



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107135654 B

(45) 授权公告日 2021.10.29

(21) 申请号 201580061138.5

(22) 申请日 2015.09.10

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107135654 A

(43) 申请公布日 2017.09.05

(30) 优先权数据
62/049,973 2014.09.12 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2017.05.09

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2015/049492 2015.09.10

(87) PCT国际申请的公布数据
W02016/040683 EN 2016.03.17

(73) 专利权人 加利福尼亚大学董事会
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 刘滨 苏旸 斯科特·比德林梅尔
克里斯托弗·R·贝伦斯 李南炅

(74) 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限公司
11287

代理人 章蕾

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

A61K 47/68 (2017.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 38/56 (2006.01)

A61K 31/7036 (2006.01)

A61K 31/5517 (2006.01)

A61K 31/40 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件

US 2003108966 A1, 2003.06.12

EP 1184458 A1, 2002.03.06

WO 2009039192 A2, 2009.03.26

Blessing Crimeen-Irwin等. Ligand

Binding Determines Whether CD46 Is
Internalized by Clathrin-coated Pits or
Macropinocytosis.《The Journal of
Biological Chemistry》.2003,第278卷(第47
期),第46927-46937页.

审查员 蔡锐钿

权利要求书5页 说明书71页

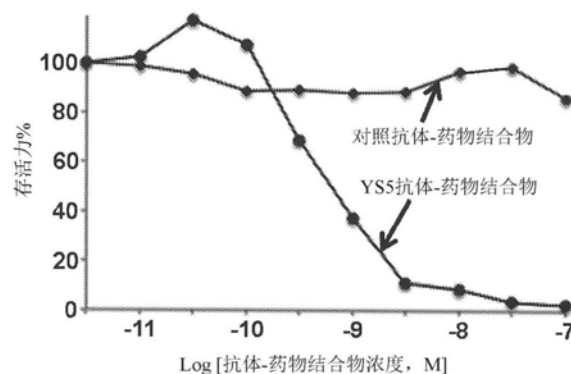
序列表50页 附图33页

(54) 发明名称

巨胞饮人类抗CD46抗体和靶向癌症疗法

(57) 摘要

在多个实施例中,提供经巨胞饮途径内化并且进入肿瘤细胞的人类抗CD46抗体,以及从这些抗体开发的用于诊断和/或治疗性靶向CD46过度表达肿瘤的抗体-药物结合物ADC。



1. 一种经分离的人类抗体,其特异性结合CD46,其包含YS5 CDR的抗体,所述CDR包含VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,其中所述VH CDR1为SEQ ID NO:1中残基26-33所示的GLTVNNYA,所述VH CDR2为SEQ ID NO:1中残基51-58所示的ISYDGNK,所述VH CDR3为SEQ ID NO:1中残基97-105所示的AKGGGYFDL,所述VL CDR1为SEQ ID NO:22中残基26-34所示的SSNIGAGYD,所述VL CDR2为SEQ ID NO:22中残基52-54所示的GNN,以及所述VL CDR3为SEQ ID NO:22中残基91-99所示的SSYTSGTWL。

2. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述经分离的人类抗体结合CD46的结构域1和/或结构域2。

3. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述经分离的人类抗体不结合CD46的结构域3和/或结构域4。

4. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述抗体特异性结合表达或过度表达所述CD46的癌细胞。

5. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述抗体特异性结合表达或过度表达所述CD46的前列腺癌细胞。

6. 根据权利要求5所述的抗体,其中所述经分离的人类抗体结合选自由以下各项组成的群组的细胞株的细胞:DU145细胞、PC3细胞和LnCaP细胞。

7. 根据权利要求1所述的抗体,其中当通过FACS在活前列腺肿瘤细胞上测量时,所述经分离的人类抗体以至少5-10nM的亲和力(K_D)结合至前列腺肿瘤细胞。

8. 根据权利要求7所述的抗体,其中当通过FACS在活前列腺肿瘤细胞上测量时,所述经分离的人类抗体以至少3nM的亲和力(K_D)结合到前列腺肿瘤细胞。

9. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述经分离的人类抗体为完整全长的免疫球蛋白。

10. 根据权利要求9所述的抗体,其中所述经分离的人类抗体包含IgA、IgE或IgG。

11. 根据权利要求9所述的抗体,其中所述经分离的人类抗体包含IgG1。

12. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述经分离的人类抗体为特异性结合表达或过度表达CD46的细胞的抗体片段。

13. 根据权利要求12所述的抗体,其中所述经分离的人类抗体为选自由以下各项组成的群组的抗体片段:Fv、Fab、(Fab')₂、(Fab')₃、IgG Δ CH2以及微型抗体。

14. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述经分离的人类抗体为单链抗体。

15. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述经分离的人类抗体包含:

SEQ ID NO:22所示的YS5抗体的可变轻VL链和SEQ ID NO:1所示的YS5抗体的可变重VH链。

16. 一种免疫结合物,其包含连接到效应子的根据权利要求1所述的抗体,其中所述效应子选自由以下各项组成的群组:第二抗体、可检测标记、细胞毒素或细胞生长抑制剂、含有药物的脂质体、放射性核素、药物、病毒粒子、细胞因子以及螯合物。

17. 根据权利要求16所述的免疫结合物,其中所述效应子是前药。

18. 根据权利要求16所述的免疫结合物,其中所述抗体连接到细胞毒素。

19. 根据权利要求18所述的免疫结合物,其中所述抗体连接到选自由以下各项组成的群组的细胞毒素:白喉毒素、绿脓杆菌外毒素、蓖麻毒素、相思子毒素、沙泊宁以及胸苷激酶。

20. 根据权利要求16所述的免疫结合物,其中所述抗体连接到细胞毒性和/或细胞抑制性药物。

21. 根据权利要求16所述的免疫结合物,其中所述抗体直接或通过连接子连接到以下各项中的一或多者:

所述药物;

含有所述药物的脂质或脂质体;

包含所述药物的聚合药物载剂;以及

包含所述药物的纳米粒子药物载剂。

22. 根据权利要求21所述的免疫结合物,其中所述药物为抗癌药物。

23. 根据权利要求21所述的免疫结合物,其中所述药物选自由以下各项组成的群组:微管抑制剂、DNA破坏剂和聚合酶抑制剂。

24. 根据权利要求23所述的免疫结合物,其中所述药物包含微管蛋白抑制剂。

25. 根据权利要求24所述的免疫结合物,其中所述药物包含选自由以下各项组成的群组的药物:奥瑞他汀、海兔毒素-10、天然产物海兔毒素-10的合成衍生物,以及美登素或美登素衍生物。

26. 根据权利要求24所述的免疫结合物,其中所述药物包含选自由以下各项组成的群组的药物:单甲基奥瑞他汀F MMAF、奥瑞他汀E AE、单甲基奥瑞他汀E MMAE、vcMMAE以及vcMMAF。

27. 根据权利要求24所述的免疫结合物,其中所述药物包含选自由以下各项组成的群组的美登素:美坦辛(DM1)、DM3和DM4。

28. 根据权利要求23所述的免疫结合物,其中所述药物包含DNA破坏剂。

29. 根据权利要求28所述的免疫结合物,其中所述药物包含选自由以下各项组成的群组的药物:卡奇霉素、倍癌霉素和吡咯并苯并二氮呋。

30. 根据权利要求29所述的免疫结合物,其中所述药物包含卡奇霉素或卡奇霉素类似物。

31. 根据权利要求29所述的免疫结合物,其中所述药物包含倍癌霉素。

32. 根据权利要求31所述的免疫结合物,其中所述药物包含选自由以下各项组成的群组的倍癌霉素:倍癌霉素A、倍癌霉素B1、倍癌霉素B2、倍癌霉素C1、倍癌霉素C2、倍癌霉素D、倍癌霉素SA、环丙基苯并吡咯倍癌霉素(CC-1065)、森坦霉素、雷查霉素、阿多来新、比折来新以及卡折来新。

33. 根据权利要求29所述的免疫结合物,其中所述药物包含吡咯并苯并二氮呋或吡咯并苯并二氮呋二聚体。

34. 根据权利要求33所述的免疫结合物,其中所述药物包含选自由以下各项组成的群组的药物:安曲霉素、安曲霉素二聚体、甲基氨茴霉素、甲基氨茴霉素二聚体、富山霉素、富山霉素二聚体、普拉卡素、普拉卡素二聚体、契卡霉素、契卡霉素二聚体、新斯拉霉素A、新斯拉霉素A二聚体、新斯拉霉素B、新斯拉霉素B二聚体、DC-81、DC-81二聚体、西伯利亚霉素、西伯利亚霉素二聚体、坡咯霉素A、坡咯霉素A二聚体、坡咯霉素B、坡咯霉素B二聚体、西巴霉素、西巴霉素二聚体、赤霉素、赤霉素二聚体、SG2000以及SG2285。

35. 根据权利要求21所述的免疫结合物,其中所述药物选自由以下各项组成的群组:奥

瑞他汀、海兔毒素、秋水仙碱、考布他汀以及mTOR/PI3K抑制剂。

36. 根据权利要求21所述的免疫结合物,其中所述药物选自自由以下各项组成的群组:氟尿嘧啶5-FU、卡培他滨、5-三氟甲基-2'-脱氧尿苷、甲胺喋呤钠、雷替曲赛、培美曲塞、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤、硫唑嘌呤、6-硫鸟嘌呤6-TG、喷司他汀、磷酸氟达拉滨、克拉屈滨、氟尿苷(5-氟-2)、核糖核苷酸还原酶抑制剂RNR、环磷酰胺、癌得散、异环磷酰胺、噻替派、1,3-双(2-氯乙基)-1-亚硝基脲BCNU、1, -(2-氯乙基)-3-环己基-亚硝基脲, 甲基CCNU、六甲蜜胺、白消安、丙卡巴肼HCL、达卡巴嗪DTIC、苯丁酸氮芥、美法仑、顺铂、卡铂、奥沙利铂、苯达莫司汀、卡莫司汀、氮芥、达卡巴嗪DTIC、福莫司汀、洛莫司汀、甘露舒凡、奈达铂、尼莫司汀、泼尼氮芥、雷莫司汀、赛特铂、司莫司汀、链脲霉素、替莫唑胺、曲奥舒凡、三亚胺醌、三亚乙基三聚氰胺、噻替派、四硝酸特瑞铂、曲洛磷胺、乌拉莫司汀、小红莓、柠檬酸道诺霉素、米托蒽醌、放线菌素D、依托泊苷、拓朴替康HCL、替尼泊甙(VM-26)、伊立替康HCL(CPT-11)、喜树碱、贝洛替康、鲁比替康、长春新碱、硫酸长春碱、酒石酸长春瑞宾、硫酸长春地辛、太平洋紫杉醇、多西他赛、纳米粒子太平洋紫杉醇、亚伯杉烷、伊沙匹隆、拉洛他赛、奥他赛、替司他赛、长春氟宁、视黄酸、视黄酸衍生物、阿霉素、长春碱、长春新碱、环磷酰胺、异环磷酰胺、顺铂、5-氟尿嘧啶、喜树碱衍生物、干扰素、他莫昔芬以及紫杉醇。

37. 根据权利要求16所述的免疫结合物,其中所述抗体连接到包含选自自由以下各项组成的群组的同位素的螯合物: ^{99}Tc 、 ^{203}Pb 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{72}As 、 ^{111}In 、 ^{113}In 、 ^{97}Ru 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{52}Fe 、 ^{52}Mn 、 ^{51}Cr 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{77}As 、 ^{90}Y 、 ^{67}Cu 、 ^{169}Er 、 ^{121}Sn 、 ^{127}Te 、 ^{142}Pr 、 ^{143}Pr 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 、 ^{161}Tb 、 ^{109}Pd 、 ^{165}Dy 、 ^{149}Pm 、 ^{151}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{157}Gd 、 ^{159}Gd 、 ^{166}Ho 、 ^{172}Tm 、 ^{169}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Lu 、 ^{105}Rh 以及 ^{111}Ag 。

38. 根据权利要求16所述的免疫结合物,其中所述抗体连接到与抗癌药物复合或含有抗癌药物的脂质或脂质体。

39. 根据权利要求16所述的免疫结合物,其中所述抗体连接到可检测标记。

40. 一种药学调配物,所述调配物包含:

药学上可接受的赋形剂和根据权利要求1所述的抗体;和/或

药学上可接受的赋形剂和根据权利要求16所述的免疫结合物。

41. 根据权利要求40所述的药学调配物,其中所述调配物为单位剂量调配物。

42. 根据权利要求40所述的调配物,其中所述调配物调配成经选自自由以下各项组成的群组的途径授予:经口授予、经鼻授予、直肠授予、腹膜内注射、血管内注射、皮下注射、经皮授予以及肌肉内注射。

43. 一种根据权利要求1所述的抗体或根据权利要求16所述的免疫结合物在制造用以抑制表达或过度表达CD46的前列腺癌细胞、多发性骨髓瘤细胞、结肠直肠癌细胞、胰脏癌细胞、间皮瘤细胞或卵巢癌细胞的生长和/或增殖的药物中的用途。

44. 根据权利要求43所述的用途,其中所述癌细胞为前列腺癌细胞。

45. 根据权利要求44所述的用途,其中所述癌细胞为去势难治性前列腺癌细胞。

46. 根据权利要求43所述的用途,其中所述细胞为转移性细胞。

47. 根据权利要求46所述的用途,其中所述转移性细胞为骨骼转移、肝脏转移、膀胱转移和/或淋巴结转移。

48. 根据权利要求43所述的用途,其中所述细胞为实体肿瘤细胞。

49. 根据权利要求43所述的用途,其中所述效应子包含放射性核素和/或细胞生长抑制

药物。

50. 根据权利要求49所述的用途,其中所述效应子包含以下各项中的一或多者:

细胞毒性和/或细胞抑制性药物;

含有细胞毒性和/或细胞抑制性药物的脂质或脂质体;

包含细胞毒性和/或细胞抑制性药物的聚合药物载剂;以及

包含细胞毒性和/或细胞抑制性药物的纳米粒子药物载剂。

51. 根据权利要求50所述的用途,其中所述药物为抗癌药物。

52. 根据权利要求51所述的用途,其中所述药物选自以下各项组成的群组:奥瑞他汀、海兔毒素、秋水仙碱、考布他汀以及mTOR/PI3K抑制剂。

53. 根据权利要求51所述的用途,其中所述药物为单甲基奥瑞他汀F。

54. 根据权利要求51所述的用途,其中所述药物选自以下各项组成的群组:氟尿嘧啶5-FU、卡培他滨、5-三氟甲基-2'-脱氧尿苷、甲胺喋呤钠、雷替曲赛、培美曲塞、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤、硫唑嘌呤、6-巯鸟嘌呤6-TG、喷司他汀、磷酸氟达拉滨、克拉屈滨、氟尿苷(5-氟-2)、核糖核苷酸还原酶抑制剂RNR、环磷酰胺、癌得散、异环磷酰胺、噻替派、1,3-双(2-氯乙基)-1-亚硝基脲BCNU、1, - (2-氯乙基)-3-环己基-亚硝基脲,甲基CCNU、六甲蜜胺、白消安、丙卡巴肼HCL、达卡巴嗪DTIC、苯丁酸氮芥、美法仑、顺铂、卡铂、奥沙利铂、苯达莫司汀、卡莫司汀、氮芥、达卡巴嗪DTIC、福莫司汀、洛莫司汀、甘露舒凡、奈达铂、尼莫司汀、泼尼氮芥、雷莫司汀、赛特铂、司莫司汀、链脲霉素、替莫唑胺、曲奥舒凡、三亚胺醌、三亚乙基三聚氰胺、噻替派、四硝酸特瑞铂、曲洛磷胺、乌拉莫司汀、小红莓、柠檬酸道诺霉素、米托蒽醌、放线菌素D、依托泊苷、拓朴替康HCL、替尼泊甙(VM-26)、伊立替康HCL(CPT-11)、喜树碱、贝洛替康、鲁比替康、长春新碱、硫酸长春碱、酒石酸长春瑞宾、硫酸长春地辛、太平洋紫杉醇、多西他赛、纳米粒子太平洋紫杉醇、亚伯杉烷、伊沙匹隆、拉洛他赛、奥他赛、替司他赛、长春氟宁、视黄酸、视黄酸衍生物、阿霉素、长春碱、长春新碱、环磷酰胺、异环磷酰胺、顺铂、5-氟尿嘧啶、喜树碱衍生物、干扰素、他莫昔芬以及紫杉醇。

55. 根据权利要求50所述的用途,其中:

所述药物直接结合到所述抗体;或

所述药物含于连接到所述抗体的脂质或脂质体中;或

所述药物含于连接到所述抗体的聚合和/或纳米粒子载剂中。

56. 根据权利要求43所述的用途,其中所述效应子包含细胞毒素。

57. 根据权利要求43所述的用途,其中所述药物包含医药学上可接受载剂。

58. 根据权利要求43所述的用途,其中所述药物用于向人类或非人类哺乳动物投予。

59. 根据权利要求43所述的用途,其中所述投予包含:

肠胃外投予;和/或

向肿瘤或手术部位投予。

60. 根据权利要求43所述的用途,其中所述抗体作为手术和/或放射疗法的辅助疗法投予。

61. 根据权利要求43所述的用途,其中所述药物用于与另一抗癌药物和/或激素结合投予。

62. 根据权利要求61所述的用途,其中所述药物用于与阿比特龙和/或恩杂鲁胺结合投

予。

63. 一种核酸,其编码根据权利要求1所述的抗体或根据权利要求12或13所述的抗体片段。

64. 一种表达载体,其包含根据权利要求63所述的核酸。

65. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述抗体通过巨胞饮内化。

66. 根据权利要求24所述的免疫结合物,其中所述抗体通过连接子MC-vc-PAB连接到所述药物。

67. 根据权利要求66所述的免疫结合物,其中所述效应子与所述抗体的比例是2或4。

巨胞饮人类抗CD46抗体和靶向癌症疗法

[0001] 相关申请案的交叉引用

[0002] 本申请案要求2014年9月12日申请的USSN 62/049,973的权益和优先权,其针对全部目的以全文引用的方式并入本文中。

[0003] 关于在联邦资助的研究与开发下进行的发明的权利的申明

[0004] 这一研究由美国国家卫生研究院(The National Institutes of Health)的批准号:R01CA118919、R01CA129491以及R01CA171315部分支持。政府拥有本发明的某些权利。

背景技术

[0005] 由于容易接入,所以肿瘤细胞表面抗原是治疗性开发的有价值目标。细胞表面的表位空间高度复杂。相关抗原可包括不容易从基因组拷贝数或mRNA表达水平预测的糖基化蛋白和其它翻译后修饰产物(刘(Liu)等人.(2004)癌症研究(Cancer Res.)64:704-710;小畑(Kobata)和安满能(Amano)(2005)免疫和细胞生物学(Immunol.Cell Biol.)83:429-439;毕克(Birkle)等人.(2003)生物化学(Biochimie)(巴黎(Paris))85:455-463;哈科莫里(Hakomori)(2001)实验医学与生物学进展(Adv.Exp.Med.Biol.)491:369-402;哈尼施,F.G.(Hanisch,F.G.)(2001)粘蛋白型O-连接糖基化(O-Glycosylation of the mucin type.)生物化学(Biol.Chem.)382,143-149;乌戈尔斯基(Ugorski)和拉斯科娃(Laskowska)(2002)波兰生物化学学报(Acta Biochim.Pol.)49:303-311)。

[0006] 肿瘤细胞表面表位的鉴别允许制造抗体以实现与赘生性细胞的特异性结合,这是可用于例如诱导抗体依赖性细胞毒性(参看例如克莱因斯(Clynes)等人.(2000)自然医学(Nat.Med.)6:443-446)或抑制肿瘤细胞迁移、生长和存活中涉及的信号传导路径(参看例如麦克沃特(McWhirter)等人.(2006)美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.),美国(USA),103:1041-1046;富斯(Fuh)等人.(2006)生物化学杂志(J.Biol.Chem.)281:6625-6631)的应用的能力。另外,靶向内化肿瘤表位的抗体可用于实现细胞毒素、细胞抑制剂、化学治疗药物和/或其它肿瘤调节剂的高效和特异性胞内传递(参看例如刘(Liu)等人.(2004)癌症研究(Cancer Res.)64:704-710;尼耳森(Nielsen)等人.(2002)生物化学与生物物理学报(Biochim.Biophys.Acta)1591:109-118;皮汝罗(Pirollo)等人.(2006)人类基因治疗(Hum.Gene Ther.)17:117-124;宋(Song)等人.(2005)自然生物技术(Nat.Biotechnol.)23:709-717;刘(Liu)等人.(2002)分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)315:1063-1073)。

[0007] 噬菌体抗体呈现已广泛用于开发癌症特异性抗体(参看例如刘(Liu)等人.(2004)癌症研究(Cancer Res.)64:704-710;刘(Liu)和马克斯(Marks)(2000)分析生物化学(Anal.Biochem.)286:119-128;15.马克斯(Marks)等人.(1992)生物技术(Biotechnology)(纽约(N.Y.))10:779-783;马克斯(Marks)等人.(1991)生物化学杂志(J.Mol.Biol.)222:581-597;马克斯(Marks)等人.(1992)分子生物学杂志(J.Biol.Chem.)267:16007-16010;莎伦(Sharon)等人.(2005)细胞生物化学杂志(J.Cell.Biochem.)96:305-313;斯拉兹(Silacci)等人.(2005)蛋白质组研究(Proteomics)5:2340-2350;高(Gao)等人.(2003)免

疫学方法杂志 (J. Immunol. Methods) 274:185-197; 勒科克 (Lekkerkerker) 和隆腾博 (Logtenberg) (1999) 免疫学方法杂志 (J. Immunol. Meth.), 231:53-63; 德库夫 (de Kruif) 等人. (1995) 美国国家科学院院刊 (Proc. Natl. Acad. Sci.), 美国 (USA), 92:3938-3942; 皮尼 (Pini) 等人. (1998) 生物化学杂志 (J. Biol. Chem.) 273:21 769-21 776)。组合噬菌体抗体文库用作随机形状抗体库的来源, 其可用于探测癌细胞表面上的赘生性变化 (参看例如刘 (Liu) 等人. (2004) 癌症研究 (Cancer Res.) 64:704-710; 归建 (Geuijen) 等人. (2005) 欧洲癌症杂志 (Eur. J. Cancer) 41:178-187; 波尔 (Poul) 等人. (2000) 分子生物学杂志 (J. Mol. Biol.) 301:1149-1161; 盖 (Cai) 和加伦 (Garen) (1995) 美国国家科学院院刊 (Proc. Natl. Acad. Sci.), 美国 (USA), 92:6537-6541)。选择直接在癌细胞株上的噬菌体抗体文库使能够在没有事先了解目标抗原的情况下鉴别肿瘤靶向抗体, 参看例如 (刘 (Liu) 等人. (2004) 癌症研究 (Cancer Res.) 64:704-710; 高 (Gao) 等人. (2003) 免疫学方法杂志 (J. Immunol. Methods) 274:185-197; 归建 (Geuijen) 等人. (2005) 欧洲癌症杂志 (Eur. J. Cancer) 41:178-187; 波尔 (Poul) 等人. (2000) 分子生物学杂志 (J. Mol. Biol.) 301:1149-1161)。

[0008] 尽管已经通过这一方法发现许多抗体, 但针对细胞株的筛选过程不会提供关于这些抗体对患者群体中的实际癌细胞特异性程度的写照。其也不是必然提供抗体是否将体内内化的指示。

发明内容

[0009] 在多个实施例中, 提供经巨胞饮路径内化并且进入肿瘤细胞的人类抗CD46抗体, 以及从这些抗体开发的用于诊断和/或治疗性靶向CD46过度表达肿瘤的抗体-药物结合物 (ADC)。

[0010] 本文涵盖的多个实施例可包括 (但不限于) 以下中的一或多个:

[0011] 实施例1: 一种经分离的人类抗体, 其特异性结合CD46并且内化到表达或过度表达CD46的细胞中, 其中: 所述抗体为特异性结合表达或过度表达CD46的细胞的抗体, 其中所述抗体特异性结合由一或多个选自由以下组成的群组的抗体结合的表位: YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8 κ ; 并且所述抗体经巨胞饮内化到所述细胞中。

[0012] 实施例2: 实施例1的抗体, 其中所述抗体结合CD46的结构域1和/或结构域2。

[0013] 实施例3: 实施例1或2的抗体, 其中所述抗体不结合CD46的结构域3和/或结构域4。

[0014] 实施例4: 根据实施例1到3中任一项的抗体, 其中所述表达或过度表达CD46的细胞为癌细胞。

[0015] 实施例5: 根据实施例1到4中任一项的抗体, 其中所述表达或过度表达CD46的细胞为前列腺癌细胞。

[0016] 实施例6: 实施例5的抗体, 其中所述抗体结合选自由以下组成的群组的细胞株的细胞: DU145细胞、PC3细胞和LnCaP细胞。

[0017] 实施例7: 根据实施例1到6中任一项的抗体, 其中当通过FACS在活前列腺肿瘤细胞上测量时, 所述抗体以至少约5-10nM的亲和力 (K_D) 结合于前列腺肿瘤细胞。

[0018] 实施例8: 实施例7的抗体, 其中当通过FACS在活前列腺肿瘤细胞上测量时, 所述抗

体以至少约3nM的亲合力(K_D)结合于前列腺肿瘤细胞。

[0019] 实施例9:根据实施例1到8中任一项所述的抗体,其中所述抗体为大体上完整免疫球蛋白。

[0020] 实施例10:实施例9的抗体,其中所述抗体包含IgA、IgE或IgG。

[0021] 实施例11:实施例9的抗体,其中所述抗体包含IgG1。

[0022] 实施例12:根据实施例1到8中任一项的抗体,其中所述抗体为特异性结合表达或过度表达CD46的细胞的抗体片段。

[0023] 实施例13:实施例12的抗体,其中所述抗体为选自由以下组成的群组的抗体片段:Fv、Fab、(Fab')₂、(Fab')₃、IgG Δ CH2以及微型抗体。

[0024] 实施例14:根据实施例1到8中任一项所述的抗体,其中所述抗体为单链抗体。

[0025] 实施例15:实施例14的抗体,其中所述抗体的VL区域通过氨基酸连接子连接到所述抗体的VH区域,所述氨基酸连接子的长度在约3个氨基酸到约15个氨基酸范围内。

[0026] 实施例16:实施例14的抗体,其中所述抗体的VL区域通过选自由以下组成的群组的氨基酸连接子连接到所述抗体的VH区域:GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO:67)、GGGGS GGGGS (SEQ ID NO:68)、GGGGS (SEQ ID NO:69)、GS GGGGS GGGGS GGS GGGGS (SEQ ID NO:70)、SGGGGS (SEQ ID NO:71)、GGGS (SEQ ID NO:72)、VPGV (SEQ ID NO:73)、VPGVG (SEQ ID NO:74)、GVPGVG (SEQ ID NO:75)、GVG VP GVG (SEQ ID NO:76)、VP GVG VP GVG (SEQ ID NO:77)、GGSSRSS (SEQ ID NO:78)以及GGSSRSSSSGGGSGGGG (SEQ ID NO:79)。

[0027] 实施例17:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与YS5竞争结合CD46。

[0028] 实施例18:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与YS5F竞争结合CD46。

[0029] 实施例19:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与YS5v1D竞争结合CD46。

[0030] 实施例20:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与SB1HGNV竞争结合CD46。

[0031] 实施例21:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与YS12竞争结合CD46。

[0032] 实施例22:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与3G7RY竞争结合CD46。

[0033] 实施例23:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与YS6竞争结合CD46。

[0034] 实施例24:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与YS1竞争结合CD46。

[0035] 实施例25:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与YS3竞争结合CD46。

[0036] 实施例26:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与YS4竞争结合CD46。

[0037] 实施例27:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与YS8竞争结合CD46。

[0038] 实施例28:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与YS7竞争结合CD46。

[0039] 实施例29:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与YS9竞争结合CD46。

[0040] 实施例30:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与YS10竞争结合CD46。

[0041] 实施例31:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与YS11竞争结合

CD46。

[0042] 实施例32:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与3G7HY竞争结合CD46。

[0043] 实施例33:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与3G7NY竞争结合CD46。

[0044] 实施例34:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与3G7竞争结合CD46。

[0045] 实施例35:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与SB2竞争结合CD46。

[0046] 实施例36:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与2C8竞争结合CD46。

[0047] 实施例37:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体与UA8 κ 竞争结合CD46。

[0048] 实施例38:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含选自由以下组成的群组的抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3,和/或VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3:YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8以及UA8 κ 。

[0049] 实施例39:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0050] 实施例40:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0051] 实施例41:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0052] 实施例42:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5抗体的可变轻(VL)链。

[0053] 实施例43:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5抗体的可变重(VH)链。

[0054] 实施例44:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5抗体的可变轻(VL)链和YS5抗体的可变重(VH)链。

[0055] 实施例45:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS5scFv。

[0056] 实施例46:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS5IgG。

[0057] 实施例47:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5F抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0058] 实施例48:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5F抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0059] 实施例49:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5F抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0060] 实施例50:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5F抗体的可变轻(VL)链。

[0061] 实施例51:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5F抗体的可变重(VH)链。

[0062] 实施例52:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5F抗体的可变

轻 (VL) 链和YS5F抗体的可变重 (VH) 链。

[0063] 实施例53:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS5F scFv。

[0064] 实施例54:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS5F IgG。

[0065] 实施例55:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5F抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0066] 实施例56:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5F抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0067] 实施例57:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5F抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0068] 实施例58:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5F抗体的可变轻 (VL) 链。

[0069] 实施例59:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5F抗体的可变重 (VH) 链。

[0070] 实施例60:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5F抗体的可变轻 (VL) 链和YS5F抗体的可变重 (VH) 链。

[0071] 实施例61:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS5F scFv。

[0072] 实施例62:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS5F IgG。

[0073] 实施例63:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5V1D抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0074] 实施例64:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5V1D抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0075] 实施例65:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5V1D抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0076] 实施例66:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5V1D抗体的可变轻 (VL) 链。

[0077] 实施例67:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5V1D抗体的可变重 (VH) 链。

[0078] 实施例68:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS5V1D抗体的可变轻 (VL) 链和YS5V1D抗体的可变重 (VH) 链。

[0079] 实施例69:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS5V1D scFv。

[0080] 实施例70:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS5V1D IgG。

[0081] 实施例71:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含SB1HGNY抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0082] 实施例72:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含SB1HGNY抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0083] 实施例73:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含SB1HGNY抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0084] 实施例74:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含SB1HGNY抗体的可变轻 (VL) 链。

[0085] 实施例75:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含SB1HGNY抗体的可变重(VH)链。

[0086] 实施例76:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含SB1HGNY抗体的可变轻(VL)链和SB1HGNY抗体的可变重(VH)链。

[0087] 实施例77:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类SB1HGNY scFv。

[0088] 实施例78:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类SB1HGNY IgG。

[0089] 实施例79:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS12抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0090] 实施例80:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS12抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0091] 实施例81:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS12抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0092] 实施例82:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS12抗体的可变轻(VL)链。

[0093] 实施例83:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS12抗体的可变重(VH)链。

[0094] 实施例84:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS12抗体的可变轻(VL)链和YS12抗体的可变重(VH)链。

[0095] 实施例85:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS12scFv。

[0096] 实施例86:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS12IgG。

[0097] 实施例87:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7RY抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0098] 实施例88:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7RY抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0099] 实施例89:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7RY抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0100] 实施例90:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7RY抗体的可变轻(VL)链。

[0101] 实施例91:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7RY抗体的可变重(VH)链。

[0102] 实施例92:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7RY抗体的可变轻(VL)链和3G7RY抗体的可变重(VH)链。

[0103] 实施例93:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类3G7RY scFv。

[0104] 实施例94:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类3G7RY IgG。

[0105] 实施例95:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS6抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0106] 实施例96:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS6抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0107] 实施例97:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS6抗体的VH

CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0108] 实施例98:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS6抗体的可变轻(VL)链。

[0109] 实施例99:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS6抗体的可变重(VH)链。

[0110] 实施例100:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS6抗体的可变轻(VL)链和YS6抗体的可变重(VH)链。

[0111] 实施例101:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS6scFv。

[0112] 实施例102:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS6IgG。

[0113] 实施例103:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS1抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0114] 实施例104:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS1抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0115] 实施例105:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS1抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0116] 实施例106:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS1抗体的可变轻(VL)链。

[0117] 实施例107:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS1抗体的可变重(VH)链。

[0118] 实施例108:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS1抗体的可变轻(VL)链和YS1抗体的可变重(VH)链。

[0119] 实施例109:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS1scFv。

[0120] 实施例110:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS1IgG。

[0121] 实施例111:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS3抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0122] 实施例112:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS3抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0123] 实施例113:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS3抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0124] 实施例114:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS3抗体的可变轻(VL)链。

[0125] 实施例115:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS3抗体的可变重(VH)链。

[0126] 实施例116:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS3抗体的可变轻(VL)链和YS3抗体的可变重(VH)链。

[0127] 实施例117:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS3scFv。

[0128] 实施例118:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS3IgG。

[0129] 实施例119:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS4抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0130] 实施例120:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS4抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0131] 实施例121:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS4抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0132] 实施例122:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS4抗体的可变轻(VL)链。

[0133] 实施例123:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS4抗体的可变重(VH)链。

[0134] 实施例124:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS4抗体的可变轻(VL)链和YS4抗体的可变重(VH)链。

[0135] 实施例125:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS4scFv。

[0136] 实施例126:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS4IgG。

[0137] 实施例127:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS8抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0138] 实施例128:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS8抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0139] 实施例129:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS8抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0140] 实施例130:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS8抗体的可变轻(VL)链。

[0141] 实施例131:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS8抗体的可变重(VH)链。

[0142] 实施例132:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS8抗体的可变轻(VL)链和YS8抗体的可变重(VH)链。

[0143] 实施例133:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS8scFv。

[0144] 实施例134:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS8IgG。

[0145] 实施例135:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS7抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0146] 实施例136:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS7抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0147] 实施例137:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS7抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0148] 实施例138:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS7抗体的可变轻(VL)链。

[0149] 实施例139:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS7抗体的可变重(VH)链。

[0150] 实施例140:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS7抗体的可变轻(VL)链和YS7抗体的可变重(VH)链。

[0151] 实施例141:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS7scFv。

- [0152] 实施例142:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS7IgG。
- [0153] 实施例143:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS9抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。
- [0154] 实施例144:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS9抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。
- [0155] 实施例145:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS9抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。
- [0156] 实施例146:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS9抗体的可变轻(VL)链。
- [0157] 实施例147:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS9抗体的可变重(VH)链。
- [0158] 实施例148:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS9抗体的可变轻(VL)链和YS9抗体的可变重(VH)链。
- [0159] 实施例149:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS9scFv。
- [0160] 实施例150:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS9IgG。
- [0161] 实施例151:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS10抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。
- [0162] 实施例152:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS10抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。
- [0163] 实施例153:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS10抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。
- [0164] 实施例154:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS10抗体的可变轻(VL)链。
- [0165] 实施例155:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS10抗体的可变重(VH)链。
- [0166] 实施例156:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS10抗体的可变轻(VL)链和YS10抗体的可变重(VH)链。
- [0167] 实施例157:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS10scFv。
- [0168] 实施例158:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS10IgG。
- [0169] 实施例159:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS11抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。
- [0170] 实施例160:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS11抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。
- [0171] 实施例161:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS11抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。
- [0172] 实施例162:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS11抗体的可变轻(VL)链。
- [0173] 实施例163:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS11抗体的可变重(VH)链。

- [0174] 实施例164:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含YS11抗体的可变轻(VL)链和YS11抗体的可变重(VH)链。
- [0175] 实施例165:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS11scFv。
- [0176] 实施例166:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类YS11IgG。
- [0177] 实施例167:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7HY抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。
- [0178] 实施例168:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7HY抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。
- [0179] 实施例169:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7HY抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。
- [0180] 实施例170:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7HY抗体的可变轻(VL)链。
- [0181] 实施例171:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7HY抗体的可变重(VH)链。
- [0182] 实施例172:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7HY抗体的可变轻(VL)链和3G7HY抗体的可变重(VH)链。
- [0183] 实施例173:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类3G7HY scFv。
- [0184] 实施例174:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类3G7HY IgG。
- [0185] 实施例175:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7NY抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。
- [0186] 实施例176:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7NY抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。
- [0187] 实施例177:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7NY抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。
- [0188] 实施例178:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7NY抗体的可变轻(VL)链。
- [0189] 实施例179:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7NY抗体的可变重(VH)链。
- [0190] 实施例180:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7NY抗体的可变轻(VL)链和3G7NY抗体的可变重(VH)链。
- [0191] 实施例181:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类3G7NY scFv。
- [0192] 实施例182:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类3G7NY IgG。
- [0193] 实施例183:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。
- [0194] 实施例184:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。
- [0195] 实施例185:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。
- [0196] 实施例186:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7抗体的可变

轻 (VL) 链。

[0197] 实施例187:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7抗体的可变重 (VH) 链。

[0198] 实施例188:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含3G7抗体的可变轻 (VL) 链和3G7抗体的可变重 (VH) 链。

[0199] 实施例189:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类3G7scFv。

[0200] 实施例190:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类3G7IgG。

[0201] 实施例191:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含SB2抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0202] 实施例192:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含SB2抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0203] 实施例193:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含SB2抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0204] 实施例194:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含SB2抗体的可变轻 (VL) 链。

[0205] 实施例195:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含SB2抗体的可变重 (VH) 链。

[0206] 实施例196:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含SB2抗体的可变轻 (VL) 链和SB2抗体的可变重 (VH) 链。

[0207] 实施例197:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类SB2scFv。

[0208] 实施例198:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类SB2IgG。

[0209] 实施例199:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含2C8抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0210] 实施例200:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含2C8抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0211] 实施例201:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含2C8抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0212] 实施例202:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含2C8抗体的可变轻 (VL) 链。

[0213] 实施例203:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含2C8抗体的可变重 (VH) 链。

[0214] 实施例204:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含2C8抗体的可变轻 (VL) 链和2C8抗体的可变重 (VH) 链。

[0215] 实施例205:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类2C8scFv。

[0216] 实施例206:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类2C8IgG。

[0217] 实施例207:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含UA8κ抗体的VH CDR1,和/或VH CDR2,和/或VH CDR3。

[0218] 实施例208:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含UA8κ抗体的VL CDR1,和/或VL CDR2,和/或VL CDR3。

[0219] 实施例209:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含UA8 κ 抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2以及VL CDR3。

[0220] 实施例210:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含UA8 κ 抗体的可变轻(VL)链。

[0221] 实施例211:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含UA8 κ 抗体的可变重(VH)链。

[0222] 实施例212:根据实施例1到16中任一项的抗体,其中所述抗体包含UA8 κ 抗体的可变轻(VL)链和UA8 κ 抗体的可变重(VH)链。

[0223] 实施例213:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类UA8 κ scFv。

[0224] 实施例214:实施例1的抗体,其中所述抗体为人类UA8 κ IgG。

[0225] 实施例215:一种免疫结合物,其包括连接到效应子的根据实施例1到214中任一项的抗体,其中所述效应子选自自由以下组成的群组:第二抗体、可检测标记、细胞毒素或细胞生长抑制剂、含有药物的脂质体、放射性核素、药物、前药、病毒粒子、细胞因子以及螯合物。

[0226] 实施例216:实施例215的免疫结合物,其中所述抗体连接到细胞毒素。

[0227] 实施例217:实施例216的免疫结合物,其中所述抗体连接到选自自由以下组成的群组的细胞毒素:白喉毒素、绿脓杆菌外毒素、蓖麻毒素、相思子毒素、沙泊宁(saporin)以及胸苷激酶。

[0228] 实施例218:实施例215的免疫结合物,其中所述抗体连接到细胞毒性和/或细胞抑制性药物。

[0229] 实施例219:实施例216的免疫结合物,其中所述抗体直接或通过连接子连接到以下中的一或多个:所述药物;含有所述药物的脂质或脂质体;包括所述药物的聚合药物载剂;以及包括所述药物的纳米粒子药物载剂。

[0230] 实施例220:根据实施例218到219中任一项的免疫结合物,其中所述药物为抗癌药物。

[0231] 实施例221:根据实施例218到219中任一项的免疫结合物,其中所述药物选自自由以下组成的群组:微管抑制剂、DNA破坏剂以及聚合酶抑制剂。

[0232] 实施例222:实施例221的免疫结合物,其中所述药物包含微管蛋白抑制剂。

[0233] 实施例223:实施例222的免疫结合物,其中所述药物包含选自自由以下组成的群组的药物:奥瑞他汀(auristatin)、海兔毒素-10、天然产物海兔毒素-10的合成衍生物,以及美登素(maytansine)或美登素衍生物。

[0234] 实施例224:实施例222的免疫结合物,其中所述药物包含选自自由以下组成的群组的药物:单甲基奥瑞他汀F(Monomethylauristatin F, MMAF)、奥瑞他汀E(Auristatin E, AE)、单甲基奥瑞他汀E(Monomethylauristatin E, MMAE)、vcMMAE以及vcMMAF。

[0235] 实施例225:实施例222的免疫结合物,其中所述药物包含选自自由以下组成的群组的美登素:美坦辛(DM1)、DM3和DM4。

[0236] 实施例226:实施例221的免疫结合物,其中所述药物包含DNA破坏剂。

[0237] 实施例227:实施例226的免疫结合物,其中所述药物包含选自自由以下组成的群组的药物:卡奇霉素、倍癌霉素和吡咯并苯并二氮呋。

[0238] 实施例228:实施例227的免疫结合物,其中所述药物包含卡奇霉素或卡奇霉素类

似物。

[0239] 实施例229:实施例227的免疫结合物,其中所述药物包含倍癌霉素。

[0240] 实施例230:实施例229的免疫结合物,其中所述药物包含选自由以下组成的群组的倍癌霉素:倍癌霉素A、倍癌霉素B1、倍癌霉素B2、倍癌霉素C1、倍癌霉素C2、倍癌霉素D、倍癌霉素SA、环丙基苯并吡啶多卡米辛(CC-1065)、森坦霉素(Centanamycin)、雷查霉素(Rachelmycin)、阿多来新(Adozelesin)、比折来新(Bizelesin)以及卡折来新(Carzelesin)。

[0241] 实施例231:实施例227的免疫结合物,其中所述药物包含吡咯并苯并二氮呋或吡咯并苯并二氮呋二聚体。

[0242] 实施例232:实施例231的免疫结合物,其中所述药物包含选自由以下组成的群组的药物:安曲霉素(Anthramycin)(和其二聚体)、甲基氨茴霉素(Mazethramycin)(和其二聚体)、富山霉素(Tomaymycin)(和其二聚体)、普拉卡素(Prothracarcin)(和其二聚体)、契卡霉素(Chicamycin)(和其二聚体)、新斯拉霉素A(Neothramycin A)(和其二聚体)、新斯拉霉素B(和其二聚体)、DC-81(和其二聚体)、西伯利亚霉素(Sibiromycin)(和其二聚体)、坡咯霉素A(Porothramycin A)(和其二聚体)、坡咯霉素B(和其二聚体)、西巴霉素(Sibanomycin)(和其二聚体)、赤霉素(Abbeymycin)(和其二聚体)、SG2000以及SG2285。

[0243] 实施例233:实施例221的免疫结合物,其中所述药物包含聚合酶抑制剂。

[0244] 实施例234:实施例233的免疫结合物,其中所述药物包含聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)抑制剂。

[0245] 实施例235:实施例234的免疫结合物,其中所述药物包含选自由以下组成的群组的聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)抑制剂:依尼帕瑞(Iniparib,BSI 201)、他拉柔帕瑞(Talazoparib,BMN-673)、奥拉帕尼(Olaparib,AZD-2281)、奥拉帕尼(Olaparib)、如卡帕瑞(Rucaparib,AG014699,PF-01367338)、维利帕瑞(Veliparib,ABT-888)、CEP 9722、MK 4827、BGB-290以及3-氨基苯甲酰胺。

[0246] 实施例236:根据实施例218到219中任一项的免疫结合物,其中所述药物选自由以下组成的群组:奥瑞他汀、海兔毒素、秋水仙碱、考布他汀(combretastatin)以及mTOR/PI3K抑制剂。

[0247] 实施例237:根据实施例218到219中任一项的免疫结合物,其中所述药物选自由以下组成的群组:氟尿嘧啶(5-FU)、卡培他滨(capecitabine)、5-三氟甲基-2'-脱氧尿苷、甲胺喋呤钠、雷替曲赛(raltitrexed)、培美曲塞(pemetrexed)、阿糖胞苷(cytosine Arabinoside)、6-巯基嘌呤、硫唑嘌呤、6-巯鸟嘌呤(6-TG)、喷司他汀(pentostatin)、磷酸氟达拉宾(fludarabine phosphate)、克拉屈滨(cladribine)、氟尿苷(floxuridine)(5-氟-2)、核糖核苷酸还原酶抑制剂(RNR)、环磷酰胺、癌得散(neosar)、异环磷酰胺、噻替派(thiotepa)、1,3-双(2-氯乙基)-1-亚硝基脲(BCNU)、1, - (2-氯乙基)-3-环己基-亚硝基脲,甲基(CCNU)、六甲蜜胺、白消安(busulfan)、丙卡巴肼HCL、达卡巴嗪(dacarbazine,DTIC)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、美法仑(melphalan)、顺铂(cisplatin)、卡铂(carboplatin)、奥沙利铂(oxaliplatin)、苯达莫司汀(bendamustine)、卡莫司汀(carmustine)、氮芥(chloromethine)、达卡巴嗪(dacarbazine,DTIC)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、甘露舒凡(mannosulfan)、奈达铂(nedaplatin)、尼莫司汀(nimustine)、泼尼

氮芥(prednimustine)、雷莫司汀(ranimustine)、赛特铂(satraplatin)、司莫司汀(semustine)、链脲霉素(streptozocin)、替莫唑胺(temozolomide)、曲奥舒凡(treosulfan)、三亚胺醌(triaziquone)、三亚乙基三聚氰胺、噻替派(thioTEPA)、四硝酸特瑞铂(triplatin tetranitrate)、曲洛磷胺(trofosfamide)、乌拉莫司汀(uramustine)、小红莓(doxorubicin)、柠檬酸道诺霉素(daunorubicin citrate)、米托蒽醌(mitoxantrone)、放线菌素D(actinomycin D)、依托泊苷(etoposide)、拓朴替康HCL(topotecan HCL)、替尼泊甙(teniposide, VM-26)、伊立替康HCL(irinotecan HCL, CPT-11)、喜树碱(camptothecin)、贝洛替康(belotecan)、鲁比替康(rubitecan)、长春新碱(vincristine)、硫酸长春碱(vinblastine sulfate)、酒石酸长春瑞宾(vinorelbine tartrate)、硫酸长春地辛(vindesine sulphate)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、多西他赛(docetaxel)、纳米粒子太平洋紫杉醇(nanoparticle paclitaxel)、亚伯杉烷(abraxane)、伊沙匹隆(ixabepilone)、拉洛他赛(larotaxel)、奥他赛(ortataxel)、替司他赛(tesetaxel)以及长春氟宁(vinflunine)。

[0248] 实施例238:根据实施例218到219中任一项的免疫结合物,其中所述药物选自由以下组成的群组:卡铂、顺铂、环磷酰胺、多西他赛、小红莓、埃罗替尼、依托泊苷、吉西他滨、甲磺酸伊马替尼、伊立替康、甲胺喋呤、索拉菲尼、舒尼替尼、拓朴替康、长春碱以及长春新碱。

[0249] 实施例239:根据实施例218到219中任一项的免疫结合物,其中所述药物选自由以下组成的群组:视黄酸(retinoic acid)、视黄酸衍生物、阿霉素(doxirubicin)、长春碱(vinblastine)、长春新碱(vincristine)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、异环磷酰胺(ifosfamide)、顺铂、5-氟尿嘧啶、喜树碱衍生物、干扰素、他莫昔芬(tamoxifen)以及紫杉醇(taxol)。在某些实施例中,抗癌化合物选自由以下组成的群组:亚伯杉烷、小红莓、帕米麟酸二钠、阿那曲唑(anastrozole)、依西美坦(exemestane)、环磷酰胺、表柔比星(epirubicin)、托瑞米芬(toremifene)、来曲唑(letrozole)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、甲地孕酮他莫昔芬(megestroltamoxifen)、太平洋紫杉醇、多西他赛(docetaxel)、卡培他滨(capecitabine)、乙酸戈舍瑞林(goserelin acetate)以及唑来膦酸(zoledronic acid)。

[0250] 实施例240:实施例215的免疫结合物,其中所述抗体连接到包括选自由以下组成的群组的同位素的螯合物: ^{99}Tc 、 ^{203}Pb 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{72}As 、 ^{111}In 、 ^{113}In 、 ^{97}Ru 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{52}Fe 、 ^{52}Mn 、 ^{51}Cr 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{77}As 、 ^{90}Y 、 ^{67}Cu 、 ^{169}Er 、 ^{121}Sn 、 ^{127}Te 、 ^{142}Pr 、 ^{143}Pr 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 、 ^{161}Tb 、 ^{109}Pd 、 ^{165}Dy 、 ^{149}Pm 、 ^{151}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{157}Gd 、 ^{159}Gd 、 ^{166}Ho 、 ^{172}Tm 、 ^{169}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Lu 、 ^{105}Rh 以及 ^{111}Ag 。

[0251] 实施例241:实施例215的免疫结合物,其中所述抗体连接到 α 发射极。

[0252] 实施例242:实施例241的免疫结合物,其中所述 α 发射极为铋213。

[0253] 实施例243:实施例215的免疫结合物,其中所述抗体连接到与抗癌药物复合或含有抗癌药物的脂质或脂质体。

[0254] 实施例244:实施例215的免疫结合物,其中所述抗体连接到可检测标记。

[0255] 实施例245:实施例244的免疫结合物,其中所述抗体连接到选自由以下组成的群组的可检测标记:放射性标记、不透射线标记、MRI标记以及PET标记。

[0256] 实施例246:一种药物调配物,所述调配物包括:医药学上可接受的赋形剂和根据实施例1到214中任一项的抗体;和/或医药学上可接受的赋形剂和根据实施例215到245中

任一项的免疫结合物。

[0257] 实施例247:实施例246的药物调配物,其中所述调配物为单位剂量调配物。

[0258] 实施例248:实施例246到247中任一项的调配物,其中所述调配物调配成经选自由以下组成的群组的途径授予:经口授予、经鼻授予、直肠授予、腹膜内注射、血管内注射、皮下注射、经皮授予以及肌肉内注射。

[0259] 实施例249:一种抑制表达或过度表达CD46的细胞生长和/或增殖的方法,所述方法包括:使所述癌细胞与根据实施例1到214中任一项的抗体接触;和/或使所述癌细胞与包括连接到效应子的根据实施例1到214中任一项的抗体的免疫结合物接触,所述效应子具有细胞生长抑制和/或细胞毒性活性。

[0260] 实施例250:实施例249的方法,其中所述方法包含使所述癌细胞与根据实施例1到214中任一项的抗体接触。

[0261] 实施例251:实施例249的方法,其中所述方法包含使所述癌细胞与包括连接到效应子的根据实施例1到214中任一项的抗体的免疫结合物接触,所述效应子具有细胞生长抑制和/或细胞毒性活性。

[0262] 实施例252:实施例249-251的方法,其中所述细胞为癌细胞。

[0263] 实施例253:实施例252的方法,其中所述细胞为过度表达CD46的癌细胞。

[0264] 实施例254:实施例252的方法,其中所述癌细胞选自由以下组成的群组:卵巢癌、结肠直肠癌、乳癌、肺癌、前列腺癌、肾癌、胰脏癌、间皮瘤、淋巴瘤、肝癌、尿道上皮癌、胃癌、多发性骨髓瘤、多形性胶质母细胞瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤以及子宫颈癌。

[0265] 实施例255:实施例252的方法,其中所述癌细胞为前列腺癌细胞。

[0266] 实施例256:实施例255的方法,其中所述癌细胞为去势难治性前列腺癌细胞。

[0267] 实施例257:实施例252的方法,其中所述癌细胞为多发性骨髓瘤的细胞。

[0268] 实施例258:根据实施例252到257中任一项的方法,其中所述细胞为转移性细胞。

[0269] 实施例259:实施例258的方法,其中所述转移性细胞为骨骼转移、肝脏转移、膀胱转移和/或淋巴结转移。

[0270] 实施例260:根据实施例252到258中任一项的方法,其中所述细胞为实体肿瘤细胞。

[0271] 实施例261:根据实施例249,以及251到260中任一项的方法,其中所述效应子包含放射性核素和/或细胞生长抑制药物。

[0272] 实施例262:实施例261的方法,其中所述效应子包含以下中的一或多个:细胞毒性和/或细胞抑制性药物;含有细胞毒性和/或细胞抑制性药物的脂质或脂质体;包括细胞毒性和/或细胞抑制性药物的聚合药物载剂;以及包括细胞毒性和/或细胞抑制性药物的纳米粒子药物载剂。

[0273] 实施例263:实施例262的方法,其中所述药物为抗癌药物。

[0274] 实施例264:实施例263的方法,其中所述药物选自由以下组成的群组:奥瑞他汀、海兔毒素、秋水仙碱、考布他汀以及mTOR/PI3K抑制剂。

[0275] 实施例265:实施例263的方法,其中所述药物为单甲基奥瑞他汀F。

[0276] 实施例266:实施例263的方法,其中所述药物选自由以下组成的群组:氟尿嘧啶(5-FU)、卡培他滨、5-三氟甲基-2'-脱氧尿苷、甲胺喋呤钠、雷替曲赛、培美曲塞、阿糖胞苷、

6-巯基嘌呤、硫唑嘌呤、6-硫鸟嘌呤 (6-TG)、喷司他汀、磷酸氟达拉滨、克拉屈滨、氟尿苷 (5-氟-2)、核糖核苷酸还原酶抑制剂 (RNR)、环磷酰胺、癌得散、异环磷酰胺、噻替派、1,3-双(2-氯乙基)-1-亚硝基脲 (BCNU)、1, - (2-氯乙基)-3-环己基-亚硝基脲, 甲基 (CCNU)、六甲蜜胺、白消安、丙卡巴肼HCL、达卡巴嗪 (DTIC)、苯丁酸氮芥、美法仑、顺铂、卡铂、奥沙利铂、苯达莫司汀、卡莫司汀、氮芥、达卡巴嗪 (DTIC)、福莫司汀、洛莫司汀、甘露舒凡、奈达铂、尼莫司汀、泼尼氮芥、雷莫司汀、赛特铂、司莫司汀、链脲霉素、替莫唑胺、曲奥舒凡、三亚胺醌、三亚乙基三聚氰胺、噻替派、四硝酸特瑞铂、曲洛磷胺、乌拉莫司汀、小红莓、柠檬酸道诺霉素、米托蒽醌、放线菌素D、依托泊苷、拓朴替康HCL、替尼泊甙 (VM-26)、伊立替康HCL (CPT-11)、喜树碱、贝洛替康、鲁比替康、长春新碱、硫酸长春碱、酒石酸长春瑞宾、硫酸长春地辛、太平洋紫杉醇、多西他赛、纳米粒子太平洋紫杉醇、亚伯杉烷、伊沙匹隆、拉洛他赛、奥他赛、替司他赛以及长春氟宁。

[0277] 实施例267: 实施例263的方法, 其中所述药物选自由以下组成的群组: 卡铂、顺铂、环磷酰胺、多西他赛、小红莓、埃罗替尼、依托泊苷、吉西他滨、甲磺酸伊马替尼、伊立替康、甲胺喋呤、索拉菲尼、舒尼替尼、拓朴替康、长春碱以及长春新碱。

[0278] 实施例268: 实施例263的方法, 其中所述药物选自由以下组成的群组: 视黄酸、视黄酸衍生物、阿霉素、长春碱、长春新碱、环磷酰胺、异环磷酰胺、顺铂、5-氟尿嘧啶、喜树碱衍生物、干扰素、他莫昔芬以及紫杉醇。在某些实施例中, 所述抗癌化合物选自由以下组成的群组: 亚伯杉烷、小红莓、帕米膦酸二钠、阿那曲唑、依西美坦、环磷酰胺、表柔比星、托瑞米芬、来曲唑、曲妥珠单抗、甲地孕酮他莫昔芬、太平洋紫杉醇、多西他赛、卡培他滨、乙酸戈舍瑞林以及唑来膦酸。

[0279] 实施例269: 根据实施例262到268中任一项的方法, 其中所述药物结合到所述抗体。

[0280] 实施例270: 根据实施例262到268中任一项的方法, 其中所述药物含于连接到所述抗体的脂质或脂质体中。

[0281] 实施例271: 根据实施例262到268中任一项的方法, 其中所述药物含于连接到所述抗体的聚合和/或纳米粒子载体中。

[0282] 实施例272: 实施例249, 和251到260的方法, 其中所述效应子包含细胞毒素。

[0283] 实施例273: 实施例272的方法, 其中所述细胞毒素选自由以下组成的群组: 白喉毒素、绿脓杆菌外毒素、蓖麻毒素、相思子毒素、沙泊宁以及胸苷激酶。

[0284] 实施例274: 实施例249的方法, 其中所述效应子包含放射性核素。

[0285] 实施例275: 根据实施例249到274中任一项的方法, 其中所述免疫结合物或抗体在包括医药可接受载剂的医药组合中投予。

[0286] 实施例276: 根据实施例249到275中任一项的方法, 其中所述投予包含向人类投予。

[0287] 实施例277: 根据实施例249到275中任一项的方法, 其中所述投予包含向人类或非人类哺乳动物投予。

[0288] 实施例278: 根据实施例249到277中任一项的方法, 其中所述投予包含肠胃外投予。

[0289] 实施例279: 根据实施例249到277中任一项的方法, 其中所述投予包含投予到肿瘤

或手术部位中。

[0290] 实施例280:根据实施例249到279中任一项的方法,其中所述免疫结合物作为手术和/或放射疗法的辅助疗法授予。

[0291] 实施例281:根据实施例249到279中任一项的方法,其中所述抗体和/或免疫结合物与另一抗癌药物和/或激素结合授予。

[0292] 实施例282:实施例281的方法,其中所述抗体和/或免疫结合物与阿比特龙(abiraterone)和/或恩杂鲁胺(enzalutamide)结合授予。

[0293] 实施例283:实施例282的方法,其中所述细胞包含前列腺癌细胞。

[0294] 实施例284:实施例283的方法,其中所述前列腺癌细胞包含神经内分泌前列腺癌(NEPC)细胞。

[0295] 实施例285:实施例283的方法,其中所述前列腺癌细胞包含对阿比特龙(Abi)或恩杂鲁胺(Enz)耐药的转移性去势难治性前列腺癌(mCRPC)细胞。

[0296] 实施例286:一种检测表达或过度表达CD46的癌症的癌细胞的方法,所述方法包括:使所述癌细胞与包括连接到可检测标记的根据实施例1到214中任一项的抗体的免疫结合物接触;以及检测所述可检测标记的存在和/或位置,其中所述存在和/或位置为癌细胞的位置和/或存在的指示。

[0297] 实施例287:实施例286的方法,其中所述标记包含选自由以下组成的群组的标记:放射性标记、不透射线标记、MRI标记、PET标记以及SPECT标记。

[0298] 实施例288:实施例286的方法,其中所述可检测标记选自由以下组成的群组: γ -发射极、正电子发射极、x射线发射极、 α 发射极以及荧光发射极。

[0299] 实施例289:根据实施例286到288中任一项的方法,其中所述癌细胞选自由以下组成的群组:卵巢癌、结肠直肠癌、乳癌、肺癌、前列腺癌、肾癌、胰脏癌、间皮瘤、淋巴瘤、肝癌、尿道上皮癌、胃癌、多发性骨髓瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤以及子宫颈癌。

[0300] 实施例290:实施例289的方法,其中所述癌细胞为前列腺癌细胞。

[0301] 实施例291:实施例290的方法,其中所述癌细胞为去势难治性前列腺癌的细胞。

[0302] 实施例292:实施例289的方法,其中所述癌细胞为多发性骨髓瘤的细胞。

[0303] 实施例293:根据实施例286到292中任一项的方法,其中所述接触包含将所述免疫结合物授予到非人类哺乳动物。

[0304] 实施例294:根据实施例286到292中任一项的方法,其中所述接触包含向人类授予所述免疫结合物。

[0305] 实施例295:根据实施例286到294中任一项的方法,其中所述检测包含体内检测所述标记。

[0306] 实施例296:实施例295的方法,其中所述检测包含使用选自由以下组成的群组的检测方法:X射线、PET、SPECT、MRI以及CAT。

[0307] 实施例297:根据实施例286到294中任一项的方法,其中所述检测包含在活体检查或来源于活体检查的样品中离体检测所述标记。

[0308] 实施例298:一种核酸,其编码根据实施例1到214中任一项的抗体或抗体片段。

[0309] 实施例299:一种表达载体,其包括实施例298的核酸。

[0310] 实施例300:一种细胞,其包括实施例299的表达载体。

[0311] 定义

[0312] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换地使用以指氨基酸残基的聚合物。所述术语适用于一或多个氨基酸残基是相应天然存在的氨基酸的人工化学类似物的氨基酸聚合物,以及天然存在的氨基酸聚合物。所述术语还包括接合构成多肽的氨基酸的传统肽键的变体。

[0313] 本文的术语“核酸”或“寡核苷酸”或语法等效物是指共价连接在一起的至少两个核苷酸。本发明的核酸优选为单股或双股并且一般将含有磷酸二酯键,但在一些情况下,如下文所概述,包括可具有替代主链的核酸类似物,包含例如磷酰胺(博凯奇(Beaucage)等人.(1993)四面体(Tetrahedron) 49(10):1925)以及其中的参考文献;莱斯辛格(Letsinger)(1970)有机化学杂志(J.Org.Chem.) 35:3800;斯布林佐(Sprinzl)等人.(1977)欧洲生物化学杂志(Eur.J.Biochem.) 81:579;莱斯辛格(Letsinger)等人.(1986)核酸研究(Nucl.Acids Res.) 14:3487;沙怀(Sawai)等人.(1984)化学快报(Chem.Lett.) 805,莱斯辛格(Letsinger)等人.(1988)美国化学学会杂志(J.Am.Chem.Soc.) 110:4470;以及保韦尔斯(Pauwels)等人.(1986)化学技术(Chemica Scripta) 26:1419、硫代磷酸酯(麦格(Mag)等人.(1991)核酸研究(Nucleic Acids Res.) 19:1437;以及美国专利第5,644,048号)、二硫代磷酸酯(布利(Briu)等人.(1989)美国化学学会杂志(J.Am.Chem.Soc.) 111:2321、0-甲基亚磷酰胺键(参看埃克斯坦(Eckstein),寡核苷酸和类似物:实用方法(Oligonucleotides and Analogues:A Practical Approach),牛津大学出版社(Oxford University Press)),以及肽核酸主链和键(参看埃格霍尔姆(Egholm)(1992)美国化学学会杂志(J.Am.Chem.Soc.) 114:1895;迈耶(Meier)等人.(1992)德国应用化学(英语版)(Chem.Int.Ed.Engl.) 31:1008;尼耳森(Nielsen)(1993)自然(Nature), 365:566;卡尔森(Carlsson)等人.(1996)自然(Nature) 380:207)。其它类似物核酸包括具有阳性主链(登普西(Denpcy)等人.(1995)美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA) 92:6097;非离子主链(美国专利第5,386,023号、第5,637,684号、第5,602,240号、第5,216,141号及第4,469,863号;德国应用化学(1991)(英语版)(Angew.(1991)Chem.Intl.Ed.English) 30:423;莱斯辛格(Letsinger)等人.(1988)美国化学学会杂志(J.Am.Chem.Soc.) 110:4470;莱斯辛格(Letsinger)等人.(1994)核苷和核苷酸(Nucleoside&Nucleotide) 13:1597;第2章和第3章,ASC会议系列580,“反义研究中的碳水化合物修饰(Carbohydrate Modifications in Antisense Research)”,Y.S.桑慧(Y.S.Sanghui)和P.丹库克(P.Dan Cook)编;梅斯麦克(Mesmaeker)等人.(1994),生物有机化学与医药化学通讯(Bioorganic&Medicinal Chem.Lett.) 4:395;杰夫(Jeffs)等人.(1994)生物分子杂志NMR(J.Biomolecular NMR) 34:17;四面体通讯(Tetrahedron Lett.) 37:743(1996))以及非核糖主链(包括美国专利第5,235,033号和第5,034,506号,以及第6章和第7章,ASC会议系列580,反义研究中的碳水化合物修饰(Carbohydrate Modifications in Antisense Research),Y.S.桑慧(Y.S.Sanghui)和P.丹库克(P.Dan Cook)编中所述的那些)的那些。含有一或多个碳环糖的核酸也包括在核酸的定义内(参看詹金斯(Jenkins)等人(1995),化学会评论(Chem.Soc.Rev.) pp169-176)。罗尔斯(Rawls),化学与工程新闻(C&E News) 1997年6月2日第35页中描述了几种核酸类似物。可以对磷酸核糖主链进行这些修饰以促进添加额外部分(例如标记),或提高这类分子在生理学环境中的稳定性和半衰期。

[0314] 如本文所用,术语“残基”指的是天然、合成或经修饰的氨基酸。

[0315] 如本文所用,“抗体”指的是由大体上由免疫球蛋白基因或免疫球蛋白基因片段编码的一或多个多肽组成的蛋白质。所识别的免疫球蛋白基因包括 κ 、 λ 、 α 、 γ 、 δ 、 ϵ 和 μ 恒定区基因以及无数免疫球蛋白可变区基因。将轻链归类为 κ 或 λ 。将重链归类为 γ 、 μ 、 α 、 δ 或 ϵ ,其转而界定免疫球蛋白类别,分别为IgG、IgM、IgA、IgD以及IgE。

[0316] 典型免疫球蛋白(抗体)结构单元已知包含四聚体。每一四聚体由两对相同的多肽链组成,每一对具有一个“轻”链(约25kD)和一个“重”链(约50-70kD)。每一链的N端界定具有约100到110个或更多个主要负责抗原识别的氨基酸的可变区。术语可变轻链(V_L)和可变重链(V_H)分别是指这些轻链和重链。

[0317] 抗体作为完整免疫球蛋白或作为通过使用各种肽酶消化而产生的多个明确表征的片段存在。因此,举例来说,胃蛋白酶消化铰链区中的二硫键下方的抗体以产生 $F(ab)'_2$ (一种自身为由双硫键接合到 V_H-C_H1 的轻链的Fab的二聚体)。可以在温和条件下还原 $F(ab)'_2$ 以断裂铰链区中的双硫键,从而将 $(Fab')_2$ 二聚体转化成Fab'单体。Fab'单体基本上为具有铰链区的部分的Fab(其它抗体片段的更详细描述参看基础免疫学(Fundamental Immunology),W.E.保罗(W.E.Paul)编,雷文出版社(Raven Press),纽约州(N.Y.) (1993))。尽管多种抗体片段根据完整抗体的消化来定义,但所属领域技术人员将了解这类Fab'片段可以化学上或通过利用重组DNA方法重新合成。因此,如本文中所用的术语抗体还包括通过修饰整个抗体产生的抗体片段或通过使用重组DNA方法重新合成的抗体片段。特定优选抗体包括单链抗体(以单个多肽链形式存在的抗体),更优选单链Fv抗体(sFv或scFv),其中可变重链和可变轻链接合在一起(直接或通过肽连接子)形成连续多肽。单链Fv抗体是共价连接的 V_H-V_L 杂二聚体,它可以从包括直接接合或由肽编码连接子接合的 V_H 和 V_L 编码序列的核酸表达。休斯顿(Huston)等人,(1988)美国国家科学院院刊(Proc.Nat.Acad.Sci.USA),85:5879-5883。尽管 V_H 和 V_L 以单个多肽链形式彼此连接,但 V_H 和 V_L 结构域以非共价方式关联。打算在丝状噬菌体表面上表达的第一功能性抗体分子是单链Fv(scFv),然而,替代表达策略也已经取得成功。举例来说,如果一条链(重链或轻链)融合到g3衣壳蛋白并且互补链以可溶性分子形式输出到胞外质,那么Fab分子可以在噬菌体上呈现。两条链可以在相同或不同复制子上编码;重点是各Fab分子中的两个抗体链翻译后装配并且二聚体经例如到g3p的一个链的键联并入到噬菌体粒子中(例如参看美国专利第5733743号)。所属领域的普通技术人员已知scFv抗体和将天然聚集但化学上分离的轻多肽链和重多肽链从抗体V区域转化到折叠成与抗原结合位点结构大体上类似的三维结构的分子的许多其它结构(参看例如美国专利第5,091,513号、第5,132,405号以及第4,956,778号)。尤其优选抗体应包括噬菌体上已经呈现的全部抗体(例如scFv、Fv、Fab以及二硫化物连接的Fv(瑞特(Reiter)等人,(1995)蛋白质工程(Protein Eng.)8:1323-1331))。

[0318] 当涉及生物分子(例如蛋白质、核酸、抗体等)时,如本文所用的术语“特异性结合”指的是决定非均质分子群体中生物分子(例如蛋白质和其它生物制剂)的存在的结合反应。因此,在指定条件下(例如抗体情况中的免疫分析条件或核酸情况中的严格杂交条件),规定的配位体或抗体结合于其具体“目标”分子并且不会显著结合于样品中存在的其它分子。

[0319] 如本文所用的短语“抑制表达CD46的细胞的增殖”指的是本文所述的抗CD46抗体或免疫结合物使表达CD46的细胞的增殖相对于在无抗体或免疫结合物存在的情况下的增

殖减少(优选地统计学显著减少)的能力。在一个实施例中,当细胞与本文所述的抗体或其抗原结合部分或免疫结合物接触时,相对于在无抗体或其抗原结合部分或免疫结合物存在的情况下测量的增殖(对照组),表达CD46的细胞(例如癌细胞)的增殖可以降低至少10%,或至少20%,或至少30%,或至少40%,或至少50%,或至少60%,或至少70%,或至少80%,或至少90%,或100%。细胞增殖可以使用测量细胞分裂速率、细胞群体内发生细胞分裂的细胞的部分,和/或由于末端分化或细胞死亡引起的细胞群体的细胞损失速率的所属领域公认的技术(例如使用细胞效价辉光分析法或胸苷并入)分析。

[0320] 如本文所用的短语“抑制表达CD46的细胞迁移”指的是本文所述的抗CD46抗体或其抗原结合部分或免疫结合物使表达CD46的细胞的迁移相对于在无所抗体存在的情况下的细胞迁移减少(优选地统计学显著减少)的能力。在一个实施例中,当细胞与抗体或其抗原结合部分或其免疫结合物接触时,相对于在无抗体或其抗原结合部分或其免疫结合物存在的情况下测量的细胞迁移(对照组),表达CD46的细胞(例如癌细胞)的迁移可以减少至少10%,或至少20%,或至少30%,或至少40%,或至少50%,或至少60%,或至少70%,或至少80%,或至少90%或100%。细胞迁移可以使用所述领域公认的技术分析。在多个实施例中,预期本文所述的抗体和/或其免疫结合物可以抑制表达或过度表达CD46的细胞(例如如本文所述的癌细胞)的迁移。

[0321] 如本文所用,术语抗体的“抗原结合部分”(或仅“抗体部分”)指的是抗体的保留特异性结合于抗原的能力的一或多个片段(例如CD46结构域1和/或结构域2)。已展示抗体的抗原结合功能可由全长抗体的片段进行。术语抗体的“抗原结合部分”内涵盖的结合片段的实例包括(i) Fab片段,一种由 V_L 、 V_H 、CL和CH1结构域组成的单价片段;(ii) $F(ab')_2$ 片段,一种包含铰链区处由二硫桥键连接的两个Fab片段的二价片段;(iii) Fd片段,其由 V_H 和CH1结构域组成;(iv) Fv片段,其由抗体的单臂的 V_L 和 V_H 结构域组成,(v) 包括 V_H 和 V_L 结构域的dAb;(vi) dAb片段(参看例如沃德(Ward)等人,(1989)自然(Nature) 341:544-546),其由 V_H 结构域组成;(vii) 由 V_H 或 V_L 结构域组成的dAb;以及(viii) 经分离的互补决定区(CDR),或(ix) 两个或更多个经分离的CDR的组合,其可任选地经合成连接子接合。此外,尽管Fv片段的两个结构域(V_L 和 V_H)是通过单独的基因编码的,但是这两个结构域可以使用重组方法通过合成连接子接合,所述连接子能够使其制造成 V_L 和 V_H 区域配对形成单价分子的单个蛋白质链(称为单链Fv(scFv);参看例如伯德(Bird)等人,(1988)科学(Science) 242:423-426;以及休斯顿(Huston)等人,(1988)美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA) 85:5879-5883)。这类单链抗体也打算涵盖在术语抗体的“抗原结合部分”内。这些抗体片段是使用所属领域的技术人员已知的常规技术获得的,并且以与完整抗体相同的方式针对效用对片段进行筛选。抗原结合部分可以通过重组DNA技术,或通过完整免疫球蛋白的酶促或化学裂解来产生。

[0322] 如本文所用的术语“单克隆抗体”指的是从大体上均质抗体群体获得的抗体,即构成这一群体的个别抗体除了可以少量存在的可能天然存在的突变之外是相同的。单克隆抗体针对单一抗原位点具高度特异性。此外,相比于通常包括针对不同决定子(表位)的不同抗体的常规(多克隆)抗体制剂,每种单克隆抗体针对抗原上的单个决定子。单克隆抗体可以使用所属领域公认的任何技术和本文所述的那些技术制备,例如融合瘤方法,如科勒(Kohler)等人.(1975)自然(Nature), 256:495所述,转基因动物,例如(参看例如隆伯格

(Lonberg) 等人 (1994) 自然 (Nature) 368 (6474) :856-859) 所述, 重组DNA法 (参看例如美国专利第4,816,567号), 或使用噬菌体抗体文库使用例如克拉克森 (Clackson) 等人. (1991) 自然 (Nature), 352:624-628, 以及马克斯 (Marks) 等人 (1991) 分子生物学杂志 (J.Mol.Biol.), 222:581-597中所述的技术。单克隆抗体包括嵌合抗体、人类抗体和人类化抗体并且可以天然存在或以重组方式制造。

[0323] 术语“重组抗体”指的是通过重组方式制备、表达、形成或分离的抗体, 例如 (a) 针对免疫球蛋白基因 (例如人类免疫球蛋白基因) 转基因或转染色体的动物 (例如小鼠) 或由其制备的融合瘤分离的抗体, (b) 从经转型以表达例如来自转染瘤的抗体的宿主细胞分离的抗体, (c) 使用噬菌体呈现从重组组合性抗体文库 (例如含有人类抗体序列) 分离的抗体, 以及 (d) 通过涉及将免疫球蛋白基因序列 (例如人类免疫球蛋白基因) 拼接 to 其它DNA序列的任何其它方式制备、表达、形成或分离的抗体。这类重组抗体可具有来源于人类生殖系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区。在某些实施例中, 然而, 这类重组人类抗体可以进行体外突变诱发, 并且因此重组抗体的 V_H 和 V_L 区域的氨基酸序列是尽管来源于并且关于人类生殖系 V_H -和 V_L 序列, 但不天然存在于体内人类抗体生殖系抗体库的序列。

[0324] 术语“嵌合免疫球蛋白”或抗体指的是可变区来源于第一物种并且恒定区来源于第二物种的免疫球蛋白或抗体。嵌合免疫球蛋白或抗体可以例如通过基因工程改造从属于不同物种的免疫球蛋白基因区段建构。

[0325] 如本文所用, 术语“人类抗体”打算包括可变区中的构架区和CDR区都来源于人类生殖系免疫球蛋白序列的抗体, 例如卡巴特 (Kabat) 等人 (参看卡巴特 (Kabat) 等人 (1991) 具有免疫学重要性的蛋白质序列 (Sequences of proteins of Immunological Interest), 第五版, 美国卫生和公众服务部 (U.S.Department of Health and Human Services), NIH公开案第91-3242号) 所述。另外, 如果抗体含有恒定区, 那么恒定区还来源于人类生殖系免疫球蛋白序列。人类抗体可包括不由人类生殖系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基 (例如由体外无规或定点突变诱发或体内体细胞突变引入的突变)。然而, 如本文所用, 术语“人类抗体”不打算包括来源于另一哺乳动物物种 (例如小鼠) 生殖系的CDR序列移植到人类构架序列上的抗体。

[0326] 人类抗体的至少一个或更多个氨基酸可以置换成氨基酸残基, 例如不由人类生殖系免疫球蛋白序列编码的活性提高氨基酸残基。通常, 人类抗体可以有高达二十个位置置换成不为人类生殖系免疫球蛋白序列的部分的氨基酸残基。在一个具体实施例中, 如下文详细描述, 这些置换在CDR区内。

[0327] 术语“人类化免疫球蛋白”或“人类化抗体”指的是包括至少一个人类化免疫球蛋白或抗体链 (即至少一个人类化轻链或重链) 的免疫球蛋白或抗体。术语“人类化免疫球蛋白链”或“人类化抗体链” (即“人类化免疫球蛋白轻链”或“人类化免疫球蛋白重链”) 指的是具有包括大体上来自人类免疫球蛋白或抗体的可变构架区和大体上来自非人类免疫球蛋白或抗体的互补决定区 (CDR) (例如至少一个CDR, 优选两个CDR, 更优选三个CDR) 的可变区, 并且进一步包括恒定区 (例如在轻链的情况下, 至少一个恒定区或其部分, 以及在重链的情况下, 优选三个恒定区) 的免疫球蛋白或抗体链 (即分别轻链或重链)。术语“人类化可变区” (例如“人类化轻链可变区”或“人类化重链可变区”) 指的是包括大体上来自人类免疫球蛋白或抗体的可变构架区和大体上来自非人类免疫球蛋白或抗体的互补决定区 (CDR) 的可变

区。

[0328] 如本文所用,“异源抗体”相对于制造此类抗体的转基因非人类生物体或植物定义。

[0329] 如本文所用,“经分离抗体”打算指抗体大体上不含具有不同抗原特异性的其它抗体(例如特异性结合到CD46的经分离抗体大体上不含特异性结合除CD46以外的抗原的抗体)。另外,经分离抗体通常大体上不含其它细胞材料和/或化学物质。在一个实施例中,具有不同CD46结合特异性的“经分离”单克隆抗体的组合在充分界定的组合物中组合。

[0330] 如本文所用,“同型”指的是由重链恒定区基因编码的抗体类别(例如IgM或IgG1)。在一个实施例中,抗体或其抗原结合部分具有选自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgAsec、IgD或IgE抗体同型的同型。在一些实施例中,本发明的单克隆抗体具有IgG1同型。在其它实施例中,本发明的单克隆抗体具有IgG2同型。

[0331] “抗原”为抗体或其抗原结合部分结合的实体(例如蛋白质实体或肽)。在本发明的多个实施例中,抗原例如呈现于细胞(例如CD46阳性癌细胞)上的CD46。

[0332] 术语“表位”或“抗原决定子”指的是抗原上免疫球蛋白或抗体特异性结合的位点。表位可以由连续氨基酸或经蛋白质的三级折叠并接的不连续氨基酸形成。由连续氨基酸形成的表位在暴露于变性溶剂时通常保留,而由三级折叠形成的表位在用变性溶剂处理时通常丢失。表位通常包括呈独特空间构形的至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个氨基酸。测定表位的空间构形的方法包括所属领域中的技术和本文所述的那些技术,例如x射线晶体学和2维核磁共振(参看例如分子生物学方法中的表位定位方案(Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology),第66卷,G.E.莫里斯(G.E.Morris)编.(1996))。

[0333] 本文还涵盖与本文所述的YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8 κ 抗体接合相同或重叠表位的抗体。识别同一表位的抗体可以使用常规技术(例如免疫分析法),例如通过显示一个抗体阻断另一抗体与目标抗原结合的能力(即竞争性结合分析法)来鉴别。竞争性结合在所测试的免疫球蛋白抑制参考抗体与共用抗原(例如CD46结构域1和/或结构域2)特异性结合的分析法中测定。已知许多类型的竞争性结合分析法,例如:固相直接或间接放射免疫分析(RIA)、固相直接或间接酶免疫分析(EIA)、夹心式竞争分析(参看例如斯塔西(Stahli)等人(1983)酶学方法(Meth.Enzymol.),9:242);固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA(参看柯克兰(Kirkland)等人,(1986)免疫学杂志(J.Immunol.)137:3614);固相直接标识分析法、固相直接标识夹心式分析法(参看例如哈洛(Harlow)和兰尼(Lane)(1988)抗体:实验室手册(Antibodies:A Laboratory Manual),冷泉港出版社(Cold Spring Harbor Press));例如使用¹²⁵I标记的固相直接标记RIA(参看例如莫雷尔(Morel)等人,(1988)分子免疫学(Mol.Immunol.)25(1):7);固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA(张(Cheung)等人,(1990)病毒学(Virology)176:546);以及直接标记的RIA。(莫尔登豪尔(Moldenhauer)等人,(1990)斯堪的纳维亚免疫学杂志(Scand J.Immunol.)32:77)。通常,这类分析法涉及使用结合于携带未标记的测试免疫球蛋白和静标记的参考免疫球蛋白中任一者的固体表面或细胞的经纯化的抗原(例如CD46结构域1和/或结构域2)。竞争性抑制通过在测试免疫球蛋白存在下测定与固体表面或细胞结合的标记的量来测量。测试免疫球蛋白通常过量存

在。通常,当竞争抗体过量存在时,其将参考抗体与共用抗原的特异性结合抑制至少50-55%,55-60%,60-65%,65-70%,70-75%或更多。

[0334] 如本文所用,术语“特异性结合”和“选择性结合”意思是抗体或其抗原结合部分对特定抗原或表位呈现显著亲和力,并且一般不展现与其它抗原和表位的显著交叉反应性。“显著”或优选结合包括以至少(KD等于或小于) 10^{-6}M 、 10^{-7}M 、 10^{-8}M 、 10^{-9}M 、 10^{-10}M 或 10^{-11}M 的亲和力结合。大于 10^{-9}M ,优选地大于 10^{-10}M 的亲和力更优选。本文所述值之间的值也打算在本发明的范围内,并且优选结合亲和力可以表示为亲和力范围,例如 10^{-6}M 到 10^{-11}M ,优选 10^{-7}M 或 10^{-8}M 到 10^{-10}M 。“不展现显著交叉反应性”的抗体是将不与非所需实体(例如非所需蛋白质实体)显著接合的抗体。举例来说,在一个实施例中,特异性结合到CD46(例如结构域1和/或结构域2)蛋白质的抗体或其抗原结合部分将不与其它分子和非CD46蛋白质或肽显著反应。特异性或选择性结合可以根据用于测定这类结合的所属领域公认的任何方式测定,包括例如根据史卡查分析(Scatchard analysis)和/或竞争性结合分析法。

[0335] 如本文所用,术语“ K_D ”打算指具体抗体-抗原相互作用的解离平衡常数或抗体对抗原的亲和力。在一个实施例中,如使用表面电浆子共振分析法或细胞结合分析法所测量,根据本发明的抗体或其抗原结合部分以5nM或更好(即,或更低)(例如40nM或30nM或20nM或10nM或更低)的亲和力(K_D)结合抗原(例如CD46结构域1和/或结构域2)。在一个特定实施例中,如使用表面电浆子共振分析法或细胞结合分析法所测量,根据本发明的抗体或其抗原结合部分以5nM或更好(例如4nM、2nM、1.5nM、1.4nM、1.3nM、1nM或更低)的亲和力(K_D)结合CD46。在其它实施例中,通过FACS,使用活前列腺肿瘤细胞,抗体或其抗原结合部分以大致低于 10^{-10}M ,或 $100 \times 10^{-11}\text{M}$,或 $10 \times 10^{-11}\text{M}$,或甚至更低的亲和力(K_D)结合抗原(例如CD46)。

[0336] 如本文所用,术语“ K_{off} ”打算指抗体从抗体/抗原络合物解离的解离速率常数。

[0337] 如本文所用,术语“EC50”指的是本文所述的抗体或其抗原结合部分或免疫结合物在体外或体内分析法中诱发最大反应的50%的反应(即最大反应与基线值之间的一半)的浓度。

[0338] 如本文所用,术语“天然存在”在应用于一种对象时,指的是一种对象可以在自然界中存在的事实。举例来说,可以从自然界中的来源分离并且尚未在实验室中经有意人工修饰的生物体(包括病毒)中存在的多肽或多核苷酸序列是天然存在的。

[0339] 如本文所用,术语“修饰”打算指改变抗体或其抗原结合部分中的一或多个氨基酸。可以通过添加、取代或删除一或多个位置处的氨基酸来产生所述改变。改变可以使用已知技术(例如PCR突变诱发)产生。举例来说,在一些实施例中,使用本发明方法识别的抗体或其抗原结合部分可以经修饰,由此改变抗体或其抗原结合部分对CD46的结合亲和力。

[0340] 在某些实施例中,涵盖本文所述的抗CD46抗体的序列中的“保守氨基酸取代”,即不会消除核苷酸序列编码的抗体或含有氨基酸序列的抗体与抗原(例如CD46)的结合的核苷酸和氨基酸序列修饰。保守氨基酸取代包括一种类别的氨基酸经同一类别的氨基酸取代,其中类别由常见物理化学氨基酸侧链特性和自然界中存在的同源蛋白质中的高取代频率(如通过例如标准戴霍夫频率交换矩阵(standard Dayhoff frequency exchange matrix)或BLOSUM矩阵所测定)定义。已经分类出六种通用类别的氨基酸侧链并且包括:I类(Cys);II类(Ser、Thr、Pro、Ala、Gly);III类(Asn、Asp、Gln、Glu);IV类(His、Arg、Lys);V类(Ile、Leu、Val、Met);以及VI类(Phe、Tyr、Trp)。举例来说,Asp取代成另一III类残基(例如

Asn、Gln或Glu)是保守取代。因此,抗CD46抗体中的预测的非必需氨基酸残基优选置换成来自同一类别的另一氨基酸残基。鉴别不会消除抗原结合的核苷酸和氨基酸保守取代的方法为所属领域中众所周知的(参看例如布鲁梅尔(Brummell)等人(1993)生物化学(Biochem.) 32:1180-1187;小林(Kobayashi)等人(1999)蛋白质工程改造(Protein Eng.) 12(10):879-884;以及伯克斯(Burks)等人(1997)美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA) 94:412-417)。

[0341] 术语“非保守氨基酸取代”指的是一个类别的氨基酸经另一类别的氨基酸取代;例如,II类残基Ala经III类残基(例如Asp、Asn、Glu或Gln)取代。

[0342] 在另一实施例中,可以例如通过饱和突变诱发沿着全部或部分抗CD46抗体编码序列随机引入突变(保守或非保守),并且可以筛选所得经修饰的抗体的结合活性。

[0343] “共有序列”是由相关序列家族中最通常存在的氨基酸(或核苷酸)形成的序列(参看例如威戈马克(Winnaker),从基因到克隆(From Genes to Clones)(Verlagsgesellschaft,德国魏因海姆(Weinheim,Germany)1987)。在蛋白质家族中,共有序列的每个位置由所述家族中最频繁存在于所述位置的氨基酸占据。如果两个氨基酸同等频繁地存在,那么共有序列中可包含任一个。免疫球蛋白的“共有构架”指的是共有免疫球蛋白序列中的构架区。

[0344] 类似地,CDR的共有序列可以通过最优比对本文所述的抗CD46抗体的CDR氨基酸序列来产生。

[0345] 对于核酸,术语“大体同源性”指示两个核酸或其指定序列在最优比对和比较时是相同的,在至少约80%核苷酸,通常至少约90%到95%,并且更优选地至少约98%到99.5%核苷酸中具有适当核苷酸插入或缺失。或者,当区段将在选择性杂交条件下与股的互补序列杂交时,存在大体同源性。

[0346] 两个序列之间的一致性百分比随着序列共有的相同位置数而变化(即同源性% = 相同位置数/总位置数乘以100),考虑最优比对两个序列所需引入的空隙数以及各空隙的长度。如下文非限制性实例中所述,两个序列之间的序列比较和一致性百分比的测定可以使用数学算法实现。

[0347] 两个核苷酸序列之间的一致性百分比可以使用GCG软件中的GAP程序,使用NWSgapdna.CMP矩阵和40、50、60、70或80的空隙权数和1、2、3、4、5或6的长度权数来测定。两个核苷酸或氨基酸序列之间的一致性百分比也可以使用已并入到ALIGN程序(2.0版)的迈尔和米勒算法(algorithm of Meyers and Miller)(1989)CABIOS,4:11-17,使用PAM120权重残基表、空隙长度罚分12和空隙罚分4测定。另外,两个氨基酸序列之间的一致性百分比可以使用已经并入到GCG软件包中的GAP程序中的尼德曼(Needleman)和翁施(Wunsch)(1970)分子生物学杂志(J.Mol.Biol.) 48:444-453算法,使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵中任一个,以及空隙权数16、14、12、10、8、6或4以及长度权数1、2、3、4、5或6测定。

[0348] 本文所涵盖的核酸和蛋白质序列可以进一步用作“查询序列”来针对公开数据库进行检索,从而(例如)鉴别相关序列。此类检索可以使用阿尔丘尔(Altschul)等人在(1990)分子生物学杂志(J.Mol.Biol) 215:403-10中所述的NBLAST和XBLAST程序(2.0版)进行。BLAST核苷酸检索可以用NBLAST程序进行,评分=100,字长=12,获得与本发明的核酸分子同源的核苷酸序列。BLAST蛋白质检索可以用XBLAST程序进行,评分=50,字长=3,获

得与本发明的蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空隙比对,可按照阿尔丘尔等人(1997)在核酸研究25(17):3389-3402中所述利用空隙BLAST。当利用BLAST和空隙BLAST程序时,可使用个别程序(例如XBLAST和NBLAST)的默认参数。

[0349] 本文所述的核酸组合物(例如编码抗CD46抗体或免疫结合物的全部或一部分的核酸)尽管通常在原生序列中(经修饰的限制位点等除外),但cDNA、基因组或其混合物可以根据标准技术突变以提供变异体序列。对于编码序列,这些突变可以根据需要影响氨基酸序列。具体来说,涵盖本文所述的大体上与原生V、D、J、恒定序列、切换序列以及其它这类序列同源或来源于它们的DNA序列(其中“来源”指示序列与另一序列相同或从另一序列经修饰)。

[0350] 术语“可操作地连接”指的是核酸序列与另一核酸序列呈功能性关系。举例来说,如果前序列或分泌性前导序列的DNA表达为参与多肽分泌的前蛋白,那么其可操作地连接到多肽的DNA;如果启动子或强化子影响序列的转录,那么其可操作地连接到编码序列;或如果核糖体结合位点定位成促进转译,那么其可操作地连接到编码序列。一般来说,“可操作地连接”意思是所连接的DNA序列是连续的,并且在分泌前导序列的情况下,是连续的并且在读取相内。然而,强化子不必为连续的。通过在适宜限制位点接合来实现连接。如果不存在这类位点,那么根据常规实践使用合成的寡核苷酸附接子或连接子。核酸在与另一核酸序列成功能关系时,即属“可操作地连接”。举例来说,如果启动子或强化子影响序列的转录,那么它们可操作地连接到编码序列。关于转录调节序列,可操作地连接表示所连接的DNA序列是连续的,并且必要时加入两个连续且位于读取框中的蛋白质编码区。对于切换序列,可操作地连接指示序列能够实现切换重组。

[0351] 如本文所用的术语“载体”打算指能够转运所连接的另一核酸的核酸分子。一种类型的载体是“质粒”,它指的是可以接合其它DNA区段的环状双股DNA。另一种类型的载体是病毒载体,其中另外的DNA区段可以接合到病毒基因组中。某些载体能够在引入它们的宿主细胞中自主复制(例如具有细菌复制起点的细菌载体和游离型哺乳动物载体)。其它载体(例如非游离型哺乳动物载体)当引入到宿主细胞中时可以整合到宿主细胞的基因组中,并且由此与宿主基因组一起复制。此外,某些载体能够引导被它们可操作地键联的基因的表达。这类载体在此被称为“重组表达载体”(或简单地说是“表达载体”)。一般来说,用于重组DNA技术中的表达载体通常呈质粒形式。术语“质粒”和“载体”可以互换使用。然而,本发明打算包括提供等效功能的这类其它形式的表达载体,例如病毒载体(例如复制缺陷反转录病毒、腺病毒以及腺伴随病毒)。

[0352] 如本文所用,术语“重组宿主细胞”(或简称为“宿主细胞”)打算指已经引入表达载体的细胞。应理解,这类术语打算不仅指具体主体细胞,而且指这类细胞的后代。因为某些修饰可以由于突变或环境影响而在后代中发生,所以这类子代可能实际上与亲代细胞不同,但是仍然包括在如本文所用的术语“宿主细胞”的范围内。

[0353] 如本文所用,术语“治疗”指的是本文所述的治疗性或预防性措施。“治疗”方法采用向个体(例如有需要的个体)授予本文所述的抗CD46抗体或抗原结合部或包含这类抗体或抗原结合部分的免疫结合物。在某些实施例中,个体是诊断患有CD46阳性癌症(例如前列腺癌)和/或治疗CD46阳性癌症(例如前列腺癌)以预防疾病或病症或复发疾病或病症、治愈疾病或病症或复发疾病或病症、延迟疾病或病症或复发疾病或病症、减轻疾病或病症或复

发疾病或病症的严重程度或改善疾病或病症或复发疾病或病症的一或多种症状,或使个体的存活率延长超过无这类治疗存在下所预期的存活率的个体。

[0354] 术语“癌症”指的是或描述特征通常为不受调控的细胞生长的哺乳动物中的生理学病状。CD46阳性癌症指的是特征为表达或过度表达CD46的细胞的癌症。说明性CD46癌症包括(但不限于)卵巢癌、乳癌、肺癌、前列腺癌、结肠癌、肾癌以及胰脏癌。

[0355] 如本文所用,术语“有效量”指的是如本文所述,当向个体投予时,足以实现与CD46阳性细胞生长和/或增殖有关的疾病(例如CD46阳性癌症)的治疗、预后或诊断的抗CD46抗体或其抗原结合部分和/或其免疫结合物的量。治疗有效量将视打算治疗的个体和疾病病症、个体的体重和年龄、疾病病症的严重程度、投予方式等而变化,所属领域的普通技术人员容易对这些作出判定。投予剂量可以在例如约1ng到约10,000mg、约5ng到约9,500mg、约10ng到约9,000mg、约20ng到约8,500mg、约30ng到约7,500mg、约40ng到约7,000mg、约50ng到约6,500mg、约100ng到约6,000mg、约200ng到约5,500mg、约300ng到约5,000mg、约400ng到约4,500mg、约500ng到约4,000mg、约1μg到约3,500mg、约5μg到约3,000mg、约10μg到约2,600mg、约20μg到约2,575mg、约30μg到约2,550mg、约40μg到约2,500mg、约50μg到约2,475mg、约100μg到约2,450mg、约200μg到约2,425mg、约300μg到约2,000、约400μg到约1,175mg、约500μg到约1,150mg、约0.5mg到约1,125mg、约1mg到约1,100mg、约1.25mg到约1,075mg、约1.5mg到约1,050mg、约2.0mg到约1,025mg、约2.5mg到约1,000mg、约3.0mg到约975mg、约3.5mg到约950mg、约4.0mg到约925mg、约4.5mg到约900mg、约5mg到约875mg、约10mg到约850mg、约20mg到约825mg、约30mg到约800mg、约40mg到约775mg、约50mg到约750mg、约100mg到约725mg、约200mg到约700mg、约300mg到约675mg、约400mg到约650mg、约500mg,或约525mg到约625mg本文所述的抗CD46抗体和/或其抗原结合部分,和/或如本文所述的其免疫结合物的范围内。可以调整给药方案以提供最佳治疗反应。有效量还是抗体或其抗原结合部分的任何毒性或不利作用(例如副作用)降到最低和/或被治疗有益作用超过的量。

[0356] 术语“患者”包括接收预防性或治疗性治疗的人类和其它哺乳动物个体。

[0357] 如本文所用,术语“个体”包括任何人类或非人类动物。举例来说,本发明的方法和组合物可用于治疗患有癌症的个体。在一个具体实施例中,所述个体是人类。术语“非人类动物”包括全部脊椎动物,例如哺乳动物和非哺乳动物,例如非人类灵长类动物、绵羊、狗、牛、鸡、两栖动物、爬虫等。

[0358] “效应子”指的是活性为传递到细胞中和/或定位于细胞所需的任何分子或分子组合。效应子包括(但不限于)标记、细胞毒素、酶、生长因子、转录因子、抗体、药物等。

[0359] 短语例如癌细胞的“抑制生长和/或增殖”尤其包括诱发细胞凋亡或其它细胞杀死机制,降低细胞的侵袭力,使细胞停在细胞周期中的一个点等。

[0360] 术语“免疫结合物”指的是连接到一或多个效应子的一个抗体或连接到一或多个效应子的多个抗体。术语“免疫结合物”打算包括与抗体化学结合的效应子以及表达成抗体(或其一部分)直接连接或通过连接子连接到肽效应子或包含肽的效应子的融合蛋白的抗体。

附图说明

[0361] 图1A示出了YS5 (SEQ ID NO:1)、YS5F (SEQ ID NO:2)、YS5v1D (SEQ ID NO:3)、SB1HGNY (SEQ ID NO:4)、YS12 (SEQ ID NO:5)、3G7RY (也称为3G8) (SEQ ID NO:6)、YS6 (SEQ ID NO:7)、YS1 (SEQ ID NO:8)、YS3 (SEQ ID NO:9)、YS4 (SEQ ID NO:10)、YS8 (SEQ ID NO:11)、YS7 (SEQ ID NO:12)、YS9 (SEQ ID NO:13)、YS10 (SEQ ID NO:14)、YS11 (SEQ ID NO:15)、3G7HY (SEQ ID NO:16)、3G7NY (SEQ ID NO:17)、3G7 (SEQ ID NO:18)、SB2 (SEQ ID NO:19)、2C8 (SEQ ID NO:20) 以及UA8 κ (SEQ ID NO:21) 的VH构架和CDR区。图1B示出了YS5 (SEQ ID NO:22)、YS5F (SEQ ID NO:23)、YS5v1D (SEQ ID NO:24)、SB1HGNY (SEQ ID NO:25)、YS12 (SEQ ID NO:26)、3G7RY (也称为3G8) (SEQ ID NO:27)、YS6 (SEQ ID NO:28)、YS1 (SEQ ID NO:29)、YS3 (SEQ ID NO:30)、YS4 (SEQ ID NO:31)、YS8 (SEQ ID NO:32)、YS7 (SEQ ID NO:33)、YS9 (SEQ ID NO:34)、YS10 (SEQ ID NO:35)、YS11 (SEQ ID NO:36)、3G7HY (SEQ ID NO:37)、3G7NY (SEQ ID NO:38)、3G7 (SEQ ID NO:39)、SB2 (SEQ ID NO:40)、2C8 (SEQ ID NO:41) 以及UA8 κ (SEQ ID NO:42) 的VL构架和CDR区。

[0362] 图2. 对Du-145细胞的YS5IgG1KD测量。YS5与Du-145细胞一起在4℃下培育隔夜并且通过FACS分析结合。平均荧光强度 (MFI) 值使用Prism (GraphPad) 曲线拟合, 产生2.19 $\pm$ 0.73nM的估算KD值。

[0363] 图3. 对Du-145细胞的YS12IgG1KD测量。YS12与Du-145细胞一起在4℃下培育隔夜并且通过FACS分析结合。MFI值使用Prism (GraphPad) 曲线拟合, 产生0.043 $\pm$ 0.019nM的估算KD值。

[0364] 图4. 我们的抗CD46抗体结合于人类和食蟹猕猴CD46。对使用人类CD46 (左图) 和食蟹猕猴CD46 (右图) 转染的CHO细胞进行FACS分析。显示YS5的结果, 但我们的抗体全部结合于人类和猕猴CD46。Ctr IgG: 未结合人类IgG1。Ctr: 仅用二级抗体染色的CHO。

[0365] 图5. 对用人类CD46转染的CHO细胞的YS5KD测量。YS5与CHO-huCD46细胞一起在4℃下培育隔夜并且通过FACS分析结合。MFI值使用Prism (GraphPad) 曲线拟合, 产生0.867 $\pm$ 0.299nM的估算 K_D 值。

[0366] 图6. 对用食蟹猕猴CD46转染的CHO细胞的YS5KD测量。YS5与CHO-cynoCD46细胞一起在4℃下培育隔夜并且通过FACS分析结合。MFI值使用Prism (GraphPad) 曲线拟合, 产生1.952 $\pm$ 0.508nM的估算KD值。

[0367] 图7. 通过竞争分析法表位定位。含有或不含UA20Fc作为竞争对手的Du145细胞上的FACS结合。UA20Fc对比UA20Fc用作完全竞争的对照。YS5、YS12和3G8 (即3G7, 也称为3G8) 示出与SB1HGNY不同的竞争模式, 因此定义具有不重叠表位的两个组。

[0368] 图8. 与埃德蒙顿菌株麻疹病毒小时蛋白竞争。通过FACS测量在有或无过量重组H蛋白-Fc融合物存在下结合到Du-145细胞的抗体。进行H蛋白-Fc对比H蛋白-Fc作为阳性对照 (总竞争), 针对其进行MFI值规范化, 产生规范化竞争指数。非CD46结合, Du-145细胞结合抗体用作阴性对照 (缺乏竞争)。

[0369] 图9. 通过巨胞饮内化。YS5IgG1分别与转移性去势难治性前列腺癌细胞株Du-145以及巨胞饮指示剂ND70-TRITC (Life Technologies) 一起培育4小时和24小时。通过奥林巴斯荧光共焦显微 (Olympus fluorescence confocal microscopy) 分析共定位。

[0370] 图10. 针对治疗性抗体评估的对冷冻组织的FDA标准小组的抗CD46抗体的免疫组

织化学研究。阴影指示具有胎盘滋养层的阳性染色的水平最强。非阴影区中的信号是弱或不可检测。

[0371] 图11. 抗CD46抗体药物结合物的HPLC分析。YS5IgG1经mc-vc-pab连接子与单甲基奥瑞他汀(MMAF)结合并且通过HIC分析。高于峰值的数目指示药物分子的数目。平均起来, 约三个药物分子结合到IgG分子。

[0372] 图12. 前列腺癌细胞株LNCaP-C4-2b的杀死曲线。

[0373] 图13. 抗-CD46ADC (YS5) 对转移性去势难治性前列腺癌细胞株Du-145的杀死曲线。

[0374] 图14. 使用皮下前列腺癌异种移植模型通过抗CD46 (YS5) ADC体内杀死肿瘤。在SCID小鼠中皮下植入LNCaP-C4-2B细胞。在第-12天以5mg/kg ADC开始注射并且投予四次注射(每4-5天一次)。抗CD46ADC组的小鼠在治疗后监测较长时间。N=6。

[0375] 图15. CD46在多发性骨髓瘤细胞株RPMI8226上高度表达。抗CD46抗体结合于前列腺癌(LNCaP) 和多发性骨髓瘤细胞, 而抗PSMA抗体J591仅结合到前列腺癌细胞。

[0376] 图16. 抗-CD46ADC (YS5) 体外杀死RPMI8226细胞。Ctr ADC: 结合到MMAF的未结合人类IgG1。

[0377] 图17. 体内抗CD46 (YS5) ADC活性。RPMI8226-Luc细胞静脉内注射到NSG小鼠中形成播散性肿瘤异种移植。CD46-MMAF: YS5ADC; IgG-MMAF: 对照ADC。每4天注射一次, 总共4次注射。处理在第10天开始。硼替佐米处理组中有三只小鼠没有持续到第31天。

[0378] 图18. 在YS5ADC处理之后对携带RPMI8226异种移植的小鼠的存活率数据的卡普兰-迈耶(Kaplan-Meier) 分析。

[0379] 图19. 抗CD46 (YS5) ADC对结肠直肠癌细胞株HT29的杀死曲线。

[0380] 图20. MM1S异种移植上的抗CD46ADC (YS5) 。

[0381] 图21. ADC处理后, 携带邻位转移性MM1.S异种移植的小鼠的卡普兰-迈耶分析。100%用4mg/kg抗CD46ADC处理的小鼠存活直到实验结束(第-212天)。植入后第-10天开始注射。抗CD46以单次剂量4mg/kg注射或以两个给药水平(0.8mg/kg和4mg/kg) 注射4次。对照ADC (Ctr ADC) 以4mg/kg注射4次。

[0382] 图22. 抗CD46 (YS12) ADC对结肠直肠癌细胞株HT29的杀死曲线。

[0383] 图23. 抗CD46 (SB1HGNY) ADC对结肠直肠癌细胞株HT29的杀死曲线。

[0384] 图24. 抗CD46YS5ADC对胰脏癌细胞株MiaCaPa2的杀死曲线。

[0385] 图25. 抗CD46YS5ADC对间皮瘤细胞株M28的杀死曲线。

[0386] 图26. 抗CD46YS5ADC对卵巢癌细胞株OVCAR3的杀死曲线。

[0387] 图27. 抗CD46ADC对BPH-1细胞无作用。BPH-1细胞表达极低水平的CD46并且不受YS5ADC影响。

[0388] 图28. 抗CD46 (YS5) ADC对HS27细胞。以每孔3,000个细胞接种Hs27细胞。

[0389] 图29. 抗CD46ADC (YS5) 显示对标准CD3+T细胞极少的毒性。将10,000个CD3+T细胞接种于96孔培养盘中并且与不同浓度的YS5ADC一起在37℃下培育96小时。通过CCK-8 (细胞计数试剂盒-8) (Dojindo) 评定细胞存活率。

[0390] 图30. 抗CD46ADC对标准CD14耗尽的PBMC不具有作用。将10,000个细胞接种于96孔培养盘中, 并且与不同浓度的ADC一起在37℃下培育98小时。通过CCK8计数试剂盒测定细胞存活率。

[0391] 图31.表达人类CD46的转基因小鼠中抗CD46ADC毒性评估。在静脉内注射6mg/kg抗CD46和对照ADC之后,追踪小鼠14天,处死并且采集主要器官用于组织学检查。

[0392] 图32显示CD46ADC在股内前列腺癌异种移植模型中有效。将具有萤火虫萤光素酶报导体的mCRPC细胞株LnCaP-C4-2B注射到小鼠的股骨。在第7天,每4天一次注射CD46ADC(YS5-mcvcpab-MMAF),总共注射4次。处理后监测小鼠直到第65天。Ctr ADC:结合到MMAF的未结合IgG1(ctr IgG-mcvcpab-MMAF)。

[0393] 图33示出了去势难治性前列腺癌(CRPC)中的CD46表达。从激素妨碍难治愈的患者取前列腺组织试样。箭头指示肿瘤细胞(仅指示选择性肿瘤区域)。使用H-294兔抗人类CD46抗体(圣克鲁兹生物技术(Santa Cruz Biotechnology))进行染色,随后使用Envision+系统(北美达科公司(Dako North America))检测。

[0394] 图34示出了mCRPC的骨骼转移。箭头指示肿瘤细胞(仅指示选择性肿瘤区域)。使用H-294兔抗人类CD46抗体(圣克鲁兹生物技术)进行染色,随后使用Envision+系统(北美达科公司)检测。

[0395] 图35示出了mCRPC的淋巴结转移。箭头指示肿瘤细胞(仅指示选择性肿瘤区域)。使用H-294兔抗人类CD46抗体(圣克鲁兹生物技术)进行染色,随后使用Envision+系统(北美达科公司)检测。

[0396] 图36示出了mCRPC的膀胱转移。箭头指示肿瘤细胞(仅指示选择性肿瘤区域)。使用H-294兔抗人类CD46抗体(圣克鲁兹生物技术)进行染色,随后使用Envision+系统(北美达科公司)检测。

[0397] 图37示出了CD46由前列腺癌神经内分泌细胞株H660高度表达。左图:FACS分析。Ctr:未结合mAb。右图:西方墨点分析确认CD46表达,以及神经内分泌标记物NSE由H660细胞的表达。

[0398] 图38示出了抗CD46抗体经前列腺癌神经内分泌细胞株H660的内化。YS5IgG1与H660细胞一起培育隔夜。将细胞固定、渗透、染色以及通过共焦显微成像。显示单个共焦片层。抗CD46抗体用溶酶体标记物LAMP1内化和共定位。

[0399] 图 39显示CD46ADC杀死H660细胞。不同浓度的CD46ADC(YS5-mcvcpab-MMAF)与神经内分泌细胞株H660一起在37℃下培育7天。使用钙黄绿素AM分析法评定活力。Ctr ADC:未结合IgG1-mcvcpab-MMAF。

[0400] 图40示出了用10μM阿比特龙(abi)处理转移性去势难治性前列腺癌细胞株LNCaP-C4-2B持续7天,引起细胞表面CD46表达如FACS所测量上调。MFI:平均荧光强度。

[0401] 图41示出了阿比特龙(Abi)处理的LNCaP C4-2B细胞对CD46ADC更敏感。LNCaP-C4-2B细胞与阿比特龙一起培育7天,洗涤并且与CD46ADC一起在不含阿比特龙的培养基中继续再培养96小时。C4-2B_CD46ADC:LNCaP C4-2B细胞与没有事先暴露于阿比特龙的CD46ADC(YS5-mcvcpab-MMAF)一起培育(EC50=169pM)。C4-2B ABI_CD46ADC:LNCaP C4-2B细胞事先暴露于与CD46ADC一起培育的阿比特龙(EC50=21pM)。Ctr ADC:结合到MMAF的未结合IgG1。

[0402] 图42示出了恩杂鲁胺(ENZ)处理后,神经内分泌细胞株H660上的细胞表面CD46的上调。H660细胞用10μM恩杂鲁胺处理7天,并且通过FACS分析细胞表面抗原表达。CD46由H660高度表达,而前列腺特异性膜抗原(PSMA)几乎不可检测。另外,暴露于恩杂鲁胺使肿瘤细胞表面上的CD46表达上调。MFI:中位荧光强度。

[0403] 图43示出了CD46在原发性结肠直肠癌中高度表达。箭头指示肿瘤细胞(仅指示选择性肿瘤区域)。使用H-294兔抗人类CD46抗体(圣克鲁兹生物技术)进行染色,随后使用Envision+系统(北美达科公司)检测。使用数字显微镜在两个放大水平(4×和20×)下获取影像。

[0404] 图44显示CD46在转移到肝脏中的结肠直肠癌中高度表达。箭头指示肿瘤细胞(仅指示选择性肿瘤区域)。使用H-294兔抗人类CD46抗体(圣克鲁兹生物技术)进行染色,随后使用Envision+系统(北美达科公司)检测。使用数字显微镜在两个放大水平(4×和20×)下获取影像。

[0405] 图45显示CD46在转移到淋巴结中的结肠直肠癌中高度表达。箭头指示肿瘤细胞(仅指示选择性肿瘤区域)。使用H-294兔抗人类CD46抗体(圣克鲁兹生物技术)进行染色,随后使用Envision+系统(北美达科公司)检测。使用数字显微镜在两个放大水平(4×和20×)下获取影像。

[0406] 图46显示CD46在转移到膀胱中的结肠直肠癌中高度表达。箭头指示肿瘤细胞(仅指示选择性肿瘤区域)。使用H-294兔抗人类CD46抗体(圣克鲁兹生物技术)进行染色,随后使用Envision+系统(北美达科公司)检测。使用数字显微镜在两个放大水平(4×和20×)下获取影像。

[0407] 图47展示如间皮瘤中CD46染色的免疫组织化学所示,CD46在间皮瘤中高度表达。箭头指示肿瘤细胞(仅指示选择性肿瘤区域)。使用H-294兔抗人类CD46抗体(圣克鲁兹生物技术)进行染色,随后使用Envision+系统(北美达科公司)检测。

[0408] 图48展示CD46在胰脏癌中高度表达。箭头指示肿瘤细胞(仅指示选择性肿瘤区域)。使用H-294兔抗人类CD46抗体(圣克鲁兹生物技术)进行染色,随后使用Envision+系统(北美达科公司)检测。

[0409] 图49展示如多形性胶质母细胞瘤(GBM)和标准脑部中CD46染色的免疫组织化学分析所示,CD46由GBM过度表达。正常人类脑部没有观测到CD46染色,但在GBM试样中观测到强染色。使用H-294兔抗人类CD46抗体(圣克鲁兹生物技术)进行染色,随后使用Envision+系统(北美达科公司)检测。

[0410] 图 50示出了CD46ADC对间皮瘤(M28)异种移植生长的体内抑制。YS5-mcvcpab-MMAF每3-4天以5mg/kg注射一次,总共5次(由箭头指示)。通过测径规测量肿瘤体积。YSC10是对照未结合人类IgG1。

具体实施方式

[0411] 在多个实施例中,提供许多新颖抗CD46抗体。通过在细胞表面上选择与使用噬菌体和酵母呈现技术重组CD46的组合来鉴别本文所述的原型抗体。这些抗体在无需交联和定位到溶酶体的情况下通过肿瘤选择性巨胞饮路径内化,这使其充分适于开发抗体药物结合物(ADC)和利用胞内有效载荷释放的其它靶向疗法。

[0412] 本文所述的抗体是结合于CD46分子的结构域1和2而非主要补体结合域3和4的抗体,并且因此不直接阻断标准互补序列级联。

[0413] 精细表位定位还展示本文所述的抗CD46抗体与PCT申请案第PCT/US2008/076704号和同在申请中美国申请案第US 14/205,101号中分别所述的UA20和2B10抗体之间的抗原

接触位点的差异。对经食蟹猕猴CD46cDNA转染的CHO细胞进行测试,我们发现我们的抗CD46抗体结合于人类和食蟹猕猴之间保守的表位,因此鉴别适于调节毒理学研究的物种。

[0414] 使用FDA批准的冻结人体组织小组进行治疗性抗体评估,发现抗体(本文所述的抗体)结合的CD46表位在除了胎盘滋养层以外的组织中实际上低水平表达,并且在前列腺上皮细胞中较低程度表达。相对来说,测得CD46经多种肿瘤过度表达,包括(但不限于)前列腺癌、多发性骨髓瘤、结肠直肠癌、胰脏癌、间皮瘤、肺癌、乳癌、卵巢癌、肝癌、神经胶质瘤、神经母细胞瘤等。

[0415] 由于CD46位于染色体1q32.2中,并且在广泛范围的人类癌症中已经观测到1q增益,这可能是针对多种恶性病的抗体疗法发展的极佳目标。建构利用本文所述的抗CD46抗体的抗体药物结合物(ADC)并且发现其体外杀死CD46过度表达癌细胞株,包括(但不限于)转移性去势难治性前列腺癌、多发性骨髓瘤、结肠直肠癌、间皮瘤、卵巢癌等。最重要的是,本文所述的抗CD46ADC展示强体内抗肿瘤活性,大大就爱那个地去势难治性前列腺癌和多发性骨髓瘤的异种移植模型中的肿瘤负荷。这一强效抗肿瘤活性还认为适用于其它CD46过度表达肿瘤模型。本文所述的研究因此验证CD46为适用于靶向疗法发展的肿瘤细胞表面抗原。另外,本文所述的抗CD46抗体可用于患者分层和治疗结果监测的伴随诊断学。

[0416] 鉴于这些发现,相信本文所述的抗CD46抗体特异性结合并且内化到表达或过度表达CD46的细胞中。因为CD46经许多癌症(包括(但不限于)卵巢癌、乳癌、肺癌、前列腺癌、结肠癌、肾癌、胰脏癌、间皮瘤、淋巴瘤、肝癌、尿道上皮癌、胃癌以及子宫颈癌)表达/过度表达,所以这些抗体可用于特异性靶向和内化到这些和其它CD46阳性癌细胞。

[0417] 在某些实施例中,这些抗体可以在细胞(具体来说癌细胞)上没有针对其固有细胞毒性和/或细胞抑制性和/或抗增殖活性的连接效应子的情况下使用。在某些实施例中,这些抗体可以连接到一或多个效应子(例如第二抗体、可检测标记、细胞毒素、含有药物的脂质体、放射性核素、药物、前药、病毒粒子、细胞因子、螯合物等),由此形成免疫结合物,所述免疫结合物将特异性结合并且内化到表达或过度表达CD46的癌细胞中。在某些实施例中,多个效应子将连接到单个抗体,或在某些实施例中,多个抗体将连接到单个效应子,或在某些实施例中,单个抗体将连接到单个抗体。

[0418] 在多个实施例中,提供这些抗体和/或免疫结合物的使用方法。在某些实施例中,所述方法涉及使表达或过度表达CD46的细胞(例如癌细胞,例如卵巢癌细胞、乳癌细胞、肺癌细胞、前列腺癌细胞、结肠癌细胞、肾癌细胞、胰脏癌细胞等)与构筑体接触,导致构筑体(或其部分)内化到细胞中并且由此将效应子传递到目标细胞。在某些实施例中,“接触”包含向有需要的个体(例如人类或非人类哺乳动物)授予抗体或构筑体。

[0419] 结合CD46的抗体

[0420] 例如当癌细胞处于组织微环境中时,发现抗体特异性结合CD46(具体来说结构域1和/或2)并且由前列腺(和其它CD46阳性癌细胞)现场内化。如上文所指出,当单独使用时,或当连接到效应子形成“靶向效应子”时,这类抗体适用于靶向癌症。

[0421] 因此在某些实施例中,提供特异性结合CD46并且经巨胞饮内化到表达或过度表达CD46的细胞(例如前列腺癌细胞)中的经分离抗体。在多个实施例中,抗体结合CD46的结构域1和/或结构域2。在多个实施例中,抗体不结合CD46的结构域3和/或结构域4。

[0422] 本文命名为YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、

YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和UA8κ的抗体(参看例如表1)为说明性原型抗体。在某些实施例中,涵盖包含这些抗体中的一或多者的VL CDR1和/或VL CDR2,和/或VL CDR3,和/或VH CDR1和/或VH CDR2,和/或VH CDR3的抗体。在某些实施例中,涵盖包含浙西抗体中的一或多者的VH结构域和/或VL结构域的抗体。还涵盖与YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ中的一或多者竞争结合CD46的抗体。

[0423] YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ抗体的VH和VL结构域的氨基酸序列显示于表1中(参看实例1)。

[0424] 表1. 新颖人类抗CD46抗体序列。YS5和YS5F在VH CDR1中有一个氨基酸不同(L对比F)。YS5和YS5v1D具有相同VH,但VL CDR2中具有一个氨基酸差异(N对比D)。3G7HY、3G7NY、3G7RY(也称为3G8)以及3G7在VH CDR3中具有一个残基差异,但VL完全不同。YS6和3G7具有相同VH,但VL不同。

[0425]

	VH	VL
YS5	QVQLVQSGGGVVPGRSLRLACAAS GLTVNNYAMHWVRQAPGKGLEWVAV ISYDGNNKYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGG GYFDLWGRGTLTVSS (SEQ ID NO:1)	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSS SNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYG NNNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAIT GLQAEDEADYYCSSYTSGTWLFGGGT KLTVL (SEQ ID NO:22)
YS5F	QVQLVQSGGGVVPGRSLRLACAAS GFTVNNYAMHWVRQAPGKGLEWVAV ISYDGNNKYYADSVKGRFTISRDN	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSS SNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYG NNNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAIT

[0426]

	KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGG GYFDLWGRGTLTVSS (SEQ ID NO:2)	GLQAEDEADYYCSSYTSGETWLFGGGT KLTVL (SEQ ID NO:23)
YS5vID	QVQLVQSGGGVVPGRSLRLACAAS GFTVNYYAMHWVRQAPGKGLEWVAV ISYDGNNKYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGG GYFDLWGRGTLTVSS (SEQ ID NO:3)	QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSS SNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYG DNNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAIT GLQAEDEADYYCSSYTSGETWLFGGGT KLTVL (SEQ ID NO:24)
SB1HGNY	QVQLQQSGGGVVPGRSLRLSCAAS GFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAF IRSDGSKYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHG NYFDSWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:4)	DIQMTQSPSFLSASVGDRTITCRAS QGISSYLAWYQKPKGAPKLLIYAAS TLQSGVPSSFSGSGSGTEFTLTISL QPEDFATYYCQQLASYPLTFGGGTV DIK (SEQ ID NO:25)
YS12	QVQLVESGGGVVPGRSLRLSCAAS GFTTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWLSF ISYDGDEKYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYWCAS GYGMGILDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:5)	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDS LRSYYVSWFQKPGQAPVFMVYQNN RPSGISERFSGSSSGNTASLIITGAQ AEDEADYYCHSRDSSGTHLRVFGGGT KLTVL (SEQ ID NO:26)
3G7RY 也称为 3G8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDY GRIAAAGRRYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:6)	QSALTQPPSASATPGQRTISCSGRT SNIGSNHVVYQQLPGTAPKLLIYRN NQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISG LRSEDEADYYCATWDDSLSGEVFGGG TKLTVL (SEQ ID NO:27)
YS6	QVQLQESGGGVVRPGGSLRLSCAAS GFTTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDY GRIAAAGRHYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:7)	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDS LRSYYASWYQKPGQAPVLIYIGKNN RPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQ AEDEADYYCNSRDSSGTHLEVFGGGT KVTVL (SEQ ID NO:28)
YS1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDY GRIAAAGRHYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:8)	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDT LSTYYANWYQKPGQAPVLIYIGKNN RPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQ AEDEADYYCHSRDISGNYLFASGTVL TVL (SEQ ID NO:29)
YS3	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVAD IKQDGSEKYYVDSVKGRFTISGDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDV GSTAINYVRAYTWFDPWGQGTTLTV SS (SEQ ID NO:9)	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSS SNIGSNTVNWSRQLPGTAPKLLIYSN NQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISG LQSEDEADYYCAAWDDSLNVYVFGTG TKVTVL (SEQ ID NO:30)
YS4	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVST ISGSGSSTFYVDSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAQGL YSSGWANWFDPRGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:10)	KIVLTQSPSSLSASVGDVTVTIACRAS RDIRNDLAWYQKPKGAPKLLIYGAS SLQSGVPSRFSGSGSGTEFILTISL QPEDFATYYCHRLNSYPLTFGGGTV DIK (SEQ ID NO:31)

[0427]

YS8	QVQLQESGGGVVQPGRLRLSCAAS GFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAV ISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVM GLAAAGLDAFDIWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:11)	NFMLTQPASLSGSPGQSITISCTGTS SDVGGYNYVSWYQQHPGYAPKLMYD VSNRPSGVSNRFGSGSKSGNTASLTIS GLQAEDEADYYCSSYTSSSTPWVFGG GTKLTVL (SEQ ID NO:32)
YS7	QVQLVQSGGGVVQPGRLRLSCAAS GFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAV ISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDT TNTLYLQMNSLRADDTAVYYCGRES SGSPGVWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:12)	SYVLTQDPAVSVALGQTVRITCQGDS LRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNN RPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQ AEDEADYYCNSRDSSGNQFGGGTKLT VL (SEQ ID NO:33)
YS9	QVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAAS GFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSV IYTDGSTYYADSVKGRFTISRDN NTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARDRG TSGYDWAFFDLWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:13)	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDS LRTYYASWYQQRPQAPILVLYGKNN RPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQ AEDEADYYCNSRDSSGNHVVFGGGTK LTVL (SEQ ID NO:34)
YS10	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN KNTLYMQMNSLRAEDTAVYYCAKDR YYYGSGKDAFDIWGRGTMVTVSS (SEQ ID NO:14)	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTG SDVGSYNYVSWYQQNPGKAPKLMYIE VSNRPSGVSNRFGSGSKSGNTASLTIS GLQAEDEADYYCSSYTTSSTLVFGGG TKVTVL (SEQ ID NO:35)
YS11	QVQLVESGGGLVQPGGSLGLSCAAS GFTFSNYWMSWVRQAPGKGLEWVAN VRQDGGQKYYVDSVKGRFTISRDN KNSLYLQMNSLRTEDTAVYFCVSQR NSGEHDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:15)	SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSL RSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGENSR PSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQA EDEADYYCNSWDSSGNHVVFGGGTKL TVL (SEQ ID NO:36)
3G7HY	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDY GRIAAAGRHYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:16)	AIRMTQSPSSLSASVGDRTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS QPEDFATYYCQQSYSTPRTFGQGTKL EIK (SEQ ID NO:37)
3G7NY	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDY GRIAAAGRNYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:17)	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSS QSLHNSGYDYLDWYLQKPGQSPQLL IYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEDVGIYYCMQGLQTPSFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO:38)
3G7	QVQLQESGGGVVRPGGSLRLSCAAS GFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDY GRIAAAGRHYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:18)	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDS LRSYYASWYQQKPGQAPVPVIYGKNN RPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQ AEDEADYYCNSRDSSSTHRGVFGGGT KLTVL (SEQ ID NO:39)
SB2	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAS GFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS ISSSGSSIYYADSVKGRFTISRDN KNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARDI	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRAS RSISTYLSWYQQKPGKAPKLLIYDAS RLQNGVPSRFSGSGSDTFTLTIS QPEDFATYFCQSYNPPWTFGQGTKL

[0428]

	TDVVGVSFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:19)	EIK (SEQ ID NO:40)
2C8	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAV ISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAEYYCAKVM GLAAAGLDAFDIWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:20)	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTS SDVGGYNVSWYQQHPGKAPKLLIYD VSNRPSGVSNRFGSGSKSGNTASLTIS GLQAEDEAYYYCSSYTSSSDPWVFGG GTQLTVL (SEQ ID NO:41)
UA8k	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSSFGMHVRRAPGKGLEWVAV ISYDGSNQYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCGSRP GGGYASGSTVAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:21)	NIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAG QPISTYVNWYQHKGKAPKLLIYGAS NLQSGVPSRFSGGGSATDFTLTISL QPEDFATYYCQQSYSSLTFTFGDGTKV EIK (SEQ ID NO:42)

[0429] 在多个实施例中,本文涵盖的抗体明确排除编写PCT/US2008/076704 (W02009/039192) 中所述的抗体3051.1、G12FC3、M6c42b、4F3YW、M40pr146、UA20、UA8、585II41、585II41.1、585II56、3076、3051、M49R、RCI-14、II79_4、II79_3、T5II-4B.1、T5II-4B.2、RCI-11、RCI-20、CI-11A、CI-14A、S95-2和/或mPA7抗体的三个VH CDR和/或三个VL CDR的抗体。这些抗体的VH和VL链的氨基酸序列和包含这些结构域的CDR显示于PCT/US2008/076704中,并且这些结构域的氨基酸序列在下表2中再现。

[0430] 表2. 排除抗体。下文所示的抗体是scFv抗体 (VL和VH区域由 (Gly₄Ser)₃ (SEQ ID NO:43) 接合) 连接子,然而,将认识到包含CDR (或VH和/或VL结构域) 的其它抗体形式被类似地排除。

[0431]

克隆株	氨基酸序列	SEQ ID No
3051.1	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWV STLSRSGSGTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ASIAVAGNYFDYWGQGLTVTVSS <u>GGGGSGGGSGGGGS</u> SYVLTQDPAV SVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQERPGQAPLLVIYGKNNRPSGIP DRFSGSNSGSTATLTISRVEAGDEGDYYCQVWDSINEQVVFGGGTKVT VL	44
G12FC3	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAATGIPFSGSGMHWRQAPGKGLEWV TMIWYDGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMDSLRAEDTAVYFC ARDKGVRSM DVWGLGTTVTTVSS <u>GGGGSGGGSGGGGS</u> NFMLTQPPSVS VAPGQTAKITCDGYSIRTKSVHWYQQKPGQAPVTVHDDSDRPSGIPE RFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQAWDSISEEVVFGGGTKLTV L	45
M6c42b	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFTFGTYAMRWVRQTSKGKLEWV SGIGVSGDAYYTD SVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNTLRAEDTATYYCT RKSSTTSNDYWGRGLTVTVSS <u>GGGGSGGGSGGGGS</u> SYVLTQDPAVSV ALGQTVRITCQGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPER FSGSNSGTTATLTISSEAGDEADYYCQAWDSISEHVIFGGGTKVTVL	46
4F3YW	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWV AVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	47

[0433]

	VSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVYWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSDDHVVFGGGTKV TVL	
RCI-14	QVQLLQSAGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWV SGISGSGGSTNYADSVKGRFTISRDSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYC AKDYGSGWYDYWGQGTLLTVVSS <u>GGGSGGGSGGGGS</u> SSELTQDPAVS VALGQTVRITCQGDSLRSYASWYQERPGQAPLLVIYGRNERPSGIPD RFSASSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCQVWDSFNEQVVFGGGTKLTV L	57
II79_4	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVHQAPGKGLEWV SAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKTYYGFWSGYYDYLGQGTLLTVVSS <u>GGGSGGGSGGGGS</u> SSELTQDP AVSVGLGQTVTITCQGDSLRSYANWYQQKPGQAPILVIYGENNRPSG IPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCHSRDSSGTHLRVFGGGT KLTVL	58
II79_3	QVQLLESGGGVVQPGTSLRLSCAASGFTFSNYAINWVRQAAGKGLEWV SGISGSGVSTSYADSVKGRFTVSRDNKNTLYLQMNSLRVEDTALYYC AKNGGGPEYLGQHWGQGTLLTVVSS <u>GGGSGGGSGGGGS</u> QSVLTQPPSA SGTPGQRTVITSCSGSSSNIGNNTVNWSRQLPGTAPKLLIYSNDQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAITGLQPEDEADYYCGTWDSSLSAYVFGTGTK LTVL	59
T5II-4B.1	QVQLQESGGTLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGRGLEWV STISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGAYSGSYWGQGTLLTVVSS <u>GGGSGGGSGGGGS</u> SSELTQDPAVSVA LGQTVRITCQGDSLRSYASWYQQKPGQAPSLVIYGENSRPSGIPDRF SGSSSGNTASLTITGAQAENEADYYCQAWDSSTAVVFGGGTKLTVL	60
T5II-4B.2	QVQLQESGGTLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGRGLEWV STISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGAYSGSHWGQGTLLTVVSS <u>GGGSGGGSGGGGS</u> SSELTQDPAVSVA LGQTVRITCQGDSLRSYASWYQQKPGQAPSLVIYGENSRPSGIPDRF SGSSSGNTASLTITGAQAENEADYYCQAWDSSTAVVFGGGTKLTVL	61
RCI-11	QVQLVESGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWM GWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRLSRSDDTAVYYC ARPIYDSSGYDAFDIWGQGTMTVTVSS <u>GGGSGGGSGGGGS</u> DIVMTQS PSTLSASIGDRVITICRASEGIYHWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLA SGAPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPDDEFATYYCQQYHTISRTEFGPGTK VDIK	62
RCI-20	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWV AVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFC VRPSDSGWSFEHWGQGTLPVSVSS <u>GGGSGGGSGGGGS</u> QSVLTQPPSA SGTPGQRTVITSCSGSSSNIGNNTVNWSRQLPGTAPKLLIYSNDQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAITGLQPEDEADYYCGTWDSSLSAYVFGTGTK LTVL	63
CI-11A	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWV AVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC VRGDRSYGAEYFQHWGQGTLLTVVSS <u>GGGSGGGSGGGGS</u> SSELTQDP AVSVASGQTVRITCQGDSLRSYASWYQQKPGQAPLLVIYGNIRPSG IPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNRNWVFGGGT KLTVL	64
CI-14A	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTSSSYAMHWVRQAPGKLEYV SAIGGNGGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA KEGEQWLEYRYYYGMDVWGQGTTVTVVSS <u>GGGSGGGSGGGGS</u> SSELT	65

	QDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSLRSYYASWYQQKPGQAPSLVIYGENSR PSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAENEADYYCQAWDSSTAVVFGGG TKLTVL	
[0434]	S95-2 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWV AVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARGGRYSSNWFSYYYYGMDVWGQGTITVTVSS GGGGS GGGGS GGGGS NF MLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVYWYQQKPGQAPVLVYDD SDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVV FGGGTKVTVL	66

[0435] 使用针对YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY (也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8以及UA8κ抗体提供的氨基酸序列,可以制备许多抗体形式,例如下文所述。这类形式包括(但不限于)大体上完整(例如全长)免疫球蛋白(例如IgA、IgE、IgG等)、抗体片段(例如Fv、Fab、(Fab')₂、(Fab')₃、IgGDCH₂、,微型抗体等)、单链抗体(例如scFv)、双功能抗体、单抗体、亲和抗体等。

[0436] 应认识到,当抗体为单链抗体时,构成这类抗体的VH和VL结构域可以直接接合在一起或通过肽连接子接合。说明性肽连接子包括(但不限于)GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO:67)、GGGGS GGGGS (SEQ ID NO:68)、GGGGS (SEQ ID NO:69)、GS GGGGS GGGGS GGS GGGGS (SEQ ID NO:70)、SGGGGS (SEQ ID NO:71)、GGGS (SEQ ID NO:72)、VPGV (SEQ ID NO:73)、VPGVG (SEQ ID NO:74)、GVPGVG (SEQ ID NO:75)、GVG VP GVG (SEQ ID NO:76)、VP GVG VP GVG (SEQ ID NO:77)、GGSSRSS (SEQ ID NO:78)以及GGSSRSSSSGGGSGGGG (SEQ ID NO:79)等。

[0437] 如上文所指示,在多个实施例中,抗体结合(例如特异性结合)CD46(例如结构域1和/或2)。通常,本文涵盖的抗体将特异性结合前列腺癌细胞,包括(但不限于)选自由以下组成的群组的细胞株:DU145细胞、PC3细胞以及LnCaP细胞。在某些实施例中,当通过FACS在活前列腺肿瘤细胞上测量时,抗体以大于(K_D低于)约5nM的亲和力结合于前列腺肿瘤细胞。在某些实施例中,亲和力高于(K_D低于)约1nM,或为约100pM,或约50pM,或约10pM,或约1pM。

[0438] 使用本文提供的序列信息,包含包括例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY (也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8以及UA8κ的CDR中的一或多者的抗体或包含这些抗体的VH和/或VL结构域的抗体使用所属领域的技术人员总所周知(例如下文所述)的标准方法(例如化学合成方法和/或重组表达方法)容易制备。

[0439] 另外,其它“相关”前列腺癌特异性抗体可以通过筛选结合于相同表位(例如与YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY (也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ抗体中的一或多者竞争结合到CD446和/或表达或过度表达CD46的细胞(例如前列腺癌细胞)的表位)的抗体和/或通过修饰本文鉴别的YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY (也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ抗体产生经修饰的抗体文库,接着重新筛选文库中的抗体以改良与表达或过度表达CD46的细胞(例如前列腺癌细胞)结合和/或内化到所述细胞来鉴别。

[0440] 鉴别与YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY (也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ结合相同的CD46表位的其它抗体。

[0441] 已经鉴别出CD46(尤其结构域一和/或二)为适用抗体目标并且YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8以及UA8 κ 抗体为适用原型抗体,结合CD46并且优选经巨胞饮内化的其它“相关”抗体容易例如通过培养特异性结合CD46结构域1和/或2的抗体(例如单克隆抗体),通过筛选结合CD46结构域1和/或2的抗体来鉴别。另外或替代地,结合CD46并且通过巨胞饮内化的其它抗体可以通过筛选例如在YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8 κ 结合的表位与抗体YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8 κ 中的一或多者交叉反应的抗体;与YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8 κ 中的一或多者交叉反应以结合到前列腺癌细胞(例如CaP细胞、PC3细胞等)的抗体;和/或与针对YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8 κ 抗体培养的个体基因型抗体交叉反应的抗体来鉴别。

[0442] 单克隆抗体.

[0443] 结合CD46结构域1和/或2,优选结合YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8 κ 中的一或多者结合的表位的单克隆抗体可以使用多种已知技术产生,例如科勒(Kohler)和米尔斯坦(Milstein)(1975)自然(Nature)256:495描述的标准体细胞杂交技术,B淋巴细胞的病毒或致癌转换或使用人类抗体基因库的噬菌体呈现技术。在具体实施例中,抗体为完全人类单克隆抗体。

[0444] 因此,在一个实施例中,使用融合瘤方法制造结合CD46,优选结合CD46的结构域1和/或结构域2的抗体。在这一方法中,小鼠或其它适当宿主动物可以使用适合抗原免疫,以引起制造或能够制造特异性结合于用于免疫的抗原的抗体的淋巴细胞。或者,淋巴细胞可以体外免疫。淋巴细胞接着可以使用适合融合剂(例如聚乙二醇)与骨髓瘤细胞融合,形成融合瘤细胞(戈丁(Goding)(1986)单克隆抗体:原理和实践(Monoclonal Antibodies: Principles and Practice),第59页-第103页(学术出版社(Academic Press)))。对生长融合瘤细胞的培养基中针对抗原的单克隆抗体的产生进行分析。鉴别产生具有所要特异性、亲和力和/或活性的抗体的融合瘤细胞之后,克隆株可以通过限制稀释法程序亚克隆并且通过标准方法(Id.)生长。用于这一目的的适合培养基包括例如D-MEM或RPMI-1640培养基。另外,融合瘤细胞可以在动物中体内生长成腹水肿瘤。可以通过常规免疫球蛋白纯化程序(例如蛋白质A-琼脂糖凝胶、羟磷灰石色谱、凝胶电泳、透析或亲和性色谱法)将亚克隆分泌的单克隆抗体与培养基、腹水或血清分离。

[0445] 在另一实施例中,结合CD46结构域1和/或2的抗体和抗体部分可以与使用例如麦卡弗蒂(McCafferty)等人.(1990)自然(Nature),348:552-554,克拉克森(Clackson)等人(1991)自然(Nature),352:624-628,马克斯(Marks)等人.(1991)分子生物学杂志(J.Mol.Biol.),222:581-597,候特(Hoet)等人(2005)自然生物技术学刊(Nature Biotechnol.),23:344-348;拉德纳(Ladner)等人的美国专利第5,223,409号;第5,403,484号以及第5,571,698号;道尔(Dower)等人的美国专利第5,427,908号和第5,580,717号;麦

卡弗蒂 (McCafferty) 等人的美国专利第5,969,108号和第6,172,197号;以及格里菲思 (Griffiths) 等人的美国专利第5,885,793号;第6,521,404号;第6,544,731号;第6,555,313号;第6,582,915号以及第6,593,081号中所述的技术产生的抗体噬菌体文库分离。另外,还可以通过链改组 (马克斯 (Marks) 等人 (1992) 生物技术 (Bio/Technology), 10:779-783) 以及作为构建极大噬菌体文库策略的组合感染和体内重组 (沃特豪斯 (Waterhouse) 等人 (1993) 核酸研究 (Nucl. Acids. Res.), 21:2265-2266) 制造高亲和力 (nM范围) 人类抗体。

[0446] 在具体实施例中,结合CD46,优选结合YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY (也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ中的一或多者结合的表位的单克隆抗体或其抗原结合部分是使用上述候特 (Hoet) 等人所述的噬菌体呈现技术制造的。这一技术涉及产生具有从人类供体分离的免疫球蛋白序列的独特组合并且在重链CDR中具有合成多样性的人类Fab文库。接着针对结合于CD46,优选竞争结合YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY (也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ中的一或多者的Fab筛选文库。

[0447] 在另一实施例中,针对CD46,优选包含YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY (也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ中的一或多者结合的表位的人类单克隆抗体可以使用携带人类免疫系统而非小鼠系统的部分的转基因或转染色体小鼠产生 (参看例如隆伯格 (Lonberg) 等人 (1994) 自然 (Nature) 368 (6474):856-859;隆伯格 (Lonberg) 和胡萨尔 (Huszar), (1995) 国际免疫学评论 (Intern. Rev. Immunol.) 13:65-93,哈德林 (Harding) 和隆伯格 (Lonberg) (1995) 纽约科学院年报 (Ann. NY. Acad. Sci.) 764:536-546,以及隆伯格 (Lonberg) 和凯 (Kay) 的美国专利第5,545,806号;第5,569,825号;第5,625,126号;第5,633,425号;第5,789,650号;第5,877,397号;第5,661,016号;第5,814,318号;第5,874,299号;以及第5,770,429号;苏拉尼 (Surani) 等人的美国专利第5,545,807号;隆伯格 (Lonberg) 和凯 (Kay) 的PCT公开案第W0 92/03918号、第W0 93/12227号、第W094/25585号、第W0 97/13852号、第W0 98/24884号以及第W0 99/45962号;以及科尔曼 (Korman) 等人的PCT公开案第W0 01/14424号)。

[0448] 在另一实施例中,针对CD46,优选结合YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY (也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ中的一或多者结合的表位的人类抗体可以使用在转基因和转染色体上携带人类免疫球蛋白序列的小鼠,例如携带人类重链转基因和人类轻链转染色体的小鼠培养 (参看例如石田 (Ishida) 等人的PCT公开案W0 02/43478)。

[0449] 表达人类免疫球蛋白基因的替代转基因动物系统在所属领域中可获得并且可用于培养本发明的抗CD46抗体。举例来说,可使用称为Xenomouse (Abgenix, Inc.) 的替代转基因系统;这类小鼠描述于例如库池拉帕蒂 (Kucherlapati) 等人的美国专利第5,939,598号;第6,075,181号;第6,114,598号;第6,150,584号以及第6,162,963号中。

[0450] 表达人类免疫球蛋白基因的替代转染色体动物系统在所属领域中可获得并且可用于培养本文涵盖的抗CD46抗体。举例来说,可使用携带人类重链转染色体和人类轻链转染色体的小鼠;如托米斯克 (Tomizuka) 等人. (2000) 美国国家科学院院刊 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA) 97:722-727中所述。另外,携带人类重链和轻链染色体的牛已在所属领域中描述 (例如参看小智黑岩 (Kuroiwa) 等人. (2002) 自然生物技术 (Nature

Biotechnology) 20:889-894) 并且可用于培养抗CD46CCP1抗体。

[0451] 在另一实施例中,特异性结合CD46,优选结合YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY (也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ中的一或多个者结合的表位的抗体可以使用产生这类抗体的转基因植物和/或培养的植物细胞制备(例如烟草、玉米和浮萍)。举例来说,表达抗体或其抗原结合部分的转基因烟草叶可用于例如通过使用诱导型启动子制造这类抗体(参看例如克莱默(Cramer)等人(1999)微生物学与免疫学的当前课题(Curr.Top.Microbol.Immunol.240:95-118))。另外,转基因玉米可用于表达这类抗体和其抗原结合部分(参看例如胡德(Hood)等人(1999)实验医学与生物学进展(Adv.Exp.Med.Biol.) 464:127-147)。也可以例如使用烟草种子和马铃薯块茎从包括抗体部分(例如单链抗体(scFv))的转基因植物种子大量制造抗体(参看例如康拉德(Conrad)等人.(1998)植物分子生物学(Plant Mol.Biol.) 38:101-109)。在植物中制造抗体或抗原结合部分的方法也可以见于例如费舍尔(Fischer)等人(1999)生物技术和应用生物化学(Biotechnol.Appl.Biochem.) 30:99-108,马(Ma)等人(1995)生物技术趋势(Trends Biotechnol.) 13:522-527,马(Ma)等人(1995)植物生理学(Plant Physiol.) 109:341-346;怀特兰(Whitelam)等人(1994)生物化学会汇刊(Biochem.Soc.Trans.) 22:940-944以及美国专利第6,040,498号和第6,815,184号中。

[0452] 使用包括本文所披露技术的任何技术制备的结合CD46,优选包含优选结合YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY (也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ中的一或多个者结合的表位的单克隆抗体或其部分的结合特异性可以通过免疫沉淀或体外结合分析法(例如放射免疫分析法(RIA)或酶联免疫吸附分析法(ELISA))测定。单克隆抗体或其部分的结合亲和力也可以通过芒森(Munson)等人(1980)分析生物化学(Anal.Biochem.),107:220的史卡查分析(Scatchard analysis)测定。

[0453] 与抗个体基因型抗体的交叉反应性.

[0454] 个体基因型代表抗体的高度可变抗原结合位点并且本身具有免疫原性。在产生抗体介导的免疫反应期间,个体将产生针对抗原的抗体以及免疫原性结合位点(个体基因型)模拟抗原的抗个体基因型抗体。

[0455] 可以使用所属领域的技术人员众所周知的标准方法针对本文鉴别的抗体的可变区(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY (也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ)培养抗个体基因型抗体。简单来说,可以通过将本发明的抗体或其片段(例如CDR)注射到动物中,由此针对抗体上的多种抗原决定因素(包括个体基因型区域中的决定因素)引发抗血清,制成抗个体基因型抗体。

[0456] 所属领域中众所周知制造抗分析物抗体的方法。大分子量抗原(大于约5000道尔顿)可以直接注射到动物体内,而小分子量化合物(低于约5000道尔顿)优选偶合到高分子量免疫原性载剂(通常蛋白质)以赋予其免疫原性。回应于免疫产生的抗体可以用于血清、腹水、免疫球蛋白(Ig)部分、IgG部分或亲和力纯化的单特异性材料。

[0457] 多克隆抗个体基因型抗体可以通过用如上文所述制备的本发明的抗体免疫动物来制备。一般来说,希望对与产生抗体(例如噬菌体呈现文库)的动物属同一物种并且与它异型匹配的动物进行免疫?这使针对非个体基因型决定因素的抗体的产生降到最低。因此

获得的抗血清接着通常针对来自产生噬菌体呈现文库的同一物种的标准血清充分吸收,由此消除针对非个体基因型决定因素的抗体。可以使抗血清传过交联标准(非免疫)血清蛋白与戊二醛形成的凝胶实现吸收。具有抗个体基因型特异性的抗体将直接通过凝胶,而对非个体基因型决定因素具有特异性那些将结合于凝胶。将非免疫血清蛋白固定在不溶性多糖支撑物(例如琼脂糖凝胶)上还提供适于吸收的基质。

[0458] 单克隆抗个体基因型抗体可以使用科勒(Kohler)等人.(1975)自然(Nature) 256: 495方法制造。具体来说,单克隆抗个体基因型抗体可以使用融合瘤技术制备,所述技术包含使(1)来自用所关注的抗原或半抗原-载体结合物(即本发明抗体或其子序列)免疫的小鼠的脾细胞与(2)针对药物(例如8-氮鸟嘌呤)耐药性选择的小鼠骨髓瘤细胞株融合。一般来说,希望使用不分泌免疫球蛋白的骨髓瘤细胞株。所属领域中已知几种这类品系。通常优选的细胞株为P3X63Ag8.653。这一细胞株作为CRL-1580保藏在美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection)。

[0459] 可以根据现有方法(参看例如单克隆抗体(Monoclonal Antibodies), R.肯尼特(R.Kennett), J.麦肯(J.McKearn)和K.贝克托尔(K.Bechtol)编纽约州(N.Y.), 普雷纳姆出版社(Plenum Press), 1980以及微生物学与免疫学的当前课题(Current Topics in Microbiology&Immunology), 第81卷, F.梅尔彻斯(F.Melchers), M.波特(M.Potter)和N.L.华纳(N.L.Warner)编, 纽约州(N.Y.), 施普林格出版社(Springer-Verlag), 1978)在聚乙二醇存在下进行融合。在次黄嘌呤-氨基嘌呤-胸苷(HAT)选择性培养基中接种融合细胞和未融合细胞的所得混合物。在这些条件下,将仅生长杂交细胞。

[0460] 当细胞充分生长时(通常融合后10-14天),采集培养基并且通过包括固相RIA和酶联免疫吸附分析法的许多方法中的任一种针对单克隆个体基因型抗分析物抗体的存在进行筛选。接着对来自含有具有所要特异性的抗体的培养物孔的细胞进行扩展和重新克隆。来自那些对所关注的抗体呈阳性的培养物的细胞通常接着在易患病组织相容姥鼠烷预致敏小鼠中传代成腹水肿瘤。

[0461] 通过轻拍腹膜腔,重新测试抗体并且如上文所述纯化来采集腹水。如果在融合中使用非分泌骨髓瘤品系,那么通常并非必需进行单克隆抗体的亲和力纯化,因为抗体的抗原结合特征已经均质。只是必需将其与腹水中的受污染蛋白质分离,即产生免疫球蛋白部分。

[0462] 或者,所关注的杂交细胞株可以在无血清组织培养物中生长并且从培养基采集抗体。一般来说,这并非是获得大量抗体的理想方法,因为产量低。还可以在小鼠中静脉内传送细胞以及从血清采集抗体。这一方法通常并非优选,因为可以在出血时可以获得少量血清并且因为需要从其它血清组分大规模纯化。然而,一些融合瘤将不生长成腹水肿瘤,并且因此必须使用这些获得抗体的替代方法中的一种。

[0463] 与YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ的交叉反应性。

[0464] 在另一方法中,结合CD46的抗体可以通过其与本发明的“原型”抗体结合相同表位(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ)来鉴别。并非必需分离目标表位来鉴别这类抗体。在某些实施例中,可以筛选例如与本发明的原型抗体竞争结合前列腺癌细

胞(例如CaP细胞、PC3细胞等)和/或被所述细胞内化,和/或竞争结合到CD46的抗体的抗体文库。

[0465] 筛选表位结合和/或细胞结合和/或内化的文库的方法为所属领域的技术人员众所周知。在某些实施例中,交叉反应性前列腺抗体显示与本文所述的YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ抗体中的一或多者至少60%,优选80%,更优选地90%,并且最优选至少95%或至少99%交叉反应性。

[0466] 选择其它“相关”抗CD46抗体的噬菌体呈现方法.

[0467] 使用YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ和/或其它前列腺特异性抗体的已知序列,可以使用多种噬菌体呈现(或酵母呈现)方法来产生其它抗体,所述抗体以相同或甚至更高的亲和力特异性结合CD46,优选结合YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ结合的表位。

[0468] 链改组方法.

[0469] 一种形成抗体变异体的方法已经使用V基因的抗体库置换初始V_H或V_L基因,在噬菌体呈现或酵母呈现文库中形成新搭配物(链改组)(克拉克森(Clackson)等人.(1991)自然(Nature.) 352:624-628)。使用链改组和噬菌体呈现,结合半抗原苯基噁唑酮(phOx)的人类scFv抗体片段的亲和力从300nM增加到1nM(300倍)(马克斯(Marks)等人(1992)生物技术(Bio/Technology) 10:779-783)。

[0470] 因此,举例来说,为了改变本文所述的抗CD46抗体的亲和力,可以形成突变体scFv基因抗体库,其含有原型YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ抗体的V_H基因(例如如图2所示)和人类V_L基因抗体库(轻链改组)。scFv基因抗体库可以克隆到噬菌体呈现载体中,例如pHEN-1(霍根布姆(Hoogenboom)等人(1991)核酸研究(Nucleic Acids Res.), 19:4133-4137)或其它载体,并且在转型之后获得转型体的文库。

[0471] 类似地,对于重链改组,可以形成突变体scFv基因抗体库,其含有原型YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ抗体的V_L基因(例如如图2所示)和人类V_H基因抗体库(重链改组)。scFv基因抗体库可以克隆到噬菌体呈现载体中,例如pHEN-1(霍根布姆(Hoogenboom)等人(1991)核酸研究(Nucleic Acids Res.), 19:4133-4137)或其它载体,并且在转型之后获得转型体的文库。

[0472] 所得文库可以针对相关目标(例如CD46)和/或与YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ的交叉反应性筛选。

[0473] 提高结合亲和力的定点突变诱发.

[0474] 接触氨基酸侧链的大多数抗原通常位于互补决定区(CDR)中,三个在V_H中(CDR1、CDR2和CDR3)并且三个在V_L中(CDR1、CDR2和CDR3)(科西亚(Chothia)等人(1987)分子生物学杂志(J.Mol.Biol.), 196:901-917;科西亚(Chothia)等人(1986)科学(Science), 233:

755-8;年(Nhan)等人(1991)分子生物学杂志(J.Mol.Biol.),217:133-151)。这些残基造成负责与抗原的抗体亲和力的大多数结合能量学。在其它分子中,已显示接触配位体的突变氨基酸是提高一种蛋白质分子对其结合伴侣的亲力的有效方式(洛曼(Lowman)等人(1993)分子生物学杂志(J.Mol.Biol.),234:564-578;威尔斯(Wells)(1990)生物化学(Biochemistry),29:8509-8516)。CDR的定点突变诱发和针对前列腺癌细胞的筛选(尤其例如本文在实例中所述在CD46处结合)可以产生具有改良的结合亲和力的抗体。

[0475] 产生较高亲和力人类scFv的CDR随机分组。

[0476] 在单纯定点突变诱发的延伸中,可以形成部分或全部CDR随机(VL CDR1 CDR2和/或CDR3和/或VH CDR1、CDR2和/或CDR3)的突变体抗体文库。在一个实施例中,各CDR在独立文库中使用已知抗体(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ)作为模板随机化。组合来自各CDR文库的最高亲和力突变体的CDR序列获得亲和力的加成提高。已经使用类似方法将人类生长激素(hGH)对生长激素受体的亲和力从 3.4×10^{-10} 到 9.0×10^{-13} M提高超过1500倍(洛曼(Lowman)等人.(1993)分子生物学杂志(J.Mol.Biol.),234:564-578)。

[0477] V_H CDR3通常占据结合袋的中心,并且因此这一区域中的突变可能导致亲和力提高(克拉克森(Clackson)等人(1995)科学(Science),267:383-386)。在一个实施例中, V_H CDR3残基经随机化(参看例如希尔(Schier)等人(1996)基因(Gene),169:147-155;希尔(Schier)和马克斯(Marks)(1996)人类抗体和融合瘤(Human Antibodies and Hybridomas).7:97-105,1996;以及希尔(Schier)等人(1996)分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)263:551-567)。

[0478] 其它抗体修饰。

[0479] 在一个实施例中,来源于YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ抗体的部分抗体序列可用于制造结构上和功能上相关的抗体。举例来说,抗体与目标抗原主要通过位于六个重链和轻链互补决定区(CDR)中的氨基酸残基相互作用。为此,CDR内的氨基酸序列在个别抗体之间比CDR之外的序列之间更多样化。因为CDR序列负责大部分抗体-抗原相互作用,所以有可能通过构建包括来自移植到来自具有不同特性的不同抗体的构架序列上的特异性天然存在的抗体的CDR序列的表达载体来表达模拟特异性天然存在的抗体的特性的重组抗体(参看例如莱克曼(Riechmann)等人(1998)自然(Nature)332:323-327;琼斯(Jones)等人,(1986)自然(Nature)321:522-525;以及奎因(Queen)等人.(1989)美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA),86:10029-10033)。可以从包括生殖系抗体基因序列的公共DNA数据库获得这类构架序列。

[0480] 因此,本发明的抗CD46抗体的一或多个结构特征(例如CDR)可用于形成结构上相关的抗CD46抗体,其保留例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ抗体的至少一种功能性特性,所述抗体例如结合和内化到前列腺癌细胞中。

[0481] 在具体实施例中,一或多个YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κCDR区(例如VH CDR1,和/或CDR2,和/或CDR3,和/或VL CDR1,和/或CDR2,和/或CDR3)与人类构架

区和CDR以重组方式组合,形成以重组方式工程改造的额外抗CD46抗体。重链和轻链可变构架区可以来源于相同或不同抗体序列。

[0482] 所属领域中众所周知,抗体重链和轻链CDR3结构域在抗体对抗原的结合特异性/亲和力和中起尤其重要的作用(参看例如霍尔(Hall)等人(1992)免疫学杂志(J.Immunol.),149:1605-1612;波力梅斯(Polymeris)等人(1994)免疫学杂志(J.Immunol.),152:5318-5329;姜(Jahn)等人.(1995)免疫生物学(Immunobiol.),193:400-419;克里马卡(Klimka)等人(2000)英国癌症杂志(Brit.J.Cancer),83:252-260;贝波尔(Beiboer)等人(2000)分子生物学杂志(J.Mol.Biol),296:833-849;雷德(Rader)等人(1998)美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA),95:8910-8915;巴巴斯(Barbas)等人(1994)美国化学学会杂志(J.Am.Chem.Soc.),116:2161-2162;迪特泽(Ditzel)等人(1996)免疫学杂志(J.Immunol.),157:739-749)。因此,在某些实施例中,产生包括本文所述的特定抗体的重链和/或轻链CDR3(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ)的抗体。因此,在某些实施例中,产生包括本文所述的特定抗体的重链和/或轻链CDR1(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ)的抗体。抗体可以进一步包括本发明的抗体的其它重链和/或轻链CDR(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ)。

[0483] 在某些实施例中,上文所述的工程改造抗体的CDR1、2和/或3区域可包含本文所披露的精确氨基酸序列(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ的CDR)。然而,所属领域的普通技术人员将了解,与精确CDR序列可能存在一些偏差,但仍保留抗体有效结合CD46的能力(例如保守氨基酸取代)。因此,在另一实施例中,经工程化的抗体可由一或多个CDR构成,所述CDR例如与YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ抗体的一或多个CDR90%、95%、98%、99%或99.5%一致。

[0484] 在另一实施例中,CDR的一或多个残基可以经改变以修饰结合,实现结合的更有利结合。使用这一策略,可以实现具有例如 10^{10}M^{-1} 或更高的超高结合亲和力的抗体。所属领域众所周知以及本文所述的亲和力成熟技术可用于改变CDR区,随后针对结合的所要改变筛选所得结合分子。因此,因为CDR改变,可以监测结合亲和力以及免疫原性的改变并且评分,使得实现针对最佳组合的结合优化的抗体和低免疫原性。

[0485] 除了CDR内的修饰之外或作为它的替代,可以在抗体的重链和/或轻链可变区的构架区FR1、FR2、FR3和FR4中的一或多者内进行修饰,只要这些修饰不会消除抗体的结合亲和力。

[0486] 在另一实施例中,抗体关于效应功能进一步修饰,从而例如提高抗体在治疗癌症时的效用。举例来说,可以向Fc区中引入半胱氨酸残基,由此在这一区域中形成链间二硫键。因此产生的均二聚抗体可具有改良的内化能力和/或提高的互补序列介导的细胞杀死和抗体依赖性细胞毒性(ADCC)(参看例如卡隆(Caron)等人(1992)实验医学杂志(J.Exp Med.)176:1191-1195;肖普斯(Shopes)(1992)免疫学杂志(J.Immunol.)148:2918-2922)。

抗肿瘤活性提高的均二聚抗体也可以使用异双官能交联剂制备(参看例如沃尔富(Wolff)等人(1993)癌症研究(Cancer Res.) 53:2560-2565)。或者,抗体可以经工程改造,其具有双重Fc区域并且可以由此具有提高的互补序列溶解和ADCC能力(参看例如史蒂文森(Stevenson)等人(1989)抗癌药物设计(Anti-Cancer Drug Design) 3:219-230)。

[0487] 抗体制造.

[0488] 在多个实施例中,本文所述的抗体可以通过化学合成制造或可以重组表达。

[0489] 化学合成.

[0490] 使用本文提供的序列信息,本文所述的CD46特异性抗体(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ)或其变异体,可以使用众所周知的肽合成方法用化学方式合成。序列的C端氨基酸连接到不溶性载体,随后依序添加序列中的其余氨基酸的固相合成是一种用于化学合成单链抗体的优选方法。固相合成技术由肽:分析、合成、生物学(The Peptides:Analysis,Synthesis,Biology).第2卷:肽合成中的特殊方法(Special Methods in Peptide Synthesis),A部分,梅里菲尔德(Merrifield)等人(1963)美国化学学会志(J.Am.Chem.Soc),85:2149-2156中的巴拉尼(Barany)和梅里菲尔德(Merrifield),固相肽合成(Solid Phase Peptide Synthesis);第3页-第284页和斯图尔特(Stewart)等人,(1984)固相肽合成(Solid Phase Peptide Synthesis),第2版皮尔斯化学公司(Pierce Chem.Co.),罗克福德(Rockford),Ill.描述。

[0491] 前列腺癌特异性抗体的重组表达.

[0492] 在某些实施例中,本文所述的CD46特异性抗体(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ)或其变异体使用所属领域的技术人员众所周知的方法重组表达。举例来说,使用本文提供的YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ序列信息,编码所要抗体的核酸可以根据所属领域的技术人员已知的多种标准方法制备。核酸转染到宿主细胞中,所述细胞接着表达所要抗体或其链。

[0493] 所属领域中已知实现这些目的分子克隆技术。多种克隆和体外扩增方法适于建构重组核酸。足以通过许多克隆练习引导所属领域的技术人员的这些技术和说明的实例可见于伯杰(Berger)和基梅尔(Kimmel),酶学方法中分子克隆技术导言(Guide to Molecular Cloning Techniques,Methods in Enzymology)第152卷学术出版公司(Academic Press,Inc.),加利福尼亚州圣地亚哥(San Diego,CA)(伯杰(Berger));萨布鲁克(Sambrook)等人(1989)分子克隆-实验室手册(Molecular Cloning-A Laboratory Manual)(第2版)第1卷-第3卷,冷泉港实验室(Cold Spring Harbor Laboratory),冷泉港出版社(Cold Spring Harbor Press),纽约州(NY),(萨布鲁克(Sambrook));以及最新分子生物学实验方法汇编(Current Protocols in Molecular Biology),F.M.奥斯贝(F.M.Ausubel)等人编,实验室指南(Current Protocols),格林出版联合公司和约翰·威利父子公司的合资企业(a joint venture between Greene Publishing Associates, Inc.and John Wiley&Sons,Inc.), (1994增刊)(奥斯贝(Ausubel))。所属领域中还已知制造重组免疫球蛋白的方法。参看卡比利(Cabilly),美国专利第4,816,567号;以及奎因

(Queen) 等人 (1989) 美国科学院院报 (Proc.Natl Acad.Sci.USA) 86:10029-10033。另外,表达抗体的具体方案还由刘 (Liu) 等人 (2004) 癌症研究 (Cancer Res.) 64:704-710,波尔 (Poul) 等人 (2000) 分子生物学杂志 (J.Mol.Biol.) 301:1149-1161等提供。

[0494] 形成其它抗体形式.

[0495] 使用本文提供的单链抗体的已知和/或鉴别的序列 (例如 V_H 和/或 V_L 序列), 可以形成其它抗体形式。这类形式包括 (但不限于) 多价抗体、完全抗体、scFv、(scFv')₂、Fab、(Fab')₂、嵌合抗体等。

[0496] 形成均二聚体.

[0497] 举例来说, 为了形成 (scFv')₂ 抗体, 通过连接子 (例如碳连接子、肽等) 或通过例如两个半胱氨酸之间的二硫键接合两个抗CD46抗体。因此, 举例来说, 为了形成二硫键连接的scFv, 可以通过在本文所述的抗体的羧基末端定点突变诱发引入半胱氨酸残基。

[0498] scFv可以从这一构筑体表达, 通过IMAC纯化, 并且通过凝胶过滤分析。为了制造 (scFv')₂ 二聚体, 半胱氨酸通过与1mM 3-巯基乙醇仪器培育来还原, 并且通过添加DTNB来阻断scFv的一半。阻断和未阻断的scFv一起培育形成 (scFv')₂, 并且可以通过凝胶过滤分析所得材料。所得二聚体的亲和力可以使用标准方法, 例如通过BIAcore测定。

[0499] 在一个说明性实施例中, 通过经连接子, 例如肽连接子接合scFv片段形成 (scFv')₂ 二聚体。这可以通过所属领域的技术人员熟知的多种方式实现。举例来说, 霍利格 (Holliger) 等人 (1993) 在美国国家科学院院刊 (Proc.Natl.Acad.Sci.USA), 90:6444-6448 (另请参看W0 94/13804) 中描述了一种方法。

[0500] 应注意, 使用本文提供的 V_H 和/或 V_L 序列, 还容易制备Fab和 (Fab')₂ 二聚体。Fab为通过二硫键接合到 V_H -C_H1的轻链, 并且容易使用所属领域的技术人员已知的标准方法形成。例如上文针对 (scFv')₂ 二聚体所述, F(ab')₂ 可以通过二聚Fab制造。

[0501] 嵌合抗体.

[0502] 本文涵盖的抗体还包括“嵌合”抗体, 其中一部分重链和/或轻链与来源于特定物种或属于特定抗体类别或子类别的抗体中的相应序列相同或同源, 而所述链的其余部分与来源于另一物种或属于另一抗体类别或子类别的抗体中的相应序列以及这类抗体的片段相同或同源 (只要它们展现所需生物活性) (例如参看美国专利第4,816,567号; 莫里森 (Morrison) 等人, (1984) 美国国家科学院院刊 (Proc.Natl.Acad.Sci.USA), 81:6851-6855)。

[0503] 尽管本文提供的原型抗体 (例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY (也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8、和/或UA8κ) 为完全人类抗体, 但具体来说当这类抗体用于除人类以外的物种 (例如兽医学应用) 时, 涵盖嵌合抗体。嵌合抗体为包含来自两个不同物种的部分 (例如人类和非人类部分) 的抗体。通常, 嵌合抗体的抗原组合区域 (或可变区) 来源于一个物种来源, 并且嵌合抗体的恒定区 (赋予免疫球蛋白生物学效应功能) 来源于另一来源。产生嵌合抗体的许多方法为所属领域的技术人员熟知 (例如参看美国专利第5,502,167号、第5,500,362号、第5,491,088号、第5,482,856号、第5,472,693号、第5,354,847号、第5,292,867号、第5,231,026号、第5,204,244号、第5,202,238号、第5,169,939号、第5,081,235号、第5,075,431号以及第4,975,369号, 以及PCT申请案W0 91/0996)。

[0504] 一般来说,用于制造嵌合抗体的程序由以下步骤组成(一些步骤的顺序可以互换):(a)鉴别和克隆编码抗体分子的抗原结合部分的正确基因区段;这一基因区段(称为重链的VDJ可变多样性和接合区域,或轻链的VJ可变接合区域,或简称为V或可变区或 V_H 和 V_L 区域)可以呈cDNA或基因组形式;(b)克隆编码人类恒定区或其所需部分的基因区段;(c)将可变区接合到恒定区,从而以可转录和可转译形式编码整个嵌合抗体;(d)将这一构筑体接合到含有可选标记物和基因控制区(例如启动子、强化子和聚(A)添加信号)的载体;(e)在宿主细胞(例如细菌)中扩增这一构筑体;(f)将DNA引入到真核细胞(转染),通常哺乳动物淋巴细胞;以及在适于表达嵌合抗体的条件下培养宿主细胞。

[0505] 若干独特抗原结合特异性的抗体已经由这些方案操控以产生嵌合蛋白(例如抗TNP:博连内(Boulianne)等人(1984)自然(Nature),312:643)和抗肿瘤抗原(参看例如萨哈干(Sahagan)等人(1986)免疫学杂志(J.Immunol.),137:1066)。同样,已经通过将新序列连接到编码抗原结合区的那些序列来实现几种不同效应子功能。这些中的一些包括酶(纽博格(Neuberger)等人(1984)自然(Nature)312:604)、来自另一物种的免疫球蛋白恒定区和另一免疫球蛋白链的恒定区(莎伦(Sharon)等人(1984)自然(Nature)309:364;谭(Tan)等人, (1985)免疫学杂志(J.Immunol.)135:3565-3567)。

[0506] 在某些实施例中,使用重组DNA载体转染产生抗CD46(例如前列腺癌特异性)抗体的细胞株。新颖重组DNA载体含有置换细胞株中编码免疫球蛋白恒定区的全部或一部分基因的“替代基因”(例如替代基因可以编码人类免疫球蛋白、特异性免疫球蛋白类别或酶、毒素、生物活性肽、生长因子、抑制剂或连接肽的全部或一部分恒定区以促进与药物、毒素或其它分子等的结合),以及允许在抗体制造细胞内用免疫球蛋白序列靶向同源重组的“目标序列”。

[0507] 在另一实施例中,使用重组DNA载体转染产生具有所需效应功能的抗体(例如人类免疫球蛋白的恒定区)的细胞株,在这一情况下,重组载体中所含的替代基因可以编码本发明的前列腺癌特异性抗以及重组载体中所含的目标序列的全部或一部分区域,以允许在抗体制造细胞中同源重组和靶向基因修饰。在另一实施例中,当仅置换可变区或恒定区的一部分时,所得嵌合抗体可以经改变或改良但仍限定相同抗原和/或具有相同效应功能,从而嵌合抗体可以表明更高抗原特异性、更高亲和力结合常数、增加的效应功能或增加的分泌以及被经转染的抗体制造细胞株制造等。

[0508] 与所实施的实施例无关,选择整合DNA(经可选标记物)、筛选嵌合抗体制造以及细胞克隆的方法可以用于获得制造嵌合抗体的细胞的克隆。

[0509] 因此,编码单克隆抗体的修饰的DNA断片可以直接靶向B细胞或融合瘤细胞株内所表达的免疫球蛋白基因的位点。可以针对任何具体修饰制备DNA构筑体,以改变任何单克隆细胞株或融合瘤的蛋白质产物。当基因在其天然染色体位置而非随机位置时,嵌合抗体的表现水平应较高。制备嵌合(人类化)抗体的详细方法可见于美国专利5,482,856中。

[0510] 完整人类抗体.

[0511] 在另一实施例中,本发明提供完整完全人类抗CD46(例如前列腺癌特异性)抗体。这类抗体容易使用与制备嵌合人类抗体类似的方式制造。在这一实例中代替使用例如来自鼠类的辨识功能,使用本文所述的抗体的完全人类辨识功能(例如 V_H 和 V_L)。

[0512] 双功能抗体.

[0513] 在某些实施例中,涵盖包含本文所述的 V_H 和 V_L 结构域中的一或多者的双功能抗体。术语“双功能抗体”指的是通常具有两个抗原结合位点的抗体片段。片段通常包含同一多肽链(V_H - V_L)中连接到轻链可变域(V_L)的重链可变域(V_H)。通过使用过短以使得同一链上的两个结构域之间不能配对的连接子,迫使结构域与另一条链的互补结构域配对,并且形成两个抗原结合位点。双功能抗体在例如EP 404,097;WO 93/11161以及霍利格尔(Holliger)等人(1993)美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA) 90:6444-6448中更完全描述。

[0514] 单抗体.

[0515] 在某些实施例中,使用本文提供的序列信息,抗CD46抗体可以建构成单抗体。单抗体是产生治疗窗比某些小抗体型式预期更长的稳定较小抗体型式的抗体技术。在某些实施例中,通过消除抗体的铰链区从IgG4抗体制造单抗体。与完整尺寸的IgG4抗体不同,半个分子片段非常稳定并且称为单抗体。将IgG4分子减半,仅在单抗体上留下一个可结合于目标的区域。制造单抗体的方法详细描述于PCT公开案W02007/059782中,其以全文引用的方式并入本文中(还参看考夫斯坦(Kolfschoten)等人(2007)科学(Science) 317:1554-1557)。

[0516] 亲和抗体.

[0517] 在某些实施例中,使用本文提供的序列信息构建结合CD46的亲和抗体分子。亲和抗体分子是基于58个氨基酸残基蛋白质结构域的亲和蛋白质类别,来源于葡萄球菌蛋白质A的IgG结合域中的一者。这三个螺旋束结构域已用作构建组合噬菌粒文库的骨架,可以使用噬菌体呈现技术从所述库选择靶向所要分子的亲和抗体变体(参看例如努德(Nord)等人(1997)自然生物技术(Nat.Biotechnol.) 15:772-777;隆马克(Ronmark)等人(2002)欧洲生物化学杂志(Eur.J.Biochem.) ,269:2647-2655.)。所属领域的技术人员已知亲和抗体和制造方法的细节(参看例如美国专利第5,831,012号,其以全文引用的方式并入本文中)。

[0518] 应认识到,上文所述的抗体可以使用所属领域的技术人员众所周知的方式作为全部完整抗体(例如IgG)、抗体片段或单链抗体形式提供。另外,尽管抗体基本上可以来自任何哺乳动物物种来降低免疫原性,但希望使用打算利用抗体和/或免疫结合物的物种的抗体。换句话说,为了用于人类,希望使用人类、人类化或嵌合人类抗体。

[0519] 测量抗体/多肽结合亲和力.

[0520] 如上文所解释,提高亲合力的选择可能涉及测量抗体对目标抗原(例如CD46,尤其YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ中的一或多者结合的表位)的亲和力。所属领域的技术人员众所周知进行这类测量的方法。简单来说,例如,在BIAcore(基于表面电浆子共振的生物传感器)中从结合到例如目标细胞的动力学测定抗体的 K_d 。对于这一技术,抗原或细胞偶合到能够检测质量改变的衍生化传感器芯片。当抗体传过传感器芯片时,抗体结合于抗原,导致可定量的质量增加。可以使用随着抗体浓度变化的缔合速率的测量计算缔合速率常数(k_{on})。缔合相之后,缓冲剂传过芯片并且测定抗体的解离速率(k_{off})。 K_{on} 通常测得在 1.0×10^2 到 5.0×10^6 范围内并且 k_{off} 在 1.0×10^{-1} 到 1.0×10^{-6} 范围内。平衡常数 K_d 通常计算为 k_{off}/k_{on} 并且因此通常测得在 10^{-5} 到 10^{-12} 范围内。以这一方式测量的亲和力与通过荧光淬灭滴定在溶液中测量的亲和力充分相关。

[0521] 包含YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ或其它抗CD46抗体的免疫

结合物.

[0522] 本文所述的原型抗CD46抗体(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8 κ)特异性结合于前列腺癌细胞和其它CD46阳性癌细胞并且经所述细胞内化。抗体可以单独用作疗法(例如抑制前列腺癌细胞生长和/或增殖)或其可以偶合到效应子形成免疫结合物,提供效应子(例如细胞毒素、标记、放射性核素、配位体、抗体、药物、脂质体、纳米粒子、病毒粒子、细胞因子等)到表达CD46的多种癌细胞(例如经分离的细胞、转移性细胞、实体肿瘤细胞等)的高效和特异性传递。

[0523] 抗CD46免疫结合物可以通过将本文所述的抗体或其抗原结合部分结合到效应子(例如可检测标记,另一治疗剂等)形成。适合试剂包括例如细胞毒性或细胞生长抑制剂(例如化学治疗剂)、毒素(例如细菌、真菌、植物或动物来源,或其片段的酶活性毒素)和/或放射性同位素(即放射性结合物)。

[0524] 在某些实施例中,效应子包含可检测标记。适合可检测标记包括(但不限于)不透射线标记、纳米粒子、PET标记、MRI标记、放射性标记等。在本发明的多个实施例的放射性核素和适用性中, γ -发射极、正电子发射极、x射线发射极和荧光发射极适于定位、诊断和/或分级,和/或疗法,而 β 和 α -发射极和电子和中子捕捉剂(例如硼和铀)也可用于疗法。

[0525] 可检测标记可以与外部检测剂和/或内部检测剂结合使用,并且提供有效定位和/或观测前列腺癌细胞的方式。这类检测/观测可以适用于多种情形,包括(但不限于)手术前和手术中情景。因此,在某一实施例中本发明涉及一种手术中检测和哺乳动物体内的前列腺癌的方法。这些方法通常涉及向哺乳动物授予包含足以通过检测器(例如 γ 检测探测器)检测的量的以下各物的组合物:用可检测标记标记的前列腺癌特异性抗体(例如用 ^{161}Tb 、 ^{123}I 、 ^{125}I 等标记的例如放射性同位素标记的本发明的抗体),并且在活性物质被目标组织吸收之后,并且优选在血液清除标记之后,例如使用 γ 检测探测器对哺乳动物的身体相关区域进行放射免疫检测技术。

[0526] 在某些实施例中,标记结合的抗体可用于放射导向手术技术中,其中个体身体内的相关组织可以借助于检测器(例如 γ 检测探测器)在手术中检测和定位。外科医生可以在手术中使用这一探测器寻找已经吸收用放射性同位素标记的化合物(即例如低能量 γ 光子发射极)的组织。在某些实施例中,这类方法尤其适用于定位和去除来自原发性肿瘤的转移性细胞产生的继发性癌症。

[0527] 除了可检测标记之外,特定优选效应子包括(但不限于)细胞毒素(例如绿脓杆菌外毒素、蓖麻毒素、相思子毒素、白喉毒素等),或细胞毒性药物或前药,在这一情况下,嵌合分子可以用作将细胞毒素特异性靶向前列腺癌细胞的强效细胞杀死剂。

[0528] 在其它实施例中,效应子可包括囊封药物(例如抗癌药物,例如亚伯杉烷、小红莓、帕米麟酸二钠、阿那曲唑、依西美坦、环磷酰胺、表柔比星、托瑞米芬、来曲唑、曲妥珠单抗、甲地孕酮他莫昔芬、太平洋紫杉醇、多西他赛、卡培他滨、乙酸戈舍瑞林、唑来麟酸、长春碱等)的脂质体、刺激结合细胞被免疫系统的组分辨识的抗原、特异性结合免疫系统组分并且将其导向到前列腺癌的抗体等。

[0529] 说明性效应子.[0530] 成像组合物.

[0531] 在某些实施例中,抗CD46免疫结合物可用于将可检测标记导向到肿瘤部位。这可以促进肿瘤检测和/或定位。这可以有效检测原发性肿瘤,或在某些实施例中,例如前列腺转移性细胞产生的继发性肿瘤。在某些实施例中,免疫结合物的效应子组分包含“不透射线”标记,例如容易使用x射线观测的标记。不透射线物质为所属领域的技术人员众所周知。最常见不透射线物质包括碘化物、溴化物或钡盐。其它不透射线物质也是已知的,并且包括(但不限于)有机铋衍生物(参看例如美国专利5,939,045)、不透射线聚氨酯(参看例如美国专利5,346,981)、有机铋络合物(参看例如美国专利5,256,334)、不透射线钡聚合物络合物(参看例如美国专利4,866,132)等。

[0532] 本文所述的抗CD46抗体可以直接偶合到例如下文所述的不透射线部分或它们可以连接到携带、含有或包含不透射线物质的“包装”(例如螯合物、脂质体、聚合物微珠粒、纳米粒子等)。

[0533] 除了不透射线标记之外,其它标记也适用。适用于免疫结合物的可检测标记包括可以通过分光镜、光化学、生物化学、免疫化学、电、光学或化学方式检测的任何组合物。适用的标记包括磁珠(例如DYNABEADS™)、荧光染料(例如异硫氰酸荧光素、德克萨斯红、若丹明、绿色荧光蛋白等)、放射性标记(例如³H、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C或³²P)、酶(例如ELISA中通常使用的辣根过氧化酶、碱性磷酸酶等)以及比色标记,例如胶体金或彩色玻璃或塑料(例如聚苯乙烯、聚丙烯、乳胶等)珠粒、纳米粒子、量子点等。

[0534] 在某些实施例中,适合放射性标记包括(但不限于)⁹⁹Tc、²⁰³Pb、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁷²As、¹¹¹In、^{113m}In、⁹⁷Ru、⁶²Cu、⁶⁴lCu、⁵²Fe、^{52m}Mn、⁵¹Cr、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、⁷⁷As、⁹⁰Y、⁶⁷Cu、¹⁶⁹Er、¹²¹Sn、¹²⁷Te、¹⁴²Pr、¹⁴³Pr、¹⁹⁸Au、¹⁹⁹Au、¹⁶¹Tb、¹⁰⁹Pd、¹⁶⁵Dy、¹⁴⁹Pm、¹⁵¹Pm、¹⁵³Sm、¹⁵⁷Gd、¹⁵⁹Gd、¹⁶⁶Ho、¹⁷²Tm、¹⁶⁹Yb、¹⁷⁵Yb、¹⁷⁷Lu、¹⁰⁵Rh和¹¹¹Ag。

[0535] 检测这类标记的方式为所属领域的技术人员众所周知的。因此,举例来说,特定放射性标记可以使用照相胶片、闪烁检测器、PET成像、MRI等检测。可以用光检测器检测发光来检测荧光标记。通常通过对底物提供酶并且检测由酶作用于底物上所产生的反应产物来检测酶促标记,并且通过简单目测着色标记来检测比色标记。

[0536] 辐射敏化剂.

[0537] 在另一实施例中,效应子可包含提高细胞上电离辐射(例如可能由⁶⁰Co或x射线来源产生)的细胞毒性作用的辐射敏化剂。许多辐射敏化剂是已知的并且包括(但不限于)苯并卟啉衍生化合物(参看例如美国专利5,945,439)、1,2,4-苯并三嗪氧化物(参看例如美国专利5,849,738)、含有某些二胺的化合物(参看例如美国专利5,700,825)、BCNT(参看例如美国专利5,872,107)、辐射敏化性硝基苯甲酸酰胺衍生物(参看例如美国专利4,474,814)、各种杂环衍生物(参看例如美国专利5,064,849)、铂络合物(参看例如美国专利4,921,963)等。

[0538] α发射极.

[0539] 在某些实施例中,效应子可包括α发射极,即发射α粒子的放射性同位素。α-发射极最近已显示有效治疗癌症(参看例如麦克德维特(McDevitt)等人(2001)科学(Science) 294:1537-1540;巴兰格鲁德(Ballangrud)等人(2001)癌症研究(Cancer Res.) 61:2008-2014;博查德(Borchardt)等人(2003)癌症研究(Cancer Res.) 63:5084-50)。适合α发射极包括(但不限于)Bi、²¹³Bi、²¹¹At等。

[0540] 螯合物

[0541] 可以提供本文所述的许多药剂和/或放射性标记作为螯合物。螯合剂分子通常偶合到与本文所述的抗CD46抗体(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ)连接的特异性结合表位标签的分子(例如生物素、抗生物素蛋白、抗生蛋白链菌素等)。

[0542] 螯合基为所属领域的技术人员众所周知的。在某些实施例中,螯合基来源于乙二胺四乙酸(EDTA)、二乙三胺五乙酸(DTPA)、环己基1,2-二胺四乙酸(CDTA)、乙二醇-0,0'-双(-2-氨基乙基)-N,N,N',N'-四乙酸(EGTA)、N,N-双(羟基苯甲基)-乙二胺-N,N'-二乙酸(HBED)、三乙四胺六乙酸(TTHA)、1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(DOTA)、羟基乙二胺三乙酸(HEDTA)、1,4,8,11-四氮杂环十四烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(TETA)、经取代的DTPA、经取代的EDTA等。

[0543] 特定优选螯合剂的实例包括未经取代的或经取代的2-亚氨基硫烷和2-亚氨基硫杂环己烷,具体来说2-亚氨基-4-巯基甲基硫烷。

[0544] 一种螯合剂1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N,N'',N'''-四乙酸(DOTA)尤其受到关注,这是由于其螯合许多诊断上和治疗上重要的金属(例如放射性核素和放射性标记)的能力。

[0545] 已经描述DOTA与例如抗体的蛋白质的结合物。举例来说,美国专利第5,428,156号传授一种将DOTA与抗体和抗体片段结合的方法。为了制备这些结合物,将DOTA的一个羧基转化成活性酯,活性酯可以与抗体或抗体片段上的胺或巯基反应。路易斯(Lewis)等人(1994)生物结合物化学(Bioconjugate Chem.)5:565-576描述一种类似方法,其中DOTA的一个羧基转化成活性酯,并且经活化的DOTA与抗体混合,将抗体经抗体的赖氨酸残基的ε-氨基连接到DOTA,由此将DOTA的一个羧基转化成酰胺部分。

[0546] 在某些实施例中,可以直接或经连接子将螯合剂偶合到表位标签或偶合到结合表位标签的部分。已描述DOTA和生物素的结合物(参看例如苏(Su)(1995)核医学杂志(J.Nucl.Med.),36(5增刊):154P,其披露DOTA与生物素经可用氨基侧链生物素衍生物(例如DOTA-LC-生物素或DOTA-苯甲基-4-(6-氨基-己酰胺)-生物素连接。)姚(Yau)等人,W095/15335披露了一种制造可以与生物素结合的确基-苯甲基-DOTA化合物的方法。所述方法包含:经羟基暂时保护的环化反应;胺的甲苯磺酰化作用;暂时受保护羟基的脱除保护基;脱除保护的羟基的甲苯磺酰化作用;以及分子内甲苯磺酸酯环化。吴(Wu)等人,(1992)核医学和生物学(Nucl.Med.Biol),19(2):239-244披露用¹¹¹In和⁹⁰Y放射性标记蛋白的大环螯合剂的合成。吴(Wu)等人制得经标记的DOTA-生物素结合物以研究具有抗生物素蛋白(用于研究的模型蛋白)的稳定性和生物分布。使用含有游离氨基以与原位生成的经活化DOTA衍生物反应的生物素酰肼来制造这种结合物。

[0547] 细胞毒素/细胞抑制剂.

[0548] 本文所述的抗CD46抗体(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY 3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ)可用于传递多种细胞毒性和/或细胞抑制性药物,包括治疗性药物、发射辐射化合物、植物、真菌或细菌来源的细胞毒性分子、生物学蛋白质以及其混合物。在某些实施例中,细胞毒性药物可包含细胞内起作用的细胞毒性药物,例如小有机分子、细胞毒性蛋白质或肽、辐射发

射极,包括例如上文所述的短程高能 α 发射极等。

[0549] 因此,在某些实施例中,抗CD46抗体连接到细胞毒性/细胞生长抑制药物。在多个实施例中,用于建构ADC的药物包括(但不限于)微管抑制剂和DNA破坏剂、聚合酶抑制剂(例如聚合酶II抑制剂、 α -鹅膏蕈碱)等。在某些实施例中,抗体直接或经连接子结合到药物,而在其它实施例中,抗体结合到药物载剂(例如含有药物的脂质体、聚合药物载剂、纳米粒子药物载剂、脂质药物载剂、树状体药物载剂等)。

[0550] 在某些实施例中,药物包含微管蛋白抑制剂,包括(但不限于)奥瑞他汀、海兔毒素-10、天然产物海兔毒素-10的合成衍生物以及美登素或美登素衍生物。

[0551] 在某些实施例中,药物包含奥瑞他汀。在某些实施例中,奥瑞他汀选自自由以下组成的群组:奥瑞他汀E(AE)、单甲基奥瑞他汀E(MMAE)、单甲基奥瑞他汀F(MMAF)、vcMMAE以及vcMMAF。

[0552] 在某些实施例中,药物包含美登素。说明性美登素包括(但不限于)美坦辛(DM1);以及美登素的类似物,例如DM3或DM4。

[0553] 在某些实施例中,药物包含DNA相互作用剂。在某些实施例中,DNA相互作用剂包括(但不限于)卡奇霉素、倍癌霉素、吡咯并苯并二氮呋(PBD)等。

[0554] 在一个说明性但非限制性实施例中,药物包含卡奇霉素。卡奇霉素靶向DNA并且引起股断裂。在某些实施例中,药物包含卡奇霉素或卡奇霉素类似物。卡奇霉素类似物描述于美国专利第5,264,586号中,其中所述的卡奇霉素类似物以引用的方式并入本文中。

[0555] 在另一说明性但非限制性实施例中,药物包含倍癌霉素。倍癌霉素为能够在细胞周期中的任何阶段发挥其作用模式的DNA破坏剂。作为这一类倍癌霉素的部分的药剂通常在低皮摩尔范围内具有效能。可用作本文涵盖的嵌合构筑体中的效应子的说明性倍癌霉素(例如倍癌霉素类似物)包括(但不限于)倍癌霉素A、倍癌霉素B1、倍癌霉素B2、倍癌霉素C1、倍癌霉素C2、倍癌霉素D、倍癌霉素SA、环丙基苯并吡咯倍癌霉素(CC-1065)、森坦霉素、雷查霉素、阿多来新、比折来新、卡折来新等。

[0556] 在另一说明性但非限制性实施例中,药物包含吡咯并苯并二氮呋。在某些实施例中,药物包含通过柔性聚亚甲基系栓连接的两个吡咯并苯并二氮呋的合成衍生物。吡咯并苯并二氮呋(PBD)和PBD二聚体描述于美国专利第7,528,126B2号,其中所述的吡咯并苯并二氮呋和PBD二聚体以引用的方式并入本文中。在某些实施例中,吡咯并苯并二氮呋选自自由以下组成的群组:安曲霉素(和其二聚体)、甲基氨基霉素(和其二聚体)、富山霉素(和其二聚体)、普拉卡素(和其二聚体)、契卡霉素(和其二聚体)、新斯拉霉素A(和其二聚体)、新斯拉霉素B(和其二聚体)、DC-81(和其二聚体)、西伯利亚霉素(和其二聚体)、坡咯霉素A(和其二聚体)、坡咯霉素B(和其二聚体)、西巴霉素(和其二聚体)、赤霉素(和其二聚体)、SG2000以及SG2285。

[0557] 在某些实施例中,药物包含聚合酶抑制剂,包括(但不限于)聚合酶II抑制剂,例如 α -鹅膏蕈碱和聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)抑制剂。说明性PARP抑制剂包括(但不限于)依尼帕瑞(BSI 201)、他拉柔帕瑞(BMN-673)、奥拉帕尼(AZD-2281)、奥拉帕尼、如卡帕瑞(AG014699,PF-01367338)、维利帕瑞(ABT-888)、CEP 9722、MK 4827、BGB-290、3-氨基苯甲酰胺等。

[0558] 在某些实施例中,细胞毒性/细胞生长抑制剂包含蛋白质或肽毒素或其片段。酶活

性毒素和其片段的范例例如是白喉毒素A片段、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A(来自绿脓杆菌)、蓖麻毒素A链、相思子毒素A链、莫迪素A链、 α -帚曲菌素、特定油桐(*Aleurites fordii*)蛋白、特定康乃馨(*Dianthin*)蛋白、美洲商陆(*Phytolacca americana*)蛋白(PAPI、PAPII和PAP-S)、苦瓜(*Momordica charantia*)抑制剂、麻疯树毒蛋白(curcin)、巴豆毒素、石碱草(*Saponaia officinalis*)抑制剂、白树素、有丝分裂素、局限曲菌素、酚霉素、伊诺霉素以及单端孢霉烯。多种放射性核素适于制造放射性结合的抗体。实例包括(但不限于) ^{212}Bi 、 ^{131}I 、 ^{131}In 、 ^{90}Y 、 ^{186}Re 等。

[0559] 在某些实施例中,细胞毒素可包括(但不限于)假单胞菌外毒素、白喉毒素、蓖麻毒素、相思子毒素和其衍生物。绿脓杆菌外毒素A(PE)是一种由绿脓杆菌分泌的极端活性单体蛋白(分子量66kD),它通过催化ADP-核糖基化来不活化延伸因子2(EF-2),抑制真核细胞中的蛋白质合成(催化氧化NAD的ADP核糖基部分转移到EF-2上)。

[0560] 所述毒素含有共同作用以引起细胞毒性的三个结构域。结构域Ia(氨基酸1到252)介导细胞结合。结构域II(氨基酸253-364)负责移位到细胞溶质中并且结构域III(氨基酸400-613)介导延伸因子2的ADP核糖基化,这不活化蛋白质并且引起细胞死亡。结构域Ib(氨基酸365-399)的功能仍不确定,但其可以缺失大部分(氨基酸365-380)而不损失细胞毒性。参看西格尔(Siegall)等人(1989)生物化学杂志(*J.Biol.Chem.*)264:14256-14261。

[0561] 在某些实施例中,抗体连接到优选分子,其中结构域Ia(氨基酸1到252)缺失并且氨基酸365到380已经从结构域Ib缺失。在某些实施例中,全部结构域Ib和结构域II的一部分(氨基酸350到394)可以缺失,当缺失的序列置换成连接肽时尤其如此。

[0562] 另外,PE和其它细胞毒性蛋白可以使用定点突变诱发或所属领域中已知的其它技术进一步修饰,以改变分子用于具体所需应用。举例来说,也可以使用以大体上不影响本文所述的PE分子提供的功能性优势的方式改变PE分子的手段并且本文打算涵盖这类所得分子。

[0563] 所属领域的技术人员众所周知的编码与各种配位体融合的PE的基因克隆方法(参看例如西格尔(Siegall)等人(1989)美国实验生物学学会联合会杂志(*FASEB J.*),3:2647-2652;和乔杜里(Chaudhary)等人(1987)美国国家科学院院刊(*Proc.Natl.Acad.Sci.USA*),84:4538-4542)。

[0564] 与PE一样,白喉毒素(DT)通过ADP核糖基化延伸因子2杀死细胞,进而抑制蛋白合成。然而,白喉毒素分成经二硫桥键连接的两个链A和B。与PE相比,在羧基端的DT的链B负责受体结合,并且在氨基端呈现的链A含有酶促活性(内田(Uchida)等人(1972)科学(*Science*),175:901-903;内田(Uchida)等人(1973)生物化学杂志(*J.Biol.Chem.*),248:3838-3844)。

[0565] 在某些实施例中,本发明的抗体-白喉毒素免疫结合物的原生受体结合域通过截短白喉毒素B链去除。一种说明性经修饰的白喉毒素为DT388,是一种在残基389处开始去除羧基末端序列的DT(参看例如乔杜里(Chaudhary)等人(1991)生物化学和生物物理学研究通讯(*Bioch.Biophys.Res.Comm.*),180:545-551)。与PE嵌合细胞毒素一样,DT分子可以用化学方式结合到前列腺癌特异性抗体,但在某些优选实施例中,抗体将通过重组方式融合到白喉毒素(参看例如威廉姆斯(Williams)等人(1990)生物化学杂志(*J.Biol.Chem.*)265:11885-11889)。

[0566] 病毒粒子.

[0567] 在某些实施例中,效应子包含病毒粒子(例如丝状噬菌体、腺相关病毒(AAV)、慢病毒等)。抗体可以结合到病毒粒子和/或可以在病毒粒子(例如丝状噬菌体)的表面上表达。病毒粒子可以另外包括打算传递到目标(例如前列腺癌)细胞的核酸。病毒粒子将核酸传递到细胞的用途详细地描述于WO 99/55720、US 6,670,188、US 6,642,051以及US6,669,936中。

[0568] 其它治疗性部分.

[0569] 其它适合效应分子包括药理学试剂或含有多种药理学试剂的包封系统。因此,在多个实施例中,应认识到靶向分子(例如靶向抗体)可以直接或经连接子连接到打算直接传递到肿瘤的药物。

[0570] 这类药物为所属领域的技术人员众所周知并且包括(但不限于)抗癌抗体(例如HERCEPTIN®)、抗代谢物、烷基化剂、拓扑异构酶抑制剂、微管靶向剂、激酶抑制剂、蛋白质合成抑制剂、生长抑素类似物、糖皮质激素、芳香酶抑制剂、mTOR抑制剂、蛋白激酶B(PKB)抑制剂、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)抑制剂、细胞周期素依赖性激酶抑制剂、抗TRAIL分子、MEK抑制剂等。在某些实施例中,抗癌化合物包括(但不限于)氟尿嘧啶(5-FU)、卡培他滨/XELODA、5-三氟甲基-2'-脱氧尿苷、甲胺喋呤钠、雷替曲赛/Tomudex、培美曲塞/Alimta®、阿糖胞苷(Cytarabine,Ara-C)/硫鸟嘌呤、6-巯基嘌呤(Mercaptopurine,6-MP)、硫唑嘌呤/Azasan、6-巯鸟嘌呤(6-TG)/Purinethol(TEVA)、喷司他汀/Nipent、磷酸氟达拉滨/Fludara®、克拉屈滨(2-CdA,2-氯去氧腺苷)/Leustatin、氟尿苷(5-氟-2)/FUDR(赫士睿公司(Hospira,Inc.))、核糖核苷酸还原酶抑制剂(RNR)、环磷酰胺/Cytosan(BMS)、癌得散、异环磷酰胺/Mitoxana、噻替派、BCNU--1,3-双(2-氯乙基)-1-亚硝基脲、1,3-双(2-氯乙基)-3-环己基-亚硝基脲,甲基CCNU、六甲蜜胺、白消安/Myleran、丙卡巴肼HCL/Matulane、达卡巴嗪(DTIC)、苯丁酸氮芥/Leukaran®、美法仑/Alkeran、顺铂(Cisplatinum,CDDP)/Platinol、卡铂/Paraplatin、奥沙利铂/Eloxitan、苯达莫司汀、卡莫司汀、氮芥、达卡巴嗪(DTIC)、福莫司汀、洛莫司汀、甘露舒凡、奈达铂、尼莫司汀、泼尼氮芥、雷莫司汀、赛特铂、司莫司汀、链脲霉素、替莫唑胺、曲奥舒凡、三亚胺醌、三亚乙基三聚氰胺、噻替派、四硝酸特瑞铂、曲洛磷胺、乌拉莫司汀、小红莓HCL/Doxil、柠檬酸道诺霉素/Daunoxome®、米托蒽醌HCL/Novantrone、放线菌素D、依托泊苷/Vepesid、拓扑替康HCL/Hycamtin、替尼泊甙(VM-26)、伊立替康HCL(CPT-11)/camptosar®、喜树碱、贝洛替康、鲁比替康、长春新碱、硫酸长春碱、酒石酸长春瑞滨、硫酸长春地辛、太平洋紫杉醇/Taxol、多西他赛/Taxotere、纳米粒子太平洋紫杉醇、亚伯杉烷、伊沙匹隆、拉洛他赛、奥他赛、替司他赛、长春氟宁等。在某些实施例中抗癌药物包含一或多种选自以下组成的群组的药物:卡铂(例如PARAPLATIN®)、顺铂(例如PLATINOL®、PLATINOL诺-AQ®)、环磷酰胺(例如CYTOXAN®、NEOSAR®)、多西他赛(例如TAXOTERE®)、小红莓(例如ADRIAMYCIN®)、埃罗替尼(例如TARCEVA®)、依托泊苷(例如VEPESID®)、氟尿嘧啶(例如5-FU®)、吉西他滨(例如GEMZAR®)、甲磺酸伊马替尼(例如GLEEVEC®)、伊立替康(例如CAMPTOSAR®)、甲胺喋呤(例如FOLEX®、MEXATE®、AMETHOPTERIN®)、太平洋紫杉醇(例如TAXOL®、ABRAXANE®)

)、索拉菲尼(例如NEXAVAR®)、舒尼替尼(例如SUTENT®)、拓朴替康(例如HYCAMTIN®)、长春碱(例如VELBAN®)、长春新碱(例如ONCOVIN®、VINCASAR PFS®)。在某些实施例中,抗癌药物包含一或多种选自由以下组成的群组的药物:视黄酸、视黄酸衍生物、阿霉素、长春碱、长春新碱、环磷酰胺、异环磷酰胺、顺铂、5-氟尿嘧啶、喜树碱衍生物、干扰素、他莫昔芬以及紫杉醇。在某些实施例中,抗癌化合物选自由以下组成的群组:亚伯杉烷、小红莓、帕米膦酸二钠、阿那曲唑、依西美坦、环磷酰胺、表柔比星、托瑞米芬、来曲唑、曲妥珠单抗、甲地孕酮他莫昔芬、太平洋紫杉醇、多西他赛、卡培他滨、乙酸戈舍瑞林、唑来膦酸、长春碱等)、反义分子、SiRNA等。

[0571] 或者,效应分子可以包含包封系统,例如病毒衣壳、脂质体或含有治疗性组合物(例如药物)的微胞、核酸(例如反义核酸或传递到细胞的另一核酸)或另一治疗性部分,其优选可以避免直接暴露于循环系统。制备连接到抗体的脂质体的方式为所属领域的技术人员众所周知(参看例如美国专利第4,957,735号,康诺(Connor)等人(1985)药物治疗法(Pharm. Ther.), 28:341-365等)。

[0572] B) 抗体与效应子的连接.

[0573] 所属领域技术人员将了解本文所述的抗CD46抗体(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ)和效应分子可以任何顺序接合在一起。因此,当抗体是单链多肽时,效应分子可以接合到靶向分子的氨基或羧基末端。抗体还可以接合到效应分子的内部区域,或相对来说,效应分子可以接合到抗体的内部位置,只要所述连接不干扰分子的各别活性。

[0574] 抗体和效应子可以通过所属领域的技术人员众所周知的许多方式中的任一种连接。通常,效应子直接或通过连接子(间隔子)结合到抗体。然而,在某些实施例中,当两个效应分子是多肽或包含多肽时,优选的是以重组方式将嵌合分子表达成单链融合蛋白。

[0575] 效应分子与抗体的结合.

[0576] 在一个实施例中,CD46特异性抗体化学结合到效应分子(例如细胞毒素、标记、配位体、药物、脂质体等)。化学结合分子的方法为所属领域的技术人员众所周知的。

[0577] 用于连接效应子与抗体的程序会根据效应子和/或抗体的化学结构而变化。多肽通常含有多种官能团;例如甲酸(COOH)基或游离胺(-NH₂)基,它们可用于与效应分子上的适合官能团反应,使效应子与其结合。

[0578] 或者,抗体和/或效应子可以衍生化以暴露或连接额外反应性官能团。所述衍生化可以涉及连接任何许多连接分子,例如购自伊利诺州罗克福德的皮尔斯化学公司(Pierce Chemical Company, Rockford Illinois)的连接分子。

[0579] 如本文所用的“连接子”是用于将靶向分子接合到效应分子的分子。连接子能够形成到靶向分子和到效应分子的共价键。适合连接子是所属领域的技术人员众所周知的并且包括(但不限于)直链或分支链碳连接子、杂环碳连接子或肽连接子。当靶向分子和效应分子是多肽时,连接子可以经其侧基团(例如到半胱氨酸的二硫键)接合到组分氨基酸。然而,在一个优选实施例中,连接子将接合到末端氨基酸的α碳氨基或羧基。

[0580] 免疫结合物可以使用多种双官能蛋白质偶合剂制成,例如N-丁二酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫醇)丙酸酯(SPDP)、亚氨基硫杂环戊烷(IT)、亚氨基酯的双官能衍生物(例如己

二亚胺酸二甲酯HCL)、活性酯(例如辛二酸二丁二酰亚胺酯)、醛(例如戊二醛)、双-叠氮基化合物(例如双(对-叠氮基苯甲酰基)己二胺)、双-重氮衍生物(例如双-(对-重氮苯甲酰基)-乙二胺)、二异氰酸酯(例如2,6-二异氰酸亚甲苯酯)以及双-活性氟化合物(例如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。举例来说,蓖麻毒素免疫毒素可以如维特塔(Vitetta)等人,科学(Science) 238:1098 (1987) 中所描述制备。碳-14-标记的3-甲基二亚乙基三胺五乙酸1-异硫氰酸苯甲酯(MX-DTPA)是一种说明性而非限制性的用于结合例如放射性核苷酸与抗体的螯合剂(参看例如W01994/011026 (PCT/US1993/010953))。

[0581] 在某些实施例中,效应子(例如药物、脂质体等)或连接到效应子的连接子与抗体的结合在溶剂可到达的反应性氨基酸(例如抗体中的链间二硫键还原产生的赖氨酸或半胱氨酸)处进行。在某些实施例中,半胱氨酸结合可以在四个链间二硫键还原之后进行。

[0582] 在某些实施例中,可以进行位点特异性结合产生高度均质构筑体,所述位点特异性结合中已知数目的连接子-药物始终结合以界定抗体中的位点。可以精确控制药物比抗体比率(DAR)并且可以根据多种连接子-药物调适,产生例如2-或4-DAR定点ADC。

[0583] 已知许多方法可以实现位点特异性结合。举例来说,氨基酸半胱氨酸含有反应性硫醇基,其在许多蛋白质的结构和功能中起基本作用。硫基反应性探针经半胱氨酸残基连接到蛋白质一直是蛋白质标记方法,并且它还适用于产生抗体药物结合物(ADC)。在某些说明性但非限制性实施例中,这一方法涉及部分还原现有二硫键(例如链间二硫键)。

[0584] 在某些实施例中,为了维持二硫键,半胱氨酸残基可以经工程改造到蛋白质中。成功使用所引入的半胱氨酸残基进行位点特异性结合依赖于选择半胱氨酸取代不会改变蛋白质结构或功能的适当位点的能力。为了实现这一目的,通过将反应性半胱氨酸残基在多个位点引入到抗体-Fab(曲妥珠单抗-Fab 4D5)中,在噬菌体上呈现Fab,以及筛选以鉴别不干扰抗原结合的反应性半胱氨酸来开发用于选择反应性硫醇的噬菌体Elisa(PHESELECTOR)(参看例如江图拉(Junutula)等人(2008)免疫学方法杂志(J.Immunol.Meth.) 332:41-52)。

[0585] PHESELECTOR方法已证实高效并且特异性的,与常规半胱氨酸结合相比时尤其如此。已证实使用例如抗体片段(例如Fab)以及PHESELECTOR方法发现的半胱氨酸的最优位点也可以适用于全长抗体,并且数据表明这些位点对于与其它mAb位点特异性结合有效(参看例如博斯韦尔(Boswell)等人(2011)生物结合化学(Bioconjug.Chem.) 22:1994-2004;博斯韦尔等人(2012)核医学学会(Soc.Nuclear Med.) 53:1454-1461;沈(Shen)等人.(2012)自然生物技术(Nat.Biotechnol.) 30:184-189)。

[0586] 用于位点特异性结合的另一说明性但非限制性策略集中于插入具有生物正交反应性柄的氨基酸(例如氨基酸硒代半胱氨酸和非天然氨基酸乙酰基苯丙氨酸(pAcPhe))。已经开发采用这些氨基酸的两种方法并且该两种方法都利用终止密码子。然而,一种方法通过配对乳白(opal)终止密码子UGA与Sec插入序列来并入硒代半胱氨酸(Sec),并且另一种方法使用tRNA/氨酰基tRNA合成酶对在琥珀(amber)终止密码子UAG处并入乙酰基苯丙氨酸。第一方法采用的硒代半胱氨酸与氨基酸半胱氨酸非常类似,但含有硒原子代替硫原子。硒醇根基是一种反应性比硫醇根对应部分高的亲核试剂,这使它能够在硒代半胱氨酸经选择性活化的条件下与亲电子化合物结合。哺乳动物中存在约25种已知含硒蛋白质,包括例如谷胱甘肽过氧化酶和硫基还原酶的蛋白质(克留科夫(Kryukov)等人. 92003科学

(Science), 300:1439-1443)。在正常条件下,UGA编码转录终止;然而,在位于含有Sec的蛋白质的3'UTR中的Sec插入序列(SECIS)存在下,通过形成mRNA二级结构防止终止,并且在UGA密码子处插入Sec(卡班(Caban)和科普兰(Copeland)(2006)细胞和分子生命科学(Cell Mol.Life Sci.) 63:73-81)。可以通过在基因的3'端插入UGA密码子和SECIS将Sec插入工程改造到非Sec编码基因中。这一技术已经尤其用于mAb的Sec标记以及随后的位点特异性结合(参看例如霍弗(Hofer)等人(2009)生物化学(Biochem.) 48:12047-12057)。

[0587] 用于位点特异性结合的另一说明性方法利用非天然氨基酸对乙酰基苯丙氨酸(pAcPhe)。pAcPhe含有可以经肽接合选择性结合到含有烷氧基-胺的药物的酮基。为了将pAcPhe并入到抗体,琥珀终止密码子在所要位置处取代到抗体中。抗体cDNA接着与琥珀抑制子tRNA和适当配对的突变体tRNA合成酶共同表达。tRNA合成酶将pAcPhe负载到琥珀tRNA上并且因此将pAcPhe在琥珀位点UAG处并入到抗体中(参看例如刘(Liu)等人(2007)新方法终结(Nat. Meth.) 4:239-244;王(Wang)等人(2003)美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA), 100:56-61;阿西普(Axup)(2012)美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA), 109:16101-16116)。

[0588] 除了pAcPhe之外,使用涉及匹配tRNA/氨酰基-tRNA合成酶对的类似工艺,采用其它非天然氨基酸进行位点特异性结合(参看例如杨(Young)(2002)分子生物学杂志(J.Mol.Biol.) 395:361-374;柯克(Kiick)等人(2002)美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA), ;99:19-24)。

[0589] 在多个实施例中,使用酶催化键形成可用于位点特异性结合。举例来说,糖基转移酶平台使用突变体转移酶将化学活性糖部分连接到抗体上的糖基化位点。所选分子接着可以结合到糖部分上的化学柄。在另一说明性但非限制性方法中,使用谷氨酰胺转氨酶在连接子/药物上的胺基与抗体上经工程改造的谷氨酰胺残基之间形成键。

[0590] 糖基转移酶是低聚糖合成中涉及的大蛋白质家族并且负责将糖残基从经活化的糖核苷酸转移到糖受体或糖蛋白/脂质。已知若干糖基转移酶的结构并且揭示糖供体特异性由催化口袋中的几个氨基酸决定欧斯巴(Qasba)等人(2005)生物化学科学趋势(Trends Biochem.Sci.) 30:53-62)。使用这一知识,糖基转移酶口袋(例如B4Gal-T1)中的残基突变,以拓宽供体特异性并且允许化学反应性糖残基2-酮基-Gal转移(参看例如拉马克史那(Ramakrishnan)等人(2002)生物化学杂志(J.Biol.Chem.) 277:20833-20839)。这一技术提供化学反应性糖转移到任何脂质或含有糖基化位点的蛋白质的能力。人类IgG抗体在Fc片段的保守Asn-297处含有N-糖基化位点。连接到这一位点的聚糖一般是络合物,但可以去半乳糖化成G0,突变体糖基转移酶能够向上面高效转移C2-酮基-Gal(参看例如伯格曼(Boeggeman)等人(2009)生物结合物化学(Bioconjug.Chem.) 20:1228-1236)。C2-酮基Gal的活性化学柄接着可以用正交反应性基团偶合到生物分子。这一方法已经成功地用于位点特异性结合抗Her2抗体曲妥珠单抗与Alexa Fluor 488氨基氧基乙酰胺并且是位点特异性ADC继代(Id.)的可行技术。

[0591] 第二平台利用谷氨酰胺转氨酶催化游离胺基与谷氨酰胺侧链之间的共价键形成。来自茂原链轮丝菌的谷氨酰胺转氨酶(mTG)市场有售并且已经广泛用作蛋白质交联剂(参看例如横山(Yokoyama)等人(2004)应用微生物学与生物技术(Appl.Microbiol.Biotechnol.) 64:447-454)。mTG不识别糖基化抗体的Fc区中天然存在的

谷氨酰胺残基中的任一个,而是识别可以工程改造到抗体中的“谷氨酰胺标签”(参看例如杰格(Jeger)等人(2010)德国应用化学英语版(Angew Chem.Int.Ed.Engl.) 49:9995-9997)。作为说明,谷氨酰胺标签LLQG已经工程改造到靶向表皮生长因子受体的抗体的恒定域的不同位点中。mTG接着用于使这些位点与荧光团或单甲基海兔毒素10(MMAD)和发现具有优良生物物理学特性和高度结合的几个位点结合。mTG还能够将谷氨酰胺标签结合到抗Her2和抗M1S1抗体上。抗M1S1-vc-MMAD结合物呈现强体外和体内活性,表明使用这一方法结合不会改变抗体结合或亲和力并且证明这一方法位点特异性结合ADC的效用(参看例如施特罗普(Strop)等人(2013)化学生物学(Chem.Biol.) 20:161-167)。

[0592] 除了糖基转移酶和谷氨酰胺转氨酶之外,已经开发用于蛋白质标记的其它酶(孙布拉(Sunbul)和殷(Yin)(2009)有机和生物分子化学(Org.Biomol.Chem.) 7:3361-3371)。一种这类酶(甲酰甘氨酸产生酶)识别序列CxPxR并且氧化半胱氨酸残基形成甲酰甘氨酸,因此产生具有醛标签的蛋白质。醛基接着可以通过例如胼基-皮克太特-斯彭格勒化学方法(hydrozino-Pictet-Spengler chemistry)结合到所选分子。

[0593] 许多其它程序和用于连结多种化合物(包括放射性核素金属螯合物、毒素和药物)与蛋白质(例如抗体)的连接子分子是已知的(参看例如欧洲专利申请案第188,256号;美国专利第4,671,958号、第4,659,839号、第4,414,148号、第4,699,784号;第4,680,338号;第4,569,789号以及第4,589,071号;以及柏林豪斯(Borlinghaus)等人(1987)癌症研究(Cancer Res.) 47:4071-4075)。具体来说,多种免疫毒素的制造在所属领域中众所周知并且可以见于例如“单克隆抗体-毒素结合物:针对魔法子弹(Monoclonal Antibody-Toxin Conjugates:Aiming the Magic Bullet),”索普(Thorpe)等人,临床药品中的单克隆抗体(Monoclonal Antibodies in Clinical Medicine),学术出版社(Academic Press),第168页-第190页(1982),沃德奎(Waldmann)(1991)科学(Science),252:1657,美国专利第4,545,985号和第4,894,443号。

[0594] 在一些情况下,希望免疫结合物到达其目标位点时,从抗体释放效应子。因此,当在目标位点处释放效应子时,可以使用包含可以在目标位点附近断裂的键的免疫结合物。可以通过酶促活性或者免疫结合物在目标细胞内或在目标位点附近所经受的条件来促进键断裂以从抗体释放试剂。当目标部位是肿瘤时,可以使用在肿瘤部位处所存在的条件下(例如当暴露于肿瘤相关性酶或酸性pH值时)可裂解的连接子。

[0595] 许多不同的可裂解连接子为所属领域的技术人员已知的。参看美国专利第4,618,492号;第4,542,225号和第4,625,014号。说明性可裂解连接子包括(但不限于)酸不稳定连接子、蛋白酶可裂解连接子、二硫键连接子等。酸不稳定连接子设计成在血液中遭遇的pH水平下稳定,但当遭遇溶酶体中的低pH环境时,变得不稳定并且降解。蛋白酶-可裂解连接子还设计成在血液/血浆中稳定,但当被溶酶体酶裂解时在癌细胞中的溶酶体内部快速释放游离药物。它们利用溶酶体内部的高水平蛋白酶活性并且通常包括这些蛋白酶识别和裂解的肽序列,例如经组织蛋白酶快速水解的二肽Val-Cit键所发生的情况。二硫键连接子采用高水平的胞内还原的谷胱甘肽以在细胞内部释放游离药物。

[0596] 鉴于所报导的用于将多种放射诊断化合物、放射性治疗化合物、药物、毒素和其它试剂与抗体相连接的许多方法,所属领域的技术人员应该能够确定将所给试剂与抗体或其它多肽连接的适合方法。

[0597] 螯合物的结合.

[0598] 在某些实施例中,效应子包含连接到抗体或表位标签的螯合物。抗CD46抗体携带相应表位标签或抗体,使得抗体与螯合物的简单接触导致抗体与效应子连结。可以在使用所述部分之前进行组合步骤(靶向策略)或目标组织可以在传递螯合物之前结合于抗体。适合与多种靶向部分偶合的螯合物的制造方法为所属领域的技术人员众所周知(参看例如美国专利第6,190,923号、第6,187,285号、第6,183,721号、第6,177,562号、第6,159,445号、第6,153,775号、第6,149,890号、第6,143,276号、第6,143,274号、第6,139,819号、第6,132,764号、第6,123,923号、第6,123,921号、第6,120,768号、第6,120,751号、第6,117,412号、第6,106,866号、第6,096,290号、第6,093,382号、第6,090,800号、第6,090,408号、第6,088,613号、第6,077,499号、第6,075,010号、第6,071,494号、第6,071,490号、第6,060,040号、第6,056,939号、第6,051,207号、第6,048,979号、第6,045,821号、第6,045,775号、第6,030,840号、第6,028,066号、第6,022,966号、第6,022,523号、第6,022,522号、第6,017,522号、第6,015,897号、第6,010,682号、第6,010,681号、第6,004,533号和第6,001,329号)。

[0599] 制造融合蛋白.

[0600] 如果抗体和/或效应子相对较短(例如不到约50个氨基酸),那么它们可以使用标准化学肽合成技术合成。当两种分子都相对较短时,嵌合分子可以合成为单个连续多肽。或者,靶向分子和效应分子可以分别合成,接着通过缩合一个分子的氨基末端与另一分子的羧基末端融合,由此形成肽键。或者,靶向和效应分子可以各自与肽间隔子分子的一端融合,由此形成连续融合蛋白。

[0601] 序列的C端氨基酸连接到不溶性载体,随后依序添加序列中的其余氨基酸的固相合成是一种用于化学合成本发明的多肽的优选方法。固相合成技术由肽:分析、合成、生物学(The Peptides:Analysis,Synthesis,Biology).第2卷:肽合成中的特殊方法(Special Methods in Peptide Synthesis),A部分,梅里菲尔德(Merrifield)等人(1963)美国化学学会志(J.Am.Chem.Soc),85:2149-2156中的巴拉尼(Barany)和梅里菲尔德(Merrifield),固相肽合成(Solid-Phase Peptide Synthesis);第3页-第284页和斯图尔特(Stewart)等人,固相肽合成(Solid Phase Peptide Synthesis),第2版皮尔斯化学公司(Pierce Chem.Co.),罗克福德(Rockford),Ill.(1984)描述。

[0602] 在某些实施例中,本发明的嵌合融合蛋白使用重组DNA方法合成。一般来说,这涉及形成编码融合蛋白的DNA序列,在特定启动子控制下将DNA置于表达盒中,在宿主中表达蛋白质,分离所表达的蛋白质并且需要时,使蛋白质恢复原来属性。

[0603] 编码本发明的融合蛋白的DNA可以通过任何适合方法制备,包括例如克隆和限制适当序列,或通过例如纳朗(Narang)等人(1979)酶学方法(Meth.Enzymol.)68:90-99的磷酸三酯方法;布朗(Brown)等人(1979)酶学方法(Meth.Enzymol.)68:109-151的磷酸二酯方法;博凯奇(Beaucage)等人(1981)四面体通讯(Tetra.Lett.),22:1859-1862的二乙胺基磷酸酯方法;以及美国专利第4,458,066号的固体支撑物方法等方法直接化学合成。

[0604] 化学合成产生单链寡核苷酸。这可通过与互补序列杂交或通过使用单股作为模板与DNA聚合酶聚合来转化成双股DNA。所属领域的技术人员将认识到,尽管DNA的化学合成受限于约100个碱基的序列,但可以通过接合较短序列来获得更长的序列。

[0605] 或者,在某些实施例中,可以克隆子序列并且使用适当限制酶裂解适当子序列。片

段接着可以接合产生所要DNA序列。

[0606] 在某些实施例中,编码本发明的融合蛋白的DNA可以使用PCR克隆方法克隆。

[0607] 尽管在某些实施例中,抗体和效应子基本上直接接合在一起,但所属领域技术人员将了解分子可以通过间隔子(例如由一或多个氨基酸(例如(Gly₄Ser)₃、SEQ ID NO:80)组成的肽间隔子)分隔开。一般来说,除了接合蛋白质或保留之间的一定最小距离或其它空间关系以外,间隔子将不具有特异性生物活性。然而,可以选择间隔子的组成氨基酸从而对分子的一些特性(例如折叠、净电荷或疏水性)产生影响。

[0608] 编码融合蛋白的核酸序列可以在多种宿主细胞中表达,包括大肠杆菌、其它细菌宿主、酵母以及多种高等真核细胞,例如COS、CHO以及HeLa细胞株和骨髓瘤细胞株。重组蛋白基因将与各宿主的适当表达控制序列可操作地连接。

[0609] 本发明的质粒可以通过众所周知的方法转移到所选宿主细胞中,所述方法例如针对大肠杆菌的氯化钙转型和针对哺乳动物细胞的磷酸钙处理或电穿孔。经质粒转型的细胞可以通过对质粒上所含的基因赋予的抗生素的耐药性进行选择,所述基因例如amp、gpt、neo和hyg基因。

[0610] 一旦表达,重组融合蛋白可以根据所属领域的标准程序纯化,包括硫酸铵沉淀、亲和柱、柱色谱、凝胶电泳等(一般参看R.斯科普斯(R.Scopes)(1982)蛋白质纯化(Protein Purification),施普林格出版社(Springer-Verlag),纽约州(N.Y.);多伊彻(Deutscher)(1990)酶学方法(Methods in Enzymology)第182卷:蛋白质纯化指南(Guide to Protein Purification.),学术出版公司(Academic Press,Inc.)纽约州(N.Y.))。至少约90到95%均质性的总体上纯组合物是优选的,并且98到99%或更高均质性对于医药用途来说最优选。一旦部分纯化或纯化到所需均质性,多肽接着可以用于治疗用途。

[0611] 所属领域的技术人员将认识到,在化学合成、生物学表达或纯化之后,融合蛋白可具有与组成多肽的原生构型大体上不同的构型。在这一情形下,可能必需使多肽变性和还原,接着使多肽重新折叠成优选构型。使蛋白质还原和变性并且诱发重新折叠的方法是所属领域的技术人员众所周知的(参看例如德宾斯基(Debinski)等人(1993)生物化学杂志(J.Biol.Chem.),268:14065-14070;克赖特曼(Kreitman)和帕斯坦(Pastan)(1993)生物结合化学(Bioconjug.Chem.),4:581-585;以及毕希纳(Buchner)等人(1992)分析生物化学(Anal.Biochem.),205:263-270)。

[0612] 所属领域技术人员将认识到,可以对融合蛋白作出修饰而不降低其生物活性。可以作出一些修饰来促进靶向分子向融合蛋白中的克隆、表达或并入。这类修饰是所属领域的技术人员众所周知的并且包括例如添加于氨基末端提供引发位点的甲硫氨酸,或置于任一末端以形成适宜定位的限制位点或终止密码子的额外氨基酸。

[0613] 医药组合物.

[0614] 本文所述的抗CD46抗体(例如YS5、YS5F、YS5v1D、SB1HGNY、YS12、3G7RY(也称为3G8)、YS6、YS1、YS3、YS4、YS8、YS7、YS9、YS10、YS11、3G7HY、3G7NY、3G7、SB2、2C8和/或UA8κ)和/或其免疫结合物适用于肠胃外、表面、经口或局部投予(例如注射到肿瘤部位)、气雾剂投予或经皮投予,用于防治性,但主要治疗性处理。医药组合物可以视投予方法而定使用多种单位剂型投予。举例来说,适于经口投予的单位剂型包括粉末、片剂、丸剂、胶囊和口含片。应认识到,本文所述的抗体和/或其免疫结合物和包含本文所述的抗体和/或其免疫结

合物的医药组合物当经口投予时,优选经保护以免被消化。这可以通过所属领域的普通技术人员已知的多种方式实现,例如通过复合蛋白质与组合物以赋予其耐酸性和酶促水解或通过将蛋白质封装于适当耐药性载剂,例如脂质体中。保护蛋白质以免被消化的方式是所属领域中众所周知的。

[0615] 在多个实施例中,提供含有与医药学上可接受的载剂调配在一起的抗CD46抗体或其抗原结合部分或其免疫结合物中的一个或组合的组合物(例如医药组合物)。

[0616] 如本文所用,“医药学上可接受的载剂”包括生理学上相容的任何和全部溶剂、分散介质、涂料、抗菌和抗真菌剂、等张剂和吸收延迟剂等。优选地,载剂适于静脉内、肌肉内、皮下、肠胃外、脊髓或表皮投予(例如通过注射或输注)。视投予途径而定,活性化合物(即抗体、免疫结合物)可以在一种材料中涂布,保护化合物以免酸和可能不活化化合物的其它天然条件的作用。

[0617] 在某些实施例中,抗体和/或免疫结合物可以用“原生”形式投予,或需要时,以盐、酯、酰胺、前药、衍生物等形式投予,只要所述盐、酯、酰胺、前药或衍生物药理学上适合,即在本发明方法中有效。活性剂的盐、酯、酰胺、前药和其它衍生物可以使用合成有机化学方法领域的技术人员已知的标准程序制备并且例如由马彻(March)(1992)高级有机化学方法:反应、机制和结构(Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure),第4版.纽约州(N.Y.)威立国际科学(Wiley-Interscience)所述和如上文所述。

[0618] 作为说明,针对本文所述的具有能够形成盐的官能团的抗体和/或免疫结合物中的任一个可以制备医药学上可接受的盐。医药学上可接受的盐是保留母化合物活性并且不对所投予的个体以及所投予的情境赋予任何有害或不适当作用的任何盐。

[0619] 在多个实施例中,医药学上可接受的盐可以来源于有机碱或无机碱。盐可以是单价或多价离子。尤其受关注的是无机离子、锂、钠、钾、钙和镁。有机盐可以使用胺制备,具体来说铵盐,例如单烷基、二烷基和三烷基胺或乙醇胺。盐还可以使用咖啡碱、缓血酸胺和类似分子形成。

[0620] 将医药活性剂调配成盐、酯、酰胺、前药等的方法是所属领域的技术人员众所周知的。举例来说,可以使用通常涉及与适合酸反应的常规方法从游离碱制备盐。一般来说,药物的碱形式溶解于极性有机溶剂(例如甲醇或乙醇)中并且向其中添加酸。所得盐沉淀或可以通过添加较低极性的溶剂从溶液析出。适于制备酸加成盐的酸包括(但不限于)有机酸(例如乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、乙二酸、苹果酸、丙二酸、丁二酸、顺丁烯二酸、反丁烯二酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、杏仁酸、甲烷磺酸、乙烷磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸等)以及无机酸(例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等)。酸加成盐可以通过用适合碱处理重新转化成游离碱。本文尤其优选的活性剂的特定酸加成盐包括卤化物盐,例如可以使用氢氯酸或氢溴酸制备。相对来说,本发明的活性剂的碱式盐的制剂以类似方式使用医药学上可接受的碱(例如氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氢氧化钙、三甲胺等)制备。尤其优选的碱式盐包括碱金属盐,例如钠盐和铜盐。

[0621] 对于碱式药物的盐形式的制剂,相对离子的 pK_a 优选地比药物的 pK_a 低至少约2个pH单位。类似地,对于酸性药物的盐形式的制剂,相对离子的 pK_a 优选地比药物的 pK_a 高至少约2个pH单位。这允许相对离子使溶液的pH达到比达到盐平稳阶段的 pH_{max} 低的水平,此时盐

的溶解度超过游离酸或碱的溶解度。活性医药成分 (API) 和酸或碱中的可电离基团的pKa单元的差异的通用规则打算使质子转移在能量上有利。当API和相对离子的pKa没有显著不同时,可以形成固体络合物,但在水性环境中快速歧化(即断裂成药物和相对离子的个别实体)。

[0622] 优选地,相对离子为医药学上可接受的相对离子。适合阴离子盐形式包括(但不限于)乙酸盐、苯甲酸盐、苯甲基化物、酒石酸氢盐溴化物、碳酸盐、氯化物、柠檬酸盐、乙二胺四乙酸盐、乙二磺酸盐、依托酸盐、反丁烯二酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、碘化物、乳酸盐、乳糖醛酸盐、苹果酸盐、顺丁烯二酸盐、杏仁酸盐、甲磺酸盐、甲基溴化物、甲基硫酸盐、半乳糖二酸盐、萘磺酸盐、硝酸盐、双羟萘酸盐(恩波酸盐)、磷酸盐和二磷酸盐、水杨酸盐和水杨酸氢盐、硬脂酸盐、丁二酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐、三乙碘化物、戊酸盐等,而适合阳离子盐形式包括(但不限于)铝、苄星青霉素、钙、乙二胺、赖氨酸、镁、甲葡胺、钾、普鲁卡因、钠、缓血酸胺、锌等。

[0623] 酯的制备通常涉及抗体和/或免疫结合物的分子结构内存在的羟基和/或羧基的官能化。在某些实施例中,酯通常为游离醇基的酰基取代衍生物,即来源于式 RCOOH 的羧酸的部分,其中R为烷基,并且优选为低碳烷基。需要时,可以通过使用常规氢解或水解程序将酯重新转化成游离酸。

[0624] 酰胺还可以使用所属领域的技术人员已知或相关文献中描述的技术制备。举例来说,酰胺可以使用适合胺反应物从酯制备,或其可以通过与氨或低碳烷基胺的反应从酸酐或酸氯化物制备。

[0625] 包含本文所述的抗体和/或免疫结合物的医药组合物可以单独或在组合疗法中(即与其它试剂组合)授予。举例来说,组合疗法可包括抗体或免疫结合物与至少一或多种其它治疗剂,例如下文所述的抗癌剂。医药组合物还可以与放射疗法和/或手术结合授予。

[0626] 可以通过所属领域中已知的多种方法授予包含本文所述的抗体和/或免疫结合物的组合物。如所属领域技术人员将了解,授予途径和/或模式将视所需结果而变化。活性化合物可以使用将保护化合物免于快速释放的载剂制备,例如控制释放调配物,包括插入物、经皮贴片和微囊封传递系统。可以使用生物可降解的生物相容性聚合物,例如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原蛋白、聚原酸酯以及聚乳酸。用于制备这类调配物的许多方法已经申请专利并且通常为所属领域的技术人员已知(参看例如持续和控制释放药物传递系统(Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems),J.R.罗宾逊(J.R.Robinson)编,马塞尔德克公司(Marcel Dekker, Inc.),纽约(New York),1978)。

[0627] 在某些实施例中,可以通过涂布抗体或免疫结合物组合物,或共授予抗体或免疫结合物、防止其不活化的材料来促进抗CD46抗体或免疫结合物的授予。举例来说,化合物可以在一种适当载剂(例如脂质体)或一种稀释剂中授予患者。医药学上可接受的稀释剂包括(但不限于)生理食盐水和水性缓冲溶液。脂质体包括(但不限于)水包油包水CGF乳液以及常规脂质体(斯区言(Strejan)等人(1984)神经免疫学(J.Neuroimmunol),7:27)。

[0628] 医药上可接受的载剂包括无菌水溶液或分散液以及即用制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。这类介质和药剂用于医药学上活性物质的用途是所属领域中已知的。除非任何常规介质或试剂与活性化合物不相容,否则考虑将其用于医药组合物中。还可以将补充活性化合物并入组合物中。

[0629] 在多个实施例中,治疗性组合物通常无菌并且在制造和储存条件下稳定。组合物可以在脂质或脂质体或适于含有高药物浓度的其它有序结构中调配成溶液、微乳液。在某些实施例中,载剂可以是溶剂或分散介质,含有例如水、乙醇、多元醇(例如丙三醇、丙二醇和液体聚乙二醇等),以及其适合混合物。可以例如通过使用涂层(例如卵磷脂)、在分散液情况下通过维持所需粒径和通过使用表面活性剂来维持适当流动性。在许多情况下,优选在组合物中包括等渗剂,例如糖、多元醇(例如甘露糖醇、山梨糖醇)或氯化钠。可注射组合物的延长吸收可以通过在组合物中包括延迟吸收的药剂(例如单硬脂酸盐和明胶)实现。

[0630] 无菌可注射溶液可以通过将所需量的活性化合物(例如本文所述的抗体和/或免疫结合物)与上文列举的成分中的一种或组合一起并入适当溶剂中来制备,需要时随后进行灭菌微过滤。通常,通过将活性化合物并入含有碱性分散介质和来自上文所列举的那些成分的所需其它成分的无菌媒剂中来制备分散液。在无菌粉末用于制备无菌可注射溶液的情况下,说明性制备方法包括真空干燥和冷冻干燥(冻干),这些方法由其先前无菌过滤的溶液得到活性成分加任何额外所希望的成分的粉末。

[0631] 可以调整剂量方案以提供最优的所需反应(例如一种治疗性反应)。举例来说,如由治疗情况的紧急状态所指示,可以给予单次推注,可以随着时间给予若干分次剂量,或可以按比例地减少或增加剂量。举例来说,在某些实施例中,本文所述的抗体和/或免疫结合物可以通过皮下注射每日一次或两次,或每周一次或两次,或每月一次或两次投予。

[0632] 尤其有利的是以剂量单位形式调配肠胃外组合物,以便于剂量的投予和均匀性。如本文所用的单位剂型指的是物理离散单元,其适合作为单一剂量用于打算治疗的个体。每个单元含有经计算产生所需治疗效果的预定量的活性化合物,以及所需的医药载剂。单位剂型的规格由(a)活性化合物的独特特征和打算实现的具体治疗效果,和(b)混合这类活性化合物用于治疗个体的领域中固有的局限性规定并且直接取决于这些因素。

[0633] 在某些实施例中,调配物包含医药学抗氧化剂。医药学上可接受的抗氧化剂的实例包括:(1)水溶性抗氧化剂,例如抗坏血酸、半胱氨酸盐酸盐、硫酸氢钠、偏亚硫酸氢钠、亚硫酸钠等;(2)油溶性抗氧化剂,例如棕榈酸抗坏血酸酯、丁基化羟基大茴香醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚等;以及(3)金属螯合剂,例如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸等。

[0634] 对于治疗性组合物,本文所述的抗体和/或免疫结合物的调配物包括适于经口、经鼻、表面(包括经颊和舌下)、直肠、经阴道和/或肠胃外投予的那些。这些调配物可以适宜地呈现为单位剂型,并且可以通过药学领域已知的任何方法来制备。可以与载剂材料组合产生单个剂型的活性成分的量将视打算治疗的个体和具体投予模式而变化。可以与载剂材料组合以制造单个剂型的活性成分的量一般将是产生治疗效果的组合物的量。一般来说,以百分之一百计,这一量将在约0.001%到约90%活性成分,优选约0.005%到约70%活性成分,最优选地约0.01%到约30%活性成分范围内。

[0635] 适于经阴道投予的本文所述的抗体和/或免疫结合物的调配物还包括含有例如所属领域中已知适当的载剂的阴道栓剂、棉塞、乳霜、凝胶、糊状物、发泡体或喷雾调配物。用于局部或经皮投予本文所述的抗体和/或免疫结合物的剂型包括粉末、喷雾、软膏、糊状物、乳霜、乳液、凝胶、溶液、贴片和吸入剂。在某些实施例中,在无菌条件下混合活性化合物与医药学上可接受的载剂和可能需要的任何防腐剂、缓冲剂或推进剂。

[0636] 如本文所用的短语“肠胃外投予”意思是除了经肠和表面投予以外的投予模式，一般通过注射并且包括(但不限于)静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注。

[0637] 可用于包含本文所述的抗体和/或免疫结合物的医药组合物中的适合水性和非水性载剂的实例包括(但不限于)水、乙醇、多元醇(例如丙三醇、丙二醇、聚乙二醇等)、以及其适合混合物、植物油，例如橄榄油，和可注射有机酯，例如油酸乙酯等。可以例如通过使用涂层材料(例如卵磷脂)、通过在分散液情况下维持所需粒径和通过使用表面活性剂来维持适当流动性。

[0638] 在多个实施例中，这些组合物还可以含有佐剂，例如防腐剂、湿润剂、乳化剂和分散剂。所属领域中众所周知的佐剂的具体实例包括例如无机佐剂(例如铝盐，例如磷酸铝和氢氧化铝)、有机佐剂(例如角鲨烯)、油基佐剂、病毒颗粒(例如含有膜结合的红血球凝集素和来源于流感病毒的神经胺糖酸酶的病毒颗粒)。

[0639] 可以通过灭菌程序，和/或通过纳入多种抗菌剂和抗真菌剂，例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、酚类山梨酸等来确保防止调配物中存在微生物。还可能需向组合物中纳入等渗剂，例如糖、氯化钠等。另外，可以通过纳入延迟吸收的试剂(例如单硬脂酸铝和明胶)来延长可注射药物形式的吸收。

[0640] 当本文所述的抗体和/或免疫结合物作为药剂向人类和动物投予时，它们可以单独给予或作为含有例如0.001到90% (更优选0.005到70%，例如0.01到30%) 活性成分以及医药学上可接受的载剂的医药组合物形式给予。

[0641] 与所选投予途径无关，可以适合水合形式和/或医药组合物使用的本文所述的抗体和/或免疫结合物通过所属领域的普通技术人员已知的常规方法调配成医药学上可接受的剂型。

[0642] 本发明的医药组合物中活性成分(例如本文所述的抗体和/或免疫结合物)的实际剂量水平可以变化，从而获得针对具体患者、组合物和投予模式有效实现所需治疗性反应的活性成分而对患者无毒的量。所选剂量水平将取决于多种药物动力学因素，包括所采用的本发明的特定组合物或其酯、盐或酰胺的活性、投予途径、投予时间、所采用的特定化合物的分泌速率、治疗持续时间、与所采用的具体组合物组合使用的其它药物、化合物和/或材料、所治疗患者的年龄、性别、体重、病状、一般健康状况和先前病史以及医学领域中众所周知的类似因素。一般熟习所属领域技术的医生或兽医容易确定并且开出所需有效量的医药组合物。举例来说，医师或兽医可以在比实现所要治疗效果所需的水平低的水平下开始给予医药组合物中采用的本发明化合物并且逐渐提高剂量直到实现所要作用。一般来说，本文所述的抗体和/或免疫结合物的适合日剂量将是作为有效产生治疗作用的最低剂量的化合物的量。所述有效剂量通常将取决于上文所述因素。在某些实施例中，优选的是静脉内、肌肉内、腹膜内或皮下投予，优选在目标部位附近投予。需要时，治疗性组合物的有效日剂量可以在单个剂量中投予，或任选地在单位剂型中全天以适当间隔分二、三、四、五、六个或更多个子剂量投予。尽管本文所述的抗体和/或免疫结合物可以单独投予，但通常优选以医药调配物(组合物)形式投予化合物。

[0643] 在某些实施例中，治疗性组合物可以使用所属领域中已知的医疗器件投予。举例来说，在一个说明性实施例中，本文所述的抗体和/或免疫结合物可以使用无针皮下注射装

置授予,例如美国专利第5,399,163号、第5,383,851号、第5,312,335号、第5,064,413号、第4,941,880号、第4,790,824号或第4,596,556号中披露的装置。适用众所周知的植入物和模块的实例描述于例如美国专利第4,487,603号,其披露用于在控制速率下施配药物的可植入微输液泵;美国专利第4,486,194号,其披露通过皮肤授予药剂的治疗性装置;美国专利第4,447,233号,其披露在精确输注速率下传递药物的药物输注泵;美国专利第4,447,224号,其披露用于连续药物传递的可变流体可植入输注设备;美国专利第4,439,196号,其披露具有多个腔室隔室的渗透药物传递系统;以及美国专利第4,475,196号,其披露渗透药物传递系统。所属领域的技术人员已知许多其它这类插入物、传递系统和模块。

[0644] 在某些实施例中,本文所述的抗CD46抗体和/或免疫结合物可以经调配以确保体内适当分布。举例来说,血脑屏障(BBB)不包括许多高度亲水性化合物。为了确保本发明的治疗性化合物跨越BBB(需要时),它们可以例如在脂质体中调配。制造脂质体的方法参看例如美国专利第4,522,811号;第5,374,548号以及第5,399,331号。脂质体可以包含选择性传输到特异性细胞或器官中的一或多个部分,因此提高靶向药物传递(参看例如拉梅德(Ranade)(1989)临床药理学杂志(J.Clin.Pharmacol.)29:685)。说明性靶向部分包括(但不限于)叶酸或生物素(参看例如美国专利第5,416,016号);甘露糖苷(乌梅扎瓦(Umezawa)等人,(1988)生物化学与生物物理研究通讯(Biochem.Biophys.Res.Comm.)153:1038);抗体(波洛曼(Bloeman)等人(1995)欧洲生物化学学会联合会快报(FEBS Lett.)357:140;欧瓦斯(Owais)等人(1995)抗微生物剂与化疗(Antimicrob.Agents Chemother).39:180);表面活性剂蛋白质A受体(布里斯科(Briscoe)等人(1995)美国生理学杂志(Am.J.Physiol.)1233:134)。

[0645] 试剂盒.

[0646] 如果放射性或其它效应子用作诊断剂和/或治疗剂,那么使用者通常不可能使用即用型组合物,因为放射性标记的化合物的存放期通常不好和/或所用的放射性核素的半衰期短。在这种状况下,使用者可以在临床医院、医师办公室或实验室用放射性核素标记反应。为这一目的或其它目的,多种反应成分接着可以用所谓的“试剂盒”形式提供给使用者。试剂盒优选经设计使得执行所需反应所必需的操控应尽可能简单,让使用者能够通过使用他所处置的设施从试剂盒制备所需组合物。因此,本发明还涉及用于制备根据本发明的组合物的试剂盒。

[0647] 在某些实施例中,这类试剂盒包含一或多种本文所述的抗体或免疫结合物。可以提供抗体或免疫结合物,需要时添加惰性医药学上可接受的载剂和/或调配剂和/或佐剂。另外,试剂盒任选地包括适合放射性核素(或其它活性剂)的盐或螯合物的溶液,以及(iii)具有授予和/或反应试剂盒中存在的成分的处方的使用说明书。

[0648] 打算供应给使用者的试剂盒还可以包含上文所定义的成分,以及使用说明书,而上文子项(ii)中定义的放射性核素的盐或螯合物的溶液可以分别供使用者处置,所述溶液的存放期有限。

[0649] 试剂盒任选地可以另外包含还原剂和/或需要时包含螯合剂,和/或组合物的使用说明书和/或试剂盒的成分反应形成所要产物的处方。需要时,试剂盒的成分可以合并,只要它们相容。

[0650] 在某些实施例中,免疫结合物可以仅通过在中性介质中组合组分并且使其反应来

产生。对于所述目的,效应子可以例如用螯合物形式呈现给抗体。

[0651] 当试剂盒组分用作药物投予的组分时(例如作为注射液体形式),它们优选无菌。当提供干燥状态的组分时,使用者优选应使用无菌生理盐水溶液作为溶剂。需要时,组分可以使用适合稳定剂用常规方式稳定化,例如抗坏血酸、龙胆酸或这些酸的盐,或者它们可以包含其它助剂,例如填充剂,例如葡萄糖、乳糖、甘露糖醇等。

[0652] 尽管教材(如果存在)通常包含书面或印刷材料,但不限于这些。本发明涵盖能够储存这类说明并且将它们传达给最终用户的任何媒体。这类媒体包括(但不限于)电子储存媒体(例如磁盘、带、套筒、芯片)、光学媒体(例如CD ROM)等。这类媒体可以包括提供这类教材的互联网网站的网址。

[0653] 实例

[0654] 提供以下实例来说明,而非限制本发明。

[0655] 实例1

[0656] 新颖抗CD46抗体和其用途

[0657] 为了鉴别新颖抗人CD46抗体,形成由人类CD46的Sushi结构域1和2构成的重组Fc融合蛋白。因为互补序列元件主要结合到结构域3和4,所以结构域1和2的选择将可能强力干扰标准互补序列功能的抗体的选择降到最低。制造这一CD46-Fc融合物并且通过蛋白质A亲和力和色谱法从经转染的HEK293细胞纯化。对于人类抗体选择,使用从426名健康人类供体的周边血液单核细胞汇聚的cDNA形成 5×10^9 个成员的噬菌粒呈现文库,并且文库选择重组CD46-Fc融合蛋白。在三轮选择之后,通过FACS和测序筛选结合噬菌粒。同时,采用替代策略,它涉及首选选择活肿瘤细胞上的文库,随后将第1轮噬菌粒选择的结果转移到酵母表面呈现载体中,接着使用低浓度配位体的FACS类选择将高亲和力结合子富集到重组CD46-Fc融合蛋白。所得抗体以高亲和力结合到活肿瘤细胞和重组人类CD46蛋白质。对全部结合克隆株测序并且独特序列列于表1中。

[0658] scFv转化成完全人类IgG1并且在活肿瘤细胞上测量结合亲和力。FACS结合数据进行曲线拟合产生KD值(图2针对YS5对Du-145,并且图3针对YS12对Du-145)。亲和力在低纳摩尔到亚纳摩尔(nM)所研究抗体范围内。

[0659] 除了人类CD46之外,本文所述的抗体以类似亲和力(图5针对YS5对CHO-huCD46并且图6针对YS5对CHO-cynoCD46)结合于食蟹猕猴CD46(图4),因此鉴别调节毒理学研究的适当物种。

[0660] 全部抗CD46抗体以及先前鉴别的UA20和2B10都结合于CD46Sushi结构域1和2。这一区域经进一步分析以揭示表位差异。我们首先对活肿瘤细胞进行基于FACS的竞争实验并且发现我们的抗体与UA20-Fc竞争或不竞争:第1组由YS5和其它组成,并且第1组由SB1HGNY组成(图7)。对于第1组中的抗体,通过结合到多种CD46突变体的抗体的选择性作用证明存在额外表位差异(表3)。举例来说,YS5与其它抗体的不同之处在于位置39中的突变唯一地影响其结合(表3),表明位置39以及影响全部抗体结合的位置40是结合到CD46的YS5的表位的部分。

[0661] 表3. 丙氨酸扫描揭示表位差异。CD46残基改变如所指示(顶行,E13A,位置13从E变成A等)。与建构的多种突变体转染的CHO细胞的结合通过FACS,用针对野生型CD46转染的细胞规范化的MFI量化。灰色的阴影指示显著结合损失。R40A降低全部抗体的结合,表明位置

40是全部的关键接触位点。D39A唯一地影响YS5结合,表明位置39是有助于YS5 (和YS6) 结合而非表中所列的其它抗体的唯一接触位点。YS6与YS5不同,因为其选择性受到位置31突变(P31A)影响。

[0662]

	E13A	E16A	P31A	T36A	D39A	R40A
YS5	120	124	111	104	76	56
YS12	96	157	89	88	121	77
UA20FC	133	123	113	136	120	73
3G8	212	132	117	83	129	70
YS6	90	96	57	111	81	65
2B10	81	113	86	104	107	76

[0663] 全部抗体都与实验室菌株 (Edmonston) 麻疹病毒H蛋白竞争。麻疹病毒通过巨胞饮进入目标细胞 (克里蒙-厄温 (Crimeen-Irwin) 等人 (2003) 生物化学杂志 (J.Biol.Chem.) 278:46927-46937) 。H蛋白质对结合和交联细胞表面CD46有反应,这是病毒进入 (Id.) 所需。为了判断我们的抗体是否与结合到CD46的H蛋白质竞争,形成重组H蛋白质-Fc融合物,并且通过FACS测试与抗CD46抗体的竞争。发现所测试的抗体与H蛋白质竞争 (图8) ,表明重叠结合位点。

[0664] 随着麻疹病毒通过巨胞饮进入目标细胞,随后判断抗CD46抗体是否也经巨胞饮被肿瘤细胞内化。使用70kDa中性密度聚葡萄糖 (ND70) 作为巨胞饮的指示 (哈 (Ha) 等人 (2014) 分子与细胞蛋白质组学 (Mol.Cell Proteomics.) 13 (12) :3320-3331) ,发现抗CD46抗体实际上通过巨胞饮途径内化 (图9) 。巨胞饮是固有肿瘤选择性 (科密索 (Commisso) 等人 (2013) 自然 (Nature) , 497:633-637;哈 (Ha) 等人 (2014) 分子与细胞蛋白质组学 (Mol.Cell Proteomics) .13 (12) :3320-3331;雷斯-雷斯 (Reyes-Reyes) 等人 (2010) 癌症研究 (Cancer Res.) 70:8617-8629) ,因此赋予抗CD46抗体针对肿瘤细胞的额外选择性。

[0665] 为了验证CD46作为靶向治疗性开发的目标,CD46表位的组织特异性通过免疫组织化学测定。首先研究肿瘤中的CD46表位表达。对冻结并且福马林固定的石蜡包埋 (FFPE) 前列腺癌组织进行免疫组织化学研究。对于冻结组织,18/18案例 (100%) 显示强染色信号,指示在所有情况下都过度表达。对FFPE组织,63/87中发现强CD46染色,23/87中发现中等染色,并且1/87案例中发现弱染色,支持CD46被大部分前列腺肿瘤过度表达的结论。免疫组织化学结果的概述显示于表4和图10中。

[0666] 表4. 前列腺癌组织中CD46表达的免疫组织化学结果。指示阳性对比研究的全部案例。FFPE: 福马林固定的石蜡包埋 (组织) 。本研究使用生物素标记的抗人类CD46抗体。

[0667]

组织类型	强	中等	弱	阴性
冷冻	18/18	0	0	0

[0668]

FFPE	63/87	23/87	1/87	0
------	-------	-------	------	---

[0669] 上述研究有力支持CD46靶向的单克隆抗体对人类癌症的治疗的研发。为这个目的,使用新颖抗CD46抗体组研发抗体药物结合物 (ADC) 。单甲基奥瑞他汀F (MMAF) 经MC-vc-PAB连接子 (麦克唐纳 (McDonagh) 等人 (2008) 分子癌症疗法 (Mol.Canc.Therap.) 7:2913-2923;萨瑟兰 (Sutherland) 等人 (2006) 生物化学杂志 (J.Biol.Chem.) 281:10540-10547) 结

合到YS5IgG1。通过疏水相互作用色谱(HIC),测定平均每个抗体分子结合约3个药物(图11)。接着使用一组转移性去势难治性前列腺癌细胞株(LNCaP-C4-2B和Du145)测试体外肿瘤杀死活性。低到亚nM范围的EC50值观测到强效肿瘤细胞杀死(图12和13)。

[0670] 使用LNCaP-C4-2B皮下异种移植模型测试抗CD46ADC的体内抗肿瘤活性。观测到肿瘤生长和存活率的强效抑制,肿瘤体积在5mg/kg的5次剂量之后降低到检测不到的水平(图14)。在ADC注射之后的指定时段期间,没有肿瘤复发(图14)。

[0671] 除了前列腺癌之外,发现抗CD46ADC强力杀死表达CD46的多种其它癌症。举例来说,发现除了前列腺癌之外,CD46还在多发性骨髓瘤细胞表面上高度表达(图15)。另外,抗CD46ADC以亚nM范围内的EC50强力杀死多发性骨髓瘤细胞株RPMI8226(图16)。最终,已经表明抗CD46ADC极大地减小体内多发性骨髓瘤负荷。经尾静脉将报导体表达品系(表达萤火虫萤光素酶基因的RPMI8226-Luc)注入到免疫缺陷小鼠体内并且在骨骼和关节中形成播散性肿瘤细胞。接着在5mg/kg下注射抗CD46ADC的四次剂量(每4天一次)并且通过生物发光监测肿瘤状态。发现抗CD46ADC体内高效降低肿瘤负荷(图17)。在ADC处理之后收集存活率数据(图18),在实验持续期间,显示60%经处理小鼠“治愈”并且剩余40%极大地延迟了死亡的发生。

[0672] 为了拓宽适用性,使用表达萤光素酶报导体的继发性多发性骨髓瘤细胞株MM1.S研究抗CD46ADC。体内观测到抗CD46ADC的强效肿瘤杀死活性。在4mg/kg的四次剂量完全消除MM1.S肿瘤细胞(图20)。相比之下,对照ADC(结合到非结合抗体的MMAF)在相同剂量和给药频率下根本不具有作用。另外,甚至在4mg/kg下的抗CD46ADC的单次剂量也极大地降低肿瘤负荷,引起对肿瘤发育的极大抑制(图20)。在0.8mg/kg下的四次抗CD46ADC剂量也引起对MM1.S异种移植发育的持续抑制(图20)。最终,甚至裸抗体(YS5IgG1)也在这一异种移植模型中引起显著肿瘤抑制(图20),表明潜在的基于裸抗体的疗法对特定多发性骨髓瘤亚型的所关注可能性。

[0673] 进行卡普兰-迈耶分析来测定处理后的存活率。CD46ADC处理的组显示优于对照组的显著存活率优势(图21)。对于接收4次剂量的4mg/kg CD46ADC的小鼠,全部存活到实验结束(第212天)。

[0674] 除了上述前列腺癌和多发性骨髓瘤之外,发现CD46在大范围的癌细胞株中高度表达,包括(但不限于)结肠直肠癌、胰脏癌、间皮瘤、肺癌、乳癌、卵巢癌、膀胱癌、肝癌、神经胶质瘤以及神经母细胞瘤。另外,抗CD46ADC有效体外杀死那些细胞。举例来说,抗CD46ADC高效杀死结肠直肠癌细胞(图19针对YS5,图22针对YS12对HT29,并且图23针对SB1HGNY对HT29)、胰脏癌细胞(图24)、间皮瘤细胞(图25)以及卵巢癌细胞(图26)。

[0675] 为了评估可能毒性,对一组不表达CD46(BPH-1)或以中等水平表达CD46(例如HS27)的对照细胞测试YS5ADC。那些细胞(图27针对YS5ADC对BPH-1,图28针对YS5ADC对HS27,图29针对YS5ADC对标准T细胞并且图30针对YS5ADC对CD14耗尽的周边血液单核细胞(PBMC))观测到细胞毒性降低很多,表明它们不容易吸收ADC。经巨胞饮差示内化是提高抗CD46ADC的选择性的可能机制。

[0676] 使用表达人类CD46的转基因小鼠体内研究ADC毒性。没有人类CD46和鼠类CD46的真实鼠类直系同源物执行与人类CD46完全不同的生理学作用。抗体并不结合于鼠类CD46。因此,除了转基因模型之外,没有良好动物模型来评估可能抗CD46ADC毒性。抗CD46ADC在

6mg/kg下注射到表达人类CD46的转基因小鼠中,并且每日监测动物的明显毒性迹象。在第14天处死动物并且采集重要器官用于组织损害的组织学检验。如图31中所示,抗CD46ADC处理和对照ADC处理的小鼠之间不存在显著差异。在所测试的ADC的这一剂量下,在这一实验的持续期间没有观测到明显毒性迹象。应理解调节毒理学研究需要在CD46被如上文所示的抗CD46抗体识别的非人类灵长类动物(例如食蟹猕猴)中进行。

[0677] 假设人类CD46基因位于染色体1的短臂(1q32.2)处,并且假设通常已经在尤其预后较差的多种癌症中观测到1q增益,包括(但不限于)ADC的抗CD46抗体疗法可能适用于广泛范围的具有极端治疗需要的晚期恶性病变。举例来说,在前列腺癌中,跨越1q32.2的区域已经显示在当前疗法未能产生影响的播散性转移性形式的疾病中的增益(哈娜姆拉(Hanamura)等人(2006)血液(Blood),108:1724-1732),使转移性去势难治性前列腺癌成为我们的抗CD46ADC治疗的极佳候选。在多发性骨髓瘤中,复发患者(Id.)中通常也观测到1q增益,因此鉴别我们的抗CD46ADC可能潜在帮助的重要患者群体。其它癌症也发现1q增益(并且具体来说1q32.2)和较差的预后之间的相关性,使1q针对患者分层和恶性病变检测结果成为我们的抗CD46ADC的可能生物标记物。检测1q32.2的FISH探针可用于评定1q状态。循环DNA也可以用于针对预后较差的CD46表达癌症检测作为微创生物标记物的1q增益(范(Fan)等人(2008)美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA),105:16266-16271)。

[0678] 本文所述的抗CD46抗体可作为独立显影剂或抗CD46ADC的伴随诊断用于成像探针中来监测体内肿瘤状态。我们已事先标记我们的初始抗CD46抗体UA20并且证实其针对前列腺癌靶向的极佳体内成像特性(何(He)等人(2010)核医学杂志(J.Nucl.Med.)51:427-432)。除了成像之外,抗CD46抗体可以在基于免疫组织化学的生物标记物中来评定生物检体和存档患者样品中的CD46表达,捕捉ELISA分析评定血清CD46水平,并且FACS或基于芯片的分析法评定播散性和/或循环肿瘤细胞中的CD46细胞表面表达。

[0679] 实例2

[0680] CD46ADC在股内mCRPC异种移植模型中具有高度活性。

[0681] 因为超过95%前列腺癌转移到骨骼的部位,所以我们进一步研究我们的抗CD46ADC在骨骼异种移植模型中的功效。我们将携带萤火虫萤光素酶报导体的转移性去势难治性前列腺癌(mCRPC)细胞株LNCaP C4-2B注射到NSG小鼠的股骨中,形成骨骼内mCRPC异种移植模型。在移植7天后,每4天一次注射CD46ADC(YS5-mcvcpab-MMAF),总共持续4次。通过治疗期间和治疗后的生物发光成像监测肿瘤状态。如图32中所示,CD46ADC处理的小鼠显示在治疗时段之后一直持续到实验结束(第65天)的极大肿瘤抑制,表明我们的CD46ADC在这一股内mCRPC异种移植模型中高度有效。

[0682] CD46在CRPC和mCRPC组织中高度表达。

[0683] 除了原发性肿瘤之外,我们对来自去势难治性前列腺癌(CRPC)和转移性去势难治性前列腺癌(mCRPC)的组织试样进行免疫组织化学研究。如图33中所示,CD46在CRPC试样中高度表达。我们进一步研究mCRPC试样并且发现CD46在骨骼转移(图34)、淋巴结转移(图35)和膀胱转移(图36)中的广泛分布(100%研究案例,或12/12)和强表达。

[0684] CD46经前列腺癌的神经内分泌亚型过度表达。

[0685] 约30%患者耐阿比特龙和恩杂鲁胺治疗。小细胞/神经内分泌型前列腺癌的出现可以是频繁事件(约30-40%案例)。与腺癌不同,神经内分泌前列腺癌通常不表达共同标

记,例如前列腺特异性抗原(PSA)和前列腺特异性膜抗原(PSMA)。因此,我们力图研究神经内分泌前列腺癌细胞株H660的FACS CD46表达。如图37中所示,左图,CD46经H660细胞高度表达。西方墨点分析确认H660细胞表达CD46和神经内分泌标记物神经元特异性烯醇酶(NSE)(图37,右图)。我们的抗CD46抗体(YS5)经H660细胞内化并且与溶酶体标记物LAMP1共定位(图38)。当与H660细胞一起培育时,我们的抗CD46ADC显示强效体外细胞毒性活性, $EC_{50} < 1nM$ (图39)。

[0686] CD46在用阿比特龙或恩杂鲁胺处理之后经前列腺癌细胞进一步上调,使其容易受CD46ADC影响。

[0687] 我们发现用 $10\mu M$ 阿比特龙处理mCRPC品系LNCaP-C4-2B持续7天,引起表面CD46表达显著上调(图40)。有趣的是,这一上调与加强的肿瘤细胞杀死相关(图41), EC_{50} 值从 $169pM$ 降到 $21pM$ 。类似地,当神经内分泌前列腺癌细胞株H660与 $10\mu M$ 恩杂鲁胺一起培育7天时,观测到细胞表面CD46的显著上调(图42)。与LNCaP-C4-2B细胞中观测到的一样,H660细胞在恩杂鲁胺处理之后变得对CD46ADC更敏感, EC_{50} 降低4到5倍。

[0688] 额外肿瘤上的CD46表达。

[0689] 除了前列腺癌和多发性骨髓瘤之外,我们发现CD46在多种人类癌症中过度表达。通过免疫组织化学分析,我们发现82%结肠直肠癌(81/99案例)中阳性CD46染色,70/99显示强染色(71%)(图43)。有趣的是,几乎100%转移性结肠直肠癌表达CD46(图44中肝脏转移,图45中淋巴结转移,以及图46中膀胱转移)。

[0690] 41/50案例(82%)间皮瘤还观测到阳性CD46染色,31/50显示强染色(62%)(图47)。在胰脏癌中,在28/50案例(56%)中观测到阳性CD46染色(图48)。在多形性胶质母细胞瘤(GBM)中,在30/40(75%)案例中观测到阳性染色(图49)。

[0691] 在其它肿瘤中也观测到阳性染色,包括(但不限于)膀胱癌、卵巢癌、胃癌、肺癌、肝癌、乳癌以及淋巴瘤。

[0692] CD46ADC有效针对其它肿瘤。

[0693] 除了体外研究之外,我们对NSG小鼠携带的间皮瘤异种移植进行CD46ADC体内研究。如图50中所示,YS5-mcvcpab-MMAF高效抑制肿瘤异种移植进展。

[0694] 应理解,本文所描述的实例和实施例仅为了说明性目的,并且根据其各种修改或变化应由所属领域的技术人员想到并且包括在本申请案的精神和范围以及所附权利要求书的范围内。本文所引用的所有出版物、专利和专利申请案都出于所有目的以全文引用的方式并入本文中。

[0001]	序列表
[0002]	<110> 加利福尼亚大学董事会
[0003]	<120> 巨胞饮人类抗CD46抗体和靶向癌症疗法
[0004]	<130> UCSFP037US
[0005]	<140> 2015800611385
[0006]	<141> 2015-09-10
[0007]	<150> US 62/049,973
[0008]	<151> 2014-09-12
[0009]	<150> PCT/US2015/049492
[0010]	<151> 2015-09-10
[0011]	<160> 78
[0012]	<170> PatentIn version 3.5
[0013]	<210> 1
[0014]	<211> 116
[0015]	<212> PRT
[0016]	<213> 人工序列
[0017]	<220>
[0018]	<223> 合成抗体VH结构域
[0019]	<400> 1
[0020]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
[0021]	1 5 10 15
[0022]	Ser Leu Arg Leu Ala Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Val Asn Asn Tyr
[0023]	20 25 30
[0024]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0025]	35 40 45
[0026]	Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[0027]	50 55 60
[0028]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[0029]	65 70 75 80
[0030]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0031]	85 90 95
[0032]	Ala Lys Gly Gly Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
[0033]	100 105 110
[0034]	Thr Val Ser Ser
[0035]	115
[0036]	<210> 2
[0037]	<211> 116
[0038]	<212> PRT

[0039]	<213> 人工序列																		
[0040]	<220>																		
[0041]	<223> 合成抗体VH结构域																		
[0042]	<400> 2																		
[0043]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg			
[0044]	1				5					10					15				
[0045]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ala	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Val	Asn	Asn	Tyr			
[0046]				20						25					30				
[0047]	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val			
[0048]				35						40					45				
[0049]	Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Asn	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val			
[0050]		50						55					60						
[0051]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr			
[0052]	65					70					75					80			
[0053]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
[0054]				85						90					95				
[0055]	Ala	Lys	Gly	Gly	Gly	Tyr	Phe	Asp	Leu	Trp	Gly	Arg	Gly	Thr	Leu	Val			
[0056]				100						105					110				
[0057]	Thr	Val	Ser	Ser															
[0058]				115															
[0059]	<210> 3																		
[0060]	<211> 116																		
[0061]	<212> PRT																		
[0062]	<213> 人工序列																		
[0063]	<220>																		
[0064]	<223> 合成抗体VH结构域																		
[0065]	<400> 3																		
[0066]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg			
[0067]	1				5					10					15				
[0068]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ala	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Val	Asn	Asn	Tyr			
[0069]				20						25					30				
[0070]	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val			
[0071]				35						40					45				
[0072]	Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Asn	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val			
[0073]		50						55					60						
[0074]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr			
[0075]	65					70					75					80			
[0076]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
[0077]				85						90					95				

[0078]	Ala Lys Gly Gly Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
[0079]	100 105 110
[0080]	Thr Val Ser Ser
[0081]	115
[0082]	<210> 4
[0083]	<211> 116
[0084]	<212> PRT
[0085]	<213> 人工序列
[0086]	<220>
[0087]	<223> 合成抗体VH结构域
[0088]	<400> 4
[0089]	Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
[0090]	1 5 10 15
[0091]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[0092]	20 25 30
[0093]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0094]	35 40 45
[0095]	Ala Phe Ile Arg Ser Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[0096]	50 55 60
[0097]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[0098]	65 70 75 80
[0099]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0100]	85 90 95
[0101]	Ala Arg His Gly Asn Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
[0102]	100 105 110
[0103]	Thr Val Ser Ser
[0104]	115
[0105]	<210> 5
[0106]	<211> 120
[0107]	<212> PRT
[0108]	<213> 人工序列
[0109]	<220>
[0110]	<223> 合成抗体VH结构域
[0111]	<400> 5
[0112]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
[0113]	1 5 10 15
[0114]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
[0115]	20 25 30
[0116]	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

[0117]	35	40	45
[0118]	Ser Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asp Glu Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[0119]	50	55	60
[0120]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
[0121]	65	70	75
[0122]	80		
[0122]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Trp Cys		
[0123]	85	90	95
[0124]	Ala Lys Ala Ser Gly Tyr Gly Met Gly Ile Leu Asp Tyr Trp Gly Gln		
[0125]	100	105	110
[0126]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[0127]	115	120	
[0128]	<210> 6		
[0129]	<211> 121		
[0130]	<212> PRT		
[0131]	<213> 人工序列		
[0132]	<220>		
[0133]	<223> 合成抗体VH结构域		
[0134]	<400> 6		
[0135]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[0136]	1	5	10
[0137]	15		
[0137]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr		
[0138]	20	25	30
[0139]	Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[0140]	35	40	45
[0141]	Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[0142]	50	55	60
[0143]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
[0144]	65	70	75
[0145]	80		
[0145]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[0146]	85	90	95
[0147]	Ala Arg Asp Tyr Gly Arg Ile Ala Ala Ala Gly Arg Arg Tyr Trp Gly		
[0148]	100	105	110
[0149]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[0150]	115	120	
[0151]	<210> 7		
[0152]	<211> 121		
[0153]	<212> PRT		
[0154]	<213> 人工序列		
[0155]	<220>		

[0156]	<223> 合成抗体VH结构域																		
[0157]	<400> 7																		
[0158]	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Arg	Pro	Gly	Gly			
[0159]	1				5					10					15				
[0160]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr			
[0161]				20					25					30					
[0162]	Tyr	Met	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val			
[0163]				35				40					45						
[0164]	Ser	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Gly	Ser	Thr	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val			
[0165]		50					55				60								
[0166]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr			
[0167]	65					70				75					80				
[0168]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
[0169]				85					90					95					
[0170]	Ala	Arg	Asp	Tyr	Gly	Arg	Ile	Ala	Ala	Ala	Gly	Arg	His	Tyr	Trp	Gly			
[0171]				100					105					110					
[0172]	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
[0173]				115					120										
[0174]	<210> 8																		
[0175]	<211> 121																		
[0176]	<212> PRT																		
[0177]	<213> 人工序列																		
[0178]	<220>																		
[0179]	<223> 合成抗体VH结构域																		
[0180]	<400> 8																		
[0181]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly			
[0182]	1				5					10					15				
[0183]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr			
[0184]				20					25					30					
[0185]	Tyr	Met	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val			
[0186]				35				40					45						
[0187]	Ser	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Gly	Ser	Thr	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val			
[0188]		50					55				60								
[0189]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr			
[0190]	65					70				75					80				
[0191]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
[0192]				85					90					95					
[0193]	Ala	Arg	Asp	Tyr	Gly	Arg	Ile	Ala	Ala	Ala	Gly	Arg	His	Tyr	Trp	Gly			
[0194]				100					105					110					

[0195]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0196]	115 120
[0197]	<210> 9
[0198]	<211> 127
[0199]	<212> PRT
[0200]	<213> 人工序列
[0201]	<220>
[0202]	<223> 合成抗体VH结构域
[0203]	<400> 9
[0204]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0205]	1 5 10 15
[0206]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[0207]	20 25 30
[0208]	Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0209]	35 40 45
[0210]	Ala Asp Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
[0211]	50 55 60
[0212]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
[0213]	65 70 75 80
[0214]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0215]	85 90 95
[0216]	Ala Lys Asp Val Gly Ser Thr Ala Ile Asn Tyr Val Arg Ala Tyr Thr
[0217]	100 105 110
[0218]	Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0219]	115 120 125
[0220]	<210> 10
[0221]	<211> 122
[0222]	<212> PRT
[0223]	<213> 人工序列
[0224]	<220>
[0225]	<223> 合成抗体VH结构域
[0226]	<400> 10
[0227]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0228]	1 5 10 15
[0229]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
[0230]	20 25 30
[0231]	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0232]	35 40 45
[0233]	Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr Phe Tyr Val Asp Ser Val

[0234]	50	55	60
[0235]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
[0236]	65	70	75 80
[0237]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[0238]	85	90	95
[0239]	Ala Gln Gly Leu Tyr Ser Ser Gly Trp Ala Asn Trp Phe Asp Pro Arg		
[0240]	100	105	110
[0241]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[0242]	115	120	
[0243]	<210> 11		
[0244]	<211> 123		
[0245]	<212> PRT		
[0246]	<213> 人工序列		
[0247]	<220>		
[0248]	<223> 合成抗体VH结构域		
[0249]	<400> 11		
[0250]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
[0251]	1	5	10 15
[0252]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr		
[0253]	20	25	30
[0254]	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[0255]	35	40	45
[0256]	Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[0257]	50	55	60
[0258]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
[0259]	65	70	75 80
[0260]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[0261]	85	90	95
[0262]	Ala Lys Val Met Gly Leu Ala Ala Ala Gly Leu Asp Ala Phe Asp Ile		
[0263]	100	105	110
[0264]	Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser		
[0265]	115	120	
[0266]	<210> 12		
[0267]	<211> 117		
[0268]	<212> PRT		
[0269]	<213> 人工序列		
[0270]	<220>		
[0271]	<223> 合成抗体VH结构域		
[0272]	<400> 12		

[0273]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
[0274]	1 5 10 15
[0275]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[0276]	20 25 30
[0277]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0278]	35 40 45
[0279]	Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[0280]	50 55 60
[0281]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Thr Asn Thr Leu Tyr
[0282]	65 70 75 80
[0283]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0284]	85 90 95
[0285]	Gly Arg Glu Ser Ser Gly Ser Pro Gly Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
[0286]	100 105 110
[0287]	Val Thr Val Ser Ser
[0288]	115
[0289]	<210> 13
[0290]	<211> 122
[0291]	<212> PRT
[0292]	<213> 人工序列
[0293]	<220>
[0294]	<223> 合成抗体VH结构域
[0295]	<400> 13
[0296]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly
[0297]	1 5 10 15
[0298]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn
[0299]	20 25 30
[0300]	Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0301]	35 40 45
[0302]	Ser Val Ile Tyr Thr Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
[0303]	50 55 60
[0304]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
[0305]	65 70 75 80
[0306]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
[0307]	85 90 95
[0308]	Arg Asp Arg Gly Thr Ser Gly Tyr Asp Trp Ala Trp Phe Asp Leu Trp
[0309]	100 105 110
[0310]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0311]	115 120

[0312]	<210> 14
[0313]	<211> 123
[0314]	<212> PRT
[0315]	<213> 人工序列
[0316]	<220>
[0317]	<223> 合成抗体VH结构域
[0318]	<400> 14
[0319]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0320]	1 5 10 15
[0321]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[0322]	20 25 30
[0323]	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0324]	35 40 45
[0325]	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[0326]	50 55 60
[0327]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[0328]	65 70 75 80
[0329]	Met Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0330]	85 90 95
[0331]	Ala Lys Asp Arg Tyr Tyr Tyr Gly Ser Gly Lys Asp Ala Phe Asp Ile
[0332]	100 105 110
[0333]	Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
[0334]	115 120
[0335]	<210> 15
[0336]	<211> 118
[0337]	<212> PRT
[0338]	<213> 人工序列
[0339]	<220>
[0340]	<223> 合成抗体VH结构域
[0341]	<400> 15
[0342]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0343]	1 5 10 15
[0344]	Ser Leu Gly Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
[0345]	20 25 30
[0346]	Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0347]	35 40 45
[0348]	Ala Asn Val Arg Gln Asp Gly Gly Gln Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
[0349]	50 55 60
[0350]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

[0351]	65	70	75	80
[0352]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys			
[0353]	85	90	95	
[0354]	Val Ser Gln Arg Asn Ser Gly Glu His Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
[0355]	100	105	110	
[0356]	Leu Val Thr Val Ser Ser			
[0357]	115			
[0358]	<210> 16			
[0359]	<211> 121			
[0360]	<212> PRT			
[0361]	<213> 人工序列			
[0362]	<220>			
[0363]	<223> 合成抗体VH结构域			
[0364]	<400> 16			
[0365]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
[0366]	1	5	10	15
[0367]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr			
[0368]	20	25	30	
[0369]	Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
[0370]	35	40	45	
[0371]	Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
[0372]	50	55	60	
[0373]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
[0374]	65	70	75	80
[0375]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[0376]	85	90	95	
[0377]	Ala Arg Asp Tyr Gly Arg Ile Ala Ala Ala Gly Arg His Tyr Trp Gly			
[0378]	100	105	110	
[0379]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[0380]	115	120		
[0381]	<210> 17			
[0382]	<211> 121			
[0383]	<212> PRT			
[0384]	<213> 人工序列			
[0385]	<220>			
[0386]	<223> 合成抗体VH结构域			
[0387]	<400> 17			
[0388]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
[0389]	1	5	10	15

[0390]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
[0391]	20 25 30
[0392]	Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0393]	35 40 45
[0394]	Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[0395]	50 55 60
[0396]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[0397]	65 70 75 80
[0398]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0399]	85 90 95
[0400]	Ala Arg Asp Tyr Gly Arg Ile Ala Ala Ala Gly Arg Asn Tyr Trp Gly
[0401]	100 105 110
[0402]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0403]	115 120
[0404]	<210> 18
[0405]	<211> 121
[0406]	<212> PRT
[0407]	<213> 人工序列
[0408]	<220>
[0409]	<223> 合成抗体VH结构域
[0410]	<400> 18
[0411]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly
[0412]	1 5 10 15
[0413]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
[0414]	20 25 30
[0415]	Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0416]	35 40 45
[0417]	Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[0418]	50 55 60
[0419]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[0420]	65 70 75 80
[0421]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0422]	85 90 95
[0423]	Ala Arg Asp Tyr Gly Arg Ile Ala Ala Ala Gly Arg His Tyr Trp Gly
[0424]	100 105 110
[0425]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0426]	115 120
[0427]	<210> 19
[0428]	<211> 121

[0429]	<212>	PRT
[0430]	<213>	人工序列
[0431]	<220>	
[0432]	<223>	合成抗体VH结构域
[0433]	<400>	19
[0434]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly	
[0435]	1 5 10 15	
[0436]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr	
[0437]	20 25 30	
[0438]	Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[0439]	35 40 45	
[0440]	Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
[0441]	50 55 60	
[0442]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr	
[0443]	65 70 75 80	
[0444]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[0445]	85 90 95	
[0446]	Ala Arg Asp Ile Thr Asp Val Val Gly Val Ser Phe Asp Tyr Trp Gly	
[0447]	100 105 110	
[0448]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[0449]	115 120	
[0450]	<210>	20
[0451]	<211>	123
[0452]	<212>	PRT
[0453]	<213>	人工序列
[0454]	<220>	
[0455]	<223>	合成抗体VH结构域
[0456]	<400>	20
[0457]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg	
[0458]	1 5 10 15	
[0459]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr	
[0460]	20 25 30	
[0461]	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[0462]	35 40 45	
[0463]	Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
[0464]	50 55 60	
[0465]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
[0466]	65 70 75 80	
[0467]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Glu Tyr Tyr Cys	

[0468]		85		90		95
[0469]	Ala Lys Val Met Gly Leu Ala Ala Ala Gly Leu Asp Ala Phe Asp Ile					
[0470]		100		105		110
[0471]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser					
[0472]		115		120		
[0473]	<210> 21					
[0474]	<211> 123					
[0475]	<212> PRT					
[0476]	<213> 人工序列					
[0477]	<220>					
[0478]	<223> 合成抗体VH结构域					
[0479]	<400> 21					
[0480]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg					
[0481]	1	5		10		15
[0482]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe					
[0483]		20		25		30
[0484]	Gly Met His Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val					
[0485]		35		40		45
[0486]	Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val					
[0487]	50		55		60	
[0488]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr					
[0489]	65		70		75	80
[0490]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys					
[0491]		85		90		95
[0492]	Gly Ser Arg Pro Gly Gly Gly Tyr Ala Ser Gly Ser Thr Val Ala Tyr					
[0493]		100		105		110
[0494]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser					
[0495]		115		120		
[0496]	<210> 22					
[0497]	<211> 109					
[0498]	<212> PRT					
[0499]	<213> 人工序列					
[0500]	<220>					
[0501]	<223> 合成抗体VL结构域					
[0502]	<400> 22					
[0503]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln					
[0504]	1	5		10		15
[0505]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly					
[0506]		20		25		30

[0507] Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 [0508] 35 40 45
 [0509] Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 [0510] 50 55 60
 [0511] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 [0512] 65 70 75 80
 [0513] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Gly
 [0514] 85 90 95
 [0515] Thr Trp Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 [0516] 100 105
 [0517] <210> 23
 [0518] <211> 109
 [0519] <212> PRT
 [0520] <213> 人工序列
 [0521] <220>
 [0522] <223> 合成抗体VL结构域
 [0523] <400> 23
 [0524] Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 [0525] 1 5 10 15
 [0526] Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
 [0527] 20 25 30
 [0528] Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 [0529] 35 40 45
 [0530] Leu Ile Tyr Gly Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 [0531] 50 55 60
 [0532] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 [0533] 65 70 75 80
 [0534] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Gly
 [0535] 85 90 95
 [0536] Thr Trp Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 [0537] 100 105
 [0538] <210> 24
 [0539] <211> 109
 [0540] <212> PRT
 [0541] <213> 人工序列
 [0542] <220>
 [0543] <223> 合成抗体VL结构域
 [0544] <400> 24
 [0545] Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

[0546]	1	5	10	15
[0547]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly			
[0548]	20	25	30	
[0549]	Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu			
[0550]	35	40	45	
[0551]	Leu Ile Tyr Gly Asp Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe			
[0552]	50	55	60	
[0553]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu			
[0554]	65	70	75	80
[0555]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Gly			
[0556]	85	90	95	
[0557]	Thr Trp Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
[0558]	100	105		
[0559]	<210> 25			
[0560]	<211> 107			
[0561]	<212> PRT			
[0562]	<213> 人工序列			
[0563]	<220>			
[0564]	<223> 合成抗体VL结构域			
[0565]	<400> 25			
[0566]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly			
[0567]	1	5	10	15
[0568]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr			
[0569]	20	25	30	
[0570]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
[0571]	35	40	45	
[0572]	Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Ser Phe Ser Gly			
[0573]	50	55	60	
[0574]	Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
[0575]	65	70	75	80
[0576]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Ala Ser Tyr Pro Leu			
[0577]	85	90	95	
[0578]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys			
[0579]	100	105		
[0580]	<210> 26			
[0581]	<211> 109			
[0582]	<212> PRT			
[0583]	<213> 人工序列			
[0584]	<220>			

[0585]	<223> 合成抗体VL结构域															
[0586]	<400> 26															
[0587]	Ser	Ser	Glu	Leu	Thr	Gln	Asp	Pro	Ala	Val	Ser	Val	Ala	Leu	Gly	Gln
[0588]	1				5					10					15	
[0589]	Thr	Val	Arg	Ile	Thr	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Leu	Arg	Ser	Tyr	Tyr	Val
[0590]				20					25					30		
[0591]	Ser	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Val	Phe	Val	Met	Tyr
[0592]				35					40					45		
[0593]	Gly	Gln	Asn	Asn	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Ser	Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser
[0594]		50						55				60				
[0595]	Ser	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Ile	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Ala	Glu
[0596]	65					70					75				80	
[0597]	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	His	Ser	Arg	Asp	Ser	Ser	Gly	Thr	His
[0598]					85					90					95	
[0599]	Leu	Arg	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu			
[0600]				100						105						
[0601]	<210> 27															
[0602]	<211> 110															
[0603]	<212> PRT															
[0604]	<213> 人工序列															
[0605]	<220>															
[0606]	<223> 合成抗体VL结构域															
[0607]	<400> 27															
[0608]	Gln	Ser	Ala	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Ala	Ser	Ala	Thr	Pro	Gly	Gln
[0609]	1				5					10					15	
[0610]	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Arg	Thr	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asn
[0611]				20					25					30		
[0612]	His	Val	Tyr	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
[0613]				35					40					45		
[0614]	Ile	Tyr	Arg	Asn	Asn	Gln	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
[0615]		50					55					60				
[0616]	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Ser	Gly	Leu	Arg
[0617]	65					70					75				80	
[0618]	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Thr	Trp	Asp	Asp	Ser	Leu
[0619]					85					90					95	
[0620]	Ser	Gly	Glu	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu		
[0621]				100						105				110		
[0622]	<210> 28															
[0623]	<211> 109															

[0624]	<212>	PRT
[0625]	<213>	人工序列
[0626]	<220>	
[0627]	<223>	合成抗体VL结构域
[0628]	<400>	28
[0629]	Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln	
[0630]	1 5 10 15	
[0631]	Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala	
[0632]	20 25 30	
[0633]	Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr	
[0634]	35 40 45	
[0635]	Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser	
[0636]	50 55 60	
[0637]	Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu	
[0638]	65 70 75 80	
[0639]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Thr His	
[0640]	85 90 95	
[0641]	Leu Glu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu	
[0642]	100 105	
[0643]	<210>	29
[0644]	<211>	107
[0645]	<212>	PRT
[0646]	<213>	人工序列
[0647]	<220>	
[0648]	<223>	合成抗体VL结构域
[0649]	<400>	29
[0650]	Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln	
[0651]	1 5 10 15	
[0652]	Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Thr Leu Ser Thr Tyr Tyr Ala	
[0653]	20 25 30	
[0654]	Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr	
[0655]	35 40 45	
[0656]	Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser	
[0657]	50 55 60	
[0658]	Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu	
[0659]	65 70 75 80	
[0660]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys His Ser Arg Asp Ile Ser Gly Asn Tyr	
[0661]	85 90 95	
[0662]	Leu Phe Ala Ser Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu	

[0663]	100	105
[0664]	<210> 30	
[0665]	<211> 110	
[0666]	<212> PRT	
[0667]	<213> 人工序列	
[0668]	<220>	
[0669]	<223> 合成抗体VL结构域	
[0670]	<400> 30	
[0671]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln	
[0672]	1 5 10 15	
[0673]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn	
[0674]	20 25 30	
[0675]	Thr Val Asn Trp Ser Arg Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu	
[0676]	35 40 45	
[0677]	Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser	
[0678]	50 55 60	
[0679]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln	
[0680]	65 70 75 80	
[0681]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu	
[0682]	85 90 95	
[0683]	Asn Val Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu	
[0684]	100 105 110	
[0685]	<210> 31	
[0686]	<211> 107	
[0687]	<212> PRT	
[0688]	<213> 人工序列	
[0689]	<220>	
[0690]	<223> 合成抗体VL结构域	
[0691]	<400> 31	
[0692]	Lys Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[0693]	1 5 10 15	
[0694]	Asp Thr Val Thr Ile Ala Cys Arg Ala Ser Arg Asp Ile Arg Asn Asp	
[0695]	20 25 30	
[0696]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[0697]	35 40 45	
[0698]	Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[0699]	50 55 60	
[0700]	Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ile Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[0701]	65 70 75 80	

[0702]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Arg Leu Asn Ser Tyr Pro Leu
[0703]	85 90 95
[0704]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
[0705]	100 105
[0706]	<210> 32
[0707]	<211> 111
[0708]	<212> PRT
[0709]	<213> 人工序列
[0710]	<220>
[0711]	<223> 合成抗体VL结构域
[0712]	<400> 32
[0713]	Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro Ala Ser Leu Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[0714]	1 5 10 15
[0715]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
[0716]	20 25 30
[0717]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Tyr Ala Pro Lys Leu
[0718]	35 40 45
[0719]	Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
[0720]	50 55 60
[0721]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
[0722]	65 70 75 80
[0723]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
[0724]	85 90 95
[0725]	Ser Thr Pro Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[0726]	100 105 110
[0727]	<210> 33
[0728]	<211> 106
[0729]	<212> PRT
[0730]	<213> 人工序列
[0731]	<220>
[0732]	<223> 合成抗体VL结构域
[0733]	<400> 33
[0734]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
[0735]	1 5 10 15
[0736]	Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
[0737]	20 25 30
[0738]	Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
[0739]	35 40 45
[0740]	Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

[0741]	50	55	60
[0742]	Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu		
[0743]	65	70	75
[0744]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Gln		
[0745]	85	90	95
[0746]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[0747]	100	105	
[0748]	<210> 34		
[0749]	<211> 108		
[0750]	<212> PRT		
[0751]	<213> 人工序列		
[0752]	<220>		
[0753]	<223> 合成抗体VL结构域		
[0754]	<400> 34		
[0755]	Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln		
[0756]	1	5	10
[0757]	Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala		
[0758]	20	25	30
[0759]	Ser Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Leu Tyr		
[0760]	35	40	45
[0761]	Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser		
[0762]	50	55	60
[0763]	Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu		
[0764]	65	70	75
[0765]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His		
[0766]	85	90	95
[0767]	Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[0768]	100	105	
[0769]	<210> 35		
[0770]	<211> 110		
[0771]	<212> PRT		
[0772]	<213> 人工序列		
[0773]	<220>		
[0774]	<223> 合成抗体VL结构域		
[0775]	<400> 35		
[0776]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln		
[0777]	1	5	10
[0778]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Gly Ser Asp Val Gly Ser Tyr		
[0779]	20	25	30

[0780] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 [0781] 35 40 45
 [0782] Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 [0783] 50 55 60
 [0784] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 [0785] 65 70 75 80
 [0786] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Ser
 [0787] 85 90 95
 [0788] Ser Thr Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 [0789] 100 105 110
 [0790] <210> 36
 [0791] <211> 107
 [0792] <212> PRT
 [0793] <213> 人工序列
 [0794] <220>
 [0795] <223> 合成抗体VL结构域
 [0796] <400> 36
 [0797] Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr
 [0798] 1 5 10 15
 [0799] Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser
 [0800] 20 25 30
 [0801] Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly
 [0802] 35 40 45
 [0803] Glu Asn Ser Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser
 [0804] 50 55 60
 [0805] Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp
 [0806] 65 70 75 80
 [0807] Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Trp Asp Ser Ser Gly Asn His Val
 [0808] 85 90 95
 [0809] Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 [0810] 100 105
 [0811] <210> 37
 [0812] <211> 107
 [0813] <212> PRT
 [0814] <213> 人工序列
 [0815] <220>
 [0816] <223> 合成抗体VL结构域
 [0817] <400> 37
 [0818] Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[0819]	1	5	10	15
[0820]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr			
[0821]	20	25	30	
[0822]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
[0823]	35	40	45	
[0824]	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
[0825]	50	55	60	
[0826]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
[0827]	65	70	75	80
[0828]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Arg			
[0829]	85	90	95	
[0830]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
[0831]	100	105		
[0832]	<210> 38			
[0833]	<211> 111			
[0834]	<212> PRT			
[0835]	<213> 人工序列			
[0836]	<220>			
[0837]	<223> 合成抗体VL结构域			
[0838]	<400> 38			
[0839]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly			
[0840]	1	5	10	15
[0841]	Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser			
[0842]	20	25	30	
[0843]	Asn Gly Tyr Asp Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			
[0844]	35	40	45	
[0845]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro			
[0846]	50	55	60	
[0847]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
[0848]	65	70	75	80
[0849]	Ser Arg Val Glu Thr Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Gly			
[0850]	85	90	95	
[0851]	Leu Gln Thr Pro Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
[0852]	100	105	110	
[0853]	<210> 39			
[0854]	<211> 109			
[0855]	<212> PRT			
[0856]	<213> 人工序列			
[0857]	<220>			

[0858]	<223> 合成抗体VL结构域																		
[0859]	<400> 39																		
[0860]	Ser	Ser	Glu	Leu	Thr	Gln	Asp	Pro	Ala	Val	Ser	Val	Ala	Leu	Gly	Gln			
[0861]	1				5					10					15				
[0862]	Thr	Val	Arg	Ile	Thr	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Leu	Arg	Ser	Tyr	Tyr	Ala			
[0863]					20					25					30				
[0864]	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Val	Pro	Val	Ile	Tyr			
[0865]					35					40					45				
[0866]	Gly	Lys	Asn	Asn	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser			
[0867]					50					55					60				
[0868]	Ser	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Ala	Glu			
[0869]	65									70					75				80
[0870]	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Asn	Ser	Arg	Asp	Ser	Ser	Ser	Thr	His			
[0871]										85					90				95
[0872]	Arg	Gly	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu						
[0873]										100					105				
[0874]	<210> 40																		
[0875]	<211> 107																		
[0876]	<212> PRT																		
[0877]	<213> 人工序列																		
[0878]	<220>																		
[0879]	<223> 合成抗体VL结构域																		
[0880]	<400> 40																		
[0881]	Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly			
[0882]	1					5					10				15				
[0883]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Arg	Ser	Ile	Ser	Thr	Tyr			
[0884]						20					25				30				
[0885]	Leu	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile			
[0886]						35					40				45				
[0887]	Tyr	Asp	Ala	Ser	Arg	Leu	Gln	Asn	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly			
[0888]						50					55				60				
[0889]	Ser	Gly	Ser	Asp	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro			
[0890]	65										70				75				80
[0891]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Ser	Tyr	Asn	Pro	Pro	Trp			
[0892]											85				90				95
[0893]	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys								
[0894]											100				105				
[0895]	<210> 41																		
[0896]	<211> 111																		

[0897]	<212>	PRT
[0898]	<213>	人工序列
[0899]	<220>	
[0900]	<223>	合成抗体VL结构域
[0901]	<400>	41
[0902]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln	
[0903]	1 5 10 15	
[0904]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr	
[0905]	20 25 30	
[0906]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu	
[0907]	35 40 45	
[0908]	Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe	
[0909]	50 55 60	
[0910]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu	
[0911]	65 70 75 80	
[0912]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Tyr Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser	
[0913]	85 90 95	
[0914]	Ser Asp Pro Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu	
[0915]	100 105 110	
[0916]	<210>	42
[0917]	<211>	107
[0918]	<212>	PRT
[0919]	<213>	人工序列
[0920]	<220>	
[0921]	<223>	合成抗体VL结构域
[0922]	<400>	42
[0923]	Asn Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[0924]	1 5 10 15	
[0925]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Gly Gln Pro Ile Ser Thr Tyr	
[0926]	20 25 30	
[0927]	Val Asn Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[0928]	35 40 45	
[0929]	Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[0930]	50 55 60	
[0931]	Gly Gly Ser Ala Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[0932]	65 70 75 80	
[0933]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Leu Leu	
[0934]	85 90 95	
[0935]	Thr Phe Gly Asp Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	

[0936]		100		105
[0937]	<210>	43		
[0938]	<211>	15		
[0939]	<212>	PRT		
[0940]	<213>	人工序列		
[0941]	<220>			
[0942]	<223>	合成肽连接子		
[0943]	<400>	43		
[0944]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser			
[0945]	1	5	10	15
[0946]	<210>	44		
[0947]	<211>	242		
[0948]	<212>	PRT		
[0949]	<213>	人工序列		
[0950]	<220>			
[0951]	<223>	合成抗体		
[0952]	<400>	44		
[0953]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly			
[0954]	1	5	10	15
[0955]	Pro Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr			
[0956]		20	25	30
[0957]	Gly Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
[0958]		35	40	45
[0959]	Ser Thr Leu Ser Arg Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
[0960]		50	55	60
[0961]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
[0962]	65	70	75	80
[0963]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[0964]		85	90	95
[0965]	Ala Ser Ile Ala Val Ala Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
[0966]		100	105	110
[0967]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly			
[0968]		115	120	125
[0969]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val			
[0970]		130	135	140
[0971]	Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser			
[0972]	145	150	155	160
[0973]	Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Glu Arg Pro Gly Gln Ala			
[0974]		165	170	175

[0975]	Pro	Leu	Leu	Val	Ile	Tyr	Gly	Lys	Asn	Asn	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro
[0976]				180					185					190		
[0977]	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Asn	Ser	Gly	Ser	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile
[0978]				195					200					205		
[0979]	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Gly	Asp	Glu	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val	Trp
[0980]		210						215				220				
[0981]	Asp	Ser	Ile	Asn	Glu	Gln	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Thr
[0982]	225					230					235					240
[0983]	Val	Leu														
[0984]	<210>	45														
[0985]	<211>	241														
[0986]	<212>	PRT														
[0987]	<213>	人工序列														
[0988]	<220>															
[0989]	<223>	合成抗体														
[0990]	<400>	45														
[0991]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
[0992]	1			5						10					15	
[0993]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Phe	Ser	Gly	Ser
[0994]				20						25					30	
[0995]	Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[0996]			35					40						45		
[0997]	Thr	Met	Ile	Trp	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Phe	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
[0998]		50					55					60				
[0999]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
[1000]	65					70					75					80
[1001]	Leu	Gln	Met	Asp	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
[1002]					85					90					95	
[1003]	Ala	Arg	Asp	Lys	Gly	Val	Arg	Ser	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Leu	Gly	Thr
[1004]				100					105					110		
[1005]	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[1006]			115						120					125		
[1007]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asn	Phe	Met	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser
[1008]		130						135					140			
[1009]	Val	Ala	Pro	Gly	Gln	Thr	Ala	Lys	Ile	Thr	Cys	Asp	Gly	Tyr	Ser	Ile
[1010]	145					150					155					160
[1011]	Arg	Thr	Lys	Ser	Val	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro
[1012]					165					170					175	
[1013]	Val	Val	Val	Val	His	Asp	Asp	Ser	Asp	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu

[1014]	180	185	190
[1015]	Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Thr Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser		
[1016]	195	200	205
[1017]	Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp		
[1018]	210	215	220
[1019]	Ser Ile Ser Glu Glu Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val		
[1020]	225	230	235
[1021]	Leu		
[1022]	<210> 46		
[1023]	<211> 240		
[1024]	<212> PRT		
[1025]	<213> 人工序列		
[1026]	<220>		
[1027]	<223> 合成抗体		
[1028]	<400> 46		
[1029]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[1030]	1	5	10
[1031]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Thr Tyr		
[1032]	20	25	30
[1033]	Ala Met Arg Trp Val Arg Gln Thr Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[1034]	35	40	45
[1035]	Ser Gly Ile Gly Val Ser Gly Asp Ala Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Arg		
[1036]	50	55	60
[1037]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		
[1038]	65	70	75
[1039]	Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Thr		
[1040]	85	90	95
[1041]	Arg Lys Ser Ser Thr Thr Ser Asn Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu		
[1042]	100	105	110
[1043]	Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[1044]	115	120	125
[1045]	Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val		
[1046]	130	135	140
[1047]	Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Asn Ile Gly		
[1048]	145	150	155
[1049]	Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val		
[1050]	165	170	175
[1051]	Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg		
[1052]	180	185	190

[1053]	Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Thr Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Ser
[1054]	195 200 205
[1055]	Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser
[1056]	210 215 220
[1057]	Ile Ser Glu His Val Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
[1058]	225 230 235 240
[1059]	<210> 47
[1060]	<211> 241
[1061]	<212> PRT
[1062]	<213> 人工序列
[1063]	<220>
[1064]	<223> 合成抗体
[1065]	<400> 47
[1066]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1067]	1 5 10 15
[1068]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[1069]	20 25 30
[1070]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1071]	35 40 45
[1072]	Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1073]	50 55 60
[1074]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[1075]	65 70 75 80
[1076]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1077]	85 90 95
[1078]	Ala Arg Phe Ser Ser Gly Trp Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[1079]	100 105 110
[1080]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[1081]	115 120 125
[1082]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe
[1083]	130 135 140
[1084]	Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Ile Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
[1085]	145 150 155 160
[1086]	His Asp Ile Ser Ser Tyr Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
[1087]	165 170 175
[1088]	Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val
[1089]	180 185 190
[1090]	Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
[1091]	195 200 205

[1092]	Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
[1093]	210 215 220
[1094]	Leu Gly Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
[1095]	225 230 235 240
[1096]	Lys
[1097]	<210> 48
[1098]	<211> 245
[1099]	<212> PRT
[1100]	<213> 人工序列
[1101]	<220>
[1102]	<223> 合成抗体
[1103]	<400> 48
[1104]	Gln Val Gln Leu Leu Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1105]	1 5 10 15
[1106]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[1107]	20 25 30
[1108]	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1109]	35 40 45
[1110]	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
[1111]	50 55 60
[1112]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[1113]	65 70 75 80
[1114]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1115]	85 90 95
[1116]	Ala Lys Ser His Asp Tyr Gly Asp Tyr Ala Gly Phe Asp Tyr Trp Gly
[1117]	100 105 110
[1118]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[1119]	115 120 125
[1120]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser His Val Ile Leu Thr Gln Asp Pro
[1121]	130 135 140
[1122]	Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly
[1123]	145 150 155 160
[1124]	Asp Ser Leu Lys Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
[1125]	165 170 175
[1126]	Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly
[1127]	180 185 190
[1128]	Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Thr Thr Ala Ser Leu
[1129]	195 200 205
[1130]	Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys His

[1131]	210	215	220
[1132]	Ser Arg Asp Ser Ser Gly Thr His Leu Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr		
[1133]	225	230	235
[1134]	Lys Leu Thr Val Leu		240
[1135]	245		
[1136]	<210> 49		
[1137]	<211> 244		
[1138]	<212> PRT		
[1139]	<213> 人工序列		
[1140]	<220>		
[1141]	<223> 合成抗体		
[1142]	<400> 49		
[1143]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly		
[1144]	1	5	10
[1145]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala		15
[1146]	20	25	30
[1147]	Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[1148]	35	40	45
[1149]	Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Glu Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala		
[1150]	50	55	60
[1151]	Pro Val Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr		
[1152]	65	70	75
[1153]	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Gly Val Tyr		
[1154]	85	90	95
[1155]	Tyr Cys Thr Ala Thr Lys Gly Leu Gly Gly Ser Lys Leu Gly Gln Gly		
[1156]	100	105	110
[1157]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
[1158]	115	120	125
[1159]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala		
[1160]	130	135	140
[1161]	Ser Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser		
[1162]	145	150	155
[1163]	Ser Asn Ile Gly Asn Asn Thr Val Asn Trp Ser Arg Gln Leu Pro Gly		
[1164]	165	170	175
[1165]	Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly		
[1166]	180	185	190
[1167]	Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu		
[1168]	195	200	205
[1169]	Ala Ile Thr Gly Leu Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly		

[1170]	210	215	220
[1171]	Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys		
[1172]	225	230	235
[1173]	Leu Thr Val Leu		240
[1174]	<210> 50		
[1175]	<211> 245		
[1176]	<212> PRT		
[1177]	<213> 人工序列		
[1178]	<220>		
[1179]	<223> 合成抗体		
[1180]	<400> 50		
[1181]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
[1182]	1	5	10
[1183]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe		15
[1184]	20	25	30
[1185]	Gly Met His Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[1186]	35	40	45
[1187]	Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[1188]	50	55	60
[1189]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
[1190]	65	70	75
[1191]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		80
[1192]	85	90	95
[1193]	Gly Ser Arg Pro Gly Gly Gly Tyr Ala Ser Gly Ser Thr Val Ala Tyr		
[1194]	100	105	110
[1195]	Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[1196]	115	120	125
[1197]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln		
[1198]	130	135	140
[1199]	Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys		
[1200]	145	150	155
[1201]	Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys		160
[1202]	165	170	175
[1203]	Pro Gly Gln Ala Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gly Gln Asn Ile Arg Pro		
[1204]	180	185	190
[1205]	Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Ser Ala		
[1206]	195	200	205
[1207]	Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr		
[1208]	210	215	220

[1209]	Cys His Ser Arg Asp Ser Ser Gly Lys Tyr Val Phe Gly Val Gly Thr																
[1210]	225					230					235						240
[1211]	Lys Val Thr Val Leu																
[1212]						245											
[1213]	<210> 51																
[1214]	<211> 237																
[1215]	<212> PRT																
[1216]	<213> 人工序列																
[1217]	<220>																
[1218]	<223> 合成抗体																
[1219]	<400> 51																
[1220]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly																
[1221]	1				5					10					15		
[1222]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr																
[1223]				20					25					30			
[1224]	Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val																
[1225]			35					40					45				
[1226]	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val																
[1227]		50					55					60					
[1228]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asp Thr Leu Tyr																
[1229]	65					70				75						80	
[1230]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys																
[1231]				85					90					95			
[1232]	Ala Ser Arg Ser Leu Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr																
[1233]			100						105					110			
[1234]	Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly																
[1235]			115						120					125			
[1236]	Gly Ser Asn Phe Met Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu																
[1237]		130						135					140				
[1238]	Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr																
[1239]	145					150				155						160	
[1240]	Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Leu Leu Val																
[1241]				165					170							175	
[1242]	Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser																
[1243]			180						185					190			
[1244]	Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln																
[1245]			195						200					205			
[1246]	Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly																
[1247]		210						215					220				

[1248]	Asn Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
[1249]	225 230 235
[1250]	<210> 52
[1251]	<211> 237
[1252]	<212> PRT
[1253]	<213> 人工序列
[1254]	<220>
[1255]	<223> 合成抗体
[1256]	<400> 52
[1257]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1258]	1 5 10 15
[1259]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[1260]	20 25 30
[1261]	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1262]	35 40 45
[1263]	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1264]	50 55 60
[1265]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asp Thr Leu Tyr
[1266]	65 70 75 80
[1267]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1268]	85 90 95
[1269]	Ala Ser Arg Ser Leu Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[1270]	100 105 110
[1271]	Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1272]	115 120 125
[1273]	Gly Ser Asn Phe Met Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu
[1274]	130 135 140
[1275]	Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr
[1276]	145 150 155 160
[1277]	Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Leu Leu Val
[1278]	165 170 175
[1279]	Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[1280]	180 185 190
[1281]	Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln
[1282]	195 200 205
[1283]	Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly
[1284]	210 215 220
[1285]	Asn Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
[1286]	225 230 235

[1287]	<210>	53
[1288]	<211>	243
[1289]	<212>	PRT
[1290]	<213>	人工序列
[1291]	<220>	
[1292]	<223>	合成抗体
[1293]	<400>	53
[1294]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Leu Gly Gly	
[1295]	1	5 10 15
[1296]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr	
[1297]	20 25 30	
[1298]	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[1299]	35 40 45	
[1300]	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
[1301]	50 55 60	
[1302]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
[1303]	65 70 75 80	
[1304]	Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys	
[1305]	85 90 95	
[1306]	Ala Asn Ser Ala Tyr Thr Gly Gly Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly His Gly	
[1307]	100 105 110	
[1308]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly	
[1309]	115 120 125	
[1310]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val	
[1311]	130 135 140	
[1312]	Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Lys Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser	
[1313]	145 150 155 160	
[1314]	Leu Arg Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala	
[1315]	165 170 175	
[1316]	Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Glu Asn Ser Arg Pro Ser Gly Ile Pro	
[1317]	180 185 190	
[1318]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile	
[1319]	195 200 205	
[1320]	Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg	
[1321]	210 215 220	
[1322]	Asp Ser Ser Gly Asn His Leu Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu	
[1323]	225 230 235 240	
[1324]	Thr Val Leu	
[1325]	<210>	54

[1326]	<211>	238
[1327]	<212>	PRT
[1328]	<213>	人工序列
[1329]	<220>	
[1330]	<223>	合成抗体
[1331]	<400>	54
[1332]	Gln Val Asn Leu Arg Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[1333]	1 5 10 15	
[1334]	Phe Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Phe Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr	
[1335]	20 25 30	
[1336]	Trp Met Ser Trp Val His Pro Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[1337]	35 40 45	
[1338]	Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val	
[1339]	50 55 60	
[1340]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe	
[1341]	65 70 75 80	
[1342]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys	
[1343]	85 90 95	
[1344]	Ala Arg Gly Leu Leu Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Pro	
[1345]	100 105 110	
[1346]	Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly	
[1347]	115 120 125	
[1348]	Gly Ser Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro	
[1349]	130 135 140	
[1350]	Gly Lys Thr Ala Ser Leu Thr Cys Gly Gly Tyr Asn Ile Gly Thr Lys	
[1351]	145 150 155 160	
[1352]	Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val	
[1353]	165 170 175	
[1354]	Val His Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser	
[1355]	180 185 190	
[1356]	Gly Ser Asn Ser Gly Thr Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ile Arg Val Glu	
[1357]	195 200 205	
[1358]	Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ile Ser	
[1359]	210 215 220	
[1360]	Glu Glu Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu	
[1361]	225 230 235	
[1362]	<210>	55
[1363]	<211>	242
[1364]	<212>	PRT

[1365]	<213>	人工序列
[1366]	<220>	
[1367]	<223>	合成抗体
[1368]	<400>	55
[1369]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly	
[1370]	1 5 10 15	
[1371]	Pro Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr	
[1372]	20 25 30	
[1373]	Gly Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[1374]	35 40 45	
[1375]	Ser Thr Leu Ser Arg Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val	
[1376]	50 55 60	
[1377]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
[1378]	65 70 75 80	
[1379]	Phe Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1380]	85 90 95	
[1381]	Ala Ser Ile Ala Val Ala Gly Asn Tyr Phe Glu Tyr Trp Gly Gln Gly	
[1382]	100 105 110	
[1383]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly	
[1384]	115 120 125	
[1385]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val	
[1386]	130 135 140	
[1387]	Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser	
[1388]	145 150 155 160	
[1389]	Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Glu Arg Pro Gly Gln Ala	
[1390]	165 170 175	
[1391]	Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro	
[1392]	180 185 190	
[1393]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Ser Thr Ala Thr Leu Thr Ile	
[1394]	195 200 205	
[1395]	Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp	
[1396]	210 215 220	
[1397]	Asp Ser Ile Asn Glu Gln Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr	
[1398]	225 230 235 240	
[1399]	Val Leu	
[1400]	<210>	56
[1401]	<211>	243
[1402]	<212>	PRT
[1403]	<213>	人工序列

[1404]	<220>
[1405]	<223> 合成抗体
[1406]	<400> 56
[1407]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
[1408]	1 5 10 15
[1409]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His
[1410]	20 25 30
[1411]	Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1412]	35 40 45
[1413]	Ala Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1414]	50 55 60
[1415]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[1416]	65 70 75 80
[1417]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys
[1418]	85 90 95
[1419]	Ala Arg Leu Ile Ala Glu Ala Glu Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln
[1420]	100 105 110
[1421]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1422]	115 120 125
[1423]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro Pro Ser
[1424]	130 135 140
[1425]	Val Ser Val Ala Pro Gly Lys Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn
[1426]	145 150 155 160
[1427]	Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
[1428]	165 170 175
[1429]	Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile
[1430]	180 185 190
[1431]	Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr
[1432]	195 200 205
[1433]	Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val
[1434]	210 215 220
[1435]	Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
[1436]	225 230 235 240
[1437]	Thr Val Leu
[1438]	<210> 57
[1439]	<211> 241
[1440]	<212> PRT
[1441]	<213> 人工序列
[1442]	<220>

[1443]	<223>	合成抗体
[1444]	<400>	57
[1445]	Gln Val Gln Leu Leu Gln Ser Ala Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[1446]	1	5 10 15
[1447]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr	
[1448]	20	25 30
[1449]	Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[1450]	35	40 45
[1451]	Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val	
[1452]	50	55 60
[1453]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys Asn Thr Leu Phe	
[1454]	65	70 75 80
[1455]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1456]	85	90 95
[1457]	Ala Lys Asp Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr	
[1458]	100	105 110
[1459]	Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser	
[1460]	115	120 125
[1461]	Gly Gly Gly Gly Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser	
[1462]	130	135 140
[1463]	Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu	
[1464]	145	150 155 160
[1465]	Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro	
[1466]	165	170 175
[1467]	Leu Leu Val Ile Tyr Gly Arg Asn Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp	
[1468]	180	185 190
[1469]	Arg Phe Ser Ala Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr	
[1470]	195	200 205
[1471]	Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp	
[1472]	210	215 220
[1473]	Ser Phe Asn Glu Gln Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val	
[1474]	225	230 235 240
[1475]	Leu	
[1476]	<210>	58
[1477]	<211>	245
[1478]	<212>	PRT
[1479]	<213>	人工序列
[1480]	<220>	
[1481]	<223>	合成抗体

[1482]	<400>	58
[1483]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[1484]	1	5 10 15
[1485]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr	
[1486]	20	25 30
[1487]	Ala Met Ser Trp Val His Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[1488]	35	40 45
[1489]	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	
[1490]	50	55 60
[1491]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr	
[1492]	65	70 75 80
[1493]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1494]	85	90 95
[1495]	Ala Lys Thr Tyr Tyr Gly Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Asp Tyr Leu Gly	
[1496]	100	105 110
[1497]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly	
[1498]	115	120 125
[1499]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro	
[1500]	130	135 140
[1501]	Ala Val Ser Val Gly Leu Gly Gln Thr Val Thr Ile Thr Cys Gln Gly	
[1502]	145	150 155 160
[1503]	Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly	
[1504]	165	170 175
[1505]	Gln Ala Pro Ile Leu Val Ile Tyr Gly Glu Asn Asn Arg Pro Ser Gly	
[1506]	180	185 190
[1507]	Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu	
[1508]	195	200 205
[1509]	Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys His	
[1510]	210	215 220
[1511]	Ser Arg Asp Ser Ser Gly Thr His Leu Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr	
[1512]	225	230 235 240
[1513]	Lys Leu Thr Val Leu	
[1514]	245	
[1515]	<210>	59
[1516]	<211>	244
[1517]	<212>	PRT
[1518]	<213>	人工序列
[1519]	<220>	
[1520]	<223>	合成抗体

[1521]	<400> 59
[1522]	Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr
[1523]	1 5 10 15
[1524]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
[1525]	20 25 30
[1526]	Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1527]	35 40 45
[1528]	Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Val Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
[1529]	50 55 60
[1530]	Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[1531]	65 70 75 80
[1532]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
[1533]	85 90 95
[1534]	Ala Lys Asn Gly Gly Gly Pro Glu Tyr Leu Gln His Trp Gly Gln Gly
[1535]	100 105 110
[1536]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[1537]	115 120 125
[1538]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala
[1539]	130 135 140
[1540]	Ser Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser
[1541]	145 150 155 160
[1542]	Ser Asn Ile Gly Asn Asn Thr Val Asn Trp Ser Arg Gln Leu Pro Gly
[1543]	165 170 175
[1544]	Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly
[1545]	180 185 190
[1546]	Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu
[1547]	195 200 205
[1548]	Ala Ile Thr Gly Leu Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly
[1549]	210 215 220
[1550]	Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys
[1551]	225 230 235 240
[1552]	Leu Thr Val Leu
[1553]	<210> 60
[1554]	<211> 238
[1555]	<212> PRT
[1556]	<213> 人工序列
[1557]	<220>
[1558]	<223> 合成抗体
[1559]	<400> 60

[1560]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Thr Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1561]	1 5 10 15
[1562]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[1563]	20 25 30
[1564]	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
[1565]	35 40 45
[1566]	Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1567]	50 55 60
[1568]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[1569]	65 70 75 80
[1570]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1571]	85 90 95
[1572]	Ala Lys Gly Ala Tyr Ser Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
[1573]	100 105 110
[1574]	Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[1575]	115 120 125
[1576]	Gly Gly Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala
[1577]	130 135 140
[1578]	Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser
[1579]	145 150 155 160
[1580]	Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Ser Leu
[1581]	165 170 175
[1582]	Val Ile Tyr Gly Glu Asn Ser Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
[1583]	180 185 190
[1584]	Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala
[1585]	195 200 205
[1586]	Gln Ala Glu Asn Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser
[1587]	210 215 220
[1588]	Thr Ala Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[1589]	225 230 235
[1590]	<210> 61
[1591]	<211> 238
[1592]	<212> PRT
[1593]	<213> 人工序列
[1594]	<220>
[1595]	<223> 合成抗体
[1596]	<400> 61
[1597]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Thr Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1598]	1 5 10 15

[1599]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
[1600]				20					25					30		
[1601]	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Arg	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[1602]			35					40					45			
[1603]	Ser	Thr	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
[1604]		50					55					60				
[1605]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
[1606]	65					70					75				80	
[1607]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[1608]				85						90				95		
[1609]	Ala	Lys	Gly	Ala	Tyr	Ser	Gly	Ser	His	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
[1610]			100					105						110		
[1611]	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
[1612]			115					120						125		
[1613]	Gly	Gly	Ser	Ser	Ser	Glu	Leu	Thr	Gln	Asp	Pro	Ala	Val	Ser	Val	Ala
[1614]		130					135					140				
[1615]	Leu	Gly	Gln	Thr	Val	Arg	Ile	Thr	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Leu	Arg	Ser
[1616]	145					150					155				160	
[1617]	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Ser	Leu
[1618]				165					170					175		
[1619]	Val	Ile	Tyr	Gly	Glu	Asn	Ser	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe
[1620]			180					185						190		
[1621]	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala
[1622]			195				200						205			
[1623]	Gln	Ala	Glu	Asn	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ala	Trp	Asp	Ser	Ser
[1624]		210				215					220					
[1625]	Thr	Ala	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu		
[1626]	225					230					235					
[1627]	<210>	62														
[1628]	<211>	244														
[1629]	<212>	PRT														
[1630]	<213>	人工序列														
[1631]	<220>															
[1632]	<223>	合成抗体														
[1633]	<400>	62														
[1634]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
[1635]	1			5					10					15		
[1636]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
[1637]			20					25					30			

[1638]	Gly	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
[1639]				35				40					45			
[1640]	Gly	Trp	Ile	Ser	Ala	Tyr	Asn	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Leu
[1641]			50				55					60				
[1642]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
[1643]	65					70					75					80
[1644]	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[1645]					85					90					95	
[1646]	Ala	Arg	Pro	Ile	Tyr	Asp	Ser	Ser	Gly	Tyr	Asp	Ala	Phe	Asp	Ile	Trp
[1647]				100					105						110	
[1648]	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
[1649]				115					120					125		
[1650]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser
[1651]			130					135					140			
[1652]	Pro	Ser	Thr	Leu	Ser	Ala	Ser	Ile	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys
[1653]	145					150					155					160
[1654]	Arg	Ala	Ser	Glu	Gly	Ile	Tyr	His	Trp	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys
[1655]					165					170					175	
[1656]	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Ala	Ser	Ser	Leu	Ala
[1657]				180						185					190	
[1658]	Ser	Gly	Ala	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe
[1659]			195						200					205		
[1660]	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Asp	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr
[1661]			210					215					220			
[1662]	Cys	Gln	Gln	Tyr	His	Thr	Ile	Ser	Arg	Thr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Lys
[1663]	225					230					235					240
[1664]	Val	Asp	Ile	Lys												
[1665]	<210>	63														
[1666]	<211>	244														
[1667]	<212>	PRT														
[1668]	<213>	人工序列														
[1669]	<220>															
[1670]	<223>	合成抗体														
[1671]	<400>	63														
[1672]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly
[1673]	1				5					10				15		
[1674]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
[1675]				20					25				30			
[1676]	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val

[1677]	35	40	45
[1678]	Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[1679]	50	55	60
[1680]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
[1681]	65	70	75
[1682]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		
[1683]	85	90	95
[1684]	Val Arg Pro Ser Asp Ser Gly Trp Ser Phe Glu His Trp Gly Gln Gly		
[1685]	100	105	110
[1686]	Thr Leu Val Pro Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
[1687]	115	120	125
[1688]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala		
[1689]	130	135	140
[1690]	Ser Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser		
[1691]	145	150	155
[1692]	Ser Asn Ile Gly Asn Asn Thr Val Asn Trp Ser Arg Gln Leu Pro Gly		
[1693]	165	170	175
[1694]	Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly		
[1695]	180	185	190
[1696]	Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu		
[1697]	195	200	205
[1698]	Ala Ile Thr Gly Leu Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly		
[1699]	210	215	220
[1700]	Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys		
[1701]	225	230	235
[1702]	Leu Thr Val Leu		
[1703]	<210> 64		
[1704]	<211> 245		
[1705]	<212> PRT		
[1706]	<213> 人工序列		
[1707]	<220>		
[1708]	<223> 合成抗体		
[1709]	<400> 64		
[1710]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[1711]	1	5	10
[1712]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr		
[1713]	20	25	30
[1714]	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[1715]	35	40	45

[1716]	Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1717]	50 55 60
[1718]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[1719]	65 70 75 80
[1720]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1721]	85 90 95
[1722]	Val Arg Gly Asp Arg Ser Tyr Gly Ala Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly
[1723]	100 105 110
[1724]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[1725]	115 120 125
[1726]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro
[1727]	130 135 140
[1728]	Ala Val Ser Val Ala Ser Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly
[1729]	145 150 155 160
[1730]	Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
[1731]	165 170 175
[1732]	Gln Ala Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gly Lys Asn Ile Arg Pro Ser Gly
[1733]	180 185 190
[1734]	Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Thr Ser Gly Asn Ser Ala Ser Leu
[1735]	195 200 205
[1736]	Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn
[1737]	210 215 220
[1738]	Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Arg Asn Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
[1739]	225 230 235 240
[1740]	Lys Leu Thr Val Leu
[1741]	245
[1742]	<210> 65
[1743]	<211> 246
[1744]	<212> PRT
[1745]	<213> 人工序列
[1746]	<220>
[1747]	<223> 合成抗体
[1748]	<400> 65
[1749]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
[1750]	1 5 10 15
[1751]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ser Ser Ser Tyr
[1752]	20 25 30
[1753]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
[1754]	35 40 45

[1755]	Ser	Ala	Ile	Gly	Gly	Asn	Gly	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
[1756]	50						55					60				
[1757]	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu
[1758]	65					70					75				80	
[1759]	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala
[1760]					85					90					95	
[1761]	Lys	Glu	Gly	Glu	Gln	Trp	Leu	Glu	Tyr	Arg	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp
[1762]				100						105				110		
[1763]	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
[1764]				115						120				125		
[1765]	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Ser	Glu	Leu	Thr
[1766]		130					135					140				
[1767]	Gln	Asp	Pro	Ala	Val	Ser	Val	Ala	Leu	Gly	Gln	Thr	Val	Arg	Ile	Thr
[1768]	145					150					155					160
[1769]	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Leu	Arg	Ser	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln
[1770]					165						170				175	
[1771]	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Ser	Leu	Val	Ile	Tyr	Gly	Glu	Asn	Ser	Arg
[1772]				180							185				190	
[1773]	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Gly	Asn	Thr
[1774]			195					200						205		
[1775]	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Ala	Glu	Asn	Glu	Ala	Asp	Tyr
[1776]		210					215					220				
[1777]	Tyr	Cys	Gln	Ala	Trp	Asp	Ser	Ser	Thr	Ala	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly
[1778]	225					230					235					240
[1779]	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu										
[1780]					245											
[1781]	<210>	66														
[1782]	<211>	250														
[1783]	<212>	PRT														
[1784]	<213>	人工序列														
[1785]	<220>															
[1786]	<223>	合成抗体														
[1787]	<400>	66														
[1788]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
[1789]	1				5					10				15		
[1790]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Thr	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
[1791]				20					25					30		
[1792]	Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[1793]			35					40					45			

[1794]	Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[1795]	50 55 60
[1796]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[1797]	65 70 75 80
[1798]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1799]	85 90 95
[1800]	Ala Arg Gly Gly Arg Tyr Ser Ser Asn Trp Phe Ser Tyr Tyr Tyr Tyr
[1801]	100 105 110
[1802]	Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly
[1803]	115 120 125
[1804]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Phe
[1805]	130 135 140
[1806]	Met Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys Thr Ala
[1807]	145 150 155 160
[1808]	Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val Tyr Trp
[1809]	165 170 175
[1810]	Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp
[1811]	180 185 190
[1812]	Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser
[1813]	195 200 205
[1814]	Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu
[1815]	210 215 220
[1816]	Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val
[1817]	225 230 235 240
[1818]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
[1819]	245 250
[1820]	<210> 67
[1821]	<211> 10
[1822]	<212> PRT
[1823]	<213> 人工序列
[1824]	<220>
[1825]	<223> 合成肽连接子
[1826]	<400> 67
[1827]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[1828]	1 5 10
[1829]	<210> 68
[1830]	<211> 5
[1831]	<212> PRT
[1832]	<213> 人工序列

[1833]	<220>
[1834]	<223> 合成肽连接子
[1835]	<400> 68
[1836]	Gly Gly Gly Gly Ser
[1837]	1 5
[1838]	<210> 69
[1839]	<211> 20
[1840]	<212> PRT
[1841]	<213> 人工序列
[1842]	<220>
[1843]	<223> 合成肽连接子
[1844]	<400> 69
[1845]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
[1846]	1 5 10 15
[1847]	Gly Gly Gly Ser
[1848]	20
[1849]	<210> 70
[1850]	<211> 6
[1851]	<212> PRT
[1852]	<213> 人工序列
[1853]	<220>
[1854]	<223> 合成肽连接子
[1855]	<400> 70
[1856]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[1857]	1 5
[1858]	<210> 71
[1859]	<211> 4
[1860]	<212> PRT
[1861]	<213> 人工序列
[1862]	<220>
[1863]	<223> 合成肽连接子
[1864]	<400> 71
[1865]	Gly Gly Gly Ser
[1866]	1
[1867]	<210> 72
[1868]	<211> 4
[1869]	<212> PRT
[1870]	<213> 人工序列
[1871]	<220>

[1872]	<223>	合成肽连接子
[1873]	<400>	72
[1874]	Val Pro Gly Val	
[1875]	1	
[1876]	<210>	73
[1877]	<211>	5
[1878]	<212>	PRT
[1879]	<213>	人工序列
[1880]	<220>	
[1881]	<223>	合成肽连接子
[1882]	<400>	73
[1883]	Val Pro Gly Val Gly	
[1884]	1	5
[1885]	<210>	74
[1886]	<211>	6
[1887]	<212>	PRT
[1888]	<213>	人工序列
[1889]	<220>	
[1890]	<223>	合成肽连接子
[1891]	<400>	74
[1892]	Gly Val Pro Gly Val Gly	
[1893]	1	5
[1894]	<210>	75
[1895]	<211>	8
[1896]	<212>	PRT
[1897]	<213>	人工序列
[1898]	<220>	
[1899]	<223>	合成肽连接子
[1900]	<400>	75
[1901]	Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly	
[1902]	1	5
[1903]	<210>	76
[1904]	<211>	10
[1905]	<212>	PRT
[1906]	<213>	人工序列
[1907]	<220>	
[1908]	<223>	合成肽连接子
[1909]	<400>	76
[1910]	Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly	

[1911]	1	5	10
[1912]	<210> 77		
[1913]	<211> 7		
[1914]	<212> PRT		
[1915]	<213> 人工序列		
[1916]	<220>		
[1917]	<223> 合成肽连接子		
[1918]	<400> 77		
[1919]	Gly Gly Ser Ser Arg Ser Ser		
[1920]	1	5	
[1921]	<210> 78		
[1922]	<211> 18		
[1923]	<212> PRT		
[1924]	<213> 人工序列		
[1925]	<220>		
[1926]	<223> 合成肽连接子		
[1927]	<400> 78		
[1928]	Gly Gly Ser Ser Arg Ser Ser Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
[1929]	1	5	10 15
[1930]	Gly Gly		

VH	框架1	CDR1	框架2	CDR2	框架3	CDR3	框架4
YS5	QVQLVQSG GGVVQPGR SLRLACAA S	GLTV NNYA	MHWVRQA PGKGLEW VAV	ISY DGN NK	YYADSVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYC	AKGGGYF DL	WGRGTLVTV SS
YS5F	QVQLVQSG GGVVQPGR SLRLACAA S	GFTV NNYA	MHWVRQA PGKGLEW VAV	ISY DGN NK	YYADSVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYC	AKGGGYF DL	WGRGTLVTV SS
YS5vID	QVQLVQSG GGVVQPGR SLRLACAA S	GFTV NNYA	MHWVRQA PGKGLEW VAV	ISY DGN NK	YYADSVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYC	AKGGGYF DL	WGRGTLVTV SS
SB1HGN Y	QVQLQQSG GGVVQPGR SLRLSCAA S	GFTF SSYA	MHWVRQA PGKGLEW VAF	IRS DGS KK	YYADSVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYC	ARHGNYF DS	WGQGTTLVTV SS
YS12	QVQLVESG GGVVQPGR SLRLSCAA S	GFTF STYG	MHWVRQA PGKGLEW LSF	ISY DGD EK	YYADSVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYWC	AKASGYG MGILDY	WGQGTTLVTV SS
3G7RY 也称为 3G8	EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCAA S	GFTF SDYY	MSWIRQA PGKGLEW VSY	ISS SGS TI	YYADSVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYC	ARDYGRI AAAGRRY	WGQGTTLVTV SS
YS6	QVQLQESG GGVVRPGR SLRLSCAA S	GFTF SDYY	MSWIRQA PGKGLEW VSY	ISS SGS TI	YYADSVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYC	ARDYGRI AAAGRHY	WGQGTTLVTV SS
YS1	EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCAA S	GFTF SDYY	MSWIRQA PGKGLEW VSY	ISS SGS TI	YYADSVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYC	ARDYGRI AAAGRHY	WGQGTTLVTV SS

图1A

VH	框架1	CDR1	框架2	CDR2	框架3	CDR3	框架4
YS3	QVQLQESG GGLVQPGG SLRLSCAA S	GFTF SSYW	MSWVRQA PGKGLEW VAD	IKQ DGS EK	YYVDSVKGRF TISGDNAKNS LYLQMNSLRA EDTAVYYC	AKDVGST AINYVRA YTWFD	WGQGTTLVTV SS
YS4	QVQLQESG GGLVQPGG SLRLSCAA S	GFTF SNYA	MSWVRQA PGKGLEW VST	ISG SGS ST	FYVDSVKGRF TISRDNKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYC	AQGLYSS GWANWFD P	RGQGTTLVTV SS
YS8	QVQLQESG GGVVQPGG SLRLSCAA S	GFTF SSYG	MHWVRQA PGKGLEW VAV	ISY DGS NK	YYADSVKGRF TISRDNKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYC	AKVMGLA AAGLDAF DI	WGQGTTLVTV SS
YS7	QVQLVQSG GGVVQPGG SLRLSCAA S	GFTF SSYA	MHWVRQA PGKGLEW VAV	ISY DGS NK	YYADSVKGRF TISRDTSTNT LYLQMNSLRA DDTAVYYC	GRESSGS PGV	WGQGTTLVTV SS
YS9	QVQLVESG GGLIQPGG SLRLSCAA S	GFTV SSNY	MSWVRQA PGKGLEW VSV	IYT DGS T	YYADSVKGRF TISRDNKNT LYLQMNSLRA EDTAIYYC	ARDRGTS GYDWAF DL	WGQGTTLVTV SS
YS10	QVQLQESG GGLVQPGG SLRLSCAA S	GFTF SSYA	MSWVRQA PGKGLEW VSA	ISG SGG ST	YYADSVKGRF TISRDNKNT LYMQMNSLRA EDTAVYYC	AKDRYYY GSGKDAF DI	WGRGTMVTV SS
YS11	QVQLVESG GGLVQPGG SLGLSCAA S	GFTF SNYW	MSWVRQA PGKGLEW VAN	VRQ DGG QK	YYVDSVKGRF TISRDNKNS LYLQMNSLRT EDTAVYFC	VSQRNSG EHDY	WGQGTTLVTV SS

图1A续

VH	框架1	CDR1	框架2	CDR2	框架3	CDR3	框架4
3G7HY	EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCAA S	GFTF SDYY	MSWIRQA PGKGLEW VSY	ISS SGS TI	YYADSVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYC	ARDYGRI AAAGRHY	WGQGTLVTV SS
3G7NY	EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCAA S	GFTF SDYY	MSWIRQA PGKGLEW VSY	ISS SGS TI	YYADSVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYC	ARDYGRI AAAGRNY	WGQGTLVTV SS
3G7	QVQLQESG GGVVRPGG SLRLSCAA S	GFTF SDYY	MSWIRQA PGKGLEW VSY	ISS SGS TI	YYADSVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYC	ARDYGRI AAAGRHY	WGQGTLVTV SS
SB2	EVQLVESG GGLVKPGG SLRLSCAA S	GFTF SDYY	MSWIRQA PGKGLEW VSY	ISS SGS SI	YYADSVKGRF TISRDN AKNS LYLQMNSLKA EDTAVYYC	ARDITDV VGVSFDY	WGQGTLVTV SS
2C8	EVQLVESG GGVVQPGR SLRLSCAA S	GFTF SSYG	MHWVRQA PGKGLEW VAV	ISY DGS NK	YYADSVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAEYYC	AKVMGLA AAGLDAF DI	WGQGTLVTV SS
UA8κ	EVQLVESG GGVVQPGR SLRLSCAA S	GFTF SSFG	MHWVRRA PGKGLEW VAV	ISY DGS NQ	YYADSVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYC	GSRPGGG YASGSTV AY	WGQGTLVTV SS

图1A续

VL	框架1	CDR1	框架2	CDR2	框架3	CDR3	框架4
YS5	QSVLTQPP SVSGAPGQ RVTISCTG S	SSNI GAGY D	VHWYQQL PGTAPKL LIY	GNN	NRPSGVPDR FSGSKSGTS ASLAITGLQ AEDEADYYC	SSYTSGTW L	FGGGTKLTV L
YS5F	QSVLTQPP SVSGAPGQ RVTISCTG S	SSNI GAGY D	VHWYQQL PGTAPKL LIY	GNN	NRPSGVPDR FSGSKSGTS ASLAITGLQ AEDEADYYC	SSYTSGTW L	FGGGTKLTV L
YS5vID	QSVLTQPP SVSGAPGQ RVTISCTG S	SSNI GAGY D	VHWYQQL PGTAPKL LIY	GDN	NRPSGVPDR FSGSKSGTS ASLAITGLQ AEDEADYYC	SSYTSGTW L	FGGGTKLTV L
SB1HGN Y	DIQMTQSP SFLSASVG DRVITICR AS	QGIS SY	LAWYQQK PGKAPKL LIY	AAS	TLQSGVPSS FSGSGSGTE FTLTISLQ PEDFATYYC	QQLASYP L	FGGGTKVDI K
YS12	SSELTQDP AVSVALGQ TVRITCQG D	SLRS YY	VSWFQQK PGQAPVF VMY	GQN	NRPSGISER FSGSSSGNT ASLIITGAQ AEDEADYYC	HSRDSSGT HLRV	FGGGTKLTV L
3G7RY 也称为 3G8	QSALTQPP SASATPGQ RVTISCSG R	TSNI GSNH	VYWYQQL PGTAPKL LIY	RNN	QRPSGVPDR FSGSKSGTS ASLAISGLR SEDEADYYC	ATWDDSL GEV	FGGGTKLTV L
YS6	SSELTQDP AVSVALGQ TVRITCQG D	SLRS YY	ASWYQQK PGQAPVL VIY	GKN	NRPSGIPDR FSGSSSGNT ASLTITGAQ AEDEADYYC	NSRDSSGT HLEV	FGGGTKVTV L
YS1	SSELTQDP AVSVALGQ TVRITCQG D	TLST YY	ANWYQQK PGQAPVL VIY	GKN	NRPSGIPDR FSGSSSGNT ASLTITGAQ AEDEADYYC	HSRDISGN YL	FASGTKLTV L

图1B

VL	框架1	CDR1	框架2	CDR2	框架3	CDR3	框架4
YS3	QSVLTQPP SASGTPGQ RVTISCSG S	SSNI GSNT	VNWSRQL PGTAPKL LIY	SNN	QRPSGVPDR FSGSKSGTS ASLAISGLQ SEDEADYYC	AAWDDSLN VYV	FGTGTKVTV L
YS4	KIVLTQSP SSLASAVG DTVTIACR AS	RDIR ND	LAWYQQK PGKAPKL LIY	GAS	SLQSGVPSR FSGSGSGTE FILTISSLQ PEDFATYYC	HRLNSYPL T FGGGTKVD IK	
YS8	NFMLTQPA SLSGSPGQ SITISCTG T	SSDV GGYN Y	VSWYQQH PGYAPKL MIY	DVS	NRPSGVSNR FSGSKSGNT ASLTISGLQ AEDEADYYC	SSYTSSST PWV	FGGGTKLTV L
YS7	SYVLTQDP AVSVALGQ TVRITCQG D	SLRS YY	ASWYQQK PGQAPVL VIY	GKN	NRPSGIPDR FSGSSSGNT ASLTITGAQ AEDEADYYC	NSRDSSGN Q	FGGGTKLTV L
YS9	SSELTQDP AVSVALGQ TVRITCQG D	SLRT YY	ASWYQQR PGQAPIL VLY	GKN	NRPSGIPDR FSGSSSGNT ASLTITGAQ AEDEADYYC	NSRDSSGN HVV	FGGGTKLTV L
YS10	QSVLTQPA SVSGSPGQ SITISCTG T	GSDV GSYN Y	VSWYQQN PGKAPKL MIY	EVS	NRPSGVSNR FSGSKSGNT ASLTISGLQ AEDEADYYC	SSYTSSST LV	FGGGTKVTV L
YS11	SELTQDPA VSVALGQT VRITCQGD	SLRS YY	ASWYQQK PGQAPVL VIY	GEN	SRPSGIPDR FSGSSSGNT ASLTITGAQ AEDEADYYC	NSWDSSGN HVV	FGGGTKLTV L
3G7HY	AIRMTQSP SSLASAVG DRVITICR AS	QSI SY	LNWYQQK PGKAPKL LIY	AAS	SLQSGVPSR FSGSGSGTD FTLTISGLQ PEDFATYYC	QQSYSTPR T	FGQGTKLEI K

图1B续

VL	框架1	CDR1	框架2	CDR2	框架3	CDR3	框架4
3G7NY	DIVMTQSP LSLPVTPG EPASISCR SS	QSL HSNG YDY	LDWYLQK PGQSPQL LIY	LGS	NRASGVDPDR FSGSGSGTD FTLKISRVE TEDVGIYYC	MQGLQTPS	FGQGTKLEI K
3G7	SSELTQDP AVSVALGQ TVRITCQG D	SLRS YY	ASWYQQK PGQAPVP VIY	GKN	NRPSGIPDR FSGSSSGNT ASLTITGAQ AEDEADYYC	NSRDSSST HRGV	FGGGTKLTV L
SB2	DIQLTQSP SSLSASVG DRVTITCR AS	RSIS TY	LSWYQQK PGKAPKL LIY	DAS	RLQNGVPSR FSGSGSDTD FTLTISLQ PEDFATYFC	QQSYNPPW T	FGQGTKLEI K
2C8	QSALTQPA SVSGSPGQ SITISCTG T	SSDV GGYN Y	VSWYQQH PGKAPKL MIY	DVS	NRPSGVSNR FSGSKSGNT ASLTISGLQ AEDEAYYYC	SSYTSSSD PWV	FGGGTQLTV L
UA8κ	NIQMTQSP SSLSASVG DRVTITCR AG	QPIS TY	VNWXQHK PGKAPKL LIY	GAS	NLQSGVPSR FSGGGSATD FTLTISLQ PEDFATYYC	QQSYSSLL T FGDGTKVE IK	

图1B续

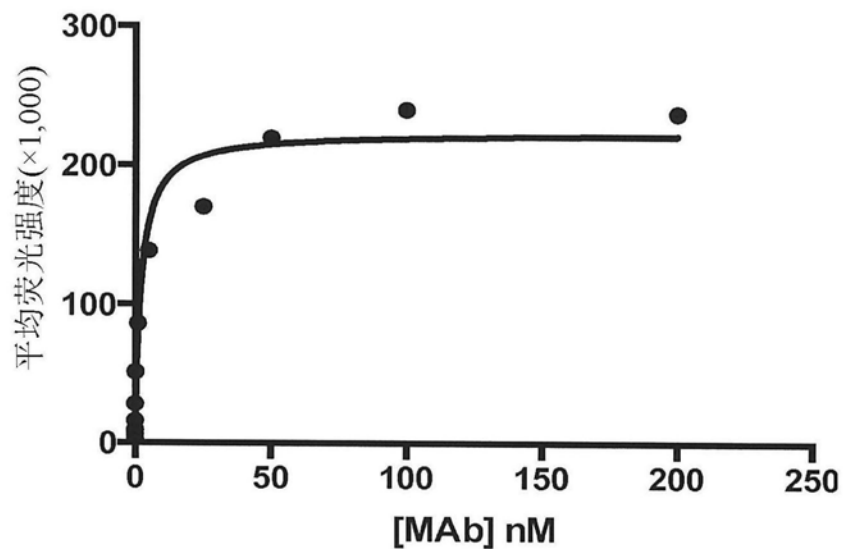


图2

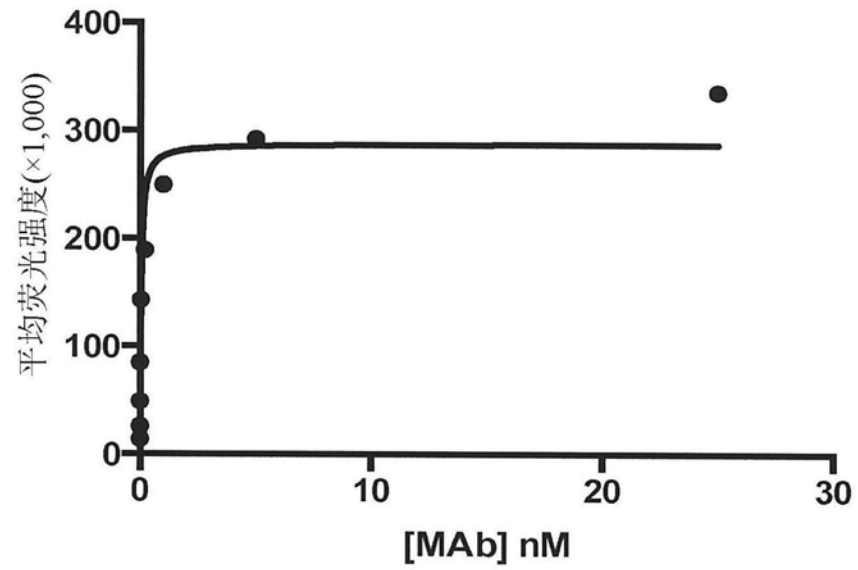


图3

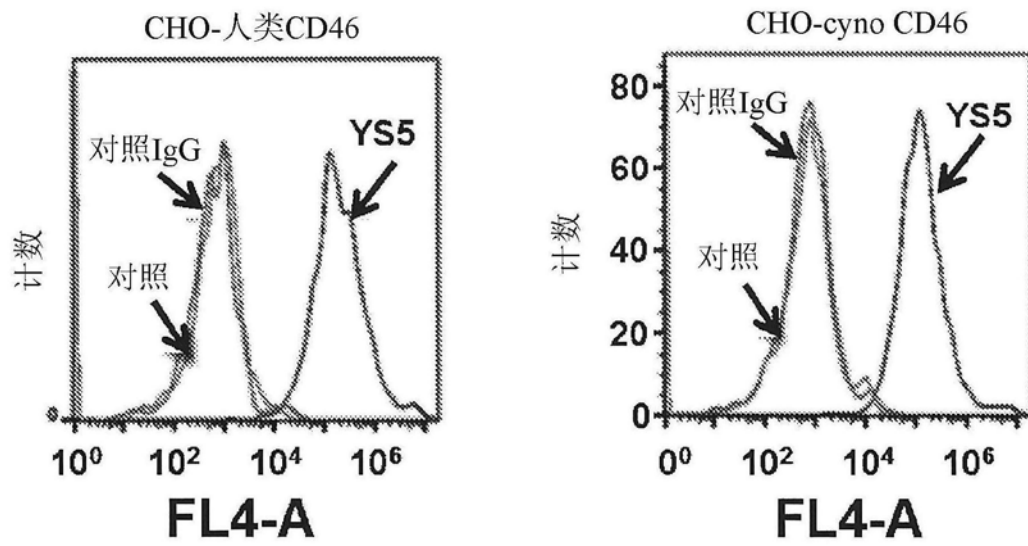


图4

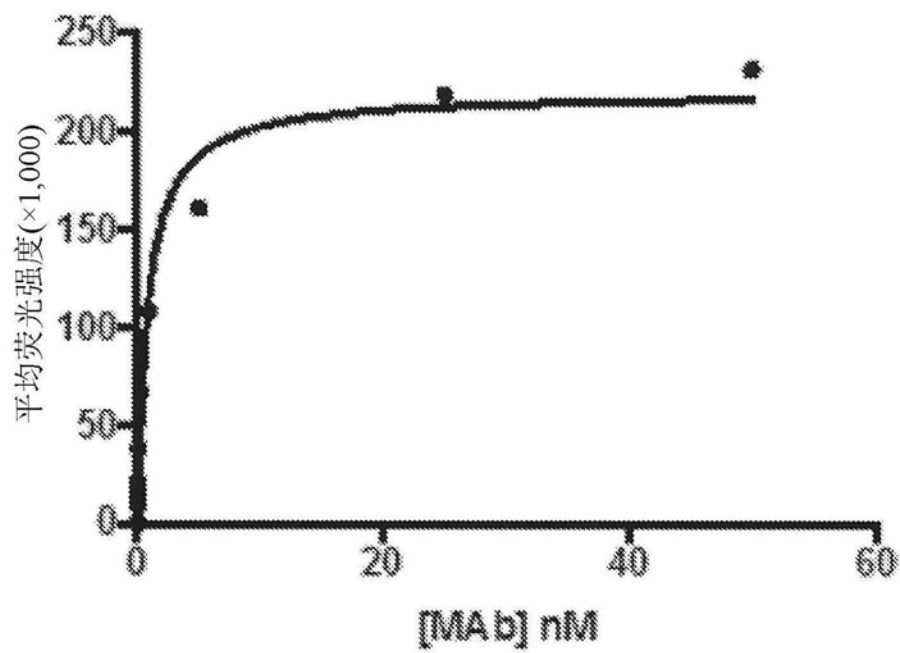


图5

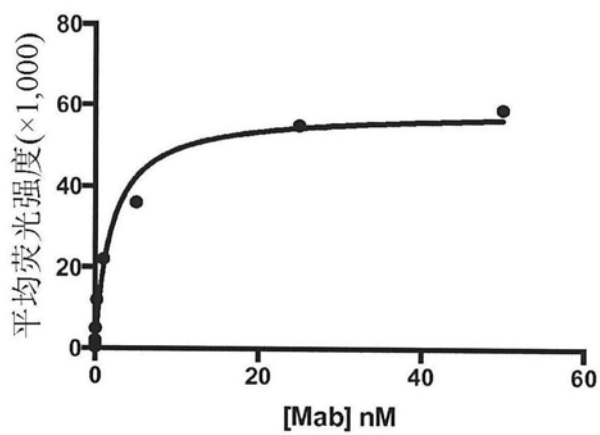


图6

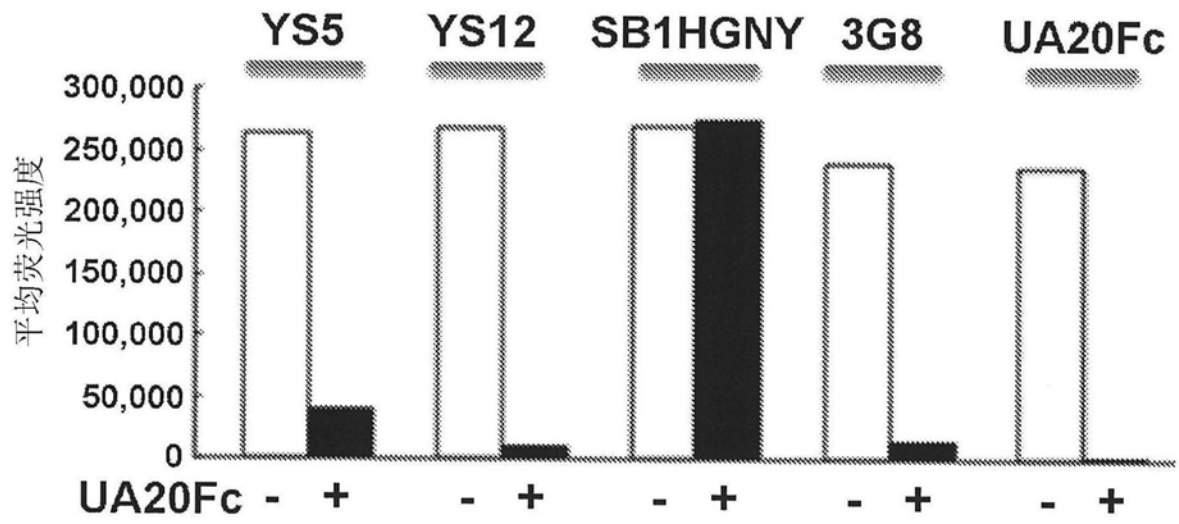


图7

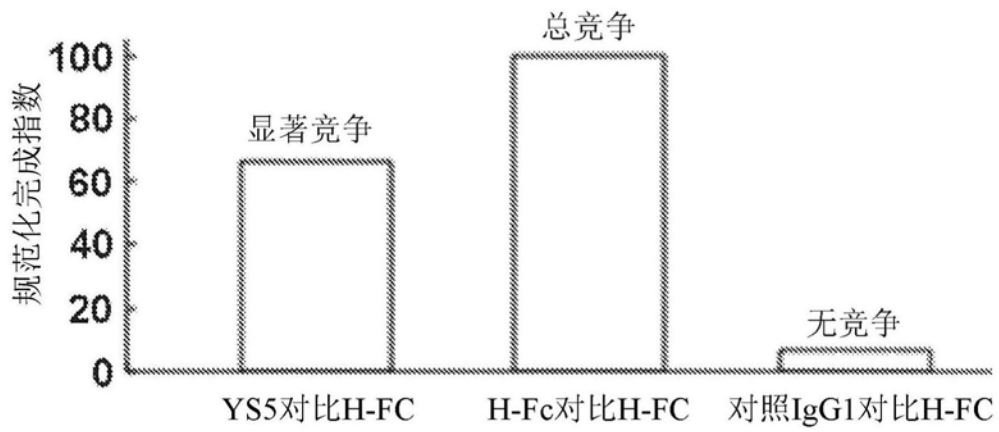


图8

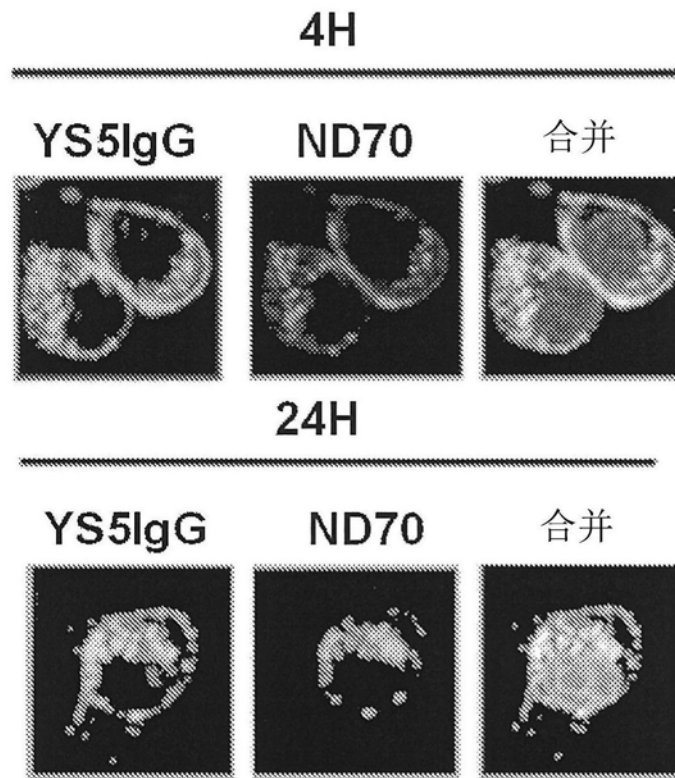


图9

器官	类型	染色	器官	类型	染色
淋巴结	正常		卵巢	正常	
淋巴结	正常		卵巢	正常	
淋巴结	正常		卵巢	正常	
骨骼肌	正常		胰脏	正常	
骨骼肌	正常		胰脏	正常	
骨骼肌	正常		胰脏	正常	
前列腺	正常		唾液腺	正常	
前列腺	正常		唾液腺	正常	
前列腺	正常		唾液腺	正常	
肾脏	正常		脑垂体	正常	
肾脏	正常		脑垂体	正常	
肾脏	正常		脑垂体	正常	
肝脏	正常		胎盘	正常	
肝脏	正常		胎盘	正常	
肝脏	正常		胎盘	正常	
肺	正常		前列腺	正常	
肺	正常		前列腺	正常	
肺	正常		前列腺	正常	
胃	正常		皮肤	正常	
胃	正常		皮肤	正常	
胃	正常		皮肤	正常	
食道	正常		脊髓	正常	
食道	正常		脊髓	正常	
食道	正常		脊髓	正常	
心脏	正常		脾脏	正常	
心脏	正常		脾脏	正常	
心脏	正常		脾脏	正常	
结肠	正常		骨骼肌	正常	
结肠	正常		骨骼肌	正常	
结肠	正常		骨骼肌	正常	
小肠	正常		睾丸	正常	
小肠	正常		睾丸	正常	
小肠	正常		睾丸	正常	
外周神经	正常		胸腺	正常	
外周神经	正常		胸腺	正常	
外周神经	正常		胸腺	正常	
平滑肌	正常		甲状腺	正常	
平滑肌	正常		甲状腺	正常	
平滑肌	正常		甲状腺	正常	
小脑	正常		输尿管	正常	
小脑	正常		输尿管	正常	
小脑	正常		输尿管	正常	
大脑	正常		子宫颈	正常	
大脑	正常		子宫颈	正常	
大脑	正常		子宫颈	正常	

图10

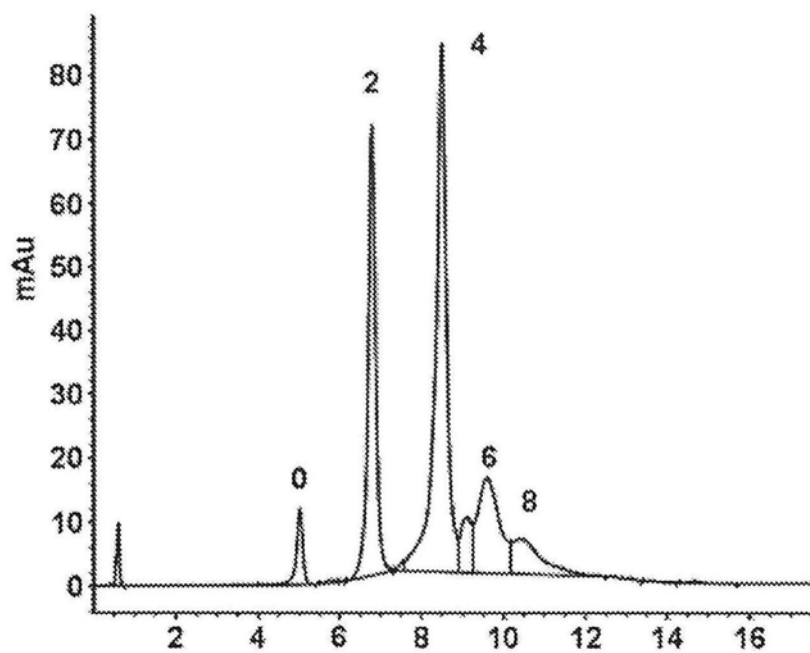


图11

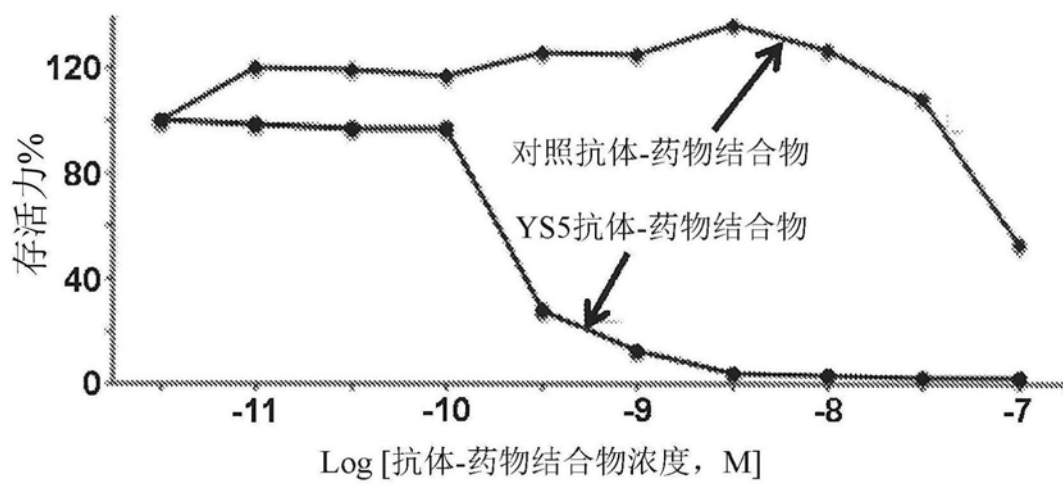


图12

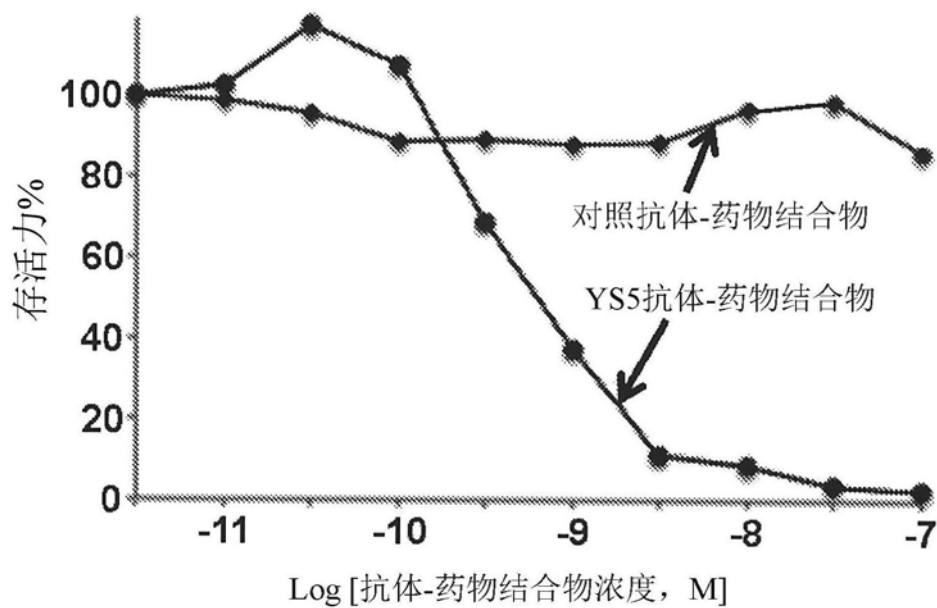


图13

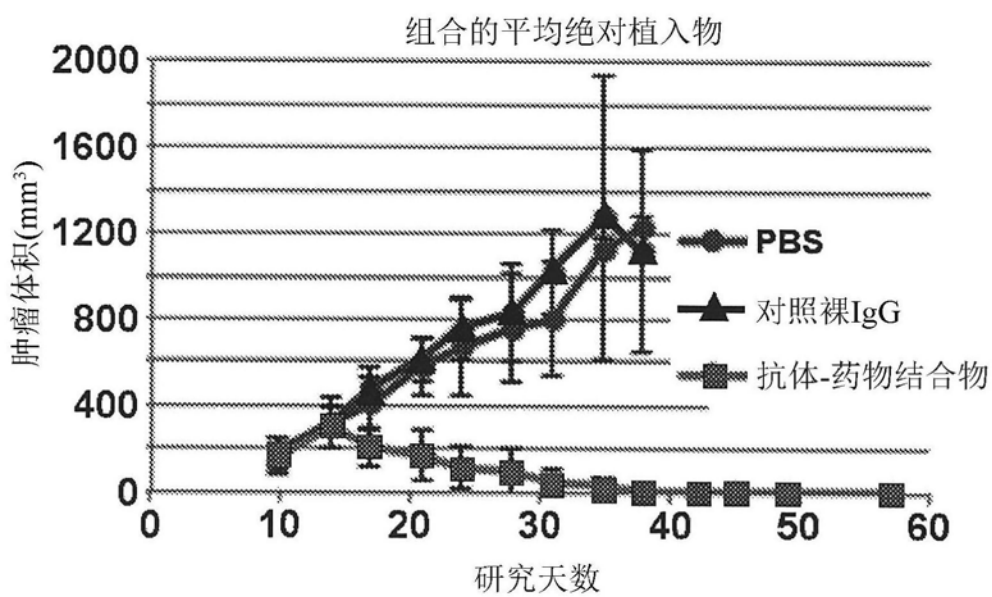


图14

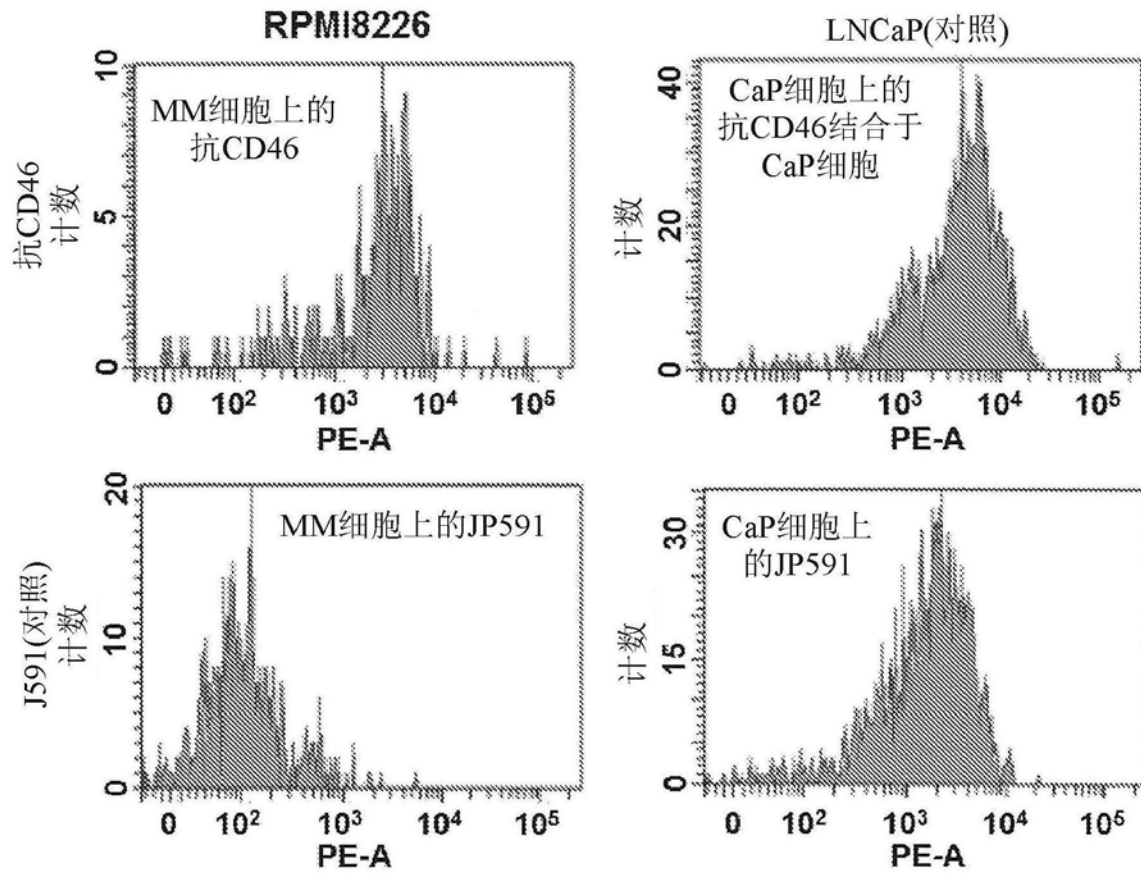


图15

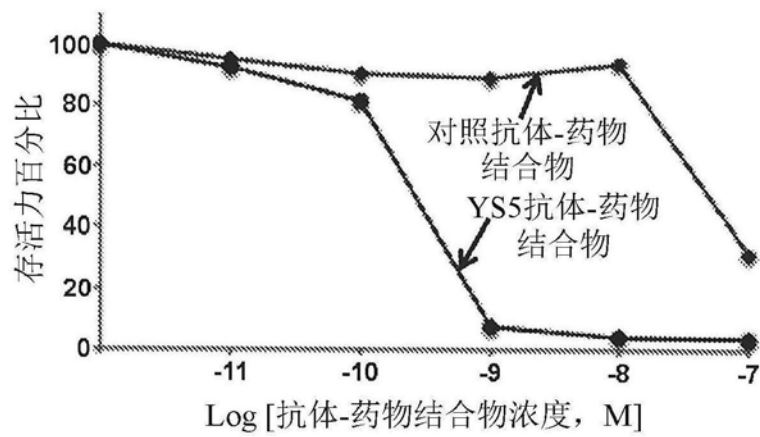


图16

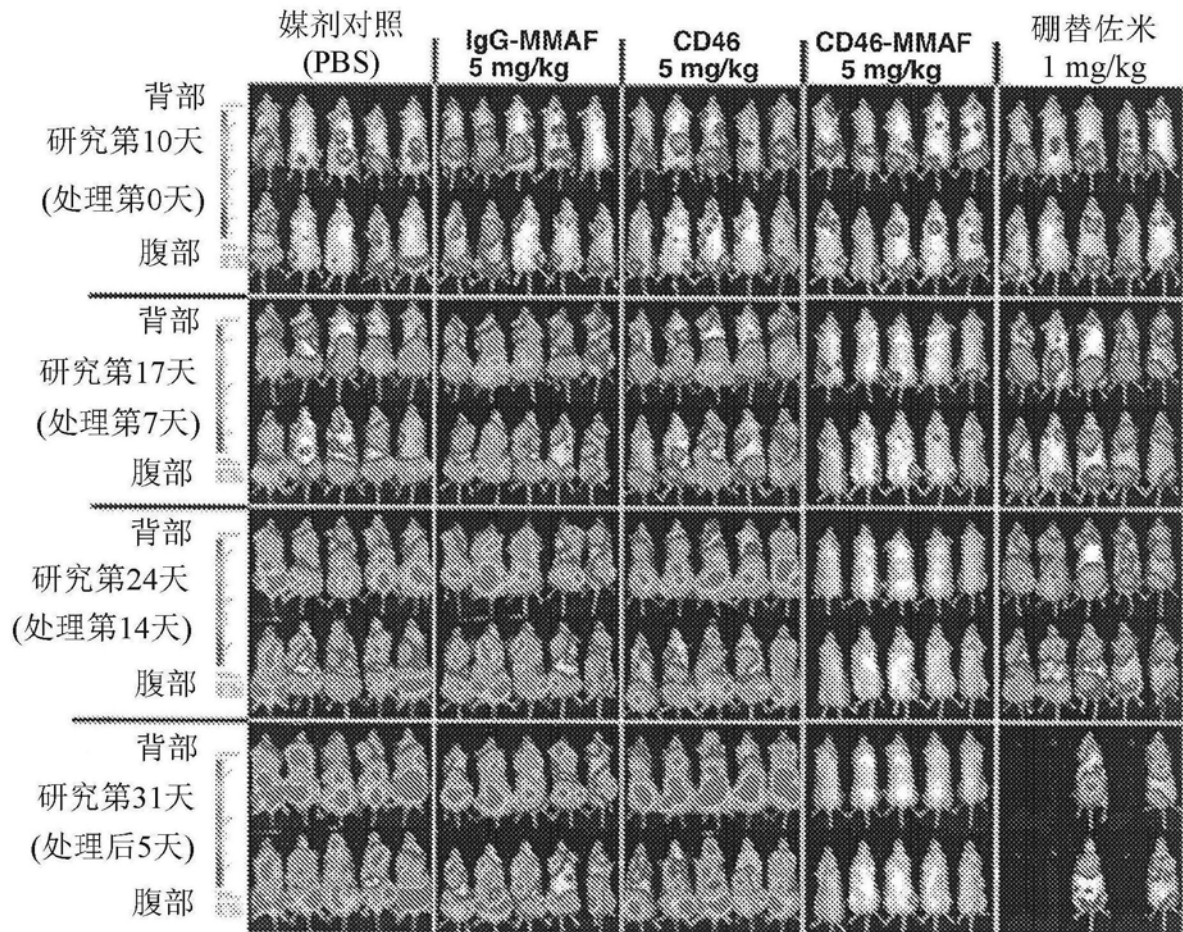


图17

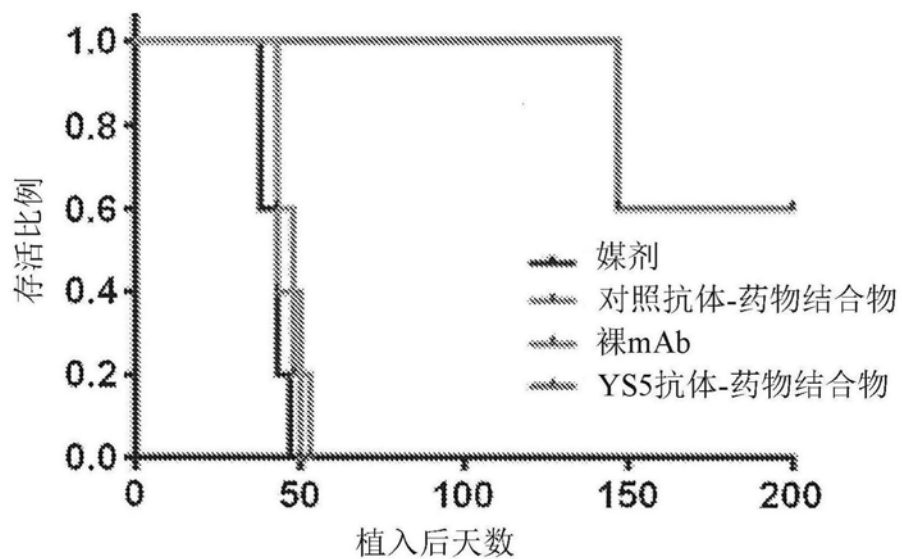


图18

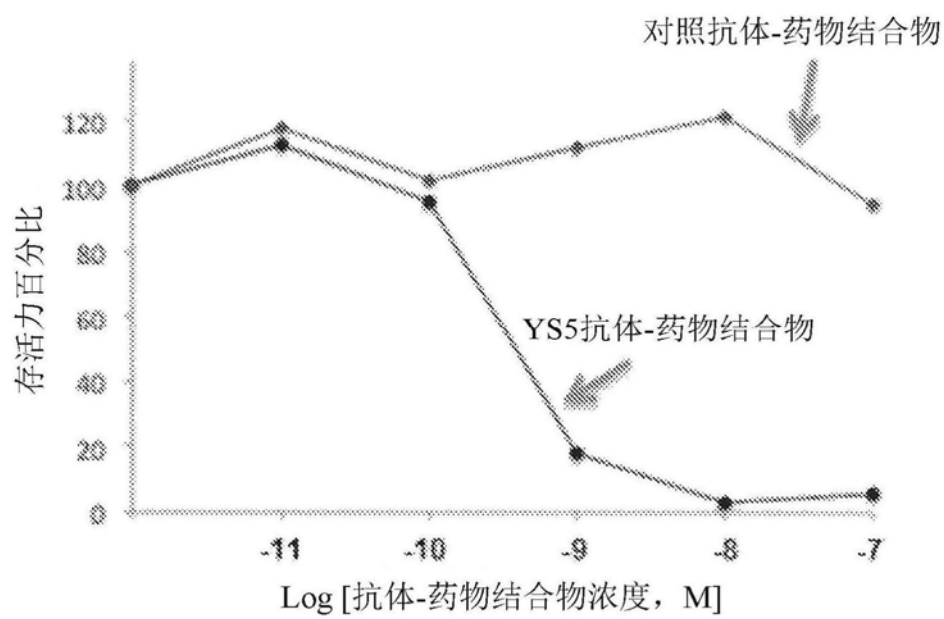


图19

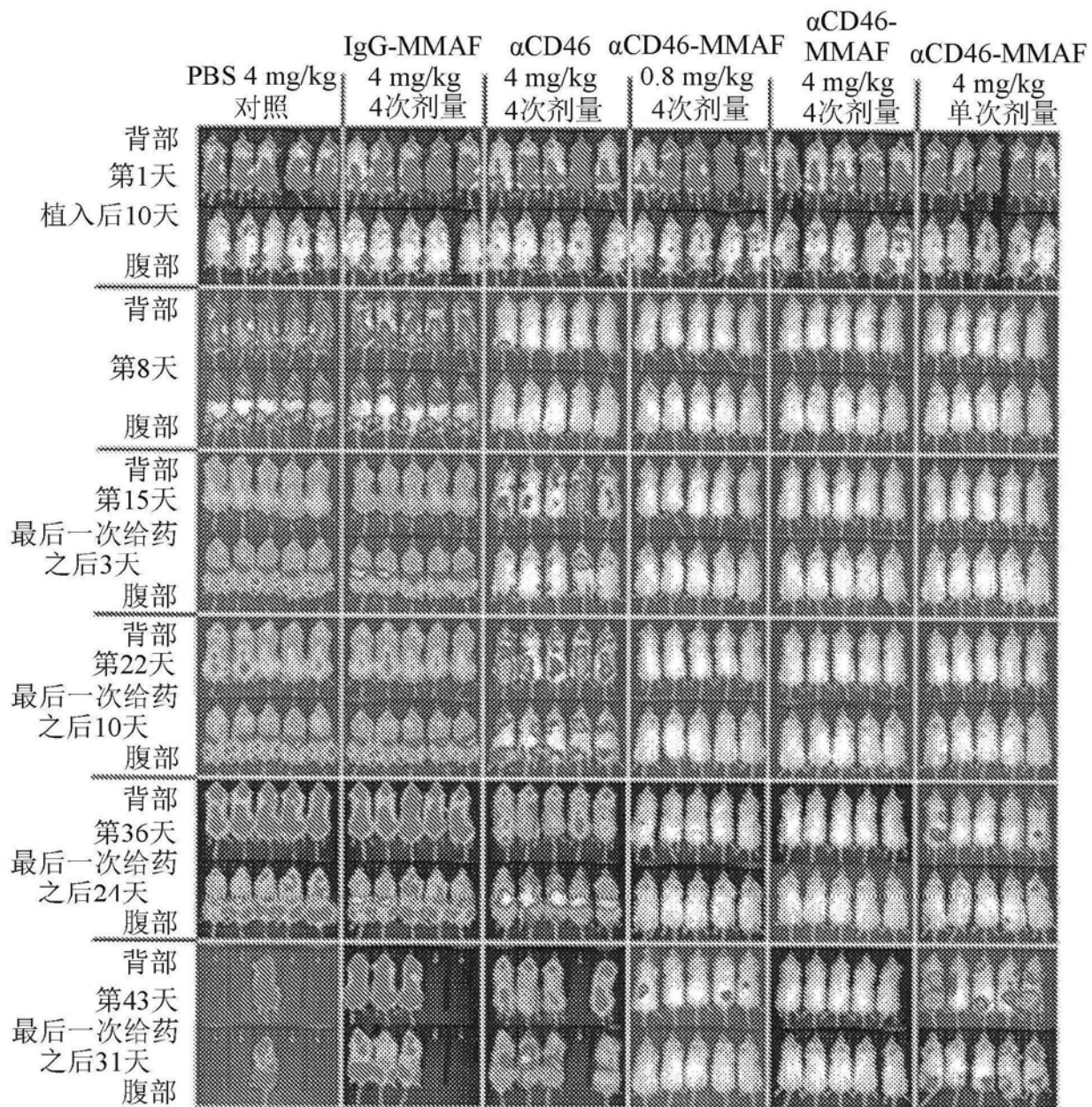


图20

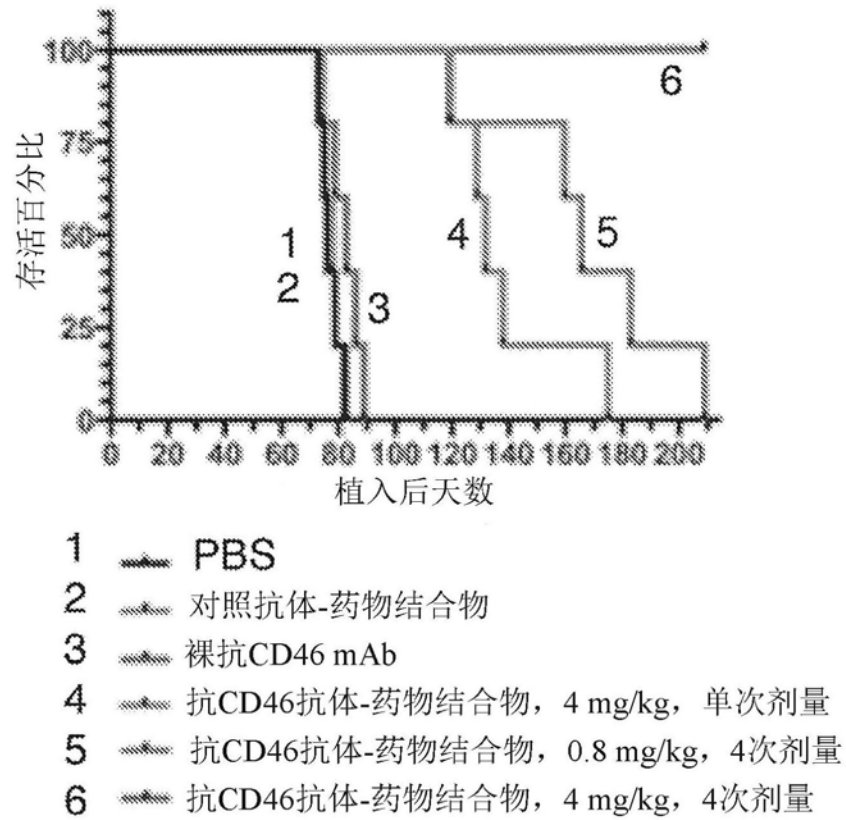


图21

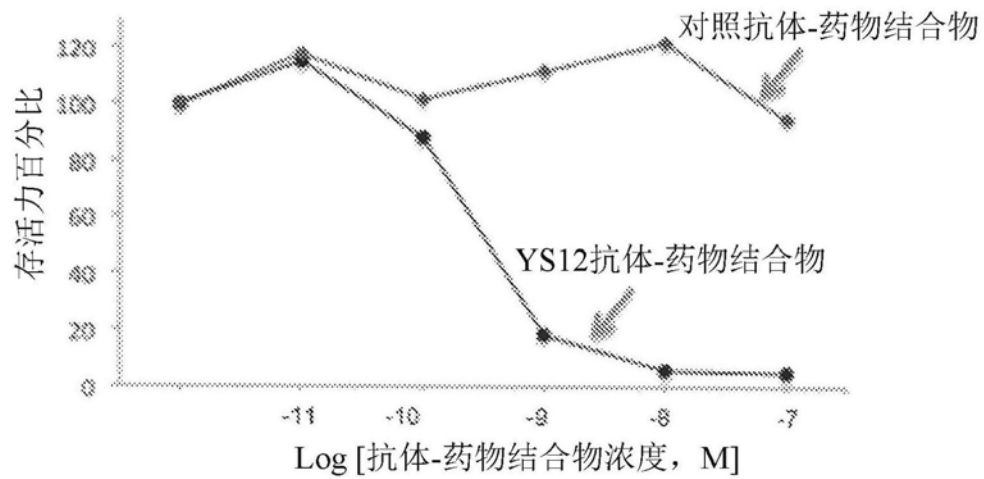


图22

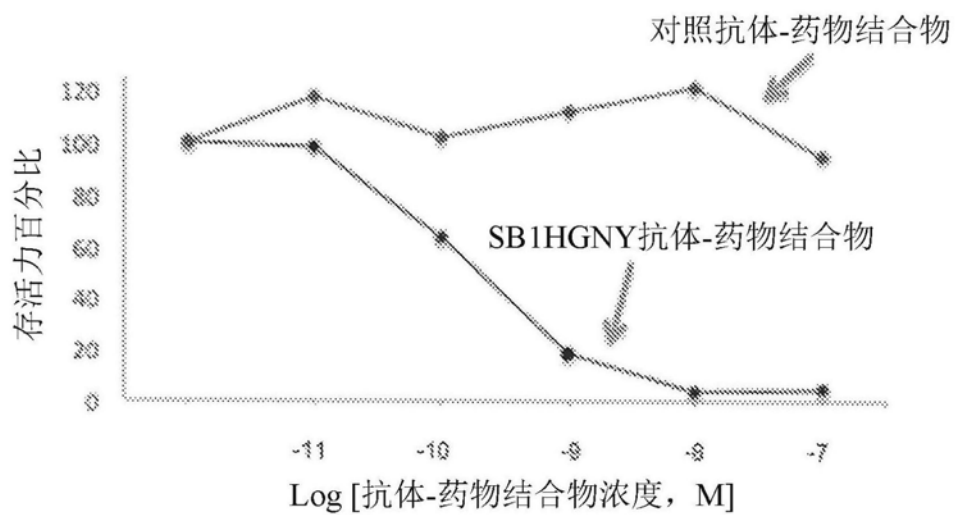


图23

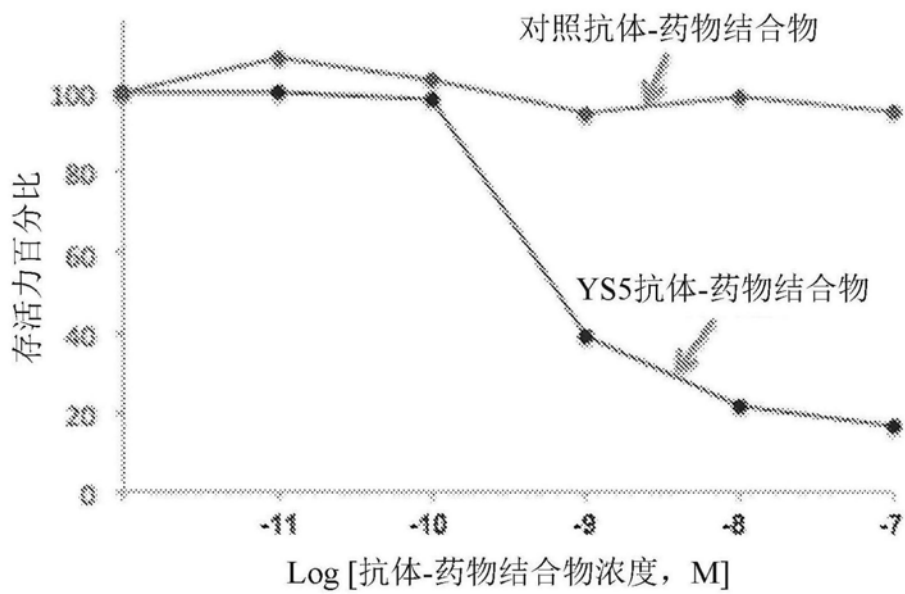


图24

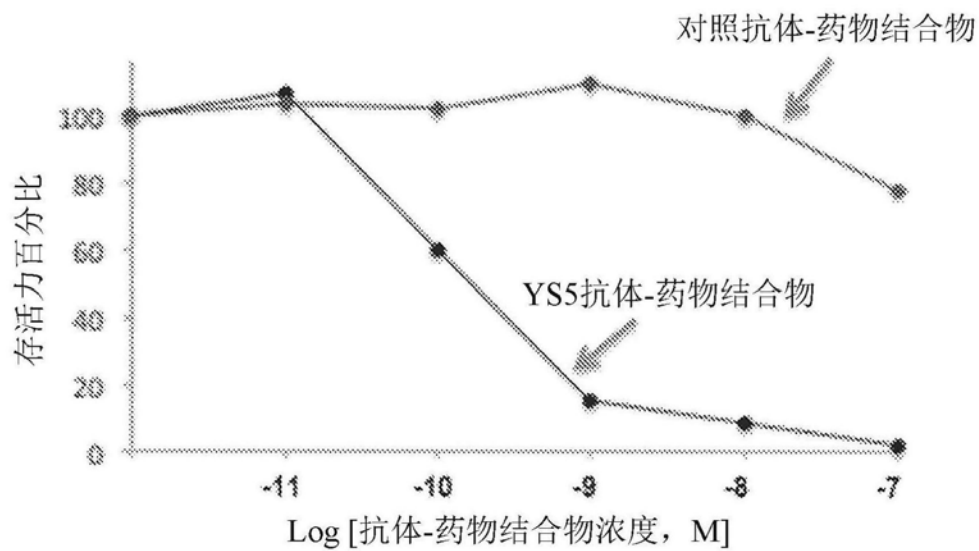


图25

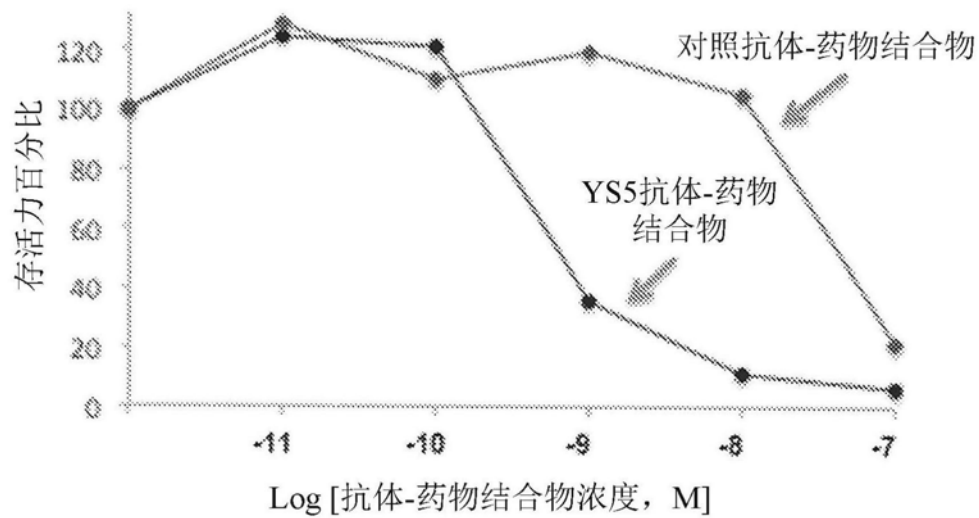


图26

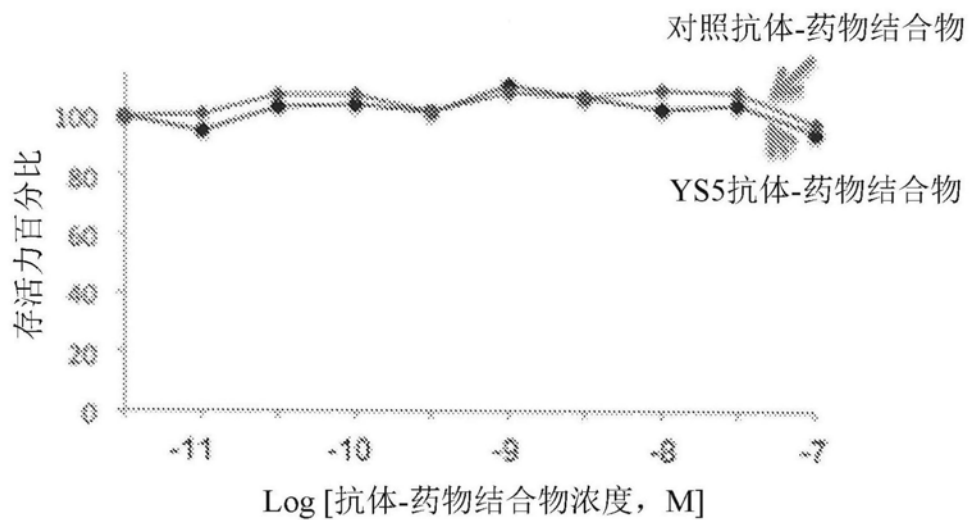


图27

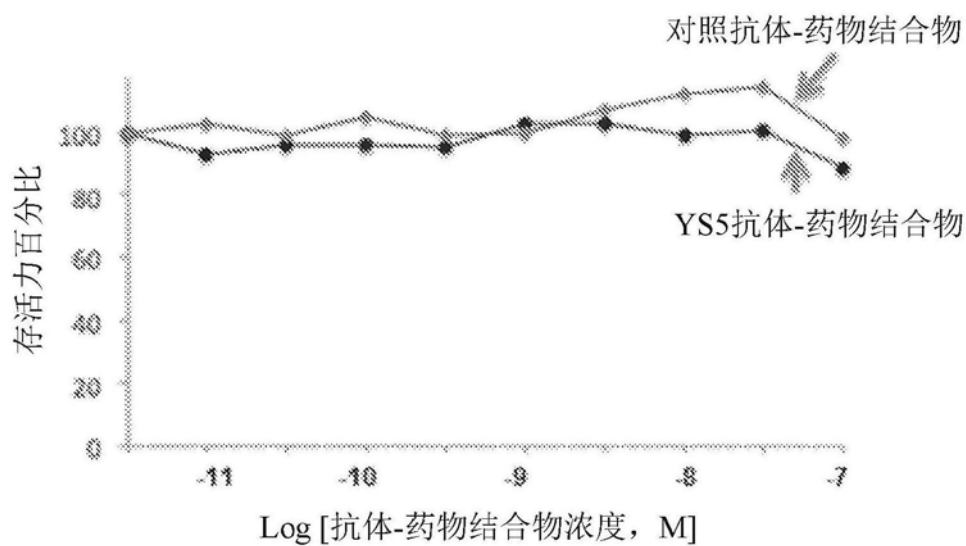


图28

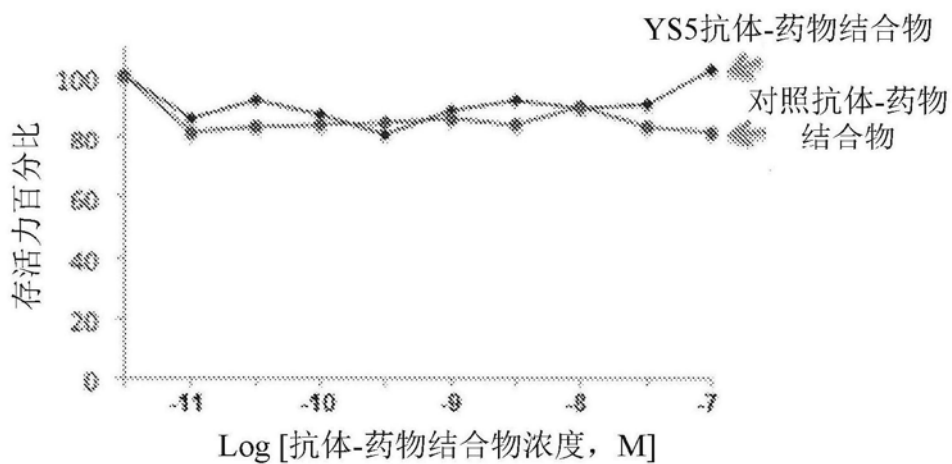


图29

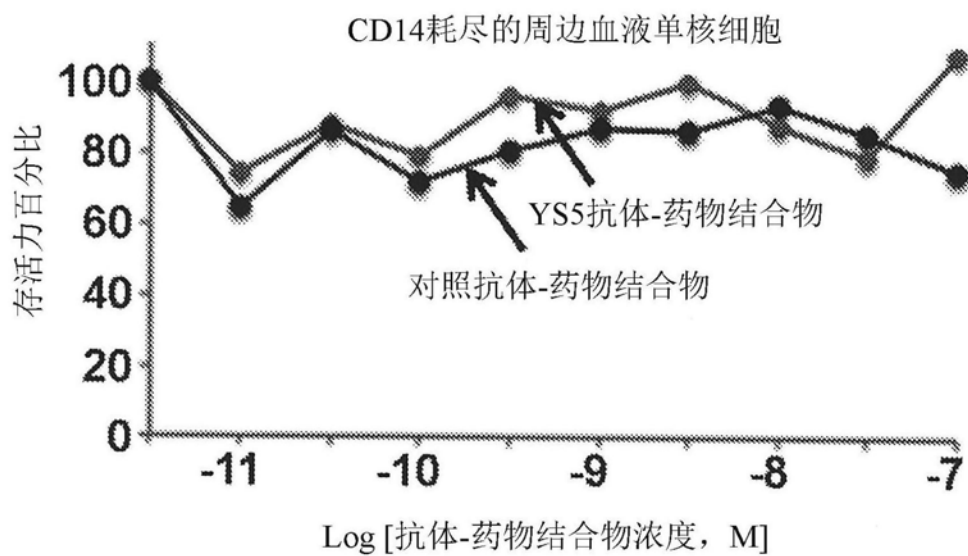


图30

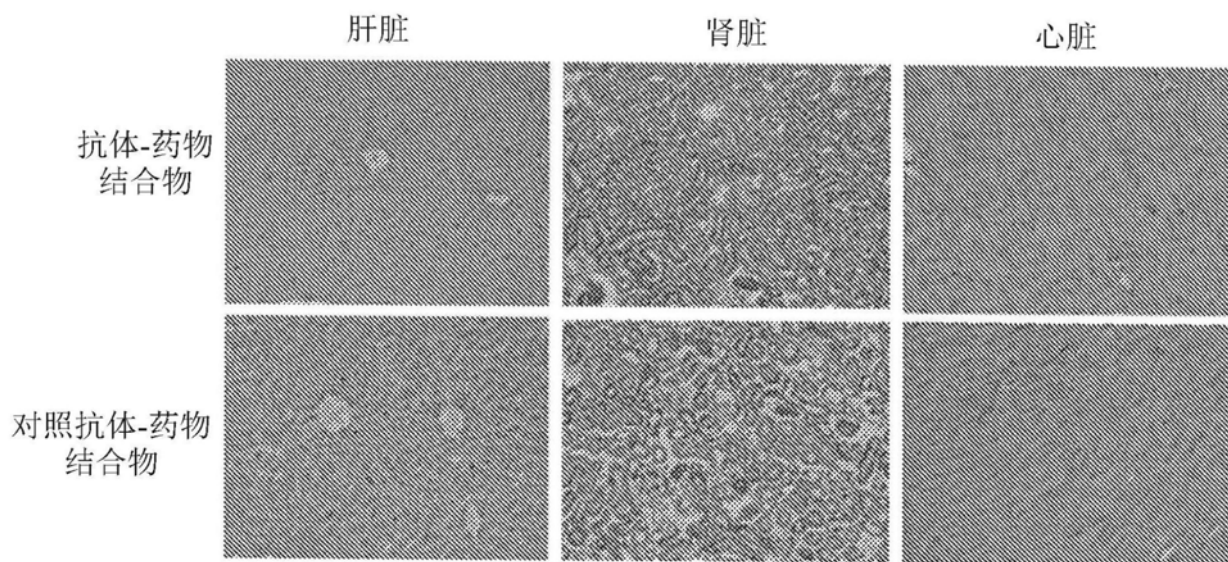


图31

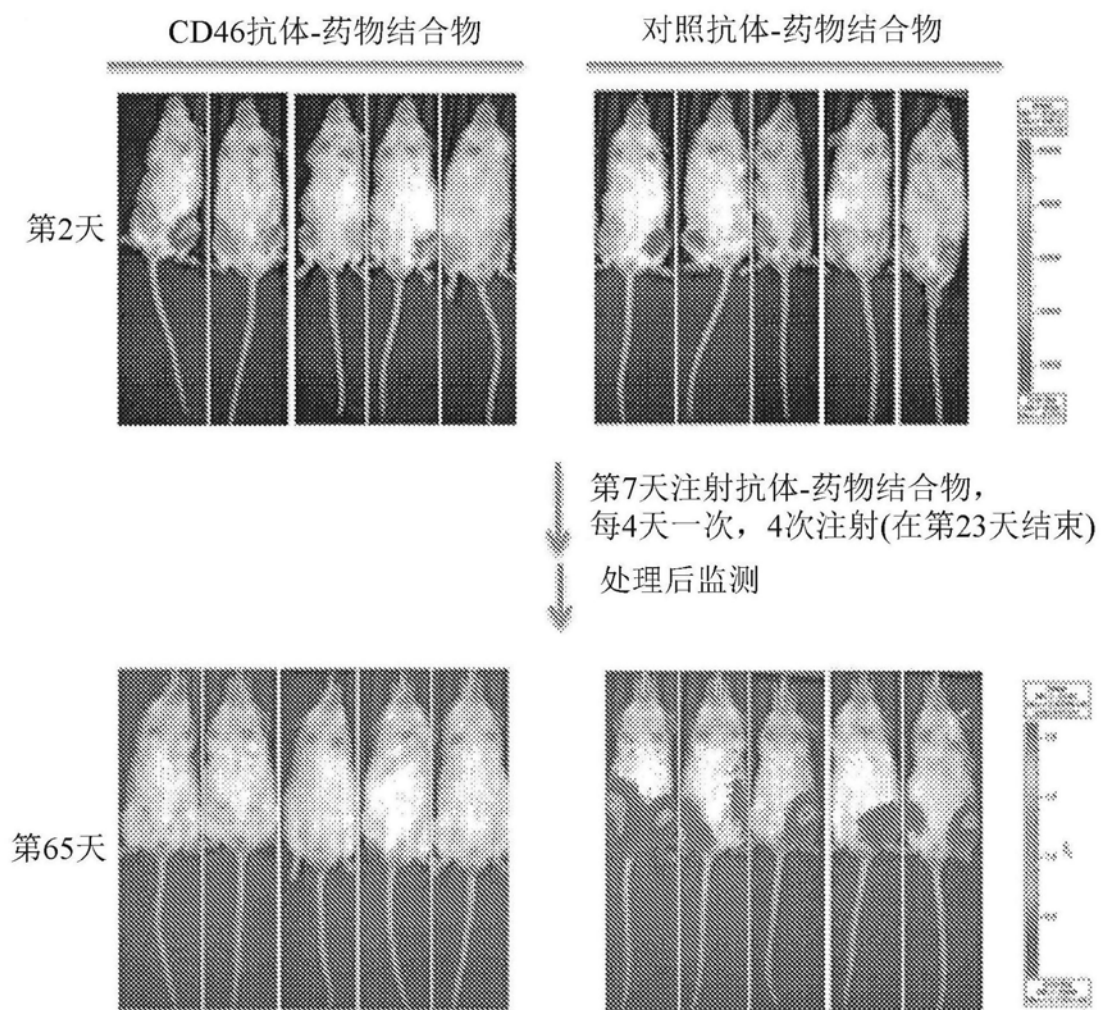


图32

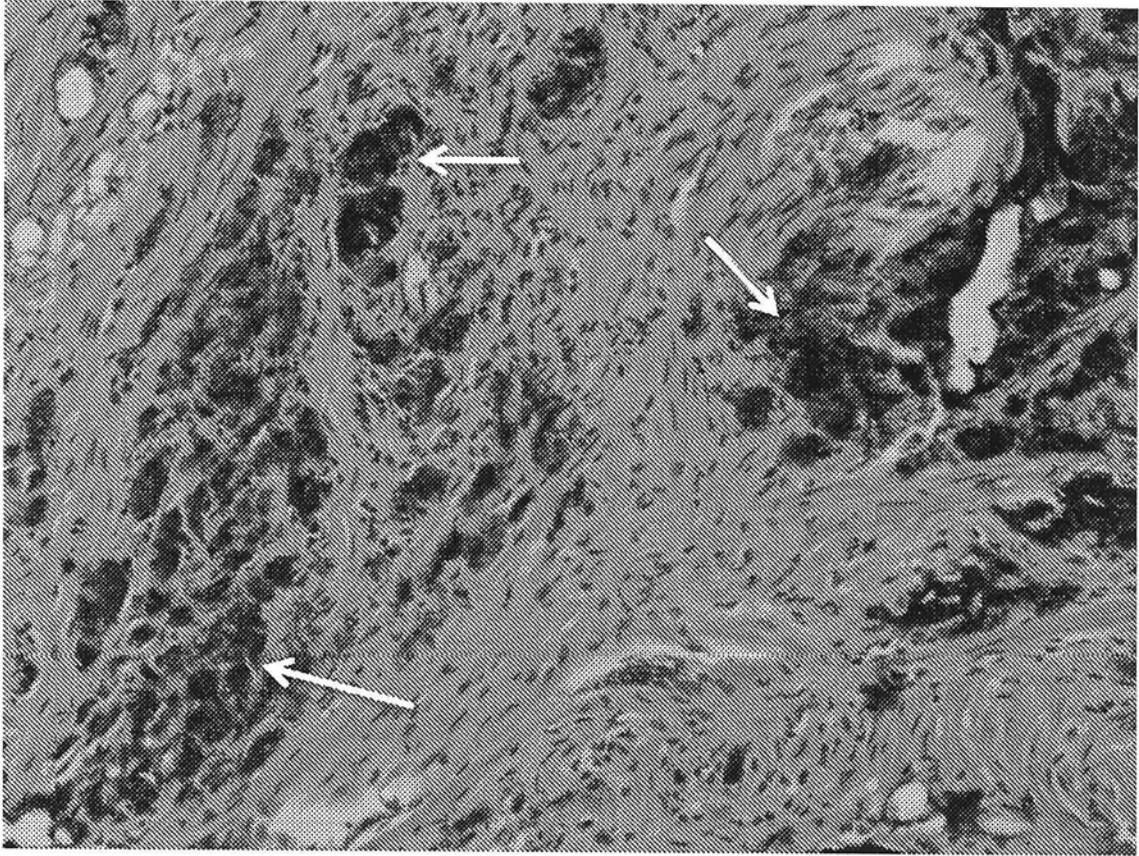
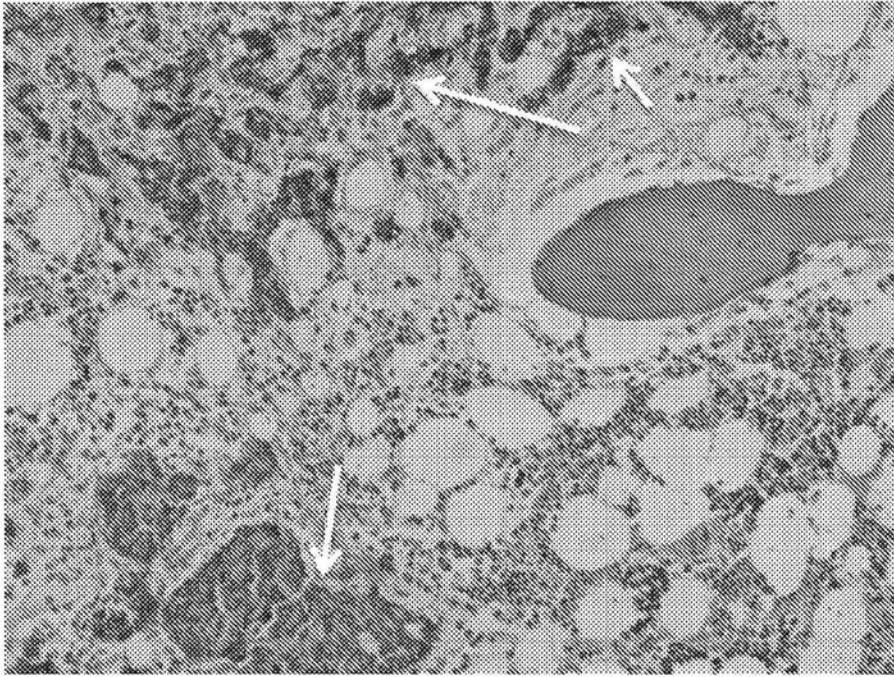
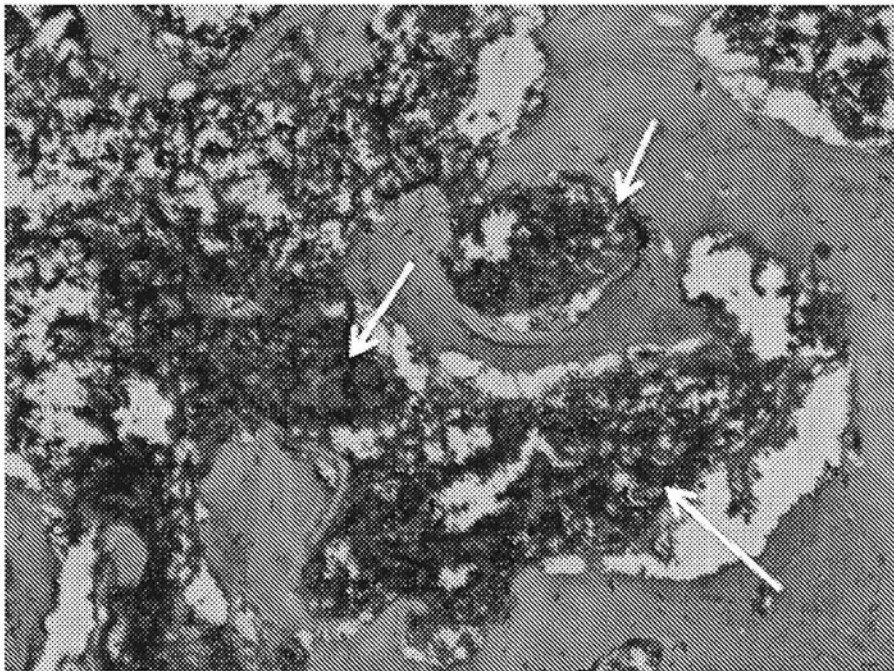


图33



案例1



案例2

图34

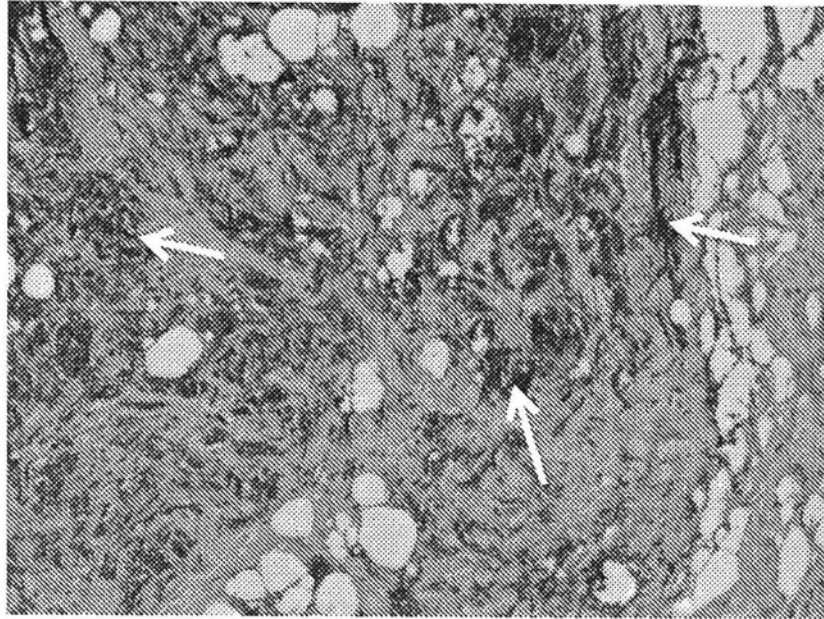


图35

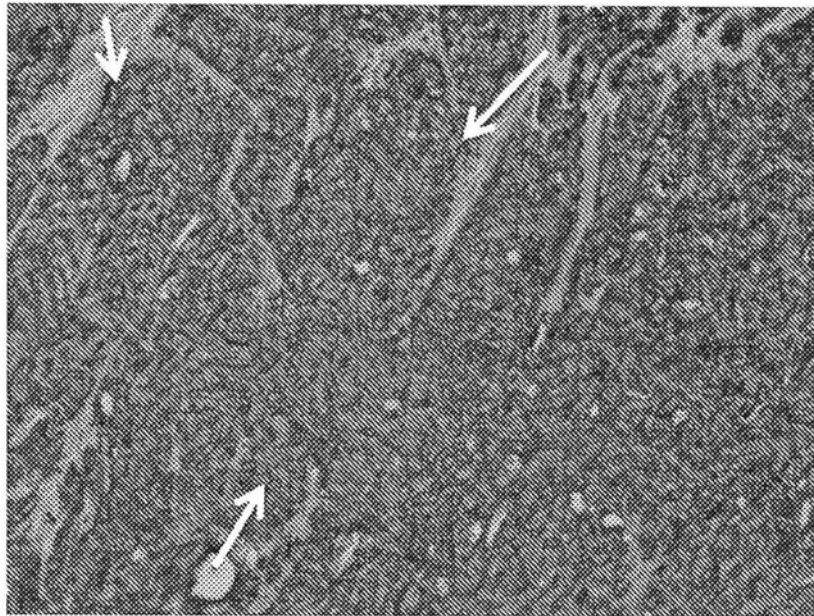


图36

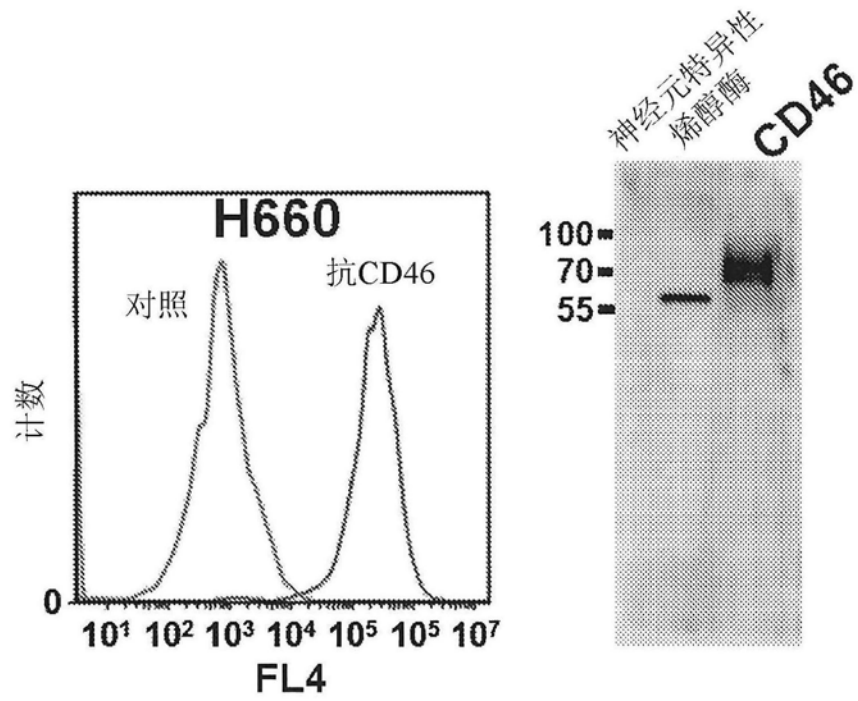


图37

内化和溶酶体运输

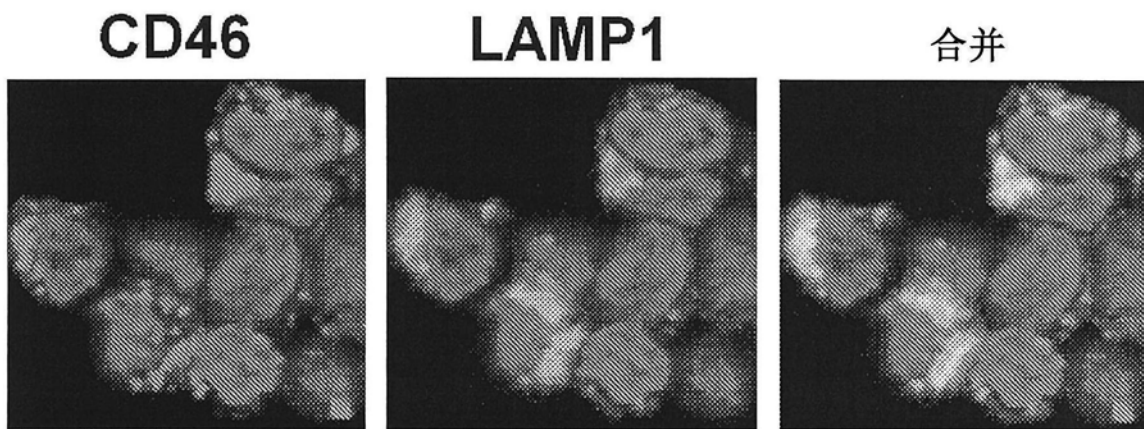


图38

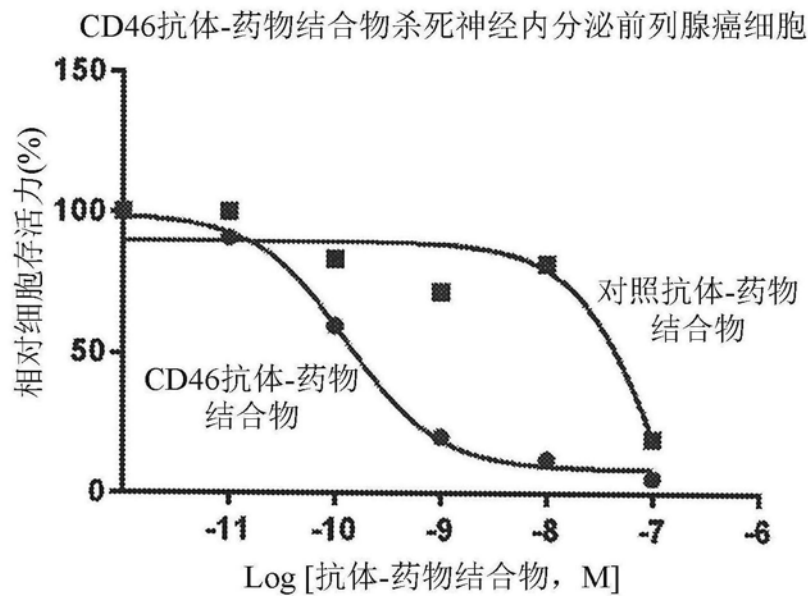


图39

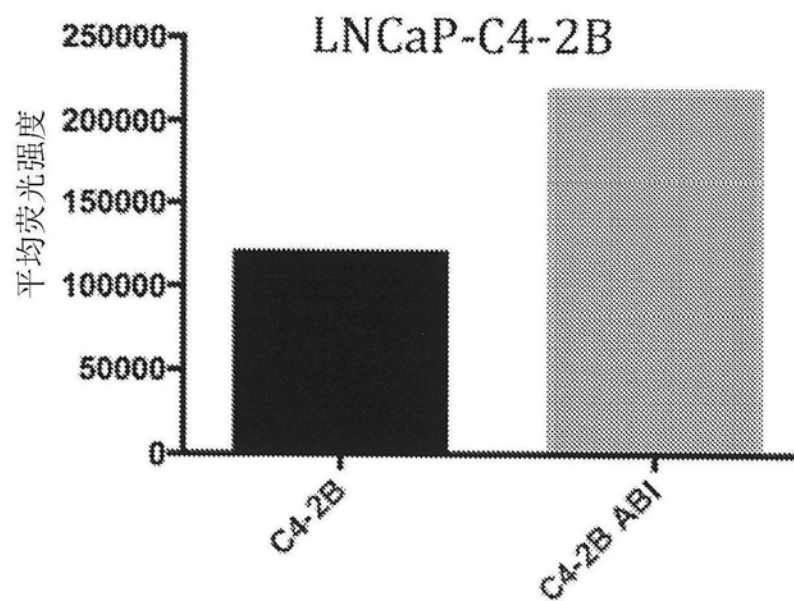


图40

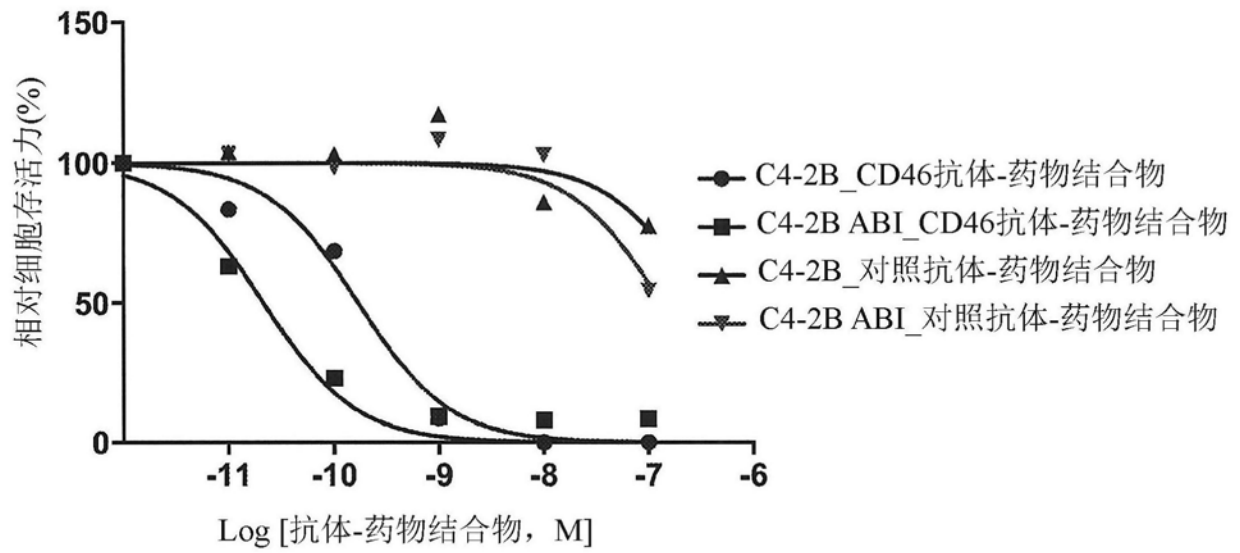


图41

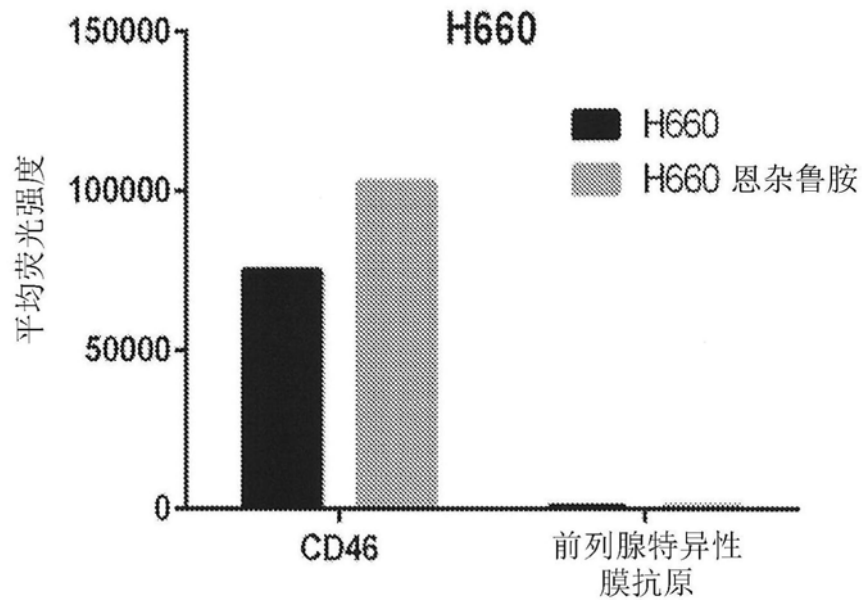


图42

CD46经原发性和转移性结肠直肠癌高度过度表达

原发性结肠直肠癌

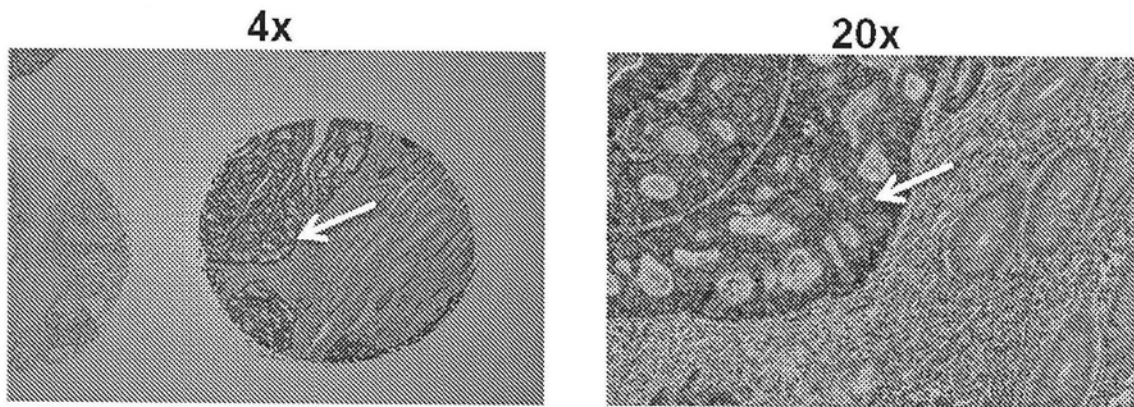


图43

结肠直肠癌的肝脏转移

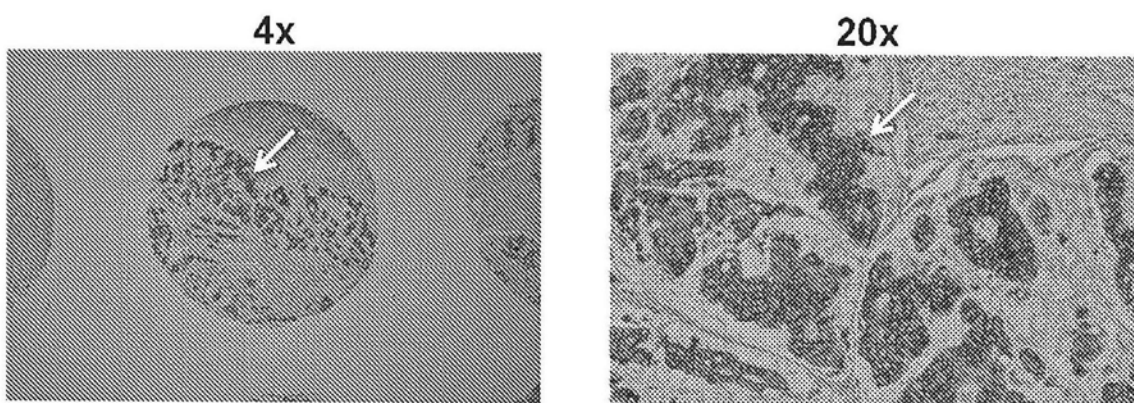


图44

结肠直肠癌的淋巴结转移

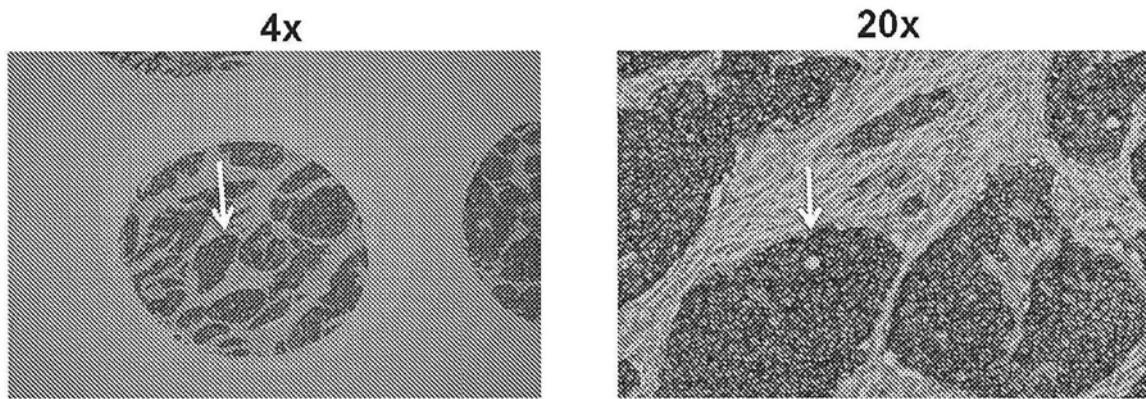


图45

结肠直肠癌的膀胱转移

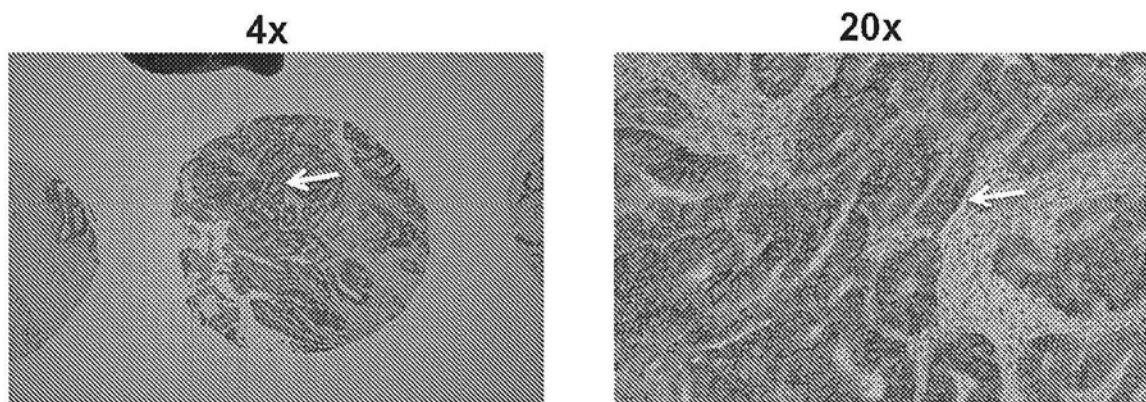


图46

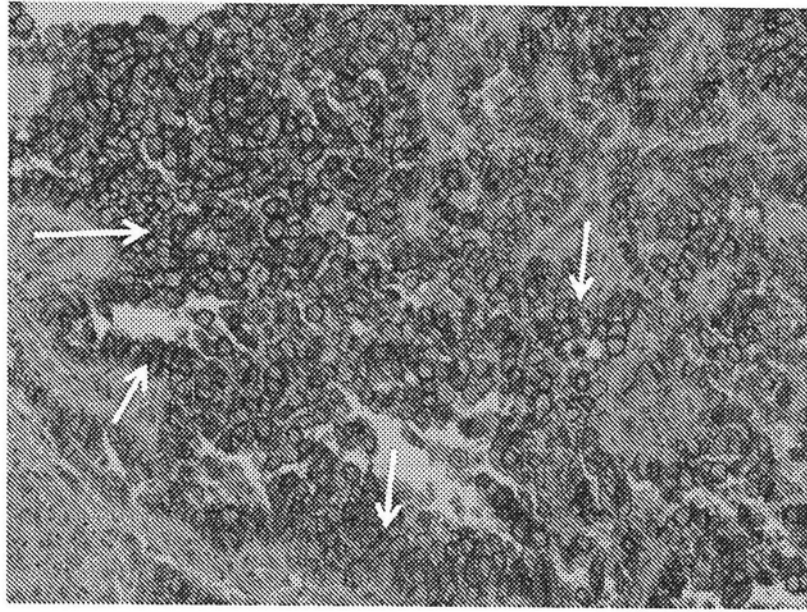


图47

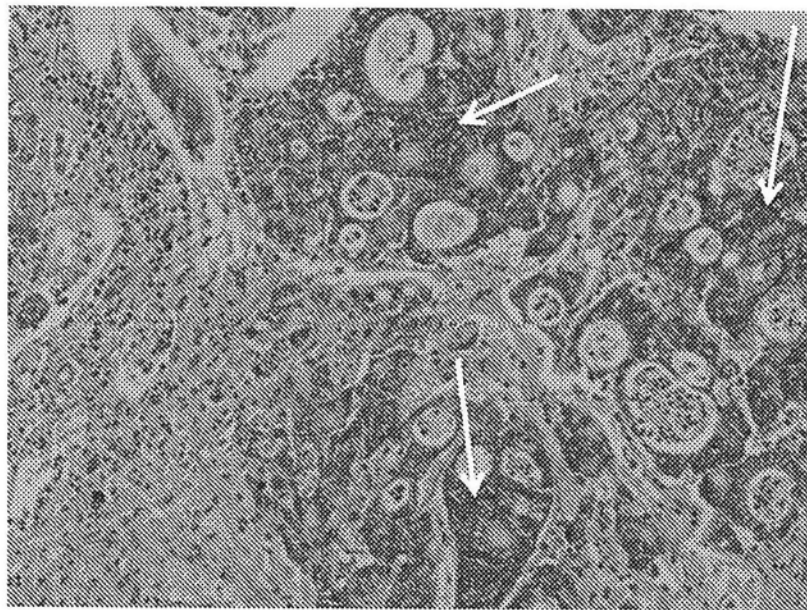


图48

CD46经多形性胶质母细胞瘤(GBM)过度表达。

多形性胶质母细胞瘤

正常脑部

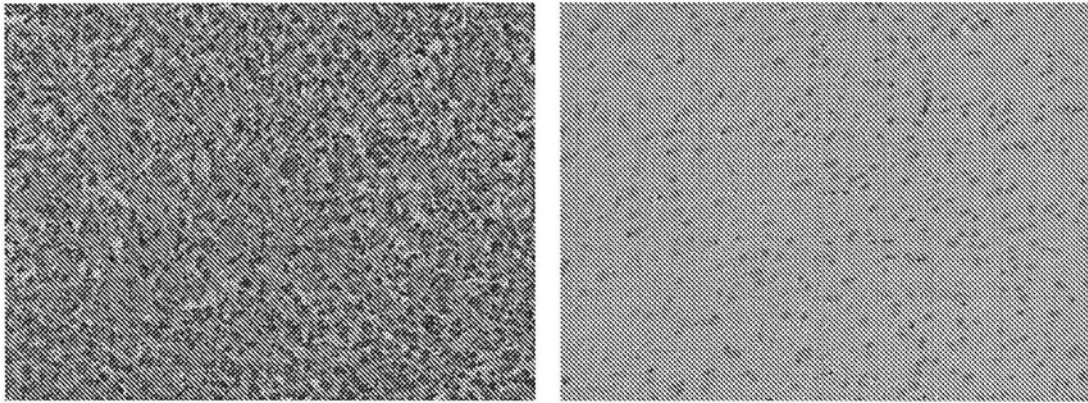


图49

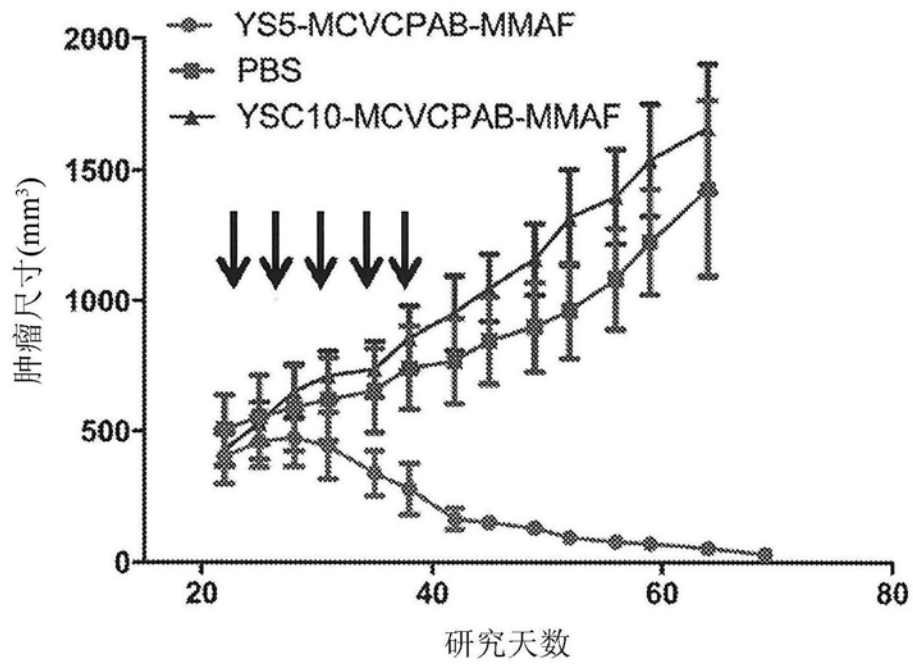


图50