



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105273086 A

(43) 申请公布日 2016.01.27

(21) 申请号 201510756148.2

(22) 申请日 2008.08.08

(30) 优先权数据

07114128.7 2007.08.09 EP

(62) 分案原申请数据

200880102642.5 2008.08.08

(71) 申请人 贝林格尔·英格海姆国际有限公司

地址 德国英格海姆

(72) 发明人 卡尔·海因茨·海德

埃里克·博格斯

埃林伯格·奥斯特曼

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 张平元

(51) Int. Cl.

C07K 16/46(2006.01)

C07K 16/28(2006.01)

权利要求书1页 说明书36页

序列表38页 附图19页

(54) 发明名称

抗 CD37 抗体

(57) 摘要

本发明涉及抗 CD37 抗体。嵌合及人源化抗 CD37 抗体及含其的药用组合物可用于治疗 B 细胞恶性肿瘤及病理学涉及 B 细胞之自身免疫病及炎症性疾病。

1. 抗体分子,其与人 CD37 结合且源自以下抗体:
 - a) 如下定义的鼠单克隆抗体:
 - i) 含 SEQ ID NO:2 所示氨基酸序列的可变重链;及
 - ii) 含 SEQ ID NO:4 所示氨基酸序列的可变轻链,或
 - b) 非人抗体,其与 a) 中所定义的抗体识别相同的人 CD37 表位,或识别与该表位相似或重迭的表位;
其中该抗体分子为嵌合或人源化抗体。
2. 权利要求 1 的抗体分子,其为由以下定义的嵌合抗体:
 - i) 由含 SEQ ID NO:2 所示氨基酸序列的可变重链定义的嵌合抗体;
 - ii) 由含 SEQ ID NO:4 所示氨基酸序列的可变轻链定义的嵌合抗体;
 - iii) 由人类起源的恒定重链及轻链定义的嵌合抗体。
3. 权利要求 2 的抗体,其中:
 - i) 该恒定重链为 IgG1 链;且
 - ii) 该恒定轻链为 κ 链。
4. 权利要求 3 的抗体,其中该恒定重链 i) 包含 SEQ ID NO:24 所示氨基酸序列,且该恒定轻链 ii) 包含 SEQ ID NO:26 所示氨基酸序列。
5. 权利要求 1 的抗体,其为由以下定义的人源化抗体:
 - a) 由 SEQ ID NO:2 所示可变重链中的 CDR 定义的人源化抗体;
 - b) 由 SEQ ID NO:4 所示可变轻链中的 CDR 定义的人源化抗体;
 - c) 由来源于人类抗体、且支撑所述 CDR 的框架定义的人源化抗体;
 - d) 由来自人类抗体的恒定重链及轻链定义的人源化抗体。
6. 权利要求 5 的抗体,其包含具有 SEQ ID NO:6 所示序列的可变重链。
7. 权利要求 6 的抗体,其包含具有 SEQ ID NO:12、14、16、18、20 或 22 所示序列的可变轻链。
8. 权利要求 5 的抗体,其包含具有 SEQ ID NO:8 所示序列的可变重链。
9. 权利要求 8 的抗体,其包含具有 SEQ ID NO:12、14、16、18、20 或 22 所示序列的可变轻链。
10. 权利要求 5 的抗体,其包含具有 SEQ ID NO:10 所示序列的可变重链。

抗 CD37 抗体

[0001] 本申请是申请日为 2008 年 8 月 8 日、中国申请号为 200880102642.5、发明名称为“抗 CD37 抗体”的发明申请的分案申请。

[0002] 介绍

[0003] 本发明涉及基于 B 细胞去除 (B cell depletion) 的免疫疗法。尤其,本发明涉及用于所述疗法,例如,用于治疗 B 细胞恶性肿瘤及自身免疫病的抗 CD37 抗体分子。

[0004] 使用单克隆抗体 (mAb) 的免疫疗法已呈现为一种用于治疗癌症及其它疾病之安全及选择性方法。详言之,自引入利妥昔单抗 (rituximab) (**Rituxan®**) (针对 B 细胞表面上之 CD20 抗原的抗体) 以来,单克隆抗体在基于 B 细胞去除之疗法 (例如, B 细胞恶性肿瘤之治疗) 中的作用已得到扩展。大量研究已证实呈单一药剂及组合疗法形式之利妥昔单抗在轻度 NHL (Hiddemann 等人, 2005a; Hiddemann 等人, 2005b; Hainsworth 2004; McLaughlin 等人, 1998)、套细胞淋巴瘤 (Forstpointner 等人, 2004; Kahl 等人, 2006; Foran 等人, 2000; Howard 等人, 2002; Romaguera 等人, 2005)、弥漫性大细胞淋巴瘤 (DLCL) (Coiffier 等人, 1998; Feugier 等人, 2005) 及伯基特 (Burkitt) 白血病 / 淋巴瘤 (Thomas 等人, 2006) 中的功效。然而, 仅一部分患者对疗法起反应且其中大多数患者在利妥昔单抗治疗后最终复发。因此, 已寻求对 B 细胞恶性肿瘤疗法而言比 CD20 潜在有效之新的 B 细胞治疗标靶 (Zhao 等人, 2007)。CD37 抗原为迄今为止尚未以与 B 细胞抗原 CD20 相同之程度被视为 B 细胞恶性肿瘤之标靶的细胞表面抗原。

[0005] CD37 是四跨膜蛋白 (tetraspanin) 超家族之成员,是具有四个跨膜域及两个细胞外环之高度糖基化细胞表面分子。CD37 几乎仅在成熟 B 细胞上表达,其中在外周血 B 细胞上表达程度最高,在浆细胞上表达程度降低,且在骨髓中之 CD10+ 前驱 B 细胞上表达程度不可检测。亦已报导 CD37 在静止性及活化 T 细胞、粒细胞及单核细胞上的表达程度低。在 B 细胞的瘤形成中,主要在侵袭性非霍奇金氏淋巴瘤 (non-Hodgkin's lymphoma, NHL) 及慢性淋巴白血病 (CLL) 中观测到 CD37 表达。亦在套细胞淋巴瘤 (MCL) 上发现高程度 CD37 表达。此表达模式使 CD37 成为抗体介导之癌症疗法的吸引人之处。

[0006] CD37 在 1986 年被首次描述且其特征为鼠单克隆抗体 MB-1 (Link 等人, 1986)。

[0007] CD37 之生理学作用尚未知晓。虽然缺乏 CD37 之小鼠未展示淋巴器官之发育及细胞组成的变化,但其具有降低之 IgG1 含量及衰减的 T 细胞介导之免疫反应 (Knobeloch 等人, 2000)。对 CD37⁺ T 细胞之研究表明 CD37 在 T 细胞增殖中之作用 (van Spriël 等人, 2004)。

[0008] 已报导 CD37 在各种疾病之恶性 B 细胞上表达。CD37 在大多数成熟 B 细胞恶性肿瘤 (例如, 伯基特淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma)、滤泡性淋巴瘤及淋巴细胞性淋巴瘤) 中表达 (Link 等人, 1986)。已在毛细胞白血病及患有慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 及不同亚型非霍奇金氏淋巴瘤 (NHL) (包括套细胞淋巴瘤 (MCL)) 之患者样品中观测到高程度 CD37 表达 (Schwartz-Albiez 等人, 1988; Barrena 等人, 2005)。一个利用抗体微数组进行免疫表型分类之报导声称 CD37 为恶性 CLL 细胞 (高 CD37 表达) 与正常外周血 (PB) 淋巴细胞 (低 CD37 表达) 之间的良好鉴别者 (Belov 等人, 2001)。

[0009] CD37 特异性 mAb 与癌细胞之结合可引发各种作用机制：首先，在抗体与 CD37 抗原之胞外域结合之后，其可活化补体级联且裂解靶细胞。其次，抗 CD37 抗体可介导抗体依赖性细胞介导之细胞毒活性 (ADCC) 至靶细胞，此发生在所结合抗体之 Fc 部分通过免疫系统之细胞毒活性细胞上的合适受体识别之后。

[0010] 第三，该抗体可改变 B 细胞对抗原或其它刺激起反应的能力。最终，抗 CD37 抗体可引发程序性细胞死亡（细胞凋亡）。

[0011] 抗 CD37 mAb MB-1 用两个放射免疫疗法试验在 B-NHL (B 细胞非霍奇金氏淋巴瘤 (B-cell non-Hodgkin's lymphoma) ;Press 等人,1989 ;Kaminski 等人,1992) 患者中评估。在一试验中，向 6 名复发 NHL 之患者投与治疗剂量之 ^{131}I -MB-1，且所有 6 名患者均实现临床完全缓解 (CR)，其中中位持续时间为 7 个月。值得注意的是，6 名患者中之 2 名在仅投与示踪剂量之 MB-1 以后显示临床消退，此表明抗体自身具有直接抗肿瘤作用。在第二试验中，应用放射性标记之 MB-1 以治疗难治 NHL 患者且引起 9 名可评估患者中之 3 名具有有限持续时间之目标反应 (Kaminski 等人,1992)。在两个试验中，均报导在注射示踪标记之 MB-1 抗体剂量后外周 B 细胞快速且瞬间去除。此等观测支持 MB-1 独立发挥细胞毒活性之结论。概言之，此等临床试验强调对于 B 细胞恶性肿瘤而言靶向 CD37 之可行性且表明抗 CD37 疗法之潜在临床相关性。

[0012] 关于 CD37 特异性抗体样单链分子（“小模块免疫药物” (Small Modular ImmunoPharmaceutical), SMIP) 之实验证据表明，用该分子治疗诱发活体外细胞凋亡且延迟活体内异种移植模型中之伯基特淋巴瘤生长。近来，描述来自 Trubion 之重组抗 CD37 SMIP Tru16.4 之抗细胞凋亡活性 (Zhao 等人,2004)。Tru 16.4 在来自肿瘤患者之初级 CLL 细胞上诱发卡斯蛋白酶 (caspase) 非依赖性细胞凋亡。对此等细胞之细胞凋亡的诱发大于利妥昔单抗对此等细胞之细胞凋亡的诱发且可与阿来组单抗 (Alemtuzumab) (CD52 拮抗剂) 对此等细胞之细胞凋亡的诱发相当。细胞凋亡诱发程度与 CD37 细胞表面表达成正比且可通过与抗人类 IgG 抗体交联而进一步得到增强。关于活体外细胞系，证明 CD37 表达与 ADCC 之相关性。在伯基特淋巴瘤小鼠模型 (Raji) 中，用抗 CD37scFv 治疗展示治疗功效 (Zhao 等人,2007)。此等数据首次证明靶向 CD37 为通过诱发细胞凋亡及 ADCC 进行之靶向抗肿瘤疗法的期望方法。

[0013] 总之，已显示 CD37 抗原通常在若干人类 B 细胞恶性肿瘤中之肿瘤细胞及成熟的正常 B 淋巴细胞上表达且基于抗 CD37 之疗法可为用于治疗 B 细胞恶性肿瘤之期望方法。不认为对 CD37 呈阳性之正常 B 细胞的去除为关键性的，此系因为来自大量患者之临床数据显示甚至用抗 CD20 mAb 长期去除 B 细胞达 6 个月亦不会显著降低 IgG 血清含量或增加感染危险 (Van der Kolk 等人,2002)。

[0014] 虽然上述抗 CD37 抗体或抗体样分子 (MB-1 及 SMIP Tru16.4) 已显示在 B 细胞恶性肿瘤中之抗肿瘤功效及靶向 CD37 之潜能，但仍对改良基于 B 细胞去除之疗法的替代性抗 CD37 抑制剂存在需要。

[0015] 发明概述

[0016] 本发明包括但不限于下述各项：

[0017] 1. 抗体分子，其与人 CD37 结合且源自以下抗体：

[0018] a) 如下定义的鼠单克隆抗体：

- [0019] i) 含 SEQ ID NO:2 所示氨基酸序列的可变重链 ;及
- [0020] ii) 含 SEQ ID NO:4 所示氨基酸序列的可变轻链,或
- [0021] b) 非人抗体,其与 a) 中所定义的抗体识别相同的人 CD37 表位,或识别与该表位相似或重迭的表位 ;
- [0022] 其中该抗体分子为嵌合或人源化抗体。
- [0023] 2. 项 1 的抗体分子,其为由以下定义的嵌合抗体 :
- [0024] i) 由含 SEQ ID NO:2 所示氨基酸序列的可变重链定义的嵌合抗体 ;
- [0025] ii) 由含 SEQ ID NO:4 所示氨基酸序列的可变轻链定义的嵌合抗体 ;
- [0026] iii) 由人类起源的恒定重链及轻链定义的嵌合抗体。
- [0027] 3. 项 2 的抗体,其中 :
- [0028] i) 该恒定重链为 IgG1 链 ;且
- [0029] ii) 该恒定轻链为 κ 链。
- [0030] 4. 项 3 的抗体,其中该恒定重链 i) 包含 SEQ ID NO:24 所示氨基酸序列,且该恒定轻链 ii) 包含 SEQ ID NO:26 所示氨基酸序列。
- [0031] 5. 项 1 的抗体,其为由以下定义的人源化抗体 :
- [0032] a) 由 SEQ ID NO:2 所示可变重链中的 CDR 定义的人源化抗体 ;
- [0033] b) 由 SEQ ID NO:4 所示可变轻链中的 CDR 定义的人源化抗体 ;
- [0034] c) 由来源于人类抗体、且支撑所述 CDR 的框架定义的人源化抗体 ;
- [0035] d) 由来自人类抗体的恒定重链及轻链定义的人源化抗体。
- [0036] 6. 项 5 的抗体,其包含具有 SEQ ID NO:6 所示序列的可变重链。
- [0037] 7. 项 6 的抗体,其包含具有 SEQ ID NO:12、14、16、18、20 或 22 所示序列的可变轻链。
- [0038] 8. 项 5 的抗体,其包含具有 SEQ ID NO:8 所示序列的可变重链。
- [0039] 9. 项 8 的抗体,其包含具有 SEQ ID NO:12、14、16、18、20 或 22 所示序列的可变轻链。
- [0040] 10. 项 5 的抗体,其包含具有 SEQ ID NO:10 所示序列的可变重链。
- [0041] 11. 项 10 的抗体,其包含具有 SEQ ID NO:12、14、16、18、20 或 22 所示序列的可变轻链。
- [0042] 12. 项 1 至 11 中任一项的抗体,其中所述抗体在 Fc 区有一或多个改变一或多种效应功能的突变。
- [0043] 13. 项 12 的抗体,其中所述改变效应功能为增加抗体依赖性细胞介导的细胞毒活性。
- [0044] 14. 项 12 或 13 的抗体,其中所述 Fc 区的一或多个突变是按 Kabat EU 编号索引编号之位置 332 的单一取代。
- [0045] 15. 项 12 或 13 的抗体,其中所述 Fc 区的一或多个突变是按 Kabat EU 编号索引编号之位置 239 及 332 的取代的组合。
- [0046] 16. 项 12 或 13 的抗体,其中所述 Fc 区的一或多个突变是按 Kabat EU 编号索引编号之位置 236 及 332 的取代的组合。
- [0047] 17. 项 12 或 13 的抗体,其中所述 Fc 区的一或多个突变是按 Kabat EU 编号索引编

号之位置 236、239 及 332 的取代的组合。

[0048] 18. 项 14-17 中任一项的抗体,其中所述取代为 I332E、S239D 及 G236A。

[0049] 19. 抗体,其与人 CD37 结合且具有含氨基酸序列 SEQ ID NO:28 的重链。

[0050] 20. 项 19 的抗体,其具有含氨基酸序列 SEQ ID NO:30 的轻链。

[0051] 21. 抗体,其与人 CD37 结合且具有含氨基酸序列 SEQ ID NO:36 的重链。

[0052] 22. 项 21 的抗体,其具有含氨基酸序列 SEQ ID NO:38 的轻链。

[0053] 23. 抗体,其与人 CD37 结合且具有含氨基酸序列 SEQ ID NO:32 的重链。

[0054] 24. 项 23 的抗体,其具有含氨基酸序列 SEQ ID NO:34 的轻链。

[0055] 25. 抗体,其与人 CD37 结合且具有含氨基酸序列 SEQ ID NO:40 的重链。

[0056] 26. 项 25 的抗体,其具有含氨基酸序列 SEQ ID NO:42 的轻链。

[0057] 27. DNA 分子,其包含编码项 1 至 26 中任一项的抗体的可变重链的区。

[0058] 28. 项 27 的 DNA 分子,其中该可变重链编码区与编码人类起源的恒定重链的区融合。

[0059] 29. 项 28 的 DNA 分子,其中该人类恒定重链为 IgG1。

[0060] 30. 项 29 的 DNA 分子,其中该 IgG1 由 SEQ ID NO:23 所示序列编码。

[0061] 31. 项 28 至 30 中任一项的 DNA 分子,其中该人类恒定重链在 Fc 区中具有一或多个按照项 14 至 18 任一项所定义的取代。

[0062] 32. DNA 分子,包含编码项 1 至 26 任一项的抗体的可变轻链的区。

[0063] 33. 项 32 的 DNA 分子,其中该可变轻链编码区与编码人类起源的恒定轻链的区融合。

[0064] 34. 项 33 的 DNA 分子,其中该恒定轻链为链。

[0065] 35. 项 34 的 DNA 分子,其中该 κ 轻链由 SEQ ID NO:25 所示序列编码。

[0066] 36. 表达载体,其含有项 27 至 31 中任一项的 DNA 分子及 / 或项 32 至 35 中任一项的 DNA 分子。

[0067] 37. 宿主细胞,其载运一或多个项 36 的载体。

[0068] 38. 项 37 的宿主细胞,其载运含项 27 至 31 中任一项的 DNA 分子的表达载体及含项 32 至 35 中任一项的 DNA 分子的第二表达载体。

[0069] 39. 项 37 的宿主细胞,其为哺乳动物细胞。

[0070] 40. 产生项 1 至 26 中任一项的抗体的方法,包括以一或多个按项 36 所述的载体转染哺乳动物宿主细胞,培养该宿主细胞,及回收且纯化抗体分子。

[0071] 41. 药用组合物,其包含一或多种按项 1 至 26 中任一项所述的抗 CD37 抗体分子作为活性成份,并包含可药用载剂。

[0072] 42. 项 41 的药用组合物,其进一步包含一或多种其它治疗剂。

[0073] 43. 项 42 的药用组合物,其中所述一或多种其它治疗剂选自靶向除 CD37 以外的 B 细胞抗原的药剂。

[0074] 44. 项 43 的药用组合物,其中所述 B 细胞抗原为 CD20。

[0075] 45. 项 42 的药用组合物,其中所述一或多种其它治疗剂选自诱发细胞凋亡的药剂。

[0076] 46. 项 45 的药用组合物,其中该药剂为 TRAIL 受体的调节剂。

- [0077] 47. 项 41 至 46 中任一项的药用组合物,其用于除去表面表达 CD37 的 B 细胞。
- [0078] 48. 项 47 的药用组合物,其用于治疗 B 细胞恶性肿瘤。
- [0079] 49. 项 48 的药用组合物,其中该 B 细胞恶性肿瘤选自 B 细胞非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkins lymphoma)、B 细胞慢性淋巴细胞白血病及多发性骨髓瘤。
- [0080] 50. 项 47 的药用组合物,其用于治疗病理学涉及 B 细胞的自身免疫病或炎性疾病。
- [0081] 51. 从一群细胞中去除表达 CD37 的 B 细胞的方法,其包含向该细胞群体投与项 1 至 26 中任一项的抗体分子或含有该抗体分子的药用组合物。
- [0082] 52. 项 51 的方法,其在体外进行。
- [0083] 53. 治疗 B 细胞恶性肿瘤患者的方法,所述 B 细胞恶性肿瘤选自 :B 细胞非霍奇金氏淋巴瘤、B 细胞慢性淋巴细胞白血病及多发性骨髓瘤,所述方法包括,对该患者施用有效量的按照项 41 至 46 中任一项所述的药用组合物。
- [0084] 本发明之一目标系提供用于治疗 B 细胞恶性肿瘤及对 CD37 阳性 B 细胞之去除起反应的其它病症之新颖 CD37 拮抗剂。
- [0085] 此外,本发明之一目标系提供具有改良效应功能之抗 CD37 抗体。详言之,本发明者试图提供具有抗体依赖性细胞介导之细胞毒活性 (ADCC) 之抗 CD37mAB。
- [0086] 为解决本发明潜在之问题,使用鼠单克隆抗 CD37 抗体作为用于产生可用于人类疗法中之嵌合及人源化抗 CD37 抗体的起始抗体。
- [0087] 第一方面,本发明提供与人 CD37 结合且衍生自以下抗体的抗体分子:
- [0088] a) 鼠单克隆抗体,其由以下结构定义:
- [0089] i) 包含 SEQ ID NO:2 所示氨基酸序列的可变重链;及
- [0090] ii) 包含 SEQ ID NO:4 所示氨基酸序列的可变轻链,或
- [0091] b) 非人类抗体,其与 a) 中所定义的抗体识别相同的人 CD37 表位,或识别与该表位相近(close)或重叠(overlap)的表位;
- [0092] 其中该抗体分子为嵌合或人源化抗体。
- [0093] 正如从下文所述可以理解到的,“衍生自”另一抗体(即起始抗体)的抗体是指,对起始抗体如下述进行修饰而制得的抗体。
- [0094] 在一优选实施例中,所述抗体分子是从 a) 所述起始抗体衍生得到的嵌合或人源化抗体分子。具有相关序列的抗体称为 G28.1 且描述于 WO 2005/017148 中。
- [0095] b) 类起始抗体可以选自,例如,象 G28.1 一样,在 Third HLDA Workshop 中表征为 CD37 抗原的 CD37 特异性抗体;此等抗体称为 HD28、HH1、BI14、F97-3G6(Ling 及 MacLennan, 1987)。其它已描述之 CD37 特异性抗体包括 RFB-7、Y29/55、MB-1、M-B371、M-B372 及 IPO-24。根据 Moldenhauer, 2000 及 Schwartz-Albiez 等人,1988,所有此等抗体(包括 G28.1)识别相同或部分一致或相近之 CD37 表位。Schwartz-Albiez 等人,1988 指示该表位位于 CD37 之碳水化合物部分中。大量以上抗体可购得,例如 HH1 (SantaCruz)、RFB-7 (Bioscience)、Y29/55 (Biogenesis)、M-B371 (BD Biosciences)、M-B372 (SantaCruz) 及 IPO-24 (AbCam)。
- [0096] 其它 CD37 特异性抗体有 S-B3 (Biosys)、NMN46 (Chemicon) 及 IC0-66 (Bioprobe)。可通过竞争性结合试验或通过如 Moldenhauer 等人,1987 及 Moldenhauer, 2000 所述之交叉抑制放射免疫试验来确定抗体是否识别与 G28.1 相同的表位。

[0097] 举例来说,可在ELISA中,使用涂有CD37蛋白或CD37肽或CD37阳性细胞之板(细胞ELISA)且测量在竞争候选抗体存在下生物素标记抗体之结合来测定竞争性结合。在竞争抗体或抗体衍生片段存在下,在抗体识别共同表位之状况下,经生物素标记之G28.1(或已知识别相同表位之另一抗体)之结合减少。为鉴别G28.1表位肽,可合成或产生衍生自CD37序列之片段或短的多肽或重组蛋白且在ELISA试验中测量G28.1与所述肽/多肽之结合。如实施例所述,亦可经FACS分析来测定竞争性结合。

[0098] b)中所定义的抗体可以以与G28.1类似之方式用作起始抗体,以产生嵌合或人源化抗体分子。

[0099] b)类起始抗体亦可从头(de novo)生成,是分别用含相关表位之肽或蛋白片段、或编码所述肽/片段的DNA分子进行免疫,以获得对G28.1的表位具反应性的抗体。

[0100] 起始抗体b)亦可通过用载运相关表位的全细胞进行免疫;再筛选由此获得的杂交瘤细胞对分泌抗体的竞争性结合而获得。

[0101] 术语“抗CD37抗体分子”包含抗CD37抗体、抗CD37抗体片段、以及与所述抗体分子之偶联物。在本发明之含义中,抗体包括嵌合单克隆抗体及人源化单克隆抗体。术语“抗体”与“抗体分子”可互换使用,应包含完整免疫球蛋白(其由淋巴细胞产生、且例如存在于血清中)、由杂交瘤细胞系分泌之单克隆抗体、宿主细胞重组表达之多肽(其具有免疫球蛋白或单克隆抗体之结合特异性)、及对所述抗体进行修饰或进一步加工但保留其结合特异性而衍生得到的分子。

[0102] 在本发明之一实施例中,抗CD37抗体分子为由以下定义之嵌合抗体:

[0103] i) 包含SEQ ID NO:2所示氨基酸序列的可变重链;

[0104] ii) 包含SEQ ID NO:4所示氨基酸序列的可变轻链;

[0105] iii) 具有人类起源之恒定重链及轻链。

[0106] 嵌合小鼠/人类抗体之构建及产生为本领域已知(Boulianne等人,1984)。非人类抗体的可变区通常与人类免疫球蛋白之免疫球蛋白恒定区的至少一部分(Fc)连接。可根据熟知之方法自多种人类细胞、优选自永生化B细胞分离人类恒定区DNA序列(参见Kabat等人,1991;及WO 87/02671)。所述抗体分子可含有所有或仅一部分恒定区,只要其展示与CD37抗原及Fc受体之特异性结合即可。恒定区之类型及长度的选择视是否需要效应功能(如补体结合或抗体依赖性细胞介导之毒性)及抗体分子之所欲药理学性质而定。

[0107] 在某些实施例中,本发明的抗体分子为嵌合CD37特异性抗体,其具有与人类重链恒定区IgG1融合之a)或b)中所定义的非人类抗体的重链可变区及与人类轻链恒定区κ融合之a)或b)中所定义的非人类抗体的轻链可变区。

[0108] 在另一实施例中,抗体分子为嵌合CD37特异性抗体,其具有与人类重链恒定区IgG1(其为具有SEQ ID NO:24所示序列(DNA编码序列:SEQ ID NO:23)之IgG1分子或自其衍生的突变IgG1分子)融合的SEQ ID NO:2所示重链可变区且其具有与SEQ ID NO:26所示人类轻链恒定区κ(DNA编码序列:SEQ ID NO:25)融合的SEQ ID NO:4所示轻链可变区。

[0109] 用于嵌合a)或b)所定义之非人类起始抗体之其它人类恒定区是本领域技术人员可获得的,例如IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE或IgM(替代IgG1)或λ(替代κ)。恒定区亦可为嵌合的,例如重链IgG1/IgG2或IgG1/IgG3嵌合体。

[0110] 本发明某些实施例中,抗 CD37 抗体分子为由以下定义的人源化抗体:

[0111] i. SEQ ID NO:2 所示可变重链内之 CDR,及

[0112] ii. SEQ ID NO:4 所示可变轻链内之 CDR,

[0113] iii. 支撑所述 CDR 之衍生自人类抗体之框架,

[0114] iv. 来自人类抗体之恒定重链及轻链。

[0115] 人源化形式之非人类抗体(例如,鼠、大鼠或兔抗体)为含有衍生自非人类免疫球蛋白之最小序列的免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(诸如,Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂或具有抗体子序列之其它抗原结合分子)。

[0116] 人源化抗体包括其中来自受体抗体之互补决定区(CDR)的残基经来自非人类物种(供体抗体)(诸如,小鼠、大鼠或兔)之 CDR 之具有所欲特异性、亲和力及能力的残基置换之人类免疫球蛋白(来自受体抗体)。在一些情况下,人类免疫球蛋白之 Fv 框架残基经相应非人类残基置换。

[0117] 在本发明的人源化抗体中,已将编码 a) 或 b) 中所定义之非人类起始抗体之 CDR 的序列移植至人类免疫球蛋白重链及轻链之各个基因中。

[0118] 单克隆抗体之“互补决定区”(CDR)应理解为,按照 Kabat 等人,1991 以及 Chothia 及 Lesk(1987)所述,参与特异性抗原结合的那些氨基酸序列。在 SEQ ID NO:2 及 SEQ ID NO:4 所示可变区序列中,CDR 序列常规上可通过在 Kabat 序列数据库中搜索序列特征来确定。

[0119] 获得人源化抗体的技术通常是本领域技术人员可得知的,见例如 US 5,225,539、US 6,548,640 及 US 6,982,321。

[0120] 可将 CDR 移植抗体之合适框架残基回复至鼠残基以改良结合亲和力。如上所述,根据本领域已知方法,专家知道如何自给定之非人类抗体获得 CDR,选择及获得适当人类免疫球蛋白基因,将 CDR 移植至此等基因中,修饰所选框架残基,在适当宿主细胞(例如,中国仓鼠卵巢(CHO)细胞)中表达 CDR 移植抗体,及测试所得重组抗体之结合亲和力及特异性。

[0121] 为获得人源化抗体,将由重链 CDR 及轻链 CDR 形成之抗原结合位点自分泌啮齿动物(鼠)单克隆抗体之细胞的 DNA 切出,移植至编码人类抗体框架之 DNA 中。

[0122] 或者对于 CDR 移植而言,如 US 5,639,641 中所述,可通过所谓的“表面重整(resurfacing)”技术来使非人类、尤其鼠抗 CD37 抗体人源化,藉此除表面暴露之残基外,啮齿动物框架保留无变化。

[0123] 在另一方面中,本发明涉及含有具有 SEQ ID NO:6 所示序列的可变重链及具有选自 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20 及 SEQ ID NO:22 所示序列之序列的可变轻链的人源化抗体。

[0124] 在另一方面中,本发明涉及含有具有 SEQ ID NO:8 所示序列的可变重链及具有选自 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20 及 SEQ ID NO:22 所示序列之序列的可变轻链的人源化抗体。

[0125] 在另一方面中,本发明涉及含有具有 SEQ ID NO:10 所示序列的可变重链及具有选自 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20 及 SEQ ID NO:22 所示序列之序列的可变轻链的人源化抗体。

[0126] 以上所定义的人源化抗体显示于表 1 中。

[0127] 在某些实施例中,人源化抗体具有人类重链恒定区 IgG1 及人类轻链恒定区 κ 。如上文关于嵌合抗体所述,恒定区可选自其它种类及亚类。

[0128] 在某些实施例中,在本发明的人源化抗体中,人类恒定重链 IgG1 为具有 SEQ ID NO:24 所示序列之 IgG1 分子或自其衍生的突变 IgG1 分子,且人类轻链恒定区 κ 具有 SEQ ID NO:26 所示序列。

[0129] 本发明之抗 CD37 抗体分子亦可为由序列表中所示氨基酸序列定义的抗体的变体。使用通常可用之技术,本领域技术人员将能够制备、测试及利用以上所定义的抗体的功能变体。实例为 CDR 及 / 或框架中至少一个位置改变之变异抗体、在框架区中具有单个氨基酸取代且偏离种系序列之变异抗体、具有保守氨基取代的抗体、由与序列表中编码抗体可变链的 DNA 分子在严格条件下杂交的 DNA 分子编码的抗体。

[0130] 在指定各个氨基酸的性质的情况下,可进行合理取代以获得保守起始抗体的总体分子结构的抗体变体。可(例如)基于各个氨基酸之极性、电荷、溶解度、疏水性、亲水性及 / 或两性性质之相似性进行氨基酸取代,意即“保守取代”。本领域技术人员熟悉通常实施之氨基酸取代(举例而言,如 WO 2007/042309 中所述)及获得由此修饰的抗体的方法。在给定遗传密码及重组及合成 DNA 技术之情况下,通常可设计编码具有一或多个保守氨基酸交换之变异抗体的 DNA 分子且易于获得各个抗体。

[0131] 与由序列表中可变链所定义的抗体相比,本发明所包含的抗体变体在 CDR 区中具有至少 60%、更优选至少 70%或 80%、更优选至少 90%及最优选至少 95%之序列同一性。优选抗体亦在 CDR 区中具有至少 80%、更优选 90%及最优选 95%之序列相似性。优选抗体变体在可变区中具有至少 60%、更优选至少 70%或 80%、更优选至少 90%及最优选至少 95%之序列同一性。优选抗体亦在可变区中具有至少 80%、更优选 90%及最优选 95%之序列相似性。

[0132] 两个多肽序列之间的“序列同一性”指示这些序列之间相同氨基酸的百分比。“序列相似性”指示相同或代表保守氨基酸取代的氨基酸的百分比。

[0133] 亦可使用具有序列表中指定序列的抗体作为起点,使一或多个氨基酸残基、优选在一或多个 CDR 中的氨基酸残基优化及多样化,并筛检所得抗体变体集合中具有改良性质之变体,来获得变体。已证明可变轻链 CDR3、可变重链 CDR3、可变轻链 CDR1 及 / 或可变重链 CDR2 中一或多个氨基酸残基之多样化是有用的。多样化可通过本领域已知的方法(例如,WO 2007/042309 中提及之所谓 TRIM 技术)进行。

[0134] 在另一实施例中,本发明之抗 CD37 抗体分子为“亲和力成熟”抗体。

[0135] “亲和力成熟的”抗 CD37 抗体为衍生自具有序列表中序列的抗体的抗 CD37 抗体,其在一或多个 CDR 中具有一或多个改变,所述改变引起与各个原始未成熟抗体相比对抗原亲和力之改良。一种用于产生所述抗体突变体之方法包括噬菌体展示(Hawkins 等人,1992;及 Lowman 等人,1991)。简言之,使若干高变区位点(例如,6-7 个位点)突变以在各位点产生所有可能之氨基酸取代。由此产生的抗体突变体自丝状噬菌体颗粒以单价方式呈现为与封装于各颗粒中之 M13 之基因 III 产物的融合体。接着,筛检噬菌体展示的突变体的如本文所揭示之生物活性(例如,结合亲和力)。

[0136] 亲和力成熟抗体亦可通过如以下所述的方法来产生:例如, Marks 等人,1992(通过可变重链(VH)及可变轻链(VL)域改组实现亲和力成熟);或 Barbas 等人,1994;Shier

等人,1995 ;Yelton 等人,1995 ;Jackson 等人,1995 ;及 Hawkins 等人,1992 (CDR 及 / 或框架残基之随机突变诱发)。优选之亲和力成熟抗体将对靶抗原具有纳摩尔或甚至皮摩尔之亲和力。

[0137] 在另一实施例中,本发明之抗 CD37 抗体分子为“去免疫的 (de-immunized)”抗体。

[0138] “去免疫的”抗 CD37 抗体为衍生自具有序列表中所示序列之人源化或嵌合抗体的抗体,其在氨基酸序列中具有一或多个改变,所述改变引起与各个原始非去人源化抗体相比抗体的免疫原性减少。一种用于产生所述抗体突变体之方法包括鉴别及移除抗体分子之 T- 细胞表位 (Baker 及 Jones, 2007)。在第一步骤中,可通过如文献 (Jones 等人, 2004 ; Jones 等人, 2005 ;Reche 等人, 2004 ;Hertz 等人, 2006) 中所述之若干方法,例如通过活体外测定 T- 细胞表位或模拟预测 (in silico prediction) 所述表位来测定抗体分子之免疫原性。一旦已鉴别 T- 细胞表位功能之关键残基,则可进行突变以移除免疫原性且保留抗体活性 (Jones 等人, 2005 ;Tangri 等人, 2005)。用于将突变引入蛋白中的方法为本领域已知,例如通过交迭 PCR 技术。

[0139] 因为抗体的 Fc 区与多种 Fc 受体相互作用,引起多种重要的功能能力 (称为“效应功能”),所以在某些实施例中,所述抗体为全长抗体或含有 Fc 区的抗体,后者只要展示与抗原的相关部分及与 Fc 受体均特异性结合即可。恒定区之类型及长度的选择视效应功能 (如补体结合或抗体依赖性细胞介导之细胞毒活性) 是否为所欲特征及抗体蛋白之所欲药理学性质而定。

[0140] 在本发明之一实施例中,抗 CD37 抗体为具有 Fc 区或其相关部分之嵌合或人源化抗体,该 Fc 区或其相关部分已经工程化以调节效应功能,尤其增强抗体与一或多个 Fc 受体之结合,藉此增强效应功能 ADCC。与未经 Fc 工程化之亲本抗体相比,Fc 区之工程化在效应细胞存在下更有效地介导抗体之效应功能。在一实施例中,该抗体变体介导比亲本抗体介导的 ADCC 大的 ADCC。(在下文中,若未另外说明,则在抗体分子之情形中或在 IgG 或 Fc 区之情形中术语“亲本”分别指未经工程化的抗体分子、Fc 区或 IgG,自其衍生突变 (工程化) 分子)。

[0141] 多种 Fc 区之修饰已在本领域 (科学文献及专利文献) 中提出,例如在 EP 0307434、WO 9304173、WO 9734631、WO 9744362、WO 9805787、WO 9943713、WO 9951642、WO 9958572、WO 02060919、WO 03074679、WO 2004016750、WO 2004029207、WO 2004063351、WO 2004074455、WO 2004035752、WO 2004099249、WO 2005077981、WO 2005092925、WO 2006019447、WO 2006031994、WO 2006047350、WO 2006053301、WO 2006088494 及 WO 2007041635 中提出。

[0142] 在优选实施例中,本发明的抗体为在位置 332 及 / 或 239 及 / 或 236 具有氨基酸取代之 Fc 变体。在优选实施例中,本发明的抗体在 Fc 区中具有选自以下之群的突变:

[0143] i) 在位置 332 的单一取代,优选 I332E;

[0144] ii) 在位置 239 及 332 的取代组合,优选 S239D/I332E;

[0145] iii) 在位置 236 及 332 的取代组合,优选 G236A/I332E;

[0146] iv) 在位置 236、239 及 332 的取代组合,优选 G236A/S239D/I332E。

[0147] 以上所定义的取代可参见,例如 Lazar 等人,2006, WO 2004029207 及 WO 2007041635。

[0148] 本发明抗体之 Fc 变体根据其包含之氨基酸修饰来定义。因此,举例而言,I332E 为相对于亲本 Fc 多肽具有 I332E 取代之 Fc 变体。同样,S239D/I332E 定义相对于亲本 Fc 多肽具有取代 S239D 及 I332E 之 Fc 变体,且 S239D/I332E/G236A 定义相对于亲本 Fc 多肽具有取代 S239D、I332E 及 G236A 之 Fc 变体。

[0149] 编号系根据 EU 编号方案 (Kabat 等人,1991),EU 编号方案系指 EU 抗体之编号 (Edelman 等人,1969)。本领域技术人员将了解此等惯例由免疫球蛋白序列之特异性区中的非序列编号组成,使得能够归一化提及免疫球蛋白家族之保守位置。

[0150] 在以上所定义的抗体中,经取代之位置 236、239 及 332 分别对应于 SEQ ID NO:24 中描绘的 IgG1 重链之位置 119、122 及 215。(在 SEQ ID NO:28、32、36 及 40 所示抗体 A2、A4、B2 及 B4 的重链的全长序列中,经取代之氨基酸在位置 235、238 及 331 处)。

[0151] 在某些实施例中,本发明之 Fc 变体系基于人类 IgG 序列,且因此将人类 IgG 序列用作与其它序列相比较之“基础”序列。对于本发明的抗体而言,工程化 Fc 区优选为 IgG、尤其 IgG1,但其亦可为 IgG2 或来自其它免疫球蛋白种类(诸如,IgA、IgE、IgD、IgM)或两种或两种以上免疫球蛋白种类之嵌合形式(例如,IgG2/IgG1)之变异序列及其类似物。虽然在一个亲本 IgG 之情形中将本发明之 Fc 变体工程化,但所述变体亦可在另一第二亲本 IgG 情形下经工程化或“转移”至另一第二亲本 IgG 情形。此系通过通常基于第一 IgG 序列与第二 IgG 序列之间的序列或结构同源性确定第一 IgG 与第二 IgG 之间的“等效”或“相应”残基及取代来进行。为确定同源性,将本文所概述之第一 IgG 之氨基酸序列直接与第二 IgG 之序列相比。在比对所述序列之后,使用本领域已知的一或多个同源性比对程序,允许必需之插入及缺失以维持比对(亦即,避免经由任意缺失及插入而消除保守残基),从而确定与第一 Fc 变体之初始序列中之特定氨基酸等效的残基。无论如何确定等效或相应残基,且无论制造 IgG 之亲本 IgG 的一致性如何,均意欲说明本发明中所用之 Fc 变体可工程化为与 Fc 变体具有显著序列或结构同源性之任何第二亲本 IgG。因此,举例而言,若通过使用上述方法或用于确定等效残基之其它方法来产生亲本抗体为人类 IgG1 之变异抗体,则可在(例如)人类 IgG2 亲本抗体、人类 IgA 亲本抗体中将变异抗体工程化(参见 WO 2007041635)。

[0152] 本发明的抗体靶向抗原 CD37,在 CD37 表达程度高于 CD20 表达程度之疾病中靶向抗原 CD37 可比靶向 CD20 有利,举例而言,如在慢性淋巴细胞白血病(其中样品已显示与 CD20mRNA 之低程度表达相比,CD37mRNA 表达程度高)中。

[0153] 已显示在拉莫斯(Ramos)细胞上的 ADCC 活性、全血中之正常 B 细胞去除及拉莫斯伯基特淋巴瘤细胞去除方面,本发明抗体优于利妥昔单抗(登记之抗 CD20 抗体)。如可在本发明之实验所示,本发明的抗体(未经 Fc 工程化及经 Fc 工程化抗体)具有优于利妥昔单抗的 B 细胞去除活性的 B 细胞去除活性。具有突变 Fc 区的抗体显示如与利妥昔单抗相比增加约 10 倍的 B 细胞去除活性(图 11B)。

[0154] 本发明之 CD37 抗体之代表在未交联之情况下显示有效的促细胞凋亡活性;在此方面,具有此性质的抗体优于在未交联情况下不显示细胞凋亡之抗 CD37 SMIP Tru16.4(Zhao 等人,2007)。在未交联情况下诱发细胞凋亡(其可由经 Fc 工程化或未经 Fc 工程化之本发明抗体显示)在活体内缺乏交联剂(例如,具有 Fc γ 受体之效应细胞)之情况下或在低密度标靶抗原 CD37(例如,具有 CD37 低表达程度之肿瘤细胞)下为有利的。在未交联情况下诱发细胞凋亡的抗体可能仍引起细胞死亡,而依赖于交联的抗体不会引起细

胞死亡。

[0155] 在另一方面中,本发明之抗 CD37 抗体分子为衍生自根据本发明之人源化或嵌合 CD37 特异性抗体的抗体片段。为获得抗体片段,例如 Fab 片段,可藉助于常规技术(例如,使用木瓜蛋白酶)来实现消化。木瓜蛋白酶消化之实例描述于 WO 94/29348 及 US 4,342,566 中。抗体之木瓜蛋白酶消化通常产生两个一致之抗原结合片段(所谓的 Fab 片段),各片段具有单一抗原结合位点及残余 Fc 片段。胃蛋白酶处理产生具有两个抗原结合位点且仍能够与抗原交联之 $F(ab')_2$ 片段。

[0156] 通过抗体消化获得之 Fab 片段亦含有轻链恒定域及重链之第一恒定域(CH_1)。Fab' 片段与 Fab 片段不同,其不同之处在于其在重链 CH_1 域之羧基末端含有其它残基,包括一或多个来自抗体铰链区的半胱氨酸。Fab'-SH 在本文中表恒定域之半胱氨酸残基带有游离硫醇基之 Fab'。F(ab')₂ 抗体片段最初以其间具有铰链半胱氨酸之 Fab' 片段对的形式产生。抗体片段亦可通过产生各个编码性 DNA 片段之分子生物学方法而产生。

[0157] 抗体分子通常为由两个轻链/重链对组成之四聚体,但亦可为二聚体,亦即,由轻链/重链对组成(例如, Fab 或 Fv 片段),或其可为单体单链抗体(scFv; Johnson 及 Bird, 1991)、微型抗体或双功能抗体。

[0158] 抗 CD37 抗体分子亦可呈偶联物形式,亦即,与细胞毒活性剂、尤其诱发肿瘤细胞之细胞毒活性(例如,细胞凋亡或有丝分裂停滞)之细胞毒活性剂化学偶合的抗体分子。由于正常药理学清除机制,药物偶联物(“免疫偶联物”)中所用的抗体仅以有限量与标靶细胞接触且结合。因此,偶联物中所用之细胞毒活性剂必须具有高度细胞毒活性,使得出现足够细胞杀死以引起治疗效应。如 US 2004/0241174 中所述,所述细胞毒活性剂之实例包括紫杉烷(taxane)(参见例如 WO 01/38318 及 WO 03/097625)、DNA 烷基化剂(例如, CC-1065 类似物)、蒽环霉素(anthracycline)、土布力辛(tubulysin)类似物、多卡米辛(duocarmycin)类似物、羟道诺红霉素(doxorubicin)、阿瑞他汀 E(auristatin E)、蓖麻毒素 A 毒素及包含反应性聚乙二醇部分之细胞毒活性剂(参见例如 Sasse 等人, 2000; Suzawa 等人, 2000; Ichimura 等人, 1991; Francisco 等人, 2003; US 5,475,092、US 6,340,701、US 6,372,738 及 US 6,436,931、US 2001/0036923、US 2004/0001838、US 2003/0199519 及 WO 01/49698)。

[0159] 在一优选实施例中,细胞毒活性剂为美登素类化合物(maytansinoid)(亦即,美登素(maytansine)之衍生物(CAS 35846538)),美登素类化合物为本领域已知,包括美登素、美登醇(maytansinol)、美登醇之 C-3 酯及其它美登醇类似物及衍生物(参见例如 US 5,208,020 及 US 6,441,163)。

[0160] 可如 WO 2007077173 中关于抗 FAP 免疫偶联物所述来设计及合成抗 CD37 抗体免疫偶联物。

[0161] 在另一实施例中,本发明之抗 CD37 分子可经放射性标记以形成放射免疫偶联物,此为一种关于抗 CD37 抗体 MB-1 所提出的方法(Buchsbaum 等人, 1992, 参见上文)。具有有利放射性质之放射性核素为本领域已知,实例为磷-32、锶-89、钇-90、碘-131、钐-153、钬-169、镱-175、铪-188,其已成功且稳定地与 MAbs 偶合。可使用如 US 6,241,961 中所述之本领域已知之直接标记或间接标记方法,以各种放射性核素标记本发明之抗 CD37 抗体分子。关于用于产生及应用适用于本发明之新颖放射性标记的抗体偶联物之技术的评论由

Goldenberg 及 Sharkey, 2007 给出。

[0162] 本发明的抗体分子（无论 Fc 经工程化或未经工程化）亦可具有双特异性，亦即，抗体分子与两个不同靶结合，靶之一为 CD37，另一者选自（例如）T 细胞表达之表面抗原，例如 CD3、CD16 及 CD56。

[0163] 本发明亦涉及编码本发明之嵌合或人源化抗 CD37 抗体分子的 DNA 分子。编码本发明的抗体分子的可变重链的序列显示于 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7 及 SEQ ID NO:9 中。编码本发明的抗体分子的可变轻链的序列显示于 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21 中。

[0164] 可通过标准方法以化学方式及酶方式（PCR 扩增）合成编码轻链及重链之核酸分子。首先，可通过本领域已知的方法（例如 Gait, 1984）合成合适之寡核苷酸，所述寡核苷酸可用于产生合成基因。自寡核苷酸产生合成基因的方法为本领域已知（例如，Stemmer 等人，1995；Ye 等人，1992；Hayden et Mandecki, 1988；Frank 等人，1987）。

[0165] 本发明的 DNA 分子包括（但不限于）序列表所示 DNA 分子。因此，本发明亦涉及如 WO 2007/042309 中所定义在高严格结合及洗涤条件下与序列表中所述的 DNA 分子杂交的核酸分子，其中所述核酸分子编码具有等效于或优于序列表所示序列所编码的抗体之性质的抗体或其功能片段。优选分子（自 mRNA 角度）为与本文所述之一种 DNA 分子具有至少 75% 或 80%（优选至少 85%，更优选至少 90% 且最优选至少 95%）同源性或序列同一性的彼等分子。

[0166] 在本发明之范畴内的另一类 DNA 变体可根据其编码之多肽来定义。此等 DNA 分子的序列偏离序列表中所述 DNA 分子，但由于遗传密码简并性而编码具有一致氨基酸序列的抗体。举例来说，鉴于在真核细胞中表达抗体，序列表所示 DNA 序列经过设计能符合真核细胞中的密码子使用习惯。若希望在大肠杆菌（*E. coli*）中表达抗体，则可使此等序列变化以匹配大肠杆菌密码子使用。举例而言，如 WO 2007/042309 中所述，可以若干不同方式构建本发明的 DNA 分子之变体。

[0167] 为产生本发明之重组抗 CD37 抗体分子，将编码全长轻链及重链或其片段的 DNA 分子插入表达载体中，使得所述序列可操作地连接于转录及翻译控制序列。

[0168] 为制造本发明的抗体，本领域技术人员可自本领域熟知之多种表达系统进行选择，例如 Kipriyanow 及 Le Gall, 2004 评述的那些表达系统。

[0169] 表达载体包括质粒、反转录病毒、粘粒、EBV 衍生之游离体及其类似物。表达载体及表达控制序列系经选择以与宿主细胞兼容。抗体轻链基因及抗体重链基因可插入单独载体中。在某些实施例中，将两个 DNA 序列插入同一表达载体中。适宜的载体为编码功能完整之人类 CH 或 CL 免疫球蛋白序列者，其具有经工程化之适当限制位点以使任何 VH 或 VL 序列可易于如上所述般插入及表达。对于抗体轻链而言，恒定链通常为 κ 或 λ ，对于抗体重链而言，恒定链可为（不限于）任何 IgG 同型（IgG1、IgG2、IgG3、IgG4）或其它免疫球蛋白，包括对偶基因变体。

[0170] 重组表达载体亦可编码促进自宿主细胞分泌抗体链之信号肽。可将编码抗体链之 DNA 克隆至载体中，使得信号肽同框连接于成熟抗体链 DNA 之氨基末端。信号肽可为免疫球蛋白信号肽或来自非免疫球蛋白之异源肽。或者，编码抗体链之 DNA 序列可已含有信号肽序列。

[0171] 除编码抗体链之 DNA 序列以外,重组表达载体亦携带调节序列,包括启动子、强化子、终止及聚腺苷酸化及控制抗体链在宿主细胞中的表达之其它表达控制组件。启动子序列之实例(关于哺乳动物细胞中的表达所例示)为衍生自(CMV)(诸如,CMV 猴病毒 40(SV40)(诸如,SV40 启动子/强化子))、腺病毒(例如,腺病毒主要晚期启动子(AdMLP))、多形瘤之启动子及/或强化子及强哺乳动物启动子,诸如天然免疫球蛋白及肌动蛋白启动子。聚腺苷酸化之实例为 BGH polyA、SV40 晚期或早期 polyA;或者,可使用免疫球蛋白基因之 3' UTR 等。

[0172] 重组表达载体亦可携带调节宿主细胞中的载体复制之序列(例如,复制起点)及可选标记基因。可根据本领域熟知之转染方法,包括脂质体介导之转染、聚阳离子介导之转染、原生质体融合、显微注射、磷酸钙沉淀、电穿孔或通过病毒载体转移,将编码抗 CD37 抗体的重链或其抗原结合部分及/或轻链或其抗原结合部分之核酸分子及包含此等 DNA 分子的载体引入宿主细胞(例如细菌细胞或高级真核细胞,例如哺乳动物细胞)中。

[0173] 编码重链及轻链的 DNA 分子优选存在于共转染至宿主细胞、优选哺乳动物细胞中之两个载体上。

[0174] 可作用于表达之宿主的哺乳动物细胞系为本领域已知且包括中国仓鼠卵巢(CHO,CHO-DG44)细胞、NS0、SP2/0 细胞、海拉细胞(HeLa cell)、幼仓鼠肾(BHK)细胞、猴肾细胞(COS)、人类癌细胞(例如,Hep G2)、A549 细胞、3T3 细胞或任何该细胞系之衍生物/子代。可使用其它哺乳动物细胞,包括(但不限于)人类、小鼠、大鼠、猴及啮齿动物细胞系;或其它真核细胞,包括(但不限于)酵母、昆虫及植物细胞;或原核细胞,诸如细菌。通过培养宿主细胞历时足以允许抗体分子在宿主细胞中表达之一段时间来产生本发明之抗 CD37 抗体分子。

[0175] 抗体分子优选以分泌多肽形式自培养基回收,或若(例如)在无分泌信号之情况下表达,则其可自宿主细胞裂解产物回收。有必要使用用于重组蛋白及宿主细胞蛋白之标准蛋白纯化方法,以获得大体上同源抗体制剂之方式来纯化抗体分子。举例来说,适用于获得本发明之抗 CD37 抗体分子的目前技术水平之纯化方法包括自培养基或裂解产物移除细胞及/或微粒细胞碎片作为第一步骤。接着,(例如)通过在免疫亲和或离子交换管柱上进行分级分离、乙醇沉淀、反相 HPLC、Sephadex 层析、二氧化硅或阳离子交换树脂上之层析而自污染之可溶性蛋白、多肽及核酸纯化抗体。作为获得抗 CD37 抗体分子制剂之过程中的最后步骤,可如下文关于治疗应用所述来干燥经纯化的抗体分子,例如冷冻干燥。

[0176] 在另一方面中,本发明涉及药用组合物,含有本发明之抗 CD37 抗体分子作为活性成份。

[0177] 为用于疗法中,将抗 CD37 抗体包括在适于促进向动物或人类投与的药用组合物中。可通过将抗 CD37 抗体分子与生理学上可接受之载剂、赋形剂或稳定剂混合而以冷冻干燥或以其它方式干燥之配制物或水溶液或水性或非水性悬浮液形式制备抗 CD37 抗体分子之典型配制物。载剂、赋形剂、改质剂或稳定剂在所用剂量及浓度下为无毒的。其包括:缓冲系统,诸如磷酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐及其它无机酸或有机酸及其盐;抗氧化剂,包括抗坏血酸及甲硫氨酸;防腐剂(诸如,氯化十八烷基二甲基苄基铵;氯化六羟季铵(hexamethonium chloride);氯苄烷铵(benzalkonium chloride);苯酚;丁醇或苄醇;对羟基苯甲酸烷基酯,诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;及

间甲酚) ; 蛋白, 诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白 ; 亲水性聚合物, 诸如聚乙烯吡咯啉酮或聚乙二醇 (PEG) ; 氨基酸, 诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸 ; 单糖、双糖、寡糖或多糖及其它碳水化合物, 包括葡萄糖、甘露糖、蔗糖、海藻糖、糊精或葡聚糖 (dextran) ; 螯合剂, 诸如 EDTA ; 糖醇, 诸如甘露糖醇或山梨糖醇 ; 成盐平衡离子, 诸如钠 ; 金属络合物 (例如, Zn- 蛋白络合物) ; 及 / 或离子型或非离子型界面活性剂, 诸如 TWEEN™ (聚山梨醇酯)、PLURONICS™ 或脂肪酸酯、脂肪酸醚或糖酯。抗体配制物中亦可含有有机溶剂, 诸如乙醇或异丙醇。赋形剂亦可具有释放改良或吸收改良功能。

[0178] 抗 CD37 抗体分子亦可经干燥 (冷冻干燥、喷雾干燥、喷雾冷冻干燥、通过近或超临界气体干燥、真空干燥、空气干燥), 沉淀或结晶或包埋于 (例如) 通过凝聚技术或通过界面聚合 (例如) 分别使用羟甲基纤维素或明胶及聚 (甲基丙烯酸甲酯) 而制备之微胶囊中, 包埋于胶状药物传递系统 (例如, 脂质体、白蛋白微球体、微乳液、纳米颗粒及纳米胶囊) 中, 包埋于大乳液中, 或 (例如) 通过 pcmc 技术 (蛋白涂覆微晶) 而沉淀或固定于载剂或表面上。所述技术揭示于 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第 21 版, Hendrickson R. 编中。

[0179] 自然地, 待用于活体内投与之配制物必须无菌 ; 可通过习知技术 (例如, 通过经由无菌过滤膜过滤) 来实现杀菌。

[0180] 可适用的是增加抗 CD37 抗体浓度以达到所谓的高浓度液体配制物 (HCLF) ; 已描述产生所述 HCLF 之各种方式。

[0181] 抗 CD37 抗体分子亦可含于持续释放制剂中。所述制剂包括疏水性或亲水性聚合物之固体、半固体或液体基质, 且可呈成形物品形式, 例如薄膜、条状物或微胶囊, 且可经由应用装置来应用。持续释放基质之实例包括聚酯、水凝胶 (例如, 聚 (2- 羟基乙基 - 甲基丙烯酸酯) 或蔗糖乙酸丁酸酯或聚 (乙烯醇))、聚交酯 (US 3, 773, 919)、L- 谷氨酸与 γ -L- 谷氨酸乙酯之共聚物、不可降解之乙烯 - 乙酸乙烯酯、可降解之乳酸 - 乙醇酸共聚物 (诸如, LUPRON DEPOT™ (由乳酸 - 乙醇酸共聚物及乙酸亮丙瑞林 (leuprolide acetate) 组成之可注射微球体)) 及聚 -D-(-)-3- 羟基丁酸。虽然诸如乙烯 - 乙酸乙烯酯及乳酸 - 乙醇酸之聚合物使分子能够释放超过 100 天, 但某些水凝胶释放蛋白历时较短时段。当经囊封的抗体长时间保留于体内时, 其因暴露于 37°C 下之水分而可能变性或聚集, 从而导致生物活性损失且使免疫原性可能变化。视所涉及之机制而定, 可设计合理策略以达成稳定。举例而言, 若发现凝集机制系经由巯基 - 二硫化物互换而形成分子间 S-S 键, 则可通过使巯基残基改质、自酸性溶液冻干 (例如, 如 WO 89/011297 中所述)、控制水分含量、使用适当添加剂及形成特定聚合物基质组合物来达成稳定。

[0182] 亦可用于本发明之抗 CD37 抗体分子之配制物描述于 US 7, 060, 268 及 US 6, 991, 790 中。

[0183] CD37 抗体分子亦可并入其它应用形式中, 诸如并入分散液、悬浮液或脂质体、片剂、胶囊、粉剂、喷雾剂、具有或不具有渗透增强装置之经皮或皮内贴片或乳膏、糯米纸囊剂 (wafer)、经鼻、经颊或经肺配制物中, 或可通过植入之细胞或在基因疗法后通过个体的自身细胞来产生。

[0184] 抗 CD37 抗体分子亦可由化学基团 (诸如, 聚乙二醇 (PEG)、甲基或乙基或碳水化合物基团) 衍生。此等基团可用于改良抗体之生物学特征, 例如增加血清半衰期或增加组织

结合。

[0185] 优选应用模式为通过输注或注射（静脉内、肌肉内、皮下、腹膜内、皮内）进行非经肠应用，但诸如通过吸入、经皮、鼻内、经颊、经口之其它应用模式亦可为适用的。

[0186] 为预防或治疗疾病，抗体之适当剂量将视待治疗之疾病类型、疾病之严重程度及过程、投与抗体为达成预防或治疗目的、先前疗法、患者病史及对抗体之反应以及主治医师之判断而定。合适地，一次性或经一系列治疗向患者投与抗体。

[0187] 视疾病之类型及严重程度而定，无论（例如）通过一或多次分开投与或通过连续输注，约 $0.01 \mu\text{g/kg}$ 至 40mg/kg （例如， 0.1mg/kg – 20mg/kg ）的抗体为向患者投与之最初候选剂量。对于经数天或更长时间之重复投药而言，视病状而定，持续治疗直至出现疾病症状之所需抑制作用。然而，其它给药方案亦可为有用的。此疗法之进程易于通过习知技术及试验来监测，例如通过测定 B 细胞去除之程度（例如，使用流式细胞仪）来监测。

[0188] 待投与的抗体之“治疗有效量”为预防、改善或治疗疾病或病症所需之最低量。

[0189] 本发明之抗 CD37 抗体分子及含其的药用组合物可用于去除在表面上表达 CD37 且引起癌症或自身免疫 / 炎症疾病的 B 细胞。

[0190] 在第一方面中，本发明的药用组合物可用于治疗癌症，尤其任何 CD37 阳性恶性肿瘤。

[0191] B 细胞恶性肿瘤包括（但不限于）B 细胞淋巴瘤（例如，各种形式之霍奇金氏病（Hodgkin's disease）、B 细胞非霍奇金氏淋巴瘤（NHL）及相关淋巴瘤（例如，瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症（**Waldenström's** macroglobulinaemia）（亦称为淋巴浆细胞淋巴瘤或免疫细胞瘤）或中枢神经系统淋巴瘤）、白血病（例如，急性淋巴母细胞白血病（ALL）、慢性淋巴细胞白血病（CLL；亦称为 B 细胞慢性淋巴细胞白血病 BCLL）、毛细胞白血病及慢性肌胚细胞白血病）及骨髓瘤（例如，多发性骨髓瘤）。其它 B 细胞恶性肿瘤包括小淋巴细胞淋巴瘤、B 细胞前淋巴细胞性白血病、淋巴浆细胞淋巴瘤、脾边缘区淋巴瘤、浆细胞骨髓瘤、骨孤立性浆细胞瘤、骨外浆细胞瘤、黏膜相关（MALT）淋巴组织之结外边缘区 B 细胞淋巴瘤、结边缘区 B 细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、纵隔（胸腺）大 B 细胞淋巴瘤、血管内大 B 细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤 / 白血病、灰区淋巴瘤、未定恶性肿瘤潜能的 B 细胞增殖、淋巴瘤样肉芽肿病及移植后淋巴组织增生病症。

[0192] 在另一方面中，含有抗 CD37 抗体的药用组合物可用于治疗那些在病理学方面涉及 B 细胞的自身免疫病及炎症疾病。

[0193] 所述疾病包括（但不限于）：关节炎、类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、骨关节炎、多软骨炎、牛皮癣性关节炎、牛皮癣、皮炎、多发性肌炎 / 皮肌炎、包涵体肌炎、发炎性肌炎、中毒性表皮坏死松解症、全身性硬皮病及硬化症、CREST 征候群、与发炎性肠病相关之反应、克罗恩氏病（Crohn's disease）、溃疡性结肠炎、呼吸窘迫症候群、成人呼吸窘迫症候群（ARDS）、脑膜炎、脑炎、葡萄膜炎、结肠炎、丝球体肾炎、过敏病状、湿疹、哮喘、包含 T 细胞浸润及慢性发炎反应之病状、动脉粥样硬化、自身免疫心肌炎、白血球黏着缺乏、全身性红斑狼疮（SLE）、亚急性皮肤性红斑狼疮、盘状狼疮（discoid lupus）、狼疮性脊髓炎、狼疮性大脑炎、幼年发作型糖尿病、多发性硬化症、过敏性脑脊髓炎、视神经脊髓炎、风湿热、西登哈姆氏舞蹈病（Sydenham's chorea）、与通过细胞因子及 T- 淋巴细胞介导之急性及延迟性过敏相关的免疫反应、结核病、肉状瘤病、肉芽肿病（包括韦格纳氏肉

牙肿病 (Wegener's granulomatosis) 及丘 - 施二氏疾病 (Churg-Strauss disease)、颗粒性球缺乏症、血管炎 (包括过敏性血管炎 (vasculitis/angiitis)、ANCA 及类风湿性血管炎)、再生障碍性贫血、戴 - 布二氏贫血 (Diamond Blackfan anemia)、免疫性溶血性贫血 (包括自身免疫性溶血性贫血 (AIHA))、恶性贫血、纯红血球发育不全 (PRCA)、因子 VIII 缺乏、A 型血友病、自身免疫嗜中性球减少症、全部血球减少症、白血球减少症、涉及白血球渗出之疾病、中枢神经系统 (CNS) 发炎病症、多发性器官损伤征候群、重症肌无力、抗原抗体复合物介导之疾病、抗肾小球基底膜疾病、抗磷脂抗体征候群、过敏性神经炎、贝切特氏病 (Behcet disease)、卡斯特尔曼氏征候群 (Castleman's syndrome)、古德帕斯彻氏征候群 (Goodpasture's syndrome)、兰姆博特 - 伊顿二氏重症肌无力症候群 (Lambert-Eaton Myasthenic Syndrome)、雷诺氏征候群 (Reynaud's syndrome)、休格连氏征候群 (Sjorgen's syndrome)、史蒂芬 - 琼森症候群 (Stevens-Johnson syndrome)、实体器官移植排斥反应、移植物抗宿主疾病 (GVHD)、大疱性类天疱疮、天疱疮、自身免疫多内分泌病变、血清阴性脊椎关节病、莱特尔氏病 (Reiter's disease)、全身肌强直征候群、巨细胞性动脉炎、免疫复合物肾炎、IgA 肾病、IgM 多发性神经病或 IgM 介导之神经病、特发性血小板减少性紫癜 (ITP)、血栓性血小板减少性紫癜 (TTP)、亨 - 舍二氏紫癜 (Henoch-Schonlein purpura)、自身免疫血小板减少症、睾丸及卵巢之自身免疫疾病 (包括自身免疫睾丸炎及卵巢炎)、原发性甲状腺功能低下、自身免疫内分泌疾病 (包括自身免疫甲状腺炎)、慢性甲状腺炎 (桥本甲状腺炎 (Hashimoto's Thyroiditis))、亚急性甲状腺炎、特发性甲状腺功能低下、阿狄森氏病 (Addison's disease)、格雷氏病 (Grave's disease)、自身免疫多腺体征候群 (或多腺体内分泌病征候群)、I 型糖尿病 (亦称为胰岛素依赖性糖尿病 (IDDM)) 及席汉氏症候群 (Sheehan's syndrome)、自身免疫肝炎、淋巴组织间质性肺炎 (HIV)、闭塞性细支气管炎 (非移植) 对 NSIP、格 - 巴二氏征候群 (Guillain-Barre' Syndrome)、大血管血管炎 (包括风湿性多肌痛及巨细胞 (高安氏 (Takayasu's)) 动脉炎)、中血管血管炎 (包括川崎氏病 (Kawasaki's disease) 及结节性多动脉炎)、结节性多动脉炎 (PAN)、强直性脊椎炎、伯杰氏病 (Berger's disease) (IgA 肾病)、快速进行性丝球体肾炎、原发性胆汁性肝硬化、口炎性腹泻 (麸质肠病)、冷凝球蛋白血症、与肝炎相关之冷凝球蛋白血症、肌萎缩性侧索硬化 (ALS)、冠状动脉疾病、家族性地中海热 (familial Mediterranean fever)、显微性多血管炎、耳蜗前庭症候群 (Cogan's syndrome)、维 - 奥二氏症候群 (Whiskott-Aldrich syndrome) 及闭塞性血栓性血管炎 (参见 WO 2007014278)。

[0194] 视待治疗之病症而定, 本发明之抗 CD37 抗体分子可单独使用或与一或多种其它治疗剂组合使用, 该或所述其它治疗剂尤其选自 DNA 破坏或微管蛋白结合剂或抑制癌细胞中的血管生成、信号转导路径或有丝分裂检查点之治疗活性化合物。

[0195] 其它治疗剂可视情况作为同一医药制剂之组份与抗 CD37 抗体分子同时投与, 或在抗 CD37 抗体分子投与之前或之后投与。

[0196] 在某些实施例中, 其它治疗剂可为 (但不限于) 一或多种选自以下之群之抑制剂: EGFR 家族、VEGFR 家族、IGF-1R、胰岛素受体、AuroraA、AuroraB、PLK 及 PI3 激酶、FGFR、PDGFR、Raf、KSP 或 PDK1 之抑制剂。

[0197] 其它治疗剂之其它实例为 CDK、Akt、Src、Bcr-Abl、cKit、cMet/HGF、c-Myc、Flt3、HSP90 之抑制剂、hedgehog 拮抗剂、JAK/STAT、Mek、mTor、NF κ B、蛋白酶体、Rho 之抑制剂、

Wnt 信号转导或 Notch 信号转导之抑制剂或泛素化路径抑制剂。

[0198] Aurora 抑制剂之实例为 (但不限于) PHA-739358、AZD-1152、AT-9283、CYC-116、R-763、VX-667、MLN-8045、PF-3814735、SNS-314、VX-689、GSK-1070916、TTP-607、PHA-680626、MLN-8237 及 ENMD-2076。

[0199] PLK 抑制剂之实例为 GSK-461364。

[0200] raf 抑制剂之实例为 BAY-73-4506 (亦为 VEGFR 抑制剂)、PLX-4032、RAF-265 (亦为 VEGFR 抑制剂)、索拉非尼 (sorafenib) (亦为 VEGFR 抑制剂)、XL-281 及 Nevavar (亦为 VEGFR 之抑制剂)。

[0201] KSP 抑制剂之实例为伊平丝博 (ispinesib)、ARRY-520、AZD-4877、CK-1122697、GSK-246053A、GSK-923295、MK-0731、SB-743921、LY-2523355 及 EMD-534085。

[0202] src 及 / 或 bcr-abl 抑制剂之实例为达沙替尼 (dasatinib)、AZD-0530、伯舒替尼 (bosutinib)、XL-228 (亦为 IGF-1R 抑制剂)、尼罗替尼 (nilotinib) (亦为 PDGFR 及 cKit 抑制剂)、伊马替尼 (亦为 cKit 抑制剂)、NS-187、KX2-391、AP-24534 (亦为 EGFR、FGFR、Tie2、Flt3 之抑制剂)、KM-80 及 LS-104 (亦为 Flt3、Jak2 之抑制剂)。

[0203] PDK1 抑制剂之一实例为 AR-12。

[0204] Rho 抑制剂之一实例为 BA-210。

[0205] PI3 激酶抑制剂之实例为 PX-866、PX-867、BEZ-235 (亦为 mTor 抑制剂)、XL-147 及 XL-765 (亦为 mTor 抑制剂)、BGT-226、CDC-0941。

[0206] cMet 或 HGF 抑制剂之实例为 XL-184 (亦为 VEGFR、cKit、Flt3 之抑制剂)、PF-2341066、MK-2461、XL-880 (亦为 VEGFR 之抑制剂)、MGCD-265 (亦为 VEGFR、Ron、Tie2 之抑制剂)、SU-11274、PHA-665752、AMG-102、AV-299、ARQ-197、MetMab、CGEN-241、BMS-777607、JNJ-38877605、PF-4217903、SGX-126、CEP-17940、AMG-458、INCB-028060 及 E-7050。

[0207] c-Myc 抑制剂之一实例为 CX-3543。

[0208] Flt3 抑制剂之实例为 AC-220 (亦为 cKit 及 PDGFR 之抑制剂)、KW-2449、LS-104 (亦为 bcr-abl 及 Jak2 之抑制剂)、MC-2002、SB-1317、来妥替尼 (lestaurtinib) (亦为 VEGFR、PDGFR、PKC 之抑制剂)、TG-101348 (亦为 JAK2 之抑制剂)、XL-999 (亦为 cKit、FGFR、PDGFR 及 VEGFR 之抑制剂)、舒尼替尼 (sunitinib) (亦为 PDGFR、VEGFR 及 cKit 之抑制剂) 及坦度替尼 (tandutinib) (亦为 PDGFR 及 cKit 之抑制剂)。

[0209] HSP90 抑制剂之实例为坦螺旋霉素 (tanespimycin)、阿螺旋霉素 (alvespimycin)、IPI-504、STA-9090、MEDI-561、AUY-922、CNF-2024 及 SNX-5422。

[0210] JAK/STAT 抑制剂之实例为 CYT-997 (亦与微管蛋白相互作用)、TG-101348 (亦为 Flt3 抑制剂) 及 XL-019。

[0211] Mek 抑制剂之实例为 ARRY-142886、AS-703026、PD-325901、AZD-8330、ARRY-704、RDEA-119 及 XL-518。

[0212] mTor 抑制剂之实例为泰西罗莫司 (temsirolimus)、德福罗莫司 (deforolimus) (其亦用作 VEGF 抑制剂)、依维莫司 (everolimus) (此外, VEGF 抑制剂)、XL-765 (亦为 PI3 激酶抑制剂) 及 BEZ-235 (亦为 PI3 激酶抑制剂)。

[0213] Akt 抑制剂之实例为哌立福新 (perifosine)、GSK-690693、RX-0201 及曲西立滨

(triciribine)。

[0214] cKit 抑制剂之实例为马赛替尼 (masitinib)、OSI-930 (亦用作 VEGFR 抑制剂)、AC-220 (亦为 Flt3 及 PDGFR 之抑制剂)、坦度替尼 (亦为 Flt3 及 PDGFR 之抑制剂)、阿西替尼 (axitinib) (亦为 VEGFR 及 PDGFR 之抑制剂)、舒尼替尼 (亦为 Flt3、PDGFR、VEGFR 之抑制剂) 及 XL-820 (亦用作 VEGFR 及 PDGFR 之抑制剂)、伊马替尼 (imatinib) (亦为 bcr-abl 抑制剂)、尼罗替尼 (亦为 bcr-abl 及 PDGFR 之抑制剂)。

[0215] hedgehog 拮抗剂之实例为 IPI-609、CUR-61414、GDC-0449、IPI-926 及 XL-139。

[0216] CDK 抑制剂之实例为塞力丝伯 (seliciclib)、AT-7519、P-276、ZK-CDK (亦抑制 VEGFR2 及 PDGFR)、PD-332991、R-547、SNS-032、PHA-690509、PHA-848125 及 SCH-727965。

[0217] 蛋白酶体抑制剂之实例为硼替佐米 (bortezomib)、卡菲佐米 (carfilzomib) 及 NPI-0052 (亦为 NF κ B 之抑制剂)。

[0218] 蛋白酶体抑制剂 /NF κ B 路径抑制剂之实例为硼替佐米、卡菲佐米、NPI-0052、CEP-18770、MLN-2238、PR-047、PR-957、AVE-8680 及 SPC-839。

[0219] 泛素化路径抑制剂之实例为 HBX-41108。

[0220] 抗血管生成剂之实例为 FGFR、PDGFR 及 VEGF(R) 之抑制剂及沙力度胺 (thalidomide)，所述药剂选自 (但不限于) 贝伐单抗 (bevacizumab)、莫替尼伯 (motesanib)、CDP-791、SU-14813、替拉替尼 (telatinib)、KRN-951、ZK-CDK (亦为 CDK 抑制剂)、ABT-869、BMS-690514、RAF-265、IMC-KDR、IMC-18F1、IMiD、沙力度胺、CC-4047、来那度胺 (lenalidomide)、ENMD-0995、IMC-D11、Ki-23057、布瑞伐尼 (brivanib)、西地尼布 (cediranib)、1B3、CP-868596、IMC-3G3、R-1530 (亦为 Flt3 抑制剂)、舒尼替尼 (亦为 cKit 及 Flt3 之抑制剂)、阿西替尼 (axitinib) (亦为 cKit 抑制剂)、来妥替尼 (lestaurtinib) (亦为 Flt3 及 PKC 之抑制剂)、凡塔蓝尼 (vatalanib)、坦度替尼 (亦为 Flt3 及 cKit 之抑制剂)、帕佐尼布 (pazopanib)、PF-337210、阿柏西普 (afibercept)、E-7080、CHIR-258、索拉非尼甲苯磺酸盐 (亦为 Raf 之抑制剂)、范得他尼 (vandetanib)、CP-547632、OSI-930、AEE-788 (亦为 EGFR 及 Her2 之抑制剂)、BAY-57-9352 (亦为 Raf 抑制剂)、BAY-73-4506 (亦为 Raf 抑制剂)、XL-880 (亦为 cMet 抑制剂)、XL-647 (亦为 EGFR 及 EphB4 之抑制剂)、XL-820 (亦为 cKit 之抑制剂)、尼罗替尼 (亦为 cKit 及 bcr-abl 之抑制剂)、CYT-116、PTC-299、BMS-584622、CEP-11981、多福替尼 (dovitinib)、CY-2401401 及 ENMD-2976。

[0221] 其它治疗剂亦可选自 EGFR 抑制剂，所述 EGFR 抑制剂可为小分子 EGFR 抑制剂或抗 EGFR 抗体。抗 EGFR 抗体之实例为 (但不限于) 西妥昔单抗 (cetuximab)、盘尼图单抗 (panitumumab)、尼妥珠单抗 (nimotuzumab)、札鲁单抗 (zalutumumab)；小分子 EGFR 抑制剂之实例为吉非替尼 (gefitinib)、埃罗替尼 (erlotinib) 及范得他尼 (亦为 VEGFR 抑制剂)。EGFR 调节剂之另一实例为 EGF 融合毒素。

[0222] 可用于与本发明之抗 CD37 抗体分子组合的其它 EGFR 及 / 或 Her2 抑制剂为拉帕替尼 (lapatinib)、曲妥珠单抗 (trastuzumab)、帕妥珠单抗 (pertuzumab)、XL-647、奈拉替尼 (neratinib)、BMS-599626、ARRY-334543、AV-412、mAB-806、BMS-690514、JNJ-26483327、AEE-788 (亦为 VEGFR 抑制剂)、AZD-8931、ARRY-380、ARRY-333786、IMC-11F8、Zemab、TAK-285、AZD-4769。

[0223] 其它药物亦可选自靶向 IGF-1R 及胰岛素受体路径的药剂。所述药剂包括与

IGF-1R 结合的抗体（例如，CP-751871、AMG-479、IMC-A12、MK-0646、AVE-1642、R-1507、BIIB-022、SCH-717454、rhu Mab IGFR）及靶向 IGF1-R 之激酶域的新颖化学实体（例如，OSI-906 或 BMS-554417、XL-228、BMS-754807）。

[0224] 可在疗法中与本发明之抗 CD37 抗体分子有利组合的其它药剂为靶向 CD20 之分子，包括 CD20 特异性抗体（例如利妥昔单抗、LY-2469298、欧克利单抗（ocrelizumab）、MEDI-552、IMMU-106、GA-101（= R7159）、XmAb-0367、欧伐吐单抗（ofatumumab）、放射性标记之 CD20 抗体（例如托丝吐单抗（tositumumab）及替坦异贝莫单抗（ibritumomab tiuxetan））或其它针对 CD20 之蛋白，例如 SMIP Tru015、PRO-131921、FBT-A05、伐吐珠单抗（veltuzumab）、R-7159。

[0225] CD37 抗体可与白血球上表达之其它表面抗原之抑制剂、尤其抗体或抗体样分子组合，例如抗 CD2（希普利珠单抗（siplizumab））、抗 CD4（扎木单抗（zanolimumab））、抗 CD19（MT-103、MDX-1342、SAR-3419、XmAb-5574）、抗 CD22（依帕珠单抗（epratuzumab））、抗 CD23（鲁昔单抗（lumiliximab））、抗 CD30（伊莫单抗（iratumumab））、抗 CD32B（MGA-321）、抗 CD38（HuMax-CD38）、抗 CD40（SGN40）、抗 CD52（阿来组单抗）、抗 CD80（加利昔单抗（galiximab））。本发明的抗体亦可与另一 CD37 拮抗剂（例如，TRU-016）组合。

[0226] 待与 CD37 抗体组合之其它药剂为免疫毒素（例如 BL-22（抗 CD22 免疫毒素））、伊妥珠单抗奥唑米星（inotuzumab ozogamicin）（抗 CD23 抗体 - 刺孢霉素（calicheamicin）偶联物）、RFT5. dgA（抗 CD25 蓖麻毒素 A 链）、SGN-35（抗 CD30 阿瑞他汀 E 偶联物）及吉妥珠单抗奥唑米星（gemtuzumab ozogamicin）（抗 CD33 刺孢霉素偶联物）、MDX-1411（抗 CD70 偶联物）或放射性标记的抗体（例如 ⁹⁰Y- 依帕珠单抗（抗 CD22 放射免疫偶联物））。

[0227] 此外，抗 CD37 抗体亦可与免疫调节剂组合，所述免疫调节剂例如诱发细胞凋亡或修饰信号传递路径的抗体，例如 TRAIL 受体调节剂马帕妥单抗（mapatumumab）（TRAIL-1 受体促效剂）、来沙木单抗（lexatumumab）（TRAIL-2 受体促效剂）、替加妥珠单抗（tigatuzumab）、阿泊单抗（Apomab）、AMG-951 及 AMG-655；抗 HLA-DR 抗体（例如 1D09C3）、抗 CD74、破骨细胞分化因子配位体抑制剂（例如狄诺塞单抗（denosumab））、BAFF 拮抗剂（例如 AMG-623a）或 Toll 样受体促效剂（例如，TLR-4 或 TLR-9）。

[0228] 可与本发明之抗 CD37 抗体分子组合使用的其它药物选自（但不限于）激素、激素类似物及抗激素（例如，他莫昔芬（tamoxifen）、托瑞米芬（toremifene）、雷诺昔酚（raloxifene）、氟维司群（fulvestrant）、乙酸甲地孕酮（megestrol acetate）、氟他胺（flutamide）、尼鲁胺（nilutamide）、比卡鲁胺（bicalutamide）、乙酸环丙孕酮（cyproterone acetate）、非那雄安（finasteride）、乙酸布舍瑞林（buserelin acetate）、氟氢可的松（fludrocortisone）、氟甲睾酮（fluoxymesterone）、甲羟孕酮（medroxyprogesterone）、己酸羟孕酮（hydroxyprogesterone caproate）、己烯雌酚（diethylstilbestrol）、丙酸睾酮（testosterone propionate）、氟甲睾酮（fluoxymesterone）/ 等效物、奥曲肽（octreotide）、阿佐普芬（arxoxifene）、帕瑞肽（pasireotide）、伐普肽（vaptan）、肾上腺类固醇（adrenocorticosteroid）/ 拮抗剂、泼尼松（prednisone）、地塞米松（dexamethasone）、胺鲁米特（aminoglutethimide）；芳香酶抑制剂（例如，安美达唑（anastrozole）、来曲唑（letrozole）、利阿唑（liarozole）、依西美坦（exemestane）、阿他美坦（atamestane）、福美司坦（formestane））；LHRH 促

效剂及拮抗剂(例如,乙酸戈舍瑞林(goserelin acetate)、亮丙立德(leuprolide)、阿巴瑞克(abarelix)、西曲瑞克(cetrorelix)、地洛瑞林(deslorelin)、组胺瑞林(histrelin)、曲普瑞林(triptorelin));抗代谢物(例如,抗叶酸物,例如氨甲蝶呤(methotrexate)、三甲曲沙(trimetrexate)、培美曲唑(pemetrexed);嘧啶类似物,例如5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、氟脱氧尿苷(fluorodeoxyuridine)、卡西他滨(capecitabine)、地西他滨(decitabine)、奈拉滨(nelarabine)、5-氮胞苷(5-azacytidine)及吉西他滨(gemcitabine);嘌呤及腺苷类似物(诸如,巯嘌呤(mercaptopurine)、硫鸟嘌呤(thioguanine)、咪唑硫嘌呤(azathioprine)、克拉屈滨(cladribine)及喷司他丁(pentostatin)、阿糖胞苷(cytarabine)、氟达拉滨(fludarabine)、氯法拉滨(clofarabine));抗肿瘤抗生素(例如,蒽环霉素,例如羟基红霉素、道诺霉素(daunorubicin)、表柔比星(epirubicin)及伊达比星(idarubicin)、丝裂霉素-C(mitomycin-C)、博莱霉素(bleomycin)、放线菌素D(dactinomycin)、普卡霉素(plicamycin)、丝普卡霉素(splicamycin)、阿替莫霉素D(actinomycin D)、米托蒽醌(mitoxantrone)、米托蒽醌伊达比星(mitoxantroneidarubicin)、皮克蒽醌(pixantrone)、链脲佐菌素(streptozocin)、阿非迪霉素(aphidicolin));铂衍生物(例如,顺铂(cisplatin)、奥赛力铂(oxaliplatin)、卡波铂(carboplatin)、洛铂(lobaplatin)、撒塔铂(satraplatin));烷基化剂(例如,雌莫司汀(estramustine)、司莫司汀(semustine)、氮芥(mechlorethamine)、美法仑(melphalan)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、马利兰(busulphan)、达卡巴嗪(dacarbazine)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、异环磷酰胺(ifosfamide)、羟基脲(hydroxyurea)、替莫唑胺(temozolomide)、亚硝基脲(nitrosourea)(诸如,卡莫司汀(carmustine)及洛莫司汀(lomustine))、塞替派(thiotepa));抗有丝分裂剂(例如,长春花碱(vincaalkaloid),例如长春碱(vinblastine)、长春花碱酰胺(vindesine)、长春瑞宾(vinorelbine)、长春氟宁(vinflunine)及长春新碱(vincristine);及紫杉烷,例如紫杉醇(paclitaxel)、多烯紫杉醇(docetaxel)及其配制物拉若他西(larotaxel);丝莫他西(simotaxel)及埃坡霉素(epothilone),例如伊沙匹隆(ixabepilone)、帕妥匹隆(patupilone)、ZK-EP0);拓扑异构酶抑制剂(例如,表鬼臼素(epipodophyllotoxin),例如依托泊苷(etoposide)及磷酸依托泊苷(etopophos)、替尼泊甙(teniposide)、安吡啶(amsacrine)、拓朴替康(topotecan)、伊立替康(irinotecan)、巴诺蒽醌(banoxantrone)、喜树碱(camptothecin));及混杂化学治疗剂,诸如视黄酸衍生物、胺磷汀(amifostine)、阿那格雷(anagrelide)、干扰素 α 、干扰素 β 、干扰素 γ 、介白素-2(interleukin-2)、丙卡巴肼(procarbazine)、N-甲肼(N-methylhydrazine)、米托坦(mitotane)及卟吩姆(porfimer)、贝瑟罗汀(bexarotene)、赛利克西(celecoxib)、乙烯亚胺(ethylenimine)/甲基三聚氰胺、三乙烯三聚氰胺(triethylenemelamine)、三乙烯硫代磷酰胺(triethylenethiophosphoramide)、六甲基三聚氰胺(hexamethylmelamine)及酶L-天冬酰胺酶、L-精氨酸酶及甲硝哒唑(metronidazole)、米索硝唑(misonidazole)、去甲基醚醇硝唑(desmethylmisonidazole)、哌莫硝唑(pimonidazole)、依他硝唑(etanidazole)、尼莫唑(nimorazole)、RSU 1069、E09、RB6145、SR4233、烟碱酰胺(nicotinamide)、5-溴脱氧尿苷(5-bromodeoxyuridine)、5-碘脱氧尿苷(5-iododeoxyuridine)、溴脱氧胞苷(bromodeoxycytidine)、赤式羟基壬基

腺嘌呤 (erythrohydroxynonyl-adenine)、蒽二酮 (anthracenedione)、GRN-163L (竞争性端粒酶模板拮抗剂)、SDX-101 (PPAR 促效剂)、他拉伯特 (talabostat) (DPP 抑制剂)、福罗地辛 (forodesine) (PNP 抑制剂)、阿他塞泊 (atacicept) (靶向 TNF 家族成员 BLyS 及 APRIL 之可溶性受体)、TNF- α 中和剂 (恩博 (Enbrel)、胡米拉 (Humira)、雷米卡德 (Remicade))、XL-844 (CHK1/2 抑制剂)、VNP-40101M (DNA 烷基化剂)、SPC-2996 (反义 bcl2 抑制剂)、欧巴妥拉 (obatoclax) (bcl2 抑制剂)、恩丝他瑞 (enzastaurin) (PKC β 调节剂)、沃瑞塞特 (vorinostat) (HDAC 抑制剂)、罗米地辛 (romidepsin) (HDAC 抑制剂)、AT-101 (Bcl-2/Bcl-xL 抑制剂)、普利地辛 (plitidepsin) (多作用缩肽)、SL-11047 (多元胺代谢调节剂)。

[0229] 在某些实施例中,将抗 CD37 抗体分子与“CHOP”(环磷酰胺、羟道诺红霉素、长春新碱及泼尼松之组合)一起应用。

[0230] 本发明之抗 CD37 抗体分子亦可与其它疗法组合使用,所述疗法包括外科手术、放射疗法、内分泌疗法、生物反应改质剂、高温及冷冻疗法及减弱任何不利影响的药剂(例如,止吐药)、G-CSF、GM-CSF、光敏剂(诸如,血卟啉衍生物、**Photofrin®**、苯并卟啉衍生物、Npe6、锡本卟啉、苯博瑞德 a (pheoboride-a)、细菌叶绿素 a (bacteriochlorophyll-a)、萘酞菁 (naphthalocyanine)、酞菁 (phthalocyanine)、锌酞菁)。

[0231] 单克隆抗体显示灵敏的抗原特异性且通常仅与人类标靶抗原反应,而不与来自动物物种之同源蛋白反应。为支持治疗抗体之研制,可需要用于评估活体内毒性及药效行为之适当动物模型。活体内模型之一种可能性为内源标靶抗原经人类同源物置换之转基因小鼠(“基因剔除/基因敲入”小鼠)。详言之,为研制治疗性抗 CD37 抗体,可由人 CD37 基因置换鼠 CD37 基因。此可通过构建含有侧接未翻译序列之人 CD37 基因之编码性基因组序列的靶向载体来实现。此靶向载体可用于使用小鼠 ES 细胞进行同源重组。用于人 CD37 表达之纯合之转基因动物可用以(例如)通过监测抗体应用后外周 B 细胞的数目来评估抗体关于人 CD37 之药效作用。或者,彼等小鼠可用于研究在静脉内 (i. v.) 应用后人 CD37 特异性抗体之潜在毒性作用。

[0232] 在缺乏单克隆抗体之动物交叉反应性之状况下,另一可能性为产生所谓的替代抗体。替代抗体为与可用于研究药效及毒性作用之相关动物物种(例如,小鼠或食蟹猴)之同源蛋白反应的抗体。在 CD37 之状况下,分别研制对猕猴 CD37 或小鼠 CD37 具特异性之单克隆抗体。理想地,此类替代抗体应具有与研制抗体类似之结合及功能性质。此可通过使用试验系统来研究,所述试验系统利用猕猴或小鼠的表达 CD37 之细胞作为标靶细胞,例如对于结合而言,可使用 FACS Scatchard 分析、ADCC 及细胞凋亡试验。最终,可根据活体外猕猴或小鼠血液中的 B 细胞去除活性来选择替代抗体。

附图说明

[0233] 图 1 :经 FACS 竞争试验测定,嵌合抗体 A0 特异性识别 CD37 抗原。

[0234] 图 2 :经 FACS 测定的 A0 的人源化形式对细胞性 CD37 抗原的结合。

[0235] 图 3 :经 FACS 测定的 A0 的人源化形式对细胞性 CD37 抗原的结合。

[0236] 图 4 :经 FACS scatchard 分析测定的 A0 的人源化形式对细胞性 CD37 抗原的亲和力。

[0237] 图 5 :A0 的人源化形式对拉莫斯细胞的 ADCC 活性。

- [0238] 图 6 :A0 的人源化形式对拉莫斯细胞的促细胞凋亡活性。
- [0239] 图 7 :mAb A0 的 Fc 工程化形式对拉莫斯细胞的 ADCC 活性。
- [0240] 图 8 :mAb B0 的 Fc 工程化形式对拉莫斯细胞的 ADCC 活性。
- [0241] 图 9 :mAb A0 及 B0 的促细胞凋亡活性。
- [0242] 图 10 :mAb A0 的 Fc 工程化形式的促细胞凋亡活性。
- [0243] 图 11A :Fc 工程化抗体 A2 及 B2 对正常人类 B 细胞的去除,全血试验,与利妥昔单抗相比。
- [0244] 图 11B :与利妥昔单抗相比,抗体经 Fc 工程化后的 B 细胞去除活性更好。
- [0245] 图 11C :抗体 A2 和 B2 在全血试验中未除去 T 细胞和单核细胞。
- [0246] 图 12 :与利妥昔单抗相比,Fc 工程化后 ADCC 活性更好。
- [0247] 图 13 :Fc 工程化抗体 A2 及 B2 对拉莫斯伯基特淋巴瘤细胞的去除,全血试验,与利妥昔单抗相比。
- [0248] 图 14 :Fc 工程化抗体 A2 及 B2 对裸小鼠中拉莫斯异种移植肿瘤的体内肿瘤生长抑制作用。
- [0249] 图 15 :CD37 在多发性骨髓瘤细胞上的表达。
- [0250] 图 16 :抗体 A2 及 B2 在多发性骨髓瘤细胞上的 ADCC 活性。
- [0251] 图 17 :抗体 A2 及 B2 在来自患者的 CLL 细胞上的促细胞凋亡活性。
- [0252] 实施例 1
- [0253] 制备嵌合及人源化的抗 CD37 抗体
- [0254] a) 制备嵌合抗体 A0
- [0255] 基于 SEQ ID NO:2 及 SEQ ID NO:4 所示可变重链及轻链氨基酸序列,应用哺乳动物细胞的最佳密码子使用规律 (GeneArt, Regensburg, Germany) 合成相应 DNA 序列,在 5' 末端添加 HindIII 克隆位点及在 3' 末端添加 BamHI 克隆位点,藉此。合成的 DNA 分子经 HindIII 及 BamHI 消化,且基于分别编码人类 IgG1 恒定区及人类 κ 轻链恒定区 (SEQ ID NO:24 及 SEQ ID NO:26) 的表达载体,将所得 DNA 片段 (SEQ ID NO:1 及 SEQ ID NO:3 加上限制位点) 克隆至 pcDNA3.1 中。制备 EndoFree 质粒制剂 (Qiagen),且根据供货商之方案,将重链及轻链质粒以各质粒 1mg/L 之浓度共转染至 HEK 293 自由式 (freestyle) 细胞 (Invitrogen) 中。72 小时后,采集上清液且通过 ELISA 测定 IgG 浓度。将所得嵌合抗 CD37 抗体 (称为 A0) 在改良之蛋白 A 管柱 (GE Healthcare) 上纯化,洗脱至柠檬酸盐缓冲液中,接着在 PBS 中透析。
- [0256] b) 制备嵌合抗体 A0 的人源化形式
- [0257] 使用如 (例如)US 5,225,539、US 6,548,640、US 6,982,321 中所述之 CDR 移植方法,对 a) 中所得嵌合 mAb A0 进行人源化。
- [0258] 为建立 mAb A0 VL 域之结构模型,自布鲁克哈芬国家实验室 (Brookhaven National Laboratory) 之蛋白数据库 (PDB) 中选择结构模板。自鼠单克隆抗体路径 "1KB5" 选择具有 88% 序列同一性 / 81% 相似性及 2.5 Å 分辨率之 VL 域。对于 mAb A0 VH 域,选择具有 90% 序列同一性及 91% 相似性之同一小鼠单克隆抗体结构 "1KB5" 作为主要模型化模板。发现人类 V κ 1 (hVK1) 及人类 VH1 (hVH1) 类型与人类共有框架达到最优配合。作为替代性设计,选择最稳定人类共有域 hVK3 及 hVH3 之移植物。为进行移植,将 mAb A0_VL 及

mAb A0_VH 模型与人类共有域模型 hVK1、hVK3、hVH1A 及 hVH3 组合,且将其组合以产生 Fv 模型。通过将鼠 mAb A0 CDR 区包埋至人类抗体框架中来执行环移植,且合成人源化链构建体的 DNA 分子。

[0259] 合成各自的人源化可变区,将其克隆至免疫球蛋白表达载体中,与表 1 所示的重链及轻链序列一起,如 a) 所述在 HEK 293 自由式表达系统 (Invitrogen) 中瞬间表达,且在蛋白 A 柱上进行纯化。

[0260] 表 1 实施例 1 中用的嵌合及人源化抗 CD37 抗体的可变重链及轻链序列

[0261]

抗体	重链 SEQ ID NO: aa/DNA	轻链 SEQ ID NO: aa/DNA
A(=A0)	seq 2/1	seq 4/3
B	seq 6/5	seq 12/11
C	seq 6/5	seq 14/13
D	seq 6/5	seq 16/15
H	seq 8/7	seq 18/17
I	seq 8/7	seq 20/19
J	seq 8/7	seq 22/21
K	seq 10/9	seq 18/17
L	seq 10/9	seq 20/19
M	seq 10/9	seq 22/21

[0262] c) 制备 Fc 工程化之嵌合及人源化抗 CD37 抗体

[0263] 如 Lazar 等人,2006 所述,制备 Fc 突变体。将所得 Fc 工程化的重链序列引入表达载体 pAD-CMV1 (EP 393 438 中所述) 中且与含有轻链编码序列之质粒一起共转染至 CHO-DG44 细胞中。在转染后 5 至 7 天自细胞培养基收集抗体,且经由蛋白 A 层析进行纯化,将其洗脱至柠檬酸盐缓冲液中,接着在 PBS 中透析。经由蛋白 A HPLC 来测定样品之蛋白含量,经由 Kinetic-QCL 动力学显色试验 (Kinetic Chromogenic Assay, Lonza) 来测定内毒素含量。通过 HP-SEC 来测定样品之单体含量,用于功能测试之所有样品均显示单体含量 >95%。

[0264] 表 2

[0265] 嵌合及人源化抗 CD37 抗体的重链可变区和轻链可变区的序列 (第 III 和第 IV 栏) 以及 Fc 突变 (第 II 栏) (抗体 A0、B0、C0 等与表 1 中的抗体 A 及 B、C 等一致)。

[0266] 重链和轻链的全长序列在第 V 和 VI 栏列出。(第 V 栏中标记了 * 的序列是指 SEQ ID NO 24 和 23 (野生型序列) 的 IgG1 序列经修饰后具有对应于第 II 栏的取代的序列,以及编码性 DNA 中的相应突变)。

[0267]

I	II	III	IV	V	VI
Ab	Fc取代 (Kabat编号)	SEQ ID NO: 可变重链 aa/DNA	SEQ ID NO: 可变轻链 aa/DNA	SEQ ID NO: 完整重链 aa/DNA	SEQ ID NO: 完整轻链 aa/DNA
A0	-	seq 2/1	seq 4/3	2/1融合至24/23	4/3融合至26/25
A1	I332E	seq 2/1	seq 4/3	2/1融合至24*/23*	4/3融合至26/25
A2	S239D/I332E	seq 2/1	seq 4/3	28/27	30/29
A3	I332E/G236A	seq 2/1	seq 4/3	2/1融合至24*/23*	4/3融合至26/25
A4	S239D/I332E/G236A	seq 2/1	seq 4/3	32/31	34/33
B0	-	seq 6/5	seq 12/11	6/5融合至24/23	12/11融合至26/25
B1	I332E	seq 6/5	seq 12/11	6/5融合至24*/23*	12/11融合至26/25
B2	S239D/I332E	seq 6/5	seq 12/11	36/35	38/37
B3	I332E/G236A	seq 6/5	seq 12/11	6/5融合至24*/23*	12/11融合至26/25
B4	S239D/I332E/G236A	seq 6/5	seq 12/11	40/39	42/41
C0	-	seq 6/5	seq 14/13	6/5融合至24/23	14/13融合至26/25
C1	I332E	seq 6/5	seq 14/13	6/5融合至24*/23*	14/13融合至26/25
C2	S239D/I332E	seq 6/5	seq 14/13	6/5融合至24*/23*	14/13融合至26/25
C3	I332E/G236A	seq 6/5	seq 14/13	6/5融合至24*/23*	14/13融合至26/25
C4	S239D/I332E/G236A	seq 6/5	seq 14/13	6/5融合至24*/23*	14/13融合至26/25
D0	-	seq 6/5	seq 16/15	6/5融合至24/23	16/15融合至26/25
D1	I332E	seq 6/5	seq 16/15	6/5融合至24*/23*	16/15融合至26/25
D2	S239D/I332E	seq 6/5	seq 16/15	6/5融合至24*/23*	16/15融合至26/25
D3	I332E/G236A	seq 6/5	seq 16/15	6/5融合至24*/23*	16/15融合至26/25
D4	S239D/I332E/G236A	seq 6/5	seq 16/15	6/5融合至24*/23*	16/15融合至26/25
H0	-	seq 8/7	seq 18/17	8/7融合至24/23	18/17融合至26/25
H1	I332E	seq 8/7	seq 18/17	8/7融合至24*/23*	18/17融合至26/25
H2	S239D/I332E	seq 8/7	seq 18/17	8/7融合至24*/23*	18/17融合至26/25
H3	I332E/G236A	seq 8/7	seq 18/17	8/7融合至24*/23*	18/17融合至26/25
H4	S239D/I332E/G236A	seq 8/7	seq 18/17	8/7融合至24*/23*	18/17融合至26/25
I-0	-	seq 8/7	seq 20/19	8/7融合至24/23	20/19融合至26/25
I-1	I332E	seq 8/7	seq 20/19	8/7融合至24*/23*	20/19融合至26/25
I-2	S239D/I332E	seq 8/7	seq 20/19	8/7融合至24*/23*	20/19融合至26/25

[0268]

I-3	I332E/G236A	seq 8/7	seq 20/19	8/7融合至24*/23*	20/19融合至26/25
I-4	S239D/I332E/G236A	seq 8/7	seq 20/19	8/7融合至24*/23*	20/19融合至26/25
J0	-	seq 8/7	seq 22/21	8/7融合至24/23	22/21融合至26/25
J1	I332E	seq 8/7	seq 22/21	8/7融合至24*/23*	22/21融合至26/25
J2	S239D/I332E	seq 8/7	seq 22/21	8/7融合至24*/23*	22/21融合至26/25
J3	I332E/G236A	seq 8/7	seq 22/21	8/7融合至24*/23*	22/21融合至26/25
J4	S239D/I332E/G236A	seq 8/7	seq 22/21	8/7融合至24*/23*	22/21融合至26/25
K0	-	seq 10/9	seq 18/17	10/9融合至24/23	18/17融合至26/25
K1	I332E	seq 10/9	seq 18/17	10/9融合至24*/23*	18/17融合至26/25
K2	S239D/I332E	seq 10/9	seq 18/17	10/9融合至24*/23*	18/17融合至26/25
K3	I332E/G236A	seq 10/9	seq 18/17	10/9融合至24*/23*	18/17融合至26/25
K4	S239D/I332E/G236A	seq 10/9	seq 18/17	10/9融合至24*/23*	18/17融合至26/25
L0	-	seq 10/9	seq 20/19	10/9融合至24/23	20/19融合至26/25
L1	I332E	seq 10/9	seq 20/19	10/9融合至24*/23*	20/19融合至26/25
L2	S239D/I332E	seq 10/9	seq 20/19	10/9融合至24*/23*	20/19融合至26/25
L3	I332E/G236A	seq 10/9	seq 20/19	10/9融合至24*/23*	20/19融合至26/25
L4	S239D/I332E/G236A	seq 10/9	seq 20/19	10/9融合至24*/23*	20/19融合至26/25
M0	-	seq 10/9	seq 22/21	10/9融合至24/23	22/21融合至26/25
M1	I332E	seq 10/9	seq 22/21	10/9融合至24*/23*	22/21融合至26/25
M2	S239D/I332E	seq 10/9	seq 22/21	10/9融合至24*/23*	22/21融合至26/25
M3	I332E/G236A	seq 10/9	seq 22/21	10/9融合至24*/23*	22/21融合至26/25
M4	S239D/I332E/G236A	seq 10/9	seq 22/21	10/9融合至24*/23*	22/21融合至26/25

[0269] 实施例 2

[0270] 嵌合 mAb A0 特异性识别 CD37 抗原

[0271] 在 FACS 竞争试验中,在拉莫斯伯基特淋巴瘤细胞(ATCC #CRL-1596)上测试 mAb A0 对细胞性 CD37 之特异性。使细胞在组织培养瓶(175cm²)中生长,瓶中有 RPMI-1640+GlutaMAX 作为培养基,并补充有 10% 热灭活胎牛血清、12.5mM HEPES、1mM 丙酮酸钠、1% MEM 非必需氨基酸。在湿润气氛中,细胞以 3×10^5 个细胞 / 毫升之初始密度在 37℃、5% CO₂ 中培养 3 天。通过每周用新鲜培养基以 1:6 之比率转种 2-3 次,将培养物维持在 3×10^5 - 1.8×10^6 / ml 的细胞浓度。用浓度为 1 μg/ml、由藻红蛋白 (PE) 直接标记的 CD37 特异性 mAb HH1 (Santa Cruz) 进行 FACS 竞争分析。所述抗体与未标记的竞争抗体 A0 以指定摩尔比在 4℃ 预培育 10min。此后,将 1×10^5 个拉莫斯细胞用抗体混合物在冰上培育 30min。此后,将细胞在磷酸盐缓冲液 (PBS) 中洗涤两次,再悬浮于 FACS 缓冲液中且在 BD FACS Canto 上进行测量。此类试验结果显示于图 1 中。以 20 倍摩尔过量添加对照人类 IgG1 抗体 (Sigma IgG1 κ) 并未显著降低拉莫斯细胞之平均荧光强度 (MFI)。以 20 倍摩尔过量添加未标记之 HH1 抗体或 A0 抗体几乎完全消除直接标记之 HH1 抗体的结合。此表明, A0 及 HH1 抗体识别拉莫斯细胞上的相同或相似表位,且竞争与细胞性 CD37 抗原之结合。

[0272] 实施例 3

[0273] mAb A0 的人源化形式与细胞性 CD37 抗原的结合

[0274] 经 FACS 分析来测试 A0 的人源化形式与细胞性 CD37 抗原之结合。以所指示之浓度将抗体添加至拉莫斯细胞中且使其在 4℃ 下结合 30min。此后,用 PE 标记之山羊抗人类 IgG 抗体 (Sigma) 检测结合抗体,将细胞用 PBS 洗涤 2 次,此后使细胞再悬浮于 FACS 缓冲液中,在 BD FACS Canto 上通过 FACS 进行分析。实例显示于图 2 及 3 中 (分别为抗体 A、B、C、D、I 或 A、H、I、J、K、L 及 M;参见表 1)。数个 A0 人源化形式显示与拉莫斯细胞之结合与亲本抗体 A0 相似,表明人源化不会降低与细胞性 CD37 抗原之结合。

[0275] 实施例 4

[0276] 嵌合 mAb A0 的人源化形式的 FACS scatchard 分析

[0277] 通过如其它文献 (Brockhoff 等人,1994) 所述之 FACS scatchard 分析来测定抗体 A0 的人源化形式 (称为 B、C、D、H、I 及 K;参见表 1) 对细胞性 CD37 抗原之亲和力。简言之,在 96 孔板中制备抗体稀释液,在第一孔中以 100-400nM 开始 (80 μ l),接着 11 个稀释步骤 (1:2, 40+40 μ l)。将 50 μ l mAb 稀释液添加至 FACS 管中,将 150 μ l 细胞 (0.8×10^6 / ml = 1.2×10^5 个细胞 / 管) 添加至各 FACS 管中。将细胞轻轻混合且在冰上培育 1h。此后,添加 50 μ l 偶联了 FITC 的第二抗体 (浓度为 15 μ g/ml;小鼠 mAb 抗 hu IgG 所有亚类, Zymed 05-4211),混合,冰上培育 30min。此后添加 4ml 含有 0.02% 酸之 PBS (pH 7.2),将细胞沉降后,重悬于 300 μ l PBS (pH 7.2) 中,用 BD FACS Canto 进行 FACS 分析。所有实验步骤均在湿冰上执行,所有抗体稀释均在 PBS/0.5% BSA+0.02% 酸中进行。使用 Quantum FITC MESF (Premix) 高含量珠粒 (Bangs Laboratories) 来执行 FACS 校准。所有样品均使用相同 FACS 参数来测量。根据不同抗体浓度之 MFI 值来计算结合 IgG 对游离 IgG 之比率,将其展示为 scatchard 墨点。图 4 显示数个 A0 人源化变体之 MFI/ 抗体浓度关系。结果显示,一些人源化形式对拉莫斯细胞之结合与起始抗体相似,其解离常数 (K_d) 为 2.15-4.90 纳摩尔 / 升。

[0278] 实施例 5

[0279] 嵌合 mAb A0 的人源化形式的 ADCC 活性

[0280] 使用拉莫斯细胞作为靶细胞及使用 IL2 刺激之人类 PBMC 作为效应细胞,来评估 A0 的人源化形式 (称为 B、C、D、H、J、K;参见表 1) 介导抗体依赖性细胞介导之细胞毒活性 (ADCC) 的能力。拉莫斯细胞 (伯基特淋巴瘤;ATCC#CRL-1596) 自 ATCC 购得。使细胞在组织培养瓶 (175cm²) 中生长,瓶中有 RPMI-1640+GlutaMAX 作为培养基,并补充有 10% 热灭活胎牛血清、12.5mM HEPES、1mM 丙酮酸钠、1% MEM 非必需氨基酸。在湿润气氛中,细胞以 3×10^5 个细胞 / 毫升之初始密度在 37℃、5% CO₂ 中培养 3 天。通过每周用新鲜培养基以 1:6 之比率转种 2-3 次,将培养物维持在 3×10^5 - 1.8×10^6 / ml 的细胞浓度。将细胞密度为 1.5×10^6 / ml- 1.8×10^6 / ml 的对数生长期细胞培养物的等分试样离心 (200×g, 亦即 1000rpm) 10min。将细胞用洗涤培养基 (RPMI 1640, 不含 L- 谷氨酰胺) 洗涤一次,沉降 (200×g, 亦即 1000rpm; 10min)。使细胞团再悬浮于试验培养基 [RPMI, 含 1% BSA, 不含 L- 谷氨酰胺], 进行细胞计数。将细胞浓度调整至 2×10^5 / ml。

[0281] 自健康供体抽出约 50-80ml 全血,用于分离 PBMC。在 50ml 管中,将 10ml 全血用 26ml HBSS (Hanks' 平衡盐溶液,不含钙及镁) 以 1:3.6 稀释。在 50ml 管中,将 18ml 经稀释之全血加在 12ml Lymphoprep (Nycomed Pharma) 顶部,以 370×g (1400rpm) 离心 35min。

自界面吸出单核细胞,先用 HBSS 洗涤 ($750\times g$, 亦即 1900rpm ; 10min),接着用 HBSS 进行第二次洗涤 ($300\times g$, 亦即 1200rpm ; 10min),最终用 HBSS 洗涤 ($160\times g$, 亦即 900rpm ; 10min)。用移液管使沉降细胞轻轻再悬浮于培养基/试验培养基 (RPMI 1640, 含 10% 热灭活人类 AB 血清, 不含 L-谷氨酰胺) 中,在细胞计数器中测定细胞数。将 PBMC 浓度调整至 $1\times 10^7/\text{ml}$ 。在 37°C 、 CO_2 恒温箱中的组织培养烧瓶 (75cm^2) 中,将新鲜分离之 PBMC ($5\times 10^5/\text{ml}$) 在培养基 (RPMI 1640, 含 10% 人类 AB 血清, 不含 L-谷氨酰胺) 中维持隔夜。第二天,用终浓度为 $1\text{U}/\text{ml}$ 的 hIL-2 刺激细胞,历时另外 3 天。在 Lymphoprep 梯度上,自细胞碎片分离经 IL-2 刺激之 PBMC。使纯化并经 IL-2 刺激的 PBMC 以 $1\times 10^7/\text{ml}$ 悬浮于培养基/试验培养基中。

[0282] 效应细胞与靶细胞在特异性或非特异性抗体存在的条件下的共培养,一式双份或一式三份地在 96 孔圆底微量滴定板中进行,每孔的试验培养基终体积为 $200\mu\text{l}$,由 10% 人类 AB 血清及 1% BSA 的 RPMI 液以 1:1 的比率组成。首先,涂上效应细胞 (于每孔 $100\mu\text{l}$ 于 RPMI 中之 10% 人类 AB 血清中的刚分离之 PBMC 细胞),接着涂上靶细胞及在 $50\mu\text{l}$ 含 1% BSA 的 RPMI 中稀释的抗体溶液。作为对照,在单独试验培养基中培养效应细胞 (效应细胞对照),且在单独试验培养基 (自发裂解) 或在补充有 1% Triton X-100 之试验培养基 (最大裂解) 中培养靶细胞。将共培养物在潮湿 CO_2 恒温箱中于 37°C 下培育 3 小时。在培育结束时,在室温下通过离心 ($200\times g$, 亦即 1000rpm ; 10min) 自培养基移除细胞。将不含细胞之上清液 (每孔 $100\mu\text{l}$) 转移至 96 孔平底板之相应孔中。为测定此等上清液中之 LDH 活性,将 $100\mu\text{l}$ 反应混合物 (将 $250\mu\text{l}$ 催化剂与 11.25ml 染料溶液新鲜混合) 添加至各孔中,室温避光培育 30min 。接着,如下所述来测量吸光度。

[0283] 用细胞毒活性检测试剂盒 (LDH; Roche) 来测量 ADCC 活性。细胞毒活性的检测是基于对浆膜受损细胞释放的 LDH 酶活性的测量。释放至培养物上清液中之 LDH 将来自试剂盒之四唑盐还原成甲臞 (formazan)。相对于参考波长 650nm ,在 ELISA 板式读数器中测量 490nm 下甲臞染料之吸收最大值。为计算细胞介导之细胞毒活性百分比,在每组实验中执行五个对照。

[0284] 背景对照 I (1): 试验培养基中的 LDH 活性,将其自值 (3) 及 (5) 减去。

[0285] 背景对照 II (2): 含 1% Triton-X100 的试验培养基中的 LDH 活性,将其自最大 LDH 释放值 (4) 减去。

[0286] 自发 LDH 释放值 (3): 仅有靶细胞时释放的 LDH 活性。

[0287] 最大 LDH 释放值 (4): 靶细胞中最大可释放的 LDH 活性。

[0288] 效应细胞对照 (5): 仅有效应细胞时释放的 LDH 活性。

[0289] 为测定细胞介导之细胞毒活性百分比,根据制造商之说明计算一式三份或一式双份实验之平均吸光度,且减去背景。在图 5 中,显示使用 25:1 之 E:T 比率及拉莫斯靶细胞的 ADCC 试验的结果。添加 $30\text{ng}/\text{ml}$ 浓度的抗体。起始 mAb 及其人源化形式对拉莫斯细胞展示相似的 ADCC 活性。可见,抗 CD37mAb A 之人源化不会显著改变其诱发 ADCC 之能力。

[0290] 实施例 6

[0291] 嵌合 mAb A0 的人源化形式的促细胞凋亡活性

[0292] mAb A0 (= A) 及其人源化形式 (B、C、D 及 I; 参见表 1) 的促细胞凋亡活性,通过将拉莫斯细胞与 mAb 一起培育,再测量膜联蛋白 (Annexin)V/PI 阳性细胞来评估。拉莫斯细胞 (伯基特淋巴瘤; ATCC#CRL-1596) 来源于 ATCC。

[0293] 使细胞在组织培养瓶 (175cm²) 中生长, 瓶中有 RPMI-1640+GlutaMAX 作为培养基, 并补充有 10% 热灭活胎牛血清、12.5mM HEPES、1mM 丙酮酸钠、1% MEM 非必需氨基酸。在湿润气氛中, 细胞以 3×10^5 个细胞 / 毫升之初始密度在 37℃、5% CO₂ 中培养 3 天。通过每周用新鲜培养基以 1:6 之比率转种 2-3 次, 将培养物维持在 3×10^5 – 1.8×10^6 /ml 的细胞浓度。将细胞密度为 1.5×10^6 /ml– 1.8×10^6 /ml 的对数生长期细胞培养物的等分试样离心 (200×g, 亦即 1000rpm) 10min。将细胞用洗涤培养基 (RPMI 1640, 不含 L- 谷氨酰胺) 洗涤一次, 沉降 (200×g, 亦即 1000rpm; 10min)。使细胞团再悬浮于培养基中, 进行细胞计数。将细胞浓度调整至 1×10^6 /ml。将每孔 100 μl 细胞悬浮液涂于 96 孔圆底板中。在含有 10% FBS 之细胞培养基中稀释抗体, 每孔添加 100 μl 抗体溶液。细胞在 CO₂ 恒温箱中 37℃ 培育 20 至 24 小时, 此后以 Vybrant 凋亡实验盒 #2 进行染色。将 Alexa Fluor 488 标记之膜联蛋白 V 及碘化丙啶溶液添加至细胞中, 避光培育 15min。此后, 使细胞再悬浮于 400 μl 膜联蛋白 V 结合缓冲液中, 用 BD FACS Canto 进行 FACS 分析。使用 FL1/FL2 通道, 以二维点印迹法测定膜联蛋白 V 阳性 /PI 阴性细胞及膜联蛋白 V/PI 阳性细胞的百分比。用同种型相匹配的未结合抗体 (Sigma 人类 IgG1) 作阴性对照。

[0294] 图 6 显示 mAb A 之各种人源化形式对拉莫斯细胞的促细胞凋亡作用。用 10 μg/ml 的抗体将细胞培育 24 小时, 展示膜联蛋白 V 阳性细胞 (PI 阳性及 PI 阴性) 之总百分比。亲本 mAb A 显示较强促细胞凋亡活性。意外地, 人源化形式显示与亲本 mAb A 相比显著减少之膜联蛋白 V 阳性细胞数目, 表明人源化抗体的促细胞凋亡活性改变。可见, 在此组实验中, mAb A 的人源化使其促细胞凋亡活性降低。

[0295] 实施例 7

[0296] 嵌合 mAb A0 的 Fc 工程化形式的 ADCC 活性

[0297] 使用拉莫斯细胞作为标靶细胞来评估 mAb A0 的 Fc 工程化形式 (称为 A1、A2、A3、A4, 参见表 2) 的 ADCC 活性。如上所述来执行 ADCC 试验 (实施例 5)。实验结果显示于图 7 中。A0 的 Fc 工程化形式与亲本 mAb A0 相比在潜力 (potency) 及功效 (efficacy) 方面都明显进步。一些 Fc 变体与亲本 mAb 相比, 最大裂解增幅多达 100%, EC₅₀ 增幅多达 10 倍。可见, 引入特异性 Fc 突变大大增加嵌合 mAb A0 的 ADCC 活性。

[0298] 实施例 8

[0299] mAb B0 的 Fc 工程化形式的 ADCC 活性

[0300] 使用拉莫斯细胞作为标靶细胞来评估 mAb B0 的 Fc 工程化形式 (称为 B1、B2、B3、B4; 参见表 2) 的 ADCC 活性。如上所述来执行 ADCC 试验 (实施例 5)。B0 的 Fc 工程化形式与亲本 mAb B0 相比在潜力及功效方面都明显进步。一些 Fc 变体与亲本 mAb 相比, 最大裂解增幅多达 80%, EC₅₀ 增幅多达 20 倍。可见, 引入特异性 Fc 突变大大增加嵌合 mAb B0 的 ADCC 活性。实验结果见图 8。

[0301] 实施例 9

[0302] mAb A0 及 B0 的促细胞凋亡活性

[0303] 图 9 中展示 mAb A0 及 B0 在与抗 IgG mAb 交联之前及之后对拉莫斯细胞的促细胞凋亡活性。如实施例 6 中所述来执行细胞凋亡试验, 为进行抗体交联, 以 1:1 之比率向所述抗体添加抗人类 IgG 抗体 (γ-链特异性; Sigma), 37℃ 培育 15min, 接着添加标靶细胞。在图 9 中, 以 1 μg/ml 之浓度添加交联及未交联之 CD37 特异性 mAb。嵌合 mAb A0 即使未交

联亦为细胞凋亡之强效诱发剂,此作用在 mAb 交联之后显著增强。意外地,未交联之人源化 mAb B0 完全缺乏促细胞凋亡活性,然而在与抗 IgG Ab 交联之后显示强效促细胞凋亡活性。总之,此实验显示,人源化 mAb A0 的促细胞凋亡活性可在抗体交联后恢复。

[0304] 实施例 10

[0305] mAb A0 的 Fc 工程化形式的促细胞凋亡活性

[0306] 嵌合 mAb A0 的 Fc 工程化形式对拉莫斯细胞的促细胞凋亡活性通过实施例 6 所述膜联蛋白 V/PI 染色来评估。在 0.1 至 10,000ng/ml 之浓度范围内,对亲本抗体 A0 及 Fc 工程化变体 A2 及 A4 进行滴定。如图 10 中可见,所有 3 种抗体均显示相似的促细胞凋亡活性。总之,此实验显示 mAb A0 之 Fc 工程化不会改变其促细胞凋亡活性。

[0307] 实施例 11

[0308] a) 全血试验中 Fc 工程化抗体 A2 及 B2 的 B 细胞去除活性

[0309] 从人类血液去除正常 B 细胞之潜力及功效用全血试验来评估。在此试验形式中,将受试抗体添加至健康人体血样经 EDTA 处理的样品中,37℃ 培育 3 至 4 小时后,通过 4 色 FACS 试验定量测量 B 细胞数目。通过与缓冲液或 IgG 对照相比,可计算受试药剂去除 B 细胞之程度。由于存在与人体内情况相似的人类 IgG 含量及效应细胞,所以认为此试验类型对于预测该受试抗体的体内效应有高度相关性。

[0310] 用定量 FACS 试验来测定健康个体血样中的 B 细胞数及 / 或添加的 (spiked) 拉莫斯细胞的数目。定量分析用含已知数量荧光珠的 BD Trucount 管来进行,所述珠作为对目标细胞群进行定量的内标。用 4 种不同的 CD 标记 (CD3/CD14/CD19/CD45) 进行 4 色分析,并联合 FSC/SSC 分析来鉴别 B 细胞。

[0311] 将每孔 270 μ l 新鲜血液与 30 μ l 抗体稀释液 (在 PBS 中) 或 PBS (缓冲液对照) 一起在 48 孔板中一式双份进行培育。将样品在 37℃ 培育 4h,此后立即将其置于冰上。将 33 μ l CD 标记主混合物添加至 Trucount 管中,添加 50 μ l 血液 - 抗体混合物。使样品涡旋,室温培育 15 分钟。此后,添加 450 μ l 裂解缓冲液,使其涡旋,室温再培育 15 分钟。将样品置于冰上,立即用 BD FACS Canto™ 流式细胞仪进行 FACS 分析。用 BD FACSDiva 软件 (5.0.2 版) 进行数据评估。

[0312] Fc 工程化的嵌合及人源化 mAb A2 及 B2 在正常 B 细胞的去除能力方面显示优秀的潜力,其 EC_{50} 值为 0.15-0.35nM。正常 B 细胞的去除水平为 57% -65%。利妥昔单抗 (获准治疗 B-NHL 的抗体) 在此试验形式中平行测试,其 B 细胞去除活性显著较低 (图 11A)。

[0313] b) Fc 工程化使 A0 及 B0 的 B 细胞去除活性比利妥昔单抗更好

[0314] mAb 对健康人体血液中 B 细胞去除的效应按 a) 所述来评估。未经 Fc 工程化之 mAb A0 及 B0 显示 B 细胞去除活性为 13% -26%,与利妥昔单抗类似。Fc 工程化使两种 mAb 的 B 细胞去除活性均显著增加,平均去除百分比为 75%。此显然证明 A2 及 B2 与利妥昔单抗相比的优越性 (图 11B)。

[0315] c) 抗体 A2 和 B2 在全血试验中不去除 T 细胞和单核细胞

[0316] 在评估对 B 淋巴细胞的影响的同时,也评估 A2 和 B2 对 T 淋巴细胞 (CD3+) 和单核细胞 (CD14+) 的影响。未观察到 T 细胞数或单核细胞数的显著变化,但观察到 B 细胞数显著减少 (图 11C)。这表明, A2 和 B2 从人血中特异性除去 B 细胞。

[0317] 实施例 12

[0318] Fc 工程化导致比利妥昔单抗更好的 ADCC 活性

[0319] mAb A0 的 Fc 工程化形式 A2 的 ADCC 活性用拉莫斯细胞作靶细胞进行评估。如上所述来执行 ADCC 试验（实施例 5）。未经 Fc 工程化的抗体 A0 对拉莫斯靶细胞的最大裂解次于利妥昔单抗（对 CD20 具特异性的抗体，其经批准用于治疗罹患 B 细胞淋巴瘤之患者）。意外发现，A0 的 Fc 工程化使 A2 在潜力和功效方面比利妥昔单抗明显进步。此表明，当拉莫斯细胞上 CD20 及 CD37 的抗原密度相似时，经 Fc 工程化的抗 CD37 mAb A2 的 ADCC 活性比利妥昔单抗明显更好（图 12）。

[0320] 实施例 13

[0321] 全血试验中 Fc 工程化抗体 A2 及 B2 之淋巴瘤细胞去除活性

[0322] 拉莫斯细胞（来自人类血液的伯基特淋巴瘤细胞系）去除活性之潜力及功效用实施例 11 所述全血试验来评估。在该试验之改良版中，向全血基质中添加（spike in）拉莫斯肿瘤细胞，其与内源性 B 细胞相比约十倍过量，其去除用 FACS 分析来监测。Fc 工程化之嵌合及人源化 mAb A2 及 B2 在拉莫斯细胞去除活性方面显示良好潜力，其 EC_{50} 值为 0.35-0.54nM。拉莫斯细胞去除水平为 36%-55%。利妥昔单抗（获准治疗 B-NHL 的抗体）在此试验形式中平行测试，其拉莫斯细胞去除活性显著较低（图 13）。

[0323] 实施例 14

[0324] 疾病相关模型中 Fc 工程化抗体 A2 及 B2 之活体内功效

[0325] mAb A2 及 B2 之活体内抗肿瘤功效用拉莫斯伯基特淋巴瘤裸小鼠模型来评估。将 CD37 阳性拉莫斯细胞经皮下注射至动物腰窝中，当肿瘤形成时，开始静脉内治疗所述动物。选择每周两次之治疗方案（q3/4d），平行测试两种不同剂量（8mg/kg 及 25mg/kg）。两种 mAb 均显示显著抗肿瘤功效，其 T/C 值为 0.2%-26%。未观测到两种剂量水平之间及两种抗体之间的显著差异。然而，经大剂量 A2 治疗之动物中存在功效更佳之倾向，T/C 为 0.2%，且 5/10 的肿瘤完全消退。所有治疗均良好耐受，无明显重量减轻。总之，mAb A2 及 B2 显示在拉莫斯伯基特淋巴瘤模型中具有显著抗肿瘤功效，在 8mg/kg 剂量水平获得最大活性。该活性可与平行测试之利妥昔单抗之活性相当。必须注意的是，在 Fc 工程化抗体 A2 及 B2 中观测到之体内活性可能被低估，因为此等 mAb 针对与人类效应细胞而非鼠效应细胞之相互作用进行了优化。此种经优化的相互作用在使用人类效应细胞时引起体外 ADCC 活性大大改善（实施例 8），但在所用小鼠模型中并未有所反映。然而，此实验中获得之数据（图 14 所示）提供活体内证据证明靶向 CD37 之概念、且因此可用于评估人类之治疗剂量。

[0326] 实施例 15

[0327] 小鼠中 A2 及 B2 的药物动力学（PK）与药效作用（PD）的相关性，用以评估对人的治疗剂量

[0328] 使用拉莫斯肿瘤异种移植模型，在小鼠中建立 A2 及 B2 之血清浓度与其药效作用之间的相关性。此等研究证明，在小鼠中采用标准的 q3 或 4d 抗体给药方案时，8mg/kg A2 及 B2 的剂量（配制在柠檬酸盐缓冲液中：25mM 柠檬酸钠、115mM NaCl、0.04% Tween 80，pH 6.0）在此侵袭性皮下（s.c.）肿瘤模型中引起肿瘤生长显著延缓，从而表明在整个给药间隔期具有持续之活性。此外，亦确立同一剂量之药物动力学数据。

[0329] 利用这种小鼠中的 PK/PD 关联性，人体的估计用量可以用人体中的人源化抗体清除率（CL）的已公开数据（Lobo 等人，2004）来计算。

[0330] A2 的完整计算：

[0331] • 单一剂量 8mg/kg 后的平均 $AUC(0-\infty) = 6099 \mu g \cdot h/mL$

[0332] • 小鼠中的指定 $AUC(0-\infty) =$ 小鼠中 $AUC(ss, \tau)$, 且 $AUC(ss, \tau)/\tau = C(ave, ss)$

[0333] • 小鼠中 $C(ave, ss)(\tau = 84 \text{ 小时}) = 73 \mu g/mL$, 假定其等同于人体中的 $C(ave, ss)(\tau = 168h)$ 。

[0334] • 因为人体 $AUC(ss, \tau) = D/CL$, 且利用 Lobo 等人 2004 所报导的人体中人源化抗体清除率 (CL) 范围: $CL = 7mL/h/70kg$ 至 $15mL/h/70kg$ 。

[0335] • 对于 $7mL/h/70kg: 168hr \times 7 = 1176mL \times 73 \mu g = 86mg$ 。

[0336] • 对于 $15mL/h/70kg: 168hr \times 15 = 2520mL \times 73 \mu g = 184mg$ 。

[0337] 因此, 对于 70kg 的人而言, A2 的每周估计剂量为 86-184mg。使用与上述相同之假定, 对于 70kg 的人而言, 经计算, B2 的每周估计人用剂量为 189 至 404mg。

[0338] 实施例 16

[0339] 抗体 A2 及 B2 对多发性骨髓瘤细胞显示 ADCC 活性

[0340] CD37 在一组多发性骨髓瘤细胞系上的表达用 CD37 特异性抗体经 FACS 分析来评估。细胞与直接荧光标记之抗 CD37 抗体或与未标记之 CD37 特异性抗体一起保温, 接着与荧光标记的抗第一抗体的第二抗体一起保温。带标记的细胞的荧光活性用 FACS Canto 流式细胞仪 (BD Biosciences) 测量, 荧光强度用 FACS Diva 软件记录为 MFI。11 例所测试的多发性骨髓瘤中, 有 6 例表明细胞表面表达 CD37 (图 15)。接着, 将细胞系 (RPMI 8226) 用 CD37 特异性抗体 A2 及 B2 按实施例 5 所述的 ADCC 试验进行测试。两种抗体均证明在 RPMI 8226 细胞上具有强效 ADCC 活性, EC_{50} 值为 25ng/ml, 最大细胞裂解为约 20% (图 16)。此实施例证明, 在使用 CD37 特异性 mAb A2 及 B2 的情况下, CD37 阳性多发性骨髓瘤细胞易感于 ADCC 介导的细胞裂解作用。

[0341] 图 15 显示 6 例多发性骨髓瘤细胞系的 CD37 表达的 FACS 分析。空心曲线表示与 CD37 特异性抗体的反应性, 实心曲线表示阴性对照抗体。

[0342] 实施例 17

[0343] 抗体 A2 和 B2 对来自患者的 CLL 细胞的促细胞凋亡活性

[0344] A2 和 B2 的促凋亡活性在衍生自患者的慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 细胞上进行评估。从诊断为 CLL 的患者制得外周血单核细胞 (PBMC), 所述患者事先都已按赫尔辛基声明 (the declaration of Helsinki) 取得知情同意。用 Ficoll-Paque[®] plus 方法 (StemCell Technologies, Meylan, France) 从新鲜采集的血液纯化出原代 CLL 细胞, 在含 10% 热灭活人 AB 血清 (Sigma, France) 的 RPMI 1640 培养基中 4℃ 储存备用。原代 CLL 细胞的培养基是 RPMI 1640, 补加 2mM L-谷氨酰胺和 10% 热灭活的人 AB 血清。为了进行实验, 原代 CLL 细胞用血细胞计数仪计数, 并用 0.25% 台盼蓝排除法评估其活力。CLL 样品的活力在 90% 以上。按实施例 6 所述, 将细胞与 30 $\mu g/ml$ 抗体在 37℃ 保温 24 小时后, 测定膜联蛋白 V 阳性细胞百分比。如图 17 所示, Fc 工程化抗体 A2 和 B2 对原代 CLL 细胞显示强劲的促细胞凋亡活性, 其膜联蛋白 V 阳性细胞分别为约 90% (A2) 和 40% (B2)。这两种 mAb 都明显优于 rituximab, 后者是已获准治疗 B-NHL 的 B 细胞特异性抗体。Mab A2 的活性还明显优于阿来组单抗, 后者是获准治疗 B-CLL 的抗体。

[0345] 实施例 18

[0346] 生成转基因小鼠模型,其中的内源 CD37 基因被其人类同源物置换。

[0347] 构建靶向载体,其含有人 CD37(BAC(细菌人工染色体)ID:RP11-433N13、RP11-50I11)的编码序列,且该编码序列侧翼是非翻译序列。该靶向载体还含有侧翼于外显子 3-4 的 loxP 位点、以及被 frt 位点侧接的 neo 选择标记。接着,用此靶向载体和小鼠 ES 细胞按照标准技术进行同源重组,以便将小鼠基因组序列的外显子 1-8 替换为相应的人类序列。为此,使 C57BL/6N ES 细胞系在失去有丝分裂活性的饲养层上生长,所述饲养层在补加 20% FBS(PAN) 及 1200u/mL 白血病抑制因子(Millipore ESG 1107)的 DMEM 高葡萄糖培养基中含有小鼠胚胎成纤维细胞(MEF)。在 240V 及 500F 下,将 1×10^7 个细胞及 30g 线性化 DNA 载体电穿孔(Biorad Gene Pulser)。G418 选择(200g/mL)在第 2 天开始。用更昔洛韦(Gancyclovir)(2M)进行之反选择在电穿孔后第 5 天(d5)开始。在第 8 天(d8)分离 ES 克隆,对克隆进行扩增及在液氮中冷冻后,根据标准方法,(例如)通过使用对标靶基因具特异性之放射性标记之 DNA 探针,通过 Southern 印迹法进行分析。接着,通过本领域已知之标准方法,例如通过囊胚注射(blastocyst injection)及随后产生嵌合动物,而产生转基因动物。分别对嵌合及杂合动物进行常规育种,获得对人 CD37 的杂合型及纯合型动物。使用标准方法,例如外周血淋巴细胞之 FACS 分析或组织切片之免疫组织化学分析,在蛋白水平监测鼠 CD37 基因之成功基因剔除及人 CD37 基因之基因敲入。

[0348] 实施例 19

[0349] 制备替代抗体(surrogate antibody)

[0350] 用猕猴(macaque)CD37 抗原之完整编码序列(登录号 ENSMMUT 00000020744)对小鼠及兔进行基因免疫,产生猕猴 CD37 特异性单克隆抗体。特异性抗体用表达猕猴 CD37 抗原之重组 HEK293 或 CHO 细胞来选择,使用例如标准 ELISA 或 FACS 技术。这些抗体的可变重链及轻链编码序列通过 PCR 克隆重新获得,并用于(按实施例 1 所述)产生嵌合抗体,使所述嵌合抗体具有来源于鼠或兔起始抗体的 VH 及 VL 区、以及与本发明抗体(例如, A2 或 B2)的 Fc 部分一致的 Fc 部分。结合及功能性质可利用试验来研究,所述试验例如,利用猕猴 CD37 表达细胞作为例如结合作用的标靶细胞的试验系统、FACS、Scatchard 分析、ADCC 及细胞凋亡试验。最后,替代抗体根据食蟹猴(Cynomolgus monkey)血液的体外 B 细胞去除活性来选择。

[0351] 实施例 20

[0352] 制备产生所述抗体之克隆

[0353] 为制备用于产生本发明抗体(例如,抗体 A2、A4、B2 或 B4)之克隆,将编码完整重链(例如分别具有 SEQ ID NO:27、31、35 或 39 所示序列)的 DNA 分子插入真核表达载体 pBI-26 中,该载体亦编码来自仓鼠之二氢叶酸还原酶选择标记。

[0354] 将编码 SEQ ID NO:29、33、37 及 41 分别所示的完整轻链的 DNA 分子插入真核表达载体 pBI-49 中,该载体亦编码新霉素磷酸转移酶选择标记。对完整重链及轻链的 DNA 序列进行充分测序。

[0355] 对于在化学合成培养基(chemically defined media)中悬浮生长的仓鼠细胞系 CHO-DG44,用上述编码抗体重链及轻链的真核表达载体共转染。被转染的细胞在不含次黄嘌呤及胸苷、但有 G418 抗生素的培养基中选择。接着,将细胞用浓度递增的氨甲蝶呤(MTX)进行分步选择及扩增。在 800nM MTX 扩增步骤中,基于旋转器运行中之生长效能及抗体生

成而选出一个细胞系,将其冻存于 Safety Cell Bank(SCB) 中。

[0356] 参考文献

[0357] American Cancer Society(Cancer Facts & Figures 2005)。

[0358] Baker 及 Jones, Curr Opinion in Drug Discovery & Development, 10, 219-227, 2007。

[0359] Barbas 等人, Proc. Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813, 1994。

[0360] Barrena 等人, Leukemia 19:1376-1383, 2005。

[0361] Belov 等人, Cancer Research 61:4483-4489, 2001。

[0362] Boulianne G. L., Hozumi N. 及 Shulman, M. J., Production of functional chimeric mouse/human antibody. Nature 312:643, 1984。

[0363] Brockhoff G, Hofstaedter F, Knuechel R., Cytometry 1994, 17(1):75-83。

[0364] Buchsbaum 等人, Cancer Research 52:6476-6481, 1992。

[0365] Chothia 及 Lesk., J. Mol. Biol. 196:901-917, 1987。

[0366] Coiffier B 等 人, Rituximab(anti-CD20 monoclonal antibody)for the treatment of patients with relapsing or refractory aggressive lymphoma:a multicenter phase II study. Blood 1998 ;92:1927-1932。

[0367] Coiffier, JCO, 23, 6387-93, 2005。

[0368] Edelman 等人, Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85, 1969。

[0369] Feugier P 等人, Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma:a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. J Clin Oncol 2005 ;23:4117-4126。

[0370] Foran JM 等人, European phase II study of rituximab(chimeric anti-CD20 monoclonal antibody)for patients with newly diagnosed mantle-cell lymphoma and previously treated mantle-cell lymphoma, immunocytoma, and small B-cell lymphocytic lymphoma. J Clin Oncol 2000 ;18:317-324。

[0371] Forstpointner R 等人, The addition of rituximab to a combination of fludarabine, cyclophosphamide, mitoxantrone (FCM) significantly increases the response rate and prolongs survival as compared with FCM alone in patients with relapsed and refractory follicular and mantle cell lymphomas:results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. Blood, 2004 ; 104:3064-3071。

[0372] Francisco 等人, Blood, 2003 年 8 月 15 日 ;102(4):1458-65。

[0373] Frank 等人, Methods Enzymol. 154:221-249, 1987。

[0374] Gait, M. J., Oligonucleotide Synthesis. A Practical Approach. IRL Press, Oxford, UK(1984)。

[0375] Goldenberg DM 及 Sharkey RM, Oncogene(2007) 26, 3734-3744. Novel radiolabeled antibody conjugates。

[0376] Hainsworth JD. Prolonging remission with rituximab maintenance therapy. Semin Oncol 2004 ;31:17-21。

- [0377] Hawkins 等人, J. Mol. Biol. 254:889-896, 1992。
- [0378] Hayden 及 Mandecki. Gene synthesis by serial cloning of oligonucleotides. DNA 7(8):571-7, 1988。
- [0379] Hertz T, Yanover C: PepDist: A new framework for protein-peptide binding prediction based on learning peptide distance functions. BMC Bioinform(2006)7(增刊 1):S3-S17。
- [0380] Hiddemann W 等人, Frontline therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. Blood 2005; 106:3725-3732(2005a)。
- [0381] Hiddemann W 等人, Treatment strategies in follicular lymphomas: current status and future perspectives. J Clin Oncol 2005b;23:6394-6399。
- [0382] Howard OM 等人, Rituximab and CHOP induction therapy for newly diagnosed mantle-cell lymphoma: molecular complete responses are not predictive of progression-free survival. J Clin Oncol 2002;20:1288-1294。
- [0383] Ichimura 等人, J. Antibiot. (Tokyo), 44, 1045-53, 1991。
- [0384] Jackson 等人, 1995, J. Immunol. 154(7):3310-9。
- [0385] Johnson S, Bird R E. Construction of single-chain derivatives of monoclonal antibodies and their production in *Escherichia coli*. Methods Enzymol. 203:88-98, 1991。
- [0386] Jones TD, Hanlon M, Smith BJ, Heise CT, Nayee PD, Sanders DA, Hamilton A, Sweet C, Unitt E, Alexander G, Lo KM 等人: The development of a modified human IFN- α 2b linked to the Fc portion of human IgG1 as a novel potential therapeutic for the treatment of hepatitis C virus infection. J Interferon Cytokine Res(2004)24(9):560-572。
- [0387] Jones TD, Phillips WJ, Smith BJ, Bamford CA, Nayee PD, Baglin TP, Gaston JS, Baker MP: Identification and removal of a promiscuous CD4+T cell epitope from the C1 domain of Factor VIII. J Thromb Haemost(2005)3(5):991-1000。
- [0388] Kabat E. A., Wu T. T., Perry H. M., Gottesman K. S. 及 Foeller C., Sequences of Proteins of Immunological Interest(第 5 版). NIH 公开案第 91-3242 号. U. S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD 1991。
- [0389] Kahl B 等人, Maintenance rituximab following induction chemoimmunotherapy may prolong progression-free survival in mantle cell lymphoma: a pilot study from the Wisconsin Oncology Network. Ann Oncol, 2006; 17:1418-1423。
- [0390] Kaminski 等人, JCO 10:1696-1711, 1992。

- [0391] Kipriyanow 及 Le Gall, *Molecular Biotechnology* 26:39-60, 2004。
- [0392] Knobloch 等人, *MolCellBiol* 20:5363-5369, 2000。
- [0393] van der Kolk LE, Baars JW, Prins MH, van Oers MH. Rituximab treatment results in impaired secondary humoral immune responsiveness. *Blood*, 2002 年 9 月 15 日 ;100(6):2257-9。
- [0394] McLaughlin P 等 人, Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998 ;16:2825-2833。
- [0395] Lazar 等 人, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 年 3 月 14 日 ; 103(11):4005-10, 2006。
- [0396] Ling 及 MacLennan, 第 302-335 页, *Leucocyte Typing III. White Cell Differentiation Antigens*, Oxford University Press, 1987。
- [0397] Link 等人, *Journal Immunol* 137:3013-3018, 1986。
- [0398] Lobo 等人, *J Pharm Sci* 2004 ;93(11):2645-2668。
- [0399] Lowman 等人, *Biochemistry* 30(45):10832-10837, 1991。
- [0400] Marks 等人, *Biotechnology* 10:779-783, 1992。
- [0401] Moldenhauer G. 等 人, 1987. Biochemical characterization and epitope analysis of B lymphocyte-specific surface antigens defined by clustering workshop monoclonal antibodies. In *Leukocyte Typing III*. A. McMichael. 编, Oxford University Press, Oxford. 第 378 页。
- [0402] Moldenhauer G. :CD37. *J. Biol Regul Homeost Agents* 2000 ;14:281-83。
- [0403] Press 等人, *JCO* 7, 1989。
- [0404] Press OW 等人, Radiolabeled-antibody therapy of B-cell lymphoma with autologous bone marrow support. *N Engl J Med* 1993 ;329:1219-1224。
- [0405] Reche PA, Glutting JP, Zhang H, Reinherz EL: Enhancement to the RANKPEP resource for the prediction of peptide binding to MHC molecules using profiles. *Immunogenetics* (2004), 56(6):405-419。
- [0406] Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 第 21 版, Hendrickson R. 编。
- [0407] Romaguera JE 等人, High rate of durable remissions after treatment of newly diagnosed aggressive mantle-cell lymphoma with rituximab plus hyper-CVAD alternating with rituximab plus high-dose methotrexate and cytarabine. *J Clin Oncol*, 2005 ;23:7013-7023。
- [0408] Sasse 等人, *J. Antibiot. (Tokyo)*, 53, 879-85, 2000。
- [0409] Shier 等人, 1995, *Gene* 169:147-155。
- [0410] Schwartz-Albiez 等人, *Journal Immunol* 140:905-914, 1988。
- [0411] Stemmer 等人, Single-step assembly of a gene and entire plasmid from large numbers of oligodeoxyribonucleotides, *Gene* 164(1):49-53, 1995。
- [0412] van Spriël 等人, *Journal Immunol* 172:2953-2961, 2004。

- [0413] Suzawa 等人, Bioorg. Med. Chem., 8, 2175-84, 2000。
- [0414] Tangri S, Mothe BR, Eisenbraun J, Sidney J, Southwood S, Briggs K, Zinckgraf J, Bilsel P, Newman M, Chesnut R, LiCalsi C, Sette A: Rationally engineered therapeutic proteins with reduced immunogenicity. J Immunol (2005) 174(6):3187-3196。
- [0415] Thomas DA 等人, Chemoimmunotherapy with hyper-CVAD plus rituximab for the treatment of adult Burkitt and Burkitt-type lymphoma or acute lymphoblastic leukemia. Cancer 2006 ;106:1569-1580。
- [0416] Ye 等人, Gene synthesis and expression in E. coli for pump, a human matrix metalloproteinase. Biochem Biophys Res Commun 186(1):143-9, 1992。
- [0417] Yelton 等人, 1995, Immunol. 155:1994-2004。
- [0418] Zhao 等人, Blood 104 :摘要 2515, 2004。
- [0419] Zhao XB, Lapalombella R, Joshi T, Cheney C, Gowda A, Hayden-Ledbetter MS, Baum PR, Lin TS, Jarjoura D, Lehman A, Kussewitt D, Lee RJ, Caligiuri MA, Tridandapani S, Muthusamy N, Byrd JC. Targeting CD37+lymphoid malignancies with a novel engineered small modular immunopharmaceutical 2007 ;BLOOD, 2007 年 10 月 1 日, 第 110 卷, 第 7 期 (Epub ahead of print. Blood, 2007 年 4 月 17 日)。

[0001]

序列表

<110> 贝林格尔. 英格海姆国际有限公司 (Boehringer Ingelheim International GmbH)

<120> 抗 CD37 抗体

<130> 12_0278_PCT

<160> 42

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 348

<212> DNA

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (348)

<400> 1

```

gcg gtc cag ctg cag cag tct gga cct gag ctg gaa aag cct ggc gct      48
Ala Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15

```

```

tca gtg aag att tcc tgc aag gct tct ggt tac tca ttc act ggc tac      96
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
          20          25          30

```

```

aat atg aac tgg gtg aag cag aat aat gga aag agc ctt gag tgg att      144
Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
          35          40          45

```

```

gga aat att gat cct tat tat ggt ggt act acc tac aac cgg aag ttc      192
Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe
          50          55          60

```

```

aag ggc aag gcc aca ttg act gta gac aaa tcc tcc agc aca gcc tac      240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
          65          70          75          80

```

```

atg cag ctg aag agt ctg aca tct gag gac tct gca gtc tat tac tgt      288
Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
          85          90          95

```

```

gca aga teg gtc ggc cct atg gac tac tgg ggt caa gga acc tca gtc      336
Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
          100          105          110

```

```

acc gtc tct tct
Thr Val Ser Ser      348
          115

```

<210> 2

<211> 116

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 2

```

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

```

```

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

```

```

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

```

[0002]

```

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

<210> 3
<211> 324
<212> DNA
<213> 小家鼠(Mus musculus)

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(324)

<400> 3
gac atc cag atg act cag tct cca gcc tcc cta tct gca tct gtg gga 48
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
gag act gtc acc atc aca tgt cga aca agt gaa aat gtt tac agt tat 96
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
20 25 30
ttg get tgg tat cag cag aaa cag gga aaa tct cct cag etc ctg gtc 144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45
tct ttt gca aaa acc tta gca gaa ggt gtg cca tca agg ttc agt ggc 192
Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
agt gga tca ggc aca cag ttt tct ctg aag atc agc agc ctg cag cct 240
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
gaa gat tct gga agt tat ttc tgt caa cat cat tcc gat aat ccg tgg 288
Glu Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp
85 90 95
acg ttc ggt gga ggc acc gaa ctg gag atc aaa cga 324
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 4
<211> 108
<212> PRT
<213> 小家鼠(Mus musculus)

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

```

[0003]

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

<210> 5
 <211> 348
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 人源化的鼠免疫球蛋白序列

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) ... (348)

<400> 5
 gcc gtg cag ctg gtg cag agc gga gcc gag gtg aag aag ccc ggc agc 48
 Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 agc gtc aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac agc ttc acc ggc tac 96
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 aac atg aac tgg gtg egg cag gcc cca ggc cag gga ctg gaa tgg atg 144
 Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 ggc aac atc gac ccc tac tac ggc ggc acc acc tac aac cgg aag ttc 192
 Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe
 50 55 60
 aag ggc cgg gtg acc ctg acc gtg gac aag agc agc agc acc gcc tac 240
 Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 atg gaa ctg agc agc ctg egg agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc 288
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 gcc aga tcc gtg ggc ccc atg gac tac tgg ggc cag gcc acc ctg gtc 336
 Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 acc gtc tct tca 348
 Thr Val Ser Ser
 115

[0004]

<210> 6
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 合成的构建体

<400> 6

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

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

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

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 7
 <211> 348
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 人源化的鼠免疫球蛋白序列

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(348)

<400> 7

gcc gtc cag ctg gtc gag tct ggc ggc gga ctg gtc cag cct ggc ggc 48
 Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

agc ctg aga ctg agc tgc aag gcc agc ggc tac agc ttc acc ggc tac 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30

aac atg aac tgg gtg cgg cag gcc cct ggc aag ggc ctg gaa tgg gtg 144
 Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

ggc aac atc gac ccc tac tac ggc ggc acc acc tac aac cgg aag ttc 192
 Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe
 50 55 60

[0005]

aag ggc agg gcc acc ctg agc gtg gac aag agc agc agc acc gcc tac Lys Gly Arg Ala Thr Leu Ser Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr 65 70 75 80	240
ctg cag atg aac age ctg cgg gcc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95	288
gcc aga tcc gtg gcc ccc atg gac tac tgg gcc cag gcc acc ctg gtc Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val 100 105 110	336
acc gtc tct tca Thr Val Ser Ser 115	348
<210> 8 <211> 116 <212> PRT <213> 人工的	
<220> <223> 合成的构建体	
<400> 8	
Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly 1 5 10 15	
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr 20 25 30	
Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val 35 40 45	
Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe 50 55 60	
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Ser Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr 65 70 75 80	
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95	
Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val 100 105 110	
Thr Val Ser Ser 115	
<210> 9 <211> 348 <212> DNA <213> 人工的	
<220> <223> 人源化的鼠免疫球蛋白序列	
<220> <221> CDS <222> (1).. (348)	

[0006]

```

<400> 9
gcc gtc cag ctg gtc gag tct ggc ggc gga ctg gtc cag cct ggc ggc      48
Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10          15

agc ctg aga ctg agc tgc aag gcc agc ggc tac agc ttc acc ggc tac      96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
          20          25          30

aac atg aac tgg gtg cgg cag gcc cct ggc aag ggc ctg gaa tgg gtg      144
Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35          40          45

gcc aac atc gac ccc tac tac ggc ggc acc acc tac aac cgg aag gtc      192
Ala Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Val
          50          55          60

aag ggc agg ttc acc atc agc gtg gac aag agc agc agc acc gcc tac      240
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65          70          75          80

ctg cag atg aac agc ctg cgg gcc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc      288
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85          90          95

gcc aga tcc gtg ggc ccc atg gac tac tgg ggc cag ggc acc ctg gtc      336
Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
          100          105          110

acc gtc tct tca
Thr Val Ser Ser
          115

<210> 10
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的构建体

<400> 10

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

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

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

Ala Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Val
          50          55          60

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

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

Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
          100          105          110

```

[0007]

Thr Val Ser Ser
115

<210> 11
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 人源化的鼠免疫球蛋白序列

<220>
<221> CDS
<222> (1).. (324)

<400> 11
gac atc cag atg acc cag agc ccc agc agc ctg agc gcc agc gtg ggc 48
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
gac egg gtc acc atc acc tgc cgg acc agc gag aac gtg tac agc tac 96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
20 25 30
ctg gcc tgg tat cag cag aag ccc gcc aag gcc ccc aag ctg ctg gtg 144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Val
35 40 45
tcc ttc gcc aag acc ctg gcc gag gcc gtg ccc agc cgg ttt agc gcc 192
Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
agc gcc tcc gcc acc gac ttc acc ctg acc atc agc agc ctg cag ccc 240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
gag gac ttc gcc acc tac ttt tgc cag cac cac agc gac aac ccc tgg 288
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp
85 90 95
acc ttc gcc cag gcc acc aag gtg gag atc aaa cgt 324
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 12
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的构建体

<400> 12
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 Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Val
35 40 45
Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0008]

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 Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp
85 90 95

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

<210> 13
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 人源化的鼠免疫球蛋白序列

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(324)

<400> 13
gac atc gtg atg acc cag agc ccc agc agc ctg agc gcc agc gtg ggc 48
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
gac cgg gtg acc atc acc tgc cgg gtc agc gag aac gtg tac agc tac 96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Val Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
20 25 30
ctg gcc tgg tat cag cag aag ccc gcc aag gcc ccc aag ctg ctg atc 144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
tcc ttc gcc aag acc ctg gcc gag gcc gtg ccc agc cgg ttt agc gcc 192
Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
agc gcc tcc gcc acc gac ttc acc ctg acc atc agc agc ctg cag ccc 240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
gag gac ttc gcc acc tac ttt tgc cag cac cac agc gac aac ccc tgg 288
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp
85 90 95
acc ttc gcc cag gcc acc aag gtg gag atc aaa cgt 324
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 14
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的构建体

<400> 14

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Val Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr

[0009]

	20	25	30	
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile				
35	40	45		
Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu 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 Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp				
85	90	95		
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg				
100	105			
<210> 15				
<211> 324				
<212> DNA				
<213> 人工的				
<220>				
<223> 人源化的鼠免疫球蛋白序列				
<220>				
<221> CDS				
<222> (1)..(324)				
<400> 15				
gac atc eag atg acc cag agc ccc agc agc ctg agc gcc agc gtg ggc				48
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly				
1 5 10 15				
gac egg gtg acc atc acc tgc cgg acc agc gag aac gtg tac agc tac				96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr				
20 25 30				
ctg gcc tgg tat cag cag aag ccc ggc aag gcc ccc aag ctg ctg gtg				144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Val				
35 40 45				
tcc ttc gcc aag acc ctg gcc gag ggc glg ccc agc cgg ttt agc ggc				192
Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly				
50 55 60				
agc ggc tcc gcc acc cag ttc acc ctg acc atc agc agc ctg cag ccc				240
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro				
65 70 75 80				
gag gac ttc gcc acc tac ttt tgc cag cac cac agc gac aac ccc tgg				288
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp				
85 90 95				
acc ttc gcc gga ggc acc gag ctg gag atc aaa cgt				324
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Glu Ile Lys Arg				
100 105				
<210> 16				
<211> 108				
<212> PRT				
<213> 人工的				
<220>				

[0010]

<223> 合成的构建体

<400> 16

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 Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 17

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 人源化的鼠免疫球蛋白序列

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (324)

<400> 17

gac atc gtg atg acc cag agc ccc gcc acc ctg agc ctg agc cct ggc 48
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

gag cgg gcc acc ctg tcc tgc cgg acc agc gag aac gtg tac agc tac 96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
20 25 30

ctg gcc tgg tat cag cag aag ccc gcc cag gcc ccc aga ctg ctg gtg 144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Val
35 40 45

tcc ttc gcc aag acc ctg gcc gag gcc gtg ccc gcc agg ttt agc gcc 192
Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

agc gcc tcc gcc acc gac ttc acc ctg acc atc agc agc ctg gaa ccc 240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

gag gac ttc gcc gtg tac ttc tgc cag cac cac agc gac aac ccc tgg 288
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp
85 90 95

acc ttc gcc cag gcc acc aag gtg gag atc aaa cgt 324
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

[0011]

100	105	
<210> 18		
<211> 108		
<212> PRT		
<213> 人工的		
<220>		
<223> 合成的构建体		
<400> 18		
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
1 5 10 15		
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr		
20 25 30		
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Val		
35 40 45		
Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly		
50 55 60		
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro		
65 70 75 80		
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp		
85 90 95		
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg		
100 105		
<210> 19		
<211> 324		
<212> DNA		
<213> 人工的		
<220>		
<223> 人源化的鼠免疫球蛋白序列		
<220>		
<221> CDS		
<222> (1)... (324)		
<400> 19		
gac atc ggc atg acc cag agc ccc gcc acc ctg agc ctg agc cct ggc	48	
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
1 5 10 15		
gag cgg gcc acc ctg tcc tgc cgg gtc agc gag aac gtg tac agc tac	96	
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Val Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr		
20 25 30		
ctg gcc lgg lat cag cag aag ccc gcc cag gcc ccc aga ctg ctg atc	144	
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile		
35 40 45		
tcc ttc gcc aag acc ctg gcc gag gcc gtg ccc gcc agg ttt agc gcc	192	
Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly		
50 55 60		
agc gcc tcc gcc acc gac ttc acc ctg acc atc agc agc ctg gaa ccc	240	

[0012]

```

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                               75                               80

gag gac ttc gcc gtg tac ttc tgc cag cac cac agc gac aac ccc tgg      288
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp
85                               90                               95

acc ttc ggc cag ggc acc aag gtc gag atc aaa cgt      324
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100                               105

<210> 20
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的构建体

<400> 20

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

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

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

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

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

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

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

<210> 21
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 人源化的鼠免疫球蛋白序列

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(324)

<400> 21
gac atc gtg atg acc cag agc ccc gcc acc ctg agc ctg agc cct ggc      48
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1                               5                               10                               15

gag cgg gcc acc ctg tcc tgc cgg acc agc gag aac gtg tac agc tac      96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
20                               25                               30

```

[0013]

ctg gcc tgg tat cag cag aag ccc gcc cag gcc ccc aga ctg ctg gtg 144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Val
35 40 45

tcc ttc gcc aag acc ctg gcc gag gcc gtg ccc gcc agg ttt agc gcc 192
Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

agc gcc tcc gcc acc cag ttc acc ctg acc atc agc agc ctg gaa ccc 240
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

gag gac ttc gcc gtc tac ttc tgc cag cac cac agc gac aac ccc tgg 288
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp
85 90 95

acc ttc gcc gga gcc acc gag ctg gag atc aaa cgt 324
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 22
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的构建体

<400> 22

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

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

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

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

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

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

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

<210> 23
<211> 990
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(990)

<400> 23
gcc tcc acc aag gcc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag 48
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

[0014]

1	5	10	15	
age acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac				96
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr				
	20	25	30	
ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc				144
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser				
	35	40	45	
ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc				192
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser				
	50	55	60	
ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc				240
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr				
	65	70	75	80
tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag				288
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys				
	85	90	95	
aga gtt gag ccc aaa tet tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc				336
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys				
	100	105	110	
cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca				384
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro				
	115	120	125	
aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc ccg acc cct gag gtc aca tgc				432
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys				
	130	135	140	
gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg				480
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp				
	145	150	155	160
tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag				528
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu				
	165	170	175	
gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg				576
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu				
	180	185	190	
cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac				624
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn				
	195	200	205	
aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg				672
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly				
	210	215	220	
cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc ccg gag gag				720
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu				
	225	230	235	240
atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat				768
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr				
	245	250	255	
ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac				816
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn				
	260	265	270	
aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc				864
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe				
	275	280	285	
ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac				912
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn				

[0015]

```

290          295          300
gtc ttc tca tgc tcc gtc atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg      960
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305          310          315          320

cag aag agc ctc tcc ctg tcc cgg ggt aaa      990
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325          330

<210> 24
<211> 330
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 24
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1          5          10          15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20          25          30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35          40          45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65          70          75          80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85          90          95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100         105         110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115         120         125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130         135         140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145         150         155         160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165         170         175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180         185         190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195         200         205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210         215         220

```

[0016]

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

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

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

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

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

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

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

<210> 25
 <211> 318
 <212> DNA
 <213> 人(Homo sapiens)

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (318)

<400> 25
 act gtg get gea cea tct gtc ttc atc ttc ccg cea tct gat gag cag 48
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 1 5 10 15

tig aaa tct gga act gcc tct gtt gtc tgc ctg ctg aat aac ttc tat 96
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 20 25 30

ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tgc 144
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 35 40 45

ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc 192
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 50 55 60

tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa 240
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 65 70 75 80

cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tgc ccc 288
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 85 90 95

gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt 318
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 26
 <211> 106

[0017]

```

<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)

<400> 26
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1          5          10          15

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

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

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

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

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

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

<210> 27
<211> 1338
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> Fc 工程化的嵌合免疫球蛋白序列

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1338)

<400> 27
gcg gtc cag ctg cag cag tct gga cct gag ctg gaa aag cct ggc gct      48
Ala Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
1          5          10          15

tca gtg aag att tcc tgc aag get tct ggt tac tca ttc act ggc tac      96
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20          25          30

aat atg aac tgg gtg aag cag aat aat gga aag agc ctt gag tgg att      144
Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35          40          45

gga aat att gat cct tat tat ggt ggt act acc tac aac egg aag ttc      192
Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe
50          55          60

aag ggc aag gcc aca ttg act gla gac aaa tcc tcc agc aca gcc tac      240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65          70          75          80

atg cag ctc aag agt ctg aca tct gag gac tct gca gtc tat tac tgt      288
Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85          90          95

gca aga tgg gtc ggc cct atg gac tac tgg ggt caa gga acc tca gtc      336

```

[0018]

Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val	
100 105 110	
acc gtc tct tca gcc tcc acc aag ggc cca tgc gtc ttc ecc ctg gca	384
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala	
115 120 125	
ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg gcc tgc ctg	432
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu	
130 135 140	
gic aag gac tac ttc ccc gaa ccg gic acg gic tgc tgg aac tca gcc	480
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly	
145 150 155 160	
gcc ctg acc agc gcc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca	528
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser	
165 170 175	
gga ctg tac tcc ctg agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg	576
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu	
180 185 190	
ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc	624
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr	
195 200 205	
aag gtg gac aag aga gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca	672
Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr	
210 215 220	
tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctg ctg ggg gga ccg gac gtc ttc	720
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe	
225 230 235 240	
ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctg atg atc tcc ccg acc cct	768
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro	
245 250 255	
gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc	816
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val	
260 265 270	
aag ttc aac tgg tac gtg gac gcc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca	864
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr	
275 280 285	
aag ccg ccg gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc	912
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val	
290 295 300	
ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat gcc aag gag tac aag tgc	960
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys	
305 310 315 320	
aag gtc tcc aac aaa gcc ctg cca gcc ccc gaa gag aaa acc atc tcc	1008
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser	
325 330 335	
aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca	1056
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro	
340 345 350	
tcc ccg gag gag atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc	1104
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val	
355 360 365	
aaa gcc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg	1152
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly	
370 375 380	
cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac	1200

[0019]

```

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

ggc tcc ttc ttc ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg      1248
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
                               405                               410                               415

cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac      1296
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
                               420                               425                               430

aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tcc ccg ggi aaa      1338
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                               435                               440                               445

<210> 28
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的构建体

<400> 28

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

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

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35                               40                               45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe
50                               55                               60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                               70                               75                               80

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

Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
100                              105                              110

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

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

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

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

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

```

[0020]

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr	
195	200 205
Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr	
210	215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe	
225	230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro	
	245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val	
	260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr	
	275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val	
	290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys	
	305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser	
	325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro	
	340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val	
	355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly	
	370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp	
	385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp	
	405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His	
	420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	
	435 440 445
<210>	29
<211>	642
<212>	DNA
<213>	人工的
<220>	

[0021]

<223> 嵌合的免疫球蛋白序列

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(642)

<400> 29

gac atc cag atg act cag tct cca gcc tcc cta tct gca tct gtg gga 48
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

gag act gtc acc atc aca tgt cga aca agt gaa aat gtt tac agt tat 96
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
20 25 30

ttg gct tgg tat cag cag aaa cag gga aaa tct cct cag ctc ctg gtc 144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45

tct ttt gca aaa acc tta gca gaa ggt gtg cca tca agg ttc agt ggc 192
Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

agt gga tca ggc aca cag ttt tct ctg aag atc agc agc ctg cag cct 240
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

gaa gat tct gga agt tat ttc tgt caa cat cat tcc gat aat ccg tgg 288
Glu Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp
85 90 95

acg ttc ggt gga ggc acc gaa ctg gag atc aaa cga act gtg gct gca 336
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga 384
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc 432
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tgg ggt aac tcc cag 480
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc 528
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac 576
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

gcc tgc gaa gtc acc cat cag gcc ctg agc tgg ccc gtc aca aag agc 624
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

ttc aac agg gga gag tgt 642
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 30

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的构建体

[0022]

<400> 30

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

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 31

<211> 1338

<212> DNA

<213> 人工的

<220>

<223> Fc 工程化的嵌合免疫球蛋白序列

<220>

<221> CDS

<222> (1) ... (1338)

[0023]

<400> 31	
gcg gtc cag ctg cag cag tet gga cct gag ctg gaa aag cct ggc gct	48
Ala Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala	
1 5 10 15	
tca gtg aag att tcc tgc aag gct tct ggt tac tca ttc act ggc tac	96
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr	
20 25 30	
aat atg aac tgg gtg aag cag aat aat gga aag agc ctt gag tgg att	144
Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile	
35 40 45	
gga aat att gat cct tat tat ggt ggt act acc tac aac cgg aag ttc	192
Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe	
50 55 60	
aag ggc aag gcc aca ttc act gta gac aaa tcc tcc agc aca gcc tac	240
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr	
65 70 75 80	
atg cag ctg aag agt ctg aca tct gag gac tct gca gtc tat tac tgt	288
Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys	
85 90 95	
gca aga tgg gtc ggc cct atg gac tac tgg ggt caa gga acc tca gtc	336
Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val	
100 105 110	
acc gtc tct tca gcc tcc acc aag ggc cca tgg gtc ttc ccc ctg gca	384
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala	
115 120 125	
ccc tcc tcc aag age acc tct ggg ggc aca ggc gcc ctg ggc tgc ctg	432
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu	
130 135 140	
gtc aag gac tac ttc ccc gaa cgg gtg acg gtg tgg tgg aac tca ggc	480
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly	
145 150 155 160	
gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc cgg get gtc cta cag tcc tca	528
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser	
165 170 175	
gga ctg tac tcc ctg agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg	576
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu	
180 185 190	
ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc	624
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr	
195 200 205	
aag glg gac aag aga gll gag ccc aaa tct tgl gac aaa act cac aca	672
Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr	
210 215 220	
tgc cca cgg tgc cca gca cct gaa ctg ctg gcg gga cgg gat gtc ttc	720
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Asp Val Phe	
225 230 235 240	
ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctg atg atc tcc cgg acc cct	768
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro	
245 250 255	
gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc	816
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val	
260 265 270	
aag ttc aac tgg tac gtg gac gcc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca	864
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr	
275 280 285	

[0024]

```

aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc      912
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290                295                300

ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc      960
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305                310                315                320

aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc gaa gag aaa acc atc tcc      1008
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser
325                330                335

aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca      1056
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340                345                350

tcc cgg gag gag atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc      1104
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355                360                365

aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg      1152
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370                375                380

cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac      1200
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385                390                395                400

ggc tcc ttc ttc ctc tat agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg      1248
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405                410                415

cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac      1296
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420                425                430

aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tcc cgg ggt aaa      1338
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435                440                445

```

<210> 32
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 合成的构建体

<400> 32

```

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

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

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Asn Asn Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35                40                45

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe
50                55                60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                70                75                80

```

[0025]

Met	Gln	Leu	Lys	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ala	Arg	Ser	Val	Gly	Pro	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	100	105	110	
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	115	120	125	
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	130	135	140	
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	145	150	155	160
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	165	170	175	
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	180	185	190	
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	195	200	205	
Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	210	215	220	
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Ala	Gly	Pro	Asp	Val	Phe	225	230	235	240
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	245	250	255	
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	260	265	270	
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	275	280	285	
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	290	295	300	
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	305	310	315	320
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Glu	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	325	330	335	
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	340	345	350	
Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	355	360	365	

[0026]

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

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

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

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

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

<210> 33
 <211> 642
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 嵌合的免疫球蛋白序列

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(642)

<400> 33
 gac atc cag atg act cag tct cca gcc tcc cta tct gca tct gtg gga 48
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

gag act gtc acc atc aca tgt cga aca agt gaa aat gtt tac agt tat 96
 Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
 20 25 30

ttg got tgg tat cag cag aaa cag gga aaa tct cct cag etc ctg gtc 144
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
 35 40 45

tct ttt gca aaa acc tta gca gaa ggt gtg cca tca agg ttc agt ggc 192
 Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

agt gga tca ggc aca cag itt tct ctg aag atc agc agc ctg cag cct 240
 Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

gaa gat tct gga agt tat ttc tgt caa cat cat tcc gat aat ccg tgg 288
 Glu Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp
 85 90 95

acg ttc ggt gga ggc acc gaa ctg gag atc aaa cga act gtg gct gca 336
 Thr Phe Gly Gly Thr Glu Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga 384
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat ecc aga gag gcc 432
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc etc caa tgg ggt aac tcc cag 480
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

[0027]

```

145          150          155          160
gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc      528
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
          165          170          175

agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac      576
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
          180          185          190

gcc tgc gaa gtc acc cat cag gcc ctg agc tgg ccc gtc aca aag agc      624
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
          195          200          205

ttc aac agg gga gag tgt      642
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
          210

```

<210> 34
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 合成的构建体

<400> 34

```

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

```

```

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
          20           25           30

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

Glu Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp
          85           90           95

```

```

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
          100          105          110

```

```

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
          115          120          125

```

```

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
          130          135          140

```

```

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145          150          155          160

```

```

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
          165          170          175

```

[0028]

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 35
<211> 1338
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> Fe 工程化的人源化免疫球蛋白序列

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1338)

<400> 35
gcg gtc cag ctg gtg cag agc gga gcc gag gtg aag aag ccc ggc agc 48
Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
agc gtc aag gtg tcc tgc aag gcc agc ggc tac agc ttc acc ggc tac 96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
aac atg aac tgg gtg cgg cag gcc cca ggc cag gga ctg gaa tgg atg 144
Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
ggc aac atc gac ccc tac tac ggc ggc acc acc tac aac cgg aag ttc 192
Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe
50 55 60
aag ggc cgg gtg acc ctg acc gtg gac aag agc agc agc acc gcc tac 240
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
atg gaa ctg agc agc ctg cgg agc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc 288
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
gcc aga tcc gtg ggc ccc atg gac tac tgg ggc cag ggc acc ctg gtc 336
Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
acc gtc tct tca gcc tcc acc aag ggc cca tgg gtc ttc ccc ctg gca 384
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125
ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg 432
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tgg tgg aac tca gcc 480
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca 528
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
gga ctc tac tcc ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg 576

[0029]

Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	
			180					185					190			
ggc	acc	cag	acc	tac	atc	tgc	aac	gtg	aat	cac	aag	ccc	agc	aac	acc	624
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	
		195				200					205					
aag	gtg	gac	aag	aga	gtt	gag	ccc	aaa	ttc	tgt	gac	aaa	act	cac	aca	672
Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	
	210					215					220					
tgc	cca	ccg	tgc	cca	gca	cct	gaa	ctc	ctg	ggg	gga	ccg	gac	gtc	ttc	720
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Asp	Val	Phe	
225					230					235					240	
ctc	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag	gac	acc	ctc	atg	atc	tec	cgg	acc	cct	768
Leu	Phe	Pro	Pro		Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
			245							250				255		
gag	gtc	aca	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	gtg	agc	cac	gaa	gac	cct	gag	gtc	816
Glu	Val	Thr		Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
		260						265						270		
aag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	gtg	gag	gtg	cat	aat	gcc	aag	aca	864
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	
	275					280						285				
aag	ccg	ccg	gag	gag	cag	tac	aac	agc	acg	tac	cgt	gtg	gtc	agc	gtc	912
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	
	290					295					300					
ctc	acc	gtc	ctg	cac	cag	gac	tgg	ctg	aat	ggc	aag	gag	tac	aag	tgc	960
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	
305					310					315					320	
aag	gtc	tec	aac	aaa	gcc	ctc	cca	gcc	ccc	gaa	gag	aaa	acc	atc	tec	1008
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Glu	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	
			325							330				335		
aaa	gcc	aaa	ggg	cag	ccc	cga	gaa	cca	cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	cca	1056
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	
			340				345						350			
tec	cgg	gag	gag	atg	acc	aag	aac	cag	gtc	agc	ctg	acc	tgc	ctg	gtc	1104
Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	
	355						360					365				
aaa	ggc	ttc	tat	ccc	agc	gac	atc	gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	aat	ggg	1152
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	
	370					375					380					
cag	ccg	gag	aac	aac	tac	aag	acc	acg	cct	ccc	gtg	ctg	gac	tec	gac	1200
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	
385					390					395					400	
ggc	tec	ttc	ttc	ctc	tat	agc	aag	ctc	acc	gtg	gac	aag	agc	agg	tgg	1248
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	
			405							410				415		
cag	cag	ggg	aac	gtc	ttc	tca	tgc	tec	gtg	atg	cat	gag	gct	ctg	cac	1296
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	
			420						425					430		
aac	cac	tac	acg	cag	aag	agc	ctc	tec	ctg	tec	ccg	ggt	aaa			1338
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
		435					440					445				
<210>	36															
<211>	446															
<212>	PRT															
<213>	人工的															

[0030]

<220>

<223> 合成的构建体

<400> 36

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

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

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

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

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

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

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

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

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

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe
225 230 235 240

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

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

[0031]

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 37
 <211> 642
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 人源化免疫球蛋白序列

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (642)

<400> 37
 gac atc cag atg acc cag agc ccc agc agc ctg agc gcc agc gtg ggc 48
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 gac cgg gtg acc atc acc tgc cgg acc agc gag aac gtg tac agc tac 96
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
 20 25 30
 ctg gcc tgg tat cag cag aag ccc ggc aag gcc ccc aag ctg ctg gtg 144
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Val
 35 40 45

[0032]

tcc ttc gcc aag acc ctg gcc gag gcc gtg ccc agc cgg ttt agc gcc Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly 50 55 60 agc gcc tcc gcc acc gac ttc acc ctg acc atc agc agc ctg cag ccc Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro 65 70 75 80 gag gac ttc gcc acc tac ttt tgc cag cac cac agc gac aac ccc tgg Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp 85 90 95 acc ttc gcc cag gcc acc aag gtg gag atc aaa cga act gtg gct gca Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala 100 105 110 cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly 115 120 125 act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala 130 135 140 aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tgg ggt aac tcc cag Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln 145 150 155 160 gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser 165 170 175 agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr 180 185 190 gcc tgc gaa gtc acc cat cag gcc ctg agc tgc ccc gtc aca aag agc Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser 195 200 205 ttc aac agg gga gag tgt Phe Asn Arg Gly Glu Cys 210 <210> 38 <211> 214 <212> PRT <213> 人工的 <220> <223> 合成的构建体 <400> 38 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 Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr 20 25 30 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Val 35 40 45 Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu 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	192 240 288 336 384 432 480 528 576 624 642
--	--

[0033]

65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp	85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala	100	105	110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly	115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala	130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln	145	150	155
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser	165	170	175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr	180	185	190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser	195	200	205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys	210		
<210> 39			
<211> 1338			
<212> DNA			
<213> 人工的			
<220>			
<223> Fc 工程化的人源化免疫球蛋白序列			
<220>			
<221> CDS			
<222> (1)..(1338)			
<400> 39			
gcg gtc cag ctg gtc cag agc gga gcc gag gtg aag aag ccc ggc agc			48
Ala Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser			
1 5 10 15			
agc gtc aag gtg tcc tgc aag gcc agc gcc tac agc ttc acc ggc tac			96
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr			
20 25 30			
aac atg aac tgg gtc cgg cag gcc cca gcc cag gga ctg gaa tgg atg			144
Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
35 40 45			
ggc aac atc gac csc tac tac gcc gcc acc acc tac aac cgg aag ttc			192
Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe			
50 55 60			
aag gcc cgg gtc acc ctg acc gtg gac aag age age age acc gcc tac			240
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr			
65 70 75 80			

[0034]

atg gaa ctg agc agc ctg cgg agc gag gac acc gcc gtg taa tac tgc Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95	288
gcc aga tcc gtg gcc ccc atg gac tac tgg gcc cag gcc acc ctg gtc Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val 100 105 110	336
acc gtc tct tca gcc tcc acc aag gcc cca tgg gtc ttc ccc ctg gca Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala 115 120 125	384
ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg gcc aca gcc gcc ctg gcc tgc ctg Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu 130 135 140	432
gtc aag gac tac ttc ccc gaa cgg gtg acg gtg tgg tgg aac tca gcc Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly 145 150 155 160	480
gcc ctg acc agc gcc gtg cac acc ttc cgg gct gtc cta cag tcc tca Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser 165 170 175	528
gga ctc taa tcc ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu 180 185 190	576
ggc acc cag acc taa atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr 195 200 205	624
aag gtg gac aag aga gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr 210 215 220	672
tgc cca cgg tgc cca gca cct gaa ctc ctg gcc gga cgg gat gtc ttc Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Asp Val Phe 225 230 235 240	720
ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro 245 250 255	768
gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val 260 265 270	816
aag ttc aac tgg tac gtg gac gcc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr 275 280 285	864
aag cgg cgg gag gag cag taa aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val 290 295 300	912
ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat gcc aag gag taa aag tgc Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys 305 310 315 320	960
aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc gaa gag aaa acc atc tcc Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser 325 330 335	1008
aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg taa acc ctg ccc cca Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro 340 345 350	1056
tcc cgg gag gag atg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val 355 360 365	1104

[0035]

```

aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg      1152
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
    370                375                380

cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac      1200
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
    385                390                395                400

ggc tcc ttc ttc ctc tat agc aag ctc acc ggg gac aag agc agg tgg      1248
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
    405                410                415

cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac      1296
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
    420                425                430

aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tcc ccg ggt aaa      1338
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
    435                440                445

<210> 40
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的构建体

<400> 40

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

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

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

Gly Asn Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Arg Lys Phe
50                55                60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                70                75                80

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

Ala Arg Ser Val Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100                105                110

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

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

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

```

[0036]

Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	
				165					170					175		
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	
			180					185					190			
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	
		195					200					205				
Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	
	210					215					220					
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Ala	Gly	Pro	Asp	Val	Phe	
225					230					235					240	
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	
				245					250					255		
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	
		260					265						270			
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	
		275					280					285				
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	
	290					295						300				
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	
305					310					315					320	
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Glu	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	
				325					330					335		
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	
		340					345						350			
Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	
	355						360					365				
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	
	370					375					380					
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	
385					390					395					400	
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	
				405					410					415		
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	
			420						425				430			
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
		435					440					445				

[0037]

```

<210> 41
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 人源化免疫球蛋白序列

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(642)

<400> 41
gac atc cag atg acc cag agc ccc agc agc ctg agc gcc agc gtg ggc      48
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10          15

gac cgg gtg acc atc acc tgc cgg acc agc gag aac gtg tac agc tac      96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
20          25          30

ctg gcc tgg tat cag cag aag ccc gcc aag gcc ccc aag ctg ctg gtg     144
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Val
35          40          45

tcc ttc gcc aag acc ctg gcc gag gcc gtg ccc agc cgg ttt agc gcc     192
Ser Phe Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50          55          60

agc gcc tcc gcc acc gac ttc acc ctg acc atc agc agc ctg cag ccc     240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65          70          75          80

gag gac ttc gcc acc tac ttt tgc cag cac cac agc gac aac ccc tgg     288
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp
85          90          95

acc ttc gcc cag gcc acc aag gtg gag atc aaa cga act gtg gct gca     336
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100         105         110

cca tct gtc ttc atc ttc ccc cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga     384
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115         120         125

act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc     432
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130         135         140

aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tgg ggt aac tcc cag     480
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145         150         155         160

gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc     528
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165         170         175

agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac     576
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180         185         190

gcc tgc gaa gtc acc cal cag gcc ctg agc teg ccc gtc aca aag agc     624
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195         200         205

ttc aac agg gga gag tgt                                           642
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

```

<210> 42

[0038]

<211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工的

 <220>
 <223> 合成的构建体

 <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 Thr Ser Glu Asn Val Tyr Ser Tyr
 20 25 30

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

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

 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

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

 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

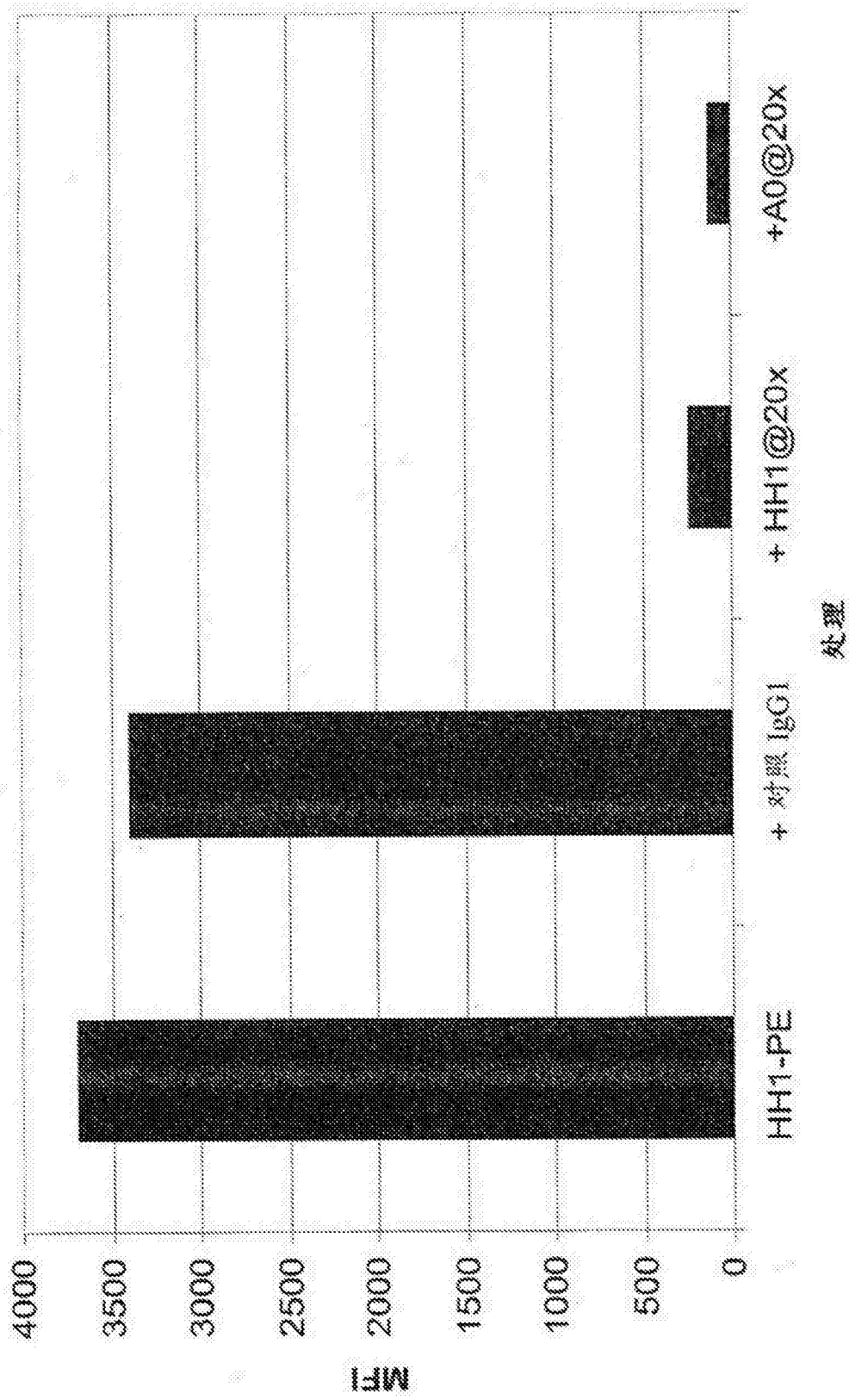


图 1

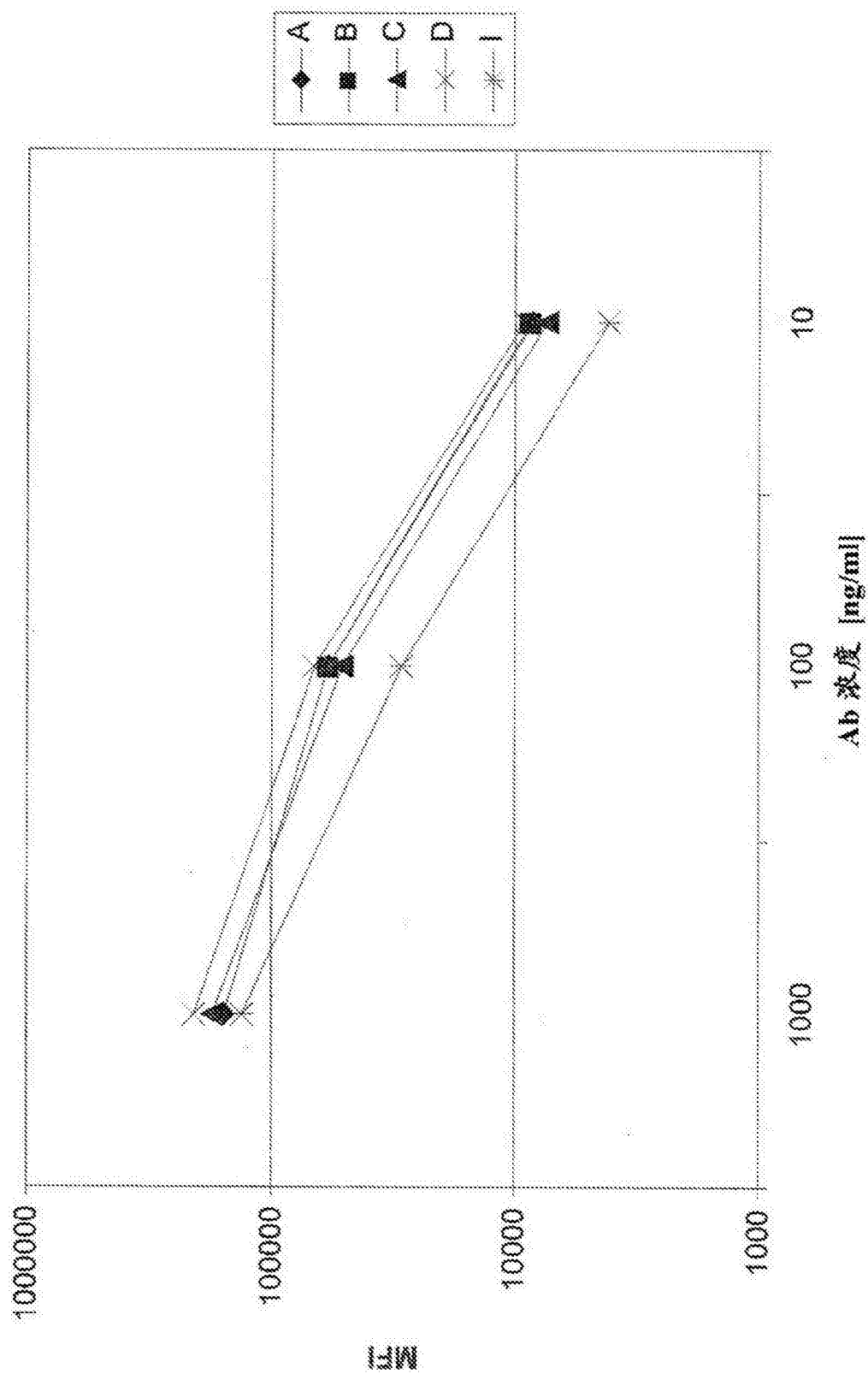


图 2

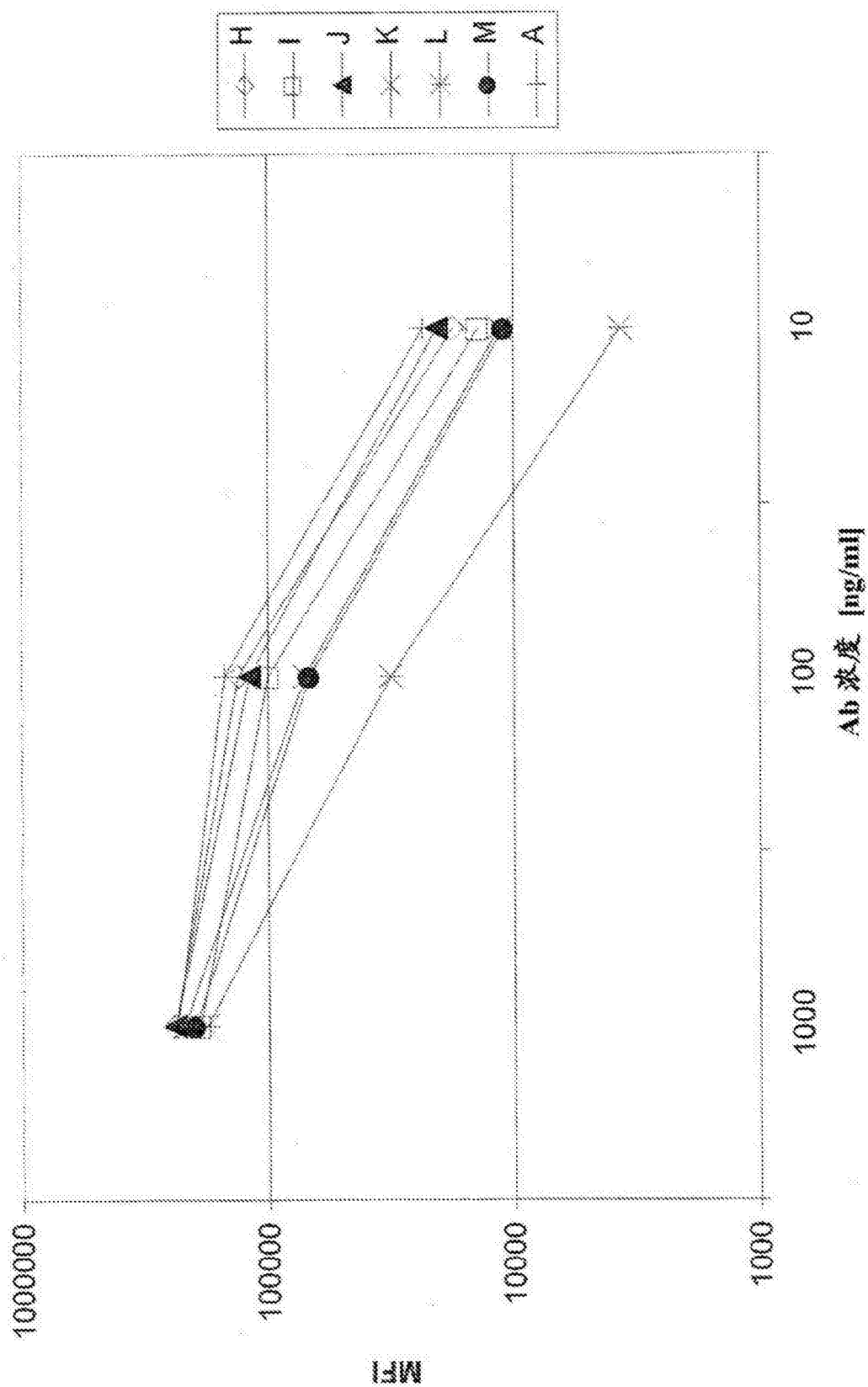


图 3

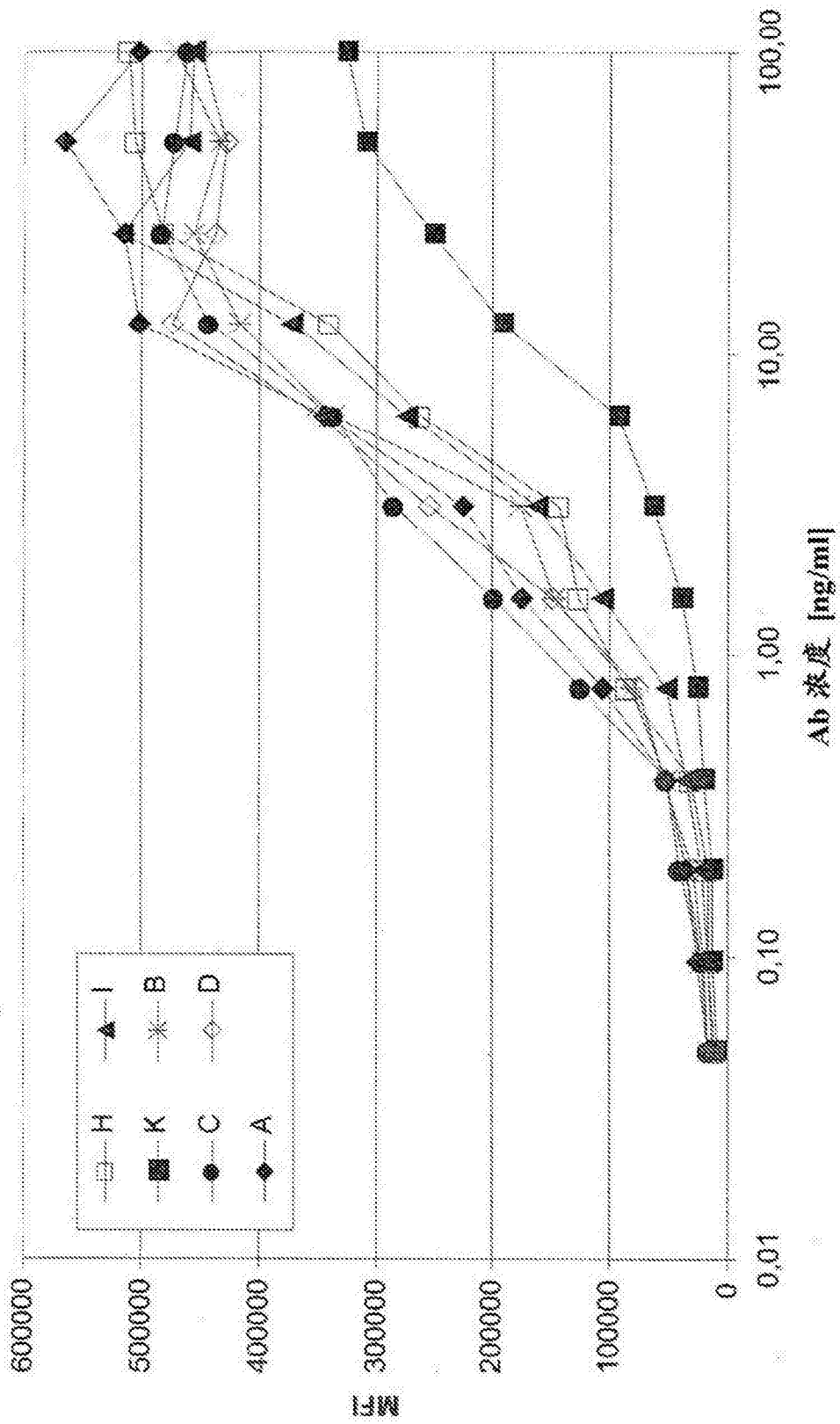


图 4

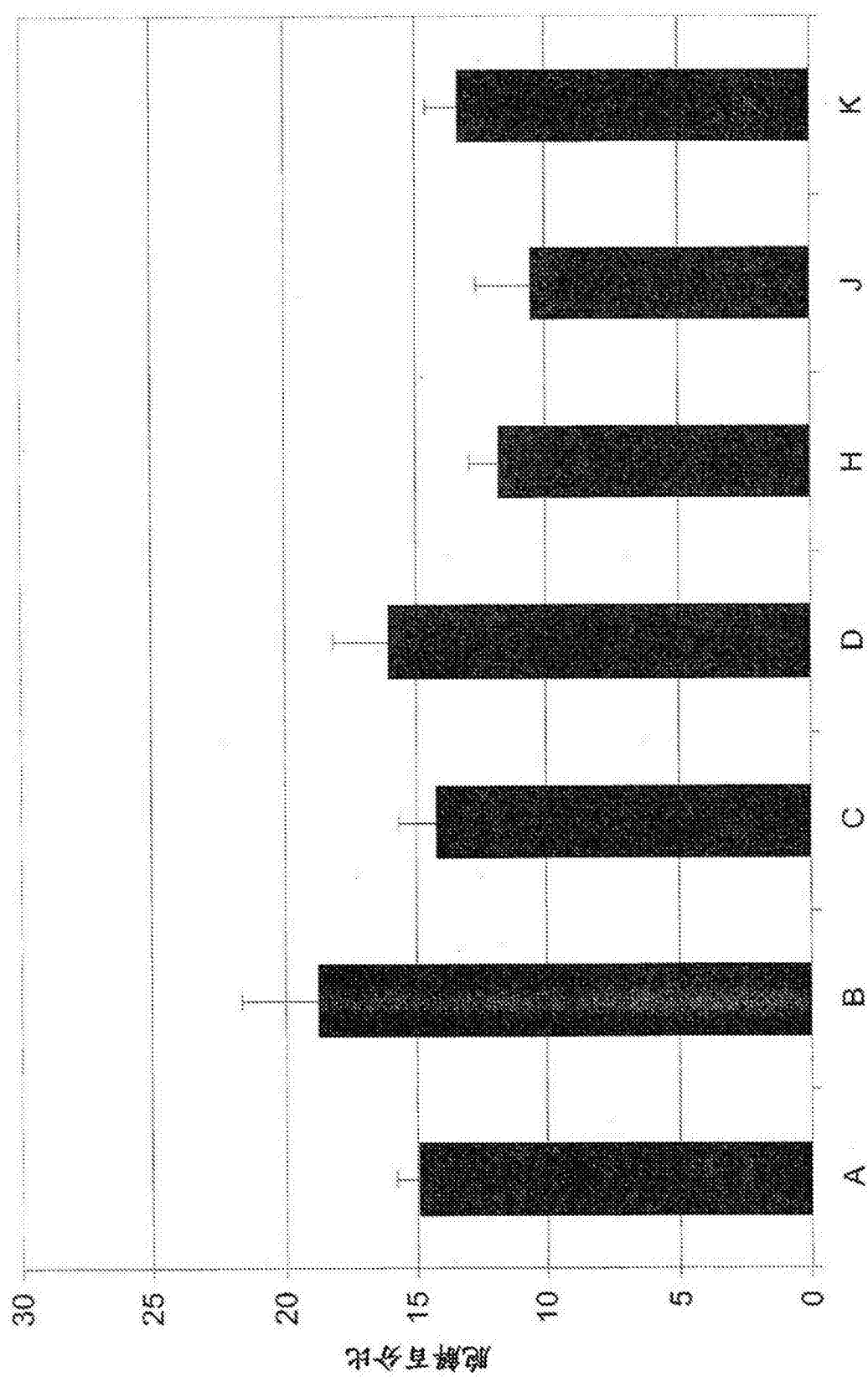


图 5

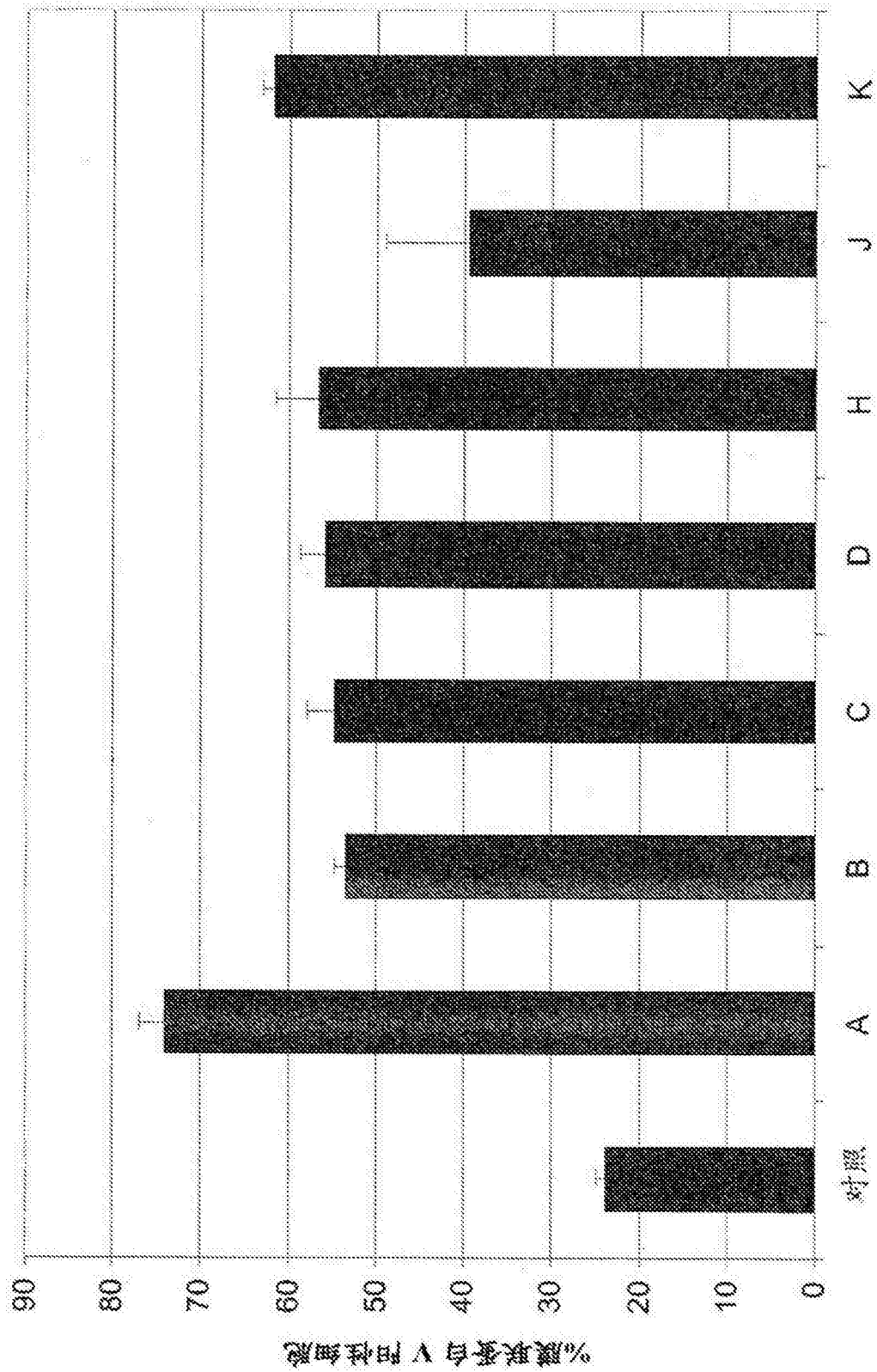


图 6

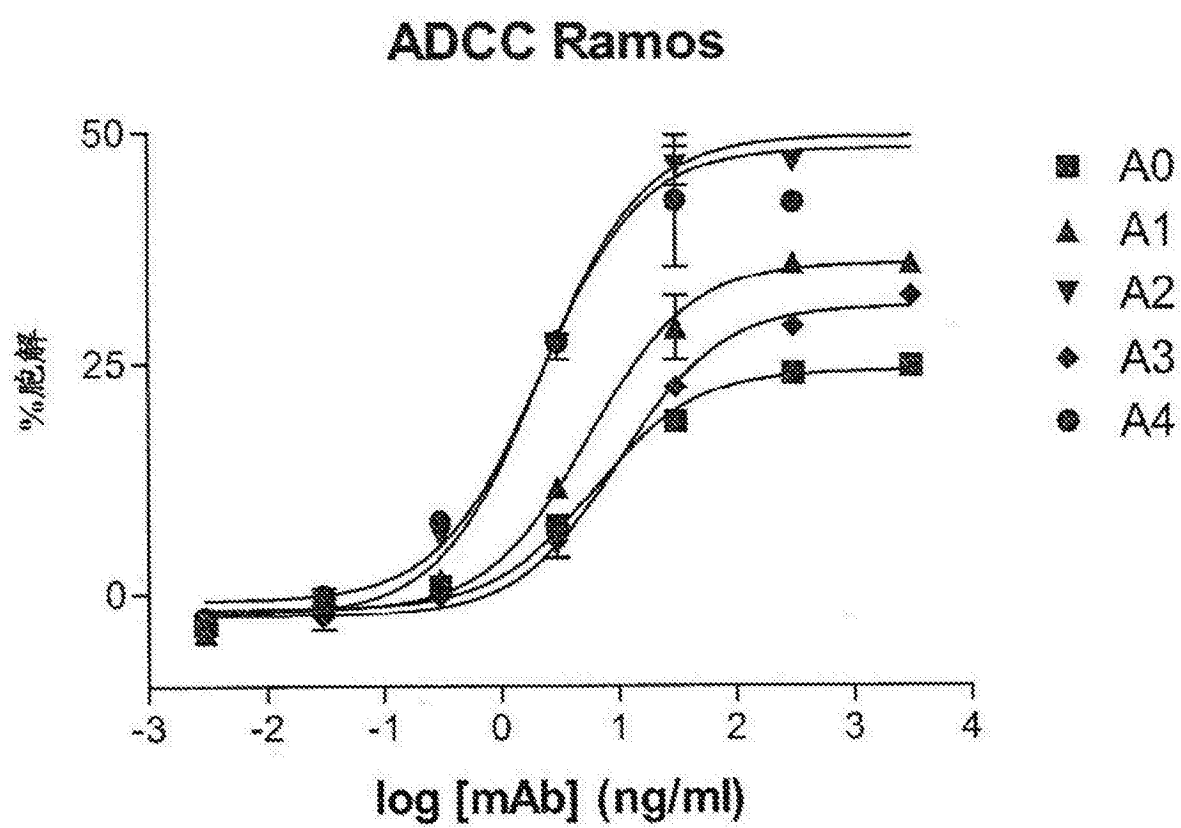


图 7

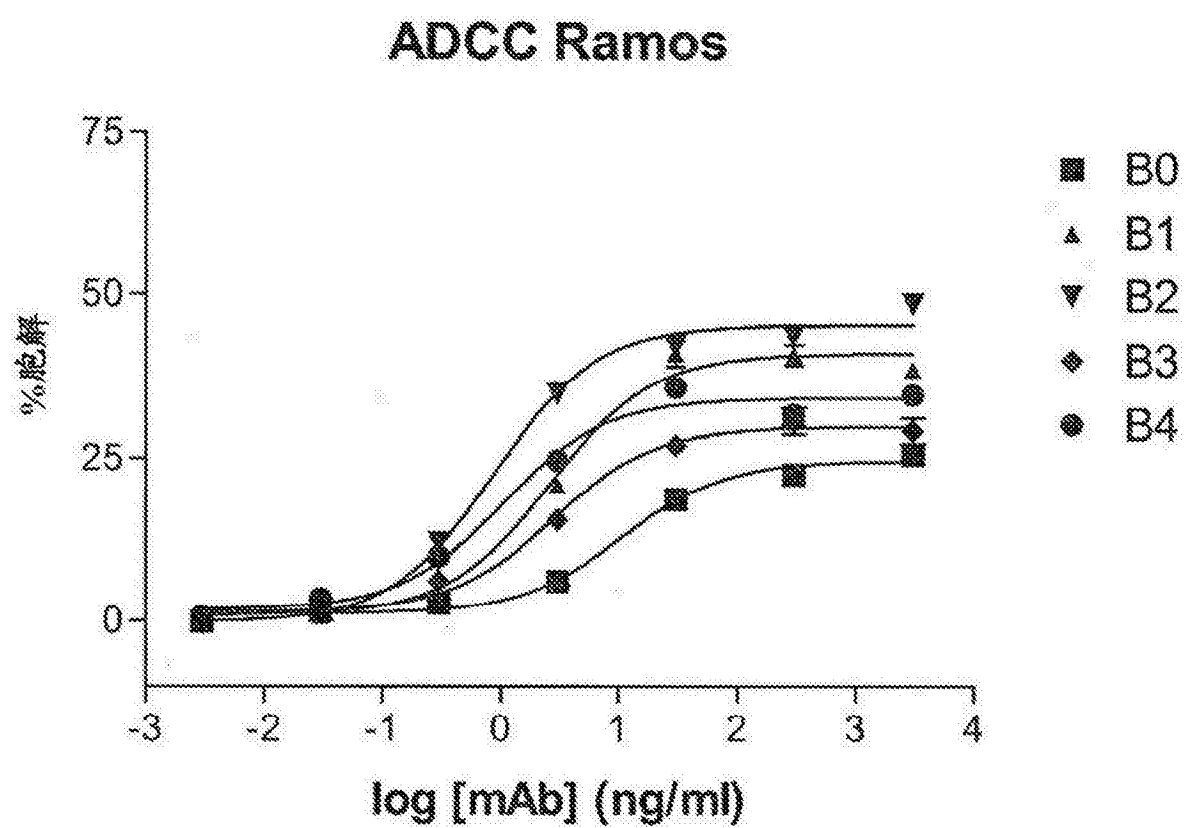


图 8

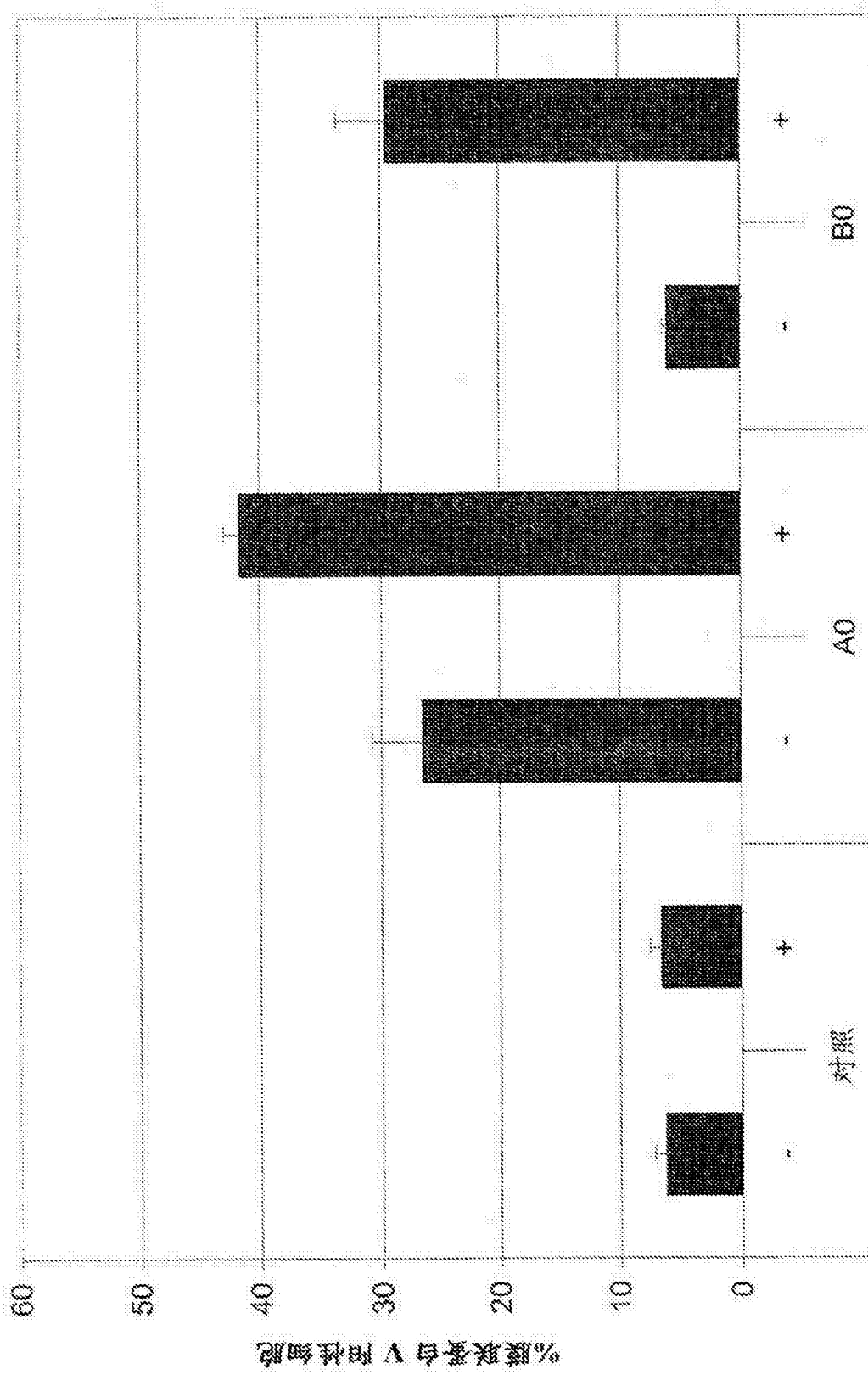


图 9

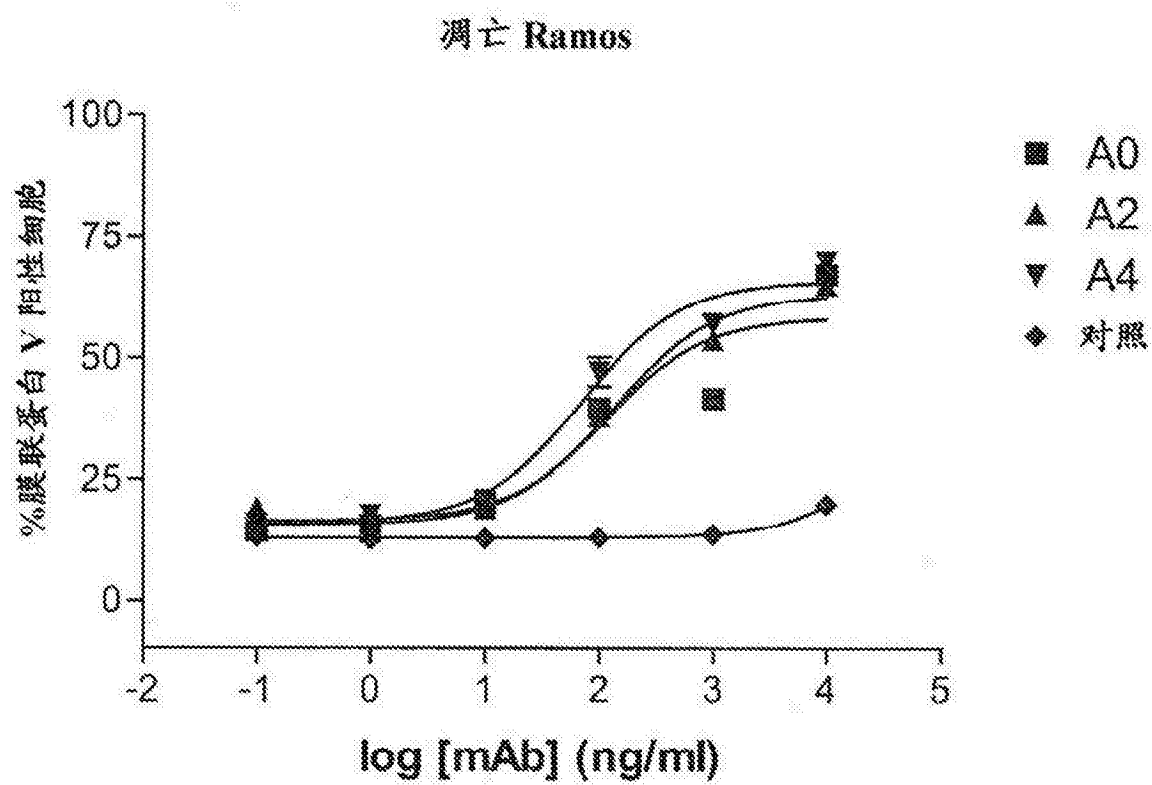


图 10

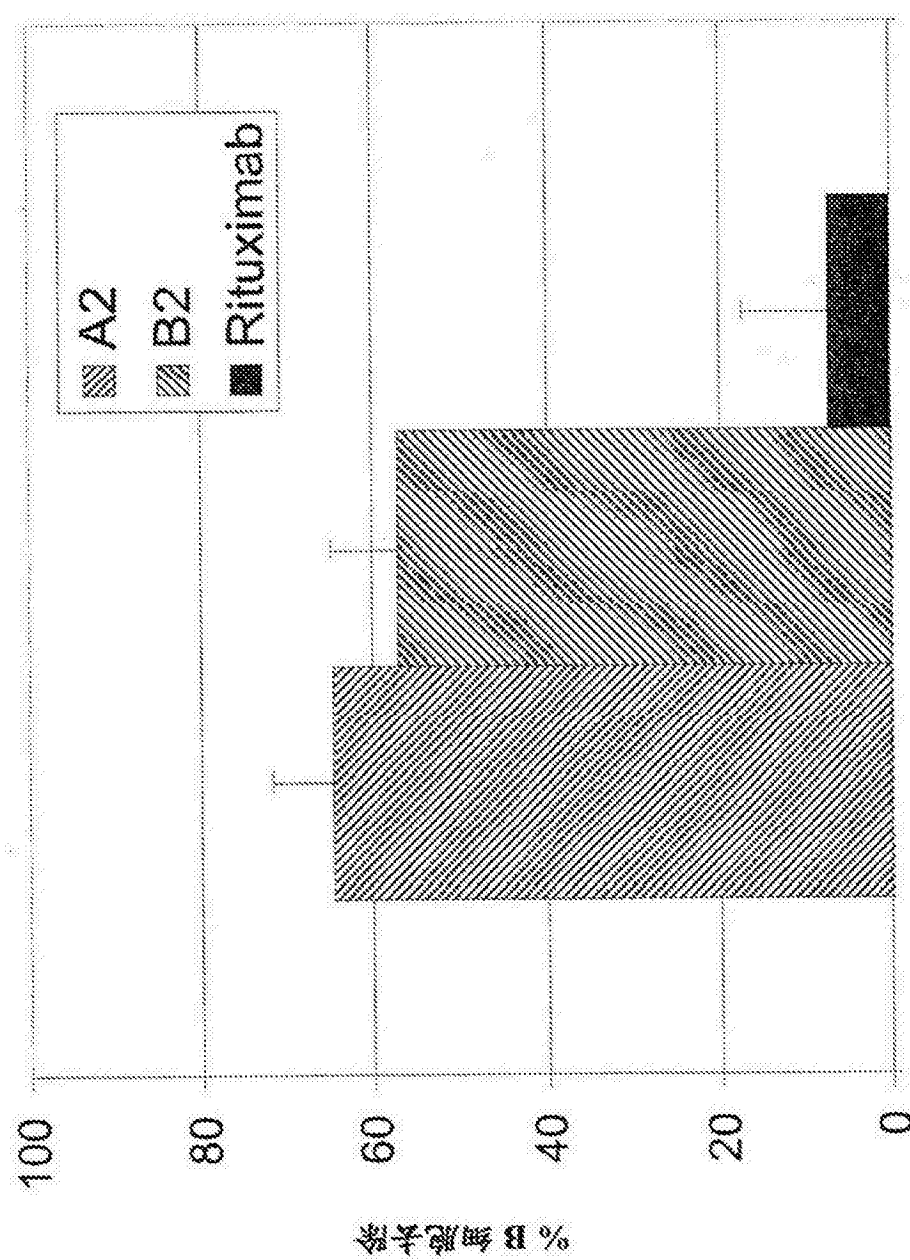


图 11A

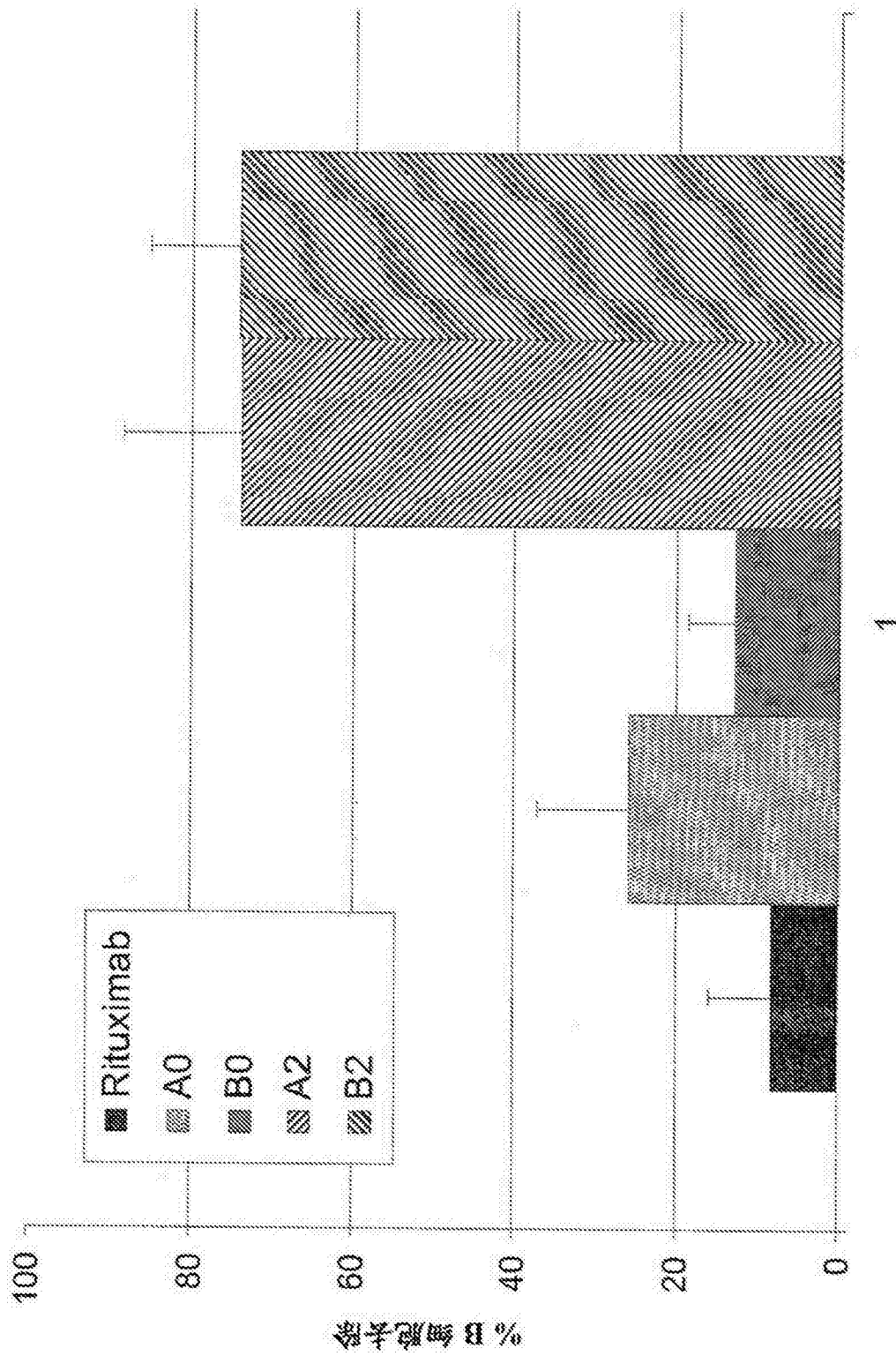


图 11B

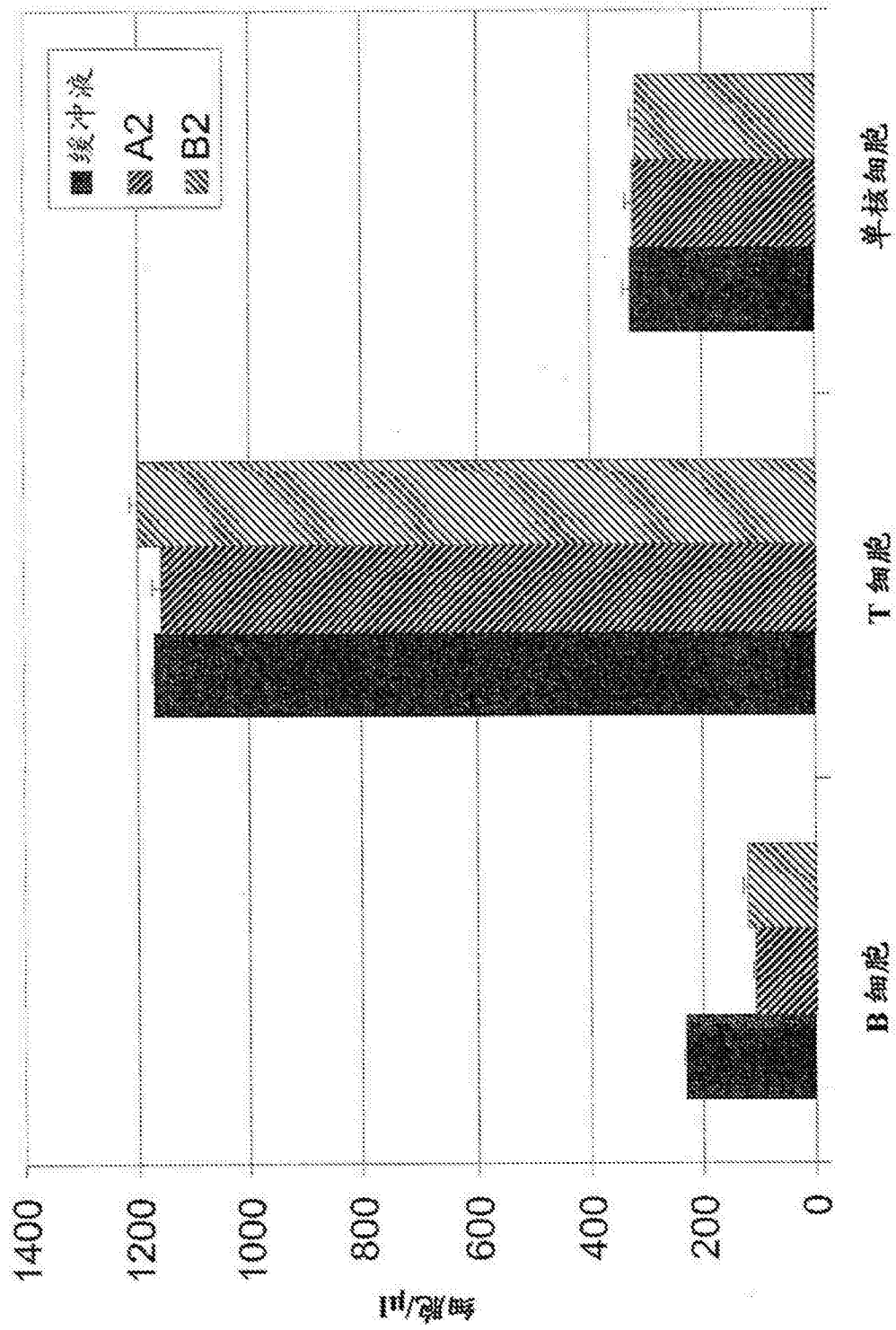


图 11C

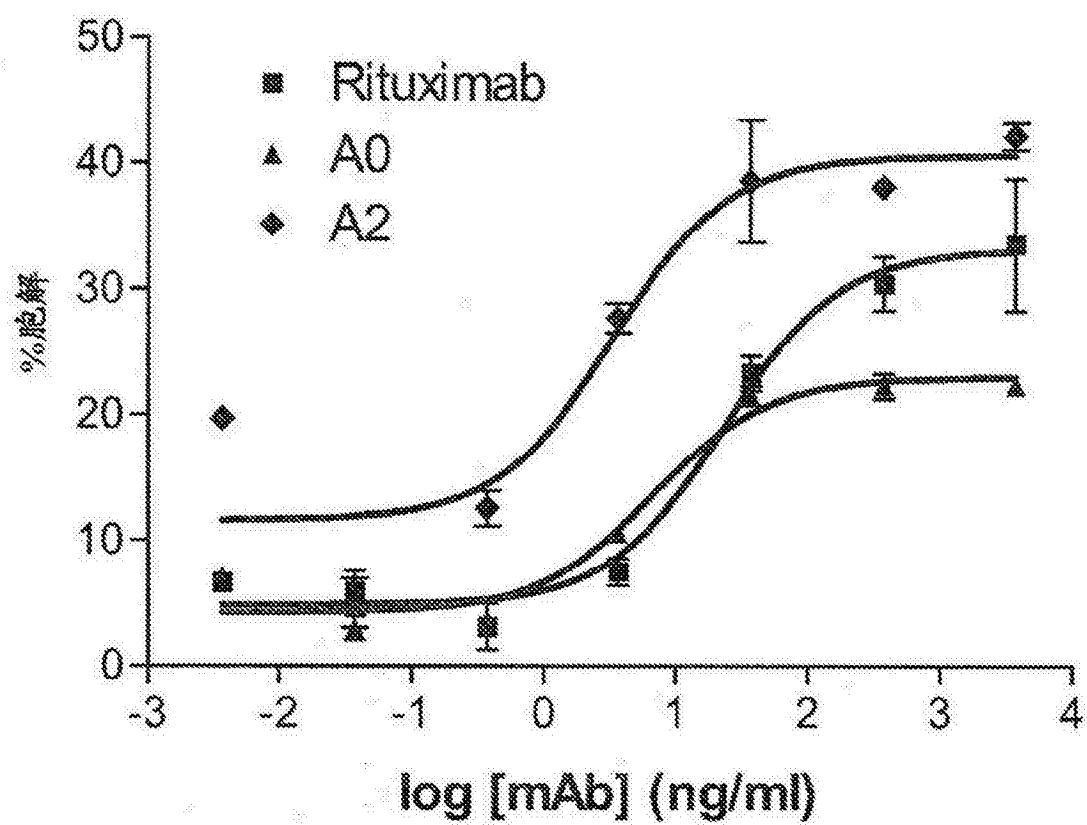


图 12

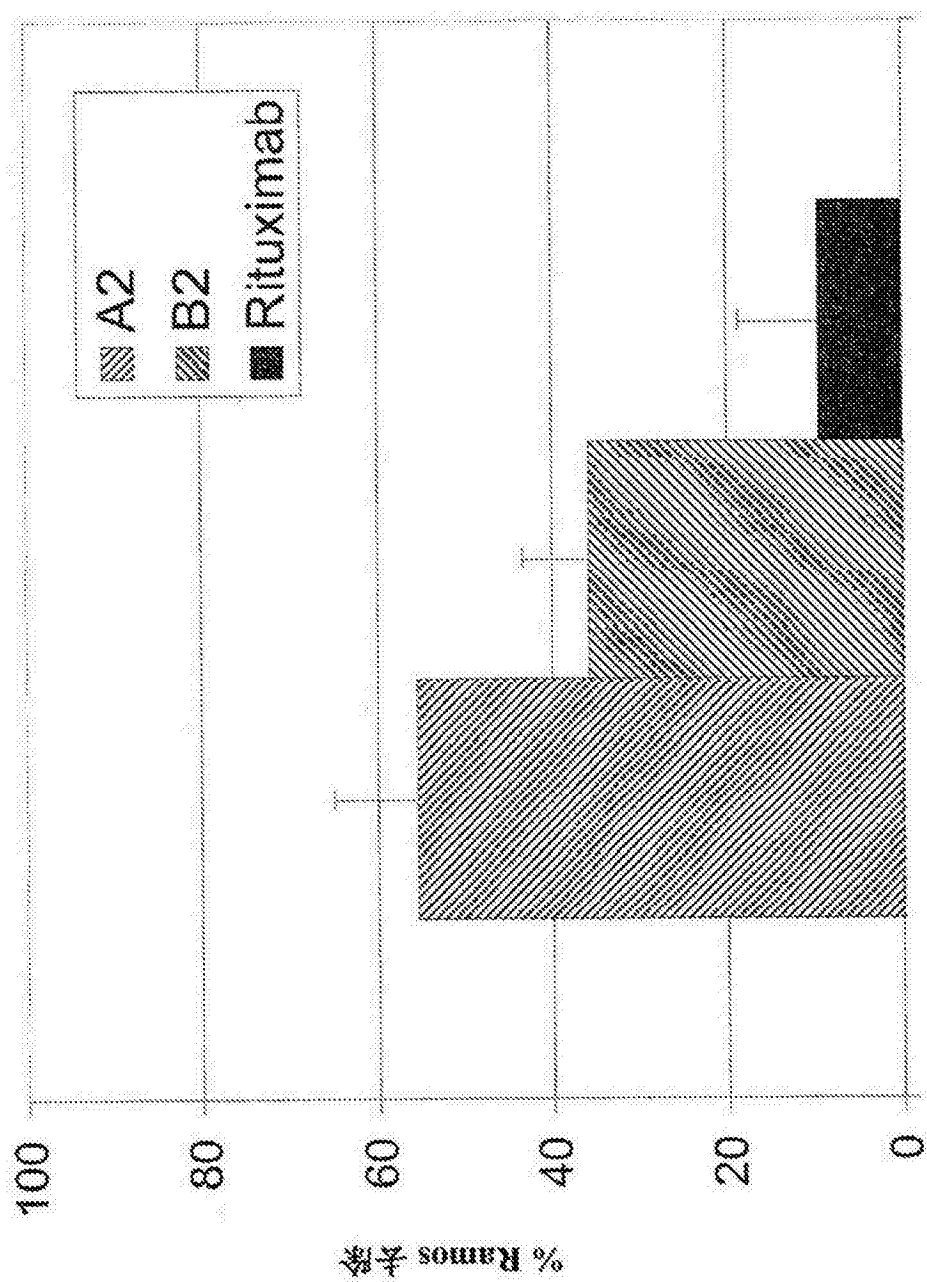


图 13

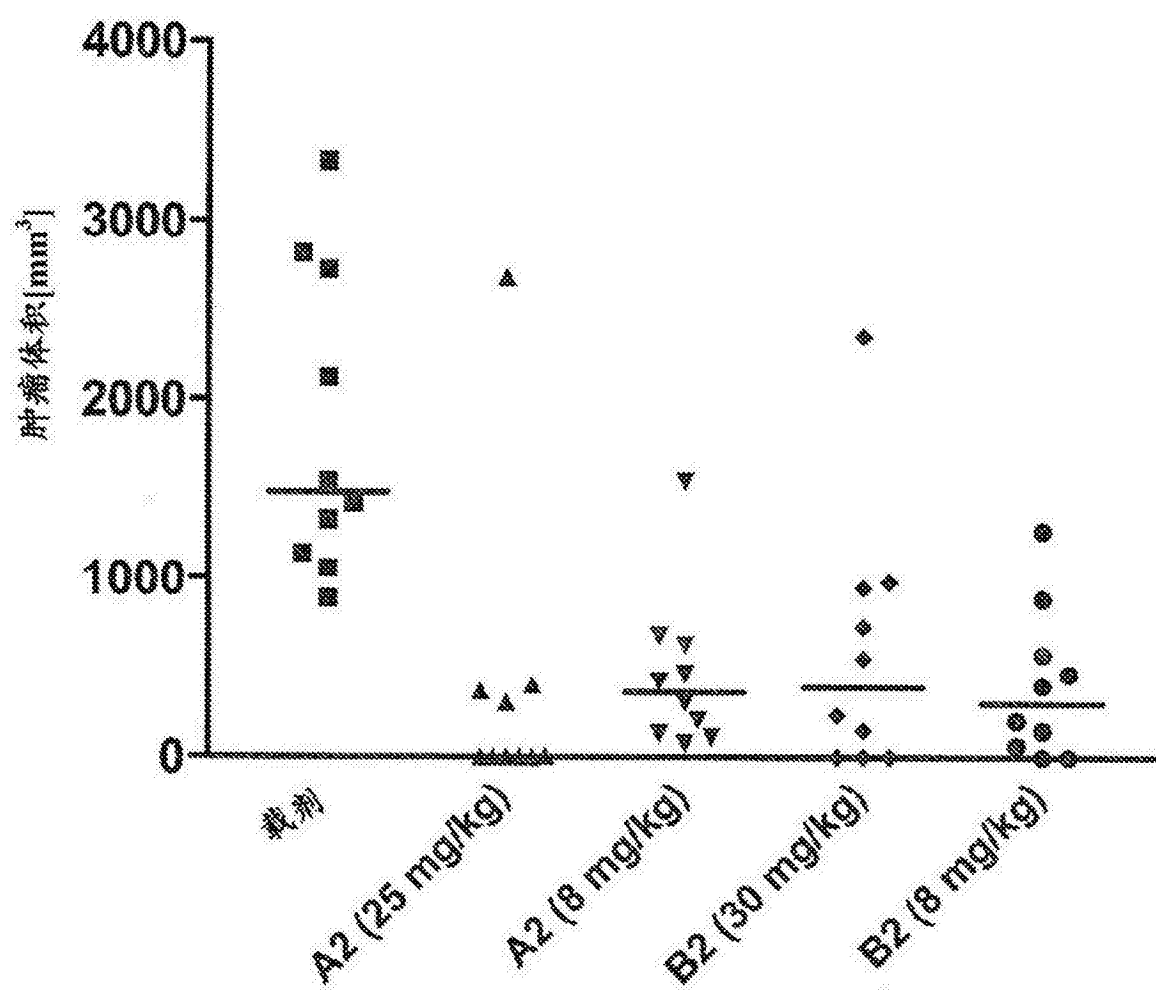


图 14

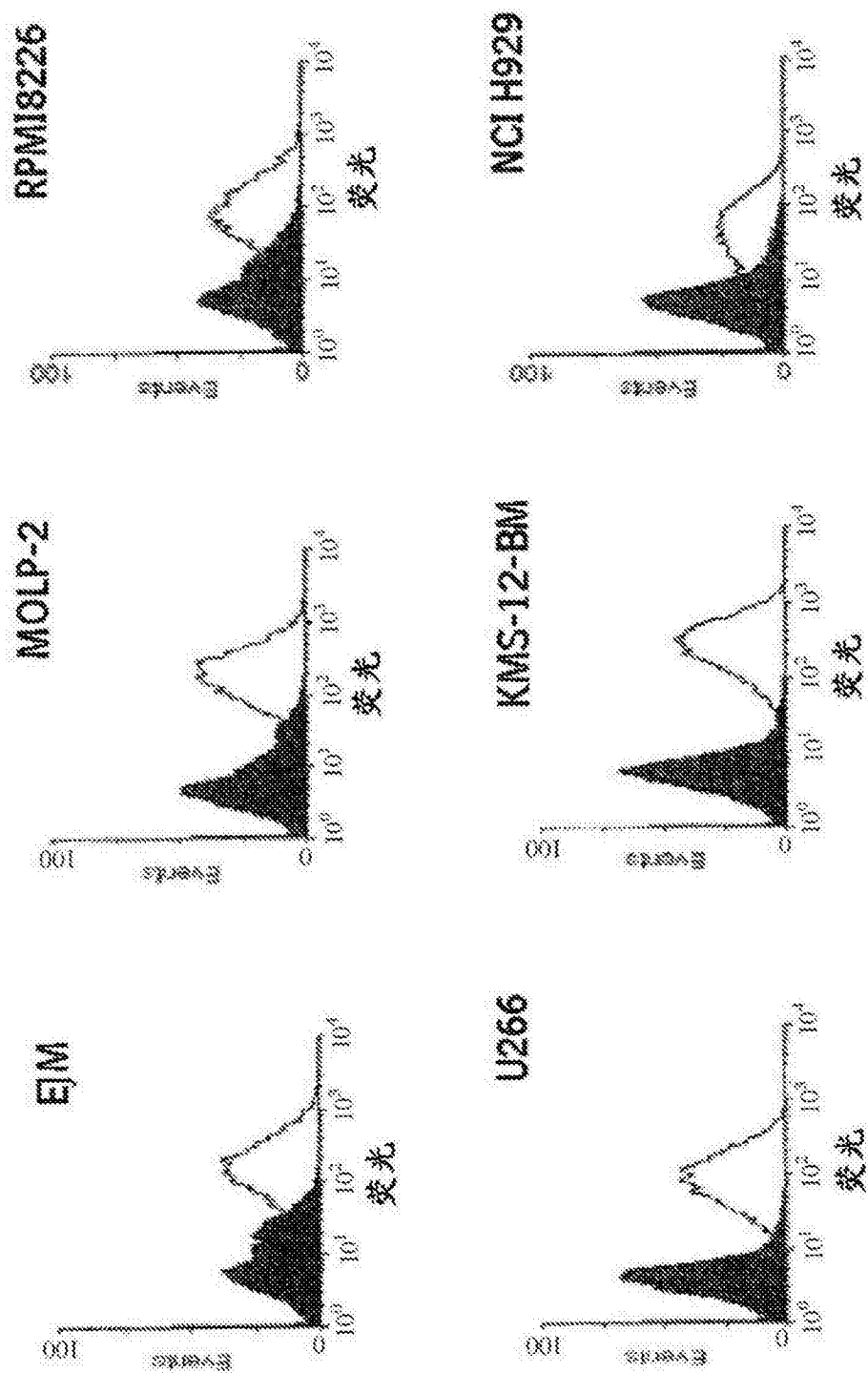


图 15

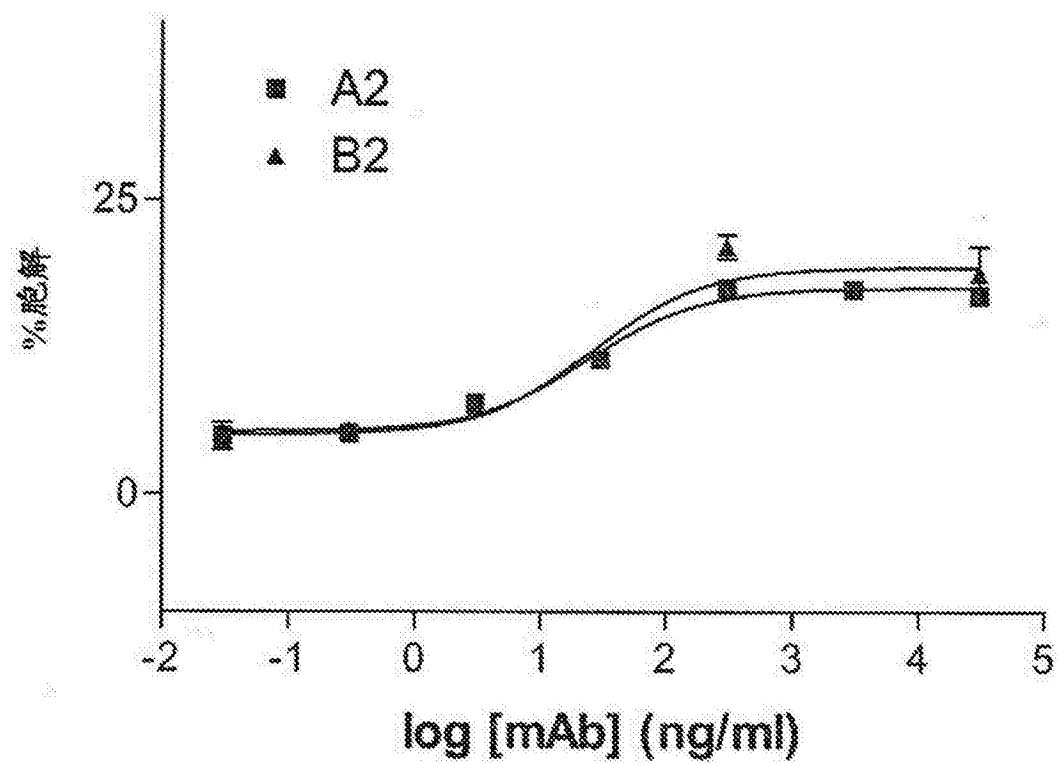


图 16

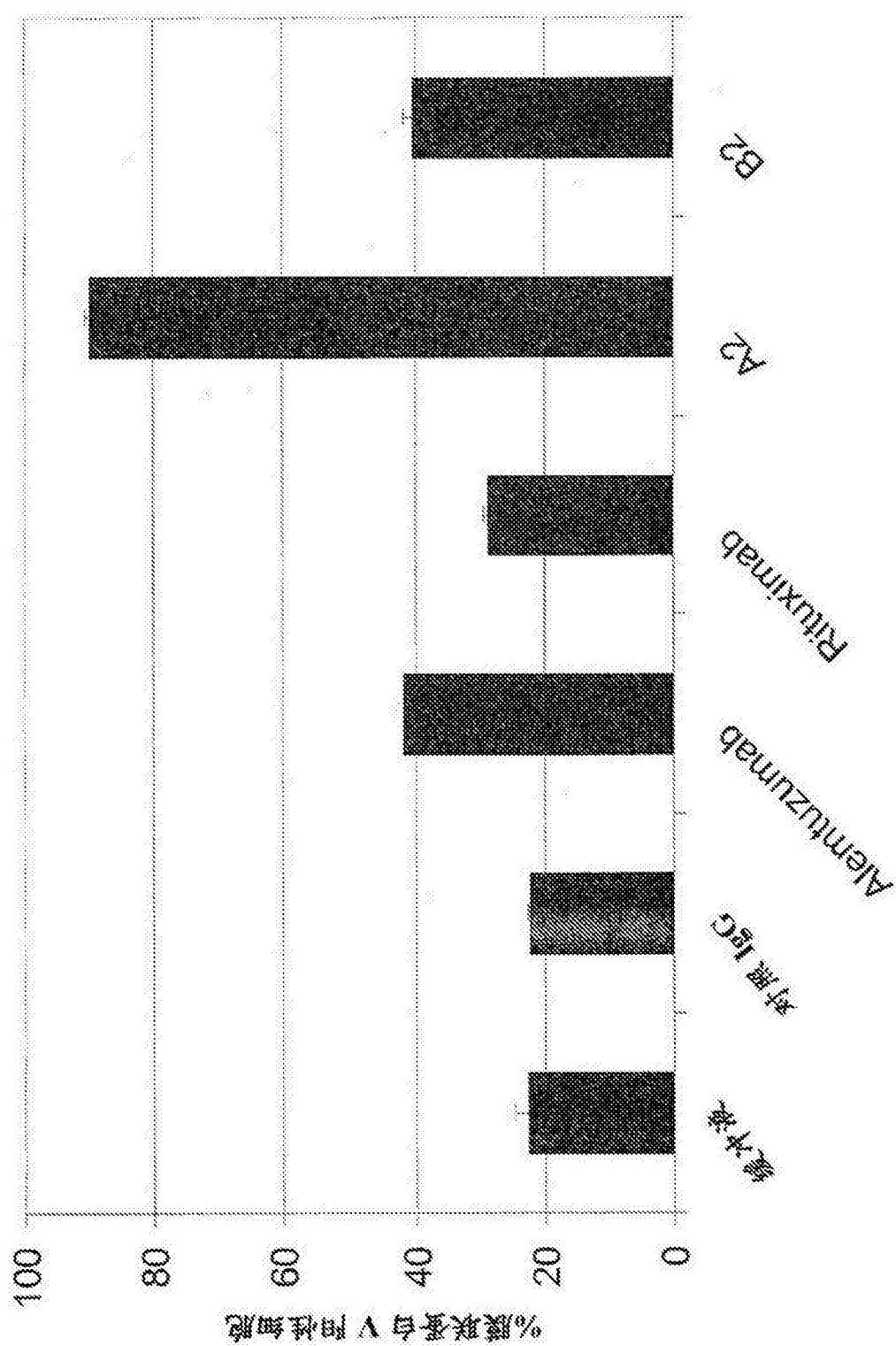


图 17

Abstract

This invention related to anti CD37 antibodies. Chimeric and humanized anti-CD37 antibodies and pharmaceutical compositions containing them are useful for the treatment of B cell malignancies and autoimmune and inflammatory diseases that involve B cells in their pathology.