



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I780083 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 10 月 11 日

(21)申請案號：106139948

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 11 月 17 日

(51)Int. Cl. : C07K16/18 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2016/11/18 美國

62/424,163

(71)申請人：丹麥商賽門弗鎮公司 (丹麥) SYMPHOGEN A/S (DK)

丹麥

(72)發明人：藍吐 約翰 LANTTO, JOHAN (DK)；布昆恩 湯姆士 BOUQUIN, THOMAS (FR)；科佛德 克羅斯 KOEFOED, KLAUS (DK)；葛傑廷 托本 GJETTING, TORBEN (DK)；巴蒂亞 維克拉姆 克喬樂 BHATIA, VIKRAM KJOLLER (DK)；歌德 莫泥卡 GAD, MONIKA (DK)；科理兒 古特 羅蘭 GALLER, GUNTHER ROLAND (DE)；佛利克 卡米拉 FROHLICH, CAMILLA (DK)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

(56)參考文獻：

WO 2006/121168A1

WO 2015/112900A1

WO 2016/014688A2

WO 2016/092419A1

期刊 Lee et al., "Structural basis of checkpoint blockade by monoclonal antibodies in cancer immunotherapy" NATURE

COMMUNICATIONS, 7:13354, Nature Springer, Published 31 Oct 2016 p. 1-10

審查人員：吳婉諄

申請專利範圍項數：14 項 圖式數：5 共 213 頁

(54)名稱

抗 PD-1 抗體及組成物

(57)摘要

本發明係關於抗 PD-1 抗體和使用其等以治療與 PD-1 活性相關的疾病和病況(例如癌症)的方法。

This invention relates to anti-PD-1 antibodies and methods of using them in treating diseases and conditions related to PD-1 activity, e.g., cancer.

指定代表圖：

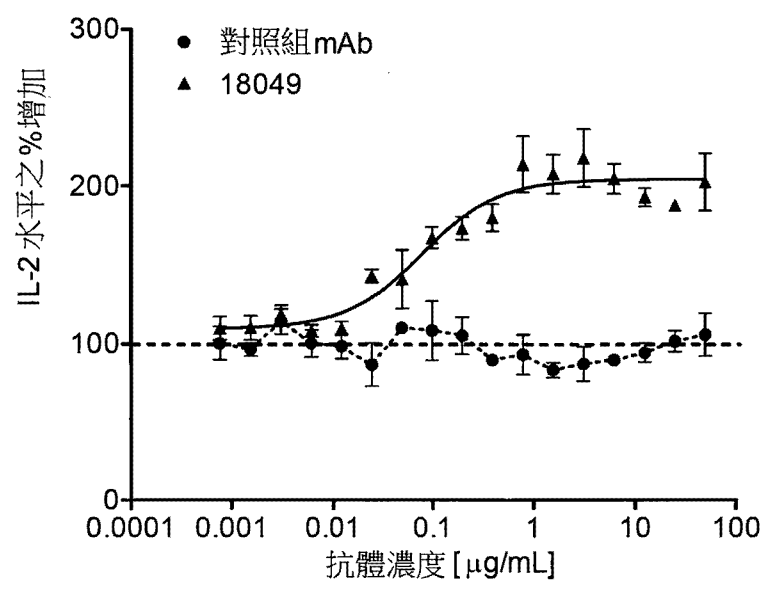
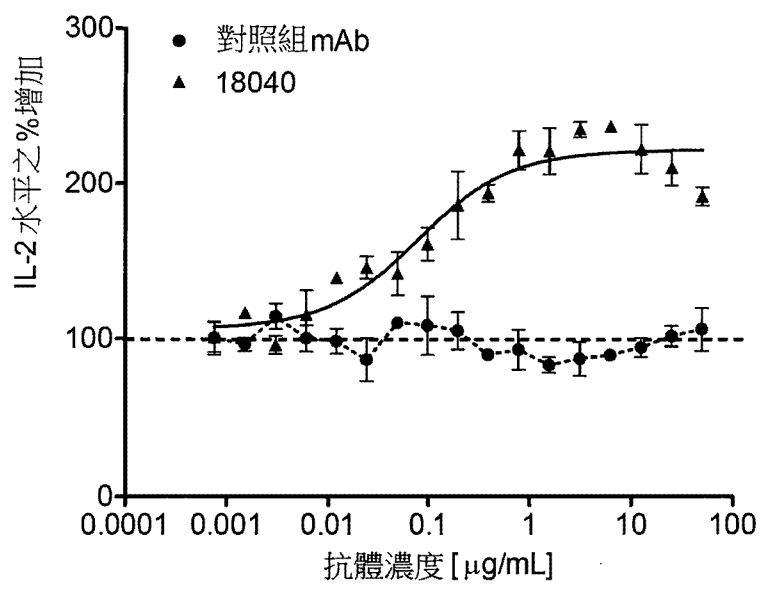


圖 3A

I780083

發明摘要

【發明名稱】

抗 PD-1 抗體及組成物

ANTI-PD-1 ANTIBODIES AND COMPOSITIONS

【中文】

本發明係關於抗 PD-1 抗體和使用其等以治療與 PD-1 活性相關的疾病和病況（例如癌症）的方法。

【英文】

This invention relates to anti-PD-1 antibodies and methods of using them in treating diseases and conditions related to PD-1 activity, e.g., cancer.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：圖 3A。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

抗 PD-1 抗體及組成物

ANTI-PD-1 ANTIBODIES AND COMPOSITIONS

相關申請案的交互參照

【0001】 本申請案根據美國臨時專利申請案 62/424,163 (於 2016 年 11 月 18 日提申，其揭示內容係以其完整內容以引用方式納入本文中) 主張優先權。

【技術領域】

【0002】 本發明係關於抗 PD-1 抗體和使用其等以治療與 PD-1 活性相關的疾病和病況的方法。

序列表

【0003】 本申請案含有序列表，其已經以 ASCII 格式電子呈送且係特此以其完整內容以引用方式併入。該序列表之電子複本 (於 2017 年 11 月 13 日建立) 名稱為 022675_WO056_SL.txt 且大小為 99,158 個數元組。

【先前技術】

【0004】 PD-1 (亦以計畫性細胞死亡蛋白質 1 和 CD279 為人所知) 係 268 個胺基酸的細胞表面受體，其屬於免疫球蛋白超家族。PD-1 係 T 細

胞調節子之 CD28 家族之成員且被表現在 T 細胞、B 細胞和巨噬細胞上。其結合配體 PD-L1（亦以 B7 同源物為人所知）和 PD-L2（亦以 B7-DC 為人所知）。

【0005】 PD-1 係第 I 型膜蛋白質，其結構包括胞外 IgV 域、跨膜區和含有兩個磷酸化位置的胞內尾部。作為免疫查核點蛋白質而為人所知，PD-1 起可誘發性免疫調節性受體之作用，於（例如）對抗原刺激反應的 T 細胞之負向調整扮演某種角色。

【0006】 PD-L1 對於 PD-1 係優越的配體。PD-L1 與 PD-1 之結合抑制 T 細胞活性、減低細胞介素製造並抑制 T 細胞增殖。表現 PD-L1 的癌症細胞能夠利用此機制以通過 PD-L1 與 PD-1 受體之結合使 T 細胞之抗腫瘤活性失活。

【0007】 鑑於其免疫反應調整性特性，已於作為免疫治療之有力目標方面（包括癌症和自體免疫疾病之治療）研究 PD-1。兩種抗 PD-1 抗體（派姆單抗（pembrolizumab）和納武單抗（nivolumab））已於美國和歐洲被核准用於治療某些癌症。

【0008】 鑑於 PD-1 作為免疫調節子的關鍵角色，存在有對於靶向 PD-1 受體以治療癌症和某些免疫系統之病症的新穎且改善的免疫治療的需求。

【發明內容】

【0009】 本發明係針對靶向 PD-1 的新穎重組抗體、以及包含此等抗體之一或多者的醫藥組成物、和該等抗體和醫藥組成物用於增強患者之免

疫性、和用於治療源自諸如皮膚、肺臟、腸、結腸、卵巢、腦、前列腺、腎臟、軟組織、造血系統、頭頸、肝臟、膀胱、乳房、胃、子宮和胰臟的組織的癌症的用途。相較於用於此等癌症的目前可得的治療（包括抗體治療），設想到本發明之抗體可提供卓越的臨床反應，無論是單獨或與另一種癌症治療劑（諸如靶向另一種免疫查核點蛋白質的抗體）組合。

【0010】 於一個實施方式中，本發明提供抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其中該抗體和以下者之任一者競爭與人類 PD-1 的結合、或和以下者之任一者與相同的人類 PD-1 之表位結合：抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413 和 18483。

【0011】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體和以下者競爭與人類 PD-1 的結合：其重鏈(H)CDR1-3 和輕鏈(L)CDR1-3 與抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 相同或係衍生自該等 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 的抗體。

【0012】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體和以下者與相同的人類 PD-1 之表位結合：其重鏈(H)CDR1-3 和輕鏈(L)CDR1-3 與抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 相同或係衍生自該等 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 的抗體。

【0013】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體包含分別包含抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之 H-CDR1-3 胺基酸序列的 H-CDR1-3。

【0014】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有在胺基酸序列上與抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 184835 之重鏈可變域 (VH) 至少 90% (例如至少 92%、至少 95%、至少 98%、或至少 99%) 一致的 VH 域。

【0015】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有包含抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之 VH 胺基酸序列的 VH。

【0016】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有包含抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之 VH 胺基酸序列、和 SEQ ID NO: 26 之重鏈恆定區胺基酸序列的重鏈 (HC)。

【0017】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體包含分別包含抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之 L-CDR1-3 胺基酸序列的 L-CDR1-3。

【0018】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有在胺基酸序列上與抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之輕鏈可變域 (VL) 至少 90% (例如至少 92%、至少 95%、至少 98%、或至少 99%) 一致的 VL 域。

【0019】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有包含抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之 VL 胺基酸序列的 VL。

【0020】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有包含抗體 18040、

18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之 VL 胺基酸序列、和 SEQ ID NO: 28 之輕鏈恆定區胺基酸序列的輕鏈 (LC)。

【0021】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體包含抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之 H-CDR3 和 L-CDR3 胺基酸序列。

【0022】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體包含抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 胺基酸序列。

【0023】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有在胺基酸序列上分別與抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之 VH 和 VL 至少 90%（例如至少 92%、至少 95%、至少 98%、或至少 99%）一致的 VH 和 VL。

【0024】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之 VH 和 VL 胺基酸序列或分別由該等 VH 和 VL 胺基酸序列所組成的 VH 和 VL。

【0025】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、或 18483 之 HC 和 LC 胺基酸序列或分別由該等 HC 和 LC 胺基酸序列所組成的 HC 和 LC。

【0026】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有(1)包含選自由抗體

18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、和 18483 所組成的群組的抗體之 VH 胺基酸序列、和 SEQ ID NO: 26 之重鏈恆定區胺基酸序列的 HC；和(2)包含該所選抗體之 VL 胺基酸序列和 SEQ ID NO: 28 之輕鏈恆定區胺基酸序列的 LC。

【0027】 於某些實施方式中，本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分具有以下特性之至少一者：

- a)以（例如） 4×10^{-8} M 或更低的 K_D 與食蟹獼猴 PD-1 結合；
- b)以（例如） 2×10^{-8} M 或更低的 K_D 與小鼠 PD-1 結合；
- c)以 3×10^{-9} M 或更低的 K_D 與人類 PD-1 結合；
- d)於 10 μ g/ml 的濃度抑制 PD-1 與 PD-L1 的交互作用；
- e)於 SEB 全血分析中刺激 IL-2 製造；和
- f)於單向混合淋巴細胞反應分析中刺激 IFN- γ 製造。

如此抗體之實例包括（但不限於）抗體 18040、18049、18098、18113、18247、18250、18325、18366、18413、和 18483（其等具有特性 a)和 c)-f)）和抗體 18201 和 18400（其等具有特性 a)-f)）。於一些實施方式中，本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分具有該等特性之所有者。

【0028】 於一些實施方式中，本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分和抗體 18366、18250、18040、18247、18113、及／或 18483 競爭與人類 PD-1 的結合。於一些實施方式中，本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分和抗體 12760 及／或 13112 競爭與人類 PD-1 的結合。

【0029】 於某些實施方式中，本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分和派姆單抗或納武單抗不競爭與 PD-1 的結合。於某些實施方式中，本發明

之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分和派姆單抗或納武單抗不與相同的表位結合。

【0030】 於另一個方面，本發明提供醫藥組成物，其包含至少一種如於本文中描述的抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分和醫藥上可接受的賦形劑，視需要地加上另外的治療劑，諸如抗癌症抗體治療劑。

【0031】 本發明進一步提供經分離的核酸分子，其包含編碼如於本文中描述的抗 PD-1 抗體之重鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、編碼如於本文中描述的抗 PD-1 抗體之輕鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、或兩者。

【0032】 本發明亦提供載體，其等包含如此經分離的核酸分子，其中該等載體可進一步包含表現控制序列。

【0033】 本發明亦提供宿主細胞，其等包含編碼如於本文中描述的抗 PD-1 抗體之重鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、編碼如於本文中描述的抗 PD-1 抗體之輕鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、或兩者。

【0034】 本發明亦提供用於製造如於本文中描述的抗體或其抗原結合部分的方法，其包含提供包含編碼如於本文中描述的抗 PD-1 抗體之重鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列和編碼如於本文中描述的抗 PD-1 抗體之輕鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列的宿主細胞、於適用於該抗體或部分之表現的條件下培養該宿主細胞、和分離所得的抗體或部分。

【0035】 本發明亦提供多專一性（例如雙專一性）結合分子，其具有本文中描述的抗 PD-1 抗體之結合專一性和另一種不同的抗體之結合專一性，該不同的抗體係諸如另一種抗 PD-1 抗體（例如如於本文中描述者）或靶向不同的蛋白質（諸如另一種免疫查核點蛋白質、癌症抗原或另一種其

活性介導疾病病況（諸如癌症）的細胞表面分子）的抗體。於一些實施方式中，該多專一性（例如雙專一性）結合分子包含該抗 PD-1 抗體和該另外的抗體之抗原結合部分（例如六個 CDR）。

【0036】 本發明亦提供用於增強患者（例如人類患者）之免疫性的方法，其包含將如於本文中描述的抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分、醫藥組成物、或雙專一性結合分子投予至該患者。

【0037】 本發明進一步提供用於治療患者（例如人類患者）之癌症的方法，其包含將如於本文中描述的抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分、醫藥組成物、或雙專一性結合分子投予至該患者。於一些實施方式中，該癌症源於選自皮膚、肺臟、腸、結腸、卵巢、腦、前列腺、腎臟、軟組織、造血系統、頭頸、肝臟、膀胱、乳房、胃、子宮和胰臟的組織。該癌症可係（例如）晚期或轉移性黑色素瘤、非小細胞肺癌、頭頸鱗狀細胞癌、膀胱癌、胃癌、腎細胞癌、肝細胞癌、結腸直腸癌、或霍奇金氏淋巴瘤。

【0038】 以上方法之任何者可進一步包含投予（例如）化學治療劑、抗贅瘤劑、抗血管形成劑、酪胺酸激酶抑制劑、PD-1 途徑抑制劑、或放射線治療。

【0039】 本發明進一步提供包含如於本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分的抗體組成物之用途，其係用於製造用於治療患者之癌症及／或增強患者之免疫性的醫藥品。

【0040】 本發明進一步提供如於本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分，其係用於治療患者之癌症及／或增強患者之免疫性，例如於本文中描述的治療方法中。

【0041】 本發明進一步提供包含如於本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分的製品，其中該製品係適用於治療患者之癌症及／或增強患者之免疫性，例如於本文中描述的治療方法中。

【圖式簡單說明】

【0042】 圖 1A-1D 顯示四種展現不同的對 PD-1 異種同源物的反應性的抗 PD-1 抗體植株之表性流式細胞測量術點圖。

【0043】 圖 2A-2H 顯示本發明之抗 PD-1 抗體之 PD-L1 與胞表現性 PD-1 的結合的封阻。

【0044】 圖 3A-3F 顯示十二種抗 PD-1 抗體於 SEB 全血分析中的劑量反應曲線。

【0045】 圖 4A-4F 顯示十二種抗 PD-1 抗體於 MLR（單向混合淋巴細胞反應）分析中的劑量反應曲線。

【0046】 圖 5 顯示針對所測試的抗 PD-1 抗體和納武單抗和派姆單抗類似物所鑑認的表位群組（表位倉（epitope bin））之概觀。以黑線連接的抗體指出交叉封阻活性。抗體係根據與其他抗 PD-1 抗體的競爭模式分組。Nivo：納武單抗類似物；Pembro：派姆單抗類似物。

【實施方式】

【0047】 本發明提供新穎的抗人類 PD-1 抗體，其等可用於增強人類患者（諸如癌症患者）之免疫系統。除非另外陳述，用於本文中，「PD-1」係論及人類 PD-1。人類 PD-1 多肽序列可以 Uniprot 登錄號 Q15116

(PDCD1_HUMAN)獲得。

【0048】 用於本文中，術語「抗體」(Ab)或「免疫球蛋白」(Ig)係論及包含藉由二硫鍵彼此連接的兩個重(H)鏈(約 50-70 kDa)和兩個輕(L)鏈(約 25 kDa)的四聚體。各個重鏈係由重鏈可變域(VH)和重鏈恆定區(CH)構成。各個輕鏈係由輕鏈可變域(VL)和輕鏈恆定區(CL)構成。該等 VH 和 VL 域可被進一步細分成稱為「互補性決定區」(CDR)之高度變異性區域，中間散佈著較被保留的稱為「架構區」(FR)之區域。各個 VH 和 VL 係由三個 CDR (於本文中 H-CDR 稱呼來自重鏈的 CDR；且於本文中 L-CDR 稱呼來自輕鏈的 CDR)和四個 FR 構成，其等按以下順序從胺端向羧端排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈或輕鏈中胺基酸編號之指定可根據 IMGT[®]定義 (Lefranc 等人, *Dev Comp Immunol* 27(1):55-77 (2003))；或 Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (美國國家衛生研究院，貝什斯達，MD (1987 和 1991))；Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)；或 Chothia 等人, *Nature* 342:878-883 (1989)之定義。

【0049】 術語「重組抗體」係論及一種抗體，其自包含編碼該抗體的核苷酸序列之細胞或細胞株表現，其中該(等)核苷酸序列不天然與該細胞聯結。

【0050】 術語「經分離的蛋白質」、「經分離的多肽」或「經分離的抗體」係論及蛋白質、多肽或抗體，其由於其衍生之根源或來源(1)不與於其天然狀態下伴隨其的天然聯結組份聯結，(2)不含來自相同物種的其他蛋白質，(3)係由來自不同物種的細胞表現，及／或(4)不於自然中存在。因此，

化學合成的或在與其所天然源自的細胞不同的細胞系統中合成的多肽會是自其天然聯結的組份「分離的」。蛋白質亦可藉由使用所屬技術領域中廣為人知的蛋白質純化技術分離而變得實質上不含天然聯結的組份。

【0051】 用於本文中，術語「生殖細胞系」係論及抗體基因和基因節段之核苷酸和胺基酸序列，當其等係透過生殖細胞從親代傳遞給後代時。生殖細胞系序列與成熟 B 細胞中編碼抗體的核苷酸序列（其已於 B 細胞成熟之過程期間被重組和超突變事件改變）有區別。「利用」特殊生殖細胞系序列的抗體具有與該生殖細胞系核苷酸序列排比的或相較於與任何其他生殖細胞系核苷酸或胺基酸序列與其所指明的胺基酸序列更密切地排比的核苷酸或胺基酸序列。

【0052】 術語「親和力」係論及抗原與抗體間的吸引之度量。抗體對抗原之固有吸引力典型被表現成特定抗體-抗原交互作用之結合親和力平衡常數 (K_D)。當 K_D 係 ≤ 1 Mm (較佳係 ≤ 100 Nm) 時，抗體被認為專一性地與抗原結合。 K_D 結合親和力常數可 (例如) 藉由表面電漿子共振 (SPR) (BIAcore™) 或生物層干涉法 (Bio-Layer Interferometry) (例如使用來自 IBIS Technologies 的 IBIS MX96 SPR 系統、來自 Bio-Rad 的 ProteOn™ XPR36 SPR 系統、或來自 ForteBio 的 Octet™ 系統) 測量。

【0053】 術語「 k_{off} 」係論及特定抗體-抗原交互作用之解離速率常數。 k_{off} 解離速率常數可藉由 SPR 或生物層干涉法 (例如使用以上所列的系統之一) 測量。

【0054】 術語「表位」用於本文中係論及與抗體或相關分子 (諸如雙專一性結合分子) 專一性結合的抗原之部分 (決定子)。表位決定子一般由

諸如胺基酸或碳水化合物或糖側鏈之分子的化學活性表面基團組成且一般具有特殊的三度空間結構特徵，以及特殊的電荷特徵。表位可為「線性」或「構型性」。在線性表位中，所有蛋白質（例如抗原）和交互作用分子（諸如抗體）間的交互作用之點係沿著該蛋白質之一級胺基酸序列線性發生。在構型性表位中，交互作用之點橫跨在蛋白質上於一級胺基酸序列方面彼此分開的胺基酸殘基發生。一旦抗原上所欲的表位被測定出，就有可能去使用所屬技術領域中廣為人知的技術來產生針對該表位的抗體。例如，針對線性表位的抗體可（例如）藉由使用具有該線性表位之胺基酸殘基的胜肽致免疫動物來產生。針對構型性表位的抗體可（例如）藉由使用含有該構型性表位之相關胺基酸殘基的迷你域致免疫動物來產生。針對特定表位的抗體亦可（例如）藉由使用所關注的目標分子（例如 PD-1）或其相關部分致免疫動物、接著針對與該表位的結合作篩選來產生。

【0055】 咸可藉由使用所屬技術領域中已知的方法（包括（不限於）競爭分析、表位分倉（epitope binning）、和丙胺酸掃描）測定抗體是否和本發明之抗 PD-1 抗體與相同的表位結合或競爭結合。於一些實施方式中，測試抗體和本發明之抗 PD-1 抗體與 PD-1 上的至少一個共同殘基（例如至少二、三、四、五、或六個共同殘基）結合。於進一步的實施方式中，在 PD-1 上的接觸殘基於測試抗體和本發明之抗 PD-1 抗體間係全然一致的。於一個實施方式中，允許本發明之抗 PD-1 抗體在飽和條件下與 PD-1 結合並接著測量測試抗體與 PD-1 結合的能力。若該測試抗體和參考抗 PD-1 抗體能夠同時與 PD-1 結合，則該測試抗體和參考抗 PD-1 抗體與不同的表位結合。然而，若該測試抗體無法同時與 PD-1 結合，則該測試抗體與和本發明之抗

PD-1 抗體所結合的表位相同的表位、和該表位重疊的表位、或極接近該表位的表位結合。此實驗可使用（例如）ELISA、RIA、BIAcore™、SPR、生物層干涉法或流動式細胞測量術執行。為測試抗 PD-1 抗體是否與另一種抗 PD-1 抗體交叉競爭，可以雙向使用以上描述的競爭方法，即測定已知抗體是否封阻測試抗體且反之亦然。如此交叉競爭實驗可（例如）使用 IBIS MX96 SPR 儀器或 Octet™ 系統執行。

【0056】 於某些例子中，改變一或多個 CDR 胺基酸殘基以改善對目標表位的結合親和力亦可能係所欲的。此以「親和力成熟」為人所知且可視需要地連結人類化（例如在其中抗體之人類化導致結合專一性或親和力減低且無法單單藉由回復突變來充分改善結合專一性或親和力的情況下）執行。種種親和力成熟方法係所屬技術領域中已知的（例如由 Burks 等人，*Proc Natl Acad Sci USA*, **94**:412–417 (1997)描述的試管內掃描飽和突變誘發方法、和 Wu 等人，*Proc Natl Acad Sci USA* **95**:6037–6042 (1998)之逐步試管內親和力成熟方法。

【0057】 於一些實施方式中，本發明之抗體可係嵌合的、經人類化的、或完全人類的。雖然不可能精確地預測特定抗體藥物之致免疫性，非人類抗體在人類中相較於人類抗體傾向致免疫性較強。已顯示嵌合抗體（其中外源（例如啮齒類或鳥類）恆定區已以人類來源的序列置換）相較於完全外源的抗體一般致免疫性較低。治療性抗體中的趨勢係朝向經人類化或完全人類的抗體。

【0058】 術語「嵌合抗體」係論及一種抗體，其包含來自兩種不同動物物種的序列。例如，嵌合抗體可含有鼠類抗體（即由鼠類抗體基因編碼

的抗體，諸如自使用融合瘤技術致免疫的小鼠獲得的抗體）之可變域，該可變域與來自另一物種（例如人類、兔、或大鼠）的抗體之恆定區連結。於嵌合抗體的例子中，其非人類部分可經歷進一步改變以人類化該抗體。

【0059】 術語「人類化」係論及修改完全或部分非人類來源的抗體（例如從以所關注的抗原致免疫小鼠或雞（分別地）獲得的鼠類或雞抗體、或基於如此鼠類或雞抗體的嵌合抗體），其係藉由將某些胺基酸序列（特別是在重鏈和輕鏈之架構區（FR）和恆定區中者）以相對應人類 FR 和恆定區胺基酸序列置換，以避免或最小化人類患者中的抗藥物抗體反應。非人類來源的抗體因此可經人類化以減低人類抗藥物抗體反應之風險。

【0060】 術語「人類抗體」係論及一種抗體，其中其可變域和恆定區序列係源自人類序列。該術語涵蓋具有源自人類基因但已經修改（例如）以減低致免疫性、增加親和力、及／或增加穩定性的序列的抗體。進一步地，該術語涵蓋在非人類細胞（其可賦予於人類細胞中係非典型的醣化）中重組製造的抗體。該術語亦涵蓋在具有人類抗體基因的基因轉殖非人類生物體（例如 OmniRat[®]大鼠）中製造的抗體。

【0061】 用於本文中，術語抗體之「抗原結合部分」（或簡稱「抗體部分」）係論及抗體之一或多個部分或片段，其保留與抗原（例如人類 PD-1、或其部分）專一性結合的能力。已顯示全長抗體之某些片段可執行該抗體之抗原結合功能。術語「抗原結合部分」內包含的結合片段之實例包括(i) Fab 片段：由 VL、VH、CL 和 CH1 域所組成的單價片段；(ii) F(ab')₂ 片段：包含二個 Fab 片段（其等藉由位於樞紐區的二硫橋連接）的二價片段；(iii) 由 VH 和 CH1 域所組成的 Fd 片段；(iv) 由抗體之單一臂的 VL 和 VH 域所組成

的 Fv 片段、(v) dAb 片段，其由 VH 域組成；和(vi)能夠與抗原專一性結合之分離的互補性決定區 (CDR)。此外，雖然 Fv 片段之二個域 (VL 和 VH) 係由分開的基因編碼，其等可使用重組方法藉由合成性連接子連接在一起，該連接子使其等可以其中 VL 和 VH 域配對以形成單價分子（以單鏈 Fv (scFv) 為人所知）的單一蛋白質鏈之形式製造。亦於本發明內者係包含 VH 及／或 VL 的抗原結合分子。於 VH 之例子中，該分子亦可包含 CH1、樞紐、CH2、或 CH3 區域之一或多者。如此單鏈抗體亦意欲被術語抗體之「抗原結合部分」涵蓋。單鏈抗體之其他形式（諸如雙體 (diabody)）亦被涵蓋。雙體係二價雙專一性抗體，其中 VH 和 VL 域係在單一多肽鏈上表現，但使用過短而無法允許在相同鏈上的該二個域間之配對的連接子，藉此強迫該等域與另一個鏈之互補域配對並產生二個抗原結合位置。

【0062】 抗體部分（諸如 Fab 和 F(ab')₂ 片段）可自完整抗體使用習用技術（諸如完整抗體之木瓜酵素或胃蛋白酶消化）製備。此外，抗體、抗體部分和免疫黏附分子可使用標準重組 DNA 技術（例如如於本文中描述者）獲得。

【0063】 抗 PD-1 抗體之類型（同型）和亞型可藉由任何所屬技術領域中已知的方法測定。一般而言，抗體之類型和亞型可使用對抗體之特定類型和亞型有專一性的抗體測定。如此抗體係商業上可購得的。類型和亞型可藉由 ELISA、西方墨漬以及其他技術測定。供選擇地，類型和亞型可藉由定序整個該等抗體之重鏈及／或輕鏈之恆定區或其部分、比較其等之胺基酸序列與免疫球蛋白之種種類型和亞型之已知胺基酸序列、和確定該等抗體之類型和亞型來測定。

【0064】 當提及位於抗體序列之給定位置的特殊胺基酸殘基時，(例如)「35S」的指示係論及位置和殘基，即於此實例中指示絲胺酸殘基(S)係存在於該序列之位置 35。類似地，(例如)「13Q+35S」之指示係論及位於各自位置的二個殘基。除非另加指出，本文之揭示內容中提及的所有抗體胺基酸殘基編號係該等按照 IMGT[®]編號格式者。

抗 PD-1 抗體

【0065】 本發明提供針對 PD-1 的抗體、和其抗原結合部分。於特殊的實施方式中，於本文中揭示的抗體係人類抗體，其等係(例如)自具有人類抗體基因的基因轉殖大鼠產生。於某些實施方式中，該等人類抗體可含有某些突變，(例如)以將源自引子的突變突變回生殖細胞系序列(參見(例如)以下的「經 Symplex 修正的」變體序列)或以將架構區中的突變改變回最接近的 V-或 J-生殖細胞系之序列(參見(例如)以下的「生殖細胞系化」變體序列)。

【0066】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)其 H-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 29-31 之胺基酸序列的抗體；
- b)其重鏈可變域(VH)在序列上與 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；
- c)其 VH 包含 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列的抗體；
- d)其重鏈(HC)包含 SEQ ID NO: 1 和 26 之胺基酸序列的抗體；
- e)其 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 32-34 之胺基酸序列的抗體；

f)其輕鏈可變域 (VL) 在序列上與 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；

g)其 VL 包含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列的抗體；

h)其輕鏈 (LC) 包含 SEQ ID NO: 2 和 28 之胺基酸序列的抗體；

i)其 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 29-34 之胺基酸序列的抗體；

j)其 VH 在序列上與 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列至少 90%一致且其 VL 在序列上與 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；

k)其 VH 包含 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列的抗體；和

l)其 HC 包含 SEQ ID NO: 1 和 26 之胺基酸序列且其 LC 包含 SEQ ID NO: 2 和 28 之胺基酸序列的抗體。

【0067】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

a)其 H-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 35-37 之胺基酸序列的抗體；

b)其重鏈可變域 (VH) 在序列上與 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；

c)其 VH 包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的抗體；

d)其重鏈 (HC) 包含 SEQ ID NO: 3 和 26 之胺基酸序列的抗體；

e)其 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 38-40 之胺基酸序列的抗體；

f)其輕鏈可變域 (VL) 在序列上與 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；

- g)其 VL 包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的抗體；
- h)其輕鏈（LC）包含 SEQ ID NO: 4 和 28 之胺基酸序列的抗體；
- i)其 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 35-40 之胺基酸序列的抗體；
- j)其 VH 在序列上與 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列至少 90%一致且其 VL 在序列上與 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；
- k)其 VH 包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的抗體；和
- l)其 HC 包含 SEQ ID NO: 3 和 26 之胺基酸序列且其 LC 包含 SEQ ID NO: 4 和 28 之胺基酸序列的抗體。

【0068】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)其 H-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 41-43 之胺基酸序列的抗體；
- b)其重鏈可變域（VH）在序列上與 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；
- c)其 VH 包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的抗體；
- d)其重鏈（HC）包含 SEQ ID NO: 5 和 26 之胺基酸序列的抗體；
- e)其 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 44-46 之胺基酸序列的抗體；
- f)其輕鏈可變域（VL）在序列上與 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；
- g)其 VL 包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的抗體；
- h)其輕鏈（LC）包含 SEQ ID NO: 6 和 28 之胺基酸序列的抗體；

- i)其 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 41-46 之胺基酸序列的抗體；
- j)其 VH 在序列上與 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列至少 90%一致且其 VL 在序列上與 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；
- k)其 VH 包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的抗體；和
- l)其 HC 包含 SEQ ID NO: 5 和 26 之胺基酸序列且其 LC 包含 SEQ ID NO: 6 和 28 之胺基酸序列的抗體。

【0069】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)其 H-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 29、47 和 48 之胺基酸序列的抗體；
- b)其重鏈可變域 (VH) 在序列上與 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；
- c)其 VH 包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的抗體；
- d)其重鏈 (HC) 包含 SEQ ID NO: 7 和 26 之胺基酸序列的抗體；
- e)其 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 49-51 之胺基酸序列的抗體；
- f)其輕鏈可變域 (VL) 在序列上與 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；
- g)其 VL 包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的抗體；
- h)其輕鏈 (LC) 包含 SEQ ID NO: 8 和 28 之胺基酸序列的抗體；
- i)其 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 29、47、48 和 49-51 之胺基酸序列的抗體；

- j)其 VH 在序列上與 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列至少 90%一致且其 VL 在序列上與 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；
- k)其 VH 包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的抗體；和
- l)其 HC 包含 SEQ ID NO: 7 和 26 之胺基酸序列且其 LC 包含 SEQ ID NO: 8 和 28 之胺基酸序列的抗體。

【0070】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)其 H-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 52-54 之胺基酸序列的抗體；
- b)其重鏈可變域 (VH) 在序列上與 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；
- c)其 VH 包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的抗體；
- d)其重鏈 (HC) 包含 SEQ ID NO: 9 和 26 之胺基酸序列的抗體；
- e)其 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 38、45 和 55 之胺基酸序列的抗體；
- f)其輕鏈可變域 (VL) 在序列上與 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；
- g)其 VL 包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列的抗體；
- h)其輕鏈 (LC) 包含 SEQ ID NO: 10 和 28 之胺基酸序列的抗體；
- i)其 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 52-54 和 38、45 和 55 之胺基酸序列的抗體；
- j)其 VH 在序列上與 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列至少 90%一致且其 VL 在序列上與 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；

k)其 VH 包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列的抗體；和

l)其 HC 包含 SEQ ID NO: 9 和 26 之胺基酸序列且其 LC 包含 SEQ ID NO: 10 和 28 之胺基酸序列的抗體。

【0071】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

a)其 H-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 29、56 和 48 之胺基酸序列的抗體；

b)其重鏈可變域 (VH) 在序列上與 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列至少 90% 一致的抗體；

c)其 VH 包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列的抗體；

d)其重鏈 (HC) 包含 SEQ ID NO: 11 和 26 之胺基酸序列的抗體；

e)其 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 57、33 和 51 之胺基酸序列的抗體；

f)其輕鏈可變域 (VL) 在序列上與 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列至少 90% 一致的抗體；

g)其 VL 包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列的抗體；

h)其輕鏈 (LC) 包含 SEQ ID NO: 12 和 28 之胺基酸序列的抗體；

i)其 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 29、56 和 48 和 57、33 和 51 之胺基酸序列的抗體；

j)其 VH 在序列上與 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列至少 90% 一致且其 VL 在序列上與 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列至少 90% 一致的抗體；

k)其 VH 包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列的抗體；和

l)其HC包含SEQ ID NO: 11和26之胺基酸序列且其LC包含SEQ ID NO: 12和28之胺基酸序列的抗體。

【0072】 於一個實施方式中，該抗PD-1抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)其H-CDR1-3分別包含SEQ ID NO: 58-60之胺基酸序列的抗體；
- b)其重鏈可變域(VH)在序列上與SEQ ID NO: 13之胺基酸序列至少90%一致的抗體；
- c)其VH包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列的抗體；
- d)其重鏈(HC)包含SEQ ID NO: 13和26之胺基酸序列的抗體；
- e)其L-CDR1-3分別包含SEQ ID NO: 57、33和34之胺基酸序列的抗體；
- f)其輕鏈可變域(VL)在序列上與SEQ ID NO: 14之胺基酸序列至少90%一致的抗體；
- g)其VL包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列的抗體；
- h)其輕鏈(LC)包含SEQ ID NO: 14和28之胺基酸序列的抗體；
- i)其H-CDR1-3和L-CDR1-3分別包含SEQ ID NO: 58-60和57、33和34之胺基酸序列的抗體；
- j)其VH在序列上與SEQ ID NO: 13之胺基酸序列至少90%一致且其VL在序列上與SEQ ID NO: 14之胺基酸序列至少90%一致的抗體；
- k)其VH包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列且其VL包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列的抗體；和
- l)其HC包含SEQ ID NO: 13和26之胺基酸序列且其LC包含SEQ ID NO: 14和28之胺基酸序列的抗體。

【0073】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)其 H-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 61、62 和 43 之胺基酸序列的抗體；
- b)其重鏈可變域（VH）在序列上與 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列至少 90% 一致的抗體；
- c)其 VH 包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列的抗體；
- d)其重鏈（HC）包含 SEQ ID NO: 15 和 26 之胺基酸序列的抗體；
- e)其 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 44-46 之胺基酸序列的抗體；
- f)其輕鏈可變域（VL）在序列上與 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列至少 90% 一致的抗體；
- g)其 VL 包含 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列的抗體；
- h)其輕鏈（LC）包含 SEQ ID NO: 16 和 28 之胺基酸序列的抗體；
- i)其 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 61、62 和 43 和 44-46 之胺基酸序列的抗體；
- j)其 VH 在序列上與 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列至少 90%一致且其 VL 在序列上與 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；
- k)其 VH 包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列的抗體；和
- l)其 HC 包含 SEQ ID NO: 15 和 26 之胺基酸序列且其 LC 包含 SEQ ID NO: 16 和 28 之胺基酸序列的抗體。

【0074】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)其 H-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 63-65 之胺基酸序列的抗體；
- b)其重鏈可變域（VH）在序列上與 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列至少 90% 一致的抗體；
- c)其 VH 包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列的抗體；
- d)其重鏈（HC）包含 SEQ ID NO: 17 和 26 之胺基酸序列的抗體；
- e)其 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 32-34 之胺基酸序列的抗體；
- f)其輕鏈可變域（VL）在序列上與 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列至少 90% 一致的抗體；
- g)其 VL 包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列的抗體；
- h)其輕鏈（LC）包含 SEQ ID NO: 18 和 28 之胺基酸序列的抗體；
- i)其 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 63-65 和 32-34 之胺基酸序列的抗體；
- j)其 VH 在序列上與 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列至少 90%一致且其 VL 在序列上與 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；
- k)其 VH 包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列的抗體；和
- l)其 HC 包含 SEQ ID NO: 17 和 26 之胺基酸序列且其 LC 包含 SEQ ID NO: 18 和 28 之胺基酸序列的抗體。

【0075】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)其 H-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 66-68 之胺基酸序列的抗體；
- b)其重鏈可變域（VH）在序列上與 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列至少 90%

一致的抗體；

c)其 VH 包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列的抗體；

d)其重鏈（HC）包含 SEQ ID NO: 19 和 26 之胺基酸序列的抗體；

e)其 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 38、45 和 55 之胺基酸序列的抗體；

f)其輕鏈可變域（VL）在序列上與 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列至少 90% 一致的抗體；

g)其 VL 包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列的抗體；

h)其輕鏈（LC）包含 SEQ ID NO: 20 和 28 之胺基酸序列的抗體；

i)其 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 66-68 和 38、45 和 55 之胺基酸序列的抗體；

j)其 VH 在序列上與 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列至少 90%一致且其 VL 在序列上與 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；

k)其 VH 包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列的抗體；和

l)其 HC 包含 SEQ ID NO: 19 和 26 之胺基酸序列且其 LC 包含 SEQ ID NO: 20 和 28 之胺基酸序列的抗體。

【0076】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

a)其 H-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 69-71 之胺基酸序列的抗體；

b)其重鏈可變域（VH）在序列上與 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列至少 90% 一致的抗體；

c)其 VH 包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列的抗體；

- d)其重鏈（HC）包含 SEQ ID NO: 21 和 26 之胺基酸序列的抗體；
- e)其 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 72、45 和 73 之胺基酸序列的抗體；
- f)其輕鏈可變域（VL）在序列上與 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列至少 90% 一致的抗體；
- g)其 VL 包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列的抗體；
- h)其輕鏈（LC）包含 SEQ ID NO: 22 和 28 之胺基酸序列的抗體；
- i)其 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 69-71 和 72、45 和 73 之胺基酸序列的抗體；
- j)其 VH 在序列上與 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列至少 90%一致且其 VL 在序列上與 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；
- k)其 VH 包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列的抗體；和
- l)其 HC 包含 SEQ ID NO: 21 和 26 之胺基酸序列且其 LC 包含 SEQ ID NO: 22 和 28 之胺基酸序列的抗體。

【0077】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)其 H-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 74-76 之胺基酸序列的抗體；
- b)其重鏈可變域（VH）在序列上與 SEQ ID NO: 23 之胺基酸序列至少 90% 一致的抗體；
- c)其 VH 包含 SEQ ID NO: 23 之胺基酸序列的抗體；
- d)其重鏈（HC）包含 SEQ ID NO: 23 和 26 之胺基酸序列的抗體；
- e)其 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 57、33 和 34 之胺基酸序列的抗體；

f)其輕鏈可變域 (VL) 在序列上與 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列至少 90% 一致的抗體；

g)其 VL 包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列的抗體；

h)其輕鏈 (LC) 包含 SEQ ID NO: 24 和 28 之胺基酸序列的抗體；

i)其 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 分別包含 SEQ ID NO: 74-76 和 57、33 和 34 之胺基酸序列的抗體；

j)其 VH 在序列上與 SEQ ID NO: 23 之胺基酸序列至少 90%一致且其 VL 在序列上與 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列至少 90%一致的抗體；

k)其 VH 包含 SEQ ID NO: 23 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列的抗體；和

l)其 HC 包含 SEQ ID NO: 23 和 26 之胺基酸序列且其 LC 包含 SEQ ID NO: 24 和 28 之胺基酸序列的抗體。

【0078】 於其他實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有在胺基酸序列上分別與抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413 和 18483 之任一者之 VH 和 VL 至少 90%一致（例如在序列上與該等抗體之任何者之 VH 和 VL 至少 92%、95%、96%、97%、98%、或 99%一致）的 VH 和 VL。於一些實施方式中，該抗 PD-1 抗體之抗原結合部分具有該 VH 和 VL。

【0079】 於一些實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413 和 18483 之任一者之 VH 和 VL 胺基酸序列的 VH 和 VL。於一些實施方式中，該抗 PD-1 抗體之抗原結合部分具有該 VH 和 VL。

【0080】 於一些實施方式中，本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分包含以下者之 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 胺基酸序列：

- a)分別為 SEQ ID NO: 29、30、31、32、33、和 34；
- b)分別為 SEQ ID NO: 35、36、37、38、39、和 40；
- c)分別為 SEQ ID NO: 41、42、43、44、45、和 46；
- d)分別為 SEQ ID NO: 29、47、48、49、50、和 51；
- e)分別為 SEQ ID NO: 52、53、54、38、45、和 55；
- f)分別為 SEQ ID NO: 29、56、48、57、33、和 51；
- g)分別為 SEQ ID NO: 58、59、60、57、33、和 34；
- h)分別為 SEQ ID NO: 61、62、43、44、45、和 46；
- i)分別為 SEQ ID NO: 63、64、65、32、33、和 34；
- j)分別為 SEQ ID NO: 66、67、68、38、45、和 55；
- k)分別為 SEQ ID NO: 69、70、71、72、45、和 73；或
- l)分別為 SEQ ID NO: 74、75、76、57、33、和 34。

【0081】 於一些實施方式中，本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分包含與以下者之胺基酸序列 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%一致的 VH 和 VL：

- a)分別為 SEQ ID NO: 1 和 2；
- b)分別為 SEQ ID NO: 3 和 4；
- c)分別為 SEQ ID NO: 5 和 6；
- d)分別為 SEQ ID NO: 7 和 8；
- e)分別為 SEQ ID NO: 9 和 10；

- f)分別為 SEQ ID NO: 11 和 12 ；
- g)分別為 SEQ ID NO: 13 和 14 ；
- h)分別為 SEQ ID NO: 15 和 16 ；
- i)分別為 SEQ ID NO: 17 和 18 ；
- j)分別為 SEQ ID NO: 19 和 20 ；
- k)分別為 SEQ ID NO: 21 和 22 ；或
- l)分別為 SEQ ID NO: 23 和 24 。

【0082】 於一些實施方式中，本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分包含具有以下者之胺基酸序列的 VH 和 VL：

- a)分別為 SEQ ID NO: 1 和 2 ；
- b)分別為 SEQ ID NO: 3 和 4 ；
- c)分別為 SEQ ID NO: 5 和 6 ；
- d)分別為 SEQ ID NO: 7 和 8 ；
- e)分別為 SEQ ID NO: 9 和 10 ；
- f)分別為 SEQ ID NO: 11 和 12 ；
- g)分別為 SEQ ID NO: 13 和 14 ；
- h)分別為 SEQ ID NO: 15 和 16 ；
- i)分別為 SEQ ID NO: 17 和 18 ；
- j)分別為 SEQ ID NO: 19 和 20 ；
- k)分別為 SEQ ID NO: 21 和 22 ；或
- l)分別為 SEQ ID NO: 23 和 24 。

【0083】 於一些實施方式中，該抗 PD-1 抗體包含：

- a)具有 SEQ ID NO: 1 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 2 和 28 之胺基酸序列的 LC ；
- b)具有 SEQ ID NO: 3 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 4 和 28 之胺基酸序列的 LC ；
- c)具有 SEQ ID NO: 5 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 6 和 28 之胺基酸序列的 LC ；
- d)具有 SEQ ID NO: 7 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 8 和 28 之胺基酸序列的 LC ；
- e)具有 SEQ ID NO: 9 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 10 和 28 之胺基酸序列的 LC ；
- f)具有 SEQ ID NO: 11 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 12 和 28 之胺基酸序列的 LC ；
- g)具有 SEQ ID NO: 13 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 14 和 28 之胺基酸序列的 LC ；
- h)具有 SEQ ID NO: 15 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 16 和 28 之胺基酸序列的 LC ；
- i)具有 SEQ ID NO: 17 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 18 和 28 之胺基酸序列的 LC ；
- j)具有 SEQ ID NO: 19 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 20 和 28 之胺基酸序列的 LC ；
- k)具有 SEQ ID NO: 21 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 22 和 28 之胺基酸序列的 LC ；或

1)具有 SEQ ID NO: 23 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 24 和 28 之胺基酸序列的 LC。

【0084】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18040 之 VH 和 VL 胺基酸序列的 VH 和 VL，即其中其 VH 包含 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列。於此實施方式中，該 VH 可包含 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列，其中位於位置 35 的 X 係 S，及／或位於位置 84 的 X 係 N。於某些實施方式中，該 VL 亦可包含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列，其中位於位置 40 的 X 係 A，及／或位於位置 55 的 X 係 Y。

【0085】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18049 之 VH 和 VL 胺基酸序列的 VH 和 VL，即其中其 VH 包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列。於此實施方式中，該 VL 可包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列，其中位於位置 1 的 X 係 D，及／或位於位置 3 的 X 係 Q。於一些實施方式中，該 VL 於位置 1 包含 D 且於位置 3 包含 Q。於某些實施方式中，該 VL 亦可包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列，其中位於位置 53 的 X 係 S。

【0086】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18098 之 VH 和 VL 胺基酸序列的 VH 和 VL，即其中其 VH 包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列。於此實施方式中，該 VH 可包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列，其中：位於位置 1 的 X 係 E，及／或位於位置 5 的 X 係 V。於一些實施方式中，該 VH 於位置 1 包含 E 且於位置 5 包含 V。於某些實施方式中，該 VH 亦可包含 SEQ ID NO: 5 之

胺基酸序列，其中位於位置 13 的 X 係 Q，位於位置 35 的 X 係 S，位於位置 46 的 X 係 E，位於位置 50 的 X 係 A，位於位置 77 的 X 係 N，位於位置 80 的 X 係 Y，及／或位於位置 115 的 X 係 M。該 VL 可包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列，其中位於位置 4 的 X 係 M。

【0087】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18113 之 VH 和 VL 胺基酸序列的 VH 和 VL，即其中其 VH 包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列。於此實施方式中，該 VH 可包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列，其中位於位置 64 的 X 係 V。該 VL 可包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列，其中位於位置 3 的 X 係 V，及／或位於位置 4 的 X 係 M。於一些實施方式中，該 VL 於位置 3 包含 V 且於位置 4 包含 M。於某些實施方式中，該 VL 亦可包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列，其中位於位置 69 的 X 係 S。

【0088】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18201 之 VH 和 VL 胺基酸序列的 VH 和 VL，即其中其 VH 包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列。於此實施方式中，該 VH 可包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列，其中位於位置 5 的 X 係 Q。於一些實施方式中，該 VH 亦可包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列，其中位於位置 59 的 X 係 N，位於位置 76 的 X 係 K，及／或位於位置 83 的 X 係 L。該 VL 可包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列，其中位於位置 1 的 X 係 A。

【0089】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18247 之 VH 和 VL 胺基酸序列的 VH 和 VL，即其中其 VH 包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列。於此實施方式

中，該 VH 可包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列，其中位於位置 10 的 X 係 G，及／或位於位置 16 的 X 係 G。該 VL 可包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列，其中：位於位置 1 的 X 係 D，及／或位於位置 4 的 X 係 M。於一些實施方式中，該 VL 於位置 1 包含 D 且於位置 4 包含 M。於某些實施方式中，該 VL 亦可包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列，其中位於位置 55 的 X 係 Y，及／或位於位置 93 的 X 係 Y。

【0090】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18250 之 VH 和 VL 胺基酸序列的 VH 和 VL，即其中其 VH 包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列。於此實施方式中，該 VH 可包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列，其中位於位置 5 的 X 係 V。於一些實施方式中，該 VH 亦可包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列，其中位於位置 50 的 X 係 Y，位於位置 59 的 X 係 Y，及／或位於位置 61 的 X 係 A。該 VL 可包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列，其中位於位置 3 的 X 係 V，及／或位於位置 4 的 X 係 M。於一些實施方式中，該 VL 於位置 3 包含 V 且於位置 4 包含 M。於某些實施方式中，該 VL 亦可包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列，其中位於位置 55 的 X 係 Y。

【0091】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18325 之 VH 和 VL 胺基酸序列的 VH 和 VL，即其中其 VH 包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列。於此實施方式中，該 VH 可包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列，其中位於位置 1 的 X 係 E，位於位置 5 的 X 係 V，及／或位於位置 6 的 X 係 E。於一些實施方式中，該 VH 於位置 1 包含 E，於位置 5 包含 V 且於位置 6 包含 E。於某些實施方

式中，該 VH 亦可包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列，其中位於位置 35 的 X 係 S，位於位置 49 的 X 係 S，位於位置 50 的 X 係 A，位於位置 73 的 X 係 D，及／或位於位置 78 的 X 係 T。該 VL 可包含 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列，其中位於位置 1 的 X 係 D，位於位置 3 的 X 係 Q，及／或位於位置 4 的 X 係 M。於一些實施方式中，該 VL 於位置 1 包含 D，於位置 3 包含 Q 且於位置 4 包含 M。

【0092】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18366 之 VH 和 VL 胺基酸序列的 VH 和 VL，即其中其 VH 包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列。於此實施方式中，該 VH 可包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列，其中位於位置 1 的 X 係 E，及／或位於位置 6 的 X 係 E。於一些實施方式中，該 VH 於位置 1 包含 E 且於位置 6 包含 E。該 VL 可包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列，其中位於位置 1 的 X 係 D。於某些實施方式中，該 VL 亦可包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列，其中位於位置 40 的 X 係 A，及／或位於位置 55 的 X 係 Y。

【0093】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18400 之 VH 和 VL 胺基酸序列的 VH 和 VL，即其中其 VH 包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列。於此實施方式中，該 VH 可包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列，其中位於位置 2 的 X 係 V。於某些實施方式中，該 VH 亦可包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列，其中位於位置 43 的 X 係 G，位於位置 49 的 X 係 I，位於位置 59 的 X 係 N，位於位置 70 的 X 係 I，及／或位於位置 111 的 X 係 Q。該 VL 可包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列，其中位於位置 1 的 X 係 A，及／或位於位置 3 的

X 係 Q。於一些實施方式中，該 VL 於位置 1 包含 A 且於位置 3 包含 Q。於某些實施方式中，該 VL 亦可包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列，其中位於位置 10 的 X 係 S。

【0094】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18413 之 VH 和 VL 胺基酸序列的 VH 和 VL，即其中其 VH 包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列。於此實施方式中，該 VH 可包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列，其中位於位置 48 的 X 係 V，及／或位於位置 50 的 X 係 A。該 VL 可包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列，其中位於位置 4 的 X 係 M。於某些實施方式中，該 VL 亦可包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列，其中位於位置 12 的 X 係 S。

【0095】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 18483 之 VH 和 VL 胺基酸序列的 VH 和 VL，即其中其 VH 包含 SEQ ID NO: 23 之胺基酸序列且其 VL 包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列。於此實施方式中，該 VH 可包含 SEQ ID NO: 23 之胺基酸序列，其中位於位置 1 的 X 係 E，位於位置 5 的 X 係 V，及／或位於位置 6 的 X 係 E。於一些實施方式中，該 VL 於位置 1 包含 E，於位置 5 包含 V 且於位置 6 包含 E。於某些實施方式中，該 VH 亦可包含 SEQ ID NO: 23 之胺基酸序列，其中位於位置 35 的 X 係 S。該 VL 可包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列，其中位於位置 3 的 X 係 V。於某些實施方式中，該 VL 亦可包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列，其中位於位置 40 的 X 係 A，及／或位於位置 55 的 X 係 Y。

【0096】 於某些實施方式中，該抗 PD-1 抗體或抗原結合部分包含選自 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、

18400、18413、和 18483 的抗體之 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 胺基酸序列，且進一步利用與所選抗體相同的重鏈及／或輕鏈生殖細胞系序列。

【0097】 於某些實施方式中，該抗 PD-1 抗體或抗原結合部分包含選自 18040、18049、18098、18113、18201、18247、18250、18325、18366、18400、18413、和 18483 的抗體之 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 胺基酸序列，且進一步包含與所選抗體之架構區 (FR) 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 一致的 FR。

【0098】 於一些實施方式中，本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分之任何者可抑制 PD-L1 或 PD-L2 或兩者與 PD-1 的結合。

【0099】 於一些實施方式中，本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分之任何者可具有以下特性之至少一者：

- a) 以 (例如) 4×10^{-8} M 或更低的 K_D 與食蟹獼猴 PD-1 結合；
- b) 以 (例如) 2×10^{-8} M 或更低的 K_D 與小鼠 PD-1 結合；
- c) 以 3×10^{-9} M 或更低的 K_D 與人類 PD-1 結合；
- d) 於 10 μ g/ml 的濃度抑制 PD-1 與 PD-L1 的交互作用；
- e) 於 SEB 全血分析中刺激 IL-2 製造；和
- f) 於單向混合淋巴細胞反應分析中刺激 IFN- γ 製造。

【0100】 於一些實施方式中，本文中描述的抗 PD1 抗體或抗原結合部分之任何者可以以下 K_D 與人類 PD-1 結合： 5×10^{-9} M 或更低、 4×10^{-9} M 或更低、 3×10^{-9} M 或更低、 2×10^{-9} M 或更低、 1×10^{-9} M 或更低、 9×10^{-10} M 或更低、 8×10^{-10} M 或更低、 7×10^{-10} M 或更低、 6×10^{-10} M 或更低、 5×10^{-10} M 或更低、 4×10^{-10} M 或更低、 3×10^{-10} M 或更低、 2×10^{-10} M 或更低、

或 1×10^{-10} M 或更低。於某些實施方式中，該 K_D 係使用表面電漿子共振測定。

【0101】 於一些實施方式中，本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分之任何者於 50、40、30、20、10、9、8、7、6、5、4、3、2、或 1 $\mu\text{g/ml}$ 的濃度可抑制 PD-1 與 PD-L1 的交互作用。

【0102】 藉由本文中描述的方法獲得的抗 PD-1 抗體之類型可以另一個類型或亞型改變或轉換。於本發明之一個方面，編碼 VL 或 VH 的核酸分子係使用所屬技術領域中廣為人知的方法分離，使得其不包括編碼 CL 或 CH 的核酸序列。編碼 VL 或 VH 的核酸分子接著被操作性地分別連結至編碼 CL 或 CH 的核酸序列，形成不同的免疫球蛋白分子之類型。此可使用包含 CL 或 CH 鏈之載體或核酸分子達成，如以上描述地。例如，原來係 IgM 的抗 PD-1 抗體可被類型轉換成 IgG。此外，可使用類型轉換以將一種 IgG 亞型變換成另一者，例如從 IgG1 變換成 IgG2。κ 輕鏈恆定區可被改變（例如）成 λ 輕鏈恆定區。用於製造具有所欲 Ig 同型的本發明之抗體的較佳方法包含以下步驟：分離編碼抗 PD-1 抗體之重鏈的核酸分子和編碼抗 PD-1 抗體之輕鏈的核酸分子，獲得該重鏈之可變域，將該重鏈之可變域與所欲同型之重鏈之恆定區連接在一起，於細胞中表現該輕鏈和該經連接的重鏈，並收集具有所欲同型的抗 PD-1 抗體。

【0103】 本發明之抗 PD-1 抗體可係 IgG、IgM、IgE、IgA、或 IgD 分子，但典型係 IgG 同型（例如係 IgG 亞型 IgG1、IgG2a 或 IgG2b、IgG3、或 IgG4）。於一個實施方式中，該抗體係 IgG1。於另一個實施方式中，該抗體係 IgG4。

【0104】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體可於其 F_c 區包含至少一個突變。一些不同的 F_c 突變係已知的，其中此等突變提供經改變的效應功能。例如，於許多例子中（例如在配體／受體交互作用係非所欲的情況下或於抗體-藥物綴合物之例子中），減低或排除效應功能會係所欲的。

【0105】 於一個實施方式中，該抗 PD-1 抗體於其 F_c 區包含至少一個減低效應功能的突變。可能有利於突變以減低效應功能的 F_c 區胺基酸位置包括位置 228、233、234 和 235 之一或多者，其中胺基酸位置係根據 IMGT 編號格式編號。

【0106】 於一個實施方式中，位於位置 234 和 235 的胺基酸殘基之一或二者可經突變，例如自 Leu 至 Ala (L234A/L235A)。此等突變減低 IgG1 抗體之 F_c 區之效應功能。另外地或供選擇地，位於位置 228 的胺基酸殘基可經突變，例如突變成 Pro。於一些實施方式中，位於位置 233 的胺基酸殘基可經突變，例如突變成 Pro，位於位置 234 的胺基酸殘基可經突變，例如突變成 Val，及／或位於位置 235 的胺基酸殘基可經突變，例如突變成 Ala。該等胺基酸位置係根據 IMGT[®] 編號格式編號。

【0107】 於一些實施方式中，於該抗體係 IgG4 亞型的情況下，其可包含突變 S228P（即於位置 228 具有脯胺酸，其中該胺基酸位置係根據 IMGT[®] 編號格式編碼）。已知此突變會減少非所欲的 Fab 臂交換。

【0108】 於某些實施方式中，本發明之抗體或其抗原結合部分可係更大的免疫黏附分子（其藉由該抗體或抗體部分與一或多個其他蛋白質或胜肽之共價或非共價聯結形成）之部分。如此免疫黏附分子之實例包括使用鏈霉抗生物素蛋白核心區域以製造四聚體 scFv 分子（Kipriyanov 等人，

Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101 (1995)) 和使用半胱胺酸殘基、標誌胜肽和 C 端聚組胺酸標籤以製造二價與經生物素化 scFv 分子 (Kipriyanov 等人, *Mol. Immunol.* **31**:1047-1058 (1994))。其他實例包括其中來自抗體的一或多個 CDR 被共價或非共價地併入至分子中以使其變成專一性地與所關注的抗原結合的免疫黏著素。於如此實施方式中, 該 (等) CDR 可被併入作為更大的多肽鏈之部分, 可共價地連結至另一個多肽鏈, 或可被非共價地併入。

【0109】 於另一個實施方式中, 可製造融合抗體或免疫黏著素, 其包含連結至另一個多肽的整個本發明之抗 PD-1 抗體或其一部分。於某些實施方式中, 僅僅該抗 PD-1 抗體之可變域係連結至該多肽。於某些實施方式中, 抗 PD-1 抗體之 VH 域係連結至第一多肽, 而抗 PD-1 抗體之 VL 域係連結至第二多肽, 該第二多肽與該第一多肽聯結, 其連結方式使得該 VH 和 VL 域可彼此交互作用以形成抗原結合位置。於另一個較佳的實施方式中, 該 VH 域係藉由連接子與該 VL 域分開, 使得該 VH 和 VL 域可彼此交互作用 (例如單鏈抗體)。該 VH-連接子-VL 抗體接著被連結至所關注的多肽。此外, 融合抗體可被創造成其中二個 (或更多個) 單鏈抗體係彼此連結。若想要在單一多肽鏈上創造二價或多價抗體或若想要創造雙專一性抗體, 此係有用的。

【0110】 為創造單鏈抗體 (scFv), 編碼 VH 和 VL 的 DNA 片段係操作性地連結至編碼彈性連接子 (例如編碼胺基酸序列(Gly4 -Ser)3 (SEQ ID NO: 115)) 的另一個片段, 使得該 VH 和 VL 序列可以鄰接單鏈蛋白質之形式表現, 其中該 VL 和 VH 域係藉由該彈性連接子連接。參見 (例如) Bird

等人，*Science* **242**:423-426 (1988)；Huston 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**:5879-5883 (1988)；和 McCafferty 等人，*Nature* **348**:552-554 (1990)。該單鏈抗體可係單價，若僅使用單一 VH 和 VL；二價，若使用二個 VH 和 VL；或多價，若使用超過二個 VH 和 VL。例如，可產生雙專一性或多價抗體，其與人類 PD-1 以及與另一個分子專一性地結合。

【0111】 於其他實施方式中，可使用編碼抗 PD-1 抗體的核酸分子製備其他經修飾的抗體。例如，可使用標準分子生物技術根據本說明書之教示製備「κ 體」(Ill 等人，*Protein Eng.* **10**:949-57 (1997))、「微體 (minibody)」(Martin 等人，*EMBO J.* **13**:5303-9 (1994))、「雙體」(Holliger 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**:6444-6448 (1993))、或「Janusin」(Traunecker 等人，*EMBO J.* **10**:3655-3659 (1991)和 Traunecker 等人，*Int. J. Cancer* (補充) **7**:51-52 (1992))。

【0112】 本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分可被衍生化或連結至另一個分子（例如另一個胜肽或蛋白質）。一般而言，該等抗體或其部分被衍生化，其方式使得 PD-1 結合不被該衍生化或標記不利地影響。據此，本發明之抗體和抗體部分意欲包括本文中描述的人類抗 PD-1 抗體之完整和經修飾形式兩者。例如，本發明之抗體或抗體部分可被功能性地連結（藉由化學偶聯、基因融合、非共價聯結或其他）至一或多個其他分子實體，諸如另一個抗體（例如雙專一性抗體或雙體）、偵測劑、醫藥劑、及／或可介導該抗體或抗體部分與另一個分子之聯結的蛋白質或胜肽（諸如鏈霉抗生物素蛋白核心區域或聚組胺酸標籤）。

【0113】 一類經衍生化抗體係藉由交聯二或更多種抗體（相同類型的

或不同類型的，例如以創造雙專一性抗體）製造。適合的交聯劑包括該等係異雙官能性者，其等具有二個藉由適當的間隔子（例如間-順丁烯二亞醯胺基苯甲醯基-N-羥基琥珀醯亞胺酯）分開之不同的反應性基團或同雙官能性者（例如辛二酸二琥珀醯亞胺酯）。如此連接子可得自（例如）Pierce Chemical Company，洛克福，IL。

【0114】 抗 PD-1 抗體亦可以化學基團（諸如聚乙二醇（PEG）、甲基或乙基基團、或碳水化合物基團）衍生化。此等基團可能係有用於改善該抗體之生物特徵，例如以增加血清半生期。

【0115】 亦可標記根據本發明的抗體。用於本文中，術語「標記」或「經標記」係論及該抗體中另一個分子之併入。於一個實施方式中，該標記係可偵測的標誌，例如併入經放射性標記的胺基酸或接附至可藉由經標誌抗生物素蛋白偵測的生物素基部分之多肽（例如含有可藉由光學或比色方法偵測的螢光標誌或酵素活性之鏈霉抗生物素蛋白）。於另一個實施方式中，該標記或標誌可係治療性的，例如藥物綴合物或毒素。種種標記多肽和糖蛋白的方法係所屬技術領域中已知的且可使用其等。用於多肽的標記之實例包括（但不限於）以下者：放射性同位素或放射性核種（例如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I ）、螢光標記（例如 FITC、玫瑰紅、鑷族元素磷光體）、酵素性標記（例如辣根過氧化酶、 β -半乳糖苷酶、螢光素酶、鹼性磷酸酶）、化學發光標誌、生物素基基團、被第二報導子辨識之預決定的多肽表位（例如白胺酸拉鍊對序列、第二抗體之結合位置、金屬結合域、表位標籤）、磁性劑，諸如釷螯合物、毒素，諸如百日咳毒素、紫杉醇、細胞鬆弛素 B、滅革蘭菌素 D、溴化乙錠、吐根鹼、絲裂黴

素、伊妥普賽 (etoposide)、坦尼坡賽 (tenoposide)、長春新鹼、長春花鹼、秋水仙素、多柔比星 (doxorubicin)、道諾黴素、二羥基炭疽菌素二酮、雙羥蔥 (mitoxantrone)、光輝黴素 (mithramycin)、放線菌素 D、1-脫氫睪固酮、醣皮質素、普羅卡因 (procaine)、四卡因 (tetracaine)、利多卡因 (lidocaine)、普魯泛奴洛 (propranolol)、和嘌呤黴素和其等之類似物或同源物。於一些實施方式中，標記係藉由種種長度的間隔子臂接附以減少潛在的立體阻礙。

【0116】 於某些實施方式中，本發明之抗體可以中性形式（包括兩性離子形式）存在或呈帶正電或帶負電物種。於一些實施方式中，該等抗體可與相對離子複合以形成醫藥上可接受的鹽。

【0117】 術語「醫藥上可接受的鹽」係論及包含一或多個抗體和一或多個相對離子的複合物，其中該等相對離子係衍生自醫藥上可接受的無機和有機酸和鹼。

雙專一性結合分子

【0118】 於進一步的方面，本發明提供雙專一性結合分子，其具有本文中描述的抗 PD-1 抗體之結合專一性和另一個抗 PD-1 抗體（例如另一個本文中描述的抗 PD-1 抗體）或靶向不同蛋白質的抗體（諸如另一個免疫查核點蛋白質、癌症抗原、或其活性介導諸如癌症的疾病狀況的另一個細胞表面分子）之結合專一性。如此雙專一性結合分子係所屬技術領域中已知的，且不同類型的雙專一性結合分子之實例係於本文之他處給出。

核酸分子和載體

【0119】 本發明亦提供編碼本文中描述的抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之核酸分子和序列。於一些實施方式中，不同核酸分子編碼該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之重鏈和輕鏈胺基酸序列。於其他實施方式中，相同的核酸分子編碼該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之重鏈和輕鏈胺基酸序列。

【0120】 除非另加具體指明，提及核苷酸序列時涵蓋其互補物。因此，提及具有特殊序列之核酸應被理解成涵蓋其具有其互補序列之互補股。於本文中提及時，術語「多核苷酸」意謂長度上至少 10 個鹼基的核苷酸之多聚形式，無論是核糖核苷酸或去氧核苷酸或任一類型的核苷酸之經修飾形式。該術語包括單股和雙股形式。

【0121】 於以上實施方式之任何者，該等核酸分子可經分離。

【0122】 於進一步的方面，本發明提供適用於表現本文中描述的抗體或其抗原結合部分之鏈之一的載體。用於本文中，術語「載體」意謂一種核酸分子，其能夠運送其已與之連結的另一種核酸。於一些實施方式中，該載體係質體，即另外的 DNA 節段可被連接至其中的 DNA 之環狀雙股片段。於一些實施方式中，該載體係病毒載體，其中另外的 DNA 節段可被連接至其病毒基因組中。於一些實施方式中，該載體能夠在其等被導入至其中的宿主細胞內自我複製（例如具有細菌複製起點的細菌載體和游離基因體哺乳動物載體）。於其他實施方式中，該等載體（例如非游離基因體哺乳動物載體）可在被導入至宿主細胞後併入至宿主細胞之基因組中，並藉此隨著宿主基因組一起複製。此外，某些載體能夠指揮其等所操作性連結的

基因之表現。如此載體於本文中被稱作「重組表現載體」(或簡稱「表現載體」)。

【0123】 本發明提供包含編碼本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之重鏈、本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之輕鏈、或本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之重鏈和輕鏈兩者的核酸分子之載體。本發明進一步提供包含編碼融合蛋白質、經修飾抗體、其抗體片段、和探針之核酸分子的載體。

【0124】 編碼本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之重鏈及／或輕鏈的核酸分子可自任何製造如此抗體或部分的來源分離。於種種實施方式中，該等核酸分子係自表現從以人類 PD-1 抗原致免疫的動物分離的抗 PD-1 抗體的 B 細胞分離、或從自如此 B 細胞製造的永生化細胞分離。分離編碼抗體的核酸之方法係所屬技術領域中廣為人知的。可分離 mRNA 並將其用於製造 cDNA 以用於抗體基因之聚合酶連鎖反應 (PCR) 或 cDNA 選殖中。於某些實施方式中，本發明之核酸分子可被合成而非分離。

【0125】 於一些實施方式中，本發明之核酸分子可包含編碼來自本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分的 VH 域之核苷酸序列，其符合讀框地連接至編碼來自任何來源的重鏈恆定區的核苷酸序列。類似地，本發明之核酸分子可包含編碼來自本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分的 VL 域的核苷酸序列，其符合讀框地連接至編碼來自任何來源的輕鏈恆定區的核苷酸序列。

【0126】 於本發明之進一步方面，編碼該重鏈之可變域 (VH) 及／或輕鏈之可變域 (VL) 的核酸分子可被「變換」成全長抗體基因。於一個

實施方式中，編碼該 VH 或 VL 域的核酸分子被變換成全長抗體基因，其係藉由分別插入至已編碼重鏈恆定 (CH) 或輕鏈恆定 (CL) 區的表現載體中，使得該 VH 節段在該載體內被操作性地連結至該 (等) CH 節段、及／或該 VL 節段在該載體內被操作性地連結至該 CL 節段。於另一個實施方式中，編碼該 VH 及／或 VL 域的核酸分子被變換成全長抗體基因，其係藉由使用標準分子生物技術將編碼 VH 及／或 VL 域的核酸分子連結 (例如連接) 至編碼 CH 及／或 CL 區的核酸分子。編碼全長重鏈及／或輕鏈的核酸分子可接著從至其中該等核酸分子已被導入的細胞表現且該抗 PD-1 抗體被分離。

【0127】 可使用該等核酸分子以重組地表現大量的抗 PD-1 抗體。亦可使用該等核酸分子以製造嵌合抗體、雙專一性抗體、單鏈抗體、免疫黏著素、雙體、突變抗體和抗體衍生物，如於本文中描述的。

【0128】 於另一個實施方式中，本發明之核酸分子被用作為用於特定抗體序列的探針或 PCR 引子。例如，該核酸可於診斷方法中被用作為探針或被用作為 PCR 引子以擴增可被使用的 DNA 區域 (特別是) 以分離編碼抗 PD-1 抗體的可變域之另外的核酸分子。於一些實施方式中，該等核酸分子係寡核苷酸。於一些實施方式中，該等寡核苷酸係來自所關注的抗體之重鏈和輕鏈之高度可變域。於一些實施方式中，該等寡核苷酸編碼完整的如於本文中描述的本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之 CDR 之一或多者或其部分。

【0129】 於另一個實施方式中，可使用該等核酸分子和載體以製造突變抗 PD-1 抗體。可於重鏈及／或輕鏈之可變域中突變該等抗體，例如以改變該抗體之結合特性。例如，可於 CDR 之一或多者中作突變以增高或減低

該抗 PD-1 抗體之 K_D 、以增高或減低 k_{off} 、或以改變該抗體之結合專一性。於另一個實施方式中，於本發明之單株抗體中，於已知相較於生殖系列被改變的胺基酸殘基上作一或多個突變。可於可變域之 CDR 或架構區中、或於恆定區中作該等突變。於較佳的實施方式中，於可變域中作該等突變。於一些實施方式中，於本發明之抗體或其抗原結合部分之可變域之 CDR 或架構區中，於已知相較於生殖系列被改變的胺基酸殘基作一或多個突變。

【0130】 於另一個實施方式中，突變該（等）架構區以使得所得的架構區具有相對應生殖系列基因之胺基酸序列。可於架構區或恆定區作突變以增加該抗 PD-1 抗體之半生期。參見（例如）PCT 公開案 WO 00/09560。亦可於架構區或恆定區中作突變以改變該抗體之致免疫性、及／或以提供用於與另一個分子共價或非共價結合之位置。根據本發明，單一抗體可於其可變域之 CDR 或架構區之任一或多者或於其恆定區具有突變。

【0131】 於一些實施方式中，本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分係藉由以下者表現：將編碼部分或全長輕鏈和重鏈的 DNA（如以上描述地獲得的）插入至表現載體中以使得該等基因被操作性地連結至必要的表現控制序列，諸如轉錄和轉譯控制序列。表現載體包括質體、反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒（AAV）、植物病毒，諸如花椰菜鑲嵌病毒、菸草鑲嵌病毒、黏接質體、YAC、衍生自 EBV 的游離基因體、和類似者。可將該抗體編碼序列連接至載體中以使得該載體內的轉錄和轉譯控制序列發揮其等調節該抗體編碼序列之轉錄和轉譯的所欲功能。可挑選該表現載體和表現控制序列以與所使用的表現宿主細胞相容。可將該抗體輕鏈編碼序列和該抗體重鏈編碼序列插入至分開的載體中，且其等可操作性地連結至相同或

不同的表現控制序列（例如啟動子）。於一個實施方式中，將該等編碼序列兩者插入至相同的表現載體中且其等可操作性地連結至相同的表現控制序列（例如共同啟動子）、至分開的相同的表現控制序列（例如啟動子）、或至不同表現控制序列（例如啟動子）。可藉由標準方法（例如該抗體基因片段和載體上的互補限制位之連接、或鈍端連接，若不存在限制位）將該等抗體編碼序列插入至該表現載體中。

【0132】 方便的載體係以下者：編碼功能上完全的人類 CH 或 CL 免疫球蛋白序列、加上經工程設計以使得任何 VH 或 VL 序列可被輕易地插入和表現（如以上描述的）之適當的限制位。如此載體中之編碼 HC 的基因和編碼 LC 的基因可含有內含子序列，其會藉由穩定化相關 mRNA 來導致整體抗體蛋白質產量之增加。該等內含子序列兩端鄰接剪接供體和剪接受體位置，其等決定 RNA 剪接會於哪裡發生。內含子序列之位置可位於該抗體鏈之可變區或恆定區中、或於可變區和恆定區兩者中（當使用多個內含子時）。多腺苷酸化和轉錄終止可於該等編碼區域之下游的天然染色體位置發生。該重組表現載體亦可編碼促進該抗體鏈自宿主細胞分泌的訊息胜肽。可將該抗體鏈基因選殖入該載體中以使得該訊息胜肽被符合讀框地連結至該免疫球蛋白鏈之胺端。該訊息胜肽可係免疫球蛋白訊息胜肽或異源訊息胜肽（即來自非免疫球蛋白蛋白質的訊息胜肽）。

【0133】 除了該抗體鏈基因外，本發明之重組表現載體可攜帶調節序列，其等控制該抗體鏈基因於宿主細胞中的表現。所屬技術領域中具有通常知識者會領會到該表現載體之設計（包括調節序列之挑選）可取決於諸如下列者之因子：欲轉形的宿主細胞之選擇、所欲的蛋白質之表現水平、

等等。用於哺乳動物宿主細胞表現之較佳的調節序列包括指揮在哺乳動物細胞中的蛋白質之高水平表現的病毒元件，諸如衍生自以下者的啟動子及／或增強子：反轉錄病毒 LTR、細胞巨大病毒（CMV）（諸如 CMV 啟動子／增強子）、猿猴病毒 40（SV40）（諸如 SV40 啟動子／增強子）、腺病毒（例如腺病毒主要晚期啟動子（AdMLP））、多瘤和強哺乳動物啟動子，諸如天然免疫球蛋白和肌動蛋白啟動子。關於病毒調節元件和其序列之進一步描述，參見（例如）US 專利案 5,168,062、4,510,245 和 4,968,615。用於在植物中表現抗體的方法（包括啟動子和載體之描述、以及植物之轉形）係所屬技術領域中已知的。參見（例如）US 專利案 6,517,529。在細菌細胞或真菌細胞（例如酵母菌細胞）中表現多肽的方法亦係所屬技術領域中廣為人知的。

【0134】 除了該抗體鏈基因和調節性序列外，本發明之重組表現載體可攜帶另外的序列（諸如調節該載體在宿主細胞中的複製之序列，例如複製起點）和可篩選標記基因。可篩選標記基因促進至其中該載體已被導入的宿主細胞之篩選（參見（例如）US 專利案 4,399,216、4,634,665 和 5,179,017）。例如，典型地，該可篩選標記基因將對藥物（諸如 G418、濕黴素或胺甲喋呤）的抗性授於至其中該載體已被導入的宿主細胞。例如，可篩選標記基因包括二氫葉酸還原酶（DHFR）基因（其用於利用胺甲喋呤篩選／擴增 dhfr-宿主細胞）、neo 基因（其用於 G418 篩選）、和麩胺酸合成酶基因。

【0135】 術語「表現控制序列」用於本文中意謂對於引起其等與之連接的編碼序列之表現和加工而言係必須的多核苷酸序列。表現控制序列包

括適當的轉錄起始、終止、啟動子和增強子序列；有效的 RNA 加工訊息，諸如剪接和多腺苷酸化訊息；穩定細胞質 mRNA 的序列；增強轉譯效能的序列（即 Kozak 共通序列）；增強蛋白質穩定性的序列；和當所欲時，增強蛋白質分泌的序列。如此控制序列之性質基於宿主生物體變化；於原核生物中，如此控制序列一般包括啟動子、核糖體結合位置、和轉錄終止序列；於真核生物中，一般，如此控制序列包括啟動子和轉錄終止序列。術語「控制序列」係意欲（最少）包括其存在對於表現和加工而言係必須的所有組份，且亦可包括其存在係有利的其他組份，例如前導序列和融合伙伴序列。

宿主細胞和抗體和抗體組成物製造之方法

【0136】 本發明之另外的方面係關於用於製造本發明之抗體組成物和抗體和其抗原結合部分的方法。本發明之此方面之一個實施方式係關於用於製造如於本文中界定的抗體的方法，其包含提供能夠表現該抗體的重組宿主細胞、在適用於該抗體之表現的條件下培養該宿主細胞、和分離所得的抗體。藉由於如此重組宿主細胞中的如此表現製造的抗體於本文中被稱作「重組抗體」。本發明亦提供如此宿主細胞之子代細胞、和由其製造的抗體。

【0137】 用於本文中，術語「重組宿主細胞」（或簡稱「宿主細胞」）意謂重組表現載體已被導入至其中的細胞。本發明提供可包含（例如）如以上描述的根據本發明的載體之宿主細胞。本發明亦提供包含（例如）編碼本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之重鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、編碼本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之輕鏈或其抗原結合

部分的核苷酸序列、或兩者之宿主細胞。應理解「重組宿主細胞」和「宿主細胞」不止意謂特別的主題細胞但亦意謂如此細胞之子代。因為某些修飾可由於突變或環境影響而在隨後的世代中發生，如此子代可能（實際上）與親代細胞不完全相同，但仍被包括在用於本文中的術語「宿主細胞」之範圍內。

【0138】 可將編碼抗 PD-1 抗體的核酸分子和包含此等核酸分子的載體用於適合的哺乳動物、植物、細菌或酵母菌宿主細胞之轉染。轉形可藉由任何已知用於將多核苷酸導入至宿主細胞中的方法。用於將異源性多核苷酸導入至哺乳動物細胞中的方法係所屬技術領域中廣為人知的且包括右旋糖聚糖介導的轉染、磷酸鈣沈澱、Polybrene 介導的轉染、原生質體融合、電穿孔、將多核苷酸封膠囊於脂質體中、和將 DNA 直接微注射至細胞核中。此外，可藉由病毒載體將核酸分子導入至哺乳動物細胞中。轉形細胞的方法係所屬技術領域中廣為人知的。參見（例如）US 專利案 4,399,216、4,912,040、4,740,461、和 4,959,455。轉形植物細胞的方法係所屬技術領域中廣為人知的，其等包括（例如）農桿菌介導的轉形、生物彈道學轉形（biolistic transformation）、直接注射、電穿孔和病毒轉形。轉形細菌和酵母菌細胞的方法亦係所屬技術領域中廣為人知的。

【0139】 可作為表現宿主得到的哺乳動物細胞株係所屬技術領域中廣為人知的且包括許多可得自美國菌種保存中心（ATCC）的永生細胞株。此等包括（特別是）中國倉鼠卵巢（CHO）細胞、NS0 細胞、SP2 細胞、HEK-293T 細胞、293 Freestyle 細胞（Invitrogen）、NIH-3T3 細胞、HeLa 細胞、嬰兒倉鼠腎臟（BHK）細胞、非洲綠猴腎臟細胞（COS）、人類肝細胞

癌細胞（例如 Hep G2）、A549 細胞、和一些其他細胞株。特別偏好的細胞株係藉由測定哪個細胞株具有高表現水平來挑選。可使用的其他細胞株係昆蟲細胞株（諸如 Sf9 或 Sf21 細胞）。當將編碼抗體基因的重組表現載體導入至哺乳動物宿主細胞中時，該等抗體係藉由以下者製造：培養該宿主細胞一段足以允許該抗體於該等宿主細胞中的表現或（更佳地）將該抗體分泌至該宿主細胞於其中生長的培養基之時間。可自該培養基使用標準蛋白質純化方法回收抗體。植物宿主細胞包括（例如）菸草屬、擬南芥屬（*Arabidopsis*）、浮萍、玉米、小麥、馬鈴薯、等等。細菌宿主細胞包括大腸桿菌和鏈黴菌屬物種。酵母菌宿主細胞包括粟酒裂殖酵母菌、啤酒釀母菌和巴斯德畢赤酵母菌（*Pichia pastoris*）。

【0140】 此外，可使用一些已知技術增強本發明之抗體或其抗原結合部分自製造細胞株的表現。例如，麩醯胺酸合成酶基因表現系統（GS 系統）係用於在某些條件下增強表現的常見方法。GS 系統係連結 EP 專利案 0 216 846、0 256 055、0 323 997 和 0 338 841 完整或部分討論。

【0141】 有可能由不同細胞株或於基因轉殖動物中表現的抗體會具有彼此不同的醮化模式。然而，由本文提供的核酸分子編碼或包含本文提供之胺基酸序列的所有抗體皆係本發明之部分，無論該等抗體之醮化狀態，且更一般而言，無論轉譯後修飾存在或不存在。

醫藥組成物

【0142】 本發明之另一個方面係醫藥組成物，其包含作為一個活性成分（或作為唯一的活性成分）的本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分或

抗 PD-1 抗體組成物。該醫藥組成物可包含任何如本文中描述的抗 PD-1 抗體組成物或抗體或其抗原結合部分。於一些實施方式中，該等組成物係意欲用於改善、預防、及／或治療與 PD-1 相關的病症及／或癌症。用於本文中，與 PD-1 相關的或由 PD-1 介導的病症係論及藉由 PD-1 活性之調節而改善、或減緩其進展的病症、疾病或病況。於一些實施方式中，該等組成物係意欲用於活化免疫系統。於某些實施方式中，該等組成物係意欲用於改善、預防、及／或治療源於諸如皮膚、肺臟、腸、結腸、卵巢、腦、前列腺、腎臟、軟組織、造血系統、頭和頸、肝臟、膀胱、乳房、胃、子宮和胰臟的組織的癌症。

【0143】 一般而言，本發明之抗體、其抗原結合部分、和雙專一性結合分子係適用於以調配物的形式結合一或多種醫藥上可接受的賦形劑（例如如以下描述者）投予。

【0144】 本發明之醫藥組成物會包含一或多種本發明之抗 PD-1 抗體或結合部分或雙專一性結合分子，例如一或二種抗 PD-1 抗體、結合部分、或雙專一性結合分子。於一個實施方式中，該組成物包含單一種本發明之抗 PD-1 抗體或其結合部分。

【0145】 於另一個實施方式中，該醫藥組成物可包含至少一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，例如一種抗 PD-1 抗體或部分、和一或多種靶向一或多種相關的細胞表面受體（例如一或多種與癌症相關的受體）的另外的抗體。

【0146】 術語「賦形劑」用於本文中係描述本發明之化合物以外的任何成分。賦形劑之選擇在很大程度上會取決於諸如以下者之因子：特殊的

投予模式、賦形劑對溶解度和穩定性的效果、和劑量形式之特性。用於本文中，「醫藥上可接受的賦形劑」包括任何及所有生理上相容的溶劑、分散基質、塗層、抗細菌劑和抗真菌劑、等張劑和吸收延遲劑、和類似者。醫藥上可接受的賦形劑之一些實例係水、鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水、右旋糖、甘油、乙醇和類似者、以及其等之組合。於許多例子中，於該組成物中包括等張劑，例如糖、多元醇，諸如甘露醇、山梨醇、或氯化鈉會係較佳的。醫藥上可接受的物質之另外的實例係潤濕劑或微量的輔助物質，諸如潤濕劑或乳化劑、防腐劑或緩衝劑，其等增加該抗體之保存期限或有效性。

【0147】 本發明之醫藥組成物和用於其等之製備的方法對所屬技術領域中具有通常知識者而言會輕易地係明顯的。如此組成物和用於其等之製備的方法可於(例如)*Remington's Pharmaceutical Sciences*，第 19 版(Mack Publishing Company, 1995)中找到。醫藥組成物較佳係在 GMP (良好作業規範) 條件下製造。

【0148】 可以散裝、呈單一單位劑量、或呈複數個單一單位劑量製備、包裝、或販售本發明之醫藥組成物。用於本文中，「單位劑量」係個別量的該醫藥組成物，其包含預決定量的活性成分。活性成分之量一般等於會被投予至一對象的活性成分之劑量或如此劑量之方便的部分(諸如(例如)如此劑量之一半或三分之一)。

【0149】 所屬技術領域中所接受的任何用於投予胜肽、蛋白質或抗體的方法可被合適地利用於本發明之抗體和抗原結合部分。

【0150】 本發明之醫藥組成物典型係適用於非經腸投予。用於本文中，醫藥組成物之「非經腸投予」包括任何特徵在於以下者的投予途徑：

物理突破一對象之組織並透過該組織中的突破口投予該醫藥組成物，因此一般造成直接投予至血流中、至肌肉中、或至內部器官中。非經腸投予因此包括（但不限於）藉由注射該組成物、藉由透過手術切口施用該組成物、藉由透過穿透組織的非手術傷口施用該組成物、和類似者來投予醫藥組成物。特別地，設想到非經腸投予包括（但不限於）皮下、腹膜內、肌肉內、胸骨內、靜脈內、動脈內、鞘內、室內、尿道內、顱內、腫瘤內、和滑液膜內注射或輸注；和腎臟透析輸注技術。亦設想到區域性灌注。特別的實施方式包括靜脈內和皮下途徑。

【0151】 適用於非經腸投予的醫藥組成物之調配物典型包含活性成分組合醫藥上可接受的載劑（諸如無菌水或無菌等張鹽水）。可以適用於大劑量投予（bolus administration）或連續投予的形式製備、包裝、或販售如此調配物。可以單位劑量形式（諸如在含有防腐劑的安瓿或多劑容器中）製備、包裝、或販售可注射調配物。用於非經腸投予的調配物包括（但不限於）懸浮液、溶液、在油性或水性媒劑中的乳劑、糊劑、和類似者。如此調配物可進一步包含一或多種另外的成分，包括（但不限於）懸浮劑、穩定劑、或分散劑。在用於非經腸投予的調配物之一個實施方式中，該活性成分係以乾燥（即粉末或粒狀）形式提供以用於在非經腸投予經復水組成物前以適合的媒劑（例如無菌無熱原水）復水。非經腸調配物亦包括水溶液，其可含有賦形劑，諸如鹽、碳水化合物和緩衝劑（較佳至 3 至 9 的 pH），但（於一些應用中）可能更適合將其等調配成無菌非水溶液或成乾燥形式以結合適合的媒劑（諸如無菌、無熱原水）使用。例示性非經腸投予形式包括在無菌水溶液（例如丙二醇或右旋糖水溶液）中的溶液或懸浮液。

若所欲，可適當地緩衝如此劑量形式。其他有用的可親代投予的調配物包括該等包含呈微晶質形式、或於脂質體製劑中的活性成分者。可調配用於非經腸投予的調配物以使其等被立即及／或修飾釋放。修飾釋放調配物包括延遲、持續、脈衝、控制、靶向和程式化釋放。

【0152】 例如，於一個方面，可藉由以下者製備無菌可注射溶液：將所需量的該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分、雙專一性結合分子、或抗 PD-1 抗體組成物及一種以上列舉的成分或其等之組合（按需要）併入適當的溶劑中，接著過濾滅菌。一般而言，分散劑係藉由以下者製備：將活性化化合物併入至含有基礎分散介質和所需的來自該等以上列舉者的其他成分的無菌媒劑中。於用於製備無菌可注射溶液的無菌粉末之例子中，較佳的製備方法係真空乾燥和冷凍乾燥，其產生來自其先前經無菌過濾的溶液的活性成分加上任何其他所欲成分之粉末。可藉由例如以下者維持溶液之適當的流動性：使用塗層，諸如卵磷脂、維持所需的粒子大小（於分散劑之例子中）及使用介面活性劑。可藉由以下者得到可注射組成物之延長吸收：在該組成物中包括延遲吸收的劑，例如硬脂酸鹽和明膠、及／或使用修飾釋放塗層（例如緩釋塗層）。

【0153】 本發明之抗體亦可被鼻內地投予或藉由吸入投予，典型係以來自乾燥粉末吸入器的乾燥粉末（單獨、呈混合物、或呈混合的組份粒子，例如與適合的醫藥上可接受的賦形劑混合）的形式、呈有或無使用適合的推進劑的來自加壓容器、泵浦、噴霧、霧化器（較佳為使用電流體力學以製造細霧的霧化器）、或噴霧器的氣溶膠噴霧、或呈鼻滴劑。

【0154】 加壓容器、泵浦、噴霧、霧化器、或噴霧器一般含有本發明

之抗體之溶液或懸浮液，其包含例如適用於分散、溶解、或延長釋放活性物的劑、推進劑，作為溶劑。

【0155】 於以乾燥粉末或懸浮液調配物使用之前，該藥物產品一般被微粉化至適用於藉由吸入遞送的大小（典型係小於 5 微米）。此可藉由任何適當的粉碎方法（諸如螺旋噴流碾磨、流體床噴射碾磨、超臨界流體加工以形成奈米粒子、高壓均質化、或噴霧乾燥）達成。

【0156】 可將用於吸入器或吸入器的膠囊、泡殼（blister）和藥筒調配成含有本發明之化合物之粉末混合物、適合的粉末基底和性能修飾劑。

【0157】 用於霧化器使用電流體力學以製造細霧之適合的溶液調配物可於每次致動含有適合劑量的本發明之抗體且致動體積可例如於 1 μL 至 100 μL 變化。

【0158】 可將用於吸入／鼻內投予的調配物調配成立即及／或修飾釋放。修飾釋放調配物包括延遲、持續、脈衝、控制、靶向和程式化釋放。

【0159】 於乾燥粉末吸入器和氣溶膠之例子中，劑量單位係通過遞送計量量的閥決定。典型會安排根據本發明的單位以投予定量劑量或「噴煙（puff）」的本發明之抗體。每日總劑量典型會以單劑投予或（更常）於一整天以分開的數劑投予。

【0160】 亦可調配本發明之抗體和抗體部分以用於口服途徑投予。口服投予可涉及吞嚥，使得該化合物進入胃腸道、及／或頰部、舌部、或舌下投予，藉其該化合物直接自口部進入血流。

【0161】 適用於口服投予的調配物包括固體、半固體和液體系統，諸如錠劑；含有多微粒（multi-particulate）或奈米微粒、液體、或粉末的軟或

硬膠囊；菱形錠（包括填充液體的）；咀嚼物；凝膠；快速分散劑量形式；薄膜；卵形劑（ovule）；噴霧；和頰部／黏膜黏著貼片。

【0162】 液體調配物包括懸浮液、溶液、糖漿和酏劑。可利用如此調配物作為軟或硬膠囊（例如從明膠或羥丙甲基纖維素製造）中的填料且其典型包含載劑，例如水、乙醇、聚乙二醇、丙二醇、甲基纖維素、或適合的油、和一或多種乳化劑及／或懸浮劑。亦可藉由復水固體（例如從藥包（sachet））製備液體調配物。

本發明之抗體和組成物的治療用途

【0163】 於一個方面，本發明之抗 PD-1 抗體和其抗原結合部分、抗 PD-1 組成物、和雙專一性結合分子可用於在有需要的人類中增強或活化免疫系統。於一些實施方式中，該患者之免疫受抑制。例如，醫師可藉由投予本發明之抗 PD-1 抗體、抗體結合部分、組成物、或雙專一性結合分子（單獨地或與其他治療劑組合，相繼地或同時地）促升患者自己之免疫系統之抗癌症活性。該抗 PD-1 抗體或部分、組成物、或雙專一性結合分子於免疫細胞中調節 PD-1 之活性，導致抗癌症免疫性增強。於某些實施方式中，該抗體或其抗原結合部分、組成物、或雙專一性結合分子其係用於治療癌症，例如源於諸如皮膚、肺臟、腸、結腸、卵巢、腦、前列腺、腎臟、軟組織、造血系統、頭和頸、肝臟、膀胱、乳房、胃、子宮和胰臟的組織的癌症、和任何依賴 PD-1 活性及／或其中患者表現或過度表現 PD1、PD-L1、及／或 PD-L2 的癌症或其他病況。藉由本發明之抗 PD-1 抗體、其抗原結合部分、抗 PD-1 組成物、及／或雙專一性結合分子治療的癌症可包括（例如）黑色

素瘤（諸如晚期黑色素瘤、或無法切除的或轉移性黑色素瘤）、非小細胞肺癌、膀胱癌、頭頸鱗狀細胞癌、卵巢癌、結腸直腸癌、胃癌、高度微衛星不穩定性癌症、肝細胞癌、間皮瘤、Merkel 氏細胞癌、神經膠瘤、多發性骨髓瘤、瀰漫性大型 B 細胞淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤、和腎細胞癌（RCC）。

【0164】 於一些實施方式中，藉由本發明之抗 PD-1 抗體、抗原結合部分、抗 PD-1 組成物、及／或雙專一性結合分子治療的癌症可包括（例如）晚期或轉移性黑色素瘤、非小細胞肺癌、頭頸鱗狀細胞癌、腎細胞癌、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、神經膠母細胞瘤、神經膠瘤、神經內分泌腫瘤、鱗狀細胞肺癌、小細胞肺癌、肝細胞癌、膀胱癌、上尿路癌、食道癌、胃食道連接部癌、胃癌、肝癌、結腸癌、結腸直腸癌、多發性骨髓瘤、肉瘤、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、骨髓化生不良症候群、鼻咽癌、慢性淋巴球性白血病、急性淋巴胚細胞性白血病、小淋巴球性淋巴瘤、卵巢癌、胃腸癌、原發性腹膜癌、輸卵管癌、泌尿上皮癌、與 HTLV 有關的 T 細胞白血病／淋巴瘤、前列腺癌、生殖泌尿癌、腦脊髓膜瘤、腎上腺皮質癌、神經膠肉瘤、腎臟癌、乳癌、胰臟癌、子宮內膜癌、皮膚基底細胞癌、闌尾之癌症、膽道癌、唾腺癌、晚期 Merkel 氏細胞癌、泌尿學癌症、骨癌、胸部癌症、呼吸道癌症、腺樣囊狀癌、子宮頸癌、星狀細胞瘤、索脊瘤、血液學贅瘤、神經胚細胞瘤、口腔癌、皮膚鱗狀細胞癌、甲狀腺癌、卡波西氏肉瘤、肛門癌、膽囊癌、胸腺癌、子宮癌、瀰漫性大型 B 細胞淋巴瘤、濾泡淋巴瘤、間皮瘤、或固態腫瘤。該癌症可係（例如）早期、中期、晚期、或轉移階段。

【0165】 於一些實施方式中，本發明之抗 PD-1 抗體、抗原結合部分、

組成物、及／或雙專一性結合分子可用於治療病毒及／或寄生生物感染，例如在病原體抑制宿主免疫反應的情況下。例如，該病原體可係（例如）HIV、肝炎（A、B、或 C）、人類乳突瘤病毒（HPV）、淋巴球性脈絡叢腦膜炎病毒（LCMV）、腺病毒、黃病毒、ECHO 病毒、鼻病毒、Coxsackie 病毒、冠狀病毒、呼吸道融合病毒、腮腺炎病毒、輪狀病毒、麻疹病毒、德國麻疹病毒、小病毒、牛痘病毒、人類 T 細胞親淋巴性病毒（HTLV）、登革熱病毒、軟疣病毒、小兒麻痺病毒、狂犬病病毒、John Cunningham (JC) 病毒、節肢足動物攜帶性病毒性腦炎病毒、猿猴免疫不全病毒（SIV）、流行性感冒、疱疹、梨形鞭毛蟲、瘧疾、利什曼原蟲、金黃色葡萄球菌、或銅綠假單胞菌。

【0166】 於一些實施方式中，本發明之抗 PD-1 抗體、抗原結合部分、組成物、及／或雙專一性結合分子可用於治療免疫減損患者或有免疫減損之風險的患者（例如由於化學治療的或放射線治療）。

【0167】 「治療（treat）」、「治療（treating）」和「治療（treatment）」係論及減輕或消除生物病症及／或其伴隨症狀之至少一者的方法。用於本文中，「減輕」疾病、病症或病況意謂減低該疾病、病症、或病況之症狀之嚴重性及／或發生頻率。此外，本文中提及「治療」時包括提及治癒性、緩和性和預防性治療。

【0168】 「治療有效量」係論及所投予的治療劑之量，其會將所治療的病症之症狀之一或多者減輕至某種程度。治療有效量的抗癌症治療（例如）可導致腫瘤縮小、存活增加、癌細胞之排除、減低的疾病進展、轉移之逆轉、或其他保健專家所欲的臨床終點。

【0169】 本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分、組成物、或雙專一性結合分子可單獨投予或組合一或多種其他藥物或抗體（或呈其等之任何組合）投予。本發明之醫藥組成物、方法和用途因此亦涵蓋與其他活性劑的組合（共投予）之實施方式，如以下詳細敘述的。

【0170】 用於本文中，當提及本發明之抗體和其抗原結合部分、組成物、和雙專一性結合分子以及一或多種其他治療劑時，術語「共投予」、「被共投予」和「組合」意欲意謂且係論及並包括以下者：

- 將本發明之抗體／抗原結合部分／抗體組成物／雙專一性結合分子及一或多種治療劑之如此組合同時投予至需要治療的患者，當如此組份被一起調配成實質上同時將該等組份釋放至該患者的單一劑量形式時，

- 將本發明之抗體／抗原結合部分／抗體組成物／雙專一性結合分子及一或多種治療劑之如此組合實質上同時投予至需要治療的患者，當如此組份被彼此分開地調配成實質上同時被該患者攝取的分開的劑量形式故於是該等組份被實質上同時釋放至該患者時，

- 將本發明之抗體／抗原結合部分／抗體組成物／雙專一性結合分子及一或多種治療劑之如此組合相繼投予至需要治療的患者，當如此組份被彼此分開地調配成被該患者在連續的時間攝取且在各投予間有實質上的時間間隔的分開的劑量形式故於是該等組份於實質上不同的時間被釋放至該患者時；和

- 將本發明之抗體／抗原結合部分／抗體組成物／雙專一性結合分子及一或多種治療劑之如此組合相繼投予至需要治療的患者，當如此組份被一起調配成以控制方式釋放該等組份的單一劑量形式故於是其等於相同及／

或不同的時間被同時、連續、及／或重疊地釋放至該患者時，其中各部分可藉由相同或不同的途徑投予。

【0171】 本發明之抗體和其抗原結合部分、抗體組成物、和雙專一性結合分子可在無另外的治療性治療下投予（即作為單獨的治療（單一治療））。供選擇地，使用本發明之抗體和其抗原結合部分、組成物、和雙專一性結合分子的治療可包括至少一種另外的治療性治療（組合治療），例如另一種免疫刺激劑、抗癌劑、抗病毒劑、或疫苗（例如腫瘤疫苗）。於一些實施方式中，該抗體或其抗原結合部分、組成物、或雙專一性結合分子可與另一種藥療法／藥物共投予或調配以用於治療癌症。該另外的治療性治療可包含（例如）化學治療劑、抗贅瘤劑、或抗血管形成劑、不同的抗癌劑、及／或放射性治療。

【0172】 藉由組合本發明之抗體、抗原結合部分、組成物、或雙專一性結合分子與已知會誘發癌細胞之最後分化的劑，可進一步改善功效。如此化合物可（例如）選自由以下者所組成的群組：視黃酸、反式-視黃酸、順式-視黃酸、苯丁酸鹽、神經生長因子、二甲亞碲、活性形式維生素 D3、過氧化體增殖物活化性受體 γ 、12-O-十四醯基佛波醇 13-醋酸酯、六亞甲基-雙-乙醯胺、轉形生長因子 β 、丁酸、環 AMP、和維司力農（vesnarinone）。於一些實施方式中，該化合物係選自由視黃酸、苯丁酸鹽、全反式-視黃酸和活性形式維生素 D 所組成的群組。

【0173】 包含本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分、組成物、或雙專一性結合分子與至少一種其他劑（例如化學治療劑、抗贅瘤劑、或抗血管形成劑）的醫藥製品可呈供於癌症治療中同時、分開或相繼投予的組

合治療的形式使用。該其他劑可藉由任何適用於治療所提及的特殊癌症的劑，例如選自由以下者所組成的群組的劑：烷化劑，例如鉑衍生物，諸如順鉑、卡鉑及／或奧沙利鉑 (oxaliplatin)；植物生物鹼，例如太平洋紫杉醇、多烯紫杉醇及／或愛萊諾迪肯 (irinotecan)；抗腫瘤抗生素，例如多柔比星 (阿德力黴素)、道諾黴素、表阿黴素 (epirubicin)、艾達黴素 (idarubicin)、雙羥蔥、放線菌素 D、博萊黴素、放線菌素、藤黃黴素 (luteomycin)、及／或絲裂黴素；拓模異構酶抑制劑，諸如拓普替康 (topotecan)；及／或抗代謝物，例如氟尿嘧啶及／或其他氟嘧啶。

【0174】 本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分、抗體組成物、或雙專一性結合分子亦可與諸如疫苗、細胞介素、酵素抑制劑、免疫刺激性化合物、和 T 細胞治療的其他抗癌症治療組合使用。於疫苗之例子中，其可 (例如) 係含有一或多種與所治療的癌症相關的抗原的蛋白質、胜肽或 DNA 疫苗、或包含樹突細胞加上抗原的疫苗。適合的細胞介素包括 (例如) IL-2、IFN- γ 和 GM-CSF。一類具有抗癌症活性的酵素抑制劑之實例係吡嗪胺-2,3-二氧酶 (IDO) 抑制劑，例如 1-甲基-D-色胺酸 (1-D-MT)。授受性 T 細胞治療係論及種種涉及擴展或工程設計患者自身之 T 細胞以辨識並攻擊其等之腫瘤的免疫治療技術。

【0175】 亦設想到本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分、抗體組成物、或雙專一性結合分子可連結酪胺酸激酶抑制劑用於輔助治療中。此等係合成性且主要衍生自喹唑啉的低分子量分子，其等與受體之細胞內酪胺酸激酶域交互作用並藉由競爭細胞內 Mg-ATP 結合位置而抑制配體誘發性受體磷酸化。

【0176】 於一些實施方式中，該抗體或其抗原結合部分、組成物、或雙專一性結合分子可與包括（但不限於）調節以下者之表現或活性的劑的另一種介導免疫系統活化的藥療法／藥物組合使用：A2AR、BTLA、B7-H3、B7-H4、CTLA-4、CD27、CD28、CD40、CD55、CD73、CD122、CD137、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、CTLA-3、CEACAM（例如 CEACAM-1 及／或 CEACAM-5）、GAL-9、GITR、HVEM、ICOS、IDO、KIR、LAIR1、LAG-3、OX40、TIGIT、TIM-3、TGFR- β 、VISTA、LILRB2、CMTM6 及／或 2B4。於某些實施方式中，該劑係與以上分子之一結合的抗體或其抗原結合片段。於某些實施方式中，本發明之抗體或其抗原結合部分、組成物、或雙專一性結合分子可與 CTLA-4 抑制劑（例如抗 CTLA-4 抗體，諸如 tremelimumab 或伊匹單抗（ipilimumab））組合投予。於一個實施方式中，本發明之抗體或其抗原結合部分、組成物、或雙專一性結合分子可與伊匹單抗組合投予。

【0177】 於某些方面，本發明之抗體和抗原結合部分、組成物、和雙專一性結合分子可組合另一種 PD-1 途徑之抑制劑投予，該抑制劑可靶向 PD-1 或其配體之一或多者。如此抑制劑之實例包括其他抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、和抗 PD-L2 抗體。於一些實施方式中，本發明之抗 PD1 抗體或其抗原結合部分、雙專一性抗體、或抗體組成物可與派姆單抗及／或納武單抗組合投予。

【0178】 應瞭解本發明之抗體和其抗原結合部分、抗體組成物、和雙專一性結合分子可用於如本文中描述的治療方法、可用於如本文中描述的治療、及／或可用於製造用於如本文中描述的治療之醫藥品。本發明亦提

供包含本文中描述的抗體和其抗原結合部分、抗體組成物、及／或雙專一性結合分子的套組和製品。

劑量和投予途徑

【0179】 本發明之抗體和其抗原結合部分、組成物、和雙專一性結合分子會以對於治療所提及的病況有效的量（即以達成所欲的結果所需的劑量和時段）投予。治療有效量可根據諸如以下者之因子變化：所治療的特殊病況、患者之年齡、性別和重量、和該等抗體是否係作為單獨的治療投予或與一或多種另外的抗癌症治療組合投予。

【0180】 可調整劑量攝生法以提供最適宜的所欲反應。例如，可投予單一食團、可隨時間投予數個分開的劑或可按治療狀況之急迫性所指示的成比例地減少或增加該劑。對於投予之容易性和劑量之一致性，以劑量單位形式調配非經腸組成物係特別有利的。用於本文中，劑量單位形式係論及物理上分開的單位，其適合作為用於欲治療的患者／對象之單個劑量；各單位含有經計算以產生所欲治療功效之預決定量的活性化合物加上所需的醫藥載劑。本發明之劑量單位形式之規格一般係由以下者支配且直接取決於以下者：(a)化學治療劑之獨特特徵和欲達成的特殊治療或預防功效、和(b)複合如此活性化合物以用於治療個體之敏感性的所屬技術領域中的固有限制。

【0181】 因此，基於本文中提供之揭示內容，具有通常知識者會領會到劑量和給藥攝生法係根據治療技術領域中廣為人知的方法作調整。即可輕易地建立最大可容忍劑量，且亦可測定對患者提供可偵測的治療效益的

有效量，且亦可測定對患者提供可偵測的治療效益所需的投予各劑之時序需求。因此，雖然本文中例示了某些劑量和投予攝生法，此等實例並不以任何方式限制於實現本發明中可提供給患者的劑量和投予攝生法。

【0182】 應注意劑量值可隨著欲減輕的病況之類型和嚴重性變化，且可包括單個或多個劑。應進一步瞭解到對於任何特殊對象，應根據個體之需求和投予或監督該組成物之投予者的專業判斷隨時間調整特殊劑量攝生法，且本文中提出的劑量範圍僅係例示性且非意欲限制具體實例組成物之範圍或實現。此外，使用本發明之組成物的劑量攝生法可基於各種各樣的因子（包括疾病之類型、患者之年齡、重量、性別、醫療狀況、病況之嚴重性、投予途徑、和所利用的特殊抗體）變化。因此，該劑量攝生法可廣大地變化，但可使用標準方法例行地測定。例如，可基於藥動學或藥效學參數調整劑量，該等參數可包括臨床功效，諸如毒性效果及／或實驗室值。因此，本發明涵蓋如由具有通常知識者判定的患者內劑量升高。判定適當的劑量和攝生法於相關技術領域中係廣為人知的且一旦提供本文中揭示的教示後具有通常知識者會瞭解其被涵蓋。

【0183】 設想到本發明之抗體或其抗原結合部分、組成物、或雙專一性結合分子之適合劑量會於以下範圍內：0.1-100 mg/kg，諸如約 0.5-50 mg/kg，例如約 1-20 mg/kg。該抗體、抗原結合部分、組成物、或雙專一性結合分子可例如以以下劑量投予：至少 0.25 mg/kg，例如至少 0.5 mg/kg，諸如至少 1 mg/kg，例如至少 1.5 mg/kg，諸如至少 2 mg/kg，例如至少 3 mg/kg，諸如至少 4 mg/kg，例如至少 5 mg/kg；和例如至多達 50 mg/kg，諸如至多達 30 mg/kg，例如至多達 20 mg/kg，諸如至多達 15 mg/kg。投予正

常會以適合的間隔重複，例如每週一次、每二週一次、每三週一次、或每四週一次，且會持續負責的醫師認為適當的時間，該醫師必要時可視需要增加或減少劑量。

【0184】 腫瘤治療之有效量可藉由其在患者中穩定疾病進展及／或改善症狀（且較佳係逆轉疾病進展，例如藉由減小腫瘤大小）的能力測量。本發明之抗體、抗原結合部分、組成物、或雙專一性結合分子抑制癌症的能力可藉由試管內分析（例如如於實施例中描述者）以及於對人類腫瘤中的效力有預測性的適合的動物模型中評估。會挑選適合的劑量攝生法以於各個特殊狀況提供最適宜的治療的反應，例如以單一食團或以連續輸注投予，且可能調整劑量，如由各個例子之急迫性指示的。

診斷用途和組成物

【0185】 本發明之抗體亦有用於診斷程序（例如試管內、活體外）。例如，該等抗體可用於偵測及／或測量來自患者的樣本（例如組織樣本、或體液樣本，諸如發炎滲出物、血液、血清、腸液、唾液、或尿液）中的PD-1 水平。適合的偵測和測量方法包括免疫學方法，諸如流動式細胞測量術、酵素連結免疫吸附分析（ELISA）、化學發光分析、放射性免疫分析、和免疫組織學。本發明進一步涵蓋套組（例如診斷套組），其包含本文中描述的抗體。

【0186】 除非於本文中另加界定，連結本發明使用的科學和技術術語應具有所屬技術領域中具有通常知識者所一般瞭解的意義。以下描述例示

性方法和材料，雖然於實現或測試本發明時亦可使用與該等本文中描述者類似或等同的方法和材料。若有矛盾，應以本說明書（包括定義）為準。

【0187】 一般而言，連結本文中描述的細胞和組織培養、分子生物學、免疫學、微生物學、遺傳學、分析化學、合成有機化學、醫療和醫藥化學、及蛋白質和核酸化學和雜合使用的命名法和其等之技術係該等於所屬技術領域中廣為人知且一般使用者。酵素反應和純化技術係根據製造商之說明書執行，如所屬技術領域中或如本文中描述地一般完成的。

【0188】 此外，除非前後文另外要求，單數術語應包括複數且複數術語應包括單數。在本說明書和實施方式通篇中，字詞「具有 (have)」和「包含 (comprise)」、或變體（諸如「具有 (has)」、「具有 (having)」、「包含 (comprises)」、或「包含 (comprising)」）應被理解成意指含有所陳述的整數或整數之群組但不排除任何其他整數或整數之群組。

【0189】 本文中提及的所有出版品和其他文獻係以其等之整體以引用方式併入。雖然本文中引用一些文件，此引用並不構成和承認此等文件之任一者形成所屬技術領域中的一般通常知識。

【0190】 為了使本發明可被更好地瞭解，提出以下實施例。此等實施例僅係用於闡明之目的且不應被解釋成以任何方式限制本發明之範圍。

實施例

實施例 1. 抗 PD-1 抗體庫 (antibody repertoire) 之產生和篩選

材料和方法

【0191】 OmniRat® 大鼠 (Osborn 等人 , *J Immunol.* 2013,

190(4):1481-90) (一種來自 OMT (Open Monoclonal Technology, Inc.) 的能夠製造人類抗體的經工程設計大鼠品系) 係以人類、食蟹獼猴、或小鼠 PD-1 抗原致免疫。抗體基因自源自該等大鼠的經單細胞分選抗體分泌性 B 細胞 (ASC) 的選殖係藉由 Symplex™ 抗體發現技術 (Meijer 等人, *J Mol Biol* 2006, 358(3):764-72; US 7,749,697; WO 2008/104184) 執行。

【0192】 從來自經致免疫 OMT 大鼠的經單細胞分選 B 細胞製備 Symplex™ 抗體文庫，對於各個經分選 B 細胞該文庫含有同源的 VH 和 VL 編碼對。抗體庫表現構築體編碼完全人類的免疫球蛋白，其呈 IgG1 形式且帶有二個已知會減低 IgG1 抗體之 Fc 區之效應功能的突變 (L234A/L235A) (Hezareh 等人, *J Virol.* 75(24): 12161-8 (2001))。

【0193】 使用 FreeStyle™ MAX 試劑 (Invitrogen)，以 384 槽孔形式使用表現構築體轉染 CHO-S 細胞以展示人類、食蟹獼猴或小鼠 PD-1。此外，使用編碼不相關的蛋白質人類 VEGFR2 的對照組載體轉染另一個細胞族群並隨後將其用作為負對照組。為允許多重篩選設置，以 1×10^6 個細胞每 ml 的密度以 1:1:1 的比率混合以中強度羧基螢光素琥珀鹽亞胺基酯 (CFSE^{inter}) 標記的對照組細胞、以高強度 CFSE (CFSE^{high}) 標記的經 cyno PD-1 轉染的細胞、和未經標記的經人類 PD-1-轉染的細胞。在 384 槽孔盤中，混合 40 μ l 的此細胞混合物與 10 μ l 的含抗體上清液，並藉由添加山羊抗人類 IgG (H+L) AF647 二級抗體 (Molecular Probes, Cat. No. A21445) 顯現與細胞結合的抗體。平行地，於類似的設置中針對與人類 (CFSE^{pos}) 和小鼠 PD-1 (CFSE^{neg}) 的結合篩選抗體。使用高通量流式細胞測量術 (iQue® Screener, Intellicyt) 獲得樣本並使用 ForeCyt® 軟體藉由作圖 CFSE vs. IgG 結

合 (AF647) 分析數據。PD-1 專一性初級吻合被認定為與經人類 (CSFE^{neg}) 和食蟹獼猴 PD-1 轉染的細胞 (CFSE^{high}) 兩者結合但不與對照組細胞 (CFSE^{inter}) 結合的抗體植株，並收集盤編號和盤座標以用於吻合挑選和隨後的序列分析。亦挑選一些於第二篩選中展現針對小鼠 PD-1 的另外反應性的初級吻合 (CFSE^{neg}) 以用於進一步的分析。

結果

【0194】 圖 1(a) – 1(d)顯示展現針對 PD-1 異種同源物的不同反應性的四個抗體植株之代表性流式細胞測量術點圖：

- (a)非專一性地與 CHO-S 細胞結合的抗體植株，
- (b)僅專一性地與經人類 PD-1-轉染的細胞結合的抗體植株，
- (c)專一性地與人類和食蟹獼猴 PD-1 結合的抗體植株，和
- (d)與此篩選中所測試的所有三種 PD-1 物種結合的抗體植株。

【0195】 (a)、(b)、(c)和(d)之各者中上面的點圖描繪針對與人類 PD-1 (huPD1) 和食蟹獼猴 PD-1 (cynoPD1) 相較於負對照組細胞 (neg) 的結合測試抗體的第一篩選回合。下面的點圖描繪針對與小鼠 PD-1 (moPD1) 和人類 PD-1 (huPD1) 的結合測試抗體的第二篩選回合。x 軸 (水平) 顯示 CFSE，且 y 軸 (垂直) 顯示人類 IgG 結合。

實施例 2.抗體序列

【0196】 藉由 DNA 定序分析篩選吻合並抽出編碼抗體的 DNA 序列。定序 488 個展現針對人類和食蟹獼猴 PD-1 兩者的交叉反應性的初級吻

合。此顯示該抗 PD-1 吻合庫含有表現 140 個基因簇的 254 個獨特抗體。個別地表現所選抗體植株並如以下描述地測試其等之功能。以下描述於試管內分析中展現功能活性的十二種抗體。該十二種抗體之 VH 和 VL 域之蛋白質序列之編號係在表 1 中顯示。用以選殖可變 VH 和 VL 基因的免疫球蛋白恆定區（具有 L234A/L235A 突變的 Ig 重鏈（IgHC）和 Ig κ 輕鏈（IgKV））之序列編號係在表 2 中顯示。十二種功能性抗體之 CDR 之序列編號係在表 3 中顯示。此處的 CDR 序列係根據針對 CDR1 和 CDR2 的 IMGT®定義決定。對於重鏈和輕鏈 CDR3，此處的定義包括一個位於 IMGT-CDR3 之胺端的額外的胺基酸殘基（Cys）。

表 1. 抗體可變域胺基酸序列之編號

抗體編號	VH 蛋白質 SEQ ID NO.	VL 蛋白質 SEQ ID NO.
18040	1	2
18049	3	4
18098	5	6
18113	7	8
18201	9	10
18247	11	12
18250	13	14
18325	15	16
18366	17	18
18400	19	20
18413	21	22
18483	23	24

表 2. 抗體恆定區 DNA 和胺基酸序列之編號

序列名稱	DNA SEQ ID NO.	蛋白質 SEQ ID NO.
IgHC	25	26
IgKC	27	28

表 3. 抗 PD-1 抗體之重鏈 CDR1、CDR2 和 CDR3 和輕鏈 CDR1 和 CDR3 之胺基酸序列之 SEQ ID NO

抗體	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
18040	29	30	31	32	33	34
18049	35	36	37	38	39	40
18098	41	42	43	44	45	46
18113	29	47	48	49	50	51
18201	52	53	54	38	45	55
18247	29	56	48	57	33	51
18250	58	59	60	57	33	34
18325	61	62	43	44	45	46
18366	63	64	65	32	33	34
18400	66	67	68	38	45	55
18413	69	70	71	72	45	73
18483	74	75	76	57	33	34

實施例 3. 抗體序列中的架構突變

【0197】 執行實施例 2 之 VH 和 VL 胺基酸序列與人類生殖細胞系序列的排比以顯示該等 VH 和 VL 序列所源自的生殖細胞系基因。表 4 顯示對於各個植株之 VH 和 VL 的最接近的 V-和 J-生殖細胞系基因之指定、以及如於以下描述的架構突變之資訊。

【0198】 因為該等抗體基因係藉由 RT-PCR 使用 Symplex™ 抗體發現技術 (Mejier 等人, J Mol Biol 358:764-772 (2006); WO 2005/042774) 以簡

併引子分離，開頭的六個胺基酸傾向有不於該抗體序列之成熟期間發生的突變。因此，此等源自引子的突變可被突變回生殖細胞系序列而無減低結合親和力的風險。此等「經 Symplex 修正的」變體序列中的 VH 和 VL 之數目和特殊胺基酸取代係在表 4 中顯示。此外，於可變域之架構區中帶有體超突變（即於 VH 或 VL 中位於 CDR 之外的突變）的抗體可被變回最接近的 V-或 J-生殖細胞系之序列。在此等「生殖細胞系化」變體序列中可被變成生殖細胞系者的抗體架構中的數目和特殊胺基酸取代亦在表 4 中顯示。以下者會很明顯：表 4 中指出的「生殖細胞系化」變體突變（參見行「生殖細胞系化變體中的 VH 架構突變之數目」和「生殖細胞系化變體中的 VH 架構突變之突變」）包括任何「經 Symplex 修正的」突變以及位於開頭的六個胺基酸位置之外的突變。

【0199】 如以上指出的，不預期於各個 VH 或 VL 序列中於開頭的六個胺基酸的源自引子的簡併突變之改變會惡化相較於來源抗體的結合特性。因此，較佳地，本發明之抗 PD-1 抗體包括以下表格中指出的「經 Symplex 修正的」突變。

【0200】 至於位於各個序列之開頭的六個胺基酸位置之外的「生殖細胞系化變體」突變，可選擇此等突變之任一或多者。測定個別突變是否對一抗體之抗原結合特性具有負面效果可藉由以下者執行：製備具有所指出的突變的生殖細胞系化變體 VH 和 VL 序列並比較該抗體之抗原結合特性與具有相對應的來源或經 Symplex 修正的序列的親本之抗原結合特性。若觀察到結合親和力之減低或其他改變的結合特性，變體可（例如）使用 2x2 VH/VL 矩陣使用各個抗體之重鏈和輕鏈之經 Symplex 修正的變體和生殖細

胞系化變體測試，即於此例子中對於各個抗體有四種組合。此允許測定是否生殖細胞系化 VH 和 VL 序列之一者或另一者或兩者對於任何觀察到的改變的結合特性有貢獻。供選擇地或另外地，可測試其中避免單一生殖細胞系化變體突變的相對應的抗體之系列以測定影響具有所有所列突變的生殖細胞系化變體之結合的特殊突變。

【0201】 表 5 顯示來源序列以及相對應的經 Symplex 修正的和生殖細胞系化變體之 VH 和 VL 序列編號。基於表 5 中的編號，很明顯於一些例子中於來源序列和經 Symplex 修正的序列間或於經 Symplex 修正的序列和生殖細胞系化序列間無差異。對生殖細胞系架構殘基的突變係基於 IMGT 定義。於所附序列表中，所得的胺基酸取代被加底線並以粗體標記。

表4 (第1 部分：VH 序列架構突變)

抗體	最接近的 V-、J- 生殖細胞系	經 Symplex 修正的變 體中的 VH FR 突 變之#	經 Symplex 修正的變 體中的 VH FR 突變	生殖細胞 系化變體 中的 VH FR 突變之 #	生殖細胞系 化變體中的 VH FR 突變
18040	IGHV3-11*01、 IGHJ5*02	0		2	N35S、 D84N
18049	IGHV3-33*04、 IGHJ4*02	0		0	
18098	IGHV3-23*04、 IGHJ3*02	2	Q1E、 Q5V	9	Q1E、 Q5V、 R13Q、 N35S、 V46E、 T50A、 S77N、 F80Y、 T115M
18113	IGHV3-11*01、 IGHJ5*02	0		1	A64V
18201	IGHV4-4*02、 IGHJ3*02	1	V5Q	4	V5Q、 T59N、

抗體	最接近的 V-、J- 生殖細胞系	經 Symplex 修正的變 體中的 VH FR 突 變之#	經 Symplex 修正的變 體中的 VH FR 突變	生殖細胞 系化變體 中的 VH FR 突變之 #	生殖細胞系 化變體中的 VH FR 突變
					R76K、 M83L
18247	IGHV3-11*01、 IGHJ4*02	0		2	D10G、 R16G
18250	IGHV3-11*01、 IGHJ4*03	1	Q5V	4	Q5V、 H50Y、 D59Y、 V61A
18325	IGHV3-23*04、 IGHJ3*02	3	Q1E、 Q5V、 Q6E	8	Q1E、 Q5V、 Q6E、 N35S、 A49S、 T50A、 G73D、 M78T
18366	IGHV3-7*02、 IGHJ5*02	2	Q1E、Q6E	2	Q1E、Q6E

抗體	最接近的 V-、J- 生殖細胞系	經 Symplex 修正的變 體中的 VH FR 突 變之#	經 Symplex 修正的變 體中的 VH FR 突變	生殖細胞 系化變體 中的 VH FR 突變之 #	生殖細胞系 化變體中的 VH FR 突變
18400	IGHV4-4*02、 IGHJ3*02	1	L2V	6	L2V、 K43G、 V49I、 S59N、 M70I、 P111Q
18413	IGHV3-23*04、 IGHJ4*03	0		2	L48V、T50A
18483	IGHV3-7*02、 IGHJ5*02	3	Q1E、 Q5V、 Q6E	4	Q1E、 Q5V、 Q6E、N35S

表4 (第2 部分：VL 序列架構突變)

抗體	最接近的 V-、J- 生殖細胞系	經 Symplex 修正的變 體中的 VL FR 突 變之#	經 Symplex 修正的變 體中的 VL FR 突變	生殖細胞 系化變體 中的 VL FR 突變之 #	生殖細胞系 化變體中的 VL FR 突變
18040	IGKV4-1*01、 IGKJ1*01	1	E1D	3	E1D、 F40A、F55Y
18049	IGKV1-17*01、 IGKJ1*01	2	E1D、V3Q	3	E1D、 V3Q、N53S
18098	IGKV1D-12*01、 IGKJ1*01	1	L4M	1	L4M
18113	IGKV4-1*01、 IGKJ1*01	2	Q3V、L4M	3	Q3V、 L4M、R69S
18201	IGKV1-6*01、 IGKJ1*01	1	D1A	1	D1A
18247	IGKV4-1*01、 IGKJ1*01	2	E1D、L4M	4	E1D、 L4M、 F55Y、F93Y
18250	IGKV4-1*01、 IGKJ2*01	2	Q3V、L4M	3	Q3V、 L4M、S55Y
18325	IGKV1D-12*02、	3	E1D、	3	E1D、

	IGKJ1*01		V3Q、L4M		V3Q、L4M
18366	IGKV4-1*01、 IGKJ2*01	1	E1D	3	E1D、 L40A、F55Y
18400	IGKV1-6*01、 IGKJ1*01	2	E1A、V3Q	3	E1A、 V3Q、P10S
18413	IGKV1D-12*01、 IGKJ4*02	1	L4M	2	L4M、P12S
18483	IGKV4-1*01、 IGKJ2*01	1	Q3V	3	Q3V、 L40A、F55Y

表 5. 抗 PD-1 抗體之 VH 和 VL 之胺基酸序列，包括經 Symplex 修正的和生殖細胞系化變體之 SEQ ID NO

抗體編號	VH 蛋白質序列 編號	經 Symplex 修正的 VH 變體	生殖細胞系化 VH 變體	VL 蛋白質序列 編號	經 Symplex 修正的 VL 變體	生殖細胞系化 VL 變體
18040	1	1	96	2	84	106
18049	3	3	3	4	85	107
18098	5	77	97	6	86	86
18113	7	7	98	8	87	108
18201	9	78	99	10	88	88
18247	11	11	100	12	89	109
18250	13	79	101	14	90	110
18325	15	80	102	16	91	91
18366	17	81	81	18	92	111
18400	19	82	103	20	93	112
18413	21	21	104	22	94	113
18483	23	83	105	24	95	114

實施例 4.針對 PD-L1 封阻活性的抗 PD-1 抗體之流式細胞測量術分析

【0202】 此實施例描述藉由流式細胞測量術針對 PD-L1 封阻活性的抗 PD-1 抗體之測試。

方法

【0203】 於細胞分析中研究 PD-L1 配體封阻活性，於該分析中在 CHO-S 細胞上重組地表現人類 PD-1，並藉由流式細胞測量術分析經 R-PE（R-phycoerythrin）標記的人類 PD-L1-Fc 嵌合蛋白質之結合。使用 Lightning-Link[®] R-Phycoerythrin 綴合套組（Innova Biosciences, UK）使商業上可購得的重組 PD-L1-Fc 嵌合蛋白質（R&D Systems, USA）與 R-PE 綴合。暫時轉染 CHO-S 細胞以表現人類 PD-1。接著在冰上以 50 μ l 的 20 μ g/ml 抗 PD-1 抗體培養細胞，然後添加 50 μ l 大約 3.4 μ g/ml 的經 R-PE 標記的 PD-L1-Fc（最終濃度 16.4 nM）並進一步培養另外 20 min（最終抗 PD-1 抗體濃度：10 μ g/ml）。使用與 APC（別藻藍蛋白）綴合的抗人類 IgG 輕鏈抗體偵測結合的抗體。藉由分別偵測 R-PE 和 APC 螢光的流式細胞測量術定量 PD-L1 和抗 PD-1 抗體之結合。

結果

【0204】 此競爭實驗之結果係於圖 2(a) - 2(h)中呈現，其中 X 軸（水平）顯示 PD-L1 結合，且 Y 軸（垂直）顯示人類 IgG 結合。所有所測試的抗 PD-1 抗體於 10 μ g/ml 的最終抗體濃度皆能夠抑制 PD-1 與 PD-L1 的交互

作用。將 PD-L1 與 PD-1 表現性細胞於非專一性抗體之存在下的結合用作為 PD-L1 封阻之負對照組。此外，呈現 PD-L1 於非封阻性抗體之存在下的結合代表圖。

實施例 5. PD-1 抗體對人類和食蟹獼猴 PD-1 ECD 抗原的親和力之測量

【0205】 此實施例展示十二種功能性抗 PD-1 抗體如何展現針對人類 PD-1 的強結合親和力，具有範圍在低 nM 至中 pM 的 K_D 。相同的抗體亦以範圍在中至低 nM 的 K_D 與食蟹獼猴 PD-1 交叉反應。抗體 18201 和 18400 亦以範圍在中或低 nM 的 K_D 與小鼠 PD-1 交叉反應。

方法

【0206】 藉由表面電漿子共振 (SPR) 使用連續流微點樣器 (CFM, Wasatch Microfluidics, US) 組合 Ibis MX96 SPR 儀器 (IBIS Technologies, 荷蘭) 執行動力學結合分析。在 G-a-hu-IgG Fc SensEye® SPR 感應器 (Ssens BV, 荷蘭) 上執行表面電漿子共振成像分析。在 PBS-T (1x PBS, 具有 0.05% Tween 20, pH 7.4) 中將以 IgG₁ LALA 形式 (即具有突變 L234A/L235A) 表現的抗 PD-1 抗體稀釋至 2.5 nM。使用連續流微點樣器 (CFM, Wasatch Microfluidics, 鹽湖城, US) 將抗體點樣至 G-a-hu-IgG Fc SensEye® 上共 15 分鐘。於點樣後，將 SensEye® 放置在 IBIS MX96 生物感應器中，並使用 Fix It 套組 (Ssens BV, 荷蘭) 將抗體化學固定至感應器表面。動力學分析係藉由施加動力學滴定系列 (Karlsson 等人, Anal. Biochem. 349(1):136-47 (2006)) 執行，其中以 2 nM 至 100 nM 的漸增濃度注射單體 PD-1 抗原且於

各個抗原注射後無施用表面再生步驟。於三個分開的實驗中測試與人類 PD-1 ECD (Acro Biosystems cat. no. PD1-H52219)、小鼠 PD-1 ECD (Sino Biological. cat. no. 50124-M08H) 和食蟹獼猴 PD-1 ECD (Acro BioSystems cat. no. PD1-C5223) 的結合。執行抗原締合共 15 分鐘並執行抗原解離共 60 分鐘。於 25°C 下執行動力學分析。於完成後，使用 Scrubber 2 軟體將所記錄的結合反應擬合至簡單朗謬 1:1 結合模式以用於結合速率 (k_{on} 或 k_a)、解離速率 (k_{off} 或 k_d) 和親和力 (K_D) 常數之計算。

結果

【0207】 表面電漿子共振 (SPR) 結果係在以下表 6 中顯示。大體而言，抗體有高親和力且所有所測試的抗體皆與食蟹獼猴 PD-1 交叉反應。抗體 18201 和 18400 亦與小鼠 PD-1 交叉反應，而此指出相較於其他 PD-1 抗體 (包括參考抗體、派姆單抗和納武單抗 (其等不與小鼠 PD-1 交叉反應))，被此二種抗體辨識的表位係獨特的。此等特性係有利的，因為其等允許該等抗體於在人類對象中測試前在非人類靈長類動物或鼠類模型中直接測試。

表 6. 抗 PD-1 抗體與人類、食蟹獼猴或小鼠 PD-1 ECD 的結合之動力學，如由表面電漿子共振 (SPR) 測量的。(N.B. = 不結合)

抗體	PD-1 ECD	$k_{on} (M^{-1}s^{-1})$	$k_{off} (s^{-1})$	$K_D (M)$
18040	人類	2.6E+05	1.1E-04	4.1E-10
18040	食蟹獼猴	3.4E+05	9.7E-04	2.9E-09
18040	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.
18049	人類	3.4E+04	6.0E-05	1.8E-09
18049	食蟹獼猴	3.8E+04	8.0E-05	2.1E-09
18049	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.
18098	人類	1.0E+05	2.3E-04	2.3E-09
18098	食蟹獼猴	3.9E+04	1.3E-03	3.4E-08
18098	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.
18113	人類	1.7E+05	1.0E-04	6.0E-10
18113	食蟹獼猴	1.4E+05	7.6E-04	5.3E-09
18113	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.
18201	人類	2.9E+05	1.3E-04	4.3E-10
18201	食蟹獼猴	1.9E+05	2.3E-04	1.2E-09
18201	小鼠	3.8E+04	7.3E-05	1.9E-09
18247	人類	1.1E+05	1.5E-04	1.4E-09
18247	食蟹獼猴	9.8E+04	2.7E-03	2.8E-08
18247	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.

抗體	PD-1 ECD	$k_{on} (M^{-1}s^{-1})$	$k_{off} (s^{-1})$	$K_D (M)$
18250	人類	3.5E+05	2.9E-04	8.3E-10
18250	食蟹獼猴	2.8E+05	1.8E-03	6.4E-09
18250	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.
18325	人類	1.3E+05	1.1E-04	8.2E-10
18325	食蟹獼猴	1.4E+05	6.2E-04	4.3E-09
18325	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.
18366	人類	3.0E+05	4.0E-04	1.3E-09
18366	食蟹獼猴	2.2E+05	6.4E-03	2.9E-08
18366	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.
18400	人類	2.3E+05	3.5E-04	1.6E-09
18400	食蟹獼猴	2.3E+05	8.7E-04	3.7E-09
18400	小鼠	4.7E+03	5.0E-05	1.1E-08
18413	人類	7.7E+04	1.1E-04	1.5E-09
18413	食蟹獼猴	9.7E+04	6.2E-04	6.4E-09
18413	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.
18483	人類	5.8E+05	1.7E-04	2.9E-10
18483	食蟹獼猴	2.6E+05	8.0E-04	3.1E-09
18483	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.
納武單抗類似物	人類	2.4E+05	1.9E-04	8.0E-10

抗體	PD-1 ECD	$k_{on} (M^{-1}s^{-1})$	$k_{off} (s^{-1})$	$K_D (M)$
納武單抗類似物	食蟹獼猴	4.1E+05	6.2E-04	1.5E-09
納武單抗類似物	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.
派姆單抗／吉舒達 (Keytruda)	人類	4.2E+05	1.4E-03	3.4E-09
派姆單抗／吉舒達	食蟹獼猴	3.5E+05	1.3E-03	3.6E-09
派姆單抗／吉舒達	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.

實施例 6.抗 PD-1 單株抗體之試管內功能性評估

【0208】 此實施例展示該十二種抗 PD-1 抗體於以下二種不同的功能性分析中表現如何：葡萄球菌腸毒素 B (SEB) 全血分析和單向混合淋巴細胞反應 (MLR)。該十二種抗 PD-1 mAb 於經 SEB 處理的全血分析中刺激 IL-2 製造或於該單向 MLR 分析中刺激干擾素 γ (IFN- γ) 之製造的能力係如以下描述地評估。

方法

【0209】 SEB 係一種與第 II 型 MHC 分子和 T 細胞受體 (TCR) 之特殊 V β 區域結合並驅動 T 細胞之非專一性刺激的超抗原。此造成多株 T 細胞活化／增殖和細胞介素釋放，包括 IL-2 和 IFN- γ 。以 1 μ g/ml 將 SEB 加至全血，並於培養二日後，收穫上清液並藉由常規 ELISA 測定 IL-2 水平。

【0210】 於單向 MLR 分析中，共培養自兩名不同的健康捐贈者分離的樹突細胞 (DC) 和 CD4-陽性 (CD4⁺) T 細胞以誘發同種抗原專一性反應，導致細胞介素製造和 T 細胞活化／增殖。樹突細胞係於以 20 ng/ml 顆粒細胞-巨噬細胞集落-刺激性因子 (GM-CSF) 和 20 ng/ml 介白素-4 (IL-4) 培養六日時自 CD14⁺單核細胞分化，並將其以 1:10 的比率與從來自健康捐贈者材料的周邊血液單核細胞 (PBMC) 分離的 CD4⁺ T 細胞混合。於培養 5 日後，收穫上清液，並使用 Meso Scale 電致化學發光 (MSD) 細胞介素分析測定 IFN- γ 水平。

【0211】 藉由該等抗體起始濃度為 50 μ g/ml 的二倍稀釋產生劑量反應曲線。

結果

【0212】 該十二種抗體於 SEB 全血分析和單向 MLR 分析中的劑量反應曲線係分別於圖 3(a) - 3(f)和圖 4(a) - 4 (f)中顯示。圖上的各點代表三個重複之平均，而誤差槓代表 SEM。發現該等抗體之所有者於 SEB 全血分析中皆會誘發 IL-2 製造之劑量依賴性增加且於 MLR 分析中皆會誘發 IFN- γ 製造之劑量依賴性增加。

實施例 7.抗 PD-1 單株抗體表位分倉

【0213】 此實施例闡明抗 PD-1 抗體如何基於成對競爭模式分組至表位倉中。屬於不同的表位倉的抗體辨識 PD-1 ECD 上不同的表位。

方法

【0214】 藉由表面電漿子共振 (SPR) 分析使用連續流微點樣器 (CFM) (Wasatch Microfluidics, US) 組合 IBIS MX96 SPR 儀器 (IBIS Technologies, 荷蘭) 執行成對抗體競爭之研究。在 G-a-hu-IgG Fc SensEye® SPR 感應器 (Ssens BV, 荷蘭) 上執行表面電漿子共振成像分析。在含有 0.05% Tween 20 (PBS-T), pH 7.0 的 PBS 緩衝液中將總共十八種抗 PD-1 抗體 (人類, IgG1) 稀釋至 10 µg/mL。藉由使用連續流微點樣器點樣 15 分鐘使抗體被捕捉至抗 Fc 感應器表面上。於點樣後, 將 SensEye® 放置於 IBIS MX96 生物感應器中並藉由注射 30 µg/mL 非專一性人類 IgG1 封阻殘餘的抗 Fc 位置。使用 FixIt 套組 (Ssens BV, 荷蘭) 使被捕捉的抗體綴合至該表面。於感應器製備後, 使用標準三明治分析執行抗體競爭分析。在 HBS-EP 運作緩衝液中稀釋單價 PD-1 ECD 抗原 (Sino Biological, 中國) 並以 50 nM 的濃度注射之並藉由抗 PD-1 抗體之綴合陣列捕捉之。接著。執行被在 HBS-EP 運作緩衝液中稀釋至 100 nM 的該十八種 PD-1 抗體之各者之個別注射以建立抗體競爭模式。於各個競爭循環後, 以 10 mM 甘胺酸 HCl 緩衝液, pH 2.0 再生感應器表面。

結果

【0215】 十八種抗 PD-1 抗體之競爭模式係在圖 5 中呈現。未發現抗體 12866 和 12807 於基於細胞的分析中具有功能活性（數據未來顯示），但包括其等，因為其等辨識對於界定其他表位倉之特徵有用的不同表位。所測試的抗 PD1 抗體可被分至兩個主要的非重疊表位倉。屬於表位倉 1 的功能性抗體皆交叉封阻彼此，且可進一步基於抗體 12866 和 12807 之封阻分至子倉中。例如，封阻 mAb 12866 和 12807 兩者的抗體被分至表位倉 1C。表位倉 1C 包括抗體 18366、18483、18113、18247、18040、和 18250。表位倉 1D 中的抗體包括納武單抗類似物（「Nivo」）和 18049 且特徵在於封阻 mAb 12866 但非 12807。屬於表位倉 1E 的抗體之特徵在於僅僅封阻 mAb 12807。表位倉 1E 包括派姆單抗類似物（「Pembro」）和抗體 18098、18201、18400、18413、和 18325。

【0216】 抗體 12760 和 13112 不封阻 PD-L1 和 PD-L2 配體，且被分至分開的表位倉 2，因為其等交叉封阻彼此但不封阻來自表位倉 1 的抗體之任何者之結合。抗體 12760 和 13112 類似地與 PD-1 上不與 PD-L1 和 PD-L2 配體結合位置重疊的位置結合。

序列表

SEQ ID NO: 1

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS~~DIYM~~XWIRQAPGKGLEWVS~~YIS~~STGSTIYYAD
SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMXSLRAEDTAVYYCARATNWGSDYWGQGTLVTVSS

於位置 35 的 X 係 N 或 S
於位置 84 的 X 係 D 或 N

SEQ ID NO: 2

XIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLXWYQQKPGQPPLLIXWASTRES
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQYYSTPYTFGQGTKVEIK

於位置 1 的 X 係 E 或 D
於位置 40 的 X 係 F 或 A
於位置 55 的 X 係 F 或 Y

SEQ ID NO: 3

QVQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKLEWVAVIWDGSDKYYAD
SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGGNYYGDFWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 4

XIXMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYVASXLQSGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQYNSYPWTFGQGTKVEIK

於位置 1 的 X 係 E 或 D
於位置 3 的 X 係 V 或 Q
於位置 53 的 X 係 N 或 S

SEQ ID NO: 5

XVQLXESGGGLVXPGGSLRLSCAASGFTFSFAMXWVRQAPGKGLXWVSXITGGGTTSYYAD
SVKGRFTISRDNKXTLXLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGSWSAGAFDIWGQGTXVTVSS

於位置 1 的 X 係 Q 或 E
於位置 5 的 X 係 Q 或 V
於位置 13 的 X 係 R 或 Q
於位置 35 的 X 係 N 或 S
於位置 46 的 X 係 V 或 E
於位置 50 的 X 係 T 或 A
於位置 77 的 X 係 S 或 N
於位置 80 的 X 係 F 或 Y
於位置 115 的 X 係 T 或 M

SEQ ID NO: 6

DIXXTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQANSFPWTFGQGTKVEIK

於位置 4 的 X 係 L 或 M

SEQ ID NO: 7

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYAD
SXKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTNWAFDYWGQGTLLTVSS

於位置 64 的 X 係 A 或 V

SEQ ID NO: 8

DIXXTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWTSTRES
GVPDRFXGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQFYSTPRTFGQGTKVEIK

於位置 3 的 X 係 Q 或 V

於位置 4 的 X 係 L 或 M

於位置 69 的 X 係 R 或 S

SEQ ID NO: 9

QVQLXESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSNNWWSWVRQPPGKLEWIGETIYHDGTTXYNP
SLKSRVTISVDKSXNQFSLKXSSVTAADTAVYYCARGDWGSGAFDIWGQGTMTVTVSS

於位置 5 的 X 係 V 或 Q

於位置 59 的 X 係 T 或 N

於位置 76 的 X 係 R 或 K

於位置 83 的 X 係 M 或 L

SEQ ID NO: 10

XIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQDYNYPRTFGQGTKVEIK

於位置 1 的 X 係 D 或 A

SEQ ID NO: 11

QVQLVESGGXLVKPGXSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYAD
SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTNWAFDYWGQGTLLTVSS

於位置 10 的 X 係 D 或 G

於位置 16 的 X 係 R 或 G

SEQ ID NO: 12

XIVXXTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIXWASTRES

GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSSLQAEDVAVYXCQQFYSTPRTFGQGTKVEIK

於位置 1 的 X 係 E 或 D
 於位置 4 的 X 係 L 或 M
 於位置 55 的 X 係 F 或 Y
 於位置 93 的 X 係 F 或 Y

SEQ ID NO: 13

QVQLXESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRDYMSWIRQAPGKGLEWVSXISSSGSIIXYXD
 SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTNWALDYWGQGTILTVSS

於位置 5 的 X 係 Q 或 V
 於位置 50 的 X 係 H 或 Y
 於位置 59 的 X 係 D 或 Y
 於位置 61 的 X 係 V 或 A

SEQ ID NO: 14

DIXXTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIXWASTRES
 GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSSLQAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGQGTKLEIK

於位置 3 的 X 係 Q 或 V
 於位置 4 的 X 係 L 或 M
 於位置 55 的 X 係 S 或 Y

SEQ ID NO: 15

XVQLXXSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHVMXWVRQAPGKGLEWVXXISGSGVDITYAD
 SVKGRFTISRXNSKNXLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGSWSAGAFDIWGQGTMTVTVSS

於位置 1 的 X 係 Q 或 E
 於位置 5 的 X 係 Q 或 V
 於位置 6 的 X 係 Q 或 E
 於位置 35 的 X 係 N 或 S
 於位置 49 的 X 係 A 或 S
 於位置 50 的 X 係 T 或 A
 於位置 73 的 X 係 G 或 D
 於位置 78 的 X 係 M 或 T

SEQ ID NO: 16

XIXXTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF
 SGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQANSFPWTFGQGTKVEIK

於位置 1 的 X 係 E 或 D
 於位置 3 的 X 係 V 或 Q
 於位置 4 的 X 係 L 或 M

SEQ ID NO: 17

XVQLVXSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVD
SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTNWGFDNWGQGLTVTVSS

於位置 1 的 X 係 Q 或 E

於位置 6 的 X 係 Q 或 E

SEQ ID NO: 18

XIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLXWYQQKPGQPPKLLIXWASTRES
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGQGTKLEIK

於位置 1 的 X 係 E 或 D

於位置 40 的 X 係 L 或 A

於位置 55 的 X 係 F 或 Y

SEQ ID NO: 19

XQQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSNWSWVRQPPXKGLEWXGEIFHDGTTXYNP
XSLKSRVTXSVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGNWGSGALDIWGXGTMVTVSS

於位置 2 的 X 係 L 或 V

於位置 43 的 X 係 K 或 G

於位置 49 的 X 係 V 或 I

於位置 59 的 X 係 S 或 N

於位置 70 的 X 係 M 或 I

於位置 111 的 X 係 P 或 Q

SEQ ID NO: 20

XIXMTQSPSXLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQDYNYPRTFGQGTKVEIK

於位置 1 的 X 係 E 或 A

於位置 3 的 X 係 V 或 Q

於位置 10 的 X 係 P 或 S

SEQ ID NO: 21

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFVMSWVRQAPGKGLEWXSISGGGGSTYYAD
SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDWDLYYFDYWGQGLTVTVSS

於位置 48 的 X 係 L 或 V

於位置 50 的 X 係 T 或 A

SEQ ID NO: 22

DIQXTQSPSSVXASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF

SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIK

於位置 4 的 X 係 L 或 M

於位置 12 的 X 係 P 或 S

SEQ ID NO: 23

XVQLXXSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMXWVRQAPGKGLEWVANIKEDGNEKYYVD
SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTNWGSDYWGQGTTLVTVSS

於位置 1 的 X 係 Q 或 E

於位置 5 的 X 係 Q 或 V

於位置 6 的 X 係 Q 或 E

於位置 35 的 X 係 N 或 S

SEQ ID NO: 24

DIXMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYSSNNKNYLXWYQQKPGQPPLKLLIXWASTRES
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGQGTKLEIK

於位置 3 的 X 係 Q 或 V

於位置 40 的 X 係 L 或 A

於位置 55 的 X 係 F 或 Y

恆定抗體序列

SEQ ID NO: 25 (IgHC DNA 序列)

GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGA
ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCCTCAGGACTC
TACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTG
CAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG
ACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGCCGGGGGACCGTCAGTCTTC
CTCTTCCCCCCTAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT
GGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG
AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC
AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTC
CAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAG
AACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCCTG
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA
GCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCT
ATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTG
ATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAA

SEQ ID NO: 26 (IgHC 蛋白質序列)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF

LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 27 (IgKC DNA 序列)

CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGG
AACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGA
AGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG
GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAA
AGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACA
GGGAGAGCTGT

SEQ ID NO: 28 (IgKC 蛋白質序列)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 29 (18040/18113/18247 H-CDR1)

GFTFSDYY

SEQ ID NO: 30 (18040 H-CDR2)

ISSTGSTI

SEQ ID NO: 31 (18040 H-CDR3)

CARATNWGSDY

SEQ ID NO: 32 (18040/18366 L-CDR1)

QSVLYSSNNKNY

SEQ ID NO: 33 (18040/18247/18250/18366/18483 L-CDR2)

WAS

SEQ ID NO: 34 (18040/18250/18366/18483 L-CDR3)

CQQYYSTPYT

SEQ ID NO: 35 (18049 H-CDR1)

GFTFSNYG

SEQ ID NO: 36 (18049 H-CDR2)

IWYDGSDK

SEQ ID NO: 37 (18049 H-CDR3)

CAGGGNYYGDF

SEQ ID NO: 38 (18049/18201/18400 L-CDR1)
QGIRND

SEQ ID NO: 39 (18049 L-CDR2)
VAS

SEQ ID NO: 40 (18049 L-CDR3)
CLQYNSYPWT

SEQ ID NO: 41 (18098 H-CDR1)
GFTFSSFA

SEQ ID NO: 42 (18098 H-CDR2)
ITGGGTTS

SEQ ID NO: 43 (18098/18325 H-CDR3)
CAKWGSWSAGAFDI

SEQ ID NO: 44 (18098/18325 L-CDR1)
QGISSW

SEQ ID NO: 45 (18098/18201/18325/18400/18413 L-CDR2)
AAS

SEQ ID NO: 46 (18098/18325 L-CDR3)
CQQANSFPWT

SEQ ID NO: 47 (18113 H-CDR2)
ISSSGSTI

SEQ ID NO: 48 (18113/18247 H-CDR3)
CARDTNWAFDY

SEQ ID NO: 49 (18113 L-CDR1)
QSVFYANNKNY

SEQ ID NO: 50 (18113 L-CDR2)
WTS

SEQ ID NO: 51 (18113/18247 L-CDR3)
CQQFYSTPRT

SEQ ID NO: 52 (18201 H-CDR1)
GGSISSNNW

SEQ ID NO: 53 (18201 H-CDR2)
IYHDGTT

SEQ ID NO: 54 (18201 H-CDR3)
CARGDWGSGAFDI

SEQ ID NO: 55 (18201/18400 L-CDR3)
CLQDYNYPRT

SEQ ID NO: 56 (18247 H-CDR2)
ISSSSSTI

SEQ ID NO: 57 (18247/18250/18483 L-CDR1)
QSVFYSSNNKNY

SEQ ID NO: 58 (18250 H-CDR1)
GFTFRDYY

SEQ ID NO: 59 (18250 H-CDR2)
ISSSGSII

SEQ ID NO: 60 (18250 H-CDR3)
CARDTNWALDY

SEQ ID NO: 61 (18325 H-CDR1)
GFTFSSHV

SEQ ID NO: 62 (18325 H-CDR2)
ISGSGVDT

SEQ ID NO: 63 (18366 H-CDR1)
GFTFSSYW

SEQ ID NO: 64 (18366 H-CDR2)
IKQDGSEK

SEQ ID NO: 65 (18366 H-CDR3)
CARDTNWGFDN

SEQ ID NO: 66 (18400 H-CDR1)
GGSISSSNW

SEQ ID NO: 67 (18400 H-CDR2)

IFHDGTT

SEQ ID NO: 68 (18400 H-CDR3)
CARGNWGSGALDI

SEQ ID NO: 69 (18413 H-CDR1)
GFTFSSFV

SEQ ID NO: 70 (18413 H-CDR2)
ISGGGGST

SEQ ID NO: 71 (18413 H-CDR3)
CAKDWDLYYFDY

SEQ ID NO: 72 (18413 L-CDR1)
QGISNW

SEQ ID NO: 73 (18413 L-CDR3)
CQQANSFPLT

SEQ ID NO: 74 (18483 H-CDR1)
GFTFSDYW

SEQ ID NO: 75 (18483 H-CDR2)
IKEDGNEK

SEQ ID NO: 76 (18483 H-CDR3)
CARDTNWGSDY

SEQ ID NO: 77
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSSFAMSWVRQAPGKGLVWVSTITGGGTTSYY
ADSVKGRFTISRDNKSTLFLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGSWSAGAFDIWGQGTMTVTVSS

SEQ ID NO: 78
QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSNNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIYHDGTTTY
NPSLKSRVTISVDKSRNQFSLKMSSVTAADTAVYYCARGDWGSGAFDIWGQGTMTVTVSS

SEQ ID NO: 79
QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRDYMSWIRQAPGKGLEWVSHISSSGSIIDY
VDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTNWALDYWGQGTMTVTVSS

SEQ ID NO: 80
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHVMNWVRQAPGKGLEWVATISGSGVDITY
ADSVKGRFTISRGNSKNMLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGSWSAGAFDIWGQGTMTVTVSS

SEQ ID NO: 81

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYY
VDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTNWGFDNWGQGT LVTVSS

SEQ ID NO: 82

QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPKKGLEWVGEIFHDGTTSY
NPSLKSRVTMSVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGNWGSGALDIWGP GTMVTVSS

SEQ ID NO: 83

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMNWVRQAPGKGLEWVANIKEDGNEKYY
VDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTNWGSDYWGQGT LVTVSS

SEQ ID NO: 84

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLFWYQQKPGQPPKLLIFWASTR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYYSTPYTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 85

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYVASNLQSGVPS
RFGSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLOYNSTPYTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 86

DIQLTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFGSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPWTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 87

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWTSTR
ESGVPDRFRGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQFYSTPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 88

AIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFGSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLODYNPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 89

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIFWASTR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQFYSTPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 90

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLISWASTR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYYSTPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 91

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFGSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPWTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 92

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLLWYQQKPGQPPKLLIFWASTR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 93

AIQMTQSPSPLSASVGDRVITITCRASQGI RNDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQDYNYPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 94

DIQLTQSPSSVPASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQANSFPLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 95

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYSSNNKNYLLWYQQKPGQPPKLLIFWASTR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 96

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSTGSTIYY
ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARATNWGSDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 97

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAITGGGTTSYY
ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLRAEDTAVYYCAKWGSWSAGAFDIWGQGTMVTVSS

SEQ ID NO: 98

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYY
ADSVVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLRAEDTAVYYCARDTNWAFDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 99

QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSNNWWSWVRQPPGKLEWIGEIYHDGTTNY
NPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGDWGSGAFDIWGQGTMTVTSS

SEQ ID NO: 100

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYY
ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLRAEDTAVYYCARDTNWAFDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 101

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSIIY
ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLRAEDTAVYYCARDTNWALDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 102

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHVMNWVRQAPGKGLEWVSAISGSGVDTTY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNLSLRAEDTAVYYCAKWGSWSAGAFDIWGQGTMTVTSS

SEQ ID NO: 103

QVQLQESGPGLVKPSGTL~~SLT~~CAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHDGTTN
NPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGNWGSGALDIWGQGTMVTVSS

SEQ ID NO: 104

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFFVMSWVRQAPGKGLEWVSAISGGGGSTYY
ADSVKGRFTISRDN~~SKNT~~LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDWDLYYFDYWGGQGLVTVSS

SEQ ID NO: 105

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKEDGNEKYY
VDSVKGRFTISRDN~~AKNS~~LYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTNWGS~~DIW~~GGQGLVTVSS

SEQ ID NO: 106

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS~~SL~~QAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 107

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYVASSLQSGVPS
RFGSGSGSGTEFTLTIS~~SL~~QPEDFATYYCLQYNSYPWTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 108

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWTSTR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS~~SL~~QAEDVAVYYCQQFYSTPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 109

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS~~SL~~QAEDVAVYYCQQFYSTPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 110

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS~~SL~~QAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 111

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS~~SL~~QAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 112

AIQMTQSPSSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFGSGSGSGTDFTLTIS~~SL~~QPEDFATYYCLQDYNYPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 113

DIQLTQSPSSVPASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFGSGSGSGTDFTLTIS~~SL~~QPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 114

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 115

GGGSGGGSGGGGS

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

【序列表】(請換頁單獨記載)

序列表

<110> 丹麥商賽門弗鎮公司（Symphogen A/S）

<120> 抗PD-1抗體及組成物

<140> TW 106139948

<141> 2017-11-17

<150> US 62/424,163

<151> 2016-11-18

<160> 115

<170> Patent In第3.5版

<210> 1

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>

<221> 變體

<222> (35)..(35)

<223> /置換="Ser"

<220>

<221> 變體

<222> (84)..(84)

<223> /置換="Asn"

<220>

<221> 雜項_特徵

<222> (1)..(117)

<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基對於該等於注解中者對於變體位置沒有偏好"

<400> 1

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Tyr Ile Ser Ser Thr Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Ala Thr Asn Trp Gly Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> /置換="Asp"

<220>
<221> 變體
<222> (40)..(40)
<223> /置換="Ala"

<220>

<221> 變體
<222> (55)..(55)
<223> /置換="Tyr"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(113)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

<400> 2
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

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

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

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

Lys

<210> 3
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 3
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Gly Gly Gly Asn Tyr Tyr Gly Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 4
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>
<221> 變體

<222> (1)..(1)
<223> /置換="Asp"

<220>
<221> 變體
<222> (3)..(3)
<223> /置換="Gln"

<220>
<221> 變體
<222> (53)..(53)
<223> /置換="Ser"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(107)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

<400> 4
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

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

Tyr Val Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp
 85 90 95

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

<210> 5

<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> /置換="Glu"

<220>
<221> 變體
<222> (5)..(5)
<223> /置換="Val "

<220>
<221> 變體
<222> (13)..(13)
<223> /置換="Gln"

<220>
<221> 變體
<222> (35)..(35)
<223> /置換="Ser"

<220>
<221> 變體
<222> (46)..(46)
<223> /置換="Glu"

<220>
<221> 變體
<222> (50)..(50)
<223> /置換="Ala"

<220>
<221> 變體
<222> (77)..(77)
<223> /置換="Asn"

<220>
<221> 變體
<222> (80)..(80)
<223> /置換="Tyr"

<220>
<221> 變體
<222> (115)..(115)
<223> /置換="Met"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(120)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

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

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

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

Ser Thr Ile Thr Gly Gly Gly Thr Thr Ser Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Trp Gly Ser Trp Ser Ala Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 6
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (4)..(4)
<223> /置換="Met"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(107)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基對於該等於注解中者對於變體位置沒有偏好"

<400> 6
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Trp
 85 90 95

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

<210> 7
<211> 117
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>

<221> 變體

<222> (64)..(64)

<223> /置換="Val"

<220>

<221> 雜項_特徵

<222> (1)..(117)

<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基對於該等於注解中者對於變體位置沒有偏好"

<400> 7

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

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

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Ala
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Thr Asn Trp Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 8
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (3)..(3)
<223> /置換="Val"

<220>
<221> 變體
<222> (4)..(4)
<223> /置換="Met"

<220>
<221> 變體
<222> (69)..(69)
<223> /置換="Ser"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(113)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

<400> 8
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

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

Lys

<210> 9
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (5)..(5)
<223> /置換="Gln"

<220>
<221> 變體
<222> (59)..(59)
<223> /置換="Asn"

<220>
<221> 變體
<222> (76)..(76)
<223> /置換="Lys"

<220>
<221> 變體
<222> (83)..(83)
<223> /置換="Leu"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(119)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

<400> 9
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn
 20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Asp Gly Thr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

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

Leu Lys Met Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Asp Trp Gly Ser Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115

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

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> /置換="Ala"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(107)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

<400> 10
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Pro Arg
 85 90 95

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

<210> 11
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的"

多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (10)..(10)
<223> /置換="Gly"

<220>
<221> 變體
<222> (16)..(16)
<223> /置換="Gly"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(117)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

<400> 11
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

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

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Thr Asn Trp Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 12
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> /置換="Asp"

<220>
<221> 變體
<222> (4)..(4)
<223> /置換="Met"

<220>
<221> 變體
<222> (55)..(55)
<223> /置換="Tyr"

<220>
<221> 變體
<222> (93)..(93)
<223> /置換="Tyr"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(113)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基對於該等於注解中者對於變體位置沒有偏好"

<400> 12
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

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

Phe Tyr Ser Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 13
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (5)..(5)
<223> /置換="Val"

<220>
<221> 變體
<222> (50)..(50)
<223> /置換="Tyr"

<220>
<221> 變體
<222> (59)..(59)
<223> /置換="Tyr"

<220>
<221> 變體
<222> (61)..(61)
<223> /置換="Ala"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(117)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

<400> 13
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 Arg Asp Tyr
 20 25 30

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

Ser His Ile Ser Ser Ser Gly Ser Ile Ile Asp Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Thr Asn Trp Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 14
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (3)..(3)
<223> /置換="Val"

<220>
<221> 變體
<222> (4)..(4)
<223> /置換="Met"

<220>
<221> 變體
<222> (55)..(55)
<223> /置換="Tyr"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(113)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基對於該等於注解中者對於變體位置沒有偏好"

<400> 14
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

95

Lys

<222> (50)..(50)

<223> /置換="Ala"

<220>

<221> 變體

<222> (73)..(73)

<223> /置換="Asp"

<220>

<221> 變體

<222> (78)..(78)

<223> /置換="Thr"

<220>

<221> 雜項_特徵

<222> (1)..(120)

<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

<400> 15

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

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

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

Ala	Thr	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Val	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
		50				55					60				

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

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

Ala	Lys	Trp	Gly	Ser	Trp	Ser	Ala	Gly	Ala	Phe	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln
		100					105						110		

Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser
		115				120	

<210> 16
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> /置換="Asp"

<220>
<221> 變體
<222> (3)..(3)
<223> /置換="Gln"

<220>
<221> 變體
<222> (4)..(4)
<223> /置換="Met"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(107)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基對於該等於注解中者對於變體位置沒有偏好"

<400> 16
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

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

Ala Arg Asp Thr Asn Trp Gly Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 18
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> /置換="Asp"

<220>
<221> 變體
<222> (40)..(40)
<223> /置換="Ala"

<220>
<221> 變體
<222> (55)..(55)
<223> /置換="Tyr"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(113)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

<400> 18
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Leu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

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

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

Lys

<210> 19
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (2)..(2)
<223> /置換="Val"

<220>
<221> 變體
<222> (43)..(43)
<223> /置換="Gly"

<220>
<221> 變體
<222> (49)..(49)
<223> /置換="Ile"

<220>
<221> 變體
<222> (59)..(59)
<223> /置換="Asn"

<220>
<221> 變體
<222> (70)..(70)
<223> /置換="Ile"

<220>
<221> 變體
<222> (111)..(111)
<223> /置換="Gln"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(119)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

<400> 19
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
 20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Lys Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45

Val Gly Glu Ile Phe His Asp Gly Thr Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asn Trp Gly Ser Gly Ala Leu Asp Ile Trp Gly Pro Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 20
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> /置換="Ala"

<220>
<221> 變體
<222> (3)..(3)
<223> /置換="Gln"

<220>
<221> 變體
<222> (10)..(10)
<223> /置換="Ser"

<220>
<221> 雜項_特徵

<222> (1)..(107)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

<400> 20
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Pro Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Pro Arg
 85 90 95

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

<210> 21
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (48)..(48)
<223> /置換="Val"

<220>
<221> 變體
<222> (50)..(50)
<223> /置換="Ala"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(118)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

<400> 21
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Thr Ile Ser Gly Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Trp Asp Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 22
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (4)..(4)
<223> /置換="Met"

<220>
<221> 變體
<222> (12)..(12)
<223> /置換="Ser"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(107)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基對於該等於注解中者對於變體位置沒有偏好"

<400> 22
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Pro Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp
 20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 23
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>
<221> 變體
<222> (1)..(1)
<223> /置換="Glu"

<220>
<221> 變體
<222> (5)..(5)
<223> /置換="Val"

<220>
<221> 變體
<222> (6)..(6)
<223> /置換="Glu"

<220>
<221> 變體
<222> (35)..(35)
<223> /置換="Ser"

<220>
<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(117)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基對於該等於注解中者對於變體位置沒有偏好"

<400> 23
Gln Val Gln Leu Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

Ala Asn Ile Lys Glu Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

505560

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65707580

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

859095

Ala Arg Asp Thr Asn Trp Gly Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100105110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 24

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<220>

<221> 變體

<222> (3)..(3)

<223> /置換="Val"

<220>

<221> 變體

<222> (40)..(40)

<223> /置換="Ala"

<220>

<221> 變體

<222> (55)..(55)

<223> /置換="Tyr"

<220>

<221> 雜項_特徵
<222> (1)..(113)
<223> /註釋="此序列中給出的變體殘基
對於該等於注解中者對於變體位置
沒有偏好"

<400> 24
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Leu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

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

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

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

Lys

<210> 25
<211> 990
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多核苷酸"

<400> 25

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcacccct cctccaagag cacctctggg	60
ggcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgtcg	120
tggaaactcag gcgccccgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcccca	180
ggactctact ccttcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc	240
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc	300
aaatcttgtg aaaaaactca cacatgcccc ccgtgcccag cacctgaagc cggcggggga	360
ccgtcagtct tctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctt	420
gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg	480
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac	540
agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtctgcacc aggactggct gaatggcaag	600
gagtacaagt gcaaggcttc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc	660
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggaggag	720
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaa gcttctatcc cagcgacatc	780
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg	840
ctggactccg acggctcctt ctctcttat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg	900
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg	960
cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa	990

<210> 26
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 26
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 27
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多核苷酸"

<400> 27	
cgtacggtgg ctgcaccatc tgtcttcac tccccccat ctgatgagca gttgaaatct	60
ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag	120
tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac	180
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag	240
aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaag	300

agcttcaaca ggggagagtg t321

<210> 28
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 28
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 29
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 29
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 30
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 30
Ile Ser Ser Thr Gly Ser Thr Ile
1 5

<210> 31
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 31
Cys Ala Arg Ala Thr Asn Trp Gly Ser Asp Tyr
1 5 10

<210> 32
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 32
Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1	5	10
<210> 33		
<211> 3		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 來源		
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽"		
<400> 33		
Trp Ala Ser		
1		
<210> 34		
<211> 10		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 來源		
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽"		
<400> 34		
Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr		
1	5	10
<210> 35		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 來源		
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽"		
<400> 35		
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly		
1	5	
<210> 36		
<211> 8		

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 36
Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys
1 5

<210> 37
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 37
Cys Ala Gly Gly Gly Asn Tyr Tyr Gly Asp Phe
1 5 10

<210> 38
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 38
Gln Gly Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 39
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 39
Val Ala Ser
1

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

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 40
Cys Leu Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5 10

<210> 41
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 41
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ala
1 5

<210> 42
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 42
Ile Thr Gly Gly Gly Thr Thr Ser

1	5
<210> 43	
<211> 14	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 來源	
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽"	
<400> 43	
Cys Ala Lys Trp Gly Ser Trp Ser Ala Gly Ala Phe Asp Ile	
1	510
<210> 44	
<211> 6	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 來源	
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽"	
<400> 44	
Gln Gly Ile Ser Ser Trp	
1	5
<210> 45	
<211> 3	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 來源	
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽"	
<400> 45	
Ala Ala Ser	
1	
<210> 46	
<211> 10	

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 46
Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Trp Thr
1 5 10

<210> 47
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 47
Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile
1 5

<210> 48
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 48
Cys Ala Arg Asp Thr Asn Trp Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 49
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 49
Gln Ser Val Phe Tyr Ser Ala Asn Asn Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 50
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 50
Trp Thr Ser
1

<210> 51
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 51
Cys Gln Gln Phe Tyr Ser Thr Pro Arg Thr
1 5 10

<210> 52
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 52
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn Asn Trp

1	5
<210> 53 <211> 7 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <221> 來源 <223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽" <400> 53 Ile Tyr His Asp Gly Thr Thr 15	
<210> 54 <211> 13 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <221> 來源 <223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽" <400> 54 Cys Ala Arg Gly Asp Trp Gly Ser Gly Ala Phe Asp Ile 1510	
<210> 55 <211> 10 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <221> 來源 <223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽" <400> 55 Cys Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Pro Arg Thr 1510	
<210> 56 <211> 8	

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 56
Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile
1 5

<210> 57
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 57
Gln Ser Val Phe Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 58
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 58
Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 59
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 59
Ile Ser Ser Ser Gly Ser Ile Ile
1 5

<210> 60
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 60
Cys Ala Arg Asp Thr Asn Trp Ala Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 61
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 61
Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Val
1 5

<210> 62
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 62
Ile Ser Gly Ser Gly Val Asp Thr

1	5
<210> 63 <211> 8 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <221> 來源 <223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽" <400> 63 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp 15	
<210> 64 <211> 8 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <221> 來源 <223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽" <400> 64 Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys 15	
<210> 65 <211> 11 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <221> 來源 <223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽" <400> 65 Cys Ala Arg Asp Thr Asn Trp Gly Phe Asp Asn 1510	
<210> 66 <211> 9	

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 66
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Asn Trp
1 5

<210> 67
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 67
Ile Phe His Asp Gly Thr Thr
1 5

<210> 68
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 68
Cys Ala Arg Gly Asn Trp Gly Ser Gly Ala Leu Asp Ile
1 5 10

<210> 69
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 69
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Val
1 5

<210> 70
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 70
Ile Ser Gly Gly Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 71
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 71
Cys Ala Lys Asp Trp Asp Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 72
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 72
Gln Gly Ile Ser Asn Trp

1	5
<210> 73	
<211> 10	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 來源	
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽"	
<400> 73	
Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr	
1 5 10	
<210> 74	
<211> 8	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 來源	
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽"	
<400> 74	
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Trp	
1 5	
<210> 75	
<211> 8	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 來源	
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的 胜肽"	
<400> 75	
Ile Lys Glu Asp Gly Asn Glu Lys	
1 5	
<210> 76	
<211> 11	

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 76
Cys Ala Arg Asp Thr Asn Trp Gly Ser Asp Tyr
1 5 10

<210> 77
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 77
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Thr Ile Thr Gly Gly Gly Thr Thr Ser Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Lys Trp Gly Ser Trp Ser Ala Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 78
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 78
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Asp Gly Thr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

Leu Lys Met Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Trp Gly Ser Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 79

<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 79
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30

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

Ser His Ile Ser Ser Ser Gly Ser Ile Ile Asp Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Thr Asn Trp Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 80
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的

多肽"

<400> 80
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ala Thr Ile Ser Gly Ser Gly Val Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Lys Trp Gly Ser Trp Ser Ala Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 81
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 81
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Thr Asn Trp Gly Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 82
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 82
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Lys Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Val	Gly	Glu	Ile	Phe	His	Asp	Gly	Thr	Thr	Ser	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu
50						55					60				
Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Met	Ser	Val	Asp	Lys	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser
65					70				75						80
Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Gly	Asn	Trp	Gly	Ser	Gly	Ala	Leu	Asp	Ile	Trp	Gly	Pro	Gly
			100					105					110		
Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
				115											
<210> 83															
<211> 117															
<212> PRT															
<213> 人工序列															
<220>															
<221> 來源															
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"															
<400> 83															
Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr
			20					25					30		
Trp	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Asn	Ile	Lys	Glu	Asp	Gly	Asn	Glu	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val
	50					55				60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr
65					70				75					80	

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

Ala Arg Asp Thr Asn Trp Gly Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 84
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 84
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

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

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

	100	105	110
Lys			
<210> 85			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<221> 來源			
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"			
<400> 85			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1 5 10 15			
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp			
20 25 30			
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile			
35 40 45			
Tyr Val Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50 55 60			
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65 70 75 80			
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp			
85 90 95			
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
100 105			
<210> 86			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列			

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 86
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Trp
 85 90 95

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

<210> 87
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 87
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Phe Tyr Ser Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 88
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 88
Ala Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Pro Arg
85 90 95

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

<210> 89
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 89
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

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

Phe Tyr Ser Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 90
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 90
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 91
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 91
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Trp
 85 90 95

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

<210> 92
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的

多肽"

<400> 92															
Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Asp	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	Gly
1				5					10					15	
Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Asn	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Val	Leu	Tyr	Ser
			20					25					30		
Ser	Asn	Asn	Lys	Asn	Tyr	Leu	Leu	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln
			35				40					45			
Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Phe	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Ser	Gly	Val
			50				55				60				
Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr
65					70					75				80	
Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Ala	Glu	Asp	Val	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln
				85					90					95	
Tyr	Tyr	Ser	Thr	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile
			100					105					110		

Lys

<210> 93
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 93															
Ala	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Pro	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Pro Arg
85 90 95

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

<210> 94
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 94
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Pro Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Lys

<210> 96
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 96
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

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

Ser Tyr Ile Ser Ser Thr Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Ala Thr Asn Trp Gly Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 97

<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 97
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Thr Gly Gly Gly Thr Thr Ser Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Lys Trp Gly Ser Trp Ser Ala Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 98
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的

多肽"																			
<400> 98																			
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly				
1				5					10					15					
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr				
			20						25					30					
Tyr	Met	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val				
		35					40						45						
Ser	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Gly	Ser	Thr	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val				
	50					55					60								
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr				
65					70					75					80				
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
				85					90					95					
Ala	Arg	Asp	Thr	Asn	Trp	Ala	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu				
			100					105					110						
Val	Thr	Val	Ser	Ser															
		115																	
<210> 99																			
<211> 119																			
<212> PRT																			
<213> 人工序列																			
<220>																			
<221> 來源																			
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的																			
多肽"																			
<400> 99																			
Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Gly				
1				5					10					15					

Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Ser	Gly	Gly	Ser	Ile	Ser	Ser	Asn
			20					25					30		
Asn	Trp	Trp	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
		35					40					45			
Ile	Gly	Glu	Ile	Tyr	His	Asp	Gly	Thr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu
	50					55					60				
Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Lys	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser
65					70					75					80
Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Gly	Asp	Trp	Gly	Ser	Gly	Ala	Phe	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly
			100					105					110		
Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
															115
<210> 100															
<211> 117															
<212> PRT															
<213> 人工序列															
<220>															
<221> 來源															
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"															
<400> 100															
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr
			20					25					30		
Tyr	Met	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35				40						45			

Ser	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Thr	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
50						55						60			
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90					95	
Ala	Arg	Asp	Thr	Asn	Trp	Ala	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
			100						105					110	
Val	Thr	Val	Ser	Ser											
			115												
<210> 101															
<211> 117															
<212> PRT															
<213> 人工序列															
<220>															
<221> 來源															
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"															
<400> 101															
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Arg	Asp	Tyr
			20					25					30		
Tyr	Met	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Gly	Ser	Ile	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
		50					55					60			
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr
65					70					75					80

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

Ala Arg Asp Thr Asn Trp Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 102
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 102
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Val Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Trp Gly Ser Trp Ser Ala Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

	100		105		110
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser					
	115		120		
<210> 103					
<211> 119					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<221> 來源					
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"					
<400> 103					
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly					
1	5		10		15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser					
	20		25		30
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp					
	35		40		45
Ile Gly Glu Ile Phe His Asp Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu					
	50		55		60
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser					
65		70		75	80
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys					
	85		90		95
Ala Arg Gly Asn Trp Gly Ser Gly Ala Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly					
	100		105		110
Thr Met Val Thr Val Ser Ser					
	115				

<210> 104
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 104
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Ser Gly Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Trp Asp Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 105
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 105
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

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

Ala Asn Ile Lys Glu Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Thr Asn Trp Gly Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 106
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 106
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Lys

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

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 107
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

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

Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp
85 90 95

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

<210> 108
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 108
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

95

Lys

<213> 人工序列

<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

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

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

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

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

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

Phe Tyr Ser Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 110
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 110
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 111
<211> 113
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 111

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 112

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註釋="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 112
Ala Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Asn Tyr Pro Arg
 85 90 95

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

<210> 113
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
 多肽"

<400> 113
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Pro Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp
 20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 114
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
多肽"

<400> 114
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85					90					95					
Tyr	Tyr	Ser	Thr	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile
100					105					110					

Lys

<210> 115
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註釋="人工序列之描述：合成的
胜肽"

<400> 115
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

申請專利範圍

1. 一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其中該抗體包含分別為 SEQ ID NO: 52、53、54、38、45、和 55 之 H-CDR1-3 和 L-CDR1-3 胺基酸序列。
2. 一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其中該抗體包含重鏈可變域和輕鏈可變域，其中該重鏈可變域和輕鏈可變域具有以下者之胺基酸序列：
 - a)分別為 SEQ ID NO: 9 和 10；
 - b)分別為 SEQ ID NO: 78 和 10；
 - c)分別為 SEQ ID NO: 99 和 10；
 - d)分別為 SEQ ID NO: 9 和 88；
 - e)分別為 SEQ ID NO: 78 和 88；或
 - f)分別為 SEQ ID NO: 99 和 88。
3. 根據申請專利範圍第 1 或 2 項之抗 PD-1 抗體，其中
 - a) 該抗體係同型 IgG 亞型 IgG1，其中位於位置 234 和 235 的胺基酸殘基之一或兩者被突變成 Ala；或
 - b) 該抗體係同型 IgG 亞型 IgG4，其中位於位置 228 的胺基酸殘基被突變成 Pro。
4. 根據申請專利範圍第 1 或 2 項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分，其中該抗體或部分具有以下特性之至少一者：
 - a)以 4×10^{-8} M 或更低的 K_D 與食蟹獼猴 PD-1 結合；
 - b)以 2×10^{-8} M 或更低的 K_D 與小鼠 PD-1 結合；
 - c)以 3×10^{-9} M 或更低的 K_D 與人類 PD-1 結合；

- d)於 10 µg/ml 的濃度抑制 PD-1 與 PD-L1 的交互作用；
 - e)於 SEB 全血分析中刺激 IL-2 製造；和
 - f)於單向混合淋巴細胞反應分析中刺激 IFN- γ 製造。
5. 一種抗 PD-1 抗體，其包含：
- a)具有 SEQ ID NO: 9 和 26 之胺基酸序列的重鏈（HC）和具有 SEQ ID NO: 10 和 28 之胺基酸序列的輕鏈（LC）；
 - b)具有 SEQ ID NO: 78 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 10 和 28 之胺基酸序列的 LC；
 - c)具有 SEQ ID NO: 99 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 10 和 28 之胺基酸序列的 LC；
 - d)具有 SEQ ID NO: 9 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 88 和 28 之胺基酸序列的 LC；
 - e)具有 SEQ ID NO: 78 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 88 和 28 之胺基酸序列的 LC；或
 - f)具有 SEQ ID NO: 99 和 26 之胺基酸序列的 HC 和具有 SEQ ID NO: 88 和 28 之胺基酸序列的 LC。
6. 一種醫藥組成物，其包含根據申請專利範圍第 1-5 項中之任一項的抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分和醫藥上可接受的賦形劑。
7. 一種經分離的核酸分子，其包含編碼根據申請專利範圍第 1-5 項中之任一項的抗 PD-1 抗體之重鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、或編碼根據申請專利範圍第 1-5 項中之任一項的抗 PD-1 抗體之輕鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、或兩者。

8. 一種載體，其包含根據申請專利範圍第 7 項的經分離的核酸分子，其中該載體進一步包含表現控制序列。
9. 一種宿主細胞，其包含編碼根據申請專利範圍第 1-5 項中之任一項的抗 PD-1 抗體之重鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、和編碼根據申請專利範圍第 1-5 項中之任一項的抗 PD-1 抗體之輕鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列。
10. 一種用於製造根據申請專利範圍第 1-5 項中之任一項的抗體或抗原結合部分的方法，其包含提供根據申請專利範圍第 9 項的宿主細胞、於適用於該抗體或部分之表現的條件下培養該宿主細胞、和分離所得的抗體或部分。
11. 一種雙專一性結合分子，其包含根據申請專利範圍第 1-5 項中之任一項的抗 PD-1 抗體之結合域。
12. 一種根據申請專利範圍第 1-5 項中之任一項的抗體或抗原結合部分或根據申請專利範圍第 11 項的雙專一性結合分子之用途，其係用於製備用於增強患者之免疫性或用於治療患者之癌症的醫藥品。
13. 根據申請專利範圍第 12 項的用途，其中該癌症係選自由晚期或轉移性黑色素瘤、非小細胞肺癌、頭頸鱗狀細胞癌、膀胱癌、胃癌、腎細胞癌、肝細胞癌、結腸直腸癌、及霍奇金氏淋巴瘤所組成的群組。
14. 根據申請專利範圍第 12 或 13 項的用途，其中該醫藥品進一步包含免疫刺激劑、疫苗、化學治療劑、抗贅瘤劑、抗血管形成劑、酪胺酸激酶抑制劑或 PD-1 途徑抑制劑。

圖式

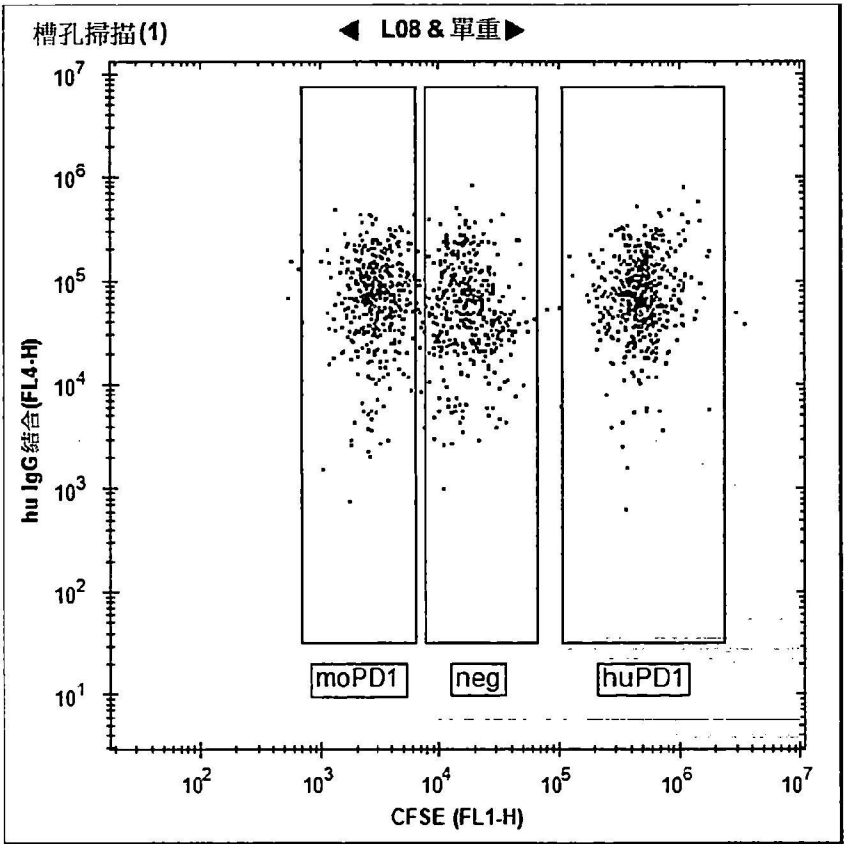
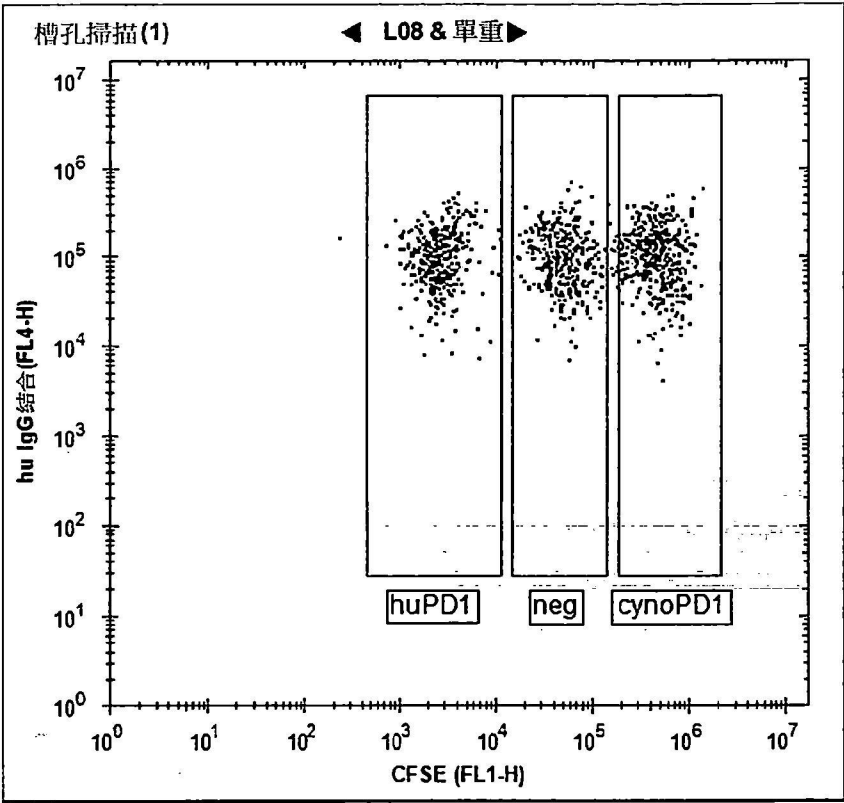


圖 1A

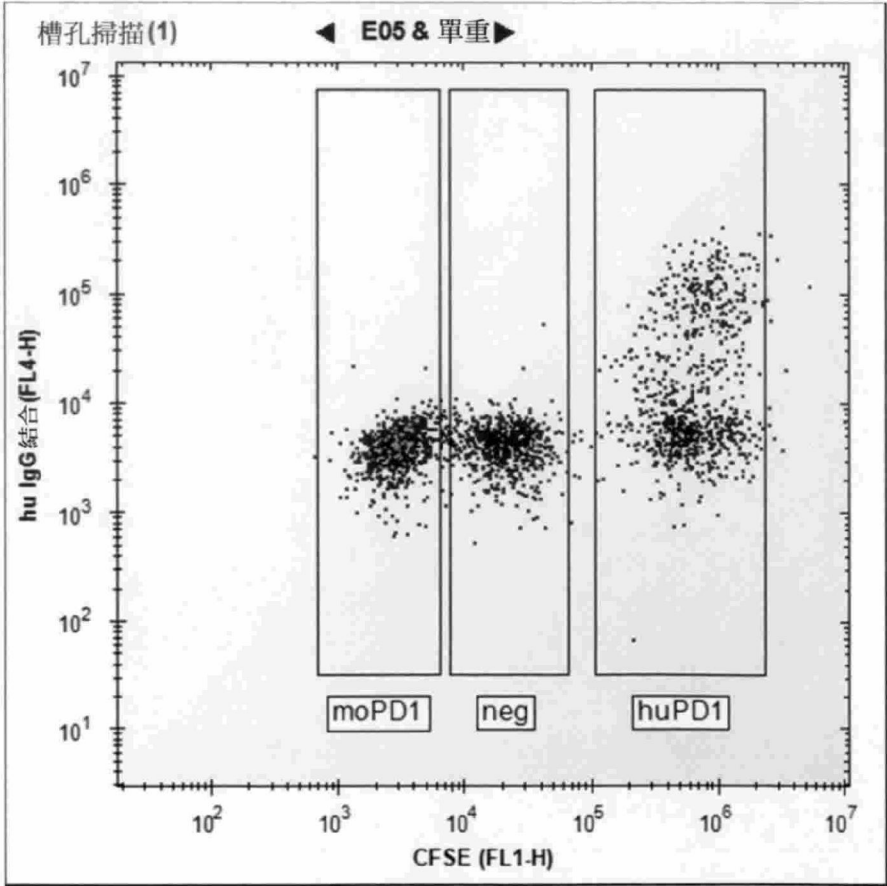
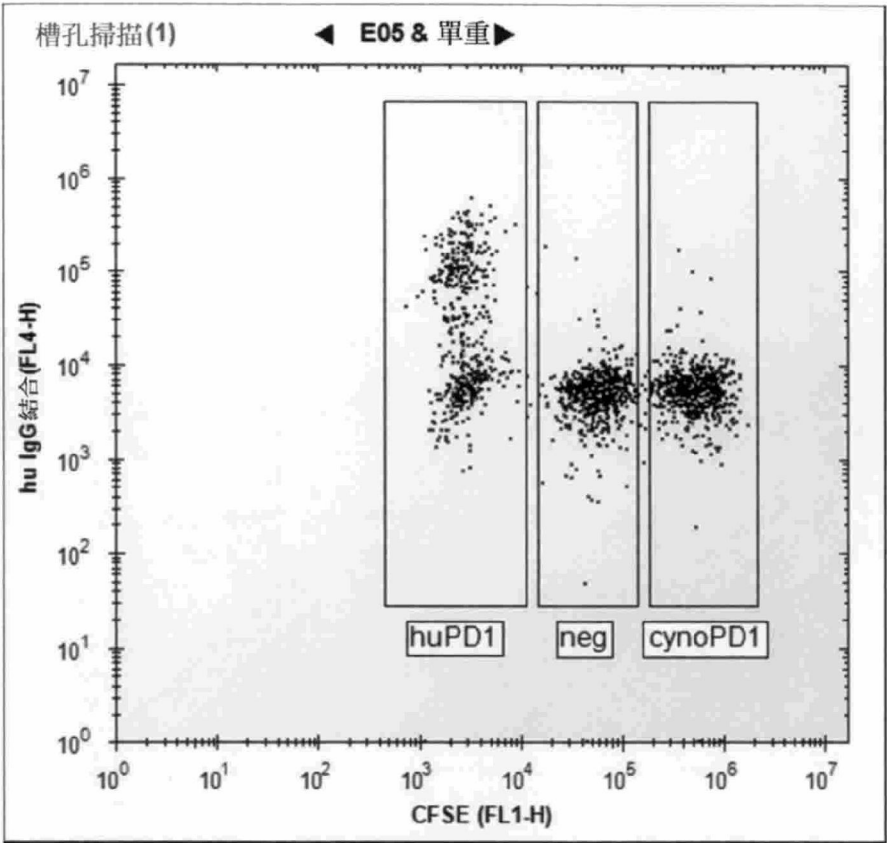


圖 1B

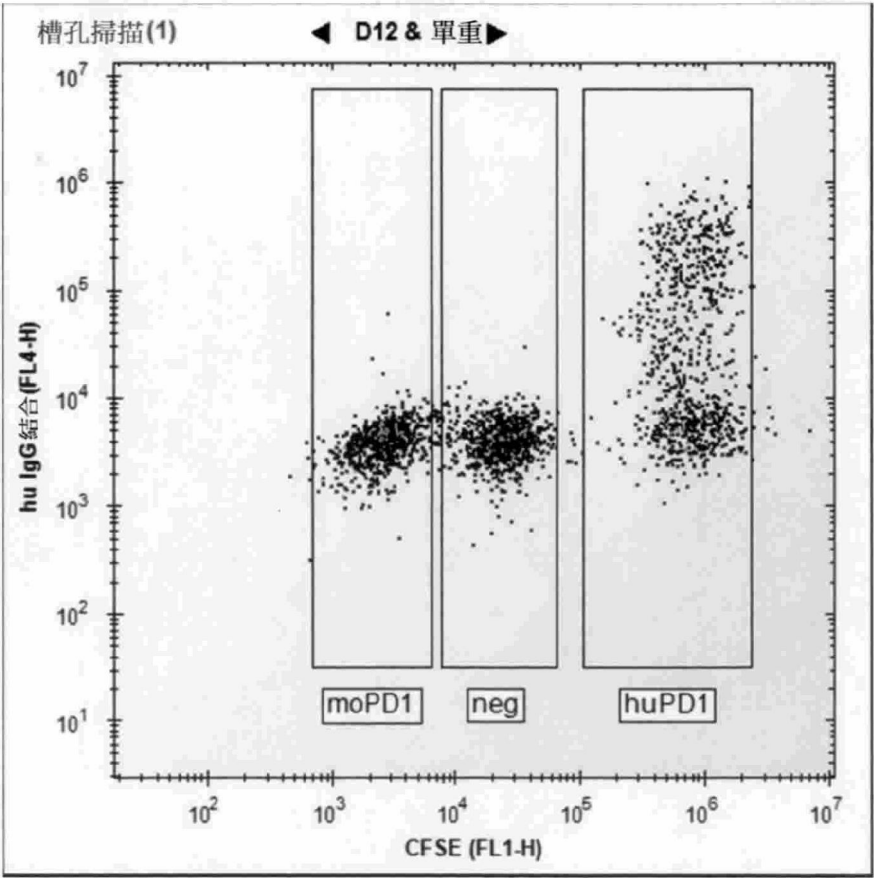
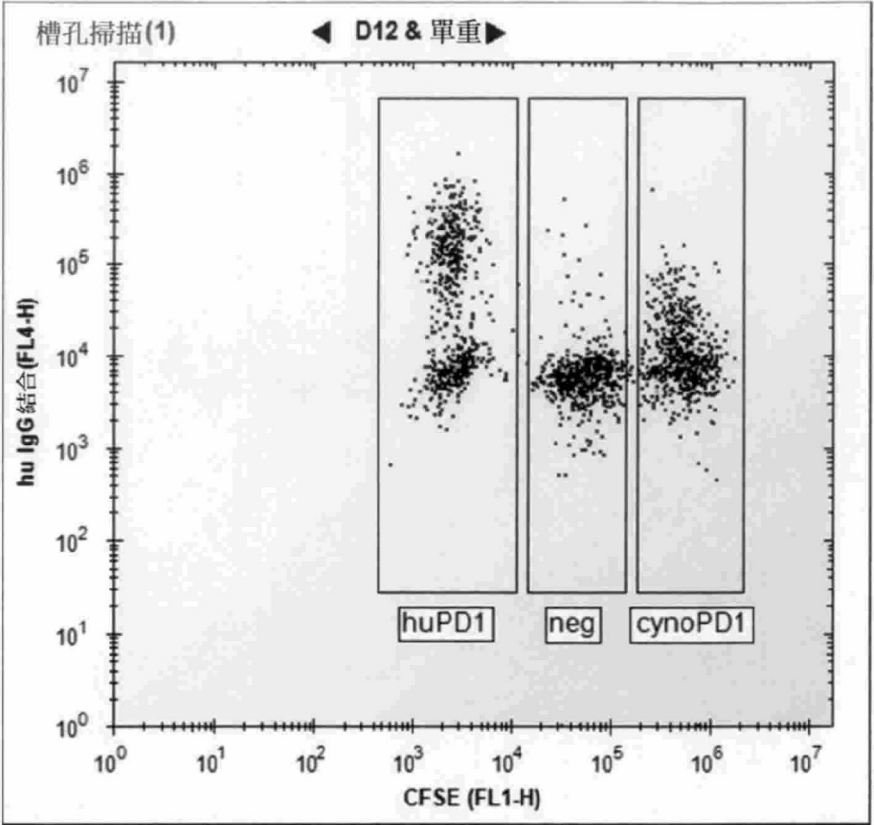


圖 1C

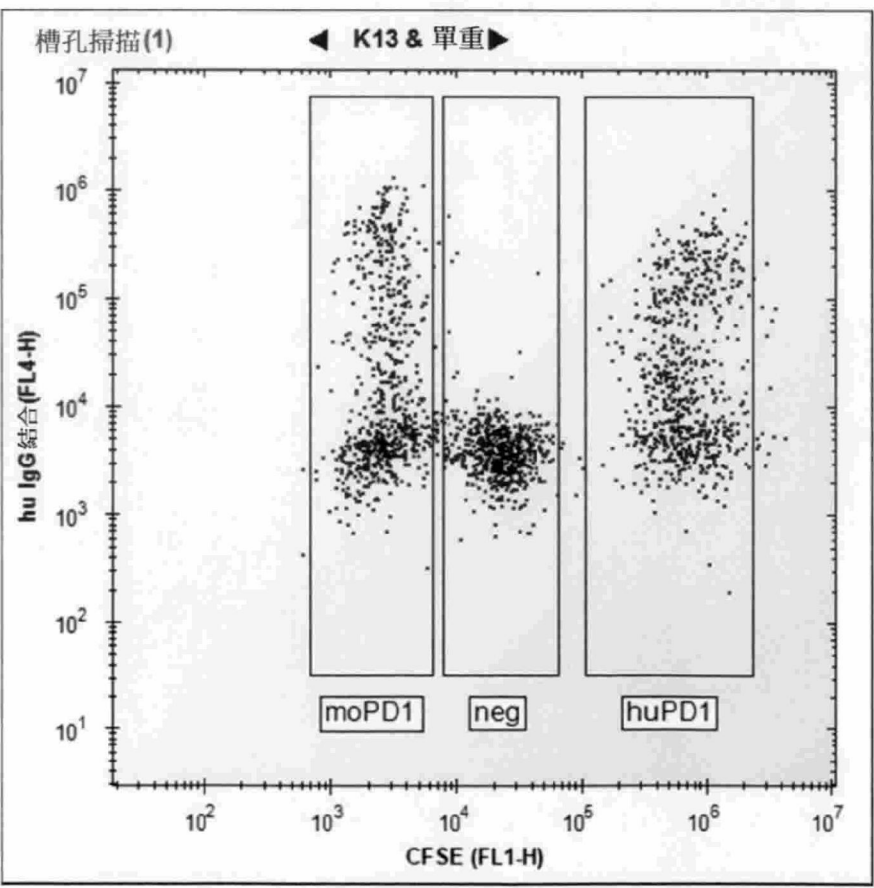
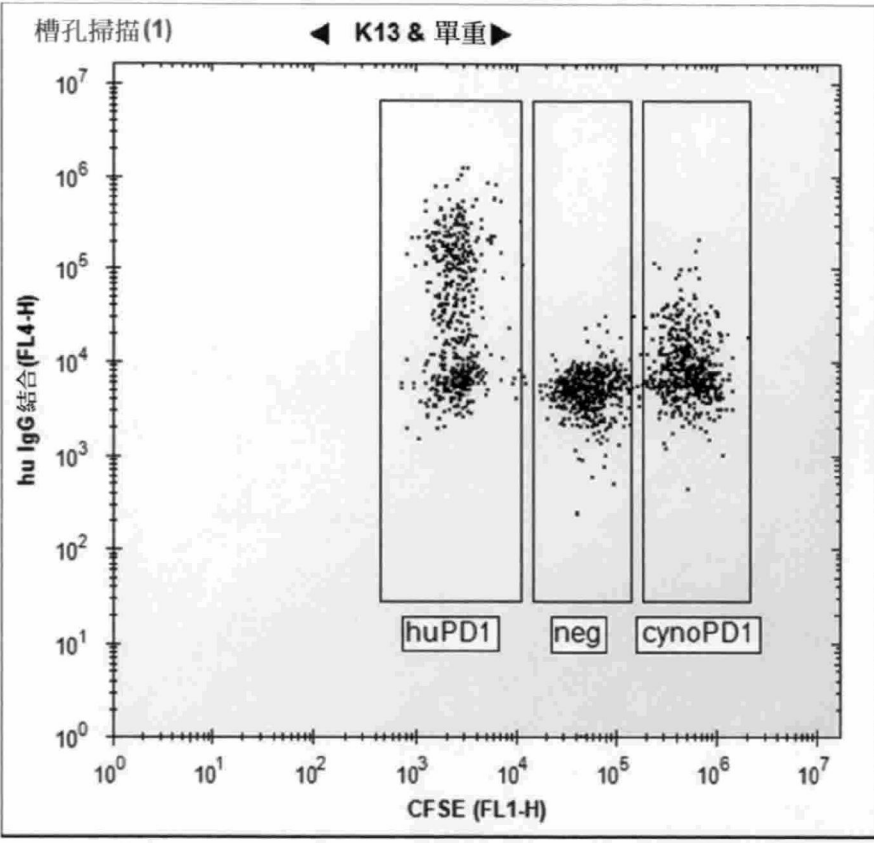
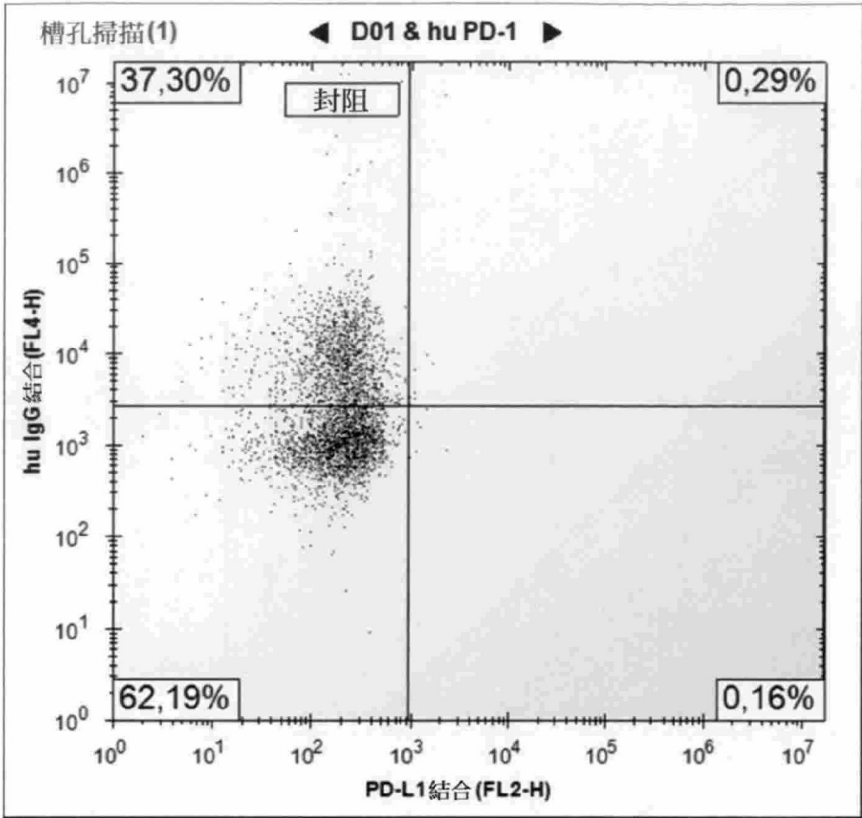
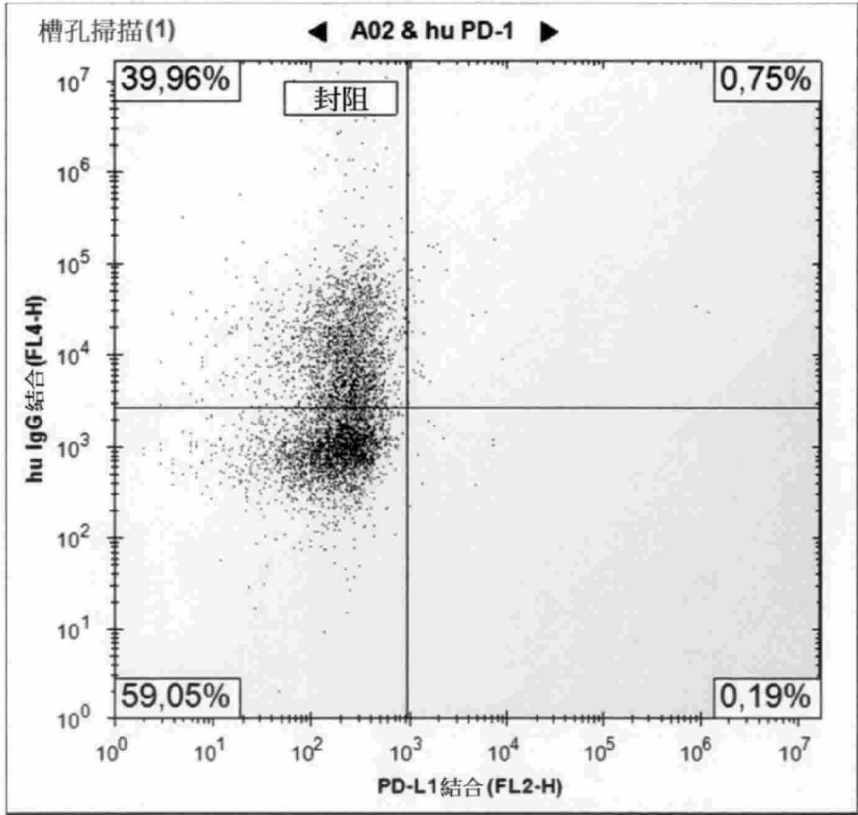


圖 1D

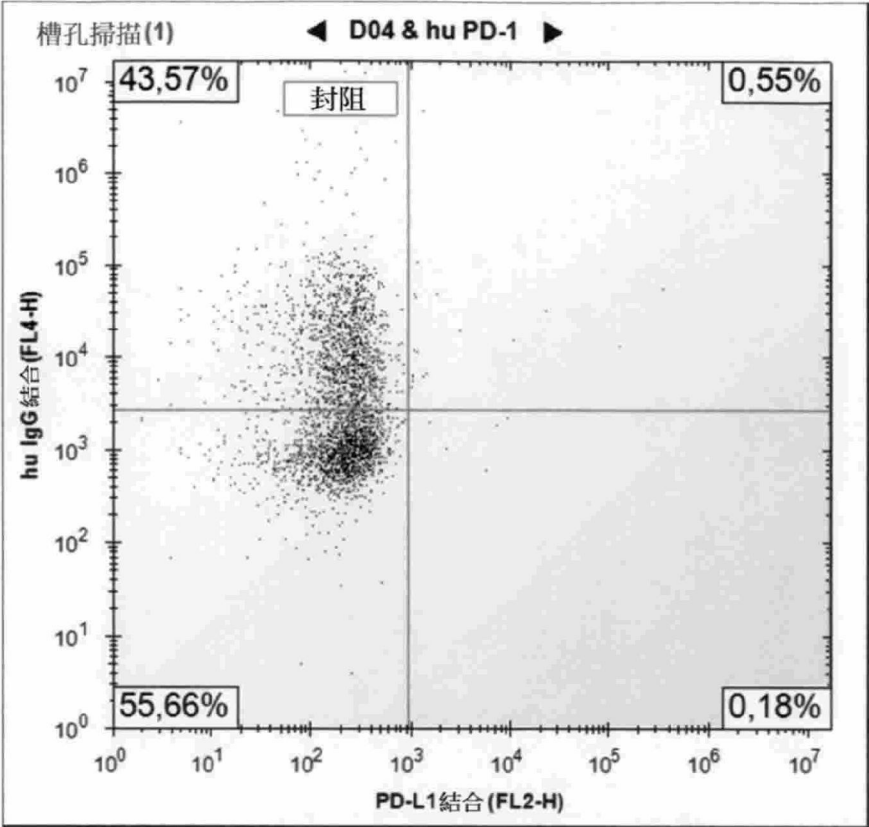


18040

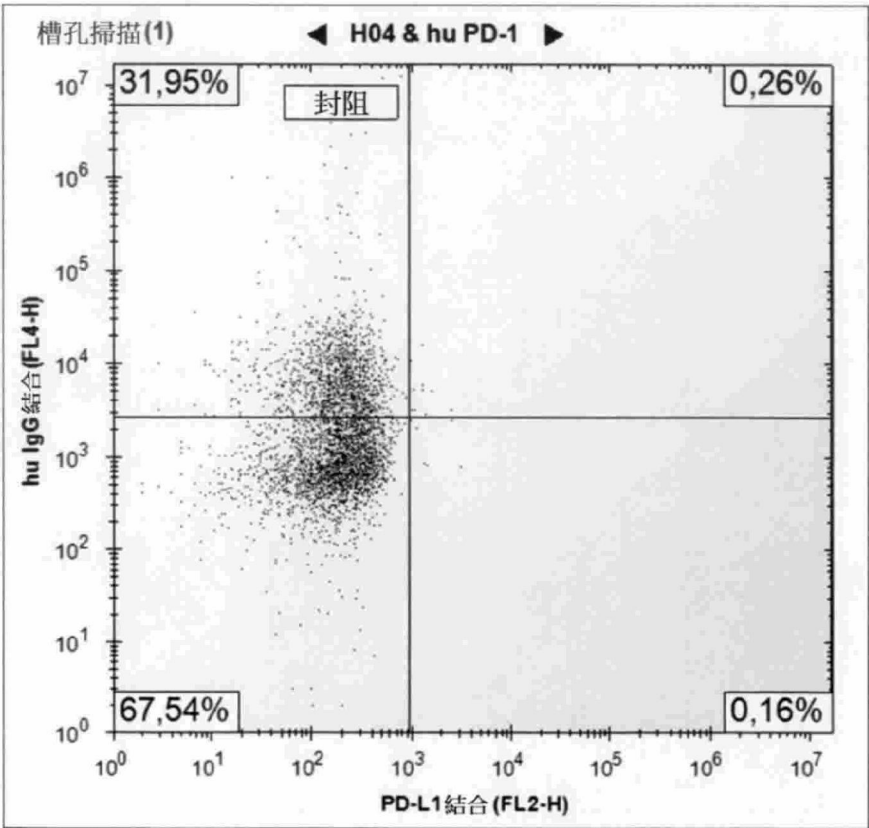


18049

圖 2A

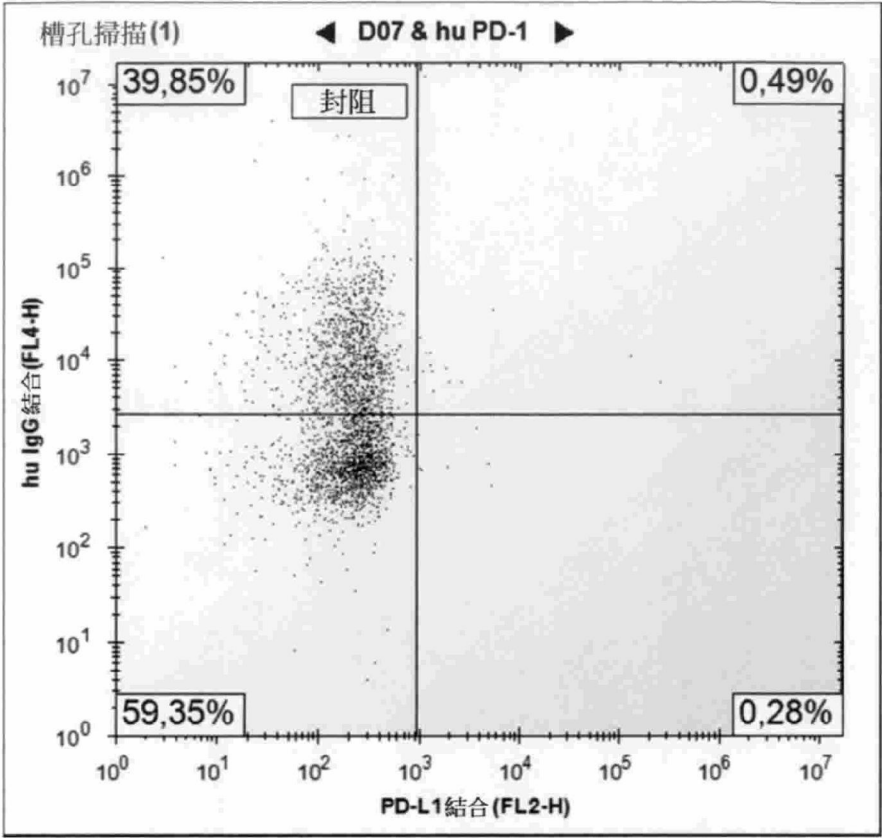


18098

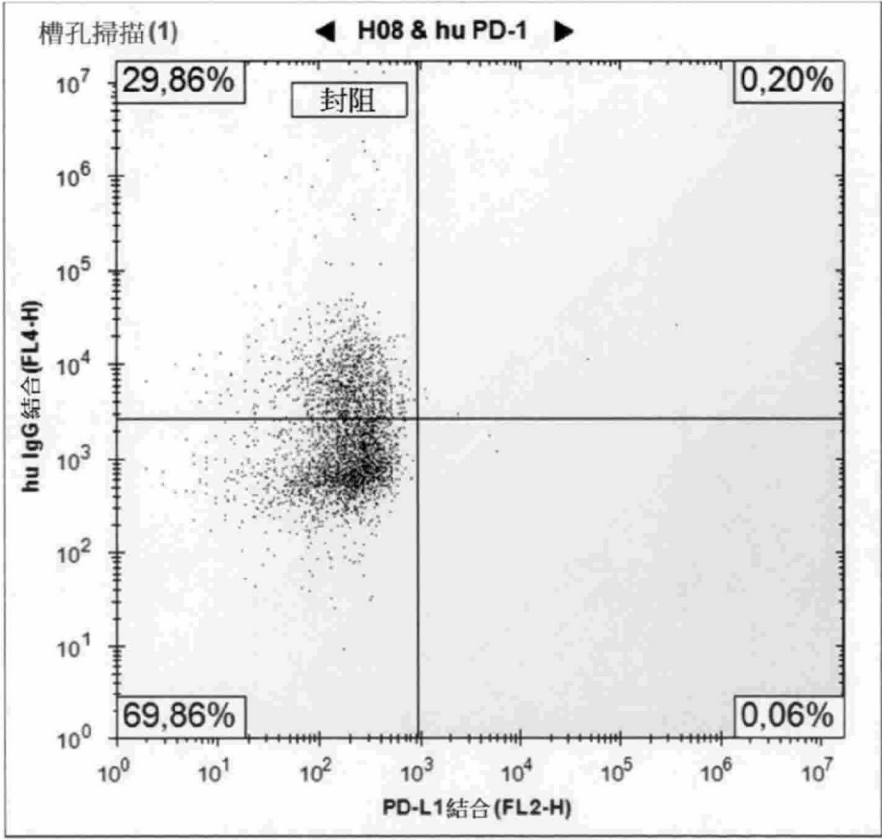


18113

圖 2B

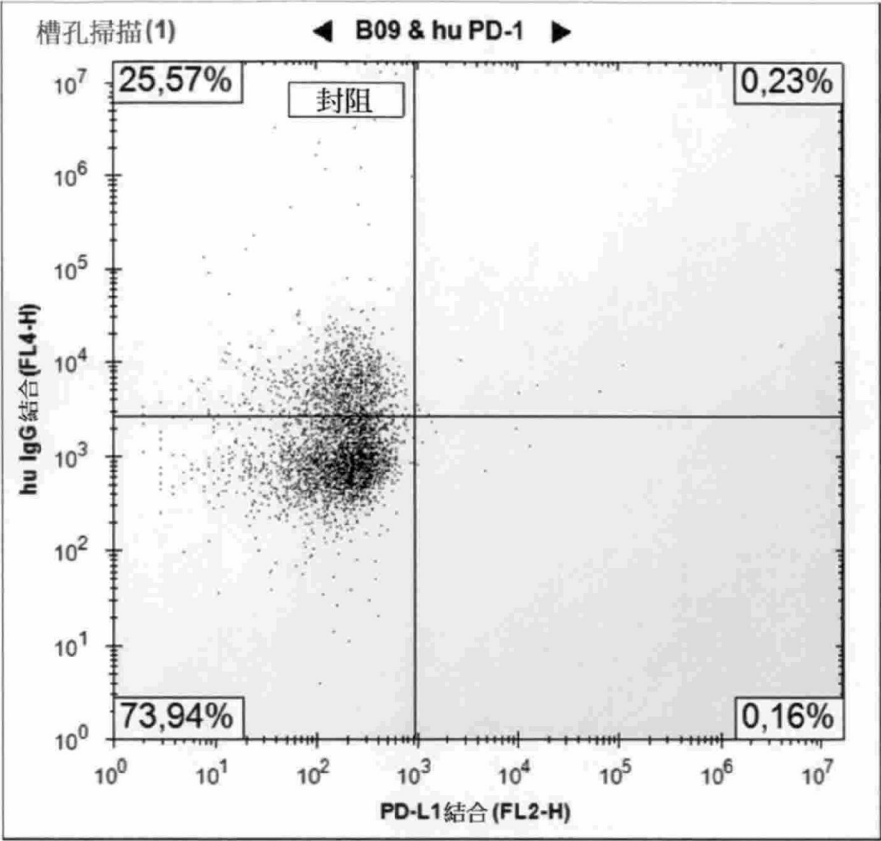


18201

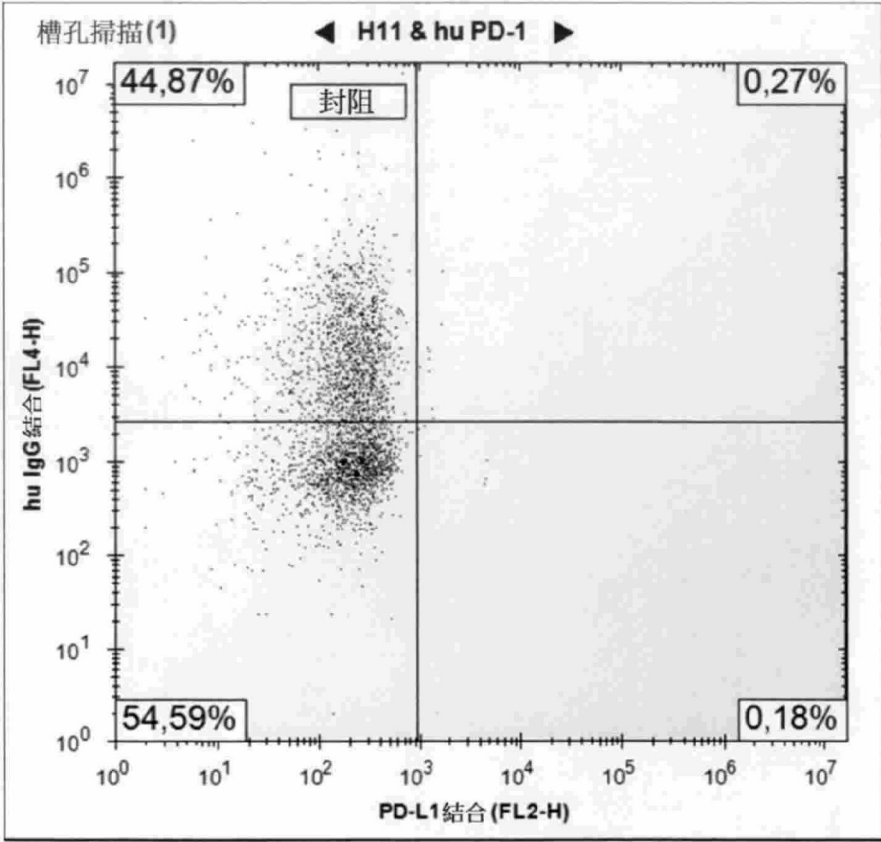


18247

圖 2C

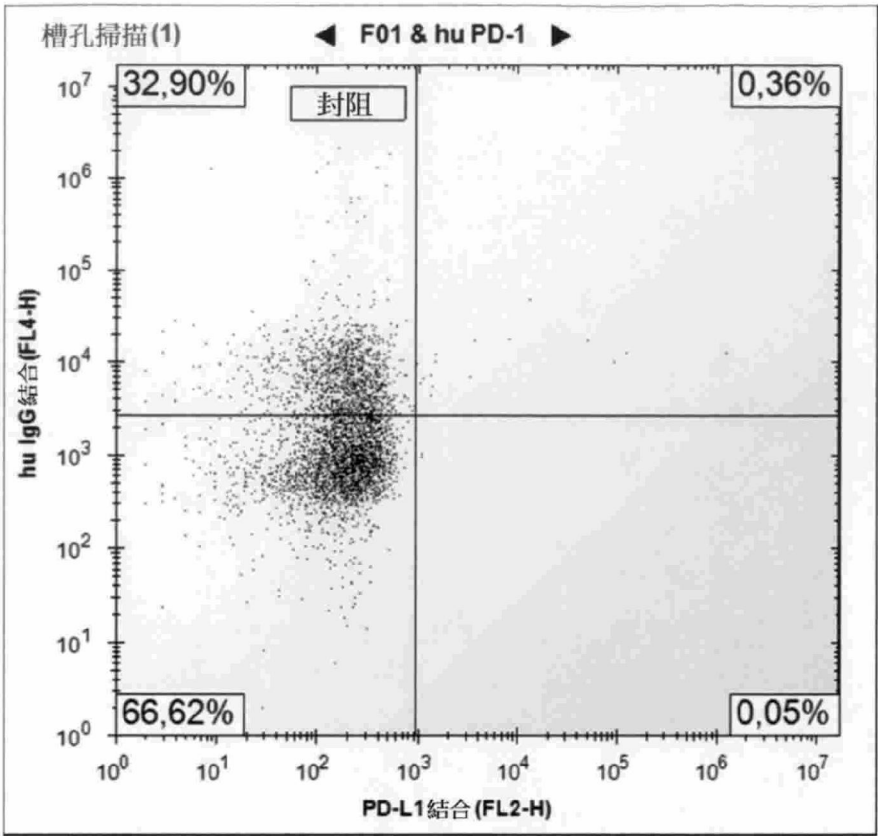


18250

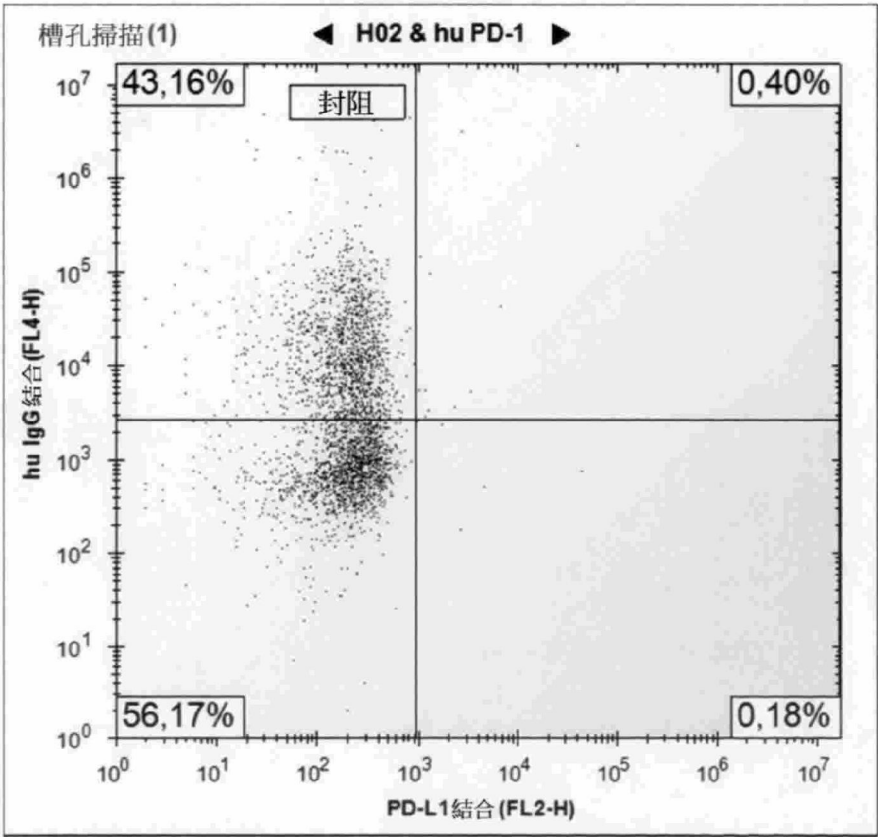


18325

圖 2D

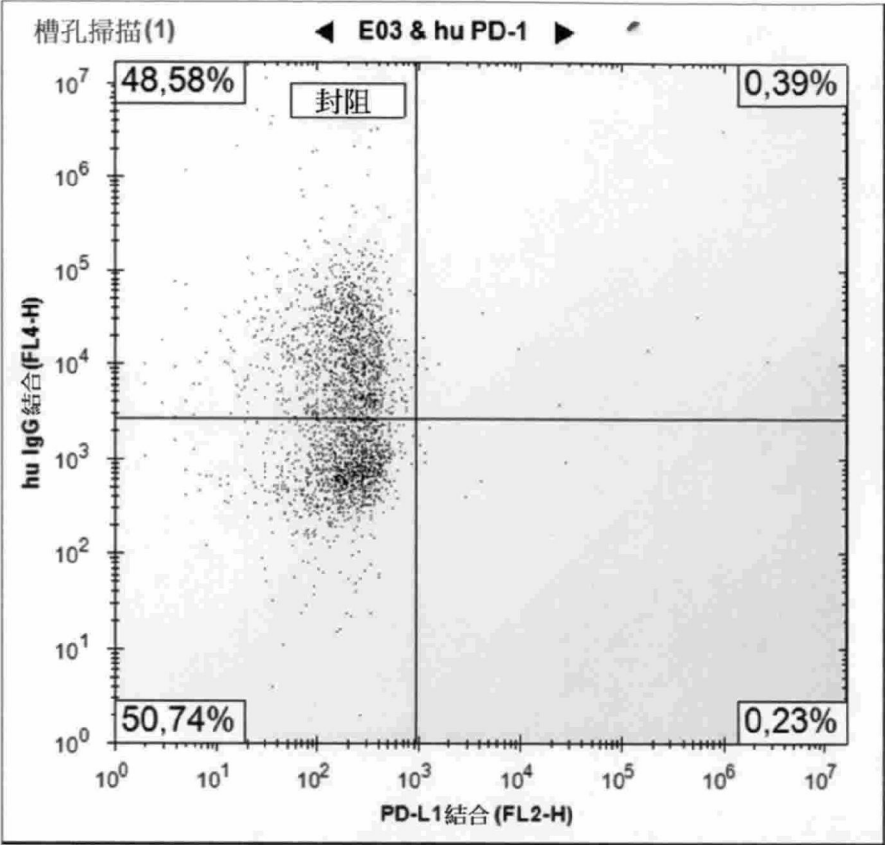


18366

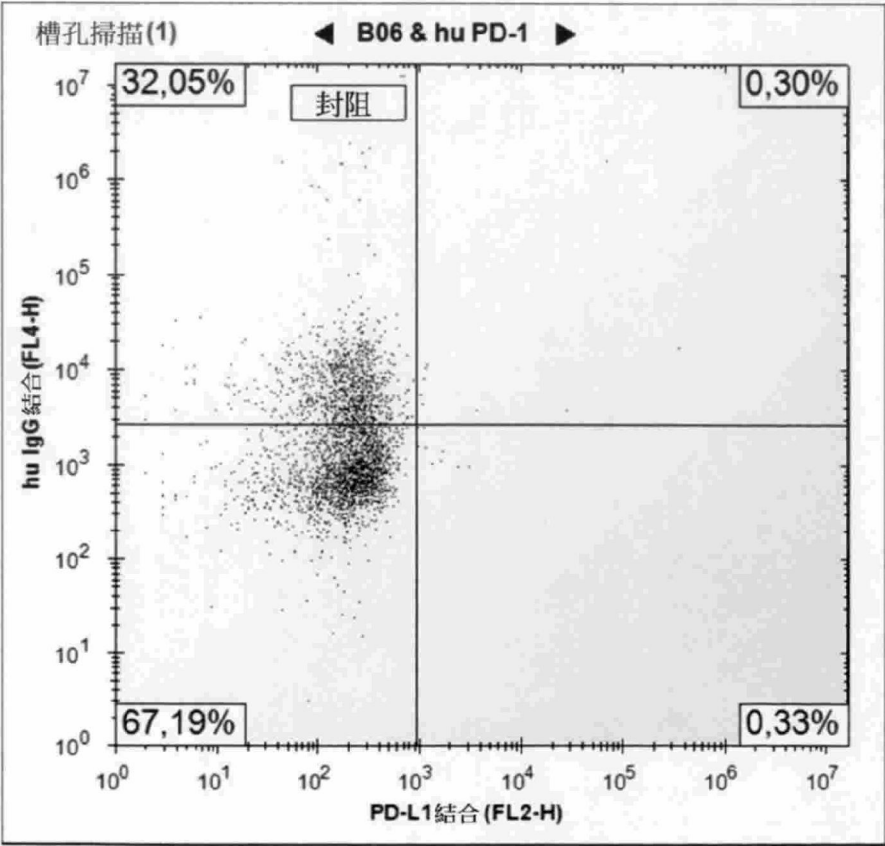


18400

圖 2E

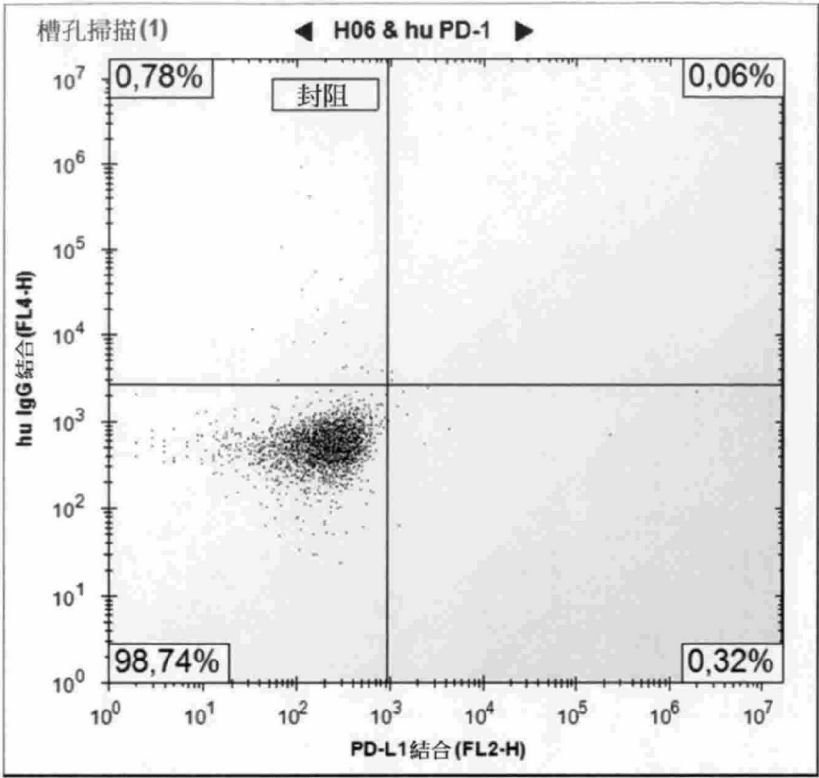


18413

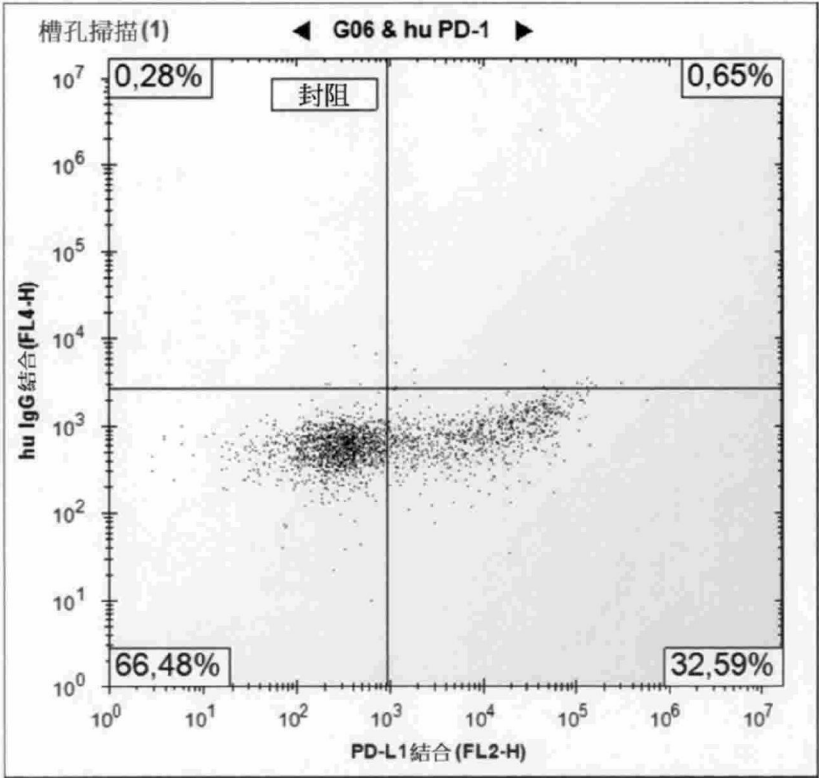


18483

圖 2F

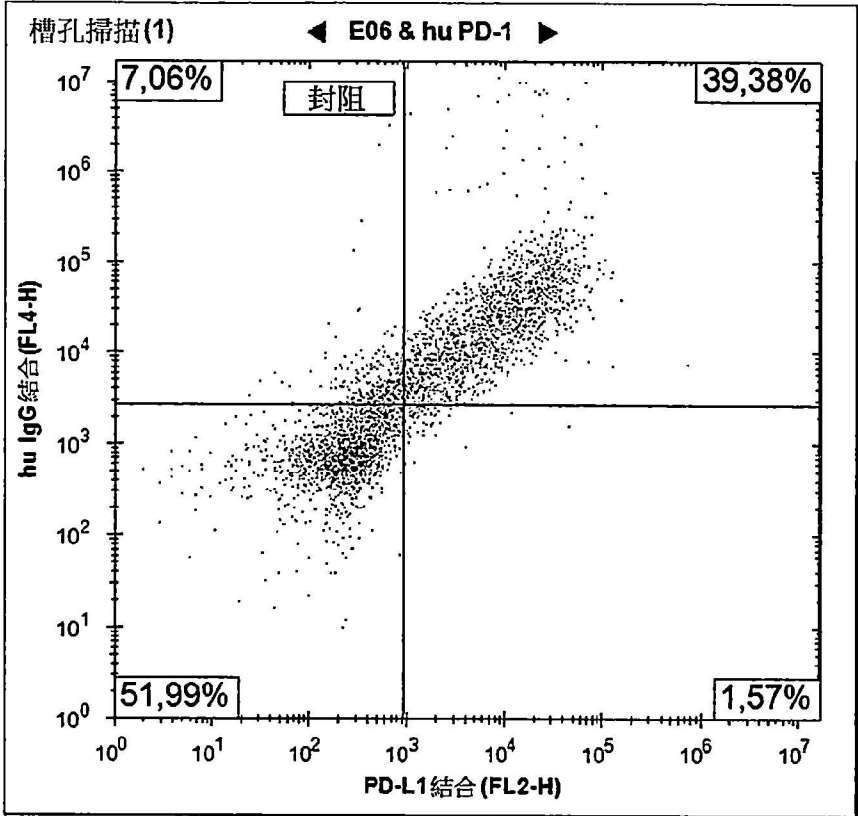


無PD-L1-PE
無mAb



對照組mAb

圖 2G



非封阻性
mAb

圖 2H

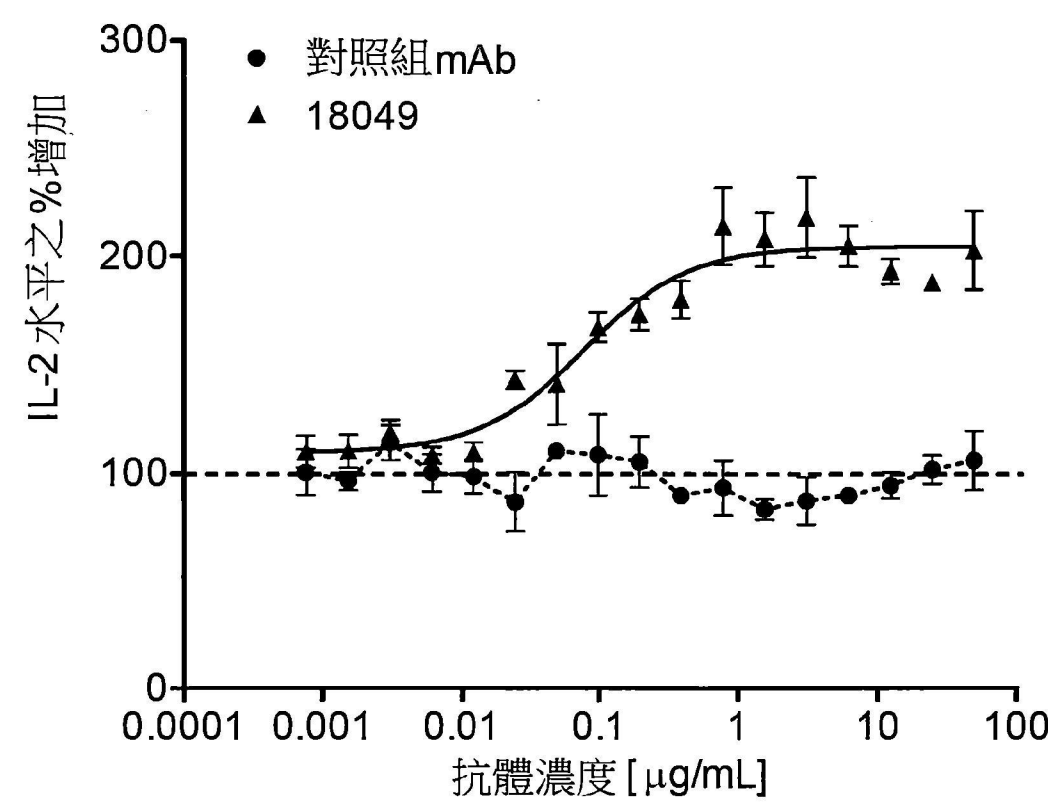
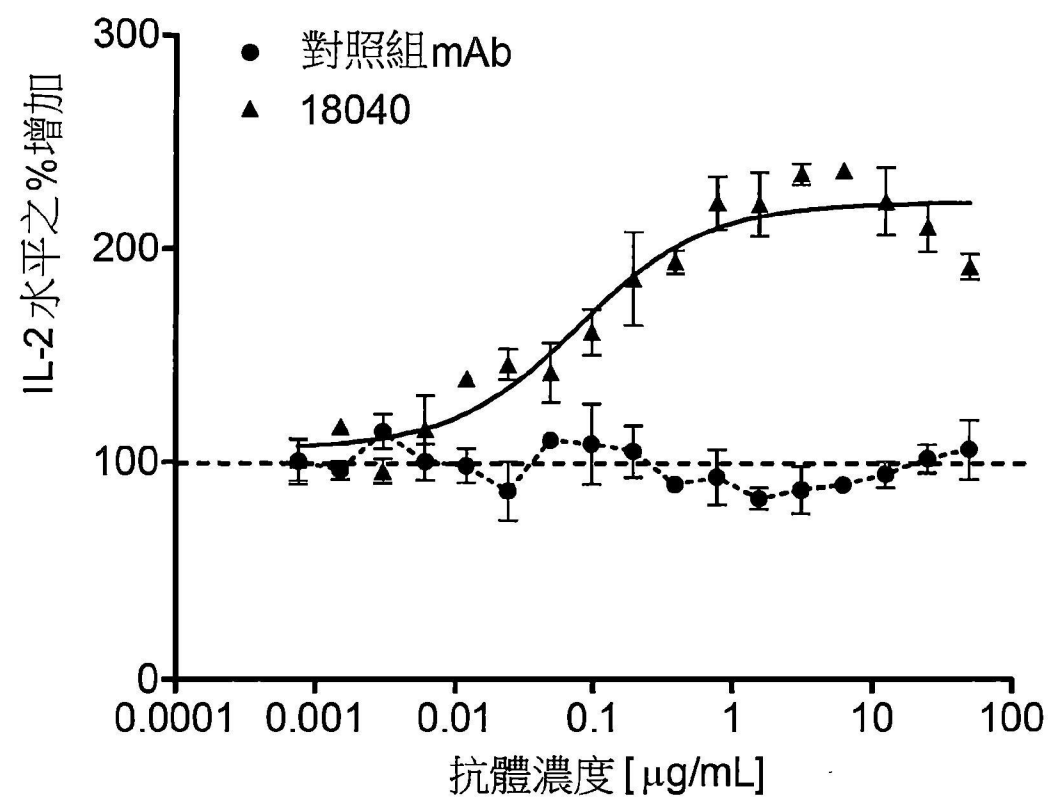


圖 3A

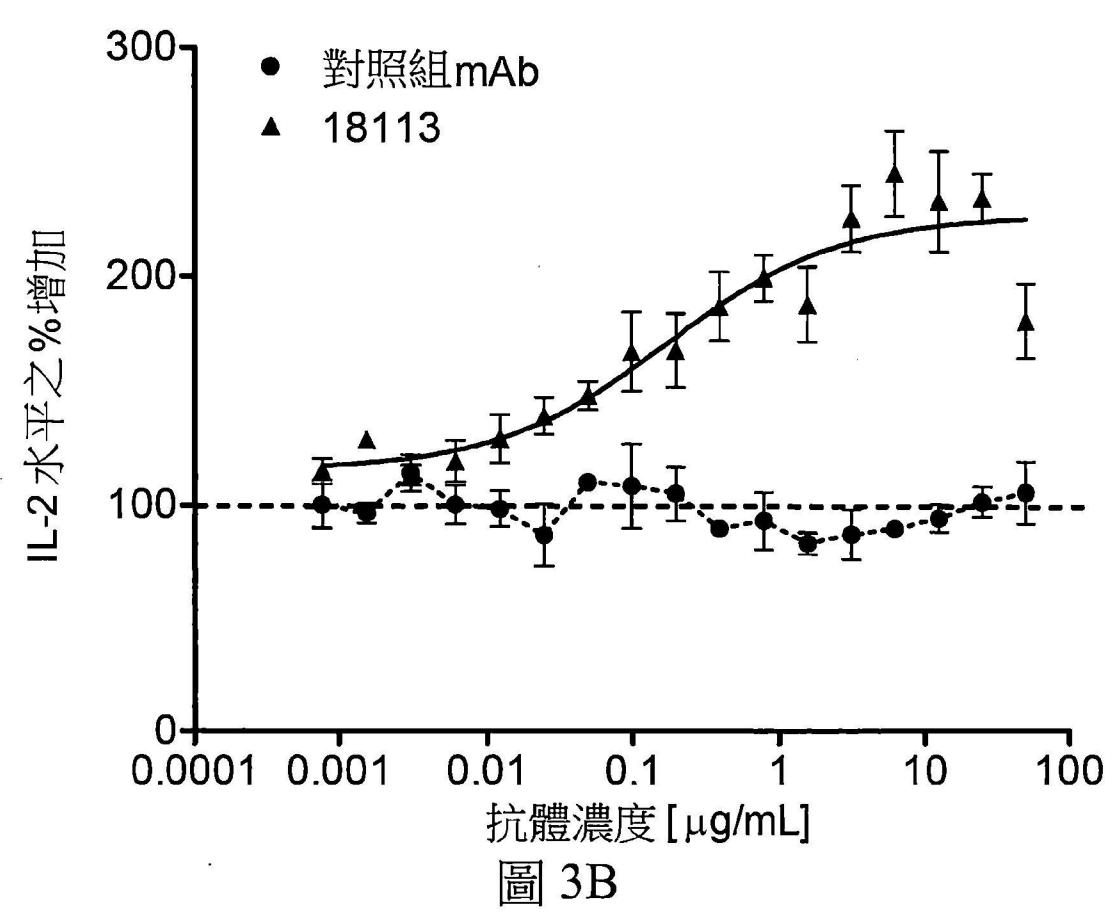
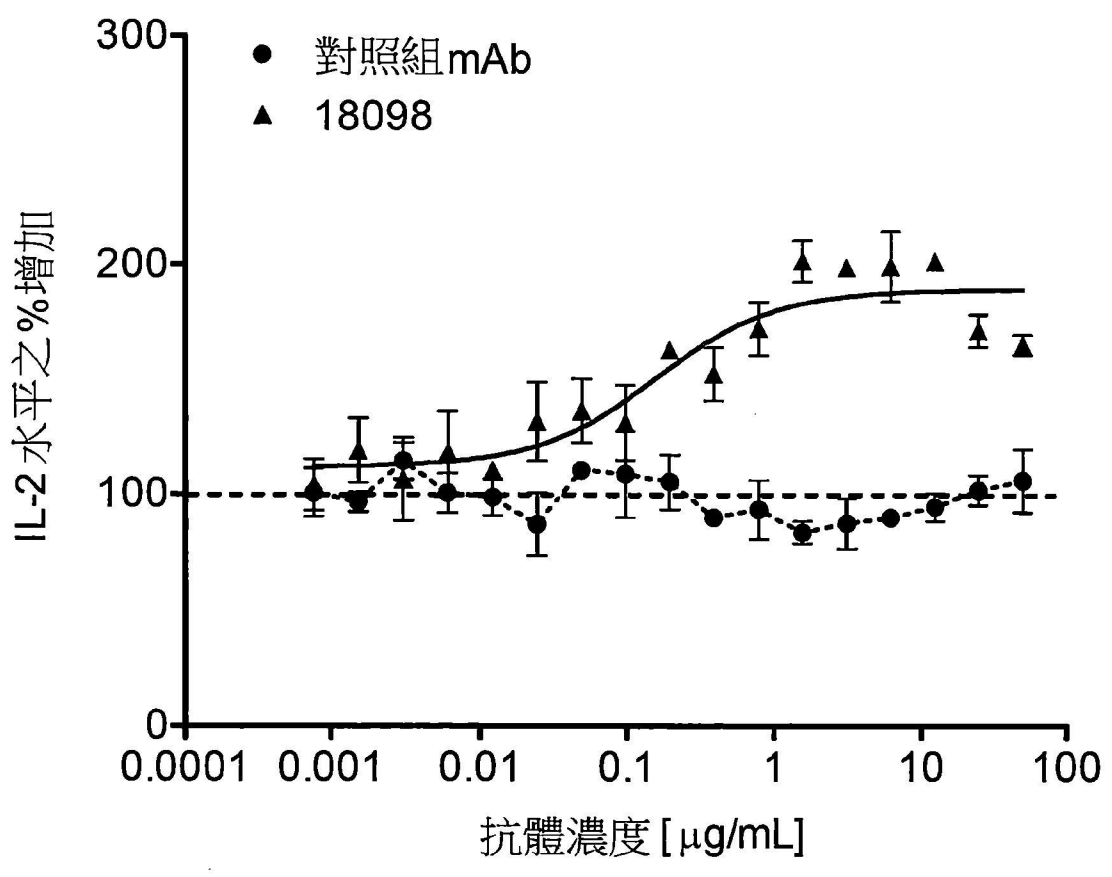


圖 3B

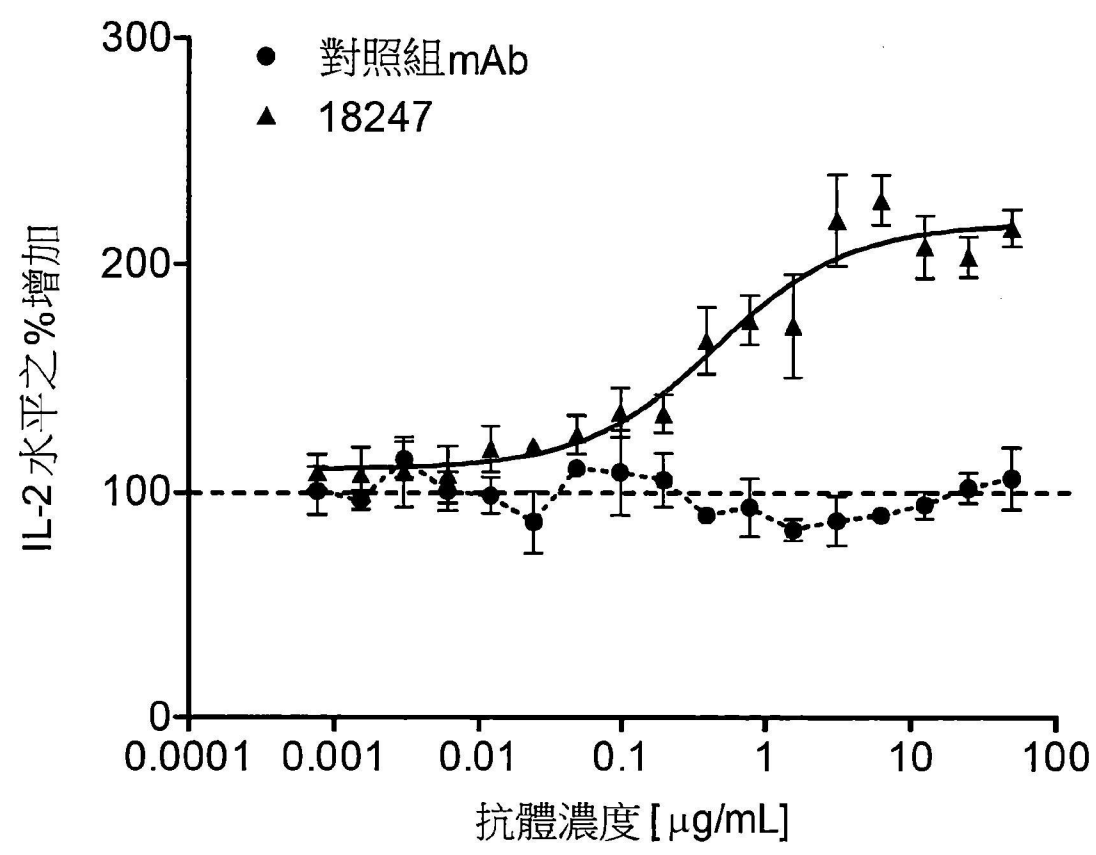
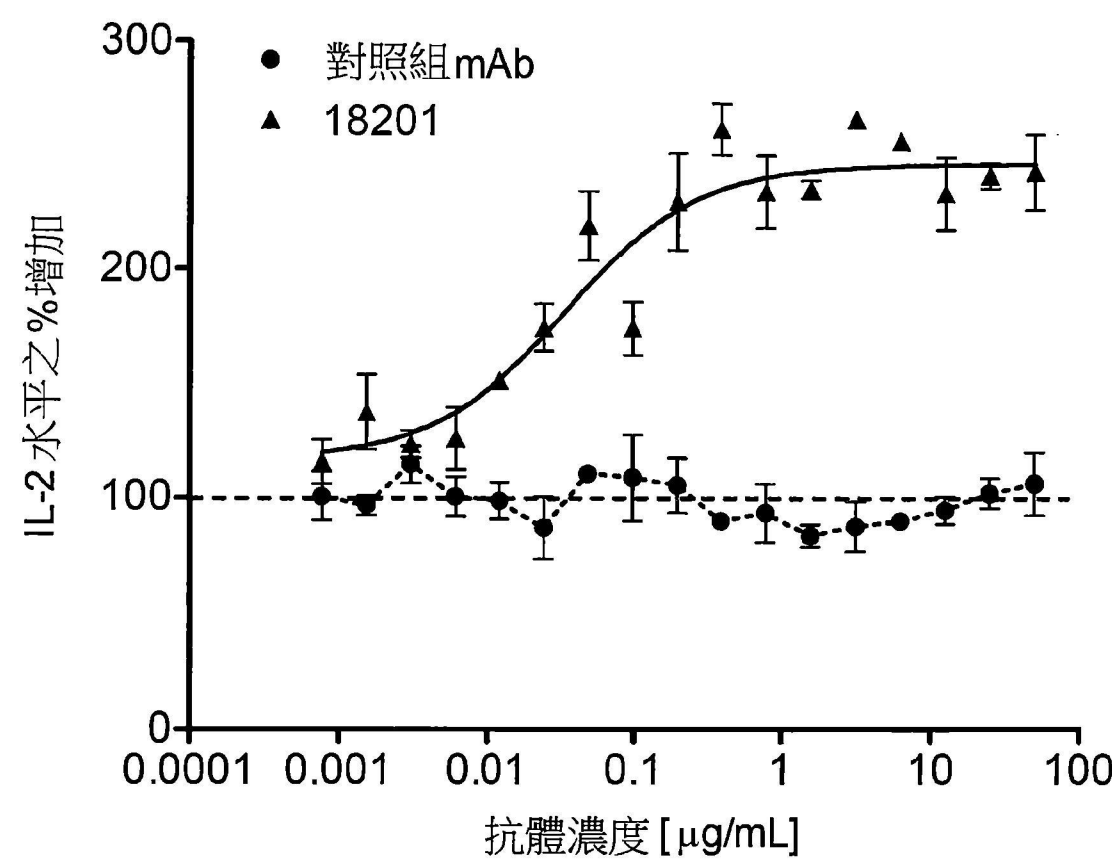


圖 3C

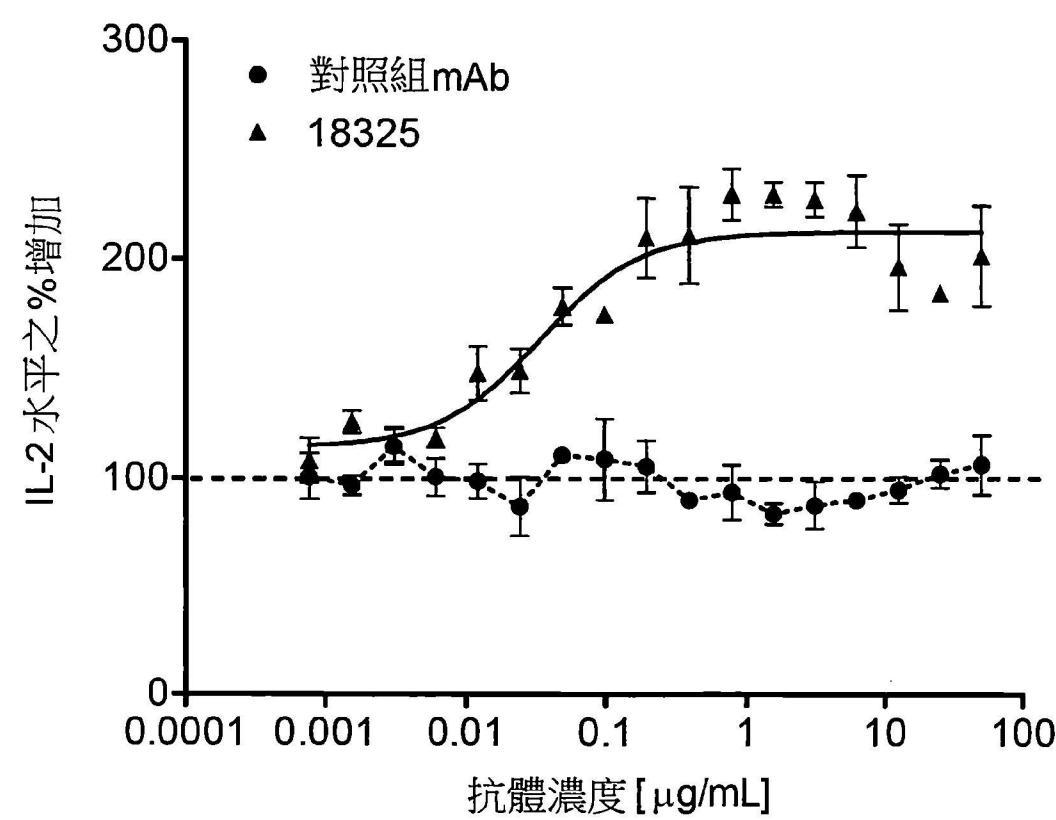
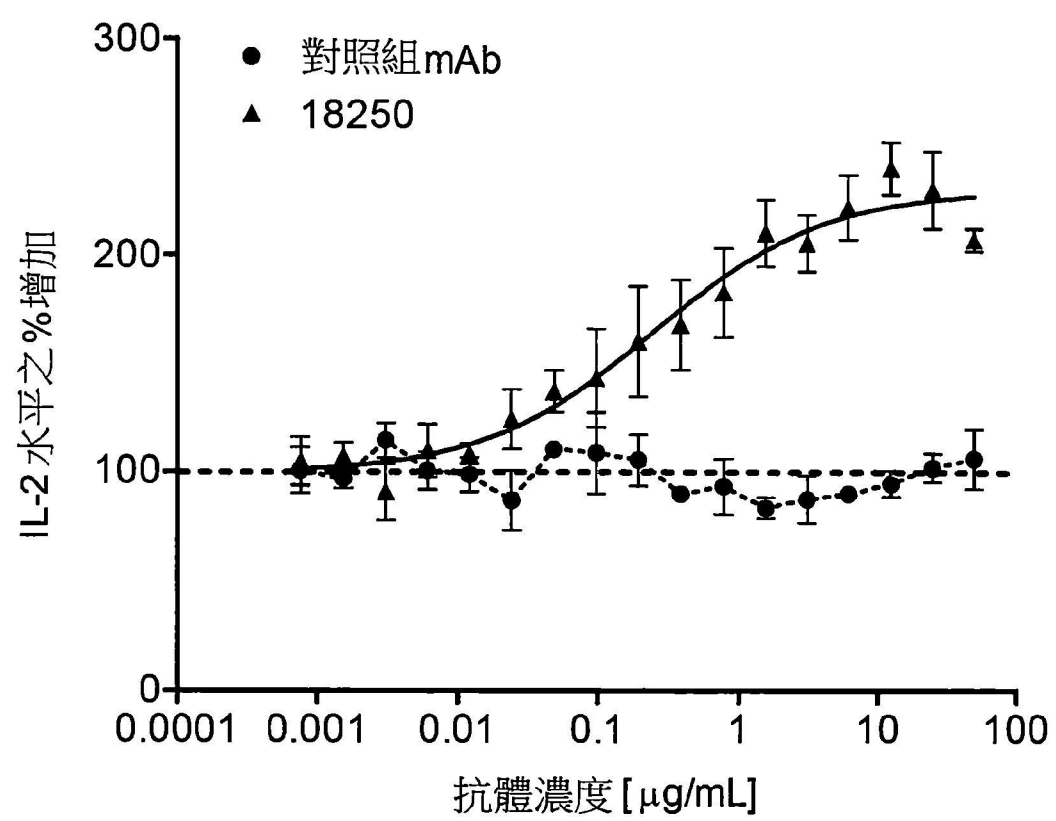


圖 3D

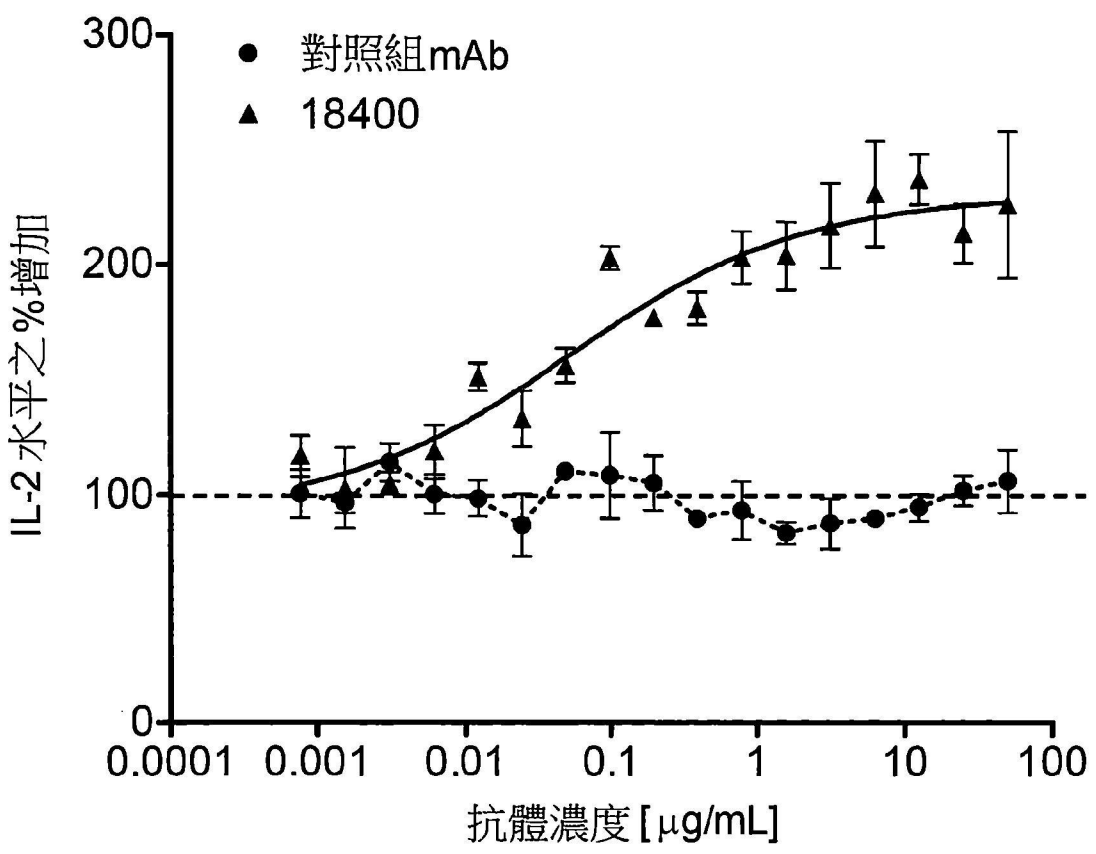
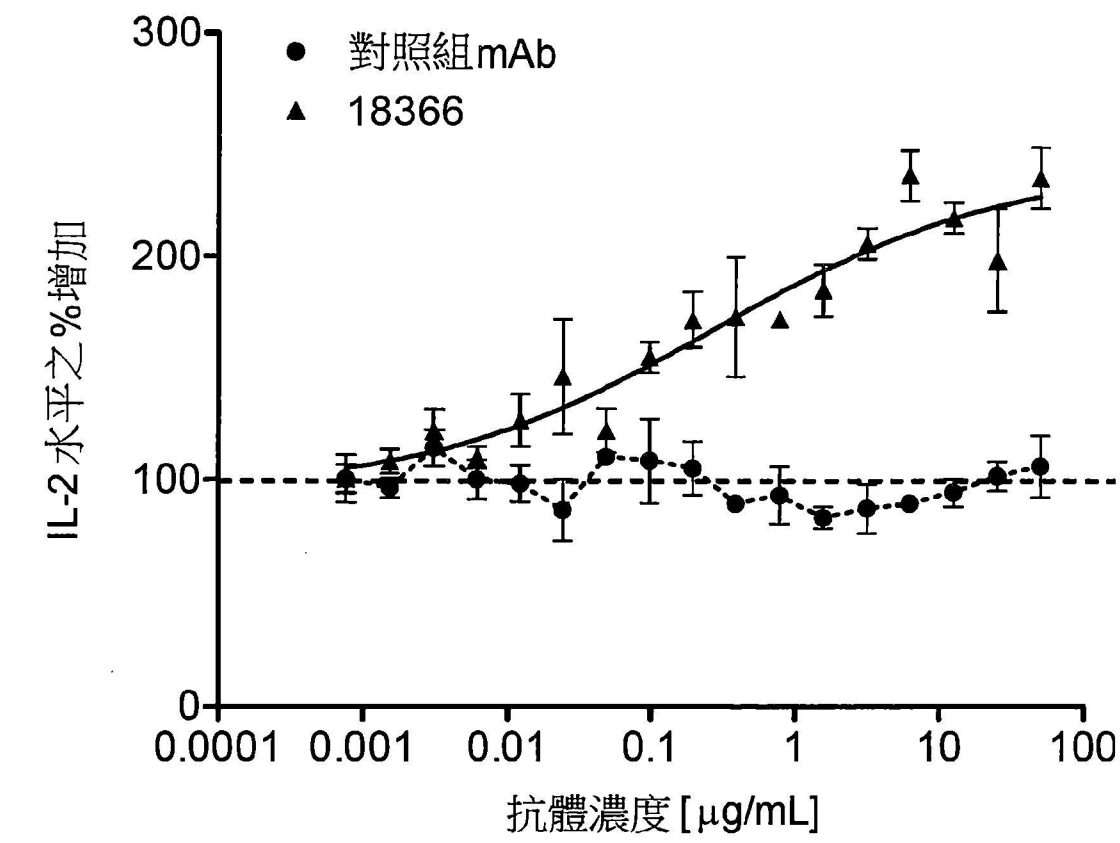


圖 3E

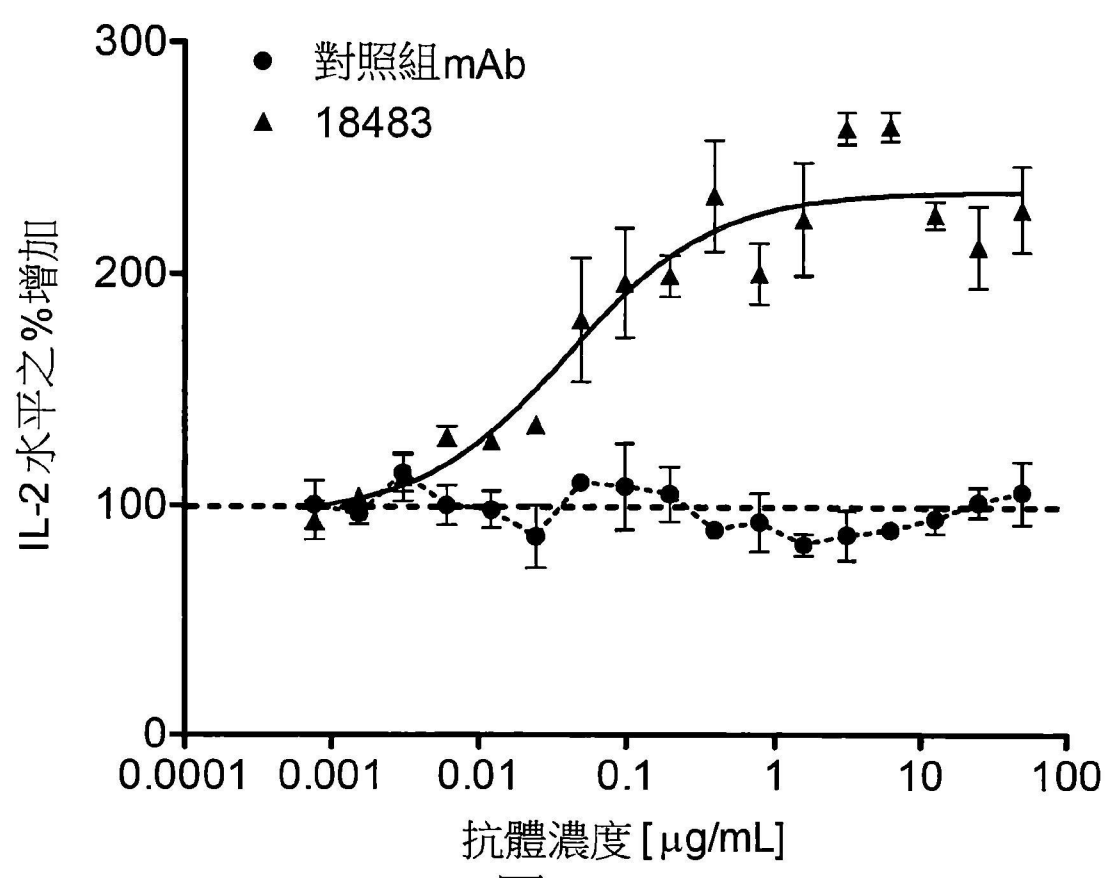
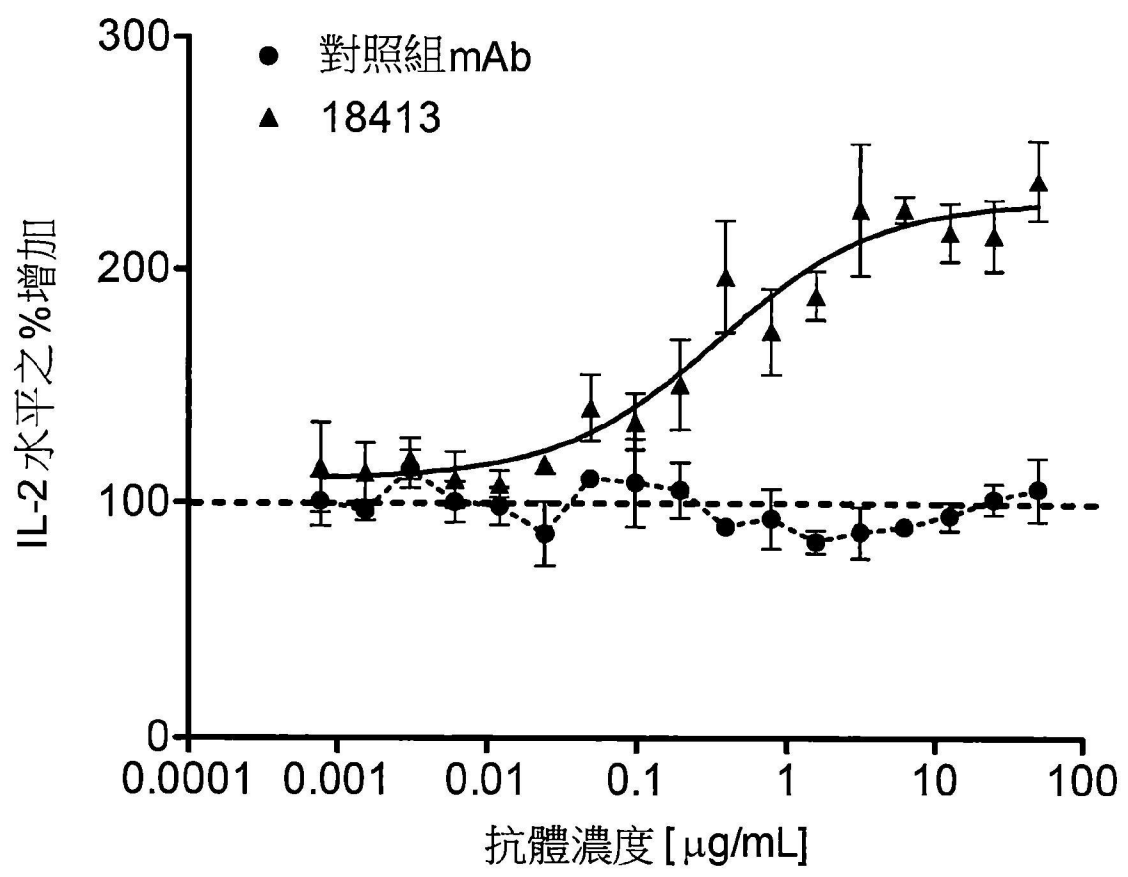


圖 3F

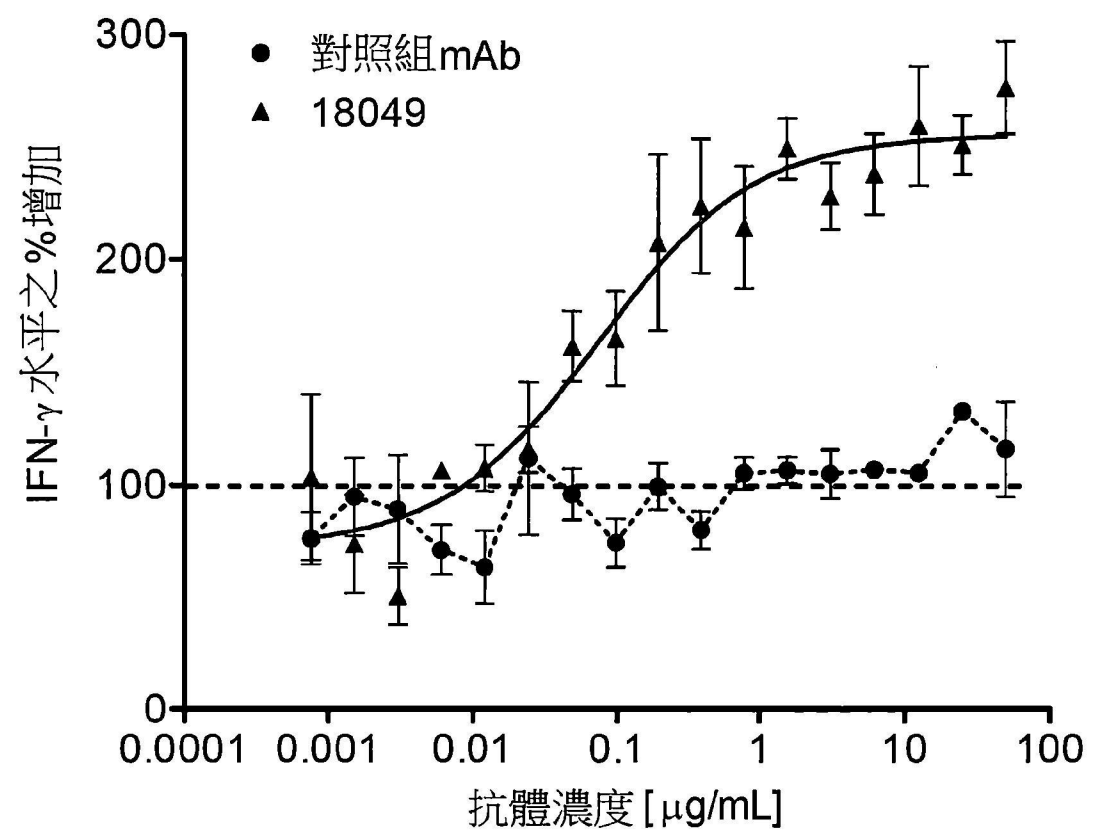
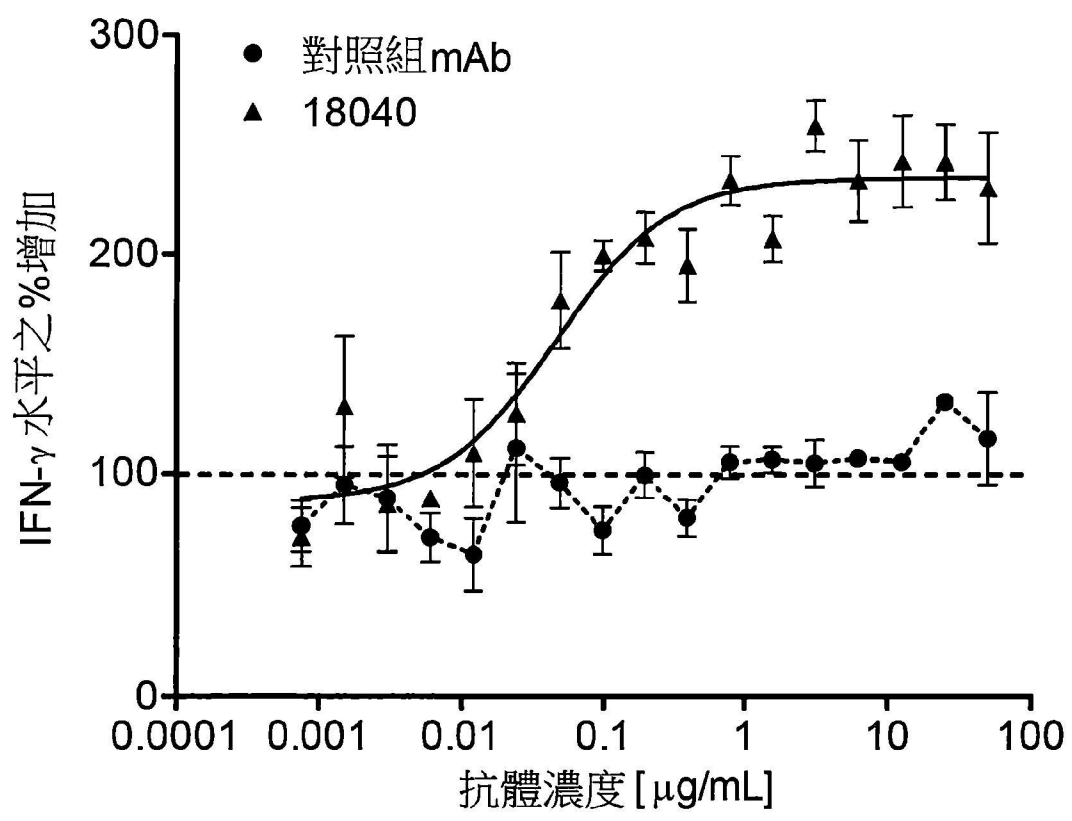


圖 4A

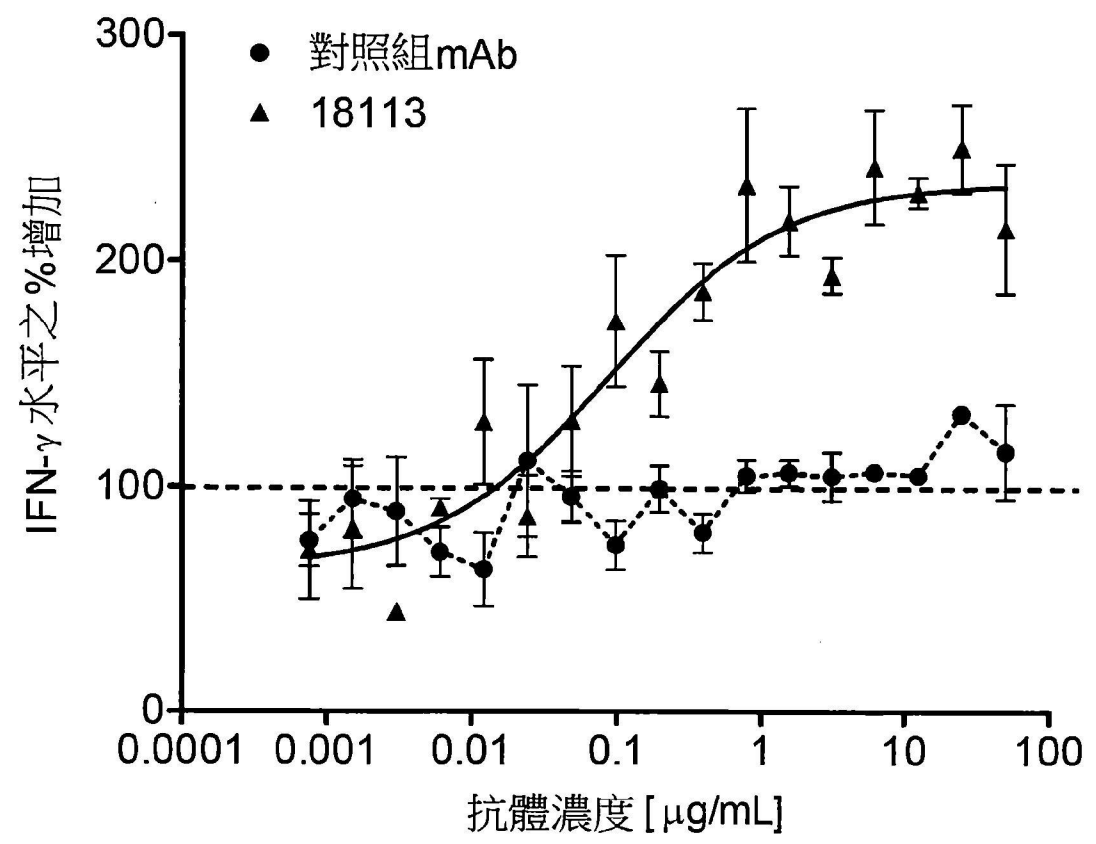
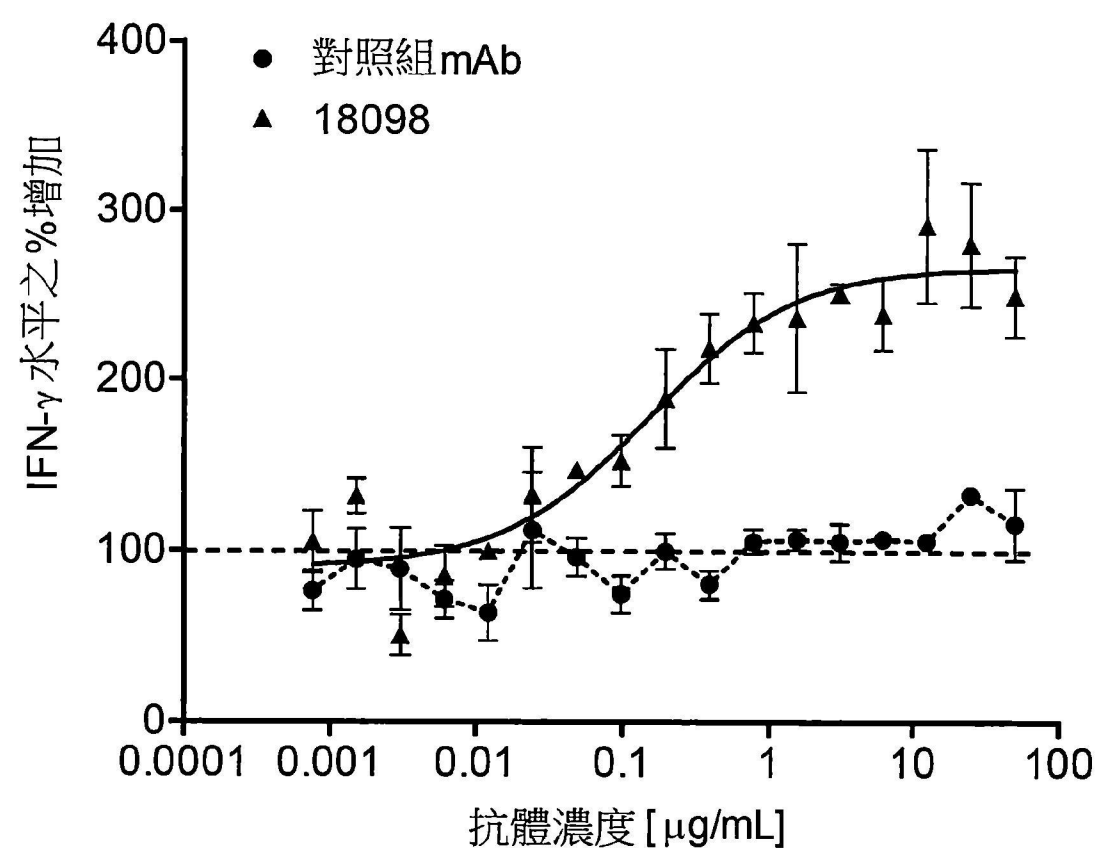


圖 4B

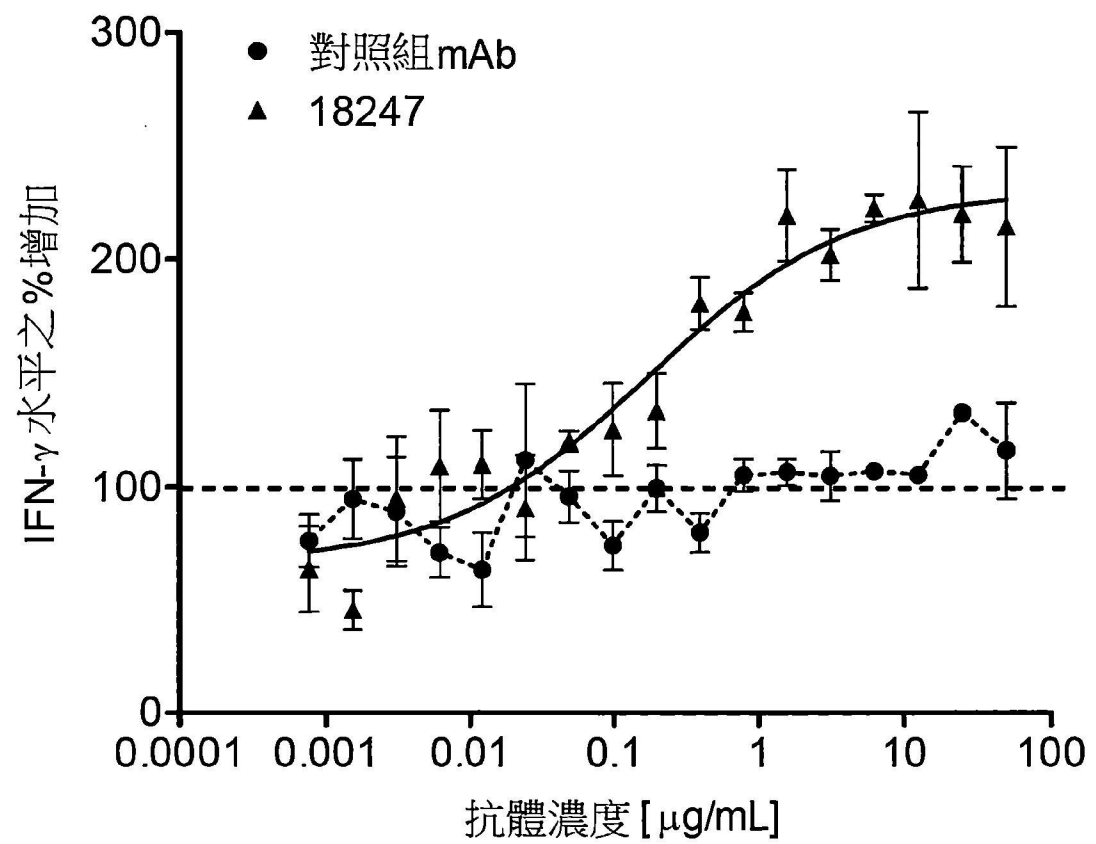
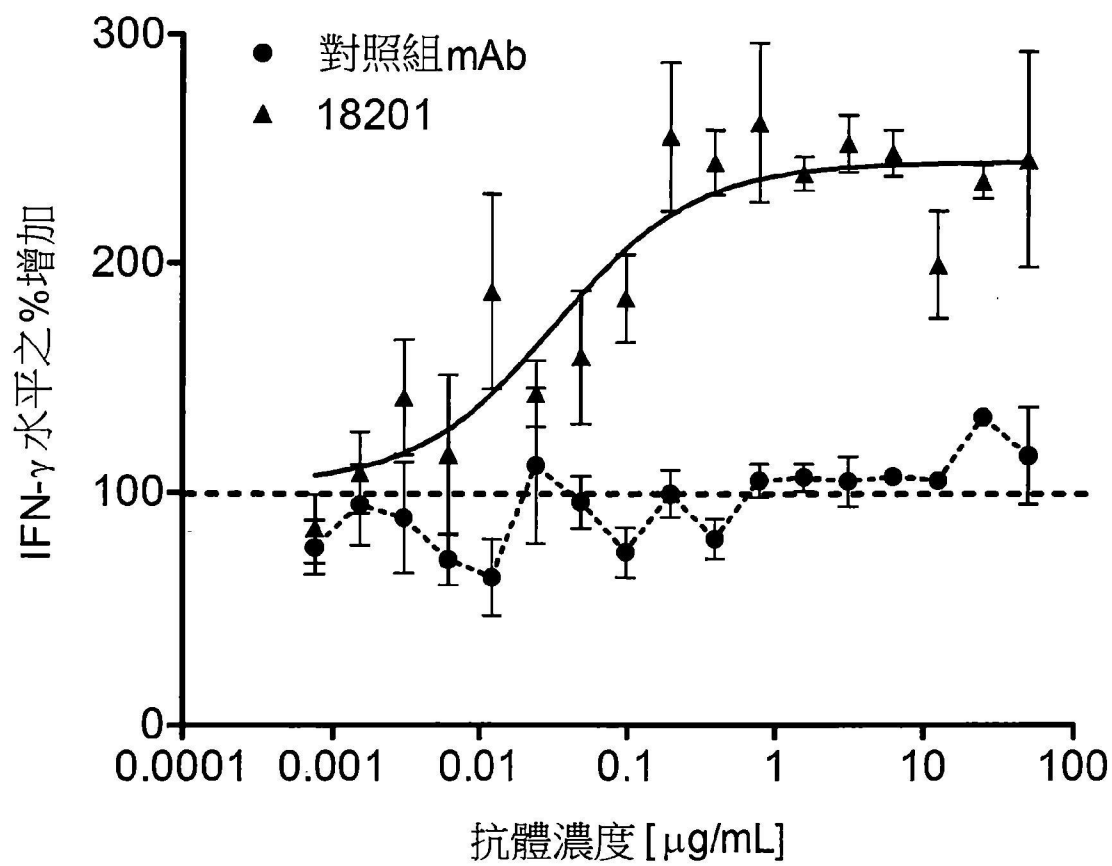


圖 4C

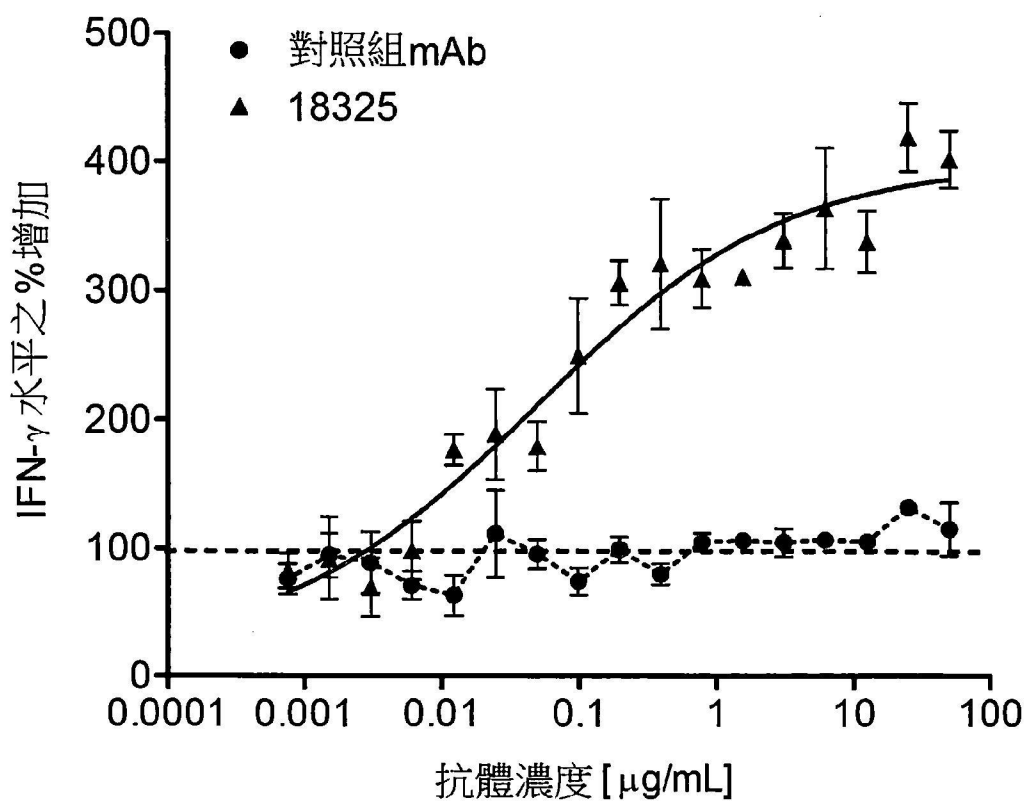
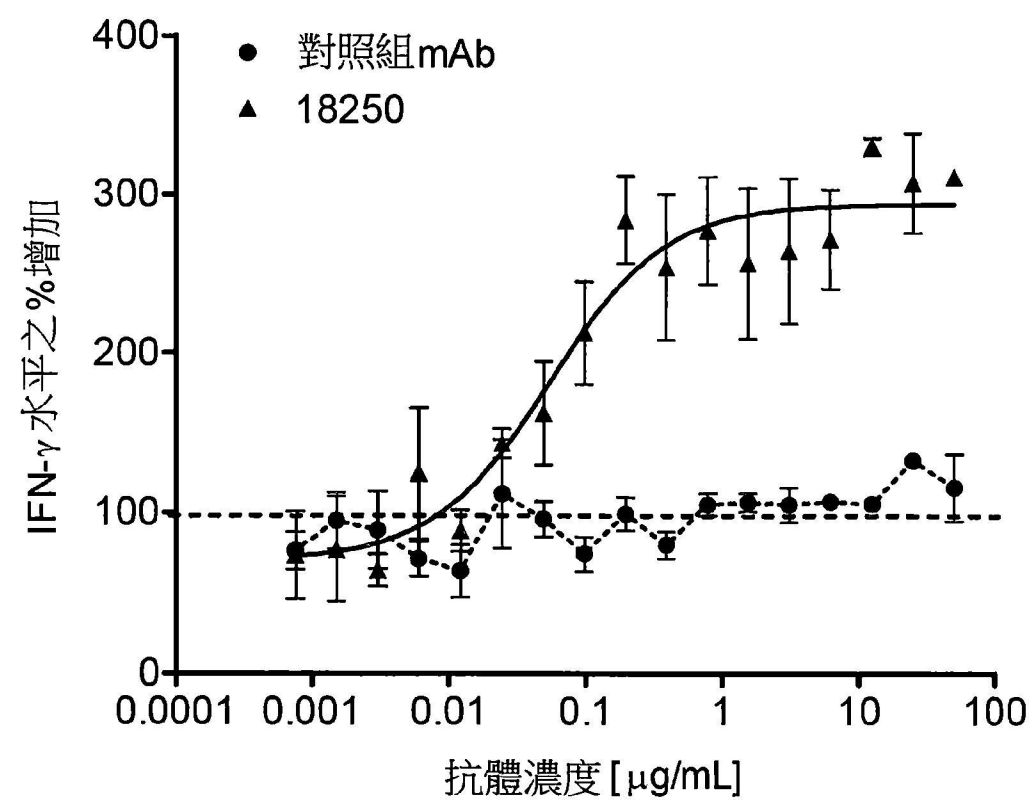


圖 4D

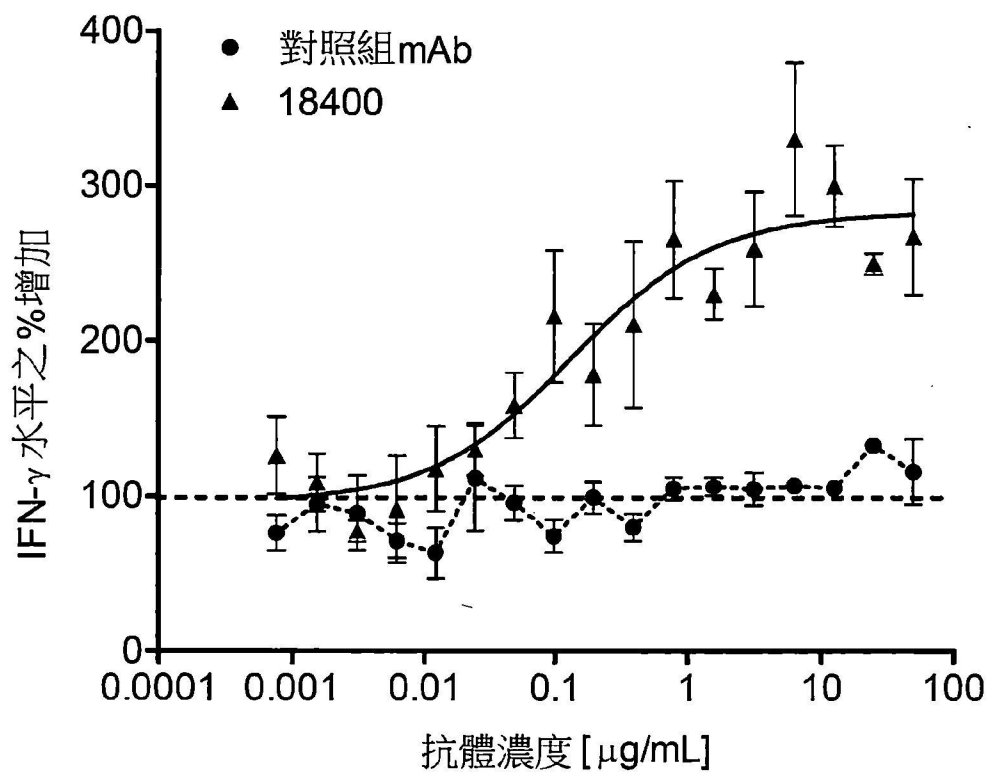
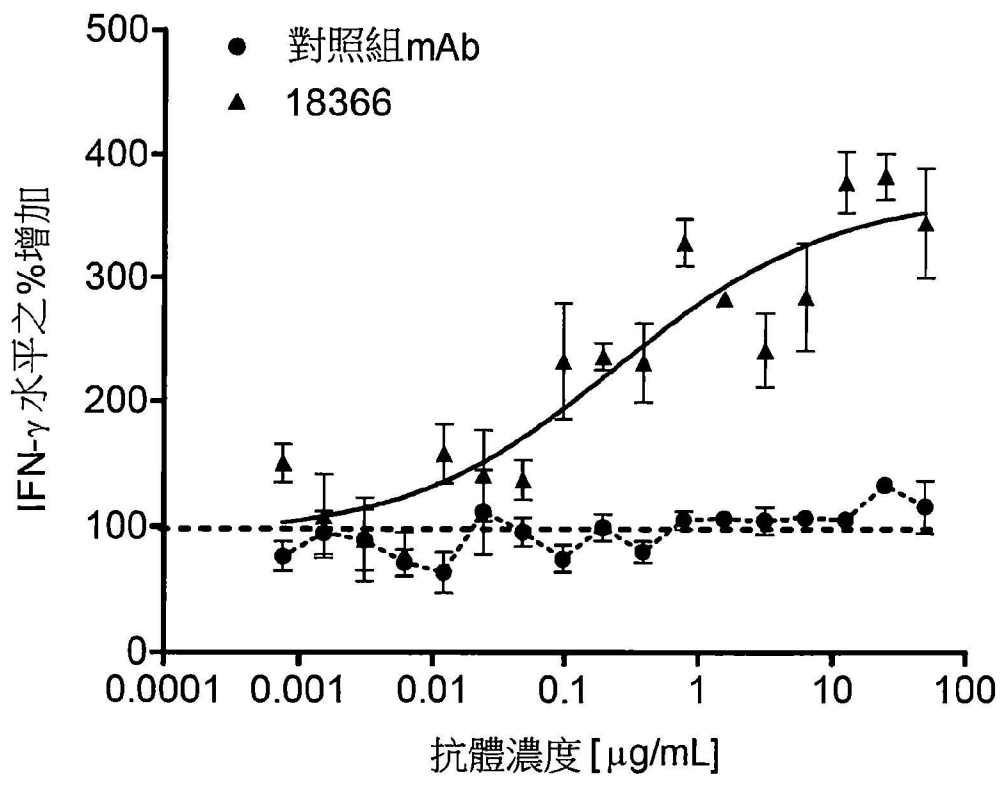


圖 4E

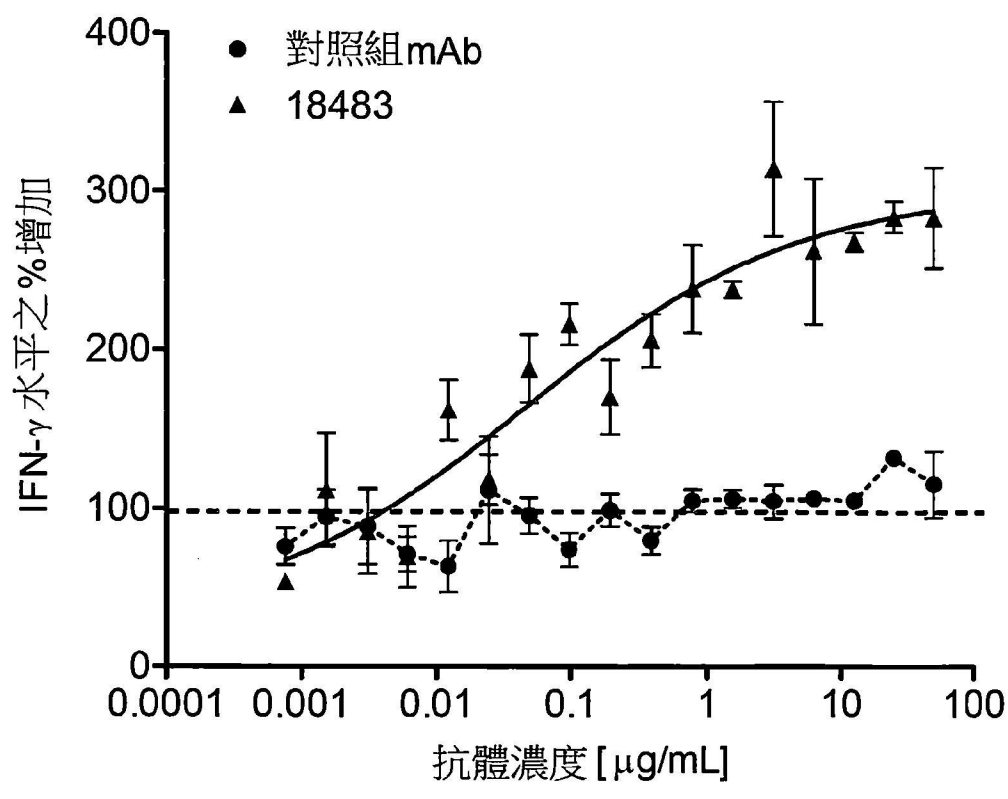
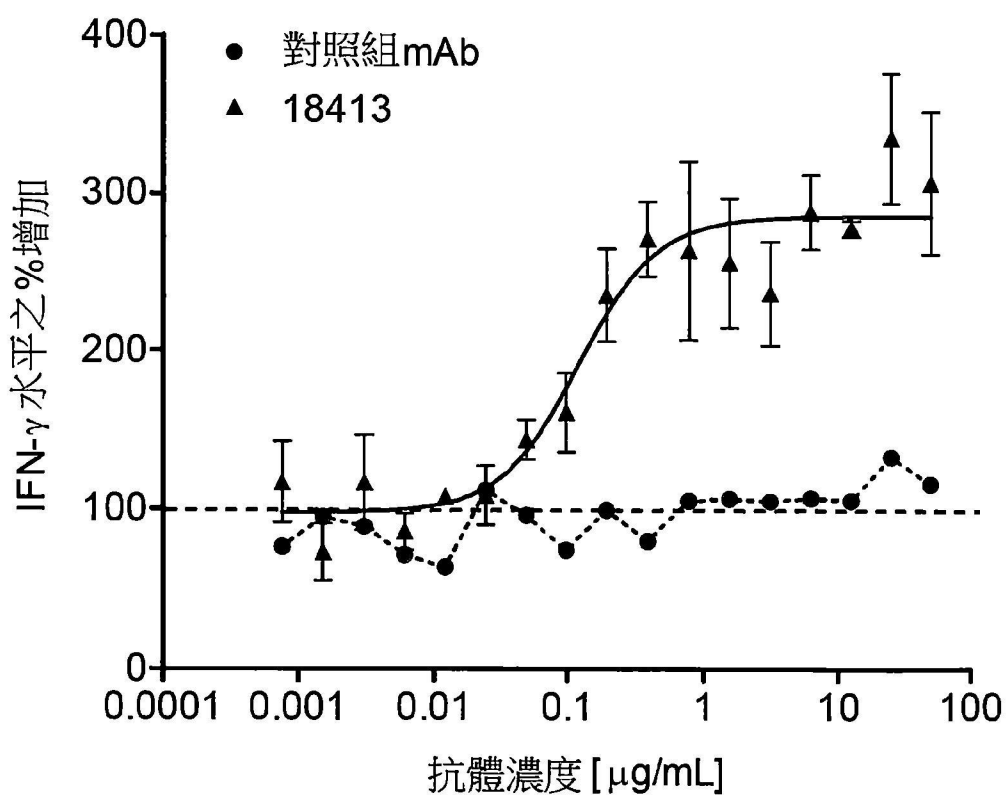


圖 4F

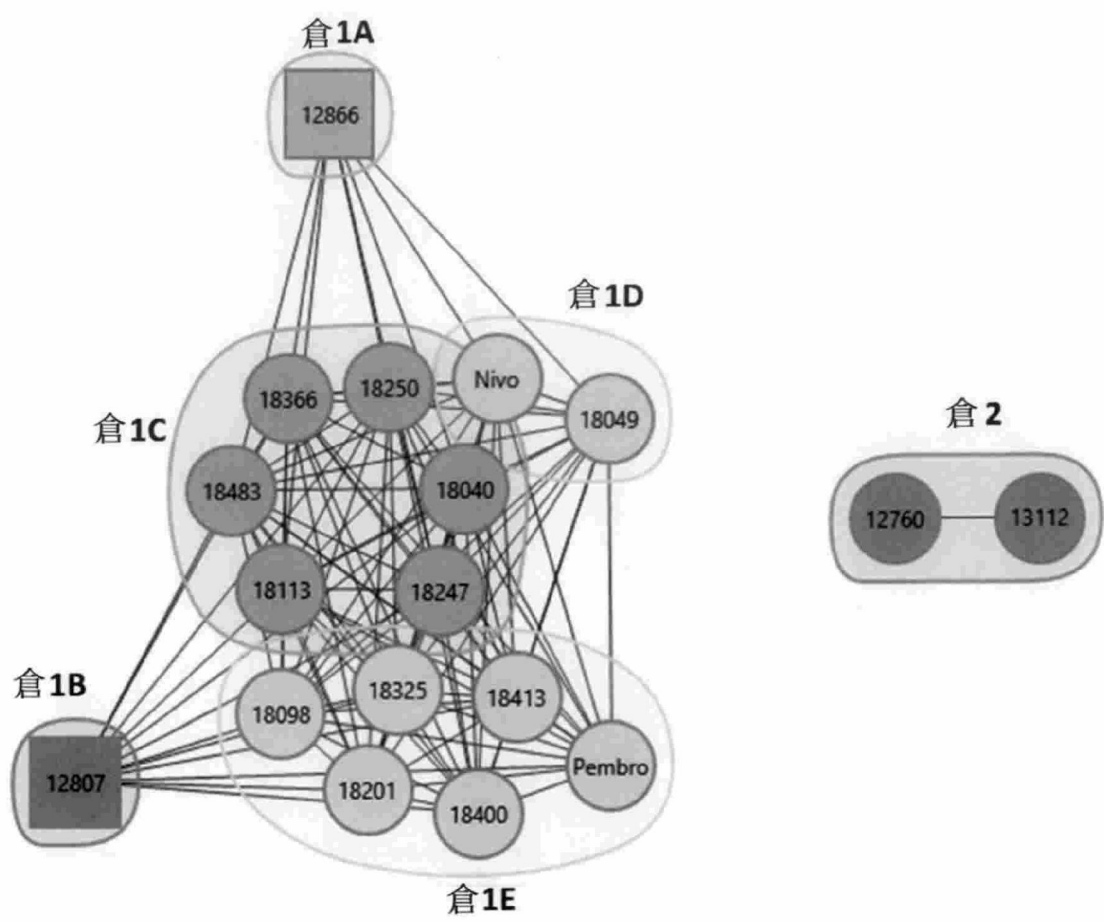


圖 5