



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111989117 B

(45) 授权公告日 2025. 02. 18

(21) 申请号 201980013516.0

(22) 申请日 2019.02.13

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111989117 A

(43) 申请公布日 2020.11.24

(30) 优先权数据
62/630571 2018.02.14 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.08.14

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/017877 2019.02.13

(87) PCT国际申请的公布数据
W02019/160976 EN 2019.08.22

(73) 专利权人 爱尔兰好利恩治疗有限公司
地址 爱尔兰都柏林

(72) 发明人 A·汉森 肖晓东 P·帕夫利克
Y·陈 R·埃廷格尔

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公
司 72001

专利代理师 初明明 黄希贵

(51) Int.Cl.
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 1529617 A, 2004.09.15
US 2005261229 A1, 2005.11.24

审查员 蒋嘉瑜

权利要求书2页 说明书52页
序列表28页 附图26页

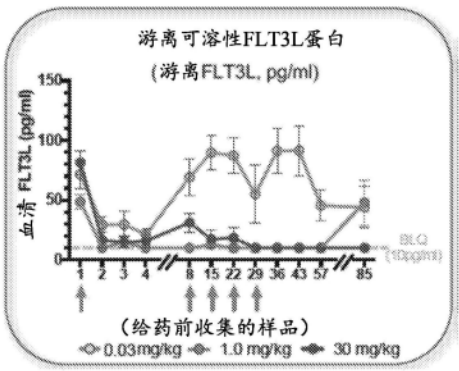
(54) 发明名称

麦克唐纳猫肉瘤 (FMS) 样酪氨酸激酶3受体配体 (FLT3L) 的抗体及其用于治疗自身免疫性疾病和炎症性疾病的用途

(57) 摘要

本文提供了抗FLT3L抗体以及使用这些抗体来治疗自身免疫性疾病和其他炎症性疾病的方法。

A.



1. 一种与FLT3L特异性结合的抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含在重链可变区中的VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3,以及在轻链可变区中的VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3,其中所述VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO: 29、30和31所示,并且所述VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO: 32、33和34所示。

2. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段包含重链可变区VH和轻链可变区VL,其中每个VH和VL包含三个CDR和四个框架区FW,从氨基末端至羧基末端按下列顺序排列:FW1、CDR1、FW2、CDR2、FW3、CDR3和FW4,其中该VH和VL区具有分别与SEQ ID NO: 1和SEQ ID NO: 2具有至少95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性的氨基酸序列。

3. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述重链可变区VH是人VH,并且所述轻链可变区VL是人VL。

4. 如权利要求2所述的抗体或其抗原结合片段,其中该VH和VL分别包含SEQ ID NO: 1和SEQ ID NO: 2的氨基酸序列。

5. 如权利要求4所述的抗体或其抗原结合片段,该抗体或抗原结合片段包含:

具有包含SEQ ID NO: 61的氨基酸序列的重链以及具有包含SEQ ID NO: 62的氨基酸序列的轻链。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或其抗原结合片段抑制FLT3L介导的人干细胞、造血细胞前体、树突状细胞、活化的T细胞和B细胞、单核细胞或小胶质细胞上膜结合FLT3的活化。

7. 如权利要求6所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或其抗原结合片段未特异性结合人干细胞因子huSCF和人集落刺激因子huCSF1中的至少一种。

8. 如权利要求6所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或其抗原结合片段未特异性结合huSCF或huCSF1。

9. 如权利要求1-5中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,该抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体、重组抗体、人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。

10. 如权利要求1-5中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段进一步包含选自下组的重链免疫球蛋白恒定结构域,该组由以下组成:

- (a) IgA恒定结构域;
- (b) IgD恒定结构域;
- (c) IgE恒定结构域;
- (d) IgG1恒定结构域;
- (e) IgG2恒定结构域;
- (f) IgG3恒定结构域;
- (g) IgG4恒定结构域;和
- (h) IgM恒定结构域。

11. 如权利要求10所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段包含IgG1恒定结构域。

12. 如权利要求1-5中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗体或抗原结合片段进一步包含选自下组的轻链免疫球蛋白恒定结构域,该组由以下组成:

- (a) Ig κ 恒定结构域;和
- (b) Ig λ 恒定结构域。

13. 如权利要求1-5中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中该抗原结合蛋白包含人IgG1重链恒定结构域和人 λ 轻链恒定结构域。

14. 如权利要求11所述的抗体或其抗原结合片段,其中该IgG1恒定结构域包含选自下组的一个或多个氨基酸取代,该组由以下组成:L234F、L235E和P331S,其根据Kabat的EU编号索引进行编号。

15. 一种与FLT3L特异性结合的人单克隆抗体,该抗体包含:

i. HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中该HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3是分别如SEQ ID NO: 29、30、31、32、33和34所示的氨基酸序列;

ii. 人IgG1重链恒定结构域;和

iii. 人Ig λ 轻链恒定结构域。

16. 如权利要求15所述的人单克隆抗体,其包含:包含SEQ ID NO: 61的氨基酸序列的重链以及包含SEQ ID NO: 62的氨基酸序列的轻链。

17. 一种药物组合物,其用作药物,所述药物组合物包含如权利要求1-14中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或如权利要求15-16中任一项所述的人单克隆抗体,以及药学上可接受的赋形剂。

18. 一种分离的核酸分子,该分离的核酸分子编码如权利要求1-14中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或如权利要求15-16中任一项所述的人单克隆抗体。

19. 如权利要求18所述的核酸分子,其中该核酸分子可操作地连接到控制序列。

20. 一种载体,该载体包含如权利要求18或19所述的核酸分子。

21. 一种宿主细胞,该宿主细胞用如权利要求18或19所述的核酸分子或如权利要求20所述的载体转化。

22. 如权利要求21所述的宿主细胞,其中该宿主细胞是哺乳动物宿主细胞。

23. 如权利要求21或22所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞是HEK 293细胞或中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。

24. 一种分离的宿主细胞,该分离的宿主细胞产生如权利要求1-14中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或如权利要求15-16中任一项所述的人单克隆抗体。

25. 一种制备如权利要求1-14中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或如权利要求15-16中任一项所述的人单克隆抗体的方法,该方法包括(a)培养表达所述抗体或其抗原结合片段或所述人单克隆抗体的宿主细胞;和(b)从所述培养的宿主细胞中分离所述抗体或其抗原结合片段或所述人单克隆抗体。

26. 如权利要求1-14中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或如权利要求15-16中任一项所述的人单克隆抗体在制备用于治疗肾炎的药物中的用途。

27. 如权利要求1-14中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或如权利要求15-16中任一项所述的人单克隆抗体在制备用于治疗原发性干燥综合征的药物中的用途。

麦克唐纳猫肉瘤(FMS)样酪氨酸激酶3受体配体(FLT3L)的抗体及其用于治疗自身免疫性疾病和炎性疾病的用途

背景技术

[0001] 当人体的免疫系统产生自身抗体时会引发自身免疫性疾病,令人遗憾的是,自身免疫性疾病很普遍。例如,据估计有超过2300万美国人患有自身免疫性疾病。当前有80多种公认的自身免疫性疾病。自身免疫性疾病的具体实例包括系统性红斑狼疮、肌炎、原发性干燥综合征、多发性硬化症、葡萄膜炎、银屑病和类风湿性关节炎。

[0002] 系统性红斑狼疮(SLE)的特征是关节疼痛、淋巴结肿大以及脸颊上出现蝶形皮疹。在SLE中,针对健康组织的自身抗体攻击患者的免疫系统,从而导致炎症。在细胞水平上,SLE患者具有由树突状细胞驱动的自身反应性T细胞和B细胞(Palucka A.K.等人, *Immunology and Cell Biology* [免疫学和细胞生物学] (2002) 80:484-488)。干燥综合征的特征是外分泌器官的全身慢性炎症,从而导致器官功能障碍(Holdgate N.和St.Clair E.W., F1000 Research. [F1000研究] 141210.12688/f1000research.8352.1)。

[0003] 多发性硬化症(MS)的特征是大脑和脊髓中的神经细胞脱髓鞘以及中枢神经系统(CNS)炎症。银屑病是表现为皮肤红斑、发痒的自身免疫性疾病。类风湿性关节炎(RA)是关节滑膜组织的炎症障碍,其特征在于持续性滑膜炎以及关节软骨和骨骼的破坏。该损害可进展为影响许多机体系统。狼疮肾炎与系统性红斑狼疮相关,并导致肾脏炎症。一旦发炎,肾脏会泄漏蛋白质,并最终可导致衰竭。葡萄膜炎是一组攻击并可破坏眼组织,导致视力丧失的炎性疾病。

[0004] 另外,急性和慢性促炎状态与个体的多种疾病相关并且可能是其原因。据信,与慢性炎症相关的疾病的具体实例包括1型和2型糖尿病、慢性肾疾病(CKD,包括例如由糖尿病、糖尿病肾病和高血压引起的CKD)、动脉粥样硬化、阿尔茨海默氏病、癌症以及此类疾病的相关并发症,包括心脏病、高血压、贫血、心包炎、肾性骨营养不良等。像自身免疫性疾病一样,在与慢性炎症相关的疾病中,机体似乎出现过度、持续的促炎应答,这可导致衰弱和通常致命的合并症。

[0005] 自身免疫性疾病的病因尚不完全清楚。从机理上讲,每种自身免疫性疾病的根本原因是持续的自身免疫性应答,这种应答由复杂的调节系统促进(和/或不受复杂的调节系统抑制),这些调节系统不断补充自身反应性免疫细胞。类似的机制似乎在非自身免疫性慢性炎性疾病中也起作用。由于这一原因,自身免疫性疾病中的治疗性干预以及针对慢性炎症的治疗性干预已靶向多种调节系统、信号级联及其组成成分。

[0006] 一类推定的治疗性靶标包括酪氨酸激酶受体(TKR),这些酪氨酸激酶受体是结合不同的生长因子和蛋白质以调节细胞稳态的跨膜受体。超过五十种已知的人类TKR被分为20种不同的类别,这些类别由其遗传系统发育定义(Robins D.R.等人, *Oncogene*. [癌基因] (2000) 19:5548-5557; Lemmon M.A.和Schlessinger J. *Cell*. [细胞] (2010) 141:1117-1134)。TKR III类的特征是在细胞外部分存在含有70至100个亲水残基的五至七个免疫球蛋白样结构域。在III类TKR中,麦克唐纳猫肉瘤(FMS)样酪氨酸激酶3受体(FLT3)是在人干细胞、造血细胞前体、树突状细胞、活化的T细胞和B细胞、单核细胞及小胶质细胞上表达的

膜结合受体。FLT3结合FLT3配体(FLT3L),该FLT3配体是由多种细胞类型(包括活化的T细胞、活化的内皮和骨髓基质细胞)表达的造血细胞因子。FLT3L被表达为细胞表面和分泌的同源二聚体两者,并通过其同源受体FLT3发出信号。FLT3在细胞表面上以单体表达,并在与FLT3L连接后被活化。连接FLT3L后,FLT3二聚化、自磷酸化并活化信号传导途径,包括RAS/细胞外信号调节激酶(ERK)、磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)、以及信号转导子和转录激活子(STAT)3和5。自磷酸化后,二聚化的FLT3被内化和降解。

[0007] FLT3L是响应于炎性信号,特别是 α 链细胞因子IL-2、IL-7和IL-15而产生的,并且它与FLT3的相互作用主要通过其在DC的分化、增殖和存活中的作用来驱动炎性过程。激活后,FLT3信号传导在T细胞和B细胞存活中也具有推定的作用,据报道这两种细胞类型均会瞬时上调受体(AstierAL等人,J.Immunology.[免疫学杂志]2010v184:685-93和Tobon等人,Arthritis&Rheumatism.[关节炎与风湿病]2010;62(11):3447-56)。另外,尽管此项观察是基于小鼠数据(Guimond M等人,J.Immunology[免疫学杂志]2010;184:2769-75)且尚未在人类中得到证实,但据认为NK细胞存活通过其对DC衍生的IL-15的需求而间接依赖于FLT3L。

[0008] DC在炎症中特别受关注,因为它们是免疫系统的前哨,从炎症部位迁移到淋巴结并启动适应性免疫应答,最终需要该适应性免疫应答来产生自身免疫性疾病。广义上讲,DC有两个子集:髓样/经典树突状细胞(cDC)和浆细胞样树突状细胞(pDC)。cDC产生炎性细胞因子(例如,IFN γ -III、IL-23、IL-12、IL-6和IL-1 α),在共刺激的情况下将抗原呈递给T细胞,并分泌趋化因子,这些趋化因子将细胞募集到炎症部位并确保它们根据关键的细胞间相互作用的需要共定位。通过这些机制,cDC刺激嗜中性粒细胞、B细胞、T细胞和NK细胞,从而导致NETosis、自身抗体产生、IL-17产生、以及其他炎性细胞因子产生。pDC是I型IFN的主要来源,I型IFN是先天应答中的关键细胞因子,其可增强免疫系统的所有臂的活化。

[0009] 干燥综合征患者的唾液腺表现出FLT3和FLT3L在浸润性B细胞上的表达(Tobon等人Arthritis&Rheumatism.[关节炎与风湿病](2010)62(11):3447-3456)。另外,干燥综合征患者表现出表达FLT3的B细胞在循环中的频率增加,并且与表达FLT3L的人唾液细胞共培养时,其存活率有所提高。患有MS的个体在慢性病变和活动性病变以及灰质和白质中表达FLT3蛋白(DeBoy C.A.等人Exp Mol Pathol.[实验分子病理学](2010);89(2):109-116)。另外,FLT3与未成熟DC共定位于血管周脑中,表明FLT3阳性DC浸入患有MS的个体的脑中(Deboy等人)。与健康个体相比,在RA中,滑液FLT3L水平升高。另外,来自RA患者的单核细胞、NK细胞和DC表达高水平的FLT3L(Ramos M.等人Arthritis Res Ther.[关节炎研究与治疗](2013)15(6):R209)。

[0010] 而且,据报道SLE、肌炎、原发性干燥综合征、MS、葡萄膜炎和RA的血清及炎性部位FLT3L水平升高(Andersson等人PLoS One[公共科学图书馆·综合](2012)7:e47668;DeBoy等人Exp and Mol Path[实验分子病理学](2010)89:109-16)。

[0011] 因此,尽管FLT3介导的促炎存活(例如,经由pDC和mDC)在健康个体中是有利的生理应答,但它可能在自身免疫性疾病中具有有害作用。因此,FLT3/FLT3L信号传导途径的破坏或减弱可被证明是用于对抗自身免疫性疾病和其他炎性疾病以及用于减少炎症的重要工具。

发明内容

[0012] 本文提供了用于控制自身免疫性疾病和其他急性和/或慢性炎性疾病的新颖FLT3L结合抗体。

[0013] 在第一方面,本披露提供了与FLT3L特异性结合的分离的抗体或其抗原结合片段,该分离的抗体或其抗原结合片段包含一组互补决定区(CDR):HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中该HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3包含以下的氨基酸序列:(a)分别为SEQ ID NO:29、30、31、32、33和34;或(b)分别为SEQ ID NO:29、30、31、35、33和34;或(c)分别为SEQ ID NO:29、36、37、32、33和38。

[0014] 在第一方面的一个实施例中,该分离的抗体或其抗原结合片段包括与以下具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的重链可变区(VH)和轻链可变区(VL):(a)分别为SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2;或(b)分别为SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4;或(c)分别为SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6。在另一个实施例中,该VH和VL包括(a)分别为SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2;或(b)分别为SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4;或(c)分别为SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6。在又一个实施例中,该分离的抗体或抗原结合片段包括(a)包含SEQ ID NO:61的重链区和包含SEQ ID NO:62的轻链区;或(b)包含SEQ ID NO:65的重链区和包含SEQ ID NO:66的轻链区;或(c)包含SEQ ID NO:69的重链区和包含SEQ ID NO:70的轻链区。在一个实施例中,该分离的抗体或其抗原结合片段抑制FLT3L介导的FLT3的活化。在另一个实施例中,该分离的抗体或其抗原结合片段不与结构上类似的TKR配体分子交叉反应。在一个实施例中,该分离的抗体或其抗原结合片段不与huSCF和huCSF1中的至少一种交叉反应。在又一个实施例中,该分离的抗体或其抗原结合片段不与huSCF或huCSF1任一交叉反应。在一个实施例中,该分离的抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体、重组抗体、人抗体、人源化抗体、或嵌合抗体。在一个实施例中,该分离的抗体或抗原结合片段包含选自下组的重链免疫球蛋白恒定结构域,该组由以下组成:(a) IgA恒定结构域;(b) IgD恒定结构域;(c) IgE恒定结构域;(d) IgG1恒定结构域;(e) IgG2恒定结构域;(f) IgG3恒定结构域;(g) IgG4恒定结构域;和(h) IgM恒定结构域。在一个实施例中,该分离的抗体或抗原结合片段包含IgG1恒定结构域。在另一个实施例中,该分离的抗体或抗原结合片段包含选自下组的轻链免疫球蛋白恒定结构域,该组由以下组成:(a) Ig κ 恒定结构域;和(b) Ig λ 恒定结构域。在一个实施例中,该抗原结合蛋白包含人IgG1恒定结构域和人 λ 恒定结构域。在一个实施例中,该IgG1恒定结构域包含选自下组的一个或多个氨基酸取代,该组由以下组成:L234F、L235E和P331S,其根据Kabat的EU编号索引进行编号(Edelman等人,Proc.Natl.Acad.Sci.[美国国家科学院院刊],63:78-85(1969))。

[0015] 在第二方面,本披露提供了分离的核酸分子,该分离的核酸分子编码如第一方面和/或其实施例所述的分离的抗体或其抗原结合片段。在第二方面的一个实施例中,该核酸分子可操作地连接到控制序列。

[0016] 在第三方面,本披露提供了载体,该载体包含如第二方面和/或其实施例所述的核酸分子。

[0017] 在第四方面,本披露提供了宿主细胞,该宿主细胞用如第二方面和/或其实施例所述的核酸分子或如第三方面所述的载体转化。在一个实施例中,该宿主细胞是哺乳动物宿主细胞。在另一个实施例中,该宿主细胞是HEK293细胞、NS0鼠骨髓瘤细胞、或中国仓鼠卵巢

(CHO) 细胞。

[0018] 在第五方面,本披露提供了杂交瘤,该杂交瘤产生如前述方面中任一项或其实施例所述的抗体或抗原结合片段。

[0019] 在第六方面,本披露提供了分离的宿主细胞,该分离的宿主细胞产生如前述方面中任一项或其实施例所述的抗体或抗原结合片段。

[0020] 在第七方面,本披露提供了制备如前述方面中任一项或其实施例所述的抗体或其抗原结合片段的方法,该方法包括 (a) 培养表达所述抗体或抗原结合片段的宿主细胞或培养如第三方面或其实施例所述的宿主细胞或如第四方面所述的杂交瘤;和 (b) 从所述培养的宿主细胞中分离所述抗体或其抗原结合片段。

[0021] 在第八方面,本披露提供了如第六方面所述的方法产生的抗体或其抗原结合片段。

[0022] 在第九方面,本披露提供了药物组合物,该药物组合物包含如前述方面中任一项或其实施例所述的抗体或其抗原结合片段,以及药学上可接受的赋形剂。在一个实施例中,提供该药物组合物用作药物。

[0023] 在第十方面,本披露提供了用于治疗急性或慢性炎性疾病的方法,该方法包括向有此需要的受试者施用药学上有效量的如前述方面中任一项或其实施例所述的分离的抗体或其片段。在一个实施例中,该炎性疾病包含慢性肾疾病 (CKD, 包括例如由糖尿病、糖尿病肾病和高血压引起的CKD)。

[0024] 在第十一方面,本披露提供了用于治疗自身免疫性疾病的方法,该方法包括:向有此需要的受试者施用药学上有效量的如前述方面中任一项或其实施例所述的分离的抗体或其片段。在一个实施例中,该自身免疫性疾病包含系统性红斑狼疮、肌炎、原发性干燥综合征、多发性硬化症、葡萄膜炎、银屑病或类风湿性关节炎。

[0025] 通过以下对于本披露的详细说明连同所附权利要求书,将更加充分地理解本披露的这些和其他特征和优点。应注意,权利要求书的范围由其中的叙述而非由在本说明书中阐述的特征和优点的具体讨论来限定。

附图说明

[0026] 图1A-1C. 先导抗体的选择。图1A描绘了huFLT3L和 μ FLT3L的交替淘选过程以及所产生的BMV、CS、DP47和Dyax噬菌体文库的富集。图1B描绘了将淘选输出克隆到用于下游竞争HTRF的载体中的过程。图1C描绘了先导候选物的竞争HTRF (均相时间分辨荧光) 结果。

[0027] 图2A-2C. FLT3L在细胞系中的表达。图2A证明了相对于EOL-1、MOLM13和MV4-11细胞系,FLT3在RS4;11细胞系中的表达增加。图2B证实了重组FLT3L以剂量依赖性方式结合RS4;11细胞上的FLT3。图2C证明了可以使用流式细胞术分析用可商购的抗FLT3抗体可靠地检测RS4;11细胞表面上的FLT3下调,并且这种下调是响应于与FLT3L的连接以剂量依赖性方式发生的。

[0028] 图3A和3B. EC80的推导及后续测试。图3A证明了FLT3L的滴定曲线,其用于推导出RS4;11细胞上80%的细胞表面FLT3下调的浓度 (EC80)。图3B证明了可商购的抗FLT3L抗体和FLT3受体的重组构建体 (FLT3-Fc) 对96pM的重组FLT3L的抑制特性,否则将导致RS4;11细胞上80%的细胞表面FLT3的下调。

[0029] 图4A-4C. 先导抗体候选物对人和食蟹猴sFLT3的抑制。图4A证明了五种先导候选物对96pM的人FLT3L的抑制特性。图4B证明了五种先导候选物对96pM的食蟹猴FLT3L的抑制特性。图4C证明了五种先导候选物对鼠FLT3L的抑制特性。

[0030] 图5A-C. 先导候选物对细胞表面FLT3的抑制。图5A证明了先导抗体结合在转导的CHO细胞系表面上表达的人FLT3L的能力。图5B证明了与细胞表面食蟹猴FLT3L结合的先导抗体。图5C证明了与细胞表面小鼠FLT3L结合的先导抗体。

[0031] 图6A-C. 与内源性人FLT3L结合的先导候选物。图6A证明了在用IL-2刺激7天后, FLT3L在人原代T细胞上的表达。图6B证明了除克隆5D9之外, 所有先导候选物与人原代T细胞上的内源性FLT3L结合的能力。图6C证明了在与原代T细胞孵育之前, 通过二聚化改善CAT5D9的亲合力使得能够检测克隆与T细胞表面上内源性FLT3L的剂量依赖性结合。

[0032] 图7A和7B. 通过先导候选物抑制细胞表面信号传导。图7A证明了RS4;11细胞对表达FLT3L的CHO细胞的剂量应答曲线, 将1000个CHO/孔确定为诱导RS4;11细胞表面上80%的FLT3下调的最佳数目。图7B证明了所有先导候选物都具有在某种程度上抑制CHO细胞上的细胞表面FLT3L的能力。

[0033] 图8A和8B. ERK信号传导途径的活化和中和。图8A证明了概念验证研究, 其显示通过FLT3L活化RS4;11细胞中的ERK信号传导。图8B证明了通过可商购的抗体抑制FLT3L诱导的ERK活化。

[0034] 图9A和9B. 先导候选物对MEK 1/2和ERK下游信号传导的阻断。图9A证明了先导克隆候选物针对原代CD133+人干细胞中人FLT3L诱导的MEK 1/2磷酸化的功能活性。图9B另外证实了使用ERK磷酸化作为读数, 先导克隆针对原代CD133+人干细胞中FLT3L诱导的信号传导的功能活性。

[0035] 图10A和10B. 先导候选物的靶标特异性和结合动力学。图10A显示了针对克隆5D9的先导克隆候选物和FLT3-Fc的III期配对。图10B显示了针对CAT8的所有先导克隆和FLT3-Fc的III期配对, 作为除CAT5D9之外的所有克隆的代表。

[0036] 图11A和11B. 先导候选物与huSCF和huCSF的交叉反应性。图11A证明了先导候选物不结合结构同源物huSCF。图11B证明了先导候选物不结合结构同源物huCSF。

[0037] 图12A和12B. 克隆优化。图12A证明了使用RS4;11FLT3下调测定作为读数, 比较亲本CAT5D9与克隆6 (C06) 的第一轮克隆优化的结果。图12B证明了比较亲本CAT5D9与克隆6 (C06) 以及最终先导候选物: AM40和SC4017的第二轮克隆优化的结果。

[0038] 图13A和13B. 内源性细胞表面FLT3L的有效中和。图13A显示了响应于表达FLT3L的CD4+T细胞的连续稀释的RS4;11FLT3下调。图13B显示了先导克隆完全中和CD4+T细胞上的活性细胞表面FLT3L。

[0039] 图14. 中和健康食蟹猴中FLT3L的研究大纲。如所指示, 在一个月, 以每周五剂施用0.03、1或30mg/kg AM40 (MEDI1116) 至三组雄性食蟹猴 (n=4/组)。最终剂量后的八周随访期用于确定所施用抗体的持久性及其对循环DC群体的影响。

[0040] 图15A和15B. 施用抗FLT3L抗体 (AM40/MEDI1116) 后的血清FLT3L蛋白和循环DC频率。图15A显示了以.03、1.0和30mg/kg施用后测量血清游离FLT3L水平, MEDI1116的靶标接合。从第1-8天开始进行每日血清测量, 此后每周进行测量直到第85天。图15B描绘了在用MEDI1116治疗后, 循环CD1c+ (经典DC) 频率 (左) 和浆细胞样DC频率 (右) 的减少和恢复, 测量

为基线的百分比。

[0041] 图16A-16D.比较T细胞的血清测量结果和流式细胞术分析,对SLE患者的FLT3L表达和SLEDAI评分的相关性进行测量。图16A描绘了健康供体(HD)和SLE患者的血清中的FLT3L水平。图16B描绘了血清FLT3L SLEDAI评分之间的相关性。图16C描绘了健康供体(HD)和SLE患者中的循环FLT3L+T细胞频率。图16D描绘了FLT3L+CD4+T细胞和SLEDAI评分之间的相关性。

[0042] 图17A-17C.CD4+T细胞子集中的FLT3L表达和SLEDAI评分。图17A描绘了HD和SLE患者中表达FLT3L的CD4 T_{naive}细胞的百分比。底部分图描绘了SLE患者中表达FLT3L的CD4 T_{naive}细胞与SLEDAI评分的相关性。图17B描绘了HD和SLE患者中表达FLT3L的CD4 T_{MEM}细胞的百分比。底部分图描绘了SLE患者中表达FLT3L的CD4 T_{MEM}细胞与SLEDAI评分的相关性。图17C描绘了HD和SLE患者中表达FLT3L的CD4 T_{CM}细胞的百分比。底部分图描绘了SLE患者中表达FLT3L的CD4 T_{naive}细胞与SLEDAI评分的相关性。

[0043] 图18A-18C.患有肌炎的个体的PBMC CD4子集中的FLT3L表达。图18A描绘了HD和肌炎患者中表达FLT3L的CD4 T_{naive}细胞的百分比。图18B描绘了HD和肌炎患者中表达FLT3L的CD4 T_{MEM}细胞的百分比。图18C描绘了HD和肌炎患者中表达FLT3L的CD4 T_{CM}细胞的百分比。

[0044] 图19A-19B.MRL小鼠的蛋白尿和肾炎评分。图19A描绘了抗FLT3L施用后17周时的蛋白尿减少。图19B描绘了抗FLT3L施用后18周时的肾炎评分。

[0045] 图20A-20C.MRL小鼠的脾脏树突状群体。图20A描绘了施用抗FLT3L抗体后,CD11+siglec-H+pDC频率的变化。图20B描绘了施用抗FLT3L抗体后的CD11c+CD11b+mDC频率。图20C描绘了施用抗FLT3L抗体后的CD11c+CD8+mDC频率。

[0046] 图21A和21B.NOD.H2h4干燥综合征小鼠模型中的唾液腺病理学评分。图21A显示了相对于同种型对照,抗FLT3L抗体的治疗性剂量后的NOD.H2h4干燥综合征小鼠模型中的唾液腺病理学变化。图21B显示了相对于同种型对照,抗FLT3L抗体的预防性剂量后的NOD.H2h4干燥综合征小鼠模型中的唾液腺病理学变化。

[0047] 图22A-22D.施用抗FLT3L抗体后树突状细胞存在的变化。图22A和22B描绘了施用抗FLT3L抗体后,浆细胞样DC频率(B220+CD11c+Siglec-H+)的变化,通过流式细胞术显示(A)并定量(B)。图22C和22D描绘了抗FLT3L抗体后,经典DC频率(B220^{neg}CD11c^{HI})的变化,通过流式细胞术显示(C)并定量(D)。

[0048] 图23A-23C.食蟹猴中的抗FLT3L抗体(MEDI1116)PK与FLT3L的功能中和相关,这通过pDC的抑制和返回加以证实。如箭头所示,在第1、8、15、22、29天每周一次向食蟹猴施用抗FLT3L抗体(MEDI1116)。图23A描绘了抗FLT3L抗体(MEDI1116)PK。图23B描绘了在0.03mg/kg、1.0mg/kg和30mg/kg的抗FLT3L抗体(MEDI1116)剂量下的可溶性FLT3L水平。图23C描绘了在0.03mg/kg、1.0mg/kg和30mg/kg的抗FLT3L抗体(MEDI1116)剂量下,测量为基线的百分比的pDC频率。

[0049] 图24A-24C.抗FLT3L抗体(MEDI1116)Q4W给药计划的人类给药模型。图24A描绘了食蟹猴中的抗FLT3L抗体(MEDI1116)PK。图24B描绘了食蟹猴中的抗FLT3L抗体(MEDI1116)PD。图24C描绘了人类中预测的抗FLT3L抗体(MEDI1116)PD。

[0050] 图25A-25B.抗FLT3L单克隆抗体(LFC-1)在整个治疗过程中有效中和FLT3L,并导致循环药物/配体复合物的积聚。图25A描绘了施用抗FLT3L抗体和同种型对照抗体后的血

清游离FLT3L水平。使用FLT3L-IgG作为捕获试剂并使用磺基标记的抗小鼠FLT3L多克隆抗体作为检测试剂来测量游离FLT3L水平。图25B描绘了施用抗FLT3L抗体和同种型对照抗体后的血清总(游离的和结合的)FLT3L水平。使用多克隆抗小鼠FLT3L抗体进行捕获和检测,测量总FLT3L水平。

[0051] 图26A-26D.FLT3L的阻断抑制老年NOD-H2^{h4}小鼠脾脏和SG引流淋巴结(LN)中的T细胞活化。用抗FLT3L单克隆抗体(LFC-1)阻断FLT3L可导致脾脏和唾液腺引流LN(在研究结束时为24-26周龄)中抗原经历的CD44^{HI} CD4+和CD8+T细胞频率的降低。条形图源自脾脏和引流LN的流式细胞术分析。每个条形代表n=4-5只小鼠的平均值+/-均值的标准误差(SEM)。图26A描绘了施用抗FLT3L抗体和同种型对照抗体后脾脏中的CD44^{HI} CD4+T细胞群体。图26B描绘了施用抗FLT3L抗体和同种型对照抗体后LN中的CD44^{HI} CD4+T细胞群体。图26C描绘了施用抗FLT3L抗体和同种型对照抗体后脾脏中的CD44^{HI} CD8+T细胞群体。图26D描绘了施用抗FLT3L抗体和同种型对照抗体后LN中的CD44^{HI} CD8+T细胞群体。

[0052] 图27.治疗性抗FLT3L的阻断选择性降低了两种血清IgG自身抗体的特异性。通过UTSW IgG自身抗体分析来测量对应的血清样品。

具体实施方式

[0053] 本发明提供了与FLT3L特异性结合的分离的抗体或其抗原结合片段。在一些方面,此类分子是与FLT3L特异性结合的抗体及其抗原结合片段。在一个实施例中,本文披露的抗FLT3L抗体可用于抑制或降低FLT3/FLT3L结合以抑制炎症信号传导途径的活化。这样一种方法是有利的,因为它攻击信号源处的炎症,从而允许更强大的抗炎治疗效果。还提供了相关的多核苷酸、载体、包含抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的药物组合物。还设想了制备方法以及使用本文披露的抗FLT3L抗体和抗原结合片段的方法,例如,治疗受试者的自身免疫性疾病和/或慢性炎症性疾病的方法(用作直接疗法、辅助疗法或用于组合疗法中)。

[0054] 为了使本披露可以更容易理解,首先定义某些术语。其他定义贯穿详细说明而阐述。

[0055] 定义

[0056] 在详细描述本发明之前,应理解本发明并不局限于特定的组合物或方法步骤,因为这些组合物或方法步骤可以变化。除非另外定义,否则本文所用的所有技术与科学术语具有如本披露所属领域的技术人员通常理解的含义。以下参考文献为技术人员提供了本披露所用的多个术语的通用定义:Singleton等人,Dictionary of Microbiology and Molecular Biology[微生物学与分子生物学词典](第2版,1994);The Cambridge Dictionary of Science and Technology[剑桥科技词典](Walker编辑,1988);The Glossary of Genetics[遗传学词汇],第5版,R.Rieger等人(编辑),Springer Verlag(斯普林格出版社)(1991);以及Hale&Marham,The Harper Collins Dictionary of Biology[哈珀柯林斯生物学词典](1991)。如本文所用,除非另外指明,否则以下术语具有赋予它们的含义。

[0057] 如本披露中所用的术语“抗体”(或其片段、变体或衍生物)是指能够与抗原结合的抗体的至少最小部分,例如,在由B细胞产生的典型的抗体的情况下,至少重链(VH)的可变结构域和轻链(VL)的可变结构域。脊椎动物系统中的基础抗体结构相对较好理解。参见,例

如Harlow等人, *Antibodies: A Laboratory Manual* [抗体: 实验室手册], (Cold Spring Harbor Laboratory Press (冷泉港实验室出版社), 第2版, 1988)。抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物包括但不限于多克隆抗体、单克隆抗体、人抗体、人源化抗体、或嵌合抗体、表位结合片段例如Fab、F(ab')₂、Fv、单链Fv (scFv)、单链抗体、二硫键连接的Fv (sdFv)、包含VL或VH结构域的片段(Fd)、由Fab表达文库产生的片段、以及保留抗原结合功能(即, 与例如FLT3L特异性结合的能力)的其他抗体片段及其组合。

[0058] 典型的抗体包含由二硫键相互连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链。每条重链包含重链可变区(本文缩写为VH或V_H)和重链恒定区。重链恒定区包含三个结构域, 即CH1、CH2和CH3。每条轻链包含轻链可变区(本文缩写为VL或V_L)和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个结构域, 即CL。VH和VL区可进一步细分为高变区, 称为互补决定区(CDR), 间插称为框架区(FW)的更保守的区域。每个VH和VL包含三个CDR和四个FW, 从氨基末端至羧基末端按下列顺序排列: FW1、CDR1、FW2、CDR2、FW3、CDR3、FW4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。这些抗体的恒定区能够介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合, 这些宿主组织或因子包括免疫系统的不同细胞(例如效应细胞)以及经典补系统的第一成分(C1q)。本披露的示例性抗体包括抗FLT3L抗体(原始抗体和种系化抗体)、亲和力优化的克隆、缺少ADCC的优化的抗体、缀合抗体(例如ADC)、和其他优化的抗体(例如, 血清半衰期优化的抗体, 包括例如YTE突变, 参见Dall'Acqua等人, *J. Biol. Chem.* [生物化学杂志] 281: 23514-24 (2006) 和美国专利号7,083,784, 将这些文献通过引用以其整体特此并入)。

[0059] 在某些实施例中, VH的CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和VL的CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 由以下的氨基酸序列组成: (a) 分别为SEQ ID NO: 29、30、31、32、33和34; 或(b) 分别为SEQ ID NO: 29、30、31、35、33和34; 或(c) 分别为SEQ ID No: 29、36、37、32、33和38。

[0060] 基于分别称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 以及 μ 的抗体重链恒定结构域的同源性, 抗体可以是五种主要类别的免疫球蛋白中的任一种: IgA、IgD、IgE、IgG以及IgM, 或其亚类(同种型)(例如, IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1以及IgA2)。不同种类的免疫球蛋白具有不同且众所周知的亚基结构和三维构型。抗体可以是裸露的或与其他分子(例如毒素、放射性同位素等)缀合以形成ADC。

[0061] “阻断”抗体或“拮抗剂”抗体是抑制或降低与其结合的抗原的生物活性的一种抗体, 例如FLT3L。在某一方面, 阻断抗体或拮抗剂抗体基本上或完全抑制抗原的生物活性。例如, 可以将FLT3L介导的FLT3的活化降低至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、或甚至100%。

[0062] 术语“FLT3L抗体”、“与FLT3L结合的抗体”、或“抗FLT3L抗体”是指能够以足够的亲和力结合FLT3L的抗体或其抗原结合片段, 使得该分子可用作靶向FLT3L的治疗剂或诊断试剂。广义上, 术语“抗FLT3L”也涵盖包含例如掺入支架中的本文披露的抗体的CDR的分子。

[0063] 术语“种系化”意指抗体中特定位置处的氨基酸突变回种系中的氨基酸。

[0064] 抗体的“可变区”是指抗体轻链的可变区或抗体重链的可变区, 单独地抑或进行组合。重链和轻链的可变区各自自由通过三个CDR区连接的四个FW区组成。每条链中的CDR由FW区紧密靠近地保持在一起, 与来自另一条链的CDR促成了抗体的抗原结合位点的形成。存在至少两种用于确定CDR的技术: (1) 基于跨物种序列变异性的方法(即, Kabat等人 *Sequences*

of Proteins of Immunological Interest [免疫学上感兴趣的蛋白质序列], (第5版, 1991, 美国国立卫生研究院, 贝塞斯达, 马里兰州)); 和 (2) 基于抗原-抗体复合物的晶体学研究的方法 (Al-lazikani 等人 (1997) J. Molec. Biol. [分子生物学杂志] 273: 927-948)。另外, 这两种方法的组合有时在本领域中用于确定 CDR。

[0065] 当提及可变结构域中的残基 (大约轻链的残基 1-107 和重链的残基 1-113) 时, 通常使用 Kabat 编号系统 (例如, Kabat 等人, Sequences of Immunological Interest [免疫学上感兴趣的序列], 第5版. 公共卫生服务, 美国国立卫生研究院, 贝塞斯达, 马里兰州, (1991))。

[0066] 短语“如 Kabat 中的氨基酸位置编号”或“Kabat 位置”等是指 Kabat 等人, 1991 中用于抗体汇编的重链可变结构域或轻链可变结构域的编号系统。

[0067] 术语“抗原结合结构域”、“抗原结合片段”和“结合片段”是指抗体分子的一部分, 其包含负责抗体和抗原之间的特异性结合的氨基酸。可变区允许抗体或抗原结合片段选择性识别并特异性结合抗原上的表位。即, 抗体的 VH 和 VL 结构域或互补决定区 (CDR) 的子集组合以形成限定三维抗原结合位点的可变区。更确切地, 抗原结合结构域是由在各 VH 和 VL 链上的三个 CDR 所限定的。如本文所用, 负责与抗原结合结构域进行特异性相互作用的抗原分子的一部分被称为“表位”。抗原结合结构域典型地包含抗体轻链可变区和抗体重链可变区, 然而, 没有必要必须包括两者。例如, 所谓的“Fd”抗体片段仅由 VH 结构域组成, 但仍保留完整抗体的一些抗原结合功能。

[0068] 通过重组 DNA 技术, 或者通过完整抗体的酶促或化学切割产生抗体的结合片段。结合片段包括 Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv 和单链抗体。用木瓜蛋白酶消化抗体产生了两个相同的抗原结合片段 (也称为“Fab”片段) 和一个“Fc”片段, 它们没有抗原结合活性但具有结晶能力。用胃蛋白酶消化抗体产生了 F(ab')₂ 片段, 其中抗体分子的两个臂保持连接并包含两个抗原结合位点。F(ab')₂ 片段具有交联抗原的能力。当在本文中使用, “Fv”是指保留抗原识别位点和抗原结合位点两者的抗体的最小片段。当在本文中使用, “Fab”是指包含轻链的恒定结构域和重链的 CH1 结构域的抗体的片段。

[0069] 如本文所用, “Fc 区”包括排除第一恒定区免疫球蛋白结构域之外的抗体恒定区的多肽。因此, Fc 是指 IgA、IgD 和 IgG 的最后两个恒定区免疫球蛋白结构域, 以及 IgE 和 IgM 的最后三个恒定区免疫球蛋白结构域, 以及在上述结构域的 N-末端的柔性铰链。对于 IgA 和 IgM, Fc 可以包括 J 链。对于 IgG, Fc 包含免疫球蛋白结构域 Cgamma2 和 Cgamma3 (Cy2 和 Cy3) 以及 Cgamma1 (Cy1) 与 Cgamma2 (Cy2) 之间的铰链。尽管 Fc 区的边界可以改变, 但是人 IgG 重链 Fc 区通常被定义为在其羧基末端包含残基 C226 或 P230, 其中根据如 Kabat 等人, 1991 中所示的 EU 索引进行编号。

[0070] “单克隆抗体”是指涉及高度特异性识别且结合单抗原决定簇或表位的均质性抗体群体。这与典型地包括针对不同抗原决定簇的不同抗体的多克隆抗体相反。

[0071] 术语“单克隆抗体”涵盖完整单克隆抗体和全长单克隆抗体两者以及抗体片段 (例如, Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv)、单链可变片段 (scFv)、包含抗体部分的融合蛋白、以及包含抗原识别位点的任何其他经修饰的免疫球蛋白分子。另外, “单克隆抗体”是指以许多方式制备的此类抗体, 这些方式包括但不限于通过杂交瘤、噬菌体选择、重组表达以及转基因动物制备 (例如, 人抗体在转基因小鼠中的表达)。

[0072] 术语“人源化抗体”是指衍生自非人(例如鼠)免疫球蛋白的抗体,该抗体已被工程化以增加与人类中产生的抗体变体的相似性。

[0073] 术语“人抗体”是指使用本领域已知的任何技术,由人产生的抗体或具有对应于由人产生的抗体的氨基酸序列的抗体(例如,在培养细胞中的重组表达或在转基因动物中的表达)。因此,术语人抗体还涵盖具有对应于由人(或其工程化变体或衍生物)最初产生但在非人系统中表达(例如,通过化学合成产生;在微生物、哺乳动物或昆虫细胞中重组表达;或在动物受试者中表达)的抗体的氨基酸序列的抗体。相应地,从人受试者或从人细胞(例如,表达重组抗体或其片段的杂交瘤或细胞系)获得并随后在动物(例如小鼠)中表达的抗体被认为是人抗体。人抗体的此定义包括完整抗体或全长抗体、其片段、和/或包含至少一种人重链和/或轻链多肽的抗体,例如包含鼠轻链和人重链多肽的抗体。

[0074] 术语“嵌合抗体”是指其中免疫球蛋白分子的氨基酸序列衍生自两种或更多种动物物种的抗体。典型地,轻链和重链的可变区均对应于衍生自具有所需特异性、和/或亲和力、和/或能力的一个哺乳动物物种(例如小鼠、大鼠、兔等)的抗体的可变区,而恒定区与衍生自另一个物种(通常是人)的抗体中的序列同源,以避免在该物种中引发免疫应答。

[0075] 术语“多核苷酸”旨在涵盖单数核酸以及复数核酸,并且是指分离的核酸分子或构建体,例如信使RNA(mRNA)或质粒DNA(pDNA)。多核苷酸可包含常规磷酸二酯键或非常规键(例如酰胺键,如在肽核酸(PNA)中所发现的)。术语“核酸”是指存在于多核苷酸中的任何一个或多个核酸区段,例如DNA或RNA片段。“分离的”核酸或多核苷酸意指已经从其天然环境中去除的核酸分子,即DNA或RNA。例如,在载体中包含的编码多肽亚基的重组多核苷酸被视为是分离的,如本文所披露。分离的多核苷酸的另外的实例包括维持在异源宿主细胞中的重组多核苷酸或溶液中的纯化(部分地或基本上)多核苷酸。分离的RNA分子包括多核苷酸的体内或体外RNA转录物。分离的多核苷酸或核酸进一步包括合成产生的这类分子。另外,多核苷酸或核酸可以是或可以包括调节元件如启动子、核糖体结合位点、或转录终止子。

[0076] 在某些实施例中,多核苷酸或核酸是DNA。在DNA的情况下,包含编码多肽的核酸的多核苷酸通常可以包括启动子和/或可操作地与一个或多个编码区相关联的其他转录或翻译控制元件。可操作的相关联或连接是针对基因产物(例如多肽)的编码区按以下这种方式与一个或多个调节序列相关联,该方式使得该基因产物的表达处于这种或这些调节序列的影响或控制之下。如果启动子功能的诱导导致编码所需基因产物的mRNA的转录,并且如果两个DNA片段之间的连接的性质不干扰表达调节序列引导基因产物的表达的能力或不干扰有待转录的DNA模板的能力,那么两个DNA片段(如多肽编码区和与其相关联的启动子)“可操作地相关联”或“可操作地连接”。因此,启动子区将可操作地与编码多肽的核酸相关联,只要启动子能够实现该核酸的转录。启动子可以是只在预定细胞中引导DNA的实质性转录的细胞特异性启动子。除了启动子以外,其他转录控制元件例如增强子、操纵子、阻遏子以及转录终止信号可以可操作地与多核苷酸相关联以便引导细胞特异性转录。本文披露了合适的启动子和其他转录控制区。

[0077] 在其他实施例中,多核苷酸可以是例如处于信使RNA(mRNA)形式的RNA。

[0078] “载体”是引入宿主细胞中,从而产生转化的宿主细胞的核酸分子。载体可以包括允许其在宿主细胞中复制的核酸序列,例如复制起点。载体也可以包括一种或多种选择性标记基因和本领域中已知的其他遗传元件。

[0079] “转化的”细胞或“宿主”细胞是已经通过分子生物学技术将核酸分子引入其中的细胞。如本文所用,术语转化涵盖可以将核酸分子引入此类细胞的所有技术,包括用病毒载体转染,用质粒载体转化,以及通过电穿孔、脂转染和粒子枪加速引入裸露的DNA。转化的细胞或宿主细胞可以是细菌细胞或真核细胞。

[0080] 如本文所用,术语“FLT3L”是指麦克唐纳猫肉瘤(FMS)样酪氨酸激酶3配体,其是与FMS样酪氨酸激酶3受体(FLT3)受体结合的造血细胞因子的多肽。FLT3L最初被表达为膜结合蛋白,然后被酶促切割成可溶性形式。膜结合(mFLT3L)和分泌(sFLT3L)两者都包括在FLT3L的定义内。

[0081] 在本披露中,“包括(comprise)”、“包括(comprising)”、“含有(containing)”以及“具有(having)”等可以具有在美国专利法中赋予它们的含义并且可以意指“包括(include)”、“包括(including)”等;“基本上由……组成(consisting essentially of或consists essentially of)”同样具有在美国专利法中指定的含义并且该术语是开放性的,允许超出所叙述的存在,只要所叙述的基本或新颖特征不被超过叙述的存在改变,但是排除现有技术实施例。

[0082] 如本文所用,术语“确定(determining)”、“评估(assessing)”、“测定(assaying)”、“测量(measuring)”和“检测(detected)”是指定量和定性确定两者,因此,术语“确定”在本文中“测定”、“测量”等可互换使用。在需要定量确定的情况下,可以使用短语“确定量”的分析物等。在需要定性和/或定量确定的情况下,使用短语“确定水平”的分析物或“检测”分析物。

[0083] 在两个或更多个核酸或多肽的情况下,术语“同一性”或“同一性百分比”是指当比较和比对(如果需要的话引入空位)最大对应性且不考虑任何保守氨基酸取代作为序列同一性的一部分时,两个或更多个序列或子序列是相同的或具有指定百分比的相同的核苷酸或氨基酸残基。同一性百分比可以使用序列比较软件或算法或通过目测来测量。本领域中已知可用于获得氨基酸序列或核苷酸序列的比对的各种算法和软件(参见,例如Karlin等人,1990,Proc.Natl.Acad.Sci.[美国国家科学院院刊],87:2264-2268,如Karlin等人,1993,Proc.Natl.Acad.Sci.[美国国家科学院院刊],90:5873-5877所修改的),并且这些算法和软件被并入NBLAST和XBLAST程序中(Altschul等人,1991,Nucleic Acids Res.[核酸研究],25:3389-3402)。在某些实施例中,可以如Altschul等人,1997,Nucleic Acids Res.[核酸研究]25:3389-3402所述使用空位BLAST、BLAST-2、WU-BLAST-2(Altschul等人,1996,Methods in Enzymology[酶学方法],266:460-480)、ALIGN、ALIGN-2(基因泰克公司(Genentech),南旧金山,加利福尼亚州)或Megalign(DNASTAR)。

[0084] 术语“分离的”是指不在其天然环境中的分子。不要求特定水平的纯化。例如,分离的抗体是不在其天然或自然环境中产生或不位于其天然或自然环境中的抗体。重组产生的生物材料被认为是分离的,如本文所披露,在非天然细胞(如杂交瘤)中产生的材料也被认为是分离的。如果一种物质(例如,分离的蛋白质如抗体)已经通过任何合适的技术进行了分离、分级或部分地纯化或基本上纯化,则该物质也被认为是“分离的”。例如,如果一种抗体基本上不含来自其所衍生的细胞或组织来源的细胞材料或其他蛋白质,则该抗体被认为是“分离的”。

[0085] 术语“特异性结合”是指药剂(例如,配体或抗体)识别并结合分子(例如,受体或表

位),并且这种结合需要药剂(例如,抗体)与分子(例如,配体)之间有某种互补性。通过此定义,当一种抗体与配体的结合比其与随机、不相关的分子的结合更容易时,该抗体被认为与该配体“特异性结合”。术语“特异性”在本文用于对某种抗体与某种配体结合的相对亲和力进行定性。例如,可以认为抗体“A”对给定的配体(例如,FLT3L)具有比抗体“B”更高的特异性。

[0086] 如本文所用,术语“亲和力”是指单独表位与抗体的CDR的结合强度的度量。参见,例如Harlow等人,Antibodies:A Laboratory Manual[抗体:实验室手册],(Cold Spring Harbor Laboratory Press(冷泉港实验室出版社),第2版,1988),第27-28页。如本文所用,术语“亲合力”是指抗体群体与抗原之间的复合物的总体稳定性,即抗体混合物与抗原的功能组合强度。参见,例如Harlow,第39-34页。亲合力与群体中的单独抗体与特定表位的亲和力相关,并且还与抗体和抗原的效价相关。

[0087] 本文中的术语“抑制(inhibit)”或“阻断(block)”可互换使用,并且是指生物活性的任何统计上显著的降低,包括活性的完全阻断。例如,“抑制”可以指生物活性降低约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。

[0088] 术语“效应功能”是指由其Fc组分与Fc受体或补体组分的相互作用产生的抗体的活性。这些活性包括例如,抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、补体依赖性细胞毒性(CDC)、和抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)。因此,具有改变的效应功能的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段)是指在Fc区中包含改变(例如,寡糖中的氨基酸取代、缺失或添加、或变化)的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段),该改变使得至少一种效应功能的活性(例如ADCC、CDC和/或ADCP)发生变化。具有改善的效应功能的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段)是指在Fc区中包含改变(例如,寡糖中的氨基酸取代、缺失或添加、或变化)的抗原结合蛋白(例如,抗体或其抗原结合片段),该改变使得至少一种效应功能的活性(例如ADCC、CDC和/或ADCP)增加。

[0089] 术语“受试者”是指任何动物(例如,哺乳动物),包括但不限于人、非人灵长类动物、啮齿类动物等,该受试者将是特定治疗的接受者。典型地,术语“受试者”和“患者”以及“个体”在本文可互换使用。受试者的其他实例包括非人哺乳动物,例如牛、马、犬、绵羊或猫。

[0090] 术语“药物组合物”是指以下形式的制剂:它的形式使得活性成分(例如,本文披露的抗FLT3L抗体)的生物活性是有效的,并且它不包括对施用该组合物的受试者具有不可接受的毒性的其他组分。此类组合物可以是无菌的。

[0091] 如本文所披露的抗FLT3L抗体的“有效量”是足以实现特定目的的量。相对于所述目的,可以凭经验并以常规方式确定“有效量”。

[0092] 术语“治疗有效量”和“药学上有效量”是指本文披露的抗FLT3L抗体或其他药物有效“治疗”受试者的疾病或障碍的量。

[0093] 术语如“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”或“要治疗(to treat)”或“缓解(alleviating)”或“要缓解(to alleviate)”是指(1)治愈、减慢、减轻诊断的病理性病症或障碍的症状的治疗性措施,和/或使诊断的病理性病症或障碍的进展停止的治疗性措施;并且(2)防止和/或减缓所靶向的病理性病症或障碍的发展的预防性(prophylactic或preventative)措施。因此,需要治疗的受试者包括:已经患有障碍的那些受试者;有倾向患

障碍的那些受试者;以及要预防障碍的那些受试者。在某些方面,如果患者显示出例如与自身免疫性疾病或炎性疾病相关的症状的全部、部分或暂时减少,则根据本披露的方法成功地“治疗”受试者的自身免疫性疾病或炎性疾病。

[0094] 将本文提供的范围理解为该范围内的所有值的简略表达。例如,将1至50的范围理解为包括下组的任一数、数的组合、或者下组的子范围,该组由以下组成:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、或50。

[0095] 如本文所用,术语“治疗(treat、treating、treatment等)”是指减少和/或改善障碍和/或与其相关的症状。应理解的是,尽管不能排除,治疗障碍或病症并不要求完全地消除该障碍、病症或与其相关的症状。例如,如本文所设想的,治疗障碍包括防止障碍症状的恶化。

[0096] 如本文所用,术语“或”应被理解为是包括性的,除非明确说明或从上下文显而易见是相反的。如本文所用,术语“一个、一种(a、an)”和“该(the)”应被理解为是单数的或复数的,除非明确说明或从上下文显而易见是相反的。

[0097] 另外,在本文使用的情况下,“和/或”应当被视为具有或不具有彼此的两个或更多个指定特征或组分中的每一个的特定披露。因此,本文中在短语如“A和/或B”中使用的术语“和/或”旨在包括“A和B”、“A或B”、“A”(单独)和“B”(单独)。类似地,在短语如“A、B和/或C”中使用的术语“和/或”旨在涵盖以下实施例中的每一个:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;以及A(单独);B(单独);和C(单独)。

[0098] 除非明确说明或从上下文显而易见,否则如本文所用,术语“约(about)”应被理解为在本领域的正常公差范围内,例如,在平均数的2个标准偏差之内。“约”可以被理解为大于或小于规定的值的10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%或0.01%。除非另有说明,否则本文提供的所有数值均被视为由术语“约”隐含地修改。

[0099] FLT3L最初被表达为膜结合蛋白,然后被酶促切割成可溶性形式。膜结合(mFLT3L)和分泌(sFLT3L)均具有功能活性。FLT3L结合区在物种间高度保守,以至于在人、啮齿类动物和食蟹猴配体/受体组合之间观察到跨物种反应性。然而,据认为,结合位点周围的关键突变解释了针对FLT3L产生的中和抗体缺乏跨物种反应性。针对FLT3L的中和抗体可影响经典和浆细胞样DC群体,从而降低免疫系统诱导并维持延长的炎性应答的能力。次要作用可包括循环NK细胞减少以及T细胞和B细胞活化降低,从而导致两种细胞类型的存活率降低。总体来说,这些途径的下调可以减少自身免疫性炎症。

[0100] 在一个实施例中,设想中和抗FLT3L抗体通过抑制FLT3L与FLT3结合而促进免疫稳态。抗FLT3L抗体策略靶向配体而非受体,以避免意外的受体二聚化或信号传导的风险。与其受体不同,没有与膜结合FLT3L相关的信号传导结构域。

[0101] 抗FLT3L抗体

[0102] 在一个优选的实施例中,本披露提供了与FLT3L(例如,人FLT3L)特异性结合的分离的FLT3L结合分子,例如抗体及其抗原结合片段。FLT3L的全长氨基酸序列和核苷酸序列在本领域中是已知的(参见,例如人FLT3L的UniProt登录号P36888,或小鼠FLT3L的UniProt登录号Q00342)。本披露的抗FLT3L抗体抑制FLT3L介导的FLT3的活化,从而减少受试者的促炎信号传导并减少炎症。

[0103] 在优选的实施例中,抗FLT3L抗体不与结构上类似的TKR同源物人干细胞因子(huSCF)或人集落刺激因子(huCSF1)交叉反应。本领域技术人员将认识到,SCF和CSF是还结合酪氨酸激酶受体的配体。结合其他酪氨酸激酶家族成员的非特异性FLT3抑制剂可通过全面抑制酪氨酸激酶信号传导而引起毒性。相应地,抗FLT3L抗体仅结合FLT3L,而不结合结构上类似的同源物是至关重要的。许多抗FLT3L抗体和抑制剂缺乏特异性,并与多种酪氨酸激酶受体结合。因此,抗FLT3L抗体的优选实施例必须证明对FLT3L的高亲和力和FLT3L的特异性结合。

[0104] 在一个实施例中,本披露的抗FLT3L抗体是单克隆抗体、重组抗体、人抗体、人源化抗体、和/或嵌合抗体。

[0105] 在一些方面,FLT3L结合分子包含Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、单链Fv或scFv、二硫键连接的Fv、V-NAR结构域、IgNar、胞内抗体、IgG CH2、微小抗体、F(ab')₃、四体抗体(tetrabody)、三体抗体(triabody)、双体抗体(diabody)、单结构域抗体、DVD-Ig、Fcab、mAb²、(scFv)₂、或scFv-Fc。在一些方面,抗FLT3L抗体属于IgG类型,例如属于IgG1类型(包括IgG1重链免疫球蛋白恒定结构域)。在其他实施例中,抗FLT3L抗体具有IgA、IgD、IgE、IgG2、IgG3、IgG4或IgM重链免疫球蛋白恒定结构域。

[0106] 在一些实施例中,IgG恒定区可包含选自下组的轻链恒定区,该组由以下组成:Igκ恒定结构域(区)和Igλ恒定结构域。在一个具体的实施例中,抗FLT3L抗体包括人IgG1恒定结构域和人λ恒定结构域。在另一个具体的实施例中,抗FLT3L抗体具有IgG1-TM格式,使得Fc区中的靶向突变将243处的亮氨酸变为苯丙氨酸(L243F),将235处的亮氨酸变为谷氨酸(L235E),并且将331处的脯氨酸变为丝氨酸(P331S);根据EU索引进行氨基酸编号。靶向突变降低了FcR结合和ADCC效应功能(参见Organesyan等人,Acta Crystallogr D Biol Crystallogr[晶体学报D辑:生物晶体学].2008年6月1日;64(Pt 6):700-4;以及WO 2009100309A2,将其通过引用并入。

[0107] 在一些方面,抗FLT3L抗体是人抗体(例如,CAT5D9、SC4017、AM40、CAT8、CAT26、DTAX3和DYAX5抗体)。

[0108] CAT5D9抗体

[0109] 在一个实施例中,CAT5D9抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括以下互补决定区(CDR):HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包括SEQ ID NO:29、36、37、32、33和38的氨基酸序列。

[0110] 在另一个实施例中,CAT5D9抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括与SEQ ID NO:6的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VL结构域以及与SEQ ID NO:5的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VH结构域。

[0111] 在又一个实施例中,CAT5D9抗体是指如下抗体,该抗体包括具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的两个VL结构域以及具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的两个VH结构域。

[0112] 在另一个实施例中,CAT5D9抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:20的核酸序列编码的两个VL结构域以及由SEQ ID NO:19的核酸序列编码的两个VH结构域。

[0113] 在一个实施例中,CAT5D9抗体是指IgG1抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括具有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的轻链以及具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的重链。

[0114] 在另一个实施例中,CAT5D9抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:72的核酸序列编码的轻链以及由SEQ ID NO:71的核酸序列编码的重链。

[0115] SC4017抗体

[0116] 在一个实施例中,SC4017抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括以下互补决定区(CDR):HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包括SEQ ID NO:29、30、31、35、33和34的氨基酸序列。

[0117] 在另一个实施例中,SC4017抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VL结构域以及与SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VH结构域。

[0118] 在又一个实施例中,SC4017抗体是指如下抗体,该抗体包括具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的两个VL结构域以及具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的两个VH结构域。

[0119] 在另一个实施例中,SC4017抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:18的核酸序列编码的两个VL结构域以及由SEQ ID NO:17的核酸序列编码的两个VH结构域。

[0120] 在一个实施例中,SC4017抗体是指IgG1抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的轻链以及具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的重链。

[0121] 在另一个实施例中,SC4017抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:68的核酸序列编码的轻链以及由SEQ ID NO:67的核酸序列编码的重链。

[0122] AM40(MEDI1116)抗体

[0123] 在一个实施例中,AM40抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括以下互补决定区(CDR):HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包括SEQ ID NO:29、30、31、32、33和34的氨基酸序列。

[0124] 在另一个实施例中,AM40抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括与SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VL结构域以及与SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VH结构域。

[0125] 在又一个实施例中,AM40抗体是指如下抗体,该抗体包括具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的两个VL结构域以及具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的两个VH结构域。

[0126] 在另一个实施例中,AM40抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:16的核酸序列编码的两个VL结构域以及由SEQ ID NO:15的核酸序列编码的两个VH结构域。

[0127] 在一个实施例中,AM40抗体是指IgG1抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括具有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的轻链以及具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的重链。

[0128] 在另一个实施例中,AM40抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:64的核酸序列编码的轻链以及由SEQ ID NO:63的核酸序列编码的重链。

[0129] CAT8抗体

[0130] 在一个实施例中,CAT8抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括以下互补决定区(CDR):HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包括SEQ ID NO:39、40、41、42、43和44的氨基酸序列。

[0131] 在另一个实施例中,CAT8抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括

与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VL结构域以及与SEQ ID NO:7的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VH结构域。

[0132] 在又一个实施例中,CAT8抗体是指如下抗体,该抗体包括具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的两个VL结构域以及具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的两个VH结构域。

[0133] 在另一个实施例中,CAT8抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:22的核酸序列编码的两个VL结构域以及由SEQ ID NO:21的核酸序列编码的两个VH结构域。

[0134] 在一个实施例中,CAT8抗体是指IgG1抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括具有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的轻链以及具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的重链。

[0135] 在另一个实施例中,CAT8抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:76的核酸序列编码的轻链以及由SEQ ID NO:75的核酸序列编码的重链。

[0136] CAT26抗体

[0137] 在一个实施例中,CAT26抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括以下互补决定区(CDR):HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包括SEQ ID NO:45、40、46、47、48和49的氨基酸序列。

[0138] 在另一个实施例中,CAT26抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VL结构域以及与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VH结构域。

[0139] 在又一个实施例中,CAT26抗体是指如下抗体,该抗体包括具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的两个VL结构域以及具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的两个VH结构域。

[0140] 在另一个实施例中,CAT26抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:24的核酸序列编码的两个VL结构域以及由SEQ ID NO:23的核酸序列编码的两个VH结构域。

[0141] 在一个实施例中,CAT26抗体是指IgG1抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的轻链以及具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的重链。

[0142] 在另一个实施例中,CAT26抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:80的核酸序列编码的轻链以及由SEQ ID NO:79的核酸序列编码的重链。

[0143] DYAX3抗体

[0144] 在一个实施例中,Dyax3抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括以下互补决定区(CDR):HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包括SEQ ID NO:50、51、52、53、54和55的氨基酸序列。

[0145] 在另一个实施例中,Dyax3抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括与SEQ ID NO:82的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VL结构域以及与SEQ ID NO:81的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VH结构域。

[0146] 在又一个实施例中,Dyax3抗体是指如下抗体,该抗体包括具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的两个VL结构域以及具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的两个VH结构域。

[0147] 在另一个实施例中,Dyax3抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:26的核酸序列编码的两个VL结构域以及由SEQ ID NO:25的核酸序列编码的两个VH结构域。

[0148] 在一个实施例中,Dyax3抗体是指IgG1抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括具有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的轻链以及具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的重链。

[0149] 在另一个实施例中,Dyax3抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:84的核酸序列编码的轻链以及由SEQ ID NO:83的核酸序列编码的重链。

[0150] DYAX5抗体

[0151] 在一个实施例中,Dyax5抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括以下互补决定区(CDR):HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包括SEQ ID NO:56、57、52、58、59和60的氨基酸序列。

[0152] 在另一个实施例中,Dyax5抗体是指如下抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括与SEQ ID NO:86的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VL结构域以及与SEQ ID NO:85的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、或99%序列同一性的两个VH结构域。

[0153] 在又一个实施例中,Dyax5抗体是指如下抗体,该抗体包括具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的两个VL结构域以及具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的两个VH结构域。

[0154] 在另一个实施例中,Dyax5抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:28的核酸序列编码的两个VL结构域以及由SEQ ID NO:27的核酸序列编码的两个VH结构域。

[0155] 在一个实施例中,Dyax5抗体是指IgG1抗体,该抗体与FLT3L特异性结合并且包括具有SEQ ID NO:86的氨基酸序列的轻链以及具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的重链。

[0156] 在另一个实施例中,Dyax5抗体是指如下抗体,该抗体包括由SEQ ID NO:88的核酸序列编码的轻链以及由SEQ ID NO:87的核酸序列编码的重链。

[0157] 在某些实施例中,提供了与FLT3L特异性结合的抗体或其抗原结合片段,其包含一组互补决定区(CDR):HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中该HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3包含以下的氨基酸序列:(a)分别为SEQ ID NO:29、30、31、32、33和34;或(b)分别为SEQ ID NO:29、30、31、35、33和34;或(c)分别为SEQ ID NO:29、36、37、32、33和38。

[0158] 在某些实施例中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),其中每个VH和VL包含三个CDR和四个框架区(FW),从氨基末端至羧基末端按下列顺序排列:FW1、CDR1、FW2、CDR2、FW3、CDR3和FW4。

[0159] 在某些方面,VH和VL区具有如下氨基酸序列,该氨基酸序列与以下具有至少95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性:(a)分别为SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2;或(b)分别为SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4;或(c)分别为SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6。

[0160] 在某些方面,VH的CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和VL的CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)由以下的氨基酸序列组成:(a)分别为SEQ ID NO:29、30、31、32、33和34;或(b)分别为SEQ ID NO:29、30、31、35、33和34;或(c)分别为SEQ ID No:29、36、37、32、33和38。

[0161] 抗FLT3L抗体序列的汇总表在下表1中呈现。

[0162] 表1.抗FLT3L抗体序列汇总表。

[0163] 表1A

[0164]

抗体名称	VH (氨基酸)	VL (氨基酸)
AM40	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GGTFS SYALSWVRQAPGQGLEWMGTRPPT SRTASYAQKFQGRVTITVDESTTG YMELSSLRSED TAVYYCASND FVYGSYR FWGQGT VTVSSA (SEQ ID NO: 1)	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCT RTS GNIAGYFVQWYQQRPGSSPTTVIYE DYQRPSGVPDRFSGSIDSSSNSASLTI SGLKTEDEADYYC QSYDDYRRAAF GGGTKLTVL (SEQ ID NO: 2)
SC401 7	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GGTFSS SYALSWVRQAPGQGLEWMG TRPPTSRTASYAQKFQGRVTITVDE STSTGYMELSSLRSED TAVYYCASND FVYGSYR FWGQGT TVTVSS (SEQ ID NO: 3)	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCT RTS GWIAGYFVQWYQQRPGSSPTTVIYE DYQRPSGVPDRFSGSIDSSSNSASLTI SGLKTEDEADYYC QSYDDYRRAAF GGGTKLTVL (SEQ ID NO: 4)
CAT5 D9	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKIS GGTFSS SYALSWVRQAPGQGLEWMG GIIPVERTASYAQKFQGRVTITVDES ASTGYIELSSLKSED TATYYCASNNY VWGSYR FWGQGT TVTVSS (SEQ ID NO: 5)	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCT RTS GNIAGYFVQWYQQRPGSSPTTVIYE DYQRPSGVPDRFSGSIDRSSNASLTI SGLKPDDEADYYC QSYDDTSQGVFG AGTKVTVL (SEQ ID NO: 6)
CAT8	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASG FTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSAI SGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN NTLYLQMNSLRAED TAVYYCARSSG YYGANFDFWGQGT TVTVSS (SEQ ID NO: 7)	QSVLTQPPSASGTPGQRVAIS CSGSSS NIGSGYVYWYQQVPGTAPTL LIHRN NQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISG LRSEDEADYYCA AWDDSLSGYVFG TGTKVTV (SEQ ID NO: 8)
CAT26	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASG	QSVLTQPPSASGTPGQRVTIS CSGSSS

[0165]

	FTFSSYAVSWVRQAPGKGLEWVSAI SGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKDA YGSSWYFYFDYWGGQGMVTVSS (SEQ ID NO: 9)	NIGINPVNWWYQQLPGTAPKVLIIYSD KYRPSGVADRFSKSGTSASLAISG LQSEDEADYFCAAWDDSLNGRVFG TGKLTVL (SEQ ID NO: 10)
Dyax3	EVQLLESGLLVQPGSLRLSCAASG FTFSMYEMRWVRQAPGKGLEWVSV IPSGGKTFYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYSR WFGQLGFYSHYAMDVWSQGTTVT VSS (SEQ ID NO: 11)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVAITCRAS QSIDTYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SKLEDGVPSRFSGSGTGDTFTLIRSL QPEDFASYFCQQSYSSPGITFGPGTK VEIK (SEQ ID NO: 12)
Dyax5	EVQLLESGLLVQPGSLRLSCAASG FTFSSYIMVWVRQAPGKGLEWVSSI YSSGGSTSYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRYSR WFGQLGFYSHYAMDVWSQGTTVT VSS (SEQ ID NO: 13)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTGDTFTLISLQ PEDFATYYCQQSYSTPPWTFGQGTK VEIK (SEQ ID NO: 14)

[0166] 表1B

[0167]

抗体名称	VH (DNA)	VL (DNA)
AM40	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGG GCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCC TCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTT CTGGAGGCACCTTCAGCAGTTATGC TCTTAGCTGGGTGCGACAGGCCCTT GGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGA ACGCGGCCGCCGACCTCCCGGACA GCAAGCTACGCACAGAAATTTTCAG GGCAGAGTCACGATTACCGTGGAC GAATCCACGAGCACAGGCTACATG GAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAG GACACGGCCGTGTATTACTGTGCGT	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCACT CTGTGTCGGAGTCTCCGGGGAAGA CGGTAACCATCTCCTGCACCCGCAC CAGTGGAACATTGCCGGCTACTTT GTGCAGTGGTACCAGCAGCGCCCG GGCAGTTCCCCCACCCTGTGATCT ATGAGGATTACCAACGACCCTCTG GGGTCCCTGATCGGTTCTCTGGCTC CATCGACAGCTCCTCCAACCTTGCC TCCCTCACCATCTCTGGACTGAAGA CTGAGGACGAGGCTGACTACTATT GTCAGTCTTATGATGACTACCGGCG

[0168]

	CAAACGACTTCGTGTACGGGAGTT ATCGTTTCTGGGGCCAAGGGACCA CGGTCACCGTCTCCTCAGCG (SEQ ID NO: 15)	GGCGGCGTTTCGGCGGAGGGACCAA GCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 16)
SC401 7	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGG GCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCC TCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTT CTGGAGGCACCTTCAGCAGTTATGC TCTTAGCTGGGTGCGACAGGCCCT GGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGA ACGCGGCCCGCCGACCTCCCGGACA GCAAGCTACGCACAGAAATTTAG GGCAGAGTCACGATTACCGTGGAC GAATCCACGAGCACAGGCTACATG GAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAG GACACGGCCGTGTATTACTGTGCGT CAAACGACTTCGTGTACGGGAGTT ATCGTTTCTGGGGCCAAGGGACCA CGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 17)	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCACT CTGTGTCGGAGTCTCCGGGGAAGA CGGTAACCATCTCCTGCACCCGCAC CAGTGGGTGGATTGCCGGCTACTTT GTGCAGTGGTACCAGCAGCGCCCG GGCAGTTCCCCCACCCTGTGATCT ATGAGGATTACCAACGACCCTCTG GGGTCCCTGATCGTTTCTCTGGCTC CATCGACAGCTCCTCCAACCTCTGCC TCCCTCACCATCTCTGGACTGAAGA CTGAGGACGAGGCTGACTACTATT GTCAGTCTTATGATGACTACCGGCG GGCGGCGTTTCGGCGGAGGGACCAA GCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 18)
CAT5 D9	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGG GCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCC TCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGATTT CTGGAGGCACCTTCAGCAGTTATGC TCTTAGCTGGGTGCGACAGGCCCT GGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGA GGGATCATCCCTGTCTTTCGGACAG CAAGCTACGCACAGAAATTTAGG GCAGAGTCACGATTACCGTGGACG AATCCGCGAGCACAGGCTACATAG AACTGAGCAGCCTGAAATCTGAGG ACACGGCCACATATTACTGTGCGTC AAATAATTACGTTTGGGGGAGTTAT CGTTTCTGGGGCCAGGGGACCACG GTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 19)	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCACT CTGTGTCGGAGTCTCCGGGGAAGA CGGTCACCATCTCCTGCACCCGCAC CAGTGGGAACATTGCCGGCTACTTT GTGCAGTGGTACCAGCAGCGCCCG GGCAGTTCCCCCACCCTGTGATCT ATGAGGATTACCAACGACCCTCTG GGGTCCCTGATCGTTTCTCTGGCTC CATCGACAGGTCCTCCAACCTCTGCC TCCCTCACCATCTCTGGACTGAAGC CTGACGACGAGGCTGACTACTATTG TCAGTCTTATGATGACACCTCTCAA GGTGTGTTTCGGCGCAGGGACCAAG GTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 20)
CAT8	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGG	CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCT

[0169]

	GGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGG TCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTACCTTTAGCAGCTATGC CATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCC AGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTC AGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGC ACATACTACGCAGACTCCGTGAAG GGCCGGTTCACCATCTCCAGAGAC AATCCAAGAACACGCTGTATCTGC AAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAG AAGCAGCGGCTACTACGGGGCCAA TTTTGACTTCTGGGGGCAGGGGACC ACGGTCACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 21)	CAGCGTCCGGGACCCCCGGGCAGA GGGTCGCCATCTCTTGTCTGGAAG CAGCTCCAACATCGGAAGTGGTTAT GTATACTGGTATCAGCAGGTCCCAG GAACGGCCCCCACACTCCTCATCCA TAGGAATAATCAGCGGCCCTCAGG GGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCC AAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGG CCATCAGTGGGCTCCGGTCCGAGG ATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGC GTGGGATGACAGCCTGAGTGGTTA TGTCTTCGGAAGTGGGACCAAGGTC ACCGTC (SEQ ID NO: 22)
CAT26	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGG GGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGG TCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTACCTTTAGCAGCTATGC CGTGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCC AGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTC AGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGC ACATACTACGCAGACTCCGTGAAG GGCCGGTTCACCATCTCCAGAGAC AATCCAAGAACACGCTGTATCTGC AAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCCGTGTATTACTGTGTGAA AGACGCATATGGCAGCAGCTGGTA CTTTTACTACTTTGACTACTGGGGC CAAGGGACAATGGTCACCGTCTCG AGT (SEQ ID NO: 23)	CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCTT CAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGA GGGTCACCATCTCTTGTCTGGAAG CAGCTCCAACATCGGAATCAATCCT GTGAACTGGTACCAACAACCTCCCC GGAACGGCCCCCAAAGTCCTCATTT ATAGTGATAAATACCGGCCCTCAG GGGTCGCTGACCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGAACCTCAGCCTCCCTG GCCATCAGTGGCCTCCAGTCTGAGG ATGAGGCTGATTACTTCTGTGCAGC ATGGGATGACAGCCTGAATGGTCG CGTCTTCGGAAGTGGGACCAAGCT GACCGTCCTA (SEQ ID NO: 24)
Dyax3	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTG GCGGTCTTGTTAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCG GATTCACTTTCTCTATGTACGAGAT GCGTTGGGTTGCGCAAGCTCCTGGT	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAT CCTCCCTGTCTGCATCTGTGGGAGA CAGAGTCGCCATCACTTGCCGCGCA AGTCAGAGCATCGACACCTATTTAA ATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGA

[0170]

	AAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTGTTA TCCCTTCTGGTGGCAAGACTTTTAA TGCTGACTCCGTTAAAGGTCGCTTC ACTATCTCTAGAGACAACTCTAAGA ATACTCTCTACTTGCAGATGAACAG CTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGT GTATTACTGTGCGAGATACAGCAG ATGGTTCGGGCAGCTAGGGTTTTAC TCCCACTACGCTATGGACGTCTGGA GCCAAGGGACCACGGTCACCGTCT CAAGC (SEQ ID NO: 25)	AAGCCCCTAAACTCCTGATCTATGC TGCATCCAAGTTGGAAGACGGGGT CCCATCAAGATTAGTGGCAGTGG AACTGGGACAGATTTCACTCTCACC ATCAGAAGTCTGCAACCTGAAGAT TTTGCAAGTTATTTCTGTCAACAGA GCTACTCTAGTCCAGGGATCACTTT CGGCCCTGGGACCAAGGTGGAGAT CAAA (SEQ ID NO: 26)
Dyax5	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTG GCGGTCTTGTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCCTGCTTCCG GATTCACCTTTCTTCTTACATTATG GTTTGGGTTTCGCAAGCTCCTGGTA AAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCTAT CTATTCTTCTGGTGGCTCTACTTCTT ATGCTGACTCCGTTAAAGGTCGCTT CACTATCTCTAGAGACAACTCTAAG AATACTCTCTACTTGCAGATGAACA GCTTAAGGGCTGAGGACACAGCCG TGTATTACTGTACGAGATACAGCAG ATGGTTCGGGCAGCTAGGGTTTTAC TCCCACTACGCTATGGACGTCTGGA GCCAAGGGACCACGGTCACCGTCT CAAGC (SEQ ID NO: 27)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAT CCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGA CAGAGTCACCATCACTTGCCGGGC AAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTA AATTGGTATCAGCAGAAACCAGGG AAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATG CTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGT CCCATCAAGGTTAGTGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACC ATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATT TTGCAACTTACTACTGTCAACAGAG TTACAGTACCCCTCCGTGGACGTTT GGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATC AAA (SEQ ID NO: 28)

[0171] 表1C

[0172]

抗体名称	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
AM40	SYALS (SEQ ID NO:	TRPPTSRTAS YAQKFQG (SEQ ID NO:	NDFVY GSYRF (SEQ	TRTSGNIA GYFVQ (SEQ ID	EDYQRPS (SEQ ID NO: 33)	QSYDDYRR AA (SEQ ID NO:

[0173]

	29)	30)	ID NO: 31)	NO: 32)		34)
SC4017	SYALS (SEQ ID NO: 29)	TRPPTSRTAS YAQKFQG (SEQ ID NO: 30)	NDFVY GSYRF (SEQ ID NO: 31)	TRTSGWI AGYFVQ (SEQ ID NO: 35)	EDYQRPS (SEQ ID NO: 33)	QSYDDYRR AA (SEQ ID NO: 34)
CAT5D 9	SYALS (SEQ ID NO: 29)	GIIPVVRTAS YAQKFQG (SEQ ID NO: 36)	NNYVW GSYRF (SEQ ID NO: 37)	TRTSGNIA GYFVQ (SEQ ID NO: 32)	EDYQRPS (SEQ ID NO: 33)	QSYDDTSQG V (SEQ ID NO: 38)
CAT8	SYAMS (SEQ ID NO: 39)	AISGSGGSTY YADSVKG (SEQ ID NO: 40)	SSGYYG ANFDF (SEQ ID NO: 41)	SGSSSNIG SGYVY (SEQ ID NO: 42)	RNNQRPS (SEQ ID NO: 43)	AAWDDSL GYV (SEQ ID NO: 44)
CAT26	SYAVS (SEQ ID NO: 45)	AISGSGGSTY YADSVKG (SEQ ID NO: 40)	DAYGSS WYFYY FDY (SEQ ID NO: 46)	SGSSSNIG NPVN (SEQ ID NO: 47)	SDKYRPS (SEQ ID NO: 48)	AAWDDSLN GRV (SEQ ID NO: 49)
DYAX3	MYEM R (SEQ ID NO: 50)	VIPSGGKTFY ADSVKG (SEQ ID NO: 51)	YSRWF GQLGFY SHYAM DV (SEQ ID NO: 52)	RASQSIDT YLN (SEQ ID NO: 53)	AASKLED (SEQ ID NO: 54)	QSYSSPGIT (SEQ ID NO: 55)
DYAX5	SYIMV (SEQ ID NO: 56)	SIYSSGGSTS YADSVKG (SEQ ID NO: 57)	YSRWF GQLGFY SHYAM DV (SEQ	RASQSISS YLN (SEQ ID NO: 58)	AASSLQS (SEQ ID NO: 59)	QSYSTPPW T (SEQ ID NO: 60)

[0174]

			ID NO: 52)			
--	--	--	---------------	--	--	--

[0175] 表1D

[0176]

抗体名称	HC	LC
AM40 (氨基酸)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGGTFSSYALSWVRQAPGQGLE WMGTRPPTSRTASYAQKFQGR VTITVDESTSTGYMELSSLRSED AVYYCASNDFVYGSYRFGWQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPASIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK (SEQ ID NO: 61)	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRTSGN IAGYFVQWYQQRPGSSPTTVIYEDYQR PSGVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTE DEADYYC QSYDDYRRAAF GGGKLT LGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE TTPPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 62)
AM40 (DNA)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTG GGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGG GTCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCTTCTGGAGGCACCTTCAG CAGTTATGCTCTTAGCTGGGTGC GACAGGCCCTGGACAAGGGCT TGAGTGGATGGGAACGCGGCCG CCGACCTCCCGGACAGCAAGCT ACGCACAGAAATTCAGGGCAG	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCACTCT GTGTCCGAGTCTCCGGGGAAGACGGT AACCATCTCCTGCACCCGCACCAGTG GGAACATTGCCGGCTACTTTGTGCAG TGGTACCAGCAGCGCCCGGGCAGTTC CCCCACCACTGTGATCTATGAGGATT ACCAACGACCCTCTGGGGTCCCTGAT CGGTTCTCTGGCTCCATCGACAGCTCC TCCAACCTCTGCCTCCCTCACCATCTCT

[0177]

AGTCACGATTACCGTGGACGAA TCCACGAGCACAGGCTACATGG AGCTGAGCAGCCTGAGATCTGA GGACACGGCCGTGTATTACTGT GCGTCAAACGACTTCGTGTACG GGAGTTATCGTTTCTGGGGCCA AGGGACCACGGTCACCGTCTCC TCAGCGTCGACCAAGGGCCCAT CCGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCC TCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCG GTGACGGTGTCTTGGAACCTCAG GCGCTCTGACCAGCGGCGTGCA CACCTTCCCGGCTGTCCTACAGT CCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCA GCAGCTTGGGCACCCAGACCTA CATCTGCAACGTGAATCACAAG CCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTTGAGCCCAAATCTTG TGACAAAACCTCACACATGCCCA CCGTGCCCAGCACCTGAATTCTG AGGGGGGACCGTCAGTCTTCCT CTTCCCCC AAAACCCAAGGAC ACCCTCATGATCTCCCGGACCCC TGAGGTACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTG AGGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG AGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCC TGCACCAGGACTGGCTGAATGG CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCT CCATCGAGAAAACCATCTCCAA	GGACTGAAGACTGAGGACGAGGCTG ACTACTATTGTCTAGTCTTATGATGACT ACCGGCGGGCGGCGTTTCGGCGGAGGG ACCAAGCTGACCGTCCTAGGTCAGCC CAAGGCGGCGCCCTCGGTCACTCTGT TCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAA GCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCT CATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCG TGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGC AGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGAGAC CACCACACCCTCCAAACAAAGCAACA ACAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTG AGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAGTC CCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCA CGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAA GACAGTGGCCCTACAGAATGTTCA (SEQ ID NO: 64)
--	---

[0178]

	AGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA CCACAGGTCTACACCTGCCCCC ATCCCGGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCC TGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAA CTACAAGACCACGCCTCCCGTG CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTATAGCAAGCTCACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTG ATGCATGAGGCTCTGCACAACC ACTACACGCAGAAGAGCTTAAG CCTGTCTCCGGGTAAA (SEQ ID NO: 63)	
SC4017 (氨基酸)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSK ASGGTFSSYALSWVRQAPGQGLE WMGTRPPTSRTASYAQKFQGR VTITVDESTSTGYMELSSLRSED AVYYCASNDFVYGSYRFGWQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPASIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK (SEQ ID NO: 65)	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRTSG WIAGYFVQWYQQRPGSSPTTVIYEDY QRPSGVPDRFSGSIDSSNSASLTISGLK TEDEADYYC QSYDDYRRAAFGGG TKL TVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKAT LVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG VETTTPSKQSNKYAASSYLSTPEQW KSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 66)

[0179]

SC4017 (DNA)	ATGGGATGGAGCTGTATCATCC TCTTCTTGGTAGCAACAGCTACA GGTAAGGGGCTCACAGTAGCAG GCTTGAGGTCTAGACATATATAT GGGTGACAATGACATCCACTTT GCCTTTCTCTCCACAGGTGTACA CTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAG TCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGC CTGGGTCTCTCGGTGAAGGTCTCC TGCAAGGCTTCTGGAGGCACCT TCAGCAGTTATGCTCTTAGCTGG GTGCGACAGGCCCTGGACAAG GGCTTGAGTGGATGGGAACGCG GCCGCCGACCTCCCGGACAGCA AGCTACGCACAGAAATTTAGG GCAGAGTCACGATTACCGTGGA CGAATCCACGAGCACAGGCTAC ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGAT CTGAGGACACGGCCGTGTATTA CTGTGCGTCAAACGACTTTCGTGT ACGGGAGTTATCGTTTCTGGGG CCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCAGCGTCGACCAAGGGCC CATCCGTCTTCCCCCTGGCACCC TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGG GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAA CCGGTGACGGTGTCTTGGAAC CAGGCGCTCTGACCAGCGGCGT GCACACCTTCCCGGCTGTCCTAC AGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT CCAGCAGCTTGGGCACCCAGAC CTACATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATC TTGTGACAAAACCTCACACATGC	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCACTCT GTGTCCGAGTCTCCGGGGAAGACGGT AACCATCTCCTGCACCCGCACCAGTG GGTGGATTGCCGGCTACTTTGTGCAG TGGTACCAGCAGCGCCCGGGCAGTTC CCCCACCACTGTGATCTATGAGGATT ACCAACGACCCTCTGGGGTCCCTGAT CGGTTCTCTGGCTCCATCGACAGCTCC TCCAACCTCTGCCTCCCTCACCATCTCT GGACTGAAGACTGAGGACGAGGCTG ACTACTATTGTGAGTCTTATGATGACT ACCGGCGGGCGGCGTTCGGCGGAGGG ACCAAGCTGACCGTCCTAGGTCAGCC CAAGGCGGCGCCCTCGGTCACTCTGT TCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAA GCCAACAAGGCCCACTGGTGTGTCT CATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCG TGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGC AGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGAC CACCACACCCTCCAAACAAAGCAACA ACAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTG AGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAGTC CCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCA CGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAA GACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTCA (SEQ ID NO: 68)
---------------------	---	---

[0180]

	CCACCGTGCCCAGCACCTGAAT TCGAGGGGGGACCGTCAGTCTT CCTCTTCCCCCAAACCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGT GGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA TAATGCCAAGACAAAGCCGCGG GAGGAGCAGTACAACAGCACGT ACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACC GTCCTGCACCAGGACTGGCTGA ATGGCAAGGAGTACAAGTGCAA GGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCTCCATCGAGAAAACCATCT CCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCG AGAACCACAGGTCTACACCCTG CCCCCATCCCGGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTCAGCCTGAC CTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCA CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGTCTTCTCATGC TCCGTGATGCATGAGGCTCTGC ACAACCACTACACGCAGAAGAG CTTAAGCCTGTCTCCGGGTAAA (SEQ ID NO: 67)	
CAT5D 9 (氨基酸)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ISGGTFSSYALSWVRQAPGQGLE WMGGIIPVVERTASYAQKFQGRV TITVDESASTGYIELSSLKSEDAT YYCASNNYVWGSYRFGWGQTT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRTSGN IAGYFVQWYQQRPGSSPTTVIYEDYQR PSGVPDRFSGSIDRSSNSASLTISGLKPD DEADYYC QSYDDTSQGV FGAGTKVTV L (SEQ ID NO: 70)

[0181]

	GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPASIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK (SEQ ID NO: 69)	
CAT5D 9 (DNA)	AGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGG GGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG TCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAA GGCTTCTGGAGGCACCTTCAGC AGTTATGCTCTTAGCTGGGTGCG ACAGGCCCTGGACAAGGGCTT GAGTGGATGGGAACGCGGCCGC CGACCTCCCGACAGCAAGCTA CGCACAGAAATTCAGGGCAGA GTCACGATTACCGTGGACGAAT CCACGAGCACAGGCTACATGGA GCTGAGCAGCCTGAGATCTGAG GACACGGCCGTGTATTACTGTG CGTCAAACGACTTCGTGTACGG GAGTTATCGTTTCTGGGGCCAA GGGACCACGGTCACCGTCTCCT CAGCGTCGACCAAGGGCCCATC CGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCT CCAAGAGCACCTCTGGGGGCAC AGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTC AAGGACTACTTCCCCGAACCGG TGACGGTGTCTGGAAGTCAAG	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCACTCT GTGTCTGGAGTCTCCGGGGAAGACGGT CACCATCTCCTGCACCCGCACCAGTG GGAACATTGCCGGCTACTTTGTGCAG TGGTACCAGCAGCGCCCGGGCAGTTC CCCCACCACTGTGATCTATGAGGATT ACCAACGACCCTCTGGGGTCCCTGAT CGGTTCTCTGGCTCCATCGACAGGTCC TCCAACCTCTGCCTCCCTCACCATCTCT GGACTGAAGCCTGACGACGAGGCTGA CTACTATTGTCAGTCTTATGATGACAC CTCTCAAGGTGTGTTCGGCGCAGGGA CCAAGGTCACCGTCCTAGGTCAGCCC AAGGCGGCGCCCTCGGTCACTCTGTT CCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAG CCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTC ATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGT GACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCA GCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACC ACCACACCCTCCAAACAAAGCAACAA CAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTGA GCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAGTCC

[0182]

CGCTCTGACCAGCGGCGTGCAC ACCTTCCCGGCTGTCTACAGTC CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG CAGCTTGGGCACCCAGACCTAC ATCTGCAACGTGAATCACAAGC CCAGCAACACCAAGGTGGACAA GAGAGTTGAGCCCAAATCTTGT GACAAAACCTCACACATGCCCAC CGTGCCCAGCACCTGAATTCGA GGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCT TCCCCC AAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTG AGGTCACATGCGTGGTGGTGA CGTGAGCCACGAAGACCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGGAGGA GCAGTACAACAGCACGTACCGT GTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCT GCACCAGGACTGGCTGAATGGC AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT CCAACAAAGCCCTCCCAGCCTC CATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC CACAGGTCTACACCCTGCCCCC ATCCCGGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCC TGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAA CTACAAGACCACGCCTCCCGTG CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTATAGCAAGCTCACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTG ATGCATGAGGCTCTGCACAACC	CACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCAC GCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAG ACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTCA (SEQ ID NO: 72)
--	---

[0183]

ACTACACGCAGAAGAGCTTAAG CCTGTCTCCGGGTAAA (SEQ ID NO: 71)	
---	--

[0184] 衍生物

[0185] 本披露的抗FLT3L抗体可以包括所提供的序列的变体,这些序列的变体保留了特异性结合FLT3L的能力。此类变体可以由技术人员使用本领域熟知的技术从抗体的序列衍

生。例如,可以在确实防止抗体与其表位结合的抗FLT3L抗体的FR区和/或CDR中进行氨基酸取代、缺失或添加。尽管通常将FR的变化设计为改善抗原结合结构域的稳定性和免疫原性,但典型地,将CDR的变化设计为增加抗原结合结构域对其靶标的亲和力。FR的变体还包括天然存在的免疫球蛋白同种型。可以通过常规技术凭经验确定这种增加亲和力的变化,这些常规技术涉及改变CDR并测试抗原结合结构域对其靶标的亲和力。例如,可以在所披露的CDR中的任一个内进行保守氨基酸取代。可以根据Antibody Engineering[抗体工程],第2版,牛津大学出版社(Oxford University Press),编辑Borrebaeck,1995中描述的方法进行多种改变。这些改变包括但不限于,通过取代编码序列内功能上等效的氨基酸残基的不同密码子来改变核苷酸序列,从而产生“沉默”变化。例如,非极性氨基酸包括丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和甲硫氨酸。极性中性氨基酸包括甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺和谷氨酰胺。荷正电(碱性)氨基酸包括精氨酸、赖氨酸和组氨酸。荷负电(酸性)氨基酸包括天冬氨酸和谷氨酸。

[0186] 本披露的抗体的衍生物和类似物可以通过本领域熟知的各种技术来产生,包括重组方法和合成方法(Maniatis(1990)Molecular Cloning,A Laboratory Manual[分子克隆:实验室手册],第2版,Cold Spring Harbor Laboratory(冷泉港实验室出版社),冷泉港,纽约,以及Bodansky等人(1995)The Practice of Peptide Synthesis[肽合成实践],第2版,Spring Verlag(斯普林格出版社),柏林,德国)。

[0187] 在一个实施例中,用于制备VH结构域(其是本披露的VH结构域的氨基酸序列变体)的方法包括以下步骤:在当前披露的VH结构域的氨基酸序列中添加、缺失、取代或插入一个或多个氨基酸,任选地将由此提供的VH结构域与一个或多个VL结构域组合,并测试VH结构域或VH/VL的一种或多种组合与抗原的特异性结合。可使用类似方法,其中本文披露的VL结构域的一个或多个序列变体与一个或多个VH结构域组合。

[0188] 类似改组或组合技术也由Stemmer(Nature[自然](1994)370:389-391)披露,其描述了与 β -内酰胺酶基因相关的技术但观察到该方法可用于产生抗体。

[0189] 在另外的实施例中,可以使用一种或多种选择的VH和/或VL基因的随机诱变来产生携带衍生自本文披露的序列的一个或多个序列的新颖VH或VL区。Gram等人(Proc.Nat.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊](1992)89:3576-3580)描述了一种这样的技术,即易错PCR。

[0190] 可使用的另一种方法是将诱变导向VH或VL基因的CDR。此类技术由Barbas等人(Proc.Nat.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊](1994)91:3809-3813)和Schier等人(J.Mol.Biol.[分子生物学杂志](1996)263:551-567)披露。

[0191] 类似地,可以将抗原结合结构域的一个、两个或所有三个CDR枝接至VH或VL结构域的谱系中,然后筛选对FLT3L特异的抗原结合片段。

[0192] 可用于本文的免疫球蛋白可变结构域的一部分可包含基本上如本文列出的CDR中的至少一个,以及任选地来自如本文列出的scFv片段的间插框架区。该部分可包括FR1和FR4中一个或两个的至少约50%,该50%为FR1的C-末端50%和FR4的N-末端50%。在可变结构域的基本部分的N-末端或C-末端的另外残基可以是通常不与天然存在的可变结构域区域相关的那些残基。例如,通过重组DNA技术构建抗体可导致由所引入的接头编码的N-或C-末端残基的引入以便促进克隆或其他操纵步骤。其他操纵步骤包括接头的引入,以连接可

变结构域与其他蛋白质序列,包括免疫球蛋白重链恒定区、其他可变结构域(例如,在双体抗体的产生中)、或蛋白质标记,如下文进一步详细地讨论。

[0193] 本文描述的本披露的抗原结合结构域可以与另一种功能分子,例如另一种肽或蛋白质(白蛋白、另一种抗体等)连接。例如,抗原结合结构域可以通过化学交联或通过重组方法来连接。抗原结合结构域也能以美国专利号4,640,835;4,496,689;4,301,144;4,670,417;4,791,192;或4,179,337中列出的方式与多种非蛋白质聚合物中的一种连接,例如聚乙二醇、聚丙二醇或聚氧化烯。抗原结合结构域可以通过与聚合物共价缀合而被化学修饰,例如,以增加其循环半衰期。示例性聚合物及其附接方法也示于美国专利号4,766,106;4,179,337;4,495,285和4,609,546中。

[0194] 还可以将所披露的抗体改变为具有不同于天然模式的糖基化模式。例如,可以缺失一个或多个碳水化合物部分和/或添加一个或多个糖基化位点。将糖基化位点添加至当前披露的抗体片段可以通过改变氨基酸序列以包含本领域已知的糖基化位点共有序列来实现。增加抗体片段上的碳水化合物部分的数量的一种手段是通过将糖苷以化学或酶法偶联至抗体的氨基酸残基。此类方法描述于WO 87/05330以及Aplin等人(1981) *CRC Crit.Rev.Biochem.* [CRC生物化学关键评论], 22:259-306中。可以化学或酶促完成从抗体中去除任何碳水化合物部分,例如,如由Hakimuddin等人(1987) *Arch.Biochem.Biophys.* [生物化学与生物物理学集刊], 259:52;和Edge等人(1981) *Anal.Biochem.* [生物化学年刊], 118:131以及Thotakura等人(1987) *Meth.Enzymol.* [酶学方法], 138:350描述。抗体片段也可以用可检测标记或功能标记标注。可检测标记包括放射性标记,如¹³¹I或⁹⁹Tc,还可使用常规化学将它们附接至抗体片段。可检测标记还包括酶标记,如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶。可检测标记进一步包括化学部分如生物素,它们可以经由与特异性同族可检测部分(例如,标记的抗生物素蛋白)结合进行检测。

[0195] CDR序列仅实质上不同于本文所述的那些的抗原结合结构域涵盖在本披露的范围内。典型地,氨基酸被具有相似电荷,疏水性或立体化学特征的相关氨基酸取代。此类取代在普通技术人员的技术范围内。与CDR不同,可以在FR中进行更多实质性改变,而不会不利地影响抗体的结合特性。FR的改变包括但不限于人源化非人衍生的或工程化的某些框架残基(这些框架残基对于抗原接触或对于稳定结合位点很重要),例如,改变恒定区的类别或亚类,改变可能改变效应功能(如Fc受体结合)的特定氨基酸残基,例如,如描述于美国专利号5,624,821和5,648,260以及Lund等人(1991) *J.Immun.* [免疫学杂志] 147:2657-2662和Morgan等人(1995) *Immunology* [免疫学] 86:319-324中,或改变衍生恒定区的种类。

[0196] 本领域技术人员将理解,上述修改并非穷尽所有,而是可以应用于本文所述的蛋白质亚基,并且根据本披露的教导,技术人员可以进行许多其他修改。

[0197] 抗FLT3L抗体的亲和力和特异性

[0198] 本领域技术人员将认识到,用于自身免疫性疾病的抗FLT3L抗体需要高亲和力结合,但必须缺乏防止其在人类中使用的毒性。FLT3L的结构上类似的同源物包括干细胞因子(SCF,也称为KIT-配体)和集落刺激因子1(CSF1,也称为巨噬细胞集落刺激因子“M-CSF”)。结合FLT3L且也结合SCF和CSF1的非特异性抗FLT3L抗体可导致脱靶毒性。因此,本披露的抗FLT3L抗体仅对FLT3L保留结合特异性,而对结构上类似的细胞因子(如SCF和CSF1)则不保留。本领域技术人员知道使用但不限于结合动力学,包括 K_{on} 、 K_{off} 和 K_D 作为结合特异性的度

量。

[0199] 血清FLT3L和循环pDC是生物标记,其可用作与抗FLT3L抗体先导克隆相关的毒性的指示物。当中和FLT3L时,pDC的快速下降表明抑制了增强免疫应答的FLT3L介导的细胞信号传导。在游离FLT3L存在下pDC频率的快速恢复可反映出抗FLT3L抗体缺乏毒性。在一个优选的实施例中,当游离FLT3L返回时,抗FLT3L抗体中和FLT3L并允许cDC和pDC的可逆耗竭。本领域技术人员将认识到,中和FLT3L后树突状细胞下降,随后返回基线表明先导克隆的毒性低。

[0200] 抗FLT3L抗体产生

[0201] 除非另外指明,否则本披露的实践采用分子生物学(包括重组技术)、微生物学、细胞生物学、生物化学和免疫学的技术,这些技术完全在技术人员的认知内。此类技术在以下文献中加以充分解释,如“Molecular Cloning:A Laboratory Manual[分子克隆:实验室手册]”,第二版(Sambrook,1989);“Oligonucleotide Synthesis[寡核苷酸合成]”(Gait,1984);“Animal Cell Culture[动物细胞培养]”(Freshney,1987);“Methods in Enzymology[酶学方法]”“Handbook of Experimental Immunology[实验免疫学手册]”(Weir,1996);“Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells[哺乳动物细胞用基因转移载体]”(Miller和Calos,1987);“Current Protocols in Molecular Biology[分子生物学实验指南]”(Ausubel,1987);“PCR:The Polymerase Chain Reaction[PCR:聚合酶链式反应]”(Mullis,1994);“Current Protocols in Immunology[免疫学实验指南]”(Coligan,1991)。这些技术适用于本披露的多肽的生产,因此,可以被考虑用于制备和实施本披露。对具体实施例特别有用的技术将在实例中进行讨论。

[0202] 在一个实施例中,将编码抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的分离的核酸分子可操作地连接到一个或多个控制序列以在宿主细胞中表达。可以将分离的核酸重组掺入载体中,进而使用已知技术将其转染到宿主细胞中。

[0203] 在一个实施例中,本文设想了用编码抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的分离的核酸分子转化的宿主细胞,该分离的核酸分子可操作地连接到一个或多个控制序列。所设想的宿主细胞的实例包括哺乳动物细胞,如HEK293细胞、NS0鼠骨髓瘤细胞、或中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。

[0204] 在一个实施例中,单克隆抗FLT3L抗体(例如CAT5D9、SC4017或AM40)及其抗原结合片段可以使用杂交瘤方法来制备,例如由Kohler和Milstein(1975)Nature[自然]256:495描述的那些。使用杂交瘤方法,如上所述对小鼠、仓鼠或其他合适的宿主动物进行免疫,以引发淋巴细胞产生将特异性结合免疫抗原的抗体。

[0205] 在另一个实施例中,也可以在体外免疫淋巴细胞。免疫后,分离淋巴细胞,并使用例如聚乙二醇与合适的骨髓瘤细胞系融合以形成杂交瘤细胞,然后可以从未融合的淋巴细胞和骨髓瘤细胞中选择这些杂交瘤细胞。然后,如通过免疫沉淀、免疫印迹、或体外结合测定(例如,放射免疫测定(RIA);酶联免疫吸附测定(ELISA))确定的产生特异性针对所选抗原的单克隆抗体的杂交瘤可以是使用标准方法(Coding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice[单克隆抗体:原则与实践], Academic Press(学术出版社), 1986)进行体外培养来繁殖或作为动物中的腹水瘤在体内繁殖。然后,可以如上文针对多克隆抗体所述从培养基或腹水中纯化单克隆抗体。

[0206] 可替代地,抗FLT3L单克隆抗体(例如CAT5D9、SC4017或AM40)及其抗原结合片段也可以使用如描述于例如美国专利号4,816,567的重组DNA方法来制备。编码单克隆抗体的多核苷酸是从成熟B细胞或杂交瘤细胞中分离的,例如通过使用特异性扩增编码抗体重链和轻链的基因的寡核苷酸引物的RT-PCR,并且使用常规程序确定它们的序列。然后将编码重链和轻链的分离的多核苷酸克隆至合适的表达载体中,这些表达载体在转染至不另外产生免疫球蛋白的宿主细胞(如大肠杆菌细胞、猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、或骨髓瘤细胞)中时,由这些宿主细胞产生单克隆抗体。同样,可以从表达所需物种的CDR的噬菌体展示文库中分离所需物种的重组抗FLT3L单克隆抗体或其抗原结合片段,如所描述的(McCafferty等人,1990,Nature[自然],348:552-554;Clarkson等人,1991,Nature[自然],352:624-628;和Marks等人,1991,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志],222:581-597)。

[0207] 可以使用重组DNA技术以多种不同方式进一步修饰编码抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的一种或多种多核苷酸,以产生替代性抗体。在一些方面,例如小鼠单克隆抗体的轻链和重链的恒定结构域可以被(1)例如人抗体的那些区域取代以产生嵌合抗体,或(2)非免疫球蛋白多肽取代以产生融合抗体。在一些方面,恒定区被截短或除去以产生单克隆抗体的所需抗体片段。可变区的定点诱变或高密度诱变可以用于优化单克隆抗体的特异性、亲和力和等。

[0208] 在某些方面,抗FLT3L抗体或其抗原结合片段是人抗体或其抗原结合片段。人抗体可以是使用本领域已知的各种技术直接制备。可以产生体外免疫的或从免疫个体分离的永生生化人B淋巴细胞,这些永生生化人B淋巴细胞产生针对靶抗原的抗体(参见,例如Cole等人,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy[单克隆抗体和癌症疗法],Alan R.Liss,第77页(1985);Boemer等人,1991,J.Immunol.[免疫学杂志],147(1):86-95;以及美国专利5,750,373)。

[0209] 同样,抗FLT3L人抗体或其抗原结合片段可以选自噬菌体文库,其中该噬菌体文库表达人抗体,如描述于例如Vaughan等人,1996,Nat.Biotech.[自然生物技术],14:309-314,Sheets等人,1998,Proc.Nat'l.Acad.Sci.[美国国家科学院院刊],95:6157-6162,Hoogenboom和Winter,1991,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志],227:381,以及Marks等人,1991,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志],222:581中。用于产生和使用抗体噬菌体文库的技术还描述于美国专利号5,969,108,6,172,197,5,885,793,6,521,404;6,544,731;6,555,313;6,582,915;6,593,081;6,300,064;6,653,068;6,706,484;和7,264,963;以及Rothe等人,2007,J.Mol.Bio.[分子生物学杂志],doi:10.1016/j.jmb.2007.12.018中(这些文献各自通过引用以其整体并入)。

[0210] 亲和力成熟策略和链改组策略(Marks等人,1992,Bio/Technology[生物/技术]10:779-783,其通过引用以其整体并入)是本领域已知的,并且可以用于产生高亲和力的人抗体或其抗原结合片段。

[0211] 在一些方面,抗FLT3L单克隆抗体可以是人源化抗体。还可以使用用于工程化、人源化或表面重修非人抗体或人抗体的方法,并且这些方法是本领域熟知的。人源化抗体、表面重修抗体或类似工程化抗体可具有来自非人来源(例如但不限于,小鼠、大鼠、兔、非人类灵长类动物、或其他哺乳动物)的一个或多个氨基酸残基。这些非人氨基酸残基被通常称为“输入”残基的残基替代,它们典型地取自已知人序列的“输入”可变结构域、恒定结构域或

其他结构域。如本领域已知的,此类输入序列可以用于减少免疫原性,或减少、增强或修饰结合、亲和力、结合速率、解离速率、亲合力、特异性、半衰期、或任何其他合适的特征。总体上,CDR残基直接地并且在多数情况下实质上涉及影响FLT3L结合。相应地,保留了部分或全部非人或人CDR序列,而可变区和恒定区的非人序列可以被人或氨基酸替代。

[0212] 抗体还可以任选地被入源化、表面重修、工程化,或者人抗体可以被工程化以保留对FLT3L抗原的高亲和力和其他有利的生物特性。为了实现这个目标,可以通过使用亲本、工程化和入源化序列的三维模型对亲本序列以及各种概念性入源化和工程化产品进行分析而任选地制备入源化(或人)或工程化抗FLT3L抗体和表面重修抗体。三维免疫球蛋白模型通常是可获得的且是本领域技术人员熟悉的。说明并展示所选候选免疫球蛋白序列的可能三维构象结构的计算机程序是可获得的。这些展示的检查允许对残基在候选免疫球蛋白序列的功能方面的可能作用进行分析,即对影响候选免疫球蛋白结合其抗原(如FLT3L)的能力的残基进行分析。按照此方式,可以从共有序列和输入序列中选择并且组合框架(FW)残基,这样使得所需抗体特征,如增加一种或多种靶抗原的亲和力得以实现。

[0213] 可以使用任何已知方法进行抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的人源化、表面重修或工程化,这些方法例如但不限于描述于Jones等人,Nature[自然]321:522(1986); Riechmann等人,Nature[自然]332:323(1988);Verhoeyen等人,Science[科学]239:1534(1988),Sims等人,J.Immunol.[免疫学杂志]151:2296(1993);Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]196:901(1987),Carter等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊]89:4285(1992);Presta等人,J.Immunol.[免疫学杂志]151:2623(1993),美国专利号5,639,641,5,723,323;5,976,862;5,824,514;5,817,483;5,814,476;5,763,192;5,723,323;5,766,886;5,714,352;5,955,358;6,204,023;6,180,370;6,331,431;5,693,762;5,530,101;5,585,089;5,225,539;4,816,567;5,969,108;7,635,666;7,723,270;7,557,189;7,538,195;和7,342,110;国际申请号PCT/US 98/16280;PCT/US 91/05939;PCT/US 94/01234;PCT/GB 92/01755;国际专利申请公开号WO 90/14443;WO 90/14424;WO 90/14430;以及欧洲专利公开号EP 229246中的那些;将其各自通过引用(包括其中引用的参考文献)整体并入本文。

[0214] 抗FLT3L入源化抗体及其抗原结合片段也可以在含有人免疫球蛋白基因座的转基因小鼠中制备,这些转基因小鼠经免疫能够在没有内源性免疫球蛋白产生的情况下产生人抗体的完整谱系。此方法描述于美国专利号5,545,807;5,545,806;5,569,825;5,625,126;5,633,425;和5,661,016中。

[0215] 在某些方面,提供了抗FLT3L抗体片段。用于产生抗体片段的各种技术是已知的。传统上讲,这些片段经由使完整抗体蛋白水解消化而获得(例如,Morimoto等人,1993,Journal of Biochemical and Biophysical Methods[生物化学与生物物理方法杂志]24:107-117;Brennan等人,1985,Science[科学],229:81)。在某些方面,通过重组产生抗FLT3L抗体片段。Fab、Fv和scFv抗体片段都可以在大肠杆菌或其他宿主细胞中表达并且从其分泌,从而允许产生大量的这些片段。此类抗FLT3L抗体片段也可以从上文讨论的抗体噬菌体文库分离。抗FLT3L抗体片段也可以是线性抗体,如美国专利号5,641,870中所述。技术从业者清楚用于产生抗体片段的其他技术(例如,化学合成)。

[0216] 根据本披露,这些技术可适合于产生对FLT3L特异的单链抗体(参见,例如美国专

利号4,946,778)。另外,这些方法可适合于构建Fab表达文库(参见,例如Huse等人,Science [科学]246:1275-1281(1989)),以允许快速且有效地鉴定针对FLT3L、或其衍生物、片段、类似物或同源物具有所需特异性的单克隆Fab片段。抗体片段可以通过本领域的技术产生,这些技术包括但不限于:(a)通过胃蛋白酶消化抗体分子产生的F(ab')₂片段;(b)通过还原F(ab')₂片段的二硫键桥产生的Fab片段,(c)通过用木瓜蛋白酶和还原剂处理抗体分子产生的Fab片段,和(d)Fv片段。

[0217] 可以修饰本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段,以增加其血清半衰期。可以例如,通过将补救受体结合表位掺入抗体或抗体片段中,通过突变抗体或抗体片段中的合适区域,或通过表位掺入肽标签中然后融合到抗体或抗体片段的一端或中间(例如,通过DNA或肽合成),或通过YTE突变来达到此目的。增加抗体或其抗原结合片段的血清半衰期的其他方法,例如缀合至异源分子(如PEG),在本领域中是已知的。

[0218] 药物组合物

[0219] 本发明还涉及包含本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的药物组合物。在某些实施例中,本披露提供了本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段在制造用于治疗受试者的药物中的用途。

[0220] 应施用有效量的本披露的药物组合物,其中“有效量”定义为足以在受试者中产生期望的预防性、治疗性或改善性应答的量。有效量将根据待施用的受试者的物种和体重而变化,但是可以使用标准技术来确定。

[0221] 在某些方面,本披露提供了用于治疗或预防有此需要的受试者的自身免疫性疾病(降低自身免疫性疾病的可能性)的治疗性和预防性组合物,这些自身免疫性疾病包括但不限于系统性红斑狼疮、肌炎、原发性干燥综合征、多发性硬化症、葡萄膜炎、银屑病或类风湿性关节炎。

[0222] 在一些实施例中,本披露的药物组合物包含本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。在此方面,“药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂”包括但不限于任何辅助剂、载体、赋形剂、助流剂、甜味剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、风味增强剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、稳定剂、等渗剂、溶剂或乳化剂,它们可能经或可能未经美国食品药品监督管理局(United States Food and Drug Administration)批准,是人类或家畜使用时可接受的。例如,合适的载体是本领域技术人员已知的,并且包括稳定剂、稀释剂和缓冲剂。合适的稳定剂包括碳水化合物,如山梨醇、乳糖、甘露醇、淀粉、蔗糖、葡聚糖和葡萄糖,以及蛋白质,如白蛋白或酪蛋白。合适的稀释剂包括盐水、汉克氏平衡盐(Hanks Balanced Salt)和林格氏溶液(Ringers solution)。合适的缓冲剂包括碱金属磷酸盐、碱金属碳酸盐、或碱土金属碳酸盐。

[0223] 在某些方面,本披露的药物组合物可以进一步包含一种或多种辅助物质,如一种或多种脂质、磷脂、碳水化合物和脂多糖。在一些实施例中,本披露的药物组合物任选地包含一种或多种其他活性物质。

[0224] 在某些情况下,本披露的药物组合物可以通过本领域技术人员已知的技术来制备。在配制和/或制造药物组合物中的一般考虑因素可以例如见于,Remington:The Science and Practice of Pharmacy[雷明顿:药学科学与实践],第21版,Lippincott Williams&Wilkins(利平科特威廉姆斯和威尔金斯出版社),2005(其通过引用以其整体并

入本文)。通常,将本披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段与载体混合以形成溶液、悬浮液或乳液。本文讨论的一种或多种添加剂可以添加到载体中或可以随后添加。本披露的药物组合物可以是水溶液、乳液或悬浮液,或者可以是干燥制剂。在某些方面,为了储存或配制目的,本披露的药物组合物可以例如通过冷冻干燥或喷雾干燥来干燥或冻干。随后可通过添加适当的液体载体将它们重构为液体组合物,或者可使用本领域技术人员已知的方法以干燥配制品的形式进行施用。

[0225] 本披露的药物组合物可以经由本领域已知的多种途径施用至受试者。此类药物组合物的示例性施用途包括口服、粘膜、局部、透皮、吸入、肠胃外、舌下、经颊、直肠、阴道和鼻内施用。因此,在某些实施例中,将本披露的药物组合物配制为通过选自下组的途径施用,该组由以下组成:口服、局部、透皮、吸入、肠胃外、舌下、经颊、直肠、阴道和鼻内途径。如本文所用,术语肠胃外包括皮下注射、静脉内、肌内、胸骨内注射或输注技术。在某些方面,将本披露的药物组合物配制为允许其中包含的本披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段在施用至受试者后可被生物利用。

[0226] 药物组合物的施用选择将取决于所选配制品。将本披露的药物组合物以与剂量配制品相容的方式并且以同样在治疗上有效的这种量施用。在某些方面,将本披露的药物组合物配制为呈固体、半固体、液体或气态形式的制剂,包括但不限于片剂、胶囊、粉剂、颗粒剂、软膏、溶液、栓剂、注射剂、吸入剂、凝胶、微球及气雾剂。

[0227] 在某些情况下,包含本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的药物组合物可以呈固体或液体形式。在一些方面,一种或多种载体是微粒,使得这些组合物呈例如片剂或粉剂形式。在其他方面,一种或多种载体是液体,其中组合物是例如口服糖浆、可注射液体或气雾剂,其可用于例如吸入施用。当预期用于口服施用时,包含本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的药物组合物呈固体或液体形式,其中半固体、半液体、悬浮液和凝胶形式均包括在本文视为固体或液体的形式中。

[0228] 在某些方面,作为用于口服施用的固体组合物,包含本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的药物组合物可以被配制为呈粉剂、颗粒剂、压缩片剂、丸剂、胶囊、咀嚼片、糯米纸囊剂等形式。在一些情况下,这种固体组合物通常将包含一种或多种惰性稀释剂或可食用载体。在某些实施例中,可以另外存在以下的一种或多种:粘合剂,如羧甲基纤维素、乙基纤维素、微晶纤维素、黄耆胶或明胶;赋形剂,如淀粉、乳糖或糊精,崩解剂,如藻酸、藻酸钠、Primogel、玉米淀粉等;润滑剂,如硬脂酸镁或Sterotex;助流剂,如胶体二氧化硅;甜味剂,如蔗糖或糖精;或调味剂,如薄荷、水杨酸甲酯或橙味调味品;以及着色剂。

[0229] 这些组合物可采用微球、溶液、悬浮液、片剂、丸剂、胶囊、持续释放配制品或粉剂的形式,并且含有约0.001%至95%的本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段。一些剂型可含有50 μ g至250 μ g的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段。

[0230] 在一些方面,当本披露的药物组合物呈胶囊例如明胶胶囊的形式时,除本文披露的材料外,其还可以包含液体载体如聚乙二醇或油。口服配制品还可以包括通常使用的赋形剂,例如像,药物级别的糖精、纤维素和碳酸镁。

[0231] 在其他方面,本披露的药物组合物呈液体的形式,例如酏剂、糖浆、溶液、乳液或悬浮液。在某些实施例中,液体可用于口服施用或用于通过注射递送。在某些实施例中,当预期用于口服施用时,除了本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段外,本披露的药物组合

物还包含甜味剂、防腐剂、染料/着色剂和风味增强剂中的一种或多种。在某些方面,在预期通过注射施用的药物组合物中,还可以包括表面活性剂、防腐剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、缓冲剂、稳定剂和等渗剂中的一种或多种。

[0232] 在某些情况下,包含本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的液体药物组合物,无论它们呈溶液、悬浮液还是其他类似的形式,都可以包括以下组分中的一种或多种:无菌稀释剂,如注射用水、盐溶液(例如生理盐水)、林格氏溶液、等渗氯化钠、固定油(如可用作溶剂或悬浮介质的合成甘油单酯或甘油二酯)、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他溶剂;抗菌剂,如苄醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,如乙二胺四乙酸;缓冲剂,如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐,以及用于调节张力的药剂,如氯化钠或右旋糖。在一些情况下,制剂可以封装在由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。在一些实施例中,可注射药物组合物优选是无菌的。

[0233] 在其他实施例中,包含本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的药物组合物可预期用于局部施用,在这种情况下,载体可以适当地包含溶液、乳液、软膏或凝胶基质。在某些方面,基质可例如包含以下中的一种或多种:凡士林、羊毛脂、聚乙二醇、蜂蜡、矿物油、水和醇等稀释剂、以及乳化剂和稳定剂。在其他方面,增稠剂可以存在于用于局部施用的药物组合物中。在某些实施例中,如果预期用于透皮施用,则本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的药物组合物可以包括在透皮贴剂或离子电渗疗法装置内。

[0234] 在又其他实施例中,包含本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的药物组合物预期呈例如栓剂的形式用于直肠施用。对于栓剂,粘合剂和载体可包括例如聚亚烷基二醇或甘油三酯。在某些情况下,用于直肠施用的组合物包含油性基质作为合适的非刺激性赋形剂。此类基质包括但不限于羊毛脂、可可脂或聚乙二醇。

[0235] 在其他方面,包含本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的药物组合物包含可以以气雾剂施用的剂量单位。术语气溶胶用于表示各种系统,范围从胶体性质的那些系统到由加压包装组成的系统。在某些实施例中,通过液化或压缩气体或通过分配活性成分的合适的泵系统来完成递送。在一些实施例中,本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的气雾剂可以在单相、双相或三相系统中递送,以递送一种或多种活性成分。在其他实施例中,气雾剂的递送包括必要的容器、活化剂、阀门、子容器等,它们一起可以形成试剂盒。本领域技术人员可以容易地确定特定的气雾剂配制品和递送方式。

[0236] 本披露的药物组合物可以在合适的无毒药物载体中施用,可以包含在微胶囊、微珠中,和/或可以包含在持续释放植入物中。

[0237] 在其他方面,本披露的药物组合物包括在活性成分周围形成包衣壳的材料。在一些情况下,形成包衣壳的材料通常是惰性的,并且可以选自例如糖、虫胶和其他肠溶包衣剂。

[0238] 在又其他方面,呈固体或液体形式的本披露的药物组合物包括与本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段结合的药剂,从而有助于抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的递送。在某些情况下,以这种能力起作用的合适的药剂包括蛋白质或脂质体。

[0239] 待施用至受试者的药物组合物采取一个或多个剂量单位的形式,其中例如,片剂可以是单个剂量单位,而气溶胶形式的本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段的容器可以容纳多个剂量单位。制备此类剂型的实际方法对于本领域技术人员来说是已知的,或

者是显而易见的;例如,参见Remington:The Science and Practice of Pharmacy[雷明顿:药学科学与实践],第20版(费城药理学学院,2000)。无论如何,根据本文的教导,待施用的组合物将包含治疗有效量的本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段或其药学上可接受的盐,以帮助治疗感兴趣的疾病或病症。

[0240] 在某些实施例中,本披露的药物组合物包含一种或多种其他治疗活性物质。在其他实施例中,将治疗有效剂量的本披露的药物组合物与一种或多种其他治疗活性物质组合施用至有此需要的受试者。如本文所用,“组合”是指包含本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段和一种或多种其他治疗活性物质的组合,其各自可以连续(顺序)、同步或同时施用。

[0241] 为了维持治疗水平,理想地以几个间隔施用本披露的药物组合物。本披露的药物组合物可以与其他杀细菌或抑细菌方法结合使用。

[0242] 虽然对本文提供的药物组合物的描述主要涉及适合用于向人施用的药物组合物,但技术人员将理解此类组合物通常是适合用于向所有分类的受试者施用。在某些方面,受试者是哺乳动物。在某些方面,哺乳动物包括灵长类动物,如人、猴和猿,以及非灵长类动物,如家畜,包括实验动物和家庭宠物及农场动物(例如猫、狗、猪、牛、羊、山羊、马、兔),和非家畜动物,如野生动物、鸟类等。

[0243] 自身免疫性疗法/抗炎疗法

[0244] 本披露的特征还在于包含抗FLT3L抗体的、可用于治疗自身免疫性疾病和/或其他炎性疾病(即,涉及免疫系统过度反应和/或功能失调的疾病)的组合物和方法,例如上述的那些。在不同实施例中,抗FLT3L抗体可以与其他免疫调节药物组合施用,这些免疫调节药物被设计用于抑制或减弱受试者的免疫系统或对特定抗原或抗原组的特异性免疫应答,从而减少或预防自身免疫性疾病或其他炎性疾病。

[0245] 本文进一步提供了用于治疗自身免疫性疾病和/或其他炎性疾病的方法,包括施用一种或多种抗FLT3L抗体。如本文所示,抗FLT3L抗体的施用可导致免疫应答的降低、一种或多种免疫信号级联的表达、或免疫细胞群体的减少中的至少一种。在某些方面,向患有自身免疫性疾病或其他炎性疾病的患者或受试者施用抗FLT3L抗体。

[0246] 包括抗FLT3L抗体在内的自身免疫性疾病和/或其他炎性疾病疗法的治疗可导致例如,自身免疫性疾病或炎性疾病的进展速率降低、免疫细胞增殖的阻滞或稳定、病变缩小(例如,在MS患者中)、和/或疾病消退。在一些方面,测量自身免疫性疾病或炎性疾病的减少或阻滞的度量(例如,减少的炎症、炎性细胞因子的水平、免疫细胞群体、和/或相关的损害如组织损伤)可以是统计学上显著的。自身免疫性疾病或炎性疾病的度量减少可以通过将患者在基线处(治疗前)的度量水平与个体疾病进展的预期水平、与基于大量患者群体的疾病进展的预期水平、或与对照群体的疾病进展的预期水平进行比较来测量。

[0247] 在一个实施例中,如本文设想的治疗方法包括将本披露的抗FLT3L结合分子、抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物应用或施用至受试者或患者,或者将抗FLT3L结合分子应用或施用至来自受试者或患者的分离的组织或细胞系,其中该受试者或患者患有疾病、具有疾病症状、或具有对疾病的易感性。

[0248] 所设想的疾病包括急性或慢性炎性疾病(包括1型和2型糖尿病)、CKD(包括例如由糖尿病、糖尿病肾病和高血压引起的CKD)、动脉粥样硬化、阿尔茨海默氏病、癌症以及此类

疾病的相关并发症,包括心脏病、高血压、贫血、心包炎、肾性骨营养不良等。其他设想的疾病包括自身免疫性疾病,其包括但不限于系统性红斑狼疮、肌炎、原发性干燥综合征、多发性硬化症、葡萄膜炎、银屑病和类风湿性关节炎。

[0249] 在另一个实施例中,治疗还预期包括将包含本披露的抗FLT3L结合分子,例如抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物的药物组合物应用或施用至受试者或患者,或者将包含抗FLT3L结合分子的药物组合物应用或施用至来自受试者或患者的分离的组织或细胞系,该受试者或患者患有疾病、具有疾病症状、或具有对疾病的易感性。

[0250] 根据本披露的方法,使用如本文别处定义的至少一种抗FLT3L抗体来促进对自身免疫性疾病或炎症疾病的阳性治疗应答。术语“阳性治疗应答”是指与自身免疫性疾病或炎症疾病相关的症状的减少。因此,例如,疾病的改善可被表征为完全应答。“完全应答”是指没有临床上可检测的疾病,且任何先前的测试结果均正常化。可替代地,疾病的改善可被归类为部分应答。“阳性治疗应答”涵盖由于施用本文披露的抗FLT3L结合分子而减少或抑制自身免疫性疾病或炎症疾病的进展和/或持续时间,减轻或改善自身免疫性疾病或炎症疾病的严重程度,和/或改善其一种或多种症状。

[0251] 在某些实施例中,提供了用于治疗原发性干燥综合征的方法,其包括:向有此需要的受试者施用药学上有效量的本文披露的抗体或其抗原结合片段。

[0252] 在其他实施例中,提供了用于治疗肌炎的方法,其包括:向有此需要的受试者施用药学上有效量的本文披露的抗体或其抗原结合片段。

[0253] 在某些实施例中,提供了用于治疗系统性红斑狼疮(SLE)的方法,其包括:向有此需要的受试者施用药学上有效量的本文披露的抗体或其抗原结合片段。在一些方面,与健康受试者相比,该受试者的FLT3L的血清水平升高,如通过表达FLT3L的CD4+T细胞的频率所测量的。

[0254] 在一些实施例中,提供了用于诊断受试者的系统性红斑狼疮(SLE)的方法,其包括:(a)测量FLT3L的血清水平,或(b)测量表达FLT3L的CD4+T细胞的频率,其中与健康供体相比受试者中FLT3L的血清水平升高或表达FLT3L的CD4+T细胞的频率增加表明该受试者患有SLE。在某些方面,这些CD4+T细胞是效应记忆细胞(T_{EM})。

[0255] 在一些实施例中,提供了中和有此需要的受试者的膜结合FLT3L的方法,该方法包括向该受试者施用药学上有效量的本文披露的抗体或其抗原结合片段。在某些方面,FLT3L被可逆地中和,使得膜结合FLT3L的活性可以返回到“施用前”的水平。

[0256] 在其他实施例中,提供了中和有此需要的受试者的可溶性FLT3L的方法,该方法包括向该受试者施用药学上有效量的本文披露的抗FLT3L抗体或其抗原结合片段。在某些方面,FLT3L被可逆地中和,使得可溶性FLT3L的水平可以返回到施用前的水平。

[0257] 在特定的实施例中,中和可溶性FLT3L的方法进一步包括每周一次以约0.03mg/kg至约30mg/kg之间的范围将抗FLT3L抗体或其抗原结合片段皮下施用至受试者。在其他实施例中,该方法进一步包括每四周一次以约150mg/kg的剂量将抗FLT3L抗体或其抗原结合片段施用至受试者。

[0258] 在其他实施例中,提供了减少有此需要的受试者的循环经典树突状细胞(cDC)和浆细胞样树突状细胞(pDC)的群体的方法,该方法包括向该受试者施用药学上有效量的本文披露的抗体或其抗原结合片段。在某些方面,cDC和pDC的群体可逆地减少,使得该cDC和

pDC的群体能够返回到施用前的水平。

[0259] 在某些实施例中,提供了减少CD4+T细胞上FLT3L表达的方法,该方法包括向有此需要的受试者施用药学上有效量的本文披露的抗体或其抗原结合片段。

[0260] 在其他实施例中,提供了减少表达FLT3L的CD4+T细胞的百分比的方法,该方法包括向有此需要的受试者施用药学上有效量的本文披露的抗体或其抗原结合片段。

[0261] 在其他实施例中,提供了减少淋巴母细胞中ERK信号传导的方法,该方法包括使该淋巴母细胞与本文披露的抗体或其抗原结合片段接触。

[0262] 在某些实施例中,提供了减少原代CD133+人干细胞中MEK 1/2磷酸化的方法,该方法包括使这些干细胞与本文披露的抗体或其抗原结合片段接触。

[0263] 提出以下实例以便向本领域技术人员提供如何制备和使用测定、筛选及本披露的治疗方法的完整披露和描述,并且不旨在限制诸位发明人看待其披露的范围。

[0264] 实例

[0265] 参考以下实例来描述本披露。这些实例仅是说明性的,并且本披露决不应被解释为局限于这些实例,而是应被解释为涵盖由于本文提供的教导而变得明显的任何以及所有变化。

[0266] 实例编号1.抗FLT3L抗体生成

[0267] 概述:

[0268] FLT3L是65kDa的非二硫键连接的同源二聚体糖蛋白。人、非人灵长类动物和小鼠的配体和受体序列同源性在下表2中显示。

[0269] 表2.与人FLT3和FLT3L的同一性

[0270]		FLT3	FLT3-L ECD
	食蟹猴	96%	95%
	恒河猴	97%	96%
	小鼠	85%	73%

[0271] 尽管完全小鼠FLT3L蛋白的同源性仅为73%,但其与FLT3的结合位点在物种之间高度保守。实际上,人FLT3L结合并活化小鼠FLT3,反之亦然。FLT3L与干细胞因子(SCF或KIT配体)和集落刺激因子1(CSF1)具有结构同源性,但与其他人类细胞因子无明显序列同源性。这两个配体(分别为c-KIT和CSF1R)的受体也是通常与FLT3的抑制剂相互作用的III类TKR,导致临床应用中出现不希望的脱靶毒性。考虑到这些因素,寻找不会与SCF或CSF1交叉反应的FLT3L抗体,从而提供了对FLT3/FLT3L途径的高度特异性抑制。

[0272] 通过在可溶性人和小鼠FLT3-L上交替选择来选择并测试先导抗体。使用人FLT3/FLT3L竞争完成均相时间分辨荧光(HTRF)测定进行初级生化高通量筛选。将所有单链可变片段-片段结晶区(scFv-Fc)命中均转换为IgG1 TM格式,然后将使用靶细胞表面上的FLT3下调的功能筛选测定用于证实先导抗体的抑制活性。使用ELISA和功能测定,证实小鼠和食蟹猴对FLT3L的交叉反应性和选择性,且排除其他家族成员(如干细胞因子(scF))。

[0273] 使用在RS4;11细胞系和原代人CD133+干细胞中的FLT3信号传导测定进一步评估了先导化合物。使用原代人T细胞证实了与内源性FLT3L的结合。分别经由Octet和BIAcore确定特异性结合位点和结合亲和力。如下所述选择所得的先导抗体克隆用于进一步优化。

[0274] 先导抗体候选物鉴定活动(C5、B10-11)

[0275] 如图1中所示,通过首次筛选噬菌体文库产生用于抗FLT3L结合研究的先导抗体。针对人FLT3L(huFLT3L)和/或小鼠FLT3L(muFLT3L),淘选(替代淘选或竞争淘选)噬菌体展示文库骨髓沃恩(Bone Marrow Vaughan(BMV))、合并脾脏(CS)、DP47文库(DP47)和Dyax人抗体文库。简而言之,使用EZ-连接碘基-NHS-LC-生物素标记试剂盒(赛默飞世尔科技公司(Thermo Scientific))作为淘选抗原,使用生物素标记内部产生的FLT3L。如所描述的,使用内部scFv文库进行两到三轮的淘选(Xiao X等人,2017mAbs[单克隆抗体]5429,996-1006(2017))。为了增强人/食蟹猴的交叉反应性,在一些选择过程中以交替方式将人和食蟹猴重组FLT3L用作淘选抗原。为了选择抑制FLT3L/FLT3相互作用的抗体,将竞争淘选用于一些实验。对于竞争淘选,使用人FLT3L作为淘选抗原,而使用过量(>100X)的FLT3-Fc作为噬菌体洗脱剂而非常规的胰蛋白酶(Xiao X等人mAbs[单克隆抗体]5429,996-1006(2017))。

[0276] 将BMV文库富集100倍,将CS文库富集350倍,并将DP47文库富集250倍;未富集Dyax文库。与第二轮淘选相比,仅第三次淘选了BMV和Dyax噬菌体文库,导致BMV噬菌体文库富集100倍,而Dyax文库富集50倍(图1A)。

[0277] 在每轮选择后,进行单克隆噬菌体ELISA以估计抗原特异性噬菌体的百分比。仅对达到至少20%阳性率的选择进行高通量筛选处理。根据这套标准,将第三次输出BMV淘选以及第二次输出CS和DP47淘选克隆到pSplice V4和pdLG或pmLG载体中,并转换为scFv-Fc(Xiao X等人,PLoS One[公共科学图书馆·综合],2015年10月15日;10(10):e0140691.doi:10.1371/journal.pone.0140691)或IgG格式(Xiao X等人mAbs[单克隆抗体]5429,996-1006(2017)),以通过竞争HTRF进行功能筛选。

[0278] 对于功能筛选,首先用从淘选输出转换而来的scFv-Fc或IgG构建体转染293个自由式细胞(赛默飞世尔科技公司)。将所得的上清液直接用于基于HTRF的FLT3L/FLT3相互作用抑制测定中。对于HTRF测定,将10nM生物素标记的FLT3L、20nM链霉亲和素-钨穴状化合物(Cisbio公司)、10nM FLT3-mFc和20nM抗mFc-A647(Cisbio公司)与10μL转染上清液在384孔Greiner平板中以20μL/孔的总体积混合。混合后五分钟读取665nm和620nm的读数,然后以一小时的间隔读取直到读数变得稳定。然后计算665nm/620nm的比率。比率的降低表明FLT3L/FLT3相互作用的抑制。

[0279] 将来自直接或交替抗原淘选的淘选输出转换为scFv-Fc,并在HTRF FLT3L/FLT3-Fc相互作用抑制测定中选择>4,000个集落进行高通量筛选(HTS)。鉴定了十种先导抗体,将IgG TM转化并表达。在第二次HTRF相互作用抑制测定中对抗体进行了重新测试,并鉴定了十种先导物。同时,来自竞争淘选的超过七百次命中被PmIgG转化并在哺乳动物细胞中表达。对转化的克隆进行相同的HTRF FLT3L/FLT3-Fc相互作用抑制测定,并鉴定了两种先导物(图1B)。

[0280] 以毫克量表达并纯化来自交替抗原淘选的十种先导物和来自竞争淘选的两两种先导物用于进一步测试。其他测试包括HTRF FLT3L/FLT3-Fc相互作用抑制、受体下调和信号转导抑制测定。还对这些先导物进行了表位配对和亲和力测定。筛选活动鉴定了需进一步

研究的五种先导抗体: Dyax3、Dyax5、CAT8、CAT26和CAT5D9。针对先导抗体的来自竞争HTRF分析的结果示于图1C中。

[0281] 实例编号2. FLT3下调筛选测定

[0282] 连接FLT3L后, FLT3受体二聚化、自磷酸化并活化下游信号传导途径。在该过程中, 表面FLT3被内化和降解。利用这种内化特征来开发用于筛选先导抗FLT3L候选克隆的测定。可以通过流式细胞术来测量细胞表面FLT3表达, 并且可以通过量化细胞表面FLT3表达水平的变化来确定受体-配体结合的抑制。

[0283] 细胞系RS4;11、EOL-1、MOLM13和MV4-11组成性表达FLT3。在正常条件下培养细胞, 并在培养2-24小时后筛选FLT3的相对表达。使用流式细胞术测量FLT3表达。简而言之, 将可商购的抗CD135 (抗FLT3) 克隆BV10A4H2 (生物传奇公司 (BioLegend)) 用于流式细胞术实验, 并且将平均荧光强度 (MFI) 报告为FLT3表达的度量。在所有测定中, 将可商购的小鼠抗人FLT3L单克隆抗体 (R&D) 或内部huFLT3-Fc构建体用作有效中和FLT3L活性的阳性对照。

[0284] 与据报道表达FLT3的其他可商购的品系相比, 急性白血病 (pro-B) 品系RS4;11在培养物中表现出一致且高表达的FLT3 (图2A)。使用连续稀释的生物素化的重组huFLT3L (rhuFLT3L) 证实FLT3L与细胞表面FLT3的直接结合, 该重组huFLT3L在4°C下与RS4;11细胞孵育30min后, 可使用BV421-链霉亲和素检测与细胞表面的物理结合, 随后进行流式细胞术分析以确定平均荧光强度 (图2B)。

[0285] 最后, 通过将RS4;11细胞与连续稀释的FLT3L在37°C下孵育2小时, 证实了rhuFLT3L诱导RS4;11细胞上的细胞表面FLT3的可检测下调的能力。通过使用2种不同浓度的RS4;11细胞 (50,000 (50K) 和100,000 (100K) 细胞) 来评估条件的稳定性。使用荧光标记的抗CD135抗体 (克隆BV10A4H2) 确定细胞表面FLT3的下调。与huFLT3L孵育2小时后, 两种细胞密度均表现出细胞表面FLT3的剂量依赖性下调。在测定中使用的huFLT3L的范围内, 别藻蓝素 (APC) MFI (FLT3表达的指示物) 降低了25倍 (图2C)。这些结果表明筛选测定可有效测量生物可利用的FLT3L的剂量依赖性应答, 并且适用于测试候选克隆在功能上中和FLT3L的能力。无论使用5万个细胞/孔还是10万个细胞/孔, 应答均无显著差异。

[0286] 筛选测定的优化

[0287] 筛选测定条件进一步完善, 以确定用于评估抗FLT3L候选克隆的理想细胞培养条件。最终条件为: 将50,000个RS4;11细胞/孔与96pM rhuFLT3L (含或不含抗FLT3L mAb候选克隆) 在完全洛斯基·帕克纪念研究所 (Roswell Park Memorial Institute (RPMI)) 培养基 (含1%牛血清白蛋白 (BSA)) 中, 在加湿培养箱 (设定在37°C, 5%CO₂下) 中孵育2小时。通过流式细胞术确定后续FLT3表达的下调, 如以原始MFI或下调%测量。选择96pM rhuFLT3L (EC80), 因为它是剂量应答曲线的指数期开始的点, 因此确保了rhuFLT3L的任何功能抑制都将通过细胞RS4;11细胞表面上FLT3下调的水平变化立即反映出来。(图3A)。使用可商购的小鼠抗huFLT3L抗体对照 (MAB608, R&D系统公司 (R&D Systems)) 证实了测定功效 (图3B)。由于FLT3与其配体的跨物种反应性, 尽管是人细胞系, 但该测定对于测试针对人、食蟹猴和啮齿类动物FLT3L的克隆是有效的。对于小鼠FLT3L, EC80为36pM。

[0288] 实例编号3. 针对可溶性FLT3L的先导抗体候选物的中和活性

[0289] FLT3L与FLT3连接后, 受体一经内化便二聚化、自磷酸化并传播信号级联。通过FLT3下调测量的此过程可以被结合FLT3L的抗体抑制。因此, 通过结合人、小鼠或食蟹猴可

溶性FLT3L (sFLT3L), 测试了先导候选物抑制RS4;11细胞上FLT3下调的能力。使用优化的筛选测定来测试先导候选物的中和能力。如所描述的, 在人或食蟹猴FLT3L (96pM) 或小鼠sFLT3L (36pM) 的存在下, 将RS4;11细胞 (50,000个细胞/孔) 在完全RPMI (含1% BSA) 中孵育两小时。添加连续稀释的每个克隆, 并且将可溶性FLT3-Fc构建体或可商购的人抗FLT3L抗体均用作阳性对照。使用流式细胞术确定RS4;11细胞上的FLT3表达, 并将其报告为MFI。

[0290] 如图4A和4B中所示, 所有先导克隆抗体均显示出在某种程度上抑制人和食蟹猴sFLT3L的能力。CAT8、CAT26、Dyax3和Dyax5均展示出对人sFLT3L和食蟹猴sFLT3L的相似抑制。尽管在下表3中示出, 但CAT8、CAT26、Dyax3和Dyax5的IC₅₀值仍缺乏有效性, 因为从未达到IC_{MAX}。

[0291] 相反, CAT5D9达到了IC_{MAX}并产生了从FLT3L抑制预期的S形曲线 (图4A和4B)。表3中呈现的CAT5D9的IC₅₀值表明与人和食蟹猴具有交叉反应性, 但与鼠FLT3L无交叉反应性 (图4C)。

[0292] 表3. 针对96pM人、食蟹猴或小鼠sFLT3L的先导抗体候选物的IC₅₀ (nM)。

[0293]

	人	食蟹猴	小鼠
R&D	0.04	0.10	0.12
CAT8	43.5	3001	N/A
CAT26	618	2584	N/A
DYAX3	54.8	3066	1489
DYAX5	245	6015	354
CAT5D9	385	564	N/A

[0294] 实例编号4. 先导抗体候选物对细胞表面FLT3L的结合活性

[0295] 将FLT3L表示为细胞膜蛋白, 并且其在切割后作为可溶性蛋白循环。膜结合形式和可溶性形式均具有生物活性。为了有效地阻断FLT3介导的信号传导途径, 先导抗体候选物应结合可溶性形式和膜结合形式的FLT3L两者。

[0296] 与此一致, 通过用每种物种的各自全长蛋白转染中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞来评估与人、食蟹猴和小鼠FLT3L的细胞表面结合。将候选克隆与表达FLT3L的细胞系在4°C下孵育1小时, 然后洗涤两次以去除未结合的抗体。然后将细胞与PE标记的山羊抗hu IgG二级检测pAb孵育以定量结合的抗体, 该结合的抗体通过PE信号的流式细胞术分析进行测量。将hu IgG骨架上的huFLT3-Fc构建体用作FLT3L表达的阳性对照试剂, 因为它除了人配体之外还与食蟹猴和小鼠交叉反应。

[0297] 所有先导候选物都结合人FLT3L (图5A), 并且除DYAX5之外的所有先导候选物都结合食蟹猴FLT3L (图5B)。相反, 仅Dyax5和在较小程度上的Dyax3展示出与小鼠FLT3L的交叉反应性 (图5C)。

[0298] 因此, 尽管具有不同的功效, 但所有先导候选物都展示出结合跨物种FLT3L的能力。由于每个克隆的受体占用程度存在明显差异, 因此记录了EC₅₀和最大占用率 (表示为相对于FLT3-Fc的百分比), 并在最终评估中予以考虑。表4显示了在CHO细胞中表达的人、食蟹猴和小鼠FLT3L的结果。

[0299] 表4. EC₅₀ (nM) 和最大占用率 (相对于FLT3-Fc的%)

[0300]		人		食蟹猴		小鼠	
		EC50	%Ocp	EC50	%Ocp	EC50	%Ocp
	FLT3-Fc	0.09	100	0.6	100	0.14	100
	CAT8	0.08	60	9.0	32	N/A	N/A
	CAT26	0.19	46	1.1	96	N/A	N/A
	DYAX 3	0.27	33	1.8	35	0.39	16
	DYAX 5	0.66	28	N/A	N/A	0.11	51
	CAT 5D9	0.157	40	1.1	100	N/A	N/A

[0301] 实例编号5. 先导抗体候选物与内源性人FLT3L的结合

[0302] FLT3L在受到 α 链细胞因子(即IL-2、IL-7或IL-15)刺激后在原代T细胞表面上表达,而与TCR接合无关。在实例编号4中,先导抗体候选物表现出与用人FLT3L蛋白转染的CHO细胞结合的能力。下一步是确保它们可以结合来自原代人细胞系的内源性FLT3L。因此,测试了先导抗体候选物结合获自人供体的IL-2刺激的原代T细胞上huFLT3L的能力。

[0303] 为了诱导细胞表面上的FLT3L表达,在没有抗CD3的情况下(用抗CD3活化T细胞会导致FLT3L从细胞表面脱落),用50ng/mL IL-2刺激新鲜分离的人T细胞5天。在此时间后,使用人FLT3-Fc构建体证实在T细胞上的表达(图6A)。然后将连续稀释的每个克隆与IL-2刺激的T细胞(100K/孔)在4°C下孵育30min。通过用缓冲剂洗涤除去过量的抗体,并用APC标记的抗人IgG检测表面结合的抗体。除CAT5D9之外,所有先导克隆都在人原代T细胞上结合内源性FLT3L(图6B)。CAT5D9与内源性FLT3L的结合最初由于其低结合亲和力而不可检测。然而,当与T细胞孵育之前将CAT5D9用(APC标记的)抗IgG二聚化时,其亲合力被充分增强以证实与内源FLT3L的剂量依赖性结合(图6C)。

[0304] 实例编号6. 先导抗体候选物对细胞表面FLT3L的抑制

[0305] 先导候选物结合细胞表面FLT3L的能力提供了关于配体的功能抑制的有限见解。理想的是,先导候选物与细胞表面FLT3L的结合应降低配体-受体复合物的信号传导活性。

[0306] 为了测试这一点,将1,000个表达huFLT3L的CHO细胞/孔铺板粘附过夜。第二天,除去CHO培养基,用RPMI轻轻洗涤细胞,并在添加FLT3+RS4;11(100K/孔)之前添加连续稀释的抗体持续30分钟。在36°C下孵育2hr后,将RS4;11细胞转移到冰上新鲜的96孔板进行染色,以检测FLT3的下调。除了用于标准RS4;11FLT3下调测定的染色之外,还包括抗CD19以排除任何污染的CHO细胞。通过流式细胞术测量FLT3的下调。

[0307] 先导抗体候选物阻断测定表明,所有先导候选物都具有在某种程度上抑制细胞表面FLT3L的能力,尽管与市售的对照抗体相比,所有候选物均表现出相对较低的活性,这反映了低亲和力(图7)。

[0308] 实例编号7. 先导克隆对FLT3L诱导的FLT3信号传导的抑制

[0309] FLT3的自磷酸化主要通过PI3K和RAS级联活化信号转导网络,进而活化AKT(蛋白激酶B,PKB)、MEK和ERK。信号级联最终导致促进细胞存活和增殖的基因的转录。为了证实先导抗体候选物正在阻断原代人细胞中FLT3L对FLT3的下游信号传导,用Mesoscale MSD磷酸-ERK1/2和磷酸MEK1/2全细胞裂解液测量CD133+干细胞中ERK和MEK的磷酸化。

[0310] 使用RS4;11细胞系建立了测定验证,其中以剂量依赖性方式进行FLT3L诱导的ERK活化。(图8A)。将连续稀释的FLT3L与300,000个RS4;11细胞/孔在36°C下孵育8分钟。然后按照制造商的说明书收获细胞,裂解并分析磷酸化的ERK。与早期测定一样,确定了FLT3L的ERK活化的EC80(476pM),并将其用于测试候选抗FLT3L抗体克隆的抑制活性。使用可商购的小鼠抗人FLT3L抗体作为有效中和的阳性对照,证实了测定效用(图8B)。

[0311] 使用这些已建立的参数,使用体外扩增的原代CD133+干细胞测试先导克隆,这些体外扩增的原代CD133+干细胞在使用前经过FLT3表达的验证。将先导克隆与476pM FLT3L预孵育30分钟,然后添加到CD133+干细胞中。在36°C下孵育8分钟后,按照制造商的说明书收获细胞,裂解并使用MSD测定分析磷酸化的ERK和MEK。使用可商购的小鼠抗人FLT3L作为阳性对照。

[0312] 所有候选克隆似乎都抑制了FLT3L对MEK(图9A)和ERK(图9B)的诱导。然而,仅CAT5D9达到了 IC_{MAX} 并展示出预期的S形剂量应答曲线(表5)。结合来看,在实例中呈现的结果表明CAT5D9是先导候选物的最佳克隆,并且应继续进行以对亲和力和表位结合位点进行生物物理评估为条件的优化。

[0313] 表5. 针对0.476nM FLT3L的 IC_{50} (nM)

[0314]

	MEK	ERK
R&D	0.19	0.19
CAT8	$7.4e^6$	0
CAT26	$2.1e^{17}$	$2.4e^{38}$
DYAX3	93	2.4
DYAX5	$2.4e^7$	25
CAT5D9	181	187

[0315] 实例编号8. 靶标特异性的证实

[0316] 通过生物测定中的功能评估,CAT5D9似乎是最佳的先导候选物。使用Octet表位配对来确定相对于受体FLT3的CAT5D9结合区。

[0317] 使用表位配对来确定与FLT3L上的FLT3受体共享相同结合区的先导抗体。分三期进行配对。在I期中,进行生物素-FLT3L与抗生物素蛋白探针的结合。在II期中,单个抗体与生物素-FLT3L结合。在III期中,将每种测试抗体添加到II期抗体中。检测到的任何其他结合都表明这两种抗体具有与靶标FLT3L的非竞争结合位点。将第III期的仅缓冲剂(不添加抗体)和FLT3-Fc分别用作阴性对照和阳性对照。如果仅添加第III期的缓冲剂,则所得的抗体与FLT3L的解离动力学反映出克隆对靶标的固有亲和力。

[0318] 仅以1x和2x浓度添加的CAT5D9抑制了FLT3-Fc的结合,这表明CAT5D9命中FLT3L上所希望的靶标位点(即,其与FLT3-Fc共享相同或重叠的表位)(图10A)。重要的是,相反,其余四个候选克隆不受CAT5D9抑制,这表明它们与不同的FLT3表位结合(图10A)。另外,仅添加缓冲剂时的快速关闭率支持了先前的实验,表明CAT5D9的亲和力很低(这意味着其通过优化改善性能的可能性很大)。与此一致,当其余4个克隆中的每一个都在II期中结合时(CAT8显示为图10B中呈现的代表图),可以在III期中检测到CAT5D9和FLT3-Fc的额外结合,这反映出它们具有不同的结合位点。还观察到,其他4个克隆中的每一个都在一起配对,并且当仅添加缓冲剂时,它们的解离速率相对较慢。

[0319] 总之,这些数据证实,仅CAT5D9在FLT3L结合区与FLT3直接竞争并且似乎是在低亲和力和结合下竞争,这表明其具有优化的可能性。另一方面,基于功能数据,其余克隆均命中了不与FLT3直接竞争的位点。它们的缓慢解离速率表明,它们已经以合理的亲和力与FLT3L结合并且几乎没有优化的可能性。最初存在于初始筛选测定中的抑制可能是由于受体结合位点的位阻或部分阻断。

[0320] 实例编号9.BIACORE结合动力学(C9)

[0321] Biacore分析用于确定抗体先导物的结合动力学,并证实表明CAT5D9对FLT3L的亲和力较差的Octet数据。在人CAT8、CAT26、Dyax3和Dyax5中确定了抗FLT3L片段抗原结合以及人和食蟹猴FLT3L的动力学。另外,确定了人和食蟹猴FLT3L两者的CAT5D9片段抗原的结合动力学。

[0322] 结果呈现在表6中。与其余先导抗体相比,CAT5D9人和食蟹猴的平衡解离常数(K_D)超过50x以上。CAT5D9表现出低质量的快速关闭动力学(k_{off} =70.72,食蟹猴=70.66)。结果,获得稳态结合数据作为对动力学数据 K_D 的检验。稳态结合支持了动力学结合的结果,显示出相似的值(表3)。这些数据证实,CAT5D9具有低亲和力并且其具有通过优化改善性能的可能性。

[0323] 表6.抗FLT3L抗体先导物的结合动力学。

抗 FLT3L Fab	FLT3L 物种	k_{on} ($\times E+5/MS$)	k_{off} ($\times E-3/s$)	K_D ($k_{in}:$ k_{off}/k_{on}) (nM)	K_D (稳 态) (nM)
CAT8	hu	6.28	5.56	8.85	NA
CAT26	hu	1.91	0.84	4.37	NA
Dyax3	hu	0.66	1.23	18.69	NA
Dyax5	hu	2.28	5.01	21.96	NA
CAT5D9	hu	0.61	70.72	1157	1595
CAT5D9	食蟹猴	0.61	70.66	1157	1607

[0325] Fab=片段抗原结合;Hu=人;cyno=食蟹猴; k_{on} =结合关联常数; K_{off} =结合解离常数; K_D =平衡解离常数

[0326] 实例编号10.无CAT5D9交叉反应性

[0327] 除了证实CAT5D9与正确的FLT3L表位结合之外,重要的是还要确认它不结合FLT3L、干细胞因子(SCF)和集落刺激因子(CSF1)的紧密结构同源物。两种因子都是蛋白质酪氨酸激酶受体的配体(分别为c-Kit和CSFR1),它们是目前在肿瘤学背景中使用的小分子FLT3抑制剂的主要脱靶命中,用于管理由组成性活化的FLT3-IT9D突变引起的恶性肿瘤。

[0328] 为了测试这一点,将ELISA板用2 μ g重组人SCF或CSF1包被。洗涤后,将板用三磷酸盐缓冲盐水(TPBS)中的3%奶封闭,并以起始于50 μ g/ml的连续(x2)稀释添加先导抗体。

孵育后,通过洗涤去除未结合的抗体,并且使用抗人IgG-HRP与TMB底物组合来检测结合的抗体的显色。使用可商购的山羊抗SCF pAb和小鼠抗CSF1 mAb作为阳性结合对照。

[0329] 这些先导候选物均不与huSCF (图11A) 或huCSF1 (图11B) 交叉反应。重要的是,这些结果证明了CAT5D9仅结合FLT3L而不结合结构上类似的TKR配体分子的选择性。

[0330] 实例编号11.CAT5D9的亲合力优化

[0331] 如上所讨论的,CAT5D9以低亲和力结合FLT3L,并因此证明了通过亲和力优化改善性能的可能性。基于PK建模将所希望的KD设置为300pM。设计了优化活动以使KD最多提高10,000倍。

[0332] 在对框架进行种系化之后,采用两种并行的策略:节省诱变和区段诱变。节省诱变将所有6个CDR中的每个位置一次一个地突变为所有20个氨基酸。使用高通量方法筛选克隆,并将单个有益突变组合在一起。区段诱变以重叠模式突变CDR中5至6个位置的连续段,并且首先使用噬菌体展示淘选技术富集约1E6至1E7克隆的所得文库,然后使用高通量方法进行筛选。

[0333] 在第一轮优化后,以IgG格式测试了来自节省诱变的30个克隆和来自区段诱变的24个克隆。使用分子建模技术,我们鉴定并组合了产生克隆5D9-克隆6的最佳突变,这些克隆的KD为1610nM(通过Biacore测量),比亲本5D9亲和力提高了700x(参见表7)。先导克隆SC4017和AM40的亲和力超过了CDTP标准(<300pM)。另外,两个优化的克隆都结合并中和内源性细胞表面FLTL,结合人血清中的内源性可溶性FLT3L,并且结合并中和食蟹猴FLT3L。

[0334] 表7.来自CAT5D9优化的先导克隆的结合数据汇总。

[0335]

		<u>kon</u> (1E+5/Ms)	<u>koff</u> (1E-4/s)	<u>K_D</u> (pM)
hFLT3 受体 /hFLT3L		3.6	81.2	22,340
5D9 亲本 /hFLT3L	亲本	0.6	707.2	1,157,000
5D9-C06/hFLT3L	第 1 轮	5.5	8.8	1,610
AM40/hFLT3L	第 2 轮	10.9	1.8	170
AM40/cFLT3L	第 2 轮	26.6	1.7	63
SC4017/hFLT3L	第 2 轮	14.5	0.5	37
SC4017/cFLT3L	第 2 轮	58.4	0.5	8.8

[0336] 将这种亲和力的增加转化为功能活性增加>1000倍,如通过使用针对较早的克隆选择所述的方法在RS4;11细胞上的FLT3下调(图12A)所测量的。

[0337] 为了达到300pM的亲和力,进行了第二轮亲和力优化。对克隆6(C06)进行突变,并

以与第一轮优化类似的方式筛选所得突变体。作为区段诱变中噬菌体淘选的一部分,克隆6以IgG形式用作竞争物以富集具有实质上更高的亲和力的克隆。来自区段诱变的最佳克隆是KD=170pM的克隆AM40。合并AM40和来自第二轮节省诱变的突变的几个组合克隆,并产生一个优等克隆SC4017 (KD=37pM)。这种较高的亲和力再次反映在对FLT3L的改善的功能抑制中,如通过RS4;11细胞上的FLT3下调(图12B)所证明的。然而,进一步的分析将SC4017的优越性能归因于在结合区附近掺入的单个额外的色氨酸。考虑到暴露的色氨酸残基易被氧化,这代表了发展风险。由于这个原因,选择了AM40作为IgG先导克隆。尽管与SC4017 (37pM)相比,AM40的亲和力稍低(170pM),但AM40仍超过了最初的目标300pM,并被确定具有较低的发展风险。

[0338] 最后,通过使用20ng/ml IL-7刺激的原代T细胞与FLT3+RS4;11共培养7天开发的测定(发现其是用于诱导原代T细胞上的细胞表面FLT3L表达的最有效方案),我们证实了两个克隆均可中和细胞表面上的内源性FLT3L。简而言之,单独或在连续稀释的候选克隆SC4017和AM40的存在下,将IL-7刺激的CD4+T细胞与RS4;11细胞以15:1的比率(图13A中显示剂量比应答)孵育过夜。如前所述,通过流式细胞术方法测量FLT3下调。显示两个克隆均以相似的功效完全防止浓度高于1nM的RS4;11细胞上的FLT3下调(图13B)。

[0339] 实例编号12. 在健康非人灵长类动物中中和FLT3L

[0340] 为了确定AM40在中和FLT3L中的安全性和持久性,使用每周一次的重复给药进行为期一个月的毒性研究。包括八周的治疗随访期以追踪动物进展。图14中描绘了研究大纲。如图15A中所示,在以所有剂量首次施用AM40后,游离可溶性FLT3L水平急剧下降,但0.3mg/kg不足以维持整周的靶标接合。较高剂量组(1mg/kg和30mg/kg)贯穿57天始终表现出完全的靶标接合(反映为低于BLQ的游离可溶性FLT3L),此时可溶性FLT3L水平返回到1.0mg/kg组的基线。

[0341] 类似地,测量循环DC频率(经由流式细胞术检测并表示为研究前基线水平的百分比的总CD45+细胞的%)显示出贯穿22天在1.0和30mg/kg组中CD1c+(经典)DC和浆细胞样DC频率的稳定下降(图15B)。分别贯穿50天和85天对于1mg/kg组和30mg/kg组,循环CD1c+DC频率仍受到抑制。分别贯穿71天和85天对于1mg/kg组和30mg/kg组,循环pDC频率仍有所降低。1.0mg/kg组中DC群体的返回与血清游离FLT3L的返回相关,其发生在第57天至第85天之间的某个时间点。这些结果表明,当AM40中和FLT3L时,DC群体减少,但当游离FLT3L可用时,DC群体迅速返回基线。

[0342] 实例编号13. FLT3L的表达与系统性红斑狼疮(SLE)的严重程度相关

[0343] SLE是一种以慢性炎症为特征的自身免疫性疾病,并且可以影响身体中的几乎任何器官和所有年龄段。SLE通常影响关节、皮肤、肾脏、肺、心脏和大脑。鉴于其在促炎信号传导中的作用,研究了患有SLE的个体中FLT3L的表达,以寻找FLT3L水平与疾病严重程度之间的相关性。迄今为止,已发表的研究在推论与疾病的相关性时主要依靠血清FLT3L水平,尽管这是临床环境中最有用的测量方法,但它存在固有缺点:它反映了减去DC和其他活化的消耗FLT3L的细胞所吸收后的产量。在炎性环境中,表达FLT3的细胞的数量及其消耗的FLT3L将会有很大差异,并且这很可能解释了研究之间的发现结果的差异,以及为什么无证据表明血清FLT3L与疾病进展的临床评分之间存在直接相关性。了解到T细胞是炎性环境中FLT3L的主要来源之一,我们开发了一种使用新鲜分离的外周血单核细胞(PBMC)直接测量T

细胞表面上的FLT3L表达的测定。

[0344] 从患有SLE的个体 ($n=24$) 和健康供体 (HD; $n=15$) 中分离血清和PBMC。按照制造商的说明书使用ELISA (R&D系统公司) 测量血清FLT3L, 并且使用内部开发的流式细胞术分析确定表达FLT3L的CD4+T细胞的频率, 其中用荧光标记的抗FLT3L克隆MAB608 (R&D系统公司) 检测FLT3L。SLE疾病活动指数 (SLEDAI) 用于确定同一个体中的狼疮活动。使用曼-惠特尼 (Mann Whitney) 和斯皮尔曼 (Spearman) 相关性分别比较健康群组与疾病群组以及SLEDAI的相关性来确定显著性。

[0345] 与先前文献一致, 与HD相比, SLE供体中的血清FLT3L水平升高 ($p<0.05$; 图16A), 但未发现与疾病活动 (SLEDAI) 有显著相关性 ($p<0.07$; 图16B)。相反, 当通过表达FLT3L的CD4+T细胞的频率来测量FLT3L的产生时, 与HD相比, SLE供体的增加高度显著 ($p<0.0001$; 图16C), 并且与SLEDAI评分有很强的相关性 ($r=0.7045$; $p<0.0001$; 图16D)。该数据表明, 测量T细胞上FLT3L的表达在疾病背景中可能是特别相关的。

[0346] 在发现SLEDAI评分与表达FLT3L的CD4+T细胞之间存在相关性后, 检查CD4+细胞的子集, 以确定 (1) SLE患者的跨CD4+T细胞子集中的FLT3L表达是否与已知生物学一致, 以及 (2) 子集表达是否与SLEDAI评分相关。所研究的CD4+子集是初始T细胞 (T_{naive})、效应记忆细胞 (T_{EM}) 和中央记忆型 (T_{CM}) 细胞。如上所述, 相同的方案和显著性水平用于研究表达和相关性。

[0347] 跨CD4+T细胞子集的FLT3L表达与FLT3L表达的已知生物学一致。具体地, 尽管在SLE供体中有小但显著的升高, 但是通常在HD的 T_{naive} 细胞上未观察到FLT3L表达 (图17A, 顶部图)。来自SLE供体的 T_{naive} 细胞上的FLT3L表达与SLEDAI评分显著相关 (图17A, 底部图; $r=0.6629$; $p=0.0004$)。重要的是, 在HD和SLE CD4+ T_{EM} 上均观察到FLT3L表达, 正如在捕获了最近活化的T细胞的群体中预期的那样, 这些活化的T细胞已经暴露于已知诱导FLT3L表达的□链细胞因子。尽管在HD和SLE供体中均观察到这种应答, 但后者的升高显著并且SLE供体中的表达也与SLEDAI相关 (图17B, 底部图; $r=0.6201$; $p=0.0012$)。最后, 由于健康CD4+T细胞从 T_{EM} 分化为 T_{CM} , 在其中的FLT3L表达下降, 但仍维持在SLE供体的PBMC中 (图17C, 顶部图; $p<0.0001$)。同样, FLT3L+T细胞频率与SLEDAI之间存在显著相关性, 这表明在该组中的表达反映了慢性炎症状态。

[0348] 总体来说, 这些研究表明, 与HD相比, SLE患者CD4+T细胞上的FLT3L表达显著增加。而且, FLT3L表达的增加与SLEDAI评分高度相关。因此, 向SLE患者施用抗FLT3L抗体是用于减少表达FLT3L的T细胞群体以减轻SLE患者的炎症的合理治疗策略。

[0349] 使用PrimeFlow原位检测IC FLT3L RNA对上面使用的方法进行了验证, 并使用APC缀合的AM40对其进行了证实。

[0350] 实例编号14. 肌炎中的FLT3L表达

[0351] 肌炎是一种慢性肌肉炎症, 其特征在于虚弱、肿胀和肌肉疼痛。在细胞水平上, 肌炎的特征在于1型干扰素蛋白和pDC的水平升高。肌炎可与SLE和其他促炎病症相关。因此, 研究了患有肌炎的个体中FLT3L的表达, 以寻找FLT3L水平与疾病严重程度之间的相关性。

[0352] 使用FACS, 对来自患有肌炎的个体和HD的PBMC的表达FLT3L的CD4+T细胞进行了研究。将CD4+T细胞分为 T_{naive} 、 T_{EM} 和 T_{CM} 子集。使用曼-惠特尼分析确定肌炎和HD样本之间的显著性。

[0353] 如图18A和18B中所示,来自患有肌炎的个体的PBMC中FLT3L的表达与来自SLE患者的发现结果平行,因为它们的特征在于FLT3L阳性的CD4⁺T细胞的百分比显著增加(T_{naive} ($p < 0.05$;图18A), T_{EM} ($p < 0.0001$;图18B)和 T_{CM} ($p < 0.0001$;图18C))。根据这些结果,向肌炎患者施用抗FLT3L抗体是用于减少表达FLT3L的T细胞群体以减轻肌炎患者的炎症的合理治疗策略。

[0354] 实例编号15. 肾炎中的FLT3L表达

[0355] 肾炎是一种免疫性障碍,其影响肾脏和相关的肾脏结构。该病症可来源于SLE、某些毒素或某些感染。肾炎可导致肾脏功能的永久丧失,这可以是致命的。树突状细胞已被证明在狼疮肾炎中渗入肾脏(Fiore等人, (2008) *Mol Immunology* [分子免疫学] v45:259-265), 并且被认为在驱动肾脏炎症中起作用,因此,据推测,FLT3L的阻断可抑制DC并防止肾脏功能的进行性丧失。

[0356] 使用墨菲罗斯大鼠(Murphy Roths Large)/淋巴增生性(MRL.lpr)肾炎小鼠模型和小鼠替代物抗FLT3L抗体(LFC-1)来研究FLT3L阻断对蛋白尿水平和肾炎评分的影响。包括同种型对照以及抗IFNAR抗体治疗组。施用抗FLT3L抗体的小鼠在施用后17周表现出蛋白尿的显著减少(图19A)。另外,与同种型对照相比,在第18周施用抗FLT3L抗体的小鼠的肾炎评分降低(图19B)。重要的是,与施用的小鼠相比,施用抗FLT3L抗体的小鼠的蛋白尿减少且肾炎评分降低。这些结果支持FLT3L介导的炎症在肾炎中的作用。根据这些结果,向肾炎患者施用抗FLT3L抗体是用于减少表达FLT3L的T细胞群体以减轻肾炎患者的炎症的合理治疗策略。

[0357] 还对脾脏DC群体进行了检查,以提供对肾炎中白细胞群体中FLT3L相关的变化的见解。在第18周从MRL小鼠中收获脾脏,并检查脾脏DC群体的变化。抗FLT3L抗体治疗显著减少了MRL小鼠的循环DC(图20A-C)。具体地,与施用抗FLT3L抗体后的同种型对照相比, Siglec-H⁺-pDC显著减少(图20A)。类似地,在CD11b⁺cDC(等同于人CD1c⁺DC)和CD8⁺cDC(等同于人CD141⁺DC)中观察到显著减少(图20B和20C)。另外,与未治疗的小鼠中通常30%-40%的发生率相比,在抗FLT3L治疗的小鼠中未观察到皮炎的发生。因此,抗FLT3L抗体治疗可减少肾炎模型中的循环DC群体并改善继发性病理(皮炎)。根据这些结果,向肾炎患者施用抗FLT3L抗体可通过抑制DC群体来减轻炎症和组织损伤。

[0358] 实例编号16. 干燥综合征中的FLT3L表达

[0359] 原发性干燥综合征(pSS)是一种自身免疫性疾病,其特征存在于眼睛和唾液腺的广泛干燥。另外,该病症可导致多器官功能障碍。该综合征可单独发生或在其他自身免疫性疾病(如狼疮或类风湿性关节炎)的存在下发生。患有pSS的个体的血清FLT3L水平升高,并且有证据表明在发炎的唾液腺中FLT3L及其受体均在局部表达(Tobon等人, (2010) *Arthritis and Rheumatism* [关节炎与风湿病] v62:344)。

[0360] 使用NOD.H2h4干燥小鼠模型来研究在延长的抗FLT3L抗体(LFC-1)治疗后,唾液腺的病理情况。到16周龄时,这些小鼠在唾液腺(SG)中形成三级淋巴样结构(TLS),该结构主要包含DC、B220⁺B细胞和CD3⁺T细胞,其方式与人类中观察到的病理变化极为相似。这种组织损伤发生在自身抗体发展以及脾脏的自发生发中心形成之前(Mahmoud等人, 2016 *Science Translational Medicine* [科学转化医学], v8:361ra137)。使用含同种型IgG对照(5mg/kg)、抗FLT3L抗体(5mg/kg)的预防性方案(从5周龄开始)或治疗性方案(从17周龄

开始)治疗小鼠。对于这两种方案,均需每周两次给药进行治疗,直至研究结束(26周)。抗FLT3L单克隆抗体(LFC-1)在整个治疗过程中有效中和FLT3L(图25A),并导致循环药物/配体复合物的积聚(图25B)。

[0361] 收集淋巴样器官以评估外周免疫细胞群体的变化,并且收获唾液腺(SG)并评估组织病理学(TLS频率)。尽管之前已经报道预防性治疗可以预防疾病的发作,但是之前对在疾病发作后可以通过治疗性干预来延迟或预防组织损伤的报道有限。抗FLT3L单克隆抗体(LFC-1)降低了脾脏和唾液腺引流LN(在研究结束时为24-26周龄)中抗原经历的CD44^{HI} CD4⁺和CD8⁺T细胞的频率(图26A-26D),以及选择性减少了针对胶原IV和血小板提取物的特异性自身抗体(图27)。

[0362] 如所预期的,用同种型对照IgG治疗的动物到26周龄时唾液腺中TLS的形成增加(测量为频率/mm²组织),这表明唾液腺受损。即使当治疗性给药时,用抗FLT3L治疗的小鼠的组织SG损伤也显著减少(图21A),并且当预防性给药时,疾病被完全预防(图21B)。尽管没有完全缺失,但如在脾脏中测量的DC群体被显著抑制(图22A-D)。尽管如此,但通过减少至唾液腺的炎性渗入足以对疾病的发作和进展产生重大影响。这些结果支持pSS中的炎症是由FLT3L介导的机制驱动的。根据这些结果,施用抗FLT3L抗体是用于治疗人受试者的pSS的合理治疗策略。

[0363] 从前述说明书中将清楚的是,可以对本文所述的披露作出变更和修改以使其适合于各种用途和情况。此类实施例也在下述权利要求书的范围内。在变量的任何定义中对要素清单的陈述在本文包括将所述变量定义为任何单个要素或所列要素的组合(或亚组合)。对本文实施例的陈述包括作为任何单个实施例或与任何其他实施例或其部分组合的实施例。通过引用将在本说明书中提及的所有专利和出版物并入本文,其程度如同将每个独立的专利和出版物具体并且个别地指明通过引用并入本文。

序列表

<110> Viela Bio, Inc.

<120> 麦克唐纳猫肉瘤 (FMS) 样酪氨酸激酶 3 受体配体 (FLT3L) 的抗体及其用于治疗自身免疫性疾病和炎症疾病的用途

<130> 054493-502001W0

<150> US 62/630, 571

<151> 2018-02-14

<160> 72

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> "AM40_VH"

<400> 1

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

<210> 2

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> "AM40_VL"

<400> 2

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

[0001]

[0002]

Ile Tyr Glu Asp Tyr Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
 65 70 75 80
 Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Asp
 85 90 95
 Tyr Arg Arg Ala Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110
 <210> 3
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "SC4017_VH"
 <400> 3
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Thr Arg Pro Pro Thr Ser Arg Thr Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Glu Ser Thr Ser Thr Gly 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 Ser Asn Asp Phe Val Tyr Gly Ser Tyr Arg Phe Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 4
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "SC4017_VL"
 <400> 4
 Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Thr Ser Gly Trp Ile Ala Gly Tyr
 20 25 30
 Phe Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ser Pro Thr Thr Val
 35 40 45
 Ile Tyr Glu Asp Tyr Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

[0003]

Gly	Ser	Ile	Asp	Ser	Ser	Asn	Ser	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	
65					70				75					80	
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Tyr	Asp	Asp
				85					90					95	
Tyr	Arg	Arg	Ala	Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	
			100					105					110		
<210>	5														
<211>	119														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	"CAT5D9_VH"														
<400>	5														
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1			5					10					15		
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ile	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
		20						25				30			
Ala	Leu	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35				40					45				
Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Val	Phe	Arg	Thr	Ala	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55				60					
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Val	Asp	Glu	Ser	Ala	Ser	Thr	Gly	Tyr
65					70				75						80
Ile	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Lys	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
			85					90					95		
Ala	Ser	Asn	Asn	Tyr	Val	Trp	Gly	Ser	Tyr	Arg	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly
		100						105					110		
Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
	115														
<210>	6														
<211>	111														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	"CAT5D9_VL"														
<400>	6														
Asn	Phe	Met	Leu	Thr	Gln	Pro	His	Ser	Val	Ser	Glu	Ser	Pro	Gly	Lys
1			5					10					15		
Thr	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Arg	Thr	Ser	Gly	Asn	Ile	Ala	Gly	Tyr
		20						25				30			
Phe	Val	Gln	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Ser	Ser	Pro	Thr	Thr	Val
		35				40					45				
Ile	Tyr	Glu	Asp	Tyr	Gln	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
	50					55				60					
Gly	Ser	Ile	Asp	Arg	Ser	Ser	Asn	Ser	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly
65					70			</							

[0004]

```

Leu Lys Pro Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Asp
      85                      90                      95
Thr Ser Gln Gly Val Phe Gly Ala Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
      100                      105                      110
<210> 7
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT8_VH"
<400> 7
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
      20          25          30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35          40          45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
      50          55          60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
      65          70          75          80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85          90          95
Ala Arg Ser Ser Gly Tyr Tyr Gly Ala Asn Phe Asp Phe Trp Gly Gln
      100          105          110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
      115          120
<210> 8
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT8_VL"
<400> 8
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1          5          10          15
Arg Val Ala Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Gly
      20          25          30
Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Val Pro Gly Thr Ala Pro Thr Leu Leu
      35          40          45
Ile His Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
      50          55          60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
      65          70          75          80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
      85          90          95

```

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val
 100 105
 <210> 9
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "CAT26_VH"
 <400> 9
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Lys Asp Ala Tyr Gly Ser Ser Trp Tyr Phe Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 100 105 110
 [0005] Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 10
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "CAT26_VL"
 <400> 10
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ile Asn
 20 25 30
 Pro Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Val Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Ser Asp Lys Tyr Arg Pro Ser Gly Val Ala Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95
 Asn Gly Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 11
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "DYAX3_VH"
 <400> 11
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Met Tyr
 20 25 30
 Glu Met Arg Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Val Ile Pro Ser Gly Gly Lys Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Tyr Ser Arg Trp Phe Gly Gln Leu Gly Phe Tyr Ser His Tyr Ala
 100 105 110
 Met Asp Val Trp Ser Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

[0006]

<210> 12
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "DYAX3_VL"
 <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 Ala Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asp Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Lys Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Thr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Ser Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Gly
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 13
 <211> 127

[0007]

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "DYAX5_VH"
 <400> 13
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ile Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Tyr Ser Arg Trp Phe Gly Gln Leu Gly Phe Tyr Ser His Tyr
 100 105 110
 Ala Met Asp Val Trp Ser Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 14
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "DYAX5_VL"
 <400> 14
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
 85 90 95
 Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 15
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>	
<223> "AM40_VH"	
<400> 15	
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc	60
tcttgcaagg cttctggagg cacccttcagc agttatgctc ttagctgggt gcgacaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaacg cggccgccga cctcccggac agcaagctac	180
gcacagaaat ttcagggcag agtcacgatt accgtggacg aatccacgag cacaggctac	240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gtcaaacgac	300
ttcgtgtacg ggagttatcg tttctggggc caagggacca cggtcaccgt ctctcagcg	360
<210> 16	
<211> 333	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> "AM40_VL"	
<400> 16	
aattttatgc tgactcagcc ccactctgtg tcggagtctc cggggaagac ggtaaccatc	60
tctgcaccc gcaccagtgg gaacattgcc ggctactttg tgcagtggta ccagcagcgc	120
ccgggcagtt cccccaccac tgtgatctat gaggattacc aacgaccctc tggggtccct	180
gateggttct ctggctccat cgacagctcc tccaactctg cctccctcac catctctgga	240
ctgaagactg aggacgagc tgactactat tgtcagtctt atgatgacta ccggcgggcg	300
gcgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta	333
<210> 17	
<211> 357	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> "SC4017_VH"	
<400> 17	
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc	60
tcttgcaagg cttctggagg cacccttcagc agttatgctc ttagctgggt gcgacaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaacg cggccgccga cctcccggac agcaagctac	180
gcacagaaat ttcagggcag agtcacgatt accgtggacg aatccacgag cacaggctac	240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gtcaaacgac	300
ttcgtgtacg ggagttatcg tttctggggc caagggacca cggtcaccgt ctctca	357
<210> 18	
<211> 333	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> "SC4017_VL"	
<400> 18	
aattttatgc tgactcagcc ccactctgtg tcggagtctc cggggaagac ggtaaccatc	60
tctgcaccc gcaccagtgg gtggattgcc ggctactttg tgcagtggta ccagcagcgc	120
ccgggcagtt cccccaccac tgtgatctat gaggattacc aacgaccctc tggggtccct	180
gateggttct ctggctccat cgacagctcc tccaactctg cctccctcac catctctgga	240

[0008]

	ctgaagactg aggacgaggc tgactactat tgtcagtcctt atgatgacta ccggcgggcg	300
	gcgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta	333
	<210> 19	
	<211> 357	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> "CAT5D9_VH"	
	<400> 19	
	caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc	60
	tcctgcaaga ttcttgagg caccctcagc agttatgctc ttagctgggt gcgacaggcc	120
	cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatccctg tctttcggac agcaagctac	180
	gcacagaaat ttcagggcag agtcacgatt accgtggacg aatccgcgag cacaggctac	240
	atagaactga gcagcctgaa atctgaggac acggccacat attactgtgc gtcaaataat	300
	tacgtttggg ggagttatcg ttcttggggc caggggacca cggtcaccgt ctctca	357
	<210> 20	
	<211> 333	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> "CAT5D9_VL"	
	<400> 20	
[0009]	aattttatgc tgactcagcc ccactctgtg tcggagtctc cggggaagac ggtcaccatc	60
	tcctgcaccc gcaccagtgg gaacattgcc ggctactttg tgcagtggta ccagcagcgc	120
	ccgggcagtt cccccaccac tgtgatctat gaggattacc aacgaccctc tggggtcctt	180
	gatcggttct ctggctccat cgacaggtec tccaactctg cctccctcac catctctgga	240
	ctgaagcctg acgacgaggc tgactactat tgtcagtcctt atgatgacac ctctcaaggt	300
	gtgttcggcg cagggaccaa ggtcaccgtc cta	333
	<210> 21	
	<211> 360	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> "CAT8_VH"	
	<400> 21	
	gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc	60
	tcctgtgcag cctctggatt caccctttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct	120
	ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac	180
	gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
	ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaagcagc	300
	ggctactacg gggccaattt tgacttctgg gggcagggga ccacggtcac cgtctcgagt	360
	<210> 22	
	<211> 327	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

[0010]	<223> "CAT8_VL"	
	<400> 22	
	cagtcctgtgc tgacgcagcc gccctcagcg tccgggaccc ccgggcagag ggctgccatc	60
	tcttggtctg gaagcagctc caacatcgga agtggttatg tatactggta tcagcaggtc	120
	ccaggaacgg cccccacact cctcatccat aggaataatc agcgccctc aggggtccct	180
	gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggtccgg	240
	tccgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcgtgggatg acagcctgag tggttatgtc	300
	ttcggaactg ggaccaaggt caccgtc	327
	<210> 23	
	<211> 369	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> "CAT26_VH"	
	<400> 23	
	gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc	60
	tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgccg tgagctgggt ccgccaggct	120
	ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac	180
	gcagactccg tgaagggccg gtccaccatc tccagagaca attccaagaa cacgtgtat	240
	ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgt gaaagacgca	300
	tatggcagca gctggtactt ttactacttt gactactggg gccaaggac aatggtcacc	360
	gtctcgagt	369
	<210> 24	
	<211> 330	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> "CAT26_VL"	
	<400> 24	
	cagtcctgtg tgacgcagcc gccctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc	60
	tcttggtctg gaagcagctc caacatcgga atcaatcctg tgaactggta ccaacaactc	120
	cccgaacgg cccccaaagt cctcatttat agtgataaat accggccctc aggggtcgct	180
	gaccgttct ctggctccaa gtctggaacc tcagcctccc tggccatcag tggcctccag	240
	tctgaggatg aggctgatta cttctgtgca gcatgggatg acagcctgaa tggctcgctc	300
	ttcggaactg ggaccaagct gaccgtccta	330
	<210> 25	
	<211> 378	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> "DYAX3_VH"	
	<400> 25	
	gaagttcaat tgttagagtc tgggtggcgt cttgttcagc ctggtgggtc tttacgtctt	60
	tcttgcgtg cttccgatt cactttctct atgtacgaga tgcgttgggt tcgccaagct	120
	cctggtaaaag gtttgagtg ggtttctgtt atccctctg gtggcaagac tttttatgct	180
	gactccgtta aaggctcgtt cactatctct agagacaact ctaagaatac tctctacttg	240

	cagatgaaca gcttaagggc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag atacagcaga	300
	tggttcgggc agctagggtt ttactccac tacgtatgg acgtctggag ccaagggacc	360
	acggtcaccg tctcaagc	378
	<210> 26	
	<211> 324	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> "DYAX3_VL"	
	<400> 26	
	gacatccaga tgaccagtc tccatctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcgcc	60
	atcattgcc gcgcaagtca gagcatcgac acctatttaa attggtatca gcagaaacca	120
	gggaaagccc ctaaacctct gatctatgct gcatccaagt tggaagacgg ggtcccatca	180
	agattcagtg gcagtggaaac tgggacagat ttcactctca ccatcagaag tctgcaacct	240
	gaagattttg caagttattt ctgtcaacag agctactcta gtccaggat cactttcggc	300
	cctgggacca aggtggagat caaa	324
	<210> 27	
	<211> 381	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> "DYAX5_VH"	
	<400> 27	
[0011]	gaagttcaat tgtagagtc tggtggcggc ctgtttcagc ctggtggtc tttacgtctt	60
	tcttgcgtg cttccgatt cactttctct tcttacatta tggtttgggt tcgccaagct	120
	cctggtaaag gtttgagtg gttttctct atctattctt ctggtggctc tacttcttat	180
	gctgactccg ttaaaggctc cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
	ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acagccgtgt attactgtac gagatacagc	300
	agatggttcg ggcagctagg gttttactcc cactacgcta tggacgtctg gagccaaggg	360
	accacggtea ccgtctcaag c	381
	<210> 28	
	<211> 324	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> "DYAX5_VL"	
	<400> 28	
	gacatccaga tgaccagtc tccatctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
	atcattgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca	120
	gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180
	aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct	240
	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgtg gacgttcggc	300
	caagggacca aggtggaaat caaa	324
	<210> 29	
	<211> 5	
	<212> PRT	

[0012]

<213> 人工序列

<220>

<223> "AM40 & SC4017 & CAT5D9_HCDR1"

<400> 29

Ser Tyr Ala Leu Ser

1 5

<210> 30

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> AM40 & SC4017_HCDR2"

<400> 30

Thr Arg Pro Pro Thr Ser Arg Thr Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 31

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> "AM40 & SC4017_HCDR3"

<400> 31

Asn Asp Phe Val Tyr Gly Ser Tyr Arg Phe

1 5 10

<210> 32

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> "AM40 & CAT5D9_LCDR1"

<400> 32

Thr Arg Thr Ser Gly Asn Ile Ala Gly Tyr Phe Val Gln

1 5 10

<210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> "AM40 & SC4017 & CAT5D9_LCDR2"

<400> 33

Glu Asp Tyr Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 34

<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "AM40 & SC4017_LCDR3"
<400> 34
Gln Ser Tyr Asp Asp Tyr Arg Arg Ala Ala
1 5 10
<210> 35
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "SC4017_LCDR1"
<400> 35
Thr Arg Thr Ser Gly Trp Ile Ala Gly Tyr Phe Val Gln
1 5 10
<210> 36
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT5D9_HCDR2"
<400> 36
[0013] Gly Ile Ile Pro Val Phe Arg Thr Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 37
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT5D9_HCDR3"
<400> 37
Asn Asn Tyr Val Trp Gly Ser Tyr Arg Phe
1 5 10
<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT5D9_LCDR3"
<400> 38
Gln Ser Tyr Asp Asp Thr Ser Gln Gly Val
1 5 10
<210> 39

[0014]

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT8_HCDR1"
<400> 39
Ser Tyr Ala Met Ser
1 5
<210> 40
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT8 & CAT26_HCDR2"
<400> 40
Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 41
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT8_HCDR3"
<400> 41
Ser Ser Gly Tyr Tyr Gly Ala Asn Phe Asp Phe
1 5 10
<210> 42
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT8_LCDR1"
<400> 42
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Gly Tyr Val Tyr
1 5 10
<210> 43
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT8_LCDR2"
<400> 43
Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser
1 5

[0015]

<210> 44
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT8_LCDR3"
<400> 44
Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Tyr Val
1 5 10
<210> 45
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT26_HCDR1"
<400> 45
Ser Tyr Ala Val Ser
1 5
<210> 46
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT26_HCDR3"
<400> 46
Asp Ala Tyr Gly Ser Ser Trp Tyr Phe Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 47
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT26_LCDR1"
<400> 47
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ile Asn Pro Val Asn
1 5 10
<210> 48
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "CAT26_LCDR2"
<400> 48
Ser Asp Lys Tyr Arg Pro Ser
1 5
<210> 49

[0016]

<211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "CAT26_LCDR3"
 <400> 49
 Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Arg Val
 1 5 10
 <210> 50
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "DYAX3_HCDR1"
 <400> 50
 Met Tyr Glu Met Arg
 1 5
 <210> 51
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "DYAX3_HCDR2"
 <400> 51
 Val Ile Pro Ser Gly Gly Lys Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 52
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "DYAX3 & DYAX5_HCDR3"
 <400> 52
 Tyr Ser Arg Trp Phe Gly Gln Leu Gly Phe Tyr Ser His Tyr Ala Met
 1 5 10 15
 Asp Val
 <210> 53
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "DYAX3_LCDR1"
 <400> 53
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asp Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10

[0017]

<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "DYAX3_LCDR2"
<400> 54
Ala Ala Ser Lys Leu Glu Asp
1 5
<210> 55
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "DYAX3_LCDR3"
<400> 55
Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Gly Ile Thr
1 5 10
<210> 56
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "DYAX5_HCDR1"
<400> 56
Ser Tyr Ile Met Val
1 5
<210> 57
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "DYAX5_HCDR2"
<400> 57
Ser Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 58
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "DYAX5_LCDR1"
<400> 58
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

[0018]

```

1           5           10
<210> 59
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "DYAX_LCDR2"
<400> 59
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1           5
<210> 60
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "DYAX_LCDR3"
<400> 60
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Trp Thr
1           5           10
<210> 61
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> "AM40_HC"
<400> 61
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
           20           25           30
Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
           35           40           45
Gly Thr Arg Pro Pro Thr Ser Arg Thr Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
           50           55           60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Glu Ser Thr Ser Thr Gly 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 Ser Asn Asp Phe Val Tyr Gly Ser Tyr Arg Phe Trp Gly Gln Gly
           100           105           110
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
           115           120           125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
           130           135           140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145           150           155           160

```

[0019]

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

<210> 62

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> "AM40_LC"

<400> 62

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys

	1	5	10	15												
	Thr	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Arg	Thr	Ser	Gly	Asn	Ile	Ala	Gly	Tyr
				20				25					30			
	Phe	Val	Gln	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Ser	Ser	Pro	Thr	Thr	Val
			35					40					45			
	Ile	Tyr	Glu	Asp	Tyr	Gln	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
		50					55					60				
	Gly	Ser	Ile	Asp	Ser	Ser	Ser	Asn	Ser	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly
	65					70				75				80		
	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Tyr	Asp	Asp
				85						90				95		
	Tyr	Arg	Arg	Ala	Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly
				100						105				110		
	Gln	Pro	Lys	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu
			115					120					125			
	Glu	Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe
		130					135					140				
	Tyr	Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro	Val
	145					150				155				160		
	Lys	Ala	Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys
				165						170				175		
	Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser
				180						185				190		
[0020]	His	Arg	Ser	Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu
		195						200					205			
	Lys	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser							
		210					215									
	<210>	63														
	<211>	1347														
	<212>	DNA														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<223>	"AM40_HC"														
	<400>	63														
	caggtgcagc	tgggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc										60
	tcttgcgaagg	cttctggagg	caccttcagc	agttatgctc	ttagctgggt	gcgacaggcc										120
	cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaacg	cggccgccga	cctcccggac	agcaagctac										180
	gcacagaaat	ttcagggcag	agtcacgatt	accgtggacg	aatccacgag	cacaggctac										240
	atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gtcaaacgac										300
	ttcgtgtacg	ggagttatcg	tttctggggc	caagggaacca	cggtcaccgt	ctcctcagcg										360
	tcgaccaagg	gcccatccgt	cttccccctg	gcaccctcct	ccaagagcac	ctctgggggc										420
	acagcggccc	tgggtgcct	ggtcaaggac	tacttccccg	aaccggtgac	ggtgtcctgg										480
	aactcaggcg	ctctgaccag	cggcgtgcac	accttccccg	ctgtectaca	gtcctcagga										540
	ctctactccc	tcagcagcgt	ggtgaccgtg	ccctccagca	gcttgggcac	ccagacctac										600
	atctgcaacg	tgaatcaca	gcccagcaac	accaaggtgg	acaagagagt	tgagcccaaa										660
	tcttgtgaca	aaactcacac	atgcccaccg	tgcccagcac	ctgaattcga	ggggggaccg										720

	tcagttcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccttgag	780
	gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactgggtac	840
	gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc	900
	acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag	960
	tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagcctcca tcgagaaaac catctccaaa	1020
	gccaaagggc agccccgaga accacaggtc tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg	1080
	accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc	1140
	gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg	1200
	gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag	1260
	caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag	1320
	aagagcttaa gcctgtctcc gggtaaa	1347
	<210> 64	
	<211> 651	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> "AM40_LC"	
	<400> 64	
	aattttatgc tgactcagcc ccactctgtg tcggagtctc cggggaagac ggtaaccatc	60
	tctgcaccc gcaccagtgg gaacattgcc ggctactttg tgcagtggta ccagcagcgc	120
	ccgggcagtt cccccaccac tgtgatctat gaggattacc aacgaccctc tggggtcctt	180
	gatcggttct ctggctccat cgacagctcc tccaactctg cctccctcac catctctgga	240
[0021]	ctgaagactg aggacgaggc tgactactat tgtcagtctt atgatgacta ccggcgggcg	300
	gcgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc ctaggtcagc ccaaggcggc gccctcggtc	360
	actctgttcc cgccctctc tgaggagctt caagccaaca aggccacact ggtgtgtctc	420
	ataagtgact tctacccggg agccgtgaca gtggcctgga aggcagatag cagccccgtc	480
	aaggcgggag tggagaccac cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgcgccagc	540
	agctacctga gcctgacgcc tgagcagtgg aagtcacaca gaagctacag ctgccaggtc	600
	acgcatgaag ggagcaccgt ggagaagaca gtggccctca cagaatgttc a	651
	<210> 65	
	<211> 449	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> "SC4017_HC"	
	<400> 65	
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser	
	1 5 10 15	
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr	
	20 25 30	
	Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
	35 40 45	
	Gly Thr Arg Pro Pro Thr Ser Arg Thr Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe	
	50 55 60	
	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Glu Ser Thr Ser Thr Gly 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	Ser	Asn	Asp	Phe	Val	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Arg	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	
				100					105					110		
Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
				115					120					125		
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	
				130					135					140		
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	
				145					150					155		
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
				165					170					175		
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	
				180					185					190		
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	
				195					200					205		
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	
				210					215					220		
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Glu	Gly	Gly	Pro	
				225					230					235		
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
				245					250					255		
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	
				260					265					270		
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
				275					280					285		
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
				290					295					300		
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
				305					310					315		
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Ser	Ile	Glu	Lys	
				325					330					335		
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	
				340					345					350		
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	
				355					360					365		
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	
				370					375					380		
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	
				385					390					395		
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	
				405					410					415		
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	
				420					425					430		
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
				435					440					445		

Lys

<210> 66

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> "SC4017_LC"

<400> 66

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys

1 5 10 15

Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Thr Ser Gly Trp Ile Ala Gly Tyr

20 25 30

Phe Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ser Pro Thr Thr Val

35 40 45

Ile Tyr Glu Asp Tyr Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly

65 70 75 80

Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Asp

85 90 95

Tyr Arg Arg Ala Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

[0023]

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu

115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe

130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val

145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys

165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser

180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu

195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 67

<211> 1486

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> "SC4017_HC"

<400> 67

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtaa ggggctcaca 60

gtagcaggct tgaagtctag acatatatat gggtgacaat gacateccact ttgcctttct 120

	ctccacaggt gtacactccc aggtgcagct ggtgcagtct ggggctgagg tgaagaagcc	180
	tgggtcctcg gtaaggtct cctgcaaggc ttctggaggc accttcagca gttatgtctt	240
	tagctgggtg cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggaacgc ggccgccgac	300
	ctcccgaca gcaagctacg cacagaaatt tcagggcaga gtcacgatta ccgtggacga	360
	atccacgagc acaggctaca tggagctgag cagcctgaga tctgaggaca cggccgtgta	420
	ttactgtgcg tcaaacgact tcgtgtacgg gagttatcgt ttctggggcc aagggaccac	480
	ggtcaccgtc tcctcagcgt cgaccaaggg cccatccgtc tccccctgg caccctctc	540
	caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga	600
	accggtgacg gtgtcctgga actcaggcgc tctgaccagc ggcgtgcaca ccttccccgc	660
	tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag	720
	cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga	780
	caagagagtt gagcccaaatt ctgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc	840
	tgaattcgag gggggaccgt cagtcttctt ctcccccca aaaccaagg acacctcat	900
	gatctcccg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga	960
	ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg	1020
	ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga	1080
	ctggctgaat ggcaaggagt acaagtcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcctccat	1140
	cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtct acacctgcc	1200
	cccatcccg gaggatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt	1260
	ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa	1320
	gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct ctctatagca agctcaccgt	1380
	ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct	1440
	gcacaaccac tacacgcaga agagcttaag cctgtctccg ggtaaa	1486
[0024]	<210> 68	
	<211> 651	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> "SC4017_LC"	
	<400> 68	
	aattttatgc tgactcagcc ccactctgtg tcggagtctc cggggaagac ggtaaccate	60
	tcctgcaccc gcaccagtgg gtggattgcc ggctactttg tgcagtggta ccagcagcgc	120
	ccgggcagtt cccccaccac tgtgatctat gaggattacc aacgaccctc tggggtccct	180
	gatcggttct ctggetccat cgacagctcc tccaactctg cctccctcac catctctgga	240
	ctgaagactg aggacgagc tgactactat tgtcagtctt atgatgacta ccggcgggcg	300
	gcgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc ctaggtcagc ccaaggcggc gccctcggtc	360
	actctgttcc cgccctctc tgaggagctt caagccaaca aggccacact ggtgtgtctc	420
	ataagtgact tctaccggg agccgtgaca gtggcctgga aggcagatag cagccccgtc	480
	aaggcgggag tggagaccac cacacctcc aaacaaagca acaacaagta cgcggccagc	540
	agctacctga gctgacgcc tgagcagtgg aagtcccaca gaagctacag ctgccaggtc	600
	acgcatgaag ggagcaccgt ggagaagaca gtggcccta cagaatgttc a	651
	<210> 69	
	<211> 449	
	<212> PRT	
	<213> 人工序列	
	<220>	

<223> "CAT5D9_HC"
 <400> 69
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Val Phe Arg Thr Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Glu Ser Ala Ser Thr Gly Tyr
 65 70 75 80
 Ile Glu Leu Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ser Asn Asn Tyr Val Trp Gly Ser Tyr Arg Phe Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 [0025] 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys

<210> 70
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "CAT5D9_LC"
 <400> 70

[0026]

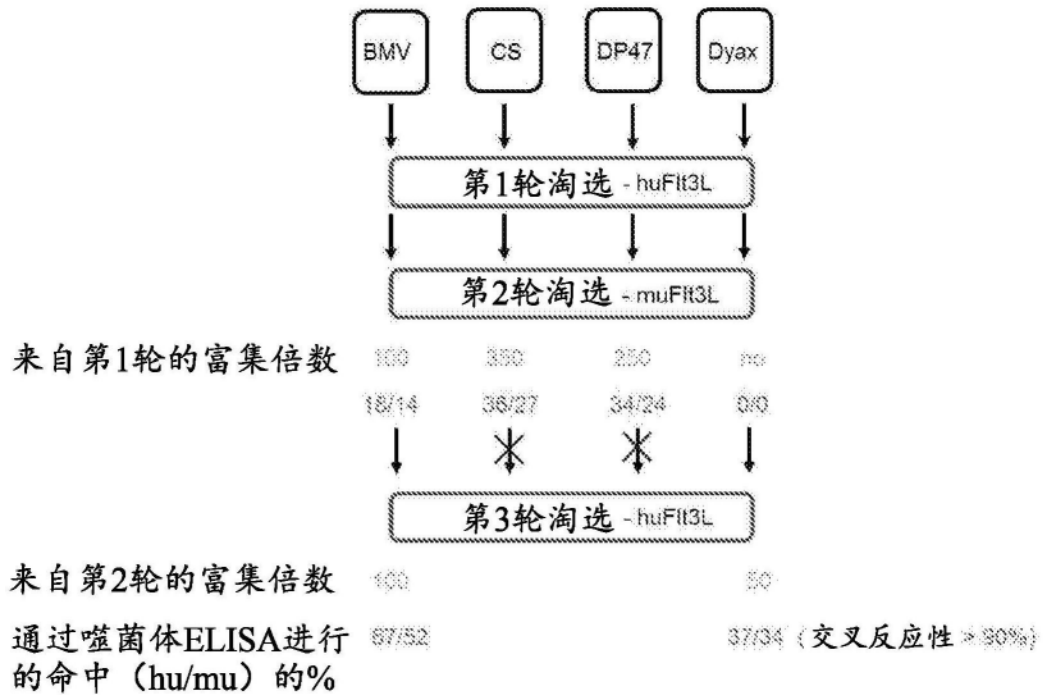
Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Thr Ser Gly Asn Ile Ala Gly Tyr
 20 25 30
 Phe Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ser Pro Thr Thr Val
 35 40 45
 Ile Tyr Glu Asp Tyr Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
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

	195	200	205
	Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser		
	210	215	
<210>	71		
<211>	1346		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	"CAT5D9_HC"		
<400>	71		
	agggtgcagct ggtgcagttct ggggctgagg tgaagaagcc tgggtcctcg gtgaaggctct	60	
	cctgcaaggc tcttgagggc accttcagca gttatgctct tagctgggtg cgacaggccc	120	
	ctggacaagg gcttgagtgg atgggaacgc ggccggcgac ctcccggaca gcaagctacg	180	
	cacagaaatt tcagggcaga gtcacgatta ccgtggacga atccacgagc acaggctaca	240	
	tggagctgag cagcctgaga tctgaggaca cgcccggtga ttactgtgcg tcaaacgact	300	
	tcgtgtacgg gaggttatcgt tcttggggcc aagggaaccac ggtcaccgtc tcctcagcgt	360	
	cgaccaaggg cccatccgtc tccccctgg caccctctc caagagcacc tctgggggca	420	
	cagcggccct gggtgctctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcctgga	480	
	actcaggcgc tctgaccagc ggctgacaca ctttccggc tgtcctacag tcctcaggac	540	
	tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca	600	
	tctgcaacgt gaatcacaa cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaa	660	
	cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaattcgag gggggaccgt	720	
	cagtcttctt cttccccca aaaccaagg acacctcat gatctcccg acccctgagg	780	
	tcacatgctg ggtggtggac gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc aactggtacg	840	
	tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaa ccaagccgc ggaggagcag tacaacagca	900	
	cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt	960	
	acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcctccat cgagaaaacc atctccaaag	1020	
	ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtct acacctgcc cccatcccg gaggagatga	1080	
	ccaagaacca ggtcagcctg acctgcttg tcaaaggett ctatccagc gacatcgccg	1140	
	tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccacgcct cccgtgctgg	1200	
	actccgacgg ctccttcttc ctctatagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc	1260	
	aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggtct gcacaaccac tacacgcaga	1320	
	agagcttaag cctgtctccg ggtaaa	1346	
<210>	72		
<211>	651		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	"CAT5D9_LC"		
<400>	72		
	aattttatgc tgactcagcc ccactctgtg tcggagtctc cggggaagac gggtaccatc	60	
	tcctgcaccc gcaccagtgg gaacattgcc ggctactttg tgcagtggta ccagcagcgc	120	
	ccgggcagtt cccccaccac tgtgatctat gaggattacc aacgacctc tggggctcct	180	
	gatcggttct ctggctccat cgacaggtcc tccaactctg cctccctcac catctctgga	240	
	ctgaagcctg acgacgagc tgactactat tgtcagttt atgatgacac ctctcaaggt	300	
	gtgttcggcg cagggaacaa ggtcaccgtc ctaggtcagc ccaaggcggc gccctcggtc	360	

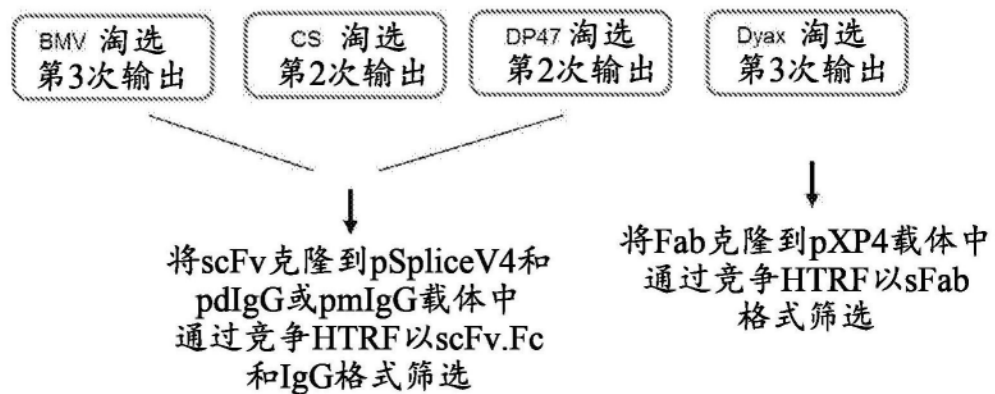
[0027]

	actctgttcc cgcctcctc tgaggagctt caagccaaca aggccacact ggtgtgtctc	420
	ataagtgact tctaccggg agcctgaca gtggcctgga aggcagatag cagecccgtc	480
[0028]	aaggcgggag tggagaccac cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgcggccagc	540
	agctacctga gcctgacgcc tgagcagtgg aagteccaca gaagctacag ctgccaggtc	600
	acgcatgaag ggagcaccgt ggagaagaca gtggccccta cagaatgttc a	651

A.



B.



C.

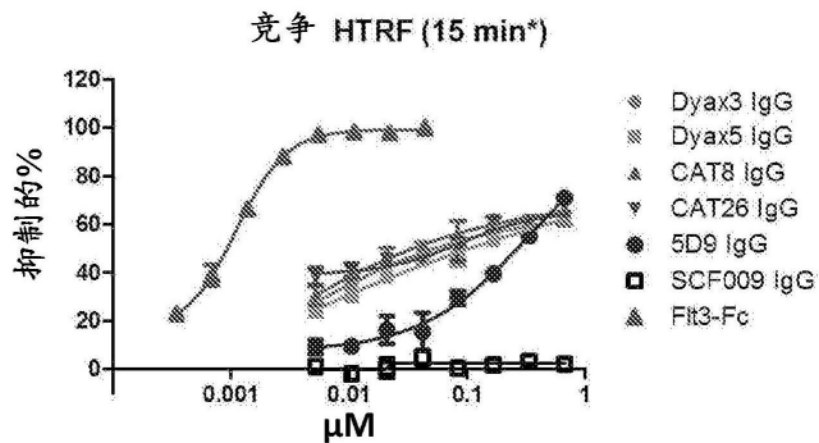
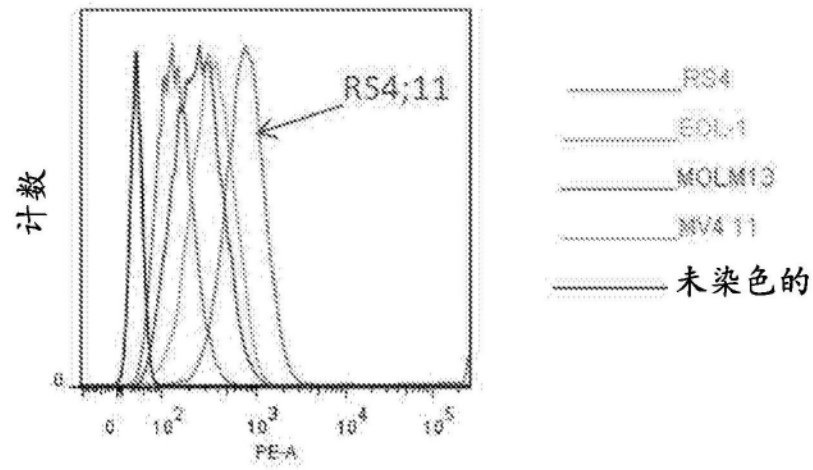
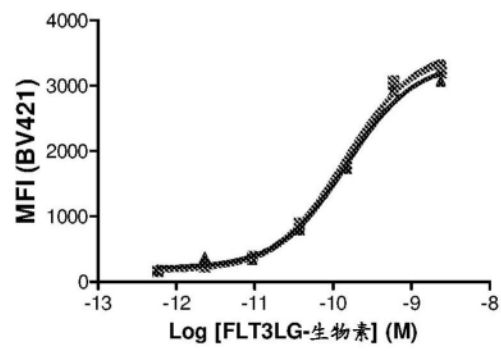


图1

A.



B.



C.

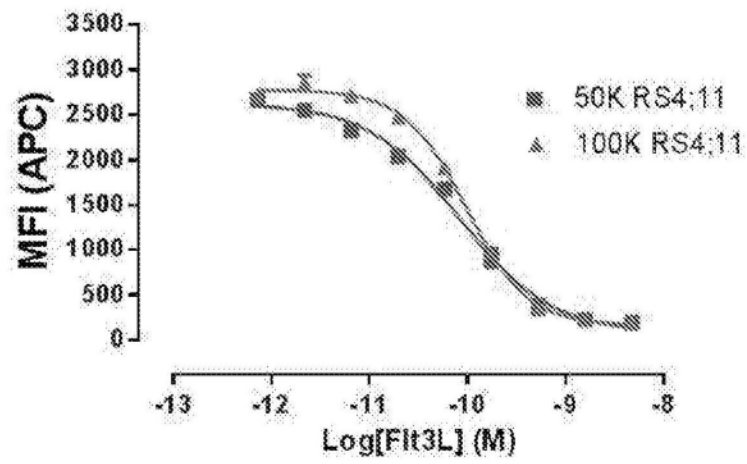


图2

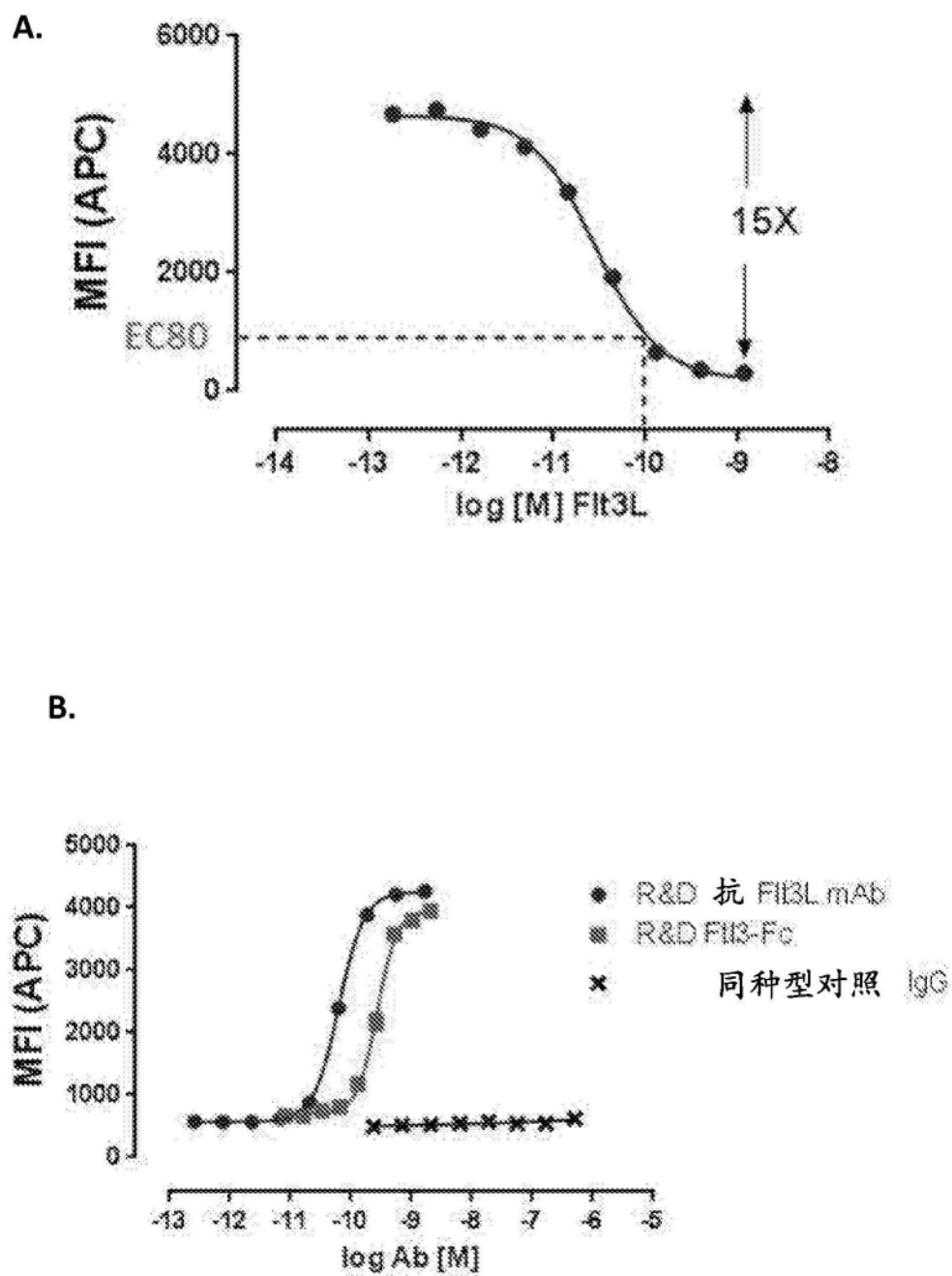
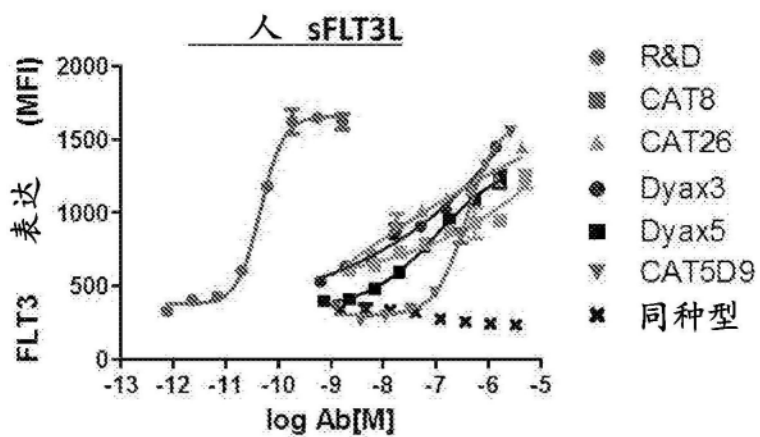
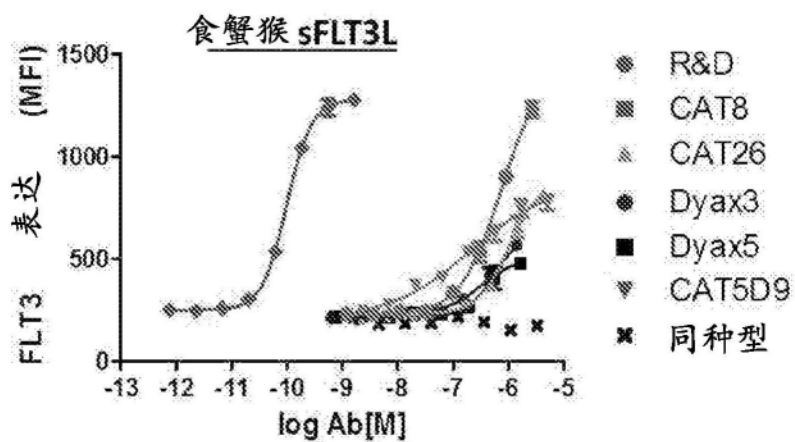


图3

A.



B.



C.

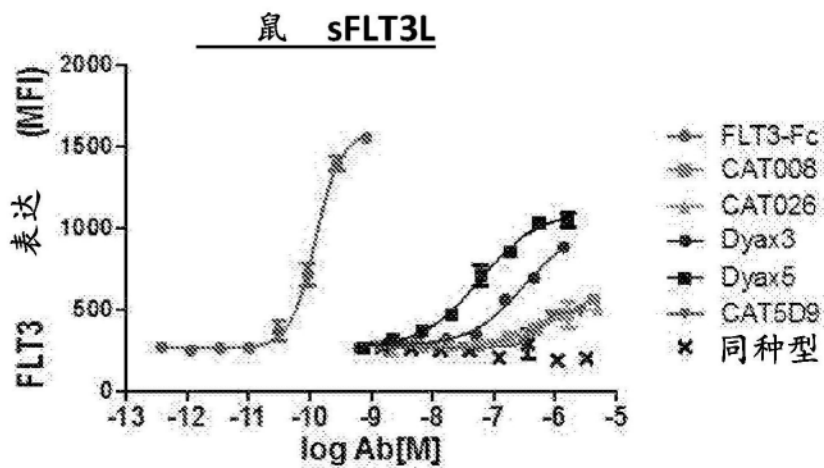


图4

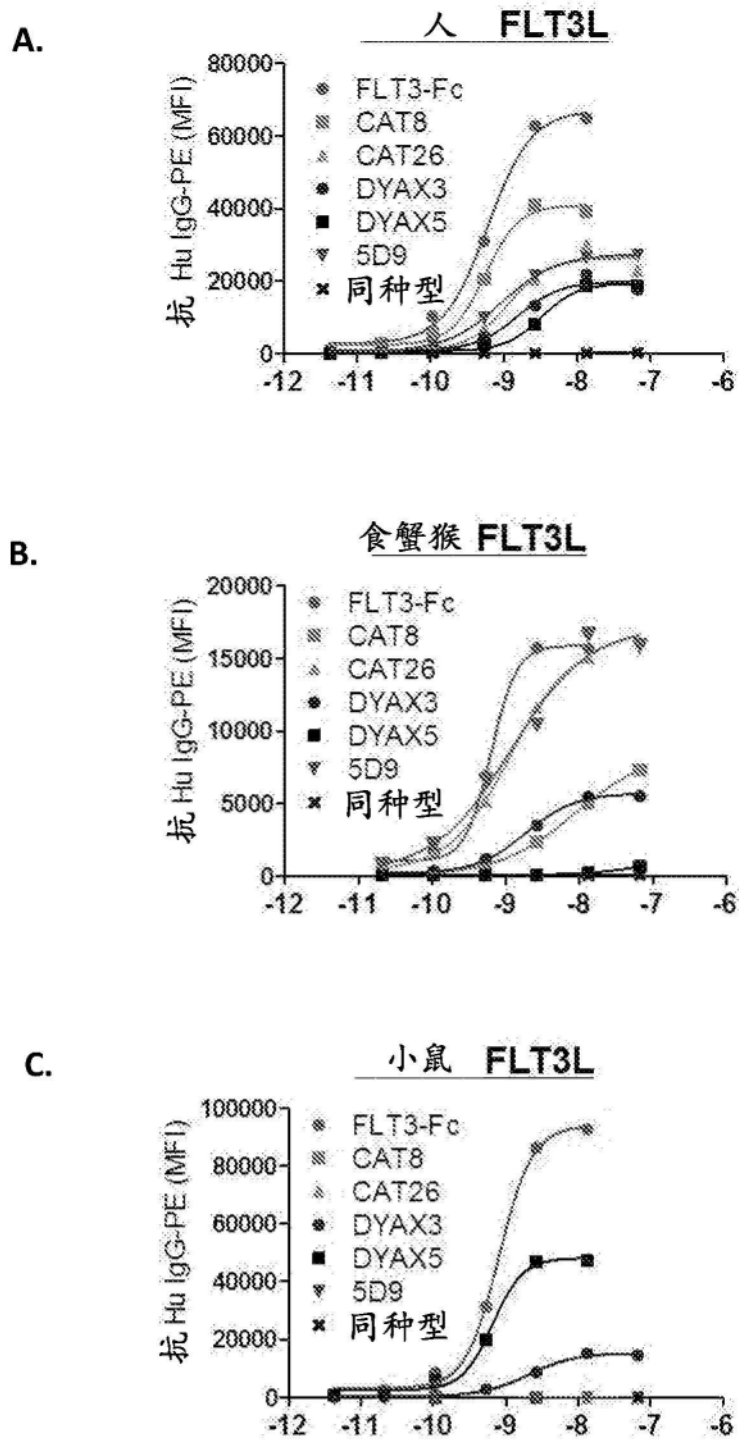


图5

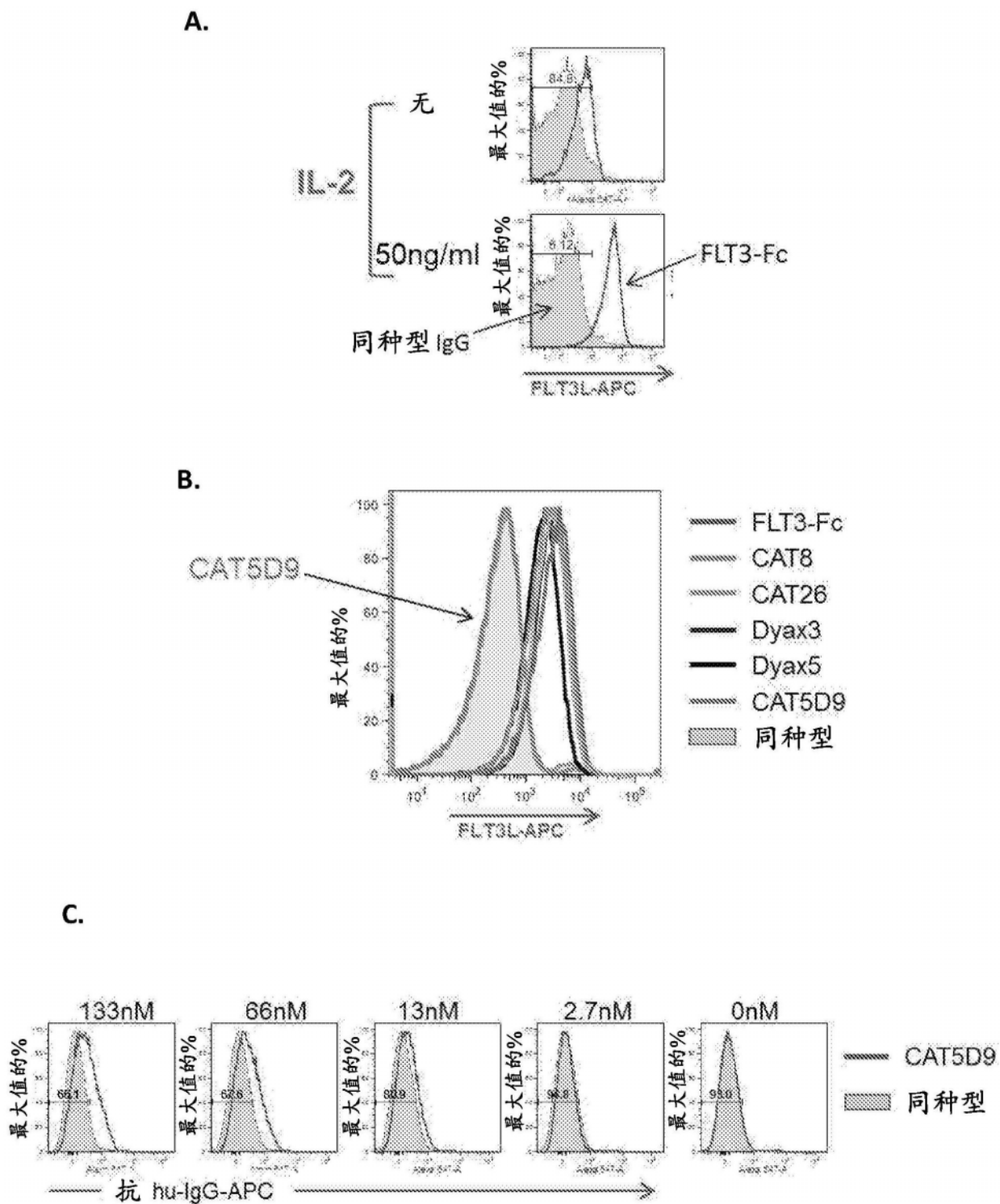
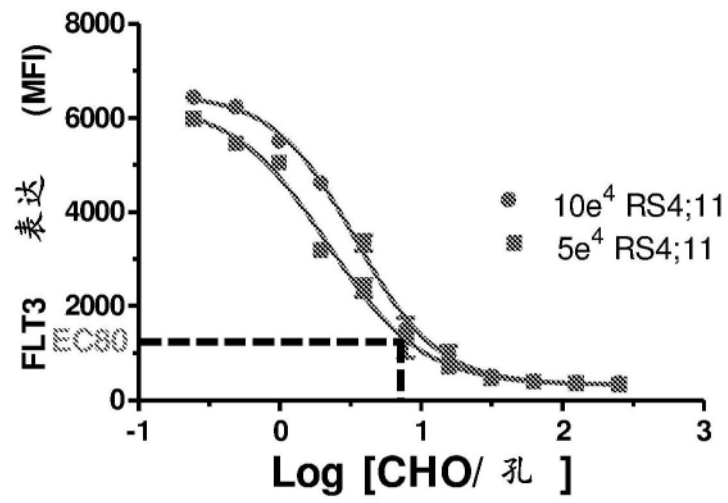


图6

A.



B.

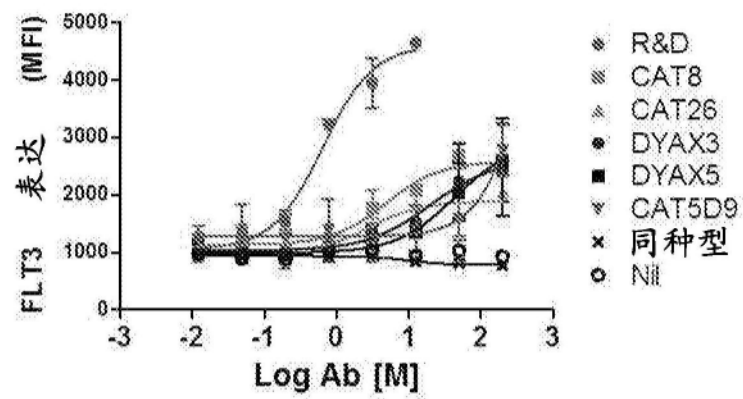
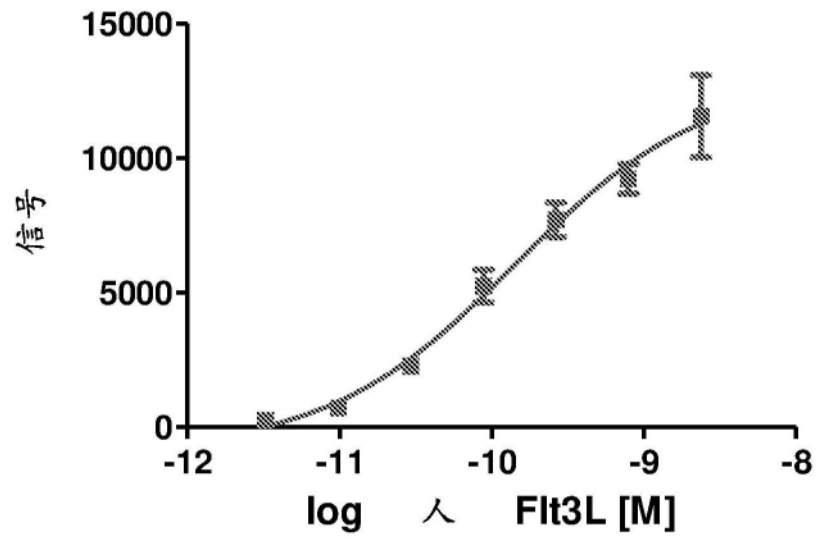


图7

A.

通过FLT3L活化ERK



B.

通过商业抗体中和476 pM FLT3L

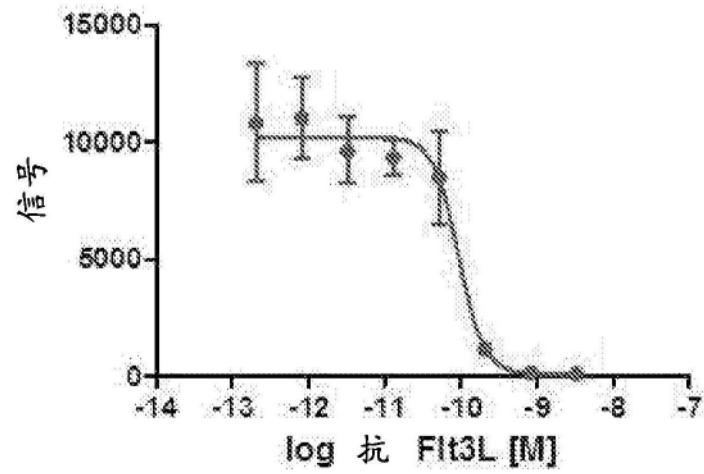


图8

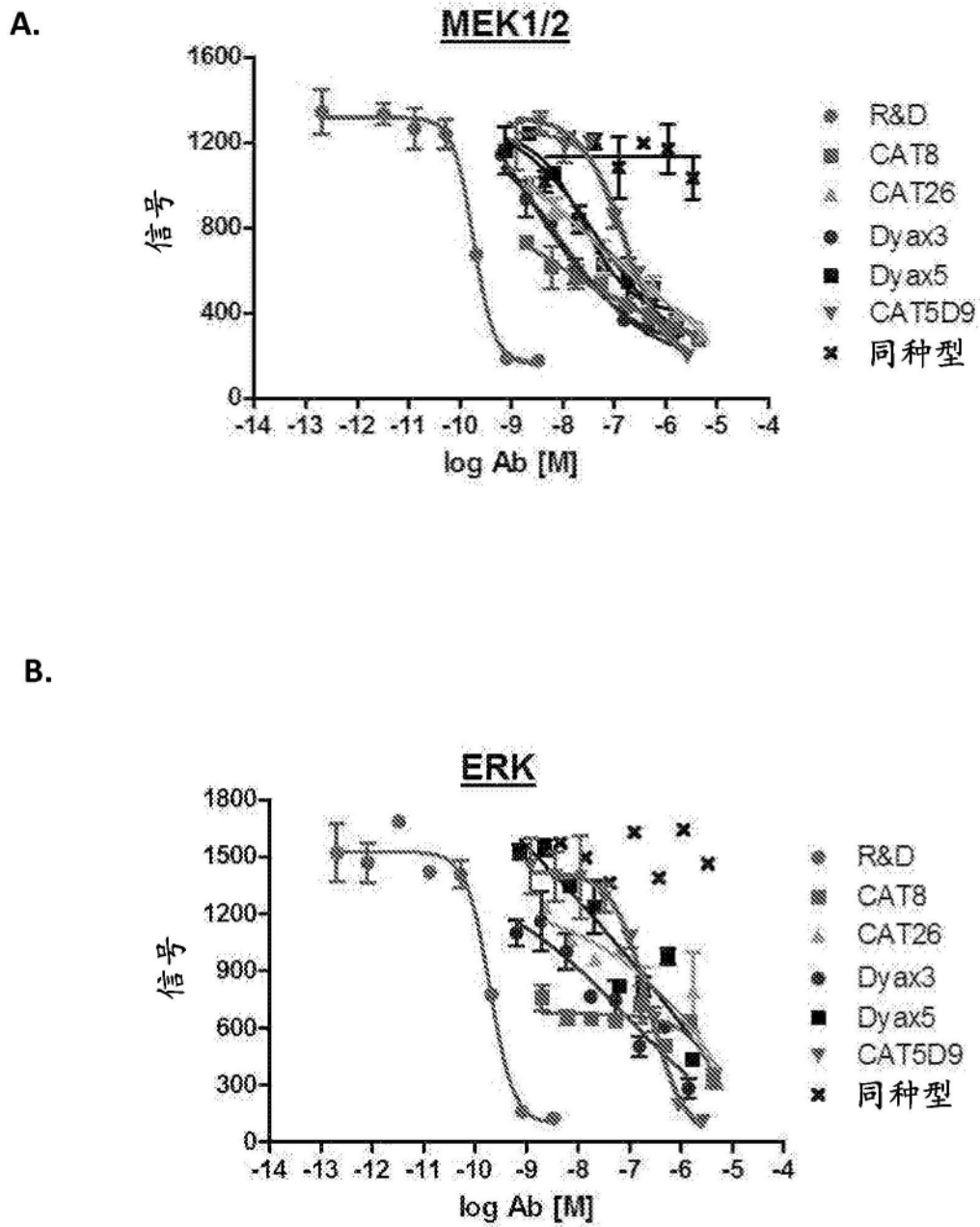
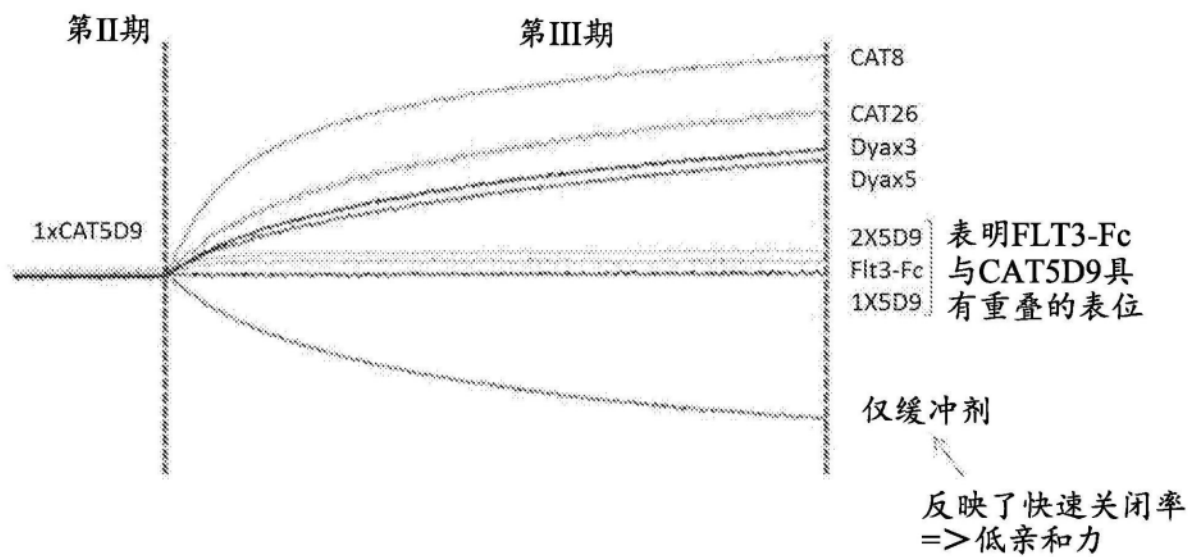


图9

A.



B.

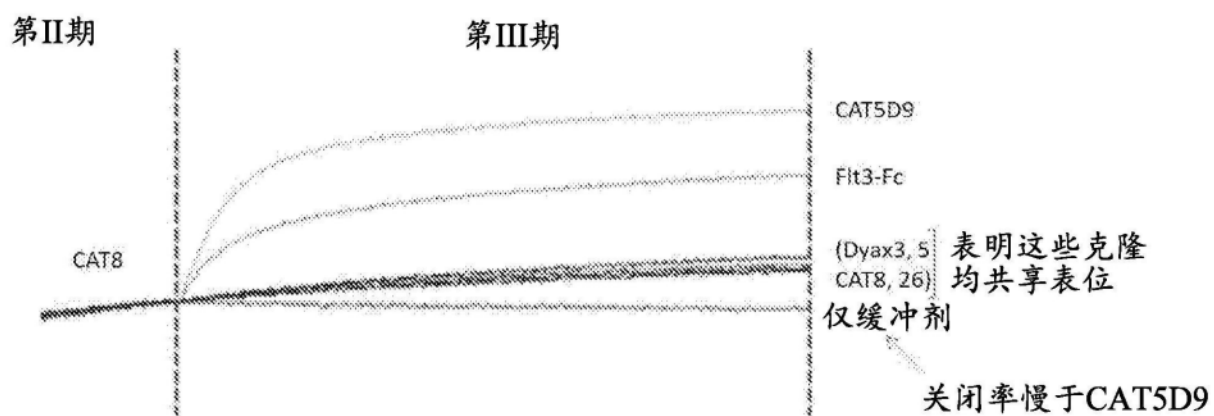
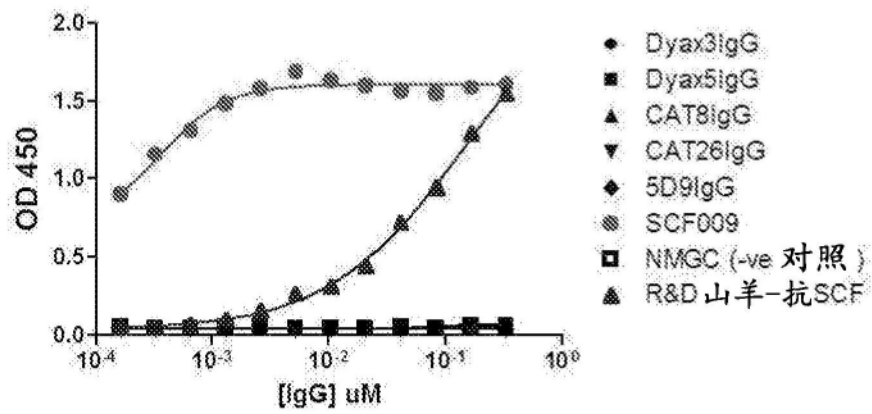


图10

A.

抗Flt3L先导物不结合huSCF



B.

抗Flt3L先导物不结合huCSF

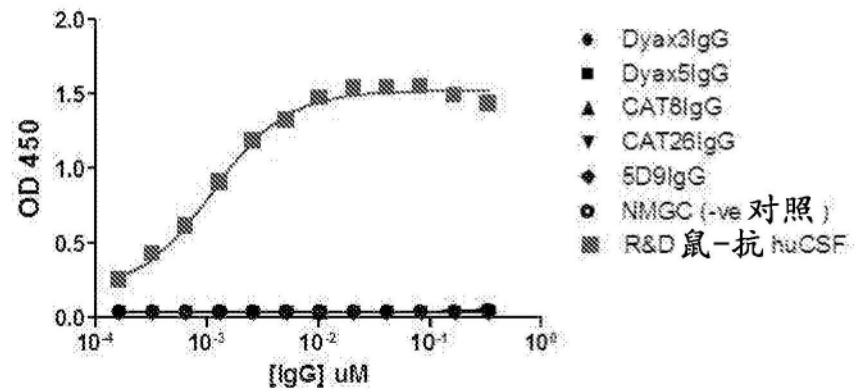


图11

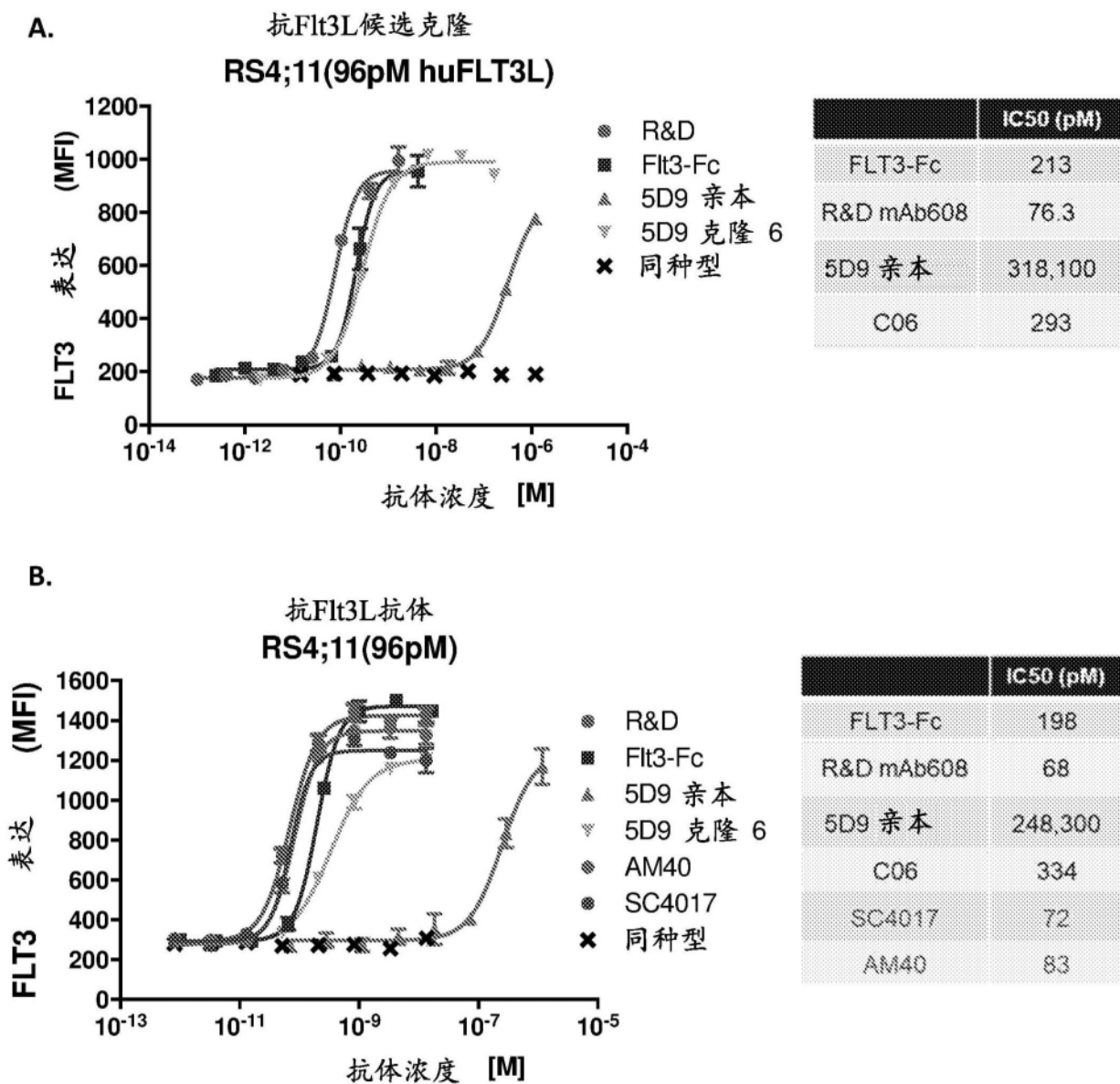
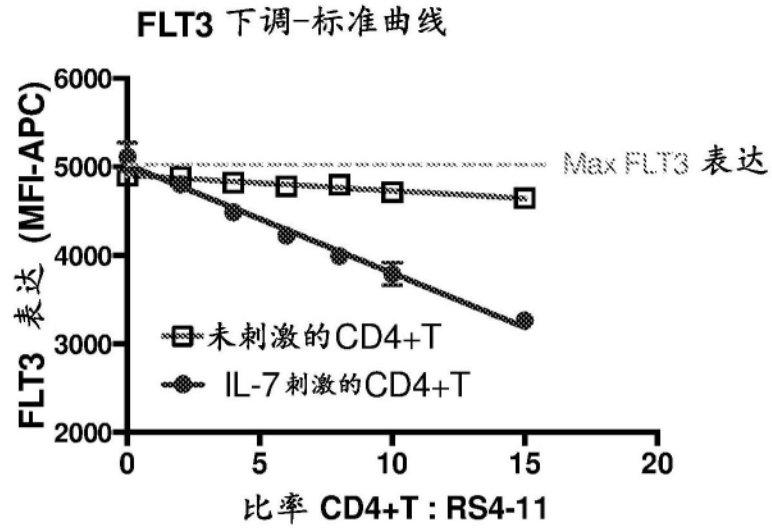


图12

A.



B.

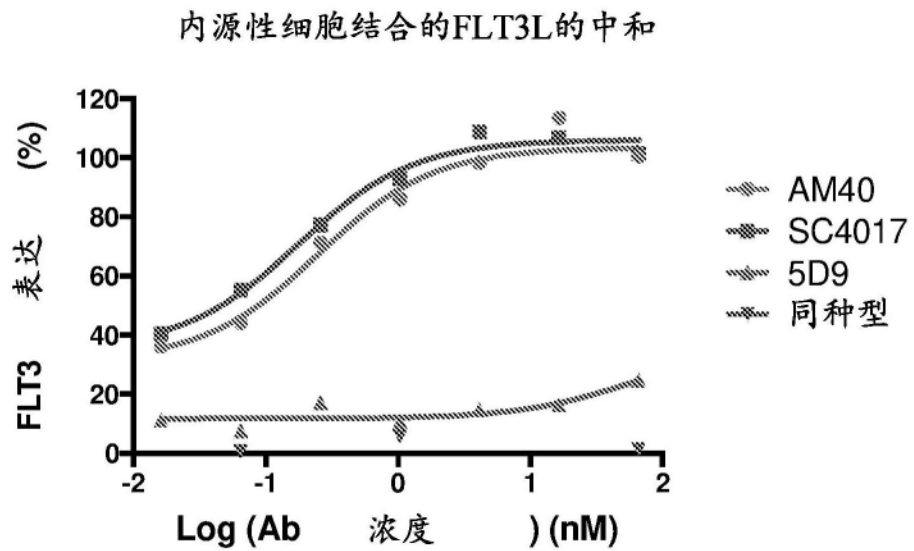


图13

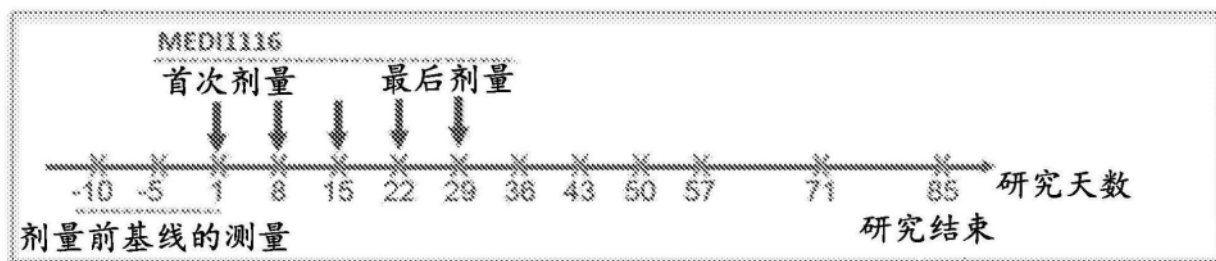
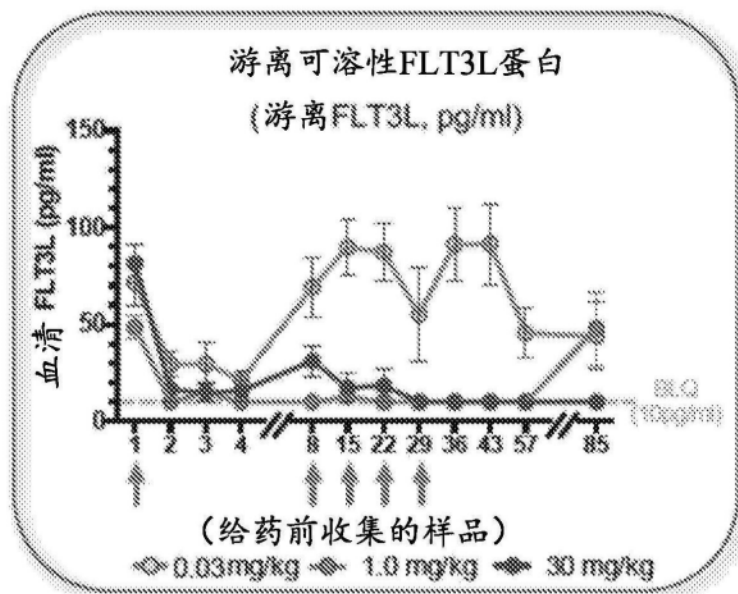


图14

A.



B.

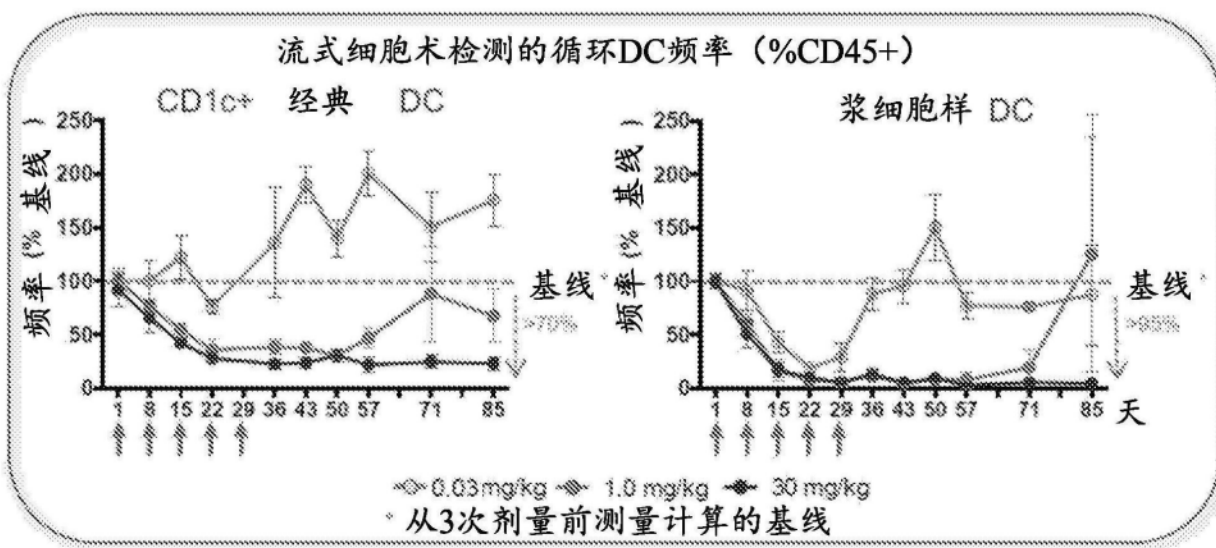


图15

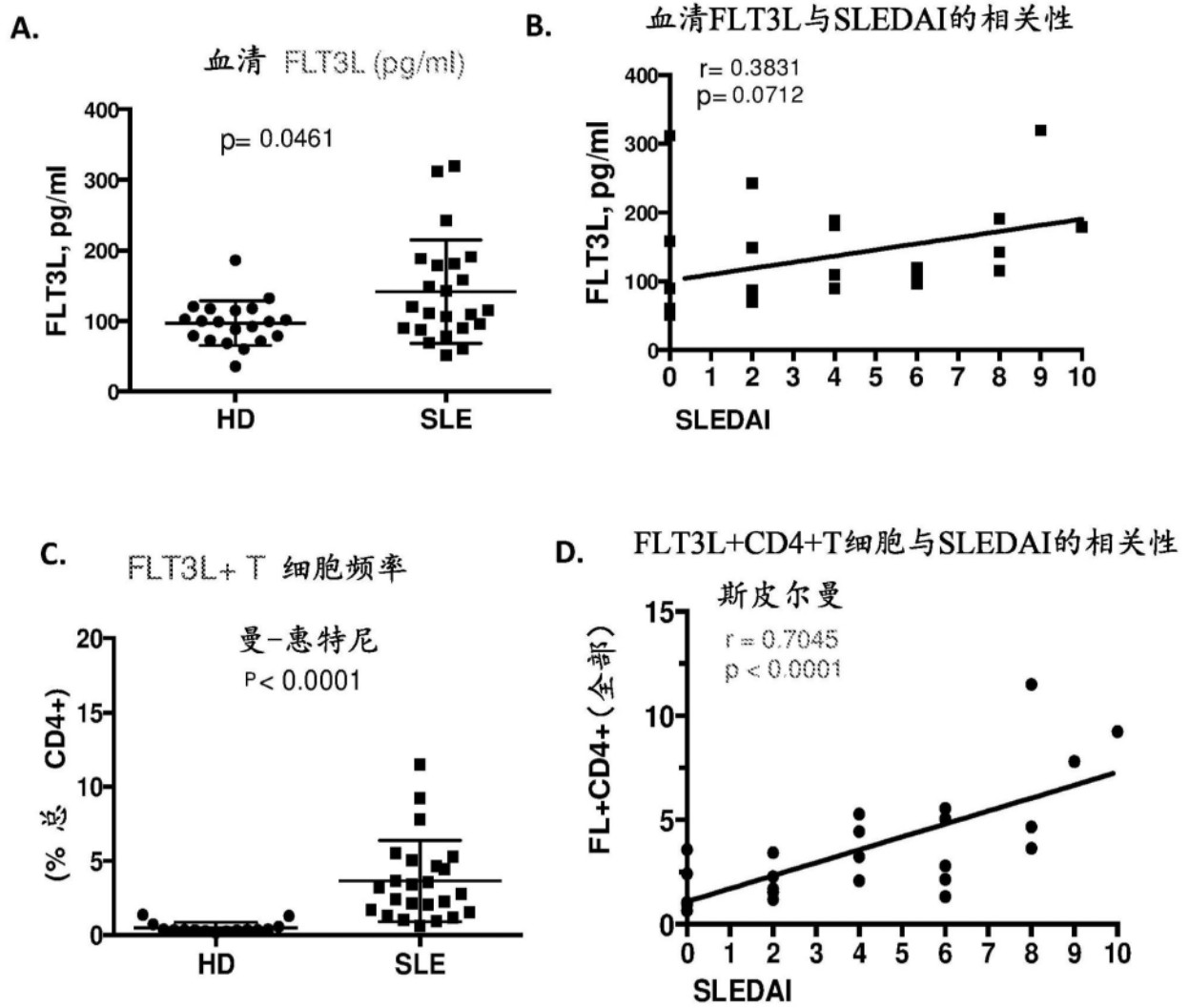


图16

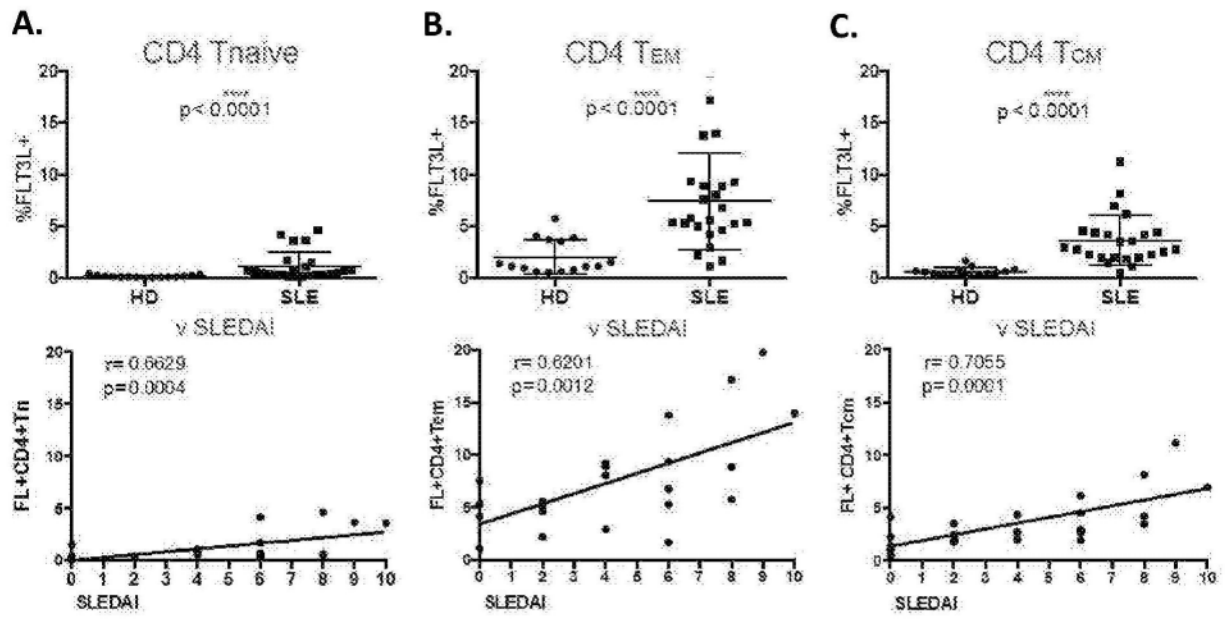


图17

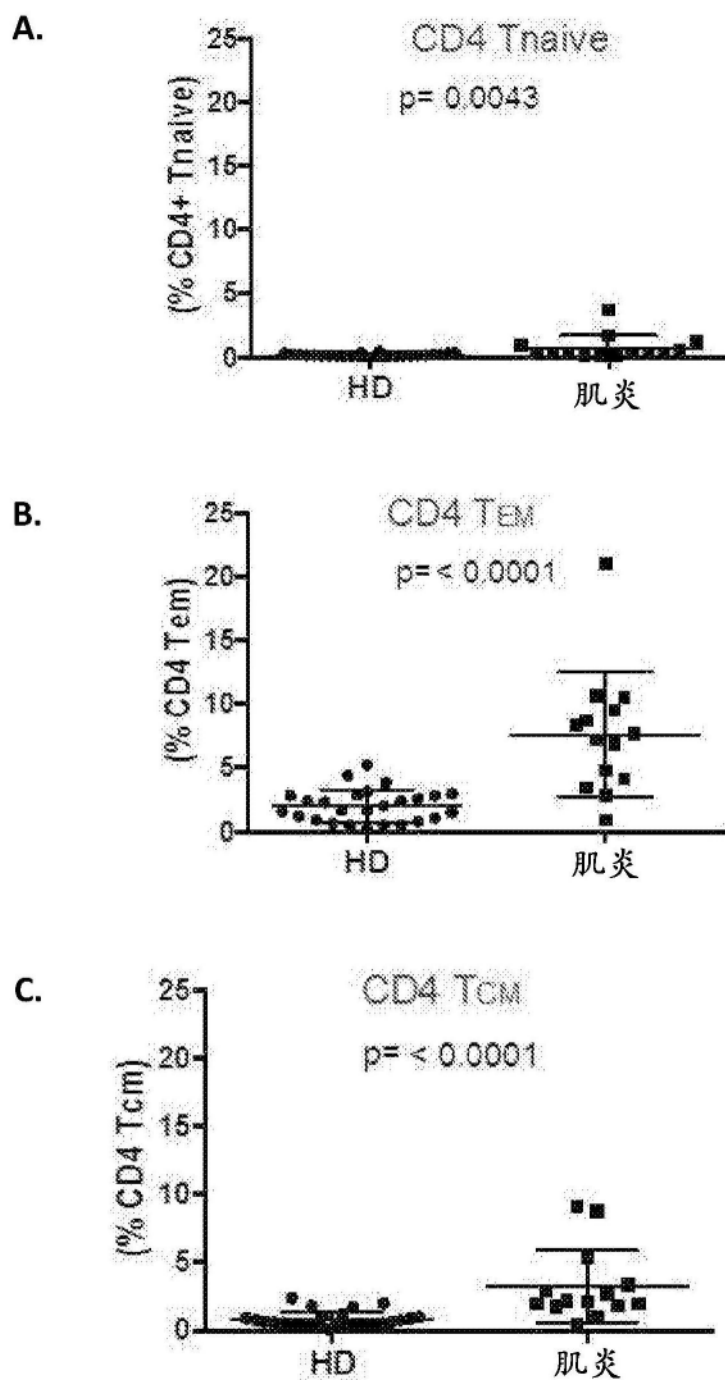
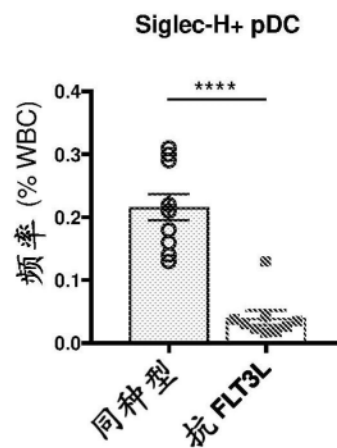
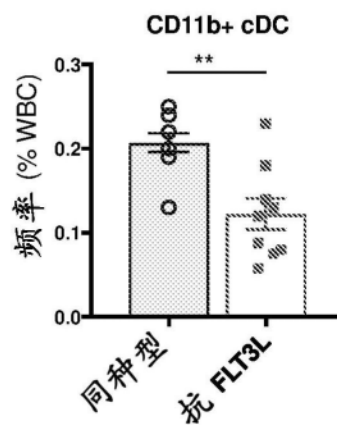


图18

A.



B.



C.

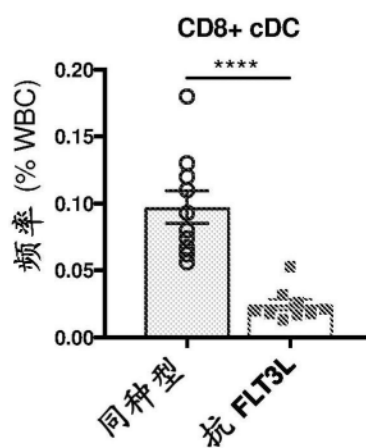
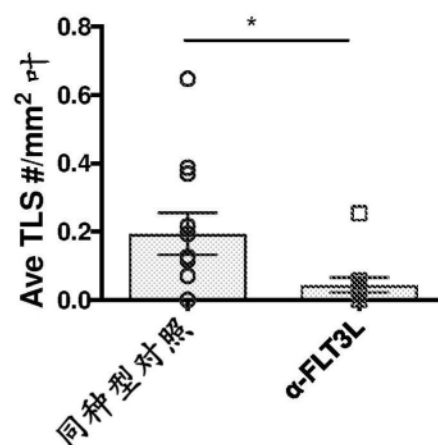


图20

A.

SG 病理学评分-治疗性

**B.**

SG 病理学评分-预防性

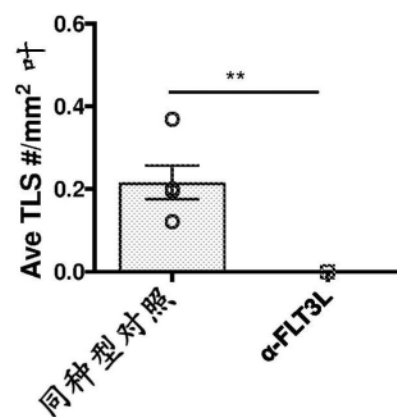


图21

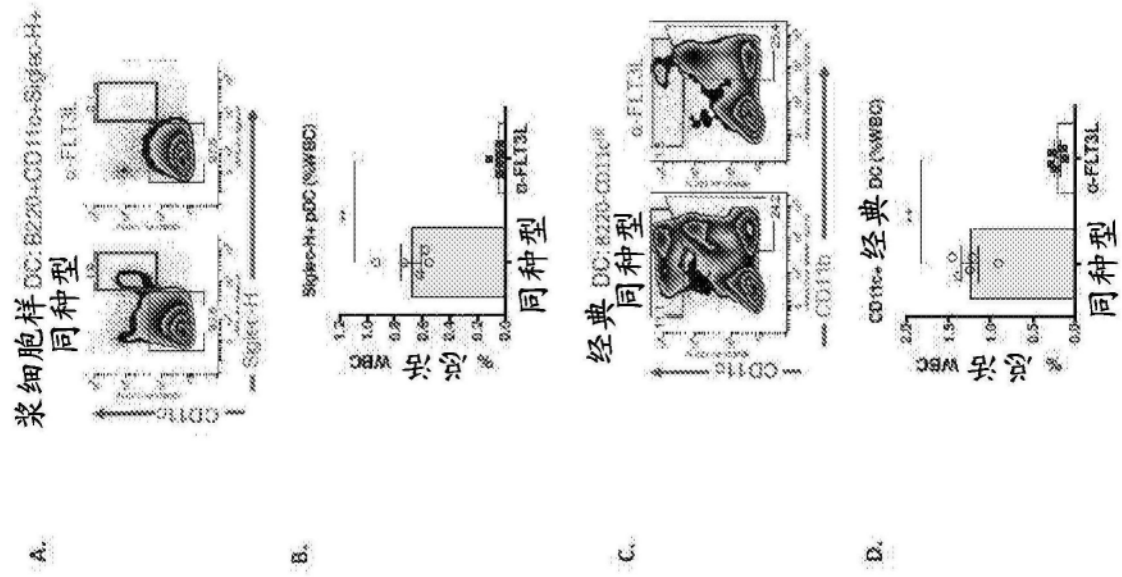


图22

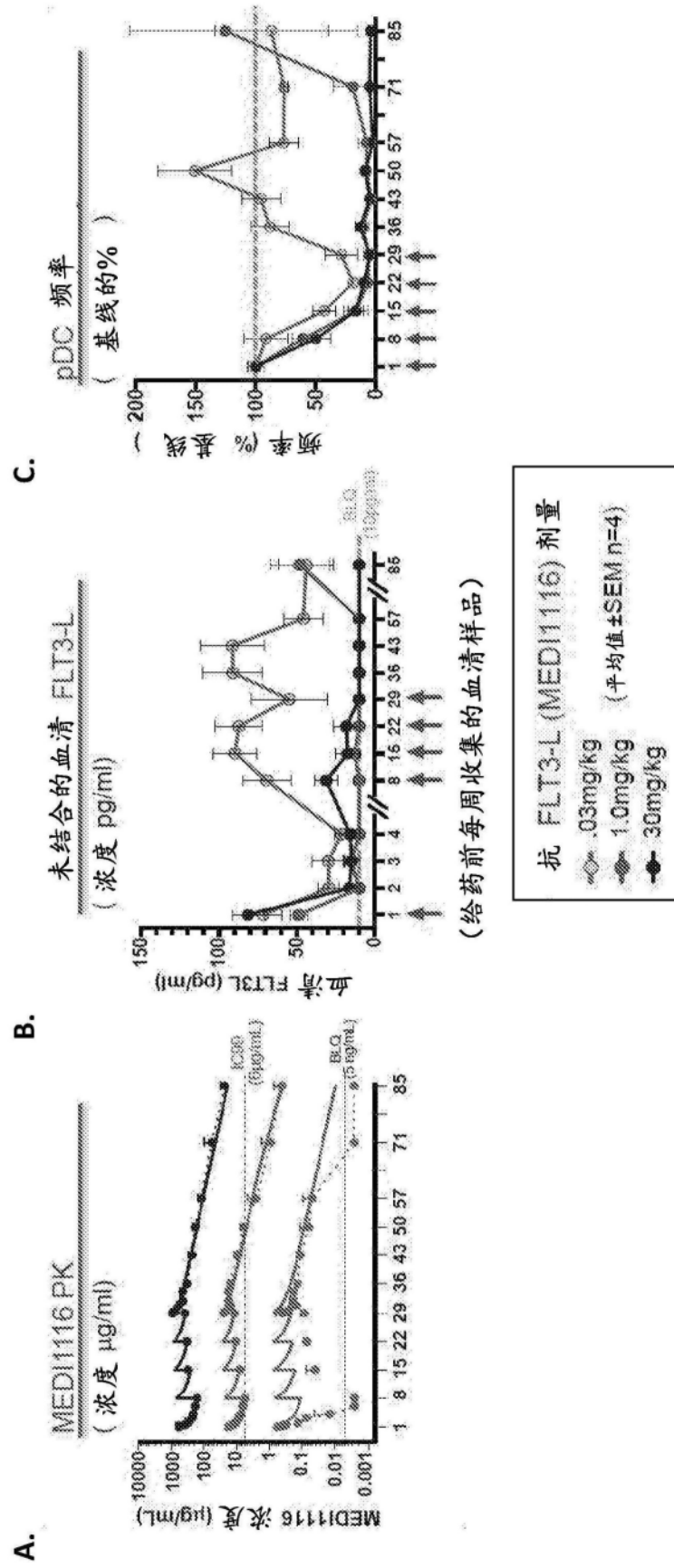
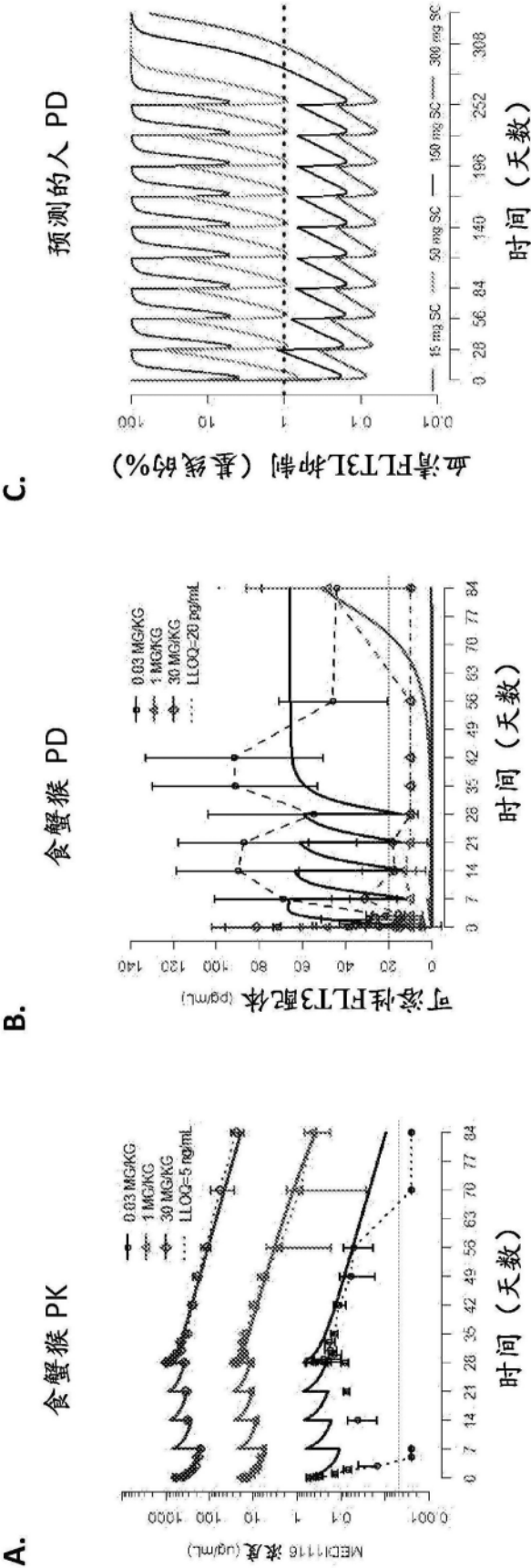


图23



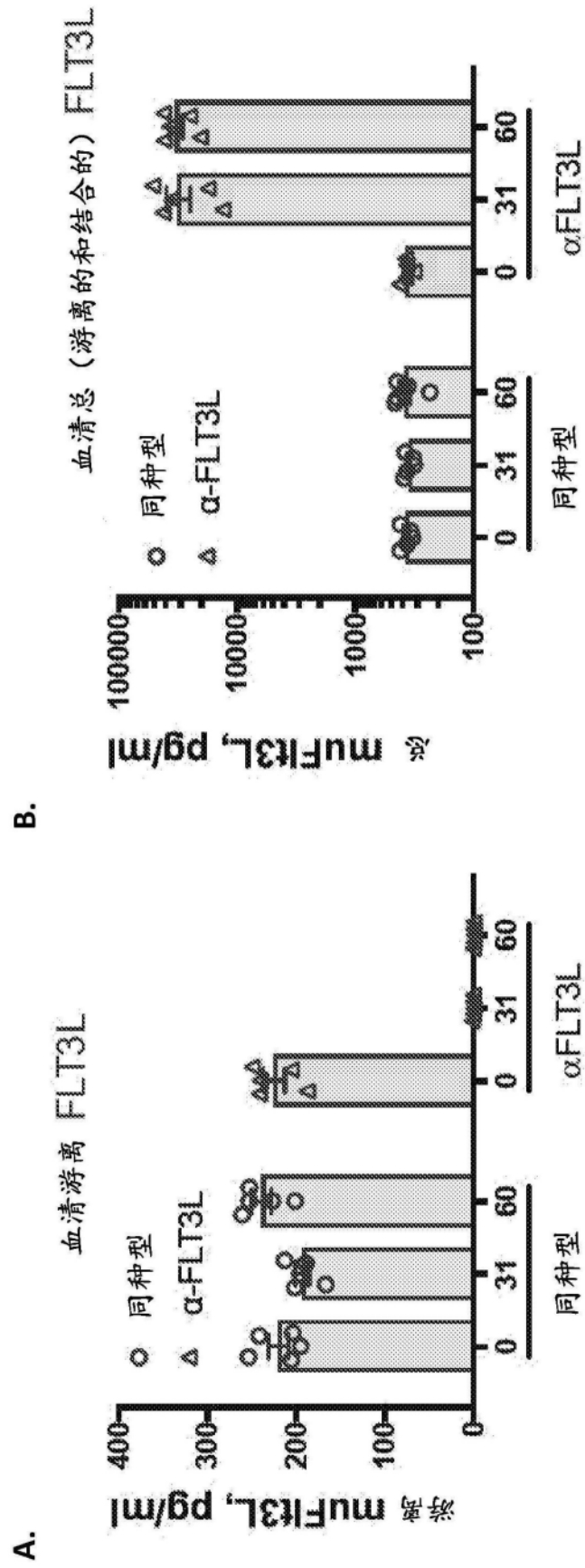


图25

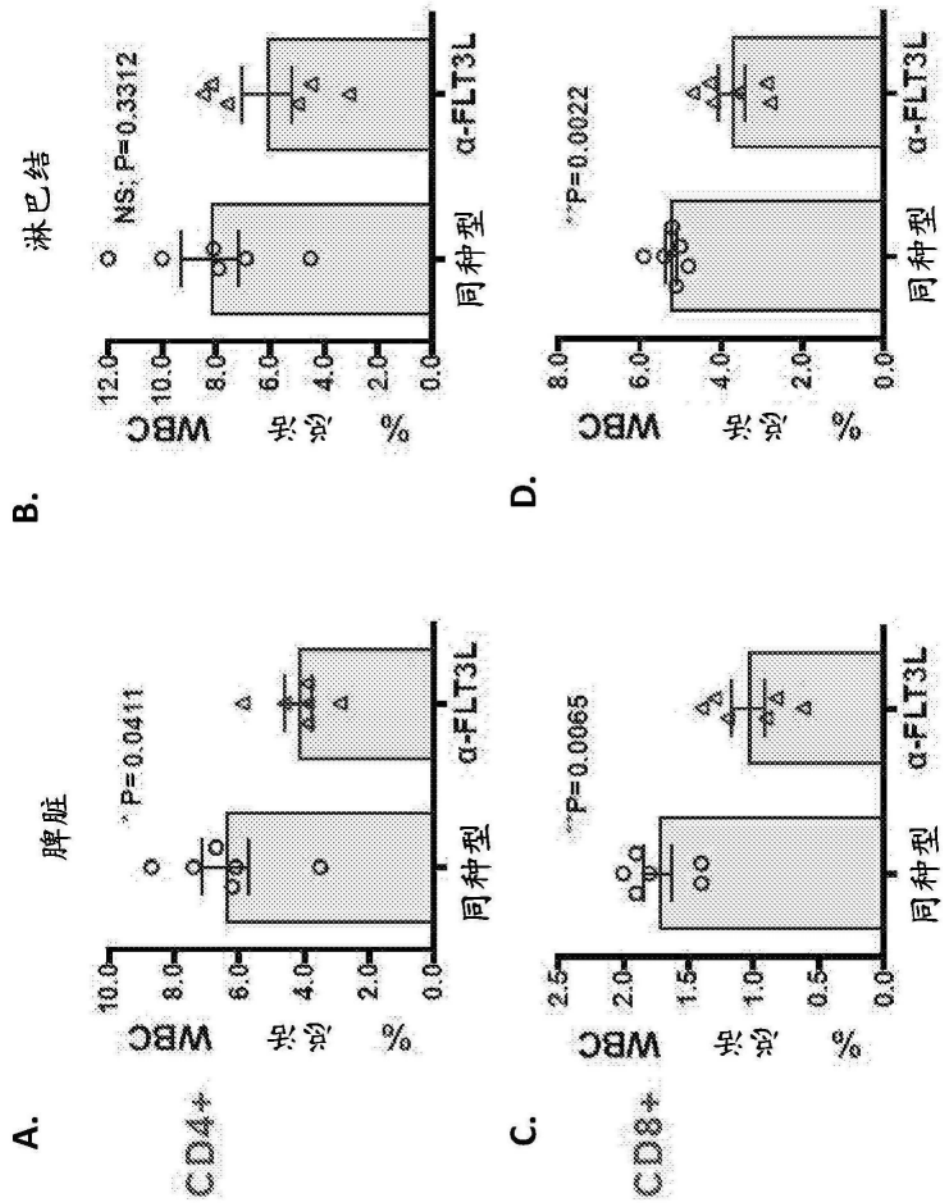


图26

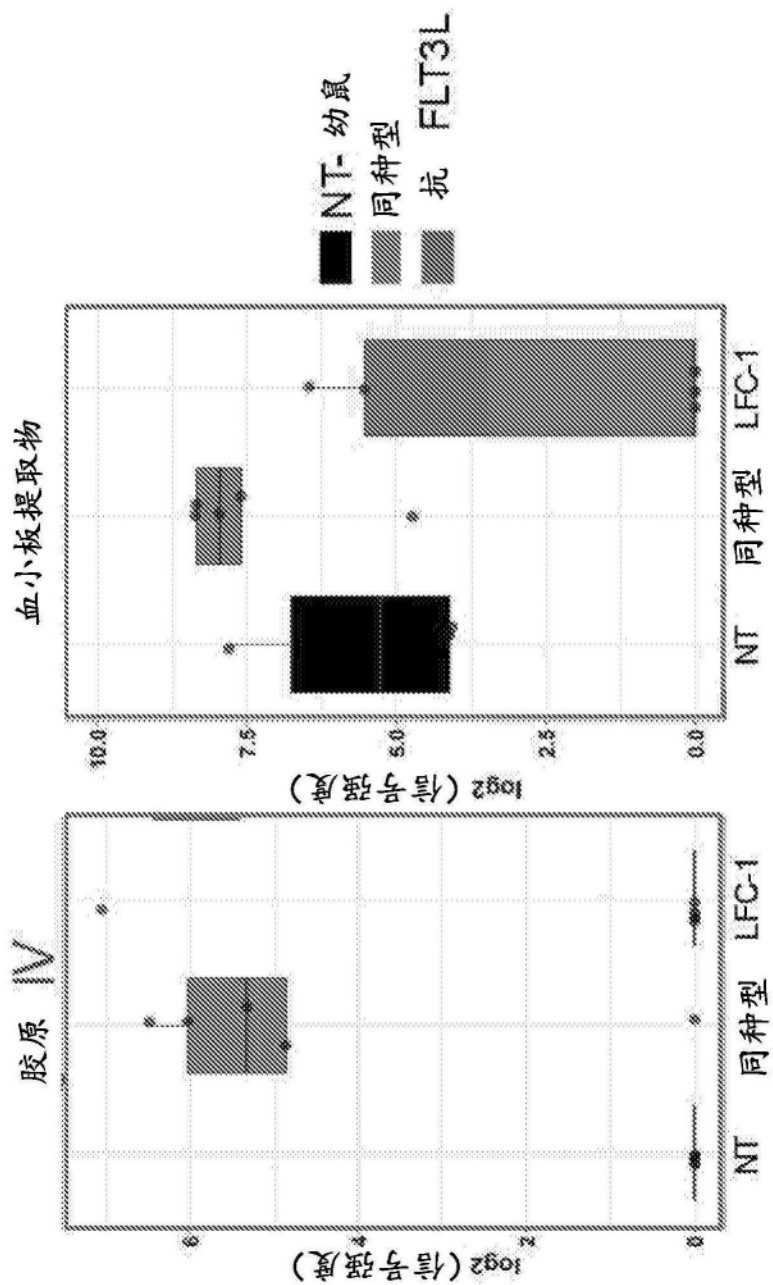


图27