



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201920267 A

(43)公開日：中華民國 108 (2019) 年 06 月 01 日

(21)申請案號：107125627

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 07 月 25 日

(51)Int. Cl.：

C07K16/24 (2006.01)

C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

C12N15/13 (2006.01)

C12P21/08 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2017/07/27 美國

62/537,753

2017/11/20 美國

62/588,853

2018/03/20 美國

62/645,284

2018/06/15 美國

62/685,599

(71)申請人：美商再生元醫藥公司 (美國) REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國

(72)發明人：赫爾曼 艾努爾 HERMANN, AYNUR (DE)；約費 艾拉 IOFFE, ELLA (US)；布羅瓦 艾倫娜 BUROVA, ELENA (US)；瑟斯頓 佳文 THURSTON, GAVIN (US)；奧爾森 威廉 OLSON, WILLIAM (US)

(74)代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：53 項 圖式數：14 共 276 頁

(54)名稱

抗 C T L A — 4 抗體及其用途

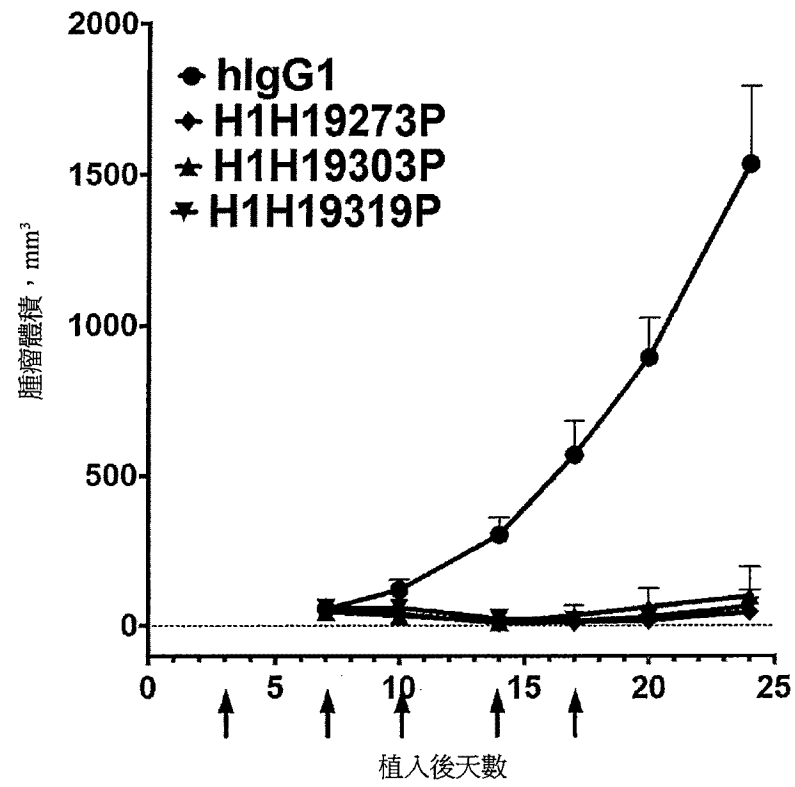
ANTI-CTLA-4 ANTIBODIES AND USES THEREOF

(57)摘要

本發明提供與細胞毒性 T 淋巴細胞相關蛋白 4(CTLA-4)結合之抗體及使用方法。在本發明之各種實施例中，所述抗體為與 CTLA-4 特異性結合之完全人類抗體。在一些實施例中，本發明抗體適用於抑制或中和 CTLA-4 活性，從而提供一種活化 T 細胞及/或治療諸如癌症或病毒感染之疾病或病症的手段。

The present invention provides antibodies that bind to cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4), and methods of use. In various embodiments of the invention, the antibodies are fully human antibodies that specifically bind to CTLA-4. In some embodiments, the antibodies of the invention are useful for inhibiting or neutralizing CTLA-4 activity, thus providing a means of activating T-cells and/or for treating a disease or disorder such as cancer or viral infection.

指定代表圖：



【圖1】

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

抗CTLA-4抗體及其用途

ANTI-CTLA-4 ANTIBODIES AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】 序列表之參考

本申請案以引用方式併入序列表，所述序列表以在 2018 年 6 月 29 日創建且含有 178,018 個位元組之檔案 10360WO01-Sequence.txt 以電腦可讀形式提交。

【0002】 本發明係關於與免疫調節受體細胞毒性 T 淋巴細胞相關蛋白 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA-4) 特異性結合的抗體及抗體之抗原結合片段，及使用彼等抗體之治療及診斷方法。

【先前技術】

【0003】 細胞毒性 T 淋巴細胞相關蛋白 4 (CTLA-4；亦稱為 CD152) 為在習知調節性 T 細胞上表現的 I 型跨膜 T 細胞抑制性檢查點受體。CTLA-4 藉由在與刺激受體 CD28 競爭與其天然配體 B7-1 (CD80) 及 B7-2 (CD86) 結合的過程中取勝而負調節 T 細胞活化。初始 T 細胞活化藉由刺激 T 細胞受體 (T-cell receptor, TCR) 來達成，所述 T 細胞受體識別抗原呈現細胞 (antigen-presenting cell, APC) 上由 I 類或 II 類主要組織相容性複合體 (MHC I 或 MHC II) 蛋白質呈現的特異性肽 (Goldrath 等人 1999, Nature 402: 255-262)。經活化 TCR 繼而引發信號傳導事件之級聯，其可藉由經轉染報

導基因之表現監測，由調節各種轉錄因子之表現的啟動子驅動，諸如活化蛋白 1 (activator-protein 1, AP-1)、活化 T 細胞核因子 (Nuclear Factor of Activated T-cell, NFAT) 或核因子活化 B 細胞 κ 輕鏈增強子 (Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cell, NF κ B)。隨後經由在 T 細胞上組成性或誘導性表現之共刺激或共抑制受體之參與來進一步改進 T 細胞反應，所述受體諸如 CD28、細胞毒性 T 淋巴細胞相關蛋白 4 (CTLA-4)、計劃性細胞死亡蛋白 1 (Programmed Cell Death Protein 1, PD-1)、淋巴細胞活化基因 3 (Lymphocyte-Activation Gene 3, LAG-3) 或其他分子 (Sharpe 等人 2002, Nat. Rev. Immunol. 2: 116-126)。

【0004】 輔受體 CD28 及 CTLA-4 競爭相同配體：在抗原呈現細胞 (APC) 上表現之 CD80 及 CD86。CTLA-4 對 CD80 及 CD86 之結合親和力高於對 CD28 之結合親和力，充當誘餌且藉由鉗合走配體，引起 T 細胞活化減弱來抑制 CD28 之活化 (Alegre 等人 2001, Nat. Rev. Immunol. 1: 220-228；Walker 等人 2011, Nat. Rev. Immunol. 11: 852-863；及 Buchbinder 等人, 2016, American Journal of Clinical Oncology, 39:98-106)。

【發明內容】

【0005】 本發明提供結合 CTLA-4 之抗體及其抗原結合片段。本發明抗體尤其適用於靶向表現 CTLA-4 之免疫細胞及調節 CTLA-4 活性。在某些實施例中，本發明抗體適用於抑制或中和 CTLA-4 活性及/或刺激 T 細胞活化，例如在 T 細胞介導之殺死係有利的或所期望的情況下。在某些實施例中，抗體適用於抑制調節 T 細胞功能及/或再活化耗竭性 T 細胞。本發明之抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合部分可作為多特異性抗原結合分子之一部分而包括，例如用以調節免疫反應及/或使抗體靶向特定細胞類型，諸如腫瘤

細胞或感染細胞。抗體適用於治療諸如癌症及病毒感染之疾病或病症。

【0006】本發明抗體可為全長抗體（例如 IgG1 或 IgG4 抗體）或可以僅包含抗原結合部分（例如 Fab、F(ab')₂ 或 scFv 片段），且可經修飾以影響功能性，例如用以消除殘留效應功能（Reddy 等人，2000, J. Immunol. 164:1925-1933）。在某些實施例中，抗體可為雙特異性的。

【0007】在第一態樣中，本發明提供與 CTLA-4 特異性結合的經分離重組單株抗體或其抗原結合片段。在某些實施例中，抗體為完全人類抗體。

【0008】本發明之例示性抗 CTLA-4 抗體列於本文中之表 1 及表 2 中。表 1 闡述例示性抗 CTLA-4 抗體之重鏈可變區（heavy chain variable region, HCVR）、輕鏈可變區（light chain variable region, LCVR）、重鏈互補決定區（HCDR1、HCDR2 及 HCDR3）及輕鏈互補決定區（LCDR1、LCDR2 及 LCDR3）的胺基酸序列識別符號。表 2 闡述例示性抗 CTLA-4 抗體之 HCVR、LCVR、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 及 LCDR3 的核酸序列識別符號。

【0009】本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包括 HCVR，所述 HCVR 包括選自表 1 中所列出之 HCVR 胺基酸序列中之任一者的胺基酸序列或與其具有至少 90%、至少 95%、至少 98% 或至少 99% 序列一致性的大體上相似序列。

【0010】本發明亦提供抗體或其抗原結合片段，其包括 LCVR，所述 LCVR 包括選自表 1 中所列出之 LCVR 胺基酸序列中之任一者的胺基酸序列或與其具有至少 90%、至少 95%、至少 98% 或至少 99% 序列一致性的大體上相似序列。

【0011】本發明亦提供抗體或其抗原結合片段，其包括 HCVR 及 LCVR 胺基酸序列對（HCVR/LCVR），所述胺基酸序列對包括表 1 中所列

出之 HCVR 胺基酸序列中之任一者及與其配對的表 1 中所列出之 LCVR 胺基酸序列中之任一者。根據某些實施例，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包括表 1 中所列出之例示性抗 CTLA-4 抗體中之任一者內所含的 HCVR/LCVR 胺基酸序列對。在某些實施例中，HCVR/LCVR 胺基酸序列對選自由以下組成之群：SEQ ID NO: 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/298、314/322、330/338、346/354、362/370、378/386、394/402、410/418、426/434、442/450、458/466、474/482 及 490/498。在某些實施例中，HCVR/LCVR 胺基酸序列對選自 SEQ ID NO: 194/202（例如 H1H19303P）或 290/298（例如 H1H19319P2）中之一者。在某些實施例中，本發明提供抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段，其包括 HCVR 及 LCVR，所述 HCVR 包括表 1 中所列出之具有至多十個胺基酸取代的胺基酸序列，且所述 LCVR 包括表 1 中所列出之具有至多十個胺基酸取代的胺基酸序列。舉例而言，本發明提供抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段，其包括 HCVR 及 LCVR，所述 HCVR 包括 SEQ ID NO: 194 之具有至多十個胺基酸取代的胺基酸序列，且所述 LCVR 包括 SEQ ID NO: 202 之具有至多十個胺基酸取代的胺基酸序列。在另一例示性實施例中，本發明提供抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段，其包括 HCVR 及 LCVR，所述 HCVR 包括 SEQ ID NO: 194 之具有至少一個胺基酸取代的胺基酸序列，且所述 LCVR 包括 SEQ ID NO: 202 之具有至少一個胺基酸取代的胺基酸序列。

【0012】本發明亦提供抗體或其抗原結合片段，其包括重鏈 CDR1（HCDR1），所述重鏈 CDR1 包括選自表 1 中所列出之 HCDR1 胺基酸序列中之任一者的胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98% 或至少 99% 序列一致性的大體上相似序列。

【0013】 本發明亦提供抗體或其抗原結合片段，其包括重鏈 CDR2 (HCDR2)，所述重鏈 CDR2 包括選自表 1 中所列出之 HCDR2 胺基酸序列中之任一者的胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。

【0014】 本發明亦提供抗體或其抗原結合片段，其包括重鏈 CDR3 (HCDR3)，所述重鏈 CDR3 包括選自表 1 中所列出之 HCDR3 胺基酸序列中之任一者的胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。

【0015】 本發明亦提供抗體或其抗原結合片段，其包括輕鏈 CDR1 (LCDR1)，所述輕鏈 CDR1 包括選自表 1 中所列出之 LCDR1 胺基酸序列中之任一者的胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。

【0016】 本發明亦提供抗體或其抗原結合片段，其包括輕鏈 CDR2 (LCDR2)，所述輕鏈 CDR2 包括選自表 1 中所列出之 LCDR2 胺基酸序列中之任一者的胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。

【0017】 本發明亦提供抗體或其抗原結合片段，其包括輕鏈 CDR3 (LCDR3)，所述輕鏈 CDR3 包括選自表 1 中所列出之 LCDR3 胺基酸序列中之任一者的胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。

【0018】 本發明亦提供抗體或其抗原結合片段，其包括 HCDR3 及 LCDR3 胺基酸序列對 (HCDR3/LCDR3)，所述胺基酸序列對包括表 1 中所列出之 HCDR3 胺基酸序列中之任一者及與其配對的表 1 中所列出之 LCDR3 胺基酸序列中之任一者。根據某些實施例，本發明提供抗體或其抗

原結合片段，其包括表 1 中所列出之例示性抗 CTLA-4 抗體中之任一者內所含的 HCDR3/LCDR3 胺基酸序列對。在某些實施例中，HCDR3/LCDR3 胺基酸序列對選自由 SEQ ID NO: 200/208（例如 H1H19303P）及 296/304（例如 H1H19319P2）組成之群。

【0019】本發明亦提供抗體或其抗原結合片段，其包括 HCVR 及 LCVR，所述 HCVR 包括：HCDR1，其包括與表 1 中所列出之胺基酸序列相差 1 個胺基酸之胺基酸序列；HCDR2，其包括與表 1 中所列出之胺基酸序列相差 1 個胺基酸之胺基酸序列；及 HCDR3，其包括與表 1 中所列出之胺基酸序列相差 1 個胺基酸之胺基酸序列。在某些實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包括 HCVR 及 LCVR，所述 LCVR 包括：LCDR1，其包括與表 1 中所列出之胺基酸序列相差 1 個胺基酸之胺基酸序列；LCDR2，其包括與表 1 中所列出之胺基酸序列相差 1 個胺基酸之胺基酸序列；及 LCDR3，其包括與表 1 中所列出之胺基酸序列相差 1 個胺基酸之胺基酸序列。舉例而言，本發明提供抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段，其包括 HCVR 及 LCVR，所述 HCVR 包括：HCDR1，其包括 SEQ ID NO: 196 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 196 相差 1 個胺基酸之胺基酸序列；HCDR2，其包括 SEQ ID NO: 198 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 198 相差 1 個胺基酸之胺基酸序列；及 HCDR3，其包括 SEQ ID NO: 200 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 200 相差 1 個胺基酸之胺基酸序列。在另一例示性實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包括 HCVR 及 LCVR，所述 LCVR 包括：LCDR1，其包括 SEQ ID NO: 204 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 204 相差 1 個胺基酸之胺基酸序列；LCDR2，其包括 SEQ ID NO: 206 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 206 相差 1 個胺基酸之胺基酸序列；及 LCDR3，其包括 SEQ ID NO: 208 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 208 相差 1 個胺基酸之胺

基酸序列。

【0020】本發明亦提供抗體或其抗原結合片段，其包括表 1 中所列出之例示性抗 CTLA-4 抗體中之任一者內所含的一組六個 CDR（亦即 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3）。在某些實施例中，HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 胺基酸序列組選自由 SEQ ID NO: 196-198-200-204-206-208（例如 H1H19303P）及 292-294-296-300-302-304（例如 H1H19319P2）組成之群。

【0021】在相關實施例中，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包括如由表 1 中所列出之例示性抗 CTLA-4 抗體中之任一者所定義的 HCVR/LCVR 胺基酸序列對內所含的一組六個 CDR（亦即 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3）。舉例而言，本發明包括抗體或其抗原結合片段，其包括選自由 SEQ ID NO: 194/202（例如 H1H19303P）及 290/298（例如 H1H19319P2）組成之群的 HCVR/LCVR 胺基酸序列對內所含的 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 胺基酸序列組。鑑別 HCVR 及 LCVR 胺基酸序列內之 CDR 的方法及技術為此項技術中所熟知的且可用以鑑別本文所揭示之指定 HCVR 及/或 LCVR 胺基酸序列內的 CDR。可用於鑑別 CDR 之邊界的例示性公約包含例如 Kabat 定義、Chothia 定義及 AbM 定義。一般而言，Kabat 定義係基於序列變異性，Chothia 定義係基於結構環區域之位置，且 AbM 定義為 Kabat 與 Chothia 方法之間的折中方案。參見例如 Kabat, 「Sequences of Proteins of Immunological Interest」, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)；Al-Lazikani 等人, *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997)；及 Martin 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:9268-9272 (1989)。公共資料庫亦可用於鑑別抗體內之 CDR 序列。

【0022】本發明包含具有經修飾糖基化模式之抗 CTLA-4 抗體。在一

些實施例中，用以移除不合需要之糖基化位點的修飾係有用的，或在寡醣鏈上不存在海藻糖部分的抗體，例如用以增加抗體依賴性細胞的細胞毒性（antibody dependent cellular cytotoxicity，ADCC）功能（參見 Shield 等人 (2002) JBC 277:26733）。在其他應用中，可進行半乳糖基化修飾以便修飾補體依賴性細胞毒性（complement dependent cytotoxicity，CDC）。

【0023】本發明包含包括 Fc 域之抗 CTLA-4 抗體，其中 Fc 域包括如本文其他地方所述之 IgG1 或 IgG4 同型。

【0024】本發明亦提供與包括 HCVR 之 CDR 及 LCVR 之 CDR 的抗體或其抗原結合片段競爭與 CTLA-4 特異性結合的抗體及其抗原結合片段，其中 HCVR 及 LCVR 各自具有選自表 1 中所列出之 HCVR 及 LCVR 序列的胺基酸序列。

【0025】本發明亦提供阻斷 CTLA-4 與其天然配體（B7-1/CD80 及 B7-2/CD86）結合的經分離抗體及其抗原結合片段。在一些實施例中，阻斷 CTLA-4 結合之抗體或其抗原結合片段可以與 CTLA-4 上與 B7-1/CD80 及/或 B7-2/CD86 相同的抗原決定基結合或可以與 CTLA-4 上與 B7-1/CD80 及/或 B7-2/CD86 不同的抗原決定基結合。

【0026】本發明亦提供與來自人類或其他物種之 CTLA-4 特異性結合的抗體及其抗原結合片段。在某些實施例中，抗體可以與人類 CTLA-4 及/或猴 CTLA-4 結合。

【0027】本發明亦提供與包括 HCVR 之 CDR 及 LCVR 之 CDR 的參考抗體或其抗原結合片段交叉競爭與 CTLA-4 結合的抗體及其抗原結合片段，其中 HCVR 及 LCVR 各自具有選自表 1 中所列出之 HCVR 及 LCVR 序列的胺基酸序列。

【0028】本發明亦提供與包括 HCVR 之 CDR 及 LCVR 之 CDR 的參考

抗體或其抗原結合片段結合於同一個抗原決定基的抗體及其抗原結合片段，其中 HCVR 及 LCVR 各自具有選自表 1 中所列出之 HCVR 及 LCVR 序列的胺基酸序列。在某些實施例中，本發明提供與包括 HCVR 之 CDR 及 LCVR 之 CDR 的參考抗體或其抗原結合片段結合於同一個抗原決定基的抗體及其抗原結合片段，其中 HCVR/LCVR 胺基酸序列對具有 SEQ ID NO: 194/202。

【0029】本發明亦包含與人類 CTLA-4 之細胞外域內所含之一或多個胺基酸相互作用的抗 CTLA-4 抗體。

【0030】在一個實施例中，本發明提供具有以下特徵中之一或多者的重組人類單株抗體或抗原結合片段：(a) 與人類 CTLA-4 及/或食蟹獼猴 CTLA-4 特異性結合；(b) 阻斷 CTLA-4 與 CD80 及/或 CD86 之結合；(c) 阻斷 CTLA-4 誘導之 T 細胞下調且拯救 T 細胞信號傳導；及 (d) 抑止腫瘤生長且增加具有癌症之個體的存活期。

【0031】在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段可以促效劑方式與 CTLA-4 特異性結合，亦即其可以增強或刺激 CTLA-4 結合及/或活性；在其他實施例中，抗體可以拮抗劑方式與 CTLA-4 特異性結合，亦即其可以阻斷 CTLA-4 與其配體結合。

【0032】在某些實施例中，本發明之抗體或抗原結合片段為雙特異性的，其包括與 CTLA-4 之第一結合特異性及對第二目標抗原決定基之第二結合特異性。第二目標抗原決定基可為 CTLA-4 上或不同蛋白質上的另一抗原決定基。在某些實施例中，第二目標抗原決定基可在不同細胞上，包括不同 T 細胞、B 細胞、腫瘤細胞或病毒感染細胞。

【0033】在第二態樣中，本發明提供編碼抗 CTLA-4 抗體或其部分之核酸分子。舉例而言，本發明提供編碼表 1 中所列出之 HCVR 胺基酸序列

中之任一者的核酸分子；在某些實施例中，核酸分子包括選自表 2 中所列出之 HCVR 核酸序列中之任一者的多核苷酸序列或與其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。

【0034】 本發明亦提供編碼表 1 中所列出之 LCVR 胺基酸序列中之任一者的核酸分子；在某些實施例中，核酸分子包括選自表 2 中所列出之 LCVR 核酸序列中之任一者的多核苷酸序列或與其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。

【0035】 本發明亦提供編碼表 1 中所列出之 HCDR1 胺基酸序列中之任一者的核酸分子；在某些實施例中，核酸分子包括選自表 2 中所列出之 HCDR1 核酸序列中之任一者的多核苷酸序列或與其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。

【0036】 本發明亦提供編碼表 1 中所列出之 HCDR2 胺基酸序列中之任一者的核酸分子；在某些實施例中，核酸分子包括選自表 2 中所列出之 HCDR2 核酸序列中之任一者的多核苷酸序列或與其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。

【0037】 本發明亦提供編碼表 1 中所列出之 HCDR3 胺基酸序列中之任一者的核酸分子；在某些實施例中，核酸分子包括選自表 2 中所列出之 HCDR3 核酸序列中之任一者的多核苷酸序列或與其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。

【0038】 本發明亦提供編碼表 1 中所列出之 LCDR1 胺基酸序列中之任一者的核酸分子；在某些實施例中，核酸分子包括選自表 2 中所列出之 LCDR1 核酸序列中之任一者的多核苷酸序列或與其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。

【0039】 本發明亦提供編碼表 1 中所列出之 LCDR2 胺基酸序列中之

任一者的核酸分子；在某些實施例中，核酸分子包括選自表 2 中所列出之 LCDR2 核酸序列中之任一者的多核苷酸序列或與其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。

【0040】本發明亦提供編碼表 1 中所列出之 LCDR3 胺基酸序列中之任一者的核酸分子；在某些實施例中，核酸分子包括選自表 2 中所列出之 LCDR3 核酸序列中之任一者的多核苷酸序列或與其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。

【0041】本發明亦提供編碼 HCVR 之核酸分子，其中 HCVR 包括一組三個 CDR(亦即 HCDR1-HCDR2-HCDR3)，其中 HCDR1-HCDR2-HCDR3 胺基酸序列組如由表 1 中所列出之例示性抗 CTLA-4 抗體中之任一者所定義。

【0042】本發明亦提供編碼 LCVR 之核酸分子，其中 LCVR 包括一組三個 CDR（亦即 LCDR1-LCDR2-LCDR3），其中 LCDR1-LCDR2-LCDR3 胺基酸序列組如由表 1 中所列出之例示性抗 CTLA-4 抗體中之任一者所定義。

【0043】本發明亦提供編碼 HCVR 及 LCVR 兩者之核酸分子，其中 HCVR 包括表 1 中所列出之 HCVR 胺基酸序列中之任一者的胺基酸序列，且其中 LCVR 包括表 1 中所列出之 LCVR 胺基酸序列中之任一者的胺基酸序列。在某些實施例中，核酸分子包括選自表 2 中所列出之 HCVR 核酸序列中之任一者的多核苷酸序列或與其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列，及選自表 2 中所列出之 LCVR 核酸序列中之任一者的多核苷酸序列或與其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性的大體上相似序列。在某些實施例中，根據本發明之此態樣，核酸分子編碼 HCVR 及 LCVR，其中 HCVR 及 LCVR 均

衍生自表 1 中所列出之同一個抗 CTLA-4 抗體。

【0044】 在一相關態樣中，本發明提供重組表現載體，其能夠表現包括抗 CTLA-4 抗體之重鏈或輕鏈可變區之多肽。舉例而言，本發明包含重組表現載體，其包括以上所提及之核酸分子中之任一者，亦即編碼如表 1 中所闡述之 HCVR、LCVR 及/或 CDR 序列中之任一者的核酸分子。本發明亦提供重組表現載體，其能夠表現包括抗 CTLA-4 抗體之重鏈或輕鏈之多肽。舉例而言，本發明包含重組表現載體，其包括以上所提及之核酸分子中之任一者，亦即編碼如表 1 中所闡述之重鏈或輕鏈序列中之任一者的核酸分子。在本發明之範疇內亦包含用以引入此類載體之宿主細胞，以及藉由在允許產生抗體或抗體片段之條件下培養宿主細胞及回收如此產生之抗體及抗體片段來產生抗體或其部分的方法。

【0045】 在第三態樣中，本發明提供一種醫藥組合物，其包括特異性結合 CTLA-4 之重組人類抗體或其片段及醫藥學上可接受之載劑。在一相關態樣中，本發明之特徵在於一種組合物，其為抗 CTLA-4 抗體與第二治療劑之組合。在一個實施例中，第二治療劑為任何宜與抗 CTLA-4 抗體組合之藥劑。宜與抗 CTLA-4 抗體組合之例示性藥劑包含但不限於其他結合及/或調節 CTLA-4 信號傳導之藥劑（包含其他抗體或其抗原結合片段等）及/或不直接結合 CTLA-4，但是仍然調節免疫細胞活化的藥劑。涉及本發明之抗 CTLA-4 抗體的其他組合療法及共同調配物揭示於本文其他地方中。

【0046】 在第四態樣中，本發明提供用以調節個體中之免疫反應的方法，所述方法包括向有需要之個體投與治療有效量之本發明之抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段。在某些實施例中，本發明提供用以增強個體中之免疫反應的方法，所述方法包括向個體投與有效量之本發明之結合 CTLA-4 的抗體或其片段。在一個實施例中，本發明提供一種用以刺激或增強個體

中之 T 細胞活化的方法。在某些實施例中，本發明提供用以拯救 T 細胞活性之方法，所述方法包括使 T 細胞與有效量之本發明抗體接觸，使得 T 細胞活性得到拯救。在一個實施例中，本發明提供用以抑制個體中之調節性 T (Treg) 細胞之方法，所述方法包括向有需要之個體投與治療有效量之本發明之抗體或其抗原結合片段。在某些實施例中，有需要之個體可能罹患諸如癌症或病毒感染之疾病或病症。在某些實施例中，本發明提供用以拯救 CTLA-4 介導之 T 細胞活性抑制的方法，所述方法包括使 T 細胞與有效量之本發明抗體接觸。

【0047】 在第五態樣中，本發明提供使用本發明之抗 CTLA-4 抗體或抗體之抗原結合部分來治療個體之諸如癌症或病毒感染之疾病或病症的治療方法，其中治療方法包括向有需要之個體投與治療有效量之包括本發明之抗體或抗體片段的醫藥組合物。所治療之病症為任何可藉由刺激或抑制 CTLA-4 活性或信號傳導而得到改良、改善、抑制或預防的疾病或病況。在某些實施例中，本發明之抗體或其抗原結合片段與第二治療劑組合向有需要之個體投與。第二治療劑可選自由以下組成之群：針對另一 T 細胞共抑制劑之抗體、針對腫瘤細胞抗原之抗體、針對 T 細胞受體之抗體、針對病毒感染細胞上之抗原決定基之抗體、細胞毒性劑、抗癌藥、抗病毒藥、消炎藥（例如皮質類固醇）、化學治療劑、放射線療法、手術、免疫抑制劑及此項技術中已知之任何其他藥物或療法。在某些實施例中，若可能出現與本發明之抗體或其抗原結合片段相關的副作用，則第二治療劑可為有助於抵消或減小任何可能的此類副作用的藥劑。

【0048】 在某些實施例中，本發明提供抑止腫瘤生長之方法。舉例而言，本發明係用於抑止個體中因為原發性腫瘤或轉移性腫瘤而引起之腫瘤生長。在某些實施例中，本發明提供用以提高具有癌症之個體的存活期（例

如無進展存活期或總存活期)的方法。癌症之實例包含但不限於原發性及/或再發性癌症，包含血癌(例如血液科惡性疾病，諸如淋巴瘤、骨髓瘤或白血病)、腦癌(例如多形性神經膠質母細胞瘤)、肺癌(例如非小細胞肺癌，包含晚期或轉移性 NSCLC)、頭頸部鱗狀細胞癌、肝細胞癌、腎細胞癌、黑色素瘤、間皮瘤、卵巢癌、膀胱癌、乳癌、骨癌、結腸直腸癌、腎癌、食道癌、肝癌、胃癌、胰臟癌、皮膚癌、子宮頸癌、腸癌、前列腺癌及結腸癌。在某些實施例中，本發明提供用於抑制或抑止已建立的腫瘤之生長的方法。方法包括向有需要之個體投與包括治療有效量之本發明之抗 CTLA-4 抗體的醫藥組合物。在某些實施例中，抗體與選自由以下組成之群的第二治療劑組合投與：計劃性死亡-1 (PD-1) 抑制劑(例如抗 PD-1 抗體，諸如納武單抗(nivolumab)、派姆單抗(pembrolizumab)或 REGN2810)、計劃性死亡配體 1 (PD-L1) 抑制劑(例如抗 PD-L1 抗體，諸如阿特珠單抗(atezolizumab)、阿瓦魯單抗(avalumab)或德瓦魯單抗(durvalumab))、血管內皮生長因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)拮抗劑(例如阿柏西普(aflibercept)、貝伐單抗(bevacizumab))、血管生成素-2(angiotensin-2, Ang2)抑制劑(例如抗 Ang2 抗體，諸如內斯瓦庫單抗(nesvacumab))、淋巴細胞活化基因 3 (LAG3) 抑制劑、CD20×CD3 雙特異性抗體(例如 REGN1979)、細胞毒素、化學治療劑、癌症疫苗、手術及放射線療法。可與本發明之抗 CTLA-4 抗體組合使用來治療癌症的額外療法/治療劑之額外實例描述於本文其他地方中。

【0049】抗體或其片段可以皮下、靜脈內、皮內、腹膜內、經口、肌肉內或顱內投與。在某些實施例中，抗體或其片段局部投與至腫瘤中(瘤周(peritumorally)或瘤內(intra-tumorally))。抗體或其片段可以每公斤個體體重約 0.1 mg 至每公斤體重約 100 mg 之劑量投與。在某些實施例中，

抗體以約 50 mg 至約 1000 mg 之量向有需要之個體投與。在一些實施例中，抗體以約 25 mg 至約 600 mg 之劑量投與。在一些實施例中，抗體以約 50 mg 至約 1200 mg 之劑量投與。

【0050】 本發明亦包含本發明之抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段之用途，其係用於製造用於治療諸如癌症之將得益於 CTLA-4 結合及/或信號傳導之阻斷的疾病或病症的藥物。

【0051】 本發明進一步包含抗體及抗原結合片段或包括其之醫藥組合物之用途，其係用於 (i) 製造用於治療可藉由拮抗 CTLA-4 來治療之疾病或病症（例如癌症）的藥物，及/或 (ii) 治療可藉由拮抗 CTLA-4 來治療之疾病或病症（例如癌症）。

【0052】 在另一態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之非小細胞肺癌（包含晚期或轉移性 NSCLC）的方法，所述方法包括向個體投與抗 CTLA-4 抗體及抗 PD-1 抗體。在一些情況下，抗 CTLA-4 抗體包括：包括 SEQ ID NO: 194 之胺基酸序列的 HCVR 之 CDR 及包括 SEQ ID NO: 202 之胺基酸序列的 LCVR 之 CDR。在一些情況下，抗 CTLA-4 抗體包括 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 域，其分別選自由 SEQ ID NO: 196-198-200-204-206-208 組成之群。在一些情況下，抗 CTLA-4 抗體包括：包括 SEQ ID NO: 194 之胺基酸序列的 HCVR 及包括 SEQ ID NO: 202 之胺基酸序列的 LCVR。在一些情況下，抗 CTLA-4 抗體包括人類 IgG1 重鏈恆定區。在一些實施例中，抗 PD-1 抗體為測米匹單抗（cemiplimab）。本發明亦包含此類抗體之用途，其係用於製造用於治療癌症（例如非小細胞肺癌，包含晚期或轉移性 NSCLC）之藥物。

【0053】 其他實施例將從回顧隨後的實施方式變得顯而易見。

【圖式簡單說明】

【0054】圖 1 顯示實例 7 中之研究 (A) 中所述之實驗的各處理組在多個腫瘤植入後時間點的平均腫瘤體積 ($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。CTLA-4^{hum/hum} 基因嵌入 (knock-in) 小鼠在第 0 天皮下植入 MC38.Ova 細胞 (10^6 個細胞/小鼠) 且分成四個處理組 (9 隻小鼠/組)。在第 3 天、第 7 天、第 10 天、第 14 天及第 17 天，向小鼠腹膜內 (intraperitoneally, IP) 投與 10 mg/kg 三種主要抗人類 CTLA-4 抗體 (H1H19273P 或 H1H19303P 或 H1H19319) 中之任一者或 10 mg/kg hIgG1 同型對照。持續 37 天每週用卡尺量測兩次，監測腫瘤體積。處理日由箭頭指出。

圖 2 顯示在實例 7 中之研究 (A) 中所述之實驗第 24 天的個別腫瘤體積。當所有組中之所有動物皆存活時，第 24 天為研究中之最後一個時間點。統計顯著性藉由單因子變異數分析 (one-way ANOVA) 與鄧尼特多重比較事後檢定 (Dunnett's multiple comparisons post-test) 來確定 (**** $p < 0.0001$)。

圖 3 顯示實例 7 中之研究 (A) 中所述之實驗的卡本-麥爾存活曲線 (Kaplan-Meier survival curve)。

圖 4 顯示實例 7 中之研究 (B) 中所述之實驗的各處理組在多個腫瘤植入後時間點的平均腫瘤體積 ($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。在第 3 天、第 6 天、第 9 天、第 13 天及第 16 天，向 CTLA-4^{hum/hum} 基因嵌入小鼠腹膜內投與抗 CTLA-4 抗體 H1H19303P 或 hIgG1 同型對照。持續 37 天每週用卡尺量測兩次，監測腫瘤體積。處理日由箭頭指出。

圖 5 顯示在實例 7 中之研究 (B) 中所述之實驗的第 20 天的個別腫瘤體積。統計顯著性藉由單因子變異數分析與鄧尼特多重比較事後檢定 (**** $p < 0.0001$) 來確定。

圖 6 顯示實例 7 中之研究 (B) 中所述之實驗的卡本-麥爾存活曲線。

圖 7 顯示血清中之總 H1H19303P 及 hIgG1 同型對照抗體之濃度，如實例 7 中之研究 (B) 中所述。

圖 8 顯示針對 H1H19303P 之小鼠抗人類抗體 (anti-human antibody, MAHA) (■) 或同型對照 (●) 之濃度，如實例 7 中之研究 (B) 中所述。

圖 9 顯示實例 8 中所述之實驗的各處理組在多個腫瘤植入後時間點的平均腫瘤體積 ($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)。處理日由箭頭指出。

圖 10 顯示開始處理後第 10 天的個別腫瘤體積，如實例 8 中所述。

圖 11 顯示實例 8 中所述之實驗的卡本-麥爾存活曲線。

圖 12 及圖 13 顯示 H1H19303P (亦稱為 REGN4659) 延緩已建立的腫瘤在 CTLA-4^{hum/hum} 小鼠中之生長。將 MC38.Ova 細胞 (5×10^5 個細胞/小鼠) 皮下移植至小鼠側腹中，在第 10 天當腫瘤體積達到 100 mm^3 時，將小鼠隨機分至處理組中，且在第 10 天、第 13 天、第 17 天投與 REGN4659 (25 mg/kg、10 mg/kg, n=10) 或同型對照抗體 (25 mg/kg, n=10) 且監測腫瘤體積直至第 27 天。圖 12 顯示各處理組之平均腫瘤生長曲線。圖 13 顯示各處理組之個別腫瘤體積，如在研究中之所有動物皆存活時在最後一個時間點第 21 天所量測。

圖 14 顯示經 hIgG1 對照抗體處理之攜帶腫瘤的 CTLA-4^{hum/hum} 小鼠中之瘤內及脾 Treg 及 T 效應細胞上的總 (表面及細胞內) 人類 CTLA-4 表現之平均螢光強度 (mean fluorescent intensity, MFI)。脾 CD8^+ 及 CD4^+ 效應細胞上之 CTLA-4 之表現不能從同型對照染色 (MFI=0) 區分且未示出。

【實施方式】

【0055】在描述本發明方法之前，應理解，本發明不限於所描述之特

定方法及實驗條件，因為此類方法及條件可變化。亦應理解，本文中所用之術語僅出於描述特定實施例之目的，並不意欲為限制性的，因為本發明之範疇將僅由所附申請專利範圍限制。

【0056】 除非另外規定，否則本文中所用之所有技術及科學術語具有與本發明所屬領域之普通技術人員通常所理解的相同的含義。雖然可在本發明之實踐或測試中使用類似於或等同於本文所述之方法及材料的任何方法及材料，但現在描述較佳的方法及材料。本文中所提及之所有公開案均以全文引用之方式併入本文中。

【0057】 術語「CTLA-4」係指細胞毒性 T 淋巴細胞相關蛋白 4，一種免疫檢查點受體或 T 細胞共抑制劑，亦稱為 CD152。全長人類 CTLA-4 之胺基酸序列以 SEQ ID NO: 505（寄存編號 NP_005205.2）形式提供。術語「CTLA-4」包含重組 CTLA-4 或其片段。所述術語亦涵蓋例如與組胺酸標籤、小鼠或人類 Fc、信號序列或 CD300a(aa 181-299;寄存編號 NP_009192.2) 之跨膜域及細胞質域偶聯的 CTLA-4 或其片段。舉例而言，所述術語包含實例中所論述之序列，例如包括全長 CTLA-4 之 C 端的 myc-myc-聚組胺酸標籤或包括全長 CTLA-4 之 C 端的小鼠 Fc (mIgG2a)。除非明確說明來自非人類物種，否則術語「CTLA-4」意謂人類 CTLA-4。

【0058】 CTLA-4 為免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig) 超家族之成員及 CD28 之同源物，但對配體 CD80 及 CD86 具有較大的結合親和力。CTLA-4 為在活化 T 細胞及調節性 T 細胞上表現的 223 個胺基酸的 I 型跨膜蛋白，其含有 V 域、跨膜域及細胞質尾區。CTLA-4 受體與存在於抗原呈現細胞 (APC) 上之 B7-1/CD80 及 B7-2/CD86 配體結合。

【0059】 如本文所用之術語「T 細胞共抑制劑」係指經由 T 細胞活化或抑止來調節免疫反應的配體及/或受體。術語「T 細胞共抑制劑」亦稱為 T

細胞共信號傳導分子，包含但不限於計劃性死亡-1（PD-1）、淋巴細胞活化基因 3（LAG3）、B 及 T 淋巴細胞弱化子（B and T lymphocyte attenuator，BTLA）、CD-28、2B4、LY108、T 細胞免疫球蛋白及黏蛋白 3（T cell immunoglobulin and mucin 3，TIM3）、T 細胞免疫受體與免疫球蛋白及 ITIM（TIGIT；亦稱為 VSIG9）、白血球相關免疫球蛋白樣受體 1（leucocyte associated immunoglobulin-like receptor 1，LAIR1；亦稱為 CD305）、誘導性 T 細胞共刺激因子（inducible T cell costimulator，ICOS；亦稱為 CD278）、T 細胞活化之 V 域 Ig 抑制因子（V-domain Ig suppressor of T cell activation，VISTA）及 CD160。

【0060】如本文所用之術語「抗體」意欲指包括四個多肽鏈，即藉由雙硫鍵相互連接之兩個重（H）鏈及兩個輕（L）鏈的免疫球蛋白分子（亦即「完整抗體分子」），以及其多聚體（例如 IgM）或其抗原結合片段。各重鏈包括重鏈可變區（「HCVR」或「V_H」）及重鏈恆定區（包括域 C_{H1}、C_{H2} 及 C_{H3}）。各輕鏈包括輕鏈可變區（「LCVR」或「V_L」及輕鏈恆定區（C_L）。V_H 及 V_L 區可進一步再分為高變區，高變區稱為互補決定區（complementarity determining region，CDR），其中穿插有稱為構架區（framework region，FR）之較保守區。各 V_H 及 V_L 係由從胺基端至羧基端按以下順序排列的三個 CDR 及四個 FR 構成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本發明之某些實施例中，抗體（或其抗原結合片段）之 FR 可以與人類生殖系序列相同，或可以經天然或人工修飾。胺基酸共同序列可基於兩個或更多個 CDR 之並列分析（side-by-side analysis）定義。

【0061】一或多個 CDR 殘基之取代或一或多個 CDR 之省略亦為可能的。抗體在科學文獻中已有描述，其中為了結合，可省去一個或兩個 CDR。Padlan 等人 (1995 FASEB J. 9:133-139) 基於公開的晶體結構分析了抗體與其

抗原之間的接觸區，且得出的結論為：CDR 殘基中僅約五分之一至三分之一真正接觸抗原。Padlan 亦發現一個或兩個 CDR 不含與抗原接觸之胺基酸的多個抗體（另外參見 Vajdos 等人 2002 J Mol Biol 320:415-428）。

【0062】不接觸抗原之 CDR 殘基可基於先前的研究（例如常常不需要 CDRH2 中之殘基 H60-H65）從位於 Chothia CDR 之外的 Kabat CDR 之區域藉由分子模型化及/或憑經驗鑑別。若某個 CDR 或其殘基省略，則其通常經佔據另一個人類抗體序列或所述序列之共同序列中之對應位置的胺基酸取代。CDR 內之取代位置及待取代之胺基酸亦可以憑經驗選擇。經驗取代可為保守取代或非保守取代。

【0063】相比於相應生殖系序列，本文所揭示之完全人類抗 CTLA-4 單株抗體可在重鏈及輕鏈可變域之構架區及/或 CDR 區中包括一或多個胺基酸取代、插入及/或缺失。此類突變可容易地藉由比較本文所揭示之胺基酸序列與可自例如公共抗體序列資料庫獲得的生殖系序列而確定。本發明包含衍生自本文所揭示之胺基酸序列中之任一者的抗體及其抗原結合片段，其中一或多個構架區及/或 CDR 區內之一或多個胺基酸突變為衍生出抗體的生殖系序列之相應殘基，或突變為另一個人類生殖系序列之相應殘基，或突變為相應生殖系殘基之保守性胺基酸取代（此類序列改變在本文中統稱為「生殖系突變」）。本領域中一般熟習此項技術者從本文所揭示之重鏈及輕鏈可變區序列開始，可容易地產生許多包括一或多個個別生殖系突變或其組合之抗體及抗原結合片段。在某些實施例中， V_H 及/或 V_L 域內之所有構架及/或 CDR 殘基全部突變回衍生出抗體之初始生殖系序列中所發現的殘基。在其他實施例中，僅某些殘基突變回初始生殖系序列，例如僅 FR1 之前 8 個胺基酸內或 FR4 之後 8 個胺基酸內所發現的突變型殘基，或僅 CDR1、CDR2 或 CDR3 內所發現的突變型殘基。在其他實施例中，構

架及/或 CDR 殘基中之一或多者突變為不同生殖系序列(亦即不同於最初衍生出抗體之生殖系序列的生殖系序列)之相應殘基。此外,本發明抗體可在構架區及/或 CDR 區內含有兩個或更多個生殖系突變之任何組合,例如其中某些個別殘基突變為特定生殖系序列之對應殘基,而不同於初始生殖系序列之某些其他殘基維持不變或突變為不同生殖系序列之對應殘基。一旦獲得,即可針對一或多種所期望的特性容易地測試含有一或多個生殖系突變之抗體及抗原結合片段,所述特性諸如改良的結合特異性、增加的結合親和力、改良或增強的拮抗或促效生物特性(視具體情況而定)、減小的免疫原性等。本發明內涵蓋以此一般方式獲得的抗體及抗原結合片段。

【0064】本發明亦包含完全人類抗 CTLA-4 單株抗體,其包括本文所揭示之 HCVR、LCVR 及/或 CDR 胺基酸序列中之任一者的具有一或多個保守取代的變異體。舉例而言,本發明包含抗 CTLA-4 抗體,其具有相對於本文所揭示之 HCVR、LCVR 及/或 CDR 胺基酸序列中之任一者而言,含有例如 10 個或更少個、8 個或更少個、6 個或更少個、4 個或更少個等保守性胺基酸取代的 HCVR、LCVR 及/或 CDR 胺基酸序列。

【0065】如本文所用之術語「人類抗體」及「完全人類抗體」意欲包含具有衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區的抗體。本發明之人類 mAb 可以例如在 CDR 中且尤其在 CDR3 中包含不是由人類生殖系免疫球蛋白序列編碼的胺基酸殘基(例如,藉由活體外隨機或位點特異性突變誘發或藉由活體內體細胞突變引入的突變)。然而,如本文所用之術語「人類抗體」及「完全人類抗體」不意欲包含衍生自另一哺乳動物物種(例如小鼠)之生殖系的 CDR 序列移植至人類 FR 序列上的 mAb。所述術語包含在非人類哺乳動物中或在非人類哺乳動物之細胞中以重組方式產生的抗體。所述術語不意欲包含分離自或產生於人類個體的抗體。

【0066】如本文所用之術語「重組」係指本發明之藉由此項技術中已知為重組 DNA 技術之技術或方法產生、表現、分離或獲得的抗體或其抗原結合片段，其包含例如 DNA 剪接及基因轉殖表現。所述術語係指在非人類哺乳動物（包含基因轉殖非人類哺乳動物，例如基因轉殖小鼠）或細胞（例如 CHO 細胞）表現系統中表現或從重組組合人類抗體庫分離的抗體。

【0067】如本文所用之術語「多特異性抗原結合分子」係指雙特異性、三特異性或多特異性抗原結合分子及其抗原結合片段。多特異性抗原結合分子可以對一個目標多肽之不同抗原決定基具有特異性或可含有對超過一個目標多肽之抗原決定基具有特異性的抗原結合域。多特異性抗原結合分子可為單一多功能多肽，或其可為兩個或更多個彼此共價或非共價締合的多肽的多聚複合物。術語「多特異性抗原結合分子」包含可以與另一種功能分子、例如另一種肽或蛋白質連接或共表現的本發明抗體。舉例而言，抗體或其片段可在功能上連接（例如藉由化學偶合、基因融合（genetic fusion）、非共價締合或其他方式）至一或多個其他分子實體，諸如蛋白質或其片段，以產生具有第二結合特異性的雙特異性或多特異性抗原結合分子。根據本發明，術語「多特異性抗原結合分子」亦包含雙特異性、三特異性或多特異性抗體或其抗原結合片段。在某些實施例中，本發明抗體在功能上連結至另一個抗體或其抗原結合片段以產生具有第二結合特異性的雙特異性抗體。本發明之雙特異性及多特異性抗體描述於本文其他地方中。

【0068】術語「特異性結合」或「與……特異性結合」或類似術語意謂抗體或其抗原結合片段與抗原形成在生理條件下相對穩定的複合物。特異性結合可特徵在於至少約 1×10^{-8} M 或更小（例如，較小的 K_D 表示較緊密的結合）的平衡解離常數。判定兩個分子是否特異性結合之方法為此項技術中熟知的，且包含例如平衡透析、表面電漿子共振及類似方法。如本文

所述，已藉由表面電漿子共振，例如 BIACORE™來鑑別與 CTLA-4 特異性結合之抗體。此外，與 CTLA-4 中之一個域及一或多個額外抗原結合的多特異性抗體或與 CTLA-4 之兩個不同區域結合的雙特異性抗體仍然視為如本文所用之「特異性結合」抗體。

【0069】術語「高親和力」抗體係指如藉由表面電漿子共振，例如 BIACORE™或溶液親和力 ELISA 所量測，對 CTLA-4 具有至少 10^{-8} M、較佳 10^{-9} M、更佳 10^{-10} M、甚至更佳 10^{-11} M、甚至更佳 10^{-12} M 的結合親和力的彼等 mAb，結合親和力用 K_D 表示。

【0070】術語「減慢速率」、「Koff」或「kd」意謂如藉由表面電漿子共振、例如 BIACORE™所測定，抗體以 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 或更小、較佳 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 或更小之速率常數與 CTLA-4 解離。

【0071】如本文所用之術語抗體之「抗原結合部分」、抗體之「抗原結合片段」及類似術語包含特異性結合抗原以形成複合物的任何天然存在的、可以酶方式獲得的、合成的或經基因工程改造的多肽或糖蛋白。如本文所用之術語抗體之「抗原結合片段」或「抗體片段」係指抗體之保留與 CTLA-4 之結合能力之一或多個片段。

【0072】在特定實施例中，本發明之抗體或抗體片段可以結合於諸如配體或治療部分（「免疫結合物」）之部分，諸如細胞毒素、第二抗 CTLA-4 抗體、針對腫瘤特異性抗原之抗體、抗癌藥或任何其他適用於治療包含癌症或病毒感染、包含慢性病毒感染之疾病或病況的治療部分。

【0073】如本文所用之「經分離抗體」意欲指大體上不含其他具有不同抗原特異性的抗體（Ab）的抗體（例如，特異性結合 CTLA-4，大體上不含特異性結合除 CTLA-4 以外之抗原的 Ab 的經分離抗體或其片段）。

【0074】如本文所用之「阻斷抗體」或「中和抗體」（或「中和 CTLA-4

活性之抗體」或「拮抗劑抗體」)意欲指與 CTLA-4 之結合引起 CTLA-4 之至少一種生物活性之抑制的抗體。舉例而言，本發明抗體可以防止或阻斷 CTLA-4 與 CD80 及/或 CD86 結合。

【0075】如本文所用之「活化抗體」或「增強性抗體」(或「促效劑抗體」)意欲指與 CTLA-4 之結合引起增加或刺激 CTLA-4 之至少一種生物活性的抗體。舉例而言，本發明抗體可以藉由以符合配體結合(例如 CD80 或 CD86)的方式與 CTLA-4 結合來增加 CTLA-4 活性，產生 CTLA-4 細胞內信號傳導。

【0076】如本文所用之術語「表面電漿子共振」係指能夠藉由例如使用 BIACORE™ 系統 (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.) 在生物感測器矩陣內偵測蛋白質濃度之變化而實現即時生物分子相互作用之分析的光學現象。

【0077】如本文所用之術語「 K_D 」意欲指特定抗體-抗原相互作用之平衡解離常數。

【0078】術語「抗原決定基」係指與抗體分子之可變區中稱為互補位之特異性抗原結合位點相互作用的抗原決定子。單一抗原可具有超過一個抗原決定基。因此，不同抗體可與抗原上之不同區域結合且可具有不同生物作用。術語「抗原決定基」亦指抗原上 B 細胞及/或 T 細胞所響應的位點。其亦指抗原之由抗體結合的區域。抗原決定基可定義為結構性或功能性的。功能性抗原決定基通常為結構性抗原決定基之子組且具有直接有助於相互作用之親和力的彼等殘基。抗原決定基亦可為構形抗原決定基，亦即由非線性胺基酸構成。在某些實施例中，抗原決定基可以包含決定子，其為分子之化學活性表面基團，諸如胺基酸、糖側鏈、磷醯基或磺醯基；且在某些實施例中，可具有特定三維結構特徵及/或荷質比特徵。

【0079】如本文所用之術語「交叉競爭」意謂抗體或其抗原結合片段與抗原結合且抑制或阻斷另一抗體或其抗原結合片段之結合。所述術語亦包含兩個抗體之間在兩個方向上的競爭，亦即，第一抗體結合且阻斷第二抗體之結合且反之亦然。在某些實施例中，第一抗體及第二抗體可以與同一個抗原決定基結合。或者，第一抗體及第二抗體可以與不同但是重疊的抗原決定基結合，使得一個抗體之結合抑制或阻斷另一個抗體之結合，例如經由位阻。抗體之間的交叉競爭可以藉由此項技術中已知之方法量測，例如藉由即時、無標記生物層干涉分析。兩個抗體之間的交叉競爭可以表示為小於因為自身結合（self-self binding）（其中第一抗體及第二抗體為相同抗體）所導致之背景信號的第二抗體結合。2 個抗體之間的交叉競爭可以表示為例如小於基線自身背景結合（其中第一抗體及第二抗體為相同抗體）的第二抗體結合%。

【0080】術語「大體上一致性(substantial identity)」或「大體上相同」當指的是核酸或其片段時，表示當在適當核苷酸插入或缺失下與另一核酸（或其互補鏈）最佳對準時，在至少約 90%、且更佳至少約 95%、96%、97%、98%或 99%之核苷酸鹼基中存在核苷酸序列一致性，如藉由序列一致性之任何熟知演算法所量測，如下文所論述。與參考核酸分子具有大體上一致性之核酸分子在某些情況下可編碼具有與由參考核酸分子所編碼之多肽相同或大體上相似的胺基酸序列的多肽。

【0081】序列一致性可使用演算法計算，例如針對全域對準（global alignment）之 Needleman Wunsch 演算法（Needleman 及 Wunsch 1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453），或針對局域對準（local alignment）之 Smith Waterman 演算法（Smith 及 Waterman 1981, J. Mol. Biol. 147: 195-197）。另一較佳演算法由 Dufresne 等人在 2002 年在 Nature Biotechnology (第 20 卷, 第 1269-71

頁)中描述且在軟體 GenePAST (GQ Life Sciences, Inc. Boston, MA) 中使用。

【0082】如應用於多肽，術語「大體相似性」或「大體上相似」意謂兩個肽序列在諸如藉由程式 GAP 或 BESTFIT，使用預設間隙權數最佳對準時，共用至少 90% 序列一致性，甚至更佳至少 95%、98% 或 99% 序列一致性。較佳地，不相同的殘基位置的差異為保守性胺基酸取代。「保守性胺基酸取代」為胺基酸殘基經另一個具有化學特性（例如電荷或疏水性）相似之側鏈（R 基團）的胺基酸殘基取代。一般而言，保守性胺基酸取代大體上不會改變蛋白質之功能特性。在兩個或更多個胺基酸序列彼此間差異為保守取代的情況下，可上調相似性百分比或相似度以校正取代之保守性質。進行此調整之手段為本領域中熟習此項技術者所熟知的。參見例如 Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331，其以引用的方式併入本文中。具有化學特性相似之側鏈的胺基酸組之實例包含 1) 脂族側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸；2) 脂族羥基側鏈：絲胺酸及蘇胺酸；3) 含醯胺側鏈：天冬醯胺及麩醯胺酸；4) 芳族側鏈：苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸；5) 鹼性側鏈：離胺酸、精胺酸及組胺酸；6) 酸性側鏈：天冬胺酸及麩胺酸；及 7) 含硫側鏈：半胱胺酸及甲硫胺酸。較佳的保守性胺基酸取代組為：纈胺酸-白胺酸-異白胺酸、苯丙胺酸-酪胺酸、離胺酸-精胺酸、丙胺酸-纈胺酸、麩胺酸-天冬胺酸及天冬醯胺-麩醯胺酸。或者，保守性置換為在以引用之方式併入本文中之 Gonnet 等人 (1992) *Science* 256: 1443-45 中所揭示的 PAM250 對數似然矩陣中具有正值的任何改變。「適度保守」置換為在 PAM250 對數似然矩陣中具有非負值的任何改變。

【0083】多肽之序列相似性典型地使用序列分析軟體來量測。蛋白質分析軟體使用分配於各種取代、缺失及其他修飾，包含保守性胺基酸取代的相似性量度來匹配相似序列。舉例而言，GCG 軟體含有諸如 GAP 及

BESTFIT 之程式，其可在預設參數下使用以測定密切相關之多肽，諸如來自生物體之不同物種的同源多肽之間，或野生型蛋白質與其突變蛋白質之間的序列同源性或序列一致性。參見例如 6.1 版 GCG。多肽序列亦可使用 FASTA 在預設或推薦參數下比較；6.1 版 GCG 中之程式。FASTA（例如 FASTA2 及 FASTA3）提供查詢序列與搜尋序列之間的最佳重疊區域之對準及序列一致性百分比（Pearson (2000)，同前文獻）。當比較本發明序列與含有大量來自不同生物體之序列之資料庫時，另一較佳演算法為電腦程式 BLAST，尤其是 BLASTP 或 TBLASTN，使用預設參數。參見例如 Altschul 等人 (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410 及 (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402，其各者以引用的方式併入本文中。

【0084】短語「治療有效量」意謂投藥後產生所期望的作用的量。精確的量將視治療目的而定且可由本領域中熟習此項技術者使用已知技術確定（參見例如 Lloyd (1999) The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding）。

【0085】如本文所用之術語「個體」係指需要改善、預防及/或治療諸如病毒感染或癌症之疾病或病症的動物，較佳哺乳動物。所述術語包含患有或有風險患上癌症、轉移癌或病毒感染的人類個體。

【0086】如本文所用之「抗癌藥」意謂任何適用於治療或改善或抑制癌症的藥劑，包含但不限於細胞毒素及諸如以下之藥劑：抗代謝物、烷基化劑、蒽環黴素（anthracycline）、抗生素、抗有絲分裂劑、丙卡巴肼（procarbazine）、脛基脲、天冬醯胺酶、皮質類固醇、環磷醯胺（cyclophosphamide）、米托坦（mytotane）（O,P'-(DDD)）、生物製劑（例如抗體及干擾素）及放射性試劑。如本文所用之「細胞毒素或細胞毒性劑」亦指化學治療劑且意謂任何對細胞有害的藥劑。實例包含 Taxol®（太平洋

紫杉醇(paclitaxel)、替莫唑胺(temozolamide)、細胞遲緩素 B(cytochalasin B)、短桿菌素 D(gramicidin D)、溴化乙錠(ethidium bromide)、吐根素(emetine)、順鉑(cisplatin)、絲裂黴素(mitomycin)、依託泊苷(etoposide)、替尼泊苷(tenoposide)、長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinbiastine)、秋水仙鹼(coichicin)、小紅莓(doxorubicin)、道諾黴素(daunorubicin)、二羥基炭疽菌素二酮(dihydroxy anthracin dione)、米托蒽醌(mitoxantrone)、光神黴素(mithramycin)、放線菌素 D(actinomycin D)、1-去氫睪固酮、糖皮質激素、普魯卡因(procaine)、四卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛爾(propranolol)及嘌呤黴素(puromycin)及其類似物或同源物。

【0087】如本文所用之術語「抗病毒藥」係指任何用於治療、預防或改善宿主個體之病毒感染的藥物或療法。術語「抗病毒藥」包含但不限於齊多夫定(zidovudine)、拉米夫定(lamivudine)、阿巴卡韋(abacavir)、利巴韋林(ribavirin)、洛匹那韋(lopinavir)、依法韋侖(efavirenz)、考比西他(cobicistat)、田諾弗(tenofovir)、利匹韋林(rilpivirine)止痛劑及皮質類固醇。在本發明之上下文中，病毒感染包含由病毒引起的長期或慢性感染，病毒包含但不限於人類免疫缺乏病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、B 型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)、C 型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)、人類乳頭狀瘤病毒(human papilloma virus, HPV)、淋巴細胞性脈絡叢腦膜炎病毒(lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV)及猿猴免疫缺乏病毒(simian immunodeficiency virus, SIV)。

【0088】如本文所用之術語「用以增強免疫反應」係指增加諸如 T 細胞或 NK 細胞之針對腫瘤細胞或病毒感染細胞之免疫細胞的活性。在本發明之上下文中，所述術語包含阻斷 T 細胞活性之 CTLA-4 介導之抑制，或拯

救或逆轉 T 細胞之耗竭狀態。其亦包含調節性 T 細胞活性之抑制。如在本發明之上下文中所用的增強的免疫反應引起腫瘤細胞之殺死增加及/或抑制腫瘤生長。

【0089】本發明之抗體及抗原結合片段與 CTLA-4 特異性結合且增強 T 細胞活化。抗 CTLA-4 抗體可以高親和力或低親和力與 CTLA-4 結合。在某些實施例中，本發明抗體可為阻斷抗體，其中抗體可以與 CTLA-4 結合且抑制 CTLA-4 信號傳導。在一些實施例中，本發明抗體阻斷 CTLA-4 與 CD80 及/或 CD86 之結合及/或刺激或增強 T 細胞活化。在一些實施例中，抗體與 CTLA-4 結合且逆轉耗竭性 T 細胞之無反應性狀態（anergic state）。在某些實施例中，抗體與 CTLA-4 結合且抑制調節性 T 細胞活性。在一些實施例中，抗體可適用於刺激或增強免疫反應及/或治療患有癌症或病毒感染之個體。當向有需要之個體投與時，抗體可以減少個體被諸如 HIV、LCMV 或 HBV 之病毒慢性感染。其可用於抑制腫瘤細胞在個體中生長。其可單獨使用或作為輔助療法與此項技術中已知之其他治療部分或儀器治療（modalities）一起使用，用於治療癌症或病毒感染。

【0090】在某些實施例中，抗 CTLA-4 抗體可為多特異性抗原結合分子，其中其包括與 CTLA-4 之第一結合特異性及與選自由以下組成之群的抗原的第二結合特異性：另一 T 細胞共抑制劑及 CTLA-4 之不同抗原決定基。

【0091】可使用包括以下中之任一者的免疫原來產生針對 CTLA-4 之抗體。在某些實施例中，本發明抗體從經全長天然 CTLA-4（參見 NCBI 寄存編號 NP_005205.2）（SEQ ID NO: 505）或經重組 CTLA-4 肽免疫之小鼠獲得。或者，CTLA-4 或其片段可以使用標準生化技術產生且用作免疫原。

【0092】在某些實施例中，免疫原為 CTLA-4 之細胞外域。在本發明之一個實施例中，免疫原為 CTLA-4 之細胞外域之片段。

【0093】 在一些實施例中，免疫原可為在大腸桿菌 (*E. coli*) 中或在諸如中國倉鼠卵巢 (Chinese hamster ovary, CHO) 細胞之任何其他真核或哺乳動物細胞中表現的重組 CTLA-4 肽。

【0094】 在某些實施例中，與 CTLA-4 特異性結合之抗體可以使用上述區域之片段或從本文所述之區域之 N 端或 C 端中之任一端或兩端延伸超出指定區域約 5 個至約 20 個胺基酸殘基的肽製備。在某些實施例中，可以使用上述區域或其片段之任何組合來製備 CTLA-4 特異性抗體。

【0095】 為了標記或出於與諸如 KLH 之載劑分子結合的目的，肽可經修飾以包含某些殘基之添加或取代。舉例而言，可在肽之 N 端或 C 端添加半胱胺酸，或可添加連接子序列以製備用於與例如 KLH 結合之肽進行免疫。

【0096】 本發明之某些抗 CTLA-4 抗體能夠與 CTLA-4 結合並中和其活性，如藉由活體外或活體內分析所測定。本發明抗體與 CTLA-4 結合並中和其活性的能力可使用本領域中熟習此項技術者已知之任何標準方法來量測，包含如本文所述之結合分析或活性分析。

【0097】 用於量測結合活性之非限制性例示性活體外分析在本文實例中加以說明。在實例 3 中，藉由表面電漿子共振或 MASS-1 測定人類抗 CTLA-4 抗體對人類及猴 CTLA-4 之結合親和力及動力學常數。在實例 4 中，使用競爭夾心 ELISA 評定抗 CTLA-4 抗體阻斷 CTLA-4 蛋白質與其天然配體 B7-1 及 B7-2 結合的能力。實例 5 描述抗 CTLA-4 抗體與表現 CTLA-4 之細胞的結合。在實例 6 中，使用螢光素酶分析及 IL-2 釋放分析測定抗 CTLA-4 抗體活化 T 細胞並拯救 IL-2 釋放的能力。

【0098】 在某些實施例中，本發明抗體能夠活體外增強或刺激具有癌症之個體中或經諸如 LCMV 之病毒感染之個體中的 T 細胞活性。在某些實

施例中，本發明抗體與第二治療劑組合使用以增強個體中之免疫反應並抑制腫瘤生長，第二治療劑諸如針對第二 T 細胞共抑制劑之抗體。

【0099】對 CTLA-4 具有特異性之抗體可以不含額外標記或部分，或其可含有標記或部分，例如 N 端或 C 端標記或部分。在一個實施例中，標記或部分為生物素。在結合分析中，標記（若存在）之位置可決定肽相對於發生肽結合之表面的取向。舉例而言，若表面塗有抗生物素蛋白（avidin），則含有 N 端生物素之肽之取向將使得肽之 C 端部分遠離表面。在一個實施例中，標記可為放射性核素、螢光染料或 MRI 可偵測標記。在某些實施例中，此類經標記抗體可用於診斷分析中，包含成像分析。

本發明之例示性實施例

【0100】在一個態樣中，本發明提供結合人類細胞毒性 T 淋巴細胞相關蛋白 4（CTLA-4）且阻斷 hCTLA-4 與配體 B7-1 及 B7-2 之間的相互作用的抗體或其抗原結合片段。

【0101】在某些實施例中，抗體或抗原結合片段誘導 T 細胞活化。在一些情況下，T 細胞為細胞毒性 T 細胞。在一些情況下，T 細胞為腫瘤浸潤性淋巴細胞。

【0102】在某些實施例中，抗體或抗原結合片段結合猴 CTLA-4。在一些情況下，抗體或抗原結合片段以小於 0.5 nM 之 EC₅₀ 結合表現猴 CTLA-4 之細胞。

【0103】在某些實施例中，抗體或抗原結合片段以小於 5 nM、小於 1 nM 或小於 0.5 nM 之 EC₅₀ 結合表現 hCTLA-4 之細胞。

【0104】在各種實施例中，抗體或抗原結合片段為完全人類抗體。

【0105】在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段與包括選自由以下組成之群之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對的參考抗體競爭與人類 CTLA-4 結

合：SEQ ID NO: 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/298、314/322、330/338、346/354、362/370、378/386、394/402、410/418、426/434、442/450、458/466、474/482 及 490/498。

【0106】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段與包括選自由以下組成之群之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對的參考抗體結合於人類 CTLA-4 上之同一個抗原決定基：SEQ ID NO: 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/298、314/322、330/338、346/354、362/370、378/386、394/402、410/418、426/434、442/450、458/466、474/482 及 490/498。

【0107】 在某些實施例中，抗體或抗原結合片段包括：(a) 具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的重鏈可變區 (HCVR) 之互補決定區 (CDR)：SEQ ID NO: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、314、330、346、362、378、394、410、426、442、458、474 及 490；及 (b) 具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的輕鏈可變區 (LCVR) 之 CDR：SEQ ID NO: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、322、338、354、370、386、402、418、434、450、466、482 及 498。

【0108】 在某些實施例中，抗體或抗原結合片段包括選自由以下組成之群之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對的重鏈及輕鏈 CDR：SEQ ID NO: 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、

290/298、306/298、314/322、330/338、346/354、362/370、378/386、394/402、410/418、426/434、442/450、458/466、474/482 及 490/498。

【0109】 在某些實施例中，抗體或抗原結合片段包括分別選自由以下組成之群之 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 域：SEQ ID NO: 4-6-8-12-14-16 ; 20-22-24-28-30-32 ; 36-38-40-44-46-48 ; 52-54-56-60-62-64 ; 68-70-72-76-78-80 ; 84-86-88-92-94-96 ; 100-102-104-108-110-112 ; 116-118-120-124-126-128 ; 132-134-136-140-142-144 ; 148-150-152-156-158-160 ; 164-166-168-172-174-176 ; 180-182-184-188-190-192 ; 196-198-200-204-206-208 ; 212-214-216-220-222-224 ; 228-230-232-236-238-240 ; 244-246-248-252-254-256 ; 260-262-264-268-270-272 ; 276-278-280-284-286-288 ; 292-294-296-300-302-304 ; 308-310-312-300-302-304 ; 316-318-320-324-326-328 ; 332-334-336-340-342-344 ; 348-350-352-356-358-360 ; 364-366-368-372-374-376 ; 380-382-384-388-390-392 ; 396-398-400-404-406-408 ; 412-414-416-420-422-424 ; 428-430-432-436-438-440 ; 444-446-448-452-454-456 ; 460-462-464-468-470-472 ; 476-478-480-484-486-488 ; 及 492-494-496-500-502-504。

【0110】 在某些實施例中，抗體或抗原結合片段包括選自由以下組成之群之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對：SEQ ID NO: 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、306/298、314/322、330/338、346/354、362/370、378/386、394/402、410/418、426/434、442/450、

458/466、474/482 及 490/498。

【0111】在某些實施例中，本發明提供一種抗體或其抗原結合片段，其為人類抗體、人類化抗體或嵌合抗體。抗體或其抗原結合片段例如可為 IgG1 或 IgG4 抗體，諸如人類 IgG1 或 IgG4 抗體。彼等抗體之恆定區對應於野生型恆定區，或已引入突變之恆定區。

【0112】在一個態樣中，本發明提供一種多特異性抗原結合分子，其包括與 CTLA-4 特異性結合的第一抗原結合特異性及與第二目標抗原決定基特異性結合的第二抗原結合特異性。

【0113】在一個態樣中，本發明提供一種醫藥組合物，其包括以上實施例中之任一者之抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

【0114】在一個態樣中，本發明提供經分離多核苷酸分子及載體，其包括本文所揭示之抗體或其抗原結合片段之多核苷酸序列。在某些實施例中，本發明提供經分離多核苷酸分子及/或載體，其包括編碼如本文所闡述之抗體之 HCVR 的多核苷酸序列。在某些實施例中，本發明提供一種經分離多核苷酸分子及/或載體，其包括編碼如本文所闡述之抗體之 LCVR 的多核苷酸序列。在某些實施例中，本發明提供一種表現在上文或此處所論述之載體的細胞。

【0115】在一個態樣中，本發明提供一種治療可藉由拮抗 CTLA-4 治療之疾病或病症的方法，其係經由向有需要之個體投與治療有效量之如本文所揭示之抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段或包括此類抗體或抗原結合片段之醫藥組合物。在一些情況下，疾病或病症為由選自由以下組成之群之病毒引起的慢性病毒感染：人類免疫缺乏病毒（HIV）、C 型肝炎病毒（HCV）、B 型肝炎病毒（HBV）、人類乳頭狀瘤病毒（HPV）、淋巴細胞

性脈絡叢腦膜炎病毒（LCMV）及猿猴免疫缺乏病毒（SIV）。在一些情況下，疾病或病症選自由以下組成之群：血癌、腦癌、腎細胞癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、乳癌、皮膚癌、子宮頸癌、腎癌、胃癌、胰臟癌、肝細胞癌、骨癌、結腸癌、非小細胞肺癌、頭頸部鱗狀細胞癌、結腸直腸癌、間皮瘤、B 細胞淋巴瘤及黑色素瘤。

【0116】在一個態樣中，本發明提供增強個體中之免疫反應的方法，所述方法包括投與包括如本文中所揭示之經分離抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段的醫藥組合物。在某些實施例中，本發明提供抑制個體中之調節性 T（Treg）細胞的方法，所述方法包括投與包括如本文中所揭示之經分離抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段的醫藥組合物。在某些實施例中，本發明提供增強個體中之 T 細胞活化的方法，所述方法包括投與包括如本文中所揭示之經分離抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段的醫藥組合物。在某些實施例中，個體具有選自由以下組成之群的疾病或病症：血癌、腦癌、腎細胞癌（例如透明細胞腎癌）、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、乳癌（例如三陰性乳癌）、皮膚癌、子宮頸癌、胃癌、腎癌、胰臟癌、肝細胞癌、骨癌、結腸癌、非小細胞肺癌、頭頸部鱗狀細胞癌、結腸直腸癌、間皮瘤、淋巴瘤（例如 B 細胞淋巴瘤、彌漫性大 B 細胞淋巴瘤）及黑色素瘤。在某些實施例中，個體具有由選自由以下組成之群之病毒引起的慢性病毒感染：人類免疫缺乏病毒（HIV）、C 型肝炎病毒（HCV）、B 型肝炎病毒（HBV）、人類乳頭狀瘤病毒（HPV）、淋巴細胞性脈絡叢腦膜炎病毒（LCMV）及猿猴免疫缺乏病毒（SIV）。在某些實施例中，抗 CTLA-4 抗體與選自由以下組成之群之第二治療劑組合向個體投與：PD-1 抑制劑、LAG3 抑制劑、針對腫瘤特異性抗原之抗體、針對病毒感染細胞抗原之抗體、PD-L1 抑制劑、CD20 抑制劑、針對 CD20 及 CD3 之雙特異性抗體、諸如抗氧化劑之膳食補

充劑、VEGF 拮抗劑、癌症疫苗、化學治療劑、細胞毒性劑、手術、放射線、NSAID、皮質類固醇及任何其他適用於改善至少一種與疾病或病症相關之症狀的療法。

【0117】 在一個態樣中，本發明提供抑制個體中之腫瘤或腫瘤細胞生長的方法，所述方法包括向有需要之個體投與治療有效量之如本文中所揭示之抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段或包括此類抗體或抗原結合片段的醫藥組合物。在某些實施例中，腫瘤為原發性的或再發性的。在某些實施例中，腫瘤為已建立的腫瘤。在某些實施例中，個體具有轉移性疾病及/或已用先前療法治療。在某些實施例中，腫瘤存在於具有選自由以下組成之群之疾病或病症的個體中：血癌、腦癌、腎細胞癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、乳癌、肝細胞癌、骨癌、結腸癌、非小細胞肺癌、頭頸部鱗狀細胞癌、結腸直腸癌、間皮瘤、淋巴瘤及黑色素瘤。在某些實施例中，抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段以一或多個劑量投與，其中各劑量在前一劑量之後 1 週至 12 週投與。在某些實施例中，抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段以每公斤個體體重約 0.1 mg 至每公斤體重約 100 mg 之劑量投與。在某些實施例中，各劑量包括約 50 mg 至約 1000 mg 之抗體。在某些實施例中，抗 CTLA-4 抗體與選自由以下組成之群之第二治療劑組合向個體投與：PD-1 抑制劑、LAG3 抑制劑、針對腫瘤特異性抗原之抗體、PD-L1 抑制劑、CD20 抑制劑、針對 CD20 及 CD3 之雙特異性抗體、諸如抗氧化劑之膳食補充劑、VEGF 拮抗劑、癌症疫苗、化學治療劑、細胞毒性劑、手術、放射線、NSAID、皮質類固醇及任何其他適用於改善至少一種與疾病或病症相關之症狀的療法。在一個實施例中，第二治療劑為 PD-1 抑制劑，其中 PD-1 抑制劑為與 PD-1 特異性結合之抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，PD-1 抑制劑為 REGN2810、納武單抗或派姆單抗。在某些實施例中，抗 CTLA-4 抗體或

其抗原結合片段係皮下、靜脈內、瘤內、瘤周、皮內、腹膜內、經口、肌肉內或顱內投與。

【0118】 在一個態樣中，本發明提供拯救 T 細胞活性之 CTLA-4 介導之抑制的方法，所述方法包括使 T 細胞與如本文中所揭示之抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段接觸。在一個實施例中，用本發明之抗 CTLA-4 抗體與抗 PD-1 抗體（例如 REGN2810）組合來接觸 T 細胞。

【0119】 在一個態樣中，本發明提供如本文中所揭示之抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段或包括此類抗體或抗原結合片段之醫藥組合物的用途，其係用於治療可藉由拮抗 CTLA-4 治療之疾病或病症。在一些情況下，疾病或病症為癌症。

【0120】 在一個態樣中，本發明提供如本文中所揭示之抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段或包括此類抗體或抗原結合片段之醫藥組合物的用途，其係用於製造用於治療可藉由拮抗 CTLA-4 治療之疾病或病症的藥物。在一些情況下，疾病或病症為癌症。

抗體之抗原結合片段

【0121】 除非另外特別指示，否則如本文所用之術語「抗體」應理解為涵蓋包括兩個免疫球蛋白重鏈及兩個免疫球蛋白輕鏈之抗體分子（亦即「完整抗體分子」）以及其抗原結合片段。如本文所用之術語抗體之「抗原結合部分」、抗體之「抗原結合片段」及類似術語包含特異性結合抗原以形成複合物的任何天然存在的、可以酶方式獲得的、合成的或經基因工程改造的多肽或糖蛋白。如本文所用之術語抗體之「抗原結合片段」或「抗體片段」係指抗體之保留與 CTLA-4 特異性結合的能力的一或多個片段。抗體片段可以包含 Fab 片段、F(ab')₂ 片段、Fv 片段、dAb 片段、含有 CDR 之片段或經分離 CDR。在某些實施例中，術語「抗原結合片段」係指多特異

性抗原結合分子之多肽片段。抗體之抗原結合片段可使用任何適合的標準技術衍生自例如完整抗體分子，所述技術諸如涉及編碼抗體可變域及（視情況）恆定域之 DNA 之操縱及表現的蛋白水解消化或重組基因工程改造技術。此類 DNA 為已知的及/或可從例如商業來源、DNA 庫（包含例如噬菌體-抗體庫）容易地獲得，或可以合成。DNA 可以化學方式或藉由使用分子生物學技術定序及操縱，例如將一或多個可變域及/或恆定域配置成適合組態，或引入密碼子，產生半胱胺酸殘基，修飾、添加或缺失胺基酸等。

【0122】 抗原結合片段之非限制性實例包含：(i) Fab 片段；(ii) F(ab')₂ 片段；(iii) Fd 片段；(iv) Fv 片段；(v) 單鏈 Fv (scFv) 分子；(vi) dAb 片段；及 (vii) 由模擬抗體之高變區（例如經分離互補決定區 (CDR)，諸如 CDR3 肽），或限制性 FR3-CDR3-FR4 肽之胺基酸殘基組成的最小識別單位。其他經工程改造之分子，諸如域特異性抗體、單域抗體、域缺失抗體、嵌合抗體、CDR 移植抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、微型抗體、奈米抗體（例如單價奈米抗體、二價奈米抗體等）、小模組化免疫藥物 (small modular immunopharmaceutical; SMIP) 及鯊魚可變 IgNAR 域，亦涵蓋在如本文所用之表述「抗原結合片段」內。

【0123】 抗體之抗原結合片段通常將包括至少一個可變域。可變域可具有任何大小或胺基酸組成且一般將包括至少一個與一或多個構架序列相鄰或同框的 CDR。在具有與 V_L 域相關聯之 V_H 域的抗原結合片段中，V_H 及 V_L 域可以任何適合之配置相對於彼此定位。舉例而言，可變區可為二聚的且含有 V_H-V_H、V_H-V_L 或 V_L-V_L 二聚體。或者，抗體之抗原結合片段可含有單體 V_H 或 V_L 域。

【0124】 在某些實施例中，抗體之抗原結合片段可含有至少一個共價連接至至少一個恆定域之可變域。可在本發明抗體之抗原結合片段內發現

的可變域及恆定域之非限制性例示性組態包含：(i) V_H-C_H1 ；(ii) V_H-C_H2 ；(iii) V_H-C_H3 ；(iv) $V_H-C_H1-C_H2$ ；(v) $V_H-C_H1-C_H2-C_H3$ ；(vi) $V_H-C_H2-C_H3$ ；(vii) V_H-C_L ；(viii) V_L-C_H1 ；(ix) V_L-C_H2 ；(x) V_L-C_H3 ；(xi) $V_L-C_H1-C_H2$ ；(xii) $V_L-C_H1-C_H2-C_H3$ ；(xiii) $V_L-C_H2-C_H3$ ；及(xiv) V_L-C_L 。在可變域及恆定域之任何組態，包含以上列出之例示性組態中之任一者中，可變域及恆定域可直接彼此連接或可藉由完全或部分鉸鏈區或連接區連接。鉸鏈區可以由至少 2 個（例如 5、10、15、20、40、60 個或更多個）胺基酸組成，其在單一多肽分子中之相鄰可變域及/或恆定域之間產生可撓性或半可撓性鍵聯。此外，本發明抗體之抗原結合片段可包括以上列出之可變域及恆定域組態中之任一者相互之間及/或與一或多個單體 V_H 或 V_L 域（例如藉由雙硫鍵）非共價締合的均二聚體或雜二聚體（或其他多聚體）。

【0125】如同完整抗體分子，抗原結合片段可為單特異性或多特異性的（例如雙特異性的）。抗體之多特異性抗原結合片段通常將包括至少兩個不同可變域，其中各可變域能夠與各別抗原或與同一抗原上之不同抗原決定基特異性結合。任何多特異性抗體型式，包含本文所揭示之例示性雙特異性抗體型式，可用以使用此項技術中可用之常規技術在本發明抗體之抗原結合片段的情況下使用。

製備人類抗體

【0126】在基因轉殖小鼠中產生人類抗體的方法為此項技術中已知的。可在本發明之情形下使用任何此類已知方法來製造與 CTLA-4 特異性結合的人類抗體。

【0127】使用 VELOCIMMUNE®技術（參見例如 US 6,596,541，Regeneron Pharmaceuticals，VELOCIMMUNE®）或任何其他已知用於產生單株抗體的方法，首先分離具有人類可變區及小鼠恆定區的針對 CTLA-4

之高親和力嵌合抗體。VELOCIMMUNE®技術包括產生具有包括人類重鏈及輕鏈可變區可操作地連接於內源性小鼠恆定區基因座之基因組的基因轉殖小鼠，使得小鼠產生包括人類可變區及小鼠恆定區的對抗原刺激起反應的抗體。分離編碼抗體之重鏈及輕鏈之可變區的 DNA 且將其可操作地連接於編碼人類重鏈及輕鏈恆定區的 DNA。隨後使 DNA 在能夠表現完全人類抗體之細胞中表現。

【0128】一般而言，用所關注之抗原攻擊 VELOCIMMUNE®小鼠，且從表現抗體之小鼠回收淋巴細胞（諸如 B 細胞）。淋巴細胞可與骨髓瘤細胞株融合以製備永生融合瘤細胞株，且此類融合瘤細胞株經篩選及選擇以鑑別產生對所關注之抗原具有特異性之抗體的融合瘤細胞株。可分離編碼重鏈及輕鏈之可變區的 DNA 且將其連接至重鏈及輕鏈之所期望的同型恆定區。此類抗體蛋白質可在諸如 CHO 細胞之細胞中產生。或者，編碼抗原特異性嵌合抗體或輕鏈及重鏈之可變域的 DNA 可直接從抗原特異性淋巴細胞分離。

【0129】首先，分離具有人類可變區及小鼠恆定區之高親和力嵌合抗體。如在下文實驗部分中，對抗體進行表徵且針對所期望的特徵加以選擇，所述特徵包含親和力、選擇性、抗原決定基等。用所期望的人類恆定區置換小鼠恆定區以產生本發明之完全人類抗體，例如野生型或經修飾 IgG1 或 IgG4。雖然所選恆定區可根據特定用途而改變，但高親和力抗原結合及目標特異性特徵存在於可變區中。

生物等效物

【0130】本發明之抗 CTLA-4 抗體及抗體片段涵蓋具有在所述抗體之間不同，但是保留結合 CTLA-4 之能力的胺基酸序列的蛋白質。當相比於親本序列時，此類變異體抗體及抗體片段包括一或多個胺基酸添加、缺失或

取代，但所展現之生物活性基本上等效於所述抗體之生物活性。同樣，本發明之編碼抗體之 DNA 序列涵蓋如下序列：當相比於所揭示之序列時，其包括一或多個核苷酸添加、缺失或取代，但是編碼基本上與本發明之抗體或抗體片段生物等效的抗體或抗體片段。

【0131】舉例而言，若兩個抗原結合蛋白或抗體為如下藥物等效物或藥物替代物：當在類似實驗條件下以單次劑量或多劑量方式以相同莫耳劑量投與時，所述藥物等效物或藥物替代物之吸收速率及吸收程度不顯示顯著差異，則將這兩個抗原結合蛋白或抗體視為生物等效的。一些抗體將被視為等效物或藥物替代物若其在吸收程度方面等效，而在吸收速率方面不等效仍可將其視為生物等效物，因為吸收速率方面之此類差異係故意的且反映在標記中，對於在例如慢性使用方面達到有效體藥濃度不是必要的，且對於所研究之特定藥品而言被視為醫療上無關緊要的。

【0132】在一個實施例中，兩個抗原結合蛋白若其安全性、純度或效能方面不存在臨床上有意義的差異，則其為生物等效的。

【0133】在一個實施例中，若患者能夠在參考產品與生物產品之間轉換一或多次，且相比於無此類轉換之持續療法，不存在副作用風險之預期增加，副作用包括免疫原性之臨床顯著變化或有效性減弱，則兩個抗原結合蛋白為生物等效的。

【0134】在一個實施例中，若兩個抗原結合蛋白均藉由一或多種共同的作用機制在一或多種使用條件下起作用，達到此類機制所已知的程度，則其為生物等效的。

【0135】生物等效性可藉由活體內及/或活體外方法證明。生物等效性量測包含例如（a）人類或其他哺乳動物中之活體內測試，其中量測血液、血漿、血清或其他生物流體中隨時間而變的抗體或其代謝物之濃度；（b）

與人類活體內生物可用性資料相關且合理地預測人類活體內生物可用性資料之活體外測試；(c) 人類或其他哺乳動物中之活體內測試，其中量測隨時間而變的抗體（或其目標）之適當急性藥理學效應；及(d) 建立抗體之安全性、功效或生物可用性或生物等效性之良好控制的臨床試驗。

【0136】本發明抗體之生物等效變異體可藉由例如進行殘基或序列之各種取代或使生物活性所不需要的末端或內部殘基或序列缺失來構築。舉例而言，對於生物活性而言非必需之半胱胺酸殘基可缺失或經其他胺基酸置換以阻止在複性後形成不必要或不恰當的分子內雙硫橋。在其他情況下，生物等效抗體可以包含包括胺基酸改變之抗體變異體，所述胺基酸改變修飾抗體之糖基化特徵，例如消除或移除糖基化之突變。

包括 Fc 變異體之抗 CTLA-4 抗體

【0137】根據本發明之某些實施例，提供抗 CTLA-4 抗體，其包括含有一或多個突變之 Fc 域，所述突變增強或減弱抗體與 FcRn 受體之結合，例如在酸性 pH 下，相比於中性 pH 而言。舉例而言，本發明包含在 Fc 域之 C_H2 或 C_H3 區中包括突變的抗 CTLA-4 抗體，其中所述突變增加 Fc 域在酸性環境中（例如在內體中，其中 pH 在約 5.5 至約 6.0 之範圍內）對 FcRn 之親和力。此類突變可導致當向動物投與抗體時，抗體之血清半衰期增加。此類 Fc 修飾之非限制性實例包含例如在位置 250（例如 E 或 Q）；250 及 428（例如 L 或 F）；252（例如 L/Y/F/W 或 T）、254（例如 S 或 T）及 256（例如 S/R/Q/E/D 或 T）處之修飾；或在位置 428 及/或 433（例如 H/L/R/S/P/Q 或 K）及/或 434（例如 A、W、H、F 或 Y [N434A、N434W、N434H、N434F 或 N434Y]）處之修飾；或在位置 250 及/或 428 處之修飾；或在位置 307 或 308（例如 308F、V308F）及 434 處之修飾。在一個實施例中，修飾包括 428L（例如 M428L）及 434S（例如 N434S）修飾；428L、259I（例如 V259I）及

308F (例如 V308F) 修飾; 433K (例如 H433K) 及 434 (例如 434Y) 修飾; 252、254 及 256 (例如 252Y、254T 及 256E) 修飾; 250Q 及 428L 修飾 (例如 T250Q 及 M428L); 及 307 及/或 308 修飾 (例如 308F 或 308P)。在另一實施例中, 修飾包括 265A (例如 D265A) 及/或 297A (例如 D297A) 修飾。

【0138】舉例而言, 本發明包含抗 CTLA-4 抗體, 其包括含有一或多對或一或多組選自由以下組成之群之突變的 Fc 域: 250Q 及 248L (例如 T250Q 及 M248L); 252Y、254T 及 256E (例如 M252Y、S254T 及 T256E); 428L 及 434S (例如 M428L 及 N434S); 257I 及 311I (例如 P257I 及 Q311I); 257I 及 434H (例如 P257I 及 N434H); 376V 及 434H (例如 D376V 及 N434H); 307A、380A 及 434A (例如 T307A、E380A 及 N434A); 及 433K 及 434F (例如 H433K 及 N434F)。在一個實施例中, 本發明包含抗 CTLA-4 抗體, 其包括在 IgG4 之鉸鏈區中包括 S108P 突變之 Fc 域以促進二聚體穩定化。前述 Fc 域突變及本文所揭示之抗體可變域內之其他突變之所有可能的組合涵蓋於本發明範疇內。

【0139】本發明亦包含包括嵌合重鏈恆定(C_H)區之抗 CTLA-4 抗體, 其中嵌合 C_H 區包括衍生自超過一個免疫球蛋白同型之 C_H 區的區段。舉例而言, 本發明抗體可包括嵌合 C_H 區, 其包括衍生自人類 IgG1、人類 IgG2 或人類 IgG4 分子之 C_H2 域中之部分或全部, 與衍生自人類 IgG1、人類 IgG2 或人類 IgG4 分子之 C_H3 域中之部分或全部組合。根據某些實施例, 本發明抗體包括具有嵌合鉸鏈區之嵌合 C_H 區。舉例而言, 嵌合鉸鏈可包括衍生自人類 IgG1、人類 IgG2 或人類 IgG4 鉸鏈區之「上鉸鏈」胺基酸序列 (根據 EU 編號, 在位置 216 至 227 之胺基酸殘基), 與衍生自人類 IgG1、人類 IgG2 或人類 IgG4 鉸鏈區之「下鉸鏈」序列 (根據 EU 編號, 在位置 228 至 236

之胺基酸殘基)組合。根據某些實施例，嵌合鉸鏈區包括衍生自人類 IgG1 或人類 IgG4 上鉸鏈之胺基酸殘基及衍生自人類 IgG2 下鉸鏈之胺基酸殘基。包括如本文所述之嵌合 C_H 區之抗體在某些實施例中可展現經改良 Fc 效應功能而不會不利地影響抗體之治療或藥物動力學特性。(參見例如美國專利公開案第 20140243504 號，其揭示內容以全文引用之方式併入本文中)。

抗體之生物學特徵

【0140】一般而言，本發明抗體藉由與 CTLA-4 結合而起作用。本發明包含以高親和力結合可溶性單體或二聚 CTLA-4 分子之抗 CTLA-4 抗體及其抗原結合片段。舉例而言，本發明包含如藉由表面電漿子共振，例如使用如本文實例 3 中所定義之分析型式所量測，以小於約 20 nM 之 K_D 結合二聚人類及猴 CTLA-4 (例如在 25°C 下)的抗體及抗體之抗原結合片段。在某些實施例中，如藉由表面電漿子共振，例如使用如本文實例 3 中所定義之分析型式或大體上類似的分析所量測，抗體或其抗原結合片段以小於約 10 nM、小於約 5 nM、小於約 2 nM 或小於約 1 nM 之 K_D 結合單體 CTLA-4。

【0141】本發明亦包含如在 25°C 下藉由表面電漿子共振，例如使用如本文實例 3 中所定義之分析型式或大體上類似的分析所量測，以大於約 4 分鐘之解離半衰期 (t_{1/2}) 結合 CTLA-4 的抗體及其抗原結合片段。在某些實施例中，如在 25°C 下藉由表面電漿子共振，例如使用如本文實例 3 中所定義之分析型式 (例如 mAb 捕捉型式) 或大體上類似的分析所量測，本發明之抗體或抗原結合片段以大於約 5 分鐘、大於約 10 分鐘、大於約 15 分鐘、大於約 20 分鐘、大於約 30 分鐘、大於約 40 分鐘、大於約 100 分鐘、大於約 200 分鐘、大於約 300 分鐘或大於約 500 分鐘之 t_{1/2} 結合 CTLA-4。

【0142】本發明亦包含如使用例如如實例 4 中所示之酶聯免疫吸附分

析 (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA) 或大體上類似的分析所測定, 以小於約 320 nM 之 IC_{50} 阻斷 hCTLA-4 與 hB7-1 (CD80) 及/或 hB7-2 (CD86) 結合的抗體或其抗原結合片段。在某些實施例中, 如藉由例如如所本文實例 4 中定義之競爭夾心 ELISA 或大體上類似的分析所量測, 抗體或其抗原結合片段以小於約 200 nM、小於約 100 nM、小於約 70 nM、小於約 20 nM、小於約 10 nM、小於約 5 nM、小於約 1 nM 或小於約 0.5 nM 之 IC_{50} 阻斷 hCTLA-4 與人類 B7-1 及/或人類 B7-2 結合。

【0143】本發明亦包含如藉由例如如本文實例 4 中所定義之競爭夾心 ELISA 或大體上類似的分析所量測, 將 hCTLA-4 與人類 B7-1 及/或人類 B7-2 之結合阻斷至少 85% 的抗體或其抗原結合片段。

【0144】本發明亦包含如藉由如本文實例 5 中所定義之電化學發光分析或大體上類似的分析所量測, 以小於約 6 nM 之 EC_{50} 與人類 CTLA-4 表現細胞結合的抗體或其抗原結合片段。在某些實施例中, 如藉由電化學發光分析, 例如使用本文實例 5 中之分析型式或大體上類似的分析所量測, 抗體或其抗原結合片段以小於約 4 nM、小於約 2 nM、小於約 1 nM 或小於約 0.5 nM 之 EC_{50} 與 hCTLA-4 表現細胞結合。在某些實施例中, 如藉由電化學發光分析, 例如使用本文實例 5 中之分析型式或大體上類似的分析所量測, 抗體或其抗原結合片段與 hCTLA-4 表現細胞以比與對照細胞之結合高出大於約 10 倍之比率、以大於約 15 倍之比率或以比與對照細胞之結合高出大於約 20 倍之比率結合。

【0145】本發明亦包含如藉由如本文實例 5 中所定義之電化學發光分析或大體上類似的分析所量測, 以小於約 0.5 nM 之 EC_{50} 與食蟹獼猴 CTLA-4 表現細胞結合的抗體或其抗原結合片段。在某些實施例中, 如藉由電化學發光分析, 例如使用如本文實例 5 中所定義之分析型式或大體上類似的分

析所量測，抗體或其抗原結合片段以小於約 0.5 nM 或小於約 0.2 nM 之 EC_{50} 與 mfCTLA-4 表現細胞結合。

【0146】本發明亦包含如藉由如本文實例 6 中所定義之 T 細胞/APC 螢光素酶報導分析或大體上類似的分析所量測，以小於 8 nM 之 EC_{50} 阻斷 CTLA-4 誘導之 T 細胞下調（藉由阻斷 CTLA-4/CD80 及 CTLA-4/CD86 相互作用）的抗體或其抗原結合片段。在某些實施例中，如藉由 T 細胞/APC 螢光素酶報導分析，例如使用如本文實例 6 中所定義之分析型式或大體上類似的分析所量測，抗體或其抗原結合片段以小於約 6 nM、小於約 5 nM、小於約 3 nM、小於約 2.5 nM 或小於約 2 nM 之 EC_{50} 阻斷 CTLA-4 誘導之 T 細胞下調。在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段阻斷人類及猴 CTLA-4 之 CTLA-4 誘導之 T 細胞下調。

【0147】本發明亦包含如藉由如本文實例 6 中所定義之 T 細胞/APC IL-2 釋放分析或大體上類似的分析所量測，以小於約 50 nM 之 EC_{50} 拯救 IL-2 釋放之 CTLA-4 介導之抑制（藉由阻斷 CTLA-4/CD80 及 CTLA-4/CD86 相互作用）的抗體或其抗原結合片段。在某些實施例中，如藉由 T 細胞/APC IL-2 釋放分析，例如使用如本文實例 6 中所定義之分析型式或大體上類似的分析所量測，抗體或其抗原結合片段以小於約 45 nM、小於約 35 nM、小於約 25 nM 或小於約 20 nM 之 EC_{50} 拯救 IL-2 釋放之 CTLA-4 介導之抑制。在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段阻斷人類及猴 CTLA-4 兩者的 CTLA-4 誘導之 T 細胞下調及/或 IL-2 釋放之 CTLA-4 介導之抑制。在某些實施例中，如藉由 IL-2 產生所證明，抗體或其抗原結合片段以比同型對照抗體所觀測到之速率高出 4 倍至 6 倍的速率阻斷 CTLA-4 誘導之 T 細胞下調。

【0148】在某些實施例中，本發明抗體在向有需要之個體預防性投與

時適用於抑制腫瘤生長或延遲癌症進程且可增加個體之存活期。舉例而言，本發明抗體之投與可引起原發性腫瘤縮小且可預防轉移或第二腫瘤之發展。在某些實施例中，本發明抗體在向有需要之個體治療性投與時適用於抑制腫瘤生長且可增加個體之存活期。舉例而言，向個體投與治療有效量之本發明抗體可引起個體中之已建立的腫瘤縮小並消失。在某些實施例中，局部（瘤內或瘤周）投與一或多種本發明抗體且其引起所注射之腫瘤病灶中及遠端腫瘤病灶中（遠隔效應（abscopal effect））腫瘤生長之抑制。

【0149】在各種實施例中，本發明提供一種與 CTLA-4 結合之經分離重組單株抗體或其抗原結合片段，其中抗體或其抗原結合片段展現以下特徵中之一或多者：（i）包括具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的 HCVR：SEQ ID NO: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、314、330、346、362、378、394、410、426、442、458、474 及 490 或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之大體上相似序列；（ii）包括具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的 LCVR：SEQ ID NO: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、322、338、354、370、386、402、418、434、450、466、482 及 498 或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之大體上相似序列；（iii）包括具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的 HCDR3 域：SEQ ID NO: 8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、312、320、336、352、368、384、400、416、432、448、464、480 及 496 或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之大體上相似序列；及具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的 LCDR3 域：SEQ ID NO: 16、32、48、64、80、96、

112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304、328、344、360、376、392、408、424、440、456、472、488 及 504 或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之大體上相似序列；(iv)包括具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的 HCDR1 域：SEQ ID NO: 4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、308、316、332、348、364、380、396、412、428、444、460、476 及 492 或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之大體上相似序列；具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的 HCDR2 域：SEQ ID NO: 6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、310、318、334、350、366、382、398、414、430、446、462、478 及 494 或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之大體上相似序列；具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的 LCDR1 域：SEQ ID NO: 12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300、324、340、356、372、388、404、420、436、452、468、484 及 500 或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之大體上相似序列；及具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的 LCDR2 域：SEQ ID NO: 14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302、326、342、358、374、390、406、422、438、454、470、486 及 502 或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之大體上相似序列；(v)如在表面電漿子共振分析中在 25°C 下所量測，以小於約 20 nM 之結合解離平衡常數 (K_D) 結合二聚人類及猴 CTLA-4；(vi)如在表面電漿子共振分析中在 25°C 下所量測，以大於約 4 分鐘之解離半衰期 ($t_{1/2}$) 結合二聚人類及猴 CTLA-4；(vii)如使用細胞黏

附分析所測定，以小於約 320 nM 之 IC₅₀ 阻斷 hCTLA-4 與 hB7-1 (CD80) 及/或 hB7-2 (CD86) 結合；(viii) 如藉由競爭夾心 ELISA 所量測，將 hCTLA-4 與人類 B7-1 及/或人類 B7-2 之結合阻斷至少 85%；(ix) 如藉由電化學發光分析所量測，以小於約 6 nM 之 EC₅₀ 與人類 CTLA-4 表現細胞結合；(x) 以大於 10 倍約與對照細胞之結合的比率與 hCTLA-4 表現細胞結合；(xi) 如電化學發光分析藉由所量測，以小於約 0.5 nM 之 EC₅₀ 與猴 CTLA-4 表現細胞結合；(xii) 如藉由 T 細胞/APC 螢光素酶報導分析所量測，以小於 8 nM 之 EC₅₀ 阻斷 CTLA-4 誘導之 T 細胞下調；(xiii) 阻斷人類及猴 CTLA-4 兩者之 CTLA-4 誘導之 T 細胞下調；(xiv) 如在 T 細胞/APC IL-2 釋放分析中所測定，以小於約 50 nM 之 EC₅₀ 拯救 IL-2 釋放之 CTLA-4 介導之抑制；(xv) 阻斷人類及猴 CTLA-4 兩者的 CTLA-4 誘導之 T 細胞下調及/或 IL-2 釋放之 CTLA-4 介導之抑制；(xvi) 如藉由 IL-2 產生所證明，以比同型對照抗體所觀測到之速率高出 4 倍至 6 倍之速率阻斷 CTLA-4 誘導之 T 細胞下調；(xvii) 抑止具有癌症之個體的腫瘤生長且增加存活期；及 (xviii) 為完全人類的。

【0150】 本發明抗體可具有前述生物學特徵中之一或多者或其任何組合。本發明抗體之其他生物學特徵將在本領域中一般熟習此項技術者審閱本發明，包含本文中之實施例後顯而易見。

物種選擇性及物種交叉反應性

【0151】 根據本發明之某些實施例，抗 CTLA-4 抗體與人類 CTLA-4 結合，但不與其他物種之 CTLA-4 結合。或者，在某些實施例中，本發明之抗 CTLA-4 抗體與人類 CTLA-4 及來自一或多個非人類物種之 CTLA-4 結合。舉例而言，本發明之抗 CTLA-4 抗體可與人類 CTLA-4 結合且可視具體情況結合或不結合小鼠、大鼠、天竺鼠、倉鼠、沙鼠、豬、貓、狗、兔、

山羊、綿羊、母牛、馬、駱駝、食蟹獼猴、狨猴、恆河猴或黑猩猩 CTLA-4 中之一或多者。在某些實施例中，本發明之抗 CTLA-4 抗體可以相同親和力或以不同親和力與人類及食蟹獼猴 CTLA-4 結合，但不與大鼠及小鼠 CTLA-4 結合。

抗原決定基定位 (Epitope Mapping) 及相關技術

【0152】 本發明包含與 CTLA-4 分子之一或多個域內所發現的一或多個胺基酸相互作用的抗 CTLA-4 抗體，所述一或多個域包含例如細胞外域、跨膜域及細胞質域。抗體所結合之抗原決定基可由位於 CTLA-4 分子之前述域中之任一者內的 3 個或更多個（例如 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 個或更多個）胺基酸之單一連續序列組成（例如域中之線性抗原決定基）。或者，抗原決定基可由位於 CTLA-4 分子之前述任何域或所有域內的複數個非相鄰胺基酸（或胺基酸序列）組成（例如構形抗原決定基）。

【0153】 本領域中一般熟習此項技術者已知之各種技術可用於判定抗體是否在多肽或蛋白質內「與一或多個胺基酸相互作用」。例示性技術包含例如常規交叉阻斷分析，諸如 Antibodies, Harlow 及 Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY) 中所述之分析。其他方法包含丙胺酸掃描突變分析、肽墨點分析 (Reineke (2004) Methods Mol. Biol. 248: 443-63)、肽裂解分析、結晶學研究及 NMR 分析。另外，可以採用諸如抗原決定基切除、抗原決定基提取及化學修飾抗原之方法 (Tomer (2000) Prot. Sci. 9: 487-496)。可用於鑑別多肽內與抗體相互作用之胺基酸的另一方法為藉由質譜偵測之氫/氘交換。一般而言，氫/氘交換方法涉及氘標記所關注之蛋白質，接著使抗體與氘標記之蛋白質結合。接著，將蛋白質/抗體複合物轉移至水中且胺基酸內由抗體複合物保護之可交換質子以比不是界面之

一部分的胺基酸內的可交換質子慢的速率發生氘回到氫之交換。因此，形成蛋白質/抗體界面之一部分的胺基酸可保留氘且因此相比於未包含在界面中的胺基酸而言，展現相對較高的質量。在抗體解離之後，對目標蛋白質進行蛋白酶裂解及質譜分析，藉此展現對應於與抗體相互作用之特定胺基酸的氘標記殘基。參見例如 Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267: 252-259；Engen 及 Smith (2001) *Anal. Chem.* 73: 256A-265A。

【0154】術語「抗原決定基」係指抗原上 B 細胞及/或 T 細胞所響應的位點。B 細胞抗原決定基可由藉由蛋白質之三級摺疊並列的相鄰胺基酸或非相鄰胺基酸形成。由相鄰胺基酸形成的抗原決定基通常在暴露於變性溶劑後保留，而藉由三級摺疊形成的抗原決定基在用變性溶劑處理後通常消失。抗原決定基在獨特空間構形中通常包含至少 3 個，且更通常至少 5 個或 8-10 個胺基酸。

【0155】修飾輔助剖析 (Modification-Assisted Profiling, MAP)，亦稱為基於抗原結構之抗體剖析 (Antigen Structure-based Antibody Profiling, ASAP)，為根據各抗體對經化學或酶修飾之抗原表面的結合概況的相似性，對大量針對同一抗原之單株抗體 (mAb) 進行分類的方法 (參見 US 2004/0101920，特此以全文引用的方式併入本文中)。各類別可反映與由另一類別表示之抗原決定基明顯不同或部分重疊的獨特抗原決定基。此項技術允許快速過濾基因相同的抗體，使得表徵可以集中於基因不同的抗體。當應用於融合瘤篩選時，MAP 可促進產生具有期望特徵之 mAb 的稀有融合瘤純系的鑑別。MAP 可用以將本發明抗體分成結合不同抗原決定基之抗體組。

【0156】在某些實施例中，抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段結合如 SEQ ID NO: 505 中所舉例說明呈天然形式的或以重組方式產生的 CTLA-4

中所舉例說明的區域中之任何一或多者內的抗原決定基，或與其片段結合。

【0157】 本發明包含與本文表 1 中所述之特定例示性抗體中之任一者或具有表 1 中所述之例示性抗體中之任一者之 CDR 序列的抗體結合於同一抗原決定基或抗原決定基之一部分的抗 CTLA-4 抗體。同樣，本發明亦包含與本文表 1 中所述之特定例示性抗體中之任一者或具有表 1 中所述之例示性抗體中之任一者之 CDR 序列的抗體競爭與 CTLA-4 或 CTLA-4 片段結合的抗 CTLA-4 抗體。舉例而言，本發明包含與本文所舉例說明之一或多種抗體(例如 H1H19303P 或 H1H19319P2)交叉競爭與 CTLA-4 結合的抗 CTLA-4 抗體。

【0158】 藉由使用此項技術中已知之常規方法，可以容易地判定抗體是與參考抗 CTLA-4 抗體結合於同一抗原決定基還是競爭結合。舉例而言，為判定測試抗體是否與本發明之參考抗 CTLA-4 抗體結合於同一抗原決定基，使參考抗體在飽和條件下與 CTLA-4 蛋白質或肽結合。接著，評定測試抗體與 CTLA-4 分子結合之能力。若測試抗體能夠在用參考抗 CTLA-4 抗體飽和結合之後與 CTLA-4 結合，則可得出測試抗體與參考抗 CTLA-4 抗體結合於不同抗原決定基的結論。另一方面，若測試抗體不能夠在用參考抗 CTLA-4 抗體飽和結合之後與 CTLA-4 蛋白質結合，則測試抗體可與本發明之參考抗 CTLA-4 抗體所結合之抗原決定基相同的抗原決定基結合。

【0159】 為判定抗體是否與參考抗 CTLA-4 抗體競爭結合，按兩個方向進行上述結合方法：在第一方向中，使參考抗體與 CTLA-4 蛋白質在飽和條件下結合，隨後評定測試抗體與 CTLA-4 分子之結合。在第二方向中，使測試抗體與 CTLA-4 分子在飽和條件下結合，隨後評定參考抗體與 CTLA-4 分子之結合。若在兩個方向中，只有第一（飽和）抗體能夠與 CTLA-4 分子結合，則得出測試抗體及參考抗體競爭與 CTLA-4 結合的結論。如本領域中

熟習此項技術者應理解，與參考抗體競爭結合之抗體未必與參考抗體結合於同一抗原決定基，但可藉由結合重疊或相鄰抗原決定基而在空間上阻斷參考抗體之結合。

【0160】兩個抗體若各自競爭性地抑制（阻斷）另一個與抗原之結合，則結合於相同或重疊的抗原決定基。亦即，1、5、10、20 或 100 倍過量的一種抗體抑制另一種之結合達至少 50%，但是較佳 75%、90%或甚至 99%，如在競爭性結合分析中所量測（參見例如 Junghans 等人, *Cancer Res.* 1990 50:1495-1502）。或者，若抗原中減少或消除一種抗體之結合的基本上所有胺基酸突變減少或消除了另一抗體之結合，則兩個抗體具有相同抗原決定基。若減少或消除一個抗體之結合的一些胺基酸突變減少或消除另一抗體之結合，則兩個抗體具有重疊抗原決定基。

【0161】隨後可進行其他常規實驗（例如肽突變及結合分析），以確認所觀測到之測試抗體之結合缺失實際上是否是由於與參考抗體結合於同一抗原決定基，或是否是空間阻斷（或另一現象）負責所觀測到之結合缺乏。這種實驗可以使用 ELISA、RIA、表面電漿子共振、流動式細胞測量術或此項技術中可用之任何其他定量或定性抗體結合分析進行。

免疫結合物

【0162】本發明涵蓋一種人類抗 CTLA-4 單株抗體，其與諸如細胞毒素或化學治療劑之治療部分結合（「免疫結合物」）以治療癌症。如本文所用之術語「免疫結合物」係指以化學方式或以生物方式與細胞毒素、放射性試劑、細胞介素、干擾素、目標或報導部分、酶、毒素、肽或蛋白質或治療劑連接的抗體。抗體可沿著分子在任何位置與細胞毒素、放射性試劑、細胞介素、干擾素、目標或報導部分、酶、毒素、肽或治療劑連接，只要其能夠結合其目標即可。免疫結合物之實例包含抗體藥物結合物及抗

體-毒素融合蛋白。在一個實施例中，試劑可為針對 CTLA-4 之第二不同抗體。在某些實施例中，抗體可與對腫瘤細胞或病毒感染細胞具有特異性之試劑結合。在一個實施例中，抗體與對 T 細胞具有特異性之試劑結合。可與抗 CTLA-4 抗體結合之治療部分之類型且將考慮待治療之病況及待達成之所期望的治療效果。適合形成免疫結合物之試劑的實例為此項技術中已知的；參見例如 WO 05/103081。

多特異性抗體

【0163】 本發明抗體可為單特異性、雙特異性或多特異性。多特異性抗體可對一個目標多肽之不同抗原決定基具有特異性或可含有對超過一個目標多肽具有特異性之抗原結合域。參見例如 Tutt 等人, 1991, J. Immunol. 147:60-69；Kufer 等人, 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244。

【0164】 在一個態樣中，本發明包含多特異性抗原結合分子或其抗原結合片段，其中免疫球蛋白之一種特異性係特異性針對 CTLA-4 之細胞外域或其片段，且免疫球蛋白之另一特異性係特異性針對 CTLA-4 之細胞外域外的結合或第二治療目標，或與治療部分結合。

【0165】 如本領域中一般熟習此項技術者所知，本發明之多特異性抗原結合分子中之任一者或其變異體可使用標準分子生物技術（例如重組 DNA 及蛋白質表現技術）構築。

【0166】 在一些實施例中，CTLA-4 特異性抗體以雙特異性型式（「雙特異性抗體（bi-specific）」）產生，其中與 CTLA-4 之不同域結合的可變區連接在一起以在單一結合分子內賦予雙域特異性。恰當設計的雙特異性抗體可經由增加特異性及結合親合力來增強整體 CTLA-4 抑制功效。對個別域（例如 N 端域之區段）具有特異性或可與一個域內之不同區域結合的可變區在允許各區域同時與各別抗原決定基或與一個域內之不同區域結合的

結構架構上配對。在一個實例中，關於雙特異性抗體，來自對一個域具有特異性之結合子的重鏈可變區（V_H）與來自一系列對第二域具有特異性之結合子的輕鏈可變區（V_L）重組以鑑別可與初始 V_H 配對而不破壞對彼 V_H 之初始特異性的非同源 V_L 搭配物。以此方式，單一 V_L 區段（例如 V_{L1}）可與兩個不同 V_H 域（例如 V_{H1} 及 V_{H2}）組合以產生包括兩個結合「臂」（V_{H1}-V_{L1} 及 V_{H2}-V_{L1}）的雙特異性抗體。單一 V_L 區段之使用降低了系統複雜性，由此簡化用於產生雙特異性抗體之選殖、表現及純化製程並提高效率（參見例如 USSN13/022759 及 US2010/0331527）。

【0167】或者，結合超過一個域及第二目標之抗體，例如但不限於例如第二不同抗 CTLA-4 抗體，可使用本文所述之技術或本領域中熟習此項技術者已知之其他技術以雙特異性型式製備。可將與不同區域結合之抗體可變區及與例如 CTLA-4 之細胞外域上之相關位點結合之可變區連接在一起，以在單一結合分子內賦予雙重抗原特異性。具有此性質之恰當設計的雙特異性抗體起雙重作用。將對細胞外域具有特異性之可變區與對細胞外域外部具有特異性之可變區組合且在允許各可變區與各別抗原結合之結構架構上配對。

【0168】可在本發明之情形下使用的例示性雙特異性抗體型式涉及使用第一免疫球蛋白（Ig）C_H3 域及第二 Ig C_H3 域，其中第一及第二 Ig C_H3 域彼此相差至少一個胺基酸，且其中相比於缺乏胺基酸差異之雙特異性抗體，至少一個胺基酸差異減小了雙特異性抗體與蛋白 A 之結合。在一個實施例中，第一 Ig C_H3 域結合蛋白 A 且第二 Ig C_H3 域含有減少或消除蛋白 A 結合之突變，諸如 H95R 修飾（根據 IMGT 外顯子編號；根據 EU 編號係 H435R）。第二 C_H3 可進一步包括 Y96F 修飾（根據 IMGT；根據 EU 係 Y436F）。可發現於第二 C_H3 內之其他修飾在 IgG1 抗體之情況下包含：

D16E、L18M、N44S、K52N、V57M 及 V82I(根據 IMGT;根據 EU 係 D356E、L358M、N384S、K392N、V397M 及 V422I);在 IgG2 抗體之情況下包含: N44S、K52N 及 V82I (IMGT;根據 EU 係 N384S、K392N 及 V422I);及在 IgG4 抗體之情況下包含: Q15R、N44S、K52N、V57M、R69K、E79Q 及 V82I(根據 IMGT;根據 EU 係 Q355R、N384S、K392N、V397M、R409K、E419Q 及 V422I)。上文所描述的雙特異性抗體型式上之變化涵蓋在本發明之範疇內。

【0169】可在本發明之情形下使用之其他例示性雙特異性型式包含但不限於例如基於 scFv 或雙功能抗體雙特異性型式、IgG-scFv 融合物、雙重可變域 (dual variable domain, DVD)-Ig、四源雜交瘤 (Quadroma)、杵臼 (knobs-into-holes)、常見輕鏈 (例如具有杵臼之常見輕鏈等)、交叉 Mab (CrossMab)、交叉 Fab (CrossFab)、(SEED)體、白胺酸拉鏈 (leucine zipper)、Duobody、IgG1/IgG2、雙重作用 Fab (DAF)-IgG 及 Mab² 雙特異性型式 (關於前述型式之綜述,參見例如 Klein 等人 2012, mAbs 4:6, 1-11, 及其中所引用之參考文獻)。雙特異性抗體亦可使用肽/核酸結合來構築,例如其中使用具有正交化學反應性之非天然胺基酸來產生位點特異性抗體-寡核苷酸結合物,其隨後自組裝成具有規定組成、價數及幾何結構之多聚複合物。(參見例如 Kazane 等人, *J. Am. Chem. Soc.* [電子版: 2012 年 12 月 4 日])。

治療性投藥及調配物

【0170】本發明提供包括本發明之抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段的治療性組合物。根據本發明之治療性組合物將與適合載劑、賦形劑及其他併入於調配物中以提供改良的轉移、遞送、耐受性及類似特性之試劑一起投與。眾多適當調配物可發現於所有醫藥化學家已知的處方集:

Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA 中。此等調配物包含例如散劑、糊劑、軟膏、凝膠劑、蠟、油、脂質、含有脂質（陽離子或陰離子型）之囊泡（諸如 LIPOFECTIN™）、DNA 結合物、無水吸收糊劑、水包油型及油包水型乳液、乳液卡波蠟（carbowax）（各種分子量之聚乙二醇）、半固體凝膠及含有卡波蠟之半固體混合物。亦參見 Powell 等人「Compendium of excipients for parenteral formulations」PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311。

【0171】抗體之劑量可視待投藥之個體的年齡及身材、目標疾病、病狀、投藥途徑及類似因素而變化。當使用本發明抗體來治療成年患者之疾病或病症或預防此類疾病時，正常按以下單次劑量投與本發明抗體係有利的：每公斤體重約 0.1 至約 60 mg、更佳地每公斤體重約 5 至約 60、約 20 至約 50、約 10 至約 50、約 1 至約 10 或約 0.8 至約 11 mg。視病狀之嚴重程度而定，可調整治療之頻率及持續時間。在某些實施例中，本發明之抗體或其抗原結合片段可以至少約 0.1 mg 至約 800 mg、約 1 至約 500 mg、約 5 至約 300 mg 或約 10 至約 200 mg、至約 100 mg 或至約 50 mg 之初始劑量投與。在某些實施例中，初始劑量之後可以大致上與初始劑量相同或小於初始劑量之量投與第二或複數個後續劑量的抗體或其抗原結合片段，其中各後續劑量之間間隔至少 1 天至 3 天；至少一週；至少 2 週；至少 3 週；至少 4 週；至少 5 週；至少 6 週；至少 7 週；至少 8 週；至少 9 週；至少 10 週；至少 12 週；或至少 14 週。

【0172】各種遞送系統已知且可用於投與例如封裝於脂質體、微粒、微膠囊中之本發明之醫藥組合物、能夠表現突變型病毒之重組細胞、受體介導之胞吞作用（參見例如 Wu 等人 (1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432）。引入方法包含但不限於皮內、經皮、肌肉內、腹膜內、靜脈內、皮下、鼻

內、硬膜外及經口途徑。組合物可藉由任何適宜途徑投與，例如藉由輸注或快速注射（bolus injection）、藉由經由上皮或黏膜皮膚內層（例如口腔黏膜、直腸黏膜及腸黏膜等）吸收，且可與其他生物學活性劑一起投與。可全身或局部投與。醫藥組合物亦可在囊泡、尤其是脂質體中遞送（參見例如 Langer (1990) Science 249:1527-1533）。

【0173】 本文亦設想使用奈米粒子遞送本發明抗體。可使用抗體結合的奈米粒子用於治療及診斷應用。抗體結合的奈米粒子及製備及使用方法由 Arruebo, M.等人 2009（「Antibody-conjugated nanoparticles for biomedical applications」 J. Nanomat. 第 2009 卷，文章 ID 439389, 24 頁，doi: 10.1155/2009/439389）詳細描述，其以引入之方式併入本文中。可開發奈米粒子且將其與醫藥組合物中所含的抗體結合以靶向腫瘤細胞或自體免疫性組織細胞或病毒感染細胞。用於藥物遞送之奈米粒子亦描述於例如 US 8257740 或 US 8246995 中，其各自以全文併入本文中。

【0174】 在某些情況下，醫藥組合物可在控制釋放系統中遞送。在一個實施例中，可使用泵。在另一實施例中，可使用聚合物材料。在另一實施例中，控制釋放系統可置放在組合物之目標的附近，因此僅需要全身性劑量之一部分。

【0175】 可注射製劑可包含用於靜脈內、皮下、瘤內、瘤周、皮內、顱內、腹膜內及肌肉內注射、點滴輸注（drip infusion）等的劑型。此等可注射製劑可藉由公開已知之方法製備。舉例而言，可注射製劑可例如藉由在習知用於注射之無菌水性介質或油性介質中溶解、懸浮或乳化上文所描述之抗體或其鹽來製備。關於注射用水性介質，存在例如生理鹽水、含有葡萄糖及其他輔助劑之等張溶液等，其可與適當助溶劑組合使用，所述助溶劑諸如醇（例如乙醇）、多元醇（例如丙二醇、聚乙二醇）、非離子型

界面活性劑[例如聚山梨醇酯 80、HCO-50 (氫化蓖麻油之聚氧乙烯 (50 mol) 加合物)]等。關於油性介質，採用例如芝麻油、大豆油等，其可與諸如苯甲酸苯甲酯、苯甲醇等助溶劑組合使用。較佳將由此製備之注射液填充於適當安瓿中。

【0176】本發明之醫藥組合物可用標準針頭及注射器皮下或靜脈內遞送。此外，關於皮下遞送，筆式遞送裝置易於在遞送本發明之醫藥組合物時應用。此類筆式遞送裝置可為可再用的或拋棄式的。可再用的筆式遞送裝置一般利用含有醫藥組合物之可替換筒。在筒內所有醫藥組合物都已投與且筒為空的之後，可容易地丟棄空筒且用含有醫藥組合物之新筒替換。隨後可再使用筆式遞送裝置。在拋棄式筆式遞送裝置中，不存在可替換筒。確切而言，拋棄式筆式遞送裝置預填充有保存於裝置內之儲集器中的醫藥組合物。一旦清空儲集器之醫藥組合物，即丟棄整個裝置。

【0177】許多可再用筆式及自動注射器遞送裝置可應用於本發明之醫藥組合物的皮下遞送。僅列舉幾例，實例包含但當然不限於：AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONIC™筆 (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25™筆、HUMALOG™筆、HUMALIN 70/30™筆 (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPEN™ I、II 及 III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD™筆 (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPEN™、OPTIPEN PRO™、OPTIPEN STARLET™及 OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany)。僅列舉幾例，可應用於皮下遞送本發明之醫藥組合物的拋棄式筆式遞送裝置之實例包含但當然不限於：SOLOSTAR™筆 (Sanofi-Aventis)、FLEXPEN™ (Novo Nordisk) 及 KWIKPEN™ (Eli Lilly)、SURECLICK™自動注射器 (Amgen,

Thousand Oaks, CA) 、PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany) 、EPIPEN (Dey, L.P.) 及 HUMIRA™ 筆 (Abbott Labs, Abbott Park, IL) 。

【0178】 上文所述之用於經口或非經腸使用之醫藥組合物宜製備成呈適於配合活性成分之劑量之單位劑量的劑型。此類呈單位劑量之劑型包含例如錠劑、丸劑、膠囊、注射劑（安瓿）、栓劑等。單位劑量中所含抗體之量一般為每劑型約 5 至約 500 mg；尤其呈注射劑形式，對於其他劑型而言，含有約 5 至約 100 mg 及約 10 至約 250 mg 的抗體係較佳的。

抗體之治療性用途

【0179】 本發明抗體尤其適用於治療、預防及/或改善與 CTLA-4 表現、信號傳導或活性相關或由其介導、或可藉由阻斷 CTLA-4 與 CTLA-4 配體 B7-1/CD80 及/或 B7-2/CD86 之間的相互作用或以其他方式抑制 CTLA-4 活性及/或信號傳導來治療的任何疾病或病症。可投與一或多種本發明抗體來減輕或預防疾病或病症之症狀或病況中之一或多者或減小其嚴重程度。舉例而言，本發明提供藉由向有需要此類治療之患者投與如本文所述之抗 CTLA-4 抗體（或包括抗 CTLA-4 抗體之醫藥組合物）來治療癌症（腫瘤生長抑制）及/或病毒感染的方法，及用於治療癌症（腫瘤生長抑制）及/或病毒感染的抗 CTLA-4 抗體（或包括抗 CTLA-4 抗體之醫藥組合物）。本發明抗體適用於治療、預防及/或改善諸如癌症或病毒感染之疾病或病症或病況及/或用於改善至少一種與此類疾病、病症或病況相關之症狀。在本文所述之治療方法之情況下，抗 CTLA-4 抗體可以單一療法（亦即作為唯一治療劑）或與一或多種額外治療劑（其實例描述於本文其他地方中）組合投與。

【0180】 在本發明之一些實施例中，本文所述之抗體適用於治療患有原發性或再發性癌症之個體，所述癌症包含但不限於血癌、腦癌（例如多

形性神經膠質母細胞瘤)、腎細胞癌(例如透明細胞腎癌)、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、乳癌(例如三陰性乳癌)、腎癌、子宮頸癌、皮膚癌、肝癌、胃癌、胰臟癌、肝細胞癌、骨癌、結腸癌、非小細胞肺癌、頭頸部鱗狀細胞癌、結腸直腸癌、間皮瘤及黑色素瘤。

【0181】如本文所用之術語「血癌」包含影響血液、骨髓、淋巴或淋巴系統之血液科惡性疾病。因此，所述術語包含來自淋巴及骨髓細胞譜系之細胞的惡性疾病。骨髓細胞株正常產生粒細胞、紅血球、凝血細胞、巨噬細胞及肥大細胞；淋巴細胞株產生 B、T、NK 及漿細胞。因此，所述術語包含以上提及之細胞的惡性疾病，即淋巴瘤、骨髓瘤、淋巴性白血病及骨髓性白血病。實例包含但不限於急性淋巴母細胞白血病、急性骨髓性白血病、慢性淋巴細胞性白血病、慢性骨髓性白血病、急性單核球性白血病、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphomas)、非霍奇金氏淋巴瘤(例如 B 細胞淋巴瘤、彌漫性大 B 細胞淋巴瘤)及骨髓瘤(包含多發性骨髓瘤)。

【0182】可使用抗體來治療癌症之早期或晚期症狀。在一個實施例中，可使用本發明之抗體或其片段來治療晚期癌或轉移癌。抗體適用於減少或抑制或縮小實體腫瘤及血癌的腫瘤生長。在某些實施例中，用本發明之抗體或其抗原結合片段治療引起個體中之腫瘤發生超過 40%之消退、超過 50%之消退、超過 60%之消退、超過 70%之消退、超過 80%之消退或超過 90%之消退。在某些實施例中，抗體可用於預防腫瘤復發。在某些實施例中，抗體適用於延長具有癌症之個體的無進展存活期或總存活期。在一些實施例中，抗體適用於減小因為化學療法或放射線療法所引起的毒性，同時保持患有癌症之患者長期存活。在某些實施例中，將一或多種本發明抗體局部注射至一或多個腫瘤病灶中(瘤內或瘤周)，且在個體中之所注射腫瘤中以及在一或多個相鄰或遠端腫瘤(遠隔效應)中引起腫瘤生長抑

制。

【0183】在某些實施例中，本發明抗體適用於治療患有慢性病毒感染之個體。在一些實施例中，本發明抗體適用於降低宿主中之病毒效價及/或拯救耗竭性 T 細胞。在某些實施例中，本發明之抗體或其片段可用於治療由淋巴細胞性脈絡叢腦膜炎病毒 (LCMV) 所導致的慢性病毒感染。在一些實施例中，本發明之抗體或其抗原結合片段可以治療劑量向被人類免疫缺乏病毒 (HIV) 或人類乳頭狀瘤病毒 (HPV) 或 B 型/C 型肝炎病毒 (HBV/HCV) 感染的患者投與。在相關實施例中，本發明之抗體或其抗原結合片段可用於治療諸如食蟹獼猴之猿猴個體中由猿猴免疫缺乏病毒 (SIV) 所導致的感染。

【0184】在某些實施例中，可向患有癌症或病毒感染之個體投與治療有效量的本發明之阻斷抗體。

【0185】在某些實施例中，將一或多種本發明抗體局部投與至具有癌症之個體中之腫瘤中或腫瘤病灶附近（瘤內或瘤周）以使全身暴露降到最低且預防/改善因為抗體之全身暴露所導致的毒性。

【0186】本文亦涵蓋對有風險患上諸如癌症及病毒感染之疾病或病症的患者預防性地使用一或多種本發明抗體。

【0187】在本發明之另一實施例中，本發明抗體用於製備用於治療患有癌症或病毒感染之患者的醫藥組合物。在本發明之另一實施例中，本發明抗體作為輔助療法與本領域中熟習此項技術者已知適用於治療癌症或病毒感染之任何其他藥劑或任何其他療法一起使用。

組合療法及調配物

【0188】組合療法可包含本發明之抗 CTLA-4 抗體及宜與本發明抗體或本發明抗體之生物學活性片段組合的任何額外治療劑。

【0189】 本發明抗體可與一或多種用於治療或抑制癌症之抗癌藥或療法以協同方式組合，所述癌症包含例如血癌、腦癌（例如多形性神經膠質母細胞瘤）、腎細胞癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、乳癌、肝細胞癌、骨癌、皮膚癌、子宮頸癌、胃癌、腎癌、結腸癌、非小細胞肺癌、頭頸部鱗狀細胞癌、結腸直腸癌、間皮瘤及黑色素瘤。本文中設想本發明之抗 CTLA-4 抗體與免疫刺激性及/或免疫支持性療法組合使用來抑制腫瘤生長及/或提高癌症患者之存活期。免疫刺激性療法包含藉由針對受抑止免疫細胞「釋放制動器（releasing the brake）」或「加速（stepping on the gas）」活化免疫反應來強化免疫細胞活性的直接免疫刺激性療法。實例包含靶向其他檢查點受體、疫苗接種及佐劑。免疫支持型式可藉由促進免疫原性細胞死亡、炎症來增加腫瘤之抗原性或具有其他促進抗腫瘤免疫反應的間接作用。實例包含放射線、化學療法、抗血管生成劑及手術。

【0190】 在各種實施例中，一或多種本發明抗體可與以下各者組合使用：PD-1 抑制劑（例如抗 PD-1 抗體，諸如納武單抗、派姆單抗、皮立珠單抗（pidilizumab）、BGB-A317 或 REGN2810）、PD-L1 抑制劑（例如抗 PD-L1 抗體，諸如阿維魯單抗（avelumab）、阿特珠單抗、德瓦魯單抗、MDX-1105 或 REGN3504）、LAG3 抑制劑、TIM3 抑制劑、BTLA 抑制劑、TIGIT 抑制劑、CD47 抑制劑、CD28 抑制劑、CSF1R 抑制劑、CXCR 抑制劑、CCR4 抑制劑、CCR8 抑制劑、CD40 抑制劑、OX40 抑制劑、GITR 抑制劑、另一 T 細胞共抑制劑或配體之拮抗劑（例如針對 CD-28、2B4、LY108、LAIR1、ICOS、CD160 或 VISTA 之抗體）、吡嗪胺-2,3-二氧酶（IDO）抑制劑、血管內皮生長因子（VEGF）拮抗劑[例如「VEGF 捕獲劑（VEGF-Trap）」，諸如阿柏西普或如 US 7,087,411 中所闡述之其他抑制 VEGF 之融合蛋白或抗 VEGF 抗體或其抗原結合片段（例如貝伐單抗或蘭尼單抗（ranibizumab））]

或 VEGF 受體之小分子激酶抑制劑（例如舒尼替尼（sunitinib）、索拉非尼（sorafenib）或帕佐泮尼（pazopanib）]、Ang2 抑制劑（例如內斯瓦庫單抗）、轉形生長因子 β （transforming growth factor beta, TGF β ）抑制劑、表皮生長因子受體（epidermal growth factor receptor, EGFR）抑制劑（例如埃羅替尼（erlotinib）、西妥昔單抗（cetuximab））、CD20 抑制劑（例如抗 CD20 抗體，諸如利妥昔單抗（rituximab））、針對腫瘤特異性抗原[例如 CA9、CA125、黑色素瘤相關抗原 3（melanoma-associated antigen 3, MAGE3）、癌胚抗原（carcinoembryonic antigen, CEA）、波形蛋白（vimentin）、腫瘤-M2-PK、前列腺特異性抗原（prostate-specific antigen, PSA）、黏蛋白-1、MART-1 及 CA19-9]之抗體、疫苗（例如卡介苗（Bacillus Calmette-Guerin）、癌症疫苗）、用以增加抗原呈現之佐劑（例如粒細胞-巨噬細胞群落刺激因子）、雙特異性抗體（例如 CD3 $\times$ CD20 雙特異性抗體或 PSMA $\times$ CD3 雙特異性抗體）、細胞毒素、化學治療劑（例如達卡巴嗪（dacarbazine）、替莫唑胺（temozolomide）、環磷醯胺、多西他賽（docetaxel）、小紅莓、道諾黴素、順鉑、卡鉑（carboplatin）、吉西他濱（gemcitabine）、甲胺喋呤（methotrexate）、米托蒽醌、奧沙利鉑（oxaliplatin）、太平洋紫杉醇及長春新鹼）、環磷醯胺、手術、放射線療法、IL-6R 抑制劑（例如沙瑞盧單抗（sarilumab））、IL-4R 抑制劑（例如度匹魯單抗（dupilumab））、IL-10 抑制劑、諸如 IL-2、IL-7、IL-21 及 IL-15 之細胞介素、抗體-藥物結合物（antibody-drug conjugate, ADC）（例如抗 CD19-DM4 ADC 及抗 DS6-DM4 ADC）、消炎藥（例如皮質類固醇及非類固醇消炎藥）、諸如抗氧化劑之膳食補充劑或任何其他用於治療癌症之療法護理。在某些實施例中，本發明之抗 CTLA-4 抗體可與包含樹突狀細胞疫苗、溶瘤病毒、腫瘤細胞疫苗等癌症疫苗組合使用來強化抗腫瘤反應。可與本發明之抗 CTLA-4 抗體組合使

用之癌症疫苗的實例包含用於黑色素瘤及膀胱癌之 MAGE3 疫苗、用於乳癌之 MUC1 疫苗、用於腦癌（包含多形性神經膠質母細胞瘤）之 EGFRv3（例如林德佩皮姆（Rindopepimut））或 ALVAC-CEA（用於 CEA+癌症）。

【0191】在某些實施例中，在用於產生長期耐用抗腫瘤反應及/或提高具有癌症之患者的存活期的方法中，本發明之抗 CTLA-4 抗體可與放射線療法組合投與。在一些實施例中，本發明之抗 CTLA-4 抗體可在向癌症患者投與放射線療法之前、同時或之後投與。舉例而言，可向腫瘤病灶投與一或多個劑量的放射線療法，隨後投與一或多個劑量的本發明之抗 CTLA-4 抗體。在一些實施例中，可局部投與放射線療法至腫瘤病灶以增強患者腫瘤之局部免疫原性（輔助放射線）及/或殺死腫瘤細胞（燒蝕性放射線），隨後全身性投與本發明之抗 CTLA-4 抗體。舉例而言，可向具有腦癌（例如多形性神經膠質母細胞瘤）之患者投與顱內放射線，與全身性投與本發明之抗 CTLA-4 抗體相組合。在某些實施例中，本發明之抗 CTLA-4 抗體可與放射線療法及化學治療劑（例如替莫唑胺）或 VEGF 拮抗劑（例如阿柏西普）組合投與。在某些實施例中，本發明之抗 CTLA-4 抗體可與放射線療法及化學治療劑（例如替莫唑胺）或 PD-1 抑制劑（例如抗 PD-1 抗體，諸如 REGN2810、納武單抗或派姆單抗）組合投與。

【0192】在某些實施例中，本發明之抗 CTLA-4 抗體可與一或多種用於治療由 LCMV、HIV、HPV、HBV 或 HCV 引起之慢性病毒感染的抗病毒藥組合投與。抗病毒藥之實例包含但不限於齊多夫定、拉米夫定、阿巴卡韋、利巴韋林、洛匹那韋、依法韋侖、考比西他、田諾弗、利匹韋林及皮質類固醇。

【0193】額外治療活性劑/組分可在投與本發明之抗 CTLA-4 抗體之前、同時或之後投與。出於本揭示案的目的，考慮這樣的投藥方案：抗

CTLA-4 抗體「與」第二治療活性組分「組合」投與。

【0194】額外治療活性組分可在投與本發明之抗 CTLA-4 抗體之前向個體投與。舉例而言，若第一組分在投與第二組分前 1 週、前 72 小時、前 60 小時、前 48 小時、前 36 小時、前 24 小時、前 12 小時、前 6 小時、前 5 小時、前 4 小時、前 3 小時、前 2 小時、前 1 小時、前 30 分鐘、前 15 分鐘、前 10 分鐘、前 5 分鐘或前不到 1 分鐘投與，則可視為第一組分係「在」第二組分「之前」投與。在其他實施例中，額外治療活性組分可在投與本發明之抗 CTLA-4 抗體之後向個體投與。舉例而言，若第一組分在投與第二組分之後 1 分鐘、之後 5 分鐘、之後 10 分鐘、之後 15 分鐘、之後 30 分鐘、之後 1 小時、之後 2 小時、之後 3 小時、之後 4 小時、之後 5 小時、之後 6 小時、之後 12 小時、之後 24 小時、之後 36 小時、之後 48 小時、之後 60 小時、之後 72 小時投與，則可視為第一組分係「在」第二組分「之後」投與。在其他實施例中，額外治療活性組分可與投與本發明之抗 CTLA-4 抗體同時向個體投與。出於本發明之目的，「同時」投藥包含例如以單一劑型（例如共同調配）或以相互之間在約 30 分鐘或更短時間內向個體投與的各別劑型向個體投與抗 CTLA-4 抗體及額外治療活性組分。若以各別劑型投與，則各劑型可經由相同途徑投與（例如，抗 CTLA-4 抗體及額外治療活性組分均可靜脈內、皮下等投與）；或者，各劑型可經由不同途徑投與（例如抗 CTLA-4 抗體可靜脈內投與，且額外治療活性組分可皮下投與）。在任何情況下，出於本揭示案的目的，以單一劑型、以相同途徑的各別劑型或以不同途徑的各別劑型投與組分皆視為「同時投藥」。出於本揭示案的目的，在投與額外治療活性組分「之前」、「同時」或「之後」（如在上文中所定義之彼等術語）投與抗 CTLA-4 抗體皆視為抗 CTLA-4 抗體「與」額外治療活性組分「組合」投與。

【0195】 本發明包含醫藥組合物，其中本發明之抗 CTLA-4 抗體與如本文其他地方所述之額外治療活性組分中之一或多者一起使用各種劑量組合共同調配。

【0196】 在本發明之抗 CTLA-4 抗體與 PD-1 抑制劑（例如抗 PD-1 抗體，如以全文引用之方式併入本文中的 US 2015/0203579 中所揭示）組合投與的例示性實施例中，包含包括抗 CTLA-4 抗體及 PD-1 抑制劑之共同調配物之投與，可使用各種劑量組合向個體投與及/或共同調配個別組分。因此，本發明包含 (i) 本發明之抗 CTLA-4 抗體與 (ii) PD-1 抑制劑（例如抗 PD-1 抗體，如以全文引用之方式併入本文中的 US 2015/0203579 中所揭示）之組合，以便同時、分別及/或依序用於治療癌症或病毒感染。舉例而言，抗 CTLA-4 抗體及 PD-1 抑制劑（例如抗 PD-1 抗體）各自可以選自由以下組成之群之量向個體投與及/或含於共同調配物中：0.01 mg/kg、0.02 mg/kg、0.03 mg/kg、0.04 mg/kg、0.05 mg/kg、0.1 mg/kg、0.2 mg/kg、0.3 mg/kg、0.4 mg/kg、0.5 mg/kg、0.6 mg/kg、0.7 mg/kg、0.8 mg/kg、0.9 mg/kg、1.0 mg/kg、1.5 mg/kg、2.0 mg/kg、2.5 mg/kg、3.0 mg/kg、3.5 mg/kg、4.0 mg/kg、4.5 mg/kg、5.0 mg/kg、6.0 mg/kg、7.0 mg/kg、8.0 mg/kg、9.0 mg/kg 及 10.0 mg/kg。在一個實施例中，抗 CTLA-4 抗體及 PD-1 抑制劑（例如抗 PD-1 抗體）各自可以約 50 mg 至約 600 mg 之量，例如選自由以下組成之群之量向個體投與及/或含於共同調配物中：50 mg、100 mg、200 mg、250 mg、300 mg、350 mg、400 mg、450 mg、500 mg、550 mg 及 600 mg。組合/共同調配物可根據本文其他地方所揭示之投藥方案中之任一者向個體投與，所述投藥方案包含例如一週兩次、每週一次、每 2 週一次、每 3 週一次、每月一次、每 2 個月一次、每 3 個月一次、每 4 個月一次、每 5 個月一次、每 6 個月一次等。本發明之抗 CTLA-4 抗體可以例如以約 0.8 至約 11、約 1 至約 10、約 3 至約 10、約 1、

約 3 或約 10 mg/kg 之劑量，與約 3 至 5 或約 3.0 mg/kg 之劑量的 PD-1 抑制劑（例如，如 US 2015/0203579 中所揭示之抗 PD-1 抗體）同時投與。同時投藥可以例如每 14 天、每 21 天或每 28 天進行。

【0197】 在本發明之抗 CTLA-4 抗體與抗 PD-1 抗體及 VEGF 拮抗劑（例如 VEGF 捕獲劑，諸如阿柏西普）組合投與的例示性實施例中，包含包括抗 CTLA-4 抗體、抗 PD-1 抗體及 VEGF 拮抗劑之共同調配物的投與，個別組分可使用各種劑量組合向個體投與及/或共同調配。舉例而言，抗 CTLA-4 抗體及/或抗 PD-1 抗體可以選自由以下組成之群之量向個體投與及/或含於共同調配物中：0.01 mg、0.02 mg、0.03 mg、0.04 mg、0.05 mg、0.1 mg、0.2 mg、0.3 mg、0.4 mg、0.5 mg、0.6 mg、0.7 mg、0.8 mg、0.9 mg、1.0 mg、1.5 mg、2.0 mg、2.5 mg、3.0 mg、3.5 mg、4.0 mg、4.5 mg、5.0 mg、6.0 mg、7.0 mg、8.0 mg、9.0 mg 及 10.0 mg；且 VEGF 拮抗劑（例如 VEGF 捕獲劑，諸如阿柏西普）可以選自由以下組成之群之量向個體投與及/或含於共同調配物中：0.1 mg、0.2 mg、0.3 mg、0.4 mg、0.5 mg、0.6 mg、0.7 mg、0.8 mg、0.9 mg、1.0 mg、1.1 mg、1.2 mg、1.3 mg、1.4 mg、1.5 mg、1.6 mg、1.7 mg、1.8 mg、1.9 mg、2.0 mg、2.1 mg、2.2 mg、2.3 mg、2.4 mg、2.5 mg、2.6 mg、2.7 mg、2.8 mg、2.9 mg 及 3.0 mg。組合/共同調配物可根據本文其他地方所揭示之投藥方案中之任一者向個體投與，所述投藥方案包含例如一週兩次、每週一次、每 2 週一次、每 3 週一次、每月一次、每 2 個月一次、每 3 個月一次、每 4 個月一次、每 5 個月一次、每 6 個月一次等。

投藥方案

【0198】 根據本發明之某些實施例，可在規定的時間過程內向個體投與多個劑量之抗 CTLA-4 抗體（或包括抗 CTLA-4 抗體與本文所提及之額外治療活性劑中之任一者之組合的醫藥組合物）。根據本發明之此態樣的方

法包括向個體依序投與多個劑量之本發明之抗 CTLA-4 抗體。如本文所用之「依序投與」意謂各劑量之抗 CTLA-4 抗體在不同時間點向個體投與，例如在間隔預定時間間隔（例如數小時、數天、數週或數月）的不同日子投與。本發明包含如下方法，其包括向患者依序投與單一初始劑量之抗 CTLA-4 抗體，繼之以一或多個第二劑量之抗 CTLA-4 抗體，及視情況繼之以一或多個第三劑量之抗 CTLA-4 抗體。抗 CTLA-4 抗體可以每公斤個體體重 0.1 mg 至 100 mg 之間的劑量投與。

【0199】術語「初始劑量」、「第二劑量」及「第三劑量」係指本發明之抗 CTLA-4 抗體之投與的時間順序。因此，「初始劑量」為在治療方案開始時投與之劑量（亦稱為「基線劑量」）；「第二劑量」為在初始劑量之後投與之劑量；且「第三劑量」為在第二劑量之後投與之劑量。初始劑量、第二劑量及第三劑量可均含有相同量之抗 CTLA-4 抗體，但就投藥頻率而言一般彼此不同。然而，在某些實施例中，在治療過程中，初始劑量、第二劑量及/或第三劑量中所含之抗 CTLA-4 抗體之量彼此不同（例如視情況上調或下調）。在某些實施例中，在治療方案開始時投與兩個或更多個（例如 2、3、4 或 5 個）劑量作為「速效劑量（loading dose）」，接著以較低頻率投與後續劑量（例如「維持劑量」）。

【0200】在某些實施例中，初始劑量、第二劑量及/或第三劑量中所含之抗 CTLA-4 抗體之量可為次最佳化的或低於治療劑量（sub-therapeutic）。如本文所用之術語「低於治療劑量」或「次最佳化的」係指所投與的抗體劑量之程度過低以致於不能產生治療效果或低於治療諸如癌症之疾病所必需的程度。

【0201】在本發明之某些例示性實施例中，第二劑量及/或第三劑量各自在前一劑量之後 1 至 26 週（例如 1、1½、2、2½、3、3½、4、4½、5、

5½、6、6½、7、7½、8、8½、9、9½、10、10½、11、11½、12、12½、13、13½、14、14½、15、15½、16、16½、17、17½、18、18½、19、19½、20、20½、21、21½、22、22½、23、23½、24、24½、25、25½、26、26½週或更久) 投與。如本文所用之短語「前一劑量」意謂在多次投藥的順序中，在投與所述順序中之下一個劑量之前向患者投與的抗 CTLA-4 抗體之劑量，沒有中間劑量。

【0202】根據本發明之此態樣的方法可包括向患者投與任何數目的第二劑量及/或第三劑量之抗 CTLA-4 抗體。舉例而言，在某些實施例中，僅向患者投與單一第二劑量。在其他實施例中，向患者投與兩個或更多個(例如 2、3、4、5、6、7、8 個或更多個) 第二劑量。同樣，在某些實施例中，僅向患者投與單一第三劑量。在其他實施例中，向患者投與兩個或更多個(例如 2、3、4、5、6、7、8 個或更多個) 第三劑量。

【0203】在涉及多個第二劑量之實施例中，各第二劑量可以與其他第二劑量相同的頻率投與。舉例而言，各第二劑量可在前一劑量之後 1 至 2 週或 1 至 2 個月向患者投與。類似地，在涉及多個第三劑量之實施例中，各第三劑量可以與其他第三劑量相同的頻率投與。舉例而言，各第三劑量可在前一劑量之後 2 至 12 週向患者投與。在本發明之某些實施例中，在治療方案之過程中，向患者投與第二劑量及/或第三劑量之頻率可不同。亦可在治療過程中在臨床檢查之後由醫師根據個別患者之需要來調整投藥頻率。

抗體之診斷性用途

【0204】本發明之抗 CTLA-4 抗體可用於偵測及/或量測樣品中之 CTLA-4，例如用於診斷目的。一些實施例設想在用於偵測諸如癌症、自體免疫疾病或病毒感染之疾病或病症的分析中使用一或多種本發明抗體。

CTLA-4 之例示性診斷分析可包括例如使獲自個體（例如患者）之樣品與本發明之抗 CTLA-4 抗體接觸，其中抗 CTLA-4 抗體經可偵測標記或報導分子標記或用作用於從個體樣品中選擇性分離 CTLA-4 的捕捉配體。或者，未標記之抗 CTLA-4 抗體可與自身可偵測地標記之二級抗體組合用於診斷應用中。可偵測標記或報導分子可為放射性同位素，諸如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 或 ^{125}I ；螢光或化學發光部分，諸如螢光素異硫氰酸鹽（fluorescein isothiocyanate）或若丹明（rhodamine）；或酶，諸如鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、辣根過氧化酶或螢光素酶。可用於偵測或量測樣品中之 CTLA-4 的特定例示性分析包括酶聯免疫吸附分析（ELISA）、放射免疫分析（radioimmunoassay，RIA）及螢光活化細胞分選（fluorescence-activated cell sorting，FACS）。

【0205】可在根據本發明之 CTLA-4 診斷分析中使用之樣品包含在正常條件或病理條件下任何可從個體獲得的含有可偵測的數量的 CTLA-4 蛋白質或其片段的組織或流體樣品。一般而言，將量測從健康患者（例如，未患癌症或自體免疫疾病之患者）獲得之特定樣品中之 CTLA-4 之含量以首先建立 CTLA-4 之基線或標準含量。隨後可比較 CTLA-4 之此基線含量與在從懷疑具有癌症相關病況或與此類病況相關之症狀的個體獲得的樣品中所量測到之 CTLA-4 含量。

【0206】對 CTLA-4 具有特異性之抗體可不含額外標記或部分，或其可含有 N 端或 C 端標記或部分。在一個實施例中，標記或部分為生物素。在結合分析中，標記（若存在）之位置可決定肽相對於發生肽結合之表面的取向。舉例而言，若表面塗有抗生物素蛋白，則含有 N 端生物素之肽之取向將使得肽之 C 端部分遠離表面。

【0207】本發明之態樣係關於使用所揭示之抗體作為標誌物來預測

患者中之癌症或病毒感染之預後。可在診斷分析中使用本發明抗體來評估患者之癌症預後及預測存活期。

實例

【0208】提出以下實例以便為本領域普通技術人員提供如何製得及使用本發明之方法及組合物的完整揭示及說明，且以下實例不意欲限制本發明人視作本發明之物的範疇。關於所用數值（例如量、溫度等），已努力確保準確性，但應當說明存在一些實驗誤差及偏差。除非另外指明，否則份數為重量份，分子量為平均分子量，溫度以攝氏度計，室溫為約 25°C，且壓力為在大氣壓下或接近大氣壓。

實例 1：產生針對 CTLA-4 之人類抗體

【0209】使用人類 CTLA-4 蛋白質（目錄號：7268-CT，R&D Systems）或編碼 hCTLA-4 之 DNA（寄存編號：NM_005214.4）產生針對 CTLA-4 之人類抗體。向 VELOCIMMUNE® 小鼠（亦即經工程改造包括編碼人類免疫球蛋白重鏈及 κ 輕鏈可變區之 DNA 的小鼠）直接投與免疫原，用佐劑刺激免疫反應，如 US 8502018 B2 中所述。藉由 CTLA-4 特異性免疫分析監測抗體免疫反應。當達成所期望的免疫反應時，收集脾細胞且使其與小鼠骨髓瘤細胞融合以保留其活力且形成融合瘤細胞株。對融合瘤細胞株進行篩選及選擇以鑑別產生 CTLA-4 特異性抗體之細胞株。使用此項技術及上述免疫原，獲得若干抗 CTLA-4 嵌合抗體（亦即，具有人類可變域及小鼠恆定域之抗體）；以此方式從 VELOCIMMUNE® 小鼠產生的例示性抗體命名為 H1M20370N、H1M20372N、H1M20393N、H2M20361N、H2M20368N、H2M20369N、H2M20373N、H2M20375N、H2M20379N、H2M20385N、H2M20386N 及 H2M20387N。

【0210】亦直接從抗原陽性 B 細胞（從免疫小鼠中之任一者）分離抗

CTLA-4 抗體而不與骨髓瘤細胞融合，如特此以全文引用的方式併入本文中
之美國專利 7,582,298 中所述。使用此方法，獲得若干完全人類抗 CTLA-4
抗體（亦即，具有人類可變域及人類恆定域之抗體）；以此方式產生之例
示性抗體命名如下：H1H19264P、H1H19269P、H1H19273P、H1H19274P、
H1H19278P、H1H19279P、H1H19280P、H1H19281P、H1H19283P、
H1H19284P、H1H19291P、H1H19294P、H1H19303P、H1H19305P、
H1H19307P、H1H19312P、H1H19313P、H1H19314P2、H1H19319P2 及
H1H19327P2。

【0211】 根據此實例之方法產生的例示性抗體之生物特性詳細描述
於下文所闡述之實例中。

實例 2：重鏈及輕鏈可變區胺基酸及核苷酸序列

【0212】 表 1 闡述所選擇的本發明之抗 CTLA-4 抗體之重鏈及輕鏈可
變區及 CDR 之胺基酸序列識別符號。對應核酸序列識別符號闡述於表 2 中。

【0213】 表 1：胺基酸序列識別符號

抗體名稱	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H19264P	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H19269P	18	20	22	24	26	28	30	32
H1H19273P	34	36	38	40	42	44	46	48
H1H19274P	50	52	54	56	58	60	62	64
H1H19278P	66	68	70	72	74	76	78	80
H1H19279P	82	84	86	88	90	92	94	96
H1H19280P	98	100	102	104	106	108	110	112
H1H19281P	114	116	118	120	122	124	126	128
H1H19283P	130	132	134	136	138	140	142	144
H1H19284P	146	148	150	152	154	156	158	160
H1H19291P	162	164	166	168	170	172	174	176
H1H19294P	178	180	182	184	186	188	190	192
H1H19303P	194	196	198	200	202	204	206	208
H1H19305P	210	212	214	216	218	220	222	224
H1H19307P	226	228	230	232	234	236	238	240

H1H19312P	242	244	246	248	250	252	254	256
H1H19313P	258	260	262	264	266	268	270	272
H1H19314P2	274	276	278	280	282	284	286	288
H1H19319P2	290	292	294	296	298	300	302	304
H1H19327P2	306	308	310	312	298	300	302	304
H1M20370N	314	316	318	320	322	324	326	328
H1M20372N	330	332	334	336	338	340	342	344
H1M20393N	346	348	350	352	354	356	358	360
H2M20361N	362	364	366	368	370	372	374	376
H2M20368N	378	380	382	384	386	388	390	392
H2M20369N	394	396	398	400	402	404	406	408
H2M20373N	410	412	414	416	418	420	422	424
H2M20375N	426	428	430	432	434	436	438	440
H2M20379N	442	444	446	448	450	452	454	456
H2M20385N	458	460	462	464	466	468	470	472
H2M20386N	474	476	478	480	482	484	486	488
H2M20387N	490	492	494	496	498	500	502	504

【0214】 表 2：核酸序列識別符號

抗體名稱	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H19264P	1	3	5	7	9	11	13	15
H1H19269P	17	19	21	23	25	27	29	31
H1H19273P	33	35	37	39	41	43	45	47
H1H19274P	49	51	53	55	57	59	61	63
H1H19278P	65	67	69	71	73	75	77	79
H1H19279P	81	83	85	87	89	91	93	95
H1H19280P	97	99	101	103	105	107	109	111
H1H19281P	113	115	117	119	121	123	125	127
H1H19283P	129	131	133	135	137	139	141	143
H1H19284P	145	147	149	151	153	155	157	159
H1H19291P	161	163	165	167	169	171	173	175
H1H19294P	177	179	181	183	185	187	189	191
H1H19303P	193	195	197	199	201	203	205	207
H1H19305P	209	211	213	215	217	219	221	223
H1H19307P	225	227	229	231	233	235	237	239
H1H19312P	241	243	245	247	249	251	253	255
H1H19313P	257	259	261	263	265	267	269	271
H1H19314P2	273	275	277	279	281	283	285	287
H1H19319P2	289	291	293	295	297	299	301	303
H1H19327P2	305	307	309	311	297	299	301	303
H1M20370N	313	315	317	319	321	323	325	327
H1M20372N	329	331	333	335	337	339	341	343

H1M20393N	345	347	349	351	353	355	357	359
H2M20361N	361	363	365	367	369	371	373	375
H2M20368N	377	379	381	383	385	387	389	391
H2M20369N	393	395	397	399	401	403	405	407
H2M20373N	409	411	413	415	417	419	421	423
H2M20375N	425	427	429	431	433	435	437	439
H2M20379N	441	443	445	447	449	451	453	455
H2M20385N	457	459	461	463	465	467	469	471
H2M20386N	473	475	477	479	481	483	485	487
H2M20387N	489	491	493	495	497	499	501	503

【0215】 抗體在本文中通常根據以下命名法指出：Fc 前綴（例如「H1M」、「H4H」等），繼之以數字識別符號（例如「19264」、「20370」等，如表 1 中所示），繼之以「P」、「P2」或「N」後綴。因此，根據此命名法，抗體在本文中可被稱作例如「H1M20370N」、「H1H19264P」、「H1H19314P2」等。本文中所用之抗體名稱中之 H1H 前綴表示抗體之特定 Fc 區同型。舉例而言，「H1H」抗體具有人類 IgG1 Fc，「H1M」抗體具有小鼠 IgG1 Fc，且「H2M」抗體具有小鼠 IgG2 Fc（所有可變區為完全人類的，如由抗體名稱中之第一個『H』所表示）。如本領域中一般熟習此項技術者應瞭解，具有特定 Fc 同型之抗體可轉換為具有不同 Fc 同型之抗體（例如，具有小鼠 IgG1 Fc 之抗體可轉換為具有人類 IgG1 或人類 IgG4 等之抗體），但是在任何情況下，由表 1 中所示之數字識別符號表示之可變域（包含 CDR）將保持相同，且期望無論 Fc 域之性質如何，對抗原之結合特性總是相同或大體上相似的。

【0216】 對照構築體：

出於比較目的，在以下實驗中包含兩個對照構築體（抗 CTLA4 抗體）：
COMP1：重鏈及輕鏈可變域具有如 WO 01/14424 A2（Bristol Myers Squibb）中所闡述且用 hIgG1 Fc 產生的「10D1」之對應域之胺基酸序列的人類抗 CTLA-4 抗體。

COMP2：重鏈及輕鏈可變域具有如 US 2014/099325 A1 (Pfizer) 中所闡述且用 hIgG2 Fc 產生的「11.2.1」之對應域之胺基酸序列的人類抗 CTLA-4 抗體。

實例 3：人類單株抗 CTLA-4 抗體之由表面電漿子共振得出的結合親和力及動力學常數

【0217】人類抗 CTLA-4 抗體之結合親和力及動力學常數藉由表面電漿子共振 (Biacore 4000 (GE, Pittsburgh, PA) 或 MASS-1 (Sierra Sensors, Greenville, RI)) 在 25°C 下測定 (表 3 及表 4)。將表示為人類 IgG1 之抗體 (亦即「H1H」) 捕捉至藉由與單株小鼠抗人類 Fc 抗體 (GE) 發生胺偶合而衍生化的 CM5 感測器表面 (GE) 上。將表示為小鼠 IgG1 或小鼠 IgG2 之抗體 (亦即「H1M」、「H2M」) 捕捉至藉由與多株山羊抗小鼠 Fc 抗體 (GE) 發生胺偶合而衍生化的高容量胺感測器表面 (Sierra Sensors) 上。將各種濃度之經表現具有 c 端 myc-myc-聚組胺酸標籤 (mmh) 的可溶性人類 (h)CTLA-4 (SEQ ID NO: 506) 或食蟹獼猴 (*Macaca fascicularis*, mf) CTLA-4 (SEQ ID NO: 507) 蛋白質以 30 或 50 微升/分鐘之流速注射到捕捉有抗 CTLA-4 mAb 之感測器表面上。CTLA-4 為在細胞外域中在半胱胺酸殘基 157 處藉由一個雙硫鍵互連的均二聚體。

【0218】所有結合研究均在由 0.01 M HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.05% v/v 界面活性劑 P20 構成的緩衝液 (HBS-ET 操作緩衝液) 中進行。監測 hCTLA4.mmh 或 mfCTLA4.mmh 與所捕捉之單株抗體之締合 4 或 5 分鐘且監測 hCTLA4.mmh 或 mfCTLA4.mmh 在 HBS-ET 操作緩衝液中之解離 10 分鐘。

【0219】動力學締合 (k_a) 及解離 (k_d) 速率常數藉由使用 Scrubber 2.0c 曲線擬合軟體擬合即時感測器圖譜與 1:1 結合模型來確定。結合平衡解離常

數 (K_D) 及解離半衰期 ($t_{1/2}$) 從動力學速率常數計算如下：

$$K_D (M) = \frac{k_d}{k_a}, \text{ 且 } t_{1/2} (min) = \frac{\ln(2)}{60 \cdot k_d}$$

【0220】如表 3 中所示，本發明之所有抗 CTLA-4 抗體均與人類 CTLA-4 結合，許多對 hCTLA-4.mmh 具有奈莫耳親和力，且展現與食蟹獼猴 CTLA-4 蛋白質之交叉反應性。未觀測到與小鼠或大鼠 CTLA-4 蛋白質之交叉反應性（資料未示出）。

【0221】表 3：人類 Fc mAb 在 25°C 下之 Biacore 結合親和力

在 25°C 下之結合/Mab 捕捉型式					
AbPID	分析物*	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (min)
H1H19264P	hCTLA-4.mmh	6.04E+04	7.31E-04	1.21E-08	15.8
	mf CTLA-4. mmh	4.90E+04	9.94E-04	2.03E-08	11.6
H1H19269P	hCTLA-4.mmh	3.94E+05	4.74E-04	1.20E-09	24.4
	mf CTLA-4. mmh	3.56E+05	4.35E-04	1.22E-09	26.6
H1H19273P	hCTLA-4.mmh	3.74E+05	3.62E-04	9.66E-10	31.9
	mf CTLA-4. mmh	3.62E+05	3.46E-04	9.56E-10	33.4
H1H19274P	hCTLA-4.mmh	5.30E+05	7.60E-04	1.43E-09	15.2
	mf CTLA-4. mmh	5.22E+05	4.63E-04	8.87E-10	25
H1H19278P	hCTLA-4.mmh	1.79E+05	4.02E-04	2.25E-09	28.8
	mf CTLA-4. mmh	1.66E+05	1.01E-03	6.11E-09	11.4
H1H19279P	hCTLA-4.mmh	3.46E+05	2.61E-04	7.52E-10	44.3
	mf CTLA-4. mmh	3.40E+05	2.59E-04	7.63E-10	44.6
H1H19280P	hCTLA-4.mmh	3.37E+05	3.46E-04	1.03E-09	33.4
	mf CTLA-4. mmh	3.20E+05	3.09E-04	9.64E-10	37.4
H1H19281P	hCTLA-4.mmh	4.84E+05	7.41E-04	1.53E-09	15.6
	mf CTLA-4. mmh	4.72E+05	1.01E-03	2.14E-09	11.5
H1H19283P	hCTLA-4.mmh	2.21E+05	8.28E-04	3.75E-09	14
	mf CTLA-4. mmh	2.20E+05	6.83E-04	3.11E-09	16.9
H1H19284P	hCTLA-4.mmh	1.48E+05	3.69E-04	2.49E-09	31.3
	mf CTLA-4. mmh	1.94E+05	3.05E-04	1.57E-09	37.9
H1H19291P	hCTLA-4.mmh	8.88E+04	1.23E-03	1.38E-08	9.4
	mf CTLA-4. mmh	9.31E+04	1.21E-03	1.30E-08	9.6
H1H19294P	hCTLA-4.mmh	2.85E+05	3.23E-04	1.13E-09	35.7
	mf CTLA-4. mmh	2.63E+05	2.69E-04	1.02E-09	43
H1H19303P	hCTLA-4.mmh	1.21E+05	1.99E-03	1.64E-08	5.8
	mf CTLA-4. mmh	1.56E+05	2.45E-03	1.57E-08	4.7
H1H19305P	hCTLA-4.mmh	2.89E+05	1.21E-03	4.19E-09	9.5

	mf CTLA-4. mmh	2.84E+05	9.02E-04	3.18E-09	12.8
H1H19307P	hCTLA-4.mmh	2.17E+05	2.84E-04	1.31E-09	40.6
	mf CTLA-4. mmh	2.09E+05	2.92E-04	1.40E-09	39.5
H1H19312P	hCTLA-4.mmh	3.20E+05	1.05E-03	3.29E-09	11
	mf CTLA-4. mmh	3.33E+05	7.60E-04	2.28E-09	15.2
H1H19313P	hCTLA-4.mmh	4.89E+05	7.58E-04	1.55E-09	15.2
	mf CTLA-4. mmh	4.75E+05	4.64E-04	9.76E-10	24.9
H1H19314P2	hCTLA-4.mmh	1.15E+05	1.13E-03	9.87E-09	10.2
	mf CTLA-4. mmh	1.07E+05	9.13E-04	8.57E-09	12.6
H1H19319P2	hCTLA-4.mmh	1.43E+05	1.46E-03	1.02E-08	7.9
	mf CTLA-4. mmh	2.03E+05	2.61E-03	1.29E-08	4.4
H1H19327P2	hCTLA-4.mmh	8.81E+03	5.85E-04	6.63E-08	19.8
	mf CTLA-4. mmh	1.88E+05	1.17E-02	6.24E-08	1
H1H20361N	hCTLA-4.mmh	6.21E+04	1.99E-03	3.21E-08	5.8
	mf CTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20361N2	hCTLA-4.mmh	5.39E+04	2.51E-03	4.65E-08	4.6
	mf CTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20370N	hCTLA-4.mmh	1.72E+05	5.88E-04	3.43E-09	19.6
	mf CTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20370N2	hCTLA-4.mmh	5.13E+04	1.21E-03	2.36E-08	9.5
	mf CTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20372N	hCTLA-4.mmh	8.05E+04	3.67E-04	4.55E-09	31.5
	mf CTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20373N	hCTLA-4.mmh	5.23E+05	4.01E-04	7.66E-10	28.8
	mf CTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20375N	hCTLA-4.mmh	4.19E+04	2.79E-03	6.65E-08	4.1
	mf CTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20380N2	hCTLA-4.mmh	1.37E+06	3.20E-04	2.33E-10	36.2
	mf CTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20386N	hCTLA-4.mmh	1.85E+05	1.94E-03	1.05E-08	6
	mf CTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20386N2	hCTLA-4.mmh	1.35E+05	1.68E-03	1.24E-08	6.9
	mf CTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND

*h 及 mfCTLA-4 mmh 蛋白質以在 3 倍稀釋液中在 0.37 nM 至 90 nM 範圍內之濃度流過 mAb 捕捉表面；ND=未測定

實例 4：抗 CTLA-4 抗體阻斷人類 CTLA-4 與其天然配體 B7-1 及 B7-2 之間的相互作用

【0222】細胞毒性 T 淋巴細胞相關蛋白 4 (CTLA-4) 為在習知調節性

T細胞上表現的 I 型跨膜 T 細胞抑制性檢查點受體。CTLA-4 藉由在與刺激受體 CD28 競爭與其天然配體 B7-1 (CD80) 及 B7-2 (CD86) 結合的過程中取勝而負調節 T 細胞活化。在此實例中，使用競爭夾心酶聯免疫吸附分析 (ELISA) 評定抗 CTLA-4 抗體阻斷 CTLA-4 蛋白質與培養盤結合的 (plate-bound) B7-1 及 B7-2 結合的能力。將各種濃度之抗 CTLA-4 抗體與恆定量之二聚 CTLA-4 蛋白質預混合且監測因為抗體之存在而引起的與培養盤固定的 B7-1 或 B7-2 結合之 CTLA-4 的減少量。

【0223】簡言之，使用以下程序進行分析：在 96 孔微量滴定盤上在 PBS 中在 4°C 下以 2 µg/mL 分別塗佈經表現具有 c 端人類 IgG1 及 6×組胺酸 (hIgG1-6×His ; R&D Systems, Minneapolis, MN) 之人類 B7-1 及 B7-2 蛋白質過夜 (overnight, ON)。隨後使用 0.5% (w/v) BSA 於 PBS 中之溶液阻斷非特異性結合位點。分別將恆定量之 200 pM 或 400 pM 之重組 hCTLA-4-mFc 蛋白質(經表現具有小鼠 IgG2a 之 c 端 Fc 部分之人類 CTLA-4 細胞外域, SEQ ID NO: 508) 添加至經連續稀釋之抗 CTLA-4 抗體或不存在抗體的溶液中。在此實例中，抗 CTLA-4 抗體劑量在 1.7 pM 至最大 100 nM 或 1.0 µM 之範圍內。接著，在室溫 (room temperature, RT) 下 1 小時之後，將含有 200 pM 恆定濃度之 hCTLA-4-mFc 蛋白質的抗體-蛋白質複合物轉移至塗有 hB7-1-hIgG1-6His 之微量滴定盤，且將含有 400 pM 恆定濃度之 hCTLA-4-mFc 的抗體-蛋白質複合物轉移至塗有 hB7-2-hIgG1-6His 之培養盤。隨後在室溫下培育 1 小時之後，洗滌各孔，且用與辣根過氧化酶 (horseradish peroxidase, HRP) 結合之抗小鼠 Fcγ 片段特異性山羊多株抗體 (JacksonImmunoResearch, West Grove, PA) 偵測培養盤結合的 hCTLA-4-mFc。使用 TMB 受質溶液 (BD Biosciences, San Jose, CA)，根據製造商之說明書使培養盤顯影，且在 Victor 盤式讀取器 (PerkinElmer™,

Waltham, MA) 上量測 450 nm 下之吸光度。

【0224】所有資料分析使用 S 形劑量-反應模型在 Prism™軟體 (GraphPad, LaJolla, CA) 內進行。如下進行計算：使用定義為 hCTLA-4 與 hB7-1 或 B7-2 之結合減少 50%所需的抗體濃度的 IC₅₀來指示阻斷效能。在所測試抗體之最大濃度 (100 nM 或 1.0 μM) 下之阻斷百分比按抗體分別阻斷 200 pM 或 400 pM 之 hCTLA-4-mFc 與 hB7-1 或 hB7-2 結合的能力來計算，相對於分析基線而言。含有 200 pM 或 400 pM 之 hCTLA-4-mFc 的樣品在不存在抗體的情況下的結合信號標記為 100%結合或 0%阻斷；且不含 hCTLA-4-mFc 或抗體之樣品緩衝液的基線信號標記為 0%結合或 100%阻斷。

【0225】如表 4 中之結果所示，本發明之抗 CTLA-4 抗體展現廣泛範圍的阻斷人類 CTLA-4 與其天然配體 B7-1 或 B7-2 結合的能力。例示性抗體 H1H19273P 及 H1H19313P 以皮莫耳 IC₅₀ 值及以約 100%之阻斷百分比在 1.0 μM 最大抗體濃度下有效地阻斷 CTLA-4 與 B7-1 或 B7-2 之結合。諸如 H1H20373N 之若干抗體對 CTLA-4 與 B7-2 之結合的阻斷強於對 B7-1，而一些抗體則顯示對任一配體之阻斷能力均極小 (H1H19314P2)。

【0226】表 4：抗 CTLA-4 抗體阻斷 hCTLA-4 與配體 hB7-1 或 hB7-2 之結合

	200 pM hCTLA-4-mFc 與培養盤塗佈的 hB7-1/CD80-hIgG1-6His 之結合的 Ab 阻斷		400 pM hCTLA-4-mFc 與培養盤塗佈的 hB7 -2/CD86-hIgG1-6His 之結合的 Ab 阻斷	
AbPID	最大 Ab 濃度：100 nM			
	IC ₅₀ (M)	阻斷%	IC ₅₀ (M)	阻斷%
人類 Fc 抗 CTLA-4 抗體之阻斷能力				
H1H19264P	-	8	-	43
H1H19269P	1.0E-10	98	1.9E-10*	100
H1H19274P	1.3E-10	99	2.5E-10	100

H1H19278P	3.2E-10	99	5.4E-10	100
H1H19279P	2.1E-10	97	2.2E-10	100
H1H19280P	1.1E-10	99	2.0E-10	100
H1H19281P	9.4E-11*	99	1.9E-10*	100
H1H19283P	9.7E-09	96	1.2E-09	99
H1H19284P	1.7E-10	98	3.1E-10	99
H1H19291P	2.0E-09	98	2.5E-09	99
H1H19294P	1.5E-10	99	2.5E-10	99
H1H19305P	1.9E-10	98	3.6E-10	99
H1H19307P	1.8E-10	99	2.9E-10	99
H1H19312P	2.0E-10	97	5.1E-10	99
H1H19314P2	-	0	-	7
H1H19327P2	-	7	-	38
H1H19273P	2.5E-10	98	5.4E-10	98
H1H19303P	1.8E-07	90	3.9E-08	97
H1H19313P	4.0E-10	98	7.7E-10	99
H1H19319P2	3.2E-07	85	4.3E-08	97
H1H20370N	8.6E-10	95	9.9E-10	96
H1H20370N2	1.1E-08	85	9.8E-09	92
H1H20372N	2.5E-09	98	9.9E-10	98
H1H20361N	6.9E-08	73	6.5E-08	82
H1H20361N2	1.2E-07	53	1.1E-07	70
H1H20373N	-	22	3.4E-08	91
H1H20375N	-	13	-	29
H1H20380N2	5.0E-10	98	3.8E-10	98
H1H20386N	1.8E-08	94	7.7E-09	96
H1H20386N2	INC	59	1.7E-07	87
對照				
mIgG2a 同型	-	-6	-	1
hIgG1 同型	-	15	-	14

負最大阻斷% (亦即-8) 表示在抗體存在下所偵測到之 hCTLA-4 結合之增加量。

(-) 表示在所測試之最高濃度下阻斷<50%之抗體的 IC₅₀ 值不定量。

(INC) : 不確定: 未用 Prism™軟體擬合 S 形結合曲線來計算 IC₅₀ 值。

(*) 表示低於分析之理論下限 (關於 hCTLA-4 與 hB7-1/CD80 之結合, 為 0.1×10^{-09} M; 或關於 hCTLA-4 與 hB7-2/CD86 之結合, 為 0.2×10^{-09} M) 的 IC₅₀ 值

實例 5：抗 CTLA-4 抗體展現與人類 CTLA-4 工程改造細胞株之特異性且有效的結合

【0227】在此實例中，使用基於電化學發光 (electrochemiluminescence, ECL) 之偵測測定抗人類 (h) CTLA-4 抗體與表現人類 CTLA-4 之細胞株特異性結合的能力。

【0228】簡言之，用人類 CTLA-4 (胺基酸 M1-N223, NCBI 寄存編號 NM_005214.4) 穩定地轉染從 Velocimmune® 小鼠分離的小鼠胚胎纖維母細胞 (VE-纖維母細胞)。未經轉染之 VE-纖維母細胞不具有可藉由螢光活化細胞分選 (FACS) 偵測之 CTLA-4 表現且包含所述細胞作為結合對照。另外，亦在此分析中評定藉由用 NFAT-Luc 慢病毒報導子 (Qiagen, Germantown, MD) 及 h、m 或 mf CTLA-4 嵌合構築體轉導永生代人類 Jurkat T 細胞 (ATCC, Manassas, VA) 產生的報導 T 細胞株。嵌合構築體包括 hCTLA-4 (aa 1-161; 寄存編號 NP_005205.2)、小鼠 CTLA-4 (ms CTLA-4, 胺基酸 1-161, 寄存編號 NM_009843.4) 或 mf CTLA-4 (aa 1-161; 寄存編號 XP_005574071.1) 之細胞外域與 hCD300a (aa 181-299; 寄存編號 NP_009192.2) 之跨膜域及細胞質域融合。

【0229】將約 2.0×10^4 個 VE-纖維母細胞/hCTLA-4 細胞或 1.0×10^4 個 Jurkat/NFAT 嵌合體細胞分別接種至 96 孔碳電極培養盤 (MULTI-ARRAY 高結合培養盤, Meso Scale Discovery (MSD; Rockville, MD)) 上且在 37 °C 下培育 1 小時 (h)。藉由 PBS 中之 2% BSA (w/v) 在室溫 (RT) 下阻斷非特異性結合位點 1 小時。在室溫下，向培養盤結合的細胞中添加抗 CTLA-4 或同型對照抗體之在 1.7 pM 至 150 nM 範圍內的連續稀釋液或不含抗體之緩衝液，持續 1 小時。隨後使用具有細胞洗滌頭之 AquaMax2000 培養盤洗滌器 (MDS Analytical Technologies, Sunnyvale, CA) 洗滌培養盤以移

除未結合的抗體。在室溫下，用特異性針對重鏈及輕鏈之 SULFO-TAG™ 結合的山羊多株抗人類 IgG 抗體 (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) 或特異性針對 Fc γ 片段之 SULFO-TAG™ 結合的山羊多株抗小鼠 IgG 抗體 (Jackson ImmunoResearch) 偵測培養盤結合的抗體 1 小時。

【0230】在洗滌之後，用 Read Buffer (MSD) 根據製造商之推薦程序使培養盤顯影且用 SECTOR Imager 600 (MSD) 記錄發光信號。記錄按相對光單位 (relative light unit, RLU) 計量的發光強度以指示各抗體在所述濃度範圍下之結合強度。報導藉由 0.4 nM 或 0.6 nM 抗體與 CTLA-4 工程改造細胞結合相比於在相同濃度下之親本細胞所偵測到的信號比，作為 CTLA-4 結合特異性之指示。

【0231】此外，分析直接結合信號 (RLU) 隨抗體濃度之變化且使用 GraphPad Prism™ 軟體 (GraphPad, LaJolla, CA) 用 S 形 (四參數邏輯) 劑量-反應模型擬合資料。測定定義為偵測到最大結合信號之 50% 時之抗體濃度的 EC₅₀ 值以指示對 CTLA-4 工程改造細胞之結合效能。

【0232】如表 5 中之結果所示，本發明之大部分抗 CTLA-4 抗體與 hCTLA-4 工程改造細胞株特異性結合。諸如 H1H19303P 及 H1H19280P 之若干例示性抗體以皮莫耳 EC₅₀ 值及以比與對照細胞株之結合高出 20 至 23 倍的比率結合。

【0233】進一步評定一系列抗體與小鼠及食蟹獼猴工程改造細胞株之交叉反應性。如表 6 中之結果所示，抗 CTLA-4 抗體 H1H19303P、H1H19273P、H1H19319P2 及 H1H19319P 以皮莫耳 EC₅₀ 值與 Jurkat/NFAT Luc/人類及食蟹獼猴 CTLA-4/hCD300 嵌合體細胞株有效地結合。未觀測到與小鼠 CTLA-4 嵌合體細胞之交叉反應性。

【0234】表 5：抗 CTLA-4 抗體與經工程改造以表現人類 CTLA-4 之

細胞株特異性結合

Ab PID	與 VI-纖維母細胞 /hCTLA-4 之細胞結合效 能，EC50 (M)	與 VI纖維母細胞/hCTLA-4之結合 相對於親本 VI-纖維母細胞的 RLU 信號比
		在 0.4 nM Ab 濃度下之比率
人類 Fc 抗 CTLA-4 抗體之細胞結合特性		
H1H19264P	NB	1
H1H19269P (*)	4.0E-10	15
H1H19273P	INC	11
H1H19274P (*)	3.9E-10	18
H1H19278P	2.2E-10	19
H1H19279P	2.4E-10	18
H1H19280P	1.3E-09	15
H1H19281P	7.5E-11	23
H1H19283P	7.9E-10	7
H1H19284P	INC	7
H1H19291P	INC	5
H1H19294P	6.8E-10	10
H1H19303P (*)	2.1E-10	20
H1H19305P (*)	8.4E-10	12
H1H19307P	3.7E-09	7
H1H19312P (*)	7.0E-10	14
H1H19313P (*)	1.6E-10	11
H1H19314P2 (*)	3.4E-09	8
H1H19319P2	2.4E-10	16
H1H19327P2	2.9E-10	16
對照		
hIgG1 同型對照	NB	1
融合瘤 CTLA-4 抗體 (H1M、H2M) 之細胞結合特性		
		在 0.6 nM Ab 濃度下之比率
H1M20370N	2.2E-10	23
H1M20372N	8.8E-10	14
H1M20393N (*)	7.3E-09	12
H2M20361N	3.2E-10	19
H2M20368N	2.6E-10	25
H2M20369N	9.0E-10	18
H2M20373N	6.2E-11	22
H2M20375N	1.9E-10	18
H2M20379N	9.2E-11	28
H2M20380N	1.2E-10	28
H2M20385N	5.5E-09	8

H2M20386N	INC	3
H2M20387N	INC	3
對照		
COMP1	INC	11
mIgG2 同型對照	NB	1

NB = 非結合子；將結合比率小於 3 之抗體歸類為非結合子

(*) 排除最高的兩個抗體濃度之 RLU 值來計算 EC50 值。

INC = 不確定，GraphPad Prism™不能擬合 4 參數 S 形曲線進行 EC50 值計算，但是抗體以比親本細胞高出 3 倍或更多倍的比率與 CTLA-4 表現細胞特異性結合。

【0235】 表 6：所選擇的抗 CTLA-4 抗體展現與經工程改造之 Jurkat 人類及猴細胞株之結合的特異性

Ab PID	對 Jurkat/NFAT Luc/CTLA-4 hCD300a 嵌合體之細胞結合效能，EC50 (M)		與 Jurkat/NFAT Luc/CTLA-4 hC300a 嵌合體之結合相對於與 Jurkat/NFAT Luc/cl.3C7 之結合的 RLU 信號比		
	hCTLA-4	mf CTLA-4	hCTLA-4	mf CTLA-4	ms CTLA-4
			0.4nM	0.4nM	0.4nM
H1H19303P (*)	2.9E-10	1.1E-10	13	17	1
H1H19273P (*)	5.2E-10	2.2E-10	14	20	1
H1H19319P2 (*)	2.8E-10	1.7E-10	13	15	1
H1H19313P (*)	1.1E-10	1.4E-10	16	25	1
對照					
COMP1	INC	INC	6	8	1
hIgG1 同型對照	NB	NB	1	1	1

猴 = 食蟹獼猴。

NB = 非結合子；將結合比率小於 3 之抗體歸類為非結合子

(*) 排除最高的兩個抗體濃度之 RLU 值來計算 EC50 值。

INC = 不確定，GraphPad Prism™不能擬合 4 參數 S 形曲線進行 EC50 值計

算，但是抗體以比親本細胞高出 3 倍或更多倍的比率與 CTLA-4 表現細胞特異性結合。

實例 6：抗 CTLA-4 抗體在經工程改造之報導 T 細胞/APC 生物分析系統中誘導 T 細胞活化

【0236】 在此實例中，開發基於 T 細胞/抗原呈現細胞（APC）之螢光素酶報導生物分析來評估阻斷 CTLA-4/CD80 或 CTLA-4/CD86 相互作用之作用及 T 細胞活化。在一種生物分析型式中，藉由量測螢光素酶活性來評定投與抗 CTLA-4 抗體對 T 細胞/APC 系統之影響。在第二分析中，評定抗 CTLA-4 抗體誘導介白素（IL）-2 釋放之能力。

【0237】 如以上實例中所述，在此實例中測試之抗 CTLA-4 抗體經由表面電漿子共振（surface plasmon resonance，SPR）證實與人類及食蟹獼猴（*cynomolgus monkey/Macaca fascicularis*）CTLA-4 之結合且展現與經工程改造以表現人類 CTLA-4 之細胞株的特異性且有效的結合。所選擇的此等 CTLA-4 抗體先前亦顯示可阻斷 CTLA-4 與 B7-1（CD80）及 B7-2（CD86）之結合。

背景

【0238】 T 細胞活化藉由刺激 T 細胞受體（TCR）來達成，所述 T 細胞受體識別抗原呈現細胞（APC）上由 I 類或 II 類主要組織相容性複合體（MHC I 或 MHC II）蛋白質呈現的特異性肽（Goldrath 等人 1999）。經活化 TCR 繼而引發信號傳導事件之級聯，其可藉由報導基因來監測，由各種轉錄因子驅動，諸如活化蛋白 1（AP-1）、活化 T 細胞核因子（NFAT）或核因子活化 B 細胞 κ 輕鏈增強子（NF κ B）。隨後經由在 T 細胞上組成性或誘導性表現之輔受體之參與來進一步改進 T 細胞反應，所述輔受體諸如 CD28、細胞毒性 T 淋巴細胞相關蛋白 4（CTLA-4）、計劃性細胞死亡蛋白

1 (PD-1)、淋巴細胞活化基因 3 (LAG-3) 或其他分子 (Sharpe 等人 2002)。輔受體 CD28 及 CTLA-4 競爭在抗原呈現細胞 (APC) 上表現之相同配體 CD80 及 CD86，CTLA-4 對所述配體之親和力比 CD28 高。CTLA-4 充當誘餌且藉由鉗合走配體，引起 T 細胞活化減弱來抑制 CD28 之活化。(Alegre 等人 2001 及 Walker 等人 2011)。

NFAT-螢光素酶活性

【0239】細胞株工程改造：報導 T 細胞藉由用 NFAT-Luc 慢病毒報導子 (Qiagen, Rockville, MD) 根據製造商之說明書轉導在細胞表面上內源性表現 TCR 及 CD28 之永生化人類 Jurkat T 細胞 (ATCC) 來進行工程改造。慢病毒在最小細胞巨大病毒 (Cytomegalovirus, CMV) 啟動子及 NFAT 轉錄反應元件 (transcriptional response element, TRE) 之縱排重複序列及嘌呤黴素抗性基因的控制下編碼螢火蟲螢光素酶基因。

【0240】在抗生素選擇及單一選殖之後，用編碼人類 (h) 或猴 (mf-食蟹獼猴) CTLA-4 嵌合蛋白質之慢病毒轉導 Jurkat/NFAT-Luc 純系株 3C7 (Jurkat/NFAT-Luc cl.3C7)。嵌合構築體包括 hCTLA-4 (aa 1-161；寄存編號 NP_005205.2) 或 mfCTLA-4 (aa 1-161；寄存編號 XP_005574071.1) 之細胞外域與 hCD300a (aa 181-299；寄存編號 NP_009192.2) 之跨膜域及細胞質域融合。CD300a 發現於免疫細胞上且經由其基於免疫受體酪胺酸之抑制模體 (immuno-receptor tyrosine based inhibition motif, ITIM) 傳輸抑制信號 (DeBell 等人 2012)。選擇所得穩定 T 細胞株 Jurkat/NFAT-Luc/hCTLA-4-hCD300a 及 Jurkat/NFAT-Luc/mfCTLA-4-hCD300a 且將其維持於補充有 500 μ g/mL G418 及 1 μ g/mL 嘌呤黴素的 RPMI + 10% FBS + 青黴素 (penicillin) + 鏈黴素 (streptomycin) + 麩醯胺酸中。

【0241】 使用內源性表現 CD20、Fc γ 受體 (Fc γ R)、細胞表面上之 CD80 及 CD86 的人類 Raji B 細胞 (ATCC, Manassas, VA) 作為基於螢光素酶之生物分析中之 APC 細胞。將 Raji 細胞維持於補充有 HEPES 及丙酮酸鈉之 RPMI + 10% FBS + 青黴素 + 鏈黴素 + 麩醯胺酸中。

【0242】 *T* 細胞/APC 刺激：經由活化 *T* 細胞之抗 CD20 $\times$ CD3 雙特異性抗體 (REGN2281) 刺激報導 *T* 細胞，所述雙特異性抗體靶向在 Jurkat *T* 細胞上表現之 CD3 及 Raji B 細胞上之 CD20。REGN2281 之雙特異性結合模式引起 Jurkat/NFAT-Luc *T* 細胞中之 NFAT 偶聯的報導基因、螢光素酶之增加。

【0243】 然而在 Jurkat/NFAT-Luc/CTLA-hCD300a 嵌合體細胞中，REGN2281 對報導基因之最大活化因為藉由 CTLA-4-hCD300a 嵌合受體與其在 Raji 細胞上表現之配體 CD80/CD86 之相互作用所傳遞的抑制性信號傳導而減弱。在此生物分析中，阻斷 CTLA-4/CD80 及 CD86 軸之抗 CTLA-4 抗體理論上將藉由停用經由嵌合 CTLA-4 蛋白質之 CD300a 尾部遞送之抑制信號來拯救 Jurkat 報導細胞中之 NFAT-Luc 活性。

【0244】 在此分析型式中，抗 CTLA-4 抗體可在 Jurkat 中同時誘導促效性信號，藉由將抗體 Fc 錨定於 Raji 細胞上之 Fc γ R 而觸發。用飽和量之 IgG 分子或 Fc γ R 特異性抗體阻斷 Fc γ R 可減小 CTLA-4 抗體之促效作用。因此，在分析中包含 Fc 阻斷步驟以抑制 CTLA-4 mab 與 Raji 細胞上之 Fc γ R 的結合。

【0245】 螢光素酶分析：在篩選之前 24 小時，在分析培養基 (RPMI1640，補充有 10% FBS 及青黴素 + 鏈黴素 + 麩醯胺酸 (PSG)) 中培養 5×10^5 個報導 *T* 細胞及 7.5×10^5 個 Raji APC。第二天，在用以佔用 Raji 細胞上之內源性 Fc γ RIIb 受體之 100 pM REGN2281 及 10 nM Fc 阻斷或 10

nM 人類 IgG4 同型對照存在下，測試抗 CTLA-4 抗體及同型匹配陰性對照（經 1:3 連續稀釋；劑量範圍 15 pM 至 100 nM）。向含有固定濃度之 100 pM REGN2281/10 nM Fc 阻斷或 100 pM REGN2281/10 nM hIgG4 同型對照的 96 孔白色平底培養盤（Nunc/Thermo Fisher, Pittsburgh, PA）中之對應孔中添加經連續稀釋之抗體。將報導 T 細胞及 Raji APC 以 2×10^6 /mL 再懸浮且首先以 5×10^4 個細胞/孔之最終濃度向培養盤中添加 T 細胞。將培養盤在 37°C/5% CO₂ 下培育 15-30 分鐘，隨後以 5×10^4 個細胞/孔之最終濃度添加 Raji 細胞。將樣品在 37°C/5% CO₂ 下再培育 4-6 小時，隨後添加 100 μ L ONE-Glo™（Promega, Madison WI）以偵測 NFAT-Luc 活性。在多標記盤式讀取器 Victor（PerkinElmer, Waltham, MA）上捕捉所發射的光，以相對光單位（RLU）計。所有連續稀釋液一式兩份地測試。

【0246】 使用 GraphPad Prism 軟體（GraphPad, La Jolla, CA），從四參數邏輯方程式經由 10 點劑量-反應曲線確定 CTLA-4 抗體之 EC₅₀ 值。藉由將各樣品之相對 RLU 值針對設為 1 的不含 CTLA-4 抗體之樣品的平均值標準化來計算倍數誘導。

【0247】 結果：如表 7 中所記錄，當在 REGN2281 +/- Fc 阻斷存在下，向親本 Jurkat/NFAT-Luc cl 3C7 細胞加 Raji APC 中添加抗 CTLA-4 抗體時，未觀測到報導基因活性（螢光素酶）增加。然而，當在 REGN2281 +/- Fc 阻斷存在下，向 Jurkat/NFAT-Luc/h 及 mf CTLA-4/hCD300 嵌合體細胞株/Raji APC 系統中添加抗 CTLA-4 抗體時，記錄下增加的螢光素酶活性。在此生物分析型式中，抗 CTLA-4 抗體阻斷 Jurkat 報導細胞上之 CTLA-4 與在 Raji 細胞上內源性表現之 CD80/CD86 的相互作用，引起螢光素酶蛋白質之誘導。在此分析中測試之抗 CTLA-4 抗體增加螢光素酶活性，且在 Fc 阻斷存在下觀測到最大值，EC₅₀ 在 1.77 nM 至 7.67 nM 範圍內。如表 7 中所示，

H1H19303P 之表現比所測試之比較物 1 及 2 好。

CTLA-4 T 細胞/APC 人類介白素 2 (hIL-2) 釋放分析

【0248】 *細胞株工程改造*: 用編碼 hCTLA-4 全長蛋白質之內部製造的慢病毒 sup (寄存編號 NP_005205.2) 轉導 Jurkat/NFAT-Luc 純系株 3C7 (如上所述)。藉由流動式細胞測量術分選所得穩定 T 細胞株 (Jurkat/NFAT-Luc/hCTLA-4 wt) 中之高表現者且將其維持於補充有 500 $\mu\text{g/mL}$ G418 及 1 $\mu\text{g/mL}$ 嘌呤黴素之 RPMI + 10% FBS + PSG 中。

【0249】 人類胚胎腎 (Human Embryonic Kidney, HEK) 293 細胞 (ATCC) 經人類 CD20 轉染且用於經慢病毒 sup 轉導以過度表現與綠色螢光蛋白 (GFP; aa 2-240; 寄存編號 WP_031943942.1) 融合之 hCD80 (aa 1-288; 寄存編號 NP_005182.1) 或 hCD86 (aa 1-329; 寄存編號 NP_787058.4), 兩者之間具有 4 $\times$ G4S 連接子。在藉由限制稀釋法進行單一選殖之後, 產生以下所得純系株: HEK293/hCD20/hCD80-GFP 純系 1F4 及 HEK293/hCD20/hCD86-GFP 純系 4G5。將細胞株維持在補充有 500 $\mu\text{g/mL}$ G418 之 DME + 10% FBS + PSG + 非必需胺基酸 (NEAA, Irvine Scientific, Santa Ana, CA) 中。

【0250】 *T 細胞/APC 刺激*: 經由活化 T 細胞之雙特異性抗體 REGN2281 刺激經工程改造之 T 細胞, 如上所述。REGN2281 與 CD3 之結合導致與 TCR 複合之 CD3 亞基簇聚且活化 T 細胞, 其繼而釋放 hIL-2。IL-2 之釋放可進一步藉由 CD28 與其位於經工程改造之 HEK293 細胞上之配體 CD80 或 CD86 的相互作用來確定。Jurkat/NFAT-Luc/hCTLA-4 細胞之最大活化因為 CTLA-4 與 CD28 競爭 HEK293 細胞上之配體 CD80/CD86 之結合而減弱 (Carreno 等人 2000)。

【0251】 在此生物分析中, 阻斷 CTLA-4/CD80 或 CD86 相互作用之抗

體將藉由停用抑制性 CTLA-4 臂而拯救經工程改造之 Jurkat 細胞中之 IL-2 釋放。

【0252】 *IL-2* 釋放分析：在篩選之前 24 小時，在分析培養基（RPMI1640 + 10% FBS + PSG）中培養經工程改造之 T 細胞至 5×10^5 個細胞/毫升。第二天，用 D-PBS（Irvine Scientific）洗滌 HEK293 細胞，用胰蛋白酶（Specialty Media）分離且用分析培養基阻斷。接著，在 $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$ 下，用含有 $50 \mu\text{g/mL}$ 絲裂黴素 C 之分析培養基處理 HEK293 細胞以抑制細胞生長，持續 1 小時。隨後用分析培養基徹底洗滌細胞以移除游離的絲裂黴素 C。

【0253】 藉由在 15 pM 至 100 nM 範圍內之 10 點稀釋，在分析培養基中 1:3 連續稀釋抗 CTLA-4 抗體及其同型對照。將經連續稀釋之抗體添加至含有固定濃度之 300 pM REGN2281 的 96 孔圓底培養盤（Nunc）中之對應孔中。將報導 T 細胞以 1×10^5 個細胞/孔之最終濃度添加至培養盤。將培養盤在 $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$ 下培育 15-30 分鐘，隨後以 2.5×10^3 個細胞/孔之最終濃度添加 HEK293 細胞。將培養盤在 $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$ 下培育 72 小時，收集上清液且用上清液進行 IL-2 量測。使用 AlphaLISA 套組（PerkinElmer）根據製造商之方案量測 IL-2 含量。在多標記盤式讀取器 Envision（PerkinElmer）上獲得量測結果。所有連續稀釋液一式兩份地測試。

【0254】 使用 GraphPad Prism，從四參數邏輯方程式經由 10 點劑量-反應曲線確定 CTLA-4 mAb 之 EC_{50} 值。藉由將各樣品之相對 IL-2 值針對不含抗 CTLA-4 抗體之樣品標準化來計算倍數誘導。表 9 顯示在 100 nM 下達到的倍數誘導及在 hIL-2 釋放分析中達到的 EC_{50} 計算值。

【0255】 結果：如表 8 中之結果所示，在此分析中測試之抗 CTLA-4 抗體在 Jurkat/NFAT-Luc/CTLA-4 嵌合體//Raji APC 系統中誘導 IL-2 產生。在 100 nM 濃度下，抗 CTLA-4 抗體以在比使用 CTLA-4 陰性報導 T 細胞在

分析系統中觀測到之倍數活性高出 4 至 6 倍的範圍內的倍數活性誘導 IL-2 產生。如表 8 中所示，H1H19303P 之表現比所測試之比較物 1 及 2 好。

總結

【0256】總而言之，在設計成用於評定抗體對 T 細胞活化之活性的兩個工程改造 T 細胞/APC 生物分析系統中測試所選擇的抗 CTLA-4 抗體。在一種型式中，抗 CTLA-4 抗體活化 T 細胞，如藉由 NFAT-螢光素酶活性增加所量測，指示抗體阻斷 CTLA-4 與配體 CD80 及 CD86 之間的相互作用。在第二型式中，抗 CTLA-4 抗體誘導 IL-2 之產生，指示抗 CTLA-4 抗體可阻斷 CTLA-4/CD80 及 CTLA-4/CD86 相互作用，從而拯救 IL-2 釋放。

【0257】表 7：在 CTLA-4 T 細胞/APC 螢光素酶分析中 CTLA-4 mab 之 EC₅₀

分析系統	T 細胞： 親本 Jurkat/NFATLuc cl.3C7 [M]		T 細胞： Jurkat/NFAT-Luc hCTLA-44/hCD300 [M]		T 細胞： Jurkat/NFAT-Luc mfCTLA-4/hCD300 [M]	
	APC：Raji		APC：Raji		APC：Raji	
抗體 100nM	- Fc 阻斷	+ Fc 阻斷	- Fc 阻斷	+ Fc 阻斷	- Fc 阻斷	+ Fc 阻斷
H1H19273 P	-	-	2.74E-09	3.83E-09	3.05E-09	1.83E-09
H1H19291 P	-	-	2.36E-09	3.92E-09	-	7.67E-09
H1H19313 P	-	-	1.69E-09	3.47E-09	1.34E-09	1.84E-09
H1H19303 P	-	-	1.61E-09	1.73E-09	1.28E-09	1.77E-09
H1H19319 P2	-	-	2.47E-09	4.18E-09	-	4.91E-09
H1H19327 P2	-	-	4.20E-09	5.49E-09	-	5.76E-09
COMP1			3.20E-09	3.30E-09	-	3.00E-09
COMP2			1.97E-09	2.07E-09	1.11E-09	1.70E-09
hIgG1 同型	-	-	-	-	-	-

hIgG2 同型	-	-	-	-	-	-
----------	---	---	---	---	---	---

(-) 指示 EC₅₀ 值不能從擬合曲線確定

【0258】 表 8：在 100 nM CTLA-4 mab 下之倍數誘導及在 CTLA-4 T

細胞/APC IL-2 釋放分析中 CTLA-4 mab 之 EC₅₀

分析系統	T 細胞： 親本 Jurkat/NFATLuc cl.3C7		T 細胞： Jurkat/NFAT-Luc hCTLA-44/hCD300		T 細胞： Jurkat/NFAT-Luc mfCTLA-4/hCD300	
	APC： HEK293/hCD20		APC： HEK293/hCD20/hCD 80		APC： HEK293/hCD20/hCD 86	
抗體 100 nM	EC ₅₀ [M]	在 100 nM 下之倍數	EC ₅₀ [M]	在 100 nM 下之倍數	EC ₅₀ [M]	在 100 nM 下之倍數
H1H19273 P	-	0.9	3.33E-08	5.1	1.14E-08	6.5
H1H19303 P	-	1.1	4.09E-08	5.4	4.09E-08	4.4
H1H19313 P	-	0.9	2.19E-08	5.7	2.19E-08	6.1
H1H19319 P2	-	1.6	1.56E-08	4.2	1.56E-08	6.4
COMP1	-	1.3	1.83E-08	4.1	4.63E-08	6.3
COMP2	-	0.9	1.17E-08	5.0	9.71E-08	5.0
hIgG1 同型	-	1.2	-	0.8	-	1.1
hIgG2 同型	-	0.8	-	1.0	-	1.0

(-) 指示 EC₅₀ 值不能從擬合曲線確定

實例 7：抗 CTLA-4 抗體對腫瘤之功效

【0259】 此實例描述本發明之例示性抗 CTLA-4 抗體對在 CTLA-4 基因人類化之小鼠中生長之 MC38.Ova 腫瘤的抗腫瘤功效。

【0260】 在 C57BL/6 菌株背景下，使用 VelociGene™ 技術對人類 CTLA-4^{hum/hum} 基因嵌入小鼠進行工程改造，其中小鼠表現包括人類 CTLA-4 細胞外域與來自內源性 *Ctla4* 基因座之小鼠 CTLA-4 跨膜域及細胞質域融合的嵌合蛋白質（Valenzuela 等人 2003; Nat. Biotechnol. 21: 652-659）。

MC38.Ova細胞株藉由MC38細胞之穩定慢病毒轉導以表現跨膜雞卵白蛋白抗原（Ova）來工程改造。

研究（A）

【0261】 *CTLA-4^{hum/hum}* 基因嵌入小鼠在第 0 天皮下植入（SC）MC38.Ova 細胞（ 10^6 個細胞/小鼠）且在第 3 天、第 7 天、第 10 天、第 14 天及第 17 天腹膜內接受 10 mg/kg 之 H1H19273P 或 H1H19303P 或 H1H19319，或 10 mg/kg 之 hIgG1 同型對照。監測腫瘤體積及無腫瘤動物長達 37 天。

【0262】 以 10 mg/kg 測試之所有三種抗 CTLA-4 抗體相比於用同型對照處理展現部分腫瘤生長抑制（圖 1）。截止第 24 天，用 H1H19303P 處理引起 10 mg/kg 劑量組中 8/9（89%）之小鼠無腫瘤（圖 2）。用 H1H19319P 或 H1H19273P 處理具有類似效果，截止第 24 天，分別在 7/9 之小鼠（78%）及 5/9 之小鼠（56%）中引起完全腫瘤生長抑制。在第 24 天，同型對照處理組中沒有動物係無腫瘤的。在第 24 天，相比於投與同型對照之組，各抗 CTLA-4 抗體處理組之腫瘤體積顯著較小（ $p<0.0001$ ）。

【0263】 在第 24 天觀測到無腫瘤的小鼠在植入後監測 37 天。相比於投與同型對照之小鼠，經抗人類 CTLA-4 抗體中之任一者處理之小鼠的存活率顯著較高（ $p<0.0001$ ）（圖 3）。在抗 CTLA-4 抗體組之所有無腫瘤小鼠中均未觀測到腫瘤復發。未觀測到因為抗體處理而引起體重減輕的跡象。

【0264】 總而言之，用三種抗人類 CTLA-4 抗體（H1H19273P、H1H19303P 及 H1H19319）中之每一者處理相比於同型對照引起腫瘤生長減少、腫瘤清除率改良且存活期改良。在此模型中，三種抗人類 CTLA-4 抗體各自之功效相當。

研究（B）

【0265】 用於此研究之例示性抗 CTLA-4 抗體為與人類 CTLA-4 特異性結合且包括 SEQ ID NO: 196-198-200-204-206-208 之 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 及 SEQ ID No: 194/202 之 HCVR/LCVR 的完全人類抗體（亦稱為 H1H19303P）。H1H19303P（亦稱為 REGN4659）之全長重鏈胺基酸序列顯示於 SEQ ID NO: 509 中，且 H1H19303P 之全長輕鏈胺基酸序列顯示於 SEQ ID NO: 510 中（表 9）。

【0266】 表 9：H1H19303P 之胺基酸序列

Ab 區	胺基酸序列
HCVR	SEQ ID NO: 194 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYEMSWVRQAPGKGLEWVSSIRTS GTT KYYADSMKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGGTFLHYWGQGT LVTVSS
LCVR	SEQ ID NO: 202 DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIASYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQTGVP SRFSGSGYGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQA KSFPMYTFGQG TKLEIK
HCDR1	SEQ ID NO: 196 GFTFSN YE
HCDR2	SEQ ID NO: 198 IRTS GTTK
HCDR3	SEQ ID NO: 200 AGGGT FLHY
LCDR1	SEQ ID NO: 204 QGIAS Y
LCDR2	SEQ ID NO: 206 AAS
LCDR3	SEQ ID NO: 208 QQA KSFPMYT
HC	SEQ ID NO: 509 <u>*EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYEMSWVRQAPGKGLEWVSSIRTS GTT</u> <u>KYYADSMKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGGTFLHYWGQGT LVTVSS</u> ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
LC	SEQ ID NO: 510 <u>*DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIASYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQTGVP</u> <u>SRFSGSGYGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQA KSFPMYTFGQG TKLEIKRTVAAPSVFI</u> FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

*加底線序列為可變區

抗 CTLA-4 抗體之投與及抗腫瘤活性之分析

【0267】 在攜帶 MC38.Ova 腫瘤之 *CTLA-4^{hum/hum}* 基因嵌入小鼠中測試不同劑量之 H1H19303P 的抗腫瘤活性。包含 hIgG1 同型對照作為陰性對照。*CTLA-4^{hum/hum}* 基因嵌入小鼠在第 0 天在後側腹中皮下植入 1×10^6 個 MC38.Ova 細胞且分成四個處理組（表 10）。在第 3 天、第 6 天、第 9 天、第 13 天及第 16 天，向小鼠腹膜內投與 H1H19303P 或 hIgG1 同型對照。持續 37 天每週用卡尺量測腫瘤體積兩次。在第 37 天或在以下終點用 CO₂ 處死攜帶腫瘤之小鼠：腫瘤體積 > 2000 mm³ 或腫瘤潰瘍。無腫瘤小鼠繼續進行長達 107 天的存活研究。

【0268】 表 10：針對植入有 MC38.Ova 細胞之 *CTLA-4^{hum/hum}* 基因嵌入小鼠之功效研究的給藥方案

處理組	劑量	每組小鼠之數目	投藥途徑	給藥時程	抽血時程 ^a
H1H19303P	2 mg/kg	8	IP	第 3 天、第 6 天、 第 9 天、第 13 天 及第 16 天	第-2 天、第 6 天、第 13 天、 第 20 天
H1H19303P	5 mg/kg	8			
H1H19303P	10 mg/kg	8			
hIgG1 同型 對照	10 mg/kg	7			

^a 藉由 ELISA 分析血清樣品之抗體含量。分析 10 mg/kg H1H19303P 及 hIgG1 對照組在第 6 天、第 13 天及第 20 天收集之樣品，且分析 H1H19303P 之 2 mg/kg 及 5 mg/kg 劑量組在第 6 天及第 20 天收集之樣品。

【0269】 在實驗開始前兩天（第-2 天）及在第 6 天、第 13 天及第 20 天投與抗體前兩小時從頷下靜脈收集血液樣品。冷凍且儲存血清樣品用於血清抗體含量之後續量測。

【0270】 使用 GraphPad Prism 軟體（版本 6）進行統計分析。藉由單因子變異數分析與鄧尼特多重比較事後檢定確定動物組之間的腫瘤體積差

異的統計顯著性。藉由對數秩 (Mantel-Cox) 檢定確定無腫瘤存活期的統計顯著性。為判定各組是否顯著不同於對照組，使用龐費洛尼法 (Bonferroni method) 以針對比較數目 ($k=6$) 調整之顯著水準 ($\alpha=0.05$) 進行兩組 Mantel-Cox 分析 ($\alpha_{\text{經調整}}=0.05/6$)。

總人類 IgG 抗體之血清濃度

【0271】總 H1H19303P 及 hIgG1 同型對照抗體之血清濃度使用特異性針對人類 Fc γ 之偵測的夾心 ELISA 測定。分析 10 mg/kg H1H19303P 及 hIgG1 對照組在第 6 天、第 13 天及第 20 天收集之血清樣品，且分析 H1H19303P 之 2 mg/kg 及 5 mg/kg 劑量組在第 6 天及第 20 天收集之樣品。簡言之，使 PBS 中之 1 $\mu\text{g/mL}$ 山羊抗人類 Fc γ 多株抗體在 4°C 下被動吸附至微量滴定盤隔夜，隨後用 PBS 中之 5% BSA 進行非特異性結合阻斷。此分析中用於校準之標準為濃度在 2.7 至 350 ng/mL 範圍內 (1:2 連續稀釋液) 之 H1H19303P 或同型對照抗體。在稀釋緩衝液 (含 0.5% BSA 之 PBS) 中製備標準及血清樣品之連續稀釋液。隨後將樣品添加至塗有抗 hFc γ 之培養盤 (100 微升/孔) 且在室溫下培育 1 小時。隨後，使用稀釋緩衝液中之 160 ng/mL 之 HRP 結合的抗 hFc γ 多株抗體偵測培養盤捕捉的人類 IgG 抗體。使用顯色 HRP-受質 3,3',5,5'-四甲基聯苯胺 (TMB) 偵測 HRP 活性，且在 Perkin Elmer Victor X4 多模式盤式讀取器上讀取所得 OD₄₅₀。用於校準之標準 (H1H19303P 或同型對照抗體) 之最低濃度 (2.7 ng/mL) 在分析之動態範圍內且被定義為此分析之 LLOQ。藉由非線性回歸，使用 GraphPad Prism 軟體分析資料。使用 2 個複製實驗之平均濃度進行分析。

小鼠抗人類抗體之血清濃度

【0272】使用特異性針對所注射抗體中之每一者之偵測的夾心 ELISA 測定抗 H1H19303P 或抗 IgG1 對照抗體小鼠 IgG 效價。分析 10 mg/kg

H1H19303P 及 hIgG1 對照組在第 6 天、第 13 天及第 20 天收集之血清樣品，且分析 H1H19303P 之 2 mg/kg 及 5 mg/kg 劑量組在第 6 天及第 20 天收集之樣品。簡言之，使 PBS 中之 1 μ g/mL 之 H1H19303P 或抗 IgG1 對照抗體在 4 $^{\circ}$ C 下被動吸附至微量滴定盤隔夜，隨後用 PBS 中之 5% 牛血清白蛋白 (BSA) 進行非特異性結合阻斷。在稀釋緩衝液 (含 0.5% BSA 之 PBS) 中從 1:500 開始製備血清樣品之連續稀釋液。因此，對應稀釋因數 (500) 定義為分析之偵測下限 (lower limit of detection, LOD)。隨後將樣品添加至塗有 H1H19303P 或抗 IgG1 對照抗體之培養盤 (100 微升/孔) 且在 4 $^{\circ}$ C 下培育 16-18 小時。包含僅添加稀釋緩衝液之孔以測定分析背景。隨後，以 40 ng/mL 使用辣根過氧化酶 (HRP) 結合的山羊抗小鼠 Fc γ 多株抗體來偵測培養盤捕捉的小鼠 IgG。使用顯色 HRP-受質 TMB 偵測 HRP 活性，且在 Perkin Elmer Victor X4 多模式盤式讀取器上讀取 450 nm 下之所得光密度 (OD₄₅₀)。結合信號對比稀釋因數之資料藉由非線性回歸，使用 GraphPad Prism 軟體分析，且計算效價。MAHA 效價定義為血清樣品之對應於等於分析背景信號之兩倍的結合信號的稀釋因數計算值。

結果

【0273】 *CTLA-4^{hum/hum}* 基因嵌入小鼠在第 0 天皮下植入 MC38.Ova 細胞且在第 3 天、第 6 天、第 9 天、第 13 天及第 16 天腹膜內接受 2、5 或 10 mg/kg 之 H1H19303P 或 10 mg/kg 之 hIgG1 同型對照。監測腫瘤體積 37 天，且監測無腫瘤動物長達 107 天。

【0274】 在所有測試劑量下，H1H19303P 相比於用同型對照處理顯示出部分腫瘤生長抑制 (圖 4)。截止第 20 天，用 H1H19303P 處理引起 5 mg/kg 及 10 mg/kg 劑量組中 5/8 (63%) 小鼠無腫瘤及 2 mg/kg 劑量組中 2/8 (25%) 小鼠無腫瘤。在第 20 天，相比於投與同型對照之組，H1H19303P 處理組之

腫瘤體積顯著較小 ($p<0.0001$) (圖 5)。

【0275】 在第 20 天觀測到無腫瘤的小鼠在植入後監測長達 107 天。經 H1H19303P 處理之小鼠相比於投與同型對照之小鼠而言存活率顯著較高 ($p<0.0001$) (圖 6)。在所有劑量組中 24/25 之無腫瘤小鼠中均未觀測到腫瘤復發。未觀測到因為抗體處理而引起體重減輕的跡象。

【0276】 總而言之，用 H1H19303P 預防性治療相比於同型對照顯著地以劑量依賴性方式減小腫瘤生長，改良腫瘤清除率且改良存活期。

藉由 ELISA 評估血清抗體濃度及 MAHA

【0277】 使用 ELISA 分析在第 6 天、第 13 天及第 20 天收集之血清樣品中 H1H19303P 及同型對照之濃度以及 MAHA 效價。血清中之 H1H19303P 及 hIgG1 同型對照抗體之濃度使用特異性針對人類 IgG 之偵測的夾心 ELISA 測定 (圖 7)。使用特異性針對各抗體之偵測的夾心 ELISA 測定 H1H19303P 或 IgG1 對照抗體之特異性小鼠 IgG 效價 (圖 8)。

【0278】 在第 6 天，偵測所有測試劑量下血清中之 H1H19303P 及同型對照，其中 10、5 及 2 mg/kg 劑量之 H1H19303P 所觀測到的平均血清濃度分別為 39.8 ± 24 、 33.5 ± 8.9 及 10.4 ± 2.9 (表 11)。

【0279】 表 11：H1H19303P 及同型對照之血清濃度

劑量	所投與之抗體	平均血清濃度 ($\mu\text{g/mL}$) ^a		
		第 6 天	第 13 天	第 20 天
10 mg/kg	H1H19303P	39.8 ± 24	12.0 ± 13	0.21 ± 0.254
	同型對照	130 ± 10.4	255 ± 43.4	279 ± 64.4
5 mg/kg	H1H19303P	33.5 ± 8.9	NT	$\leq\text{LLOQ}$
2 mg/kg	H1H19303P	10.4 ± 2.9	NT	$\leq\text{LLOQ}$

^a所示資料為平均血清濃度與標準差。

NT：未測試；LLOQ：定量下限

【0280】 表 12：小鼠抗 H1H19303P 及抗同型對照抗體之平均效價

劑量	所投與之抗體	平均效價 ^a		
		第 6 天	第 13 天	第 20 天
10 mg/kg	H1H19303P	≤LOD	39831 ± 24087	711076 ± 352075
	hIgG1 對照	≤LOD	≤LOD	564 ± 658
5 mg/kg	H1H19303P	≤LOD	NT	779150 ± 514583
2 mg/kg	H1H19303P	≤LOD	NT	878074 ± 409564

^a所示資料為平均效價與標準差。

NT：未測試；LOD：偵測極限

【0281】 在第 6 天之後，觀測到儘管在第 6 天、第 9 天、第 13 天及第 16 天額外投與抗體，但是截止第 20 天，H1H19303P 之所有劑量組之血清濃度降低（表 11）。相比於同型對照而言，10 mg/kg 劑量組觀測到快速抗體清除率。H1H19303P 之血清濃度減小可能是因為 MAHA 之發展（圖 8，表 12）。觀測所有劑量之 H1H19303P 在第 6 天後之所有時間點量測的 MAHA 效價。然而，同型對照之 MAHA 效價在所有測試時間點都處於偵測極限。

結論

【0282】 相比於 hIgG1 對照，以 10 mg/kg、5 mg/kg 或 2 mg/kg 之劑量腹膜內投與 H1H19303P 在植入有 MC38.Ova 腫瘤細胞之 *CTLA-4^{hum/hum}* 基因嵌入小鼠中引起腫瘤生長減少、腫瘤清除率改良且存活期改良。H1H19303P 之血清濃度隨時間減小，與在第 6 天後之時間點抗 H1H19303P MAHA 之發展相符。

實例 8：抗小鼠 CTLA-4 抗體與抗人類 PD-1 抗體（REGN2810）之組合處理在攜帶 MC38.Ova 腫瘤之 *PD-1^{hum/hum}* 基因嵌入小鼠中的功效

【0283】 此實例描述抗 CTLA-4 抗體與抗 PD-1 抗體組合在 PD-1 基因人類化之小鼠中之抗腫瘤功效。在此研究中所用之抗 PD-1 抗體為 REGN2810（亦稱為測米匹單抗），且在美國專利 9,987,500 中描述為 H4H7798N。*PD-1^{hum/hum}* 基因嵌入小鼠在美國專利申請公開案

US2015/0203579 中已有描述。

【0284】向 $PD-1^{hum/hum}$ 基因嵌入小鼠皮下植入 MC38.Ova 細胞 (5×10^5 個細胞/小鼠)。當平均腫瘤大小達到 100 mm^3 (處理第 0 天) 時，將小鼠隨機分成 4 個處理組。在第 0 天、第 3 天、第 7 天、第 10 天及第 14 天，向小鼠腹膜內投與 10 mg/kg 之同型對照抗體、抗小鼠 CTLA-4-mIgG2a 抗體(純系 9D9)、抗人類 PD-1 抗體(REGN2810)或抗小鼠 CTLA-4 與抗人類 PD-1 抗體之組合 ($10 \text{ mg/kg} + 10 \text{ mg/kg}$)。監測腫瘤體積及無腫瘤動物長達 22 天。持續 22 天每週用卡尺量測兩次，監測腫瘤體積。抗 CTLA-4 抗體或抗 PD-1 抗體之單一療法在所測試之 10 mg/kg 下相比於用同型對照處理顯示出部分腫瘤生長抑制(圖 9)。使用在處理開始後第 10 天之個別腫瘤體積(圖 10)進行統計分析，因為這是研究中所有組中之所有動物均存活的最後一個時間點。統計顯著性藉由單因子變異數分析與鄧尼特多重比較事後檢定 (** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$) 來確定。抗 CTLA-4 與抗 PD-1 抗體處理之組合相比於任一抗體之單一療法產生更有效的腫瘤生長抑制，其中在第 10 天，組合處理組中之腫瘤在統計學上顯著小於抗 PD-1 處理組中 (**** $p < 0.0001$, 圖 10)。截止第 22 天，抗 CTLA-4 處理組中八分之一的動物及組合處理組中八分之二的動物變成無腫瘤。用抗 CTLA-4 與抗 PD-1 抗體之組合處理相比於對照組亦在動物存活率方面產生顯著差異 (Mantel-Cox 檢定，**** $p < 0.0001$, 圖 11)。未觀測到因為抗體處理而引起體重減輕的跡象。

【0285】總而言之，用抗 mCTLA-4 及抗 PD-1 (REGN2810) 抗體之組合處理相比於任一抗體之單一療法引起腫瘤生長減少及存活期改良。

實例 9：REGN4659 處理在已建立的 MC38.Ova 腫瘤模型中在人類 CTLA-4^{hum/hum} 小鼠中之抗腫瘤功效

實驗設計

【0286】 在第 0 天，向六十隻 CTLA-4^{hum/hum} 小鼠之側腹中皮下植入 5×10^5 個 MC38.Ova 細胞。在第 10 天，選擇三十隻平均腫瘤體積為 100 mm^3 之小鼠且將其隨機分成 3 個處理組（N=10/組）。在第 10 天、第 13 天及第 17 天，如下給予小鼠抗體：第 1 組，hIgG1 同型對照 Ab（REGN1932），25 mg/kg；第 2 組，抗 hCTLA-4 Ab（REGN4659；H1H19303P），25 mg/kg；第 3 組，抗 hCTLA-4 Ab（REGN4659；H1H19303P），10 mg/kg。

【0287】 所有抗體全部藉由腹膜內注射投與。在實驗持續期內（27 天），藉由卡尺量測監測腫瘤體積。

結果

【0288】 REGN4569 處理已建立的 MC38.Ova 腫瘤引起部分腫瘤生長抑制（圖 12）。

【0289】 REGN4659 單一療法之兩種劑量 10 mg/kg 及 25 mg/kg 在減少腫瘤生長方面的有效性類似（圖 13）。

【0290】 單因子變異數分析（ANOVA）與圖基多重比較事後檢定（Tukey's multiple comparison post-test）揭示，在第 21 天，即所有處理組中之動物全都活著的最後一天，各 REGN4569 單一療法組與 hIgG1 同型對照組之間的平均腫瘤體積存在顯著差異（ $p < 0.05$ ）（圖 13）。

實例 10：在 REGN4659 處理 CTLA-4^{hum/hum} 小鼠中之已建立的皮下 MC38.Ova 腫瘤之後瘤內及周邊 T 細胞之分析

實驗設計

【0291】 在第 0 天，向四十隻 CTLA-4^{hum/hum} 小鼠之側腹中皮下植入 5×10^5 個 MC38.Ova 細胞。在第 10 天，選擇二十隻平均腫瘤體積為 100 mm^3 之小鼠且將其隨機分成 2 個處理組（N=10/組）。在第 10 天及第 13 天，如

下給予小鼠抗體：第 1 組，hIgG1 同型對照 Ab (REGN1932)，25 mg/kg；第 2 組，抗 hCTLA-4 Ab (REGN4659；H1H19303P)，25 mg/kg。所有抗體全部藉由腹膜內注射投與。藉由卡尺量測監測腫瘤體積。在第 17 天，當腫瘤在 hIgG1 組中達到 $355 \pm 35 \text{ mm}^3$ (平均值 $\pm$ SEM) 且在 REGN4659 處理組中達到 $180 \pm 43 \text{ mm}^3$ (平均值 $\pm$ SEM) 時，處死所有小鼠。收集腫瘤及脾臟以便藉由流動式細胞測量術進行淋巴細胞分析。製備腫瘤及脾臟之單細胞懸浮液。用 24G.2 (Bioxcell) 處理細胞，其阻斷 Fc 與 FcγRIIb 及 FcγRIII 結合，且隨後用 LIVE/DEAD™ 可固定 Aqua 死細胞染料 (Invitrogen) 進行活力染色，且隨後用針對 CD45 (純系 30-F11；Biolegend)、C90.2 (純系 30-H12；Biolegend)、CD8 (純系 53-6.7；Biolegend)、CD4 (GK1.5；Biolegend)、CD11b (cloneM1/70；Biolegend) 及人類 CTLA-4 (純系 BNI3，BD) 之抗體的混合物染色。關於細胞內染色，將樣品固定，滲透且用針對 FoxP3 (純系 FJK-16s，Invitrogen) 及人類 CTLA-4 之抗體染色。隨後在 FACS Canto 流式細胞儀 (BD) 上分析樣品。

結果

【0292】在植入及 REGN4659 抗體處理後第 17 天分析攜帶 MC38.Ova 腫瘤之小鼠的腫瘤及脾臟中之 T 細胞亞群。腫瘤位點及脾臟周邊之 T_{eff} 及 T_{reg} 群體的評定結果顯示，REGN4659，其具有 hIgG1 同型 (SEQ ID NO: 509 為 H1H19303P 之全長重鏈胺基酸序列，亦稱為 REGN4659)，介導正好投與兩次治療性抗體後攜帶 MC38.Ova 腫瘤之 CTLA-4^{hum/hum} 小鼠中之腫瘤位點中的 T_{reg} 的減少 (表 12)。觀測到腫瘤位點處之 CD4⁺ 效應細胞及 CD8⁺ 細胞擴增，而用 REGN4659 處理引起脾臟中之 T_{reg} 擴增。此等資料顯示，在 MC38.Ova 腫瘤模型中在 CTLA-4^{hum/hum} 小鼠中，REGN4659 藉由選擇性減少瘤內 T_{reg} 及活化瘤內效應 T 細胞而促進抗腫瘤活性。相比於脾 T_{reg} 或

T 效應細胞，REGN4659 對瘤內 Treg 數目之不同結果可能是因為 CTLA-4 表現量之差異。為回答此問題，藉由 FACS 量測 hIgG1 對照處理組的 T 細胞上之 CTLA-4 表現量（表面及細胞內）。瘤內 Treg 上之總 CTLA-4 之表現比瘤內 CD8⁺及 CD4⁺效應細胞上高出約 3 倍且比來自脾臟之 Treg 上高出約 8 倍（圖 14）。此表現差異可解釋 FcgR 依賴性機制所造成之腫瘤 Treg 之選擇性丟失，假定具有人類 IgG1 恆定區之抗體對鼠類 Fcg 受體具有高結合親和力。

【0293】表 13：用 REGN4659 進行 CTLA-4 阻斷可擴增瘤內 CD4⁺效應細胞及 CD8⁺細胞，但會減少 Treg。

	腫瘤		
	CD4 ⁺ 效應子 (**)	CD4 ⁺ Treg (**)	CD8 ⁺ (**)
hIgG1	2.12 ± 0.72	56.82 ± 5.14	6.12 ± 0.64
REGN4659	5.83 ± 0.87	35.38 ± 3.08	11.83 ± 1.49
	脾臟		
	CD4 ⁺ 效應子 (***)	CD4 ⁺ Treg (**)	CD8 ⁺
hIgG1	10.11 ± 1.33	30.6 ± 1.60	8.73 ± 0.74
REGN4659	14.67 ± 0.78	40.4 ± 0.93	6.99 ± 0.52

【0294】表 13 顯示作為 CD4⁺FoxP3⁻（CD4⁺效應子）之 CD45⁺細胞之百分比、作為 CD8⁺之 CD45⁺之百分比及作為 FoxP3⁺（CD4⁺Treg）之 CD4⁺細胞之百分比。未配對 T 檢定分析揭示，在 REGN4659 組與同型對照處理組之間，在腫瘤中之 CD4⁺效應子、CD8⁺、CD4⁺Treg 及脾臟中之 CD4⁺效應子及 CD4⁺ Treg 方面存在顯著差異（**p<0.005，*** p<0.001）。

實例 11：經 REGN4659 處理之攜帶腫瘤之小鼠的脾臟中之 T 細胞功能及整體全身性免疫活化的變化

實驗設計

【0295】在第 0 天，向二十隻 CTLA-4^{hum/hum} 小鼠之側腹中皮下植入

5×10^5 個 MC38.Ova 細胞，且將其隨機分成 2 個處理組（N=9/組）。在第 3 天、第 7 天、第 11 天、第 14 天及第 17 天，給予小鼠 10 mg/kg 之 hIgG1 同型對照 Ab（REGN1932）或 10 mg/kg 之抗 hCTLA-4 Ab（REGN4659；H1H19303P）。所有抗體全部藉由腹膜內注射投與。藉由卡尺量測監測腫瘤體積。從第 24 天（當腫瘤生長過大時）開始至第 37 天（實驗結束），處死小鼠。在第 24 天，在 REGN4659 組中，8/9 之小鼠變成無腫瘤，而在對照組中，沒有小鼠是無腫瘤的。鼠類基因之表現量（針對鼠類親環素 B RNA 表現標準化）藉由 Taqman 即時 PCR 量測。未配對 t 檢定顯示，相比於同型對照組，REGN4659 組中之 FoxP3、CD3e、穿孔素（Perforin）、IFN γ 、TNF α 、PD-L1、PD-L2 之相對含量統計學上顯著增加。

結果

【0296】經 REGN4659 處理小鼠之脾臟的 Taqman 分析揭示，FoxP3、CD3e、穿孔素、IFN γ 、TNF α 、PD-L1、PD-L2 之轉錄量增加，表明 REGN4659 之 T 細胞效應功能及整體免疫增強功能增加。鼠類基因之表現量（針對鼠類親環素 B RNA 表現標準化）顯示於表 14 中。未配對 t 檢定顯示，相比於同型對照組，REGN4659 組中之 FoxP3、CD3e、穿孔素、IFN γ 、TNF α 、PD-L1 及 PD-L2 之相對含量統計學上顯著增加。

【0297】表 14：REGN4659 療法增強活體內適應性免疫反應。

	FOXP3 (***)	CD3 ϵ (***)	穿孔素 (***)	IFN γ (***)	TNF α (***)	PD-L1 (*)	PD-L2 (***)
hIgG1	3.12 $\pm$ 0.54	2.72 $\pm$ 0.39	2.46 $\pm$ 0.35	0.962 $\pm$ 0.16	1.98 $\pm$ 0.34	2.81 $\pm$ 0.59	1.98 $\pm$ 0.30
REGN 4659	9.15 $\pm$ 1.28	11.48 $\pm$ 1.57	10.65 $\pm$ 1.45	4.33 $\pm$ 0.61	6.42 $\pm$ 0.88	5.33 $\pm$ 0.61	7.46 $\pm$ 1.02

以平均值 $\pm$ SEM 報告；雙尾未配對 t 檢定；*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001。

實例 12：抗 CTLA-4 抗體（REGN4659）與測米匹單抗（抗 PD-1 抗

體) 組合治療患有晚期或轉移性非小細胞肺癌之患者的人類臨床試驗

【0298】 此研究為開放標籤、I 期、首次在人類中進行 (first-in-human, FIH) 的研究, 評估單獨的 REGN4659 (亦即實例 1 至 7 及 9 至 11 之 H1H19303P)、單獨的高劑量測米匹單抗 (群組 C) 及 REGN4659 與測米匹單抗之組合對晚期或轉移性非小細胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 之治療。研究包括劑量遞增期 (dose escalation phase) 及劑量擴增期 (dose expansion phase)。

【0299】 測米匹單抗 (REGN2810; 實例 8) 為針對 PD-1 受體之高親和力、完全人類、鉸鏈穩定的 IgG4P 抗體, 其有效阻斷 PD-1 與其配體 PD-L1 及 PD-L2 之相互作用。

研究目標

【0300】 劑量遞增期之主要目標為評定單獨的 REGN4659、單獨的高劑量測米匹單抗及 REGN4659 與測米匹單抗之組合在患有非小細胞肺癌 (NSCLC) 之經歷治療的患者中的安全性、耐受性及藥物動力學 (pharmacokinetics, PK)。劑量擴增期之主要目標為評定 REGN4659 與測米匹單抗之組合的初步抗腫瘤活性, 如藉由經歷抗 PD-1/PD-L1 免疫療法之 NSCLC 患者中之客觀反應率 (objective response rate, ORR) 所量測, 及評定 REGN4659 及測米匹單抗在經歷抗 PD-1/PD-L1 免疫療法之 NSCLC 患者中之安全性、耐受性及 PK。

【0301】 研究之第二目標為 (i) 評定高劑量測米匹單抗單一療法及 REGN4659 與測米匹單抗之組合的初步抗腫瘤活性, 如藉由經歷治療之 NSCLC 患者在劑量遞增期之 ORR 所量測; (ii) 經由多重準則評定在劑量遞增及擴增期間 REGN4659 與測米匹單抗之抗腫瘤活性; 及 (iii) 評定 REGN4659 及測米匹單抗之全身性藥效作用, 藉由 T 細胞活化之末梢血液

生物標記之變化來量測，包含 ICOS+ CD4 T 細胞。

研究設計

【0302】此研究為開放標籤、I 期、首次在人類中進行 (FIH) 的研究，評估單獨的 REGN4659、單獨的高劑量測米匹單抗 (群組 C) 及 REGN4659 與測米匹單抗之組合對晚期或轉移性 NSCLC 之治療。此研究存在 2 個階段：經歷治療之 NSCLC 患者 (在化學療法及/或抗 PD-1/PD-L1 免疫療法之前) 的劑量遞增期，及經歷抗 PD-1/PD-L1 免疫療法之 NSCLC 患者的劑量擴增期。

【0303】研究包括長達 28 天 (第-28 天至第-1 天) 之篩選期、繼之以至多十七個 42 天治療週期 (長達 102 週之治療) 及 24 週隨訪期。在 102 週治療期完成之前，或在明確的疾病進展、不可接受的毒性、撤銷同意之前，或在滿足另一個研究撤消準則之前，患者將一直接受治療。在最少治療 24 週之後，確認完全反應 (complete response, CR) 之患者可選擇中斷治療且繼續進行所有相關的研究評定。在劑量遞增時，除非醫學禁忌，否則期望進行腫瘤活體組織切片檢查。腫瘤活體組織切片檢查必須作為劑量擴增群組之一部分。關於出現反應且隨後出現進展的患者，會要求在進展時進行腫瘤活體組織切片檢查，但不強迫。

【0304】在治療期完成後 6 個月內在滿足研究所規定之準則且繼續進行所規定之訪視之後 CR、部分反應 (partial response, PR) 或穩定疾病 (SD) 有進展的患者允許在再次確認相關研究合格準則之後恢復研究治療。患者可接受長達 102 週之額外治療。在試驗委託者 (sponsor) 與試驗主持人 (investigator) 之間進行討論之後，所恢復之劑量及藥物一般應該與患者最初接受的或擴增群組所選之劑量相同。

【0305】群組 C 中耐受 2 個劑量之測米匹單抗 (1050 mg Q3W)，但

是隨後顯示 PD 的患者將可以選擇添加安全投與的最高組合劑量之測米匹單抗與 REGN4659，達到試圖使用所組合之 CTLA-4 及 PD-1 阻斷尋求反應的程度。

【0306】劑量遞增：計劃八個劑量遞增群組。將研究以各種方案每 3、6 及 12 週 (Q3W、Q6W、Q12W) 三種劑量之 REGN4659 (25、75 及 250 mg 靜脈內[IV]固定劑量)，與以 2 個劑量 (350 及 1050 mg IV 固定劑量) Q3W 投與之測米匹單抗組合。在與 1050 mg 測米匹單抗之組合群組開始之前，將研究 1050 mg 測米匹單抗 Q3W 單一療法之群組 (群組 C)。關於由星號指示之劑量遞增群組 (群組 1*、2* 及 4*)，單一引入劑量之 REGN4659 單一療法將先於組合療法 3 週以在與測米匹單抗組合之前評定 REGN4649 之安全性。8 個群組中之六個 (1*、C、2*、2、3 及 4*) 將用於進行劑量限制性毒性 (dose-limiting toxicity, DLT) 評估。除了 DLT 可評估群組之外，另外 2 個劑量群組 (5 及 6) 將各自登記 6 名患者進行安全性及 PK/藥效學評估。群組 5 及 6 將在分別建立群組 2 及 3 之耐受性之後登記。群組 5 及 6 中之劑量組合可能引人關注，即使較高劑量強度之 REGN4659 (群組 2 及 3) 為可耐受的。然而，若群組 2 及 3 因為群組 5 及 6 中 REGN4659 之暴露減小而為可耐受的，則此等群組將不需要 DLT 評估。除了將登記 6 名患者之群組 C 以外，各劑量群組中最少需要 3 名患者以使 DLT 可評估。為了在保持患者安全的同時使 1 期劑量遞增之效率達到最大，將在各劑量群組 (群組 C 除外) 中登記 4 名患者，以防患者在 DLT 可評估之前就中斷。群組 3 及 6 (與高劑量測米匹單抗之組合群組) 直至群組 C 中之所有 6 名患者全部完成 DLT 期才開始。劑量群組將繼續進行劑量遞增，直至達到組合之最大耐受劑量 (maximum tolerated dose, MTD) 或所有劑量群組已測試為止。然而，即使在劑量遞增完成之前，仍可在評估任何群組之耐受性及藥效學

活性之後選擇劑量群組進行擴增。

【0307】劑量限制性毒性：除了不能投與（因為研究藥物毒性）窗內之 2 號劑量之外，除了明確認為與疾病進展或間發病相關的事件之外，在出現以下研究毒性之後將考慮 DLT：

非血液學毒性：

(i) ≥ 2 級葡萄膜炎（視為潛在 irAE）；

(ii) 天冬胺酸轉胺酶（Aspartate aminotransferase, AST）或丙胺酸轉胺酶（alanine aminotransferase, ALT） >5 倍正常值上限（upper limit of normal, ULN）及/或總膽紅素 >3 倍 ULN。關於具有肝轉移之患者，若 2 級處於基線，則 AST、ALT 及/或總膽紅素 >2 倍基線值；及

(iii) 任何 ≥ 3 級非血液學毒性，包含 irAE（如藉由體驗其他免疫調節藥物所定義），但以下除外：

(a) 儘管有最大支持性護理措施，如由治療醫師所開出，但仍存在持久（ >72 小時持續時間）的 3 級噁心、嘔吐或腹瀉；及

(b) 視為臨床上不顯著且不滿足不良事件（adverse event, AE）之準則的 ≥ 3 級實驗室異常。

血液學毒性：

(i) 持續超過 7 天之 4 級嗜中性白血球減少症；

(ii) 4 級血小板減少症；

(iii) 伴隨流血之 3 級血小板減少症；

(iv) ≥ 3 級發熱性嗜中性白血球減少症（發熱 $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$ 且絕對嗜中性白血球計數 $<1.0 \times 10^9/\text{L}$ ）或伴隨有記載的感染的 ≥ 3 級嗜中性白血球減少症；

(v) 4 級貧血；及

(vi) 持續超過 7 天或需要輸液的 3 級貧血。

【0308】若在個別群組中在 DLT 評估之後發展出安全問題，則可在試驗主持人與試驗委託者之間進行討論之後暫停登記。觸發暫停之安全問題可包含早期或晚期安全性事件。

【0309】劑量擴增：可在評估除了群組 C 以外的任何群組之耐受性及藥效學活性（包含但不限於周邊 ICOS+ T 細胞增加）之後，選擇劑量群組進行擴增，群組 C 將不擴增。劑量擴增群組將登記在接受抗 PD-1/PD-L1 療法的同時仍有進展的經歷抗 PD-1/PD-L1 免疫療法之 NSCLC 患者，以測定組合療法在此群體中之耐受性及活性。至多選擇 3 個各別劑量方案進行劑量擴增以鑑別 NSCLC 患者之最佳組合方案。擴增群組將登記最多 27 名患者，各自基於 Simon 二階段設計。若在個別擴增群組中發展出安全問題，則可在試驗主持人與試驗委託者之間進行討論之後暫停登記。觸發暫停之安全問題可包含早期或晚期安全性事件。

研究持續時間

【0310】研究持續時間為約 102 週，不包含篩選或隨訪期。

群體

【0311】樣品大小：期望在劑量遞增期間登記至多約 53 名成年患者且期望在劑量擴增期間登記至多 3 個擴增群組，各群組中登記最多 27 名患者，在美國至多約 15 個地點登記。所登記患者之總數將視在劑量遞增期間所觀測到之 DLT、PK/藥效學分析、所開啟之擴增群組之數目及 Simon 二階段擴增群組之第 1 階段之功效而定。

【0312】目標群體：此研究之目標群體為診斷患有不可切除性 IIIB 期或 IV 期鱗狀或非鱗狀 NSCLC 的 ≥18 歲之男性及女性。

【0313】納入準則（Inclusion Criteria）：患者必須滿足以下準則才有資格納入研究中：

1. ≥ 18 歲之男性及女性；
2. 具有不可切除性 IIIB 期或 IV 期疾病的組織學或細胞學上證實鱗狀或非鱗狀 NSCLC 患者；
3. 劑量遞增（群組 C 除外）：已接受不超過 3 線全身性療法、包含不超過 2 線細胞毒性化學療法且預期沒有療法可向其傳遞臨床益處的經歷治療之患者。已接受先前的 PD-1/PD-L1 免疫療法的患者一定不能因為治療相關之 AE 而永久性中斷。在劑量遞增期間允許具有可靶向突變（包含表皮生長因子受體[EGFR]、ALK 及 ROS1）之患者，但所述患者必須另外接受至少 1 線靶向療法。
 - a. 注意：可容許 1）輔助或新輔助化學療法或免疫療法（在手術及/或放射線療法之後）或 2）存在或不存在後續免疫療法的確定性化學放射線療法用於 III 期疾病且在評估在完成療法之後超過 6 個月患上再發性或轉移性疾病的患者之療法線時不包含所述療法；
4. 劑量遞增群組 C：已接受先前的 1 至 2 線細胞毒性化學療法，包含含有鉑之雙重方案的抗 PD-1/PD-L1 未經治療的患者。在劑量遞增期間允許患者具有可靶向的突變（包含 EGFR、ALK 及 ROS1），但所述患者必須另外接受至少 1 線靶向療法。
 - a. 注意：可容許 1）輔助或新輔助化學療法或 2）確定性化學放射性療法用於 III 期疾病且在評估在完成療法之後超過 6 個月患上再發性或轉移性疾病的患者之療法線時不包含所述療法。
5. 擴增群組：在接受療法的同時或在療法停止 6 個月之內 III 期或 IV 期疾病有進展的經歷抗 PD-1/PD-L1 之患者。患者一定不能因為治療相關之 AE 而永久性中斷抗 PD-1/PD-L1 療法。患者必須接受一線抗 PD-1/PD-L1 免疫療法。患者亦可接受一線化學療法。只要除了如以下注意事項中所述者

之外不再接受額外的療法線，便可容許先前的化學療法及免疫療法組合。

a. 注意：可容許 1) 輔助或新輔助化學療法或免疫療法（在手術及/或放射線療法之後）或 2) 存在或不存在後續免疫療法的確定性化學放射線療法用於 III 期疾病且在評估在完成療法之後超過 6 個月患上再發性或轉移性疾病的患者之療法線時不包含所述療法；

6. 先前尚未照射過的存檔的或新獲得的福馬林 (formalin) 固定的腫瘤組織；

7. 擴增群組：至少 1 個可藉由電腦斷層攝影 (computed tomography, CT) 或磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 根據 RECIST 1.1 準則在放射線照相下量測的病灶。目標病灶可位於先前照射視野若在彼位點存在有記錄的 (放射線照相) 疾病進展；

8. ≤ 1 之美國東岸癌症臨床研究合作組織 (Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG) 體能狀態 (performance status) ；

9. 預計至少 3 個月之預期壽命；

10. 如下文所定義之適當的器官及骨髓功能：

- 血紅蛋白 ≥ 9.0 g/dL (注意：在篩選實驗室評估之前 14 天內因血紅蛋白 < 9.0 g/dL 而接受輸血的患者不符合條件)

- 絕對嗜中性白血球計數 $\geq 1.5 \times 10^9/L$

- 血小板計數 $\geq 75,000/mm^3$

- 腎小球濾過率 (Glomerular filtration rate, GFR) > 30 mL/min/1.73m²

- 總膽紅素 $\leq 1.5 \times ULN$ (若肝轉移 $\leq 3 \times ULN$)，但診斷患有臨床上確認的捷倍耳氏症候群 (Gilbert's syndrome) 的患者除外

- 若肝轉移，則 AST)及 ALT $\leq 3 \times ULN$ 或 $\leq 5 \times ULN$

- 鹼性磷酸酶 $\leq 2.5 \times ULN$ (或若肝或骨轉移，則 $\leq 5.0 \times ULN$)

- 不滿足海氏定律 (Hy's law) 準則 (ALT 及/或 AST $>3 \times \text{ULN}$ 且膽紅素 $>2 \times \text{ULN}$) ；

11. 願意且能夠遵守臨床訪視及研究相關程序；及

12. 提供由研究患者或法律上可接受的代表簽署的知情同意書。

【0314】排除準則 (Exclusion Criteria)：將從研究中排除滿足以下準則中之任一者的患者：

1. **僅擴增群組：**從不吸菸的患者，從不吸菸定義為一生中吸 ≤ 100 根香菸；

2. 活性或未經治療之腦轉移或脊髓壓迫。若在登記之前至少 2 週，中樞神經系統 (central nervous system, CNS) 轉移得到充分治療且患者神經學上已回至基線 (與 CNS 治療有關的殘留徵象或症狀除外)，則患者符合條件。患者必須停掉 (免疫抑制劑量之) 皮質類固醇療法；

3. **僅擴增群組：** EGFR 及 ALK 基因突變或 ROS1 融合經測試為陽性之腫瘤患者。所有患者均應針對 EGFR 突變、ALK 重排及 ROS1 融合評估腫瘤；

4. 在登記之前 2 週之內進行放射線療法且未從任何因為放射線所導致之 AE 恢復至基線；

5. 先前接受抗 CTLA-4 抗體治療的患者；

6. 在知情同意書前一年有腦炎、腦膜炎或不受控制的癲癇；

7. 需要免疫抑制劑量之糖皮質激素來輔助管理的間質性肺病 (例如特發性肺纖維化、器質化肺炎) 或活性、非感染性肺炎史。允許在輻射場中有放射線肺炎史，只要肺炎在登記前 ≥ 6 個月解決即可；

8. 需要用全身性免疫抑制治療方式治療的顯著自體免疫疾病的持續的或近來的跡象，其可表明有免疫相關之治療中出現的不良事件

(immune-related treatment-emergent adverse event, irTEAE) 的風險。以下情況不排除在外：白斑病、已解決的兒童哮喘、I 型糖尿病、僅需要激素置換的殘餘甲狀腺功能低下或不需要全身性治療的牛皮癬；

9. 在隨機分組 14 天內具有需要皮質類固醇療法 (>10 mg 潑尼松 (prednisone) /天或等效物) 之病況的患者。允許生理置換劑量，即使其為 >10 mg 潑尼松/天或等效物，只要其不是出於免疫抑制目的投與即可。允許吸入或局部類固醇，其限制條件為其不是用於治療自體免疫病症；

10. **僅擴增群組**：另一進行性或要求治療之惡性疾病，但可能已經歷治癒性療法的非黑色素瘤皮膚癌或已經過治療的原位子宮頸癌或任何其他腫瘤除外，且認為患者在進入研究前至少 2 年完全緩解，且在研究期內不需要額外療法；

11. 不受控制的感染人類免疫缺乏病毒、B 型肝炎或 C 型肝炎感染；或診斷患有免疫缺乏；

注意：

- 在篩選時將對患者進行 C 型肝炎病毒(HCV)及 B 型肝炎病毒(HBV) 測試；
- 允許具有受控制的感染的已知 HIV 感染患者（不可偵測之病毒負荷 (HIV RNA PCR) 及 CD4 計數高於 350，自發地或基於穩定抗病毒方案）。關於具有受控制的 HIV 感染之患者，將根據地方標準進行監測；
- 允許具有受控制的感染的 B 型肝炎 (HepBsAg+) 患者（血清 B 型肝炎病毒 DNA PCR 低於偵測極限且接受針對 B 型肝炎之抗病毒療法）。具有受控制的感染的患者必須定期監測 HBV DNA。在最後一個劑量之試驗用研究藥物之後，患者必須堅持抗病毒療法至少 6 個月；
- 允許具有受控制的感染的 C 型肝炎病毒抗體陽性 (HCV Ab+) 患者

(PCR 不可偵測之 HCV RNA，自發地或對抗 HCV 療法之成功的先驗過程起反應)。

12. 在開始研究藥物之前 14 天內需要全身性療法的活動性感染；
13. 在開始用研究療法治療之前至少 3 個月尚未轉變成基線之來自免疫調節劑（包含但不限於抗 PD1/PD-L1 療法、其他檢查點抑制劑療法及 PI 3K- δ 抑制劑）的治療相關之免疫介導性 AE。若患者經歷與先前用 PD-1/PD-L1 途徑之阻斷劑治療相關之免疫介導性 AE，不管發生時間，需要永久性中止所述藥劑，則排除用測米匹單抗治療所述患者。注意：允許已用激素置換控制的經歷任何級別之甲狀腺功能低下或 I 型糖尿病之患者；
14. 先前在任何時間用艾德昔布（idelalisib，ZYDELIG®）治療；
15. 當前正在另一研究中接受治療或已經參與試驗藥之研究且接受治療，或在研究療法之第一次給藥 4 週內使用試驗裝置，或在研究療法之第一次給藥 3 週內接受審批通過的全身性療法治療，或已在研究療法之第一次給藥之 5 個半衰期內接受任何先前全身性療法，無論哪個更久（抗 PD-1/PD-L1 療法除外）。若從最後一個治療起已經過至少 28 天，則在與試驗委託者討論之後，允許預先經貝伐單抗、西妥昔單抗、利妥昔單抗或半衰期大於 7 天的其他非免疫調節性抗體治療之患者。關於經歷抗 PD-1/PD-L1 之患者，在研究療法之第一次給藥 3 週之內不能預先給予抗 PD-1/PD-L1 療法，無論藥物之半衰期或審批狀態如何；
16. 在研究藥品計劃開始 30 天內接受活毒疫苗；
17. 在第一次給藥之前 4 週之內做過大手術或有明顯的創傷性損傷；
18. 已知對多西環素（doxycycline）或類似化合物（亦即，四環素）過敏；
19. 有記載對任何蛋白質類治療劑（例如重組蛋白、疫苗、靜脈內

免疫球蛋白、單株抗體、受體捕獲劑) 具有過敏或超敏反應；

20. 已知的精神病學或物質使用疾患 (substance abuse disorder) , 其將干擾參與研究的要求, 包含非法藥物之當前使用；

21. 預先同種異體幹細胞移植；

22. 在試驗主持人看來參與研究並不符合患者最佳利益的任何醫學病況；

23. 妊娠期或哺乳期女性；

24. 在基線 (第 1 個週期第 1 天, 在給藥之前) 訪視時陽性血清 hCG 妊娠測試；

25. 在初次給藥/第一次治療開始之前、在研究期間及在最後一次給藥之後至少 6 個月, 不願意採取非常有效的避孕措施的有生育潛力*之性活躍的男性及女性。非常有效的避孕措施包含：

- 穩定使用組合 (含有雌激素及助孕素) 激素避孕 (經口、陰道內、經皮) 或僅助孕素激素避孕 (經口、可注射、可植入), 其與抑制在篩選前 2 個或更多個月經週期開始的排卵有關；

- 子宮內裝置 (intrauterine device, IUD) ；子宮內激素釋放系統 (intrauterine hormone-releasing system, IUS) ；

- 兩側輸卵管結紮；

- 伴侶切除輸精管；

- 及或禁慾†, ‡。

*為了被視為沒有生育潛力, 停經後女性必須停經至少 12 個月。已記載做過子宮切除術或輸卵管結紮之女性不需要妊娠測試及避孕。

†禁慾僅在定義為在與研究治療相關之整個風險期內忍住不與異性性交時才被視為非常有效的方法。‡週期性禁慾 (日曆法、征狀基礎體溫法、

排卵後法）、撤出（性交中斷）、僅殺精劑及泌乳停經法（lactational amenorrhoea method, LAM）為不可接受的避孕方法。女性保險套及男性保險套不應一起使用；

26. 臨床現場研究小組之成員及/或其近親屬（immediate family）。

治療

【0315】 REGN4659：將按各種方案（Q3W、Q6W、Q12W）研究 3 種劑量（25、75 及 250 mg IV 固定劑量）。

【0316】 測米匹單抗：Q3W 投與 2 種劑量（350 及 1050 mg IV 固定劑量）。

主要終點

【0317】 在劑量遞增期中：DLT、治療中出現的不良事件（TEAE）、irAE、嚴重不良事件（SAE）、死亡、實驗室異常（根據不良事件之常見術語準則[Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTCAE]，3 級或更高級）之比率。

【0318】 在劑量擴增期中：基於實體腫瘤反應評估準則（Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST）1.1 之客觀反應率（ORR），及 TEAE、irAE、SAE、死亡、實驗室異常（根據 CTCAE 3 級或更高級）之比率。

次要終點

【0319】 基於多反應準則之腫瘤量測包含：（i）基於 RECIST 1.1 之 ORR（劑量遞增），（ii）基於免疫類療法反應評估準則（iRECIST）之 ORR，（iii）最佳整體反應（best overall response, BOR）、反應持續時間（duration of response, DOR）、疾病控制率及基於 RECIST 1.1、iRECIST 之無進展存活期（progression-free survival, PFS），及（iv）總存活期（Overall survival，

OS)。

【0320】經由流動式細胞測量術對各劑量群組內之絕對ICOS+ CD4 T細胞及其他活化標誌物之改變%進行定量。

程序及評定

【0321】 REGN4659 及測米匹單抗之安全性及耐受性將藉由臨床評定 AE 及藉由反覆量測臨床評估及實驗室評定來監測，臨床評估包含生命徵象（溫度、血壓、脈搏及呼吸）、體檢（全面的及有限的）、12 導程心電圖（electrocardiogram, ECG），實驗室評定包含標準血液學、化學及尿分析。

【0322】 抗腫瘤活性將藉由 CT/MRI 評定。

【0323】 將收集血液樣品用於測定血清及抗藥物抗體（抗 REGN4659 或抗測米匹單抗）樣品中之功能性 REGN4659 及功能性測米匹單抗。

【0324】 將收集血清、血漿、外周血單核細胞（peripheral blood mononuclear cell, PBMC）及腫瘤活體組織切片用於生物標誌物分析。將收集基因組 DNA 樣品。將在血清、血漿、PBMC 及腫瘤組織中研究所推測的藥效學、與 REGN4659 及測米匹單抗治療暴露相關的預測及預後生物標誌物、臨床活性或潛在疾病。

統計計劃

【0325】 劑量遞增期：不存在關於研究之劑量遞增期的形式統計假設；此階段之分析在本質上將為描述性及探索性的。關於各劑量遞增群組（群組 1*、2*、2、3 及 4*），基於經修改的 3+3 設計（「4+3」），計劃約 35 名 DLT 可評估患者。群組 5 及 6 計劃十二名患者（每個群組 6 名患者）。此等劑量遞增群組之實際樣品大小將視所記載之 DLT、所得群組大小及所實施之劑量之數值而定。

【0326】 劑量擴增期：關於各擴增群組，在 NSCLC 患者中，其經歷

過抗 PD-1/PD-L1 免疫療法且在接受抗 PD-1/PD-L1 療法的同時有進展，因為此等患者存在較少可用功效資料，所以試驗委託者認為任何優於 5%之可量測的 ORR 均表示有臨床意義的治療效果。使用 Simon 二階段 Minimax 設計以 5%之單邊顯著水準（1-sided significant level）及 80%之檢定力（power）測定各擴增群組中 27 名患者之樣品大小。

【0327】 主要功效分析：擴增群組之藉由 RECIST 1.1 確定之最佳整體反應將使用描述統計連同雙邊 95%信賴區間來概述。

【0328】 ORR 將藉由描述統計連同 95%信賴區間來概述。BOR 不可評估之患者將視為無反應者。

【0329】 關於擴增群組，若反應者之數目大於或等於 Simon 二階段設計中所指定之反應者的最小數目，則視為治療有效且值得進一步研究。

【0330】 次要功效分析包含如藉由 iRECIST 所量測之 ORR、DOR、疾病控制率及 PFS。彼等次要功效終點將藉由劑量遞增及擴增群組以描述方式概述。

【0331】 安全性觀測及量測包含藥物暴露、AE、實驗室資料及生命徵象，將概述及呈現於表格及列表中。

【0332】 關於劑量遞增期：在 DLT 評估期內觀測到之 DLT 將藉由劑量群組概述。

結果

【0333】 在劑量遞增期中，單獨的及呈組合形式之 REGN4659 及測米匹單抗在經歷治療之 NSCLC 患者中均將被良好耐受。在劑量擴增期中，在經歷抗 PD-1/PD-1 免疫療法之 NSCLC 患者中，REGN4659 與測米匹單抗組合將被良好耐受且將展現可量測的抗腫瘤反應。

例示性實施例

【0334】 本發明亦關於以下項目：

【0335】 項目 1. 一種抗體或其抗原結合片段，其結合人類細胞毒性 T 淋巴細胞相關蛋白 4 (CTLA-4) 且阻斷 hCTLA-4 與配體 B7-1 及/或配體 B7-2 之間的相互作用。

【0336】 項目 2. 如項目 1 之抗體或抗原結合片段，其誘導 T 細胞活化。

【0337】 項目 3. 如項目 2 之抗體或抗原結合片段，其中所述 T 細胞為細胞毒性 T 細胞。

【0338】 項目 4. 如項目 2 或 3 之抗體或抗原結合片段，其中所述 T 細胞為腫瘤浸潤性淋巴細胞。

【0339】 項目 5. 如項目 1 至 4 中任一項之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或抗原結合片段結合猴 CTLA-4。

【0340】 項目 6. 如項目 1 至 5 中任一項之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或抗原結合片段以小於 5 nM 之 EC50 結合 CTLA-4 表現細胞。

【0341】 項目 7. 如項目 1 至 6 中任一項之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或抗原結合片段以小於 1 nM 之 EC50 結合 CTLA-4 表現細胞。

【0342】 項目 8. 如項目 1 至 7 中任一項之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或抗原結合片段以小於 0.5 nM 之 EC50 結合人類 CTLA-4 表現細胞。

【0343】 項目 9. 如項目 1 至 8 中任一項之抗體或抗原結合片段，其以小於 0.5 nM 之 EC50 結合猴 CTLA-4 表現細胞。

【0344】 項目 10. 如項目 1 至 9 中任一項之抗體或抗原結合片段，其為完全人類抗體。

【0345】 項目 11. 如項目 1 至 10 中任一項之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段與包括選自由以下組成之群之 HCVR/LCVR

胺基酸序列對的參考抗體競爭與人類 CTLA-4 結合：(a) SEQ ID NO: 2 及 10、(b) SEQ ID NO: 18 及 26、(c) SEQ ID NO: 34 及 42、(d) SEQ ID NO: 50 及 58、(e) SEQ ID NO: 66 及 74、(f) SEQ ID NO: 82 及 90、(g) SEQ ID NO: 98 及 106、(h) SEQ ID NO: 114 及 122、(i) SEQ ID NO: 130 及 138、(j) SEQ ID NO: 146 及 154、(k) SEQ ID NO: 162 及 170、(l) SEQ ID NO: 178 及 186、(m) SEQ ID NO: 194 及 202、(n) SEQ ID NO: 210 及 218、(o) SEQ ID NO: 226 及 234、(p) SEQ ID NO: 242 及 250、(q) SEQ ID NO: 258 及 266、(r) SEQ ID NO: 274 及 282、(s) SEQ ID NO: 290 及 298、(t) SEQ ID NO: 306 及 298、(u) SEQ ID NO: 314 及 322、(v) SEQ ID NO: 330 及 338、(w) SEQ ID NO: 346 及 354、(x) SEQ ID NO: 362 及 370、(y) SEQ ID NO: 378 及 386、(z) SEQ ID NO: 394 及 402、(a') SEQ ID NO: 410 及 418、(b') SEQ ID NO: 426 及 434、(c') SEQ ID NO: 442 及 450、(d') SEQ ID NO: 458 及 466、(e') SEQ ID NO: 474 及 482 及 (f') SEQ ID NO: 490 及 498。

【0346】項目 12. 如項目 1 至 11 中任一項之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段與包括選自由以下組成之群之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對的參考抗體結合於人類 CTLA-4 上之同一個抗原決定基：(a) SEQ ID NO: 2 及 10、(b) SEQ ID NO: 18 及 26、(c) SEQ ID NO: 34 及 42、(d) SEQ ID NO: 50 及 58、(e) SEQ ID NO: 66 及 74、(f) SEQ ID NO: 82 及 90、(g) SEQ ID NO: 98 及 106、(h) SEQ ID NO: 114 及 122、(i) SEQ ID NO: 130 及 138、(j) SEQ ID NO: 146 及 154、(k) SEQ ID NO: 162 及 170、(l) SEQ ID NO: 178 及 186、(m) SEQ ID NO: 194 及 202、(n) SEQ ID NO: 210 及 218、(o) SEQ ID NO: 226 及 234、(p) SEQ ID NO: 242 及 250、(q) SEQ ID NO: 258 及 266、(r) SEQ ID NO: 274 及 282、(s)

SEQ ID NO: 290 及 298、(t) SEQ ID NO: 306 及 298、(u) SEQ ID NO: 314 及 322、(v) SEQ ID NO: 330 及 338、(w) SEQ ID NO: 346 及 354、(x) SEQ ID NO: 362 及 370、(y) SEQ ID NO: 378 及 386、(z) SEQ ID NO: 394 及 402、(a') SEQ ID NO: 410 及 418、(b') SEQ ID NO: 426 及 434、(c') SEQ ID NO: 442 及 450、(d') SEQ ID NO: 458 及 466、(e') SEQ ID NO: 474 及 482 及 (f) SEQ ID NO: 490 及 498。

【0347】項目 13. 如項目 1 至 12 中任一項之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或抗原結合片段包括：(a) 具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的重鏈可變區 (HCVR) 之互補決定區 (CDR)：SEQ ID NO: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、314、330、346、362、378、394、410、426、442、458、474 及 490；及 (b) 具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的輕鏈可變區 (LCVR) 之 CDR：SEQ ID NO: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、322、338、354、370、386、402、418、434、450、466、482 及 498。

【0348】項目 14. 如項目 1 至 13 中任一項之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或抗原結合片段包括選自由以下組成之群之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對的重鏈及輕鏈 CDR：(a) SEQ ID NO: 2 及 10、(b) SEQ ID NO: 18 及 26、(c) SEQ ID NO: 34 及 42、(d) SEQ ID NO: 50 及 58、(e) SEQ ID NO: 66 及 74、(f) SEQ ID NO: 82 及 90、(g) SEQ ID NO: 98 及 106、(h) SEQ ID NO: 114 及 122、(i) SEQ ID NO: 130 及 138、(j) SEQ ID NO: 146 及 154、(k) SEQ ID NO: 162 及 170、(l) SEQ ID NO: 178 及 186、(m) SEQ ID NO: 194 及 202、(n) SEQ ID NO: 210 及 218、(o) SEQ ID NO: 226 及 234、(p) SEQ ID NO: 242 及 250、(q) SEQ ID NO: 258 及 266、

(r) SEQ ID NO: 274 及 282、(s) SEQ ID NO: 290 及 298、(t) SEQ ID NO: 306 及 298、(u) SEQ ID NO: 314 及 322、(v) SEQ ID NO: 330 及 338、(w) SEQ ID NO: 346 及 354、(x) SEQ ID NO: 362 及 370、(y) SEQ ID NO: 378 及 386、(z) SEQ ID NO: 394 及 402、(a') SEQ ID NO: 410 及 418、(b') SEQ ID NO: 426 及 434、(c') SEQ ID NO: 442 及 450、(d') SEQ ID NO: 458 及 466、(e') SEQ ID NO: 474 及 482 及 (f) SEQ ID NO: 490 及 498。

【0349】 項目 15. 如項目 1 至 14 中任一項之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或抗原結合片段包括包括選自由以下組成之群之 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 及 LCDR3 域：(a) 分別為 SEQ ID NO: 4、6、8、12、14 及 16；(b) 分別為 SEQ ID NO: 20、22、24、28、30 及 32；(c) 分別為 SEQ ID NO: 36、38、40、44、46 及 48；(d) 分別為 SEQ ID NO: 52、54、56、60、62 及 64；(e) 分別為 SEQ ID NO: 68、70、72、76、78 及 80；(f) 分別為 SEQ ID NO: 84、86、88、92、94 及 96；(g) 分別為 SEQ ID NO: 100、102、104、108、110 及 112；(h) 分別為 SEQ ID NO: 116、118、120、124、126 及 128；(i) 分別為 SEQ ID NO: 132、134、136、140、142 及 144；(j) 分別為 SEQ ID NO: 148、150、152、156、158 及 160；(k) 分別為 SEQ ID NO: 164、166、168、172、174 及 176；(l) 分別為 SEQ ID NO: 180、182、184、188、190 及 192；(m) 分別為 SEQ ID NO: 196、198、200、204、206 及 208；(n) 分別為 SEQ ID NO: 212、214、216、220、222 及 224；(o) 分別為 SEQ ID NO: 228、230、232、236、238 及 240；(p) 分別為 SEQ ID NO: 244、246、248、252、254 及 256；(q) 分別為 SEQ ID NO: 260、262、264、268、270 及 272；(r) 分別為 SEQ ID NO: 276、278、280、284、286 及 288；(s) 分別為 SEQ ID NO: 292、294、

296、300、302 及 304；(t) 分別為 SEQ ID NO: 308、310、312、300、302 及 304；(u) 分別為 SEQ ID NO: 316、318、320、324、326 及 328；(v) 分別為 SEQ ID NO: 332、334、336、340、342 及 344；(w) 分別為 SEQ ID NO: 348、350、352、356、358 及 360；(x) 分別為 SEQ ID NO: 364、366、368、372、374 及 376；(y) 分別為 SEQ ID NO: 380、382、384、388、390 及 392；(z) 分別為 SEQ ID NO: 396、398、400、404、406 及 408；(a') 分別為 SEQ ID NO: 412、414、416、420、422 及 424；(b') 分別為 SEQ ID NO: 428、430、432、436、438 及 440；(c') 分別為 SEQ ID NO: 444、446、448、452、454 及 456；(d') 分別為 SEQ ID NO: 460、462、464、468、470 及 472；(e') 分別為 SEQ ID NO: 476、478、480、484、486 及 488；及 (f) 分別為 SEQ ID NO: 492、494、496、500、502 及 504。

【0350】項目 16. 如項目 1 至 15 中任一項之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或抗原結合片段包括選自由以下組成之群之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對：(a) SEQ ID NO: 2 及 10、(b) SEQ ID NO: 18 及 26、(c) SEQ ID NO: 34 及 42、(d) SEQ ID NO: 50 及 58、(e) SEQ ID NO: 66 及 74、(f) SEQ ID NO: 82 及 90、(g) SEQ ID NO: 98 及 106、(h) SEQ ID NO: 114 及 122、(i) SEQ ID NO: 130 及 138、(j) SEQ ID NO: 146 及 154、(k) SEQ ID NO: 162 及 170、(l) SEQ ID NO: 178 及 186、(m) SEQ ID NO: 194 及 202、(n) SEQ ID NO: 210 及 218、(o) SEQ ID NO: 226 及 234、(p) SEQ ID NO: 242 及 250、(q) SEQ ID NO: 258 及 266、(r) SEQ ID NO: 274 及 282、(s) SEQ ID NO: 290 及 298、(t) SEQ ID NO: 306 及 298、(u) SEQ ID NO: 314 及 322、(v) SEQ ID NO: 330 及 338、(w) SEQ ID NO: 346 及 354、(x) SEQ ID NO: 362 及 370、(y) SEQ ID NO: 378 及 386、(z) SEQ ID NO: 394 及 402、(a') SEQ ID NO: 410 及 418、(b') SEQ ID NO: 426

及 434、(c') SEQ ID NO: 442 及 450、(d') SEQ ID NO: 458 及 466、(e') SEQ ID NO: 474 及 482 及 (f') SEQ ID NO: 490 及 498。

【0351】 項目 17. 一種抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段，其包括：
(a) 具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的重鏈可變區 (HCVR) 之互補決定區 (CDR)：SEQ ID NO: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、306、314、330、346、362、378、394、410、426、442、458、474 及 490；及 (b) 具有選自由以下組成之群之胺基酸序列的輕鏈可變區 (LCVR) 之 CDR：SEQ ID NO: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、322、338、354、370、386、402、418、434、450、466、482 及 498。

【0352】 項目 18. 如項目 17 之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體包括選自由以下組成之群之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對之重鏈及輕鏈 CDR：
(a) SEQ ID NO: 2 及 10、(b) SEQ ID NO: 18 及 26、(c) SEQ ID NO: 34 及 42、(d) SEQ ID NO: 50 及 58、(e) SEQ ID NO: 66 及 74、(f) SEQ ID NO: 82 及 90、(g) SEQ ID NO: 98 及 106、(h) SEQ ID NO: 114 及 122、(i) SEQ ID NO: 130 及 138、(j) SEQ ID NO: 146 及 154、(k) SEQ ID NO: 162 及 170、(l) SEQ ID NO: 178 及 186、(m) SEQ ID NO: 194 及 202、(n) SEQ ID NO: 210 及 218、(o) SEQ ID NO: 226 及 234、(p) SEQ ID NO: 242 及 250、(q) SEQ ID NO: 258 及 266、(r) SEQ ID NO: 274 及 282、(s) SEQ ID NO: 290 及 298、(t) SEQ ID NO: 306 及 298、(u) SEQ ID NO: 314 及 322、(v) SEQ ID NO: 330 及 338、(w) SEQ ID NO: 346 及 354、(x) SEQ ID NO: 362 及 370、(y) SEQ ID NO: 378 及 386、(z) SEQ ID NO: 394 及 402、(a') SEQ ID NO: 410 及 418、(b') SEQ ID NO: 426 及 434、

(c') SEQ ID NO: 442 及 450、(d') SEQ ID NO: 458 及 466、(e') SEQ ID NO: 474 及 482 及 (f) SEQ ID NO: 490 及 498。

【0353】 項目 19. 如項目 17 或 18 之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或抗原結合片段包括選自由以下組成之群之 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 及 LCDR3 域：(a) 分別為 SEQ ID NO: 4、6、8、12、14 及 16；(b) 分別為 SEQ ID NO: 20、22、24、28、30 及 32；(c) 分別為 SEQ ID NO: 36、38、40、44、46 及 48；(d) 分別為 SEQ ID NO: 52、54、56、60、62 及 64；(e) 分別為 SEQ ID NO: 68、70、72、76、78 及 80；(f) 分別為 SEQ ID NO: 84、86、88、92、94 及 96；(g) 分別為 SEQ ID NO: 100、102、104、108、110 及 112；(h) 分別為 SEQ ID NO: 116、118、120、124、126 及 128；(i) 分別為 SEQ ID NO: 132、134、136、140、142 及 144；(j) 分別為 SEQ ID NO: 148、150、152、156、158 及 160；(k) 分別為 SEQ ID NO: 164、166、168、172、174 及 176；(l) 分別為 SEQ ID NO: 180、182、184、188、190 及 192；(m) 分別為 SEQ ID NO: 196、198、200、204、206 及 208；(n) 分別為 SEQ ID NO: 212、214、216、220、222 及 224；(o) 分別為 SEQ ID NO: 228、230、232、236、238 及 240；(p) 分別為 SEQ ID NO: 244、246、248、252、254 及 256；(q) 分別為 SEQ ID NO: 260、262、264、268、270 及 272；(r) 分別為 SEQ ID NO: 276、278、280、284、286 及 288；(s) 分別為 SEQ ID NO: 292、294、296、300、302 及 304；(t) 分別為 SEQ ID NO: 308、310、312、300、302 及 304；(u) 分別為 SEQ ID NO: 316、318、320、324、326 及 328；(v) 分別為 SEQ ID NO: 332、334、336、340、342 及 344；(w) 分別為 SEQ ID NO: 348、350、352、356、358 及 360；(x) 分別為 SEQ ID NO: 364、366、368、372、374 及 376；(y) 分別為 SEQ ID NO: 380、382、384、388、390 及 392；(z)

分別為 SEQ ID NO: 396、398、400、404、406 及 408；(a') 分別為 SEQ ID NO: 412、414、416、420、422 及 424；(b') 分別為 SEQ ID NO: 428、430、432、436、438 及 440；(c') 分別為 SEQ ID NO: 444、446、448、452、454 及 456；(d') 分別為 SEQ ID NO: 460、462、464、468、470 及 472；(e') 分別為 SEQ ID NO: 476、478、480、484、486 及 488；及 (f') 分別為 SEQ ID NO: 492、494、496、500、502 及 504。

【0354】項目 20. 如項目 17 至 19 中任一項之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或抗原結合片段包括選自由以下組成之群之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對：(a) SEQ ID NO: 2 及 10、(b) SEQ ID NO: 18 及 26、(c) SEQ ID NO: 34 及 42、(d) SEQ ID NO: 50 及 58、(e) SEQ ID NO: 66 及 74、(f) SEQ ID NO: 82 及 90、(g) SEQ ID NO: 98 及 106、(h) SEQ ID NO: 114 及 122、(i) SEQ ID NO: 130 及 138、(j) SEQ ID NO: 146 及 154、(k) SEQ ID NO: 162 及 170、(l) SEQ ID NO: 178 及 186、(m) SEQ ID NO: 194 及 202、(n) SEQ ID NO: 210 及 218、(o) SEQ ID NO: 226 及 234、(p) SEQ ID NO: 242 及 250、(q) SEQ ID NO: 258 及 266、(r) SEQ ID NO: 274 及 282、(s) SEQ ID NO: 290 及 298、(t) SEQ ID NO: 306 及 298、(u) SEQ ID NO: 314 及 322、(v) SEQ ID NO: 330 及 338、(w) SEQ ID NO: 346 及 354、(x) SEQ ID NO: 362 及 370、(y) SEQ ID NO: 378 及 386、(z) SEQ ID NO: 394 及 402、(a') SEQ ID NO: 410 及 418、(b') SEQ ID NO: 426 及 434、(c') SEQ ID NO: 442 及 450、(d') SEQ ID NO: 458 及 466、(e') SEQ ID NO: 474 及 482 及 (f') SEQ ID NO: 490 及 498。

【0355】項目 21. 如項目 17 至 20 中任一項之抗體或抗原結合片段，其中所述抗體包括：包括 SEQ ID NO: 509 之胺基酸序列的重鏈及包括 SEQ ID NO: 510 之胺基酸序列的輕鏈。

【0356】項目 22. 一種醫藥組合物，其包括如項目 1 至 21 中任一項之抗體或其抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

【0357】項目 23. 一種經分離多核苷酸分子，其包括編碼如項目 1 至 21 中任一項中所闡述之抗體之 HCVR 的多核苷酸序列。

【0358】項目 24. 一種經分離多核苷酸分子，其包括編碼如項目 1 至 21 中任一項中所闡述之抗體之 LCVR 的多核苷酸序列。

【0359】項目 25. 一種載體，其包括如項目 23 之多核苷酸及/或如項目 24 之多核苷酸。

【0360】項目 26. 一種宿主細胞，其表現如項目 25 之載體。

【0361】項目 27. 如項目 1 至 21 中任一項之抗體或其抗原結合片段或如項目 22 之醫藥組合物，其係用於抑制有需要之個體中之腫瘤或腫瘤細胞之生長。

【0362】項目 28. 如項目 27 之抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物，其中所述腫瘤為原發性或再發性腫瘤。

【0363】項目 29. 如項目 27 之抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物，其中所述腫瘤為已建立的腫瘤。

【0364】項目 30. 如項目 27 至 29 中任一項之抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物，其中所述腫瘤存在於具有選自由以下組成之群之疾病或病症的個體中：血癌、腦癌、腎細胞癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、皮膚癌、腎癌、子宮頸癌、胃癌、胰臟癌、乳癌、肝細胞癌、骨癌、結腸癌、非小細胞肺癌、頭頸部鱗狀細胞癌、結腸直腸癌、間皮瘤、B 細胞淋巴瘤、骨髓瘤及黑色素瘤。

【0365】項目 31. 如項目 27 至 30 中任一項之抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物，其中所述抗體或其抗原結合片段或所述醫藥組合物以初始

劑量、繼之以一或多個第二劑量之形式向所述個體投與，其中各第二劑量在前一劑量之後 1 週至 12 週投與。

【0366】項目 32. 如項目 31 之抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物，其中所述抗體或其抗原結合片段或所述醫藥組合物以約 25-600 mg 之劑量向所述個體投與。

【0367】項目 33. 如項目 27 至 32 中任一項之抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物，其中所述抗體或其抗原結合片段與第二治療劑組合向個體投與。

【0368】項目 34. 如項目 33 之抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物，其中所述第二治療劑選自由以下組成之群：LAG3 抑制劑、針對腫瘤特異性抗原之抗體、針對病毒感染細胞抗原之抗體、PD-1 抑制劑、PD-L1 抑制劑、CD20 抑制劑、針對 CD20 及 CD3 之雙特異性抗體、諸如抗氧化劑之膳食補充劑、VEGF 拮抗劑、癌症疫苗、化學治療劑、細胞毒性劑、放射線、手術及任何其他適用於改善至少一種與所述疾病或病症相關之症狀的療法。

【0369】項目 35. 如項目 33 或 34 之抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物，其中所述第二治療劑為 PD-1 抑制劑。

【0370】項目 36. 如項目 33 至 35 中任一項之抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物，其中所述 PD-1 抑制劑為測米匹單抗、納武單抗或派姆單抗。

【0371】項目 37. 如項目 36 之抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物，其中所述 PD-1 抑制劑以每公斤所述個體之體重 1 mg、3 mg 或 10 mg 之劑量投與。

【0372】項目 38. 如項目 33 至 35 中任一項之抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物，其中所述 PD-1 抑制劑以 50-1200 mg 之劑量投與。

【0373】項目 39. 如項目 27 至 38 中任一項之抗體或其抗原結合片段

或醫藥組合物，其中所述抗體或其抗原結合片段或所述醫藥組合物皮下、靜脈內、瘤內、瘤周、皮內、腹膜內、經口、肌肉內或顱內投與。

【0374】項目 40. 如項目 1 至 21 中任一項之抗體或其抗原結合片段或如項目 22 之醫藥組合物，其係用於治療可藉由拮抗有需要之個體中之 CTLA-4 來治療的疾病或病症。

【0375】項目 41. 如項目 40 之抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物，其中所述疾病或病症為由選自由以下組成之群之病毒引起的慢性病毒感染：人類免疫缺乏病毒(HIV)、C 型肝炎病毒(HCV)、B 型肝炎病毒(HBV)、人類乳頭狀瘤病毒(HPV)、淋巴細胞性脈絡叢腦膜炎病毒(LCMV)及猿猴免疫缺乏病毒(SIV)。

【0376】項目 42. 如項目 40 之抗體或其抗原結合片段或醫藥組合物，其中所述疾病或病症選自由以下組成之群：血癌、腦癌、腎細胞癌、卵巢癌、膀胱癌、皮膚癌、子宮頸癌、胃癌、腎癌、前列腺癌、乳癌、肝細胞癌、骨癌、結腸癌、非小細胞肺癌、頭頸部鱗狀細胞癌、結腸直腸癌、間皮瘤、B 細胞淋巴瘤及黑色素瘤。

【0377】項目 43. 一種產生抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段之方法，其包括使項目 26 之宿主細胞在允許所述抗體或其抗原結合片段產生之條件下生長，且回收如此產生之抗體或其抗原結合片段。

【0378】項目 44. 如項目 43 之方法，其進一步包括將所述抗體或其抗原結合片段調配為包括可接受之載劑的醫藥組合物。

【0379】項目 45. 一種抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段，其係與抗 PD-1 抗體組合使用以治療有需要之個體之非小細胞肺癌。

【0380】項目 46. 如項目 45 之抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段，其中所述抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段為如項目 1 至 21 中任一項所主張

之抗體或其抗原結合片段。

【0381】項目 47. 如項目 45 或 46 之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗 CTLA-4 抗體包括：包括 SEQ ID NO: 194 之胺基酸序列的 HCVR 之 CDR 及包括 SEQ ID NO: 202 之胺基酸序列的 LCVR 之 CDR。

【0382】項目 48. 如項目 45 至 47 中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗 CTLA-4 抗體包括序列 SEQ ID NO: 196 之 HCDR1、序列 SEQ ID NO: 198 之 HCDR2、序列 SEQ ID NO: 200 之 HCDR3、序列 SEQ ID NO: 204 之 LCDR1、序列 SEQ ID NO: 206 之 LCDR2 及序列 SEQ ID NO: 208 之 LCDR3。

【0383】項目 49. 如項目 45 至 48 中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗 CTLA-4 抗體包括：包括 SEQ ID NO: 194 之胺基酸序列的 HCVR 及包括 SEQ ID NO: 202 之胺基酸序列的 LCVR。

【0384】項目 50. 如項目 45 至 49 中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗 CTLA-4 抗體包括人類 IgG1 重鏈恆定區。

【0385】項目 51. 如項目 45 至 50 中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗 CTLA-4 抗體包括：包括 SEQ ID NO: 509 之胺基酸序列的重鏈及 SEQ ID NO: 510 之胺基酸序列之輕鏈。

【0386】項目 52. 如項目 45 至 51 中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗 PD-1 抗體為測米匹單抗。

【0387】項目 53. 如項目 45 至 52 中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段以 25-600 mg 之劑量投與。

【0388】項目 54. 如項目 45 至 53 中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗 PD-1 抗體以 50-1200 mg 之劑量投與。

【0389】項目 55. 如項目 45 至 54 中任一項之抗體或其抗原結合片

段，其中所述抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段以初始劑量、繼之以一或多個第二劑量之形式投與，其中各第二劑量在前一劑量之後 1 週至 12 週投與。

【0390】項目 56. 如項目 45 至 55 中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中所述非小細胞肺癌（NSCLC）為晚期或轉移性 NSCLC。

【0391】項目 57. 如項目 22 之醫藥組合物，其係與抗 PD-1 抗體組合使用以治療有需要之個體之非小細胞肺癌。

【0392】本發明之範疇不受本文所述之特定實施例限制。實際上，根據前述描述，除本文所描述之修改以外，本發明之各種修改對本領域中熟習此項技術者而言亦會變得顯而易見。此類修改意欲屬於所附申請專利範圍之範疇內。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

無

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

無

【序列表】(請換頁單獨記載)

序列表

<110> 再生元醫藥公司 (Regeneron Pharmaceuticals, Inc.)

<120> 抗CTLA-4抗體及其用途

<130> 10360W001

<150> 62/537,753
<151> 2017-07-27

<150> 62/588,853
<151> 2017-11-20

<150> 62/645,284
<151> 2018-03-20

<150> 62/685,599
<151> 2018-06-15

<160> 510

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1
caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg ctctcgatta caccittacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggccttgagt gatgggctgg atcagcgttt acaatggtaa tataaactat 180
gcacagaagt tcaagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cactgcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac atggccgtgt attactgtgc gagagtgacc 300
caattcggtg tggacgtctg gggccaaggg accacgtca ccgtctcctc a 351

<210> 2
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2
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
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Val Tyr Asn Gly Asn Ile Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys

Ala Arg Val Thr Gln Phe Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 85 90 95
 100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 3
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 3
gattacacct ttaccagcta tggt 24

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 4
Asp Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly
1 5

<210> 5
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 5
atcagcgttt acaatggtaa tata 24

<210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 6
Ile Ser Val Tyr Asn Gly Asn Ile
1 5

<210> 7
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 7
gcgagagtga cccaattcgg tatggacgtc 30

<210> 8
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 8
Ala Arg Val Thr Gln Phe Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 9
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 9
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagt agtaatttaa attggtatca gcagaatcca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatact acatccagtt tgcaaggtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctacaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agtttcagga cccattcac tttcggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 10
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 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Thr Thr Ser Ser Leu Gln Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Phe Arg Thr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 11
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 11

18

<210> 12

 $\langle 211 \rangle$ 6

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 合成

<400> 12

Gln Ser Ile Ser Ser Asn

1

5

<210> 13

 $\langle 211 \rangle$ 9

<212> DNA

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 合成

<400> 13

actacatcc

9

<210> 14

 $\langle 211 \rangle$ 3

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 合成

<400> 14

Thr Thr Ser

1

<210> 15

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 合成

<400> 15

caacagagtt tcaggacccc attcact

27

<210> 16

$\langle 211 \rangle$ 9

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 合成

<400> 16
Gln Gln Ser Phe Arg Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 17
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 17
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttgggtccagc ctgggggggtc cctgaaactc 60
tcctgtgcag cctctgggtt caccctcagt ggctctgcta tgcactgggt ccgccaggct 120
tccgggaaag ggctggagtg ggttggccgt attagaggca aagctaatag ttccgcgaca 180
gcatattctg cgtcggtgaa aggcagggtt accatctcca gagatgactc aaagaacacg 240
gcgtctctgc aaatgaacag ccigagaacc gaagacacgg ccgtgtattt ttgtactaga 300
gaggatcagc agttggtacg tccatactac taccactacg gtatggacgt ctggggccaa 360
gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 18
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 18
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Arg Ile Arg Gly Lys Ala Asn Ser Phe Ala Thr Ala Tyr Ser Ala
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Ala Ser Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Phe Cys Thr Arg Glu Asp Gln Gln Leu Val Arg Pro Tyr Tyr Tyr His
100 105 110
Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 19
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 19
gggttcacct tcagtggctc tgct

<210> 20

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 20
Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser Ala
1 5

<210> 21
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 21
attagaggca aagctaataag tttcgcgaca 30

<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 22
Ile Arg Gly Lys Ala Asn Ser Phe Ala Thr
1 5 10

<210> 23
<211> 57
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 23
actagagagg atcagcagtt ggtacgtcca tactactacc actacggtat ggacgtc 57

<210> 24
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 24
Thr Arg Glu Asp Gln Gln Leu Val Arg Pro Tyr Tyr Tyr His Tyr Gly
1 5 10 15
Met Asp Val

<210> 25
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 25
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc ggacaagtca gagcattacc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct acagccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggtticagtg gcagtggatc tgagacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccgctcac tticggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 26
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 26
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 Arg Thr Ser Gln Ser Ile Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Thr Ala Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Glu 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 Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 27
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 27
cagagcatta ccaactat 18

<210> 28
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 28
Gln Ser Ile Thr Asn Tyr

1 5

<210> 29
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 29
gctacagcc 9

<210> 30
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 30
Ala Thr Ala
1

<210> 31
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 31
caacagagtt acagtacccc gctcact 27

<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 32
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 33
<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 33
cagatcacct tgaaggagtc tggtcctacg ctgggtgaaac ccacacagac cctcacgctg 60
acctgcacct tctctgggtt ctcactcagc actagtgagg tgggtgtggg ctggatccgt 120

cagtccccag gaagggccct ggagtggctg gcactcattt attggaatga tcatgagcgc 180
tatagtccat ctctgaagag caggctcacc attaccaagg acacctccaa aaacctggtt 240
gtcctcgcaa tggccaacat ggaccccggtg gacacagcca catatttctg tgcacacaga 300
aacatcgaat atagaaggtc gtacttcitt gactactggg gtcagggaac cctggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 34
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 34
Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Val Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Arg Ala Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asn Asp His Glu Arg Tyr Ser Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Leu Val
65 70 75 80
Val Leu Ala Met Ala Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
85 90 95
Cys Ala His Arg Asn Ile Glu Tyr Arg Arg Ser Tyr Phe Phe Asp Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 35
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 35
gggttctcac tcagcactag tggagtgggt 30

<210> 36
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 36
Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly
1 5 10

<210> 37
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 37
atttattgga atgatcatga g 21

<210> 38
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 38
Ile Tyr Trp Asn Asp His Glu
1 5

<210> 39
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 39
gcacacagaa acatcgaata tagaaggctg tacttctttg actac 45

<210> 40
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 40
Ala His Arg Asn Ile Glu Tyr Arg Arg Ser Tyr Phe Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 41
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 41
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaagaga cagagtcacc 60
gtcacttgtc gggcgagtc ggatattaac aactggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacactt tccattcac tttcggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 42
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 42

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

<210> 43

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 43

caggatatta acaactgg

18

<210> 44

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 44

Gln Asp Ile Asn Asn Trp
1 5

<210> 45

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 45

gctgcatcc

9

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 46
Ala Ala Ser
1

<210> 47
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 47
caacaggcta acactttccc attcact

27

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 48
Gln Gln Ala Asn Thr Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 49
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 49
cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcaat agttattact ggacctggat ccggcagccc 120
ccagggaagg gactggagtg gattggatat gtctattaca gtgggagcac cacctacaac 180
ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttcttcctg 240
aacctgaact ctgtgaccgc tgcggaaacg gccgtgtatt actgtgcgag agggacactg 300
gggtactacg giatggacgt ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 50
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 50
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Asn Ser Tyr
20 25 30
Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

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

<210> 51
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 51
ggtggctcca tcaatagtta ttac 24

<210> 52
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 52
Gly Gly Ser Ile Asn Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 53
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 53
gtctattaca gtgggagcac c 21

<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 54
Val Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 55

<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 55
gcgagaggga cactggggta ctacggtatg gacgtc 36

<210> 56
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 56
Ala Arg Gly Thr Leu Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 57
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 57
gaaatttgtg tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtttttagc aacaactact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtacatcca tcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtggt gtcctgggaca gacttcactc tcgcatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttatigtcat cagtatggta ggtcacctct cactttcggc 300
ggagggacca aggtggagat caaa 324

<210> 58
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 58
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Phe Ser Asn Asn
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Thr Ser Ile Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ala Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Pro
85 90 95
Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 59
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 59
cagagtttta gcaacaacta c

21

<210> 60
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 60
Gln Ser Phe Ser Asn Asn Tyr
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 61
ggtacatcc

9

<210> 62
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 62
Gly Thr Ser
1

<210> 63
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 63
cagcagtatg gtaggtcacc tctcact

27

<210> 64

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 64
Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 65
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 65
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt cacccttcagt agttatggca tgaactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt acatggtatg atggaagtaa taaacattat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatgt acagccctgag agccgaggac acggctatgt attattgtgt gagagggggg 300
cacctcggcg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354

<210> 66
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 66
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Thr Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Tyr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Gly Gly His Leu Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 67
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 67
ggattcacct tcagtagtta tggc 24

<210> 68
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 68
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 69
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 69
acatggtatg atggaagtaa taaa 24

<210> 70
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 70
Thr Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 71
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 71
gtgagagggg ggcacctcgg cgcttttgat atc 33

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

<220>
<223> 合成

<400> 72
Val Arg Gly Gly His Leu Gly Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 73
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 73
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccagca gggccactgg catcccagac 180
aggttcagtg gcggtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag actggagcct 240
gaagattttg cagtgtatta ctgtcagcag tatggttagct caccattcac tttcggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 74
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 74
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 75
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 75
cagagtgtta gcagctac 18

<210> 76
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 76
Gln Ser Val Ser Ser Tyr
1 5

<210> 77
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 77
ggtgcatcc 9

<210> 78
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 78
Gly Ala Ser
1

<210> 79
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 79
cagcagtatg gtagctcacc attcact 27

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 80
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Thr
1 5

<210> 81
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 81
cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg ctcttgata caccitcacc gactactata tacactgggt gcgacaggcc 120
cctggacagg ggcttgagtg gatgggggtg atcaacccta acaatggtgt ctcaaattat 180
gcacagaagt ttcagggccg ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
atggacctga tcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagagagg 300
gctagctggg actacaacgg tgtggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 82
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 82
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 Asp Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Ser Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Asp Leu Ile Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Arg Ala Ser Trp Asp Tyr Asn Gly Val Asp Val Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 83
ggatacacct tcaccgacta ctat 24

<210> 84
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 84
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 85
<211> 24

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 85
atcaacccta acaatgggtgt ctca 24

<210> 86
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 86
Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Ser
1 5

<210> 87
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 87
gcgagagaga gggctagctg ggactacaac ggtgtggacg tc 42

<210> 88
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 88
Ala Arg Glu Arg Ala Ser Trp Asp Tyr Asn Gly Val Asp Val
1 5 10

<210> 89
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 89
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctccigca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gatacagcta ttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gctccacaa ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180
tccggggctc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaac 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaaggtct acaacctccg 300
aacacttttg gccagggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 90
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 90
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30
Asn Gly Tyr Ser Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
85 90 95
Leu Gln Pro Pro Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 91
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 91
cagagcctcc tgcatagtaa tggatacagc tat 33

<210> 92
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 92
Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Ser Tyr
1 5 10

<210> 93
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 93
ttgggttct 9

<210> 94
<211> 3

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 94
Leu Gly Ser
1

<210> 95
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 95
atgcaaggct tacaacctcc gaacact 27

<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 96
Met Gln Gly Leu Gln Pro Pro Asn Thr
1 5

<210> 97
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 97
cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctagtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgtattg tctctggtgg ctccaccagc agtaacactt actactgggg ctggatccgt 120
cagccccag ggaagggtct ggaatggatt gggactatcc attatagtgg gaaccctac 180
tacgaccgt cctcaagag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaaccacttc 240
tccctgaagc tgaactctgt gaccgccgca gacacggctg tttattactg tacgagacag 300
tacattaact tctttgactt ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 98
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 98
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

<210> 99
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 99
ggtggtccca ccagcagtaa cacttactac 30

<210> 100
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 100
Gly Gly Ser Thr Ser Ser Asn Thr Tyr Tyr
1 5 10

<210> 101
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 101
atccattata gtgggaaccc c 21

<210> 102
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 102
Ile His Tyr Ser Gly Asn Pro
1 5

<210> 103
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 103
acgagacagt acattaaactt ctttgacttc 30

<210> 104
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 104
Thr Arg Gln Tyr Ile Asn Phe Phe Asp Phe
1 5 10

<210> 105
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 105
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagtcact 60
ctctcctgca gggccagtca gagtattagc agatacttag cctgggtatca acagaaacct 120
ggccaggctc ccagggtcct catttatgat gcatccaaca gggccactga catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag tctagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaatt ggcctatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

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

<220>
<223> 合成

<400> 106
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Val Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Asp Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ile

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys 95
100 85 105

<210> 107
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 107
cagagtatta gcagatac 18

<210> 108
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 108
Gln Ser Ile Ser Arg Tyr
1 5

<210> 109
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 109
gatgcatcc 9

<210> 110
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 110
Asp Ala Ser
1

<210> 111
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 111

cagcagcgta gcaattggcc tatcacc 27

<210> 112
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 112
Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ile Thr
1 5

<210> 113
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 113
cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggact cacccttcagt tactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatattat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac gcggctgtgt attactgtgc gaaagatttg 300
gggggggacg actactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 114
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 114
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Leu Gly Gly Asp Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 115
<211> 24
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 115
ggactcacct tcagttacta tggc 24

<210> 116
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 116
Gly Leu Thr Phe Ser Tyr Tyr Gly
1 5

<210> 117
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 117
atatcatatg atggaagtaa taaa 24

<210> 118
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 118
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 119
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 119
gcgaaaagatt tgggggggga cgactactac ggtatggacg tc 42

<210> 120
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 120
Ala Lys Asp Leu Gly Gly Asp Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 121
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 121
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agaacctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcattca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gctcaccgta cacttttggc 300
caggggacca agctggagat caaaa 324

<210> 122
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 122
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Thr
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Phe Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95
Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 123
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 123
cagagtgtta gcagaacctt c 21

<210> 124
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 124
Gln Ser Val Ser Arg Thr Tyr
1 5

<210> 125
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 125
ggtgcattc 9

<210> 126
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 126
Gly Ala Phe
1

<210> 127
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 127
cagcagtatg gtagctcacc gtacact 27

<210> 128
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 128
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 129
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 129
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccctcagt gactactaca tgacctggat ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagtagta gtgggtgtaa catattctac 180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagggaca acgccaagaa ctcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag aggcgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggctctg 300
gaaccctacc actactatta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 130
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 130
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Thr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Gly Asn Ile Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Leu Glu Pro Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 131
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 131
ggattcacct tcagtgacta ctac 24

<210> 132
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 132
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 133
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 133
attagtagta gtggtggtaa cata 24

<210> 134
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 134
Ile Ser Ser Ser Gly Gly Asn Ile
1 5

<210> 135
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 135
gcgagaggtc tggaacccta ccactactat tacggtatgg acgtc 45

<210> 136
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 136
Ala Arg Gly Leu Glu Pro Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 137
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 137
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggcgagtc ggacattagt aattatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180

aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat ttactttica ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatatgt caacatattt ctgtcaacac tatgataatc tcccatcac tticggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 138
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 138
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 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln His Tyr Asp Asn Leu Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 139
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 139
caggacatta gtaattat 18

<210> 140
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 140
Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 141
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 141

gatgcatcc 9

<210> 142
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 142
Asp Ala Ser
1

<210> 143
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 143
caacactatg ataatctccc attcact 27

<210> 144
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 144
Gln His Tyr Asp Asn Leu Pro Phe Thr
1 5

<210> 145
<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 145
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttgagt aattatgtca tgacctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gaggtggtaa ttcattattat 180
gcagactccg tgaagggccg gttcagcatt tccagggacc attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaagtga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagccgaa 300
cgtggataca gttatggctt caactggttc gacccctggg gccaggaac cctggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 146
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 146
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Val Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly Gly Asn Ser Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp His Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Val Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Ala Glu Arg Gly Tyr Ser Tyr Gly Phe Asn Trp Phe Asp Pro
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 147
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 147
ggattcacct tgagtaatta tgtc 24

<210> 148
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 148
Gly Phe Thr Leu Ser Asn Tyr Val
1 5

<210> 149
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 149
attagtggta gaggtggtaa ttca 24

<210> 150
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 150
Ile Ser Gly Arg Gly Gly Asn Ser
1 5

<210> 151
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 151
gcgaaagccg aacgtggata cagttatggc ttcaactggt tcgacccc 48

<210> 152
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 152
Ala Lys Ala Glu Arg Gly Tyr Ser Tyr Gly Phe Asn Trp Phe Asp Pro
1 5 10 15

<210> 153
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 153
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgcaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggggtattag agctggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg catcttacta ttgtcaacag ggtaacaatt tcccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 154
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 154
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Ala Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

<210> 155
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 155
cagggtatta gcagctgg 18

<210> 156
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 156
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 157
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 157
gctgcatcc 9

<210> 158
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 158
Ala Ala Ser
1

<210> 159
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 159
caacagggtgta acaattttccc gctcact 27

<210> 160
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 160
Gln Gln Gly Asn Asn Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 161
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 161
caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgctctggatt caccitcagt acctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacagtt atatggtatg atggaaataa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acaacctgag agccgaggat acggctttat actactgtgc gagaggaggt 300
gggagggttat cgtactatca tgactactgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 360

<210> 162
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 162
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Thr Val Ile Trp Tyr Asp Gly Asn Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ser Tyr Tyr His Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 163
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 163
ggattcacct tcagtaccta tggc 24

<210> 164
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 164
Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly
1 5

<210> 165
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 165
atatggtatg atggaaataa taaa 24

<210> 166
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 166
Ile Trp Tyr Asp Gly Asn Asn Lys
1 5

<210> 167
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 167
gcgagaggag gtgggaggtt atcgactat catgactac 39

<210> 168

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 168
Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ser Tyr Tyr His Asp Tyr
1 5 10

<210> 169
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 169
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc acctttttaa attggatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctatggt acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg cagcttacta ctgtcaacag acttacagta ccccatcac tticggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 170
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 170
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 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Phe
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Ala Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 171
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 171

cagagcatta gcaccttt 18

<210> 172
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 172
Gln Ser Ile Ser Thr Phe
1 5

<210> 173
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 173
ggtacatcc 9

<210> 174
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 174
Gly Thr Ser
1

<210> 175
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 175
caacagactt acagtacccc attcact 27

<210> 176
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 176
Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 177
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 177
caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagatgt ctggggcctc agtgaggggc 60
tcctgcaagg ctctcgggta caccittacc agctatggta ttagctggat gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaccgctt acaatggtaa ctcaaactat 180
gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacggg cacagcctac 240
atggagttga ggagcctgac atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaaggggg 300
gactaccttg gggtttttcc ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

<210> 178
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 178
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Met Ser Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Thr Ala Tyr Asn Gly Asn Ser Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Gly Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Gly Asp Tyr Leu Gly Val Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 179
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 179
ggttacacct ttaccagcta tgggt 24

<210> 180
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 180
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly
1 5

<210> 181
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 181
atcaccgctt acaatggtaa ctca 24

<210> 182
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 182
Ile Thr Ala Tyr Asn Gly Asn Ser
1 5

<210> 183
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 183
gcgagaaggg gggactacct tggggttttt ccctac 36

<210> 184
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 184
Ala Arg Arg Gly Asp Tyr Leu Gly Val Phe Pro Tyr
1 5 10

<210> 185
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 185
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtc gagcattagt agctatttaa attggtatca acagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagtt cccccctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 186
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 186
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 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 187
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 187
cagagcatta gtagctat 18

<210> 188
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 188
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 189
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 189
actgcatcc

<210> 190
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

9

<220>
<223> 合成

<400> 190
Thr Ala Ser
1

<210> 191
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 191
caacagagtt acagttcccc cctcact

27

<210> 192
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 192
Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 193
<211> 348
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 193
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt aattatgaga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggcctggagtg ggtttcatcc attagaacta gtggtactac caaatactac 180
gcagactcta tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat 240
ctgcaaatga acagccigag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gggaggggggt 300
acgttcctcc actactgggg ccaggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 194
<211> 116
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 194

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

<210> 195

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 195

ggattcacct tcagtaatta tgag

24

<210> 196

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 196

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Glu
1 5

<210> 197

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 197

attagaacta gtggtactac caaa

24

<210> 198

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 198

Ile Arg Thr Ser Gly Thr Thr Lys
1 5

<210> 199

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 199

gcgggagggg gtacgttcct ccactac 27

<210> 200

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 200

Ala Gly Gly Gly Thr Phe Leu His Tyr
1 5

<210> 201

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 201

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctggt ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggattgcc agctatttag cctggatatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatttatgct gcatccagtt tgcaaaactgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggata tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaagagtt tcccatgta cacttttggc 300
caggggacca agctggagat caaa 324

<210> 202

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 202

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ala Ser Tyr

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

<210> 203
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 203
cagggtattg ccagctat 18

<210> 204
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 204
Gln Gly Ile Ala Ser Tyr
1 5

<210> 205
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 205
gctgcatcc 9

<210> 206
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 206
Ala Ala Ser
1

<210> 207

<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 207
caacaggcta agagtttccc catgtacact 30

<210> 208
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 208
Gln Gln Ala Lys Ser Phe Pro Met Tyr Thr
1 5 10

<210> 209
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 209
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctgggtgg ctccatcacc agtgggtggtt actactggag ctggatccgc 120
cagcaccag ggaagggcct ggagtggtt ggatacatct ttacagtgg gatcaccac 180
tacaacccgt cccitcaagag tgcagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
tccctgaaac tgacctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgacgtat 300
aacagcctcc gactctacta cggtatggac gtctggggcc aaggggaccac ggtcaccgtc 366
tcctca

<210> 210
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 210
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30
Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Tyr Ile Phe Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Thr Tyr Asn Ser Leu Arg Leu Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp

30

21

<400> 215

gcgacgtata acagcctccg actctactac ggtatggacg tc 42

<210> 216
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 216
Ala Thr Tyr Asn Ser Leu Arg Leu Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 217
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 217
gatgttgtga tgacccagtc tccactctcc ctgcccgta tccttggaca gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca aagcctcgta tacggatgat gaaacaccta ctggaattgg 120
tttcagcaga ggccaggcca atctccaagg cgactaattt ataagggttc taaccgggac 180
tctgggggtcc cagacagatt cagcggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
agcagggtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaaagtac acactggccg 300
ctcactttcg gcggaggggac caaggtggag atcaaa 336

<210> 218
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 218
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ile Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Gly
20 25 30
Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser
85 90 95
Thr His Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 219
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 219
caaagcctcg tatacgggtga tggaaacacc tac 33

<210> 220
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 220
Gln Ser Leu Val Tyr Gly Asp Gly Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 221
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 221
aaggtttct 9

<210> 222
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 222
Lys Val Ser
1

<210> 223
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 223
atgcaaagta cacactggcc gctcact 27

<210> 224
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 224

Met Gln Ser Thr His Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 225
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 225
gagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttgggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60
gccgtgtgcag cctctggatt caccctcagt gactattaca tggactgggt ccgccaggtt 120
ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt tctagagaca aagctaacag ttccaccaca 180
gaatacgtcg cgtctgtgaa aggtagattc accatctcac gagaagattc aaagaactca 240
gtgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaagacacgg ccgtgtatta ctgtgctaga 300
acaaattacg atttttcctt ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

<210> 226
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 226
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ala Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Arg Ser Arg Asp Lys Ala Asn Ser Phe Thr Thr Glu Tyr Val Ala
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Arg Thr Asn Tyr Asp Phe Ser Leu Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 227
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 227
ggattcacct tcagtgacta ttac 24

<210> 228
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 228

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 229

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 229

tctagagaca aagctaacag ttccaccaca 30

<210> 230

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 230

Ser Arg Asp Lys Ala Asn Ser Phe Thr Thr
1 5 10

<210> 231

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 231

gctagaacaa attacgattt ttccttggac gtc 33

<210> 232

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 232

Ala Arg Thr Asn Tyr Asp Phe Ser Leu Asp Val
1 5 10

<210> 233

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 233
gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggacattaac aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120
gggaacgccc ctaagtcctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacaa tatagtactt acccgatcac cticggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 234
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 234
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 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Tyr Pro Ile
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 235
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 235
caggacatta acaattat 18

<210> 236
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 236
Gln Asp Ile Asn Asn Tyr
1 5

<210> 237

<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 237
gctgcatcc 9

<210> 238
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 238
Ala Ala Ser
1

<210> 239
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 239
caacaatata gtacttaccg gatcacc 27

<210> 240
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 240
Gln Gln Tyr Ser Thr Tyr Pro Ile Thr
1 5

<210> 241
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 241
cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgtactg tctctggtgg ctccatcagt agttaccact ggagctggat ccggcagcct 120
ctagggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caattacaac 180
ccctccctca agagtcgggt caccatatca gtagacacgt ccaaaaacca gttctccctg 240
aagctgagct ctgtgaccgc tgcggatacg gccgtgtatt actgtgagag agggggtagc 300
agcatctggc cctttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 242
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 242
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
His Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Leu Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Gly Gly Ser Ser Ile Trp Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 243
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 243
ggtggctcca tcagtagtta ccac 24

<210> 244
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 244
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr His
1 5

<210> 245
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 245
atctattaca gtgggagcac c 21

<210> 246
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 246
Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 247
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 247
gcgagagggg gtagcagcat ctggcccttt gactac 36

<210> 248
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 248
Ala Arg Gly Gly Ser Ser Ile Trp Pro Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 249
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 249
gacatccaga tgacccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggccagtc gagtattagt agctggttgg cctggatca gcagaaatca 120
gggaaagccc ctaaacacct gatctctaag gcgtctactt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatattt attcgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 250
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 250
Asp Ile Gln Met 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 Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Ser Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly 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 Tyr Asn Ile Tyr Ser Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 251
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 251
cagagtatta gtagctgg 18

<210> 252
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 252
Gln Ser Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 253
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 253
aaggcgtct 9

<210> 254
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 254
Lys Ala Ser

1

<210> 255
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 255
caacagtata atatttattc gtggacg 27

<210> 256
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 256
Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Ser Trp Thr
1 5

<210> 257
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 257
cagatcacct tgaaggagtc tggctctacg ctggtgaaac ccacacagac cctcacgctg 60
acctgcacct tctccgggtt ctcactcagc actagtggag tgggtgtggg ctggatccgt 120
cagcccccag gaggggccct ggagtggctt gcactcattt attggaatga tgataaacgc 180
ttcagcccat ctctgaagag tcggctcacc atcaccaaag acacctcaa aaaccagggtg 240
gtccttacaa tgaccaacat ggaccctgtg gacacagcca catattactg tgcacacagg 300
agacttggac tatactactt tgactactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

<210> 258
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 258
Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Val Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Val Ala Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asn Asp Asp Lys Arg Phe Ser Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val

65					70					75					80
Val	Leu	Thr	Met	Thr	Asn	Met	Asp	Pro	Val	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr
				85					90					95	
Cys	Ala	His	Arg	Arg	Leu	Gly	Leu	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
		115					120								

<210>	259
<211>	30
<212>	DNA
<213>	人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 259
gggttctcac tcagcactag tggagtgggt 30

<210>	260
<211>	10
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 260
Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly
1 5 10

<210>	261
<211>	21
<212>	DNA
<213>	人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 261
 atttattgga atgatgataa a 21

<210>	262
<211>	7
<212>	PRT
<213>	人工序列

$\langle 220 \rangle$
 $\langle 223 \rangle$ 合成

<400> 262
Ile Tyr Trp Asn Asp Asp Lys
1 5

<210>	263
<211>	36
<212>	DNA
<213>	人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 263
gcacacagga gacttggact atactacttt gactac 36

<210> 264
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 264
Ala His Arg Arg Leu Gly Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 265
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 265
gacatccagt tgaccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgct gggccagtca gggcattagc agttatttag cctggatatca gcaaaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag gticatatit acccattcac ttctggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 266
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 266
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly 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 Val His Ile Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 267
<211> 18

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 267
cagggcatta gcagttat 18

<210> 268
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 268
Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 269
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 269
gctgcatcc 9

<210> 270
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 270
Ala Ala Ser
1

<210> 271
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 271
caacaggttc atatttaccc attcact 27

<210> 272
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 272
Gln Gln Val His Ile Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 273
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 273
caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctgggta caccctaagc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag gacttgagtg gatgggggtg atcagcgctt acaatggaaa cacaactat 180
gctcagaagc tccagggtag actcacatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtat attattgttc gagagacggg 300
ccctttaaga tatccttttt cggatatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 366
tcctca

<210> 274
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 274
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 Leu Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60
Gln Gly Arg Leu Thr Met Thr Thr Asp Thr 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
Ser Arg Asp Gly Pro Phe Lys Ile Ser Phe Phe Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 275
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 275
ggttacaccc taagcagcta tgggt

<210> 276
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 276
Gly Tyr Thr Leu Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 277
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 277
atcagcgctt acaatggaaa caca 24

<210> 278
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 278
Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr
1 5

<210> 279
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 279
tcgagagacg ggccctttaa gatatccttt ttcggtatgg acgtc 45

<210> 280
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 280
Ser Arg Asp Gly Pro Phe Lys Ile Ser Phe Phe Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 281
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 281
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtc gagcattagc agctatttaa attgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattitg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caaggacac gactggagat taaa 324

<210> 282
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 282
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 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 283
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 283
cagagcatta gcagctat 18

<210> 284
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 284
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

15

<210> 285
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 285
gctgcatcc9

<210> 286
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 286
Ala Ala Ser
1

<210> 287
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 287
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc30

<210> 288
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 288
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
1510

<210> 289
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 289
cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gaggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgctcggatt cacccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaaggaa taaacactat 180
gtagattccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacggtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac tcggctgtgt attattgtgt gagagggggg 300
cagctcggcg cttttgatta ctggggccag gggaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 290
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 290
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Glu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys His Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Gly Gly Gln Leu Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 291
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 291
ggattcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 292
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 292
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 293
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 293
atatggtatg atggaaggaa taaa 24

<210> 294
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 294
Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys
1 5

<210> 295
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 295
gtgagagggg ggcagctcgg cgcttttgat tac 33

<210> 296
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 296
Val Arg Gly Gly Gln Leu Gly Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 297
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 297
gaaatttgtg tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtica gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttica gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gctcaccttg gacgttcggc 300
caagggacca aggtggaaat caaa 324

<210> 298
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 298

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

<210> 299

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 299

cagagtgtta gcagcagcta c

21

<210> 300

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 300

Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
1 5

<210> 301

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 301

ggtgcatcc

9

<210> 302

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 302
Gly Ala Ser
1

<210> 303
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 303
cagcagtatg gtagctcacc ttggacg 27

<210> 304
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 304
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 305
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 305
caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgctcggatt cacctccagt agctatggca ttcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240
ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggggt 300
ccgtgggggtg cttttgatat ctgggggcaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354

<210> 306
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 306
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ser Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

<210> 307
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 307
ggattcacct ccagtagcta tggc 24

<210> 308
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 308
Gly Phe Thr Ser Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 309
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 309
atatggtatg atggaagtaa taaa 24

<210> 310
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 310
Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 311
<211> 33

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 311
gcgagagggg gtccgtgggg tgcttttgat atc 33

<210> 312
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 312
Ala Arg Gly Gly Pro Trp Gly Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 313
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 313
caggtacagt tgcattgagtc ggggccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcagtg tctctggtgg ctccatcagt aatggtggtt actactggag ttggatccgc 120
cagcaccag ggcagggcct ggagtggatt ggatacatct attatattgg gaacacatac 180
tacaatccgt cccttgagag tcgagttacc atgtcaattg acacgtctaa gaaccagttc 240
tccctaaaac tgagctctgt gactgccgcg gacacggcca tatactactg tgcgcgacag 300
gagttcgtcc cgggcgctga atatttccta cactggggcc agggcatcct ggtcaccgtc 360
tcctca

<210> 314
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 314
Gln Val Gln Leu His Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Asn Gly
20 25 30
Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Gln Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ile Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Glu Ser Arg Val Thr Met Ser Ile Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Gln Glu Phe Val Pro Gly Ala Glu Tyr Phe Leu His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 315
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 315
ggtggctcca tcagtaatgg tggttactac 30

<210> 316
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 316
Gly Gly Ser Ile Ser Asn Gly Gly Tyr Tyr
1 5 10

<210> 317
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 317
atctattata ttgggaacac a 21

<210> 318
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 318
Ile Tyr Tyr Ile Gly Asn Thr
1 5

<210> 319
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 319
gcgcgacagg agttcgtccc gggcgctgaa tatttcctac ac 42

<210> 320
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 320
Ala Arg Gln Glu Phe Val Pro Gly Ala Glu Tyr Phe Leu His
1 5 10

<210> 321
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 321
gacatccgga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc 60
atcacctgcc gggcaagtca gaccgttaac acctttttaa attggtatca acagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatccttggg gcgtccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcgg tctacagcct 240
gaagactttg caatttatta ctgtcagcag agttacagtg tccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat tgaa 324

<210> 322
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 322
Asp Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Asn Thr Phe
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Phe Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Val Pro Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Glu
100 105

<210> 323
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 323
cagaccgtta acaccttt 18

<210> 324
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 324
Gln Thr Val Asn Thr Phe
1 5

<210> 325
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 325
ggtgcgtcc 9

<210> 326
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 326
Gly Ala Ser
1

<210> 327
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 327
cagcagagtt acagtgtccc tccgatcacc 30

<210> 328
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 328
Gln Gln Ser Tyr Ser Val Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 329
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 329
gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag gcactggatt catctttgat gactatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagtggga acagtaatag tttaggctat 180
gcggactctg tgaagggccg aticaccatc tccagagaca acgccaagaa atccctgtat 240
ttgcaaataa gcagictgag agctgaggac acggccttgt attactgtgt aaaagatgta 300
actagactgg aactacgagg atttcttgac tattggggcc agggaacca ggtcaccgtc 360
tcttca 366

<210> 330
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 330
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Thr Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Asn Ser Leu Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Lys Asp Val Thr Arg Leu Glu Leu Arg Gly Phe Leu Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 331
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 331
ggattcatct ttgatgacta tgcc 24

<210> 332
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 332
Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

<210> 333
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 333
attagttgga acagtaatag tttta 24

<210> 334
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 334
Ile Ser Trp Asn Ser Asn Ser Leu
1 5

<210> 335
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 335
gtaaaagatg taactagact ggaactacga ggatttccttg actat 45

<210> 336
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 336
Val Lys Asp Val Thr Arg Leu Glu Leu Arg Gly Phe Leu Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 337
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 337
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgatttag gctggcatca gcagaaatca 120
gggaaagccc ctaagagcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattctg caacttatta ctgtctacag caaaatagtt accctccgac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 338
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 338
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 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp His Gln Gln Lys Ser Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Ala Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gln Asn Ser Tyr Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 339
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 339
caggacatta gaaatgat 18

<210> 340
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 340
Gln Asp Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 341
<211> 9

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 341
gctgcatcc 9

<210> 342
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 342
Ala Ala Ser
1

<210> 343
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 343
ctacagcaaa atagttaccc tccgacg 27

<210> 344
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 344
Leu Gln Gln Asn Ser Tyr Pro Pro Thr
1 5

<210> 345
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 345
gatagacaga tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtatag cgtctggatt catcatcagt agatatggca tgcatcgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagaaa taaaaactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgttata 240
ctggaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgg gagagttcac 300
caatttgggg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354

<210> 346
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 346
Asp Arg Gln Met Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Ser Gly Phe Ile Ile Ser Arg Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Gly Arg Val His Gln Phe Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 347
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 347
ggattcatca tcagtagata tggc 24

<210> 348
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 348
Gly Phe Ile Ile Ser Arg Tyr Gly
1 5

<210> 349
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 349
atatggtatg atggaagaaa taaa 24

<210> 350
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 350
Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys
1 5

<210> 351
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 351
gggagagttc accaatttgg ggcttttgat atc 33

<210> 352
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 352
Gly Arg Val His Gln Phe Gly Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 353
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 353
gaaattgtgt tgacgcagtc tccagacacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agcagcttct tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtt ttactgtcag caatatggta ggtcaccttg gacgttcggc 300
caagggacca aggtggcaat caaa 324

<210> 354
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 354

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

<210> 355
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 355
cagagtgtta gcagcagctt c 21

<210> 356
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 356
Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe
1 5

<210> 357
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 357
ggtgcatcc 9

<210> 358
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 358
Gly Ala Ser
1

<210> 359
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 359
cagcaatatg gtaggtcacc ttggacg 27

<210> 360
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 360
Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 361
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 361
cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctgggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tticcgggtgg ctccatcaac aatgggtggc actactggac ctggatccgg 120
caacacccag ggaagggcct agaatggatt gggtacattt attataattg gaccacttat 180
tacaatccgt ccctcgagag tcgactttcc ctatcagtgg acacgtctaa gaatcagttc 240
tccctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggcca ttattactg tgcgagaagc 300
agtttatcag tgtctgaggc ttttgatgtc tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360
tca 363

<210> 362
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 362
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Asn Asn Gly
20 25 30
Gly His Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Ser Ser Leu Ser Val Ser Glu Ala Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210>	363
<211>	30
<212>	DNA
<213>	人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 363
ggtggctcca tcaacaatgg tggtcactac 30

<210>	364
<211>	10
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 364
Gly Gly Ser Ile Asn Asn Gly Gly His Tyr
1 5 10

<210>	365
<211>	21
<212>	DNA
<213>	人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 365
atttattata ttgggaccac t 21

<210>	366
<211>	7
<212>	PRT
<213>	人工序列

$\langle 220 \rangle$
 $\langle 223 \rangle$ 合成

<400> 366
Ile Tyr Tyr Ile Gly Thr Thr
1 5

<210>	367
<211>	39
<212>	DNA
<213>	人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 合成

<400> 367
gcgagaagca gtttatcagt gtctgaggct tttgatgtc 39

<210> 368
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 368
Ala Arg Ser Ser Leu Ser Val Ser Glu Ala Phe Asp Val
1 5 10

<210> 369
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 369
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagaatcacc 60
atcacttgcc gggggagtc gaacattggc agctttttaa gttgggtatca acagagacca 120
gggaaggccc ctaaacctct aatctttggg gcatacaatt tgcaagggtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc cgggacagat ttcactctca ccatcagtag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttactt ctgtcagcag agttatagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 370
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 370
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Ile Thr Ile Thr Cys Arg Gly Ser Gln Asn Ile Gly Ser Phe
20 25 30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Phe Gly Ala Tyr Asn Leu Gln Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 371
<211> 18
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 371

cagaacattg gcagcttt

18

<210> 372

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 372

Gln Asn Ile Gly Ser Phe
1 5

<210> 373

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 373

ggtgcatatc

9

<210> 374

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 374

Gly Ala Tyr
1

<210> 375

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 375

cagcagagtt atagtacccc tccgatcacc

30

<210> 376

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 376
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 377
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 377
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaggc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctgggtg ctccatcagc aatgggtggtt actattggac ctggatccgc 120
caaaacccag ggaagggcct agaatggatt ggatacatct attacattgg gaccacctac 180
tacaacccgt ccttcgagag tcgactttcc ctatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
tccctgaagc tgacctctgt gactgccgcg gacacggccg tttattactg tgcgagaagc 300
agtttagcag tgtctgaggc ttttgatata tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360
tca 363

<210> 378
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 378
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Asn Gly
20 25 30
Gly Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Asn Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Glu Ser Arg Leu Ser Leu Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Ser Ser Leu Ala Val Ser Glu Ala Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 379
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 379
ggtggctcca tcagcaatgg tggttactat 30

<210> 380
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 380
Gly Gly Ser Ile Ser Asn Gly Gly Tyr Tyr
1 5 10

<210> 381
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 381
atctattaca ttgggaccac c 21

<210> 382
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 382
Ile Tyr Tyr Ile Gly Thr Thr
1 5

<210> 383
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 383
gcgagaagca gtttagcagt gtctgaggct ttgatatc 39

<210> 384
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 384
Ala Arg Ser Ser Leu Ala Val Ser Glu Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 385

<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 385
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggcga cagattcacc 60
atcacttgcc gggcgagtc gagcattggc agctttttaa gttggatatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacaata cccctccgat caccttcggc 300
caaggacac gactggagat taaa 324

<210> 386
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 386
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Phe Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Phe
20 25 30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Pro Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 387
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 387
cagagcattg gcagcttt 18

<210> 388
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 388
Gln Ser Ile Gly Ser Phe
1 5

<210> 389
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 389
gctgcatcc 9

<210> 390
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 390
Ala Ala Ser
1

<210> 391
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 391
caacagagtt acaatacccc tccgatcacc 30

<210> 392
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 392
Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 393
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 393
caggtgcagc tgggtgcaatc tgggactgag gtgaagaggc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg ctctcggatt cacccttcacc ggctattata tatactgggt gcgacaggcc 120
cctggagagg ggcttgagtg gatgggggtg atcaaccctc acagtgggtg cacaaaatac 180

gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccctg accagggaca cgtccatcaa tacagcctac 240
ctggacctga tcagtctgcg atctgacgac acggccgtat attactgtgc gagaatcggg 300
ggtgggggct actcttccta ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 394
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 394
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro His Ser Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Asp Leu Ile Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ile Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 395
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 395
ggattcacct tcaccggcta ttat

24

<210> 396
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 396
Gly Phe Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr
1 5

<210> 397
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 397
atcaaccctc acagtgggtgg caca 24

<210> 398
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 398
Ile Asn Pro His Ser Gly Gly Thr
1 5

<210> 399
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 399
gcgagaatcg ggggtggggg ctactcttcc tactttgact ac 42

<210> 400
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 400
Ala Arg Ile Gly Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 401
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 401
gacatccaac tgacccagtc tccatcttcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gactattagt acctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaatgcc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagaggatc tgggacagat ttactctica ccatcagcag tctccaacct 240
gaagattttg ccacttacta ctgtcaacag ggftacacta cccctccgat caccctcggc 300
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 402
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 402
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Thr Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 403
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 403
cagactatta gtacctat 18

<210> 404
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 404
Gln Thr Ile Ser Thr Tyr
1 5

<210> 405
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 405
gctgcatcc 9

<210> 406
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 406
Ala Ala Ser
1

<210> 407
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 407
caacagggtt acactacccc tccgatcacc 30

<210> 408
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 408
Gln Gln Gly Tyr Thr Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 409
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 409
gagggtgcagc tgttgggaatc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccitttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagat attagtggta gtggtcttag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcgccatc tccagagaca attccaagaa catgtttgtat 240
ctgcaaataa acaggctgag agccgaggac acggccgtct attactgtgc gaaagagccc 300
tctcactgga acggtgaagc gtttgatatt tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360
tca 363

<210> 410
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 410
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

<210> 411
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 411
ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 412
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 412
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 413
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 413
attagtggta gtggtcttag caca 24

<210> 414
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 414
Ile Ser Gly Ser Gly Leu Ser Thr
1 5

<210> 415

<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 415
gcgaaagagc cctctcactg gaacggtgaa gcgtttgata tt 42

<210> 416
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 416
Ala Lys Glu Pro Ser His Trp Asn Gly Glu Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 417
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 417
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggatatttag agttggtttag cctggatatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatact acagccaatt tacaaagtgg ggtcccatcc 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccatcac tttcggctct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 418
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 418
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Thr Thr Ala Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 419
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 419
caggatatta gcagttgg 18

<210> 420
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 420
Gln Asp Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 421
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 421
actacagcc 9

<210> 422
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 422
Thr Thr Ala
1

<210> 423
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 423
caacaggcta acagtttccc attcact 27

<210> 424

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 424
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 425
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 425
cagctgcaac tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccttc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agtaattatt actactgggg ctgggtccgc 120
cagtccccgg ggaagggaact ggagtggatc gggagtatct atcacactgg gaacgcctac 180
gacaatccgt ccctcaagag tcgagtcacc atttccgtag acacgtccaa gaatcagttc 240
tcctgaacc tgaactctgt gaccgccgca gacacggcta tttattattg tgcgagacat 300
catagcagtt cgtcctggtg gtacttcgat gtcctggggc gtggcacctt ggtcattgtc 360
tcctca 366

<210> 426
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 426
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Phe Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30
Tyr Tyr Tyr Trp Gly Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr His Thr Gly Asn Ala Tyr Asp Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Asn Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg His His Ser Ser Ser Ser Trp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
100 105 110
Gly Arg Gly Thr Leu Val Ile Val Ser Ser
115 120

<210> 427
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成	
<400> 427 ggtaggctcca tcagtagtaa ttattactac	30
<210> 428 <211> 10 <212> PRT <213> 人工序列	
<220> <223> 合成	
<400> 428 Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn Tyr Tyr Tyr 1 5 10	
<210> 429 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成	
<400> 429 atctatcaca ctgggaacgc c	21
<210> 430 <211> 7 <212> PRT <213> 人工序列	
<220> <223> 合成	
<400> 430 Ile Tyr His Thr Gly Asn Ala 1 5	
<210> 431 <211> 42 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 合成	
<400> 431 gcgagacatc atagcagttc gtcctgggtgg tacttcgatg tc	42
<210> 432 <211> 14 <212> PRT <213> 人工序列	
<220> <223> 合成	
<400> 432	

Ala Arg His His Ser Ser Ser Ser Trp Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 433
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 433
gaaattgtgt tgacgcagtc tccagacacc ctgtctttgt ctccaggga aagagccacc 60
ctctccigca gggccagtca gactgttagc aacagccact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtacatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggacc gacttctctc tcaccatcat cagactggag 240
cctgacgatt ttgcagtata ttctgtcag cagcatgaaa gttcacctcc cacttttggc 300
cagggggcca agctcgagat caaaa 324

<210> 434
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 434
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Ser Asn Ser
20 25 30
His Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Thr Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ile Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Asp Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln His Glu Ser Ser Pro
85 90 95
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Ala Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 435
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 435
cagactgtta gcaacagcca c 21

<210> 436
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成
<400> 436
Gln Thr Val Ser Asn Ser His
1 5

<210> 437
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 437
ggtacatcc 9

<210> 438
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 438
Gly Thr Ser
1

<210> 439
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 439
cagcagcatg aaagttcacc tcccact 27

<210> 440
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 440
Gln Gln His Glu Ser Ser Pro Pro Thr
1 5

<210> 441
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 441
caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggaat caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactc acatcatatg atggaagtaa aaaatactat 180
tcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagictgag acctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagataaa 300
ggggggagacg actactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 442
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 442
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Leu Thr Ser Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ser Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Lys Gly Gly Asp Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 443
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 443
ggaatcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 444
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 444
Gly Ile Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 445

<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 445
acatcatatg atggaagtaa aaaa 24

<210> 446
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 446
Thr Ser Tyr Asp Gly Ser Lys Lys
1 5

<210> 447
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 447
gcgaaagata aagggggaga cgactactac ggtatggacg tc 42

<210> 448
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 448
Ala Lys Asp Lys Gly Gly Asp Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 449
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 449
gaaatttgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctccigca gggccagtca gtggattagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgctttca gcagggcccc tggcatccca 180
ggcaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gttcaccgta cacttttggc 300
caggggacca agctggagat caat 324

<210> 450
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 450
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Trp Ile Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Phe Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Gly Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95
Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn
100 105

<210> 451
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 451
cagtg gatta gcagcagcta c 21

<210> 452
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 452
Gln Trp Ile Ser Ser Ser Tyr
1 5

<210> 453
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 453
ggtgctttc 9

<210> 454

<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 454
Gly Ala Phe
1

<210> 455
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 455
cagcagtatg gtagttcacc gtacact 27

<210> 456
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 456
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 457
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 457
caggtticaac tggatgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgtaaga ctctctggtta caccctttacc aacaatggta tcagctgggt gcgacaggtc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagccctt ataatggtaa tacaaagtat 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accacagaca catcgacgac tacagtctac 240
atggacgtga ggagcctgag atctgacgac acggccgttt atttctgtgc gagagatggg 300
cccattacga tctcctactt cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 458
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 458

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

<210> 459
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 459
ggttacacct ttaccaacaa tgggt

24

<210> 460
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 460
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Asn Gly
1 5

<210> 461
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 461
atcagccctt ataatggtaa taca

24

<210> 462
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 462

Ile Ser Pro Tyr Asn Gly Asn Thr
1 5

<210> 463
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 463
gcgagagatg ggcccattac gatctcctac ttcggtatgg acgtc 45

<210> 464
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 464
Ala Arg Asp Gly Pro Ile Thr Ile Ser Tyr Phe Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 465
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 465
gacatccaga tgaccagtc tccgtcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gattattagc acctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcgggtg gcagtggatc tgggacagac ttactctca ccgtcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taat 324

<210> 466
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 466
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 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Gly Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Ser Ser Leu Gln Pro

<2.2.0>

18

-220-

<220>

 $\langle 400 \rangle$

9

-1000-

 $\langle 400 \rangle$

~~220~~

第 109 頁

<400> 471
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

<210> 472
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 472
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 473
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 473
caggtacaac tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccgtcaat agatatggca tacactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt acatgggatg atggaagaaa taaatacttt 180
gccgactccg tgaagggccg attctccttc tccagagaca gttccacgaa cacgttgat 240
ctgcaaatga acagtcigag agccgaggac acggctgtat attactgtgc gaggggggga 300
ttgtttggat actttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 474
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 474
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Asn Arg Tyr
20 25 30
Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Thr Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Tyr Phe Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Ser Phe Ser Arg Asp Ser Ser Thr Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Leu Phe Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 475
<211> 24

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 475
ggattcaccg tcaatagata tggc 24

<210> 476
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 476
Gly Phe Thr Val Asn Arg Tyr Gly
1 5

<210> 477
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 477
acatggtatg atggaagaaa taaa 24

<210> 478
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 478
Thr Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys
1 5

<210> 479
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 479
gcgagggggg gattgtttgg atactttgac tac 33

<210> 480
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 480
Ala Arg Gly Gly Leu Phe Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 481
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 481
gaaattgtgt tgacgcagtc tccagacacc ctgtcttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctccitgca gggccagtc gagtggtgcc ggcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccagact cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta cctcaccttg gacgttcggc 300
caggggacca aggtggaaat caca 324

<210> 482
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 482
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Gly Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro
85 90 95
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Thr
100 105

<210> 483
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 483
cagagtgttg ccggcagcta c 21

<210> 484
<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 484
Gln Ser Val Ala Gly Ser Tyr
1 5

<210> 485
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 485
ggtgcatcc 9

<210> 486
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 486
Gly Ala Ser
1

<210> 487
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 487
cagcagtatg gtacctcacc ttggacg 27

<210> 488
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 488
Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 489
<211> 354
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 489

cagggtgcagt tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tccgtgtgcag cgtctggatt cacccttcagt agctatggca tacactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg gtggaaataa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg aticaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataa acagccctgag agccgaggac acggctttat atcactgtgc gagaagtggg 300
aacttcggtg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354

<210> 490

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 490

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

<210> 491

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 491

ggattcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 492

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 492

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 493
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 493
atatggtatg gtggaaataa taaa 24

<210> 494
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 494
Ile Trp Tyr Gly Gly Asn Asn Lys
1 5

<210> 495
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 495
gcgagaagtg ggaacttcgg tgcttttgat atc 33

<210> 496
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 496
Ala Arg Ser Gly Asn Phe Gly Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 497
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 497
gaaatttgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtagca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccagca gggccactgg catcccagac 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcattctca ccatcaacag actggagcct 240
gaagattttg cagtctatta ctgtcagcac tatggtaact caccitggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 498
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 498
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr Ile Asn Arg Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Gly Asn Ser Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 499
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 499
cagagtgtta gcagctac 18

<210> 500
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 500
Gln Ser Val Ser Ser Tyr
1 5

<210> 501
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 501

ggtgcatcc 9

<210> 502
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 502
Gly Ala Ser
1

<210> 503
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 503
cagcactatg gtaactcacc ttggacg 27

<210> 504
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 504
Gln His Tyr Gly Asn Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 505
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hCTLA-4 NP_005205.2

<400> 505
Met Ala Cys Leu Gly Phe Gln Arg His Lys Ala Gln Leu Asn Leu Ala
1 5 10 15
Thr Arg Thr Trp Pro Cys Thr Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Ile Pro
20 25 30
Val Phe Cys Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala
35 40 45
Ser Ser Arg Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly
50 55 60
Lys Ala Thr Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln
65 70 75 80
Val Thr Glu Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr
85 90 95
Phe Leu Asp Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val
100 105 110

Asn Leu Thr Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile
115 120 125
Cys Lys Val Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly
130 135 140
Asn Gly Thr Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser
145 150 155 160
Asp Phe Leu Leu Trp Ile Leu Ala Ala Val Ser Ser Gly Leu Phe Phe
165 170 175
Tyr Ser Phe Leu Leu Thr Ala Val Ser Leu Ser Lys Met Leu Lys Lys
180 185 190
Arg Ser Pro Leu Thr Thr Gly Val Tyr Val Lys Met Pro Pro Thr Glu
195 200 205
Pro Glu Cys Glu Lys Gln Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn
210 215 220

<210> 506
<211> 154
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hCTLA-4-mmH (NP_005205.2之aa K36-D161，具有C端myc-myc-六組胺酸標籤)

<400> 506
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser
130 135 140
Glu Glu Asp Leu His His His His His
145 150

<210> 507
<211> 154
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> MfCTLA-4-mmH (XP_005574071.1之aa K36-D161，具有C端myc-myc-六組胺酸標籤)

<400> 507
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Asn Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Met Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser
130 135 140
Glu Glu Asp Leu His His His His His
145 150

<210> 508
<211> 359
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有C端小鼠Fcγ域 (P01863之aa E98-K330) 之
hCTLA-4-mFc二聚hCTLA-4胞外域 (NP_005205.2之aa K36-D161))

<400> 508
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Glu Pro
115 120 125
Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro
130 135 140
Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys
145 150 155 160
Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val
165 170 175
Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn
180 185 190
Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr
195 200 205
Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp
210 215 220
Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu
225 230 235 240
Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg
245 250 255
Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys
260 265 270
Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp
275 280 285

Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys
290 295 300
Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser
305 310 315 320
Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser
325 330 335
Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser
340 345 350
Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
355

<210> 509
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> R4659: HC

<400> 509
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Glu Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Arg Thr Ser Gly Thr Thr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Met
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Gly Gly Gly Thr Phe Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
			340					345					350		
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
		355					360					365			
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
	370					375					380				
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
385					390					395					400
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
			405						410					415	
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
			420					425					430		
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		
		435					440					445			

<210> 510
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> R4659: LC

<400> 510															
Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1			5					10					15		
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ala	Ser	Tyr
		20						25				30			
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35				40						45			
Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55				60					
Ser	Gly	Tyr	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	Ala	Lys	Ser	Phe	Pro	Met
			85					90						95	
Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala
		100						105					110		
Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser
		115					120					125			
Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu
	130					135					140				
Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser
145					150					155				160	
Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu
			165						170					175	
Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val
		180						185					190		
Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys
		195					200					205			
Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys									
		210				215									

發明摘要

【發明名稱】（中文/英文）

抗CTLA-4抗體及其用途

ANTI-CTLA-4 ANTIBODIES AND USES THEREOF

【中文】

本發明提供與細胞毒性 T 淋巴細胞相關蛋白 4 (CTLA-4) 結合之抗體及使用方法。在本發明之各種實施例中，所述抗體為與 CTLA-4 特異性結合之完全人類抗體。在一些實施例中，本發明抗體適用於抑制或中和 CTLA-4 活性，從而提供一種活化 T 細胞及/或治療諸如癌症或病毒感染之疾病或病症的手段。

【英文】

The present invention provides antibodies that bind to cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4), and methods of use. In various embodiments of the invention, the antibodies are fully human antibodies that specifically bind to CTLA-4. In some embodiments, the antibodies of the invention are useful for inhibiting or neutralizing CTLA-4 activity, thus providing a means of activating T-cells and/or for treating a disease or disorder such as cancer or viral infection.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 1 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

申請專利範圍

1. 一種與細胞毒性 T 淋巴細胞相關蛋白 4 (CTLA-4) 特異性結合之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段包括含於包括 SEQ ID NO: 194 之胺基酸序列的重鏈可變區 (HCVR) 內之三個重鏈互補決定區 (CDR) (HCDR1、HCDR2 及 HCDR3)；及含於包括 SEQ ID NO: 202 之胺基酸序列的輕鏈可變區 (LCVR) 內之三個輕鏈 CDR (LCDR1、LCDR2 及 LCDR3)。
2. 如申請專利範圍第 1 項所述的抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或抗原結合片段包括 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3，其分別由 SEQ ID NO: 196、198、200、204、206 及 208 之胺基酸序列組成。
3. 如申請專利範圍第 2 項所述的抗體或抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段包括 SEQ ID NO: 194/202 之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對。
4. 如申請專利範圍第 1 項至第 3 項中任一項所述的抗體或其抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段為單株抗體。
5. 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項所述的抗體或其抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段為完全人類抗體。
6. 如申請專利範圍第 1 項至第 5 項中任一項所述的抗體或其抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段包括人類 IgG1 重鏈恆定區。
7. 如申請專利範圍第 1 項至第 6 項中任一項所述的抗體，其包括重鏈及輕鏈，其中所述重鏈包括 SEQ ID NO: 509 之胺基酸序列。
8. 如申請專利範圍第 1 項至第 6 項中任一項所述的抗體，其包括重鏈及輕鏈，其中所述輕鏈包括 SEQ ID NO: 510 之胺基酸序列。
9. 如申請專利範圍第 1 項至第 6 項中任一項所述的抗體，其包括重鏈及輕鏈，其中所述重鏈包括 SEQ ID NO: 509 之胺基酸序列且所述輕鏈包括

SEQ ID NO: 510 之胺基酸序列。

10. 一種與 CTLA-4 特異性結合之完全人類單株抗體或其抗原結合片段，其包括具有 SEQ ID NO: 509 之胺基酸序列的重鏈及具有 SEQ ID NO: 510 之胺基酸序列的輕鏈。

11. 一種與 CTLA-4 特異性結合之抗體或其抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段包括 HCVR 之三個 CDR (HCDR1、HCDR2 及 HCDR3) 及 LCVR 之三個 CDR (LCDR1、LCDR2 及 LCDR3)，其中所述 HCVR 包括：

- (i) SEQ ID NO: 194 之胺基酸序列；
- (ii) 與 SEQ ID NO: 194 具有至少 90% 序列一致性的胺基酸序列；
- (iii) 與 SEQ ID NO: 194 具有至少 95% 序列一致性的胺基酸序列；或
- (iv) SEQ ID NO: 194 之具有至多 10 個胺基酸取代的胺基酸序列；

且所述 LCVR 包括：

- (v) SEQ ID NO: 202 之胺基酸序列；
- (vi) 與 SEQ ID NO: 202 具有至少 90% 序列一致性的胺基酸序列；
- (vii) 與 SEQ ID NO: 202 具有至少 95% 序列一致性的胺基酸序列；或
- (viii) SEQ ID NO: 202 之具有至多 10 個胺基酸取代的胺基酸序列。

12. 如申請專利範圍第 11 項所述的抗體或其抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段包括 HCVR，所述 HCVR 包括 SEQ ID NO: 194 之具有至多 10 個胺基酸取代的胺基酸序列。

13. 如申請專利範圍第 11 項所述的抗體或其抗原結合片段，其中所述抗體或其抗原結合片段包括 LCVR，所述 LCVR 包括 SEQ ID NO: 202 之具有至多 10 個胺基酸取代的胺基酸序列。

14. 如申請專利範圍第 11 項所述的抗體或其抗原結合片段，其中所述

HCVR 包括與 SEQ ID NO: 194 具有至少 90%序列一致性的胺基酸序列。

15. 如申請專利範圍第 11 項所述的抗體或其抗原結合片段，其中所述 LCVR 包括與 SEQ ID NO: 202 具有至少 90%序列一致性的胺基酸序列。

16. 如申請專利範圍第 11 項所述的抗體或其抗原結合片段，其中所述 HCVR 包括與 SEQ ID NO: 194 具有至少 95%序列一致性的胺基酸序列。

17. 如申請專利範圍第 11 項所述的抗體或其抗原結合片段，其中所述 LCVR 包括與 SEQ ID NO: 202 具有至少 95%序列一致性的胺基酸序列。

18. 如申請專利範圍第 11 項至第 17 項中任一項所述的抗體或其抗原結合片段，其中 HCDR1 包括 SEQ ID NO: 196 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 196 相差 1 個胺基酸之胺基酸序列，HCDR2 包括 SEQ ID NO: 198 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 198 相差 1 個胺基酸之胺基酸序列，HCDR3 包括 SEQ ID NO: 200 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 200 相差 1 個胺基酸之胺基酸序列，LCDR1 包括 SEQ ID NO: 204 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 204 相差 1 個胺基酸之胺基酸序列，LCDR2 包括 SEQ ID NO: 206 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 206 相差 1 個胺基酸之胺基酸序列，且 LCDR3 包括 SEQ ID NO: 208 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 208 相差 1 個胺基酸之胺基酸序列。

19. 如申請專利範圍第 18 項所述的抗體或其抗原結合片段，其中 HCDR1 包括 SEQ ID NO: 196 之胺基酸序列，HCDR2 包括 SEQ ID NO: 198 之胺基酸序列，HCDR3 包括 SEQ ID NO: 200 之胺基酸序列，LCDR1 包括 SEQ ID NO: 204 之胺基酸序列，LCDR2 包括 SEQ ID NO: 206 之胺基酸序列，且 LCDR3 包括 SEQ ID NO: 208 之胺基酸序列。

20. 如申請專利範圍第 19 項所述的抗體或其抗原結合片段，其中 HCVR 包括 SEQ ID NO: 194 之胺基酸序列且 LCVR 包括 SEQ ID NO: 202 之胺基酸序列。

21. 一種醫藥組合物，其包括如申請專利範圍第 1 項至第 20 項中任一項所述的經分離抗體或其抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

22. 一種經分離多核苷酸分子，其包括編碼如申請專利範圍第 1 項至第 20 項中任一項中所述之抗體之 HCVR 的多核苷酸序列。

23. 一種經分離多核苷酸分子，其包括編碼如申請專利範圍第 1 項至第 20 項中任一項中所述之抗體之 LCVR 的多核苷酸序列。

24. 一種載體，其包括如申請專利範圍第 22 項所述的多核苷酸及/或如申請專利範圍第 23 項所述的多核苷酸。

25. 一種宿主細胞，其表現如申請專利範圍第 24 項所述的載體。

26. 一種產生抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段的方法，其包括使如申請專利範圍第 25 項所述的宿主細胞在允許所述抗體或片段產生的條件下生長，且回收如此產生之抗體或片段。

27. 如申請專利範圍第 26 項所述的方法，其進一步包括將所述抗體或其抗原結合片段調配為包括可接受之載劑的醫藥組合物。

28. 一種抑制個體中之腫瘤或腫瘤細胞之生長的方法，其包括向有需要之個體投與治療有效量之如申請專利範圍第 1 項至第 21 項中任一項所述的抗體或其抗原結合片段。

29. 如申請專利範圍第 28 項所述的方法，其中所述腫瘤為原發性或再發性腫瘤。

30. 如申請專利範圍第 28 項所述的方法，其中所述腫瘤為已建立的腫瘤。

31. 如申請專利範圍第 28 項至第 30 項中任一項所述的方法，其中所述腫瘤存在於具有選自由以下組成之群之疾病或病症的個體中：血癌、腦癌、

腎細胞癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、乳癌、肝細胞癌、骨癌、結腸癌、非小細胞肺癌、頭頸部鱗狀細胞癌、結腸直腸癌、間皮瘤、B 細胞淋巴瘤及黑色素瘤。

32. 如申請專利範圍第 28 項至第 31 項中任一項所述的方法，其中所述抗體或其抗原結合片段以初始劑量、繼之以一或多個第二劑量的方式投與，其中各第二劑量係在前一劑量之後 1 週至 12 週投與。

33. 如申請專利範圍第 28 項至第 32 項中任一項所述的方法，其中所述抗體或抗原結合片段係以約 25 mg 至 600 mg 之劑量投與。

34. 如申請專利範圍第 28 項至第 33 項中任一項所述的方法，其中所述抗體或其抗原結合片段與第二治療劑組合向所述個體投與。

35. 如申請專利範圍第 34 項所述的方法，其中所述第二治療劑係選自由以下組成之群：PD-1 抑制劑、針對腫瘤特異性抗原之抗體、針對病毒感染細胞抗原之抗體、PD-L1 抑制劑、CD20 抑制劑、針對 CD20 及 CD3 之雙特異性抗體、諸如抗氧化劑之膳食補充劑、VEGF 拮抗劑、化學治療劑、細胞毒性劑、放射線、NSAID、皮質類固醇及任何其他適用於改善至少一種與所述疾病或病症相關之症狀的療法。

36. 如申請專利範圍第 35 項所述的方法，其中所述第二治療劑為 PD-1 抑制劑。

37. 如申請專利範圍第 36 項所述的方法，其中所述 PD-1 抑制劑為測米匹單抗(cemiplimab)、納武單抗(nivolumab)或派姆單抗(pembrolizumab)。

38. 如申請專利範圍第 37 項所述的方法，其中所述 PD-1 抑制劑以每公斤所述個體之體重 1 mg、3 mg 或 10 mg 之劑量投與。

39. 如申請專利範圍第 37 項所述的方法，其中所述 PD-1 抑制劑以 50 mg 至 1200 mg 之劑量投與。

40. 如申請專利範圍第 28 項至第 39 項中任一項所述的方法，其中所述抗體或其抗原結合片段係皮下、靜脈內、皮內、腹膜內、經口、肌肉內或顱內投與。

41. 一種治療有需要之個體之非小細胞肺癌的方法，其包括向所述個體投與：(a) 抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段，其包括：包括 SEQ ID NO: 194 之胺基酸序列的 HCVR 之 CDR 及包括 SEQ ID NO: 202 之胺基酸序列的 LCVR 之 CDR；及 (b) 抗 PD-1 抗體或其抗原結合片段。

42. 如申請專利範圍第 41 項所述的方法，其中所述抗 CTLA-4 抗體包括 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 域，其分別由 SEQ ID NO: 196-198-200-204-206-208 組成。

43. 如申請專利範圍第 42 項所述的方法，其中所述抗 CTLA-4 抗體包括：包括 SEQ ID NO: 194 之胺基酸序列的 HCVR 及包括 SEQ ID NO: 202 之胺基酸序列的 LCVR。

44. 如申請專利範圍第 41 項至第 43 項中任一項所述的方法，其中所述抗 CTLA-4 抗體包括人類 IgG1 重鏈恆定區。

45. 如申請專利範圍第 41 項至第 44 項中任一項所述的方法，其中所述抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段包括：包括 SEQ ID NO: 509 之胺基酸序列的重鏈；及包括 SEQ ID NO: 510 之胺基酸序列的輕鏈。

46. 如申請專利範圍第 41 項至第 45 項中任一項所述的方法，其中所述抗 PD-1 抗體為測米匹單抗。

47. 如申請專利範圍第 41 項至第 46 項中任一項所述的方法，其中所述抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段以 25 mg 至 600 mg 之劑量投與。

48. 如申請專利範圍第 41 項至第 47 項中任一項所述的方法，其中所述抗 PD-1 抗體以 50 mg 至 1200 mg 之劑量投與。

49. 如申請專利範圍第 41 項至第 48 項中任一項所述的方法，其中所述抗 CTLA-4 抗體或其抗原結合片段以初始劑量、繼之以一或多個第二劑量的方式投與，其中各第二劑量係在前一劑量之後 1 週至 12 週投與。

50. 如申請專利範圍第 1 項至第 20 項中任一項所述的抗體或其片段或如申請專利範圍第 21 項所述的醫藥組合物，其用於治療非小細胞肺癌（NSCLC），其中所述抗體、所述抗原結合片段或所述醫藥組合物與抗 PD-1 抗體組合使用。

51. 如申請專利範圍第 50 項所述的抗體或其片段或醫藥組合物，其中所述抗 CTLA-4 抗體包括：包括 SEQ ID NO: 194 之胺基酸序列的 HCVR 之 CDR 及包括 SEQ ID NO: 202 之胺基酸序列的 LCVR 之 CDR。

52. 如申請專利範圍第 50 項或第 51 項所述的抗體或其片段或醫藥組合物，其中所述抗 PD-1 抗體為測米匹單抗。

53. 如申請專利範圍第 50 項至第 52 項中任一項所述的抗體或其片段或醫藥組合物，其中所述 NSCLC 為晚期或轉移性 NSCLC。

