



(12) 发明专利

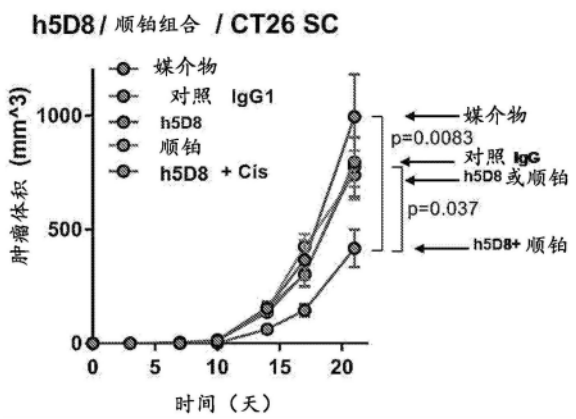
(10) 授权公告号 CN 112955178 B

(45) 授权公告日 2025. 03. 11

(21) 申请号 201980053679.1	(72) 发明人 J·塞奥内 苏亚雷斯 J·阿尼多 福尔盖拉 R·M·哈勒 P·A·吉布林 J·马格拉姆 N·潘亚 R·瓦塞尔曼 A·辛克莱尔
(22) 申请日 2019.06.17	
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 112955178 A	
(43) 申请公布日 2021.06.11	(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001 专利代理师 李波 李唐
(30) 优先权数据 18382432.5 2018.06.18 EP	
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2021.02.10	(51) Int.Cl. A61K 39/395 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/24 (2006.01)
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/IB2019/000812 2019.06.17	
(87) PCT国际申请的公布数据 W02019/243900 EN 2019.12.26	(56) 对比文件 CN 103797031 A, 2014.05.14 CN 106687134 A, 2017.05.17
(73) 专利权人 免疫医疗有限公司 地址 英国剑桥郡 专利权人 瓦尔德希伯伦肿瘤研究所 加泰罗尼亚研究和深造学院	审查员 李黎 权利要求书2页 说明书59页 序列表48页 附图26页

(54) 发明名称
用于治疗癌症的、LIF抑制剂和基于铂的抗肿瘤剂的组合

(57) 摘要
本文描述了使用白血病抑制因子 (LIF) 结合多肽和基于铂的抗肿瘤剂的组合治疗癌症的方法。



1. 与白血病抑制因子 (LIF) 特异性结合的抗体和基于铂的抗肿瘤剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途, 其中该与LIF特异性结合的抗体包含:

(a) 免疫球蛋白重链互补决定区1 (VH-CDR1), 其由SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列组成;

(b) 免疫球蛋白重链互补决定区2 (VH-CDR2), 其由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成;

(c) 免疫球蛋白重链互补决定区3 (VH-CDR3), 其由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成;

(d) 免疫球蛋白轻链互补决定区1 (VL-CDR1), 其由SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列组成;

(e) 免疫球蛋白轻链互补决定区2 (VL-CDR2), 其由SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列组成; 以及

(f) 免疫球蛋白轻链互补决定区3 (VL-CDR3), 其由SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列组成;

并且其中该癌症选自小细胞肺癌、多形性胶质母细胞瘤、卵巢癌和结肠直肠癌。

2. 如权利要求1所述的用途, 其中该与LIF特异性结合的抗体是人源化的。

3. 如权利要求1所述的用途, 其中该与LIF特异性结合的抗体是IgG抗体。

4. 如权利要求1所述的用途, 其中该与LIF特异性结合的抗体是Fab、F(ab)₂、或单链可变片段(scFv)。

5. 如权利要求1所述的用途, 其中该与LIF特异性结合的抗体包括:

a) 免疫球蛋白重链可变区 (VH) 序列, 其具有SEQ ID NO:41、42、44中任一项所示的氨基酸序列; 以及

b) 免疫球蛋白轻链可变区 (VL) 序列, 其具有SEQ ID NO:45-48中任一项所示的氨基酸序列。

6. 如权利要求5所述的用途, 其中该VH序列与SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列相同; 并且该VL序列与SEQ ID NO:46所示的氨基酸序列相同。

7. 如权利要求1所述的用途, 其中该与LIF特异性结合的抗体包括:

a) 免疫球蛋白重链序列, 其具有SEQ ID NO:57-60中任一项所示的氨基酸序列; 以及

b) 免疫球蛋白轻链序列, 其具有SEQ ID NO:61-64中任一项所示的氨基酸序列。

8. 如权利要求1所述的用途, 其中该与LIF特异性结合的抗体以小于200皮摩尔的K_D结合。

9. 如权利要求1所述的用途, 其中该与LIF特异性结合的抗体以小于100皮摩尔的K_D结合。

10. 如权利要求1所述的用途, 其中该基于铂的抗肿瘤剂包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂、塞特铂或其组合。

11. 如权利要求10所述的用途, 其中该基于铂的抗肿瘤剂是顺铂。

12. 如权利要求1所述的用途, 其中该癌症对于治疗量的与LIF特异性结合的抗体是难治的。

13. 如权利要求1所述的用途, 其中该癌症对于治疗量的基于铂的抗肿瘤剂的治疗是难

治的。

14.如权利要求1所述的用途,其中将该与LIF特异性结合的抗体和该基于铂的抗肿瘤剂分开施用。

15.如权利要求1所述的用途,其中将该与LIF特异性结合的抗体和该基于铂的抗肿瘤剂以不同的时间表施用。

16.如权利要求1所述的用途,其中将该与LIF特异性结合的抗体和该基于铂的抗肿瘤剂以单一组合物施用。

17.如权利要求7所述的用途,其中该免疫球蛋白重链序列由SEQ ID NO:58所示的氨基酸序列组成;并且该免疫球蛋白轻链序列由SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列组成。

用于治疗癌症的、LIF抑制剂和基于铂的抗肿瘤剂的组合

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2018年6月18日提交的欧洲申请序列号18382432.5的权益,其内容通过引用以其整体特此并入。

背景技术

[0003] 白血病抑制因子 (LIF) 是一种白细胞介素6 (IL-6) 型细胞因子,参与多种生物学活动,包括抑制细胞分化。人LIF是一种202个氨基酸的多肽,通过与gp130异源二聚化的细胞表面LIF受体 (LIFR或CD118) 结合发挥生物学效应。这导致促生长信号传导通路如丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 和Janus活化激酶 (JAK/STAT) 通路的活化。LIF的高表达水平和高血清水平已被证明与许多类型癌症的不良预后有关。

[0004] 基于铂的抗肿瘤剂,也称为铂类,是铂的配位络合物,已显示可用于治疗多种癌症。从机理上讲,基于铂的抗肿瘤剂会通过交联DNA或嵌入DNA引起细胞死亡。这抑制了DNA在细胞中的修复和合成。最终,这些细胞过程被破坏,导致凋亡的开始。常见的基于铂的抗肿瘤剂可包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂 (phenathriplatin)、吡铂、塞特铂、洛铂或庚铂 (heptaplatin)。

发明内容

[0005] 本文描述了用于治疗或预防个体的癌症、肿瘤或其他赘生物的方法。方法和物质组合包括LIF结合多肽和基于铂的抗肿瘤剂的组合。这些方法可以利用拮抗或阻断LIF活性的抗LIF抗体,以及基于铂的抗肿瘤剂。特别是,当与单独的抗LIF抗体或基于铂的抗肿瘤剂比较时,这些组合展现出令人惊讶的协同作用。

[0006] 在一方面,本文描述了白血病抑制因子 (LIF) 结合多肽与基于铂的抗肿瘤剂组合治疗个体的癌症的用途。在某些实施例中,将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂以分开的配制品施用给该个体。在某些实施例中,将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂以同一配制品施用给该个体。在某些实施例中,在将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体之前,将该LIF结合多肽施用给该个体。在某些实施例中,在将该LIF结合多肽施用给该个体之前,将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体。在某些实施例中,在将该LIF结合多肽施用给该个体的同时,将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括免疫球蛋白可变区或免疫球蛋白重链恒定区的片段。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括与LIF特异性结合的抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括至少一个衍生自人抗体框架区的框架区。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是人源化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是去免疫化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是IgG抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是Fab、F(ab)₂、单结构域抗体、单链可变片段 (scFv) 或纳米抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:

(a) 免疫球蛋白重链互补决定区1 (VH-CDR1), 其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基

酸序列; (b) 免疫球蛋白重链互补决定区2 (VH-CDR2), 其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列; (c) 免疫球蛋白重链互补决定区3 (VH-CDR3), 其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列; (d) 免疫球蛋白轻链互补决定区1 (VL-CDR1), 其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列; (e) 免疫球蛋白轻链互补决定区2 (VL-CDR2), 其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列; 以及 (f) 免疫球蛋白轻链互补决定区3 (VL-CDR3), 其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。在某些实施例中, 该与LIF特异性结合的抗体包括: (a) 免疫球蛋白重链可变区 (VH) 序列, 其具有与SEQ ID NO:41、42、44或66中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列; 以及 (b) 免疫球蛋白轻链可变区 (VL) 序列, 其具有与SEQ ID NO:45-48中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中, 该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同; 并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同。在某些实施例中, 该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列相同; 并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列相同。在某些实施例中, 该与LIF特异性结合的抗体包括: (a) 免疫球蛋白重链序列, 其具有与SEQ ID NO:57-60或67中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列; 以及 (b) 免疫球蛋白轻链序列, 其具有与SEQ ID NO:61-64中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中, 该与LIF特异性结合的抗体以小于约200皮摩尔的 K_D 结合。在某些实施例中, 该与LIF特异性结合的抗体以小于约100皮摩尔的 K_D 结合。在某些实施方案中, 基于铂的抗肿瘤剂包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂、塞特铂或其组合。在某些实施例中, 该基于铂的抗肿瘤剂是顺铂。在某些实施例中, 该癌症包括晚期实体瘤、胶质母细胞瘤、胃癌、皮肤癌、前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌、睾丸癌、甲状腺癌、头颈癌、肝癌、肾癌、食道癌、卵巢癌、结肠癌、肺癌、淋巴瘤或软组织癌。在某些实施例中, 该癌症包括非小细胞肺癌、上皮性卵巢癌或胰腺腺癌。在某些实施例中, 该癌症对于以单一疗法施用的治疗量的LIF结合多肽或基于铂的抗肿瘤剂的治疗是难治的。

[0007] 在另一方面, 本文描述了特异性结合白血病抑制因子 (LIF) 的抗体与基于铂的抗肿瘤剂组合治疗个体的癌症的用途, 其中该LIF结合抗体包括: (a) 免疫球蛋白重链互补决定区1 (VH-CDR1), 其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列; (b) 免疫球蛋白重链互补决定区2 (VH-CDR2), 其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列; (c) 免疫球蛋白重链互补决定区3 (VH-CDR3), 其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列; (d) 免疫球蛋白轻链互补决定区1 (VL-CDR1), 其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列; (e) 免疫球蛋白轻链互补决定区2 (VL-CDR2), 其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列; 以及 (f) 免疫球蛋白轻链互补决定区3 (VL-CDR3), 其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。

[0008] 在另一方面, 本文描述了一种治疗患有癌症的个体的方法, 其包括向该患有癌症的个体施用有效量的: (a) 白血病抑制因子 (LIF) 结合多肽; 以及 (b) 基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中, 该方法包括将有效量的该LIF结合多肽施用给该患有癌症的个体。在某些实施例中, 该方法包括将有效量的该基于铂的抗肿瘤剂施用给该患有癌症的个体。在某些实

施例中,该LIF结合多肽包括免疫球蛋白可变区或免疫球蛋白重链恒定区的片段。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括与LIF特异性结合的抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括至少一个衍生自人抗体框架区的框架区。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是人源化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是去免疫化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是IgG抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是Fab、F(ab)₂、单结构域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列;(b)免疫球蛋白重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列;(c)免疫球蛋白重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列;(d)免疫球蛋白轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列;(e)免疫球蛋白轻链互补决定区2(VL-CDR2),其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列;以及(f)免疫球蛋白轻链互补决定区3(VL-CDR3),其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链可变区(VH)序列,其具有与SEQ ID NO:41、42、44或66中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列;以及(b)免疫球蛋白轻链可变区(VL)序列,其具有与SEQ ID NO:45-48中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列相同。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链序列,其具有与SEQ ID NO:57-60或67中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列;和免疫球蛋白轻链序列,其具有与SEQ ID NO:61-64中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约200皮摩尔的K_d结合。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约100皮摩尔的K_d结合。在某些实施方案中,基于铂的抗肿瘤剂包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂、塞特铂或其组合。在某些实施例中,该基于铂的抗肿瘤剂是顺铂。在某些实施例中,该癌症包括晚期实体瘤、胶质母细胞瘤、胃癌、皮肤癌、前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌、睾丸癌、甲状腺癌、头颈癌、肝癌、肾癌、食道癌、卵巢癌、结肠癌、肺癌、淋巴瘤或软组织癌。在某些实施例中,该癌症包括非小细胞肺癌、上皮性卵巢癌或胰腺腺癌。在某些实施例中,该癌症对于治疗量的LIF结合多肽抑制剂的治疗是难治的。在某些实施例中,该癌症对于治疗量的基于铂的抗肿瘤剂的治疗是难治的。在某些实施例中,将该白血病抑制因子(LIF)结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂分开施用。在某些实施例中,将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂同时施用。在某些实施例中,将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂以单一组合物施用。

[0009] 在另一方面,本文描述了一种治疗患有癌症的个体的方法,该方法包括:将有效量的白血病抑制因子(LIF)结合多肽施用给该患有癌症的个体,其中已将治疗量的基于铂的

抗肿瘤剂施用给该个体。在某些实施例中,该方法抑制该癌症的生长或转移。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括免疫球蛋白可变区或免疫球蛋白重链恒定区的片段。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括与LIF特异性结合的抗体。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括至少一个衍生自人免疫球蛋白框架区的框架区。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是人源化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是去免疫化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是IgG抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是Fab、F(ab)₂、单结构域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列;(b)免疫球蛋白重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列;(c)免疫球蛋白重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列;(d)免疫球蛋白轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列;(e)免疫球蛋白轻链互补决定区2(VL-CDR2),其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列;以及(f)免疫球蛋白轻链互补决定区3(VL-CDR3),其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链可变区(VH)序列,其具有与SEQ ID NO:41、42、44或66中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列;以及(b)免疫球蛋白轻链可变区(VL)序列,其具有与SEQ ID NO:45-48中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列相同。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链序列,其具有与SEQ ID NO:57-60或67中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列;以及(b)免疫球蛋白轻链序列,其具有与SEQ ID NO:61-64中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约200皮摩尔的K_d结合。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约100皮摩尔的K_d结合。在某些实施方案中,基于铂的抗肿瘤剂包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂、塞特铂或其组合。在某些实施例中,该基于铂的抗肿瘤剂是顺铂。在某些实施例中,该癌症包括晚期实体瘤、胶质母细胞瘤、胃癌、皮肤癌、前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌、睾丸癌、甲状腺癌、头颈癌、肝癌、肾癌、食道癌、卵巢癌、结肠癌、肺癌、淋巴瘤或软组织癌。在某些实施例中,该癌症包括非小细胞肺癌、上皮性卵巢癌或胰腺腺癌。在某些实施例中,该癌症对于治疗量的基于铂的抗肿瘤剂的治疗是难治的。

[0010] 在另一方面,本文描述了一种治疗患有癌症的个体的方法,该方法包括:向该患有癌症的个体施用有效量的基于铂的抗肿瘤剂,其中已将治疗量的白血病抑制因子(LIF)结合多肽施用给该个体。在某些实施例中,该方法抑制该癌症的生长或转移。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括免疫球蛋白可变区或免疫球蛋白重链恒定区的片段。在某些实施例中,

中,该LIF结合多肽包括与LIF特异性结合的抗体。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括至少一个衍生自人免疫球蛋白框架区的框架区。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是人源化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是去免疫化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是IgG抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是Fab、F(ab)₂、单结构域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列;(b)免疫球蛋白重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列;(c)免疫球蛋白重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列;(d)免疫球蛋白轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列;(e)免疫球蛋白轻链互补决定区2(VL-CDR2),其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列;以及(f)免疫球蛋白轻链互补决定区3(VL-CDR3),其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链可变区(VH)序列,其具有与SEQ ID NO:41、42、44或66中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列;以及(b)免疫球蛋白轻链可变区(VL)序列,其具有与SEQ ID NO:45-48中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列相同。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链序列,其具有与SEQ ID NO:57-60或67中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列;以及(b)免疫球蛋白轻链序列,其具有与SEQ ID NO:61-64中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约200皮摩尔的K_d结合。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约100皮摩尔的K_d结合。在某些实施方案中,基于铂的抗肿瘤剂包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂、塞特铂或其组合。在某些实施例中,该基于铂的抗肿瘤剂是顺铂。在某些实施例中,该癌症包括晚期实体瘤、胶质母细胞瘤、胃癌、皮肤癌、前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌、睾丸癌、甲状腺癌、头颈癌、肝癌、肾癌、食道癌、卵巢癌、结肠癌、肺癌、淋巴瘤或软组织癌。在某些实施例中,该癌症包括非小细胞肺癌、上皮性卵巢癌或胰腺腺癌。在某些实施例中,该癌症对于治疗量的LIF结合多肽抑制剂的治疗是难治的。

[0011] 在另一方面,本文描述了一种治疗患有癌症的个体的方法,其包括向该患有癌症的个体施用有效量的:(a)特异性结合白血病抑制因子(LIF)的抗体,其包括:(i)免疫球蛋白重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列;(ii)免疫球蛋白重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列;(iii)免疫球蛋白重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列;(iv)免疫球蛋白轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:9或10中

任一项所阐述的氨基酸序列；(v) 免疫球蛋白轻链互补决定区2 (VL-CDR2)，其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列；和(vi) 免疫球蛋白轻链互补决定区3 (VL-CDR3)，其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列；(b) 基于铂的抗肿瘤剂。

[0012] 在另一方面，本文描述了一种试剂盒，其包括：(a) 白血病抑制因子 (LIF) 结合多肽；以及 (b) 基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中，该LIF结合多肽包括免疫球蛋白可变区或免疫球蛋白重链恒定区的片段。在某些实施例中，该LIF结合多肽包括与LIF特异性结合的抗体。在某些实施例中，该LIF结合多肽包括至少一个衍生自人免疫球蛋白框架区的框架区。在某些实施例中，该与LIF特异性结合的抗体是人源化的。在某些实施例中，该与LIF特异性结合的抗体是去免疫化的。在某些实施例中，该与LIF特异性结合的抗体包括两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施例中，该与LIF特异性结合的抗体是IgG抗体。在某些实施例中，该与LIF特异性结合的抗体是Fab、F(ab)₂、单结构域抗体、单链可变片段 (scFv) 或纳米抗体。在某些实施例中，该与LIF特异性结合的抗体包括：(a) 免疫球蛋白重链互补决定区1 (VH-CDR1)，其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列；(b) 免疫球蛋白重链互补决定区2 (VH-CDR2)，其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列；(c) 免疫球蛋白重链互补决定区3 (VH-CDR3)，其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列；(d) 免疫球蛋白轻链互补决定区1 (VL-CDR1)，其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列；(e) 免疫球蛋白轻链互补决定区2 (VL-CDR2)，其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列；以及 (f) 免疫球蛋白轻链互补决定区3 (VL-CDR3)，其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。在某些实施例中，该与LIF特异性结合的抗体包括：(a) 免疫球蛋白重链可变区 (VH) 序列，其具有与SEQ ID NO:41、42、44或66中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列；以及 (b) 免疫球蛋白轻链可变区 (VL) 序列，其具有与SEQ ID NO:45-48中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中，该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同；并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同。在某些实施例中，该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列相同；并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列相同。在某些实施例中，该与LIF特异性结合的抗体包括：(a) 免疫球蛋白重链序列，其具有与SEQ ID NO:57-60或67中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列；以及 (b) 免疫球蛋白轻链序列，其具有与SEQ ID NO:61-64中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中，该与LIF特异性结合的抗体以小于约200皮摩尔的K_D结合。在某些实施例中，该与LIF特异性结合的抗体以小于约100皮摩尔的K_D结合。在某些实施方案中，基于铂的抗肿瘤剂包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂、塞特铂或其组合。在某些实施例中，该基于铂的抗肿瘤剂是顺铂。在某些实施例中，该试剂盒进一步包括药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂。

[0013] 在另一方面，本文描述了一种组合物，其包含：(a) 白血病抑制因子 (LIF) 结合多肽；以及 (b) 基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中，该LIF结合多肽包括免疫球蛋白可变区或免疫球蛋白重链恒定区的片段。在某些实施例中，该LIF结合多肽包括与LIF特异性结合的

抗体。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括至少一个衍生自人免疫球蛋白框架区的框架区。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是人源化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是去免疫化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是IgG抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是Fab、F(ab)₂、单结构域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列;(b)免疫球蛋白重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列;(c)免疫球蛋白重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列;(d)免疫球蛋白轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列;(e)免疫球蛋白轻链互补决定区2(VL-CDR2),其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列;以及(f)免疫球蛋白轻链互补决定区3(VL-CDR3),其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链可变区(VH)序列,其具有与SEQ ID NO:41、42、44或66中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列;以及(b)免疫球蛋白轻链可变区(VL)序列,其具有与SEQ ID NO:45-48中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列相同。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链序列,其具有与SEQ ID NO:57-60或67中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列;以及(b)免疫球蛋白轻链序列,其具有与SEQ ID NO:61-64中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约200皮摩尔的K_d结合。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约100皮摩尔的K_d结合。在某些实施方案中,基于铂的抗肿瘤剂包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂、塞特铂或其组合。在某些实施例中,该基于铂的抗肿瘤剂是顺铂。在某些实施例中,该组合物进一步包括药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂。

附图说明

[0014] 图1描绘了蛋白质印迹,其示出了不同抗LIF人源化抗体对LIF诱导的STAT3磷酸化的抑制。

[0015] 图2A和2B描绘了蛋白质印迹,其示出了人源化和亲本5D8抗体对LIF诱导的STAT3磷酸化的抑制。

[0016] 图3A示出了使用h5D8抗体在U-251细胞中抑制LIF的IC₅₀。

[0017] 图3B示出了在内源性LIF刺激条件下对pSTAT3的r5D8和h5D8抑制的代表性IC₅₀剂量反应曲线。示出的是代表性曲线(n=1h5D8, n=2r5D8)。

[0018] 图4描绘了蛋白质印迹,其示出了本披露中描述的不同单克隆抗体对LIF诱导的STAT3磷酸化的抑制。

[0019] 图5描绘了来自人类患者的多形性胶质母细胞瘤(GBM)、NSCLC(非小细胞肺癌)、卵巢癌、结肠直肠癌和胰腺肿瘤中LIF表达的免疫组织化学染色和定量。条代表平均值 $\pm$ 平均值的标准误差(SEM)。

[0020] 图6A是示出使用人源化5D8抗体在非小细胞肺癌小鼠模型中进行的实验的图。

[0021] 图6B是示出使用r5D8抗体在非小细胞肺癌小鼠模型中进行的实验的图。

[0022] 图7A示出了r5D8对GBM原位小鼠模型中U251细胞的抑制作用。示出第26天的定量。

[0023] 图7B示出了来自小鼠的数据,该小鼠接种了表达萤光素酶的人U251 GBM细胞,然后每周两次用100、200或300 μ g的h5D8或媒介物治疗。在第7天通过生物发光(精诺真公司(Xenogen) IVIS光谱)确定肿瘤大小。该图示出了个体肿瘤测量,水平条表示平均值 $\pm$ SEM。使用未配对的非参数Mann-Whitney U检验计算统计显著性。

[0024] 图8A示出了在同系小鼠模型中r5D8对卵巢癌细胞生长的抑制作用。

[0025] 图8B示出了在第25天的个体肿瘤测量。

[0026] 图8C展示了当以每周两次200 μ g/小鼠施用, h5D8示出了肿瘤生长的显著降低($p < 0.05$)。符号为平均值+SEM,与媒介物相比的统计学显著性(使用未配对的非参数Mann-Whitney U检验)。

[0027] 图9A示出了在同系小鼠模型中r5D8对结肠直肠癌细胞生长的抑制作用。

[0028] 图9B示出了在第17天的个体肿瘤测量。

[0029] 图10A示出了GBM原位小鼠模型中巨噬细胞向肿瘤部位浸润的减少,具有代表性图像和CCL22+细胞的定量。

[0030] 图10B示出了人类器官型组织切片培养模型中巨噬细胞浸润的减少。

[0031] 图10C示出了卵巢癌同系小鼠模型中巨噬细胞向肿瘤部位浸润的减少,具有代表性图像和CCL22+细胞的定量。

[0032] 图10D示出了结肠直肠癌同系小鼠模型中巨噬细胞向肿瘤部位浸润的减少,具有代表性图像和CCL22+细胞的定量。

[0033] 图10E示出了在第25天(终点)从用h5D8(15mg/kg, 2QW)治疗的肿瘤中收获的肿瘤相关巨噬细胞(TAM)的炎性表型。在治疗的肿瘤中,TAM朝着M1促炎表型极化。统计显著性由未配对的t检验确定。

[0034] 图10F示出了用LIF敲低细胞的条件下培养基培养的单核细胞的基因表达数据。

[0035] 图11A示出了在用r5D8治疗后卵巢癌同系小鼠模型中非骨髓效应细胞的增加。

[0036] 图11B示出了在用r5D8治疗后结肠直肠癌同系小鼠模型中非骨髓效应细胞的增加。

[0037] 图11C示出了在用r5D8治疗后NSCLC癌症小鼠模型中CD4⁺ T_{REG}细胞的百分比降低。

[0038] 图12示出了在存在或不存在抗CD4和抗CD8耗竭抗体的情况下腹膜内施用PBS(对照)或r5D8每周两次治疗的携带CT26肿瘤的小鼠的数据。该图示出了在d13的个体肿瘤测量,表示为平均肿瘤体积+SEM。组间的统计差异通过未配对的非参数Mann-Whitney U检验确定。R5D8抑制CT26肿瘤的生长(* $p < 0.05$)。在存在抗CD4和抗CD8耗竭抗体的情况下,r5D8对肿瘤的生长抑制作用显著降低(**** $p < 0.0001$)。

[0039] 图13A展示了与LIF复合的h5D8 Fab的共晶体结构的概观。gp130相互作用位点映射在LIF的表面上(深色阴影)。

[0040] 图13B展示了LIF与h5D8之间的详细相互作用,其示出了形成盐桥的残基和掩埋表面积大于 $100 \text{ \AA}^2$ 的h5D8残基。

[0041] 图14A展示了五个h5D8 Fab晶体结构的叠加,并且指示尽管在不同化学条件下结晶,但高度相似。

[0042] 图14B展示了由未配对的Cys100介导的范德华相互作用的广泛网络。该残基是有序的,参加塑造HCDR1和HCDR3的构象,并且不参与不希望的二硫键错配。残基之间的距离以虚线示出并标记。

[0043] 图15A通过ELISA展示了h5D8 C100突变体与人LIF的结合。

[0044] 图15B通过ELISA展示了h5D8 C100突变体与小鼠LIF的结合。

[0045] 图16A通过Octet展示了h5D8不阻断LIF和LIFR之间的结合。h5D8与LIF的顺序结合,随后进行LIFR。

[0046] 图16B和16C展示了与固定的LIFR或gp130结合的LIF/mAb复合物的ELISA分析。物种特异性过氧化物酶缀合的抗IgG抗体的信号(-)和h5D8的抗人抗体,r5d8和B09的抗大鼠抗体)检测结合固定的LIFR(图16B)或gp130(图16C)涂层板的mAb/LIF复合物的抗体部分。

[0047] 图17A和17B展示了72种不同的人类组织中LIF(图17A)或LIFR(图17B)的mRNA表达。

[0048] 图18示出了来自用h5D8和顺铂治疗的具有皮下植入的CT26肿瘤的小鼠的数据。该图示出了对于媒介物、对照IgG1、单独的h5D8、单独的顺铂和h5D8+顺铂组合组,从平均肿瘤体积来看的肿瘤生长的时程。

[0049] 图19A和19B示出了来自用h5D8和阿霉素(图19A)或用h5D8和紫杉醇(图19B)治疗的具有皮下植入的CT26肿瘤的小鼠的随时间推移的肿瘤体积数据。

[0050] 图20示出了来自用h5D8和顺铂治疗的具有皮内植入的CT26肿瘤的小鼠的数据。该图示出了对于媒介物、对照IgG1、单独的h5D8、单独的顺铂和h5D8+顺铂组合组,从平均肿瘤体积来看的肿瘤生长的时程。

具体实施方式

[0051] 除非另有定义,本文所使用的所有技术术语具有与本发明所属领域的技术人员通常所理解的相同的意义。如本说明书和所附权利要求书中所用的,单数形式“一个/一种(a/an)”和“该(the)”包括复数引用,除非上下文明确地指示其他的情况。除非另有说明,否则本文中对“或”的任何引用旨在涵盖“和/或”。

[0052] 在一方面,本文描述了白血病抑制因子(LIF)结合多肽与基于铂的抗肿瘤剂组合治疗个体的癌症的用途。

[0053] 在另一方面,本文描述了白血病抑制因子(LIF)结合抗体与基于铂的抗肿瘤剂组合治疗个体的癌症的用途,其中该LIF结合抗体包括:(a)免疫球蛋白重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列;(b)免疫球蛋白重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列;(c)免疫球蛋白重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列;(d)免疫球

蛋白轻链互补决定区1 (VL-CDR1), 其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列; (e) 免疫球蛋白轻链互补决定区2 (VL-CDR2), 其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列; 以及 (f) 免疫球蛋白轻链互补决定区3 (VL-CDR3), 其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。

[0054] 在另一方面, 本文描述了一种治疗患有癌症的个体的方法, 其包括向该患有癌症的个体施用有效量的: (a) 白血病抑制因子 (LIF) 结合多肽; 以及 (b) 基于铂的抗肿瘤剂。

[0055] 在另一方面, 本文描述了一种治疗患有癌症的个体的方法, 该方法包括: 将有效量的白血病抑制因子 (LIF) 结合多肽施用给该患有癌症的个体, 其中已将治疗量的基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体。

[0056] 在另一方面, 本文描述了一种治疗患有癌症的个体的方法, 该方法包括: 向该患有癌症的个体施用; 有效量的基于铂的抗肿瘤剂, 其中已将治疗量的白血病抑制因子 (LIF) 结合多肽施用给该个体。

[0057] 在另一方面, 本文描述了一种治疗患有癌症的个体的方法, 其包括向该患有癌症的个体施用有效量的: (a) 白血病抑制因子 (LIF) 结合抗体, 其包括: (i) 免疫球蛋白重链互补决定区1 (VH-CDR1), 其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列; (ii) 免疫球蛋白重链互补决定区2 (VH-CDR2), 其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列; (iii) 免疫球蛋白重链互补决定区3 (VH-CDR3), 其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列; (iv) 免疫球蛋白轻链互补决定区1 (VL-CDR1), 其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列; (v) 免疫球蛋白轻链互补决定区2 (VL-CDR2), 其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列; 和 (vi) 免疫球蛋白轻链互补决定区3 (VL-CDR3), 其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列; 以及 (b) 基于铂的抗肿瘤剂。

[0058] 在另一方面, 本文描述了一种试剂盒, 其包括: (a) 白血病抑制因子 (LIF) 结合多肽; 以及 (b) 基于铂的抗肿瘤剂。

[0059] 在另一方面, 本文描述了一种组合物, 其包含: (a) 白血病抑制因子 (LIF) 结合多肽; 以及 (b) 基于铂的抗肿瘤剂。

[0060] 如本文所用, 术语“个体”、“受试者”和“患者”可互换使用, 且包括被诊断出或怀疑患有肿瘤、癌症或其他赘生物的人。

[0061] 术语“癌症”和“肿瘤”涉及以细胞生长失调为特征的哺乳动物的生理状况。癌症是一类疾病, 其中一组细胞显示不受控制的生长或不想要的生长。癌细胞也可以扩散到其他位置, 这可能导致转移的形成。癌细胞在体内的扩散可以例如通过淋巴或血液发生。不受控制的生长、侵袭和转移形成也被称为癌症的恶性特性。这些恶性特性使癌症与良性肿瘤区分开来, 良性肿瘤典型地不会侵袭或转移。

[0062] 如本文所用, 术语“有效量”是指当施用于哺乳动物时引起生物学效应的治疗剂的量。生物学效应包括但不限于抑制或阻断受体配体相互作用 (例如, LIF-LIFR), 抑制信号传导通路 (例如, STAT3磷酸化), 减少肿瘤生长, 减少肿瘤的转移, 或延长携带肿瘤的动物的生存期。“治疗量”是经计算可发挥治疗作用的药物浓度。治疗量包括能够在个体群体中诱导治疗反应的剂量范围。该哺乳动物可以是人类个体。该人类个体可能患有或怀疑患有肿瘤。

[0063] 如本文所用, 除非另有指示, 否则术语“抗体”包括抗体的抗原结合片段, 即, 保留与全长抗体结合的抗原特异性结合能力的抗体片段, 例如, 保留一个或多个CDR区的片段。

抗体片段的实例包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段；双抗体；线性抗体；重链抗体、单链抗体分子，例如，单链可变区片段(scFv)、纳米抗体和由具有不同特异性的抗体片段形成的多特异性抗体，诸如双特异性抗体。在某些实施例中，以降低个体对该抗体的免疫反应的方式将这些抗体人源化。例如，该抗体可以是嵌合的，例如，具有人恒定区的非人可变区，或CDR移植的，例如，具有人恒定区和可变区框架序列的非人CDR区。在某些实施例中，人源化后抗体是去免疫化的。去免疫化涉及去除或使该抗体恒定区中的一个或多个T细胞表位突变。在某些实施例中，本文所述的抗体是单克隆的。如本文所用，“重组抗体”是包括衍生自两种不同物种或两种不同来源的氨基酸序列的抗体，并且包括合成分子，例如，包括非人CDR和人框架或恒定区的抗体。在某些实施例中，本发明的重组抗体由重组DNA分子产生或合成。

[0064] 相对于参考多肽或抗体序列的序列同一性百分比(%)是候选序列中与参考多肽或抗体序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比，在比对序列并引入缺口后，必要时，要获得最大的序列同一性百分比，并且不考虑将任何保守取代作为序列同一性的一部分。为了确定氨基酸序列同一性百分数的目的的比对可以通过已知的各种方式来实现，例如，使用公开可用的计算机软件，诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。能够确定用于比对序列的合适参数，包括在所比较的序列的全长上实现最大比对所需的算法。然而，出于本文的目的，使用序列比较计算机程序ALIGN-2产生%氨基酸序列同一性值。ALIGN-2序列比较计算机程序由基因泰克公司(Genentech, Inc.)编写，源代码已与用户文档一起归档在华盛顿特区20559的美国版权局中，其中在美国版权注册号TXU510087下进行了注册。该ALIGN-2程序可从加利福尼亚南旧金山的基因泰克公司公开获得，或可以从源代码中进行编译。该ALIGN-2程序应编译为在UNIX操作系统(包括数字UNIX V4.0D)上使用。所有序列比较参数均由ALIGN-2程序设置，并且没有变化。

[0065] 在使用ALIGN-2进行氨基酸序列比较的情况下，给定氨基酸序列A对/与/相对于给定氨基酸序列B的氨基酸序列同一性%(替代性地这可以用短语表示为对/与/相对于给定氨基酸序列B具有或包含特定%氨基酸序列同一性的给定氨基酸序列A)计算如下：100乘以分数X/Y，其中X是在A和B的程序比对中通过序列比对程序ALIGN-2评定为相同匹配的氨基酸残基数，其中Y是B中氨基酸残基的总数。应当理解，当氨基酸序列A的长度不等于氨基酸序列B的长度时，A与B的%氨基酸序列同一性将不等于B与A的%氨基酸序列同一性。除非另外特别说明，否则本文使用的所有%氨基酸序列一致性值都是使用ALIGN-2计算机程序如刚才前一段所述获得的。

[0066] 术语“表位”包括能够被抗原结合蛋白诸如抗体结合的任何决定簇。表位是由靶向该抗原的抗原结合蛋白结合的抗原区，并且当抗原是蛋白质时，表位包括直接接触抗原结合蛋白的特定氨基酸。表位最常位于蛋白质上，但在一些情况下可以位于其他种类的分子(诸如糖或脂质)上。表位决定簇可以包括分子的化学活性表面基团，诸如氨基酸、糖侧链、磷酸基或磺酰基基团，且可以具有特定的三维结构特征和/或特定的电荷特征。通常，对特定靶抗原具有特异性的抗体将优先识别蛋白和/或大分子的复杂混合物中靶抗原上的表位。

[0067] 术语“抗肿瘤剂”是指能够起到预防、抑制或阻止癌症、肿瘤或赘生物发展的作用的药剂。抗肿瘤剂也可以称为化学治疗剂。抗肿瘤剂可靶向并破坏癌细胞。抗肿瘤剂可包括

但不限于抗代谢药、生物反应修饰剂、博来霉素、DNA烷基化剂、DNA交联剂、酶、激素、单克隆抗体、铂络合物、蛋白酶体抑制剂、紫杉烷、长春花碱、拓扑异构酶抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、核苷类似物、抗叶酸药、蒽环类、鬼臼毒素、烷基化剂、mTOR抑制剂、类视黄醇、组蛋白脱乙酰基酶抑制剂和免疫调节剂。

[0068] 本文所述抗体的结构属性

[0069] 互补决定区(“CDR”)是免疫球蛋白(抗体)可变区的一部分,其主要负责抗体的抗原结合特异性。即使抗体特异性结合相同的靶点或表位,CDR区也从一个抗体到另一个抗体高度可变。重链可变区包括三个CDR区,缩写为VH-CDR1、VH-CDR2和VH-CDR3;轻链可变区包括三个CDR区,缩写为VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。这些CDR区在可变区中连续排列,其中CDR1是最N端,而CDR3是最C端。散布在CDR之间的是框架区,其有助于结构并且显示出比CDR区少得多的可变性。重链可变区包括四个框架区,缩写为VH-FR1、VH-FR2、VH-FR3和VH-FR4;轻链可变区包括四个框架区,缩写为VL-FR1、VL-FR2、VL-FR3和VL-FR4。包括两条重链和轻链的完整的全尺寸二价抗体将包括:12个CDR,其具有三个独特的重链CDR和三个独特的轻链CDR;16个FR区,其具有四个独特的重链FR区和四个独特的轻链FR区。在某些实施例中,本文所述的抗体最少包括三个重链CDR。在某些实施例中,本文所述的抗体最少包括三个轻链CDR。在某些实施例中,本文所述的抗体最少包括三个重链CDR和三个轻链CDR。给定的CDR或FR的精确氨基酸序列边界可以使用许多众所周知的方案中的任何一个来容易地确定,包括Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学意义的蛋白质序列],”第5版美国马里兰州贝塞斯达市国立卫生研究院公共卫生服务(“卡巴特(Kabat)”编号方案);Al-Lazikani等人,(1997) JMB 273,927-948(“乔西亚(Chothia)”编号方案);MacCallum等人,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]262:732-745(1996),“Antibody-antigen interactions:Contact analysis and binding site topography[抗体-抗原相互作用:接触分析和结合位点拓扑图]”(“接触”编号方案);Lefranc MP等人,“IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains[IMGT独特的免疫球蛋白和T细胞受体可变结构域和Ig超家族V样结构域编码],”Dev Comp Immunol[发育与比较免疫学],2003年1月;27(1):55-77(“IMGT”编号方案);以及Honegger A和Plückthun A,“Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains:an automatic modeling and analysis tool[免疫球蛋白可变结构域的又另一种编号方案:自动建模和分析工具],”J Mol Biol[分子生物学杂志],2001年6月8日;309(3):657-70(“Aho”编号方案)所述的那些。本文从使用不同编号系统提供的可变序列中鉴定出CDR,本文中使用卡巴特、IMGT、乔西亚编号系统或这三种的任何组合。给定CDR或FR的边界可能会有所不同,取决于用于鉴定的方案。例如,卡巴特方案基于结构比对,而乔西亚方案基于结构信息。卡巴特和乔西亚方案的编号均基于最常见的抗体区序列长度,通过插入字母(例如“30a”)进行插入,并且一些抗体中显现缺失。这两种方案将某些插入和缺失(“indel”)放置在不同的位置,从而产生不同的编号。接触方案基于复杂晶体结构的分析,并且在许多方面与乔西亚编号方案相似。

[0070] 术语“可变区”或“可变结构域”是指抗体重链或轻链的结构域,其涉及抗体与抗原的结合。天然抗体的重链和轻链(分别为VH和VL)的可变结构域通常具有相似的结构,每个结构域包括四个保守框架区(FR)和三个CDR(参见例如,Kindt等人Kuby Immunology[Kuby

免疫学],第六版,W.H.Freeman and Co.[W.H.弗里曼公司],第91页(2007))。单个VH或VL结构域可能足以赋予抗原结合特异性。此外,可以使用VH或VL结构域从结合抗原的抗体中分离结合特定抗原的抗体,以分别筛选互补的VL或VH结构域的文库(参见例如,Portolano等人,J.Immunol.[免疫学杂志]150:880-887(1993);Clarkson等人,Nature[自然]352:624-628(1991))。在某些实施例中,本文所述的抗体是人源化的。在某些实施例中,本文所述的抗体是嵌合的。在某些实施例中,本文所述的抗体包括大鼠来源的可变区。在某些实施例中,本文所述的抗体包括大鼠来源的CDR。在某些实施例中,本文所述的抗体包括小鼠来源的可变区。在某些实施例中,本文所述的抗体包括小鼠来源的CDR。

[0071] 可以在CDR中进行改变(例如,取代),例如以改善抗体亲和力。可以在体细胞成熟过程中以高突变率在CDR编码密码子中进行此类改变(参见,例如,Chowdhury,Methods Mol.Biol.[分子生物学方法]207:179-196(2008)),并且可以测试所得变体的结合亲和力。亲和力成熟(例如,使用易错PCR、链改组、CDR随机化或寡核苷酸定向诱变)可用于改善抗体亲和力(参见例如Hoogenboom等人Methods in Molecular Biology[分子生物学方法]178:1-37(2001))。可以例如使用丙氨酸扫描诱变或建模来特异性地鉴定涉及抗原结合的CDR残基(参见例如Cunningham和Wells Science[科学],244:1081-1085(1989))。CDR-H3和CDR-L3特别是通常靶向的。替代性地或另外地,分析抗原-抗体复合物的晶体结构以鉴定该抗体和抗原之间的接触点。可以靶向或消除此类接触残基和邻近残基作为取代候选物。可以筛选变体以确定它们是否含有所需的性质。

[0072] 在某些实施例中,本文所述的抗体除可变区外还包括恒定区。该重链恒定区(C_H)包括四个结构域,缩写为 C_{H1} 、 C_{H2} 、 C_{H3} 和 C_{H4} ,位于完整重链多肽的C末端,即可变区的C末端。该轻链恒定区(C_L)比该 C_H 小得多,且位于完整轻链多肽的C末端,即可变区的C末端。该恒定区是高度保守的,且包括与稍微不同的功能和特性相关的不同同种型。在某些实施例中,该恒定区对于结合靶抗原的抗体是可有可无的。在某些实施例中,该抗体的恒定区、重链和轻链都是可有可无的。在某些实施例中,本文所述的抗体缺少轻链恒定区、重链恒定区或两者中的一个或多个。大多数单克隆抗体为IgG同种型;进一步分为四个亚类IgG₁、IgG₂、IgG₃和IgG₄。在某些实施例中,本文所述的抗体包括任何IgG亚类。在某些实施例中,该IgG亚类包括IgG₁。在某些实施例中,该IgG亚类包括IgG₂。在某些实施例中,该IgG亚类包括IgG₃。在某些实施例中,该IgG亚类包括IgG₄。

[0073] 抗体包括负责与补体和Fc受体结合的片段可结晶区(Fc区)。该Fc区包括该抗体分子的 C_{H2} 、 C_{H3} 和 C_{H4} 区。抗体的Fc区负责活化补体和抗体依赖性细胞的细胞毒性(ADCC)。该Fc区也有助于抗体的血清半衰期。在某些实施例中,本文所述的抗体的Fc区包括促进补体介导的细胞裂解的一个或多个氨基酸取代。在某些实施例中,本文所述的抗体的Fc区包括促进ADCC的一个或多个氨基酸取代。在某些实施例中,本文所述的抗体的Fc区包括减少补体介导的细胞裂解的一个或多个氨基酸取代。在某些实施例中,本文所述的抗体的Fc区包括增加该抗体与Fc受体的结合的一个或多个氨基酸取代。在某些实施例中,该Fc受体包括Fc γ RI(CD64)、Fc γ RIIA(CD32)、Fc γ RIIIA(CD16a)、Fc γ RIIIB(CD16b)或其任何组合。在某些实施例中,本文描述的抗体的Fc区包括一个或多个氨基酸取代,其增加了该抗体的血清半衰期。在某些实施例中,增加该抗体的血清半衰期的一个或多个氨基酸取代增加了该抗体对新生儿Fc受体(FcRn)的亲和力。

[0074] 在一些实施例中,本披露的抗体是具有一些但不是全部效应子功能的变体,这使其成为用于如下应用的理想候选物,其中抗体的体内半衰期很重要但某些效应子功能(诸如补体和ADCC)是不必要或有害的。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定,以证实CDC和/或ADCC活性的降低/耗竭。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合测定以确保抗体缺乏Fc γ R结合(因此可能缺乏ADCC活性),但是保留FcRn结合能力。评估目的分子的ADCC活性的体外测定的非限制性实例在美国专利号5,500,362和5,821,337中有描述。替代性地,可以采用非放射性测定方法(例如,ACTITM和CytoTox96[®]非放射性细胞毒性测定)。用于这类测定的有效效应细胞包括外周血单核细胞(PBMC)、单核细胞、巨噬细胞和自然杀伤(NK)细胞。

[0075] 抗体可具有增加的半衰期和改善的与新生儿Fc受体(FcRn)的结合(参见例如US 2005/0014934)。此类抗体可包括其中具有一个或多个取代的Fc区,其改善Fc区与FcRn的结合,并包括在如下一个或多个Fc区残基处具有取代的那些:238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434(根据EU编号体系)(参见例如美国专利号7,371,826)。还考虑了Fc区变体的其他实例(参见例如,Duncan& Winter, Nature[自然]322:738-40(1988);美国专利号5,648,260和5,624,821;和W094/29351)。

[0076] 在临床上有用的抗体通常被“人源化”以降低人类个体的免疫原性。人源化抗体改善了单克隆抗体治疗的安全性和功效。一种人源化的常用方法是在任何合适的动物(例如,小鼠、大鼠、仓鼠)中产生单克隆抗体,并用人恒定区代替恒定区,以此方式改造的抗体称为“嵌合的”。另一种常见的方法是“CDR移植”,其用人V-FR代替非人V-FR。在CDR移植方法中,除CDR区外的所有残基都是人源的。在某些实施例中,本文所述的抗体是人源化的。在某些实施例中,本文所述的抗体是嵌合的。在某些实施例中,本文所述的抗体是CDR移植的。

[0077] 人源化通常降低抗体的整体亲和力或对抗体的整体亲和力几乎没有影响。本文描述了在人源化后意外地对其靶点具有更大亲和力的抗体。在某些实施例中,人源化使对该抗体的亲和力增加了10%。在某些实施例中,人源化使对该抗体的亲和力增加了25%。在某些实施例中,人源化使对该抗体的亲和力增加了35%。在某些实施例中,人源化使对该抗体的亲和力增加了50%。在某些实施例中,人源化使对该抗体的亲和力增加了60%。在某些实施例中,人源化使对该抗体的亲和力增加了75%。在某些实施例中,人源化使对该抗体的亲和力增加了100%。亲和力是适合时使用表面等离子共振(SPR)测量的。在某些实施例中,使用糖基化的人LIF测量亲和力。在某些实施例中,该糖基化的人LIF被固定到该SPR芯片的表面。在某些实施例中,该抗体以小于约300纳摩尔、200纳摩尔、150纳摩尔、125纳摩尔、100纳摩尔、90纳摩尔、80纳摩尔、70纳摩尔、60纳摩尔、50纳摩尔、40纳摩尔或更低的K_d结合。

[0078] 本文所述的组合物和方法包括LIF结合多肽与基于铂的抗肿瘤剂的组合。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括免疫球蛋白可变区或免疫球蛋白重链恒定区的片段。在某些实施例中,该LIF结合多肽为与LIF特异性结合的抗体。在某些实施例中,该LIF结合抗体包括至少一个衍生自人免疫球蛋白框架区的框架区。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是人源化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是去免疫化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是IgG抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是Fab、F(ab)₂、单结构域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施例中,该

抗体是本文所述的h5D8抗体。

[0079] 在本文所述的某些实施例中,该与基于铂的抗肿瘤剂组合利用或施用的抗体是该h5D8抗体。该h5d8抗体特异性结合LIF,该抗体包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的VH-CDR1、SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的VH-CDR2以及SEQ ID NO:6至8中任一项所阐述的VH-CDR3。在本文所述的某些实施例中,h5D8特异性结合LIF且包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的VL-CDR1、SEQ ID NO:11或12所阐述的VL-CDR2以及SEQ ID NO:13所阐述的VL-CDR3。在本文所述的某些实施例中,h5D8特异性结合LIF且包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的VH-CDR1、SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的VH-CDR2以及SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的VH-CDR3、SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的VL-CDR1、SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的VL-CDR2以及SEQ ID NO:13所阐述的VL-CDR3。h5D8的VH和VL区由SEQ ID NO:42和46所阐述。

[0080] 在某些实施例中,该特异性结合LIF的抗体包含一个或多个人重链框架区,其包括:与SEQ ID NO:14-17中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:18或19中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20-22中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23-25中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个人重链框架区包括与SEQ ID NO:15所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:19所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:24所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该特异性结合LIF的抗体包含一个或多个人轻链框架区,其包括:与SEQ ID NO:26-29中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:30-33中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:34-37中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:38-40中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个人轻链框架区包括与SEQ ID NO:27所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:31所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:35所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:38所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个人重链框架区和该一个或多个人轻链区包括与SEQ ID NO:15所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:19所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:24所阐述

的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:27所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:31所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:35所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:38所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该特异性结合LIF的抗体包含一个或多个重链框架区,其包括:与SEQ ID NO:14-17中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:18或19中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20-22中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23-25中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个重链框架区包括与SEQ ID NO:15所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:19所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:24所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该特异性结合LIF的抗体包含一个或多个轻链框架区,其包括:与SEQ ID NO:26-29中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:30-33中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:34-37中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:38-40中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个轻链框架区包括与SEQ ID NO:27所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:31所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:35所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:38所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个重链框架区和该一个或多个轻链区包括与SEQ ID NO:15所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:19所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:24所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:27所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:31所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR2,与SEQ ID NO:35所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR3,以及与SEQ ID NO:38所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该抗体特异性结合人LIF。

[0081] 本文所述的r5D8抗体由用编码人LIF的DNA免疫的大鼠产生。r5D8被克隆并测序,且包括具有以下氨基酸序列的CDR(使用卡巴特和IMGT CDR编号方法的组合):对应于SEQ ID NO:1(GFTFSHAWMH)的VH-CDR1、对应于SEQ ID NO:4(QIKAKSDDYATYYAESVKG)的VH-CDR2、对应于SEQ ID NO:6(TCWEWDLDF)的VH-CDR3、对应于SEQ ID NO:9(RSSQSLDSDGHTYLN)的VL-CDR1、对应于SEQ ID NO:11(SVSNLES)的VL-CDR2以及对应于SEQ ID NO:13(MQATHAPPYT)的VL-CDR3。该抗体已通过CDR移植被人源化,且该人源化版本被称为h5D8。

[0082] 在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括与SEQ ID NO:1(GFTFSHAWMH)所阐述的至少80%或90%相同的VH-CDR1、与SEQ ID NO:4(QIKAKSDDYATYYAESVKG)所阐述的至少80%、90%或95%相同的VH-CDR2以及与SEQ ID NO:6(TCWEWDLDF)所阐述的至少80%或90%相同的VH-CDR3。在某些实施例中,本文描述了特异

性结合LIF的抗体,其包括与SEQ ID NO:9(RSSQSLDSDGHTYLN)所阐述的至少80%或90%相同的VL-CDR1、与SEQ ID NO:11(SVSNLES)所阐述的至少80%相同的VL-CDR2以及与SEQ ID NO:13(MQATHAPPYT)所阐述的至少80%或90%相同的VL-CDR3。在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括SEQ ID NO:1(GFTFSHAWMH)所阐述的VH-CDR1、SEQ ID NO:4(QIKAKSDDYATYYAESVKG)所阐述的VH-CDR2、SEQ ID NO:6(TCWEWDLDF)所阐述的VH-CDR3、SEQ ID NO:9(RSSQSLDSDGHTYLN)所阐述的VL-CDR1、SEQ ID NO:11(SVSNLES)所阐述的VL-CDR2以及SEQ ID NO:13(MQATHAPPYT)所阐述的VL-CDR3。在本披露的CDR的氨基酸序列中设想了某些保守氨基酸取代。在某些实施例中,该抗体包括CDR,其与SEQ ID NO:1、4、6、9、11和13中任一项所阐述的氨基酸序列相差1、2、3或4个氨基酸。在某些实施例中,该抗体包括CDR,其与SEQ ID NO:1、4、6、9、11和13中任一项所阐述的氨基酸序列相差1、2、3或4个氨基酸,且不会对结合亲和力造成大于10%、20%或30%的影响。在某些实施例中,特异性结合LIF的抗体包括一个或多个人重链框架区,其包括:与SEQ ID NO:14-17中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:18或19中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20-22中任一项所阐述的氨基酸序列至少90%相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23-25中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个人重链框架区包括与SEQ ID NO:15所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:19所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:24所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该特异性结合LIF的抗体包含一个或多个人轻链框架区,其包括:与SEQ ID NO:26-29中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:30-33中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:34-37中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:38-40中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个人轻链框架区包括与SEQ ID NO:27所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:31所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:35所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:38所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个人重链框架区和该一个或多个人轻链区包括与SEQ ID NO:15所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:19所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:24所阐述的氨基酸序列至少90%相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID

NO:27所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:31所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:35所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:38所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该抗体特异性结合人LIF。在某些实施例中,该特异性结合LIF的抗体包含一个或多个重链框架区,其包括:与SEQ ID NO:14-17中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:18或19中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20-22中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23-25中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个重链框架区包括与SEQ ID NO:15所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:19所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:24所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该特异性结合LIF的抗体包含一个或多个轻链框架区,其包括:与SEQ ID NO:26-29中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:30-33中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:34-37中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:38-40中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个轻链框架区包括与SEQ ID NO:27所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:31所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:35所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:38所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个重链框架区和该一个或多个轻链区包括与SEQ ID NO:15所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:19所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:24所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:27所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:31所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR2,与SEQ ID NO:35所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR3,以及与SEQ ID NO:38所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该抗体特异性结合人LIF。

[0083] 在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括与SEQ ID NO:1 (GFTFSHAWMH) 所阐述的至少80%或90%相同的VH-CDR1氨基酸序列、与SEQ ID NO:4 (QIKAKSDDYATYYAESVKG) 所阐述的至少80%、90%或95%相同的VH-CDR2氨基酸序列、以及与SEQ ID NO:8 (TSWEWDLDF) 所阐述的至少80%或90%相同的VH-CDR3氨基酸序列。在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括与SEQ ID NO:9 (RSSQSLLSDSGHTYLN) 所阐述的至少80%或90%相同的VL-CDR1氨基酸序列、与SEQ ID NO:11 (SVSNLES) 所阐述的至少80%相同的VL-CDR2氨基酸序列以及与SEQ ID NO:13 (MQATHAPPYT) 所阐述的至少80%或90%相同的VL-CDR3氨基酸序列。在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括SEQ ID NO:1 (GFTFSHAWMH) 所阐述的VH-CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:4 (QIKAKSDDYATYYAESVKG) 所阐述的VH-CDR2氨基酸序列、SEQ ID NO:8 (TSWEWDLDF) 所阐述的VH-CDR3氨基酸序列、SEQ ID NO:9 (RSSQSLLSDSGHTYLN) 所阐述的VL-CDR1氨基酸序列、SEQ

ID NO:11 (SVSNLES) 所阐述的VL-CDR2氨基酸序列以及SEQ ID NO:13 (MQATHAPPYT) 所阐述的VL-CDR3氨基酸序列。在本披露的CDR的氨基酸序列中设想了某些保守氨基酸取代。在某些实施例中,该抗体包括CDR,其与SEQ ID NO:1、4、8、9、11和13中任一项所阐述的氨基酸序列相差1、2、3或4个氨基酸。在某些实施例中,该抗体包括CDR,其与SEQ ID NO:1、4、8、9、11和13中任一项所阐述的氨基酸序列相差1、2、3或4个氨基酸,且不会对结合亲和力造成大于10%、20%或30%的影响。在某些实施例中,特异性结合LIF的抗体包括一个或多个重链框架区,其包括:与SEQ ID NO:14-17中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:18或19中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20-22中任一项所阐述的氨基酸序列至少90%相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23-25中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个重链框架区包括与SEQ ID NO:15所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:19所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:24所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该特异性结合LIF的抗体包含一个或多个轻链框架区,其包括:与SEQ ID NO:26-29中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:30-33中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:34-37中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:38-40中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个轻链框架区包括与SEQ ID NO:27所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:31所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:35所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:38所阐述的氨基酸序列至少90%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个重链框架区和该一个或多个轻链区包括与SEQ ID NO:15所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:19所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:24所阐述的氨基酸序列至少90%相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:27所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:31所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:35所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:38所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该抗体特异性结合人LIF。在某些实施例中,该特异性结合LIF的抗

体包含一个或多个人重链框架区,其包括:与SEQ ID NO:14-17中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:18或19中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20-22中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23-25中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个人重链框架区包括与SEQ ID NO:15所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:19所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:24所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该特异性结合LIF的抗体包含一个或多个人轻链框架区,其包括:与SEQ ID NO:26-29中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:30-33中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:34-37中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:38-40中任一项所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个人轻链框架区包括与SEQ ID NO:27所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:31所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:35所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:38所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该一个或多个人重链框架区和该一个或多个人轻链区包括与SEQ ID NO:15所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:19所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:20所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:24所阐述的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:27所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:31所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR2,与SEQ ID NO:35所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR3,以及与SEQ ID NO:38所阐述的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施例中,该抗体特异性结合人LIF。

[0084] 在某些实施例中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链可变区,该人源化重链可变区包括与SEQ ID NO:41、42和44中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链可变区,该人源化重链可变区包括SEQ ID NO:41、42和44中任一项所阐述的氨基酸序列。在某些实施例中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包括人源化轻链可变区,该人源化轻链可变区包括与SEQ ID NO:45-48中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包括人源化轻链可变区,该人源化轻链可变区包括SEQ ID NO:45-48中任一项所阐述的氨基酸序列。在某些实施例中,该抗体特异性结合人LIF。

[0085] 在某些实施例中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链可变区,该人源化重链可变区包括与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列;以及人源化轻链可变区,该人源化轻链可变区包括与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链可变区,该人源化重链可变区包括SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序

列;以及人源化轻链可变区,其包括SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列。

[0086] 在某些实施例中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链可变区,该人源化重链可变区包括与SEQ ID NO:66所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列;以及人源化轻链可变区,该人源化轻链可变区包括与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链可变区,该人源化重链可变区包括SEQ ID NO:66所阐述的氨基酸序列;以及人源化轻链可变区,其包括SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列。

[0087] 在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链,该人源化重链包括与SEQ ID NO:57-60中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列;以及人源化轻链,其包括与SEQ ID NO:61-64中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链,该人源化重链包括SEQ ID NO:57-60中任一项所阐述的氨基酸序列;以及人源化轻链,其包括SEQ ID NO:61-64中任一项所阐述的氨基酸序列。

[0088] 在某些实施例中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链,该人源化重链包括与SEQ ID NO:58所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列;以及人源化轻链,该人源化轻链包括与SEQ ID NO:62所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链,该人源化重链包括SEQ ID NO:58所阐述的氨基酸序列;以及人源化轻链,其包括SEQ ID NO:62所阐述的氨基酸序列。在某些实施例中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链,该人源化重链包括与SEQ ID NO:67所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列;以及人源化轻链,该人源化轻链包括与SEQ ID NO:62所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链,该人源化重链包括SEQ ID NO:67所阐述的氨基酸序列;以及人源化轻链,其包括SEQ ID NO:62所阐述的氨基酸序列。

[0089] 在某些实施例中,本文描述了特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,其包括:重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:3所阐述的氨基酸序列;重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4所阐述的氨基酸序列;重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:7所阐述的氨基酸序列;轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:9所阐述的氨基酸序列;轻链互补决定区2(VL-CDR2),其包括SEQ ID NO:11所阐述的氨基酸序列;轻链互补决定区3(VL-CDR3),其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。

[0090] 在某些实施例中,本文描述了特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,其包括:重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:2所阐述的氨基酸序列;重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:5所阐述的氨基酸序列;重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:6所阐述的氨基酸序列;轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:10所阐述的氨基酸序列;轻链互补决定区2(VL-CDR2),其包括SEQ ID NO:12所阐述的氨基酸

序列;轻链互补决定区3(VL-CDR3),其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。在本披露的CDR的氨基酸序列中设想了某些保守氨基酸取代。在某些实施例中,该抗体包括CDR,其与SEQ ID NO:2、5、6、10、12和13中任一项所阐述的氨基酸序列相差1、2、3或4个氨基酸。在某些实施例中,该抗体包括CDR,其与SEQ ID NO:2、5、6、10、12和13中任一项所阐述的氨基酸序列相差1、2、3或4个氨基酸,且不会对结合亲和力造成大于10%、20%或30%的影响。

[0091] 在某些实施例中,本文描述了特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,其包括:重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:3所阐述的氨基酸序列;重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4所阐述的氨基酸序列;重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:7所阐述的氨基酸序列;轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:9所阐述的氨基酸序列;轻链互补决定区2(VL-CDR2),其包括SEQ ID NO:11所阐述的氨基酸序列;轻链互补决定区3(VL-CDR3),其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。在本披露的CDR的氨基酸序列中设想了某些保守氨基酸取代。在某些实施例中,该抗体包括CDR,其与SEQ ID NO:3、4、7、9、11和13中任一项所阐述的氨基酸序列相差1、2、3或4个氨基酸。在某些实施例中,该抗体包括CDR,其与SEQ ID NO:3、4、7、9、11和13中任一项所阐述的氨基酸序列相差1、2、3或4个氨基酸,且不会对结合亲和力造成大于10%、20%或30%的影响。

[0092] 在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链,该人源化重链包括与SEQ ID NO:49-52中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列;以及人源化轻链,其包括与SEQ ID NO:53-56中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链,该人源化重链包括SEQ ID NO:49-52中任一项所阐述的氨基酸序列;以及人源化轻链,其包括SEQ ID NO:53-56中任一项所阐述的氨基酸序列。

[0093] 在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链,该人源化重链包括与SEQ ID NO:50所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列;以及人源化轻链,其包括与SEQ ID NO:54所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括人源化重链,该人源化重链包括SEQ ID NO:50所阐述的氨基酸序列;以及人源化轻链,其包括SEQ ID NO:54所阐述的氨基酸序列。

[0094] 由治疗上有用的LIF抗体结合的表位

[0095] 本文描述了人LIF的独特表位,其在被结合时抑制LIF的生物学活性(例如,STAT3磷酸化)且在体内抑制肿瘤生长。本文所述的表位由两个不连续的氨基酸片段(从人LIF的残基13到残基32和残基120到138)组成,它们存在于人LIF蛋白的两个不同拓扑域(α 螺旋A和C)。这种结合是弱(范德华力吸引)、中等(氢结合)和强(盐桥)相互作用的组合。在某些实施例中,接触残基是LIF上的残基,其与抗LIF抗体上的残基形成氢键。在某些实施例中,接触残基是LIF上的残基,其与抗LIF抗体上的残基形成盐桥。在某些实施例中,接触残基是LIF上的残基,其与抗LIF抗体上的残基形成范德华力并在至少5、4或3埃之内。

[0096] 在某些实施例中,本文所述的包括LIF结合抗体和顺铂的方法和组合物包括分离的抗体,其结合以下残基中的任何一个、二个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个或二十个:SEQ

ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,本文描述了结合以下所有残基的分离的抗体:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,本文描述了结合以下所有残基的分离的抗体:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强相互作用的残基。在某个实施例中,该抗体与LIF的螺旋A和C相互作用。在某个实施例中,该抗体阻断LIF与gp130的相互作用。

[0097] 在某些实施例中,本文描述了一种抗体,其包括具有SEQ ID NO:1、4、6、9、11和13中任一项所阐述的氨基酸序列的CDR,该抗体结合以下残基中的任何一个、二个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个或二十个:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,本文描述了一种抗体,其包括具有SEQ ID NO:1、4、6、9、11和13中任一项所述氨基酸序列的CDR,该抗体与以下所有残基结合:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强相互作用的残基。

[0098] 在某些实施例中,本文描述了一种抗体,其包括具有SEQ ID NO:1、4、8、9、11和13中任一项所阐述的氨基酸序列的CDR,该抗体结合以下残基中的任何一个、二个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个或二十个:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,本文描述了一种抗体,其包括具有SEQ ID NO:1、4、8、9、11和13中任一项所述氨基酸序列的CDR,该抗体与以下所有残基结合:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强相互作用的残基。

[0099] 在某些实施例中,本文描述了一种抗体,该抗体包括与SEQ ID NO:1、4、6、9、11和13中任一项所阐述的氨基酸序列相差1、2、3、4或5个氨基酸的CDR,且结合以下残基中的任何一个、二个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个或二十个:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,本文描述了一种抗体,该抗体包括与SEQ ID NO:1、4、6、9、11和13中任一项所阐述的氨基酸序列相差1、2、3、4或5个氨基酸的CDR,且与以下所有残基结合:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强相互作用的残基。

[0100] 在某些实施例中,本文描述了一种抗体,该抗体包括与SEQ ID NO:1、4、8、9、11和13中任一项所阐述的氨基酸序列相差1、2、3、4或5个氨基酸的CDR,且结合以下残基中的任何一个、二个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三、十四、十五、十六、十七、十八、十九或二十个:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,本文描述了一种抗体,该抗体包括与SEQ ID NO:1、4、8、9、11和13中任一项所阐述的氨基酸序列相差1、2、3、4或5个氨基酸的CDR,且与以下所有残基结合:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强相互作用的残基。

[0101] 在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化重链可变区氨基酸序列;以及与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化轻链可变区氨基酸序列,且结合以下残基中的任何一个、二个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二、十三、十四、十五、十六、十七、十八、十九或二十个:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化重链可变区氨基酸序列;以及与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化轻链可变区氨基酸序列,且与以下所有残基结合:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强相互作用的残基。

[0102] 在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括与SEQ ID NO:66所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化重链可变区氨基酸序列;以及与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化轻链可变区氨基酸序列,且结合以下残基中的任何一个、二个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二、十三、十四、十五、十六、十七、十八、十九或二十个:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,本文描述了特异性结合LIF的抗体,其包括与SEQ ID NO:66所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化重链可变区氨基酸序列;以及与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化轻链可变区氨基酸序列,且与以下所有残基结合:SEQ ID NO:68的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施例中,该抗体仅结合和该抗体一起参与强相互作用的残基。

残基。

[0103] 在某些实施例中,本文披露的抗体抑制细胞中的LIF信号传导。在某些实施例中,用于在血清饥饿条件下在U-251细胞中生物抑制该抗体的 IC_{50} 小于或等于约100、75、50、40、30、20、10、5或1纳摩尔。在某些实施例中,用于在血清饥饿条件下在U-251细胞中生物抑制该抗体的 IC_{50} 小于或等于约900、800、700、600、500、400、300、200或100纳摩尔。

[0104] 在某些实施例中,本文披露的抗体可用于治疗表达LIF的肿瘤和癌症。在某些实施例中,已经将用本披露的抗体治疗的个体选择为具有LIF阳性肿瘤/癌症用于治疗。在某些实施例中,该肿瘤是LIF阳性或产生升高水平的LIF。在某些实施例中,与参考值或一组病理学标准相比,确定LIF阳性。在某些实施例中,LIF阳性肿瘤表达衍生该肿瘤的非转化细胞的2倍、3倍、5倍、10倍、100倍或更多的LIF。在某些实施例中,该肿瘤已获得LIF的异位表达。LIF阳性肿瘤可以使用例如抗LIF抗体的免疫组织化学在组织学上确定;通过常用的分子生物学方法,诸如像通过实时PCR或RNA-seq进行mRNA定量;或者例如,通过蛋白质印迹、流式细胞术、ELISA或同质蛋白质定量测定(例如, **AlphaLISA[®]**)进行蛋白质定量。在某些实施例中,该抗体可用于治疗诊断为癌症的患者。在某些实施例中,该癌症包括一种或多种癌症干细胞,或者是一种或多种癌症干细胞。

[0105] 在某些实施例中,本文披露的抗体可用于治疗表达LIF受体(CD118)的癌症中的肿瘤。LIF受体阳性肿瘤可以通过组织病理学或流式细胞术确定,并且在某些实施例中,其包括以同种型对照的2倍、3倍、3倍、4倍、5倍、10倍或更多结合LIF受体抗体的细胞。在某些实施例中,该肿瘤已经获得了该LIF受体的异位表达。在某个实施例中,该癌症是癌症干细胞。在某个实施例中,可以使用抗LIF和抗LIF抗体通过免疫组织化学来确定LIF阳性肿瘤或癌症。在某个实施例中,通过IHC分析确定LIF阳性肿瘤,其中LIF水平在肿瘤的前10%、20%、30%、40%或前50%中。

[0106] 本文所述的抗体影响许多结果。在某个实施例中,与对照抗体(例如同种型对照)相比,本文所述的抗体可以减少肿瘤模型肿瘤中M2巨噬细胞的存在至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。可通过在IHC切片中染色CCL22和CD206或通过肿瘤浸润性免疫细胞或骨髓细胞的流式细胞术来鉴定M2巨噬细胞。在某个实施例中,与对照抗体(例如,同种型对照)相比,本文所述的抗体可将LIF与gp130肿瘤的结合降低至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。在某个实施例中,与对照抗体(例如同种型对照)相比,本文所述的抗体可以在LIF反应性细胞系中减少LIF信号传导至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。LIF信号传导可以通过例如磷酸化STAT3(LIF信号传导的下游靶点)的蛋白质印迹来测量。与其他IL-6家族成员细胞因子相比,此处的抗体对LIF也具有高度特异性。在某些实施例中,该抗体以任何其他IL-6家族成员细胞因子的亲和力的约10x、约50x或约100x的亲和力结合人LIF。在某些实施例中,该LIF抗体不结合在哺乳动物系统中产生的其他IL-6家族成员细胞因子。在某些实施例中,该抗体不结合在哺乳动物系统中产生的制瘤素M。

[0107] 在某些实施例中,该LIF结合多肽和抗体可以通过适合于施用含抗体的药物组合物的任何途径来施用,诸如像皮下、腹膜内、静脉内、肌肉内、肿瘤内或脑内等。在某些实施例中,该抗体是静脉内施用的。在某些实施例中,以合适的剂量时间表,例如每周、每周两次、每月、每月两次等施用该抗体。在某些实施例中,每三周一次施用该抗体。可以任何治疗

有效量施用该抗体。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约0.1mg/kg与约50mg/kg之间。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约1mg/kg与约40mg/kg之间。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约5mg/kg与约30mg/kg之间。LIF结合多肽或抗体可以在至少约60分钟的时间段内静脉内施用;但是,根据与每个个体施用相关的条件,此时间段可能会多少有所不同。

[0108] 基于铂的抗肿瘤剂

[0109] 基于铂的抗肿瘤剂,也称为铂类,是铂的配位络合物,用于治疗癌症。本文所述的LIF结合多肽和抗体可以与基于铂的抗肿瘤剂组合,且用于治疗肿瘤、癌症或其他赘生物的方法中。在某些实施例中,本文所述的LIF结合多肽和抗体可以与可用于治疗癌症、肿瘤或其他赘生物的药物组合物中的基于铂的抗肿瘤剂组合。本文所述的h5D8抗体可以与基于铂的抗肿瘤剂组合,且用于治疗肿瘤、癌症或其他赘生物的方法中。在某些实施例中,本文所述的h5D8抗体可以与可用于治疗癌症、肿瘤或其他赘生物的药物组合物中的基于铂的抗肿瘤剂组合。

[0110] 在本文的组合物和方法中使用的基于铂的抗肿瘤剂可引起DNA的交联或与DNA的结合。该交联可抑制癌细胞中的DNA修复或DNA合成。该交联可能阻碍细胞过程并导致凋亡。在一些实施例中,该基于铂的抗肿瘤剂包括:顺铂(Platinol®,顺式二氨合二氯化铂(II)(CDDP),顺式二氨合二氯化铂(II),[SP-4-2]-二胺二氯铂);卡铂(Paraplatin®,顺式二氨合(1,1-环丁烷二羧酸)铂);奥沙利铂(Eloxatin®,[SP-4-2]-(1R-反式)]-(1,2-环己二胺-N,N')[乙二酸(2-)-0,0']铂);奈达铂(Aqupla®,顺式二氨合(乙醇酸基-0,0')铂,[SP-4-3]-二氨合(羟乙酰(2-)-0¹,0²)铂);四硝酸三铂(BBR3464,六氨合二氯-双[μ-(1,6-己二胺-κN:κN')]四硝酸三铂(4⁺));菲铂([SP-4-3]-二氨合氯(菲啶)-硝酸铂(1⁺),吡铂([SP-4-3]-氨合二氯(2-甲基吡啶)铂),赛特铂(JM216,[OC-6-43]-双(乙酰-0)氨合二氯(环己胺)铂);洛铂([SP-4-3-(S),(反式)]-(1,2-环丁二甲胺-N,N')[2-羟基丙酸(2-)-0¹,0²]-铂);庚铂(依铂(Eptaplatin),[SP-4-2-[4R-(2α,4α,5β)]]-[2-(1-甲基乙基)-1,3-二氧戊环-4,5-二甲胺-N,N']丙二酸(2-)-0,0']-铂);其药学上可接受的盐,或它们的组合。在一些实施例中,该基于铂的抗肿瘤剂是顺铂。

[0111] 在某些实施例中,该基于铂的抗肿瘤剂可以通过适合于施用含小分子的药物组合物的任何途径来施用,诸如像皮下、腹膜内、静脉内、肌肉内、肿瘤内、脑内或口服。在某些实施例中,静脉内施用基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,该基于铂的抗肿瘤剂以合适的剂量方案施用,例如每天、每两天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次、每五天一次、每六天一次、每周一次、每周两次、每月一次、每月两次、每两周一次、每三周一次或每四周一次。可以任何治疗有效量施用该基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约1mg/m²至约1000mg/m²体表面积之间。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约50mg/m²至约70mg/m²之间。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约50mg/m²至约100mg/m²、约50mg/m²至约150mg/m²、或约50mg/m²至约200mg/m²体表面积。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约10mg/m²至约50mg/m²、约10mg/m²至约70mg/m²、或10mg/m²至约100mg/m²体表面积。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约1mg/m²至约50mg/m²、约1mg/m²至约70mg/m²、或约1mg/m²至约100mg/m²体表面积。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约100mg/m²至约200mg/m²、约200mg/m²至约500mg/m²、或约300mg/m²至约600mg/m²体表面积。在

某些实施例中,该治疗上可接受的量为约 $1\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $2\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $3\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $4\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $5\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $6\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $7\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $8\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $9\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $10\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $20\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $30\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $40\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $50\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $60\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $70\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $80\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $90\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $100\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $110\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $120\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $130\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $140\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $150\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $160\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $170\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $180\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $190\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $200\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $300\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $400\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $600\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $700\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $800\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $900\text{mg}/\text{m}^2$ 或 $1000\text{mg}/\text{m}^2$ 体表面积。

[0112] 在某些实施例中,可以任何治疗有效量施用顺铂。在某些实施例中,顺铂的该治疗上可接受的量为约 $50\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $70\text{mg}/\text{m}^2$ 体表面积之间。在某些实施例中,顺铂的该治疗上可接受的量为约 $50\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $100\text{mg}/\text{m}^2$ 体表面积之间。在某些实施例中,顺铂的该治疗上可接受的量为约 $10\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $70\text{mg}/\text{m}^2$ 体表面积之间。在某些实施例中,顺铂的该治疗上可接受的量为约 $10\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $100\text{mg}/\text{m}^2$ 体表面积之间。在某些实施例中,顺铂的该治疗上可接受的量为约 $1\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $50\text{mg}/\text{m}^2$ 体表面积之间。在某些实施例中,顺铂的该治疗上可接受的量为约 $1\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $70\text{mg}/\text{m}^2$ 体表面积之间。在某些实施例中,顺铂的该治疗上可接受的量为约 $1\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $100\text{mg}/\text{m}^2$ 体表面积之间。在某些实施例中,顺铂的该治疗上可接受的量为约 $1\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $2\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $3\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $4\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $5\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $6\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $7\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $8\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $9\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $10\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $20\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $30\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $40\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $50\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $60\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $70\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $80\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $90\text{mg}/\text{m}^2$ 或 $100\text{mg}/\text{m}^2$ 体表面积。

[0113] 在某些实施例中,可以约10毫克与约1500毫克之间的平剂量水平向个体施用该基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,可以如下的平剂量水平向个体施用该基于铂的抗肿瘤剂:约50毫克与约1000毫克之间、约50毫克与约800毫克之间、约50毫克与约600毫克之间、约50毫克与约500毫克之间、约100毫克与约500毫克之间。在某些实施例中,可以如下的平剂量水平向个体施用该基于铂的抗肿瘤剂:约10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1100、1200、1300、1400或1500毫克。在某些实施例中,可以适于单一疗法的水平向个体施用该基于铂的抗肿瘤剂。

[0114] 在某些实施例中,可以约10毫克与约500毫克之间的平剂量水平向个体施用顺铂。在某些实施例中,可以如下的平剂量水平向个体施用顺铂:约50毫克与约500毫克之间、约50毫克与约400毫克之间、约100毫克与约400毫克之间、约100毫克与约300毫克之间、或约100毫克与约200毫克之间。在某些实施例中,可以如下的平剂量水平向个体施用顺铂:约10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450或500毫克。在某些实施例中,可以适于单一疗法的水平向个体施用顺铂。

[0115] H5D8剂量

[0116] 在某些实施例中,这些抗体可以通过适合于施用含抗体的药物组合物的任何途径来施用,诸如像皮下、腹膜内、静脉内、肌肉内、肿瘤内或脑内等。在某些实施例中,静脉内施用这些抗体。在某些实施例中,以合适的剂量时间表,例如每周、每周两次、每月、每月两次等施用该抗体。在某些实施例中,每三周一次施用该抗体。可以任何治疗有效量施用该抗体。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约 $0.01\text{mg}/\text{kg}$ 与约 $50\text{mg}/\text{kg}$ 之间。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ 与约 $50\text{mg}/\text{kg}$ 之间。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约 $0.1\text{mg}/\text{kg}$ 与约 $50\text{mg}/\text{kg}$ 之间。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约 $1\text{mg}/\text{kg}$ 与约 $40\text{mg}/\text{kg}$ 之间。在某些实施例中,该治疗上可接受的量为约 $5\text{mg}/\text{kg}$ 与约 $30\text{mg}/\text{kg}$ 之间。h5D8抗体可以平剂量施用,而与h5D8抗体所施用个体的体重或质量无关。不论施用h5D8抗

体的个体的体重或质量如何,均可以平剂量施用h5D8抗体,条件是该个体的质量至少约为37.5千克。可以从约1毫克至约2000毫克施用平剂量的h5D8。可以从约10毫克至约2000毫克施用平剂量的h5D8。可以从约25毫克至约2000毫克施用平剂量的h5D8。可以从约50毫克至约2000毫克施用平剂量的h5D8。可以从约75毫克至约2000毫克施用平剂量的h5D8。可以从约225毫克至约2000毫克、约750毫克至约2000毫克、约1125毫克至约2000毫克或约1500毫克至约2000毫克施用平剂量的h5D8。可以约1毫克施用平剂量的h5D8。可以约10毫克施用平剂量的h5D8。可以约25毫克施用平剂量的h5D8。可以约50毫克施用平剂量的h5D8。可以约75毫克施用平剂量的h5D8。可以约225毫克施用平剂量的h5D8。可以约750毫克施用平剂量的h5D8。可以约1125毫克施用平剂量的h5D8。可以约1500毫克施用平剂量的h5D8。可以约2000毫克施用平剂量的h5D8。

[0117] 预期h5D8的其他剂量。可以约1、10、25、50、100、150、175、200、250、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、625、650、675、700、725、775、800、825、850、875、900、925、950、975、1000、1025、1050、1075、1100、1150、1175、1200、1225、1250、1275、1300、1325、1350、1375、1400、1425、1450、1475、1525、1550、1575、1600、1625、1650、1675、1700、1725、1750、1775、1800、1825、1850、1875、1900、1925、1950、1975、2025、2050、2075或2100毫克施用平剂量的h5D8。可以每周一次、每两周一次、每三周一次或每四周一次施用这些剂量中的任何一种。

[0118] 可以从约1毫克至约2000毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以从约10毫克至约2000毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以从约25毫克至约2000毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以从约50毫克至约2000毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以从约75毫克至约2000毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以从约75毫克至约1500毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以从约225毫克至约1500毫克、约750毫克至约1500毫克、约1125毫克至约1500毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以约1毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以约10毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以约25毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以约50毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以约75毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以约225毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以约750毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以约1125毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以约1500毫克每周一次施用平剂量的h5D8。可以约2000毫克每周一次施用平剂量的h5D8。

[0119] 可以从约1毫克至约2000毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以从约10毫克至约2000毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以从约25毫克至约2000毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以从约50毫克至约2000毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以从约75毫克至约2000毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以从约75毫克至约1500毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以从约225毫克至约1500毫克、约750毫克至约1500毫克、约1125毫克至约1500毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以约1毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以约10毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以约25毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以约50毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以约75毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以约225毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以约750毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以约1125毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以约1500毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。可以约2000毫克每两周一次施用平剂量的h5D8。

[0120] 可以从约1毫克至约2000毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以从约10毫克至约2000毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以从约25毫克至约2000毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以从约50毫克至约2000毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以从约75毫克至约2000毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以从约225毫克至约1500毫克、约750毫克至约1500毫克、约1125毫克至约1500毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以约1毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以约10毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以约25毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以约50毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以约75毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以约225毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以约750毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以约1125毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以约1500毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。可以约2000毫克每三周一次施用平剂量的h5D8。

[0121] 可以从约1毫克至约2000毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以从约10毫克至约2000毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以从约25毫克至约2000毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以从约50毫克至约2000毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以从约75毫克至约2000毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以从约75毫克至约1500毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以从约225毫克至约1500毫克、约750毫克至约1500毫克、约1125毫克至约1500毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以约1毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以约10毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以约25毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以约50毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以约75毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以约225毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以约750毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以约1125毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以约1500毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。可以约2000毫克每四周一次施用平剂量的h5D8。

[0122] 可以基于被施用h5D8抗体的个体的体重或质量的剂量来施用h5D8抗体。可以从约0.01mg/kg至约25mg/kg施用体重调整剂量的h5D8。可以从约0.05mg/kg至约25mg/kg施用体重调整剂量的h5D8。可以从约0.1mg/kg至约25mg/kg施用体重调整剂量的h5D8。可以从约0.5mg/kg至约25mg/kg施用体重调整剂量的h5D8。可以从约1mg/kg至约25mg/kg施用体重调整剂量的h5D8。可以从约3mg/kg至约25mg/kg、约10mg/kg至约25mg/kg、约15mg/kg至约25mg/kg或约20mg/kg至约25mg/kg施用体重调整剂量的h5D8。可以约1mg/kg施用体重调整剂量的h5D8。可以约3mg/kg施用体重调整剂量的h5D8。可以约10mg/kg施用体重调整剂量的h5D8。可以约15mg/kg施用体重调整剂量的h5D8。可以约20mg/kg施用体重调整剂量的h5D8。可以约25mg/kg施用体重调整剂量的h5D8。

[0123] 可以从约0.01mg/kg至约25mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以从约0.05mg/kg至约25mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以从约0.1mg/kg至约25mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以从约0.5mg/kg至约25mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以从约1mg/kg至约25mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以从约3mg/kg至约25mg/kg、约10mg/kg至约20mg/kg、约15mg/kg至约25mg/kg、约20mg/kg至约25mg/kg每一、二、三或四周一次施用体重调整剂量的h5D8。

[0124] 预期h5D8的其他体重调整剂量。可以约0.01mg/kg、0.05mg/kg、0.1mg/kg、0.5mg/kg、1mg/kg、2mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、7mg/kg、8mg/kg、9mg/kg、11mg/kg、12mg/kg、

13mg/kg、14mg/kg、16mg/kg、17mg/kg、18mg/kg、19mg/kg、21mg/kg、22mg/kg、23mg/kg、24mg/kg、26mg/kg、27mg/kg、28mg/kg、29mg/kg或30mg/kg施用体重调整剂量的h5D8。可以每周一次、每两周一次、每三周一次或每四周一次施用这些剂量中的任何一种。

[0125] 可以约0.01mg/kg每周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约0.05mg/kg每周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约0.1mg/kg每周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约0.5mg/kg每周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约1mg/kg每周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约3mg/kg每周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约10mg/kg每周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约15mg/kg每周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约20mg/kg每周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约25mg/kg每周一次施用体重调整剂量的h5D8。

[0126] 可以约0.01mg/kg每两周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约0.05mg/kg每两周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约0.1mg/kg每两周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约0.5mg/kg每两周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约1mg/kg每两周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约3mg/kg每两周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约10mg/kg每两周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约15mg/kg每两周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约20mg/kg每两周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约25mg/kg每两周一次施用体重调整剂量的h5D8。

[0127] 可以约0.01mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约0.05mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约0.1mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约0.5mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约1mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约3mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约10mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约15mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约20mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约25mg/kg每三周一次施用体重调整剂量的h5D8。

[0128] 可以约0.01mg/kg每四周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约0.05mg/kg每四周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约0.1mg/kg每四周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约0.5mg/kg每四周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约1mg/kg每四周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约3mg/kg每四周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约10mg/kg每四周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约15mg/kg每四周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约20mg/kg每四周一次施用体重调整剂量的h5D8。可以约25mg/kg每四周一次施用体重调整剂量的h5D8。

[0129] 本文详述的任何剂量均可在至少约60分钟的时间段内静脉内施用；但是，根据与每个个体施用相关的条件，此时间段可能会多少有所不同。

[0130] 组合疗法的剂量时间表

[0131] 可以多种方式施用包括LIF结合多肽和基于铂的抗肿瘤剂的组合治疗。该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂可以相同的时间表同时施用或以不同的时间表在不同的时间施用。当同时施用时，可以通过分开的配制品或包括LIF结合多肽和基于铂的抗肿瘤剂的单一配制品进行施用。可以混合施用方式，例如LIF结合多肽可以静脉内施用，而基于铂的抗肿瘤剂可以口服或肠胃外注射施用。在某些实施例中，LIF结合多肽经静脉内、肠胃外、皮下、肿瘤内或口服施用。在某些实施例中，基于铂的抗肿瘤剂经静脉内、肠胃外、皮下、肿瘤

内或口服施用。

[0132] 当以相同的方案对个体进行组合治疗时,可每周一次、每两周一次或每四周一次施用该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂。该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂可以分开施用或作为单一配制品施用。

[0133] 当以不同的时间表对个体进行组合治疗时,可以交替使用该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,可在施用LIF结合多肽之前施用个体一次或多次基于铂的抗肿瘤剂。可以在施用基于铂的抗肿瘤剂的1天、2天、3天、4天、5天或6天之内施用LIF结合多肽。可以在施用基于铂的抗肿瘤剂的1周、2周、3周或4周内施用LIF结合多肽。可以在施用基于铂的抗肿瘤剂的1天、2天、3天、4天、5天或6天内施用该h5D8抗体。可以在施用基于铂的抗肿瘤剂的1周、2周、3周或4周内施用该h5D8抗体。

[0134] 可以在施用基于铂的抗肿瘤剂之前将LIF结合多肽施用给个体一次或多次。在某些实施例中,可以在施用LIF结合多肽的1天、2天、3天、4天、5天或6天内施用基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,可以在施用LIF结合多肽的1周、2周、3周或4周内施用基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,可以在施用该h5D8抗体的1天、2天、3天、4天、5天或6天内施用基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,可以在施用该h5D8抗体的1周、2周、3周或4周内施用基于铂的抗肿瘤剂。

[0135] 在某些实施例中,可每周一次向个体施用LIF结合多肽,且可每周、每两周、每三周或每四周向个体施用基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,可每两周一次向个体施用LIF结合多肽,且可每周、每两周、每三周或每四周向个体施用基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,可每三周一次向个体施用LIF结合多肽,且可每周、每两周、每三周或每四周向个体施用基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,可每四周一次向个体施用LIF结合多肽,且可每周、每两周、每三周或每四周向个体施用基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,可每周一次向个体施用基于铂的抗肿瘤剂,且可每周、每两周、每三周或每四周向个体施用LIF结合多肽。在某些实施例中,可每两周一次向个体施用基于铂的抗肿瘤剂,且可每周、每两周、每三周或每四周向个体施用LIF结合多肽。在某些实施例中,可每三周一次向个体施用基于铂的抗肿瘤剂,且可每周、每两周、每三周或每四周向个体施用LIF结合多肽。在某些实施例中,可每四周一次向个体施用基于铂的抗肿瘤剂,且可每周、每两周、每三周或每四周向个体施用LIF结合多肽。在某些实施例中,可以在施用基于铂的抗肿瘤剂之前向个体施用一次或多次h5D8。在某些实施例中,可每周一次向个体施用h5D8,且可每周、每两周、每三周或每四周向个体施用基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,可每两周一次向个体施用h5D8,且可每周、每两周、每三周或每四周向个体施用基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,可每三周一次向个体施用h5D8,且可每周、每两周、每三周或每四周向个体施用基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,可每四周一次向个体施用h5D8,且可每周、每两周、每三周或每四周向个体施用基于铂的抗肿瘤剂。

[0136] 根据本披露的组合治疗可以包括其中一种或两种本身作为单一疗法无效但是当作为组合治疗的一部分施用时有有效的活化成分(例如,LIF结合多肽和基于铂的抗肿瘤剂)的组合。在某些实施例中,以对于单一疗法无效但与LIF结合多肽组合有效的水平施用基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,以对于单一疗法无效但与h5D8抗体组合有效的水平施用基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,以对于单一疗法无效但与基于铂的抗肿瘤剂组合有

效的水平施用LIF结合多肽。在某些实施例中,以对于单一疗法无效但与基于铂的抗肿瘤剂组合有效的水平施用h5D8。在某些实施例中,LIF结合多肽和基于铂的抗肿瘤剂二者均以对于单一疗法无效但组合有效的水平施用。在某些实施例中,h5D8和基于铂的抗肿瘤剂二者均以对于单一疗法无效但组合有效的水平施用。

[0137] 治疗适应症

[0138] 在某些实施例中,本文披露了可用于治疗癌症或肿瘤的方法和组合物。在某些实施例中,该癌症包括乳腺、心脏、肺、小肠、结肠、脾脏、肾脏、膀胱、头、颈、卵巢、前列腺、脑、胰腺、皮肤、骨、骨髓、血液、胸腺、子宫、睾丸和肝肿瘤。在某些实施例中,可以用本发明的抗体治疗的肿瘤包括腺瘤、腺癌、血管肉瘤、星形细胞瘤、上皮癌、生殖细胞瘤、胶质母细胞瘤、神经胶质瘤、血管内皮瘤、血管肉瘤、血肿、肝母细胞瘤、白血病、淋巴瘤、髓母细胞瘤、黑色素瘤、神经母细胞瘤、骨肉瘤、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤和/或畸胎瘤。在某些实施例中,该肿瘤/癌症选自以下的组:肢端雀斑痣性黑色素瘤、光化性角化病、腺癌、腺样囊性癌、腺瘤、腺肉瘤、腺鳞癌、星形细胞肿瘤、巴氏腺癌、基底细胞癌、支气管腺癌、毛细管类癌、癌、癌肉瘤、胆管癌、软骨肉瘤、囊腺瘤、皮内窦瘤、子宫内膜增生、子宫内膜间质肉瘤、子宫内膜样腺癌、室间隔肉瘤、尤文肉瘤、局灶性结节性增生、胃腺瘤、生殖细胞系肿瘤、胶质母细胞瘤、胰高血糖素瘤、成血管细胞瘤、血管内皮瘤、血管瘤、肝腺瘤、肝脏腺癌、肝细胞癌、胰岛素瘤(insulinoma)、上皮内瘤变、上皮内鳞状细胞瘤变、浸润性鳞状细胞癌、大细胞癌、脂肪肉瘤、肺癌、淋巴母细胞性白血病、淋巴细胞性白血病、平滑肌肉瘤、黑色素瘤、恶性黑色素瘤、恶性间皮瘤、神经鞘瘤、髓母细胞瘤、髓上皮瘤、间皮瘤、粘液表皮样癌、髓性白血病、神经母细胞瘤、神经上皮腺癌、结节性黑色素瘤、骨肉瘤、卵巢癌、乳头浆液性腺瘤、垂体瘤、浆细胞瘤、假肉瘤、前列腺癌、肺母细胞瘤、肾细胞癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤、浆液性癌、鳞状细胞癌、小细胞癌、软组织癌、生长抑素分泌性肿瘤、鳞状癌、鳞状细胞癌、未分化癌、葡萄膜黑色素瘤、疣状癌、阴道/外阴癌、血管活性肠肽瘤(VIPoma)和威尔姆氏瘤(Wilm's tumor)。在某些实施例中,要用一种或多种本发明的抗体治疗的肿瘤/癌症包括脑癌、头颈癌、结肠直肠癌、急性髓性白血病、前B细胞急性淋巴母细胞性白血病、膀胱癌、星形细胞瘤(优选II、III或IV级星形细胞瘤)、胶质母细胞瘤、多形性胶质母细胞瘤、小细胞癌和非小细胞癌(优选非小细胞肺癌)、肺腺癌、转移性黑色素瘤、非雄激素依赖性转移性前列腺癌、雄激素依赖性转移性前列腺癌、前列腺腺癌和乳腺癌(优选乳腺导管癌和/或乳腺癌)。在某些实施例中,用本披露的抗体治疗的癌症包括胶质母细胞瘤。在某些实施例中,用本披露的一种或多种抗体治疗的癌症包括胰腺癌。在某些实施例中,用本披露的一种或多种抗体治疗的癌症包括卵巢癌。在某些实施例中,用本披露的一种或多种抗体治疗的癌症包括肺癌。在某些实施例中,用本披露的一种或多种抗体治疗的癌症包括前列腺癌。在某些实施例中,用本披露的一种或多种抗体治疗的癌症包括结肠癌。在某些实施例中,所治疗的癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。在某个实施例中,该癌症对其他治疗是难治的。在某个实施例中,该治疗的癌症是复发的。在某个实施例中,该癌症是复发/难治性胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。在某些实施例中,该癌症包括晚期实体瘤、胶质母细胞瘤、胃癌、皮肤癌、前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌、睾丸癌、甲状腺癌、头颈癌、肝癌、肾癌、食道癌、卵巢癌、结肠癌、肺癌、淋巴瘤或软组织癌。在某些实施例中,该癌症包括非小细胞肺癌、上皮性卵巢癌或胰腺腺癌。在某些实施例中,该癌症包括晚期实体

瘤。在某些实施例中,该个体对于先前用LIF结合抗体作为单一疗法的治疗是难治的。在某些实施例中,该个体对于先前用基于铂的抗肿瘤剂作为单一疗法的治疗是难治的。

[0139] 药学上可接受的赋形剂、载体和稀释剂

[0140] 在某些实施例中,本披露的基于铂的抗肿瘤剂和LIF结合多肽是药物组合物的组分。在某些实施例中,本披露的基于铂的抗肿瘤剂和LIF结合多肽是相同药物组合物的组分。在某些实施例中,该药物组合物包括生理上合适的盐浓度(例如,NaCl)。在某些实施例中,该药物组合物包括约0.6%与1.2%之间的NaCl。在某些实施例中,该药物组合物包括约0.7%与1.1%之间的NaCl。在某些实施例中,该药物组合物包括约0.8%与1.0%之间的NaCl。在某些实施例中,该药物组合物进一步包括以下一种或多种:缓冲液,例如,乙酸盐、柠檬酸盐、组氨酸、琥珀酸盐、磷酸盐、碳酸氢盐和羟甲基氨基甲烷(Tris);表面活性剂,例如,聚山梨酯80(吐温80)、聚山梨酯20(吐温20)、聚山梨酯和泊洛沙姆188;多元醇/二糖/多糖,例如,葡萄糖、右旋糖、甘露糖、甘露醇、山梨糖醇、蔗糖、海藻糖和右旋糖酐40;氨基酸,例如,组氨酸、甘氨酸或精氨酸;抗氧化剂,例如,抗坏血酸、蛋氨酸;以及螯合剂,例如,EGTA或EGTA。

[0141] 在某些实施例中,本披露的基于铂的抗肿瘤剂、LIF结合多肽或基于铂的抗肿瘤剂和LIF结合多肽二者悬浮在无菌溶液中施用。在某些实施例中,该基于铂的抗肿瘤剂和该LIF结合多肽从相同溶液中施用。在某些实施例中,该溶液包括生理上合适的盐浓度(例如,NaCl)。在某些实施例中,该溶液包括约0.6%与1.2%之间的NaCl。在某些实施例中,该溶液包括约0.7%与1.1%之间的NaCl。在某些实施例中,该溶液包括约0.8%与1.0%之间的NaCl。在某些实施例中,可以在约0.9%NaCl中稀释抗体的高度浓缩的母液。在某些实施例中,该溶液包括约0.9%NaCl。在某些实施例中,该溶液进一步包括以下一项或多项:缓冲液,例如,乙酸盐、柠檬酸盐、组氨酸、琥珀酸盐、磷酸盐、碳酸氢盐和羟甲基氨基甲烷(Tris);表面活性剂,例如,聚山梨酯80(吐温80)、聚山梨酯20(吐温20)、聚山梨酯和泊洛沙姆188;多元醇/二糖/多糖,例如,葡萄糖、右旋糖、甘露糖、甘露醇、山梨糖醇、蔗糖、海藻糖和右旋糖酐40;氨基酸,例如,组氨酸、甘氨酸或精氨酸;抗氧化剂,例如,抗坏血酸、蛋氨酸;以及螯合剂,例如,EGTA或EGTA。在某些实施例中,本披露的基于铂的抗肿瘤剂和LIF结合多肽在施用前被冻干运输/储存和重构。在某些实施例中,冻干的抗体配制品包括增量剂,诸如甘露醇、山梨糖醇、蔗糖、海藻糖和右旋糖酐40。在某个实施例中,本披露的抗LIF抗体可以作为浓缩的母液运输和储存,在治疗部位使用时对该母液进行稀释。在某些实施例中,该母液包括约25mM组氨酸、约6%蔗糖、约0.01%聚山梨酸酯和约20mg/mL的抗LIF抗体。在某些实施例中,溶液的pH是约6.0。在某些实施例中,施用给个体的形式是包括约25mM组氨酸、约6%蔗糖、约0.01%聚山梨酯80和约20mg/mL h5D8抗体的水溶液。在某些实施例中,溶液的pH是约6.0。

[0142] 在某些实施例中,本披露的基于铂的抗肿瘤剂和LIF结合多肽悬浮在无菌溶液中施用。在某些实施例中,该基于铂的抗肿瘤剂和该LIF结合多肽从相同溶液中施用。在某些实施例中,该基于铂的抗肿瘤剂和该LIF结合多肽从分开的溶液中施用。在某些实施例中,该溶液包括生理上合适的盐浓度(例如,NaCl)。在某些实施例中,该溶液包括约0.6%与1.2%之间的NaCl。在某些实施例中,该溶液包括约0.7%与1.1%之间的NaCl。在某些实施例中,该溶液包括约0.8%与1.0%之间的NaCl。在某些实施例中,可以在约0.9%NaCl中稀

释抗体的高度浓缩的母液。在某些实施例中,该溶液包括约0.9%NaCl。在某些实施例中,该溶液进一步包括以下一项或多项:缓冲液,例如,乙酸盐、柠檬酸盐、组氨酸、琥珀酸盐、磷酸盐、碳酸氢盐和羟甲基氨基甲烷(Tris);表面活性剂,例如,聚山梨酯80(吐温80)、聚山梨酯20(吐温20)、聚山梨酯和泊洛沙姆188;多元醇/二糖/多糖,例如,葡萄糖、右旋糖、甘露糖、甘露醇、山梨糖醇、蔗糖、海藻糖和右旋糖酐40;氨基酸,例如,组氨酸、甘氨酸或精氨酸;抗氧化剂,例如,抗坏血酸、蛋氨酸;以及螯合剂,例如,EGTA或EGTA。在某些实施例中,本披露的基于铂的抗肿瘤剂和LIF结合多肽在施用前被冻干运输/储存和重构。在某些实施例中,冻干的抗体配制品包括增量剂,诸如甘露醇、山梨糖醇、蔗糖、海藻糖和右旋糖酐40。在某个实施例中,本披露的抗LIF抗体可以作为浓缩的母液运输和储存,在治疗部位使用时对该母液进行稀释。在某些实施例中,该母液包括约25mM组氨酸、约6%蔗糖、约0.01%聚山梨酸酯和约20mg/mL的抗LIF抗体。在某些实施例中,溶液的pH是约6.0。在某些实施例中,施用给个体的形式是包括约25mM组氨酸、约6%蔗糖、约0.01%聚山梨酯80和约20mg/mL h5D8抗体的水溶液。在某些实施例中,溶液的pH是约6.0。

[0143] 本文还描述了用于进行本文所述的组合疗法的试剂盒。在某些实施例中,试剂盒包括LIF结合多肽和基于铂的抗肿瘤剂。在某些实施例中,试剂盒包括h5D8和基于铂的抗肿瘤剂。两种组分中的一种或两种都可以以冻干或液体形式包含在玻璃或其他合适材料的小瓶中。

[0144] 在某些实施例中,本文描述了LIF结合多肽与基于铂的抗肿瘤剂组合治疗个体的非小细胞肺癌、上皮性卵巢癌或胰腺腺癌的用途。在某些实施例中,将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂以分开的配制品施用给该个体。在某些实施例中,将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂以同一配制品施用给该个体。在某些实施例中,在将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体之前,将该LIF结合多肽施用给该个体。在某些实施例中,在将该LIF结合多肽施用给该个体之前,将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体。在某些实施例中,在将该LIF结合多肽施用给该个体的同时,将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括免疫球蛋白可变区或免疫球蛋白重链恒定区的片段。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括与LIF特异性结合的抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括至少一个衍生自人抗体框架区的框架区。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是人源化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是去免疫化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是IgG抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是Fab、F(ab)₂、单结构域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列;(b)免疫球蛋白重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列;(c)免疫球蛋白重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列;(d)免疫球蛋白轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列;(e)免疫球蛋白轻链互补决定区2(VL-CDR2),其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列;以及(f)免疫球蛋白轻链互补决定区3(VL-CDR3),其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链可变区(VH)序列,其具有与SEQ

ID NO:41、42、44或66中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列;以及(b)免疫球蛋白轻链可变区(VL)序列,其具有与SEQ ID NO:45-48中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列相同。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链序列,其具有与SEQ ID NO:57-60或67中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列;以及(b)免疫球蛋白轻链序列,其具有与SEQ ID NO:61-64中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约200皮摩尔的 K_D 结合。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约100皮摩尔的 K_D 结合。在某些实施方案中,基于铂的抗肿瘤剂包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂、塞特铂或其组合。在某些实施例中,该癌症对于以单一疗法施用的治疗量的LIF结合多肽或基于铂的抗肿瘤剂的治疗是难治的。

[0145] 在某些实施例中,本文描述了LIF结合多肽与基于铂的抗肿瘤剂组合治疗个体的结肠直肠癌的用途。在某些实施例中,将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂以分开的配制品施用给该个体。在某些实施例中,将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂以同一配制品施用给该个体。在某些实施例中,在将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体之前,将该LIF结合多肽施用给该个体。在某些实施例中,在将该LIF结合多肽施用给该个体之前,将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体。在某些实施例中,在将该LIF结合多肽施用给该个体的同时,将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括免疫球蛋白可变区或免疫球蛋白重链恒定区的片段。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括与LIF特异性结合的抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括至少一个衍生自人抗体框架区的框架区。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是人源化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是去免疫化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是IgG抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是Fab、F(ab)₂、单结构域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列;(b)免疫球蛋白重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列;(c)免疫球蛋白重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列;(d)免疫球蛋白轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列;(e)免疫球蛋白轻链互补决定区2(VL-CDR2),其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列;以及(f)免疫球蛋白轻链互补决定区3(VL-CDR3),其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链可变区(VH)序列,其具有与SEQ ID NO:41、42、44或66中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基

酸序列;以及(b)免疫球蛋白轻链可变区(VL)序列,其具有与SEQ ID NO:45-48中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列相同。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链序列,其具有与SEQ ID NO:57-60或67中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列;以及(b)免疫球蛋白轻链序列,其具有与SEQ ID NO:61-64中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约200皮摩尔的 K_D 结合。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约100皮摩尔的 K_D 结合。在某些实施方案中,基于铂的抗肿瘤剂包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂、塞特铂或其组合。在某些实施例中,该癌症对于以单一疗法施用的治疗量的LIF结合多肽或基于铂的抗肿瘤剂的治疗是难治的。

[0146] 在某些实施例中,本文描述了LIF结合多肽与基于铂的抗肿瘤剂组合治疗个体的多形性胶质母细胞瘤的用途。在某些实施例中,将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂以分开的配制品施用给该个体。在某些实施例中,将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂以同一配制品施用给该个体。在某些实施例中,在将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体之前,将该LIF结合多肽施用给该个体。在某些实施例中,在将该LIF结合多肽施用给该个体之前,将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体。在某些实施例中,在将该LIF结合多肽施用给该个体的同时,将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括免疫球蛋白可变区或免疫球蛋白重链恒定区的片段。在某些实施例中,该LIF结合多肽包括与LIF特异性结合的抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括至少一个衍生自人抗体框架区的框架区。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是人源化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是去免疫化的。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是IgG抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体是Fab、F(ab)₂、单结构域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列;(b)免疫球蛋白重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列;(c)免疫球蛋白重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列;(d)免疫球蛋白轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列;(e)免疫球蛋白轻链互补决定区2(VL-CDR2),其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列;以及(f)免疫球蛋白轻链互补决定区3(VL-CDR3),其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链可变区(VH)序列,其具有与SEQ ID NO:41、42、44或66中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列;以及(b)免疫球蛋白轻链可变区(VL)序列,其具有与SEQ ID NO:45-48中任一项所

阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同。在某些实施例中,该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列相同。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体包括:(a)免疫球蛋白重链序列,其具有与SEQ ID NO:57-60或67中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列;以及(b)免疫球蛋白轻链序列,其具有与SEQ ID NO:61-64中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约200皮摩尔的 K_D 结合。在某些实施例中,该与LIF特异性结合的抗体以小于约100皮摩尔的 K_D 结合。在某些实施方案中,基于铂的抗肿瘤剂包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂、塞特铂或其组合。在某些实施例中,该癌症对于以单一疗法施用的治疗量的LIF结合多肽或基于铂的抗肿瘤剂的治疗是难治的。

[0147] 如本文所用,“治疗(treating或treatment)”是指在疾病状态下进行的旨在产生一种或多种有益作用的干预。针对癌症/肿瘤目的,治疗包括旨在引起或确实引起疾病稳定、部分反应、完全反应、无进展生存期延长、总体生存期延长、肿瘤收缩、肿瘤生长延迟、肿瘤生长停滞或者预防或减少转移的方法。在某些情况下,本文所述的治疗方法可以用作成功治疗后的维持或预防特定肿瘤或癌症的复发或转移。理解的是,并不是所有的个体都会对给定的治疗性抗体施用产生相同程度的反应,或者根本没有反应,但是即使没有检测到反应,这些个体仍然被认为已经进行了治疗。

[0148] 示例性实施例

[0149] 在示例性实施例中的是:1.白血病抑制因子(LIF)结合多肽与基于铂的抗肿瘤剂组合治疗个体的癌症的用途。2.如实施例1所述的用途,其中将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂以分开的配制品施用给该个体。3.如实施例1所述的用途,其中将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂以同一配制品施用给该个体。4.如实施例1或2所述的用途,其中在将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体之前,将该LIF结合多肽施用给该个体。5.如实施例1或2所述的用途,其中在将该LIF结合多肽施用给该个体之前,将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体。6.如实施例1至3中任一项所述的用途,其中在将该LIF结合多肽施用给该个体的同时,将该基于铂的抗肿瘤剂施用给该个体。7.如实施例1至6中任一项所述的用途,其中该LIF结合多肽包括免疫球蛋白可变区或免疫球蛋白重链恒定区的片段。8.如实施例7所述的用途,其中该LIF结合多肽包括与LIF特异性结合的抗体。9.如实施例8所述的用途,其中该与LIF特异性结合的抗体包括至少一个衍生自人抗体框架区的框架区。10.如实施例8所述的用途,其中该与LIF特异性结合的抗体是人源化的。11.如实施例8所述的用途,其中该与LIF特异性结合的抗体是去免疫化的。12.如实施例8所述的用途,其中该与LIF特异性结合的抗体包括两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。13.如实施例8所述的用途,其中该与LIF特异性结合的抗体是IgG抗体。14.如实施例8所述的用途,其中该与LIF特异性结合的抗体是Fab、F(ab)2、单结构域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。15.如实施例8至14中任一项所述的用途,其中该与LIF特异性结合的抗体包括:a)免疫球蛋白重链互补决定区

1 (VH-CDR1), 其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列; b) 免疫球蛋白重链互补决定区2 (VH-CDR2), 其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列; c) 免疫球蛋白重链互补决定区3 (VH-CDR3), 其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列; d) 免疫球蛋白轻链互补决定区1 (VL-CDR1), 其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列; e) 免疫球蛋白轻链互补决定区2 (VL-CDR2), 其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列; 以及f) 免疫球蛋白轻链互补决定区3 (VL-CDR3), 其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。16. 如实施例8至15中任一项所述的用途, 其中该与LIF特异性结合的抗体包括: a) 免疫球蛋白重链可变区 (VH) 序列, 其具有与SEQ ID NO:41、42、44或66中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列; 以及b) 免疫球蛋白轻链可变区 (VL) 序列, 其具有与SEQ ID NO:45-48中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。17. 如实施例16所述的用途, 其中该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同; 并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同。18. 如实施例17所述的用途, 其中该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列相同; 并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列相同。19. 如实施例8至18中任一项所述的用途, 其中该与LIF特异性结合的抗体包括: a) 免疫球蛋白重链序列, 其具有与SEQ ID NO:57-60或67中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列; 以及b) 免疫球蛋白轻链序列, 其具有与SEQ ID NO:61-64中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。20. 如实施例8至19中任一项所述的用途, 其中该与LIF特异性结合的抗体以小于约200皮摩尔的KD结合。21. 如实施例8至19中任一项所述的用途, 其中该与LIF特异性结合的抗体以小于约100皮摩尔的KD结合。22. 如实施例10至21中任一项所述的用途, 其中该基于铂的抗肿瘤剂包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂、塞特铂或其组合。23. 如实施例22所述的用途, 其中该基于铂的抗肿瘤剂是顺铂。24. 如实施例1至23中任一项所述的用途, 其中该癌症包括晚期实体瘤、胶质母细胞瘤、胃癌、皮肤癌、前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌、睾丸癌、甲状腺癌、头颈癌、肝癌、肾癌、食道癌、卵巢癌、结肠癌、肺癌、淋巴瘤或软组织癌。25. 如实施例24所述的用途, 其中该癌症包括非小细胞肺癌、上皮性卵巢癌或胰腺腺癌。26. 如实施例1至25中任一项所述的用途, 其中该癌症对于以单一疗法施用的治疗量的LIF结合多肽或基于铂的抗肿瘤剂的治疗是难治的。27. 一种治疗患有癌症的个体的方法, 其包括向该患有癌症的个体施用有效量的以下项的组合: a) 白血病抑制因子 (LIF) 结合多肽; 以及b) 基于铂的抗肿瘤剂。28. 如实施例27所述的方法, 其包括将有效量的该LIF结合多肽施用给该患有癌症的个体。29. 如实施例27所述的方法, 其包括将有效量的该基于铂的抗肿瘤剂施用给该患有癌症的个体。30. 如实施例27至29中任一项所述的方法, 其中该LIF结合多肽包括免疫球蛋白可变区或免疫球蛋白重链恒定区的片段。31. 如实施例27至29中任一项所述的方法, 其中该LIF结合多肽包括与LIF特异性结合的抗体。32. 如实施例31所述的方法, 其中该与LIF特异性结合的抗体包括至少一个衍生自人抗体框架区的框架区。33. 如实施例31所述的方法, 其中该与LIF特异性结合的抗体是人源化的。34. 如实施例31所述的方法, 其中该与LIF特异性结合的抗体是去免疫化的。35. 如实施例31所述的方法, 其中该与LIF特异性结合的抗体包括两条免疫球蛋白重链和两

条免疫球蛋白轻链。36.如实施例31所述的方法,其中该与LIF特异性结合的抗体是IgG抗体。37.如实施例31所述的方法,其中该与LIF特异性结合的抗体是Fab、F(ab)2、单结构域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。38.如实施例31至37中任一项所述的方法,其中该与LIF特异性结合的抗体包括:a)免疫球蛋白重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列;b)免疫球蛋白重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列;c)免疫球蛋白重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列;d)免疫球蛋白轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列;e)免疫球蛋白轻链互补决定区2(VL-CDR2),其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列;以及f)免疫球蛋白轻链互补决定区3(VL-CDR3),其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。39.如实施例31至37中任一项所述的方法,其中该与LIF特异性结合的抗体包括:a)免疫球蛋白重链可变区(VH)序列,其具有与SEQ ID NO:41、42、44或66中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列;以及b)免疫球蛋白轻链可变区(VL)序列,其具有与SEQ ID NO:45-48中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。40.如实施例39所述的方法,其中该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%、99%或100%相同。41.如实施例40所述的方法,其中该VH序列与SEQ ID NO:42所阐述的氨基酸序列相同;并且该VL序列与SEQ ID NO:46所阐述的氨基酸序列相同。42.如实施例31至37中任一项所述的方法,其中该与LIF特异性结合的抗体包括:a)免疫球蛋白重链序列,其具有与SEQ ID NO:57-60或67中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列;以及b)免疫球蛋白轻链序列,其具有与SEQ ID NO:61-64中任一项所阐述的氨基酸序列至少约80%、90%、95%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。43.如实施例31至42中任一项所述的方法,其中该与LIF特异性结合的抗体以小于约200皮摩尔的KD结合。44.如实施例31至42中任一项所述的方法,其中该与LIF特异性结合的抗体以小于约100皮摩尔的KD结合。45.如实施例27至44中任一项所述的方法,其中该基于铂的抗肿瘤剂包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂、塞特铂或其组合。46.如实施例45所述的方法,其中该基于铂的抗肿瘤剂是顺铂。47.如实施例27至46中任一项所述的方法,其中该癌症包括晚期实体瘤、胶质母细胞瘤、胃癌、皮肤癌、前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌、睾丸癌、甲状腺癌、头颈癌、肝癌、肾癌、食道癌、卵巢癌、结肠癌、肺癌、淋巴瘤或软组织癌。48.如实施例47所述的方法,其中该癌症包括非小细胞肺癌、上皮性卵巢癌或胰腺腺癌。49.如实施例27至48中任一项所述的方法,其中该癌症对于治疗量的LIF结合多肽抑制剂的治疗是难治的。50.如实施例27至48中任一项所述的方法,其中该癌症对于治疗量的基于铂的抗肿瘤剂的治疗是难治的。51.如实施例27至50中任一项所述的方法,其中将该白血病抑制因子(LIF)结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂分开施用。52.如实施例27至50中任一项所述的方法,其中将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂同时施用。53.如实施例27至50中任一项所述的方法,其中将该LIF结合多肽和该基于铂的抗肿瘤剂以单一组合物施用。54.特异性结合白血病抑制因子(LIF)的抗体与基于铂的抗肿瘤剂组合治疗个体的癌症的用途,其中该LIF结合抗体包括:a)免疫球蛋白重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ

ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列;b) 免疫球蛋白重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列;c) 免疫球蛋白重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列;d) 免疫球蛋白轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列;e) 免疫球蛋白轻链互补决定区2(VL-CDR2),其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列;以及f) 免疫球蛋白轻链互补决定区3(VL-CDR3),其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列。55.一种治疗患有癌症的个体的方法,其包括向该患有癌症的个体施用有效量的以下项的组合:a) 特异性结合白血病抑制因子(LIF)的抗体,其包括:i.免疫球蛋白重链互补决定区1(VH-CDR1),其包括SEQ ID NO:1-3中任一项所阐述的氨基酸序列;ii.免疫球蛋白重链互补决定区2(VH-CDR2),其包括SEQ ID NO:4或5中任一项所阐述的氨基酸序列;iii.免疫球蛋白重链互补决定区3(VH-CDR3),其包括SEQ ID NO:6-8中任一项所阐述的氨基酸序列;iv.免疫球蛋白轻链互补决定区1(VL-CDR1),其包括SEQ ID NO:9或10中任一项所阐述的氨基酸序列;v.免疫球蛋白轻链互补决定区2(VL-CDR2),其包括SEQ ID NO:11或12中任一项所阐述的氨基酸序列;和vi.免疫球蛋白轻链互补决定区3(VL-CDR3),其包括SEQ ID NO:13所阐述的氨基酸序列;以及b) 基于铂的抗肿瘤剂。56.如实施例55所述的方法,其包括将有效量的该LIF结合多肽施用给该患有癌症的个体。57.如实施例55所述的方法,其包括将有效量的该基于铂的抗肿瘤剂施用给该患有癌症的个体。

[0150] 实例

[0151] 以下说明性实例代表了本文所述的组合物和方法的实施例,并不意味着以任何方式进行限制。

[0152] 实例1-对LIF具有特异性的大鼠抗体的产生

[0153] 将编码人LIF的氨基酸23-202的cDNA克隆到表达质粒(阿尔德弗龙公司(Aldevron GmbH),弗莱堡,德国)中。使用手持式粒子轰击装置(“基因枪”),通过皮内施用涂有DNA的金粒子对各组实验大鼠(威斯达(Wistar))进行免疫。用识别添加到LIF蛋白N末端的标签的抗标签抗体证实了瞬时转染的HEK细胞上的细胞表面表达。一系列免疫后收集血清样品,并在流式细胞术中对用上述表达质粒瞬时转染的HEK细胞进行测试。分离产生抗体的细胞,并根据标准程序与小鼠骨髓瘤细胞(Ag8)融合。如上所述,通过在流式细胞术测定中进行筛选来鉴定产生对LIF具有特异性的抗体的杂交瘤。使用RNA保护剂(RNAlater,目录号AM7020,赛默飞世尔科技公司)制备阳性杂交瘤细胞的细胞沉淀,并进一步处理以用于抗体可变结构域的测序。

[0154] 实例2-对LIF具有特异性的小鼠抗体的产生

[0155] 将编码人LIF的氨基酸23-202的cDNA克隆到表达质粒(阿尔德弗龙公司(Aldevron GmbH),弗莱堡,德国)中。使用手持式粒子轰击装置(“基因枪”),通过皮内施用涂有DNA的金粒子对各组实验小鼠(NMRI)进行免疫。用识别添加到LIF蛋白N末端的标签的抗标签抗体证实了瞬时转染的HEK细胞上的细胞表面表达。一系列免疫后收集血清样品,并在流式细胞术中对用上述表达质粒瞬时转染的HEK细胞进行测试。分离产生抗体的细胞,并根据标准程序与小鼠骨髓瘤细胞(Ag8)融合。如上所述,通过在流式细胞术测定中进行筛选来鉴定产生对LIF具有特异性的抗体的杂交瘤。使用RNA保护剂(RNAlater,目录号AM7020,赛默飞世尔科技公司)制备阳性杂交瘤细胞的细胞沉淀,并进一步处理以用于抗体可变结构域的测序。

[0156] 实例3-对LIF具有特异性的大鼠抗体的人源化

[0157] 从大鼠免疫中选择一个克隆(5D8)用于随后的人源化。使用标准CDR移植方法进行人源化。使用标准分子克隆技术从5D8杂交瘤中克隆出重链和轻链区,并通过Sanger方法测序。然后针对人的重链和轻链可变序列进行BLAST搜索,并从每个可变序列中选择4个序列作为用于人源化的受体框架。将这些受体框架去免疫化以除去T细胞反应表位。将5D8的重链和轻链CDR1、CDR2和CDR3克隆到4个不同的重链受体框架(H1至H4)和4个不同的轻链框架(L1至L4)中。然后对所有16种不同的抗体测试:在CHO-S细胞(斯莱希斯(Selexis))中的表达;LIF诱导的STAT3磷酸化的抑制;以及通过表面等离子体共振(SPR)的结合亲和力。这些实验总结于表1中。

表1. 5D8人源化概览			
重链轻链组合	来自图1的LIF诱导的pSTAT3的抑制	SPR得到的亲和力 K_{D1} (pM)	表达(ug/mL)
H0L0	+++	133 ± 46	393
H1L1	-	N/A	627
H1L2	+++	55 ± 23	260
H1L3	+++	54 ± 31	70
H1L4	-	N/A	560
[0158] H2L1	-	N/A	369
H2L2	+++	52 ± 22	392
H2L3	++	136 ± 19	185
H2L4	-	N/A	78
H3L1	N/A	N/A	无表达
H3L2	N/A	N/A	无表达
H3L3	N/A	N/A	无表达
H3L4	N/A	N/A	无表达
H4L1	-	N/A	259
H4L2	++	913 ± 308	308
H4L3	+		252
[0159] H4L4	-	N/A	186
N/A=未尝试; H0L0=具有完整大鼠重链和轻链可变区的嵌合抗体			

[0160] 细胞培养10天后,在分批补料培养中的锥形瓶中(接种 3×10^5 个细胞/mL,200mL培养体积)比较转染细胞的表达性能。在这一点上,收获细胞并使用蛋白A柱纯化分泌的抗体,然后定量。所有人源化抗体均表达,但使用H3重链(SEQ ID NO:43)的抗体除外。

[0161] 通过蛋白质印迹确定在酪氨酸705上LIF诱导的STAT3磷酸化的抑制。将U251神经胶质瘤细胞以100,000个细胞/孔的密度铺板在6孔板中。在进行任何治疗之前,将细胞在完全培养基中培养24小时,之后将血清饥饿8小时。之后,将含有指示抗体的细胞以10μg/ml的浓度过夜。治疗后,在包含放射免疫沉淀测定(RIPA)裂解缓冲液的磷酸酶和蛋白酶抑制剂中获得蛋白质,进行定量(BCA蛋白质测定,赛默飞世尔科技公司)并用于蛋白质印迹。对于蛋白质印迹,将膜在5%脱脂奶粉-TBST中1小时,并与一抗孵育过夜(p-STAT3,目录号阻断9145,细胞信号传导公司(Cell Signaling)或STAT3,目录号9132,细胞信号传导公司)或30

分钟(β -肌动蛋白过氧化物酶,目录号A3854,西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich))。然后将膜用TBST洗涤,与二抗一起孵育并再次洗涤。通过化学发光检测蛋白质(SuperSignal底物,目录号34076,赛默飞世尔科技公司)。这些结果示出于图1中。pSTAT3条带越黑,抑制作用越小。在标记为5D8(非人源化大鼠)、A(H0L0)、C(H1L2)、D(H1L3)和G(H2L2)的泳道中,抑制作用较高;在H(H2L3)、O(H4L2)和P(H4L3)中抑制作用中等;在B(H1L1)、E(H1L4)、F(H2L1)、I(H2L4)、N(H4L1)和Q(H4L4)中没有抑制作用。

[0162] 然后通过SPR分析展现出抑制LIF诱导的STAT3磷酸化的抗体,以确定结合亲和力。简而言之,使用Biacore™ 2002仪器观察到了A(H0L0)、C(H1L2)、D(H1L3)和G(H2L2)、H(H2L3)和O(H4L2)人源化抗体与胺偶联的hLIF的结合。在六个配体浓度下,通过在所有传感器芯片表面上生成的所有传感图的数学传感图拟合(朗格缪尔相互作用模型 $[A+B=AB]$)确定动力学常数和亲和力。将每个浓度的最佳拟合曲线(最小Chi²)用于计算动力学常数和亲和力。参见表1。

[0163] 由于实验设置使用二价抗体作为分析物,因此还根据二价分析物拟合模型 $[A+B=AB; AB+B=AB_2]$ 分析最佳拟合传感图,以便获得对人源化抗体的靶标结合机制的更详细见解。使用二价拟合模型 $[A+B=AB; AB+B=AB_2]$ 进行的动力学传感图分析证实了mAb样品的相对亲和力分级。

[0164] 包括H2和L2的人源化5D8因其高结合亲和力和高分批培养产率,而被选作更深入的分析。

[0165] 实例4-克隆5D8的人源化改善了与LIF的结合

[0166] 选择H2L2克隆(h5D8)进行进一步分析,并通过SPR比较与亲本大鼠5D8(r5D8)和小鼠克隆1B2的结合。该1B2抗体是先前披露的小鼠抗LIF抗体,先前存放于Demsche Sammlung von Mikroorganismen and Zellkulturen GmbH(DSM ACC3054),并用于比较目的。分别将从大肠杆菌和HEK-293细胞中纯化的重组人LIF用作配体。使用胺偶联化学将人或大肠杆菌来源的LIF共价偶联至Biacore光学传感器芯片的表面,并根据动力学常数计算结合亲和力。

[0167] 材料和方法

[0168] 来自大肠杆菌的人LIF获自密理博公司(Millipore),参考号LIF1010;来自HEK-293细胞的人LIF获自ACRO生物系统公司(ACRO Biosystems),参考LIF-H521b。使用Biacore胺偶联试剂盒(BR-1000-50;GE医疗集团(GE-Healthcare),乌普萨拉),将LIF与传感器芯片偶联。使用CM5光学传感器芯片(BR-1000-12;GE医疗集团,乌普萨拉)在Biacore™ 2002仪器上运行样品。在机器运行(BR-1001-88;GE医疗集团,乌普萨拉)期间使用Biacore HBS-EP缓冲液。结合传感图的动力学分析是使用BIAevaluation 4.1软件进行的。在分析物浓度渐增的情况下,通过在所有传感器芯片表面上生成的所有传感图的数学传感图拟合(朗格缪尔相互作用模型 $[A+B=AB]$)确定动力学常数和亲和力。传感图也根据二价分析物传感图拟合模型 $[A+B=AB; AB+B=AB_2]$ 进行分析,包括成分分析,以便生成对确定的朗格缪尔抗体-靶亲和力(例如亲和力贡献)的二价贡献的估计。将每个浓度的最佳拟合曲线(最小Chi²)用于计算动力学常数和亲和力。这些亲和力实验的概览示于表2(在大肠杆菌中制成的人LIF)和表3(在HEK 293细胞中制成的人LIF)。

[0169]	表2. 人源化后改善的5D8结合		K _D [pM]	
	hLIF (大肠杆菌)	朗格缪尔1:1传感图拟合		二价分析物拟合
	小鼠1B2	400 ± 210		1500 ± 200
	r5D8 (大鼠)	130 ± 30		780 ± 130
	h5D8 (人源化)	26 ± 14		82 ± 25

[0170]	表3. 人源化后改善的5D8结合		K _D [pM]	
	hLIF (HEK 293)	朗格缪尔1:1传感图拟合		二价分析物拟合
	小鼠1B2	320 ± 150		3900 ± 900
	r5D8 (大鼠)	135 ± 100		410 ± 360
	h5D8 (人源化)	13 ± 6		63 ± 30

[0171] 来自这组实验的朗格缪尔1:1传感图拟合模型指示,人源化5D8 (h5D8) 抗体与人LIF的亲合力比小鼠1B2和r5D8的高约10-25倍。

[0172] 接下来,通过SPR针对多个物种的LIF测试了h5D8抗体。对源自不同物种和表达系统的重组LIF分析物进行了h5D8 SPR结合动力学:人LIF (大肠杆菌,HEK293细胞);小鼠LIF (大肠杆菌,CHO细胞);大鼠LIF (大肠杆菌);食蟹猴LIF (酵母,HEK293细胞)。

[0173] 材料和方法

[0174] 该h5D8抗体通过非共价Fc特异性捕获固定在传感器芯片表面。重组的Ig (Fc) 特异性金黄色葡萄球菌蛋白A/G被用作捕获剂,从而可以将抗LIF抗体在空间上均匀且灵活地呈递给LIF分析物。LIF分析物的来源如下:人LIF (来自大肠杆菌;密理博参考号LIF1050);人LIF (来自HEK细胞,ACRO生物系统公司LIF-H521);小鼠LIF (大肠杆菌;密理博公司目录号NF-LIF2010);小鼠LIF (来自CHO细胞;瑞普罗金公司 (Reprokine) 目录号RCP09056);猴LIF (酵母,翠丰生物技术公司 (Kingfisher Biotech) 目录号RP1074Y);HEK-293细胞中产生的猴LIF。总体而言,h5D8展现出与几种物种的LIF结合。该亲和力实验的概览示于表4中。

[0175]	表4. 人源化5D8的广泛物种反应性		朗格缪尔1:1传感图拟合		
	分析物	平均K _a (1/Ms)[10 ⁵]	平均K _d (1/S) [10 ⁻⁵]	平均K _D [pM]	
	人LIF (大肠杆菌)	8.5 ± 0.7	7.2 ± 0.7	86 ± 9	
	人LIF (HEK-293)	5.5 ± 0.02	3.1 ± 0.7	56 ± 13	
	小鼠LIF (大肠杆菌)	21.4 ± 3.7	5.7 ± 1.0	27 ± 6	
	小鼠LIF (CHO细胞)	6.5 ± 0.7	1.1 ± 0.3	17 ± 4	
	食蟹猴LIF (酵母)	6.3 ± 0.8	5.4 ± 0.7	89 ± 10	
	食蟹猴LIF (HEK-293)	2.4 ± 0.2	3.3 ± 0.3	134 ± 6	

[0176] 实例5-人源化克隆5D8在体外抑制LIF诱导的STAT3磷酸化

[0177] 为了确定h5D8的生物学活性,在LIF活化的细胞培养模型中测试了人源化和亲本形式。图2A示出了当神经胶质瘤细胞系与人LIF一起孵育时,人源化克隆展现对STAT3磷酸化 (Tyr 705) 的抑制作用增加。图2B示出了用不同稀释度的h5D8抗体重复进行的图2A相同设置的实验。

[0178] 方法

[0179] 将U251神经胶质瘤细胞以150,000个细胞/孔的密度铺板在6孔板中。在进行任何

治疗之前,将细胞在完全培养基中培养24小时。之后,用r5D8抗LIF抗体或h5D8抗LIF抗体以10μg/ml的浓度过夜治疗或不治疗(对照细胞)。

[0180] 治疗后,在包含放射免疫沉淀测定(RIPA)裂解缓冲液的磷酸酶和蛋白酶抑制剂中获得蛋白质,进行定量(BCA蛋白质测定,赛默飞世尔科技公司)并用于蛋白质印迹。对于蛋白质印迹,将膜在5%非脂肪乳-TBST中1小时,并与一抗孵育过夜(p-STAT3,目录号阻断9145,细胞信号传导公司或STAT3,目录号9132,细胞信号传导公司)或30分钟(β-肌动蛋白过氧化物酶,目录号A3854,西格玛奥德里奇公司)。然后将膜用TBST洗涤,必要时与二抗一起孵育,并再次洗涤。通过化学发光检测蛋白质(SuperSignal底物,目录号34076,赛默飞世尔科技公司)。

[0181] 实例6-U-251细胞中LIF的内源性水平的h5D8抗体治疗的IC₅₀值。

[0182] 还确定了在血清饥饿条件下在U-251细胞中对h5D8的生物抑制作用的IC₅₀低至490皮摩尔(图3A)。参见图3A和3B和表5的代表性结果。

[0183]

表 5.								
细胞系组织	细胞系名称	治疗	IC ₅₀ (nM)				IC ₉₀ (nM)	JAK 抑制 (%)
内源性 LIF 条件			n=1	n=2	平均值	SD	平均值	平均值
GBM	U251	h5D8	0.78	0.54	0.66	0.12	4.1	84%
		r5D8	1.6	1.5	1.4	0.15	8.5	86%
			1.2	1.4				

[0184] 方法

[0185] 将该U-251细胞以每6cm板600,000个细胞接种(每种条件)。在血清饥饿(0.1% FBS)下,在37℃下用h5D8以相应的浓度(滴定)处理细胞过夜。作为pSTAT3的阳性对照,将重组LIF(R&D#7734-LF/CF)用于在37℃以1.79nM刺激细胞10分钟。作为pSTAT3的阴性对照,将JAK I抑制剂(Calbiochem#420099)用于在37℃以1uM使用30分钟。然后按照Meso Scale Discovery多点检测系统总STAT3(目录号K150SND-2)和Phospho-STAT3(Tyr705)(目录号K150SVD-2)试剂盒的方案在冰上收获细胞作为裂解物,以测量通过MSD Meso Sector S600可检测的蛋白质水平。

[0186] 实例7-与人LIF特异性结合的其他抗体

[0187] 鉴定了特异性结合人LIF的其他大鼠抗体克隆(10G7和6B5),其结合特征的概览显示在下表6中,将克隆1B2用作比较。

[0188] 方法

[0189] 使用重组LIF靶蛋白[人LIF(大肠杆菌);密理博公司目录号LIF 1010和人LIF(HEK293细胞);ACRO生物系统公司目录号LIF-H521b]作为分析物,对固定在CM5光学传感器芯片表面的抗LIF mAb 1B2、10G7和6B5进行动力学实时结合测定。

[0190] 动力学常数和亲和力是通过使用朗格缪尔1:1结合模型应用全局(传感图集的同时拟合)以及单曲线拟合算法通过数学传感图拟合获得的。通过k_{obs}分析评估全局拟合的合理性。

表6.其他抗LIF抗体的亲和力测量		朗格缪尔1:1传感图拟合		
分析物	克隆	平均K _a (1/Ms)	平均K _d (1/S)	平均K _D [nM]
人LIF (大肠杆菌)	1B2	1.1 ± 0.4E5	1.1 ± 0.3E-3	9.7 ± 1.4
人LIF (HEK-293)	1B2	2.0 ± 0.04E6	1.4 ± 0.2E-3	0.7 ± 0.03
人LIF (大肠杆菌)	10G7	7.9 ± 5.8E4	6.0 ± 2.3E-4	12.6 ± 9.5
人LIF (HEK-293)	10G7	3.6 ± 1.75E5	3.1 ± 0.5E-4	1.1 ± 0.6
人LIF (大肠杆菌)	6B5	N/A	N/A	N/A
人LIF (HEK-293)	6B5	3.6 ± 1.7E5	3.1 ± 0.5E-4	62 ± 6

[0191] 实例8-其他抗LIF抗体在体外抑制LIF诱导的STAT3磷酸化

[0193] 测试了其他克隆在细胞培养物中抑制LIF诱导的STAT3磷酸化的能力。如图4所示,与1B2克隆相比,克隆10G7和先前详述的r5D8展现出对LIF诱导的STAT3磷酸化的高度抑制。包括抗LIF多克隆抗血清(阳性)作为阳性对照。尽管6B5没有展现出抑制作用,这可能是由于6B5与本实验中使用的未糖基化LIF的结合可能缺乏。

[0194] 方法

[0195] 将患者来源的神经胶质瘤细胞以150,000个细胞/孔的密度接种在6孔板中。在任何治疗之前,在补充有B27(生命技术公司(Life Technologies))、青霉素/链霉素和生长因子(20ng/ml EGF和20ng/ml FGF-2[派普泰克公司(PeproTech)])的神经元基础培养基(Neurobasal medium)(生命技术公司)组成的GBM培养基中培养细胞24小时。第二天,是否用大肠杆菌中产生的重组LIF或重组LIF和该指示抗体的混合物处理细胞15分钟(抗体的最终浓度为10μg/ml,重组LIF的最终浓度为20ng/ml)。治疗后,在包含放射免疫沉淀测定(RIPA)裂解缓冲液的磷酸酶和蛋白酶抑制剂中获得蛋白质,进行定量(BCA蛋白质测定,赛默飞世尔科技公司)并用于蛋白质印迹。对于蛋白质印迹,将膜在5%非脂肪乳-TBST中1小时,并与一抗孵育过夜(p-STAT3,目录号阻断9145,细胞信号传导公司)或30分钟(β-肌动蛋白过氧化物酶,目录号A3854,西格玛奥德里奇公司)。然后将膜用TBST洗涤,必要时与二抗一起孵育,并再次洗涤。通过化学发光检测蛋白质(SuperSignal底物,目录号34076,赛默飞世尔科技公司)。

[0196] 实例9-LIF在多种肿瘤类型中高度过表达

[0197] 对多种人肿瘤类型进行了免疫组织化学实验,以确定LIF表达的程度。如图5所示,LIF在多形性胶质母细胞瘤(GBM)、非小细胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌、结肠直肠癌(CRC)和胰腺癌中高表达。

[0198] 实例10-人源化克隆h5D8在非小细胞肺癌小鼠模型中抑制肿瘤生长

[0199] 为了确定人源化5D8克隆在体内抑制LIF阳性癌症的能力,在非小细胞肺癌(NSCLC)小鼠模型中测试了该抗体。图6A示出了与媒介物阴性对照相比,用该抗体治疗的小鼠的肿瘤生长降低。图6B示出了使用r5D8版本生成的数据。

[0200] 方法

[0201] 具有高LIF水平的鼠非小细胞肺癌 (NSCLC) 细胞系KLN205被表达萤火虫萤光素酶基因的慢病毒稳定感染,用于体内生物发光监测。为了建立小鼠模型,通过肋间穿刺将 5×10^5 个KLN205非小细胞肺癌 (NSCLC) 细胞原位植入8周龄免疫感受态同系DBA/2小鼠的左肺中。每周两次用对照媒介物或用15mg/kg或30mg/kg的h5D8抗体腹膜内治疗小鼠,且通过生物发光监测肿瘤的生长。对于生物发光成像,小鼠在1%-2%吸入异氟烷麻醉下接受了0.2mL 15mg/mL D-萤光素的腹膜内注射。使用IVIS系统2000系列(精诺真公司(Xenogen Corp.),阿拉米达,加利福尼亚州,美国)监测生物发光信号,其由高灵敏度的冷却CCD相机组成。使用Living图像软件(精诺真公司)对成像数据进行网格化,并在每个框状区域中整合总生物发光信号。使用目的区域(ROI)中的总光子通量发射(光子/秒)分析数据。结果证明用h5D8抗体治疗促进肿瘤消退。数据呈现为平均值 $\pm$ SEM。

[0202] 实例11-h5D8在多形性胶质母细胞瘤小鼠模型中抑制肿瘤生长

[0203] 在使用表达萤光素酶的人细胞系U251的原位GBM肿瘤模型中,r5D8显著降低每周两次腹膜内(IP)注射施用300 μ g r5D8和h5D8的小鼠的肿瘤体积。该研究的结果示于图7A中(治疗后第26天的定量)。该实验还使用200 μ g或300 μ g人源化h5D8治疗小鼠进行,治疗7天后显示出统计学上显著的肿瘤减少。图7B示出了来自小鼠的数据,该小鼠接种了表达萤光素酶的人U251 GBM细胞,然后每周两次用100、200或300 μ g的h5D8或媒介物治疗。在第7天通过生物发光(精诺真公司(Xenogen) IVIS光谱)确定肿瘤大小。该图示出了个体肿瘤测量,水平条表示平均值 $\pm$ SEM。使用未配对的非参数Mann-Whitney U检验计算统计显著性。

[0204] 方法

[0205] 收获稳定表达萤光素酶的U251细胞,在PBS中洗涤,以400g离心5分钟,重悬于PBS中,并用自动细胞计数器(Countess,英杰公司(Invitrogen))计数。将细胞保持在冰上以维持最佳生存力。腹膜内注射氯胺酮(Ketalar50 $\text{\textcircled{R}}$)/木糖胺(Romp $\text{\textcircled{R}}$)(分别为75mg/kg和10mg/kg)麻醉小鼠。将每只小鼠小心地放置在立体定向设备中并固定。用脱毛膏去除头部的头发,并用解剖刀切开头部皮肤以露出头骨。用钻头小心地在 λ 侧面1.8mm,前面1mm的位置上做一个小切口。使用Hamilton30G注射器将5 μ L细胞接种到深度为2.5mm的右纹体中。用Hystoacryl组织粘合剂(博朗公司(Braun))闭合头部切口,并给小鼠注射皮下镇痛药美洛昔康(Metacam $\text{\textcircled{R}}$)(1mg/kg)。植入每只小鼠的最终细胞数为 3×10^5 。

[0206] 每周两次腹膜内施用h5D8治疗小鼠。肿瘤细胞接种后立即在第0天开始治疗。小鼠共接受2剂h5D8或媒介物对照。

[0207] 体重和肿瘤体积:测量体重2次/周,且在第7天通过生物发光定量肿瘤生长(精诺真公司IVIS光谱)。为了定量体内的生物发光活性,使用异氟烷麻醉小鼠,且腹膜内注射萤光素底物(珀金埃尔默公司(PerkinElmer))(167 μ g/kg)。

[0208] 在第7天评估通过生物发光(精诺真公司IVIS光谱)确定的肿瘤大小。计算每个治疗组的个体肿瘤测量和平均值 $\pm$ SEM。由未配对的非参数Mann-Whitney U检验确定统计显著性。

[0209] 实例12-h5D8在卵巢癌小鼠模型中抑制肿瘤生长

[0210] 在其他两个同系肿瘤模型中评估r5D8的功效。在卵巢原位肿瘤模型ID8中,按腹部

体积测量,每周两次腹膜内施用300 μ g r5D8显著抑制肿瘤生长(图8A和8B)。图8C的结果示出了h5D8在200 μ g及以上的剂量下也减少了肿瘤体积。

[0211] 方法

[0212] 在补充有10%胎牛血清(FBS)(Gibco,英杰公司)、40U/mL青霉素和40 μ g/mL链霉素(PenStrep)(Gibco,英杰公司)和0.25 μ g/mL血浆霉素(Plasmocin)(因韦真公司(Invivogen))的杜尔贝科氏改良伊格培养基(DMEM)中培养ID8细胞。

[0213] 收获ID8细胞,在PBS中洗涤,以400g离心5分钟,并且重悬于PBS中。将细胞置于冰上以保持最佳生存力,并用27G针腹膜内注射200 μ L细胞悬液。植入小鼠体内的最终细胞数为 5×10^6 。

[0214] 每周两次按照指示的不同剂量经腹膜内施用h5D8对小鼠进行治疗。测量体重2次/周,且通过使用卡尺(飞世尔科技公司(Fisher Scientific))测量腹围来监测肿瘤的进展。

[0215] 实例13-r5D8在结肠直肠癌小鼠模型中抑制肿瘤生长

[0216] 在患有皮下结肠CT26肿瘤的小鼠中,r5D8(每周两次腹膜内施用300 μ g)显著抑制了肿瘤的生长(图9A和9B)。

[0217] 方法

[0218] 在补充有10%胎牛血清(FBS)、40U/mL青霉素和40 μ g/mL链霉素(PenStrep)和0.25 μ g/mL血浆霉素的洛斯维公园纪念研究所(Roswell Park Memorial Institute)培养基(RPMI[Gibco,英杰公司])中培养CT26细胞。

[0219] 用胰蛋白酶消化CT26细胞(8×10^5),用PBS冲洗,以400g离心5分钟,并且重悬于100 μ L PBS中。将细胞置于冰上以避免细胞死亡。使用27G针通过皮下注射将该CT26细胞施用于小鼠。

[0220] 从CT26细胞植入后第3天起,每周两次通过腹膜内注射(IP)向小鼠施用300 μ g r5D8或媒介物对照。

[0221] 每周测量三次体重和肿瘤体积。使用卡尺(飞世尔科技公司)测量肿瘤体积。

[0222] 实例14-r5D8减少了肿瘤模型中的炎性浸润

[0223] 如图10A所示,在U251 GBM原位模型中,在用r5D8治疗的肿瘤中CCL22(M2极化巨噬细胞的标记物)的表达显著降低。如图10B所示,在使用h5D8的生理相关器官型组织切片培养模型中也证实了这一发现,其中三个患者样品在治疗后CCL22和CD206(MRC1)表达(也是M2巨噬细胞的标记物)显著降低(比较MRC1和CCL22的上左(对照)和下右(经治疗))。此外,r5D8还降低了免疫感受态小鼠中同系ID8(图10C)和CT26(图10D)肿瘤中的CCL22⁺M2巨噬细胞。H5D8治疗还朝向同系CT26肿瘤模型中的免疫刺激表型程序化巨噬细胞(图10E)。h5D8治疗增加了具有M1表型的巨噬细胞,如增加的CD206阴性/MHCII阳性级分所示,而M2表型的巨噬细胞减少,如减少的CD206阳性/MHCII阴性级分所示。图10F示出了来自在LIF敲低的U251细胞的条件培养基中培养的单核细胞的基因表达数据。MRC1、CCL2、CCL1和CTSK(用三角形表示)都示出显著的表达降低。

[0224] 实例15-r5D8增加非骨髓效应细胞

[0225] 为了研究其他免疫机制,评估了r5D8对肿瘤微环境内T细胞和其他非骨髓免疫效应细胞的作用。如图11A所示,在卵巢原位ID8同系模型中,r5D8治疗导致肿瘤内NK细胞增加以及总数和活化的CD4⁺和CD8⁺T细胞增加。如图11B所示,类似地,在结肠同系CT26肿瘤模型

中,r5D8增加了瘤内NK细胞,增加了CD4⁺和CD8⁺T细胞,且趋向于减少CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T-reg细胞。如图11C所示,在r5D8治疗后同系原位KLN205肿瘤模型中还观察到了CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T-reg细胞减少的趋势。如图12所示,与T细胞介导功效的要求一致,CT26模型中CD4⁺和CD8⁺T细胞的耗竭抑制了r5D8的抗肿瘤功效。

[0226] T细胞耗竭的方法

[0227] 在补充有10%胎牛血清(FBS[Gibco,英杰公司])、40U/mL青霉素和40μg/mL链霉素(PenStrep[Gibco,英杰公司])和0.25μg/mL血浆霉素(因韦真公司)的RPMI培养基(Gibco,英杰公司)中培养CT26细胞。收集CT26细胞(5×10^5),用PBS冲洗,以400g离心5分钟,并且重悬于100μL PBS中。将细胞置于冰上以避免细胞死亡。使用27G注射器通过皮下注射将CT26细胞在两肋施用给小鼠。如研究设计所示,每周两次腹膜内施用r5D8治疗小鼠。如研究设计所述,每周两次通过腹膜内注射(IP)向小鼠施用媒介物对照(PBS)、大鼠r5D8和/或抗CD4和抗CD8。伴随施用所有抗体治疗。

[0228] 实例16-与人LIF复合的h5D8的晶体结构

[0229] 将h5D8的晶体结构解析到3.1埃的分辨率,以便确定h5D8与之结合的LIF上的表位,且确定参与结合的h5D8残基。共晶体结构揭示,LIF的N末端环位于h5D8轻链和重链可变区之间的中心位置(图13A)。另外,h5D8与LIF的螺旋A和C上的残基相互作用,从而形成不连续的和构象性的表位。结合是由几种盐桥、H-键和范德华相互作用驱动的(表7,图13B)。LIF的h5D8表位跨越了与gp130相互作用的区域。参见Boulanger,M.J.,Bankovich,A.J.,Kortemme,T.,Baker,D.&Garcia,K.C.Convergent mechanisms for recognition of divergent cytokines by the shared signaling receptor gp130[通过共享的信号传导受体gp130识别不同细胞因子的收敛机制].Molecular cell[分子细胞]12,577-589(2003)。结果总结在下表7中,并在图13中进行了描绘。

[0230]

表 7.与人 LIF 复合的 h5D8 的 X 射线晶体结构的概览		
LIF 残基 (表位)	相互作用类型	h5D8 残基 (互补位, 卡巴特编号)
Ala13	VDW	L-Tyr49、L-Asn53
Ile14-O	HB	L-Ser50-OG
Ile	VDW	L-His30、L-Tyr32、L-Tyr49、L-Ser50
		H-Trp97
Arg15-NE	SB	L-Glu55-OE1、L-Glu55-OE2
Arg15-NH1	SB	L-Glu55-OE1、L-Glu55-OE2
Arg15-NH2	SB	L-Glu55-OE1、L-Glu55-OE2
Arg15-O	HB	L-Asn34-ND2
Arg15	VDW	L-Asn34、L-Leu46、L-Tyr49、L-Glu55、L-Ser56
		H-Glu96、H-Trp97、H-Asp98、H-Leu99、H-Asp101
His16-NE2	SB	H-Asp101-OD2
His16	VDW	L-Tyr32、L-Asn34、L-Met89
		H-Trp95、H-Glu96、H-Trp97、H-Asp101
Pro17	VDW	L-Tyr32、L-Ala91
		H-Trp97
Cys18	VDW	L-Tyr32
		H-Trp33、H-Trp97
His19-NE2	SB	H-Glu96-OE1、H-Glu96-OE2
His19	VDW	H-His31、H-Trp33、H-Glu96
Asn20-OD1	HB	H-Lys52-NZ

[0231]

Asn20-ND2	HB	H-Asp53-OD1
Asn20	VDW	H-Trp33、H-Lys52、H-Asp53
Gln25-NE2	HB	H-Asp53-OD2
Gln25	VDW	H-His31、H-Ser52C、H-Asp53
Gln29	VDW	H-His31
Gln32	VDW	H-Lys52B
Asp120-OD2	HB	H-Ser30-OG
Asp120	VDW	H-Thr28、H-Ser30
Arg123-NE	HB	H-Thr28-OG
Arg123	VDW	H-Thr28
Gly124	VDW	H-His31
Leu125	VDW	H-His31
Ser127-OG	HB	H-Asp98-OD2
Ser127-O	HB	H-Trp97-NE1
Ser127	VDW	H-His31、H-Trp97、H-Asp98
Asn128-OD1	HB	H-His31-NE2
Asn128	VDW	H-His31
Leu130	VDW	H-Trp97
Cys131	VDW	H-Trp97
Cys134	VDW	H-Trp97
Ser135-O	HB	L-His30-NE2
Ser135	VDW	L-His30
His138	VDW	L-His30
VDW , 范德华 低能量结合; HB , 氢键(中等能量结合); SB , 盐桥(高能量结合)		

[0232] 方法

[0233] 将LIF在HEK 293S(Gnt 1^{-/-})细胞中瞬时表达,并使用Ni-NTA亲和层析纯化,随后在20mM Tris pH 8.0和150mM NaCl中进行凝胶过滤层析。将重组h5D8 Fab在HEK 293F细胞中瞬时表达,并使用KappaSelect亲和层析随后阳离子交换层析进行纯化。将纯化的h5D8Fab和LIF以1:2.5的摩尔比混合,并在室温下孵育30分钟,之后使用EndoH去糖基化。随后使用凝胶过滤层析纯化复合物。将该复合物浓缩至20mg/mL,并使用稀疏矩阵筛选进行结晶试验。在包含19% (v/v) 异丙醇、19% (w/v) PEG 4000、5% (v/v) 甘油、0.095M柠檬酸钠pH 5.6的条件下于4℃形成晶体。该晶体在加拿大光源(CLS)的08ID-1光束线上衍射到3.1 Å的分辨率。根据Kabsch等人Xds.Acta crystallographica.Section D[晶体学报D部分], Biological crystallography[生物晶体学]66,125-132(2010),使用XDS收集、处理和缩放数据。根据McCoy等人Phaser crystallographic software[移相器晶体学软件].J Appl Crystallogr[应用晶体学杂志]40,658-674(2007),使用移相器通过分子置换来确定结构。使用Coot和phenix.refine进行了模型构建和完善的几次迭代,直到结构收敛到可接受的R_{工作}和R_{自由}。分别参见Emsley等人Features and development of Coot[Coot的特征和开发].Acta crystallographica.Section D[晶体学报D部分], Biological crystallography[生物晶体学]66,486-501(2010);和Adams等人PHENIX:a comprehensive Python-based system for macromolecular structure solution[PHENIX:全面的基于Python的高分子结构解决方案系统].Acta crystallographica.Section D[晶体学报D部

分], Biological crystallography [生物晶体学] 66, 213-221 (2010)。这些数字是在PyMOL (PyMOL分子图形系统, 版本2.0, 薛定谔有限责任公司 (Schrödinger, LLC)) 中生成的。

[0234] 实例17-h5D8对LIF具有高特异性

[0235] 测试了h5D8与其他LIF家族成员的结合, 以确定结合特异性。当在大肠杆菌中生产两种蛋白质时, 使用Octet96分析, h5D8与人LIF的结合是与LIF最高同源性IL-6家族成员制瘤素M(OSM)的结合的大约100倍。当两种蛋白都在哺乳动物系统中产生时, h5D8不展现出与OSM的结合。数据汇总于表8中。

表8: 通过Octet测量的细胞因子h5D8亲和力测量的概览			
	KD [M]	kon [1/Ms]	kdis [1/s]
[0236]	h5D8 + huLIF (大肠杆菌)	4.3E-10 +/- 2.0E-11	3.1E+05 +/- 3.1E+03
	h5D8 + huLIF (哺乳动物)	1.3E-09 +/- 7.2E-11	1.2E+05 +/- 1.3E+03
	h5D8 + huOSM (大肠杆菌)	3.6E-08 +/- 1.4E-09	8.5E+04 +/- 3.1E+03
[0237]	h5D8 + huOSM (哺乳动物)	ND	ND
	h5D8 + huIL-6 (大肠杆菌)	ND	ND
	ND=无结合		

[0238] 方法

[0239] Octet结合实验: 按照制造商提供的手册使用和制备了试剂。基本动力学实验是使用如下的Octet数据采集软件版本9.0.0.26进行的: 传感器/程序的设置: i) 平衡 (60秒); ii) 加载 (15秒); iii) 基线 (60秒); iv) 缔合 (180秒); 以及v) 解离 (600秒)

[0240] h5D8对细胞因子的Octet亲和力: 基本动力学实验是使用如下的Octet数据采集软件版本9.0.0.26进行的: 将胺反应性第二代生物传感器 (AR2G) 在水中水合最低15分钟。h5D8与生物传感器的缀合是根据ForteBio技术说明26 (请参阅参考文献) 使用胺偶联第二代试剂盒进行的。浸入步骤如下所述在30°C 1000rpm下进行: i) 水中平衡60秒; ii) 在水中20mM ECD, 10mM磺基-NHS中活化300秒; iii) 将10μg/ml h5D8在pH 6.0的10mM乙酸钠中固定600秒; iv) 在1M乙醇胺中 (pH 8.5) 淬灭300秒; v) 在水中基线120秒。然后在30°C, 1000rpm下通过以下浸入和读取步骤进行动力学实验: vi) 1X动力学缓冲液中基线60秒; vii) 在1X动力学缓冲液中缔合适当的细胞因子系列稀释液180秒; viii) 在1X动力学缓冲液中解离300秒; ix) 三个再生/中和循环分别在10mM甘氨酸pH 2.0和1X动力学缓冲液之间交替 (每个5秒, 3个循环)。再生后, 将生物传感器重新用于随后的结合分析。

[0241] 由哺乳动物细胞产生的人重组LIF来自ACRO生物系统公司 (LIF-H521b); 在哺乳动物细胞中产生的人重组OSM来自R&D (8475-OM/CF); 以及大肠杆菌细胞中生产的人重组OSM来自R&D (295-OM-050/CF)。

[0242] 实例18-h5D8fab的晶体结构

[0243] 确定了h5D8 Fab在宽谱化学条件下的五个晶体结构。这些结构的高分辨率指示CDR残基的构象与较小的柔韧性相关,并且在不同的化学环境中高度相似。该抗体的独特特征是在可变重区的第100位存在非典型的半胱氨酸。结构分析表明,半胱氨酸是未配对的,并且在很大程度上是溶剂不可及的。

[0244] H5D8 Fab是通过木瓜蛋白酶消化其IgG,随后使用标准亲和力、离子交换和尺寸层析技术进行纯化而获得的。使用气相扩散方法获得晶体,并确定分辨率在1.65 Å至2.0 Å之间变动的五个晶体结构。尽管结晶条件跨越五个不同的pH水平变动:5.6、6.0、6.5、7.5和8.5,所有结构均在相同的晶体学空间群中解析,并且具有相似的晶胞尺寸(P212121, $a \sim 53.8$ Å, $b \sim 66.5$ Å, $c \sim 143.3$ Å)。这样,这些晶体结构允许比较不受晶体堆积伪像阻碍和跨越宽谱化学条件的h5D8 Fab三维布置。

[0245] 观察所有互补决定区(CDR)残基的电子密度,随后对其进行建模。值得注意的是,LCDR1和HCDR2采用了细长的构型,与浅LCDR3和HCDR3区域一起在互补位的中心形成了一个结合槽(图14A)。这五个结构在所有残基上都非常相似,所有原子的均方根偏差在0.197 Å与0.327 Å之间变动(图14A)。这些结果指示,CDR残基的构象在各种化学环境中均得到保持,包括pH水平在5.6与8.5之间变动以及离子强度在150mM与1M之间变动。对h5D8互补位的静电表面的分析揭示,带正电和带负电区同样有助于亲水性,没有普遍的疏水性斑块。h5D8在HCDR3(Cys100)的碱基上具有非典型的半胱氨酸的罕见特征。在所有五个结构中,该游离半胱氨酸是有序的,不会形成任何二硫键错配。另外地,它不被Cys(半胱氨酸化)或谷胱甘肽(谷胱甘肽化)的加入而修饰,并与重链的Leu4、Phe27、Trp33、Met34、Glu102和Leu105的主链和侧链原子发生范德华相互作用(3.5-4.3 Å距离)(图14B)。最后,Cys100是一个主要被掩埋的结构残基,显现参与介导CDR1和HCDR3的构象。因此,正如我们的五个晶体结构中该区的均匀分布所观察到的,它不太可能与其他半胱氨酸具有反应性。

[0246] 方法

[0247] H5D8-1 IgG获自康泰伦特生物制剂公司(Catalent Biologics),并在25mM组氨酸、6%蔗糖、0.01%聚山梨酯80(在pH 6.0)中配制。使用10K MWC0浓缩器(密理博公司)将配制的IgG广泛地缓冲液交换为PBS,之后在37°C下于PBS、1.25mM EDTA、10mM半胱氨酸中以1:100微克木瓜蛋白酶(西格玛公司)消化1小时。使用AKTA Start层析系统(GE医疗集团)将木瓜蛋白酶消化的IgG流经蛋白A柱(GE医疗集团)。回收包含h5D8 Fab的蛋白A流通液,并使用10K MWC0浓缩器(密理博公司)将其缓冲液交换为pH 5.6的20mM乙酸钠。使用AKTA Pure层析系统(GE医疗集团)将所得样品上样到Mono S阳离子交换柱(GE医疗集团)上。用1M氯化钾梯度洗脱产生了一个主要的h5D8 Fab峰,该峰在20mM Tris-HCl、150mM氯化钠(pH 8.0)中用Superdex 200Increase凝胶过滤柱(GE医疗集团)回收、浓缩并纯化至大小均一。通过在还原和非还原条件下的SDS-PAGE证实了h5D8 Fab的高纯度。

[0248] 使用10K MWC0浓缩器(密理博公司)将纯化的h5D8 Fab浓缩至25mg/mL。使用0ryx 4分配器(道格拉斯仪器公司(Douglas Instruments))在20°C下使用稀疏矩阵96条件商业筛JCSG TOP96(Rigaku试剂)和MCSG-1(阿纳塔斯公司(Anatrace))设置气相扩散结晶实验。在以下五个结晶条件下四天后,获得并收获晶体:1) 0.085M柠檬酸钠,25.5% (w/v) PEG 4000,0.17M乙酸铵,15% (v/v) 甘油,pH 5.6;2) 0.1M MES,20% (w/v) PEG 6000,1M氯化锂,

pH 6.0;3) 0.1M MES, 20% (w/v) PEG 4000, 0.6M氯化钠, pH 6.5;4) 0.085M HEPES钠, 17% (w/v) PEG 4000, 8.5% (v/v) 2-丙醇, 15% (v/v) 甘油, pH 7.5;5) 0.08M Tris, 24% (w/v) PEG 4000, 0.16M氯化镁, 20% (v/v) 甘油, pH 8.5。在液氮中快速冷冻之前, 根据需要, 向含有晶体的母液中补充5% -15% (v/v) 甘油或10% (v/v) 乙二醇。以高级光子源光束线23-ID-D (芝加哥, 伊利诺伊州) 对晶体进行X射线同步加速器辐射, 并在Pilatus3 6M检测器上记录衍射图。使用XDS处理数据, 并使用移相器通过分子置换确定结构。在PHENIX中进行了完善, 在Coot中建立了迭代模型。在PyMOL中生成图片。所有软件都通过SBGrid访问。

[0249] 实例19-h5D8在半胱氨酸100处的突变保持结合

[0250] 对h5D8的分析揭示, 在重链可变区的100位 (C100) 处有一个游离的半胱氨酸残基。H5D8变体是通过用每个天然存在的氨基酸取代C100而生成的, 以表征与人和小鼠LIF的结合以及对人和小鼠LIF的亲合力。使用ELISA和Octet测定表征结合。结果汇总在表9中。ELISA EC50曲线显示在图15中 (图15A人LIF和图15B小鼠LIF)。

表 9.通过 Octet 测定确定的亲和力和通过 ELISA 确定的 EC50 的概览

突变	亲和力/ k_D (M)		结合 EC50 (nM)	
	人 LIF	小鼠 LIF	人 LIF	小鼠 LIF
C100	$<1.0E-12 \pm 2.252E-11$	$9.946E-11 \pm 8.272E-12$	0.09878	0.1605
C100S	$8.311E-10 \pm 5.886E-11$	$2.793E-09 \pm 5.925E-11$	n.d.	n.d.
C100Q	$3.87E-09 \pm 1.55E-10$	$2.84E-09 \pm 4.85E-11$	10.18	26.33
C100N	$5.59E-09 \pm 1.01E-10$	$6.68E-09 \pm 9.8E-11$	13.18	45.87
C100E	$2.67E-09 \pm 4.64E-11$	$4.1E-09 \pm 7.56E-11$	7.179	25.3
C100D	$2.02E-09 \pm 8.08E-11$	$6.49E-09 \pm 7.16E-11$	11.89	22.88
C100T	$4.36E-10 \pm 2.1E-11$	$1.02E-09 \pm 1.77E-11$	5.575	8.753
C100G	$2.49E-09 \pm 4.2E-11$	$3.33E-09 \pm 5.42E-11$	21.94	40.17
C100P	$2.74E-10 \pm 2.97E-10$	$<1.0E-12 \pm 7.64E-10$	34.44	101.9
C100A	$<1.0E-12 \pm 2.713E-11$	$<1.0E-12 \pm 1.512E-11$	0.6705	0.9532
C100V	$<1.0E-12 \pm 1.805E-11$	$<1.0E-12 \pm 8.086E-12$	0.2785	0.3647
C100L	$<1.0E-12 \pm 1.963E-11$	$1.998E-10 \pm 1.055E-11$	0.454	0.547
C100I	$<1.0E-12 \pm 1.424E-11$	$3.361E-11 \pm 7.545E-12$	0.299	0.3916
C100M	$1.155E-09 \pm 3.400E-11$	$2.676E-09 \pm 2.449E-11$	0.7852	1.563
C100F	$4.376E-09 \pm 1.127E-10$	$1.147E-08 \pm 9.099E-11$	8.932	21.53
C100Y	$1.444E-08 \pm 1.159E-09$	$2.514E-08 \pm 2.047E-09$	n.d.	n.d.
C100W	$2.508E-08 \pm 7.036E-09$	$4.819E-08 \pm 4.388E-09$	n.d.	n.d.
C100H	$1.304E-10 \pm 1.416E-10$	$4.284E-09 \pm 1.231E-10$	8.254	n.d.
C100K	$7.477E-08 \pm 1.581E-09$	$6.053E-08 \pm 2.589E-09$	n.d.	n.d.
C100R	$1.455E-07 \pm 6.964E-09$	$5.142E-08 \pm 3.247E-09$	n.d.	n.d.

[0251] 方法

[0252] 方法

[0253] ELISA: 通过ELISA确定h5D8 C100变体与人和小鼠LIF的结合。将重组的人或小鼠LIF蛋白以1 μ g/mL涂在Maxisorp 384孔板上, 在4 $^{\circ}$ C下过夜。在室温下将板用1x阻断缓冲液阻断2小时。加入每种h5D8 C100变体的滴定并在室温下结合1小时。将板用PBS+0.05%吐温-20洗涤三次。加入缀合有HR的抗人IgG, 并在室温下结合30分钟。将板用PBS+0.05%吐温-20洗涤三次, 并使用1x TMB底物显影。用1M HCl终止反应, 并测量在450nm的吸光度。使用Graphpad Prism进行图形生成和非线性回归分析。

[0254] Octet RED96:使用Octet RED96系统,通过BLI确定了h5D8 C100变体对人和小鼠LIF的亲合力。在1x动力学缓冲液中经过30秒的基线后,将h5D8 C100变体以7.5μg/mL加载到抗人Fc生物传感器上。将人或小鼠LIF蛋白的滴定与加载的生物传感器关联90秒,并在1x动力学缓冲液中解离300秒。通过数据分析软件使用1:1全局拟合模型计算KD。

[0255] 实例20-h5D8在体外阻断LIF与gp130的结合

[0256] 为了确定h5D8是否阻止LIF与LIFR结合,使用Octet RED 96平台进行了分子结合测定。通过抗人Fc捕获将H5D8加载到AHC生物传感器上。然后,将生物传感器浸入LIF中,并按预期观察到缔合(图16A,中间三分之一)。随后,将生物传感器浸入不同浓度的LIFR中。观察到剂量依赖性的缔合(图16A,右三分之一)。对照实验证明这种缔合是LIF特异性的(未显示),而不是由于LIFR与h5D8或与生物传感器的非特异性相互作用。

[0257] 为了进一步表征h5D8和LIF的结合,进行了一系列ELISA结合实验。预孵育H5D8和LIF,然后将其引到涂有重组人LIFR(hLIFR)或gp130的板上。h5D8/LIF复合物与涂覆的底物之间缺乏结合,这指示h5D8以某种方式破坏了LIF与受体的结合。另外地,也使用了不结合LIF(同种型对照,由(-)指示)或在已知结合位点结合LIF的对照抗体(B09不与gp130或LIFR竞争LIF结合;r5D8是h5D8的大鼠亲本版本)。ELISA结果证明,h5D8/LIF复合物能够结合hLIFR(r5D8/LIF复合物也是如此),指示这些抗体不能阻止LIF/LIFR缔合(图16B)。相反,h5D8/LIF复合物(和r5D8/LIF复合物)不能结合重组人gp130(图16C)。这指示当LIF与h5D8结合时,LIF的gp130结合位点受到影响。

[0258] 实例21-人组织中的LIF和LIFR表达

[0259] 为了确定LIF和LIFR的表达水平,对许多不同类型的人体组织进行了实时定量PCR。图17A和17B中所示的平均表达水平以每100ng总RNA的拷贝数给出。大多数组织每100ng总RNA表达至少100个拷贝。在人脂肪组织(肠系膜回肠[1])、血管组织(脉络丛[6]和肠系膜[8])和脐带[68]组织中,LIF mRNA表达最高,而在脑组织(皮质[20]和黑质[28])中最低。在人脂肪组织(肠系膜回肠[1])、血管组织(肺[9])、脑组织[11-28]和甲状腺[66]组织中,LIFR mRNA表达最高;而在PBMC[31]中最低。食蟹猴组织中的LIF和LIFR mRNA表达水平与人组织中观察到的相似,其中在脂肪组织中LIF表达高,在脂肪组织中LIFR表达高而在PBMC中低(数据未显示)。

[0260] 图17A和图17B的组织编号为:1-脂肪(肠系膜回肠);2-肾上腺;3-膀胱;4-膀胱(膀胱三角);5-血管(大脑:大脑中动脉);6-血管(脉络丛);7-血管(冠状动脉);8-血管(肠系膜(结肠));9-血管(肺);10-血管(肾脏);11-脑(杏仁核);12-脑(尾核);13-脑(小脑);14-脑(皮质:扣带前区);15-脑(皮质:扣带后区);16-脑(皮质:额叶外侧);17-脑(皮质:额叶内侧);18-脑(皮质:枕骨);19-脑(皮质:顶叶);20-脑(皮质:颞叶);21-脑(背缝核(dorsal-raphe-nucleus));22-脑(海马);23-脑(下丘脑:前区);24-脑(下丘脑:后区);25-脑(蓝斑);26-脑(延髓);27-脑(伏核);28-脑(黑质);29-乳腺;30-盲肠;31-外周血单核细胞(PBMC);32-结肠;33-背根节(DRG);34-十二指肠;35-输卵管;36-胆囊;37-心脏(左心房);38-心脏(左心室);39-回肠;40-空肠;41-肾脏(皮质);42-肾脏(延髓);43-肾脏(骨盆);44-肝脏(实质);45-肝脏(支气管:一级);46-肝脏(支气管:三级);47-肺(实质);48-淋巴腺(扁桃体);49-肌肉(骨骼);50-食道;51-卵巢;52-胰腺;53-松果体;54-垂体腺;55-胎盘;56-前列腺;57-直肠;58-皮肤(包皮);69-脊髓;60-脾(薄壁组织);61-胃(胃窦);62-胃(胃体);

63-胃(胃底);64-胃(幽门管);65-睾丸;66-甲状腺;67-气管;68-脐带;69-输尿管;70-子宫(子宫颈);71-子宫(子宫肌层);以及72-输精管。

[0261] 实例22-在皮下肿瘤植入模型中h5D8与顺铂、阿霉素或紫杉醇组合在皮下植入CT26模型中,与顺铂、阿霉素或紫杉醇组合评估了h5D6的功效。在补充有10%胎牛血清和青霉素/链霉素(均为100 μ g/ml)的RPMI-1640培养基中培养CT26细胞。将10,000个细胞/小鼠皮下植入BALB/c小鼠,并且如下治疗小鼠:h5D8(15mg/kg)每周两次和/或以下项之一:顺铂(10mg/kg)每周一次、紫杉醇(15mg/kg)每周两次、阿霉素(4mg/kg)每周一次。每个治疗队列有12只小鼠。每周两次使用卡尺测量肿瘤体积和小鼠体重。

[0262] 与单独用顺铂或h5D8治疗的小鼠相比,用顺铂和h5D8组合治疗的小鼠展现出降低的CT26肿瘤生长,如图18所示。与单独用阿霉素或h5D8治疗的小鼠相比,用阿霉素和h5D8组合治疗的小鼠未显示降低的CT26肿瘤生长,如图19A所示。与单独用紫杉醇或h5D8治疗的小鼠相比,用紫杉醇和h5D8组合治疗的小鼠未显示降低的CT26肿瘤生长,如图19B所示。表10显示了在第21天的终点测量的所有治疗组中所有动物的肿瘤体积。

表10.在终点(第21天)测量的肿瘤体积								
在终点(第21天)的肿瘤体积[mm ³ 或立方毫米]								
[0263]	媒介物*	对照IgG1 [^]	h5D8	阿霉素	顺铂	紫杉醇	h5D8 + 阿霉素	h5D8 + 顺铂* [^]
	821.2	771.7	253.6	463.9	1313.6	762.1	205.3	588.9
	290.1	559.3	1408.5	588.8	676.0	1236.2	305.5	306.7
	2455.3	1092.9	508.3	230.3	953.8	112.9	470.4	701.1
	724.5	695.5	656.8	408.7	328.5	651.8	303.1	258.7
	1238.2	501.6	1354.4	1207.4	1279.7	214.0	481.7	855.2
	551.1	336.0	1190.7	94.2	689.4	461.5	56.9	84.3
	391.5	986.0	1109.1	109.1	512.3	698.3	633.1	328.3
[0264]	791.7	509.0	906.6	294.9	193.9	457.7	333.0	117.8
	1315.2	1092.5	640.3	780.2	997.5	256.2	389.2	742.9
	1557.1	1415.4	0.0	351.2	257.9	592.2	387.5	482.6
	814.5		956.9	735.2	924.4	435.9	91.7	130.5
			318.7	48.9	744.2		1394.3	
*p = 0.0083 媒介物相比于h5D8 + 顺铂								
[^] p = 0.037 对照IgG相比于h5D8 + 顺铂								

[0265] 实例23-在皮内肿瘤植入模型中h5D8与顺铂组合

[0266] 在皮内植入CT26模型中,与顺铂、阿霉素或紫杉醇组合评估了h5D6的功效。在补充有10%胎牛血清和青霉素/链霉素(均为100 μ g/ml)的RPMI-1640培养基中培养CT26细胞。将50,000个细胞/小鼠皮内植入BALB/c小鼠,并且如下治疗小鼠:h5D8(15mg/kg)每周两次和/或顺铂(10mg/kg)每周一次。每个治疗队列有12只小鼠。每周两次使用卡尺测量肿瘤体积和小鼠体重。

[0267] 与单独用顺铂或h5D8治疗的小鼠相比,用顺铂和h5D8组合治疗的小鼠展现出降低的CT26肿瘤生长,如图20所示。表11显示了在第21天的终点测量的所有治疗组中所有动物的肿瘤体积。

[0268]

表11.在终点（第21天）测量的肿瘤体积				
在终点（第21天）的肿瘤体积[mm ³ 或立方毫米]				
媒介物对照	对照IgG*	h5D8	顺铂^	h5D8 + 顺铂*^
513.2	349.9	233.8	408.2	344.5
454.2	798.5	137.3	333.3	425.0
1047.7	547.4	668.5	369.9	276.5
262.8	811.5	252.3	393.5	282.7
273.7	502.2	267.4	332.9	84.6
628.4	255.5	630.7	332.7	272.7
174.4	636.5	527.5	390.7	311.6

[0269]

216.4	1165.2	182.7	574.5	215.6
1166.7	348.5	198.5	177.5	171.6
	946.1	1006.6	331.6	369.5
	557.3	471.5	335.3	287.4
	99.1		445.5	296.2
*p = 0.0045 对照IgG相比于h5D8 + 顺铂				
^p = 0.012 顺铂相比于h5D8 + 顺铂				

[0270] 虽然在本文示出并描述了本发明的优选实施例,但是对本领域技术人员显而易见的是此类实施例仅以示例性的方式提供。在不偏离本发明的情况下,本领域技术人员现在能想到众多变化、改变和取代。应当理解,在实施本发明时,可以采用本文描述的本发明的实施例的各种替代方案。

[0271] 本说明书中提到的所有公开、专利申请、授权专利以及其他文献均通过引用并入本文,如同每个单独的出版物、专利申请、授权专利或其他文献被具体和单独地指示通过引用并入。在与本披露中的定义相矛盾的程度,通过引用并入的文本中所含的定义被排除。

[0272] 序列

[0273]

SEQ ID NO	序列
1	GFTFSHAWMH
2	GFTFSHAW
3	HAWMH
4	QIKAKSDDYATYYAESVKG
5	IKAKSDDYAT
6	TCWEWDLDF
7	WEWDLDF
8	TSWEWDLDF
9	RSSQSLDSDGHTYLN
10	QSLDSDGHTY
11	SVSNLES
12	SVS
13	MQATHAPPYT
14	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAAS
15	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSAAS
16	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSAAS

[0274]

17	EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATS
18	WVRQAPGKGLEWVA
19	WVRQAPGKGLEWVG
20	RFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYC
21	RFSISRDNAKNSLYLQMNSLRVEDTVVYYC
22	RFTISRDDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVYYC
23	WGQGTLLTVSS
24	WGQGTMTVTSS
25	WGQGTTVTVSS
26	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISC
27	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISC
28	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISC
29	DVVMTQSPLSQPVTLGQPASISC
30	WFQQRPGQSPRLIY
31	WLQQRPGQPPRLIY
32	WLLQKPGQPPQLIY
33	WLQQRPGQSPRLIY
34	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYC
35	GVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGYYC
36	GVPNRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYC
37	GVPDRFNGSGSGTDFTLSISRVEAEDVGYYC
38	FGQGTKLEIK
39	FGGGTKVEIK
40	FGQGTKVEIK
41	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR DDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTLLTVSS
42	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR DDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTMTVTSS
43	EVQLVESGGGVVQPGSRSLRLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFISR DNAKNSLYLQMNSLRVEDTVVYYCTCWEWDLDFWGQGTTVTVSS
44	EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR DDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTLLTVSS
45	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLDSDGHTYLNWLFQQRPGQSPRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIK
46	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLDSDGHTYLNWLLQQRPGQPPRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGAGTDFTL KISRVEAEDVGYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIK
47	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLDSDGHTYLNWLLQKPGQPPQLIYSVSNLESGVPNRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGGGTKVEIK
48	DVVMTQSPLSQPVTLGQPASISCRSSQSLDSDGHTYLNWLLQQRPGQSPRLIYSVSNLESGVPDRFNGSGSGTDFT LSISRVEAEDVGYYCMQATHAPPYTFGQGTKVEIK
49	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVAQIKAK SDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTLLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSPGK
50	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSQVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVGQIKAK SDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTMTVTSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSPGK

[0275]

51	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVESGGGVVQPGSRSLRLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVAQIKAK SDDYATYYAESVKGRFSISRDNAKNSLYLQMNLSLRVEDTVVYYCTCWEWDLDFWGQGTITVTSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
52	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVGQIKAK SDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKSTLFLQMNLSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTITVTSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
53	MVSSAQFLGLLLCFQGTTRCDVMTQSPSLSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSGDHTYLNWLFQQRPGQSPRRLIYSVS NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
54	MVSSAQFLGLLLCFQGTTRCDIVMTQTPLSPPVTLGQPASISCRSSQSLLDSGDHTYLNWLFQQRPGQSPRRLIYSVS NLESGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
55	MVSSAQFLGLLLCFQGTTRCDIVMTQTPLSLSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSGDHTYLNWLFQKPGQPPQLLIYSVS NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
56	MVSSAQFLGLLLCFQGTTRCDVMTQSPSLSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSGDHTYLNWLFQQRPGQSPRRLIYSVS NLESGVPDRFSGSGSGTDFTLISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
57	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR DDSKNTLYLQMNLSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTITVTSSASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
58	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR DDSKNTLYLQMNLSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTITVTSSASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
59	EVQLVESGGGVVQPGSRSLRLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFSISR DNAKNSLYLQMNLSLRVEDTVVYYCTCWEWDLDFWGQGTITVTSSASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
60	EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR DDSKNTLYLQMNLSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTITVTSSASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
61	DVVTMTQSPSLSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSGDHTYLNWLFQQRPGQSPRRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
62	DIVMTQTPLSPPVTLGQPASISCRSSQSLLDSGDHTYLNWLFQQRPGQSPRRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGAGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
63	DIVMTQTPLSLSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSGDHTYLNWLFQKPGQPPQLLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
64	DVVTMTQSPSLSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSGDHTYLNWLFQQRPGQSPRRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTL SISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
65	空白
66	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR DDSKNTLYLQMNLSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTITVTSS

[0276]

67	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISR DDSKNTLYLQMNLSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTITVTSSASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
68	SPLPITPVNATCAIRHPCHNNLMNQIRSQLAQLNGSANALFITYTAQGEPPNNLDKLCGPNVTDFFPFHANGTEK AKLVLYRIVVYLGTSIGNITRDQKILNPSALSLSKLNATADILRGLLSNVLCRLSKYHGVHVDVTPDPTSGKD VFQKKKLGCOLLGKYKQIIAVLAQAF

序列表

	<110> 免疫医疗有限公司 (MEDIMMUNE LIMITED) 瓦尔德希伯伦肿瘤研究所 (FUNDACIO PRIVADA INSTITUT D' INVESTIGACIO ONCOLOGICA DE VALL HEBRON) 加泰罗尼亚研究和深造学院 (FUNDACIO PRIVADA INSTITUCIO CATALANA DE RECERCA I ESTUDIS AVANCATS)) <120> 用于治疗癌症的、LIF 抑制剂和基于铂的抗肿瘤剂的组合 <130> LIF-102-W0-PCT <140> PCT/IB2019/000812 <141> 2019-06-17 <150> EP 18382432.5 <151> 2018-06-18 <160> 68 <170> PatentIn 3.5 版 <210> 1 <211> 10 <212> PRT <213> 人工序列 [0001] <220> <223> 合成肽 <400> 1 Gly Phe Thr Phe Ser His Ala Trp Met His 1 5 10 <210> 2 <211> 8 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成肽 <400> 2 Gly Phe Thr Phe Ser His Ala Trp 1 5 <210> 3 <211> 5 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成肽
--	---

<400> 3

His Ala Trp Met His
1 5

<210> 4

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 4

Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 5

Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr
1 5 10

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 6

Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe
1 5

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

[0002]

	<220>
	<223> 合成肽
	<400> 7
	Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe 1 5
	<210> 8
	<211> 9
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 合成肽
	<400> 8
	Thr Ser Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe 1 5
	<210> 9
	<211> 16
	<212> PRT
	<213> 人工序列
[0003]	<220>
	<223> 合成肽
	<400> 9
	Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn 1 5 10 15
	<210> 10
	<211> 11
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 合成肽
	<400> 10
	Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly His Thr Tyr 1 5 10
	<210> 11
	<211> 7
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 合成肽

<400> 11

Ser Val Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 12

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 12

Ser Val Ser
1

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

[0004]

<400> 13

Met Gln Ala Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr
1 5 10

<210> 14

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 14

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 15

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 15

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 16

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 16

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

[0005]

<210> 17

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 17

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser
20 25

<210> 18

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 18

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10

<210> 19
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 19

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
1 5 10

<210> 20
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 20

[0006] Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

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

<220>
<223> 合成肽

<400> 21

Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 22
<211> 30
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 22

Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Ser	Thr	Leu	Phe	Leu	Gln
1				5					10					15	

Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 23

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

[0007]

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 24

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 25

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

<210> 26

<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 26

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys
20

<210> 27
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 27

[0008] Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys
20

<210> 28
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 28

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys
20

<210> 29
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 29

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys
20

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 30

Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr
1 5 10 15

[0009]

<210> 31

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 31

Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 32

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 32

Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 33

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 33

Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 34

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 34

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys
20 25 30

[0010]

<210> 35

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 35

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 36

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 36

Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1	5	10	15
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys			
20	25	30	

<210> 37
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 37

Gly Val Pro Asp Arg Phe Asn Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr			
1	5	10	15

Leu Ser Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys			
20	25	30	

[0011] <210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 38

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
1	5	10

<210> 39
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 39

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
1	5	10

<210> 40
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 40

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 41

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 41

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Ala
20 25 30

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

[0012]

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 42

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 42

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Ala
20 25 30

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

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

[0013]

Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 43

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 43

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu

50

55

60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Val Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 44

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 44

[0014]

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Ala
20 25 30

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

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Thr
65 70 75 80

Leu Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 45
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成肽

<400> 45

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

[0015]

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 46
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成肽

<400> 46

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

[0016]

<210> 47
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 47

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 48
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 48

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

[0017]

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 49
<211> 467
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 49

Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser His Ala Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr
65 70 75 80

[0018]

Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	
	210						215					220					
	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	
	225					230					235					240	
	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	
					245					250						255	
	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
				260						265						270	
	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
			275					280						285			
	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
	290						295					300					
	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
	305					310					315					320	
[0019]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
					325					330					335		
	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	
				340						345				350			
	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	
			355					360					365				
	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
	370						375						380				
	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
	385					390					395					400	
	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
					405					410					415		
	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
				420					425						430		
	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	

435

440

445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460

Pro Gly Lys
 465

<210> 50
 <211> 467
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成肽

<400> 50

Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
 20 25 30

[0020]

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser His Ala Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr
 65 70 75 80

Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
 85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr
 100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly
 115 120 125

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala

145	150	155	160
Ala Leu Gly Cys	Leu Val Lys Asp Tyr	Phe Pro Glu Pro	Val Thr Val
165	170	175	
Ser Trp Asn Ser	Gly Ala Leu Thr	Ser Gly Val His	Thr Phe Pro Ala
180	185	190	
Val Leu Gln Ser	Ser Gly Leu Tyr	Ser Leu Ser Ser	Val Val Thr Val
195	200	205	
Pro Ser Ser Ser	Leu Gly Thr Gln	Thr Tyr Ile Cys	Asn Val Asn His
210	215	220	
Lys Pro Ser Asn	Thr Lys Val Asp	Lys Lys Val Glu	Pro Lys Ser Cys
225	230	235	240
Asp Lys Thr His	Thr Cys Pro Pro	Cys Pro Ala Pro	Glu Leu Leu Gly
245	250	255	
Gly Pro Ser Val	Phe Leu Phe Pro	Pro Lys Pro Lys	Asp Thr Leu Met
260	265	270	
Ile Ser Arg Thr	Pro Glu Val Thr	Cys Val Val Val	Asp Val Ser His
275	280	285	
Glu Asp Pro Glu	Val Lys Phe Asn	Trp Tyr Val Asp	Gly Val Glu Val
290	295	300	
His Asn Ala Lys	Thr Lys Pro Arg	Glu Glu Gln Tyr	Asn Ser Thr Tyr
305	310	315	320
Arg Val Val Ser	Val Leu Thr Val	Leu His Gln Asp	Trp Leu Asn Gly
325	330	335	
Lys Glu Tyr Lys	Cys Lys Val Ser	Asn Lys Ala Leu	Pro Ala Pro Ile
340	345	350	
Glu Lys Thr Ile	Ser Lys Ala Lys	Gly Gln Pro Arg	Glu Pro Gln Val
355	360	365	
Tyr Thr Leu Pro	Pro Ser Arg Asp	Glu Leu Thr Lys	Asn Gln Val Ser
370	375	380	

[0021]

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 51
<211> 467
<212> PRT
<213> 人工序列

[0022]

<220>
<223> 合成肽

<400> 51

Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser His Ala Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95

	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Val	Glu	Asp	Thr	
				100					105						110		
	Val	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Cys	Trp	Glu	Trp	Asp	Leu	Asp	Phe	Trp	Gly	
			115					120					125				
	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	
		130					135					140					
	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	
	145					150					155					160	
	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	
				165						170					175		
	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	
			180						185					190			
	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	
		195						200					205				
[0023]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	
		210					215					220					
	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	
	225					230					235					240	
	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	
					245					250					255		
	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
			260					265						270			
	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
		275						280					285				
	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
		290					295					300					
	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
	305					310					315					320	
	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	

	325	330	335
	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile 340	345	350
	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val 355	360	365
	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser 370	375	380
	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu 385	390	395 400
	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro 405	410	415
	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val 420	425	430
	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met 435	440	445
[0024]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser 450	455	460
	Pro Gly Lys 465		
	<210> 52 <211> 467 <212> PRT <213> 人工序列		
	<220> <223> 合成肽		
	<400> 52		
	Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly 1 5 10 15		
	Val His Ser Glu Val Gln Leu Met Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys 20 25 30		
	Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe		

	35	40	45
	Ser His Ala Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu 50	55	60
	Glu Trp Val Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr 65	70	75 80
	Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser 85	90	95
	Lys Ser Thr Leu Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr 100	105	110
	Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly 115	120	125
	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser 130	135	140
[0025]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala 145	150	155 160
	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val 165	170	175
	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala 180	185	190
	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val 195	200	205
	Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His 210	215	220
	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys 225	230	235 240
	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly 245	250	255
	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met 260	265	270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

[0026]

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 53

<211> 240

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 53

Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
20 25 30

Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Leu Leu Asp Ser Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg
50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu
65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

[0027]

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr
100 105 110

Cys Met Gln Ala Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
130 135 140

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
145 150 155 160

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
165 170 175

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
180 185 190

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
195 200 205

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His

210	215	220
Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys 225 230 235 240		
<210> 54 <211> 240 <212> PRT <213> 人工序列		
<220> <223> 合成肽		
<400> 54		
Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Gln 1 5 10 15		
Gly Thr Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro 20 25 30		
Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser 35 40 45		
[0028] Leu Leu Asp Ser Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg 50 55 60		
Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu 65 70 75 80		
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe 85 90 95		
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr 100 105 110		
Cys Met Gln Ala Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr 115 120 125		
Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe 130 135 140		
Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys 145 150 155 160		
Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val		

	165	170	175
	Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln		
	180	185	190
	Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser		
	195	200	205
	Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His		
	210	215	220
	Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
	225	230	235 240
<210>	55		
<211>	240		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成肽		
<400>	55		
[0029]	Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln		
	1 5 10 15		
	Gly Thr Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser		
	20 25 30		
	Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser		
	35 40 45		
	Leu Leu Asp Ser Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys		
	50 55 60		
	Pro Gly Gln Pro Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu		
	65 70 75 80		
	Ser Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe		
	85 90 95		
	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr		
	100 105 110		
	Cys Met Gln Ala Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr		

	115	120	125
	Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe 130	135	140
	Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys 145	150	155 160
	Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val 165	170	175
	Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln 180	185	190
	Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser 195	200	205
	Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His 210	215	220
[0030]	Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys 225	230	235 240
	<210> 56		
	<211> 240		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成肽		
	<400> 56		
	Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Gln 1	5	10 15
	Gly Thr Arg Cys Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Gln Pro 20	25	30
	Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser 35	40	45
	Leu Leu Asp Ser Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg 50	55	60
	Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu		

65	70	75	80
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe	85	90	95
Thr Leu Ser Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr	100	105	110
Cys Met Gln Ala Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr	115	120	125
Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe	130	135	140
Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys	145	150	155
Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val	165	170	175
Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln	180	185	190
Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser	195	200	205
Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His	210	215	220
Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	225	230	235
240			
<210> 57			
<211> 448			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			
<400> 57			
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly	1	5	10
15			
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Ala			

	20	25	30
	Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35	40	45
	Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu		
	50	55	60
	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr		
	65	70	80
	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
	85	90	95
	Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr		
	100	105	110
	Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
	115	120	125
[0032]	Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
	130	135	140
	Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
	145	150	155
	Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
	165	170	175
	Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
	180	185	190
	Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
	195	200	205
	Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
	210	215	220
	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser		
	225	230	235
	Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
	245	250	255

	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	
				260					265						270		
	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	
			275					280						285			
	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	
		290					295					300					
	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
	305					310					315					320	
	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	
					325					330					335		
	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	
				340					345						350		
	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	
			355					360						365			
[0033]	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	
		370					375					380					
	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	
	385					390					395					400	
	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	
					405					410					415		
	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	
				420					425					430			
	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	
			435					440					445				
	<210>	58															
	<211>	448															
	<212>	PRT															
	<213>	人工序列															
	<220>																
	<223>	合成肽															
	<400>	58															

	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly	
	1				5					10					15		
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	His	Ala	
				20					25					30			
	Trp	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
			35					40					45				
	Gly	Gln	Ile	Lys	Ala	Lys	Ser	Asp	Asp	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu	
		50					55					60					
	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	
	65					70				75					80		
	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	
					85					90					95		
	Tyr	Cys	Thr	Cys	Trp	Glu	Trp	Asp	Leu	Asp	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
				100					105					110			
[0034]	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	
			115					120					125				
	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	
		130					135					140					
	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	
	145					150					155				160		
	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	
					165					170					175		
	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	
				180					185					190			
	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	
		195						200					205				
	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	
		210					215					220					
	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	

225	230	235	240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg	245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro	260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala	275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val	290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr	305	310	315
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr	325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu	340	345	350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys	355	360	365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser	370	375	380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp	385	390	395
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser	405	410	415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala	420	425	430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	435	440	445
<210> 59			
<211> 448			
<212> PRT			

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 59

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80

[0036]

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Val Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	
	210							215						220			
	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	
	225					230					235					240	
	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	
					245					250					255		
	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	
				260						265					270		
	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	
		275						280					285				
	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	
	290						295					300					
	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
	305					310					315					320	
[0037]	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	
					325					330					335		
	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	
				340					345					350			
	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	
			355					360					365				
	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	
	370						375					380					
	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	
	385					390					395					400	
	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	
					405					410					415		
	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	
				420					425					430			
	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	

435

440

445

<210> 60

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 60

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Ala
 20 25 30

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

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
 50 55 60

[0038]

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Thr
 65 70 75 80

Leu Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

	180	185	190
	Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr	Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser	
	195	200	205
	Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
	210	215	220
	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser		
	225	230	235 240
	Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
	245	250	255
	Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
	260	265	270
	Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
	275	280	285
[0039]	Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
	290	295	300
	Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
	305	310	315 320
	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
	325	330	335
	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
	340	345	350
	Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
	355	360	365
	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
	370	375	380
	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
	385	390	395 400
	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
	405	410	415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 61
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 61

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

[0040]

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 62

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 62

[0041]

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 63

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

[0042]

<220>

<223> 合成肽

<400> 63

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

[0043]

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 64

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 64

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

[0044] Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 65

<400> 65
000

<210> 66

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 66

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Ala
20 25 30

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

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser
115

[0045]

<210> 67
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 67

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Ala
20 25 30

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

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

[0046]

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

[0047]

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 68

<211> 180

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 68

Ser Pro Leu Pro Ile Thr Pro Val Asn Ala Thr Cys Ala Ile Arg His
1 5 10 15

Pro Cys His Asn Asn Leu Met Asn Gln Ile Arg Ser Gln Leu Ala Gln
20 25 30

Leu Asn Gly Ser Ala Asn Ala Leu Phe Ile Leu Tyr Tyr Thr Ala Gln
35 40 45

	Gly	Glu	Pro	Phe	Pro	Asn	Asn	Leu	Asp	Lys	Leu	Cys	Gly	Pro	Asn	Val	
	50						55					60					
	Thr	Asp	Phe	Pro	Pro	Phe	His	Ala	Asn	Gly	Thr	Glu	Lys	Ala	Lys	Leu	
	65					70				75						80	
	Val	Glu	Leu	Tyr	Arg	Ile	Val	Val	Tyr	Leu	Gly	Thr	Ser	Leu	Gly	Asn	
					85					90					95		
	Ile	Thr	Arg	Asp	Gln	Lys	Ile	Leu	Asn	Pro	Ser	Ala	Leu	Ser	Leu	His	
				100					105					110			
[0048]	Ser	Lys	Leu	Asn	Ala	Thr	Ala	Asp	Ile	Leu	Arg	Gly	Leu	Leu	Ser	Asn	
			115					120					125				
	Val	Leu	Cys	Arg	Leu	Cys	Ser	Lys	Tyr	His	Val	Gly	His	Val	Asp	Val	
		130					135					140					
	Thr	Tyr	Gly	Pro	Asp	Thr	Ser	Gly	Lys	Asp	Val	Phe	Gln	Lys	Lys	Lys	
	145					150					155					160	
	Leu	Gly	Cys	Gln	Leu	Leu	Gly	Lys	Tyr	Lys	Gln	Ile	Ile	Ala	Val	Leu	
					165					170						175	
	Ala	Gln	Ala	Phe													
				180													

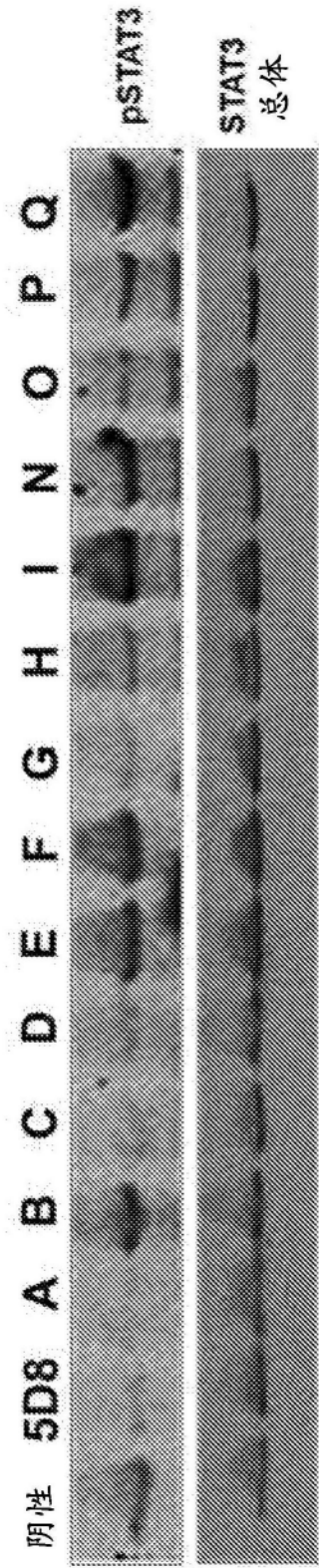


图1

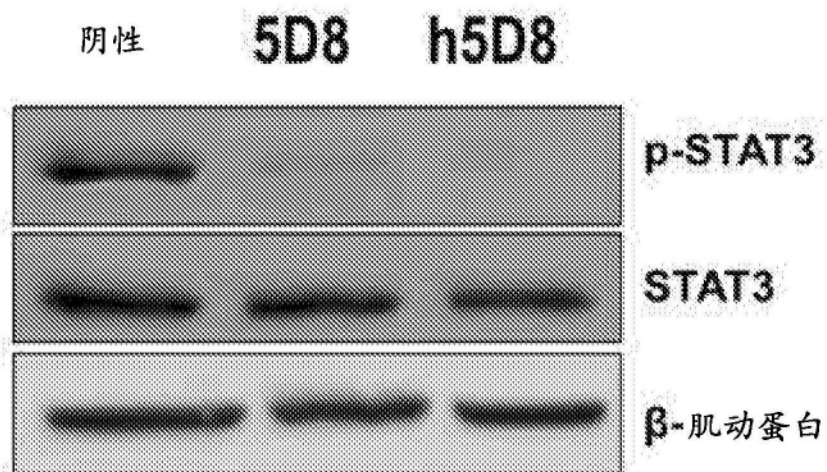


图2A

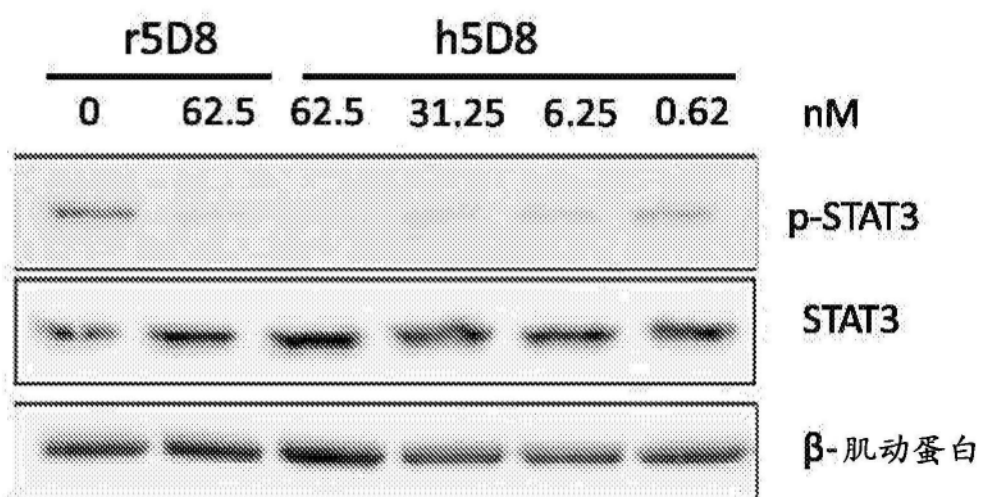


图2B

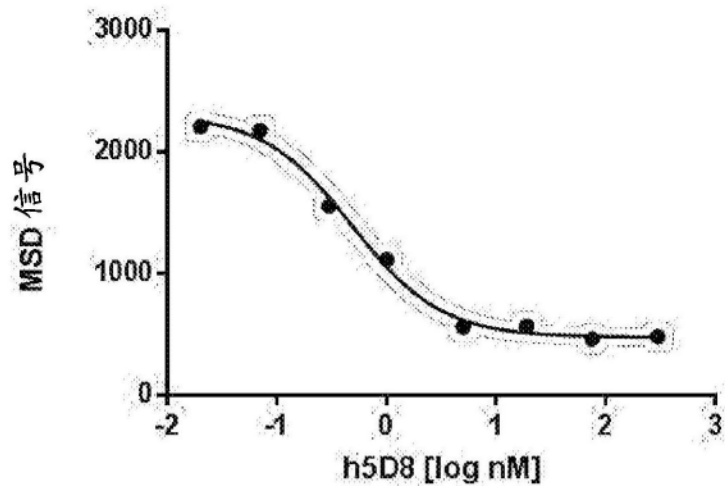


图3A

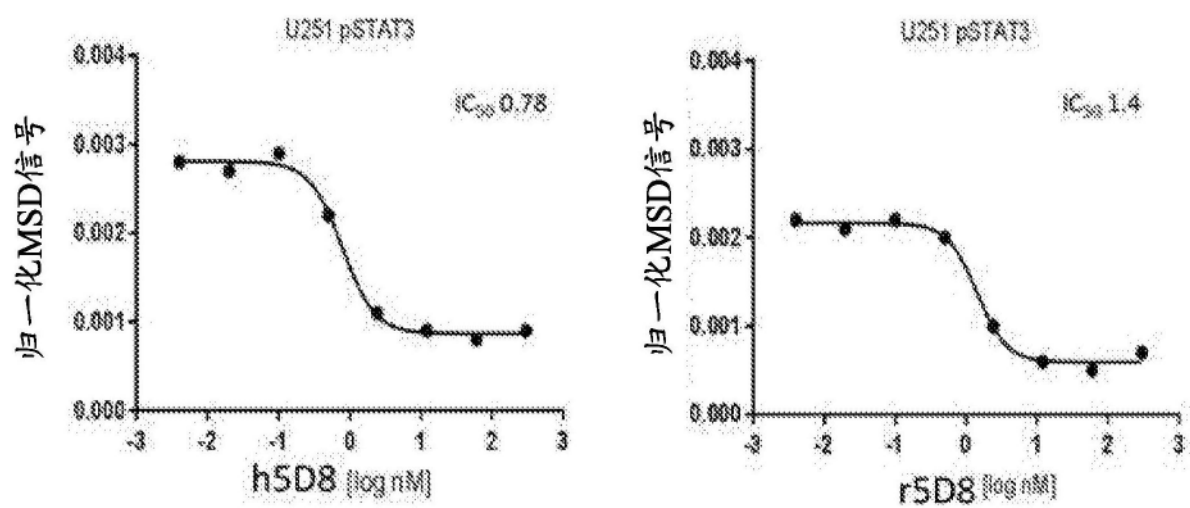


图3B

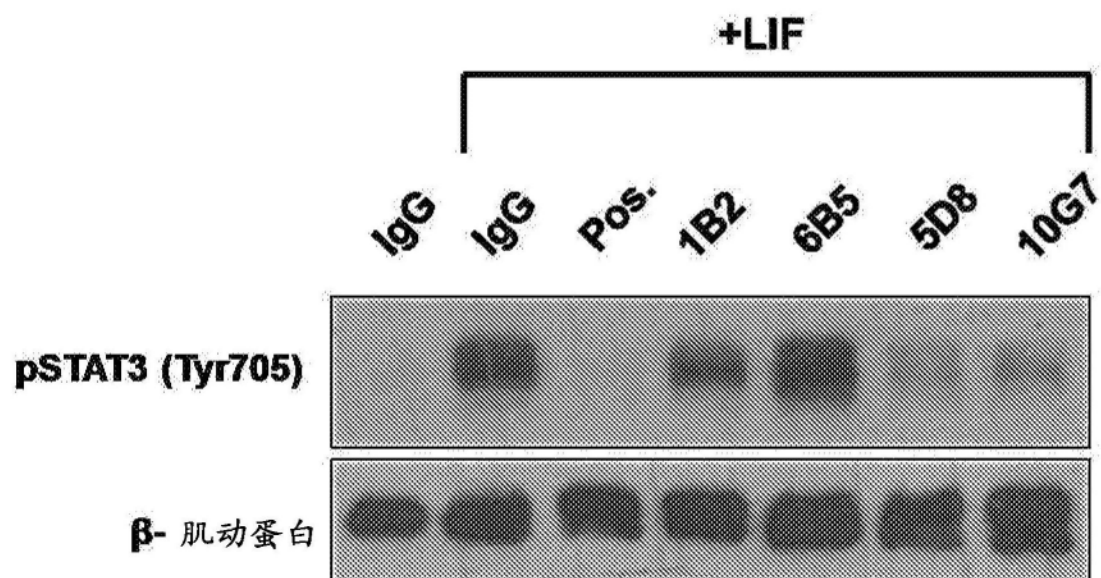


图4

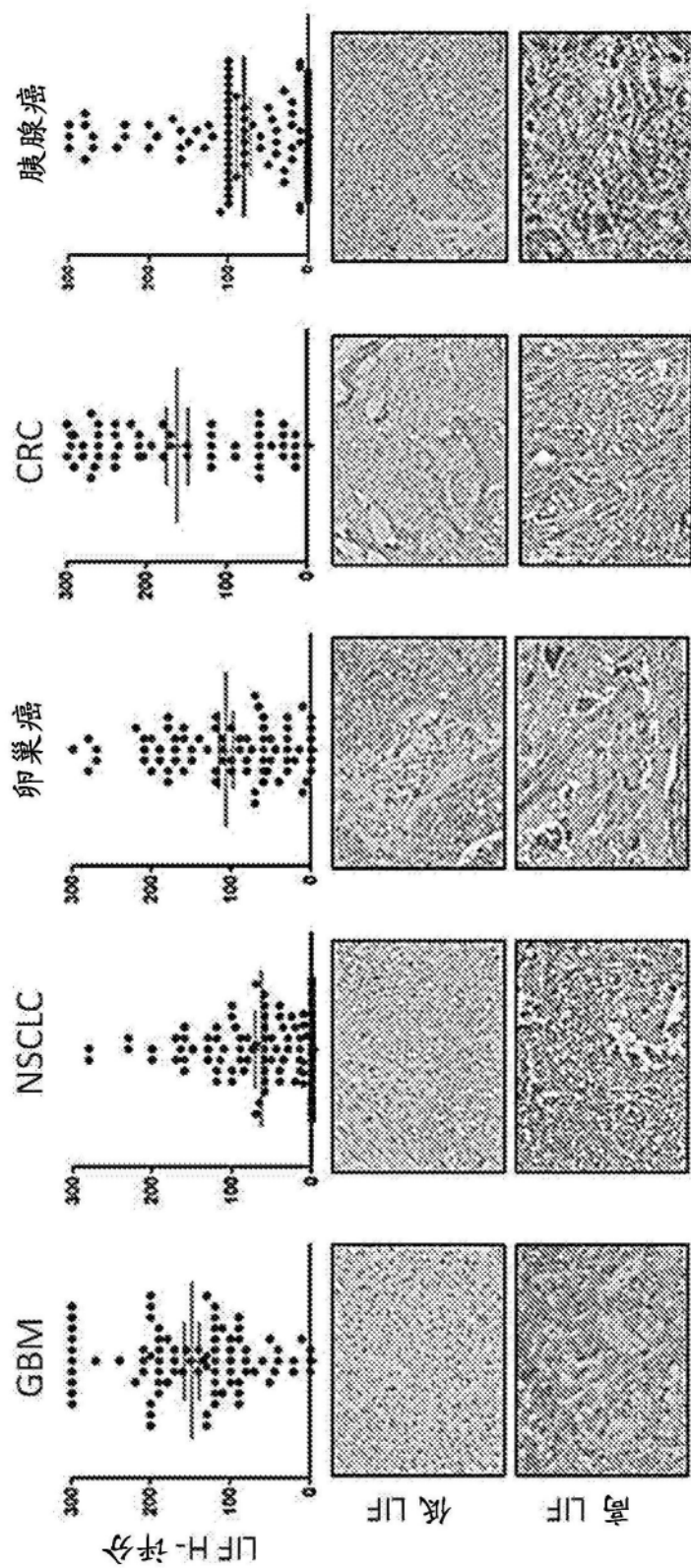


图5

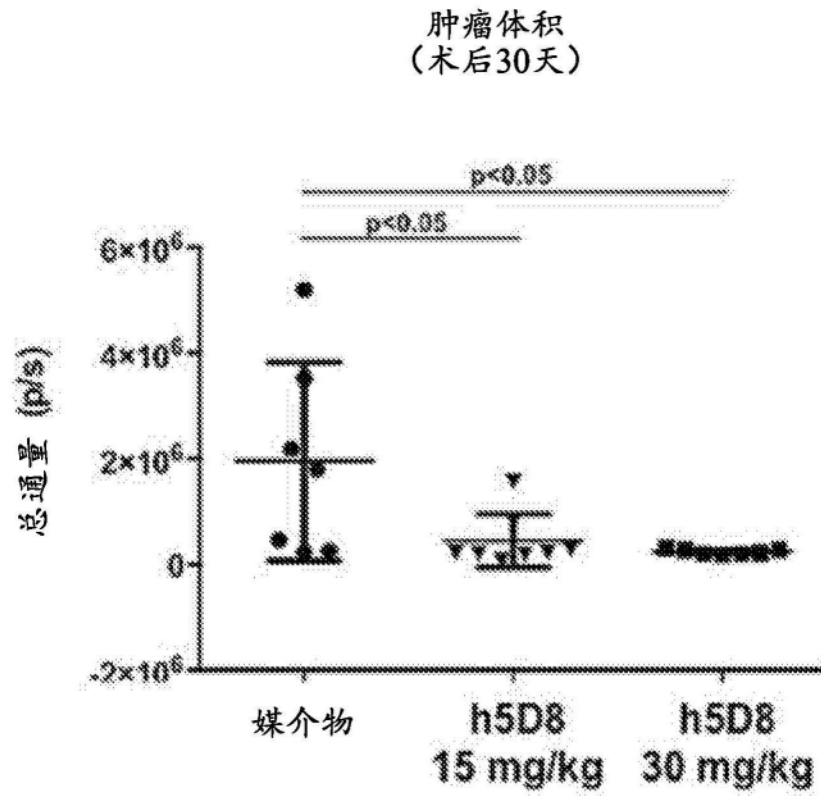


图6A

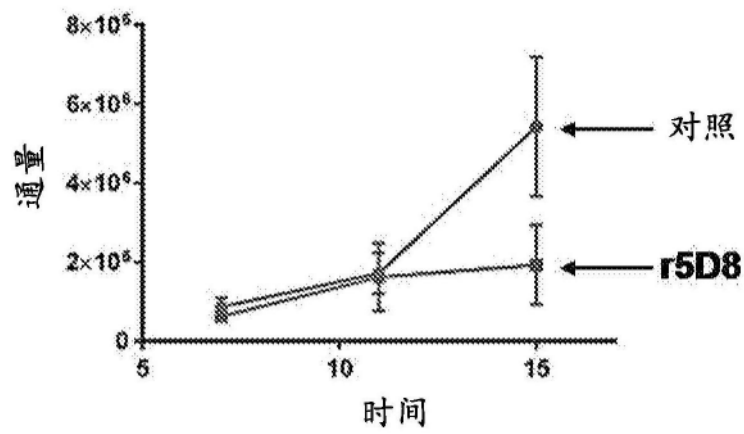


图6B

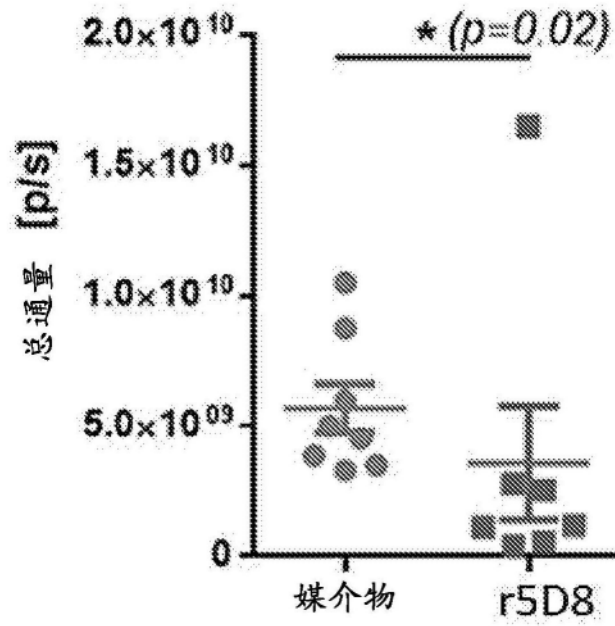


图7A

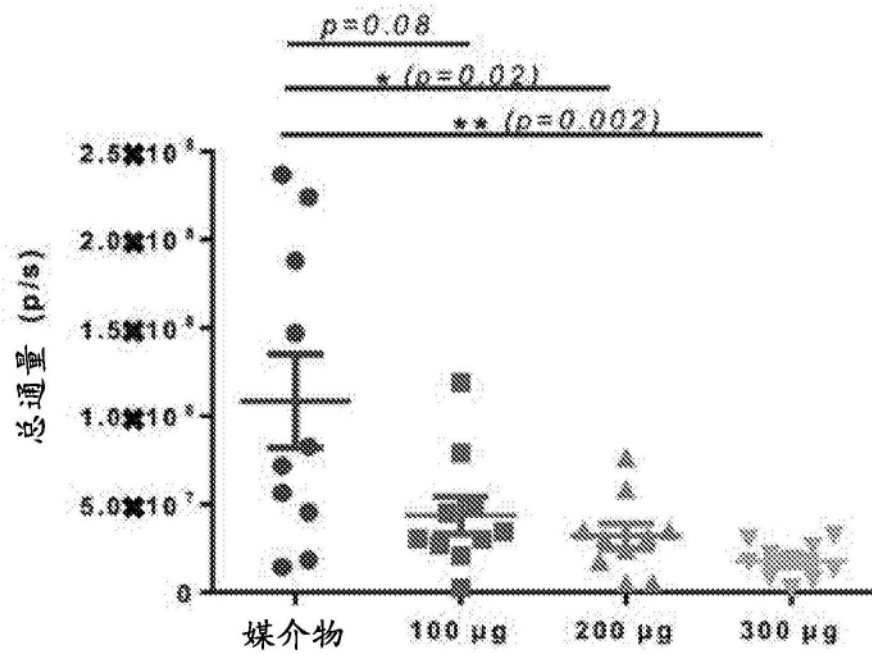


图7B

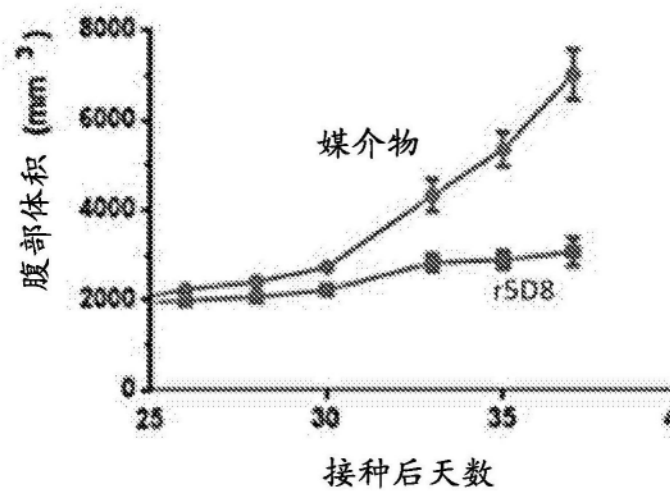


图8A

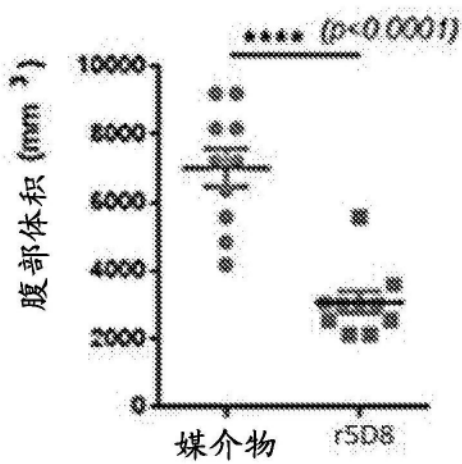


图8B

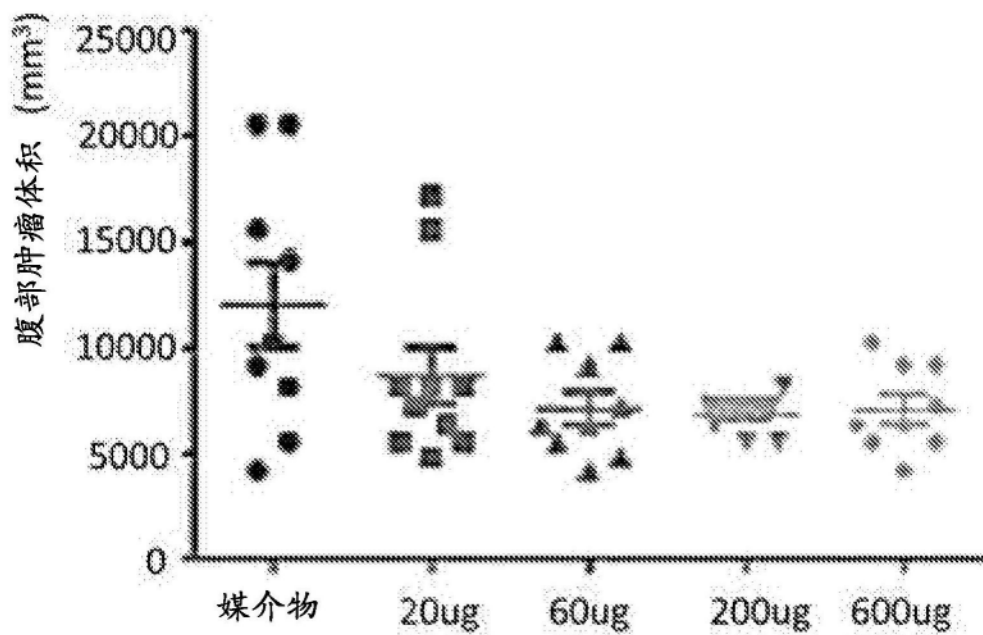


图8C

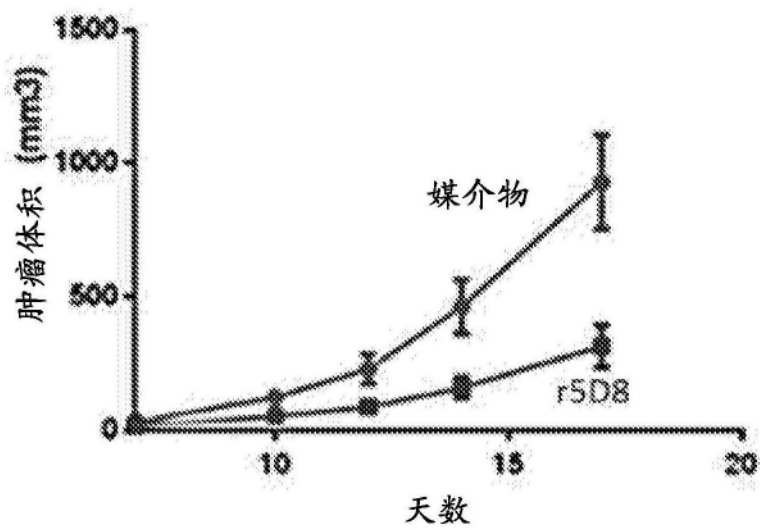


图9A

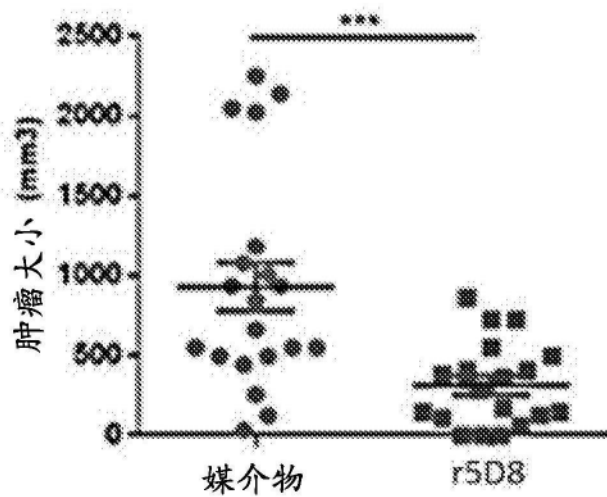


图9B

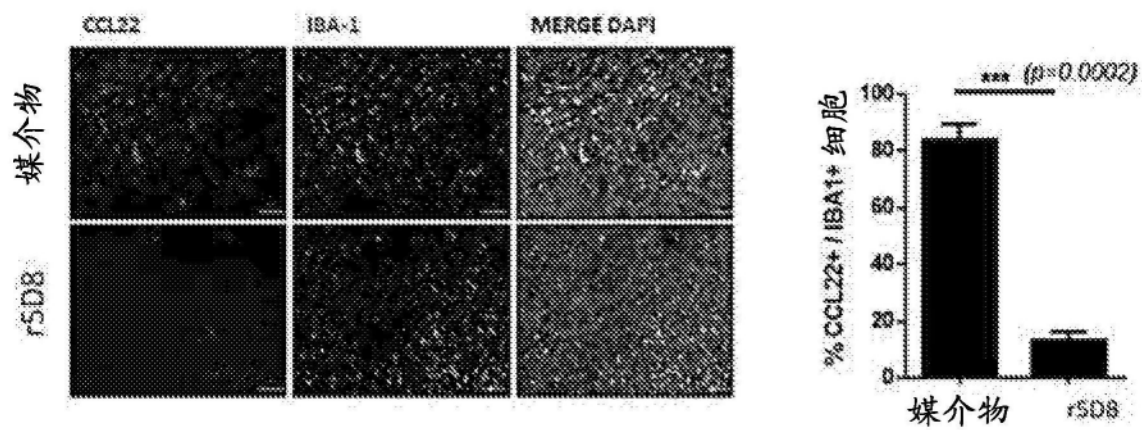


图10A

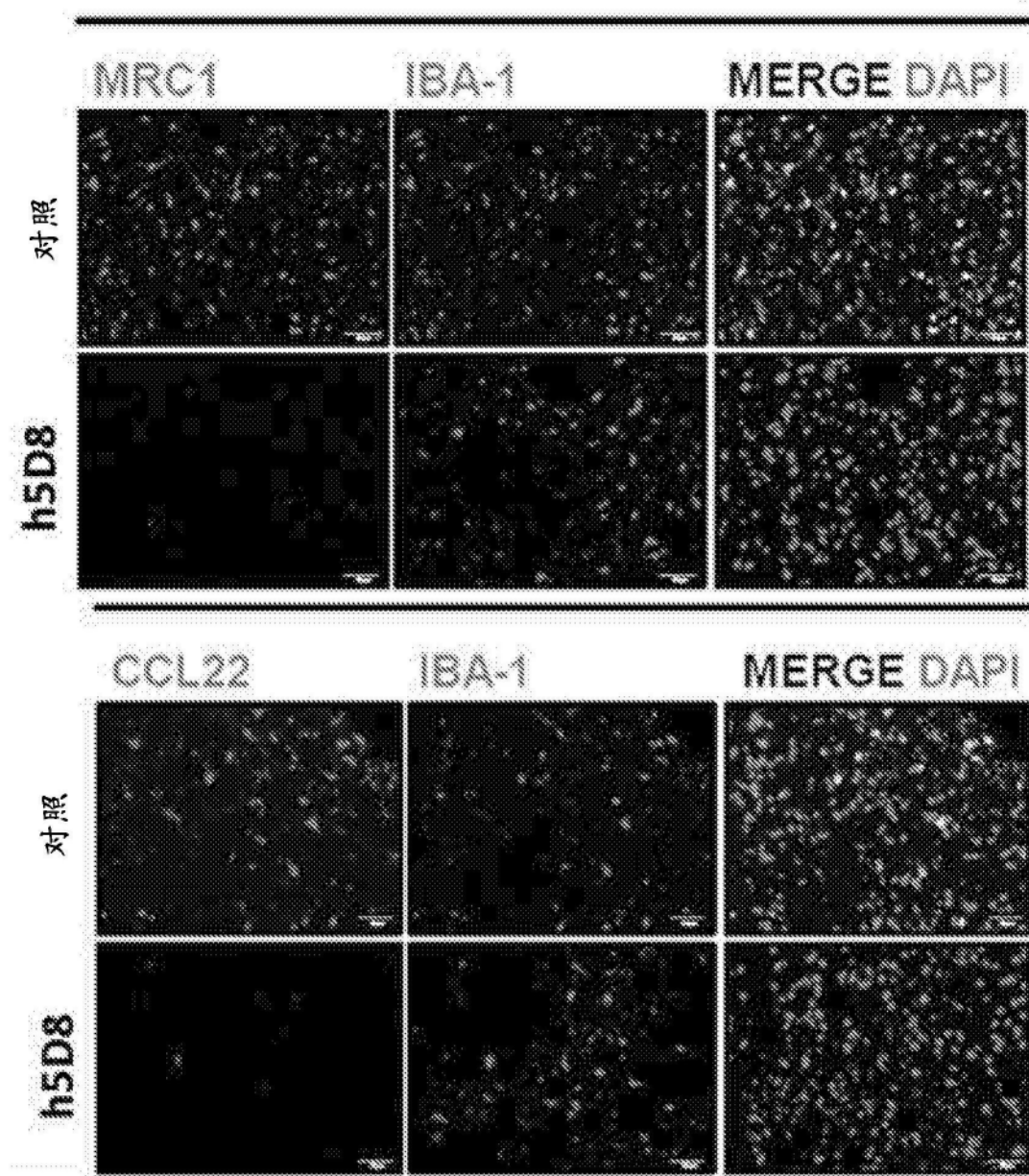


图10B

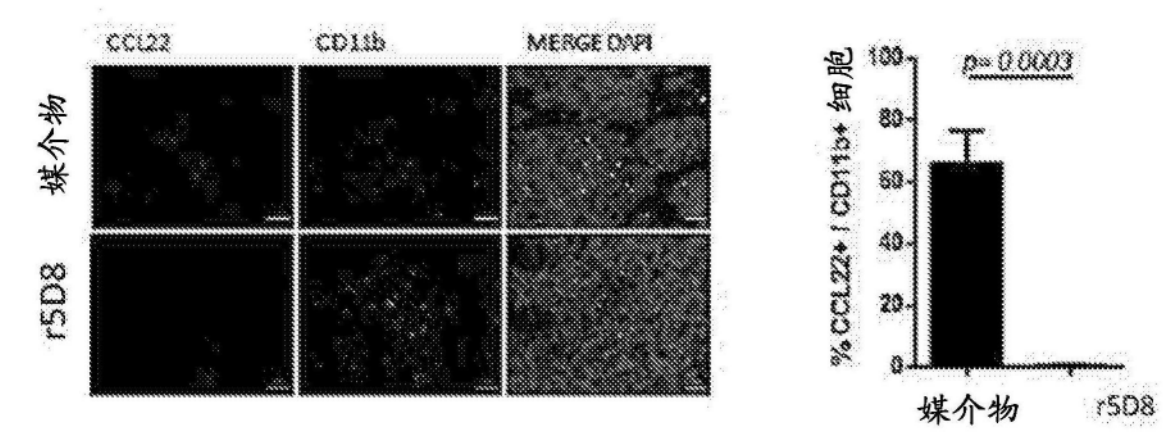


图10C

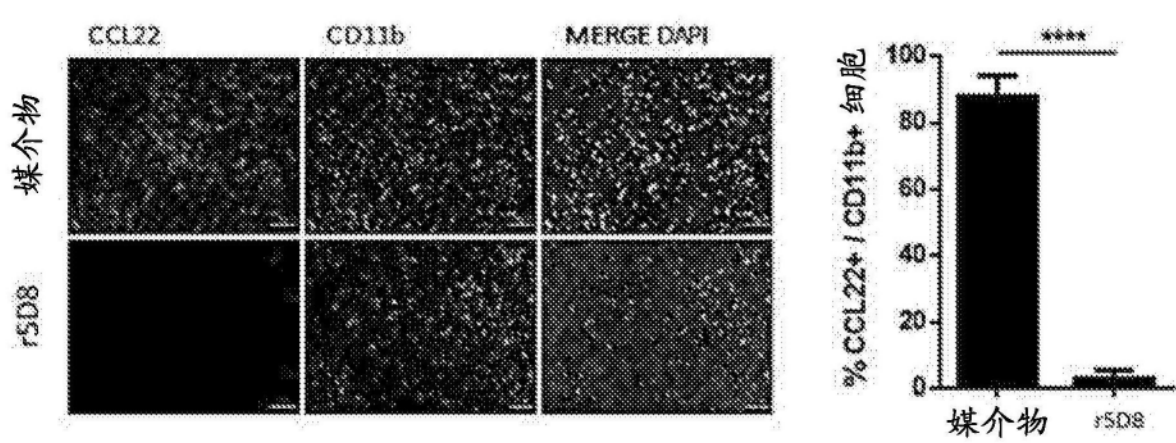


图10D

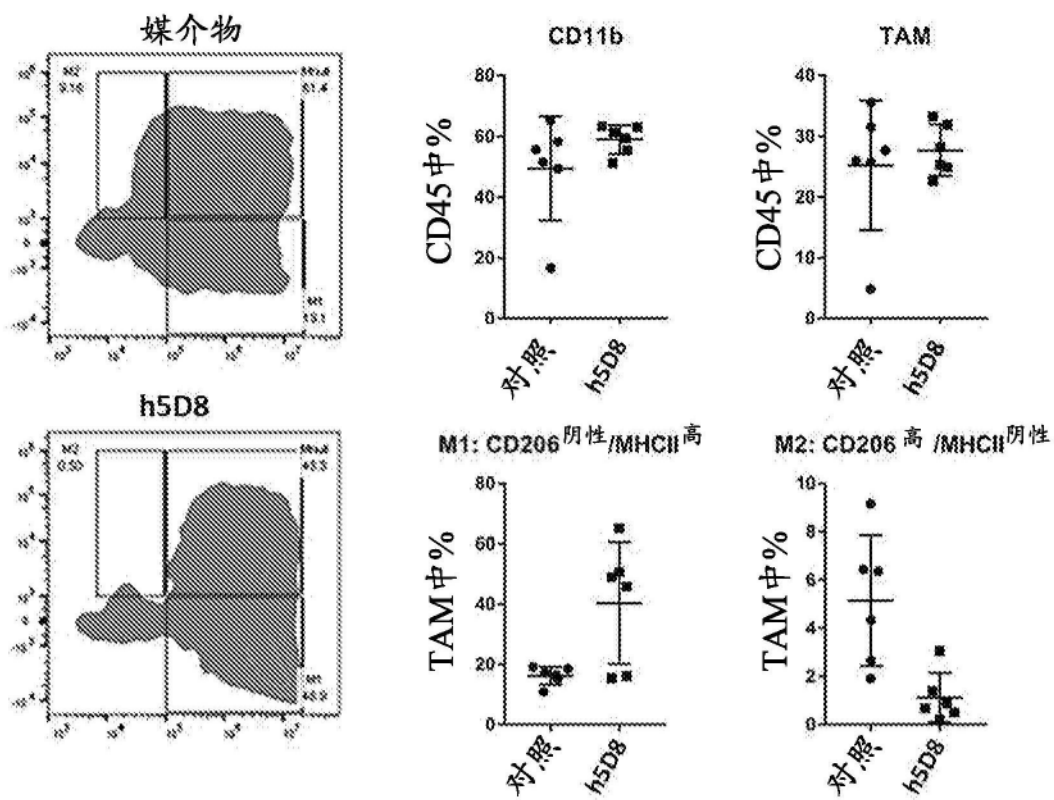


图10E

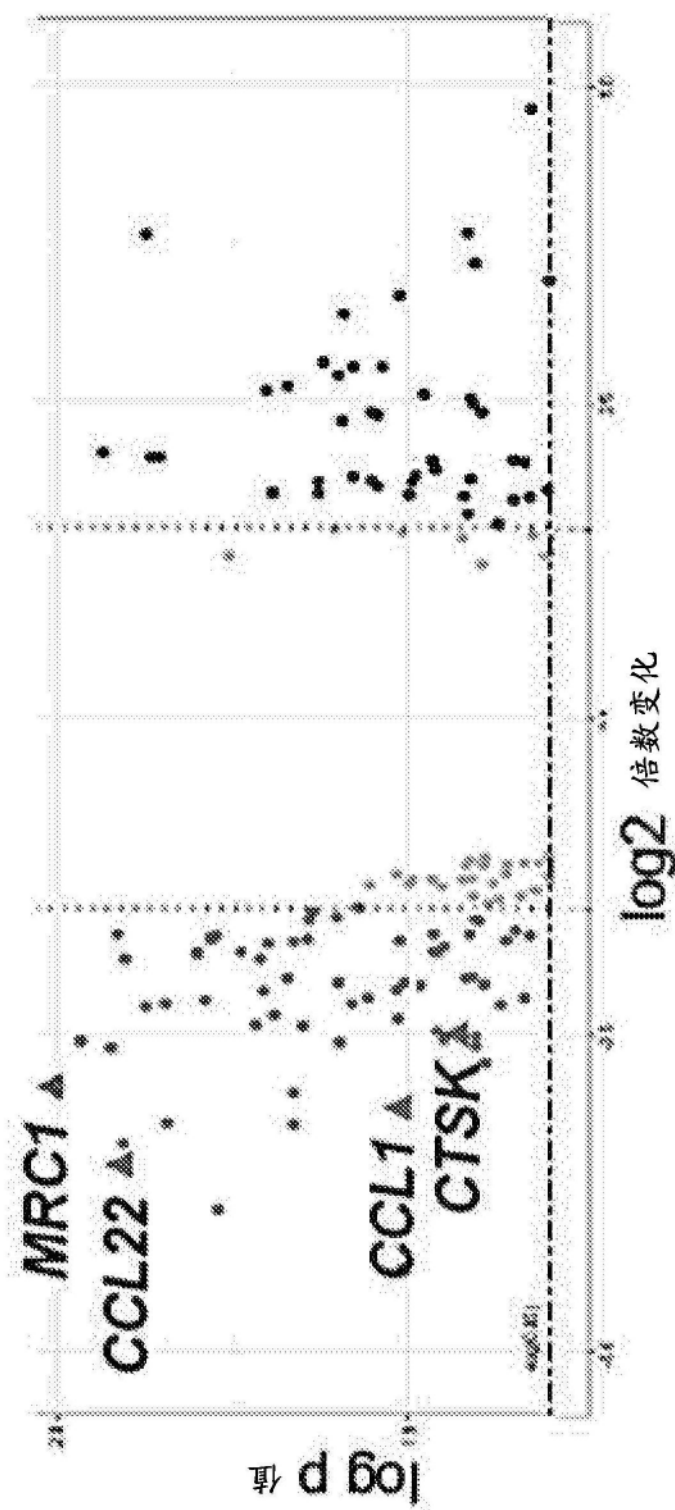


图10F

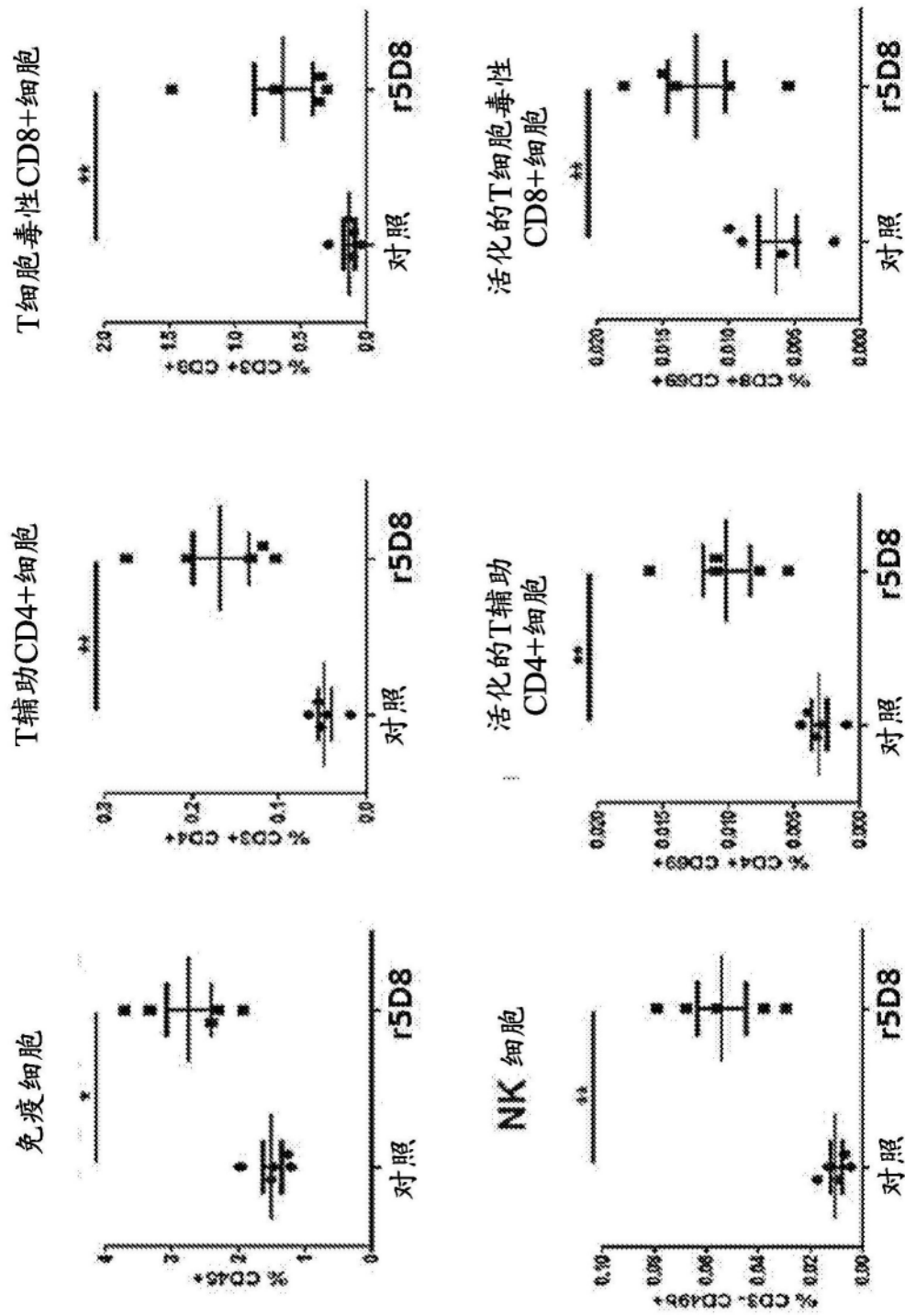


图11A

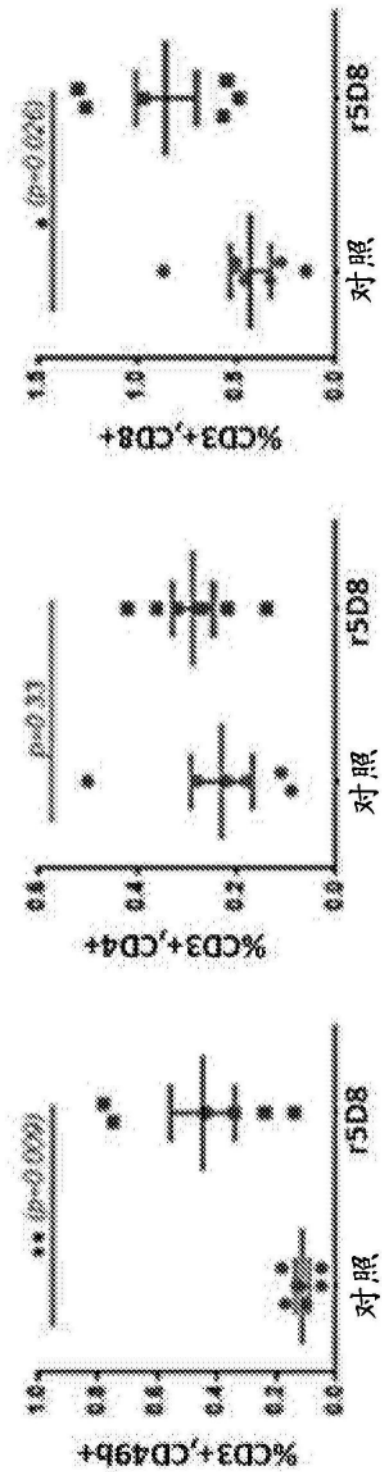


图11B

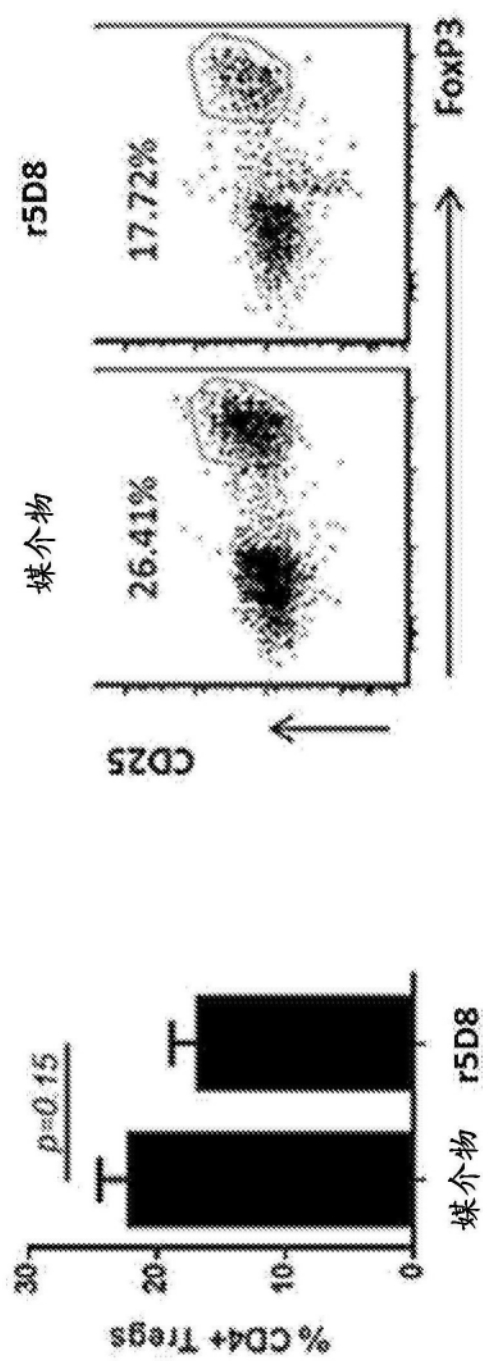


图11C

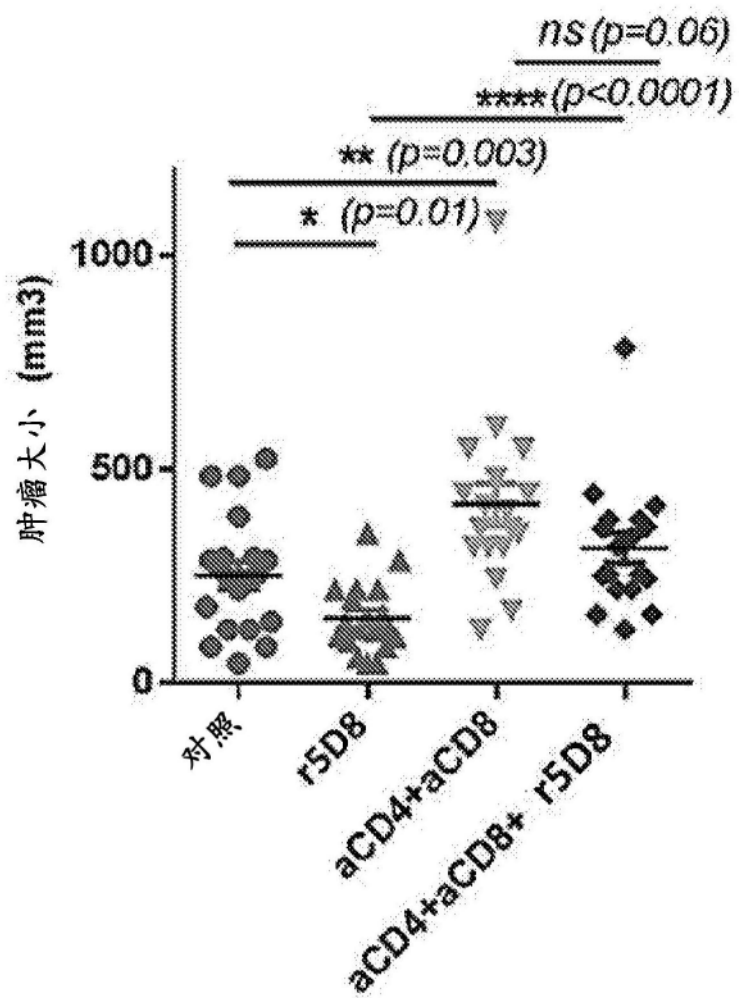


图12

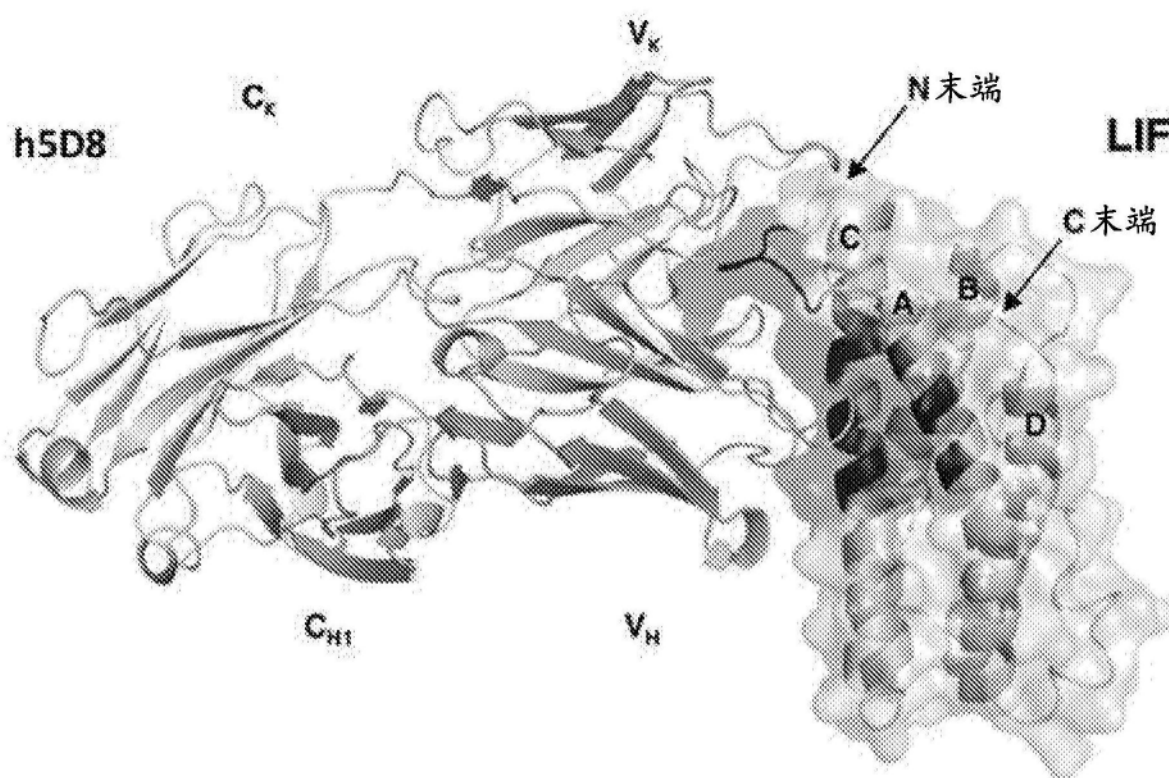


图13A

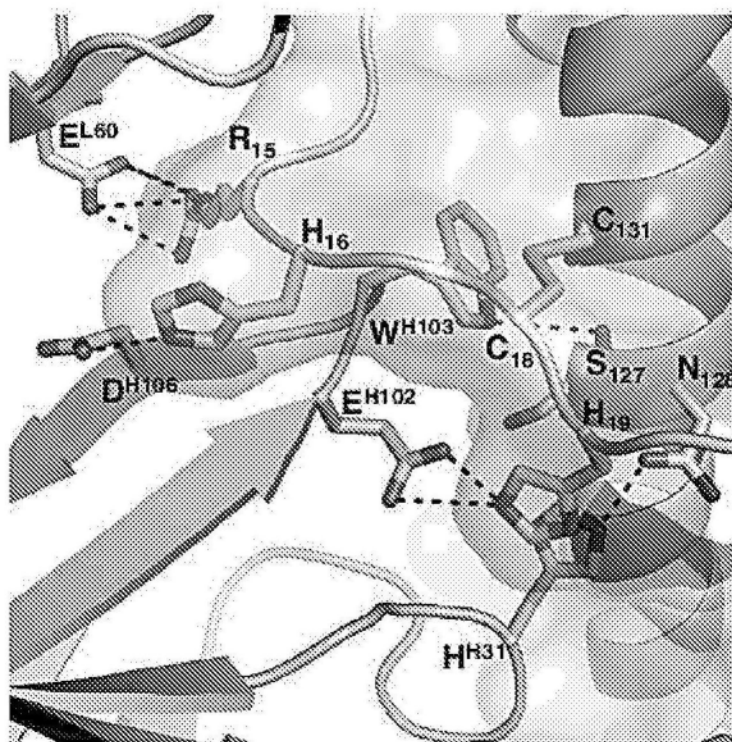


图13B

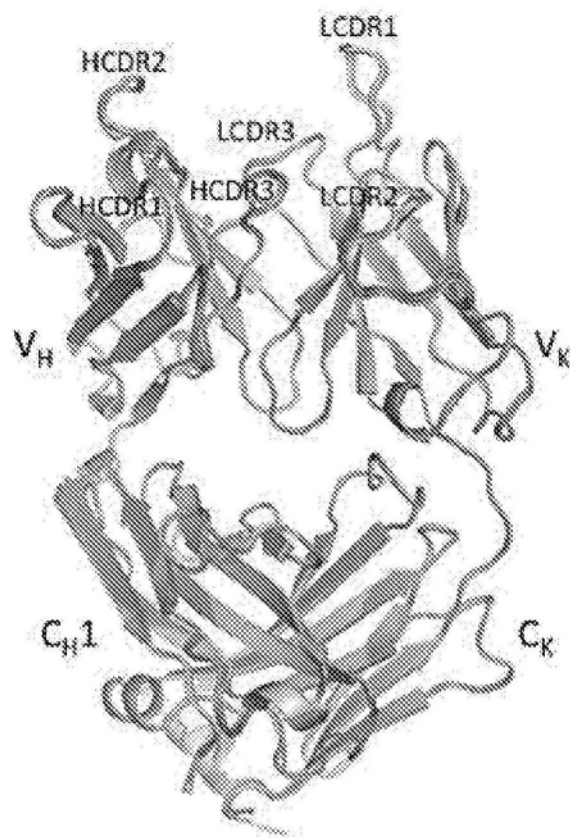


图14A

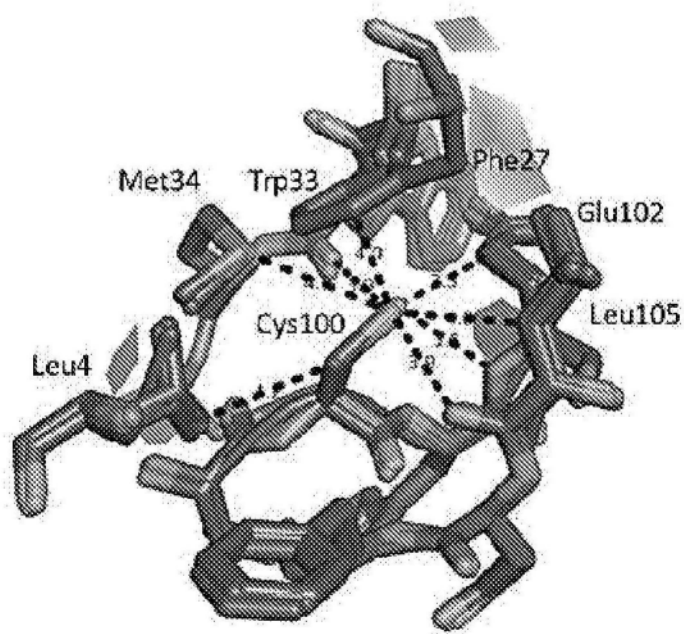


图14B

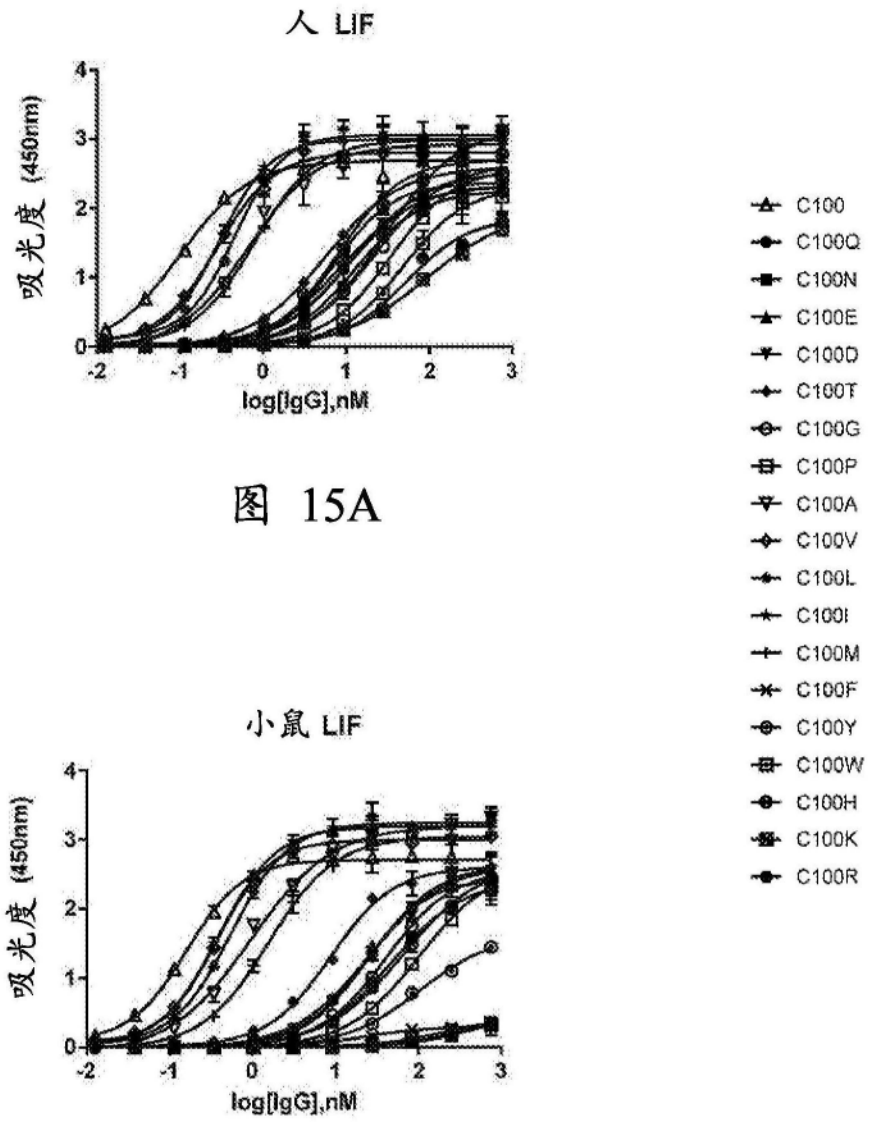


图 15A

图 15B

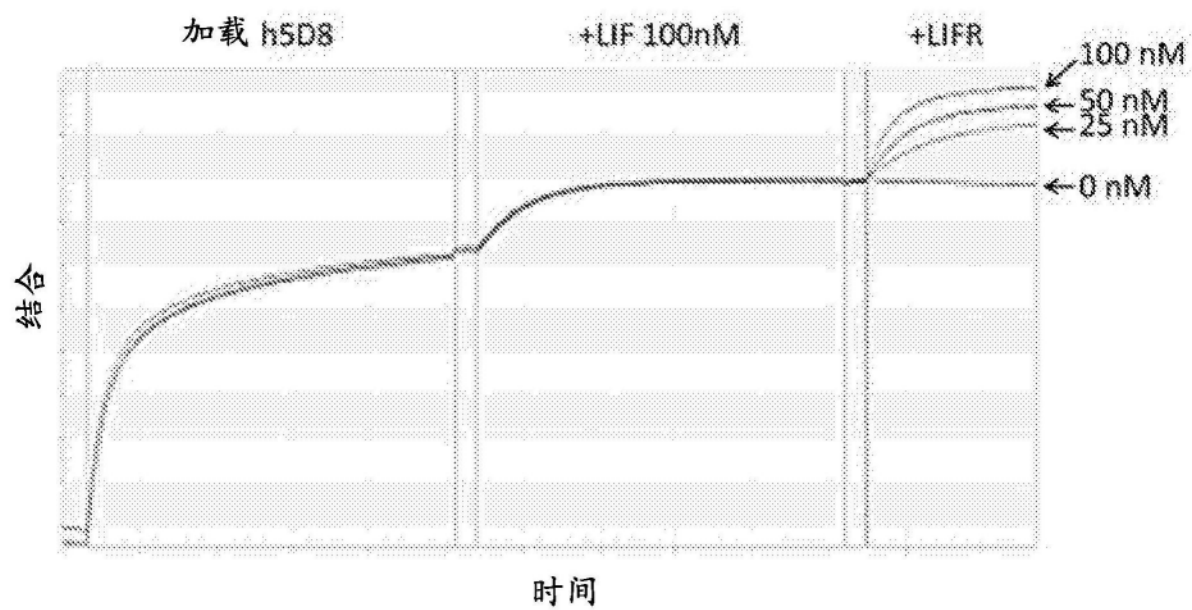


图16A

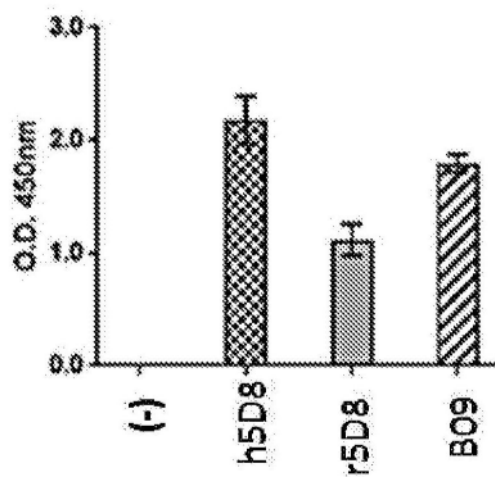


图16B

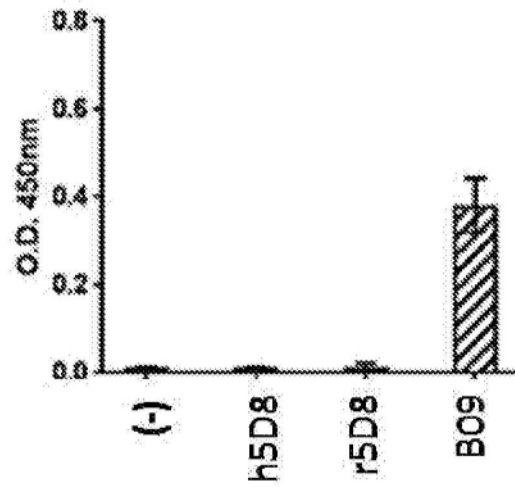


图16C

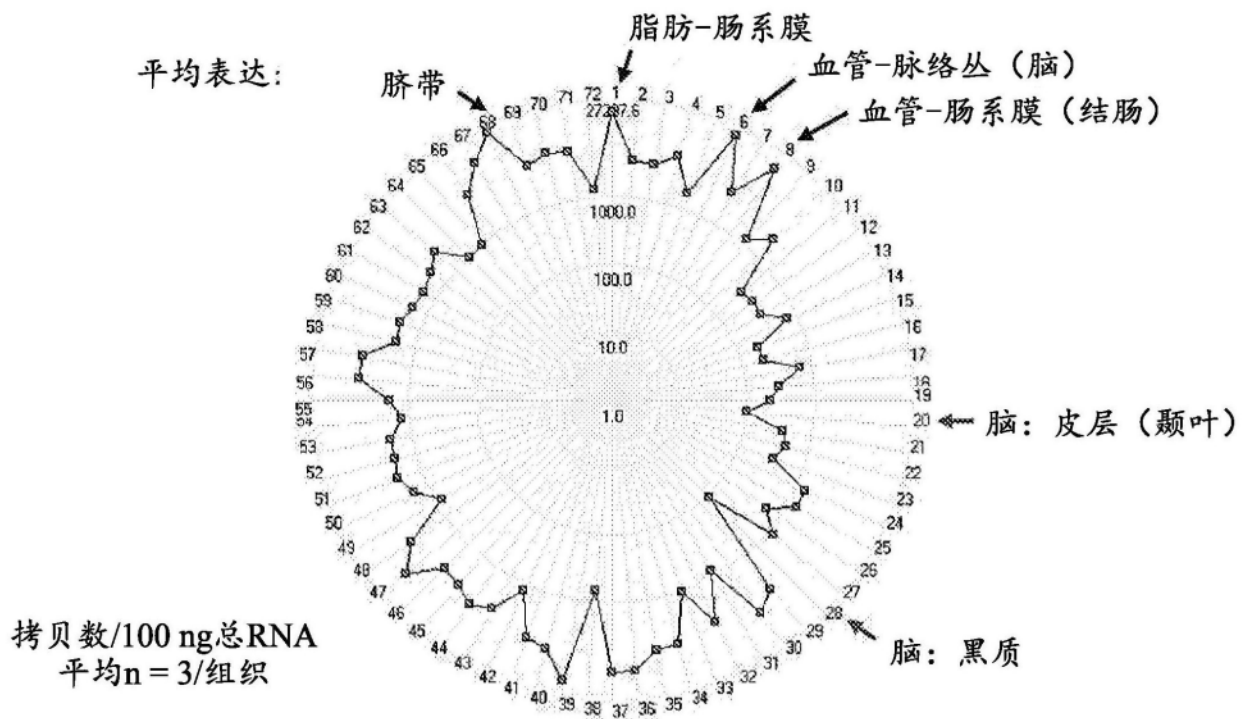


图17A

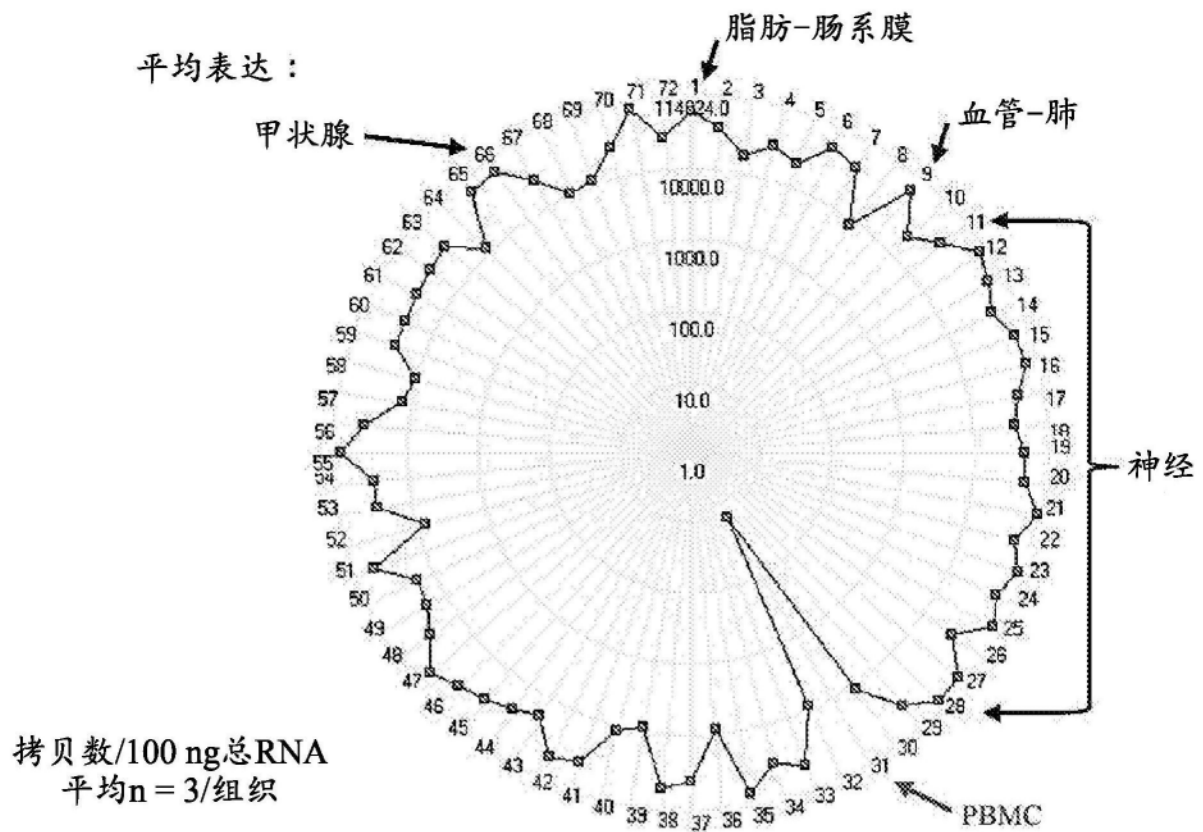


图17B

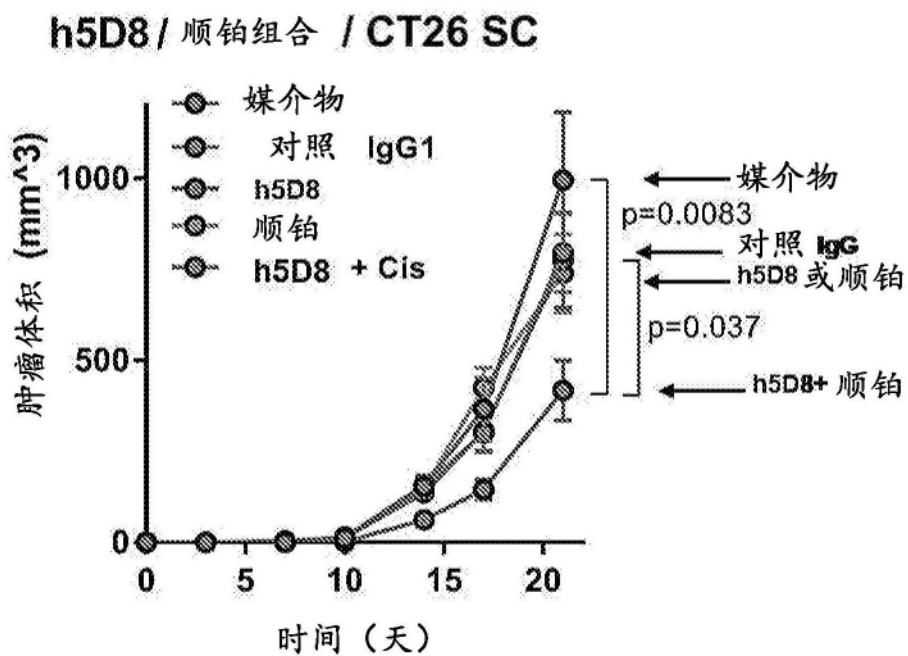


图18

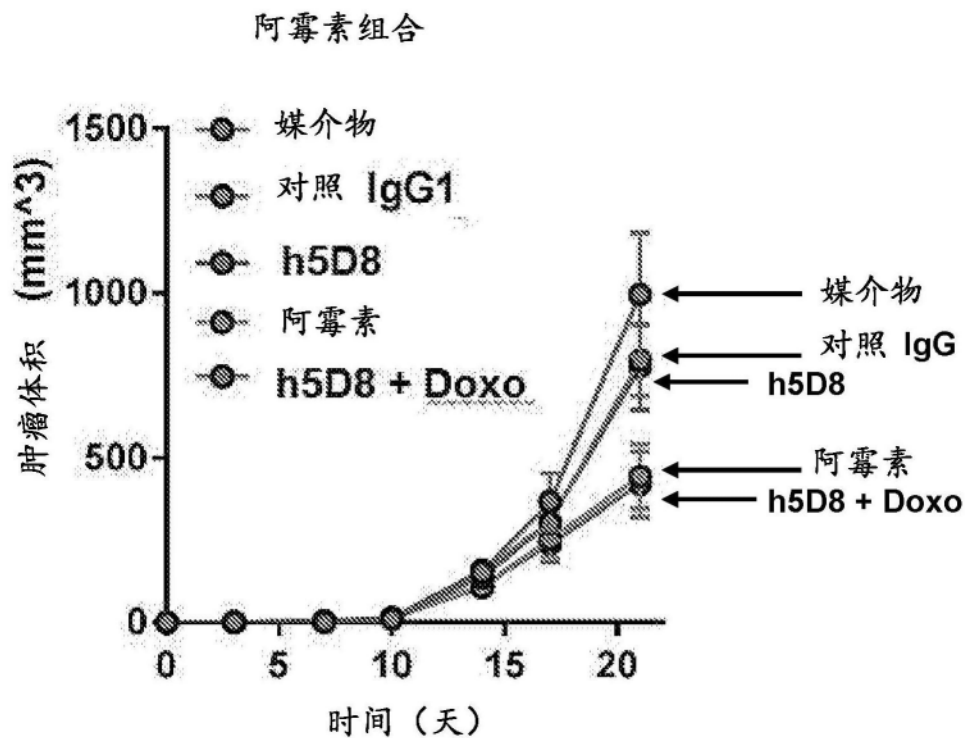


图19A

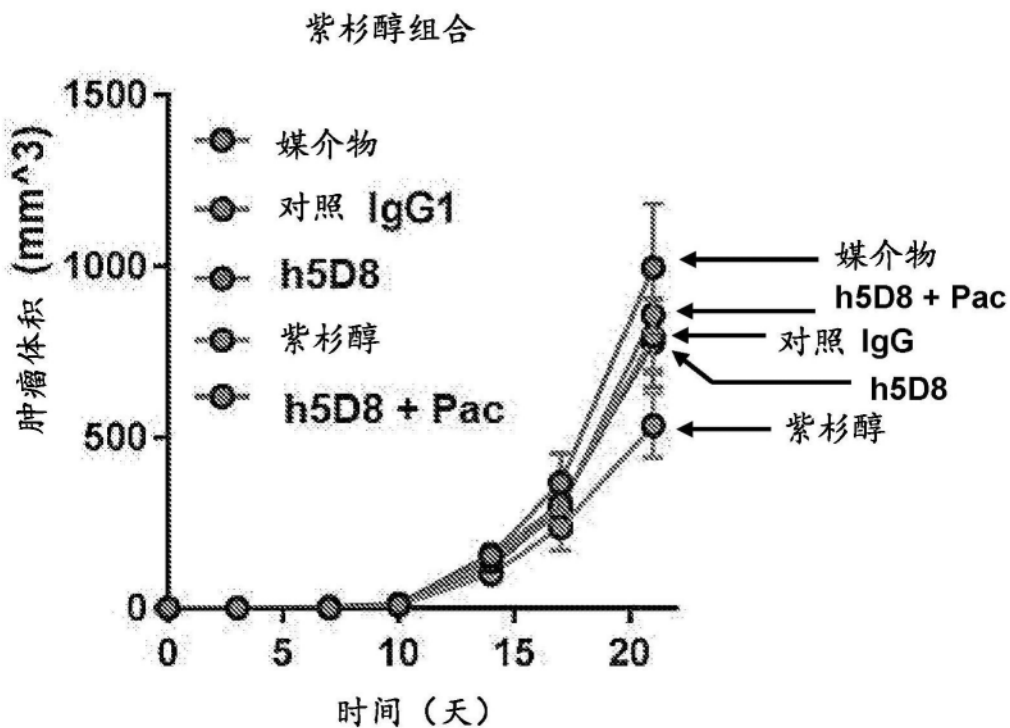


图19B

h5D8 / 顺铂组合 / CT26 ID

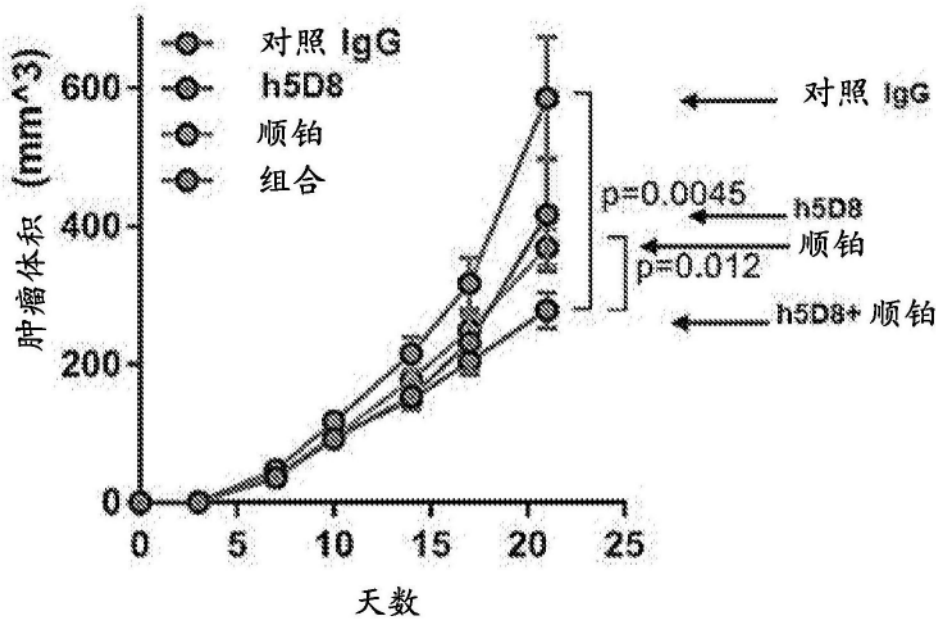


图20