ STAT3-luc		NK92/hIL7R/ STAT3-luc		NK92/hIL7R/ STAT3-luc		NK92/hIL7R/ STAT3-luc	
配体	IL-2		IL-4		IL-7		IL-9		IL-15		IL-21	
EC50 [M]	4.5E-11		3.3E-10		3.9E-11		3.3E-11		2.3E-10		6.0E-12	
恒定配体	30pM		200pM		50pM		20pM		100pM		3pM	
Ab PID #	IC50 [M]	最大 抑制 (%)	IC50 [M]	最大 抑制 (%)	IC50 [M]	最大 抑制 (%)	IC50 [M]	最大 抑制 (%)	IC50 [M]	最大 抑制 (%)	IC50 [M]	最大 抑制 (%)
H4H13538P	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB
H4H13841P	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB
H4H13544P2	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB
H4H13545P2	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB
同种型 对照mAb	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB	NB

[1203] 使用生物测定测试了23种本发明抗IL2 γ 抗体抑制IL2R γ 家族细胞因子进行信号传导的能力。如表8-1所示,23种抗IL2 γ 抗体中有19种在不同程度上抑制了IL2R γ 的激活,并且如表8-2所示,23种抗IL2 γ 抗体中有四种显示对配体的IL2R γ 激活无抑制。

[1204] 实施例9:通过流式细胞术对NK-92、Jurkat、NIH/3T3、MC/9和HEK293细胞进行的细胞结合分析

[1205] 为了评估抗IL2R γ 抗体与在细胞上表达的人和小鼠IL-2R γ 的结合,对内源性表达IL-2R γ 的细胞系:NK-92(人自然杀伤细胞系)、Jurkat(人T淋巴细胞系)和MC/9(小鼠肥大细胞系)细胞进行流式细胞术分析。包括NIH/3T3(小鼠成纤维细胞)和HEK293(人胚肾)细胞系作为阴性对照。

[1206] 对于流式细胞术分析,将细胞与小鼠IgG以100 μ g/ml在室温(RT)下预孵育15分钟以阻断抗体与Fc受体的结合。本发明的抗IL2R γ 抗体和同种型对照抗体以10 μ g/ml使用,其中每种细胞类型为0.5至1 $\times 10^6$ 个细胞/孔,在含有1%FBS的PBS(不含钙和镁)(用于Jurkat、NIH/3T3和HEK293细胞)中或在生长培养基(根据ATCC的说明书制备)(用于NK-92和MC/9)中在室温下30至45分钟。将细胞洗涤并与和别藻蓝蛋白(APC)缀合的抗人抗体(Jackson ImmunoResearch, #109-136-170)在冰上孵育30分钟。洗涤细胞,使用BD CytoFix™(BD biosciences, #554655)固定,并在IQue®(Intellicyt®)流式细胞仪或Accuri流式细胞仪(BD)上分析。对于所有细胞系,也都包括未染色和单独二抗的对照。使用ForeCyt®(IntelliCyt®)软件对结果进行分析,以确定活细胞的荧光的几何平均值(MFI)。通过将受试样品的MFI用未染色样品的MFI归一化计算结合比率。

[1207] 如表9-1所示,在以10 μ g/ml测试的23种本发明抗IL2R γ 抗体中有19种表现与Jurkat和NK-92细胞结合,结合比率分别为1-19和1-94。抗IL2R γ 抗体表现出与NIH/3T3和MC/9细胞结合,其中结合比率分别为1-13和1。人同种型对照抗体REGN1945和仅二抗对照条件对所有受测细胞系显示出1-13的结合比率。

[1208] 如表9-2所示,在以10 μ g/ml测试的23种本发明抗IL2R γ 抗体中有4种表明与NK-92

细胞结合,结合比率为1-37,并且与HEK293细胞结合,结合比率为1-3。人同种型对照抗体 REGN1945和仅二抗对照条件对NK-92和HEK293细胞显示出1-2的结合比率。

[1209] 表9-1.23种抗IL2R γ 抗体中19种与NIH/3T3、MC/9、Jurkat和NK-92细胞结合的流式细胞术分析

[1210]

条件	原始MFI				结合比率 (样品相对于未染色MFI)			
	NIH/3T3	MC/9	Jurkat	NK92	NIH/3T3	MC/9	Jurkat	NK92
H4H12857P	461	198	103	5494	2	1	1	37
H4H12858P	2951	199	99	228	13	1	1	2
H4H12859P	153	201	89	176	1	1	1	1
H4H12863P	452	185	1171	12991	2	1	13	87
H4H12871P	840	184	1619	13713	4	1	18	92
H4H12874P	366	202	507	6583	2	1	6	44
H4H12884P	744	172	1425	13517	3	1	16	90
H4H12886P	368	185	488	4720	2	1	6	32
H4H12889P	502	91	1661	14092	2	1	19	94
H4H12890P	486	170	500	4569	2	1	6	30
H4H12899P	941	167	114	2670	4	1	1	18
H4H12900P	1602	128	110	4195	7	1	1	28
H4H12908P	831	154	86	2539	4	1	1	17
H4H12913P2	436	178	472	4912	2	1	5	33
H4H12922P2	587	187	1570	12518	3	1	18	84
H4H12924P2	502	192	104	231	2	1	1	2
H4H12926P2	526	175	179	1853	2	1	2	12
H4H12927P2	436	191	315	3494	2	1	4	23
H4H12934P2	1391	164	295	6441	6	1	3	43
REGN1945 (hlgG ₄ 对照)	396	196	92	1890	2	1	1	13
抗hIgG-APC	205	173	80	210	1	1	1	1
未染色	231	146	88	150	1	1	1	1

[1211] 表9-2.23种抗IL2R γ 抗体中四种与HEK293和NK-92细胞结合的流式细胞术分析

[1212]

条件	原始MFI		结合比率 (样品相对于未染色MFI)	
	HEK293	NK92	HEK293	NK92
H4H13538P	571	235	3	1
H4H13841P	274	7051	1	37
H4H13544P2	334	4647	2	24
H4H13545P2	295	592	1	3
同种型对照 (REGN1945)	509	223	2	1
抗hIgG-APC	260	234	1	1
未染色	219	190	1	1

[1213] 实施例10:评估抗IL2R γ 抗体H4H12889P对血液中免疫细胞群的作用的体内免疫抑制实验

[1214] 实验程序。对来自Regeneron Velocigene®繁殖集群的经遗传修饰以用相应的人序列置换内源性IL2RG胞外结构域的 Velocigene® (VG) 背景小鼠 (C57BL/6NTac (75%) / 129S6SvEvTac (25%)) 以10mg/kg或25mg/kg的剂量皮下施用同种型对照 (REGN1945) 或 H4H12889P,频率为每周2次,持续3周(共6个剂量),或不施用。

[1215] 表10-1.各组小鼠的实验给药和处理方案

[1216]

组	接受者品系	n	mAb处理
A	II2rg ^{hu/hu}	8	无mAb
B	II2rg ^{hu/hu}	8	REGN1945 (同种型), 10mg/kg
C	II2rg ^{hu/hu}	8	REGN1945 (同种型), 25mg/kg
D	II2rg ^{hu/hu}	8	H4H12889P (抗hIL2RG), 10mg/kg
E	II2rg ^{hu/hu}	8	H4H12889P (抗hIL2RG), 25mg/kg

[1217] 通过流式细胞术在一段时间内对血液中免疫细胞群的分析。通过流式细胞术分析不同时间点(每周一次)外周血中的总免疫细胞、B细胞、T细胞、NK细胞和中性粒细胞计数,以评估H4H12889P对这些细胞类型的绝对数量的作用。简而言之,在每个时间点,将来自小鼠的血样收集到具有K₂EDTA[BD#365974]的Microtainer管中,并将每个血样的30-75μL在红细胞裂解缓冲液[Sigma#R7757]中在室温下孵育5分钟以裂解红细胞。如果需要,进行第二轮裂解。然后在DPBS[Gibco#14190-144]中洗涤细胞,用以1:500稀释于DPBS中的LIVE/DEAD™可固定近红外死细胞染色剂[Invitrogen#L34962]染色20分钟,在DPBS中再次洗涤,然后用以1:50稀释于MACS缓冲液[autoMACS运行缓冲液;Miltenyi Biotec, #130-091-221]中的经纯化的抗小鼠CD16/CD32 (Fc屏蔽剂) [TonboBiosciences, #70-0161-M001]阻断。随后,通过添加在BD horizon brilliant染色缓冲液[BD#566349]中稀释的荧光标记的抗体的混合物(表2中所述),针对细胞表面标志物对细胞进行染色,以鉴定CD45⁺细胞、T细胞、B细胞、NK细胞和中性粒细胞。最后,样品在MACS缓冲液中洗涤,在以1:4稀释于DPBS中的BD CytoFix[BD#554655]中固定,然后在采集前在MACS缓冲液中洗涤并重悬。使用HTS附件[BD]在FACSymphony A5分析仪上获取样品数据。对每个样品的固定体积进行运行。使用FlowJo v10软件[Tree Star, OR]进行数据分析。CD45⁺免疫细胞限定为单线态、活细胞、CD45⁺;在这个群中,T细胞被进一步限定为CD3⁺,B细胞被进一步限定为CD3⁻CD19⁺,NK细胞被进一步限定为CD3⁻CD19⁻NKp46⁺,中性粒细胞被进一步限定为F4/80⁻Ly6G⁺。通过分析仪运行的每种细胞类型的绝对数量、运行的样品体积和最初染色的血液体积用于计算每个样品的细胞/μL血液计数。

[1218] 表10-2. 流式细胞术分析中使用的抗体

[1219]

抗体	荧光染料	制造商	最终稀释度
NKp46	FITC	ebioscience	1:200
Ly6G	BB700	BD	1:100
F4/80	PE	BD	1:500
CD3	PE-Cy7	BD	1:200
CD4	BV786	BD	1:200
CD8a	BUV395	BD	1:200
CD19	BUV737	BD	1:200
CD45	Alexa Fluor 700	BioLegend	1:200

[1220] 通过抗原捕获ELISA在一段时间内血清治疗性抗体水平的分析。通过人总IgG铂ELISA试剂盒每周测量一次IL2R γ 抗体或同种型对照抗体的血清水平。将每种抗体于BSA在PBS中的0.5%溶液中进行连续稀释,以产生H4H12889P和REGN1945的1.56至100ng/mL的标准曲线。在SpectraMax M5读板器[Molecular Devices]上测量450nm处的吸光度。使用

Prism 8.1.2[GraphPad]进行分析。

[1221] 结果概述与结论。用H4H12889P (10mg/kg和25mg/kg) 进行处理导致血液中总CD45⁺免疫细胞(图9的小图(A))、NK细胞(图9的小图(B))、T细胞(图9的小图(C))和B细胞(图9的小图(D))的数量显著减少,而中性粒细胞计数(图9的小图(E))不受影响。3周给药期结束之后,H4H12889P的血清浓度随时间而下降。H4H12889P浓度的这种降低与总CD45⁺免疫细胞(图9的小图(A))、NK细胞(图9的小图(B))、T细胞(图9的小图(C))和B细胞(图9的小图(D))的数量持续增加相关。到研究结束时,所有这些群恢复到处理前观察到的类似水平,和未经处理或用REGN1945(同种型对照)处理的小鼠中观察到的水平。

[1222] 实施例11:用于评估IL2R γ 抗体H4H12889P的阻断活性的体内皮肤移植物排斥模型

[1223] 实验程序。从The Jackson Laboratory(Bar Harbor,ME)获得的BALB/cJ小鼠用作皮肤移植物供体,MHC错配的来自Regeneron**Velocigene**[®]繁殖集群的经遗传修饰以用相应的人序列置换内源性IL2RG胞外结构域的 **Velocigene**[®] (VG) 背景小鼠(C57BL/6NTac(75%)/129S6SvEvTac(25%))用作接受者。皮肤移植物取自供体小鼠的尾部。用镊子将皮肤剥离,并用直径10mm的活检冲头打孔。对用作移植物接受者的VG小鼠(针对IL2R γ 人源化)以25mg/kg的剂量皮下施用同种型对照(REGN1945)或H4H12889P,频率为每周2次,从移植之前3周开始,一直持续直到排斥,或者不进行施用。手术位点经过剃毛的接受者用异氟醚经鼻锥麻醉,并施用止痛剂(丁丙诺啡持续释放制剂)(ZooPharm)。通过施加聚维酮碘和醇擦拭经剃毛的背侧区域。移植床通过用镊子夹住皮肤并然后利用无菌的直径10mm的活检皮肤冲头进行皮肤切除在小鼠背侧和腹侧之间在中间横向产生。然后将移植物放置在移植床上,并用黏性绷带覆盖,该绷带用两个无菌手术钉固定在皮肤上。整个过程中均采用无菌技术。5天后,取下绷带和钉,并接着进行监测。

[1224] 表11-1. 各组小鼠的实验给药和处理方案

[1225]

组	接受者品系	n	供体品系	供体组织	mAb处理
A	II2rg ^{hu/hu}	10	BALB/cJ	尾部皮肤	无mAb
B	II2rg ^{hu/hu}	10	BALB/cJ	尾部皮肤	REGN1945(同种型)
C	II2rg ^{hu/hu}	10	BALB/cJ	尾部皮肤	H4H12889P(抗hIL2R γ)

[1226] 实验设计示于图10中。

[1227] 皮肤移植物排斥的监测。皮肤移植物的监测包括以下标准:(1)不能正确血管化的皮肤移植物被认为是技术故障并被排除在分析之外。这些移植物在去除绷带之后数小时会表现出结痂和收缩。(2)移植物后期的“结痂”和收缩用作移植物排斥的指标。完全排斥时间点记录为移植组织100%坏死的第一天(图12)。排斥发作被记录为出现排斥体征(即,发红)的第一天(图11)。显著性通过用Bonferroni校正(调整的p值0.005,K=9)的对数秩检验(Mantel-Cox)确定。

[1228] 通过流式细胞术的供体特异性抗体检测。在移植之后第56天的时间点对血液取样,以评估供体特异性抗体的形成(图13)。

[1229] CT26.WT(ATCC[®]CRL-2638[™])细胞在组织培养瓶中培养至80%汇合。用1X DPBS洗涤细胞,并通过在室温下孵育5分钟并用完全RPMI1640培养基洗涤烧瓶来用TrypLE

Express试剂(Gibco)解离。然后将细胞离心(500g,10分钟),并以500万个细胞/ml用具有1:50稀释的4μg/mlFc阻断剂(Tonbo)的1X DPBS在室温下重悬15分钟。将混悬物以250,000个细胞/孔(50μL)平板接种在384孔V型底板中。

[1230] 将来自经移植小鼠和未经移植野生型VG小鼠(C57BL/6NTac(75%)/129S6SvEvTac(25%))和获得自The Jackson Laboratory的野生型BALB/cJ小鼠的50μL连续稀释的样品血清加入其各自的孔中,并在37℃下孵育45分钟。用MACS缓冲液(500g,4分钟)洗涤2次之后,将细胞重悬在50μL以1:500稀释于1X DPBS中的LIVE/DEAD™可固定蓝死细胞染色试剂盒(Invitrogen)中,每孔总体积50μL,并在室温下孵育15分钟。在以500g离心4分钟之后,丢弃上清液,将细胞重悬在25μL Fc阻断剂(Tonbo)中,并在4℃下孵育15分钟。然后添加25μL 2X抗体混合物(表11-2),并在4℃下孵育25分钟。在离心(500g,4分钟)之后通过向每个孔添加100μL MACS™缓冲液,在MACS缓冲液中洗涤细胞。通过将细胞重悬于100μL以1:4稀释于1X DPBS中的Cytotfix™固定缓冲液(BD)来固定细胞并在4℃下孵育15分钟。然后,在离心并丢弃固定液后,将样品重悬在MACS缓冲液中。细胞在BD Fortessa X-20上获得。获得的事件用FlowJo(BD)分析。MFI来源于细胞,这些细胞经过双重鉴别(FSC-H,FSC-A),然后Live/Dead染料阴性。绘制的结果为在样品血清1/512稀释时的中位荧光强度值。

[1231] 表11-2.流式细胞术染色混合物中使用的抗体

[1232]

抗原	缀合物	克隆	供应商	稀释度(1/)
CD45	BV421	30-F11	BioLegend	200
IgG	APC	Poly4053	BioLegend	200
B220	BUV395	RA3-6B2	BD	200
IgG1	PE-Cy7	RMG1-1	BioLegend	200
IgM	APC-Cy7	RMM-1	BioLegend	200
IgG2a	FITC	R19-15	BD	200
IgG2c	FITC	山羊多克隆IgG	Bio-Rad	200

[1233] 结果概述与结论。在皮肤移植模型(BALB/cJ到VG小鼠)中,H4H12889P(抗IL2R γ Ab)处理延迟了皮肤移植物排斥的发作,并提高了皮肤移植物的整体生存。H4H12889P处理也防止了这种移植模型中供体特异性抗体的产生。

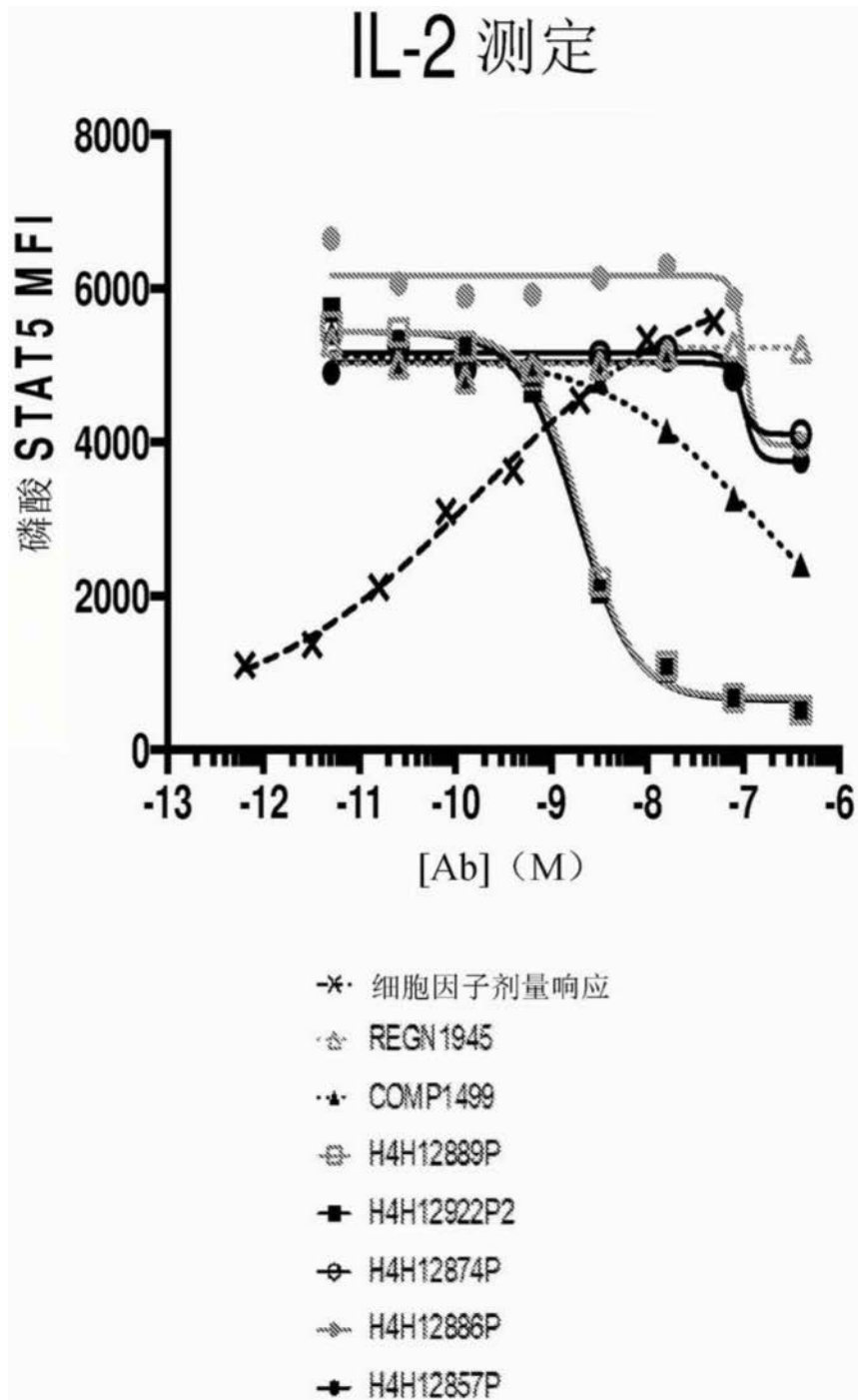


图1(A)

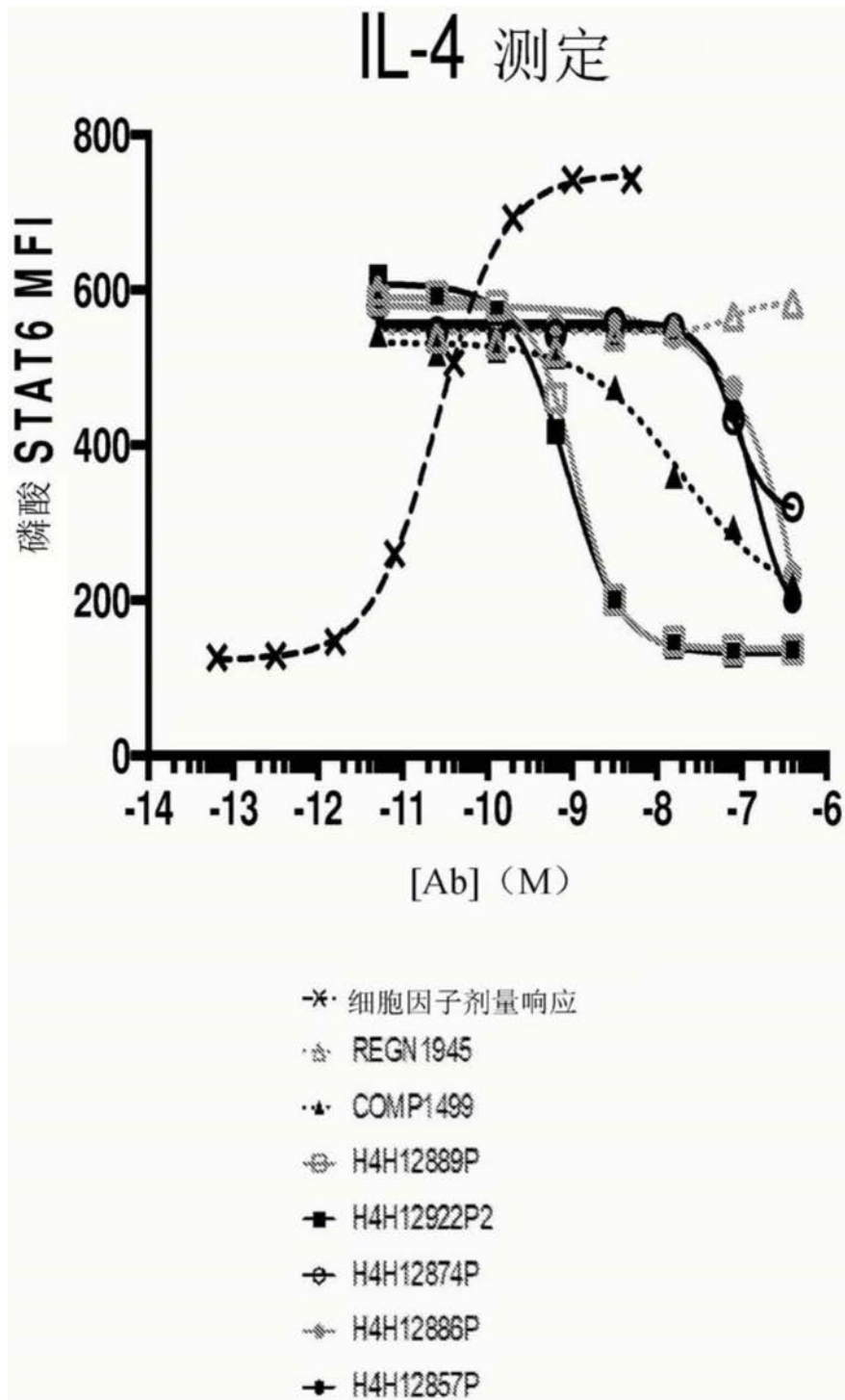


图1(B)

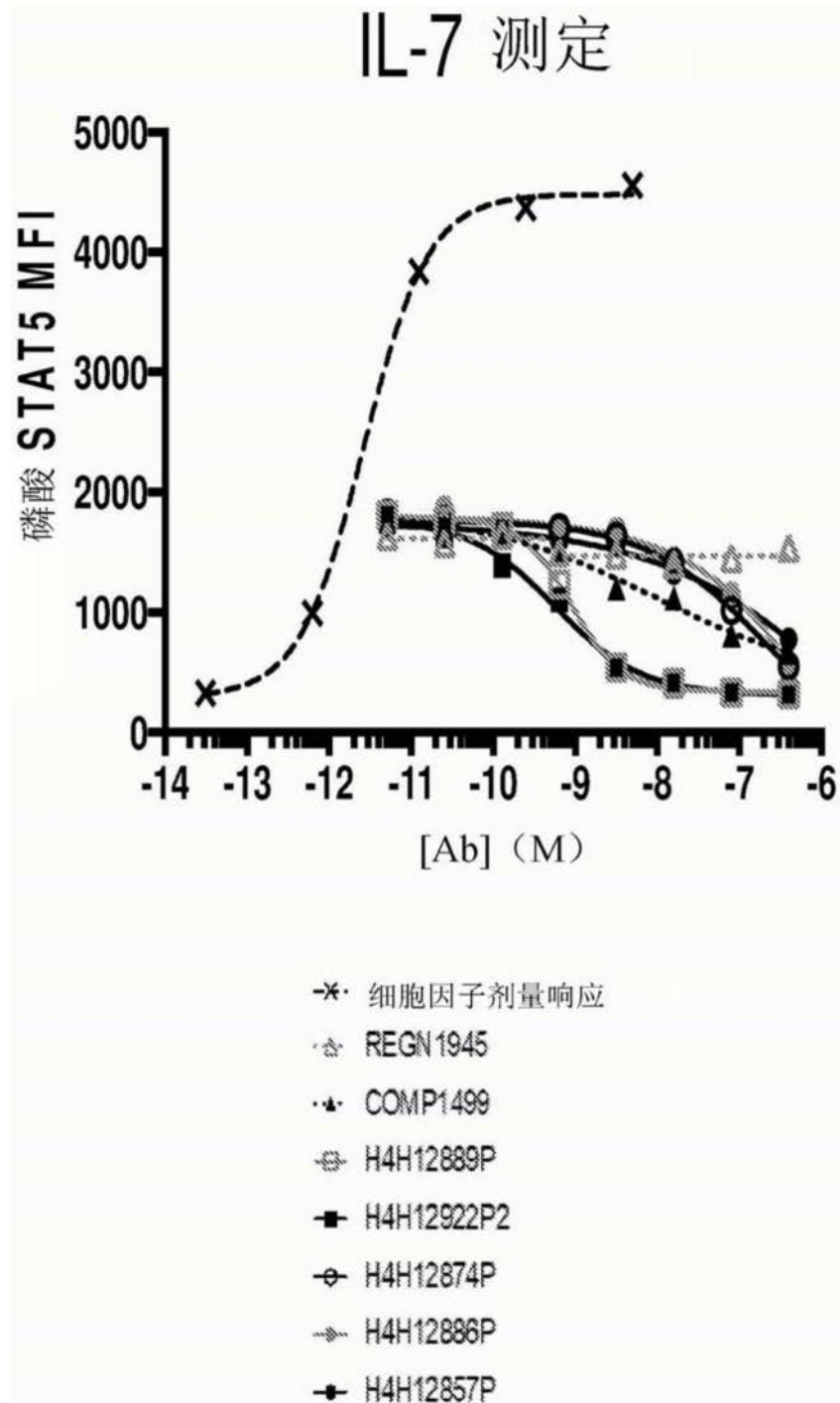


图1(C)

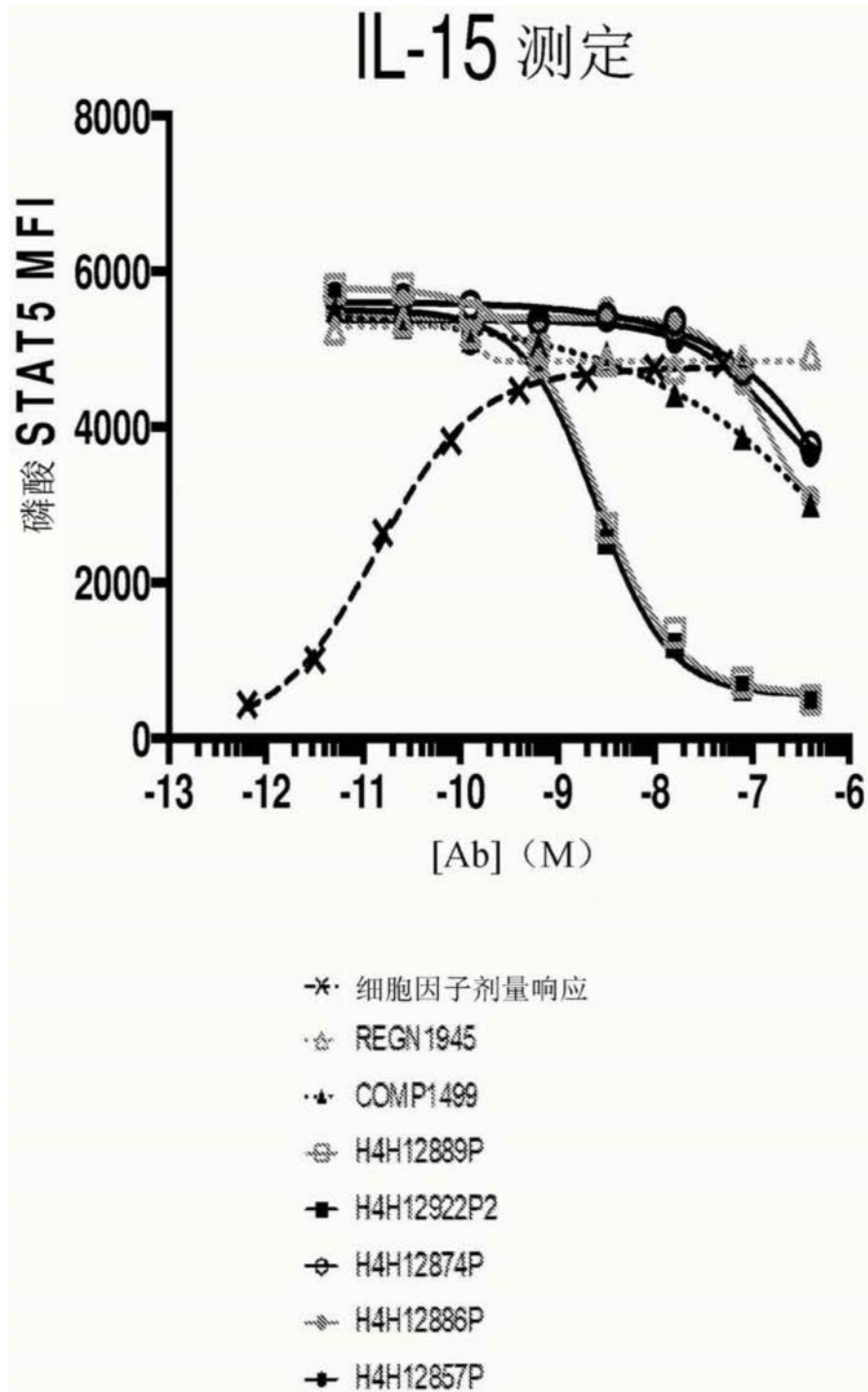


图1(D)

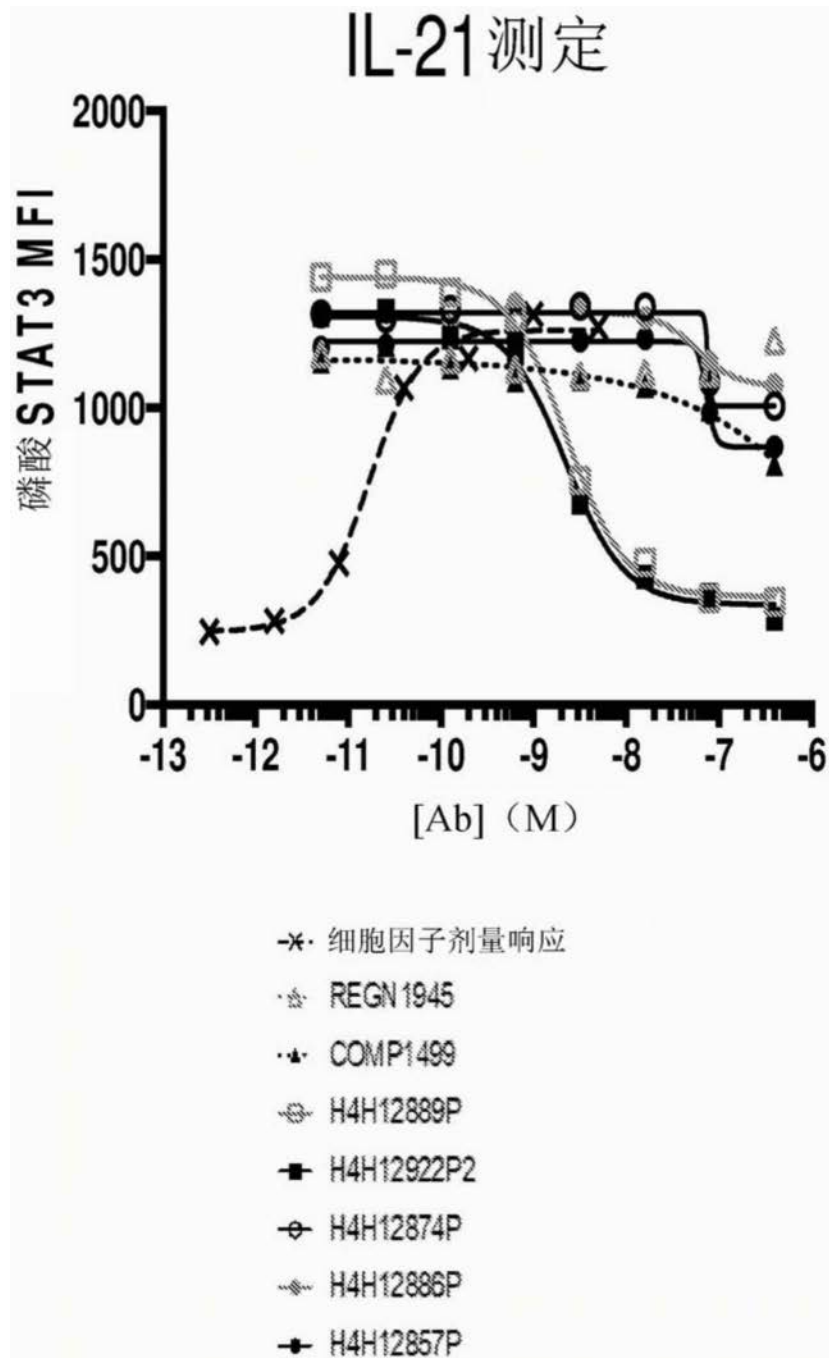


图1(E)

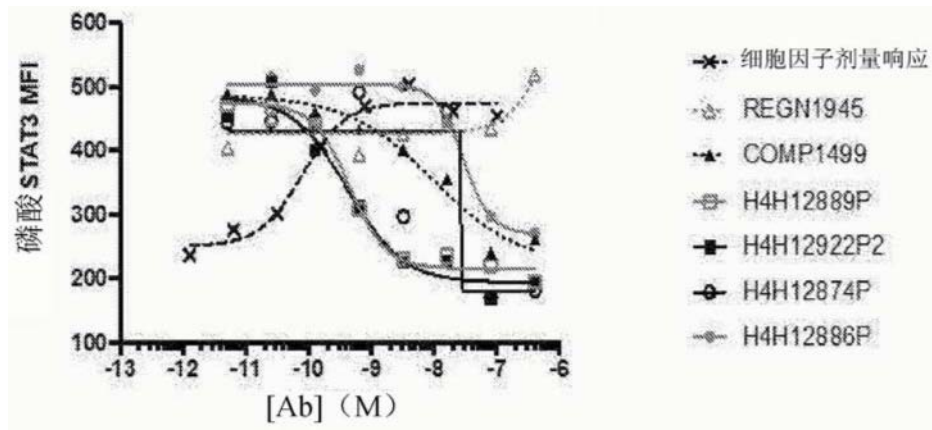


图2

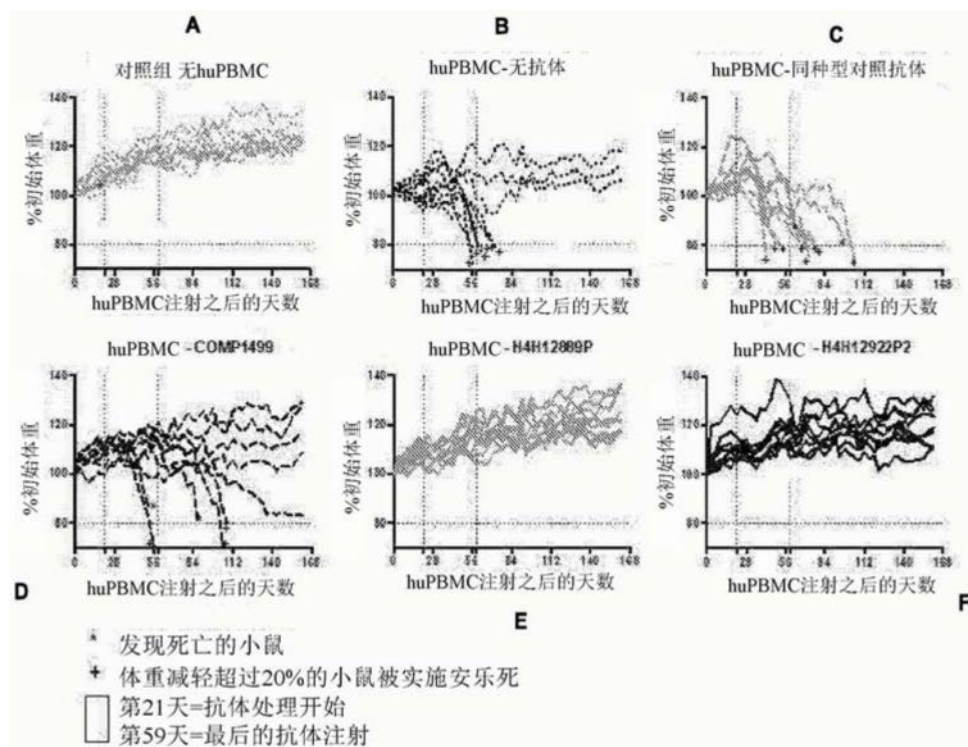


图3

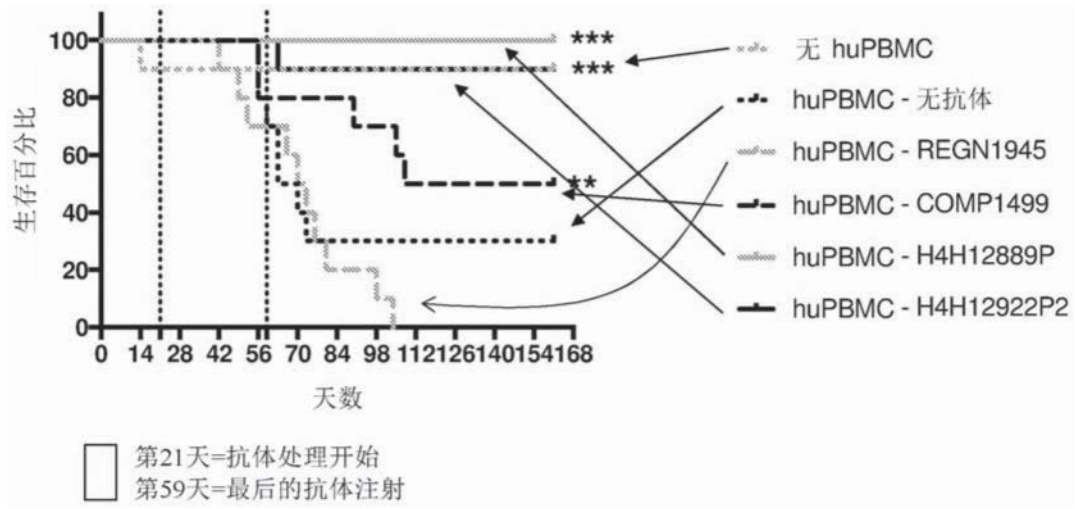


图4

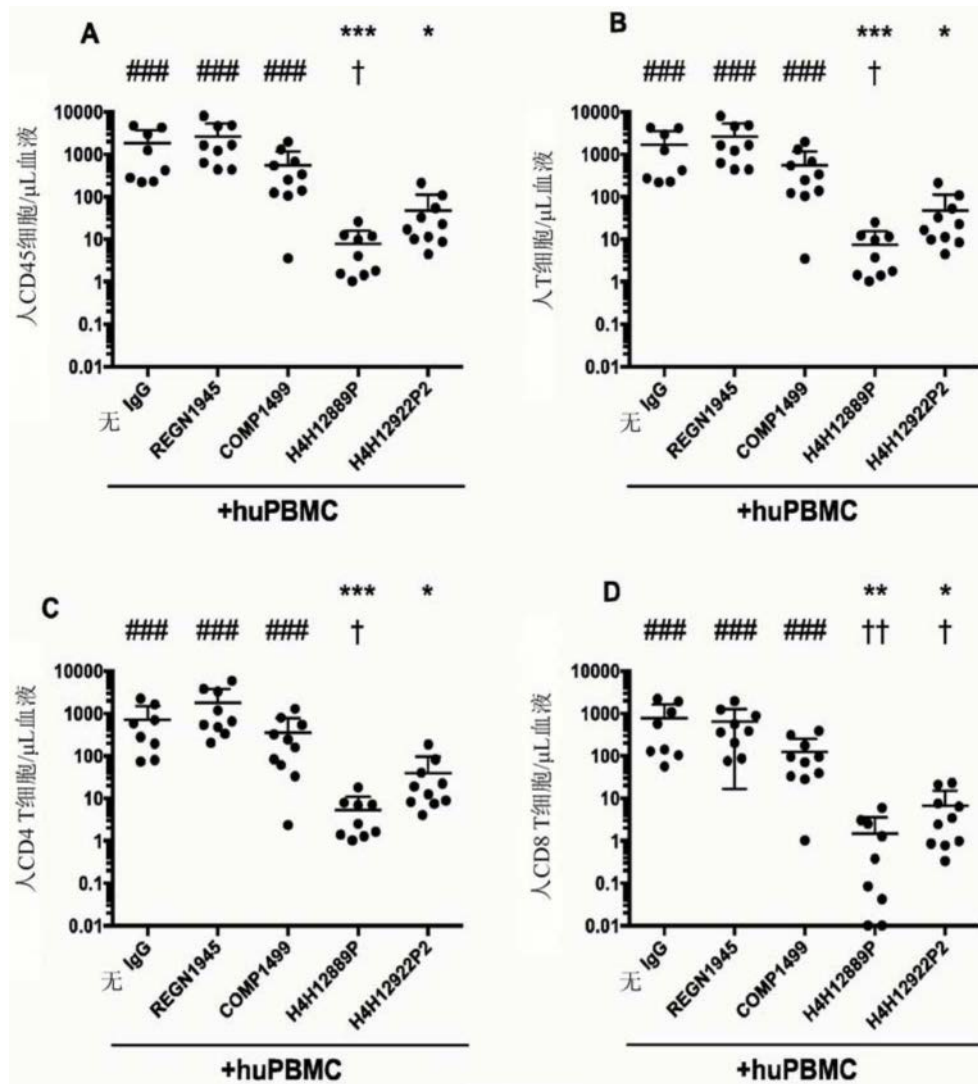


图5

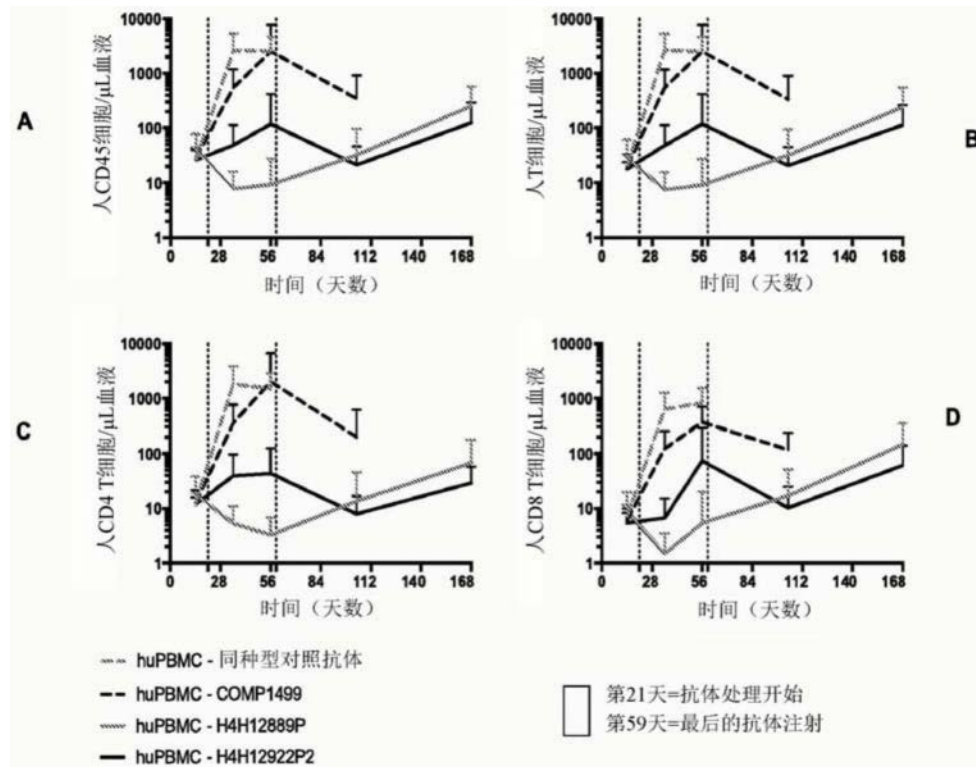


图6

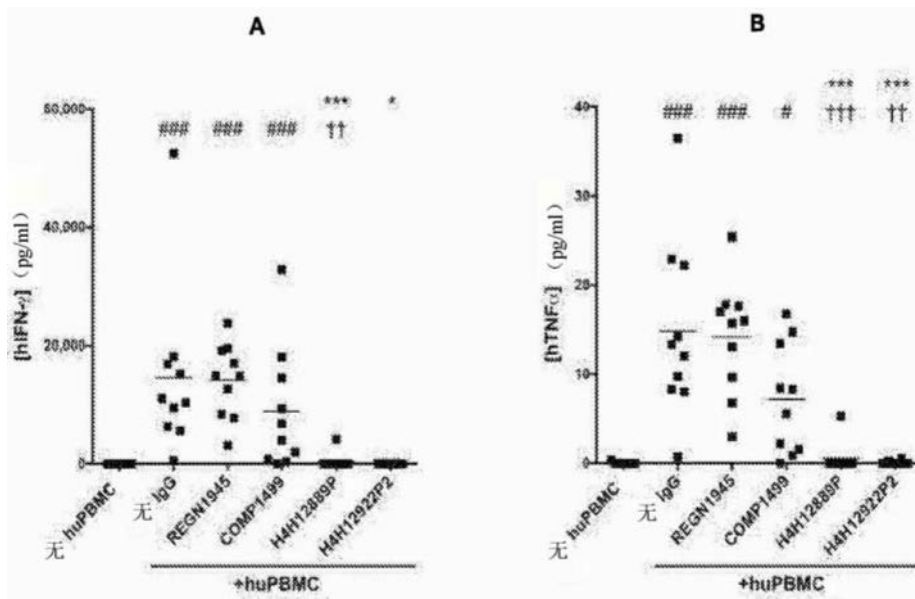


图7

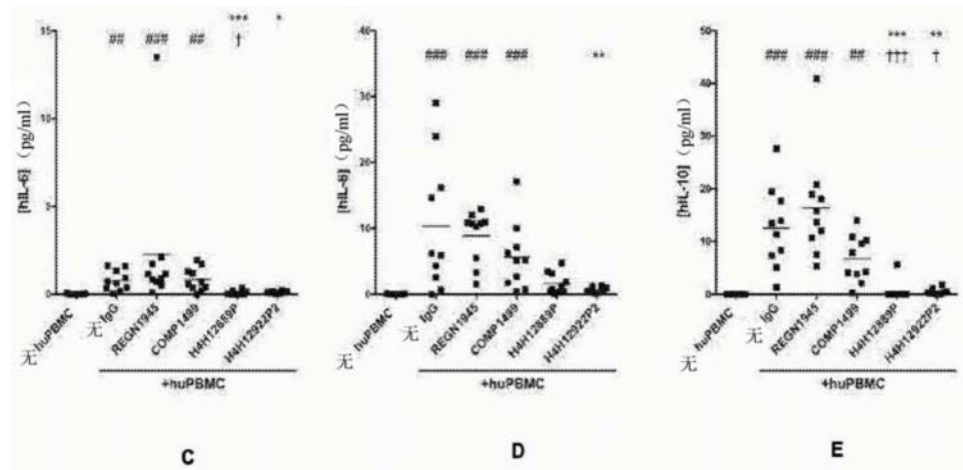


图7 (续)

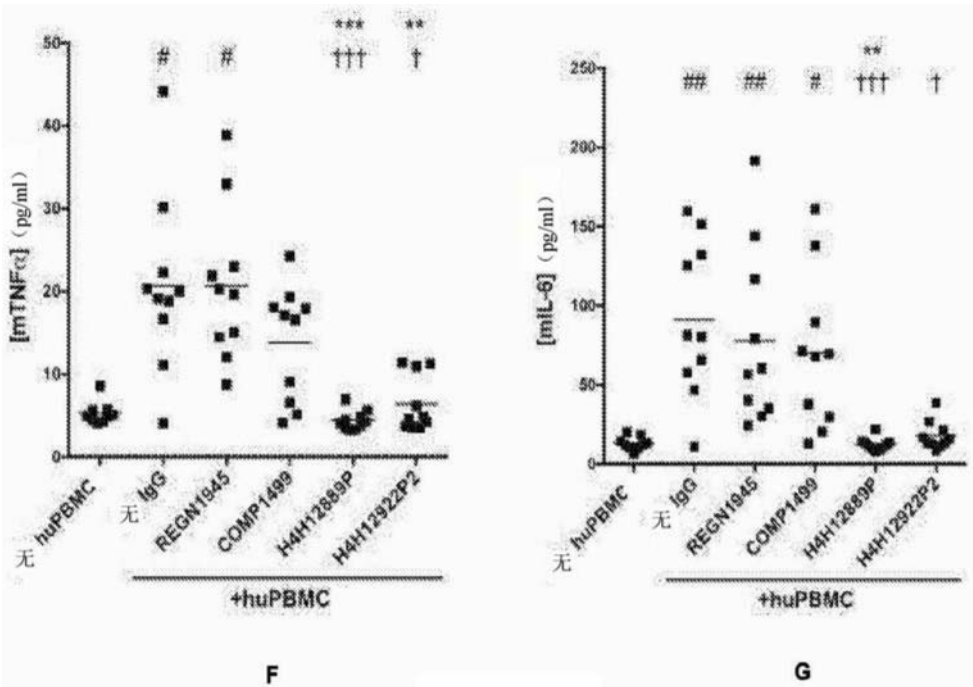


图7 (续)

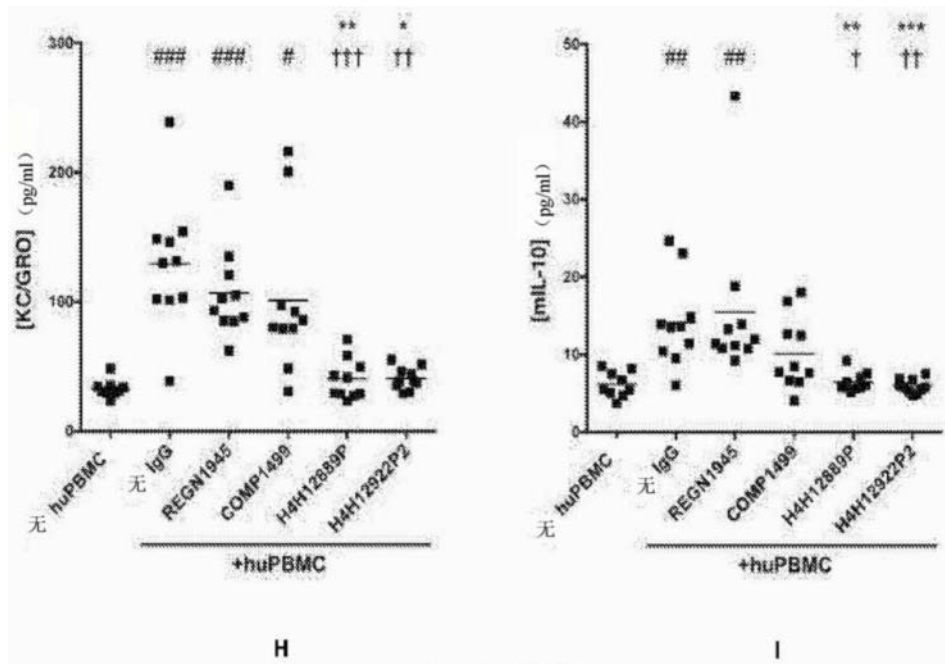


图7(续)

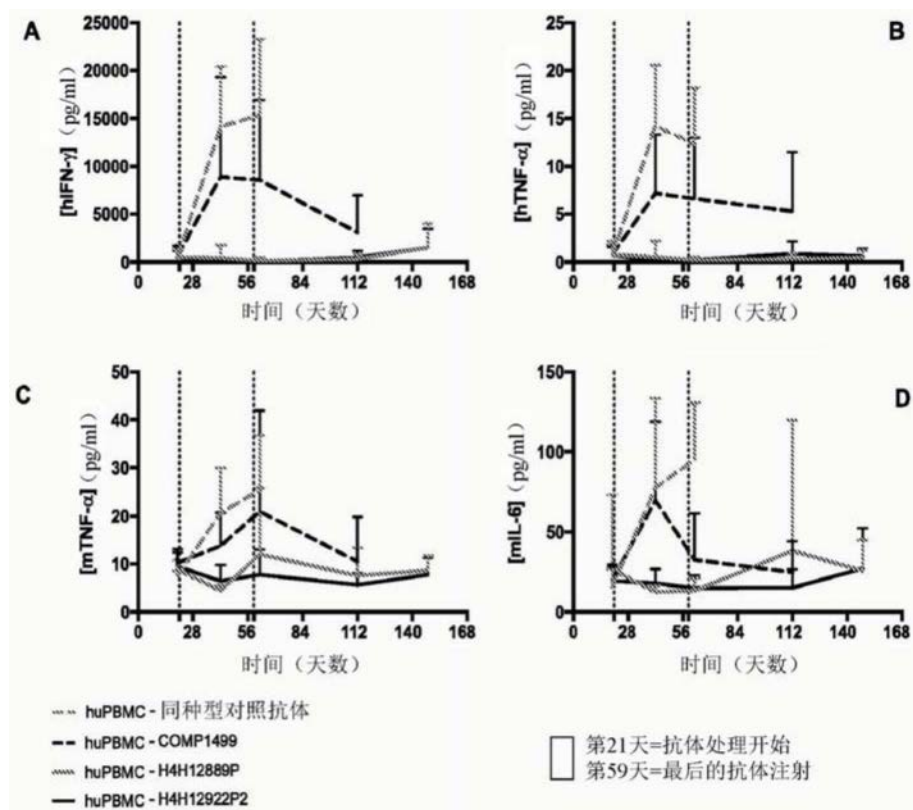


图8

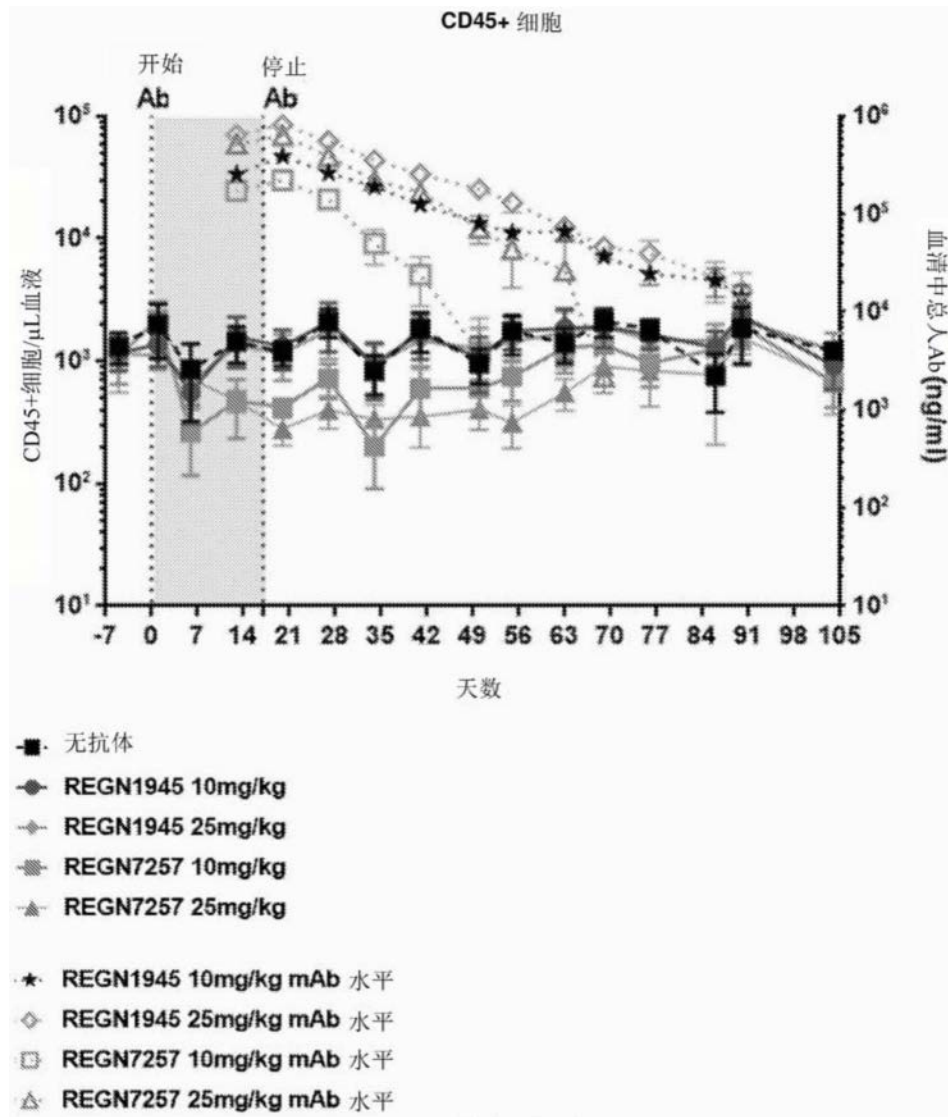


图9(A)

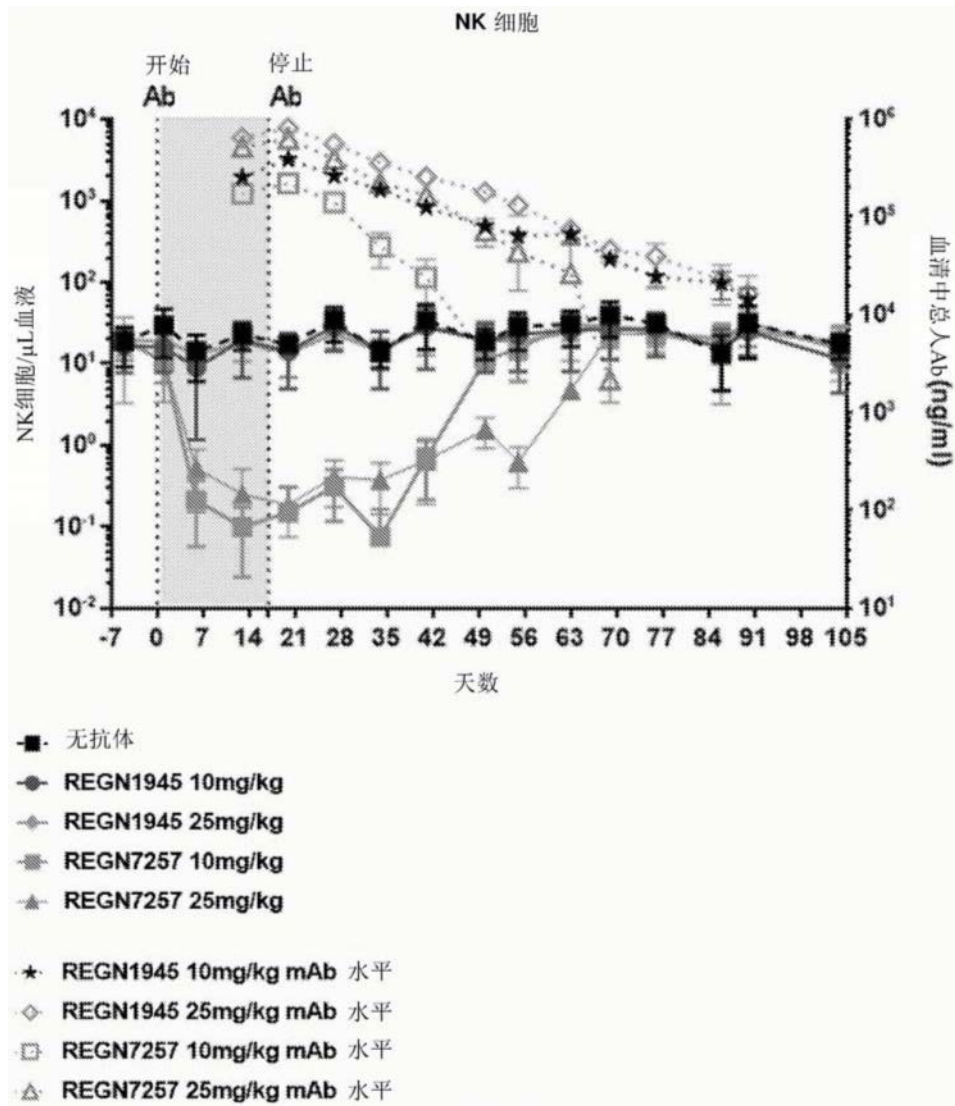


图9(B)

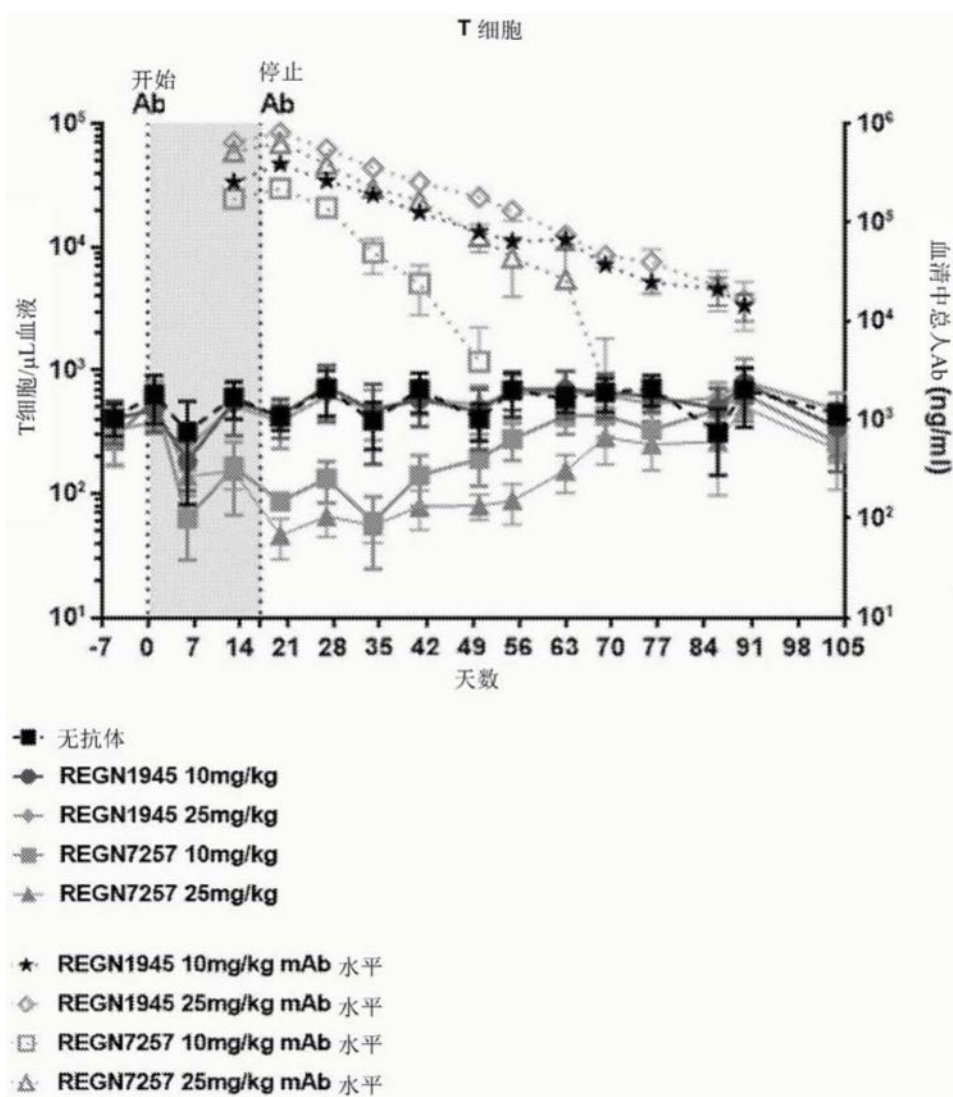


图9(C)

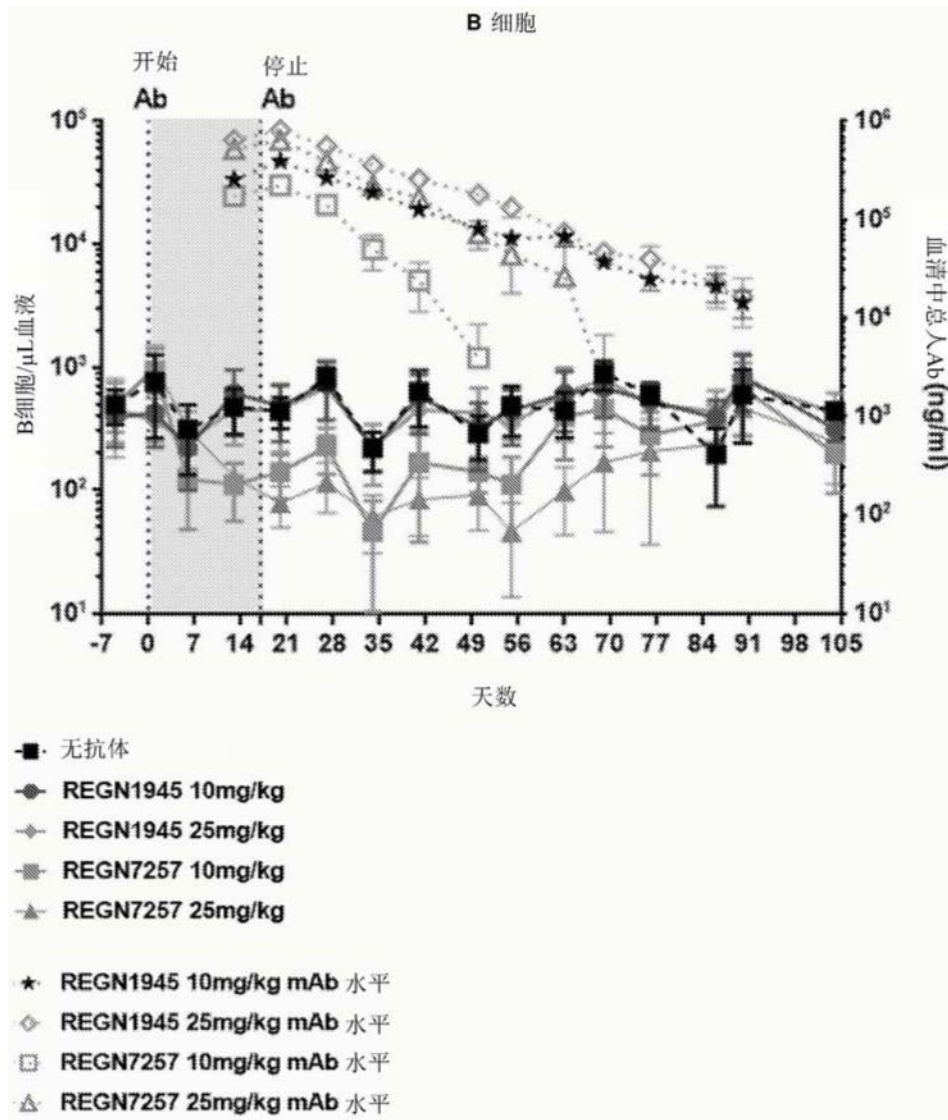


图9(D)

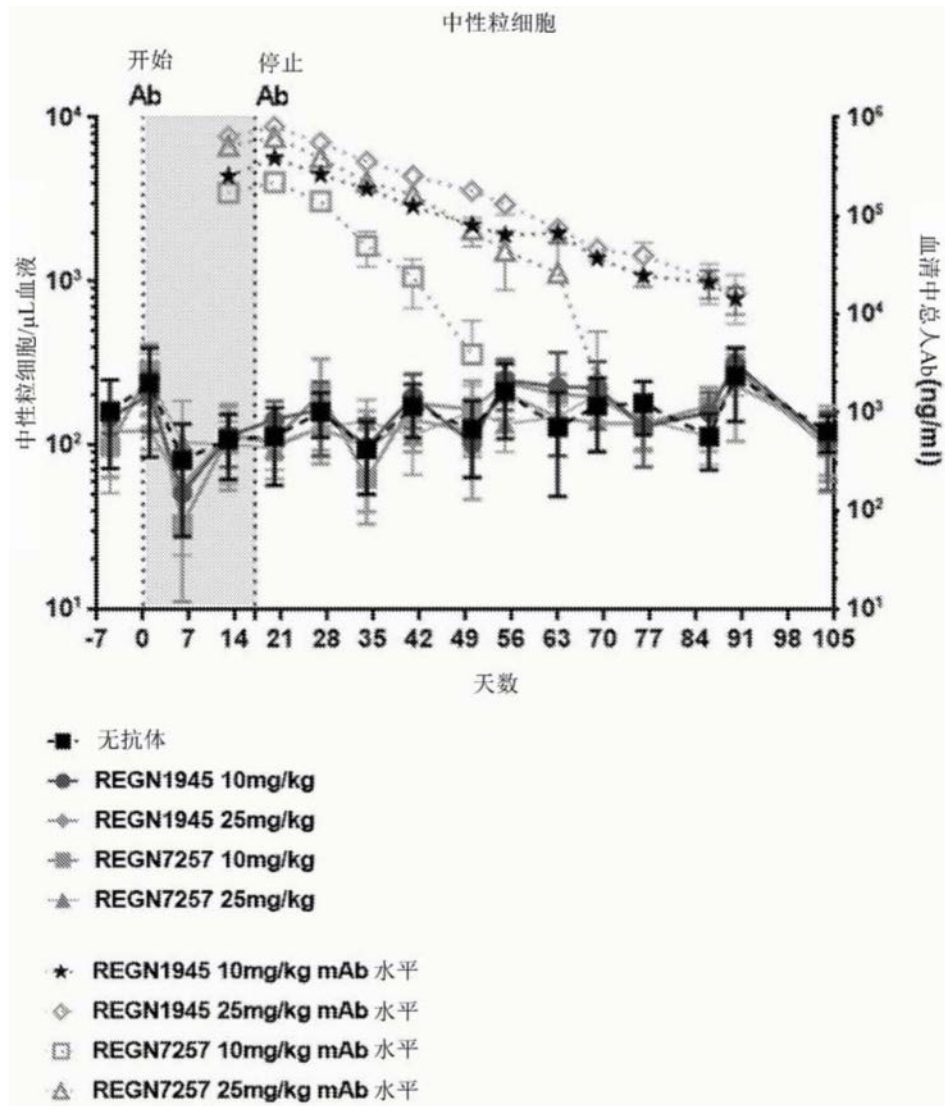


图9(E)

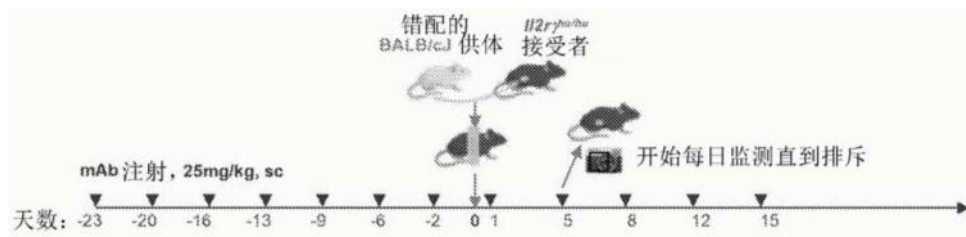


图10

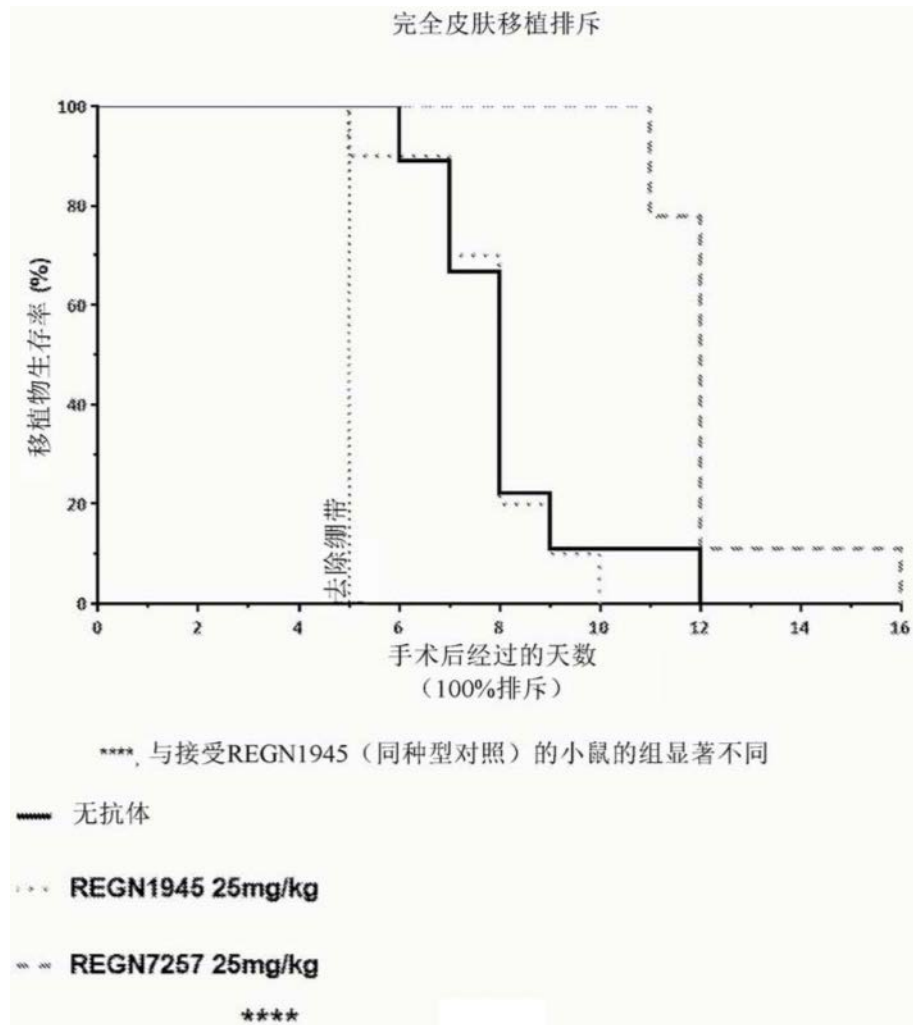


图11

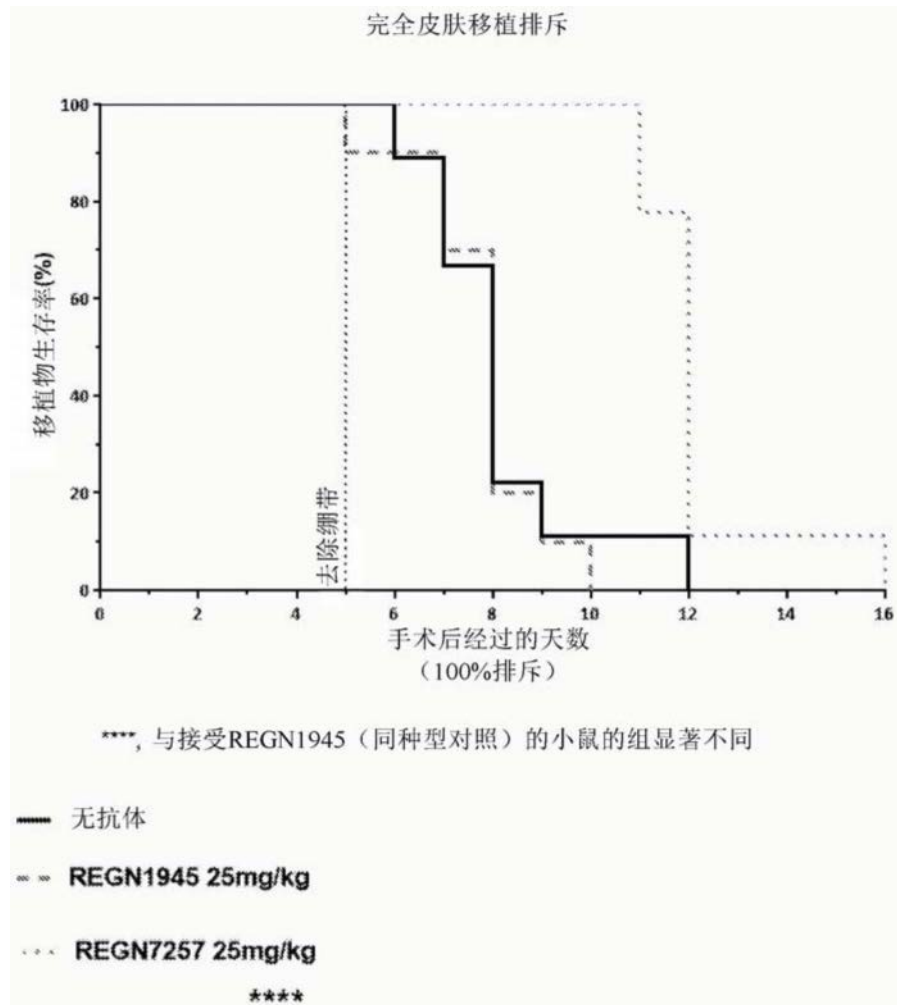


图12

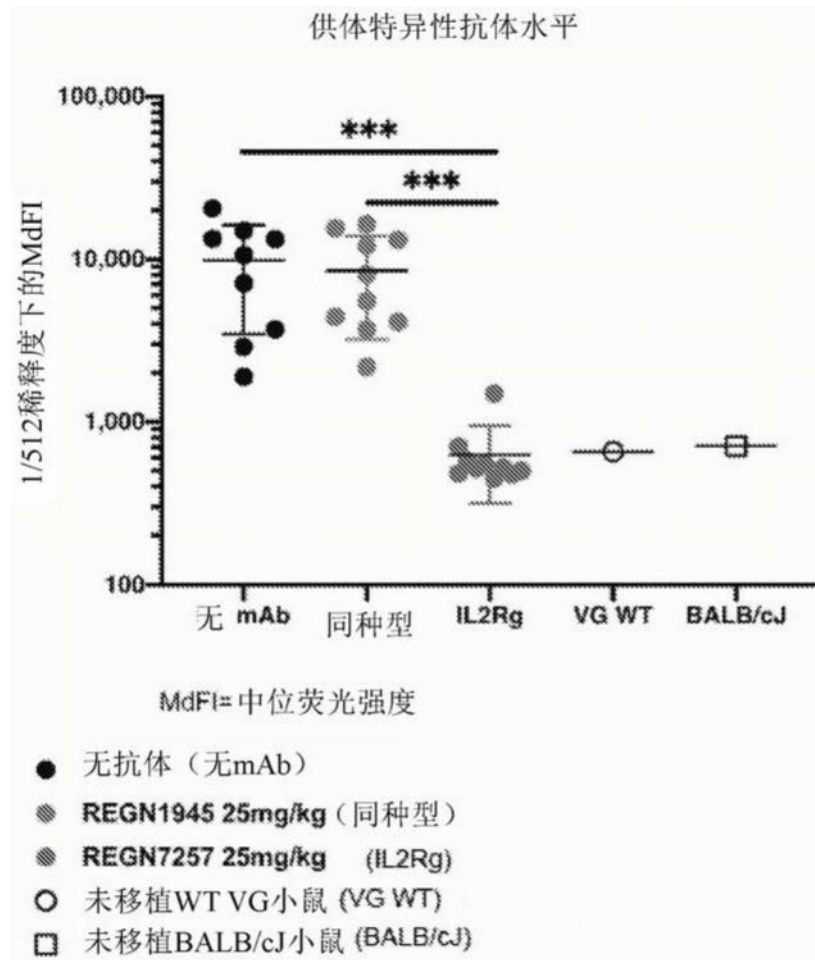


图13