(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113527495 A
(43)申请公布日 2021.10.22

(21)申请号 202110836777.1

(22)申请日 2016.04.08

(30)优先权数据
62/144,901 2015.04.08 US

(62)分案原申请数据
201680033770.3 2016.04.08

(71)申请人 索伦托药业有限公司
地址 美国加利福利亚州

(72)发明人 周贺钺 约翰·迪克森·葛雷

(74)专利代理机构 北京市君合律师事务所 11517
代理人 赵昊 顾云峰

(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
C12N 15/13(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)

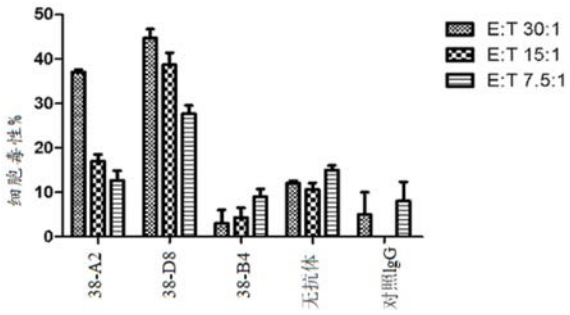
权利要求书4页 说明书35页
序列表19页 附图1页

(54)发明名称

与CD38结合的抗体治疗剂

(57)摘要

公开了涉及或来源于抗CD38抗体的组合物和方法。更具体地，本申请公开了与CD38结合的全人抗体、CD38-抗体结合片段和这些抗体的衍生物，以及包括这些片段的CD38结合多肽。进一步地，公开了编码这些抗体、抗体片段和衍生物及多肽的核酸、包括这些多核苷酸的细胞、制备这些抗体、抗体片段和衍生物及多肽的方法，以及使用这些抗体、抗体片段和衍生物及多肽的方法，包括治疗疾病的方法。



CN 113527495 A

1.一种与CD38表位结合的抗体,其中所述抗体包括:

重链可变域序列,所述重链可变域序列与选自SEQ ID NO.1,SEQ ID NO.3,SEQ ID NO.5,SEQ ID NO.7,SEQ ID NO.9,SEQ ID NO.11,SEQ ID NO.13,SEQ ID NO.15,SEQ ID NO.17,SEQ ID NO.19,SEQ ID NO.21,SEQ ID NO.23,SEQ ID NO.25,SEQ ID NO.27,和SEQ ID NO.29的氨基酸序列至少95%相同;和

轻链可变域序列,所述轻链可变域序列与选自SEQ ID NO.2,SEQ ID NO.4,SEQ ID NO.6,SEQ ID NO.8,SEQ ID NO.10,SEQ ID NO.12,SEQ ID NO.14,SEQ ID NO.16,SEQ ID NO.18,SEQ ID NO.20,SEQ ID NO.22,SEQ ID NO.24,SEQ ID NO.26,SEQ ID NO.28,和SEQ ID NO.30的氨基酸序列至少95%相同。

2.根据权利要求1所述的抗体,其中所述抗体包括选自以下的重链/轻链可变域序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2(本文称为C38A1),SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4(本文称为C38A2),SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6(本文称为C38B1),SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8(本文称为C38B4),SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10(本文称为C38B7),SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12(本文称为C38C4),SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14(本文称为C38C9),SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16(本文称为C38D1),SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18(本文称为C38D2),SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20(本文称为C38D5),SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22(本文称为C38D8),SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24(本文称为C38D10),SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26(本文称为C38D11),SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28(本文称为C38F8),和SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30(本文称为C38G8)。

3.一种分离的抗CD38人抗体或其抗原结合片段,其包括重链可变域,所述重链可变域包括选自SEQ ID NO.1,SEQ ID NO.3,SEQ ID NO.5,SEQ ID NO.7,SEQ ID NO.9,SEQ ID NO.11,SEQ ID NO.13,SEQ ID NO.15,SEQ ID NO.17,SEQ ID NO.19,SEQ ID NO.21,SEQ ID NO.23,SEQ ID NO.25,SEQ ID NO.27,和SEQ ID NO.29的重链可变域氨基酸序列所示的互补决定区;和

轻链可变域,所述轻链可变域包括选自SEQ ID NO.2,SEQ ID NO.4,SEQ ID NO.6,SEQ ID NO.8,SEQ ID NO.10,SEQ ID NO.12,SEQ ID NO.14,SEQ ID NO.16,SEQ ID NO.18,SEQ ID NO.20,SEQ ID NO.22,SEQ ID NO.24,SEQ ID NO.26,SEQ ID NO.28,和SEQ ID NO.30的轻链可变域氨基酸序列所示的互补决定区。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的抗体,所述抗体是IgG类全人抗体。

5.一种抗体片段,其包括重链可变域,所述重链可变域包括与选自SEQ ID NO.1,SEQ ID NO.3,SEQ ID NO.5,SEQ ID NO.7,SEQ ID NO.9,SEQ ID NO.11,SEQ ID NO.13,SEQ ID NO.15,SEQ ID NO.17,SEQ ID NO.19,SEQ ID NO.21,SEQ ID NO.23,SEQ ID NO.25,SEQ ID NO.27,和SEQ ID NO.29的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列;和

轻链可变域序列,所述轻链可变域序列与选自SEQ ID NO.2,SEQ ID NO.4,SEQ ID NO.6,SEQ ID NO.8,SEQ ID NO.10,SEQ ID NO.12,SEQ ID NO.14,SEQ ID NO.16,SEQ ID NO.18,SEQ ID NO.20,SEQ ID NO.22,SEQ ID NO.24,SEQ ID NO.26,SEQ ID NO.28,和SEQ ID NO.30的氨基酸序列至少95%相同。

6.根据权利要求5所述的抗体片段,其中所述抗体包括选自以下的重链/轻链可变域序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、

SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28,和SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30。

7.根据权利要求5或6所述的抗体片段,所述抗体片段是全人抗体Fab片段。

8.一种抗CD38单链人抗体,其包括由肽接头连接的重链可变域和轻链可变域,其中所述重链可变域包括与选自SEQ ID NO.1,SEQ ID NO.3,SEQ ID NO.5,SEQ ID NO.7,SEQ ID NO.9,SEQ ID NO.11,SEQ ID NO.13,SEQ ID NO.15,SEQ ID NO.17,SEQ ID NO.19,SEQ ID NO.21,SEQ ID NO.23,SEQ ID NO.25,SEQ ID NO.27,和SEQ ID NO.29的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列;并且

所述轻链可变域序列与选自SEQ ID NO.2,SEQ ID NO.4,SEQ ID NO.6,SEQ ID NO.8,SEQ ID NO.10,SEQ ID NO.12,SEQ ID NO.14,SEQ ID NO.16,SEQ ID NO.18,SEQ ID NO.20,SEQ ID NO.22,SEQ ID NO.24,SEQ ID NO.26,SEQ ID NO.28,和SEQ ID NO.30的氨基酸序列至少95%相同。

9.根据权利要求8所述的单链抗体,其包括选自以下的重链/轻链可变域序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2,SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4,SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6,SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8,SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10,SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12,SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14,SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16,SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18,SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20,SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22,SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24,SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26,SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28,和SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30。

10.根据权利要求1至9中任一项所述的抗体、抗体片段或单链抗体,所述抗体、抗体片段或单链抗体的K_D为至少$1x10^{-6}$M。

11.根据权利要求1至10中任一项所述的抗CD38抗体或抗体片段或单链抗体在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

12.根据权利要求11所述的用途,其中所述癌症选自非霍奇金淋巴瘤(NHL)、伯基特淋巴瘤(BL)、多发性骨髓瘤(MM)、B型慢性淋巴细胞白血病(B-CLL)、B和T型急性淋巴细胞白血病(ALL)、T细胞淋巴瘤(TCL)、急性髓细胞性白血病(AML)、毛细胞白血病(HCL)、霍奇金淋巴瘤(HL)和慢性髓细胞性白血病(CML)。

13.根据权利要求12所述的用途,其中所述抗体或其抗原结合片段包括重链可变域,所述重链可变域包括选自SEQ ID NO.1,SEQ ID NO.3,SEQ ID NO.5,SEQ ID NO.7,SEQ ID NO.9,SEQ ID NO.11,SEQ ID NO.13,SEQ ID NO.15,SEQ ID NO.17,SEQ ID NO.19,SEQ ID NO.21,SEQ ID NO.23,SEQ ID NO.25,SEQ ID NO.27,和SEQ ID NO.29的重链可变域氨基酸序列所示的互补决定区;和

轻链可变域,所述轻链可变域包括选自SEQ ID NO.2,SEQ ID NO.4,SEQ ID NO.6,SEQ ID NO.8,SEQ ID NO.10,SEQ ID NO.12,SEQ ID NO.14,SEQ ID NO.16,SEQ ID NO.18,SEQ ID NO.20,SEQ ID NO.22,SEQ ID NO.24,SEQ ID NO.26,SEQ ID NO.28,和SEQ ID NO.30的轻链可变域氨基酸序列所示的互补决定区。

14.根据权利要求13所述的用途,其中所述癌症选自非霍奇金淋巴瘤(NHL)、伯基特淋

巴瘤(BL)、多发性骨髓瘤(MM)、B型慢性淋巴细胞白血病(B-CLL)、B和T型急性淋巴细胞白血病(ALL)、T细胞淋巴瘤(TCL)、急性髓细胞性白血病(AML)、毛细胞白血病(HCL)、霍奇金淋巴瘤(HL)和慢性髓细胞性白血病(CML)。

15.一种药物组合物,其包括权利要求1至10中任一项所述的抗CD38抗体或抗体片段或单链抗体,和药学上可接受的载体。

16.一个或多个核酸,其编码根据权利要求1至10中任一项所述的抗体或抗体片段或单链抗体。

17.根据权利要求16所述的一个或多个核酸,所述核酸编码结合CD38表位的IgG类抗体或抗体片段或单链抗体,其中所述抗体或抗体片段或单链抗体包括

(i)包括氨基酸序列SEQ ID NO:3的重链可变域序列;和

包括氨基酸序列SEQ ID NO:4的轻链可变域序列;或

(ii)包括氨基酸序列SEQ ID NO:3的CDR1、CDR2和CDR3的重链可变域,和包括氨基酸序列SEQ ID NO:4的CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变域。

18.根据权利要求16或17所述的一个或多个核酸,其中所述抗体或抗体片段或单链抗体包括所述重链可变域序列,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:3,和所述轻链可变域序列,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:4。

19.根据权利要求16或17所述的一个或多个核酸,其中所述抗体或抗体片段或单链抗体是IgG1抗体。

20.根据权利要求16或17所述的一个或多个核酸,其中所述抗体或抗体片段或单链抗体是IgG4抗体。

21.根据权利要求16或17所述的一个或多个核酸,其中所述抗体是全长抗体。

22.根据权利要求16或17所述的一个或多个核酸,其中所述抗体或抗体片段或单链抗体是包括重链可变域序列和轻链可变域序列的抗体片段或单链抗体。

23.根据权利要求22所述的一个或多个核酸,其中所述抗体片段或单链抗体是Fab或$F(ab')_2$片段或scFv。

24.根据权利要求15所述的药物组合物,其中所述抗体或抗体片段或单链抗体与CD38结合的结合亲和力为至少$1x10^{-6}$M。

25.根据权利要求15所述的药物组合物,其中所述抗体或抗体片段或单链抗体与CD38结合的结合亲和力为至少$1x10^{-8}$M。

26.根据权利要求15、24或25中任一项所述的药物组合物,其中所述抗体或抗体片段或单链抗体是IgG1抗体。

27.根据权利要求15、24或25中任一项所述的药物组合物,其中所述抗体或抗体片段或单链抗体是包括重链可变域序列和轻链可变域序列的抗体片段或单链抗体。

28.根据权利要求18所述的一个或多个核酸,其中所述抗体或抗体片段或单链抗体是IgG4抗体。

29.根据权利要求18所述的一个或多个核酸,其中所述抗体或抗体片段或单链抗体与CD38结合的结合亲和力为至少$1x10^{-6}$M。

30.根据权利要求18所述的一个或多个核酸,其中所述抗体或抗体片段或单链抗体与CD38结合的结合亲和力为至少$1x10^{-8}$M。

31.根据权利要求16或17所述的一个或多个核酸,其中所述抗体或抗体片段或单链抗体包括:包括与SEQ ID NO:3至少95%相同的氨基酸序列的重链可变域,包括与SEQ ID NO:4至少95%相同的氨基酸序列的轻链可变域,重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:3所示的三个重链互补决定区(CDRs),和轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:4所示的三个轻链CDRs。

32.一个或多个载体,其包括根据权利要求16-23或28-31中任一项所述的一个或多个核酸。

33.一种宿主细胞,其包括根据权利要求16-23或28-31中任一项所述的一个或多个核酸。

34.一种宿主细胞,其包括根据权利要求32所述的一个或多个载体。

35.一种制备抗体的方法,其包括在其中制备抗体的条件下培养根据权利要求32或33所述的细胞。

与CD38结合的抗体治疗剂

[0001] 相关申请

[0002] 本申请是申请号为201680033770.3、申请日为2016年4月8日、发明名称为“与CD38结合的抗体治疗剂”的中国发明专利申请的分案申请，原申请为国际申请号为PCT/US2016/026567的国家阶段申请，该国际申请要求2015年4月8日提交申请号为62/144901的美国临时申请的优先权，其内容在此以引用方式全文并入本文。

技术领域

[0003] 本发明提供了涉及或来源于抗CD38抗体的组合物及方法。更具体地，本发明提供与CD38结合的全人抗体、CD38-抗体结合片段和这些抗体的衍生物，以及包含这些片段的CD38-抗体结合多肽。进一步地，本发明提供编码这些抗体、抗体片段和衍生物及多肽的核酸、包含这些多核苷酸的细胞、制备这些抗体、抗体片段和衍生物及多肽的方法，以及使用这些抗体、抗体片段和衍生物及多肽的方法，包括治疗疾病的方法。

背景技术

[0004] CD38是45kD的II型跨膜糖蛋白，具有长C-末端胞外域和短N-末端胞质域。CD38蛋白是双功能胞外酶，其能够催化NAD^+转化成环腺苷二磷酸核糖(cADPR)，且还将cADPR水解成ADP-核糖。在个体发育的过程中，CD38出现在$CD34^+$定向干细胞和淋巴细胞、红细胞和骨髓细胞的谱系定向祖细胞上。在T细胞和B细胞发育的不同阶段，在大部分淋巴细胞谱系中，CD38表达以不同的表达水平得到持续。

[0005] 在许多血液恶性肿瘤和来源于各种血液恶性肿瘤的细胞系中，CD38得到上调，所述血液恶性肿瘤包括非霍奇金淋巴瘤(NHL)、伯基特淋巴瘤(BL)、多发性骨髓瘤(MM)、B型慢性淋巴细胞白血病(B-CLL)、B和T型急性淋巴细胞白血病(ALL)、T细胞淋巴瘤(TCL)、急性髓细胞性白血病(AML)、毛细胞白血病(HCL)、霍奇金淋巴瘤(HL)和慢性髓细胞性白血病(CML)。另一方面，造血系统的大部分原始多能性干细胞为CD38-。血液恶性肿瘤中的CD38表达及其与疾病进展的关联使CD38成为抗CD38抗体治疗的吸引人的靶。

[0006] 已经报道CD38参与Ca^{2+}迁移(Morra et al.,1998,FASEB J.,12:581-592;Zilber et al.,2000,Proc Natl Acad Sci USA,97:2840-2845)以及在淋巴细胞和骨髓细胞或细胞系中参与通过多种信号传导分子酪氨酸磷酸化的信号转导，其中所述信号传导分子包括磷脂酶C-γ、2AP-70、syk和c-cbl(Funaro et al.,1993,Eur J Immunol,23:2407-2411;Morra et al.,1998,FASEB J.,12:581-592;Funaro et al.,1990,J Immunol,145:2390-2396;Zubiaur et al.,1997,J Immunol,159:193-205;Deaglio et al.,2003,Blood 102:2146-2155;Todisco et al.,2000,Blood,95:535-542;Konopleva et al.,1998,J Immunol,161:4702-4708;Zilber et al.,2000,Proc Natl Acad Sci USA,97:2840-2845;Kitanaka et al.,1997,J Immunol,159:184-192;Kitanaka et al.,1999,J Immunol,162:1952-1958;Mallone et al.,2001,Int Immunol,13:397-409)。在这些观察资料的基础上，CD38被提议为淋巴细胞和骨髓细胞在其正常发育过程中成熟和活化的重要信号传导

分子。

[0007] CD38在信号转导和造血作用中的具体作用尚不清楚,特别是因为大部分这些信号转导研究一直使用异常过表达CD38的细胞系和抗-CD38单克隆抗体(其为非生理状态的配体)。因为CD38蛋白具有产生cADPR(能够诱导Ca^{2+}迁移的分子)的酶促活性(Lee et al.,1989,J Biol Chem,264:1608-1615;Lee and Aarhus,1991,Cell Regul,2:203-209),因此已经提议单克隆抗体连接CD38能够通过提高cADPR的产量而在淋巴细胞中激发Ca^{2+}迁移和信号转导(Lee et al.,1997,Adv ExpMed Biol,419:411-419)。与该设想相反,CD38的截短和点突变分析显示其胞质尾部和其酶促活性对于抗CD38抗体所介导的信号传导都不是必须的(Kitanaka et al.,1999,J Immunol,162:1952-1958;Lund et al.,1999,J Immunol,162:2693-2702;Hoshino et al.,1997,J Immunol,158,741-747)。

[0008] CD38功能的证据来自于$CD38^{-/-}$敲除小鼠,该小鼠在其先天免疫中具有缺陷,且由于树突状细胞迁移缺陷引起T细胞依赖性激素应答降低(Partida-Sanchez et al.,2004,Immunity,20:279-291;Partida-Sanchez et al.,2001,Nat Med,7:1209-1216)。然而,不清楚CD38在小鼠中的功能是否与CD38在人中的功能一致,因为在造血过程中CD38的表达模式在人和小鼠之间CD38显著不同:a)与人中的不成熟祖干细胞不同,小鼠中的类似祖干细胞表达高水平的CD38(Randall et al.,1996,Blood,87:4057-4067;Dagher et al.,1998,Biol Blood Marrow Transplant,4:69-74),b)尽管在人B细胞发育过程中,在生发中心B细胞和浆细胞中发现了高水平的CD38表达(Uckun,1990,Blood,76:1908-1923;Kumagai et al.,1995,J ExpMed,181:1101-1110),但在小鼠中,CD38在相应细胞中的表达水平较低(Oliver et al.,1997,J Immunol,158:1108-1115;Ridderstad and Tarlinton 1998,J Immunol,160:4688-4695)。

[0009] 在文献中已经描述了若干抗-人CD38抗体,其对各种肿瘤细胞和细胞系具有不同的增殖特性。例如,具有小鼠Fab和人IgG1 Fc的嵌合OKT10抗体在存在来自MM患者或正常个体的外周血单核效应细胞的情况下,介导非常有效地针对淋巴细胞的抗体依赖性细胞介导毒性(ADCC)(Stevenson et al.,1991,Blood,77:1071-1079)。CDR-嫁接的人源化版本抗-CD38抗体AT13/5已经显示具有针对CD38-阳性细胞系具有有效的ADCC活性(US09/797,941A1)。人单克隆抗-CD38抗体已经显示介导ADCC和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)对CD38-阳性细胞系,的体外杀伤并延迟携带MM细胞系RPMI-8226(WO2005/103083A2)的SCID小鼠中的肿瘤生长。另一方面,若干抗-CD38抗体、IB4、SUN-4B7和OKT10而不是IB6、AT1或AT2诱导正常个体的外周血单核细胞(PBMC)增殖(Ausiello et al.2000,Tissue Antigens,56:539-547)。

[0010] 现有技术中的某些抗体已经显示能够在$CD38^{+}$B细胞中激发凋亡。然而,这些抗体仅在存在基质细胞或基质细胞衍生的细胞因子的情况下才能够这样做。抗-CD38拮抗抗体(IB4)已经被报道防止人生发中心(GC)B细胞的凋亡(Zupo et al.1994,Eur J Immunol,24:1218-1222),并且诱导KG-1和HL-60AML细胞的增殖(Konopleva et al.1998,J Immunol,161:4702-4708),但诱导Jurkat T成淋巴细胞的凋亡((Morra et al.1998,FASEB J,12:581-592)。另一种抗-CD38抗体T16诱导不成熟淋巴细胞和来自ALL患者的白血病成淋巴细胞的凋亡(Kumagai et al.1995,J Exp Med,181:1101-1110),以及来自AML患者的白血病成髓细胞的凋亡(Todisco et al.2000,Blood,95:535-542),但是T16仅在存在基质细

胞或基质细胞衍生的细胞因子(IL-7、IL-3、干细胞因子)的情况下诱导凋亡。

发明内容

[0011] 本发明至少部分涉及能够结合CD38(例如,人CD38)的蛋白质,包括抗CD38抗体及其抗原结合片段。

[0012] 在一个方面,本发明提供结合至CD38表位的分离的IgG类全人抗体,其中所述抗体包括重链可变域序列和轻链可变域序列,所述重链可变域序列与选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27及SEQ ID NO.29的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同,所述轻链可变域序列与选自SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18及SEQ ID NO.20的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同。

[0013] 在一个方面,本发明提供一种以至少10^{-6}M的结合亲和力与CD38表位结合的IgG类全人抗体,所述抗体具有重链可变域序列且具有轻链可变域序列,所述重链可变域序列与选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29及其组合的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同,所述轻链可变域序列与选自SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30及其组合的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同。

[0014] 在一方面,本发明提供一种分离的全人抗CD38抗体,所述抗体包括重链可变域序列,并包括轻链可变域序列,所述重链域序列如选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、和SEQ ID NO.27及SEQ ID NO.29的氨基酸序列所示;所述轻链可变域序列如选自SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18及SEQ ID NO.20的氨基酸序列所示。

[0015] 在一个实施例中,该全人抗CD38抗体具有重链和轻链,其中所述抗体具有重链/轻链可变域序列:重链/轻链可变域序列选自SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2(本文称为C38A1),SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4(本文称为C38A2),SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6(本文称为C38B1),SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8(本文称为C38B4),SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10(本文称为C38B7),SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12(本文称为C38C4),SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14(本文称为C38C9),SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16(本文称为C38D1),SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18(本文称为C38D2),SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20(本文称为C38D5),SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22(本文称为C38D8),SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24(本文称为C38D10),SEQ ID

NO.25/SEQ ID NO.26(本文称为C38C11),SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28(本文称为C38F8),SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30(本文称为C38G8),及其组合。

[0016] 在一个实施例中,本发明提供一种抗CD38全人抗体Fab片段,所述抗CD38全人抗体Fab片段具有来自重链的可变区域和来自轻链的可变区域,其中所述重链可变域包括与选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29及其组合的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同、或至少99%相同的氨基酸序列,且包括轻链可变域,所述轻链可变域与选自SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30及其组合的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同。在一个实施例中,所述全人抗体Fab片段具有重链可变区域和轻链可变区域,其中所述抗体具有重链/轻链可变域序列,所述重链/轻链可变域序列选自:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30及其组合。

[0017] 在一个实施例中,本发明的特征在于全人抗体Fab片段,所述全人抗体Fab片段包括重链可变域和轻链可变域,其中所述重链可变域包括选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27和SEQ ID NO.29的氨基酸序列;所述轻链可变域序列包括选自SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28和SEQ ID NO.30的氨基酸序列。

[0018] 在另一方面,本发明提供一种抗CD38单链人抗体,所述抗CD38单链人抗体包括来自重链的可变区域和来自轻链的可变区域以及连接重链和轻链可变区域的肽接头,其中所述重链可变域包括与选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同、或至少99%相同的氨基酸序列,其中所述轻链可变域包括与选自SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30及其组合的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同的氨基酸序列。

[0019] 在一个实施例中,本发明包括一种全人单链抗体,所述全人单链抗体包括重链可

变区域和轻链可变区域,其中该单链全人抗体具有选自下组的重链/轻链可变域序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30及其组合。

[0020] 在另一方面,本发明提供一种抗CD38单链人抗体,所述抗CD38单链人抗体包括来自重链的可变区域和来自轻链的可变区域以及连接重链和轻链可变区域的肽接头,其中所述重链可变域包括选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29的氨基酸序列,并且其中所述轻链可变域包括选自SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30,及其组合的氨基酸序列。

[0021] 本发明还包括的是分离的抗CD38抗体或其抗原结合片段,分离的抗CD38抗体或其抗原结合片段包括重链可变域并包括轻链可变区,该重链可变域包括选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27和SEQ ID NO.29的重链可变区氨基酸序列中所示的互补决定区(CDRs),该轻链可变区包括选自SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28和SEQ ID NO.30的轻链可变区氨基酸序列所示的CDR。

[0022] 在一个实施例中,所述抗CD38全人抗体或抗体片段具有重链可变域,且具有轻链可变域,所述重链可变域与选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ IDNO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29及其组合的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同、或至少99%相同,所述轻链可变域包括与选自SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30及其组合的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同的氨基酸序列。在一个实施例中,所述全人抗体或抗体片段包括重链可变域且包括轻链可变域,所述重链可变域包括选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29及其组合的氨基酸序列,所述轻链可变域包括选自SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID

NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30及其组合的氨基酸序列。

[0023] 在某些实施例中，所述抗CD38全人抗体具有重链和轻链，其中所述抗体包括选自下组的重链/轻链可变域序列：SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2(本文称为C38A1)，SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4(本文称为C38A2)，SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6(本文称为C38B1)，SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8(本文称为C38B4)，SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10(本文称为C38B7)，SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12(本文称为C38C4)，SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14(本文称为C38C9)，SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16(本文称为C38D1)，SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18(本文称为C38D2)，SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20(本文称为C38D5)，SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22(本文称为C38D8)，SEQ ID NO23/SEQ ID NO.24(本文称为C38D10)，SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26(本文称为C38

[0024] D 11)，SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28(本文称为C38F8)，SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30(本文称为C38G8)，及其组合。在其它实施例中，所述全人单链抗体具有重链可变区域和轻链可变区域，其中该单链全人抗体具有选自下面的重链/轻链可变域序列：SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30及其组合。

[0025] 本发明进一步提供一种用于治疗广谱哺乳动物癌症的方法，包括施用抗CD38多肽，例如抗人CD38抗体或其抗原结合片段。

[0026] 在某些实施例中，待治疗的广谱哺乳动物癌症选自非霍奇金淋巴瘤(NHL)、伯基特淋巴瘤(BL)、多发性骨髓瘤(MM)、B型慢性淋巴细胞白血病(B-CLL)、B和T型急性淋巴细胞白血病(ALL)、T细胞淋巴瘤(TCL)、急性髓细胞性白血病(AML)、毛细胞白血病(HCL)、霍奇金淋巴瘤(HL)和慢性髓细胞性白血病(CML)。

[0027] 在某些实施例中，本发明的抗CD38抗体或其抗原结合片段的K_D为至少$1x10^{-6}$M。在其它实施例中，本发明的抗CD38抗体或其抗原结合片段的K_D为至少$1x10^{-7}$M。在其它实施例中，本发明的抗CD38抗体或其抗原结合片段的K_D为至少$1x10^{-8}$M；至少$1x10^{-9}$M；至少$1x10^{-10}$M。

[0028] 在一个实施例中，所述抗CD38抗体为IgG。在某些实施例中，所述抗CD38抗体为IgG1同种型。在其它实施例中，所述抗CD38抗体为IgG4同种型。

[0029] 在某些实施例中，本文所述的抗CD38抗体或抗原结合片段为重组体。在某些实施例中，本文所述的抗CD38抗体或抗原结合片段为人抗体或抗体的抗原结合片段。

[0030] 本发明还提供包括有效量的本文公开的抗CD38抗体或片段的药物组合物和药学上可接受的载体。

附图说明

[0031] 图1为用以评估抗CD38抗体C38A2(“38-A2”)、C38D8(“38-D8”)和C38B4(“38-B4”)

结合CD38表达细胞并促进功能活性的能力的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)试验结果。测定每种测试抗体的百分比(%)细胞毒性。图1中的数据显示抗CD38抗体38-A2和38-D8结合Ramos靶细胞并促进针对Ramos靶细胞的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)活性。使用IgG匹配抗体作为对照。通过孵育天然杀伤细胞(效应细胞)与抗体包被的肿瘤细胞(靶细胞)来进行ADCC试验。NK细胞与肿瘤细胞的比例称为E:T比值(效应物与靶比例)。

具体实施方式

[0032] 定义

[0033] 术语“肽”、“多肽”和“蛋白”均指包括2个或以上相互以肽键连接的氨基酸残基的分子。这些术语涵盖,例如,天然和人工蛋白、蛋白片段、蛋白序列的多肽类似物(例如突变蛋白、变体蛋白或融合蛋白),以及翻译后修饰蛋白,或者共价或非共价修饰蛋白。肽、多肽或蛋白可以是单体或聚合体。

[0034] 多肽的“变体”(例如,抗体的变体)包括相对于其他多肽序列而插入、删除和/或取代了一个或多个氨基酸残基的氨基酸序列。已公开的变体包括,例如,融合蛋白。

[0035] 多肽的“衍生物”是经过化学修饰,如通过连接另一个化学部分(例如,聚乙二醇,或白蛋白,如人血清白蛋白)、磷酸化和糖基化,的多肽(例如,抗体)。除非另有说明,否则术语“抗体”除了指包括两条全长的重链和两条全长的轻链的抗体之外,还包括其衍生物、变体、片段及突变蛋白,其示例如下所述。

[0036] “抗原结合蛋白”是包括以下部分的蛋白:与抗原结合的部分;以及可选地支架或骨架部分,该支架或骨架部分允许抗原结合部分采取促进抗原结合蛋白与蛋白的结合的构型。抗原结合蛋白的例子包括抗体、抗体片段(例如,抗体的抗原结合部分)、抗体衍生物和抗体类似物。该抗原结合蛋白可以包括,例如,具有接枝的CDRs或CDR衍生物的替代蛋白支架或人工支架。所述支架包括但不限于,包含引入了突变(例如用于稳定该抗原结合蛋白的三维结构的突变)的抗体衍生支架,以及包括例如生物可相容聚合物的全合成支架。例如参见:Korndorfer et al.,2003,Proteins:Structure,Function,and Bioinformatics,Volume 53,Issue 1:121-129;Roque et al.,2004,Biotechnol.Prog.20:639-654。此外,可以使用肽抗体模拟物("PAMs"),以及基于利用纤维蛋白连接素成分为支架的抗体模拟物的支架。

[0037] 抗原结合蛋白可以具有,例如,免疫球蛋白的结构。“免疫球蛋白”是四聚物分子,由2对相同的多肽链组成,每对中有一条“轻”(约25kDa)链和一条“重”链(约50-70kDa)。每条链的氨基末端部分包括约100-110或以上氨基酸的可变区,主要负责抗原识别。每条链的羰基末端部分限定恒定区,主要负责效应子功能。人轻链归类为κ(kappa)或λ(lambda)轻链;重链归类为μ(mu)、Δ(delta)、γ(gamma)、α(alpha)或ε(epsilon),将抗体的同种型分别限定为IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。优选地,本文公开的该抗EGFR抗体的特征在于其重链和轻链氨基酸序列中的可变区域序列(V_H和V_L)。优选的抗体为A6,A6为κIgG抗体。在轻链和重链中,可变区和区由约12个或以上氨基酸的“J”区连接,其中重链还包括约10个或以上氨基酸的“D”区。一般请参见Fundamental Immunology Ch.7(Paul,W.,ed.,2nd ed.Raven Press,N.Y.(1989))。每对轻/重链的可变区形成抗体结合位点,因此完整的免疫球蛋白具有2个结合位点。

[0038] 免疫球蛋白链的可变区呈现的相同通用结构为相对保守骨架区(FR)由3个高变区(也称为互补决定区或CDRs)连接。从N-端到C-端,轻链和重链均包含FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4域。每个域中的氨基酸分配与Kabat et al.在Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.,US Dept.of Health and Human Services,PHS,NIH,NIH Publication no.91-3242,1991中所述一致。其它的免疫球蛋白链氨基酸编号系统包括IMGT.RTM.(国际免疫遗传学信息系统(international ImMunoGeneTics information system;Lefranc et al,Dev.Comp.Immunol.29:185-203;2005)和AHo(Honegger and Pluckthun,J.Mol.Biol.309(3):657-670;2001)。

[0039] 除非另有说明,“抗体”指的是完整的免疫球蛋白或其能与完整的抗体竞争进行特异结合的抗原结合部分。在一个实施例中,抗体包括两个相同的重链,每个重链包括重链可变域(VH)和重链恒定区C_{H1},C_{H2}和C_{H3};并且包括两个相同的轻链,每个轻链包括轻链可变域(VL)和轻链恒定区(C_L)。重链和轻链可变域序列可以选自本文SEQ ID Nos:1到30所述的那些序列。

[0040] 在某些实施例中,抗体可以从含多样化抗原特异性免疫球蛋白的来源,如血清或血浆,制得。如果对此类抗体进行亲和纯化,则其能够针对特定抗原特异性进行富集。这样的抗体富集制剂通常由低于约10%的针对特定抗原具有特异性结合活性的抗体组成。将这些制剂经过几轮亲和纯化,能够增加针对抗原具有特异性结合活性的抗体的比例。以此方式制备的抗体通常被称为“单特异性”。

[0041] 单特异性抗体制剂可以由约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或99.9%的针对特定抗原具有特异性结合活性的抗体组成。

[0042] 在某些实施例中,抗原结合蛋白如抗体可以具有一个或多个结合位点。若结合位点超过一个,则这些结合位点可以彼此相同或不同。例如,天然存在的人免疫球蛋白典型地具有2个相同的结合位点,而“双特异”或“双官能团”抗体具有2个不同的结合位点。

[0043] “抗体片段”或“抗体的抗原结合片段”包含完整的抗体的一部分,优选包含抗体抗原结合或可变域。抗体片段的例子包括但不限于Fab、Fab’、F(ab’)$_2$、Fv片段和线性抗体。抗体片段自始至终也被称为“抗体部分”。

[0044] 抗体的抗原结合部分(或片段)可以由重组DNA技术或完整抗体的酶切或化学裂解法制备。抗原结合部分尤其包括Fab、Fab’、F(ab’)2、Fv、域抗体(dAbs),以及互补决定区(CDR)片段、单链抗体(scFv)、嵌合抗体、双抗体,三抗体,四体抗体和含有足以使抗原与多肽特异性结合的免疫球蛋白的至少一部分的多肽。

[0045] Fab片段是具有VL、VH、CL和CH1域的单价片段;F(ab’)$_2$片段是具有2个Fab片段的二价片段,其Fab片段在铰链区处由二硫键连接;Fd片段具有VH和C H1域;Fv片段具有抗体单臂的VL和VH域;dAb片段具有VH域、VL域,或具有VH域或VL域的抗原结合片段(美国专利6846634、6696245;美国专利申请公开20/0202512、2004/0202995、2004/0038291、2004/0009507、2003/0039958,以及Ward et al.,Nature 341:544-546,1989)。

[0046] 双抗体是含有两条多肽链的二价抗体,其中每条多肽链包括由接头连接的V_L和V_H域,且该接头太短而不允许同一条链上的两个域之间配对,由此每个域能够与另一条多肽链上的互补域配对(参见,例如,Holliger et al.,1993,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-48,and Poljak et al.,1994,Structure 2:1121-23)。若双抗体的2条多肽链相同,

则其配对所得的双抗体将具有2个相同的抗原决定位点。具有不同序列的多肽链可用于形成具有2个不同抗原结合位点的双抗体。类似地，三抗体和四抗体分别是含有3个或4个多肽链并分别形成3个或4个抗原结合位点(可以相同或不同)的抗体。

[0047] 术语“人抗体”包括具有来源于人免疫球蛋白序列的一个或多个可变区和恒定区的抗体。在一个实施例中，所有的抗体可变区和恒定区均来源于人免疫球蛋白序列(称为“全人抗体”)。这些抗体可以从多种途径制备，下文对此进行了举例，包括通过与小鼠的目标抗原的免疫反应，其中小鼠经过基因改造以表达来源于人重链和/或轻链编码基因的抗体。在一个优选的实施例中，使用重组方法制备全人抗体，使得抗体的糖基化模式与具有相同序列的抗体(如果其存在于自然界中)不同。

[0048] 人源化抗体的序列与来源于非人物种的抗体序列不同之处在于一个或多个氨基酸的取代、删除和/或添加，使得该人源化抗体与非人物种抗体相比，在给人类对象施用时引起免疫反应的可能性较小和/或引起的免疫反应严重性较小。在一个实施例中，非人物种抗体的重链和/或轻链的骨架和恒定域中的某些氨基酸突变，以产生人源化抗体。在另一个实施例中，人抗体的恒定域与非人物种的可变域融合。在另一个实施例中，非人抗体的一个或多个CDR序列中的一个或多个氨基酸残基改变，从而在给人类对象施用时，降低该非人抗体可能的免疫原性，其中改变的氨基酸残基要么对于该抗体与其抗原的免疫特异结合来说并不重要，或所进行的该氨基酸序列的改变是保守变化，由此该人源化抗体与抗原的结合并不明显差于该非人抗体与抗原的结合。如何制备人源化抗体的示例可以参见美国专利6054297、5886152和5877293。术语“嵌合抗体”是指含有来自一个抗体的一个或多个区和来自一个或多个其它抗体的一个或多个区的抗体。在一个实施例中，一个或多个CDRs来源于人抗CD38抗体。在另一个实施例中，所有CDRs都来源于人抗CD38抗体。在另一个实施例中，来源于一个以上人抗CD38抗体的CDRs混合并搭配在嵌合抗体中。例如，嵌合抗体可以包括来源于第一个人抗PAR-2抗体的轻链的CDR1、来源于第二个人抗CD38抗体的轻链的CDR2和CDR3，以及来源于第三个抗CD38抗体的重链的CDRs。其它组合也是可能的。

[0049] 此外，骨架区可以来源于相同的抗CD38抗体之一，来源于一个或多个不同抗体，例如人抗体，或来源于人源化抗体。在嵌合抗体的一个实施例中，所述重链和/或轻链的一部分等同于、同源于或来源于特定物种的抗体，或属于特定抗体类型或亚类，且所述链的剩余部分等同于、同源于或来源于另一个物种的抗体，或属于另一个抗体类型或亚类。还包括所述抗体呈现所需生物活性的片段(即，能够特异性结合CD38的能力)。

[0050] “CDR接枝抗体”是含有来源于特定物种或同种型抗体的一个或多个CDRs和来源于相同或不同物种或同种型的另一抗体的骨架的抗体。

[0051] “多特异抗体”是识别一种或多种抗原上的一个以上的表位的抗体。此类型抗体的亚类为“双特异抗体”，其识别相同或不同抗体上的两个不同表位。

[0052] 若抗原结合蛋白在结合抗原(例如人CD38)时的解离常数为1毫微摩尔或以下，则称抗原结合蛋白与抗原“特异结合”。

[0053] “抗原结合域”、“抗原结合区”或“抗原结合位点”是指抗原结合蛋白上含有与抗原相互作用的氨基酸残基(或其它化学部分)并有利于该抗原结合蛋白与该抗原间的特异性和亲和性的部分。对于与其抗原特异结合的抗体而言，这包括其至少一个CDR域的至少一部分。

[0054] 术语“Fc多肽”包括来源于抗体Fc区域的多肽的原生和突变形式。还包括含有促进二聚化的铰链区的这些多肽的截短形式。含有Fc部分的融合蛋白(及由此形成的寡聚物)提供的有益效果在于,易于通过蛋白质A或蛋白质G柱来以亲和层析法进行纯化。

[0055] “表位”是通过抗原结合蛋白(例如,通过抗体)结合的分子的部分。表位可以包括该分子的非邻近部分(例如,在多肽中,在多肽一级序列中并不相邻但在该多肽的三级和四级结构中相互足够靠近从而被抗原结合蛋白结合的氨基酸残基)。

[0056] 两个多核苷酸或两个多肽序列的“相同百分比”或“同源百分比”是用GAP电脑程序(GCG Wisconsin Package,version 10.3(Accelrys,San Diego,Calif.)中的一部分)以其默认参数来比较序列而确定的。

[0057] 术语“多核苷酸”、“寡核苷酸”和“核酸”在全文中可交换地使用,其包括DNA分子(例如cDNA或基因组DNA)、RNA基因组(例如mRNA)、以核苷酸类似物生成的DNA或RNA类似物(例如,肽核酸和非天然存在核苷酸类似物)及其杂合体。核酸分子可以是单链或双链的。在一个实施例中,本发明的核酸分子包括编码抗体或其片段、衍生物、突变蛋白或变体的连续开放阅读框。

[0058] 若两条单链多核苷酸的序列能够反向平行对齐,使得一条多核苷酸中的每个核苷酸都与另一条多核苷酸上的互补核苷酸相对,而不存在间隙,且各序列的5’端或3’端也没有不配对的核苷酸,则称这两条多核苷酸互为“互补链”。若一条多核苷酸与另一条多核苷酸彼此可在中等严格条件下相互杂交,则称该两条多核苷酸“互补”。因此,一条多核苷酸可以在并非对方互补链的情况下与另一条多核苷酸互补。

[0059] “载体”是一种可用于将另一条与之连接的核酸引入细胞的核酸。一种载体类型是“质粒”,即可供额外核酸片段连接的线形或环形双链DNA分子。另一种载体类型是病毒载体(例如复制缺陷反转录病毒、腺病毒和腺相关病毒),其中额外DNA片段可引入病毒基因组中。某些载体被引入宿主细胞后能够进行自主复制(例如,含有细菌复制起点的细菌载体和附加体哺乳类载体)。其它载体(例如,非附加体哺乳类载体)在引入宿主细胞时,整合到宿主细胞的基因组中,由此随着宿主基因组进行复制。“表达载体”是一种能够进行指定多核苷酸表达的载体类型。

[0060] 当核苷酸序列所连接的调控序列影响该核苷酸序列的表达(例如表达水平、时机或位点)时,则称该核苷酸序列“可操作地”连接到该调控序列。“调控序列”是影响与之可操作地连接的核酸的表达(例如表达水平、时机或位点)的核酸。例如,调控序列可以直接对所调控的核酸起作用,或通过一个或多个其它分子(例如与该调控序列和/或核酸结合的多肽)来起作用。调控序列的例子包括启动子、增强子和其它表达控制元件(例如,多腺苷酸化信号)。调控序列的更多示例记述在例如Goeddel,1990,Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185,Academic Press,San Diego,Calif.和Baron et al.,1995,Nucleic Acids Res.23:3605-06.中。

[0061] “宿主细胞”是可用于表达核酸,例如本发明核酸的细胞。宿主细胞可以是原核细胞,例如E.coli;或其可以为真核细胞,例如真核单细胞(如酵母菌或其它真菌)、植物细胞(例如,烟草或番茄植物细胞)、动物细胞(如人细胞、猴细胞、仓鼠细胞、小鼠细胞、大鼠细胞或昆虫细胞)或杂种细胞。宿主细胞的例子包括猴肾细胞COS-7系(ATCC CRL 1651)(参见Gluzman et al.,1981,Cell 23:175)、L细胞、C127细胞、3T3细胞(ATCC CCL 163)、中国仓

鼠卵巢(CHO)细胞或其衍生物|(例如Veggie CHO)和在无血清培养基上生长的相关细胞系(参见Rasmussen et al.,1998,Cytotechnology 28:31),或CHO的DX-B11品系(缺少DHFR)(参见Urlaub et al.,1980,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216-20)、HeLa细胞、BHK(ATCC CRL 10)细胞系、源于非洲绿猴肾细胞系CV1的CV1/EBNA细胞系(ATCC CCL 70)(参见McMahan et al.,1991,EMBO J.10:2821)、人胚肾细胞(例如293、293EBNA或MSR 293)、人表皮A431细胞、人Colo205细胞、其它转化灵长类细胞系、正常二倍体细胞、源于初生组织和初生外植体的体外培养所得的细胞系、HL-60、U937、HaK或Jurkat细胞。在一个实施例中,宿主细胞是哺乳动物宿主细胞,但不是人宿主细胞。典型地,宿主细胞是能够以编码多肽且能够在该宿主细胞中表达的核酸转化或转染得到的培养细胞。术语“重组宿主细胞”可用于表示已经用需表达的核酸来转化或转染的宿主细胞。宿主细胞还可以是指包含该核酸,但在调控序列被引入该宿主细胞并与该核酸可操作连接以前,并不以所需表达水平来表达该核酸的细胞。应当理解,术语“宿主细胞”并不单指特定的对象细胞,而是也指所述细胞的后代或潜在后代。因为由于例如突变或环境影响的存在,后代中可能发生某些修饰,使得这些后代事实上与其亲代细胞并不等同,但其仍包括在本文使用的该术语所涵盖的范围内。

[0062] 术语“重组抗体”是指可以由包含抗体或其一部分(例如编码重链或轻链的DNA序列)的编码序列的表达载体(或多个表达载体)转染的细胞或细胞系表达的抗体。在一个实施例中,所述编码序列不与细胞天然相关。在一个实施例中,如果重组抗体存在于自然界中,则其具有与含有相同序列的抗体的糖基化模式不同的糖基化模式。在一个实施例中,重组抗体在哺乳动物宿主细胞中表达,而不是人宿主细胞。值得注意的是,个体哺乳动物宿主细胞具有独特的糖基化模式

[0063] 本文所用术语“有效量”是指与CD38结合的抗体或其抗原结合部分的量,其足以在施用于对象时达到治疗疾病的效果。在单独或组合使用时,本文提供的治疗有效量的抗体将根据抗体的相对活性及组合(例如,抑制细胞生长),并且根据所治疗的对象和疾病状况、对象的体重和年龄、疾病状况的严重程度、管理方式等而变化,其可以由本领域普通技术人员轻易地确定。

[0064] 术语“分离的”是指基本上不含其它细胞材料的蛋白质(例如,抗体)。在一个实施例中,分离的抗体基本上不含来自相同物种的其它蛋白质。在一个实施例中,分离的抗体由来自不同物种的细胞表达,并且基本上不含来自不同物种的其它蛋白质。通过使用本领域熟知的蛋白质纯化技术,通过分离,蛋白质可以基本上不含天然相关组分(或与用于产生抗体的细胞表达系统相关的组分)。在一个实施例中,分离本发明的抗CD38抗体或抗原结合片段。

[0065] “中和抗体”或“抑制抗体”是当过量抗CD38抗体使蛋白水解活化量降低至少约20%(使用如本文实施例中所述的化验)时,抑制CD38的蛋白水解活化的抗体。在各实施例中,抗原结合蛋白将CD38的蛋白水解活化量降低至少30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%和99.9%。

[0066] CD38抗原结合蛋白

[0067] 本发明涉及CD38结合蛋白,特别涉及结合CD38,例如人CD38的抗CD38抗体或其抗原结合片段(例如抗CD38人抗体和抗体片段)及其用途。本发明的各个方面涉及抗体和抗体片段、药物组合物、核酸、重组表达载体,以及用于制备此类抗体和片段的宿主细胞。本发明

还包括使用本发明抗体在体外或体内检测人CD38以抑制CD38活性,以及预防或治疗疾病如癌症的方法。

[0068] 如下面的表1所述,本申请包括对CD38具有特异性的新型抗体重链和轻链可变区。在一个实施例中,本发明提供一种抗CD38抗体或其抗原结合片段,其包括重链,所述重链具有包含SEQ ID NO:1,SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、和SEQ ID NO.29中任一个所示的氨基酸序列的可变域。在一个实施例中,本发明提供一种抗CD38抗体或其抗原结合片段,其包括轻链,所述轻链具有包含SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28和SEQ ID NO.30中任一个所示的氨基酸序列的可变域。在一个实施例中,本发明提供一种抗CD38抗体或其抗原结合片段,其包括轻链和重链,所述轻链具有包含如SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28和SEQ ID NO.30中任一个所示的氨基酸序列的可变域;所述重链具有包含SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27和SEQ ID NO.29中任一个所示的氨基酸序列的可变域。

[0069] 互补决定区(CDRs)在轻链和重链可变区中都被称为高变区。可变区的高度保守部分被称为骨架(FR)。给定抗体的互补决定区(CDRs)和骨架区(FR)可以使用上文Kabat等人;Lefranc等人,和/或Honegger和Pluckthun描述的系统来鉴定。Kabat等人描述的编号系统也是本领域技术人员熟知的(1991,NIH Publication 91-3242,National Technical Information Service,Springfield,Va.)。在这方面,Kabat等人定义了适用于任何抗体的可变区序列的编号系统。本领域普通技术人员可以明确地将该系统的“Kabat编号”分配给任何可变域氨基酸序列,而不依赖于序列本身以外的任何实验数据。

[0070] 在某些实施例中,本发明提供一种包含表1(SEQ ID Nos:1至30)中所述的重链和轻链可变域的CDRs的抗CD38抗体。例如,本发明提供一种抗CD38抗体或其抗原结合片段,其包括具有SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27和SEQ ID NO.29中任一个所示的氨基酸序列中的CDRs的重链可变区。在一个实施例中,本发明提供一种抗CD38抗体或其抗原结合片段,其包括轻链可变区,该轻链可变区具有SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28和SEQ ID NO.30中任一个所示的氨基酸序列中所述的CDRs。在一个实施例中,本发明提供一种抗CD38抗体或其抗原结合片段,其包括轻链可变区和重链可变区,该轻链可变区具有SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20中任一个所示的氨基酸序列中所述的CDRs;该重链可变区具有SEQ ID

NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27和SEQ ID NO.29中任一个所示的氨基酸序列中所述的CDRs。

[0071] 在一个实施例中，本发明提供一种以至少10^{-6}M的结合亲和力与CD38表位结合的IgG类全人抗体，其中所述抗体具有重链可变域序列和轻链可变域序列，所述重链可变域序列与选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29及其组合的氨基酸序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同，所述轻链可变域序列与SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30及其组合的氨基酸序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同。在一个实施例中，该全人抗体具有重链和轻链，其中所述抗体具有选自下组的重链/轻链可变域序列：SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2(本文称为C38A1)，SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4(本文称为C38A2)，SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6(本文称为C38B1)，SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8(本文称为C38B4)，SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10(本文称为C38B7)，SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12(本文称为C38C4)，SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14(本文称为C38C9)，SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16(本文称为C38D1)，SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18(本文称为C38D2)，SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20(本文称为C38D5)，SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22(本文称为C38D8)，SEQ ID NO23/SEQ ID NO.24(本文称为C38D10)，SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26(本文称为C38 D 11)，SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28(本文称为C38F8)，SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30(本文称为C38G8)，及其组合。

[0072] 在一个实施例中，本发明提供抗CD38抗体或其抗原结合片段，其包括重链，所述重链包括CDR3域且包括可变区，所述CDR3域如SEQ ID NO.1，SEQ ID NO.3，SEQ ID NO.5，SEQ ID NO.7，SEQ ID NO.9，SEQ ID NO.11，SEQ ID NO.13，SEQ ID NO.15，SEQ ID NO.17，SEQ ID NO.19，SEQ ID NO.21，SEQ ID NO.23，SEQ ID NO.25，SEQ ID NO.27，和SEQ ID NO.29中任一个所示，所述可变区包括与SEQ ID NO.1，SEQ ID NO.3，SEQ ID NO.5，SEQ ID NO.7，SEQ ID NO.9，SEQ ID NO.11，SEQ ID NO.13，SEQ ID NO.15，SEQ ID NO.17，SEQ ID NO.19，SEQ ID NO.21，SEQ ID NO.23，SEQ ID NO.25，SEQ ID NO.27，和SEQ ID NO.29中任一个所示的序列具有至少95％相同性、至少96％相同性、至少97％相同性、至少98％相同性或至少99％相同性的氨基酸序列。在一个实施例中，本发明提供抗CD38抗体或其抗原结合片段，其包括轻链，所述轻链包括CDR3域且包括轻链可变域，所述CDR3域如SEQ ID NO.2，SEQ ID NO.4，SEQ ID NO.6，SEQ ID NO.8，SEQ ID NO.10，SEQ ID NO.12，SEQ ID NO.14，SEQ ID NO.16，SEQ ID NO.18，SEQ ID NO.20，SEQ ID NO.22，SEQ ID NO.24，SEQ ID NO.26，SEQ ID NO.28，和SEQ ID NO30中任一个所示，所述轻链可变域包括与SEQ ID NO.2，SEQ ID NO.4，SEQ ID NO.6，SEQ ID NO.8，SEQ ID NO.10，SEQ ID NO.12，SEQ ID NO.14，SEQ ID NO.16，SEQ ID NO.18，SEQ ID NO.20，SEQ ID NO.22，SEQ ID NO.24，SEQ ID NO.26，SEQ ID NO.28和SEQ ID NO.30中任一个所示的序列具有至少95％相同性、至少96％相同性、至少97％相

同性、至少98％相同性或至少99％相同性的氨基酸序列。因此，在某些实施例中，所述CDR3域保持不变，而可变性可引入本文所述的重链和/或轻链可变区序列的其余CDRs和/或骨架区中，且所述抗体或其抗原结合片段保留结合CD38的能力，并保留亲本功能特征，例如结合亲和力。

[0073] 在一个实施例中，在至少95％相同(或至少96％相同，或至少97％相同，或至少98％相同或至少99％相同)的重链或轻链中进行的置换是保守性氨基酸置换。“保守性氨基酸置换”是指氨基酸残基被具有相似化学性质(例如电荷或疏水性)的侧链(R基团)的另一个氨基酸残基所置换。通常，保守性氨基酸置换基本上不会改变蛋白质的功能特性。在两个或更多个氨基酸序列通过保守性置换彼此不同的情况下，可以向上调整相同性百分比或相似程度，以校正置换的保守性质。

[0074] 用于进行该调整的方法是本领域技术人员所熟知的。参见，例如Pearson(1994)Methods Mol.Biol.24:307-331，其通过引用并入本文。具有化学性质相似的侧链的氨基酸组的实例包括(1)脂肪族侧链：甘氨酸，丙氨酸，缬氨酸，亮氨酸和异亮氨酸；(2)脂肪族-羟基侧链：丝氨酸和苏氨酸；(3)含酰胺侧链：天冬酰胺和谷氨酰胺；(4)芳香族侧链：苯丙氨酸，酪氨酸和色氨酸；(5)碱性侧链：赖氨酸，精氨酸和组氨酸；(6)酸性侧链：天冬氨酸和谷氨酸，和(7)含硫侧链为半胱氨酸和甲硫氨酸。

[0075] 在一个实施例中，本发明针对具有表1所述任何抗体的抗原结合区的抗体或其抗原结合片段。本发明的抗体，包括表1所述的那些抗体，与人CD38结合。

[0076] 在一个实施例中，本发明针对具有抗体C38A1的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中，本发明提供抗体或其抗原结合片段，其包括如SEQ ID NO:1所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:2所示的轻链可变域序列。在一个实施例中，本发明针对这样的抗体：该抗体具有包括SEQ ID NO:1的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:2的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中，本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段，其包括重链可变区且包括轻链可变区，该重链可变区具有与SEQ ID NO:1所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列，该轻链可变区具有与SEQ ID NO:2所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。

[0077] 在一个实施例中，本发明针对具有抗体C38A2的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中，本发明提供抗体或其抗原结合片段，其包括如SEQ ID NO:3所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:4所示的轻链可变域序列。在一个实施例中，本发明针对这样的抗体：该抗体具有包括SEQ ID NO:3的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:4的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中，本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段，其包括重链可变区且包括轻链可变区，该重链可变区具有与SEQ ID NO:3所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列，该轻链可变区具有与SEQ ID NO:4所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。

[0078] 在一个实施例中，本发明针对具有抗体C38B1的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中，本发明提供抗体或其抗原结合片段，其包括如SEQ ID NO:5所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:6所示的轻链可变域序列。在一个实施例中，本发明

针对这样的抗体:该抗体具有包括SEQ ID NO:5的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:6的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中,本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段,其包括重链可变区且包括轻链可变区,该重链可变区具有与SEQ ID NO:5所示的序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同的氨基酸序列,该轻链可变区具有与SEQ ID NO:6所示的序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。在一个实施例中,本发明针对具有抗体C38B4的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中,本发明提供抗体或其抗原结合片段,其包括如SEQ ID NO:7所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:8所示的轻链可变域序列。在一个实施例中,本发明针对这样的抗体:该抗体具有包括SEQ ID NO:7的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:8的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中,本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段,其包括重链可变区且包括轻链可变区,该重链可变区具有与SEQ ID NO:7所示的序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同的氨基酸序列,该轻链可变区具有与SEQ ID NO:8所示的序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。在一个实施例中,本发明针对具有抗体C38B7的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中,本发明提供抗体或其抗原结合片段,其包括如SEQ ID NO:9所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变域序列。在一个实施例中,本发明针对这样的抗体:该抗体具有包括SEQ ID NO:9的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:10的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中,本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段,其包括重链可变区且包括轻链可变区,该重链可变区具有与SEQ ID NO:9所示的序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同的氨基酸序列,该轻链可变区具有与SEQ ID NO:10所示的序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。在一个实施例中,本发明针对具有抗体C38C4的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中,本发明提供抗体或其抗原结合片段,其包括如SEQ ID NO:11所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:12所示的轻链可变域序列。在一个实施例中,本发明针对这样的抗体:该抗体具有包括SEQ ID NO:11的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:12的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中,本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段,其包括重链可变区且包括轻链可变区,该重链可变区具有与SEQ ID NO:11所示的序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同的氨基酸序列,该轻链可变区具有与SEQ ID NO:12所示的序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。在一个实施例中,本发明针对具有抗体C38C9的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中,本发明提供抗体或其抗原结合片段,其包括如SEQ ID NO:13所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:14所示的轻链可变域序列。在一个实施例中,本发明针对这样的抗体:该抗体具有包括SEQ ID NO:13的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:14的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中,本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段,其包括重链可变区且包括轻链可变区,该重链可变区具有与SEQ ID NO:13所示的序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至

少99％相同的氨基酸序列，该轻链可变区具有与SEQ ID NO:14所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。在一个实施例中，本发明针对具有抗体C38D1的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中，本发明提供抗体或其抗原结合片段，其包括如SEQ ID NO:15所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:16所示的轻链可变域序列。在一个实施例中，本发明针对这样的抗体：该抗体具有包括SEQ ID NO:15的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:16的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中，本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段，其包括重链可变区且包括轻链可变区，该重链可变区具有与SEQ ID NO:15所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列，该轻链可变区具有与SEQ ID NO:16所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。

[0079] 在一个实施例中，本发明针对具有抗体C38D2的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中，本发明提供抗体或其抗原结合片段，其包括如SEQ ID NO:17所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:18所示的轻链可变域序列。在一个实施例中，本发明针对这样的抗体：该抗体具有包括SEQ ID NO:17的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:18的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中，本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段，其包括重链可变区且包括轻链可变区，该重链可变区具有与SEQ ID NO:17所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列，该轻链可变区具有与SEQ ID NO:18所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。在一个实施例中，本发明针对具有抗体C38D5的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中，本发明提供抗体或其抗原结合片段，其包括如SEQ ID NO:19所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:20所示的轻链可变域序列。在一个实施例中，本发明针对这样的抗体：该抗体具有包括SEQ ID NO:19的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:20的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中，本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段，其包括重链可变区且包括轻链可变区，该重链可变区具有与SEQ ID NO:19所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列，该轻链可变区具有与SEQ ID NO:20所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。在一个实施例中，本发明针对具有抗体C38D8的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中，本发明提供抗体或其抗原结合片段，其包括如SEQ ID NO:21所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:22所示的轻链可变域序列。在一个实施例中，本发明针对这样的抗体：该抗体具有包括SEQ ID NO:21的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:22的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中，本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段，其包括重链可变区且包括轻链可变区，该重链可变区具有与SEQ ID NO:21所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列，该轻链可变区具有与SEQ ID NO:22所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。在一个实施例中，本发明针

对具有抗体C38D10的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中，本发明提供抗体或其抗原结合片段，其包括如SEQ ID NO:23所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:24所示的轻链可变域序列。在一个实施例中，本发明针对这样的抗体：该抗体具有包括SEQ ID NO:23的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:24的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中，本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段，其包括重链可变区且包括轻链可变区，该重链可变区具有与SEQ ID NO:23所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列，该轻链可变区具有与SEQ ID NO:24所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。

[0080] 在一个实施例中，本发明针对具有抗体C38D11的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中，本发明提供抗体或其抗原结合片段，其包括如SEQ ID NO:25所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:26所示的轻链可变域序列。在一个实施例中，本发明针对这样的抗体：该抗体具有包括SEQ ID NO:25的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:26的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中，本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段，其包括重链可变区且包括轻链可变区，该重链可变区具有与SEQ ID NO:25所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列，该轻链可变区具有与SEQ ID NO:26所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。

[0081] 在一个实施例中，本发明针对具有抗体C38F8的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中，本发明提供抗体或其抗原结合片段，其包括如SEQ ID NO:27所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:28所示的轻链可变域序列。在一个实施例中，本发明针对这样的抗体：该抗体具有包括SEQ ID NO:27的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:28的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中，本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段，其包括重链可变区且包括轻链可变区，该重链可变区具有与SEQ ID NO:27所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列，该轻链可变区具有与SEQ ID NO:28所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。在一个实施例中，本发明针对具有抗体C38G8的抗原结合区的抗CD38抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中，本发明提供抗体或其抗原结合片段，其包括如SEQ ID NO:29所示的重量可变域序列和如SEQ ID NO:30所示的轻链可变域序列。在一个实施例中，本发明针对这样的抗体：该抗体具有包括SEQ ID NO:29的CDRs的重链可变域和包括SEQ ID NO:30的CDRs的轻链可变域。在一个实施例中，本发明的特征在于分离的人抗体或其抗原结合片段，其包括重链可变区且包括轻链可变区，该重链可变区具有与SEQ ID NO:29所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列，该轻链可变区具有与SEQ ID NO:30所示的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的氨基酸序列。抗体还可以为IgG1或IgG4同种型。本发明的抗原结合蛋白的抗体结合片段可以用常规技术制备。所述片段的例子包括但不限于Fab和F(ab')$_2$片段。

[0082] 在某些实施例中，本发明提供一种Fab全人抗体片段，其具有来自重链的可变区域

和来自轻链的可变区域,其中所述重链可变域序列与选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29及其组合的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同,且具有轻链可变域序列,所述轻链可变域序列与SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30及其组合中的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同。在某些实施例中,所述全人抗体Fab片段具有括重链可变区域和轻链可变区域,其中所述抗体具有选自下组的重链/轻链可变域序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30及其组合。在一个实施例中,本发明提供抗CD38 Fab片段,该片段包括重链可变域和轻链可变域,所述重量可变域包括选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29的氨基酸序列,所述轻链可变域包括选自SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30的氨基酸。

[0083] 单链抗体可通过氨基酸桥接(短肽接头)来连接重链和轻链可变域(Fv区)片段,从而得到单一多肽链。这样的单链Fvs(scFvs)通过在编码两个可变域多肽(V_L和V_H)的DNAs之间融合编码连接肽的DNA来制备。所得多肽可以自身折叠来形成抗原结合单体,或其能够形成多聚体(例如二聚体、三聚体或四聚体),取决于两个可变域之间的柔性接头的长度(Kortt et al.,1997,Prot.Eng.10:423;Kortt et al.,2001,Biomol.Eng.18:95-108)。通过结合不同的含V_L和V_H的多肽,可以形成与不同表位结合的多聚体的scFvs(Kriangkum et al.,2001,Biomol.Eng.18:31-40)。为制备单链抗体而开发的技术包括如美国专利4,946,778;Bird,1988,Science 242:423;Huston et al.,1988,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879;Ward et al.,1989,Nature 334:544,de Graaf et al.,2002,Methods Mol.Biol.178:379-87所述的技术。

[0084] 在一个实施例中,本发明提供一种单链人抗体,所述单链人抗体具有来自重链的可变区域和来自轻链的可变区域以及连接重链和轻链可变区域的肽接头,其中所述重链可变域序列与选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同,且具有轻链可变

域序列,所述轻链可变域序列与SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30及其组合的氨基酸序列至少95%相同、至少96%相同、至少97%相同、至少98%相同或至少99%相同。在某些实施例中,所述全人单链抗体具有重链可变区域和轻链可变区域,其中该单链全人抗体具有选自下组的重链/轻链可变域序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30及其组合。在一个实施例中,本发明提供单链人抗体,其包括通过肽接头连接的重链可变域和轻链可变域,其中所述重链可变域包括选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29及其组合的氨基酸序列,所述轻链可变域包括选自:SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30的氨基酸序列已知有用于从感兴趣的抗体获得不同子类或同种型的抗体的方法,即子类转换。因此,例如可以从IgM抗体得到IgG抗体,反之亦然。此类技术允许制备既具有特定抗体(亲代抗体)的抗原结合性质,也具有不同于亲代抗体的抗体同种型或子类的相关生物性质的新抗体。可以使用重组DNA技术。这些过程中可以使用编码特定抗体多肽的克隆DNA,例如编码所需同种型抗体的恒定域的DNA(Lantto et al.,2002,Methods Mol.Biol.178:303-16)。此外,若需要IgG4,则可能希望在铰链区中引入点突变(CPSCP->CPPCP,分别为SEQ ID NOS 31和32)(Bloom et al.,1997,Protein Science 6:407),以减缓重链间形成二硫键从而可能导致IgG4抗体异质性的趋势。因此,在一个实施例中,本发明的抗体是人IgG1抗体。因此,在一个实施例中,本发明的抗体是人IgG4抗体。

[0085] 本发明提供了许多结构特征在于其可变区的氨基酸序列的抗体。然而,该氨基酸序列在保持其与其特异性靶标的高度结合的同时,会发生某些变化。更具体地,可变区域中的许多氨基酸可以用保守性置换来改变,并且可预测所得抗体的结合特征与野生型抗体序列的结合特征不会不同。抗体可变域中有许多氨基酸不直接与抗原作用或影响抗原结合,并且对于决定抗体结构并非是关键的。例如,在任何公开的抗体中的预测的非必需氨基酸残基优选被来自同一类别的另一个氨基酸残基替代。识别不消除抗原结合的氨基酸保守性置换的方法是本领域公知的(参见,例如,Brummell et al.,Biochem.32:1180-1187(1993);Kobayashi et al.Protein Eng.12(10):879-884(1999);and Burks et al.Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94:412-417(1997))。Near et al.Mol.Immunol.30:369-377,1993解释了如何通过定点诱变影响或不影响结合。Near等人认为只有突变的残基才具有改变抗原结合的高可能性。大多数对结合亲和力(Near等人,表3)和结合不同形式的地高辛具有适度或负面影响(Near等人,表2)。因此,在某些实施例中,本发明也包括与本文公开

的序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同的各种序列。

[0086] 在某些实施例中，本文提供的抗体或其抗原结合片段的解离常数(K_D)为1×10^{-6}M或以下；5×10^{-7}M或以下；1×10^{-7}M或以下；5×10^{-8}M或以下；1×10^{-8}M或以下；5×10^{-9}M或以下；或1×10^{-9}M或以下。在一个实施例中，本发明的抗体或其抗原结合片段的K_D为$1x10^{-7}$M至$1x10^{-10}$M。在一个实施例中，本发明的抗体或其抗原结合片段的K_D为$1x10^{-8}$M至$1x10^{-10}$M。本领域普通技术人员会理解用于测定抗体或其片段的K_D的已知标准方法。例如，在一个实施例中，通过放射性抗原结合试验(RIA)来测量K_D。在一个实施例中，使用Fab版本的目标抗体及其抗原进行RIA。例如，Fabs对抗原的溶液结合亲和力通过以下方法测定：在无标记抗原滴定系列存在的情况下，用最小浓度的(125I)-标记的抗原平衡Fab，然后用被抗Fab抗体包覆的板捕获被结合的抗原(参见，例如，Chen et al.,J.Mol.Biol.93:865-881(1999))。根据另一个实施例，使用BIACORE表面等离子体共振试验来测量K_D。本文所用术语“表面等离子体共振”，是指允许通过检测生物传感器基质内的蛋白质浓度变化来分析实时相互作用的光学现象，例如使用BIACORE系统(Biacore Life Sciences division of GE Healthcare,Piscataway,NJ)。

[0087] 在特定的实施例中，本发明的抗原结合蛋白对CD38的结合亲和力(K_a)为至少$10^6$1/Ms。在其它实施例中，抗原结合蛋白呈现的K_a为至少10^7 1/Ms，至少10^8 1/Ms，至少10^9 1/Ms或至少10^{10} 1/Ms。在另一个实施例中，该抗原结合蛋白呈现的K_a与本文实施例中所述的抗体实质相同。

[0088] 在另一个实施例中，本发明提供了一种与CD38的解离速率较低的抗原结合蛋白。在一个实施例中，该抗原结合蛋白的K_{off}为1X $10^{-4}to^{-1}s^{-1}$或更低。在另一个实施例中，该K_{off}为$5X10^{-5}to^{-1}s^{-1}$或更低。在另一个实施例中，K_{off}与本文实施例中所述的抗体实质相同。在另一个实施例中，抗原结合蛋白与CD38结合的K_{off}与本申请实施例中所述的抗体实质相同。

[0089] 另一方面，本发明提供一种抑制CD38活性的抗原结合蛋白。在一个实施例中，该抗原结合蛋白的IC_{50}为1000nM或以下。在另一个实施例中，该IC_{50}为100nM或以下；在另一个实施例中，该IC_{50}为10nM或以下。在另一个实施例中，该IC_{50}与本文实施例中所述的抗体基本相同。在另一个实施例中，该抗原结合蛋白以与本申请中所述的抗体基本相同的IC_{50}抑制CD38活性。

[0090] 另一方面，本发明提供一种与在细胞表面表达的人CD38结合的抗原结合蛋白，且当如此结合时，抑制CD38在该细胞中的信号传导活动，而不会造成细胞表面的CD38的量显著减少。可以使用任何用于测定或估计细胞表面和/或细胞内部的CD38的量的方法。在其它实施例中，该抗原结合蛋白与CD38表达细胞的结合使得低于约75％、50％、40％、30％、20％、15％、10％、5％、1％或0.1％的细胞表面CD38被内吞。

[0091] 另一方面，本发明提供一种抗原结合蛋白，其在体外或体内(例如，对人类对象施用时)的半排出期为至少1天。在一个实施例中，该抗原结合蛋白的半排出期为至少3天。在另一个实施例中，该抗原结合蛋白的半排出期为4天或以上。在另一个实施例中，该抗原结合蛋白的半排出期为8天或以上。在又一个实施例中，该抗原结合蛋白衍生化或改性，从而使其半排出期与未衍生化或未改性的抗原结合蛋白相比更为长久。在另一个实施例中，该抗原结合蛋白包括一个或多个点突变，以增加血清半排出期，例如WO00/09560所述，该文献

通过引用结合于本文中。

[0092] 本发明还提供了多特异性抗原结合蛋白，例如双特异抗原结合蛋白(例如通过两个不同的抗原结合位点或区域，与CD38的两个不同表位结合或与CD38的表位和另一分子的表位结合的抗原结合蛋白)。此外，本文公开的双特异抗原结合蛋白可以包括：来自本文所述的一种抗体的CD38结合位点，以及来自本文所述的另一种抗体的又一CD38结合区，其中涵盖本文引用其它出版物所描述的抗体。可选地，一双特异性抗原结合蛋白可以包括一个来自本文所述的一种抗体的抗原结合位点，以及来自本领域所知的另一种CD38抗体或以已知方法或本文所述方法制备的抗体的又一抗原结合位点。

[0093] 本领域中已知有多种制备双特异性抗体的方法。所述方法包括使用杂交-杂交瘤(hybrid-hybridomas)，如Milstein et al.,1983,Nature 305:537所述，以及抗体片段的化学连接(Brennan et al.,1985,Science 229:81;Glennie et al.,1987,J.Immunol.139:2367;U.S.Patent 6,010,902)。此外，双特异性抗体可以通过重组途径来制备，例如使用亮氨酸拉链部分(即，来自优选地形成异源二聚体的Fos和Jun蛋白；Kostelny et al.,1992,J.Immunol.148:1547)或其它锁匙互动域结构，如美国专利5582996所述。额外的可用技术包括如美国专利5959083和5807706中所述的技术。

[0094] 在另一个方面中，抗原结合蛋白包括抗体的衍生物。该衍生化抗体可以包括赋予该抗体所需性质的任何分子或物质，例如在特定用途中增加其半排出期。所述衍生化抗体可以包括例如可检测的(或标签)部分(例如：放射性、比色的、抗原性或酶活性分子)、可检测珠(例如磁性或电子致密性的(如金珠))、结合另一分子(例如生物素或链霉亲和素)的分子、治疗性或诊断性部分(例如，放射性、细胞毒性或药学活性部分)或能够增加该抗体对一种特定用途(例如向对象如人类对象施用，或其它体内或体外用途)的适用度的分子。可用于衍生抗体的分子的例子包括白蛋白(例如人血清白蛋白)和聚乙二醇(PEG)。连接白蛋白且聚乙二醇化的抗体衍生物可以使用本领域所熟知的技术来制备。在一个实施例中，该抗体与甲状腺素运载蛋白(TTR)或TTR变体缀合或以其他方式连接。该TTR或TTR变体可以用选自下组的化学物质进行化学改性：葡聚糖、聚(N-乙烯基吡咯烷)、聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯多元醇及聚乙烯醇。

[0095] 含有一个或多个抗原结合蛋白的寡聚物可以用作CD38的拮抗剂。寡聚物可以是共价连接或非共价连接的二聚体、三聚体或更高寡聚物的形式。可以使用包括2个或更多抗原结合蛋白的寡聚物，其例子之一为同源二聚体。其它寡聚物包括异源二聚体、同源三聚体、异源三聚体、同源四聚体、异源四聚体等。

[0096] 一个实施例针对包含多个抗原结合蛋白的寡聚体，所述抗原结合蛋白通过共价或非共价作用连接在与所述抗原结合蛋白融合的多肽部分之间。这些多肽可以是肽接头(间隔子)，或具有促进寡聚化性质的多肽。亮氨酸拉链和来源于抗体的某些多肽也属于能够促进与之连接的抗原结合蛋白寡聚化的多肽，下文将详细描述。

[0097] 在特定实施例中，寡聚体包括2至4个抗原结合蛋白。寡聚体的抗原结合蛋白可以是任何形式，例如上述任何形式，例如变体或片段。优选地，寡聚体包括具有CD38结合活性的抗原结合蛋白。

[0098] 用于制备寡聚抗原结合蛋白的另一种方法涉及使用亮氨酸拉链。亮氨酸拉链域是促进其所在的蛋白质的寡聚化的多肽。亮氨酸拉链最初是在若干DNA结合蛋白中识别出来

的(Landschulz et al.,1988,Science 240:1759),此后在各种不同蛋白中也发现过。在已知的亮氨酸拉链中,有二聚化或三聚化的天然存在的多肽及其衍生物。适用于制备可溶寡聚蛋白的亮氨酸拉链域的例子如WO 94/10308所述,以及如Hoppe et al.,1994,FEBS Letters 344:191中所述的来源于肺表面活化蛋白D(SPD)的亮氨酸拉链。Fanslow et al.,1994,Semin.Immunol.6:267-78描述了一种修饰亮氨酸拉链的用途,该亮氨酸拉链允许与其融合的外源蛋白稳定地三聚化。在一种途径中,在适当的宿主细胞中表达含有与亮氨酸拉链融合的抗CD38抗体片段或衍生物的重组融合蛋白,并从培养基上清液中回收所形成的可溶寡聚抗CD38抗体片段或衍生物。针对CD38的抗原结合蛋白可用于例如检测CD38多肽的存在的体外或体内化验。该抗原结合蛋白还可以用于在免疫亲和层析中纯化CD38蛋白。阻断性抗原结合蛋白可用于本文所公开的方法中。具有CD38拮抗剂功能的这些抗原结合蛋白可用于治疗任何CD38引起的病症,包括但不限于各种癌症。

[0099] 抗原结合蛋白可用于体外过程或体内施用以抑制CD38诱导的生物活性。由此可以治疗会因CD38的激活而(直接或间接)受益的病症,所述病症的例子如本文所述。在一个实施例中,本发明提供了一种治疗方法,包括以降低CD38诱导的生物活性的有效剂量,用CD38阻断性抗原结合蛋白向需要其的哺乳动物进行体内施用。

[0100] 在某些实施例中,抗原结合蛋白包括抑制CD38生物活性的全人单克隆抗体。

[0101] 抗原结合蛋白,包括本文所述抗体及抗体片段,可以由多种常规技术中的任一种来制备。例如,可以使用本领域已知的任何技术,从天然表达所述蛋白的细胞中纯化而得(例如,从产生一种抗体的杂交瘤中纯化该抗体),或在重组表达体系中制备。例如,参见:Monoclonal Antibodies,Hybridomas:A New Dimension in Biological Analyses,Kennet et al.(eds.),Plenum Press,New York(1980);and Antibodies:A Laboratory Manual,Harlow and Land(eds.),Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.,(1988)。

[0102] 本领域已知的任何表达体系可用于制备本发明的重组多肽,包括本文所述抗体及抗体片段。

[0103] 一般来说,以包括编码所需多肽的DNA的重组表达载体来转化宿主细胞。可以使用的宿主细胞是原核生物、酵母或高等真核细胞。原核生物包括革兰氏阴性菌或革兰氏阳性菌,例如E.coli或bacilli。更高等的真核细胞包括昆虫细胞和已建立的源于哺乳类的细胞系。合适的哺乳类宿主细胞系的例子包括猴肾细胞(ATCC CRL 1651)(Gluzman et al.,1981,Cell 23:175)的COS-7系、L细胞、293细胞、C127细胞、3T3细胞(ATCC CCL 163)、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、HeLa细胞、BHK(ATCC CRL 10)细胞系,以及来源于非洲绿猴肾细胞系CV1(ATCC CCL 70)的CV1/EBNA细胞系(如McMahan et al.,1991,EMBO J.10:2821所述)。适用于细菌、真菌、酵母菌和哺乳类细胞宿主的克隆和表达载体如Pouwels et al.(Cloning Vectors:A Laboratory Manual,Elsevier,N.Y.,1985)所述。

[0104] 转化后的细胞可以在促进多肽表达的条件下培养,且以常规蛋白纯化程序来回收多肽。一种这样的纯化过程包括使用亲和层析法,例如,通过能与CD38的全部或部分(例如胞外域)结合的基质。本文构思使用的多肽包括基本不含内源性污染杂质的基本同质的重组哺乳类抗CD38抗体多肽。

[0105] 可以使用多种已知技术中的任一种来制备抗原结合蛋白并筛选所需性质。某些技

术涉及分离编码目标抗原结合蛋白(例如,抗CD38抗体)的多肽链(或其部分)的核酸并通过重组DNA技术操纵该核酸。例如,该核酸可以与另一目标核酸融合或变异(例如,通过诱变或其它常规技术)以添加、删除或取代一个或多个氨基酸残基。

[0106] 可以使用本领域中已知的任何标准方法来制备本发明中的多肽。在一个实施例中,使用重组DNA方法,通过将编码该多肽的核酸序列(例如cDNA)插入重组表达载体中,并在促进表达的条件下表达该DNA序列,从而制备所述多肽。

[0107] 在一个实施例中,本发明的特征在于编码本文所述的抗体或抗体片段的核酸。例如,在一个实施例中,本发明包括编码SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29所示的重链可变域的核酸并编码SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30所示的轻链可变域的核酸。

[0108] 编码任一个本文公开的各种多肽中的核酸可以通过化学合成制得。可以选择密码子使用来促进细胞中的表达。这些密码子使用取决于所选择的的细胞类型。E.coli和其它细菌,以及哺乳类细胞、植物细胞、酵母菌细胞和昆虫细胞,都已经发展了专门的密码子使用模式。用于核酸操作的常见技术描述例如可参见:Sambrook et al.,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Vols.1-3,Cold Spring Harbor Laboratory Press,2ed.,1989;或Ausubel et al.,Current Protocols in Molecular Biology(Green Publishing and Wiley-Interscience:New York,1987)及其定期更新,在此以引用方式并入本文。编码该多肽的DNA可操作地连接在来源于哺乳类、病毒或昆虫基因的适当转录或翻译调节因子上。这些调节因子包括转录启动子、可选的用于控制转录的操纵子序列、编码合适的mRNA核糖体结合位点的序列以及控制转录和翻译终止的序列。在宿主中进行复制的能力,通常是借由复制起点赋予的,而且此外还包含了便于识别转化体的选择基因。

[0109] 所述重组DNA还可以包括可用于纯化该蛋白的任何类型蛋白标记序列。蛋白标记的示例包括但不限于组蛋白标记、FLAG标记、myc标记、HA标记或GST标记。适用于细菌、真菌、酵母菌和哺乳动物细胞宿主的克隆和表达载体可以参见Cloning Vectors:A Laboratory Manual,(Elsevier,N.Y.,1985)。

[0110] 采取适用于宿主细胞的方法将该表达结构引入宿主细胞。本领域已知有各种用于将核酸引入宿主细胞的方法,包括但不限于:电穿孔;以氯化钙、氯化铷、磷酸钙、DEAE-葡聚糖(DEAE-dextran)或其他物质进行的转染;微弹轰击法(microprojectile bombardment);脂质转染;以及感染(其中载体充当感染源)。适当的宿主细胞包括原核细胞、酵母菌、哺乳类细胞或细菌细胞。

[0111] 适当的细菌包括革兰氏阴性或革兰氏阳性生物,例如,E.coli或Bacillus spp。酵母菌,优选为Saccharomyces菌种(例如S.cerevisiae),也可以用于多肽制备。各种哺乳类或昆虫细胞培养体系也可用于表达重组蛋白。用于在昆虫细胞中制备异源蛋白的Baculovirus体系可参见综述:Luckow and Summers,(Bio/Technology,6:47,1988)。适当的哺乳类宿主细胞系的例子包括内皮细胞、COS-7猴肾细胞、CV-1、L细胞、C127、3T3、中国仓

鼠卵巢(CHO)、人胚肾细胞、HeLa、293、293T和BHK细胞系。通过培养适当的宿主/载体体系来表达重组蛋白,以制备纯化多肽。在许多应用中,本文公开的众多多肽的小尺寸使得在E.coli中表达成为优选表达方法。然后,从培养基或细胞提取物中纯化该蛋白。

[0112] 蛋白还可以使用细胞翻译体系来制备。为此,必须对编码该多肽的核酸进行修饰,以允许体外转录,从而产生mRNA并允许该mRNA在所用的特定无细胞体系(真核(例如哺乳类或酵母菌)无细胞翻译体系或原核(例如细菌)无细胞翻译体系)中进行无细胞翻译。

[0113] CD38结合性多肽还可以通过化学合成来制备(例如,通过如Solid Phase Peptide Synthesis,2nd ed.,1984,The Pierce Chemical Co.,Rockford,Ill.中所述的方法)。还可以通过化学合成来产生对蛋白的修饰。

[0114] 本发明中的所述多肽可以通过蛋白化学领域众所周知的蛋白分离/纯化方法进行纯化。非限制性的例子包括:提取、重结晶、盐析(例如,硫酸铵或硫酸钠)、离心、渗析、超滤、吸附层析、离子交换层析、疏水层析、正相层析、反相层析、凝胶过滤、凝胶渗透层析、亲和层析、电泳、逆流分布或其任意组合。纯化后,多肽可以交换入不同缓冲液,和/或以本领域所知各种方法中的任一种(包括,但不限于,过滤和渗析)浓缩。

[0115] 纯化多肽优选为具有至少85%纯度,更优选的纯度为至少95%,最优选纯度为至少98%。无论该纯度的确切数值是多少,该多肽的纯度足以用作医药产品。

[0116] 在某些实施例中,本发明提供与CD38结合的单克隆抗体。单克隆抗体可以使用本领域已知的任何方法来制备,例如使从完成免疫接种程序的转基因动物中收获的脾细胞无限增殖化。所述脾细胞可以使用本领域任何技术来无限增殖化,例如将其与骨髓瘤细胞融合以形成杂交瘤。用于制备融合蛋白的杂交瘤技术的骨髓瘤细胞优选为不产生抗体、融合效率高,且缺乏某些酶从而无法在仅支持所需融合细胞(杂交瘤)生长的某些选择性培养基中生长的细胞。适用于小鼠融合的细胞系的例子包括Sp-20、P3-X63/Ag8、P3-X63-Ag8.653、NS1/1.Ag 4 1、Sp210-Ag14、FO、NSO/U、MPC-11、MPC11-X45-GTG 1.7和S194/5XXO Bul;用于大鼠融合的细胞系的例子包括R210.RCY3、Y3-Ag 1.2.3、IR983F和48210。可用于细胞融合的其它细胞系为U-266、GM1500-GRG2、LICR-LON-HMy2和UC729-6。

[0117] 本发明的抗原结合蛋白的抗体结合片段可以用本领域熟知的常规技术制备。

[0118] 多肽的翻译后修饰

[0119] 在某些实施例中,本发明的结合性多肽还可以包括翻译后修饰。示范性翻译后蛋白修饰包括磷酸化、乙酰化、甲基化、ADP-核糖基化、泛素化、糖基化、羰基化、类泛素化、生物素酰化或添加多肽侧链或疏水基。结果,修饰后的可溶性多肽可能含有非氨基酸成分,例如脂类、多糖或单糖、磷酸。糖基化的一种优选形式为唾液酸化,其使一个或多个唾液酸部分与所述多肽缀合。唾液酸部分提高蛋白的可溶性及血清半排出期,同时还降低其可能的免疫原性。参见Raju et al.Biochemistry.2001 31;40(30):8868-76。

[0120] 在一个实施例中,所述可溶性多肽的修饰形式包括将所述可溶性多肽连接至非蛋白质聚合物。在一个特定实施例中,所述聚合物为聚乙二醇(PEG)、聚丙醇或聚氧化烯烃,如美国专利4,640,835;4,496,689;4,301,144;4,670,417;4,791,192或4,179,337所述。

[0121] PEG是可溶于水的聚合物,其市面有售,或可以根据本领域所熟知的方法(Sandler and Karo,Polymer Synthesis,Academic Press,New York,Vol.3,pages 138-161)通过乙二醇的开环聚合反应制备而成。术语"PEG"用于广泛涵盖任何聚乙二醇分子,无论其大小或

PEG末端的修饰如何，且可以用以下公式代表：X--O(CH_2CH_2O)$_n$-CH_2CH_2OH(1)，其中n为20-2300且X为H或末端修饰(例如C_{1-4}烷基)。在一个实施例中，本发明的PEG的一个末端以羟基或甲氧基结尾，即X为H或CH_3(“甲氧基PEG”)。PEG还可以进一步包括：结合反应所必需的化学基团；源于该分子的化学合成的化学基团；或作为该分子的部分的最佳距离的间隔子的化学基团。此外，这样的PEG可以由一个或多个连接在一起的PEG侧链组成。具有一个以上PEG链的PEGs称为多臂或分支PEGs。分支PEGs可以通过例如向各种多元醇(包括甘油、季戊四醇、山梨醇)添加聚氧化乙烯来制备。例如，可以从季戊四醇和环氧乙烷制备4臂分支PEG。例如，EP-A0473084和美国专利5932462描述了分支PEG。PEGs的一种形式包括两个通过赖氨酸的主要氨基连接的PEG侧链(PEG2)(Monfardini et al.,Bioconjugate Chem.6(1995)62-69)。

[0122] 相对于未修饰的结合多肽的清除率，PEG修饰的多肽的血清清除率可以降低约10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％或甚至90％。该PEG修饰的多肽的半排出期($t_{1/2}$)也可能相对于未修饰的蛋白得到改善。相对于未修饰的结合多肽的半排出期，该PEG结合多肽的半排出期可以改善至少10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、100％、125％、150％、175％、200％、250％、300％、400％或500％，或甚至1000％。在某些实施例中，该蛋白半排出期是体外，例如在盐水缓冲溶液或血清中，测定的。在其它实施例中，该蛋白半排出期是体内半排出期，例如该蛋白在血清或动物的其它体液中的半排出期。

[0123] 治疗方法、剂型和施用模式

[0124] 本发明还提供一种治疗广谱哺乳动物癌症的方法，其包括施用本发明的抗CD38抗体或抗原结合片段。

[0125] 在一个实施例中，本发明提供一种治疗癌症的方法，包括施用抗CD38抗体或其片段，其中所述抗CD38抗体或其片段选自：以至少为10^{-6}M的结合亲和度与CD38表位结合的IgG类全人抗体；包括来自重链的可变域和来自轻链的可变域的Fab全人抗体片段；包括来自重链的可变域和来自轻链的可变域的以及连接所述重链和轻链可变域的肽接头的单链人抗体。可用于本发明的抗体和片段的重链和轻链可变区(以及所述序列内的CDR)如SEQ ID Nos.1-30(表1)所述。

[0126] 在一个实施例中，本文公开的方法包括全人抗体的用途，该全人抗体包括重链可变域序列且包括轻链可变域序列，该重链可变域序列与选自SEQ ID NO.1,SEQ ID NO.3,SEQ ID NO.5,SEQ ID NO.6,SEQ ID NO.7,SEQ ID NO.9,SEQ ID NO.11,SEQ ID NO.13,SEQ ID NO.15,SEQ ID NO.17,SEQ ID NO.19,SEQ ID NO.21,SEQ ID NO.23,SEQ ID NO.25,SEQ ID NO.27,SEQ ID NO.29及其组合的氨基酸序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同，该轻链可变域序列与选自SEQ ID NO.2,SEQ ID NO.4,SEQ ID NO.6,SEQ ID NO.8,SEQ ID NO.10,SEQ ID NO.12,SEQ ID NO.14,SEQ ID NO.16,SEQ ID NO.18,SEQ ID NO.20,SEQ ID NO.22,SEQ ID NO.24,SEQ ID NO.26,SEQ ID NO.28,SEQ ID NO.30及其组合的氨基酸序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同。

[0127] 在一个实施例中，本文所述方法包括全人Fab抗体片段的用途，该全人Fab抗体片段包括重链可变域序列，且包括轻链可变域序列，所述重链可变域序列与选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID

NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29及其组合的氨基酸序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同、或至少99％相同，所述轻链可变域序列与选自SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30及其组合的氨基酸序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同、或至少99％相同。

[0128] 在一个实施例中，本文所述方法包括单链人抗体的用途，该单链人抗体包括重链可变域序列且包括轻链可变域序列，所述重链可变域序列与选自SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.3、SEQ ID NO.5、SEQ ID NO.7、SEQ ID NO.9、SEQ ID NO.11、SEQ ID NO.13、SEQ ID NO.15、SEQ ID NO.17、SEQ ID NO.19、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.25、SEQ ID NO.27、SEQ ID NO.29及其组合的氨基酸序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同，所述轻链可变域序列与选自SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.30及其组合的氨基酸序列至少95％相同、至少96％相同、至少97％相同、至少98％相同或至少99％相同。

[0129] 在一个实施例中，该全人抗体具有重链和轻链，其中所述抗体包括选自下组的重链/轻链可变域序列：SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2(本文称为C38A1)、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4(本文称为C38A2)、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6(本文称为C38B1)、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8(本文称为C38B4)、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10(本文称为C38B7)、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12(本文称为C38C4)、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14(本文称为C38C9)、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16(本文称为C38D1)、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18(本文称为C38D2)、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20(本文称为C38D5)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22(本文称为C38D8)、SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24(本文称为C38D10)、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26(本文称为C38D11)、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28(本文称为C38F8)、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30(本文称为C38G8)及其组合。优选地，所述全人抗体Fab片段具有重链可变区域和轻链可变区域，其中所述抗体具有选自下组的重链/轻链可变域序列：SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2(本文称为C38A1)、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4(本文称为C38A2)、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6(本文称为C38B1)、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8(本文称为C38B4)、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10(本文称为C38B7)、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12(本文称为C38C4)、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14(本文称为C38C9)、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16(本文称为C38D1)、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18(本文称为C38D2)、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20(本文称为C38D5)、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22(本文称为C38D8)、SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24(本文称为C38D10)、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26(本文称为C38D11)、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28(本文称为C38F8)、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30(本文称为C38G8)、及其组合。

[0130] 在一个实施例中，所述全人单链抗体包括重链可变区域和轻链可变区域，其中该单链全人抗体包括选自下组的重链/轻链可变域序列：SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/

SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.21/SEQ ID NO.22、SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28、SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30，及其组合。

[0131] 本发明的抗CD38抗体用于广谱哺乳动物癌症。在一个实施例中，所述癌症包括在细胞表面上表达CD38的任何实体瘤或白血病细胞。在一个实施例中，所述癌症选自非霍奇金淋巴瘤(NHL)、伯基特淋巴瘤(BL)、多发性骨髓瘤(MM)、B型慢性淋巴细胞白血病(B-CLL)、B和T型急性淋巴细胞白血病(ALL)、T细胞淋巴瘤(TCL)、急性髓细胞性白血病(AML)、毛细胞白血病(HCL)、霍奇金淋巴瘤(HL)和慢性髓细胞性白血病(CML)。

[0132] 在一个实施例中，本发明的抗CD38抗体和抗体片段用于治疗、延缓、防止复发或缓解癌症或其它肿瘤病症，包括血液恶性肿瘤和/或CD38+肿瘤。在一个实施例中，本发明的抗CD38抗体和抗体片段用于治疗癌症，所述癌症选自非霍奇金淋巴瘤(NHL)，急性淋巴细胞白血病(ALL)，急性髓细胞性白血病(AML)，慢性淋巴细胞白血病(CLL)，慢性髓细胞性白血病(CML)，多发性骨髓瘤(MM)，乳腺癌、卵巢癌、头颈癌、膀胱癌、黑素瘤、结肠直肠癌、胰腺癌、肺癌、平滑肌瘤、平滑肌肉瘤、神经胶质瘤、恶性胶质瘤和实体瘤。所述实体瘤选自乳腺肿瘤、卵巢肿瘤、肺肿瘤、胰腺肿瘤、前列腺肿瘤、黑素瘤肿瘤、结肠直肠肿瘤、肺肿瘤、头颈肿瘤、膀胱肿瘤、食道肿瘤、肝肿瘤和肾肿瘤。

[0133] 如本文所用，“血液癌症”是指一种血液的癌症，并且包括白血病、淋巴瘤和骨髓瘤等。“白血病”是指这样一种血液的癌症：血液中产生太多对抗感染无效的白细胞，从而挤掉构成血液的其它部分，如血小板和红细胞。据了解，白血病病例分为急性或慢性。

[0134] 某些形式的白血病包括急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓细胞性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、骨髓增生性疾病/肿瘤(MPDS)和骨髓增生异常综合征。“淋巴瘤”可以指霍奇金淋巴瘤、无痛侵袭性的非霍奇金淋巴瘤，伯基特淋巴瘤和滤泡性淋巴瘤(小细胞和大细胞)等。骨髓瘤可以指多发性骨髓瘤(MM)、巨细胞性骨髓瘤、重链骨髓瘤和轻链或Bence-Jones骨髓瘤。

[0135] 在一个实施例中，本发明的特征在于用于治疗或预防金黄色葡萄球菌(S.aureus)感染的方法，所述方法包括施用本发明的抗CD38抗体或抗体结合片段。

[0136] 施用的技术和剂量取决于特定多肽类型及治疗中的特定症状，但本领域技术人员能够轻易地确定。一般来说，监管机构要求用作治疗剂的蛋白试剂配置为使得致热源达到可接受的低水平。因此，治疗性制剂通常会与其他制剂的区别在于其几乎没有致热源，或至少含有不多于由适当监管机构(例如，FDA)所确定的可接受致热源水平。

[0137] 本发明的治疗组合物可以与药学可接受稀释剂、载体或赋形剂以单位剂型一同施用。施用的非限定性示例可以是非肠道的(例如静脉注射，皮下注射)、口服或外用的。此外，可以使用任何基因治疗技术(使用编码本发明多肽的核酸)，例如裸DNA递送、重组基因和载体、基于细胞的递送，包括间接体内操作患者细胞等。

[0138] 该组合物可以用丸剂、片剂、胶囊、液体或持续释放片剂的形式用于口服施用；或以液体形式用于静脉注射、皮下注射或非肠道施用；以凝胶剂、洗剂、软膏剂、乳膏剂或聚合物或其它持续释放载体形式进行局部施用。

[0139] 在某些实施例中，所公开的抗体通过吸入给药，但由于全IgG抗体的分子尺寸(～

150kDa)，其雾化可能受限。为了使可用的商用雾化装置最大化，可能需要较小的Fab片段。

[0140] 本领域中熟知的制备制剂的方法可以参见例如"Remington:The Science and Practice of Pharmacy"(20th ed.,ed.A.R.Gennaro A R.,2000,Lippincott Williams& Wilkins,Philadelphia,Pa.)。非肠道施用的制剂可以包括例如赋形剂、无菌水、盐水、聚亚烷基二醇如聚乙二醇、植物原料油或氢化萘。可以使用可生物相容、可生物降解的丙交酯聚合物、丙交酯/乙交酯共聚物，或聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物来控制化合物的释放。可以使用纳米颗粒制剂(如可生物降解的纳米颗粒、固体脂质纳米颗粒、脂质体)来控制化合物的体内分布。其它潜在的有用非肠道递送体系包括乙烯-乙酸乙烯酯共聚物颗粒、渗透泵、可植入输注系统和脂质体。该制剂中的所述化合物的浓度根据若干因素而改变，包括药物施用剂量和施用途径。

[0141] 可选地，所述多肽可以作为药学可接受的盐施用，例如药物产业中常用的无毒酸加成盐或金属络合物。酸加成盐的例子包括有机酸，例如乙酸、乳酸、双羟萘酸、马来酸、柠檬酸、苹果酸、抗坏血酸、琥珀酸、苯甲酸、棕榈酸、辛二酸、水杨酸、酒石酸、甲磺酸、甲苯磺酸或三氟乙酸等;聚合酸如单宁酸、羧甲基纤维素等;以及，无机酸，如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸等。金属络合物包括锌、铁等等。在一个实例中，所述多肽在乙酸钠的存在下配制，以增加热稳定性。

[0142] 用于口服的制剂包括含有活性成分和无毒药学可接受赋形剂的混合物的片剂。所述赋形剂可以是，例如，惰性稀释剂或填料(例如，蔗糖和山梨醇)、润滑剂、助流剂和防粘剂(例如硬脂酸镁、硬脂酸锌、硬脂酸、二氧化硅、氢化植物油或滑石)。

[0143] 用于口服的制剂还可以作为可咀嚼片剂提供，或作为有效成分与惰性固体稀释剂混合的硬胶囊，或有效成分与水或油介质混合的软胶囊。

[0144] 治疗有效剂量指的是对施用对象产生疗效的剂量。确切剂量取决于需治疗的病症，且可以由本领域技术人员使用已知技术来查明。一般来说，该多肽每天施用约0.01g/kg至约50mg/kg，优选为每天施用0.01mg/kg至约30mg/kg，最优选为每天施用0.1mg/kg至约20mg/kg。该多肽可以每天施用(例如每日一次、两次、三次或四次)或优选以较低频率施用(例如，每周、每两周、每三周、每月或每季度)。此外，本领域已知，可能需要根据年龄，以及体重、总体健康状况、性别、饮食、施用时间、药物相互作用和疾病严重程度来调节，且可以由本领域技术人员以常规试验方法来查明。

[0145] CD38结合多肽可单独施用，或与一种或多种附加疗法，例如化疗、放疗、免疫疗法、手术治疗或其任意组合，共同施用。如上所述，在其它治疗策略中，也可以使用长期疗法或辅助疗法。

[0146] 这些方法的某些实施例中，可以共同(同时)或在不同时期(相继地)施用一种或多种多肽治疗剂。此外，多肽治疗剂可以与用于癌症治疗或抑制血管生成的另一种化合物共同施用。在某些实施例中，本发明所述抗CD38抗体剂可单独使用。

[0147] 在某些实施例中，所述结合多肽或其片段用于诊断目的时可以标记或不标记。典型地，诊断性分析需要检测结合多肽与CD38之间结合而形成的复合物。所述结合多肽或片段可以被直接标记，类似于抗体。可以使用各种标记，包括但不限于，放射性核素、荧光剂、酶、酶底物、辅酶因子、酶抑制剂和配体(例如生物素、半抗原)。本领域技术人员熟知多种适当的免疫分析法(例如参见美国专利3817827、3850752、3901654、4098876)。未标记时，所述

结合多肽可用于试验中，例如凝集试验。未标记的结合多肽还可以与另一种(一种或一种以上)可用于检测该结合多肽的适当试剂(例如能与该结合多肽反应的已标记抗体或其他适当试剂(如标记的蛋白A))组合使用。

[0148] 在一个实施例中，本发明的结合多肽可用于酶免疫分析，其中所述多肽与酶缀合。当含有CD38蛋白的生物样本与所述结合多肽CD38组合时，结合多肽和CD38蛋白之间发生结合。在一个实施例中，含有表达CD38蛋白的细胞(例如内皮细胞)的样本与所述抗体组合，而在所述结合多肽和载有该结合多肽识别的CD38蛋白的细胞之间发生结合。这些已结合细胞可以从未结合试剂中分离，且可以测定特异结合至细胞上的结合多肽-酶缀合物的存在，例如通过令该样本与在该酶作用下产生颜色或其它可检测变化的酶底物相接触。在另一个实施例中，可以不标记所述结合多肽，而添加已标记的第二多肽(例如抗体)来识别所述结合多肽。在某些方面中，还可以制备用于检测生物样本中的CD38蛋白的存在的试剂盒。所述试剂盒可包括与CD38蛋白或所述受体的部分结合的CD38结合多肽，以及适用于检测所述结合多肽与所述受体蛋白或其部分之间的复合物的存在的一种或多种辅助试剂。本发明的多肽组合物可提供为单独或与其它表位特异性的额外抗体组合的冻干形式，标记或未标记的所述结合多肽和/或抗体可以与辅料(例如，缓冲液，例如Tris、磷酸和碳酸盐缓冲液；稳定剂；赋形剂；杀菌剂和/或惰性蛋白例如牛血清白蛋白)一起包含在试剂盒中。例如，该结合多肽和/或抗体可以与辅料共同提供为冻干形式，或辅料可以单独提供，由使用者来组合。一般来说，这些辅料占活性结合多肽或抗体的量低于5wt％，且通常总量占多肽或抗体浓度至少约0.001％重量。当使用了能够与该结合多肽结合的第二抗体时，所述抗体在该试剂盒中可以例如提供在单独的试管或容器中。该第二抗体(若存在)一般已标记，且可以以与上述抗体制剂的类似方式配制。

[0149] 使用标准的单字母或三字母缩写来表示多肽序列。除非另有说明，否则每个多肽序列的氨基端在左侧，羰基端在右侧；每个单链核酸序列，以及每个双链核酸序列的顶链，其5’端在左侧，3’端在右侧。还可以通过说明特定多肽序列与参照序列的区别，来描述该特定多肽序列。现在详细描述本发明，通过参考以下实施例将更清楚地理解本发明，这些实施例仅仅是为了说明的目的，而不是为了限制本发明。

[0150] 本发明提供的各个方面的实施方案也通过以下任意一个段落进行了描述。

[0151] 实施方案1.一种与CD38表位结合的分离的IgG类全人抗体，其中所述抗体包括：

[0152] 重链可变域序列，所述重链可变域序列与选自SEQ ID NO.1，SEQ ID NO.3，SEQ ID NO.5，SEQ ID NO.7，SEQ ID NO.9，SEQ ID NO.11，SEQ ID NO.13，SEQ ID NO.15，SEQ ID NO.17，SEQ ID NO.19，SEQ ID NO.23，SEQ ID NO.25，SEQ ID NO.27，和SEQ ID NO.29的氨基酸序列至少95％相同；和

[0153] 轻链可变域序列，所述轻链可变域序列与选自SEQ ID NO.2，SEQ ID NO.4，SEQ ID NO.6，SEQ ID NO.8，SEQ ID NO.10，SEQ ID NO.12，SEQ ID NO.14，SEQ ID NO.16，SEQ ID NO.18，SEQ ID NO.20，SEQ ID NO.24，SEQ ID NO.26，SEQ ID NO.28，和SEQ ID NO.30的氨基酸序列至少95％相同。

[0154] 实施方案2.根据实施方案1所述的全人抗体，其特征在于，所述抗体包括选自以下的重链/轻链可变域序列：SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2(本文称为C38A1)，SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4(本文称为C38A2)，SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6(本文称为C38B1)，SEQ ID NO.7/SEQ

ID NO.8(本文称为C38B4),SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10(本文称为C38B7),SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12(本文称为C38C4),SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14(本文称为C38C9),SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16(本文称为C38D1),SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18(本文称为C38D2),SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20(本文称为C38D5),SEQ ID NO23/SEQ ID NO.24(本文称为C38D10),SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26(本文称为C38D11),SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28(本文称为C38F8),SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30(本文称为C38G8)。

[0155] 实施方案3.根据实施方案1或2所述的全人抗体,其特征在于,所述抗体的解离常数(KD)为至少1x10-6M。

[0156] 实施方案4.一种抗CD38全人抗体Fab片段,其包括重链可变域,所述重链可变域包括与选自SEQ ID NO.1,SEQ ID NO.3,SEQ ID NO.5,SEQ ID NO.7,SEQ ID NO.9,SEQ ID NO.11,SEQ ID NO.13,SEQ ID NO.15,SEQ ID NO.17,SEQ ID NO.19,SEQ ID NO.23,SEQ ID NO.25,SEQ ID NO.27,和SEQ ID NO.29的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列;和

[0157] 轻链可变域序列,所述轻链可变域序列包括与选自SEQ ID NO.2,SEQ ID NO.4,SEQ ID NO.6,SEQ ID NO.8,SEQ ID NO.10,SEQ ID NO.12,SEQ ID NO.14,SEQ ID NO.16,SEQ ID NO.18,SEQ ID NO.20,SEQ ID NO.24,SEQ ID NO.26,SEQ ID NO.28,和SEQ ID NO.30的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。

[0158] 实施方案5.根据实施方案4所述的全人抗体Fab片段,其特征在于,所述抗体包括选自以下的重链/轻链可变域序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6、SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8、SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10、SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12、SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14、SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16、SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18、SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20、SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24、SEQ ID NO.25/SEQ ID NO.26、SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28,和SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30。

[0159] 实施方案6.根据实施方案4或5所述的全人抗体Fab片段,其特征在于,所述抗体的KD为至少1x10-6M。

[0160] 实施方案7.一种抗CD38单链人抗体,其包括由肽接头连接的重链可变域和轻链可变域,其中所述重链可变域包括与选自SEQ ID NO.1,SEQ ID NO.3,SEQ ID NO.5,SEQ ID NO.7,SEQ ID NO.9,SEQ ID NO.11,SEQ ID NO.13,SEQ ID NO.15,SEQ ID NO.17,SEQ ID NO.19,SEQ ID NO.23,SEQ ID NO.25,SEQ ID NO.27,和SEQ ID NO.29的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列;并且

[0161] 所述轻链可变域包括与选自SEQ ID NO.2,SEQ ID NO.4,SEQ ID NO.6,SEQ ID NO.8,SEQ ID NO.10,SEQ ID NO.12,SEQ ID NO.14,SEQ ID NO.16,SEQ ID NO.18,SEQ ID NO.20,SEQ ID NO.24,SEQ ID NO.26,SEQ ID NO.28,和SEQ ID NO.30的氨基酸序列至少95%相同的的氨基酸序列。

[0162] 实施方案8.根据实施方案7所述的单链抗体,其特征在于,包括选自以下的重链/轻链可变域序列:SEQ ID NO.1/SEQ ID NO.2,SEQ ID NO.3/SEQ ID NO.4,SEQ ID NO.5/SEQ ID NO.6,SEQ ID NO.7/SEQ ID NO.8,SEQ ID NO.9/SEQ ID NO.10,SEQ ID NO.11/SEQ ID NO.12,SEQ ID NO.13/SEQ ID NO.14,SEQ ID NO.15/SEQ ID NO.16,SEQ ID NO.17/SEQ ID NO.18,SEQ ID NO.19/SEQ ID NO.20,SEQ ID NO.23/SEQ ID NO.24,SEQ ID NO.25/SEQ

ID NO.26,SEQ ID NO.27/SEQ ID NO.28,和SEQ ID NO.29/SEQ ID NO.30。

[0163] 实施方案9.根据实施方案7或8所述的单链抗体,其特征在于,所述抗体的KD为至少1x10-6M。

[0164] 实施方案10.一种用于治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的对象施用有效量的实施方案1至9中任一项所述的抗CD38抗体或抗体片段。

[0165] 实施方案11.根据实施方案10所述的方法,其特征在于,所述癌症选自非霍奇金淋巴瘤(NHL)、伯基特淋巴瘤(BL)、多发性骨髓瘤(MM)、B型慢性淋巴细胞白血病(B-CLL)、B和T型急性淋巴细胞白血病(ALL)、T细胞淋巴瘤(TCL)、急性髓细胞性白血病(AML)、毛细胞白血病(HCL)、霍奇金淋巴瘤(HL)和慢性髓细胞性白血病(CML)。

[0166] 实施方案12.一种分离的抗CD38人抗体或其抗原结合片段,其包含重链可变域和轻链可变域,所述重链可变域包括选自SEQ ID NO.1,SEQ ID NO.3,SEQ ID NO.5,SEQ ID NO.7,SEQ ID NO.9,SEQ ID NO.11,SEQ ID NO.13,SEQ ID NO.15,SEQ ID NO.17,SEQ ID NO.19,SEQ ID NO.23,SEQ ID NO.25,SEQ ID NO.27,和SEQ ID NO.29的重链可变域氨基酸序列所示的互补决定区(CDRs),所述轻链可变域包括选自SEQ ID NO.2,SEQ ID NO.4,SEQ ID NO.6,SEQ ID NO.8,SEQ ID NO.10,SEQ ID NO.12,SEQ ID NO.14,SEQ ID NO.16,SEQ ID NO.18,SEQ ID NO.20,SEQ ID NO.24,SEQ ID NO.26,SEQ ID NO.28,和SEQ ID NO.30的轻链可变域氨基酸序列所示的CDRs。

[0167] 实施方案13.一种治疗有需要的人类对象的癌症的方法,包括向对象施用有效量的实施方案12的抗CD38抗体或其抗原结合片段,从而治疗癌症。

[0168] 实施方案14.根据实施方案13所述的方法,其特征在于,所述癌症选自非霍奇金淋巴瘤(NHL)、伯基特淋巴瘤(BL)、多发性骨髓瘤(MM)、B型慢性淋巴细胞白血病(B-CLL)、B和T型急性淋巴细胞白血病(ALL)、T细胞淋巴瘤(TCL)、急性髓细胞性白血病(AML)、毛细胞白血病(HCL)、霍奇金淋巴瘤(HL)和慢性髓细胞性白血病(CML)。

[0169] 实施方案15.一种药物组合物,其包括实施方案1至9或12中任一项所述的抗CD38抗体或抗体片段,和药学上可接受的载体。

[0170] 实施例

[0171] 用治疗特征,包括对CD38的特异性和对CD38的高亲和力(例如至少10^{-6}M),识别和选择对人CD38特异性的人抗体。识别的抗体如表1所述。

[0172] 用抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)试验测定抗CD38抗体与CD38表达细胞结合并促进功能活性的能力。在该试验中,将伯基特淋巴瘤细胞系Ramos细胞以每孔5×10^{3}个细胞加入孔中。然后以每毫升1微克加入测试抗体(C38A2(“38-A2”),C38D8(“38-D8”)和C38B4(“38-B4”)和对照IgG),并在37℃与Ramos细胞孵育20分钟。洗涤后,加入不同浓度的效应细胞,得到效应细胞与靶细胞的三种比例。该效应细胞是已经在存在IL-2(100U/ml)的情况下过夜培养的经纯化的自然杀伤(NK)细胞。该测定可以进行至少4小时,之后使用Promega Cyto-glo试剂盒评价时间细胞毒性。

[0173] 图1中的数据显示抗CD38抗体C38A2和C38D8结合Ramos靶细胞并促进针对Ramos靶细胞的ADCC活性。

[0174] 表1重链和轻链可变域的氨基酸序列

[0175]

	重链可变区域	轻链可变区域
C38A1	QVQLVESGAEVKKPGASVKVSCRASGYTFTNYHLHWVRQAPGQGLEWVGTINPRGGSTTYAQKFQGRVAMTSDTSTSTVYMEVNRLRSDDTAVYFCARGSDNALADFYNYYDMDVWGQGTTVTVSS SEQ ID NO. 1	QAVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNERPSGIPGRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAGVFGGGTKLTVL SEQ ID NO. 2
C38A2	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVASVSNGRPTTYYADSVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREDWGGEFTDWGRGTLVTVSS SEQ ID NO. 3	QAGLTQPPSASGTSGQRVTISCSGSSSNIGINFVYWYQHLPGTAPKLLIYKNNQRPSGVPDRFSGSKSGNSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGYVFGSGTKVTVL SEQ ID NO. 4
C38B1	EVQLLESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARTDLLYCSSTSCYHNGVGMDVWGQGTTVTVSS SEQ ID NO. 5	QAVLTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPDKAPKLIIYEVTKRPSGVPGRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCGSYAGNNNYVFGTGTKVTVL SEQ ID NO. 6
C38B4	QVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDPGGGDFDYWGQGTLVTVSS SEQ ID NO. 7	QPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKLMIYEGSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAGSDTFVFGTGTKLTVL SEQ ID NO. 8

[0176]

	重链可变区域	轻链可变区域
C38B7	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKSSGGTLRNYVINWVRQAPGQGLEWMGRITPFLGESESAQKFQNRVTITADTSINTAYMELSSLRSEDTAVYYCARETVGATAADWYFDLWGRGTLVTVSS SEQ ID NO. 9	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGAYNYVSWYQQLPGTAPKVLSYSNDHRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNNYVFGTGTKVTVL SEQ ID NO. 10
C38C4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATENSNYVYFQHWGQGTLVTVSS SEQ ID NO. 11	QSALTQPPSASGAPGQRVTISCSGSSANIGSNTVDWYQKLPGTAPRLLIYNDDHRPSGVPDRFSASTSGNTASLTIAGAQAEDEGDYYCNSRDNNDQHYVFGSGTKVTVL SEQ ID NO. 12
C38C9	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVSAIGTAGDTYYPGSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSWFGELSLDYWGQGTLVTVSS SEQ ID NO. 13	QAVVTQAPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAAVFGGGTKLTVL SEQ ID NO. 14
C38D1	EVQLVQSGGGVVQPGRSLRVSCAASGFTFSSYGMHWVRQTPGKGLEWVAGIWYDENDKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLHLQMNSLRAEDTAVYYCARQFRDYYFDVWGRGTLVTVSS SEQ ID NO. 15	QSALTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLGGVFGTGTKLTVL SEQ ID NO. 16

[0177]

	重链可变区域	轻链可变区域
C38D2	QVQLVQSGSEVKKPGASLHLSCKASGYTFINHYMHWVRQAPGQGLEWMGVINPRGGSTTYAQKFQGRVAMTTDTSTYTVYMEVNSLRSDDTAVYFCARGSDNALADYYNSYDMDVWGQGTTVTVSS SEQ ID NO. 17	AIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGQGTKLEIK SEQ ID NO. 18
C38D5	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREGLRHSFDIWGQGTMVTVSS SEQ ID NO. 19	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSNSNIGSNYVSWYQHLPGTAPKLLIYDNNNRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEANYYCATWDTSLSGWVFGGGTKLTVL SEQ ID NO. 20
C38D8	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFIVSTNYVHWVRQAPGKGLEWVSGIYSDPYTSYAYSDSVKGRFTISRDMSKNTVYLQMNRLRAEDTAVYYCARETNTGFSNSWYLDFWGQGTLVTVSS SEQ ID NO. 21	QPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGRNIVNWYQQLPGTTPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLHSEDEADYYCATWDDSLNGWVFGGGTKLTVL SEQ ID NO. 22
C38D10	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSGNYMNWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGDTYYADSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLTAEDTAVYYCAREYSGYYYGMDVWGQGTTVTVSS SEQ ID NO. 23	QSVLTQPHSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGGNTVNWYQQLPGTAPRLLIYTNNKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDNSLKGYVFGTGTKLTVL SEQ ID NO. 24

[0178]

	重链可变区域	轻链可变区域
C38D11	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFNGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEINHSGSTNYNPSLKSRPTISV DTSKNQFSLNLSSVTAADTAVYY CARAGTVYYYYGMDVWGQGTT VTVSS SEQ ID NO. 25	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSNSN IANNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKR PSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDE ADYYCETWDSSLSAVVFGGGTKLTVL SEQ ID NO. 26
C38F8	QVQLVQSGAEVKKPGESLEISCKD FGDSFTNYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTI SADKSINTAYLQWSSLKASDTAM YYCATFSRELMGFGAWGQGTLVT VSS SEQ ID NO. 27	QSVLTQPPSVSATPGQRVTISCSGSSSNI GNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKR PSGIPDRFSGSKSGTSAILDITGLQTGDE ADYYCGTWDSSLSAEVFGTGTKLTVL SEQ ID NO. 28
C38G8	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCA ASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAV YYCARDEDYYYGMDVWGQGTT VTVSS SEQ ID NO. 29	DIVMTQTPSSLSASVGDRVTITCQASQD INGYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASNLE KGVPSRFSGSGSGTDFTFTVSSLQSEDI ATYYCQQYDDLPLTFGAGTKVEIK SEQ ID NO. 30

序列表

<110> 索伦托药业有限公司

<120> 与CD38结合的抗体治疗剂

<130> 126036-04520

<140>

<141>

<150> 62/144,901

<151> 2015-04-08

<160> 32

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 1

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

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

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

Gly Thr Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Ala Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Ser Asp Asn Ala Leu Ala Asp Phe Tyr Asn Tyr Tyr Asp
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 2

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 2

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

<210> 3
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 3

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 4
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 4

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

<210> 5
<211> 129
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 5

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Thr Asp Leu Leu Tyr Cys Ser Ser Thr Ser Cys Tyr His Asn
100 105 110
Gly Val Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser

<210> 6
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 6

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

<210> 7
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 7

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

<210> 8

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 8

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

100 105 110

<210> 9
<211> 123
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 9

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

<210> 10
<211> 111
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 10

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Val
35 40 45

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

<210> 11
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 11

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

<210> 12
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 12

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

<210> 13

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 13

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

<210> 14
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 14

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

<210> 15
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 15

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

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 Gln Phe Arg Asp Tyr Tyr Phe Asp Val Trp Gly Arg Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 16
<211> 109
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 16
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95
Gly Gly Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 17
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 17
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

<210> 18
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 18

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

<210> 19
<211> 117
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 19

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

<210> 20
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 20

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

Thr Gly Asp Glu Ala Asn Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Thr Ser Leu
85 90 95
Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 21
<211> 124
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 21
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Val Ser Thr Asn
20 25 30
Tyr Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Tyr Ser Asp Pro Tyr Thr Ser Tyr Ala Tyr Ser Asp Ser
50 55 60
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Met Ser Lys Asn Thr Val
65 70 75 80
Tyr Leu Gln Met Asn Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Glu Thr Asn Thr Gly Phe Ser Asn Ser Trp Tyr Leu Asp
100 105 110
Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 22
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 22
Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Arg Asn

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

<210> 23
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 23
Gln 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 Val Ser Gly Asn
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Tyr Ser Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 24
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 24
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro His Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Gly Asn
20 25 30
Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Thr Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asn Ser Leu
85 90 95
Lys Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110
<210> 25
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 25
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Asn Gly Tyr
20 25 30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Pro Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Ala Gly Thr Val Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 26
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 26

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

<210> 27
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 27

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

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

<210> 28
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 28
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ile Leu Asp Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95
Ser Ala Glu Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 29
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 29

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
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 Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Glu Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 30

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 30

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

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> Unknown
<220>
<223> Description of Unknown: Hinge region peptide
<400> 31
Cys Pro Ser Cys Pro
1 5
<210> 32
<211> 5
<212> PRT
<213> Unknown
<220>
<223> Description of Unknown: Hinge region peptide
<400> 32
Cys Pro Pro Cys Pro
1 5

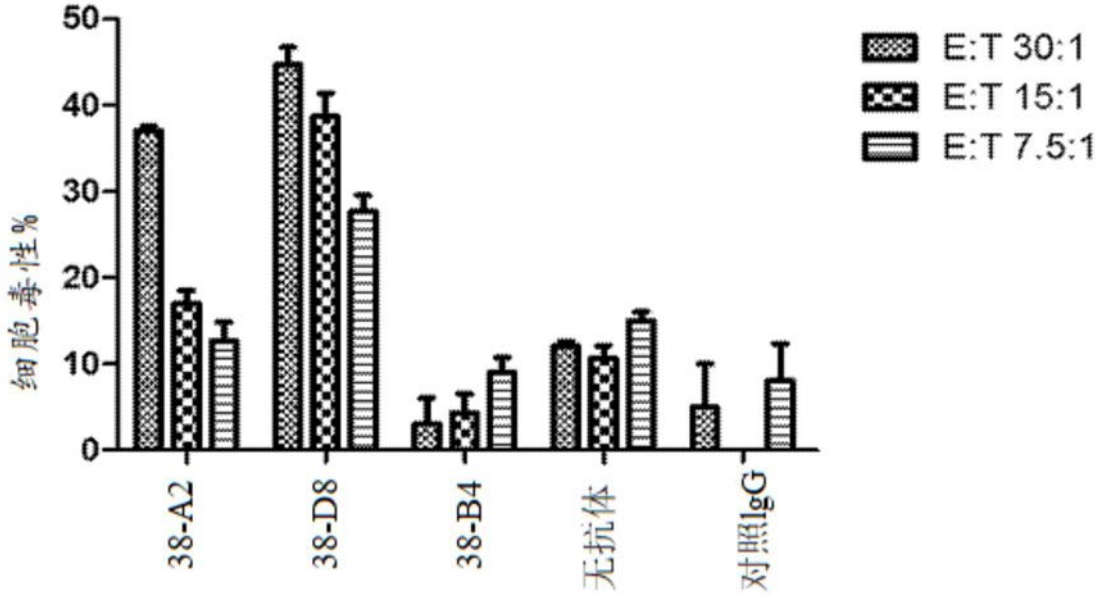

50
40
30
20
10
0
细胞毒性%
E:T 30:1
E:T 15:1
E:T 7.5:1
38-A2
38-D8
38-B4
无抗体
对照IgG

图1