



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117412770 A

(43) 申请公布日 2024. 01. 16

(21) 申请号 202280013601.9

宇文辉 单波 梅建明

(22) 申请日 2022.02.08

(74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所

11517

(66) 本国优先权数据

专利代理师 赵昊 汪烨君

PCT/CN2021/076075 2021.02.08 CN

202210088172.3 2022.01.25 CN

(51) Int. Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.08.04

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/015711 2022.02.08

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/170280 EN 2022.08.11

(71) 申请人 德琪(杭州)生物有限公司

地址 200051 上海市长宁区中山西路1065

号SOHO中山广场B座1206-1209室

权利要求书11页 说明书75页

(72) 发明人 陈朋 侯冰 邓敏 刘芸 罗佳美

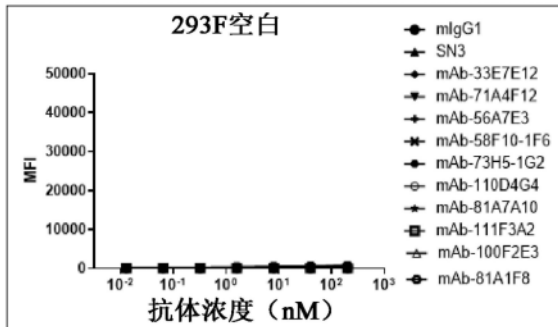
序列表77页 附图53页

(54) 发明名称

新颖抗CD24抗体

(57) 摘要

本公开提供了抗CD24抗体和抗CD24/CD47双特异性抗体分子、编码其的分离的多核苷酸、包含其的药物组合物以及其用途。



1. 一种分离的抗体或其抗原结合片段,其包含1、2或3个选自由以下组成的群组的重链互补决定区(CDR)序列:SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、14、16、17、18、19、21、23、25、27、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、95、96、97、104、105、106、113、114、115、126、127、128、136、137、150、151、152、160、161、162、168、169、170、222、223和224,和/或1、2或3个选自由以下组成的群组的轻链CDR序列:SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、13、15、20、22、24、26、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、98、99、100、107、108、116、117、129、130、131、138、139、140、145、153、154、155、163、171、172、173、184、185、186、187、188、225、226和227。

2. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其包含选自由以下组成的群组的重链可变区:

a) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:5的CDR序列;

b) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:11的CDR序列;

c) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11的CDR序列;

d) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的CDR序列;

e) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:23的CDR序列;

f) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28的CDR序列;

g) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:30和SEQ ID NO:28的CDR序列;

h) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34和SEQ ID NO:36的CDR序列;

i) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40和SEQ ID NO:42的CDR序列;

j) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46和SEQ ID NO:48的CDR序列;

k) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的CDR序列;

l) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的CDR序列;

m) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:114和SEQ ID NO:115的CDR序列;

n) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127和SEQ ID NO:128的CDR序列;

o) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:136和SEQ ID NO:137的CDR序列;

p) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:151和SEQ ID NO:152的CDR序列;

q) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:161和SEQ ID NO:162的CDR序列;

r) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:169和SEQ ID NO:170的CDR序列;和

s) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:223和SEQ ID NO:224的CDR序列。

3. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包含选自由以下组成的群组的轻链可变区:

a) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:6的CDR序列;

b) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:12的CDR序列;

c) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:15的CDR序列;

d) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:24的CDR序列;

e) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:24的CDR序列;

f) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:31的CDR序列;

g) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:37的CDR序列;

h) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:43的CDR序列;

i) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47和SEQ ID NO:49的CDR序列;

j) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的CDR序列;

k) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

l) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117的CDR序列;

m) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130和SEQ ID NO:131的CDR序列;

n) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:138、SEQ ID NO:139和SEQ ID NO:140的CDR序列;

o) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:145和SEQ ID NO:24的

CDR序列;

p) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:153、SEQ ID NO:154和SEQ ID NO:155的CDR序列;

q) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:154和SEQ ID NO:155的CDR序列;

r) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:171、SEQ ID NO:172和SEQ ID NO:173的CDR序列;

s) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

t) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:185、SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

u) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:186、SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

v) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

w) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;和

x) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:226和SEQ ID NO:227的CDR序列。

4. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包含:

a) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:5的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:6的CDR序列;

b) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:11的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:12的CDR序列;

c) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:15的CDR序列;

d) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:15的CDR序列;

e) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:23的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:24的CDR序列;

f) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:24的CDR序列;

g) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:30和SEQ ID NO:28的

CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:31的CDR序列;

h) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34和SEQ ID NO:36的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:37的CDR序列;

i) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40和SEQ ID NO:42的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:43的CDR序列;

j) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46和SEQ ID NO:48的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47和SEQ ID NO:49的CDR序列;

k) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的CDR序列;

l) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

m) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:114和SEQ ID NO:115的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117的CDR序列;

n) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127和SEQ ID NO:128的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130和SEQ ID NO:131的CDR序列;

o) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:136和SEQ ID NO:137的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:138、SEQ ID NO:139和SEQ ID NO:140的CDR序列;

p) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:30和SEQ ID NO:28的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:145和SEQ ID NO:24的CDR序列;

q) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:151和SEQ ID NO:152的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:153、SEQ ID NO:154和SEQ ID NO:155的CDR序列;

r) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:161和SEQ ID NO:162的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:154和SEQ ID NO:155的CDR序列;

s) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:169和SEQ ID NO:170的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:171、SEQ ID NO:172和SEQ ID NO:173的CDR序列;

t) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106

的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

u) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:185、SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

v) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:186、SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

w) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

x) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;或

y) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:223和SEQ ID NO:224的CDR序列;和 κ 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:226和SEQ ID NO:227的CDR序列。

5. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包含选自由以下组成的群组的重链可变区:SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:156、SEQ ID NO:164、SEQ ID NO:174、SEQ ID NO:177、SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:179、SEQ ID NO:189、SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:191、SEQ ID NO:192、SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:194和与其具有至少80%序列一致性的同源序列。

6. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包含选自由以下组成的群组的轻链可变区:SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:158、SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:176、SEQ ID NO:180、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182、SEQ ID NO:183、SEQ ID NO:195、SEQ ID NO:196、SEQ ID NO:197、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:200、SEQ ID NO:201、SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:203、SEQ ID NO:221和与其具有至少80%序列一致性的同源序列。

7. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包含:

- a) 包含SEQ ID NO:50的重链可变区和包含SEQ ID NO:52的轻链可变区;
- b) 包含SEQ ID NO:54的重链可变区和包含SEQ ID NO:56的轻链可变区;
- c) 包含SEQ ID NO:58的重链可变区和包含SEQ ID NO:64的轻链可变区;
- d) 包含SEQ ID NO:62的重链可变区和包含SEQ ID NO:64的轻链可变区;
- e) 包含SEQ ID NO:66的重链可变区和包含SEQ ID NO:68的轻链可变区;
- f) 包含SEQ ID NO:70的重链可变区和包含SEQ ID NO:72的轻链可变区;

- g) 包含SEQ ID NO:74的重链可变区和包含SEQ ID NO:76的轻链可变区；
h) 包含SEQ ID NO:78的重链可变区和包含SEQ ID NO:80的轻链可变区；
i) 包含SEQ ID NO:82的重链可变区和包含SEQ ID NO:84的轻链可变区；
j) 包含SEQ ID NO:86的重链可变区和包含SEQ ID NO:88的轻链可变区；
k) 包含SEQ ID NO:101的重链可变区和包含SEQ ID NO:103的轻链可变区；
l) 包含SEQ ID NO:109的重链可变区和包含SEQ ID NO:111的轻链可变区；
m) 包含SEQ ID NO:118的重链可变区和包含SEQ ID NO:120或SEQ ID NO:221的轻链可变区；
n) 包含SEQ ID NO:122的重链可变区和包含SEQ ID NO:124的轻链可变区；
o) 包含SEQ ID NO:132的重链可变区和包含SEQ ID NO:134的轻链可变区；
p) 包含SEQ ID NO:141的重链可变区和包含SEQ ID NO:143的轻链可变区；
q) 包含SEQ ID NO:146的重链可变区和包含SEQ ID NO:148的轻链可变区；
r) 包含SEQ ID NO:156的重链可变区和包含SEQ ID NO:158的轻链可变区；
s) 包含SEQ ID NO:164的重链可变区和包含SEQ ID NO:166的轻链可变区；
t) 包含SEQ ID NO:174的重链可变区和包含SEQ ID NO:176的轻链可变区；
u) 包含SEQ ID NO:177的重链可变区和包含SEQ ID NO:180的轻链可变区；
v) 包含SEQ ID NO:178的重链可变区和包含SEQ ID NO:180的轻链可变区；
w) 包含SEQ ID NO:179的重链可变区和包含SEQ ID NO:180的轻链可变区；
x) 包含SEQ ID NO:177的重链可变区和包含SEQ ID NO:181的轻链可变区；
y) 包含SEQ ID NO:178的重链可变区和包含SEQ ID NO:181的轻链可变区；
z) 包含SEQ ID NO:179的重链可变区和包含SEQ ID NO:181的轻链可变区；aa) 包含SEQ ID NO:177的重链可变区和包含SEQ ID NO:182的轻链可变区；bb) 包含SEQ ID NO:178的重链可变区和包含SEQ ID NO:182的轻链可变区；cc) 包含SEQ ID NO:179的重链可变区和包含SEQ ID NO:182的轻链可变区；dd) 包含SEQ ID NO:177的重链可变区和包含SEQ ID NO:183的轻链可变区；ee) 包含SEQ ID NO:178的重链可变区和包含SEQ ID NO:183的轻链可变区；ff) 包含SEQ ID NO:179的重链可变区和包含SEQ ID NO:183的轻链可变区；gg) 包含SEQ ID NO:189的重链可变区和包含SEQ ID NO:195的轻链可变区；hh) 包含SEQ ID NO:189的重链可变区和包含SEQ ID NO:196的轻链可变区；ii) 包含SEQ ID NO:189的重链可变区和包含SEQ ID NO:197的轻链可变区；jj) 包含SEQ ID NO:189的重链可变区和包含SEQ ID NO:198的轻链可变区；kk) 包含SEQ ID NO:189的重链可变区和包含SEQ ID NO:199的轻链可变区；ll) 包含SEQ ID NO:190的重链可变区和包含SEQ ID NO:200的轻链可变区；mm) 包含SEQ ID NO:190的重链可变区和包含SEQ ID NO:201的轻链可变区；nn) 包含SEQ ID NO:190的重链可变区和包含SEQ ID NO:202的轻链可变区；oo) 包含SEQ ID NO:190的重链可变区和包含SEQ ID NO:203的轻链可变区；pp) 包含SEQ ID NO:191的重链可变区和包含SEQ ID NO:200的轻链可变区；qq) 包含SEQ ID NO:191的重链可变区和包含SEQ ID NO:201的轻链可变区；rr) 包含SEQ ID NO:191的重链可变区和包含SEQ ID NO:202的轻链可变区；ss) 包含SEQ ID NO:191的重链可变区和包含SEQ ID NO:203的轻链可变区；tt) 包含SEQ ID NO:192的重链可变区和包含SEQ ID NO:200的轻链可变区；
uu) 包含SEQ ID NO:192的重链可变区和包含SEQ ID NO:201的轻链可变区；

- vv) 包含SEQ ID NO:192的重链可变区和包含SEQ ID NO:202的轻链可变区；
ww) 包含SEQ ID NO:192的重链可变区和包含SEQ ID NO:203的轻链可变区；
xx) 包含SEQ ID NO:193的重链可变区和包含SEQ ID NO:200的轻链可变区；
yy) 包含SEQ ID NO:193的重链可变区和包含SEQ ID NO:201的轻链可变区；
zz) 包含SEQ ID NO:193的重链可变区和包含SEQ ID NO:202的轻链可变区；
aaa) 包含SEQ ID NO:193的重链可变区和包含SEQ ID NO:203的轻链可变区；
bbb) 包含SEQ ID NO:194的重链可变区和包含SEQ ID NO:200的轻链可变区；
ccc) 包含SEQ ID NO:194的重链可变区和包含SEQ ID NO:201的轻链可变区；
ddd) 包含SEQ ID NO:194的重链可变区和包含SEQ ID NO:202的轻链可变区；或
eee) 包含SEQ ID NO:194的重链可变区和包含SEQ ID NO:203的轻链可变区。
8. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其进一步包含一个或多个氨基酸残基取代或修饰,但仍保持与人类CD24或食蟹猕猴CD24的特异性结合亲和力。
9. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述取代在一个或多个CDR序列中,和/或在一个或多个所述VH或VL序列中但不在任一个所述CDR序列中。
10. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其进一步包含免疫球蛋白恒定区,任选地人类Ig的恒定区,或任选地人类IgG的恒定区。
11. 根据权利要求10所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述恒定区包含人类IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的恒定区。
12. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其为嵌合的或人源化的。
13. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其为双功能抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv片段、二硫键稳定的Fv片段(dsFv)、(dsFv)₂、双特异性dsFv(dsFv-dsFv')、二硫键稳定的双功能抗体(ds双功能抗体)、单链抗体分子(scFv)、scFv二聚体(二价双功能抗体)、多特异性抗体、骆驼化单结构域抗体、纳米抗体、结构域抗体和二价结构域抗体。
14. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其为双特异性的。
15. 根据权利要求14所述的抗体或其抗原结合片段,其能够与CD24的第一和第二表位特异性结合,或能够与CD24和第二抗原特异性结合。
16. 根据权利要求15所述的抗体或其抗原结合片段,其经由Fab结合CD24且经由scFv结合所述第二抗原。
17. 根据权利要求16所述的抗体或其抗原结合片段,所述第二抗原结合scFv可操作地连接于所述CD24结合Fab之后的所述重链恒定区的C端。
18. 根据权利要求17所述的抗体或其抗原结合片段,所述双特异性抗体分子包含呈以下型式的重链:VH(抗CD24)-CH1-铰链-CH2-CH3-间隔子-第二抗原结合scFv,所述重链与呈VL(抗CD24)-CL型式的轻链缔合。
19. 根据权利要求15至18中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗原为免疫相关靶标,其任选地选自自由以下组成的群组:PD-L1、PD-L2、PD-1、CLTA-4、TIM-3、LAG3、CD160、2B4、TGFβ、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、OX40、CD2、CD27、ICAM-1、NKG2C、SLAMF7、Nkp80、CD160、B7-H3、LFA-1、ICOS、4-1BB、GITR、CD30、CD40、BAFFR、HVEM、CD7、LIGHT、IL-2、

IL-15、CD3、CD16、SIRP α 、Siglec 10、LILRB2、Clever-1、Macro、LILRB4、Siglec15、CSF1R、PSGL-1、VSIG-4、B2M和CD83。

20. 根据权利要求16所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗原包含肿瘤抗原。

21. 根据权利要求20所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述肿瘤抗原包含CA-125、神经节苷脂G (D2)、神经节苷脂G (M2) 和神经节苷脂G (D3)、CD19、CD20、CD33、CD47、CD52、Ep-CAM、CEA、CLDN18.2、铃蟾素样肽、PSA、HER2/neu、表皮生长因子受体 (EGFR)、erbB2、erbB3/HER3、erbB4、CD44v6、CD44v9、Ki-67、癌症相关粘蛋白、VEGF、VEGFR (例如VEGFR3)、雌激素受体、Lewis-Y抗原、TGF β 1、IGF-1受体、EGF α 、c-Kit受体、转铁蛋白受体、IL-2R、CDH6、CEA、FOLR1、TROP2、PTK7、SLITRK6、CD142、NECTIN-4、ROR1、ROR2、CD142、CD123、CD22、CD79b、DLL3、SLC家族或C017-1A。

22. 根据权利要求21所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述肿瘤抗原为CD47。

23. 根据权利要求22所述的抗体或其抗原结合片段,其包含呈以下型式的重链:VH (抗CD24)-CH1-铰链-CH2-CH3-间隔子-scFv (抗CD47),所述重链与呈VL (抗CD24)-CL型式的轻链缔合。

24. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段连接到一个或多个缀合物,任选地,其中所述缀合物直接或经由连接子共价连接。

25. 根据权利要求24所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述缀合物包含清除调节剂、化学治疗剂、毒素、放射性同位素、镧系元素、发光标记、荧光标记、酶-底物标记、DNA烷基化剂、拓扑异构酶抑制剂、微管蛋白结合剂或其它抗癌药物。

26. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段能够与CD24特异性结合,并且任选地其中所述CD24来源于人类或食蟹猕猴,并且任选地其中所述CD24为重组CD24或在细胞表面上表达的CD24。

27. 一种抗体或其抗原结合片段,其与根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段竞争相同表位。

28. 根据权利要求27所述的抗体或其抗原结合片段,其与包含以下的抗体或其抗原结合片段竞争相同表位:重链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和轻链可变区,其包含LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述LCDR1包含选自自由SEQ ID NO:107、184、185、186、187和188组成的群组的氨基酸序列,所述LCDR2包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列,且所述LCDR3包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列。

29. 根据权利要求27所述的抗体或其抗原结合片段,其与包含以下的抗体或其抗原结合片段竞争相同表位:重链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和轻链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

30. 根据权利要求28或29所述的抗体或其抗原结合片段,其相对于非癌细胞选择性地结合于癌细胞中表达的CD24。

31. 一种药物组合物,其包含根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,和药学上可接受的载剂。

32. 根据权利要求31所述的药物组合物,其进一步包含第二治疗剂,任选地,其中所述第二治疗剂为针对一种或多种免疫抑制分子的拮抗剂,或抗癌剂 (例如,奥沙利铂、阿特珠

单抗、利妥昔单抗)。

33. 根据权利要求32所述的药物组合物,其中所述第二治疗剂为CD47拮抗剂,任选地,其中所述CD47拮抗剂为SIRP α -Fc融合蛋白或其变体,或抗CD47抗体或其抗原结合片段。

34. 一种分离的多核苷酸,其编码根据权利要求1至26中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

35. 根据权利要求34所述的分离的多核苷酸,其包含选自由以下组成的群组的核苷酸序列:SEQ ID NO:51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、102、110、204、205、206、207、208、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、219和220。

36. 一种载体,其包含根据权利要求34或35所述的分离的多核苷酸。

37. 一种宿主细胞,其包含根据权利要求36所述的载体。

38. 一种表达根据权利要求1至26中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的方法,其包括在表达根据权利要求36所述的载体的条件下培养根据权利要求37所述的宿主细胞。

39. 一种治疗将受益于CD24活性的调节的受试者的疾病或病状的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的根据权利要求1至26中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或根据权利要求31至33中任一项所述的药物组合物。

40. 根据权利要求39所述的方法,其中所述疾病或病状为CD24相关疾病或病状。

41. 根据权利要求39所述的方法,其中所述疾病或病状为癌症、适应性免疫疾病、自身免疫疾病、发炎性疾病或感染性疾病。

42. 根据权利要求41所述的方法,其中所述癌症为肺癌、支气管癌、骨癌、肝脏和胆管癌、胰腺癌、乳腺癌、肝癌、卵巢癌、睾丸癌、肾癌、膀胱癌、头颈癌、脊柱癌、脑癌、宫颈癌、子宫癌、子宫内膜癌、结肠癌、结肠直肠癌、直肠癌、肛门癌、食道癌、胃肠癌、皮肤癌、前列腺癌、垂体癌、胃癌、阴道癌、甲状腺癌、胶质母细胞瘤、星形细胞瘤、黑色素瘤、骨髓发育不良综合症、肉瘤、畸胎瘤、腺癌、白血病、骨髓瘤和淋巴瘤,任选地,其中所述癌症具有化疗耐药性。

43. 根据权利要求41所述的方法,其中所述疾病或病状为选自以下的血液癌: B细胞淋巴瘤、任选的霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、急性淋巴细胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤(MM)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、边缘区B细胞淋巴瘤(MZL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、瑞希特氏综合症、伯基特氏淋巴瘤或滤泡性淋巴瘤。

44. 根据权利要求39所述的方法,其中所述受试者为人类。

45. 根据权利要求39所述的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的第二治疗剂,任选地,其中所述第二治疗剂为针对一种或多种免疫抑制分子的拮抗剂。

46. 根据权利要求45所述的方法,其中所述第二治疗剂为CD47拮抗剂,任选地,其中所述CD47拮抗剂为SIRP α -Fc融合蛋白或其变体,或抗CD47抗体或其抗原结合片段。

47. 根据权利要求39至46中任一项所述的方法,其中所述施用是经由口服、鼻、静脉内、皮下、舌下或肌肉内施用。

48. 一种调节表达CD24的细胞中的CD24活性的方法,其包括使所述表达CD24的细胞暴露于根据权利要求1至26中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

49. 一种检测样品中CD24的存在或量的方法,其包括使所述样品与根据权利要求1至26

中任一项所述的抗体或其抗原结合片段接触,和确定所述样品中CD24的存在或量。

50. 一种诊断受试者的CD24相关疾病或病状的方法,其包括:a)从所述受试者获得样品;b)使从所述受试者获得的所述样品与根据权利要求1至26中任一项所述的抗体或其抗原结合片段接触;c)确定所述样品中CD24的存在或量;和d)将所述CD24的存在或量与所述受试者的所述CD24相关疾病或病状的存在或状态相关联。

51. 根据权利要求1至26中任一项所述的抗体或其抗原结合片段在制造用于治疗受试者的CD24相关疾病或病状的药剂中的用途。

52. 根据权利要求51所述的用途,其中所述药剂进一步包含第二治疗剂,任选地,其中所述第二治疗剂为针对一种或多种免疫抑制分子的拮抗剂。

53. 根据权利要求52所述的用途,其中所述第二治疗剂为CD47拮抗剂,任选地,其中所述CD47拮抗剂为SIRP α -Fc融合蛋白或其变体,或抗CD47抗体或其抗原结合片段。

54. 根据权利要求1至26中任一项所述的抗体或其抗原结合片段在制造用于诊断CD24相关疾病或病状的诊断试剂中的用途。

55. 一种包括根据权利要求1至26中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的试剂盒,其适用于检测CD24、任选的重组CD24、在细胞表面上表达的CD24或表达CD24的细胞。

56. 一种嵌合抗原受体(CAR),其包含抗原结合结构域、跨膜结构域、共刺激信号传导区和TCR信号传导结构域,其中所述抗原结合结构域与CD24特异性结合且包含根据权利要求1至26中任一项所述的抗原结合片段。

57. 根据权利要求56所述的CAR,其中所述抗原结合片段为Fab或scFv。

58. 根据权利要求56或57所述的CAR,其为双特异性的。

59. 根据权利要求58所述的CAR,其中所述CAR能够进一步特异性结合于除CD24以外的第二抗原,或CD24上的第二表位。

60. 根据权利要求59所述的CAR,其中所述第二抗原为肿瘤抗原。

61. 根据权利要求56所述的CAR,其中所述TCR信号传导结构域选自由以下组成的群组:CD3 ζ 、FccRI γ 、CD27、CD28、CD137、CD134、MyD88、CD40、CD278、TLR或其组合的胞内信号区序列。

62. 根据权利要求56所述的CAR,其中所述跨膜区包含CD3、CD4、CD8或CD28的跨膜区。

63. 一种核酸序列,其编码根据权利要求56至62中任一项所述的嵌合抗原受体(CAR)。

64. 一种细胞,其包含根据权利要求63所述的核酸序列。

65. 一种细胞,其被基因修饰以表达根据权利要求56至62中任一项所述的CAR。

66. 根据权利要求65所述的细胞,其中所述细胞为免疫细胞,任选地,其中所述免疫细胞为T淋巴细胞、NK细胞、单核细胞、巨噬细胞或NKT淋巴细胞。

67. 一种载体,其包含根据权利要求63所述的核酸序列。

68. 一种用于刺激哺乳动物中T细胞介导的对表达CD24的细胞或组织的免疫反应的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用有效量的细胞,所述细胞被基因修饰以表达根据权利要求56至62中任一项所述的CAR。

69. 一种治疗患有CD24相关疾病或病状的哺乳动物的方法,其包括向所述哺乳动物施用有效量的根据权利要求65所述的细胞,由此治疗所述哺乳动物。

70. 根据权利要求69所述的方法,其中所述细胞为自体T细胞。

71. 根据权利要求69所述的方法,其中所述CD24相关疾病或病状为癌症。

72. 根据权利要求69所述的方法,其中所述哺乳动物为人类受试者。

73. 一种治疗有需要的受试者的癌症的方法,其包括施用抗CD24抗体或其抗原结合片段,所述抗CD24抗体或其抗原结合片段仅结合于糖基化或唾液酸化CD24,优选地仅结合于CD24唾液酸。

74. 根据权利要求73所述的方法,其中所述抗CD24抗体或其抗原结合片段相对于非癌细胞选择性地结合于癌细胞中表达的CD24。

75. 根据权利要求74所述的方法,其中所述抗CD24抗体或其抗原结合片段与抗体或其抗原结合片段竞争相同表位,所述抗体或其抗原结合片段包含:重链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和轻链可变区,其包含LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述LCDR1包含选自由SEQ ID NO:107、184、185、186、187和188组成的群组的氨基酸序列,所述LCDR2包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列,且所述LCDR3包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列,或包含:重链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和轻链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

76. 根据权利要求75所述的方法,其中所述抗CD24抗体或其抗原结合片段包含:重链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和轻链可变区,其包含LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述LCDR1包含选自由SEQ ID NO:107、184、185、186、187和188组成的群组的氨基酸序列,所述LCDR2包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列,且所述LCDR3包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列,或包含:重链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和轻链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

新颖抗CD24抗体

发明领域

[0001] 本公开大体上涉及新颖抗CD24抗体。

背景技术

[0002] 分化簇24 (CD24, UniProt: P25063) (也称为热稳定抗原 (Heat Stable Atigen; HSA) 或小细胞肺癌簇4抗原) 为32氨基酸粘蛋白样糖基化磷脂酰肌醇 (GPI) 锚定分子, 其高度糖基化且经由GPI连接锚定到细胞表面。CD24可与先天性免疫细胞 (例如巨噬细胞) 上表达的唾液酸结合Ig样凝集素10 (Siglec-10) 相互作用, 以便减少对感染、败血症、肝损伤和慢性移植物抗宿主疾病的损伤性发炎性反应 (Pirruccello等人, 《免疫学杂志 (J. Immunol.)》136, 3779-3784 (1986); Chen等人, 《糖生物学 (Glycobiology)》9, 800-806 (2014); Chen等人, 《细胞 (Cell)》152 (3), 467-478; Chen GY等人《自然·生物技术 (Nature Biotechnology)》29, 428-435 (2011); Chen GY等人《科学 (Science)》323 (5922), 1722-1725 (2009); 和Toubai T等人《血液 (Blood)》123 (22), 3512-3513 (2014))。CD24与Siglec-10的结合诱导由SHP-1和/或SHP-2磷酸酶介导的抑制性信号级联, 所述磷酸酶与Siglec-10的细胞质尾区中的基于两种免疫受体酪氨酸的抑制基序 (ITIM) 相关, 由此阻断铯样受体 (TLR) 介导的发炎和通过巨噬细胞进行细胞吞噬所需的细胞骨架重排 (Crocker PR等人, 《自然综述免疫学 (Nature Reviews Immunology.)》7, 255-266 (2007); Abram CL等人, 《白细胞生物学杂志 (J. Leukoc Biol.)》102 (3), 657-675 (2017) 和Dietrich J等人, 《免疫学杂志》166 (4), 2514-2521 (2001) 12-14)。

[0003] 已在基于免疫组织化学研究的各种癌细胞中观测到CD24的过度表达, 包括但不限于乳腺癌 (85%)、直肠癌 (84%)、卵巢癌 (83%)、胰腺癌 (72%)、膀胱癌 (62%)、胆管癌 (51%)、前列腺癌 (48%) 和小细胞肺癌 (45%)。28项研究的元分析 (meta-analysis) 揭露CD24在68%的人类癌症中过度表达, 且CD24表达与较高自我更新能力、更多癌转移和不良预后相关 (Krisiansen G. 等人, 《美国病理学杂志 (Am J Pathol)》, 161:1215-1221, 2002; Krisiansen G. 等人, 《临床癌症研究 (Clin cancer Res)》, 9:4906-4913, 2003; Krisiansen G. 等人, 《英国癌症杂志 (Br J Cancer)》, 88:231-236, 2003; Kristiansen G. 等人, 《前列腺 (Prostate)》, 58:182-192, 2004; Hocob J. 等人, 《胰腺病学 (Pancreatology)》, 4:454-460, 2004; Samuel E D, 《生物医学中心 (BioMed Central)》, 3:3-15, 2004; Min-Cheng S. 等人, 《癌症通讯 (Cancer letter)》, 1-6, 2005和Lee等人, 《肿瘤报告 (Oncol. Rep.)》2009, 22, 1149-1156)。近期研究显示, 癌细胞可采用先天性免疫系统的CD24介导的抑制作为避免被表达Siglec-10的巨噬细胞清除的机制 (Amira等人, 《自然 (Nature)》. 2019年8月; 572 (7769): 392-396)。

[0004] 尽管开发靶向CD24的治疗剂, 但存在对新颖抗CD24抗体的显著需要。

发明内容

[0005] 在整个本公开中, 冠词“一 (a/an)”和“所述”在本文中用于指一个 (种) 或多于一个

(种) (即,至少一个(种))所述冠词的语法对象。举例来说,“一抗体”意指一种抗体或多于一种抗体。

[0006] 本公开提供新颖抗CD24抗体分子、氨基酸和其核苷酸序列,和其用途。

[0007] 在一个方面中,本公开提供一种分离的抗体或其抗原结合片段,其包含1、2或3个选自由以下组成的群组的重链互补决定区(CDR)序列:SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、14、16、17、18、19、21、23、25、27、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、95、96、97、104、105、106、113、114、115、126、127、128、136、137、150、151、152、160、161、162、168、169、170、222、223和224,和/或1、2或3个选自由以下组成的群组的轻链CDR序列:SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、13、15、20、22、24、26、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、98、99、100、107、108、116、117、129、130、131、138、139、140、145、153、154、155、163、171、172、173、184、185、186、187、188、225、226和227。

[0008] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包含选自由以下组成的群组的重链可变区:

[0009] a) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:5的CDR序列;

[0010] b) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:11的CDR序列;

[0011] c) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11的CDR序列;

[0012] d) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的CDR序列;

[0013] e) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:23的CDR序列;

[0014] f) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28的CDR序列;

[0015] g) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:30和SEQ ID NO:28的CDR序列;

[0016] h) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34和SEQ ID NO:36的CDR序列;

[0017] i) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40和SEQ ID NO:42的CDR序列;

[0018] j) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46和SEQ ID NO:48的CDR序列;

[0019] k) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的CDR序列;

[0020] l) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的CDR序列;

[0021] m) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:114和SEQ ID NO:115的CDR序列;

[0022] n) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127和SEQ IDNO:128的CDR序列;

[0023] o) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:136和SEQ IDNO:137的CDR序列;

[0024] p) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:151和SEQ IDNO:152的CDR序列;

[0025] q) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:161和SEQ IDNO:162的CDR序列;

[0026] r) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:169和SEQ IDNO:170的CDR序列;和

[0027] s) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:223和SEQ IDNO:224的CDR序列。

[0028] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包含选自由以下组成的群组的轻链可变区:

[0029] a) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:6的CDR序列;

[0030] b) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:12的CDR序列;

[0031] c) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:15的CDR序列;

[0032] d) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:24的CDR序列;

[0033] e) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:24的CDR序列;

[0034] f) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:31的CDR序列;

[0035] g) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:37的CDR序列;

[0036] h) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:43的CDR序列;

[0037] i) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47和SEQ ID NO:49的CDR序列;

[0038] j) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的CDR序列;

[0039] k) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:108和SEQ IDNO:37的CDR序列;

[0040] l) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:116和SEQ IDNO:117的CDR序列;

[0041] m) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130和SEQ IDNO:

131的CDR序列;

[0042] n) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:138、SEQ ID NO:139和SEQ IDNO:140的CDR序列;

[0043] o) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:145和SEQ IDNO:24的CDR序列;

[0044] p) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:153、SEQ ID NO:154和SEQ IDNO:155的CDR序列;

[0045] q) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:154和SEQ IDNO:155的CDR序列;

[0046] r) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:171、SEQ ID NO:172和SEQ IDNO:173的CDR序列;

[0047] s) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:184、SEQ ID NO:108和SEQ IDNO:37的CDR序列;

[0048] t) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:185、SEQ ID NO:108和SEQ IDNO:37的CDR序列;

[0049] u) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:186、SEQ ID NO:108和SEQ IDNO:37的CDR序列;

[0050] v) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:108和SEQ IDNO:37的CDR序列;

[0051] w) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:108和SEQ IDNO:37的CDR序列;和

[0052] x) 轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:226和SEQ IDNO:227的CDR序列。

[0053] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包含:

[0054] a) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:5的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:6的CDR序列;

[0055] b) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:11的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:12的CDR序列;

[0056] c) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:15的CDR序列;

[0057] d) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:15的CDR序列;

[0058] e) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:23的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:24的CDR序列;

[0059] f) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:24的CDR序列;

[0060] g) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:30和SEQ ID NO:28的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:31的CDR序列;

[0061] h) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34和SEQ ID NO:36的CDR序列;和轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:37的CDR序列;

[0062] i) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:40和SEQ ID NO:42的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:43的CDR序列;

[0063] j) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46和SEQ ID NO:48的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47和SEQ ID NO:49的CDR序列;

[0064] k) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的CDR序列;

[0065] l) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

[0066] m) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:114和SEQ ID NO:115的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:116和SEQ ID NO:117的CDR序列;

[0067] n) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127和SEQ ID NO:128的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130和SEQ ID NO:131的CDR序列;

[0068] o) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:136和SEQ ID NO:137的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:138、SEQ ID NO:139和SEQ ID NO:140的CDR序列;

[0069] p) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:30和SEQ ID NO:28的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:145和SEQ ID NO:24的CDR序列;

[0070] q) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:151和SEQ ID NO:152的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:153、SEQ ID NO:154和SEQ ID NO:155的CDR序列;

[0071] r) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:161和SEQ ID NO:162的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:154和SEQ ID NO:155的CDR序列;

[0072] s) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:169和SEQ IDNO:170的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:171、SEQ IDNO:172和SEQ ID NO:173的CDR序列;

[0073] t) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ IDNO:106的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:184、SEQ IDNO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

[0074] u) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ IDNO:106的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:185、SEQ IDNO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

[0075] v) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ IDNO:106的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:186、SEQ IDNO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

[0076] w) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ IDNO:106的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:187、SEQ IDNO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;

[0077] x) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ IDNO:106的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:188、SEQ IDNO:108和SEQ ID NO:37的CDR序列;或

[0078] y) 重链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:223和SEQ IDNO:224的CDR序列;和κ轻链可变区,其包含1、2或3个选自SEQ ID NO:225、SEQ IDNO:226和SEQ ID NO:227的CDR序列。

[0079] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包含选自由以下组成的群组的重链可变区:SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:62、SEQ IDNO:66、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:156、SEQ ID NO:164、SEQ ID NO:174、SEQ ID NO:177、SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:179、SEQ ID NO:189、SEQ ID NO:190、SEQ ID NO:191、SEQ ID NO:192、SEQ ID NO:193、SEQ ID NO:194和与其具有至少80% (例如,至少85%、88%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%) 序列一致性的同源序列。

[0080] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包含选自由以下组成的群组的轻链可变区:SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:68、SEQ IDNO:72、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:158、SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:176、SEQ ID NO:180、SEQ ID NO:181、SEQ ID NO:182、SEQ ID NO:183、SEQ ID NO:195、SEQ ID NO:196、SEQ ID NO:197、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:200、SEQ ID NO:201、SEQ ID NO:202、SEQ ID NO:203、SEQ ID NO:221和与其具有至少80% (例如,至少85%、88%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%) 序列一致性的同源序列。

[0081] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包含:

- [0082] a) 包含SEQ ID NO:50的重链可变区和包含SEQ ID NO:52的轻链可变区;
- [0083] b) 包含SEQ ID NO:54的重链可变区和包含SEQ ID NO:56的轻链可变区;
- [0084] c) 包含SEQ ID NO:58的重链可变区和包含SEQ ID NO:64的轻链可变区;
- [0085] d) 包含SEQ ID NO:62的重链可变区和包含SEQ ID NO:64的轻链可变区;
- [0086] e) 包含SEQ ID NO:66的重链可变区和包含SEQ ID NO:68的轻链可变区;
- [0087] f) 包含SEQ ID NO:70的重链可变区和包含SEQ ID NO:72的轻链可变区;
- [0088] g) 包含SEQ ID NO:74的重链可变区和包含SEQ ID NO:76的轻链可变区;
- [0089] h) 包含SEQ ID NO:78的重链可变区和包含SEQ ID NO:80的轻链可变区;
- [0090] i) 包含SEQ ID NO:82的重链可变区和包含SEQ ID NO:84的轻链可变区;
- [0091] j) 包含SEQ ID NO:86的重链可变区和包含SEQ ID NO:88的轻链可变区;
- [0092] k) 包含SEQ ID NO:101的重链可变区和包含SEQ ID NO:103的轻链可变区;
- [0093] l) 包含SEQ ID NO:109的重链可变区和包含SEQ ID NO:111的轻链可变区;
- [0094] m) 包含SEQ ID NO:118的重链可变区和包含SEQ ID NO:120或SEQ ID NO:221的轻链可变区;
- [0095] n) 包含SEQ ID NO:122的重链可变区和包含SEQ ID NO:124的轻链可变区;
- [0096] o) 包含SEQ ID NO:132的重链可变区和包含SEQ ID NO:134的轻链可变区;
- [0097] p) 包含SEQ ID NO:141的重链可变区和包含SEQ ID NO:143的轻链可变区;
- [0098] q) 包含SEQ ID NO:146的重链可变区和包含SEQ ID NO:148的轻链可变区;
- [0099] r) 包含SEQ ID NO:156的重链可变区和包含SEQ ID NO:158的轻链可变区;
- [0100] s) 包含SEQ ID NO:164的重链可变区和包含SEQ ID NO:166的轻链可变区;
- [0101] t) 包含SEQ ID NO:174的重链可变区和包含SEQ ID NO:176的轻链可变区;
- [0102] u) 包含SEQ ID NO:177的重链可变区和包含SEQ ID NO:180的轻链可变区;
- [0103] v) 包含SEQ ID NO:178的重链可变区和包含SEQ ID NO:180的轻链可变区;
- [0104] w) 包含SEQ ID NO:179的重链可变区和包含SEQ ID NO:180的轻链可变区;
- [0105] x) 包含SEQ ID NO:177的重链可变区和包含SEQ ID NO:181的轻链可变区;
- [0106] y) 包含SEQ ID NO:178的重链可变区和包含SEQ ID NO:181的轻链可变区;
- [0107] z) 包含SEQ ID NO:179的重链可变区和包含SEQ ID NO:181的轻链可变区;
- [0108] aa) 包含SEQ ID NO:177的重链可变区和包含SEQ ID NO:182的轻链可变区;
- [0109] bb) 包含SEQ ID NO:178的重链可变区和包含SEQ ID NO:182的轻链可变区;
- [0110] cc) 包含SEQ ID NO:179的重链可变区和包含SEQ ID NO:182的轻链可变区;
- [0111] dd) 包含SEQ ID NO:177的重链可变区和包含SEQ ID NO:183的轻链可变区;
- [0112] ee) 包含SEQ ID NO:178的重链可变区和包含SEQ ID NO:183的轻链可变区;
- [0113] ff) 包含SEQ ID NO:179的重链可变区和包含SEQ ID NO:183的轻链可变区;
- [0114] gg) 包含SEQ ID NO:189的重链可变区和包含SEQ ID NO:195的轻链可变区;
- [0115] hh) 包含SEQ ID NO:189的重链可变区和包含SEQ ID NO:196的轻链可变区;
- [0116] ii) 包含SEQ ID NO:189的重链可变区和包含SEQ ID NO:197的轻链可变区;
- [0117] jj) 包含SEQ ID NO:189的重链可变区和包含SEQ ID NO:198的轻链可变区;
- [0118] kk) 包含SEQ ID NO:189的重链可变区和包含SEQ ID NO:199的轻链可变区;
- [0119] ll) 包含SEQ ID NO:190的重链可变区和包含SEQ ID NO:200的轻链可变区;

- [0120] mm) 包含SEQ ID NO:190的重链可变区和包含SEQ ID NO:201的轻链可变区;
- [0121] nn) 包含SEQ ID NO:190的重链可变区和包含SEQ ID NO:202的轻链可变区;
- [0122] oo) 包含SEQ ID NO:190的重链可变区和包含SEQ ID NO:203的轻链可变区;
- [0123] pp) 包含SEQ ID NO:191的重链可变区和包含SEQ ID NO:200的轻链可变区;
- [0124] qq) 包含SEQ ID NO:191的重链可变区和包含SEQ ID NO:201的轻链可变区;
- [0125] rr) 包含SEQ ID NO:191的重链可变区和包含SEQ ID NO:202的轻链可变区;
- [0126] ss) 包含SEQ ID NO:191的重链可变区和包含SEQ ID NO:203的轻链可变区;
- [0127] tt) 包含SEQ ID NO:192的重链可变区和包含SEQ ID NO:200的轻链可变区;
- [0128] uu) 包含SEQ ID NO:192的重链可变区和包含SEQ ID NO:201的轻链可变区;
- [0129] vv) 包含SEQ ID NO:192的重链可变区和包含SEQ ID NO:202的轻链可变区;
- [0130] ww) 包含SEQ ID NO:192的重链可变区和包含SEQ ID NO:203的轻链可变区;
- [0131] xx) 包含SEQ ID NO:193的重链可变区和包含SEQ ID NO:200的轻链可变区;
- [0132] yy) 包含SEQ ID NO:193的重链可变区和包含SEQ ID NO:201的轻链可变区;
- [0133] zz) 包含SEQ ID NO:193的重链可变区和包含SEQ ID NO:202的轻链可变区;
- [0134] aaa) 包含SEQ ID NO:193的重链可变区和包含SEQ ID NO:203的轻链可变区;
- [0135] bbb) 包含SEQ ID NO:194的重链可变区和包含SEQ ID NO:200的轻链可变区;
- [0136] ccc) 包含SEQ ID NO:194的重链可变区和包含SEQ ID NO:201的轻链可变区;
- [0137] ddd) 包含SEQ ID NO:194的重链可变区和包含SEQ ID NO:202的轻链可变区;或
- [0138] eee) 包含SEQ ID NO:194的重链可变区和包含SEQ ID NO:203的轻链可变区。
- [0139] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段进一步包含一个或多个氨基酸残基取代或修饰,但仍保持与人类CD24或食蟹猕猴CD24的特异性结合亲和力。
- [0140] 在一些实施方式中,所述取代在一个或多个CDR序列中,和/或在一个或多个VH或VL序列中但不在任一个CDR序列中。
- [0141] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段进一步包含免疫球蛋白恒定区,任选地人类Ig的恒定区,或任选地人类IgG的恒定区。
- [0142] 在一些实施方式中,恒定区包含人类IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的恒定区。
- [0143] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段为嵌合的或人源化的。
- [0144] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段为双功能抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv片段、二硫键稳定的Fv片段(dsFv)、(dsFv)₂、双特异性dsFv(dsFv-dsFv')、二硫键稳定的双功能抗体(ds双功能抗体)、单链抗体分子(scFv)、scFv二聚体(二价双功能抗体)、多特异性抗体、骆驼化单结构域抗体、纳米抗体、结构域抗体和二价结构域抗体。
- [0145] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段为双特异性的。
- [0146] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段能够与CD24的第一和第二表位特异性结合,或能够与CD24和第二抗原特异性结合。
- [0147] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段经由Fab或scFv结合第二抗原,任选地经由Fab结合CD24且经由scFv结合第二抗原。
- [0148] 在一些实施方式中,双特异性抗体分子包含呈以下型式重链:VH(抗CD24)-CH1-铰链-CH2-CH3-间隔子-第二抗原结合scFv,所述重链与呈VL(抗CD24)-CL型式的轻链缔合。

[0149] 在一些实施方式中,第二抗原为免疫相关靶标,其任选地选自由以下组成的群组:PD-L1、PD-L2、PD-1、CLTA-4、TIM-3、LAG3、CD160、2B4、TGF β 、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、OX40、CD2、CD27、ICAM-1、NKG2C、SLAMF7、NKp80、CD160、B7-H3、LFA-1、ICOS、4-1BB、GITR、CD30、CD40、BAFFR、HVEM、CD7、LIGHT、IL-2、IL-15、CD3、CD16、SIRP α 、Siglec 10、LILRB2、Clever-1、Macro、LILRB4、Siglec15、CSF1R、PSGL-1、VSIG-4、B2M和CD83。

[0150] 在一些实施方式中,第二抗原包含肿瘤抗原。

[0151] 在一些实施方式中,肿瘤抗原包含CA-125、神经节苷脂G(D2)、神经节苷脂G(M2)和神经节苷脂G(D3)、CD19、CD20、CD33、CD47、CD52、Ep-CAM、CEA、CLDN18.2、铃蟾素样肽、PSA、HER2/neu、表皮生长因子受体(EGFR)、erbB2、erbB3/HER3、erbB4、CD44v6、CD44v9、Ki-67、癌症相关粘蛋白、VEGF、VEGFR(例如VEGFR3)、雌激素受体、Lewis-Y抗原、TGF β 1、IGF-1受体、EGF α 、c-Kit受体、转铁蛋白受体、IL-2R、CDH6、CEA、FOLR1、TROP2、PTK7、SLITRK6、CD142、NECTIN-4、ROR1、ROR2、CD142、CD123、CD22、CD79b、DLL3、SLC家族或CO17-1A。

[0152] 在一些实施方式中,第二抗原为选自由以下组成的群组的免疫抑制分子:PD-L1、SIRP α 、CD47和B2M。

[0153] 在一些实施方式中,肿瘤抗原为CD47。

[0154] 在一些实施方式中,抗体或抗原结合片段连接到一个或多个缀合物,任选地,其中所述缀合物直接或经由连接子共价连接。

[0155] 在一些实施方式中,所述缀合物包含清除调节剂、化学治疗剂、毒素、放射性同位素、镧系元素、发光标记、荧光标记、酶-底物标记、DNA烷基化剂、拓扑异构酶抑制剂、微管蛋白结合剂或其它抗癌药物。

[0156] 在一些实施方式中,抗体或抗原结合片段能够与CD24特异性结合,并且任选地其中CD24来源于人类或食蟹猕猴,并且任选地其中CD24为重组CD24或在细胞表面上表达的CD24。

[0157] 在一个方面中,本公开提供一种抗体或其抗原结合片段,其与本文所提供的抗体或其抗原结合片段竞争相同表位。

[0158] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段与包含以下的抗体或其抗原结合片段竞争相同表位:重链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和轻链可变区,其包含LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述LCDR1包含选自由SEQ ID NO:107、184、185、186、187和188组成的群组的氨基酸序列,所述LCDR2包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列,且所述LCDR3包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列。

[0159] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段与包含以下的抗体或其抗原结合片段竞争相同表位:重链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和轻链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0160] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段相对于非癌细胞选择性地结合于癌细胞中表达的CD24。

[0161] 在一个方面中,本公开提供一种药物组合物,其包含本文所提供的抗体或其抗原结合片段,和药学上可接受的载剂。

- [0162] 在一些实施方式中,本文所提供的药物组合物进一步包含第二治疗剂。
- [0163] 在一些实施方式中,第二治疗剂为针对一种或多种免疫抑制分子的拮抗剂。
- [0164] 在一些实施方式中,第二治疗剂为CD47拮抗剂。
- [0165] 在一些实施方式中,CD47拮抗剂为SIRP α -Fc融合蛋白或其变体,或抗CD47抗体或其抗原结合片段。
- [0166] 在一个方面中,本公开提供一种分离的多核苷酸,其编码本文所提供的抗体或其抗原结合片段。
- [0167] 在一些实施方式中,本文所提供的分离的多核苷酸包含选自由以下组成的群组的核苷酸序列:SEQ ID NO:51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、102、110、204、205、206、207、208、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、219和220。
- [0168] 在一个方面中,本公开提供一种载体,其包含本文所提供的分离的多核苷酸。
- [0169] 在一个方面中,本公开提供一种包含本文所提供的载体的宿主细胞。
- [0170] 在一个方面中,本公开提供一种表达本文所提供的抗体或其抗原结合片段的方法,其包括在表达本文所提供的载体的条件下培养本文所提供的宿主细胞。
- [0171] 在一个方面中,本公开提供一种治疗将受益于CD24活性的调节的受试者的疾病或病状的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所提供的抗体或其抗原结合片段或本文所提供的药物组合物。
- [0172] 在一些实施方式中,所述疾病或病状为CD24相关疾病或病状。
- [0173] 在一些实施方式中,所述疾病或病状为癌症、适应性免疫疾病、自身免疫疾病、炎症性疾病或感染性疾病。
- [0174] 在一些实施方式中,所述癌症为肺癌、支气管癌、骨癌、肝脏和胆管癌症、胰腺癌、乳腺癌、肝癌、卵巢癌、睾丸癌、肾癌、膀胱癌、头颈癌、脊柱癌、脑癌、宫颈癌、子宫癌、子宫内膜癌、结肠癌、结肠直肠癌、直肠癌、肛门癌、食道癌、胃肠癌、皮肤癌、前列腺癌、垂体癌、胃癌、阴道癌、甲状腺癌、胶质母细胞瘤、星形细胞瘤、黑色素瘤、骨髓发育不良综合症、肉瘤、畸胎瘤、腺癌、白血病、骨髓瘤和淋巴瘤。在一些实施方式中,所述癌症为化疗耐药性癌症。
- [0175] 在一些实施方式中,所述疾病或病状为选自以下的血液癌: B细胞淋巴瘤,例如霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma; NHL)、急性淋巴细胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤(MM)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、边缘区B细胞淋巴瘤(MZL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、瑞希特氏综合症(Richter's syndrome)、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)或滤泡性淋巴瘤。
- [0176] 在一些实施方式中,受试者为人类。
- [0177] 在一些实施方式中,本文所提供的方法包括向所述受试者施用治疗有效量的第二治疗剂。在一些实施方式中,第二治疗剂为针对一种或多种免疫抑制分子的拮抗剂。
- [0178] 在一些实施方式中,第二治疗剂为CD47拮抗剂。
- [0179] 在一些实施方式中,CD47拮抗剂为SIRP α -Fc融合蛋白或其变体,或抗CD47抗体或其抗原结合片段。
- [0180] 在一些实施方式中,所述施用是经由口服、鼻、静脉内、皮下、舌下或肌肉内施用。

[0181] 在一个方面中,本公开提供一种调节表达CD24的细胞中的CD24活性的方法,其包括使所述表达CD24的细胞暴露于本文所提供的抗体或其抗原结合片段。

[0182] 在一个方面中,本公开提供一种检测样品中CD24的存在或量的方法,其包括使所述样品与本文所提供的抗体或其抗原结合片段接触,和确定所述样品中CD24的存在或量。

[0183] 在一个方面中,本公开提供一种诊断受试者的CD24相关疾病或病状的方法,其包括:a)从所述受试者获得样品;b)使从所述受试者获得的所述样品与本文所提供的抗体或其抗原结合片段接触;c)确定所述样品中CD24的存在或量;和d)将所述CD24的存在或量与所述受试者的所述CD24相关疾病或病状的存在或状态相关联。

[0184] 在一个方面中,本公开提供了本文所提供的抗体或其抗原结合片段在制造用于治疗受试者的CD24相关疾病或病状的药剂中的用途。

[0185] 在一些实施方式中,所述药剂进一步包含第二治疗剂。在一些实施方式中,第二治疗剂为针对一种或多种免疫抑制分子的拮抗剂。

[0186] 在一些实施方式中,第二治疗剂为CD47拮抗剂。在一些实施方式中,CD47拮抗剂包含SIRP α -Fc融合蛋白或其变体,和抗CD47抗体或其抗原结合片段。

[0187] 在一个方面中,本公开提供了本文所提供的抗体或其抗原结合片段在制造用于诊断CD24相关疾病或病状的诊断试剂中的用途。

[0188] 在一个方面中,本公开提供一种包括本文所提供的抗体或其抗原结合片段的试剂盒,其适用于检测CD24、任选的重组CD24、细胞表面上表达的CD24或表达CD24的细胞。

[0189] 在一个方面中,本公开提供一种嵌合抗原受体(CAR),其包含抗原结合结构域、跨膜结构域、共刺激信号传导区和TCR信号传导结构域,其中所述抗原结合结构域与CD24特异性结合且包含本文所提供的抗原结合片段。在一些实施方式中,抗原结合片段为Fab或scFv。

[0190] 在一些实施方式中,本文所提供的CAR为双特异性的。

[0191] 在一些实施方式中,CAR能够进一步特异性结合于除CD24以外的第二抗原,或CD24上的第二表位。在一些实施方式中,第二抗原为肿瘤抗原。

[0192] 在一些实施方式中,TCR信号传导结构域选自由以下组成的群组:CD3 ζ 、FccRI γ 、CD27、CD28、CD137、CD134、MyD88、CD40、CD278、TLR或其组合的胞内信号区序列。

[0193] 在一些实施方式中,跨膜区包含CD3、CD4、CD8或CD28的跨膜区。

[0194] 在一个方面中,本公开提供一种编码本文所提供的嵌合抗原受体(CAR)的核酸序列。在一个方面中,本公开提供一种包含本文所提供的核酸序列的细胞。在一个方面中,本公开提供一种包含本文所提供的核酸序列的载体。

[0195] 在一个方面中,本公开提供一种细胞,其被基因修饰以表达本文所提供的CAR。

[0196] 在一些实施方式中,所述细胞为免疫细胞,任选地,其中所述免疫细胞为T淋巴细胞、NK细胞、单核细胞、巨噬细胞或NKT淋巴细胞。

[0197] 在一个方面中,本公开提供一种用于刺激哺乳动物中T细胞介导的对表达CD24的细胞或组织的免疫反应的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用有效量的细胞,所述细胞被基因修饰以表达本文所提供的CAR。

[0198] 在一个方面中,本公开提供一种治疗患有CD24相关疾病或病状的哺乳动物的方法,其包括向所述哺乳动物施用有效量的本文所提供的细胞,由此治疗所述哺乳动物。

- [0199] 在一些实施方式中,所述细胞为自体T细胞。
- [0200] 在一些实施方式中,CD24相关疾病或病状为癌症。
- [0201] 在一些实施方式中,哺乳动物为人类受试者。
- [0202] 在一个方面中,本公开提供一种治疗有需要的受试者的癌症的方法,其包括施用抗CD24抗体或其抗原结合片段,所述抗CD24抗体或其抗原结合片段仅结合于糖基化或唾液酸化CD24,优选地仅结合于CD24唾液酸。
- [0203] 在一些实施方式中,所述抗CD24抗体或其抗原结合片段相对于非癌细胞选择性地结合于癌细胞中表达的CD24。
- [0204] 在一些实施方式中,所述抗CD24抗体或其抗原结合片段与抗体或其抗原结合片段竞争相同表位,所述抗体或其抗原结合片段包含:重链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和轻链可变区,其包含LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述LCDR1包含选自由SEQ ID NO:107、184、185、186、187和188组成的群组的氨基酸序列,所述LCDR2包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列,且所述LCDR3包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列,或包含:重链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和轻链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的LCDR1、LCDR2和LCDR3。
- [0205] 在一些实施方式中,所述抗CD24抗体或其抗原结合片段包含:重链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和轻链可变区,其包含LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述LCDR1包含选自由SEQ IDNO:107、184、185、186、187和188组成的群组的氨基酸序列,所述LCDR2包含SEQ IDNO:108的氨基酸序列,且所述LCDR3包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列,或包含:重链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:97的HCDR1、HCDR2和HCDR3;和轻链可变区,其包含分别为SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99和SEQ ID NO:100的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

附图说明

- [0206] 图1A显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在293F空白细胞上的MFI。
- [0207] 图1B显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在293F-hCD24细胞上的MFI。
- [0208] 图1C显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在MCF7细胞上的MFI。
- [0209] 图1D显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在MDA-MB-468细胞上的MFI。
- [0210] 图1E显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在Na1m1细胞上的MFI。
- [0211] 图1F显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在CHOK1-hCD24细胞上的MFI。
- [0212] 图1G显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在HT-29细胞上的MFI。
- [0213] 图1H显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在NCI H1975细胞上的MFI。
- [0214] 图1I显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在A549细胞上的MFI。
- [0215] 图1J显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体在Na1m6细胞上的MFI。

- [0216] 图1K显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在SU-DHL6细胞上的MFI。
- [0217] 图1L显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体在人类B细胞上的MFI。
- [0218] 图1M显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在DoHH2细胞上的MFI。
- [0219] 图1N显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在HT29细胞上的MFI。
- [0220] 图1O显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体在Huh7细胞上的MFI。
- [0221] 图1P显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在MCF7细胞上的MFI。
- [0222] 图1Q显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在a549细胞上的MFI。
- [0223] 图1R显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和基准抗体SN3在NCI-H1975细胞上的MFI。
- [0224] 图2A显示嵌合抗CD24抗体和参考抗体SN3在293F-hCD24细胞上的吞噬指数。
- [0225] 图2B显示嵌合抗CD24抗体和参考抗体SN3在HT-29细胞上的吞噬指数。
- [0226] 图3A显示抗CD47抗体hu5F9与嵌合抗CD24抗体chAb110D4G4的组合治疗在HT29结肠直肠癌肿瘤细胞上的吞噬指数。
- [0227] 图3B显示抗CD47抗体hu5F9与嵌合抗CD24抗体chAb111F3A2的组合治疗在HT29结肠直肠癌肿瘤细胞上的吞噬指数。
- [0228] 图3C显示抗CD47抗体hu5F9与嵌合抗CD24抗体chAb81A1F8的组合治疗在HT29结肠直肠癌肿瘤细胞上的吞噬指数。
- [0229] 图4A显示单独hIgG4、单独ch81A1F8-IgG4、双特异性抗体(ch81A1F8-IgG4+Hu5F9衍生的scFv)和基准抗体SN3在HT29细胞上的MFI。
- [0230] 图4B显示单独hIgG4、单独hu5F9、单独ch81A1F8-IgG4、双特异性抗体(ch81A1F8-IgG4+Hu5F9衍生的scFv)以及抗CD24抗体ch81A1F8-IgG4与抗CD47抗体Hu5F9的组合(“Combo”)在HT29细胞上的吞噬指数。
- [0231] 图5A显示嵌合抗CD24抗体81A1F8和人源化81A1F8抗体在HT-29上的MFI。
- [0232] 图5B显示嵌合抗CD24抗体81A1F8和人源化81A1F8抗体在Na1m6上的MFI。
- [0233] 图5C显示嵌合抗CD24抗体101H9G9A2和人源化101H9G9A2抗体在HT29上的MFI。
- [0234] 图5D显示如使用Gatorprime系统测量的嵌合抗CD24抗体81A1F8和人源化81A1F8抗体的KD。
- [0235] 图6A至图6D显示本文所提供的嵌合抗CD24抗体和/或基准抗体SN3在用神经氨酸苷酶或去糖基化消化的细胞上的MFI。
- [0236] 图7A显示如通过BIAcore所测量的本文所提供的嵌合抗CD24抗体和参考抗体SWA11对经mFc标记的人类CD24的KD。
- [0237] 图7B显示如通过BIAcore所测量的本文所提供的嵌合抗CD24抗体81A1F8和人源化81A1F8抗体对经mFc标记的人类CD24的KD。
- [0238] 图8显示如通过ELISA所测量的不同浓度的嵌合抗CD24抗体81A1F8对经mFc标记的人类CD24的归一化OD450。
- [0239] 图9A显示嵌合抗CD24抗体、参考抗体SWA11和抗CD47抗体hu5F9-IgG4在HT-29细胞上的吞噬指数。
- [0240] 图9B显示嵌合抗CD24抗体、参考抗体SWA11和抗CD47抗体hu5F9-IgG4在Na1m6细胞上的吞噬指数。

[0241] 图9C显示单独或与利妥昔单抗(Rituximab)组合的具有罕见的Fc依赖性功能的81A1F8-LALAPG抗体在SU-DHL-6细胞上的吞噬指数。

[0242] 图9D显示单独抗CD24抗体81A1F8、单独抗CD47抗体Hu5F9以及抗CD24抗体81A1F8与抗CD47抗体Hu5F9的组合在HT-29细胞上的吞噬指数。

[0243] 图10A显示利用嵌合抗CD24抗体81A1F8和人源化81A1F8抗体对HT-29细胞诱导的ADCC作用。

[0244] 图10B显示利用嵌合抗CD24抗体81A1F8和人源化81A1F8抗体对hCD24-MCF7细胞诱导的CDC作用。

[0245] 图11A显示在C57BL/6J同基因小鼠模型中施用单独的嵌合抗CD24抗体81A1F8、单独的奥沙利铂(Oxaliplatin)以及嵌合抗CD24抗体81A1F8与奥沙利铂的组合之后的肿瘤体积。

[0246] 图11B显示在C57BL/6J同基因小鼠模型中施用单独的嵌合抗CD24抗体81A1F8、单独的奥沙利铂以及嵌合抗CD24抗体81A1F8与奥沙利铂的组合之后的体重。

[0247] 图11C显示在C57BL/6J同基因小鼠模型中单独的嵌合抗CD24抗体81A1F8、单独的奥沙利铂以及嵌合抗CD24抗体81A1F8与奥沙利铂的组合的体内功效测试的小结。

[0248] 图11D显示在C57BL/6J同基因小鼠模型中嵌合抗CD24抗体81A1F8和奥沙利铂的组合治疗诱导的CD8/CD4比率和M1/M2巨噬细胞比率。

[0249] 图12A显示在MC38-hCD24同基因模型中施用不同剂量的嵌合抗CD24抗体81A1F8-mIgG2a之后的肿瘤体积。

[0250] 图12B显示在MC38-hCD24同基因模型中再攻击之后,施用不同剂量的嵌合抗CD24抗体81A1F8-mIgG2a之后的肿瘤体积。

[0251] 图12C显示在MC38-hCD24同基因模型中施用不同剂量的嵌合抗CD24抗体81A1F8-mIgG2a之后,每只小鼠的肿瘤生长曲线。

[0252] 图12D显示不同剂量的嵌合抗CD24抗体81A1F8-mIgG2a的体内功效的小结。

[0253] 图13A显示在施用单一药剂(81A1F8-2141-mIgG2a、奥沙利铂或阿特殊单抗(Atezolizumab))或组合策略之后的肿瘤生长曲线。

[0254] 图13B显示治疗组的每只小鼠的肿瘤生长曲线。

[0255] 图13C显示单一药剂(81A1F8-2141-mIgG2a、奥沙利铂或阿特殊单抗)或组合策略的体内功效的小结。

[0256] 图14A显示在施用单一药剂(101H9G9A2-mIgG2a、81A1F8-2141-mIgG2a、奥沙利铂或阿特殊单抗)或组合策略之后的肿瘤生长曲线。

[0257] 图14B显示在施用单一药剂(101H9G9A2-mIgG2a、81A1F8-2141-mIgG2a、奥沙利铂或阿特殊单抗)或组合策略之后小鼠的体重。

[0258] 图14C显示单一药剂(101H9G9A2-mIgG2a、81A1F8-2141-mIgG2a、奥沙利铂或阿特殊单抗)或组合策略的体内功效的小结。

[0259] 图15显示本文所提供的抗cmCD24抗体在cmCD24-293F细胞上的MFI。

[0260] 图16A显示本文所提供的抗cmCD24抗体在cynoCD24-293F细胞上的吞噬指数。

[0261] 图16B显示利用本文所提供的抗cmCD24抗体对cmCD24-293F细胞诱导的ADCC作用。

[0262] 图16C显示利用本文所提供的抗cmCD24抗体对cynoCD24-293F细胞诱导的CDC作

用。

具体实施方式

[0263] 以下对本公开的描述仅打算说明本公开的各种实施方式。因此,所论述的具体修改不应被解释为对本公开范围的限制。本领域的技术人员将显而易见的是,可在不脱离本公开的范围的情况下作出各种等效物、变化和修改,并且应理解,这类等效实施方式将包括在本文中。本文所引用的所有参考文献,包括出版物、专利和专利申请,均以全文引用的方式并入本文中。

[0264] 定义

[0265] 如本文中所使用的术语“抗体”包括与特异性抗原结合的任何免疫球蛋白、单克隆抗体、多克隆抗体、多价抗体、二价抗体、单价抗体、多特异性抗体或双特异性抗体。天然完整抗体包含两条重(H)链和两条轻(L)链。哺乳动物重链分类为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ ,每条重链由一个可变区(V_H)和第一、第二和第三恒定区(分别为 C_{H1} 、 C_{H2} 、 C_{H3})组成;哺乳动物轻链分类为 λ 或 κ ,而每条轻链由一个可变区(V_L)和一个恒定区组成。抗体呈“Y”形,其中Y的主干由经由二硫键结合在一起的两条重链的第二和第三恒定区组成。Y的每个臂包括与单条轻链的可变区和恒定区结合的单条重链的可变区和第一恒定区。轻链和重链的可变区负责抗原结合。两条链的可变区一般含有三个高度可变的环,称为互补决定区(CDR)(轻链CDR包括LCDR1、LCDR2和LCDR3,重链CDR包括HCDR1、HCDR2和HCDR3)。本文所公开的抗体和抗原结合结构域的CDR边界可由Kabat、IMGT、AbM、Chothia或Al-Lazikani惯例来界定或鉴别(Al-Lazikani, B., Chothia, C., Lesk, A.M., 《分子生物学杂志(J. Mol. Biol.)》, 273(4), 927(1997); Chothia, C.等人, 《分子生物学杂志》12月5日; 186(3): 651-63(1985); Chothia, C.和Lesk, A.M., 《分子生物学杂志》, 196, 901(1987); N.R. Whitelegg等人, 《蛋白质工程(Protein Engineering)》, v13(12), 819-824(2000); Chothia, C.等人, 《自然》. 12月21-28日; 342(6252): 877-83(1989); Kabat E.A.等人, 马里兰州贝塞斯达美国国家卫生研究院(National Institutes of Health, Bethesda, Md.), (1991); Marie-Paule Lefranc等人, 《发展与比较免疫学(Developmental and Comparative Immunology)》, 27:55-77(2003); Marie-Paule Lefranc等人, 《免疫组学研究(Immunome Research)》, 1(3), (2005); Marie-Paule Lefranc, 《B细胞分子生物学(第二版)(Molecular Biology of B cells(second edition))》, 第26章, 481-514, (2015))。三个CDR插入于称为框架区(FR)的侧翼片段之间,所述框架区比CDR更高度保守且形成支撑高变环的支架。重链和轻链的恒定区不参与抗原结合,但展现各种效应功能。基于抗体重链恒定区的氨基酸序列,将抗体分类。抗体的五种主要类别或同种型为IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,其特征分别在于分别存在 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 重链。将若干主要抗体类别划分为子类,例如IgG1(γ 1重链)、IgG2(γ 2重链)、IgG3(γ 3重链)、IgG4(γ 4重链)、IgA1(α 1重链)或IgA2(α 2重链)。

[0266] 如本文中所使用的术语“抗体分子”是指包含至少一个抗体片段(例如CDR,和/或可变区序列)的抗原结合蛋白或多肽。抗体分子包括例如单克隆抗体、抗体片段或结构域、包含抗体片段或结构域的融合蛋白、包含抗体片段或结构域的多肽复合物等。

[0267] 如本文中所使用的术语“抗原结合结构域”(例如CD24结合结构域)是指由包含一个或多个CDR的抗体的一部分形成的抗体片段,或与抗原结合但不包含完整天然抗体结构

的任何其它抗体片段。抗原结合结构域的实例包括但不限于双功能抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段、二硫键稳定的Fv片段(dsFv)、(dsFv)₂、双特异性dsFv(dsFv-dsFv')、二硫键稳定的双功能抗体(ds双功能抗体)、单链抗体分子(scFv)、scFv二聚体(二价双功能抗体)、双特异性抗体、多特异性抗体、骆驼化单结构域抗体、纳米抗体、结构域抗体和二价结构域抗体。抗原结合结构域能够与亲本抗体结合的相同抗原结合。在某些实施方式中,抗原结合结构域可包含一个或多个来自特定人类抗体的CDR,其被移植到来自一个或多个不同人类抗体的框架区。抗原结合结构域的更多型式和详细型式描述于Spiess等人,2015和Brinkman等人,《单抗(mAbs)》,9(2),第182-212页(2017)中,所述文献以全文引用的方式并入本文中。

[0268] 关于抗体的“Fab”是指由单条轻链(可变区和恒定区)通过二硫键结合到单条重链的可变区和第一恒定区组成的抗体部分。

[0269] “Fab'”是指包括铰链区的一部分的Fab片段。

[0270] “F(ab')₂”是指Fab'的二聚体。

[0271] 关于抗体的“片段困难(fragment difficult;Fd)”是指可与轻链组合以形成Fab的重链片段的氨基末端一半。举例来说,Fd片段可由VH和CH1结构域组成。

[0272] 关于抗体的“Fv”是指带有完整抗原结合位点的抗体的最小片段。Fv片段由与单条重链的可变区结合的单条轻链的可变区组成。已提供了多种Fv设计,包括dsFv,其中通过引入的二硫键增强了两个结构域之间的缔合;和scFv,其可使用肽连接子将两个结构域作为单个多肽结合在一起而形成。也已经产生了含有与对应免疫球蛋白重链或轻链的可变结构域和恒定结构域缔合的重或轻免疫球蛋白链的可变结构域的Fv构建体。Fv也已经被多聚化以形成双功能抗体和三功能抗体(Maynard等人,《生物医学工程年评(Annu Rev Biomed Eng)》2 339-376(2000))。

[0273] “单链Fv抗体”或“scFv”是指由轻链可变区和重链可变区直接或经由肽连接子序列彼此连接组成的工程改造的抗体(Huston JS等人《美国国家科学院院刊(Proc Natl Acad Sci USA)》,85:5879(1988))。

[0274] “dsFv”是指二硫键稳定的Fv片段,其中在单条轻链的可变区与单条重链的可变区之间的键联是二硫键。在一些实施方式中,“(dsFv)₂”或“(dsFv-dsFv')”包含三条肽链:两个V_H部分通过肽连接子(例如较长柔性连接子)连接并且分别通过二硫桥键与两个V_L部分结合。在一些实施方式中,dsFv-dsFv'为双特异性的,其中每条二硫键配对的重链和轻链具有不同的抗原特异性。

[0275] 关于抗体的“Fc”是指抗体的由经由二硫键结与第二重链的第二和第三恒定区结合的第一重链的第二和第三恒定区组成的部分。抗体的Fc部分负责各种效应功能,例如抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC),但不在抗原结合中起作用。

[0276] “骆驼化单结构域抗体”、“重链抗体”或“HCab”是指含有两个V_H结构域且不含轻链的抗体(Riechmann L.和Muyldermans S.,《免疫学方法杂志(J Immunol Methods)》.12月10日;231(1-2):25-38(1999);Muyldermans S.,《生物技术杂志(J Biotechnol.)》6月;74(4):277-302(2001);W094/04678;W094/25591;美国专利第6,005,079号)。重链抗体最初来源于骆驼科(Camelidae)(骆驼、单峰骆驼和羊驼)。虽然不含轻链,但骆驼化抗体具有真实

的抗原结合谱系 (Hamers-Casterman C. 等人,《自然》.6月3日;363(6428):446-8(1993); Nguyen VK. 等人,“骆驼科的重链抗体;进化创新的案例(Heavy-chain antibodies in Camelidae;a case of evolutionary innovation),”《免疫遗传学(Immunogenetics.)》4月;54(1):39-47(2002);Nguyen VK. 等人,《免疫学(Immunology.)》5月;109(1):93-101(2003)。重链抗体的可变结构域(VHH结构域)代表由适应性免疫反应产生的已知最小的抗原结合单元(Koch-Nolte F. 等人,《美国实验生物学学会联合会杂志(FASEB J.)》11月;21(13):3490-8.电子版2007年6月15日(2007))。

[0277] “纳米抗体”是指由来自重链抗体的VHH结构域和两个恒定结构域CH2和CH3组成的抗体片段。

[0278] “双功能抗体”或“dAb”包括具有两个抗原结合位点的小抗体片段,其中所述片段包含相同多肽链中与V_L结构域连接的V_H结构域(V_H-V_L或V_L-V_H) (参见例如Holliger P. 等人,《美国国家科学院院刊》7月15日;90(14):6444-8(1993);EP404097;W093/11161)。通过使用过短以使得相同链上的两个结构域之间不能配对的连接子,迫使结构域与另一条链的互补结构域配对,由此产生两个抗原结合位点。所述抗原结合位点可靶向相同或不同的抗原(或表位)。

[0279] 在某些实施方式中,“双特异性ds双功能抗体”为靶向两个不同抗原(或表位)的双功能抗体。

[0280] 在某些实施方式中,“scFv二聚体”为二价双功能抗体或二价ScFv(BsFv),其包含V_H-V_L(由肽连接子连接)与另一个V_H-V_L部分二聚,使得一个部分的V_H与另一个部分的V_L配位且形成可靶向相同抗原(或表位)或不同抗原(或表位)的两个结合位点。

[0281] 在其它实施方式中,“scFv二聚体”为双特异性双功能抗体,其包含V_{H1}-V_{L2}(由肽连接子连接)与V_{L1}-V_{H2}(也由肽连接子连接)缔合,使得V_{H1}与V_{L1}配位且V_{H2}与V_{L2}配位并且每个配位对具有不同的抗原特异性。

[0282] “结构域抗体”是指仅含重链的可变区或轻链的可变区的抗体片段。在某些情况下,两个或更多个V_H结构域用肽连接子共价接合以产生二价或多价结构域抗体。二价结构域抗体的两个V_H结构域可靶向相同或不同的抗原。

[0283] 如本文中所使用,术语“嵌合”意指重链和/或轻链的一部分来源于一个物种且重链和/或轻链的其余部分来源于不同物种的抗体或抗原结合结构域。在一说明性实例中,嵌合抗体可包含来源于人类的恒定区和来源于例如小鼠的非人类动物的可变区。在一些实施方式中,非人类动物为哺乳动物,例如小鼠、大鼠、兔、山羊、绵羊、豚鼠或仓鼠。

[0284] 如本文中所使用的术语“人源化”意指抗体或抗原结合结构域包含来源于非人类动物的CDR、来源于人类的FR区和(在适用时)来源于人类的恒定区。

[0285] 术语“可操作地连接(operably link/operably linked)”是指两个或更多个所关注的生物序列在存在或不存在间隔子或连接子或间插序列的情况下的并接,使得它们处于允许它们以预期方式起作用的关系中。当用于多肽时,其意指多肽序列以允许连接的产物具有预期的生物学功能的方式连接。举例来说,抗体可变区可操作地连接于恒定区,以提供具有抗原结合活性的稳定产物。对于另一实例,抗原结合结构域可操作地连接于其间具有间插序列的另一抗原结合结构域,且这个间插序列可为间隔子或可包含长得多的序列,例如抗体的恒定区。所述术语还可以用于多核苷酸。举例来说,当编码多肽的多核苷酸可操作

地连接于调节序列(例如,启动子、增强子、沉默子序列等)时,其意指所述多核苷酸序列以允许调节由多核苷酸表达多肽的方式连接。

[0286] 当用于氨基酸序列(例如肽、多肽或蛋白质)时,术语“融合(fusion/fused)”是指例如通过化学键结或重组方式将两个或更多个氨基酸序列组合成不天然存在的单一氨基酸序列。融合氨基酸序列可以通过两个编码多核苷酸序列的基因重组产生,并且可以通过将含有重组多核苷酸的构建体引入到宿主细胞中的方法表达。

[0287] 如本文中所使用的“抗原”是指可刺激细胞培养物或动物中的抗体或T细胞反应的产生的化合物、组合物、肽、多肽、蛋白质或物质,包括添加到细胞培养物(例如杂交瘤)中或注射或吸收到动物中的组合物(例如包括癌症特异性蛋白质的组合物)。抗原与特异性体液或细胞免疫(例如抗体)的产物反应,所述产物包括由异源抗原诱导的产物。

[0288] 如本文中所使用的术语“CD24”意欲涵盖任何形式的CD24,例如1)原生未加工的CD24分子,“全长”CD24链或天然存在的CD24变体,包括例如剪接变体或等位基因变体;2)由细胞中的加工产生的任何形式的CD24;或3)通过重组方法产生的CD24亚单位的全长片段(例如截短形式,胞外结构域/跨膜结构域)或修饰形式(例如突变形式,糖基化/聚乙二醇化、His-标签/免疫荧光融合形式)。

[0289] 术语“抗CD24抗体”、“抗CD24结合结构域”或“CD24结合结构域”是指能够与CD24(例如人类、小鼠或食蟹猕猴CD24)特异性结合的抗体或抗原结合结构域。

[0290] 如本文中所使用的术语“特异性结合(specific binding/specifically binds)”是指两个分子之间,例如抗体与抗原之间的非随机结合反应。

[0291] 抗体与重组CD24或细胞表面上表达的CD24的结合也可由“半数最大有效浓度”(EC₅₀)值表示,其是指观测到其最大作用(例如结合或抑制等)的50%的抗体浓度。可通过本领域中已知的方法,例如夹心分析,如ELISA、蛋白质印迹(Western Blot)、流式细胞测量术分析和其它结合分析来测量EC₅₀值。在某些实施方式中,本文所提供的抗体和其片段以通过流式细胞测量分析进行的不超过0.05nM、不超过0.06nM、不超过0.07nM、不超过0.08nM、不超过0.09nM、不超过0.1nM、不超过0.2nM、不超过0.3nM、不超过0.4nM、不超过0.5nM、不超过0.6nM、不超过0.7nM、不超过0.8nM、不超过0.9nM、不超过1nM、不超过2nM、不超过3nM、不超过4nM、不超过5nM、不超过6nM、不超过7nM、不超过8nM、不超过9nM、不超过10nM、不超过20nM、不超过25nM、不超过30nM、不超过35nM、不超过40nM、不超过50nM、不超过60nM、不超过70nM、不超过80nM、不超过90nM、不超过100nM、不超过110nM、不超过120nM、不超过122nM、不超过124nM、不超过126nM、不超过128nM、不超过130nM、不超过132nM、不超过134nM、不超过136nM、不超过138nM、不超过140nM、不超过200nM、不超过210nM、不超过250nM、不超过300nM或不超过400nM的EC₅₀(即,50%结合浓度)与重组人类CD24特异性结合。

[0292] 如本文中所使用的“阻断结合”或“竞争相同表位”的能力是指抗体或抗原结合结构域将两个分子(例如人类CD24和Siglec-10)之间的结合相互作用抑制到任何可检测程度的能力。在某些实施方式中,阻断两个分子之间的结合的抗体或抗原结合结构域将两个分子之间的结合相互作用抑制至少85%或至少90%。在某些实施方式中,这种抑制可大于85%,或大于90%。

[0293] 如本文中所使用的术语“表位”是指抗体所结合的抗原上特定的一组原子或氨基

酸。表位可由连续氨基酸(也称为线性或连续表位)或通过蛋白质的三级折叠并列的非相邻氨基酸(也称为构型或构象表位)形成。由连续氨基酸形成的表位通常沿着蛋白质上的一级氨基酸残基线性排列,且连续氨基酸的小区段可从与主要组织相容性复合物(MHC)分子的抗原结合中消化或在暴露于变性溶剂时保持,而由三级折叠形成的表位通常在用变性溶剂处理时丢失。表位通常以独特空间构象包括至少3个,且更通常至少5个、约7个或约8-10个氨基酸。如果两种抗体展现针对抗原的竞争性结合,那么其可以结合所述抗原内的相同或紧密相关的表位。举例来说,如果抗体或抗原结合结构域将参考抗体与抗原的结合阻断至少85%、或至少90%或至少95%,那么抗体或抗原结合结构域可视为结合与参考抗体相同/紧密相关的表位。

[0294] 关于氨基酸序列的“保守取代”是指用具有类似生理化学特性的侧链的不同氨基酸残基替换氨基酸残基。举例来说,可在具有疏水性侧链的氨基酸残基(例如, Met、Ala、Val、Leu和Ile)中、在具有中性亲水性侧链的残基(例如, Cys、Ser、Thr、Asn和Gln)中、在具有酸性侧链的残基(例如, Asp、Glu)中、在具有碱性侧链的氨基酸(例如, His、Lys和Arg)中或在具有芳香族侧链的残基(例如, Trp、Tyr和Phe)中进行保守取代。如本领域中已知,保守取代通常不会引起蛋白质构象结构的显著变化,并且因此可保留蛋白质的生物活性。

[0295] 如本文中所使用的术语“同源物”和“同源”是可互换的并且是指当最优地比对时与另一序列具有至少80%(例如,至少85%、88%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%)序列一致性的核酸序列(或其互补链)或氨基酸序列。

[0296] 关于氨基酸序列(或核酸序列)的“序列一致性百分比(%)”定义为在比对序列且在必要时,引入空位以使相同氨基酸(或核酸)达到最大数量之后,候选序列中与参考序列中的氨基酸(或核酸)残基一致的氨基酸(或核酸)残基的百分比。氨基酸残基的保守取代可视为或可不视为相同残基。出于确定氨基酸(或核酸)序列一致性%的目的进行的比对可例如使用可公开获得的工具,如BLASTN、BLASTp(可在美国国家生物技术信息中心(NCBI)的网站上获得,另参见Altschul S.F.等人,《分子生物学杂志》,215:403-410(1990); Stephen F.等人,《核酸研究(Nucleic Acids Res.)》,25:3389-3402(1997))、ClustalW2(可在欧洲生物信息研究所(European Bioinformatics Institute)的网站上获得,另参见Higgins D.G.等人,《酶学方法(Methods in Enzymology)》,266:383-402(1996); Larkin M.A.等人,《生物信息学(Bioinformatics)》(英格兰牛津(Oxford, England)),23(21):2947-8(2007))和ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件实现。本领域的技术人员可使用所述工具提供的默认参数,或可自定义适于比对的参数,例如通过选择合适算法进行。

[0297] 如本文中所使用的“效应功能”是指由抗体的Fc区与其效应物,如C1复合物、Fc受体和效应细胞(例如巨噬细胞)结合引起的生物活性。示例性效应功能包括:由抗体与C1复合物上的C1q的相互作用诱导的补体依赖性细胞毒性(CDC);由抗体的Fc区与效应细胞上的Fc受体的结合诱导的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);和由抗体的Fc区与吞噬作用的结合诱导的抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)。已明确,与Fc-CH2结构域中的保守双触角聚糖(bi-antennary glycan)相关的特定聚糖结构可强烈地影响与介导ADCC和ADCP的FcγR的相互作用且与C1q的结合,初始结合作用产生CDC(参见Reusch D, Tejada ML.《作为关键质量属性的治疗抗体的Fc聚糖(Fc glycans of therapeutic antibodies as critical quality attributes)》.《糖生物学(Glycobiology)》2015;25:1325-34)。

[0298] 如本文中所使用的病状的“治疗(treating/treatment)”包括预防或减轻病状,减缓病状的发作或发展速率,降低罹患病状的风险,预防或延迟与病状相关的症状的发展,减少或结束与病状相关的症状,产生病状的完全或部分消退,治愈病状或其某一组合。

[0299] 如本文中所使用的术语“受试者”或“个体”或“动物”或“患者”是指需要诊断、预后、改善、预防和/或治疗疾病或病症的人类或非人类动物,包括哺乳动物或灵长类动物。哺乳动物受试者包括人类、家畜、农畜和动物园、体育或玩赏动物,例如狗、猫、豚鼠、兔、大鼠、小鼠、马、猪、牛、熊等。

[0300] 如本文中所使用的术语“载体”是指可以将编码蛋白质的多核苷酸可操作地插入其中以便引起所述蛋白质表达的运载体(vehicle)。载体可用于转化、转导或转染宿主细胞,以使其携带的基因元件在宿主细胞内表达。载体的实例包括质粒;噬菌粒;粘粒和人工染色体,例如酵母人工染色体(YAC)、细菌人工染色体(BAC)或P1衍生的人工染色体(PAC);噬菌体,例如 λ 噬菌体或M13噬菌体;和动物病毒。用作载体的动物病毒的类别包括逆转录病毒(包括慢病毒)、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒(例如单纯疱疹病毒)、痘病毒、杆状病毒、乳头瘤病毒和乳多空病毒(例如SV40)。载体可含有多种用于控制表达的元件,包括启动子序列、转录起始序列、增强子序列、可选择元件和报道基因。另外,载体可含有复制起点。载体还可包括有助于其进入细胞的材料,包括但不限于病毒粒子、脂质体或蛋白质包衣。载体可为表达载体或克隆载体。

[0301] 如本文中所使用的短语“宿主细胞”是指已将外源多核苷酸和/或载体引入其中的细胞。

[0302] 如本文中所使用的“CD24相关”疾病或病状是指由CD24的表达或活性增加或降低所引起、加剧或以其它方式与其有关的任何疾病或病状。在一些实施方式中,CD24相关病状为免疫相关病症,例如癌症、自身免疫疾病、发炎性疾病或感染性疾病。

[0303] 如本文中所使用的“癌症”是指特征在于恶性细胞生长或赘瘤、异常增殖、浸润或转移的任何医学病状,并且包括实体肿瘤和非实体癌症(恶性血液病),如白血病。如本文中所使用,“实体肿瘤”是指赘生性和/或恶性细胞的实体块。癌症或肿瘤的实例包括恶性血液病、口腔癌(例如唇癌、舌癌或咽癌)、消化道器官(例如食道、胃、小肠、结肠、大肠或直肠)、腹膜、肝脏和胆道、胰腺、呼吸系统,例如喉或肺(小细胞和非小细胞)、骨骼、结缔组织、皮肤(例如黑色素瘤)、乳房、生殖器官(输卵管、子宫、子宫颈、睾丸、卵巢或前列腺)、泌尿道(例如膀胱或肾脏)、大脑和内分泌腺,例如甲状腺。在某些实施方式中,癌症选自卵巢癌、乳腺癌、头颈癌、肾癌、膀胱癌、肝细胞癌和结肠直肠癌。在某些实施方式中,癌症选自淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤和B细胞淋巴瘤。

[0304] 如本文中所使用的术语“化疗耐药性癌症”是指不对化学疗法的效应起反应的一类癌症。举例来说,已响应于化学疗法或不同化学疗法的组合突然开始生长的癌症可被称为化疗耐药性癌症。

[0305] 术语“药学上可接受的”指示指定的载剂、媒剂、稀释剂、赋形剂和/或盐通常在化学上和/或物理上与构成调配物的其它成分相容,并且在生理上与其接受者相容。

[0306] 抗CD24抗体

[0307] 本公开提供抗CD24抗体和其抗原结合片段,其包含抗CD24抗体33E7E12、71A4F12、56A7E3、58F10-1F6、73H5-1G2、110D4G4、81A1F8、100F2E3、111F3A2、81A7A10、107D10D11、

101H9G9A2、173B1C1、107D10E11、109G10A6、94G12D11、92F5B8、185B11E3、168B11E2或188H6D3的一个或多个(例如1、2、3、4、5或6个)CDR序列。在某些实施方式中,本文所提供的抗CD24抗体和其抗原结合片段能够与CD24特异性结合。任选地,CD24来源于人类或食蟹猕猴。在某些实施方式中,CD24为重组CD24或在细胞表面上表达的CD24。

[0308] 如本文中所使用的“33E7E12”是指具有SEQ ID NO:50的重链可变区和SEQ ID NO:52的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0309] 如本文中所使用的“71A4F12”是指具有SEQ ID NO:54的重链可变区和SEQ ID NO:56的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0310] 如本文中所使用的“56A7E3”是指具有SEQ ID NO:58的重链可变区和SEQ ID NO:64的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0311] 如本文中所使用的“58F10-1F6”是指具有SEQ ID NO:62的重链可变区和SEQ ID NO:64的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0312] 如本文中所使用的“73H5-1G2”是指具有SEQ ID NO:66的重链可变区和SEQ ID NO:68的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0313] 如本文中所使用的“110D4G4”是指具有SEQ ID NO:70的重链可变区和SEQ ID NO:72的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0314] 如本文中所使用的“81A1F8”是指具有SEQ ID NO:74的重链可变区和SEQ ID NO:76的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0315] 如本文中所使用的“100F2E3”是指具有SEQ ID NO:78的重链可变区和SEQ ID NO:80的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0316] 如本文中所使用的“111F3A2”是指具有SEQ ID NO:82的重链可变区和SEQ ID NO:84的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0317] 如本文中所使用的“81A7A10”是指具有SEQ ID NO:86的重链可变区和SEQ ID NO:88的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0318] 如本文中所使用的“107D10D11”是指具有SEQ ID NO:101的重链可变区和SEQ ID NO:103的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0319] 如本文中所使用的“101H9G9A2”是指具有SEQ ID NO:109的重链可变区和SEQ ID NO:111的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0320] 如本文中所使用的“173B1C1”是指具有SEQ ID NO:118的重链可变区和SEQ ID NO:120或SEQ ID NO:221的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0321] 如本文中所使用的“107D10E11”是指具有SEQ ID NO:122的重链可变区和SEQ ID NO:124的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0322] 如本文中所使用的“109G10A6”是指具有SEQ ID NO:132的重链可变区和SEQ ID NO:134的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0323] 如本文中所使用的“94G12D11”是指具有SEQ ID NO:141的重链可变区和SEQ ID NO:143的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0324] 如本文中所使用的“92F5B8”是指具有SEQ ID NO:146的重链可变区和SEQ ID NO:148的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0325] 如本文中所使用的“185B11E3”是指具有SEQ ID NO:156的重链可变区和SEQ ID

NO:158的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0326] 如本文中所使用的“168B11E2”是指具有SEQ ID NO:164的重链可变区和SEQ ID NO:166的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0327] 如本文中所使用的“188H6D3”是指具有SEQ ID NO:174的重链可变区和SEQ ID NO:176的轻链可变区的小鼠单克隆抗体。

[0328] 表1显示根据IMGT编号的这些20种抗CD24抗体的CDR序列。下文还提供重链和轻链可变区序列。

[0329] 表1.

[0330]

抗体 ID:		CDR1	CDR2	CDR3
33E7E12	VH	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 5
		NSWMN	QIQLKSDNYATRYV ESVRG	GTDY
33E7E12	VL	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 6
		KSSQSLLFSNGKTYLN	LVSNLDS	VQGTHFPYT
71A4F12	VH	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 11
		AYNMD	DINPNNGDTVYNQNF FKG	RGSYYYGSSHYALDF
71A4F12	VL	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 12
		RASQDIRNYLN	YTSRLLS	QQDNSLPRT
56A7E3	VH	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 11
		AYNMD	DINPINGGTIYNQNF	RGSYYYGSSHYALDF

[0331]

			EG	
56A7E3	VL	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15
		RASQDISNYLN	YTSRLLS	QQDHTLPRT
58F10-1F6	VH	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18
		GYHMN	EINPITSGITYNQIFK A	RDYGTSLDY
58F10-1F6	VL	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15
		RASQDISNYLN	YTSRLLS	QQDHTLPRT
73H5-1G2	VH	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 23
		NYGVH	VIWRGGSTDYNAAF MS	NYGYDCFAY
73H5-1G2	VL	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 24
		RASKSIKYLA	SGSTLQS	QQHNEYPLT
110D4G4	VH	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 28
		GYVMN	EINPNTGDPRYDQK FKA	RDYGTSL
110D4G4	VL	SEQ ID NO: 26	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 24
		RASKSISKYLAW	SGSTLQS	QQHNEYPLT
81A1F8	VH	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 28
		GYVMN	EINPNTGDTNNNQK FKA	RDYGTSL
81A1F8	VL	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 31
		RASKSINKYLA	SGSTLQS	QQHNEYPT
100F2E3	VH	SEQ ID NO: 32	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 36
		SYWMD	NIYPSDSKTHSNQK FRD	RGGYYGYAMDY
100F2E3	VL	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 37
		KSSQSLNLSGNQDNYL A	GASIRES	QNDHSYPYT
111F3A2	VH	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 40	SEQ ID NO: 42
		TYGVS	VIWGDGTTNYHSAL KP	YYGYPPFAY
111F3A2	VL	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 43
		KASEDIYNRLA	GATNLVT	QQYWSSPPT
81A7A10	VH	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 46	SEQ ID NO: 48
		SYGVS	VIWGDGSTDYHSTL TS	FYGYDEGFAY
81A7A10	VL	SEQ ID NO: 45	SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 49
		RASSTVNYMY	YTSRLAP	QQFTSSPLT
107D10D11	VH	SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 96	SEQ ID NO: 97
		SYGVN	MIWSGGNTDYNAAF FIS	IWYYGMDY
107D10D11	VL	SEQ ID NO: 98	SEQ ID NO: 99	SEQ ID NO: 100
		KASQNVGTAVA	SASIRYP	LQYITFPR
101H9G9A2	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106
		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYAMDY
101H9G9A2	VL	SEQ ID NO: 107	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37
		QSLNLSGNQDNY	GAR	QNDHSYPYT
173B1C1	VH	SEQ ID NO: 113	SEQ ID NO: 114	SEQ ID NO: 115

		SNTMH	YINPGSAYTNYNQK FND	LATYYDNDGYAMDY
173B1C1	VL	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 116	SEQ ID NO: 117
		RASQDISNYLN	YTSLKHS	QQGHTLPWT
107D10E11	VH	SEQ ID NO: 222	SEQ ID NO: 223	SEQ ID NO: 224
		SYWIT	DISPAGGGRNYNER FKN	GDSTVDLDY
107D10E11	VL	SEQ ID NO: 225	SEQ ID NO: 226	SEQ ID NO: 227
		RSSKSLHNSGNTYLY	RVSNLAS	MQHLEYPY
109G10A6	VH	SEQ ID NO: 126	SEQ ID NO: 127	SEQ ID NO: 128
		DYNMD	DINPHNGDTIYNQK FKG	RGAYYYGSSHYALDF
109G10A6	VL	SEQ ID NO: 129	SEQ ID NO: 130	SEQ ID NO: 131
		RASQDITNYLN	YTSLRFS	QQGNTLPW
94G12D11	VH	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 136	SEQ ID NO: 137
		GYVMN	EINPNKGDSNLNQN FKA	RDYGTSLDH
94G12D11	VL	SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 139	SEQ ID NO: 140
		RASKSISKYLA	SGSTLHT	QQHNEYPI
92F5B8	VH	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 28
		GYVMN	EINPNTGDTNNNQK FKA	RDYGTSL
92F5B8	VL	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 145	SEQ ID NO: 24
		RASKSINKYLA	SGSTLHS	QQHNEYPLT
185B11E3	VH	SEQ ID NO: 150	SEQ ID NO: 151	SEQ ID NO: 152
		GYTFTSNT	INPGSAYT	ARLATYYDNDGYAM DY
185B11E3	VL	SEQ ID NO: 153	SEQ ID NO: 154	SEQ ID NO: 155
		SSVNY	GTS	FQSGGYPT
168B11E2	VH	SEQ ID NO: 160	SEQ ID NO: 161	SEQ ID NO: 162
		GFSLTSYG	IWGDGNT	ANLYVLFAY
168B11E2	VL	SEQ ID NO: 163	SEQ ID NO: 154	SEQ ID NO: 155
		SSVSY	GTS	FQSGGYPT
188H6D3	VH	SEQ ID NO: 168	SEQ ID NO: 169	SEQ ID NO: 170
		GYTFTNYW	INPTNGGT	ARSGGYDFDY
188H6D3	VL	SEQ ID NO: 171	SEQ ID NO: 172	SEQ ID NO: 173
		QSLDSDGKTY	LVS	WQGTYPFLT

[0332] 下文提供33E7E12、71A4F12、56A7E3、58F10-1F6、73H5-1G2、110D4G4、81A1F8、100F2E3、111F3A2、81A7A10、107D10D11、101H9G9A2、173B1C1、107D10E11、109G10A6、94G12D11、92F5B8、185B11E3、168B11E2或188H6D3抗体的重链或轻链可变区序列。

[0334] 33E7E12-VH

[0335] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:50) :

[0336] EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSFVSGFTFSNSWMNWVRQSPKGLEWVAQIQKSDNYATRYVESVRGR
FIISRDDSKSSVSLQMNLRTEDTGIYYCSSGTDYWGQGTTLTVSS

[0337] 核酸序列 (SEQ ID NO:51) :

[0338] GAAGTGAAGCTTGAGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTGCAACCTGGAGGATCCATGAACTCTCCTGTTTT
GTCTCTGGATTCACTTTCAGTAACTCCTGGATGAACTGGGTCCGCCAGTCTCCAGAGAAGGGCTTGAGTGGGTTGC
TCAGATTCAATTGAAATCTGATAATTATGCAACACGTTATGTGGAGTCTGTGAGAGGGAGGTTTCATCATCTCAAGAG
ATGATTCCAAAAGTAGTGTCTCCCTGCAAATGAACAACTTAAGGACTGAAGACTGGAATTTATTACTGTTCTCT

GGGACCGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

[0339] 33E7E12-VL

[0340] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:52) :

[0341] DVVMTQTPLALSVIIGQPASISCKSSQSLLFSNGKTYLNWLLQRPQQSPKRLIYLVSNLDSGVPDRFTG
SGSGTDFTLKIGRVEAEDLGVYYCVQGTHFPYTFGGGKLEIK

[0342] 核酸序列 (SEQ ID NO:53) :

[0343] GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCGCTTTGTGCGTTATCATTGGACAACCAGCCTCTATCTCTTGC
AAGTCAAGTCAGAGCCTCTTATTTAGTAATGGAAAAACCTATTTGAATTGGTTATTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCC
AAAGCGCCTAATCTATCTGGTGTCTAATCTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGAACAG
ATTTTACACTGAAAATCGGCAGAGTGGAGGCTGAAGATTTGGGAGTTTATTACTGCGTGCAAGGTACACATTTTCCA
TACACGTTTCGGTGGGGGGACCAAGTTGGAAATAAAA

[0344] 71A4F12-VH

[0345] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:54) :

[0346] EVQLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYFTAYNMDWVKQSHGMSLEWIGDINPNNGDTVYNQNFKGKAT
LTVDKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCARRGSYYYGSSHYALDFWGQGTSSVSVSS

[0347] 核酸序列 (SEQ ID NO:55) :

[0348] GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATACCCTGCAAG
GCTTCTGGATACACATTCCTGCCTACAACATGGACTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAATGAGCCTTGAGTGGATTGG
AGATATTAATCCTAACAATGGTGATACTGTCTACAACCAGAATTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAGT
CCTCCAGCACAGCCTACATGGAACCTCCGACGCTGACATCTGAGGACACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAAGGGGG
TCCTATTACTACGGTAGTAGTCACTATGCTCTGGACTTCTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCTCCGTCTCCTCA

[0349] 71A4F12-VL

[0350] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:56) :

[0351] DIQMTQITSSLSASLGNRVITSCRASQDIRNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLLSGVPSRFSGSGSGT
DYSLTISNLEQEDIATYFCQQDNSLPRTFGGTRLEIR

[0352] 核酸序列 (SEQ ID NO:57) :

[0353] GATATCCAGATGACACAGATTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAAACAGAGTCACCATCAGTTGC
AGGGCAAGTCAGGACATTAGGAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACCTGTAAACTCCTGATCTA
CTACACATCAAGATTACTCTCAGGAGTCCCATCACGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTACCA
TTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTACTTTTGCCAACAGGATAATTCGCTTCCTCGGACGTTTCGGTGA
GGCACCAGGCTGGAAATCAGA

[0354] 56A7E3-VH

[0355] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:58) :

[0356] EVQLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYFTAYNMDWVKQSHGMSLEWIGDINPINGGTIYNQNFEGKAT
LTVDKSSSTAYLELRSLTSEDVAVYYCARRGSYYYGSSHYALDFWGQGTSSVSVSS

[0357] 核酸序列 (SEQ ID NO:59) :

[0358] GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATACCCTGCAAG
GCTTCTGGATACACATTCCTGCCTACAACATGGACTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAATGAGCCTTGAGTGGATTGG
AGATATTAATCCTATCAATGGTGGTACTATCTACAACCAGAATTTGAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAGT

CTTCCAGCACAGCCTACTTGGAACCTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAAGGGGG
TCCTATTACTACGGTAGTAGCCACTATGCTTTGGACTTCTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCTCCGTCTCCTCA

[0359] 56A7E3-VL

[0360] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:64) :

[0361] DIQMTQITSSLSASLGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLLSGVPSRFSGSGSGT
DYSLTISNLEQEDIATYFCQQDHTLPRTFGGGTKLEIR

[0362] 核酸序列 (SEQ ID NO:61) :

[0363] GATATCCAGATGACACAGATTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCACTTGC
AGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTA
CTACACATCAAGATTACTCTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTACCA
TTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTGCCAACAGGATCATAACGCTTCCTCGGACGTTGCGTGA
GGCACCAAGCTGGAAATCAGA

[0364] 58F10-1F6-VH

[0365] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:62) :

[0366] EVQLRQSGPELVKPGA AVKISCKASGYSFTGYHMNVVKQSPEKSLEWIGEINPITSGITYNQIFKAKAT
LTVDKSSSTAYLQLKSLTSEDSAVYYCTRRDYGTSLDYWGQGTTLTVSS

[0367] 核酸序列 (SEQ ID NO:63) :

[0368] GAGGTCCAGCTGCGGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTGCGGTGAAGATATCCTGCAAG
GCTTCTGGTTACTCATTCACTGGCTACCACATGAACTGGGTGAAGCAAAGTCTGAAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG
AGAGATTAATCCTATCACTAGTGGTATTACCTACAACCAGATTTTCAAGGCCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAAT
CCTCCAGCACAGCCTACTTGCAGCTCAAGAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTACAAGAAGGGAC
TACGGTACTAGCCTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

[0369] 58F10-1F6-VL

[0370] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:64) :

[0371] DIQMTQITSSLSASLGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLLSGVPSRFSGSGSGT
DYSLTISNLEQEDIATYFCQQDHTLPRTFGGGTKLEIR

[0372] 核酸序列 (SEQ ID NO:65) :

[0373] GATATCCAGATGACACAGATTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCACTTGC
AGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTA
CTACACATCAAGATTACTCTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTACCA
TTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTGCCAACAGGATCATAACGCTTCCTCGGACGTTGCGTGA
GGCACCAAGCTGGAAATCAGA

[0374] 73H5-1G2-VH

[0375] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:66) :

[0376] QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWIRQSPGKGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLSI
TKDNSKSVFFQMNSLQAADTAIYYCANNYGDCFAYWGQGTTLVTVSA

[0377] 核酸序列 (SEQ ID NO:67) :

[0378] CAGGTGCAGCTGAAGCAGTCAGGACCTGGCCTAGTGCAGCCCTCACAGAGCCTGTCCATAACCTGCACA
GTCTCTGGTTTCTCATTAACTAATGTTGTACACTGGATTGCCAGTCTCCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGG

AGTGATATGGAGAGGTGGAAGCACAGACTACAATGCAGCTTTCATGTCCAGACTGAGCATCACCAAGGACAACCTCCA
AGAGCCAAGTTTTCTTTCAAATGAACAGTCTGCAAGCTGCTGACACTGCCATATATTACTGTGCCAACAACCTATGGT
TACGACTGCTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

[0379] 73H5-1G2-VL

[0380] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:68) :

[0381] DVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSI IKYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGIPSRFSGSGSGT
DFTLTITSLEPEDFAMYYCQQHNEYPLTFGAGRLELK

[0382] 核酸序列 (SEQ ID NO:69) :

[0383] GATGTCCAAATAACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTGCATCTCCTGGAGAAACCATTACTATTAATTGC
AGGGCAAGTAAGAGTATTATCAAATATTTAGCCTGGTATCAAGAGAAACCTGGGAAAATAAAGCTTCTTATCTA
CTCTGGATCCACTTTGCAATCTGGAATCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACTCTCACCA
TCACTAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCAACAGCATAATGAATACCCGCTCACGTTCCGGTCT
GGGACCAGGCTGGAGCTGAAA

[0384] 110D4G4-VH

[0385] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:70) :

[0386] EVQLQQSGPGLVKPGASVKISCRASGYLFTGYMNVVKQSPEKSLEWIGEINPNTGDPRYDQKFKAKAT
LTVDRSSSTAYMHLKSLTSEDSAVYFCARRDYGTSLDYWGQGTTLTVTS

[0387] 核酸序列 (SEQ ID NO:71) :

[0388] GAGGTTCACTGCAGCAGTCTGGACCTGGGCTGGTGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGATATCCTGCAGG
GCTTCTGGTTACCTATTTCACTGGCTACTACATGAACTGGGTGAAGCAAAGTCTGAAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG
AGAGATTAATCCTAACACTGGTGATCCTAGATACGACCAGAAGTTAAGGCCAAGGCCACATTGACTGTAGACAGAT
CCTCCAGCACAGCCTACATGCACCTCAAGAGCCTGACATCTGAAGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGCCAGGAGGGAC
TACGGTACTAGCCTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCACCTCA

[0389] 110D4G4-VL

[0390] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:72) :

[0391] DVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGIPSRFSGSGSGS
DFTLTISSLEPEDFAMYYCQQHNEYPLTFGAGTKLELK

[0392] 核酸序列 (SEQ ID NO:73) :

[0393] GATGTCCAGATAACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTGCATCTCCTGGAGAAACCATTACTATTAATTGC
AGGGCAAGTAAGAGCATTAGCAAATATTTAGCCTGGTATCAAGAGAAACCTGGGAAAATAAAGCTTCTTATCTA
CTCTGGATCCACTTTGCAATCTGGAATCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCTGGTTCAGATTTCACTCTCACCA
TCAGTAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCAACAGCATAATGAATATCCGCTCACGTTCCGGTCT
GGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

[0394] 81A1F8-VH

[0395] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:74) :

[0396] EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKATGYLFTGYMNVVKQSPEKSLEWIGEINPNTGDTNNNQKFKAKAT
MTVDRSSSTAYMQLKRLTSEDSAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGTTLTVSS

[0397] 核酸序列 (SEQ ID NO:75) :

[0398] GAGGTTCACTGCAGCAGTCTGGACCTGAGTTGGTGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGATATCCTGCAAG

GCTACTGGTTACTTATTCACTGGCTACTACATGAACTGGGTGAAACAAAGTCCTGAAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG
AGAGATCAATCCTAACACTGGTGATACTAACAAACCAAGGTTCAAGGCCAAGGCCACAATGACTGTTGACAGAT
CCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAAGAGGCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTATTGTGTAAGAAGGGAC
TACGGTACTAGTCTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

[0399] 81A1F8-VL

[0400] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:76) :

[0401] DVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSINKYLAWYQEKPQKTNKLLIHSGSTLQSGIPSRFSGSRSGT
DFTLTISNLEPEDFAMYYCQQHNEYPIITFGAGTKLELK

[0402] 核酸序列 (SEQ ID NO:77) :

[0403] GATGTCCAGATAACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTGCATCTCCTGGAGAAACCATTACTATTAATTGC
AGGGCAAGTAAGAGTATTAACAAATATTTAGCCTGGTATCAAGAGAAACCTGGGAAAATAATAAGCTTCTTATCCA
CTCTGGATCCACTTTGCAATCTGGAATCCATCAAGGTTCACTGGCAGTAGATCTGGAACAGATTTCACTCTCACCA
TCAGTAACCTGGAGCCTGAAGATTTGCAATGTATTACTGTCAACAACATAATGAATATCCGATCACGTTCCGGTGT
GGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

[0404] 100F2E3-VH

[0405] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:78) :

[0406] QVQLQQPGAELVRPGSSVKLSCKTSDYTFSTYWMDWVKQRPQGLEWIGNIYPSDSKTHSNQKFRDKAT
LTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYGYAMDYWGQGTSTVTVSS

[0407] 核酸序列 (SEQ ID NO:79) :

[0408] CAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGGGGCTGAACTGGTGAGGCCTGGGTCTTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAG
ACTTCTGACTACACCTTACCAGCTACTGGATGGATTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAATGGATTGG
TAACATTTACCCTTCTGATAGTAAACTCACTCCAATCAAAAGTTCAGGGACAAGGCCACATTGACTGTAGACAAAT
CCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAACAGCCTGACATCTGAAGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAAGAGGT
GGTTACTACGGCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

[0409] 100F2E3-VL

[0410] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:80) :

[0411] DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASIRESGVPDRFT
GSGSGTDFLTITSSVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGKLEIK

[0412] 核酸序列 (SEQ ID NO:81) :

[0413] GACATTGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCTGAGTGTGTCAGCAGGAGAGAAGGTCCTATGAGCTGC
AAGTCCAGTCAGAGTCTGTAAATAGTGGAAATCAAGACAACACTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGCC
TCCTAAACTGTTGATCTACGGGCATCCATTAGGGAATCTGGGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGAA
CCGATTTCACTCTTACCATCAGTAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAAATGATCATAGTTAT
CCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGTTGGAAATAAAA

[0414] 111F3A2-VH

[0415] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:82) :

[0416] QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLITYGVSWVRQPPGKLEWLVGIWGDGTTNYHSALKPRLTI
SKDDSKSQVLLKLSLQTDATYYCANYYGYPPFFAYWGQGLVTVSA

[0417] 核酸序列 (SEQ ID NO:83) :

[0418] CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCATCACATGCACT
GTCTCAGGATTCTCATTAAATCACCTATGGTGTAAAGCTGGGTTCGCCAGCCTCCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGG
AGTAATATGGGGTGACGGGACCACAAAATTATCATTAGCTCTCAAACCCAGACTGACCATCAGCAAGGATGACTCCA
AGAGCCAAGTCCTCTTAAAATTGAACAGTCTGCAAAGTATGACACAGCCACGTACTACTGTGCCAACTACTATGGT
TACCCCTTTTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

[0419] 111F3A2-VL

[0420] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:84) :

[0421] DIQMTQSSSSFSVSLGDRVITCKASEDIYNRLAWYQQKPGSAPGVLISGATNLVTGIPSRFSGSGSGK
DYTLTITSLQTEDVATYYCQQYWSSPPTFGGGTKLEIK

[0422] 核酸序列 (SEQ ID NO:85) :

[0423] GACATCCAGATGACACAATCTTCATCCTCCTTTTCTGTATCTCTAGGAGACAGAGTCACCATTACTTGC
AAGGCAAGTGAGGACATATATAATCGGTTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGAAGTGCTCCTGGGGTCTTAATATC
TGGTGCAACCAATTTGGTAACTGGGATTCCTCAAGATTCAGTGGCAGTGGATCTGGAAAGGATTACACTCTCACCA
TTACCAGTCTTCAGACTGAAGATGTTGCTACTTATTACTGTCAACAGTATTGGAGTAGTCTCCGACGTTCCGGTGA
GGCACCAAGCTGGAAATCAAA

[0424] 81A7A10-VH

[0425] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:86) :

[0426] QVQLKESGPGLVAPLQSLITCTVSGFSLSSYGVSWVRQLPGKGLEWLGVIWGDGSTDYHSTLTSRLSF
SKDNSESQVFLKLNLSLQDDTATYYCAIFYGYDEGFAYWQGTLVTVSA

[0427] 核酸序列 (SEQ ID NO:87) :

[0428] CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTTACAGAGCCTGTCCATCACATGCACT
GTCTCAGGGTTCTCATTAAAGCAGTTATGGTGTAAAGCTGGGTTCGCCAGCTTCCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGG
AGTAATATGGGGTGACGGGAGCACAGATTATCATTCAACTCTCACATCCAGACTGAGCTTCCAGCAAGGATAATTCCG
AGAGCCAAGTTTTCTTAAAAGTGAATAGTCTGCAAAGTATGACACAGCCACATACTACTGTGCCATTTTCTATGGT
TACGACGAAGGGTTTGCTTATTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

[0429] 81A7A10-VL

[0430] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:88) :

[0431] ENVLTQSPAIMSAFLGEKVTMSCRASSTVNYMYWYQQKSDASPKVWIYYTSRLAPGVPARFSGSGSGNS
FSLTISSMEGEDAATYYCQQFTSSPLTFGAGTKLELR

[0432] 核酸序列 (SEQ ID NO:89) :

[0433] GAAAATGTGCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATTTCTAGGGGAGAAGGTCACCATGAGCTGC
AGGGCCAGCTCAACTGTAAATTACATGTACTGGTACCAGCAGAAGTCAGATGCCTCCCCCAAAGTTTGATTTATTA
CACATCCAGGTTGGCTCCTGGAGTCCCAGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGAACTCTTTTTCTCTACAATCA
GCAGCATGGAGGGTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGTTTACTAGTTCCTCCCGCTCACGTTCCGGTGCTGGG
ACCAAGCTGGAGCTGAGA

[0434] 107D10D11-VH

[0435] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:101) :

[0436] QIQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLSSYGVNWVRQSPGKGLEWLGMIWSSGNTDYNAAFISRVSF
TKDNSKSQVFFTMNSLQADDTAIYYCARIWYYGMDYWGQGTSTVTVSS

[0437] 核酸序列 (SEQ ID NO:102) :

[0438] CAGATACAGCTGAAGCAGTCAGGACCTGGCCTAGTGCAGCCCTCACAGAGTCTGTCCATCACCTGCACA
GTCTCTGGTTTCTCATTAAAGTAGTTATGGTGTAATTTGGGTTCGCCAGTCTCCAGGAAAGGGTCTGGAATGGCTGGG
AATGATATGGAGTGGTGGAAACACAGACTATAATGCAGCTTTCATATCCAGAGTGAGCTTCACCAAGGACAATTCCA
AGAGCCAAGTTTTCTTTACAATGAACAGTCTGCAAGCTGATGACACAGCCATATATTACTGTGCCAGAATATGGTAC
TATGGTATGGACTACTGGGGTCAGGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

[0439] 107D10D11-VL

[0440] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:103) :

[0441] DIVMTQSQKFMSTTVGDRVSITCKASQNVGTAVAWFQQKPGQSPKILIYSASIRYPGVDPDRFTGSGSGT
DFTLTTSNVQSEDLADYFCLQYITFPRTFGGGTKLYIK

[0442] 核酸序列 (SEQ ID NO:110) :

[0443] GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACAACAGTAGGAGACAGGGTCAGCATCACCTGC
AAGGCCAGTCAGAATGTGGGTACTGCTGTAGCCTGGTTTCAACAGAAACCAGGACAATCTCCTAAAATACTGATTTA
TTCAGCATCCATTCGCTACCCTGGAGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA
CTAGCAATGTGCAGTCTGAAGACCTGGCAGATTATTTCTGTCTGCAATATATCACCTTTCCTCGGACGTTCCGGTGA
GGCACCAAGCTGTATATCAAA

[0444] 101H9G9A2-VH

[0445] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:109) :

[0446] QVQLLQPGAELVRPGSSVKLSCKASDYTFSTYWMWVKQRPQQLEWIGNIYPSDSKTHYNQKFKDKAT
LTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGTSTVTVSS

[0447] 核酸序列 (SEQ ID NO:204) :

[0448] CAGGTGCAGCTGCTGCAGCCCCGGCGCTGAGCTGGTGAGACCCGGAAGCAGCGTGAAGCTGAGCTGCAAA
GCCAGCGACTACACATTCACAAGCTACTGGATGGACTGGGTGAAACAGAGACCTGGCCAGGGACTGGAATGGATTGG
AAACATCTACCCAGTGACAGCAAGACCCACTACAACCAGAAGTTCAAGGACAAAGCCACCCTGACCGTGGACAAGA
GCAGCAGCACCCGCTACATGCAGCTGAACAGCCTGACCAGCGAAGACAGCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAAGAGGC
GGCTACTACGCCTATGCCATGGACTACTGGGGGCAGGGAACCAGCGTGACCGTGAGCAGC

[0449] 101H9G9A2-VL

[0450] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:111) :

[0451] DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMRCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLLYGARIRESGVPDRFI
GSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0452] 核酸序列 (SEQ ID NO:205) :

[0453] GACATTGTGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGTGAGCGCCGAGAAAAAGTGACCATGAGATGC
AAGAGCAGCCAGAGCCTGCTGAACAGCGGGAACCAGGACAACCTACCTGGCCTGGTATCAACAGAAGCCCGCCAGCC
CCCCAAACTGCTGCTGTATGGAGCCAGAATCAGAGAGAGCGGCGTGCCCGACAGATTCATCGGCAGCGGCAGCGGAA
CCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCGTGCAGGCTGAGGACCTGGCCGTGTACTACTGCCAGAACGACCACAGCTAC
CCCTATACCTTTGGAGGCGGCACCAAGGTGGAGATCAAA

[0454] 173B1C1-VH

[0455] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:118) :QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTSNTMHWVKRPG
QGLEWIGYINPGSAYTNYNQKFNDKATLTADKSSSTASMQLSLTSSEDSAVYYCARLATYYDNDGYAMDYWGQTSV

TVSS

[0456] 核酸序列 (SEQ ID NO:206) :

[0457] CAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAACTGGCAAGACCTGGTGCCTCAGTGAAGATGTCCTGCAAG
GCTTCTGGCTACACCTTTACTAGCAACACGATGCACTGGGTAAAACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGG
ATACATTAATCCTGGCAGTGCTTATACTAACTACAATCAGAAGTTCAATGACAAGGCCACATTGACTGCAGACAAGT
CCTCCAGCACAGCCTCCATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGACTCGCG
ACCTACTATGATAACGACGGATATGCTATGGACTATTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

[0458] 173B1C1-VL (1)

[0459] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:120) :

[0460] DIQMTQSTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSKLHSGVPSRFSGSGSGT
DFSLTITNLEQEDFATYFCQQGHTLPWTFGGGKLEIK

[0461] 核酸序列 (SEQ ID NO:207) :

[0462] GACATCCAGATGACACAGTCTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGC
AGGGCAAGTCAGGACATTAGTAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTA
CTACACATCAAAATTACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTTTTCTCTCACCA
TTACCAACCTGGAGCAAGAAGATTTTGCCACTACTTTTGCCAACAGGGTCATACGCTTCCGTGGACGTTCGGTGGA
GGCACCAAACCTGGAGATCAAA

[0463] 173B1C1-VL (2)

[0464] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:221) :

[0465] DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSKLHSGVPSRFSGSGSGT
DFSLTITNLEQEDFATYFCQQGHTLPWTFGGGKLEIK

[0466] 核酸序列 (SEQ ID NO:208) :

[0467] GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGC
AGGGCAAGTCAGGACATTAGTAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTA
CTACACATCAAAATTACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTTTTCTCTCACCA
TTACCAACCTGGAGCAAGAAGATTTTGCCACTACTTTTGCCAACAGGGTCATACGCTTCCGTGGACGTTCGGTGGA
GGCACCAAACCTGGAGATCAAA

[0468] 107D10E11-VH

[0469] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:122) :

[0470] EVQLQQSGTGLVKGTSVKLSCKASGYSFYSYWITWVKRPGQGLEWIGDISPAGGGRNYNERFKNKAT
LTVDASSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCVRGDSTVDLDYWGQGTTLVSS

[0471] 核酸序列 (SEQ ID NO:228) :

[0472] GAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGACTGGACTTGTGAAGCCTGGGACTTCAGTGAAGTTGTCCTGCAAG
GCTTCTGGCTACAGCTTACCAGCTACTGGATAACCTGGGTGAAACAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGG
AGATATTTCTCCTGCTGGTGGTGGTCGTAACCTACAATGAGAGATTCAAGAACAAGGCCACACTGACTGTAGACGCAT
CCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGTAAGAGGTGAT
AGTACGGTAGACTTAGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

[0473] 107D10E11-VL

[0474] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:124) :

[0475] DIVMTQAAPSVVPTPGESVSI SCRSSKSLHNSGNTYLYWFLQRPQQSPQLLIYRVSNLASGVPDRFSG
SGSGTAFTLRISRVEADVGVYYCMQHLEYPYTFGGGKLEIK

[0476] 核酸序列 (SEQ ID NO:229) :

[0477] GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTACCTGTCACCTCCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTGC
AGGTCTAGTAAGAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACTTGTATTGGTTCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCC
TCAGCTCCTGATATATCGGGTGTCCAACCTTGCCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTGAGGGACTG
CTTTCACACTGAGAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAACATCTAGAATATCCG
TACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA

[0478] 109G10A6-VH

[0479] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:132) :

[0480] EVLLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYGFTDYNMDWIKQSHGKSLEWIGDINPHNGDTIYNQKFKGKAK
LTVDKSSSTAYMELRSLASEDTAVYYCARRGAYYYGSSHYALDFWGQGTSVTVSS

[0481] 核酸序列 (SEQ ID NO:209) :

[0482] GAGGTCCTGCTGCAACAGTCTGGACCTGAACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATACCCTGCAAG
GCTTCTGGATACGGATTCACTGACTACAACATGGACTGGATAAAAACAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG
AGATATTAATCCTCACAATGGTGATACTATCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCAAATTGACTGTAGACAAGT
CCTCCACCACTGCCTACATGGAACCTCCGACGCTGGCATCTGAGGACACCGCAGTCTATTACTGTGCAAGGAGGGGG
GCATATTACTACGGTAGTAGCCACTATGCTCTGGACTTCTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

[0483] 109G10A6-VL

[0484] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:134) :

[0485] DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDITNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRFLSGVPSRFRSGSGSGT
DYSLTISNLKREDIATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIK

[0486] 核酸序列 (SEQ ID NO:210) :

[0487] GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGC
AGGGCAAGTCAGGACATTACCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTA
CTACACATCAAGATTATTCTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTACCA
TTAGCAACCTGAAACGAGAAGATATTGCCACTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTCCGTGGACGTTCCGGTGA
GGCACCAAGCTGGAAATCAAA

[0488] 94G12D11-VH

[0489] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:141) :

[0490] EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYLFTGYMNVVKQSPEKSLEWIGEINPNKGDSNLNQNFKAKAT
LTVDKSSSTAYMQFKSLTFEDSAVYFCVRRDYGTSLDHWGQGTTLTVSS

[0491] 核酸序列 (SEQ ID NO:211) :

[0492] GAGGTTCACTGTCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGCAAG
GCCTCTGGTTACTTATTCACTGGCTACTACATGAACTGGGTGAAACAAAGTCCGAAAAGAGTCTTGAGTGGATTGG
AGAGATTAATCCTAACAAGGTGATAGTAATCTCAACCAGAATTTCAAGGCCAAGGCCACATTGACTGTTGACAAAT
CCTCCAGCACAGCCTACATGCAGTTCAAGAGCCTGACATTTGAGGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGTAAGAAGGGAC
TACGGCACTAGTCTTGACCACTGGGGCCAAGGCACGACTCTCACAGTCTCCTCA

[0493] 94G12D11-VL

[0494] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:143) :

[0495] DVQITQSPSYLATSPGETITINCRASKSISKYLAWYQEKPGKTKLLIYSGSTLHTAIPSRFSGRFGT
DFTLTISSLEPEDFAMYYCQQHNEYPIITFGGGTKLELK

[0496] 核酸序列 (SEQ ID NO:212) :

[0497] GATGTCCAGATAACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTACATCTCCTGGAGAAACCATTACTATTAATTGC
AGGGCAAGTAAGAGTATTAGCAAATATTTAGCCTGGTATCAAGAGAAACCTGGGAAAATAAGAAGCTTCTTATCTA
CTCTGGATCCACTTTGCATACTGCAATCCATCAAGGTTCACTGGCCGTGGATTTGGTACAGATTTCACTCTCACCA
TCAGTAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCAACAGCATAATGAATACCCAATCACATTCGGTGGT
GGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

[0498] 92F5B8-VH

[0499] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:146) :

[0500] EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKATGYLFTGYMNVVKQSPEKSLEWIGEINPNTGDTNNNQKFKAKAT
MTVDRSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGTTLTVSS

[0501] 核酸序列 (SEQ ID NO:213) :

[0502] GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGTTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGCAAG
GCTACTGGTTACTTATTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGTGAAGCAAAGTCCTGAAAAGAGCCTTGAGTGGATTGG
AGAGATCAATCCTAACACTGGTGATACTAACAACAACCAGAAGTTCAAGGCCAAGGCCACAATGACTGTTGACAGAT
CCTCCAGTACAGCCTACATGCAGCTCAAGAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTATTGTGTAAGAAGGGAC
TACGGTACTAGCCTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCCTCTCACAGTCTCCTCA

[0503] 92F5B8-VL

[0504] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:148) :

[0505] DVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSINKYLAWYQEKPGKTKLLIHSSTLHSGIPSRFSGSRSGT
DFTLTISNLEPEDFAMYYCQQHNEYPLTFGAGTKLELK

[0506] 核酸序列 (SEQ ID NO:214) :

[0507] GATGTCCAGATAACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTGCATCTCCTGGAGAAACCATTACTATTAATTGC
AGGGCAAGTAAGAGTATTAACAAATATTTAGCCTGGTATCAAGAGAAACCTGGGAAAATAATAAGCTTCTTATCCA
CTCTGGATCCACTTTGCACTCTGGAATCCATCAAGGTTCACTGGCAGTAGATCTGGAACAGATTTCACTCTCACCA
TCAGTAACCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCAACAACATAATGAATACCCGCTCACGTTGCGTGCT
GGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

[0508] 185B11E3-VH

[0509] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:156) :

[0510] QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTSNTMHVVKRPGQGLEWIGYINPGSAYTNYNQKFNKAT
LTADKSSSTASMLSSLTSEDSAVYYCARLATYYDNDGYAMDYWGQGTSTVTVSS

[0511] 核酸序列 (SEQ ID NO:215) :

[0512] CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGCGCCGAGCTGGCTAGACCCGAGCTTCCGTGAAGATGAGCTGCAAA
GCCAGCGGTACACATTCACATCCAACACAATGCACTGGGTGAAACAGAGGCTGGCCAGGGACTGGAGTGGATTGG
GTACATCAACCCCGGCAGCGCCTACACCAACTACAACCAGAAATTCAATGACAAAGCCACACTGACCGCCGACAAAA
GCAGCAGCACAGCCAGCATGCAGCTGAGCAGCCTGACCTCCGAGGACAGCGCTGTGTACTACTGCGCCAGACTGGCC
ACCTACTACGACAACGACGGATACGCCATGGATTACTGGGGACAGGGAACCAGCGTGACCGTGAGCAGC

[0513] 185B11E3-VL

[0514] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:158) :

[0515] ENVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVNYMYWYQQRSSTSPKLWIYGTSKLASGVPGRFSGSGSGNS
YSLTISSMEAEDVATYYCFQSGSYPYTFGGGTKLEIK

[0516] 核酸序列 (SEQ ID NO:216) :

[0517] GAGAATGTGCTGACCCAGAGCCCCGCCATCATGAGTGCCAGCCCAGGAGAGAAGGTGACAATGACATGC
AGCGCCAGCAGCAGCGTGAATTACATGTAAGTACCAGCAGAGAAGCAGCACCAGCCCCAAGCTGTGGATCTACGG
CACCAGCAAGCTGGCCAGCGGAGTGCCCGCAGATTCTCCGGAAGTGAAGCGGAAATAGCTACAGCCTGACTATCA
GCAGCATGGAGGCCGAAGATGTTGCTACCTACTACTGCTTTCAGGGCAGCGGCTACCCCTACACCTTCGGCGGGCGG
ACCAAGCTGGAGATCAAG

[0518] 168B11E2-VH

[0519] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:164) :

[0520] QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPPGKGLEWLGVIWGDGNTNYHSALISRLSI
SKDNSKSQVFLKLNLSLQDDTATYYCANLYVLFAYWGQGLVTVSA

[0521] 核酸序列 (SEQ ID NO:217) :

[0522] CAGGTGCAGCTGAAGGAAAGCGGCCCGCCTGGTGGCCCCATCTCAGAGTCTGAGCATCACCTGCACA
GTGAGCGGCTTCAGCCTGACAAGCTACGGCGTGAGCTGGGTGAGACAGCCCCCGGAAAGGGCCTGGAATGGCTGGG
CGTGATTTGGGGCGACGGCAACACAAACTACCACAGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCAGCAAGGACAATAGCA
AGAGCCAGGTGTTCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACACCCGACCTACTACTGCGCCAACCTGTACGTG
CTGTTTCGCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCGCT

[0523] 168B11E2-VL

[0524] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:166) :

[0525] ENVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHYQQKSSTSPKLWIYGTSKLASGVPGRFSGSGSGNS
YSLTISSMEAEDVATYYCFQSGSYPYTFGGGTKLEIK

[0526] 核酸序列 (SEQ ID NO:218) :

[0527] GAGAATGTGCTGACCCAGAGCCCCGCCATCATGAGTGCCAGCCCAGGAGAGAAGGTGACAATGACATGC
AGCGCCAGCAGCAGCGTGAATTACATGCACTGGTACCAGCAGAAGAGCAGCACCAGCCCCAAACTGTGGATCTACGG
GACCAGCAAGCTGGCCAGCGGAGTGCCCGAAGATTCAGTGGCAGCGGAAGCGGCAATAGCTACAGCCTGACTATCA
GCAGCATGGAGGCCGAAGATGTTGCTACCTACTACTGTTTTTCAGGGAAGCGGCTACCCATACACCTTCGGGGGGGG
ACCAAGCTGGAAATCAAG

[0528] 188H6D3-VH

[0529] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:174) :

[0530] QVQLQQPGTELKPGASVKLSCKASGYTFTNYWIHWKQRPQGLEWIGDINPTNGGTNYNEKFKTKAI
LTVDRSSSTAYMQVSSLTSEDSAVYYCARSGGYDFDYWGQGLTLTVSS

[0531] 核酸序列 (SEQ ID NO:219) :

[0532] CAGGTGCAGCTGCAGCAGCCAGGCACAGAGCTGGTGAAGCCCGGCGCCAGCGTGAAACTGAGCTGCAAA
GCCAGCGGCTACACCTTCACAACTACTGGATTCATTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGCCAGGGACTGGAGTGGATCGG
CGACATTAACCCACAAACGGAGGCACAACTACAACGAGAAATTCAAGACCAAAGCCATCCTGACCGTGGACAGAA
GCAGTAGCACAGCCTACATGCAGGTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTATTGCGCCAGAAGCGGC

GGCTACGACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCTGACCGTGAGCAGC

[0533] 188H6D3-VL

[0534] 氨基酸序列 (SEQ ID NO:176) :

[0535] DVVMTQTPLTSLVITIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTG
SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTYPPLTFGAGTKLELK

[0536] 核酸序列 (SEQ ID NO:220) :

[0537] GACGTGGTGATGACCCAGACCCCCCTGACACTGAGCGTGACCATCGGACAGCCCCGCCAGCATCAGCTGC
AAGAGCAGCCAGAGCCTGCTGGACAGCGACGAAAAACATATCTGAATTGGCTGCTGCAGAGGCCTGGCCAGAGCCC
CAAAGACTGATCTACCTGGTGAGCAAGCTGGACAGCGGGGTGCCGACAGATTCACCGGCAGCGGAAGCGGCACCG
ACTTACCCCTGAAGATCTCCAGAGTGAAGCCGAGGACCTGGGCGTGTACTACTGCTGGCAGGGAACCTACTTCCCC
CTGACCTTTGGAGCCGGCACCAAGCTGGAAGTGAAG

[0538] 已知CDR负责抗原结合,然而,已发现并非所有6个CDR都是必不可少的或不可改变的。换句话说,有可能替换或改变或修饰抗CD24抗体33E7E12、71A4F12、56A7E3、58F10-1F6、73H5-1G2、110D4G4、81A1F8、100F2E3、111F3A2、81A7A10、107D10D11、101H9G9A2、173B1C1、107D10E11、109G10A6、94G12D11、92F5B8、185B11E3、168B11E2或188H6D3中的一个或多个CDR,但仍基本上保持与CD24的特异性结合亲和力。

[0539] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD24抗体和抗原结合片段包含抗CD24抗体33E7E12、71A4F12、56A7E3、58F10-1F6、73H5-1G2、110D4G4、81A1F8、100F2E3、111F3A2、81A7A10、107D10D11、101H9G9A2、173B1C1、107D10E11、109G10A6、94G12D11、92F5B8、185B11E3、168B11E2或188H6D3中的一者的重链CDR3序列。在某些实施方式中,本文所提供的抗CD24抗体和抗原结合片段包含选自以下组成的群组的重链CDR3序列:SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、14、16、17、18、19、21、23、25、27、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、97、104、105、106、113、114、115、126、127、128、136、137、150、151、152、160、161、162、168、169、170、222、223和224。重链CDR3区位于抗原结合位点的中心,且因此被认为与抗原接触最多,并且为抗体与抗原的亲和力提供最多的自由能。还认为通过多种多样化机制,重链CDR3在长度、氨基酸组成和构象方面是迄今为止抗原结合位点中最具多样性的CDR (Tonegawa S. 《自然》.302:575-81)。重链CDR3的多样性足以产生大多数抗体特异性 (Xu JL, Davis MM. 《免疫 (Immunity.)》13:37-45) 以及所需的抗原结合亲和力 (Schier R等,《分子生物学杂志》263:551-67)。

[0540] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体和/或其抗原结合片段包含合适的框架区 (FR) 序列,只要抗体和/或其抗原结合片段可与CD24特异性结合即可。表1中提供的CDR序列是从小鼠抗体获得的,但它们可使用本领域中已知的合适方法 (如重组技术) 移植到任何合适的物种,如小鼠、人类、大鼠、兔等的任何合适的FR序列。

[0541] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体和/或其抗原结合片段为人源化的。人源化抗体或抗原结合片段在其降低人类的免疫原性方面是合乎需要的。人源化抗体在其可变区中是嵌合的,因为非人类CDR序列被移植到人类或基本上人类FR序列。抗体或抗原结合片段的人源化可基本上通过用人类免疫球蛋白基因中的对应人类CDR基因取代非人类 (如鼠类) CDR基因来进行 (参见例如Jones等人 (1986) 《自然》321:522-525; Riechmann等人 (1988) 《自然》332:323-327; Verhoeyen等人 (1988) 《科学》239:1534-1536)。

[0542] 可使用本领域中已知的方法选择合适的人类重链和轻链可变结构域以实现此目的。在一说明性实例中,可以使用“最佳拟合”方法,其中针对已知的人类可变结构域序列的数据库筛选或BLAST化非人类(例如啮齿动物)抗体可变结构域序列,并且鉴别最接近非人类查询序列的人类序列且将其用作移植非人类CDR序列的人类支架(参见例如Sims等人,(1993)《免疫学杂志》151:2296;Chothia等人(1987)《分子生物学杂志》196:901)。替代地,从所有人类抗体的共有序列衍生的框架可用于非人类CDR的移植(参见例如Carter等人(1992)《美国国家科学院院刊》,89:4285;Presta等人(1993)《免疫学杂志》,151:2623)。在某些实施方式中,本文所提供的人源化抗体或抗原结合片段除CDR序列为非人类序列外,基本上全部由人类序列构成。在一些实施方式中,可变区FR和恒定区如果存在则完全或基本上来自人类免疫球蛋白序列。人类FR序列和人类恒定区序列可来源于不同的人类免疫球蛋白基因,例如FR序列来源于一种人类抗体,而恒定区来源于另一人类抗体。

[0543] 本公开还提供抗CD24抗体和其抗原结合片段,其包含人源化抗CD24抗体81A1F8-VH11/VL11、81A1F8-VH21/VL11、81A1F8-VH31/VL11、81A1F8-VH11/VL21、81A1F8-VH21/VL21、81A1F8-VH31/VL21、81A1F8-VH11/VL31、81A1F8-VH21/VL31、81A1F8-VH31/VL31、81A1F8-VH11/VL41、81A1F8-VH21/VL41或81A1F8-VH31/VL41;或101H9G9A2-mVH/mVL-V1、101H9G9A2-mVH/mVL-V2、101H9G9A2-mVH/mVL-V3、101H9G9A2-mVH/mVL-V4、101H9G9A2-mVH/mVL-V5、101H9G9A2-hVH1/hVL1、101H9G9A2-hVH1/hVL2、101H9G9A2-hVH1/hVL3、101H9G9A2-hVH1/hVL4、101H9G9A2-hVH2/hVL1、101H9G9A2-hVH2/hVL2、101H9G9A2-hVH2/hVL3、101H9G9A2-hVH2/hVL4、101H9G9A2-hVH3/hVL1、101H9G9A2-hVH3/hVL2、101H9G9A2-hVH3/hVL3、101H9G9A2-hVH3/hVL4、101H9G9A2-hVH4/hVL1、101H9G9A2-hVH4/hVL2、101H9G9A2-hVH4/hVL3、101H9G9A2-hVH4/hVL4、101H9G9A2-hVH5/hVL1、101H9G9A2-hVH5/hVL2、101H9G9A2-hVH5/hVL3或101H9G9A2-hVH5/hVL4的一个或多个(例如1、2、3、4、5或6个)CDR序列。

[0544] 如本文中所使用的“81A1F8-VH11/VL11”是指基于81A1F8小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:177的重链可变区和SEQ ID NO:180的轻链可变区。

[0545] 如本文中所使用的“81A1F8-VH21/VL11”是指基于81A1F8小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:178的重链可变区和SEQ ID NO:180的轻链可变区。

[0546] 如本文中所使用的“81A1F8-VH31/VL11”是指基于81A1F8小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:179的重链可变区和SEQ ID NO:180的轻链可变区。

[0547] 如本文中所使用的“81A1F8-VH11/VL21”是指基于81A1F8小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:177的重链可变区和SEQ ID NO:181的轻链可变区。

[0548] 如本文中所使用的“81A1F8-VH21/VL21”是指基于81A1F8小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:178的重链可变区和SEQ ID NO:181的轻链可变区。

[0549] 如本文中所使用的“81A1F8-VH31/VL21”是指基于81A1F8小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:179的重链可变区和SEQ ID NO:181的轻链可变区。

[0550] 如本文中所使用的“81A1F8-VH11/VL31”是指基于81A1F8小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:177的重链可变区和SEQ ID NO:182的轻链可变区。

[0551] 如本文中所使用的“81A1F8-VH21/VL31”是指基于81A1F8小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:178的重链可变区和SEQ ID NO:182的轻链可变区。

- [0552] 如本文中所使用的“81A1F8-VH31/VL31”是指基于81A1F8小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:179的重链可变区和SEQ ID NO:182的轻链可变区。
- [0553] 如本文中所使用的“81A1F8-VH11/VL41”是指基于81A1F8小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:177的重链可变区和SEQ ID NO:183的轻链可变区。
- [0554] 如本文中所使用的“81A1F8-VH21/VL41”是指基于81A1F8小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:178的重链可变区和SEQ ID NO:183的轻链可变区。
- [0555] 如本文中所使用的“81A1F8-VH31/VL41”是指基于81A1F8小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:179的重链可变区和SEQ ID NO:183的轻链可变区。
- [0556] 如本文中所使用的“101H9G9A2-mVH/mVL-V1”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:189的重链可变区和SEQ ID NO:195的轻链可变区。
- [0557] 如本文中所使用的“101H9G9A2-mVH/mVL-V2”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:189的重链可变区和SEQ ID NO:196的轻链可变区。
- [0558] 如本文中所使用的“101H9G9A2-mVH/mVL-V3”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:189的重链可变区和SEQ ID NO:197的轻链可变区。
- [0559] 如本文中所使用的“101H9G9A2-mVH/mVL-V4”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:189的重链可变区和SEQ ID NO:198的轻链可变区。
- [0560] 如本文中所使用的“101H9G9A2-mVH/mVL-V5”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:189的重链可变区和SEQ ID NO:199的轻链可变区。
- [0561] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH1/hVL1”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:190的重链可变区和SEQ ID NO:200的轻链可变区。
- [0562] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH1/hVL2”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:190的重链可变区和SEQ ID NO:201的轻链可变区。
- [0563] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH1/hVL3”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:190的重链可变区和SEQ ID NO:202的轻链可变区。
- [0564] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH1/hVL4”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:190的重链可变区和SEQ ID NO:203的轻链可变区。
- [0565] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH2/hVL1”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:191的重链可变区和SEQ ID NO:200的轻链可变区。
- [0566] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH2/hVL2”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:191的重链可变区和SEQ ID NO:201的轻链可变区。
- [0567] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH2/hVL3”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:191的重链可变区和SEQ ID NO:202的轻链可变区。
- [0568] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH2/hVL4”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:191的重链可变区和SEQ ID NO:203的轻链可变区。
- [0569] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH3/hVL1”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:192的重链可变区和SEQ ID NO:200的轻链可变区。
- [0570] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH3/hVL2”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:192的重链可变区和SEQ ID NO:201的轻链可变区。
- [0571] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH3/hVL3”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人

源化抗体,其包含SEQ ID NO:192的重链可变区和SEQ ID NO:202的轻链可变区。

[0572] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH3/hVL4”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:192的重链可变区和SEQ ID NO:203的轻链可变区。

[0573] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH4/hVL1”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:193的重链可变区和SEQ ID NO:200的轻链可变区。

[0574] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH4/hVL2”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:193的重链可变区和SEQ ID NO:201的轻链可变区。

[0575] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH4/hVL3”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:193的重链可变区和SEQ ID NO:202的轻链可变区。

[0576] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH4/hVL4”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:193的重链可变区和SEQ ID NO:203的轻链可变区。

[0577] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH5/hVL1”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:194的重链可变区和SEQ ID NO:200的轻链可变区。

[0578] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH5/hVL2”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:194的重链可变区和SEQ ID NO:201的轻链可变区。

[0579] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH5/hVL3”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:194的重链可变区和SEQ ID NO:202的轻链可变区。

[0580] 如本文中所使用的“101H9G9A2-hVH5/hVL4”是指基于101H9G9A2小鼠/嵌合体的人源化抗体,其包含SEQ ID NO:194的重链可变区和SEQ ID NO:203的轻链可变区。

[0581] 表2显示根据IMGT编号的这些37种抗CD24抗体的CDR序列。下文还提供重链和轻链可变区序列。

[0582] 表2.

[0583]

抗体 ID:		CDR1	CDR2	CDR3
81A1F8-VH11/VL11	VH	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 28
81A1F8-VH21/VL11		GYVMN	EINPNTGDTNNN	RDYGTSL
81A1F8-VH31/VL11				
81A1F8-VH11/VL21	VL	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 31
81A1F8-VH21/VL21				
81A1F8-VH31/VL21				
81A1F8-VH11/VL31		RASKSINKYLA	SGSTLQS	QQHNEYFIT
81A1F8-VH21/VL31				
81A1F8-VH31/VL31				
81A1F8-VH11/VL41				
81A1F8-VH21/VL41				
81A1F8-VH31/VL41				
101H9G9A2-mVH/m	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106
VL-V1		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYAMDY
101H9G9A2-mVH/m	VL	SEQ ID NO: 184	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37
VL-V1		QSLQSGNQDNY	GAR	QNDHSYPYT
101H9G9A2-mVH/m	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106
VL-V2		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYAMDY
101H9G9A2-mVH/m	VL	SEQ ID NO: 185	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37
VL-V2		QSLNAGNQDNY	GAR	QNDHSYPYT
101H9G9A2-mVH/m	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106
VL-V3		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYAMDY
	VL	SEQ ID NO: 186	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37
		QSLSSGNQDNY	GAR	QNDHSYPYT

101H9G9A2-mVH/m VL-V4	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106	
		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYAMDY	
101H9G9A2-mVH/m VL-V4	VL	SEQ ID NO: 187	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37	
		QSLLYSGNQDNY	GAR	QNDHSYPYT	
101H9G9A2-mVH/m VL-V5	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106	
		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYAMDY	
101H9G9A2-mVH/m VL-V5	VL	SEQ ID NO: 188	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37	
		QSLLASGNQDNY	GAR	QNDHSYPYT	
101H9G9A2-hVH1/h VL1	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106	
		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYAMDY	
101H9G9A2-hVH1/h VL2	VL	SEQ ID NO: 107	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37	
101H9G9A2-hVH1/h VL3					
101H9G9A2-hVH1/h VL4					
101H9G9A2-hVH2/h VL1					
101H9G9A2-hVH2/h VL2					
101H9G9A2-hVH2/h VL3					
101H9G9A2-hVH2/h VL4					
101H9G9A2-hVH3/h VL1					
101H9G9A2-hVH3/h VL2					
101H9G9A2-hVH3/h VL3					
101H9G9A2-hVH3/h VL4					
101H9G9A2-hVH4/h VL1					
101H9G9A2-hVH4/h VL2					
101H9G9A2-hVH4/h VL3					
101H9G9A2-hVH4/h VL4					
101H9G9A2-hVH5/h VL1					
101H9G9A2-hVH5/h VL2					
101H9G9A2-hVH5/h VL3					
101H9G9A2-hVH5/h VL4					
			QSLNLSGNQDNY	GAR	QNDHSYPYT

[0584]

[0585] 下文提供这些人源化抗体的重链或轻链可变区序列。

[0586] 81A1F8-VH11/VL11

[0587] VH氨基酸序列(SEQ ID NO:177) :

[0588] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQGLEWMGEINPNTGDTNNNQKFKARVT
MTVDRSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGLVTVSS

- [0589] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:180) :
[0590] DVQITQSPSSLSASVGDRTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVPSRFSGSRSGT
DFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPIITFGQGTKLEIK
[0591] 81A1F8-VH21/VL11
[0592] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:178) :
[0593] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYLFTGYMNVWRQAPGQGLEWMGEINPNTGDTNNTQKFKARVT
MTVDRSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGLTVTVSS
[0594] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:180) :
[0595] DVQITQSPSSLSASVGDRTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVPSRFSGSRSGT
DFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPIITFGQGTKLEIK
[0596] 81A1F8-VH31/VL11
[0597] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:179) :
[0598] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYLFTGYMNVWRQAPGQRLEWMGEINPNTGDTNNTQKFKARVT
ITVDRSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGLTVTVSS
[0599] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:180) :
[0600] DVQITQSPSSLSASVGDRTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVPSRFSGSRSGT
DFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPIITFGQGTKLEIK
[0601] 81A1F8-VH11/VL21
[0602] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:177) :
[0603] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYLFTGYMNVWRQAPGQGLEWMGEINPNTGDTNNTQKFKARVT
MTVDRSISTAYMELSSLRSDDTAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGLTVTVSS
[0604] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:181) :
[0605] DVQITQSPSFLSASVGDRTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVPSRFSGSRSGT
EFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPIITFGQGTKLEIK
[0606] 81A1F8-VH21/VL21
[0607] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:178) :
[0608] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYLFTGYMNVWRQAPGQGLEWMGEINPNTGDTNNTQKFKARVT
MTVDRSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGLTVTVSS
[0609] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:181) :
[0610] DVQITQSPSFLSASVGDRTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVPSRFSGSRSGT
EFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPIITFGQGTKLEIK
[0611] 81A1F8-VH31/VL21
[0612] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:179) :
[0613] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYLFTGYMNVWRQAPGQRLEWMGEINPNTGDTNNTQKFKARVT
ITVDRSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGLTVTVSS
[0614] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:181) :
[0615] DVQITQSPSFLSASVGDRTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVPSRFSGSRSGT
EFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPIITFGQGTKLEIK
[0616] 81A1F8-VH11/VL31

- [0617] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:177) :
- [0618] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQGLEWMGEINPNTGDTNNNQKFKARVT
MTVDRSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGLTVTVSS
- [0619] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:182) :
- [0620] DVQITQSPSSLSASVGDRTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKVPKLLIHSGSTLQSGVPSRFSGSRSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQQHNEYPIITFGQGTKLEIK
- [0621] 81A1F8-VH21/VL31
- [0622] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:178) :
- [0623] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQGLEWMGEINPNTGDTNNNQKFKARVT
MTVDRSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGLTVTVSS
- [0624] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:182) :
- [0625] DVQITQSPSSLSASVGDRTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKVPKLLIHSGSTLQSGVPSRFSGSRSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQQHNEYPIITFGQGTKLEIK
- [0626] 81A1F8-VH31/VL31
- [0627] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:179) :
- [0628] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQRLEWMGEINPNTGDTNNNQKFKARVT
ITVDRSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGLTVTVSS
- [0629] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:182) :
- [0630] DVQITQSPSSLSASVGDRTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKVPKLLIHSGSTLQSGVPSRFSGSRSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQQHNEYPIITFGQGTKLEIK
- [0631] 81A1F8-VH11/VL41
- [0632] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:177) :
- [0633] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQGLEWMGEINPNTGDTNNNQKFKARVT
MTVDRSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGLTVTVSS
- [0634] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:183) :
- [0635] DVQITQSPSTLSASVGDRTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVPSRFSGSRSGT
EFTLTISLQPDFFATYYCQQHNEYPIITFGQGTKLEIK
- [0636] 81A1F8-VH21/VL41
- [0637] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:178) :
- [0638] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQGLEWMGEINPNTGDTNNNQKFKARVT
MTVDRSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGLTVTVSS
- [0639] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:183) :
- [0640] DVQITQSPSTLSASVGDRTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVPSRFSGSRSGT
EFTLTISLQPDFFATYYCQQHNEYPIITFGQGTKLEIK
- [0641] 81A1F8-VH31/VL41
- [0642] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:179) :
- [0643] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQRLEWMGEINPNTGDTNNNQKFKARVT
ITVDRSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGLTVTVSS
- [0644] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:183) :

- [0645] DVQITQSPSTLSASVGDVRTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVPSRFSGSRSGT
EFTLTISLQPDFFATYYCQQHNEYPIITFGGQTKLEIK
- [0646] 101H9G9A2-mVH/mVL-V1
- [0647] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:189) :
- [0648] QVQLLQPGAELVRPGSSVKLSCKASDYTFSTYWMWVKQRPQGQLEWIGNIYPSDSKTHYNQKFKDKAT
LTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGTSTVTVSS
- [0649] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:195) :
- [0650] DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMRCKSSQSLQSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLLYGARIRESGVPDRFI
GSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
- [0651] 101H9G9A2-mVH/mVL-V2
- [0652] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:189) :
- [0653] QVQLLQPGAELVRPGSSVKLSCKASDYTFSTYWMWVKQRPQGQLEWIGNIYPSDSKTHYNQKFKDKAT
LTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGTSTVTVSS
- [0654] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:196) :
- [0655] DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMRCKSSQSLNAGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLLYGARIRESGVPDRFI
GSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
- [0656] 101H9G9A2-mVH/mVL-V3
- [0657] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:189) :
- [0658] QVQLLQPGAELVRPGSSVKLSCKASDYTFSTYWMWVKQRPQGQLEWIGNIYPSDSKTHYNQKFKDKAT
LTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGTSTVTVSS
- [0659] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:197) :
- [0660] DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMRCKSSQSLSSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLLYGARIRESGVPDRFI
GSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
- [0661] 101H9G9A2-mVH/mVL-V4
- [0662] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:189) :
- [0663] QVQLLQPGAELVRPGSSVKLSCKASDYTFSTYWMWVKQRPQGQLEWIGNIYPSDSKTHYNQKFKDKAT
LTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGTSTVTVSS
- [0664] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:198) :
- [0665] DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMRCKSSQSLLYSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLLYGARIRESGVPDRFI
GSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
- [0666] 101H9G9A2-mVH/mVL-V5
- [0667] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:189) :
- [0668] QVQLLQPGAELVRPGSSVKLSCKASDYTFSTYWMWVKQRPQGQLEWIGNIYPSDSKTHYNQKFKDKAT
LTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGTSTVTVSS
- [0669] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:199) :
- [0670] DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMRCKSSQSLLASGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLLYGARIRESGVPDRFI
GSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
- [0671] 101H9G9A2-hVH1/hVL1
- [0672] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:190) :

- [0673] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASDYTFSTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
MTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS
- [0674] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:200) :
- [0675] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGARIRESGVPDRFS
GSGSGTDFLTISLQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
- [0676] 101H9G9A2-hVH1/hVL2
- [0677] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:190) :
- [0678] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASDYTFSTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
MTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS
- [0679] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:201) :
- [0680] DIVMTQSPLSLPVTPEPASISCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYLQKPGQSPQLLIYGARIRESGVPDRFS
GSGSGTDFTLKISRVEAEDLGYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
- [0681] 101H9G9A2-hVH1/hVL3
- [0682] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:190) :
- [0683] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASDYTFSTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
MTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS
- [0684] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:202) :
- [0685] EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQAPRLIYGARIRESGIPARFS
GSGSGTEFTLTISLQSEDVAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
- [0686] 101H9G9A2-hVH1/hVL4
- [0687] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:190) :
- [0688] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASDYTFSTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
MTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS
- [0689] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:203) :
- [0690] DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGARIRESGVPDRFS
GSGSGTDFLTISLQPEDLATYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
- [0691] 101H9G9A2-hVH2/hVL1
- [0692] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:191) :
- [0693] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASDYTFSTSYWMDWVRQAPGQRLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
ITVDKSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS
- [0694] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:200) :
- [0695] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGARIRESGVPDRFS
GSGSGTDFLTISLQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
- [0696] 101H9G9A2-hVH2/hVL2
- [0697] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:191) :
- [0698] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASDYTFSTSYWMDWVRQAPGQRLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
ITVDKSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS
- [0699] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:201) :
- [0700] DIVMTQSPLSLPVTPEPASISCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYLQKPGQSPQLLIYGARIRESGVPDRFS

GSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0701] 101H9G9A2-hVH2/hVL3

[0702] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:191) :

[0703] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASYDTFTSYWMDWVRQAPGQRLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
ITVDKSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTLTVSS

[0704] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:202) :

[0705] EIVMTQSPATLSVSPGERATLCKSSQSLNSGNQDNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGARIRESGIPARFS
GSGSGTEFTLTISLQSEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0706] 101H9G9A2-hVH2/hVL4

[0707] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:191) :

[0708] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASYDTFTSYWMDWVRQAPGQRLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
ITVDKSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTLTVSS

[0709] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:203) :

[0710] DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKSSQSLNSGNQDNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGARIRESGVPDRFS
GSGSGTDFTLTISLQPEDLATYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0711] 101H9G9A2-hVH3/hVL1

[0712] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:192) :

[0713] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASYDTFTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
MTVDKSI STAYMEL SRLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTLTVSS

[0714] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:200) :

[0715] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGARIRESGVPDRFS
GSGSGTDFTLTISLQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0716] 101H9G9A2-hVH3/hVL2

[0717] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:192) :

[0718] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASYDTFTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
MTVDKSI STAYMEL SRLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTLTVSS

[0719] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:201) :

[0720] DIVMTQSPLSLPVTPEPASISCKSSQSLNSGNQDNYLAWYLQKPGQSPQLLIYGARIRESGVPDRFS
GSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0721] 101H9G9A2-hVH3/hVL3

[0722] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:192) :

[0723] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASYDTFTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
MTVDKSI STAYMEL SRLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTLTVSS

[0724] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:202) :

[0725] EIVMTQSPATLSVSPGERATLCKSSQSLNSGNQDNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGARIRESGIPARFS
GSGSGTEFTLTISLQSEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0726] 101H9G9A2-hVH3/hVL4

[0727] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:192) :

[0728] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASYDTFTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT

MTVDKSI STAYMEL SRLSDDTAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS

[0729] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:203) :

[0730] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGARIRESGVPSRFS
GSGSGTDFLTISLQPEDLATYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0731] 101H9G9A2-hVH4/hVL1

[0732] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:193) :

[0733] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASDYTFSTYWMWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
ITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS

[0734] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:200) :

[0735] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGARIRESGVPDRFS
GSGSGTDFLTISLQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0736] 101H9G9A2-hVH4/hVL2

[0737] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:193) :

[0738] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASDYTFSTYWMWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
ITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS

[0739] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:201) :

[0740] DIVMTQSPSLPVTGPGEPAISCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYLQKPGQSPQLLIYGARIRESGVPDRFS
GSGSGTDFLTKISRVEAEDLGVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0741] 101H9G9A2-hVH4/hVL3

[0742] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:193) :

[0743] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASDYTFSTYWMWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
ITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS

[0744] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:202) :

[0745] EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGARIRESGIPARFS
GSGSGTEFTLTISLQSEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0746] 101H9G9A2-hVH4/hVL4

[0747] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:193) :

[0748] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASDYTFSTYWMWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
ITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS

[0749] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:203) :

[0750] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGARIRESGVPSRFS
GSGSGTDFLTISLQPEDLATYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0751] 101H9G9A2-hVH5/hVL1

[0752] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:194) :

[0753] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFSTYWMWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
MTVDKSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS

[0754] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:200) :

[0755] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGARIRESGVPDRFS
GSGSGTDFLTISLQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0756] 101H9G9A2-hVH5/hVL2

[0757] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:194) :

[0758] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASYDTFTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
MTVDKSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS

[0759] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:201) :

[0760] DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYLQKPGQSPQLLIYGARIRESGVPDRFS
GSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0761] 101H9G9A2-hVH5/hVL3

[0762] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:194) :

[0763] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASYDTFTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
MTVDKSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS

[0764] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:202) :

[0765] EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGARIRESGIPARFS
GSGSGTEFTLTISLQSEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0766] 101H9G9A2-hVH5/hVL4

[0767] VH氨基酸序列 (SEQ ID NO:194) :

[0768] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASYDTFTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSDSKTHYNQKFKDRVT
MTVDKSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMDYWGQGLTVTVSS

[0769] VL氨基酸序列 (SEQ ID NO:203) :

[0770] DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGARIRESGVPDRFS
GSGSGTDFTLTISLQPEDLATYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

[0771] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD24抗体和其片段进一步包含免疫球蛋白恒定区。在一些实施方式中,免疫球蛋白恒定区包含重链和/或轻链恒定区。重链恒定区包含CH1、铰链和/或CH2-CH3区。在某些实施方式中,重链恒定区包含Fc区。在某些实施方式中,轻链恒定区包含Cκ或Cλ。

[0772] 在一些实施方式中,本文所提供的抗CD24抗体和其抗原结合片段具有免疫球蛋白(Ig)、任选人类Ig、任选人类IgG的恒定区。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD24抗体和其抗原结合片段包含人类IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的恒定区。

[0773] 人类IgG同种型(成熟γ球蛋白类G抗体的子类;IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)展现募集效应功能的不同能力。举例来说,ADCC是由IgG1和IgG3促进,ADCP是由IgG1、IgG2、IgG3和IgG4促进,并且CDC是由IgG1和IgG3促进。这类效应功能的同种型特异性接合是基于对独特的免疫细胞上的Fc受体的选择性和结合C1q的能力,由此活化攻膜复合物(MAC)的组装。在各种同种型中,IgG1和IgG3对包括FcγRI、FcγRIIa/b/c和FcγRIIIa/b的Fcγ受体的相对亲和力较高。然而,除了FcγRIIa H131多形现象之外,IgG2的Fcγ亲和力显著较低,且IgG4对FcγRI仅具有可测量的亲和力。

[0774] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD24抗体和其抗原结合片段包含IgG1同种型的恒定区,其可诱导ADCC、CDC或ADCP;或IgG4或IgG2同种型的恒定区,其具有降低或耗尽的效应功能。如ADCC和CDC的效应功能可产生对表达CD24的细胞的细胞毒性。可以使用各种分析,例如Fc受体结合分析、C1q结合分析和细胞溶解分析评估效应功能。

[0775] 抗体变体

[0776] 本公开还涵盖本文所提供的抗体和/或其抗原结合片段的各种变体。在某些实施方式中,本公开涵盖不同类型的本文所提供的示例性抗体,即33E7E12、71A4F12、56A7E3、58F10-1F6、73H5-1G2、110D4G4、81A1F8、100F2E3、111F3A2、81A7A10或107D10D11的变体。

[0777] 在某些实施方式中,抗体变体在如表1中所提供的一个或多个CDR序列、一个或多个FR序列、本文所提供的重链或轻链可变区序列和/或恒定区(例如Fc区)中包含一个或多个修饰或取代。这类变体保留了其亲本抗体对CD24的特异性结合亲和力,但具有由修饰或取代所赋予的一种或多种所需特性。举例来说,抗体变体可具有提高的抗原结合亲和力、改善的糖基化模式、降低的糖基化风险、减少的脱氨基作用、降低或耗尽的效应功能、提高的FcRn受体结合、增加的药代动力学半衰期、pH敏感性和/或与缀合物(例如,一个或多个引入的半胱氨酸残基)的相容性。

[0778] 可使用本领域中已知的方法,例如“丙氨酸扫描突变诱发”(参见例如Cunningham和Wells (1989)《科学》,244:1081-1085)来筛选亲本抗体序列以鉴别合适的或优选的残基以进行修饰或取代。简单来说,可鉴别靶标残基(例如带电荷的残基,如Arg、Asp、His、Lys和Glu),且用中性或带负电荷的氨基酸(例如,丙氨酸或聚丙氨酸)替换,且产生经修饰的抗体并且针对感兴趣的特性进行筛选。如果在特定氨基酸位置的取代证实感兴趣的功能变化,那么所述位置可鉴别为用于修饰或取代的潜在残基。可以通过用不同类型的残基(例如,半胱氨酸残基、带正电荷的残基等)取代来进一步评定潜在残基。

[0779] 亲和力变体

[0780] 亲和力变体可在表1中所提供的一个或多个CDR序列、一个或多个FR序列或如本文所提供的重链或轻链可变区序列中含有修饰或取代。亲和力变体保留亲本抗体对CD24的特异性结合亲和力,或甚至具有相对于亲本抗体提高的CD24特异性结合亲和力。在某些实施方式中,CDR序列、FR序列或可变区序列中的取代中的至少一者(或全部)包含保守取代。

[0781] 本领域的技术人员应理解在表1中所提供的CDR序列和FR序列中,一个或多个氨基酸残基可以被取代,但所得抗体或抗原结合片段仍保持与CD24的结合亲和力,或甚至具有提高的结合亲和力。本领域中已知的各种方法可用于实现此目的。举例来说,可产生抗体变体(如Fab或scFv变体)库并且用噬菌体呈现技术表达,且随后针对与人类CD24的结合亲和力进行筛选。对于另一实例,可以使用计算机软件虚拟模拟抗体与人类CD24的结合,并且鉴别形成结合界面的抗体上的氨基酸残基。这类残基可避免进行取代以便防止结合亲和力的降低,或作为取代的目标以实现较强结合。

[0782] 在某些实施方式中,本文所提供的人源化抗体或抗原结合片段包含一个或多个CDR序列和/或一个或多个FR序列中的一个或多个氨基酸残基取代。在某些实施方式中,亲和力变体总共在CDR序列和/或FR序列中包含不超过10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个取代。

[0783] 在某些实施方式中,抗CD24抗体和其抗原结合片段包含与表1中所列的序列(或那些序列)具有至少80%(例如至少85%、88%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%)序列一致性的1、2或3个CDR序列,且同时保留与其亲本抗体类似或甚至更高的水平的对CD24的结合亲和力。

[0784] 在某些实施方式中,抗CD24抗体和其抗原结合片段包含与表1中所列的序列(或那些序列)具有至少80%(例如至少85%、88%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、

97%、98%、99%)序列一致性的一个或多个可变区序列,并且同时保持与其亲本抗体类似或甚至更高的水平的对CD24的结合亲和力。在一些实施方式中,在选自表1中所列的序列(或那些序列)的序列中总计有1至10个氨基酸被取代、插入或缺失。在一些实施方式中,取代、插入或缺失发生在CDR外部的区域中(即,在FR中)。

[0785] 糖基化变体

[0786] 本文所提供的抗CD24抗体和抗原结合片段还涵盖糖基化变体,其可被获得以增加或降低抗体或抗原结合片段的糖基化程度。

[0787] 抗体或其抗原结合片段可包含具有可连接碳水化合物部分(例如寡糖结构)的侧链的一个或多个氨基酸残基。抗体的糖基化通常为N-连接的或O-连接的。N-连接是指碳水化合物部分与天冬酰胺残基(例如三肽序列,如天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸中的天冬酰胺残基,其中X是除脯氨酸外的任何氨基酸)的侧链的连接。O-连接的糖基化是指糖N-乙酰基半乳糖胺、半乳糖或木糖中的一者与羟基氨基酸的连接,最常见为与丝氨酸或苏氨酸的连接。可方便地实现原生糖基化位点的去除,例如通过改变氨基酸序列以使得上文所描述三肽序列中的一者(对于N-连接的糖基化位点)或序列中存在的丝氨酸或苏氨酸残基(对于O-连接的糖基化位点)被取代来实现。可以类似方式,通过引入这类三肽序列或丝氨酸或苏氨酸残基来产生新的糖基化位点。

[0788] 半胱氨酸工程改造的变体

[0789] 本文所提供的抗CD24抗体和抗原结合片段还涵盖半胱氨酸工程改造的变体,其包含一个或多个引入的游离半胱氨酸氨基酸残基。

[0790] 游离半胱氨酸残基不是二硫桥键的一部分。半胱氨酸工程改造的变体适用于在工程改造的半胱氨酸位点处,通过例如顺丁烯二酰亚胺或卤代乙酰基与例如细胞毒性和/或成像化合物、标记或放射性同位素等结合。用于工程改造抗体或抗原结合片段以引入游离半胱氨酸残基的方法为本领域中已知的,参见例如W02006/034488。

[0791] Fc变体

[0792] 本文所提供的抗CD24抗体和抗原结合片段还涵盖Fc变体,所述Fc变体在其Fc区和/或铰链区包含一个或多个氨基酸残基修饰或取代。

[0793] 在某些实施方式中,抗CD24抗体或抗原结合片段包含提高与新生Fc受体(FcRn)的pH依赖性结合的一个或多个氨基酸取代。这类变体可具有延长的药代动力学半衰期,因为其在酸性pH下与FcRn结合,使其避免在溶酶体中降解,并且接着转位并从细胞中释放出来。对抗体和其抗原结合片段进行工程改造以提高与FcRn的结合亲和力的方法为本领域中众所周知的,参见例如Vaughn, D.等人,《结构(Structure)》,6(1):63-73,1998;Kontermann, R.等人,《抗体工程(Antibody Engineering)》,第1卷,第27章:提高PK的Fc区的工程改造(Engineering of the Fc region for improved PK),Springer出版,2010;Yeung, Y.等人,《癌症研究(Cancer Research)》,70:3269-3277(2010);和Hinton, P.等人,《免疫学杂志》,176:346-356(2006)。

[0794] 在某些实施方式中,抗CD24抗体或抗原结合片段包含改变抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的一个或多个氨基酸取代。可以取代在Fc区的CH2结构域处的某些氨基酸残基以提供增强的ADCC活性。替代地或另外地,可改变抗体上的碳水化合物结构以增强ADCC活性。本领域中已描述通过抗体工程改造改变ADCC活性的方法,参见例如Shields RL.等人,《生物

化学杂志(J Biol Chem.))2001.276(9):6591-604;Idusogie EE.等人,《免疫学杂志》2000.164(8):4178-84;Steurer W.等人,《免疫学杂志》1995,155(3):1165-74;Idusogie EE.等人,《免疫学杂志》2001,166(4):2571-5;Lazar GA.等人,《美国国家科学院院刊(PNAS)》,2006,103(11):4005-4010;Ryan MC.等人,《分子癌症治疗学(Mol.Cancer Ther.)》,2007,6:3009-3018;Richards JO.,.等人,《分子癌症治疗学》2008,7(8):2517-27;Shields R.L.等人,《生物化学杂志(J.Biol.Chem)》,2002,277:26733-26740;Shinkawa T.等人,《生物化学杂志》,2003,278:3466-3473。

[0795] 在某些实施方式中,抗CD24抗体或抗原结合片段包含改变补体依赖性细胞毒性(CDC)的一个或多个氨基酸取代,例如通过提高或降低C1q结合和/或CDC(参见例如W099/51642;Duncan和Winter《自然》322:738-40(1988);美国专利第5,648,260号;美国专利第5,624,821号);和关于Fc区变体的其它实例的W094/29351。

[0796] 在某些实施方式中,抗CD24抗体或抗原结合片段在Fc区的界面中包含一个或多个氨基酸取代以有助于和/或促进杂二聚化。这些修饰包含将突起引入到第一Fc多肽中和将空腔引入到第二Fc多肽中,其中突起可定位于空腔中以便促进第一Fc多肽与第二Fc多肽的相互作用以形成异二聚体或复合物。产生具有这些修饰的抗体的方法为本领域中已知的,例如如美国专利第5,731,168号中所描述。

[0797] 抗原结合片段

[0798] 本文还提供抗CD24抗原结合片段。各种类型的抗原结合片段为本领域中已知的,并且可基于本文所提供的抗CD24抗体进行开发,包括例如其CDR序列显示于表1中的示例性抗体和其不同变体(例如亲和力变体、糖基化变体、Fc变体、半胱氨酸工程改造的变体等)。

[0799] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD24抗原结合片段为骆驼化单结构域抗体、双功能抗体、单链Fv片段(scFv)、scFv二聚体、BsFv、dsFv、(dsFv)₂、dsFv-dsFv'、Fv片段、Fab、Fab'、F(ab')₂、双特异性抗体、ds双功能抗体、纳米抗体、结构域抗体、单结构域抗体或二价结构域抗体。

[0800] 各种技术可用于产生这类抗原结合片段。说明性方法包括完整抗体的酶促消化(参见例如Morimoto等人,《生物化学与生物物理学方法杂志(Journal of Biochemical and Biophysical Methods)》24:107-117(1992);和Brennan等人,《科学》,229:81(1985))、由宿主细胞,例如大肠杆菌(E.Coli)重组表达(例如对于Fab、Fv和ScFv抗体片段)、如上文所论述从噬菌体展示库筛选(例如对于ScFv)以及将两个Fab'-SH片段化学偶联以形成F(ab')₂片段(Carter等人,《生物技术(Bio/Technology)》10:163-167(1992))。用于产生抗体片段的其它技术对于熟练的技术人员将是显而易见的。

[0801] 在某些实施方式中,抗原结合片段为scFv。scFv的产生描述于例如W0 93/16185;美国专利第5,571,894号;和第5,587,458号中。scFv可在氨基端或羧基端与效应蛋白融合以提供融合蛋白(参见例如《抗体工程(Antibody Engineering)》,Borrebaeck编)。

[0802] 双特异性抗体、多价抗体

[0803] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段为二价、四价、六价或多价的。在某些实施方式中,本文所提供的抗体和/或其抗原结合片段为单特异性的或双特异性的。

[0804] 如本文中所使用的术语“价数”是指在给定分子中存在指定数量的抗原结合位点。

因此,术语“二价”、“四价”和“六价”分别表示在抗原结合分子中存在两个结合位点、四个结合位点和六个结合位点。如果两个结合位点均用于相同抗原或相同表位的特异性结合,那么二价分子可为单特异性的。类似地,举例来说,当两个结合位点对于第一抗原(或表位)为单特异性的且第三结合位点对第二抗原(或表位)具有特异性时,三价分子可为双特异性的。

[0805] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段可为单特异性的,但为二价、三价或四价的,其中至少两个结合位点对相同抗原或表位具有特异性。在某些实施方式中,这提供了比单价对应物更强的与抗原或表位的结合。在某些实施方式中,在二价抗原结合部分中,结合位点的第一价和结合位点的第二价在结构上是相同的(即具有相同的序列),或在结构上是不同的(即具有不同的序列,尽管具有相同的特异性)。

[0806] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段为双特异性的。在一些实施方式中,本文所提供的双特异性抗体和其抗原结合片段与CD24的第一和第二表位结合,其中CD24的第一和第二表位不同。

[0807] 在一些实施方式中,本文所提供的双特异性抗体或其抗原结合片段与CD24的第一表位和除CD24以外的抗原的第二表位结合。

[0808] 本文所提供的双特异性抗体分子可呈本领域中已知的任何合适的双特异性型式。本领域中已知的参考双特异性抗体型式的实例包括但不限于(i)具有对称Fc的双特异性抗体、(ii)具有不对称Fc的双特异性抗体、(iii)附加有额外抗原结合部分的常规抗体、(iv)双特异性抗体片段、(v)附加有额外抗原结合部分的常规抗体片段、(vi)附加有人类白蛋白或人类白蛋白结合肽的双特异性抗体。

[0809] 双特异性IgG样抗体(BsIgG)对于每个抗原为单价的,并且可通过在单一宿主细胞中共表达两条轻链和两条重链来产生。附加IgG通过使轻链或重链的氨基端或羧基端附加有额外抗原结合单元而被工程改造以形成双特异性IgG。额外抗原结合单元可为单结构域抗体(未配对的VL或VH),如DVD-Ig、配对的抗体可变结构域(例如Fv或scFv)或工程改造的蛋白质骨架。

[0810] 双特异性抗体片段为来源于抗体但缺少抗体恒定结构域中的一些或全部的抗原结合片段。这种双特异性抗体片段的实例包括例如单结构域抗体、Fv、Fab和双功能抗体等。

[0811] 在某些实施方式中,如本文所提供的双特异性抗体分子是基于“完整”抗体的型式,例如完整的IgG或IgG样分子,和小重组型式,例如串联单链可变片段分子(taFv)、双功能抗体(Db)、单链双功能抗体(scDb)和它们的各种其它衍生物(参见如Byrne H.等人(2013)《生物技术趋势(Trends Biotech)》,31(11):621-632所描述的双特异性抗体型式)。双特异性抗体的实例是基于包括但不限于四源杂交瘤、化学上偶联的Fab(抗原结合片段)和BiTE(双特异性T细胞接合体)的型式。

[0812] 在某些实施方式中,如本文所提供的双特异性抗体分子呈选自以下的双特异性型式;Triomab;杂合杂交瘤(四源杂交瘤);多特异性抗运载蛋白平台(皮瑞斯公司(Pieris));双功能抗体;单链双功能抗体;串联单链Fv片段;TandAb,三特异性Ab(阿法姆德公司(Affimed));Dart(双重亲和力再靶向;宏基因公司(MacroGenics));双特异性Xmab(先科公司(Xencor));双特异性T细胞接合体(Bite;安进公司(Amgen);55kDa);三重抗体;三功能抗体(Fab-scFv)融合蛋白(创意生物实验室(Creative Biolabs))多功能重组抗体衍生物;

Duobody平台(丹麦生物制药公司(Genmab));对接锁定平台(Dock and lock platform);杵臼(Knob into hole;KIH)平台;人源化双特异性IgG抗体(REGN1979)(再生元公司(Regeneron));Mab2双特异性抗体(F-Star);DVD-Ig(双重可变结构域免疫球蛋白)(艾伯维公司(Abbvie)); κ - λ 体;TBTI(四价双特异性串联Ig);和CrossMab。

[0813] 在某些实施方式中,如本文所提供的双特异性抗体分子呈选自BsIgG的双特异性型式,包含CrossMab;DAF(二合一);DAF(四合一);DutaMab;DT-IgG;杵臼共同LC;杵臼组装;电荷对;Fab臂交换;SEEDbody;Triomab;LUZ-Y;Fcab; κ - λ 体;和正交Fab。对于双特异性抗体型式的详细描述,请参见Spiess C., Zhai Q.和Carter P.J. (2015)《分子免疫学(Molecular Immunology)》67:95-106,其以全文引用的方式并入本文中。

[0814] 在某些实施方式中,如本文所提供的双特异性抗体分子呈选自具有额外抗原结合部分的IgG附加抗体的双特异性形式,包含DVD-IgG;IgG(H)-scFv;scFv(H)-IgG;IgG(L)-scFv;scFv(L)-IgG;IgG(L,H)-Fv;IgG(H)-V;V(H)-IgG;IgG(L)-V;V(L)-IgG;KIH-IgG-scFab;2scFv-IgG;IgG-2scFv;scFv4-Ig;scFv4-Ig;Zybody;和DVI-IgG(四合一)(参见同上)。

[0815] 在某些实施方式中,如本文所提供的双特异性抗体分子呈选自双特异性抗体片段的型式,包含纳米抗体;纳米抗体-HAS;BiTE;双功能抗体;DART;TandAb;scDiabody;sc-双功能抗体-CH3;双功能抗体-CH3;三重抗体;微型抗体(Miniantibody);微抗体(Minibody);TriBi微抗体;scFv-CH3 KIH;Fab-scFv;scFv-CH-CL-scFv;F(ab')₂;F(ab')₂-scFv₂;scFv-KIH;Fab-scFv-Fc;四价HCAb;scDiabody-Fc;双功能抗体-Fc;串联scFv-Fc;和胞内抗体(参见同上)。

[0816] 在某些实施方式中,如本文所提供的双特异性抗体分子呈双特异性型式,例如对接锁定(Dock and Lock);ImmTAC;HSAbody;scDiabody-HAS;和串联scFv-毒素(参见同上)。

[0817] 在某些实施方式中,如本文所提供的双特异性抗体分子是基于选自双特异性抗体缀合物的型式,包含IgG-IgG;Cov-X-Body;和scFv1-PEG-scFv2(参见同上)。

[0818] 在某些实施方式中,第二抗原结合结构域可操作地连接于CD24结合结构域的N端或C端。在某些实施方式中,CD24结合结构域可操作地连接于第二抗原结合结构域的N端或C端。

[0819] 可操作键联可为直接化学键键联或经由间隔子或经由间插序列的间接键联。如本文中所使用的术语“间隔子”是指具有1、2、3、4或5个氨基酸残基或具有5与15、20、30、50个或更多个氨基酸残基之间的长度的人工氨基酸序列,其通过肽键接合且用于连接一个或多个结合结构域,例如scFv和Fab或IgG。间隔子可与scFv中的肽连接子相同或不同。在某一实施方式中,间隔子包含SEQ ID NO:90、91、92和93的1、2、3、4个或更多个连续或串联重复序列。在某些实施方式中,间隔子包含GGGGS(SEQ ID NO:90)。在某些实施方式中,间隔子包含GGGSGGGGS(SEQ ID NO:91)、GGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO:92)、GGGSGGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO:93)。如本文中所使用的间插序列可为位于CD24结合结构域与第二抗原结合结构域之间的任何氨基酸序列,只要CD24结合结构域和第二抗原结合结构域两者能够与其相应抗原结合即可。在一说明性实例中,间插序列可包含重链恒定区或轻链恒定区。

[0820] 在某些实施方式中,第二抗原结合结构域包含scFv且CD24结合结构域包含Fab或IgG。在某些实施方式中,第二抗原结合scFv可操作地连接于CD24结合Fab或IgG的重链的N

端或C端(例如CD24结合Fab之后的重链恒定区的C端),或可操作地连接于CD24结合Fab或IgG的轻链的N端或C端,或其任何组合,且反之亦然。

[0821] 在一说明性实例中,双特异性抗体分子可包含呈以下型式的重链:VH(抗CD24)-CH1-铰链-CH2-CH3-间隔子-第二抗原结合scFv或第二抗原结合scFv-间隔子-VH(抗CD24)-CH1-铰链-CH2-CH3,和呈VL(抗CD24)-CL型式的轻链。如本文中所使用,VH(抗CD24)和VL(抗CD24)分别指CD24结合结构域的重链和轻链可变结构域;第二抗原结合scFv是指第二抗原结合结构域的scFv,CL是指轻链恒定区;且CH1-铰链-CH2-CH3统称为重链恒定区。

[0822] 在另一说明性实例中,同样地,双特异性抗体分子可包含呈以下型式的轻链:第二抗原结合scFv-间隔子-VL(抗CD24)-CL或VL(抗CD24)-CL-间隔子-第二抗原结合scFv,和呈VH(抗CD24)-CH1-铰链-CH2-CH3型式的重链。

[0823] 在某些实施方式中,CD24结合结构域包含scFv且第二抗原结合结构域包含Fab或IgG。在某些实施方式中,CD24结合结构域scFv可以可操作地连接于第二抗原结合Fab或IgG的重链的N端或C端(例如CD24结合Fab之后的重链恒定区的C端),或可操作地连接于第二抗原结合Fab或IgG的轻链的N端或C端,或其任何组合,且反之亦然。

[0824] 在一说明性实例中,双特异性抗体分子可包含呈以下形式的重链:第二抗原结合VH-CH1-铰链-CH2-CH3-间隔子-scFv(抗CD24)或scFv(抗CD24)-间隔子-第二抗原结合VH-CH1-铰链-CH2-CH3,和同样地,呈第二抗原结合VL-CL形式的轻链。在另一说明性实例中,双特异性抗体分子可包含呈以下形式的轻链:scFv(抗CD24)-间隔子-第二抗原结合VL-CL或第二抗原结合VL-CL-间隔子-scFv(抗CD24),和同样地,呈以下形式的重链:第二抗原结合VH-CH1-铰链-CH2-CH3。

[0825] 在本文所提供的双特异性抗体分子中,第二抗原结合结构域可以是单价的(即一个scFv或Fab)或多价的(例如多于一个scFv或Fab),和/或CD24结合结构域可以是单价或多价的。

[0826] 在某些实施方式中,第二抗原为免疫相关靶标,其任选地选自由以下组成的群组:PD-L1、PD-L2、PD-1、CLTA-4、TIM-3、LAG3、CD160、2B4、TGF β 、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、OX40、CD2、CD27、ICAM-1、NKG2C、SLAMF7、NKp80、CD160、B7-H3、LFA-1、ICOS、4-1BB、GITR、CD30、CD40、BAFFR、HVEM、CD7、LIGHT、IL-2、IL-15、CD3、CD16、SIRP α 、Siglec 10、LILRB2、Clever-1、Macro、LILRB4、Siglec15、CSF1R、PSGL-1、VSIG-4、B2M和CD83。

[0827] 在某些实施方式中,第二抗原为肿瘤相关抗原或其表位。可与术语“肿瘤抗原”互换使用的术语“肿瘤相关抗原”是指呈现于肿瘤细胞表面上或可呈现于肿瘤细胞表面上且位于肿瘤细胞上或肿瘤细胞内的抗原。在一些实施方式中,肿瘤相关抗原可仅由肿瘤细胞而非由正常细胞(即非肿瘤细胞)呈递。在一些其它实施方式中,肿瘤相关抗原可排他性地表达于肿瘤细胞上或可表示相较于非肿瘤细胞的肿瘤特异性突变。在一些其它实施方式中,肿瘤相关抗原可见于肿瘤细胞和非肿瘤细胞两者中,但当相较于非肿瘤细胞时在肿瘤细胞上过度表达,或由于相较于非肿瘤组织的肿瘤组织的较不紧密结构而可用于肿瘤细胞中的抗体结合。

[0828] 在一些实施方式中,肿瘤抗原选自由以下组成的群组:CA-125、神经节苷脂G(D2)、神经节苷脂G(M2)和神经节苷脂G(D3)、CD19、CD20、CD33、CD47、CD52、Ep-CAM、CEA、CLDN18.2、铃蟾素样肽、PSA、HER2/neu、表皮生长因子受体(EGFR)、erbB2、erbB3/HER3、

erbB4、CD44v6、CD44v9、Ki-67、癌症相关粘蛋白、VEGF、VEGFR (例如VEGFR3)、雌激素受体、Lewis-Y抗原、TGFβ1、IGF-1受体、EGFα、c-Kit受体、转铁蛋白受体、IL-2R、CDH6、CEA、FOLR1、TROP2、PTK7、SLITRK6、CD142、NECTIN-4、ROR1、ROR2、CD142、CD123、CD22、CD79b、DLL3、SLC家族或CO17-1A。

[0829] 在某些实施方式中,第二抗原为选自自由以下组成的群组的免疫抑制分子:PD-L1、SIRPα、CD47和B2M。

[0830] 在某些实施方式中,第二抗原为CD47。

[0831] 在一些实施方式中,CD47结合scFv可操作地连接于CD24结合Fab之后的重链恒定区的C端。

[0832] 在某些实施方式中,双特异性抗体分子包含呈以下型式的重链:VH(抗CD24)-CH1-铰链-CH2-CH3-间隔子-scFv(抗CD47),所述重链与呈VL(抗CD24)-CL型式的轻链缔合。

[0833] 在某些实施方式中,CD47结合scFv为5F9衍生的scFv且包含SEQ ID NO:94(QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTNVMHWVRQAPGQRLEWMTIYPGND DTSYNQKFKDRVTITADTSASTAY MELSSLRSEDTAVYYCARGGYRAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCR SSQSIVYSNGNTYLGWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHVP YTFGQGTKLEIK)的氨基酸序列。

[0834] 肿瘤相关抗原的其它说明性实例为CD10、CD21、CD22、CD25、CD30、CD34、CD37、CD38、CD123、GPCR5D、CD44v6、CD45、CD133、Fms样酪氨酸激酶3(FLT-3,CD135)、硫酸软骨素蛋白聚糖4(CSPG4,黑色素瘤相关硫酸软骨素蛋白聚糖)、Her2、Her3、IGFR、IL3R、成纤维细胞活化蛋白(FAP)、CDCP1、Derlin1、肌腱蛋白(Tenascin)、卷曲1-10、血管抗原VEGFR2(KDR/FLK1)、VEGFR3(FLT4,CD309)、PDGFR-α(CD140a)、PDGFR-β(CD140b)、内皮糖蛋白(Endoglin)、CLEC14、CLEC12a、Tem1-8和Tie2。其它实例可包括A33、CAMPATH-1(CDw52)、癌胚抗原(CEA)、碳酸酐酶IX(MN/CA IX)、de2-7、EGFRvIII、EpCAM、叶酸结合蛋白、G250、c-Kit(CD117)、CSF1R(CD115)、HLA-DR、IL-2受体、IL3R、MCSP(黑色素瘤相关的细胞表面硫酸软骨素蛋白聚糖)、Muc-1、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性抗原(PSA)和TAG-72。

[0835] 本文所提供的双特异性抗体和抗原结合片段可以用本领域中已知的任何合适方法制备。在一常规方法中,可将两个具有不同抗原特异性的免疫球蛋白重链-轻链对在宿主细胞中共表达,从而以重组方式产生双特异性抗体(参见例如Milstein和Cuello,《自然》,305:537(1983)),随后通过亲和色谱法纯化。

[0836] 还可使用重组方法,其中编码针对两种特异性的抗体重链可变结构域的序列分别与免疫球蛋白恒定结构域序列融合,随后插入到表达载体,所述表达载体与针对轻链序列的表达载体共转染到合适的宿主细胞中以重组表达双特异性抗体(参见例如W0 94/04690;Suresh等人,《酶学方法》,121:210(1986))。类似地,scFv二聚体还可重组地构建并且由宿主细胞表达(参见例如Gruber等人,《免疫学杂志》,152:5368(1994))。

[0837] 在另一方法中,可以通过基因融合将来自Fos和Jun蛋白质的亮氨酸拉链肽连接到两种不同抗体的Fab'部分。所连接的抗体在铰链区还原为四种半抗体(即,单体),并且接着再氧化以形成异二聚体(Kostelny等人,《免疫学杂志》,148(5):1547-1553(1992))。

[0838] 还可缀合或交联两个抗原结合结构域以形成双特异性抗体或抗原结合片段。举例

来说,一种抗体可偶联到生物素,而另一种抗体偶联到抗生物素蛋白,并且生物素与抗生物素蛋白之间的强缔合将使两种抗体复合在一起以形成双特异性抗体(参见例如美国专利第4,676,980号;WO 91/00360、WO 92/00373和EP 03089)。对于另一实例,可通过本领域中已知的,例如如美国专利第4,676,980号中所公开的常规方法交联两种抗体或抗原结合片段。

[0839] 双特异性抗原结合片段可例如通过蛋白水解裂解或通过化学连接由双特异性抗体产生。举例来说,可制备抗体的抗原结合片段(例如Fab')并且将其转化为Fab'-硫醇衍生物,且接着与具有不同抗原特异性的另一种转化的Fab'衍生物混合并且反应以形成双特异性抗原结合片段(参见例如Brennan等人,《科学》,229:81(1985))。

[0840] 在某些实施方式中,双特异性抗体或抗原结合片段可在界面处工程改造以使得可形成杵臼(knob-into-hole)缔合以促进两种不同的抗原结合位点的杂二聚化。如本文中所示使用,“杵臼”是指两种多肽(例如CH3结构域)之间的相互作用,其中一种多肽由于存在具有庞大侧链的氨基酸残基(例如,酪氨酸或色氨酸)而具有突起(即,“杵”),且另一种多肽具有空腔(即,“臼”),其中小侧链氨基酸残基驻留(例如,丙氨酸或苏氨酸),且突起可定位于空腔中以便促进两种多肽的相互作用从而形成异二聚体或复合物。产生具有杵臼的多肽的方法为本领域中已知的,例如如美国专利第5,731,168号中所描述。

[0841] 缀合物

[0842] 在一些实施方式中,抗CD24抗体和其抗原结合片段连接到一个或多个缀合物,任选地,其中缀合物直接或经由连接子共价连接。缀合物是可与抗体或其抗原结合片段连接的非蛋白质部分。经考虑,多种缀合物可连接到本文所提供的抗体或抗原结合片段(参见例如“缀合物疫苗(Conjugate Vaccines)”,《微生物学和免疫学的贡献(Contributions to Microbiology and Immunology)》,J.M.Cruse和R.E.Lewis,Jr.(编),Carger Press,New York,(1989))。这些缀合物可以通过共价结合、亲和力结合、嵌入、配位结合、复合、缔合、掺合或添加等方法连接到抗体或抗原结合片段。在一些实施方式中,所述缀合物包含清除调节剂、化学治疗剂、毒素、放射性同位素、镧系元素、发光标记、荧光标记、酶-底物标记、DNA烷基化剂、拓扑异构酶抑制剂、微管蛋白结合剂或其它抗癌药物。

[0843] 在某些实施方式中,本文所公开的抗体和抗原结合片段可以被工程改造以在表位结合部分之外含有特异性位点,所述特异性位点可用于与一个或多个缀合物结合。举例来说,这种位点可包括一个或多个反应性氨基酸残基,例如半胱氨酸或组氨酸残基,以有助于与缀合物的共价键联。

[0844] 在某些实施方式中,抗体可以间接或通过另一缀合物连接到缀合物。举例来说,抗体或抗原结合片段可与生物素结合,接着间接与第二缀合物结合,所述第二缀合物与抗生物素蛋白结合。缀合物可为毒素(例如化学治疗剂)、可检测标记(例如,放射性同位素、镧系元素、发光标记、荧光标记或酶-底物标记)。

[0845] “毒素”可为对细胞有害或可破坏或杀死细胞的任何药剂。毒素的实例包括但不限于紫杉醇(taxol)、细胞松弛素B(cytochalasin B)、短杆菌肽D(gramicidin D)、溴化乙锭、吐根素(emetine)、丝裂霉素(mitomycin)、依托泊苷(etoposide)、特诺波赛(tenoposide)、长春新碱(vincristine)、长春碱(vinblastine)、秋水仙碱(colchicin)、小红莓(doxorubicin)、道诺霉素(daunorubicin)、二羟基炭疽菌素二酮(dihydroxy anthracin dione)、米托蒽醌(mitoxantrone)、光神霉素(mithramycin)、放线菌素D(actinomycin D)、

1-去氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因(procaine)、丁卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛尔(propranolol)、嘌呤霉素(puromycin)和其类似物、抗代谢物(例如,甲氨蝶呤(methotrexate)、6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、阿糖胞苷(cytarabine)、5-氟尿嘧啶达卡巴嗪(5-fluorouracil decarbazine)、烷基化剂(例如,氮芥(mechlorethamine)、噻替派苯丁酸氮芥(thioepa chlorambucil)、美法仑(melphalan)、卡莫司汀(carmustine)(BSNU)和洛莫司汀(lomustine)(CCNU)、环硫磷酰胺(cyclothosphamide)、白消安(busulfan)、二溴甘露醇、链佐霉素(streptozotocin)、丝裂霉素C(mitomycin C)和顺-二氯二胺铂(II)(DDP,顺铂(cisplatin))、蒽环霉素(anthracyclines)(例如道诺霉素(以前为柔红霉素(daunomycin))和阿霉素(doxorubicin))、抗生素(例如,更生霉素(dactinomycin)(以前为放线菌素(actinomycin))、博莱霉素(bleomycin)、光神霉素和安曲霉素(anthramycin)(AMC))和抗有丝分裂剂(例如长春新碱和长春碱)。

[0846] 可检测标记的实例可包括荧光标记(例如荧光素、若丹明(rhodamine)、丹磺酰基、藻红蛋白或德克萨斯红(Texas Red))、酶-底物标记(例如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、荧光素酶、葡糖淀粉酶、溶菌酶、糖氧化酶或 β -D-半乳糖苷酶)、放射性同位素(例如 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 、 ^3H 、 ^{111}In 、 ^{112}In 、 ^{14}C 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{86}Y 、 ^{88}Y 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 、 ^{211}At 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 ^{212}Bi 和 ^{32}P 、其它镧系元素、发光标记)、发色部分、地高辛(digoxigenin)、生物素/抗生物素蛋白、DNA分子或用于检测的金。

[0847] 在某些实施方式中,缀合物可以是有助于增加抗体的半衰期的药代动力学修饰部分。说明性实例包括水溶性聚合物,如PEG、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、乙二醇/丙二醇的共聚物等。聚合物可以具有任何分子量,且可以是支链或非支链的。与抗体连接的聚合物的数量可以变化,并且如果连接超过一种聚合物,那么其可以是相同或不同的分子。

[0848] 在某些实施方式中,缀合物可以是纯化部分,如磁珠。

[0849] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体和/或其抗原结合片段用于缀合物的基底。

[0850] 多核苷酸和重组方法

[0851] 本公开提供编码抗CD24抗体和其抗原结合片段的分离的多核苷酸。在某些实施方式中,分离的多核苷酸包含一个或多个如以下中所示的核苷酸序列:SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:204、SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206、SEQ ID NO:207、SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209、SEQ ID NO:210、SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:212、SEQ ID NO:213、SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:216、SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:218、SEQ ID NO:219、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:229和/或SEQ ID NO:220,其编码本文所提供的示例性抗体的可变区。编码单克隆抗体的DNA是使用常规程序(例如,通过使用能够与编码抗体的重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针)容易地分离和测序。编码DNA还可以通过合成方法获得。

[0852] 编码抗CD24抗体和其抗原结合片段(例如包括如以下中所示的序列:SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:

63、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:83、SEQ IDNO:85、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:204、SEQ ID NO:205、SEQ ID NO:206、SEQ ID NO:207、SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:209、SEQ ID NO:210、SEQ ID NO:211、SEQ ID NO:212、SEQ ID NO:213、SEQ ID NO:214、SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:216、SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:218、SEQ ID NO:219、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:229和/或SEQ ID NO:220)的分离的多核苷酸可使用本领域中已知的重组技术插入到载体中以用于进一步克隆(DNA的扩增)或表达。可使用许多载体。载体组分一般包括但不限于以下中的一或多者:信号序列、复制起点、一个或多个标记物基因、增强子元件、启动子(例如SV40、CMV、EF-1 α)和转录终止序列。

[0853] 在一些实施方式中,载体系统包括哺乳动物、细菌、酵母系统等,且包含质粒,例如但不限于pALTER、pBAD、pcDNA、pCal、pL、pET、pGEMEX、pGEX、pCI、pCMV、pEGFP、pEGFT、pSV2、pFUSE、pVITRO、pVIVO、pMAL、pMD18-T、pMONO、pSELECT、pUNO、pDUO、Psg5L、pBABE、pWPXL、pBI、p15TV-L、pPro18、pTD、pRS420、pLexA、pACT2.2等,和其它实验载体和市售载体。合适的载体可包括质粒或病毒载体(例如复制缺陷逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒)。

[0854] 可将包含编码抗体或抗原结合片段的多核苷酸序列的载体引入宿主细胞中用于克隆或基因表达。用于克隆或表达本文载体中的DNA的合适宿主细胞为上文所描述的原核生物、酵母或更高等真核生物细胞。用于此目的的合适的原核生物包括真细菌,如革兰氏阴性生物体(Gram-negative organism)或革兰氏阳性生物体,例如肠内菌科(Enterobacteriaceae),如埃希氏菌属(*Escherichia*),例如大肠杆菌;肠杆菌属(*Enterobacter*);欧文氏菌属(*Erwinia*);克雷伯氏菌属(*Klebsiella*);变形杆菌属(*Proteus*);沙门氏菌属(*Salmonella*),例如鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*);沙雷氏菌属(*Serratia*),例如粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescans*);和志贺杆菌属(*Shigella*),以及芽孢杆菌属(*Bacilli*),如枯草芽孢杆菌(*B.subtilis*)和地衣芽孢杆菌(*B.licheniformis*);假单胞菌属(*Pseudomonas*),如绿脓杆菌(*P.aeruginosa*);和链霉菌属(*Streptomyces*)。

[0855] 除原核生物外,真核微生物,如丝状真菌或酵母是抗CD24抗体编码载体的合适的克隆或表达宿主。酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)或常见的烘焙酵母是低级真核宿主微生物中最常用的。然而,多种其它属、物种和菌株在本文中是常用的且适用的,如粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*);克鲁维酵母属(*Kluyveromyces*)宿主,例如乳酸克鲁维酵母(*K.lactis*)、脆壁克鲁维酵母(*K.fragilis*) (ATCC 12,424)、保加利亚克鲁维酵母(*K.bulgaricus*) (ATCC 16,045)、威克克鲁维酵母(*K.wickerhamii*) (ATCC 24,178)、克鲁维雄酵母(*K.waltii*) (ATCC 56,500)、果蝇克鲁维酵母(*K.drosophilarum*) (ATCC 36,906)、耐热克鲁维酵母(*K.thermotolerans*)和马克斯克鲁维酵母(*K.marxianus*);耶氏酵母属(*yarrowia*) (EP 402,226);毕赤酵母(*Pichia pastoris*) (EP 183,070);假丝酵母属(*Candida*);瑞氏木霉(*Trichoderma reesia*) (EP 244,234);粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*);许旺酵母属(*Schwanniomyces*),如西方许旺酵母(*Schwanniomyces occidentalis*);和丝状真菌,例如脉孢菌属(*Neurospora*)、青霉菌属(*Penicillium*)、弯颈霉属(*Tolypocladium*)和曲霉属(*Aspergillus*)宿主,如构巢曲霉(*A.nidulans*)和黑曲霉

(*A.niger*)。

[0856] 表达本文所提供的糖基化抗体或抗原片段的合适的宿主细胞来源于多细胞生物体。无脊椎动物细胞的实例包括植物和昆虫细胞。已经鉴别多种杆状病毒菌株和变体以及来自如下宿主的对应容许的昆虫宿主细胞:草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*) (毛虫(*caterpillar*))、埃及伊蚊(*Aedes aegypti*) (蚊子(*mosquito*))、白纹伊蚊(*Aedes albopictus*) (蚊子)、黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*) (果蝇)和家蚕(*Bombyx mori*)。多种用于转染的病毒株是可公开获得的,例如苜蓿银纹夜蛾(*Autographa californica*) NPV的L-1变体和家蚕NPV的Bm-5菌株,并且这类病毒可以根据本发明用作本文中的病毒,特别是用于转染草地贪夜蛾细胞。棉花、玉米、马铃薯、大豆、矮牵牛、番茄和烟草的植物细胞培养物也可以用作宿主。

[0857] 然而,对脊椎动物细胞的兴趣最大,并且在培养物(组织培养物)中脊椎动物细胞的繁殖已成为常规程序。适用的哺乳动物宿主细胞系的实例为由SV40转化的猴肾CV1系(COS-7, ATCC CRL 1651);人类胚肾系(亚克隆以在悬浮培养物中生长的293或293细胞, Graham等人,《普通病毒学杂志(*J.Gen Virol.*)》36:59(1977));幼小仓鼠肾细胞(BHK, ATCC CCL 10);中国仓鼠卵巢细胞/-DHFR(CHO, Urlaub等人,《美国国家科学院院刊》77:4216(1980));小鼠支持细胞(TM4, Mather,《生殖生物学(*Biol.Reprod.*)》23:243-251(1980));猴肾细胞(CV1 ATCC CCL 70);非洲绿猴肾细胞(VERO-76, ATCC CRL-1587);人类宫颈癌细胞(HELA, ATCC CCL 2);犬肾细胞(MDCK, ATCC CCL 34);布法罗大鼠(*buffalo rat*)肝细胞(BRL 3A, ATCC CRL 1442);人类肺细胞(W138, ATCC CCL 75);人类肝细胞(Hep G2, HB 8065);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562, ATCC CCL51);TRI细胞(Mather等人,《纽约科学院年报(*Annals N.Y.Acad.Sci.*)》383:44-68(1982));MRC 5细胞;FS4细胞;和人类肝癌系(Hep G2)。

[0858] 用上述用于抗CD24抗体产生的表达或克隆载体转化宿主细胞,并且在按需要改良的常规营养培养基中培养,以诱导启动子、选择转化体或扩增编码所需序列的基因。在另一实施方式中,可通过本领域中已知的同源重组产生抗体。

[0859] 用于产生本文所提供的抗体或抗原结合片段的宿主细胞可以在各种培养基中培养。市售培养基,如Ham's F10(西格玛(Sigma))、最小必需培养基(MEM)(西格玛)、RPMI-1640(西格玛)和杜尔贝科氏改良伊格尔氏培养基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium;DMEM)(西格玛)适用于培养宿主细胞。另外,Ham等人,《酶学方法(*Meth.Enz.*)》58:44(1979);Barnes等人,《分析生物化学(*Anal.Biochem.*)》102:255(1980);美国专利第4,767,704号、第4,657,866号、第4,927,762号、第4,560,655号或第5,122,469号;WO 90/03430;WO 87/00195;或美国再颁专利第30,985号中所描述的任何培养基都可以用作宿主细胞的培养基。这些培养基中的任一者都可以视需要补充激素和/或其它生长因子(如胰岛素、转铁蛋白或表皮生长因子)、盐(如氯化钠、钙盐、镁盐和磷酸盐)、缓冲剂(如HEPES)、核苷酸(如腺苷和胸苷)、抗生素(如GENTAMYCINTM药物)、微量元素(定义为通常以微摩尔范围内的最终浓度存在的无机化合物)和葡萄糖或等效能量源。也可以包括本领域的技术人员已知的适当浓度的任何其它必要的补充剂。培养条件(如温度、pH等)是先前与选择用于表达的宿主细胞一起使用的那些条件,并且对于本领域的一般技术人员将是显而易见的。

[0860] 当使用重组技术时,抗体可以在细胞内、在周质空间中产生,或直接分泌到培养基

中。如果在细胞内产生抗体,那么作为第一步骤,例如通过离心或超滤去除微粒碎片(宿主细胞或裂解片段)。Carter等人,《生物技术》10:163-167(1992)描述了一种用于分离分泌到大肠杆菌的周质空间的抗体的程序。简单来说,将细胞糊状物在乙酸钠(pH 3.5)、EDTA和苯甲基磺酰氟(PMSF)的存在下经约30min解冻。细胞碎片可通过离心去除。在抗体分泌到培养基中的情况下,来自这类表达系统的上清液一般首先使用市售的蛋白质浓缩过滤器,例如Amicon或Millipore Pellicon超滤装置进行浓缩。如PMSF的蛋白酶抑制剂可包括在任何前述步骤中,以抑制蛋白水解,并且可包括抗生素以防止外来污染物的生长。

[0861] 由细胞制备的抗CD24抗体和其抗原结合片段可以使用例如羟基磷灰石色谱法、凝胶电泳、透析、DEAE-纤维素离子交换色谱法、硫酸铵沉淀、盐析和亲和色谱法纯化,其中亲和色谱法是优选的纯化技术。

[0862] 在某些实施方式中,固定于固相上的蛋白质A用于抗体和其抗原结合片段的免疫亲和纯化。蛋白质A作为亲和配体的适合性取决于抗体中存在的任何免疫球蛋白Fc结构域的种类和同种型。蛋白质A可用于纯化基于人类 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 或 $\gamma 4$ 重链的抗体(Lindmark等人,《免疫学方法杂志》62:1-13(1983))。蛋白质G推荐用于所有小鼠同种型和人类 $\gamma 3$ (Guss等人,《欧洲分子生物学杂志(EMBO J.)》5:1567-1575(1986))。亲和配体所连接的基质通常是琼脂糖,但也可以使用其它基质。如受控微孔玻璃或聚(苯乙烯二乙烯基)苯的机械稳定基质允许相比于可用琼脂糖实现更快的流速和更短的处理时间。当抗体包含CH3结构域时,Bakerbond ABX.TM.树脂(J.T.Baker,Phillipsburg,N.J.)适用于纯化。视待回收的抗体而定,也可使用用于蛋白质纯化的其它技术,如离子交换柱上分级分离、乙醇沉淀、反相HPLC、二氧化硅上的色谱法、肝素SEPHAROSETM上的色谱法、阴离子或阳离子交换树脂(如聚天冬氨酸柱)上的色谱法、色谱焦聚、SDS-PAGE和硫酸铵沉淀。

[0863] 在任何初步纯化步骤之后,可使用pH在约2.5-4.5之间的洗脱缓冲液使包含所关注的抗体和污染物的混合物经受低pH疏水相互作用色谱,优选在低盐浓度(例如约0-0.25M盐)下进行。

[0864] CAR

[0865] 在另一方面中,本公开还提供嵌合抗原受体(CAR),其包含抗原结合结构域、跨膜结构域、共刺激信号传导区和TCR信号传导结构域,其中抗原结合结构域与CD24特异性结合且包含本文所提供的抗原结合片段。在某些实施方式中,抗原结合片段为Fab或scFv。在某些实施方式中,本文所提供的CAR为双特异性的。CAR能够进一步特异性结合于除CD24以外的第二抗原,或CD24上的第二表位。在某些实施方式中,第二抗原为如上文所提及的肿瘤抗原、肿瘤相关抗原或免疫相关靶标。TCR信号传导结构域可选自由以下组成的群组:CD3 ζ 、FccRI γ 、CD27、CD28、CD137、CD134、MyD88、CD40、CD278、TLR或其组合的胞内信号区序列。跨膜区可包含CD3、CD4、CD8或CD28的跨膜区。在某些实施方式中,第二抗原为免疫抑制分子,如PD-L1、SIRP α 、CD47或B2M。

[0866] 在另一方面中,本公开还提供编码如上文所提及的CAR的核酸序列以及包含这种核酸序列的细胞或载体或被基因修饰以表达本文所提供的CAR的细胞。所述细胞为免疫细胞,任选地,其中免疫细胞为T淋巴细胞、NK细胞、单核细胞、巨噬细胞或NKT淋巴细胞。

[0867] 药物组合物

[0868] 本公开进一步提供包含抗CD24抗体或其抗原结合片段和一种或多种药学上可接

受的载剂的药物组合物。

[0869] 用于本文所公开的药物组合物中的药学上可接受的载剂可包括例如药学上可接受的液体、凝胶或固体载剂、水性媒剂、非水性媒剂、抗微生物剂、等渗剂、缓冲剂、抗氧化剂、麻醉剂、悬浮剂/分散剂、螯合剂(sequestering/chelating agents)、稀释剂、佐剂、赋形剂或无毒辅助物质、本领域中已知的其它组分,或其各种组合。

[0870] 合适的组分可包括例如抗氧化剂、填充剂、粘合剂、崩解剂、缓冲剂、防腐剂、润滑剂、调味剂、增稠剂、着色剂、乳化剂或稳定剂,如糖和环糊精。合适的抗氧化剂可包括例如甲硫氨酸、抗坏血酸、EDTA、硫代硫酸钠、铂、过氧化氢酶、柠檬酸、半胱氨酸、硫代甘油、巯基乙酸、硫代山梨糖醇、丁基化羟基苯甲醚、丁基化羟基甲苯和/或没食子酸丙酯。如本文所公开,在包含如本文所提供的抗体或抗原结合片段和缀合物的组合物中包括一种或多种抗氧化剂(如甲硫氨酸)减少抗体或抗原结合片段的氧化。此氧化的减少防止或减少结合亲和力的损失,由此提高抗体稳定性且使储存寿命最大化。因此,在某些实施方式中,提供了包含一种或多种如本文所公开的抗体或抗原结合片段和一种或多种抗氧化剂(如甲硫氨酸)的组合物。进一步提供了通过将抗体或抗原结合片段与一种或多种抗氧化剂(如甲硫氨酸)混合来防止如本文所提供的抗体或抗原结合片段的氧化、延长其保存期和/或提高其功效的方法。

[0871] 为了进一步说明,药学上可接受的载剂可包括例如水性媒剂,如氯化钠注射液、林格氏注射液(Ringer's injection)、等渗右旋糖注射液、无菌水注射液或右旋糖和乳酸林格氏注射液;非水性媒剂,如植物来源的非挥发性油、棉籽油、玉米油、芝麻油或花生油;抑制细菌或抑制真菌浓度的抗微生物剂;等渗剂,如氯化钠或右旋糖;缓冲剂,如磷酸盐或柠檬酸盐缓冲剂;抗氧化剂,如硫酸氢钠;局部麻醉剂,如盐酸普鲁卡因(procaine hydrochloride);悬浮剂和分散剂,如羧甲基纤维素钠、羟丙基甲基纤维素或聚乙烯吡咯烷酮;乳化剂,如聚山梨醇酯80(TWEEN-80);螯合剂,如乙二胺四乙酸(EDTA)或乙二醇四乙酸(EGTA)、乙醇、聚乙二醇、丙二醇、氢氧化钠、盐酸、柠檬酸或乳酸。可将用作载剂的抗微生物剂添加到多剂量容器中的药物组合物中,所述抗微生物剂包括苯酚或甲酚、汞剂、苯甲醇、氯丁醇、对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯、硫柳汞、苯扎氯铵(benzalkonium chloride)和苄索氯铵(benzethonium chloride)。合适的赋形剂可包括例如水、生理盐水、右旋糖、甘油或乙醇。合适的无毒辅助物质可包括例如润湿剂或乳化剂、pH缓冲剂、稳定剂、溶解度增强剂或如乙酸钠、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、三乙醇胺油酸酯或环糊精的试剂。

[0872] 药物组合物可为液体溶液、悬浮液、乳液、丸剂、胶囊、片剂、持续释放调配物或散剂。口服调配物可包括标准载剂,如药用级甘露糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。

[0873] 在某些实施方式中,药物组合物被配制成可注射组合物。可注射的药物组合物可以任何常规形式制备,例如液体溶液、悬浮液、乳液或适用于产生液体溶液、悬浮液或乳液的固体形式。注射用制剂可包括准备好用于注射的无菌和/或无热原质溶液;仅在使用之前准备与溶剂组合的无菌干燥可溶性产品,如冻干粉末,包括皮下注射片剂;准备好用于注射的无菌悬浮液;仅在使用之前准备与媒剂组合的无菌干燥不溶性产品;和无菌和/或无热原质乳液。溶液可以是水性或非水性的。

[0874] 在某些实施方式中,单位剂量的肠胃外制剂被包装在安瓿、小瓶或带针头的注射

器中。所有用于肠胃外施用的制剂都应该是无菌的且无热原质的,正如本领域中已知和实践的那样。

[0875] 在某些实施方式中,无菌冻干粉末是通过将如本文所公开的抗体或抗原结合片段溶解于合适溶剂中制备。溶剂可含有提高粉末或由粉末制备的复原溶液的稳定性或其它药理学组分的赋形剂。可使用的赋形剂包括但不限于水、右旋糖、山梨糖醇、果糖、玉米糖浆、木糖醇、甘油、葡萄糖、蔗糖或其它合适的试剂。溶剂可含有缓冲剂,如柠檬酸盐、磷酸钠或磷酸钾或本领域的技术人员已知的其它此类缓冲剂,在一个实施方式中,所述缓冲剂为约中性pH。随后无菌过滤溶液,接着在本领域的技术人员已知的标准条件下冻干,得到所需调配物。在一个实施方式中,将所得溶液分配到小瓶中以冻干。每个小瓶可含有单剂量或多剂量的抗CD24抗体或其抗原结合片段或其组合物。使小瓶过量填充高于一个剂量或一组剂量所需的少量(例如约10%)是可接受的,以便有助于准确样品抽取和准确给药。冻干粉末可在适当条件下,例如在约4°C到室温下储存。

[0876] 用注射用水复原冻干粉末得到用于肠胃外施用的调配物。在一个实施方式中,为了复原,将无菌和/或无热原质水或其它合适的液体载剂添加到冻干粉末中。精确量取决于所给定的所选疗法,并且可以凭经验确定。

[0877] 使用方法

[0878] 本公开还提供治疗方法,其包括:向有需要的受试者施用治疗有效量的如本文所提供的抗体或抗原结合片段,由此治疗或预防CD24相关疾病或病状。在一些实施方式中,CD24相关疾病或病状为癌症、自身免疫疾病、炎性疾病、适应性免疫疾病或感染性疾病。

[0879] 癌症的实例包括但不限于非小细胞肺癌(鳞状/非鳞状)、小细胞肺癌、肾细胞癌、结肠直肠癌、结肠癌、卵巢癌、乳腺癌(包括基底乳腺癌、导管癌和小叶乳腺癌)、胰腺癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、间皮瘤、黑色素瘤、头颈癌、甲状腺癌、肉瘤、前列腺癌、胶质母细胞瘤、子宫颈癌、胸腺癌、骨髓瘤、蕈样真菌病(mycoses fungoids)、梅克尔细胞癌(merkel cell cancer)、肝细胞癌(HCC)、纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、骨源性肉瘤和其它肉瘤、滑膜瘤、尤文氏肿瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、淋巴性恶性病、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌瘤、甲状腺髓样癌、乳头状甲状腺癌、嗜铬细胞瘤、皮脂腺癌、乳头状瘤、乳头状腺癌、髓质癌、支气管癌、肝肿瘤、胆管癌、绒毛膜癌、维尔姆斯瘤(Wilms'tumor)、睾丸肿瘤、精原细胞瘤、经典霍奇金淋巴瘤(CHL)、原发性纵隔大B细胞淋巴瘤、富含T细胞/组织细胞的B细胞淋巴瘤、急性淋巴细胞性白血病、急性骨髓细胞性白血病、急性骨髓性白血病、慢性骨髓细胞性(粒细胞性)白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、真性红细胞增多症、肥大细胞衍生肿瘤、EBV阳性和EBV阴性PTLD和弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、浆母细胞性淋巴瘤、结外NK/T细胞淋巴瘤、鼻咽癌、HHV8相关的原发性渗出性淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、重链疾病、骨髓发育不良综合症、毛状细胞白血病和脊髓发育不良、原发性CNS淋巴瘤、脊柱轴肿瘤、脑干神经胶质瘤、星形细胞瘤、神经管胚细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、成血管细胞瘤、听神经瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤、成神经细胞瘤和成视网膜细胞瘤。

[0880] 在某些实施方式中,癌症为肺癌、支气管癌、骨癌、肝脏和胆管癌症、胰腺癌、乳腺癌、肝癌、卵巢癌、睾丸癌、肾癌、膀胱癌、头颈癌、脊柱癌、脑癌、宫颈癌、子宫癌、子宫内膜

癌、结肠癌、结肠直肠癌、直肠癌、肛门癌、食道癌、胃肠癌、皮肤癌、前列腺癌、垂体癌、胃癌、阴道癌、甲状腺癌、胶质母细胞瘤、星形细胞瘤、黑色素瘤、骨髓发育不良综合症、肉瘤、畸胎瘤、腺癌、白血病、骨髓瘤和淋巴瘤。在某些实施方式中，癌症具有化疗耐药性。

[0881] 在某些实施方式中，疾病或病状为选自B细胞淋巴瘤的血液癌。B细胞淋巴瘤的实例包括但不限于霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、急性淋巴细胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤(MM)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、边缘区B细胞淋巴瘤(MZL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、瑞希特氏综合症、伯基特氏淋巴瘤或滤泡性淋巴瘤。

[0882] 自身免疫疾病包括但不限于获得性免疫缺乏综合症(AIDS,其为具有自身免疫组分的病毒性疾病)、斑秃、强直性脊椎炎、抗磷脂综合症、自身免疫阿狄森病(autoimmune Addison's disease)、自身免疫溶血性贫血、自身免疫肝炎、自身免疫内耳疾病(AIED)、自身免疫淋巴细胞增生综合症(ALPS)、自身免疫血小板减少性紫癜(ATP)、白塞氏病(Behcet's disease)、心肌病、口炎性腹泻-疱疹样皮炎;慢性疲乏免疫功能不全综合症(CFIDS)、慢性发炎性脱髓鞘性多发性神经病(CIPD)、瘢痕性类天疱疮、冷凝集素病、克雷斯综合症(crest syndrome)、克罗恩氏病(Crohn's disease)、德戈斯病(Degos'disease)、幼年型皮肌炎、盘状狼疮、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、格雷夫斯氏病(Graves'disease)、吉-巴二氏综合症(Guillain-Barre syndrome)、桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、特发性肺纤维化、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、IgA肾病、胰岛素依赖性糖尿病、幼年型慢性关节炎(斯提耳氏病(Still's disease))、幼年型类风湿性关节炎、梅尼尔氏病(Meniere's disease)、混合性结缔组织病、多发性硬化症、重症肌无力、恶性贫血、结节性多动脉炎、多软骨炎、多内分泌腺综合症、风湿性多肌痛、多发性肌炎和皮肌炎、原发性无 γ 球蛋白血症、原发性胆汁性肝硬化、牛皮癣、牛皮癣性关节炎、雷诺氏现象(Raynaud's phenomena)、莱特尔氏综合症(Reiter's syndrome)、风湿热、类风湿性关节炎、结节病、硬皮病(进行性全身性硬化症(PSS),也称为全身性硬化症(SS))、休格连氏综合症(Sjogren's syndrome)、僵人综合症(stiff-man syndrome)、全身性红斑狼疮、高安氏动脉炎(Takayasu arteritis)、颞动脉炎/巨细胞动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、白斑病和韦格纳氏肉芽肿病(Wegener's granulomatosis)。

[0883] 炎性疾病包括例如慢性和急性炎性疾病。炎性疾病的实例包括阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)、哮喘、特应性过敏、过敏、动脉粥样硬化、支气管哮喘、湿疹、肾小球肾炎、移植物抗宿主疾病、溶血性贫血、骨关节炎、败血症、中风、组织和器官的移植、血管炎、糖尿病性视网膜病变和呼吸器诱发的肺损伤。在一些实施方式中,CD24相关病状为炎性疾病,如全身性红斑狼疮(SLE)、肠道粘膜发炎、与结肠炎相关的消耗病、多发性硬化症、病毒感染、类风湿性关节炎、骨关节炎、克罗恩氏病和发炎性肠病、牛皮癣、全身性硬皮病、自身免疫糖尿病等。

[0884] 感染性疾病包括但不限于真菌感染、寄生虫/原虫感染或慢性病毒感染,例如疟疾、球孢子菌病(coccidioiodomycosis immitis)、组织胞浆菌病、甲真菌病(onychomycosis)、曲霉菌病(aspergilosis)、芽生菌病、白色念珠菌病(candidiasis albicans)、副球孢子菌病(paracoccidioiomycosis)、微孢子虫病(microsporidiosis)、棘阿米巴角膜炎(Acanthamoeba keratitis)、阿米巴症(Amoebiasis)、蛔虫病(Ascariasis)、

焦虫病 (Babesiosis)、小袋虫病 (Balantidiasis)、浣熊贝蛔虫病 (Baylisascariasis)、恰加斯氏病 (Chagas disease)、支睾吸虫病 (Clonorchiasis)、锥蝇属 (Cochliomyia)、隐孢子虫病 (Cryptosporidiosis)、裂头绦虫病 (Diphyllobothriasis)、麦地那龙线虫病 (Dracunculiasis)、包虫病 (Echinococcosis)、象皮病 (Elephantiasis)、蛲虫病 (Enterobiasis)、肝片吸虫病 (Fascioliasis)、姜片虫病 (Fasciolopsiasis)、丝虫病 (Filariasis)、贾第鞭毛虫病 (Giardiasis)、颚口线虫病 (Gnathostomiasis)、膜壳绦虫病 (Hymenolepiasis)、等孢球虫病 (Isosporiasis)、片山热 (Katayama fever)、利什曼体病 (Leishmaniasis)、莱姆病 (Lyme disease)、后殖吸虫病 (Metagonimiasis)、蝇蛆病 (Myiasis)、盘尾线虫病 (Onchocerciasis)、虱病 (Pediculosis)、疥疮、血吸虫病、睡眠病 (Sleeping sickness)、类圆线虫病 (Strongyloidiasis)、绦虫病 (Taeniasis)、弓蛔虫病 (Toxocariasis)、弓形虫病 (Toxoplasmosis)、旋毛虫病 (Trichinosis)、鞭虫病 (Trichuriasis)、锥虫病 (Trypanosomiasis)、蠕虫感染、B型肝炎 (HBV) 感染、C型肝炎 (HCV) 感染、疱疹病毒、埃-巴二氏病毒 (Epstein-Barr virus)、HIV、巨细胞病毒、I型单纯疱疹病毒、II型单纯疱疹病毒、人类乳头瘤病毒、腺病毒、人类免疫缺乏病毒I、人类免疫缺乏病毒II、卡-韦二氏肉瘤相关的疱疹病毒流行病 (Kaposi West sarcoma associated herpes virus epidemics)、细环病毒 (thin ring virus/Torquetenovirus)、人类T淋巴细胞病毒I、人类T淋巴细胞病毒II、水痘带状疱疹、JC病毒或BK病毒。

[0885] 在某些实施方式中,受试者为人类。

[0886] 在另一方面中,提供了治疗将受益于CD24活性的调节的受试者的疾病或病状的方法,其包括向有需要的受试者施用治疗有效量的如本文所提供的抗体或抗原结合片段。如本文中所使用的术语“疾病或病状”可与术语“CD24相关疾病或病状”互换使用。

[0887] 如本文所提供的抗体或抗原结合片段的治疗有效量将取决于本领域中已知的各种因素,例如受试者的体重、年龄、既往病史、目前的药物治疗、健康状况和交叉反应的可能性、过敏性、敏感性和不良副作用,以及施用途径和疾病发展的程度。如由这些和其它情况或要求所指示,本领域的一般技术人员(例如,医生或兽医)可按比例减少或增加剂量。

[0888] 在某些实施方式中,如本文所提供的抗体或抗原结合片段可以约0.01mg/kg至约100mg/kg(例如,约0.01mg/kg、约0.5mg/kg、约1mg/kg、约2mg/kg、约3mg/kg、约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg、约50mg/kg、约55mg/kg、约60mg/kg、约65mg/kg、约70mg/kg、约75mg/kg、约80mg/kg、约85mg/kg、约90mg/kg、约95mg/kg或约100mg/kg)的治疗有效剂量施用。在这些实施方式中的某些实施方式中,抗体或抗原结合片段是以约50mg/kg或更低的剂量施用,并且在这些实施方式中的某些实施方式中,剂量为10mg/kg或更低、5mg/kg或更低、3mg/kg或更低、1mg/kg或更低、0.5mg/kg或更低或0.1mg/kg或更低。在某些实施方式中,施用剂量可在治疗过程中改变。举例来说,在某些实施方式中,初始施用剂量可高于后续施用剂量。在某些实施方式中,取决于受试者的反应,施用剂量可在治疗过程中改变。

[0889] 可调整剂量方案以提供最优的期望反应(例如治疗反应)。举例来说,可施用单次剂量,或可随时间推移施用若干分次剂量。

[0890] 本文所公开的抗体和抗原结合片段可通过本领域中已知的任何途径施用,例如肠胃外(例如,皮下、腹膜内、静脉内(包括静脉内输注)、肌肉内或皮内注射)或非肠胃外(例

如,口服、鼻内、眼内、舌下、经直肠或局部)途径。

[0891] 在一些实施方式中,本文所公开的抗体或抗原结合片段可以单独施用或与一种或多种额外治疗手段或药剂组合施用。在一些实施方式中,本文所公开的抗体或抗原结合片段可以单独施用或与第二治疗剂组合施用。举例来说,本文所公开的抗体或抗原结合片段可与第二治疗剂,例如化学治疗剂或抗癌药物组合施用。在某些实施方式中,本文所公开的抗体或抗原结合片段可与一种或多种免疫抑制分子(例如,CD47、SIRP α 、PD-L1或主要组织相容性I类复合物的 β -2微球蛋白亚单位(B2M))的拮抗剂组合施用。如本文中所使用的术语“拮抗剂”可以指任何小分子、小RNA或微小RNA、或阻断或抑制CD47、SIRP α 、PD-L1或B2M与其相应结合配偶体的结合以便防止免疫抑制信号的引发的抗体或其抗原结合片段。在某些实施方式中,本文所公开的抗体或抗原结合片段是与CD47拮抗剂,例如SIRP α -Fc融合蛋白或其变体、抗CD47抗体或其抗原结合片段组合施用。在某些实施方式中,本文所公开的抗体或抗原结合片段是与SIRP α 拮抗剂,例如可溶性CD47或其变体、抗SIRP α 抗体或其抗原结合片段组合施用。

[0892] 术语“抗CD47抗体”可以指任何已知的抗CD47抗体或其抗原结合片段,包括但不限于如US9382320B2中所公开的Hu5F9。还使用Hu5F9-G4,其为抗人类CD47抗体且通过将其互补决定区(CDR)移植到人类IgG4型式上来人源化,并且产生人源化5F9抗体(Hu5F9-G4)(Liu J.等人,《公共科学图书馆·综合(PLoS One)》,2015,10:e0137345)。

[0893] 在这些实施方式中的某些实施方式中,与一种或多种额外治疗剂组合施用的如本文所公开的抗体或抗原结合片段可以与所述一种或多种额外治疗剂同时施用,并且在这些实施方式中的某些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段和所述额外治疗剂可以作为相同药物组合物的一部分施用。然而,与另一种治疗剂“组合”施用的抗体或抗原结合片段不必与所述药剂同时施用或以与所述药剂相同的组合物形式施用。当在本文中使用所述短语时,在另一种药剂之前或之后施用的抗体或抗原结合片段被认为与所述药剂“组合”施用,即使抗体或抗原结合片段和第二药剂是经由不同途径施用。当可能时,根据额外治疗剂的产品信息表中所列的时间表或根据主治医师案头参考2003(Physicians' Desk Reference 2003)(主治医师案头参考(Physicians' Desk Reference),第57版;医学经济学公司(Medical Economics Company);ISBN:1563634457;第57版(2002年11月))或本领域中熟知的方案,施用与本文所公开的抗体或抗原结合片段组合施用的额外治疗剂。

[0894] 在一些实施方式中,本公开提供检测样品中CD24的存在或量的方法,其包括使样品与抗体或其抗原结合片段接触,和确定所述样品中CD24的存在或量。

[0895] 在一些实施方式中,本公开提供诊断受试者的CD24相关疾病或病状的方法,其包括:a)从所述受试者获得样品;b)使从所述受试者获得的所述样品与本文所提供的抗体或其抗原结合片段接触;c)确定所述样品中CD24的存在或量;和d)将所述CD24的存在与所述受试者的所述CD24相关疾病或病状相关联。

[0896] 在一些实施方式中,本公开还提供本文所提供的抗体或其抗原结合片段在制造用于治疗受试者的CD24相关疾病或病状的药剂中的用途,在制造用于诊断CD24相关疾病或病状的诊断试剂中的用途。

[0897] 在另一方面中,本公开还提供一种调节表达CD24的细胞中的CD24活性的方法,其包括使表达CD24的细胞暴露于本文所提供的抗体或其抗原结合片段。

[0898] 在另一方面中,本公开还提供一种检测样品中CD24的存在或量的方法,其包括使所述样品与本文所提供的抗体或其抗原结合片段接触,和确定所述样品中CD24的存在或量。

[0899] 在另一方面中,本公开还提供一种诊断受试者的CD24相关疾病或病状的方法,其包括:a)从所述受试者获得样品;b)使从所述受试者获得的所述样品与本文所提供的抗体或其抗原结合片段接触;c)确定所述样品中CD24的存在或量;和d)将所述CD24的存在或量与所述受试者的所述CD24相关疾病或病状的存在或状态相关联。

[0900] 在另一方面中,本公开还提供本文所提供的抗体或其抗原结合片段在制造用于治疗受试者的CD24相关疾病或病状的药剂中的用途。所述药剂可进一步包含第二治疗剂,例如CD47拮抗剂,任选地,其中CD47拮抗剂为SIRP α -Fc融合蛋白或其变体,或抗CD47抗体或其抗原结合片段。

[0901] 在另一方面中,本公开还提供本文所提供的抗体或其抗原结合片段在制造用于诊断CD24相关疾病或病状的诊断试剂中的用途。

[0902] 在另一方面中,本公开还提供一种包括本文所提供的抗体或其抗原结合片段的试剂盒,其适用于检测CD24、任选的重组CD24、细胞表面上表达的CD24或表达CD24的细胞。如本文中所使用的术语“重组”是指使用一种或多种分子生物学技术人工操控一种或多种生物分子,例如多核苷酸或多肽分子以使这类生物分子成为除其自然状态以外的某物。

[0903] 在另一方面中,本公开还提供一种用于刺激哺乳动物中T细胞介导的对表达CD24的细胞或组织的免疫反应的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用有效量的细胞,所述细胞被基因修饰以表达包含抗原结合结构域、跨膜结构域、共刺激信号传导区和TCR信号传导结构域的CAR,其中抗原结合结构域与CD24特异性结合且包含本文所提供的抗原结合片段。在某些实施方式中,抗原结合片段为Fab或scFv。在某些实施方式中,本文所提供的CAR为双特异性的。CAR能够进一步特异性结合于除CD24以外的第二抗原或CD24上的第二表位。在某些实施方式中,第二抗原为如上文所提及的肿瘤抗原。TCR信号传导结构域可选自由以下组成的群组:CD3 ζ 、FccRI γ 、CD27、CD28、CD137、CD134、MyD88、CD40、CD278、TLR或其组合的胞内信号区序列。跨膜区可包含CD3、CD4、CD8或CD28的跨膜区。在某些实施方式中,第二抗原为免疫抑制分子,例如PD-L1、SIRP α 、CD47或B2M。

[0904] 在另一方面中,本公开还提供用于治疗患有CD24相关疾病或病状的哺乳动物的方法,其包括向所述哺乳动物施用有效量的细胞,所述细胞被基因修饰以表达本文所提供的CAR(例如自体T细胞),由此治疗所述哺乳动物。在某些实施方式中,CD24相关疾病或病状为癌症。在某些实施方式中,哺乳动物为人类受试者。

[0905] 提供以下实例是为了更好地说明所要求的发明,而不应理解为限制本发明的范围。下面描述的所有特定组合物、材料和方法全部或部分地落入本发明的范围内。这些特定组合物、材料和方法并不意图限制本发明,而是仅说明落入本发明的范围内的特定实施方式。本领域的技术人员可以开发出等效的组合物、材料和方法,而无需行使发明能力且不脱离本发明的范围。应理解,可在本文所描述的程序中进行许多变化,同时仍保持在本发明的界限内。本发明人的意图是这些变化都包括在本发明的范围内。

[0906] 实施例

[0907] 实施例1:杂交瘤发育

[0908] 1.方法

[0909] 1.1免疫接种和血清效价测定

[0910] 1.1.1免疫原和免疫接种策略

[0911] 细胞免疫接种:过度表达人类CD24的细胞 (HEK293F-hCD24)

[0912] 基因免疫接种:全长人类CD24表达构建体

[0913] 蛋白质免疫接种:重组人类CD24蛋白

[0914] 如表2所示对Balb/c和SJL小鼠进行免疫接种。初次免疫接种之后为进行几次强化,直到动物出现适用于杂交瘤发育的令人满意的抗血清效价为止。并行地进行所有免疫接种策略以便比较血清含量中的性能和免疫反应。

[0915] 表2

群组	免疫原	途径	动物/菌株	群大小	剂量
[0916] 1	hCD24 细胞	腹膜内	SJL	5	0.5-1×10 ⁷ 个细胞
2	hCD24 细胞	腹膜内	Balb/c	5	0.5-1×10 ⁷ 个细胞
3	hCD24 表达构建体	基因枪	SJL	5	4 μg
4	hCD24 表达构建体	基因枪	Balb/c	5	4 μg
[0917] 5	重组 hCD24 蛋白	腹膜内	SJL	5	25-50 μg

[0918] 1.1.2免疫接种时间表

[0919] 表3:免疫接种时间表 (细胞免疫接种)

[0920] 第 0 天	预采血 (15-30 μL 血清/小鼠) 初次: 0.5-1×10 ⁶ /小鼠腹膜内
14	强化 1: 0.5-1×10 ⁷ 个细胞/小鼠腹膜内
21	测试采血 (15-30 μL 血清/小鼠) (TB1)
22	测试采血 FACS
35	强化 2: 腹膜内, 0.5-1×10 ⁷ 个细胞/小鼠腹膜内
42	测试采血 (15-30 μL 血清/小鼠) (TB2)
43	测试采血 FACS
44	数据分析和阶段结论
56	预融合 (最终) 强化, 腹膜内, 0.5-1×10 ⁷ 个细胞/小鼠
	● 未被选定用于细胞融合的动物将维持在笼子中且可给予额外强化免疫接种。

[0921] 表4:免疫接种时间表 (基因免疫接种)

[0922]	第 0 天	预采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) 初次免疫接种, 1 μ g/注射, 4 次注射/动物
	14	强化 1: 1 μ g/注射, 4 次注射/动物
	21	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠)
	22	测试采血 FACS
	28	强化 2: 1 μ g/注射, 4 次注射/动物
	35	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠)
	36	测试采血 FACS
	42	强化 3: 1 μ g/注射, 4 次注射/动物
	49	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠)
	50	测试采血 FACS
	51	数据分析和阶段结论
	63	预融合 (最终) 强化: $0.5-1 \times 10^6$ /小鼠
	67	融合
		● 未被选定用于细胞融合的动物将维持在笼子中且可给予额外强化免疫接种。

[0923] 表5:免疫接种时间表(蛋白质免疫接种)

[0924]	第 0 天	预采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) 初次: 50 μ g/小鼠腹膜内, CFA
	14	强化 1: 25 μ g/小鼠腹膜内, IFA
	21	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB1)
[0925]	22	测试采血 FACS
	35	强化 2: 腹膜内, 25 μ g/小鼠腹膜内, IFA
	42	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB2)
	43	测试采血 FACS
	44	数据分析和阶段结论
	56	预融合 (最终) 强化, 腹膜内, 25 μ g/小鼠
	● 未被选定用于细胞融合的动物将维持在笼子中且可给予额外强化免疫接种。	

[0926] 1.1.3测试采血抗血清分析

[0927] 筛选:进行测试采血且通过使用FACS对稳定过度表达人类CD24的293F细胞系(293F-hCD24)和MCF7细胞进行测试来评估。

[0928] 1.2杂交瘤产生和筛选

[0929] 1.2.1细胞融合和筛选

[0930] 融合:在对免疫接种响应最好的小鼠上进行脾细胞融合,如通过测试采血FACS测定。使用最优化电融合方案将来自脾脏和淋巴结的淋巴细胞融合至Sp2/0-Ag14细胞系。进行多次融合以确保项目的成功。

[0931] 筛选和扩增:将融合物涂覆(每孔 10^4 至 10^5)到一堆96孔培养板中。监测培养板的生长并且每周进料。通过具有Acumen的10-14天内的初步筛选分析和/或其它可行的分析筛选具有细胞生长的孔。进行每种靶向抗原的多次融合且通过Acumen进行筛选。将与来自初步筛选的293F-hCD24显示出阳性结合的阳性亲本克隆扩增到24孔培养板中以供二次筛选。

[0932] 额外抗体筛选:在初步筛选之后,通过下文的杂交瘤筛选漏斗中描述的分析再次筛选扩增到24孔培养板中的阳性亲本克隆。

[0933] 选择所关注的杂交瘤以继续亚克隆。

[0934] 1.2.2杂交瘤亚克隆、筛选和冷冻保存

[0935] 亚克隆:接着通过多轮有限稀释法(limiting dilution)或单细胞分选亚克隆具有所需反应性的亲本杂交瘤和来自上述筛选漏斗的同种型,直至获得单克隆。

[0936] 筛选和扩增:通过Acumen分析筛选亚克隆培养板并且将具有良好结合能力的亚克隆扩增到24孔中以供确认测试。利用FACs分析确认这些亚克隆的特异性和交叉反应性。简单来说,将亲本293F细胞、293F-hCD24、乳腺癌细胞(MCF7、MDA-MB-468)、膀胱癌细胞(5637)、慢性骨髓细胞性白血病细胞(Nalm1)、CKOK1-hCD24细胞、结肠直肠癌细胞(HT29)、卵巢癌细胞(SKOV3)和肺癌细胞(H1975和A549)与分别由每种亚克隆产生的抗体一起培育。荧光染料结合的二级抗体用于检测一级抗体与细胞的结合。通过FACs分析测量中值荧光强度(MFI)。

[0937] 冷冻保存-对所需的亚克隆细胞系进行测序且进一步扩增到培养瓶中以用于冷冻保存。最初冷冻保存每细胞系4-6个小瓶,每小瓶 $0.5-1.0 \times 10^7$ 个细胞。必要时,可以建立所选择的最有价值的细胞系的主细胞库和工作细胞库。

[0938] 2.结果

[0939] 我们发现多种具有独特序列的抗体,其显示出与稳定过度表达人类CD24蛋白的293F细胞(293F-hCD24)的阳性结合。染色293F细胞、293F-hCD24、乳腺癌细胞(MCF7、MDA-MB-468)、膀胱癌细胞(5637)、慢性骨髓细胞性白血病细胞(Nalm1)、CKOK1-hCD24细胞、结肠直肠癌细胞(HT29)、卵巢癌细胞(SKOV3)和肺癌细胞(H1975和A549)的抗体的FACS MFI概括于下表6中。两种克隆110D4G4和81A1F8也用于染色DLBCL细胞OCI-LY1、OCI-LY 7和SU-DHL-10细胞(表7)。

[0940] 表6与不同细胞系结合的抗体的MFI

克隆	FACS MFI 293F 对照	FACS MFI 293F-hCD24	FACS MFI MCF7 细胞	FACS MFI MDA-MB-468 细胞	FACS MFI Nalm1 细胞	FACS MFI 5637 细胞
mIgG 对照	176	185	187	190	175	185
SN3	187	6560	1077	6692	11830	9396
33E7E12	182	24235	5412	10907	45524	14097
71A4F12	499	7351	2425	32523	45015	18649
[0941] 56A7E3	833	26425	9191	15265	74602	18461
58F10-1F6	774	7421	17352	49793	20923	34233
73H5-1G2	466	20125	373	6404	58514	6358
110D4G4	1225	56479	21225	52775	76230	47100
81A7A10	529	54424	3838	45877	74041	23184
111F3A2	382	58833	2251	35842	73783	18221
100F2E3	249	44060	7162	43976	58827	22138
81A1F8	698	10301	11477	24869	24797	22198

[0942] 表7与不同细胞系结合的抗体的MFI

克隆	FACS MFI	FACS MFI	FACS	FACS	FACS	FACS MFI	FACS MFI
[0943]							

	CHOK1-hCD24	HT-29	MFI A549	MFI H1975	MFI OCI-LY 1	OCI-LY 7	SU-DHL6
[0944] mlgG 对照	177	194	167	203	197	186	188
SN3	29701	5897	8820	5206			
33E7E12	24117	2453		6113			
71A4F12	28808	4780	4409	7195			
56A7E3	36721	1461	3319	2189			
58F10-1F6	28095	4902	12604	17462			
73H5-1G2	19885	4817	5696	2198			
110D4G4	28908	5610	18352	24926	4353	2930	3286
81A7A10	27774	5890	12218	10855			
111F3A2	33600	4332	16253	10533			
100F2E3	22261	2419	8667	6898			
81A1F8	45923	3053	8659	10644	5339	3855	3824

[0945] 与SN3相比,我们的抗体中的几种抗体在所测试的细胞上显示出高得多的MFI。我们的抗体中的大部分抗体在CD24低表达MCF7细胞上显示出较强的信号。

[0946] 实施例2:抗体特征:亲和力

[0947] 1.方法

[0948] 1.1对人类CD24的基于细胞的结合亲和力

[0949] 选择来自表1的一些抗体的序列以生成且产生人类IgG4嵌合抗体。通过FACs分析测定这些抗体和基准抗体SN3(参见例如T Fukukawa等人,《实验血液学(Exp Hematol.)》1986年10月;14(9):850-5)与293F-hCD24细胞和人类乳腺癌细胞(MCF7、MDA-MB-468)、膀胱癌细胞(5637)、慢性骨髓细胞性白血病细胞(Nalm1)、CKOK1-hCD24细胞、结肠直肠癌细胞(HT29)、卵巢癌细胞(SKOV3)和肺癌细胞(H1975和A549)的结合亲和力。FACs分析的方案描述如下:

[0950] a.使用TrypLE™表达酶(1×)消化细胞;将所收集的细胞在400g下离心5min并且丢弃上清液。

[0951] b.用冷FACS缓冲液洗涤细胞2次,在400g下离心5min并且丢弃上清液。

[0952] c.再悬浮细胞,且将 2×10^5 个细胞/孔接种到50 μ l FACS缓冲液中的分析培养板中,接着添加50 μ l一级抗体(一级抗体最终浓度:50.00、16.67、5.56、1.85、0.62、0.21、0.07、0.02、0.01、0.00 μ g/ml)。在40℃下培育1h。

[0953] d.通过使用步骤b中的条件洗涤细胞两次。再悬浮细胞与100 μ l/孔稀释的第2抗体,在黑暗中在4度下培育1h。

[0954] e.通过使用步骤b中的条件洗涤细胞两次。用100 μ l/孔的冷FACS缓冲液再悬浮细胞。使细胞保持在黑暗中以用于FACS分析。

[0955] 2.结果

[0956] 测试本文所提供的抗体对293F-hCD24细胞和人类乳腺癌细胞系、乳腺癌细胞(MCF7和MDA-MB-468)、膀胱癌细胞(5637)、慢性骨髓细胞性白血病细胞(Nalm1)、急性淋巴细胞白血病细胞(Nalm6)、CKOK1-hCD24细胞、结肠直肠癌细胞(HT29)、卵巢癌细胞(SKOV3)、肺癌细胞(NCI-H1975和A549)、B细胞淋巴瘤细胞(SU-DHL6和DoHH2)、人类B细胞和肝细胞癌细胞(Huh7)的结合亲和力。一些抗体与基准抗体SN3相当。然而,我们的mAb-110D4G4和mAb-81A7F8表现得比SN3好得多(表8A至表8B)。

[0957] 与SN3相比,一些抗体(110D4G4、81A1F8)在低表达CD24的细胞MCF7和A549上的最大MFI(50 μ g/ml的一级抗体浓度)高于SN3的最大MFI。(表8和表9)。

[0958] 与SN3(图1)相比,我们的抗体(110D4G4-hIgG4、81A1F8-hIgG4)中的一些抗体对低表达CD24的细胞MCF7和A549更敏感,其中最大MFI较高且结合亲和力较高或相当(表8A至表8B,图1)。

[0959] 表8A

克隆	293F 空白		293F-hCD24		5637		MCF7		MDA-MB-468		Nalm1	
	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)
mIgG 对照	176	/	185	/	185	/	187	/	190	/	175	/
SN3	187	/	34070	3.25	9396	2.7	761	8.0	10831	4.2	48376	3.43
33E7E12	182	/	24235	2.4	14097	4.37	5412	2.38	10907	3.45	45524	6.2
71A4F12	499	/	39416	6.74	18649	39.66	12572	120.7	32523	11.71	45015	6.28
56A7E3	833	/	26425	7.52	18461	31.64	9191	81.67	15265	16.67	74602	20.92
58F10-1F6	774	/	58228	24.11	34233	22.38	17352	43.38	49793	38.86	60299	8.723
73H5-1G2	466	/	20125	16.24	7442	24.64	373	45.91	6404	27.98	58514	33.82
110D4G4	1225	/	56479	6.55	47100	5.889	21225	5.2	52775	12.23	76230	3.27
81A7A10	529	/	54424	12.14	23184	37.65	3838	61.21	45877	60.99	74041	25.75
111F3A2	382	/	58833	12.3	18221	10.56	2251	10.81	35842	18.79	73783	10.61
100F2E3	249	/	44060	11.43	22138	9.474	7162	8.08	43976	19.65	58827	8.88
81A1F8	698	/	10301	1.702	22198	3.31	11477	3	24869	5.23	24797	1.9

[0961] 表8B

	CHOK1		CHOK1-hCD24		MCF7		Nalm1		MDA-MB-468		5637		293F		293F-hCD24	
	MFI	EC50 (nM)	MFI	EC50 (nM)	MFI	EC50 (nM)	MFI	EC50 (nM)	MFI	EC50 (nM)	MFI	EC50 (nM)	MFI	EC50 (nM)	MFI	EC50 (nM)
mIgG1	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SN3	/	/	12177	8.67	570	6.537	54730	5.08	5082	7.371	3884	5.74	/	/	10513	3.5
107D10D11	/	/	18041	1.3	3814	25.36	92981	1.61	34194	4.294	17713	5.322	/	/	23562	1.778

[0963] 表9

克隆	CHOK1-hCD24		HT-29		A549		H1975	
	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)
mIgG 对照	189	/	194	/	167	/	203	/
SN3	29701	3.632	5897	6.614	8820	2.996	5206	8.262
33E7E12	24117	1.864	2453	3.397			6113	8.148
71A4F12	28808	1.715	4780	5.458	4409	1.972	7195	71.88
56A7E3	36721	4.851	1461	18.07	3319	92.42	2189	93.09
58F10-1F6	28095	9.7	4902	10.81	12604	12.64	17462	53.11
73H5-1G2	19885	23.8	4817	39.95	5696	36	2198	31.3
110D4G4	28908	1.52	5610	2.921	18352	2.719	24926	5.219
81A7A10	27774	19.36	5890	25.51	12218	11.7	10855	75.32
111F3A2	33600	8.189	4332	11.91	16253	10.05	10533	11.53
100F2E3	22261	1.706	2419	9.552	8667	6.584	6898	10.04
81A1F8	45923	1.525	3053	2.931	8659	2.374	10644	2.032

[0965] 表10

克隆	293F 空白		293F-hCD24		5637		MCF7		MDA-MB-468		Nalm1		CHOK1-hCD24	
	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)	最大 MFI	EC50 (nM)
hIgG 对照														
ch33E7E12-hIgG1	231	/	80907	3.55	42895	6.44	20614	4.35	56743	9.07	108680	5.8	62147	2.265
ch33E7E12-hIgG4	130	/	55225	4.56	25604	7.27	16084	4.75	20088	6.8	34434	11.81	56567	2.664
ch56A7E3-hIgG4	485	/	57107	3.7	61080	138.8	22756	83.68	54153	18.73	80263	66.44	54119	3.04
ch110D4G4-hIgG4	1027	/	112190	2.82	49913	2.18	22713	2.01	89748	5.44	110671	1.945	99530	35.36
ch11F3A2-hIgG4	468	/	89638	2.94	21894	22.89	3649	92.64	40367	8.79	74662	4.22	88076	10.49
ch100F2E3-hIgG4	295	/	60388	3.73	20184	3.42	7959	6.85	71893	7.39	77702	2.78	59308	>100
ch81A1F8-hIgG4	1382	/	116917	3.35	54063	2.47	25390	2.31	90847	5.75	101261	1.31	85348	3239

[0967] 表10显示抗体对293F细胞、293F-hCD24、乳腺癌细胞(MCF7、MDA-MB-468)、膀胱癌细胞(5637)、慢性骨髓细胞性白血病细胞(Nalm1)、CKOK1细胞、CKOK1-hCD24细胞、结肠直肠癌细胞(HT29)、卵巢癌细胞(SKOV3)和肺癌细胞(H1975和A549)的结合亲和力。前缀“ch-”意指嵌合,其中hIgG1表示人类IgG1同种型的重链恒定区,且hIgG4表示人类IgG4同种型的重链恒定区。

[0968] 图1J至图1R显示抗体对急性淋巴细胞白血病细胞(Nalm6)、B细胞淋巴瘤细胞(SU-DHL6和DoHH2)、人类B细胞、结肠直肠癌细胞(HT29)、肝细胞癌细胞(Huh7)、乳腺癌细胞(MCF7)和肺癌细胞(NCI-H1975和A549)的结合亲和力。

[0969] 实施例3. 抗体特征:吞噬作用

[0970] 1. 方法

[0971] 使用Easysep™人类CD14阳性选择试剂盒II(干细胞(StemCell), 17858)从PBMC中分离单核细胞。通过在补充有10%FBS和100ng/mL rhM-CSF的RPMI 1640培养基中将单核细胞培养7天来诱导单核细胞衍生的巨噬细胞(MDM); 替换一半培养基且每3天至4天供应细胞因子。添加100ng/mL rhTGF-β和rhIL-10且再培养5天; 替换一半培养基且每3天至4天添加细胞因子。

[0972] 根据操作手册,用荧光增强配体(CFSE,英杰公司(Invitrogen), C34554)标记HT-29细胞(人类结肠直肠癌细胞系)(用2μM CFSE标记 1×10^6 /ml细胞且在37°C下于细胞培养箱中培育20min)。将100μL中的40,000个细胞/孔接种至96孔U形底无菌培养板(康宁(Corning), 目录:3894)。此后,将表6中所列的50μL连续稀释抗体添加到每个孔中并且将培养板在37°C 5%CO₂下培育2小时。同时,收集MDM细胞且将其再悬浮于RPMI1640培养基(吉宝科(Gibco), 目录号#11835-030)+10%FBS中达至 1×10^6 /ml。通过胰蛋白酶解离上述MDM细胞且以 10^6 个细胞/毫升再悬浮于完整1640培养基中。将如所提及的50μL MDM(40000个细胞)供应到分析培养板的每个孔中。在于37°C、5%CO₂中培育2小时之后,洗涤细胞混合物并且在4°C下用抗CD11b-APC染色细胞20min。洗涤细胞且用流式细胞仪分析样品。

[0973] 2. 结果

[0974] 2.1抗CD24抗体可扩大HT-29结肠直肠癌细胞的吞噬。

[0975] 所有我们的抗体增强对HT-29细胞的吞噬作用。与基准抗体SN3相比,我们的抗体对HT-29细胞显示出较高的最大吞噬指数(吞噬指数=(含有所吞噬细胞的巨噬细胞的数

量/所计数巨噬细胞的总数) × 100), 且所述抗体中的四者显示出较低的EC50 (表11, 图2)。根据上述方法进行吞噬分析。巨噬细胞和肿瘤细胞的效应物与靶细胞比率 (E:T) (E/T比率) 为1:1。

[0976] 表11嵌合抗体的最大HT29吞噬指数和EC50

	针对 HT-29 细胞的吞噬作用	
	最大吞噬指数 (%)	EC50 (nM)
SN3	68.19	2.098
ch33E7E12-hIgG4	33.30	3.255
ch56A7E3-hIgG4	55.24	4.736
ch81A7A10-hIgG4	78.38	0.157
ch100F2E3-hIgG4	71.16	1.895
ch81A1F8-hIgG4	76.63	0.098
ch33E7E12-hIgG1	80.38	0.042

[0977] [0978] 我们的嵌合抗体中的一些还增强对过度表达hCD24的HEK293F细胞以及结肠直肠癌 (CRC) 细胞系HT-29的吞噬作用。与参考抗体SN3相比, 一些嵌合抗体对这些细胞显示出较高的最大吞噬指数, 且一些嵌合抗体显示出强得多的EC50。hIgG1分型嵌合抗体诱导ADCP以使得可检测到好得多的吞噬作用 (表11, 图2)。

[0979] 2.2抗CD24抗体与抗CD47抗体的组合

[0980] 测试抗CD47与我们的抗CD24嵌合抗体 (chAb110D4G4、chAb111F3A2和chAb81A1F8) 的组合。选择HT29结肠直肠肿瘤细胞作为靶细胞。

[0981] 将嵌合抗体chAb110D4G4、chAb111F3A2和chA81A1F8用于与不同浓度的抗CD47抗体 (可在图3中互换使用hu5F9、hu5F9-hIgG4或hu5F9-G4) 组合来检测总吞噬作用。抗CD24嵌合抗体的抗体浓度设定为0.1nM, 且hu5F9浓度设定为0.0033nM、0.013nM、0.052nM和0.208nM。抗CD24与抗CD47的组合提高了吞噬指数。图3显示抗CD24抗体与抗CD47抗体的组合诱导比单独抗CD47抗体显著更好的吞噬作用。

[0982] 2.3针对吞噬分析探索双特异性抗体 (IgG+scFv型式)。

[0983] 用chAb81A1F8-IgG4和Hu5F9衍生的scFv构建IgG-scFv型式双特异性抗体, 其包含两条呈VH-CH1-铰链-CH2-CH3-间隔子-scFv型式的重链, 所述重链分别与呈VL-CL型式的轻链缔合。测试这种双特异性抗体的亲和力且接着也进行吞噬作用分析 (参见图4)。所有抗体浓度设定为100nM, 其足以达到最大吞噬作用。E/T比率设定为1:5和1:1。与hu5F9相比, 双特异性抗体显示出提高的吞噬作用, 且当E/T比率为1:5时, 组合组显示出几乎100%吞噬作用。如图4中所示, 通过吞噬分析测试双特异性抗体以及抗CD24与抗CD47抗体的组合。当E/T比率如之前的分析为1:1时, 最大指数可达到85%, 且在E/T比率为1:5时, 最大指数可达到98%。双特异性抗体显示出吞噬作用的极好效力。

[0984] 实施例4. 抗体人源化

[0985] 利用以下步骤进行81A1F8和101H9G9A2的人源化: 1) 使小鼠抗体VH结构域和VL结构域模型化; 2) 与一系列优选的人类生殖系序列进行比对; 3) 评定非人类CDR与人类FR之间的冲突, 并设计回复突变 (back mutation) 以防止最终产物中亲和力的损失; 和4) 将CDR移植到优选的生殖系骨架上。产生了5个不同的人源化序列, 随后在哺乳动物表达系统中克隆并小规模生产所有人源化变体和嵌合体。

[0986] 实施例5.人源化抗体的表征:亲和力

[0987] 通过基于细胞的结合分析,使用CD24阳性细胞HT-29和Na1m6测试人源化变体81A1F8-VH-11/VL-21(81A1F8-1121)、81A1F8-VH-21/VL-21(81A1F8-2121)、81A1F8-VH-11/VL-41(81A1F8-1141)和81A1F8-VH-21/VL-41(81A1F8-2141)。通过基于细胞的结合分析,使用CD24阳性细胞HT-29测试101H9G9A2的人源化变体。

[0988] 简单来说,使用PBS洗涤HT-29细胞或Na1m6细胞三次,首先将其与人源化变体一起孵育。在洗涤三次之后,将二级抗体与细胞一起孵育。利用流式细胞测量术分析样品的MFI并且计算基于细胞的亲和力。

[0989] 分别如图5A和图5B中所示,81A1F8的上述人源化抗体对HT29和Na1m6的结合亲和力与嵌合81A1F8相当。

[0990] 图5C中显示101H9G9A2的上述人源化抗体对HT29的结合亲和力。

[0991] 使用Gatorprime系统测试81A1F8的人源化抗体的基于蛋白质的KD(hCD24-Fc蛋白作为抗原),图5D中显示KD数据。

[0992] 实施例6.CD24的糖基化/唾液酸化表位

[0993] 测试由本文所提供的抗体识别的表位图案,发现一些本文所提供的抗体识别CD24的糖基化或唾液酸化修饰表位。

[0994] 使用神经氨酸苷酶或去糖基化混合试剂盒消化HT-29、Na1m6、HEK293T-hCD24和MCF7-hCD24细胞。与PBS对照相比,81A1F8和110D4G4保持了针对靶细胞的亲和力,并且MFI信号不下降。然而,如图6A和图6B中所示,在用神经氨酸苷酶或去糖基化混合物处理靶细胞之后,81A7A10、111F3A2、100F2E3、101H9G9A2和107D10D11的MFI很大程度上降低。基准抗体SN3还识别之前报道的糖基化表位。如图6C和图6D中所示,101H9G9A2以高亲和力结合于HT-29细胞,但完全不能结合于293T-hCD24。107D10D11以低亲和力结合于293T-hCD24。然而,SN3通常结合于293T-hCD24和HT-29。

[0995] 实施例7.利用SPR对抗CD24mAb以及人源化抗体进行亲和力测试

[0996] 利用BIAcore 8K(通用电气医疗集团(GE Healthcare))测定抗体对经mFc标记的人类CD24(hCD24-mFc-生物素)的亲和力。将0.8或2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ hCD24-mFc-生物素以10 $\mu\text{l}/\text{min}$ 的流动速率固定到S系列传感器芯片SA上持续120秒,以达到大约1200RU的固定水平。在室温下以30 $\mu\text{l}/\text{min}$ 的流动速率注射抗体,浓度梯度(1.56~50nM)。接触时间设定为180秒,解离时间为400秒。在每个循环结束时,注射10mM甘氨酸pH1.5以从表面去除测试抗体。最后,使用BIAcore Insight评估软件计算结合动力学,使用1:1结合模型进行曲线拟合。

[0997] 对本文所提供的一些抗CD24mAb的SPR分析的结果显示于图7A中。对人源化81A1F8候选物的SPR分析的结果显示于图7B中。

[0998] 实施例8.对81A1F8的基于ELISA的受体结合分析

[0999] 1.方法

[1000] 将人类CD24-mFc蛋白涂布于培养板上。将生物素化人类SigLec10蛋白(SIG-HM510B,恺作(Kactus))与不同浓度的81A1F8一起混合,接着将其添加到培养板中。我们采用的结合缓冲液为:1% Triton-X、0.3mM MnCl_2 、1mM CaCl_2 、25mM Tris、150mM NaCl、1mM MgCl_2 , pH 7.6。用1 \times PBS缓冲液洗涤样品三次。检测样品的信号并且用原始SigLec-10读数进行归一化。

[1001] 2.结果

[1002] 对不同浓度的81A1F8的基于ELISA的受体结合分析的结果显示于图8中。

[1003] 实施例9.81A1F8和其人源化变体的体外功效分析

[1004] 1.吞噬分析

[1005] 如实施例3中所提及的分离并诱导人类单核细胞。

[1006] A和B:使用抗CD24mAb (hIgG4 Fc) 和基准抗体SWA11以及抗CD47 mAb 5F9-IgG4进行靶标肿瘤细胞 (HT-29和Na1m6) 的吞噬。结果显示于图9A和图9B中。

[1007] C:将具有罕见的Fc依赖性功能的81A1F8-LALAPG与利妥昔单抗组合以查看其是否可以增强利妥昔单抗的ADCP作用。我们发现可检测到加和作用 (参见图9C)。

[1008] D:组合施用81A1F8-hIgG4嵌合抗体还增强了抗CD47抗体hu5F9的吞噬作用 (参见图9D)。

[1009] 2.ADCC分析和CDC分析

[1010] A:测试81A1F8和其人源化变体对靶细胞HT-29的ADCC作用。将HT-29细胞与PBMC一起孵育。将不同浓度的81A1F8以及人源化变体81A1F8-1141和81A1F8-2141添加到样品中。通过LDH试剂盒测试靶细胞的裂解。如图10A中所示,ADCC作用仅可由hIgG1同型抗体诱导。

[1011] B:测试81A1F8和其人源化变体对靶细胞hCD24-MCF7的CDC作用。将不同浓度的抗体与靶细胞和补体系统一起孵育。如图10B中所示,在高浓度的81A1F8抗体变体中可以检测到超过90%的靶细胞的裂解。

[1012] 实施例10.抗CD24抗体的体内功效分析

[1013] 在C57BL/6J同基因小鼠模型中测试81A1F8的体内功效。简单来说,将1百万个MC38-hCD24细胞皮下植入到雌性6至8周C57BL/6J小鼠。当平均肿瘤体积达到约60mm³时,将小鼠随机分组并且如下文所示进行处理。测试hIgG4同型抗体的单一药剂 (10mpk, Q3D) 或其与奥沙利铂的组合 (6mpk, QW)。一周两次测量肿瘤体积和小鼠体重。图11A至图11D中显示81A1F8的体内功效。

[1014] 所有处理组显示肿瘤生长抑制 (参见图11A)。当与奥沙利铂组合时,81A1F8-hIgG4显示出更好的功效,且可观察到协同作用;所有小鼠的体重未下降 (参见图11B)。体内功效测试的小结显示于图11C中。从肿瘤组织中分离肿瘤浸润淋巴细胞,并通过流式细胞测量术进行分析。图11D展示相较于对照 (CTRL),当用81A1F8-hIgG4与奥沙利铂的组合处理时CD8/CD4比率以及M1/M2巨噬细胞比率增加很多。

[1015] 还评估了81A1F8-mIgG2a (人类IgG1的同源物) 对MC38-hCD24同基因模型的体内功效。进行剂量-功效测试,我们发现6mpk剂量显示出最佳功效,因为6只小鼠中有4只在施用81A1F8-mIgG2a之后无肿瘤 (参见图12A)。

[1016] 通过再次接种MC38-Hcd24细胞进行再攻击分析,肿瘤可以生长。然而,在治疗组中没有肿瘤再次复发,显示在81A1F8处理之后免疫记忆形成 (参见图12B)。

[1017] 图12C显示用媒介剂对照或81A1F8-mIgG2a处理的每只小鼠的肿瘤生长曲线。

[1018] 图12D显示81A1F8-mIgG2a (也称为“ATG031-mAb011-mIgG2a”) 的体内功效的小结。

[1019] 还测试了人源化81A1F8 (81A1F8-2141-mIgG2a) 的体内功效。简单来说,接种MC38-hCD24肿瘤细胞。当平均肿瘤体积达到约120mm³时,将小鼠分组并用单一药剂 (81A1F8-2141-mIgG2a、奥沙利铂或阿特殊单抗) 或组合策略处理。所测试的人源化81A1F8 (81A1F8-

2141-mIgG2a)的肿瘤抑制作用显示于图13A至图13C中,其中图13A显示在施用药物之后的肿瘤生长曲线,图13B显示治疗组的每只小鼠的肿瘤生长曲线,图13C显示81A1F8-2141-mIgG2a的体内功效的小结。

[1020] 还测试了101H9G9A2-mIgG2a的体内功效分析。简单来说,如上文所提及接种MC38-hCD24肿瘤细胞。当平均肿瘤体积达到约120mm³时,向小鼠施用101H9G9A2-mIgG2a、81A1F8-2141-mIgG2a、奥沙利铂和阿特珠单抗,或其组合。所测试的101H9G9A2-mIgG2a和人源化81A1F8(81A1F8-2141-mIgG2a)的肿瘤抑制作用显示于图14A至图14C中,其中图14A显示如所示分组的小鼠的肿瘤体积曲线,图14B显示小鼠的体重,图14C显示不同处理的功效的小结。

[1021] 实施例11.食蟹猕猴(*Cynomolgus monkey/Macaca fascicularis*)CD24(cmCD24)抗体发现

[1022] 使用过度表达cmCD24标记的293F细胞免疫Balb/c和SJL小鼠,鉴别出两种抗体以识别食蟹猕猴CD24。基于细胞的结合数据显示于图15中。

[1023] 进行抗cmCD24抗体的体外功效研究,其结果显示于图16A至图16C中,其中图16A显示来自本文所提供的抗cmCD24抗体的吞噬分析的结果,图16B显示本文所提供的抗cmCD24抗体的ADCC作用,图16C显示本文所提供的抗cmCD24抗体的CDC作用。

<210> 4

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 4

Leu Val Ser Asn Leu Asp Ser

1 5

<210> 5

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 5

Gly Thr Asp Tyr

1

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 6

Val Gln Gly Thr His Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 7

Ala Tyr Asn Met Asp

1 5

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 8

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 9

Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asn Gln Asn Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 10

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 10

Tyr Thr Ser Arg Leu Leu Ser

1 5

<210> 11

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 11

Arg Gly Ser Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser His Tyr Ala Leu Asp Phe

1 5 10 15

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 12

Gln Gln Asp Asn Ser Leu Pro Arg Thr

1 5

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 13

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 14

Asp Ile Asn Pro Ile Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Asn Phe Glu

1 5 10 15

Gly

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 15

Gln Gln Asp His Thr Leu Pro Arg Thr

1 5

<210> 16

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 16

Gly Tyr His Met Asn

1 5

<210> 17

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 17

Glu Ile Asn Pro Ile Thr Ser Gly Ile Thr Tyr Asn Gln Ile Phe Lys

1 5 10 15

Ala

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 18

Arg Asp Tyr Gly Thr Ser Leu Asp Tyr

1 5

<210> 19

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 19

Asn Tyr Gly Val His

1 5

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 20

Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ile Lys Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 21
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的
<400> 21
Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met Ser
1 5 10 15
<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的
<400> 22
Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
1 5
<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的
<400> 23
Asn Tyr Gly Tyr Asp Cys Phe Ala Tyr
1 5
<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的
<400> 24
Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu Thr
1 5
<210> 25
<211> 5
<212> PRT

<223> 合成的

<400> 29

Arg Ala Ser Lys Ser Ile Asn Lys Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 30

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 30

Glu Ile Asn Pro Asn Thr Gly Asp Thr Asn Asn Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Ala

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 31

Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Ile Thr

1 5

<210> 32

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 32

Ser Tyr Trp Met Asp

1 5

<210> 33

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 33

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Asp Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 34

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 34

Asn Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Lys Thr His Ser Asn Gln Lys Phe Arg

1 5 10 15

Asp

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 35

Gly Ala Ser Ile Arg Glu Ser

1 5

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 36

Arg Gly Gly Tyr Tyr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 37

Gln Asn Asp His Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 38

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 38

Thr Tyr Gly Val Ser

1 5

<210> 39

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 39

Lys Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asn Arg Leu Ala

1 5 10

<210> 40

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 40

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

1 5 10 15

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 41

Gly Ala Thr Asn Leu Val Thr

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的
<400> 42
Tyr Tyr Gly Tyr Pro Phe Phe Ala Tyr
1 5
<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的
<400> 43
Gln Gln Tyr Trp Ser Ser Pro Pro Thr
1 5
<210> 44
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的
<400> 44
Ser Tyr Gly Val Ser
1 5
<210> 45
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的
<400> 45
Arg Ala Ser Ser Thr Val Asn Tyr Met Tyr
1 5 10
<210> 46
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成的

<400> 46

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

1 5 10 15

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 47

Tyr Thr Ser Arg Leu Ala Pro

1 5

<210> 48

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 48

Phe Tyr Gly Tyr Asp Glu Gly Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 49

Gln Gln Phe Thr Ser Ser Pro Leu Thr

1 5

<210> 50

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 50

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

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

115

<210> 51

<211> 345

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 51

gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggagc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60
 tcctgttttg tctctggatt cactttcagt aactcctgga tgaactgggt ccgccagtct 120
 ccagagaagg ggcttgagtg ggttgctcag attcaattga aatctgataa ttatgcaaca 180
 cgttatgtgg agtctgtgag agggaggttc atcatctcaa gagatgattc caaaagtagt 240
 gtctccctgc aaatgaacaa cttaaggact gaagacactg gaatttatta ctgttcctct 300
 gggaccgact actggggcca aggcaccact ctacagtct cctca 345

<210> 52

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 52

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ala Leu Ser Val Ile Ile Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Phe Ser
 20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Gly Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 53

<211> 336

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 53

gatgttgtga tgaccagac tccactcgct ttgtcggta tcattggaca accagcctct 60
 atctcttgca agtcaagtca gagcctctta ttagtaatg gaaaaaccta tttgaattgg 120
 ttattacaga ggccaggcca gtctccaaag cgctaactc atctggtgtc taatctggac 180
 tctggagtcc ctgacagtt cactggcagt ggatcaggaa cagattttac actgaaaatc 240
 ggcagagtgg aggctgaaga tttgggagtt tattactgcg tgcaaggtac acattttcca 300
 tacacgttcg gtggggggac caagttggaa ataaaa 336

<210> 54

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 54

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Pro Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
 20 25 30
 Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Met Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asn Gln Asn Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65	70	75	80	
Met Glu Leu Arg Ser	Leu Thr Ser Glu Asp Thr	Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90	95	
Ala Arg Arg Gly Ser Tyr Tyr Tyr	Gly Ser Ser His Tyr Ala Leu Asp			
	100	105	110	
Phe Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Ser Val Ser Ser				
	115	120		
<210>	55			
<211>	372			
<212>	DNA			
<213>	人工序列			
<220>				
<223>	合成的			
<400>	55			
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata				60
ccctgcaagg cttctggata cacattcact gcctacaaca tggactgggt gaagcagagc				120
catggaatga gccttgagtg gattggagat attaatccta acaatggtga tactgtctac				180
aaccagaatt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac				240
atggaactcc gcagcctgac atctgaggac actgcagtct attactgtgc aagaaggggg				300
tcctattact acggtagtag tcactatgct ctggacttct ggggtcaagg aacctcagtc				360
tccgtctcct ca				372
<210>	56			
<211>	107			
<212>	PRT			
<213>	人工序列			
<220>				
<223>	合成的			
<400>	56			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ile Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly				
1	5	10	15	
Asn Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr				
	20	25	30	
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile				
	35	40	45	
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly				
	50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln				
65	70	75	80	
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Asn Ser Leu Pro Arg				

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

<210> 63

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 63

gaggtccagc tgcggcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggctgc ggtgaagata 60
 tcctgcaagg cttctgggta ctattcact ggctaccaca tgaactgggt gaagcaaagt 120
 cctgaaaaga gccttgagtg gattggagag attaatccta tcactagtgg tattacctac 180
 aaccagattt tcaaggccaa ggccacattg actgtagaca aatctctccag cacagcctac 240
 ttgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtac aagaaggac 300
 tacggtacta gccttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctca 354

<210> 64

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 64

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ile Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile

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

<210> 65

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 65

gatatccaga	tgacacagat	tacatcctcc	ctgtctgct	ctctgggaga	cagagtcacc	60
atcacttgca	gggcaagtca	ggacattagc	aattatttaa	actggtatca	gcagaaacca	120
gatggaactg	ttaaactcct	gatctactac	acatcaagat	tactctcagg	agtcccatca	180
aggttcagtg	gcagtgggtc	tggaacagat	tattctetca	ccattagcaa	cctggagcaa	240
gaagatattg	ccacttactt	ttgccaacag	gatcatacgc	ttctctggac	gttcggtgga	300
ggcaccaagc	tggaatcag	a				321

<210> 66

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 66

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

Gln Met Asn Ser Leu Gln Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala	
85	90
Asn Asn Tyr Gly Tyr Asp Cys Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu	
100	105
Val Thr Val Ser Ala	
115	
<210> 67	
<211> 351	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 67	
caggtgcagc tgaagcagtc aggacctggc ctagtgcagc cctcacagag cctgtccata	60
acctgcacag tctctggttt ctattaact aactatggtg tacactggat tcgccagtct	120
ccaggaaagg gtctggagtg gctgggagtg atatggagag gtggaagcac agactacaat	180
gcagctttca tgtccagact gagcatcacc aaggacaact ccaagagcca agttttcttt	240
caaatgaaca gtctgcaagc tgctgacact gccatatatt actgtgcca caactatggt	300
tacgactgct ttgcttactg gggccaaggg actctggtca ctgtctctgc a	351
<210> 68	
<211> 107	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 68	
Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly	
1 5 10 15	
Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ile Lys Tyr	
20 25 30	
Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile	
35 40 45	
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
50 55 60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Glu Pro	
65 70 75 80	
Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu	
85 90 95	
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Arg Leu Glu Leu Lys	

	100	105	
<210>	69		
<211>	321		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成的		
<400>	69		
	gatgtccaaa taaccagtc tccatcttat cttgetgcat ctctggaga aaccattact		60
	attaattgca gggcaagtaa gagtattatc aatatttag cctggatca agagaaacct		120
	gggaaaacta ataagcttct tatctactct ggatecactt tgcaatctgg aattccatca		180
	aggttcagtg gcagtgatc tggtagatc tteactctca ccatcactag cctggagcct		240
	gaagattttg caatgtatta ctgtcaacag cataatgaat acccgctcac gttegggtgct		300
	gggaccagge tggagctgaa a		321
<210>	70		
<211>	118		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成的		
<400>	70		
	Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Gly Ala		
	1 5 10 15		
	Ser Val Lys Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Leu Phe Thr Gly Tyr		
	20 25 30		
	Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Glu Lys Ser Leu Glu Trp Ile		
	35 40 45		
	Gly Glu Ile Asn Pro Asn Thr Gly Asp Pro Arg Tyr Asp Gln Lys Phe		
	50 55 60		
	Lys Ala Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr		
	65 70 75 80		
	Met His Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys		
	85 90 95		
	Ala Arg Arg Asp Tyr Gly Thr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
	100 105 110		
	Thr Leu Thr Val Thr Ser		
	115		
<210>	71		
<211>	354		

<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	71	
	gaggttcagc tgcagcagtc tggacctggg ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata	60
	tcctgcaggg cttctggtta cctattcact ggctactaca tgaactgggt gaagcaaagt	120
	cctgaaaaga gccttgagtg gattggagag attaatceta aacttggtga tcctagatac	180
	gaccagaagt ttaaggccaa ggccacattg actgtagaca gatcctccag cacagcctac	240
	atgcacctca agagcctgac atctgaagac tctgcagtct atttctgtgc caggagggac	300
	tacggtacta gccttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtcac ctca	354
<210>	72	
<211>	107	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	72	
	Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly	
	1 5 10 15	
	Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr	
	20 25 30	
	Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile	
	35 40 45	
	Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
	50 55 60	
	Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro	
	65 70 75 80	
	Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu	
	85 90 95	
	Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys	
	100 105	
<210>	73	
<211>	321	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	73	

gatgtccaga taaccagtc tccatcttat ctgctgcat ctctggaga aaccattact 60
 attaattgca gggcaagtaa gagcattagc aatatttag cctggtatca agagaaacct 120
 gggaaaacta ataagcttct tatctactct ggatccactt tgcaatctgg aattccatca 180
 aggttcagtg gcagtgatc tggttcagat ttcactctca ccatcagtag cctggagcct 240
 gaagattttg caatgtatta ctgtcaacag cataatgaat atccgctcac gttcgggtct 300
 gggaccaagc tggagctgaa a 321

<210> 74

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 74

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

<210> 75

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 75

gaggttcagc tgcagcagtc tggacctgag ttggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60
 tcttgcaagg ctactggta cttattcact ggctactaca tgaactgggt gaaacaaagt 120
 cctgaaaaga gccttgagtg gattggagag atcaatceta aactggtga tactaacaac 180

aaccagaagt tcaaggccaa ggccacaatg actgttgaca gatcctccag cacagcctac 240
 atgcagctca agaggctgac atctgaggac tctgcagtct attattgtgt aagaaggac 300
 tacggtacta gtcttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctca 354

<210> 76

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 76

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

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Asn Lys Tyr
 20 25 30

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

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Ile
 85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105

<210> 77

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 77

gatgtccaga taaccacagtc tccatcttat cttgctgcat ctcttgaga aaccattact 60

attaattgca gggcaagtaa gagtattaac aatatttag cctggtatca agagaaacct 120

gggaaaacta ataagcttct tatcactct ggatccactt tgcaatctgg aattccatca 180

aggttcagtg gcagtagatc tggaacagat ttcactctca ccatcagtaa cctggagcct 240

gaagattttg caatgtatta ctgtcaaaa cataatgaat atccgatcac gttcgggtgct 300

gggaccaagc tggagctgaa a 321

<210> 78

<211> 120

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 78
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Thr Ser Asp Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asp Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Asn Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Lys Thr His Ser Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Arg Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Gly Gly Tyr Tyr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 79
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 79
 caggccaac tgcagcagcc tggggctgaa ctggtgaggc ctgggtcttc agtgaagctg 60
 tcctgcaaga cttctgacta caccttcacc agctactgga tggattgggt gaagcagagg 120
 cctggacaag gccttgaatg gattggtaac atttaccctt ctgatagtaa aactcactcc 180
 aatcaaaaagt tcagggacaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atgcagctca acagcctgac atctgaagac tctgcggtct attactgtgc aagaagaggt 300
 ggttactacg gctatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctctctca 360
 <210> 80
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 合成的

<400> 80

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Asp Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

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

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Asp His Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 81

<211> 339

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 81

gacattgtga tgacacagtc tccatcctcc ctgagtgtgt cagcaggaga gaaggtcact 60

atgagctgca agtccagtca gagtctgtta aatagtggaa atcaagacaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagcctcct aaactgttga tctacggggc atccattagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg gaaccgattt cactcttacc 240

atcagtagtg tgcaggtgca agacctggca gtttattact gtcaaatga tcatagttat 300

ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagttg gaaataaaa 339

<210> 82

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 82

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

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

<210> 83

<211> 351

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 83

caggtgcagc tgaaggagtc aggacctggc ctggtggcgc cctcacagag cctgtccatc 60
 acatgcactg tctcaggatt ctattaatc acctatgggtg taagctgggt tcgccagcct 120
 ccaggaaagg gtctggagtg gctgggagta atatgggggtg acgggaccac aaattatcat 180
 tcagctctca aaccagact gaccatcagc aaggatgact ccaagagcca agtcctctta 240
 aaattgaaca gtctgcaaac tgatgacaca gccacgtact actgtgccaa ctactatggt 300
 taccctttt ttgcttactg gggccaaggg actctgggtca ctgtctctgc a 351

<210> 84

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 84

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Ser Ser Ser Phe Ser Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ala Pro Gly Val Leu Ile

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 93
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 93
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser
 20
 <210> 94
 <211> 244
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 94
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Tyr Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 115 120 125
 Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
 130 135 140
 Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser

	35		40		45												
Gly	Met	Ile	Trp	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Asp	Tyr	Asn	Ala	Ala	Phe	Ile		
	50				55						60						
Ser	Arg	Val	Ser	Phe	Thr	Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Ser	Gln	Val	Phe	Phe		
65					70					75				80			
Thr	Met	Asn	Ser	Leu	Gln	Ala	Asp	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Ala		
				85					90					95			
Arg	Ile	Trp	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val		
			100					105						110			
Thr	Val	Ser	Ser														

115

<210> 102

<211> 348

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 102

cagatacagc	tgaagcagtc	aggacctggc	ctagtgcagc	cctcacagag	tctgtccatc	60
acctgcacag	tctctggttt	ctcattaagt	agttatgggt	taaattgggt	tcgccagtct	120
ccaggaaagg	gtctggaatg	gctgggaatg	atatggagtg	gtggaaacac	agactataat	180
gcagctttca	tatccagagt	gagcttcacc	aaggacaatt	ccaagagcca	agttttcttt	240
acaatgaaca	gtctgcaagc	tgatgacaca	gccatatatt	actgtgccag	aatatggtac	300
tatggtatgg	actactgggg	tcaggaacc	tcagtcaccg	tctctca		348

<210> 103

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 103

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Gln	Lys	Phe	Met	Ser	Thr	Thr	Val	Gly
1			5					10						15	
Asp	Arg	Val	Ser	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Gly	Thr	Ala
			20					25					30		
Val	Ala	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Ile	Leu	Ile
			35					40					45		
Tyr	Ser	Ala	Ser	Ile	Arg	Tyr	Pro	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly
			50					55					60		

<400> 107

Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Asp Asn Tyr

1 5 10

<210> 108

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 108

Gly Ala Arg

1

<210> 109

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 109

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asn Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Lys Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Arg Gly Gly Tyr Tyr Ala Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 110

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>		
<223>	合成的	
<400>	110	
	gacattgtga tgaccagtc tcaaaaattc atgtccacaa cagtaggaga cagggtcagc	60
	atcacctgca aggccagtca gaatgtgggt actgctgtag cctggtttca acagaaacca	120
	ggacaatctc ctaaaatact gatttattca gcatccattc gctaccctgg agtccctgat	180
	cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccactagcaa tgtgcagtct	240
	gaagacctgg cagattatth ctgtctgcaa tatatcacct ttctctggac gttcgggtga	300
	ggcaccaagc tgtatatcaa a	321
<210>	111	
<211>	113	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	111	
	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Ala Gly	
	1 5 10 15	
	Glu Lys Val Thr Met Arg Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser	
	20 25 30	
	Gly Asn Gln Asp Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln	
	35 40 45	
	Pro Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Gly Ala Arg Ile Arg Glu Ser Gly Val	
	50 55 60	
	Pro Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr	
	65 70 75 80	
	Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn	
	85 90 95	
	Asp His Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile	
	100 105 110	
	Lys	
<210>	112	
<400>	112	
	000	
<210>	113	
<211>	5	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		

<223> 合成的
 <400> 113
 Ser Asn Thr Met His
 1 5
 <210> 114
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 114
 Tyr Ile Asn Pro Gly Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Asn
 1 5 10 15
 Asp
 <210> 115
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 115
 Leu Ala Thr Tyr Tyr Asp Asn Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 116
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 116
 Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser
 1 5
 <210> 117
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 117

Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Trp Thr
 1 5
 <210> 118
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 118
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Asn
 20 25 30
 Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Gly Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Asn Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Leu Ala Thr Tyr Tyr Asp Asn Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 119
 <400> 119
 000
 <210> 120
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 120
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

<210> 124
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 124
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr Leu Arg Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95
 Leu Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 125

<400> 125

000

<210> 126

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 126

Asp Tyr Asn Met Asp

1 5

<210> 127

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

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

<210> 135

<400> 135

000

<210> 136

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 136

	Glu	Ile	Asn	Pro	Asn	Lys	Gly	Asp	Ser	Asn	Leu	Asn	Gln	Asn	Phe	Lys			
	1				5					10					15				

Ala

<210> 137

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 137

	Arg	Asp	Tyr	Gly	Thr	Ser	Leu	Asp	His										
	1				5														

<210> 138

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 138

Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala

	100	105	110
Thr Leu Thr Val Ser Ser			
	115		
<210>	142		
<400>	142		
000			
<210>	143		
<211>	107		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成的		
<400>	143		
Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Thr Ser Pro Gly			
1	5	10	15
Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr			
	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Lys Lys Leu Leu Ile			
	35	40	45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu His Thr Ala Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60
Arg Gly Phe Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Ile			
	85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys			
	100	105	
<210>	144		
<400>	144		
000			
<210>	145		
<211>	7		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成的		
<400>	145		
Ser Gly Ser Thr Leu His Ser			
1	5		

<210> 146
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 146
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Leu Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Glu Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Glu Ile Asn Pro Asn Thr Gly Asp Thr Asn Asn Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Ala Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Arg Arg Asp Tyr Gly Thr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 147
 <400> 147
 000
 <210> 148
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 148
 Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Asn Lys Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

His Ser Gly Ser Thr Leu His Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105
 <210> 149
 <400> 149
 000
 <210> 150
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 150
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Asn Thr
 1 5
 <210> 151
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 151
 Ile Asn Pro Gly Ser Ala Tyr Thr
 1 5
 <210> 152
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 152
 Ala Arg Leu Ala Thr Tyr Tyr Asp Asn Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5 10 15
 <210> 153

<211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 153
 Ser Ser Val Asn Tyr
 1 5
 <210> 154
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 154
 Gly Thr Ser
 1
 <210> 155
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 155
 Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
 1 5
 <210> 156
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 156
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Asn
 20 25 30
 Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Gly Ser Ala Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Asn Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Ser
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Leu Ala Thr Tyr Tyr Asp Asn Asp Gly Tyr Ala Met Asp Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 157
 <400> 157
 000
 <210> 158
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 158
 Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
 20 25 30
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Arg Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
 35 40 45
 Gly Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
 65 70 75 80
 Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 159
 <400> 159
 000
 <210> 160
 <211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的
<400> 160
Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Gly
1 5
<210> 161
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的
<400> 161
Ile Trp Gly Asp Gly Asn Thr
1 5
<210> 162
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的
<400> 162
Ala Asn Leu Tyr Val Leu Phe Ala Tyr
1 5
<210> 163
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的
<400> 163
Ser Ser Val Ser Tyr
1 5
<210> 164
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成的

<400> 164

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

<210> 165

<400> 165

000

<210> 166

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 166

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

	85	90	95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
	100	105	
<210>	167		
<400>	167		
000			
<210>	168		
<211>	8		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成的		
<400>	168		
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Trp			
1	5		
<210>	169		
<211>	8		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成的		
<400>	169		
Ile Asn Pro Thr Asn Gly Gly Thr			
1	5		
<210>	170		
<211>	10		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成的		
<400>	170		
Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Phe Asp Tyr			
1	5	10	
<210>	171		
<211>	11		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成的		

<400> 171
 Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr
 1 5 10
 <210> 172
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 172
 Leu Val Ser
 1
 <210> 173
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 173
 Trp Gln Gly Thr Tyr Phe Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 174
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 174
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Thr Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Trp Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Asp Ile Asn Pro Thr Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Thr Lys Ala Ile Leu Thr Val Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Val Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

	20		25		30														
Tyr	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met				
	35						40					45							
Gly	Glu	Ile	Asn	Pro	Asn	Thr	Gly	Asp	Thr	Asn	Asn	Asn	Gln	Lys	Phe				
	50						55					60							
Lys	Ala	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Val	Asp	Arg	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr				
65					70					75					80				
Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
				85					90				95						
Val	Arg	Arg	Asp	Tyr	Gly	Thr	Ser	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr				
			100					105					110						
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser														
	115																		
<210>	178																		
<211>	118																		
<212>	PRT																		
<213>	人工序列																		
<220>																			
<223>	合成的																		
<400>	178																		
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala				
1			5						10					15					
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Leu	Phe	Thr	Gly	Tyr				
			20						25					30					
Tyr	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met				
	35						40					45							
Gly	Glu	Ile	Asn	Pro	Asn	Thr	Gly	Asp	Thr	Asn	Asn	Asn	Gln	Lys	Phe				
	50						55					60							
Lys	Ala	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Val	Asp	Arg	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr				
65					70					75					80				
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
				85					90				95						
Val	Arg	Arg	Asp	Tyr	Gly	Thr	Ser	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr				
			100					105					110						
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser														
	115																		
<210>	179																		
<211>	118																		
<212>	PRT																		

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

<210> 181

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 181

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Asn Lys Tyr
 20 25 30

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

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

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

<210> 182

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 182

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Asn Lys Tyr
 20 25 30

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

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65		70		75		80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Ile						
		85		90		95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys						
		100		105		

<210> 183

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 183

Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly															
1			5					10						15	
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Asn Lys Tyr															
			20					25						30	

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

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly															
			50					55						60	

Ser Arg Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro															
65					70					75					80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Ile															
			85					90						95	

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

<210> 184

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 184

Gln Ser Leu Leu Gln Ser Gly Asn Gln Asp Asn Tyr										
1				5						10

<210> 185

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

Gln Val Gln Leu Leu Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asp Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Asn Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Lys Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Gly Gly Tyr Tyr Ala Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 190
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 190
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Asn Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Lys Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Gly Gly Tyr Tyr Ala Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 191
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 191
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Asn Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Lys Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Gly Gly Tyr Tyr Ala Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 192
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的
 <400> 192
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Asn Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Lys Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65					70						75				80
Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85						90				95
Ala	Arg	Arg	Gly	Gly	Tyr	Tyr	Ala	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
					100						105				110
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
			115												120
<210>	193														
<211>	120														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	合成的														
<400>	193														
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Asp	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
					20				25					30	
Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
							40							45	
Gly	Asn	Ile	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ser	Lys	Thr	His	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
							55							60	
Lys	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65							70							75	80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85						90				95
Ala	Arg	Arg	Gly	Gly	Tyr	Tyr	Ala	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
											100				110
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
<210>	194														
<211>	120														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	合成的														
<400>	194														
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Asn Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Lys Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Gly Gly Tyr Tyr Ala Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 195

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 195

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

Lys

<210> 196

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 196

```

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

```

Lys

<210> 197

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 197

```

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

```

	100	105	110
Lys			
<210>	198		
<211>	113		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成的		
<400>	198		
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Ala Gly			
1	5	10	15
Glu Lys Val Thr Met Arg Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser			
	20	25	30
Gly Asn Gln Asp Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln			
	35	40	45
Pro Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Gly Ala Arg Ile Arg Glu Ser Gly Val			
	50	55	60
Pro Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr			
65	70	75	80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn			
	85	90	95
Asp His Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile			
	100	105	110

Lys			
<210>	199		
<211>	113		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成的		
<400>	199		
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Ala Gly			
1	5	10	15
Glu Lys Val Thr Met Arg Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ala Ser			
	20	25	30
Gly Asn Gln Asp Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln			
	35	40	45
Pro Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Gly Ala Arg Ile Arg Glu Ser Gly Val			
	50	55	60

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

Lys

<210> 202

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 202

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

Lys

<210> 203

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 203

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

Lys

<210> 204

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 204

caggtgcagc	tgctgcagcc	cggcgctgag	ctggtgagac	ccggaagcag	cgtgaagctg	60
agctgcaaag	ccagcgacta	cacattcaca	agctactgga	tggactgggt	gaaacagaga	120
cctggccagg	gactggaatg	gattggaaac	atctacccca	gtgacagcaa	gaccactac	180
aaccagaagt	tcaaggacaa	agccaccctg	accgtggaca	agagcagcag	caccgcctac	240
atgcagctga	acagcctgac	cagcgaagac	agcgccgtgt	actactgcmc	cagaagaggc	300
ggctactacg	cctatgccat	ggactactgg	gggcagggaa	ccagcgtgac	cgtgagcagc	360

<210> 205

<211> 339

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 205

gacattgtga	tgaccagag	ccccagcagc	ctgagcgtga	gcccggaga	aaaagtgacc	60
atgagatgca	agagcagcca	gagcctgctg	aacagcggga	accaggacaa	ctacctggcc	120

tggtatcaac agaagcccgg ccagcccccc aaactgctgc tgtatggagc cagaatcaga	180
gagagcggcg tgcccgacag attcatcggc agcggcagcg gaaccgactt caccctgacc	240
atcagcagcg tgcaggctga ggacctggcc gtgtactact gccagaacga ccacagctac	300
ccctatacct ttggaggcgg caccaaggtg gagatcaaa	339
<210> 206	
<211> 369	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 206	
caggtccagc tgcagcagtc tggggetgaa ctggcaagac ctggtgctc agtgaagatg	60
tcttgcaagg cttctggcta cacctttact agcaacacga tgcactgggt aaaacagagg	120
cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatectg gcagtgctta tactaactac	180
aatcagaagt tcaatgacaa ggccacattg actgcagaca agtcctccag cacagcctcc	240
atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagactcgcg	300
acctactatg ataacgacgg atatgctatg gactattggg gtcaaggaac ctcagtcacc	360
gtctcctca	369
<210> 207	
<211> 321	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 207	
gacatccaga tgacacagtc tacatcctcc ctgtctgctt ctctgggaga cagagtcacc	60
atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aattatthaa actggtatca gcagaaacca	120
gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaaaat tacactcagg agtcccatca	180
aggttcagtg gcagtggtc tggaacagat tttctctca ccattaccaa cctggagcaa	240
gaagatthtg ccaattactt ttgccaacag ggtcatacgc ttccgtggac gttcgggtgga	300
ggcaccaaac tggagatcaa a	321
<210> 208	
<211> 321	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 208	
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgctt ctctgggaga cagagtcacc	60

atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aattatttaa actggtatca gcagaaacca	120
gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaaat tacactcagg agtcccatca	180
aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat ttttctctca ccattaccaa cctggagcaa	240
gaagattttg ccacttactt ttgccaacag ggtcatacgc ttccgtggac gttcgggtgga	300
ggcaccaaac tggagatcaa a	321
<210> 209	
<211> 372	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 209	
gaggtcctgc tgcaacagtc tggacctgaa ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata	60
ccctgcaagg cttctggata cggattcact gactacaaca tggactggat aaaacagagc	120
catggaaaga gccttgagtg gattggagat attaatectc acaatgggtga tactatctac	180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccaaattg actgtagaca agtcctccac cactgcctac	240
atggaactcc gcagcctggc atctgaggac accgcagtct attactgtgc aaggaggggg	300
gcatattact acggtagtag ccactatgct ctggacttct ggggtcaagg aacctcagtc	360
accgtctcct ca	372
<210> 210	
<211> 321	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 210	
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgect ctctgggaga cagagtcacc	60
atcagttgca gggcaagtca ggacattacc aattatttaa actggtatca gcagaaacca	120
gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaagat tattctcagg agtcccatca	180
aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctgaaacga	240
gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtggac gttcgggtgga	300
ggcaccaagc tggaaatcaa a	321
<210> 211	
<211> 354	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 211	

gaggttcagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata	60
tcctgcaagg cctctggta cttattcact ggctactaca tgaactgggt gaaacaaagt	120
cctgaaaaga gtcttgagt gattggagag attaatccta acaaagtg tagtaatctc	180
aaccagaatt tcaaggccaa ggccacattg actgttgaca aatcctccag cacagcctac	240
atgcagttca agagcctgac atttgaggac tctgcagtct atttctgtgt aagaaggac	300
tacggcacta gtcttgacca ctggggccaa ggcagactc tcacagtctc ctca	354
<210> 212	
<211> 321	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 212	
gatgtccaga taaccagtc tccatcttat cttgctacat ctctggaga aaccattact	60
attaattgca gggcaagtaa gactattagc aaatatttag cctggatca agagaaacct	120
gggaaaacta agaagcttct tatctactct ggatccactt tgcatactgc aattccatca	180
aggttcagtg gccgtggatt tggtagatc ttcactctca ccatcagtag cctggagcct	240
gaagattttg caatgtatta ctgtcaacag cataatgaat acccaatcac attcgggtgt	300
gggaccaagc tggagctgaa a	321
<210> 213	
<211> 354	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 213	
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ttggtgaagc ctggggcttc agtgaagata	60
tcctgcaagg ctactggta cttattcact ggctactaca tgaactgggt gaagcaaagt	120
cctgaaaaga gccttgagt gattggagag atcaatccta aactgggtga tactaacaac	180
aaccagaagt tcaaggccaa ggccacaatg actgttgaca gatcctccag tacagcctac	240
atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attattgtgt aagaaggac	300
tacggtaacta gccttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctca	354
<210> 214	
<211> 321	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 214	

gatgtccaga taaccagtc tccatcttat cttgctgcat ctctggaga aaccattact	60
attaattgca gggcaagtaa gagtattaa aatatttag cctggatca agagaaacct	120
gggaaaacta ataagcttct tatccactct ggatccactt tgactctgg aattccatca	180
aggttcagtg gcagtagatc tggaacagat ttactctca ccatcagtaa cctggagcct	240
gaagattttg caatgtatta ctgtcaacaa cataatgaat acccgctcac gttcgggtgct	300
gggaccaagc tggagctgaa a	321
<210> 215	
<211> 369	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 215	
caggtgcagc tgcagcagag cggcgccgag ctggctagac cggagcttc cgtgaagatg	60
agctgcaaag ccagcggcta cacattcaca tccaacacaa tgactgggt gaaacagagg	120
cctggccagg gactggagtg gattgggtac atcaaccccg gcagcgccta caccaactac	180
aaccagaaat tcaatgacaa agccacactg accgccgaca aaagcagcag cacagccagc	240
atgcagctga gcagcctgac ctccgaggac agcgtgtgt actactgcgc cagactggcc	300
acctactacg acaacgacgg atacgccatg gattactggg gacaggaac cagcgtgacc	360
gtgagcagc	369
<210> 216	
<211> 318	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	
<400> 216	
gagaatgtgc tgaccagag ccccgccatc atgagtgcc gcccaggaga gaagtgaca	60
atgacatgca gcgccagcag cagcgtgaat tacatgtact ggtaccagca gagaagcagc	120
accagcccca agctgtggat ctacggcacc agcaagctgg ccagcggagt gcccggcaga	180
ttctccgaa gtggaagcgg aatagctac agcctgacta tcagcagcat ggaggccgaa	240
gatgttgcta cctactactg ctttcagggc agcggctacc cctacacctt cggcggcggc	300
accaagctgg agatcaag	318
<210> 217	
<211> 345	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的	

<400> 217		
caggtgcagc tgaaggaaag cggccccggc ctggtggccc catctcagag tctgagcatc		60
acctgcacag tgagcggctt cagcctgaca agctacggcg tgagctgggt gagacagccc		120
cccgaaaagg gcctggaatg gctgggcgtg atttggggcg acggcaacac aaactaccac		180
agcgccttga tcagcagact gagcatcagc aaggacaata gcaagagcca ggtgttcctg		240
aagctgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccacctact actgcgcca cctgtacgtg		300
ctgttcgcct actggggcca gggcacctg gtgaccgtga gcgct		345
<210> 218		
<211> 318		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的		
<400> 218		
gagaatgtgc tgaccagag ccccgccatc atgagtgcc gcccaggaga gaagtgaca		60
atgacatgca gcgccagcag cagcgtgagt tacatgact ggtaccagca gaagagcagc		120
accagcccca aactgtggat ctacgggacc agcaagctgg ccagcggagt gcccggaaga		180
ttcagtggca gcggaagcgg caatagctac agcctgacta tcagcagcat ggaggccgaa		240
gatgttgcta cctactactg ttttcaggga agcggctacc catacacctt cggggggggg		300
accaagctgg aaatcaag		318
<210> 219		
<211> 351		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的		
<400> 219		
caggtgcagc tgcagcagcc aggcacagag ctggtgaagc ccggcgccag cgtgaaactg		60
agctgcaaag ccagcggcta caccttca aactactgga ttattgggt gaagcagagg		120
cctggccagg gactggagt gatcggcgac attaaccca caaacggagg cacaaactac		180
aacgagaaat tcaagaccaa agccatcctg accgtggaca gaagcagtag cacagcctac		240
atgcaggtga gcagcctgac cagcaggac agcgcctgt actattgcgc cagaagcggc		300
ggctacgact tcgactactg gggccagggc accacctga ccgtgagcag c		351
<210> 220		
<211> 336		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的		

<400> 220
gacgtggtga tgaccagac cccctgaca ctgagcgtga ccatcggaca gcccgccagc 60
atcagctgca agagcagcca gagcctgctg gacagcgcg gaaaaacata tctgaattgg 120
ctgctgcaga ggccctggcca gagcccaaaa agactgatct acctggtgag caagctggac 180
agcgggggtgc ccgacagatt caccggcagc ggaagcggca ccgacttcac cctgaagatc 240
tccagagtgg aagccgagga cctgggcgtg tactactgct ggcagggaac ctacttcccc 300
ctgacctttg gagccggcac caagctggaa ctgaag 336

<210> 221

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 221

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

<210> 222

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 222

Ser Tyr Trp Ile Thr
1 5

<210> 223

<211> 17

<220>		
<223>	合成的	
<400>	227	
Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Tyr		
1	5	
<210>	228	
<211>	354	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	228	
gaggttcagc tgcagcagtc tgggactgga cttgtgaagc ctgggacttc agtgaagttg		60
tcttgcaagg cttctggcta cagcttcacc agctactgga taacctgggt gaaacagagg		120
cctggacaag gccttgagtg gattggagat atttctctctg ctgggtggtg tcgtaactac		180
aatgagagat tcaagaacaa ggccacactg actgtagacg catcctccag cacagcctac		240
atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgt aagaggtgat		300
agtacggtag acttagacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctca		354
<210>	229	
<211>	336	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	229	
gatattgtga tgactcaggc tgcaccctct gtacctgtca ctcttgaga gtcagtatcc		60
atctcctgca ggtctagtaa gagtctcctg catagtaatg gcaacactta cttgtattgg		120
ttcctgcaga ggccaggcca gtctcctcag ctctgatat atcgggtgtc caaccttgcc		180
tcaggagtcc cagacaggtt cagtggcagt gggtcaggga ctgctttcac actgagaatc		240
agtagagtgg aggctgagga tgtgggtgtt tattactgta tgcaacatct agaatatccg		300
tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa		336

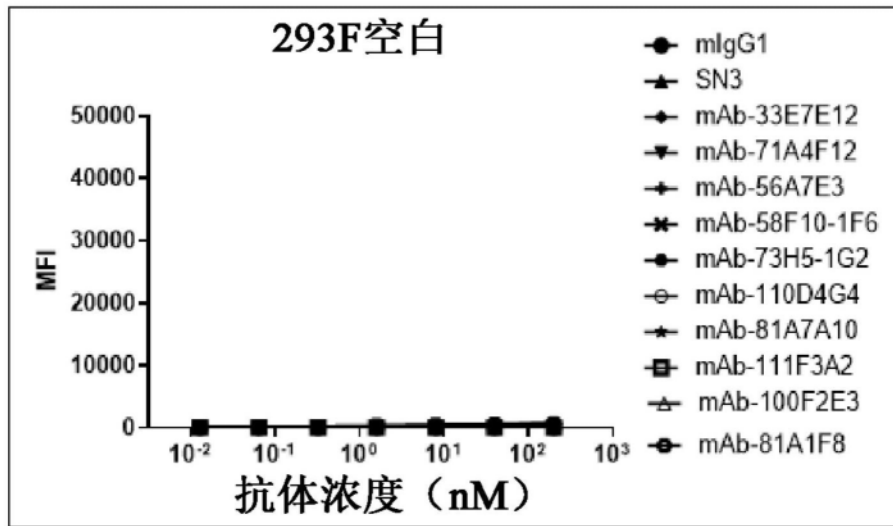


图1A

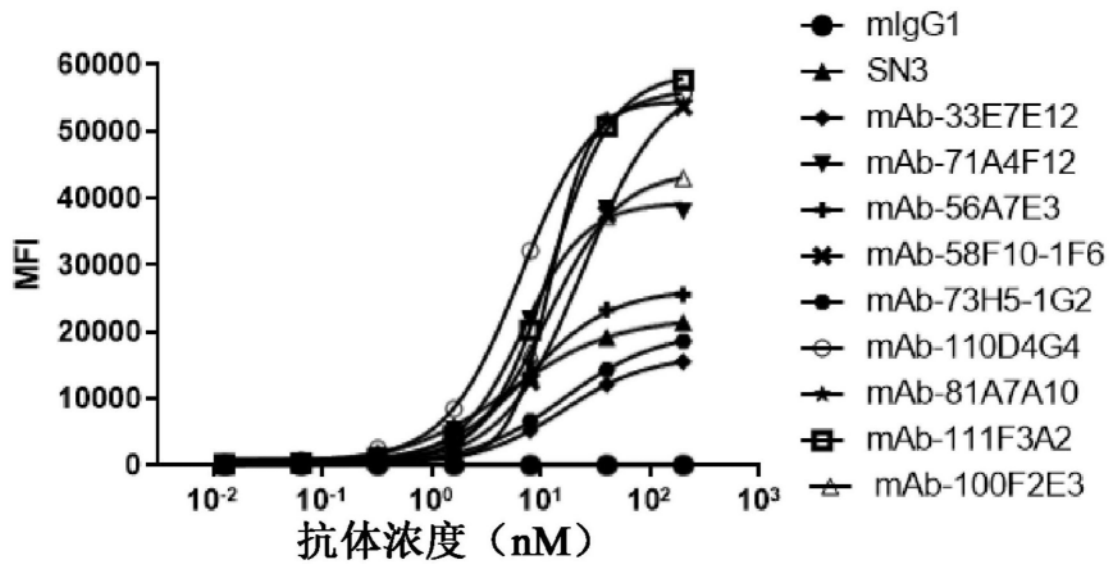


图1B

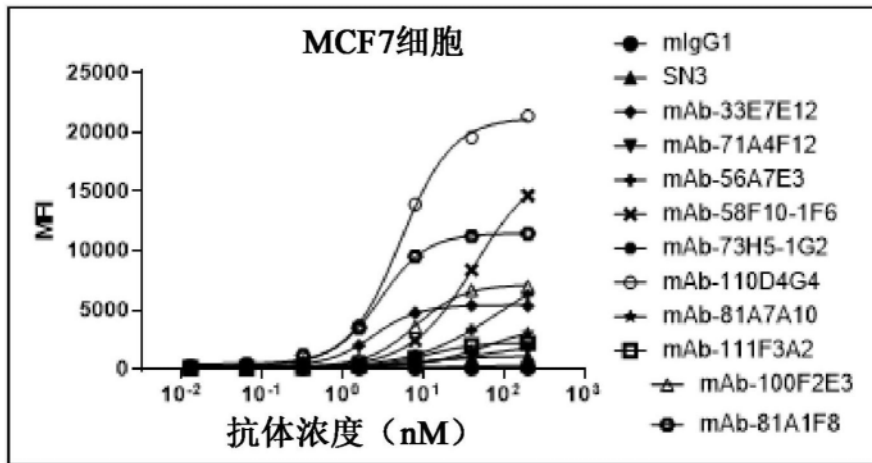


图1C

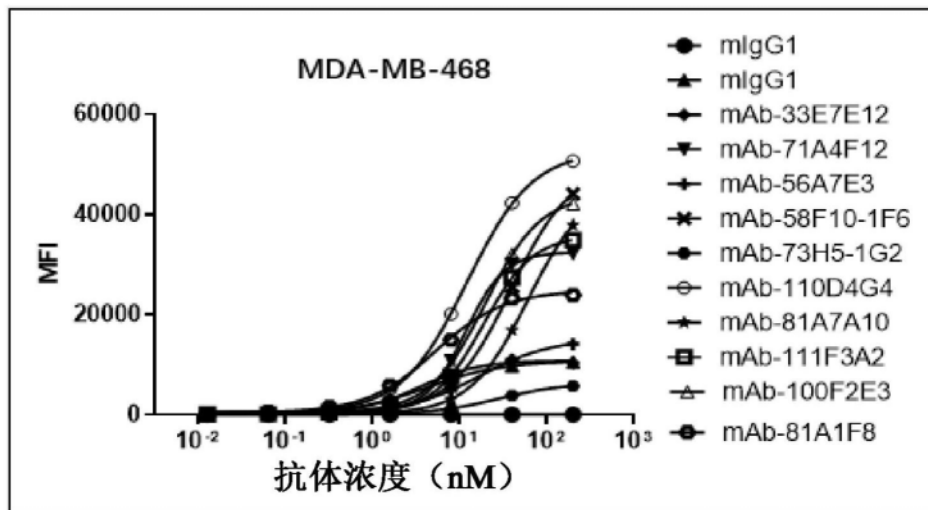


图1D

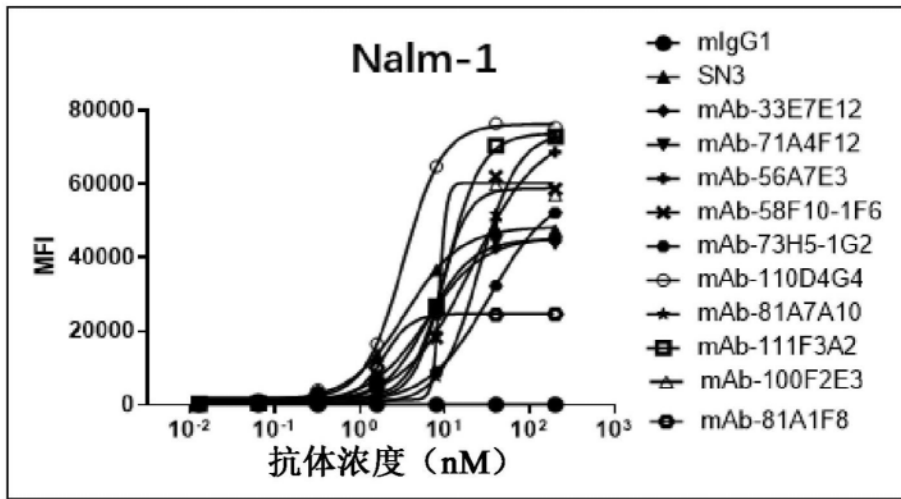


图1E

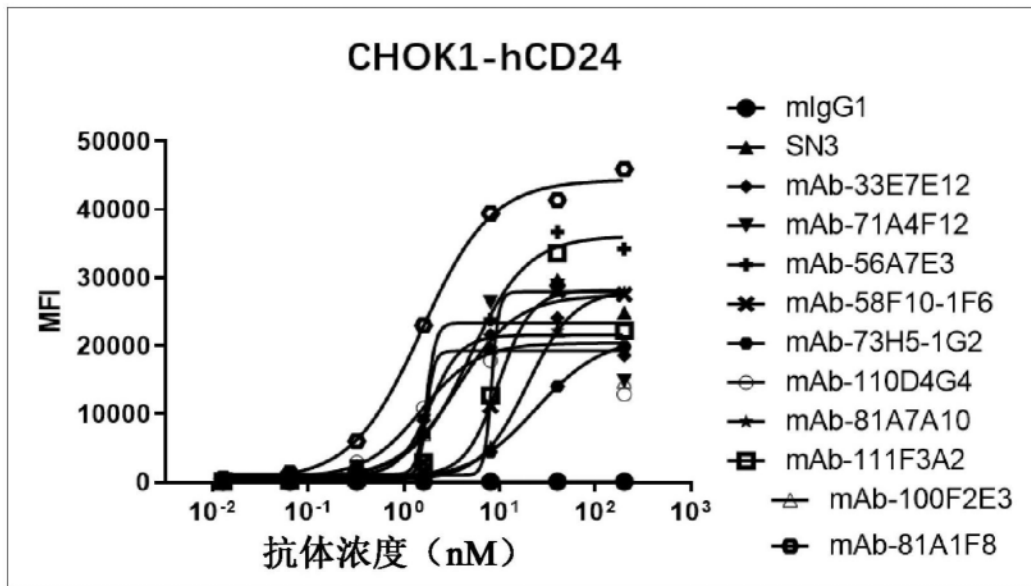


图1F

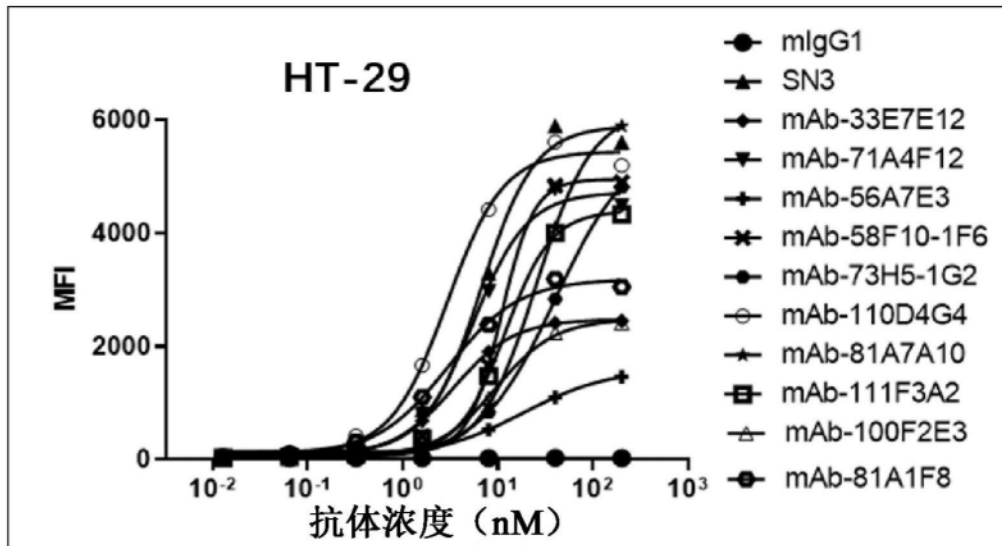


图1G

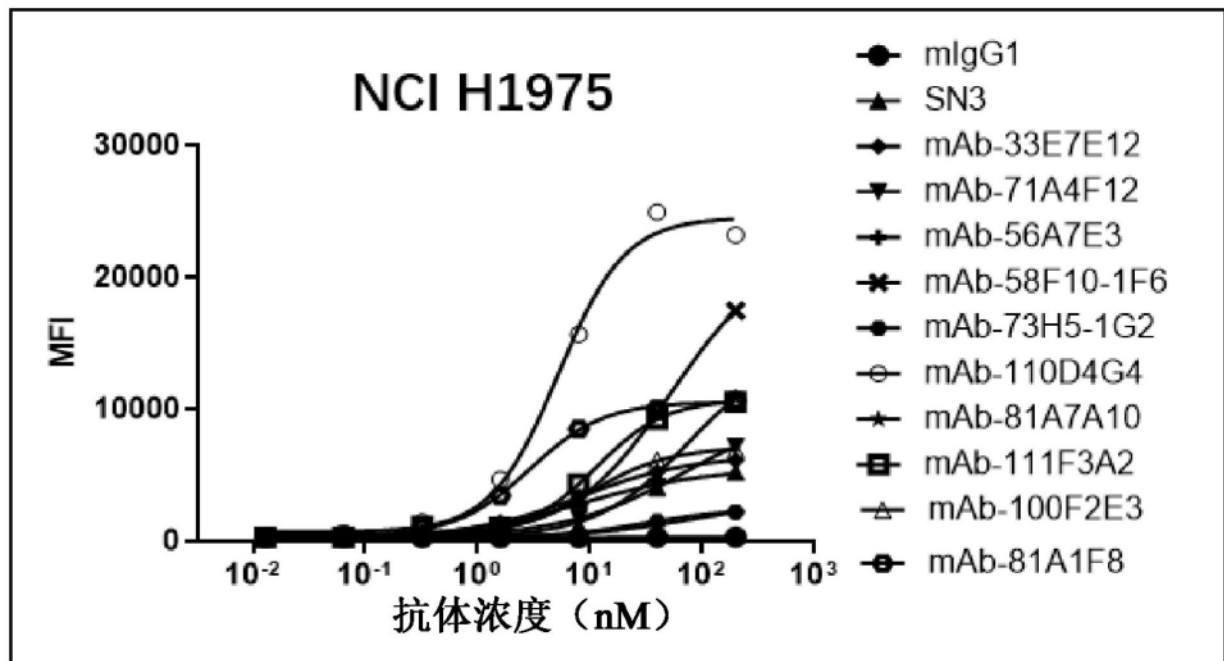


图1H

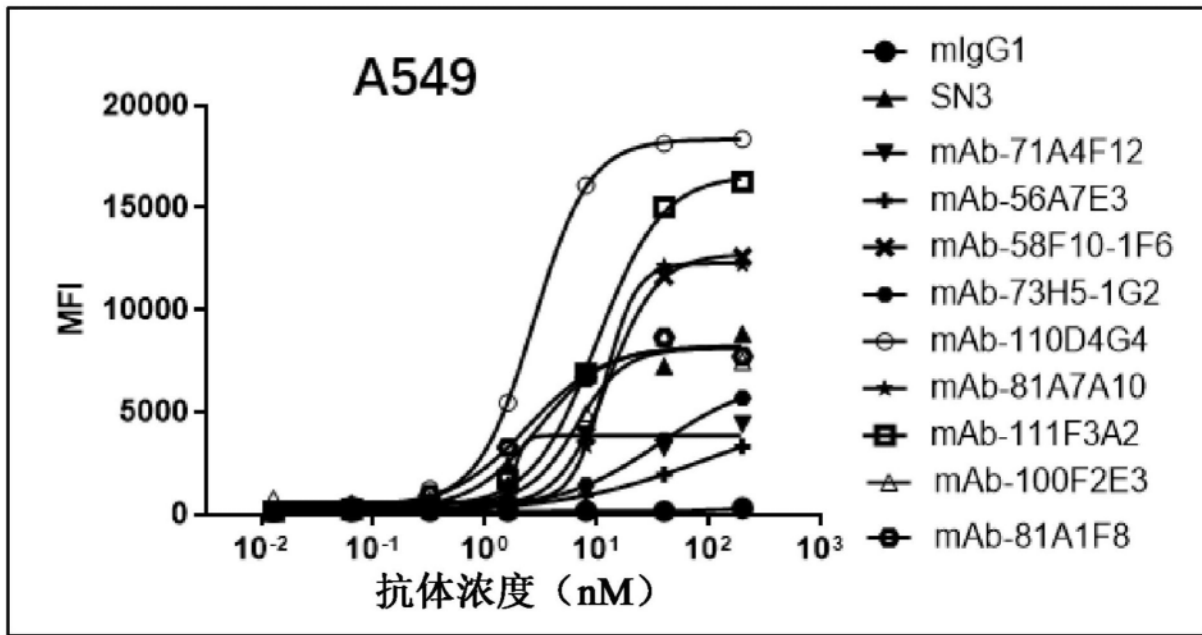
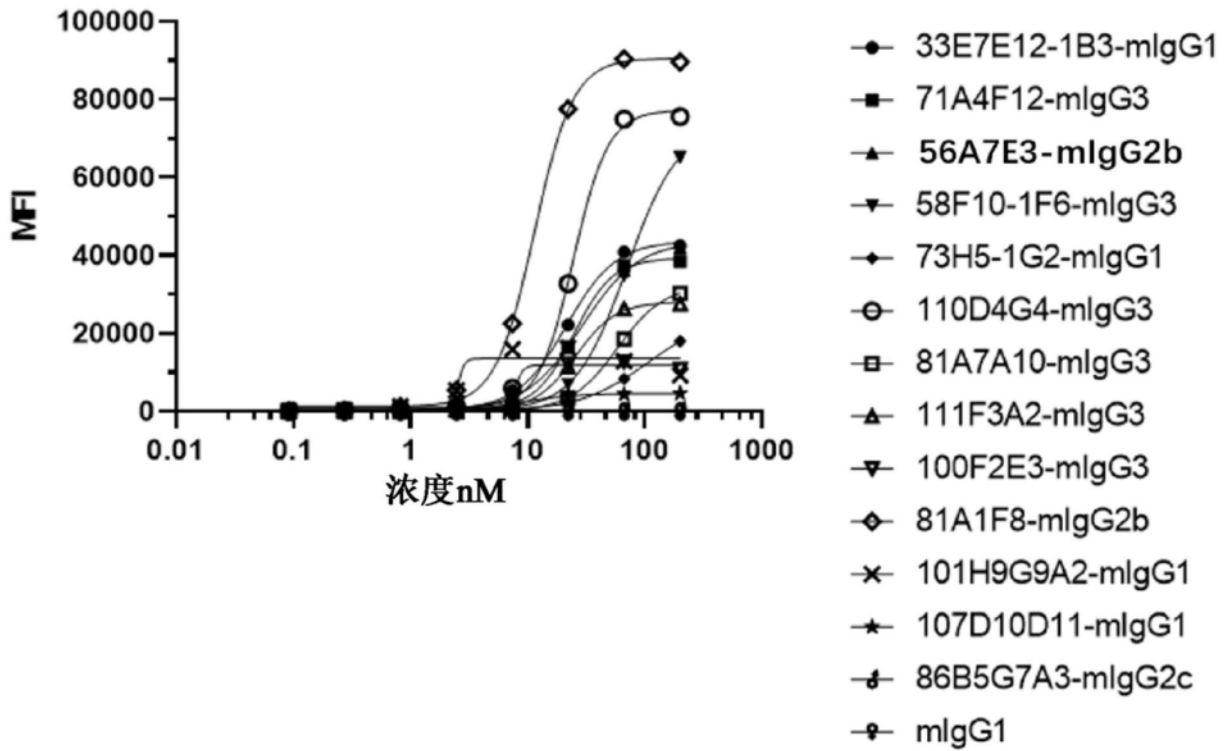


图1I

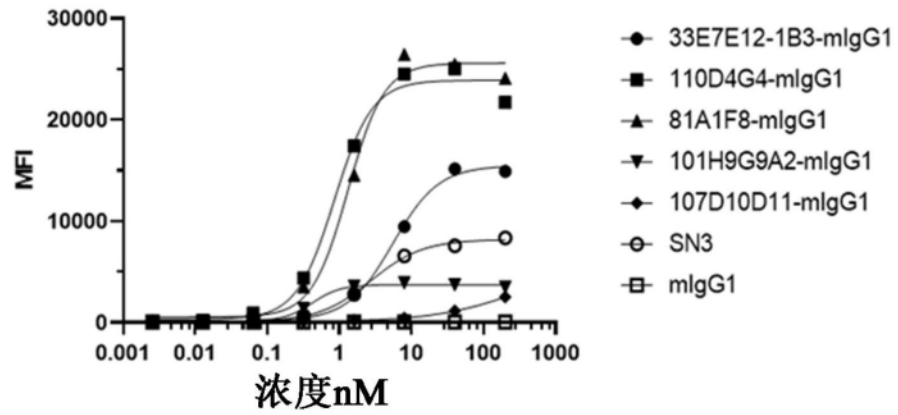
抗CD24 mAb对Nalm6的结合亲和力



mAbs	EC50	最大MFI
33E7E11-mIgG1	21.5	42537
71A4F12-mIgG3	24.88	38480
56A7E3-mIgG2b	29.18	42040
58F10-1F6-mIgG3	70.58	65208
73H5-1G2-mIgG1	108.1	18012
110D4G4-mIgG3	24.65	75626
81A7A10-mIgG3	58.45	30282
111F3A2-mIgG3	25.66	27558
100F2E3-mIgG3	7.84	10849
81A1F8-mIgG2b	11.41	89612
101H9G9A2-mIgG1	2.554	9310
107D10D11-mIgG1	8.808	4585
86B5G7A3-mIgG2c	83.04	36.3
mIgG1	不稳定	26.5

图1J

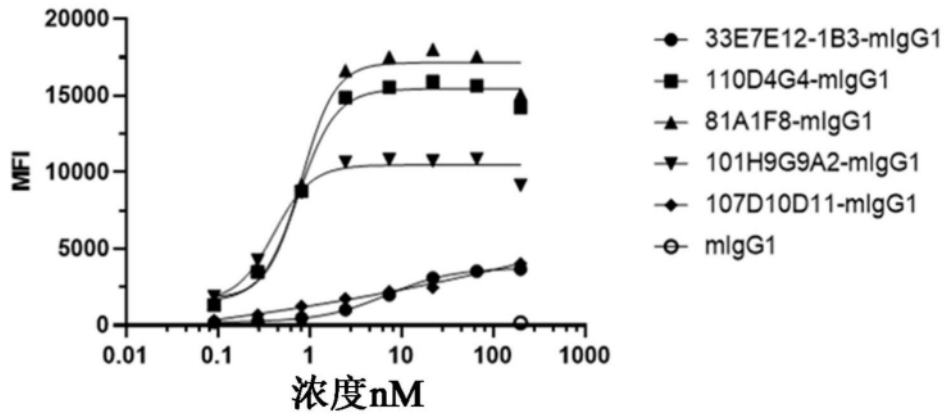
抗CD24 mAb对SU-DHL6的结合亲和力



	33E7E12-1B3-mIgG1	110D4G4-mIgG1	81A1F8-mIgG1	101H9G9A2-mIgG1	107D10D11-mIgG1	SN3
EC50	5.552	0.8547	1.319	0.4228	383.3	2.738

图1K

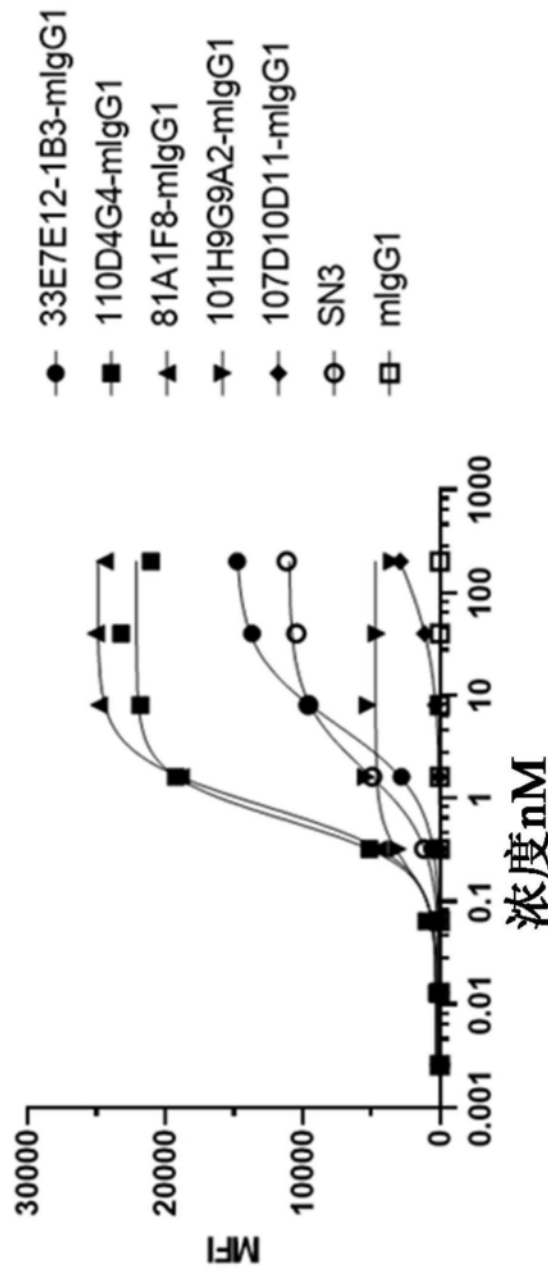
抗CD24 mAb对人类B细胞的结合亲和力



	33E7E12-1B3-mIgG1	110D4G4-mIgG1	81A1F8-mIgG1	101H9G9A2-mIgG1	107D10D11-mIgG1
EC50	6.919	0.7594	0.8161	0.4125	4.547e+026

图1L

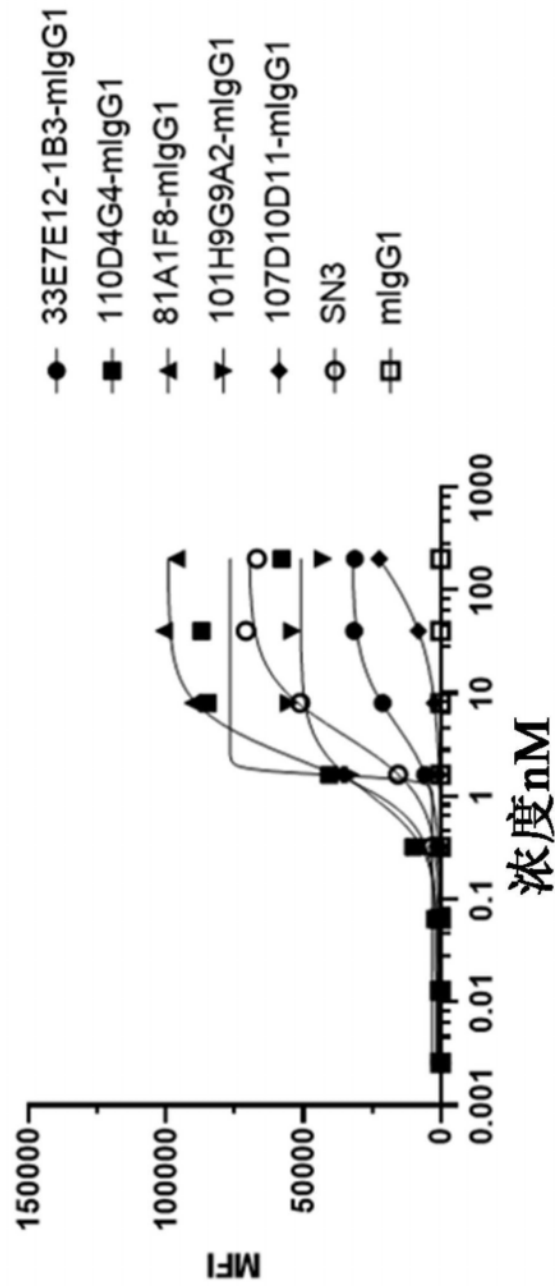
抗CD24 mAb对DoHH2的结合亲和力



	33E7E12-1B3-mIgG1	110D4G4-mIgG1	81A1F8-mIgG1	101H9G9A2-mIgG1	107D10D11-mIgG1	SN3
EC50	5.076	0.6095	0.8186	0.2185	200.5	1.872

图1M

抗CD24 mAb对HT29的结合亲和力和



33E7E12-1B3-mIgG1	110D4G4-mIgG1	81A1F8-mIgG1	101H9G9A2-mIgG1	107D10D11-mIgG1	SN3	mIgG1
EC50	4.927	1.596	2.170	1.036	281.0	3.886

图1N

抗CD24 mAb对Huh 7的结合亲和力和

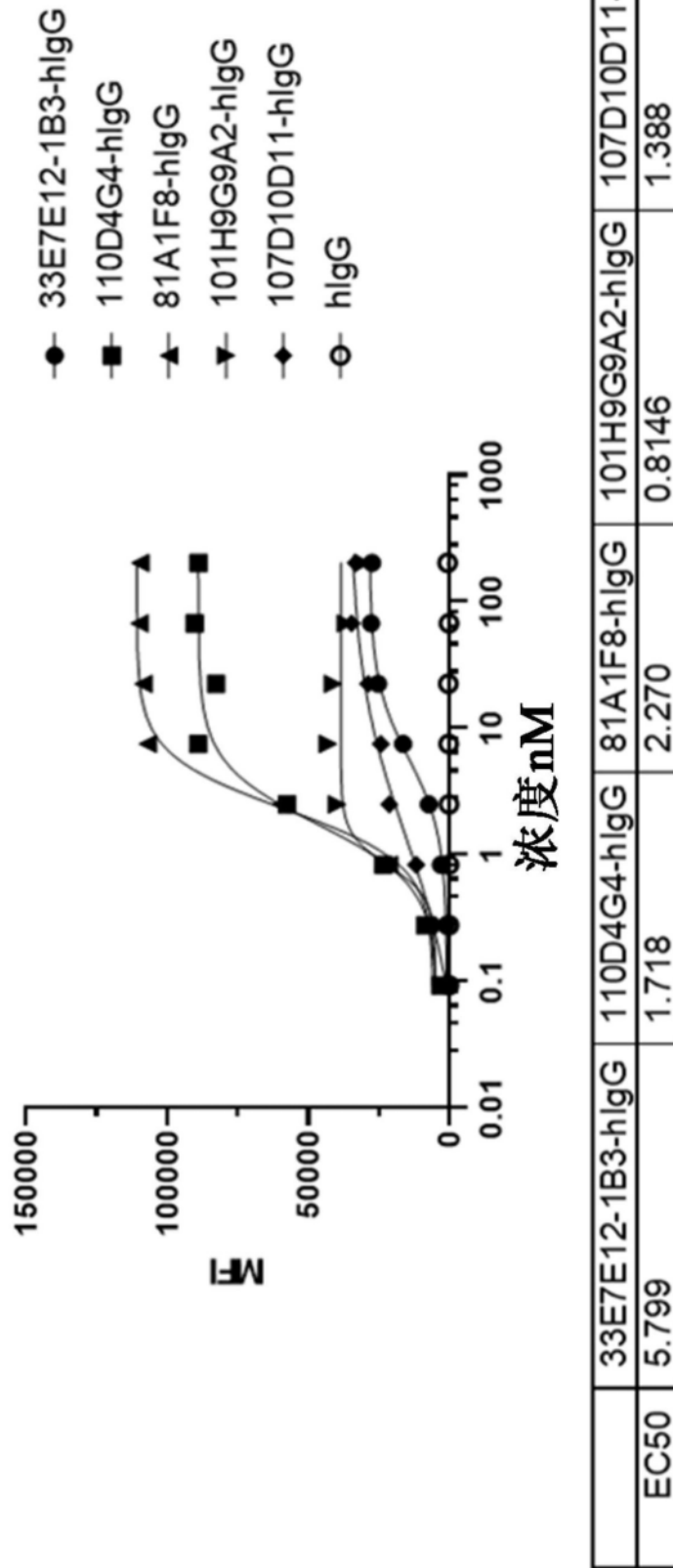
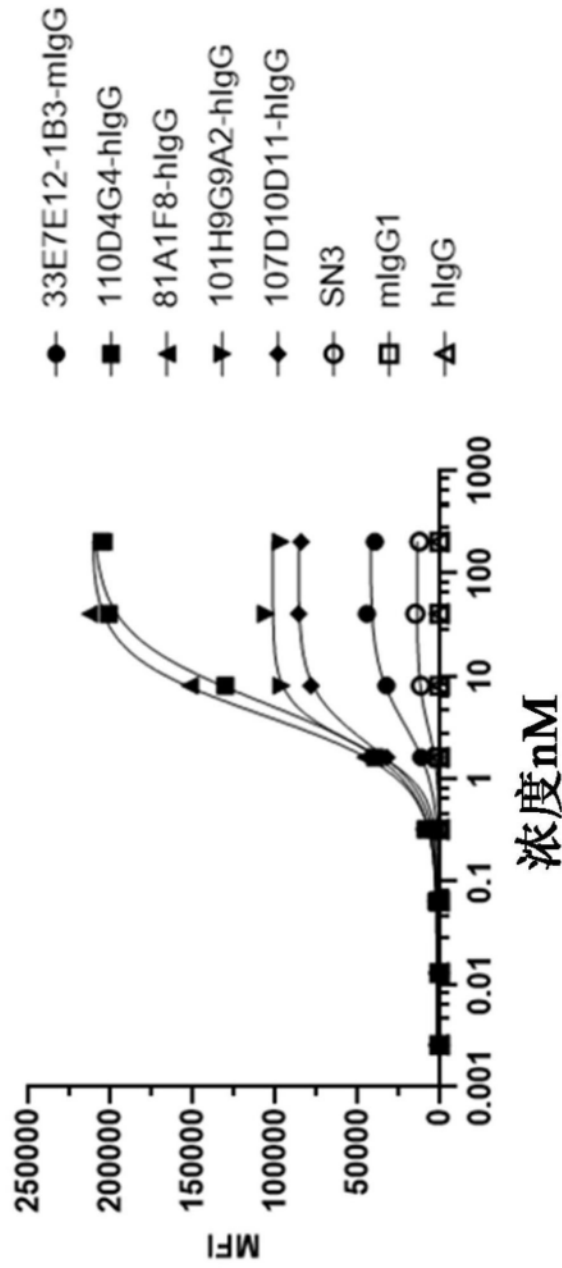


图10

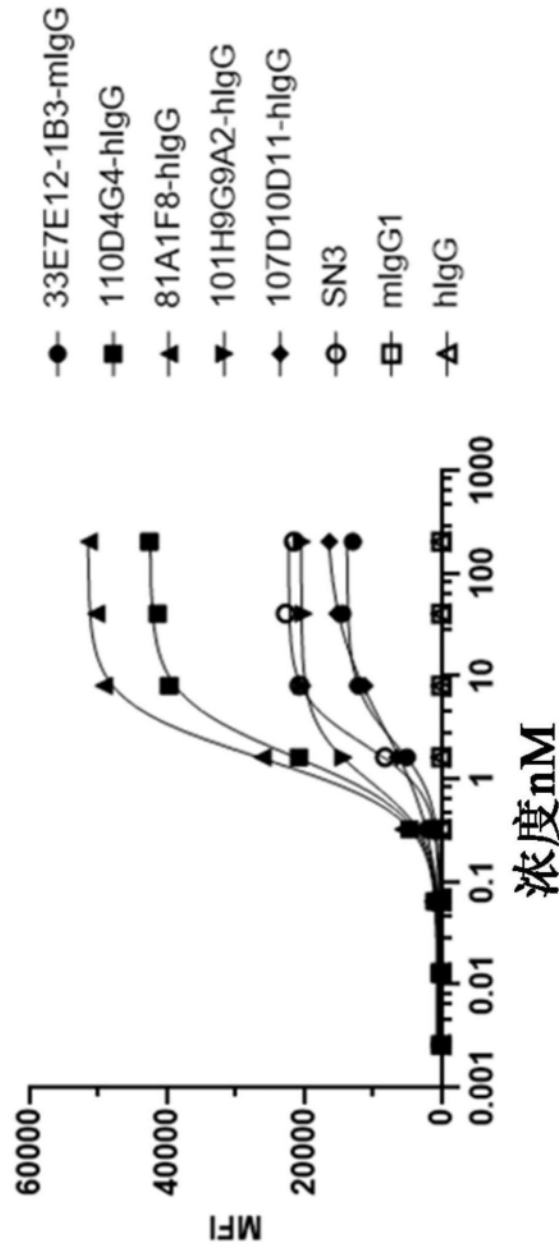
抗CD24 mAb对MCF7的结合亲和力



	33E7E12-1B3-mIgG	110D4G4-hIgG	81A1F8-hIgG	101H9G9A2-hIgG	107D10D11-hIgG	SN3
EC50	3.332	5.380	4.095	2.197	2.192	3.178

图1P

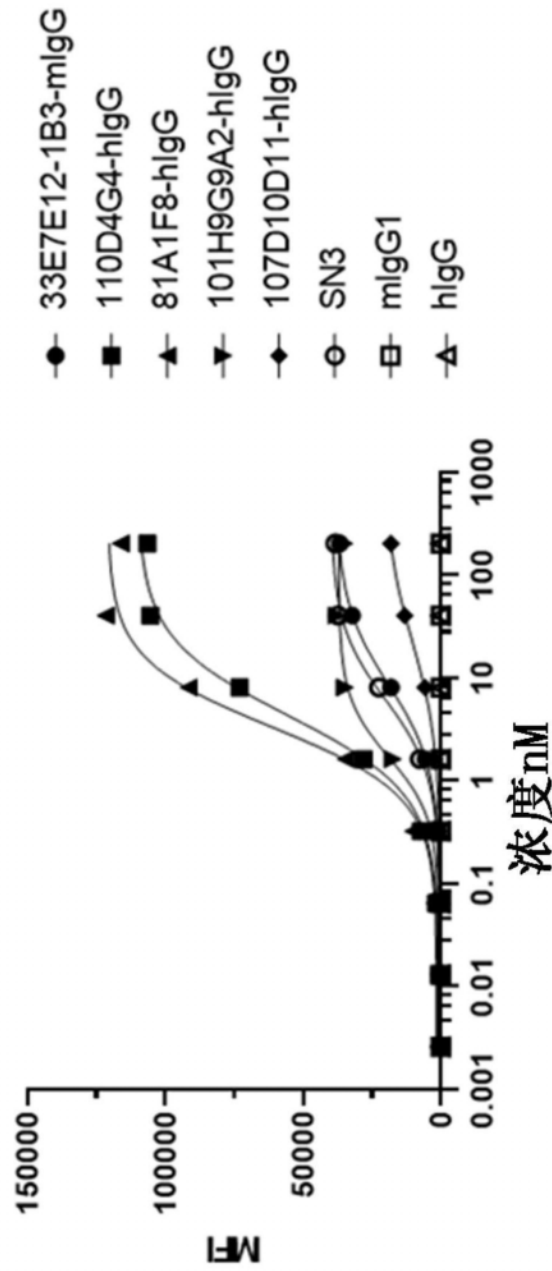
抗CD24 mAb对A549的结合亲和力和



	33E7E12-1B3-mIgG	110D4G4-hIgG	81A1F8-hIgG	101H9G9A2-hIgG	107D10D11-hIgG	SN3
EC50	2.279	1.621	1.555	0.9256	3.179	2.150

图1Q

抗CD24 mAb对NCI-H1975的结合亲和力



	33E7E12-1B3-mIgG	110D4G4-hIgG	81A1F8-hIgG	101H9G9A2-hIgG	107D10D11-hIgG	SN3
EC50	8.559	4.250	3.279	1.673	22.96	6.056

图1R

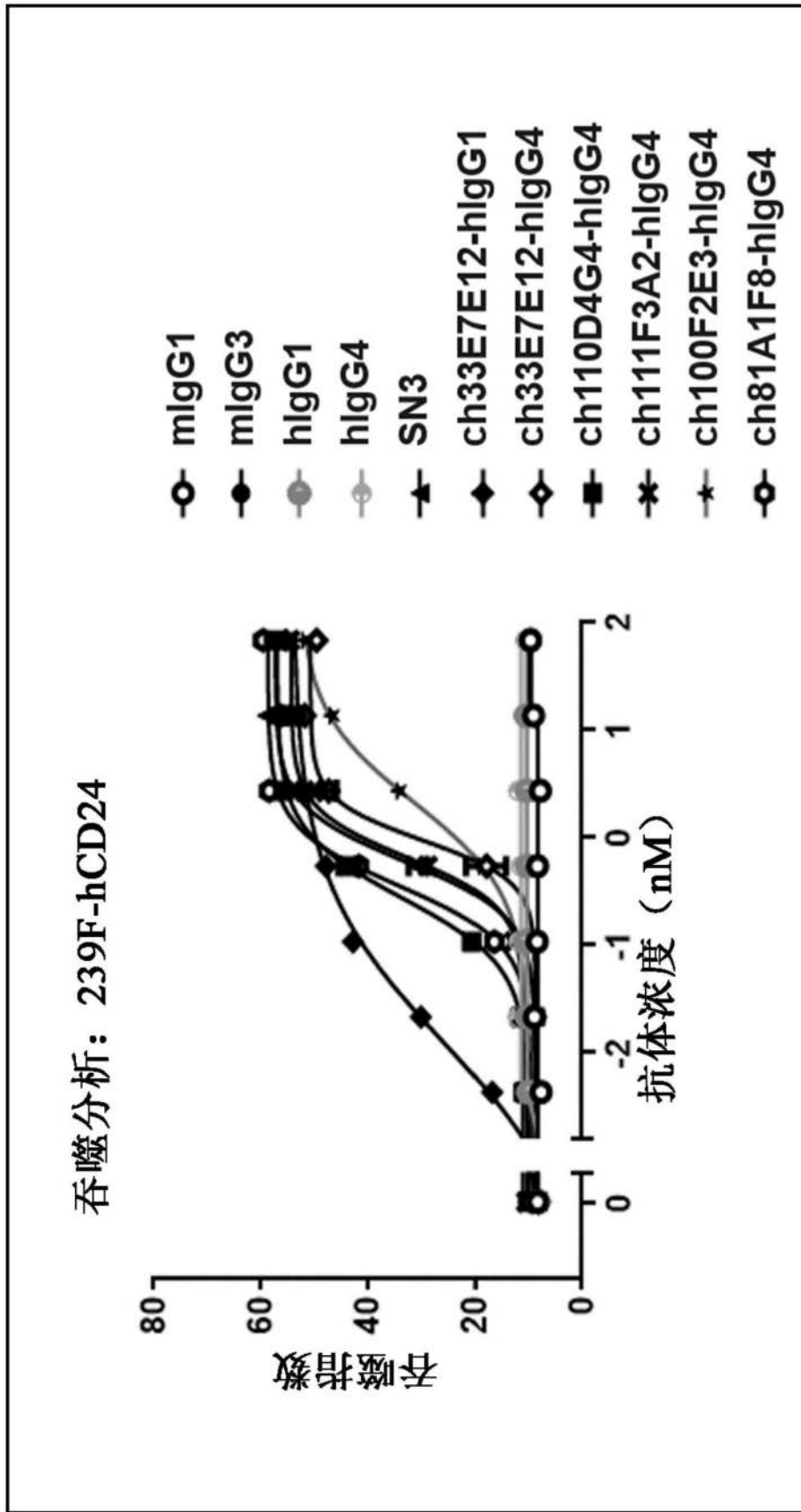


图2A

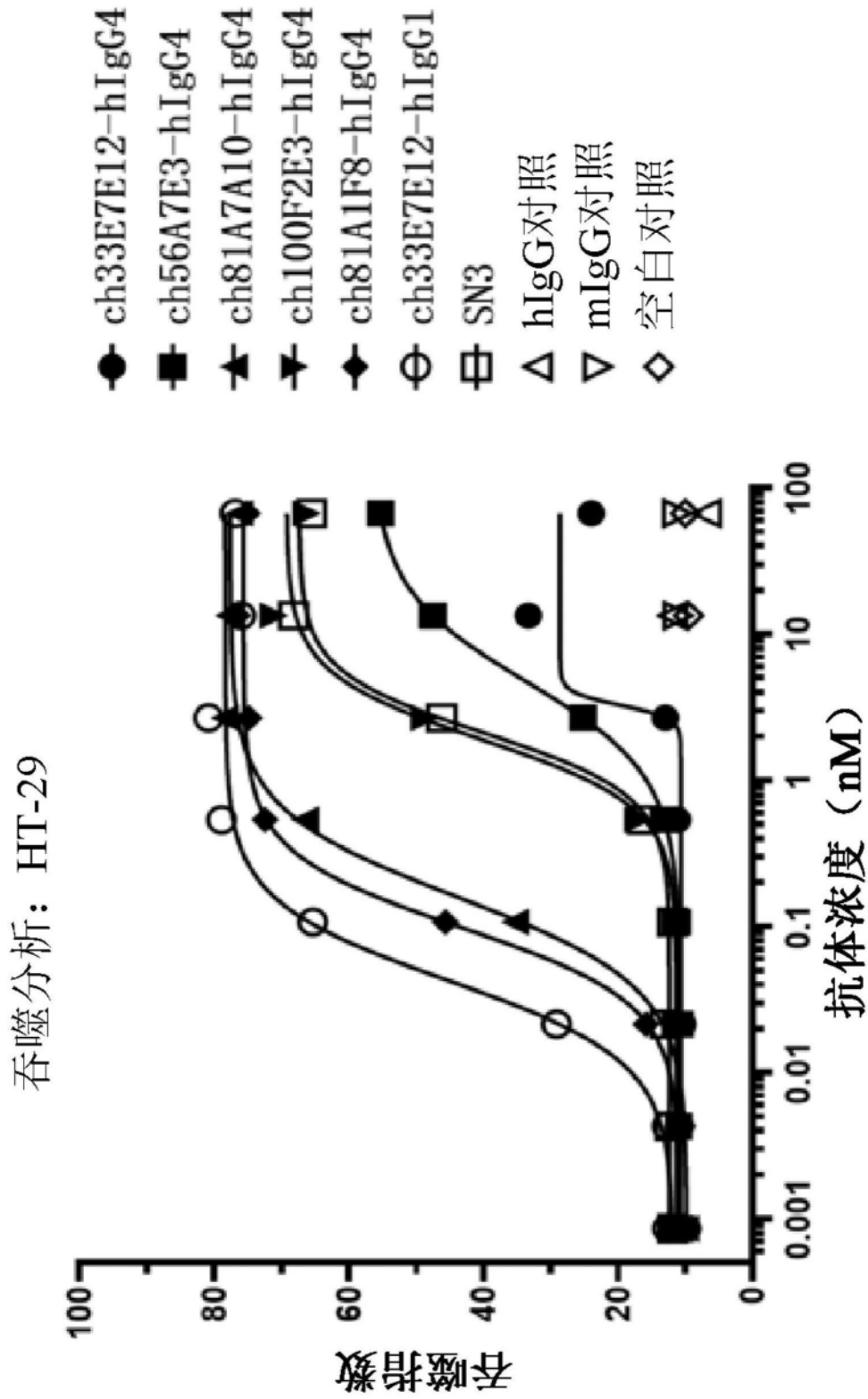


图2B

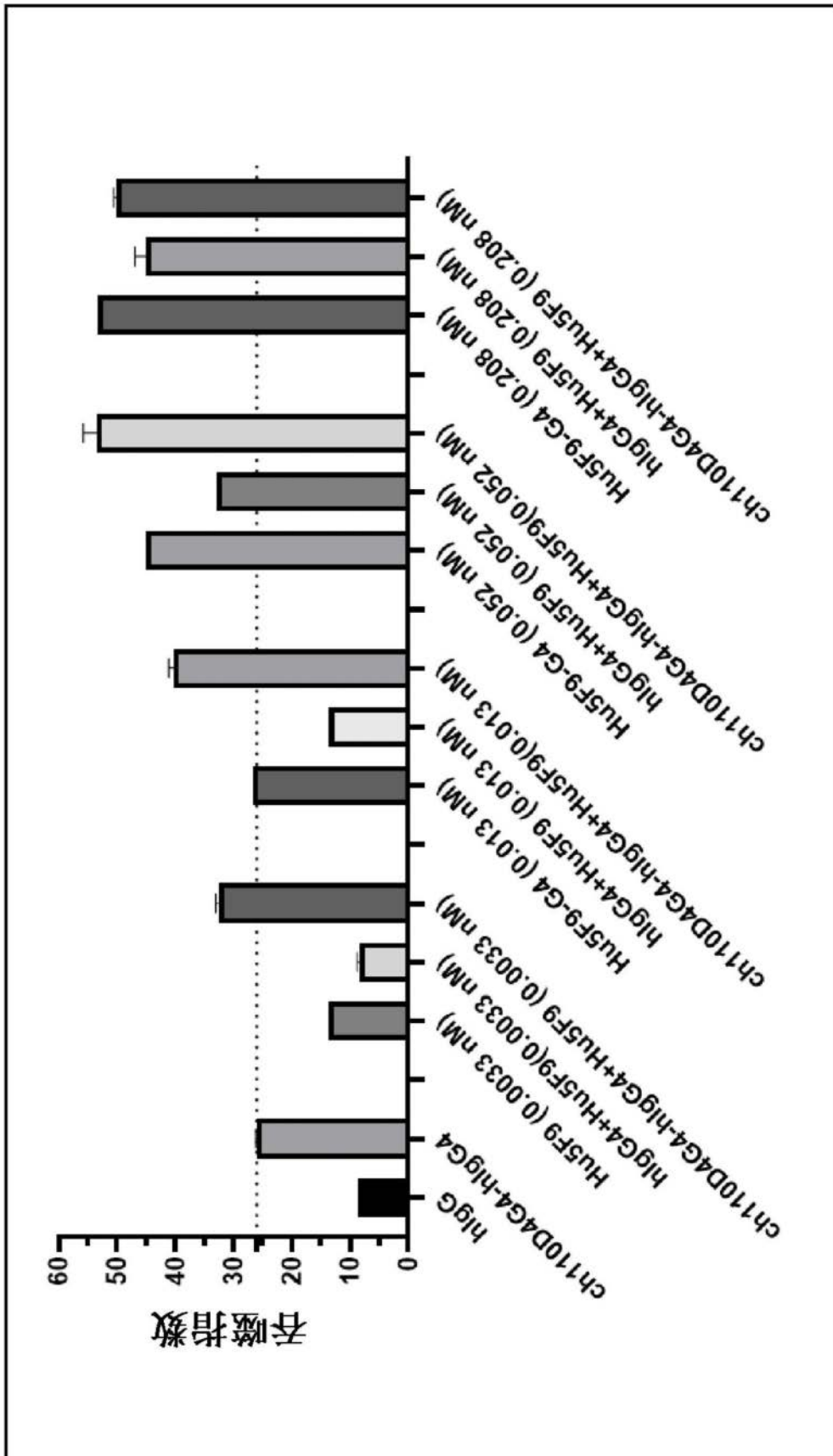


图3A

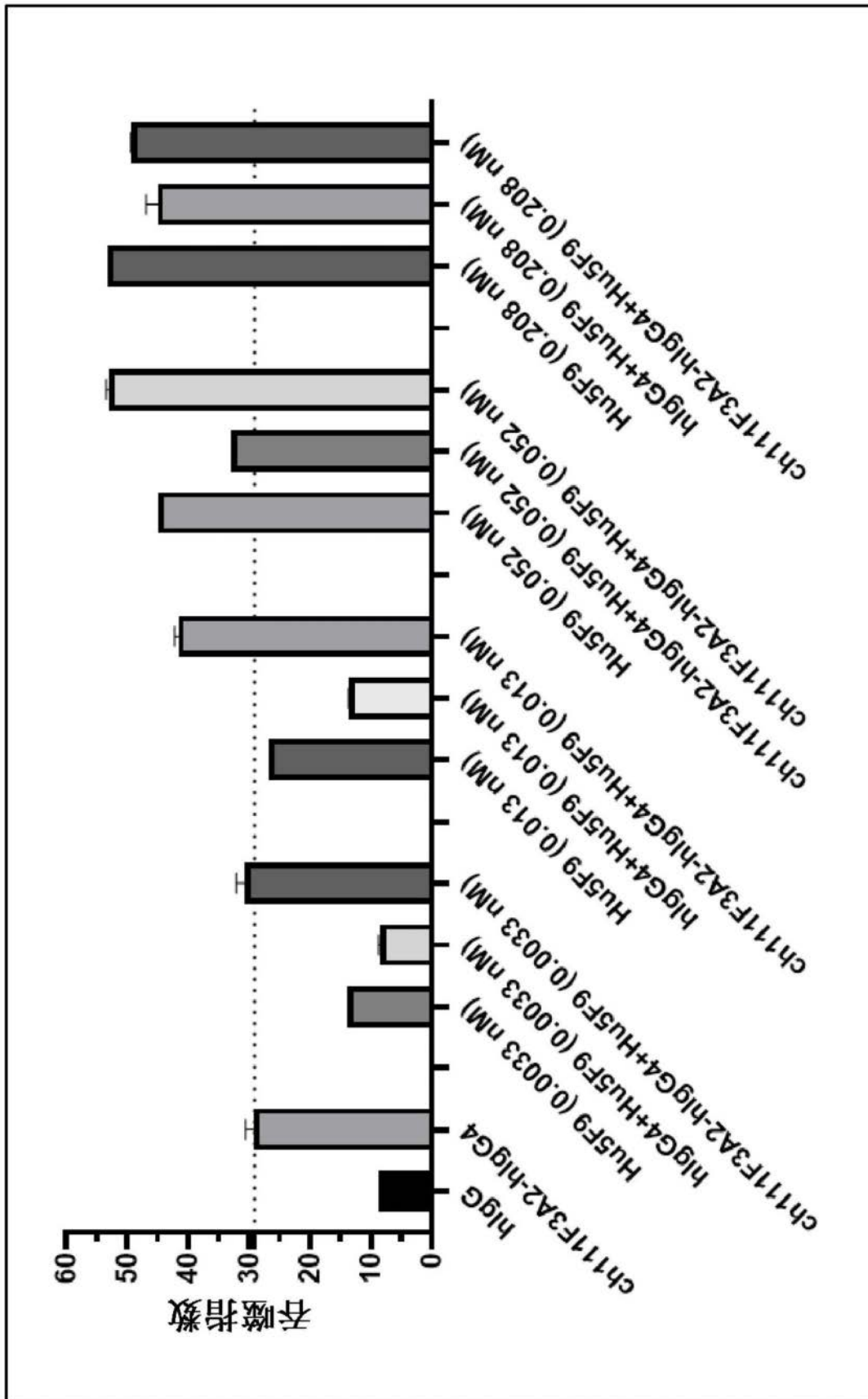


图3B

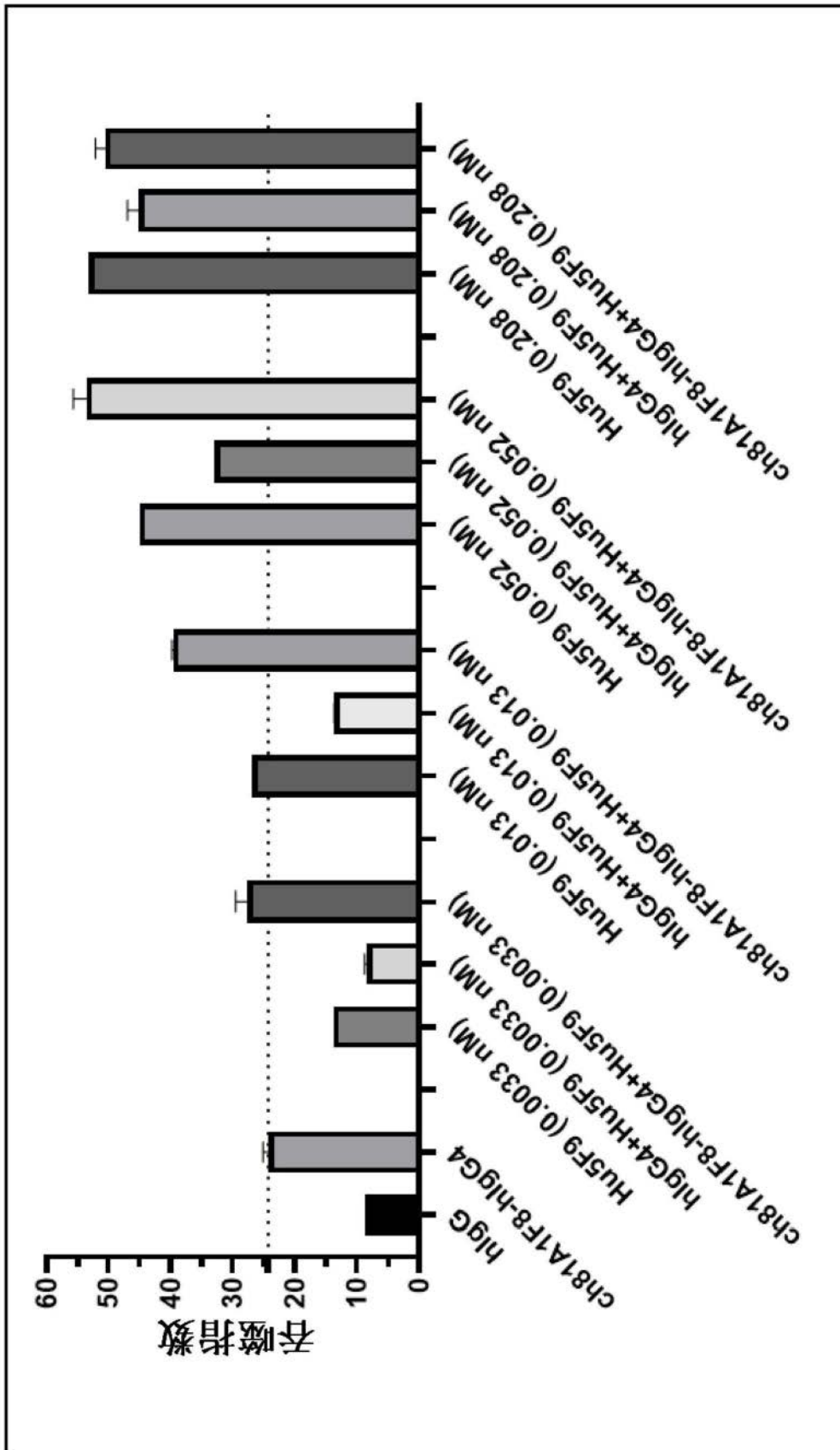


图3C

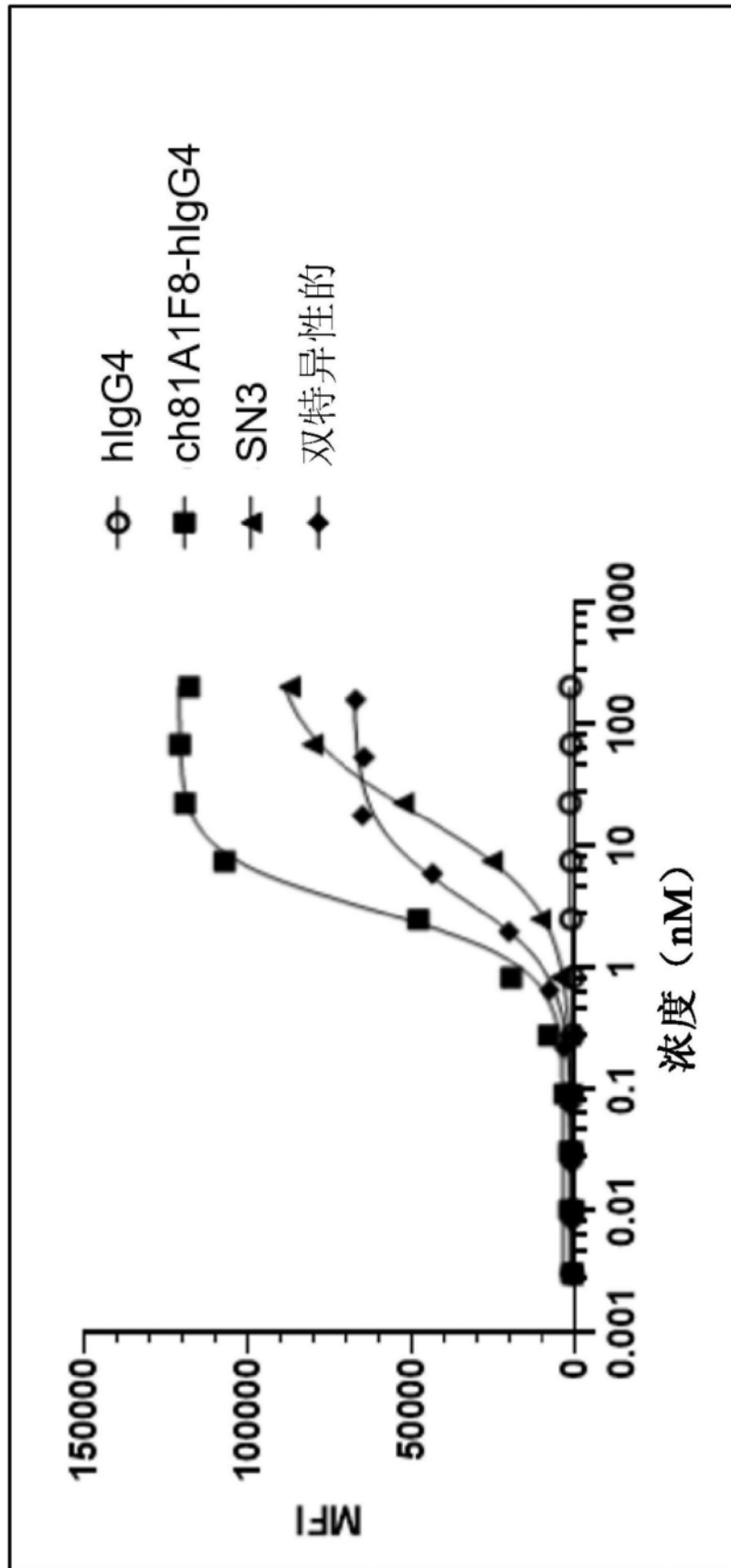


图4A

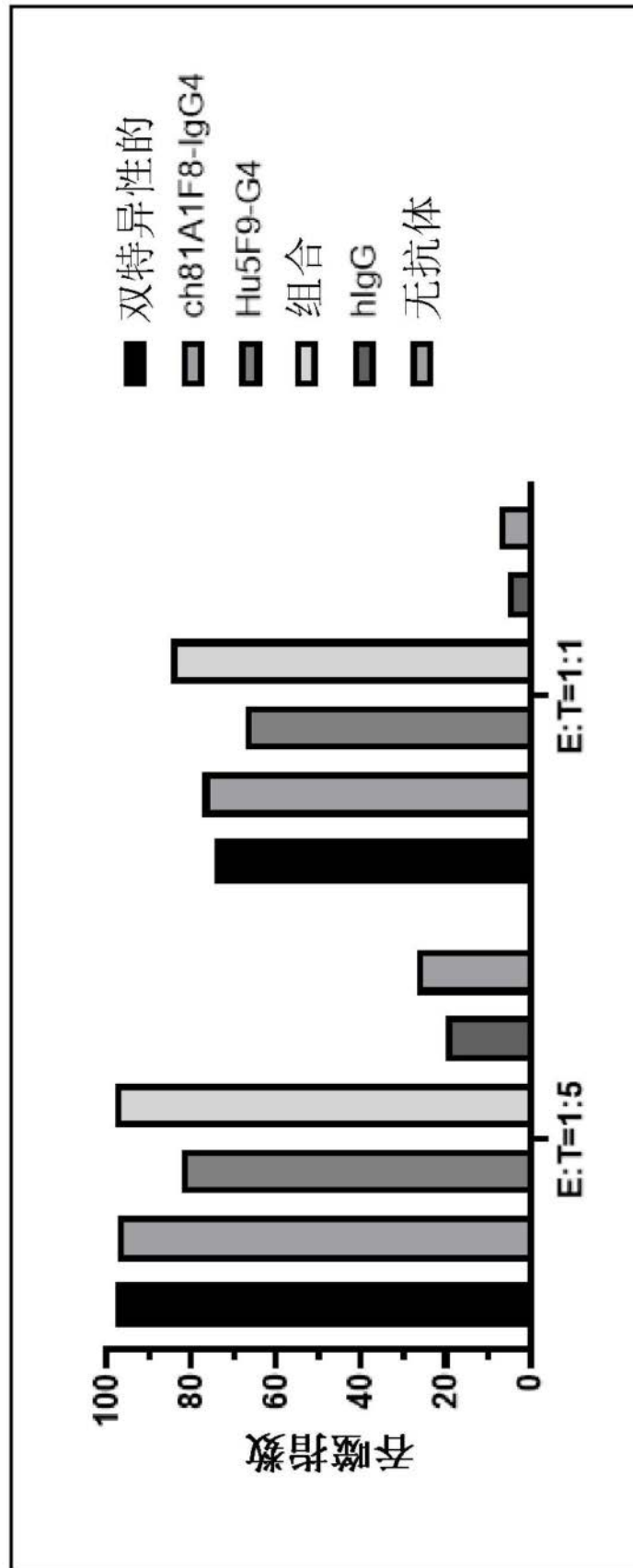


图4B

人源化抗CD24 mAb对HT29的结合亲和力

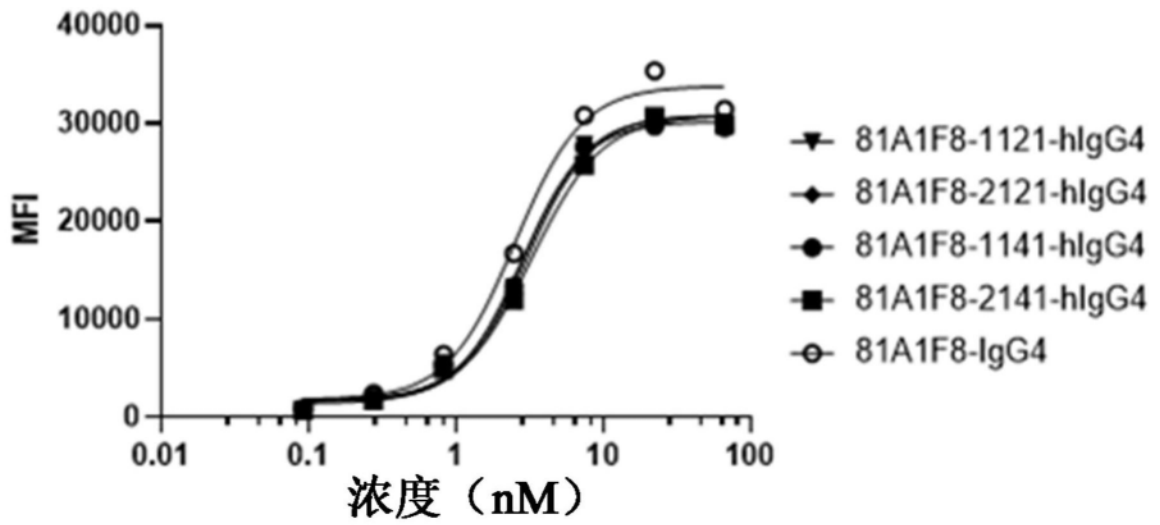


图5A

人源化抗CD24 mAb对Nalm6的结合亲和力

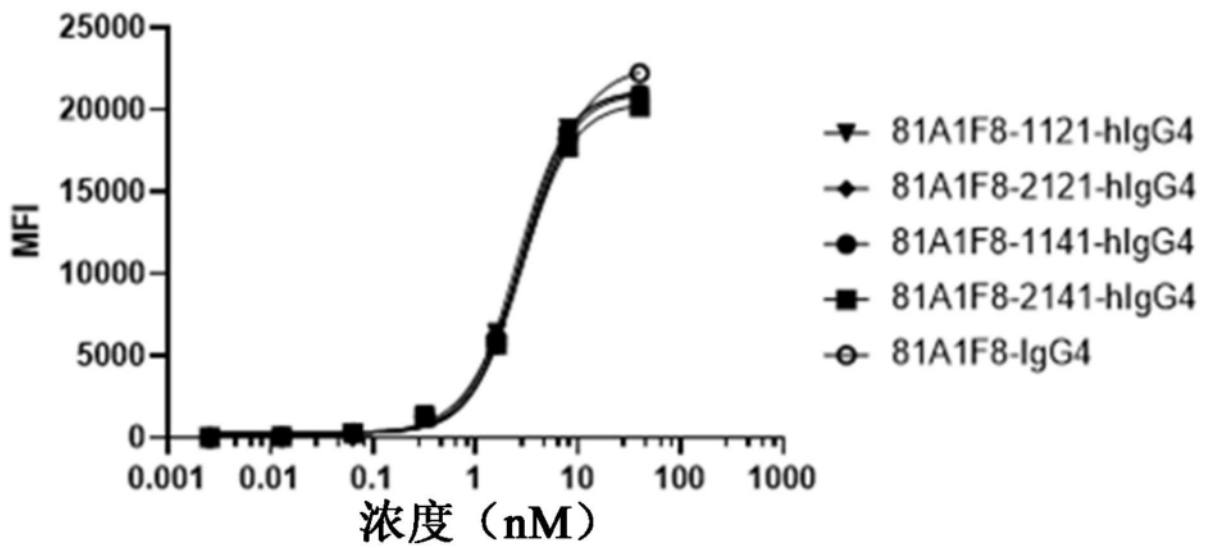
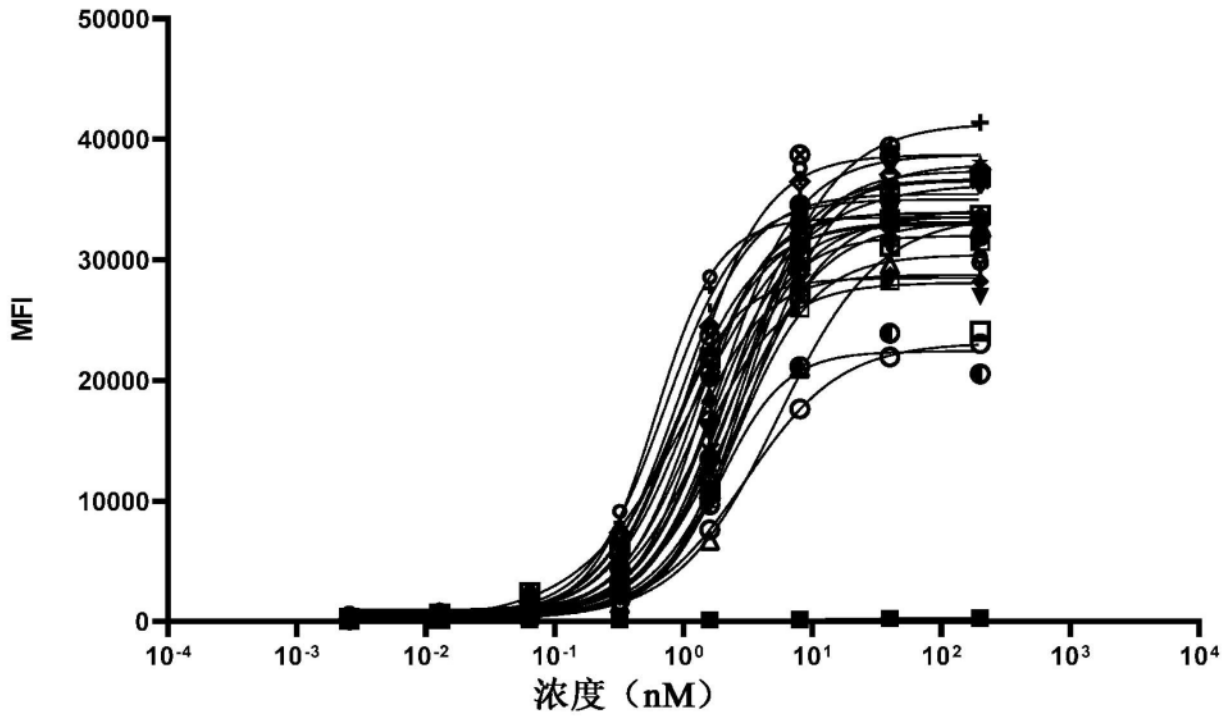


图5B

人源化101H9G9A2对HT-29的结合亲和力



- 101H9G9A2-mVH-mVL
- 101H9G9A2-mVH-mVL-V1
- ▲ 101H9G9A2-mVH-mVL-V2
- ▼ 101H9G9A2-mVH-mVL-V3
- ◆ 101H9G9A2-mVH-mVL-V4
- ⊖ 101H9G9A2-mVH-mVL-V5
- ⊞ 101H9G9A2-hVH1-hVL1
- △ 101H9G9A2-hVH1-hVL2
- ▽ 101H9G9A2-hVH1-hVL3
- ◇ 101H9G9A2-hVH1-hVL4
- ✱ 101H9G9A2-hVH2-hVL1
- ★ 101H9G9A2-hVH2-hVL2
- ⊕ 101H9G9A2-hVH2-hVL3
- ✖ 101H9G9A2-hVH2-hVL4
- ⊙ 101H9G9A2-hVH3-hVL1
- ⊞ 101H9G9A2-hVH3-hVL2
- ⊕ 101H9G9A2-hVH3-hVL3
- ⊞ 101H9G9A2-hVH3-hVL4
- ⊙ 101H9G9A2-hVH4-hVL1
- ⊕ 101H9G9A2-hVH4-hVL2
- ♀ 101H9G9A2-hVH4-hVL3
- ⊞ 101H9G9A2-hVH4-hVL4
- ⊕ 101H9G9A2-hVH5-hVL1
- ⊙ 101H9G9A2-hVH5-hVL2
- 101H9G9A2-hVH5-hVL3
- ◆ 101H9G9A2-hVH5-hVL4
- ⊕ 101H9G9A2-hlgG
- hlgG1

图5C

人源化变体	KD(M)	小鼠抗体的倍数
81A1F8-VH-11/ML-11	2.04E-11	0.084647303
81A1F8-VH-21/ML-11	1.58E-11	0.065560166
81A1F8-VH-31/ML-11	2.47E-10	1.024896266
81A1F8-VH-11/ML-21	1.39E-10	0.576763485
81A1F8-VH-21/ML-21	8.19E-11	0.339834025
81A1F8-VH-31/ML-21	太弱	/
81A1F8-GVH-11/ML-31	太弱	/
81A1F8-VH-21/ML-31	7.12E-10	2.954356846
81A1F8-VH-31/ML-31	1.11E-09	4.605809129
81A1F8-VH-11/ML-41	6.19E-10	2.56846473
81A1F8-VH-21/ML-41	5.25E-10	2.178423237
81A1F8-VH-31/ML-41	0.0000216	89626.55602
81A1F8-G4小鼠抗体	2.41E-10	

图5D

MCF7-hCD24

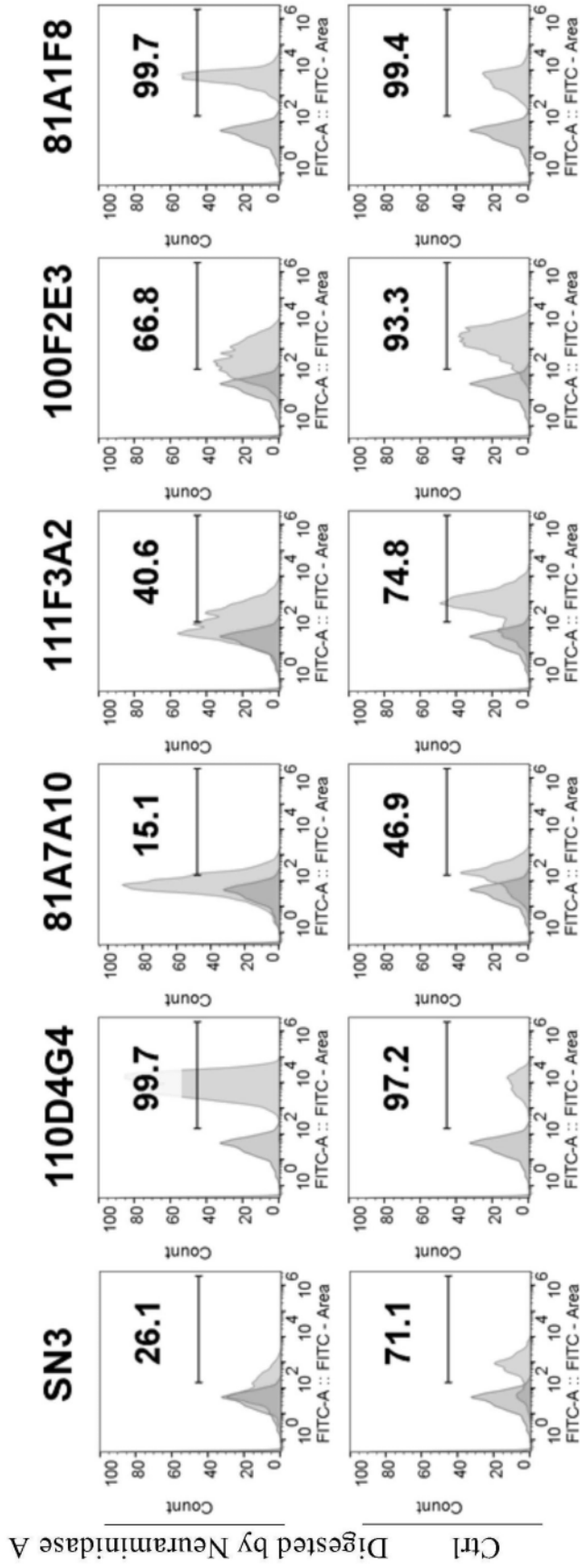


图6A

293T-hCD24

Ctrl Digested by Neuraminidase A

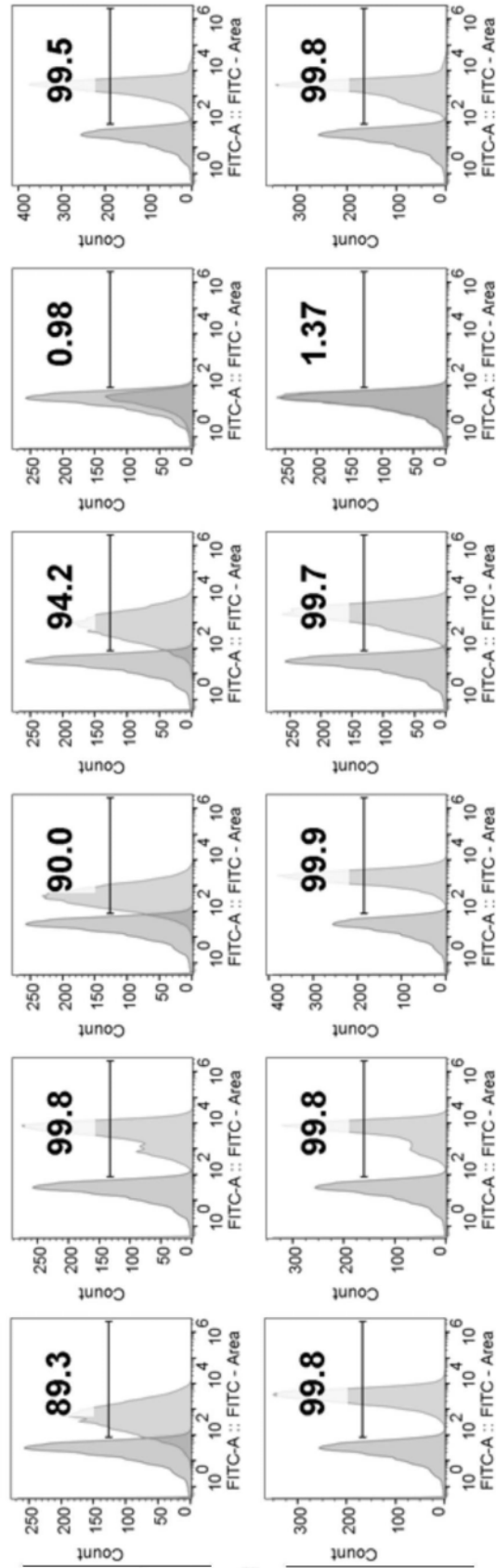


图6A(续)

HCT116

Ctrl Digested by Neuraminidase A

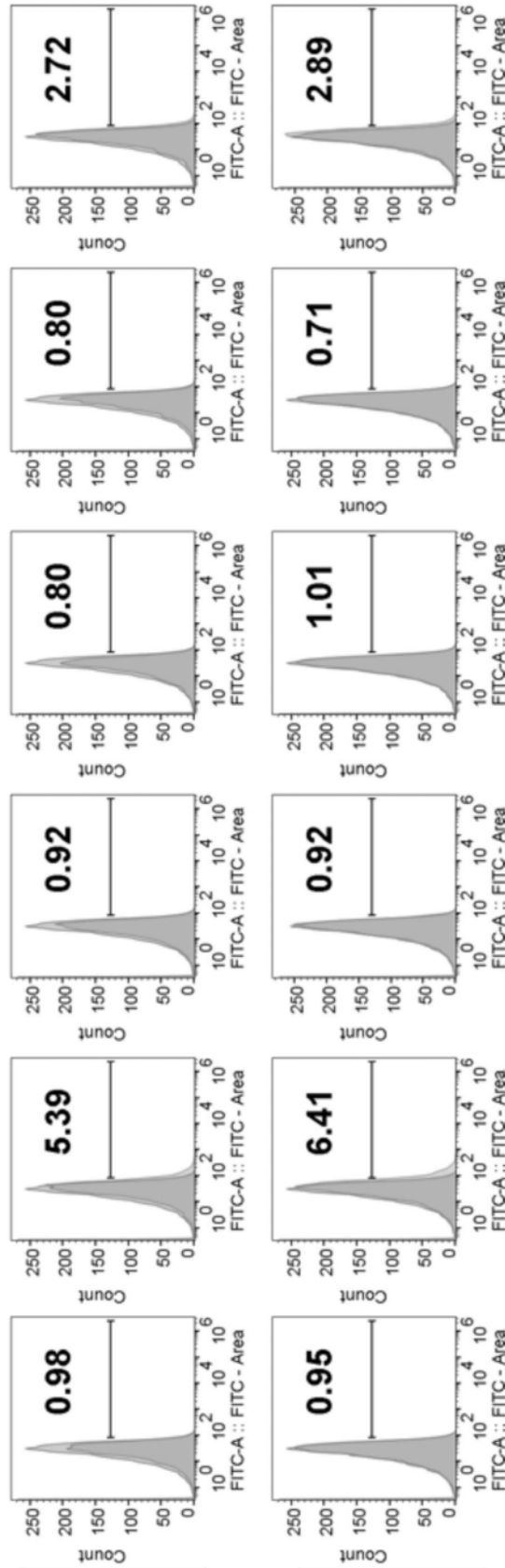


图6A(续)

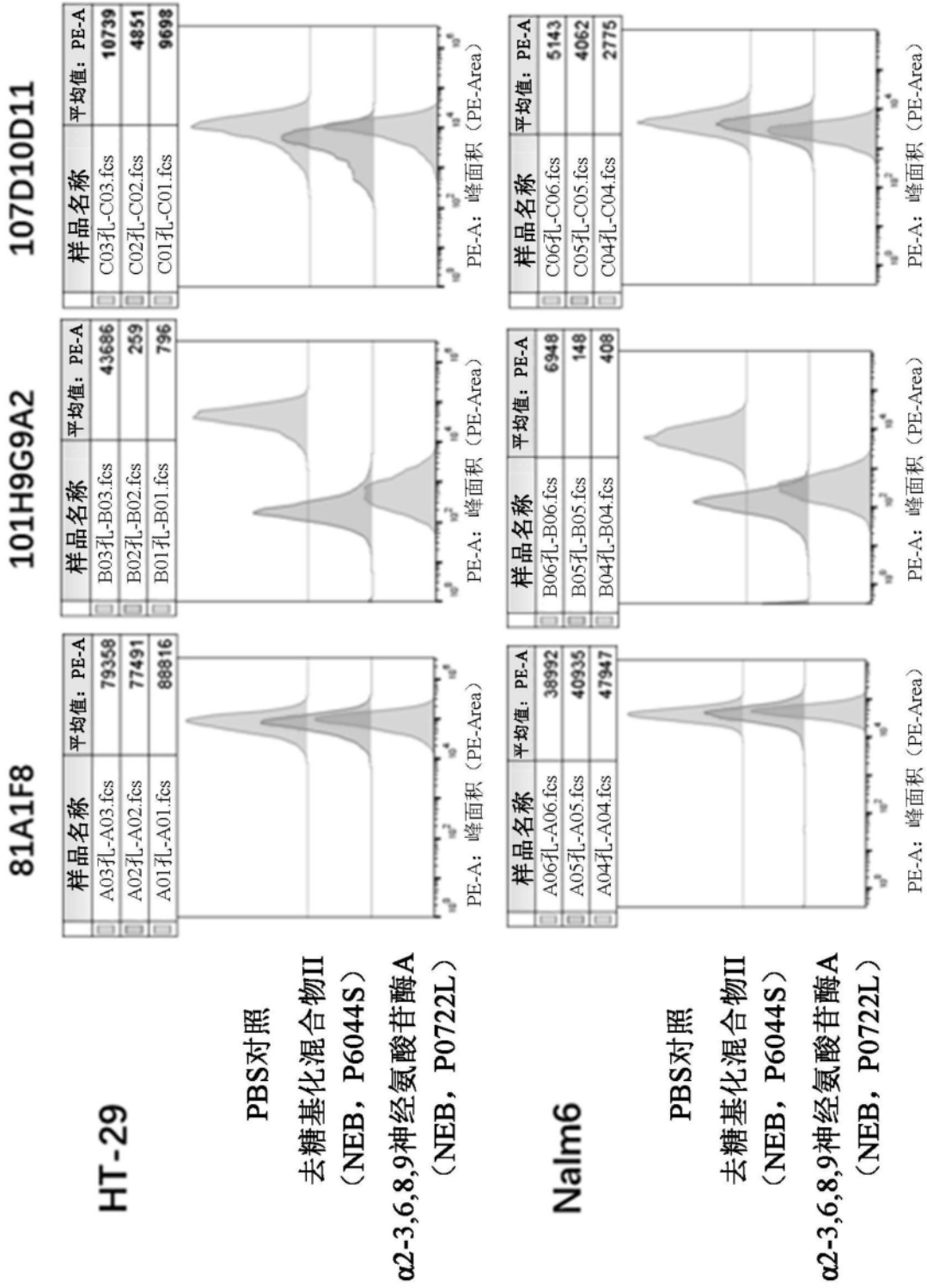
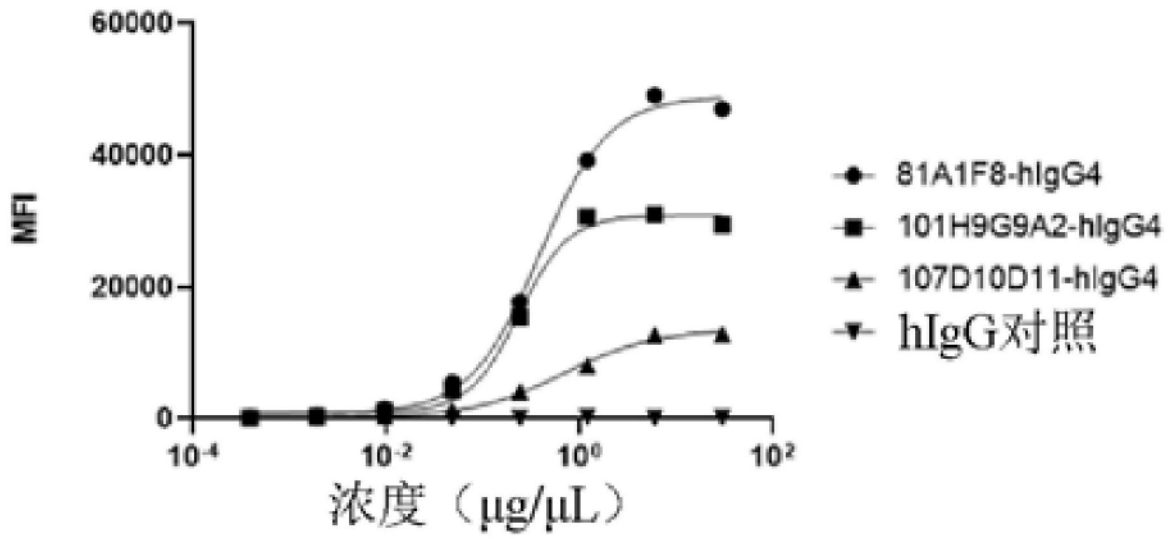


图6B

抗CD24 mAb在HT-29细胞上的结合



抗CD24 mAb在293T-hCD24细胞上的结合

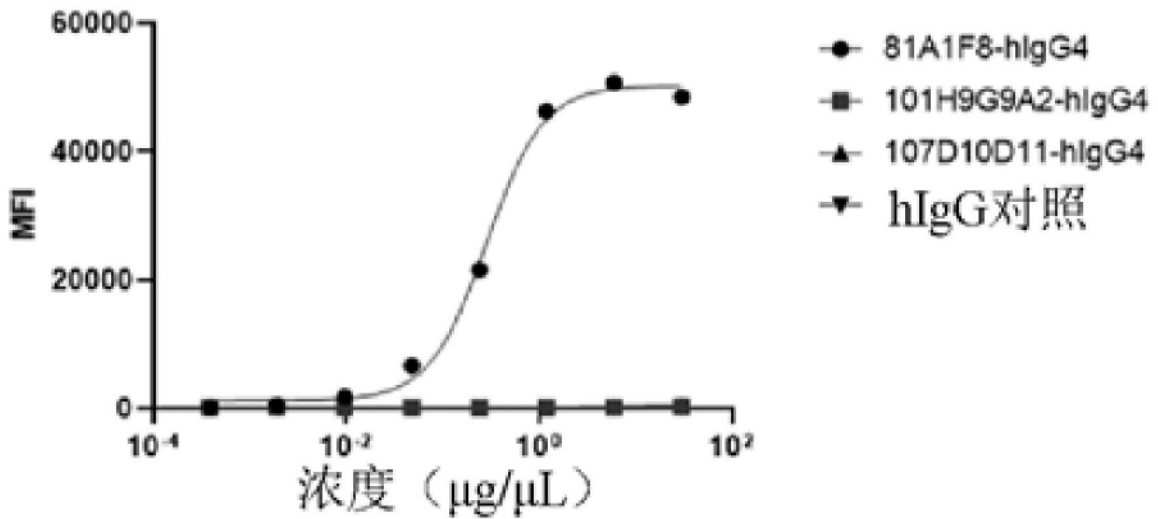
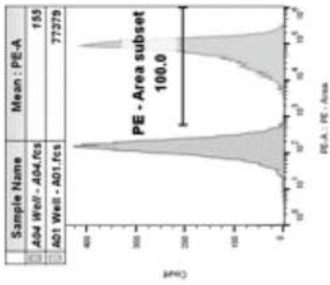


图6C

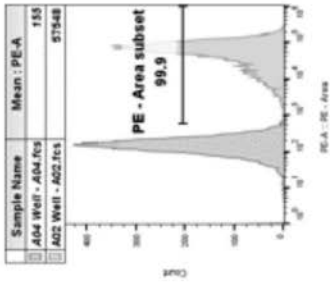
d

81A1F8

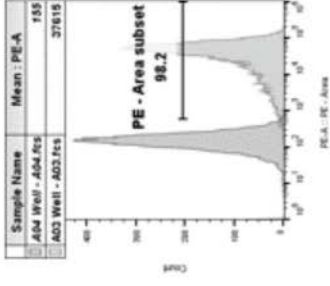


HT-29

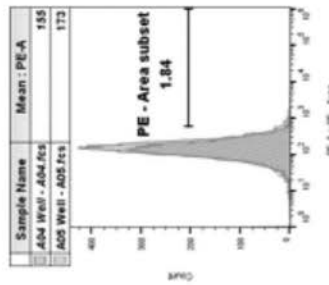
101H9G9A2



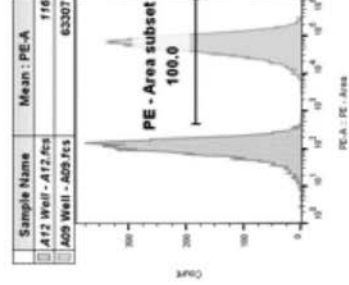
107D10D11



HT-29-CD24KO



293T-hCD24



SN3

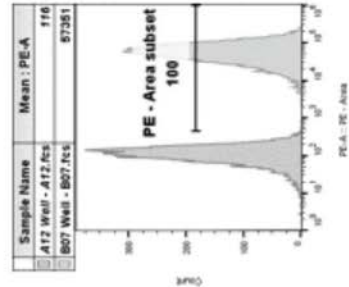
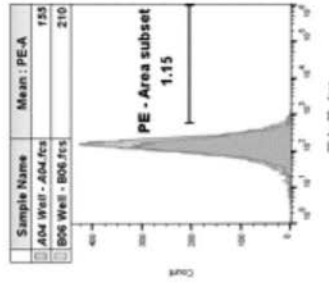
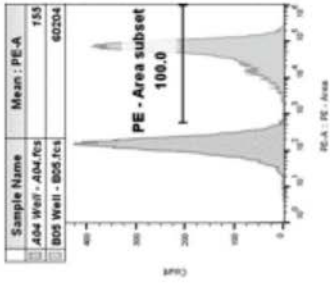


图6D

条目	动力学模型	固定的配体	分析物1溶液	动力学Chi ² (RU ²)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
1	1:1结合	2.5 µg/ml hCD24- mFc-生物素	101H9G9A2	3.42E-02	2.57E+06	3.20E-03	1.24E-09
2	1:1结合	0.8 µg/ml hCD24- mFc-生物素	33E7E12	4.97E-02	2.40E+05	7.40E-04	3.08E-09
3	1:1结合	0.8 µg/ml hCD24- mFc-生物素	SWA11	5.35E-02	5.74E+05	1.07E-03	1.86E-09
4	1:1结合	0.8 µg/ml hCD24- mFc-生物素	110D4G4	5.77E-01	5.32E+06	6.59E-04	1.24E-10
5	1:1结合	0.8 µg/ml hCD24- mFc-生物素	81A1F8	8.90E-01	2.12E+06	2.01E-04	9.50E-11
6	1:1结合	2.5 µg/ml hCD24- mFc-生物素	107D10D11	6.23E-01	9.10E+05	6.94E-04	7.62E-10

图7A

条目	动力学模型	捕捉物1溶液	分析物1溶液	动力学Chi ² (RU ²)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
1	1:1结合	1ug/ml 81A1F8-hlgG1	hCD24-mFc-生物素	5.80E-01	1.23E+05	2.82E-04	2.29E-09
2	1:1结合	1ug/ml 81A1F8-1141-hlgG1	hCD24-mFc-生物素	1.15E+00	1.06E+05	5.94E-04	5.63E-09
3	1:1结合	1ug/ml 81A1F8-2141-hlgG1	hCD24-mFc-生物素	3.27E-01	1.22E+05	5.45E-04	4.48E-09
4	1:1结合	1ug/ml 81A1F8-hlgG4	hCD24-mFc-生物素	7.67E-01	1.43E+05	3.20E-04	2.23E-09
5	1:1结合	1ug/ml 81A1F8-1141-hlgG4	hCD24-mFc-生物素	2.51E-01	1.13E+05	6.22E-04	5.52E-09
6	1:1结合	1ug/ml 81A1F8-2141-hlgG4	hCD24-mFc-生物素	3.70E-01	1.38E+05	5.47E-04	3.97E-09

图7B

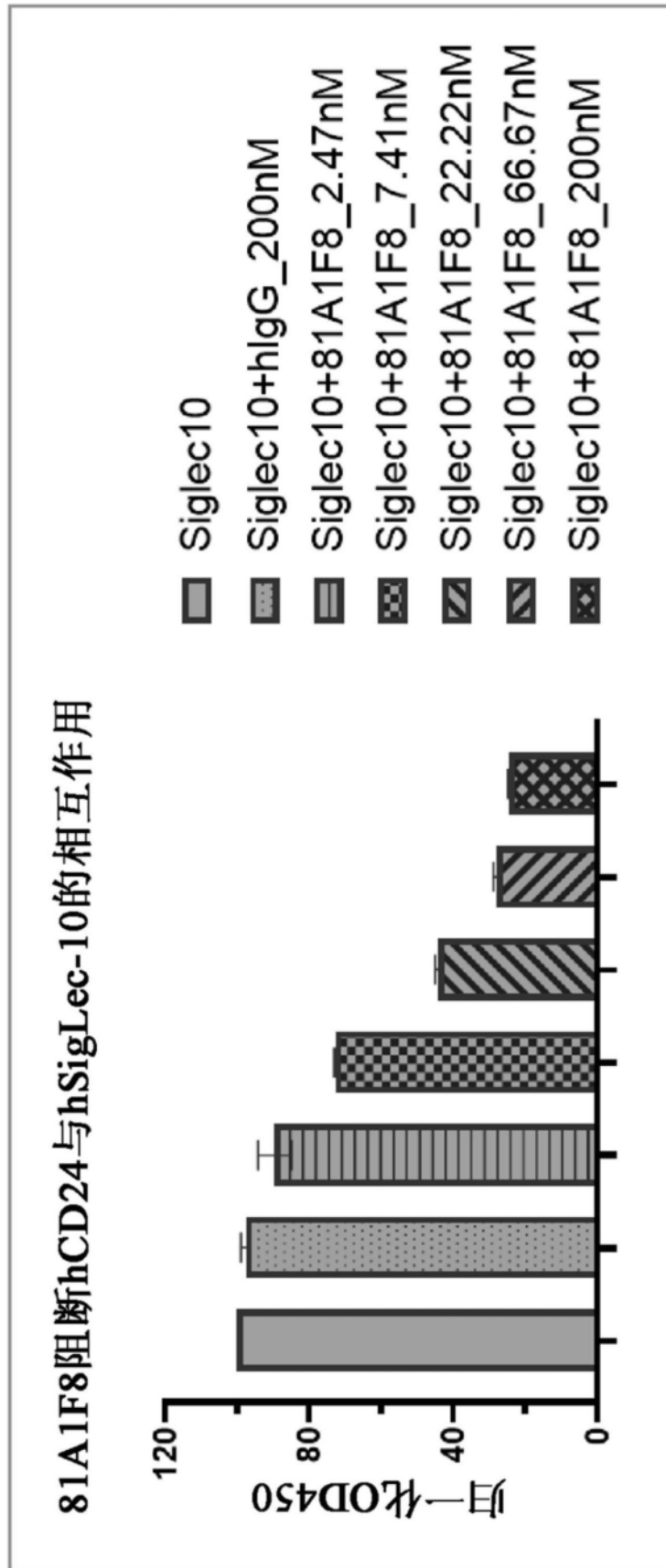
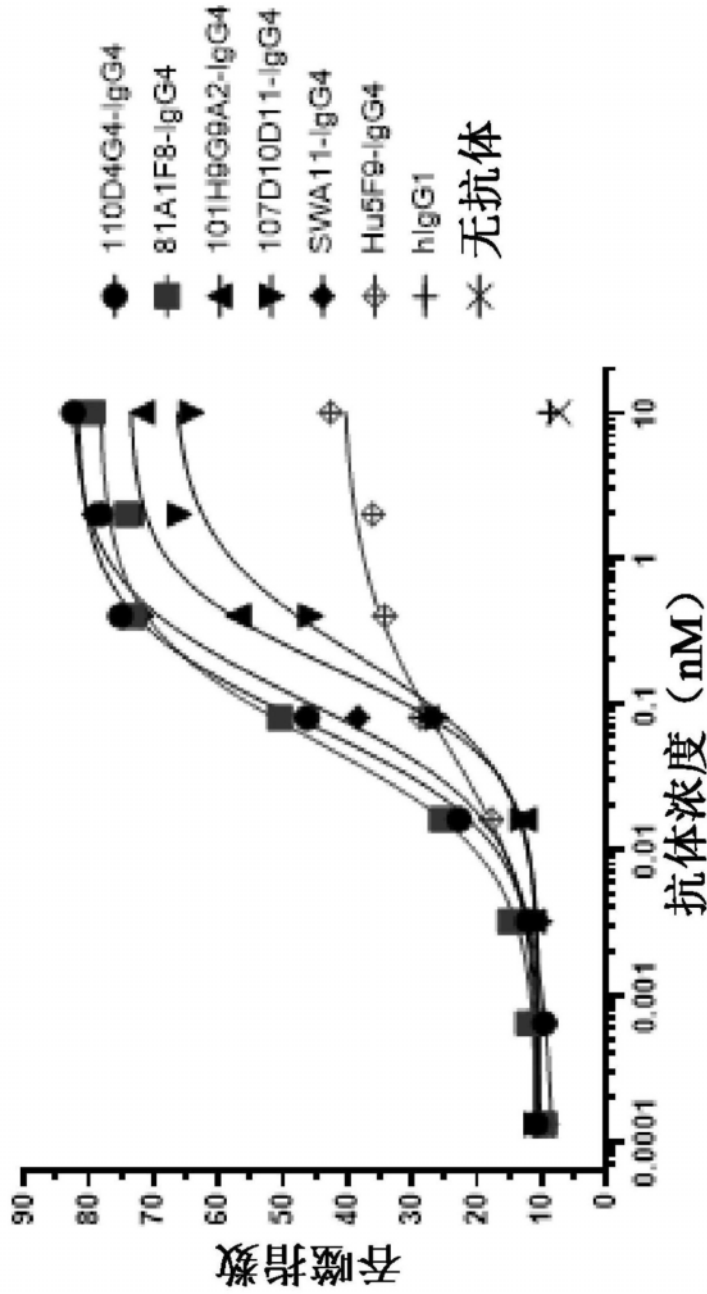


图8

抗CD24 mAb诱导HT-29细胞的吞噬作用



	110D4G4-IgG4	81A1F8-IgG4	101H9G9A2-IgG4	107D10D11-IgG4	SWA11-IgG4	Hu5F9-IgG4	hIgG1	无抗体
EC50	0.07330	0.05447	0.1755	0.2164	0.1057	0.05138		

图9A

抗CD24 mAb诱导Nalm-6细胞的吞噬作用

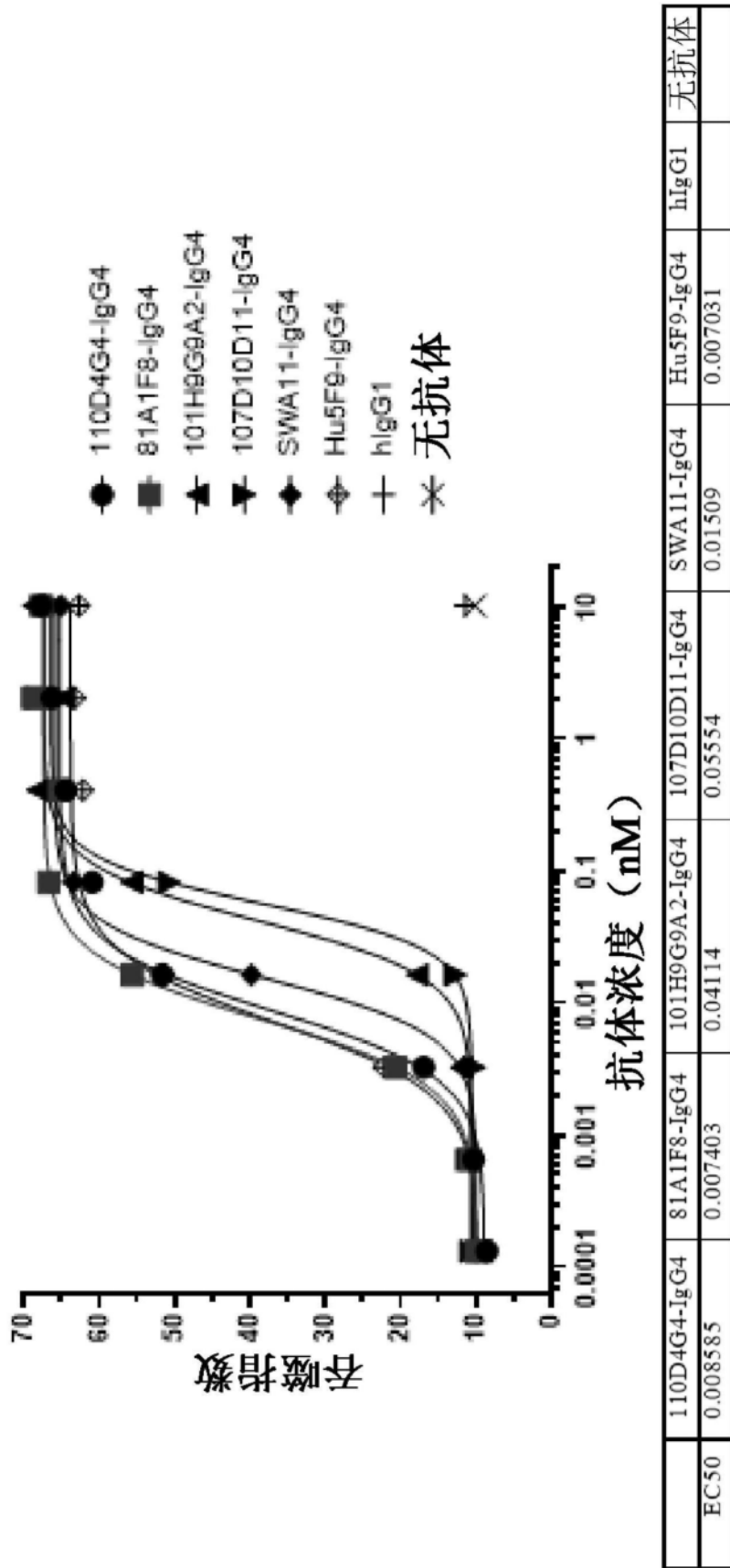


图9B

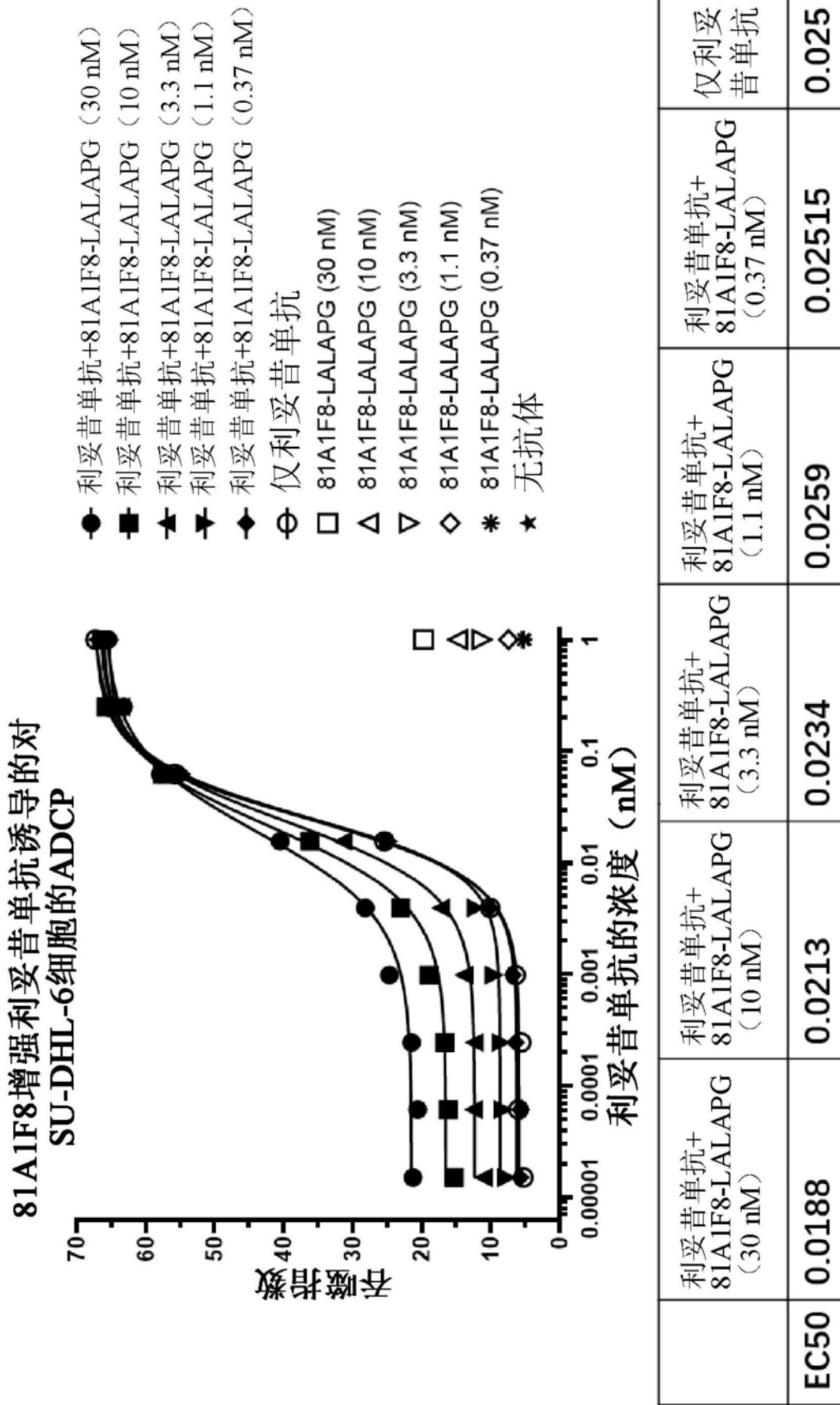


图9C

81A1F8与抗CD47的组合增强HT29细胞的吞噬作用 81A1F8=0.1 nM

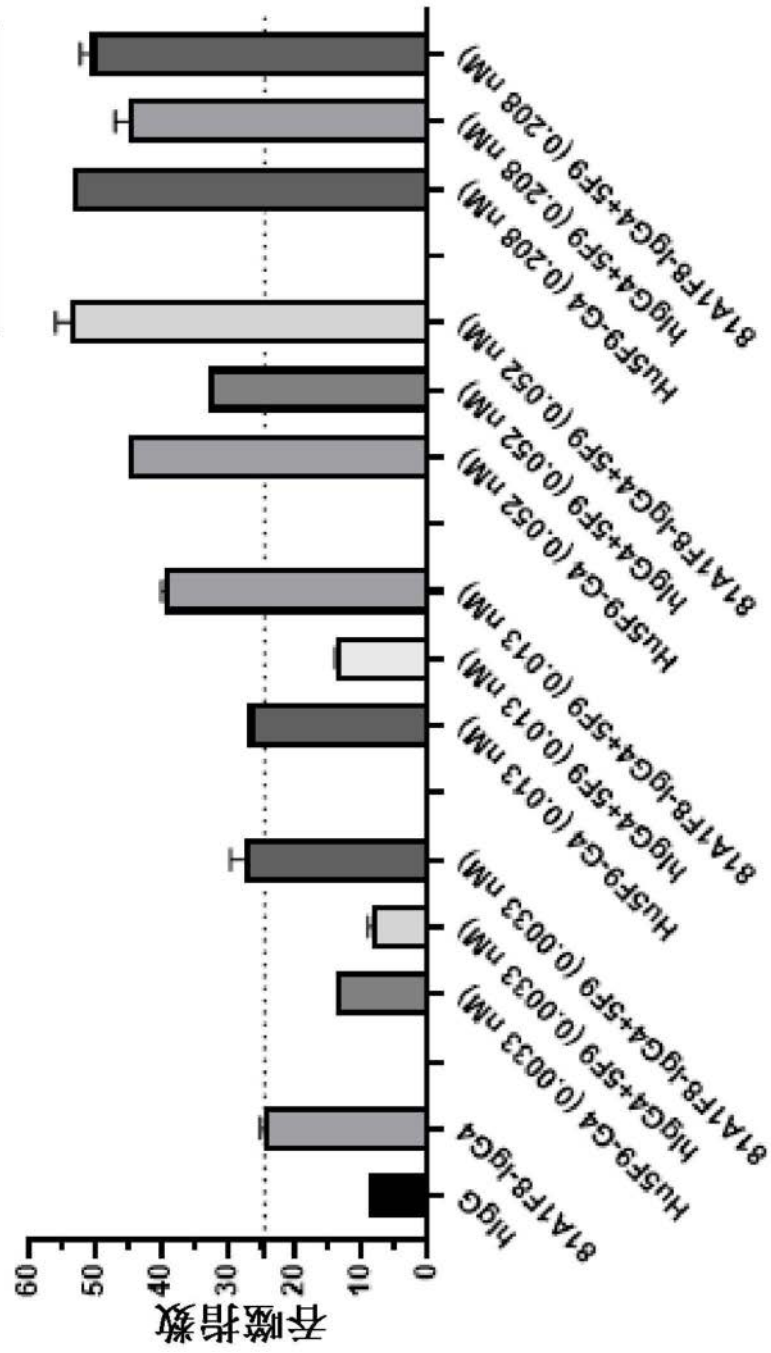


图9D

利用人源化81A1F8对HT-29
细胞诱导的ADCC

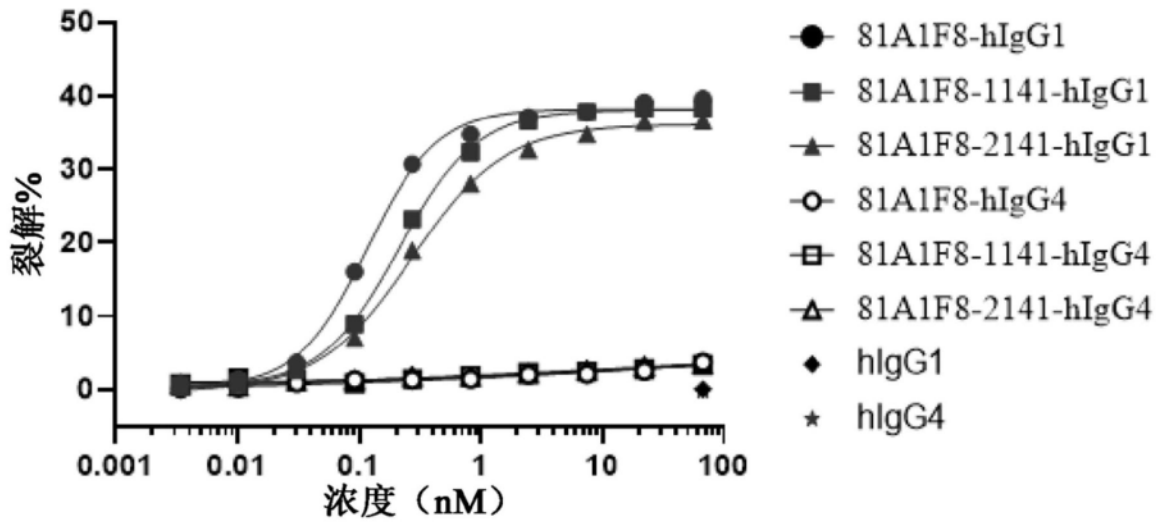


图10A

利用人源化81A1F8对hCD24-MCF7
诱导的CDC

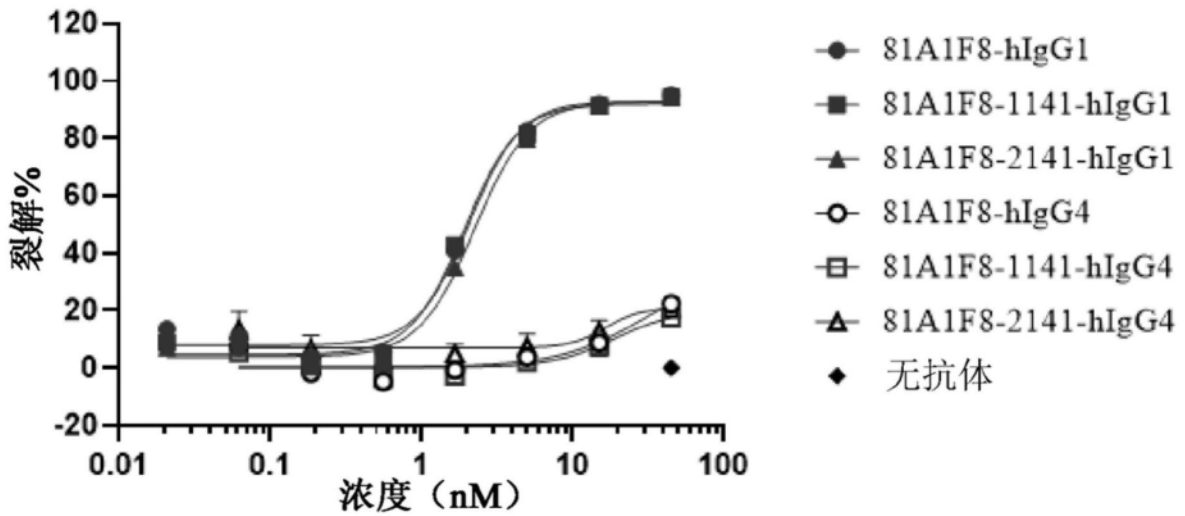


图10B

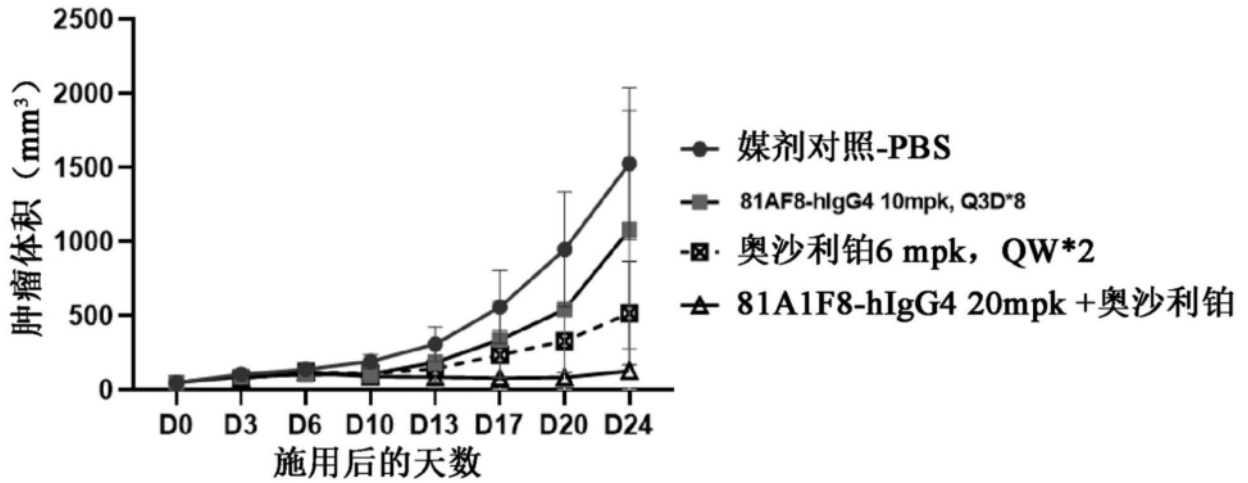


图11A

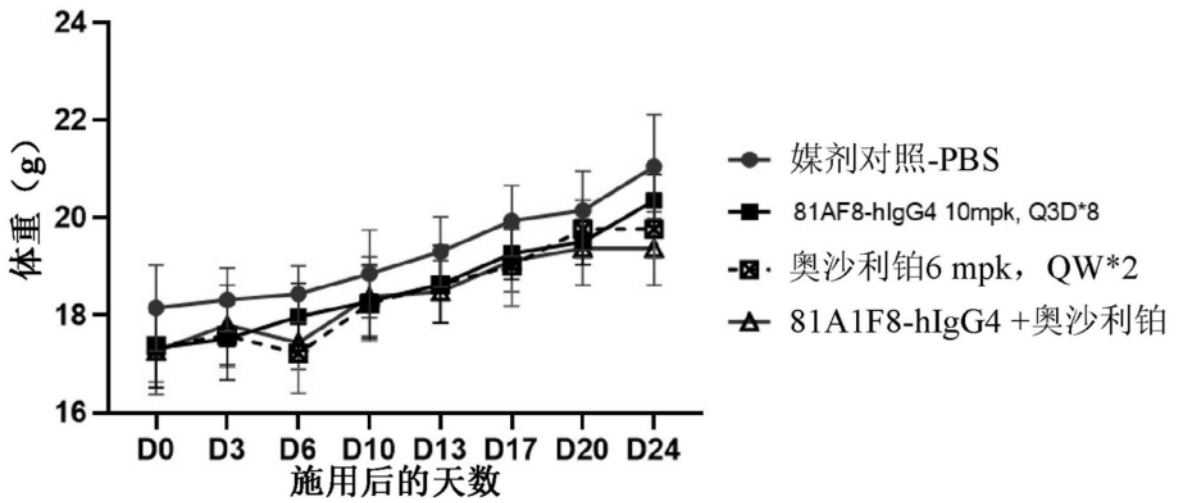


图11B

群组 (6只小鼠/组)	TGI	无肿瘤
媒剂对照-PBS	/	/
81A1F8-hIgG4 10mpk Q3D	33%	0
奥沙利铂6mpk QW	65%	1
奥沙利铂+81A1F8-hIgG4	92.4%	1

图11C

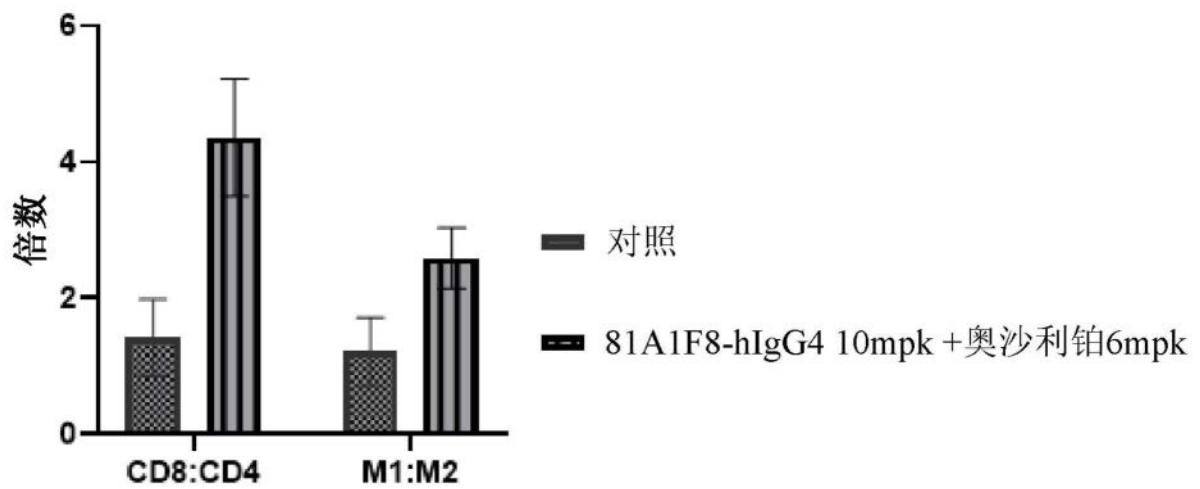


图11D

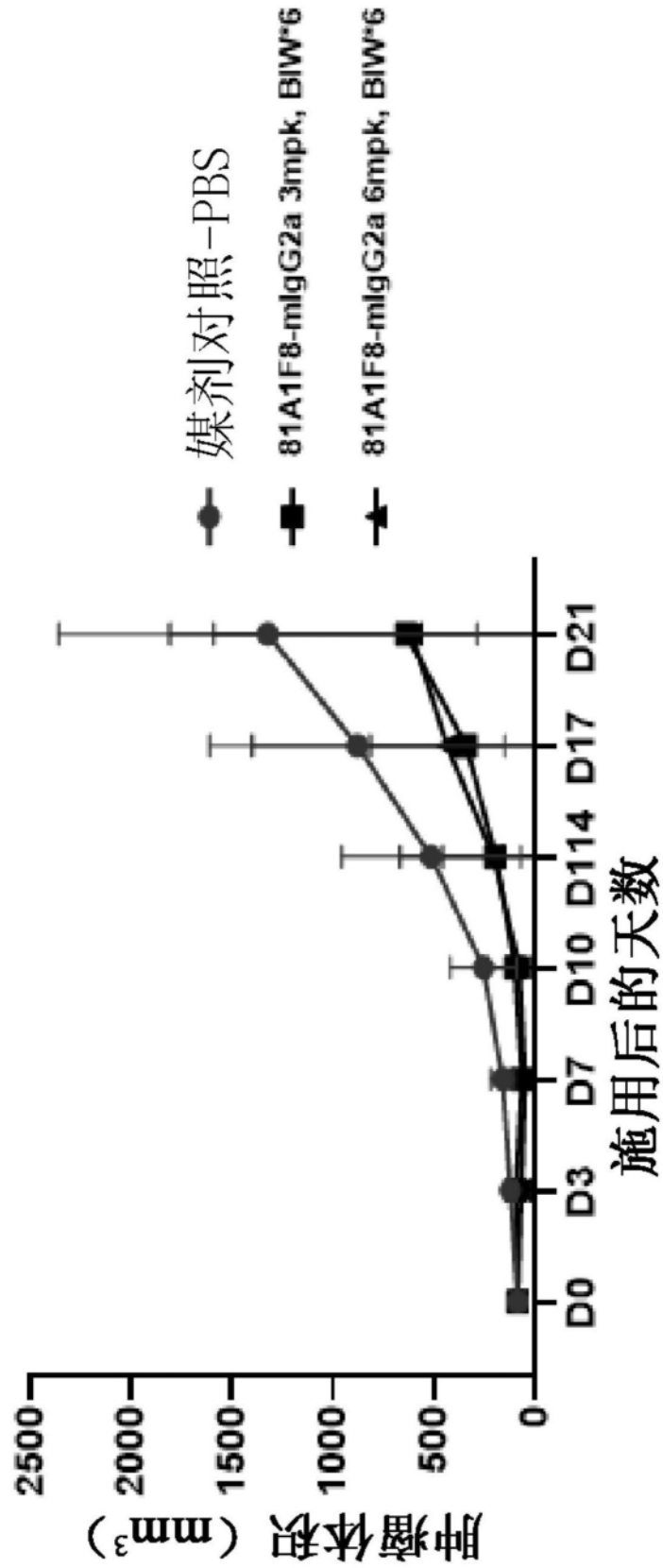


图12A

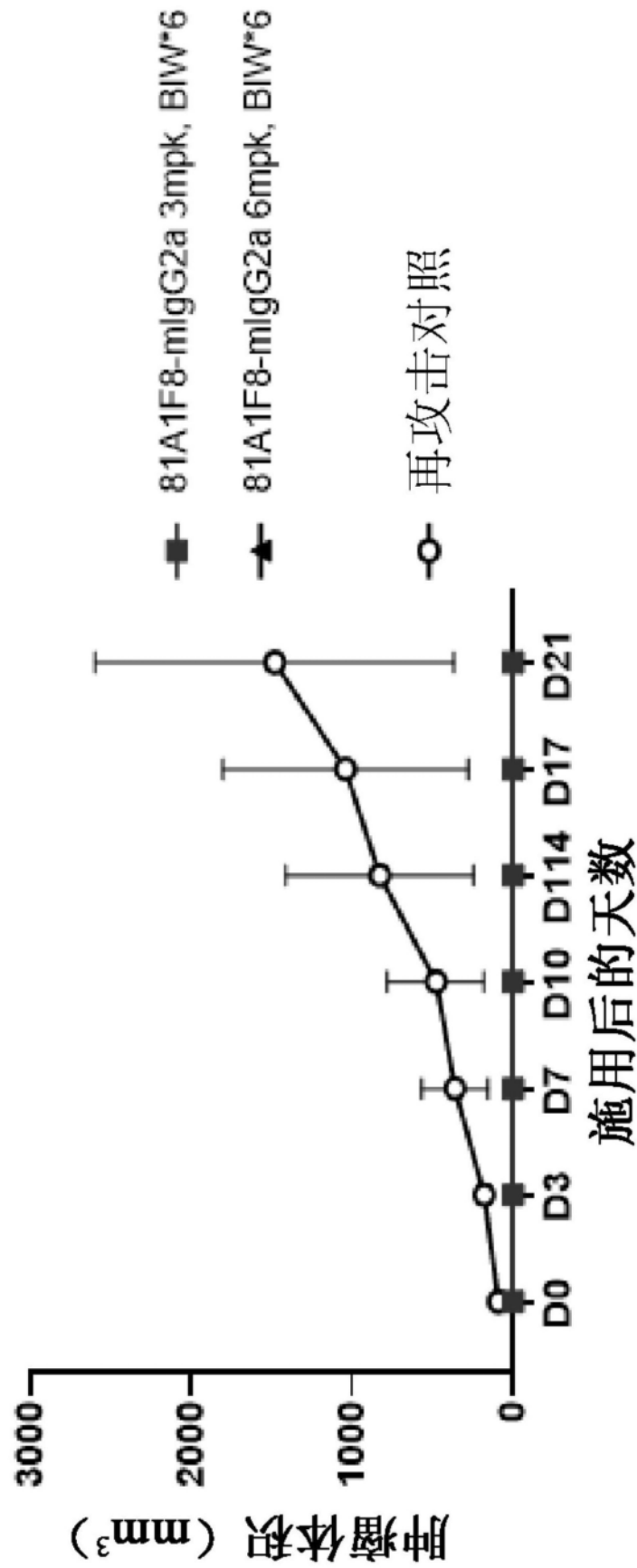


图12B

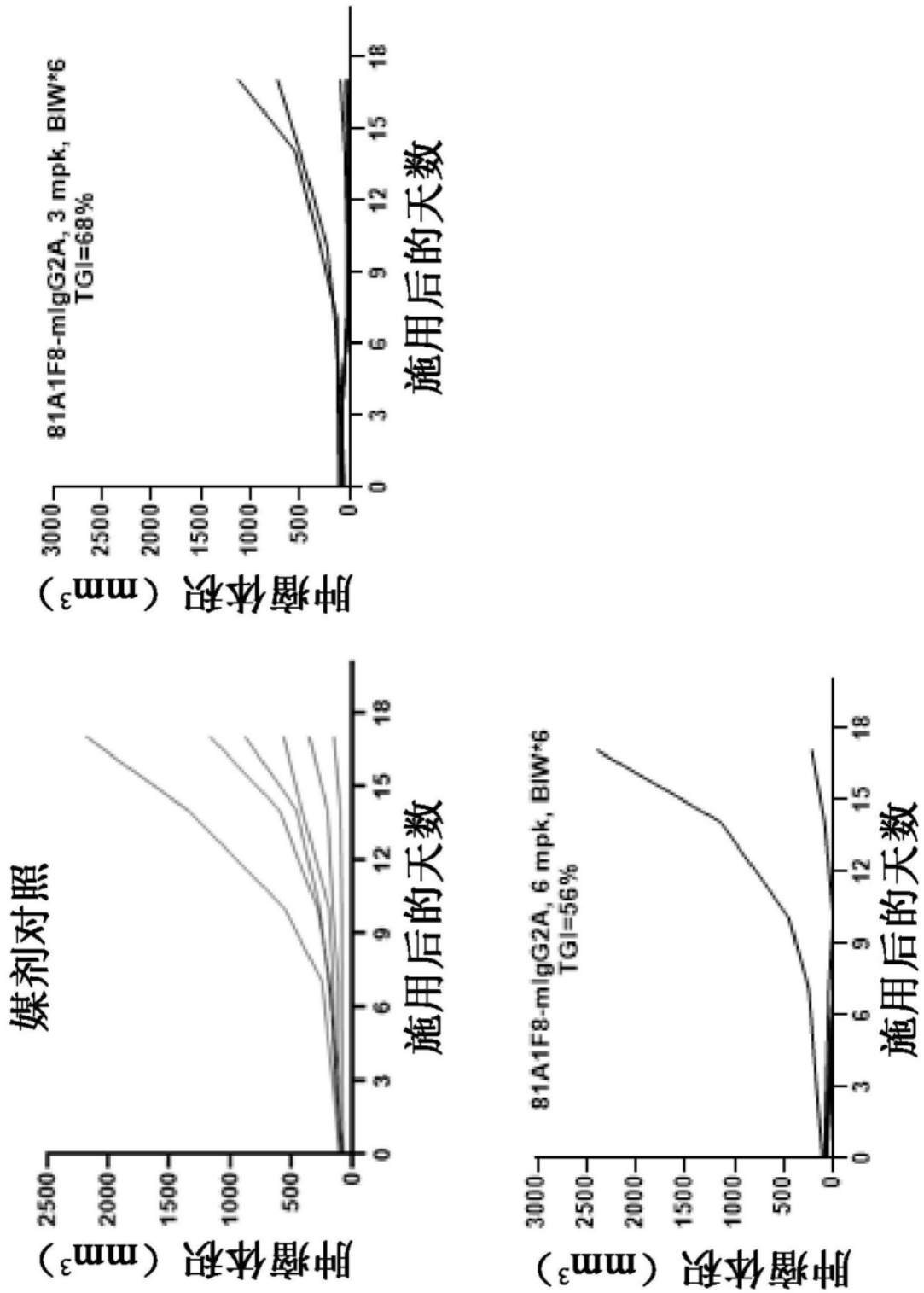


图12C

群组 (6只小鼠/组)	TGI	无肿瘤
媒介剂对照-PBS	/	/
81A1F8-mIgG2a 3mpk BIW	68%	1
81A1F8-mIgG2a 6mpk BIW	56%	5到4

图12D

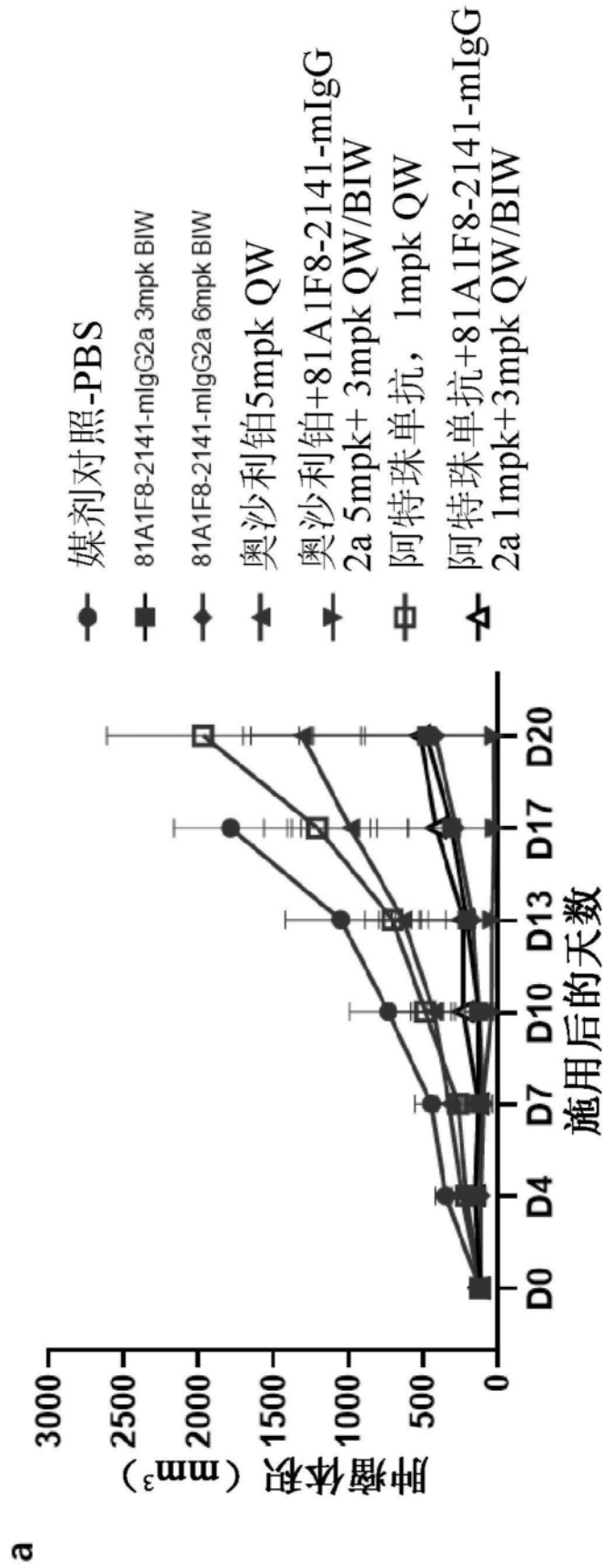


图13A

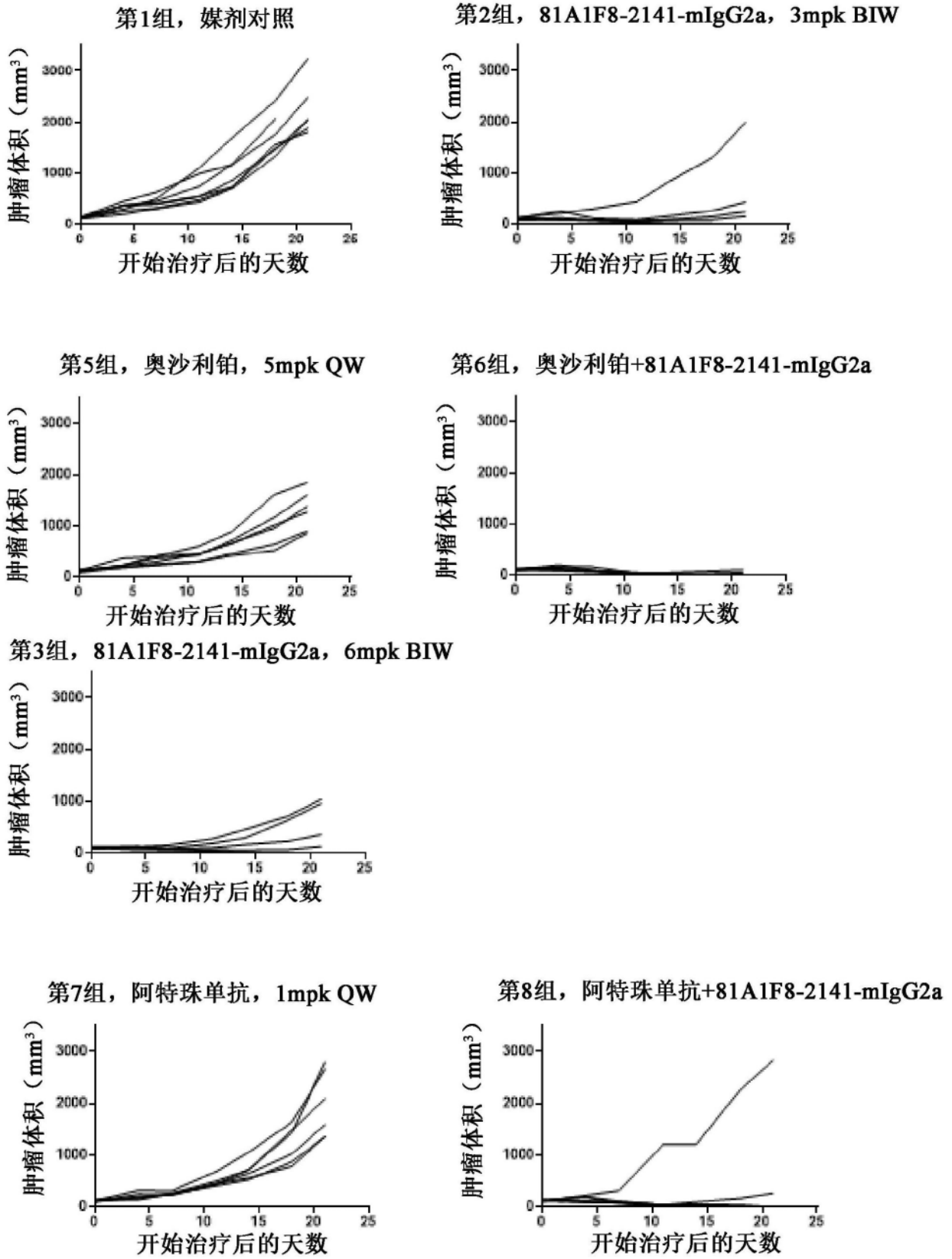


图13B

			无肿瘤
媒介对照		/	/
81A1F8-2141-mIgG2a 3mpk; BIW		95.3	2
81A1F8-2141-mIgG2a 6mpk; BIW		98.5	2
奥沙利铂5mpk QW		46.6	/
奥沙利铂+81A1F8-2141-mIgG2a 5+3, QW/BIW		>100	4
阿特珠单抗1mpk; QW		35.7	/
阿特珠单抗+81A1F8-2141-mIgG2a 1+3, QW/BIW		81.5	4

图13C

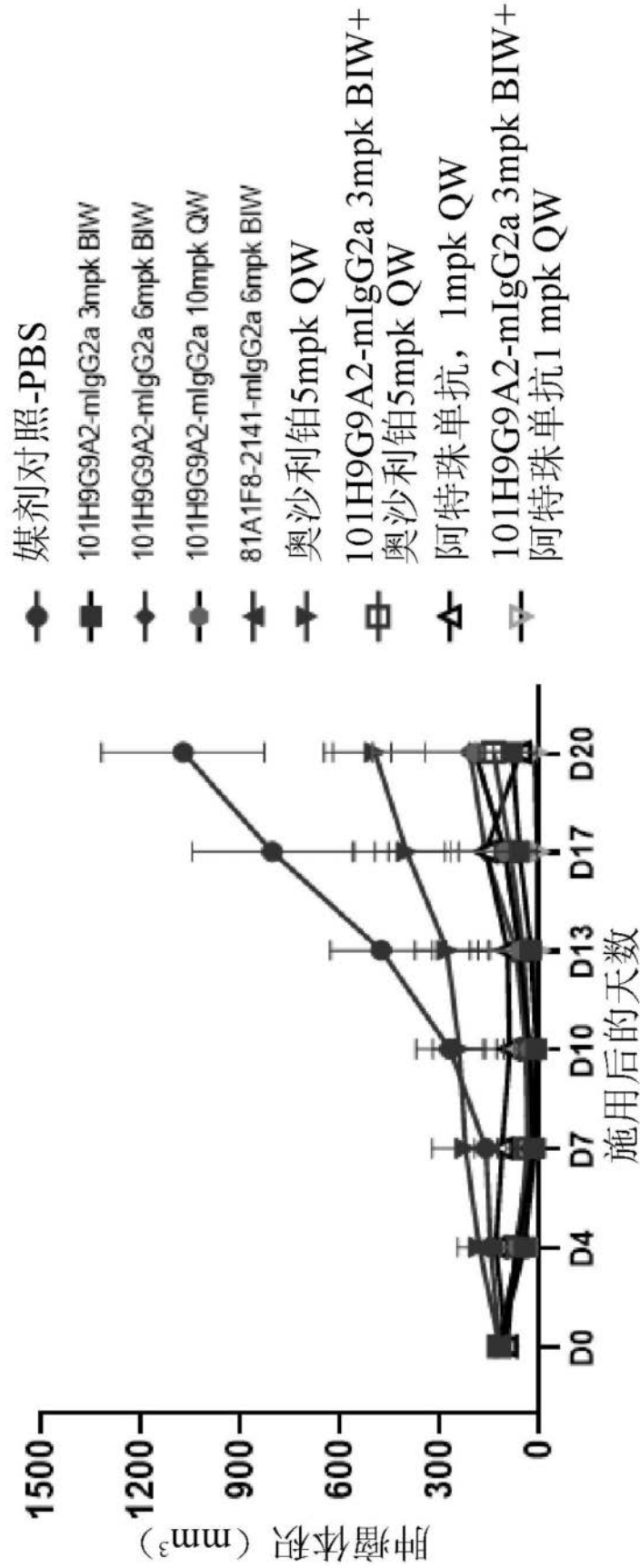


图14A

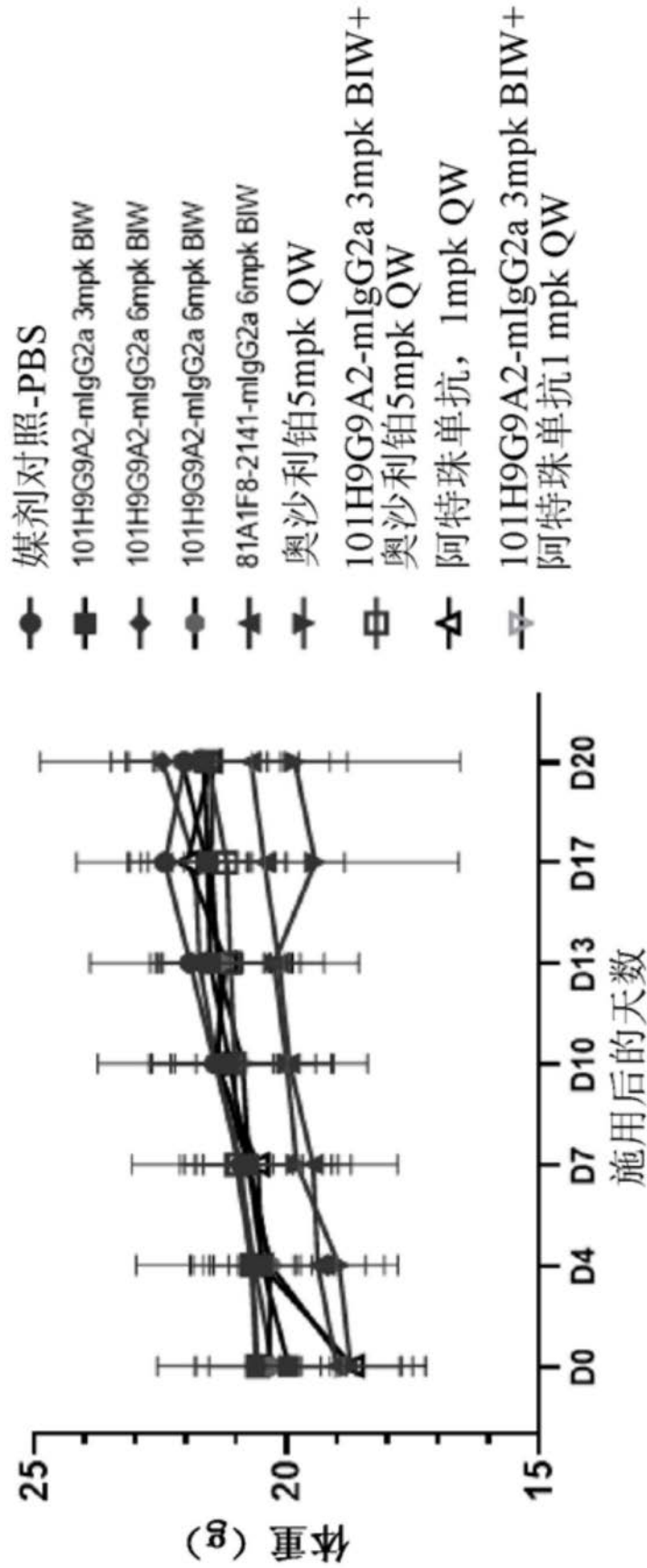


图14B

群组 (6只小鼠/组)	TGI	无肿瘤
媒介对照	/	
101H9G9A2-mIgG2a, 3mpk BIW	103.9%	2
101H9G9A2-mIgG2a, 6mpk BIW	90.7%	2
101H9G9A2-mIgG2a, 10mpk QW	92.26%	4
81A1F8-2141-mIgG2a, 6mpk BIW	110.2%	5
奥沙利铂, 5mpk QW	60%	/
奥沙利铂+101H9G9A2-mIgG2a 5mpk+3mpk QW/BIW	98.24%	4
阿特珠单抗, 1mpk QW	91%	2
阿特珠单抗+101H9G9A2-mIgG2a 1mpk+3mpk QW/BIW	108.9%	4

图14C

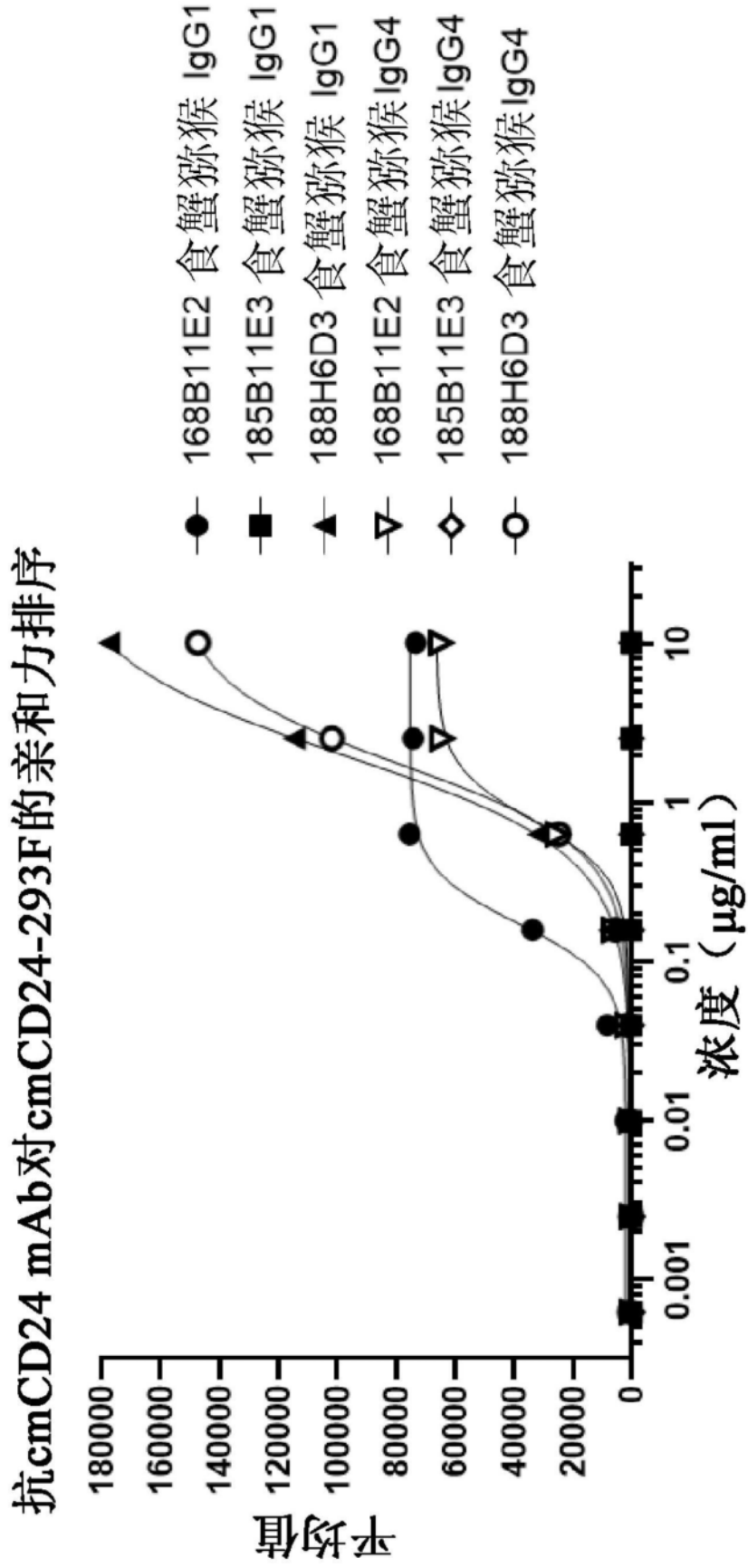


图15

对cynoCD24-293F细胞的吞噬分析

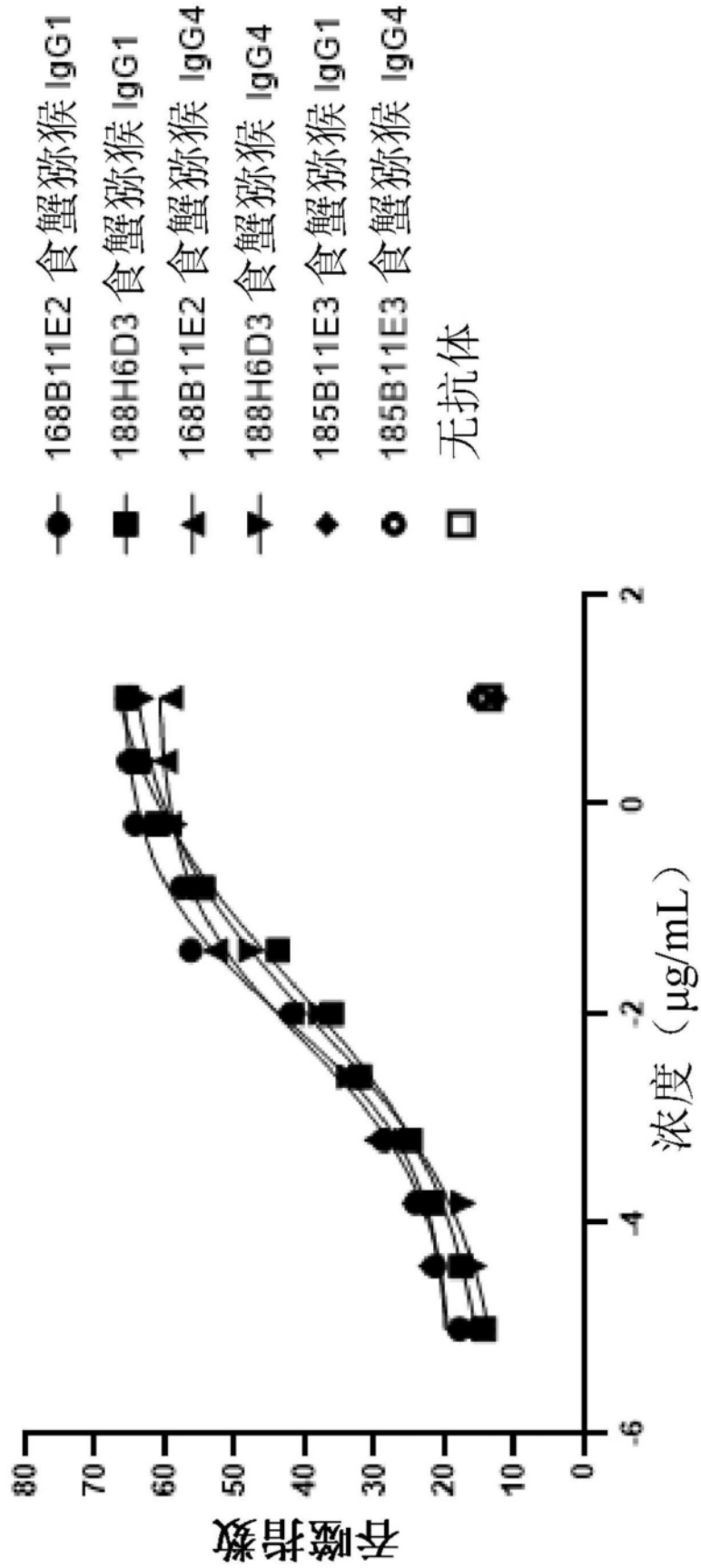


图16A

利用食蟹猕猴PBMC对
293-cmCD24的ADCC分析

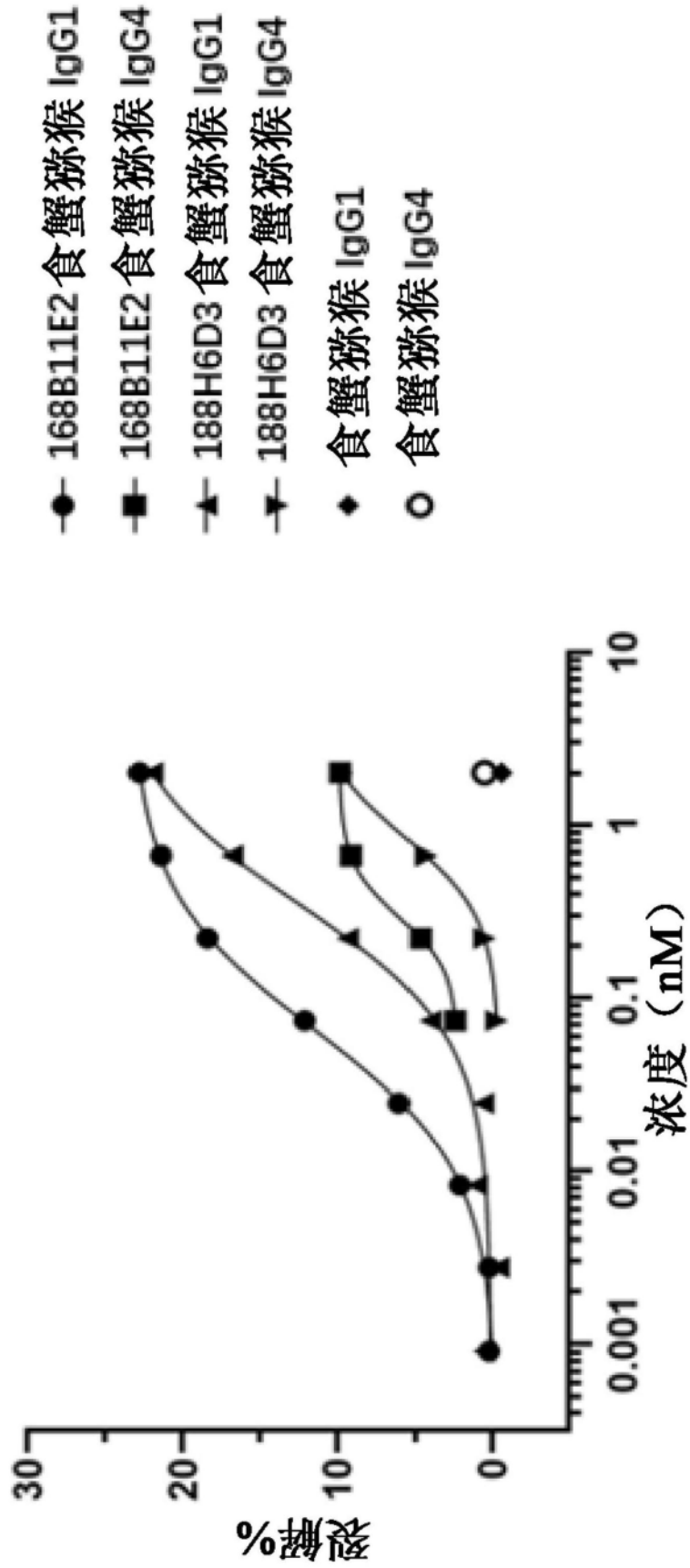


图16B

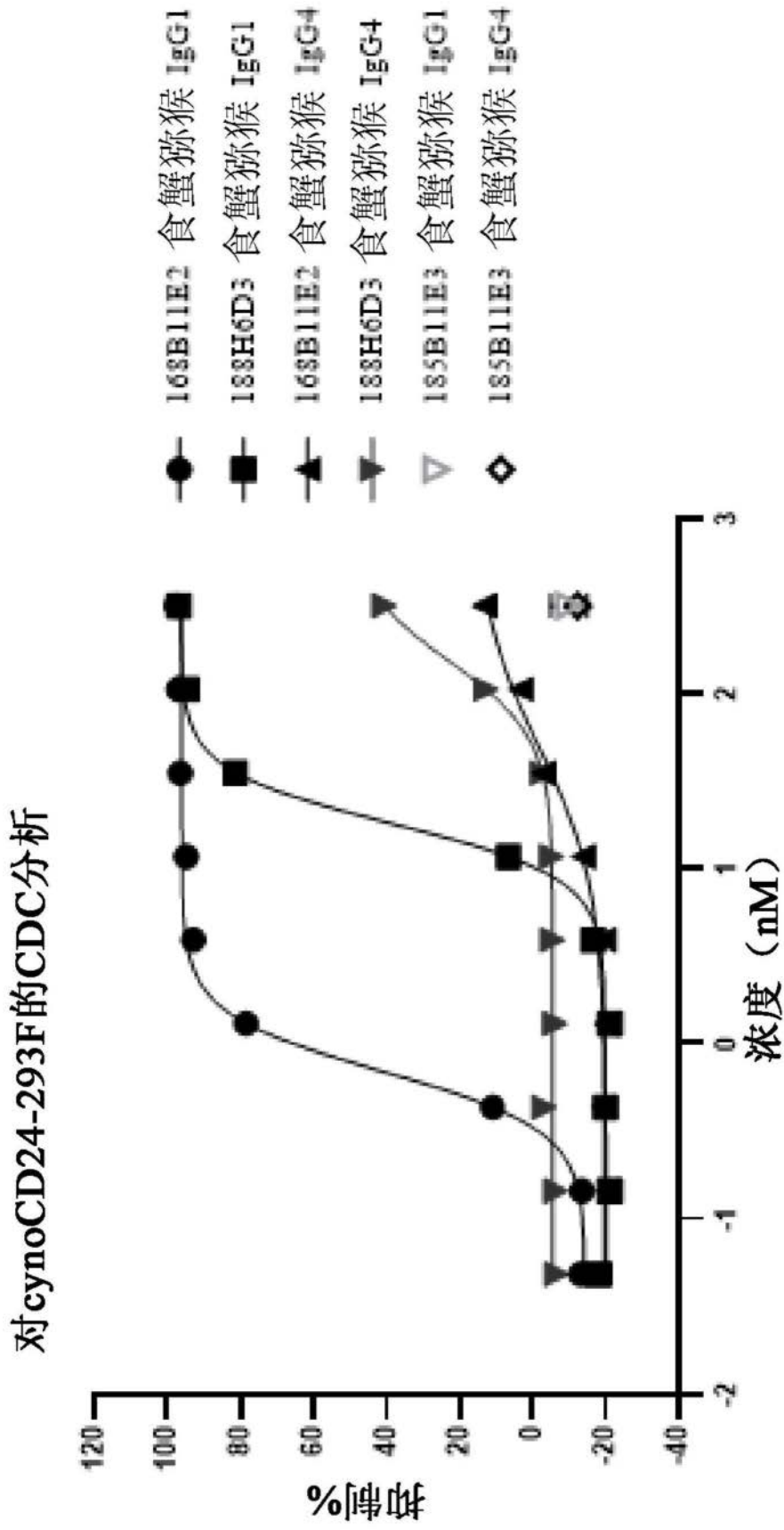


图16C