



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 116917318 A

(43) 申请公布日 2023. 10. 20

(21) 申请号 202180090876.8

巴黎第十二大学

(22) 申请日 2021.11.19

(72) 发明人 D·奥利芙 A·邦叙桑

(30) 优先权数据

J·朱斯蒂尼亚尼

20306424.1 2020.11.20 EP

A·马里耶-卡迪纳

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

阿尔诺·福萨特 J·胡阿辛

2023.07.17

(74) 专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司

72003

(86) PCT国际申请的申请数据

专利代理师 吴小瑛

PCT/EP2021/082383 2021.11.19

(87) PCT国际申请的公布数据

(51) Int.Cl.

W02022/106665 EN 2022.05.27

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 19/00 (2006.01)

(71) 申请人 法国国家健康和医学研究院

C12N 15/13 (2006.01)

地址 法国巴黎

A61P 35/00 (2006.01)

申请人 让波利与艾琳卡尔梅特研究所

A61P 31/00 (2006.01)

奥尔德兰生物技术公司

国家科学研究中心

埃克斯马赛大学 巴黎西岱大学

权利要求书4页 说明书81页

序列表42页 附图6页

(54) 发明名称

抗CD25抗体

(57) 摘要

本发明涉及新型抗人CD25抗体及其用于治疗癌症和感染性疾病的用途。

1. 分离的抗人CD25抗体或其抗原抗原结合片段，
其中重链可变区 (VH) 包含以下三个互补决定区 (CDR)：

-CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1)；

-CDR2:VISYDGX₁NX₂YYX₃DSVKG (SEQ ID NO:2)，其中X₁是S或D，X₂是K或T，X₃是A或R；和

-CDR3:GX₄NSGYD (SEQ ID NO:3)，其中X₄是W或L；

或具有与SEQ ID NO:1-3共有至少约95%同一性的氨基酸序列的任何CDR；和

其中轻链可变区 (VL) 包含以下三个CDR：

-CDR1:RASQX₅X₆X₇X₈X₉LN (SEQ ID NO:4)，其中X₅是S或N，X₆是V或I，X₇是N或S，X₈是S或K，X₉是F或Y；和

-CDR2:GTX₁₀SLQS (SEQ ID NO:5)，其中X₁₀是S或N；和

-CDR3:QQYX₁₁SWPWT (SEQ ID NO:6)，其中X₁₁是T或N；

或具有与SEQ ID NO:4-6共有至少约95%同一性的氨基酸序列的任何CDR。

2. 根据权利要求1所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段，其中所述VH包含以下CDR：

-CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1)；

-CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7)；和

-CDR3:GWNSGYD (SEQ ID NO:8)；

并且其中所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下之一：

(a) 以下CDR：

-CDR1:RASQSVNSFLN (SEQ ID NO:9)；

-CDR2:GTSSLQS (SEQ ID NO:10)；和

-CDR3:QQYTSWPWT (SEQ ID NO:11)；

或者

(b) 以下CDR：

-CDR1:RASQSVNSYLN (SEQ ID NO:12)；

-CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13)；和

-CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)；

或者

(c) 以下CDR：

-CDR1:RASQSISSYLN (SEQ ID NO:15)；

-CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13)；和

-CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)；

或者

(d) 以下CDR：

-CDR1:RASQSVSSFLN (SEQ ID NO:16)；

-CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13)；和

-CDR3:QQYTSWPWT (SEQ ID NO:11)。

3. 根据权利要求1所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段，其中所述VH包含以下CDR：

-CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
-CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
-CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;

并且其中所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下之一:

(a) 以下CDR:

-CDR1:RASQSVSKFLN (SEQ ID NO:18) ;
-CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
-CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) ;

或者

(b) 以下CDR:

-CDR1:RASQNINSFLN (SEQ ID NO:19) ;
-CDR2:GTSSLQS (SEQ ID NO:10) ;和
-CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) ;

或者

(c) 以下CDR:

-CDR1:RASQNISSFLN (SEQ ID NO:20) ;
-CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
-CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) ;或者

(d) 以下CDR:

-CDR1:RASQSISSFLN (SEQ ID NO:21) ; -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
-CDR3:QQYTSPWT (SEQ ID NO:11) ;或者

(e) 以下CDR:

-CDR1:RASQSVSSFLN (SEQ ID NO:16) ; -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
-CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) ;或者

(f) 以下CDR:

-CDR1:RASQNVSSFLN (SEQ ID NO:22) ; -CDR2:GTSSLQS (SEQ ID NO:10) ;和
-CDR3:QQYTSPWT (SEQ ID NO:11) ;或者

(g) 以下CDR:

-CDR1:RASQSINSFLN (SEQ ID NO:23) ; -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
-CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) ;或者

(h) 以下CDR:

-CDR1:RASQNINSFLN (SEQ ID NO:19) ; -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
-CDR3:QQYTSPWT (SEQ ID NO:11) ;或者

(i) 以下CDR:

-CDR1:RASQSVSSYLN (SEQ ID NO:24) ; -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
-CDR3:QQYTSPWT (SEQ ID NO:11) 。

4. 根据权利要求1所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段,其中所述VH包含以下CDR:

-CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;

-CDR2:VISYDGSNKYYRDSVKG (SEQ ID NO:25); 和
-CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17);
并且其中所述抗体或其抗原结合片段的VL包含:

(a) 以下CDR:

-CDR1:RASQSISSFLN (SEQ ID NO:21);
-CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13); 和
-CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14);

或者

(b) 以下CDR:

-CDR1:RASQNINSFLN (SEQ ID NO:19);
-CDR2:GTSSLQS (SEQ ID NO:10); 和
-CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14);

或者

(c) 以下CDR:

-CDR1:RASQNVSSFLN (SEQ ID NO:22);
-CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13); 和
-CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)。

5. 根据权利要求1所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段, 其中所述VH包含以下CDR:

-CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1);
-CDR2:VISYDGSNTYYADSVKG (SEQ ID NO:26); 和
-CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17);

并且其中所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:

-CDR1:RASQNVSSFLN (SEQ ID NO:22);
-CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13); 和
-CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)。

6. 根据权利要求1所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段, 其中所述VH包含以下CDR:

-CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1);
-CDR2:VISYDGDNKYYADSVKG (SEQ ID NO:27); 和
-CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17);

并且其中所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:

-CDR1:RASQSINSFLN (SEQ ID NO:23);
-CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13); 和
-CDR3:QQYTSWPWT (SEQ ID NO:11)。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段, 其是嵌合的、人源化的或人的, 优选地其中所述抗体或抗原结合片段是单克隆的。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或抗原结合片段介导抗体依赖性细胞毒性、补体依赖性细胞毒性和/或抗体依赖性

吞噬作用。

9. 根据权利要求1至8中任一项所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段, 其为双特异性抗体。

10. 融合蛋白, 其包含权利要求1至9中任一项所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段。

11. 核酸, 其编码权利要求1至9中任一项所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段或权利要求10所述的融合蛋白。

12. 药物组合物, 其包含权利要求1至9中任一项所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段或权利要求10所述的融合蛋白, 以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

13. 根据权利要求1至9中任一项所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段、根据权利要求10所述的融合蛋白或根据权利要求12所述的药物组合物, 用作药物。

14. 根据权利要求1至9中任一项所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段、根据权利要求10所述的融合蛋白或根据权利要求12所述的药物组合物, 用于治疗有此需要的受试者的癌症或感染性疾病。

15. 免疫治疗与权利要求1至9中任一项所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段、根据权利要求10所述的融合蛋白或根据权利要求12所述的药物组合物的组合, 用于治疗有此需要的受试者的癌症或感染性疾病。

抗CD25抗体

技术领域

[0001] 本发明涉及癌症和感染性疾病治疗领域,并且具体公开了可用于治疗癌症和感染性疾病的新型抗人CD25抗体。

[0002] 发明背景

[0003] 调节性T细胞(Treg)是免疫耐受的关键介导者,参与保护身体免受自身免疫。然而,在癌症中,Treg似乎扮演着一个有争议的角色。事实上,肿瘤微环境可能有利于Treg的分化和募集,从而可能抑制抗肿瘤效应T细胞功能。因此,Treg可构成免疫治疗的主要障碍。这种现象已在许多人类癌症和大多数小鼠肿瘤生长模型中得到描述,其中Treg的频率及其抑制物的功能与健康受试者中所报道的相比有所增加。特别是,已表明,在肿瘤衍生的趋化因子存在的情况下,Treg会在肿瘤中积累,一旦到位,就会阻止或减弱浸润肿瘤微环境的免疫细胞介导的抗肿瘤应答。因此,Treg的积累可能通过沉默抗肿瘤免疫效应细胞来参与肿瘤逃离宿主免疫系统。

[0004] 因此,需要开发用于沉默或消除肿瘤中Treg的方法,从而恢复T效应细胞的抗肿瘤功能并治疗癌症。

[0005] Sakaguchi等人首次将Treg描述为组成性表达高水平CD25的小鼠CD4⁺T细胞的循环亚群,CD25是与白介素2(IL-2)结合并调节Treg的形成和稳态的白介素2受体 α 链。

[0006] 现有技术描述了抗CD25抗体及其用于调节Treg功能或活性的用途。例如,巴利昔单抗是一种嵌合的小鼠-人CD25抗体,可用于预防移植物抗宿主病。此外,达利珠单抗是一种嵌合的小鼠-人CD25抗体,被批准用于治疗复发型多发性硬化症。

[0007] 然而,据申请人所知,还没有抗CD25抗体被临床验证用于治疗人类癌症。因此,仍然需要基于IL-2/CD25通路的调节的有效抗肿瘤免疫治疗。

发明内容

[0008] 本发明涉及分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段,其中重链可变区(VH)包含以下三个互补决定区(CDR):

[0009] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1);

[0010] -CDR2:VISYDGX₁NX₂YYX₃DSVKG (SEQ ID NO:2),其中X₁是S或D,X₂是K或T,X₃是A或R;和

[0011] -CDR3:GX₄NSGYD (SEQ ID NO:3),其中X₄是W或L;

[0012] 或具有与SEQ ID NO:1-3共有至少约95%同一性的氨基酸序列的任何CDR;并且其中轻链可变区(VL)包含以下三个CDR:

[0013] -CDR1:RASQX₅X₆X₇X₈LN (SEQ ID NO:4),其中X₅是S或N,X₆是V或I,X₇是N或S,X₈是S或K,X₉是F或Y;和

[0014] -CDR2:GTXX₁₀SLQS (SEQ ID NO:5),其中X₁₀是S或N;和

[0015] -CDR3:QQYX₁₁SWPWT (SEQ ID NO:6),其中X₁₁是T或N;

[0016] 或具有与SEQ ID NO:4-6共有至少约95%同一性的氨基酸序列的任何CDR。

- [0017] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0018] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0019] -CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0020] -CDR3:GWNSGYD (SEQ ID NO:8) ;
- [0021] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0022] -CDR1:RASQSVNSFLN (SEQ ID NO:9) ;
- [0023] -CDR2:GTSSLQS (SEQ ID NO:10) ;和
- [0024] -CDR3:QQYTSPWT (SEQ ID NO:11) 。
- [0025] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0026] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0027] -CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0028] -CDR3:GWNSGYD (SEQ ID NO:8) ;
- [0029] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0030] -CDR1:RASQSVNSYLN (SEQ ID NO:12) ;
- [0031] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0032] -CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) 。
- [0033] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0034] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0035] -CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0036] -CDR3:GWNSGYD (SEQ ID NO:8) ;
- [0037] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0038] -CDR1:RASQSISSYLN (SEQ ID NO:15) ;
- [0039] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0040] -CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) 。
- [0041] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0042] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0043] -CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0044] -CDR3:GWNSGYD (SEQ ID NO:8) ;
- [0045] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0046] -CDR1:RASQSVSSFLN (SEQ ID NO:16) ;
- [0047] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0048] -CDR3:QQYTSPWT (SEQ ID NO:11) 。
- [0049] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0050] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0051] -CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0052] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0053] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0054] -CDR1:RASQSVSKFLN (SEQ ID NO:18) ;
- [0055] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和

- [0056] -CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)。
- [0057] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0058] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0059] -CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0060] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0061] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0062] -CDR1:RASQNINSFLN (SEQ ID NO:19) ;
- [0063] -CDR2:GTSSLQS (SEQ ID NO:10) ;和
- [0064] -CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)。
- [0065] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0066] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0067] -CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0068] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0069] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0070] -CDR1:RASQNISSFLN (SEQ ID NO:20) ;
- [0071] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0072] -CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)。
- [0073] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0074] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0075] -CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0076] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0077] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0078] -CDR1:RASQSISSFLN (SEQ ID NO:21) ;
- [0079] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0080] -CDR3:QQYTSPWT (SEQ ID NO:11)。
- [0081] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0082] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0083] -CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0084] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0085] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0086] -CDR1:RASQSVSSFLN (SEQ ID NO:16) ;
- [0087] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0088] -CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)。
- [0089] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0090] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0091] -CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0092] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0093] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0094] -CDR1:RASQNVSSFLN (SEQ ID NO:22) ;

- [0095] -CDR2:GTSSLQS (SEQ ID NO:10) ; 和
- [0096] -CDR3:QQYTSWPWT (SEQ ID NO:11) 。
- [0097] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0098] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0099] -CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ; 和
- [0100] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0101] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0102] -CDR1:RASQSINSFLN (SEQ ID NO:23) ;
- [0103] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ; 和
- [0104] -CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) 。
- [0105] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0106] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0107] -CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ; 和
- [0108] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0109] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0110] -CDR1:RASQNINSFLN (SEQ ID NO:19) ;
- [0111] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ; 和
- [0112] -CDR3:QQYTSWPWT (SEQ ID NO:11) 。
- [0113] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0114] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0115] -CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ; 和
- [0116] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0117] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0118] -CDR1:RASQSVSSYLN (SEQ ID NO:24) ;
- [0119] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ; 和
- [0120] -CDR3:QQYTSWPWT (SEQ ID NO:11) 。
- [0121] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0122] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0123] -CDR2:VISYDGSNKYYRDSVKG (SEQ ID NO:25) ; 和
- [0124] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0125] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0126] -CDR1:RASQSISSFLN (SEQ ID NO:21) ;
- [0127] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ; 和
- [0128] -CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) 。
- [0129] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0130] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0131] -CDR2:VISYDGSNKYYRDSVKG (SEQ ID NO:25) ; 和
- [0132] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0133] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:

- [0134] -CDR1:RASQNINSFLN (SEQ ID NO:19) ;
- [0135] -CDR2:GTSSLQS (SEQ ID NO:10) ;和
- [0136] -CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) 。
- [0137] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0138] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0139] -CDR2:VISYDGSNKYYRDSVKG (SEQ ID NO:25) ;和
- [0140] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0141] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0142] -CDR1:RASQNVSSFLN (SEQ ID NO:22) ;
- [0143] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0144] -CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) 。
- [0145] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0146] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0147] -CDR2:VISYDGSNTYYADSVKG (SEQ ID NO:26) ;和
- [0148] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0149] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0150] -CDR1:RASQNVSSFLN (SEQ ID NO:22) ;
- [0151] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0152] -CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) 。
- [0153] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段的VH包含以下CDR:
- [0154] -CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0155] -CDR2:VISYDGDNKYYADSVKG (SEQ ID NO:27) ;和
- [0156] -CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;
- [0157] 并且所述抗体或其抗原结合片段的VL包含以下CDR:
- [0158] -CDR1:RASQSINSFLN (SEQ ID NO:23) ;
- [0159] -CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0160] -CDR3:QQYTSPWT (SEQ ID NO:11) 。
- [0161] 在一个实施方案中,如上所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段是嵌合的、人源化的或人的。在一个实施方案中,所述抗体或抗原结合片段是单克隆的。
- [0162] 在一个实施方案中,如上所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段介导抗体依赖性细胞毒性、补体依赖性细胞毒性和/或抗体依赖性吞噬作用。
- [0163] 在一个实施方案中,如上所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段是双特异性抗体。
- [0164] 本发明还涉及包含如上所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段的融合蛋白。
- [0165] 本发明还涉及编码如上所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段或如上所述的融合蛋白的核酸。
- [0166] 本发明还涉及药物组合物,其包含如上所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段或如上所述的融合蛋白,以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0167] 本发明还涉及如上所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段、融合蛋白或药物组合物,用作药物。

[0168] 本发明还涉及如上所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段、融合蛋白或药物组合物,用于治疗有此需要的受试者中的癌症或感染性疾病。

[0169] 本发明还涉及免疫治疗与如上所述的分离的抗人CD25抗体或其抗原结合片段、融合蛋白或药物组合物的组合,用于治疗有此需要的受试者中的癌症或感染性疾病。

[0170] 附图简要说明

[0171] 图1是两张图的组合,显示了本发明的抗CD25抗体与在转染的HEK293细胞表面上表达的人CD25(huCD25)特异性结合。图1A显示了同种型对照、本发明的抗CD25抗体(H07、H09、G02、E04、D01、E04-2、B05、G09、B01、C01、G01、H01、G02-2、H02、F03、D05、B07、H08、B12)或巴利昔单抗以不同浓度(0.01至500nM)在用huCD25转染的HEK293细胞中的几何平均荧光强度(GeoMFI)。图1B显示了同种型对照、本发明的抗CD25抗体(H07、H09、G02、E04、D01、E04-2、B05、G09、B01、C01、G01、H01、G02-2、H02、F03、D05、B07、H08、B12)或巴利昔单抗以不同浓度(0.01至500nM)在HEK293 WT细胞中的几何平均荧光强度(GeoMFI)。

[0172] 图2是两个直方图的组合,显示了本发明的抗CD25抗体(H09、D01、E04-2、B05、C01、G01、G02-2、F03、D05、B07、B12)对IL-2诱导的效应T细胞增殖的影响。图2A的直方图显示了与人IgG1对照抗体、巴利昔单抗和7G7B6相比,本发明的抗CD25抗体(H09、D01、E04-2、B05、C01、G01、G02-2、F03、D05、B07、B12)对IL-2诱导的效应T细胞增殖的影响。 $**p<0.01$,与H09、D01、E04-2、B05、C01、G01、G02-2、F03、D05、B07、B12相比;单向ANOVA。图2B的直方图显示了与人IgG1对照抗体、巴利昔单抗和MA-251相比,本发明的抗CD25抗体(H09、D01、E04-2、B05、C01、G01、G02-2、F03、D05、B07、B12)对IL-2诱导的效应T细胞增殖的影响。 $**p<0.01$,与H09、D01、E04-2、B05、C01、G01、G02-2、F03、D05、B07、B12相比;单向ANOVA。

[0173] 图3是两个直方图的组合,显示了本发明的抗CD25抗体对CD45+淋巴细胞群内Treg细胞耗减的影响。图3A表示与1 μ g/ml的人IgG1对照抗体、本发明的抗CD25抗体(H09、D01、E04-2、B05、C01、G01、G02-2、F03、D05、B07、B12)或巴利昔单抗一起孵育后,CD45+淋巴细胞群内Treg细胞的百分比。图3B表示与1 μ g/ml的人IgG1对照抗体、本发明的抗CD25抗体(H09、D01、E04-2、B05、C01、G01、G02-2、F03、D05、B07、B12)或巴利昔单抗一起孵育后,CD45+淋巴细胞群内Treg细胞耗减的百分比。

[0174] 图4是两个直方图(A、B)的组合,显示了本发明的抗CD25抗体对CD45+淋巴细胞群内的CD4+效应T细胞和CD8+效应T细胞耗减的影响。图4A表示与1 μ g/ml的人IgG1对照抗体、本发明的抗CD25抗体(E04-2、B05、C01、G01、G02-2)一起孵育后,CD45+淋巴细胞群内CD4+效应T细胞的百分比。图4B表示与1 μ g/ml的人IgG1对照抗体、本发明的抗CD25抗体(E04-2、B05、C01、G01、G02-2)一起孵育后,CD45+淋巴细胞群内CD8+效应T细胞的百分比。

[0175] 图5的直方图显示了与人IgG1对照抗体相比,10 μ g/mL的本发明的抗CD25抗体(E04-2、B05、C01、G01、G02-2、B07)诱导的抗体依赖性吞噬作用(ADCP)的百分比。数据表示为平均值 $\pm$ SEM。

[0176] 定义

[0177] 在本发明中,下列术语具有以下含义:

[0178] 数值前面的“约(about)”涵盖所述数值的正负10%或更少。应当理解,术语“约”所

指的值本身也是具体地且优选地公开的。

[0179] “adnectin”,还已知为monobody,是本领域公知的,且指被设计为以高亲和力和特异性结合抗原的蛋白。它们属于统称为“抗体模拟物(antibody mimetics)”的一类分子。

[0180] “alphabody”,也可称为细胞穿透性alphabody,是指由经工程化以与多种抗原结合的10kDa小蛋白组成的一类抗体模拟物。alphabody能够到达并结合细胞内蛋白靶标。

[0181] “affibody”是指基于衍生自葡萄球菌蛋白A的一个IgG结合结构域的58个氨基酸残基蛋白结构域的亲和蛋白(Frejd&Kim,2017.Exp Mol Med.49(3):e306;专利US5,831,012)。

[0182] “affilin”是指设计为选择性结合抗原的人工蛋白。它们在对抗原的亲合力和特异性方面与抗体相似,但在结构上不相似,这使得它们成为一种抗体模拟物类型。

[0183] “亲和力(affinity)”和“亲合力(avidity)”用于定义抗体-抗原复合物的强度。亲和力和测量表位与抗体上的抗原结合位点之间相互作用的强度。它可以用亲和常数 K_A 或解离常数 K_D 表示。亲合力(或功能性亲和力)提供了对抗体-抗原复合物的整体强度的量度。它可取决于不同的参数,具体包括抗体或其抗原结合片段对表位的亲和力,(ii)抗体和抗原两者的价态和(iii)相互作用的部分的结构排列。

[0184] 如本文所用,“抗体(antibody)”和“免疫球蛋白(immunoglobulin)”可以互换使用并且是指具有两条重链和两条轻链的组合的蛋白,而无论其是否具有任何相关的特异性免疫反应性。“抗体”是指对目标抗原(例如人CD25)具有显著的已知特异性免疫反应活性的此类组装体。本文中所用的术语“抗hCD25抗体”是指对人CD25蛋白显示免疫特异性的抗体。如本文别处所解释的,对人CD25(hCD25)的“特异性”不排除与hCD25的物种同源物,例如与猿猴(simian)CD25的交叉反应。抗体和免疫球蛋白包含轻链和重链,它们之间具有或不具有链间共价连接。对脊椎动物系统中的基本免疫球蛋白结构的了解相对深入。上位术语“免疫球蛋白”包括五种不同的抗体类别,它们在生化上并不相同。尽管以下讨论将整体针对IgG类免疫球蛋白分子,但是所有五类抗体都在本发明的范围内。对于IgG,免疫球蛋白包含两条相同的分子量为约23kDa的多肽轻链,和两条相同的分子量为约53-70kDa的重链。这四条链通过二硫键以“Y”构型连接,其中轻链与重链括在一起,从“Y”的开口处开始并继续贯穿可变区。抗体的轻链分为kappa(κ)或lambda(λ)。每个重链类别可以与 κ 或 λ 轻链结合。通常,当免疫球蛋白由杂交瘤、B细胞或基因工程宿主细胞产生时,轻链和重链彼此共价结合,并且两条重链的“尾”区通过共价二硫键或非共价键彼此结合。在重链中,氨基酸序列从Y构型的叉头末端的N-端延伸至每条链最下部的C-端。本领域技术人员将理解,重链分类为gamma(γ)、mu(μ)、alpha(α)、delta(δ)或epsilon(ϵ),其中有一些亚类(例如 $\gamma 1-\gamma 4$)。这条链的性质决定了抗体的“类别”分别为IgG、IgM、IgA、IgD或IgE。免疫球蛋白亚类或“同种型(isotype)”(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1等)已被充分表征,并已知其赋予了专门功能(functional specialization)。鉴于本公开的内容,这些类别和同种型中每一种的修饰形式对于本领域技术人员都是容易辨别的,并且因此在本发明的范围内。如上所述,抗体的可变区允许抗体选择性地识别并特异性地结合抗原上的表位。即,抗体的轻链可变区(VL结构域)和重链可变区(VH结构域)组合形成了界定三维抗原结合位点的可变区。这种四元抗体(quaternary antibody)结构形成了在“Y”的每个臂的末端出现的抗原结合位点。更具体地说,抗原结合位点由 V_H 和 V_L 链中的每一个上的三个互补决定区(CDR)界定。

[0185] “affitin”是指高度稳定的工程化亲和蛋白,其最初衍生自两种来自硫化叶菌属(*Sulfolobus* genera)的7kDa DNA结合多肽Sac7d和Sso7d。

[0186] “anticalin”是指一种抗体模拟物技术,其中结合特异性衍生自脂质运载蛋白(lipocalin)。anticalin也可被设计为双靶向蛋白的形式,称为“duocalin”。

[0187] 如本文所用,“抗原结合片段(antigen-binding fragment)”是指抗体的部分或区域,其包含的氨基酸残基比完整抗体少。“抗原结合片段”结合抗原和/或与其所衍生自的完整抗体竞争抗原结合(例如,特异性结合人CD25)。抗体抗原结合片段涵盖但不限于单链抗体、Fv、Fab、Fab’、Fab’-SH、F(ab)’₂、Fd、脱岩藻糖基化抗体、双抗体(diabody)、三抗体(triabody)和四抗体(tetrabody)。

[0188] 如本文所用,“基于犰狳重复蛋白的支架(armadillo repeat protein-based scaffold)”是指对应于基于犰狳重复蛋白的人工肽结合支架的一类抗体模拟物。犰狳重复蛋白表征为由约42个氨基酸的串联犰狳重复序列组成的犰狳结构域,其介导与肽或蛋白的相互作用。

[0189] “atrimmer”是指针对靶蛋白的结合分子,其的三聚化是其生物活性的必要条件。与其他抗体模拟支架相比,它们相对较大。

[0190] “avimer”是指一种抗体模拟技术。

[0191] 除非另有说明,否则术语“CD25”是指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,例如灵长类动物(例如,人)和啮齿动物(例如,小鼠和大鼠)的任何天然CD25。白介素-2受体 α 链(也称为CD25)蛋白由IL2RA基因编码。描述有两种形式的IL-2受体:第一种包含 α 亚基(CD25)、 β 亚基(CD122)和 γ 亚基(CD132),第二种仅包含 β 和 γ 亚基(即,CD122和CD132)。所述术语涵盖“全长”或未经加工的CD25以及由细胞中加工产生的任何形式的CD25。所述术语还涵盖天然存在的CD25变体(例如,剪接变体或等位基因变体)。在某些实施方案中,CD25是人CD25。例如,CD25是响应抗原或有丝分裂原(mitogen)刺激而由活化的T淋巴细胞和活化的B淋巴细胞表达。CD25也由调节性T细胞(CD25^高FoxP3⁺调节性T细胞)表达。在一个实施方案中,CD25是指人CD25(Uniprot登录号P01589,SEQ ID NO:92)。

[0192] SEQ ID NO:92

[0193] MDSYLLMWGLLTFIMVPGCQAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNC

[0194] ECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCCQTSSATRNTTKQVTPQPE

[0195] EQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMV

[0196] YYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEE

[0197] KPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQVAVAGCVF

[0198] LLISVLLLSGLTWQRRQRKSRRTI

[0199] “CDR”或“互补决定区”意指在重链和轻链多肽两者的可变区内发现的不相邻的抗原结合位点。给定CDR的精确氨基酸序列边界可以使用多种公知方案中的任何一种来确定,包括由Kabat et al.(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest”第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(“Kabat”编号方案)、Al-Lazikani et al.,(1997)JMB 273,927-948(“Chothia”编号方案)或其组合描述的那些。最近,已开发并广泛采用了通用编号系统,即ImMunoGeneTics(IMG) Information System®(Lefranc et al.,Nucleic Acids Res.27:209-212 1999)。IMGT是一个专注于

人类和其他脊椎动物的免疫球蛋白 (IG)、T细胞受体 (TR) 和主要组织相容性复合物 (MHC) 的综合信息系统。在本文中,通过氨基酸序列和在轻链或重链内的位置来描述CDR。由于CDR在球蛋白可变结构域的结构内的“位置(location)”在物种之间是保守的并存在于称为环的结构中,因此通过使用根据结构特征来排列可变结构域序列的编号系统,可以容易地识别CDR和框架残基。这一信息可用于将来自一个物种的免疫球蛋白的CDR残基移植和替换到来自通常是人抗体的受体框架中。Kabat编号与IMGT独特编号系统之间的对应性也是本领域技术人员公知的(例如,Lefranc et al.,见上文)。因此,在一个实施方案中,CDR区或CDR旨在表示由IMGT®编号系统所界定的免疫球蛋白重链和轻链的高变区(例如,Lefranc et al.,见上文)。

[0200] “DARPin”(Designed Ankyrin Repeat Protein,经设计的锚蛋白重复蛋白)是指为利用非抗体多肽的结合能力而开发的抗体模拟物DRP(designated repeat protein,经设计的重复蛋白)技术。

[0201] 如本文所用,“双抗体(diabody)”是指通过以下而制备的小抗体片段:在VH和VL之间用短接头(约5-10个残基)构建scFv片段,从而实现可变结构域的链间配对而不是链内配对,产生二价片段,即具有两个抗原结合位点的片段。双特异性双抗体是两个“交叉”scFv片段的异二聚体,其中两个抗体的VH和VL存在于不同的多肽链上。双抗体描述在例如专利EP0404097或专利申请W01993011161中。

[0202] “域抗体(domain antibody)”是指抗体的最小功能性结合单位,对应于抗体的重链或轻链的可变区。

[0203] “域库尼茨肽(domain kunitz peptide)”是指一种抗体模拟物,其基于抑制蛋白酶功能的蛋白的活性结构域。

[0204] “效应T细胞(effector T cell)”是指包含数种T细胞类型(例如,CD4⁺和CD8⁺T细胞)的一组细胞。它包括在免疫学过程中帮助其他白细胞的辅助T细胞(Th细胞,包括将B细胞熟化为浆细胞和记忆B细胞),以及破坏感染病毒的细胞和肿瘤细胞并且也与移植排斥有关的细胞毒性T细胞(Tc细胞、CTL、T杀伤细胞、杀伤性T细胞)。

[0205] “表位(epitope)”是指一种或多种蛋白上定位的抗体或其抗原结合片段或抗体模拟物与之结合的氨基酸的特定排列。表位通常由分子例如氨基酸或糖侧链的化学活性表面分组组成,并且具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。表位可以是线性的(或连续的)或构象的,即包含抗原的不同区域中可以不必要是连续的两个或更多个氨基酸序列。

[0206] “evasin”是指一类趋化因子结合蛋白。

[0207] “Fab”是指含有以下区域的单价片段:VH、VL、CH1和CL,通过分子内二硫键连接。如本文所用,F(ab')₂是指含有通过二硫化物键连接的两个抗原结合区的片段。如本文所用,Fab' 是指通过F(ab')₂片段的还原而获得的片段。

[0208] “框架区(framework region)”或“FR区(FR region)”包括作为可变区的一部分但不是CDR的一部分(例如,使用CDR的IMGT®编号定义)的氨基酸残基。轻链的框架区类似地被VL的每一个CDR分开。在天然存在的抗体中,存在于每个单体抗体上的六个CDR是短的、不连续的氨基酸序列,当抗体在水性环境中呈现其三维构型时,这些氨基酸序列被特异性定位以形成抗原结合位点。重链和轻链可变结构域的其余部分在氨基酸序列上显示出较小的分子间变异性,被称为框架区。框架区主要采用β-折叠构象,并且CDR形成环,所述环连接

β -折叠结构,且在一些情况下形成 β -折叠结构的一部分。因此,这些框架区起到形成支架的作用,该支架通过链间的非共价相互作用将六个CDR定位在正确的方向上。由所定位的CDR形成的抗原结合位点界定了一个与免疫反应性抗原上的表位互补的表面。这个互补表面促进了抗体与免疫反应性抗原表位的非共价结合。本领域普通技术人员可以容易地确定CDR的位置。

[0209] “Fc结构域(Fc domain)”、“Fc部分(Fc portion)”和“Fc区(Fc region)”是指抗体重链的C-末端片段(例如,人 γ 重链从大约氨基酸(aa)230至大约aa450),或其其他类型的抗体重链(例如,人抗体的 α 、 δ 、 ϵ 和 μ)或其天然存在的同种异型(allotype)中的对应序列。

[0210] “Fd片段”是指Fab片段的重链,包括VH和CH1区。

[0211] “fynomer”是指属于抗体模拟物类别的蛋白。由于它们的高热稳定性和降低的免疫原性,它们是有吸引力的结合分子。

[0212] 如本文所用,“Fv”是指含有完整抗原识别和结合位点的最小抗体片段。这个片段由紧密非共价结合的一个VH和一个VL的二聚体组成。从这两个结构域的折叠中产生六个高变环(重链和轻链各三个环),其实现抗原结合并赋予抗体抗原结合特异性。然而,即使是单个可变结构域(或仅包含对抗原特异的三个CDR的Fv的一半)也具有识别和结合抗原的能力,只是亲和力低于整个结合位点。

[0213] “重链区(heavy chain region)”包括衍生自免疫球蛋白重链的恒定结构域的氨基酸序列。包含重链区的蛋白包含C_H1结构域、铰链(例如上、中和/或下铰链区)结构域、C_H2结构域、C_H3结构域或其变体或片段中的至少一个。在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段可以包含免疫球蛋白重链的Fc区(例如,铰链部分、C_H2结构域和C_H3结构域)。在另一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段缺少恒定结构域的至少一个区域(例如,C_H2结构域的全部或部分)。在某些实施方案中,至少一个且优选所有的恒定结构域均衍生自人免疫球蛋白重链。例如,在一个实施方案中,重链区包含完全的人铰链结构域。在其它实施方案中,重链区包含完全的人Fc区(例如,来自人免疫球蛋白的铰链、C_H2和C_H3结构域序列)。在某些实施方案中,重链区的组成性恒定结构域来自不同的免疫球蛋白分子。例如,蛋白的重链区可包含衍生自IgG1分子的C_H2结构域和衍生自IgG3或IgG4分子的铰链区。在其它实施方案中,恒定结构域是包含不同免疫球蛋白分子的区域的嵌合结构域。例如,铰链可包含来自IgG1分子的第一区域和来自IgG3或IgG4分子的第二区域。在一些实施方案中,可以修饰重链区的恒定结构域,使得它们在氨基酸序列上与天然存在的(野生型)免疫球蛋白分子不同。即,本发明的抗体或其抗原结合片段可以包含对一个或多个重链恒定结构域(C_H1、铰链、C_H2或C_H3)和/或对轻链恒定结构域(CL)的改变或修饰。示例性修饰包括在一个或多个结构域中添加、缺失或取代一个或多个氨基酸。

[0214] “铰链区(hinge region)”包括连接C_H1结构域与C_H2结构域的重链分子区域。这个铰链区包含约25个残基并且是柔性的,因此允许两个N-末端抗原结合区独立移动。铰链区可细分为三个不同的结构域:上、中和下铰链结构域(Roux et al.,1998.J Immunol.161(8):4083-90)。

[0215] “高变环(hypervariable loop)”术语与互补决定区(CDR)不是严格意义上的同义词,因为高变环(HV)是基于结构定义的,而CDR是基于序列变异性定义的(Kabat et al.,

1991. Sequences of proteins of immunological interest (第5版). Bethesda, MD: U.S. Dep. of Health and Human Services), 并且在一些 V_H 和 V_L 结构域中, HV和CDR的限制可能不同。

[0216] “同一性(identity)”或“同一的(identical)”当在本文中用于两个或更多个氨基酸序列的序列之间、或两个或更多个核酸序列的序列之间的关系时,是指氨基酸序列或核酸序列之间的序列相关性程度,通过两个或更多个氨基酸残基或核酸残基的片段之间的匹配数目所确定。“同一性”利用由特定数学模型或计算机程序(即“算法”)处理的空位比对(如果有的话)计算两个或更多个序列的较小者之间的相同匹配的百分比。相关氨基酸序列或核酸序列的同一性可以通过已知方法容易地计算。这样的方法包括但不限于描述于以下的那些: Lesk A.M. (1988). Computational molecular biology: Sources and methods for sequence analysis. New York, NY: Oxford University Press; Smith D.W. (1993). Biocomputing: Informatics and genome projects. San Diego, CA: Academic Press; Griffin A.M. & Griffin H.G. (1994). Computer analysis of sequence data, Part 1. Totowa, NJ: Humana Press; von Heijne G. (1987). Sequence analysis in molecular biology: treasure trove or trivial pursuit. San Diego, CA: Academic press; Gribskov M.R. & Devereux J. (1991). Sequence analysis primer. New York, NY: Stockton Press; Carillo et al., 1988. SIAM J Appl Math. 48(5): 1073-82. 设计用于测定同一性的优选方法以给出所检测的序列之间的最大匹配。测定同一性的方法描述在公众可获得的计算机程序中。用于测定两个序列之间同一性的优选的计算机程序方法包括GCG程序包, 包括GAP (Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI; Devereux et al., 1984. Nucleic Acids Res. 12(1Pt 1): 387-95)、BLASTP、BLASTN和FASTA (Altschul et al., 1990. J Mol Biol. 215(3): 403-10)。BLASTX程序公众可获自美国国家生物技术信息中心(NCBI)和其它来源(BLAST Manual, Altschul et al. NCB/NLM/NIH Bethesda, Md. 20894)。也可使用公知的Smith Waterman算法来测定同一性。

[0217] 如本文所用, “白介素2(interleukin-2)”或“IL-2”是指来自任何脊椎动物来源, 包括哺乳动物, 例如灵长类动物(例如人类)和啮齿动物(例如, 小鼠和大鼠)的任何天然IL-2, 除非另有说明。所述术语涵盖未加工的IL-2以及在细胞中加工产生的任何形式的IL-2。所述术语还涵盖天然存在的IL-2变体(例如, 剪接变体或等位基因变体)。在一个实施方案中, IL-2是具有序列SEQ ID NO: 93的人IL-2。

[0218] SEQ ID NO: 93

[0219] MYRMQLLSICIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY

[0220] KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLR

[0221] PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT

[0222] “打结素(knottin)”(也可称为抑制剂胱氨酸结)是指包含含有三个二硫桥的蛋白结构基序的抗体模拟物。

[0223] “哺乳动物(mammal)”是指任何哺乳动物, 包括人、非人灵长类动物、家畜和农场动物, 以及动物园动物、运动型动物或宠物动物, 例如狗、猫、牛、马、绵羊、猪、山羊、兔、猴子等。优选地, 哺乳动物是人。

[0224] “单克隆抗体(monoclonal antibody)”是指从一群基本上同质的抗体获得的抗

体,即,群体中包含的各个抗体是相同的,除了可能以少量存在的可能的天然存在的突变。单克隆抗体是高度特异性的、针对单一抗原位点。此外,与包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制备物相反,每种单克隆抗体针对抗原上的单个决定簇。除了它们的特异性之外,单克隆抗体的优点在于它们可以在不被其它抗体污染的情况下合成。修饰语“单克隆的(monoclonal)”不应被解释为需要通过任何特定方法产生抗体。例如,本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段可以通过首先由Kohler et al.,1975.Nature.256(5517):495-7描述的杂交瘤方法制备,或者可以使用重组DNA方法在细菌、真核动物或植物细胞中制备(专利US4,816,567)。“单克隆抗体”也可以例如使用Clackson et al.,1991.Nature.352(6336):624-8和Marks et al.,1991.J Mol Biol.222(3):581-97中描述的技术从噬菌体抗体文库中分离。

[0225] “纳米抗体(nanobody)”是指抗体衍生的治疗性蛋白,其包含天然存在的重链抗体的独特结构和功能特性(Muyldermans,2013.Annu Rev Biochem.82:775-97)。这些重链抗体可以包含单个可变结构域(VHH)和两个恒定结构域(C_H2和C_H3)。

[0226] “预防”、“防止”和“阻止”是指预防性和防止性措施,其中目的是减少受试者将在给定时间段内发展病理状况或病症的机会。这样的减少可以反映在例如受试者中病理状况或病症的至少一种症状的延迟发作中。

[0227] “调节性T细胞(regulatory T cell)”或“Treg细胞(Treg cell)”是指特化类型的T细胞,尤其是CD4⁺T细胞,其可以抑制其他T细胞的应答。Treg细胞通常表征为表达CD4、IL-2受体(CD25)的 α 亚基和转录因子叉头盒P3(Foxp3),并在诱导和维持对抗原(包括由肿瘤表达的抗原)的外周自身耐受性方面发挥关键作用。最近,还描述了CD8 Treg。

[0228] 如本文所用,“单链抗体(single chain antibody)”是指这样的任意抗体或其片段,其是具有包含一个连续氨基酸残基的不间断序列或由其组成的一级结构的蛋白,包括但不限于(1)单链Fv分子(scFv);(2)仅含有一个轻链可变结构域的单链蛋白,或含有轻链可变结构域的三个CDR而没有相关重链部分的其片段;和(3)仅含有一个重链可变区的单链蛋白,或含有重链可变区的三个CDR而没有相关轻链部分的其片段。

[0229] “单链Fv(single-chain Fv)”,也缩写为“sFv”或“scFv”,是指包含连接成单个氨基酸链的V_H和V_L抗体结构域的抗体片段。优选地,scFv氨基酸序列进一步在V_H和V_L结构域之间包含肽接头,其使得scFv能够形成用于抗原结合所需的结构。

[0230] 如本文所用,“受试者(subject)”是指哺乳动物,优选人。在一个实施方案中,受试者可以是“患者(patient)”,即温血动物,更优选人,其正在等待接受或正在接受医疗护理或曾经/正/将成为医疗程序的对象,或被监测疾病的发展。

[0231] “治疗有效量(therapeutically effective amount)”是指如本文所述的抗体的水平或量,其旨在以下而不对靶标造成显著的负面或不利的副作用:(1)延迟或预防疾病、病症或病况的发作;(2)减缓或阻止疾病、病症或病况的一种或多种症状的进展、加重或恶化;(3)使疾病、病症或病况的症状得到改善;(4)降低疾病、病症或病况的严重程度或发生率;(5)治愈疾病、病症或病况。治疗有效量可以在疾病、病症或病况发作之前施用,用于预防性或防止性作用。或者或另外,治疗有效量可以在疾病、病症或病况开始之后施用,用于治疗性作用。

[0232] “治疗(treat)”或“改善”是指治疗性治疗和预防性或防止性措施;其中目的是防

止或减缓(减轻)目标病理状况或病症。需要治疗的那些包括已经患有病症的那些以及怀疑患有病症的那些,或要预防病症的那些。在一个实施方案中,如果在接受治疗有效量的本发明的抗体后,受试者显示出至少一项以下,则认为受试者的癌症或感染性疾病得到成功“治疗”:癌细胞数量(或肿瘤大小)或致病性细胞数量减少;总的癌性或致病性细胞的百分比降低;在一定程度上缓解与待治疗的癌症或感染性疾病相关的一种或多种症状;发病率和死亡率降低;和生活质量问题得到改善。用于评估疾病的成功治疗和改善的上述参数可通过医师熟悉的常规方法容易地测量。

[0233] “肿瘤浸润性Treg(tumor infiltrating Treg)”涉及CD25^{+/hi} Foxp3⁺调节性T细胞,其由于数种不同的机制,包括增加的浸润、局部扩增、存活优势和自常规CD4⁺或CD8⁺细胞的原位发育,而在肿瘤性病变中聚集。

[0234] “unibody”是指缺少IgG4抗体的铰链区的抗体片段。铰链区的缺失产生的分子基本上传统IgG4抗体大小的一半,并具有IgG4抗体的单价结合区而不是二价结合区。

[0235] “可变的(variable)”是指可变结构域V_H和V_L的某些区域的序列在抗体之间差异非常大,并且用于每个特定抗体对其靶抗原的结合和特异性。然而,变异性并非均匀分布于抗体的整个可变区。它集中在每个V_L结构域和V_H结构域中称为“高变环”的三个区段中,所述区段形成抗原结合位点部分。V_λ轻链结构域的第一、第二和第三高变环在本文中称为L1(λ)、L2(λ)和L3(λ),并且可定义为包含V_L结构域中的残基24-33(L1(λ),由9、10或11个氨基酸残基组成)、49-53(L2(λ),由3个残基组成)和90-96(L3(λ),由6个残基组成)(Morea et al., 2000.Methods.20(3):267-79)。V_κ轻链结构域的第一、第二和第三高变环在本文中称为L1(κ)、L2(κ)和L3(κ),并且可定义为包含V_L结构域中的残基25-33(L1(κ),由6、7、8、11、12或13个残基组成)、49-53(L2(κ),由3个残基组成)和90-97(L3(κ),由6个残基组成)(Morea et al., 见上)。V_H结构域的第一、第二和第三高变环在本文中称为H1、H2和H3,并且可定义为包含V_H结构域中的残基25-33(H1,由7、8或9个残基组成)、52-56(H2,由3或4个残基组成)和91-105(H3,长度高度可变)(Morea et al., 见上)。除非另有说明,否则术语L1、L2和L3分别指V_L结构域的第一、第二和第三高变环,并涵盖从V_κ和V_λ同种型获得的高变环。术语H1、H2和H3分别指V_H结构域的第一、第二和第三高变环,并涵盖从任意已知重链同种型,包括gamma(γ)、mu(μ)、alpha(α)、delta(δ)或epsilon(ε)获得的高变环。高变环L1、L2、L3、H1、H2和H3可以各自包含如上文定义的“互补决定区”或“CDR”部分。

[0236] “versabody”是指一种抗体模拟物技术。它们是具有>15%的半胱氨酸的3-5kDa的小蛋白,其形成高二硫键密度的骨架,取代了典型蛋白具有的疏水核心。用少量的二硫化物替换大量的疏水氨基酸(包括疏水核心),会导致蛋白更小、更亲水(较少的聚集和非特异性结合)、对蛋白酶和热的抗性更强并且具有较低密度的T细胞表位,因为最有助于MHC呈递的残基是疏水的。公知,所有这四个特性都会影响免疫原性,并且预计它们一起会导致免疫原性大大降低。

具体实施方式

[0237] 不同的研究已经分析了鼠模型中IL-2和CD25之间的相互作用。已经表明,在荷瘤小鼠中使用抗CD25抗体如PC61阻断IL-2与CD25的结合会导致FoxP3表达和Treg抑制功能的丧失。这一结果表明,阻断IL2与CD25的结合代表了一种有前景的预防癌症发展的方法。最

近,Vargas等人(2017,Immunity 48(6),577-586)开发了一种Fc优化形式的PC61抗体,其通过抗体依赖性细胞毒性(ADCC)或补体介导的细胞毒性机制(CDC)实现瘤内Treg耗减,从而在鼠肿瘤模型中提供了显著的治疗益处。鉴于CD25和IL-2通路在Treg中的生理重要性,因此阻断所述通路似乎是一种强大且有前景的抗肿瘤免疫治疗。

[0238] 尽管阻断IL-2通路作为抗肿瘤免疫治疗具有明显的前景,但应仔细检查IL-2通路的控制,因为它调节免疫刺激和免疫调节功能两者。事实上,尽管IL-2通路在调节免疫应答和维持外周自身耐受方面发挥重要作用,但它也充当T细胞生长因子,对T细胞的增殖和存活以及效应T细胞和记忆T细胞的产生至关重要。此外,IL-2受体也在效应T细胞和髓样树突细胞中瞬时表达,并且因此IL-2通路控制可能导致不可预测的结果,例如,改变抗肿瘤效应T细胞,尤其是CD8⁺效应T细胞功能,导致癌症发展。

[0239] 作为免疫系统的组分,效应CD8⁺T细胞在抑制肿瘤方面具有重要作用。例如,效应CD8⁺T细胞可以通过细胞毒性分子,例如颗粒酶(granzyme)和穿孔素(perforin)来杀死肿瘤细胞。由CD8⁺T细胞产生的IFN- γ 可以增加肿瘤细胞的MHC I类抗原表达,从而使它们成为CD8⁺T细胞的更好靶点。因此,在癌症期间,效应CD8⁺T细胞对于消除肿瘤性细胞至关重要。

[0240] 在此,申请人旨在在癌症期间消除或沉默Treg,同时保持有效的效应T细胞应答。因此,本发明涉及表现出有效抗癌作用的新的抗CD25抗体(特别是抗人CD25抗体),尤其是通过耗减Treg,而不阻断IL-2信号传导通路,从而允许IL-2刺激效应T细胞。

[0241] 因此,本发明首先涉及与人CD25(hCD25)结合的分离的蛋白。

[0242] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白是分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与人CD25(hCD25)结合。

[0243] 如本文所用,“分离的蛋白(isolated protein)”,且尤其是“分离的抗体(isolated antibody)”,旨在指基本上不含具有不同抗原特异性的其他蛋白或抗体的蛋白,尤其是抗体(例如,特异性结合hCD25的分离的蛋白或抗体基本上不含特异性结合hCD25以外的抗原的蛋白或抗体)。然而,特异性结合hCD25的分离的蛋白,尤其是分离的抗体,可能与其他抗原(例如来自其他物种的CD25分子)具有交叉反应性。此外,分离的蛋白或抗体可以基本上不含其他细胞物质和/或化学物质,尤其是会干扰蛋白或抗体的治疗用途的那些,包括但不限于酶、激素和其他蛋白性或非蛋白性组分。

[0244] 在一个实施方案中,分离的蛋白,尤其是分离的抗体或其抗原结合片段是纯化的。

[0245] 在一个实施方案中,将分离的蛋白或抗体(或其抗原结合片段)纯化至:

[0246] (1) 通过Lowry方法测定,大于以重量计80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%或更高的蛋白或抗体或其抗原结合片段,并且最优选大于以重量计96%、97%、98%或99%;

[0247] (2) 足以通过使用转杯测序仪(spinning cup sequenator)获得N端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度;或

[0248] (3) 在还原或非还原条件下并使用考马斯蓝或优选银染色的SDS-PAGE所示的均质性。

[0249] 根据本发明,所述分离的蛋白,尤其是分离的抗体或其抗原结合片段不抑制白介素-2(IL-2)通过CD25的信号传导。在一个实施方案中,分离的蛋白不抑制IL-2与人CD25的结合。在一个实施方案中,分离的抗体或其抗原结合片段不抑制IL-2与人CD25的结合,并且

因此在本文中可称为“非阻断抗体(non-blocking antibody)”。

[0250] 在一个实施方案中,与不存在本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段时的IL-2信号传导相比,本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段抑制小于50%的IL-2信号传导。在一个实施方案中,与不存在本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段时的IL-2信号传导相比,本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段抑制小于45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%的IL-2信号传导。

[0251] 测量IL-2信号传导的方法是本领域公知的,并且包括,例如,测量IL-2受体信号传导的诱导(例如,通过检测磷酸化STAT5a),测量T细胞增殖的诱导(例如,通过使用特定的CellTraceTM细胞增殖试剂盒检测Ki-67,通过在IL-2存在下直接评估T细胞增殖,在MLR实验中(包括,例如,在IL-2存在下用CD3和CD28激活细胞),或使用依赖IL-2来增殖的细胞系,例如CTLL2细胞系)和/或测量激活标志物(例如,CD25、CD69、细胞毒性分子,例如颗粒酶B等)的表达上调。

[0252] 在一个实施方案中,本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段不抑制CD4⁺和CD8⁺T细胞的增殖和/或激活。在一个实施方案中,本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段不抑制IL-2诱导的CD4⁺和CD8⁺T细胞增殖。可用于测量IL-2诱导的增殖的方法的实例包括通过流式细胞术测量和监测在IL-2存在下培养的T细胞的细胞分裂。在实施例部分中提供了所述方法的实例。

[0253] 在一个实施方案中,与使用同种型对照抗体的IL-2诱导的CD4⁺和CD8⁺T细胞增殖相比,本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段抑制了IL-2诱导的CD4⁺和CD8⁺T细胞增殖小于30%,优选小于25%、20%、15%、10%或更少。

[0254] 在一个实施方案中,本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段不抑制CD4⁺和CD8⁺T细胞中的STAT5a磷酸化。

[0255] 在一个实施方案中,与分别不存在本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段时IL-2与CD25的结合相比,本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段抑制小于50%的IL-2与CD25的结合。在一个实施方案中,与分别不存在本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段时IL-2与CD25的结合相比,本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段抑制了小于45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%的IL-2与CD25的结合。

[0256] 测量IL-2与CD25的结合的方法的实例是技术人员公知的,并且包括但不限于检测CD25上的标记的IL-2,例如,检测CD25上的生物素化或放射性标记的IL-2。

[0257] 在一个实施方案中,本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段是人CD25(hCD25)特异性的。

[0258] 如果蛋白、抗体或其抗原结合片段以可检测水平与抗原(例如,hCD25)反应,优选以大于或等于约 10^6M^{-1} ,优选大于或等于约 10^7M^{-1} 、 10^8M^{-1} 、 $5\times 10^8\text{M}^{-1}$ 、 10^9M^{-1} 、 $5\times 10^9\text{M}^{-1}$ 或更高的亲和常数(K_A)反应,则称其“特异于(specific for)”所述抗原、对所述抗原是“免疫特异性的(immunospecific)”或“特异性结合(specifically bind)”所述抗原。蛋白或抗体或其抗原结合片段对其同源抗原(cognate antigen)的亲和力通常也表示为平衡解离常数(K_D)。如果抗体或其抗原结合片段以可检测水平与抗原(例如,CD25)反应,优选以小于或等于 10^{-6}M ,优选小于或等于 10^{-7}M 、 $5\cdot 10^{-8}\text{M}$ 、 10^{-8}M 、 $5\cdot 10^{-9}\text{M}$ 、 10^{-9}M 或更小的 K_D 反应,则称其为对所述抗原是“免疫特异性的”、“特异于”所述抗原或“特异性结合”所述抗原。

[0259] 抗体或其抗原结合片段的亲和力可以使用常规技术容易地确定,例如Scatchard, 1949. Ann NY Acad Sci. 51:660-672所述的。抗体或其抗原结合片段与抗原、细胞或组织的结合性质通常可以使用免疫检测方法来测定和评估,所述免疫检测方法包括例如ELISA、基于免疫荧光的测定,例如免疫组织化学(IHC)和/或荧光激活细胞分选(FACS)或通过表面等离子体共振(SPR,例如使用BIAcore®)。

[0260] 在一个实施方案中,本发明的蛋白(尤其是抗体或其抗原结合片段)表现出与人CD25结合的 K_D 低于或等于约 $30 \cdot 10^{-9}$ M,优选低于或等于约 $20 \cdot 10^{-9}$ M,优选低于或等于约 $10 \cdot 10^{-9}$ M,优选低于或等于约 $5 \cdot 10^{-9}$ M,优选低于或等于约 $1 \cdot 10^{-9}$ M。在一个实施方案中,本发明的蛋白与人CD25结合的 K_D 的范围为约 $1 \cdot 10^{-10}$ M至约 $20 \cdot 10^{-9}$ M,优选约 $6 \cdot 10^{-10}$ M至约 $10 \cdot 10^{-9}$ M。

[0261] 在一个实施方案中,本发明的蛋白、抗体或其抗原结合片段是多克隆的。

[0262] 在另一个实施方案中,本发明的蛋白、抗体或其抗原结合片段是单克隆的。

[0263] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是选自包含以下或由以下组成的组的分子:完整抗体、人源化抗体、单链抗体、二聚单链抗体、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab)'₂、Fd、脱岩藻糖基化抗体、双特异性抗体、双抗体、三抗体和四抗体。

[0264] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是选自包含以下或由以下组成的组的分子:完整抗体、单链可变片段(scFv)、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab)'₂、脱岩藻糖基化抗体、双特异性抗体、双抗体、三抗体和四抗体。

[0265] 抗体的抗原结合片段可以使用标准方法获得。例如,可以根据常规技术,通过蛋白酶消化分离的抗体来产生Fab或F(ab)'₂片段。

[0266] 还应当理解,可以使用已知方法修饰本发明的蛋白、抗体或其抗原结合片段。例如,为了减缓体内清除并获得更理想的药代动力学特征,可以用聚乙二醇(PEG)修饰蛋白、抗体或其抗原结合片段。用于将PEG与抗体或其抗原结合片段偶联和位点特异性结合的方法描述在例如Leong et al., 2001. Cytokine. 16(3):106-19; Delgado et al., 1996. Br J Cancer. 73(2):175-82中。

[0267] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是选自包含unibody、域抗体和纳米抗体或其组成的组的分子。在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是unibody。

[0268] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白是选自包含以下或由以下组成的组的抗体模拟物:affibody、alphabody、基于玃猿重复蛋白的支架、打结素(knottin)、库尼茨域肽、affilin、affitin、adnectin、atrimmer、evasin、DARPin、anticalin、avimer、fynomer、versabody或duocalin。

[0269] 在一个实施方案中,抗体、其抗原结合片段或抗体模拟物结合CD25的表位,优选人CD25的表位。在一个实施方案中,所述表位是构象表位,例如,包含CD25(优选人CD25)中的两个或三个氨基酸序列的表位。在一个实施方案中,所述表位不包含参与CD25对IL-2的结合的氨基酸。

[0270] 在下文中,且除非另有明确说明,否则CDR编号和定义均根据IMGT®编号系统。

[0271] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(本文中缩写为VH),其包含至少一个、优选至少两个、更优选三个以下互补决定区(CDR):

- [0272] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0273] CDR2:VISYDGX₁NX₂YYX₃DSVKG (SEQ ID NO:2) ,其中X₁是S或D,X₂是K或T,X₃是A或R;和/或
- [0274] CDR3:GX₄NSGYD (SEQ ID NO:3) ,其中X₄是W或L。
- [0275] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含以下三个CDR:
- [0276] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0277] CDR2:VISYDGX₁NX₂YYX₃DSVKG (SEQ ID NO:2) ,其中X₁是S或D,X₂是K或T,X₃是A或R;和/或
- [0278] CDR3:GX₄NSGYD (SEQ ID NO:3) ,其中X₄是W或L。
- [0279] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:
- [0280] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0281] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0282] CDR3:GWNSGYD (SEQ ID NO:8) 。
- [0283] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:
- [0284] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0285] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0286] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) 。
- [0287] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:
- [0288] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0289] CDR2:VISYDGSNKYYRDSVKG (SEQ ID NO:25) ;和
- [0290] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) 。
- [0291] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:
- [0292] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0293] CDR2:VISYDGSNTYYADSVKG (SEQ ID NO:26) ;和
- [0294] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) 。
- [0295] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VH,其包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:
- [0296] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0297] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:27) ;和
- [0298] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) 。
- [0299] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO 1-3、7、8、17、25-27的VH的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可以表征为具有1、2、3或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代。
- [0300] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO 1-3、7、8、17、25-27的VH的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可以表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少

70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性的氨基酸序列。

[0301] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区(本文中缩写为VL),其包含至少一个、优选至少两个、更优选三个以下互补决定区(CDR):

[0302] CDR1:RASQX₅X₆X₇X₈X₉LN (SEQ ID NO:4),其中X₅是S或N,X₆是V或I,X₇是N或S,X₈是S或K,X₉是F或Y;

[0303] CDR2:GTX₁₀SLQS (SEQ ID NO:5),其中X₁₀是S或N;和/或

[0304] CDR3:QQYX₁₁SWPWT (SEQ ID NO:6),其中X₁₁是T或N。

[0305] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含以下三个CDR:

[0306] CDR1:RASQX₅X₆X₇X₈X₉LN (SEQ ID NO:4),其中X₅是S或N,X₆是V或I,X₇是N或S,X₈是S或K,X₉是F或Y;

[0307] CDR2:GTX₁₀SLQS (SEQ ID NO:5),其中X₁₀是S或N;和/或

[0308] CDR3:QQYX₁₁SWPWT (SEQ ID NO:6),其中X₁₁是T或N。

[0309] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0310] CDR1:RASQSVNSFLN (SEQ ID NO:9);

[0311] CDR2:GTSSLQS (SEQ ID NO:10);和

[0312] CDR3:QQYTSWPWT (SEQ ID NO:11)。

[0313] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0314] CDR1:RASQSVNSYLN (SEQ ID NO:12);

[0315] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13);和

[0316] CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)。

[0317] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0318] CDR1:RASQSISSYLN (SEQ ID NO:15);

[0319] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13);和

[0320] CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)。

[0321] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0322] CDR1:RASQSVSSFLN (SEQ ID NO:16);

[0323] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13);和

[0324] CDR3:QQYTSWPWT (SEQ ID NO:11)。

[0325] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0326] CDR1:RASQSVSKFLN (SEQ ID NO:18);

[0327] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13);和

[0328] CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)。

[0329] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一

个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0330] CDR1:RASQNINSFLN(SEQ ID NO:19);

[0331] CDR2:GTSSLQS(SEQ ID NO:10);和

[0332] CDR3:QQYNSWPWT(SEQ ID NO:14)。

[0333] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0334] CDR1:RASQNISSFLN(SEQ ID NO:20);

[0335] CDR2:GTNSLQS(SEQ ID NO:13);和

[0336] CDR3:QQYNSWPWT(SEQ ID NO:14)。

[0337] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0338] CDR1:RASQSISSFLN(SEQ ID NO:21);

[0339] CDR2:GTNSLQS(SEQ ID NO:13);和

[0340] CDR3:QQYTSPWT(SEQ ID NO:11)。

[0341] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0342] CDR1:RASQSVSSFLN(SEQ ID NO:16);

[0343] CDR2:GTNSLQS(SEQ ID NO:13);和

[0344] CDR3:QQYNSWPWT(SEQ ID NO:14)。

[0345] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0346] CDR1:RASQNVSSFLN(SEQ ID NO:22);

[0347] CDR2:GTSSLQS(SEQ ID NO:10);和

[0348] CDR3:QQYTSPWT(SEQ ID NO:11)。

[0349] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0350] CDR1:RASQSINSFLN(SEQ ID NO:23);

[0351] CDR2:GTNSLQS(SEQ ID NO:13);和

[0352] CDR3:QQYNSWPWT(SEQ ID NO:14)。

[0353] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0354] CDR1:RASQNINSFLN(SEQ ID NO:19);

[0355] CDR2:GTNSLQS(SEQ ID NO:13);和

[0356] CDR3:QQYTSPWT(SEQ ID NO:11)。

[0357] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0358] CDR1:RASQSVSSYLN(SEQ ID NO:24);

[0359] CDR2:GTNSLQS(SEQ ID NO:13);和

[0360] CDR3:QQYTSPWT(SEQ ID NO:11)。

[0361] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0362] CDR1:RASQSISSFLN(SEQ ID NO:21);

[0363] CDR2:GTNSLQS(SEQ ID NO:13);和

[0364] CDR3:QQYNSWPWT(SEQ ID NO:14)。

[0365] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0366] CDR1:RASQNVSSFLN(SEQ ID NO:22);

[0367] CDR2:GTNSLQS(SEQ ID NO:13);和

[0368] CDR3:QQYNSWPWT(SEQ ID NO:14)。

[0369] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含至少一个(例如,1个、2个或3个)以下CDR,并且优选地三个以下CDR:

[0370] CDR1:RASQSINSFLN(SEQ ID NO:23);

[0371] CDR2:GTNSLQS(SEQ ID NO:13);和

[0372] CDR3:QQYTSWPWT(SEQ ID NO:11)。

[0373] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:4-6、9-16、18-24的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有1、2、3、4、5或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代。

[0374] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:4-6、9-16、18-24的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的氨基酸序列。

[0375] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0376] -VH,其包含至少一个、优选至少两个、更优选三个以下CDR:

[0377] CDR1:NHAMA(SEQ ID NO:1);

[0378] CDR2:VISYDGX₁NX₂YYX₃DSVKG(SEQ ID NO:2),其中X₁是S或D,X₂是K或T,X₃是A或R;和/或

[0379] CDR3:GX₄NSGYD(SEQ ID NO:3),其中X₄是W或L;和

[0380] -VL,其包含至少一个、优选至少两个、更优选三个以下CDR:

[0381] CDR1:RASQX₅X₆X₇X₈X₉LN(SEQ ID NO:4),其中X₅是S或N,X₆

[0382] 是V或I,X₇是N或S,X₈是S或K,X₉是F或Y;

[0383] CDR2:GTX₁₀SLQS(SEQ ID NO:5),其中X₁₀是S或N;和/或

[0384] CDR3:QQYX₁₁SWPWT(SEQ ID NO:6),其中X₁₁是T或N。

[0385] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0386] -VH,其包含以下三个CDR:

[0387] CDR1:NHAMA(SEQ ID NO:1);

[0388] CDR2:VISYDGX₁NX₂YYX₃DSVKG(SEQ ID NO:2),其中X₁是S或D,X₂是K或T,X₃是A或R;和/或

[0389] CDR3:GX₄NSGYD(SEQ ID NO:3),其中X₄是W或L;和

[0390] -VL,其包含以下三个CDR:

[0391] CDR1:RASQX₅X₆X₇X₈X₉LN(SEQ ID NO:4),其中X₅是S或N,X₆

- [0392] 是V或I, X_7 是N或S, X_8 是S或K, X_9 是F或Y;
- [0393] CDR2:GTX₁₀SLQS (SEQ ID NO:5), 其中 X_{10} 是S或N; 和/或
- [0394] CDR3:QQYX₁₁SWPWT (SEQ ID NO:6), 其中 X_{11} 是T或N。
- [0395] 在一个实施方案中, 具有SEQ ID NO:1-3的VH的和/或具有SEQ ID NO:4-6的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可以表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。
- [0396] 在一个实施方案中, 本发明的抗体或其抗原结合片段包含:
- [0397] -VH, 其包含以下三个CDR:
- [0398] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1);
- [0399] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7); 和
- [0400] CDR3:GWNSGYD (SEQ ID NO:8); 和
- [0401] -VL, 其包含以下三个CDR:
- [0402] CDR1:RASQSVNSFLN (SEQ ID NO:9);
- [0403] CDR2:GTSSLQS (SEQ ID NO:10); 和
- [0404] CDR3:QQYTSWPWT (SEQ ID NO:11)。
- [0405] 在一个实施方案中, 具有SEQ ID NO:1、7-8的VH的和/或具有SEQ ID NO:9-11的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。
- [0406] 包含含有SEQ ID NO:1、7-8的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:9-11的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是H07。
- [0407] 在一个实施方案中, 本发明的抗体或其抗原结合片段包含:
- [0408] -VH, 其包含以下三个CDR:
- [0409] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1);
- [0410] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7); 和
- [0411] CDR3:GWNSGYD (SEQ ID NO:8); 和
- [0412] -VL, 其包含以下三个CDR:
- [0413] CDR1:RASQSVNSYLN (SEQ ID NO:12);
- [0414] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13); 和
- [0415] CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)。
- [0416] 在一个实施方案中, 具有SEQ ID NO:1、7-8的VH的和/或具有SEQ ID NO:12-14的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。
- [0417] 包含含有SEQ ID NO:1、7-8的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:12-14的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是G02。
- [0418] 在一个实施方案中, 本发明的抗体或其抗原结合片段包含:
- [0419] -VH, 其包含以下三个CDR:

- [0420] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0421] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0422] CDR3:GWNSGYD (SEQ ID NO:8) ;和
- [0423] -VL,其包含以下三个CDR:
- [0424] CDR1:RASQSISSYLN (SEQ ID NO:15) ;
- [0425] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0426] CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) 。
- [0427] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、7-8的VH的和/或具有SEQ ID NO:13-15的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。
- [0428] 包含含有SEQ ID NO:1、7-8的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:13-15的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是E04。
- [0429] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:
- [0430] -VH,其包含以下三个CDR:
- [0431] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0432] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0433] CDR3:GWNSGYD (SEQ ID NO:8) ;和
- [0434] -VL,其包含以下三个CDR:
- [0435] CDR1:RASQSVSSFLN (SEQ ID NO:16) ;
- [0436] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0437] CDR3:QQYTSWPWT (SEQ ID NO:11) 。
- [0438] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、7-8的VH的和/或具有SEQ ID NO:11、13和16的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。
- [0439] 包含含有SEQ ID NO:1、7-8的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:11、13和16的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是D05。
- [0440] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:
- [0441] -VH,其包含以下三个CDR:
- [0442] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0443] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和
- [0444] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;和
- [0445] -VL,其包含以下三个CDR:
- [0446] CDR1:RASQSVSKFLN (SEQ ID NO:18) ;
- [0447] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0448] CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) 。
- [0449] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、7和17的VH的和/或具有SEQ ID NO:13、14和18的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定

CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0450] 包含含有SEQ ID NO:1、7和17的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:13、14和18的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是H09。

[0451] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0452] -VH,其包含以下三个CDR:

[0453] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;

[0454] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和

[0455] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;和

[0456] -VL,其包含以下三个CDR:

[0457] CDR1:RASQNINSFLN (SEQ ID NO:19) ;

[0458] CDR2:GTSSLQS (SEQ ID NO:10) ;和

[0459] CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) 。

[0460] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、7和17的VH的和/或具有SEQ ID NO:10、14和19的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0461] 包含含有SEQ ID NO:1、7和17的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:10、14和19的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是E04-2。

[0462] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0463] -VH,其包含以下三个CDR:

[0464] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;

[0465] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和

[0466] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;和

[0467] -VL,其包含以下三个CDR:

[0468] CDR1:RASQNISSFLN (SEQ ID NO:20) ;

[0469] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和

[0470] CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) 。

[0471] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、7和17的VH的和/或具有SEQ ID NO:13、14和20的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0472] 包含含有SEQ ID NO:1、7和17的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:13、14和20的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是B01。

[0473] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0474] -VH,其包含以下三个CDR:

[0475] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;

[0476] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和

[0477] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;和

[0478] -VL,其包含以下三个CDR:

[0479] CDR1:RASQSISSFLN(SEQ ID NO:21);

[0480] CDR2:GTNSLQS(SEQ ID NO:13);和

[0481] CDR3:QQYTSPWT(SEQ ID NO:11)。

[0482] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、7和17的VH的和/或具有SEQ ID NO:11、13和21的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0483] 包含含有SEQ ID NO:1、7和17的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:11、13和21的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是C01。

[0484] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0485] -VH,其包含以下三个CDR:

[0486] CDR1:NHAMA(SEQ ID NO:1);

[0487] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG(SEQ ID NO:7);和

[0488] CDR3:GLNSGYD(SEQ ID NO:17);和

[0489] -VL,其包含以下三个CDR:

[0490] CDR1:RASQSVSSFLN(SEQ ID NO:16);

[0491] CDR2:GTNSLQS(SEQ ID NO:13);和

[0492] CDR3:QQYNSWPWT(SEQ ID NO:14)。

[0493] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、7和17的VH的和/或具有SEQ ID NO:13、14和16的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0494] 包含含有SEQ ID NO:1、7和17的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:13、14和16的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是G01。

[0495] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0496] -VH,其包含以下三个CDR:

[0497] CDR1:NHAMA(SEQ ID NO:1);

[0498] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG(SEQ ID NO:7);和

[0499] CDR3:GLNSGYD(SEQ ID NO:17);和

[0500] -VL,其包含以下三个CDR:

[0501] CDR1:RASQNVSSFLN(SEQ ID NO:22);

[0502] CDR2:GTSSLQS(SEQ ID NO:10);和

[0503] CDR3:QQYTSPWT(SEQ ID NO:11)。

[0504] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、7和17的VH的和/或具有SEQ ID NO:10、11和22的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0505] 包含含有SEQ ID NO:1、7和17的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:10、11

和22的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是H01。

[0506] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0507] -VH,其包含以下三个CDR:

[0508] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;

[0509] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和

[0510] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;和

[0511] -VL,其包含以下三个CDR:

[0512] CDR1:RASQSINSFLN (SEQ ID NO:23) ;

[0513] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和

[0514] CDR3:QQYNWPWT (SEQ ID NO:14) 。

[0515] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、7和17的VH的和/或具有SEQ ID NO:13、14和23的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0516] 包含含有SEQ ID NO:1、7和17的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:13、14和23的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是G02-2。

[0517] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0518] -VH,其包含以下三个CDR:

[0519] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;

[0520] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和

[0521] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;和

[0522] -VL,其包含以下三个CDR:

[0523] CDR1:RASQNINSFLN (SEQ ID NO:19) ;

[0524] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和

[0525] CDR3:QQYTWPWT (SEQ ID NO:11) 。

[0526] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、7和17的VH的和/或具有SEQ ID NO:19、13和11的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0527] 包含含有SEQ ID NO:1、7和17的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:19、13和11的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是B07。

[0528] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0529] -VH,其包含以下三个CDR:

[0530] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;

[0531] CDR2:VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:7) ;和

[0532] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;和

[0533] -VL,其包含以下三个CDR:

[0534] CDR1:RASQSVSSYLN (SEQ ID NO:24) ;

[0535] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和

[0536] CDR3:QQYTSWPWT (SEQ ID NO:11)。

[0537] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、7和17的VH的和/或具有SEQ ID NO:11、13和24的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0538] 包含含有SEQ ID NO:1、7和17的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:11、13和24的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是H08。

[0539] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0540] -VH,其包含以下三个CDR:

[0541] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1);

[0542] CDR2:VISYDGSNKYYRDSVKG (SEQ ID NO:25);和

[0543] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17);和

[0544] -VL,其包含以下三个CDR:

[0545] CDR1:RASQSISSFLN (SEQ ID NO:21);

[0546] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13);和

[0547] CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)。

[0548] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、17和25的VH的和/或具有SEQ ID NO:13、14和21的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0549] 包含含有SEQ ID NO:1、17和25的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:13、14和21的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是D01。

[0550] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0551] -VH,其包含以下三个CDR:

[0552] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1);

[0553] CDR2:VISYDGSNKYYRDSVKG (SEQ ID NO:25);和

[0554] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17);和

[0555] -VL,其包含以下三个CDR:

[0556] CDR1:RASQNINSFLN (SEQ ID NO:19);

[0557] CDR2:GTSSLQS (SEQ ID NO:10);和

[0558] CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14)。

[0559] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、17和25的VH的和/或具有SEQ ID NO:10、14和19的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0560] 包含含有SEQ ID NO:1、17和25的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:10、14和19的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是B05。

[0561] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0562] -VH,其包含以下三个CDR:

- [0563] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0564] CDR2:VISYDGSNKYYRDSVKG (SEQ ID NO:25) ;和
- [0565] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;和
- [0566] -VL,其包含以下三个CDR:
- [0567] CDR1:RASQNVSSFLN (SEQ ID NO:22) ;
- [0568] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0569] CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) 。
- [0570] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、17和25的VH的和/或具有SEQ ID NO:13、14和22的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。
- [0571] 包含含有SEQ ID NO:1、17和25的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:13、14和22的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是G09和H02。
- [0572] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:
- [0573] -VH,其包含以下三个CDR:
- [0574] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0575] CDR2:VISYDGSNTYYADSVKG (SEQ ID NO:26) ;和
- [0576] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;和
- [0577] -VL,其包含以下三个CDR:
- [0578] CDR1:RASQNVSSFLN (SEQ ID NO:22) ;
- [0579] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0580] CDR3:QQYNSWPWT (SEQ ID NO:14) 。
- [0581] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、17和26的VH的和/或具有SEQ ID NO:13、14和22的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。
- [0582] 包含含有SEQ ID NO:1、17和26的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:13、14和22的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是F03。
- [0583] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:
- [0584] -VH,其包含以下三个CDR:
- [0585] CDR1:NHAMA (SEQ ID NO:1) ;
- [0586] CDR2:VISYDGDNKYYADSVKG (SEQ ID NO:27) ;和
- [0587] CDR3:GLNSGYD (SEQ ID NO:17) ;和
- [0588] -VL,其包含以下三个CDR:
- [0589] CDR1:RASQSINSFLN (SEQ ID NO:23) ;
- [0590] CDR2:GTNSLQS (SEQ ID NO:13) ;和
- [0591] CDR3:QQYTSWPWT (SEQ ID NO:11) 。
- [0592] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:1、17和27的VH的和/或具有SEQ ID NO:11、13和23的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3中的任一个可表征为具有与相应SEQ ID NO中列出的特定

CDR或CDR组共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0593] 包含含有SEQ ID NO:1、17和27的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有SEQ ID NO:11、13和23的CDR1、CDR2和CDR3的轻链的抗体的实例是B12。

[0594] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含序列SEQ ID NO:94或由序列SEQ ID NO:94组成,其中X₁是S或D,X₂是K或T,X₃是A或R,X₄是A或S,X₅是K或Q,X₆是N或S,X₇是W或L。

[0595] SEQ ID NO:94

[0596] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAWVRQAPGKGLEWVAVISYDGX₁NX₂YYX₃DSVKG RFTISRDNX₄X₅X₆TLYLQMNSLRAEDTAVY YCTTGX₇NSGYDWGQGTTLTVSS

[0597] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含序列SEQ ID NO:96或由序列SEQ ID NO:96组成,其中X₁是A或S,X₂是N或S。

[0598] SEQ ID NO:96

[0599] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYRDSVKGRF TISRDNX₁QX₂TLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTGLNSGYDWGQGTTLTVSS

[0600] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VH,所述VH包含选自包含以下的组的序列,或由选自包含以下的组的序列组成:SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:39。

[0601] SEQ ID NO:28

[0602] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTGWNSGYDWGQGTTLTVSS

[0603] SEQ ID NO:29

[0604] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFT ISRDNSQNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTGLNSGYDWGQGTTLTVSS

[0605] SEQ ID NO:30

[0606] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYRDSVKGRFT ISRDNAQSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTGLNSGYDWGQGTTLTVSS

[0607] SEQ ID NO:31

[0608] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTGLNSGYDWGQGTTLTVSS

[0609] SEQ ID NO:32

[0610] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYRDSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTGLNSGYDWGQGTTLTVSS

[0611] SEQ ID NO:33

[0612] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYRDSVKGRFT ISRDNAQNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTGLNSGYDWGQGTTLTVSS

[0613] SEQ ID NO:34

[0614] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFT

ISRDNASTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTGLNSGYDWGQGLTVTVSS

[0615] SEQ ID NO:35

[0616] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYRDSVKGRFT
ISRDNASTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTGLNSGYDWGQGLTVTVSS

[0617] SEQ ID NO:36

[0618] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNTYYADSVKGRFT
ISRDNASTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTGLNSGYDWGQGLTVTVSS

[0619] SEQ ID NO:37

[0620] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFT
ISRDNASTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTGLNSGYDWGQGLTVTVSS

[0621] SEQ ID NO:38

[0622] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFT
ISRDNASTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTGLNSGYDWGQGLTVTVSS

[0623] SEQ ID NO:39

[0624] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNHAMAVRQAPGKGLEWVAVISYDGNKYYADSVKGRFT
ISRDNASTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTGLNSGYDWGQGLTVTVSS

[0625] 在一个实施方案中,VH包含以下或由以下组成:具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代的序列SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39。在一个实施方案中,VH包含以下或由以下组成:具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代的序列SEQ ID NO:94或SEQ ID NO:96。

[0626] 在一个实施方案中,VH具有与SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。在一个实施方案中,VH具有与SEQ ID NO:94或SEQ ID NO:96共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0627] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含序列SEQ ID NO:95或由序列SEQ ID NO:95组成,其中 X_1 是S或N, X_2 是V或I, X_3 是N或S, X_4 是S或K, X_5 是F或Y, X_6 是K或E, X_7 是R或K, X_8 是S或N, X_9 是Y或F, X_{10} 是T或N。

[0628] SEQ ID NO:95

[0629] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 LNWYQQKPGX X_6 APX X_7 RLIYGTX X_8 SLQSGVPSRFS
GSGSGTD X_9 TLTISSLQPEDFATYYCQQY X_{10} SWPWTFGQGTKLEIK

[0630] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含VL,所述VL包含选自包含以下的组的序列或由选自包含以下的组的序列组成:SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ

ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57。

[0631] SEQ ID NO:40

[0632] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVNSFLNWWYQQKPGKAPRRLIYGTSSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISSLQPEDFATYYCQQYTSWPWTFGQGTKLEIK

[0633] SEQ ID NO:41

[0634] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSKFLNWWYQQKPGKAPRRLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSWPWTFGQGTKLEIK

[0635] SEQ ID NO:42

[0636] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVNSYLNWWYQQKPGKAPRRLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSWPWTFGQGTKLEIK

[0637] SEQ ID NO:43

[0638] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWWYQQKPGKAPRRLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSWPWTFGQGTKLEIK

[0639] SEQ ID NO:44

[0640] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSFLNWWYQQKPGKAPRRLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSWPWTFGQGTKLEIK

[0641] SEQ ID NO:45

[0642] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNINSFLNWWYQQKPGKAPRRLIYGTSSLQSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSWPWTFGQGTKLEIK

[0643] SEQ ID NO:46

[0644] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNINSFLNWWYQQKPGKAPRRLIYGTSSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSWPWTFGQGTKLEIK

[0645] SEQ ID NO:47

[0646] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVSSFLNWWYQQKPGKAPRRLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSWPWTFGQGTKLEIK

[0647] SEQ ID NO:48

[0648] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNISSFLNWWYQQKPGKAPRRLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSWPWTFGQGTKLEIK

[0649] SEQ ID NO:49

[0650] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSFLNWWYQQKPGKAPRRLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISSLQPEDFATYYCQQYTSWPWTFGQGTKLEIK

[0651] SEQ ID NO:50

[0652] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSFLNWWYQQKPGKAPRRLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSWPWTFGQGTKLEIK

[0653] SEQ ID NO:51

[0654] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVSSFLNWWYQQKPGKAPRRLIYGTSSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISSLQPEDFATYYCQQYTSWPWTFGQGTKLEIK

[0655] SEQ ID NO:52

[0656] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSFLNWKYQKPKGKAPRRLLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQQYNWPWTFGQGTKLEIK

[0657] SEQ ID NO:53

[0658] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVSSFLNWKYQKPKGKAPRRLLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISLQPEDFATYYCQQYNWPWTFGQGTKLEIK

[0659] SEQ ID NO:54

[0660] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSFLNWKYQKPGKAPRRLLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISLQPEDFATYYCQQYTSWPWTFGQGTKLEIK

[0661] SEQ ID NO:55

[0662] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNINSFLNWKYQKPGKAPRRLLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISLQPEDFATYYCQQYTSWPWTFGQGTKLEIK

[0663] SEQ ID NO:56

[0664] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSYLNWKYQKPKGKAPRRLLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISLQPEDFATYYCQQYTSWPWTFGQGTKLEIK

[0665] SEQ ID NO:57

[0666] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSFLNWKYQKPGKAPRRLLIYGTNSLQSGVPSRFSGSGSGT
DYTLTISLQPEDFATYYCQQYTSWPWTFGQGTKLEIK

[0667] 在一个实施方案中,VL包含以下或由以下组成:具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代的序列SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56或SEQ ID NO:57。在一个实施方案中,VL包含以下或由以下组成:具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32或更多个氨基酸被不同的氨基酸取代的序列SEQ ID NO:95。

[0668] 在一个实施方案中,VL具有与SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56或SEQ ID NO:57共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。在一个实施方案中,VL具有与SEQ ID NO:95共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[0669] 如本文所用,针对给定序列的短语“表征为具有[...]个氨基酸被不同的氨基酸取代(characterized as having[...]amino acids being substituted by a different amino acid)”是指在所述序列中出现保守性氨基酸修饰。

[0670] 如本文所用,表述“保守性氨基酸修饰(conservative amino acid modification)”是指不显著影响或改变含有所述氨基酸序列的抗体或其抗原结合片段的结合特征的修饰。这样的保守性修饰包括氨基酸取代、添加和缺失。可以通过本领域已知的标准技术,例如定点诱变和PCR介导的诱变,将修饰引入抗体或其抗原结合片段中。

[0671] 保守性氨基酸取代通常是其中氨基酸残基由具有理化性质相似的侧链的氨基酸残基替换的那些氨基酸取代。指定的可变区和CDR序列可包含1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、21个、22个、23个、24个、25个、26个、27个、28个、29个、30个、31个、32个、33个、34个、35个或更多个氨基酸插入、缺失和/或取代。在进行取代时,优选的取代将是保守性修饰。具有相似侧链的氨基酸残基家族在本领域中已有定义。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、具有酸性侧链的氨基酸(例如天冬氨酸、谷氨酸)、具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸)、具有非极性侧链的氨基酸(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸)、具有 β 支链侧链的氨基酸(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和具有芳香族侧链的氨基酸(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。因此,本发明的抗体或其抗原结合片段的CDR和/或可变区中的一个或多个氨基酸残基可以被来自相同侧链家族的其他氨基酸残基替换,并且可以使用本文所述的测定法检测改变的抗体所保留的功能(即本文中所述的性质,例如与hCD25的结合)。在另一个实施方案中,可以将本发明的抗体或其抗原结合片段的CDR和/或可变区中的氨基酸片段替换为侧链家族成员的结构相似但顺序和/或组成不同的片段。

[0672] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0673] -VH,其包含以下或由以下组成:序列SEQ ID NO:94,其中 X_1 是S或D, X_2 是K或T, X_3 是A或R, X_4 是A或S, X_5 是K或Q, X_6 是N或S, X_7 是W或L;或SEQ ID NO:96,其中 X_1 是A或S, X_2 是N或S,以及与SEQ ID NO:94或96具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和

[0674] -VL,其包含以下或由以下组成:SEQ ID NO:95,其中 X_1 是S或N, X_2 是V或I, X_3 是N或S, X_4 是S或K, X_5 是F或Y, X_6 是K或E, X_7 是R或K, X_8 是S或N, X_9 是Y或F, X_{10} 是T或N,以及与SEQ ID NO:95具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0675] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含:

[0676] -VH,其包含选自包含以下的组的序列或由选自包含以下的组的序列组成:SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39以及与SEQ ID NO:28-39具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和

[0677] -VL,其包含选自包含以下的组的序列或由选自包含以下的组的序列组成:SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57以及与SEQ ID NO:40-57具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0678] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:

[0679] -VH,其包含序列SEQ ID NO:28或由序列SEQ ID NO:28组成,和

[0680] -VL,其包含序列SEQ ID NO:40或由序列SEQ ID NO:40组成。

- [0681] 这样的抗体的一个实例是H07。
- [0682] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0683] -VH,其包含序列SEQ ID NO:29或由序列SEQ ID NO:29组成,和
- [0684] -VL,其包含序列SEQ ID NO:41或由序列SEQ ID NO:41组成。
- [0685] 这样的抗体的一个实例是H09。
- [0686] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0687] -VH,其包含序列SEQ ID NO:28或由序列SEQ ID NO:28组成,和
- [0688] -VL,其包含序列SEQ ID NO:42或由序列SEQ ID NO:42组成。
- [0689] 这样的抗体的一个实例是G02。
- [0690] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0691] -VH,其包含序列SEQ ID NO:28或由序列SEQ ID NO:28组成,和
- [0692] -VL,其包含序列SEQ ID NO:43或由序列SEQ ID NO:43组成。
- [0693] 这样的抗体的一个实例是E04。
- [0694] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0695] -VH,其包含序列SEQ ID NO:30或由序列SEQ ID NO:30组成,和
- [0696] -VL,其包含序列SEQ ID NO:44或由序列SEQ ID NO:44组成。
- [0697] 这样的抗体的一个实例是D01。
- [0698] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0699] -VH,其包含序列SEQ ID NO:31或由序列SEQ ID NO:31组成,和
- [0700] -VL,其包含序列SEQ ID NO:45或由序列SEQ ID NO:45组成。
- [0701] 这样的抗体的一个实例是E04-2。
- [0702] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0703] -VH,其包含序列SEQ ID NO:32或由序列SEQ ID NO:32组成,和
- [0704] -VL,其包含序列SEQ ID NO:46或由序列SEQ ID NO:46组成。
- [0705] 这样的抗体的一个实例是B05。
- [0706] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0707] -VH,其包含序列SEQ ID NO:33或由序列SEQ ID NO:33组成,和
- [0708] -VL,其包含序列SEQ ID NO:47或由序列SEQ ID NO:47组成。
- [0709] 这样的抗体的一个实例是G09。
- [0710] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0711] -VH,其包含序列SEQ ID NO:34或由序列SEQ ID NO:34组成,和
- [0712] -VL,其包含序列SEQ ID NO:48或由序列SEQ ID NO:48组成。
- [0713] 这样的抗体的一个实例是B01。
- [0714] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0715] -VH,其包含序列SEQ ID NO:29或由序列SEQ ID NO:29组成,和
- [0716] -VL,其包含序列SEQ ID NO:49或由序列SEQ ID NO:49组成。
- [0717] 这样的抗体的一个实例是C01。
- [0718] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0719] -VH,其包含序列SEQ ID NO:29或由序列SEQ ID NO:29组成,和

- [0720] -VL,其包含序列SEQ ID NO:50或由序列SEQ ID NO:50组成。
- [0721] 这样的抗体的一个实例是G01。
- [0722] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0723] -VH,其包含序列SEQ ID NO:29或由序列SEQ ID NO:29组成,和
- [0724] -VL,其包含序列SEQ ID NO:51或由序列SEQ ID NO:51组成。
- [0725] 这样的抗体的一个实例是H01。
- [0726] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0727] -VH,其包含序列SEQ ID NO:31或由序列SEQ ID NO:31组成,和
- [0728] -VL,其包含序列SEQ ID NO:52或由序列SEQ ID NO:52组成。
- [0729] 这样的抗体的一个实例是G02-2。
- [0730] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0731] -VH,其包含序列SEQ ID NO:35或由序列SEQ ID NO:35组成,和
- [0732] -VL,其包含序列SEQ ID NO:47或由序列SEQ ID NO:47组成。
- [0733] 这样的抗体的一个实例是H02。
- [0734] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0735] -VH,其包含序列SEQ ID NO:36或由序列SEQ ID NO:36组成,和
- [0736] -VL,其包含序列SEQ ID NO:53或由序列SEQ ID NO:53组成。
- [0737] 这样的抗体的一个实例是F03。
- [0738] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0739] -VH,其包含序列SEQ ID NO:37或由序列SEQ ID NO:37组成,和
- [0740] -VL,其包含序列SEQ ID NO:54或由序列SEQ ID NO:54组成。
- [0741] 这样的抗体的一个实例是D05。
- [0742] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0743] -VH,其包含序列SEQ ID NO:29或由序列SEQ ID NO:29组成,和
- [0744] -VL,其包含序列SEQ ID NO:55或由序列SEQ ID NO:55组成。
- [0745] 这样的抗体的一个实例是B07。
- [0746] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0747] -VH,其包含序列SEQ ID NO:38或由序列SEQ ID NO:38组成,和
- [0748] -VL,其包含序列SEQ ID NO:56或由序列SEQ ID NO:56组成。
- [0749] 这样的抗体的一个实例是H08。
- [0750] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0751] -VH,其包含序列SEQ ID NO:39或由序列SEQ ID NO:39组成,和
- [0752] -VL,其包含序列SEQ ID NO:57或由序列SEQ ID NO:57组成。
- [0753] 这样的抗体的一个实例是B12。
- [0754] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:
- [0755] -VH,其包含序列SEQ ID NO:96或由序列SEQ ID NO:96组成,其中 X_1 是A或S, X_2 是N或S,和
- [0756] -VL,其包含序列SEQ ID NO:47或由序列SEQ ID NO:47组成。
- [0757] 这样的抗体的实例是G09和H02。

[0758] 在一个实施方案中,VL和/或VH还包含前导序列,优选位于VL氨基酸序列的N末端或VH氨基酸序列的N末端。前导序列的实例包括但不限于SEQ ID NO:58和59。

[0759] SEQ ID NO:58

[0760] MDIRLSLAFLVLFIKGVQC

[0761] SEQ ID NO:59

[0762] MAAVQLLGLLLLWLPAMRC

[0763] 在一个实施方案中,VH包含位于VH氨基酸序列(例如,SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:39)N末端的氨基酸序列前导序列SEQ ID NO:58。可包含氨基酸前导序列SEQ ID NO:58的VH氨基酸序列的其他实例包括SEQ ID NO:94或SEQ ID NO:96。

[0764] 在一个实施方案中,VL包含位于VL氨基酸序列(例如,SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56或SEQ ID NO:57)N末端的氨基酸前导序列SEQ ID NO:59。可包含氨基酸前导序列SEQ ID NO:59的VL氨基酸序列的其他实例包括SEQ ID NO:95。

[0765] 本发明还涉及H07样抗体,即与H07结合相同表位或结合与H07基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与H07竞争结合CD25的抗体。

[0766] 本发明还涉及H09样抗体,即与H09结合相同表位或结合与H09基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与H09竞争结合CD25的抗体。

[0767] 本发明还涉及G02样抗体,即与G02结合相同表位或结合与G02基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与G02竞争结合CD25的抗体。

[0768] 本发明还涉及E04样抗体,即,涉及与E04相同表位或结合与E04基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与E04竞争结合CD25的抗体。

[0769] 本发明还涉及D01样抗体,即与D01结合相同表位或结合与D01基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与D01竞争结合CD25的抗体。

[0770] 本发明还涉及E04-2样抗体,即与E04-2结合相同表位或结合与E04-2基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与E04-2竞争结合CD25的抗体。

[0771] 本发明还涉及B05样抗体,即与B05结合相同表位或结合与B05基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与B05竞争结合CD25的抗体。

[0772] 本发明还涉及G09样抗体,即与G09结合相同表位或结合与G09基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与G09竞争结合CD25的抗体。

[0773] 本发明还涉及B01样抗体,即与B01结合相同表位或结合与B01基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与B01竞争结合CD25的抗体。

[0774] 本发明还涉及C01样抗体,即与C01结合相同表位或结合与C01基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与C01竞争结合CD25的抗体。

[0775] 本发明还涉及G01样抗体,即与G01结合相同表位或结合与G01基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与G01竞争结合CD25的抗体。

[0776] 本发明还涉及H01样抗体,即与H01结合相同表位或结合与H01基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与H01竞争结合CD25的抗体。

[0777] 本发明还涉及G02-2样抗体,即与G02-2结合相同表位或结合与G02-2基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与G02-2竞争结合CD25的抗体。

[0778] 本发明还涉及H02样抗体,即与H02结合相同表位或结合与H02基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与H02竞争结合CD25的抗体。

[0779] 本发明还涉及F03样抗体,即与F03结合相同表位或结合与F03基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与F03竞争结合CD25的抗体。

[0780] 本发明还涉及D05样抗体,即与D05结合相同表位或结合与D05基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与D05竞争结合CD25的抗体。

[0781] 本发明还涉及B07样抗体,即与B07结合相同表位或结合与B07基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与B07竞争结合CD25的抗体。

[0782] 本发明还涉及H08样抗体,即与H08结合相同表位或结合与H08基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与H08竞争结合CD25的抗体。

[0783] 本发明还涉及B12样抗体,即与B12结合相同表位或结合与B12基本相同表位的抗体。因此,本发明还涉及与B12竞争结合CD25的抗体。

[0784] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含完全或基本上完全的人重链恒定区(本文缩写为C_H)和/或轻链恒定区(本文缩写为C_L)。在一个实施方案中,恒定区是人类来源的。

[0785] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段包含完全或基本上完全的鼠C_H和/或C_L。在一个实施方案中,恒定区是鼠来源的。

[0786] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是鼠抗体或其片段。

[0787] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是嵌合抗体或其片段。

[0788] 如本文所用,“嵌合抗体(chimeric antibody)”是指包含与第二氨基酸序列连接(在自然界中不与其天然连接)的第一氨基酸序列的抗体或其抗原结合片段。所述氨基酸序列通常可以存在于单独蛋白中,但在融合蛋白中将其置于一一起,或者所述氨基酸序列还可以通常存在于同一蛋白中但在融合蛋白中以新的排列方式放置。嵌合蛋白可以通过例如化学合成,或者通过产生和翻译其中以期望关系编码肽区域的多核苷酸来产生。术语“嵌合抗体”在本文中涵盖抗体及其抗原结合片段,其中

[0789] (a) 恒定区或其部分经改变、替换或交换,以使可变区连接至不同类别或改变的类别的恒定区,效应子功能和/或种类,或赋予嵌合抗体新的特性的完全不同的分子(例如酶、毒素、激素、生长因子、药物等);或

[0790] (b) 可变区或其部分经改变、替换或交换,所述改变、替换或交换利用具有不同或改变的抗原特异性的可变区或其部分,或利用来自另一物种或来自另一抗体类别或亚类的相应序列。

[0791] 在一个实施方案中,本发明的抗体或抗原结合片段是人源化抗体或其片段。

[0792] 如本文所用,“人源化抗体(humanized antibody)”是指含有来源于非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合抗体或其抗原结合片段。它包括由具有可变区和恒定区的通过非人细胞制备的抗体,所述可变区和恒定区已经被改变以更近似于通过人细胞制备的抗体,例如

通过改变非人抗体氨基酸序列以引入在人种系免疫球蛋白序列中发现的氨基酸。本发明的人源化抗体或其抗原结合片段可以包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变),例如在CDR中。术语“人源化抗体”还包括其中来源于另一哺乳动物物种(例如小鼠)种系的CDR序列已被移植到人框架序列上的抗体及其抗原结合片段。换句话说,术语“人源化抗体”是指其中人抗体受体的CDR被来自非人抗体供体的CDR所取代的抗体或其抗原结合片段。人源化抗体或其抗原结合片段也可在框架序列中包含供体来源的残基。人源化抗体或其抗原结合片段还可以包含人免疫球蛋白恒定区的至少一部分。人源化抗体及其抗原结合片段也可包含既不存在于受体抗体中也不存在于输入的CDR或框架序列中的残基。人源化可以使用本领域已知的方法进行(例如, Jones et al., 1986. *Nature*. 321 (6069): 522-5; Riechmann et al., 1988. *Nature*. 332 (6162): 323-7; Verhoeyen et al., 1988. *Science*. 239 (4847): 1534-6; Presta, 1992. *Curr Opin Biotechnol*. 3 (4): 394-8; 专利US4,816,567), 包括技术例如“超级人源化”抗体(例如, Tan et al., 2002. *J Immunol*. 169 (2): 1119-25) 和“再表面化”(例如, Staelens et al., 2006. *Mol Immunol*. 43 (8): 1243-57; Roguska et al., 1994. *Proc Natl Acad Sci USA*. 91 (3): 969-73)。

[0793] “人源化抗体”可能保留与起源抗体相似的抗原特异性。然而,使用某些人源化方法,可以增加抗体结合的亲和力和/或特异性。

[0794] 用于人源化本发明的抗体或其抗原结合片段的方法是本领域公知的。选择人可变结构域(轻链和重链两者)用于制备人源化抗体或其抗原结合片段对于降低抗原性是非常重要的。根据所谓的“最佳拟合(best-fit)”方法,针对已知人可变结构域序列的整个文库筛选本发明的抗体或其抗原结合片段的可变结构域序列。然后将最接近小鼠序列的人序列接受为人源化抗体的人框架(FR) (Sims et al., 1993. *J Immunol*. 151 (4): 2296-308; Chothia&Lesk, 1987. *J Mol Biol*. 196 (4): 901-17)。

[0795] 另一种人源化本发明的抗体或其抗原结合片段的方法是使用来自特定轻链或重链亚组的所有人抗体的共有序列的特定框架。相同的框架可用于数种不同的人源化抗体(Carter et al., 1992. *Proc Natl Acad Sci USA*. 89 (10): 4285-9; Presta et al., 1993. *J Immunol*. 151 (5): 2623-32)。更重要的是,抗体被人源化同时保留对hCD25的高亲和力和其它有利的生物学特性。为了实现这个目标,根据优选的方法,使用亲本和人源化序列的三维模型,通过分析亲本序列和各种概念性人源化产物的过程,来制备人源化抗体及其抗原结合片段。三维免疫球蛋白模型是本领域技术人员通常可获得的和熟悉的。可以获得说明和显示所选候选免疫球蛋白序列的可能三维结构的计算机程序。对这些展示的检查能够分析残基在候选免疫球蛋白序列的功能化中的可能作用,即分析影响候选免疫球蛋白结合其表位的能力的残基。这样,可从共有的输入序列(import sequence)中选择和组合CDR残基,以便获得所需的抗体特征,例如对hCD25亲和力的增加。通常,CDR残基直接且最显著地参与影响抗原结合。

[0796] 另一种人源化本发明的抗体或其抗原结合片段的方法是,使用携带部分人免疫系统的转基因或转染色体动物进行免疫。作为宿主,这些动物的免疫球蛋白基因已被功能性人免疫球蛋白基因所替换。因此,由这些动物产生的或由这些动物的B细胞制备的杂交瘤产生的抗体已经被人源化。这样的转基因或转染色体动物的示例包括但不限于:

[0797] -XenoMouse (Abgenix, Fremont, CA), 描述于专利US5,939,598、US6,075,181、US6,114,598、US6,150,584和US6,162,963;

[0798] -HuMAb **Mouse**[®] (Medarex, Inc.), 描述于Lonberg et al., 1994. Nature. 368 (6474): 856-859; Lonberg&Huszar, 1995. Int Rev Immunol. 13(1): 65-93; Harding&Lonberg, 1995. Ann N Y Acad Sci. 764: 536-46; Taylor et al., 1992. Nucleic Acids Res. 20(23): 6287-95; Chen et al., 1993. Int Immunol. 5(6): 647-56; Tuailon et al., 1993. Proc Natl Acad Sci USA. 90(8): 3720-4; Choi et al., 1993. Nat Genet. 4(2): 117-23; Chen et al., 1993. EMBO J. 12(3): 821-30; Tuailon et al., 1994. J Immunol. 152(6): 2912-20; Taylor et al., 1994. Int Immunol. 6(4): 579-91; Fishwild et al., 1996. Nat Biotechnol. 14(7): 845-51;

[0799] -KM**Mouse**[®], 描述于专利申请W02002043478;

[0800] -TC小鼠, 描述于Tomizuka et al., 2000. Proc Natl Acad Sci USA. 97(2): 722-7; 以及

[0801] -OmniRat[™] (OMT, Inc.), 描述于专利申请W02008151081; Geurts et al., 2009. Science. 325(5939): 433; Menoret et al., 2010. Eur J Immunol. 40(10): 2932-41。

[0802] 人源化抗体及其抗原结合片段也可根据各种其它技术来生产, 例如通过使用其它已通过工程化而表达人抗体库的转基因动物 (Jakobovitz et al., 1993. Nature. 362 (6417): 255-8) 进行免疫, 或通过使用噬菌体展示方法选择抗体库。此类技术是本领域技术人员已知的, 并且可以从本申请中公开的单克隆抗体或其抗原结合片段开始实施。

[0803] 在一些实施方案中, 包含VH和VL或其CDR的抗体或其抗原结合片段可包含第一恒定结构域(C_H1和/或C_L), 其氨基酸序列完全或基本上是人的。

[0804] 在一个实施方案中, 本发明的抗体或其抗原结合片段是完全或基本上人的抗体或其片段。

[0805] 在一些实施方案中, 尤其是当本发明的抗体或其抗原结合片段旨在用于人类治疗用途时, 典型地是整个恒定区或其至少一部分具有完全的人氨基酸序列或基本上的人氨基酸序列。因此, C_H1结构域、铰链区、C_H2结构域、C_H3结构域和C_L结构域(和C_H4结构域, 如果存在)中的一个或多个或其任意组合, 就其氨基酸序列而言, 可以是完全是人的或基本上是人的。有利地, C_H1结构域、铰链区、C_H2结构域、C_H3结构域和C_L结构域(和C_H4结构域, 如果存在)可全部具有完全或基本上人的氨基酸序列。

[0806] 在人源化或嵌合抗体或其抗原结合片段的恒定区的上下文中, 术语“基本上人的(substantially human)”是指与人恒定区具有至少70%, 优选至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的氨基酸序列同一性。

[0807] 术语“人氨基酸序列(human amino acid sequence)”在本文中是指由人免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列, 所述人免疫球蛋白基因包括种系的、重排的和体细胞突变的基因。本发明还涉及包含含有“人”序列的恒定区的蛋白, 所述恒定区已通过相对于人序列的一个或多个氨基酸添加、缺失或取代而被改变, 除了明确需要存在“完全人铰链区”的那些实施方案外。

[0808] 本发明的抗体或其抗原结合片段中“完全人铰链区(fully human hinge

region)”的存在可有益于最小化免疫原性和优化抗体的稳定性两者。认为在重链和/或轻链的恒定区内,尤其是在Fc区内,可以进行一个或多个氨基酸取代、插入或缺失。氨基酸取代可以导致用天然存在的不同氨基酸,或者用非天然的或修饰的氨基酸替换所取代的氨基酸。也允许其它结构修饰,例如糖基化谱图的改变(例如,通过添加或缺失N-或O-连接的糖基化位点)。根据抗体或其抗原结合片段的预期用途,可能需要修饰本发明的抗体或其抗原结合片段与Fc受体的结合特性,例如用以调节效应子功能。例如,可以在Fc区中引入半胱氨酸残基,从而允许在这个区域中形成链间二硫键。如此产生的同二聚体抗体可具有改善的效应子功能(Caron et al., 1992. J Exp Med. 176 (4) :1191-5; Shopes, 1992. J Immunol. 148 (9) :2918-22)。

[0809] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段来自IgG类别。

[0810] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段来自人IgG1亚类。在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段因此是IgG1抗体,优选人IgG1抗体。

[0811] 在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段来自人IgG2亚类。

[0812] IgG抗体的Fc区与细胞Fc γ 受体(Fc γ R)相互作用以刺激和调节下游效应子机制。有五种激活受体,即Fc γ RI (CD64)、Fc γ RIIa (CD32a)、Fc γ RIIc (CD32c)、Fc γ RIIIa (CD16a)和Fc γ RIIIb (CD16b),以及一种抑制性受体Fc γ RIIb (CD32b)。IgG抗体与免疫系统的交流由Fc γ R控制和介导,Fc γ R将抗体感知和收集的信息传递给免疫系统,从而提供了先天免疫系统和适应性免疫系统之间的联系,且尤其是在生物治疗剂的情况下(Hayes J et al., 2016. J Inflamm Res 9:209-219)。

[0813] IgG亚类的结合Fc γ R的能力各不相同,并且这种差异性结合决定了它们引发一系列功能性应答的能力。例如,在人类中,Fc γ RIIIa是参与抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)的激活的主要受体,IgG3(紧随其后的是IgG1)对这个受体的亲和力最高,反映了它们有效诱导ADCC的能力。IgG2已显示与这个受体的结合弱。

[0814] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段以高亲和力结合Fc γ R,优选以高亲和力与活化受体结合。

[0815] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段以高亲和力结合Fc γ RI和/或Fc γ RIIa和/或Fc γ RIIc和/或Fc γ RIIIa和/或Fc γ RIIIb。

[0816] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是IgG1抗体(优选人IgG1抗体)或其片段,并结合至少一种Fc活化受体。例如,所述抗体或其抗原结合片段可以结合一种或多种选自Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIc、Fc γ RIIIa和Fc γ RIIIb的受体。在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段能够结合Fc γ RIIIa。在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段能够结合Fc γ RIIa。在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段能够结合Fc γ RIIIa、Fc γ RIIc和任选的Fc γ RI。在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段能够结合Fc γ RIIIa、Fc γ RIIa和任选的Fc γ RI。

[0817] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段以小于约 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M或 10^{-10} M的解离常数与至少一种活化Fc γ 受体结合。

[0818] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是IgG1抗体(优选人IgG1抗体)或其片段,并且相比于与Fc γ RIIb结合的低亲和力以更高的亲和力与Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIc、Fc γ RIIIa和/或Fc γ RIIIb结合。

[0819] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段可以包含人重链恒定区序列并且允许靶向、阻断和/或耗减它们所结合的表达CD25的细胞。

[0820] 在一个实施方案中,本发明的蛋白、抗体或其抗原结合片段耗减它们所结合的表达CD25的细胞。在一个实施方案中,本发明的蛋白、抗体或其抗原结合片段耗减它们所结合的Treg。在一个实施方案中,本发明的蛋白、抗体或其抗原结合片段还耗减或减少它们所结合的肿瘤浸润性调节性T细胞。

[0821] 对于表达CD25的细胞或Treg来说,术语“耗减(deplete)”是指杀伤、消除、裂解,或诱导这样的杀伤、消除或裂解,从而对存在于样品或受试者中的表达CD25的细胞的数量或比例产生负面影响。在一个实施方案中,本发明的蛋白、抗体或其抗原结合片段允许对表达CD25的细胞或Treg细胞进行靶向、阻断增殖和/或耗减。在一个实施方案中,耗减是通过ADCC进行的。在一个实施方案中,耗减是通过ADCP进行的。在一个实施方案中,耗减是通过CDC进行的。

[0822] 因此,在一个实施方案中,本发明的蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段直接或间接导致表达CD25的细胞的耗减(例如,导致表达CD25的细胞消除或数量减少10%、20%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、80%、85%或更多)。

[0823] 在一个实施方案中,所述蛋白、抗体或抗体的抗原结合片段不抑制白介素2(IL-2)与CD25的结合并耗减它们所结合的Treg。

[0824] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段诱导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。

[0825] 术语“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity)”或“ADCC”是指当与其抗原结合的抗体的Fc区与效应细胞(例如自然杀伤细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和单核细胞(例如,外周血单核细胞))上的Fc受体结合时,以所述抗体依赖性方式诱导的细胞介导的细胞毒性,从而导致靶细胞裂解。ADCC可以使用本领域已知和可用的测定法来测量(例如,Clynes等人(1998)Proc Natl Acad Sci USA 95,652-6)。

[0826] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段来自IgG1(优选人IgG1)亚类并且具有ADCC活性。

[0827] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段诱导抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)。

[0828] 术语“抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(antibody-dependent cell-mediated phagocytosis)”(ADCP)或“调理作用(opsonisation)”是指细胞介导的反应,在该反应中表达Fc受体(FcR)的非特异性细胞毒性细胞(例如,吞噬细胞、巨噬细胞)识别结合在靶细胞上的抗体并诱导靶细胞的吞噬作用。ADCP可以使用本领域已知和可用的测定法来测量(例如,Clynes等人(1998)Proc Natl Acad Sci USA 95,652-6)。

[0829] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段来自IgG1(优选人IgG1)亚类并且具有ADCP活性。

[0830] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段诱导补体依赖性细胞毒性(CDC)。

[0831] 术语“补体依赖性细胞毒性(complement-dependent cytotoxicity)”(CDC)是指

在补体存在下诱导由本发明的抗体或其抗原结合片段识别的表达抗原的细胞的裂解。补体激活通路通过补体系统的第一组分(C1q)与和同源抗原复合的分子(例如抗体)的结合而启动。CDC可以使用本领域已知和可用的测定法来测量(例如,Clynes等人(1998)Proc Natl Acad Sci USA 95,652-6;Gazzano-Santaro et al.,J.Immunol.Methods,202:163(1996))。

[0832] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段来自IgG1(优选人IgG1)亚类并且具有CDC活性。

[0833] 抗体的恒定区对于抗体固定补体和介导细胞依赖性细胞毒性和吞噬作用的能力是重要的。因此,如本文中所讨论的,可以基于抗体是否需要介导细胞毒性/吞噬作用来选择抗体的同种型。

[0834] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段与例如毒性部分结合(conjugate)。在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段与毒性部分连接(link)。

[0835] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段不与例如毒性部分结合。在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段不与毒性部分连接。

[0836] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段缺少Fc结构域(例如,缺少C_H2和/或C_H3结构域)或包含IgG2或IgG4同种型(优选人IgG2或IgG4)的Fc结构域。

[0837] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段不包含介导ADCC、ADCP和/或CDC的Fc区。

[0838] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段不诱导ADCC、ADCP和/或CDC。

[0839] 因此,在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段不直接或间接导致表达CD25的细胞的耗减(例如,不导致CD25细胞消除或数量减少10%、20%、50%、60%或更多)。例如,本发明的抗体不包含能够基本上与Fc γ RIIIA(CD16)多肽结合的Fc结构域。

[0840] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是工程化抗体或其片段。

[0841] 本发明的工程化抗体包括其中对VH和/或VL内的框架残基进行了修饰的那些,例如以改善抗体的特性。通常,进行此类框架修饰以降低抗体的免疫原性。例如,一种方法是将一个或多个框架残基“回复突变(back-mutate)”为相应的种系序列。更具体地,经历了体细胞突变的抗体可含有与抗体由此衍生的种系序列不同的框架残基。此类残基可通过将抗体框架序列与抗体由此衍生的种系序列进行比较来确定。为了将框架区序列还原到它们的种系设置,可以通过例如定点诱变或PCR介导的诱变将体细胞突变“回复突变”为种系序列。此类“回复突变的”抗体也旨在涵盖在本发明中。另一种类型的框架修饰涉及将框架区内或甚至一个或多个CDR区内的一个或多个残基突变,以去除T细胞表位,从而降低抗体的潜在免疫原性。这种方法也称为“去免疫化(deimmunization)”,并且进一步详细描述在Carr et al的美国专利公开号20030153043中。

[0842] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段经工程化以引发增强的、增加的或改善的ADCC、ADCP和/或CDC应答。

[0843] 如本文所用,术语“增强的、增加的或改善的ADCC、ADCP和/或CDC应答(enhanced, increased or improved ADCC,ADCP,and/or CDC response)”是与用其他抗CD25抗体(包括不抑制IL-2与CD25的结合的那些抗体,例如未修饰的抗CD25单克隆抗体)诱导的ADCC、

ADCP和/或CDC应答相比,相对的由本发明的抗体或其片段诱导的ADCC、ADCP和/或CDC应答。

[0844] 增加ADCC、ADCP和/或CDC的方法是本领域公知的。例如,可以通过从抗体聚糖中消除岩藻糖部分的方法,例如通过在YB2/0细胞系中产生抗体,或通过在人IgG1的Fc部分上引入特定突变(例如,S298A/E333A/K334A、S239D/I332E/A330L/G236A/S239D/A330L/I332E),来增加ADCC(Lazar等人(2006)Proc Natl Acad Sci USA 103,2005-2010;Smith et al.(2012)Proc Natl Acad Sci USA 109,6181-6)。也可以通过在人IgG1的Fc部分上引入特定突变来增加ADCP(Richards等人(2008)Mol Cancer Ther 7,2517-27)。可以利用抗体中增加C1q结合亲和力的突变,增加CDC应答(Idusogie等人(2001)J Immunol 166,2571-5)。

[0845] 值得注意的是,减少或消除ADCC、ADCP和/或CDC的方法也是本领域公知的。例如,可以通过修饰免疫球蛋白Fc结构域的糖基化图谱的方法,来减少或消除ADCC。可以通过将一个或多个氨基酸替换为其他氨基酸从而使抗体具有改变的C2q结合,来减少或消除CDC(Idusogie et al.的美国专利号6,194,551)。

[0846] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段经工程化以修饰其糖基化。例如,本发明的抗体是去糖基化的(aglycosyld) (即,抗体缺乏糖基化)。可以改变糖基化以例如增加抗体对抗原的亲合力或改变抗体的ADCC活性。此类糖修饰可以通过例如改变抗体序列内的一个或多个糖基化位点来实现。例如,可以进行导致消除一个或多个可变区框架糖基化位点的一个或多个氨基酸取代,从而消除该位点的糖基化。此类去糖基化可以增加抗体对抗原的亲合力。这样的方法进一步详细描述在Co et al.的美国专利号5,714,350和6,350,861(通过引用并入本文)。另外或可选地,可以制备具有改变的糖基化类型的抗体,例如具有减少量的岩藻糖基残基或不具有岩藻糖基残基的低岩藻糖基化或非岩藻糖基化抗体,或具有增加的二等分GlcNac结构的抗体。此类改变的岩藻糖基化模式已被证明可以增加抗体的ADCC能力。此类糖修饰可以通过例如在具有改变的糖基化机制的宿主细胞中表达抗体来实现。现有技术已经描述了具有改变的糖基化机制的细胞并且其可以用作宿主细胞而在其中表达本发明的重组抗体从而产生具有改变的糖基化的抗体。例如,EP1176195(通过引用并入本文)描述了具有功能性被破坏的编码岩藻糖基转移酶的FUT8基因的细胞系,使得在此类细胞系中表达的抗体表现出低岩藻糖基化或缺乏岩藻糖基残基。因此,在一些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段可以通过在表现出低岩藻糖基化或非岩藻糖基化模式的细胞系(例如,编码岩藻糖基转移酶的FUT8基因具有缺陷表达的哺乳动物细胞系)中重组表达来产生。PCT公开W0 03/035835(通过引用并入本文)描述了变体CHO细胞系Lec13细胞,其降低了岩藻糖结合Asn(297)所连接的糖的能力,也导致在该宿主细胞中表达的抗体的低岩藻糖基化(参见Shields,R.L.et al,2002J. Biol. Chem. 277:26733-26740)。PCT公开W0 99/54342(通过引用并入本文)描述了经工程化以表达糖蛋白修饰的糖基转移酶(例如, β (1,4)-N乙酰基葡萄糖胺基转移酶III(GnTIII))的细胞系,使得在工程化细胞系中表达的抗体表现出增加的二等分GlcNac结构,这导致抗体的ADCC活性增加(另参见Umana et al,1999Nat. Biotech. 17:176-180)。Eureka Therapeutics进一步描述了遗传工程化的CHO哺乳动物细胞,其能够产生具有不含岩藻糖基残基的改变的哺乳动物糖基化模式的抗体(<http://www.eurekainc.com/aboutus/companyoverview.html>)。或者,本发明的人抗体(优选单克隆抗体)可以在酵母或丝状真菌中产生,所述酵母或丝状真菌经工程化以实现哺乳动物样糖基化模式并且能够产生缺乏岩藻糖的糖基化模式的抗体(参见例如

EP1297172B1)。

[0847] 在一个实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段是聚乙二醇化的抗体或其片段。

[0848] 抗体可以经聚乙二醇化以例如增加抗体的生物学(例如,血清)半衰期。为了将抗体或其片段聚乙二醇化,通常使抗体或其片段与聚乙二醇(PEG),例如PEG的反应性酯或醛衍生物进行反应,所处的反应条件使一个或多个PEG基团连接到抗体或抗体片段。聚乙二醇化可以通过与反应性PEG分子(或类似的反应性水溶性聚合物)的酰化反应或烷基化反应来进行。如本文所用,术语“聚乙二醇(polyethylene glycol)”旨在涵盖已用于衍生其他蛋白的任何形式的PEG,例如单(DY12-DY120)烷氧基-或芳氧基-聚乙二醇(mono(DY12-DY120)alkoxy-or aryloxy-polyethylene glycol)或聚乙烯乙二醇-马来酰亚胺(polyethylene glycol-maleimide)。在某些实施方案中,被聚乙二醇化的抗体是去糖基化抗体。用于聚乙二醇化蛋白的方法是本领域已知的并且可以应用于本发明的抗体,例如如EP0154316和EP0401384(通过引用并入本文)中所述。

[0849] 本发明进一步涉及包含如本文所述的蛋白,尤其是如本文所述的抗体或其抗原结合片段的融合蛋白。

[0850] 在一个实施方案中,所述融合蛋白包含第二抗原结合部分。

[0851] 在一个实施方案中,所述融合蛋白是多特异性抗体,例如双特异性抗体。

[0852] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段是双特异性的,并且进一步能够结合另一分子。

[0853] 在一个实施方案中,所述另一分子是免疫受体。可以被本发明的双特异性抗体结合的免疫受体的示例包括但不限于CTLA4、PD-1、PD-L1、TIM-3、LAG-3、B7H3、B7H4、B7H6、4-1BB、OX40、ICOS、GITR、TIGIT、CD27-CD70、CD40、BTLA、HVEM、CD160、CCR8和CEACAM-1。

[0854] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段是双特异性的,并且进一步能够与共刺激分子结合。共刺激分子的示例包括但不限于4-1BB、ICOS、GITR、CD27-CD70、CD40和OX40。

[0855] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段是双特异性的,并且能够与OX40结合。在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段是双特异性的,并且能够与GITR结合。在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段是双特异性的,并且能够与ICOS结合。

[0856] 在另一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段是双特异性的,并且进一步能够与共抑制性分子(coinhibitory molecule)结合。共抑制性分子的示例包括但不限于CTLA4、PD-1、PD-L1、TIM-3、LAG-3、TIGIT、BTLA、HVEM、CD160和CEACAM-1。

[0857] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段是双特异性的,并且能够与CTLA4结合。在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段是双特异性的,并且能够与PD-1结合。在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段是双特异性的,并且能够与TIGIT结合。

[0858] 在一个实施方案中,所述融合蛋白包含结合免疫检查点蛋白的第二抗原结合部分。免疫检查点蛋白包括检查点抑制剂和检查点激动剂。

[0859] 检查点抑制剂(CPI,也可称为免疫检查点抑制剂或ICI)分子,通常是抗体,可阻断T细胞上表达的抑制性受体(IR)与其配体之间的相互作用。

[0860] 检查点抑制剂的实例包括但不限于细胞表面受体PD-1(程序性细胞死亡蛋白1)也

称为CD279(分化簇279)的抑制剂;配体PD-L1(程序性死亡-配体1)也称为CD274(分化簇274)或B7-H1(B7同源物1)的抑制剂;细胞表面受体CTLA4或CTLA-4(细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4)也称为CD152(分化簇152)的抑制剂;LAG-3(淋巴细胞-激活基因3)也称为CD223(分化簇223)的抑制剂;TIM-3(含T细胞免疫球蛋白和粘蛋白结构域-3)也称为HAVCR2(甲型肝炎病毒细胞受体2)或CD366(分化簇366)的抑制剂;TIGIT(具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体)也称为VSIG9(含V-Set和免疫球蛋白结构域蛋白9)或VSTM3(含V-Set和跨膜结构域蛋白3)的抑制剂;BTLA(B和T淋巴细胞衰减剂)也称为CD272(分化簇272)的抑制剂;CEACAM-1(癌胚抗原相关细胞粘附分子1)也称为CD66a(分化簇66a)的抑制剂。

[0861] 检查点激动剂通过激活免疫细胞(例如T细胞)上表达的刺激受体(共刺激受体)发挥作用。如本文所用,术语“刺激性受体”是指在激活时诱导刺激信号并因此导致免疫应答增强的受体。

[0862] 检查点激动剂的实例包括但不限于CD137(分化簇137)也称为4-1BB或TNFRS9(肿瘤坏死因子受体超家族,成员9)的激动剂;OX40受体也称为CD134(分化簇134)或TNFRSF4(肿瘤坏死因子受体超家族,成员4)的激动剂;GITR(糖皮质激素诱导的TNF受体家族相关蛋白)的激动剂;ICOS(诱导性共刺激剂)的激动剂;CD27-CD70(分化簇27-分化簇70)的激动剂;和CD40(分化簇40)的激动剂。

[0863] 在一个实施方案中,所述融合蛋白包含结合T细胞标志物例如CD2、CD3或CD28的第二抗原结合部分。

[0864] 在一个实施方案中,所述融合蛋白包含结合NK细胞标志物例如活化NK受体的第二抗原结合部分。活化NK受体的示例包括但不限于活化形式的KIR蛋白(例如KIR2DS蛋白)、CD160-TM、NKG2D、IL-2R、IL-12R、IL-15R、IL-18R和IL-21R。

[0865] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与治疗部分,即药物结合。治疗部分可以是例如化疗剂、免疫抑制剂、裂解肽、放射性核素或毒素(toxin)。在一个实施方案中,融合蛋白因此包含治疗部分和如本文所述的蛋白、抗体或其抗原结合片段。

[0866] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段不结合放射性核素(即,所述抗体或其抗原结合片段未被放射性标记)和/或毒素。

[0867] 放射性核素的示例包括但不限于⁹⁰Y、¹³¹I或⁶⁷Cu。

[0868] 毒素的示例包括但不限于多柔比星(doxorubicin)和加利车霉素(calicheamicin)。

[0869] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒性部分结合。细胞毒性部分可以例如选自由以下组成的组:紫杉醇;细胞松弛素B(cytochalasin B);短杆菌肽D(gramicidin D);溴化乙锭;吐根碱(emetine);丝裂霉素;依托泊苷(etoposide);替诺泊苷(tenoposide);长春新碱(vincristine);长春碱(vinblastine);秋水仙素(colchicin);多柔比星(doxorubicin);柔红霉素(daunorubicin);二羟蒽醌二酮(dihydroxy anthracin dione);微管蛋白抑制剂,例如美坦辛(maytansine)或其类似物或衍生物;抗有丝分裂剂,例如,单甲基奥利斯他汀(monomethyl auristatin)E或F或其类似物或衍生物;多拉司他汀(dolastatin)10或15或其类似物;伊立替康(irinotecan)或其类似物;米托蒽醌(mitoxantrone);光神霉素(mithramycin);放线菌素D;1-去氢睾酮(1-dehydrotestosterone);糖皮质激素;普鲁卡因(procaine);丁卡因(tetracaine);利多卡

因(lidocaine);普萘洛尔(propranolol);嘌呤霉素;卡奇霉素(calicheamicin)或其类似物或衍生物;抗代谢物,例如甲氨蝶呤、6-巯嘌呤、6-硫鸟嘌呤、阿糖胞苷、氟达拉滨(fludarabine)、5-氟尿嘧啶、去卡巴嗪(decarbazine)、羟基脲、天冬酰胺酶、吉西他滨(gemcitabine)或克拉屈滨(cladribine);烷化剂,例如mechlorethamine、thioepa、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、美法仑(melphalan)、卡莫司汀(carmustine,BSNU)、洛莫司汀(lomustine,CCNU)、环磷酰胺、白消安(busulfan)、二溴甘露醇、链脲霉素(streptozotocin)、达卡巴嗪(dacarbazine,DTIC)、丙卡巴肼(procarbazine)或丝裂霉素C;铂衍生物,例如顺铂或卡铂;多卡霉素(duocarmycin)A,多卡霉素SA,拉奇霉素(rachelmycin,CC-1065);抗生素,例如更生霉素(dactinomycin)、博来霉素(bleomycin)、柔红霉素、多柔比星、伊达比星(idarubicin)、光神霉素、丝裂霉素、米托蒽醌、普卡霉素(plicamycin)、氨茴霉素(anthracycline,AMC);吡咯并[2,1-c][1,4]-苯二氮卓类(pyrrolo[2,1-c][1,4]-benzodiazepine,PDB);白喉毒素及相关分子,例如白喉A链及其活性片段和杂合分子,蓖麻毒素例如蓖麻毒素A或去糖基化蓖麻毒素A链毒素,霍乱毒素,志贺样毒素(Shiga-like toxin)例如SLT I、SLT II、SLT IIV、LT毒素、C3毒素、志贺毒素(Shiga toxin),百日咳毒素,破伤风毒素,大豆Bowman-Birk蛋白酶抑制剂,假单胞菌外毒素,芦荟素(alorin),皂草素(saporin),蒴莲根毒蛋白(modeccin),格拉宁素(gelatin),相思豆毒蛋白A链(abrin A chain),蒴莲根毒蛋白A链(modeccin A chain),八叠球菌素(alpha-sarcin),油桐蛋白(Aleurites fordii protein),石竹素(dianthin)蛋白,美洲商陆蛋白(Phytolacca americana protein)例如PAPI、PAPII和PAP-S,苦瓜(momordica charantia)抑制剂,麻疯树毒蛋白(curcin),巴豆毒蛋白(croton),肥皂草(sapanaria officinalis)抑制剂,白树毒素(gelonin),迈托毒素(mitogellin),局限曲霉素(restrictocin),酚霉素(phenomycin)和依诺霉素(enomycin)毒素;核糖核酸酶(RNase);DNase I;葡萄球菌肠毒素A;美洲商陆抗病毒蛋白(pokeweed antiviral protein);白喉毒素;和假单胞菌内毒素。

[0870] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与细胞因子结合。合适的细胞因子包括但不限于干扰素、白介素和集落刺激因子。在一个实施方案中,融合蛋白因此包含细胞因子和如本文所述的蛋白、抗体或其抗原结合片段。

[0871] 在一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与细胞因子模拟物结合。在一个实施方案中,融合蛋白因此包含细胞因子模拟物和如本文所述的蛋白、抗体或其抗原结合片段。

[0872] 用于将分子与抗体或其抗原结合片段结合的技术是本领域公知的。通常,核酸分子分别通过N-羟基琥珀酰亚胺酯或马来酰亚胺官能团共价连接至抗体或其片段上的赖氨酸或半胱氨酸。已经报道了使用工程化半胱氨酸结合或并入非天然氨基酸的方法来改善结合物的同质性。

[0873] 本发明的另一个目的是编码本发明的结合人CD25的分离的蛋白,尤其是抗体或其抗原结合片段的分离的核酸。

[0874] 本发明的另一个目的是编码本发明的融合蛋白的分离的核酸。

[0875] 如本文所用,“分离的核酸(isolated nucleic acid)”旨在指基本上与其他基因组DNA序列以及天然伴随天然序列的蛋白或复合物(例如核糖体和聚合酶)分离的核酸。此术语包括已经从其天然存在的环境中移出的核酸序列,并且包括重组或克隆的DNA分离物

和化学合成的类似物或由异源系统生物合成的类似物。基本上纯的核酸包括所述核酸的分离形式。当然,这是指所述核酸被最初分离,并且不排除随后人为添加到所述分离的核酸中的基因或序列。

[0876] 在一个实施方案中,分离的核酸是纯化的。

[0877] 在一个实施方案中,将分离的核酸纯化至:

[0878] (1) 通过吸收法或荧光法(例如,通过测量在260和280nm处的吸光度比值($A_{260/280}$))测定,大于80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%或更高(以核酸重量计),且最优选大于96%、97%、98%或99%,以重量计;或

[0879] (2) 通过琼脂糖凝胶电泳并使用嵌入剂例如溴化乙锭、SYBR Green、GelGreen等显示的均质性。

[0880] 在一个实施方案中,所述核酸至少编码本发明的抗体或其抗原结合片段的重链可变区或轻链可变区。在一个实施方案中,所述核酸可以编码本发明的抗体或其抗原结合片段的可变区和恒定区。在一个实施方案中,所述核酸可以在独立的核酸上或在同一核酸分子上编码抗体或其抗原结合片段的重链和轻链。

[0881] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VH的序列或由其组成。

[0882] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VH的序列或由其组成,其中所述序列选自包含以下或由以下组成的组:SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71以及与SEQ ID NO:60-71共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的任意序列。

[0883] SEQ ID NO:60

[0884] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCAAGTGCAGCTGGTGGAAATCCGAGGAGGCGTGGTGCA
GCCCCGAAGGTCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACATTCAGCAATCACGCCATGGCTTGGGTGAGAC
AAGCCCCCGCAAGGGACTGGAATGGGTCGCCGTGATCTCCTACGACGGCAGCAACAAGTACTACGCCGATAGCGTG
AAGGGAAGGTTCACTATCTCTAGGGACAACGCCAAGAACACACTGTATCTGCAGATGAACAGCCTCAGAGCCGAGGA
CACAGCTGTCTACTACTGCACAACCTGGCTGGAACAGCGGCTATGATTGGGGCCAAGGCACTCTGGTGACAGTGAGCA
GCGCCAGTGAGACGCCTCGACTGTGCCTTCTA

[0885] SEQ ID NO:61

[0886] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGCGGAGTGGTGCA
GCCCCGCAGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACATTCAGCAACCACGCCATGGCTTGGGTGAGAC
AAGCCCCCGCAAGGGACTGGAATGGGTCGCCGTGATCAGCTACGATGGCAGCAACAAGTACTACGCCGACTCCGTG
AAGGGAAGGTTACAATCTCTAGGGACAACAGCCAGAACACTCTGTATCTGCAGATGAAGTCTCTGAGGGCTGAGGA
TACAGCCGTCTACTACTGCACAACCTGGACTGAATAGCGGATACGATTGGGGCCAAGGCACACTGGTGACAGTGAGCA
GCGCCAGTGAGACGCCTCGACTGTGCCTTCTA

[0887] SEQ ID NO:62

[0888] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGAGTGGTGCA
GCCCCGAAGGTCTCTGAGGCTGAGCTGTGCTGCTAGCGGCTTCACTTTCAGCAATCACGCCATGGCTTGGGTGAGAC

AAGCCCCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGGCCGTGATCAGCTACGATGGCAGCAACAAGTACTATAGGGACAGCGTC
AAGGGAAGGTTCACTATCTCTAGGGATAACGCCAGAGCACTCTGTATCTGCAGATGAATTCTCTGAGGGCTGAGGA
TACAGCCGTCTACTACTGCACTACTGGACTGAACAGCGGCTACGATTGGGGACAAGGCACACTGGTGACTGTGAGCA
GCGCCAGTGAGACGCCTCGACTGTGCCTTCTA

[0889] SEQ ID NO:63

[0890] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTCAAGTGCAGCTGGTTCGAGAGCGGAGGAGTGGTGCA
GCCCCGAAGGTCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACATTCAGCAATCACGCCATGGCTTGGGTGAGAC
AAGCCCCCGGCAAAGGACTGGAATGGGTGGCCGTGATCTCCTACGACGGCAGCAACAAGTACTACGCCGACTCCGTG
AAGGGAAGGTTCACTATCTCTAGGGACAATGCCAAGAACACTCTCTATCTGCAGATGAATCTCTGAGGGCTGAGGA
TACAGCCGTCTACTACTGCACAACCTGGACTGAACAGCGGCTACGATTGGGGCCAAGGCCTCTGGTGACAGTGAGCA
GCGCCAGTGAGACGCCTCGACTGTGCCTTCTA

[0891] SEQ ID NO:64

[0892] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTCAAGTGCAGCTGGTGGAATCCGGAGGCGGCGTGGTGCA
ACCCGGAAGGTCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACATTCAGCAACCACGCCATGGCTTGGGTGAGAC
AAGCCCCCGGCAAAGGACTGGAATGGGTGCGCGTGATCTCCTACGACGGCAGCAACAAGTACTATAGGGACAGCGTG
AAGGGAAGGTTCAATCTCTAGGGACAACAGCAAGAACACTCTCTATCTGCAGATGAATCTCTGAGGGCTGAGGA
TACTGCCGTCTACTACTGCACTACTGGACTGAATAGCGGCTACGATTGGGGCCAAGGCCTCTGGTGACAGTCAGCA
GCGCCAGTGAGACGCCTCGACTGTGCCTTCTA

[0893] SEQ ID NO:65

[0894] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTCAAGTGCAGCTGGTGGAATCCGGAGGCGGCGTGGTGCA
ACCCGGCAGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACATTCAGCAACCACGCCATGGCTTGGGTGAGAC
AAGCCCCCGGCAAAGGACTGGAATGGGTGCGCGTGATCTCCTACGACGGCAGCAACAAGTACTATAGGGACAGCGTC
AAGGGAAGGTTCAATCTCTAGGGACAATGCCAGAACACTCTGTATCTGCAGATGAATCTCTGAGGGCTGAGGA
TACAGCCGTCTACTACTGCACAACCTGGACTGAATTCCGGCTACGATTGGGGCCAAGGCCTCTGGTGACAGTCAGCT
CCGCCAGTGAGACGCCTCGACTGTGCCTTCTA

[0895] SEQ ID NO:66

[0896] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTCAAGTGCAGCTGGTGGAAGCGGAGGCGGCGTGGTGCA
ACCCGGCAGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTTACTTTTCAGCAACCACGCCATGGCTTGGGTGAGAC
AAGCCCCCGGCAAAGGACTGGAATGGGTGCGCGTGATCTCCTACGATGGCAGCAACAAGTACTACGCCGACAGCGTG
AAGGGAAGGTTCAATCTCTAGGGACAACGCCAAGAGCACTCTGTATCTGCAGATGAATCTCTGAGAGCCGAGGA
TACAGCCGTGTACTACTGCACAACCTGGACTGAACAGCGGCTACGATTGGGGCCAAGGCCTCTGGTCACTGTGAGCA
GCGCCAGTGAGACGCCTCGACTGTGCCTTCTA

[0897] SEQ ID NO:67

[0898] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTCAAGTGCAGCTGGTGGAAGCGGCGGAGGAGTGGTGCA
GCCCCGCAGATCTCTGAGGCTGAGCTGTGCCGCTAGCGGCTTCATTTTCAGCAACCACGCCATGGCTTGGGTGAGAC
AAGCCCCCGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGGCCGTGATCTCCTACGACGGCAGCAACATACTACGCTGACAGCGTC
AAGGGAAGGTTCAATCTCTAGGGACAATGCCAAGTCCACTCTCTATCTGCAGATGAATCTCTGAGGGCTGAGGA
TACAGCCGTCTACTACTGCACTACTGGACTGAACAGCGGCTACGATTGGGGCCAAGGCCTCTGGTGACAGTGAGCA
GCGCCAGTGAGACGCCTCGACTGTGCCTTCTA

[0899] SEQ ID NO:68

[0900] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTCAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGCGGAGTGGTCCA
GCCCCGAAGGTCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTTACTTTCAGCAACCATGCCATGGCTTGGGTGAGAC
AAGCCCCCGCAAGGGACTGGAATGGGTGCGCGTGATCTCCTACGACGGCAGCAACAAGTACTACGCCGACAGCGTG
AAGGGAAGGTTACAATCTCTAGGGACAACAGCAAGAACAACACTCTCTATCTGCAGATGAACTCTCTGAGGGCCGAGGA
TACAGCCGTCTACTACTGCACTACTGGCTGGAACAGCGGCTATGATTGGGGCCAAGGCACACTGGTGACAGTGAGCA
GCGCCAGTGAGACGCCTCGACTGTGCCTTCTA

[0901] SEQ ID NO:69

[0902] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTCAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGCGTGGTGCA
GCCCCGAAGGTCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACATTCAGCAACCACGCCATGGCTTGGGTGAGAC
AAGCCCCCGCAAGGGACTGGAATGGGTGCGCGTGATCTCCTACGATGGCAGCAACAAGTACTACGCCGACTCCGTG
AAGGGAAGGTTCACTATCTCTAGGGACAACAGCAAGAACAACACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAGGGCTGAGGA
TACAGCCGTGTACTACTGCACAACACTGGACTGAATAGCGGCTACGATTGGGGCCAAGGCACACTCTGGTGACTGTGAGCA
GCGCCAGTGAGACGCCTCGACTGTGCCTTCTA

[0903] SEQ ID NO:70

[0904] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTCAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGCGGCGTGGTGCA
ACCCGGCAGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACATTCAGCAACCACGCCATGGCTTGGGTGAGAC
AAGCCCCCGCAAGGGACTGGAATGGGTGGCCGTGATCTCCTACGACGGCGACAACAAGTACTACGCCGACAGCGTG
AAGGGAAGGTTACAATCTCTAGGGACAACGCCAAGAACAACACTCTCTATCTGCAGATGAACTCTCTGAGGGCTGAGGA
TACAGCCGTCTACTACTGCACAACACTGGACTGAATAGCGGCTACGATTGGGGCCAAGGCACACTCTGGTCACTGTGAGCA
GCGCCAGTGAGACGCCTCGACTGTGCCTTCTA

[0905] SEQ ID NO:71

[0906] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTCAAGTGCAGCTGGTGGAAATCCGAGGAGGCGTGGTGCA
GCCCCGCAGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACATTCAGCAATCACGCTATGGCTTGGGTGAGAC
AAGCCCCCGCAAGGGACTGGAATGGGTGCGCGTGATCAGCTACGATGGCAGCAACAAGTACTATAGGGACAGCGTG
AAGGGCAGATTCACTATCTCTAGGGACAACACTCCCAGAGCACTCTGTATCTGCAGATGAATTCTCTGAGGGCCGAGGA
TACAGCCGTCTACTACTGCACAACACTGGACTGAATAGCGGCTACGATTGGGGCCAAGGCACACTCTGGTCACAGTGAGCA
GCGCCAGTGAGACGCCTCGACTGTGCCTTCTA

[0907] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VL
的序列或由其组成。

[0908] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VL
的序列或由其组成,其中所述序列选自包含以下或由以下组成的组:SEQ ID NO:72、SEQ ID
NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID
NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID
NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89以及与SEQ ID NO:72-
89共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的任意
序列。

[0909] SEQ ID NO:72

[0910] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACTCAGAGCCCTAGCTCTCTGAGCGC

TAGCGTCGGAGATAGGGTGACTATCACATGTAGGGCCAGCCAGAGCGTGAACAGCTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCCGCAAGGCCCTAGGAGGCTGATCTATGGCACATCCTCTCTGCAGAGCGGCGTCCCAAGCAGATTCAGCGGC
TCCGGCAGCGGCACTGACTACACACTGACTATCAGCAGCCTCCAGCCAGAGGACTTCGCCACATACTACTGCCAGCA
GTACACTAGCTGGCCTTGGACATTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0911] SEQ ID NO:73

[0912] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACTCAGAGCCCAAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGATAGGGTGACTATCACTTGTAGGGCCAGCCAGAGCGTGAGCAAGTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCCGCAAGGCCCTAGGAGGCTGATCTACGGCACTAACTCTCTGCAGTCCGGCGTGCCTAGCAGATTCAGCGGA
AGCGGCAGCGGCACTGACTACACTCTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCA
GTACAACAGCTGGCCTTGGACTTTTCGGCCAAGGCACTAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0913] SEQ ID NO:74

[0914] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACTCAGAGCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGATAGGGTGACTATCACTTGCAGAGCCAGCCAGAGCGTGAACAGCTATCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCCGCAAGGCCCAAGGAGGCTGATCTACGGCACAAATTCTCTGCAGAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTAGCGGC
AGCGGAAGCGGCACAGACTACACACTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCA
GTACAACAGCTGGCCTTGGACATTTCGGCCAAGGCACTAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0915] SEQ ID NO:75

[0916] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGATAGGGTGACAATCACATGTAGGGCCAGCCAGAGCATCAGCTCCTATCTGAACTGGTATCAGCAGA
AACCCGGCAAGGCCCTAGGAGGCTGATCTACGGCACAAATTCTCTGCAGAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTAGCGGC
AGCGGAAGCGGCACAGACTACACTCTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACATACTACTGCCAGCA
GTACAACAGCTGGCCTTGGACTTTTCGGCCAAGGCACTAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0917] SEQ ID NO:76

[0918] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGATAGGGTGACTATCACTTGTAGGGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCCGCAAGGCCCAAGGAGGCTGATCTACGGCACAAATTCTCTGCAGTCCGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGC
AGCGGAAGCGGCACTGACTTCACACTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCA
GTACAACAGCTGGCCTTGGACATTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0919] SEQ ID NO:77

[0920] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACTCAGTCCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGATAGGGTGACTATCACATGTAGGGCTCCCAAGACATCAACAGCTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCCGCAAGGCCCTAGGAGGCTGATCTATGGCACTTCCTCTCTGCAGAGCGGAGTGCCATCCAGATTTAGCGGC
AGCGGAAGCGGCACAGACTTCACTCTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCA
GTACAACAGCTGGCCTTGGACATTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC

TTCTA

[0921] SEQ ID NO:78

[0922] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACTCAGAGCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGATAGGGTGACAATCACTTGTAGGGCCAGCCAGAACATCAACAGCTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCAAGGCCCTAGGAGACTGATCTATGGCACTTCCTCTCTGCAGAGCGGCGTGCCTAGCAGATTTAGCGGC
AGCGGAAGCGGCACAGACTACACTCTGACTATCAGCAGCCTCCAGCCAGAGGACTTCGCCACATACTACTGCCAGCA
GTACAACAGCTGGCCTTGACTTTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0923] SEQ ID NO:79

[0924] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGACAGAGTGACTATCACTTGCAGAGCCAGCCAGAAATGTGAGCAGCTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCGAGGCCCTAGGAGGCTGATCTACGGCACTAACTCTCTGCAGAGCGGCGTGCCTAGCAGATTTAGCGGC
AGCGGAAGCGGCACAGACTACACTCTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACATACTACTGCCAGCA
GTACAACAGCTGGCCTTGACTTTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0925] SEQ ID NO:80

[0926] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACTCAGAGCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGATAGGGTGACTATCACATGTAGGGCCAGCCAGAACATCAGCAGCTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCGAGGCCCTAGGAGGCTGATCTACGGCACAAATTCTCTGCAGAGCGGCGTGCCTTCTAGGTTTTCCGGC
AGCGGCTCCGGCACAGACTACACTCTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCA
GTACAACAGCTGGCCTTGACATTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0927] SEQ ID NO:81

[0928] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGATAGGGTGACTATCACTTGCAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCGAGGCCCTAGGAGGCTGATCTACGGCACTAACTCTCTGCAGAGCGGCGTGCCTAGCAGATTTAGCGGC
AGCGGAAGCGGCACAGACTACACTCTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCA
GTACACAAGCTGGCCTTGACTTTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0929] SEQ ID NO:82

[0930] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACTCAGTCCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TTCCGTGGGAGATAGGGTGACTATCACTTGCAGAGCCAGCCAGAGCGTGAGCAGCTTTCTGAATTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCAAAGCCCCTAAGAGGCTGATCTACGGCACAACTCTCTGCAGTCCGGCGTGCCTTCTAGGTTTTCCGGC
AGCGGCTCCGGCACAGACTACACTCTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCA
GTACAACAGCTGGCCTTGACATTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0931] SEQ ID NO:83

[0932] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACTCAGAGCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGATAGGGTGACAATCACTTGTAGGGCCAGCCAGAAATGTGAGCTCCTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA

AGCCCGGCAAGGCTCCAAGAAGGCTGATCTATGGCACATCCTCTCTGCAGAGCGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGC
TCCGGCAGCGGCACAGACTACACTCTGACTATCAGCAGCCTCCAGCCAGAGGACTTCGCCACATACTACTGCCAGCA
GTACACTAGCTGGCCTTGACATTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0933] SEQ ID NO:84

[0934] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACTCAGAGCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGACAGAGTGACTATCACTTGCAGAGCCAGCCAGAGCATCAACAGCTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCAAGGCCCTAGGAGGCTGATCTACGGCACTAATTCTCTGCAGAGCGGCGTCCCTAGCAGATTTAGCGGC
AGCGGAAGCGGCACAGACTTCACTCTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACATACTACTGCCAGCA
GTACAACAGCTGGCCTTGACATTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0935] SEQ ID NO:85

[0936] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGACATCCAGATGACTCAGAGCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGATAGGGTGACTATCACATGTAGGGCCAGCCAGAATGTGAGCAGCTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCAAGGCTCCTAGGAGGCTGATCTACGGCACTAACTCTCTGCAGAGCGGCGTCCCTAGCAGATTTAGCGGC
AGCGGAAGCGGCACAGACTACACACTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACATACTACTGCCAGCA
GTACAACAGCTGGCCTTGACTTTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0937] SEQ ID NO:86

[0938] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATTCAGATGACACAGAGCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGATAGGGTCACAATCACATGCAGAGCCAGCCAGAGCGTGAGCAGCTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCGAGGCCCAAGGAGGCTGATCTACGGCACTAACTCTCTGCAGAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTAGCGGC
AGCGGAAGCGGCACAGACTACACTCTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACATACTACTGCCAGCA
GTACACTAGCTGGCCTTGACATTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0939] SEQ ID NO:87

[0940] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGACATCCAGATGACACAGAGCCCTTCTCTCTGAGCGC
TAGCGTCGGAGATAGGGTGACAATCACATGTAGGGCCAGCCAGAACATCAACAGCTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCGAGGCTCCTAGGAGGCTGATCTACGGCACAAATTCTCTGCAGAGCGGCGTCCCTTCTAGGTTTACGCGGA
TCCGGCAGCGGCACTGACTACACACTGACAATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCA
GTACACTAGCTGGCCTTGACATTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0941] SEQ ID NO:88

[0942] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACTCAGAGCCCTTCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGACAGAGTGACAATCACATGTAGGGCCAGCCAGAGCGTGAGCAGCTATCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCAAGGCTCCTAGGAGGCTGATCTACGGCACTAATTCTCTGCAGAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTAGCGGC
AGCGGAAGCGGCACAGACTACACTCTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACATACTACTGCCAGCA
GTACACTAGCTGGCCTTGACATTTCGGCCAAGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0943] SEQ ID NO:89

[0944] TAATACGACTCACTATAGGGCGTCTCACTCTGATATCCAGATGACTCAGAGCCCTAGCTCTCTGAGCGC
TAGCGTGGGAGATAGGGTGACTATCACATGCAGAGCCAGCCAGAGCATCAACAGCTTTCTGAACTGGTATCAGCAGA
AGCCCCGGCGAGGCTCCTAGGAGGCTGATCTACGGCACTAATTCTCTGCAGAGCGGCGTGCCTAGCAGATTTAGCGGC
AGCGGAAGCGGCACAGACTACACTCTGACTATCAGCTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACATACTACTGCCAGCA
GTACACTAGCTGGCCATGGACATTCGGCCAAGGCACTAAGCTGGAGATCAAGAGAACTGAGACGCCTCGACTGTGCC
TTCTA

[0945] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0946] -编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VH的序列;和

[0947] -编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VL的序列。

[0948] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0949] -选自包含以下或由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID
NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID
NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71以及与SEQ ID NO:60-71共有至少
70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的任何序列;和

[0950] -选自包含以下或由以下组成的组的序列:SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID
NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID
NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID
NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89以及与SEQ ID NO:72-89共有至少
70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的任何序列。

[0951] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0952] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:60或由序列SEQ ID NO:60组成;和

[0953] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:72或由序列SEQ ID NO:72组成。

[0954] 在一个实施方案中,所述核酸编码H07抗体的VH和VL。

[0955] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0956] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:61或由序列SEQ ID NO:61组成;和

[0957] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:73或由序列SEQ ID NO:73组成。

[0958] 在一个实施方案中,所述核酸编码H09抗体的VH和VL。

[0959] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0960] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:60或由序列SEQ ID NO:60组成;和

[0961] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:74或由序列SEQ ID NO:74组成。

[0962] 在一个实施方案中,所述核酸编码G02抗体的VH和VL。

[0963] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0964] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:60或由序列SEQ ID NO:60组成;和

[0965] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:75或由序列SEQ ID NO:75组成。

[0966] 在一个实施方案中,所述核酸编码E04抗体的VH和VL。

[0967] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:

[0968] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:62或由序列SEQ ID NO:62组成;和

[0969] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:76或由序列SEQ ID NO:76组成。

- [0970] 在一个实施方案中,所述核酸编码D01抗体的VH和VL。
- [0971] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [0972] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:63或由序列SEQ ID NO:63组成;和
- [0973] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:77或由序列SEQ ID NO:77组成。
- [0974] 在一个实施方案中,所述核酸编码E04-2抗体的VH和VL。
- [0975] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [0976] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:64或由序列SEQ ID NO:64组成;和
- [0977] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:78或由序列SEQ ID NO:78组成。
- [0978] 在一个实施方案中,所述核酸编码B05抗体的VH和VL。
- [0979] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [0980] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:65或由序列SEQ ID NO:65组成;和
- [0981] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:79或由序列SEQ ID NO:79组成。
- [0982] 在一个实施方案中,所述核酸编码G09抗体的VH和VL。
- [0983] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [0984] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:66或由序列SEQ ID NO:66组成;和
- [0985] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:80或由序列SEQ ID NO:80组成。
- [0986] 在一个实施方案中,所述核酸编码B01抗体的VH和VL。
- [0987] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [0988] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:61或由序列SEQ ID NO:61组成;和
- [0989] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:81或由序列SEQ ID NO:81组成。
- [0990] 在一个实施方案中,所述核酸编码C01抗体的VH和VL。
- [0991] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [0992] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:61或由序列SEQ ID NO:61组成;和
- [0993] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:82或由序列SEQ ID NO:82组成。
- [0994] 在一个实施方案中,所述核酸编码G01抗体的VH和VL。
- [0995] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [0996] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:61或由序列SEQ ID NO:61组成;和
- [0997] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:83或由序列SEQ ID NO:83组成。
- [0998] 在一个实施方案中,所述核酸编码H01抗体的VH和VL。
- [0999] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [1000] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:63或由序列SEQ ID NO:63组成;和
- [1001] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:84或由序列SEQ ID NO:84组成。
- [1002] 在一个实施方案中,所述核酸编码G02-2抗体的VH和VL。
- [1003] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [1004] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:71或由序列SEQ ID NO:71组成;和
- [1005] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:79或由序列SEQ ID NO:79组成。
- [1006] 在一个实施方案中,所述核酸编码H02抗体的VH和VL。
- [1007] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [1008] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:67或由序列SEQ ID NO:67组成;和

- [1009] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:85或由序列SEQ ID NO:85组成。
- [1010] 在一个实施方案中,所述核酸编码F03抗体的VH和VL。
- [1011] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [1012] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:68或由序列SEQ ID NO:68组成;和
- [1013] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:86或由序列SEQ ID NO:86组成。
- [1014] 在一个实施方案中,所述核酸编码D05抗体的VH和VL。
- [1015] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [1016] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:61或由序列SEQ ID NO:61组成;和
- [1017] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:87或由序列SEQ ID NO:87组成。
- [1018] 在一个实施方案中,所述核酸编码B07抗体的VH和VL。
- [1019] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [1020] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:69或由序列SEQ ID NO:69组成;和
- [1021] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:88或由序列SEQ ID NO:88组成。
- [1022] 在一个实施方案中,所述核酸编码H08抗体的VH和VL。
- [1023] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含以下或由以下组成:
- [1024] -编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:70或由序列SEQ ID NO:70组成;和
- [1025] -编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:89或由序列SEQ ID NO:89组成。
- [1026] 在一个实施方案中,所述核酸编码B12抗体的VH和VL。
- [1027] 在一个实施方案中,VH和/或VL还包含前导序列,优选分别位于VH核酸序列的5'或VL核酸序列的5'。前导序列的实例包括但不限于分别由SEQ ID NO:90和SEQ ID NO:91编码的SEQ ID NO:58和59。
- [1028] SEQ ID NO:90
- [1029] ATGGACATCAGGCTCAGCTTGGCTTTCCTTGTCCTTTTCATAAAAGGTGTCCAGTGT
- [1030] SEQ ID NO:91
- [1031] ATGGCTGCAGTTCAACTCTTAGGGCTGCTGCTGCTTTGGCTCCCAGCCATGAGATGT
- [1032] 在一个实施方案中,VH包含位于编码VH的核酸序列(例如,SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:71)的5'端的核酸前导序列SEQ ID NO:90。
- [1033] 在一个实施方案中,VL包含位于编码VL的核酸序列(例如,SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:89)的5'端的核酸前导序列SEQ ID NO:91。
- [1034] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的完全或基本上完全的人C_H和/或C_L的序列。在这样的实施方案中,恒定区可以源自任何人抗体恒定区。
- [1035] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的完全或基本上完全的鼠C_H和/或C_L的序列。在这样的实施方案中,恒定区可以源自任何鼠抗体

恒定区。

[1036] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的嵌合抗体或其抗原结合片段的重链的序列或由其组成。在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的嵌合抗体或其抗原结合片段的轻链的序列或由其组成。

[1037] 在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的人源化抗体或其抗原结合片段的重链的序列或由其组成。在一个实施方案中,本发明的核酸包含编码本发明的人源化抗体或其抗原结合片段的轻链的序列或由其组成。

[1038] 通常,所述核酸是DNA或RNA分子,其可以包含在任何合适的载体中,例如质粒、粘粒、游离体、人工染色体、噬菌体或病毒载体。

[1039] 因此,本发明的另一个目的是包含编码本发明的蛋白、抗体或其抗原结合片段的核酸的表达载体。本发明的另一个目的是包含编码本发明的融合蛋白的核酸的表达载体。

[1040] 术语“载体”、“克隆载体”和“表达载体”是指可以将DNA或RNA序列(例如外来基因)引入宿主细胞中以转化宿主并促进被引入序列的表达(例如转录和翻译)的媒介物。此类载体可包含调控元件,例如启动子、增强子、终止子等,以在施用于宿主后引起或指导所述蛋白或抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的表达。用于动物细胞的表达载体的启动子和增强子的实例包括SV40的早期启动子和增强子、莫洛尼小鼠白血病病毒的LTR启动子和增强子、免疫球蛋白H链的启动子和增强子等。可以使用任何用于动物细胞的表达载体,只要可以插入并表达编码蛋白、抗体或其片段或融合蛋白的基因即可。合适的载体的实例包括pAGE107、pAGE103、pHSG274、pKCR、pSG1βd2-4等。质粒的其他实例包括包含复制起点的复制质粒,或整合质粒,例如pUC、pcDNA、pBR等。病毒载体的其他实例包括腺病毒、逆转录病毒、疱疹病毒和AAV载体。此类重组病毒可通过本领域已知的技术产生,例如通过转染包装细胞或通过用辅助质粒或病毒瞬时转染。病毒包装细胞的典型实例包括PA317细胞、PsiCRIP细胞、GPenv+细胞、293细胞等。用于产生此类复制缺陷型重组病毒的详细方案可在本领域中找到。

[1041] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VH的序列,其有效连接至调控元件。

[1042] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含序列SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71或与SEQ ID NO:60-71共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的任何序列,其有效连接至调控元件。

[1043] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VL的序列,其有效连接至调控元件。

[1044] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含序列SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89或与SEQ ID NO:72-89共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的任何序列,其有效连接至调控元件。

[1045] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1046] -编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VH的序列,其有效连接至调控元件;和

[1047] -编码本发明的抗体或其抗原结合片段的VL的序列,其有效连接至调控元件。

[1048] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1049] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71或与SEQ ID NO:60-71共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的任何序列或由其组成,和

[1050] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89或与SEQ ID NO:72-89共有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的任何序列或由其组成。

[1051] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1052] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO: 60或由序列SEQ ID NO:60组成;和

[1053] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO: 72或由序列SEQ ID NO:72组成。

[1054] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1055] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO: 61或由序列SEQ ID NO:61组成;和

[1056] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO: 73或由序列SEQ ID NO:73组成。

[1057] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1058] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO: 60或由序列SEQ ID NO:60组成;和

[1059] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO: 74或由序列SEQ ID NO:74组成。

[1060] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1061] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO: 60或由序列SEQ ID NO:60组成;和

[1062] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO: 75或由序列SEQ ID NO:75组成。

[1063] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1064] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO: 62或由序列SEQ ID NO:62组成;和

[1065] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:

76或由序列SEQ ID NO:76组成。

[1066] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1067] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:63或由序列SEQ ID NO:63组成;和

[1068] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:77或由序列SEQ ID NO:77组成。

[1069] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1070] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:64或由序列SEQ ID NO:64组成;和

[1071] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:78或由序列SEQ ID NO:78组成。

[1072] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1073] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:65或由序列SEQ ID NO:65组成;和

[1074] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:79或由序列SEQ ID NO:79组成。

[1075] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1076] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:66或由序列SEQ ID NO:66组成;和

[1077] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:80或由序列SEQ ID NO:80组成。

[1078] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1079] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:61或由序列SEQ ID NO:61组成;和

[1080] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:81或由序列SEQ ID NO:81组成。

[1081] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1082] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:61或由序列SEQ ID NO:61组成;和

[1083] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:82或由序列SEQ ID NO:82组成。

[1084] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1085] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:61或由序列SEQ ID NO:61组成;和

[1086] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:83或由序列SEQ ID NO:83组成。

[1087] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1088] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:63或由序列SEQ ID NO:63组成;和

[1089] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:84或由序列SEQ ID NO:84组成。

[1090] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1091] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:71或由序列SEQ ID NO:71组成;和

[1092] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:79或由序列SEQ ID NO:79组成。

[1093] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1094] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:67或由序列SEQ ID NO:67组成;和

[1095] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:85或由序列SEQ ID NO:85组成。

[1096] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1097] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:68或由序列SEQ ID NO:68组成;和

[1098] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:86或由序列SEQ ID NO:86组成。

[1099] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1100] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:61或由序列SEQ ID NO:61组成;和

[1101] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:87或由序列SEQ ID NO:87组成。

[1102] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1103] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:69或由序列SEQ ID NO:69组成;和

[1104] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:88或由序列SEQ ID NO:88组成。

[1105] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含:

[1106] -编码VH的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VH的序列包含序列SEQ ID NO:70或由序列SEQ ID NO:70组成;和

[1107] -编码VL的序列,其有效连接至调控元件,所述编码VL的序列包含序列SEQ ID NO:89或由序列SEQ ID NO:89组成。

[1108] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的 C_H 的序列,其有效连接至调控元件,其中所述 C_H 可源自任何人抗体 C_H 。

[1109] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的 C_L 的序列,其有效连接至调控元件,其中所述 C_L 可源自任何人抗体 C_L 。

[1110] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段的 C_H 的序列,其有效连接至调控元件,其中所述 C_H 可源自任何鼠抗体 C_H 。

[1111] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含编码本发明的抗体或其抗原结合片段

的C_L的序列,其有效连接至调控元件,其中所述C_L可源自任何鼠抗体C_L。

[1112] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含编码本发明的嵌合抗体或其抗原结合片段的重链的序列,其有效连接至调控元件。

[1113] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含编码本发明的嵌合抗体或其抗原结合片段的轻链的序列,其有效连接至调控元件。

[1114] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含编码本发明的人源化抗体或其抗原结合片段的重链的序列,其有效连接至调控元件。

[1115] 在一个实施方案中,本发明的表达载体包含编码本发明的人源化抗体或其抗原结合片段的轻链的序列,其有效连接至调控元件。

[1116] 在一个实施方案中,本发明的表达载体是单顺反子的。

[1117] “单顺反子”是指单个核酸在单个表达载体中表达。

[1118] 在一个实施方案中,本发明的表达载体是多顺反子的。

[1119] “多顺反子”是指至少两个或更多个核酸在单个表达载体中表达。

[1120] 本发明的另一个目的是包含所述载体的分离的宿主细胞。所述宿主细胞可用于重组产生本发明的蛋白、抗体或其抗原结合片段或融合蛋白。

[1121] 在一个实施方案中,宿主细胞可以是原核细胞、酵母细胞或真核细胞,优选哺乳动物细胞,例如:SV40转化的猴肾CV1细胞系(COS-7,ATCC CRL1651);人胚胎肾细胞系(亚克隆的用于悬浮培养生长的293或293细胞,Graham et al.,J.Gen.Virol.36:59(1977));幼仓鼠肾细胞(BHK,ATCC CCL 10);中国仓鼠卵巢细胞/-DHFR(CHO,Urlaub et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));小鼠Sertoli细胞(TM4,Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980));小鼠骨髓瘤细胞SP2/0-AG14(ATCC CRL 1581;ATCC CRL 8287)或NS0(HPA培养物保藏中心编号85110503);猴肾细胞(CV1 ATCC CCL 70);非洲绿猴肾细胞(VERO-76,ATCC CRL-1587);人宫颈癌细胞(HELA,ATCC CCL 2);犬肾细胞(MDCK,ATCC CCL 34);水牛鼠肝细胞(BRL 3A,ATCC CRL 1442);人肺细胞(W138,ATCC CCL 75);人肝细胞(Hep G2,HB 8065);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562,ATCC CCL51);TRI细胞(Mather et al.,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982));MRC 5细胞;FS4细胞;和人肝癌细胞系(Hep G2),以及DSM's PERC-6细胞系。适用于这些宿主细胞的每一种的表达载体也是本领域公知的。应当注意,术语“宿主细胞(host cell)”通常是指培养的细胞系。在一个实施方案中,已被引入编码本发明的蛋白、抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的表达载体的完整人类被排除在“宿主细胞”的定义之外。

[1122] 本发明的另一个目的是一种生产和纯化本发明的分离的蛋白、特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段的方法。

[1123] 在一个实施方案中,所述方法包括:

[1124] -将如上所述的重组核酸或载体在体外或离体引入感受态宿主细胞中;

[1125] -在适合于表达本发明的蛋白、特别是抗体或其抗原结合片段的条件下,体外或离体培养用所述核酸或表达载体转化的宿主细胞;

[1126] -任选地,选择表达和/或分泌所述蛋白的细胞;和

[1127] -回收表达的蛋白(特别是表达的抗体或其抗原结合片段)。

[1128] 该重组方法可用于大规模生产蛋白,例如抗体或其抗原结合片段,包括旨在用于

体外、离体和/或体内治疗用途的单克隆抗体。

[1129] 在一个实施方案中,进一步纯化表达的蛋白,特别是表达的抗体或其抗原结合片段。

[1130] 纯化蛋白、特别是抗体或其抗原结合片段的方法是本领域公知的,并且包括但不限于蛋白A-琼脂糖、凝胶电泳、层析,优选通过亲和层析,更优选通过在蛋白L琼脂糖上进行亲和层析。

[1131] 本发明的另一个目的是一种组合物,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:至少一种本发明的与人CD25(hCD25)结合的蛋白,特别是至少一种如本文所述的与人CD25(hCD25)结合的抗体,或至少一种所述抗体的抗原结合片段。

[1132] 本发明的另一个目的是一种组合物,其包含至少一种本发明的融合蛋白、基本上由其组成或由其组成。

[1133] 本发明的另一个目的是一种组合物,其包含至少一种编码本发明的蛋白、抗体或所述抗体的抗原结合片段或融合蛋白的核酸,基本上由其组成或由其组成。

[1134] 本发明的另一个目的是一种组合物,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:至少一种表达载体,其包含至少一种编码本发明的蛋白、抗体或所述抗体的抗原结合片段或融合蛋白的核酸。

[1135] 本发明的另一个目的是一种药物组合物,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:至少一种本发明的与hCD25结合的蛋白,特别是至少一种如本文所述的与人CD25(hCD25)结合的抗体或至少一种所述抗体的抗原结合片段,以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

[1136] 本发明的另一个目的是一种药物组合物,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:至少一种本发明的融合蛋白和至少一种药学上可接受的赋形剂。

[1137] 本发明的另一个目的是一种药物组合物,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:至少一种编码本发明蛋白、特别是编码如本文所述的与人CD25(hCD25)的抗体或所述抗体的抗原结合片段或本发明的融合蛋白的核酸,以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

[1138] 本发明的另一个目的是一种药物组合物,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:至少一种表达载体,其包含至少一种编码本发明的蛋白、特别是编码如本文所述的与人CD25(hCD25)结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段或本发明的融合蛋白的核酸,以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

[1139] 如本文所用,对于组合物来说,“基本上由……组成(consisting essentially of)”意指至少一种蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或表达载体是所述组合物中唯一一种治疗剂或具有生物活性的药剂。

[1140] 术语“药学上可接受的赋形剂(pharmaceutically acceptable excipient)”包括任意和所有溶剂、分散介质、包衣剂、抗细菌和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。当施用给动物,优选哺乳动物,更优选人时,所述赋形剂不产生不利的、过敏的或其他不利反应。对于人类施用,制备物应符合监管局(例如FDA局或EMA)所要求的无菌性、热原性以及一般安全性和纯度标准。

[1141] 可用于本发明的组合物中的药学上可接受的赋形剂的实例包括但不限于离子交

换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白例如人血清白蛋白、缓冲物质例如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物、水、盐或电解质例如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质(例如羧甲基纤维素钠)、聚乙二醇、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。

[1142] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含对于能够被注射至受试者的制剂而言是药学上可接受的媒介物。这些尤其可以是等渗的无菌盐溶液(磷酸一钠或磷酸二钠,氯化钠、钾、钙或镁等,或此类盐的混合物),或干燥的、尤其是冻干的组合物,其根据情况添加无菌水或生理盐水,以配制可注射溶液。

[1143] 本发明的另一个目的是一种药物,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:至少一种本发明的与hCD25结合的蛋白,特别是至少一种如本文所述的与人CD25(hCD25)结合的抗体,或至少一种所述抗体的抗原结合片段。

[1144] 本发明的另一个目的是一种药物,其包含至少一种本发明的融合蛋白、基本上由其组成或由其组成。

[1145] 本发明的另一个目的是一种药物,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:至少一种编码本发明的蛋白、特别是编码如本文所述的与人CD25(hCD25)结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段或本发明的融合蛋白的核酸。

[1146] 本发明的另一个目的是一种药物,其包含以下、基本上由以下组成或由以下组成:至少一种表达载体,其包含至少一种编码本发明的蛋白、特别是编码如本文所述的与人CD25(hCD25)结合的抗体或所述抗体的抗原结合片段或本发明的融合蛋白的核酸。

[1147] 为了用于向受试者施用,所述组合物、药物组合物或药物将被配制用于向受试者施用。

[1148] 在一个实施方案中,本发明的组合物、药物组合物或药物胃肠外、通过吸入喷雾、经直肠、经鼻或通过植入的储库来施用(或待施用)。

[1149] 在一个实施方案中,所述组合物、药物组合物或药物通过注射施用(或待施用),所述注射包括但不限于皮下、静脉内、肌肉内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病灶内和颅内注射或输注技术。

[1150] 适合注射的形式的实例包括但不限于溶液,例如无菌水性溶液、凝胶、分散液、乳液、悬浮液、适合在使用前添加液体来制备溶液或悬浮液的固体形式例如粉末、脂质体形式等。

[1151] 本发明的组合物、药物组合物或药物的无菌注射形式可以是水性或油性悬浮液。这些悬浮液可以根据本领域已知的技术使用合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂来配制。无菌注射制备物也可以是在无毒的胃肠外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液。可以使用的可接受的媒介物和溶剂有水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。此外,无菌的不挥发性油通常用作溶剂或悬浮介质。为此目的,可以使用任意温和的不挥发性油(bland fixed oil),包括合成的甘油单酯或甘油二酯。脂肪酸,例如油酸及其甘油酯衍生物,可用于注射剂的制备,天然的药学上可接受的油,例如橄榄油或蓖麻油,尤其是它们的聚氧乙烯化形式也是如此。这些油溶液或悬浮液也可含有长链醇稀释剂或分散剂,例如羧甲基纤维素或类似的分散剂,其通常用于配制药学上可接受的剂型,包括乳剂和悬浮液。其它常用的

表面活性剂例如Tween、Span和其它常用于制备药学上可接受的固体、液体或其它剂型的乳化剂或生物利用度增强剂也可用于配制目的。

[1152] 在一个实施方案中,将本发明的分离的蛋白、分离的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、表达载体、组合物、药物组合物或药物以治疗有效量施用给有此需要的受试者。

[1153] 然而,应当理解,本发明的分离蛋白、分离抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、表达载体、组合物、药物组合物或药物的总的每日使用将由主治医师在合理医学判断范围内决定。对于任意特定患者的具体治疗有效剂量水平将取决于多种因素,包括所治疗的疾病和疾病的严重程度;采用的分离的蛋白、分离的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或表达载体的活性;受试者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食;采用的特定的分离的蛋白、分离的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或表达载体的施用时间、施用途径和排泄速率;治疗的持续时间;与所用的特定的分离的蛋白、分离的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或表达载体组合或同时使用的药物;以及医学领域公知的类似因素。例如,本领域技术人员熟知,化合物的起始剂量水平低于达到期望治疗效果所需的剂量水平,并逐渐增加剂量直至达到期望效果。每次治疗所需的总剂量可以通过多剂量或单剂量施用。

[1154] 所述蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或表达载体的每日剂量可以在每名成人每天约0.01至约1000mg的宽范围内变化。组合物可含有约0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、25.0、50.0、100、250和约500mg的活性成分,其中根据症状调整用于待治疗的受试者的剂量。药物组合物或药物通常含有约0.01mg至约500mg的活性成分。治疗有效量的药物通常以每天约0.0002mg/kg至约20mg/kg体重的剂量水平提供。例如,本发明的组合物、药物组合物或药物中存在的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或表达载体可以以约1mg/mL至约100mg/mL,例如约1mg/mL、5mg/mL、10mg/mL、50mg/mL或约100mg/mL的浓度提供。在一个实施方案中,所述蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或表达载体以约10mg/mL的浓度在100mg (10mL) 或500mg (50mL) 单次使用小瓶中提供。应当理解,这些剂量是示例性的,并且可以考虑必须在临床试验中确定的特定蛋白、抗体或抗原结合片段、融合蛋白、核酸或表达载体的亲和力和耐受性,而调整最佳剂量。

[1155] 在一个实施方案中,本发明的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或表达载体将以每名成人每天约0.01mg、0.05mg、0.1mg、0.5mg、1mg、5mg、10mg、50mg、100mg、500mg或约1000mg的剂量水平施用。

[1156] 本发明涉及至少一种如本文所述的分离的蛋白,特别是涉及至少一种如本文所述的与人CD25(hCD25)结合的抗体或至少一种所述抗体的抗原结合片段,用作药物的用途,即用于治疗有此需要的受试者的疾病、病症或症状。

[1157] 本发明涉及至少一种如本文所述的融合蛋白,用作药物的用途,即用于治疗有此需要的受试者的疾病、病症或症状。

[1158] 本发明涉及至少一种如本文所述的核酸,用作药物的用途,即用于治疗有此需要的受试者的疾病、病症或症状。

[1159] 本发明涉及至少一种如本文所述的表达载体,用作药物的用途,即用于治疗有此需要的受试者的疾病、病症或症状。

[1160] 本发明涉及如上所述的组合物、药物组合物或药物,用于治疗有此需要的受试者

的疾病、病症或症状。

[1161] 因此,本发明进一步涉及一种治疗有此需要的受试者的疾病、病症或症状的方法,包括向受试者施用如本文所述的分离的蛋白(特别是抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或载体、或组合物、药物组合物或药物。

[1162] 可在本发明中治疗的疾病的实例包括但不限于癌症和感染性疾病。

[1163] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或载体可以用于治疗有此需要的受试者的癌症。

[1164] 在一个实施方案中,治疗有效量的所述蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或表达载体施用或待施用给受试者。

[1165] 如本文所用,术语“癌症(cancer)”在本领域中具有其一般含义并且包括但不限于实体瘤和血源性肿瘤。术语癌症包括但不限于皮肤、组织、器官、骨、软骨、血液和血管的疾病。术语“癌症”进一步涵盖原发性和转移性癌症。

[1166] 可通过本发明的方法和组合物治疗的癌症的示例包括但不限于来自膀胱、血液、骨、骨髓、脑、乳房、结肠、食道、胃肠、牙龈、头部、肾、肝、肺、鼻咽(nasopharynx)、颈部、卵巢、前列腺、皮肤、胃、睾丸、舌头、子宫内膜、胰腺或子宫的癌细胞。

[1167] 此外,癌症可以选自以下非限制性列表:恶性瘤;未分化的癌(carcinoma);巨细胞和梭形细胞癌;小细胞癌;乳头状癌;鳞状细胞癌;淋巴上皮癌;基底细胞癌;毛母基质癌(pilomatrix carcinoma);移行细胞癌;乳头状移行细胞癌;腺癌;恶性胃泌素瘤;胆管癌;肝细胞癌;合并性肝细胞癌和胆管癌;小梁腺癌(trabecular adenocarcinoma);腺样囊性癌(adenoid cystic carcinoma);腺瘤性息肉中的腺癌(adenocarcinoma in adenomatous polyp);家族性结肠息肉相关腺癌(adenocarcinoma associated with familial polyposis coli);实体癌(solid carcinoma);恶性类癌瘤;细支气管-肺泡腺癌(branchiolo-alveolar adenocarcinoma);乳头状腺癌;嫌色细胞癌(chromophobe carcinoma);嗜酸细胞癌;嗜氧腺癌(oxyphilic adenocarcinoma);嗜碱细胞癌;透明细胞腺癌;颗粒细胞癌;滤泡性腺癌;乳头状和滤泡状腺癌;非包膜性硬化性癌(non-encapsulating sclerosing carcinoma);肾上腺皮质癌;子宫内膜癌;皮肤附件癌;大汗腺癌;皮脂腺癌;耵聍腺癌(ceruminous adenocarcinoma);粘液表皮样癌(mucoepidermoid carcinoma);囊腺癌(cystadenocarcinoma);乳头状囊腺癌;乳头状浆液性囊腺癌(papillary serous cystadenocarcinoma);粘液性囊腺癌(mucinous cystadenocarcinoma);粘液腺癌(mucinous adenocarcinoma);印戒细胞癌;浸润性导管癌;髓样癌(medullary carcinoma);小叶癌;炎性癌;乳腺佩吉特氏病(paget's disease of the breast);腺泡细胞癌(acinar cell carcinoma);腺鳞癌;腺癌伴鳞状上皮化生(adenocarcinoma with squamous metaplasia);恶性胸腺瘤;恶性卵巢间质瘤;恶性泡膜细胞瘤;恶性粒膜细胞瘤;恶性母细胞瘤;Sertoli细胞瘤;恶性莱迪希氏细胞瘤(malignant leydig cell tumor);恶性脂质细胞瘤;恶性副神经节瘤;恶性乳腺外副神经节瘤;嗜铬细胞瘤;球血管肉瘤(glomangiosarcoma);恶性黑色素瘤;无色素性黑色素瘤;浅表扩散黑色素瘤;巨大色素痣中的恶性黑色素瘤;上皮样细胞黑色素瘤;恶性蓝痣;肉瘤;纤维肉瘤;恶性纤维组织细胞瘤;粘液肉瘤;脂肪肉瘤;平滑肌肉瘤;横纹肌肉瘤;胚胎性横纹肌肉瘤;肺泡横纹肌肉瘤;基质肉瘤;恶性混合瘤;苗勒管混合瘤;肾母细胞瘤;肝母细胞瘤;癌肉瘤;恶

性间充质瘤;恶性布伦纳瘤(malignant brenner tumor);恶性叶状瘤(malignant phyllodes tumor);滑膜肉瘤;恶性间皮瘤;无性细胞瘤(dysgerminoma);胚胎癌;恶性畸胎瘤;恶性甲状腺肿样卵巢瘤(malignant struma ovarii);绒毛膜癌;恶性中肾瘤;血管肉瘤;恶性血管内皮瘤;卡波西肉瘤(kaposi's sarcoma);恶性血管外皮细胞瘤;淋巴管肉瘤;骨肉瘤;近皮质骨肉瘤(juxtacortical osteosarcoma);软骨肉瘤;恶性软骨母细胞瘤;间充质软骨肉瘤;骨巨细胞瘤;尤因氏肉瘤;恶性牙源性肿瘤;成釉细胞性牙肉瘤;恶性成釉细胞瘤;成釉细胞纤维肉瘤;恶性松果体瘤;脊索瘤;恶性胶质瘤;室管膜瘤;星形细胞瘤;原生质星形细胞瘤;纤维状星形细胞瘤;星形母细胞瘤;胶质母细胞瘤;少突胶质细胞瘤;少突胶质母细胞瘤;原始神经外胚层;小脑肉瘤;神经节神经母细胞瘤;成神经细胞瘤;视网膜母细胞瘤;嗅神经源性肿瘤;恶性脑膜瘤;神经纤维肉瘤;恶性神经鞘瘤;恶性颗粒细胞瘤(malignant granular cell tumor);恶性淋巴瘤;霍奇金病;霍奇金淋巴瘤;副肉芽肿;小淋巴细胞性恶性淋巴瘤;恶性大细胞弥漫性淋巴瘤;恶性滤泡性淋巴瘤;蕈样肉芽肿(mycosis fungoides);其他特定的非霍奇金淋巴瘤;恶性组织细胞增生症;多发性骨髓瘤;肥大细胞肉瘤;免疫增殖性小肠疾病;白血病;淋巴细胞白血病;浆细胞白血病;红白血病;淋巴肉瘤细胞白血病;髓系白血病;嗜碱细胞性白血病;嗜酸细胞性白血病;单核细胞白血病;肥大细胞白血病;巨核细胞白血病;髓系肉瘤;和毛细胞白血病。

[1168] 在另一个实施方案中,本发明的分离的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或表达载体可用于治疗有此需要的受试者的感染性疾病、病症或其症状。

[1169] 在一个实施方案中,治疗有效量的本发明的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或表达载体被施用给或待被施用给受试者。

[1170] 如本文所用,术语“感染性疾病(infectious disease)”包括由病毒、细菌、原生动物、霉菌或真菌引起的任何感染。

[1171] 在一些实施方案中,病毒感染包括由一种或多种选自包含但不限于以下的组的病毒导致的感染:沙粒病毒(Arenaviridae)、星状病毒(Astroviridae)、双RNA病毒(Birnaviridae)、雀麦花叶病毒(Bromoviridae)、布尼亚病毒(Bunyaviridae)、杯状病毒(Caliciviridae)、长线形病毒(Closteroviridae)、豇豆花叶病毒(Comoviridae)、囊状病毒(Cystoviridae)、黄病毒(Flaviviridae)、线形病毒(Flexiviridae)、肝炎病毒、光滑病毒(Leviviridae)、黄症病毒(Luteoviridae)、纤维病毒(Mononegavirales)、花斑病毒(Mosaic Viruses)、套式病毒(Nidovirales)、野田村病毒(Nodaviridae)、正粘病毒(Orthomyxoviridae)、微小双RNA病毒(Picobirnavirus)、微小RNA病毒(Picornaviridae)、马铃薯Y病毒(Potyviridae)、呼肠病毒(Reoviridae)、逆转录病毒(Retroviridae)、伴随病毒(Sequiviridae)、纤细病毒(Tenuivirus)、披膜病毒(Togaviridae)、番茄丛矮病毒(Tombusviridae)、单分病毒(Totiviridae)、芜菁黄花叶病毒(Tymoviridae)、嗜肝DNA病毒(Hepadnaviridae)、疱疹病毒(Herpesviridae)、副粘病毒(Paramyxoviridae)或乳头状瘤病毒(Papillomaviridae)。RNA病毒的相关分类家族包括但不限于星状病毒(Astroviridae)、双RNA病毒(Birnaviridae)、雀麦花叶病毒(Bromoviridae)、杯状病毒(Caliciviridae)、长线形病毒(closteroviridae)、豇豆花叶病毒(Comoviridae)、囊状病毒(Cystoviridae)、黄病毒(Flaviviridae)、线形病毒(Flexiviridae)、肝炎病毒(Hepevirus,)、光滑病毒(Leviviridae)、黄症病毒(Luteoviridae)、纤维病毒

(Mononegavirales)、花斑病毒(Mosaic Viruse)、套式病毒(Nidovirales)、野田村病毒(Nodaviridae)、正粘病毒(Orthomyxoviridae)、微小双RNA病毒(Picobirnavirus)、微小RNA病毒(Picornaviridae)、马铃薯Y病毒(Potyviridae)、呼肠病毒(Reoviridae)、逆转录病毒(Retroviridae)、伴随病毒(Sequiviridae)、纤细病毒(Tenuivirus)、披膜病毒(Togaviridae)、番茄丛矮病毒(Tombusviridae)、单分病毒(Totiviridae)和芜菁黄花叶病毒(Tymoviridae virus)。

[1172] 在一些实施方案中,病毒感染包括由一种或多种选自包含但不限于以下的组的病毒导致的感染:腺病毒、阿尔富病毒(Alfuy virus)、斑齐病毒(Banzi virus)、牛腹泻病毒、冠状病毒、柯萨奇病毒(Coxsackie virus)、克里米亚-刚果病毒(Crimean-Congo virus)、登革热病毒、埃博拉病毒、脑炎病毒(包括日本脑炎病毒、加州脑炎病毒、委内瑞拉马脑炎病毒、西方马脑炎病毒、东方马脑炎病毒、圣路易斯脑炎病毒、蜱传脑炎病毒)、瓜纳里托病毒(guanarito virus)、汉坦病毒(hantavirus)、肝炎病毒、伊列乌斯病毒(Ilheus virus)、免疫缺陷病毒、流感病毒包括甲型流感和乙型流感病毒(包括人、禽类和猪)和副流感病毒、胡宁病毒(junin virus)、科科贝拉病毒(Kokobera virus)、昆津病毒(Kunjin virus)、基萨那森林病病毒(Kyasanur Forest disease virus)、拉克罗斯病毒(La Crosse virus)、拉沙病毒(Lassa virus)、羊跳跃病病毒(louping-ill virus)、淋巴细胞性脉络膜脑膜炎病毒、麻疹病毒、马丘波病毒(machupo virus)、马尔堡病毒(Marburg virus)、墨累河谷病毒(Murray Valley virus)、pachindae病毒、皮钦德病毒(Pichinde virus)、脊髓灰质炎病毒、波瓦桑病毒(Powassan virus)、庞塔托鲁病毒(Punta Toro virus)、呼吸道合胞病毒、鼻病毒(rhinovirus)、裂谷热病毒(Rift Valley Fever virus)、罗西奥病毒(Rocio virus)、严重急性呼吸道综合征(SARS)、天花病毒、塔卡里贝病毒(Tacaribe virus)、西尼罗河病毒和黄热病病毒。

[1173] 可在本发明中治疗的细菌感染的实例包括但不限于由以下引起的感染:葡萄球菌;链球菌(*Staphylococcus*),包括化脓性链球菌(*S.pyogenes*);肠球菌(*Enterococci*);芽孢杆菌(*Bacillus*),例如炭疽芽孢杆菌(*Bacillus anthracis*),和乳杆菌(*Lactobacillus*);李斯特菌(*Listeria*);白喉棒状杆菌(*Corynebacterium diphtheriae*);加德纳菌(*Gardnerella*),例如阴道加德纳菌(*G.vaginalis*);诺卡氏菌(*Nocardia*);链霉菌(*Streptomyces*);普通高温放线菌(*Thermoactinomyces vulgaris*);密螺旋体(*Treponema*);弯曲菌(*Campylobacter*),假单胞菌,例如铜绿假单胞菌(*P.aeruginosa*);军团菌(*Legionella*);奈瑟氏菌(*Neisseria*),例如淋病奈瑟氏菌(*N.gonorrhoeae*)和脑膜炎奈瑟氏菌(*N.meningitides*);黄杆菌(*Flavobacterium*),例如脑膜脓毒性黄杆菌(*F.meningosepticum*)和臭黄杆菌(*F.odoratum*);布鲁氏菌(*Brucella*);博德特氏菌(*Bordetella*),例如百日咳博德特氏菌(*B.Pertussis*)和气管炎博德特氏菌(*B.bronchiseptica*);埃希氏菌(*Escherichia*),例如埃希氏大肠杆菌(*E.Coli*),克雷伯氏菌(*Klebsiella*);肠杆菌(*Enterobacter*),沙雷氏菌(*Serratia*),例如粘质沙雷氏菌(*S.marcescens*)和液化沙雷氏菌(*S.liquefaciens*);爱德华氏菌(*Edwardsiella*);变形杆菌(*Proteus*),例如奇异变形杆菌(*P.mirabilis*)和普通变形杆菌(*P.vulgaris*);链杆菌;立克次氏体科(*Rickettsiaceae*),例如*R.fickettsii*,衣原体,例如鹦鹉热衣原体(*C.psittaci*)和沙眼衣原体(*C.trachomatis*);分枝杆菌,例如结核分枝杆菌

(*M.tuberculosis*)、胞内分枝杆菌(*M.intracellulare*)、卵泡分枝杆菌(*M.folluiturn*)、麻风分枝杆菌(*M.laprae*)、鸟分枝杆菌(*M.avium*)、牛分枝杆菌(*M.bovis*)、非洲分枝杆菌(*M.africanum*)、堪萨斯分枝杆菌(*M.kansasii*)和*M.lepraernurium*;和诺卡氏菌。

[1174] 可在本发明中治疗的原生动物感染的实例包括但不限于由利什曼原虫(*leishmania*)、*kokzidioa*和锥虫(*trypanosoma*)引起的感染。

[1175] 感染性疾病的完整列表可以在疾病控制中心(CDC)的国家传染病中心(NCID)的网站(World Wide Web([www](http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/))at [cdc.gov/ncidod/diseases/](http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/))上找到,其中列表通过引用并入本文。所有所述疾病均是使用本发明的分离的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸、表达载体、组合物、药物组合物或药物进行治疗的候选者。

[1176] 在一个实施方案中,单独使用本发明的分离的蛋白(特别是抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或表达载体。

[1177] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白(特别是抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或表达载体与至少一种另外的治疗剂组合使用。

[1178] 在一个实施方案中,所述至少一种另外的治疗剂和本发明的分离的蛋白(特别是抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或表达载体的施用是同时的、单独的或按顺序的。

[1179] 在一个实施方案中,为了同时施用,所述至少一种另外的治疗剂和本发明的分离的蛋白(特别是抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或表达载体以同一组合物或以不同的组合物施用,视情况而定。

[1180] 额外治疗剂的实例包括但不限于:化疗剂、靶向癌症治疗、放疗、免疫治疗剂或抗癌免疫原、抗癌抗体、细胞毒性剂、抗血管生成剂、细胞周期控制/凋亡调节剂、激素调节剂以及其他免疫抑制和/或抗炎性药物,其选自皮质激素,例如糖皮质激素。

[1181] 在一个实施方案中,所述至少一种另外的治疗剂是可用于治疗待在本发明中治疗的特定疾病、病症或病况的治疗剂。例如,为了治疗癌症,所述至少一种另外的治疗剂可以选自包含但不限于以下的组:化疗剂、靶向癌症治疗、放疗、免疫治疗剂或抗癌免疫原、抗癌抗体、细胞毒性剂、抗血管生成剂、细胞周期控制/凋亡调节剂、激素调节剂以及其他免疫抑制和/或抗炎性药物,其选自皮质激素,例如糖皮质激素。

[1182] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或表达载体与化疗剂组合使用。

[1183] 术语“化疗剂(chemotherapeutic agent)”是指有效抑制肿瘤生长的化合物。

[1184] 化疗剂的示例包括但不限于烷化剂,例如噻替哌(*thiotepa*)和环磷酰胺;烷基磺酸酯类,例如白消安(*busulfan*)、英丙舒凡(*improsulfan*)和哌泊舒凡(*piposulfan*);氮丙啶类(*aziridine*),例如苯佐替哌(*benzodopa*)、卡波醌(*carboquone*)、美妥替哌(*meturedopa*)和乌瑞替哌(*uredopa*);乙撑亚胺类(*ethylenimines*)和甲基蜜胺类(*methylamelamines*),包括六甲蜜胺(*altretamine*)、三乙撑蜜胺(*triethylenemelamine*)、三乙撑磷酰胺(*triethylenephosphoramidate*)、三乙撑硫代磷酰胺(*triethylenethiophosphoramidate*)和三羟甲蜜胺(*trimethylomelamine*);乙酰精宁(*acetogenins*)(尤其是布拉他辛(*bullatacin*)和布拉他辛酮(*bullatacinone*));喜树碱(*camptothecin*)(包括合成类似物托泊替康(*topotecan*));苔藓抑素(*bryostatin*);*callystatin*;CC-1065(包括其阿多来新(*adozelesin*)、卡折来新(*carzelesin*)和比折来新

(bizelesin) 合成类似物); 隐藻素类(cryptophycins) (尤其是隐藻素1和隐藻素8); 多拉司他丁(dolastatin); 倍癌霉素(duocarmycin) (包括合成类似物KW-2189和CBI-TMI); 软珊瑚醇(eleutherobin); 水鬼蕉碱(pancratistatin); 匍枝珊瑚醇(sarcodictyin); 海绵抑制素(spongistatin); 氮芥类(nitrogen mustards), 例如苯丁酸氮芥(chlorambucil)、萘氮芥(chlorophosphamide)、雌莫司汀(estramustine)、异环磷酰胺(ifosfamide)、双氯乙基甲胺(mechlorethamine)、盐酸氧氮芥(mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法仑(melphalan)、新氮芥(novembichin)、苯芥胆固醇(phenesterine)、泼尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard); 亚硝基脲类(nitrosureas), 例如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimustine); 抗生素, 例如烯二炔类(enediynes) 抗生素(例如, 加利车霉素(calicheamicin), 尤其是加利车霉素11和加利车霉素211; 达内霉素(dynemicin), 包括达内霉素A; 埃斯波霉素(esperamicin); 新制癌菌素(neocarzinostatin) 生色团和相关色蛋白烯二炔类抗生素生色团(related chromoprotein enediyne antibiotic chromophores)、阿克拉霉素类(aclacinomysins)、放线菌素(actinomycin)、氨茴霉素(authramycin)、重氮丝氨酸(azaserine)、博来霉素(bleomycin)、放线菌素(cactinomycin)、carabycin、洋红霉素(canninomycin)、嗜癌霉素(carzinophilin)、色霉素(chromomycin)、更生霉素(dactinomycin)、柔红霉素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-氧代-L-正亮氨酸、多柔比星(doxorubicin) (包括吗啉代-多柔比星、氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯啉-多柔比星(2-pyrrolino-doxorubicin) 和脱氧多柔比星)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、依达比星(idarubicin)、麻西罗霉素(marcellomycin)、丝裂霉素(mitomycin)、霉酚酸(mycophenolic acid)、诺拉霉素(nogalamycin)、橄榄霉素(olivomycin)、培洛霉素(peplomycin)、泊非霉素(porfiromycin)、嘌呤霉素(puromycin)、三铁阿霉素(quelamycin)、罗多比星(rodorubicin)、链黑菌素(streptomycin)、链佐星(streptozocin)、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、净司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin); 抗代谢物类, 例如甲氨喋呤(methotrexate) 和5-氟尿嘧啶(5-FU); 叶酸类似物, 例如二甲叶酸(denopterin)、甲氨喋呤、蝶罗呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate); 嘌呤类似物, 例如氟达拉滨(fludarabine)、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鸟嘌呤; 嘧啶类似物, 例如安西他滨(ancitabine)、阿扎胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、双脱氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依诺他滨(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)、5-FU; 雄激素类, 例如卡鲁睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、环硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾内酯(testolactone); 抗肾上腺类, 例如氨鲁米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane); 叶酸补充剂, 例如亚叶酸; 醋葡萄糖内酯(aceglatone); 醛磷酸胺糖苷(aldophosphamide glycoside); 氨基乙酰丙酸(aminolevulinic acid); 氨苯吡啶(amsacrine); bestabucil; 比生群(bisantrene); 依达曲沙(edatraxate); defofamine; 地美可辛(demecolcine); 地吡醌(diaziquone); 依氟鸟氨酸(eflornithine); 依利醋铵

(elliptinium acetate);埃博霉素(epothilone);依托格鲁(etoglucid);硝酸镓;羟基脲;香菇多糖(lentinan);氯尼达明(lonidamine);美登木素生物碱类(maytansinoids),例如美登素(maytansine)和安丝菌素(ansamitocin);米托胍脲(mitoguazone);米托蒽醌(mitoxantrone);莫哌达醇(mopidamol);二胺硝吡啶(nitracrine);喷司他丁(pento statin);蛋氨酸芥(phenamet);吡柔比星(pirarubicin);鬼臼酸(podophyllinic acid);2-乙基酰肼;丙卡巴肼(procarbazine);**PSK®**;雷佐生(razoxane);根霉素(rhizoxin);西佐喃(sizofiran);锗螺胺(spirogermanium);细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid);三亚胺醌(triaziquone);2,2',2''-三氯三乙胺;单端孢菌烯类(trichothecenes)(尤其是T-2毒素、verracurin A、杆孢菌素(roridin)A和蛇形菌素(anguidine));乌拉坦(urethan);长春地辛(vindesine);达卡巴嗪(dacarbazine);甘露莫司汀(mannomustine);二溴甘露醇(mitobronitol);二溴卫矛醇(mitolactol);哌泊溴烷(pipobroman);gacytosine;阿糖胞苷(arabinoside) ("Ara-c");环磷酰胺;噻替哌(thiotepa);类紫杉醇(taxoids),例如紫杉醇(paclitaxel) (**TAXOL®**, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.) 和多西他塞(doxetaxel) (**TAXOTERE®**, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France);苯丁酸氮芥(chlorambucil);吉西他滨(gemcitabine);6-硫鸟嘌呤;巯基嘌呤;甲氨嘌呤;铂类似物,例如顺铂和卡铂;长春碱(vinblastine);铂(platinum);依托泊苷(etoposide) (VP-16);异环磷酰胺;丝裂霉素C;米托蒽醌(mitoxantrone);长春新碱(vincristine);长春瑞滨(vinorelbine);诺维苯(navelbine);能灭瘤(novantrone);替尼泊苷(teniposide);道诺霉素(daunomycin);氨基蝶呤(aminopterin);希罗达(xeloda);伊班膦酸盐(ibandronate);CPT-11;拓扑异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸(difluoromethylornithine) (DMFO);视黄酸;卡培他滨(capecitabine);以及上述任何物质的药学上可接受的盐、酸和衍生物。

[1185] 化疗剂的定义中还包括作用为调控或抑制激素对肿瘤的作用的抗激素剂,例如抗雌激素类,包括例如他莫昔芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、抑制芳香酶的4(5)-咪唑(aromatase inhibiting 4(5)-imidazoles)、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、keoxifene、LY117018、奥那司酮(onapristone)和托瑞米芬(toremifene) (Fareston);以及抗雄激素类,例如氟他米特(flutamide)、尼鲁米特(nilutamide)、比卡鲁胺(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)和戈舍瑞林(goserelin);以及上述任何物质的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[1186] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或载体与靶向癌症治疗组合使用。

[1187] 如本文所用,术语“靶向癌症治疗(targeted cancer therapy)”是通过干扰参与癌症生长、发展和扩散的特定分子(“分子靶标”)来阻断癌症生长和扩散的药物或其他物质。靶向癌症治疗有时被称为“分子靶向药物(molecularly targeted drug)”、“分子靶向治疗(molecularly targeted therapy)”、“精准医疗(precision medicine)”。在一些实施方案中,靶向治疗由向受试者施用酪氨酸激酶抑制剂组成。术语“酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor)”是指作为受体和/或非受体酪氨酸激酶的选择性或非选择性抑制剂发挥作用的多种治疗剂或药物中的任一种。本领域技术人员知晓,与酪氨酸激酶

抑制剂相关的化合物将重现酪氨酸激酶抑制剂的作用,例如,相关化合物将作用于酪氨酸激酶信号传导通路的不同成员以产生与该酪氨酸激酶的酪氨酸激酶抑制剂相同的效果。适用于本发明的实施方案的方法中的酪氨酸激酶抑制剂和相关化合物的示例包括但不限于ABT-869、AEE-788、AEW-541、阿西替尼(Axitinib)、AZM-475271、BEZ235、BMS-599626(AC-480)、博舒替尼(Bosutinib)、布立尼布(Brivanib)(BMS-582664)、卡奈替尼(canertinib)(CI 1033)、西地尼布(Cediranib)、CEP-11981、CP-547632、CP-724714、达沙替尼(dasatinib)(BMS-354825)、多韦替尼(Dovitinib)、恩扎妥林(Enzastaurin)、厄洛替尼(erlotinib)(Tarceva;OSI-1774)、吉非替尼(gefitinib)(Iressa)、伊马替尼(imatinib)(Gleevec;STI571)、KRN-633、KRN-951、拉帕替尼(lapatinib)(GW572016;GW2016)、来氟米特(leflunomide)(SU101)、来他替尼(Lestaurtinib)、L-21649、Motasenib、米哌妥林(Midostaurin)、MKC-I(Ro-317453;R-440)、MK-2206(8-[4-氨基环丁基]苯基)-9-苯基-1,2,4-三唑并[3,4-f][1,6]嘧啶-3(2H)-一盐酸盐)、MLN-8054、来那替尼(Neratinib)、尼罗替尼(Nilotinib)、OSI-930、帕唑帕尼(pazopanib)、PD-0325901、PD-0332991、PP2、塞卡替尼(saracatinib)、司马沙尼(semaxinib)(SU5416)、Seliciclib、SNS-032、索拉非尼(sorafenib)(BAY 43-9006)、舒尼替尼(sunitinib)(Sutent;SU11248)、SU-14813、SU-6668(TSU-68)、TAK-165、坦度替尼(Tandutinib)、替拉替尼(Telatinib)、瓦他拉尼(vatalanib)(PTK787/ZK222584)、凡德他尼(vandetanib)(Zactima;ZD6474)、其衍生物、其类似物及其组合。

[1188] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或载体与放疗组合使用。

[1189] 术语“放疗(radiotherapy)”可以包括对患者进行放射或相关的放射性药物施用。放射源可以在被治疗的患者的外部或内部(例如,放疗可以是例如外束放疗(external beam radiation therapy,EBRT)或近距离放疗(brachytherapy,BT)的形式)。可用于实施此类方法的放射性元素包括例如镭、铯-137、铱-192、钨-241、金-198、钴-57、铜-67、镓-99、碘-123、碘-131和铟-111。

[1190] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或载体与免疫治疗剂或免疫治疗组合使用。

[1191] 如本文所用,术语“免疫治疗剂(immunotherapeutic agent)”或“免疫治疗(immunotherapy)”是指间接或直接增强、刺激或增加身体对癌细胞的免疫应答和/或降低其他抗癌治疗的副作用的化合物、组合物或治疗(treatment)。因此,免疫治疗是直接间接刺激或增强免疫系统对癌细胞的应答和/或减轻可能由其他抗癌剂引起的副作用的治疗(therapy)。免疫治疗在本领域中也称为免疫治疗(immunologic therapy)、生物治疗(biological therapy)、生物应答调节剂治疗(biological response modifier therapy)和生物治疗(biotherapy)。本领域已知的常见免疫治疗剂或免疫治疗的示例包括但不限于:细胞因子,检查点抑制剂,检查点激动剂也称为T细胞激动剂,抗体包括单克隆抗体、抗体结构域、抗体片段、双特异性抗体,预防和治疗性疫苗,溶瘤病毒,免疫细胞(T细胞、NK细胞、树突细胞、B细胞……)的过继转移。

[1192] 癌症免疫治疗的核心前提之一是存在抗原,这些抗原在癌细胞中选择性地或大量地表达或突变,从而能够特异性识别并随后破坏癌细胞。此类抗原通常称为肿瘤特异性抗

原。癌症免疫治疗的另一个核心前提是肿瘤中存在淋巴细胞,即肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte,TIL),且尤其是效应TIL,其可以通过识别上述肿瘤特异性抗原来靶向并杀死肿瘤细胞。

[1193] 免疫治疗剂或治疗可以是被动的。被动免疫治疗剂是一种由于施用免疫细胞因子(例如单克隆抗体)而立即产生作用的免疫治疗剂。被动免疫治疗的结果与治疗剂的施用在时间上相关,因此可能需要持续给药以延长应答。在另一个实施方案中,免疫治疗剂或治疗是主动的。主动免疫治疗剂是一种通过诱导免疫记忆而产生持续、持久应答的免疫治疗剂。这最类似于正常的免疫应答。然而,正如免疫系统功能在健康群体中不同一样,对主动免疫治疗剂的应答水平也取决于个体因素。

[1194] 主动免疫治疗剂包括非特异性活性剂(即,通常增强免疫系统从而使人体在对抗癌细胞的生长和/或扩散方面变得更有效的治疗剂)和特异性活性剂(即,诱导产生集中针对癌细胞表达的特定抗原的细胞介导的免疫应答和抗体免疫应答的剂)。非特异性免疫治疗剂已单独用作治疗癌症的主要治疗,以及作为主要治疗的补充,在这种情况下,非特异性免疫治疗剂充当辅助剂以增强其他治疗(例如,癌症疫苗)的有效性。非特异性免疫治疗剂也可以在后一种情况下用于减少其他治疗(例如,由某些化疗剂诱导的骨髓抑制)的副作用。非特异性免疫治疗剂可作用于关键免疫系统细胞并引起二次应答,例如细胞因子和免疫球蛋白的产生增加。或者,药剂本身可包含细胞因子。非特异性免疫治疗剂一般分为细胞因子或非细胞因子佐剂。

[1195] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或载体与细胞因子治疗组合使用。

[1196] 如本文所用,“细胞因子治疗(cytokine therapy)”定义为向受试者施用至少一种细胞因子。

[1197] 已发现许多细胞因子应用于癌症治疗,作为设计为增强免疫系统的一般非特异性免疫治疗,或作为与其他治疗一起提供的佐剂。合适的细胞因子包括但不限于干扰素、白介素和集落刺激因子。本发明涉及的干扰素(IFN)包括常见类型的IFN、IFN- α (IFN- α)、IFN- β (IFN- β)和IFN- γ (IFN- γ)。IFN可以直接作用于癌细胞,例如,通过减缓它们的生长,促进它们发育为具有更正常行为的细胞和/或增加它们的抗原产生,从而使免疫系统更容易识别和破坏癌细胞。IFN还可以间接作用于癌细胞,例如,通过减缓血管生成、增强免疫系统和/或刺激自然杀伤(NK)细胞、T细胞和巨噬细胞。重组IFN- α 可作为Roferon(Roche Pharmaceuticals)和Intron A(Schering Corporation)商购获得。本发明涉及的白介素包括IL-2、IL-4、IL-11、IL-12和IL-21。市售重组白介素的示例包括Proleukin®(IL-2;Chiron Corporation)和Neumega®(IL-12;Wyeth Pharmaceuticals)。本发明涉及的集落刺激因子(CSF)包括粒细胞集落刺激因子(G-CSF或非格司亭(filgrastim))、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF或沙格司亭(sargramostim))和促红细胞生成素(erythropoietin)(epoetin alfa,darbepoietin)。用一种或多种生长因子治疗可以帮助刺激接受传统化疗的受试者中产生新的血细胞。因此,用CSF治疗有助于减少与化疗相关的副作用,并且允许更高剂量的化疗药物的使用。各种重组集落刺激因子可商购获得,例如Neupogen®(G-CSF;Amgen)、Neulasta(pelfilgrastim;Amgen)、Leukine(GM-CSF;

Berlex)、Procrit(促红细胞生成素;Ortho Biotech)、Epogen(促红细胞生成素;Amgen)、Arnesp(促红细胞生成素)。

[1198] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或载体与细胞因子模拟物组合使用,所述细胞因子模拟物例如IL-2模拟物。在一个实施方案中,IL-2模拟物不能结合CD25。在一个实施方案中,与包含 α 、 β 和 γ 亚基的IL-2R相比,IL-2模拟物优先结合包含 β 和 γ 亚基的IL-2R。可以使用的IL-2模拟物的非限制性示例是NKTR-214(Nektar Therapeutics)。

[1199] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或载体与检查点抑制剂治疗组合使用。

[1200] 如本文所用,“检查点抑制剂治疗(checkpoint inhibitor therapy)”定义为向受试者施用至少一种检查点抑制剂。

[1201] 作为一种癌症治疗,检查点抑制剂治疗旨在阻止T细胞上表达的抑制性受体被肿瘤细胞表达的配体激活。因此,检查点抑制剂治疗旨在阻止肿瘤中存在的T细胞(即肿瘤浸润T细胞)被抑制,并且因此旨在增强受试者对肿瘤细胞的免疫应答。

[1202] 检查点抑制剂的实例列于上文。

[1203] 在一个实施方案中,所述至少一种检查点抑制剂选自包含PD-1的抑制剂、PD-L1的抑制剂、CTLA-4的抑制剂及其任何混合物的组,或选自由以上组成的组。

[1204] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或载体与检查点激动剂治疗组合使用。

[1205] 如本文所用,“检查点激动剂治疗(checkpoint agonist therapy)”定义为向受试者施用至少一种检查点激动剂。

[1206] 作为一种癌症治疗,检查点激动剂治疗旨在激活存在于肿瘤中的免疫细胞上表达的刺激性受体。具体地,T细胞激动剂治疗旨在增强存在于肿瘤中的T细胞(即肿瘤浸润性T细胞)的激活,并且因此旨在增强受试者针对肿瘤细胞的免疫应答。目前,已经鉴定出许多检查点激动剂治疗的潜在靶标。

[1207] 检查点激动剂的实例列于上文。

[1208] 在一个实施方案中,所述至少一种检查点激动剂选自包含CD137的激动剂、OX40的激动剂、GITR的激动剂、ICOS的激动剂、CD27-CD70的激动剂、CD40的激动剂及其任意混合物的组,或由以上组成的组。

[1209] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白、抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、核酸或载体与对免疫受体或共刺激分子特异的第二抗体组合使用。

[1210] 对免疫受体特异的抗体的示例包括但不限于抗CTLA4抗体(例如,易伊匹单抗(Ipilimumab))、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗TIM-3抗体、抗LAG-3抗体、抗B7H3抗体、抗B7H4抗体、抗B7H6抗体、抗4-1BB抗体、抗TIGIT抗体、抗ICOS抗体、抗GITR抗体、抗CD27-CD70抗体、抗CD40抗体、抗BTLA抗体、抗HVEM抗体、抗CD160抗体、抗CCR8抗体、抗CEACAM-1抗体和抗OX40抗体。

[1211] 在一些实施方案中,第二抗体对CD137是特异性的。如本文所用,术语“CD137”在本领域中具有其一般含义,也可称为Ly63、ILA或4-1BB。CD137是肿瘤坏死因子(TNF)受体家族的成员。该受体家族的成员及其结构相关配体是多种生理过程的重要调节因子,并在免疫

应答的调节中发挥重要作用。CD137由活化的NK细胞、T和B淋巴细胞以及单核细胞/巨噬细胞表达。该基因编码255个氨基酸的蛋白,其具有在细胞外结构域中的3个富含半胱氨酸的基序(该受体家族的特征)、跨膜区和含有潜在磷酸化位点的短的N末端胞质部分。原代细胞中的表达严格依赖于激活。受体的配体是TNFSF9。据报道,人CD137仅与其配体结合。激动剂包括天然配体(TNFSF9)、适体(参见McNamara et al. (2008) J.Clin.Invest.118:376-386)和抗体。

[1212] 在另一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段是双特异性的,并且进一步能够与免疫受体或与共刺激分子结合。

[1213] 免疫受体的示例包括但不限于CTLA4、PD-1、PD-L1、TIM-3、LAG-3、B7H3、B7H4、B7H6、4-1BB、TIGIT、ICOS、GITR、CD27-CD70、CD40、BTLA、HVEM、CD160、CCR8、CEACAM-1和OX40。

[1214] 共刺激分子的示例包括但不限于B7H3、B7H4、B7H6、4-1BB和OX40、GITR。

[1215] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或载体与第二抗体组合使用,所述第二抗体通过ADCC诱导表达与第二抗体结合的抗原的细胞的死亡。在一个实施方案中,第二抗体(例如,IgG1或IgG3同种型、尤其是人IgG1或IgG3同种型的第二抗体)诱导针对抗体结合的细胞的ADCC。NK细胞在诱导ADCC方面具有重要作用,并且通过使用这样的第二抗体可以将增加的NK细胞反应性引导至靶细胞。在一个实施方案中,第二抗体对细胞表面抗原,例如膜抗原特异。在一些实施方案中,第二抗体对肿瘤抗原(例如,肿瘤细胞特异性表达的分子)特异,所述肿瘤抗原例如CD20、CD52、ErbB2(或HER2/Neu)、CD33、CD22、CD25、MUC-1、CEA、KDR、 α V β 3等,尤其是淋巴瘤抗原(例如,CD20)。

[1216] 因此,本发明还提供了增强针对肿瘤抗原的单克隆抗体的抗肿瘤作用的方法。

[1217] 在一个实施方案中,通过连续施用针对一种或多种肿瘤抗原的抗体和本发明的抗体或其抗原结合片段,来特异性增强ADCC功能,其转而增强靶细胞杀伤。

[1218] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或载体与NK细胞活化受体的天然配体或结合并激活NK细胞活化受体的抗体组合使用。

[1219] 在一个实施方案中,所述至少一种另外的治疗剂是增加靶细胞(例如,受感染的细胞或肿瘤细胞)表面上存在的NK细胞活化受体的天然配体的药剂。

[1220] 如本文所用,术语“活化NK受体(activating NK receptor)”是指NK细胞表面上的任何分子,其在受到刺激时会导致本领域已知的与NK活性相关的任何性质或活性的可测量的增加,所述性质或活性例如细胞因子(例如,IFN- γ 和TNF- α)的产生、细胞内游离钙水平的增加、在重定向杀伤试验中靶向细胞的能力或刺激NK细胞增殖的能力。“

[1221] “活化NK受体”的示例包括但不限于活化形式的KIR蛋白(例如KIR2DS蛋白)、CD160-TM、NKG2D、IL-2R、IL-12R、IL-15R、IL-18R和IL-21R。

[1222] 在激活受体时充当激动剂的配体的示例包括例如IL-2、IL-15、IL-21多肽。

[1223] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或载体与治疗性疫苗(therapeutic vaccine)或治疗疫苗(treatment vaccine)组合使用。

[1224] 如本文所用,治疗性疫苗定义为施用至少一种肿瘤特异性抗原(例如,合成长肽或SLP)或编码所述肿瘤特异性抗原的核酸;施用选择性进入肿瘤细胞和/或在肿瘤细胞中复制的重组病毒载体;施用肿瘤细胞;和/或施用经工程化以呈递肿瘤特异性抗原并触发针对这些抗原的免疫应答的免疫细胞(例如树突细胞)。

[1225] 作为癌症治疗,治疗性疫苗旨在增强受试者对肿瘤细胞的免疫应答。

[1226] 旨在增强受试者对肿瘤细胞的免疫应答的治疗性疫苗的示例包括但不限于基于病毒载体的治疗性疫苗,例如腺病毒(例如,溶瘤腺病毒)、痘苗病毒(例如,改良的安卡拉痘苗(modified vaccinia Ankara,MVA))、 α 病毒(例如,塞姆利基森林病毒(Semliki Forrest Virus,SFV))、麻疹病毒、单纯疱疹病毒(HSV)和柯萨奇病毒(coxsackievirus);合成长肽(SLP)疫苗;基于RNA的疫苗和树突细胞疫苗。

[1227] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或载体与溶瘤病毒(oncolytic virus)治疗组合使用。

[1228] 如本文所用,“溶瘤病毒治疗”定义为向受试者施用至少一种溶瘤病毒。

[1229] 溶瘤病毒定义为相比于正常的非癌细胞优先感染和杀伤癌细胞的病毒。作为癌症治疗,溶瘤病毒治疗旨在杀死癌细胞和/或触发或增强对癌细胞的免疫应答。

[1230] 溶瘤病毒的示例包括但不限于修饰的1型单纯疱疹病毒,例如talimogene laherparepvec(或T-VEC)或HSV-1716;修饰的腺病毒,例如Ad5-DNX-2401;修饰的麻疹病毒,例如MV-NIS;修饰的痘苗病毒(VV),例如痘苗病毒TG6002;和修饰的脊髓灰质炎病毒,例如PVS-RIP0。

[1231] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或载体与细胞的过继转移组合使用,所述细胞的过继转移也称为过继细胞治疗(两者也称为ACT),例如T细胞或NK细胞的过继转移,也分别称为过继T细胞治疗或过继NK细胞治疗。

[1232] 如本文所用,“细胞的过继转移(adoptive transfer of cells)”或“过继细胞治疗(adoptive cell therapy)”定义为免疫细胞向受试者的转移,例如输注或再输注。作为癌症治疗,免疫细胞向受试者的过继转移旨在增强受试者对癌细胞的免疫应答。

[1233] 可用于细胞治疗的免疫细胞的示例包括但不限于细胞毒性细胞(例如,自然杀伤(NK)细胞、CD8⁺T细胞和自然杀伤(NK)细胞T细胞)、效应T细胞(例如,CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞)、alpha beta($\alpha\beta$)T细胞和gamma delta($\gamma\delta$)T细胞、表达抗体的B细胞或其他产生抗体或呈递抗体的细胞和树突细胞。

[1234] 在一个实施方案中,如上文所述的转移的免疫细胞是抗原特异性细胞。在一个实施方案中,如上文所述的转移的免疫细胞是抗原特异性免疫细胞,其中所述抗原由癌细胞特异性和/或大量表达。在一个实施方案中,如上文所述的转移的免疫细胞是肿瘤特异性免疫细胞,换言之,如上文所述的转移的免疫细胞通过由癌细胞或肿瘤细胞特异性和/或大量表达的抗原来特异性识别所述癌细胞或肿瘤细胞。在一个实施方案中,如上文所述的转移的免疫细胞是肿瘤特异性效应T细胞。在一个实施方案中,如上文所述的转移的免疫细胞是肿瘤特异性CD8⁺效应T细胞,尤其是肿瘤特异性细胞毒性CD8⁺T细胞。在一个实施方案中,转移的细胞是肿瘤浸润性细胞(TIL)。在一个实施方案中,如上文所述的转移的免疫细胞是肿瘤特异性细胞毒性细胞。在一个实施方案中,如上文所述的转移的免疫细胞是肿瘤特异性

NK细胞。

[1235] 肿瘤特异性抗原,即由癌细胞特异性和/或大量表达的抗原的示例包括但不限于新抗原(neoantigen)(也称为新的抗原或突变的抗原)、9D7、ART4、 β -连环蛋白(β -catenin)、BING-4、Bcr-abl、BRCA1/2、钙激活的氯离子通道2、CDK4、CEA(癌胚抗原)、CML66、细胞周期蛋白B1、CypB、EBV(爱泼斯坦-巴尔病毒)相关抗原(例如LMP-1、LMP-2、EBNA1和BARF1)、Ep-CAM、EphA3、纤连蛋白、Gp100/pm117、Her2/neu、HPV(人乳头瘤病毒)E6、HPV E7、hTERT、IDH1、IDH2、不成熟的层粘连蛋白受体、MC1R、Melan-A/MART-1、MART-2、间皮素(mesothelin)、MUC1、MUC2、MUM-1、MUM-2、MUM-3、NY-ESO-1/LAGE-2、p53、PRAME、前列腺特异性抗原(PSA)、PSMA(前列腺特异性膜抗原)、Ras、SAP-1、SART-1、SART-2、SART-3、SSX-2、存活蛋白(survivin)、TAG-72、端粒酶、TGF- β RII、TRP-1/-2、酪氨酸酶、WT1、BAGE家族的抗原、CAGE家族的抗原、GAGE家族的抗原、MAGE家族的抗原、SAGE家族的抗原和XAGE家族的抗原。

[1236] 如本文所用,新抗原(也称为新的抗原或突变的抗原)对应于衍生自受肿瘤获得的体细胞突变或基因重排影响的蛋白的抗原。新抗原可对每个个体受试者特异,并且因此为开发个体化免疫治疗提供了靶标。新抗原的示例包括例如但不限于CDK4的R24C突变体、CDK4的R24L突变体、在密码子12处突变的KRAS、突变的p53、BRAF的V599E突变体和IDH1的R132H突变体。

[1237] 在一个实施方案中,如上文所述的转移的免疫细胞对选自包含以下或由以下组成的组的肿瘤抗原特异:CTA类别(癌症/睾丸抗原,也称为MAGE型抗原)、新抗原类别和病毒抗原类别。

[1238] 如本文所用,CTA类别对应于由在肿瘤细胞中表达但不在除雄性生殖细胞外的正常组织中表达的基因编码的抗原。CTA的示例包括但不限于MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-C2、NY-ESO-1、PRAME和SSX-2。

[1239] 如本文所用,病毒抗原类别对应于衍生自病毒致癌蛋白的抗原。病毒抗原的示例包括但不限于HPV(人乳头瘤病毒)相关抗原,例如E6和E7,以及EBV(爱泼斯坦-巴尔病毒)相关抗原,例如LMP-1、LMP-2、EBNA1和BARF1。

[1240] 在一个实施方案中,如上文所述的转移的免疫细胞是自体免疫细胞,尤其是自体T细胞。在另一个实施方案中,如上文所述的转移的免疫细胞是同种异体(allogenic或allogeneous)的免疫细胞,尤其是同种异体NK细胞。

[1241] 例如,自体T细胞可以通过扩增从受试者中分离的抗原特异性T细胞或通过经由基因工程对受试者T细胞重新定向(redirection)来离体产生。

[1242] 在一个实施方案中,要输注的免疫细胞在输注给受试者之前经过离体修饰。

[1243] 从受试者中分离T细胞,尤其是抗原特异性T细胞,例如肿瘤特异性T细胞的方法是本领域公知的(参见,例如,Rosenberg&Restifo,2015,Science348,62-68;Prickett et al.,2016,Cancer Immunol Res 4,669-678;或Hinrichs&Rosenberg,2014,Immunol Rev 257,56-71)。离体扩增T细胞的方法是本领域公知的(参见,例如,Rosenberg&Restifo,2015,Science 348,62-68;Prickett et al.,2016,Cancer Immunol Res 4,669-678;或Hinrichs&Rosenberg,2014,Immunol Rev 257,56-71)。在受试者中输注T细胞的方案,包括输注前调理方案(pre-infusion conditioning regimen),是本领域公知的(参见,例如,Rosenberg&Restifo,2015,Science 348,62-68;Prickett et al.,2016,Cancer Immunol

Res 4,669-678;或Hinrichs&Rosenberg,2014,Immunol Rev 257,56-71)。

[1244] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或载体与CAR免疫细胞治疗,尤其是CAR T细胞治疗或CAR NK细胞治疗组合使用。

[1245] 如本文所用,CAR免疫细胞治疗是过继细胞疗法,其中转移的细胞是如上文所述的免疫细胞,例如T细胞或NK细胞,其经遗传工程化以表达嵌合抗原受体(CAR)。作为癌症治疗,CAR免疫细胞向受试者的过继转移旨在增强受试者对癌细胞的免疫应答。

[1246] CAR是由与单个融合分子中或数个分子中的一个或多个信号传导结构域相关的靶向部分组成的合成受体。通常,CAR的结合部分由单链抗体(scFv)的抗原结合结构域组成,所述结构域包含通过柔性接头连接的单克隆抗体的轻链和重链可变片段。基于受体或配体结构域的结合部分也已成功使用。第一代CAR的信号传导结构域通常衍生自CD3zeta或Fc受体 γ 链的细胞质区域。第一代CAR已显示成功地重定向T细胞细胞毒性,但是,它们无法在体内提供延长的扩增和抗肿瘤活性。因此,已单独添加(第二代)或组合添加(第三代)来自共刺激分子(包括CD28、OX-40(CD134)和4-1BB(CD137))的信号传导结构域,以提高CAR修饰的T细胞的存活率并增加增殖。

[1247] 因此,在一个实施方案中,如上文所述的转移的T细胞是CAR T细胞。CAR的表达允许将T细胞重新定向针对所选择的抗原,例如在癌细胞表面表达的抗原。在一个实施方案中,转移的CAR T细胞识别肿瘤特异性抗原。

[1248] 在另一个实施方案中,如上文所述的转移的NK细胞是CAR NK细胞。CAR的表达允许将NK细胞重新定向针对所选择的抗原,例如在癌细胞表面表达的抗原。在一个实施方案中,转移的CAR NK细胞识别肿瘤特异性抗原。

[1249] 肿瘤特异性抗原的示例在上文中提及。

[1250] 在一个实施方案中,转移的CAR T细胞或CAR NK细胞识别选自包含以下或由以下组成的组的肿瘤特异性抗原:EGFR且尤其是EGFRvIII、间皮素、PSMA、PSA、CD47、CD70、CD133、CD171、CEA、FAP、GD2、HER2、IL-13R α 、 α v β 6整联蛋白、ROR1、MUC1、GPC3、EphA2、CD19、CD21和CD20。

[1251] 在一个实施方案中,如上文所述的CAR免疫细胞是自体CAR免疫细胞,尤其是自体CAR T细胞。在另一个实施方案中,如上文所述的CAR免疫细胞是同种异体CAR免疫细胞,尤其是同种异体CAR NK细胞。

[1252] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或载体与抗生素组合使用。抗生素的示例包括但不限于青霉素类(例如,青霉素、阿莫西林)、四环素类(例如,doxycycline、四环素、米诺环素)、头孢菌素类(例如,头孢呋辛(cefuroxime)、头孢曲松(ceftriaxone)、头孢地尼(cefdinir))、喹诺酮类(例如,环丙沙星(ciprofloxacin)、左氧氟沙星(levofloxacin)、莫西沙星(moxifloxacin))、林可霉素类(lincomycins)(例如,克林霉素(clindamycin)、林可霉素)、大环内酯类(例如,阿奇霉素(azithromycin)、克拉霉素(clarithromycin)、红霉素(erythromycin))、磺胺类(例如,磺胺甲恶唑-甲氧苄啶(sulfamethoxazole-trimethoprim)、柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)、磺胺异恶唑(sulfisoxazole))、糖肽类(例如,达巴万星(dalbavancin)、奥利万星(oritavancin)、特拉万星(telavancin)、万古霉素)、氨基糖苷类(例如,庆大霉

素、妥布霉素(tobramycin)、阿米卡星(amikacin)和碳青霉烯类(例如,亚胺培南(imipenem)、美罗培南(meropenem)、多利培南(doripenem)、厄他培南(ertapenem))。

[1253] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或载体与抗病毒药物组合使用。抗病毒药物的示例包括但不限于阿巴卡韦(abacavir)、阿昔洛韦(acyclovir)、阿德福韦(adeфовir)、金刚烷胺(amantadine)、安普那韦(amprenavir)、安普利近(ampligen)、阿比多尔(arbidol)、阿扎那韦(atazanavir)、立普妥(atripla)、巴拉维(balavir)、西多福韦(cidofovir)、可比韦(combivir)、度鲁特韦(dolutegravir)、地瑞那韦(darunavir)、地拉韦定(delavirdine)、去羟肌苷(didanosine)、二十二烷醇(docosanol)、依度尿苷(edoxudine)、依非韦仑(efavirenz)、恩曲他滨(emtricitabine)、恩夫韦地(enfuvirtide)、恩替卡韦(entecavir)、依克利沃(ecoliever)、泛昔洛韦(famciclovir)、福米韦森(fomivirsen)、福沙那韦(fosamprenavir)、膦甲酸(foscarnet)、膦乙酸(fosfonet)、伊巴他滨(ibacitabine)、imunovir、碘苷(idoxuridine)、咪喹莫特(imiquimod)、茚地那韦(indinavir)、肌苷(inosine)、整合酶抑制剂、干扰素III型、干扰素II型、干扰素I型、干扰素、拉米夫定(lamivudine)、洛匹那韦(lopinavir)、洛韦胺(loviride)、马拉韦罗(maraviroc)、吗啉胍(moroxydine)、甲吡噻唑(methisazone)、奈非那韦(nelfinavir)、奈韦拉平(nevirapine)、nexavir、硝唑尼特(nitazoxanide)、核苷类似物、利托那韦(norvir)、奥司他韦(oseltamivir)、聚乙二醇干扰素alpha-2a、喷昔洛韦(penciclovir)、帕拉米韦(peramivir)、普来可那利(pleconaril)、鬼臼毒素(podophyllotoxin)、蛋白酶抑制剂、雷特格韦(raltegravir)、逆转录酶抑制剂、利巴韦林(ribavirin)、金刚乙胺(rimantadine)、利托那韦(ritonavir)、pyrimidine、沙奎那韦(saquinavir)、索非布韦(sofosbuvir)、司他夫定(stavudine)、特拉匹韦(telaprevir)、替诺福韦(tenofovir)、替诺福韦酯(tenofovir disoproxil)、替拉那韦(tipranavir)、三氟尿苷(trifluridine)、三协唯(trizivir)、曲金刚胺(tromantadine)、特鲁瓦达(truvada)、伐昔洛韦(valaciclovir)、缬更昔洛韦(valganciclovir)、vicriviroc、阿糖腺苷(vidarabine)、韦拉密汀(viramidine)、扎西他滨(zalcitabine)、扎那米韦(zanamivir)和齐多夫定(zidovudine)。

[1254] 在一个实施方案中,本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或载体与抗真菌剂组合使用。抗真菌剂的示例包括但不限于多烯抗真菌剂(例如,两性霉素B(amphotericin B)、杀念珠菌素(candididin)、菲律宾菌素(filipin)、哈霉素(hamycin)、那他霉素(natamycin)、制霉菌素(nystatin)、龟裂霉素(rimocidin)),咪唑抗真菌剂(例如,联苯苄唑(bifonazole)、布康唑(butoconazole)、克霉唑(clotrimazole,)、益康唑(econazole)、芬替康唑(fenticonazole)、异康唑(isoconazole)、酮康唑(ketoconazole)、卢立康唑(luliconazole)、咪康唑(miconazole)、奥莫康唑(omoconazole)、奥昔康唑(oxiconazole)、舍他康唑(sertaconazole)、硫康唑(sulconazole)、噻康唑(tioconazole)),三唑抗真菌剂(例如,阿巴康唑(albaconazole)、艾氟康唑(efinaconazole)、氟环唑(epoxiconazole)、氟康唑(fluconazole)、艾沙康唑(isavuconazole)、伊曲康唑(itraconazole)、泊沙康唑(posaconazole)、丙环唑(propiconazole)、雷夫康唑(ravuconazole)、特康唑(terconazole)、伏立康唑

(voriconazole)), 噻唑抗真菌剂(例如, 阿巴芬净(abafungin))、烯丙胺类、棘白菌素类(echinocandins)(例如, 阿尼芬净(anidulafungin)、卡泊芬净(caspofungin)、米卡芬净(micafungin))。

[1255] 在一个实施方案中, 本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或载体与抗寄生虫剂组合使用。抗寄生虫剂的示例包括但不限于广谱抗寄生虫药(例如, 硝唑尼特(nitazoxanide)), 抗原生动物药(antiprotozoals)(例如, 美拉脾醇(melarsoprol)、依氟鸟氨酸(eflornithine)、甲硝唑(metronidazole)、替硝唑(tinidazole)、米替福新(miltefosine)), 抗蠕虫药(antihelminthic)(包括但不限于抗线虫药(antinematodes)(犬钩口线虫(ancylostoma caninum)、甲苯咪唑(mebendazole)、双羟萘酸噻嘧啶(pyrantel pamoate)、噻苯达唑(thiabendazole)、乙胺嗪(diethylcarbamazine)、伊维菌素(ivermectin)), anticestodes(例如, 氯硝柳胺(niclosamide)、吡喹酮(praziquantel)、阿苯达唑(albendazole)), 抗吸虫药(antitrematodes)(例如, 吡喹酮(praziquantel)), 抗阿米巴药(antiamoebics)(例如, 利福平(rifampin)、两性霉素B)。

[1256] 本发明的另一个目的涉及上文所述的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)或融合蛋白与上文所述的另一种治疗剂在治疗有此需要的受试者的疾病中的用途, 其中所述蛋白、抗体或其抗原结合片段或融合蛋白用作该治疗剂的佐剂。

[1257] 因此, 本发明涉及上文所述的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)或融合蛋白(优选在组合物、药物组合物或药物中), 用作癌症治疗中的佐剂。因此, 本发明涉及上文所述的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)或融合蛋白(优选在组合物、药物组合物或药物中), 用作感染性疾病治疗中的佐剂。

[1258] 在一个实施方案中, 本发明涉及上文所述的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)或融合蛋白用于在有此需要的患者中增强由癌症治疗诱导的免疫应答的用途。

[1259] 在一个实施方案中, 本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)或融合蛋白可以用作免疫治疗剂, 尤其是用于治疗多种癌症(例如, 与免疫抑制和/或免疫耗竭(immune exhaustion)相关的癌症)。

[1260] 在一个实施方案中, 本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)或融合蛋白可以增强患者中由癌症治疗诱导的免疫应答, 包括以有效增强患者中由癌症治疗诱导的免疫应答的量向受试者施用所述蛋白(例如, 抗体或其片段)或所述融合蛋白。

[1261] 如本文所用, 术语“佐剂(adjuvant)”是指增强治疗例如癌症治疗的化合物或化合物的组合。佐剂可以增加针对低免疫原性或无免疫原性肿瘤细胞的有效免疫应答。在一个实施方案中, 佐剂在癌症治疗中与公知的癌症治疗剂一起使用, 并且由此增强针对癌细胞的免疫应答。例如, 佐剂可以增强在癌症治疗期间的免疫应答、减少T细胞耗竭(不减少T细胞激活)、增加T细胞的存活、增强NK细胞的细胞毒性、减少肿瘤生长和/或肿瘤大小、和/或提高存活率、治疗或预防癌症转移。在一个实施方案中, 通过与单独施用癌症治疗进行比较, 来定义在佐剂存在下癌症治疗的增强。

[1262] 在另一个实施方案中, 上文所述的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原

结合片段)或融合蛋白可以增加或改善受试者的免疫应答。

[1263] 如本文所用,“免疫应答(immune response)”是指免疫系统的细胞对刺激的应答,所述免疫系统的细胞例如B细胞、T细胞(CD4或CD8)、调节性T细胞、抗原呈递细胞、树突细胞、单核细胞、巨噬细胞、NKT细胞、NK细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞或嗜中性粒细胞。在任意方面的一些实施方案中,应答对特定抗原特异(“抗原特异性应答”),并且是指CD4⁺ T细胞、CD8⁺ T细胞或B细胞通过它们的抗原特异性受体的应答。在任意方面的一些实施方案中,免疫应答是T细胞应答,例如CD4⁺应答或CD8⁺应答。这些细胞的此类应答可以包括例如细胞毒性、增殖、细胞因子或趋化因子产生、运输(trafficking)或吞噬作用,并且可以取决于进行应答的免疫细胞的性质。

[1264] 与其他已知的免疫治疗剂一样,本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)或融合蛋白增强患者中免疫应答的能力可能在癌症领域之外具有更广泛的治疗意义。例如,已经提出免疫增强剂可用于治疗多种感染性疾病,尤其是促进免疫抑制和/或免疫耗竭的致病因子(pathogenic agent)。此外,此类免疫增强剂可用于提高疫苗(例如,感染性疾病和癌症疫苗)的免疫效力。

[1265] 本发明的另一个目的涉及上文所述的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)或融合蛋白或本发明的核酸或载体(优选在上文所述的组合物、药物组合物或药物中)耗减有此需要的受试者中表达CD25的Treg细胞的用途,其中将向受试者施用治疗有效量的本发明的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或载体。

[1266] 因此,本发明进一步涉及一种耗减有此需要的受试者中表达CD25的Treg细胞的方法,包括向受试者施用如本文所述的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物。

[1267] 在一个实施方案中,如上文所述的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸或载体(优选在如上文所述的组合物、药物组合物或药物中)用于耗减表达CD25的Treg细胞。

[1268] 在一个实施方案中,表达CD25的Treg细胞是肿瘤浸润性Treg。

[1269] 在一个实施方案中,用于耗减表达CD25的Treg细胞的如上文所述的抗体或其抗原结合片段是IgG,优选IgG1。

[1270] 在一个实施方案中,用于耗减表达CD25的Treg细胞的如上文所述的抗体或其抗原结合片段以高亲和力结合至少一种活化Fc γ 受体,优选选自Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIII。

[1271] 在一个实施方案中,用于耗减表达CD25的Treg细胞的如上文所述的抗体或其抗原结合片段引发增强的ADCC、ADCP和/或CDC应答,优选增加的ADCC和/或ADCP应答,更优选增加的ADCC应答。

[1272] 在一个实施方案中,用于耗减表达CD25的Treg细胞的上文所述的抗体或其抗原结合片段不抑制经由CD25的IL-2信号传导。因此,在一个实施方案中,用于耗减表达CD25的Treg细胞的上文所述的抗体或其抗原结合片段不抑制CD4⁺和CD8⁺T细胞(或效应T细胞)的增殖和/或激活。在另一个实施方案中,用于耗减表达CD25的Treg细胞的上文所述的抗体或其抗原结合片段不抑制CD4⁺和CD8⁺T细胞(或效应T细胞)中STAT5a的磷酸化。

[1273] 本发明还涉及一种诱导CD25阳性细胞特异性裂解而不抑制T细胞中IL-2信号传导

的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本文公开的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物的步骤。

[1274] 本发明还涉及一种通过ADCC和/或ADCP诱导CD25阳性细胞特异性裂解而不抑制T细胞中的IL-2信号传导的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本文公开的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物的步骤。

[1275] 在一些实施方案中,受试者正在接受或已经接受免疫治疗。

[1276] 本发明还涉及一种方法,其包括向受试者施用免疫治疗的步骤,其中所述受试者已经接受或正在接受治疗有效量的本文公开的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸、载体、组合物、药物组合物或药物。

[1277] 在一些实施方案中,治疗有效量是有效诱导CD25阳性细胞特异性裂解而不抑制T细胞中的IL-2信号传导的量。

[1278] 在一些实施方案中,治疗有效量是有效地通过ADCC和/或ADCP诱导CD25阳性细胞特异性裂解而不抑制T细胞中的IL-2信号传导的量。

[1279] 本发明还涉及本文公开的分离的蛋白(特别是本文所述的抗体或其抗原结合片段)、融合蛋白、核酸、载体在制备用于治疗有此需要的受试者的如上文所述的疾病、病症或症状(例如癌症或感染性疾病)的药物中的用途。

[1280] 与现有技术的抗CD25抗体相比,本发明的抗体或其抗原结合片段可具有以下优点的至少一项:

[1281] - 在一些实施方案中,与现有技术的CD25抗体相比,本发明的抗体或其抗原结合片段表现出增加的对CD25的亲合力;

[1282] - 在一些实施方案中,与现有技术的CD25抗体相比,本发明的抗体或其抗原结合片段表现出增加的对CD25的亲合力;

[1283] - 在一些实施方案中,与现有技术的CD25抗体相比,本发明的抗体或其抗原结合片段诱导增加的培养中的T细胞的IL-2依赖性激活,并且优选诱导增加的培养中的T细胞的增殖;

[1284] - 在一些实施方案中,与现有技术的CD25抗体相比,本发明的抗体或其抗原结合片段诱导较低的培养中IL-2诱导的T细胞增殖的抑制;

[1285] - 在一些实施方案中,与现有技术的CD25抗体相比,本发明的抗体或其抗原结合片段对表达CD25⁺的细胞,优选表达CD25⁺的T细胞,且更优选表达CD25⁺的Treg细胞呈现增加的ADCC活性;

[1286] - 在一些实施方案中,与现有技术的CD25抗体相比,本发明的抗体或其抗原结合片段对表达CD25⁺的细胞,优选表达CD25⁺的T细胞,且更优选表达CD25⁺的Treg细胞呈现增加的ADCP活性;

[1287] - 在一些实施方案中,与现有技术的CD25抗体相比,本发明的抗体或其抗原结合片段以更高的效率诱导表达CD25⁺的细胞,优选表达CD25⁺的T细胞,且更优选表达CD25⁺的Treg细胞的耗减(优选体内耗减);

[1288] - 在一些实施方案中,与现有技术的CD25抗体相比,本发明的抗体或其抗原结合片段呈现出更低的免疫原性;

[1289] - 在一些实施方案中,与现有技术的CD25抗体相比,本发明的抗体或其抗原结合片段呈现出更高的稳定性;

[1290] - 在一些实施方案中,与现有技术的CD25抗体相比,本发明的抗体或其抗原结合片段对食蟹猴CD25表现出更好的交叉反应性。

[1291] 实施例

[1292] 通过以下实施例进一步说明本发明。

[1293] 材料和方法

[1294] CD25特异性mAb的结合

[1295] 将用人CD25 (huCD25) 构建体瞬时转染的HEK293 WT (野生型) 和HEK293细胞与Ultra-LEAF纯化的人IgG1同种型 (同种型对照)、本发明的抗CD25抗体 (H07、H09、G02、E04、D01、E04-2、B05、G09、B01、C01、G01、H01、G02-2、H02、F03、D05、B07、H08、B12) 或巴利昔单抗一起孵育,从500nM开始,进行11x连续3倍稀释。然后,使用在FACS缓冲液中稀释1:500的抗人IgG (Fc特异性) FITC或浓度为2 μ g/ml的抗小鼠IgG-APC (用于巴利昔单抗检测) 进行标记。通过FACS分析细胞。

[1296] 通过抗体依赖性细胞吞噬作用 (ADCP) 特异性裂解CD25阳性细胞

[1297] 抗CD25诱导的ADCP是通过将THP-1细胞 (作为效应细胞) 和CFSE染色的SUDHL-1细胞 (靶细胞) 与10 μ g/ml的人IgG1对照或抗CD25抗体 (E04-2、B05、C01、G01、G02-2和B07) 在37 $^{\circ}$ C下共培养2小时30分而获得。在该时间点,收集、洗涤细胞,并将抗CD33 APC抗体添加到共培养物中。在流式细胞术分析之前洗涤细胞。CD33+THP1细胞中CD33+CFSE+的百分比对应于诱导的吞噬作用的水平。

[1298] 对IL-2诱导的T细胞增殖的影响

[1299] 将新鲜分离的外周单核细胞 (PBMC) 在添加有5 μ g/ml PHA的RPMI培养基 (10% FCS、2% 谷氨酰胺、1% 抗生素) 中培养72小时。将PBMC用CFSE染色,使饥饿24小时,然后通过磁性细胞分选分离活化的T细胞。将T细胞与50UI/ml的IL-2和1 μ g/ml的抗CD25抗体 (H09、D01、E04-2、B05、C01、G01、G02-2、F03、D05、B07、B12)、巴利昔单抗、7G7B6或MA-251一起培养72小时。细胞分裂利用流式细胞术跟踪。

[1300] Treg细胞耗减

[1301] 将PBMC (2×10^6 个/ml) 与1 μ g/ml的人IgG1对照同种型、本发明的抗CD25抗体 (H09、D01、E04-2、B05、C01、G01、G02-2、F03、D05、B07、B12) 或巴利昔单抗加上抗CD3/抗CD28偶联珠子 (Dako) 一起孵育。孵育6天后,使用anti-CD8-FITC、-CD4-PE、CD39-PerCP-Cy5.5、-CD127-PE-Cy7、-CD3-APC和CD45-Pacific Blue抗体的混合物进行标记。在Cytotflex (Beckman Coulter) 上通过流式细胞术分析细胞,并使用FlowJo软件分析数据。Treg鉴定为CD3⁺CD4⁺CD39⁺CD127^{低/-}细胞群。CD4+T效应细胞鉴定为CD3⁺CD4⁺(-)CD3⁺CD4⁺CD39⁺CD127^{低/-}细胞群。CD8+T效应细胞鉴定为CD3⁺CD8⁺细胞群。结果表示为CD45+淋巴细胞群中Treg、CD4+T效应细胞或CD8+T效应细胞的平均值% $\pm$ SEM。

[1302] 结果

[1303] 如图1所示,本发明的抗CD25抗体 (H07、H09、G02、E04、D01、E04-2、B05、G09、B01、C01、G01、H01、G02-2、H02、F03、D05、B07、H08、B12) 能够特异性结合在瞬时转染的HEK293细胞表面上表达的huCD25。

[1304] 测量了本发明的抗CD25抗体影响IL-2诱导的效应T细胞增殖的能力。图2A-图B2证明了本发明的抗CD25抗体对IL-2诱导的效应T细胞增殖没有显著影响,而巴利昔单抗、7G7B6和MA-251均使效应T细胞增殖降低至至少约50%。

[1305] 另外,测试了本发明的抗CD25抗体通过ADCP诱导细胞裂解的能力。如图5所示,本发明的抗CD25抗体能够诱导通过ADCP的细胞裂解。

[1306] 然后,在体外测试本发明的抗CD25抗体从抗CD3+抗CD28活化的人外周单核细胞中耗减Treg细胞的能力,并与对照抗体(huIgG1)或巴利昔单抗进行比较。图3A-图3B显示,本发明的抗CD25抗体使Treg细胞耗减至少70%,比巴利昔单抗更有效,巴利昔单抗使Treg细胞耗减约50%。重要的是,这种效应是Treg细胞特异的,因为没有观察到CD4+效应T细胞和CD8+效应T细胞的细胞耗减(图4A、4B)。

[1307] 总之,这些结果证明了本发明的抗CD25抗体是非阻断性抗体,其对IL-2活性的影响显著小于7G7B6和MA-251,并且能够有效且特异性地耗减Treg细胞。

[1308] 因此,这些结果证明了本发明的抗体用于治疗癌症的治疗潜力。

序列表

<110> 法国国家健康和医学研究院 (INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale))

让波利与艾琳卡尔梅特研究所 (INSTITUT JEAN PAOLI & IRENE CALMETTES)

奥尔德兰生物技术公司 (ALDERAAN BIOTECHNOLOGY)

国家科学研究中心 (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE)

埃克斯马赛大学 (UNIVERSITÉ D' AIX-MARSEILLE)

巴黎大学 (UNIVERSITE DE PARIS)

巴黎第十二大学 (UNIVERSITE PARIS EST CRETEIL VAL DE MARNE)

D • 奥利芙 (OLIVE Daniel)

A • 邦叙桑 (BENSUSSAN Armand)

J • 朱斯蒂尼亚尼 (GIUSTINIANI Jérôme)

A • 马里耶-卡迪纳 (MARIE-CARDINE Anne)

阿尔诺 • 福萨特 (FOUSSAT Arnaud)

J • 胡阿辛 (HOUACINE Jemila)

<120> 抗CD25抗体

<130> IBIO-1739/PCT

<150> EP20306424.1

<151> 2020-11-20

<160> 96

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1 VH

<400> 1

Asn His Ala Met Ala

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2 VH

<220>

<221> SITE

<222> 7

<223> X是S或D

<220>

<221> SITE

<222> 9

<223> X是K或T

<220>

<221> SITE

<222> 12

<223> X是A或R

<400> 2

Val Ile Ser Tyr Asp Gly Xaa Asn Xaa Tyr Tyr Xaa Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR3 VH

<220>

<221> SITE

<222> 2

<223> X是W或L

<400> 3

Gly Xaa Asn Ser Gly Tyr Asp

1

5

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1 VL

<220>

<221> SITE

<222> 5

<223> X是S或N

<220>

<221> SITE

<222> 6

<223> X是V或I

<220>

<221> SITE

<222> 7

<223> X是N或S

<220>

<221> SITE

<222> 8

<223> X是S或K

<220>

<221> SITE

<222> 9

<223> X是F或Y

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Asn

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2 VL

<220>

<221> SITE

<222> 3

<223> X是S或N

<400> 5

Gly Thr Xaa Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR3 VL

<220>

<221> SITE

<222> 4

<223> X是T或N

<400> 6

Gln Gln Tyr Xaa Ser Trp Pro Trp Thr

1 5

<210> 7

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2 VH

<400> 7

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

1 5 10 15

Gly

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR3 VH

<400> 8

Gly Trp Asn Ser Gly Tyr Asp

1 5

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1 VL

<400> 9

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Ser Phe Leu Asn

1 5 10

<210> 10

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2 VL

<400> 10

Gly Thr Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR3 VL

<400> 11

Gln Gln Tyr Thr Ser Trp Pro Trp Thr

1 5

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1 VL

<400> 12

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2 VL

<400> 13

Gly Thr Asn Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR3 VL

<400> 14

Gln Gln Tyr Asn Ser Trp Pro Trp Thr

1 5

<210> 15

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR1 VL
<400> 15
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR1 VL
<400> 16
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Phe Leu Asn
1 5 10
<210> 17
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR3 VH
<400> 17
Gly Leu Asn Ser Gly Tyr Asp
1 5
<210> 18
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR1 VL
<400> 18
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Lys Phe Leu Asn
1 5 10
<210> 19
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1 VL

<400> 19

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asn Ser Phe Leu Asn

1 5 10

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1 VL

<400> 20

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Ser Ser Phe Leu Asn

1 5 10

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1 VL

<400> 21

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Phe Leu Asn

1 5 10

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1 VL

<400> 22

Arg Ala Ser Gln Asn Val Ser Ser Phe Leu Asn

1 5 10

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1 VL

<400> 23

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Phe Leu Asn

1 5 10

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR1 VL

<400> 24

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2 VH

<400> 25

Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2 VH

<400> 26

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

1 5 10 15

Gly

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR2 VH

<400> 27

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

1	5	10	15
Gly			
<210> 28			
<211> 116			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> VH			
<400> 28			
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 His			
20	25	30	
Ala Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala 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	
Thr Thr Gly Trp Asn Ser Gly Tyr Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val			
100	105	110	
Thr Val Ser Ser			
115			
<210> 29			
<211> 116			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> VH			
<400> 29			
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 His			
20	25	30	
Ala Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			

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

<210> 30

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 30

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 His
20 25 30
Ala Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Gln Ser 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
Thr Thr Gly Leu Asn Ser Gly Tyr Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 31

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 31

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	His
			20					25					30		
Ala	Met	Ala	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	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		
Thr	Thr	Gly	Leu	Asn	Ser	Gly	Tyr	Asp	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
		100						105					110		
Thr	Val	Ser	Ser												
		115													

<210> 32

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 32

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	His
			20					25					30		
Ala	Met	Ala	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Arg	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		
Thr	Thr	Gly	Leu	Asn	Ser	Gly	Tyr	Asp	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
		100						105					110		
Thr	Val	Ser	Ser												
		115													

<210> 33

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 33

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 His
 20 25 30
 Ala Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Gln 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
 Thr Thr Gly Leu Asn Ser Gly Tyr Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 34

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 34

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

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 His
 20 25 30
 Ala Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser 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
 Thr Thr Gly Leu Asn Ser Gly Tyr Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 37

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 37

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 His
 20 25 30
 Ala Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn 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
 Thr Thr Gly Trp Asn Ser Gly Tyr Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 38

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 38

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	His
			20					25					30		
Ala	Met	Ala	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35				40					45			
Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	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	
Thr	Thr	Gly	Leu	Asn	Ser	Gly	Tyr	Asp	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
			100					105					110		
Thr	Val	Ser	Ser												
			115												

<210> 39

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 39

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	His
			20					25					30		
Ala	Met	Ala	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35				40					45			
Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Asp	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
			50				55					60			
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	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			
Thr	Thr	Gly	Leu	Asn	Ser	Gly	Tyr	Asp	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val		
				100				105						110			

Thr Val Ser Ser
115

<210> 40

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 40

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

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

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

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

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

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

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

<210> 41

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 41

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

Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Lys	Phe
			20					25					30		

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

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

<210> 42

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 42

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

<210> 43

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 43

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

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

<210> 44

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 44

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

<210> 45

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 45

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	Asn	Ile	Asn	Ser	Phe
		20						25				30			
Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Arg	Arg	Leu	Ile
	35					40					45				
Tyr	Gly	Thr	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	Tyr	Asn	Ser	Trp	Pro	Trp
			85					90				95			
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys					
		100					105								

<210> 46

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 46

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

<210> 47

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 47

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

<210> 48

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 48

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

<210> 49

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 49

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

<210> 50

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 50

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

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

<210> 51

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 51

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

<210> 52

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 52

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

<210> 53

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 53

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

<210> 54

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 54

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

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

<210> 55

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 55

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

<210> 56

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 56

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

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

<210> 57

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 57

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

<210> 58

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 前导序列

<400> 58

Met Asp Ile Arg Leu Ser Leu Ala Phe Leu Val Leu Phe Ile Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 59

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 前导序列

<400> 59

Met Ala Ala Val Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro Ala
1 5 10 15

Met Arg Cys

<210> 60

<211> 409

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 60

taatacgact cactataggg cgtctcactc tcaagtgcag ctggtggaat ccgaggagg	60
cgtggtgcag cccggaaggt ctctgagact gagctgtgcc gccagcggct tcacattcag	120
caatcacgcc atggcttggg tgagacaagc ccccggaag ggactggaat gggtcgccgt	180
gatctcctac gacggcagca acaagtacta cgccgatagc gtgaaggga ggttcactat	240
ctctagggac aacgccaaga acacactgta tctgcagatg aacagcctca gagccgagga	300
cacagctgtc tactactgca caactggctg gaacagcggc tatgattggg gccaaaggcac	360
tctggtgaca gtgagcagcg ccagtgcagc gcctcgactg tgccttcta	409

<210> 61

<211> 409

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 61

taatacgact cactataggg cgtctcactc tcaagtgcag ctggtggaaa gcggaggcgg	60
agtggtgcag cccggcagat ctctgagact gagctgtgcc gccagcggct tcacattcag	120
caaccacgcc atggcttggg tgagacaagc ccccggaag ggactggaat gggtcgccgt	180
gatcagctac gatggcagca acaagtacta cgccgactcc gtgaaggga ggttcacaa	240
ctctagggac aacagccaga acactctgta tctgcagatg aactctctga gggctgagga	300

tacagccgtc tactactgca caactggact gaatagcgga tacgattggg gccaaaggcac	360
actggtgaca gtgagcagcg ccagtgagac gcctcgactg tgccttcta	409
<210> 62	
<211> 409	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VH	
<400> 62	
taatacgact cactataggg cgtctcactc tcaagtgcag ctggtggaaa gcggaggagg	60
agtgggtgcag cccggaaggt ctctgaggct gagctgtgct gctagcggct tcactttcag	120
caatcacgcc atggcttggg tgagacaagc ccccgcaaa ggactggagt gggtagccgt	180
gatcagctac gatggcagca acaagtacta tagggacagc gtcaaggga ggttcactat	240
ctctagggat aacgcccaga gcactctgta tctgcagatg aattctctga gggctgagga	300
tacagccgtc tactactgca ctactggact gaacagcggc tacgattggg gacaaggcac	360
actggtgact gtgagcagcg ccagtgagac gcctcgactg tgccttcta	409
<210> 63	
<211> 409	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VH	
<400> 63	
taatacgact cactataggg cgtctcactc tcaagtgcag ctggtcgaga gcggaggagg	60
agtgggtgcag cccggaaggt ctctgagact gagctgtgcc gccagcggct tcacattcag	120
caatcacgcc atggcttggg tgagacaagc ccccgcaag ggactggaat gggtagccgt	180
gatctcctac gacggcagca acaagtacta cgccgactcc gtgaaggga ggttcactat	240
ctctagggac aatgccaaga acactctcta tctgcagatg aactctctga gggctgagga	300
tacagccgtc tactactgca caactggact gaacagcggc tacgattggg gccaaaggcac	360
tctggtgaca gtgagcagcg ccagtgagac gcctcgactg tgccttcta	409
<210> 64	
<211> 409	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VH	
<400> 64	
taatacgact cactataggg cgtctcactc tcaagtgcag ctggtggaat ccggaggcgg	60
cgtgggtgcaa cccggaaggt ctctgagact gagctgtgcc gccagcggct tcacattcag	120

caaccacgcc atggcttggg tgagacaagc ccccggaag ggactggaat gggtcgccgt	180
gatctcctac gacggcagca acaagtacta tagggacagc gtgaaggga ggttcacaat	240
ctctagggac aacagcaaga acactctcta tctgcagatg aactctctga gggctgagga	300
tactgccgtc tactactgca ctactggact gaatagcggc tacgattggg gccaaggcac	360
tctggtgaca gtcagcagcg ccagtgagac gcctcgactg tgccttcta	409

<210> 65

<211> 409

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 65

taatacgact cactataggg cgtctcactc tcaagtgcag ctggtggaat ccggaggcgg	60
cgtggtgcaa cccggcagat ctctgagact gagctgtgcc gccagcggct tcacattcag	120
caaccacgcc atggcttggg tgagacaagc ccccggaag ggactggaat gggtcgccgt	180
gatctcctac gacggcagca acaagtacta tagggacagc gtcaaggga ggttcacaat	240
ctctagggac aatgcccaga acactctgta tctgcagatg aactctctga gggctgagga	300
tacagccgtc tactactgca caactggact gaattccggc tacgattggg gccaaggcac	360
tctggtgaca gtcagctccg ccagtgagac gcctcgactg tgccttcta	409

<210> 66

<211> 409

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 66

taatacgact cactataggg cgtctcactc tcaagtgcag ctggtggaaa gcggaggcgg	60
cgtggtgcaa cccggcagat ctctgagact gagctgtgcc gccagcggct ttactttcag	120
caaccacgcc atggcttggg tgagacaagc ccccggaag ggactggaat gggtcgccgt	180
gatctcctac gatggcagca acaagtacta cgccgacagc gtgaaggga ggttcacaat	240
ctctagggac aacgccaaga gcactctgta tctgcagatg aactctctga gagccgagga	300
tacagccgtg tactactgca caactggact gaacagcggc tacgattggg gccaaggcac	360
tctggtcact gtgagcagcg ccagtgagac gcctcgactg tgccttcta	409

<210> 67

<211> 409

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 67

taatacgact cactataggg cgtctcactc tcaagtgcag ctggtggaaa gcggcggagg	60
agtgggtgcag cccggcagat ctctgaggct gagctgtgcc gctagcggct tcactttcag	120
caaccacgcc atggcttggg tgagacaagc ccccgcaaa ggactggagt gggcggccgt	180
gatctcctac gacggcagca acacatacta cgctgacagc gtcaaggga ggttcacaat	240
ctctagggac aatgccaaagt ccactctcta tctgcagatg aactctctga gggctgagga	300
tacagccgtc tactactgca ctactggact gaacagcggc tacgattggg gccaaaggcac	360
tctggtgaca gtgagcagcg ccagtgcagc gcctcgactg tgccttcta	409

<210> 68

<211> 409

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 68

taatacgact cactataggg cgtctcactc tcaagtgcag ctggtggaaa gcggaggcgg	60
agtgggtccag cccggaaggt ctctgagact gagctgtgcc gccagcggct ttactttcag	120
caaccatgcc atggcttggg tgagacaagc ccccgcaag ggactggaat gggcggccgt	180
gatctcctac gacggcagca acaagtacta cgccgacagc gtgaaggga ggttcacaat	240
ctctagggac aacagcaaga acactctcta tctgcagatg aactctctga gggccgagga	300
tacagccgtc tactactgca ctactggctg gaacagcggc tatgattggg gccaaaggcac	360
actggtgaca gtgagcagcg ccagtgcagc gcctcgactg tgccttcta	409

<210> 69

<211> 409

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 69

taatacgact cactataggg cgtctcactc tcaagtgcag ctggtggaaa gcggaggagg	60
cgtgggtgcag cccggaaggt ctctgagact gagctgtgcc gccagcggct tcacattcag	120
caaccacgcc atggcttggg tgagacaagc ccccgcaag ggactggaat gggcggccgt	180
gatctcctac gatggcagca acaagtacta cgccgactcc gtgaaggga ggttcactat	240
ctctagggac aacagcaaga acactctgta tctgcagatg aactctctga gggctgagga	300
tacagccgtg tactactgca caactggact gaatagcggc tacgattggg gccaaaggcac	360
tctggtgact gtgagcagcg ccagtgcagc gcctcgactg tgccttcta	409

<210> 70

<211> 409

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 70

taatacgact cactataggg cgtctcactc tcaagtgcag ctggtggaaa gcggaggcgg	60
cgtggtgcaa cccggcagat ctctgagact gagctgtgcc gccagcggct tcacattcag	120
caaccacgcc atggcttggg tgagacaagc ccccggaag ggactggaat gggctggcgt	180
gatctcctac gacggcgaca acaagtacta cgccgacagc gtgaaggga ggttcacaat	240
ctctagggac aacgccaaga acactctcta tctgcagatg aactctctga gggctgagga	300
tacagccgtc tactactgca caactggact gaatagcggc tacgattggg gccaaaggcac	360
tctggtcact gtgagcagcg ccagtggagac gcctcgactg tgccttcta	409

<210> 71

<211> 409

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 71

taatacgact cactataggg cgtctcactc tcaagtgcag ctggtggaat ccggaggagg	60
cgtggtgcag cccggcagat ctctgagact gagctgtgcc gccagcggct tcacattcag	120
caatcacgct atggcttggg tgagacaagc ccccggaag ggactggaat gggctgccgt	180
gatcagctac gatggcagca acaagtacta tagggacagc gtgaaggga gattcactat	240
ctctagggac aactcccaga gcactctgta tctgcagatg aattctctga gggccgagga	300
tacagccgtc tactactgca caactggact gaatagcggc tacgattggg gccaaaggcac	360
tctggtcaca gtgagcagcg ccagtggagac gcctcgactg tgccttcta	409

<210> 72

<211> 382

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 72

taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgactcaga gccctagctc	60
tctgagcgct agcgtcggag atagggtgac tatcacatgt agggccagcc agagcgtgaa	120
cagctttctg aactggtatc agcagaagcc cggcaaggcc cctaggaggc tgatctatgg	180
cacatcctct ctgcagagcg gcgtcccaag cagattcagc ggctccggca gcggcactga	240
ctacacactg actatcagca gcctccagcc agaggacttc gccacatact actgccagca	300
gtacactagc tggccttggg cattcggcca aggcacaaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382

<210> 73	
<211> 382	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VL	
<400> 73	
taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgactcaga gccaagctc	60
tctgagcgct agcgtgggag atagggtgac taccattgt agggccagcc agagcgtgag	120
caagtttctg aactggtatc agcagaagcc cggcaaggcc cctaggaggc tgatctacgg	180
cactaactct ctgcagtccg gcgtgcctag cagattcagc ggaagcggca gcggcactga	240
ctacactctg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacttact actgccagca	300
gtacaacagc tggccttgga ctttcggcca aggactaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382
<210> 74	
<211> 382	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VL	
<400> 74	
taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgactcaga gccctagctc	60
tctgagcgct agcgtgggag atagggtgac taccattgc agagccagcc agagcgtgaa	120
cagctatctg aactggtatc agcagaagcc cggcaaggcc ccaaggaggc tgatctacgg	180
cacaaattct ctgcagagcg gcgtgccaag cagatttagc ggcagcggaa gcggcacaga	240
ctacacactg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacttact actgccagca	300
gtacaacagc tggccttgga cattcggcca aggactaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382
<210> 75	
<211> 382	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VL	
<400> 75	
taatacgact cactataggg cgtctcactc tgacatccag atgacacaga gccctagctc	60
tctgagcgct agcgtgggag atagggtgac aatcacatgt agggccagcc agagcatcag	120
ctcctatctg aactggtatc agcagaaacc cggcaaggcc cctaggaggc tgatctacgg	180
cacaaattct ctgcagagcg gcgtgcctag cagatttagc ggcagcggaa gcggcacaga	240

ctacactctg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacatact actgccagca	300
gtacaacagc tggccttgga ctttcggcca aggcaactaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382

<210> 76

<211> 382

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 76

taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgacacaga gccctagctc	60
tctgagcgct agcgtgggag atagggtgac taccacttgt agggccagcc agagcatcag	120
cagctttctg aactggtatc agcagaagcc cggcaaggcc ccaaggaggc tgatctacgg	180
cacaaattct ctgcagtccg gcgtgccaag cagattcagc ggcagcggaa gcggcactga	240
cttcacactg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacttact actgccagca	300
gtacaacagc tggccttgga cattcggcca aggacaaaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382

<210> 77

<211> 382

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 77

taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgactcagt cccctagctc	60
tctgagcgct agcgtgggag atagggtgac taccacatgt agggcctccc agaacatcaa	120
cagctttctg aactggtatc agcagaagcc cggcaaggcc cctaggaggc tgatctatgg	180
cacttcctct ctgcagagcg gactgccatc cagatttagc ggcagcggaa gcggcacaga	240
cttcactctg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacttact actgccagca	300
gtacaacagc tggccttgga cattcggcca aggacaaaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382

<210> 78

<211> 382

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 78

taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgactcaga gccctagctc	60
---	----

tctgagcgct agcgtgggag atagggtgac aatcacttgt agggccagcc agaacatcaa	120
cagcttttctg aactggtatc agcagaagcc cggcaaggcc cctaggagac tgatctatgg	180
cacttcctct ctgcagagcg gcgtgcctag cagatttagc ggcagcggaa gcggcacaga	240
ctacactctg actatcagca gcctccagcc agaggacttc gccacatact actgccagca	300
gtacaacagc tggccttgga ctttcggcca aggcacaaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382

<210> 79

<211> 382

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 79

taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgacacaga gccctagctc	60
tctgagcgct agcgtgggag acagagtgc taccacttgc agagccagcc agaatgtgag	120
cagcttttctg aactggtatc agcagaagcc cggcgaggcc cctaggaggc tgatctacgg	180
cactaactct ctgcagagcg gcgtgcctag cagatttagc ggcagcggaa gcggcacaga	240
ctacactctg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacatact actgccagca	300
gtacaacagc tggccttgga ctttcggcca aggcacaaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382

<210> 80

<211> 382

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 80

taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgactcaga gccctagctc	60
tctgagcgct agcgtgggag atagggtgac taccacatgt agggccagcc agaacatcag	120
cagcttttctg aactggtatc agcagaagcc cggcgaggcc cctaggaggc tgatctacgg	180
cacaaattct ctgcagagcg gcgtgccttc taggttttcc ggcagcggct ccggcacaga	240
ctacactctg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacttact actgccagca	300
gtacaacagc tggccttgga cattcggcca aggcacaaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382

<210> 81

<211> 382

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 81

taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgacacaga gccctagctc	60
tctgagcgct agcgtgggag atagggtgac tatcacttgc agagccagcc agagcatcag	120
cagctttctg aactggtatc agcagaagcc cggcgaggcc cctaggaggc tgatctacgg	180
cactaactct ctgcagagcg gcgtagcctag cagatttagc ggcagcggaa gcggcacaga	240
ctacactctg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacttact actgccagca	300
gtacacaagc tggccttgga ctttcggcca aggactaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382

<210> 82

<211> 382

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 82

taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgactcagt cccctagctc	60
tctgagcgct tccgtgggag atagggtgac tatcacttgc agagccagcc agagcgtgag	120
cagctttctg aattggtatc agcagaagcc cggcaaagcc cctaagaggc tgatctacgg	180
cacaaactct ctgcagtccg gcgtagccttc taggttttcc ggcagcggct ccggcacaga	240
ctacactctg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacttact actgccagca	300
gtacaacagc tggccttgga cattcggcca aggacaaaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382

<210> 83

<211> 382

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 83

taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgactcaga gccctagctc	60
tctgagcgct agcgtgggag atagggtgac aatcacttgt agggccagcc agaattgtgag	120
ctcctttctg aactggtatc agcagaagcc cggcaaggct ccaagaaggc tgatctatgg	180
cacatcctct ctgcagagcg gcgtagccaag cagattcagc ggctccggca gcggcacaga	240
ctacactctg actatcagca gcctccagcc agaggacttc gccacatact actgccagca	300
gtacactagc tggccttgga cattcggcca aggacaaaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382

<210> 84

<211> 382

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 84

taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgactcaga gccctagctc	60
tctgagcgct agcgtgggag acagagtgac tatcacttgc agagccagcc agagcatcaa	120
cagcttttctg aactggtatc agcagaagcc cggcaaggcc cctaggaggc tgatctacgg	180
cactaattct ctgcagagcg gcgtccctag cagatttagc ggccagcgaa gcggcacaga	240
cttcactctg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacatact actgccagca	300
gtacaacagc tggccttgga cattcggcca aggacaaaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382

<210> 85

<211> 382

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 85

taatacgact cactataggg cgtctcactc tgacatccag atgactcaga gccctagctc	60
tctgagcgct agcgtgggag atagggtgac tatcacatgt agggccagcc agaattgtgag	120
cagcttttctg aactggtatc agcagaagcc cggcaaggct cctaggaggc tgatctacgg	180
cactaactct ctgcagagcg gcgtccctag cagatttagc ggccagcgaa gcggcacaga	240
ctacacactg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacatact actgccagca	300
gtacaacagc tggccttgga ctttcggcca aggacaaaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382

<210> 86

<211> 382

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 86

taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatattcag atgacacaga gccctagctc	60
tctgagcgct agcgtgggag atagggtcac aatcacatgc agagccagcc agagcgtgag	120
cagcttttctg aactggtatc agcagaagcc cggcgaggcc ccaaggaggc tgatctacgg	180
cactaactct ctgcagagcg gcgtgccaag cagatttagc ggccagcgaa gcggcacaga	240
ctacactctg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacatact actgccagca	300
gtacactagc tggccttgga cattcggcca aggactaag ctggagatca agagaactga	360

gacgcctcga ctgtgccttc ta	382
<210> 87	
<211> 382	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VL	
<400> 87	
taatacgact cactataggg cgtctcactc tgacatccag atgacacaga gcccttcctc	60
tctgagcgct agcgtcggag atagggtgac aatcacatgt agggccagcc agaacatcaa	120
cagctttctg aactggtatc agcagaagcc cggcgaggct cctaggaggc tgatctacgg	180
cacaaattct ctgcagagcg gcgtcccttc taggttcage ggatccggca gcggcactga	240
ctacacactg acaatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacttact actgccagca	300
gtacactagc tggccttgga cattcggcca aggcacaaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382
<210> 88	
<211> 382	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VL	
<400> 88	
taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgactcaga gcccttcctc	60
tctgagcgct agcgtagggag acagagtgc aatcacatgt agggccagcc agagcgtgag	120
cagctatctg aactggtatc agcagaagcc cggcaaggct cctaggaggc tgatctacgg	180
cactaattct ctgcagagcg gcgtgccaag cagatttagc ggcagcggaa gcggcacaga	240
ctacactctg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacatact actgccagca	300
gtacactagc tggccttgga cattcggcca aggcacaaag ctggagatca agagaactga	360
gacgcctcga ctgtgccttc ta	382
<210> 89	
<211> 382	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VL	
<400> 89	
taatacgact cactataggg cgtctcactc tgatatccag atgactcaga gccctagctc	60
tctgagcgct agcgtagggag atagggtgac tatcacatgc agagccagcc agagcatcaa	120
cagctttctg aactggtatc agcagaagcc cggcgaggct cctaggaggc tgatctacgg	180

cactaattct ctgcagagcg gcgtgcctag cagatttagc ggcagcggaa gcggcacaga 240
 ctacactctg actatcagct ctctgcagcc agaggacttc gccacatact actgccagca 300
 gtacactagc tggccatgga cattcggcca aggcactaag ctggagatca agagaactga 360
 gacgcctcga ctgtgccttc ta 382

<210> 90

<211> 57

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 前导序列

<400> 90

atggacatca ggctcagett ggctttcett gtccttttca taaaaggtgt ccagtgt 57

<210> 91

<211> 57

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 前导序列

<400> 91

atggctgcag ttcaactctt agggctgctg ctgctttggc tcccagccat gagatgt 57

<210> 92

<211> 272

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 92

Met Asp Ser Tyr Leu Leu Met Trp Gly Leu Leu Thr Phe Ile Met Val

1 5 10 15

Pro Gly Cys Gln Ala Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro

20 25 30

His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn

35 40 45

Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr

50 55 60

Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys

65 70 75 80

Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro

85 90 95

Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro

100 105 110

Met	Gln	Pro	Val	Asp	Gln	Ala	Ser	Leu	Pro	Gly	His	Cys	Arg	Glu	Pro
115				120				125							
Pro	Pro	Trp	Glu	Asn	Glu	Ala	Thr	Glu	Arg	Ile	Tyr	His	Phe	Val	Val
130				135				140							
Gly	Gln	Met	Val	Tyr	Tyr	Gln	Cys	Val	Gln	Gly	Tyr	Arg	Ala	Leu	His
145				150				155				160			
Arg	Gly	Pro	Ala	Glu	Ser	Val	Cys	Lys	Met	Thr	His	Gly	Lys	Thr	Arg
165				170				175							
Trp	Thr	Gln	Pro	Gln	Leu	Ile	Cys	Thr	Gly	Glu	Met	Glu	Thr	Ser	Gln
180				185				190							
Phe	Pro	Gly	Glu	Glu	Lys	Pro	Gln	Ala	Ser	Pro	Glu	Gly	Arg	Pro	Glu
195				200				205							
Ser	Glu	Thr	Ser	Cys	Leu	Val	Thr	Thr	Thr	Asp	Phe	Gln	Ile	Gln	Thr
210				215				220							
Glu	Met	Ala	Ala	Thr	Met	Glu	Thr	Ser	Ile	Phe	Thr	Thr	Glu	Tyr	Gln
225				230				235				240			
Val	Ala	Val	Ala	Gly	Cys	Val	Phe	Leu	Leu	Ile	Ser	Val	Leu	Leu	Leu
245				250				255							
Ser	Gly	Leu	Thr	Trp	Gln	Arg	Arg	Gln	Arg	Lys	Ser	Arg	Arg	Thr	Ile
260				265				270							

<210> 93

<211> 153

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 93

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

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
115 120 125
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
130 135 140
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
145 150

<210> 94

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<220>

<221> SITE

<222> 56

<223> X是S或D

<220>

<221> SITE

<222> 58

<223> X是K或T

<220>

<221> SITE

<222> 61

<223> X是A或R

<220>

<221> SITE

<222> 75

<223> X是A或S

<220>

<221> SITE

<222> 76

<223> X是K或Q

<220>

<221> SITE

<222> 77

<223> X是N或S

<220>

<221> SITE

<222> 100

<223> X是W或L

<400> 94

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 His

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Xaa Asn Xaa Tyr Tyr Xaa Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Xaa Xaa Xaa 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

Thr Thr Gly Xaa Asn Ser Gly Tyr Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 95

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<220>

<221> SITE

<222> 28

<223> X是S或N

<220>

<221> SITE

<222> 29

<223> X是V或I

<220>

<221> SITE

<222> 30

<223> X是N或S

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> X是S或K

<220>

<221> SITE

<222> 32

<223> X是F或Y

<220>

<221> SITE

<222> 42

<223> X是K或E

<220>

<221> SITE

<222> 45

<223> X是R或K

<220>

<221> SITE

<222> 52

<223> X是S或N

<220>

<221> SITE

<222> 71

<223> X是Y或F

<220>

<221> SITE

<222> 92

<223> X是T或N

<400> 95

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 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Xaa Ala Pro Xaa Arg Leu Ile

35 40 45

Tyr Gly Thr Xaa Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Xaa Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Xaa Ser Trp Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100	105
<210> 96	
<211> 116	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> VH	
<220>	
<221> SITE	
<222> 75	
<223> X是A或S	
<220>	
<221> SITE	
<222> 77	
<223> X是N或S	
<400> 96	
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 His	
20 25 30	
Ala Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
35 40 45	
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Arg Asp Ser Val	
50 55 60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Xaa Gln Xaa 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	
Thr Thr Gly Leu Asn Ser Gly Tyr Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val	
100 105 110	
Thr Val Ser Ser	
115	

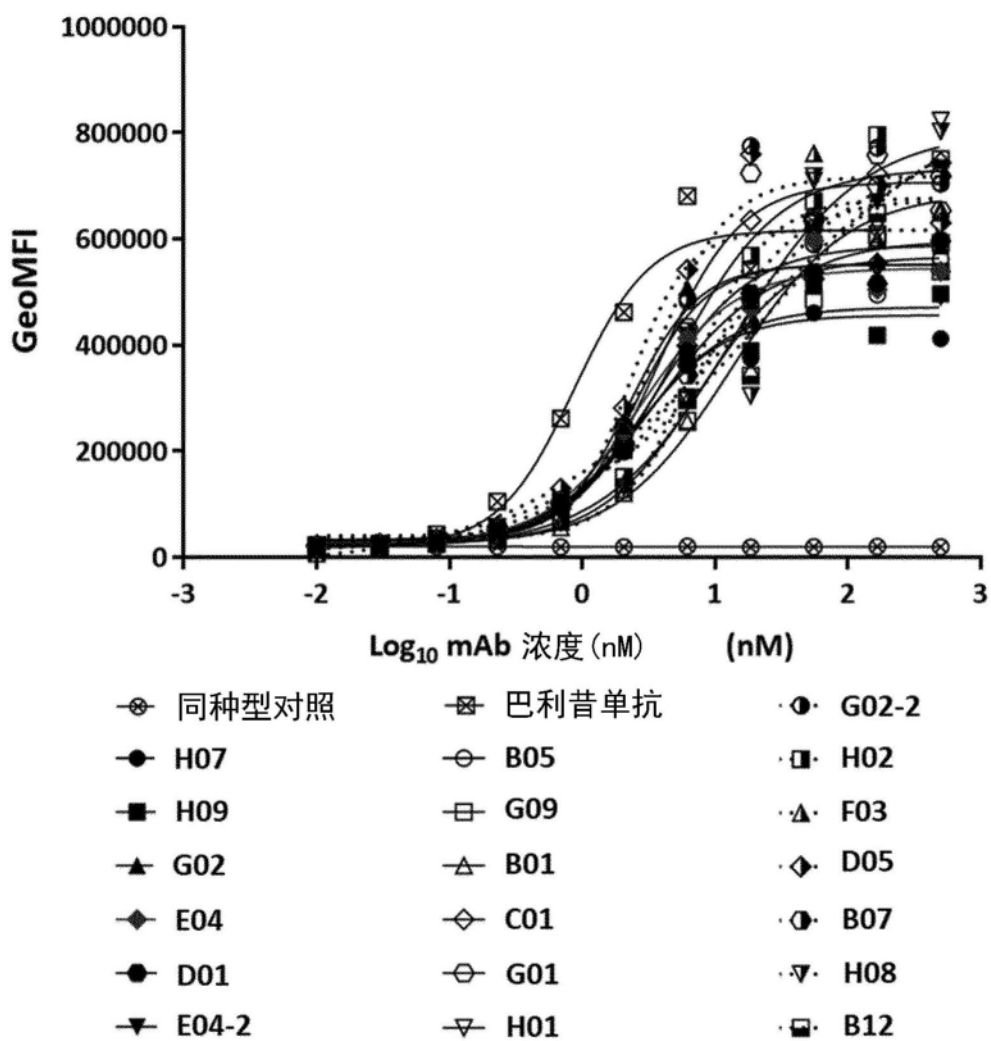


图1A

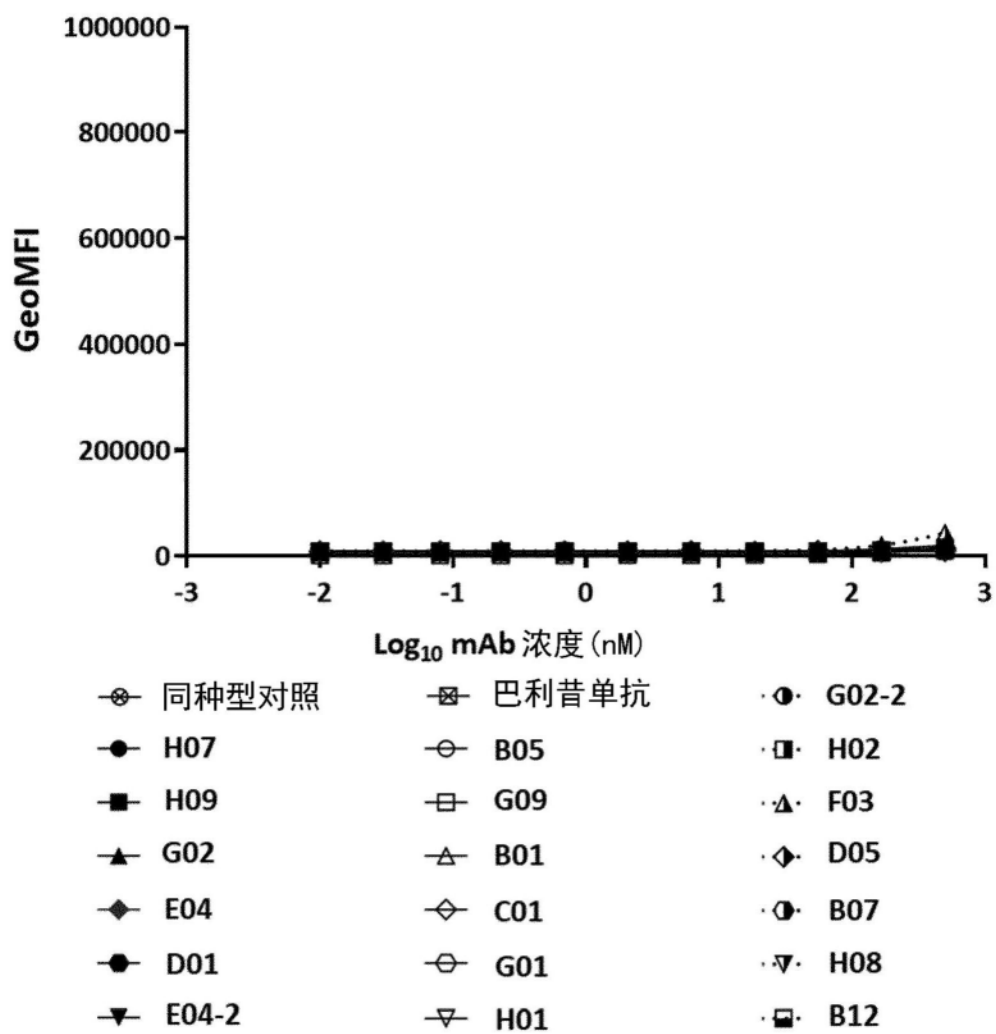


图1B

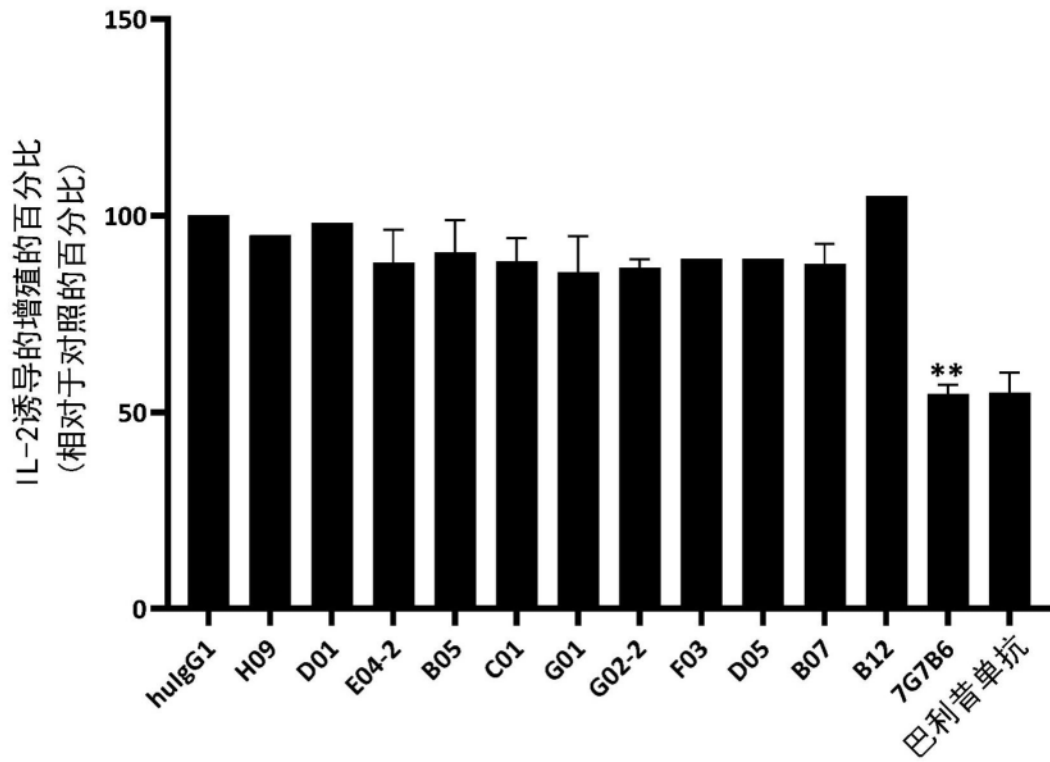


图2A

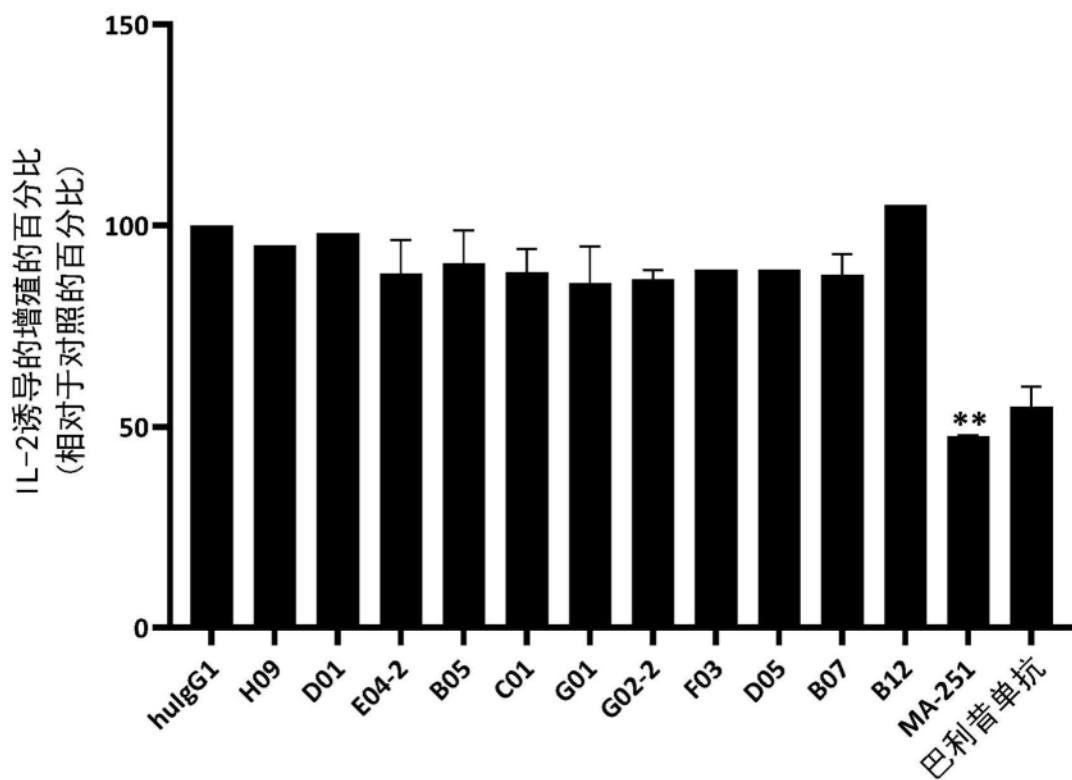


图2B

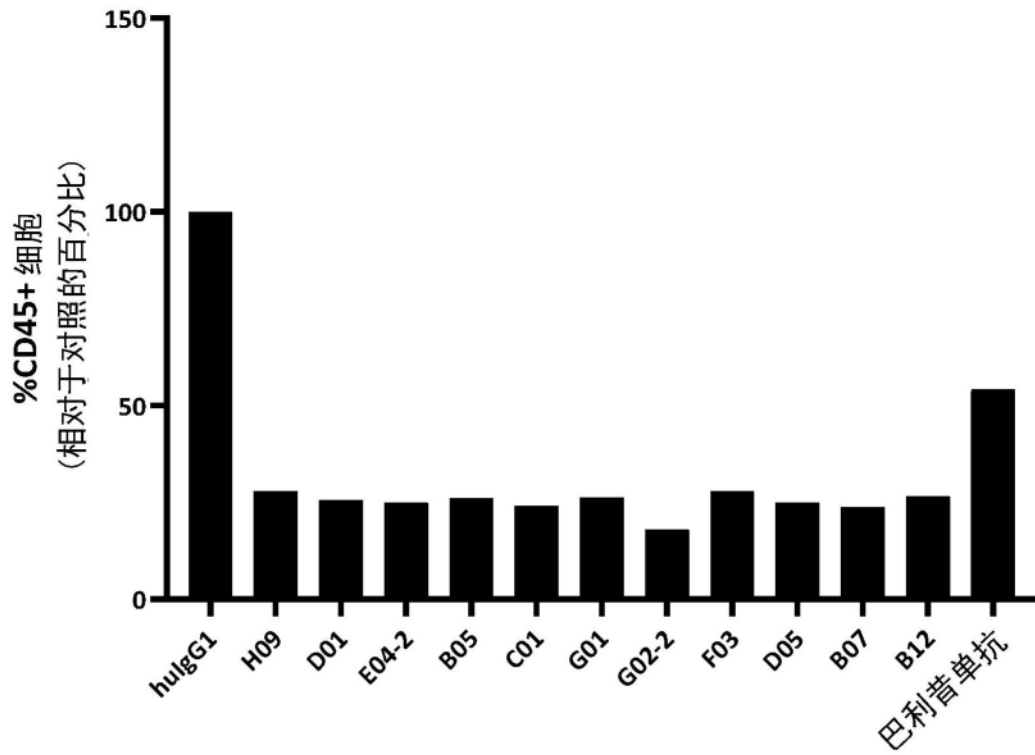


图3A

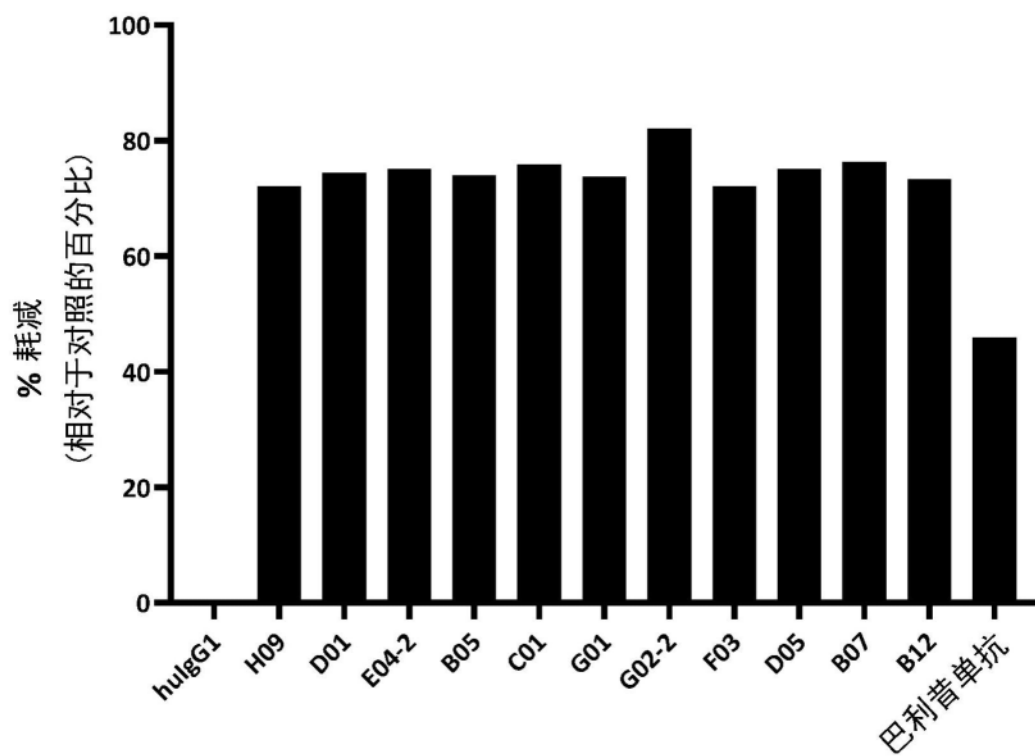


图3B

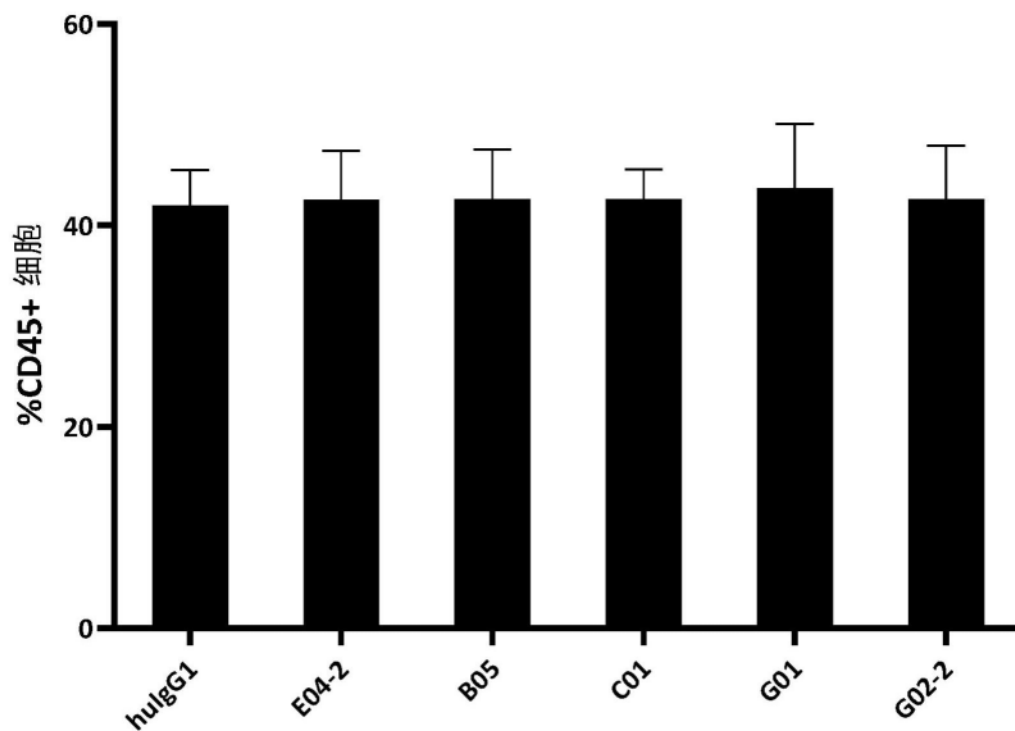


图4A

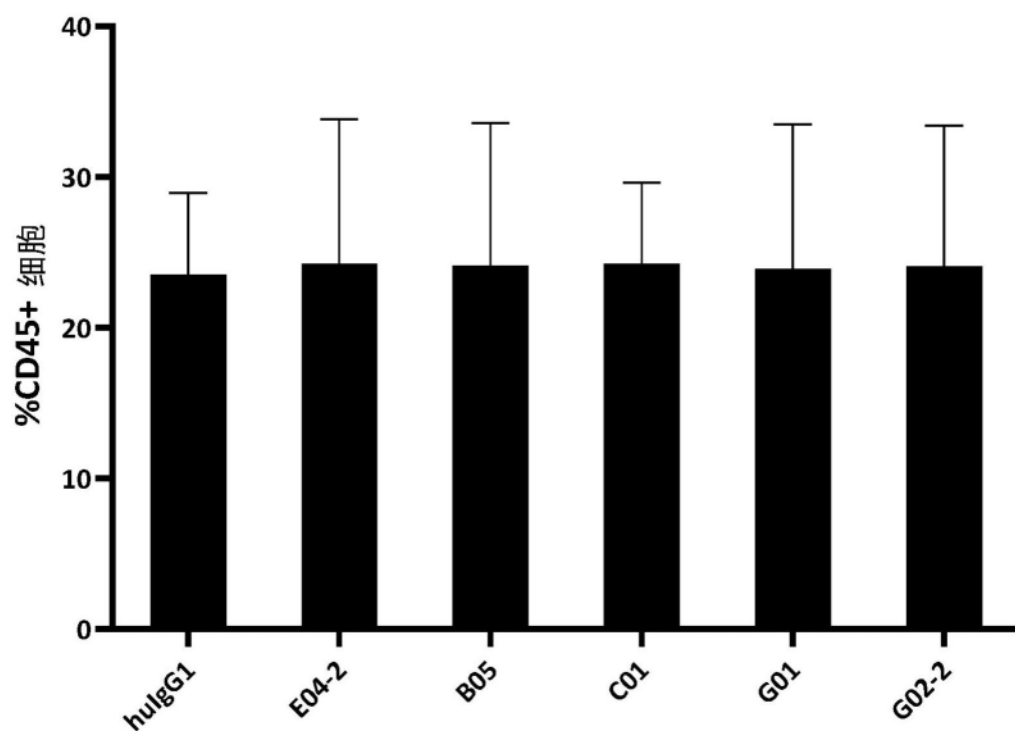


图4B

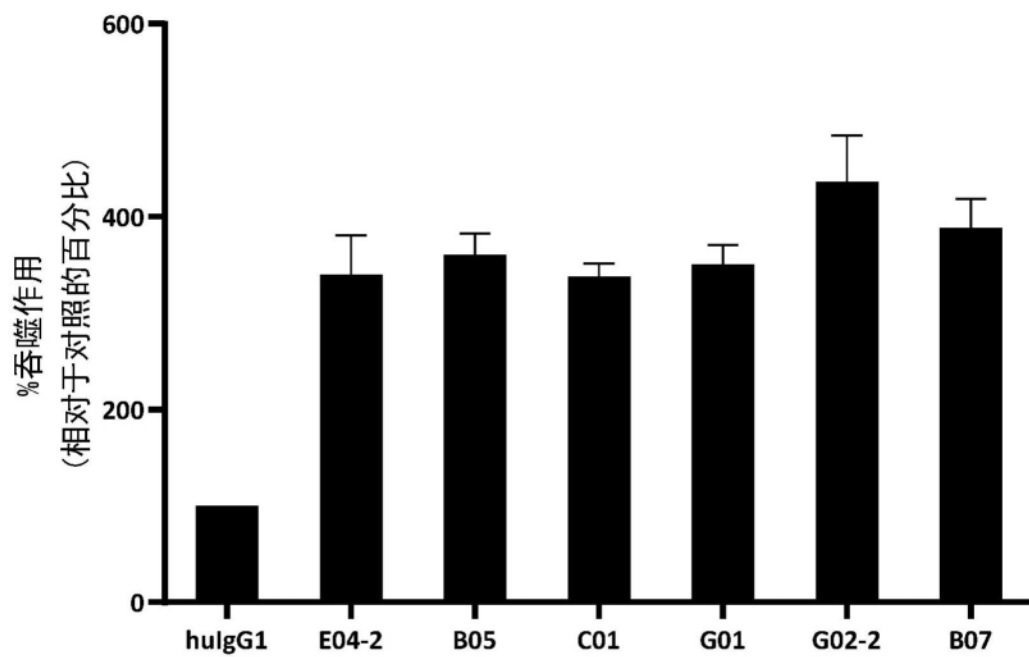


图5