



(12)发明专利申请



(10)申请公布号 CN 111601616 A

(43)申请公布日 2020.08.28

(21)申请号 201880084218.6

(22)申请日 2018.10.23

(30)优先权数据

62/576,571 2017.10.24 US

62/576,588 2017.10.24 US

62/576,590 2017.10.24 US

62/576,593 2017.10.24 US

62/576,597 2017.10.24 US

62/576,605 2017.10.24 US

62/576,625 2017.10.24 US

62/576,626 2017.10.24 US

62/576,628 2017.10.24 US

62/576,629 2017.10.24 US

62/638,049 2018.03.02 US

62/638,051 2018.03.02 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.06.24

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/057172 2018.10.23

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/084057 EN 2019.05.02

(71)申请人 美真达治疗公司

地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 布拉德利·R·皮尔斯

安东尼·博伊坦诺

拉胡尔·帕尔乔杜里

肖恩·麦克唐纳 拉吉夫·潘瓦尔

乔纳森·菲利普·贝尔克

马修·邓肯·史密斯

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

代理人 王玮玮 郑霞

(51)Int.Cl.

A61K 39/395(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

A61P 37/06(2006.01)

A61P 37/02(2006.01)

A61K 47/68(2017.01)

C07K 16/28(2006.01)

权利要求书16页 说明书135页

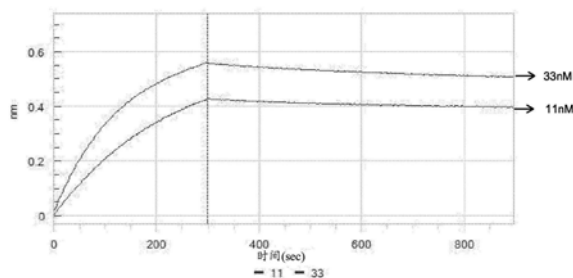
序列表74页 附图44页

(54)发明名称

用于耗尽CD117+细胞的组合物和方法

(57)摘要

本发明提供了组合物和方法,该组合物和方法可用于耗尽CD117+细胞,以及用于治疗尤其是多种造血疾病、代谢紊乱、癌症和自身免疫性疾病。本文描述了抗体、其抗原结合片段、及缀合物,它们可以被应用于通过例如耗尽患者诸如人类的CD117+细胞的群体来实现对这些状况的治疗。本文描述的组合物和方法可以用于通过例如耗尽CD117+癌细胞或自身免疫性细胞的群体来直接治疗紊乱。本文描述的组合物和方法还可以用于准备患者以便于造血干细胞移植疗法,并且通过在移植程序之前选择性地耗尽内源性造血干细胞来改善造血干细胞移植物的植入。



1. 一种分离的抗CD117抗体或其抗原结合片段,包含:

(a) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:31中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:32中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:33中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:34中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:35中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:36中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(b) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:21中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:22中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:23中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:24中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:25中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:26中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(c) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:41中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:42中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:43中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:44中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:45中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:46中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(d) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:51中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:52中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:53中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:54中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:55中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:56中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(e) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:61中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:62中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:63中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:64中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:65中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:66中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(f) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:71中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:72中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:73中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:74中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:75中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:76中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(g) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:81中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:82中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:83中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:84中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:85中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:86中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(h) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:12中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:13中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:14中列

出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:15中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:16中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(i) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:91中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:92中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:93中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:94中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:95中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:96中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;或

(j) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:101中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:102中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:103中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:104中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:105中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:106中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

2. 一种分离的抗CD117抗体或其抗原结合片段,包含

重链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:127中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:128中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:129中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:130中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:131中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:132中列出的氨基酸序列的CDR3结构域,其中所述抗体或其抗原结合片段是拮抗性抗体。

3. 一种分离的抗CD117抗体或其抗原结合片段,包含

a) 重链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:133中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:134中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:135中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:136中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:137中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:138中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;或

b) 重链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:139中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:140中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:141中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:142中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:143中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:144中列出的氨基酸序列的CDR3结构域,

其中所述抗体或其抗原结合片段是中性抗体。

4. 一种抗CD117抗体或其抗原结合片段,包含:

(a) 含有SEQ ID NO:29中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:30中列出的氨基酸序列的轻链可变区;

(b) 含有SEQ ID NO:19中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:20中列出的氨基酸序列的轻链可变区;

(c) 含有SEQ ID NO:39中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:40中列出的氨基酸序列的轻链可变区;

(d) 含有SEQ ID NO:49中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:50中列

出的氨基酸序列的轻链可变区；

(e) 含有SEQ ID NO:59中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:60中列出的氨基酸序列的轻链可变区；

(f) 含有SEQ ID NO:69中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:70中列出的氨基酸序列的轻链可变区；

(g) 含有SEQ ID NO:79中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:80中列出的氨基酸序列的轻链可变区；

(h) 含有SEQ ID NO:9中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列的轻链可变区；

(i) 含有SEQ ID NO:89中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:90中列出的氨基酸序列的轻链可变区；或

(j) 含有SEQ ID NO:99中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:100中列出的氨基酸序列的轻链可变区。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的抗CD117抗体或其抗原结合片段,其中通过生物层干涉测量术(BLI)测量,所述抗体或抗原结合片段具有 1×10^{-2} 至 1×10^{-3} 、 1×10^{-3} 至 1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 至 1×10^{-6} 、 1×10^{-6} 至 1×10^{-7} 或 1×10^{-7} 至 1×10^{-8} 的解离速率(K_{OFF})。

6. 如权利要求1-4中任一项所述的抗CD117抗体或其抗原结合片段,其中通过生物层干涉测量术(BLI)测定确定,所述抗体或抗原结合片段以以下 K_D 结合CD117:约100nM或更小、约90nM或更小、约80nM或更小、约70nM或更小、约60nM或更小、约50nM或更小、约40nM或更小、约30nM或更小、约20nM或更小、约10nM或更小、约8nM或更小、约6nM或更小、约4nM或更小、约2nM或更小、约1nM或更小。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的抗CD117抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段是人类的。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的抗CD117抗体,其中所述抗体是完整抗体。

9. 如权利要求1-8中任一项所述的抗CD117抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是IgG。

10. 如权利要求9所述的抗CD117抗体或其抗原结合片段,其中所述IgG是IgG1或IgG4。

11. 如权利要求1-10中任一项所述的抗CD117抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体。

12. 如权利要求1-11中任一项所述的抗CD117抗体或其抗原结合片段,所述抗CD117抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:122列出的氨基酸序列的重链恒定区和/或包含SEQ ID NO:121中列出的氨基酸序列的轻链恒定区。

13. 如权利要求1-11中任一项所述的抗CD117抗体或其抗原结合片段,所述抗CD117抗体或其抗原结合片段包含Fc区,所述Fc区包含至少一个选自由以下组成的组的氨基酸取代:D265C、H435A、L234AA和L235A(根据EU索引编号)。

14. 如权利要求13所述的抗CD117抗体或其抗原结合片段,其中所述Fc区包含氨基酸取代D265C、L234A和L235A(根据EU索引编号)。

15. 一种完整的抗CD117人类抗体,所述完整的抗CD117人类抗体包含轻链和重链,所述轻链包含SEQ ID NO:109中列出的氨基酸序列,所述重链包含选自由以下组成的组的氨基

酸序列:SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113,和SEQ ID NO:114。

16.一种完整的抗CD117人类抗体,所述完整的抗CD117人类抗体包含轻链和重链,所述轻链包含SEQ ID NO:115中列出的氨基酸序列,所述重链包含选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119,和SEQ ID NO:120。

17.一种耗尽人类患者的CD117+细胞的群体的方法,所述方法包括将如权利要求1-16中任一项所述的抗体施用至所述人类患者。

18.如权利要求17所述的方法,其中所述人类患者需要造血干细胞移植。

19.一种治疗患有血液学癌症的人类受试者的方法,所述方法包括将如权利要求1-16中任一项所述的抗CD117抗体或其抗原结合片段施用至所述患有血液学癌症的人类受试者。

20.如权利要求19所述的方法,其中所述血液学癌症是白血病。

21.一种药物组合物,所述药物组合物包含如权利要求1-16中任一项所述的抗体或其抗原结合部分以及药学上可接受的载体。

22.一种缀合物,所述缀合物包含经由接头与细胞毒素缀合的抗CD117抗体,其中所述抗体包括如权利要求1-16中任一项所述的抗体或其抗原结合部分。

23.如权利要求22所述的缀合物,其中所述细胞毒素选自以下组成的组:鹅膏蕈毒素、假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、皂草素、美登素、美登素生物碱、澳瑞他汀、蒽环霉素、加利刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类,和吲哚并苯二氮卓类二聚体。

24.如权利要求23所述的缀合物,其中所述鹅膏蕈毒素选自以下组成的组: α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏无毒环肽、一羟鹅膏毒肽羧酸和前鹅膏无毒环肽。

25.一种缀合物,所述缀合物由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是与CD117特异性结合的抗体或其抗原结合片段,L是接头,Z是化学部分,并且Am是鹅膏蕈毒素,其中所述抗体或其抗原结合片段是中性抗体,所述中性抗体当与表达CD117的细胞结合时被内化,并且具有通过生物层干涉测量术(BLI)确定的 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 至 $1 \times 10^{-6} \text{s}^{-1}$ 的人类CD117解离速率(K_{OFF})。

26.如权利要求25所述的缀合物,其中所述中性抗体包含

a) 重链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:133中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:134中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:135中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:136中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:137中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:138中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;或

b) 重链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:139中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:140中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:141中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:142中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:143中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:144中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

27. 一种缀合物,所述缀合物由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是结合CD117的抗体或其抗原结合片段,L是接头,Z是化学部分,并且Am是鹅膏蕈毒素,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:31中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:32中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:33中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:34中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:35中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:36中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(b) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:21中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:22中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:23中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:24中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:25中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:26中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(c) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:41中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:42中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:43中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:44中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:45中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:46中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(d) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:51中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:52中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:53中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:54中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:55中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:56中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(e) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:61中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:62中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:63中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:64中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:65中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:66中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(f) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:71中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:72中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:73中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:74中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:75中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:76中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(g) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:81中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:82中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:83中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:84中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:85中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:86中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(h) 抗CD117抗体或其抗原结合片段,所述抗CD117抗体或其抗原结合片段包含重链可

变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:12中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:13中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:14中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:15中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:16中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;

(i) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:91中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:92中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:93中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:94中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:95中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:96中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;或

(j) 重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:101中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:102中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:103中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:104中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有SEQ ID NO:105中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有SEQ ID NO:106中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

28. 一种缀合物,所述缀合物由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是结合CD117的抗体或其抗原结合片段,L是接头,Z是化学部分,并且Am是鹅膏蕈毒素,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 含有SEQ ID NO:29中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:30中列出的氨基酸序列的轻链可变区;

(b) 含有SEQ ID NO:19中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:20中列出的氨基酸序列的轻链可变区;

(c) 含有SEQ ID NO:39中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:40中列出的氨基酸序列的轻链可变区;

(d) 含有SEQ ID NO:49中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:50中列出的氨基酸序列的轻链可变区;

(e) 含有SEQ ID NO:59中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:60中列出的氨基酸序列的轻链可变区;

(f) 含有SEQ ID NO:69中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:70中列出的氨基酸序列的轻链可变区;

(g) 含有SEQ ID NO:79中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:80中列出的氨基酸序列的轻链可变区;

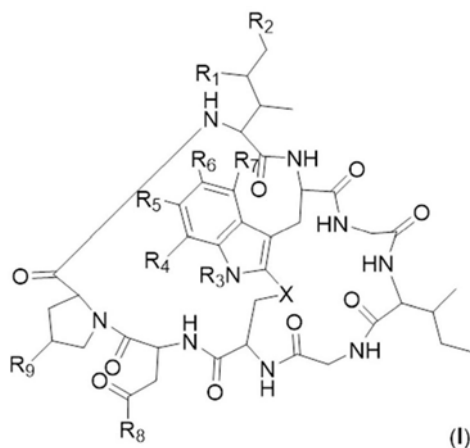
(h) 含有SEQ ID NO:9中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列的轻链可变区;

(i) 含有SEQ ID NO:89中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:90中列出的氨基酸序列的轻链可变区;或

(j) 含有SEQ ID NO:99中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:100中列出的氨基酸序列的轻链可变区。

29. 如权利要求25-28中任一项所述的缀合物,其中所述鹅膏蕈毒素-接头缀合物由式

(I) 表示



其中 R_1 是H、OH、 OR_A 或 OR_C ;

R_2 是H、OH、 OR_B 或 OR_C ;

R_A 和 R_B ,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团;

R_3 是H、 R_C 或 R_D ;

R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 各自独立地是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 $NHRC$ 或 $NR_C R_D$;

R_9 是H、OH、 OR_C 或 OR_D ;

X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;

R_C 是-L-Z;

R_D 是任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂炔基、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基,或任选地被取代的杂芳基;

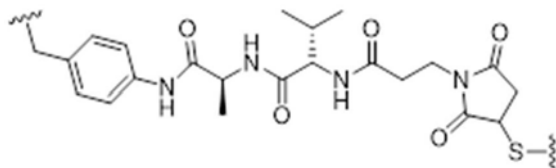
L是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂亚烷基、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂亚炔基、任选地被取代的环亚烷基、任选地被取代的杂环亚烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-,或其组合;

并且

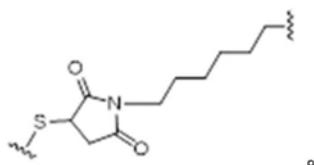
Z是由L上存在的反应性取代基与所述抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分,

其中Am精确地包含一个 R_C 取代基。

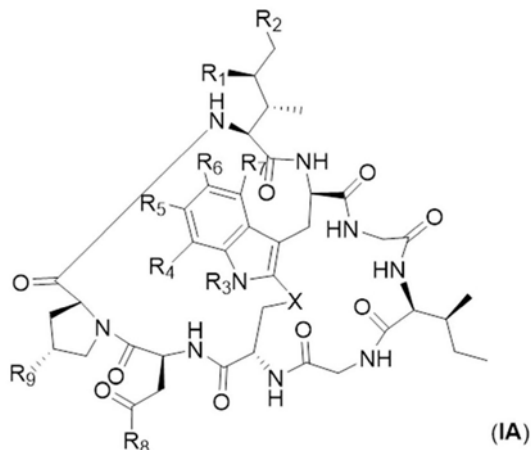
30. 如权利要求29所述的缀合物,其中L-Z是



或



31. 如权利要求25-28中任一项所述的缀合物,其中Am-L-Z由式(IA)表示



其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

R_A和R_B,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团;

R₃是H、R_C或R_D;

R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;

R₉是H、OH、OR_C或OR_D;

X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;

R_C是-L-Z;

R_D是任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂炔基、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基,或任选地被取代的杂芳基;

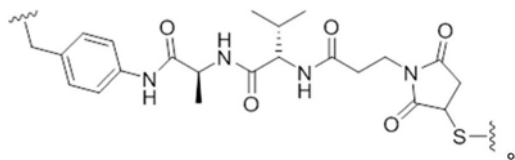
L是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂亚烷基、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂亚炔基、任选地被取代的环亚烷基、任选地被取代的杂环亚烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-,或其组合;

并且

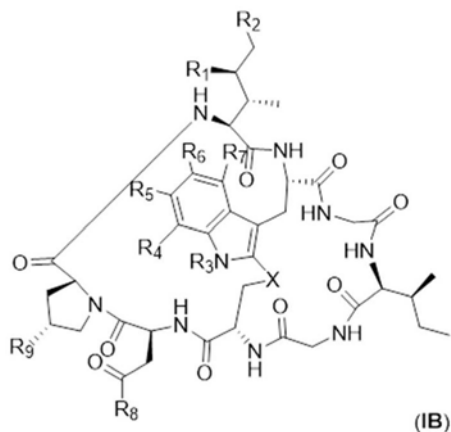
Z是由L上存在的反应性取代基与所述抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分,

其中Am精确地包含一个R_C取代基。

32. 如权利要求31所述的缀合物,其中L-Z是



33. 如权利要求25-28中任一项所述的缀合物,其中Am-L-Z由式(1B)表示



其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

R_A和R_B,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团;

R₃是H、R_C或R_D;

R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;

R₉是H、OH、OR_C或OR_D;

X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;

R_C是-L-Z;

R_D是任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂炔基、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基,或任选地被取代的杂芳基;

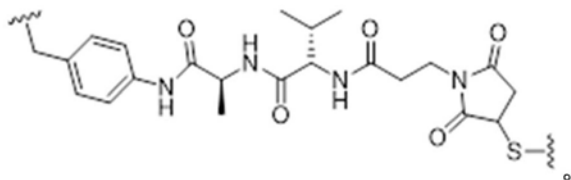
L是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂亚烷基、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂亚炔基、任选地被取代的环亚烷基、任选地被取代的杂环亚烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-,或其组合;

并且

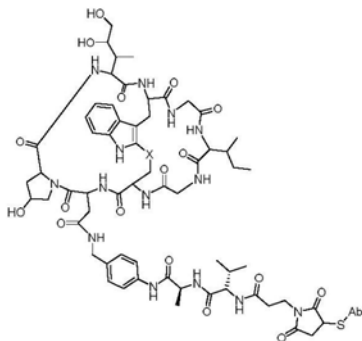
Z是由L上存在的反应性取代基与所述抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分,

其中Am精确地包含一个R_C取代基。

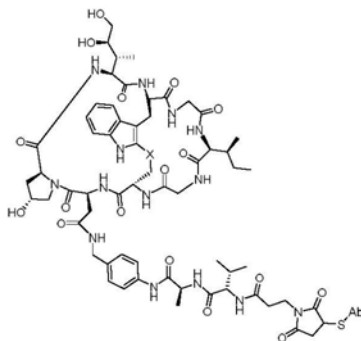
34. 如权利要求33所述的缀合物,其中L-Z是



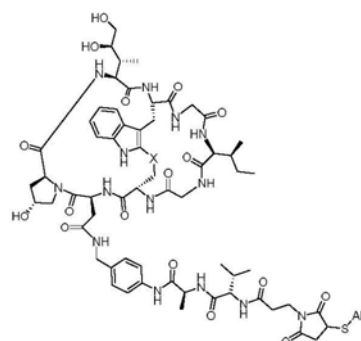
35. 如权利要求25-28中任一项所述的缀合物,其中缀合物是以下中的一种:



(IV)



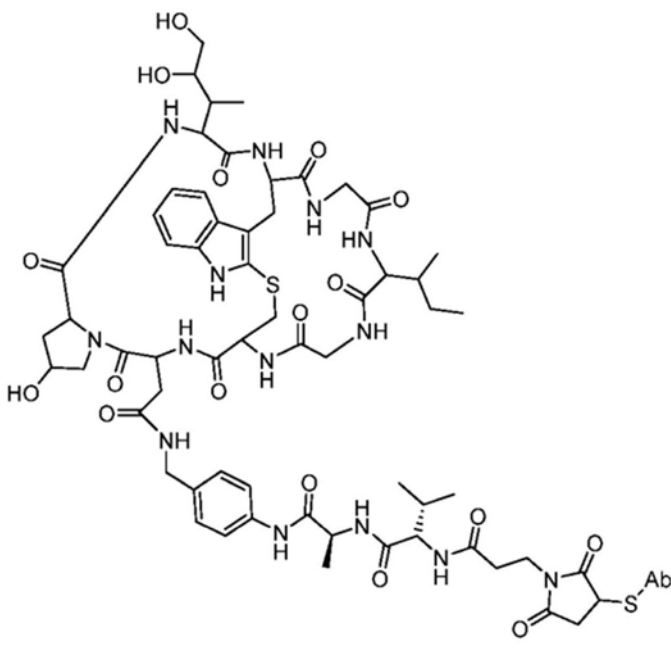
(IVA)



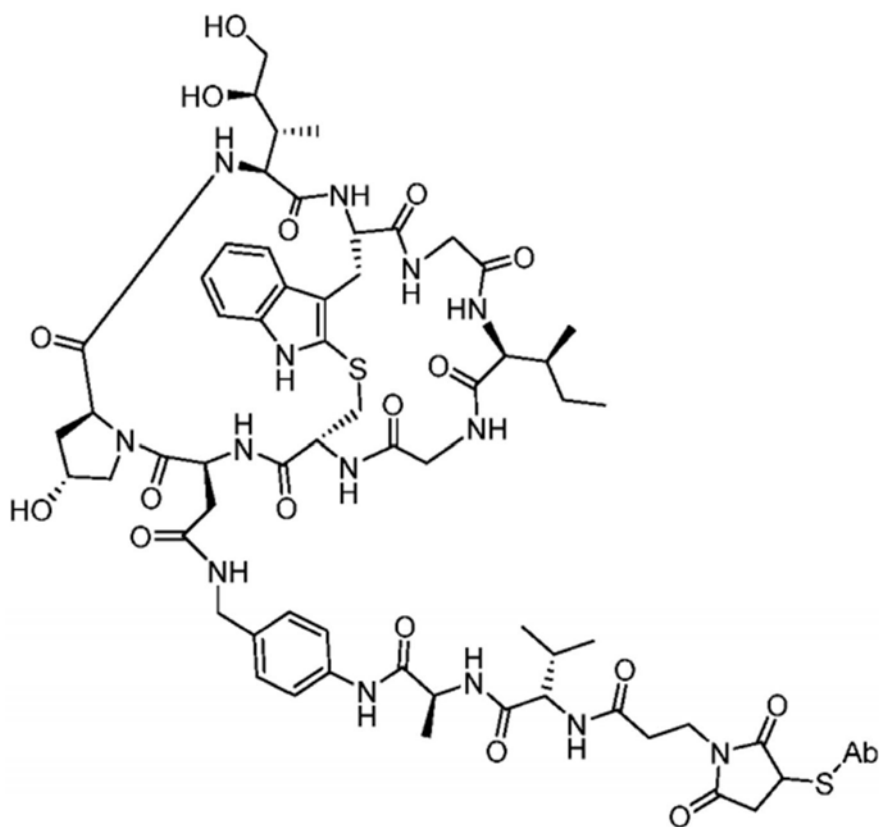
(IVB)

其中X是-S-、-S(O)-或-SO₂-。

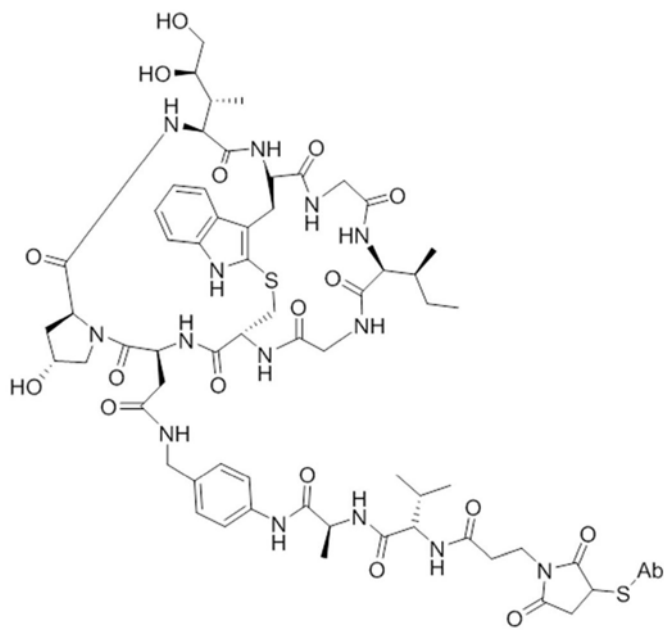
36. 如权利要求25-28中任一项所述的缀合物,其中所述缀合物是:



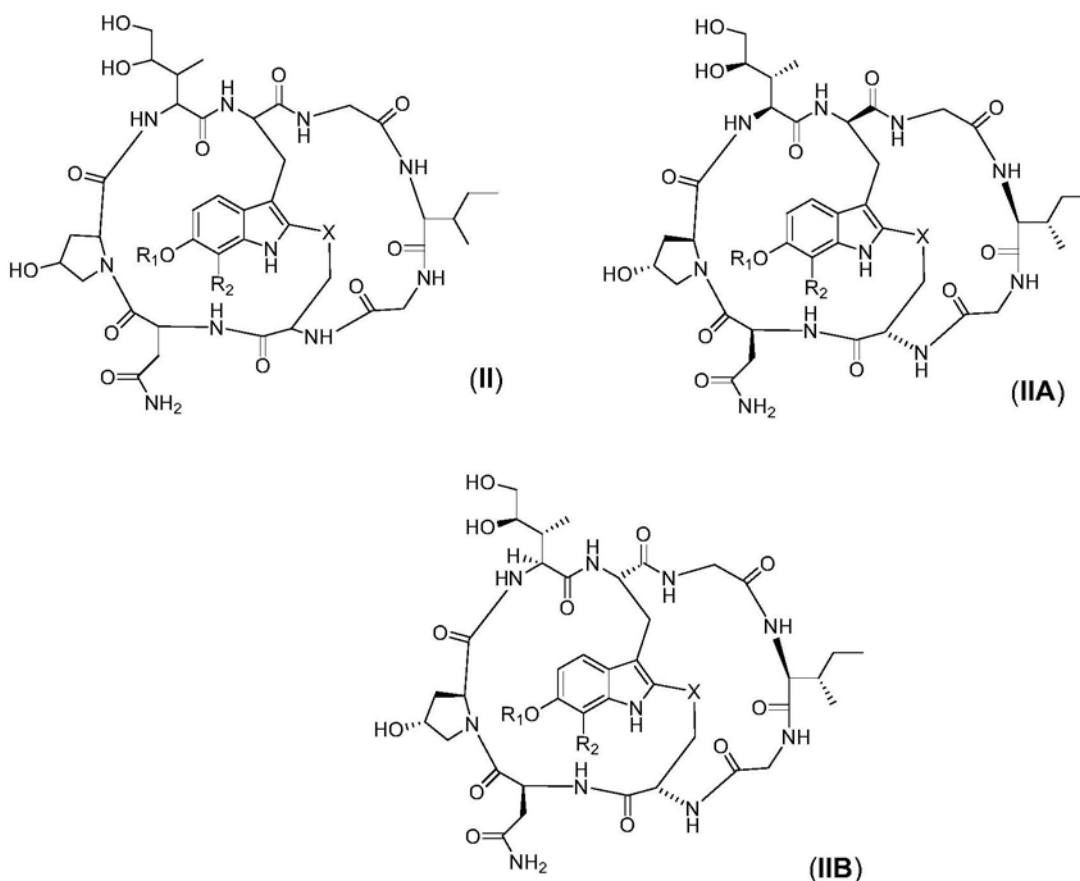
37. 如权利要求25-28中任一项所述的缀合物,其中所述缀合物是:



38. 如权利要求25-28中任一项所述的缀合物,其中所述缀合物是:



39. 如权利要求25-28中任一项所述的缀合物,其中Am-L-Z由式(II)、式(IIA)或式(IIB)表示



其中X是S、SO或SO₂;

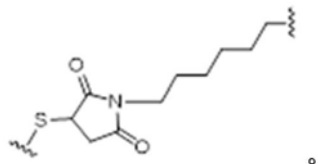
R₁是H或通过化学部分Z与所述抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由所述接头上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成;并且

R₂是H或通过化学部分Z与所述抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由所述接头上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成;

其中当R₁是H时,R₂是所述接头,且当R₂是H时,R₁是所述接头。

40. 如权利要求39所述的缀合物,其中X是SO,R₁是所述接头,并且R₂是H。

41. 如权利要求40所述的缀合物,其中L-Z是



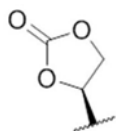
42. 如权利要求25-28中任一项所述的缀合物,其中所述抗体或其抗原结合片段通过所述抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中的半胱氨酸残基与所述鹅膏蕈毒素缀合。

43. 如权利要求42所述的缀合物,其中所述半胱氨酸残基选自由以下组成的组: Cys118、Cys239和Cys265 (根据EU索引编号)。

44. 如权利要求29、31或33中任一项所述的缀合物,其中R₁是H、OH或OR_A;

R₂是H、OH或OR_B;

R_A和R_B,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成:



R₃、R₄、R₆和R₇各自是H;

R₅是OR_C;

R₈是OH或NH₂;并且

R₉是H或OH。

45. 如权利要求29、31或33中任一项所述的缀合物,其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;

R₃是R_C;

R₄、R₆和R₇各自是H;

R₅是H、OH或OC₁-C₆烷基;

R₈是OH或NH₂;并且

R₉是H或OH。

46. 如权利要求29、31或33中任一项所述的缀合物,其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;

R₃、R₆和R₇各自是H;

R₄是OR_C或R_C;

R₅是H、OH或OC₁-C₆烷基;

R₈是OH或NH₂;并且

R₉是H或OH。

47. 如权利要求29、31或33中任一项所述的缀合物,其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;

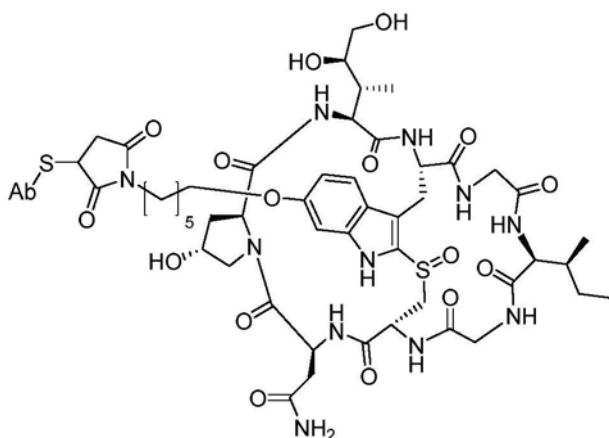
R₃、R₆和R₇各自是H;

R₄和R₅各自独立地是H或OH;

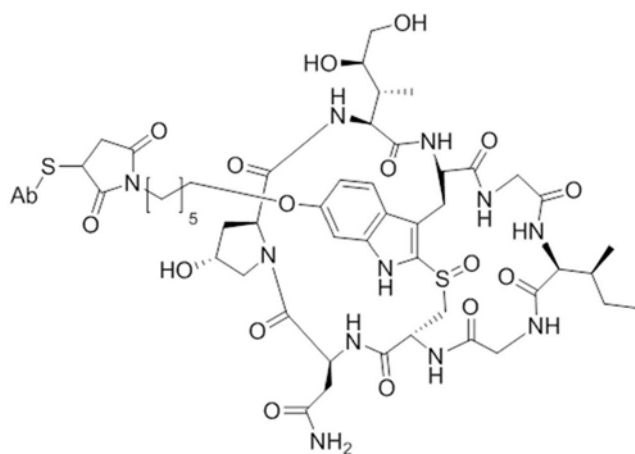
R₈是OR_C或NHR_C;并且

R₉是H或OH。

48. 如权利要求25-28中任一项所述的缀合物,其中所述缀合物是:



或



49. 如权利要求29-48中任一项所述的缀合物, 其中所述抗体或其抗原结合片段被CD117+细胞内化。

50. 如权利要求29-48中任一项所述的缀合物, 其中通过BLI确定, 所述抗体或其抗原结合片段以约0.1pM至约1μM的 K_d 结合CD117。

51. 如权利要求29-48中任一项所述的缀合物, 其中通过生物层干涉测量术 (BLI) 测定确定, 所述抗体或其抗原结合片段以以下 K_d 结合CD117: 约100nM或更小、约90nM或更小、约80nM或更小、约70nM或更小、约60nM或更小、约50nM或更小、约40nM或更小、约30nM或更小、约20nM或更小、约10nM或更小、约8nM或更小、约6nM或更小、约4nM或更小、约2nM或更小、约1nM或更小。

52. 如权利要求29-48中任一项所述的缀合物, 其中通过BLI确定, 所述抗体或其抗原结合片段以约 $1 \times 10^{-3} s^{-1}$ 至约 $1 \times 10^6 s^{-1}$ 的 K_{OFF} 结合CD117。

53. 如权利要求29-48中任一项所述的缀合物, 其中通过生物层干涉测量术 (BLI) 测量, 所述抗体或其抗原结合片段以以下 K_{OFF} 结合CD117: 1×10^{-2} 至 1×10^{-3} 、 1×10^{-3} 至 1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 至 1×10^{-6} 、 1×10^{-6} 至 1×10^{-7} 或 1×10^{-7} 至 1×10^{-8} 。

54. 如权利要求25-50中任一项所述的缀合物, 其中所述抗体或其抗原结合片段是人类的。

55. 如权利要求25-51中任一项所述的缀合物, 其中所述抗体是完整抗体。

56. 如权利要求25-52中任一项所述的缀合物, 其中所述抗体是IgG。

57. 如权利要求53所述的缀合物, 其中所述IgG是IgG1或IgG4。

58. 如权利要求25-54中任一项所述的缀合物, 其中所述抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体。

59. 如权利要求25-55中任一项所述的缀合物, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:122中列出的氨基酸序列的重链恒定区和/或包含SEQ ID NO:121中列出的氨基酸序列的轻链恒定区。

60. 如权利要求25-55中任一项所述的缀合物, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含Fc区, 所述Fc区包含至少一个选自由以下组成的组的氨基酸取代: D265C、H435A、L234AA和L235A(根据EU索引编号)。

61. 如权利要求57所述的缀合物, 其中所述Fc区包含D265C、L234A和L235A(根据EU索引编号)。

62. 如权利要求25-50中任一项所述的缀合物,其中所述抗体是完整抗体,所述完整抗体包含轻链和重链,所述轻链包含SEQ ID NO:109中列出的氨基酸序列,所述重链包含选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114。

63. 一种耗尽人类患者的CD117+细胞的群体的方法,所述方法包括将有效量的如权利要求25-62中任一项所述的缀合物施用至所述患者。

64. 一种耗尽需要造血干细胞移植的人类患者的CD117+细胞的群体的方法,所述方法包括在所述患者接受包含造血干细胞的移植物之前,将有效量的如权利要求25-62中任一项所述的缀合物施用至所述患者。

65. 一种方法,所述方法包括:

a. 向人类患者施用足以耗尽所述患者的CD117+细胞的群体的量的如权利要求25-62中任一项所述的缀合物;以及

b. 随后向所述患者施用包含造血干细胞的移植物。

66. 如权利要求63-65中任一项所述的方法,其中所述CD117是GNNK+CD117。

67. 如权利要求63-66中任一项所述的方法,其中所述缀合物在被施用至所述患者后被癌细胞、自身免疫性细胞或造血干细胞内化。

68. 如权利要求63-67中任一项所述的方法,其中在所述缀合物的浓度基本上从所述患者的血液清除后,将包含造血干细胞的所述移植物施用至所述患者。

69. 如权利要求63-67中任一项所述的方法,其中在所述造血干细胞被移植到所述患者中两天或更多天后所述造血干细胞或其后代仍然维持造血干细胞功能潜力。

70. 如权利要求63-69中任一项所述的方法,其中在所述造血干细胞被移植到所述患者中后,所述造血干细胞或其后代能够定位至造血组织和/或重建血细胞生成。

71. 如权利要求63-70中任一项所述的方法,其中在被移植到所述患者中后,所述造血干细胞引起选自以下组成的组的细胞的群体的恢复:巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞。

72. 如权利要求63-71中任一项所述的方法,其中所述患者罹患干细胞紊乱。

73. 如权利要求63-71中任一项所述的方法,其中所述患者罹患血红蛋白异常性紊乱、骨髓增生异常性紊乱、免疫缺陷性紊乱或代谢紊乱。

74. 如权利要求73所述的方法,其中所述血红蛋白异常性紊乱选自以下组成的组:镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征。

75. 如权利要求73所述的方法,其中所述免疫缺陷性紊乱是先天性免疫缺陷或获得性免疫缺陷。

76. 如权利要求75所述的方法,其中所述获得性免疫缺陷是人类免疫缺陷病毒或获得性免疫缺陷综合征。

77. 如权利要求73所述的方法,其中所述代谢紊乱选自以下组成的组:糖原贮积病、黏多糖贮积病、高歇氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积病和异染性脑白质营养不良。

78. 如权利要求63-71中任一项所述的方法,其中所述患者罹患癌症。

79. 如权利要求78所述的方法, 其中所述癌症选自由以下组成的组: 白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤和神经母细胞瘤。

80. 如权利要求78所述的方法, 其中所述癌症是血液学癌症。

81. 如权利要求80所述的方法, 其中所述血液学癌症是急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病或多发性骨髓瘤。

82. 如权利要求78所述的方法, 其中所述癌症是弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。

83. 如权利要求63-71中任一项所述的方法, 其中所述患者罹患选自由以下组成的组的紊乱: 腺苷脱氨酶缺乏症和重症联合免疫缺陷病、高免疫球蛋白M综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化和青少年类风湿性关节炎。

84. 如权利要求63-71中任一项所述的方法, 其中所述患者罹患自身免疫性紊乱。

85. 如权利要求84所述的方法, 其中所述自身免疫性紊乱选自由以下组成的组: 多发性硬化、人类系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎性肠病、治疗银屑病、1型糖尿病、急性播散性脑脊髓炎、爱迪生氏病、普秃、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病、自身免疫性淋巴细胞增生综合征、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、克罗恩氏病、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状红斑狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征、格雷夫斯病、格林-巴利综合征、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、青少年关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病、重症肌无力、神经性肌强直、斜视眼阵挛肌阵挛综合征、视神经炎、奥德氏甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、莱特尔综合征、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、大动脉炎、颞动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛和韦格纳肉芽肿病。

用于耗尽CD117+细胞的组合物和方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求以下的优先权：于2017年10月24日提交的美国临时申请第62/576571号；于2017年10月24日提交的美国临时申请第62/576593号；于2017年10月24日提交的美国临时申请第62/576625号；于2017年10月24日提交的美国临时申请第62/576628号；于2018年3月2日提交的美国临时申请第62/638049号；于2017年10月24日提交的美国临时申请第62/576629号；于2017年10月24日提交的美国临时申请第62/576626号；于2017年10月24日提交的美国临时申请第62/576588号；于2017年10月24日提交的美国临时申请第62/576590号；于2018年3月2日提交的美国临时申请第62/638051号；于2017年10月24日提交的美国临时申请第62/576597号；和于2017年10月24日提交的美国临时申请第62/576605号。将每个优先权申请的内容通过引用并入本文。

[0003] 序列列表

[0004] 本申请包括序列列表，所述序列列表已经以ASCII格式电子地提交并且在此通过引用以其整体并入。创建于2018年10月19日的所述ASCII副本名称为M103034_1280W0_Sequence Listing.txt，并且大小为136,387字节。

发明领域

[0005] 本发明涉及抗CD117抗体及其抗体药物缀合物(ADC)，以及通过施用能够结合由造血细胞诸如造血干细胞表达的CD117的抗体或ADC来治疗罹患多种病理诸如尤其是血液疾病、代谢紊乱、癌症和自身免疫性疾病的患者。

[0006] 发明背景

[0007] 尽管在医学领域取得了进步，但对治疗造血系统病理，诸如尤其是特定血细胞的疾病、代谢紊乱、癌症和自身免疫性状况仍然存在需求。虽然造血干细胞具有显著的治疗潜力，但阻碍其在临床中使用的限制是与确保造血干细胞移植在宿主中的植入相关的困难。

[0008] 目前，对可以用作调节剂的靶向特定内源性干细胞以促进外源性造血干细胞植入物的植入使得这些细胞的多潜能性和造血功能性在植入后在患者中得以保留的组合物存在需求。

[0009] CD117(也被称为c-kit或干细胞因子受体(SCRF))是一种结合配体干细胞因子(SCF)的单跨膜受体酪氨酸激酶。SCF诱导cKIT的同二聚化，这激活cKIT的酪氨酸激酶活性，并且通过PI3-AKT和MAPK途径传导信号(Kindblom等人, Am J.Path.1998 152(5):1259)。

[0010] CD117最初被发现是一种癌基因，并且在肿瘤学领域中被研究(参见，例如，Stankov等人(2014) Curr Pharm Des.20(17):2849-80)。目前正在研究针对CD117的抗体药物缀合物(KTN0158)，用于治疗难治性胃肠间质瘤(GIST)(例如，“KTN0158, a humanized anti-KIT monoclonal antibody, demonstrates biologic activity against both normal and malignant canine mast cells” London等人(2016) Clin Cancer Res DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2152)。

[0011] CD117在造血干细胞(HSC)上高度表达。该表达模式使CD117成为用于调节各种各样的疾病的潜在的靶。然而,对于有效调节患者以便于移植诸如骨髓移植的基于抗CD117的疗法仍有需求。

[0012] 发明概述

[0013] 本文描述了特异性结合人类CD117(也被称为c-kit)的抗体及其抗原结合部分,以及所述抗体的组合物和使用所述抗体的方法。特别地,本文描述的抗体和片段可以用于抗CD117抗体药物缀合物(ADC)。

[0014] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列的轻链可变区,和含有SEQ ID NO:9中列出的氨基酸序列的重链可变区。

[0015] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含轻链可变区,所述轻链可变区含有如SEQ ID NO:14中列出的CDR1结构域、如SEQ ID NO:15中列出的CDR2结构域、如SEQ ID NO:16中列出的CDR3结构域;并且包含重链可变区,所述重链可变区含有如SEQ ID NO:11中列出的CDR1结构域、如SEQ ID NO:12中列出的CDR2结构域、如SEQ ID NO:13中列出的CDR3结构域。

[0016] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含含有如SEQ ID NO:31中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:32中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:33中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有如SEQ ID NO:34中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:35中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:36中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

[0017] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含含有如SEQ ID NO:21中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:22中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:23中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有如SEQ ID NO:24中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:25中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:26中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

[0018] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含含有如SEQ ID NO:41中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:42中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:43中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有如SEQ ID NO:44中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:45中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:46中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

[0019] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含含有如SEQ ID NO:51中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:52中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:53中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有如SEQ ID NO:54中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:55中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:56中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

[0020] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可

变区包含含有如SEQ ID NO:61中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:62中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:63中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有如SEQ ID NO:64中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:65中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:66中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

[0021] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含含有如SEQ ID NO:71中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:72中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:73中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有如SEQ ID NO:74中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:75中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:76中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

[0022] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含含有如SEQ ID NO:81中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:82中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:83中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有如SEQ ID NO:84中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:85中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:86中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

[0023] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含含有如SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:12中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:13中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有如SEQ ID NO:14中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:15中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:16中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

[0024] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含含有如SEQ ID NO:91中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:92中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:93中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有如SEQ ID NO:94中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:95中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:96中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

[0025] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含含有如SEQ ID NO:101中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:102中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:103中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有如SEQ ID NO:104中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:105中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:106中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

[0026] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含含有如SEQ ID NO:127中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:128中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:129中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有如SEQ ID NO:130中列出的氨

氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:131中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:132中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

[0027] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含含有如SEQ ID NO:133中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:134中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:135中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有如SEQ ID NO:136中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:137中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:138中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

[0028] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含重链可变区,所述重链可变区包含含有如SEQ ID NO:139中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:140中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:141中列出的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链可变区,所述轻链可变区包含含有如SEQ ID NO:142中列出的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如SEQ ID NO:143中列出的氨基酸序列的CDR2结构域,以及含有如SEQ ID NO:144中列出的氨基酸序列的CDR3结构域。

[0029] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有如SEQ ID NO:29中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有如SEQ ID NO:30中列出的氨基酸序列的轻链可变区。

[0030] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有如SEQ ID NO:19中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有如SEQ ID NO:20中列出的氨基酸序列的轻链可变区。

[0031] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有如SEQ ID NO:39中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有如SEQ ID NO:40中列出的氨基酸序列的轻链可变区。

[0032] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有如SEQ ID NO:49中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有如SEQ ID NO:50中列出的氨基酸序列的轻链可变区。

[0033] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有如SEQ ID NO:59中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有如SEQ ID NO:60中列出的氨基酸序列的轻链可变区。

[0034] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有如SEQ ID NO:69中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有如SEQ ID NO:70中列出的氨基酸序列的轻链可变区。

[0035] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有如SEQ ID NO:79中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有如SEQ ID NO:80中列出的氨基酸序列的轻链可变区。

[0036] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有如SEQ ID NO:9中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有如SEQ ID NO:10中列出的氨基酸序列的轻链可变区。

[0037] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有如SEQ ID NO:89中

列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有如SEQ ID NO:90中列出的氨基酸序列的轻链可变区。

[0038] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有如SEQ ID NO:99中列出的氨基酸序列的重链可变区,和含有如SEQ ID NO:100中列出的氨基酸序列的轻链可变区。

[0039] 在一些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含含有氨基酸取代D265C(根据EU索引编号)的Fc区。

[0040] 在一些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含含有氨基酸取代D265C、L234A和L2345A(根据EU索引编号)的Fc区。

[0041] 在一些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含含有氨基酸取代D265C和H435A(根据EU索引编号)的Fc区。

[0042] 在一些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含含有氨基酸取代D265C、L234A、L2345A和H435A(根据EU索引编号)的Fc区。

[0043] 在一些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含(i)含有如SEQ ID NO:121中列出的氨基酸序列的轻链恒定区,和(ii)含有如SEQ ID NO:122中列出的氨基酸序列的重链恒定区。

[0044] 在一些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含(i)含有如SEQ ID NO:121中列出的氨基酸序列的轻链恒定区,和(ii)含有如SEQ ID NO:123中列出的氨基酸序列的重链恒定区。

[0045] 在一些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含(i)含有如SEQ ID NO:121中列出的氨基酸序列的轻链恒定区,和(ii)含有如SEQ ID NO:124中列出的氨基酸序列的重链恒定区。

[0046] 在一些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含(i)含有如SEQ ID NO:121中列出的氨基酸序列的轻链恒定区,和(ii)含有如SEQ ID NO:125中列出的氨基酸序列的重链恒定区。

[0047] 在一些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含(i)含有如SEQ ID NO:121中列出的氨基酸序列的轻链恒定区,和(ii)含有如SEQ ID NO:126中列出的氨基酸序列的重链恒定区。

[0048] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段被CD117+细胞内化。

[0049] 在另一种实施方案中,如通过BLI确定的,抗体或其抗原结合片段以约0.1pM至约1μM的 K_d 结合CD117。在一种实施方案中,如通过生物层干涉测量术(BLI)测定确定的,抗体或其抗原结合片段以以下 K_D 结合CD117:约100nM或更小、约90nM或更小、约80nM或更小、约70nM或更小、约60nM或更小、约50nM或更小、约40nM或更小、约30nM或更小、约20nM或更小、约10nM或更小、约8nM或更小、约6nM或更小、约4nM或更小、约2nM或更小、约1nM或更小。在仍另一种实施方案中,如通过BLI确定的,抗体或其抗原结合片段以约 $1 \times 10^{-3} s^{-1}$ 至约 $1 \times 10^6 s^{-1}$ 的 K_{OFF} 结合CD117。在仍另一种实施方案中,如通过生物层干涉测量术(BLI)测量的,抗体或其抗原结合片段以以下 K_{OFF} 结合CD117: 1×10^{-2} 至 1×10^{-3} 、 1×10^{-3} 至 1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 至 1×10^{-6} 、 1×10^{-6} 至 1×10^{-7} 或 1×10^{-7} 至 1×10^{-8} 。

[0050] 在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段是人类的。

[0051] 在某些实施方案中,抗CD117抗体是完整抗体。

[0052] 在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段是IgG,例如,IgG1或IgG4。

[0053] 在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体。

[0054] 在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含具有如SEQ ID NO:122中列出的氨基酸序列的重链恒定区和/或含有如SEQ ID NO:121中列出的氨基酸序列的轻链恒定区。

[0055] 在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含含有如SEQ ID NO:109中列出的氨基酸序列的轻链和含有选自由以下组成的组的氨基酸序列的重链:SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:111、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113和SEQ ID NO:114。

[0056] 本文描述的抗体、片段和ADC,包括抗体54 (Ab54)、抗体55 (Ab55)、抗体56 (Ab56)、抗体57 (Ab57)、抗体58 (Ab58)、抗体61 (Ab61)、抗体66 (Ab66)、抗体67 (Ab67)、抗体68 (Ab68)或抗体69 (Ab69),可以在用于治疗尤其是多种造血系统紊乱、代谢紊乱、癌症和自身免疫性疾病的组合物和方法中使用。本发明另外地特征在于这样的方法,该方法用于在接受造血干细胞移植疗法之前调节患者诸如人类患者,以促进造血干细胞植入物的植入。患者可以是罹患一种或更多种血液紊乱诸如血红蛋白异常 (hemoglobinopathy) 或其他造血病理并且因此需要造血干细胞移植的患者。如本文描述的,造血干细胞能够分化成造血谱系中的众多细胞类型,并且可以被施用至患者以便植入 (populate) 或再植入 (re-populate) 患者中缺乏的细胞类型。

[0057] 本发明的特征在于这样的方法,该方法用能够结合由造血细胞表达的蛋白 (诸如CD117 (包括,例如,GNNK+CD117)) 的抗体和ADC治疗患者,以便 (i) 通过选择性地耗尽表达CD117的细胞的群体诸如异常血细胞、癌细胞或自身免疫性细胞来直接治疗疾病,诸如尤其是本文描述的血液紊乱、代谢疾病、癌症或自身免疫性疾病,和/或 (ii) 耗尽患者中的内源性造血干细胞的群体。前一种活性使得能够直接治疗与造血谱系细胞相关的各种各样的紊乱,因为CD117可以由癌性细胞,诸如白血病细胞,自身免疫性淋巴细胞诸如表达与自身抗原交叉反应的T细胞受体的T细胞以及其他细胞类型表达。后一种活性,即造血干细胞的选择性耗尽,继而产生空位,该空位随后可以通过移植外源性 (例如,自体、同种异体或同基因的 (syngeneic)) 造血干细胞植入物而被填充。因此,本发明提供了治疗多种造血系统状况的方法,所述造血系统状况,诸如尤其是镰状细胞性贫血症、地中海贫血、范可尼贫血、威斯科特-奥尔德里奇综合征 (Wiskott-Aldrich syndrome)、腺苷脱氨酶缺乏症-重症联合免疫缺陷病、异染性脑白质营养不良症、Diamond-Blackfan贫血和Schwachman-Diamond综合征、人类免疫缺陷病毒感染和获得性免疫缺陷综合征,以及癌症和自身免疫性疾病。

[0058] 在第一方面中,本发明提供了一种通过施用有效量的能够结合CD117的抗体或其抗原结合片段来耗尽人类患者的CD117+细胞的群体的方法,其中所述抗体或抗原结合片段与细胞毒素缀合。

[0059] 在另一方面中,本发明提供了一种通过在需要造血干细胞移植的人类患者接受含有造血干细胞的移植物之前施用有效量的能够结合CD117的抗体或其抗原结合片段来耗尽患者的CD117+细胞的群体的方法,其中所述抗体或抗原结合片段与细胞毒素缀合。

[0060] 在另一方面中,本发明的特征在于例如治疗需要造血干细胞移植的人类患者的方法,所述方法包括向人类患者施用包含造血干细胞的移植物,其中所述患者先前已经被施

用能够结合CD117的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段与细胞毒素缀合,并且被以足以耗尽患者的CD117+细胞的群体的量施用。

[0061] 在另外的方面中,本发明的特征在于例如治疗需要造血干细胞移植的人类患者的方法,所述方法包括:向人类患者施用能够结合CD117的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段与细胞毒素缀合并并且被以足以耗尽患者的CD117+细胞的群体的量施用,并且随后向患者施用包含造血干细胞的移植。

[0062] 在本发明的前述方面中任一个的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。

[0063] 在一种实施方案中,抗CD117缀合物由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是与CD117特异性结合的抗体或其抗原结合片段,L是接头,Z是化学部分,并且Am是鹅膏蕈毒素,其中所述抗体或其抗原结合片段是中性抗体,所述中性抗体当与表达CD117的细胞结合时被内化,并且具有如通过生物层干涉测量术(BLI)确定的 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 至 $1 \times 10^{-6} \text{s}^{-1}$ 的人类CD117解离速率(K_{OFF})。

[0064] 在以上方面中的任一个中,细胞毒素可以是,例如,假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱、皂草素(saporin)、美登素、美登素生物碱(maytansinoid)、澳瑞他汀(auristatin)、蒽环霉素、加利刹霉素(calicheamicin)、伊立替康、SN-38、倍癌霉素(duocarmycin)、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类或吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体。

[0065] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,CD117是GNNK+CD117。

[0066] 在另一方面中,本发明提供了一种通过在需要造血干细胞移植的人类患者接受含有造血干细胞的移植之前施用有效量的能够结合CD117的抗体或其片段来耗尽患者的CD117+细胞的群体的方法。

[0067] 在另一方面中,本发明的特征在于例如治疗需要造血干细胞移植的人类患者的方法,所述方法包括向人类患者施用包含造血干细胞的移植,其中患者先前已经被施用足以耗尽患者的CD117+细胞的群体的量的能够结合CD117的抗体或其片段。

[0068] 在另外的方面中,本发明的特征在于例如治疗需要造血干细胞移植的人类患者的方法,所述方法包括:向人类患者施用足以耗尽患者的CD117+细胞的群体的量的能够结合CD117的抗体或其片段;并且随后向患者施用包含造血干细胞的移植。

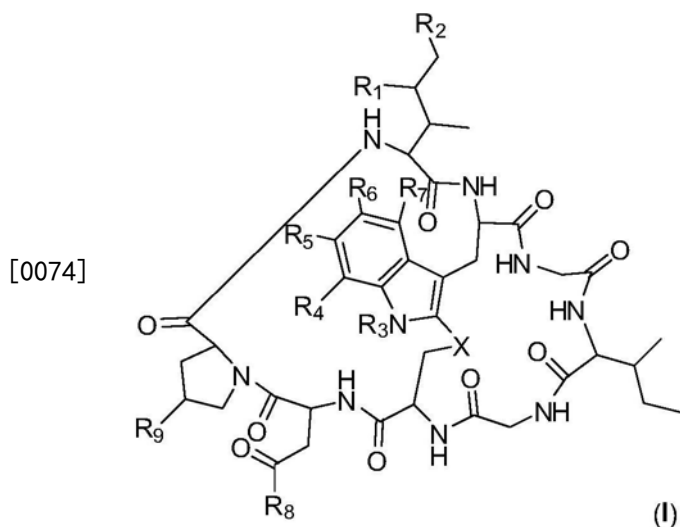
[0069] 在前述方面中任一个的一些实施方案中,结合CD117(例如GNNK+CD117)的抗体或其片段与Fc结构域诸如从人类抗体分离的(例如,从IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型人类抗体分离的)二聚体Fc结构域共价结合。在一些实施方案中,Fc结构域是含有单条多肽链的单体Fc结构域。在一些实施方案中,抗体或其片段的N-末端与Fc结构域结合。在一些实施方案中,抗体或其片段的C-末端与Fc结构域结合。Fc结构域可以与抗体或其片段的一个或多个拷贝缀合。例如,可用于本文描述的方法的缀合物包括二聚体Fc结构域,其中Fc结构域的每条多肽链与抗体或其片段缀合。Fc结构域继而可以与细胞毒素缀合,所述细胞毒素诸如本文描述的细胞毒素(例如,假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱、皂草素、美登素、美登素生物碱、澳瑞他汀、蒽环霉素、加利刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体)。

[0070] 在前述方面的一些实施方案中,抗体或其片段与细胞毒素共价结合(形成ADC),所述细胞毒素诸如本文描述的细胞毒素(例如,假单胞菌外毒素A,deBouganin、白喉毒素、鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈毒素、皂草素、美登素、美登素生物碱、澳瑞他汀、蒽环霉素、加利刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体)。在一些实施方案中,抗体或其片段的N-末端与细胞毒素结合。在一些实施方案中,抗体或其片段的C-末端与细胞毒素结合。细胞毒素继而可以与抗CD117抗体的Fc结构域缀合。

[0071] 在一些实施方案中,抗体或其片段在抗体或其片段的一个位点(例如,抗体或其片段的N-末端或C-末端)处与细胞毒素共价结合,并且在抗体或其片段上的另一个位点(例如,抗体或其片段的相对末端)处与Fc结构域共价结合。

[0072] 在一些实施方案中,Fc结构域是人类IgG1同种型Fc结构域。在一些实施方案中,Fc结构域是人类IgG2同种型Fc结构域。在一些实施方案中,Fc结构域是人类IgG3同种型Fc结构域。在一些实施方案中,Fc结构域是人类IgG4同种型Fc结构域。

[0073] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,细胞毒素是鹅膏蕈毒素或其衍生物,诸如 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺(amaninamide)、鹅膏无毒环肽(amanullin)、一羟鹅膏毒肽羧酸(amanullinic acid)和前鹅膏无毒环肽(proamanullin)。在以上方面中任一个的一些实施方案中,细胞毒素是鹅膏蕈毒素,并且与细胞毒素缀合的抗体或其抗原结合片段由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是抗体或其抗原结合片段,L是接头,Z是化学部分,并且Am是鹅膏蕈毒素。在一些实施方案中,鹅膏蕈毒素与接头缀合。在一些实施方案中,Am-L-Z由式(I)表示



[0075] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

[0076] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

[0077] R_A和R_B,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团;

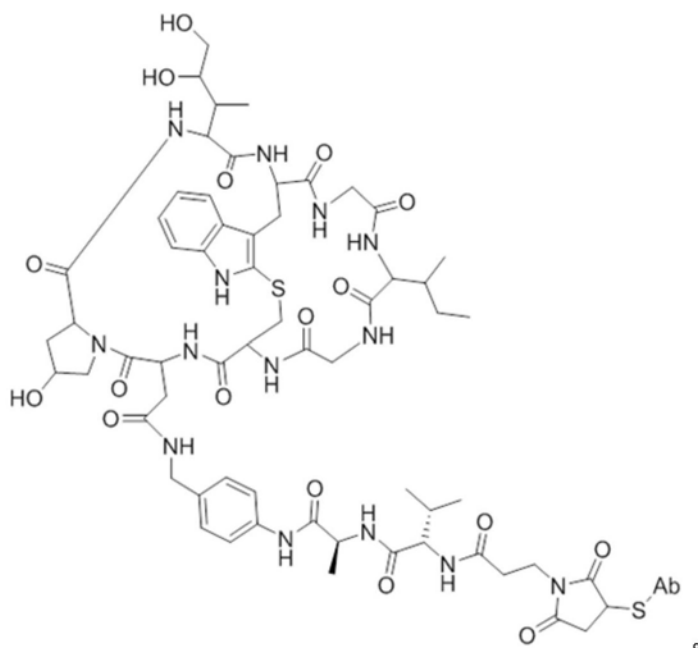
[0078] R₃是H、R_C或R_D;

[0079] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0080] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

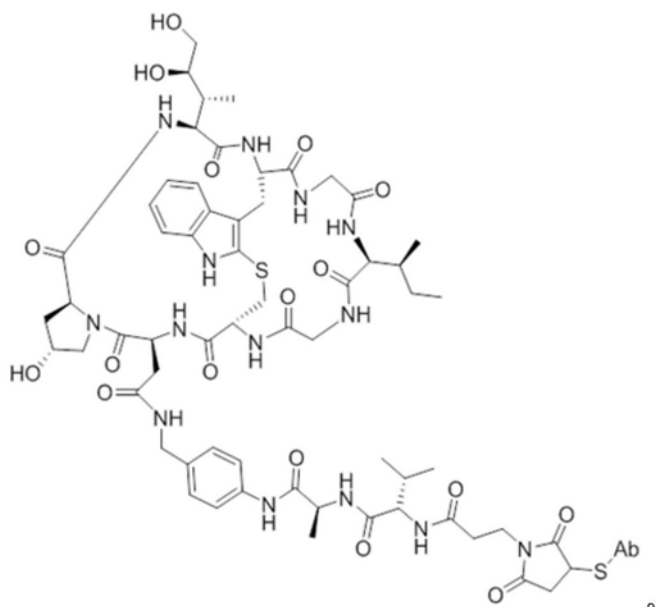
[0081] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0099]



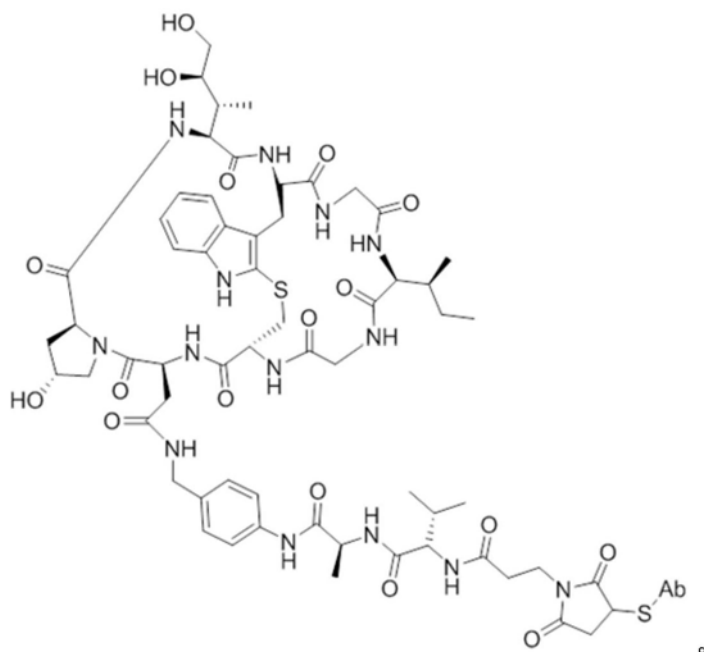
[0100] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是

[0101]



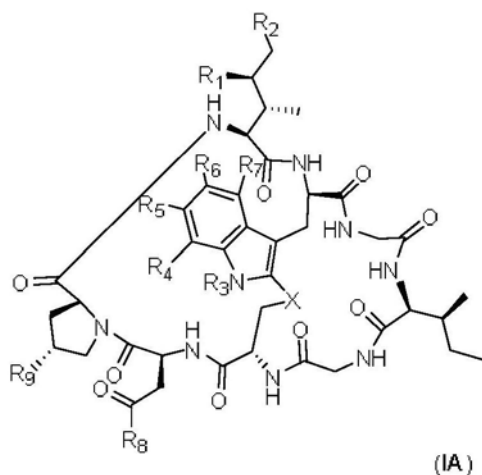
[0102] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是

[0103]



[0104] 在一些实施方案中, Am-L-Z由式 (IA) 表示

[0105]

[0106] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;[0107] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;[0108] R_A和R_B, 当存在时, 与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团;[0109] R₃是H、R_C或R_D;[0110] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;[0111] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;[0112] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;[0113] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;[0114] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;[0115] R₉是H、OH、OR_C或OR_D;[0116] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;[0117] R_C是-L-Z;[0118] R_D是任选地被取代的烷基(例如, C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如, C₁-C₆

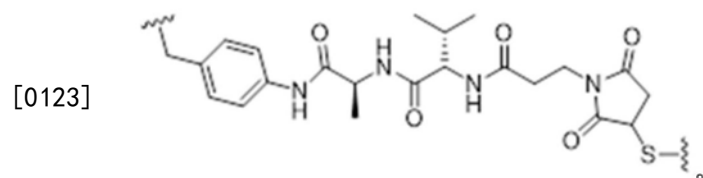
杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如,C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如,C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如,C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如,C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基,或任选地被取代的杂芳基;

[0119] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如,C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的杂亚烷基(C₁-C₆杂亚烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如,C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的杂亚烯基(例如,C₂-C₆杂亚烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如,C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的杂亚炔基(例如,C₂-C₆杂亚炔基)、任选地被取代的环亚烷基、任选地被取代的杂环亚烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-,或其组合;

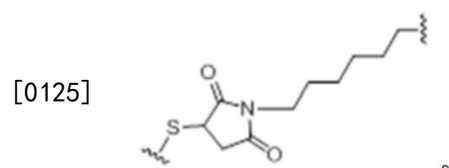
[0120] Z是由L上存在的反应性取代基与结合CD117(诸如GNNK+CD117)的抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分;并且

[0121] 其中Am精确地含有一个R_C取代基。

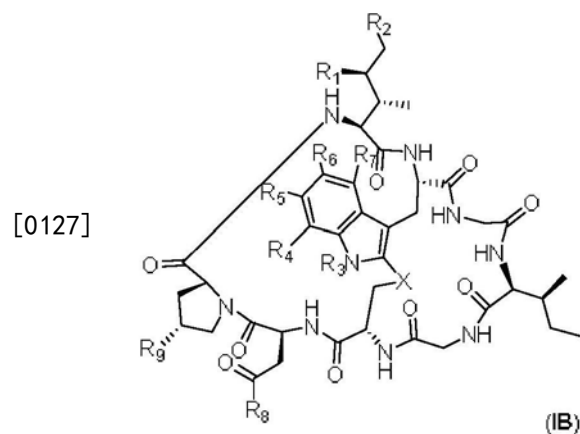
[0122] 在一些实施方案中,L-Z是



[0124] 在一些实施方案中,L-Z是



[0126] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(1B)表示



[0128] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

[0129] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

[0130] R_A和R_B,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团;

[0131] R₃是H、R_C或R_D;

[0132] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0133] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0134] R_6 是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0135] R_7 是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0136] R_8 是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;

[0137] R_9 是H、OH、OR_C或OR_D;

[0138] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;

[0139] R_C是-L-Z;

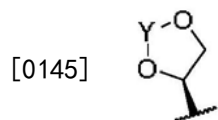
[0140] R_D是任选地被取代的烷基(例如,C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如,C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如,C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如,C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如,C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如,C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基,或任选地被取代的杂芳基;

[0141] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如,C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的杂亚烷基(C₁-C₆杂亚烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如,C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的杂亚烯基(例如,C₂-C₆杂亚烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如,C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的杂亚炔基(例如,C₂-C₆杂亚炔基)、任选地被取代的环亚烷基、任选地被取代的杂环亚烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-,或其组合;

[0142] Z是由L上存在的反应性取代基与结合CD117(诸如GNNK+CD117)的抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分;并且

[0143] 其中Am精确地含有一个R_C取代基。

[0144] 在一些实施方案中,R_A和R_B与它们结合的氧原子一起组合形成以下式的5-元杂环烷基基团:



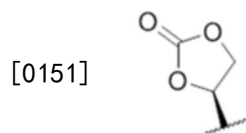
[0146] 其中Y是-(C=O)-、-(C=S)-、-(C=NR_E)-或-(CR_ER_{E'})-;并且

[0147] R_E和R_{E'}各自独立地是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基-R_C、任选地被取代的C₁-C₆杂亚烷基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆杂亚烯基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆杂亚炔基-R_C、任选地被取代的环亚烷基-R_C、任选地被取代的杂环亚烷基-R_C、任选地被取代的亚芳基-R_C,或任选地被取代的杂亚芳基-R_C。

[0148] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

[0149] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

[0150] R_A和R_B,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成:



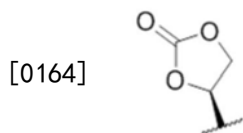
[0152] R₃是H或R_C;

[0153] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

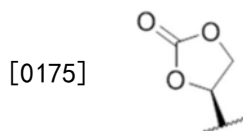
[0154] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0155] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

- [0156] R_7 是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；
[0157] R_8 是OH、NH₂、OR_C或NHR_C；
[0158] R_9 是H或OH；并且
[0159] 其中R_C和R_D各自如以上所定义。
[0160] 在一些实施方案中，Am由式 (IA) 或式 (IB) 表示，
[0161] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；
[0162] R_2 是H、OH、OR_B或OR_C；
[0163] R_A和R_B，当存在时，与它们结合的氧原子一起组合形成：

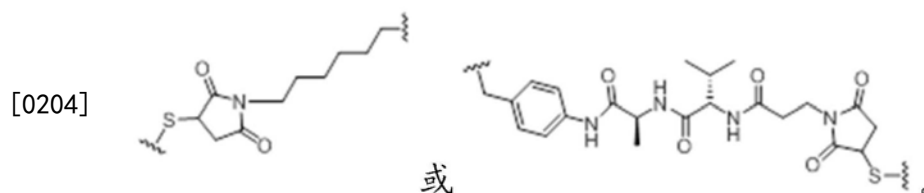


- [0165] R_3 是H或R_C；
[0166] R_4 和 R_5 各自独立地是H、OH、OR_C、R_C或OR_D；
[0167] R_6 和 R_7 各自是H；
[0168] R_8 是OH、NH₂、OR_C或NHR_C；
[0169] R_9 是H或OH；并且
[0170] 其中R_C如以上所定义。
[0171] 在一些实施方案中，Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示，
[0172] 其中R₁是H、OH或OR_A；
[0173] R_2 是H、OH或OR_B；
[0174] R_A和R_B，当存在时，与它们结合的氧原子一起组合形成：

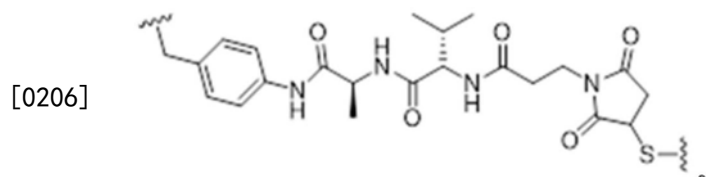


- [0176] R_3 、 R_4 、 R_6 和 R_7 各自是H；
[0177] R_5 是OR_C；
[0178] R_8 是OH或NH₂；
[0179] R_9 是H或OH；并且
[0180] 其中R_C如以上所定义。
[0181] 在一些实施方案中，Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示，
[0182] 其中R₁和R₂各自独立地是H或OH；
[0183] R_3 是R_C；
[0184] R_4 、 R_6 和 R_7 各自是H；
[0185] R_5 是H、OH或OC₁-C₆烷基；
[0186] R_8 是OH或NH₂；
[0187] R_9 是H或OH；并且
[0188] 其中R_C如以上所定义。
[0189] 在一些实施方案中，Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示，
[0190] 其中R₁和R₂各自独立地是H或OH；

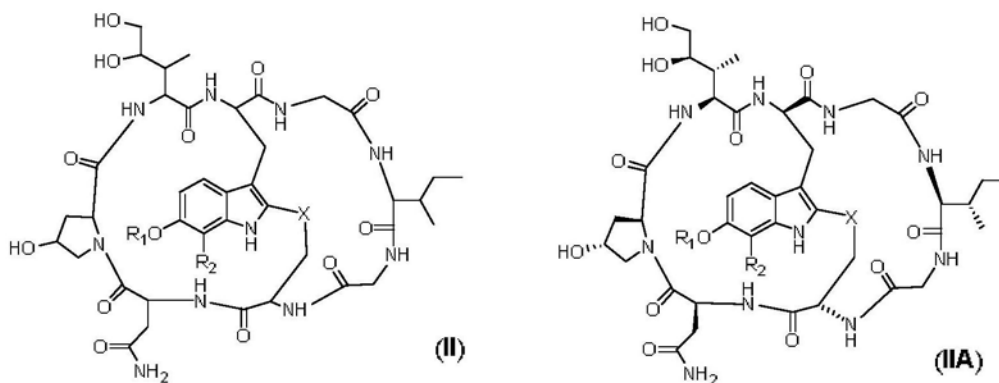
- [0191] R_3 、 R_6 和 R_7 各自是H；
[0192] R_4 和 R_5 各自独立地是H、OH、 OR_C 或 R_C ；
[0193] R_8 是OH或 NH_2 ；
[0194] R_9 是H或OH；并且
[0195] 其中 R_C 如以上所定义。
[0196] 在一些实施方案中，Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示，
[0197] 其中 R_1 和 R_2 各自独立地是H或OH；
[0198] R_3 、 R_6 和 R_7 各自是H；
[0199] R_4 和 R_5 各自独立地是H或OH；
[0200] R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 或 NHR_C ；
[0201] R_9 是H或OH；并且
[0202] 其中 R_C 如以上所定义。
[0203] 在一些实施方案中，接头L和化学部分Z合在一起为L-Z，是



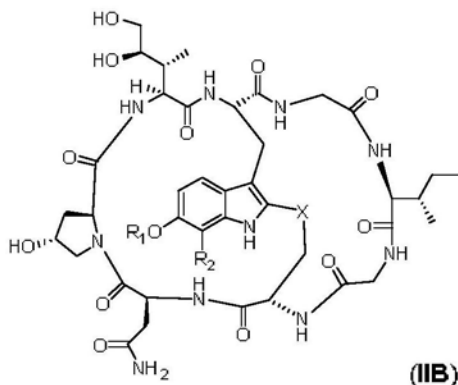
- [0205] 在一些实施方案中，L-Z是



- [0207] 在一些实施方案中，Am-L-Z由式 (II)、式 (IIA) 或式 (IIB) 表示，



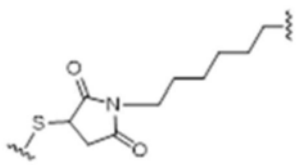
[0208]



[0209] 其中X是S、SO或SO₂;R₁是H或通过化学部分Z与抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由接头上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成;并且R₂是H或通过化学部分Z与抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由接头上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成;其中当R₁是H时,R₂是接头,而当R₂是H时,R₁是接头。在一种实施方案中,X是SO,R₁是接头,并且R₂是H。

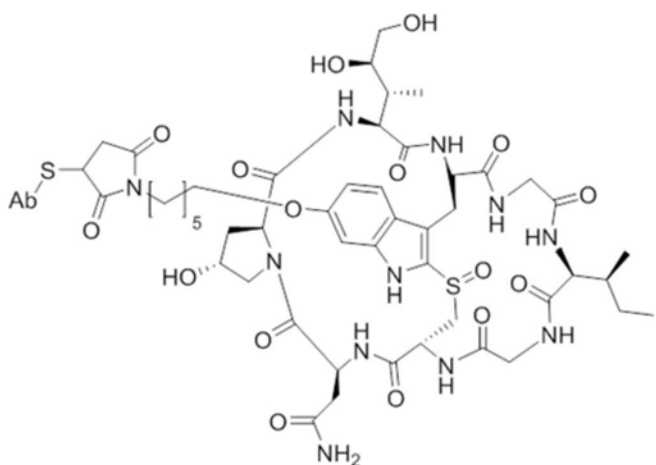
[0210] 在一些实施方案中,R₁是接头并且R₂是H,并且接头和化学部分一起作为L-Z,是

[0211]



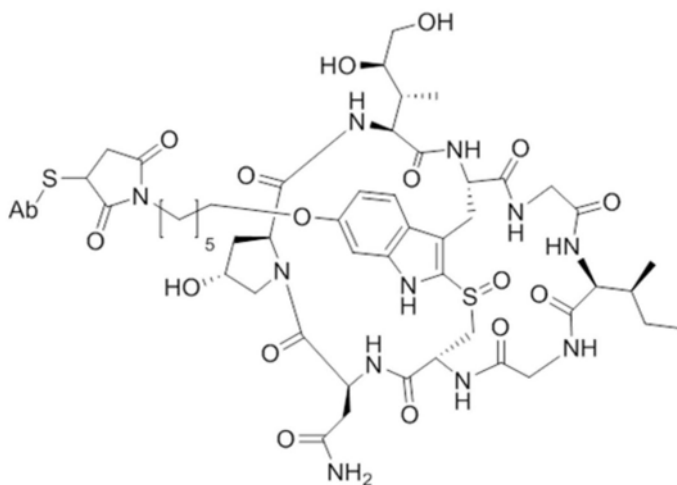
[0212] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是:

[0213]



[0214] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是:

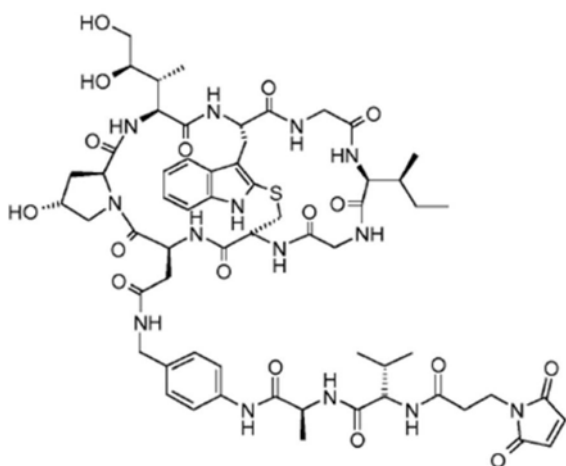
[0215]



[0216] 在一些实施方案中,缀合物由式 (IV) 表示。在一些实施方案中,缀合物由式 (IVA) 表示。在一些实施方案中,缀合物由式 (IVB) 表示。

[0217] 在一些实施方案中,Am-L-Z前体是

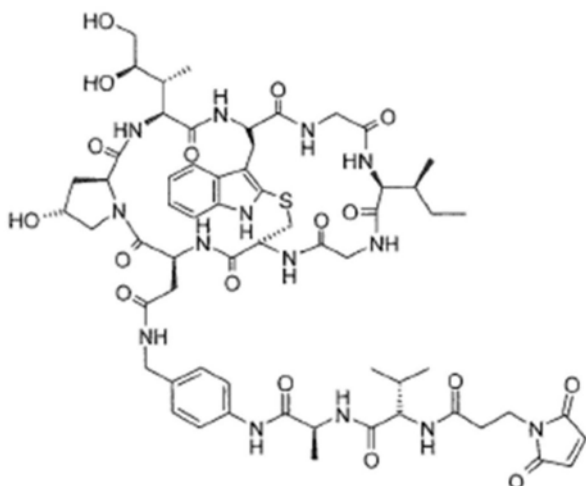
[0218]



[0219] 其中马来酰亚胺与抗体中的半胱氨酸上存在的硫醇基团反应。

[0220] 在一些实施方案中,Am-L-Z前体是

[0221]



[0222] 其中马来酰亚胺与抗体中的半胱氨酸上存在的硫醇基团反应。

[0223] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,细胞毒素是选自由以下组成的组中的美登素生物碱:DM1和DM4。在一些实施方案中,细胞毒素是选自由以下组成的组的澳瑞他汀:单甲基澳瑞他汀E和单甲基澳瑞他汀F。在一些实施方案中,细胞毒素是选自由以下组成的组的蒽环霉素:柔红霉素、多柔比星、表柔比星和伊达比星。

[0224] 在另一方面中,本发明的特征在于通过施用有效量的能够结合GNNK+CD117的抗体或其抗原结合片段或ADC来耗尽人类患者的CD117+细胞的群体的方法。

[0225] 另外,本发明的特征在于通过在需要造血干细胞移植的人类患者接受含有造血干细胞的移植之前施用有效量的能够结合GNNK+CD117的抗体或其抗原结合片段或ADC来耗尽患者的CD117+细胞的群体的方法。

[0226] 在另一方面中,本发明的特征在于例如治疗需要造血干细胞移植的人类患者的方法,所述方法包括向人类患者施用含有造血干细胞的移植,其中患者先前已经被施用足以耗尽患者的CD117+细胞的群体的量的能够结合GNNK+CD117的抗体或其抗原结合片段或ADC。

[0227] 在另外的方面中,本发明的特征在于例如治疗需要造血干细胞移植的人类患者的方法,所述方法包括:向人类患者施用足以耗尽患者的CD117+细胞的群体的量的能够结合GNNK+CD117的抗体或其抗原结合片段或ADC,以及随后向患者施用包括造血干细胞的移植。

[0228] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段选自由以下组成的组:单克隆抗体或其抗原结合片段、多克隆抗体或其抗原结合片段、人源化抗体或其抗原结合片段、双特异性抗体或其抗原结合片段、双重可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双体(diabody)、三体(triabody)、纳米抗体(nanobody)、抗体样蛋白支架、Fv片段、Fab片段、F(ab')₂分子和串联二-scFv(tandem di-scFv)。在一些实施方案中,抗体具有选自由以下组成的组的同种型:IgG、IgA、IgM、IgD和IgE。

[0229] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段或ADC在被施用至患者后被造血细胞诸如造血干细胞、癌细胞或自身免疫性细胞内化。例如,抗体或其抗原结合片段或ADC可以通过受体介导的胞吞(例如,在与细胞表面CD117诸如GNNK+CD117结合后)被造血干细胞、癌细胞或自身免疫性细胞内化。在一些实施方案中,与抗体或其抗原结

合片段共价结合的细胞毒素可以通过化学裂解(例如,通过本文描述的接头的酶促或非特异性裂解)在细胞内释放。然后细胞毒素可接近其细胞内靶(诸如尤其是有丝分裂纺锤体(mitotic spindle apparatus)、核DNA、核糖体RNA或拓扑异构酶等),以便促进内源性造血细胞的死亡诸如尤其是在移植疗法之前促进内源性造血干细胞的死亡、内源性癌细胞的死亡或内源性自身免疫性细胞的死亡。

[0230] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段或ADC能够促进造血细胞诸如尤其是造血干细胞、癌细胞或自身免疫性细胞的坏死。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段在被施用至患者后可以通过将一种或更多种补体蛋白、自然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞和/或嗜酸性粒细胞募集至细胞诸如造血干细胞,来促进尤其是在移植疗法之前内源性造血干细胞的死亡、内源性癌细胞的死亡或内源性自身免疫性细胞的死亡。

[0231] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,在抗体或其抗原结合片段或ADC的浓度已经基本上从患者的血液中清除之后,将含有造血干细胞的移植物施用至患者。

[0232] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,在造血干细胞被移植到患者中后两天或更多天(例如,从约2天至约5天、从约2天至约7天、从约2天至约20天、从约2天到约30天、诸如2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、30天或更多天)之后,造血干细胞或其后代仍然维持造血干细胞功能潜力。

[0233] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,在造血干细胞被移植到患者中后,造血干细胞或其后代能够定位至造血组织诸如骨髓和/或重建血细胞生成。

[0234] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,在被移植到患者后,造血干细胞引起选自以下组成的组的细胞的群体的恢复:巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞。

[0235] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,方法用于诸如通过在造血干细胞移植疗法之前耗尽患者的造血干细胞的群体以便提供所移植的造血干细胞可以归巢至其的小生境(niche)来治疗一种或更多种紊乱。在移植后,造血干细胞可以建立富有成效的血细胞生成,以便补充患者中的缺乏的细胞类型或者例如被化学治疗方法主动杀伤或已经杀伤的细胞类型。例如,患者可以是罹患干细胞紊乱的患者。在一些实施方案中,患者罹患血红蛋白异常性紊乱,诸如镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征(Wiskott-Aldrich syndrome)。患者可以罹患免疫缺陷性紊乱,诸如先天性免疫缺陷性紊乱或获得性免疫缺陷性紊乱(例如,人类免疫缺陷病毒或获得性免疫缺陷综合征)。在一些实施方案中,患者罹患代谢紊乱,诸如糖原贮积病、黏多糖贮积病、高歇氏病(Gaucher's Disease)、赫尔勒病(Hurlers Disease)、鞘脂贮积病和异染性脑白质营养不良。在一些实施方案中,患者罹患选自以下组成的组的紊乱:腺苷脱氨酶缺乏症和重症联合免疫缺陷病、高免疫球蛋白M综合征、切东病(Chediak-Higashi Disease)、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮和青少年类风湿性关节炎。在一些实施方案中,患者罹患自身免疫性疾病,诸如硬皮病、多发性硬化、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病和1型糖尿病。在一些实施方案中,患者罹患

癌症或骨髓增生性疾病,诸如血液学癌症。在一些实施方案中,患者罹患急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,患者罹患骨髓增生异常疾病,诸如骨髓增生异常综合征。

[0236] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,方法用于通过施用耗尽患者的CD117+癌细胞的群体的抗体或其抗原结合片段和/或通过施用抗体或其抗原结合片段以便在造血干细胞移植之前耗尽内源性造血干细胞的群体来直接治疗癌症,诸如以CD117+细胞为特征的癌症(例如,以CD117+细胞为特征的白血病)。在后一种情况下,移植继而可以重构例如在消除癌细胞的过程期间被耗尽的细胞的群体。癌症可以是血液学癌症,诸如急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。

[0237] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,方法用于诸如通过施用抗体或其抗原结合片段或ADC以便耗尽CD117+自身免疫性细胞的群体和/或通过施用抗体或其抗原结合片段以便在造血干细胞移植之前耗尽内源性造血干细胞的群体来治疗自身免疫性疾病。在后一种情况下,移植继而可以重构例如在消除自身免疫性细胞的过程期间被耗尽的细胞的群体。自身免疫性疾病可以是,例如,硬皮病、多发性硬化(MS)、人类系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿性关节炎(RA)、炎症肠病(IBD)、治疗银屑病、1型糖尿病(Type 1 diabetes mellitus)(1型糖尿病(Type 1 diabetes))、急性播散性脑脊髓炎(ADEM)、爱迪生氏病、普秃、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征(APS)、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病(AIED)、自身免疫性淋巴细胞增生综合征(ALPS)、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征(CFIDS)、慢性炎症脱髓鞘性多发性神经病、克罗恩氏病(Crohn's disease)、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病(Degos disease)、盘状红斑狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位、原发性混合型冷球蛋白血症(essential mixed cryoglobulinemia)、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征(Goodpasture's syndrome)、格雷夫斯病、格林-巴利综合征(GBS)、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、青少年关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病(MCTD)、重症肌无力、神经性肌强直、斜视眼阵挛肌阵挛综合征(OMS)、视神经炎、奥德氏甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、莱特尔综合征(Reiter's syndrome)、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、大动脉炎(Takayasu's arteritis)、颞动脉炎(又称“巨细胞动脉炎”)、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛(“外阴前庭炎”)和韦格纳肉芽肿病。

[0238] 因此,在以上方面中任一个的一些实施方案中,本发明的特征在于治疗血红蛋白异常性紊乱,诸如镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征的方法。在一些实施方案中,本发明的特征在于治疗免疫缺陷性紊乱,诸如先天性免疫缺陷性紊乱或获得性免疫缺陷性紊乱(例如,人类免疫缺陷病毒或获得性免疫缺陷综合征)的方法。在一些实施方案中,本发明的特征在于治疗代谢紊乱,诸如糖原贮

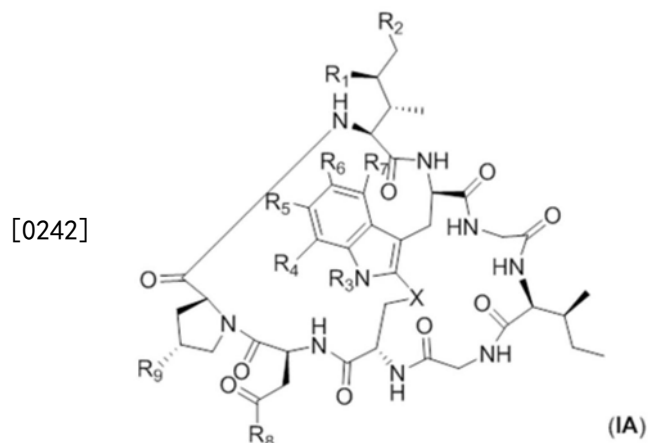
积病、黏多糖贮积病、高歇氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积病和异染性脑白质营养不良的方法。在一些实施方案中，本发明的特征在于治疗选自以下组成的组的紊乱的方法：腺苷脱氨酶缺乏症和重症综合性免疫缺陷病、高免疫球蛋白M综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮和青少年类风湿性关节炎。在一些实施方案中，本发明的特征在于治疗自身免疫性疾病，诸如硬皮病、多发性硬化、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病或1型糖尿病的方法。在一些实施方案中，本发明的特征在于治疗癌症或骨髓增生性疾病诸如血液学癌症的方法。在一些实施方案中，本发明的特征在于治疗急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤的方法。在一些实施方案中，患者罹患骨髓增生异常疾病，诸如骨髓增生异常综合征。在这些实施方案中，方法可以包括施用根据本发明的以上描述的方面和实施方案中任一个的方法的结合CD117(例如，GNNK+CD117)的抗体或其抗原结合片段或ADC和/或造血干细胞移植的步骤。

[0239] 类似地，在以上方面中任一个的一些实施方案中，本发明提供了直接治疗癌症，诸如以CD117+细胞为特征的癌症(例如，以CD117+细胞为特征的白血病)的方法。在这些实施方案中，方法包括施用结合CD117(例如GNNK+CD117)的抗体或其抗原结合片段。癌症可以是血液学癌症，诸如急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。

[0240] 另外，在以上方面中任一个的一些实施方案中，本发明提供了一种治疗自身免疫性疾病的方法，所述自身免疫性疾病诸如多发性硬化(MS)、人类系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿性关节炎(RA)、炎性肠病(IBD)、治疗银屑病、1型糖尿病(Type 1 diabetes mellitus)(1型糖尿病(Type 1 diabetes))、急性播散性脑脊髓炎(ADEM)、爱迪生氏病、普秃、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征(APS)、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病(AIED)、自身免疫性淋巴细胞增生综合征(ALPS)、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征(CFIDS)、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、克罗恩氏病、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹性皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状红斑狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征、格雷夫斯病、格林-巴利综合征(GBS)、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、青少年关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病(MCTD)、重症肌无力、神经性肌强直、斜视眼阵挛肌阵挛综合征(OMS)、视神经炎、奥德氏甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、莱特尔综合征、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、大动脉炎、颞动脉炎(也被称为“巨细胞动脉炎”)、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛(“外阴前庭炎”)和韦格纳肉芽肿病。在这些实施方案中，方法包括施用结合CD117(例如GNNK+CD117)的抗体或其抗原结合片段。

[0241] 在另一方面中，本发明的特征在于通过使CD117+(例如，GNNK+CD117)细胞的群体与有效量的由式Ab-Z-L-Am表示的缀合物(或ADC)接触来耗尽该群体的方法，其中Ab是结合CD117的抗体或其抗原结合片段，Z是化学部分，L是接头，并且Am是鹅膏蕈毒素。Am-L-Z可以

由式 (IA) 表示



[0243] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；

[0244] R₂是H、OH、OR_B或OR_C；

[0245] R_A和R_B，当存在时，与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团；

[0246] R₃是H、R_C或R_D；

[0247] R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

[0248] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D；

[0249] R₉是H、OH、OR_C或OR_D；

[0250] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-；

[0251] R_C是-L-Z；

[0252] R_D是任选地被取代的烷基(例如，C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如，C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如，C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如，C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如，C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如，C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基，或任选地被取代的杂芳基；

[0253] L是接头，诸如任选地被取代的亚烷基(例如，C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的杂亚烷基(C₁-C₆杂亚烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如，C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的杂亚烯基(例如，C₂-C₆杂亚烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如，C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的杂亚炔基(例如，C₂-C₆杂亚炔基)、任选地被取代的环亚烷基、任选地被取代的杂环亚烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-，或其组合；

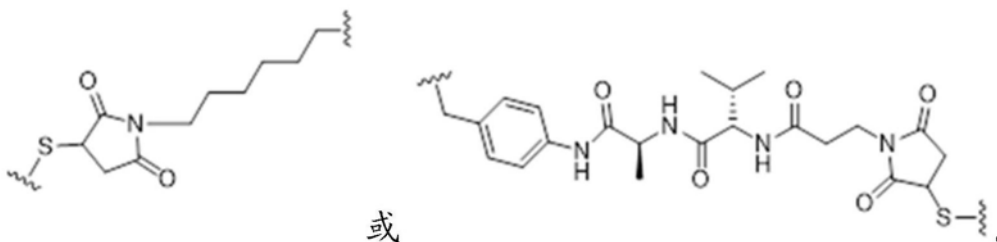
[0254] 并且

[0255] Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，

[0256] 其中Am精确地含有一个R_C取代基。

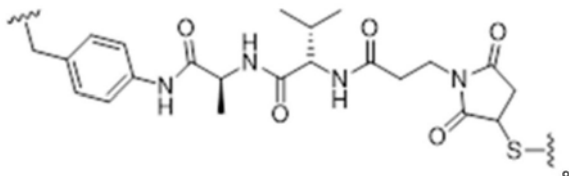
[0257] 在一些实施方案中，接头L和化学部分Z合在一起为L-Z，是

[0258]



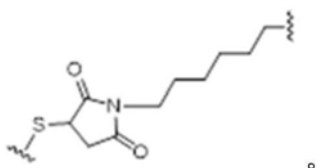
[0259] 在一些实施方案中, L-Z是

[0260]



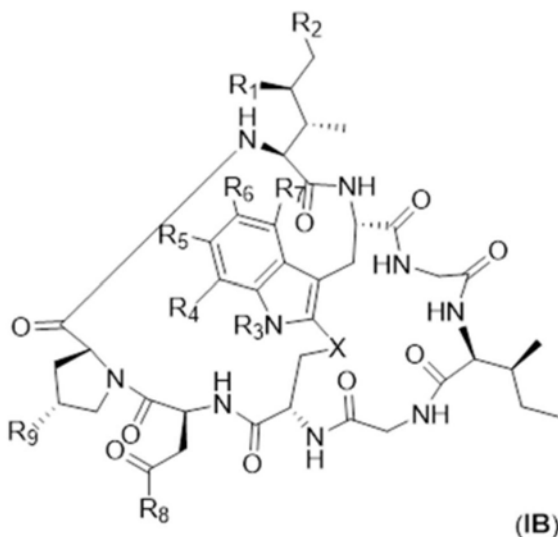
[0261] 在一些实施方案中, L-Z是

[0262]



[0263] 在一些实施方案中, Am-L-Z由式 (IB) 表示

[0264]

[0265] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;[0266] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;[0267] R_A和R_B, 当存在时, 与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团;[0268] R₃是H、R_C或R_D;[0269] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;[0270] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;[0271] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;[0272] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;[0273] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;[0274] R₉是H、OH、OR_C或OR_D;

[0275] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;

[0276] R_C是-L-Z;

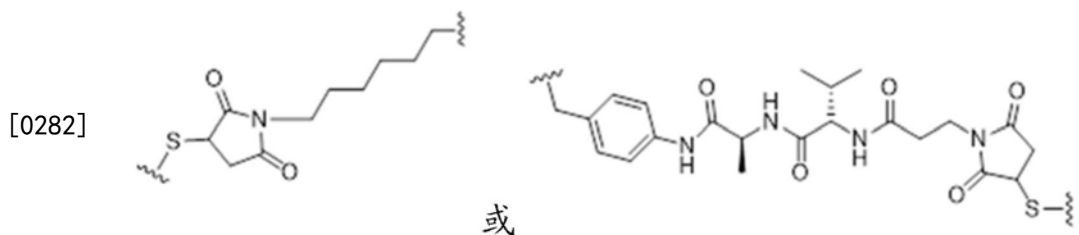
[0277] R_D是任选地被取代的烷基(例如,C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如,C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如,C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如,C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如,C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如,C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基,或任选地被取代的杂芳基;

[0278] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如,C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的杂亚烷基(C₁-C₆杂亚烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如,C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的杂亚烯基(例如,C₂-C₆杂亚烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如,C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的杂亚炔基(例如,C₂-C₆杂亚炔基)、任选地被取代的环亚烷基、任选地被取代的杂环亚烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-,或其组合;

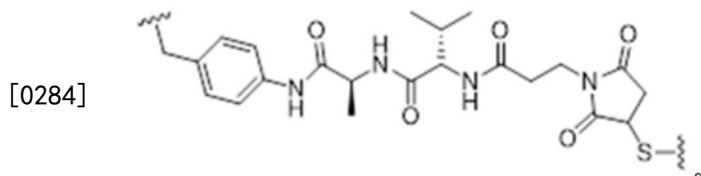
[0279] Z是由L上存在的反应性取代基与结合CD117(诸如GNNK+CD117)的抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分;并且

[0280] 其中Am精确地含有一个R_C取代基。

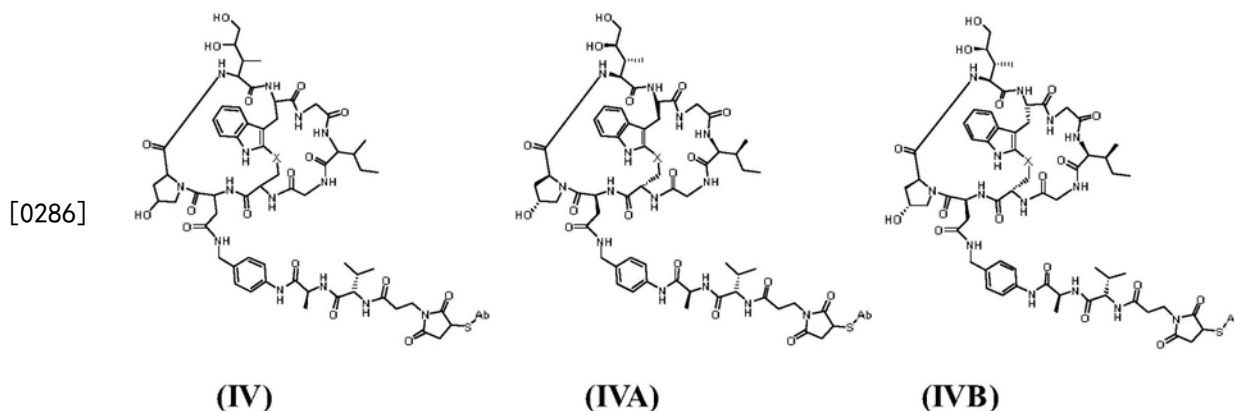
[0281] 在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起为L-Z,是



[0283] 在一些实施方案中,L-Z是



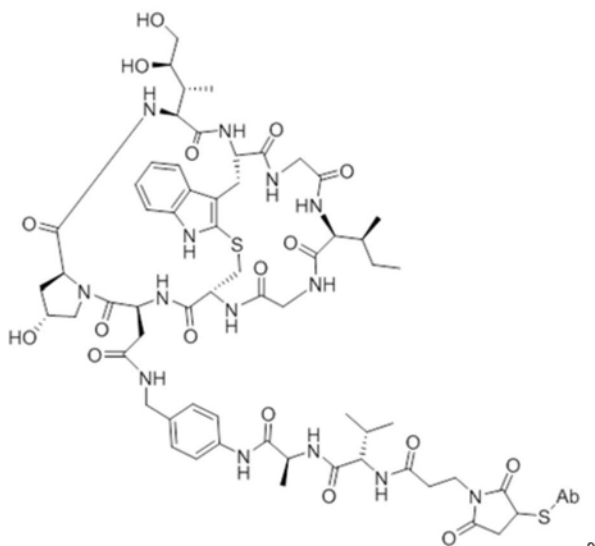
[0285] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是以下之一:



[0287] 其中X是S、SO或SO₂。

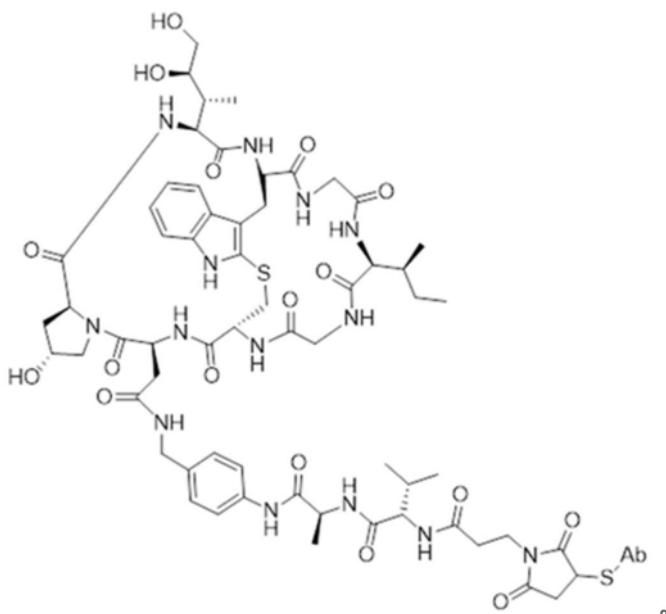
[0288] 在一些实施方案中,Ab-Z-L-Am是

[0289]



[0290] 在一些实施方案中, Ab-Z-L-Am是

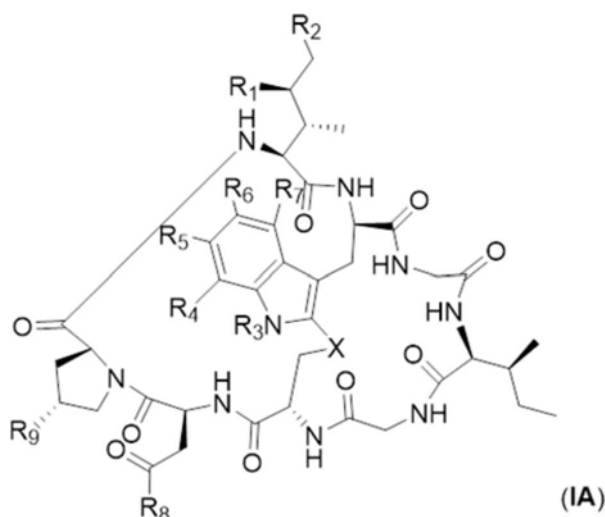
[0291]



[0292] 在另一方面中, 本发明的特征在于由式Ab-Z-L-Am表示的缀合物, 其中Ab是结合CD117 (例如, GNNK+CD117) 的抗体或其抗原结合片段, 并且Am是鹅膏蕈毒素。在一些实施方案中, Am-L-Z由以上的式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIA)或(IIB)表示。

[0293] 在一些实施方案中, 缀合物的接头-化学部分-鹅膏蕈毒素部分(Am-L-Z)由式(IA)表示

[0294]

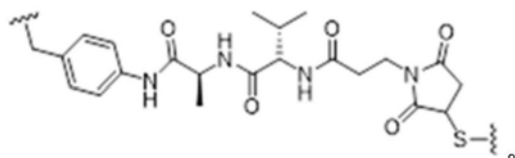
[0295] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；[0296] R₂是H、OH、OR_B或OR_C；[0297] R_A和R_B，当存在时，与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团；[0298] R₃是H、R_C或R_D；[0299] R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；[0300] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D；[0301] R₉是H、OH、OR_C或OR_D；[0302] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-；[0303] R_C是-L-Z；[0304] R_D是任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂炔基、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基，或任选地被取代的杂芳基；[0305] L是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂亚烷基、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂亚炔基、任选地被取代的环亚烷基、任选地被取代的杂环亚烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的杂亚芳基、二肽、-(C=O)-、肽，或其组合；并且

[0306] Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，

[0307] 其中Am精确地包含一个R_C取代基。

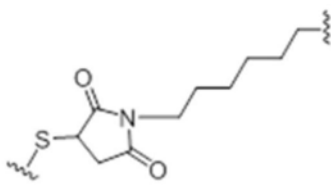
[0308] 在一些实施方案中，L-Z是

[0309]



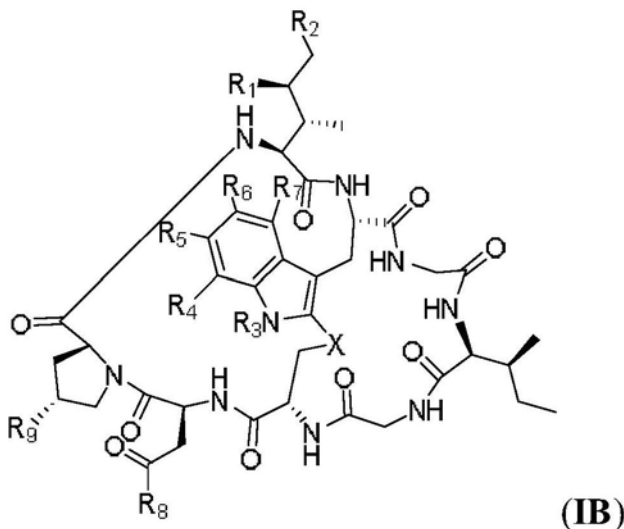
[0310] 在一些实施方案中，L-Z是

[0311]



[0312] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IB) 表示

[0313]

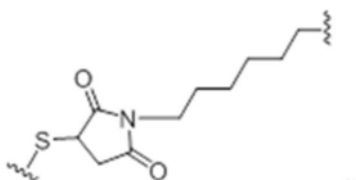
[0314] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;[0315] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;[0316] R_A和R_B,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团;[0317] R₃是H、R_C或R_D;[0318] R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;[0319] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;[0320] R₉是H、OH、OR_C或OR_D;[0321] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;[0322] R_C是-L-Z;[0323] R_D是任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂炔基、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基,或任选地被取代的杂芳基;[0324] L是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂亚烷基、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂亚炔基、任选地被取代的环亚烷基、任选地被取代的杂环亚烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的杂亚芳基、二肽、-(C=O)-、肽,或其组合;并且

[0325] Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分,

[0326] 其中Am精确地包含一个R_C取代基。

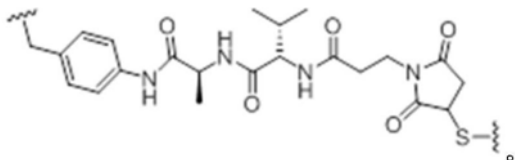
[0327] 在一些实施方案中,L-Z是

[0328]

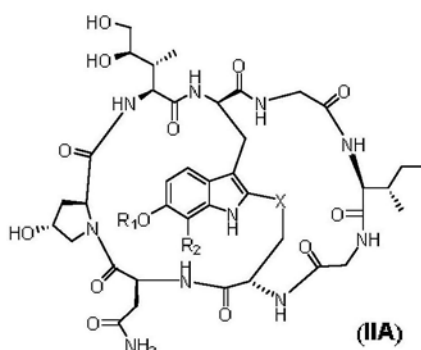
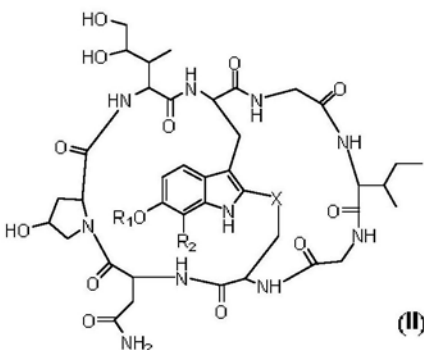


[0329] 在一些实施方案中,L-Z是

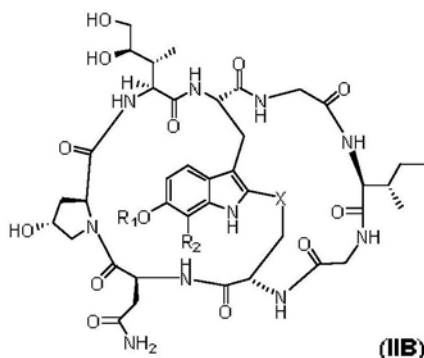
[0330]



[0331] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(II)、式(IIA)或式(IIB)表示,



[0332]

[0333] 其中X是S、S₀或S₀₂;

[0334] R₁是H或通过化学部分Z与所述抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由所述接头上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成;并且

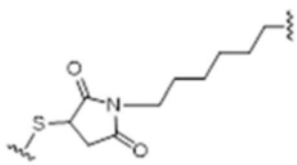
[0335] R₂是H或通过化学部分Z与抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由所述接头上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成;

[0336] 其中当R₁是H时,R₂是接头,而当R₂是H时,R₁是接头。

[0337] 在一种实施方案中,X是S₀,R₁是接头,并且R₂是H。

[0338] 在一些实施方案中,L-Z是

[0339]



[0340] 在前述两个方面的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段通过抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中的半胱氨酸残基与鹅膏蕈毒素缀合。在一些实施方案中,半胱氨酸残基通过抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中的突变被引入。例如,半胱氨酸残基可以选自由以下组成的组:Cys118、Cys239和Cys265(例如,D265C)。

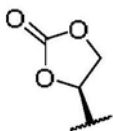
[0341] 在这些方面的一些实施方案中,半胱氨酸残基天然存在于抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中。例如,Fc结构域可以是IgG Fc结构域,诸如人类IgG1 Fc结构域,并且半胱氨酸残基可以选自由以下组成的组:Cys261、Cys321、Cys367和Cys425。

[0342] 在这些方面的一些实施方案中, R_1 是H、OH或 OR_A ;

[0343] R_2 是H、OH或 OR_B ;

[0344] R_A 和 R_B ,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成:

[0345]



[0346] R_3 、 R_4 、 R_6 和 R_7 各自是H;

[0347] R_5 是 OR_C ;

[0348] R_8 是OH或 NH_2 ;

[0349] R_9 是H或OH;并且

[0350] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-。

[0351] 在一些实施方案中, R_1 和 R_2 各自独立地是H或OH;

[0352] R_3 是 R_C ;

[0353] R_4 、 R_6 和 R_7 各自是H;

[0354] R_5 是H、OH或 OC_1-C_6 烷基;

[0355] R_8 是OH或 NH_2 ;

[0356] R_9 是H或OH;并且

[0357] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-。在一些实施方案中, R_1 和 R_2 各自独立地是H或OH;

[0358] R_3 、 R_6 和 R_7 各自是H;

[0359] R_4 是 OR_C 或 R_C ;

[0360] R_5 是H、OH或 OC_1-C_6 烷基;

[0361] R_8 是OH或 NH_2 ;

[0362] R_9 是H或OH;并且

[0363] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-。在一些实施方案中, R_1 和 R_2 各自独立地是H或OH;

[0364] R_3 、 R_6 和 R_7 各自是H;

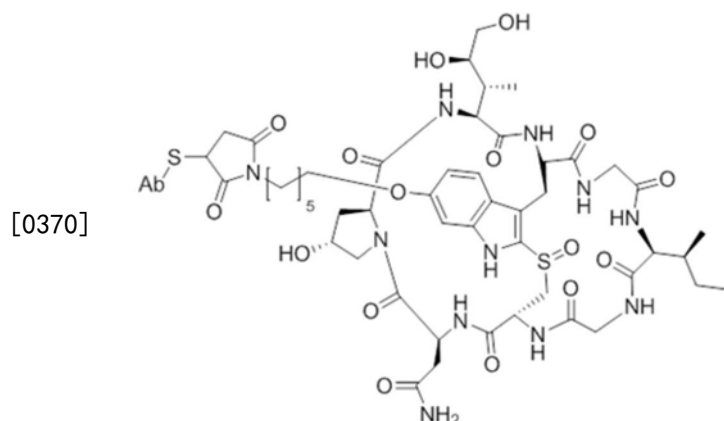
[0365] R_4 和 R_5 各自独立地是H或OH;

[0366] R_8 是 OR_C 或 $NHRC$;

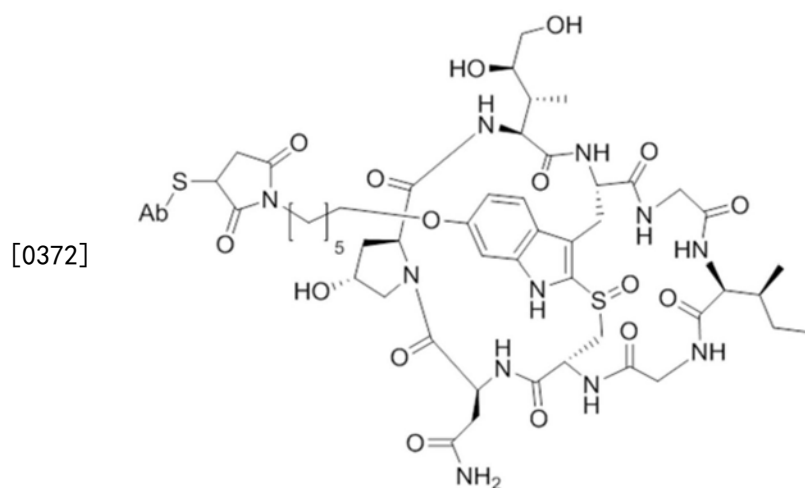
[0367] R_9 是H或OH;并且

[0368] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-。在这些方面的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段被CD117+细胞内化。

[0369] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是:



[0371] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是:



[0373] 在这些方面的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段以以下的K_d结合CD117:小于1μM、小于750nM、小于500nM、小于250nM、小于200nM、小于150nM、小于100nM、小于75nM、小于50nM、小于10nM、小于1nM、小于0.1nM、小于10pM、小于1pM或小于0.1pM。在一些实施方案中,K_d为从约0.1pM至约1μM。

[0374] 在这些方面的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段以从约9x10⁻²M⁻¹s⁻¹至约1x10²M⁻¹s⁻¹的k_{on}结合CD117。

[0375] 在这些方面的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段竞争性抑制CD117与第二抗体或其抗原结合片段的结合或者与第二抗体结合相同的表位,其中第二抗体或其抗原结合片段具有以下互补决定区(CDR):具有氨基酸序列SYWIG (SEQ ID NO:1)的CDR-H1;具有氨基酸序列IIYPGDS DTRYSPSFQG (SEQ ID NO:2)的CDR-H2;具有氨基酸序列HGRGYNGYEGAFDI (SEQ ID NO:3)的CDR-H3;具有氨基酸序列RASQGISSALA (SEQ ID NO:4)的CDR-L1;

[0376] 具有氨基酸序列DASSLES (SEQ ID NO:5)的CDR-L2;和

[0377] 具有氨基酸序列CQQFN SYPLT (SEQ ID NO:6)的CDR-L3。

[0378] 在这些方面的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段竞争性抑制CD117与第二抗体或其抗原结合片段的结合或者与第二抗体结合相同的表位,其中第二抗体或其抗原结

合片段具有以下互补决定区(CDR):具有SEQ ID NO:11中列出的氨基酸序列的CDR-H1;具有SEQ ID NO:12中列出的氨基酸序列的CDR-H2;具有SEQ ID NO:13中列出的氨基酸序列的CDR-H3;具有SEQ ID NO:14中列出的氨基酸序列的CDR-L1;具有SEQ ID NO:15中列出的氨基酸序列的CDR-L2;和具有SEQ ID NO:16中列出的氨基酸序列的CDR-L3。

[0379] 在一种实施方案中,本文公开的组合物和方法包括抗CD117抗体Ab67。

[0380] 在一种实施方案中,本文公开的组合物和方法包括抗CD117抗体,所述抗CD117抗体包含如SEQ ID NO:9中列出的可变重链氨基酸序列,和含有如SEQ ID NO:10中列出的轻链氨基酸序列的轻链可变区。

[0381] 在这些方面的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段选自由以下组成的组:单克隆抗体或其抗原结合片段、多克隆抗体或其抗原结合片段、人源化抗体或其抗原结合片段、双特异性抗体或其抗原结合片段、双重可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双体、三体、纳米抗体、抗体样蛋白支架、Fv片段、Fab片段、F(ab')₂分子和串联二-scFv。

[0382] 在另一方面中,本发明的特征在于由式Ab-Cy表示的缀合物,其中Ab是结合CD117(例如,GNNK+CD117)的抗体或其抗原结合片段,并且Cy是细胞毒素。在该方面的一些实施方案中,细胞毒素是假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、皂草素、美登素、美登素生物碱、澳瑞他汀、蒽环霉素、加利刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类或吲哚并苯二氮卓类二聚体,或前述细胞毒素中任一种的变体。

[0383] 在该方面的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段选自由以下组成的组:单克隆抗体或其抗原结合片段、多克隆抗体或其抗原结合片段、人源化抗体或其抗原结合片段、双特异性抗体或其抗原结合片段、双重可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双体、三体、纳米抗体、抗体样蛋白支架、Fv片段、Fab片段、F(ab')₂分子和串联二-scFv。在一些实施方案中,抗体具有选自由以下组成的组的同种型:IgG、IgA、IgM、IgD和IgE。

[0384] 在另一方面中,本发明的特征在于结合CD117(例如,GNNK+CD117)的抗体或其片段与Fc结构域诸如从人类抗体分离的(例如,从IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型人类抗体分离的)二聚体Fc结构域共价结合。在该方面的一些实施方案中,Fc结构域是含有单条多肽链的单体Fc结构域。在该方面的一些实施方案中,抗体或其片段的N-末端与Fc结构域结合。在该方面的一些实施方案中,抗体或其片段的C末端与Fc结构域结合。Fc结构域可以与抗体或其片段的一个或更多个拷贝缀合。例如,本文描述的缀合物包括二聚体Fc结构域,其中Fc结构域的每条多肽链与抗体或其片段缀合。Fc结构域继而可以与细胞毒素缀合,所述细胞毒素诸如本文描述的细胞毒素(例如,假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱、皂草素、美登素、美登素生物碱、澳瑞他汀、蒽环霉素、加利刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体)。

[0385] 在该方面的一些实施方案中,抗体或其片段与细胞毒素共价结合,所述细胞毒素诸如本文描述的细胞毒素(例如,假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈毒素、皂草素、美登素、美登素生物碱、澳瑞他汀、蒽环霉素、加利刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体)。在该方面的一些实施方案中,抗体或其片段的N-末

端与细胞毒素结合。在该方面的一些实施方案中,抗体或其片段的C末端与细胞毒素结合。细胞毒素继而可以与Fc结构域缀合。

[0386] 在该方面的一些实施方案中,抗体或其片段在抗体或其片段上的一个位点(例如,抗体或其片段的N-末端或C-末端)处与细胞毒素共价结合,并且在抗体或其片段上另一个位点(例如,抗体或其片段的相对末端)处与Fc结构域共价结合。

[0387] 在该方面的一些实施方案中,Fc结构域是人类IgG1同种型Fc结构域。在该方面的一些实施方案中,Fc结构域是人类IgG2同种型Fc结构域。在该方面的一些实施方案中,Fc结构域是人类IgG3同种型Fc结构域。在该方面的一些实施方案中,Fc结构域是人类IgG4同种型Fc结构域。

[0388] 在某些实施方案中,前述方法和组合物包括抗CD117抗体或其抗原结合片段,其包含表10中列出的Ab54、Ab55、Ab56、Ab57、Ab58、Ab61、Ab66、Ab67、Ab68或Ab69中的任一个的重链和轻链氨基酸序列中列出的CDR。在某些实施方案中,前述方法和组合物包括抗CD117抗体或其抗原结合片段,其包含表10中列出的Ab54、Ab55、Ab56、Ab57、Ab58、Ab61、Ab66、Ab67、Ab68或Ab69中的任一个的重链和轻链氨基酸序列中列出的可变区。在某些实施方案中,前述方法和组合物包括IgG1抗CD117抗体或其抗原结合片段,其包含表10中列出的Ab54、Ab55、Ab56、Ab57、Ab58、Ab61、Ab66、Ab67、Ab68或Ab69中的任一个的重链和轻链氨基酸序列中列出的可变区。

[0389] 附图简述

[0390] 图1显示了通过生物层干涉测量术(BLI)测量的,所示的纯化的IgG(传感器缔合的)与33.3nM和11nM的浓度的纯化的人类CD117胞外域(R&D Systems#332-SR)的结合随时间的变化。

[0391] 图2A和图2B图示描绘了体外细胞增殖测定的结果,其示出了每种所示的抗体对人类CD34+骨髓细胞的干细胞因子(SCF)依赖性增殖的剂量依赖性作用。描绘了在3100mAb、HC-67/LC-67(即,Ab67) IgG或对照的存在下,通过流式细胞术确定的活细胞总计数(图2A)或存活的CD34+CD90+细胞计数(图2B)(y轴)随3100mAb、HC-67/LC-67(即,Ab67) IgG或对照的浓度(x轴)的变化。

[0392] 图3A和图3B图示描绘了体外细胞杀伤测定的结果,其示出了每种所示的ADC对人类CD34+骨髓细胞的存活力的剂量依赖性作用。描绘了在HC-67/LC-67ADC(即,Ab67 ADC)或对照的存在下,活细胞总计数(图3A)或存活的CD34+CD90+细胞计数(图3B)(y轴)随HC-67/LC-67ADC(即,Ab67 ADC)或对照的浓度(x轴)的变化。

[0393] 图4显示了通过生物层干涉测量术(BLI)测量的,所示的纯化的IgG(传感器缔合的)与33.3nM和11nM的浓度的纯化的人类CD117胞外域(R&D Systems#332-SR)的结合随时间的变化。

[0394] 图5A和图5B图示描绘了体外细胞增殖测定的结果,其示出了每种所示的抗体对人类CD34+骨髓细胞的干细胞因子(SCF)依赖性增殖的剂量依赖性作用。描绘了在3100mAb、HC-55/LC-55IgG(Ab55 IgG)或对照的存在下,通过流式细胞术确定的活细胞总计数(图5A)或存活的CD34+CD90+细胞计数(图5B)(y轴)随3100mAb、HC-55/LC-55IgG(Ab55 IgG)或对照的浓度(x轴)的变化。

[0395] 图6A和图6B图示描绘了体外细胞杀伤测定的结果,其示出了每种所示的ADC对人

类CD34+骨髓细胞的存活力的剂量依赖性作用。描绘了在HC-55/LC-55ADC (Ab55 ADC) 或对照的存在下,活细胞总计数(图6A)或存活的CD34+CD90+细胞计数(图6B) (y轴)随HC-55/LC-55ADC (Ab55 ADC) 或对照的浓度(x轴)的变化。

[0396] 图7A和图7B显示了通过生物层干涉测量术(BLI)测量的,所示的纯化的IgG(传感器缔合的)与33.3nM和11nM的浓度的纯化的人类CD117胞外域(R&D Systems#332-SR)的结合随时间的变化。在图7A中示出了Ab54、Ab55、Ab56、Ab57、Ab68和Ab61的结果。在图7B中示出了Ab66、Ab67、Ab68和Ab69的结果。

[0397] 图8A和图8B图示描绘了体外细胞杀伤测定的结果,其示出了如通过Celltiter Glo以发光(RLU)测量的Kasumi-1细胞存活力随所示的抗CD117ADC或对照浓度的变化。在图8A中示出了Ab54、Ab55、Ab56、Ab57、Ab58和Ab61的结果。在图8B中示出了Ab66、Ab67、Ab68和Ab69的结果。

[0398] 图9图示描绘了图8A和图8B中描绘的体外细胞杀伤测定的杀伤曲线下面积的定量。

[0399] 图10A和图10B图示描绘了体外细胞增殖测定的结果,其示出了每种所示的抗体对人类CD34+骨髓细胞的干细胞因子(SCF)依赖性增殖的作用。描绘了在所示的抗体或对照(CK6)的存在下,通过流式细胞术确定的活细胞总计数(y轴)随抗体浓度(x轴)的变化。在图10A中示出了Ab54、Ab55、Ab56、Ab57、Ab58和Ab61的结果。在图10B中示出了Ab66、Ab67、Ab68和Ab69的结果。

[0400] 图11A和图11B图示描绘了体外细胞增殖测定的结果,其示出了每种所示的抗体对人类CD34+骨髓细胞的干细胞因子(SCF)依赖性增殖的作用。描绘了在所示的抗体或对照(CK6)的存在下,通过流式细胞术确定的存活的CD34+CD90+细胞计数(y轴)随抗体浓度(x轴)的变化。在图11A中示出了Ab54、Ab55、Ab56、Ab57、Ab58和Ab61的结果。在图11B中示出了Ab66、Ab67、Ab68和Ab69的结果。

[0401] 图12图示描绘了体外交叉阻断测定的结果,其中评估了CK6或人类SCF与Ab55或Ab67缔合的CD117的结合(y轴)随时间(x轴)的变化。

[0402] 图13A显示了通过BLI确定的人类或鼠SCF与人类CD117胞外域的结合(y轴)随时间(x轴)的变化。随后,如图13B中示出的,体外交叉阻断测定显示了人类或鼠SCF与Ab67缔合的CD117的结合(y轴)随时间(x轴)的变化。

[0403] 图14A和图14B图示描绘了体外内化测定的结果。在与hIgG1、拮抗性抗体、中性抗体或SCF一起孵育24小时后,评估了人类骨髓CD34+细胞上的表面CD117的百分比(图14A)。还评估了对应的表面IgG百分比随时间的变化(图14B)。

[0404] 图15A-15C图示描绘了Ab67 ADC和Ab55 ADC对Kasumi-1细胞(图15A)或原代人类干细胞(图15B和图15C)的体外细胞杀伤测定的结果。图15A图示描绘了体外细胞杀伤测定的结果,其示出了通过Celltiter Glo以发光(RLU)测量的Kasumi-1细胞存活力随HC-55/LC-55ADC (Ab55 ADC)、HC-67/LC-67ADC (Ab67 ADC) 或对照的浓度的变化。图15B和图15C图示描绘了体外细胞杀伤测定的结果,其示出了在HC-55/LC-55ADC (Ab55 ADC)、HC-67/LC-67ADC (Ab67 ADC) 或对照的存在下,基于活细胞总计数(图15B)或存活的CD34+CD90+细胞计数(图15C) (y轴)随抗体浓度(x轴)的变化,每种所示的ADC对人类CD34+骨髓细胞的存活力的剂量依赖性作用。

[0405] 图16A-16F描绘了色谱图,其显示了所示的抗体在所示孵育条件下7天后(CK6对照(图16A)、HC-55/LC-55 (Ab55;图16B)或HC-67/LC-67 (Ab67;图16C))或15天后(CK6对照(图16D)、HC-55/LC-55 (Ab55;图16E)或HC-67/LC-67 (Ab67;图16F)),通过疏水相互作用色谱术分析后的洗脱曲线。

[0406] 图17A和图17B图示描绘了体外细胞杀伤测定的结果,其示出了存活的CD34+CD90+细胞计数随Ab67 (WT)-ADC(即,WT半衰期)或Ab67 (H435A)-ADC(即,快速半衰期)的变化。

[0407] 图18图示描绘了电泳图,其示出了通过毛细管电泳确定的在所示的孵育条件(x轴)下所示的抗体中存在的酸性变体的电荷异质性谱。

[0408] 图19A和图19B图示描绘了体内细胞耗尽测定的结果,其示出了0.1mg/kg剂量的Ab67 (H435A)-ADC(即,快速半衰期)或Ab67 (WT)-ADC(即,WT半衰期)选择性地耗尽了人源化NSG小鼠中的人类HSC。图19A中示出了在单次施用0.03mg/kg、0.1mg/kg或0.3mg/kg的ADC 21天后,经Ab67 (H435A)-ADC、Ab67 (WT)-ADC或对照处理的小鼠的骨髓中CD34+细胞的绝对数目。还示出了对于每种条件,经Ab67 (H435A)-ADC、Ab67 (WT)-ADC或对照处理的小鼠的外周血中存在的人类骨髓细胞的百分比,表示为处理前该细胞群体的百分比(针对基线归一化)(图19B)。

[0409] 图20图示描绘了体内细胞耗尽测定的结果,其示出了0.3mg/kg单次剂量或0.2mg/kg Q3Dx2的分次剂量的Ab67 (H435A)-ADC(即,快速半衰期)选择性地耗尽了食蟹猴中的食蟹猴HSC。示出了从用所示的给药方案给药的雄性食蟹猴的骨髓分离的CD34+CD90+CD45RA-(表型HSC)的绝对数目(平均值+/-SEM)。

[0410] 图21A和图21B描绘了拮抗性抗体Ab54、Ab55、Ab66和Ab67的重链可变区(VH;图21A)和轻链可变区(LH;图21B)的多重序列比对。指出了每个可变区的CDR。

[0411] 图22A和图22B描绘了中性抗体Ab58和Ab61的重链可变区(VH;图22A)和轻链可变区(LH;图22B)的多重序列比对。指出了每个可变区的CDR。

[0412] 图23A和图23B描绘了中性抗体Ab66、Ab67、Ab68和Ab69的重链可变区(VH;图23A)和轻链可变区(LH;图23B)的多重序列比对。指出了每个可变区的CDR。

[0413] 详细描述

[0414] 本文描述了与人类CD117结合的分离的抗CD117人类抗体。本文提供的抗体具有许多使其有利于治疗的特征,包括调节人类患者以便于干细胞移植的方法。例如,本文公开的抗体与恒河猴CD117交叉反应并且能够内化。这两个特征也使得它们有利于在用于向表达CD117的细胞递送细胞毒素的缀合物中使用。

[0415] 本文描述的抗体包括拮抗性抗体和中性抗体两者。具体地,本文提供了以下抗CD117抗体:抗体54 (Ab54)、抗体55 (Ab55)、抗体56 (Ab56)、抗体57 (Ab57)、抗体58 (Ab58)、抗体61 (Ab61)、抗体66 (Ab66)、抗体67 (Ab67)、抗体68 (Ab68)和抗体69 (Ab69),它们各自为与人类CD117的胞外域特异性结合的人类抗CD117抗体。在下文包括表10中描述了Ab54、Ab55、Ab56、Ab57、Ab58、Ab61、Ab66、Ab67、Ab68和Ab69的结合区。本文公开的抗CD117抗体可以被包含在抗CD117抗体药物缀合物(ADC;本文中也称为缀合物)中。

[0416] 本文描述的抗CD117抗体和缀合物可以用于治疗多种紊乱的方法,所述紊乱诸如尤其是造血谱系中的细胞类型的疾病、癌症、自身免疫性疾病、代谢紊乱和干细胞紊乱。本文描述的组合物和方法可以(i)直接耗尽引起病理的细胞的群体,诸如癌细胞(例如,白血

病细胞)和自身免疫性细胞(例如,自身反应性T细胞)的群体,和/或(ii)耗尽内源性造血干细胞的群体,以便通过提供所移植的细胞可以归巢至其的小生境来促进所移植的造血干细胞的植入。前述活性可以通过施用能够结合由内源性致病细胞或造血干细胞表达的抗原(CD117)的ADC、抗体或其抗原结合片段来实现。在直接治疗疾病的情况下,该施用可以引起导致感兴趣的病理的细胞数量的减少。在准备患者以便于造血干细胞移植疗法的情况下,该施用可以引起内源性造血干细胞的群体的选择性地耗尽,从而在造血组织诸如骨髓中产生空位,该空位随后可以被移植的外源性造血干细胞填充。这种选择性地耗尽也被称为调节(conditioning)。本发明部分地基于以下发现:能够结合CD117(诸如GNNK+CD117)的ADC、抗体或其抗原结合片段可以被施用至患者以实现以上两种活性或作为调节剂。结合CD117的ADC、抗体或其抗原结合片段可以被施用至罹患癌症诸如白血病或自身免疫性疾病的患者,以直接耗尽癌性细胞或自身免疫性细胞的群体,并且还可被施用至需要造血干细胞移植疗法的患者,以促进移植的造血干细胞的存活和植入可能性。

[0417] 由于施用抗CD117抗体或其抗原结合片段,造血干细胞移植物的植入可以在多种经验测量中表现出来。例如,移植的造血干细胞的植入可以通过评估在施用能够结合CD117的抗体或其抗原结合片段以及随后施用造血干细胞移植后的患者的骨髓内存在的竞争性再植入单位(competitive repopulating unit)(CRU)的数量来评价。另外,人们可以通过将报道基因(诸如催化产生荧光、发色或发光产物的化学反应的酶)掺入到藉以转染供体造血干细胞的载体中,并且随后监测造血干细胞已经归巢到其中的组织诸如骨髓中的对应信号来观察造血干细胞移植物的植入。人们还可以通过评价造血干细胞和祖细胞的数量和存活(例如,如通过本领域已知的荧光激活细胞分选(FACS)分析方法确定的)来观察造血干细胞植入。植入也可以通过在移植后期间测量外周血中的白细胞计数,和/或通过测量骨髓抽出物样品中供体细胞对骨髓细胞的恢复来确定。

[0418] 以下部分提供了缀合物、抗体或其抗原结合片段以及向患者施用这样的治疗剂的方法(例如,在造血干细胞移植之前)的描述,所述缀合物、抗体或其抗原结合片段可以被施用至患者,诸如罹患癌症或自身免疫性疾病的患者,或需要造血干细胞移植疗法的患者,以便促进造血干细胞植入物的植入。

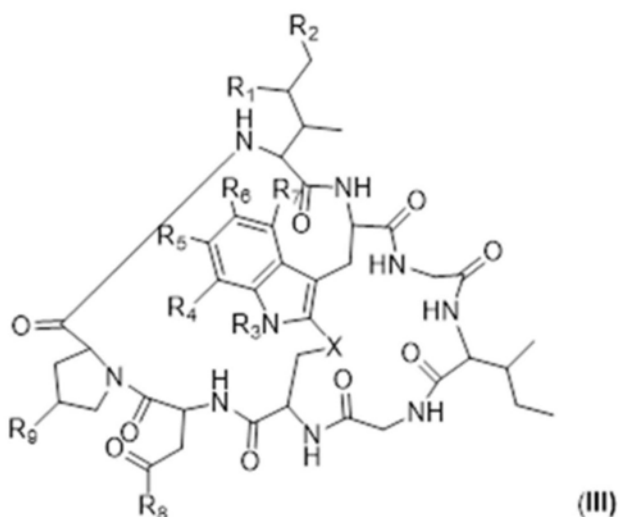
[0419] 定义

[0420] 如本文使用的,术语“约”是指高于或低于所描述的值的10%以内的值。例如,术语“约5nM”指从4.5nM至5.5nM的范围。

[0421] 如本文使用的,术语“鹅膏蕈毒素”是指由鬼笔鹅膏(*Amanita phalloides*)蘑菇产生的鹅膏蕈毒素肽家族成员,或其变体或衍生物,诸如能够抑制RNA聚合酶II活性的其变体或衍生物。可用于与本文描述的组合物和方法结合使用的鹅膏蕈毒素包括根据但不限于下式(III)的化合物,包括 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏无毒环肽、一羟鹅膏毒肽羧酸或前鹅膏无毒环肽。如本文描述的,可以通过例如接头部分(L)将鹅膏蕈毒素与抗体或其抗原结合片段缀合(由此形成缀合物(即,ADC))。以下描述了鹅膏蕈毒素缀合的示例性方法和可用于这样的过程的接头。本文还描述了可用于与根据组合物和方法的抗体或抗原结合片段缀合的示例性含有接头的鹅膏蕈毒素。

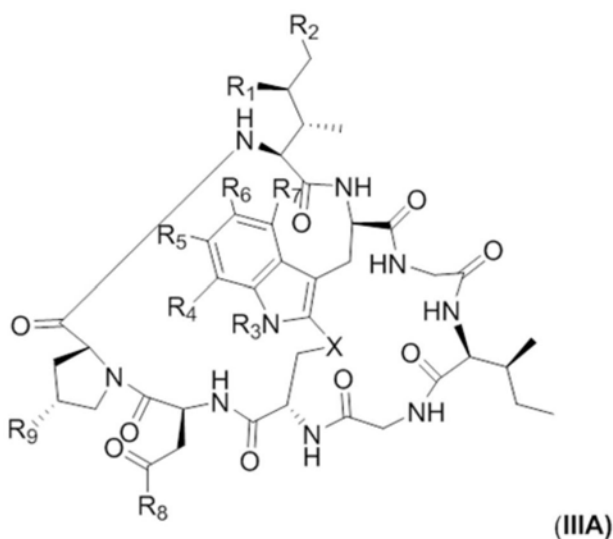
[0422] 式(III)如下:

[0423]

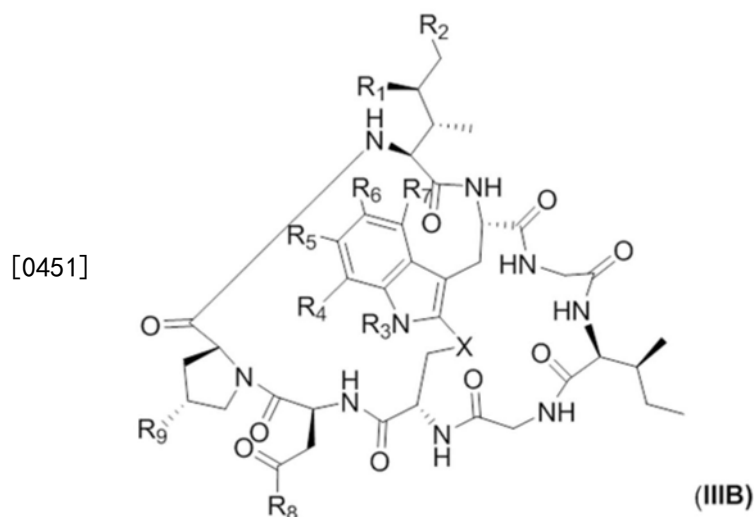
[0424] 其中R₁是H、OH或OR_A；[0425] R₂是H、OH或OR_B；[0426] R_A和R_B，当存在时，与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团；[0427] R₃是H或R_D；[0428] R₄是H、OH、OR_D或R_D；[0429] R₅是H、OH、OR_D或R_D；[0430] R₆是H、OH、OR_D或R_D；[0431] R₇是H、OH、OR_D或R_D；[0432] R₈是OH、NH₂或OR_D；[0433] R₉是H、OH或OR_D；[0434] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-；并且[0435] R_D是任选地被取代的烷基(例如，C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如，C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如，C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如，C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如，C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如，C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基，或任选地被取代的杂芳基。

[0436] 例如，可用于与本文描述的组合物和方法结合的鹅膏蕈毒素包括根据下式(IIIA)的化合物：

[0437]

[0438] 其中R₁是H、OH或OR_A；[0439] R₂是H、OH或OR_B；[0440] R_A和R_B，当存在时，与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团；[0441] R₃是H或R_D；[0442] R₄是H、OH、OR_D或R_D；[0443] R₅是H、OH、OR_D或R_D；[0444] R₆是H、OH、OR_D或R_D；[0445] R₇是H、OH、OR_D或R_D；[0446] R₈是OH、NH₂或OR_D；[0447] R₉是H、OH或OR_D；[0448] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-；并且[0449] R_D是任选地被取代的烷基(例如，C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如，C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如，C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如，C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如，C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如，C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基，或任选地被取代的杂芳基。

[0450] 可用于与本文描述的组合物和方法结合的鹅膏蕈毒素还包括根据下式(IIIB)的化合物：



[0452] 其中R₁是H、OH或OR_A；

[0453] R₂是H、OH或OR_B；

[0454] R_A和R_B，当存在时，与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团；

[0455] R₃是H或R_D；

[0456] R₄是H、OH、OR_D或R_D；

[0457] R₅是H、OH、OR_D或R_D；

[0458] R₆是H、OH、OR_D或R_D；

[0459] R₇是H、OH、OR_D或R_D；

[0460] R₈是OH、NH₂或OR_D；

[0461] R₉是H、OH或OR_D；

[0462] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-；并且

[0463] R_D是任选地被取代的烷基(例如，C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如，C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如，C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如，C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如，C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如，C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基，或任选地被取代的杂芳基。

[0464] 如本文描述的，可以通过例如接头部分将鹅膏蕈毒素与抗体或其抗原结合片段缀合(由此形成缀合物)。鹅膏蕈毒素缀合的示例性方法和可用于这样的过程的接头描述于标题为“用于化学缀合的接头”的部分以及下表1中。可用于与根据本文描述的组合物和方法的抗体或抗原结合片段缀合的示例性含有接头的鹅膏蕈毒素以本文列举的结构式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIA)和(IIB)显示。

[0465] 如本文使用的，术语“抗体”是指与特定抗原特异性结合或与特定抗原免疫反应的免疫球蛋白分子，并且包括单克隆、遗传工程和其他方式修饰形式的抗体，包括但不限于嵌合抗体、人源化抗体、异源缀合抗体(例如，双特异性抗体、三特异性抗体、和四特异性抗体、双体、三体和四体(tetrabody))和抗体的抗原结合片段，包括例如Fab'、F(ab')₂、Fab、Fv、rIgG和scFv片段。除非另有指示，否则术语“单克隆抗体”(mAb)意指包括能够与靶蛋白特异性结合的完整分子以及抗体片段(包括，例如，Fab和F(ab')₂片段)两者。如本文使用的，Fab

和F(ab')₂片段是指缺乏完整抗体的Fc片段的抗体片段。本文描述了这些抗体片段的实例。

[0466] 本发明的抗体通常是分离的或重组的。“分离的”，当在本文中使用，是指已经从表达它的细胞或细胞培养物鉴定及分离和/或回收的多肽，例如抗体。通常，分离的抗体将通过至少一个纯化步骤来制备。因此，“分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体。例如，特异性结合CD117的分离的抗体基本上不含特异性结合除CD117以外的抗原的抗体。

[0467] 如本文使用的，术语“抗原结合片段”是指抗体的一个或更多个片段，其保留与靶抗原特异性结合的能力。抗体的抗原结合功能可以通过全长抗体的片段来执行。抗体片段可以是，例如，Fab、F(ab')₂、scFv、双体、三体、亲和体(affibody)、纳米抗体、适配体或结构域抗体。涵盖术语抗体的“抗原结合片段”的结合片段的实例包括但不限于：(i) Fab片段，由V_L、V_H、C_L和C_{H1}结构域组成的单价片段；(ii) F(ab')₂片段，含有在铰链区通过二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段；(iii) 由V_H和C_{H1}结构域组成的Fd片段；(iv) 由抗体单臂的V_L和V_H结构域组成的Fv片段，(v) 包含V_H和V_L结构域的dAb；(vi) 由V_H结构域组成的dAb片段(参见，例如，Ward等人，Nature 341:544-546, 1989)；(vii) 由V_H或V_L结构域组成的dAb；(viii) 分离的互补决定区(CDR)；和(ix) 两个或更多个(例如，两个、三个、四个、五个或六个)分离的CDR的组合，该CDR可以任选地通过合成的接头连接。此外，尽管Fv片段的两个结构域V_L和V_H由单独的基因编码，但它们可以使用重组方法通过接头连接，该接头使得它们能够成为单个蛋白链，其中V_L和V_H区配对形成单价分子(被称为单链Fv(scFv)；参见，例如，Bird等人，Science 242:423-426, 1988和Huston等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883, 1988)。这些抗体片段可以使用本领域技术人员已知的常规技术获得，并且可以以与完整抗体相同的方式筛选这些片段的效用。抗原结合片段可以通过重组DNA技术、完整免疫球蛋白的酶促或化学裂解，或在某些情况下，通过本领域已知的化学肽合成程序产生。

[0468] 如本文使用的，术语“抗CD117抗体”或“与CD117结合的抗体”是指能够以足够的亲和力结合CD117的抗体，使得该抗体可用作靶向CD117的诊断剂和/或治疗剂。人类CD117的两种主要同种型的氨基酸序列在SEQ ID NO:145(同种型1)和SEQ ID NO:146(同种型2)中提供。

[0469] 如本文使用的，术语“双特异性抗体”是指，例如，能够结合至少两种不同抗原的单克隆抗体，通常是人类或人源化抗体。例如，一种结合特异性可以是针对造血干细胞表面抗原CD117(例如，GDNF+CD117)，并且另一种可以特异性结合不同的造血干细胞表面抗原或另一种细胞表面蛋白，诸如尤其是参与加强细胞生长的信号转导途径的受体或受体亚基。

[0470] 如本文使用的，术语“互补决定区”(CDR)是指在抗体的轻链和重链可变结构域中均可见的高变区。可变结构域的更高度保守的部分被称为框架区(FR)。描绘抗体的高变区的氨基酸位置可以根据背景和本领域已知的多种定义而变化。可变结构域内的一些位置可以被视为混合高变位置，因为这些位置可以根据一组标准被认为是在高变区内，而根据不同组标准被认为是在高变区外。这些位置中的一个或更多个也可以见于扩展的高变区中。本文描述的抗体可以在这些混合高变位置中含有修饰。天然重链和轻链的可变结构域各自含有通过三个CDR连接的四个框架区，其主要采用β-折叠构型，该CDR形成连接β-折叠结构的环，并且在一些情况下形成β-折叠结构的一部分。每个链中的CDR通过框架区以FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4的顺序紧密靠近在一起，并且与来自其他抗体链的CDR一起

促成抗体的靶结合位点的形成(参见Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institute of Health, Bethesda, MD., 1987)。在某些实施方案中, 免疫球蛋白氨基酸残基的编号根据Kabat等人的免疫球蛋白氨基酸残基编号系统进行, 除非另有指示(尽管可以使用任何抗体编号方案, 包括但不限于IMGT和Chothia)。

[0471] 如本文使用的, 术语“调节(condition)”和“调节性(conditioning)”是指通过其准备患者以便于接受含有造血干细胞的移植物的过程。这样的程序促进造血干细胞移植物的植入(例如, 由从在调节程序和随后的造血干细胞移植后的患者分离的血液样品内存活的造血干细胞数量的持续增加推断)。根据本文描述的方法, 通过向患者施用能够结合由造血干细胞表达的抗原诸如CD117(例如, GDNF+CD117)的ADC、抗体或其抗原结合片段, 患者可以被调节以便于造血干细胞移植疗法。如本文描述的, 抗体可以与细胞毒素共价缀合以形成药物-抗体缀合物。将能够结合前述抗原中的一种或更多种的ADC、抗体、其抗原结合片段或药物-抗体缀合物施用至需要造血干细胞移植疗法的患者可以通过例如选择性地耗尽内源性造血干细胞从而产生被外源性造血干细胞移植填充的空位来促进造血干细胞植入物的植入。

[0472] 如本文使用的, 术语“缀合物”是指通过化学键合一个分子(诸如抗体或其抗原结合片段)的反应性官能团与另一分子(诸如本文描述的细胞毒素)的适当反应性官能团形成的化合物。缀合物可以包含在彼此结合的两个分子之间的接头。可以用于形成缀合物的接头的实例包括含肽的接头, 诸如含有天然存在的或非天然存在的氨基酸诸如D-氨基酸的接头。可以使用本文描述的和本领域已知的多种策略制备接头。取决于其中的反应性组分, 接头可以被以下裂解: 例如, 酶促水解、光解、在酸性条件下水解、在碱性条件下水解、氧化、二硫化物还原、亲核裂解或有机金属裂解(参见, 例如, Leriche等人, Bioorg. Med. Chem., 20: 571-582, 2012)。值得注意的是, 术语“缀合物”(当指化合物时)在本文中也可互换地被称为“药物缀合物”、“抗体药物缀合物”或“ADC”。

[0473] 如本文使用的, 术语“偶联反应”是指这样的化学反应, 其中两个或更多个适于彼此反应的取代基发生反应, 以形成将与每个取代基结合的分子片段连接起来(例如, 共价地)的化学部分。偶联反应包括那些反应, 其中与为细胞毒素(诸如本领域已知的或本文描述的细胞毒素)的片段结合的反应性取代基和与为抗体或其抗原结合片段(诸如本领域已知或本文描述的结合CD117(诸如GDNF+CD117)的抗体、其抗原结合片段或特异性抗CD117抗体)的片段结合的适当反应性取代基发生反应。适当反应性取代基的实例包括亲核体/亲电子体对(例如尤其是, 硫醇/卤代烷基对、胺/羰基对或硫醇/ α, β -不饱和羰基对)、二烯/亲二烯体对(例如尤其是叠氮化物/炔烃对)等。偶联反应包括但不限于硫醇烷基化、羟基烷基化、胺烷基化、胺缩合、酰胺化、酯化、二硫化物形成、环加成(例如尤其是, [4+2]Diels-Alder环加成、[3+2]Huisgen环加成)、亲核芳族取代、亲电芳族取代和本领域已知或本文描述的其他反应形式。

[0474] 如本文使用的, “CRU(竞争性再植入单位)”是指在体内移植后可被检测到的长期植入干细胞的测量单位。

[0475] 如本文使用的, 术语“供体”是指在将一种或更多种细胞或其后代施用至接受者之前从其分离细胞的人类或动物。所述一种或更多种细胞可以是例如造血干细胞的群体。

[0476] 如本文使用的,术语“双体”是指含有两条多肽链的二价抗体,其中每条多肽链包含通过接头连接的V_H和V_L结构域,该接头太短(例如,包含五个氨基酸的接头)而不允许同一肽链上的V_H和V_L结构域的分子内缔合。该构型迫使每个结构域与另一条多肽链上的互补结构域配对,以便形成同二聚体结构。相应地,术语“三体”是指含有三条肽链的三价抗体,每条肽链含有通过接头连接的一个V_H结构域和一个V_L结构域,该接头极短(例如,包含1-2个氨基酸的接头)而不允许同一肽链内的V_H和V_L结构域的分子内缔合。为了折叠成它们的天然结构,以这种方式配置的肽通常是三聚化的,以便将相邻肽链的V_H和V_L结构域定位成在空间上彼此接近(参见,如,Holliger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-48,1993)。

[0477] 如本文使用的,“药物-与-抗体比”或“DAR”是指附接于缀合物的抗体的药物例如鹅膏蕈毒素的数目。尽管取决于抗体上的连接位点的数目,更高的载荷也是可能的,但是ADC的DAR的范围可以为从1至8。在某些实施方案中,缀合物具有1、2、3、4、5、6、7或8的DAR。

[0478] 如本文使用的,“双重可变结构域免疫球蛋白”(“DVD-Ig”)是指经由接头组合两种单克隆抗体的靶结合可变结构域以产生四价、双靶向单一剂的抗体(参见,例如,Gu等人,Meth.Enzymol.,502:25-41,2012)。

[0479] 如本文使用的,术语“内源性”描述在特定生物体诸如人类患者中天然存在的物质,诸如分子、细胞、组织或器官(例如,造血干细胞或造血谱系细胞,诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞或B淋巴细胞)。

[0480] 如本文使用的,术语“植入潜力”用于指造血干细胞和祖细胞再植入组织的能力,无论这样的细胞是天然循环性的还是通过移植提供。该术语涵盖围绕或导致植入的所有事件,诸如细胞的组织归巢和细胞在感兴趣组织内的定植。使用本领域技术人员已知的任何临床上可接受的参数或通过疾病进展、造血干细胞和祖细胞的存活或接受者的存活来评价受试者的进展,植入效率或植入率可被评价或定量,并且可以包括,例如,评估竞争性再植入单位(CRU)、标志物在干细胞归巢、定植或变成植入到其中的一个或多个组织(tissue(s))中的掺入或表达。植入也可以通过测量移植后期间中外周血中的白细胞计数来确定。植入还可以通过测量骨髓抽出物样品中供体细胞对骨髓细胞的恢复来评估。

[0481] 如本文使用的,术语“外源性”描述在特定生物体诸如人类患者中并不天然存在的物质,诸如分子、细胞、组织或器官(例如,造血干细胞或造血谱系细胞,诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞或B淋巴细胞)。外源性物质包括从外部来源提供至生物体的那些物质或从外部来源提取的经培养的物质。

[0482] 如本文使用的,术语“Fc”、“Fc区”和“Fc结构域”是指与通过木瓜蛋白酶消化IgG分子获得的可结晶片段相关的IgG抗体的部分。Fc区包含通过二硫键连接的IgG分子的两个重链的C末端半部分。它不具有抗原结合活性,但含有碳水化合物部分以及用于补体和Fc受体包括FcRn受体的结合位点。Fc区含有第二恒定结构域CH2(例如,在IgG1的EU位置231-340处的残基)和第三恒定结构域CH3(例如,在人类IgG1的EU位置341-447处的残基)。如本文使用的,Fc区包括“下铰链区”(例如,在IgG1的EU位置233-239处的残基)。Fc可以指分离的该区

域,或抗体、抗体片段或Fc融合蛋白中的该区域。已经在Fc结构域的许多位置观察到多态性,包括但不限于EU位置270、272、312、315、356和358,并且因此在本申请中呈现的序列与本领域已知的序列之间可能存在微小差异。因此,“野生型IgG Fc结构域”或“WT IgG Fc结构域”是指任何天然存在的IgG Fc区(即,任何等位基因)。人类IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的重链的序列可见于许多序列数据库中,例如,在Uniprot数据库(www.uniprot.org)中,分别以登录号P01857 (IGHG1_HUMAN)、P01859 (IGHG2_HUMAN)、P01860 (IGHG3_HUMAN)和P01861 (IGHG1_HUMAN)。在SEQ ID NO:122(它提供了包含Fc区的重链恒定区)中提供了“WT”Fc区的实例。

[0483] 如本文使用的术语“修饰的Fc区”或“变体Fc区”是指包含在Fc区内任何位置处引入的一个或更多个氨基酸取代、缺失、插入或修饰的IgG Fc结构域。

[0484] 术语“全长抗体”和“完整抗体”在本文中可互换使用,以指呈其基本完整形式的抗体,而不是如本文定义的抗体片段。因此,对于IgG抗体,完整抗体包含两条重链和两条轻链,每条重链包含可变区、恒定区和Fc区,每条轻链包含可变区和恒定区。更具体地,完整IgG包含两条轻链,每条轻链包含轻链可变区(VL)和轻链恒定区(CL),并且包含两条重链,每条重链包含重链可变区(VH)和三个重链恒定区(CH1、CH2和CH3)。CH2和CH3表示重链的Fc区。

[0485] 如本文使用的,术语“框架区”或“FW区”包括与抗体或其抗原结合片段的CDR相邻的氨基酸残基。FW区残基可以存在于,例如,尤其是人类抗体、人源化抗体、单克隆抗体、抗体片段、Fab片段、单链抗体片段、scFv片段、抗体结构域和双特异性抗体中。

[0486] 如本文使用的,术语“造血干细胞”(“HSC”)是指具有自我更新和分化成含有不同谱系细胞的成熟血细胞的能力的未成熟的血细胞,所述谱系细胞包括但不限于粒细胞(例如,早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞(例如,网织红细胞、红细胞)、凝血细胞(例如,原巨核细胞、产生血小板的巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如,单核细胞、巨噬细胞)、树突状细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞(例如,NK细胞、B细胞和T细胞)。这样的细胞可以包括CD34⁺细胞。CD34⁺细胞是表达CD34细胞表面标志物的未成熟细胞。在人类中,CD34⁺细胞被认为包括具有以上定义的干细胞特性的细胞亚群,而在小鼠中,HSC是CD34⁻。另外,HSC还指长期重建HSC(LT-HSC)和短期重建HSC(ST-HSC)。基于功能潜力和细胞表面标志物表达,LT-HSC和ST-HSC是分化的。例如,人类HSC是CD34⁺、CD38⁻、CD45RA⁻、CD90⁺、CD49F⁺和lin⁻(对于成熟谱系标志物(包括CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD10、CD11B、CD19、CD20、CD56、CD235A)呈阴性)。在小鼠中,骨髓LT-HSC是CD34⁻、SCA-1⁺、C-kit⁺、CD135⁻、Slamf1/CD150⁺、CD48⁻和lin⁻(对于成熟谱系标志物(包括Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7ra)呈阴性),而ST-HSC是CD34⁺、SCA-1⁺、C-kit⁺、CD135⁻、Slamf1/CD150⁺和lin⁻(对于成熟谱系标志物(包括Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7ra)呈阴性)。另外,在内稳态条件下,ST-HSC比LT-HSC更少地静止并且更多地增殖。然而,LT-HSC具有更大的自我更新潜力(即,它们在整个成年期存活,并且可以通过连续接受者连续移植),而ST-HSC具有有限的自我更新(即,它们仅在有限的时间段内存活,并且不具备连续移植潜力)。这些HSC中的任一种都可以用于本文描述的方法中。ST-HSC特别有用,因为它们是高度增殖性的,并且因此可以更快地产生分化的后代。

[0487] 如本文使用的,术语“造血干细胞功能潜力”是指造血干细胞的功能特性,其包括

1) 多潜能性 (其是指分化成多种不同血液谱系细胞的能力, 该血液谱系细胞包括但不限于粒细胞 (例如, 早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞 (例如, 网织红细胞、红细胞)、凝血细胞 (例如, 原巨核细胞、产生血小板的巨核细胞、血小板)、单核细胞 (例如, 单核细胞、巨噬细胞)、树突状细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞 (例如, NK 细胞、B 细胞和 T 细胞)), 2) 自我更新 (其是指造血干细胞产生与母细胞具有等同潜力的子细胞的能力, 并且此外该能力可以在个体的整个寿命中反复发生而不会衰竭), 以及 3) 造血干细胞或其后代被重新引入到移植接受者的能力, 届时它们归巢至造血干细胞小生境, 并且重建富有成效的和持续的血细胞生成。

[0488] 如本文使用的, 术语“人类抗体”意图包括具有源自人类种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。人类抗体可以包括不是由人类种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基 (例如, 通过体外随机突变或位点特异性诱变或在基因重排期间或通过体内体细胞突变引入的突变)。然而, 如本文使用的术语“人类抗体”不意图包括这样的抗体: 其中源自另一个哺乳动物物种 (诸如小鼠) 的种系的 CDR 序列已经被接枝到人类框架序列上。人类抗体可以在人类细胞中产生 (例如, 通过重组表达) 或由能够表达功能重排的人类免疫球蛋白 (诸如重链和/或轻链) 基因的非人类的动物或原核或真核细胞产生。当人类抗体是单链抗体时, 它可以包括在天然人类抗体中不存在的接头肽。例如, Fv 可以含有连接重链的可变区和轻链的可变区的接头肽, 诸如二至约八个甘氨酸或其他氨基酸残基。这样的接头肽被认为是人类来源的。人类抗体可以通过本领域已知的多种方法制备, 所述方法包括使用源自人类免疫球蛋白序列的抗体文库的噬菌体展示方法。人类抗体还可以使用不能表达功能性内源性免疫球蛋白但可以表达人类免疫球蛋白基因的转基因小鼠来产生 (参见, 例如, PCT 公布第 WO 1998/24893 号; 第 WO 1992/01047 号; 第 WO 1996/34096 号; 第 WO 1996/33735 号; 美国专利第 5,413,923 号; 第 5,625,126 号; 第 5,633,425; 第 5,569,825 号; 第 5,661,016 号; 第 5,545,806 号; 第 5,814,318 号; 第 5,885,793 号; 第 5,916,771 号; 和第 5,939,598 号)。

[0489] “人源化”抗体是指含有最小程度的源自非人类免疫球蛋白的序列的抗体。因此, “人源化”形式的非人类 (例如, 鼠) 抗体是含有最小程度的源自非人类抗体的序列的嵌合抗体。全部或基本上全部 FW 区也可以是具有人免疫球蛋白序列的那些。人源化抗体还可以含有至少一部分免疫球蛋白恒定区 (Fc), 通常是人类免疫球蛋白共有序列的恒定区。抗体人源化的方法是本领域已知的, 并且已经被描述于例如 Riechmann 等人, Nature 332:323-7, 1988; 美国专利第 5,530,101 号; 第 5,585,089 号; 第 5,693,761 号; 第 5,693,762 号; 和第 6,180,370 号中。

[0490] 如本文使用的, “需要”造血干细胞移植物的患者包括在一种或更多种血细胞类型方面表现出缺乏或缺陷的患者, 以及患有干细胞紊乱、自身免疫性疾病、癌症或本文描述的其他病理的患者。造血干细胞通常表现出: 1) 多潜能性并且因此可以分化成多种不同的血液谱系细胞, 包括但不限于粒细胞 (例如, 早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞 (例如, 网织红细胞、红细胞)、凝血细胞 (例如, 原巨核细胞、产生血小板的巨核细胞、血小板)、单核细胞 (例如, 单核细胞、巨噬细胞)、树突状细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞 (例如, NK 细胞、B 细胞和 T 细胞), 2) 自我更新并且因此可以产生与母细胞具有等同潜力的子细胞, 以及 3) 被重新引入移植接受者中的能力, 届时它们归巢至造血干细胞小生境并且重建富有成效的和持续的血细胞生成。因此, 造血干细胞可以被施用至

造血谱系细胞的一种或更多种细胞类型缺乏或缺陷的患者,以便在体内重构缺陷或缺乏的细胞的群体。例如,患者可以罹患癌症,并且缺乏可以通过施用选择性或非特异性地耗尽恶性细胞群体的化学治疗剂或其他药物而引起。另外或可选地,患者可以罹患血红蛋白异常(例如,非恶性血红蛋白异常),诸如镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征。受试者可以是罹患以下的受试者:腺苷脱氨酶重症联合免疫缺陷病(ADA SCID)、HIV/AIDS、异染性脑白质营养不良、Diamond-Blackfan贫血和Schwachman-Diamond综合征。受试者可以患有或受以下影响:遗传性血液紊乱(例如,镰状细胞性贫血)或自身免疫性紊乱。另外或可选地,受试者可以患有或受以下影响:恶性肿瘤,诸如神经母细胞瘤或血液学癌症。例如,受试者可以患有白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中,受试者患有急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,受试者患有骨髓增生异常综合征。在一些实施方案中,受试者患有自身免疫性疾病,诸如硬皮病、多发性硬化、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、1型糖尿病或本文描述的另一种自身免疫性病理。在一些实施方案中,受试者需要嵌合抗原受体T细胞(CART)疗法。在一些实施方案中,受试者患有或以其他方式受代谢性贮积紊乱影响。受试者可以罹患选自以下组成的组的代谢紊乱或以其他方式受选自以下组成的组的代谢紊乱影响:糖原贮积病、黏多糖贮积病、高歇氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积病、异染性脑白质营养不良,或可以受益于本文所公开的治疗和疗法的任何其他疾病或紊乱,所述其他疾病或紊乱包括但不限于重症联合免疫缺陷病、Wiscott-Aldrich综合征、高免疫球蛋白M(IgM)综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、镰状细胞病、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化、青少年类风湿性关节炎和在“Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease,”ASH Education Book,1:319-338(2000)”中描述的那些疾病或紊乱,其公开内容在其涉及可以通过施用造血干细胞移植疗法来治疗的病理时通过引用以其整体并入本文。另外或可选地,“需要”造血干细胞移植物的患者可以是罹患或未罹患前述病理之一但是仍然表现出以下的患者:造血谱系内一种或更多种内源性细胞类型,诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞的减少的水平(例如,与其他健康受试者的水平相比)。例如,除其他程序以外,通过本领域已知的流式细胞术和荧光激活细胞分选(FACS)方法,本领域技术人员可以容易地确定一个人的一种或更多种前述细胞类型或其他血细胞类型的水平相对于其他健康受试者是否减少。

[0491] 如本文使用的,术语“单克隆抗体”是指源自单个克隆,包括任何真核、原核或噬菌体克隆的抗体,而不是藉以产生它的方法。

[0492] 如本文使用的,“中性抗体”是指一种抗体或其抗原结合片段,其不能显著中和、阻断、抑制、消除、减少或干扰特定或特异性的靶(例如,CD117)的活性,包括受体与配体的结合或酶与底物的相互作用。在一种实施方案中,中性抗CD117抗体或其片段是基本上不抑制SCF依赖性细胞增殖并且不交叉阻断SCF与CD117的结合的抗CD117抗体。中性抗体的一个实例是Ab67(或具有Ab67的结合区的抗体)。相比之下,“拮抗性(antagonist)”抗CD117抗体抑制SCF依赖性增殖,并且能够交叉阻断SCF与CD117的结合。拮抗性抗体的一个实例是Ab55

(或具有Ab55的结合区的抗体)。

[0493] 如本文使用的,术语“接受者”是指接受移植物诸如含有造血干细胞的群体的移植物的患者。被施用至接受者的移植的细胞可以是,例如,自体细胞、同基因细胞或同种异体细胞。

[0494] 如本文使用的,术语“样品”是指取自受试者的样本(例如,血液、血液组分(例如,血清或血浆)、尿液、唾液、羊水、脑脊液、组织(例如,胎盘或真皮)、胰液、绒毛膜绒毛样品和细胞)。

[0495] 如本文使用的,术语“scFv”是指一种单链Fv抗体,其中来自抗体的重链和轻链的可变结构域已经结合形成一条链。scFv片段含有单个多肽链,该多肽链包含由接头分开的抗体轻链可变区(V_L)(例如,CDR-L1、CDR-L2和/或CDR-L3)和抗体重链可变区(V_H)(例如,CDR-H1、CDR-H2和/或CDR-H3)。连接scFv片段的V_L和V_H区的接头可以是包含蛋白原(proteinogenic)氨基酸的肽接头。可以使用替代的接头以增加scFv片段对蛋白水解降解的抗性(例如,含有D-氨基酸的接头),以增强scFv片段的溶解度(例如,亲水接头诸如含有聚乙二醇的接头或含有重复甘氨酸和丝氨酸残基的多肽),以改进分子的生物物理稳定性(例如,含有形成分子内或分子间二硫键的半胱氨酸残基的接头),或以减弱scFv片段的免疫原性(例如,含有糖基化位点的接头)。本领域普通技术人员还应理解,本文描述的scFv分子的可变区可以被修饰,使得它们的氨基酸序列与它们源自的抗体分子的氨基酸序列不同。例如,可以在氨基酸残基处(例如,在CDR和/或框架残基中)进行导致保守取代或改变的核苷酸或氨基酸取代,以便保留或增强scFv与被对应抗体识别的抗原结合的能力。

[0496] 如本文使用的,术语“特异性的结合”或“特异性地结合”是指抗体识别和结合特定蛋白结构(表位)而不是泛泛地识别和结合蛋白的能力。如果抗体针对表位“A”是特异性的,则在含有标记的“A”和该抗体的反应中,含有表位A(或游离的、未标记的A)的分子的存在将减少与该抗体结合的标记的A的量。例如,如果抗体在被标记时可以被相应的未标记抗体竞争离开其靶,则抗体与靶“特异性地结合”。在一种实施方案中,如果抗体针对靶例如CD117具有至少约 10^{-4} M、 10^{-5} M、 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M或更小(更小意指小于 10^{-12} 的数字,例如 10^{-13})的K_D,则抗体特异性地结合靶。在一种实施方案中,如本文使用的,术语“与CD117的特异性结合”或“与CD117特异性地结合”,是指抗体或抗体片段与CD117结合并且具有 1.0×10^{-7} M或更小的解离常数(K_D),如通过表面等离子体共振确定的。在一种实施方案中,K_D(M)根据标准生物层干涉测量术(BLI)来确定。在一种实施方案中,K_{off}(1/s)根据标准生物层干涉测量术(BLI)来确定。然而,应当理解,抗体可能能够与两种或更多种序列相关的抗原特异性结合。例如,在一种实施方案中,抗体可以与CD117的人类和非人类(例如,小鼠或非人类灵长类动物)直系同源物两者均特异性地结合。

[0497] 如本文使用的,术语“受试者”和“患者”是指接受如本文描述的对特定疾病或状况的治疗的生物体,诸如人类。例如,患者,诸如人类患者,可以在造血干细胞移植疗法之前接受治疗,以便促进外源性造血干细胞的植入。

[0498] 如本文使用的,措辞“基本上从血液中清除”是指在将治疗剂(诸如抗CD117抗体或其抗原结合片段)施用至患者后的时间点,在该时间点,从患者分离的血液样品中的治疗剂的浓度使得治疗剂通过常规手段不能被检测到(例如,使得在用于检测治疗剂的装置或测定的噪声阈值之上不能检测到治疗剂)。本领域已知的多种技术可以用于检测抗体或抗体

片段,诸如本领域已知的或本文描述的基于ELISA的检测测定。可以用于检测抗体或抗体片段的另外的测定,包括尤其是本领域已知的免疫沉淀技术和免疫印迹测定。

[0499] 如本文使用的,措辞“干细胞紊乱”广泛地指可以通过调节受试者的靶组织和/或通过消除靶组织中的内源性干细胞群体(例如,消除来自受试者的骨髓组织的内源性造血干细胞或祖细胞群体)和/或通过受试者的靶组织中植入或移植干细胞来治疗或治愈的任何疾病、紊乱或状况。例如,1型糖尿病已经被证明通过造血干细胞移植被治愈,并且可以受益于根据本文描述的组合物和方法的调节。可以使用本文描述的组合物和方法治疗的另外的紊乱包括但不限于镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血、威斯科特-奥尔德里奇综合征、ADA SCID、HIV/AIDS、异染性脑白质营养不良、Diamond-Blackfan贫血和Schwachman-Diamond综合征。可以使用本文描述的患者调节和/或造血干细胞移植方法治疗的另外的疾病包括遗传性血液紊乱(例如,镰状细胞性贫血)和自身免疫性紊乱,诸如硬皮病、多发性硬化、溃疡性结肠炎和克罗恩氏病。可以使用本文描述的调节和/或移植方法治疗的另外的疾病包括恶性肿瘤,诸如神经母细胞瘤或血液学癌症,诸如白血病、淋巴瘤和骨髓瘤。例如,癌症可以是急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。使用本文描述的调节和/或移植方法可治疗的另外的疾病包括骨髓增生异常综合征。在一些实施方案中,受试者患有或以其他方式受代谢性贮积紊乱影响。例如,受试者可以罹患选自以下组成的组的代谢紊乱或以其他方式受选自以下组成的组的代谢紊乱影响:糖原贮积病、黏多糖贮积病、高歇氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积病、异染性脑白质营养不良,或可以受益于本文公开的治疗和疗法的任何其他疾病或紊乱,并且所述其他疾病或紊乱包括但不限于重症联合免疫缺陷病、Wiscott-Aldrich综合征、高免疫球蛋白M(IgM)综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、镰状细胞病、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化,青少年类风湿性关节炎和在“Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease,”ASH Education Book,1:319-338(2000)中描述的那些疾病或紊乱,其公开内容当其涉及可以通过施用造血干细胞移植疗法来治疗的病理时通过引用以其整体并入本文。

[0500] 如本文使用的,术语“转染”是指通常用于将外源DNA引入到原核或真核宿主细胞中的多种技术中的任一种,诸如电穿孔、脂质转染、磷酸钙沉淀、DEAE-右旋糖酐转染等。

[0501] 如本文使用的,术语“治疗(treat)”或“治疗(treatment)”是指减少疾病症状的严重性和/或频率,消除疾病症状和/或所述症状的潜在原因,减少疾病症状和/或其潜在原因的频率或可能性,以及改善或挽救由疾病直接或间接引起的损害。有益或期望的临床结果包括但不限于在本文描述的抗体调节性疗法和随后的造血干细胞移植疗法之后促进外源性造血细胞在患者中的植入。另外的有益结果包括在调节性疗法和随后向需要造血干细胞移植的患者施用外源性造血干细胞植入物之后患者中造血干细胞的细胞计数或相对浓度的增加。本文描述的疗法的有益结果还可以包括在调节性疗法和随后的造血干细胞移植疗法之后造血谱系细胞中的一种或更多种的细胞计数或相对浓度的增加,所述造血谱系细胞诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞或B淋巴细胞。另外的有益结果可以包括致病细胞群

体的数量的减少,所述致病细胞群体诸如癌细胞(例如,CD117+白血病细胞)或自身免疫性细胞(例如,CD117+自身免疫性淋巴细胞,诸如表达与自身抗原交叉反应的T细胞受体的CD117+T细胞)的群体。就本发明的方法旨在预防紊乱而言,应理解术语“预防”并不要求紊乱状态被完全阻止。而是,如本文使用的,术语预防是指技术人员鉴定易受紊乱影响的人群的能力,使得本发明化合物的施用可以在疾病发作之前进行。该术语并不意味着疾病状态被完全避免。

[0502] 如本文使用的,术语“变体”和“衍生物”可互换使用,并且是指本文描述的化合物、肽、蛋白或其他物质的天然存在的、合成的和半合成的类似物。本文描述的化合物、肽、蛋白或其他物质的变体或衍生物可以保留或改进原始材料的生物活性。

[0503] 如本文使用的,术语“载体”包括核酸载体,诸如质粒、DNA载体、质粒、RNA载体、病毒或其他合适的复制子。本文描述的表达载体可以含有多核苷酸序列以及例如用于表达蛋白和/或将这些多核苷酸序列整合到哺乳动物细胞基因组中的另外的序列元件。可以用于表达本发明的抗体和抗体片段的某些载体包括含有指导基因转录的调控序列(诸如启动子和增强子区)的质粒。用于表达抗体和抗体片段的其他有用载体含有增强这些基因的翻译速率或改进由基因转录产生的mRNA的稳定性或核输出的多核苷酸序列。这些序列元件可以包括,例如,5'和3'非翻译区和多腺苷酸化信号位点,以便指导表达载体上携带的基因的有效转录。本文描述的表达载体还可以含有编码用于选择含有这样的载体的细胞的标志物的多核苷酸。合适的标志物的实例包括编码对抗生素(诸如氨苄青霉素、氯霉素、卡那霉素和诺尔丝菌素)的抗性的基因。

[0504] 如本文使用的术语“酰基”是指 $-C(=O)R$,其中R是氢(“醛”)、烷基、烯基、炔基、碳环基、芳基、杂芳基或杂环基,如本文所定义。非限制性实例包括甲酰基、乙酰基、丙酰基、苯甲酰基和丙烯酰基。

[0505] 如本文使用的,术语“烷基”是指在链中具有例如从1个至20个碳原子的直链或支链烷基基团。烷基基团的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、异戊基、叔戊基、己基、异己基等。

[0506] 如本文使用的,术语“亚烷基”是指直链或支链二价烷基基团。二价位置可在烷基链内的相同或不同原子上。亚烷基的实例包括亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚异丙基等。

[0507] 如本文使用的,术语“杂烷基”是指在链中具有例如从1个至20个碳原子并且在链中还含有一个或更多个杂原子(例如,尤其是氧原子、氮原子或硫原子)的直链或支链烷基基团。

[0508] 如本文使用的,术语“杂亚烷基”是指直链或支链二价杂烷基基团。二价位置可以在杂烷基链内的相同或不同原子上。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0509] 如本文使用的,术语“烯基”是指在链中具有例如从2个至20个碳原子的直链或支链烯基基团。烯基基团的实例包括乙烯基、丙烯基、异丙烯基、丁烯基、叔丁烯基、己烯基等。

[0510] 如本文使用的,术语“亚烯基”是指直链或支链二价烯基基团。二价位置可以在烯基链内的相同或不同原子上。亚烯基的实例包括亚乙烯基、亚丙烯基、亚异丙烯基、亚丁烯基等。

[0511] 如本文使用的,术语“杂烯基”是指在链中具有例如从2个至20个碳原子并且在链中还含有一个或更多个杂原子(例如尤其是,氧原子、氮原子或硫原子)的直链或支链烯基

基团。

[0512] 如本文使用的,术语“杂亚烯基”是指直链或支链二价杂烯基基团。二价位置可以在杂烯基链内的相同或不同原子上。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0513] 如本文使用的,术语“炔基”是指在链中具有例如从2个至20个碳原子的直链或支链炔基基团。炔基基团的实例包括炔丙基、丁炔基、戊炔基、己炔基等。

[0514] 如本文使用的,术语“亚炔基”是指直链或支链二价炔基基团。二价位置可以在炔基链内的相同或不同原子上。

[0515] 如本文使用的,术语“杂炔基”是指在链中具有例如从2个至20个碳原子并且在链中还含有一个或更多个杂原子(例如尤其是,氧原子、氮原子或硫原子)的直链或支链炔基基团。

[0516] 如本文使用的,术语“杂亚炔基”是指直链或支链二价杂炔基基团。二价位置可以在杂炔基链内的相同或不同原子上。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0517] 如本文使用的,术语“环烷基”是指是饱和的并且具有例如从3个至12个碳环原子的单环,或稠合、桥连,或螺多环环结构。环烷基基团的实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、双环[3.1.0]己烷等。

[0518] 如本文使用的,术语“环亚烷基”是指二价环烷基基团。二价位置可以在环结构内的相同或不同原子上。环亚烷基的实例包括亚环丙基、亚环丁基、亚环戊基、亚环己基等。

[0519] 如本文使用的,术语“杂环烷基”是指是饱和的并且每个环结构具有例如从3个至12个选自碳原子和选自例如尤其是氮原子、氧原子和硫原子的杂原子的环原子的单环,或稠合、桥连或螺多环环结构。环结构可以例如在碳、氮或硫环成员上含有一个或更多个氧代基团。杂环烷基的实例通过实例的方式包括但不限于二氢吡啶基、四氢吡啶基(哌啶基)、四氢噻吩基、哌啶基、4-哌啶酮基、吡咯烷基、2-吡咯烷酮基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、双四氢吡喃基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、十氢喹啉基、八氢异喹啉基、哌嗪基、奎宁环基和吗啉基。

[0520] 如本文使用的,术语“杂环亚烷基”是指二价杂环烷基基团。二价位置可以在环结构内的相同或不同原子上。

[0521] 如本文使用的,术语“芳基”是指含有例如从6个至19个碳原子的单环或多环芳族环体系。芳基基团包括但不限于苯基、苄基、萘基等。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0522] 如本文使用的,术语“亚芳基”是指二价芳基基团。二价位置可以在相同或不同的原子上。

[0523] 如本文使用的,术语“杂芳基”是指单环杂芳基,或双环或三环稠环杂芳基,其中一个或更多个环原子是杂原子,例如氮、氧或硫。杂芳基基团包括吡啶基、吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、吡唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、1,3,4-三嗪基、1,2,3-三嗪基、苯并呋喃基、[2,3-二氢]苯并呋喃基、异苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并三唑基、异苯并噻吩基、吲哚基、异吲哚基、3H-吲哚基、苯并咪唑基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹啉基、喹啉基、酞嗪基、喹喔啉基、噌啉基、蔡啶基、吡啶并[3,4-b]吡啶基、吡啶并[3,2-b]吡啶基、吡啶并[4,3-b]吡啶基、喹啉基、异喹啉基、四唑基、5,6,7,8-四氢喹啉基、5,6,7,8-四氢异喹啉基、嘌呤基、蝶啶基、咔唑基、咕吨基、苯并喹啉基等。

[0524] 如本文使用的,术语“杂亚芳基”是指二价杂芳基基团。二价位置可以在相同或不同的原子上。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0525] 除非另外受单独取代基的定义限制,否则前述化学部分,诸如“烷基”、“亚烷基”、“杂烷基”、“杂亚烷基”、“烯基”、“亚烯基”、“杂烯基”、“杂亚烯基”、“炔基”、“亚炔基”、“杂炔基”、“杂亚炔基”、“环烷基”、“环亚烷基”、“杂环烷基”、“杂环亚烷基”、“芳基”、“亚芳基”、“杂芳基”和“杂亚芳基”基团可以任选地被例如从1个至5个选自由以下组成的组的取代基取代:烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、烷基芳基、烷基杂芳基、烷基环烷基、烷基杂环烷基、氨基、铵基、酰基、酰氧基、酰氨基、氨基羰基、烷氧基羰基、脲基、氨基甲酸酯、芳基、杂芳基、亚磺酰基、磺酰基、烷氧基、硫烷基、卤素、羧基、三卤甲基、氰基、羟基、巯基、硝基等。典型的取代基包括但不限于-X、-R、-OH、-OR、-SH、-SR、 NH_2 、-NHR、 $\text{N}(\text{R})_2$ 、 $\text{N}^+(\text{R})_3$ 、 CX_3 、-CN、-OCN、-SCN、-NCO、-NCS、-NO、 NO_2 、 N_3 、-NC(=O)H、-NC(=O)R、-C(=O)H、-C(=O)R、-C(=O) NH_2 、-C(=O) $\text{N}(\text{R})_2$ 、 SO_3 、 SO_3H 、-S(=O) $_2$ R、-OS(=O) $_2$ OR、-S(=O) $_2$ NH_2 、-S(=O) $_2$ $\text{N}(\text{R})_2$ 、-S(=O)R、-OP(=O)(OH) $_2$ 、-OP(=O)(OR) $_2$ 、-P(=O)(OR) $_2$ 、 PO_3 、 PO_3H_2 、-C(=O)X、-C(=S)R、-CO $_2$ H、-CO $_2$ R、-CO $_2^-$ 、-C(=S)OR、-C(=O)SR、-C(=S)SR、-C(=O) NH_2 、-C(=O) $\text{N}(\text{R})_2$ 、-C(=S) NH_2 、-C(=S) $\text{N}(\text{R})_2$ 、-C(=NH) NH_2 和-C(=NR) $\text{N}(\text{R})_2$;其中每个X在每种情况下独立地选自F、Cl、Br和I;并且每个R在每种情况下独立地选自烷基、芳基、杂环烷基或杂芳基、保护基团和前药部分。在基团被描述为“任选地被取代”的所有情况下,该基团在每种情况下独立地可以被一个或更多个以上取代基取代。

[0526] 在基团被描述为“任选地被取代”的所有情况下,该基团在每种情况下独立地可以被一个或更多个以上取代基取代。取代可以包括其中邻近取代基经历环闭合的情况,诸如邻位官能取代基的环闭合,以形成通过例如环闭合形成的内酰胺、内酯、环酐、缩醛、半缩醛、硫代缩醛、缩醛胺和半缩醛胺以提供保护基团。

[0527] 应理解,取决于上下文,某些自由基命名惯例可以包括单自由基或双自由基。例如,在取代基需要与分子的其余部分有两个附接点的情况下,应理解该取代基是双自由基。例如,被鉴定为需要两个附接点的烷基的取代基包括双自由基,诸如 CH_2^- 、 CH_2CH_2^- 、 $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2^-$ 等。其他自由基命名惯例清楚地表明该自由基是双自由基,诸如“亚烷基”、“亚烯基”、“亚芳基”、“杂环亚烷基”等。

[0528] 在取代基被描述为双自由基(即,与分子的其余部分有两个附接点)的所有情况下,应理解取代基可以以任何方向构型附接,除非另有说明。

[0529] 抗CD117抗体

[0530] 本发明部分地基于以下发现:能够结合CD117诸如GNNK+CD117的抗体或其抗原结合片段可以单独地或作为缀合物(ADC)被用作治疗剂,以例如(i)治疗以CD117+细胞为特征的癌症和自身免疫性疾病,和(ii)促进需要移植疗法的患者中移植的造血干细胞的植入。这些治疗活性可以通过以下引起:例如,与细胞诸如癌细胞、自身免疫性细胞或造血干细胞的表面上表达的CD117(例如,GNNK+CD117)结合的分离的抗CD117抗体、其抗原结合片段的结合,并且随后诱导细胞死亡。内源性造血干细胞的耗尽可以提供移植的造血干细胞可以朝向其归巢的小生境,并随后建立富有成效的血细胞生成。以这种方式,移植的造血干细胞可以成功地植入罹患本文描述的干细胞紊乱的患者,诸如人类患者中。

[0531] 能够结合人类CD117(也被称为c-Kit,mRNA NCBI参考序列:NM_000222.2,蛋白

NCBI参考序列:NP_000213.1)的抗体和抗原结合片段,包括能够结合GNNK+CD117的那些,可以与本文描述的组合物和方法结合使用,以调节患者以便于造血干细胞移植疗法。目前在非肿瘤学指示物(indication)中,在较大百分比的群体中影响CD117的编码区或细胞外结构域的多态性并非是熟知的。已经鉴定了CD117的至少四种同种型,并且有可能在肿瘤细胞中表达另外的同种型。所述CD117同种型中的两种位于蛋白的细胞内结构域上,并且两种存在于外部近膜区域。两种细胞外同种型GNNK+和GNNK-在4氨基酸序列的存在(GNNK+)或不存在(GNNK-)方面不同。据报道,这些同种型对配体(SCF)具有相同的亲和力,但据报道配体与GNNK-同种型的结合增加内化和降解。GNNK+同种型可以被用作免疫原以产生能够结合CD117的抗体,因为针对该同种型产生的抗体将包括GNNK+和GNNK-蛋白。人类CD117同种型1和2的氨基酸序列分别在SEQ ID NO:145和SEQ ID NO:146中描述。在某些实施方案中,本文公开的抗人类CD117(hCD117)抗体能够与人类CD117的同种型1和同种型2两者结合。

[0532] 如以下描述的,进行对人类抗体的酵母文库筛选,以鉴定具有诊断和治疗用途的新的抗CD117抗体及其片段。抗体54(Ab54)、抗体55(Ab55)、抗体56(Ab56)、抗体57(Ab57)、抗体58(Ab58)、抗体61(Ab61)、抗体66(Ab66)、抗体67(Ab67)、抗体68(Ab68)和抗体69(Ab69)是在该筛选中鉴定出的人类抗体。这些抗体与人类CD117和恒河猴CD117交叉反应。此外,本文公开的这些抗体能够结合人类CD117的两种同种型,即,同种型1(SEQ ID NO:145)和同种型2(SEQ ID NO:146)。

[0533] 在表10中描述了抗CD117抗体Ab54、Ab55、Ab56、Ab57、Ab58、Ab61、Ab66、Ab67、Ab68和Ab69的不同结合区的氨基酸序列。本发明包括包含如表10中列出的CDR的人类抗CD117抗体、以及包含表10中列出的可变区的人类抗CD117抗体。

[0534] 在一种实施方案中,本发明提供了抗CD117抗体或其抗原结合片段,其包含对应于抗体55的那些的结合区,例如CDR、可变区。抗体55(即Ab55)的重链可变区(VH)氨基酸序列在SEQ ID NO:19中列出(参见表10)。抗体55的VH CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:21(VH CDR1)、SEQ ID NO:22(VH CDR2)和SEQ ID NO:23(VH CDR3)中列出。抗体55的轻链可变区(VL)氨基酸序列在SEQ ID NO:20中描述(参见表10)。抗体55的VL CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:24(VL CDR1)、SEQ ID NO:25(VL CDR2)和SEQ ID NO:26(VL CDR3)中列出。抗体55的重链恒定区在SEQ ID NO:122中列出。抗体55的轻链恒定区在SEQ ID NO:121中列出。因此,在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含如SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:23中列出的可变重链CDR组(CDR1、CDR2和CDR3),以及如SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26中列出的轻链可变区CDR组。在其他实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:20中列出的氨基酸残基的可变轻链,和如SEQ ID NO:19中列出的重链可变区。

[0535] 在一种实施方案中,本发明提供了抗CD117抗体或其抗原结合片段,其包含对应于抗体54的那些的结合区,例如CDR、可变区。抗体54(即Ab54)的重链可变区(VH)氨基酸序列在SEQ ID NO:29中列出(参见表10)。抗体54的VH CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:31(VH CDR1)、SEQ ID NO:32(VH CDR2)和SEQ ID NO:33(VH CDR3)中列出。抗体54的轻链可变区(VL)氨基酸序列在SEQ ID NO:30中描述(参见表10)。抗体54的VL CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:34(VL CDR1)、SEQ ID NO:35(VL CDR2)和SEQ ID NO:36(VL CDR3)中列出。抗体54的重链恒定区在SEQ ID NO:122中列出。抗体54的轻链恒定区在SEQ ID NO:121中列

出。因此,在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含如SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32和SEQ ID NO:33中列出的可变重链CDR组(CDR1、CDR2和CDR3),以及如SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36中列出的轻链可变区CDR组。在其他实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:30中列出的氨基酸残基的可变轻链,和如SEQ ID NO:29中列出的重链可变区。

[0536] 在一种实施方案中,本发明提供了抗CD117抗体或其抗原结合片段,其包含对应于抗体56的那些的结合区,例如CDR、可变区。抗体56(即Ab56)的重链可变区(VH)氨基酸序列在SEQ ID NO:39中列出(参见表10)。抗体56的VH CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:41(VH CDR1)、SEQ ID NO:42(VH CDR2)和SEQ ID NO:43(VH CDR3)中列出。抗体56的轻链可变区(VL)氨基酸序列在SEQ ID NO:40中描述(参见表10)。抗体56的VL CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:44(VL CDR1)、SEQ ID NO:45(VL CDR2)和SEQ ID NO:46(VL CDR3)中列出。抗体56的重链恒定区在SEQ ID NO:122中列出。抗体56的轻链恒定区在SEQ ID NO:121中列出。因此,在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含如SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42和SEQ ID NO:43中列出的可变重链CDR组(CDR1、CDR2和CDR3),以及如SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45和SEQ ID NO:46中列出的轻链可变区CDR组。在其他实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:40中列出的氨基酸残基的可变轻链,和如SEQ ID NO:39中列出的重链可变区。

[0537] 在一种实施方案中,本发明提供了抗CD117抗体或其抗原结合片段,其包含对应于抗体57的那些的结合区,例如CDR、可变区。抗体57(即Ab57)的重链可变区(VH)氨基酸序列在SEQ ID NO:49中列出(参见表10)。抗体57的VH CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:51(VH CDR1)、SEQ ID NO:52(VH CDR2)和SEQ ID NO:53(VH CDR3)中列出。抗体57的轻链可变区(VL)氨基酸序列在SEQ ID NO:50中描述(参见表10)。抗体57的VL CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:54(VL CDR1)、SEQ ID NO:55(VL CDR2)和SEQ ID NO:56(VL CDR3)中列出。抗体57的重链恒定区在SEQ ID NO:122中列出。抗体57的轻链恒定区在SEQ ID NO:121中列出。因此,在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含如SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52和SEQ ID NO:53中列出的可变重链CDR组(CDR1、CDR2和CDR3),以及如SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55和SEQ ID NO:56中列出的轻链可变区CDR组。在其他实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:50中列出的氨基酸残基的可变轻链,和如SEQ ID NO:49中列出的重链可变区。

[0538] 在一种实施方案中,本发明提供了抗CD117抗体或其抗原结合片段,其包含对应于抗体58的那些的结合区,例如CDR、可变区。抗体58(即Ab58)的重链可变区(VH)氨基酸序列在SEQ ID NO:59中列出(参见表10)。抗体58的VH CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:61(VH CDR1)、SEQ ID NO:62(VH CDR2)和SEQ ID NO:63(VH CDR3)中列出。抗体58的轻链可变区(VL)氨基酸序列在SEQ ID NO:60中描述(参见表10)。抗体58的VL CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:64(VL CDR1)、SEQ ID NO:65(VL CDR2)和SEQ ID NO:66(VL CDR3)中列出。抗体58的重链恒定区在SEQ ID NO:122中列出。抗体58的轻链恒定区在SEQ ID NO:121中列出。因此,在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含如SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62和SEQ ID NO:63中列出的可变重链CDR组(CDR1、CDR2和CDR3),以及如SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65和SEQ ID NO:66中列出的轻链可变区CDR组。在其他实施方案中,抗CD117抗

体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:60中列出的氨基酸残基的可变轻链,和如SEQ ID NO:59中列出的重链可变区。

[0539] 在一种实施方案中,本发明提供了抗CD117抗体或其抗原结合片段,其包含对应于抗体61的那些的结合区,例如CDR、可变区。抗体61(即Ab61)的重链可变区(VH)氨基酸序列在SEQ ID NO:69中列出(参见表10)。抗体61的VH CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:71(VH CDR1)、SEQ ID NO:72(VH CDR2)和SEQ ID NO:73(VH CDR3)中列出。抗体61的轻链可变区(VL)氨基酸序列在SEQ ID NO:70中描述(参见表10)。抗体61的VL CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:74(VLCDR1)、SEQ ID NO:75(VL CDR2)和SEQ ID NO:76(VL CDR3)中列出。抗体61的重链恒定区在SEQ ID NO:122中列出。抗体61的轻链恒定区在SEQ ID NO:121中列出。因此,在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含如SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72和SEQ ID NO:73中列出的可变重链CDR组(CDR1、CDR2和CDR3),以及如SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75和SEQ ID NO:76中列出的轻链可变区CDR组。在其他实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:70中列出的氨基酸残基的可变轻链,和如SEQ ID NO:69中列出的重链可变区。

[0540] 在一种实施方案中,本发明提供了抗CD117抗体或其抗原结合片段,其包含对应于抗体66的那些的结合区,例如CDR、可变区。抗体66(即Ab66)的重链可变区(VH)氨基酸序列在SEQ ID NO:79中列出(参见表10)。抗体66的VH CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:81(VH CDR1)、SEQ ID NO:82(VH CDR2)和SEQ ID NO:83(VH CDR3)中列出。抗体66的轻链可变区(VL)氨基酸序列在SEQ ID NO:80中描述(参见表10)。抗体66的VL CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:84(VL CDR1)、SEQ ID NO:85(VL CDR2)和SEQ ID NO:86(VL CDR3)中列出。抗体66的重链恒定区在SEQ ID NO:122中列出。抗体66的轻链恒定区在SEQ ID NO:121中列出。因此,在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含如SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82和SEQ ID NO:83中列出的可变重链CDR组(CDR1、CDR2和CDR3),以及如SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85和SEQ ID NO:86中列出的轻链可变区CDR组。在其他实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:80中列出的氨基酸残基的可变轻链,和如SEQ ID NO:79中列出的重链可变区。

[0541] 在一种实施方案中,本发明提供了抗CD117抗体或其抗原结合片段,其包含对应于抗体67的那些的结合区,例如CDR、可变区。抗体67的重链可变区(VH)氨基酸序列在SEQ ID NO:9中列出(参见表2)。抗体67的VH CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:11(VH CDR1)、SEQ ID NO:12(VH CDR2)和SEQ ID NO:13(VH CDR3)中列出。抗体67的轻链可变区(VL)氨基酸序列在SEQ ID NO:10中描述(参见表2)。抗体67的VL CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:14(VL CDR1)、SEQ ID NO:15(VL CDR2)和SEQ ID NO:16(VL CDR3)中列出。抗体67的全长重链(HC)在SEQ ID NO:110中列出,并且抗体67的全长重链恒定区在SEQ ID NO:122中列出。抗体67的轻链(LC)在SEQ ID NO:109中列出。抗体67的轻链恒定区在SEQ ID NO:121中列出。因此,在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含如SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13中列出的可变重链CDR组(CDR1、CDR2和CDR3),以及如SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16中列出的轻链可变区CDR组。在其他实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:9中列出的氨基酸残基的可变重链,和如SEQ ID NO:10中列出的重链可变区。在另外的实施方案中,抗CD117抗体包含含有SEQ ID NO:110的

重链和含有SEQ ID NO:109的轻链。

[0542] 在一种实施方案中,本发明提供了抗CD117抗体或其抗原结合片段,其包含对应于抗体68的那些的结合区,例如CDR、可变区。抗体68(即Ab68)的重链可变区(VH)氨基酸序列在SEQ ID NO:89中列出(参见表10)。抗体68的VH CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:91(VH CDR1)、SEQ ID NO:92(VH CDR2)和SEQ ID NO:93(VH CDR3)中列出。抗体68的轻链可变区(VL)氨基酸序列在SEQ ID NO:90中描述(参见表10)。抗体68的VL CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:94(VL CDR1)、SEQ ID NO:95(VL CDR2)和SEQ ID NO:96(VL CDR3)中列出。抗体68的重链恒定区在SEQ ID NO:122中列出。抗体68的轻链恒定区在SEQ ID NO:121中列出。因此,在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含如SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:93中列出的可变重链CDR组(CDR1、CDR2和CDR3),以及如SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95和SEQ ID NO:96中列出的轻链可变区CDR组。在其他实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:90中列出的氨基酸残基的可变轻链,和如SEQ ID NO:89中列出的重链可变区。

[0543] 在一种实施方案中,本发明提供了抗CD117抗体或其抗原结合片段,其包含对应于抗体69的那些的结合区,例如CDR、可变区。抗体69(即Ab69)的重链可变区(VH)氨基酸序列在SEQ ID NO:99中列出(参见表10)。抗体69的VH CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:101(VH CDR1)、SEQ ID NO:102(VH CDR2)和SEQ ID NO:103(VH CDR3)中列出。抗体69的轻链可变区(VL)氨基酸序列在SEQ ID NO:100中描述(参见表10)。抗体69的VL CDR结构域氨基酸序列在SEQ ID NO:104(VL CDR1)、SEQ ID NO:105(VL CDR2)和SEQ ID NO:106(VL CDR3)中列出。抗体69的重链恒定区在SEQ ID NO:122中列出。抗体69的轻链恒定区在SEQ ID NO:121中列出。因此,在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含如SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102和SEQ ID NO:103中列出的可变重链CDR组(CDR1、CDR2和CDR3),以及如SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105和SEQ ID NO:106中列出的轻链可变区CDR组。在其他实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:100中列出的氨基酸残基的可变轻链,和如SEQ ID NO:99中列出的重链可变区。

[0544] 本文描述的某些抗CD117抗体是中性抗体,因为这些抗体基本上不抑制表达CD117的细胞上的CD117活性。中性抗体可以使用例如体外干细胞因子(SCF)依赖性细胞增殖测定来鉴定(参见,例如,本文描述的实施例11)。在SCF依赖性细胞增殖测定中,中性CD117抗体将不会杀伤依赖于SCF分裂的CD34⁺细胞,因为中性抗体将不会阻断SCF与CD117结合诸如抑制CD117活性。

[0545] 中性抗体可以用于诊断目的,因为它们具有特异性结合人类CD117的能力,但当与诸如本文描述的那些的细胞毒素缀合时,也能有效杀伤表达CD117的细胞。通常,缀合物中使用的抗体具有该抗体所特有的激动或拮抗活性。然而,本文描述了一种独特的缀合方法,尤其是在干细胞移植前缀合物被用作调节剂的情况下。虽然鉴于除了细胞毒素之外单独的抗体的杀伤能力,单独的拮抗性抗体或拮抗性抗体与细胞毒素组合为缀合物可以是有效的,但是用包含中性抗CD117抗体的缀合物调节提供了一种替代策略,其中抗体的活性次于细胞毒素的作用,但是抗体的内化和亲和力特征例如解离速率对于细胞毒素的有效递送是很重要的。

[0546] 中性抗CD117抗体的实例包括Ab58、Ab61、Ab66、Ab67、Ab68和Ab69。中性抗CD117抗

体CDR的氨基酸序列的比较揭示了在鉴定出的两组中性抗体之间的共有序列。在图22a和图22b中分别描述了Ab58和Ab61的重链和轻链可变区的比较。Ab58和Ab61共有相同的轻链CDR和HC CDR3,在HC CDR1和HC CDR2方面略有不同。HC CDR1和HC CDR2的共有序列被描述于SEQ ID NO:133和SEQ ID NO:134中。Ab66、Ab67、Ab68和Ab69也是中性抗体。在图23A和图23B中分别描述了这些抗体的重链和轻链可变区。虽然Ab66、Ab67、Ab68和Ab69共有相同的轻链CDR和相同的HC CDR3,但是这些抗体在其HC CDR1和HC CDR2区内具有可变性。这些抗体在HC CDR1和HC CDR2区中的共有序列分别被提供于SEQ ID NO:139和SEQ ID NO:140中。

[0547] 本文还提供了拮抗性抗体,包括Ab54、Ab55、Ab56和Ab57。在图21A和图22B中分别提供了这些抗体的可变重链和轻链氨基酸序列的比较。虽然Ab54、Ab55、Ab56和Ab57共有相同的轻链CDR和相同的HC CDR3,但是这些抗体在其HC CDR1和HC CDR2区内具有可变性。这些抗体在HC CDR1和HC CDR2区中的共有序列分别被提供于SEQ ID NO:127和SEQ ID NO:128中。

[0548] 本文描述的抗CD117抗体可以呈以下形式:全长抗体,双特异性抗体,双可变结构域抗体,多链或单链抗体,和/或特异性结合人类CD117的结合片段,包括但不限于Fab、Fab'、(Fab')₂、Fv、scFv(单链Fv)、替代抗体(surrobody)(包括替代轻链构建体)、单结构域抗体、骆驼化抗体(camelized antibody)等。它们也可以是任何同种型或源自任何同种型,所述同种型包括,例如,IgA(例如,IgA1或IgA2)、IgD、IgE、IgG(例如,IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)或IgM。在一些实施方案中,抗CD117抗体是IgG(例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)。

[0549] 用于与本文描述的方法结合使用的抗体包括以上描述的那些抗体的变体,诸如含有或缺乏Fc结构域的抗体片段,以及本文描述的非人类抗体的人源化变体和含有本文描述的抗体或抗体片段的一个或更多个或所有CDR或其等效区域的抗体样蛋白支架(例如,¹⁰Fn3结构域)。前述抗体的示例性抗原结合片段包括尤其是双重可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双体、三体、纳米抗体、抗体样蛋白支架,Fv片段、Fab片段、F(ab')₂分子和串联二-scFv。

[0550] 在一种实施方案中,提供了包含一个或更多个放射性标记的氨基酸的抗CD117抗体。放射性标记的抗CD117抗体可以用于诊断和治疗目的两者(与放射性标记的分子缀合是另一个可能的特征)。用于多肽的标记的非限制性实例包括但不限于³H、¹⁴C、¹⁵N、³⁵S、⁹⁰Y、⁹⁹Tc和¹²⁵I、¹³¹I以及¹⁸⁶Re。用于制备放射性标记的氨基酸和相关肽衍生物的方法是本领域已知的(参见例如Junghans等人Cancer Chemotherapy and Biotherapy 655-686(第2版,Chafner和Longo,编著,Lippincott Raven(1996))和美国专利第4,681,581号、美国专利第4,735,210号、美国专利第5,101,827号、美国专利第5,102,990号(U.S.RE35,500)、美国专利第5,648,471号和美国专利第5,697,902号。例如,放射性同位素可以通过氯胺T方法来缀合。

[0551] 本文描述的抗CD117抗体或结合片段也可以包括改变抗体和/或片段的特性的修饰和/或突变,诸如,如本领域已知的增加半衰期、增加或减少ADCC等的修饰和/或突变。

[0552] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其结合片段包含变体Fc区,其中所述变体Fc区包含相对于野生型Fc区的至少一个氨基酸修饰,使得所述分子具有改变的对FcγR的亲和力。通过结晶学研究已知Fc区内的某些氨基酸位置与FcγR进行直接接触。特别是氨基酸

234-239 (铰链区)、氨基酸265-269 (B/C环)、氨基酸297-299 (C'/E环) 和氨基酸327-332 (F/G环)。(参见Sondermann等人,2000Nature,406:267-273)。因此,本文描述的抗CD117抗体可以包含变体Fc区,该变体Fc区包含基于结构和晶体学分析与Fc γ R进行直接接触的至少一个残基处的修饰。在一种实施方案中,抗CD117抗体(或其片段)的Fc区包含根据如Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,NH1,MD (1991) 中的EU索引的氨基酸265处的氨基酸取代,通过引用明确并入本文。“Kabat中的EU索引”是指人类IgG1 EU抗体的编号。EU索引或如Kabat中的EU索引或EU编号方案是指EU抗体的编号(Edelman等人,1969,Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85,在此通过引用整体并入。)在一种实施方案中,Fc区包含D265A突变。在一种实施方案中,Fc区包含D265C突变。在一些实施方案中,抗CD117抗体的Fc区(或其片段)包含根据如Kabat中的EU索引的氨基酸234处的氨基酸取代。在一种实施方案中,Fc区包含L234A突变。在一些实施方案中,抗CD117抗体的Fc区(或其片段)包含根据如Kabat中的EU索引的氨基酸235处的氨基酸取代。在一种实施方案中,Fc区包含L235A突变。在仍另一种实施方案中,Fc区包含L234A和L235A突变。在另一种实施方案中,Fc区包含D265C、L234A和L235A突变。

[0553] 在某些方面中,变体IgG Fc结构域包含一个或更多个氨基酸取代,导致与不包含所述一个或更多个氨基酸取代的野生型Fc结构域相比对Fc γ R和/或C1q的结合亲和力降低或消除。Fc结合相互作用对于多种效应功能和下游信号传导事件至关重要,包括但不限于抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)。相应地,在某些方面中,包含修饰的Fc区(例如,包含L234A、L235A和D265C突变)的抗体具有显著减少或消除的效应功能。

[0554] 可以使用本领域已知的多种技术来确定对Fc区的亲和力,所述技术例如但不限于平衡方法(例如,酶联免疫吸附测定(ELISA);KinExA,Rathanaswami等人Analytical Biochemistry,Vol.373:52-60,2008;或放射免疫测定(RIA))或通过表面等离子体共振测定或其他基于动力学的测定机制(例如,BIACORE™分析或Octet™分析(forteBIO))以及其他方法,诸如间接结合测定、竞争性结合测定、荧光共振能量转移(FRET)、凝胶电泳和色谱术(例如,凝胶过滤)。这些和其他方法可以利用一种或更多种被检查的组分上的标记和/或采用多种检测方法,包括但不限于显色、荧光、发光或同位素标记。结合亲和力和动力学的详细描述可见于Paul,W.E.,编著,Fundamental Immunology,4th Ed.,Lippincott-Raven,Philadelphia(1999),其集中于抗体-免疫原相互作用。竞争性结合测定的一个实例是放射免疫测定,包括在递增的量的未标记的抗原的存在下,将标记的抗原与感兴趣的抗体一起孵育,并且检测与标记的抗原结合的抗体。感兴趣的抗体对特定抗原的亲和力和结合解离速率可以通过Scatchard图分析从数据确定。与第二抗体的竞争也可以使用放射免疫测定来确定。在该情况下,在递增的量的未标记的第二抗体的存在下,将抗原与缀合至标记化合物的感兴趣的抗体一起孵育。

[0555] 本发明的抗体可以通过引入另外的Fc突变被进一步工程化以进一步调节抗体半衰期,所述另外的Fc突变诸如在以下中描述的那些:例如(Dall'Acqua等人(2006)J Biol Chem 281:23514-24)、(Zalevsky等人(2010)Nat Biotechnol 28:157-9)、(Hinton等人(2004)J Biol Chem 279:6213-6)、(Hinton等人(2006)J Immunol 176:346-56)、(Shields等人(2001)J Biol Chem 276:6591-604)、(Petkova等人(2006)Int Immunol 18:1759-

69)、(Datta-Mannan等人(2007) Drug Metab Dispos 35:86-94)、(Vaccaro等人(2005) Nat Biotechnol 23:1283-8)、(Yeung等人(2010) Cancer Res 70:3269-77)和(Kim等人(1999) Eur J Immunol 29:2819-25),并且包括以下位置:250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434和435。可以单独或组合地进行的示例性突变是T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257I、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435A和H435R突变。

[0556] 因此,在一种实施方案中,Fc区包含导致半衰期降低的突变。具有短半衰期的抗体在某些情况下可以是有利的,在这些情况下,预期该抗体作为短寿命治疗剂发挥作用,例如,本文描述的调节步骤,其中在施用该抗体后施用HSC。理想地,在递送HSC之前,抗体将基本上被清除,该HSC通常也表达CD117,但不是抗CD117抗体的靶,与内源性干细胞不同。在一种实施方案中,Fc区包含位置435(根据Kabat的EU索引)处的突变。在一种实施方案中,突变是H435A突变。

[0557] 在一种实施方案中,本文描述的抗CD117抗体具有等于或小于24小时的半衰期、等于或小于22小时的半衰期、等于或小于20小时的半衰期、等于或小于18小时的半衰期、等于或小于16小时的半衰期、等于或小于14小时的半衰期、等于或小于13小时的半衰期、等于或小于12小时的半衰期或等于或小于11小时的半衰期。在一种实施方案中,抗体的半衰期为11小时至24小时、12小时至22小时、10小时至20小时、8小时至18小时或14小时至24小时。

[0558] 在一些方面中,Fc区包含两个或更多个突变,这些突变赋予了减少的半衰期,并且大大减弱或完全消除了抗体的效应功能。在一些实施方案中,Fc区包含导致半衰期降低的突变和至少一个可以与Fc γ R进行直接接触的残基(例如,如基于结构和晶体学分析的)的突变。在一种实施方案中,Fc区包含H435A突变、L234A突变和L235A突变。在一种实施方案中,Fc区包含H435A突变和D265C突变。在一种实施方案中,Fc区包括H435A突变、L234A突变、L235A突变和D265C突变。

[0559] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段通过抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中的半胱氨酸残基与细胞毒素(例如,鹅膏蕈毒素)缀合。在一些实施方案中,半胱氨酸残基通过抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中的突变被引入。例如,半胱氨酸残基可以选自由以下组成的组:Cys118、Cys239和Cys265。在一种实施方案中,抗CD117抗体(或其片段)的Fc区包含根据如Kabat中的EU索引的氨基酸265处的氨基酸取代。在一种实施方案中,Fc区包含D265C突变。在一种实施方案中,Fc区包含D265C和H435A突变。在一种实施方案中,Fc区包含D265C、L234A和L235A突变。在一种实施方案中,Fc区包含D265C、L234A、L235A和H435A突变。

[0560] 在这些方面的一些实施方案中,半胱氨酸残基天然存在于抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中。例如,Fc结构域可以是IgG Fc结构域,诸如人类IgG1 Fc结构域,并且半胱氨酸残基可以选自由以下组成的组:Cys261、Cys321、Cys367和Cys425。

[0561] 例如,在一种实施方案中,抗体67的Fc区被修饰以包含D265C突变(例如,SEQ ID NO:111)。在另一种实施方案中,抗体67的Fc区被修饰以包含D265C、L234A和L235A突变(例如,SEQ ID NO:112)。在又另一种实施方案中,抗体67的Fc区被修饰以包含D265C和H435A突变(例如,SEQ ID NO:113)。在另一种实施方案中,抗体67的Fc区被修饰以包含D265C、L234A、L235A和H435A突变(例如,SEQ ID NO:114)。

[0562] 关于抗体55,在一种实施方案中,抗体55的Fc区被修饰以包含D265C突变(例如,SEQ ID NO:117)。在另一种实施方案中,抗体55的Fc区被修饰以包含D265C、L234A和L235A突变(例如,SEQ ID NO:118)。在又另一种实施方案中,抗体55的Fc区被修饰以包含D265C和H435A突变(例如,SEQ ID NO:119)。在另一种实施方案中,抗体55的Fc区被修饰以包含D265C、L234A、L235A和H435A突变(例如,SEQ ID NO:120)。

[0563] 抗体54、抗体55、抗体56、抗体57、抗体58、抗体61、抗体66、抗体67、抗体68或抗体69中的任一个的Fc区可以被修饰以包含D265C突变(例如,如SEQ ID NO:123中);D265C、L234A和L235A突变(例如,如SEQ ID NO:124中);D265C和H435A突变(例如,如SEQ ID NO:125中);或D265C、L234A、L235A和H435A突变(例如,如SEQ ID NO:126中)。

[0564] 本文描述的变体Fc结构域根据组成它们的氨基酸修饰来定义。对于本文讨论的所有与Fc区相关的氨基酸取代,编号总是根据EU索引。因此,例如,D265C是相对于亲本Fc结构域在EU位置265处的天冬氨酸(D)被半胱氨酸(C)取代的Fc变体。类似地,例如,D265C/L234A/L235A定义了相对于亲本Fc结构域的EU位置265(D至C)、234(L至A)和235(L至A)处具有取代的变体Fc变体。变体也可以根据其突变的EU氨基酸位置的最终氨基酸组成来指定。例如,L234A/L235A突变体可以被称为LALA。应注意的是,提供取代的顺序是任意的。

[0565] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含可变区,该可变区与本文公开的SEQ ID NO具有至少95%、96%、97%或99%相同的氨基酸序列。可选地,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含含有本文公开的SEQ ID NO的CDR,本文描述的可变区的框架区与本文公开的SEQ ID NO具有至少95%、96%、97%或99%相同的氨基酸序列。

[0566] 在某些实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段具有一定的解离速率,这在被用作缀合物的一部分时特别有利。例如,在某些实施方案中,如通过生物层干涉测量术(BLI)测量的,抗CD117抗体对人类CD117和/或恒河猴CD117具有以下解离速率常数(K_{off}): 1×10^{-2} 至 1×10^{-3} 、 1×10^{-3} 至 1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 至 1×10^{-6} 、 1×10^{-6} 至 1×10^{-7} 或 1×10^{-7} 至 1×10^{-8} 。在一些实施方案中,如通过生物层干涉测量术(BLI)测定确定的,抗体或其抗原结合片段以以下 K_D 结合CD117(例如,人类CD117和/或恒河猴CD117):约100nM或更小、约90nM或更小、约80nM或更小、约70nM或更小、约60nM或更小、约50nM或更小、约40nM或更小、约30nM或更小、约20nM或更小、约10nM或更小、约8nM或更小、约6nM或更小、约4nM或更小、约2nM或更小、约1nM或更小。

[0567] 如下文中更详细描述,本文公开的抗体及其结合片段可以被用在缀合物中。

[0568] 抗体可以使用重组方法和组合物,例如,如美国专利第4,816,567号中描述的来产生。在一种实施方案中,提供了编码本文描述的抗CD117抗体的分离的核酸。这样的核酸可以编码抗体的包含VL的氨基酸序列和/或包含VH的氨基酸序列(例如,抗体的轻链和/或重链)。在另一种实施方案中,提供了包含这样的核酸的一种或更多种载体(例如,表达载体)。在另一种实施方案中,提供了包含这样的核酸的宿主细胞。在一种这样的实施方案中,宿主细胞包含以下(例如,已经被以下转化):(1)包含编码包含抗体的VL的氨基酸序列和包含抗体的VH的氨基酸序列的核酸的载体,或(2)包含编码包含抗体的VL的氨基酸序列的核酸的第一载体,和包含编码包含抗体的VH的氨基酸序列的核酸的第二载体。在一种实施方案中,宿主细胞是真核细胞,例如,中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴细胞(例如,Y0、NS0、Sp20细胞)。在一种实施方案中,提供了制备抗CLL-1抗体的方法,其中该方法包括在适于表达抗体

的条件下培养如以上提供的包含编码抗体的核酸的宿主细胞,并且任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收抗体。

[0569] 为了重组产生抗CD117抗体,分离编码例如如以上描述的抗体的核酸,并且插入一个或多个载体中,以进一步在宿主细胞中克隆和/或表达。这样的核酸可以使用常规程序容易地分离和测序(例如,通过使用能够与编码抗体重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针)。

[0570] 用于克隆或表达编码抗体的载体的合适的宿主细胞包括本文描述的原核或真核细胞。例如,可以在细菌中产生抗体,特别是在不需要糖基化和Fc效应功能时。关于在细菌中表达抗体片段和多肽,参见,例如,美国专利第5,648,237号、第5,789,199号和第5,840,523号。(另参见:Charlton,Methods in Molecular Biology,Vol.248(B.K.C.Lo,编著,Humana Press,Totowa,N.J.,2003),第245-254页,描述了在大肠杆菌(E.coli.)中表达抗体片段)。表达后,可以从细菌细胞团(paste)的可溶级分中分离抗体,并且可以进一步纯化。

[0571] 脊椎动物细胞也可以被用作宿主。例如,适于悬浮生长的哺乳动物细胞系可以是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其他实例是被SV40转化的猴肾CV1细胞系(COS-7)、人类胚胎肾细胞系(293或293细胞,如在Graham等人,J.Gen Virol.36:59(1977)中描述的)、幼仓鼠肾细胞(BHK)、小鼠支持细胞(TM4细胞,如在例如Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)中描述的)、猴肾细胞(CV1)、非洲绿猴肾细胞(VERO-76)、人类宫颈癌细胞(HELA)、犬肾细胞(MDCK)、buffalo大鼠肝细胞(BRL 3A);人类肺细胞(W138)、人类肝细胞(Hep G2)、小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562)、TRI细胞(如在例如Mather等人,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)中描述的)、MRC 5细胞和FS4细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR-CHO细胞(Urlaub等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980))和骨髓瘤细胞系诸如Y0、NS0和Sp2/0。关于某些适用于抗体产生的哺乳动物宿主细胞系的综述,参见,例如,Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,Vol.248(B.K.C.Lo,编著,Humana Press,Totowa,N.J.),第255-268页(2003)。

[0572] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含可变区,该可变区具有与本文公开的SEQ ID NO至少95%、96%、97%或99%相同的氨基酸序列。可选地,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含含有本文公开的SEQ ID NO的CDR,本文描述的可变区的框架区具有与本文公开的SEQ ID NO至少95%、96%、97%或99%相同的氨基酸序列。

[0573] 在一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含具有本文公开的氨基酸序列的重链可变区和重链恒定区。在另一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含具有本文公开的氨基酸序列的轻链可变区和轻链恒定区。在又另一种实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合片段包含具有本文公开的氨基酸序列的重链可变区、轻链可变区、重链恒定区和轻链恒定区。

[0574] 鉴定抗CD117抗体的方法

[0575] 本文提供了新的抗CD117抗体,其可以在例如用于干细胞移植的调节方法中使用。鉴于本文的公开内容,可以鉴定其他抗CD117抗体,例如,中性抗体。

[0576] 用于高通量筛选能够结合CD117(例如,GNNK+CD117)的抗体或抗体片段、分子文库

的方法可以用于鉴定可用于治疗癌症、自身免疫性疾病和调节需要如本文描述的造血干细胞疗法的患者(例如,人类患者)的亲合成熟抗体。这样的方法包括本领域已知的体外展示技术,诸如,尤其是噬菌体展示、细菌展示、酵母展示、哺乳动物细胞展示、核糖体展示、mRNA展示和cDNA展示。使用噬菌体展示来分离结合生物相关分子的配体已经被综述于以下中:例如Felici等人,Biotechnol. Annual Rev. 1:149-183, 1995; Katz, Annual Rev. Biophys. Biomol. Struct. 26:27-45, 1997; 和Hoogenboom等人, Immunotechnology 4: 1-20, 1998, 其中每一项的公开内容在它们涉及体外展示技术时通过引用并入本文。已经构建了随机化的组合肽文库以选择结合细胞表面抗原的多肽,如Kay, Perspect. Drug Discovery Des. 2:251-268, 1995和Kay等人, Mol. Divers. 1:139-140, 1996中描述的, 其中每一项的公开内容在它们涉及发现抗原结合分子时通过引用并入本文。蛋白诸如多聚体蛋白已经被成功地噬菌体展示为功能性分子(参见,例如, EP 0349578; EP 4527839和EP 0589877, 以及Chiswell和McCafferty, Trends Biotechnol. 10:80-84 1992, 其中每一项的公开内容在它们涉及用于发现抗原结合分子的体外展示技术的用途时通过引用并入本文)。另外, 功能性抗体片段诸如Fab和scFv片段已经以体外展示形式被表达(参见,例如, McCafferty等人, Nature 348:552-554, 1990; Barbas等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 7978-7982, 1991; 和Clackson等人, Nature 352:624-628, 1991, 其中每一项的公开内容在它们涉及用于发现抗原结合分子的体外展示平台时通过引用并入本文)。尤其是, 这些技术可以用于鉴定和改进结合CD117(例如, GNNK+CD117)的抗体的亲和力, 所述抗体继而可以用于耗尽需要造血干细胞移植疗法的患者(例如, 人类患者)的内源性造血干细胞。

[0577] 除了体外展示技术之外, 计算机建模技术可以用于计算机模拟地(in silico)设计和鉴定结合CD117(例如, GNNK+CD117)的抗体和抗体片段。例如, 使用计算机建模技术, 本领域技术人员可以计算机模拟地筛选抗体和抗体片段的文库的能够结合特定表位诸如该抗原的细胞外表位的分子。通过这些计算技术鉴定的抗体和其抗原结合片段可以与本文描述的治疗方法结合使用, 所述治疗方法诸如本文描述的癌症和自身免疫性疾病治疗方法以及本文描述的患者调节性程序。

[0578] 可以使用另外的技术鉴定结合细胞(例如, 癌细胞、自身免疫性细胞或造血干细胞)表面上的CD117(例如, GNNK+CD117)并且通过例如受体介导的胞吞被细胞内化的抗体和其抗原结合片段。例如, 以上描述的体外展示技术可以被修改以筛选结合癌细胞、自身免疫性细胞或造血干细胞的表面上的CD117(例如, GNNK+CD117)并且随后被内化的抗体和其抗原结合片段。噬菌体展示代表一种这样的可以与该筛选范例结合使用的技术。为了鉴定结合CD117(例如, GNNK+CD117)并且随后被癌细胞、自身免疫性细胞或造血干细胞内化的抗体和其片段, 本领域技术人员可以修改例如在Williams等人, Leukemia 19:1432-1438, 2005中描述的噬菌体展示技术, 其公开内容通过引用以其整体并入本文。例如, 使用本领域已知的诱变方法, 可以产生重组噬菌体文库, 所述重组噬菌体文库编码尤其是含有随机化氨基酸盒(例如, 在一个或更多个或所有的CDR或其等效区域或者抗体或抗体片段中)的抗体、抗体片段, 诸如scFv片段、Fab片段、双体、三体和¹⁰Fn3结构域或配体。可以设计抗体或抗体片段的框架区、铰链、Fc结构域和其他区域, 使得它们由于例如具有人类种系抗体序列或相对于人类种系抗体仅表现出微小变异的序列而在人类中是非免疫原性的。

[0579] 使用本文描述的或本领域已知的噬菌体展示技术, 例如, 通过首先将噬菌体文库

与封闭剂(诸如,例如,乳蛋白、牛血清白蛋白和/或IgG)一起孵育以便去除编码表现出非特异性蛋白结合的抗体或其片段的噬菌体和编码结合Fc结构域的抗体或其片段的噬菌体,并且然后将噬菌体文库与造血干细胞的群体一起孵育,可以将含有与噬菌体颗粒共价结合的随机化抗体或抗体片段的噬菌体文库与CD117(例如,GNNK+CD117)抗原一起孵育。可以将噬菌体文库与靶细胞诸如癌细胞、自身免疫性细胞或造血干细胞一起孵育持续足以允许CD117特异性抗体或其抗原结合片段(例如,GNNK+CD117特异性抗体或其抗原结合片段)结合细胞表面CD117(例如细胞表面GNNK+CD117)抗原并且随后被癌细胞、自身免疫性细胞或造血干细胞内化的时间(例如,在4℃从30分钟至6小时,诸如在4℃1小时)。含有对这些抗原中的一种或更多种未表现出足够亲和力以允许与癌细胞、自身免疫性细胞或造血干细胞结合并且被其内化的抗体或其片段的噬菌体随后可以通过例如用pH 2.8的冷(4℃)的0.1M甘氨酸缓冲液洗涤细胞来去除。可以通过例如裂解细胞和从细胞培养基回收被内化的噬菌体来鉴定与被癌细胞、自身免疫性细胞或造血干细胞内化的抗体或其片段结合的噬菌体。然后通过例如使用本领域已知的方法在2xYT培养基中将细菌细胞与回收的噬菌体一起孵育,可以在细菌细胞中扩增噬菌体。然后,通过例如确定插入噬菌体基因组中的编码抗体或其片段的基因的核酸序列,可以表征从该培养基回收的噬菌体。随后可以通过化学合成(例如,化学合成抗体片段,诸如scFv片段)或通过重组表达(例如,重组表达全长抗体)从头制备编码的抗体或其片段。

[0580] 用于与本文描述的组合物和方法一起使用的抗CD117(例如,抗GNNK+CD117)抗体的体外演化的示例性方法是噬菌体展示。噬菌体展示文库可以通过在抗体的CDR或抗体样支架的类似区域(例如,¹⁰Fn3结构域的BC、CD和DE环)的编码序列内进行被设计的一系列突变或变异来创建。这些突变被引入其中的模板抗体编码序列可以是例如天然人类种系序列。可以使用本领域已知的标准诱变技术进行这些突变。因此,每个突变体序列编码除了一个或多个氨基酸变异之外对应于模板的抗体。可以使用本领域已知的标准载体构建技术工程化逆转录病毒和噬菌体展示载体。P3噬菌体展示载体连同相容的蛋白表达载体可以用来产生用于抗体多样化的噬菌体展示载体。

[0581] 突变的DNA提供序列多样性,并且每个转化体噬菌体展示由DNA编码的初始模板氨基酸序列的一个变体,产生展示大量不同但结构相关的氨基酸序列的噬菌体群体(文库)。由于抗体高变区的充分界定的(well-defined)结构,噬菌体展示筛选中引入的氨基酸变异被预期改变结合性肽或结合性结构域的结合特性而不显著改变其整体分子结构。

[0582] 在典型的筛选中,噬菌体文库可以与前述抗原或其表位之一接触并允许其结合。为了促进结合物(binder)和非结合物的分离,将靶固定在固体支持物上是方便的。携带CD117-结合部分的噬菌体可以与固体支持物上的靶形成复合物,而非结合噬菌体保持在溶液中并可以用过量缓冲液洗去。然后,结合的噬菌体可以通过将缓冲液改变至极端pH(pH 2或pH 10)、改变缓冲液的离子强度、添加变性剂或其他已知方法从靶释放。

[0583] 然后回收的噬菌体可以通过感染细菌细胞来扩增,并且筛选过程可以用新汇集物(pool)重复,该新汇集物现在在非结合抗体方面被耗尽并被富集结合CD117(例如,GNNK+CD117)的抗体。甚至少数结合噬菌体的回收足以扩增噬菌体以用于随后的筛选迭代。在几轮选择之后,编码源自结合性汇集物中选择的噬菌体克隆的抗体或其抗原结合片段的基因序列通过常规方法来确定,从而揭示赋予噬菌体对靶的结合亲和力的肽序列。在淘选过程

期间,群体的序列多样性随着每轮选择而减少,直到期望的肽结合抗体留存下来。序列可以集中在少量相关抗体或其抗原结合片段上。在每轮选择中回收的噬菌体数量的增加指示在筛选中已发生文库的会聚(convergence)。

[0584] 用于鉴定抗CD117抗体的另一种方法包括使用结合CD117(例如,GNNK+CD117)的人源化非人类抗体,例如,根据以下程序。共有人类抗体重链和轻链序列是本领域已知的(参见例如,“VBASE”人类种系序列数据库;Kabat等人Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242,1991;Tomlinson等人,J.Mol.Biol.227:776-798,1992;和Cox等人Eur.J.Immunol.24:827-836,1994,其中每一项的公开内容在其涉及共有人类抗体重链和轻链序列时通过引用并入本文)。本领域技术人员可以使用已建立的程序鉴定共有抗体序列的可变结构域框架残基和CDR(例如,通过序列比对)。人们可以将共有人类抗体的重链和/或轻链可变结构域的一个或更多个CDR替换为如本文描述的结合CD117(例如,GNNK+CD117)的非人类抗体的一个或更多个对应的CDR,以便产生人源化抗体。可以使用本文描述的或本领域已知的基因编辑技术进行该CDR交换。

[0585] 可以用于制备人源化抗体的共有人类抗体的一个实例包括SEQ ID NO:7中列出的重链可变结构域:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMSWVRQAPGKGLEW
VAVISENGSDTTYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY

CARDRGGAVSYFDVWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO:7) 和SEQ ID NO:8中列出的轻链可变

结构域:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSSYLAWYQQKPGKAPKLLIY
AASSLESGVPSRFGSGSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQYNSLPYTFG

QGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 8),在美国专利第6,054,297号(Genentech)中被鉴定,将其公开内容在其涉及人类抗体共有序列时通过引用并入本文。以上序列中的CDR以粗体显示。

[0586] 为了产生人源化抗体,人们可以重组表达编码以上共有序列的多核苷酸,其中一个或更多个可变区CDR已经被结合CD117(例如,GNNK+CD117)的非人类抗体的一个或更多个可变区CDR序列代替。由于抗体对造血干细胞抗原的亲和力主要由CDR序列决定,因此所得的人源化抗体被预期对造血干细胞抗原表现出与该人源化抗体所源自的非人类抗体相同的亲和力。确定抗体对靶抗原的亲和力的方法包括,例如,尤其是本文描述的和本领域已知的基于ELISA的技术,以及表面等离子体共振、荧光各向异性和等温滴定量热法。

[0587] 例如,可以使用本领域已知的放射性核素内化测定来评估抗CD117抗体或其片段的内化能力。例如,使用本文描述或本领域已知的体外展示技术鉴定的抗体或其片段可以通过掺入以下放射性同位素被功能化:诸如¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁷Br、¹²²I、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、¹³¹I、²¹¹At、⁶⁷Ga、¹¹¹In、⁹⁹Tc、¹⁶⁹Yb、¹⁸⁶Re、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、¹⁷⁷Lu、⁷⁷As、⁷²As、⁸⁶Y、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、²¹²Bi、²¹³Bi或²²⁵Ac。例如,可以使用含有亲电卤素试剂的珠诸如聚苯乙烯珠(例如,Iodination Beads, Thermo Fisher Scientific, Inc., Cambridge, MA),将放射性卤素诸如¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁷Br、¹²²I、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、¹³¹I、²¹¹At掺入抗体或其片段中。放射性标记的抗体、其片段或配体可以与癌细胞、自身免疫性细胞或造血干细胞一起孵育持续足以允许内化的时间(例如,在4℃从30分钟至6小时,诸如在4℃1小时)。然后可以洗涤细胞以去除未内化的抗体或其片段(例

如,使用pH 2.8的冷(4℃)的0.1M甘氨酸缓冲液)。通过检测所得癌细胞、自身免疫性细胞或造血干细胞的发射辐射(例如, γ -辐射)与回收的洗涤缓冲液的发射辐射(例如, γ -辐射)相比较,可以鉴定内化的抗体或其片段。

[0588] 抗体药物缀合物(ADC)

[0589] 细胞毒素

[0590] 本文描述的抗体及其抗原结合片段可以经由接头与细胞毒素缀合(连接)。在一些实施方案中,将细胞毒性分子与如本文公开的细胞内化抗体或其抗原结合片段缀合,使得在细胞摄取抗体或其片段后,细胞毒素可以接近其细胞内靶并且介导造血细胞死亡。可以将任何数目的细胞毒素与抗CD117抗体缀合,例如1、2、3、4、5、6、7或8。

[0591] 适于与本文描述的组合物和方法一起使用的细胞毒素,除本领域已知的其他的以外,包括DNA嵌入剂(例如,蒽环霉素)、能够破坏有丝分裂纺锤体的剂(例如,长春花生物碱、美登素、美登素生物碱、及其衍生物)、RNA聚合酶抑制剂(例如,鹅膏蕈毒素,诸如 α -鹅膏蕈碱及其衍生物),以及能够破坏蛋白生物合成的剂(例如,表现出rRNA N-糖苷酶活性的剂,诸如皂草素和蓖麻毒蛋白A链)。

[0592] 在一些实施方案中,细胞毒素是微管结合剂(例如,美登素或美登素生物碱)、鹅膏蕈毒素、假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、皂草素、澳瑞他汀、蒽环霉素、加利刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类(PBD)、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体,或本文描述或本领域已知的另一种细胞毒性化合物。

[0593] 本文描述的抗体或其抗原结合片段(例如,识别并结合CD117(诸如GNNK+CD117)的抗体或抗原结合片段)可以与细胞毒素,诸如假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱、皂草素、美登素、美登素生物碱、澳瑞他汀、蒽环霉素、加利刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体,或本文描述的或本领域已知的另一种细胞毒性化合物缀合,例如以便治疗本文描述的癌症或自身免疫性疾病,或者在施用至需要造血干细胞移植疗法的患者(例如,人类患者)后促进内源性造血干细胞的耗尽。在一些实施方案中,细胞毒性分子与内化抗体或其抗原结合片段缀合,使得在细胞摄取抗体或抗原结合片段后,细胞毒素可以接近其细胞内靶并且介导内源性造血细胞死亡。适于与本文描述的组合物和方法一起使用的细胞毒素,除本领域已知的其他的以外,包括DNA嵌入剂(例如蒽环霉素)、能够破坏有丝分裂纺锤体的剂(例如,长春花生物碱、美登素、美登素生物碱、及其衍生物)、RNA聚合酶抑制剂(例如,鹅膏蕈毒素,诸如 α -鹅膏蕈碱及其衍生物)、能够破坏蛋白生物合成的剂(例如,表现出rRNA N-糖苷酶活性的剂,诸如皂草素和蓖麻毒蛋白A链)。

[0594] 适合与本文描述的组合物和方法一起使用的另外的细胞毒素包括但不限于,尤其是,5-乙炔基尿嘧啶、阿比特龙、酰基富烯(acylfulvene)、腺环戊醇(adecypenol)、阿多来新(adozelesin)、阿地白介素、六甲蜜胺、氨莫司汀、艾美多(amidox)、氨磷汀、氨基酮戊酸(aminolevulinic acid)、氨柔比星(amrubicin)、安吡啶、阿那格雷(anagrelide)、阿那曲唑(anastrozole)、穿心莲内酯、血管生成抑制剂、安雷利克斯(antarelix)、抗背部化形态发生蛋白-1、抗雄激素、前列腺癌、抗雌激素、抗瘤酮(antineoplaston)、反义寡核苷酸、甘氨酸阿非迪霉素(aphidicolin glycinate)、凋亡基因调节剂、凋亡调节剂、脱嘌呤核酸、奥

沙那宁(asulacrine)、阿他美坦(atamestane)、阿莫司汀(atrimustine)、阿新司坦汀1(axinastatin 1)、阿新司坦汀2(axinastatin 2)、阿新司坦汀3(axinastatin 3)、阿扎司琼(azasetron)、阿扎托新(azatoxin)、重氮酪氨酸、巴卡亭III衍生物(baccatin III derivatives)、班兰诺(balanol)、巴马司他(batimastat)、BCR/ABL拮抗剂、苯并二氢卟吩(benzochlorins)、苯甲酰基星形孢菌素(benzoylstauroporine)、 β 内酰胺衍生物、 β -阿立辛(beta-alethine)、 β 可来霉素B(betaclamycinB)、桦木酸、bFGF抑制剂、比卡鲁胺(bicalutamide)、比生群(bisantrene)、双氮丙啶基精胺(bisaziridinylspermine)、双奈法德(bisnafide)、bistratene A、比折来新(bizelesin)、比锐来特(breflate)、博来霉素A2、博来霉素B2、溴匹立明(bropirimine)、布多替钛(budotitane)、丁硫氨酸亚砷胺、卡泊三醇、钙磷酸蛋白C(calphostin C)、喜树碱衍生物(例如10-羟基-喜树碱)、卡培他滨(capecitabine)、甲酰胺-氨基三唑(carboxamide-amino-triazole)、羧酰胺基三唑(carboxyamidotriazole)、卡折来新(carzelesin)、酪蛋白激酶抑制剂、栗树精胺、杀菌肽B(cecropin B)、西曲瑞克(cetorelix)、二氢卟吩、氯喹啉磺胺、西卡前列素(cicaprost)、顺式卟啉、克拉屈滨(cladribine)、氯米芬及其类似物、克霉唑、克立霉素A(collismycin A)、克立霉素B(collismycin B)、考布他丁A4(combretastatin A4)、考布他丁类似物、康纳京尼(conagenin)、卡那贝西汀816(crambescidin 816)、克里斯奈托(crisnatol)、念珠藻环肽8、念珠藻环肽A衍生物、卡拉新A(curacin A)、环戊萘醌、环普兰姆(cycloplatam)、西匹霉素(cypemycin)、阿糖胞苷十八烷基磷酸钠(cytarabine ocfosfate)、溶细胞因子、磷酸己烷雌酚(cytostatin)、达昔单抗、地西他滨、脱氢膜海鞘素B、2'脱氧柯福霉素(2'deoxycoformycin) (DCF)、地洛瑞林(deslorelin)、右异环磷酰胺(dexifosfamide)、右雷佐生(dexrazoxane)、右维拉帕米(dexverapamil)、地吡酮(diaziquone)、膜海鞘素B、地多西(didox)、二乙基去甲精胺(diethylnorspermine)、二氢-5-氮杂胞苷(dihydro-5-azacytidine)、二氢紫杉醇(dihydrotaxol)、二恶霉素(dioxamycin)、二苯基螺莫司汀、圆皮海绵内酯、二十二烷醇(docosanol)、多拉司琼、去氧氟尿苷、屈洛昔芬、屈大麻酚、倍癌霉素SA(duocannycin SA)、依布硒啉、依考莫司汀、依地福新、依决洛单抗、依氟鸟氨酸(eflornithine)、榄香烯、乙嘧替氟、埃博霉素、epithilones、爱普列特(epristeride)、雌莫司汀及其类似物、依托泊苷、依托泊苷4'-磷酸酯(也称为etopofos)、依西美坦、法倔唑、法扎拉滨、维甲酰酚胺(fenretinide)、非格司亭、非那雄胺(fmasteride)、夫拉平度(flavopiridol)、夫来折司汀(flezelastine)、夫斯特隆(flusterone)、氟达拉滨、盐酸氟道诺霉素(fluorodaunorunicin hydrochloride)、福酚美克(forfenimex)、福美司坦(formestane)、福司曲星(fostriecin)、福莫司汀(fotemustine)、钆德卟啉(gadolinium texaphyrin)、硝酸镓、加洛他滨(galocitabine)、加尼瑞克(ganirelix)、明胶酶抑制剂、吉西他滨、谷胱甘肽抑制剂、和普苏姆(hepsulfam)、高三尖杉酯碱(homoharringtonine) (HHT)、金丝桃素、伊班膦酸、艾多昔芬(idoxifene)、伊决孟酮(idramantone)、伊莫福新(ilmofosine)、伊洛马司他(ilomastat)、咪唑吡啶酮(imidazoacridones)、咪喹莫特(imiquimod)、免疫刺激肽、碘苄胍、碘多柔比星、甘薯苦醇、伊立替康、伊罗普拉(iroplact)、伊索拉定(irsogladine)、异苯胍唑(isobengazole)、杰斯普拉克立德(jasplakinolide)、卡哈拉立得F(kahalalide F)、三醋酸片螺素-N(lamellarin-N triacetate)、兰乐肽(lanreotide)、leinamycin、来格司亭

(lenograstim)、硫酸香菇多糖(lentinan sulfate)、雷托他汀(leptolstatin)、来曲唑(letrozole)、亲脂性铂类化合物、立索克林酰胺7(lissoclinamide 7)、洛铂、洛美曲索(lometrexol)、氯尼达明(lonidamine)、洛索蒽醌(losoxantrone)、洛索立宾(loxoribine)、勒托替康(lurtotecan)、镱德卟啉(lutetium texaphyrin)、立索茶碱(lysofylline)、马索罗酚、马司非(maspin)、基质金属蛋白酶抑制剂、美诺立尔(menogaril)、rnerbarone、美替瑞林(meterelin)、甲硫氨酸酶、甲氧氯普胺、MIF抑制剂、米非司酮(ifepristone)、米替福新(miltefosine)、米立司亭(mirimostim)、光辉霉素(mithracin)、米托胍脲(mitoguazone)、二溴卫矛醇、丝裂霉素及其类似物、米托蒽胺(mitonafide)、米托蒽醌(mitoxantrone)、莫法罗汀(mofarotene)、莫拉司亭(molgramostim)、美卡普罗B(myloroxide B)、美瑞泡仁((myriaporone)、N-乙酰基地那林(N-acetyldinaline)、N-取代的苯甲酰胺、那法瑞林(nafarelin)、纳格瑞替(nagrestip)、纳普维(napavin)、萘特非(naphterpin)、那托司亭(nartograstim)、奈达铂(nedaplatin)、奈莫柔比星(nemorubicin)、奈立膦酸、尼鲁米特(nilutamide)、丽沙霉素(nisamycin)、里挫林(nitrullyn)、奥曲肽(octreotide)、奥克恩(okicenone)、奥那司酮(onapristone)、昂丹司琼(ondansetron)、奥拉新(oracin)、奥马铂(ormaplatin)、奥沙利铂(oxaliplatin)、厄诺霉素(oxaunomycin)、紫杉醇及其类似物、帕诺明(palauamine)、十六酰基根霉素(palmitoylrhizoxin)、帕米膦酸、人参炔三醇、帕诺米芬(panomifene)、帕拉贝新(parabactin)、帕折普汀(pazelliptine)、培门冬酶(pegaspargase)、皮地新(peldesine)、戊聚糖聚硫酸钠、喷司他丁(pentostatin)、喷唑(pentrozole)、全氟溴烷(perflubron)、培磷酰胺、苯连氮霉素(phenazinomycin)、沙培林(picibanil)、吡柔比星(pirarubicin)、吡曲克辛(piritrexim)、鬼臼毒素(podophyllotoxin)、泊非霉素(porfiromycin)、嘌呤核苷磷酸化酶抑制剂、雷替曲塞(raltitrexed)、根霉素、罗谷亚胺(rogletimide)、罗希吐碱、鲁滨吉隆B1(rubiginone B1)、鲁泊塞(ruboxyl)、沙芬戈(safingol)、圣特平(saintopin)、肌肉叶绿醇A(sarcophytol A)、沙格司亭(sargramostim)、索布佐生(sobuzoxane)、索纳明(sonermin)、斯帕磷酸(sparfosic acid)、斯皮卡霉素D(spicamycin D)、螺莫司汀(spiromustine)、斯替皮米德(stipiamide)、sulfinosine、他莫司汀(tallimustine)、替加氟(tegafur)、替莫唑胺、替尼泊苷、噻立拉斯汀(thaliblastine)、噻可拉林(thiocoraline)、替拉扎明(tirapazamine)、拓扑替康(topotecan)、托普升替(topsentin)、曲西立宾(triciribine)、三甲曲沙(trimetrexate)、藜芦胺(veramine)、长春瑞滨(vinorelbine)、维萨汀(vinxaltine)、伏罗唑(vorozole)、折尼铂(zeniplatin)和亚苺维C(zilascorb)。

[0595] 本文描述的抗CD117抗体及其抗原结合片段可以与为微管结合剂的细胞毒素缀合。如本文使用的,术语“微管结合剂”是指通过破坏微管网络起作用的化合物,微管网络对于细胞中的有丝分裂和间期细胞功能至关重要。微管结合剂的实例包括但不限于美登素、美登素生物碱及其衍生物,诸如本文描述或本领域已知的那些,长春花生物碱类,诸如长春花碱、硫酸长春花碱、长春新碱、硫酸长春新碱、长春地辛和长春瑞滨,紫杉烷类,诸如多西他赛和紫杉醇,大环内酯类,诸如圆皮海绵内酯(discodermolide)、秋水仙素和埃博霉素及其衍生物,诸如埃博霉素B或其衍生物。

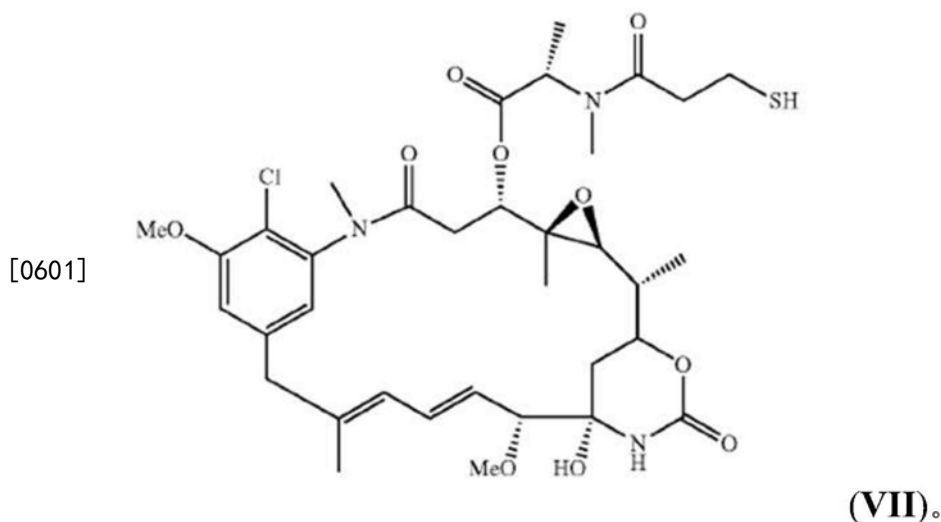
[0596] 美登素生物碱

[0597] 在一些实施方案中,微管结合剂是美登素、美登素生物碱或美登素生物碱的类似物。美登素生物碱是有丝分裂抑制剂,其结合微管并且通过抑制微管蛋白聚合来发挥作用。首次从东非灌木齿叶美登木 (*Maytenus serrata*) 分离出了美登素(美国专利第3,896,111号)。随后,发现某些微生物也产生美登素生物碱,诸如美登醇和C-3美登素醇酯(美国专利第4,151,042号)。合成的美登醇及其衍生物和类似物公开于例如美国专利第4,137,230号、第4,248,870号、第4,256,746号、第4,260,608号、第4,265,814号、第4,294,757号、第4,307,016号、第4,308,268号、第4,308,269号、第4,309,428号、第4,313,946号、第4,315,929号、第4,317,821号、第4,322,348号、第4,331,598号、第4,361,650号、第4,364,866号、第4,424,219号、第4,450,254号、第4,362,663号和第4,371,533号中。美登素生物碱药物部分在抗体药物缀合物中是有吸引力的药物部分,因为它们:(i) 相对易于通过发酵或化学修饰制备、对发酵产物进行衍生化,(ii) 易于用适于通过非二硫化物接头与抗体缀合的官能团衍生化,(iii) 在血浆中稳定,和(iv) 对多种肿瘤细胞系有效。

[0598] 合适的美登素生物碱的实例包括美登醇的酯、合成的美登醇以及美登醇类似物及衍生物。本文包括抑制微管形成并且对哺乳动物细胞具有高度毒性的任何细胞毒素,如美登素生物碱、美登醇和美登醇类似物及衍生物。

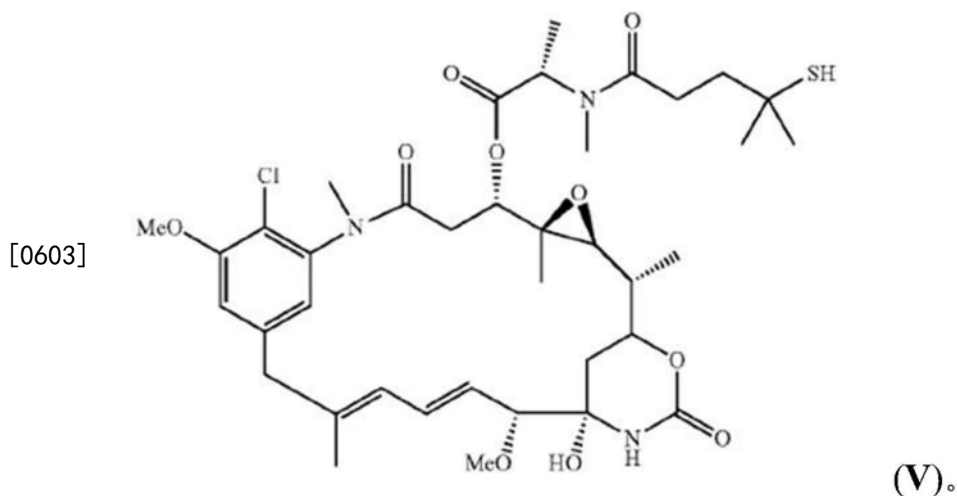
[0599] 合适的美登醇酯的实例包括那些具有修饰的芳环的美登醇酯和那些在其他位置处具有修饰的美登醇酯。这样的合适的美登素生物碱公开于美国专利第4,137,230号、第4,151,042号、第4,248,870号、第4,256,746号、第4,260,608号、第4,265,814号、第4,294,757号、第4,307,016号、第4,308,268号、第4,308,269号、第4,309,428号、第4,313,946号、第4,315,929号、第4,317,821号、第4,322,348号、第4,331,598号、第4,361,650号、第4,362,663号、第4,364,866号、第4,424,219号、第4,450,254号、第4,322,348号、第4,362,663号、第4,371,533号、第5,208,020号、第5,416,064号、第5,475,092号、第5,585,499号、第5,846,545号、第6,333,410号、第7,276,497号和第7,473,796号中,其中每一项的公开内容在它们涉及美登素生物碱及其衍生物时通过引用并入本文。

[0600] 在一些实施方案中,本发明的免疫缀合物利用含硫醇的美登素生物碱(DM1),被正式称为N^{2'}-脱乙酰基-N^{2'}-(3-巯基-1-氧丙基)-美登素,作为细胞毒性剂。DM1由结构式(VII)表示:

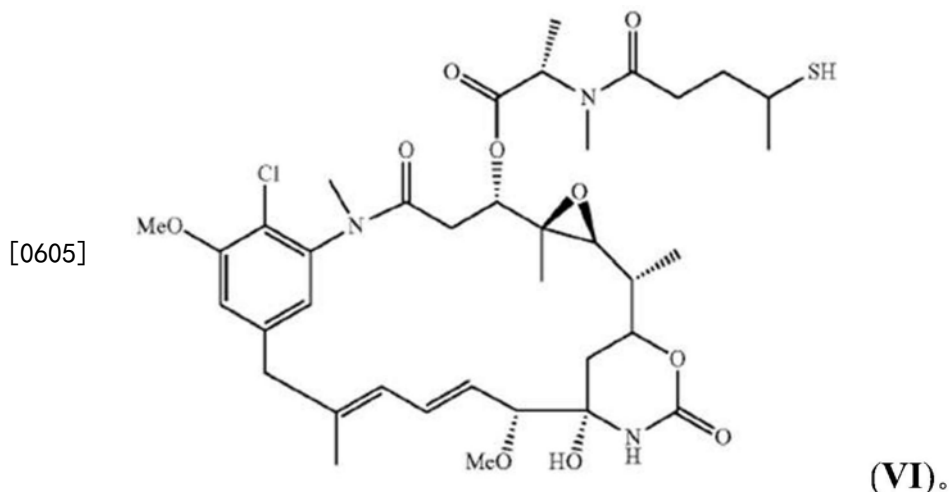


[0602] 在另一种实施方案中,本发明的缀合物利用含硫醇的美登素生物碱N^{2'}-脱乙酰

基- $N^{2'}$ -(4-甲基-4-巯基-1-氧代戊基)-美登素(例如,DM4)作为细胞毒性剂。DM4由结构式(V)表示:



[0604] 另一种包含含有空间位阻硫醇键的侧链的美登素生物碱是 $N^{2'}$ -脱乙酰基- $N^{2'}$ -(4-巯基-1-氧代戊基)-美登素(被称为DM3),由结构式(VI)表示:



[0606] 美国专利第5,208,020号和第7,276,497号中教导的美登素生物碱中的每一种也可以用于本发明的缀合物。在这方面,将5,208,020和7,276,697的全部公开内容通过引用并入本文。

[0607] 美登素生物碱上的许多位置可以用作化学连接连接部分的位置。例如,具有羟基基团的C-3位置、修饰有羟甲基的C-14位置、修饰有羟基的C-15位置和具有羟基基团的C-20位都被预期是有用的。在一些实施方案中,C-3位置用作化学连接连接部分的位置,并且在一些特定的实施方案中,美登醇的C-3位置用作化学连接连接部分的位置。本领域中有许多已知的连接基团用于制备抗体-美登素生物碱缀合物,包括例如美国专利第5,208,020号、第6,441,163号和EP专利第0425235 B1号;Chari等人,Cancer Research 52:127-131 (1992);和美国2005/0169933 A1中公开的那些,其公开内容在此通过引用明确并入。本文描述并例示了另外的连接基团。

[0608] 本公开内容还包括美登素生物碱和缀合物的多种异构体和混合物。本发明的某些化合物和缀合物可以以多种立体异构体、对映异构体和非对映异构体的形式存在。产生这

样的抗体-美登素生物碱缀合物的若干描述提供于美国专利第5,208,020号、第5,416,064号、第6,333,410号、第6,441,163号、第6,716,821号和第7,368,565号中,其中每一项以其整体并入本文。

[0609] 每个抗体分子结合的美登素生物碱分子的治疗有效数目可以通过分光光度法测量在252nm和280nm处的吸光度比率来确定。每个抗体分子缀合平均3个至4个美登素生物碱分子可以增强对靶细胞的细胞毒性,而不会对抗体的功能或溶解度产生负面影响,尽管一个毒素分子/抗体可以比单独的抗体增强细胞毒性。美登素生物碱分子/抗体或其抗原结合片段的平均数目可以是例如1-10或2-5。

[0610] 蒽环类

[0611] 在其他实施方案中,本文描述的抗体及其抗原结合片段可以与为蒽环类分子的细胞毒素缀合。蒽环类是表现出细胞毒性的抗生素化合物。研究已经表明蒽环类可以通过许多不同的机制操作以杀伤细胞,所述机制包括:1)将药物分子嵌入细胞的DNA中,从而抑制依赖于DNA的核酸合成;2)由药物产生自由基,然后自由基与细胞大分子反应以对细胞引起损伤,或3)药物分子与细胞膜的相互作用[参见,例如,Anthracycline Antibiotics In Cancer Therapy中的C.Peterson等人,“Transport And Storage Of Anthracycline In Experimental Systems And Human Leukemia”;N.R.Bachur,“Free Radical Damage”同上,见第97-102页]。由于蒽环类的细胞毒性潜力,它们已被用于治疗许多癌症,诸如白血病、乳腺癌、肺癌、卵巢腺癌和肉瘤。[参见例如,Anthracycline:Current Status And New Developments中的P.H-Wiernik,第11页]。常用的蒽环类包括多柔比星、表柔比星、伊达比星和道诺霉素。

[0612] 蒽环类类似物多柔比星 (ADRIAMYCINO) 被认为通过嵌入而与DNA相互作用并且抑制拓扑异构酶II的进程,拓扑异构酶II使DNA解链以进行转录。在拓扑异构酶II复合物破坏DNA链以进行复制后,多柔比星稳定了拓扑异构酶II复合物,阻止了DNA双螺旋被重新密封,从而停止了复制进程。多柔比星和柔红霉素 (daunorubicin) (道诺霉素 (DAUNOMYCIN)) 是原型细胞毒性天然产物蒽环类化学治疗剂 (Sessa等人, (2007) Cardiovasc.Toxicol.7:75-79)。

[0613] 吡咯并苯二氮卓类 (PBD)

[0614] 在其他实施方案中,本文描述的抗CD117抗体或其抗原结合片段可以与为吡咯并苯二氮卓类 (PBD) 的细胞毒素缀合或包含PBD的细胞毒素缀合。PBD是由某些放线菌产生的天然产物,并且已经被证明是序列选择性的DNA烷基化化合物。PBD细胞毒素包括但不限于,蒽环霉素、二聚体PBD,以及在例如以下中公开的那些:Hartley, J.A. (2011). “The development of pyrrolobenzodiazepines as antitumour agents.” Expert Opin.Inv Drug, 20 (6), 733-744; 和Antonow, D.; Thurston, D.E. (2011) “Synthesis of DNA-interactive pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepines (PBDs).” Chem.Rev.111:2815-2864。

[0615] 加利刹霉素

[0616] 在其他实施方案中,本文描述的抗体及其抗原结合片段可以与为加利刹霉素分子的细胞毒素缀合。加利刹霉素家族的抗生素能够以亚皮摩尔浓度产生双链DNA断裂。关于加利刹霉素家族的缀合物的制备,参见美国专利第5,712,374号、第5,714,586号、第5,739,

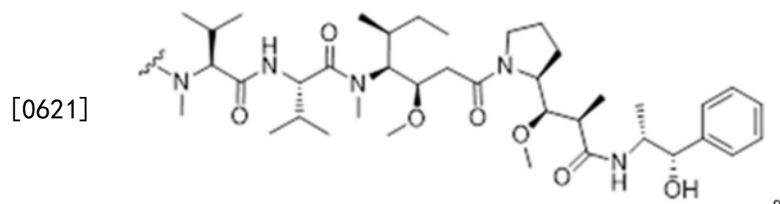
116号、第5,767,285号、第5,770,701号、第5,770,710号、第5,773,001号和第5,877,296号(全部属于American Cyanamid Company)。可以使用的加利刹霉素的结构类似物包括但不限于,在例如以下中公开的那些:Hinman等人,Cancer Research 53:3336-3342(1993);Lode等人,Cancer Research 58:2925-2928(1998);以及前述American Cyanamid的美国专利。

[0617] 奥瑞他汀

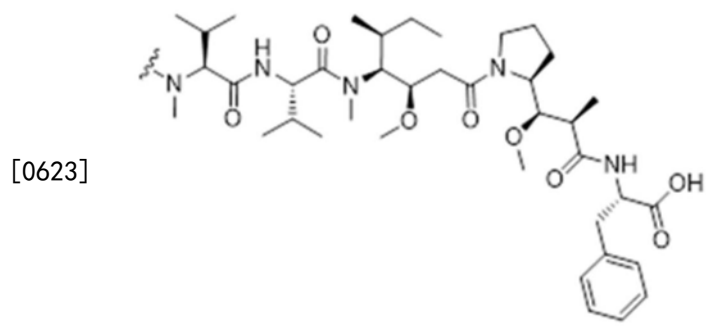
[0618] 本文描述的抗CD117抗体及其抗原结合片段可以与为奥瑞他汀(美国专利第5,635,483号、第5,780,588号)的细胞毒素缀合。奥瑞他汀是抗有丝分裂剂,其干扰微管动力学、GTP水解以及细胞核和细胞分裂(Woyke等人(2001) Antimicrob. Agents and Chemother. 45(12):3580-3584),并且具有抗癌(美国专利第5,663,149号)和抗真菌活性(Pettit等人(1998) Antimicrob. Agents Chemother. 42:2961-2965)。(美国专利第5,635,483号、第5,780,588号)。奥瑞他汀药物部分可以通过肽药物部分的N-(氨基)末端或C-(羧基)末端被附接至抗体(WO 02/088172)。

[0619] 示例性的奥瑞他汀实施方案包括N-末端连接的单甲基奥瑞他汀药物部分DE和DF,其公开于2004年3月28日提交的Senter等人,Proceedings of the American Association for Cancer Research, Volume 45, Abstract Number 623中,其公开内容通过引用以其整体明确并入。

[0620] 一种示例性的奥瑞他汀实施方案是MMAE,其中波浪线表示抗体-接头缀合物(-L-Z-Ab,如本文描述的)的接头的共价附接点。



[0622] 另一种示例性的奥瑞他汀实施方案是MMAF,其中波浪线表示抗体-接头缀合物(-L-Z-Ab,如本文描述的)的接头的共价附接点,如US 2005/0238649中公开的:



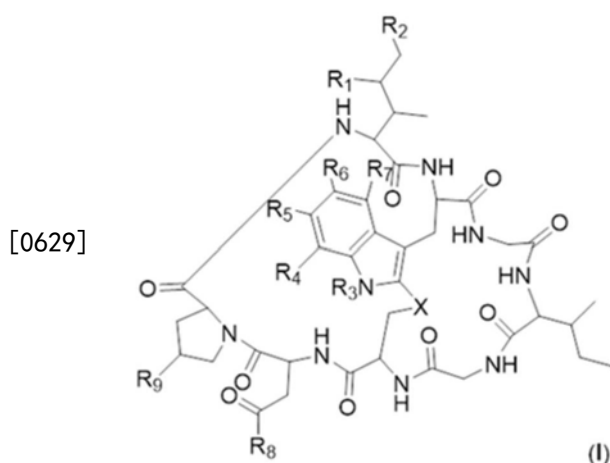
[0624] 奥瑞他汀可以根据以下中的方法制备:美国专利第5,635,483号;美国专利第5,780,588号;Pettit等人(1989) J. Am. Chem. Soc. 111:5463-5465;Pettit等人(1998) Anti-Cancer Drug Design 13:243-277;Pettit, G.R.等人 Synthesis, 1996, 719-725;Pettit等人(1996) J. Chem. Soc. Perkin Trans. 15:859-863;和Doronina(2003) Nat. Biotechnol. 21(7):778-784。

[0625] 鹅膏蕈毒素

[0626] 在一些实施方案中,抗体-药物缀合物的细胞毒素是RNA聚合酶抑制剂。在一些实施方案中,RNA聚合酶抑制剂是鹅膏蕈毒素或其衍生物。

[0627] 在一些实施方案中,细胞毒素是鹅膏蕈毒素或其衍生物,诸如 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏无毒环肽、一羟鹅膏毒肽羧酸和前鹅膏无毒环肽。多种天然存在的鹅膏蕈毒素的结构由式II和随附的表1表示,并且公开于例如Zanotti等人,Int.J.Peptide Protein Res.30,1987,450-459中。

[0628] 例如,本文描述的抗体和抗原结合片段可以与鹅膏蕈毒素结合以形成由式Ab-Z-L-Am表示的缀合物,其中Ab是抗体或其抗原结合片段,L是接头,Z是化学部分并且Am是鹅膏蕈毒素。鹅膏蕈毒素或其衍生物上的许多位置可以用作共价结合连接部分L,并且因此结合抗体或其抗原结合片段的位置。在一些实施方案中,Am-L-Z由式(I)表示



[0630] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

[0631] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

[0632] R_A和R_B,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团;

[0633] R₃是H、R_C或R_D;

[0634] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0635] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0636] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0637] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0638] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;

[0639] R₉是H、OH、OR_C或OR_D;

[0640] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;

[0641] R_C是-L-Z;

[0642] R_D是任选地被取代的烷基(例如,C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如,C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如,C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如,C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如,C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如,C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基,或任选地被取代的杂芳基;

[0643] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如,C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的杂亚

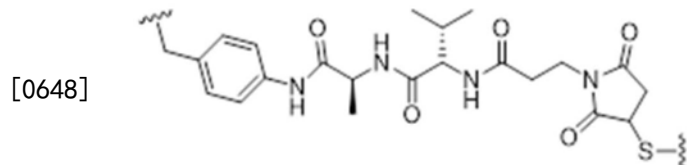
烷基 (C₁-C₆杂亚烷基)、任选地被取代的亚烯基 (例如, C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的杂亚烯基 (例如, C₂-C₆杂亚烯基)、任选地被取代的亚炔基 (例如, C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的杂亚炔基 (例如, C₂-C₆杂亚炔基)、任选地被取代的环亚烷基、任选地被取代的杂环亚烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-, 或其组合;

[0644] 并且

[0645] Z是由L上存在的反应性取代基与结合CD117 (诸如GNNK+CD117) 的抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分。

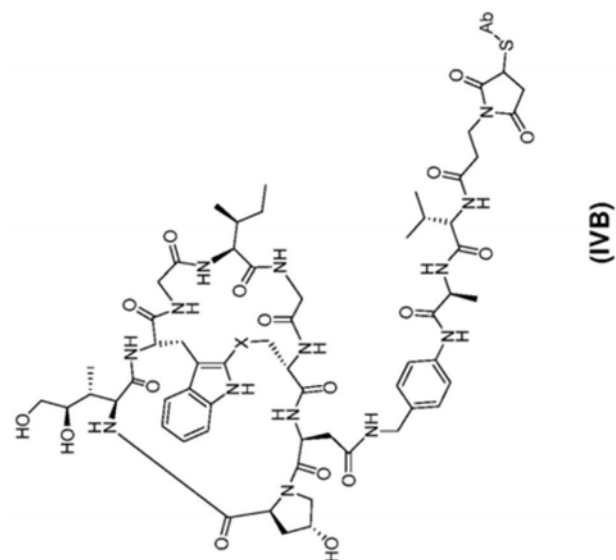
[0646] 在一些实施方案中, Am精确地含有一个R_C取代基。

[0647] 在一些实施方案中, L-Z是

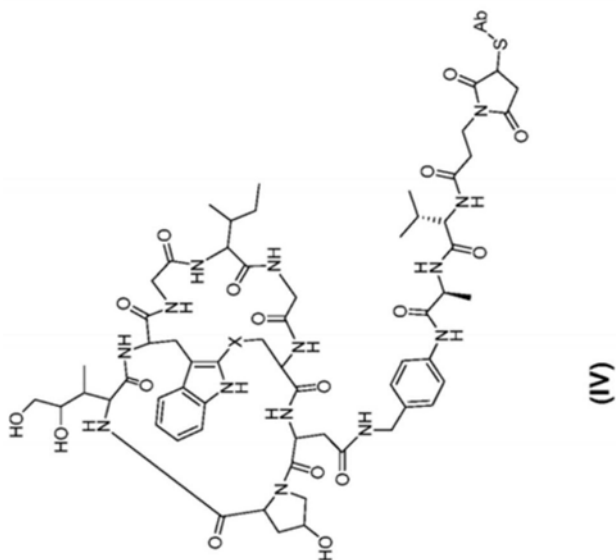
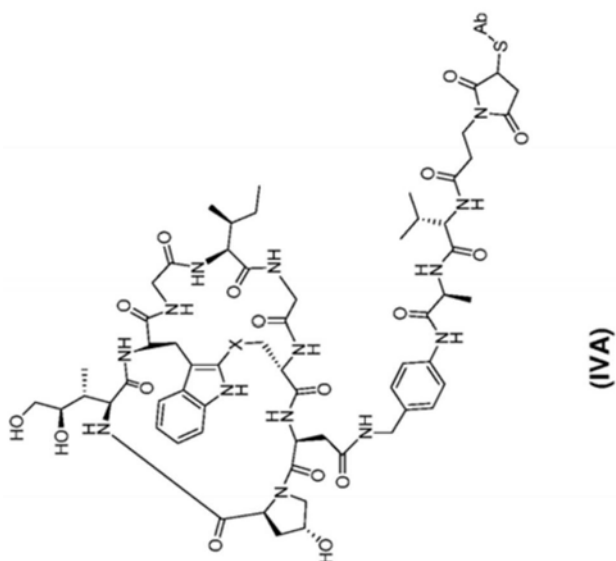


[0649] 其中S是硫原子, 其代表结合CD117的抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基 (例如, 来自半胱氨酸残基的-SH基团)。

[0650] 在一些实施方案中, 缀合物由式IV、IVA或IVB之一表示:

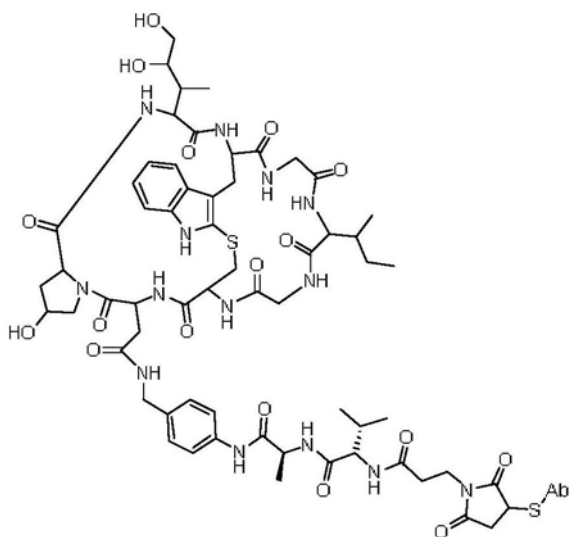


[0651]



[0652] 其中X是S、S₀或S₀₂,并且Ab被示出以指示Ab附接的点。在一些实施方案中,Am-L-Z是

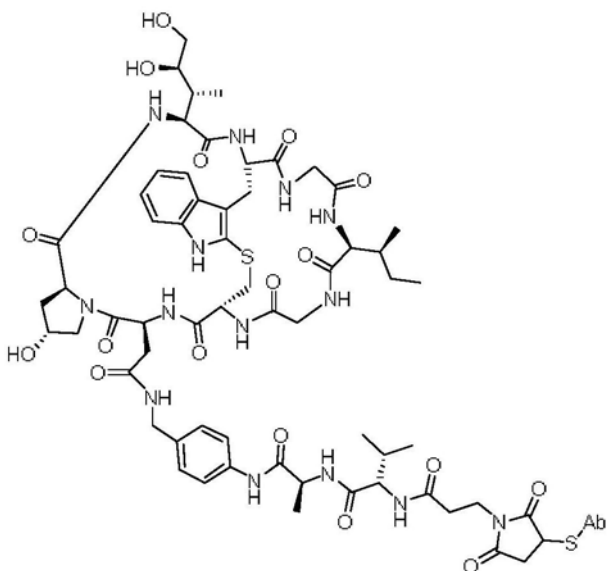
[0653]



[0654] 其中Ab被示出以指示Ab附接的点。

[0655] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是

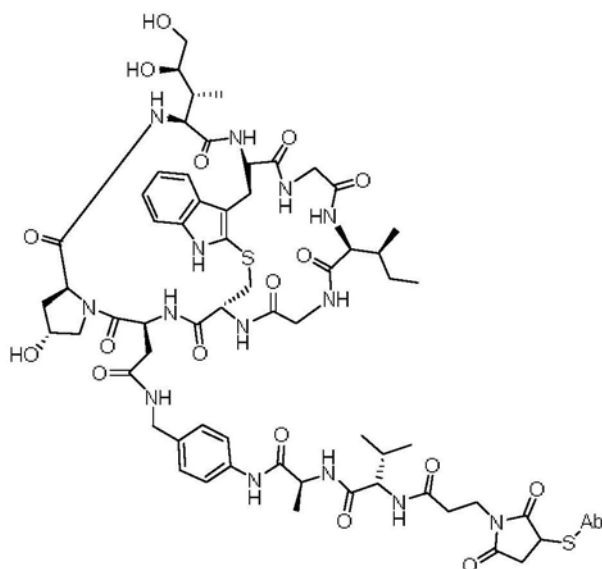
[0656]



[0657] 其中Ab被示出以指示Ab附接的点。

[0658] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是

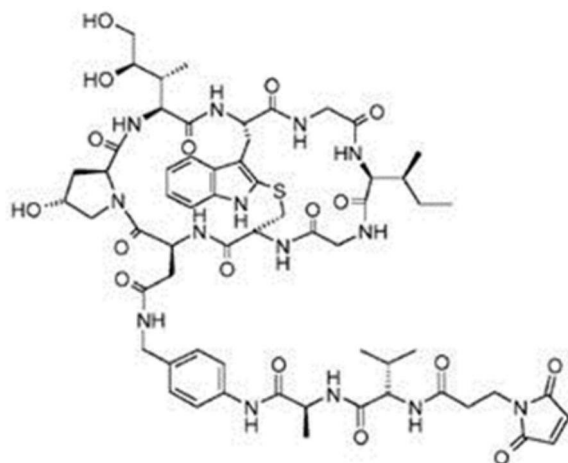
[0659]



[0660] 其中Ab被示出以指示Ab附接的点。

[0661] 在一些实施方案中,Am-L-Z前体是

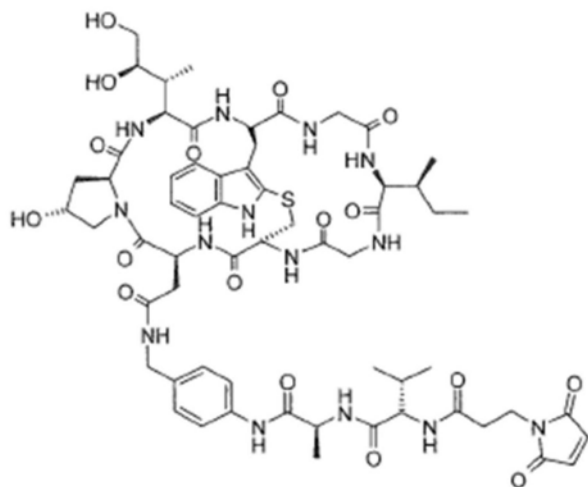
[0662]



[0663] 其中马来酰亚胺与抗体中的半胱氨酸上存在的硫醇基团反应。

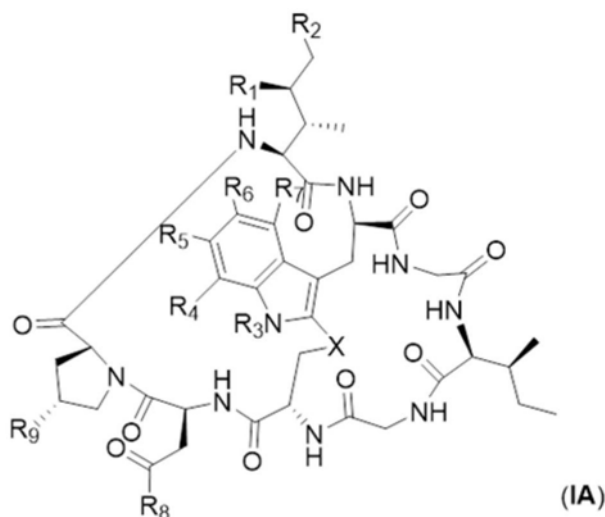
[0664] 在一些实施方案中,Am-L-Z前体是

[0665]



[0666] 其中马来酰亚胺与抗体中的半胱氨酸上存在的硫醇基团反应。

[0667] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 表示



[0668] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；

[0669] R₂是H、OH、OR_B或OR_C；

[0670] R_A和R_B，当存在时，与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团；

[0671] R₃是H、R_C或R_D；

[0672] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

[0673] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

[0674] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

[0675] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

[0676] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D；

[0677] R₉是H、OH、OR_C或OR_D；

[0678] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-；

[0679] R_C是-L-Z；

[0680] R_D是任选地被取代的烷基(例如，C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如，C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如，C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如，C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如，C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如，C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基，或任选地被取代的杂芳基；

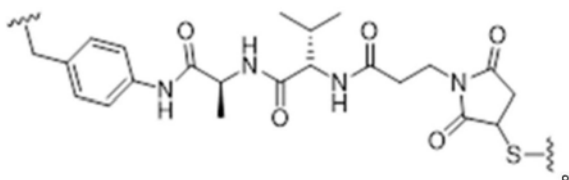
[0681] L是接头，诸如任选地被取代的亚烷基(例如，C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的杂亚烷基(C₁-C₆杂亚烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如，C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的杂亚烯基(例如，C₂-C₆杂亚烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如，C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的杂亚炔基(例如，C₂-C₆杂亚炔基)、任选地被取代的环亚烷基、任选地被取代的杂环亚烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-，或其组合；

[0682] Z是由L上存在的反应性取代基与结合CD117(诸如GNNK+CD117)的抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分；并且

[0683] 其中Am精确地含有一个R_C取代基。

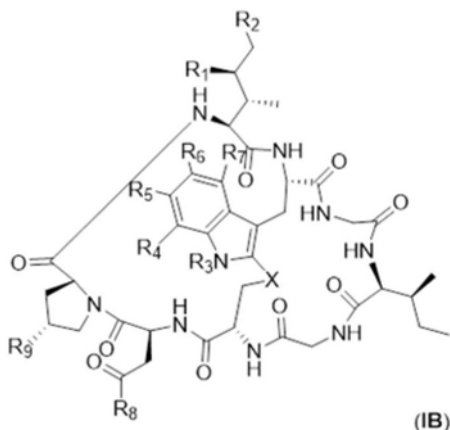
[0684] 在一些实施方案中，L-Z是

[0685]



[0686] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(1B)表示

[0687]

[0688] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;[0689] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;[0690] R_A和R_B,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5-元杂环烷基基团;[0691] R₃是H、R_C或R_D;[0692] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;[0693] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;[0694] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;[0695] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;[0696] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;[0697] R₉是H、OH、OR_C或OR_D;[0698] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;[0699] R_C是-L-Z;

[0700] R_D是任选地被取代的烷基(例如,C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如,C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如,C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如,C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如,C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如,C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基,或任选地被取代的杂芳基;

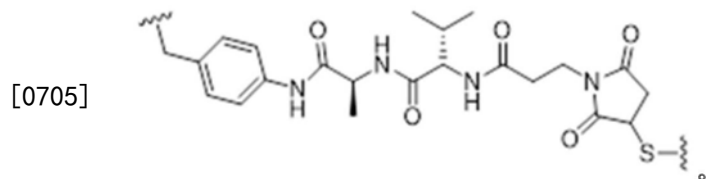
[0701] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如,C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的杂亚烷基(C₁-C₆杂亚烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如,C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的杂亚烯基(例如,C₂-C₆杂亚烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如,C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的杂亚炔基(例如,C₂-C₆杂亚炔基)、任选地被取代的环亚烷基、任选地被取代的杂环亚烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-,或其组合;

[0702] Z是由L上存在的反应性取代基与结合CD117(诸如GNNK+CD117)的抗体或其抗原结

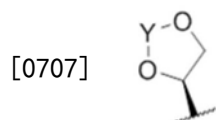
合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分；并且

[0703] 其中Am精确地含有一个R_C取代基。

[0704] 在一些实施方案中,L-Z是



[0706] 在一些实施方案中,R_A和R_B,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成以下式的5-元杂环烷基基团:



[0708] 其中Y是-(C=O)-、-(C=S)-、-(C=NR_E)-或-(CR_ER_{E'})-;并且

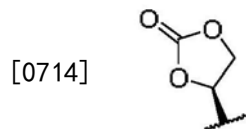
[0709] R_E和R_{E'}各自独立地是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基-R_C、任选地被取代的C₁-C₆杂亚烷基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆杂亚烯基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆杂亚炔基-R_C、任选地被取代的环亚烷基-R_C、任选地被取代的杂环亚烷基-R_C、任选地被取代的亚芳基-R_C,或任选地被取代的杂亚芳基-R_C。

[0710] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示,

[0711] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

[0712] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

[0713] R_A和R_B,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成:



[0715] R₃是H或R_C;

[0716] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0717] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0718] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0719] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0720] R₈是OH、NH₂、OR_C或NHR_C;

[0721] R₉是H或OH;

[0722] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;并且

[0723] 其中R_C和R_D各自如以上所定义。

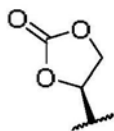
[0724] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示,

[0725] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

[0726] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

[0727] R_A和R_B,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成:

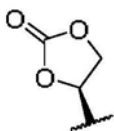
[0728]

[0729] R_3 是H或 R_C ;[0730] R_4 和 R_5 各自独立地是H、OH、 OR_C 、 R_C 或 OR_D ;[0731] R_6 和 R_7 各自是H;[0732] R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 或 NHR_C ;[0733] R_9 是H或OH;[0734] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;并且[0735] 其中 R_C 如以上所定义。

[0736] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,

[0737] 其中 R_1 是H、OH或 OR_A ;[0738] R_2 是H、OH或 OR_B ;[0739] R_A 和 R_B ,当存在时,与它们结合的氧原子一起组合形成:

[0740]

[0741] R_3 、 R_4 、 R_6 和 R_7 各自是H;[0742] R_5 是 OR_C ;[0743] R_8 是OH或 NH_2 ;[0744] R_9 是H或OH;[0745] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;并且[0746] 其中 R_C 如以上所定义。这样的鹅膏蕈毒素缀合物被描述于例如美国专利申请公布第2016/0002298号中,其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0747] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,

[0748] 其中 R_1 和 R_2 各自独立地是H或OH;[0749] R_3 是 R_C ;[0750] R_4 、 R_6 和 R_7 各自是H;[0751] R_5 是H、OH或 OC_1-C_6 烷基;[0752] R_8 是OH或 NH_2 ;[0753] R_9 是H或OH;[0754] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;并且[0755] 其中 R_C 如以上所定义。这样的鹅膏蕈毒素缀合物被描述于例如美国专利申请公布第2014/0294865号中,其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0756] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,

[0757] 其中 R_1 和 R_2 各自独立地是H或OH;[0758] R_3 、 R_6 和 R_7 各自是H;[0759] R_4 和 R_5 各自独立地是H、OH、 OR_C 或 R_C ;[0760] R_8 是OH或 NH_2 ;

[0761] R_9 是H或OH;

[0762] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;并且

[0763] 其中 R_C 如以上所定义。这样的鹅膏蕈毒素缀合物被描述于例如美国专利申请公布第2015/0218220号中,其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0764] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,

[0765] 其中 R_1 和 R_2 各自独立地是H或OH;

[0766] R_3 、 R_6 和 R_7 各自是H;

[0767] R_4 和 R_5 各自独立地是H或OH;

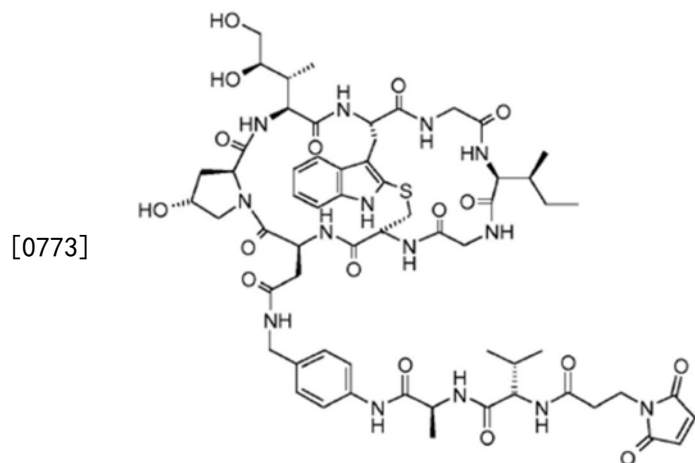
[0768] R_8 是OH、NH₂、OR_C或NHR_C;

[0769] R_9 是H或OH;

[0770] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;并且

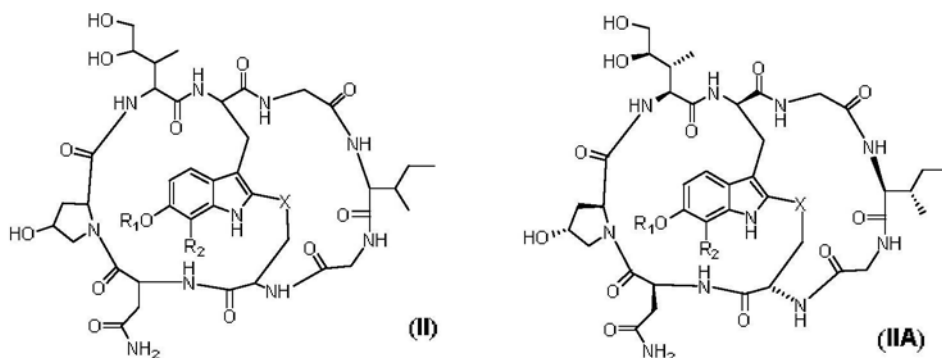
[0771] 其中 R_C 如以上所定义。这样的鹅膏蕈毒素缀合物被描述于例如美国专利第9,233,173号和第9,399,681号以及US 2016/0089450中,其中每一项的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0772] 在一些实施方案中,Am-L-Z是

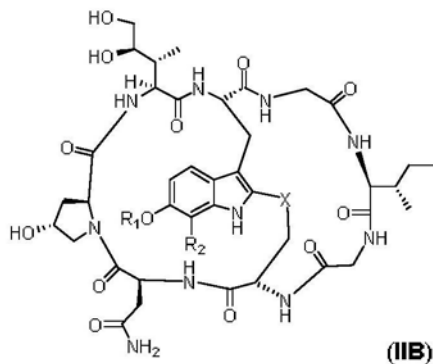


[0774] 可以用于与根据本文描述的组合物和方法的抗体或其抗原结合片段缀合的另外的鹅膏蕈毒素被描述于例如WO 2016/142049;WO 2016/071856;WO 2017/149077;WO 2018/115466;和WO 2017/046658中,其中每一项的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0775] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(II)、式(IIA)或式(IIB)表示,

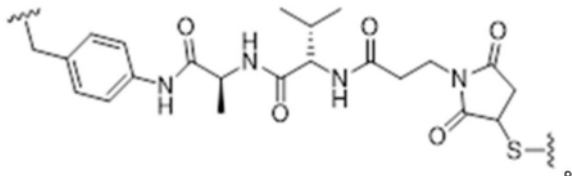


[0776]



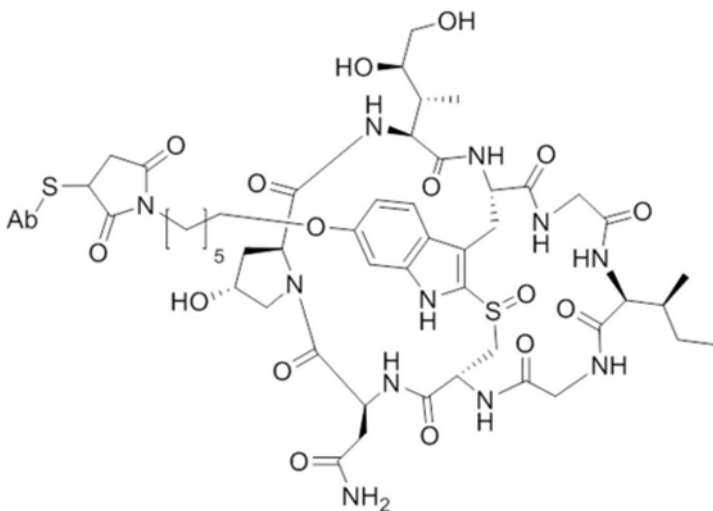
[0777] 其中X是S、SO或SO₂; R₁是H或通过化学部分Z与抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由接头上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成;并且R₂是H或通过化学部分Z与抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由接头上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成;其中当R₁是H时,R₂是接头,而当R₂是H时,R₁是接头。在一些实施方案中,R₁是接头并且R₂是H,并且接头和化学部分一起作为L-Z,是

[0778]

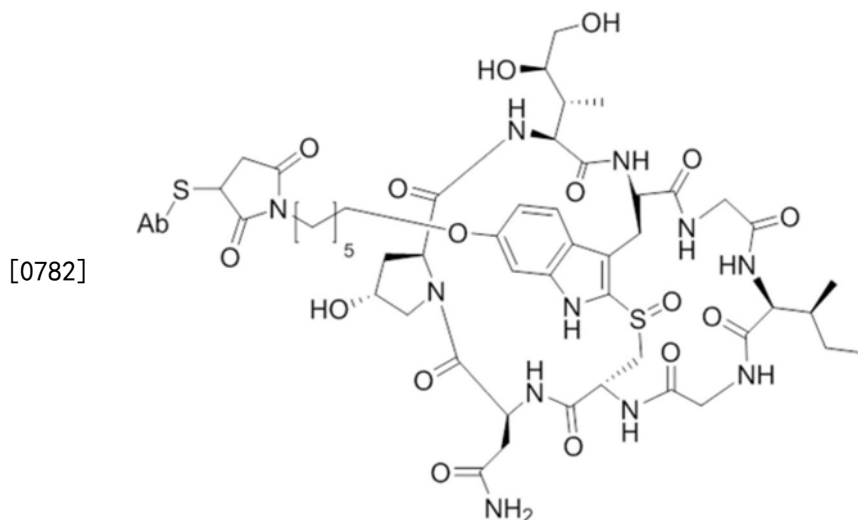


[0779] 在一种实施方案中,Am-L-Z-Ab是:

[0780]

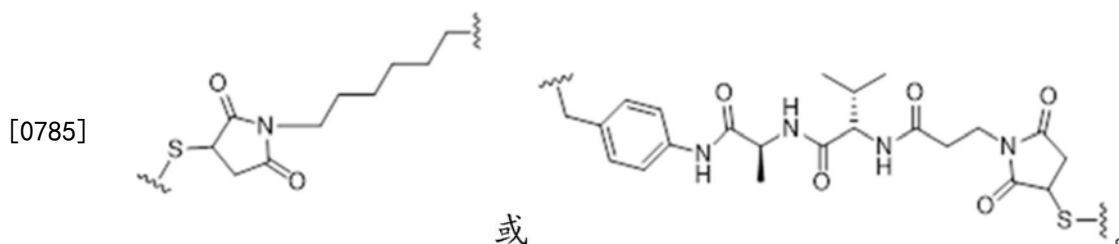


[0781] 在一种实施方案中,Am-L-Z-Ab是:



[0783] 在一些实施方案中,细胞毒素是 α -鹅膏蕈碱。在一些实施方案中, α -鹅膏蕈碱是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的 α -鹅膏蕈碱经由接头L与抗CD117抗体附接。接头L可以在若干可能的位置(例如, R^1 - R^9 中的任何一个)中的任何一个位置处与式III的 α -鹅膏蕈碱附接,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的 α -鹅膏蕈碱-接头缀合物。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^1 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^2 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^3 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^4 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^5 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^6 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^7 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^8 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^9 处。在一些实施方案中,接头包括肼、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基基团(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包含 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 单元,其中n是1-6的整数。

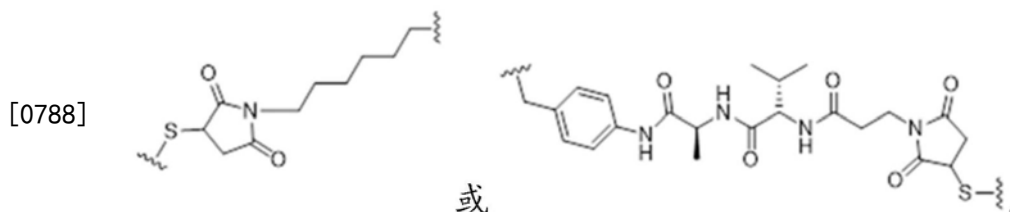
[0784] 在一些实施方案中,接头包含 $-(CH_2)_n-$ 单元,其中n是2-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起为L-Z,是



[0786] 在一些实施方案中,细胞毒素是 β -鹅膏蕈碱。在一些实施方案中, α -鹅膏蕈碱是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的 β -鹅膏蕈碱经由接头L与抗CD117抗体附接。接头L可以在若干可能的位置(例如, R^1 - R^9 中的任何一个)中的任何一个位置处与式III的 β -鹅膏蕈碱附接,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的 β -鹅膏蕈碱-接头缀合物。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^1 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^2 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^3 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^4 处。在一些实施方案中,接头

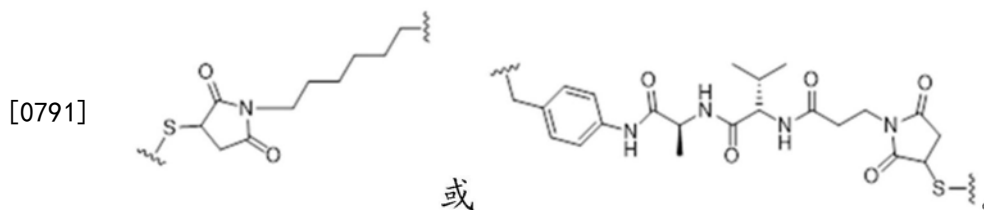
被附接在位置R⁵处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁶处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁷处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁸处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁹处。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基基团(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包含-(C=O)(CH₂)_n-单元,其中n是1-6的整数。

[0787] 在一些实施方案中,接头包含-(CH₂)_n-单元,其中n是2-6的整数。在一些实施方案中,接头是-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH₂)_n-。在一些实施方案中,接头是-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH₂)_n-。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起为L-Z,是



[0789] 在一些实施方案中,细胞毒素是 γ -鹅膏蕈碱。在一些实施方案中, γ -鹅膏蕈碱是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的 γ -鹅膏蕈碱经由接头L与抗CD117抗体附接。接头L可以在若干可能的位置(例如,R¹-R⁹中的任何一个)中的任何一个位置处与式III的 γ -鹅膏蕈碱附接,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的 γ -鹅膏蕈碱-接头缀合物。在一些实施方案中,接头被附接在位置R¹处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R²处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R³处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁴处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁵处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁶处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁷处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁸处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁹处。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基基团(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包含-(C=O)(CH₂)_n-单元,其中n是1-6的整数。

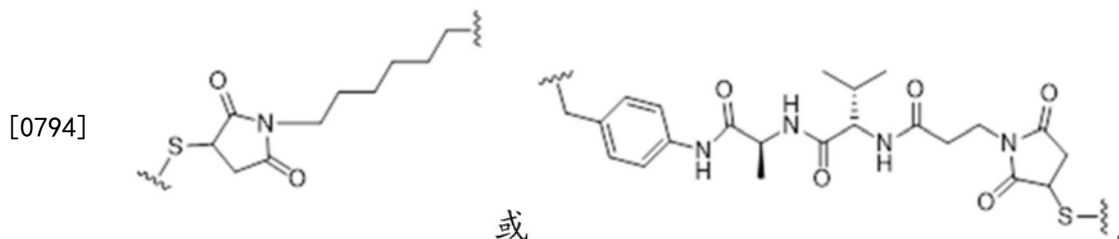
[0790] 在一些实施方案中,接头包含-(CH₂)_n-单元,其中n是2-6的整数。在一些实施方案中,接头是-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH₂)_n-。在一些实施方案中,接头是-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH₂)_n-。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起为L-Z,是



[0792] 在一些实施方案中,细胞毒素是 ϵ -鹅膏蕈碱。在一些实施方案中, ϵ -鹅膏蕈碱是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的 ϵ -鹅膏蕈碱经由接头L与抗CD117抗体附接。接头L可以在若干可能的位置(例如,R¹-R⁹中的任何一个)中的任何一个位置处与式III的 ϵ -鹅膏蕈碱附接,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的 ϵ -鹅膏蕈碱-接头缀合物。在一些实施方案中,

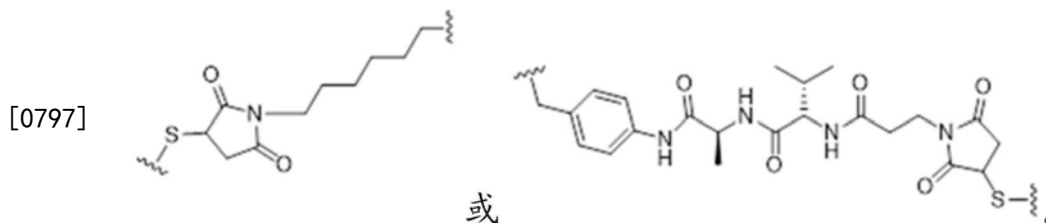
接头被附接在位置 R^1 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^2 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^3 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^4 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^5 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^6 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^7 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^8 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^9 处。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基基团(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包含 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 单元,其中n是1-6的整数。

[0793] 在一些实施方案中,接头包含 $-(CH_2)_n-$ 单元,其中n是2-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起为L-Z,是



[0795] 在一些实施方案中,细胞毒素是鹅膏素。在一些实施方案中,鹅膏素是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的鹅膏素经由接头L与抗CD117抗体附接。接头L可以在若干可能的位置(例如, R^1-R^9 中的任何一个)中的任何一个位置处与式III的鹅膏素附接,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的鹅膏素-接头缀合物。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^1 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^2 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^3 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^4 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^5 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^6 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^7 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^8 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^9 处。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基基团(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包含 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 单元,其中n是1-6的整数。

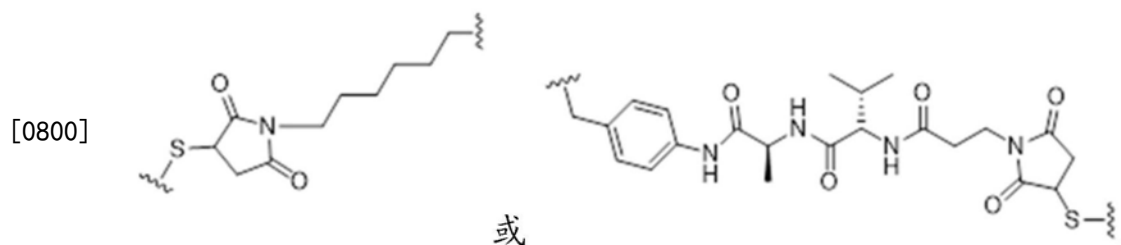
[0796] 在一些实施方案中,接头包含 $-(CH_2)_n-$ 单元,其中n是2-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起为L-Z,是



[0798] 在一些实施方案中,细胞毒素是鹅膏素酰胺。在一些实施方案中,鹅膏素酰胺是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的鹅膏素酰胺经由接头L与抗CD117抗体附接。接头

L可以在若干可能的位置(例如, R^1 - R^9 中的任何一个)中的任何一个位置处与式III的鹅膏素酰胺附接,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的鹅膏素酰胺-接头缀合物。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^1 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^2 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^3 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^4 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^5 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^6 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^7 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^8 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^9 处。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基基团(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包含 $-(C=O)(CH_2)_n$ -单元,其中n是1-6的整数。

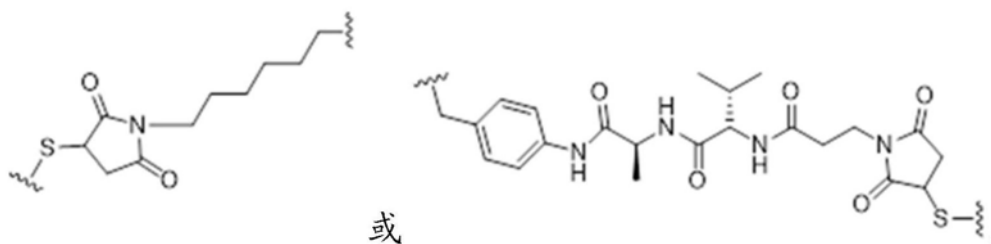
[0799] 在一些实施方案中,接头包含 $-(CH_2)_n$ -单元,其中n是2-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起为L-Z,是



[0801] 在一些实施方案中,细胞毒素是鹅膏无毒环肽。在一些实施方案中,鹅膏无毒环肽是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的鹅膏无毒环肽经由接头L与抗CD117抗体附接。接头L可以在若干可能的位置(例如, R^1 - R^9 中的任何一个)中的任何一个位置处与式III的鹅膏无毒环肽附接,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的鹅膏无毒环肽-接头缀合物。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^1 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^2 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^3 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^4 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^5 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^6 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^7 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^8 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^9 处。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基基团(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包含 $-(C=O)(CH_2)_n$ -单元,其中n是1-6的整数。

[0802] 在一些实施方案中,接头包含 $-(CH_2)_n$ -单元,其中n是2-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起为L-Z,是

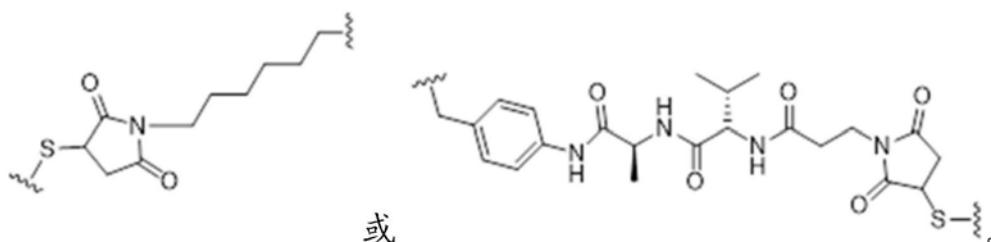
[0803]



[0804] 在一些实施方案中,细胞毒素是一羟鹅膏毒肽羧酸。在一些实施方案中,一羟鹅膏毒肽羧酸是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的一羟鹅膏毒肽羧酸经由接头L与抗CD117抗体附接。接头L可以在若干可能的位置(例如, R^1 - R^9 中的任何一个)中的任何一个位置处与式III的一羟鹅膏毒肽羧酸附接,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的一羟鹅膏毒肽羧酸-接头缀合物。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^1 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^2 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^3 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^4 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^5 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^6 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^7 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^8 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^9 处。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基基团(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包含 $-(C=O)(CH_2)_n$ 单元,其中n是1-6的整数。

[0805] 在一些实施方案中,接头包含 $-(CH_2)_n$ 单元,其中n是2-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n$ 。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n$ 。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起为L-Z,是

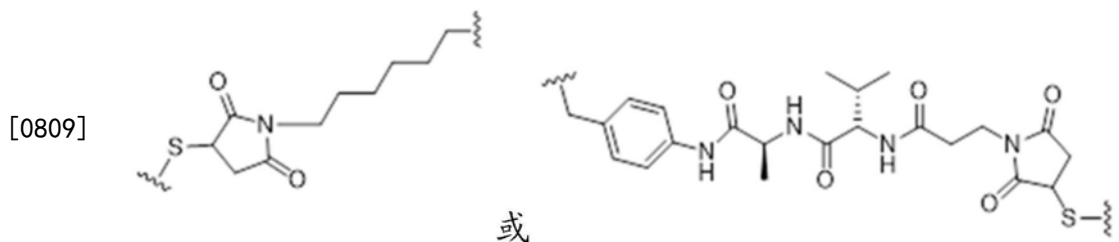
[0806]



[0807] 在一些实施方案中,细胞毒素是前鹅膏无毒环肽。在一些实施方案中,前鹅膏无毒环肽是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的前鹅膏无毒环肽经由接头L与抗CD117抗体附接。接头L可以在若干可能的位置(例如, R^1 - R^9 中的任何一个)中的任何一个位置处与式III的前鹅膏无毒环肽附接,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的前鹅膏无毒环肽-接头缀合物。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^1 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^2 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^3 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^4 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^5 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^6 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^7 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^8 处。在一些实施方案中,接头被附接在位置 R^9 处。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基基团(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包含 $-(C=O)$

(CH₂)_n-单元,其中n是1-6的整数。

[0808] 在一些实施方案中,接头包含-(CH₂)_n-单元,其中n是2-6的整数。在一些实施方案中,接头是-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH₂)_n-。在一些实施方案中,接头是-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH₂)_n-。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起为L-Z,是



[0810] 在美国专利第9,676,702号中描述了制备鹅膏蕈毒素的合成方法,将该专利通过引用并入本文。

[0811] 用于与本文描述的组合物和方法一起使用的抗体和抗原结合片段可以使用本领域已知的或本文描述的缀合技术与鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱或其变体缀合。例如,识别并且结合CD117(诸如GNNK+CD117)的抗体及其抗原结合片段可以与鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱或其变体缀合,如US 2015/0218220中描述的,其公开内容在涉及例如鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱及其变体以及可以用于共价缀合的共价接头时通过引用并入本文。

[0812] 可用于与本文描述的方法结合的示例性抗体-药物缀合物可以通过抗体或其抗原结合片段与鹅膏蕈毒素的反应而形成,所述鹅膏蕈毒素与含有适用于与抗体或其抗原结合片段上的反应性残基反应的取代基的接头缀合。与含有适用于与本文描述的抗体或其抗原结合片段上的反应性残基反应的取代基的接头缀合的鹅膏蕈毒素包括但不限于7'C-(4-(6-(马来酰亚胺基)己酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷羰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(3-羧基丙酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(2-溴乙酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(3-(吡啶-2-基二硫烷基)丙酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(4-(马来酰亚胺基)丁酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(马来酰亚胺基)乙酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(3-(马来酰亚胺基)丙酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(4-(马来酰亚胺基)丁酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(3-((6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(3-((6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(3-((4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(3-((6-((4-(马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(6-(2-(羟基)乙酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅

膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(4-(2-(氨基)乙酰胺基)丁酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(4-(2-(氨基)乙酰胺基)丁酰胺基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(6-(2-(氨基)乙酰胺基)己酰氨基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;(R)-7'C-((3-((6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;(S)-7'C-((3-((6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-((6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰胺基)-S-甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-((6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰胺基)-R-甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-((4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)-S-甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-((4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)-R-甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-((6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(3-羧基丙酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(马来酰亚胺基)乙酰基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(3-(马来酰亚胺基)丙酰基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(4-(马来酰亚胺基)丁酰基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(2-(马来酰亚胺基)乙酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(4-(马来酰亚胺基)丁酰氨基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-((6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)乙基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-((4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-(2-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)乙基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-(2-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)乙基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(((2-(6-(马来酰亚胺基)-N-甲基己酰胺基)乙基)(甲基)氨基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(((4-(6-(马来酰亚胺基)-N-甲基己酰胺基)丁基)(甲基)氨基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((2-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)乙基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((2-(2-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)乙基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(6-(6-(2-(氨基)乙酰胺基)己酰胺基)己酰基)哌啶-1-

基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(1-(氨基)-2-氧代-6,9,12,15-四氧杂-3-氮杂十七烷-17-酰基) 哌嗪-1-基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(2-(氨基) 乙酰胺基) 乙酰胺基) 哌嗪-1-基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(3-(2-(氨基) 乙酰胺基) 丙酰胺基) 哌嗪-1-基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(4-(2-(氨基) 乙酰胺基) 丁酰胺基) 哌嗪-1-基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(6-(2-(氨基) 乙酰胺基) 己酰胺基) 乙基) 哌啶-1-基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(2-(2-(氨基) 乙酰胺基) 乙酰胺基) 乙基) 哌啶-1-基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(4-(2-(氨基) 乙酰胺基) 丁酰胺基) 乙基) 哌啶-1-基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(20-(氨基)-4,19-二氧代-6,9,12,15-四氧杂-3,18-二氮杂二十烷) 哌啶-1-基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(((2-(6-(2-(氨基) 乙酰胺基) -N-甲基己酰胺基) 乙基) (甲基) 氨基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(((4-(6-(2-(氨基) 乙酰胺基) -N-甲基己酰胺基) 丁基) (甲基) 氨基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-((6-(4-((马来酰亚胺基) 甲基) 环己烷甲酰胺基) 己酰胺基) 甲基) 吡咯烷-1-基) -S-甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-((6-(4-((马来酰亚胺基) 甲基) 环己烷甲酰胺基) 己酰胺基) -R-甲基) 吡咯烷-1-基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(2-溴乙酰胺基) 乙基) 哌嗪-1-基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(2-溴乙酰胺基) 乙基) 哌啶-1-基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(3-(吡啶-2-基二硫烷基) 丙酰氨基) 乙基) 哌啶-1-基) 甲基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(6-(6-(马来酰亚胺基) 己酰胺基) 己基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(5-(4-((马来酰亚胺基) 甲基) 环己烷甲酰胺基) 戊基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(2-((6-(马来酰亚胺基) 己基) 氧基)-2-氧代乙基)-鹅膏蕈毒素;6'0-((6-(马来酰亚胺基) 己基) 氨基甲酰基)-鹅膏蕈毒素;6'0-((6-(4-((马来酰亚胺基) 甲基) 环己烷甲酰氨基) 己基) 氨基甲酰基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(6-(2-溴乙酰胺基) 己基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(6-(叠氮基) 己酰胺基) 哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(己-5-炔酰氨基(hex-5-ynoylamino)) 哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(6-(马来酰亚胺基) 己酰胺基) 乙基) 哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(6-(6-(马来酰亚胺基) 己酰胺基) 己酰胺基) 乙基) 哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(6-(6-(11,12-二脱氢-5,6-二氢-二苯并[b,f]氮杂环辛(azocin)-5-基)-6-氧代己酰胺基) 己基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(6-(己-5-炔酰氨基) 己基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(6-(2-(氨基) 乙酰胺基) 己基)-鹅膏蕈毒素;6'0-((6-氨基) 己基)-鹅膏蕈毒素;和6'0-(6-(2-碘乙酰胺基) 己基)-鹅膏蕈毒素。除其他以外,可用于与本文描述的组合物和方法结合使用的前述接头被描述于例如美国专利申请公布第2015/0218220号中,其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0813] 可以与用于在直接治疗癌症、自身免疫性状况中使用或用于调节患者(例如,人类患者)以准备造血干细胞移植疗法的识别并结合CD117(诸如GNNK+CD117)的抗体或其抗原结合片段缀合的另外的细胞毒素包括但不限于,尤其是,5-乙炔基尿嘧啶、阿比特龙、酰基富烯(acylfulvene)、腺环戊醇(adecypenol)、阿多来新(adozelesin)、阿地白介素、六甲蜜胺、氨莫司汀、艾美多(amidox)、氨磷汀、氨基酮戊酸(aminolevulinic acid)、氨柔比星(amrubicin)、安吡啶、阿那格雷(anagrelide)、阿那曲唑(anastrozole)、穿心莲内酯、血管生成抑制剂、安雷利克斯(antarelix)、抗背部化形态发生蛋白-1、抗雄激素、前列腺癌、抗雌激素、抗瘤酮(antineoplaston)、反义寡核苷酸、甘氨酸阿非迪霉素(aphidicolin glycinate)、凋亡基因调节剂、凋亡调节剂、脱嘌呤核酸、奥沙那宁(asulacrine)、阿他美坦(atamestane)、阿莫司汀(atrimustine)、阿新司坦汀1(axinastatin 1)、阿新司坦汀2

(axinastatin 2)、阿新司坦汀3(axinastatin 3)、阿扎司琼(azasetron)、阿扎托新(azatoxin)、重氮酪氨酸、巴卡亭III衍生物(baccatin III derivatives)、班兰诺(balanol)、巴马司他(batimastat)、BCR/ABL拮抗剂、苯并二氢卟吩(benzochlorins)、苯甲酰基星形孢菌素(benzoylstauroporine)、β内酰胺衍生物、β-阿立辛(beta-alethine)、β可来霉素B(betaclamycinB)、桦木酸、bFGF抑制剂、比卡鲁胺(bicalutamide)、比生群(bisantrene)、双氮丙啶基精胺(bisaziridinylspermine)、双奈法德(bisnafide)、bistratene A、比折来新(bizelesin)、比锐来特(breflate)、博来霉素A2、博来霉素B2、溴匹立明(bropirimine)、布多替钛(budotitane)、丁硫氨酸亚砷胺、卡泊三醇、钙磷酸蛋白C(calphostin C)、喜树碱衍生物(例如10-羟基-喜树碱)、卡培他滨(capecitabine)、甲酰胺-氨基三唑(carboxamide-amino-triazole)、羧酰胺基三唑(carboxyamidotriazole)、卡折来新(carzelesin)、酪蛋白激酶抑制剂、栗树精胺、杀菌肽B(cecropin B)、西曲瑞克(cetrorelix)、二氢卟吩、氯喹啉磺胺、西卡前列素(cicaprost)、顺式卟啉、克拉屈滨(cladribine)、氯米芬及其类似物、克霉唑、克立霉素A(collismycin A)、克立霉素B(collismycin B)、考布他丁A4(combretastatin A4)、考布他丁类似物、康纳京尼(conagenin)、卡那贝西汀816(crambescidin 816)、克里斯奈托(crisnatol)、念珠藻环肽8、念珠藻环肽A衍生物、卡拉新A(curacin A)、环戊萘醌、环普兰姆(cycloplatam)、西匹霉素(cypemycin)、阿糖胞苷十八烷基磷酸钠(cytarabine ocfosfate)、溶细胞因子、磷酸己烷雌酚(cytostatin)、达昔单抗、地西他滨、脱氢膜海鞘素B、2'脱氧柯福霉素(2' deoxycoformycin) (DCF)、地洛瑞林(deslorelin)、右异环磷酰胺(dexifosfamide)、右雷佐生(dexrazoxane)、右维拉帕米(dexverapamil)、地吡酮(diaziquone)、膜海鞘素B、地多西(didox)、二乙基去甲精胺(diethylnorspermine)、二氢-5-氮杂胞苷(dihydro-5-azacytidine)、二氢紫杉醇(dihydrotaxol)、二恶霉素(dioxamycin)、二苯基螺莫司汀、圆皮海绵内酯、二十二烷醇(docosanol)、多拉司琼、去氧氟尿苷、屈洛昔芬、屈大麻酚、倍癌霉素SA(duocannycin SA)、依布硒啉、依考莫司汀、依地福新、依决洛单抗、依氟鸟氨酸(eflornithine)、榄香烯、乙嘧替氟、埃博霉素、epithilones、爱普列特(epristeride)、雌莫司汀及其类似物、依托泊苷、依托泊苷4'-磷酸酯(也称为etopofos)、依西美坦、法倔唑、法扎拉滨、维甲酰酚胺(fenretinide)、非格司亭、非那雄胺(fmasteride)、夫拉平度(flavopiridol)、夫来折司汀(flezelastine)、夫斯特隆(flasterone)、氟达拉滨、盐酸氟道诺霉素(flurodaunorunicin hydrochloride)、福酚美克(forfenimex)、福美司坦(formestane)、福司曲星(fostriecin)、福莫司汀(fotemustine)、钆德卟啉(gadolinium texaphyrin)、硝酸镓、加洛他滨(galocitabine)、加尼瑞克(ganirelix)、明胶酶抑制剂、吉西他滨、谷胱甘肽抑制剂、和普苏姆(hepsulfam)、高三尖杉酯碱(homoharringtonine) (HHT)、金丝桃素、伊班膦酸、艾多昔芬(idoxifene)、伊决孟酮(idramantone)、伊莫福新(ilmofosine)、伊洛马司他(ilomastat)、咪唑吡啶酮(imidazoacridones)、咪喹莫特(imiquimod)、免疫刺激肽、碘苄胍、碘多柔比星、甘薯苦醇、伊立替康、伊罗普拉(iroplact)、伊索拉定(irsogladine)、异苯胍唑(isobengazole)、杰斯普拉克立德(jasplakinolide)、卡哈拉立得F(kahalalide F)、三醋酸片螺素-N(lamellarin-N triacetate)、兰乐肽(lanreotide)、leinamycin、来格司亭(lenograstim)、硫酸香菇多糖(lentinan sulfate)、雷托他汀(leptolstatin)、来曲唑(letrozole)、亲脂性铂类化合物、

立索克林酰胺7 (lissoclinamide 7)、洛铂、洛美曲索 (lometrexol)、氯尼达明 (lonidamine)、洛索蒽醌 (losoxantrone)、洛索立宾 (loxoribine)、勒托替康 (lurtotecan)、镧德卟啉 (lutetium texaphyrin)、立索茶碱 (lysofylline)、马索罗酚、马司非 (maspin)、基质金属蛋白酶抑制剂、美诺立尔 (menogaril)、rnerbarone、美替瑞林 (meterelin)、甲硫氨酸酶、甲氧氯普胺、MIF抑制剂、米非司酮 (ifepristone)、米替福新 (miltefosine)、米立司亭 (mirimostim)、光辉霉素 (mithracin)、米托胍脲 (mitoguazone)、二溴卫矛醇、丝裂霉素及其类似物、米托蒽胺 (mitonafide)、米托蒽醌 (mitoxantrone)、莫法罗汀 (mofarotene)、莫拉司亭 (molgramostim)、美卡普罗B (myloroxide B)、美瑞泡仁 (myriaporone)、N-乙酰基地那林 (N-acetyldinaline)、N-取代的苯甲酰胺、那法瑞林 (nafarelin)、纳格瑞替 (nagrestip)、纳普维 (napavin)、萘特非 (naphterpin)、那托司亭 (nartograstim)、奈达铂 (nedaplatin)、奈莫柔比星 (nemorubicin)、奈立膦酸、尼鲁米特 (nilutamide)、丽沙霉素 (nisamycin)、里挫林 (nitrullyn)、奥曲肽 (octreotide)、奥克恩 (okicenone)、奥那司酮 (onapristone)、昂丹司琼 (ondansetron)、奥拉新 (oracin)、奥马铂 (ormaplatin)、奥沙利铂 (oxaliplatin)、厄诺霉素 (oxaunomycin)、紫杉醇及其类似物、帕诺明 (palauamine)、十六酰基根霉素 (palmitoylrhizoxin)、帕米膦酸、人参炔三醇、帕诺米芬 (panomifene)、帕拉贝新 (parabactin)、帕折普汀 (pazelliptine)、培门冬酶 (pegaspargase)、皮地新 (peldesine)、戊聚糖聚硫酸钠、喷司他丁 (pentostatin)、喷唑 (pentrozone)、全氟溴烷 (perflubron)、培磷酰胺、苯连氮霉素 (phenazinomycin)、沙培林 (picibanil)、吡柔比星 (pirarubicin)、吡曲克辛 (piritrexim)、鬼臼毒素 (podophyllotoxin)、泊非霉素 (porfiromycin)、嘌呤核苷磷酸化酶抑制剂、雷替曲塞 (raltitrexed)、根霉素、罗谷亚胺 (rogletimide)、罗希吐碱、鲁宾吉隆B1 (rubiginone B1)、鲁泊塞 (ruboxyl)、沙芬戈 (safingol)、圣特平 (saintopin)、肌肉叶绿醇A (sarcophytol A)、沙格司亭 (sargramostim)、索布佐生 (sobuzoxane)、索纳明 (sonermin)、斯帕磷酸、斯皮卡霉素D (spicamycin D)、螺莫司汀 (spiromustine)、斯替皮米德 (stipiamide)、sulfinosine、他莫司汀 (tallimustine)、替加氟 (tegafur)、替莫唑胺、替尼泊苷、噻立拉斯汀 (thaliblastine)、噻可拉林 (thiocoraline)、替拉扎明 (tirapazamine)、拓扑替康 (topotecan)、托普升替 (topsentin)、曲西立宾 (triciribine)、三甲曲沙 (trimetrexate)、藜芦胺 (veramine)、长春瑞滨 (vinorelbine)、维萨汀 (vinxaltine)、伏罗唑 (vorozole)、折尼铂 (zeniplatine) 和亚苡维C (zilascorb)。

[0814] 用于化学缀合的接头

[0815] 多种接头可以用于将本文描述的抗体或抗原结合片段 (例如, 识别并结合CD117 (诸如GNNK+CD117) 的抗体或其抗原结合片段) 与细胞毒性分子缀合。

[0816] 如本文使用的术语“接头”是指包含共价键或原子的链的二价化学部分, 其将抗体或其片段 (Ab) 与药物部分 (D) 共价附接以形成本公开内容的抗体-药物缀合物 (ADC; Ab-Z-L-细胞毒素)。合适的接头具有两个反应性末端, 一个用于与抗体缀合, 而另一个用于与细胞毒素缀合。接头的抗体缀合反应性末端 (反应性部分, Z') 通常是能够通过抗体上的半胱氨酸硫醇或赖氨酸胺基团与抗体缀合的位点, 并且因此通常是硫醇反应性基团诸如双键 (如在马来酰亚胺中) 或离去基团诸如氯、溴、碘或R-磺酰基基团, 或胺反应性基团诸如羧基基团; 而接头的抗体缀合反应性末端通常是能够通过与细胞毒素上的碱性胺或羧基基团形

成酰胺键而与细胞毒素缀合的位点,并且因此通常是羧基或碱性胺基团。当术语“接头”被用于描述呈缀合形式的接头时,由于在接头和/或细胞毒素之间以及接头和/或抗体或其抗原结合片段之间形成键,一个或两个反应性末端将是不存在的(诸如反应性部分Z,已经被转化为化学部分Z)或不完整的(诸如仅为羧酸的羰基)。这样的缀合反应在下文被进一步描述。

[0817] 在一些实施方案中,接头在细胞内条件下是可裂解的,使得接头的裂解在细胞内环境中将药物单元从抗体释放。在仍其他的实施方案中,接头单元是不可裂解的,而药物通过例如抗体降解而被释放。可用于本发明的ADC的接头优选地在细胞外稳定,防止ADC分子聚集,并且保持ADC在水性介质中以单体状态易溶解。在运输或递送到细胞中之前,ADC优选地是稳定的并且保持完整,即抗体保持与药物部分连接。接头在靶细胞外是稳定的,并且可以在细胞内以一定的有效速率被裂解。有效的链接基将:(i)保持抗体的特异性结合特性;(ii)允许缀合物或药物部分的细胞内递送;(iii)保持稳定和完整,即不被裂解,直到缀合物被递送或运输到其靶向部位;以及(iv)保持细胞毒性部分的细胞毒性、细胞杀伤作用或细胞抑制作用。ADC的稳定性可通过标准分析技术诸如质谱术、HPLC和分离/分析技术LC/MS来测量。抗体和药物部分的共价附接要求接头具有两个反应性官能团,即反应意义上的二价性。可用于附接两个或更多个功能性或生物活性部分,诸如肽、核酸、药物、毒素、抗体、半抗原和报道基团的二价连接试剂是已知的,并且已经描述了它们得到的缀合物的方法(Hermanson,G.T.(1996) *Bioconjugate Techniques*;Academic Press:New York,第234-242页)。

[0818] 接头包括可以被以下裂解的那些:例如,酶促水解、光解、在酸性条件下水解、在碱性条件下水解、氧化、二硫化物还原、亲核裂解或有机金属裂解(参见,例如,Leriche等人,Bioorg.Med.Chem.,20:571-582,2012,其公开内容在其涉及适用于共价缀合的接头时通过引用并入本文)。

[0819] 在酸性条件下可水解的接头包括例如脎、缩氨基脲、缩氨基硫脲、顺式乌头酰胺、原酸酯、缩醛、缩酮等。(参见,例如,美国专利第5,122,368号;第5,824,805号;第5,622,929号;Dubowchik和Walker,1999,Pharm.Therapeutics 83:67-123;Neville等人,1989,Biol.Chem.264:14653-14661,其中每一项的公开内容在其涉及适用于共价缀合的接头时通过引用以其整体并入本文)。这样的接头在中性pH条件诸如在血液中的条件下相对稳定,但在低于pH 5.5或pH 5.0(溶酶体的近似pH)时不稳定。

[0820] 在还原条件下可裂解的接头包括例如二硫化物。多种二硫化物接头是本领域已知的,包括,例如,可以使用以下形成的二硫化物接头:SATA(N-琥珀酰亚胺基-S-乙酰硫代乙酸酯)、SPDP(N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯)、SPDB(N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丁酸酯)和SMPT(N-琥珀酰亚胺基-氧羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基二硫代)甲苯)、SPDB和SMPT(参见,例如,Thorpe等人,1987,Cancer Res.47:5924-5931;Wawrzynczak等人,In *Immunoconjugates:Antibody Conjugates in Radioimaging and Therapy of Cancer*(C.W.Vogel编著,Oxford U.Press,1987。另参见美国专利第4,880,935号,其中每一项的公开内容在其涉及适用于共价缀合的接头时通过引用以其整体并入本文)。

[0821] 适用于合成如本文描述的药物-抗体缀合物的另外的接头包括能够通过1,6-消除过程释放细胞毒素的那些(一种“自我分解性(self-immolative)”基团),诸如对氨基苯甲

醇(PABC)、对氨基苄基(PAB)、6-马来酰亚胺基己酸、pH敏感性碳酸盐和在Jain等人, Pharm.Res.32:3526-3540,2015中描述的其他试剂,其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0822] 在一些实施方案中,接头包括自我分解性基团,诸如前述的PAB或PABC(对氨基苄基氧羰基),其被公开于以下中:例如,Carl等人,J.Med.Chem.(1981)24:479-480; Chakravarty等人(1983)J.Med.Chem.26:638-644;US 6214345;US20030130189; US20030096743;US6759509;US20040052793;US6218519;US6835807;US6268488; US20040018194;W098/13059;US20040052793;US6677435;US5621002;US20040121940; W02004/032828)。能够进行该过程的其他这样的化学部分(“自我分解性接头”)包括亚甲基氨基甲酸酯和杂芳基基团诸如氨基噻唑、氨基咪唑、氨基嘧啶等。含有这样的杂环自我分解性基团的接头被公开于以下中:例如,美国专利公布第20160303254号和第20150079114号以及美国专利第7,754,681号;Hay等人(1999)Bioorg.Med.Chem.Lett.9:2237;US 2005/0256030;de Groot等人(2001)J.Org.Chem.66:8815-8830;和US 7223837。

[0823] 易受酶促水解的接头可以是,例如,被细胞内肽酶或蛋白酶(包括但不限于溶酶体或内体蛋白酶)裂解的含肽接头。使用细胞内蛋白水解释放治疗剂的一个优点是,当缀合时,剂通常被削弱,并且缀合物的血清稳定性通常较高。在一些实施方案中,肽基接头的长度为至少两个氨基酸或长度为至少三个氨基酸。示例性氨基酸接头包括二肽、三肽、四肽或五肽。合适的肽的实例包括含有以下氨基酸的肽:诸如缬氨酸、丙氨酸、瓜氨酸(Cit)、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸和甘氨酸。构成氨基酸接头成分的氨基酸残基包括天然存在的氨基酸残基,以及少量氨基酸和非天然存在的氨基酸类似物,诸如瓜氨酸。示例性二肽包括缬氨酸-瓜氨酸(val或val-cit)和丙氨酸-苯丙氨酸(al或ala-phe)。示例性三肽包括甘氨酸-缬氨酸-瓜氨酸(gly-val-cit)和甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(gly-gly-gly)。在一些实施方案中,接头包括二肽诸如Val-Cit、Ala-Val,或Phe-Lys、Val-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Phe-Arg,或Trp-Cit。含有二肽诸如Val-Cit或Phe-Lys的接头公开于例如美国专利第6,214,345号中,其公开内容在其涉及适用于共价缀合的接头时通过引用以其整体并入本文。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,二肽与自我分解性接头组合使用。

[0824] 适用于本文的接头还可以包括一个或更多个选自以下的基团: C_1-C_6 亚烷基、 C_1-C_6 杂亚烷基、 C_2-C_6 亚烯基、 C_2-C_6 杂亚烯基、 C_2-C_6 亚炔基、 C_2-C_6 杂亚炔基、 C_3-C_6 环亚烷基、杂环亚烷基、亚芳基、杂亚芳基及其组合,其中每一种都可以任选地被取代。这样的基团的非限制性实例包括 $(CH_2)_n$ 、 $(CH_2CH_2O)_n$ 和 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 单元,其中 n 是1-6的整数,对于每种情况独立地选择。

[0825] 在一些实施方案中,接头可以包括以下中的一种或更多种:肼、二硫化物、硫醚、二肽、对氨基苄基(PAB)基团、杂环自我分解性基团、任选地被取代的 C_1-C_6 烷基、任选地被取代的 C_1-C_6 杂烷基、任选地被取代的 C_2-C_6 烯基、任选地被取代的 C_2-C_6 杂烯基、任选地被取代的 C_2-C_6 炔基、任选地被取代的 C_2-C_6 杂炔基、任选地被取代的 C_3-C_6 环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、溶解度增强基团、酰基、 $-(C=O)-$,或 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 基团,其中 n 是1-6的整数。本领域技术人员将认识到,所列的一种或更多种基团可以以二价(双自由基)物质例如 C_1-C_6 亚烷基等的形式存在。

[0826] 在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基基团(PAB)。在一种实施方案中,对氨基苄基基团被置于细胞毒性药物和接头中的蛋白酶裂解位点之间。在一种实施方案中,对氨基苄基基团是对氨基苄基氧羰基单元的一部分。在一种实施方案中,对氨基苄基基团是对氨基苄基氨基单元的一部分。

[0827] 在一些实施方案中,接头包括PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys (Ac) -PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys (Ac) -PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB或Ala-PAB。

[0828] 在一些实施方案中,接头包括以下中的一种或更多种的组合:肽、寡糖、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys (Ac) -PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys (Ac) -PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB或Ala-PAB。

[0829] 在一些实施方案中,接头包括 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 单元,其中n是1-6的整数。

[0830] 可以用于将抗体或其抗原结合片段与细胞毒性剂缀合的接头包括那些接头,其在接头的一个末端上与细胞毒性剂共价结合,并且在接头的另一个末端上含有化学部分,所述化学部分由接头上存在的反应性取代基与在结合CD117(诸如GNNK+CD117)的抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基之间的偶联反应形成。可以存在于结合CD117(诸如GNNK+CD117)的抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基包括但不限于丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基的羟基部分;赖氨酸残基的氨基部分;天冬氨酸和谷氨酸残基的羧基部分;和半胱氨酸残基的硫醇部分,以及非天然存在的氨基酸的炔丙基、叠氮基、卤代芳基(例如,氟芳基)、卤代杂芳基(例如,氟杂芳基)、卤代烷基和卤代杂烷基部分。

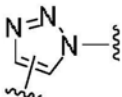
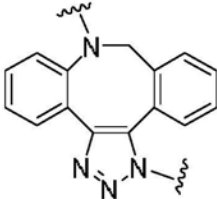
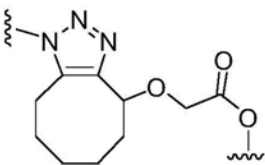
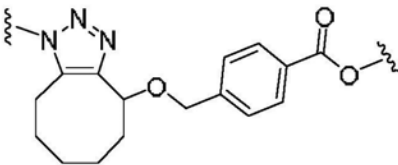
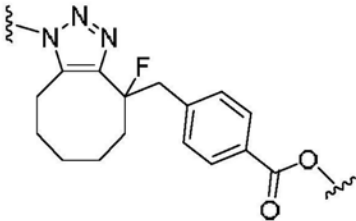
[0831] 可用于合成药物-抗体缀合物的接头的实例包括,含有适用于与抗体或抗原结合片段内存在的亲核取代基(诸如胺和硫醇部分)反应的亲电子体的那些,诸如尤其是迈克尔(Michael)受体(例如,马来酰亚胺)、活化酯、缺电子羰基化合物和醛。例如,适用于合成药物-抗体缀合物的接头包括但不限于尤其是,琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺基甲基)-环己烷-L-羧酸酯(SMCC)、N-琥珀酰亚胺基碘乙酸酯(SIA)、磺基-SMCC、间-马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯(m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimidyl ester)(MBS)、磺基-MBS和琥珀酰亚胺基碘乙酸酯,它们被描述于例如Liu等人,18:690-697,1979中,其公开内容在其涉及用于化学缀合的接头时通过引用并入本文。另外的接头包括不可裂解的马来酰亚胺基己酰基接头,其对于微管破坏剂诸如奥瑞他汀的缀合特别有用,由Doronina等人,Bioconjugate Chem.17:14-24,2006描述,其公开内容在其涉及用于化学缀合的接头时通过引用并入本文。

[0832] 本领域技术人员将认识到,本文公开的化学基团、部分和特征中的任何一种或更多种可以以多种方式组合,以形成可用于将如本文公开的抗体与细胞毒素缀合的接头。可与本文描述的组合物和方法结合使用的其他的接头被描述于例如美国专利申请公布第2015/0218220号中,其公开内容通过引用以其整体并入本文。

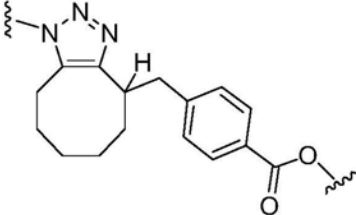
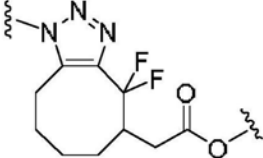
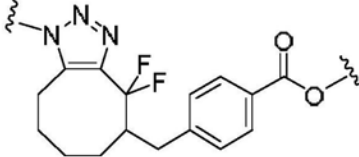
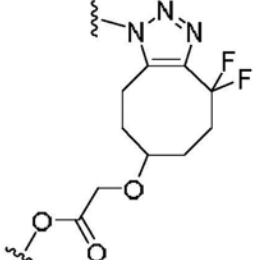
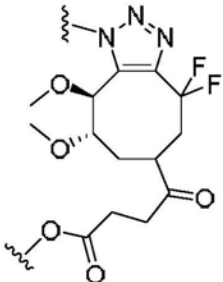
[0833] 可与本文描述的抗体-药物结合使用的接头包括但不限于含有通过如下表1中描绘的偶联反应形成的化学部分的接头。曲线分别表示抗体或抗原结合片段与细胞毒性分子的附接点。

[0834] 表1.在抗体-药物的形成中通过偶联反应形成的示例性化学部分

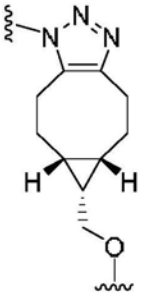
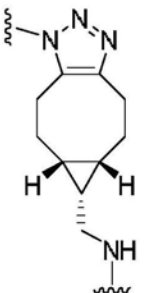
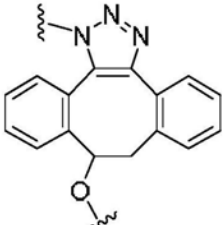
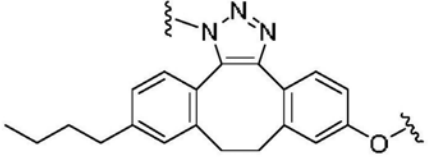
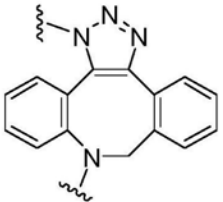
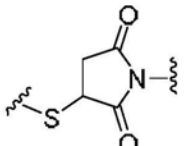
[0835]

示例性偶联反应	通过偶联反应形成的化学部分 Z
[3+2]环加成	
[3+2]环加成	
[3+2]环加成、 酯化	
[3+2]环加成、 酯化	
[3+2]环加成、 酯化	

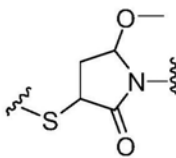
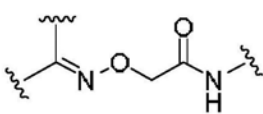
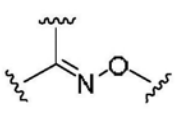
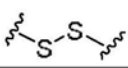
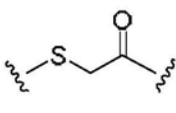
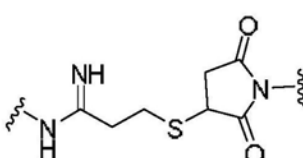
[0836]

<p>[3+2]环加成、 酯化</p>	
<p>[3+2]环加成、 酯化</p>	
<p>[3+2]环加成、 酯化</p>	
<p>[3+2]环加成、 酯化</p>	
<p>[3+2]环加成、 酯化</p>	

[0837]

[3+2]环加成、 酯化	
[3+2]环加成、 酯化	
[3+2]环加成、 酯化	
[3+2]环加成、 醚化	
[3+2]环加成	
迈克尔加成	

[0838]

迈克尔加成	
亚胺缩合、 酰胺化	
亚胺缩合	
二硫化物形成	
硫醇烷基化	
缩合、 迈克尔加成	

[0839] 本领域技术人员将认识到,被附接至接头的反应性取代基Z与抗体或其抗原结合片段上的反应性取代基参与共价偶联反应以产生化学部分Z,并且将认识到反应性取代基Z。因此,可与本文描述的方法结合使用的抗体-药物缀合物可以通过抗体或其抗原结合片段与如本文描述的接头或细胞毒素-接头缀合物反应而形成,该接头或细胞毒素-接头缀合物包括反应性取代基Z,该反应性取代基Z适用于与抗体或其抗原结合片段上的反应性取代基反应以形成化学部分Z。

[0840] 如表1中描绘的,接头和抗体或其抗原结合片段上的合适的反应性取代基的实例包括亲核体/亲电子体对(例如,硫醇/卤代烷基对、胺/羰基对或硫醇/ α , β -不饱和羰基对等)、二烯/亲二烯体对(例如尤其是,叠氮化物/炔烃对或二烯/ α , β -不饱和羰基对)等。形成化学部分Z的反应性取代基之间的偶联反应包括但不限于硫醇烷基化、羟基烷基化、胺烷基化、胺或羟胺缩合、肼形成、酰胺化、酯化、二硫化物形成、环加成(例如尤其是,[4+2]Diels-Alder环加成、[3+2]Huisgen环加成)、亲核芳族取代、亲电芳族取代和本领域已知或本文描述的其他反应形式。优选地,接头包含亲电官能团,以与抗体或其抗原结合片段上的亲核官能团反应。

[0841] 可以存在于如本文公开的抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基包括但不限于亲核基团,诸如(i) N-末端胺基团,(ii) 侧链胺基团,例如赖氨酸,(iii) 侧链硫醇基团,例如半胱氨酸,和(iv) 糖羟基或氨基基团,其中抗体是糖基化的。可以存在于如本文公开的抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基包括但不限于丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基的羟基部分;赖氨酸残基的氨基部分;天冬氨酸和谷氨酸残基的羧基部分;和半胱氨酸残基的硫醇

部分,以及非天然存在的氨基酸的炔丙基、叠氮基、卤代芳基(例如,氟芳基)、卤代杂芳基(例如,氟杂芳基)、卤代烷基和卤代杂烷基部分。在一些实施方案中,如本文公开的抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基包括胺或硫醇部分。某些抗体具有可还原的链间二硫化物,即半胱氨酸桥。可以通过用还原剂诸如DTT(二硫苏糖醇)处理使得抗体具有反应性以与接头试剂缀合。因此,理论上,每个半胱氨酸桥将形成两个反应性硫醇亲核体。可以通过赖氨酸与2-亚氨基硫杂环戊烷(2-iminothiolane)(Traut试剂)的反应将另外的亲核基团引入抗体中,导致胺转化为硫醇。可以通过引入一个、两个、三个、四个或更多个半胱氨酸残基(例如,制备包含一个或更多个非天然半胱氨酸氨基酸残基的突变抗体)将反应性硫醇基团引入抗体(或其片段)中。美国专利第7,521,541号教导了通过引入反应性半胱氨酸氨基酸来将抗体工程化。

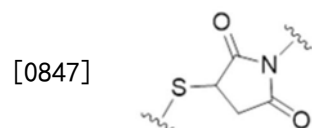
[0842] 在一些实施方案中,被附接至接头的反应性部分Z是亲核基团,其与抗体上存在的亲电基团反应。抗体上有用的亲电基团包括但不限于醛和酮羰基基团。亲核基团的杂原子可以与抗体上的亲电基团反应,并且与抗体形成共价键。有用的亲核基团包括但不限于酰肼、肟、氨基、羟基、肼、缩氨基硫脲、酰肼羧酸酯和芳基酰肼。

[0843] 在一些实施方案中,Z是抗体或其抗原结合片段内存在的反应性亲核取代基(诸如胺和硫醇部分)与反应性亲电取代基Z之间反应的产物。例如,Z可以是,尤其是迈克尔受体(例如,马来酰亚胺)、活化的酯、缺电子羰基化合物或醛。

[0844] 在一些实施方案中,ADC包含经由接头和化学部分Z与如本文公开的式I、IA、IB、II、IIA或IIB中的任一种的鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体。在一些实施方案中,接头包括肼、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基基团(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包含 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 单元,其中n是1-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 。

[0845] 在一些实施方案中,接头包含 $-(CH_2)_n-$ 单元,其中n是2-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Cit-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Ala-Val-(C=O)(CH_2)_n-$ 。在一些实施方案中,接头是 $-(CH_2)_n-$,其中n是2-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-(CH_2)_n-$,其中n是6。

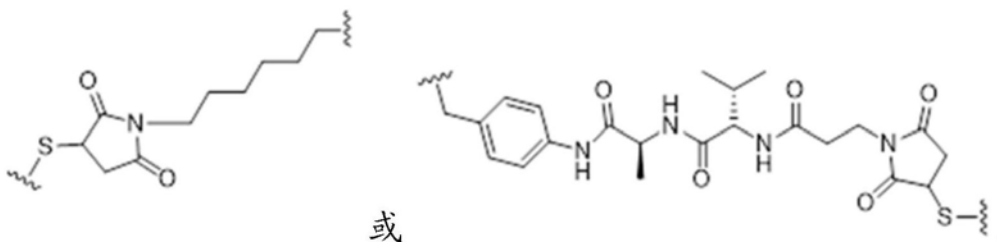
[0846] 在一些实施方案中,化学部分Z选自表1。在一些实施方案中,化学部分Z是



[0848] 其中S是硫原子,其代表结合CD117的抗体或其抗原结合片段内存在的反应性取代基(例如,来自半胱氨酸残基的-SH基团)。

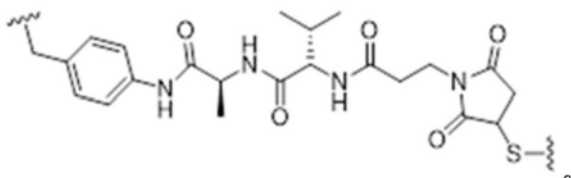
[0849] 在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起为L-Z,是

[0850]



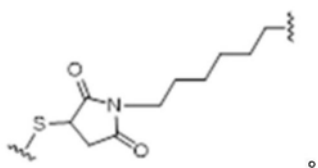
[0851] 在一些实施方案中,L-Z是

[0852]



[0853] 在一些实施方案中,L-Z是

[0854]



[0855] 本领域技术人员将认识到,在与抗体或其抗原结合片段缀合之前,接头反应性取代基结构包括作为基团Z的马来酰亚胺。除其他以外,可与本文描述的组合物和方法结合使用的前述接头部分和鹅膏蕈毒素-接头缀合物被描述于例如美国专利申请公布第2015/0218220号和专利申请公布第W02017/149077号中,其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0856] 抗体-药物缀合物的制备

[0857] 在如本文公开的式I的ADC中,抗体或其抗原结合片段通过如本文公开的接头L和化学部分Z与一个或多个细胞毒性药物部分(D)缀合,例如每个抗体约1至约20个药物部分。本公开内容的ADC可以通过若干途径,采用本领域技术人员已知的有机化学反应、条件和试剂来制备,包括:(1)使抗体或其抗原结合片段的反应性取代基与二价接头试剂反应,以形成如上文描述的Ab-Z-L,随后与药物部分D反应;或(2)使药物部分的反应性取代基与二价接头试剂反应以形成D-L-Z,随后与如上文描述的抗体或其抗原结合片段的反应性取代基反应,以形成式D-L-Z-Ab诸如Am-Z-L-Ab的ADC。本文描述了用于制备ADC的另外的方法。

[0858] 在另一方面中,抗体或其抗原结合片段具有一个或多个赖氨酸残基,其可以被化学修饰以引入一个或多个巯基基团。然后如上文描述的通过巯基基团的硫原子缀合来形成ADC。可以用于修饰赖氨酸的试剂包括但不限于N-琥珀酰亚胺基S-乙酰硫代乙酸酯(SATA)和2-亚氨基硫杂环戊烷盐酸盐(Traut试剂)。

[0859] 在另一方面中,抗体或其抗原结合片段可以具有一个或多个碳水化合物基团,其可以被化学修饰以具有一个或多个巯基基团。然后如上文描述的通过巯基基团的硫原子缀合来形成ADC。

[0860] 在仍另一方面中,抗体可具有一个或多个可以被氧化以提供醛(-CHO)基团的碳水化合物基团(参见,例如,Laguzza等人,J.Med.Chem.1989,32(3),548-55)。然后如上文描

述的通过对应的醛缀合来形成ADC。用于修饰蛋白以附接或缔合细胞毒素的其他方案描述于Coligan等人,Current Protocols in Protein Science,vol.2,John Wiley&Sons (2002)中,通过引用并入本文。

[0861] 用于将接头-药物部分与靶向细胞的蛋白诸如抗体、免疫球蛋白或其片段缀合的方法见于例如美国专利第5,208,020号;美国专利第6,441,163号;W02005037992;W02005081711和W02006/034488中,将所有这些专利在此通过引用以其整体明确并入。

[0862] 可选地,可以通过例如重组技术或肽合成来制备包含抗体和细胞毒性剂的融合蛋白。DNA的长度可以包含编码缀合物的两个部分的各自区域,所述区域彼此相邻或由编码不会破坏缀合物的期望特性的接头肽的区域分开。

[0863] 治疗方法

[0864] 前述抗CD117抗体或其缀合物可以在以下用于治疗的方法中使用。

[0865] 如本文描述的,造血干细胞移植疗法可以被施用至需要治疗的受试者,以便植入或再植入一种或更多种血细胞类型。造血干细胞通常表现出多潜能性,并且因此可以分化成多种不同的血液谱系,包括但不限于粒细胞(例如,早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞(例如,网织红细胞、红细胞)、凝血细胞(例如,原巨核细胞、血小板产生巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如,单核细胞、巨噬细胞)、树突状细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞(例如,NK细胞、B细胞和T细胞)。另外,造血干细胞能够自我更新并且因此可以产生与母细胞具有等同潜力的子细胞,并且还具有被重新引入移植物接受者的能力的特征,届时它们归巢至造血干细胞小生境并且重建富有成效的和持续的血细胞生成。

[0866] 因此,造血干细胞可以被施用至造血谱系的一种或更多种细胞类型缺乏或缺陷的患者,以便在体内重构缺陷或缺乏的细胞的群体,从而治疗与内源性血细胞群体的缺陷或耗尽相关的病理。因此,本文描述的组合物和方法可以用于治疗非恶性血红蛋白异常(例如,选自由以下组成的组的血红蛋白异常:镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征)。另外或可选地,本文描述的组合物和方法可以用于治疗免疫缺陷,诸如先天性免疫缺陷。另外或可选地,本文描述的组合物和方法可以用于治疗获得性免疫缺陷(例如,选自由以下组成的组的获得性免疫缺陷:HIV和AIDS)。本文描述的组合物和方法可以用于治疗代谢紊乱(例如,选自由以下组成的组的代谢紊乱:糖原贮积病、黏多糖贮积病、高歇氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积病和异染性脑白质营养不良)。

[0867] 另外或可选地,本文描述的组合物和方法,尤其是本文描述的缀合物,可以用于治疗恶性肿瘤或增生性紊乱,诸如血液学癌症、骨髓增生性疾病。在癌症治疗的情况下,本文描述的组合物和方法可以被施用至患者,以便在造血干细胞移植疗法之前耗尽内源性造血干细胞的群体,在这种情况下,移植的细胞可以归巢至由内源性细胞耗尽步骤产生的小生境并且建立富有成效的血细胞生成。这继而可以重构在癌细胞消除期间诸如在全身化疗期间耗尽的细胞的群体。可以使用本文描述的组合物和方法治疗的示例性血液学癌症包括但不限于急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤,以及其他癌性状况,包括神经母细胞瘤。

[0868] 可以用本文描述的组合物和方法治疗的另外的疾病包括但不限于腺苷脱氨酶缺

乏症和重症联合免疫缺陷病、高免疫球蛋白M综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化和青少年类风湿性关节炎。

[0869] 本文描述的抗体或其抗原结合片段和缀合物可以用于诱导实体器官移植耐受性。例如，本文描述的组合物和方法可以用于耗尽或消除来自靶组织的细胞的群体（例如，用于耗尽来自骨髓干细胞小生境的造血干细胞）。在这样的耗尽来自靶组织的细胞后，来自器官供体的干细胞或祖细胞的群体（例如，来自器官供体的造血干细胞）可以被施用至移植接受者，并且在这样的干细胞或祖细胞植入后，可以实现暂时或稳定的混合嵌合（chimerism），从而允许长期移植器官耐受性而无需另外的免疫抑制剂。例如，本文描述的组合物和方法可以用于在实体器官移植接受者中诱导移植耐受性（例如尤其是，肾移植、肺移植、肝移植和心脏移植）。本文描述的组合物和方法非常适于与诱导实体器官移植耐受性一起使用，例如，因为低百分比的临时或稳定供体植入足以诱导移植器官的长期耐受性。

[0870] 另外，本文描述的组合物和方法可以用于直接治疗癌症，诸如特征是为CD117+的细胞的癌症。例如，本文描述的组合物和方法可以用于治疗白血病，特别是在表现出CD117+白血病细胞的患者中。通过耗尽CD117+癌性细胞诸如白血病细胞，本文描述的组合物和方法可以用于直接治疗多种癌症。可以以该方式治疗的示例性癌症包括血液学癌症，诸如急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤。

[0871] 另外，本文描述的组合物和方法可以用于治疗自身免疫性紊乱。例如，抗体或其抗原结合片段可以被施用至受试者，诸如罹患自身免疫性紊乱的人类患者，以便杀伤CD117+免疫细胞。CD117+免疫细胞可以是自身反应性淋巴细胞，诸如表达特异性结合自身抗原并产生针对自身抗原的免疫应答的T细胞受体的T细胞。通过耗尽自身反应性CD117+细胞，本文描述的组合物和方法可以用于治疗自身免疫性病理，诸如下文描述的那些。另外或可选地，本文描述的组合物和方法可以用于通过在造血干细胞移植疗法之前耗尽内源性造血干细胞的群体来治疗自身免疫性疾病，在这种情况下，移植的细胞可以归巢至由内源性细胞耗尽步骤产生的小生境并且建立富有成效的血细胞生成。这继而可以重构在自身免疫性细胞消除期间被耗尽的细胞的群体。

[0872] 可以使用本文描述的组合物和方法治疗的自身免疫性疾病包括但不限于银屑病、银屑病性关节炎、1型糖尿病（Type 1 diabetes mellitus）（1型糖尿病（Type 1 diabetes））、类风湿性关节炎（RA）、人类系统性红斑狼疮（SLE）、多发性硬化（MS）、炎性肠病（IBD）、淋巴细胞性结肠炎、急性播散性脑脊髓炎（ADEM）、爱迪生氏病、普秃、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征（APS）、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病（AIED）、自身免疫性淋巴细胞增生综合征（ALPS）、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征（CFIDS）、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、克罗恩氏病、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状红斑狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征、格雷夫斯病、格林-巴利综合征（GBS）、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减

少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、青少年关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病(MCTD)、重症肌无力、神经性肌强直、斜视眼阵挛肌阵挛综合征(OMS)、视神经炎、奥德氏甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、莱特尔综合征、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、高安氏动脉炎、颞动脉炎(又称“巨细胞动脉炎”)、溃疡性结肠炎、胶原性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛(“外阴前庭炎”)和韦格纳肉芽肿病。

[0873] 施用和给药的途径

[0874] 本文描述的抗体或其抗原结合片段可以以多种剂型被施用至患者(例如,罹患癌症、自身免疫性疾病或需要造血干细胞移植疗法的人类患者)。例如,本文描述的抗体或其抗原结合片段可以以水性溶液诸如含有一种或更多种药学上可接受的赋形剂的水性溶液的形式被施用至罹患癌症、自身免疫性疾病或需要造血干细胞移植疗法的患者。用于与本文描述的组合物和方法一起使用的药学上可接受的赋形剂包括粘度调节剂。水性溶液可以使用本领域已知的技术进行灭菌。

[0875] 包含如本文描述的抗CD117抗体和ADC的药物制剂通过将这样的抗体或ADC与一种或更多种任选的药学上可接受的载体(Remington's Pharmaceutical Sciences第16版, Osol, A. 编著(1980))混合,以冻干制剂或水性溶液的形式来制备。药学上可接受的载体通常在所采用的剂量和浓度对接受者无毒,并且包括但不限于:缓冲剂诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(诸如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六甲双铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁醇或苯甲醇;对羟基苯甲酸烷基酯诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白,诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水聚合物诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖,二糖,和其他碳水化合物包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂诸如EDTA;糖类诸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;成盐反离子诸如钠;金属络合物(例如Zn-蛋白质络合物);和/或非离子表面活性剂诸如聚乙二醇(PEG)。

[0876] 本文描述的抗体和抗原结合片段可以通过多种途径被施用,所述多种途径诸如口服、透皮、皮下、鼻内、静脉内、肌内、眼内或肠胃外。在任何特定情况下,最合适的施用途径将取决于所施用的特定抗体或抗原结合片段、患者、药物配制方法、施用方法(例如,施用时间和施用途径)、患者的年龄、体重、性别、所治疗疾病的严重程度、患者的饮食和患者的排泄率。

[0877] 本文描述的抗CD117缀合物、抗体或其抗原结合片段的有效剂量的范围可以为例如每单次(例如,推注(bolus))施用、多次施用或连续施用从约0.001mg/kg体重至约100mg/kg体重,或者可以在达到抗体或其抗原结合片段的最佳血清浓度(例如,0.0001μg/mL-5000μg/mL的血清浓度)的范围。剂量可以每天、每周或每月一次或更多次(例如,2-10次)被施用至罹患癌症、自身免疫性疾病或经历调节性疗法以准备接受造血干细胞移植物的受试者(例如,人类)。在造血干细胞移植之前的调节性程序的情况下,抗体或其抗原结合片段可以在最佳地促进外源性造血干细胞的植入的时间被施用至患者,例如,在施用外源性造血干细胞移植之前1小时至1周(例如,1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小

时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、24小时、2天、3天、4天、5天、6天或7天)或更长时间。

[0878] 使用本文公开的方法,本领域熟练的医师可以向需要造血干细胞移植疗法的人类患者施用能够结合由造血干细胞表达的抗原的抗CD117 ADC、抗体或其抗原结合片段,诸如结合CD117的抗体或其抗原结合片段(例如,结合GNNK+CD117的抗体或其抗原结合片段)。以这种方式,在施用外源性造血干细胞植入物之前,内源性造血干细胞的群体可以被耗尽,以便促进造血干细胞植入物的植入。

[0879] 如上文描述的,抗体可以与本文描述的或本领域已知的毒素诸如细胞毒性分子共价缀合。例如,抗CD117抗体或其抗原结合片段(诸如抗GNNK+CD117抗体或其抗原结合片段)可以与细胞毒素共价缀合,所述细胞毒素诸如假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、鹅膏蕈毒素诸如 γ -鹅膏蕈碱、 α -鹅膏蕈碱、皂草素、美登素、美登素生物碱、澳瑞他汀、蕁环霉素、加利刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类、吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体。该缀合可以使用本文描述的或本领域已知的共价键形成技术来进行。随后可以在将外源性造血干细胞(诸如自体、同基因或同种异体的造血干细胞)移植至患者之前,通过例如静脉内施用将抗体、其抗原结合片段或药物-抗体缀合物施用至患者。

[0880] 抗CD117(例如,抗GNNK+CD117)抗体、其抗原结合片段或药物-抗体缀合物可以在造血干细胞移植疗法之前以足以将内源性造血干细胞的数量减少例如10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多的量被施用。可以使用本领域已知的常规技术诸如通过FACS分析在调节性疗法期间以不同的间隔从患者抽取的血液样品中表达特征性造血干细胞表面抗原的细胞来监测造血干细胞计数的减少。例如,本领域熟练的医师可以在调节性疗法期间在不同时间点从患者抽取血液样品,并且通过进行FACS分析来确定内源性造血干细胞减少的程度,以使用与造血干细胞标志物抗原结合的抗体来阐明样品中造血干细胞的相对浓度。根据一些实施方案,当造血干细胞的浓度响应于用抗CD117(例如,抗GNNK+CD117)抗体、其抗原结合片段或药物-抗体缀合物的调节性疗法达到最小值时,医师可以结束调节性疗法,并且可以开始准备患者以便于造血干细胞移植疗法。

[0881] 抗CD117(例如,抗CNNK+CD117)抗体、其抗原结合片段或药物-抗体缀合物可以以含有一种或更多种药学上可接受的赋形剂诸如粘度调节剂的水性溶液被施用至患者。水性溶液可以使用本文描述的或本领域已知的技术进行灭菌。在向患者施用造血干细胞移植之前,抗体、其抗原结合片段或药物-抗体缀合物可以以例如从0.001mg/kg至100mg/kg的剂量被施用至患者。抗体、其抗原结合片段或药物-抗体缀合物可以在最佳地促进外源性造血干细胞的植入的时间被施用至患者,例如在施用外源性造血干细胞移植之前1小时至1周(例如,1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、24小时、2天、3天、4天、5天、6天或7天)或更长时间。

[0882] 在调节性疗法结束后,然后患者可以接受诸如来自进行调节性疗法的同一医师或由不同医师的外源性造血干细胞的输注(例如,静脉内输注)。医师可以向患者施用例如剂量从 1×10^3 至 1×10^9 个造血干细胞/kg的自体、同基因或同种异体的造血干细胞的输注。医师可以例如在施用移植后通过从患者抽取血液样品并确定造血干细胞或造血谱系细胞(诸

如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞)的浓度的增加来监测造血干细胞移植物的植入。该分析可以在造血干细胞移植疗法后例如1小时至6个月或更长时间(例如,1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、24小时、2天、3天、4天、5天、6天、7天、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周、16周、17周、18周、19周、20周、21周、22周、23周、24周或更长时间)进行。这一发现,即在移植疗法后造血干细胞或造血谱系细胞的浓度相对于在移植疗法之前对应的细胞类型的浓度已经增加(例如,增加1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、500%或更多),提供一个指示,即用抗CD117(例如,抗GNNK+CD117)抗体、其抗原结合片段或药物-抗体缀合物的治疗已经成功地促进移植的造血干细胞植入物的植入。

实施例

[0883] 提出以下实施例以向本领域普通技术人员提供可以如何使用、制备和评价本文描述的组合物和方法的描述,并且意图仅仅是本发明的示例,并且不意图限制本发明人认为是其发明的范围。

[0884] 实施例1.拮抗性和中性抗CD117抗体的鉴定

[0885] 酵母展示

[0886] 筛选了展示出结合人类CD117的胞外域的抗体(天然的或合成的)的酵母展示文库。选择编码结合人类CD117的抗体的酵母细胞。根据本领域已知的技术分离代表来自所选酵母细胞的抗体的核酸序列。

[0887] 特别地,进行筛选以鉴定拮抗性抗CD117抗体或中性抗体。中性抗体提供了对靶呈惰性的益处。拮抗性抗体,例如,拮抗性抗CD117抗体,阻止CD117与SCF(干细胞因子)结合。在移植的情况下,可能的是,中性抗体可能在治疗上更安全,因为,例如,拮抗活性可能经由与携带供体CD117的细胞结合而延迟植入而负面影响植入物。中性抗体(或中性ADC)将会避免这个问题。除了拮抗性抗体之外,还利用了下文描述的酵母展示技术来鉴定这样的中性抗体。为了特异性鉴定中性抗体,将重组CD117胞外域与天然配体干细胞因子(SCF)预复合,并且仅选择能够结合该复合物中的CD117胞外域的抗体。基于该选择方法,分离的抗体将不会阻止SCF与CD117的结合,将其归类为中性。除了CD117中性抗体或CD117拮抗性抗体之外,还根据抗体在表达CD117的细胞诸如造血干细胞(HSC)中的内化能力来选择抗体,这对于将用作抗体药物缀合物(ADC)的抗体是优选的。

[0888] 在表达重组完全人类IgG的酵母文库的筛选中最初获得了约69种抗体。从这69种抗体中,选择了6种人类IgG进行亲和力成熟,以通过使重链中的CDR1和CDR2的序列多样化并且根据本领域已知的方法选择改进的亲和力来进一步改进。在亲和力成熟后,随后鉴定了22种具有改进的亲和力和变体序列的人类IgG抗体。从整个筛选过程中,基于期望的结合特性选择了10种人类IgG抗体,包括亲和力成熟后的7种以及亲和力成熟前鉴定出的3种抗体。

[0889] 因此,通过多轮筛选,表达所选择的抗CD117抗体,并且进一步筛选所得抗体,以鉴定具有期望的结构和/或功能活性的抗CD117抗体(例如,筛选选择出具有细胞内化特性的拮抗性(配体阻断性)抗体或具有细胞内化特性的中性抗体)。特别适合用于产生和筛选抗体展示文库的方法和试剂的实例可见于例如Boder E.T.和Witttrup K.D.,Yeast surface display for directed evolution of protein expression,affinity,and stability,Methods Enzymol,328:430-44(2000)以及Boder E.T.和Witttrup K.D.,Yeast surface display for screening combinatorial polypeptide libraries,Nat Biotechnol.15(6):553-7(June 1997)中。

[0890] 在表10中提供了10种所选抗体的重链和轻链的可变区和CDR的氨基酸序列。这10种抗体包括以下:抗体54(具有重链(HC)-54和轻链(LC)-54的Ab54)、抗体55(具有HC-55和LC-55的Ab55)、抗体56(具有HC-56和LC-56的Ab56)、抗体57(具有HC-57和LC-57的Ab57)、抗体58(具有HC-58和LC-58的Ab58)、抗体61(具有HC-61和LC-61的Ab61)、抗体66(具有HC-66和LC-66的Ab66)、抗体67(具有HC-67和LC-67的Ab67)、抗体68(具有HC-68和LC-68的Ab68)和抗体69(具有HC-69和LC-69的Ab69)。

[0891] 实施例2.抗CD117抗体的体外结合分析

[0892] 研究了实施例1中描述的抗体,以确定它们对于人类CD117的结合特征以及它们与恒河猴CD117交叉反应的能力。

[0893] 使用生物层干涉测量术(BLI)用Pall ForteBio Octet Red96在25摄氏度在补充有0.1%w/v牛血清白蛋白的1xPBS中进行了抗体结合研究。将所示的纯化的人类抗体固定在抗人类Fc生物传感器(AHC;Pall ForteBio 18-5063)上,并且与33.3nM和11nM的纯化的人类CD117胞外域(R&D Systems#332-SR)或恒河猴CD117胞外域一起孵育。在图7A和图7B中描绘了所得的与人类CD117胞外域的结合区间(binding interval),其代表了结合和解离曲线。

[0894] 在表1中示出了通过ForteBio数据分析软件第10版计算的每一种IgG对纯化的人类CD117胞外域(R&D Systems#332-SR)或恒河猴CD117胞外域以1:1结合模式局部完全拟合确定的表观单价亲和力(K_D)、表观结合速率(K_{ON})和表观解离速率(K_{OFF})。值得注意的是,每一种所选的抗体都能够与恒河猴CD117和人类CD117特别是CD117胞外域交叉反应。所选抗体也能够结合人类CD117的两种同种型(1和2)。

[0895] 表1:所示的IgG对人类CD117胞外域或恒河猴CD117胞外域的单价亲和力(K_D)、表观结合速率(k_{on})和表观解离速率(k_{OFF})。

[0896]

HC/LC	人类CD117			恒河猴CD117		
	单价 K_D (M)	K_{ON} (1/Ms)	K_{OFF} (1/s)	单价 K_D (M)	K_{ON} (1/Ms)	K_{OFF} (1/s)
HC-54; LC-54	2.20E-09	2.74E+05	6.04E-04	2.60E-09	3.04E+05	7.93E-04
HC-55; LC-55	2.59E-10	3.31E+05	8.57E-05	2.84E-10	3.15E+05	8.96E-05
HC-56; LC-56	2.92E-10	2.94E+05	8.57E-05	2.80E-10	3.06E+05	8.57E-05

[0897]

HC-57; LC-57	2.96E-10	2.89E+05	8.57E-05	2.88E-10	2.98E+05	8.57E-05
HC-58; LC-58	3.21E-08	2.10E+05	6.74E-03	3.03E-08	2.82E+05	8.55E-03
HC-61; LC-61	2.49E-08	2.14E+05	5.33E-03	2.05E-08	2.30E+05	4.72E-03
HC-66; LC-66	4.68E-08	2.43E+05	1.14E-02	6.60E-08	3.91E+05	2.58E-02
HC-67; LC-67	3.94E-10	2.18E+05	8.57E-05	3.76E-10	2.28E+05	8.57E-05
HC-68; LC-68	4.54E-10	2.33E+05	1.06E-04	3.74E-10	2.40E+05	8.98E-05
HC-69; LC-69	5.88E-10	2.13E+05	1.25E-04	5.28E-10	2.40E+05	1.26E-04

[0898] 在实施例2至18中提供了对抗体的进一步表征。

[0899] 实施例3. 表征抗CD117抗体67 (Ab67)

[0900] 抗体67 (Ab67) 在上文实施例1中描述的筛选中被鉴定为特别是中性抗体。Ab67的重链和轻链可变区(包括CDR结构域)在下表2中描述。

[0901] 表2: 抗CD117 Ab67的可变和CDR氨基酸序列

[0902]

抗体67	骨架	核酸序列	氨基酸序列
HC67 可变区	hIgG1	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTG GGGGAGGCTTGGTCCAGCCTG GAGGGTCCCTGAGACTCTCCTG	EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSDADMDWVRQAP

[0903]

		TGCAGCCTCTGGATTACCTTC AGTGACGCCGACATGGACTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTGGCCGTA CTAGAAACAAAGCAGGAAGTTA CACCACAGAATACGCCGCGTCT GTGAAAGGCAGATTCACCATCT CAAGAGATGATTCAAAGAACTCA CTGTATCTGCAAATGAACAGCCT GAAAACCGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGAGCCT AAATACTGGATCGACTTCGACCT ATGGGGGAGAGGTACCTTGGTC ACCGTCTCCTCA	GKGLEWVG <u>RTRNK</u> <u>AGSYTTEYAASVKG</u> RFTISRDDSKNSLYL QMNSLKTEDTAVYY <u>CAREPKYWIDFDL</u> WGRGTLVTVSS (SEQ ID NO: 9)
HC CDR1			<u>FTFSDADMD (SEQ ID NO: 11)</u>
HC CDR2			<u>RTRNKAGSYTTEYAASVKG (SEQ ID NO: 12)</u>
HC CDR3			<u>AREPKYWIDFDL (SEQ ID NO: 13)</u>
LC67 可变区	hc	GACATCCAGATGACCCAGTCTC CATCCTCCCTGTCTGCATCTGTA GGAGACAGAGTCACCATCACTT GCCGGGCAAGTCAGAGCATTAG CAGCTATTTAAATTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAA GCTCCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTGCAAAGTGGGGTCCCAT CAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATC	DIQMTQSPSSLSAS VGDRVITITC <u>RASQSI</u> <u>SSYLN</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>AASSLQSG</u> VPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATY YC <u>QQSYIAPYTF</u> GG GTKVEIK (SEQ ID NO: 10)

[0904]		TGGGACAGATTTCACTCTCACC ATCAGCAGTCTGCAACCTGAAG ATTTTGCAACTTACTACTGTCAG CAAAGCTACATCGCCCCTTACA CTTTTGGCGGAGGGACCAAGGT TGAGATCAAA	
	LC CDR1		<u>RASQSISSYLN</u> (SEQ ID NO: 14)
	LC CDR2		<u>AASSLQS</u> (SEQ ID NO: 15)
	LC CDR3		<u>QQSYIAPYT</u> (SEQ ID NO: 16)

[0905] Ab67的重链可变区 (VH) 氨基酸序列在SEQ ID NO:9中描述。

[0906] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTFSDADMD**WVRQAPGKGLEW
VGRTRNKAGSYTTEYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAV
YYCAREPKYWIDFDLWGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:9;CDR结构域呈粗体)

[0907] Ab67的VH CDR氨基酸序列如下:FTFSDADMD (VH CDR1;SEQ ID NO:11);
RTRNKAGSYTTEYAASVKG (VH CDR2;SEQ ID NO:12);和AREPKYWIDFDL (VH CDR3;SEQ ID NO:
13)。

[0908] Ab67的轻链可变区 (VL) 氨基酸序列在以下提供为SEQ ID NO:10。

[0909] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSISSYLN**WYQQKPGKAPKLLIY
AASSLQSGVPSRFSSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC**QQSYIAPYTFG**
GGTKVEIK (SEQ ID NO:10;CDR结构域呈粗体)

[0910] HC-67/LC-67的VL CDR氨基酸序列下带下划线并且如下:RASQSISSYLN (VL CDR1;
SEQ ID NO:14);AASSLQS (VL CDR2;SEQ ID NO:15);和QQSYIAPYT (VL CDR3;SEQ ID NO:
16)。

[0911] 使用标准生物层干涉测量术结合测定研究了Ab67结合人类CD117的结合特征。使用生物层干涉测量术 (BLI) 用Pall ForteBio Octet Red96在25摄氏度在补充有0.1%w/v牛血清白蛋白的1xPBS中进行了抗体67 (一种IgG1) 结合研究。将所示的纯化的人类抗体固定在抗人类Fc生物传感器 (AHC;Pall ForteBio 18-5063) 上,并且与33.3nM和11nM CD117胞外域 (R&D Systems#332-SR) 一起孵育。在图1中描绘了所得的结合区间,其代表结合和解离曲线。如表3中示出的,通过Fortebio数据分析软件第10版计算的所示的纯化的IgG (即,HC-67/LC-67) 对纯化的人类CD117胞外域 (R&D Systems#332-SR) 以1:1结合模型局部完全拟合确定表观单价亲和力 (K_D)、表观结合速率 (k_{on}) 和表观解离速率 (k_{off})。结果证明,纯化的IgG Ab67 (即HC-67/LC-67 (Ab67) IgG) 以高亲和力 (即, K_D 大于 1×10^{-9} M) 与纯化的人类CD117胞外域结合,并且其特征还在于如通过BLI确定的慢解离速率 k_{off} (1/s)。

[0912] 表3.如通过BLI确定的Ab67的结合特征

[0913]	HC/LC	K _D (M)	K _{ON} (1/Ms)	K _{OFF} (1/s)
	HC-67,LC-67	2.86x10 ⁻¹⁰	4.16x10 ⁵	1.19x10 ⁻⁴

[0914] 实施例4.抗CD117 Ab67的体外分析

[0915] 对于使用人类CD34+骨髓细胞的体外细胞增殖测定,在干细胞因子和对照抗体3100mAb (3100对应于抗CD117抗体CK6;一种已知的抗CD117拮抗性抗体)、HC-67/LC-67 (Ab67) IgG (IgG1) 或同种型对照 (即hIgG1) 的存在下,培养人类CD34+骨髓细胞5天。检测全长IgG抗体。通过流式细胞术确定所有细胞或CD34+CD90+门控细胞的活细胞计数。

[0916] 结果在图2A和图2B中描述,并且通过流式细胞术测量证明了3100mAb和HC-67/LC-67 (Ab67) IgG在人类CD34+细胞的SCF依赖性增殖中的剂量依赖性作用。特别地,图2A和图2B中的结果 (也在图8A和图8B中示出) 证明了HC-67/LC-67是中性非拮抗抗体,其不抑制培养物中原代人类CD34+骨髓细胞的SCF依赖性增殖,因为Ab67的活性类似于同种型匹配的阴性对照。应注意的是,在实施例11中描述了本实施例中使用的SCF细胞增殖测定的方案。

[0917] 实施例5.抗CD117-ADC (Ab67 ADC) 的体外分析

[0918] 对于使用人类CD34+骨髓细胞的体外细胞杀伤测定,在HC-67/LC-67ADC (即, Ab67 ADC) 或同种型对照 (即, Ig-ADC) 的存在下培养人类CD34+骨髓细胞5天。将Ab67 (IgG1) 经由可裂解的肽接头与鹅膏蕈毒素缀合。使用流式细胞术测量细胞存活力。

[0919] 图3A和图3B中的结果表明,在体外,HC-67/LC-67ADC在杀伤原代人类CD34+CD90+骨髓细胞方面高度有效。因此,HC-67/LC-67ADC在杀伤表达CD117的细胞系和原代人类CD34+CD90+细胞方面高度有效。此外,如图3B中描述的,Ab67 ADC在杀伤骨髓细胞方面特别有效。

[0920] 实施例6.表征抗CD117抗体55 (Ab55)

[0921] 抗体55

[0922] 抗体55 (Ab55) 在以上酵母筛选中被鉴定为具有对应于治疗性人类抗CD117抗体的特性,特别是拮抗性特征、内化和与恒河猴CD117交叉反应的能力。Ab55的重链和轻链可变区 (包括CDR结构域) 在下表4中描述。

[0923] 表4:抗CD117抗体Ab55的可变和CDR氨基酸序列

	抗体55	骨架	核酸序列	氨基酸序列
[0924]	HC-55	hIgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTG GGGCTGAGGTGAAGAAGCCTG	QVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASG GT

[0925]		GGTCCTCGGTGAAGGTCTCCTG CAAGGCTTCTGGAGGCACCTTC CGAATCTATGCTATCAGCTGGG TGCGACAGGCCCTGGACAAG GGCTTGAGTGGATGGGAGGGAT CATCCCTGACTTCGGTGTAGCA AACTACGCACAGAAGTTCCAGG GCAGAGTCACGATTACCGCGGA CGAATCCACGAGCACAGCCTAC ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGAT CTGAGGACACGGCGGTGTACTA CTGCGCCAGAGGTGGATTGGAC ACAGACGAGTTCGACCTATGGG GGAGAGGTACCTTGGTCACCGT CTCCTCA	<u>FRIYAIS</u> WVRQAPG QGLEWMG <u>GII</u> PDFG <u>VANYAQKFQ</u> GRVTI TADESTSTAYMELS SLRSEDTAVYYC <u>AR</u> <u>GGLDTDEFDL</u> WGR GTLVTVSS (SEQ ID NO: 19)
LC-55	hk	GACATCCAGATGACCCAGTCTC CATCCTCCCTGTCTGCATCTGTA GGAGACAGAGTCACCATCACTT GCCGGGCAAGTCAGAGCATTAA CAGCTATTTAAATTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA GCTCCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTGCAAAGTGGGGTCCCAT CAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATC TGGGACAGATTTCACTCTCACC ATCAGCAGTCTGCAACCTGAAG ATTTTGCAACTTACTACTGTCAG CAAGGAGTCAGTGACATCACTT TTGGCGGAGGGACCAAGGTTGA GATCAAA	DIQMTQSPSSLSAS VGDRVIT <u>C</u> <u>RASQSI</u> <u>NSYLN</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>AASSLQSG</u> VPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATY YC <u>QQGVSDIT</u> FGGG TKVEIK (SEQ ID NO: 20)

[0926] Ab55的重链可变区(VH)氨基酸序列在SEQ ID NO:19中描述。

[0927] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS**GTFRIYAIS**WVRQAPGQGLEW
MGGIIPDFGVANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC
ARGGLDTDEFDLWGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:19;CDR结构域呈粗体)

[0928] Ab55的VH CDR氨基酸序列如下:GTFRIYAIS (VH CDR1;SEQ ID NO:21) ;

GIIPDFGVANYAQKFQG (VH CDR2;SEQ ID NO:22);和ARGGLDTDEFDL (VH CDR3;SEQ ID NO:23)。

[0929] Ab55的轻链可变区 (VL) 氨基酸序列在以下提供为SEQ ID NO:20。

[0930] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSYLNWYQQKPGKAPKLLIY
AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQGVSDITFGG
GTKVEIK (SEQ ID NO:20;CDR结构域呈粗体)

[0931] HC-55/LC-55的VL CDR氨基酸序列下带下划线并且如下:RASQSINSYLN (VL CDR1;SEQ ID NO:24);AASSLQS (VL CDR2;SEQ ID NO:25);和QQGVSDIT (VL CDR3;SEQ ID NO:26)。

[0932] 实施例7. Ab55的体外结合研究

[0933] 使用生物层干涉测量术 (BLI) 用Pall ForteBio Octet Red96在25摄氏度在补充有0.1%w/v牛血清白蛋白的1xPBS中进行了抗体结合研究。将所示的纯化的人类抗体固定在抗人类Fc生物传感器 (AHC;Pall ForteBio 18-5063) 上,并且与33.3nM和11nM的CD117胞外域 (R&D Systems#332-SR) 一起孵育。在图4中描绘了所得的结合区间,其代表了结合和解离曲线。在表5中示出了通过ForteBio数据分析软件第10版计算的所示的纯化的IgG (即,HC-55/LC-55) 对纯化的人类CD117胞外域 (R&D Systems#332-SR) 以1:1结合模型局部完全拟合确定的表观单价亲和力 (K_D)、表观结合速率 (k_{on}) 和表观解离速率 (k_{off})。结果证明,Ab55 IgG (即,HC-55/LC-55IgG) 以高亲和力与纯化的人类CD117胞外域结合,并且其特征还在于具有如通过标准BLI确定的慢 k_{off} (1/s)。

[0934] 表5.

[0935]	HC/LC	K_D (M)	K_{ON} (1/Ms)	K_{OFF} (1/s)
	Ab55 (HC-55 / LC-55)	2.88×10^{-10}	4.73×10^5	1.36×10^{-4}

[0936] 实施例8. 抗CD117 Ab55的体外分析

[0937] 对于使用人类CD34+骨髓细胞的体外细胞增殖测定,在干细胞因子、3100mAb、HC-55/LC-55IgG (Ab55 IgG1) 或对照 (即,hIgG1) 的存在下培养人类CD34+骨髓细胞5天。通过流式细胞术确定所有细胞或CD34+CD90+门控细胞的活细胞计数。

[0938] 图5A和图5B中的结果证明了3100mAb (拮抗性CD117抗体CK6) 和HC-55/LC-55IgG在人类CD34+细胞的SCF依赖性增殖中的剂量依赖性作用,如通过流式细胞术测量的。该结果证明,HC-55/LC-55是类似于3100mAb的拮抗性抗体,其抑制培养物中原代人类CD34+骨髓细胞的SCF依赖性增殖。

[0939] 实施例9. 抗CD117-ADC (Ab55 ADC) 的体外分析

[0940] 测试了Ab55在与毒素缀合时作用于耗尽细胞特别是CD34+细胞的能力。将Ab55 (IgG1) 经由可裂解的肽接头与鹅膏蕈毒素缀合。对于使用人类CD34+骨髓细胞的体外细胞杀伤测定,在HC-55/LC-55ADC (Ab55 ADC) 或对照 (即,Ig-ADC) 的存在下培养人类CD34+骨髓细胞5天。使用流式细胞术测量细胞存活力。

[0941] 图6A和图6B中的结果表明,在体外,HC-55/LC-55ADC在杀伤原代人类CD34+骨髓细胞方面高度有效。因此,HC-55/LC-55ADC在杀伤表达CD117的细胞系和原代人类CD34+CD90+细胞方面高度有效。

[0942] 实施例10. 使用体外细胞杀伤测定来分析抗CD117抗体缀合物

[0943] 将实施例1中所选的10种抗CD117人类IgG1抗体的完整IgG与与毒素(皂草素)缀合的抗人类Fab一起预孵育,以测试各种抗体在体外杀伤Kasumi-1细胞(ATCC No.CRL-2724)的能力。细胞杀伤测定后,定量细胞毒性水平。

[0944] 对于使用Kasumi-1细胞的体外杀伤测定,根据ATCC指南培养Kasumi-1细胞。更具体地,在CD117-ADC或阳性对照抗体(CK6;一种已知的拮抗性抗体)的存在下培养Kasumi-1细胞三天。通过Celltiter Glo测量细胞存活力。

[0945] 图8A和图8B中描述的结果表明,各种IgG:Fab-皂草素复合物中的每一种在体外杀伤表达CD117的细胞(即,Kasumi-1细胞)方面有效,并且表明复合物被内化。图9描述了Kasumi-1细胞杀伤测定的定量。下表6提供了与该Kasumi-1细胞杀伤测定的定量相关的另外的数据。Kasumi-1细胞杀伤测定是在SCF的不存在下进行的(因为Kasumi-1细胞不是SCF依赖性的)。因此,所测试的抗体的拮抗性/中性特征不如SCF依赖性细胞杀伤测定(在实施例11中描述)中明显。值得注意的是,在SCF依赖性细胞杀伤测定中被鉴定为拮抗性的抗体在Kasumi-1测定中显示出较高的杀伤水平,例如,比较Ab55(拮抗性)与Ab67(中性)的AUC值。

[0946] 表6. IgG:Fab-皂草素复合物细胞杀伤的定量

[0947]

HC/LC	AUC Kasumi-1 杀伤 (AUC hlgG1 – AUC MAC ID#)
HC-54; LC-54	154918
HC-55; LC-55	225764
HC-56; LC-56	193260
HC-57; LC-57	157277
HC-58; LC-58	97423
HC-61; LC-61	78558
HC-66; LC-66	134742
HC-67; LC-67	155931
HC-68; LC-68	14411
HC-69; LC-69	39988
CK6	132193

[0948] 实施例11. 使用体外SCF依赖性细胞增殖测定来分析抗CD117抗体

[0949] 为了确定抗体拮抗作用的程度,使用人类CD34+骨髓细胞在体外干细胞因子(SCF)依赖性增殖测定中评估了许多鉴定的抗体。在SCF的存在下,添加抗CD117抗体(IgG1)后,细

胞死亡,表明该抗体破坏了SCF的结合,因此被认为是SCF拮抗剂。使用抗CD117抗体CK6作为阳性对照,因为已知它具有拮抗活性(参见美国专利第8,552,157号),并使用同种型非CD117结合抗体作为阴性对照。对于该体外细胞增殖测定,在SCF和所示的抗体的存在下培养人类CD34+骨髓细胞5天。通过流式细胞术确定所有细胞或CD34+CD90+门控细胞的活细胞计数。

[0950] 图10A和图10B(活细胞)以及图11A和图11B(CD34+CD90+细胞)中描述的结果证明了所测试的抗体是否通过抑制SCF结合来限制细胞增殖,并且因此将被认为是拮抗剂。如图10A、图10B、图11A和图11B中所述,抗体Ab54、Ab55、Ab56和Ab57是CD117拮抗性的,因为它们能够在SCF依赖性细胞增殖测定中杀伤活细胞和CD34+CD90+细胞两者,并且阻止SCF依赖性增殖。相比之下,Ab58、Ab61、Ab66、Ab67、Ab68和Ab69被确定为中性抗体,其不抑制培养物中人类CD34+骨髓细胞的SCF依赖性增殖。

[0951] 实施例12. 使用交叉阻断测定来分析抗CD117抗体

[0952] 在CK6(抗CD117拮抗性抗体)或人类SCF(CD117的配体)的存在下在交叉阻断测定中进一步评估了Ab67和Ab55。使用生物层干涉测量术(BLI)用Pall ForteBio Octet Red96在25摄氏度在补充有0.1%w/v牛血清白蛋白的1xPBS中进行了交叉阻断测定。将所示的纯化的人类抗体固定在抗人类Fc生物传感器(AHC;Pall ForteBio 18-5063)上,并且与100nM CD117胞外域(R&D Systems#332-SR)一起孵育。随后,将与CD117胞外域复合的所示的主要抗体与CK6(一种已知的拮抗剂)或重组人类干细胞因子一起孵育。第二结合事件中阳性信号(在标记的垂直线之后的迹线)表明非竞争性结合或不存在交叉阻断。第二结合事件的信号未增加表明竞争性结合或交叉阻断。

[0953] 如图12中示出的,Ab55能够交叉阻断CK6或SCF的结合,表明Ab55是拮抗性抗体。相比之下,中性Ab67未交叉阻断CK6或SCF。该实验还表明CK6和Ab67不具有相同的表位(这也通过它们不同的特性被表明)。

[0954] 图13A和图13B提供了来自测试Ab67是否能够交叉阻断人或小鼠SCF与huCD117的结合的第二交叉阻断测定的数据。首先,将25nM的生物素化的重组CD117胞外域(R&D Systems#332-SR)固定到链霉亲和素生物传感器(SA;Pall ForteBio 18-5019)上,并且与人类(ThermoFisher Scientific PHC2113)或小鼠(R&D Systems#455-MC)干细胞因子一起孵育。如图13中描述的,人类和鼠干细胞因子两者均能够与人类重组CD117胞外域结合。为了确定Ab67对于人类和小鼠SCF与CD117的结合是否具有中性特性,进行了交叉阻断实验。简而言之,将25nM的生物素化的重组CD117胞外域(R&D Systems#332-SR)固定到链霉亲和素生物传感器(SA;Pall ForteBio 18-5019)上,并且与100nM的Ab67一起孵育。随后,将与Ab67复合的CD117胞外域与人类(ThermoFisher Scientific PHC2113)或小鼠(R&D Systems#455-MC)干细胞因子一起孵育。如图13B中描述的,Ab67不能抑制huSCF或mSCF与huCD117的结合,因此进一步提供了Ab67的中性特征的证据。

[0955] 实施例13. 抗CD117抗体内化的分析

[0956] 在体外抗体内化测定中评估了Ab67相比于抗CD117拮抗性抗体的内化能力。该测定通过将人骨髓CD34+细胞与饱和浓度的中性、拮抗性或对照hIgG1抗体一起孵育24小时来进行。在时间过程结束时,使用荧光团标记的抗IgG分子通过流式细胞术来评估存留的表面hIgG1。检查表面IgG的百分比随着时间的变化(图14B)。归一化的CD117表面表达(图14A)是

用在4℃培养的对照条件计算的,在该条件下预期将没有内化(未示出)。

[0957] 如图14A中描述的,与用拮抗性抗CD117抗体或同种型匹配的hIgG1处理后观察到的相比,在中性抗体Ab67 (IgG1) 的存在下,细胞表面上的CD117的百分比较低。事实上,CD117的内化水平与SCF的内化水平相似。此外,如图14B中描述的,相对于对照拮抗剂或hIgG1抗体,细胞表面上中性抗体Ab67的百分比随着时间而降低。这也表明中性抗CD117抗体Ab67比拮抗性抗体内化得更快。

[0958] 实施例14. 使用体外细胞杀伤测定来分析抗CD117 Ab67 ADC和Ab55 ADC

[0959] 将Ab67和Ab55用可裂解的接头各自与抗鹅膏蕈毒素缀合,以形成Ab67-ADC和Ab55-ADC,各自具有约3.7的平均近似药物与抗体比 (DAR)。在Kasumi-1细胞 (图15A) 或原代人类干细胞 (图15B和图15C) 中的细胞杀伤测定中评估了Ab67 ADC和Ab55 ADC。

[0960] 对于使用Kasumi-1细胞的体外杀伤测定,根据ATCC指南培养Kasumi-1细胞。更具体地,在CD117-ADC或对照的存在下培养Kasumi-1细胞三天。通过CellTiter-Glo测量细胞存活力。对于使用人类HSC (即,分离的CD34+选择的原代人类骨髓细胞 (BMC)) 的体外杀伤测定,将人类CD34+BMC与CD117-ADC或对照一起培养5天。通过流式细胞术确定所有细胞或CD34+CD90+门控细胞的活细胞计数。

[0961] 图15A-15C中的结果表明,Ab55-ADC和Ab67-ADC在体外高度有效地杀伤了表达CD117的细胞系 (例如,Kasumi-1细胞) 或原代人类CD34⁺细胞,证明在体外培养期间对白血病细胞系Kasumi-1的强力杀伤 (图15A;表7;IC₅₀=2.1pM),并且同样有效地杀伤了原代人类CD34+骨髓细胞 (图15B和图15C;表7;IC₅₀=8.9pM)。因此,Ab55-ADC和Ab67-ADC在杀伤表达CD117的细胞系和原代人类CD34+细胞方面高度有效。

[0962] 表7.

[0963]	HC/LC	抗体 ID	DAR (平均 值)	IC50 (M)
	HC-55; LC-55	Ab55	3.8	2.1 x 10 ⁻¹²
	HC-67; LC-67	Ab67	3.6	8.9 x 10 ⁻¹²

[0964] 实施例15. 表征抗CD117抗体的疏水性

[0965] 使用疏水相互作用色谱术 (HIC) 确定Ab55和Ab67各自的疏水性。使用抗CD117抗体CK6作为对照进行比较。抗体Ab55和Ab67在25或50摄氏度孵育7天或15天后通过疏水相互作用色谱术 (HIC; 图16A-16F) 来评价。简而言之,将50微克所示的抗体注射到Waters ARC HPLC/UPLC系统上的Tosoh TSKgel Phenyl-5PW 7.5mm IDx7.5cm 10微米柱 (目录#07573) 上。对于CK6 (图16A和图16D), 在25和50摄氏度孵育15天后,观察到峰变宽。对于Ab55 (图16B和图16E), 在温和 (25摄氏度) 和严重 (50摄氏度) 条件下7天之后,色谱图中峰变宽明显。与CK6或Ab55相比,Ab67 (图16C和图16F) 在25或50摄氏度孵育15天后表现出最小的峰变宽 (降解), 显示出所测试的并且与CK6相比较的亲合力改进的抗CD117抗体的疏水性变化最小 (图16D-16F)。

[0966] 实施例16. 使用体外细胞杀伤测定来分析快速半衰期抗CD117抗体

[0967] 以体外细胞杀伤测定评估了具有工程化Fc区 (即,H435A Fc突变 (EU索引Fc编号)) 的Ab67变体。H435A突变导致抗体半衰期相对于野生型Ab67 (即,具有H435 (EU索引编号) 的

WT Ab67)降低。

[0968] 将Ab67 (WT) 和Ab67 (H435A) 各自与鹅膏蕈毒素缀合以形成抗体药物缀合物 (Ab67 (WT) -ADC和Ab67 (H435A) -ADC)。使用原代人类干细胞以细胞杀伤测定进一步评估了这些ADC。对于使用人类HSC (即,分离的CD34+选择的原代人类骨髓细胞 (BMC)) 的体外杀伤测定,将人类CD34+BMC与CD117-ADC或对照一起培养5天。通过流式细胞术确定CD34+CD90+门控细胞的活细胞计数。

[0969] 结果在图17A和图17B中描述,并且表明在体外培养期间,Ab67 (WT) -ADC和Ab67 (H435A) -ADC (即,快速半衰期) 在杀伤原代人类CD34+骨髓细胞方面同样有效 (IC₅₀ Ab67 (WT) =41pM; IC₅₀Ab67 (H435A) =39.9pM) (表8和表9)。

[0970] 表8.

[0971]

HC/LC	抗体ID	半衰期	DAR	IC50 (M)
HC-67;LC-67	Ab67	WT	2	4.1x10 ⁻¹¹

[0972] 表9.

[0973]

HC/LC	抗体 ID	半衰期	DAR	IC50 (M)
HC-67 (H435A); LC-67	Ab67(H435A)	快速	2	3.99 x10 ⁻¹¹

[0974] 实施例17. 表征抗CD117抗体的电荷变体

[0975] 对Ab55和Ab67抗体进行了毛细管等电聚焦,以确定序列差异是否影响抗体的生物物理特性。简而言之,使10-40微克抗体在25或50摄氏度经受7天和15天的孵育,并且使用Protein Simple生产的Maurice仪器根据标准生产商说明书,通过毛细管电泳方法进行分析。抗体样品迁移至其电中性pH处。可以基于相对于总注入样品在等电点以下检测到的吸光度峰来鉴定酸性变体。图18中的电泳图证明,与具有较少变异的Ab67相比,Ab55显示出复杂的电荷异质性谱。因此,在应激条件后,Ab67具有较少的酸性物质累积,并且总体上比Ab55更稳定。

[0976] 实施例18. 使用抗CD117 ADC的体内HSC耗尽测定

[0977] 进行了体内实验来评价具有工程化Fc (即,H435A Fc突变) 的Ab67,以确定半衰期降低是否影响抗CD117 Ab67 ADC杀伤表达CD117的细胞的能力。使用人源化NSG小鼠 (Jackson Laboratories) 进行体内HSC耗尽测定。将Ab67抗体和Ab67 (H435A) 抗体 (即,特征为H435A Fc突变 (EU索引)) 各自与鹅膏蕈毒素缀合以形成ADC,并且以0.3mg/kg、0.1mg/kg或0.03mg/kg的单次注射施用至人源化小鼠模型。在第21天收集骨髓,并且通过流式细胞术确定CD34+细胞的绝对数目 (图19A)。还在第21天收集血液,并且通过流式细胞术来检查。示出了经处理的小鼠或对照处理的小鼠中的人类CD33+相对于基线的百分比 (图19B)。

[0978] 结果表明,在处理方案的单次施用后,用Ab67 (H435A) -ADC处理的人源化NSG小鼠显示出人类CD33+骨髓细胞相对于基线的显著耗尽,并且表明Ab67 (H435A) -ADC和Ab (WT) -ADC因耗尽早期祖细胞而耗尽骨髓细胞。此外,当与对照相比时,用Ab67-ADC处理的人源化NSG小鼠在单次施用ADC后21天显示出骨髓中人类HSC的显著耗尽。因此,H435A突变对包含Ab67的ADC杀伤表达CD117的细胞的能力没有实质性影响。

[0979] 实施例19:CD117-鹅膏蕈碱抗体药物缀合物有效地耗尽人类和非人类灵长类动物

HSC

[0980] 在雄性食蟹猴中,以单次递增或分次(Q3Dx2)剂量评价了NHP HSC耗尽(3/组)。通过流式细胞术监测骨髓中的HSC含量。贯穿本研究,对血液学和临床化学进行了评价。

[0981] 在与鹅膏蕈碱缀合的快速半衰期抗CD117 (Ab67;HC-67,LC-67)给药后第7天,在骨髓中观察到表型HSC和CFU的中靶、剂量依赖性降低,以0.3mg/kg的单次剂量观察到>95%的HSC耗尽(图20)。因为非缀合的抗体和同种型-鹅膏蕈碱没有作用,因此抗CD117-鹅膏蕈碱诱导的耗尽是中靶和鹅膏蕈碱依赖性的。值得注意的是,贯穿本研究,白细胞和淋巴细胞计数保持稳定,证明该策略将不影响适应性免疫系统。血小板最低点出现在输注后4-8天,并且是剂量依赖性的短暂和可逆的。这也发生在同种型-鹅膏蕈碱,表明作用是脱靶的。对于所有细胞参数,分次给药(0.2/0.2mg/kgQ3D x2)表现出与0.3mg/kg相似的效力,并且在有效剂量时耐受性良好(图20)。如预期的,快速半衰期抗CD117-鹅膏蕈碱被快速清除,半衰期为15-18h。总之,与鹅膏蕈碱缀合的快速半衰期Ab67 (H435A)显示出在体内对NHPHSC和祖细胞的强力消除。

[0982] 表10:序列概述

[0983]

序列标识符	描述	序列
SEQ ID NO: 1	CK6 CDR-H1	SYWIG
SEQ ID NO: 2	CK6 CDR-H2	IIPGDS DTRYSPSFQG
SEQ ID NO: 3	CK6 CDR-H3	HGRGYNGYEGAFDI
SEQ ID NO: 4	CK6 CDR-L1	RASQGISSALA
SEQ ID NO: 5	CK6 CDR-L2	DASSLES
SEQ ID NO: 6	CK6 CDR-L3	CQQFNSYPLT
SEQ ID NO: 7	共有人类Ab 重链可变结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFSDYA MSWVRQAPGKGLEWVAVISENGSDTYADSVKG RFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDR GGAVSYFDVWGQGT LVTVSS
SEQ ID NO: 8	共有人类Ab 轻链可变结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSSYLA WYQQKPGKAPKLLIYA AASSLES GVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYC QQYNSLPYTF GQG TKVEIKRT
SEQ ID NO: 9	Ab67重链可变区 (例如, 如在 HC-67中存在的) hIgG1骨架 (CDR呈粗体)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFSDAD MDWVRQAPGKGLEWVG RTRNKAGSYTTEYAAS VKG RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCA REPKYWIDFDL WGRGTLTVSS
SEQ ID NO: 10	Ab67轻链可变区 (例如, 如在 LC-67中存在的) hκ骨架 (CDR呈粗体)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYA AASSLQS GVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYC QQSYIAPYT FGGGT KVEIK
SEQ ID NO: 11	Ab67 CDR-H1	<u>FTFSDADMD</u>
SEQ ID NO: 12	Ab67 CDR-H2	<u>RTRNKAGSYTTEYAASVKG</u>
SEQ ID NO: 13	Ab67 CDR-H3	<u>AREPKYWIDFDL</u>
SEQ ID NO: 14	Ab67 CDR-L1	<u>RASQSISSYLN</u>

[0984]

序列标识符	描述	序列
SEQ ID NO: 15	Ab67 CDR-L2	<u>AASSLQS</u>
SEQ ID NO: 16	Ab67 CDR-L3	<u>QQSYIAPYT</u>
SEQ ID NO: 17	Ab67重链 可变区(核酸)	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTT GGTCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCT GTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACGCC GACATGGACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGGTTGGCCGTACTAGAAACA AAGCAGGAAGTTACACCACAGAATACGCCGCG TCTGTGAAAGGCAGATTACCATCTCAAGAGAT GATTCAAAGAAGTCACTGTATCTGCAAATGAAC AGCCTGAAAACCGAGGACACGCGGTGTACTA CTGCGCCAGAGAGCCTAAATACTGGATCGACTT CGACCTATGGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCG TCTCCTCA
SEQ ID NO: 18	Ab67轻链 可变区(核酸)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTA AATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCT AAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAA AGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG TCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGT CAGCAAAGCTACATCGCCCCCTTACACTTTTGGC GGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 19	Ab55重链可变区 (例如, 如在 HC-55中存在的) hIgG1骨架 (CDR呈粗体)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASG <u>GTFR</u> YIAI <u>SWVR</u> QAPGQGLEWMG <u>GIIPDFGVANYAQKFQG</u> RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC <u>ARGG</u> <u>LDTDEFDL</u> WGRGTLTVSS
SEQ ID NO: 20	Ab55轻链可变区 (例如, 如在 LC-55中存在的) hκ骨架 (CDR呈粗体)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC <u>RASQSINSYLN</u> WYQQKPGKAPKLLIY <u>AASSLQSGVPSRFS</u> SGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYC <u>QQGVSDIT</u> FGGGTK VEIK
SEQ ID NO: 21	Ab55 CDR-H1	GTFRYIAIS
SEQ ID NO: 22	Ab55 CDR-H2	GIIPDFGVANYAQKFQG

[0985]

序列标识符	描述	序列
SEQ ID NO: 23	Ab55 CDR-H3	ARGGLDTDEFDL
SEQ ID NO: 24	Ab55 CDR-L1	RASQSINSYLN
SEQ ID NO: 25	Ab55 CDR-L2	AASSLQS
SEQ ID NO: 26	Ab55 CDR-L3	QQGVSDIT
SEQ ID NO: 27	Ab55重链 可变区(核酸)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGT GAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCCT GCAAGGCTTCTGGAGGCACCTCCGAATCTATG CTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAA GGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTGA CTTCGGTGTAGCAAACCTACGCACAGAAGTTCCA GGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCCA CGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTG AGATCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGC CAGAGGTGGATTGGACACAGACGAGTTCGACC TATGGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGTCTCC TCA
SEQ ID NO: 28	Ab55轻链 可变区(核酸)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAAACAGCTATTTA AATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCT AAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGAA AGTGGGGTCCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG TCTGCAACCTGAAGATTTTGCACTTACTACTGT CAGCAAGGAGTCAGTGACATCACTTTTGGCGG AGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 29	Ab54重链可变区 (例如, 如在 HC-54中存在的) hIgG1骨架 (CDR呈粗体)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG GTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMG GIIPFGTANYAQKFQGR VTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARGGL DTDEFDL WGRGTLTVSS
SEQ ID NO: 30	Ab54轻链可变区 (例如, 如在 LC-54中存在的) hκ骨架 (CDR呈粗体)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT C RASQSINSYLN WYQQKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYC QQGVSDIT FGGGTK VEIK

[0986]

序列标识符	描述	序列
SEQ ID NO: 31	Ab54 CDR-H1	GTFSSYAIS
SEQ ID NO: 32	Ab54 CDR-H2	GIIPFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 33	Ab54 CDR-H3	ARGGLDTDEFDL
SEQ ID NO: 34	Ab54 CDR-L1	RASQSINSYLN
SEQ ID NO: 35	Ab54 CDR-L2	AASSLQS
SEQ ID NO: 36	Ab54 CDR-L3	QQGVSDIT
SEQ ID NO: 37	Ab54重链 可变区(核酸)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGT GAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTCCT GCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTAT GCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACA AGGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTA TCTTTGGTACAGCAAACCTACGCACAGAAGTTCC AGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCC ACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCT GAGATCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCG CCAGAGGTGGATTGGACACAGACGAGTTCGAC CTATGGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGTCTC CTCA
SEQ ID NO: 38	Ab54轻链 可变区(核酸)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAAACAGCTATTTA AATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCT AAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGAA AGTGGGGTCCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG TCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGT CAGCAAGGAGTCAGTGACATCACTTTTGGCGG AGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 39	Ab56重链可变区 (例如, 如在 HC-56中存在的) hIgG1骨架 (CDR呈粗体)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG GTFSLYAI SWVRQAPGQGLEWMGGIIPAFGTANYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARGG LDTDEFDL WGRGTLTVSS
SEQ ID NO: 40	Ab56轻链可变区 (例如, 如在 LC-56中存在的) hκ骨架	DIQMTQSPSSLSASVGDRTIT CRASQSINSYLN WYQQKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYC QQGVSDIT FGGGTK VEIK

[0987]

序列标识符	描述	序列
	(CDR呈粗体)	
SEQ ID NO: 41	Ab56 CDR-H1	GTFSLYAIS
SEQ ID NO: 42	Ab56 CDR-H2	GIIPAFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 43	Ab56 CDR-H3	ARGGLDTDEFDL
SEQ ID NO: 44	Ab56 CDR-L1	RASQSINSYLN
SEQ ID NO: 45	Ab56 CDR-L2	AASSLQS
SEQ ID NO: 46	Ab56 CDR-L3	QQGVSDIT
SEQ ID NO: 47	Ab56重链 可变区(核酸)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGT GAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCCT GCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCCTCTAT GCTATCTCCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACA AGGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTG CCTTCGGTACCGCAAACCTACGCACAGAAGTTCC AGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCC ACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCT GAGATCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCG CCAGAGGTGGATTGGACACAGACGAGTTCGAC CTATGGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGTCTC CTCA
SEQ ID NO: 48	Ab56轻链 可变区(核酸)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAAACAGCTATTTA AATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCT AAGTCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAA AGTGGGGTCCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG TCTGCAACCTGAAGATTTTGCACTTACTACTGT CAGCAAGGAGTCAGTGACATCACTTTTGGCGG AGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 49	Ab57重链可变区 (例如, 如在 HC-57中存在的) hIgG1骨架 (CDR呈粗体)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG GTFSLYAI SWVRQAPGQGLEWMGGIIPHFGLANYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARGG LDTDEFDL WGRGTLTVSS
SEQ ID NO: 50	Ab57轻链可变区 (例如, 如在 LC-57中存在的) hκ骨架	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQSINSYLN WYQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYC QQGVSDIT FGGGTK VEIK

[0988]

序列标识符	描述	序列
	(CDR呈粗体)	
SEQ ID NO: 51	Ab57 CDR-H1	GTFSLYAIS
SEQ ID NO: 52	Ab57 CDR-H2	GIIPHFGLANYAQKFQG
SEQ ID NO: 53	Ab57 CDR-H3	ARGGLDTDEFDL
SEQ ID NO: 54	Ab57 CDR-L1	RASQSINSYLN
SEQ ID NO: 55	Ab57 CDR-L2	AASSLQS
SEQ ID NO: 56	Ab57 CDR-L3	QQGVSDIT
SEQ ID NO: 57	Ab57重链 可变区(核酸)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGT GAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCCT GCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCTCCCTCTATG CTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAA GGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTCA CTTCGGTCTCGCAAACCTACGCACAGAAGTTCCA GGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCCA CGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTG AGATCTGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGC CAGAGGTGGATTGGACACAGACGAGTTCGACC TATGGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGTCTCC TCA
SEQ ID NO: 58	Ab57轻链 可变区(核酸)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAAACAGCTATTTA AATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCT AAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAA AGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG TCTGCAACCTGAAGATTTTGCACTTACTACTGT CAGCAAGGAGTCAGTGACATCACTTTTGGCGG AGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 59	Ab58重链可变区 (例如, 如在 HC-58中存在的) hIgG1骨架 (CDR呈粗体)	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCAASG FTFSNYA MSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKG PPTYHTNYYYMDV WGKGTTVTVSS
SEQ ID NO: 60	Ab58轻链可变区 (例如, 如在 LC-58中存在的) hκ骨架	DIQMTQSPSSVSASVGDRVIT CRASQGISSWLA WYQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYC QQTNSFPYT FGGG TKVEIK

[0989]

序列标识符	描述	序列
	(CDR呈粗体)	
SEQ ID NO: 61	Ab58 CDR-H1	FTFSNYAMS
SEQ ID NO: 62	Ab58 CDR-H2	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 63	Ab58 CDR-H3	AKGPPTYHTNYYYMDV
SEQ ID NO: 64	Ab58 CDR-L1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 65	Ab58 CDR-L2	AASSLQS
SEQ ID NO: 66	Ab58 CDR-L3	QQTNSFPYT
SEQ ID NO: 67	Ab58重链 可变区(核酸)	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTT GGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCT GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAATTATG CCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAG GGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAG TGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAA GGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATCCAA GAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAG AGCCGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCA AGGGCCCTCCTACATACCACACAACTACTACT ACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACGTGC ACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 68	Ab58轻链 可变区(核酸)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTT AGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCC CTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGC AAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTACGCGGCAGT GGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGC AGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTAC TGTCAGCAAACAAATAGTTTCCCTTACACTTTTG GCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 69	Ab61重链可变区 (例如, 如在 HC-61中存在的) hIgG1骨架 (CDR呈粗体)	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFSSYV MIWVRQAPGKGLEWVSSISGDSVT YYADSVKG RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGP PTYHTNYYYMDV WGKGTTVTSS
SEQ ID NO: 70	Ab61轻链可变区 (例如, 如在 LC-61中存在的) hκ骨架	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITIT RASQGISSWLA WYQQKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYC QQTNSFPYT FGGG TKVEIK

[0990]

序列标识符	描述	序列
	(CDR呈粗体)	
SEQ ID NO: 71	Ab61 CDR-H1	FTFSSYVMI
SEQ ID NO: 72	Ab61 CDR-H2	SISGDSVTTTYADSVKG
SEQ ID NO: 73	Ab61 CDR-H3	AKGPPTYHTNYYYMDV
SEQ ID NO: 74	Ab61 CDR-L1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 75	Ab61 CDR-L2	AASSLQS
SEQ ID NO: 76	Ab61 CDR-L3	QQTNSFPYT
SEQ ID NO: 77	Ab61重链 可变区(核酸)	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTT GGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCT GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCTATG TCATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAG GGGCTGGAGTGGGTCTCAAGCATTAGTGGTGA CAGCGTAACAACATACTACGCAGACTCCGTGAA GGGCCGTTTACCATCTCCAGAGACAATCCAA GAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAG AGCCGAGGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCA AGGGCCCTCCTACATACCACACAACTACTACT ACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACGTGC ACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 78	Ab61轻链 可变区(核酸)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTT AGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCC CTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGC AAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTACGCGGCAGT GGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGC AGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTAC TGTCAGCAAACAAATAGTTTCCCTTACACTTTTG GCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 79	Ab66重链可变区 (例如, 如在 HC-66中存在的) hIgG1骨架 (CDR呈粗体)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFSDHY MDWVRQAPGKGLEWVGRTRNKASSYTTEYAAS VKGR RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCA REPKYWIDFDL WGRGTLTVSS
SEQ ID NO: 80	Ab66轻链可变区 (例如, 如在 LC-66中存在的) hk骨架	DIQMTQSPSSLSASVGDRTIT CRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYC QQSYIAPYT FGGGT KVEIK

[0991]

序列标识符	描述	序列
	(CDR呈粗体)	
SEQ ID NO: 81	Ab66 CDR-H1	FTFSDHYMD
SEQ ID NO: 82	Ab66 CDR-H2	RTRNKASSYTTEYAASVKG
SEQ ID NO: 83	Ab66 CDR-H3	AREPKYWIDFDL
SEQ ID NO: 84	Ab66 CDR-L1	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 85	Ab66 CDR-L2	AASSLQS
SEQ ID NO: 86	Ab66 CDR-L3	QQSYIAPYT
SEQ ID NO: 87	Ab66重链 可变区(核酸)	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTT GGTCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCT GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACCACT ACATGGACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAG GGGCTGGAGTGGGTTGGCCGTACTAGAAACAA AGCTAGTAGTTACACCACAGAATACGCCGCGTC TGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGATGA TTCAAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAG CCTGAAAACCGAGGACACGGCGGTGTACTACT GCGCCAGAGAGCCTAAATACTGGATCGACTTC GACCTATGGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGT CTCCTCA
SEQ ID NO: 88	Ab66轻链 可变区(核酸)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTA AATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCT AAGTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAA AGTGGGGTCCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG TCTGCAACCTGAAGATTTTGCACTTACTACTGT CAGCAAAGCTACATCGCCCCTTACACTTTTGGC GGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 89	Ab68重链可变区 (例如, 如在 HC-68中存在的) hIgG1骨架 (CDR呈粗体)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASG FTFSDHD MN WVRQAPGKGLEWVG RTRNAAGSYTTEYAAS VKGR RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCA REP KYWIDFDLWGRGTLTVSS
SEQ ID NO: 90	Ab68轻链可变区 (例如, 如在 LC-68中存在的) hκ骨架	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVIT CRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYC QQSYIAPYT FGGGT KVEIK

[0992]

序列标识符	描述	序列
	(CDR呈粗体)	
SEQ ID NO: 91	Ab68 CDR-H1	FTFSDHDMN
SEQ ID NO: 92	Ab68 CDR-H2	RTRNAAGSYTTEYAASVKG
SEQ ID NO: 93	Ab68 CDR-H3	AREPKYWIDFDL
SEQ ID NO: 94	Ab68 CDR-L1	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 95	Ab68 CDR-L2	AASSLQS
SEQ ID NO: 96	Ab68 CDR-L3	QQSYIAPYT
SEQ ID NO: 97	Ab68重链 可变区(核酸)	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTT GGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACTCTCCT GTACAGCTTCTGGATTACCTTCAGTGACCACG ACATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAG GGGCTGGAGTGGGTTGGCCGTACTAGAAACGC CGCTGGAAGTTACACCACAGAATACGCCGCGT CTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGATG ATTCAAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACA GCCTGAAAACCGAGGACACGGCGGTGTACTAC TGCGCCAGAGAGCCTAAATACTGGATCGACTTC GACCTATGGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGT CTCCTCA
SEQ ID NO: 98	Ab68轻链 可变区(核酸)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTA AATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCT AAGTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAA AGTGGGGTCCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG TCTGCAACCTGAAGATTTTGCACTTACTACTGT CAGCAAAGCTACATCGCCCCTTACACTTTTGGC GGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 99	Ab69重链可变区 (例如, 如在 HC-69中存在的) hIgG1骨架 (CDR呈粗体)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFVDHD MDWVRQAPGKGLEWVGRTRNKLGSYTTEYAAS VKGR RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCA REPKYWIDFDL WGRGTLVTSS
SEQ ID NO: 100	Ab69轻链可变区 (例如, 如在 LC-69中存在的) hκ骨架	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVIT CRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIY AASSLQS GVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYC QQSYIAPYT FGGGT KVEIK

[0993]

序列标识符	描述	序列
	(CDR呈粗体)	
SEQ ID NO: 101	Ab69 CDR-H1	FTFVDHDMD
SEQ ID NO: 102	Ab69 CDR-H2	RTRNKLGSYTTEYAASVKG
SEQ ID NO: 103	Ab69 CDR-H3	AREPKYWIDFDL
SEQ ID NO: 104	Ab69 CDR-L1	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 105	Ab69 CDR-L2	AASSLQS
SEQ ID NO: 106	Ab69 CDR-L3	QQSYIAPYT
SEQ ID NO: 107	Ab69重链 可变区(核酸)	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTT GGTCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCT GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCGTAGACCACG ACATGGACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAG GGGCTGGAGTGGGTTGGCCGTACTAGAAACAA ACTAGGAAGTTACACCACAGAATACGCCGCGTC TGTGAAAGGCAGATTACCATCTCAAGAGATGA TTCAAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAG CCTGAAAACCGAGGACACGGCGGTGTACTACT GCGCCAGAGAGCCTAAATACTGGATCGACTTC GACCTATGGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGT CTCCTCA
SEQ ID NO: 108	Ab69轻链 可变区(核酸)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT TGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTA AATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCT AAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAA AGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG TCTGCAACCTGAAGATTTTGCACTTACTACTGT CAGCAAAGCTACATCGCCCCTTACACTTTTGGC GGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA
SEQ ID NO: 109	Ab67轻链 LC恒定区带下划线	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSY LNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTISSLPEDFATYYCQQSYIAP YTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG

[0994]

序列标识符	描述	序列
		<u>NSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEK</u> <u>HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u>
SEQ ID NO: 110	Ab67重链 HC恒定区 带下划线	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS</u> <u>DADMDWVRQAPGKGLEWVGRTRNKAGSYT</u> <u>TEYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKT</u> <u>EDTAVYYCAREPKYWIDFDLWGRGTLVTVSS</u> <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</u> <u>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK</u> <u>VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF</u> <u>LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE</u> <u>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV</u> <u>VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE</u> <u>KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS</u> <u>LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP</u> <u>PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC</u> <u>SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
SEQ ID NO: 111	Ab67重链(D265C)* HC恒定区 带下划线	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS</u> <u>DADMDWVRQAPGKGLEWVGRTRNKAGSYT</u> <u>TEYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKT</u> <u>EDTAVYYCAREPKYWIDFDLWGRGTLVTVSS</u> <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</u> <u>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK</u> <u>VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF</u> <u>LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVCVSHEDPE</u> <u>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV</u> <u>VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE</u> <u>KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS</u> <u>LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP</u> <u>PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC</u> <u>SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
SEQ ID NO: 112	Ab67重链 (L234A/L235A/ D265C)* HC恒定区 带下划线	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS</u> <u>DADMDWVRQAPGKGLEWVGRTRNKAGSYT</u> <u>TEYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKT</u> <u>EDTAVYYCAREPKYWIDFDLWGRGTLVTVSS</u> <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</u> <u>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK</u> <u>VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSV</u>

[0995]

序列标识符	描述	序列
		<u>FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVCVSHEDP</u> <u>EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR</u> <u>VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI</u> <u>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV</u> <u>SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT</u> <u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS</u> <u>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
SEQ ID NO: 113	Ab67重链 (D265C/H435A)* HC恒定区 带下划线	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS</u> <u>DADMDWVRQAPGKGLEWVGRTRNKAGSYT</u> <u>TEYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKT</u> <u>EDTAVYYCAREPKYWIDFDLWGRGTLVTSS</u> <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</u> <u>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK</u> <u>VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF</u> <u>LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVCVSHEDPE</u> <u>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV</u> <u>VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE</u> <u>KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS</u> <u>LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT</u> <u>PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS</u> <u>SVMHEALHNAYTQKSLSLSPGK</u>
SEQ ID NO: 114	Ab67重链 (L234A/L235A/ D265C/H435A)* HC恒定区 带下划线	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS</u> <u>DADMDWVRQAPGKGLEWVGRTRNKAGSYT</u> <u>TEYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKT</u> <u>EDTAVYYCAREPKYWIDFDLWGRGTLVTSS</u> <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</u> <u>YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK</u> <u>VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSV</u> <u>FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVCVSHEDP</u> <u>EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR</u> <u>VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI</u> <u>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV</u> <u>SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT</u> <u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS</u> <u>CSVMHEALHNAYTQKSLSLSPGK</u>
SEQ ID NO: 115	Ab55轻链 LC恒定区 带下划线	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSYLNW</u> <u>YQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGT</u> <u>DFTLTISLQPEDFATYYCQQGVSDITFGGGTKVE</u> <u>IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN</u> <u>NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD</u>

[0996]

序列标识符	描述	序列
		<u>SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH</u> <u>QGLSSPVTKSFNREGC</u>
SEQ ID NO: 116	Ab55重链 HC恒定区 带下划线	<u>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRIYAI</u> <u>SWVRQAPGQGLEWMGGIIPDFGVANYAQKFQGR</u> <u>VTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGLD</u> <u>TDEFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSS</u> <u>KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA</u> <u>LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL</u> <u>GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH</u> <u>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT</u> <u>PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN</u> <u>AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG</u> <u>KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ</u> <u>VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV</u> <u>EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK</u> <u>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK</u> <u>SLSLSPGK</u>
SEQ ID NO: 117	Ab55重链 (D265C)* HC恒定区 带下划线	<u>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRIYAI</u> <u>SWVRQAPGQGLEWMGGIIPDFGVANYAQKFQGR</u> <u>VTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGLD</u> <u>TDEFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSS</u> <u>KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA</u> <u>LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL</u> <u>GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH</u> <u>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT</u> <u>PEVTCVVVCVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN</u> <u>AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG</u> <u>KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ</u> <u>VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV</u> <u>EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK</u> <u>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK</u> <u>SLSLSPGK</u>
SEQ ID NO: 118	Ab55重链 (L234A/L235A/ D265C)* HC恒定区 带下划线	<u>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRIYAI</u> <u>SWVRQAPGQGLEWMGGIIPDFGVANYAQKFQGR</u> <u>VTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGLD</u> <u>TDEFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSS</u> <u>KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA</u> <u>LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL</u>

[0997]

序列标识符	描述	序列
		<u>GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH</u> <u>TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVCVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH</u> <u>NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN</u> <u>GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP</u> <u>QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI</u> <u>AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLY</u> <u>SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT</u> <u>QKSLSLSPGK</u>
SEQ ID NO: 119	Ab55重链 (D265C/H435A)* HC恒定区 带下划线	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFRIYAI SWVRQAPGQGLEWMGGIIPDFGVANYAQKFQGR VTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGLD TDEFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSS <u>KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA</u> <u>LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL</u> <u>GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH</u> <u>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT</u> <u>PEVTCVVVCVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN</u> <u>AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG</u> <u>KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ</u> <u>VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV</u> <u>EWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSK</u> <u>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNAYTQK</u> <u>SLSLSPGK</u>
SEQ ID NO: 120	Ab55重链 (L234A/L235A/ D265C/H435A)* HC恒定区 带下划线	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFRIYAI SWVRQAPGQGLEWMGGIIPDFGVANYAQKFQGR VTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGLD TDEFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSS <u>KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA</u> <u>LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL</u> <u>GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH</u> <u>TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVCVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH</u> <u>NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN</u> <u>GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP</u> <u>QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI</u> <u>AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLY</u> <u>SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNAYT</u> <u>QKSLSLSPGK</u>

[0998]

序列标识符	描述	序列
SEQ ID NO: 121	LC-54、LC-55、 LC-56、LC-57、 LC-58、LC-61、 LC-66、LC-67、 LC-68、LC-69的 轻链恒定区	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 122	WT的重链 恒定区	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LL GGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VD VSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHN HY TQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 123	重链恒定区 (D265C)*	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LL GGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VC VSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHN HY TQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 124	重链恒定区 (L234A/L235A/ D265C)*	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AA GGPSV FLPPKPKDTLMISRTPEVTCV VC VSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHN HY TQKSLSLSPGK

[0999]

序列标识符	描述	序列
SEQ ID NO: 125	重链恒定区 (H435A/D265C)*	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVVCSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS SVMHEALHNAYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 126	重链恒定区 (L234A/L235A/ H435A/D265C)*	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSV FLPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVVCSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNAYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 127	可变重链CDR1 (Ab 54-Ab 57)的 共有序列	GTF(S/R)(S/I/L)Y AIS
SEQ ID NO: 128	可变重链CDR2 (Ab 54-Ab 57)的 共有序列	GIIP(I/D/A/H)FG(T/V/L)ANYAQKFQG
SEQ ID NO: 129	可变重链CDR3 (Ab 54-Ab 57)	ARGGLDTDEFDL
SEQ ID NO: 130	可变轻链CDR1 (Ab 54-Ab 57)	RASQSINSYLN
SEQ ID NO: 131	可变轻链CDR2 (Ab 54-Ab 57)	AASSLQS
SEQ ID NO: 132	可变轻链CDR3 (Ab 54-Ab 57)	QQGVSDIT
SEQ ID NO: 133	可变重链CDR1 (Ab 58、Ab 61)的 共有序列	FTFS(N/S)Y(A/V)M(S/I)
SEQ ID NO: 134	可变重链CDR2 (Ab 58、Ab 61)的 共有序列	(A/S)ISG(S/D)(G/S)(G/V)(S/T)YYADSVKG

[1000]

序列标识符	描述	序列
SEQ ID NO: 135	可变重链 CDR3 (Ab58、Ab61)	AKGPPTYHTNYYYMDV
SEQ ID NO: 136	可变轻链 CDR1 (Ab58、Ab61)	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 137	可变轻链 CDR2 (Ab58、Ab61)	AASSLQS
SEQ ID NO: 138	可变轻链 CDR3 (Ab58、Ab61)	QQTNSFPYT
SEQ ID NO: 139	可变重链CDR1 (Ab 66-Ab 69)的 共有序列	FTF(S/V)D(H/A)(Y/D)M(D/N)
SEQ ID NO: 140	可变重链CDR2 (Ab 66-Ab 69)的 共有序列	RTRN(K/A)(A/L)(S/G)SYTTEYAASVKG
SEQ ID NO: 141	可变重链 CDR3 (Ab 66-Ab 69)	AREPKYWIDFDL
SEQ ID NO: 142	可变轻链 CDR1 (Ab 66-Ab 69)	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 143	可变轻链 CDR2 (Ab 66-Ab 69)	AASSLQS
SEQ ID NO: 144	可变轻链 CDR3 (Ab 66-Ab 69)	QQSYIAPYT
SEQ ID NO: 145	人类CD117 (肥大细胞/ 干细胞生长 因子受体 Kit同种型1前体) 蛋白NCBI 参考序列: NP_000213.1	MRGARGAWDFLCVLLLLLRVQTGSSQPSVS PGEPSPPSIHPGKSDLIVRVGDEIRLLCTDPG FVKWTFEILDETNENKQNEWITEKAEATNTG KYTCTNKHGLSNSIYVFVRDPAKLFLVDRSLY GKEDNDTLVRCPLTDPEVTNYSKGCQGKPL PKDLRFIPDPKAGIMIKSVKRAYHRLCLHCSV DQEGKSVLSEKFILKVRPAFKAVPVVSVSKA SYLLREGEEFTVTCTIKDVSSSVYSTWKREN SQTKLQEKYNSWHHGD FNYERQATLTISSAR VND SGV FMCYANNTFGSANVTTTLEVV DKG FINIFPMINTTVFVNDGENVDLIVEYEAFPKPE HQQWIYMNRTFTDKWEDYPKSENE SNIRYV SELHLTRLKGTEGGTYTFLVSNSDVNAAIAFN VYVNTKPEILTYDRLVNGMLQCVAAGFPEPTI DWYFCPGTEQRCSASVLPVDVQTLNSSGPP FGKLVVQSSIDSSAFKHNGTVECKAYNDVGK

[1001]

序列标识符	描述	序列
		TSAYFNFAFKGNNKEQIHPHTLFTPLLIGFVIV AGMMCIIVMILTYKYLQKPMYEVQWKVVEEI NGNNYVYIDPTQLPYDHKWEFPRNRLSFGKT LGAGAFGKVVEATAYGLIKSDAAMTVAVKML KPSAHLTEREALMSELKVLSYLGNHMNIIVNL LGACTIGGPTLVITEYCCYGDLLNFLRRKRDS FICSKQEDHAEAALYKNLLHSESSCSDSTN EYMDMKPGVSYVVPTKADKRRSVRIGSYIER DVTPAIMEDDELALDLEDLLSFSYQVAKGMA FLASKNCIHRDLAARNILLTHGRITKICDFGLA RDIKNDSDNYVVKGNARLPVKWMAPEIFNCV YTFESDVWSYGIFLWELFSLGSSPYPGMPVD SKFYKMIKEGFRMLSPEHAPAEMYDIMKTCW DADPLKRPTFKQIVQLIEKQISESTNHIYSNLA NCSPNRQKPVVDHHSVRINSVGSTASSSQPLL VHDDV
SEQ ID NO: 146	人类CD117 (肥大细胞/ 干细胞生长 因子受体Kit 同种型2前体) 蛋白NCBI 参考序列: NP_001087241.1	MRGARGAWDFLCVLLLLLRVQTGSSQPSVS PGEPSPPSIHPGKSDLIVRVGDEIRLLCTDPG FVKWTFEILDETENENKQNEWITEKAEATNTG KYTCTNKHGLSNSIYVFVRDPAKLFLVDRSLY GKEDNDTLVRCPLTDPEVTNYSKGCQGKPL PKDLRFIPDPKAGIMIKSVKRAYHRLCLHCSV DQEGKSVLSEKFILKVRPAFAKAVPVVSVSKA SYLLREGEEFTVTCTIKDVSSSVYSTWKREN SQTQLQEKYNSWHHGDFNYERQATLTISSAR VNDSGVFMCIYANNTFGSANVTTLLEVVDKG FINIFPMINTTVFVNDGENVDLIVEYEAFKPE HQQWIYMNRTFTDKWEDYPKSENESENIRYV SELHLTRLKGTGGTYTFLVSNSDVNAAIAFN VYVNTKPEILTYDRLVNGMLQCVAAGFPEPTI DWYFCPGTEQRCSASVLPVDVQTLNSSGPP FGKLVVQSSIDSSAFKHNGTVECKAYNDVGK TSAYFNFAFKEQIHPHTLFTPLLIGFVIVAGM MCIIVMILTYKYLQKPMYEVQWKVVEEINGNN YVYIDPTQLPYDHKWEFPRNRLSFGKTLGAG AFGKVVEATAYGLIKSDAAMTVAVKMLKPSA HLTEREALMSELKVLSYLGNHMNIIVNLLGAC TIGGPTLVITEYCCYGDLLNFLRRKRDSFICS KQEDHAEAALYKNLLHSESSCSDSTNEYM DMKPGVSYVVPTKADKRRSVRIGSYIERDVT PAIMEDDELALDLEDLLSFSYQVAKGMAFLA SKNCIHRDLAARNILLTHGRITKICDFGLARDI KNDSDNYVVKGNARLPVKWMAPEIFNCVYTF

[1002]

序列标识符	描述	序列
		ESDVWSYGIFLWELFSLGSSPYPGMPVDSKF YKMIKEGFRMLSPEHAPAEMYDIMKTCWDA DPLKRPTFKQIVQLIEKQISESTNHIYSNLANC SPNRQKPVVDHHSVRINSVGSTASSSQPLLVDV

[1003] *Fc残基根据Kabat等人中的EU索引来编号。

[1004] 其他实施方案

[1005] 本说明书中提及的所有出版物、专利和专利申请均通过引用并入本文,其程度如同每个单独的出版物或专利申请被具体和单独地指示通过引用并入的相同程度。

[1006] 虽然已经结合本发明的具体实施方案描述了本发明,但是应该理解,本发明能够具有进一步的修改,并且本申请意图覆盖本发明的任何变化、用途或修改,所述本发明的任何变化、用途或修改在总体上遵循本发明的原则,并且包括在本发明所属的领域内是已知或惯用实践之内的并且可以被应用于在上文中陈述的必要特征且落入本权利要求书的范围的此类偏离。

[1007] 其他实施方案落入本权利要求书内。

序列表

- <110> 美真达治疗公司
<120> 用于耗尽CD117+细胞的组合物和方法
<130> M103034 1280W0
<140>
<141>
<150> 62/638,051
<151> 2018-03-02
<150> 62/638,049
<151> 2018-03-02
<150> 62/576,571
<151> 2017-10-24
<150> 62/576,593
<151> 2017-10-24
<150> 62/576,625
<151> 2017-10-24
<150> 62/576,628
<151> 2017-10-24
<150> 62/576,629
<151> 2017-10-24
<150> 62/576,626
<151> 2017-10-24
<150> 62/576,588
<151> 2017-10-24
<150> 62/576,590
<151> 2017-10-24
<150> 62/576,597
<151> 2017-10-24
<150> 62/576,605
<151> 2017-10-24
<160> 146
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 1

Ser Tyr Trp Ile Gly

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 2

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

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 3

His Gly Arg Gly Tyr Asn Gly Tyr Glu Gly Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 5

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5
 <210> 6
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列的描述:合成的肽
 <400> 6
 Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
 1 5 10
 <210> 7
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列的描述:合成的多肽
 <400> 7
 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 Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Glu Asn Gly Ser Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp 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 Asp Arg Gly Gly Ala Val Ser Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 8
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 8

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

<210> 9

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 9

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

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<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	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	Ile	Ala	Pro	Tyr
				85						90				95	
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys					
				100						105					

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 11

Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Ala	Asp	Met	Asp
1				5				

<210> 12

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 12

Arg	Thr	Arg	Asn	Lys	Ala	Gly	Ser	Tyr	Thr	Thr	Glu	Tyr	Ala	Ala	Ser
1				5				10					15		
Val	Lys	Gly													

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 13

Ala Arg Glu Pro Lys Tyr Trp Ile Asp Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 14

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 15

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 16

Gln Gln Ser Tyr Ile Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 17

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 17

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gacgccgaca tggactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt actagaaaca aagcaggaag ttacaccaca 180
gaatacgccg cgtctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaagaactca 240
ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacgg cgggtgtacta ctgcgccaga 300
gagcctaaat actggatcga cttcgaccta tggggggagag gtaccttggt caccgtctcc 360
tca 363
```

<210> 18

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 18

```
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcaa agctacatcg ccccttacac ttttggcgga 300
gggaccaagg ttgagatcaa a 321
```

<210> 19

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 19

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Leu Asp Thr Asp Glu Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 20

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 20

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 Asn 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 Gly Val Ser Asp Ile Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 21

Gly Thr Phe Arg Ile Tyr Ala Ile Ser
 1 5

<210> 22

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 22

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

1

5

10

15

Gly

<210> 23

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 23

Ala Arg Gly Gly Leu Asp Thr Asp Glu Phe Asp Leu

1

5

10

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 24

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr Leu Asn

1

5

10

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 25

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1

5

<210> 26

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 26

Gln Gln Gly Val Ser Asp Ile Thr

1

5

<210> 27

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 27

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcttgcaagg cttctggagg caccttccga atctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatccctg acttcggtgt agcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcggtgt actactgcgc cagaggtgga 300
ttggacacag acgagttcga cctatggggg agaggtacct tggtcaccgt ctctctca 357

<210> 28

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 28

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggtac tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcaa ggagtcagtg acatcacttt tggcggaggg 300
accaaggttg agatcaaaa 318

<210> 29

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 29

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

<210> 30

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 30

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 Asn 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 Gly Val Ser Asp Ile Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 31

Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 32

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 32

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 33

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 33

Ala Arg Gly Gly Leu Asp Thr Asp Glu Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 34

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 35

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 36

Gln Gln Gly Val Ser Asp Ile Thr

1 5

<210> 37

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 37

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatcccta tcttttgtac agcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcggtgt actactgcgc cagaggtgga 300
ttggacacag acgagttcga cctatggggg agaggtacct tggtcaccgt ctccctca 357

<210> 38

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 38

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcaa ggagtcagtg acatcacttt tggcggaggg 300

accaaggttg agatcaaa 318

<210> 39

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ala Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Leu Asp Thr Asp Glu Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 40

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 40

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 Asn 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

$\langle 220 \rangle$

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 44

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 45

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 45

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 46

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 46

Gln Gln Gly Val Ser Asp Ile Thr

1 5

<210> 47

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 47

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc ctctatgcta tctcctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatecctg ctttcggtac cgcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcggtgt actactgcgc cagaggtgga 300
ttggacacag acgagttcga cctatggggg agaggtacct tggtcaccgt ctctctca 357

<210> 48

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 48

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcaa ggagtcagtg acatcacttt tggcggaggg 300
accaaggttg agatcaaaa 318

<210> 49

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 49

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

<210> 50

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 50

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 Asn 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 Gly Val Ser Asp Ile Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 51

Gly Thr Phe Ser Leu Tyr Ala Ile Ser
 1 5

<210> 52

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 52

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

Gly

<210> 53

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 53

Ala Arg Gly Gly Leu Asp Thr Asp Glu Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 54

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 55

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 56

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 56

Gln Gln Gly Val Ser Asp Ile Thr

1 5

<210> 57

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 57

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttctcc ctctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatccctc acttcggtct cgcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcgggtg actactgcgc cagaggtgga 300
ttggacacag acgagttcga cctatggggg agaggtacct tggtcaccgt ctctca 357

<210> 58

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 58

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggtac tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcaa ggagtcagtg acatcacttt tggcggaggg 300
accaaggttg agatcaaa 318

<210> 59

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 59

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	Asn	Tyr
			20				25						30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35				40						45		
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	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	Lys	Gly	Pro	Pro	Thr	Tyr	His	Thr	Asn	Tyr	Tyr	Tyr	Met	Asp	Val
			100							105				110	
Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser					

115	120
<210> 60	
<211> 107	
<212> PRT	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 人工序列的描述:合成的多肽	
<400> 60	
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 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 Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Tyr	
85 90 95	
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	
100 105	
<210> 61	
<211> 9	
<212> PRT	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 人工序列的描述:合成的肽	
<400> 61	
Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Ser	
1 5	
<210> 62	
<211> 17	
<212> PRT	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 人工序列的描述:合成的肽	
<400> 62	
Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys	

1	5	10	15
Gly			
<210> 63			
<211> 16			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成的肽			
<400> 63			
Ala Lys Gly Pro Pro Thr Tyr His Thr Asn Tyr Tyr Tyr Met Asp Val			
1	5	10	15
<210> 64			
<211> 11			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成的肽			
<400> 64			
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala			
1	5	10	
<210> 65			
<211> 7			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成的肽			
<400> 65			
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser			
1	5		
<210> 66			
<211> 9			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成的肽			
<400> 66			
Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Tyr Thr			
1	5		
<210> 67			

<211> 369

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 67

```
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc aattatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggcggtgt actactgcgc caagggccct 300
cctacatacc acacaaacta ctactacatg gacgtatggg gcaagggtac aactgtcacc 360
gtctcctca 369
```

<210> 68

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 68

```
gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcagcaa acaaatagtt tcccttacac ttttggcgga 300
gggaccaagg ttgagatcaa a 321
```

<210> 69

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 69

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

Ser Ser Ile Ser Gly Asp Ser Val Thr Thr 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 Lys Gly Pro Pro Thr Tyr His Thr Asn Tyr Tyr Tyr Met Asp Val
 100 105 110
 Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 70

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 70

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 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 Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 71

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Val Met Ile

1 5
<210> 72
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成的肽
<400> 72
Ser Ile Ser Gly Asp Ser Val Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 73
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成的肽
<400> 73
Ala Lys Gly Pro Pro Thr Tyr His Thr Asn Tyr Tyr Tyr Met Asp Val
1 5 10 15
<210> 74
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成的肽
<400> 74
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10
<210> 75
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成的肽
<400> 75
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 76

Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Tyr Thr

1

5

<210> 77

<211> 369

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 77

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgtca tgatctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaagc attagtgggt acagcgtaac aacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgtat 240
ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggcgggtg actactgcgc caagggccct 300
cctacatacc acacaaacta ctactacatg gacgtatggg gcaagggtac aactgtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 78

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 78

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggggtattag agctggtttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcagcaa acaaatagtt tcccttacac ttttggcgga 300
gggaccaagg ttgagatcaa a 321

<210> 79

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 79

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

<210> 80

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 80

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 Ile Ala Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100	105		
<210> 81			
<211> 9			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成的肽			
<400> 81			
Phe Thr Phe Ser Asp His Tyr Met Asp			
1	5		
<210> 82			
<211> 19			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成的肽			
<400> 82			
Arg Thr Arg Asn Lys Ala Ser Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser			
1	5	10	15
Val Lys Gly			
<210> 83			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成的肽			
<400> 83			
Ala Arg Glu Pro Lys Tyr Trp Ile Asp Phe Asp Leu			
1	5	10	
<210> 84			
<211> 11			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成的肽			
<400> 84			
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn			
1	5	10	
<210> 85			

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 85

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1

5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 86

Gln Gln Ser Tyr Ile Ala Pro Tyr Thr

1

5

<210> 87

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 87

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gaccactaca tggactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt actagaaaca aagctagtag ttacaccaca 180
gaatacgcgc cgtctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaagaactca 240
ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacgg cgggtgtacta ctgcgccaga 300
gagcctaaat actggatcga cttcgacctg tgggggagag gtaccttggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 88

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 88

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcaa agctacatcg ccccttacac ttttggcgga 300
gggaccaagg ttgagatcaa a 321

<210> 89

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 89

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

<210> 90

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 90

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 Ile Ala Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 91

Phe Thr Phe Ser Asp His Asp Met Asn
 1 5

<210> 92

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 92

Arg Thr Arg Asn Ala Ala Gly Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser
 1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 93

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 93

Ala Arg Glu Pro Lys Tyr Trp Ile Asp Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 94

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 94

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 95

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 95

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 96

Gln Gln Ser Tyr Ile Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 97

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 97

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc cagggcggtc cctgagactc 60
tcctgtacag cttctggatt caccttcagt gaccacgaca tgaactgggt ccgccagget 120
ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt actagaaacg ccgctggaag ttacaccaca 180
gaatacgccg cgtctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaagaactca 240
ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacgg cggtgtacta ctgcgccaga 300
gagcctaaat actggatcga cttcgacctg tgggggagag gtaccttggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 98

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 98

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatTTAA attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcagcaa agctacatcg ccccttacac ttttggcgga 300
 gggaccaagg ttgagatcaa a 321

<210> 99

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 99

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

<210> 100

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 100

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	Ile	Ala	Pro	Tyr
					85					90				95	
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys					
					100					105					

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 101

Phe	Thr	Phe	Val	Asp	His	Asp	Met	Asp
1				5				

<210> 102

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 102

Arg	Thr	Arg	Asn	Lys	Leu	Gly	Ser	Tyr	Thr	Thr	Glu	Tyr	Ala	Ala	Ser
1				5				10					15		
Val	Lys	Gly													

<210> 103

187

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 107

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcgta gaccacgaca tggactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt actagaaaca aactaggaag ttacaccaca 180
gaatacgccg cgtctgtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaagaactca 240
ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacgg cgggtgtacta ctgcgccaga 300
gagcctaaat actggatcga cttcgacctg tgggggagag gtaccttggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 108

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

<400> 108

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcaa agctacatcg ccccttacac ttttggcgga 300
gggaccaagg ttgagatcaa a 321

<210> 109

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 109

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 Ile Ala Pro Tyr			
	85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala			
	100	105	110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly			
	115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala			
	130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln			
145	150	155	160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser			
	165	170	175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr			
	180	185	190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser			
	195	200	205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
210			
<210> 110			
<211> 451			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成的多肽			
<400> 110			
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 Asp Ala			
	20	25	30
Asp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	35	40	45
Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Gly Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala			
	50	55	60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser			
65	70	75	80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr			
	85	90	95
Tyr Cys Ala Arg Glu Pro Lys Tyr Trp Ile Asp Phe Asp Leu Trp Gly			

100	105	110
Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser		
115	120	125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala		
130	135	140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		
145	150	155
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala		
165	170	175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val		
180	185	190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His		
195	200	205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys		
210	215	220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
225	230	235
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
245	250	255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
260	265	270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
275	280	285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
290	295	300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
305	310	315
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
325	330	335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
340	345	350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
355	360	365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
370	375	380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
385	390	395
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
405	410	415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450
 <210> 111
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列的描述:合成的多肽
 <400> 111
 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 Asp Ala
 20 25 30
 Asp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Gly Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Arg Glu Pro Lys Tyr Trp Ile Asp Phe Asp Leu Trp Gly
 100 105 110
 Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	
210							215					220				
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	
225					230					235					240	
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
			245						250					255		
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Cys	Val	Ser	His	
			260					265						270		
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
			275				280					285				
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
290						295					300					
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
305					310					315					320	
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	
			325						330					335		
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	
			340					345						350		
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
			355				360					365				
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
370						375					380					
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
385					390					395					400	
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
				405					410					415		
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
			420					425					430			
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
			435				440					445				
Pro	Gly	Lys														
450																
<210>	112															
<211>	451															
<212>	PRT															
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)															
<220>																
<223>	人工序列的描述:合成的多肽															
<400>	112															

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	Asp	Ala
			20						25					30	
Asp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40						45		
Gly	Arg	Thr	Arg	Asn	Lys	Ala	Gly	Ser	Tyr	Thr	Thr	Glu	Tyr	Ala	Ala
		50				55					60				
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Ser
65					70					75					80
Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
				85					90						95
Tyr	Cys	Ala	Arg	Glu	Pro	Lys	Tyr	Trp	Ile	Asp	Phe	Asp	Leu	Trp	Gly
			100						105					110	
Arg	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
			115						120					125	
Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala
			130					135					140		
Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
145					150					155					160
Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
				165					170					175	
Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
			180						185					190	
Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
			195						200					205	
Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
			210						215					220	
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
225					230					235					240
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
				245					250					255	
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Cys	Val	Ser	His
			260						265					270	
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
			275						280					285	
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
			290						295					300	
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly

305	310	315	320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile			
	325	330	335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val			
	340	345	350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser			
	355	360	365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu			
	370	375	380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro			
385	390	395	400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val			
	405	410	415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met			
	420	425	430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser			
	435	440	445
Pro Gly Lys			
450			
<210> 113			
<211> 451			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成的多肽			
<400> 113			
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 Asp Ala			
	20	25	30
Asp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	35	40	45
Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Gly Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala			
	50	55	60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser			
65	70	75	80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr			
	85	90	95
Tyr Cys Ala Arg Glu Pro Lys Tyr Trp Ile Asp Phe Asp Leu Trp Gly			

100	105	110
Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser		
115	120	125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala		
130	135	140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		
145	150	155
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala		
165	170	175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val		
180	185	190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His		
195	200	205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys		
210	215	220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
225	230	235
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
245	250	255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Cys Val Ser His		
260	265	270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
275	280	285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
290	295	300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
305	310	315
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
325	330	335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
340	345	350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
355	360	365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
370	375	380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
385	390	395
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
405	410	415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450
 <210> 114
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 人工序列的描述:合成的多肽
 <400> 114
 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 Asp Ala
 20 25 30
 Asp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Gly Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Arg Glu Pro Lys Tyr Trp Ile Asp Phe Asp Leu Trp Gly
 100 105 110
 Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
210							215					220			
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
225					230					235					240
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
			245						250					255	
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Cys	Val	Ser	His
			260					265						270	
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
			275				280					285			
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
			290			295					300				
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
305					310					315					320
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
			325					330						335	
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
			340					345						350	
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
			355				360					365			
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
			370			375					380				
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
385					390					395					400
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
			405					410						415	
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
			420				425					430			
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	Ala	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
			435				440					445			
Pro	Gly	Lys													
450															
<210>	115														
<211>	213														
<212>	PRT														
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)														
<220>															
<223>	人工序列的描述:合成的多肽														
<400>	115														

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	Asn	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	Gly	Val	Ser	Asp	Ile	Thr
				85					90					95	
Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro
				100					105					110	
Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr
			115					120					125		
Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys
			130				135					140			
Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu
145					150					155				160	
Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser
				165					170					175	
Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala
			180						185					190	
Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe
		195					200						205		
Asn	Arg	Gly	Glu	Cys											
			210												

<210> 116

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 116

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

Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
35				40				45							
Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Asp	Phe	Gly	Val	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
50				55				60							
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70				75				80			
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
85				90				95							
Ala	Arg	Gly	Gly	Leu	Asp	Thr	Asp	Glu	Phe	Asp	Leu	Trp	Gly	Arg	Gly
100				105				110							
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
115				120				125							
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
130				135				140							
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
145				150				155				160			
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
165				170				175							
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
180				185				190							
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
195				200				205							
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys
210				215				220							
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
225				230				235				240			
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
245				250				255							
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp
260				265				270							
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
275				280				285							
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
290				295				300							
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
305				310				315				320			
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys
325				330				335							
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr

340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu	Leu Thr Lys Asn Gln Val	Ser Leu Thr
355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr	Pro Ser Asp Ile Ala Val	Glu Trp Glu
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn	Asn Tyr Lys Thr Thr Pro	Pro Val Leu
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe	Leu Tyr Ser Lys Leu Thr	Val Asp Lys
405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn	Val Phe Ser Cys Ser Val	Met His Glu
420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr	Gln Lys Ser Leu Ser Leu	Ser Pro Gly
435	440	445
Lys		
<210> 117		
<211> 449		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成的多肽		
<400> 117		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly	Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser	
1	5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala	Ser Gly Gly Thr Phe Arg Ile Tyr	
20	25	30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala	Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
35	40	45
Gly Gly Ile Ile Pro Asp Phe Gly	Val Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe	
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala	Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr	
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser	Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
85	90	95
Ala Arg Gly Gly Leu Asp Thr Asp	Glu Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly	
100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala	Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe	
115	120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser	Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu	
130	135	140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp			
145	150	155	160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu			
	165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
	180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro			
	195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys			
	210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro			
225	230	235	240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser			
	245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Cys Val Ser His Glu Asp			
	260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn			
	275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val			
	290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
305	310	315	320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
	325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
	340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
	355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
	370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
385	390	395	400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
	405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
	420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
	435	440	445
Lys			

<210> 118

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 118

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Arg	Ile	Tyr
			20					25					30		
Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35				40					45			
Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Asp	Phe	Gly	Val	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
		50				55				60					
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70				75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85				90					95		
Ala	Arg	Gly	Gly	Leu	Asp	Thr	Asp	Glu	Phe	Asp	Leu	Trp	Gly	Arg	Gly
			100					105					110		
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
			115				120					125			
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
			130			135				140					
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
145					150				155					160	
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
				165				170					175		
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
			180					185					190		
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
			195				200					205			
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys
			210			215				220					
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro
225					230					235				240	
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
			245					250					255		

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Cys Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
435	440	445

Lys

<210> 119

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 119

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

50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Gly Gly Leu Asp Thr Asp Glu Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly		
100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe		
115	120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu		
130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp		
145	150	155
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Cys Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
355	360	365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

Lys

<210> 120

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 120

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Arg Ile Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Asp Phe Gly Val Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Leu Asp Thr Asp Glu Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

				165					170					175			
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser		
				180					185					190			
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro		
				195				200						205			
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys		
				210				215						220			
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro		
225							230				235				240		
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser		
				245					250					255			
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Cys	Val	Ser	His	Glu	Asp		
				260					265					270			
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn		
				275					280					285			
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val		
				290				295						300			
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu		
305							310				315				320		
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys		
				325					330					335			
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr		
				340					345					350			
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr		
				355					360					365			
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu		
				370					375					380			
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu		
385							390				395				400		
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys		
				405					410					415			
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu		
				420					425					430			
Ala	Leu	His	Asn	Ala	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly		
				435				440						445			

Lys

<210> 121

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 121

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

<210> 122

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 122

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

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

<210> 123

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 123

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

Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
35				40				45							
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
50				55				60							
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65				70				75				80			
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
85				90				95							
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
100				105				110							
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
115				120				125							
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
130				135				140							
Val	Val	Val	Cys	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145				150				155				160			
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
165				170				175							
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
180				185				190							
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
195				200				205							
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
210				215				220							
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu
225				230				235				240			
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
245				250				255							
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
260				265				270							
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
275				280				285							
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
290				295				300							
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305				310				315				320			
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
325				330											

<210> 124

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 124

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35				40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
			50			55				60					
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70				75					80	
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90					95		
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
			115				120					125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
			130				135				140				
Val	Val	Val	Cys	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150				155					160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165					170					175		
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185					190		
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
			195				200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
			210				215				220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu
225					230				235					240	
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245					250					255		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn

260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		320
325	330	
<210> 125		
<211> 330		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成的多肽		
<400> 125		
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys		
1	5	10
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
85	90	95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
100	105	110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
115	120	125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
130	135	140
Val Val Val Cys Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
145	150	155
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		

180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu		
225	230	235
240		
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr		
305	310	315
320		
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330	

<210> 126

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的多肽

<400> 126

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

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

<210> 127

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4) .. (4)

<223> Ser或Arg

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5) .. (5)

<223> Ser、Ile或Leu

<400> 127

Gly Thr Phe Xaa Xaa Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 128

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5) .. (5)

<223> Ile、Asp、Ala或His

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8) .. (8)

<223> Thr、Val或Leu

<400> 128

Gly Ile Ile Pro Xaa Phe Gly Xaa Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 129

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 129

Ala Arg Gly Gly Leu Asp Thr Asp Glu Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 130

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 130

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 131

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 131

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 132

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 132

Gln Gln Gly Val Ser Asp Ile Thr

1 5

<210> 133

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5) .. (5)

<223> Asn或Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7) .. (7)

<223> Ala或Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9) .. (9)

<223> Ser或Ile
<400> 133
Phe Thr Phe Ser Xaa Tyr Xaa Met Xaa
1 5
<210> 134
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成的肽
<220>
<221> MOD_RES
<222> (1) .. (1)
<223> Ala或Ser
<220>
<221> MOD_RES
<222> (5) .. (5)
<223> Ser或Asp
<220>
<221> MOD_RES
<222> (6) .. (6)
<223> Gly或Ser
<220>
<221> MOD_RES
<222> (7) .. (7)
<223> Gly或Val
<220>
<221> MOD_RES
<222> (8) .. (8)
<223> Ser或Thr
<400> 134
Xaa Ile Ser Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 135
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 135

Ala Lys Gly Pro Pro Thr Tyr His Thr Asn Tyr Tyr Tyr Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 136

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 136

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 137

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 137

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 138

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 138

Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 139

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4) .. (4)

<223> Ser或Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6) .. (6)

<223> His或Ala

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7) .. (7)

<223> Tyr或Asp

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9) .. (9)

<223> Asp或Asn

<400> 139

Phe Thr Phe Xaa Asp Xaa Xaa Met Xaa

1 5

<210> 140

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5) .. (5)

<223> Lys或Ala

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6) .. (6)

<223> Ala或Leu

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7) .. (7)

<223> Ser或Gly

<400> 140

Arg Thr Arg Asn Xaa Xaa Xaa Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 141

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 141

Ala Arg Glu Pro Lys Tyr Trp Ile Asp Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 142

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 142

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 143

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 143

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的肽

<400> 144

Gln Gln Ser Tyr Ile Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 145

<211> 976

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 145

Met	Arg	Gly	Ala	Arg	Gly	Ala	Trp	Asp	Phe	Leu	Cys	Val	Leu	Leu	Leu
1				5				10					15		
Leu	Leu	Arg	Val	Gln	Thr	Gly	Ser	Ser	Gln	Pro	Ser	Val	Ser	Pro	Gly
			20					25					30		
Glu	Pro	Ser	Pro	Pro	Ser	Ile	His	Pro	Gly	Lys	Ser	Asp	Leu	Ile	Val
			35				40					45			
Arg	Val	Gly	Asp	Glu	Ile	Arg	Leu	Leu	Cys	Thr	Asp	Pro	Gly	Phe	Val
			50				55				60				
Lys	Trp	Thr	Phe	Glu	Ile	Leu	Asp	Glu	Thr	Asn	Glu	Asn	Lys	Gln	Asn
65				70						75				80	
Glu	Trp	Ile	Thr	Glu	Lys	Ala	Glu	Ala	Thr	Asn	Thr	Gly	Lys	Tyr	Thr
				85					90					95	
Cys	Thr	Asn	Lys	His	Gly	Leu	Ser	Asn	Ser	Ile	Tyr	Val	Phe	Val	Arg
			100					105					110		
Asp	Pro	Ala	Lys	Leu	Phe	Leu	Val	Asp	Arg	Ser	Leu	Tyr	Gly	Lys	Glu
			115					120					125		
Asp	Asn	Asp	Thr	Leu	Val	Arg	Cys	Pro	Leu	Thr	Asp	Pro	Glu	Val	Thr
			130					135					140		
Asn	Tyr	Ser	Leu	Lys	Gly	Cys	Gln	Gly	Lys	Pro	Leu	Pro	Lys	Asp	Leu
145				150						155				160	
Arg	Phe	Ile	Pro	Asp	Pro	Lys	Ala	Gly	Ile	Met	Ile	Lys	Ser	Val	Lys
				165						170				175	
Arg	Ala	Tyr	His	Arg	Leu	Cys	Leu	His	Cys	Ser	Val	Asp	Gln	Glu	Gly
			180					185					190		
Lys	Ser	Val	Leu	Ser	Glu	Lys	Phe	Ile	Leu	Lys	Val	Arg	Pro	Ala	Phe
			195					200					205		
Lys	Ala	Val	Pro	Val	Val	Ser	Val	Ser	Lys	Ala	Ser	Tyr	Leu	Leu	Arg
			210					215				220			
Glu	Gly	Glu	Glu	Phe	Thr	Val	Thr	Cys	Thr	Ile	Lys	Asp	Val	Ser	Ser
225				230						235				240	
Ser	Val	Tyr	Ser	Thr	Trp	Lys	Arg	Glu	Asn	Ser	Gln	Thr	Lys	Leu	Gln
				245						250				255	
Glu	Lys	Tyr	Asn	Ser	Trp	His	His	Gly	Asp	Phe	Asn	Tyr	Glu	Arg	Gln
			260					265					270		
Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Ala	Arg	Val	Asn	Asp	Ser	Gly	Val	Phe
			275					280					285		
Met	Cys	Tyr	Ala	Asn	Asn	Thr	Phe	Gly	Ser	Ala	Asn	Val	Thr	Thr	Thr

290	295	300
Leu Glu Val Val Asp Lys Gly Phe Ile Asn Ile Phe Pro Met Ile Asn		
305	310	315
Thr Thr Val Phe Val Asn Asp Gly Glu Asn Val Asp Leu Ile Val Glu		
325	330	335
Tyr Glu Ala Phe Pro Lys Pro Glu His Gln Gln Trp Ile Tyr Met Asn		
340	345	350
Arg Thr Phe Thr Asp Lys Trp Glu Asp Tyr Pro Lys Ser Glu Asn Glu		
355	360	365
Ser Asn Ile Arg Tyr Val Ser Glu Leu His Leu Thr Arg Leu Lys Gly		
370	375	380
Thr Glu Gly Gly Thr Tyr Thr Phe Leu Val Ser Asn Ser Asp Val Asn		
385	390	395
Ala Ala Ile Ala Phe Asn Val Tyr Val Asn Thr Lys Pro Glu Ile Leu		
405	410	415
Thr Tyr Asp Arg Leu Val Asn Gly Met Leu Gln Cys Val Ala Ala Gly		
420	425	430
Phe Pro Glu Pro Thr Ile Asp Trp Tyr Phe Cys Pro Gly Thr Glu Gln		
435	440	445
Arg Cys Ser Ala Ser Val Leu Pro Val Asp Val Gln Thr Leu Asn Ser		
450	455	460
Ser Gly Pro Pro Phe Gly Lys Leu Val Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser		
465	470	475
Ser Ala Phe Lys His Asn Gly Thr Val Glu Cys Lys Ala Tyr Asn Asp		
485	490	495
Val Gly Lys Thr Ser Ala Tyr Phe Asn Phe Ala Phe Lys Gly Asn Asn		
500	505	510
Lys Glu Gln Ile His Pro His Thr Leu Phe Thr Pro Leu Leu Ile Gly		
515	520	525
Phe Val Ile Val Ala Gly Met Met Cys Ile Ile Val Met Ile Leu Thr		
530	535	540
Tyr Lys Tyr Leu Gln Lys Pro Met Tyr Glu Val Gln Trp Lys Val Val		
545	550	555
Glu Glu Ile Asn Gly Asn Asn Tyr Val Tyr Ile Asp Pro Thr Gln Leu		
565	570	575
Pro Tyr Asp His Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asn Arg Leu Ser Phe Gly		
580	585	590
Lys Thr Leu Gly Ala Gly Ala Phe Gly Lys Val Val Glu Ala Thr Ala		
595	600	605

Tyr Gly Leu Ile Lys Ser Asp Ala Ala Met Thr Val Ala Val Lys Met		
610	615	620
Leu Lys Pro Ser Ala His Leu Thr Glu Arg Glu Ala Leu Met Ser Glu		
625	630	635 640
Leu Lys Val Leu Ser Tyr Leu Gly Asn His Met Asn Ile Val Asn Leu		
645	650	655
Leu Gly Ala Cys Thr Ile Gly Gly Pro Thr Leu Val Ile Thr Glu Tyr		
660	665	670
Cys Cys Tyr Gly Asp Leu Leu Asn Phe Leu Arg Arg Lys Arg Asp Ser		
675	680	685
Phe Ile Cys Ser Lys Gln Glu Asp His Ala Glu Ala Ala Leu Tyr Lys		
690	695	700
Asn Leu Leu His Ser Lys Glu Ser Ser Cys Ser Asp Ser Thr Asn Glu		
705	710	715 720
Tyr Met Asp Met Lys Pro Gly Val Ser Tyr Val Val Pro Thr Lys Ala		
725	730	735
Asp Lys Arg Arg Ser Val Arg Ile Gly Ser Tyr Ile Glu Arg Asp Val		
740	745	750
Thr Pro Ala Ile Met Glu Asp Asp Glu Leu Ala Leu Asp Leu Glu Asp		
755	760	765
Leu Leu Ser Phe Ser Tyr Gln Val Ala Lys Gly Met Ala Phe Leu Ala		
770	775	780
Ser Lys Asn Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu		
785	790	795 800
Thr His Gly Arg Ile Thr Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp		
805	810	815
Ile Lys Asn Asp Ser Asn Tyr Val Val Lys Gly Asn Ala Arg Leu Pro		
820	825	830
Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ser Ile Phe Asn Cys Val Tyr Thr Phe		
835	840	845
Glu Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Ile Phe Leu Trp Glu Leu Phe Ser		
850	855	860
Leu Gly Ser Ser Pro Tyr Pro Gly Met Pro Val Asp Ser Lys Phe Tyr		
865	870	875 880
Lys Met Ile Lys Glu Gly Phe Arg Met Leu Ser Pro Glu His Ala Pro		
885	890	895
Ala Glu Met Tyr Asp Ile Met Lys Thr Cys Trp Asp Ala Asp Pro Leu		
900	905	910
Lys Arg Pro Thr Phe Lys Gln Ile Val Gln Leu Ile Glu Lys Gln Ile		

915	920	925
Ser Glu Ser Thr Asn His Ile Tyr Ser Asn Leu Ala Asn Cys Ser Pro		
930	935	940
Asn Arg Gln Lys Pro Val Val Asp His Ser Val Arg Ile Asn Ser Val		
945	950	955
Gly Ser Thr Ala Ser Ser Ser Gln Pro Leu Leu Val His Asp Asp Val		
965	970	975
<210> 146		
<211> 972		
<212> PRT		
<213> 智人 (Homo sapiens)		
<400> 146		
Met Arg Gly Ala Arg Gly Ala Trp Asp Phe Leu Cys Val Leu Leu Leu		
1	5	10
Leu Leu Arg Val Gln Thr Gly Ser Ser Gln Pro Ser Val Ser Pro Gly		
20	25	30
Glu Pro Ser Pro Pro Ser Ile His Pro Gly Lys Ser Asp Leu Ile Val		
35	40	45
Arg Val Gly Asp Glu Ile Arg Leu Leu Cys Thr Asp Pro Gly Phe Val		
50	55	60
Lys Trp Thr Phe Glu Ile Leu Asp Glu Thr Asn Glu Asn Lys Gln Asn		
65	70	75
Glu Trp Ile Thr Glu Lys Ala Glu Ala Thr Asn Thr Gly Lys Tyr Thr		
85	90	95
Cys Thr Asn Lys His Gly Leu Ser Asn Ser Ile Tyr Val Phe Val Arg		
100	105	110
Asp Pro Ala Lys Leu Phe Leu Val Asp Arg Ser Leu Tyr Gly Lys Glu		
115	120	125
Asp Asn Asp Thr Leu Val Arg Cys Pro Leu Thr Asp Pro Glu Val Thr		
130	135	140
Asn Tyr Ser Leu Lys Gly Cys Gln Gly Lys Pro Leu Pro Lys Asp Leu		
145	150	155
Arg Phe Ile Pro Asp Pro Lys Ala Gly Ile Met Ile Lys Ser Val Lys		
165	170	175
Arg Ala Tyr His Arg Leu Cys Leu His Cys Ser Val Asp Gln Glu Gly		
180	185	190
Lys Ser Val Leu Ser Glu Lys Phe Ile Leu Lys Val Arg Pro Ala Phe		
195	200	205
Lys Ala Val Pro Val Val Ser Val Ser Lys Ala Ser Tyr Leu Leu Arg		

210	215	220
Glu Gly Glu Glu Phe Thr Val Thr Cys Thr Ile Lys Asp Val Ser Ser		
225	230	235
Ser Val Tyr Ser Thr Trp Lys Arg Glu Asn Ser Gln Thr Lys Leu Gln		240
	245	250
Glu Lys Tyr Asn Ser Trp His His Gly Asp Phe Asn Tyr Glu Arg Gln		255
	260	265
Ala Thr Leu Thr Ile Ser Ser Ala Arg Val Asn Asp Ser Gly Val Phe		270
	275	280
Met Cys Tyr Ala Asn Asn Thr Phe Gly Ser Ala Asn Val Thr Thr Thr		285
290	295	300
Leu Glu Val Val Asp Lys Gly Phe Ile Asn Ile Phe Pro Met Ile Asn		
305	310	315
Thr Thr Val Phe Val Asn Asp Gly Glu Asn Val Asp Leu Ile Val Glu		320
	325	330
Tyr Glu Ala Phe Pro Lys Pro Glu His Gln Gln Trp Ile Tyr Met Asn		335
	340	345
Arg Thr Phe Thr Asp Lys Trp Glu Asp Tyr Pro Lys Ser Glu Asn Glu		350
	355	360
Ser Asn Ile Arg Tyr Val Ser Glu Leu His Leu Thr Arg Leu Lys Gly		365
370	375	380
Thr Glu Gly Gly Thr Tyr Thr Phe Leu Val Ser Asn Ser Asp Val Asn		
385	390	395
Ala Ala Ile Ala Phe Asn Val Tyr Val Asn Thr Lys Pro Glu Ile Leu		400
	405	410
Thr Tyr Asp Arg Leu Val Asn Gly Met Leu Gln Cys Val Ala Ala Gly		415
	420	425
Phe Pro Glu Pro Thr Ile Asp Trp Tyr Phe Cys Pro Gly Thr Glu Gln		430
	435	440
Arg Cys Ser Ala Ser Val Leu Pro Val Asp Val Gln Thr Leu Asn Ser		445
450	455	460
Ser Gly Pro Pro Phe Gly Lys Leu Val Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser		
465	470	475
Ser Ala Phe Lys His Asn Gly Thr Val Glu Cys Lys Ala Tyr Asn Asp		480
	485	490
Val Gly Lys Thr Ser Ala Tyr Phe Asn Phe Ala Phe Lys Glu Gln Ile		495
	500	505
His Pro His Thr Leu Phe Thr Pro Leu Leu Ile Gly Phe Val Ile Val		510
515	520	525

Ala Gly Met Met Cys Ile Ile Val Met Ile Leu Thr Tyr Lys Tyr Leu		
530	535	540
Gln Lys Pro Met Tyr Glu Val Gln Trp Lys Val Val Glu Glu Ile Asn		
545	550	555
Gly Asn Asn Tyr Val Tyr Ile Asp Pro Thr Gln Leu Pro Tyr Asp His		
	565	570
Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asn Arg Leu Ser Phe Gly Lys Thr Leu Gly		
	580	585
Ala Gly Ala Phe Gly Lys Val Val Glu Ala Thr Ala Tyr Gly Leu Ile		
	595	600
Lys Ser Asp Ala Ala Met Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Pro Ser		
	610	615
Ala His Leu Thr Glu Arg Glu Ala Leu Met Ser Glu Leu Lys Val Leu		
625	630	635
Ser Tyr Leu Gly Asn His Met Asn Ile Val Asn Leu Leu Gly Ala Cys		
	645	650
Thr Ile Gly Gly Pro Thr Leu Val Ile Thr Glu Tyr Cys Cys Tyr Gly		
	660	665
Asp Leu Leu Asn Phe Leu Arg Arg Lys Arg Asp Ser Phe Ile Cys Ser		
	675	680
Lys Gln Glu Asp His Ala Glu Ala Ala Leu Tyr Lys Asn Leu Leu His		
	690	695
Ser Lys Glu Ser Ser Cys Ser Asp Ser Thr Asn Glu Tyr Met Asp Met		
705	710	715
Lys Pro Gly Val Ser Tyr Val Val Pro Thr Lys Ala Asp Lys Arg Arg		
	725	730
Ser Val Arg Ile Gly Ser Tyr Ile Glu Arg Asp Val Thr Pro Ala Ile		
	740	745
Met Glu Asp Asp Glu Leu Ala Leu Asp Leu Glu Asp Leu Leu Ser Phe		
	755	760
Ser Tyr Gln Val Ala Lys Gly Met Ala Phe Leu Ala Ser Lys Asn Cys		
	770	775
Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu Thr His Gly Arg		
785	790	795
Ile Thr Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Lys Asn Asp		
	805	810
Ser Asn Tyr Val Val Lys Gly Asn Ala Arg Leu Pro Val Lys Trp Met		
	820	825
Ala Pro Glu Ser Ile Phe Asn Cys Val Tyr Thr Phe Glu Ser Asp Val		

835	840	845
Trp Ser Tyr Gly Ile Phe Leu	Trp Glu Leu Phe Ser Leu Gly Ser Ser	
850	855	860
Pro Tyr Pro Gly Met Pro Val Asp Ser Lys Phe Tyr Lys Met Ile Lys		
865	870	875
Glu Gly Phe Arg Met Leu Ser Pro Glu His Ala Pro Ala Glu Met Tyr		880
885	890	895
Asp Ile Met Lys Thr Cys Trp Asp Ala Asp Pro Leu Lys Arg Pro Thr		
900	905	910
Phe Lys Gln Ile Val Gln Leu Ile Glu Lys Gln Ile Ser Glu Ser Thr		
915	920	925
Asn His Ile Tyr Ser Asn Leu Ala Asn Cys Ser Pro Asn Arg Gln Lys		
930	935	940
Pro Val Val Asp His Ser Val Arg Ile Asn Ser Val Gly Ser Thr Ala		
945	950	955
Ser Ser Ser Gln Pro Leu Leu Val His Asp Asp Val		960
965	970	

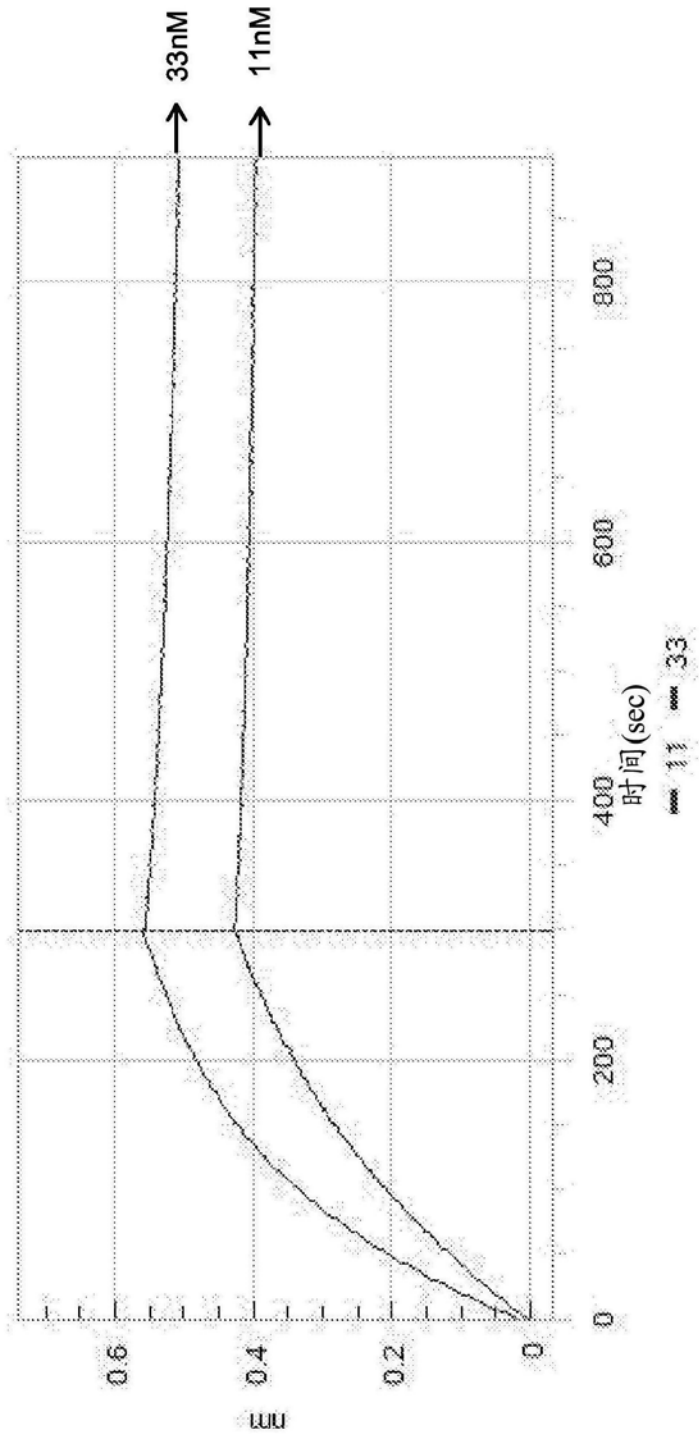


图1

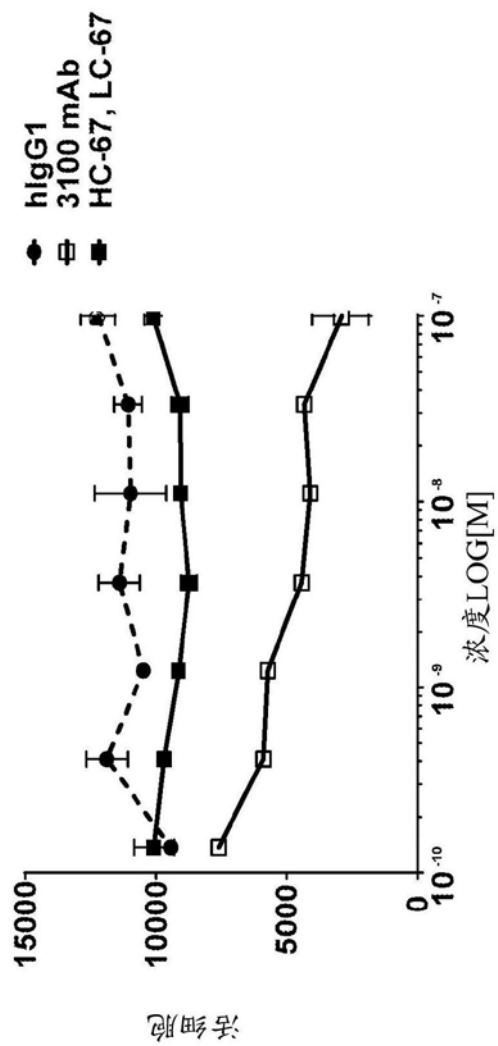


图2A

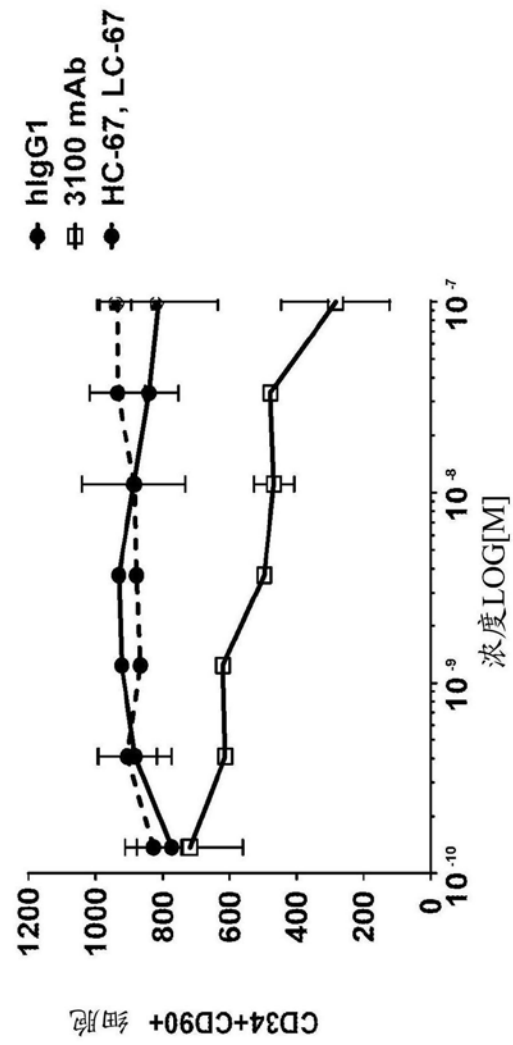


图2B

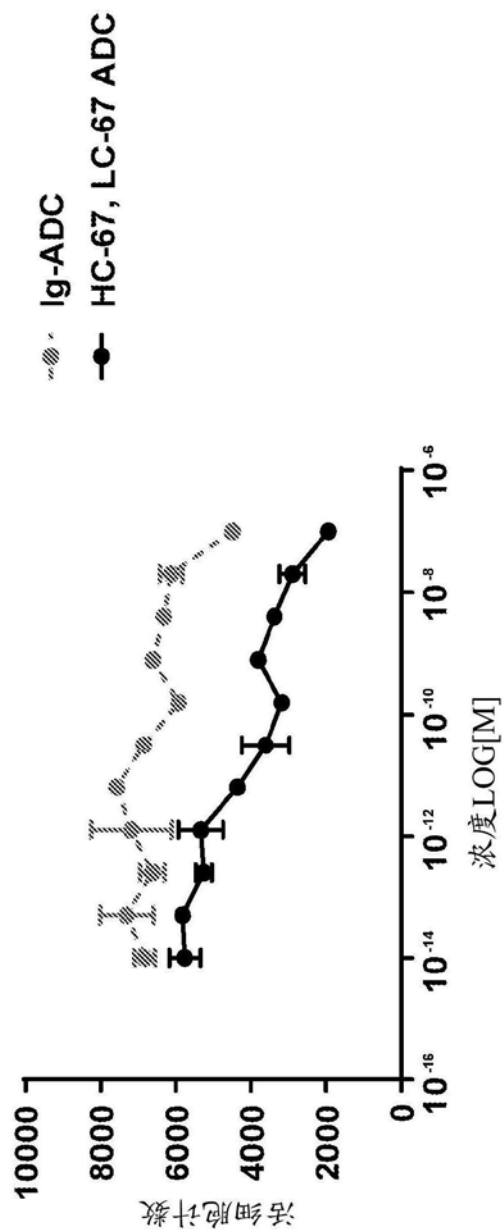


图3A

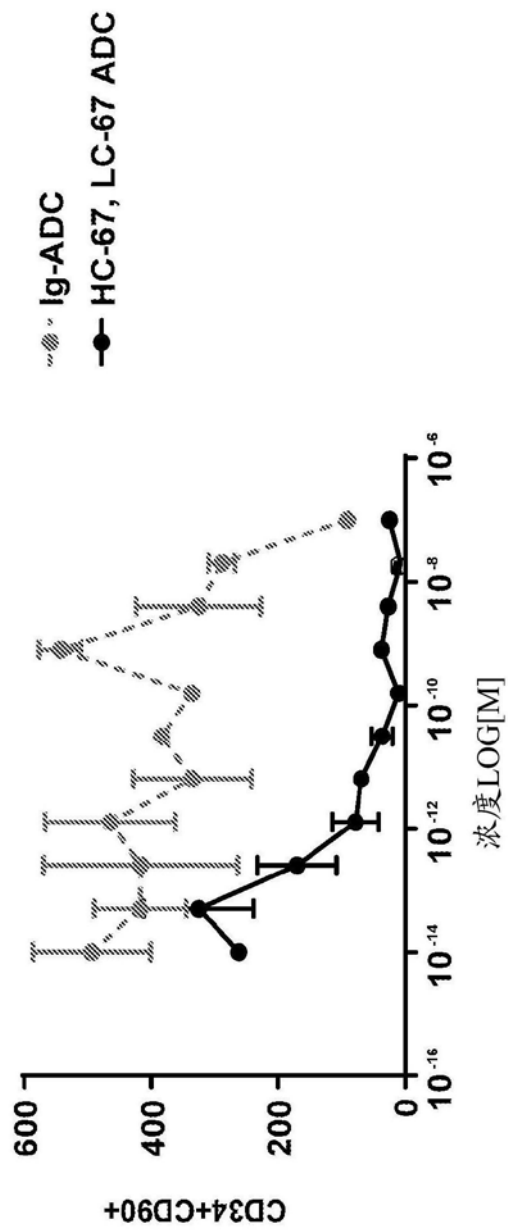


图3B

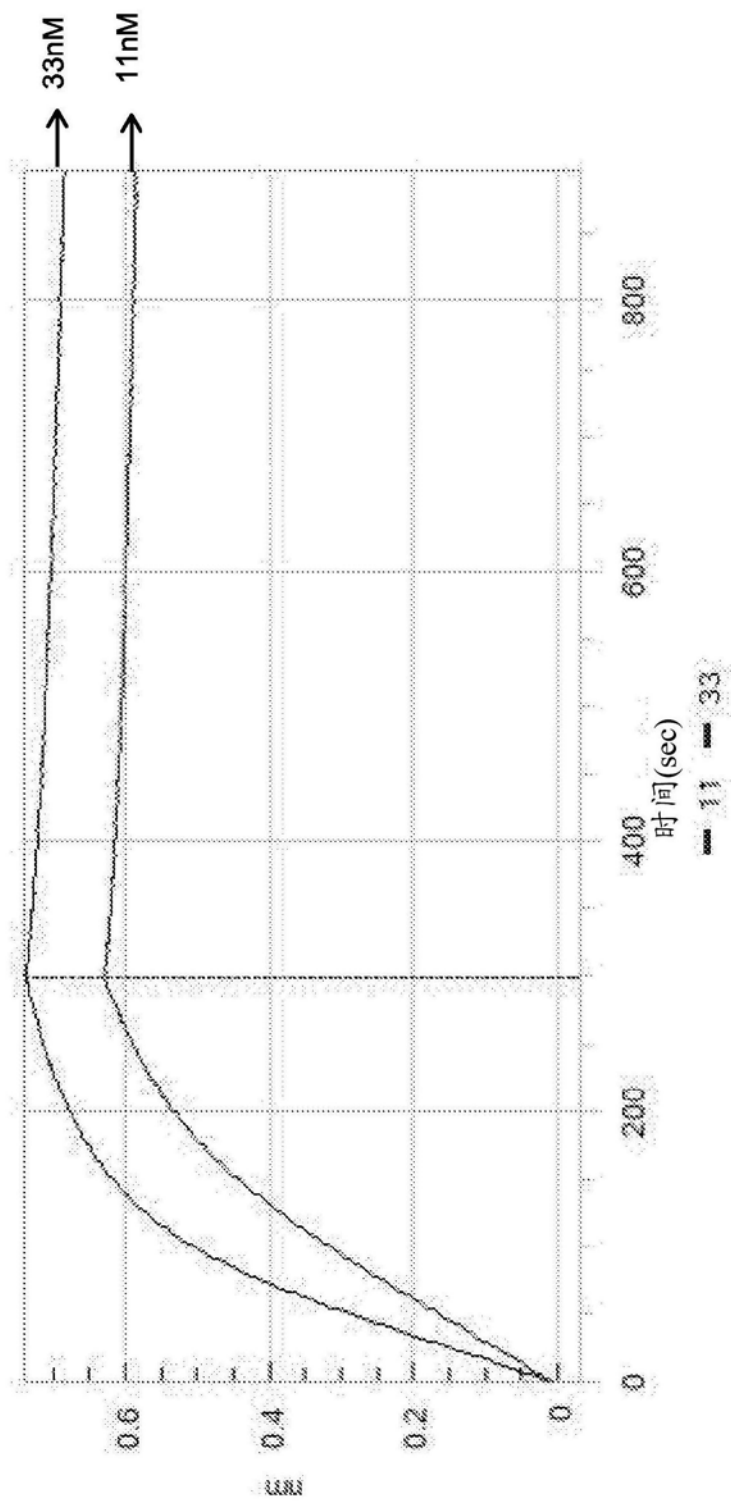


图4

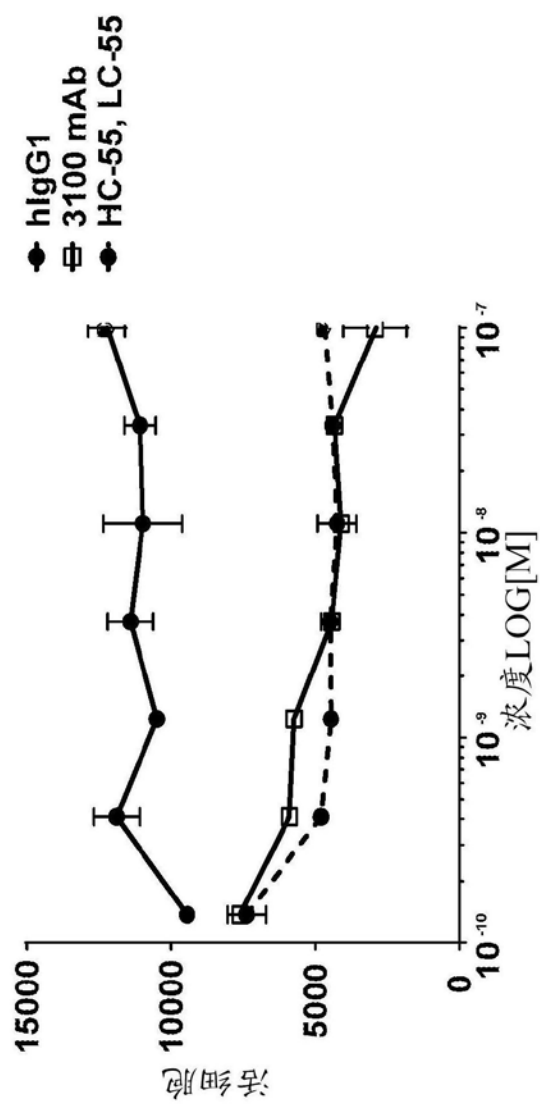


图5A

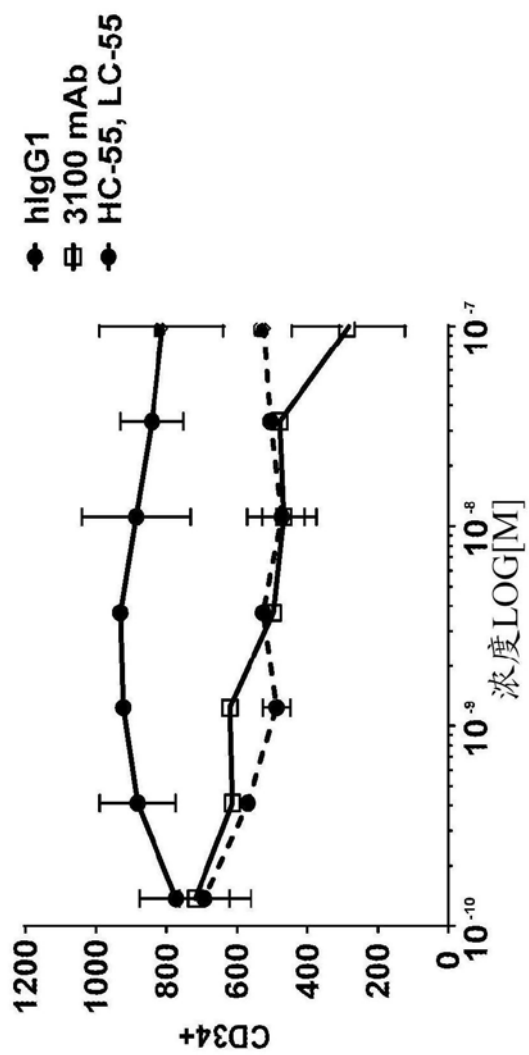


图5B

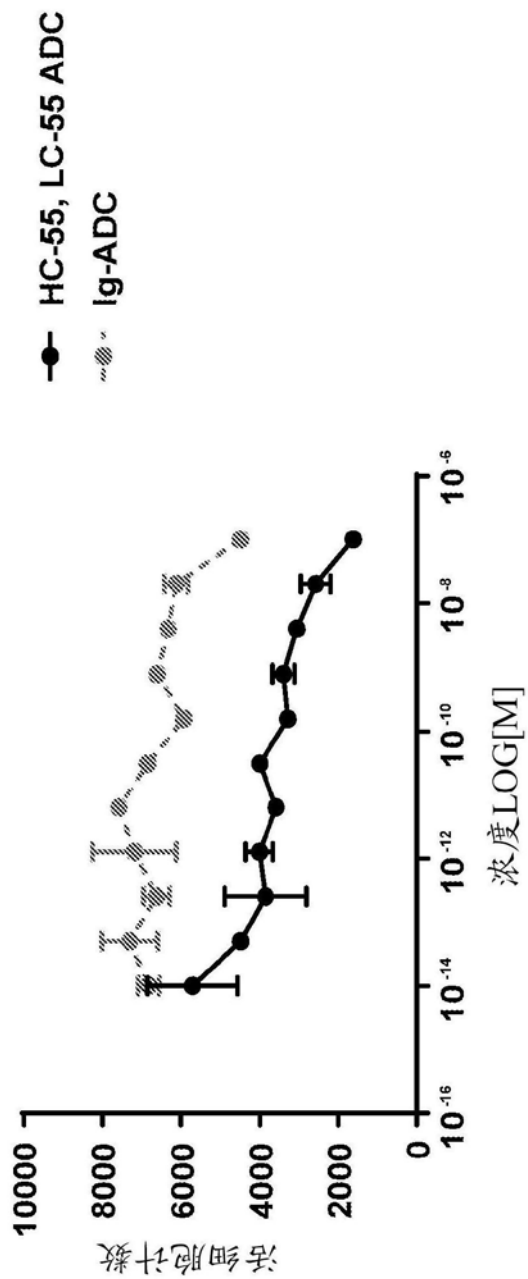


图6A

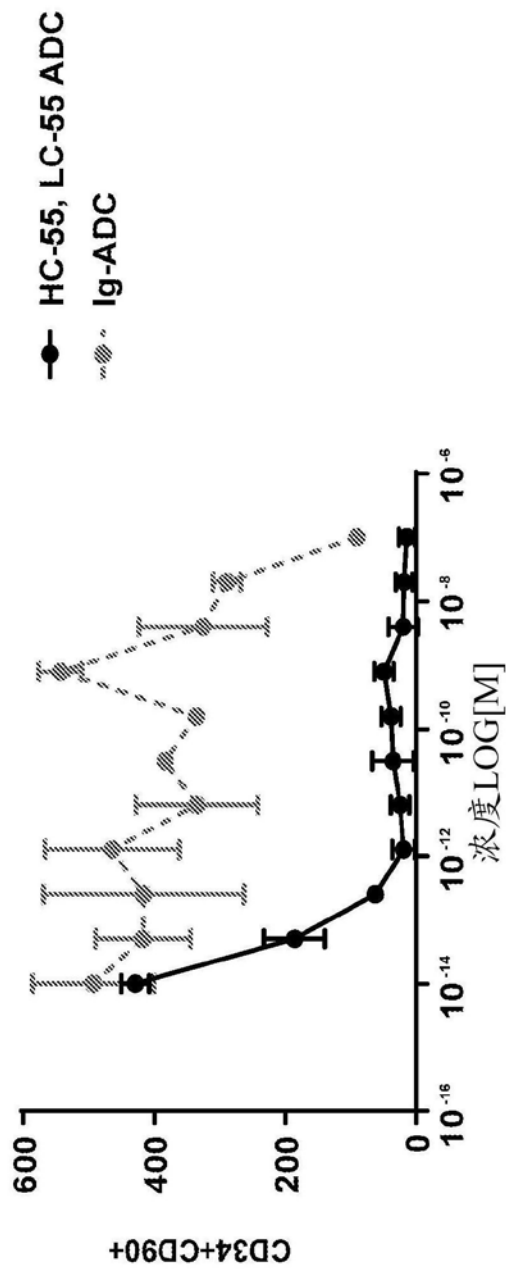


图6B

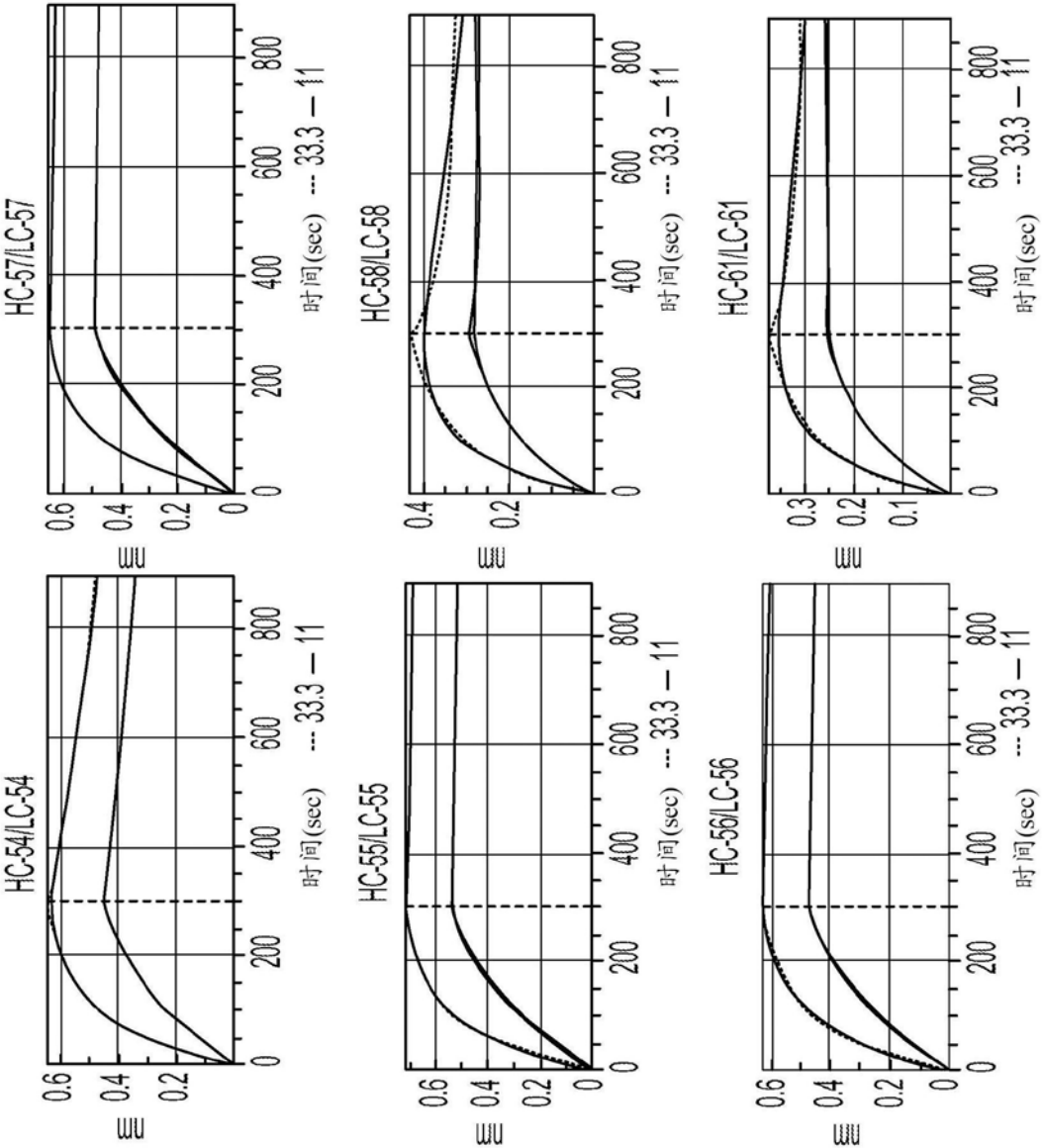


图7A

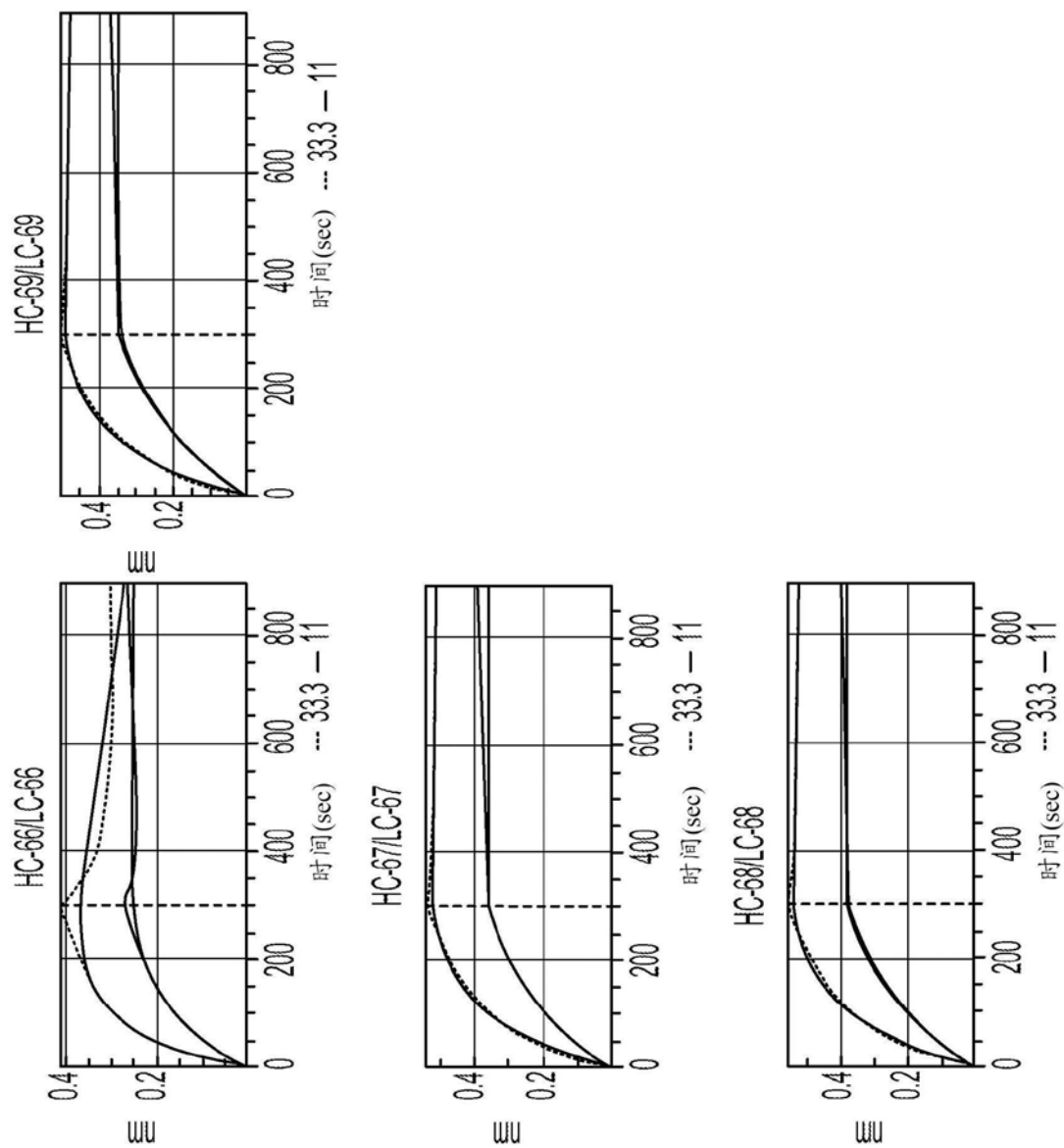


图7B

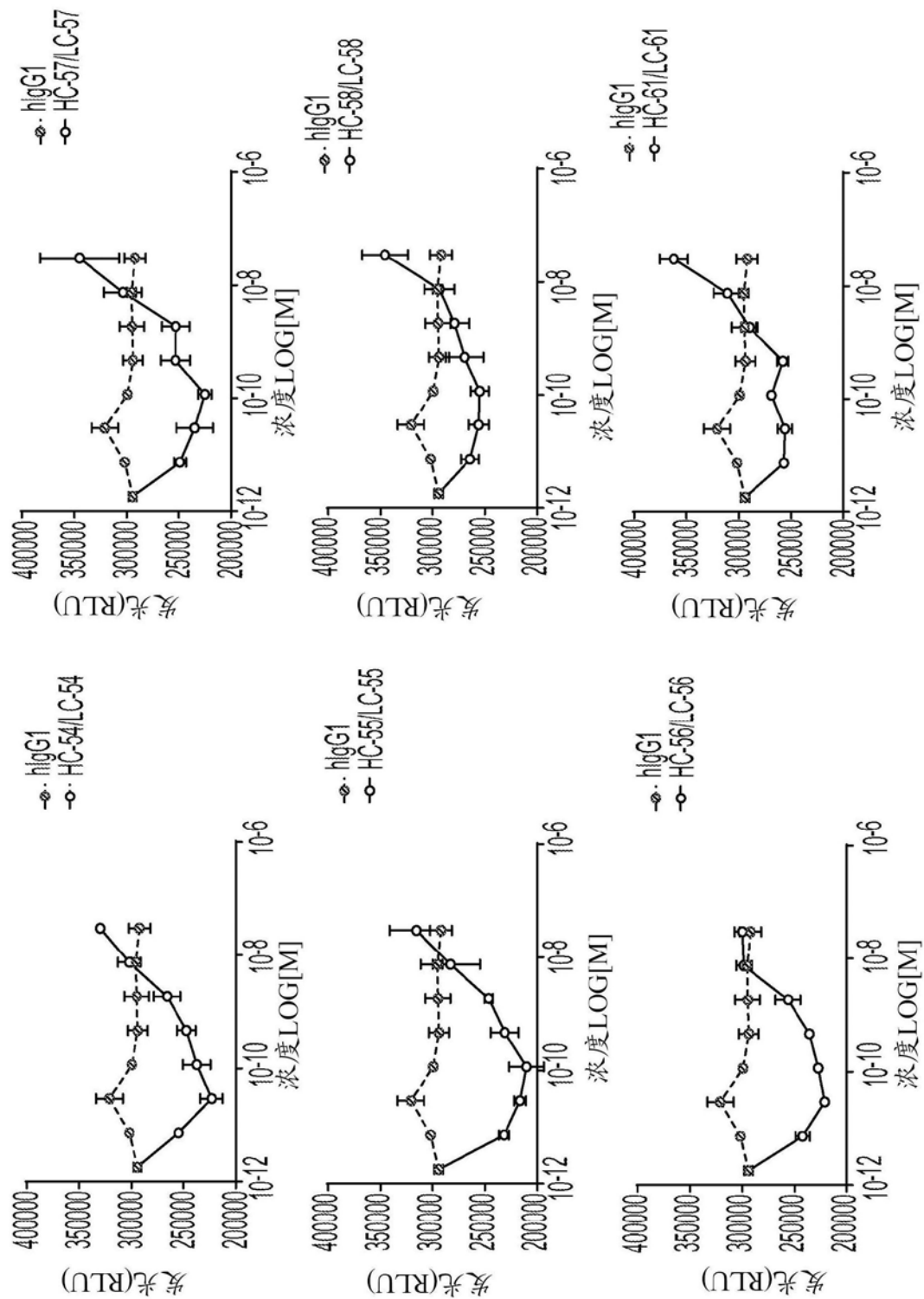


图8A

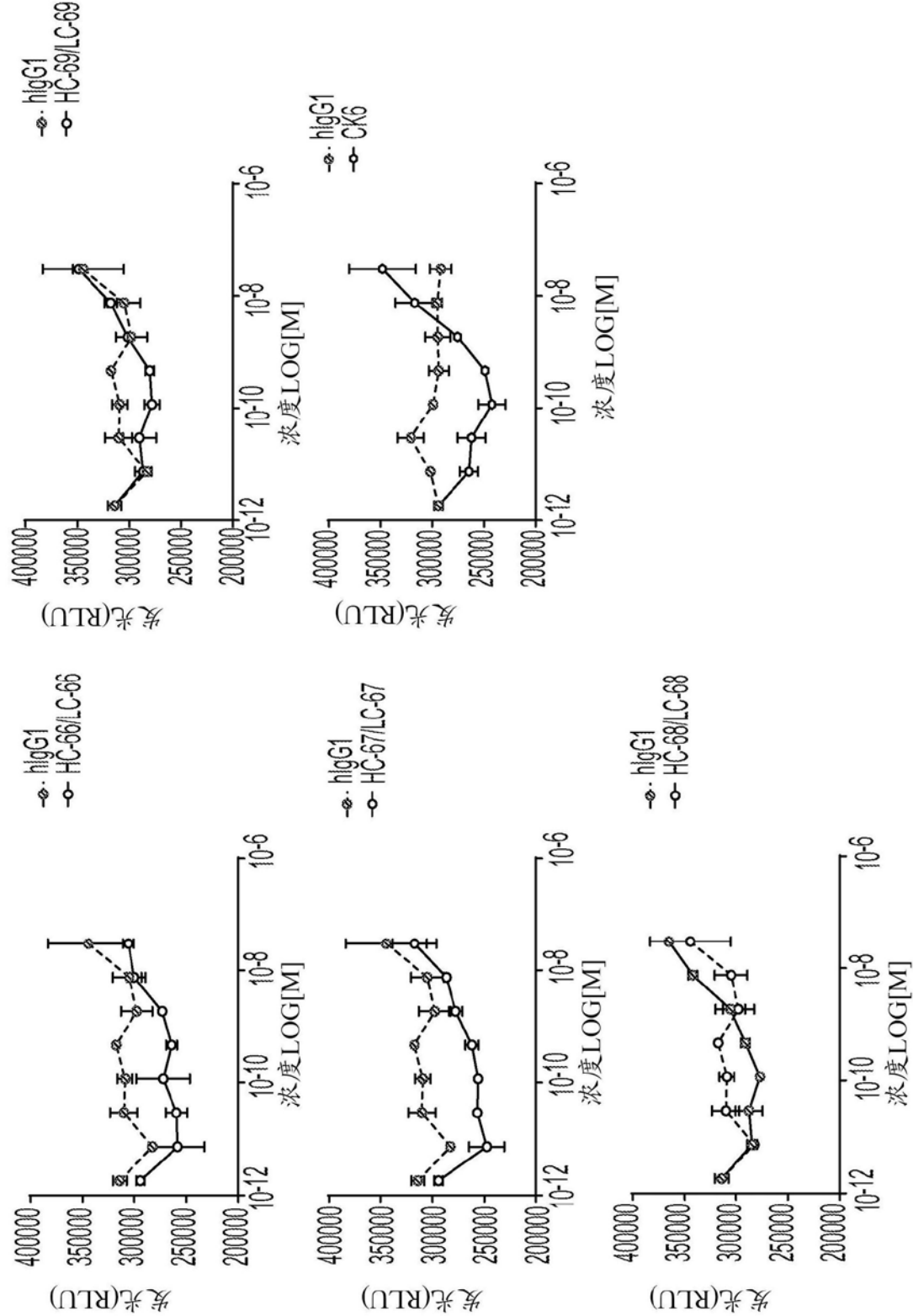


图8B

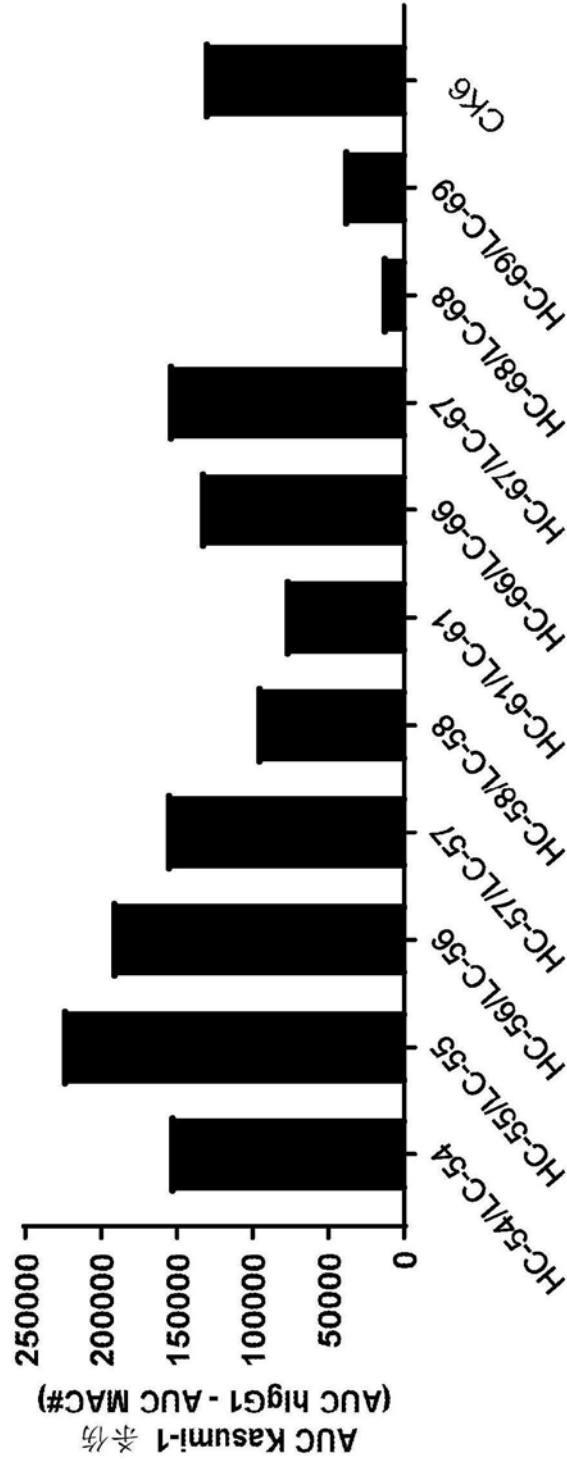


图9

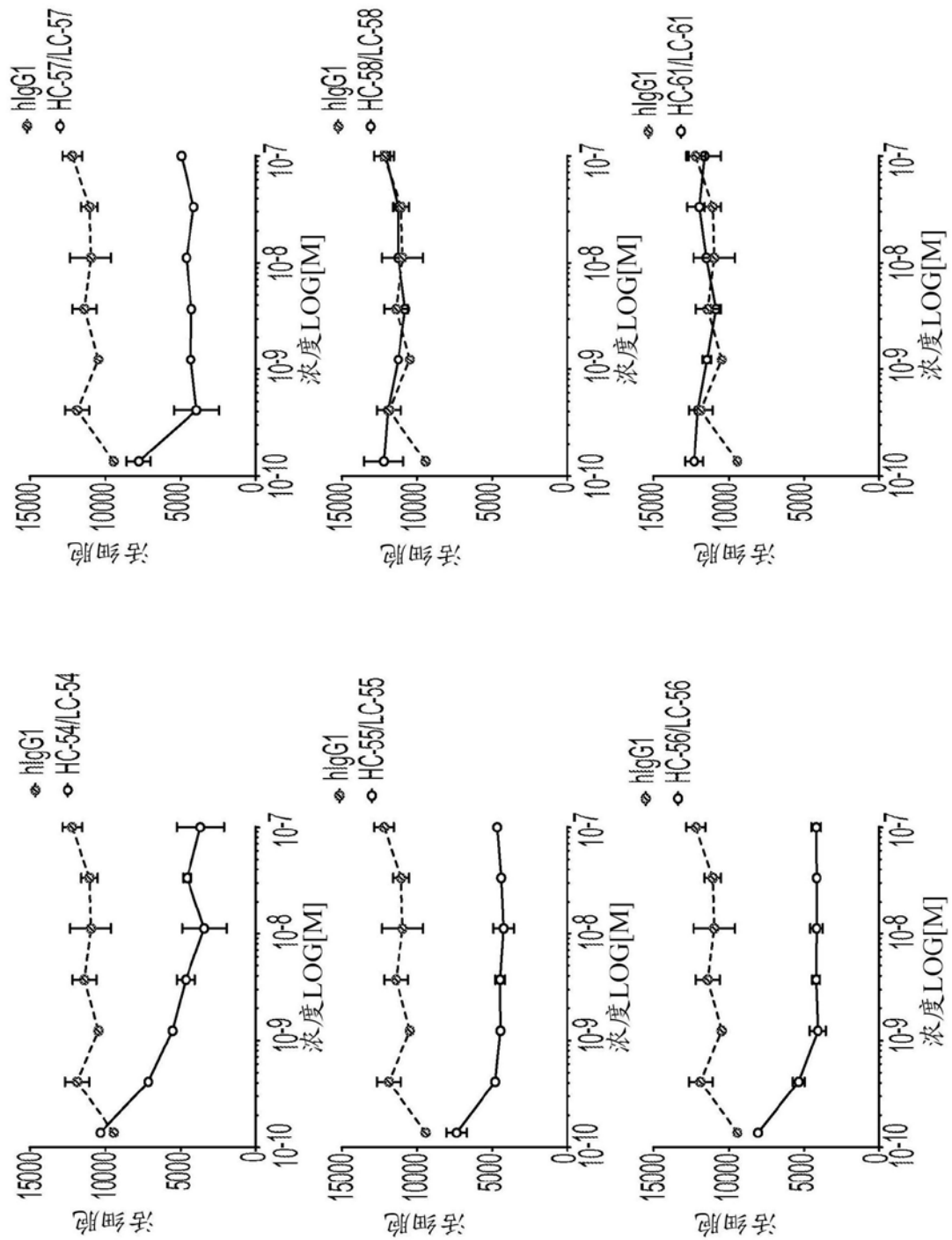


图10A

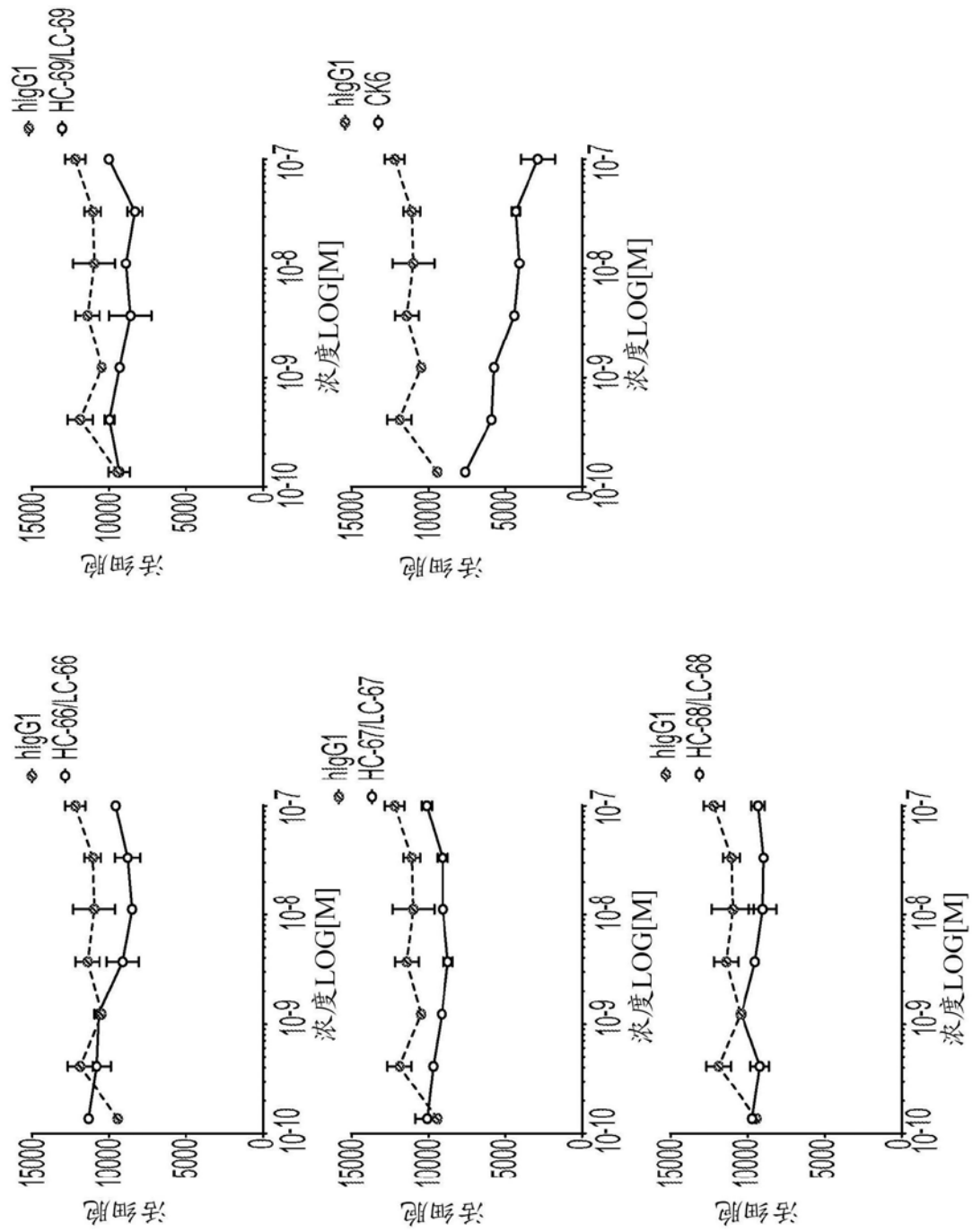


图10B

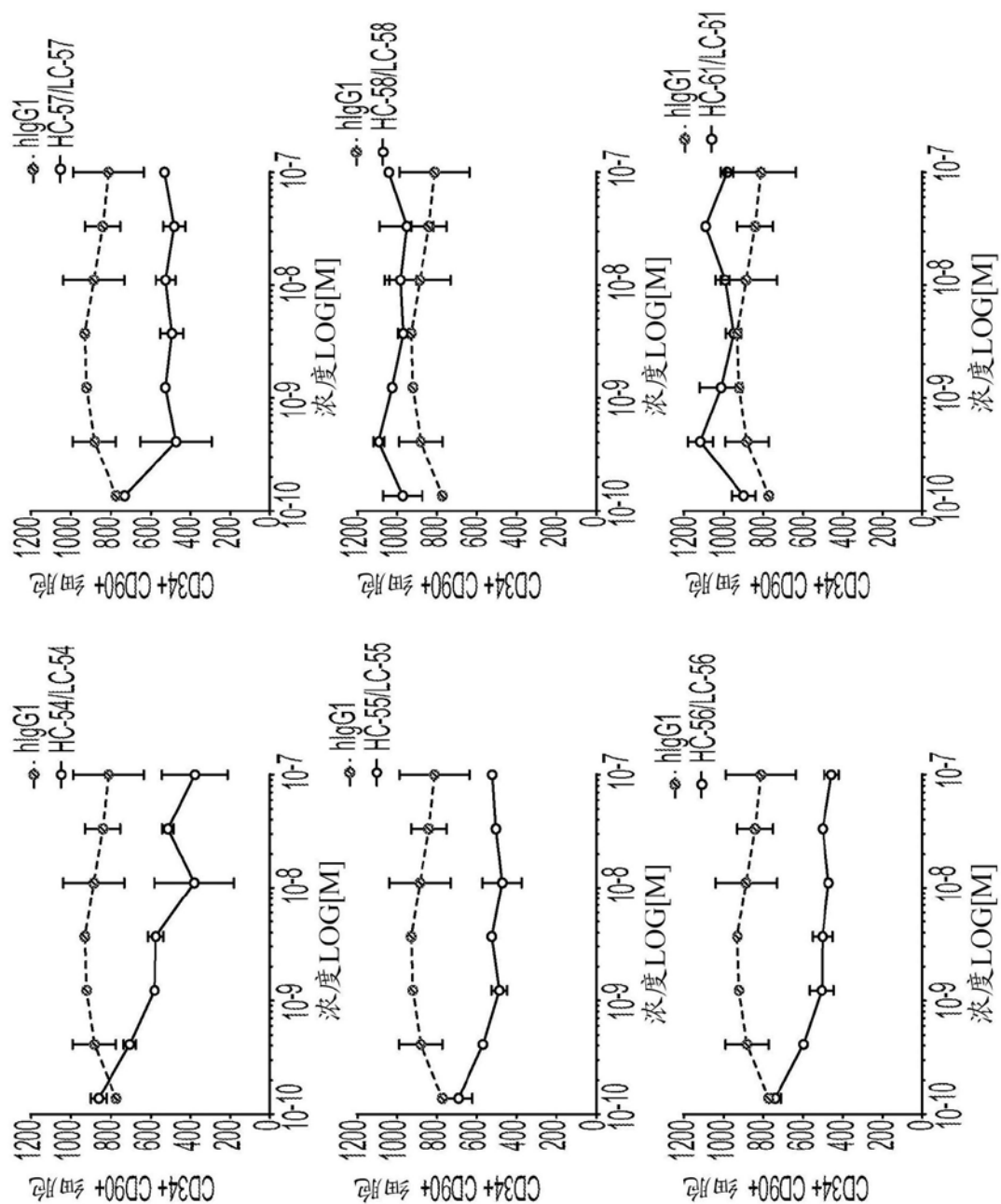


图11A

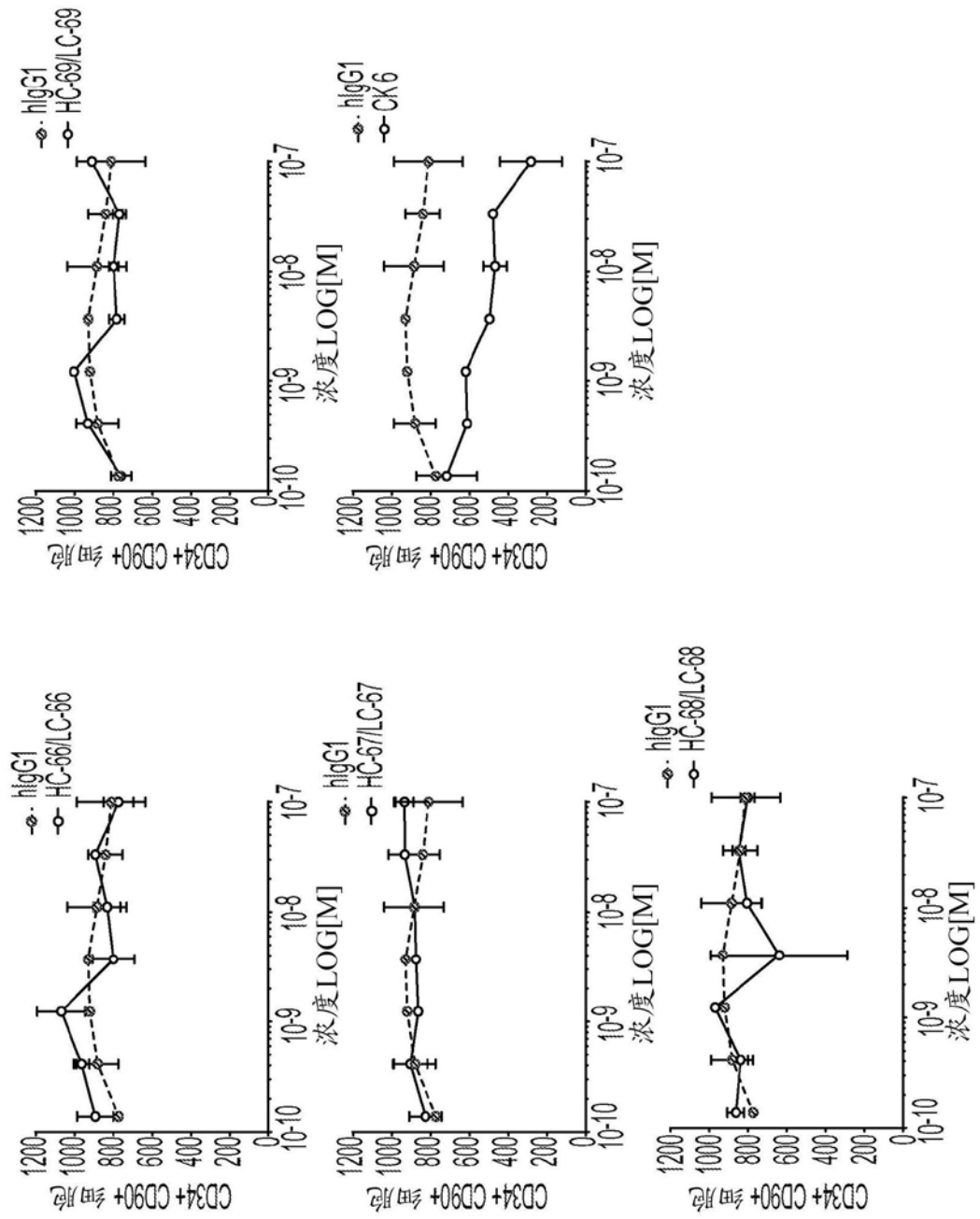


图11B

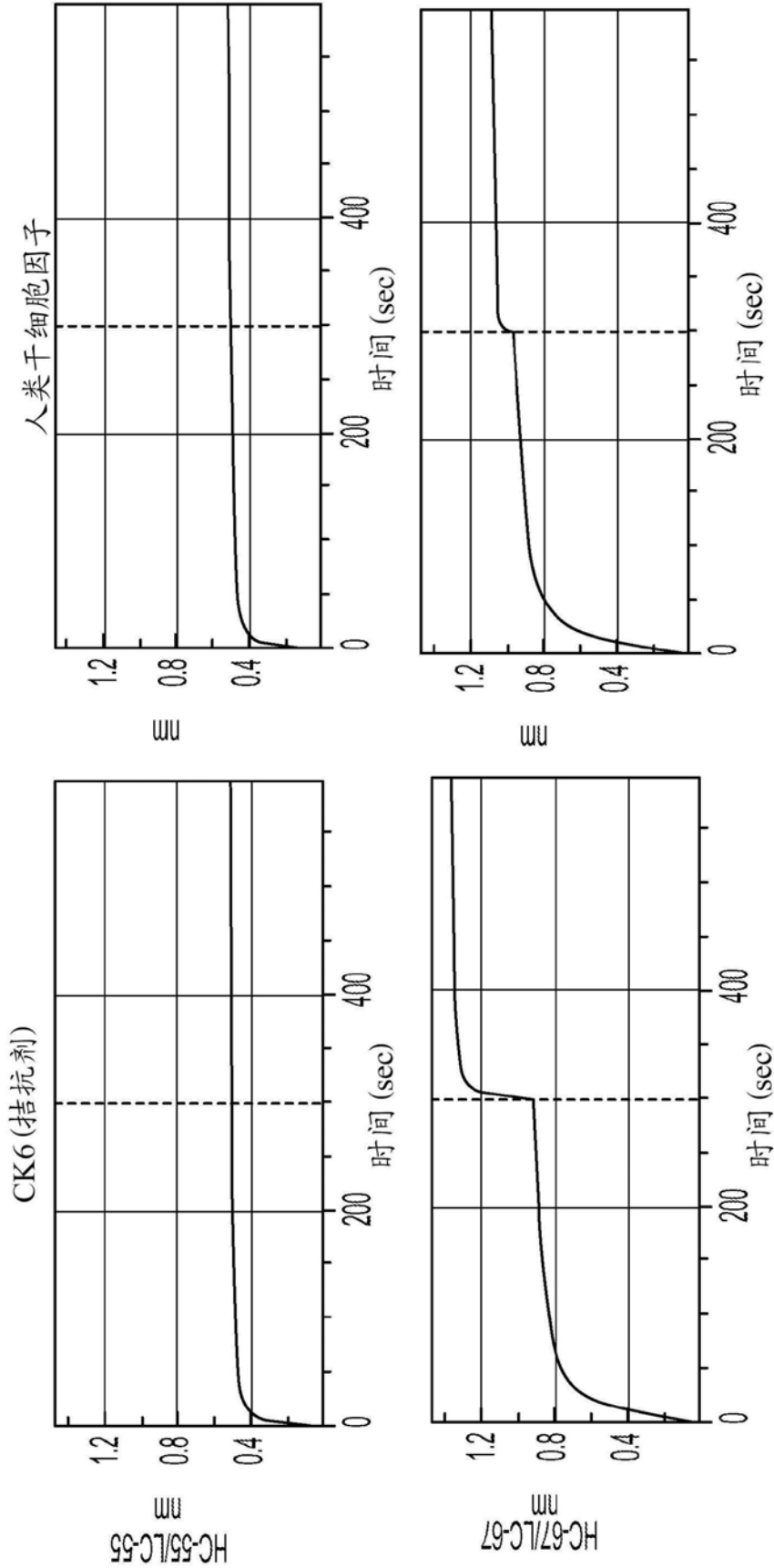


图12

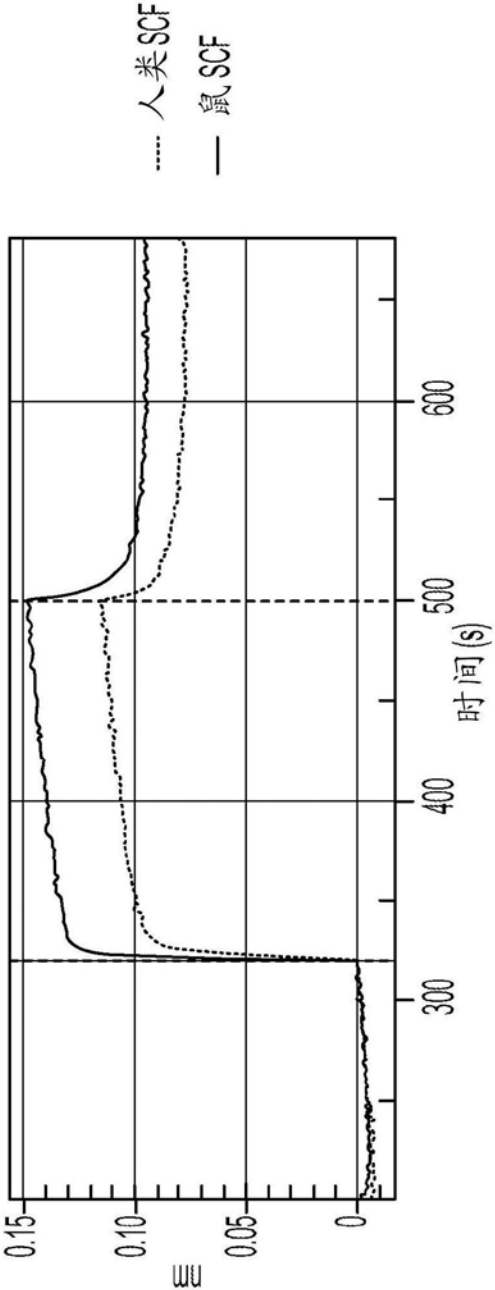


图13A

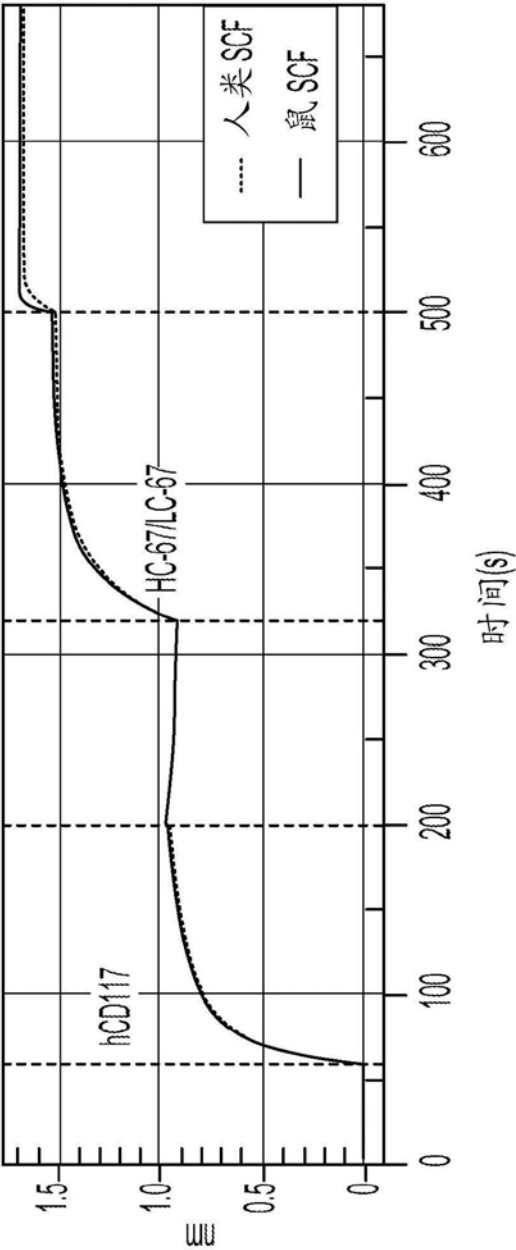


图13B

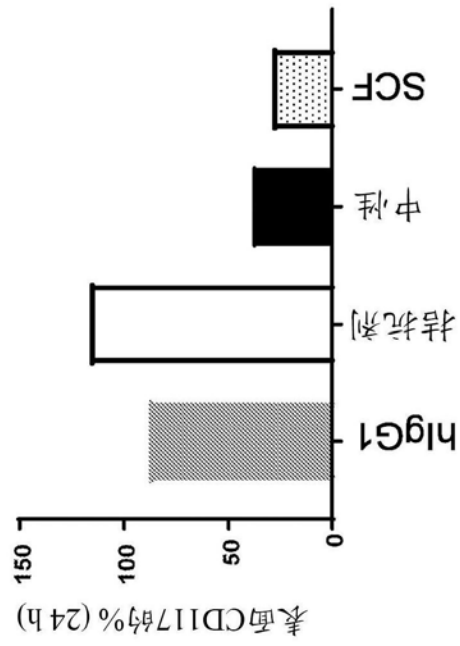


图14A

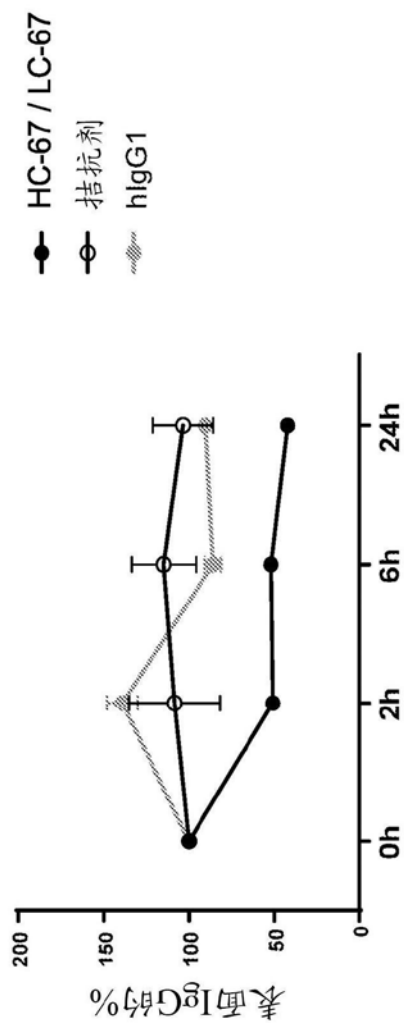


图14B

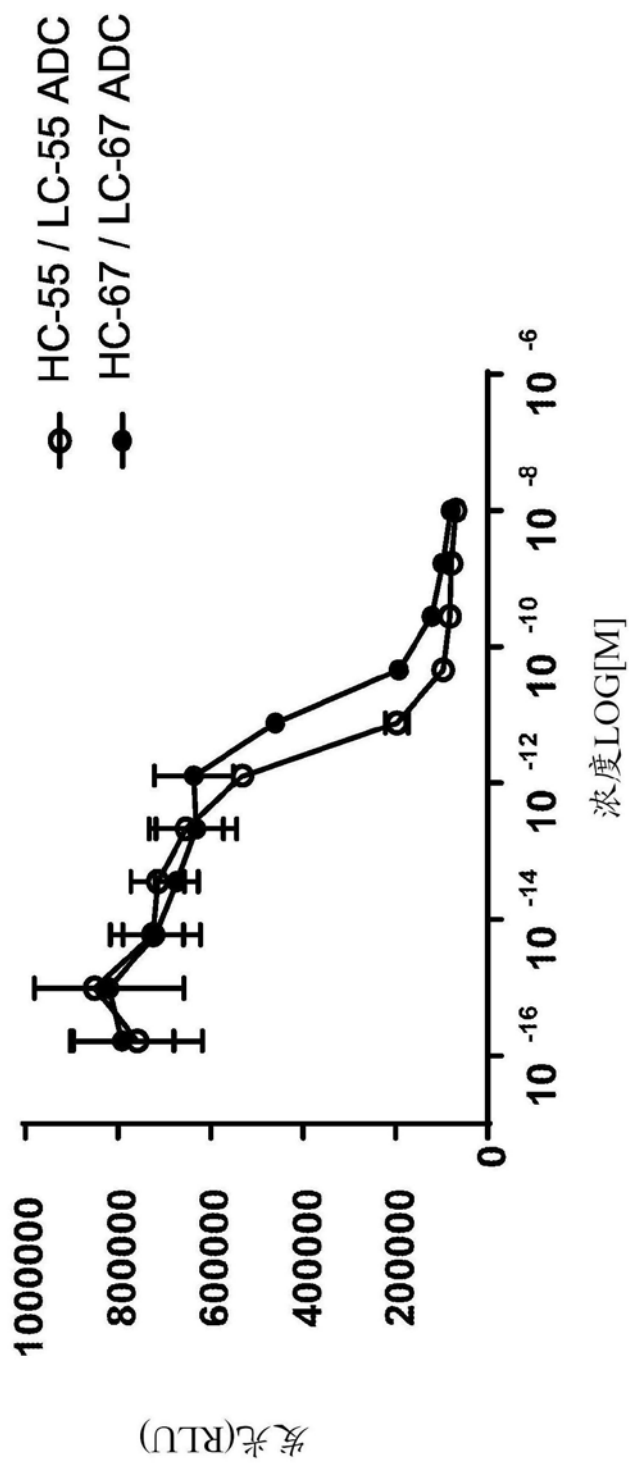


图15A

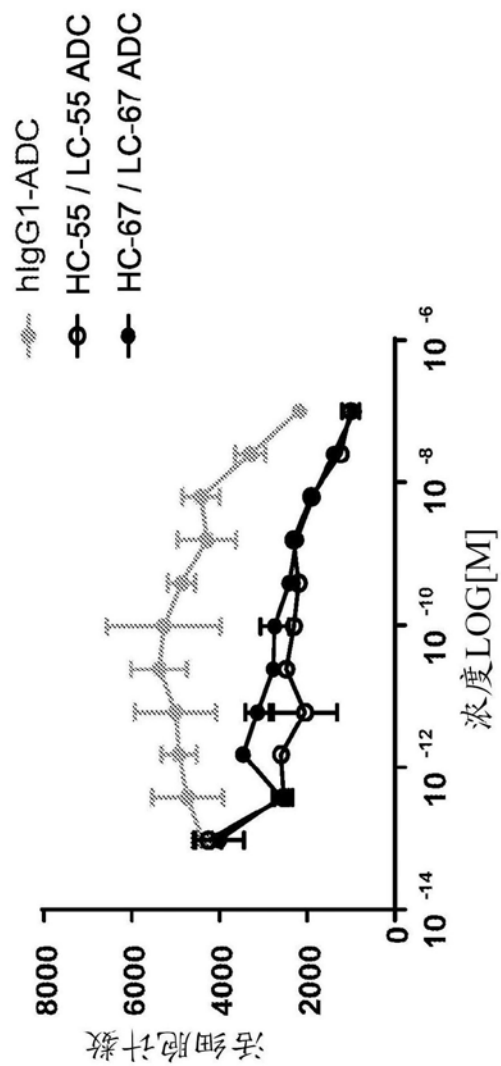


图15B

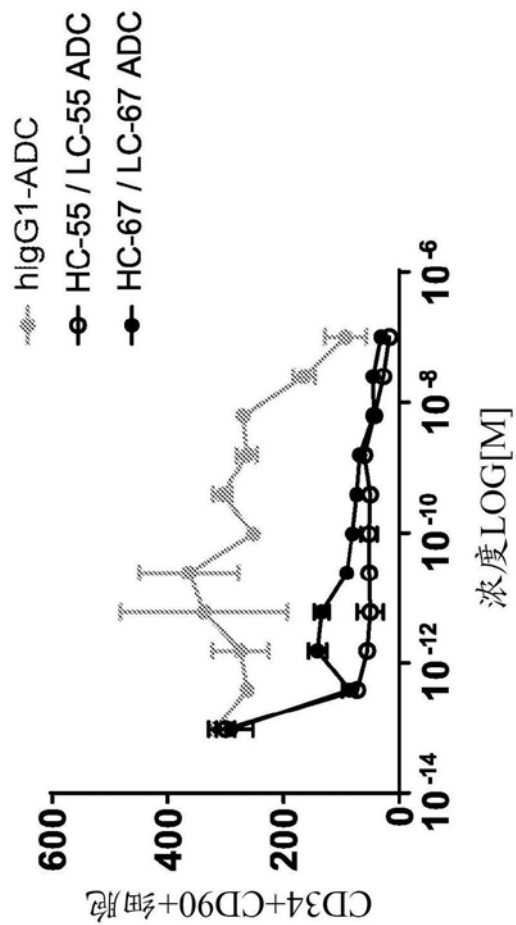


图15C

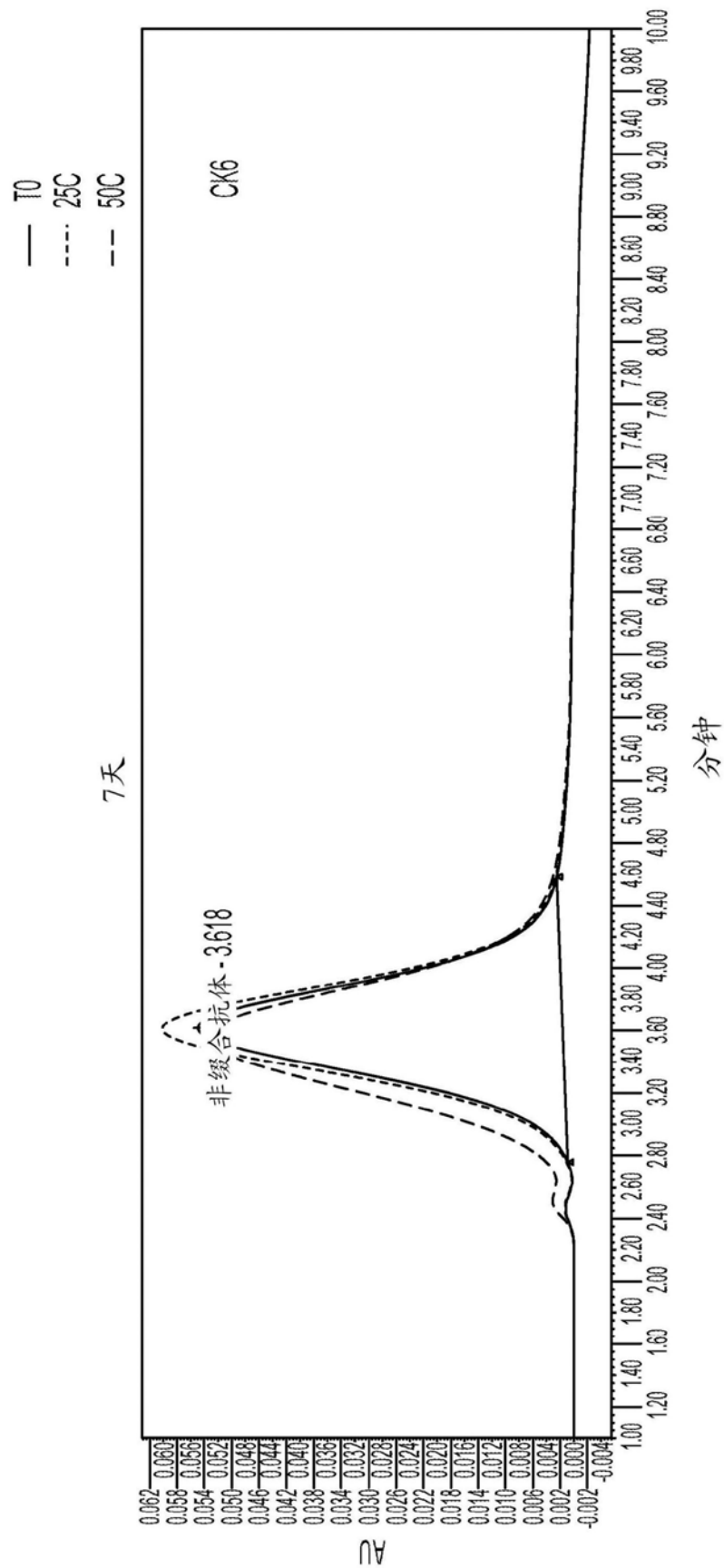


图16A

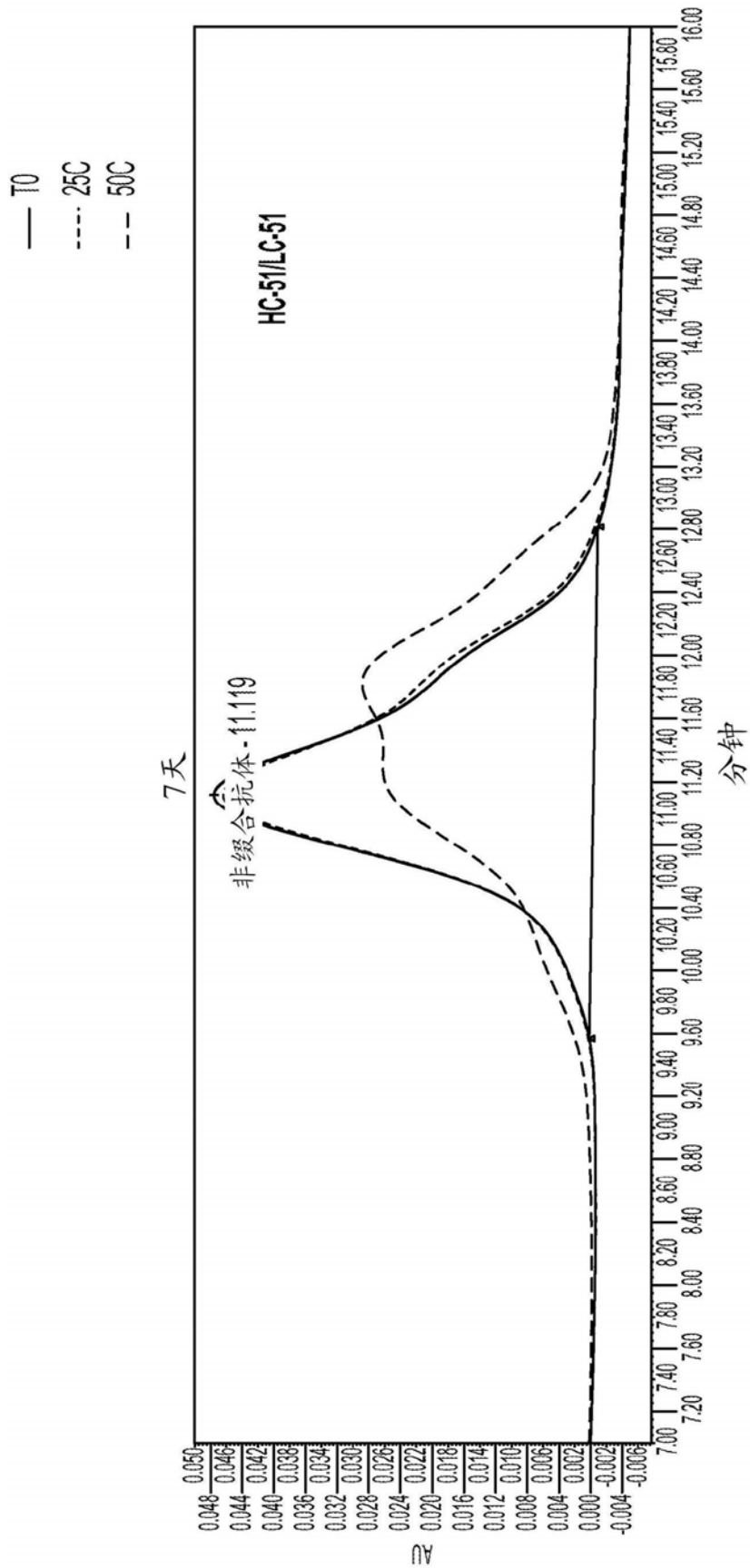


图16B

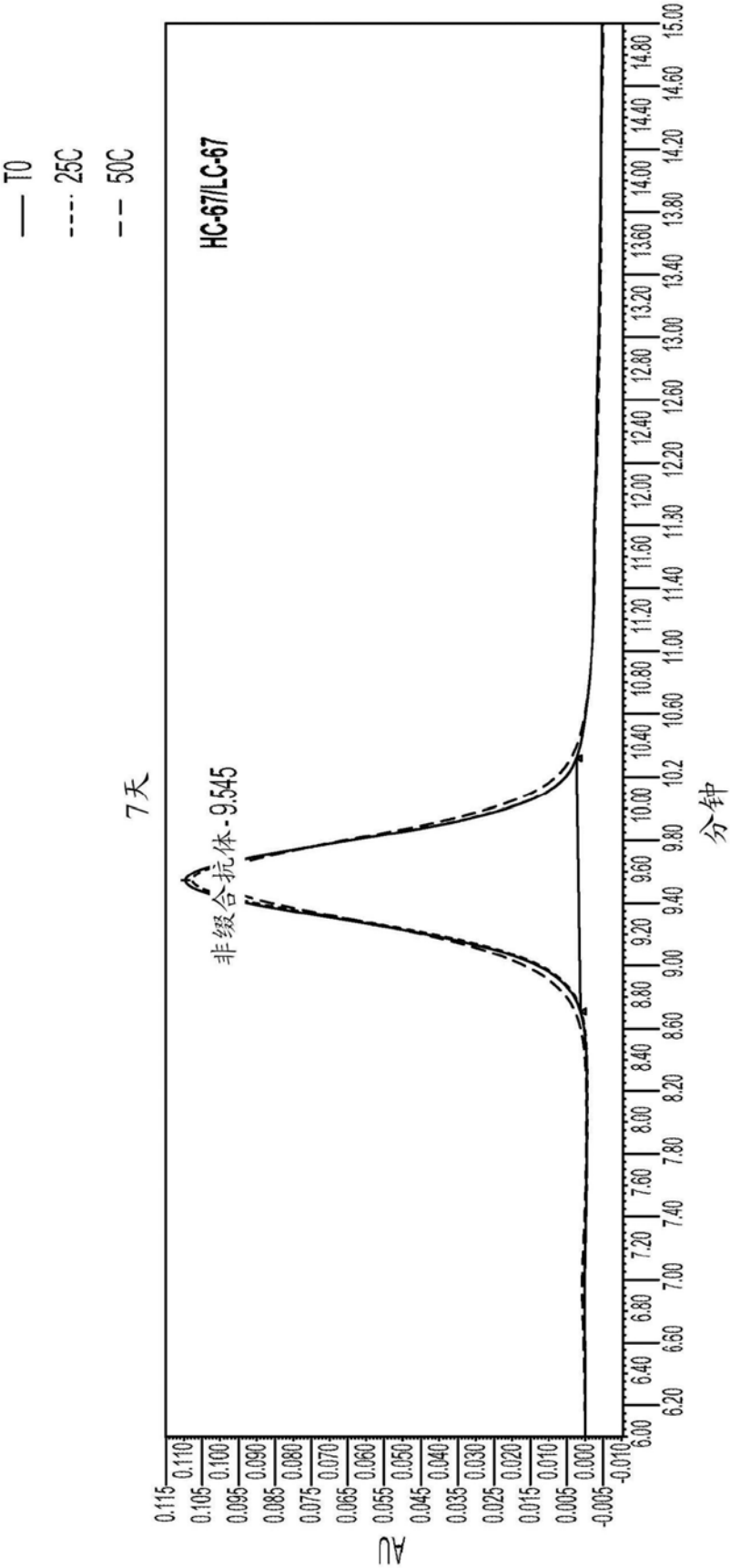


图16C

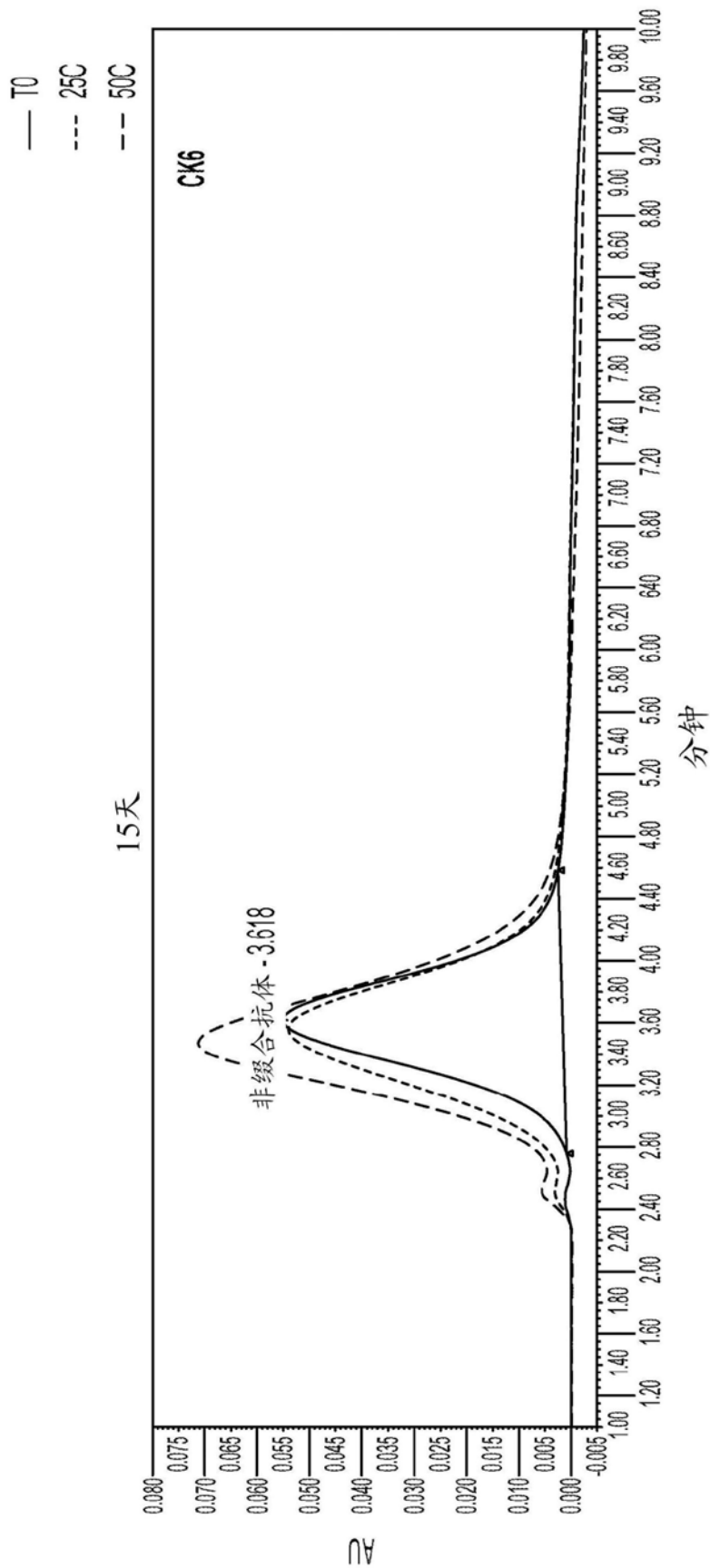


图16D

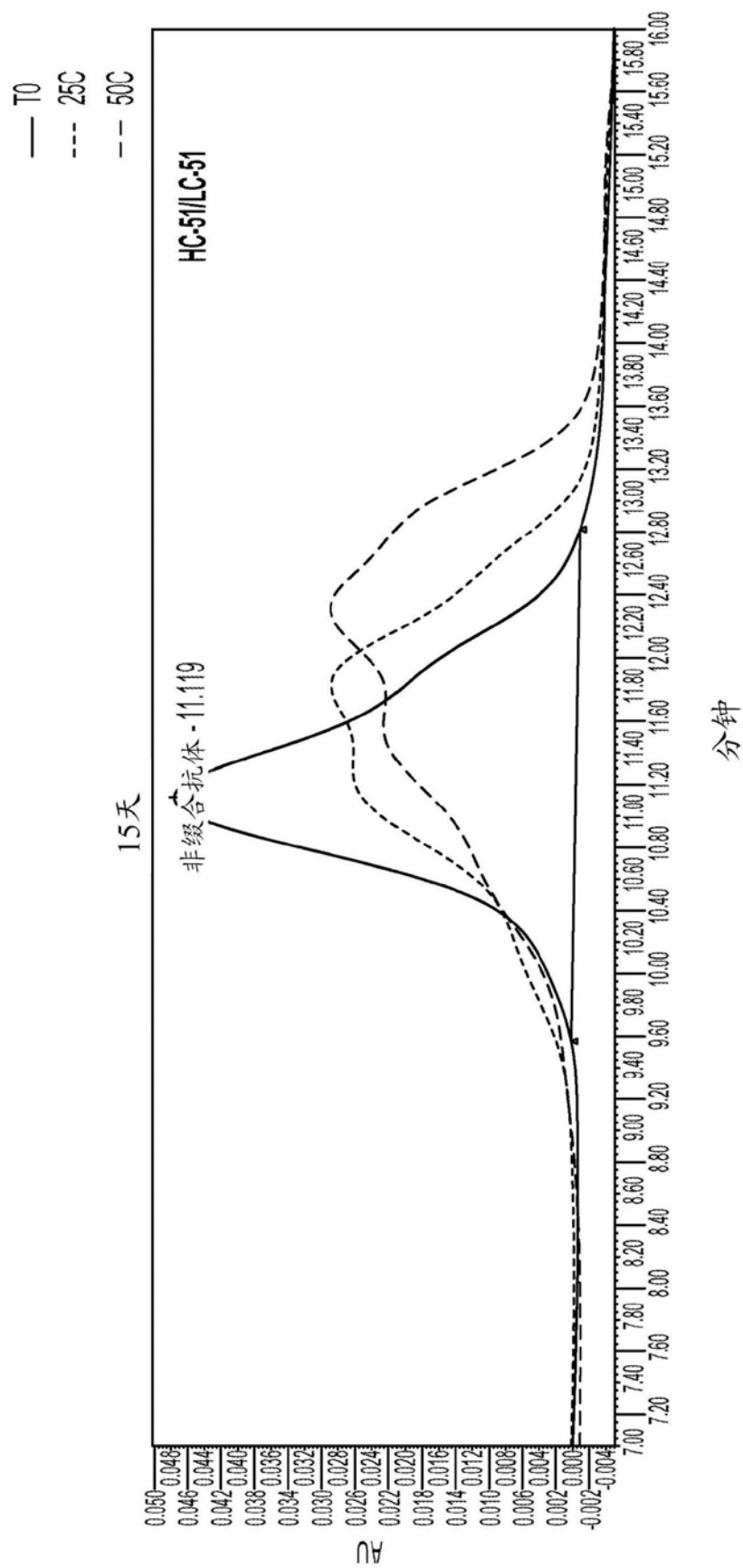


图16E

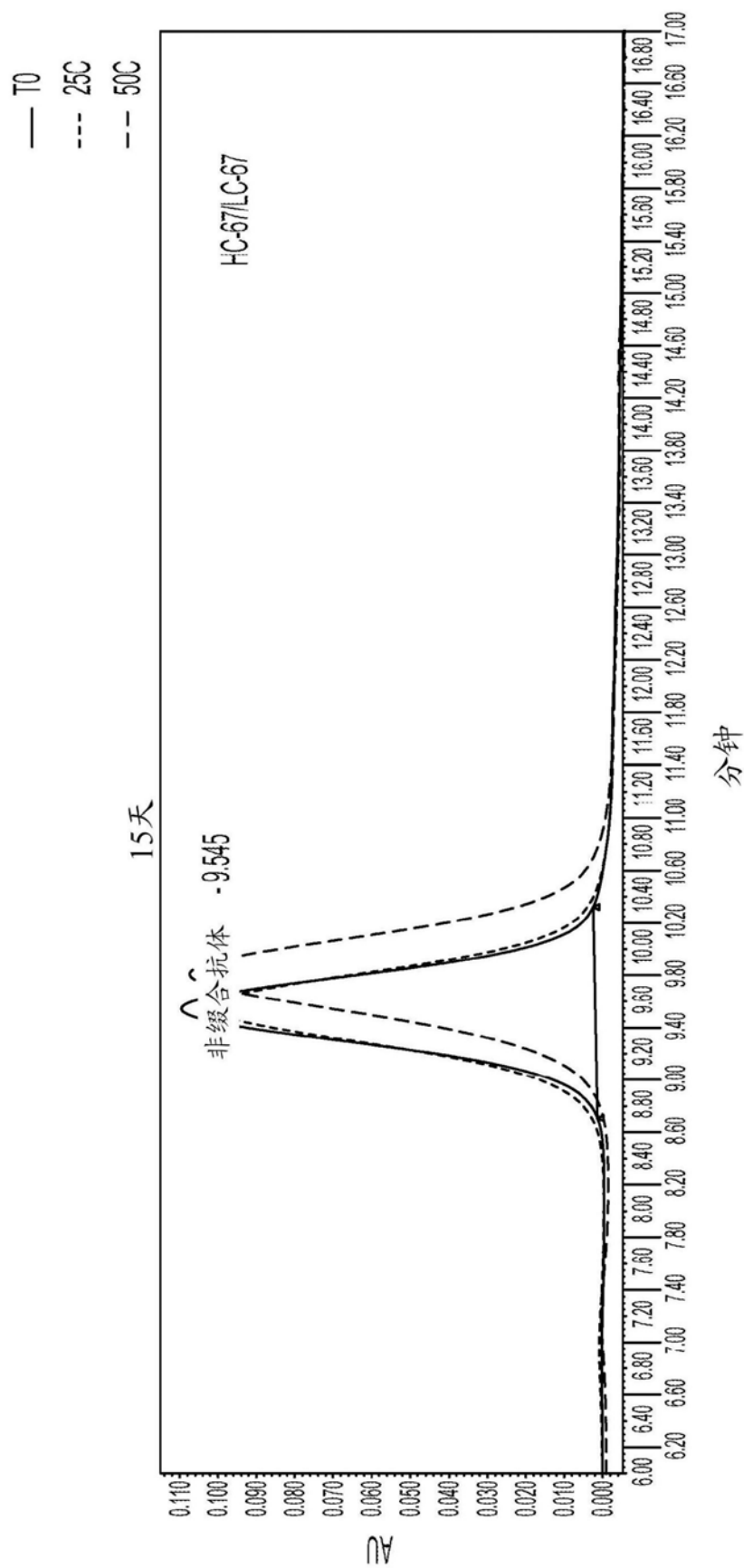


图16F

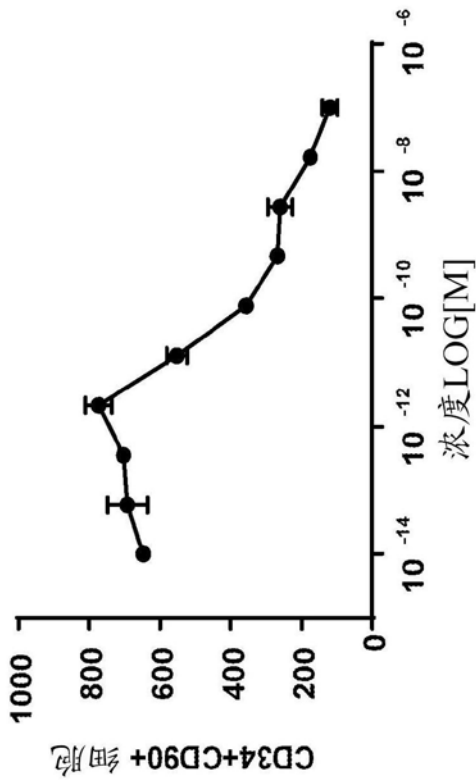


图17A

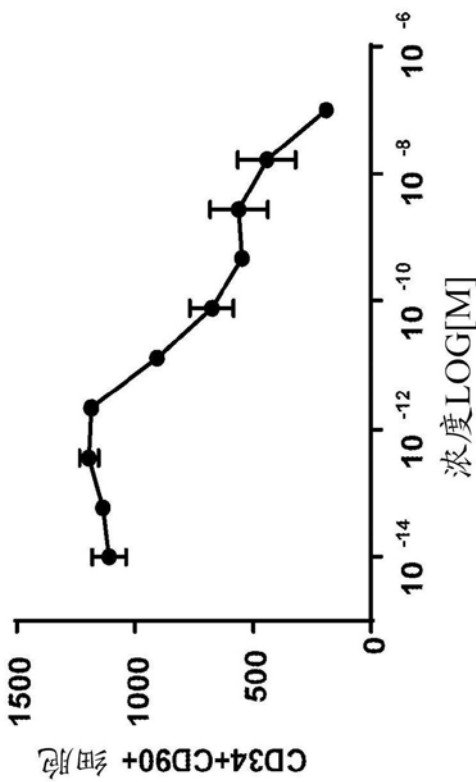


图17B

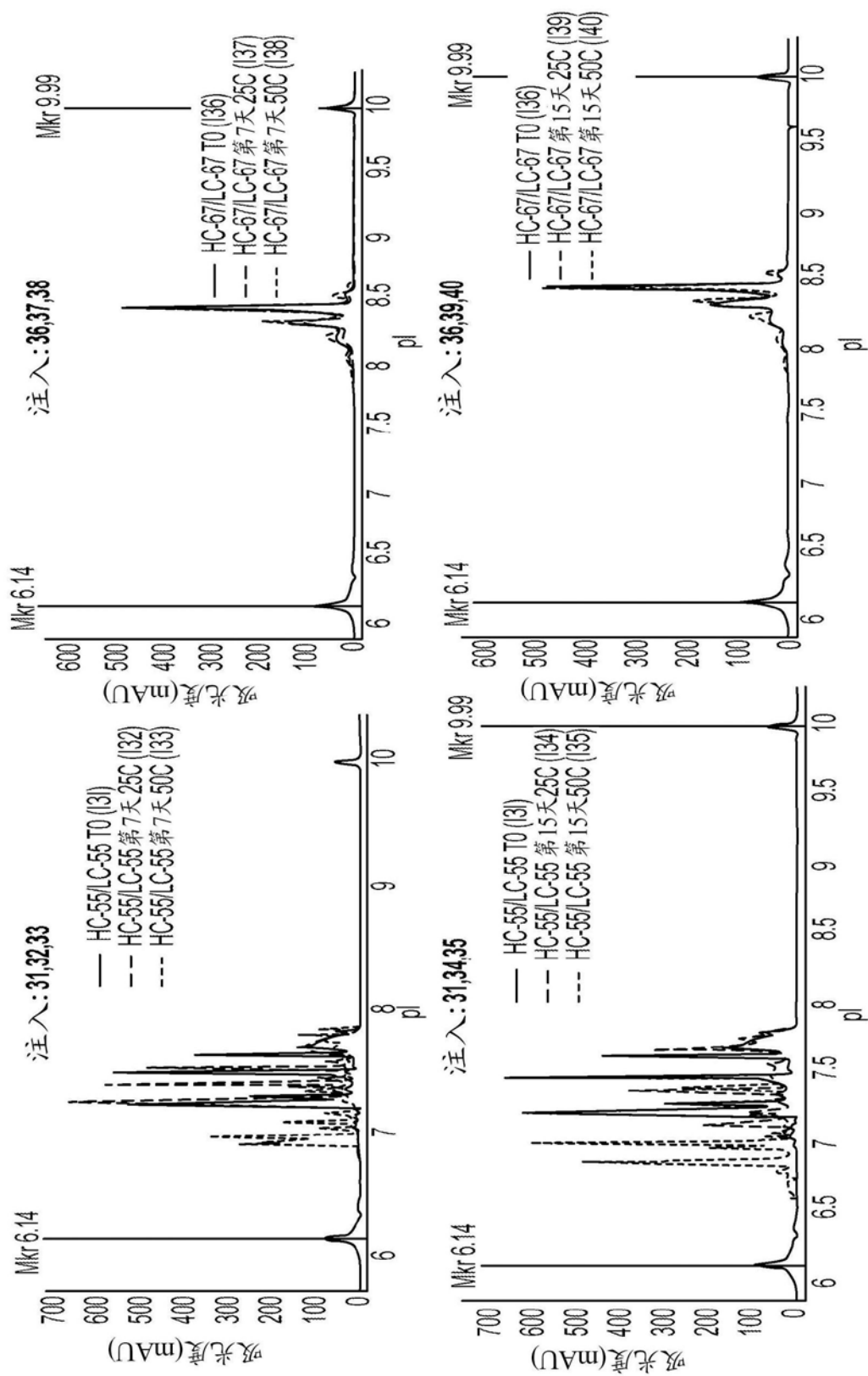


图18

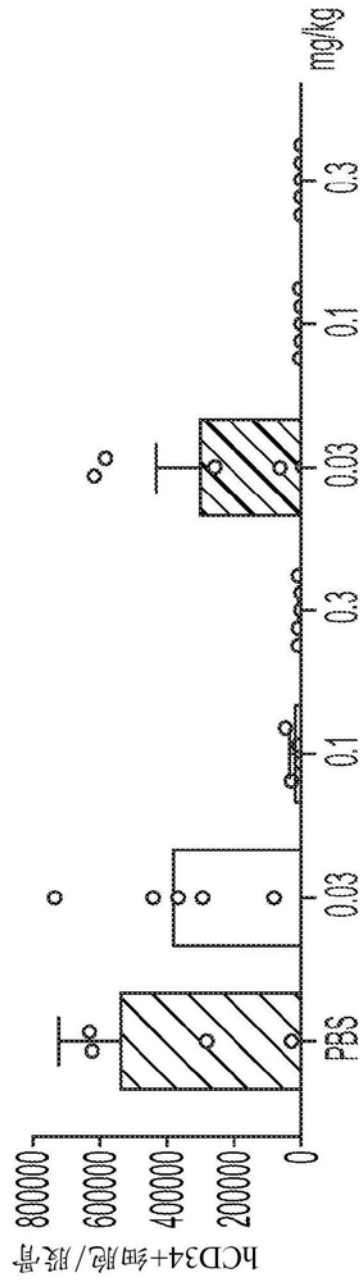


图19A

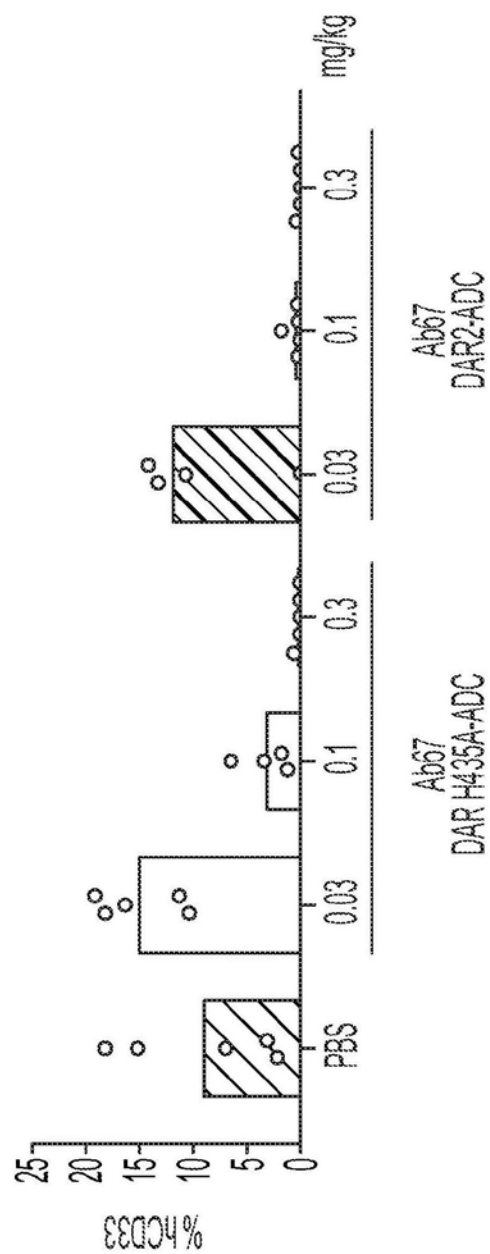


图19B

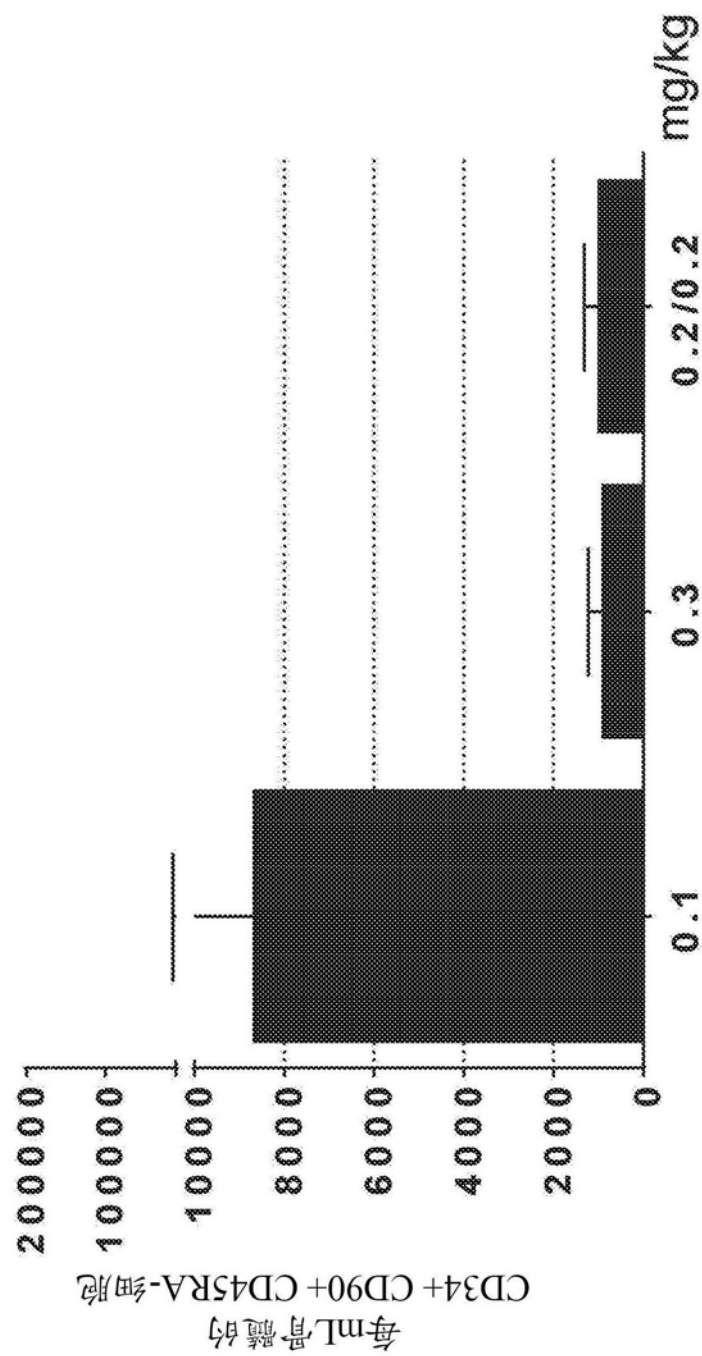


图20

	CDR-H1	CDR-H2
VH-54	1QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIP	1QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIP
VH-55	1QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFR	1QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFR
VH-56	1QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSLYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIP	1QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSLYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIP
VH-57	1QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSLYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIP	1QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSLYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIP
	CDR-H2(续)	CDR-H3
VH-54	61AQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGGLDTDEFDLWGRGTLVTVS	61AQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGGLDTDEFDLWGRGTLVTVS
VH-55	61AQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGGLDTDEFDLWGRGTLVTVS	61AQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGGLDTDEFDLWGRGTLVTVS
VH-56	61AQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGGLDTDEFDLWGRGTLVTVS	61AQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGGLDTDEFDLWGRGTLVTVS
VH-57	61AQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGGLDTDEFDLWGRGTLVTVS	61AQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGGLDTDEFDLWGRGTLVTVS

图21A

		CDR-L1	CDR-L2
VL-54	1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQINSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS	
VL-55	1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQINSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS	
VL-56	1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQINSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS	
VL-57	1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQINSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS	
		CDR-L3	
VL-54	61	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGVSDITFGGGTKVEIK	
VL-55	61	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGVSDITFGGGTKVEIK	
VL-56	61	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGVSDITFGGGTKVEIK	
VL-57	61	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGVSDITFGGGTKVEIK	

图21B

		CDR-H1	CDR-H2
VH-58	1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGG	ITYY
VH-61	1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYMMIWVRQAPGKGLEWVSSISGDSV	ITYY
		CDR-H2 (续)	CDR-H3
VH-58	61	ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGPPTYHTNYYMDVWGKGT	TVT
VH-61	61	ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGPPTYHTNYYMDVWGKGT	TVT
VH-58	121	VSS	
VH-61	121	VSS	

图22A

		CDR-L1	CDR-L2
VL-58	1	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS	
VL-61	1	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS	
		CDR-L3	
VL-58	61	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTNSFPYTFGGGTKVEIK	
VL-61	61	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTNSFPYTFGGGTKVEIK	

图22B

	CDR-H1	CDR-H2
VH-66	1EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDHYMDWVRQAPGKGLEWVGRTRNKASSYTT	
VH-67	1EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDADMDWVRQAPGKGLEWVGRTRNKAGSYTT	
VH-68	1EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITASGFTFSDHDMNWWVRQAPGKGLEWVGRTRNAAGSYTT	
VH-69	1EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVDHDMMDWVRQAPGKGLEWVGRTRNKLGSYTT	
	CDR-H2 (续)	CDR-H3
VH-66	61EYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYCCAREPKYWIDFDLWGRGTLTVSS	
VH-67	61EYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYCCAREPKYWIDFDLWGRGTLTVSS	
VH-68	61EYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYCCAREPKYWIDFDLWGRGTLTVSS	
VH-69	61EYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYCCAREPKYWIDFDLWGRGTLTVSS	

图23A

	CDR-L1	CDR-L2
VL-66	1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPK	
VL-67	1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPK	
VL-68	1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPK	
VL-69	1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPK	
		CDR-L3
VL-66	61 RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYCCQQSYIAPYTFGGGKVEI	
VL-67	61 RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYCCQQSYIAPYTFGGGKVEI	
VL-68	61 RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYCCQQSYIAPYTFGGGKVEI	
VL-69	61 RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYCCQQSYIAPYTFGGGKVEI	

图23B