(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116075525 A
(43)申请公布日 2023.05.05

(21)申请号 202180030998.8

(22)申请日 2021.03.30

(30)优先权数据
63/003,070 2020.03.31 US
63/165,592 2021.03.24 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.10.26

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/024970 2021.03.30

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/202590 EN 2021.10.07

(71)申请人 艾莱克特有限责任公司
地址 美国加利福尼亚

(72)发明人 M·库尔内拉斯 S·V·萨拉扎尔 M·罗尔 A·G·伊 S-J·李 T·施瓦贝 M·查彭 W·F·埃斯塔希奥 A·罗森斯奥

(74)专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所有限公司 11038
专利代理师 陈晓娜

(51)Int.Cl.
C07K 16/18(2006.01)

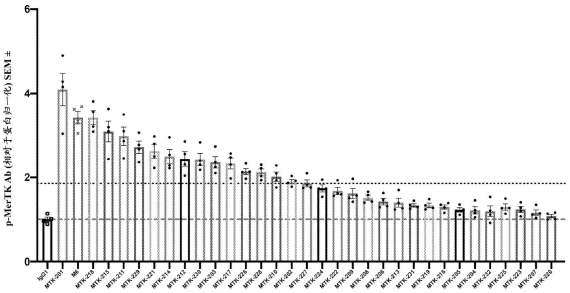
权利要求书5页 说明书83页
序列表89页 附图6页

(54)发明名称

抗MERTK抗体及其使用方法

(57)摘要

本公开总体上涉及特异性地结合MerTK多肽例如哺乳动物MerTK或人MerTK的抗体，例如单克隆抗体、抗体片段等，以及此类组合物在预防、降低风险或治疗有需要的个体的疾病或病症中的用途。



CN 116075525 A

1.一种结合至人Mer酪氨酸激酶(MerTK)的分离的抗体,其中所述抗体不使胞葬作用减少超过40%。

2.一种结合至人MerTK的分离的抗体,其中所述抗体不降低ProS与MerTK的结合。

3.一种结合至人MerTK的分离的抗体,其中所述抗体不降低Gas6与MerTK的结合。

4.一种结合至人MerTK的分离的抗体,其中所述抗体增加吞噬细胞的吞噬作用。

5.一种结合至人MerTK的分离的抗体,其中所述抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区包含:

a)包含选自由SEQ ID NO:213、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、214和224组成的组的氨基酸序列的HVR-H1;

b)包含选自由SEQ ID NO:215、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、216和225组成的组的氨基酸序列的HVR-H2;和

c)包含选自由SEQ ID NO:217、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、218和226组成的组的氨基酸序列的HVR-H3;并且

其中所述轻链可变区包含:

d)包含选自由SEQ ID NO:147、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162和220组成的组的氨基酸序列的HVR-L1;

e)包含选自由SEQ ID NO:172、163、164、165、166、167、168、169、170、171、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184和227组成的组的氨基酸序列的HVR-L2;和

f)包含选自由SEQ ID NO:196、185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、219、221和228组成的组的氨基酸序列的HVR-L3;

任选地其中所述抗体包含有包含以下氨基酸序列的HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3:

(i)分别地,SEQ ID NO:213、215、217、156、180和219;

(ii)分别地,SEQ ID NO:64、82、111、138、164、186;

(iii)分别地,SEQ ID NO:65、83、112、139、165、187;

(iv)分别地,SEQ ID NO:66、84、113、138、164、188;

(v)分别地,SEQ ID NO:224、225、226、146、227和228;

(vi)分别地,SEQ ID NO:67、85、114、140、166和189;

(vii)分别地,SEQ ID NO:68、86、115、141、167和190;

(viii)分别地,SEQ ID NO:65、87、116、142、168和191;

(ix)分别地,SEQ ID NO:69、88、117、143、169和192;

(x)分别地,SEQ ID NO:70、89、118、144、163和193;

(xi)分别地,SEQ ID NO:71、90、119、145、170、194;

(xii)分别地,SEQ ID NO:72、91、120、146、171、195;

(xiii)分别地,SEQ ID NO:73、92、121、147、172、196;

(xiv)分别地,SEQ ID NO:65、93、122、148、173、197;

(xv)分别地,SEQ ID NO:66、94、123、149、174、198;

(xvi)分别地,SEQ ID NO:66、95、124、150、164、188;

(xvii)分别地,SEQ ID NO:73、96、125、151、175和199;

(xviii)分别地,SEQ ID NO:74、97、126、152、176和200;

(xix)分别地,SEQ ID NO:71、98、127、153、177和201;

(xx)分别地,SEQ ID NO:66、99、128、138、164和188;

(xxi)分别地,SEQ ID NO:75、100、129、154、178和202;

(xxii)分别地,SEQ ID NO:71、101、130、155、179和201;

(xxiii)分别地,SEQ ID NO:76、102、131、155、179、201;

(xxiv)分别地,SEQ ID NO:77、103、132、157、181和204;

(xxv)分别地,SEQ ID NO:78、104、133、158、182和205;

(xxvi)分别地,SEQ ID NO:74、105、126、159、176和200;

(xxvii)分别地,SEQ ID NO:79、106、134、160、183和206;

(xxviii)分别地,SEQ ID NO:74、107、126、161、176和200;

(xxix)分别地,SEQ ID NO:70、108、135、144、170和207;

(xxx)分别地,SEQ ID NO:80、109、136、162、184和208;

(xxxi)分别地,SEQ ID NO:63、81、110、137、163和185;或

(xxxii)分别地,SEQ ID NO:214、216、218、220、172和221。

6.一种结合至人MerTK的分离的抗体,其中所述抗体包含MTK-231、MTK-201、MTK-202、MTK-203、MTK-204、MTK-205、MTK-206、MTK-207、MTK-208、MTK-209、MTK-210、MTK-211、MTK-212、MTK-213、MTK-214、MTK-215、MTK-216、MTK-217、MTK-218、MTK-219、MTK-220、MTK-221、MTK-222、MTK-223、MTK-224、MTK-225、MTK-226、MTK-227、MTK-228、MTK-229、MTK-230或MTK-232抗体的HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3序列。

7.如权利要求6所述的抗体,其中所述HVR是Kabat定义的HVR、Chothia定义的HVR或AbM定义的HVR。

8.如权利要求1-7中任一项所述的抗体,其中所述重链可变区包含选自由SEQ ID NO:209、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、210和222组成的组的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:209、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、210和222具有至少90%同一性的氨基酸序列。

9.如权利要求1-8中任一项所述的抗体,其中所述轻链可变区包含选自由SEQ ID NO:211、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、212和223组成的组的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:211、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、212和223具有至少90%同一性的氨基酸序列。

10.一种结合至人MerTk的分离的抗体,其中所述抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区包含选自由SEQ ID NO:209、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、210和222组成的组的氨基酸序列。

11.一种结合至人MerTk的分离的抗体，其中所述抗体包含重链可变区和轻链可变区，其中所述轻链可变区包含选自由SEQ ID NO:211、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、212和223组成的组的氨基酸序列。

12.如权利要求1-11中任一项所述的抗体，其中所述抗体包含有包含以下氨基酸序列的重链可变区和轻链可变区：分别地，SEQ ID NO:209和211；分别地，SEQ ID NO:5和34；分别地，SEQ ID NO:6和35；分别地，SEQ ID NO:7和36；分别地，；分别地，SEQ ID NO:8和37；分别地，SEQ ID NO:222和223；分别地，SEQ ID NO:9和38；分别地，SEQ ID NO:10和39；分别地，SEQ ID NO:11和40；分别地，SEQ ID NO:12和41；分别地，SEQ ID NO:13和42；分别地，SEQ ID NO:14和43；分别地，SEQ ID NO:15和44；分别地，SEQ ID NO:16和45；分别地，SEQ ID NO:17和46；分别地，SEQ ID NO:18和47；分别地，SEQ ID NO:19和48；分别地，SEQ ID NO:20和49；分别地，SEQ ID NO:21和50；分别地，SEQ ID NO:22和51；分别地，SEQ ID NO:23和52；分别地，SEQ ID NO:24和53；分别地，SEQ ID NO:25和54；分别地，SEQ ID NO:26和55；分别地，SEQ ID NO:27和56；分别地，SEQ ID NO:28和57；分别地，SEQ ID NO:29和58；分别地，SEQ ID NO:30和59；分别地，SEQ ID NO:31和60；分别地，SEQ ID NO:32和61；分别地，SEQ ID NO:33和62；以及分别地，SEQ ID NO:210和212。

13.一种结合至人MerTK的分离的抗体，其中所述抗体竞争性地抑制用于结合至人MerTK的权利要求1-12中任一项所述的抗体中的一者或多者的结合。

14.一种结合至人MerTK的分离的抗体，其中所述抗体结合MerTK上与用于结合至人MerTK的权利要求1-12中任一项所述的抗体相同、基本上相同或重叠的表位。

15.如权利要求2-14中任一项所述的抗体，其中所述抗体不使胞葬作用减少超过40％。

16.如权利要求1或15所述的抗体，其中所述抗体不使胞葬作用减少超过30％。

17.如权利要求1或15所述的抗体，其中所述抗体不使胞葬作用减少超过20％。

18.如权利要求1或15所述的抗体，其中所述抗体不使胞葬作用减少超过10％。

19.如权利要求1、3和4-18中任一项所述的抗体，其中所述抗体不阻断ProS与MerTK的结合，任选地其中所述抗体不使ProS与MerTK的结合减少超过30％、超过20％、超过10％或超过5％。

20.如权利要求1、2和4-19中任一项所述的抗体，其中所述抗体不阻断Gas6与MerTK的结合，任选地其中所述抗体不使Gas6与MerTK的结合减少超过30％、超过20％、超过10％或超过5％。

21.如权利要求1和3-18中任一项所述的抗体，其中所述抗体增加吞噬细胞的吞噬作用。

22.如权利要求4或21所述的抗体，其中所述抗体增加所述吞噬细胞对髓鞘的吞噬作用。

23.如权利要求4、21和22中任一项所述的抗体，其中所述吞噬细胞是巨噬细胞、树突细胞、小胶质细胞或视网膜色素上皮细胞。

24.如权利要求1-23中任一项所述的抗体，其中所述抗体不阻断ProS与MerTK的结合并且不阻断Gas6与MerTK的结合，任选地其中所述抗体不使Gas6或ProS与MerTK的结合减少超过30％、超过20％、超过10％或超过5％。

25.如权利要求1-24中任一项所述的抗体,其中所述抗体增加MerTK的磷酸化。

26.如权利要求25所述的抗体,其中所述抗体在Gas6不存在下增加MerTK的磷酸化。

27.如权利要求25或26所述的抗体,其中所述抗体在Gas6存在下增加MerTK的磷酸化。

28.如权利要求1-27中任一项所述的抗体,其中所述抗体增加蛋白激酶B(AKT)的磷酸化。

29.如权利要求1-28中任一项所述的抗体,其中所述抗体增加巨噬细胞中的单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)表达。

30.如权利要求29所述的抗体,其中所述抗体在ProS存在下增加巨噬细胞中的MCP-1表达。

31.如权利要求29或30所述的抗体,其中所述抗体在ProS不存在下增加巨噬细胞中的MCP-1表达。

32.如权利要求1-31中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合至MerTK的N末端结构域、Ig样结构域1、Ig样结构域2、III型纤连蛋白结构域1、III型纤连蛋白结构域2,和/或MerTK的近膜结构域。

33.如权利要求1-32中任一项所述的抗体,其中所述抗体结合至食蟹猴MerTK但不结合至鼠科动物MerTK,结合至鼠科动物MerTK但不结合至食蟹猴MerTK,或者结合至食蟹猴和鼠科动物MerTK。

34.如权利要求1-33中任一项所述的抗体,其中所述抗体以小于440nM、小于400nM、小于350nM、小于300nM、小于250nM、小于200nM、小于150nM、小于100nM或小于50nM的亲和力结合人MerTK。

35.如权利要求1-34中任一项所述的抗体,其中所述抗体在MerTK不存在下结合Gas6配体。

36.如权利要求1-35中任一项所述的抗体,其中所述抗体在MerTK不存在下结合ProS配体。

37.如权利要求1-36中任一项所述的抗体,其中所述抗体是鼠科动物抗体、人抗体、人源化抗体、双特异性抗体、单克隆抗体、多价抗体、缀合抗体或嵌合抗体。

38.如权利要求1-37中任一项所述的抗体,其中所述抗体属于IgG类、IgM类或IgA类。

39.如权利要求38所述的抗体,其中所述抗体属于IgG类并且具有IgG1、IgG2或IgG4同种型。

40.如权利要求1-39中任一项所述的抗体,其中所述抗体是全长抗体。

41.如权利要求1-39中任一项所述的抗体,其中所述抗体是抗体片段。

42.如权利要求41所述的抗体,其中所述片段是Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')2、Fv或scFv片段。

43.一种分离的核酸,所述分离的核酸包含编码权利要求1-42中任一项所述的抗体的核酸序列。

44.一种载体,所述载体包含权利要求43所述的核酸。

45.一种分离的宿主细胞,所述分离的宿主细胞包含权利要求43所述的核酸或权利要求44所述的载体。

46.一种分离的宿主细胞,所述分离的宿主细胞包含(i)包含编码权利要求1-42中任一

项所述的抗体的VH的核酸序列的核酸和(ii)包含编码所述抗MerTK抗体的VL的核酸序列的核酸。

47.一种产生结合至人MerTK的抗体的方法,所述方法包括培养权利要求45或46所述的细胞,使得产生所述抗体。

48.如权利要求47所述的方法,所述方法还包括回收由所述细胞产生的所述抗体。

49.一种抗体,所述抗体通过权利要求47或48所述的方法产生。

50.一种药物组合物,所述药物组合物包含权利要求1-42和49中任一项所述的抗体和药学上可接受的载剂。

51.一种预防、降低风险或治疗个体的自身免疫性病症的方法,所述方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的权利要求1-42和49中任一项所述的抗体或权利要求50所述的药物组合物。

52.如权利要求51所述的方法,其中所述自身免疫性病症是多发性硬化症。

53.一种预防、降低风险或治疗个体的视网膜神经节退行性病症或色素性视网膜炎的方法,所述方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的权利要求1-42和49中任一项所述的抗体或权利要求50所述的药物组合物。

54.一种预防、降低风险或治疗个体的视力丧失的方法,所述方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的权利要求1-42和49中任一项所述的抗体或权利要求50所述的药物组合物。

55.一种用于检测样品中的MerTk的方法,所述方法包括使所述样品与权利要求1-42和49中任一项所述的抗体接触。

56.一种增加吞噬作用的方法,所述方法包括使吞噬细胞与权利要求1-42和49中任一项所述的抗体或权利要求50所述的药物组合物接触。

57.如权利要求56所述的方法,其中对髓鞘的吞噬作用增加。

58.如权利要求56或57所述的方法,其中对光感受器外节段的吞噬作用增加。

59.如权利要求56-58中任一项所述的方法,其中所述接触在体外进行。

60.如权利要求56-58中任一项所述的方法,其中所述接触在有需要的个体的体内进行。

抗MERTK抗体及其使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2020年3月31日提交的美国临时申请第63/003,070号和2021年3月24日提交的美国临时申请第63/165,592号的优先权权益,所述申请各自以引用方式整体并入本文。

[0003] ASCII文本文件上的序列表的提交

[0004] ASCII文本文件上的以下提交的内容以引用方式整体并入本文:计算机可读形式(CRF)的序列表(文件名:4503_011PC02_SL_ST25.TXT,记录日期:2021年3月30日,大小:135,229字节)。

发明领域

[0005] 本公开涉及抗MerTK抗体,以及此类抗体的用途(例如,治疗性用途)。

[0006] 发明背景

[0007] Mer酪氨酸激酶(MerTK)属于受体酪氨酸激酶的TAM(Tyro3、Axl和MerTK)家族。MerTK是一种单程1型跨膜蛋白,其细胞外结构域具有两个免疫球蛋白(Ig)样基序和两个III型纤连蛋白(FN)基序(Graham等人,2014,Nat Rev Cancer,14:769-785;Rothlin等人,2015,Annu Rev Immunol,33:355-391)。

[0008] 已鉴定了MerTK的若干配体,包括蛋白S(ProS或ProS1)、生长停滞特异性基因6(Gas6)、Tubby、Tubby样蛋白1(TULP-1)和半乳凝集素-3。MerTK经由配体结合后的活化转导来自细胞外空间的信号,从而导致MerTK酪氨酸自磷酸化(Cummings等人,2013,Clin Cancer Res,19:5275-5280;Verma等人,2011,Mol Cancer Ther,10:1763-1773)以及后续ERK和AKT相关信号转导。

[0009] 已确定MerTK为多发性硬化症(MS)易感基因,罕见和常见的变异都会导致发生MS或改变病程的风险增加(Ma等人,2011,PLoS ONE,6:1-6;Binder等人,2016,PLoS Genetics,第1-25页;Shen等人,2021,Cell Reports,34,108835)。MerTK调节通过吞噬作用对髓鞘碎片的清除;有效的髓鞘碎片清除是组织修复和髓鞘再生的关键步骤。MerTK的抑制或缺失降低了髓鞘吞噬作用(Healy等人,2016,J Immunol,196:3375-3384;Healy等人,2017,Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm,4:e402;Tondo等人,2019,Disease Markers,ID2387614:1-13;Weinger等人,2009,Neurobiology,175:283-293;Sharit-Zagardo等人,2018,Pharmacol Ther,188:97-117;Shen等人,2021,Cell Reports,34:108835)。此外,MerTK的突变降低了视网膜色素上皮(RPE)细胞吞噬光感受器外节段的能力,导致碎片积累,将光感受器细胞与RPE细胞分离,导致其退化和随后的视力丧失(Lorach等人,2018,Nature Scientific Reports,8:11312)。

[0010] 需要有效治疗或预防自身免疫性病症(例如,多发性硬化症)和与视网膜神经节变性相关的病症的新颖治疗性抗MerTK抗体。本公开通过提供激动MerTK活性(包括增加吞噬作用)的抗MerTK抗体满足了这一需求。

[0011] 本文引用的所有参考文献包括专利申请和公布特此以引用方式整体并入。

发明内容

[0012] 本公开总体上涉及抗Mer酪氨酸激酶(MerTK)抗体和使用此类抗体的方法。本文提供的方法可用于预防或治疗个体的自身免疫性病症,例如多发性硬化症。在一些方面,本公开提供了一种用于治疗个体的自身免疫性病症(例如,多发性硬化症)的方法,所述方法包括向有需要的个体施用治疗有效量的抗MerTK抗体。

[0013] 在一方面,本公开涉及一种结合至MerTK蛋白的分离的抗MerTK抗体,其中所述抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区包含:包含选自由SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、213、214和224组成的组的氨基酸序列的HVR-H1;包含选自由SEQ ID NO:81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、215、216和225组成的组的氨基酸序列的HVR-H2;和包含选自由SEQ ID NO:110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、217、218和226组成的组的氨基酸序列的HVR-H3;并且所述轻链可变区包含:包含选自由SEQ ID NO:137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162和220组成的组的氨基酸序列的HVR-L1;包含选自由SEQ ID NO:163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184和227组成的组的氨基酸序列的HVR-L2;和包含选自由SEQ ID NO:185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、219、221和228组成的组的氨基酸序列的HVR-L3。

[0014] 在一方面,本公开涉及一种结合至MerTK蛋白的分离的抗MerTK抗体,其中所述抗体包含有包含以下氨基酸序列的HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3:(i)分别地,SEQ ID NO:63、81、110、137、163和185;(ii)分别地,SEQ ID NO:64、82、111、138、164、186;(iii)分别地,SEQ ID NO:65、83、112、139、165、187;(iv)分别地,SEQ ID NO:66、84、113、138、164、188;(v)分别地,SEQ ID NO:224、225、226、146、227和228;(vi)分别地,SEQ ID NO:67、85、114、140、166和189;(vii)分别地,SEQ ID NO:68、86、115、141、167和190;(viii)分别地,SEQ ID NO:65、87、116、142、168和191;(ix)分别地,SEQ ID NO:69、88、117、143、169和192;(x)分别地,SEQ ID NO:70、89、118、144、163和193;(xi)分别地,SEQ ID NO:71、90、119、145、170、194;(xii)分别地,SEQ ID NO:72、91、120、146、171、195;(xiii)分别地,SEQ ID NO:73、92、121、147、172、196;(xiv)分别地,SEQ ID NO:65、93、122、148、173、197;(xv)分别地,SEQ ID NO:66、94、123、149、174、198;(xvi)分别地,SEQ ID NO:66、95、124、150、164、188;(xvii)分别地,SEQ ID NO:73、96、125、151、175和199;(xviii)分别地,SEQ ID NO:74、97、126、152、176和200;(xix)分别地,SEQ ID NO:71、98、127、153、177和201;(xx)分别地,SEQ ID NO:66、99、128、138、164和188;(xxi)分别地,SEQ ID NO:75、100、129、154、178和202;(xxii)分别地,SEQ ID NO:71、101、130、155、179和201;(xxiii)分别地,SEQ ID NO:76、102、131、155、179、201;(xxiv)分别地,SEQ ID NO:77、103、132、157、181和204;(xxv)分别地,SEQ ID NO:78、104、133、158、182和205;(xxvi)分别地,SEQ ID NO:74、105、126、159、176和200;(xxvii)分别地,SEQ ID NO:79、106、134、160、183和206;(xxviii)分别地,SEQ ID NO:74、107、126、161、176和200;(xxix)分别地,SEQ ID NO:70、108、135、144、170和207;(xxx)分别地,SEQ ID NO:80、109、136、162、184和208;(xxxi)分别

地,SEQ ID NO:213、215、217、156、180和219;或(xxxii)分别地,SEQ ID NO:214、216、218、220、172和221分别地。

[0015] 在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面,本公开的抗MerTK抗体是结合至MerTK蛋白的分离的抗体,其中所述抗体包含MTK-201、MTK-202、MTK-203、MTK-204、MTK-205、MTK-206、MTK-207、MTK-208、MTK-209、MTK-210、MTK-211、MTK-212、MTK-213、MTK-214、MTK-215、MTK-216、MTK-217、MTK-218、MTK-219、MTK-220、MTK-221、MTK-222、MTK-223、MTK-224、MTK-225、MTK-226、MTK-227、MTK-228、MTK-229、MTK-230、MTK-231或MTK-232抗体的HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3序列。在一些方面,所述HVR是Kabat定义的HVR、Chothia定义的HVR或AbM定义的HVR。

[0016] 在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面,本公开的抗MerTK抗体是结合至MerTK蛋白的分离的抗体,其中所述抗体包含重链可变区,其中所述重链可变区包含选自由SEQ ID NO: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、209、210和222组成的组的氨基酸序列。

[0017] 在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面,本公开的抗MerTK抗体是结合至MerTK蛋白的分离的抗体,其中所述抗体包含轻链可变区,其中所述轻链可变区包含选自由SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、211、212和223组成的组的氨基酸序列。

[0018] 在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面,本公开的抗MerTK抗体是结合至MerTK蛋白的分离的抗体,其中所述抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区包含选自SEQ ID NO: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、209、210和222的氨基酸序列,并且所述轻链可变区包含选自SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、211、212、223的氨基酸序列。

[0019] 在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面,本公开的抗MerTK抗体是结合至MerTK蛋白的分离的抗体,其中所述抗体包含有包含以下氨基酸序列的重链可变区和轻链可变区:分别地,SEQ ID NO:5和34;分别地,SEQ ID NO:6和35;分别地,SEQ ID NO:7和36;分别地,SEQ ID NO:8和37;分别地,SEQ ID NO:222和223;分别地,SEQ ID NO:9和38;分别地,SEQ ID NO:10和39;分别地,SEQ ID NO:11和40;分别地,SEQ ID NO:12和41;分别地,SEQ ID NO:13和42;分别地,SEQ ID NO:14和43;分别地,SEQ ID NO:15和44;分别地,SEQ ID NO:16和45;分别地,SEQ ID NO:17和46;分别地,SEQ ID NO:18和47;分别地,SEQ ID NO:19和48;分别地,SEQ ID NO:20和49;分别地,SEQ ID NO:21和50;分别地,SEQ ID NO:22和51;分别地,SEQ ID NO:23和52;分别地,SEQ ID NO:24和53;分别地,SEQ ID NO:25和54;分别地,SEQ ID NO:26和55;分别地,SEQ ID NO:27和56;分别地,SEQ ID NO:28和57;分别地,SEQ ID NO:29和58;分别地,SEQ ID NO:30和59;分别地,SEQ ID NO:31和60;分别地,SEQ ID NO:32和61;分别地,SEQ ID NO:33和62;分别地,SEQ ID NO:209和211;以及分别地,SEQ ID NO:210和212。

[0020] 在一方面,本公开涉及一种结合至MerTK蛋白的分离的抗体,其中所述抗体竞争性地抑制用于结合至MerTK的本文方面中的任一者的抗体中的一者或多者的结合。

[0021] 在另一方面,本公开涉及一种结合至MerTK蛋白的分离的抗体,其中所述抗体结合

MerTK上与本文方面中的任一者的抗体基本上相同或重叠的表位。在另一方面，本公开涉及一种结合至MerTK蛋白的分离的抗体，其中所述抗体结合MerTK上与本文方面中的任一者的抗体相同的表位。

[0022] 在可以与本文的方面中的任一者组合的某些方面，所述MerTK蛋白是哺乳动物蛋白或人蛋白。在可以与本文方面中的任一者组合的某些方面，所述MerTK蛋白是野生型蛋白。在可以与本文方面中的任一者组合的某些方面，所述MerTK蛋白是天然存在的变体。在可以与本文方面中的任一者组合的某些方面，抗MerTK抗体结合至人MerTK和食蟹猴MerTK和/或鼠科动物MerTK。

[0023] 在可以与本文方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体不抑制或减少一种或多种配体与MerTK的结合。在可以与本文方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体不抑制或减少ProS与MerTK的结合。在可以与本文方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体不抑制或减少Gas6与MerTK的结合。在可以与本文方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体不抑制或减少Gas6与MerTK的结合并且不抑制或减少ProS与MerTK的结合。

[0024] 在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体增加吞噬作用。在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体增加通过吞噬作用对髓鞘碎片的清除。在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTk抗体增加视网膜色素上皮细胞对光感受器外节段的吞噬作用。

[0025] 在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体不会使胞葬作用减少超过40％。在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体不会使胞葬作用减少超过30％。在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体不会使胞葬作用减少超过20％。在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体不会使胞葬作用减少超过10％。

[0026] 在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体在Gas6不存在下增加MerTK的磷酸化。在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体在Gas6存在下增加MerTK的磷酸化。

[0027] 在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体增加蛋白激酶B(AKT)的磷酸化。

[0028] 在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体增加巨噬细胞中的单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)表达。在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体在ProS存在下增加巨噬细胞中的MCP-1表达。在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体在ProS不存在下增加巨噬细胞中的MCP-1表达。

[0029] 在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体结合至MerTK的N末端结构域、Ig样结构域1、Ig样结构域2、III型纤连蛋白结构域1、III型纤连蛋白结构域2，和/或MerTK的近膜结构域。

[0030] 在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体结合至食蟹猴MerTK但不结合至鼠科动物MerTK，结合至鼠科动物MerTK但不结合至食蟹猴MerTK，或者结合至食蟹猴和鼠科动物MerTK。在可以与本文提供的方面中的任一者组合的

一些方面，本公开的抗MerTK抗体以小于440nM、小于400nM、小于350nM、小于300nM、小于250nM、小于200nM、小于150nM、小于100nM或小于50nM的亲和力结合人MerTK。

[0031] 在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体在MerTK不存在下结合Gas6。在可以与本文提供的方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体在MerTK不存在下结合ProS。

[0032] 在可以与本文方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体是单克隆抗体。在可以与本文方面中的任一者组合的一些方面，所述抗体是人抗体。在可以与本文方面中的任一者组合的一些方面，所述抗体是人源化抗体。在可以与本文方面中的任一者组合的一些方面，所述抗体是双特异性抗体。在可以与本文方面中的任一者组合的一些方面，所述抗体是多价抗体。在可以与本文方面中的任一者组合的一些方面，所述抗体是嵌合抗体。

[0033] 在可以与本文方面中的任一者组合的一些方面，本公开的抗MerTK抗体属于IgG类、IgM类或IgA类。在一些方面，所述抗体属于IgG类并且具有IgG1、IgG2或IgG4同种型。在可以与本文方面中的任一者组合的某些方面，所述抗体是全长抗体。在可以与本文方面中的任一者组合的某些方面，所述抗体是抗体片段。在可以与本文方面中的任一者组合的某些方面，所述抗体是结合至人MerTK或哺乳动物MerTK蛋白上的表位的抗体片段。在可以与本文方面中的任一者组合的某些方面，所述抗体片段是Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')2、Fv或scFv片段。

[0034] 在另一方面，本公开涉及一种分离的核酸，所述分离的核酸包含编码前述方面中的任一者的抗MerTK抗体的核酸序列。在一些方面，本公开涉及一种载体，所述载体包含前述方面中的任一者的核酸。在一些方面，本公开涉及一种分离的宿主细胞，所述分离的宿主细胞包含前述方面中的任一者的核酸或前述方面中的任一者的载体。在一些方面，本公开涉及一种分离的宿主细胞，所述分离的宿主细胞包含(i)包含编码前述方面中的任一者的抗MerTK抗体的VH的核酸序列的核酸和(ii)包含编码所述抗MerTK抗体的VL的核酸序列的核酸。

[0035] 在另一方面，本公开涉及一种产生结合至人MerTK抗体的抗体的方法，所述方法包括培养前述方面中的任一者的宿主细胞，使得产生所述抗MerTK抗体。在某些方面，所述方法还包括回收由所述细胞产生的所述抗MerTK抗体。

[0036] 在另一方面，本公开涉及一种药物组合物，所述药物组合物包含前述方面中的任一者的抗MerTK抗体和药学上可接受的载剂。

[0037] 在一方面，本公开涉及一种检测样品中的MerTk的方法，所述方法包括使所述样品与前述方面中的任一者的抗MerTK抗体接触，任选地其中所述方法还包括检测所述抗体与所述样品中的MerTK的结合。

[0038] 应理解，本文所述的各个方面的特性中的一者、一些或全部可组合以形成本公开的其他方面。本领域技术人员将明了本公开的这些和其他方面。本公开的这些和其他方面由以下详细说明进一步描述。

附图说明

[0039] 图1示出显示添加本公开的抗MerTK抗体后人巨噬细胞中的MerTK磷酸化(pMerTK)

的数据。

[0040] 图2示出显示本公开的抗MerTK抗体的平衡解离常数(KD)的数据。

[0041] 图3A、图3B和图3C示出显示本公开的抗MerTK抗体对巨噬细胞中的MCP-1表达的影响的数据。

[0042] 图4示出显示在Gas6蛋白存在或不存在下本公开的抗MerTK抗体对MerTK酪氨酸磷酸化(pMerTK)的影响的数据。

具体实施方式

[0043] 本公开涉及抗MerTK抗体(例如,单克隆抗体);制造和使用此类抗体的方法;包含此类抗体的药物组合物;编码此类抗体的核酸;以及包含编码此类抗体的核酸的宿主细胞。

[0044] 本文描述或引用的技术和程序通常被本领域技术人员充分理解并且通常使用常规方法来使用,例如,广泛利用的方法诸如有Sambrook等人Molecular Cloning:A Laboratory Manual第3版(2001)Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.;Current Protocols in Molecular Biology(F.M.Ausubel,等人编,(2003);Monoclonal Antibodies:A Practical Approach(P.Shepherd和C.Dean,编,Oxford University Press,2000)描述的那些。

[0045] I.定义

[0046] 术语“MerTK”或“MerTK多肽”或“MerTK蛋白”在本文中互换使用,在本文中是指来自任何脊椎动物源的任何天然MerTK,包括哺乳动物诸如灵长类(例如人和食蟹猴(cyno))和啮齿动物(例如,小鼠和大鼠),除非另有说明。MerTK也称为c-mer、MER、原癌基因c-Mer、受体酪氨酸激酶MerTK、酪氨酸蛋白激酶Mer、STK激酶、RP38和MGC133349。在一些方面,该术语涵盖野生型序列和天然存在的变体序列,例如剪接变体或等位基因变体。在一些方面,该术语涵盖“全长”未处理MerTK以及由细胞内加工产生的任何形式的MerTK。在一些方面,MerTK是人MerTK。如本文所用,术语“人MerTK”是指具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的多肽。

[0047] 术语“抗MerTK抗体”、“MerTK抗体”、“结合至MerTK的抗体”和“特异性结合MerTK的抗体”是指能够以足够的亲和力结合MerTK的抗体,以使该抗体用作靶向MerTK的诊断剂和/或治疗剂。在一方面,抗MerTK抗体与不相关、非MerTK多肽的结合程度小于抗体与MerTK的结合的约10%,例如通过放射免疫测定(RIA)所测量。在某些方面,结合至MerTK的抗体的解离常数(KD)为<1μM、<100nM、<10nM、<1nM、<0.1nM、<0.01nM或<0.001nM(例如,10^{-8}M或更小,例如,10^{-8}M至10^{-13}M,例如,10^{-9}M至10^{-13}M)。在某些方面,抗MerTK抗体结合至MerTK的表位,该表位在不同物种的MerTK之间是保守的。

[0048] 关于抗体与靶分子的结合,术语“特异性结合”或“特异性地结合”或“特异于”特定多肽或特定多肽靶标上的表位意指结合与非特异性相互作用可测量地不同。例如,可以通过与对照分子的结合相比确定分子的结合来测量特异性结合。例如,可以通过与类似于靶标的对照分子(例如,过量的未标记靶标)竞争来确定特异性结合。在这种情况下,如果标记的靶标与探针的结合被过量的未标记靶标竞争性抑制,则表明特异性结合。如本文所用,术语“特异性结合”或“特异性地结合至”或“特异于”特定多肽或特定多肽靶标上的表位可例如表现为分子对靶标的KD为约任意10^{-4}M或更低、10^{-5}M或更低、10^{-6}M或更低、10^{-7}M或更低、10^{-8}M或更低、10^{-9}M或更低、10^{-10}M或更低、10^{-11}M或更低、10^{-12}M或更低,或者KD在10^{-4}M至10^{-6}M

或10^{-6}M至10^{-10}M或10^{-7}M至10^{-9}M范围内。如本领域技术人员将理解的，亲和力和KD值是负相关的。对抗原的高亲和力以低KD值来衡量。

[0049] 术语“免疫球蛋白”(Ig)在本文中可与“抗体”互换使用。本文中的术语“抗体”是以最广泛意义使用且具体而言涵盖单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如，双特异性抗体)(包括由至少两种完整抗体形成的那些)和抗原结合抗体片段，只要其展现所需的生物活性即可。

[0050] “天然抗体”通常是由两条相同的轻(“L”)链和两条相同的重(“H”)链组成的约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白。每一轻链是由一个共价二硫键连接至重链，而在不同免疫球蛋白同种型的重链中二硫键联的数目各不相同。每一重链和轻链还具有规则地间隔开的链内二硫桥。每一重链在一端具有可变结构域(V_H)，之后为多个恒定结构域。每一轻链在一端具有可变结构域(V_L)且在其另一端具有恒定结构域；轻链的恒定结构域与重链的第一恒定结构域对齐，并且轻链可变结构域与重链的可变结构域对齐。据信，特定氨基酸残基在轻链可变结构域与重链可变结构域之间形成界面。

[0051] 关于不同类别抗体的结构和特性，参见例如Basic and Clinical Immunology，第8版，Daniel P.Stites、Abba I.Terr和Tristram G.Parslow(编辑)，Appleton&Lange，Norwalk，CT，1994，第71页和第6章。

[0052] 基于其恒定结构域的氨基酸序列，可将来自任何脊椎动物物种的轻链归类为两种明显不同类型(称为卡帕(“κ”)和拉姆达(“λ”))中的一者。根据其重链(CH)恒定结构域的氨基酸序列，可将免疫球蛋白归类为不同类别或同种型。存在五类免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG和IgM，其重链分别定名为阿尔法(“α”)、德尔塔(“δ”)、伊普西龙(“ε”)、伽马(“γ”)和缪(“μ”)。基于CH序列和功能的相对较小差异将γ和α类别进一步划分成亚类(同种型)，例如人表达以下亚类：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。不同类别的免疫球蛋白的亚单位结构和三维构型已众所周知且通常描述于例如Abbas等人，Cellular and Molecular Immunology，第4版(W.B.Saunders Co.，2000)中。

[0053] 抗体(诸如本公开的抗MerTK抗体)的“可变区”或“可变结构域”是指抗体的重链或轻链的氨基末端结构域。重链和轻链的可变结构域可分别称为“V_H”和“V_L”。这些结构域通常是抗体的最可变部分(相对于相同类别的其他抗体)且含有抗原结合位点。

[0054] 术语“可变”是指抗体(诸如本公开的抗MerTK抗体)之间可变结构域的某些区段的序列差异极大的事实。可变结构域介导抗原结合且界定特定抗体对其特定抗原的特异性。然而，可变性在整个可变结构域跨度中并非均匀分布。相反，其在轻链可变结构域和重链可变结构域二者中均集中于三个称为高变区(HVR)的区段中。可变结构域的更高度保守的部分称为框架区(FR)。天然重链和轻链的可变结构域各自包含4个由三个HVR连结的主要采用β折叠构型的FR区，所述HVR形成连结且在一些情况下形成β折叠结构的一部分的环。每一链中的HVR通过FR区保持紧密靠近，并且与来自另一链的HVR一起促进形成抗体的抗原结合位点(参见Kabat等人，Sequences of Immunological Interest，第5版National Institute of Health，Bethesda，MD(1991))。恒定结构域并不直接参与抗体与抗原的结合，但是表现出各种效应子功能，诸如抗体参与抗体依赖性细胞毒性。

[0055] 如本文所用，术语“单克隆抗体”是指从基本上同质抗体的群体获得的抗体(诸如本公开的单克隆抗MerTK抗体)，即，除可以少量存在的可能的天然存在的突变和/或翻译后

修饰(例如,异构化、酰胺化等)以外,构成所述群体的个别抗体均相同。单克隆抗体针对单一抗原位点具有高度特异性。与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相比,每一单克隆抗体是针对抗原上的单一决定簇。除其特异性以外,单克隆抗体的优势在于其通过杂交瘤培养物合成,不受其他免疫球蛋白的污染。修饰词"单克隆"指示抗体的特征在于从基本上同质抗体群体获得,并且不应解释为需要通过任一特定方法来产生所述抗体。例如,根据本公开使用的单克隆抗体可以通过多种技术制备,所述技术包括但不限于以下方法中的一者或多者:用一种或多种DNA、病毒样颗粒、一种或多种多肽和/或一种或多种细胞中的一者或多者免疫动物(包括但不限于大鼠、小鼠、兔、豚鼠、仓鼠和/或鸡)的方法、杂交瘤方法、B细胞克隆方法、重组DNA方法,以及在具有编码人免疫球蛋白序列的人免疫球蛋白基因座或基因的部分或全部的动物中产生人或人样抗体的技术。

[0056] 术语"全长抗体"、"完整抗体"或"全抗体"可互换使用,是指与抗体片段相对的呈其基本上完整形式的抗体(诸如本公开的抗MerTK抗体)。具体地,全抗体包括具有重链和轻链(包括Fc区)的那些抗体。恒定结构域可以是天然序列恒定结构域(例如,人天然序列恒定结构域)或其氨基酸序列变体。在一些情况下,完整抗体可具有一种或多种效应子功能。

[0057] 术语"抗体片段"是指不同于完整抗体的分子,该分子包含完整抗体的一部分,结合完整抗体结合的抗原。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、$F(ab')_2$和Fv片段;双抗体(diabody);线性抗体(参见美国专利5641870,实施例2;Zapata等人,Protein Eng.8(10):1057-1062(1995));单链抗体分子和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0058] 抗体(诸如本公开的抗MerTK抗体)的木瓜蛋白酶消化产生两个相同抗原结合片段(称为"Fab"片段)和残余"Fc"片段,其名称反映了其易于结晶的能力。Fab片段由整个轻链以及重链的可变区结构域(V_H)和一条重链的第一恒定结构域(C_H1)组成。每一Fab片段关于抗原结合均是单价的,即其具有单一抗原结合位点。抗体经胃蛋白酶处理产生单一大$F(ab')_2$片段,所述片段大致对应于具有不同抗原结合活性且仍然能够交联抗原的两个经二硫键连接的Fab片段。Fab'片段与Fab片段的不同之处在于在C_H1结构域的羧基末端具有几个额外残基,所述残基包括一个或多个来自抗体铰链区的半胱氨酸。本文中将其中恒定域的一个或多个半胱氨酸残基具有游离硫醇基的Fab'称为Fab'-SH。$F(ab')_2$抗体片段起初以Fab'片段对的形式产生,所述Fab'片段对在Fab'片段之间具有铰链半胱氨酸。还已知抗体片段的其他化学偶合。

[0059] Fc片段包含通过二硫键保持在一起的两条重链的羧基末端部分。抗体的效应子功能是由Fc区中的序列决定,所述区还由某些细胞类型上发现的Fc受体(FcR)识别。

[0060] 抗体(诸如本公开的抗MerTK抗体)的"功能片段"包含完整抗体的一部分,所述部分通常包括完整抗体的抗原结合区或可变区或抗体的保留或具有修饰的FcR结合能力的Fc区。抗体片段的实例包括线性抗体、单链抗体分子和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0061] 术语"双抗体"是指通过以下方式制备的小抗体片段:用V_H与V_L结构域之间的短接头(约5-10个残基)构建sFv片段(参见前述段落),使得实现可变结构域的链间而非链内配对,由此产生二价片段,即具有两个抗原结合位点的片段。双特异性双抗体是两个"交叉"sFv片段的异源二聚体,其中两个双抗体的V_H和V_L结构域存在于不同的多肽链上。

[0062] 如本文所用,"嵌合抗体"是指其中重链和/或轻链的一部分与源自特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而所述链的其余部分与源自另一

物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源的抗体(免疫球蛋白)(诸如本公开的嵌合抗MerTK抗体),以及所述抗体的片段,只要其展现所需生物学活性即可。本文中的目标嵌合抗体包括PRIMATIZED®抗体,其中所述抗体的抗原结合区源自通过例如使用目标抗原使猕猴免疫而产生的抗体。如本文所用,"人源化抗体"用作"嵌合抗体"的子集。

[0063] 非人(例如,鼠科动物)抗体的"人源化"形式,诸如本公开的抗MerTK抗体的人源化形式,是包含来自非人HVR的氨基酸残基和来自人FR的氨基酸残基的嵌合抗体。在某些方面,人源化抗体将包含基本上所有的至少一个以及通常两个可变结构域,其中所有的或者基本上所有的HVR(例如,CDR)对应于非人抗体的HVR,并且所有的或者基本上所有的FR对应于人抗体的FR。人源化抗体任选地可以包含源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。抗体的"人源化形式"(例如,非人抗体)是指已经经历人源化的抗体。

[0064] "人抗体"是拥有对应于抗体(诸如本公开所述的抗MerTK抗体)的氨基酸序列的氨基酸序列的抗体,所述抗体由人产生和/或已经使用如本文所公开的用于制备人抗体的技术中的任一种来制备。人抗体的此定义明确排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。人抗体可使用本领域已知的各种技术(包括噬菌体展示文库和酵母展示文库)来产生。人抗体可通过将抗原施用到已经过修饰以响应于抗原攻击产生此类抗体但是其内源性基因座被禁用的转基因动物(例如,免疫化的异种小鼠)来制备,也可通过人B细胞杂交瘤技术来产生。

[0065] 当在本文中使用时,术语"高变区"、"HVR"、或"HV"是指抗体可变结构域的在序列上是高变的和/或形成结构上限定的环的区域,诸如本公开的抗MerTK抗体的区域。一般来讲,抗体包含六个HVR;三个在V_H中(H1、H2、H3),并且三个在V_L中(L1、L2、L3)。在天然抗体中,H3和L3显示出六个HVR的最多的多样性,并且据信H3在将良好的特异性赋予抗体方面尤其发挥独特的作用。由重链组成的天然存在的骆驼抗体仅在不存在轻链的情况下是功能性且稳定的。

[0066] 许多HVR描述正在使用中并且涵盖在本文中。在一些方面,HVR可以是基于序列可变性的Kabat互补决定区(CDR),并且是最常使用的(Kabat等人,同上)。在一些方面,HVR可以是Chothia CDR。而Chothia是指结构化环的位置(Chothia和Lesk J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。在一些方面,HVR可以是AbM HVR。AbM HVR表示Kabat CDR与Chothia结构化环之间的折衷,并且通过Oxford Molecular的AbM抗体建模软件来使用。在一些方面,HVR可以是"contact"HVR。"contact"HVR基于可用复合物晶体结构的分析。来自这些HVR中每一者的残基如下所示。

[0067]

环	Kabat	AbM	Chothia	Contact
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (Kabat 编号)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (Chothia 编号)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0068] HVR可包括如下的“延长HVR”:在VL中,24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2)、以及89-97或89-96(L3),并且在VH中,26-35(H1)、50-65或49-65(优选的方面)(H2)、以及93-102、94-102、或95-102(H3)。对于这些延长HVR定义中的每一个,可变结构域残基根据Kabat等人(同上)进行编号。

[0069] “框架”或“FR”残基是除了如本文所定义的HVR残基以外的那些可变结构域残基。

[0070] 如本文所用的“接受者人框架”是包含源自人免疫球蛋白框架或人共有框架的V_L或V_H框架的氨基酸序列的框架。“源自”人免疫球蛋白框架或人共有框架的接受者人框架可包含其相同的氨基酸序列,或者它可包含预先存在的氨基酸序列变化。在一些方面,预先存在的氨基酸变化的数量是10或更小、9或更小、8或更小、7或更小、6或更小、5或更小、4或更小、3或更小、或2或更小。在预先存在的氨基酸变化存在于VH中的情况下,优选的这些变化在位置71H、73H和78H中的仅三个、两个、或一个处发生;例如,在那些位置处的氨基酸残基可以是71A、73T和/或78A。在一方面,VL接受者人框架在序列上与V_L人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列相同。

[0071] “人共有框架”是代表在选择人免疫球蛋白V_L或V_H框架序列中最通常存在的氨基酸残基的框架。一般来讲,人免疫球蛋白V_L或V_H序列的选择来自可变结构域序列的亚组。一般来讲,序列的亚组是如Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991)中的亚组。实例包括,对于V_L,亚组可以是如Kabat等人(同上)中的亚组κI、κII、κIII或κIV。另外,对于V_H,亚组可以是如Kabat等人(同上)中的亚组I、亚组II、或亚组III。

[0072] 例如本公开的抗MerTK抗体的指定位置处的“氨基酸修饰”是指指定残基的取代或缺失,或相邻指定残基插入至少一个氨基酸残基。“邻近”指定残基插入意指在其一至两个残基范围内插入。插入可以在指定残基的N末端或C末端。本文的优选氨基酸修饰是取代。

[0073] “Fv”是包含完全抗原识别和结合位点的最小抗体片段。此片段由一个重链可变区结构域与一个轻链可变区结构域呈紧密非共价缔合形式的二聚体组成。从这两个结构域的折叠产生六个超变环(从H链和L链各自产生3个环),所述超变环贡献用于抗原结合的氨基酸残基且赋予抗体抗原结合特异性。然而,即使单一可变结构域(或仅包含三个对抗原具有特异性的HVR的Fv的一半)也具有识别且结合抗原的能力,但其亲和力低于完整结合位点。

[0074] 还缩写为“sFv”或“scFv”的“单链Fv”是包含连结成单一多肽链的VH和VL抗体结构域的抗体片段。优选地,sFv多肽还包含在V_H与V_L结构域之间的多肽接头,所述接头使sFv能够形成抗原结合所需的结构。

[0075] 抗体“效应子功能”是指那些可归因于抗体Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)的生物学活性,并且随抗体同种型而有所变化。

[0076] 术语“Fc区”在本文中用于定义免疫球蛋白重链的C末端区域,包括天然序列Fc区和变体Fc区。尽管免疫球蛋白重链的Fc区的边界可有所变化,但通常将人IgG重链Fc区界定为从位置Cys226处的氨基酸残基或从Pro230延伸至其羧基末端。Fc区的C末端赖氨酸(根据EU编号系统的残基447)可在例如抗体的产生或纯化期间或通过重组工程改造编码抗体重链的核酸来去除。因此,完整抗体的组成可包含去除全部K447残基的抗体群体、未去除K447残基的抗体群体,以及具有含有和不含有K447残基的抗体混合物的抗体群体。适用于本公开的抗体中的天然序列Fc区包括人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。

[0077] “天然序列Fc区”包含与自然界中发现的Fc区的氨基酸序列同一的氨基酸序列。天然序列人Fc区包括天然序列人IgG1 Fc区(非A和A同种异型);天然序列人IgG2 Fc区;天然序列人IgG3 Fc区;和天然序列人IgG4 Fc区,以及它们的天然存在的变体。

[0078] “变体Fc区”包含以至少一个氨基酸修饰(优选一个或多个氨基酸取代)而区别于天然序列Fc区氨基酸序列的氨基酸序列。优选地,与天然序列Fc区或亲本多肽的Fc区相比,变体Fc区在天然序列Fc区中或在亲本多肽的Fc区中具有至少一个氨基酸取代,例如约一个至约十个氨基酸取代,并且优选地约一个至约五个氨基酸取代。本文中的变体Fc区将优选地与天然序列Fc区和/或与亲本多肽的Fc区具有至少80%同源性,最优选与其具有至少90%同源性,更优选与其具有至少95%同源性。

[0079] “Fc受体”或“FcR”描述了结合至抗体的Fc区的受体。优选的FcR是天然序列人FcR。此外,优选的FcR是结合IgG抗体的FcR(γ受体)且包括FcγRI、FcγRII和FcγRIII亚类的受体,包括这些受体的等位基因变体和选择性剪接形式,FcγRII受体包括FcγRIIA(“活化性受体”)和FcγRIIB(“抑制性受体”),这些受体具有相似的氨基酸序列,主要差异在于其细胞质结构域。活化性受体FcγRIIA在其细胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的活化基序(“ITAM”)。抑制性受体FcγRIIB在其细胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(“ITIM”)。本文中的术语“FcR”涵盖其他FcR,包括将来待鉴定的那些FcR。FcR还可延长抗体的血清半衰期。

[0080] 如本文所用,关于肽、多肽或抗体序列的“氨基酸序列同一性百分比(%)”和“同源性”是指在比对序列且引入空位(如果需要)以实现最大序列同一性百分比后,并且不将任何保守取代视为序列同一性的一部分的情况下,候选序列中与特定肽或多肽序列中的氨基酸残基同一的氨基酸残基的百分比。为测定氨基酸序列同一性百分比的比对可以通过本领域技术范围内的多种方式实现,例如,使用公开获得的计算机软件诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或MEGALIGN™(DNASTAR)软件。本领域技术人员可确定用于测量比对的适当参数,包括本领域已知的在所比较序列的全长范围内实现最大比对所需要的任何算法。

[0081] 术语“竞争”在用于竞争相同表位或重叠表位的抗体的上下文中时,意指如通过测定确定的抗体之间的竞争,在所述测定中被测抗体阻止或抑制(例如,减少)参考分子(例如,配体或参考抗体)与共同抗原(例如,MerTK或其片段)的特异性结合。许多类型的竞争性结合测定可用于确定抗体是否与另一种抗体竞争,例如:固相直接或间接放射免疫测定(RIA)、固相直接或间接酶免疫测定(EIA)、夹心竞争测定(参见例如Stahli等人,1983,Methods in Enzymology 9:242-253);固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA(参见例如Kirkland等人,1986,J.Immunol.137:3614-3619)、固相直接标记测定、固相直接标记夹心测定(参见例如Harlow和Lane,1988,Antibodies,A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Press);使用1-125标记的固相直接标记RIA(参见例如Morel等人,1988,Molec.Immunol.25:7-15);固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA(参见例如Cheung等人,1990,Virology176:546-552);和直接标记RIA(Moldenhauer等人,1990,Scand.J.Immunol.32:77-82)。通常,这种测定涉及使用与携带有未标记的测试抗体和标记的参考抗体这两种之一的固体表面或细胞结合的纯化抗原。通过在测试抗体存在的情况下测定结合到固体表面或细胞上的标记的量来测量竞争性抑制。通常,测试抗体过量存在。通过竞争性测定鉴定的抗体(竞争性抗体)包括与参考抗体结合相同表位的抗体和与邻近表

位结合的抗体，所述邻近表位与参考抗体所结合的表位足够接近以发生空间位阻。通常，当竞争性抗体过量存在时，其将参考抗体与共同抗原的特异性结合抑制(例如，降低)至少20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、85％、90％、95％、97.5％和/或接近100％。

[0082] 如本文所用，MerTK多肽与第二多肽之间的“相互作用”涵盖但不限于蛋白质-蛋白质相互作用、物理相互作用、化学相互作用、结合、共价结合和离子结合。如本文所用，当抗体破坏、减少、或完全消除两个多肽之间的相互作用时，所述抗体“抑制”两个多肽之间的相互作用。当本公开的其抗体结合至两个多肽中的一者时，所述其抗体“抑制”两个多肽之间的相互作用。在一些方面，相互作用可被抑制20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、85％、90％、95％、97.5％和/或接近100％中至少任一者。

[0083] 术语“表位”包括能够被抗体结合的任何决定簇。表位是抗原的区域，其被靶向该抗原的抗体结合，并且当抗原是多肽时，表位包括直接接触所述抗体的特定氨基酸。大多数情况下，表位存在于多肽上，但在一些情况下，可存在于其他种类的分子诸如核酸上。表位决定簇可包括诸如氨基酸、糖侧链、磷酰基或磺酰基等的分子的化学活性表面分组，并且可具有特定的三维结构特征和/或特定的电荷特征。通常，对特定靶抗原具有特异性的抗体将优先识别多肽和/或大分子的复杂混合物中靶抗原上的表位。

[0084] “分离的”抗体(诸如本公开的抗MerTK抗体)是已鉴定的、与其产生环境的组分分离和/或从其回收的抗体(例如，天然地或重组地)。优选地，分离的抗体不与来自其产生环境的所有其他污染物组分缔合。来自其产生环境的污染物组分(诸如源自重组转染细胞的那些组分)是通常将干扰抗体的研究、诊断或治疗用途的物质，并且可包括酶、激素和其他蛋白质性或非蛋白质性溶质。在优选的方面，将抗体纯化：(1)至如通过例如Lowry方法所确定大于95重量％的抗体，并且在一些方面，至大于99重量％；(2)至通过使用旋杯式测序仪足以获得至少15个N末端或内部氨基酸序列残基的程度，或(3)至通过SDS-PAGE在非还原或还原条件下使用考马斯蓝(Coomassie blue)或优选银染色的均质性。分离的抗体包括重组T细胞内的原位抗体，因为所述抗体的自然环境中至少有一种组分将不存在。然而，分离的多肽或抗体通常将通过至少一个纯化步骤来制备。

[0085] 编码抗体(诸如本公开的抗MerTK抗体)的“分离的”核酸分子是鉴定的并且与至少一种污染物核酸分子分开的核酸分子，所述核酸分子在其产生的环境中通常与所述污染物核酸分子缔合。优选地，分离的核酸分子不与产生环境相关的所有组分缔合。编码本文的多肽和抗体的分离的核酸分子处于其天然存在的形式或状态以外的形式。因此，分离的核酸分子区别于天然存在于细胞中的编码本文的多肽和抗体的核酸。

[0086] 如本文所用，术语“载体”意在指代能够转运与其连接的另一核酸的核酸分子。一类载体为“质粒”，其是指其中可连接额外DNA区段的环状双链DNA。另一类载体为噬菌体载体。另一类载体为病毒载体，其中其他DNA区段可连接至病毒基因组中。某些载体能够在它们被引入到其中的宿主细胞中自主复制(例如，具有细菌复制起点的细菌载体和游离型哺乳动物载体)。其他载体(例如，非游离型哺乳动物载体)可以在引入到宿主细胞中之后整合到宿主细胞的基因组中，并且因此与宿主基因组一起复制。此外，某些载体能够引导与其可操作地连接的基因的表达。此类载体在本文中称为“重组表达载体”或简称“表达载体”。一般而言，在重组DNA技术中可用的表达载体通常呈质粒形式。由于质粒是载体的最常用形式，所以在本说明书中“质粒”与“载体”可互换使用。

[0087] 如本文中可互换使用的“多核苷酸”或“核酸”是指任何长度的核苷酸聚合物，并且包括DNA和RNA。核苷酸可为脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、修饰的核苷酸或碱基和/或其类似物或任一可通过DNA或RNA聚合酶或通过合成反应并入至聚合物中的底物。

[0088] “宿主细胞”包括可以是或已经是用于并入多核苷酸插入物的载体的受者的个体细胞或细胞培养物。宿主细胞包括单一宿主细胞的子代，并且子代可因天然突变、偶然突变或有意突变而未必与原始亲本细胞完全相同(在形态上或在基因组DNA互补序列上)。宿主细胞包括用本公开的多核苷酸体内转染的细胞。

[0089] 如本文所用，“载体”包括在所采用剂量和浓度下对暴露于其的细胞或哺乳动物无毒的药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂。

[0090] 如本文所用，术语“预防”包括提供关于特定疾病、病症或疾患的发生或复发的防治。个体可能倾向于、易于患特定疾病、病症或疾患，或处于发生所述疾病、病症或疾患的风险中但尚未诊断出患有所述疾病、病症或疾患。

[0091] 如本文所用，处于发生特定疾病、病症或疾患“风险中”的个体可具有或可不具有可检测的疾病或疾病症状，并且可在本文所述的治疗方法之前已展示或可未展示可检测的疾病或疾病症状。“处于风险中”表示个体具有一种或多种风险因素，所述风险因素是如本领域所已知的与特定疾病、病症或疾患的发生相关的可测量参数。具有这些风险因素中的一者或多者的个体发生特定疾病、病症或疾患的机率高于不具有这些风险因素中的一者或多者的个体。

[0092] 如本文所用，术语“治疗”是指设计来在临床病理学过程期间改变所治疗的个体的自然过程的临床干预。期望治疗效应包括降低特定疾病、病症或疾患的进展速率、改善或减轻病理状态，以及缓解或改良预后。举例来说，如果一种或多种与特定疾病、病症或疾患相关的症状缓和或消除，那么个体得到成功地“治疗”。

[0093] “有效量”是指至少在所需剂量下和在所需时间段内有效实现所需治疗或预防结果的量。有效量可以一或多次施用来提供。有效量也是治疗性有益效果超过治疗的任何毒性或有害效果的量。对于预防性用途来说，有益或所需结果包括诸如消除或降低疾病的风险、减轻其严重程度或延迟其发作等结果，所述疾病包括疾病的生物化学、组织学和/或行为症状、在疾病发展期间呈现的其并发症和中间病理学表型。对于治疗性用途来说，有益或所需结果包括诸如以下的临床结果：减少由疾病引起的一种或多种症状，提高患病者的生活质量，减少治疗疾病所需的其他药剂的剂量，增强另一药剂的效应，诸如通过靶向延迟疾病的进展并且/或者延长存活。药物、化合物或药物组合物的有效量是足以直接或间接实现预防性或治疗性治疗的量。如在临床背景下所理解，药物、化合物或药物组合物的有效量可或可不结合另一药物、化合物或药物组合物来实现。因此，可认为“有效量”是在施用一种或多种治疗剂的背景下进行，并且如果结合一种或多种其他剂可实现或实现了期望结果，那么可认为单一剂是以有效量给予。

[0094] 用于治疗、预防或降低风险目的的“个体”是指分类为哺乳动物的任何动物，包括人、家养和农场动物以及动物园动物、运动型动物或宠物，诸如狗、马、兔、牛、猪、仓鼠、沙鼠、小鼠、雪貂、大鼠、猫等。在一些方面，个体是人。

[0095] 如本文所用，术语“约”是指本技术领域的技术人员易于了解的个别值的常见误差范围。在一些方面，“约”在用于修饰数值或数值范围时，该术语指示高于所述值或范围至多

10％和低于所述值或范围至多10％的偏差保持仍在所述数值或范围的预期含义内。本文中对“约”一个值或参数的提及包括(以及描述)针对所述值或参数本身的方面。

[0096] 除非上下文另有明确规定，否则在本文和所附权利要求中使用的单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数个指示物。例如，对“抗体”的提及是对一种至许多种抗体(诸如摩尔量)的提及，并且包括本领域的技术人员已知的其等价物等。

[0097] 应理解，本文所述的本公开的方面包括“包含”方面、“由方面组成”和“基本上由方面组成”。

[0098] II.抗MerTK抗体

[0099] 本文提供了抗MerTK抗体。本文提供的抗体可例如用于诊断或治疗MerTK相关病症。本文提供了抗MerTK抗体。

[0100] 在一方面，本公开提供了与本公开的MerTK蛋白或多肽内的表位结合的分离的(例如，单克隆)抗体。本公开的MerTK蛋白或多肽包括但不限于哺乳动物MerTK蛋白或多肽、人MerTK蛋白或多肽、小鼠(鼠科动物)MerTK蛋白或多肽，和食蟹猴(cyno)MerTK蛋白或多肽。本公开的MerTK蛋白和多肽包括MerTK的天然存在的变体。在一些方面，本公开的MerTK蛋白和多肽是膜结合的。在一些方面，本公开的MerTK蛋白和多肽是MerTK的可溶性细胞外结构域。

[0101] 在一些方面，MerTK在细胞中表达。在一些方面，MerTK在吞噬细胞(包括但不限于巨噬细胞、树突细胞或小胶质细胞)中表达。在一些方面，MerTK在小胶质细胞中表达。在一些方面，MerTK在星形胶质细胞、单核细胞、自然杀伤细胞、自然杀伤T细胞、内皮细胞、巨核细胞和血小板中表达。在一些方面，在卵巢、前列腺、睾丸、肺、视网膜和肾中也发现了高水平的MerTK表达。

[0102] 抗体活性

[0103] 在一些方面，提供了结合至人MerTK但不结合至cyno MerTK的抗MerTK抗体。在一些方面，提供了结合至人MerTK但不结合至鼠科动物MerTK的抗MerTK抗体。在一些方面，提供了结合至人MerTK但不结合至cyno MerTK且不结合至鼠科动物MerTK的抗MerTK抗体。在一些方面，提供了结合至人MerTK且结合至cyno MerTK的抗MerTK抗体。在一些方面，提供了结合至人MerTK且结合至cyno MerTK但不结合至鼠科动物MerTK的抗MerTK抗体。在一些方面，提供了结合至人MerTK且结合至鼠科动物MerTK的抗MerTK抗体。在一些方面，提供了结合至人MerTK且结合至鼠科动物MerTK但不结合至cyno MerTK的抗MerTK抗体。在一些方面，提供了结合至人MerTK，结合至鼠科动物MerTK且结合至cyno MerTK的抗MerTK抗体。

[0104] MerTK结合配偶体

[0105] 本公开的MerTK蛋白与一种或多种配体或结合配偶体相互作用(例如，结合)，所述配体或结合配偶体包括但不限于蛋白S(ProS或ProS1)、生长停滞特异性基因6(Gas6)、Tubby、Tubby样蛋白1(TULP-1)和半乳凝集素-3。本公开的抗MerTK抗体可以影响MerTK与其各种配体和结合配偶体中一者或多者的相互作用。

[0106] 本公开的抗MerTK抗体不阻断或抑制Gas6配体与MerTK的结合和/或ProS配体与MerTK的结合。因此，在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不抑制或减少MerTK与一种或多种MerTK配体之间的结合。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不抑制或减少ProS与MerTK的结合。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不使ProS与MerTK的结合减少超过30％。在一些方

面，本公开的抗MerTK抗体不使ProS与MerTK的结合减少超过20％。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不使ProS与MerTK的结合减少超过10％。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不使ProS与MerTK的结合减少超过5％。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不抑制或减少Gas6与MerTK的结合。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不使Gas6与MerTK的结合减少超过30％。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不使Gas6与MerTK的结合减少超过20％。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不使Gas6与MerTK的结合减少超过10％。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不使Gas6与MerTK的结合减少超过5％。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不抑制或减少Gas6与MerTK的结合且不抑制或减少ProS与MerTK的结合。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不使ProS与MerTK的结合减少超过30％并且不使Gas6与MerTK的结合减少超过30％。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不使ProS与MerTK的结合减少超过20％并且不使Gas6与MerTK的结合减少超过20％。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不使ProS与MerTK的结合减少超过10％并且不使Gas6与MerTK的结合减少超过10％。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体不使ProS与MerTK的结合减少超过5％并且不使Gas6与MerTK的结合减少超过5％。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体在体外不抑制或减少Gas6配体与MerTK的结合并且/或者不抑制或减少ProS配体与MerTK的结合。

[0107] 本文还提供了筛选结合MerTK并且不阻断或减少MerTK与一种或多种MerTK配体或结合配偶体之间的相互作用的抗MerTK抗体的方法。

[0108] 胞葬作用

[0109] 胞葬作用是指垂死或凋亡细胞的吞噬清除。胞葬作用可通过专职性吞噬细胞(例如，巨噬细胞、树突细胞、小胶质细胞)、非专职性吞噬细胞(例如，上皮细胞、成纤维细胞、视网膜色素上皮细胞)或特殊吞噬细胞来实现。(Elliott等人，2017，J Immunol，198:1387-1394。)胞葬作用导致死亡或垂死细胞在其膜完整性被破坏并且其细胞内含物泄漏至周围组织中之前被去除，从而防止组织暴露于毒性酶、氧化剂和其他细胞内组分。

[0110] 凋亡细胞在其细胞表面上暴露多种分子(“吃我”信号)，这些分子由吞噬细胞上的受体识别。一种此类“吃我”信号传导分子是磷脂酰丝氨酸(PtdSer)，其通常局限于细胞膜的内叶。在细胞凋亡期间，PtdSer暴露于细胞膜的外叶。MerTK配体ProS和Gas6在其N末端结构域附近含有γ-羧化谷氨酸残基；谷氨酸结构域的γ-羧化使得能够与磷脂酰丝氨酸结合。Gas6或ProS结合至凋亡细胞上的PtdSer并且同时结合吞噬细胞上的MerTK。这种配体与MerTK的接合会激活胞葬作用。

[0111] 可以例如使用本文实施例7中的方法确定抗体阻断(或不阻断)胞葬作用的能力。例如，胞葬作用测定可以包括(i)将凋亡细胞添加到已暴露于或未暴露于抗体或暴露于测试抗体和阴性对照抗体的吞噬细胞中，以及(ii)确定吞噬细胞对凋亡细胞的摄取。吞噬细胞可以是如上文所论述的专职性吞噬细胞或非专职性吞噬细胞。在一些方面，吞噬细胞是巨噬细胞。在一些方面，使吞噬细胞(例如，巨噬细胞)在暴露于抗体和/或凋亡细胞之前饥饿(例如，约一小时)。在一些方面，吞噬细胞(例如，巨噬细胞)在暴露于凋亡细胞之前，例如在约37℃下与抗体一起孵育约5分钟至约一小时(例如，约30分钟)。凋亡细胞可以是例如用凋亡诱导剂诸如1μM星形孢菌素(SigmaAldrich)处理的Jurkat细胞。凋亡细胞可以是标记的细胞(例如，染色的细胞)。在一些方面，凋亡细胞暴露于吞噬细胞(例如，巨噬细胞)持续约一小时。与不存在抗体或存在阴性对照抗体时的摄取相比，不阻断胞葬作用的抗体在这

种测定中不显著增加对凋亡细胞的摄取。在一些方面，本文提供的抗MerTK抗体抗体不使胞葬作用减弱超过50％。在一些方面，本文提供的抗MerTK抗体抗体不使胞葬作用减弱超过45％。在一些方面，本文提供的抗MerTK抗体抗体不使胞葬作用减弱超过40％。在一些方面，本文提供的抗MerTK抗体抗体不使胞葬作用减少超过35％。在一些方面，本文提供的抗MerTK抗体抗体不使胞葬作用减少超过30％。在一些方面，本文提供的抗MerTK抗体抗体不使胞葬作用减少超过25％。在一些方面，本文提供的抗MerTK抗体抗体不使胞葬作用减少超过20％。在一些方面，本文提供的抗MerTK抗体抗体不使胞葬作用减少超过15％。在一些方面，本文提供的抗MerTK抗体抗体不使胞葬作用减少超过10％。在一些方面，本文提供的抗MerTK抗体抗体不使胞葬作用减少超过5％。

[0112] 吞噬作用

[0113] 吞噬作用是指吞噬细胞摄取或吞噬凋亡细胞、颗粒或细胞碎片的过程。在中枢神经系统内，吞噬作用是正常神经回路发育和维持体内平衡所需的关键过程。如在多发性硬化症中发生的CNS内髓鞘的破坏，在损伤和炎症部位导致髓鞘变性。产生的髓鞘碎片必须通过吞噬作用从损伤部位清除以促进修复。利用人巨噬细胞和小胶质细胞的研究已经表明，MerTK是髓鞘必需的吞噬受体，MerTK的表达与体外髓鞘吞噬作用相关，在MS患者巨噬细胞中MerTK水平降低(Healy等人，2016，J Immunol，196:3375-3384；Healy等人，2017，Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm，4:e402；Galloway等人，2019，Front Immunol，10:article 790)。

[0114] 可以使用本领域已知的测定确定抗体增加吞噬作用的能力(参见例如Healy等人，2016，J Immunol，196:3375-3384)。例如，吞噬作用测定可以包括(i)在存在和不存在抗体或存在测试抗体和阴性对照抗体的情况下将髓鞘添加到细胞(例如，髓样细胞)中，以及(ii)确定细胞对髓鞘的摄取。细胞可以是接种的细胞(例如，接种的髓样细胞)。可以将细胞(例如，髓样细胞)极化。(参见例如Durafourt等人，2012，Glia60:717-727。)可以对髓鞘进行标记。例如，可以使用例如pH敏感性染料诸如ph-罗丹明(Invitrogen)将髓鞘染色。为了获得染色的髓鞘，可以将髓鞘和染料(例如，pH敏感性染料)孵育例如约1小时，任选地在PBS中进行。可以将髓鞘(例如，染色的髓鞘)添加到细胞(例如，髓样细胞)中至最终浓度为例如约5μg/ml至约20μg/ml。因此，在某些方面，将髓鞘(例如，染色的髓鞘)添加到细胞(例如，髓样细胞)中至最终浓度为约5μg/ml或约20μg/ml。与不存在抗体或存在阴性对照抗体时的摄取相比，增加对髓鞘的吞噬作用(即，增加通过吞噬作用对髓鞘的清除)的抗体在这种测定中增加细胞对髓鞘的摄取。

[0115] 巨噬细胞趋化蛋白-1

[0116] 单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)将免疫细胞募集至损伤部位。本公开的抗MerTK抗体增加了M2c极化巨噬细胞中的MCP-1水平，表明抗MerTk抗体有效地激活或增加MerTK的活性并因此有效地增强吞噬作用和胞葬作用。

[0117] pAKT

[0118] 蛋白激酶B(AKT)信号传导通路是促进细胞存活和生长的信号转导通路，该过程由AKT的磷酸化(pAKT)启动。MerTK配体Gas6增加细胞中的pAKT水平。本公开的抗MerTK抗体在不存在Gas6的情况下增加细胞中的pAKT水平。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体使pAKT水平增加至少1倍、至少2倍、至少3倍或至少4倍。

[0119] pMerTK

[0120] MerTK配体Gas6增加MerTK的磷酸化(pMerTK)。本公开的抗MerTK抗体在Gas6不存在下增加MerTK的磷酸化(pMerTK)。此外,本公开的抗MerTk抗体有效地将pMerTK增加到比单独使用Gas6时观察到的水平更高的水平。在一些方面,本公开的抗MerTK抗体使pMerTK水平增加至少1倍、至少2倍、至少3倍或至少4倍。

[0121] 因此,在一些方面,本公开的抗MerTK抗体增加MerTK活性,包括但不限于增加吞噬细胞的吞噬作用,不使胞葬作用减少超过40%,增加pMerTK水平,增加pAKT水平,以及增加MCP-1表达,或它们的任何组合。不希望受理论束缚,本公开的抗MetTK抗体增加MerTK的活性,允许MerTK与其结合蛋白(例如Gas6、ProS)相互作用以向小胶质细胞和星形胶质细胞发出信号从而增强对降解的髓鞘的吞噬作用,增强它们向需要髓鞘再生的部位的迁移,并提高小胶质细胞的存活和/或增殖的能力增加。

[0122] 已显示膜结合的MerTK经蛋白水解裂解,导致可溶性MerTK(sMerTK)的形成,sMerTK已被证明可抑制小鼠的血小板增多并抑制体外的胞葬作用。MerTK在小鼠巨噬细胞中在脯氨酸485处被金属蛋白酶(例如,ADAM17、ADAM10)裂解。(Thorp等人,2011,J.Biol.Chem.,38:33335-33344)。不希望受理论束缚,本公开的抗MerTK抗体减少MerTK裂解是减少sMerTK形成并因此维持或增加MerTK活性和信号传导从而使吞噬作用和胞葬作用增加的有效手段。

[0123] A.示例性抗体和某些其他抗体方面

[0124] 在一些方面,本公开提供了抗MerTK抗体,所述抗MerTK抗体包含选自以下的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个HVR:(a)包含选自由SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、213、214和224组成的组的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含选自由SEQ ID NO:81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、215、216和225组成的组的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含选自由SEQ ID NO:110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、217、218和226组成的组的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含选自由SEQ ID NO:137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162和220组成的组的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含选自由SEQ ID NO:163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184和227组成的组的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含选自由SEQ ID NO:185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、219、221和228组成的组的氨基酸序列的HVR-L3。

[0125] 在一些方面,本文提供了抗MerTK抗体,所述抗MerTK抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个V_H HVR序列:(a)包含选自由SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、213、214和224组成的组的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含选自由SEQ ID NO:81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、215、216和225组成的组的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含选自由SEQ ID NO:110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、217、218和226

组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。

[0126] 在一些方面，本文提供了抗MerTK抗体，所述抗MerTK抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个V_L HVR序列：(a)包含选自由SEQ ID NO:137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162和220组成的组的氨基酸序列的HVR-L1；(b)包含选自由SEQ ID NO:163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184和227组成的组的氨基酸序列的HVR-L2；和(c)包含选自由SEQ ID NO:185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、219、221和228组成的组的氨基酸序列的HVR-L3。

[0127] 在一些方面，本公开提供了抗MerTK抗体，所述抗MerTK抗体包含(a)V_H结构域，其包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个V_H HVR：(i)包含选自由SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、213、214和224组成的组的氨基酸序列的HVR-H1，(ii)包含选自由SEQ ID NO:81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、215、216和225组成的组的氨基酸序列的HVR-H2，和(iii)包含选自由SEQ ID NO:110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、217、218和226组成的组的氨基酸序列的HVR-H3；以及(b)V_L结构域，其包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个V_L HVR：(i)包含选自由SEQ ID NO:137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162和220组成的组的氨基酸序列的HVR-L1，(ii)包含选自由SEQ ID NO:163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184和227组成的组的氨基酸序列的HVR-L2，和(iii)包含选自由SEQ ID NO:185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、204、205、206、207、208、219、221和228组成的组的氨基酸序列的HVR-L3。

[0128] 在一些方面，本文提供了抗MerTK抗体，所述抗MerTK抗体包含：(a)包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:187的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:

114的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:189的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:191的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:192的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:193的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:170的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:171的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:195的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:172的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:197的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的HVR-H3，(d)

包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:201的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:178的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:179的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:201的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:180的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:204的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:205的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:206的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:170的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:207的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含

SEQ ID NO:162的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:213的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:215的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:217的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:180的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:219的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:214的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:216的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:218的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:220的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:172的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:221的氨基酸序列的HVR-L3；(a)包含SEQ ID NO:224的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含SEQ ID NO:225的氨基酸序列的HVR-H2，(c)包含SEQ ID NO:226的氨基酸序列的HVR-H3，(d)包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的HVR-L1，(e)包含SEQ ID NO:227的氨基酸序列的HVR-L2，和(f)包含SEQ ID NO:228的氨基酸序列的HVR-L3。

[0129] 在另一方面，抗MerTK抗体包含与选自由SEQ ID NO: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、209、210和222组成的组的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的重链可变结构域(V_H)序列。在某些方面，与选自由SEQ ID NO: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、209、210和222组成的组的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％同一性的V_H序列相对于参考序列含有取代(例如，保守性取代)、插入或缺失，但包含该序列的抗MerTK抗体保留结合至MerTK的能力。在某些方面，在SEQ ID NO: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、209、210或222中总计1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面，在SEQ ID NO: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、209、210或222中总计1至5个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面，取代、插入或缺失发生在HVR以外的区域(即，在FR中)。任选地，抗MerTK抗体包含SEQ ID NO: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、209、210或222的V_H序列，包括该序列的翻译后修饰。在一特定方面，V_H包含选自以下的一个、两个或三个HVR：(a)包含选自由SEQ ID NO:63-80、213、214和224组成的组的氨基酸序列的HVR-H1，(b)包含选自由SEQ ID NO:81-109、215、216和225组成的组的氨基酸序列的HVR-H2，以及(c)包含选自由SEQ ID NO:110-136、217、218和226组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。

[0130] 在另一方面，提供了一种抗MerTK抗体，其中所述抗体包含与选自由SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、211、212和223组成的组的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的轻链可变结构域(V_L)。在某些方面，与选自由SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、211、212和223组成的组的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％同一性的V_L序列相对于参考序列含有取代(例如，保守性取代)、插入或缺失，但包含该序列的抗MerTK抗体保留结合至MerTK的能力。在一些方面，在SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、

52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、211、212或223中总计1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面，在SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、211、212或223中总计1至5个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在某些方面，取代、插入或缺失发生在HVR以外的区域(即，在FR中)。任选地，所述抗MerTK抗体包含SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、211、212或223的V_L序列，包括该序列的翻译后修饰。在一特定方面，V_L包含选自以下的一个、两个或三个HVR：(a)包含选自由SEQ ID NO:137-162和220组成的组的氨基酸序列的HVR-L1，(b)包含选自由SEQ ID NO:163-184和227组成的组的氨基酸序列的HVR-L2，以及(c)包含选自由SEQ ID NO:185-208、219、221和228组成的组的氨基酸序列的HVR-L3。

[0131] 在一些方面，提供了抗MerTK抗体，其中所述抗体包含如在上文提供的方面中的任一者中的V_H和如在上面提供的方面中的任一者中的V_L。在一些方面，本文提供了抗MerTK抗体，其中所述抗体包含如在上文提供的方面中的任一者中的V_H和如在上面提供的方面中的任一者中的V_L。在一方面，所述抗体分别包含SEQ ID NO:5-33、209、210和222以及SEQ ID NO:34-62、211、212和223的V_H和V_L序列，包括那些序列的翻译后修饰。

[0132] 在一些方面，本文提供了包含重链可变结构域(V_H)和轻链可变结构域(V_L)的抗MerTK抗体，其中所述V_H和V_L选自由以下组成的组：包含SEQ ID NO:5的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:34的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:6的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:35的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:7的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:36的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:8的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:37的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:9的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:38的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:10的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:39的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:11的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:40的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:12的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:41的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:13的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:42的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:14的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:43的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:15的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:44的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:16的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:45的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:17的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:46的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:18的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:47的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:19的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:48的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:20的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:49的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:21的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:50的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:22的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:51的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:23的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:52的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:24的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:53的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:25的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:54的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:26的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:55的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:27的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:56的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:28的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:57的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:29的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:58的氨基酸系列的V_L；包含SEQ ID NO:30的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:59的氨基酸系列的V_L；

包含SEQ ID NO:31的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:60的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:32的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:61的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:33的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:62的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:209的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:211的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:210的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:212的氨基酸系列的V_L;以及包含SEQ ID NO:222的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:223的氨基酸系列的V_L。

[0133] 在一些方面,本公开的抗MerTK抗体竞争性地抑制用于结合至MerTK的选自MTK-201、MTK-202、MTK-203、MTK-204、MTK-205、MTK-206、MTK-207、MTK-208、MTK-209、MTK-210、MTK-211、MTK-212、MTK-213、MTK-214、MTK-215、MTK-216、MTK-217、MTK-218、MTK-219、MTK-220、MTK-221、MTK-222、MTK-223、MTK-224、MTK-225、MTK-226、MTK-227、MTK-228、MTK-229、MTK-230、MTK-231和MTK-232以及它们的任何组合的至少一种参考抗体的结合。

[0134] 在一些方面,本公开的抗MerTK抗体结合至与选自MTK-201、MTK-202、MTK-203、MTK-204、MTK-205、MTK-206、MTK-207、MTK-208、MTK-209、MTK-210、MTK-211、MTK-212、MTK-213、MTK-214、MTK-215、MTK-216、MTK-217、MTK-218、MTK-219、MTK-220、MTK-221、MTK-222、MTK-223、MTK-224、MTK-225、MTK-226、MTK-227、MTK-228、MTK-229、MTK-230、MTK-231和MTK-232的至少一种参考抗体所结合的MerTK表位相同或重叠的人MerTK的表位。用于定位抗体所结合表位的详细示例性方法提供于Morris(1996)“Epitope Mapping Protocols,”Methods in Molecular Biology第66卷(Humana Press,Totowa,NJ)中。

[0135] 在一些方面,本公开的抗MerTK抗体竞争性地抑制至少一种参考抗体的结合,或者结合至与至少一种参考抗体所结合的MerTK表位相同或重叠的人MerTK的表位,其中所述参考抗体是包含重链可变结构域(V_H)和轻链可变结构域(V_L)的抗MerTK抗体,其中所述V_H和V_L选自由以下组成的组:包含SEQ ID NO:5的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:34的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:6的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:35的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:7的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:36的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:8的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:37的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:9的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:38的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:10的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:39的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:11的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:40的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:12的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:41的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:13的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:42的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:14的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:43的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:15的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:44的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:16的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:45的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:17的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:46的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:18的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:47的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:19的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:48的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:20的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:49的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:21的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:50的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:22的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:51的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:23的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:52的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:24的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:53的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:25的氨基酸系列的V_H和

包含SEQ ID NO:54的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:26的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:55的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:27的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:56的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:28的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:57的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:29的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:58的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:30的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:59的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:31的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:60的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:32的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:61的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:33的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:62的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:209的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:211的氨基酸系列的V_L;包含SEQ ID NO:210的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:212的氨基酸系列的V_L;以及包含SEQ ID NO:222的氨基酸系列的V_H和包含SEQ ID NO:223的氨基酸系列的V_L。

[0136] 在一些方面,根据任何上述方面的抗MerTK抗体是单克隆抗体,包括人源化抗体和/或人抗体。在一些方面,抗MerTK抗体是抗体片段,例如,Fv、Fab、Fab'、scFv、双抗体或F(ab')2片段。在一些方面,抗MerTK抗体为基本上全长抗体,例如IgG1抗体、IgG2a抗体或如本文所定义的其他抗体类别或同种型。

[0137] 在一些方面,根据任何上述方面的抗MerTK抗体可以单独或组合并入如以下部分1-7所述的任何特征。

[0138] (1)抗MerTK抗体结合亲和力

[0139] 在本文提供的抗体中的任一者的一些方面,抗体具有<1μM、<100nM、<10nM、<1nM、<0.1nM、<0.01nM或<0.001nM(例如,10^{-8}M,例如10^{-8}M至10^{-13}M,例如10^{-9}M至10^{-13}M)的解离常数(K_D)。解离常数可通过任何分析技术来测定,包括任何生物化学或生物物理技术,诸如ELISA、表面等离子共振(SPR)、生物层干涉术(参见例如Octet System,ForteBio)、等温滴定量热法(ITC)、差示扫描量热法(DSC)、圆二色性(CD)、停流分析和比色或荧光蛋白熔化分析。在一方面,Kd通过经放射性标记的抗原结合测定(RIA)来测量。在一些方面,RIA用目标抗体的Fab形式及其抗原执行,例如如Chen等人J.Mol.Biol.293:865-881(1999)所述。在一些方面,K_D使用BIACORE表面等离子共振测定来测量,例如,使用BIACORE-2000或BIACORE-3000(BIAcore,Inc.,Piscataway,NJ)的测定在25℃下用经固定抗原CM5芯片在约10反应单位(RU)下执行。在一些方面,K_D使用单价抗体(例如,Fab)或全长抗体来测定。在一些方面,K_D使用呈单价形式的全长抗体来测定。

[0140] 在一些方面,本公开的抗MerTK抗体结合至人MerTK,其中结合人MerTK的K_D为约1.4nM至约81nM。在一些方面,抗MerTK抗体结合至cyno MerTK,其中结合cyno MerTK的K_D为约1.6nM至约107nM。在一些方面,本公开的抗MerTK抗体结合至鼠科动物MerTK,其中结合鼠科动物MerTK的K_D为约30nM至约186nM。

[0141] (2)抗体片段

[0142] 在本文提供的抗体中的任一者的一些方面,所述抗体是抗体片段。抗体片段包括但不限于Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$、Fv和scFv片段以及以下所述的其他片段。对于某些抗体片段的综述,参见Hudson等人Nat.Med.9:129-134(2003)。对于scFv片段的综述,参见例如WO 93/16185;和美国专利第5571894号和第5587458号。对于包含补救受体结合表位残基并具有延长的体内半衰期的Fab和$F(ab')_2$片段的讨论,参见美国专利第5869046号。

[0143] 双抗体为具有可以为二价的或双特异性的两个抗原结合位点的抗体片段。参见例如EP404097;WO 1993/01161;Hudson等人Nat.Med.9:129-134(2003)。三链抗体(triabody)和四链抗体(tetrabody)也描述于Hudson等人,Nat.Med.9:129-134(2003)。单结构域抗体为包含抗体的所有或一部分重链可变结构域或所有或一部分轻链可变结构域的抗体片段。在某些方面,单结构域抗体为人单结构域抗体(参见例如美国专利第6,248,516号)。

[0144] 抗体片段可以通过各种技术来制备,所述技术包括但不限于如本文所述的完整抗体的蛋白水解消化以及由重组宿主细胞(例如大肠杆菌(E.coli)或噬菌体)产生。

[0145] (3)嵌合抗体和人源化抗体

[0146] 在本文提供的抗体中的任一者的一些方面,所述抗体是嵌合抗体。某些嵌合抗体描述于例如美国专利第4816567号中。在一个实例中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,源自小鼠、大鼠、仓鼠、兔或非人灵长类诸如猴的可变区)和人恒定区。在另一个实例中,嵌合抗体为"类型转换(class switched)"抗体,其中类或亚类已从亲本抗体的类或亚类而改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0147] 在本文提供的抗体中的任一者的一些方面,所述抗体是人源化抗体。通常,非人抗体被人源化以减少对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。在某些方面,人源化抗体在人体中基本上是非免疫原性的。在某些方面,人源化抗体对靶标的亲和力与来自产生所述人源化抗体的另一物种的抗体基本上相同。参见例如美国专利第5530101号;第5693761号;第5693762号;和第5585089号。在某些方面,鉴定可在不减弱抗原结合结构域的天然亲和力同时减少其免疫原性的情况下经修饰的抗体可变结构域氨基酸。参见例如美国专利第5766886号和第5869619号。通常,人源化抗体包含一个或多个可变结构域,其中HVR (或其部分)源自非人抗体,并且FR(或其部分)源自人抗体序列。人源化抗体任选地还将包含人恒定区的至少一部分。在一些方面,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,HVR残基来源于其中的抗体)的相应残基取代,例如,以恢复或提高抗体特异性或亲和力。

[0148] 人源化抗体和它们的制备方法综述于例如,Almagro等人,Front.Biosci.13:1619-1633(2008)中,并且进一步描述于例如美国专利第5821337号、第7527791号、第6982321号和第7087409号中。可用于人源化的人框架区包括但不限于:使用"最佳拟合"方法选择的框架区(参见例如Sims等人,J.Immunol.151:2296(1993));源自轻链或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列的框架区(参见例如Carter等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);和Presta等人J.Immunol.,151:2623(1993));人成熟(体细胞突变的)框架区或人种系框架区(参见例如Almagro和Fransson Front.Biosci.13:1619-1633(2008));以及源自筛选FR文库的框架区(参见例如Baca等人J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997)和Rosok等人J.Biol.Chem.271:22611-22618(1996))。

[0149] (4)人抗体

[0150] 在本文提供的抗体中的任一者的一些方面,所述抗体是人抗体。可以使用本领域已知的各种技术生产人抗体。人抗体通常描述于van Dijk等人Curr.Pharmacol.5:368-74(2001)和Lonberg Curr.Opin.Immunol.20:450-459(2008)。

[0151] 可以通过将免疫原施用于已被改性以产生对抗原激发应答的完整人抗体或具有人可变区的完整抗体的转基因动物来制备人抗体。我们可用人Ig基因座的大片段工程改造

缺乏小鼠抗体产生的小鼠品系，预期此小鼠将在小鼠抗体不存在下产生人抗体。大的人Ig片段可保留大的可变基因多样性以及对抗体产生和表达的适当调控。通过利用关于抗体多样化和选择以及对人蛋白的免疫耐受性缺乏的小鼠机制，这些小鼠品系中再现的人抗体谱系可产生针对任何目标抗原(包括人抗原)的高亲和力全人抗体。使用杂交瘤技术，可产生并且选择具有所需特异性的抗原特异性人MAb。某些示例性方法描述于美国专利第5545807号、EP 546073和EP 546073中。还参见例如描述XENOMOUSE™技术的美国专利第6075181号和第6150584号；描述HUMAB®技术的美国专利第5770429号；描述K-M MOUSE®技术的美国专利第7041870号；和描述VELOCIMOUSE®技术的美国专利申请公布第US 2007/0061900号。来自由此类动物产生的完整抗体的人可变区可以被进一步改性，例如，通过与不同的人恒定区组合。

[0152] 也可以通过基于杂交瘤的方法来制备人抗体。已描述用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人异源骨髓瘤细胞系。(参见例如Kozbor J.Immunol.133:3001(1984)和Boerner等人J.Immunol.147:86(1991))。通过人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体也描述于Li等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1 03:3557-3562(2006)。其他方法包括描述于例如美国专利第7189826号(描述从杂交瘤细胞系产生单克隆人IgM抗体)。人杂交瘤技术(Trioma技术)也描述于Vollmers等人,Histology and Histopathology,20(3):927-937(2005)以及Vollmers等人,Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology,27(3):185-91(2005)。也可通过分离选自来源于人的噬菌体展示文库的Fv克隆的可变结构域序列来产生人抗体。然后此类可变结构域序列可与期望的人恒定结构域组合。从抗体文库选择人抗体的技术如下所述。

[0153] 在本文提供的抗体中的任一者的一些方面，所述抗体是通过体外方法和/或筛选组合文库中具有所需一种或多种活性的抗体而分离的人抗体。合适实例包括但不限于噬菌体展示(CAT、Morphosys、Dyax、Biosite/Medarex、Xoma、Symphogen、Alexion(先前称为Proliferon)、Affimed)、核糖体展示(CAT)、酵母展示(Adimab)等。在某些噬菌体展示方法中，VH和VL基因的库(repertoire)通过聚合酶链式反应(PCR)分别克隆，并且在噬菌体文库中随机重组，然后其可以用来筛选抗原结合噬菌体，如在Winter等人Ann.Rev.Immunol.12:433-455(1994)。例如，本领域已知多种方法用于产生噬菌体展示文库和筛选具有所需结合特性的抗体的此类文库。另外参见Sidhu等人J.Mol.Biol.338(2):299-310,2004;Lee等人J.Mol.Biol.340(5):1073-1093,2004;Fellouse Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101(34):12467-12472(2004);和Lee等人.J.Immunol.Methods 284(-2):1 19-132(2004)。噬菌体通常以单链Fv(scFv)片段或以Fab片段展示抗体片段。来自免疫源的文库给免疫原提供高亲和力抗体而不需要构建杂交瘤。或者，可以克隆(例如，从人)初始库(naive repertoire)以给多种非自体抗原也和没有任何免疫作用的自体抗原提供单一来源的抗体，如Griffiths等人,EMBO J.12:725-734(1993)所述。最后，还可以通过克隆来自干细胞的未重排的V基因片段和使用包含编码高度可变的HVR3区并实现体外重排的随机序列的PCR引物来通过合成制备初始文库，如Hoogenboom等人J.Mol.Biol.,227:381-388,1992所述。描述人抗体噬菌体文库的专利公布包括例如：美国专利第5750373号和美国专利公布第2007/0292936号和第2009/0002360号。从人抗体文库分离的抗体被认为本文的人抗体或人抗体片段。

[0154] (5)包括Fc区的恒定区

[0155] 在本文提供的抗体中的任一者的一些方面，抗体包含Fc。在一些方面，Fc为人IgG1、IgG2、IgG3和/或IgG4同种型。在一些方面，抗体属于IgG类、IgM类或IgA类。

[0156] 在本文提供的抗体中的任一者的某些方面，抗体具有IgG2同种型。在一些方面，抗体含有人IgG2恒定区。在一些方面，人IgG2恒定区包括Fc区。在一些方面，抗体独立于结合至Fc受体诱导一种或多种MerTK活性。在一些方面，抗体结合抑制性Fc受体。在某些方面，抑制性Fc受体是抑制性Fc-γ受体IIB(FcγIIB)。

[0157] 在本文提供的抗体中的任一者的某些方面，抗体具有IgG1同种型。在一些方面，抗体含有小鼠IgG1恒定区。在一些方面，抗体含有人IgG1恒定区。在一些方面，人IgG1恒定区包括Fc区。在一些方面，抗体结合抑制性Fc受体。在某些方面，抑制性Fc受体是抑制性Fc-γ受体IIB(FcγIIB)。

[0158] 在本文提供的抗体中的任一者的某些方面，抗体具有IgG4同种型。在一些方面，抗体含有人IgG4恒定区。在一些方面，人IgG4恒定区包括Fc区。在一些方面，抗体结合抑制性Fc受体。在某些方面，抑制性Fc受体是抑制性Fc-γ受体IIB(FcγIIB)。

[0159] 在本文提供的抗体中的任一者的某些方面，抗体具有杂交IgG2/4同种型。在一些方面，抗体包括包含人IgG2的氨基酸118至260(根据EU编号)和人IgG4的氨基酸261-447(根据EU编号)的氨基酸序列(WO 1997/11971;WO 2007/106585)。

[0160] 在一些方面，如与包含不包含氨基酸取代的Fc区的相应抗体相比，Fc区增加簇集而不活化补体。在一些方面，抗体诱导所述抗体特异性地结合的靶标的一种或多种活性。在一些方面，抗体结合至MerTK。

[0161] 还可能需要修饰本公开的抗MerTK抗体以改良效应子功能并且/或者延长抗体的血清半衰期。举例来说，恒定区上的Fc受体结合位点可被修饰或突变以去除或降低与某些Fc受体(诸如FcγRI、FcγRII和/或FcγRIII)的结合亲和力，以降低抗体依赖性细胞介导的细胞毒性。在一些方面，通过去除抗体的Fc区(例如，在IgG的CH2结构域中)的N-糖基化来减弱效应子功能。在一些方面，通过修饰诸如人IgG的233-236、297和/或327-331的区域来减弱效应子功能，如WO 99/58572和Armour等人Molecular Immunology 40:585-593(2003);Reddy等人J.Immunology 164:1925-1933(2000)中所述。在其他方面，还可能需要修饰本公开的抗MerTK抗体以改良效应子功能，从而增加对含有ITIM的FcgRIIb(CD32b)的发现选择性以增加MerTK抗体在临近细胞上的聚集而不使体液反应(包括抗体依赖性细胞介导的细胞毒性和抗体依赖性细胞吞噬作用)活化。

[0162] 举例来说，为了延长抗体的血清半衰期，可将补救受体结合表位并入至抗体(尤其抗体片段)中，如美国专利5739277中所述。如本文所用，术语“补救受体结合表位”是指IgG分子(例如，IgG_1、IgG_2、IgG_3或IgG_4)的Fc区的负责增加IgG分子的体内血清半衰期的表位。其他氨基酸序列修饰。

[0163] (6)抗体变体

[0164] 在本文提供的抗体中的任一者的一些方面，涵盖抗体的氨基酸序列变体。例如，可能希望改善抗体的结合亲和力和/或其他生物学特性。

[0165] (i)取代、插入和缺失变体

[0166] 在本文提供的任何抗体的一些方面，提供了具有一个或多个氨基酸取代的抗体变体。抗体的氨基酸序列变体可以通过将适当的修改引入到编码抗体的核苷酸序列中或通过

肽合成来制备。此类修改包括例如在抗体的氨基酸序列内残基的缺失和/或插入和/或取代。

[0167] 表A:氨基酸取代

[0168]

原始残基	示例性取代	优选取代
Ala(A)	Val;Leu;Ile	Val
Arg(R)	Lys;Gln;Asn	Lys
Asn(N)	Gln;His;Asp,Lys;Arg	Gln
Asp(D)	Glu;Asn	Glu
Cys(C)	Ser;Ala	Ser
Gln(Q)	Asn;Glu	Asn
Glu(E)	Asp;Gln	Asp
Gly(G)	Ala	Ala
His(H)	Asn;Gln;Lys;Arg	Arg
Ile(I)	Leu;Val;Met;Ala;Phe;正亮氨酸	Leu
Leu(L)	正亮氨酸;Ile;Val;Met;Ala;Phe	Ile
Lys(K)	Arg;Gln;Asn	Arg
Met(M)	Leu;Phe;Ile	Leu
Phe(F)	Leu;Val;Ile;Ala;Tyr	Tyr
Pro(P)	Ala	Ala
Ser(S)	Thr	Thr
Thr(T)	Ser	Ser
Trp(W)	Tyr;Phe	Tyr
Tyr(Y)	Trp;Phe;Thr;Ser	Phe
Val(V)	Ile;Leu;Met;Phe;Ala;正亮氨酸	Leu

[0169] 抗体的生物特性的实质性修饰通过选择对维持以下方面的影响显著不同的取代来实现:(a)取代区域中的多肽骨架的结构,例如呈折叠或螺旋构象;(b)分子在靶标位点处的电荷或疏水性;或(c)侧链体积。基于常见侧链特性将天然存在的残基分为以下各组:

[0170] (1)疏水性的:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0171] (2)中性亲水性的:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

[0172] (3)酸性的:Asp、Glu;

[0173] (4)碱性的:His、Lys、Arg;

[0174] (5)影响链取向的残基:Gly、Pro;和

[0175] (6)芳族的:Trp、Tyr、Phe。

[0176] 例如,非保守取代可涉及将这些类别之一的成员交换成另一类别的成员。这些取代残基可被引入至例如人抗体中与非人抗体同源的区中,或引入至所述分子的非同源区中。

[0177] 根据某些方面,在对本文所述的多肽或抗体进行改变时,可考虑氨基酸的亲水指数(hydropathic index)。已基于每种氨基酸的疏水性和电荷特征对它指定了亲水指数。其为:异亮氨酸(+4.5);缬氨酸(+4.2);亮氨酸(+3.8);苯丙氨酸(+2.8);半胱氨酸/胱氨酸(+

2.5)；甲硫氨酸(+1.9)；丙氨酸(+1.8)；甘氨酸(-0.4)；苏氨酸(-0.7)；丝氨酸(-0.8)；色氨酸(-0.9)；酪氨酸(-1.3)；脯氨酸(-1.6)；组氨酸(-3.2)；谷氨酸(-3.5)；谷氨酰胺(-3.5)；天冬氨酸(-3.5)；天冬酰胺(-3.5)；赖氨酸(-3.9)；以及精氨酸(-4.5)。

[0178] 本领域中应当理解氨基酸亲水指数在对蛋白质赋予交互性生物功能中的重要性。Kyte等人J.Mol.Biol.,157:105-131(1982)。已知某些氨基酸可取代具有相似亲水指数或评分的其他氨基酸并且仍保留相似生物活性。在基于亲水指数进行改变时，在某些方面，包括亲水指数在±2内的氨基酸的取代。在某些方面，包括在±1内的那些取代，并且在某些方面，包括在±0.5内的那些取代。

[0179] 本领域中还应当理解，可基于亲水性有效地进行类似氨基酸的取代，尤其在由此产生的生物学功能蛋白或肽意欲用于免疫学方面时，如在本案的情况下。在某些方面，蛋白质的最大局部平均亲水性(如由其相邻氨基酸的亲水性决定)与其免疫原性和抗原性，即，与蛋白质的生物学特性相关。

[0180] 已给这些氨基酸残基指定以下亲水性值：精氨酸(+3.0)；赖氨酸(+3.0±1)；天冬氨酸(+3.0±1)；谷氨酸(+3.0±1)；丝氨酸(+0.3)；天冬酰胺(+0.2)；谷氨酰胺(+0.2)；甘氨酸(0)；苏氨酸(-0.4)；脯氨酸(-0.5±1)；丙氨酸(-0.5)；组氨酸(-0.5)；半胱氨酸(-1.0)；蛋氨酸(-1.3)；缬氨酸(-1.5)；亮氨酸(-1.8)；异亮氨酸(-1.8)；酪氨酸(-2.3)；苯丙氨酸(-2.5)以及色氨酸(-3.4)。在基于相似亲水性值进行改变时，在某些方面，包括亲水性值在±2内的氨基酸取代，在某些方面包括在±1内的那些取代，并且在某些方面，包括在±0.5内的那些取代。我们还可基于亲水性从一级氨基酸序列鉴定表位。这些区还称作“表位核心区”。

[0181] 在上面提供的变体VH和VL序列的某些方面，每个HVR是不变的。

[0182] 氨基酸序列插入包括长度范围为一个残基至包含一百或更多个残基的多肽的氨基-和/或羧基-末端融合，以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实例包括具有N末端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的其他插入变体包括抗体的N末端或C末端与酶(例如，关于ADEPT)或增加抗体的血清半衰期的多肽的融合物。

[0183] 在HVR外部并且不参与维持抗体的适当构象的任何半胱氨酸残基一般地还可被丝氨酸取代，以改善分子的氧化稳定性并且防止异常交联。反之，可将一个或多个半胱氨酸键添加至抗体中以改善其稳定性(尤其在抗体是抗体片段(诸如Fv片段)的情形下)。

[0184] (ii)糖基化变体

[0185] 在本文提供的抗体中的任一者的一些方面，改变抗体以提高或降低抗体糖基化的程度。可以通过改变氨基酸序列以使得创建或除去一个或多个糖基化位点来方便地实现对抗体的糖基化位点的添加或缺失。

[0186] 抗体的糖基化典型地为N连接或O连接的。N连接是指碳水化合物部分与天冬酰胺残基的侧链连接。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸(其中X是除脯氨酸外的任一氨基酸)是碳水化合物部分与天冬酰胺侧链酶促连接的识别序列。因此，多肽中存在这些三肽序列中的任一者均可产生潜在糖基化位点。O连接的糖基化是指糖N-乙酰半乳糖胺、半乳糖、或木糖中的一种与羟基氨基酸的连接，羟基氨基酸最常见的是丝氨酸或苏氨酸，尽管也可使用5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸。

[0187] 通过改变氨基酸序列以致其含有上文所述的三肽序列中的一者或多者来方便地

实现对抗体的糖基化位点的添加(对于N连接的糖基化位点)。还可通过向原始抗体的序列添加一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基或用一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基进行取代来实现所述改变(对于O连接的糖基化位点)。

[0188] 在抗体包含Fc区的情况中,可以改变与其连接的碳水化合物。由哺乳动物细胞产生的天然抗体通常包含分支的、双触角寡糖,其一般通过N键连接于Fc区的CH2结构域的Asn297(根据Kabat编号)。寡糖可以包括各种碳水化合物,例如,甘露糖、N-乙酰葡糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸,以及连接于双触角寡糖结构"主干"中的GlcNAc的岩藻糖。在一些方面,可以对本公开抗体中的寡糖进行修饰以产生具有某些改善的特性的抗体变体。

[0189] 在一方面,提供了抗体变体,其具有缺乏连接(直接或间接)于Fc区的岩藻糖的碳水化合物结构。参见例如美国专利公布第2003/0157108号和第2004/0093621号。涉及"脱岩藻糖基化的"或"岩藻糖缺乏的"抗体变体的出版物的实例包括:US 2003/0157108;US 2003/0115614;US 2002/0164328;US 2004/0093621;US 2004/0132140;US 2004/0110704;US 2004/0110282;US 2004/0109865;Okazaki等人.J.Mol.Biol.336:1239-1249(2004);Yamane-Ohnuki等人Biotech.Bioeng.87:614(2004)。能够产生脱岩藻糖基化抗体的细胞系的实例包括蛋白质岩藻糖基化缺陷的Lec 3CHO细胞(Ripka等人Arch.Biochem.Biophys.249:533-545(1986);US 2003/0157108),和敲除细胞系,诸如α-1,6-岩藻糖基转移酶基因FUT8基因敲除CHO细胞(参见例如Yamane-Ohnuki等人,Biotech.Bioeng.87:614(2004)和Kanda等人Biotechnol.Bioeng.94(4):680-688(2006))。

[0190] (iii)经修饰的恒定区

[0191] 在本文提供的抗体中的任一者的一些方面,抗体Fc是抗体Fc同种型和/或修饰。在一些方面,抗体Fc同种型和/或修饰能够结合至Fcγ受体。

[0192] 在本文提供的抗体中的任一者的一些方面,经修饰的抗体Fc是IgG1经修饰的Fc。在一些方面,IgG1经修饰的Fc包含一种或多种修饰。例如,在一些方面,IgG1经修饰的Fc包含一种或多种氨基酸取代(例如,相对于同一同种型的野生型Fc区)。在一些方面,所述一个或多个氨基酸取代选自N297A(Bolt S等人(1993)Eur J Immunol23:403-411)、D265A(Shields等人(2001)R.J.Biol.Chem.276,6591-6604)、L234A、L235A(Hutchins等人(1995)Proc Natl Acad Sci USA,92:11980-11984;Alegre等人,(1994)Transplantation57:1537-1543.31;Xu等人,(2000)Cell Immunol,200:16-26)、G237A(Alegre等人(1994)Transplantation 57:1537-1543.31;Xu等人(2000)Cell Immunol,200:16-26)、C226S、C229S、E233P、L234V、L234F、L235E(McEarchern等人,(2007)Blood,109:1185-1192)、P331S(Sazinsky等人,(2008)Proc Natl Acad Sci USA 2008,105:20167-20172)、S267E、L328F、A330L、M252Y、S254T和/或T256E,其中氨基酸位置是根据EU编号惯例。

[0193] 在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含N297A突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含D265A和N297A突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含D270A突变(根据EU编号)。在一些方面,IgG1经修饰的Fc包含L234A和L235A突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含L234A和G237A突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含L234A、L235A和G237A突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含P238D、L328E、E233、G237D、H268D、P271G和A330R突变(根据EU编号)中的一者或多者

(包括全部)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含S267E/L328F突变(根据EU编号)中的一者或多者。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含P238D、L328E、E233D、G237D、H268D、P271G和A330R突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含P238D、L328E、G237D、H268D、P271G和A330R突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含P238D、S267E、L328E、E233D、G237D、H268D、P271G和A330R突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含P238D、S267E、L328E、G237D、H268D、P271G和A330R突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含C226S、C229S、E233P、L234V和L235A突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含L234F、L235E和P331S突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含S267E和L328F突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含N325S和L328F突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含S267E突变(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含用CH1取代IgG1的恒定重链1(CH1)和铰链区以及用κ轻链取代IgG2的铰链区(IgG2的氨基酸118-230,根据EU编号)。

[0194] 在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包括两种或更多种氨基酸取代,如与具有不包括所述两种或更多种氨基酸取代的Fc区的相应抗体相比,所述两种或更多种氨基酸取代增加抗体簇集而不活化补体。因此,在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,IgG1经修饰的Fc是包含Fc区的抗体,其中所述抗体在位置E430G处的氨基酸取代和Fc区中在选自以下的残基位置处的一种或多种氨基酸取代:L234F、L235A、L235E、S267E、K322A、L328F、A330S、P331S以及它们的任何组合(根据EU编号)。在一些方面,IgG1经修饰的Fc包含在位置E430G、L243A、L235A和P331S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在一些方面,IgG1经修饰的Fc包含在位置E430G和P331S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在一些方面,IgG1经修饰的Fc包含在位置E430G和K322A处的氨基酸取代(根据EU编号)。在一些方面,IgG1经修饰的Fc包含在位置E430G、A330S和P331S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在一些方面,IgG1经修饰的Fc包含在位置E430G、K322A、A330S和P331S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在一些方面,IgG1经修饰的Fc包含在位置E430G、K322A和A330S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在一些方面,IgG1经修饰的Fc包含在位置E430G、K322A和P331S处的氨基酸取代(根据EU编号)。

[0195] 在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,根据EU编号惯例,IgG1经修饰的Fc可在本文中还包含,可与A330L突变(Lazar等人Proc Natl Acad Sci USA,103:4005-4010(2006)),或L234F、L235E和/或P331S突变中的一者或多者(Sazinsky等人Proc Natl Acad Sci USA,105:20167-20172(2008))组合以消除补体活化。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,IgG1经修饰的Fc可还包含A330L、A330S、L234F、L235E和/或P331S中的一者或多者(根据EU编号)。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,IgG1经修饰的Fc可还包含一种或多种突变以增强人血清中的抗体半衰期(例如,M252Y、S254T和T256E突变(根据EU编号惯例)中的一者或多者(包括全部))。在IgG1经修饰的Fc中的任一者的一些方面,IgG1经修饰的Fc可还包含E430G、E430S、E430F、E430T、E345K、E345Q、E345R、E345Y、S440Y和/或S440W中的一者或多者(根据EU编号)。

[0196] 本公开的其他方面涉及具有经修饰的恒定区(即,Fc区)的抗体。依赖于结合至FcgR受体来活化靶向受体的抗体如果经工程改造以消除FcgR结合,则可丧失其激动剂活性

(参见例如Wilson等人Cancer Cell 19:101-113(2011);Armour等人Immunology 40:585-593(2003);和White等人Cancer Cell 27:138-148(2015))。因而,认为当具有正确表位特异性的本公开的抗MerTK抗体具有来自人IgG2同种型的Fc结构域(CH1和铰链区)或能够优先结合抑制性FcgRIIB r受体的另一类型的Fc结构域或其变化形式时,所述抗体可活化靶抗原,同时具有最小副作用。

[0197] 在本文提供的抗体中的任一者的一些方面,经修饰的抗体Fc是IgG2经修饰的Fc。在一些方面,IgG2经修饰的Fc包含一种或多种修饰。例如,在一些方面,IgG2经修饰的Fc包含一种或多种氨基酸取代(例如,相对于同一同种型的野生型Fc区)。在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,所述一种或多种氨基酸取代选自V234A(Alegre等人Transplantation 57:1537-1543(1994);Xu等人Cell Immunol,200:16-26(2000));G237A(Cole等人Transplantation,68:563-571(1999));H268Q、V309L、A330S、P331S(US 2007/0148167;Armour等人Eur J Immunol 29:2613-2624(1999);Armour等人The Haematology Journal 1(增刊1):27(2000);Armour等人The Haematology Journal 1(增刊1):27(2000));C219S和/或C220S(White等人Cancer Cell 27,138-148(2015));S267E、L328F(Chu等人Mol Immunol,45:3926-3933(2008));和M252Y、S254T和/或T256E(根据EU编号惯例)。在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置V234A和G237A处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置C219S或C220S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置A330S和P331S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置S267E和L328F处的氨基酸取代(根据EU编号)。

[0198] 在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含C127S氨基酸取代(根据EU编号惯例)(White等人,(2015)Cancer Cell 27,138-148;Lightle等人Protein Sci.19:753-762(2010);和WO 2008/079246)。在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,所述抗体具有含包含C214S氨基酸取代(根据EU编号惯例)的κ轻链恒定结构域的IgG2同种型(White等人Cancer Cell27:138-148(2015);Lightle等人Protein Sci.19:753-762(2010);和WO 2008/079246)。

[0199] 在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含C220S氨基酸取代(根据EU编号惯例)。在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,所述抗体具有含包含C214S氨基酸取代(根据EU编号惯例)的κ轻链恒定结构域的IgG2同种型。

[0200] 在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含C219S氨基酸取代(根据EU编号惯例)。在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,所述抗体具有含包含C214S氨基酸取代(根据EU编号惯例)的κ轻链恒定结构域的IgG2同种型。

[0201] 在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包括IgG2同种型重链恒定结构域1(CH1)和铰链区(White等人Cancer Cell 27:138-148(2015))。在IgG2经修饰的Fc中的任一者的某些方面,IgG2同种型CH1和铰链区包含氨基酸序列118-230(根据EU编号)。在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,抗体Fc区包含S267E氨基酸取代、L328F氨基酸取代或两者,和/或N297A或N297Q氨基酸取代(根据EU编号惯例)。

[0202] 在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc还包含在位置E430G、E430S、E430F、E430T、E345K、E345Q、E345R、E345Y、S440Y和S440W处的一种或多种氨基酸取代(根据EU编

号)。在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc可还包含一种或多种突变以增强人血清中的抗体半衰期(例如,M252Y、S254T和T256E突变(根据EU编号惯例)中的一者或多者(包括全部))。在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc可还包含A330S和P331S。

[0203] 在IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc为IgG2/4杂交Fc。在一些方面,IgG2/4杂交Fc包含IgG2 aa 118至260和IgG4 aa 261至447。在任何IgG2经修饰的Fc的一些方面,Fc包含在位置H268Q、V309L、A330S和P331S处的一种或多种氨基酸取代(根据EU编号)。

[0204] 在IgG1和/或IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含选自A330L、L234F、L235E或P331S(根据EU编号)以及它们的任何组合的一种或多种额外氨基酸取代。

[0205] 在IgG1和/或IgG2经修饰的Fc中的任一者的某些方面,抗体包含在选自C127S、L234A、L234F、L235A、L235E、S267E、K322A、L328F、A330S、P331S、E345R、E430G、S440Y和它们的任何组合的残基位置处的一种或多种氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG1和/或IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置E430G、L243A、L235A和P331S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG1和/或IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置E430G和P331S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG1和/或IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置E430G和K322A处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG1和/或IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置E430G、A330S和P331S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG1和/或IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置E430G、K322A、A330S和P331S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG1和/或IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置E430G、K322A和A330S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG1和/或IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置E430G、K322A和P331S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG1和/或IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置S267E和L328F处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG1和/或IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置C127S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG1和/或IgG2经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置E345R、E430G和S440Y处的氨基酸取代(根据EU编号)。

[0206] 在本文提供的抗体中的任一者的一些方面,经修饰的抗体Fc是IgG4经修饰的Fc。在一些方面,IgG4经修饰的Fc包含一种或多种修饰。例如,在一些方面,IgG4经修饰的Fc包含一种或多种氨基酸取代(例如,相对于同一同种型的野生型Fc区)。在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,所述一种或多种氨基酸取代选自L235A、G237A、S229P、L236E(Reddy等人J Immunol 164:1925-1933(2000))、S267E、E318A、L328F、M252Y、S254T和/或T256E(根据EU编号惯例)。在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc可还包含L235A、G237A和E318A(根据EU编号惯例)。在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc可还包含S228P和L235E(根据EU编号惯例)。在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,IgG4经修饰的Fc可还包含S267E和L328F(根据EU编号惯例)。

[0207] 在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,IgG4经修饰的Fc包含可与S228P突变(根据EU编号惯例)(Angal等人Mol Immunol.30:105-108(1993))和/或与描述于(Peters等人J Biol Chem.287(29):24525-33(2012))中的一种或多种突变组合以增强抗体稳定化。

[0208] 在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,IgG4经修饰的Fc可还包含一种或多种

突变以增强人血清中的抗体半衰期(例如,M252Y、S254T和T256E突变(根据EU编号惯例)中的一者或多者(包括全部))。

[0209] 在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含L235E(根据EU编号)。在IgG4经修饰的Fc中的任一者的某些方面,Fc包含在选自C127S、F234A、L235A、L235E、S267E、K322A、L328F、E345R、E430G、S440Y以及它们的任何组合的残基位置处的一种或多种氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置E430G、L243A、L235A和P331S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置E430G和P331S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置E430G和K322A处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置E430处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc区包含在位置E430G和K322A处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置S267E和L328F处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置C127S处的氨基酸取代(根据EU编号)。在IgG4经修饰的Fc中的任一者的一些方面,Fc包含在位置E345R、E430G和S440Y处的氨基酸取代(根据EU编号)。

[0210] (7)其他抗体修饰

[0211] 在这些抗体中的任一者的一些方面,抗体是衍生物。术语“衍生物”是指包括除氨基酸(或核酸)的插入、缺失或取代以外的化学修饰的分子。在某些方面,衍生物包含共价修饰,包括但不限于与聚合物、脂质或其他有机或无机部分的化学键合。在某些方面,经化学修饰的抗原结合蛋白可具有比未经化学修饰的抗原结合蛋白长的循环半衰期。在某些方面,经化学修饰的抗原结合蛋白可具有经改善的靶向所需细胞、组织和/或器官的能力。在一些方面,衍生的抗原结合蛋白是经共价修饰以包括一种或多种水溶性聚合物附接,包括但不限于聚乙二醇、聚氧乙二醇或聚丙二醇。参见例如美国专利第4640835号、第4496689号、第4301144号、第4670417号、第4791192号和第4179337号。在某些方面,衍生的抗原结合蛋白包含一种或多种聚合物,包括但不限于单甲氧基-聚乙二醇、葡聚糖、纤维素、乙二醇/丙二醇的共聚物、羧甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧戊环、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或无规共聚物)、聚-(N-乙烯基吡咯烷酮)-聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如,甘油)和聚乙烯醇,以及这些聚合物的混合物。

[0212] 在某些方面,衍生物经聚乙二醇(PEG)亚基共价修饰。在某些方面,一种或多种水溶性聚合物键合于衍生物的一个或多个特定位置处,例如氨基末端。在某些方面,一种或多种水溶性聚合物随机附接至衍生物的一条或多条侧链。在某些方面,使用PEG来改善抗原结合蛋白的治疗能力。在某些方面,使用PEG来改善人源化抗体的治疗能力。某些此类方法论述于例如美国专利第6133426号中,所述专利出于任何目的特此以引用方式并入。

[0213] 肽类似物在制药工业中通常用作非肽药物,其特性类似于模板肽的那些特性。这些类型的非肽化合物称作“肽模拟物”或“拟肽物”。Fauchere,J.Adv.Drug Res.,15:29(1986);和Evans等人J.Med.Chem.,30:1229(1987),其出于任何目的以引用方式并入本文。此类化合物通常借助于计算机化分子建模来开发。在结构上类似于治疗上可用的肽的肽模拟物可用于产生相似的治疗或预防效果。通常,拟肽物在结构上类似于范例多肽(即,具有

生物化学特性或药理学活性的多肽)，诸如人抗体，但具有任选地通过本领域中熟知的方法经选自以下的键联置换的一个或多个肽键联：-CH_2NH-、-CH_2S-、-CH_2-CH_2-、-CH＝CH-(顺式和反式)、-$COCH_2$-、-CH(OH)CH_2-和-CH_2SO-。用相同类型的D-氨基酸系统性取代共有序列的一个或多个氨基酸(例如，D-赖氨酸替代L-赖氨酸)可用于某些方面以产生更稳定的肽。另外，包含共有序列或基本上一致的共有序列变异的约束性肽可通过本领域中已知的方法(Rizo和Gierasch Ann.Rev.Biochem.,61:387(1992)，出于任何目的以引用方式并入本文)；例如，通过添加能够形成使得所述肽环化的分子内二硫桥的内部半胱氨酸残基而产生。

[0214] 药物缀合涉及将生物活性细胞毒性(抗癌)有效载荷或药物与特异性靶向某一肿瘤标志物(例如理想地仅发现于肿瘤细胞中或肿瘤细胞上的多肽)的抗体偶联。抗体在体内追踪这些蛋白质并将自身附着至癌细胞表面。抗体与靶标蛋白(抗原)之间的生物化学反应会触发肿瘤细胞中的信号，所述肿瘤细胞接着吸收或内化抗体以及细胞毒素。在ADC被内化之后，细胞毒性药物得到释放并且杀死癌症。由于此靶向，因此理想地相较于其他化学治疗剂所述药物具有较低的副作用且给出更宽的治疗窗。缀合抗体的技术在本领域中是已知的(参见例如Jane de Lartigue OncLive 2012年7月5日；ADC Review on antibody-drug conjugates；和Ducry等人Bioconjugate Chemistry 21(1):5-13(2010)。

[0215] III.核酸、载体和宿主细胞

[0216] 可使用例如如美国专利第4816567号中所述的重组方法和组合物来产生本公开的抗MerTK抗体。在一些方面，提供了具有编码本公开的抗MerTK抗体中的任一者的核苷酸序列的分离的核酸。此类核酸可以编码组成抗体V_L的氨基酸序列和/或组成抗MerTK抗体V_H的氨基酸序列(例如，抗体的轻链和/或重链)。在一些方面，提供了一种或多种包含此类核酸的载体(例如，表达载体)。在一些方面，还提供了包含此类核酸的宿主细胞。在一些方面，宿主细胞包含(例如，已经用下列载体转导)：(1)包含编码组成抗体的V_L的氨基酸序列和组成抗体的V_H的氨基酸序列的核酸的载体，或(2)包含编码组成抗体的V_L的氨基酸序列的核酸的第一载体和包含编码组成抗体的V_H的氨基酸序列的核酸的第二载体。在一些方面，宿主细胞为真核细胞，例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴细胞(例如，YO、NSO、Sp20细胞)。本公开的宿主细胞还包括但不限于分离的细胞、体外培养的细胞和离体培养的细胞。

[0217] 提供了制备本公开的抗MerTK抗体的方法。在一些方面，所述方法包括在适合抗体的表达的条件下培养本公开的包含编码抗MerTK抗体的核酸的宿主细胞。在一些方面，随后从宿主细胞(或宿主细胞培养基)中回收抗体。

[0218] 为了重组产生本公开的抗MerTK抗体，将编码所述抗MerTK抗体的核酸分离并将其插入至一个或多个载体中以用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。此类核酸可易于分离并使用常规程序(例如，通过使用能够特异性地结合编码抗体重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)测序。

[0219] 本文所述的包含编码本公开的任一抗MerTK抗体或其细胞表面表达片段或多肽(包括抗体)的核酸序列的合适载体包括但不限于克隆载体和表达载体。合适的克隆载体可以根据标准技术构建，或可选自本领域可获得的多种克隆载体。虽然所选择的克隆载体可根据意图使用的宿主细胞而变化，但是可用的克隆载体通常具有自我复制的能力、可拥有针对特定限制性核酸内切酶的单一靶标、和/或可携带可以用于选择包含载体的克隆的标

志物的基因。合适实例包括质粒和细菌病毒，例如pUC18、pUC19、Bluescript(例如pBS SK+)及其衍生物、mp18、mp19、pBR322、pMB9、ColE1、pCR1、RP4、噬菌体DNA和穿梭载体(诸如pSA3和pAT28)。这些和许多其他克隆载体可获自商业供应商，诸如BioRad、Strategene和Invitrogen。

[0220] 用于克隆或表达编码抗体的载体的合适的宿主细胞包括原核或真核细胞。例如，本公开的抗MerTK抗体可在细菌中产生，特别是当不需要糖基化和Fc效应子功能时。对于抗体片段和多肽在细菌中的表达(例如美国专利第5648237号、第5789199号和第5840523号。表达之后，可从细菌细胞浆的可溶部分中分离抗体并且可进行进一步纯化。

[0221] 除原核生物之外，真核微生物(诸如丝状真菌或酵母)也是编码抗体的载体的合适的克隆或表达宿主，包括糖基化途径已被“人源化”、从而导致具有部分或完全人糖基化模式的抗体的产生真菌和酵母菌株(例如，Gerngross Nat.Biotech.22:1409-1414(2004)；和Li等人Nat.Biotech.24:210-215(2006))。

[0222] 用于表达糖基化抗体的合适的宿主细胞还可以源自多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物和昆虫细胞。已经鉴定了可与昆虫细胞结合使用、特别是用于转染草地贪夜蛾(Spodoptera frugiperda)细胞的多种杆状病毒株。植物细胞培养物也可以用作宿主(例如，美国专利第5959177号、第6040498号、第6420548号、第7125978号和第6417429号，描述用于在转基因植物中产生抗体的PLANTIBODIES™技术。)。

[0223] 脊椎动物细胞也可用作宿主。例如，适合于在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系可能是有用的。可用的哺乳动物宿主细胞系的其他实例是由SV40转化的猴肾CV1系(COS-7)；人胚胎肾系(293或293细胞，如例如Graham等人J.Gen Virol.36:59(1977)中所述)；幼仓鼠肾细胞(BHK)；小鼠塞尔托利氏细胞(sertoli cell)(TM4细胞，如例如Mather，Biol.Reprod.23:243-251(1980)中所述)；猴肾细胞(CV1)；非洲绿猴肾细胞(VERO-76)；人宫颈癌细胞(HELA)；犬肾细胞(MDCK；布法罗大鼠(buffalo rat)肝细胞(BRL 3A)；人肺细胞(W138)；人肝细胞(Hep G2)；小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562)；TRI细胞，如例如Mather等人Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)中所述；MRC 5细胞；以及FS4细胞。其他可用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞，包括DHFR-CHO细胞(Urlaub等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA77:4216(1980))；和骨髓瘤细胞系，诸如YO、NSO和Sp2/0。对于适合抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的综述，参见例如Yazaki和Wu，Methods in Molecular Biology，第248卷(B.K.C.Lo编，Humana Press，Totowa，NJ)，第255-268页(2003)。

[0224] IV.药物组合物/制剂

[0225] 本文提供了包含本公开的抗MerTK抗体和药学上可接受的载剂的药物组合物和/或药物制剂。

[0226] 在一些方面，药学上可接受的载剂优选地在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒。待用于体内施用的药物组合物和/或药物制剂可以是无菌的。这易于通过经由例如无菌过滤膜过滤来实现。

[0227] 本文提供的药物组合物和/或药物制剂可用作药剂，例如用于治疗自身免疫性病症。

[0228] V.治疗性和预防性用途

[0229] 如本文所公开，本公开的抗MerTK抗体可用于预防、降低风险或治疗疾病和病症。在一些方面，本公开提供了用于预防、降低风险或治疗个体的自身免疫性病症，例如多发性硬化症的方法，所述方法包括向个体施用治疗有效量的本公开的抗MerTK抗体。

[0230] MerTK与多发性硬化症有关；MerTK中的SNP多态性与多发性硬化症易感性有关。因此，用本公开的抗MerTK抗体调节MerTK活性是预防或治疗多发性硬化症的有效手段。

[0231] 在某些方面，本文提供用于治疗有需要的受试者的多发性硬化症的方法，所述方法包括向所述受试者施用本公开的抗MerTK抗体，或包含本公开的抗MerTK抗体的药物组合物。在一些方面，提供了一种用于治疗有需要的受试者的多发性硬化症的方法，所述方法包括向所述受试者施用本公开的抗MerTK抗体，其中所述抗MerTK抗体增加髓鞘的吞噬作用。在一些方面，提供了一种用于治疗有需要的受试者的多发性硬化症的方法，所述方法包括向所述受试者施用本公开的抗MerTK抗体，其中所述抗MerTK抗体增加MerTK的磷酸化。

[0232] 已经描述了若干类型的多发性硬化症(MS)。复发缓解型MS(RRMS)、原发进展型MS(PPMS)、继发进展型MS(SPMS)和临床孤立综合征(CIS)。复发缓解型MS的特征是不可预测的复发，随后是数月至数年的相对平静(缓解)期，没有疾病活动的迹象。这描述了大约80％的MS个体的初始病程。MS的复发缓解亚型通常开始于临床孤立综合征，其中个体发作提示脱髓鞘，但尚未达到MS的标准。30％-70％经历过CIS的个体后来发展为MS。

[0233] 大约10％-20％的个体发生原发进展型MS，初始症状后没有缓解。它的特征是自发作后失能进展，没有或只有偶尔和轻微的缓解和改善。继发进展型MS发生在大约65％的初始复发缓解型MS个体中，这些患者最终在急性发作之间出现进行性神经功能减退，没有任何明确的缓解期，尽管可能出现偶尔复发和轻微缓解。

[0234] 在一些方面，本公开的抗MerTK抗体有效减少RRMS的复发次数。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体有效减少RRMS的复发频率。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体有效减少RRMS的复发次数和频率。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体有效预防或减少从RRMS到SPMS的转变。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体有效抑制或减少PPMS的疾病进展。

[0235] MerTK突变与各种视网膜神经节退行性病症，包括色素性视网膜炎有关。通常，此类视网膜病症与视网膜色素上皮(RPE)细胞吞噬光感受器外节段能力的降低有关，这种能力降低会导致碎片积累，使得光感受器细胞与RPE细胞分离，致使其退化和视力丧失。此外，MerTK基因的突变与儿童早期夜视力丧失、视野的逐渐收缩和最终成年前视力的丧失有关(Lorach等人，2018，Nature Scientific Reports，8:11312)。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体有效治疗视网膜神经节退行性病症。在一些方面，本公开的抗MerTK抗体有效增加光感受器外节段的吞噬作用。在其他方面，本公开的抗MerTK抗体有效治疗色素性视网膜炎。

[0236] 在一些方面，受试者或个体是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于驯化动物(例如，牛、羊、猫、狗、以及马)、灵长类动物(例如，人和非人灵长类动物，诸如猴)、兔、以及啮齿动物(例如，小鼠和大鼠)。在一些方面，受试者或个体是人。

[0237] 本文提供的抗体(和任何另外的治疗剂)可以通过任何合适的方式施用。

[0238] VI.诊断性用途

[0239] 在这些抗体中的任一者的一些方面，本文提供的抗MerTK抗体中的任一者可用于检测样品或个体中MerTK的存在。如本文所用，术语“检测”涵盖定量或定性检测。本文提供

了使用本公开抗体来实现诊断性目的(诸如检测个体中或源自个体的组织样品中MerTK)的方法。在一些方面,个体是人。在一些方面,组织样品是吞噬细胞(例如,巨噬细胞、树突细胞)、肿瘤组织、癌细胞等。

[0240] 检测方法可涉及抗原结合的抗体的定量。生物样品中的抗体检测可通过本领域已知的任何方法,包括免疫荧光显微术、免疫细胞化学、免疫组织化学、ELISA、FACS分析、免疫沉淀或微正电子发射断层显像来进行。在某些方面,抗体例如使用^{18}F进行放射标记并且随后利用微正电子发射断层显像分析进行检测。抗体结合也可通过非侵入式技术在患者中进行定量,所述非侵入式技术诸如正电子发射断层显像(PET)、X射线计算机断层显像、单光子发射计算机断层显像(SPECT)、计算机断层显像(CT)、以及计算机轴向断层显像(CAT)。

[0241] VII.制品

[0242] 本文提供了包含本文所述的抗MerTK抗体的制品(例如,药盒)。制品可包括一个或多个包含本文所述的抗体的容器。容器可以是任何合适的包装,包括但不限于小瓶、瓶、罐、柔性包装(例如,密封的聚酯薄膜(Mylar)或塑料袋)等。容器可以是单位剂量、散装包装(例如,多剂量包装)或亚单位剂量。

[0243] 在一些方面,药盒可还包含第二剂。在一些方面,所述第二剂是药学上可接受的缓冲剂或稀释剂。

[0244] 在这些制品中的任一者的一些方面,这些制品还包括根据本公开方法使用的说明书。说明书通常包括关于用于预期治疗的剂量、给药时间表和施用途径的信息。在一些方面,这些说明书包含根据任何本公开方法施用本公开的分离的抗体(例如,本文所述的抗MerTK抗体)以预防、降低风险或治疗患有疾病、病症或损伤(例如癌症)的个体的描述。

[0245] 通过参考以下实施例将更充分地理解本公开。然而,它们不应被解释为限制本公开的范围。本公开通篇的所有引用内容都特此以引用方式明确地并入。

[0246] 实施例

[0247] 实施例1:His缀合的和鼠科动物Fc缀合的MerTK多肽的产生

[0248] 如下产生含有polyHis或TEVS/凝血酶/鼠科动物IgG2a-Fc标记的融合蛋白的人、食蟹猴(cyno)和鼠科动物MerTK多肽,它们用于本公开的抗MerTK抗体的产生和表征。将编码人MerTK(SEQ ID NO:2)、cyno MerTK(SEQ ID NO:3)和鼠科动物MerTK(SEQ ID NO:4)的细胞外结构域(ECD)的核酸各自克隆到含有编码异源信号肽的核酸以及含有PolyHis Fc标签或TEVS/凝血酶/鼠科动物IgG2a Fc标签的哺乳动物表达载体中。

[0249] 人MerTK、人MerTK细胞外结构域、cyno MerTK细胞外结构域和鼠科动物MerTK细胞外结构域的氨基酸序列如下所示。

[0250] 人MerTK氨基酸序列(SEQ ID NO:1):

[0251] MGPAPLPLLLGLFLPALWRRAITEAREEAKPYPLFPGPFPGSLQTDHTPLLSLPHASGYQPALMFSPTQPGRPHTGNVAIPQVTSVESKPLPPLAFKHTVGHIILSEHKGVKFNCSISVPNIYQDTTISWWKDGKELLGAHHAITQFYPDDEVTAIIASFSITSVQRSDNGSYICKMKINNEEIVSDPIYIEVQGLPHFTKQPESMNVTRNTAFNLTCQAVGPPEPVNIFWVQNSSRVNEQPEKSPSVLTVPGLTEMAVFSCEAHNDKGLTVSKGVQINIKAIPSPPTEVSIRNSTAHSILISWVPGFDGYSPFRNCSIQVKEADPLSNGSVMIFNTSALPHLYQIKQLQALANYSIGVSCMNEIGWSAVSPWILASTTEGAPSVAPLNVTVFLNESSDNVDIRWMKPPTKQQDGELVGYRISHVWQSAGISKELLEEVGQNGSRARISVQVHNATCTVRIAAVTRGGVGPFSDPVKIFIPAHGWVDYAPSSTPAPGNADPVLIIFGCFCGFILIGLILYISLAIRKRVQE

TKFGNAFTEEDSELVVNYIAKKSFCRRAIELTLHSLGVSEELQNKLEDVVIDRNLLILGKILGEGEFGSVMEGNLKQ
EDGTSLKVAVKTMKLDNSSQREIEEFLSEAACMKDFSHPNVIRLLGVCIEMSSQGIPKPMVILPFMKYGDLHTYLLY
SRLETGPKHIPLQTLLKFMVDIALGMEYLSNRNFLHRDLAARNCMLRDDMTVCVADFGLSKKIYSGDYYRQGRIAKM
PVKWIAIESLADRVYTSKSDVWAFGVTMWEIATRGMTPYPGVQNHEMYDYLLHGHRLKQPEDCLDELYEIMYSCWRT
DPLDRPTFSVLRLQLEKLLESLPDVRNQADVIYVNTQLLESSEGLAQGSTLAPLDLNIDPDSIIASCTPRAAISVVT
AEVHDSKPHEGRYILNGGSEEWEDLTSAPSAAVTAEKNSVLPGERLVRNGVSWSHSSMLPLGSSLPDELLFADDSSE
GSEVLM

[0252] 人MerTK ECD氨基酸序列(SEQ ID NO:2)：

[0253] MGPAPLPLLLGLFLPALWRRAITEAREEAKPYPLFPGPFPGSLQTDHTPLLSLPHASGYQPALMFSPTQ
PGRPHTGNVAIPQVTSVESKPLPPLAFKHTVGHIILSEHKGVKFNCSISVPNIYQDTTISWWKDGKELLGAHHAITQ
FYPDDEVTAIIASFSITSVQRSDNGSYICKMKINNEEIVSDPIYIEVQGLPHFTKQPESMNVTRNTAFNLTCQAVGP
PEPVNIFWVQNSSRVNEQPEKSPSVLTVPGLTEMAVFSCEAHNDKGLTVSKGVQINIKAIPSPPTEVSIRNSTAHSI
LISWVPGFDGYSPFRNCSIQVKEADPLSNGSVMIFNTSALPHLYQIKQLQALANYSIGVSCMNEIGWSAVSPWILAS
TTEGAPSVAPLNVTVFLNESSDNVDIRWMKPPTKQQDGELVGYRISHVWQSAGISKELLEEVGQNGSRARISVQVHN
ATCTVRIAAVTRGGVGPFSDPVKIFIPAHGWVDYAPSSTPAPGNADPVLII

[0254] Cyno MerTK ECD氨基酸序列(SEQ ID NO:3)：

[0255] MGLAPLPLPLLLGLFLPALWSRAITEAREEAKPYPLFPGPLPGSLQTDHTSLLSLPHTSGYQPALMFSP
TQPGRPYTGNVAIPRVTSAGSKLLPPLAFKHTVGHIILSEHKDVKFNCSISVPNIYQDTTISWWKDGKELLGAHHAI
TQFYPDDEVTAIIASFSITSVQRSDNGSYICKMKINNEEIVSDPIYIEVQGLPHFTKQPESMNVTRNTAFNLTCQAV
GPPEPVNIFWVQNSSRVNEQPEKSPSVLTVPGLTEMAVFSCEAHNDKGLTVSKGVQINIKAIPSPPTEVSIHNSTAH
SILISWVPGFDGYSPFRNCSVQVKEVDPLSNGSVMIFNTSASPHMYQIKQLQALANYSIGVSCMNEIGWSAVSPWIL
ASTTEGAPSVAPLNVTVFLNESRDNVDIRWMKPLTKRQAGELVGYRISHVWQSAGISKELLEEVGQNNSRAQISVQV
HNATCTVRIAAVTKGGVGPFSDPVKIFIPAHGWVDHAPSSTPAPGNADPVLII

[0256] 鼠科动物MerTK ECD氨基酸序列(SEQ ID NO:4)：

[0257] MVLAPLLLGLLLLPALWSGGTAEKWEETELDQLFSGPLPGRLPVNHRPFSAPHSSRDQLPPPQTGRSHP
AHTAAPQVTSTASKLLPPVAFNHTIGHIVLSEHKNVKFNCSINIPNTYQETAGISWWKDGKELLGAHHSITQFYPDE
EGVSIIALFSIASVQRSDNGSYFCKMKVNNREIVSDPIYVEVQGLPYFIKQPESVNVTRNTAFNLTCQAVGPPEPVN
IFWVQNSSRVNEKPERSPSVLTVPGLTETAVFSCEAHNDKGLTVSKGVHINIKVIPSPPTEVHILNSTAHSILVSWV
PGFDGYSPLQNCSIQVKEADRLSNGSVMVFNTSASPHLYEIQQLQALANYSIAVSCRNEIGWSAVSPWILASTTEGA
PSVAPLNITVFLNESNNILDIRWTKPPIKRQDGELVGYRISHVWESAGTYKELSEEVSQNGSWAQIPVQIHNATCTV
RIAAITKGGIGPFSEPVNIIIPEHSKVDYAPSSTPAPGNTDSM

[0258] 将人、cyno和鼠科动物MerTK核酸融合构建体瞬时转染到HEK293细胞中。根据制造商的说明书,使用Mabselect树脂(GE Healthcare,目录号17519902)从细胞的上清液纯化重组融合多肽。此外,市售DDDDK标记的人MerTK融合多肽(Sino Biological,Wayne,PA,目录号10298-HCCH)或人IgG1 Fc标记的鼠科动物MerTK融合多肽(R&D systems,Minneapolis,MA,目录号591-MR-100)也用于如下文所述的抗MerTK抗体表征。

[0259] 实施例2:过表达人和鼠科动物MerTK的CHO细胞系的产生

[0260] 如下制备过表达人MerTK和鼠科动物MerTK的CHO细胞系。分别使用人MerTK开放阅读框(ORF)克隆慢病毒颗粒(目录号RC215289L4V)和小鼠MerTK ORF克隆慢病毒颗粒(目录

号MR225392L4V)(Origene,Rockville,MD)(均经mGFP标记)来制备过表达人MerTK的CHO-K1和过表达鼠科动物MerTK的CHO-K1稳定细胞系。

[0261] 在含有10% FBS(Gibco)的F12-K培养基(ATCC,目录号ATCC30-2004)中培养CHO细胞,直至>80%汇合。这些细胞接着用胰蛋白酶缓冲液(0.25% EDTA/胰蛋白酶,Gibco,目录号25200056)解离,并且在用人或鼠科动物MerTK慢病毒构建体转导之前24小时以70%-80%汇合接种于6孔板中。次日,将细胞在4℃下与慢病毒颗粒一起孵育2小时并且接着在37℃下在5% CO_2中孵育这些板。两天后,添加嘌呤霉素(Invivogen,San Diego,CA,目录号ant-pr-1)以进行选择;所选择的嘌呤霉素抗性细胞在细胞回收冷冻培养基(Gibco,目录号12648010)中冷冻,以备后续使用。

[0262] 关于这些细胞系的FACS分析,如上文所述产生的过表达人MerTK的CHO细胞(CHO-huMerTK OE细胞)和过表达小鼠MerTK的CHO细胞(CHO-muMerTK OE细胞)以1-2x10^5个细胞/孔接种于96孔U型底板中,并且在冰上与市售小鼠抗人MerTK单克隆抗体"H1"(BioLegend,克隆:590H11G1E3,目录号367608,San Diego,CA)或市售大鼠抗小鼠MerTK单克隆抗体(ThermoFisher,克隆:DS5MMER,目录号12-5751-82)一起孵育30分钟。将细胞用冰冷FACS缓冲液(2%FBS+PBS)冲洗两次并且接着在冰上与APC缀合的山羊抗小鼠抗体(Jackson ImmunoResearch,West Grove,PA,目录号115-606-071)或山羊抗大鼠抗体(Jackson ImmunoResearch,目录号112-606-071)一起孵育30分钟。在第二抗体孵育之后,将细胞用冰冷FACS缓冲液洗涤并且接着重悬浮于最终体积为50-200μl的含有0.25μl/孔的碘化丙啶(BD,目录号556463)的FACS缓冲液中。使用FACS CantoII系统(BD Biosciences)执行分析。

[0263] 所得过表达人MerTK和鼠科动物MerTK的CHO细胞系用于后续研究以如下文所述表征抗MerTK抗体。

[0264] 实施例3:抗MerTK杂交瘤抗体的产生

[0265] 为了获得针对MerTK的抗体,执行以下实验以产生抗MerTK杂交瘤。每周两次通过皮下或腹膜内注射具有或不具有佐剂的人、cyno和小鼠MerTK的纯化细胞外结构域多肽(如上文实施例1中所述而获得)来使BALB/c小鼠(Charles River Laboratories,Wilmington,MA)或MerTK基因敲除(KO)小鼠(Jackson Laboratories,Bar Harbor,ME)免疫。经过4周执行总计8次注射。在最后一次注射之后三天,从小鼠收获脾脏和淋巴结以用于杂交瘤细胞系产生。

[0266] 分离来自经免疫小鼠的脾脏和淋巴结的淋巴细胞,并且接着经由电融合(Hybrimmune,BTX,Holliston,MA)与P3X63Ag8.653(CRL-1580,American Type Culture Collection,Rockville,MD)或SP2/mIL-6(CRL-2016,American Type Culture Collection,Rockville,MD)小鼠骨髓瘤细胞融合,并且在37℃、5% CO_2下在Clonacell-HY培养基C(STEMCELL Technologies,Vancouver,BC,Canada,目录号03803)中孵育过夜。次日,将融合细胞离心并且重悬浮于10ml具有抗小鼠IgG Fc-FITC(Jackson ImmunoResearch,West Grove,PA)的ClonaCell-HY培养基C中,并且接着与90ml含有HAT组分的基于甲基纤维素的ClonaCell-HY培养基D(STEMCELL Technologies,目录号03804)轻柔地混合。将这些细胞接种于Nunc OmniTrays(Thermo Fisher Scientific,Rochester,NY)中,并且使其在37℃、5% CO_2下生长持续七天。接着选择荧光菌落,并且使用Clonepix 2(Molecular Devices,Sunnyvale,CA)将其转移到含有Clonacell-HY培养基E(STEMCELL

Technologies,目录号03805)的96孔板中。总计选择1,728个分泌IgG的杂交瘤克隆。在培养六天之后,如下文所述通过FACS分析针对结合人或小鼠MerTK的特异性筛选来自杂交瘤的组织培养物上清液。

[0267] 实施例4:通过FACS筛选抗MerTK抗体杂交瘤上清液

[0268] 对来自如上文所述而获得的1,728个杂交瘤的杂交瘤培养物上清液针对其结合各种细胞类型上的MerTK的能力进行筛选,这些细胞类型包括稳定地过表达人MerTK的CHO细胞(CHO-huMerTK OE细胞)或稳定地过表达小鼠MerTK的CHO细胞(CHO-muMerTK OE细胞)(如上文所述而产生),和CHO亲本细胞;U937细胞(ATCC CRL-1593.2)、SK-MEL-5细胞(ATCC HTB-70)(其内源性地表达人MerTK)、J774A.1细胞(ATCC TIB-67)(其内源性地表达小鼠MerTK)和A375细胞(ATCC CRL-1619)。

[0269] 为了筛选杂交瘤细胞培养物上清液,使用多重FACS实验设计来测定抗MerTK抗体与这些多种细胞系的结合。简而言之,将细胞用各种浓度和组合的CellTrace细胞增殖染料CFSE和Violet(分别为ThermoFisher,目录号C34554和目录号34557)染色,以创建带独特条形码的细胞群体。将各带条形码的细胞类型的70,000个细胞等分到96孔U型底板中,并且在冰上与50μl杂交瘤细胞培养物上清液或5μg/ml的市售纯化小鼠抗人MerTK单克隆抗体(BioLegend,目录号367602;充当阳性抗MerTK抗体)一起孵育30分钟。在与各种表达MerTK的细胞类型的此第一抗MerTK杂交瘤上清液孵育之后,经由离心去除上清液,将细胞用175μl冰冷FACS缓冲液(PBS+1% FBS+2mM EDTA)洗涤两次,并且接着将细胞在冰上与抗小鼠IgG Fc-别藻蓝蛋白(APC)(Jackson Labs,目录号115-136-071)(1:1000稀释)进一步孵育持续20分钟。在此第二抗体孵育之后,将细胞再次用冰冷FACS缓冲液洗涤两次并且重悬浮于最终体积为30μl的含有0.25μl/孔的碘化丙啶(BD Biosciences,目录号556463)的FACS缓冲液中。使用FACS Canto系统(BD Biosciences)分析细胞上的结合强度,其中绘制分选闸以排除死(即,碘化丙啶阳性)细胞。针对所测试的各抗MerTK杂交瘤上清液,测定各带条形码的细胞群体上的APC平均荧光强度(MFI)比率。

[0270] 根据此特异性杂交瘤上清液筛选,鉴定出总计308种抗MerTK杂交瘤克隆,与针对亲本或阴性对照细胞类型所观测到的结合相比,这些克隆与稳定地过表达或内源性地表达人或小鼠MerTK的细胞的结合(如通过MFI所测定)呈现大于2倍的差异。如下文所述,进一步表征使用此筛选鉴定的抗MerTK抗体。

[0271] 实施例5:通过重组MerTK蛋白结合测定筛选抗MerTK抗体杂交瘤上清液

[0272] 对来自如上文所述而获得的1,728个杂交瘤的杂交瘤培养物上清液针对其结合polyHis标记的人、cyno和小鼠MerTK(如上文实施例1中所述而制备)的能力进行筛选,如与结合至不相关的His标记的对照蛋白相比。简而言之,将96孔聚苯乙烯板在4℃下用1μg/ml于包被缓冲液(0.05M碳酸盐缓冲液,pH 9.6,Sigma,目录号C3041)中的人、cyno或小鼠poly-His标记的MerTK多肽包被过夜。接着将包被的板用ELISA稀释剂(PBS+0.5% BSA+0.05% Tween20)封闭持续一小时并且用300μl PBST(PBS+0.05% Tween20,Thermo 28352)洗涤三次。将这些杂交瘤细胞培养物上清液或两种市售纯化小鼠抗人MerTK单克隆抗体(BioLegend目录号367602;R&D目录号MAB8912)添加(50μl/孔)至各孔中。在30分钟孵育(室温,振荡)之后,将这些板用300μl PBST洗涤三次。将抗小鼠IgG Fc-HRP(Jackson Immunoresearch,目录号115-035-071)第二抗体以1:5000稀释于ELISA稀释剂中,以50μl/

孔添加到各孔中，并且在室温下在振荡下孵育30分钟。在最后一组洗涤(PBST中3x300μl)之后，将50μl/孔的TMB底物(BioFx，目录号TMBW-1000-01)添加到这些孔中。所述反应接着在5-10分钟之后用50μl/孔的停止溶液(BioFx，目录号BSTP-1000-01)淬灭。使用GEN5 2.04软件，用BioTek Synergy微板读取器检测淬灭的反应孔在650nm下的吸光度。根据此杂交瘤上清液筛选，鉴定出总计326种抗MerTK杂交瘤克隆，与背景相比，这些克隆与重组MerTK的结合呈现大于10倍的差异。如下文所述，进一步表征使用此筛选鉴定的抗MerTK抗体。

[0273] 实施例6:使用抗MerTK杂交瘤上清液的MerTK配体Gas6和配体ProS阻断测定

[0274] 通过ELISA筛选如上文所述而鉴定的抗MerTK抗体杂交瘤上清液以鉴定不阻断人Gas6配体与人MerTK的结合和/或不阻断人ProS配体与人MerTK的结合的抗MerTK抗体。简而言之，将兔抗人IgG抗体(Jackson ImmunoResearch，目录号309-005-008)在4℃下以2μg/ml包被于高蛋白结合板上过夜。在用PBS中的0.05％ Tween20洗涤三次之后，添加PBS中的5％BSA持续1小时。添加2μg/ml的重组人MerTK-人Fc嵌合蛋白(R&D systems，目录号391-MR-100)持续1小时并且洗涤板，然后添加40μl的抗MerTK杂交瘤上清液和40μl的3μg/ml的His标签缀合的重组Gas6(R&D systems，目录号885-GSB-050)或20μg/ml的His标签缀合的重组ProS(R&D systems，目录号9489-PS-100)。在进一步孵育持续1小时之后，洗涤板并且与HRP缀合的抗6x His标记抗体(Abcam,Cambridge,MA，目录号ab1187)一起孵育1小时。接着洗涤板并且添加HRP底物TMB以使这些板显影。通过添加50μl 2N H_2SO_4使所述反应停止并且使用分光光度计(BioTek)测量OD。

[0275] 筛选总计308种抗MerTK杂交瘤上清液克隆以鉴定不阻断人Gas6配体与人MerTK的结合和/或不阻断人ProS配体与人MerTK的结合的抗MerTK抗体。二十九(29)种抗MerTK杂交瘤克隆阻断ProS配体和Gas6配体两者与重组人MerTK蛋白的结合。一百四十五(145)种抗MerTK杂交瘤克隆仅阻断ProS配体与人MerTK蛋白的结合，并且不阻断Gas6配体与重组人MerTK蛋白的结合。308种抗MerTK杂交瘤克隆的其余134种在此测定中不阻断ProS配体或Gas6配体与重组人MerTK蛋白的结合。如下文所述进一步表征杂交瘤上清液。

[0276] 实施例7:使用抗MerTK杂交瘤上清液的胞葬作用阻断测定

[0277] 如下对上文经鉴定为对MerTK结合反应性呈阳性的抗MerTK抗体杂交瘤上清液进行筛选以鉴定不阻断人巨噬细胞的胞葬作用的抗MerTK抗体。在人M-CSF存在下，人巨噬细胞从人单核细胞分化持续7天。收获巨噬细胞(通过刮擦)，重悬浮于PBS中，并且以$5x10^4$个细胞/孔接种于96孔板上。使细胞饥饿持续1小时，随后在37℃下将抗MerTK杂交瘤上清液添加到各孔中持续30分钟。将Jurkat细胞在37℃下用1μM星形孢菌素(SigmaAldrich)处理3小时(以诱导细胞凋亡)，并且在室温下用pHrodo(ThermoFisher)标记30分钟。在用PBS洗涤之后，将经pHrodo标记的Jurkat细胞以1:4比率(1个巨噬细胞:4个Jurkat细胞)添加到各孔中持续1小时。用PBS洗涤这些板，并且接着将细胞在暗处在冰上用APC缀合的抗人CD14染色持续30分钟。接着将细胞在FACS缓冲液(PBS+2％ FBS)中洗涤两次，并且在BD FACS CantoII上执行流式细胞术。使用FlowJo软件分析数据。

[0278] 在这些实验中，通过将pHrodo CD14双阳性细胞设定为分析闸并且接着将此精确闸应用于所有样品来鉴定胞葬作用阳性巨噬细胞。使用仅用培养基培养的巨噬细胞来确立基线胞葬作用水平，并且将此水平设定为100％胞葬作用活性。相对胞葬作用水平计算为与用抗MerTK杂交瘤上清液处理的细胞中观测到的胞葬作用相比，仅用培养基处理的细胞中

观测到的胞葬作用的百分比。在这些实验中，使用以下额外抗MerTK抗体：小鼠抗人MerTK抗体H1(BioLegend，克隆ID:590H11G1E3，小鼠IgG1)和人抗人MerTK抗体M6(公开于WO2016/106221中)。

[0279] 下文表1和表2显示这些胞葬作用实验的结果，以胞葬作用百分比显示(仅培养基设定为100％胞葬作用)。在下表1中，所测试的示例性杂交瘤上清液在左侧加以指示，并且标记为杂交瘤上清液ID号；这些上清液来自由野生型BALB/c小鼠的免疫鉴定的杂交瘤克隆。在下表2中，所测试的示例性杂交瘤上清液在左侧加以指示，并且标记为杂交瘤上清液ID号；这些上清液来自由MerTK KO小鼠的免疫鉴定的杂交瘤克隆。在表1和表2中，抗体ID是指本公开的抗MerTK抗体，其被选择用于额外表征并且因此给出特定抗MerTK抗体名称，如所指示。应注意，与抗体不存在下(仅培养基处理)巨噬细胞中的胞葬作用相比，在用同种型对照小鼠IgG1抗体处理的细胞中未观测到胞葬作用的显著变化。

[0280] 总而言之，这些结果表明本公开的某些抗MerTK抗体可有效增加巨噬细胞的胞葬作用。由于胞葬作用是吞噬作用活性的一个方面，这些结果表明本公开的抗MerTK抗体可有效增加吞噬细胞的吞噬作用。这些结果还表明，与抗MerTK抗体处理不存在下(例如，仅培养基对照或同种型对照抗体添加)所观测到的巨噬细胞的胞葬作用相比，本公开的抗MerTK抗体不使巨噬细胞的胞葬作用降低超过40％。

[0281] 表1

[0282]

杂交瘤上清液ID	抗体 ID	供体689	供体692	供体805	供体806
1	MTK-205	77.6	63.9	67.7	89.8
2	MTK-231	70.6	74.4	81.9	84.0
3	MTK-232	26.9	67.2	65.7	91.7
	培养基	100.0	100.0	100.0	100.0
	mIgG1	104.5	95.6	79.5	96.0
	H1	31.2	16.5	59.8	57.9
	M6	14.9	n.a.	60.2	35.1

[0283] n.a.意指数据不可得

[0284] 表2

[0285]

杂交瘤上清液ID	抗体ID	供体914	供体915	供体916	供体783
1	MTK-201	71.4	51.0	50.0	78.6
2	MTK-202	86.6	66.8	72.7	106.7
3	MTK-203	88.7	59.1	72.7	113.0
4	MTK-204	99.4	69.6	99.2	133.8
5	MTK-206	87.5	71.7	93.0	110.4
6	MTK-207	97.9	73.7	81.0	122.1
7	MTK-208	77.7	55.1	64.5	55.5
8	MTK-209	77.1	71.7	82.2	124.1
9	MTK-210	80.1	67.6	66.9	100.0
10	MTK-211	84.8	83.4	88.8	112.4
11	MTK-212	101.8	81.0	100.8	136.5
12	MTK-213	90.5	62.3	72.3	115.4
13	MTK-214	74.4	53.4	67.8	78.6
14	MTK-215	87.8	73.3	72.7	53.5
15	MTK-216	69.3	66.0	69.8	121.1
16	MTK-217	71.7	55.5	52.5	73.9
17	MTK-218	86.9	68.4	81.0	108.7
18	MTK-219	91.1	66.0	81.0	128.1
19	MTK-220	112.8	87.4	118.2	139.1
20	MTK-221	71.4	53.0	55.4	58.2
21	MTK-222	88.7	74.1	79.3	112.7
22	MTK-223	66.7	64.0	59.1	91.6
23	MTK-224	68.8	59.9	86.8	106.0
24	MTK-225	61.3	47.0	50.8	116.7
25	MTK-226	77.1	73.7	74.8	116.7
26	MTK-227	86.6	59.5	48.3	85.3
27	MTK-228	64.6	64.8	64.0	90.0
28	MTK-229	63.1	56.3	54.1	40.1
29	MTK-230	58.0	50.6	57.4	114.4
	仅培养基	100.0	100.0	100.0	100.0
	M6	17.5	20.4	28.3	14.8
	同种型对照	89.0	104.0	104.5	93.6
	H1	24.8	34.3	40.8	34.8

[0286] 在表1和表2中，显示获自不同供体的人巨噬细胞的胞葬作用百分比，在两个表中仅培养基(不添加抗体)均设定为100％胞葬作用。尽管各种抗MerTK抗体杂交瘤上清液的胞葬作用阻断(或非阻断)活性的程度在获自各供体的巨噬细胞中不同，但在来自不同供体的巨噬细胞中，抗MerTK抗体的胞葬作用阻断(或非阻断)趋势是一致的。如上文表1和表2所示，与所观测到的抗MerTK抗体H1和抗MerTK抗体M6的能力(两者均抑制胞葬作用)相比，本

公开的抗MerTK杂交瘤上清液展现较低的阻断或减少人巨噬细胞的胞葬作用的能力。这些结果指示,如本文所述而获得的某些抗MerTK抗体不能有效抑制或阻断吞噬细胞的胞葬作用。

[0287] 实施例8:抗MerTK抗体的分子克隆

[0288] 如下对来自上述杂交瘤的抗MerTK抗体进行亚克隆。收获$5x10^5$个杂交瘤细胞并且用PBS洗涤,并且接着将细胞团块在干冰中速冻并且储存于-20℃下。根据制造商的方案,通过使用RNeasy Mini试剂盒(QIAGEN,目录号74104)来提取总RNA。根据制造商的方案,使用Clontech的SMARTer RACE 5'/3'试剂盒(Takara Bio USA,目录号634859)产生cDNA。使用RACE试剂盒中提供的5′UPM引物和识别重链和轻链恒定区的反向引物,通过降落PCR(touchdown PCR)单独地克隆可变重链和轻链免疫球蛋白区。纯化所得PCR产物并且接合至pCR2.1-TOPO克隆载体(TOPO TA克隆试剂盒,Invitrogen目录号450641)中,并且转化到大肠杆菌(E.coli)细胞中。分离转化的菌落,并且对各相应杂交瘤细胞系的可变重链(VH)和可变轻链(VL)核酸进行测序。在序列测定之后,使用含有核酸内切酶限制位点的引物通过PCR扩增可变重链区和可变轻链区,并且接着亚克隆到编码人IgG1-Fc和IgGκ的pLEV-123(LakePharma,San Carlos,CA)哺乳动物表达载体中。

[0289] 本公开的抗MerTK抗体的可变重链和可变轻链的氨基酸序列提供于下表3中。在表3中,CDR序列(根据Kabat)加下划线。

[0290] 表3

[0291]

抗体	重链可变	SEQ ID NO:	轻链可变	SEQ ID NO:
MTK-201	QVQLRQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLSNYGLHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGITDYNAAFISRLSIIKDNSRSQVFFKMNSLQADDTAIYYCARKGHDPYAMDFWGQGTSVTVSS	5	QIVLTQSPPIMSAFLGERVTMTCTASSSVSSSYLHWYRQMPGSSPKLWIYDTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQYHHSPYTFGGGTKLEIK	34
MTK-202	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDFGMHWVRQVPEKGLEWVAFISGGSNTIYYTDTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCVRNGNSFAYWGQGTLVTVSA	6	NIMMTQSPSSLAVSAGEKVTMNCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNIQAEDLAIYYCHQYFFSWTFGGGTKLEIK	35
MTK-203	QVQLQQPGAELVKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVKQRPGQGLEWIGRIHPFDTETNDNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCVIPANGGFAYWGQGTLVTVSA	7	ETTVTQSPASLSVATGEKVTIRCITSTDIGDDMNWYQQKPGEPPKVLISEGNSLRPGVPSRFSSSGYGTDFVFTIENTLSEDVADYFCLQSDNLPLTFGSGTKLEIK	36

[0292]

抗体	重链可变	SEQ ID NO:	轻链可变	SEQ ID NO:
MTK-204	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAYISSGTSTIYYEDTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCARGGLLFDYWGQGTTLTVSS	8	NIMMTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIQWASTRESGVPDRFTGSGSETDFTLTIRSVQAEDLAVYYCHQYFSSWTFGGGTKLEIK	37
MTK-205	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYTFTEYIMHWVKQSHGKSLEWIGGINPNNLGIIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSEVYYCARDGYFGFDYWGQGTTLKVSS	222	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGTSVAWYQQKPGHSPKLLIYWTSTRRTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCHQYNSYPLTFGAGTKLELK	223
MTK-206	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTSYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSSGYIKNSQKFKDKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARTVYGYYGSSPDYWGQGTTLTVSS	9	DIQMTQSPSSLSASLGERVSLTCRASQDIGSNLNWLQQEPDGTIKRLIYATSSLESGVPKRFSGSRSGSDYSLTISSLESEDFVDYYCLQYDSSPWTFGGGTKLEIK	38

[0293]

抗体	重链可变	SEQ ID NO:	轻链可变	SEQ ID NO:
MTK-207	QVQLKESGPGLV APSQSLSITCTVS GISLTSYGVSWV RQPPGKGLEWLG IIWGDGSTNYHS ALISRLSISKDNS KSQVFLKLNSLQ TDDTATYYCAKG RYGNYEDWYFD VWGTGTTVTVSS	10	DIQMTQSPASLSA SVGETVTITCRAS GNIHNYLAWYQ QKQGKSPQLLVY NAKTLAAGVPSR FSGSGSGTQYSLK INSLQPEDFGSYY CQHFWSIPLTFGA GTKLELK	39
MTK-208	QVQLQQPGAELV VPGASVRLSCKA SGYTFINYWMH WVKQRPGQGLE WIGEIDPSDSYAN YNQKFKDKSTLS LDKSSSTAYMQL SSLTSEDSAVYYC ARCDYYGRLDY WGQGTTLTVSS	11	QVVLTQSPAIMSA SPGEKVTITCSAS SSVSYMLWFQQK PGTSPKLWIYSTS NLASGVPARFSGS GSGTSYSLTISRL EAEDAATYYCQQ RSSYPPITFGAGT KLELK	40
MTK-209	QVQLQQPGAELV KPGASVKVSCKA SGYTFTNYWIHW VKQRPGQGLEWI GRIHPFDSEPNYN QKFKGKATLTVD KSSSTAYMHLTSL TSEDSAVYYCAL ASFAYWGQGTLV TVSA	12	ETTVTQSPASLSM AMGEKATIRCITS TDIDDKMNWYQ QKPGKPPKLLISA GNTLRPGVPSRFS SSGYGTDFVLTV ENMLSEDVADYY CLQGGALPLTFGS GTKLEIK	41

[0294]

抗体	重链可变	SEQ ID NO:	轻链可变	SEQ ID NO:
MTK-210	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASDYEFSRSWMNWVKQRPGKGLEWIGRIYPGDGDTNYNGKFKGKATLTADKSSNTAYMQLNSLTSEDSAVYFCARKGGYYYSISNYFDYWGQGTTLTVSS	13	QIVLTQSPAIMSASPGVKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKPGSSPRLLIYDTSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQWSSYPPYTFGGGTKLEIK	42
MTK-211	QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYTFTGYWIEWVKQRPGHGLEWIGEILPGSGGSNYNEKFKGKATFTADTSSNTAYIQLSSLTTEDSAIYCCARGEPSYFSDAGFAYWGQGTLVTVSA	14	QIVLTQSPAVMSASPGEKVTMTCSASSSITYMHWYQQKPGTSPKRWIYDTSKLASGVPARFSGSGSGTSYFLTISSMEAEDVATYYCHQRSTYPYTFGGGTKLEIM	43
MTK-212	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWVNWVKQRPGKGLEWIGRIYPGDGDSNYNGNFKGKATLTADKSSNTAYLQLSSLTSEDSAVYFCARKSHFIYYTLDYWGQGTPVTVSS	15	DIVMTQSHKFKSTSVGDRVSIACKASQDVGTSVAWYQQKPGKSPKLLIYWASSRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLTDYFCQQYSTYPYTFGGGTKLEIK	44

[0295]

抗体	重链可变	SEQ ID NO:	轻链可变	SEQ ID NO:
MTK-213	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYWITWVKQRPGQGHEWIGEIYPGIGSTNYNEKFKSKATLTVDTSSRTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGAYTKYYFDYWGQGTTLTVSS	16	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGDAVAWYQQKPGQTPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYLMYTFGGGTKLEIK	45
MTK-214	QVQLQQPGAELVKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWMKQRPGQGLEWIGRIHPFDSDTNYNEKFTDKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAIGTLIYWGQGTTLTASS	17	DILLTQSPATLSVTPGETVSLSCRASQSIYKKLHWFQQRSHRSPRLLIKFASDSISGIPSRFTGSGSGTDYTLSINSVKPEDEAIYYCLQGYSTPLTFGAGTKLELK	46
MTK-215	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFIFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAYISSGSSTIYYGDTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCAKGGRYGAMDYWGHGTSVTVSS	18	DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASQSISNNLHWYQQKSHESPRLLIKNPSQSISGIPSRFGARGSGTDFTLIINSVETEDLGVYFCQQSNSWPFTFGSGTKLEIK	47

[0296]

抗体	重链可变	SEQ ID NO:	轻链可变	SEQ ID NO:
MTK-216	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAFISSGSTTIYYADTVKGRFTISRDNAKNTLILQMTSLRSEDTAIYYCTRGGFHLDYWGQGTTLTVSS	19	SIMMTQSPSSLAVSAGEKVTMGCKSSQSVLYSANQQNYLAWYQQKPGQSLKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCHQYFSSWTFGGGTKLEIK	48
MTK-217	QVQLQQPGTEVVKPGASVKMSCRASGYTFTSYWITWVKQRPGQGLEWIGDIHPGSGINNYNEKFRSKATLTVDTSSSTVYMELSSLTSEDSAVYYCAKGGYYGSSYYVMDYWGQGTSVTVSS	20	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQTIGTSIHWYQQRTNDSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQSNDWPYTFGGGTKLEIK	49
MTK-218	QVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKASGYSFTSYYIHWVKQRPGQGLDWIGWIFPGNRNTQYNEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARLGLIYALDYWGQGTSVTVSS	21	DAVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLENSNGHTYLHWYLQKPGQSPQLLIYRVSNRFSGVQDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCLQVTHVPFTFGSGTKLEIK	50

[0297]

抗体	重链可变	SEQ ID NO:	轻链可变	SEQ ID NO:
MTK-219	QVQLQQSGADLMKPGASVKLSCKATGNTFTGYWIEWVKQRPGHGLEWIGEILTGSGSTNYNERFKGKATFTADTSSNTAYMQLSSLTTEDSAIYYCAGSYFTNSWFPYWGQGSLVTVSA	22	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIYRAYTLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPRTFGGGTKLEIK	51
MTK-220	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAFISGGSGTIYYEDTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCTRGGNYFDYWGQGTTLTVSS	23	NIMLTQSPSSLAVSAGEKVTMTCKSSQSVLYSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQAEDLAVYYCHQYFSSWTFGGGTKLEIK	52
MTK-221	QVTLKESGPGMLQSSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNTSLQSRLTISKDTSRNQVFLKITSVDTADTATYFCGRLGAYSAFPYYFDYWGQGTTLTVSS	24	DIQMTQSPSSLSASLGGKVTITCKASQDIHKHIAWYQHKPGKGPRLLIHYTSTLQPGIPSRFSGSGSGRDYSFSISNLEPEDLATYYCLQYDNLWTFGGGTKLEIK	53

[0298]

抗体	重链可变	SEQ ID NO:	轻链可变	SEQ ID NO:
MTK-222	QVQLQQSGADL MKPGASVKLSCK ATGYTFTGYWIE WVKQRPGHGLE WIGEILTGSGSSN YNEKFKGKATFT ADSSSNTAFMQL SSLTTEDSAIYYC AGSYYSNSWFPY WGQGSLVTVSA	25	DIVLTQSPVSLAV SLGQRATISCRAS ESVDSYGSSFMH WYQQKPGQPPKL LIYRASSLESGIPA RFSGSGSRTDFTL TINPVETDDVATY YCQQSNEDPRTF GGGTKLEIK	54
MTK-223	DVQLQESGPGLV KPSQSLSLTCSVT GYSITSGYYWNW IRQFPGNKLEWM GYISYDGTNNYN PSLKNRISITRDTS ENQFFLKLNSVTT EDTATYFCVRGA GYWGQGTTLTVS S	26	DVVMTQTPLSLP VSLGDQASISCRS SQSLVHSDGNTY LHWYLQKPGQSP KLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAED LGVYFCSQSTHV PTWTFGGGTKLEI K	55
MTK-224	QVQLQQPGAELV KPGASVKVSCKA SGYTFTSYWMH WVKQRPGQGLE WIGRIHPFDSDTN YNQKFKGKATLT VDKSSSTAYMQL SSLTSEDSAVYYC SIAGFAYWGQGT LVTVSA	27	DIVMTQSPATLSV TPGDRVSLSCRAS QIISDYLNWYQQ KSHESPRLLIKYA SQSISGIPSRFSGS GSGSDFTLSINSV EPEDVGVYYCQN GHSFPLTFGAGTK LELK	56

[0299]

抗体	重链可变	SEQ ID NO:	轻链可变	SEQ ID NO:
MTK-225	EVQLQQSGPELV KPGASVKIFCKAS GYTFTAYNMDW VKQSHGKSLEWI GDINPNNGGTIYN QKFKGKATLTVD KSSSTAYMELRSL TSEDTAVYYCAR RRRYGNTYYWY FDVWGTGTTVTV SS	28	DIQMTQSPASLSV SVGETVTITCRAS ENIYSSLAWYQQ KQGKSPQLLVYA ATNLADGVPSRFS GSGSGTQFYLKIN GLQSEDFGSYYC QHFWGTSYTFGG GTKLEIK	57
MTK-226	QVQLQQSGPELV KPGASVKISCKAS GYSFTSYYIHWV KQRPGQGLEWIG WIFPGNGNTKYN ENFRGKATLTADT SSSTAYMQLSSLT SEDSAVYYCARL GLIYALDYWGQG TSVTVSS	29	DAVMTQTPLSLP VSLGDQASISCRS SQSLESSNGNTYL HWYLQKPGQSPQ LLIYRVSNRFSGV LDRFSGSGSGTDF TLQISRVEAEDLG VYFCLQVTHVPF TFGSGTKLEIK	58
MTK-227	EVKLVESGGGLV QPGGSLSLSCAAS GFTFTDNYMTW VRQPPGKALEWL GFSRNKANGYTT EYSASVKGRFTIS RDSSQSILYLQMN ALRAEDSGTYYC ARFPPHYYAGGY FDVWGTGTTVTV SS	30	DIQMTQSPASLSA SVGETVTITCRAS ENIYSYLAWYQQ KQGKSPQLLVYN AKTLAEGVPSRFS GSGSGTQFSLKIN SLQPADFGSYYC QHYYRTPPTFGG GTKLEIK	59

[0300]

抗体	重链可变	SEQ ID NO:	轻链可变	SEQ ID NO:
MTK-228	QDQLQQSGPELV KPGASVKISCKAS GYSFTSYYIHWV KQRPGQGLEWV GWIFPGNGNTKY NERFKGKATLTA DTSSSTAYMQLSS LTSEDSAVYYCA RLGLIYALDYWG QGTSVTVSS	31	DAVMTQTPLSLP VSLGDQASISCRS SQSLENSNGNTY LHWYLQKPGQSP QLLIYRVSNRFSG VLDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAED LGVYFCLQVTHV PFTFGSGTKLEIK	60
MTK-229	QVQLQQSGPELV KPGASVKISCKAS GYEFSRSWMNW VKQRPGKGLEWI GRIYPGDGDTNY KGKLKGQATLTA DKSSSTAYMQLSS LTFEDSAVYFCAR GGGYYYDSRYEG FVYWGQGTVVT VSA	32	QIVLTQSPAIMSA SPGEEVTMTCSA SSSVSYMHWYQ QKSGTSPKRWIY DTSKLASGVSGR FSGSGSGTSYSLTI SSMEAEDAATYY CQQWSSNPPITFG AGTKLELK	61
MTK-230	EVQLQQSGPELV KPGASVRIPCKAS GYTFSDYNMDW VKQSHGKSLEWI GNINPNIGGTIYS QKFKGKATLTVD KSSSTAYMELRSL TSEDTAVYYCAR GDYGFASWGQG TLVTVSA	33	DIVLTQSPASLTVS LGQRATISCRASR SVSTSGYSYMHW YQQKPGQPPKLLI YLASNLESGVPA RFSGSRSGTDFTL NIHPVEEEDAATY YCQHSREYPFTF GSGTKLEIK	62

[0301]

抗体	重链可变	SEQ ID NO:	轻链可变	SEQ ID NO:
MTK-231	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEWMGYISYDGTYNYHPSLKNRISITRDTSKNQFFLTLNSVTTEDTATFYCTRGGGYWGQGTSVTVSS	209	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSDGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRLEAEDLGIYFCSQTTHIPLTFGSGTKLEIK	211
MTK-232	EVQLQESGPSLVKPSQTLSLTCSVTGDSITSGYWNWIRKFPGNKLEYMGYINYSGSTNYNPSLKSRISITRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYCARWNYLYYFDYWGQGTTLTVSS	210	DSVMTQSHKFMSTLVGDRVSITCKASQDVGTAVAWYQQKPGQSPKVLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSEDLADYFCHQYSTYPYTFGGGTKLEIK	212

[0302] 本公开的抗MerTK抗体的CDR序列(根据Kabat)提供于下文表4(重链)和表5(轻链)中。

[0303] 表4

[0304]

抗体	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
MTK-201	NYGLH	63	VIWSGGITDYNAAFIS	81	KGHDPYAMDF	110
MTK-202	DFGMH	64	FISGGSNTIYYTDTVKG	82	NGNSFAY	111
MTK-203	NYWMH	65	RIHPFDTETNDNQKFKG	83	PANGGFAY	112

[0305]

抗体	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
MTK-204	DYGMH	66	YISSGTSTIYYEDTVKG	84	GGLLFDY	113
MTK-205	EYIMH	224	GINPNNLGIIYNQKFKG	225	DGYFGFDY	226
MTK-206	SYTMH	67	YINPSSGYIKNSQKFKD	85	TVYGYYGSSPDY	114
MTK-207	SYGVS	68	IIWGDGSTNYHSALIS	86	GRYGNYEDWYFDV	115
MTK-208	NYWMH	65	EIDPSDSYANYNQKFKD	87	CDYYGRLDY	116
MTK-209	NYWIH	69	RIHPFDSEPNYNQKFKG	88	ASFAY	117
MTK-210	RSWMN	70	RIYPGDGDTNYNGKFKG	89	KGGYYYSISNYFDY	118
MTK-211	GYWIE	71	EILPGSGGSNYNEKFKG	90	GEPSYFSDAGFAY	119
MTK-212	SSWVN	72	RIYPGDGDSNYNGNFKG	91	KSHFIYYTLDY	120
MTK-213	SYWIT	73	EIYPGIGSTNYNEKFKS	92	GAYTKYYFDY	121
MTK-214	NYWMH	65	RIHPFDSDTNYNEKFTD	93	GTLIY	122
MTK-215	DYGMH	66	YISSGSSTIYYGDTVKG	94	GGRYGAMDY	123
MTK-216	DYGMH	66	FISSGSTTIYYADTVKG	95	GGFHLDY	124

[0306]

抗体	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
MTK-217	SYWIT	73	DIHPGSGINNYNEKFRS	96	GGYYGSSYYVMDY	125
MTK-218	SYYIH	74	WIFPGNRNTQYNEKFKG	97	LGLIYALDY	126
MTK-219	GYWIE	71	EILTGSGSTNYNERFKG	98	SYFTNSWFPY	127
MTK-220	DYGMH	66	FISGGSGTIYYEDTVKG	99	GGNYFDY	128
MTK-221	TSGMGVS	75	HIYWDDDKRYNTSLQS	100	LGAYSAFPYYFDY	129
MTK-222	GYWIE	71	EILTGSGSSNYNEKFKG	101	SYYSNSWFPY	130
MTK-223	SGYYWN	76	YISYDGTNNYNPSLKN	102	GAGY	131
MTK-224	SYWMH	77	RIHPFDSDTNYNQKFKG	103	AGFAY	132
MTK-225	AYNMD	78	DINPNNGGTIYNQKFKG	104	RRRYGNTYYWYFDV	133
MTK-226	SYYIH	74	WIFPGNGNTKYNENFRG	105	LGLIYALDY	126
MTK-227	DNYMT	79	FSRNKANGYTTEYSASVKG	106	FPPHYYAGGYFDV	134
MTK-228	SYYIH	74	WIFPGNGNTKYNERFKG	107	LGLIYALDY	126
MTK-229	RSWMN	70	RIYPGDGDTNYK	108	GGGYYYDSRYE	135

[0307]

抗体	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
			GKLKG		GFVY	
MTK-230	DYNMD	80	NINPNIGGTIYSQKFKG	109	GDYGFAS	136
MTK-231	SGYYWN	213	YISYDGTYNYHPSLKN	215	GGGY	217
MTK-232	SGYWN	214	YINYSGSTNYNPSLKS	216	WNYLYYFDY	218

[0308] 表5

[0309]

抗体	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
MTK-201	TASSSVSSSYLH	137	DTSNLAS	163	HQYHHSPYT	185
MTK-202	KSSQSVLYSSNQKNYLA	138	WASTRES	164	HQYFFSWT	186
MTK-203	ITSTDIGDDMN	139	EGNSLRP	165	LQSDNLPLT	187
MTK-204	KSSQSVLYSSNQKNYLA	138	WASTRES	164	HQYFSSWT	188
MTK-205	KASQDVGTSVA	146	WTSTRRT	227	HQYNSYPLT	228
MTK-206	RASQDIGSNLN	140	ATSSLES	166	LQYDSSPWT	189
MTK-207	RASGNIHNYLA	141	NAKTLAA	167	QHFWSIPLT	190
MTK-208	SASSSVSYML	142	STSNLAS	168	QQRSSYPPIT	191
MTK-209	ITSTDIDDKMN	143	AGNTLRP	169	LQGGALPLT	192
MTK-210	SASSSVSYMH	144	DTSNLAS	163	QQWSSYPPYT	193

[0310]

抗体	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
MTK-211	SASSSITYMH	145	DTSKLAS	170	HQRSTYPYT	194
MTK-212	KASQDVGTSVA	146	WASSRHT	171	QQYSTYPYT	195
MTK-213	KASQDVGDAVA	147	WASTRHT	172	QQYSSYLMYT	196
MTK-214	RASQSIYKKLH	148	FASDSIS	173	LQGYSTPLT	197
MTK-215	RASQSISNNLH	149	NPSQSIS	174	QQSNSWPFT	198
MTK-216	KSSQSVLYSANQQNYLA	150	WASTRES	164	HQYFSSWT	188
MTK-217	RASQTIGTSIH	151	YASESIS	175	QQSNDWPYT	199
MTK-218	RSSQSLENSNGHTYLH	152	RVSNRFS	176	LQVTHVPFT	200
MTK-219	RASESVDSYGNSFMH	153	RAYTLES	177	QQSNEDPRT	201
MTK-220	KSSQSVLYSSNQKNYLA	138	WASTRES	164	HQYFSSWT	188
MTK-221	KASQDIHKHIA	154	YTSTLQP	178	LQYDNLWT	202
MTK-222	RASESVDSYGSSFMH	155	RASSLES	179	QQSNEDPRT	201
MTK-223	RSSQSLVHSDGNTYLH	156	KVSNRFS	180	SQSTHVPTWT	203
MTK-224	RASQIISDYLN	157	YASQSIS	181	QNGHSFPLT	204
MTK-225	RASENIYSSLA	158	AATNLAD	182	QHFWGTSYT	205
MTK-226	RSSQSLESSNGNTYLH	159	RVSNRFS	176	LQVTHVPFT	200

[0311]

抗体	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
MTK-227	RASENIYSYLA	160	NAKTLAE	183	QHYYRTPPT	206
MTK-228	RSSQSLENSNGNTYLH	161	RVSNRFS	176	LQVTHVPFT	200
MTK-229	SASSSVSYMH	144	DTSKLAS	170	QQWSSNPPIT	207
MTK-230	RASRSVSTSGYSYMH	162	LASNLES	184	QHSREYPFT	208
MTK-231	RSSQSLVHSDGNTYLH	156	KVSNRFS	180	SQTTHIPLT	219
MTK-232	KASQDVGTAVA	220	WASTRHT	172	HQYSTYPYT	221

[0312] 实施例9:抗MerTK抗体的产生

[0313] 在无血清杂交瘤培养基中培养抗MerTK杂交瘤克隆,并且使用蛋白A尖端(Phynexus Inc,San Jose,CA)在Hamilton STAR平台(Hamilton Company,Reno,NV)上纯化上清液中的抗MerTK抗体。还通过将获自杂交瘤的可变基因区直接克隆到重组表达质粒中以产生含有人IgG1 Fc结构域的嵌合抗体来产生抗MerTK抗体。使用Tuna293™和TunaCHO™工艺(LakePharma,San Carlos,CA),将专有的HEK293(Tuna293™)或CHO-K1(TunaCHO™)来源的细胞接种到振荡烧瓶中,并且使用无血清化学成分确定的培养基进行扩增。将表达质粒瞬时转染到这些细胞中,并且在7天和14天后收获培养物上清液。在通过离心和过滤澄清之后,经由蛋白A色谱法纯化上清液中的抗MerTK抗体。

[0314] 实施例10:抗MerTK抗体结合至SK-MEL-5细胞、CHO-muMerTK OE细胞和小鼠巨噬细胞

[0315] 为了确定如与作为阴性对照的A375和亲本CHO细胞相比,本公开的重组抗人MerTK抗体是否结合至内源性地表达于SK-MEL-5细胞上的人MerTK和过表达小鼠MerTK的CHO细胞(CHO-muMerTK OE细胞),执行以下实验。以100,000个细胞/孔接种SK-MEL-5细胞、A375细胞、CHO-muMerTK OE细胞和CHO亲本细胞。将抗MerTK抗体以10μg/ml添加到细胞中。在冰上60分钟之后,洗涤细胞并且接着在冰上在Fc阻断溶液存在下用PE缀合的山羊抗人IgG抗体(Southern Biotech目录号2040-09,Birmingham,AL)染色持续30分钟,并且接着用冷FACS缓冲液(PBS中的2% FBS)洗涤两次。小鼠抗人MerTK-PE缀合的抗体(Biolegend,克隆590H11G1E3)或抗小鼠MerTK-PE缀合的抗体(ThermoFisher,克隆DS5MMER)用作阳性对照。在BD FACS Canto II细胞仪上采集染色的细胞并且用FlowJo计算平均荧光强度(MFI)。

[0316] 为了确认抗MerTK抗体与内源性鼠科动物MerTK的结合,使用标准方案从MerTK野生型(WT)和基因敲除(KO)小鼠(The Jackson Laboratory,目录号011122)分离骨髓源性巨噬细胞(BMDM)。简而言之,将从骨髓分离的细胞在50ng/ml M-CSF(R&D Systems,目录号

416-ML)存在下接种7天以使其分化成巨噬细胞。如上文所述进行和计算细胞染色、FAC和MFI。

[0317] 下文表6显示来自结合至SK-MEL-5细胞、A375细胞、CHO-muMerTK-OE细胞、CHO亲本细胞和来自MerTK WT小鼠的BMDM细胞(程度为用来自MerTK WT小鼠的BMDM细胞获得的结合/MFI减去用来自MerTK KO小鼠的BMDM细胞获得的结合/MFI)的抗MerTK抗体的FACS分析的MFI值。

[0318] 表6

[0319]

抗体	SK-MEL-5	A375	CHO-muMerTK OE	CHO 亲本	BMDM WT-KO
MTK-201	40345	519	252	341	1033
MTK-202	46084	377	4407	254	4513
MTK-203	24624	308	2083	775	2985

[0320]

抗体	SK-MEL-5	A375	CHO-muMerTK OE	CHO 亲本	BMDM WT-KO
MTK-204	33759	329	713	285	602
MTK-205	31489	313	240	232	737
MTK-206	3266	318	286	254	431
MTK-207	1188	336	279	253	989
MTK-208	14054	331	329	275	1173
MTK-209	46307	344	1220	769	813
MTK-210	29944	331	252	244	1271
MTK-211	30523	331	5158	510	4492
MTK-212	8081	363	12845	728	9094
MTK-213	40345	321	12815	750	8447
MTK-214	58179	558	n.a.	n.a.	2949
MTK-215	19031	308	237	242	466
MTK-216	43273	333	n.a.	n.a.	1031
MTK-217	52405	313	n.a.	n.a.	1133
MTK-218	48962	347	13204	717	11766
MTK-219	26828	306	11403	619	6176
MTK-220	28958	347	5799	497	757
MTK-221	42753	322	374	252	993
MTK-222	27476	308	4761	396	3682
MTK-223	26764	312	234	234	316
MTK-224	45309	362	616	398	1864
MTK-225	40247	316	285	252	619
MTK-226	49081	325	11534	810	10446
MTK-227	40933	318	14184	603	5016
MTK-228	60196	333	17449	933	7371
MTK-229	32176	340	2002	341	2873
MTK-230	42444	331	12353	769	9121
MTK-231	39004	369	594	594	639
MTK-232	10041	306	297	297	412
H1	794	297			
DS5MMER			3497	219	2798

[0321] n.a.意指数据不可得

[0322] 重组抗MerTK抗体与SK-MEL-5细胞结合，指示抗MerTK抗体与人MerTK结合。十二种重组抗MerTK抗体显示出CHO-muMerTK过表达性细胞和BMDM的强至中度的结合，指示抗MerTK抗体与小鼠MerTK结合。

[0323] 实施例11:阻断配体Gas6和配体ProS与MerTK的结合的抗MerTK抗体

[0324] 为了确定不抑制Gas6和/或ProS配体与人MerTK结合的能力的抗MerTK抗体，如上文所述执行配体阻断测定。将抗MerTK抗体滴定至66.6nM至4pM的最终浓度，并针对抗人MerTK抗体M6(公开于WO2016/106221)或同种型对照抗体进行测试。

[0325] 表7显示在这些研究中测试的最高抗体浓度(66.6nM)下，Gas6和ProS与人MerTK的结合；数据以相较于同种型对照huIgG1抗体的配体结合程度(设定为100％结合)Gas6与

MerTK的结合的百分比和ProS与人MerTK的结合的百分比呈现。

[0326] 本公开的抗MerTK抗体不抑制(即,不阻断)Gas6与人MerTK的结合,如下文表7中所示。本公开的大多数抗MerTK抗体不阻断ProS配体与人MerTK的结合。此外,抗MerTK抗体MTK-202、MTK-212、MTK-213、MTK-220、MTK-223和MTK-230在此测定中展示出适度的对配体与MerTK结合的抑制(>30%抑制)。如所显示,抗MerTK抗体M6非常有效地阻断Gas6和ProS与人MerTK的结合,其配体结合阻断程度超过90%。另外如表7中所显示,本公开的某些抗MerTK抗体似乎增强了Gas 6和/或ProS与MerTK的结合。

[0327] 表7

[0328]

抗体	Gas6 配体结合百分比	ProS 配体结合百分比
MTK-201	112.4	94.3
MTK-202	100.6	53.4
MTK-203	103.7	79.7
MTK-204	120.8	101.4
MTK-205	104.9	70.3
MTK-206	103.0	131.6
MTK-207	115.7	95.5
MTK-208	107.2	71.7
MTK-209	98.9	82.7
MTK-210	113.5	116.2

[0329]

抗体	Gas6 配体结合百分比	ProS 配体结合百分比
MTK-211	115.1	106.4
MTK-212	122.0	45.8
MTK-213	102.1	43.2
MTK-214	109.8	92.1
MTK-215	110.1	81.6
MTK-216	104.1	72.8
MTK-217	107.4	112.8
MTK-218	112.2	179.4
MTK-219	106.4	100.0
MTK-220	97.0	63.4
MTK-221	106.0	72.8
MTK-222	104.7	88.2
MTK-223	106.7	37.4
MTK-224	105.9	86.8
MTK-225	119.8	185.7
MTK-226	108.8	174.7
MTK-227	99.9	84.5
MTK-228	110.2	216.3
MTK-229	98.9	117.0
MTK-230	105.9	57.6
MTK-231	116.0	152.1
MTK-232	92.4	71.7
同种型对照	100.0	100.0
M6	1.2	5.3

[0330] 实施例12:Gas6和ProS配体的直接抗MerTK抗体结合

[0331] 为了鉴定直接结合Gas6或ProS的抗MerTK抗体,如下执行结合测定。简而言之,将兔抗人IgG抗体(Jackson ImmunoResearch,目录号309-005-008)在4℃下以2μg/ml包被于高蛋白结合板上过夜。在用PBS中的0.05% Tween20洗涤三次之后,添加PBS中的5% BSA持续1小时。添加2μg/ml的重组人MerTK-人Fc嵌合蛋白(R&D systems,目录号391-MR-100)或本公开的抗MerTK抗体持续1小时并且洗涤板,然后添加1.5μg/ml的His标签缀合的重组Gas6(R&D systems,目录号885-GSB-050)或10μg/ml的His标签缀合的重组ProS(R&D systems,目录号9489-PS-100)。在进一步孵育持续1小时之后,洗涤板并且与HRP缀合的抗6x His标记抗体(Abcam,Cambridge,MA,目录号ab1187)一起孵育1小时。接着洗涤板并且添加HRP底物TMB以使这些板显影。通过添加50μl 2N H_2SO_4使所述反应停止并且使用分光光度计(BioTek)测量OD。

[0332] 在MerTK不存在下测试了32种抗体结合Gas6和ProS配体中任一者或两者的能力,只有抗MerTK抗体MTK-231能够强烈结合这两种配体。此外,抗MerTK抗体MTK-207、MTK-211、

MTK-213、MTK-214、MTK-224和MTK-232显示很少至中度的ProS配体结合。这些结果指示本公开的某些抗MerTK抗体具有结合MerTK及其一种或多种配体的额外特性。

[0333] 实施例13:调节MerTK酪氨酸磷酸化

[0334] 如下检查抗MerTK抗体对髓样细胞中的MerTK酪氨酸磷酸化(p-MerTK)的影响。为了产生单核细胞源性巨噬细胞,根据制造商的方案,使用RosetteSep人单核细胞富集混合液(STEMCELL Technologies)从肝素化人血液(Blood Centers of the Pacific)分离人原代单核细胞。将单核细胞接种于含有10%胎牛血清(Hyclone)和50ng/mL M-CSF(Biolegend)的RPMI(Invitrogen)中以诱导巨噬细胞分化。6天后,通过去除培养基收获巨噬细胞,在37℃下与3mM EDTA一起孵育5分钟,随后刮擦细胞。接着将巨噬细胞以0.1x10^6/孔接种于96孔板上并用50ng/mL M-CSF(Biolegend)、100nM地塞米松(Tocris)、50ng/mL人Tgfβ(R&D Systems)和20ng/mL IL-10(Pepro Tech)培养。两天后(约48小时),通过以下方式用抗MerTK抗体处理细胞:从细胞去除培养基并添加10μg/mL的于PBS中的抗MerTK抗体,并且在37℃下孵育细胞持续8分钟。接着通过去除处理抗体来收获细胞,用冰冷PBS洗涤细胞一次,并且用150μL冰冷1X溶解缓冲液(Cell Signaling Technology)溶解细胞。将96孔板在4℃下在振荡器上在溶解缓冲液中孵育30分钟。接着通过在4℃下以4,300xg离心10分钟来清除板中的细胞碎片。收集上清液用于phospho-Mer(panTyr)ELISA(Cell Signaling Technology)和BCA(ThermoFisher Scientific)。随后根据制造商的说明书处理溶解物,并将p-MerTK水相对于总蛋白水平进行归一化。

[0335] 如在此测定中测试的,本公开的许多抗MerTK抗体能够诱导p-MerTK(参见图1)。抗MerTK抗体显示p-MerTK水平显著增加(与在经同种型对照huIgG1抗体处理的细胞中观测到的水平相比,如图1中下方的虚线所指示,使用单向ANOVA Tukey多重比较检验),等于或高于平均数标准误差(由图1中上方的点线所指示)。同种型对照huIgG1抗体设定为值1。N=4,各N为一名人供体。

[0336] 这些结果显示,本公开的抗MerTK抗体至少部分地通过诱导或增加MerTK的磷酸化来激动MerTK活性。

[0337] 实施例14:抗MerTK抗体的结合动力学

[0338] 使用Carterra LSA仪器(Carterra,Salt Lake City,UT)来评估本公开的抗MerTK IgG1抗体与人、cyno和鼠科动物MerTK的结合动力学。简而言之,通过在10mM乙酸盐pH 4.25(Carterra)中稀释50、250和500倍来制备抗MerTK抗体,得到最终浓度范围为1至113μg/ml。使用单通道流动池用100mM MES pH 5.5、100mM sulfo-NHS、400mM EDC(均在MES pH 5.5中重构;即将运行测定之前,将100μl各物质混合于小瓶中)的1:1:1混合物的7分钟注射来激活HC200M传感器芯片(Carterra)。在转换至多通道阵列流动池之后,将这些抗体注射于三个96点阵列中的激活芯片上,各持续10分钟。接着通过使用单通道流动池注射1M乙醇胺pH 8.5(Carterra)持续7分钟来阻断芯片上的剩余未结合活性基团。所得传感器芯片包含每种抗体的三个点,有三种不同的密度。如下执行两个独立的实验,致使每种抗体的N为1至6次测定。产生少于25RU分析物结合的点排除在进一步分析之外。

[0339] 在用具有0.5mg/ml BSA(Sigma)的运行缓冲液(HBS-TE,Carterra)启动之后,对经固定的抗MerTK抗体针对其结合至多种形式的重组MerTK细胞外结构域(包括如上文所述的人、食蟹猴和小鼠直系同源物)的能力进行测试。通过使用单通道流动池在整个抗体阵列上

注射各分析物来生成亲和力的估计值。MerTK分析物用运行缓冲液稀释，在一系列六次三倍系列稀释中，人和食蟹猴MerTK从1μM开始，小鼠MerTK从600nM开始。注射分析物持续5分钟，并且随后解离持续10分钟。每次分析物注射之后，抗体用具有1M NaCl(Teknova)或10mM甘氨酸pH 2.5的蛋白A/G洗脱缓冲液(Thermo)再生。在各系列之间运行三个缓冲液空白(每个系列一个种类)。使用NextGenKIT高通量动力学分析软件(Carterra)来处理并且分析数据。

[0340] 由所测试的各抗MerTK抗体的经拟合的缔合和解离速率常数(分别是k-缔合和k-解离)计算平衡解离常数(K_D)。将这些值合并，计算平均值和标准偏差，并使用GraphPad Prism制作图表。K_D值概述于下文表8中。另参见图2。

[0341] 表8

[0342]

	人 MerTK			食蟹猴 MerTK			小鼠 MerTK		
抗体	**平均 KD (M)**	**SD**	**N**	**平均 KD (M)**	**SD**	**N**	**平均 KD (M)**	**SD**	**N**
MTK-201	NT	NA	NA	NT	NA	NA	NT	NA	NA
MTK-202	3.3E-08	9.6E-09	5	1.6E-07	2.4E-08	4	LB	NA	NA
MTK-203	3.2E-08	8.8E-09	6	4.6E-08	7.6E-09	6	4.0E-07	1.0E-07	4
MTK-204	2.4E-07	1.0E-07	6	6.8E-07	3.5E-08	2	LB	NA	NA

[0343]

MTK-205	3.6E-08	7.3E-09	6	3.2E-08	3.0E-09	6	LB	NA	NA
MTK-206	1.5E-07	2.9E-08	6	3.7E-06	NA	1	NB	NA	NA
MTK-207	5.2E-08	9.2E-09	2	LB	NA	NA	LB	NA	NA
MTK-208	1.9E-08	4.1E-09	4	3.4E-08	9.2E-09	2	NB	NA	NA
MTK-209	1.3E-08	1.9E-09	6	1.4E-08	2.5E-09	6	4.6E-07	NA	1
MTK-210	3.1E-08	6.2E-09	6	3.7E-08	3.9E-09	6	NB	NA	NA
MTK-211	1.3E-09	8.0E-10	6	1.4E-09	1.1E-09	6	NB	NA	NA
MTK-212	8.2E-08	5.7E-08	6	1.5E-06	1.0E-06	2	1.1E-08	2.2E-09	6
MTK-213	6.4E-08	1.4E-08	6	6.0E-08	1.4E-08	6	4.8E-09	1.7E-09	6
MTK-214	1.0E-08	2.7E-09	6	1.4E-08	3.5E-09	6	3.2E-07	1.3E-07	4
MTK-215	3.7E-07	5.2E-08	4	1.6E-06	1.3E-06	3	NB	NA	NA
MTK-216	4.1E-08	1.9E-08	4	LB	NA	NA	LB	NA	NA
MTK-217	1.9E-08	2.9E-09	6	1.5E-08	3.5E-09	6	NB	NA	NA
MTK-218	6.4E-08	1.8E-08	6	8.5E-08	2.5E-08	6	6.2E-09	1.7E-09	6

[0344]

MTK-219	4.4E-07	2.9E-08	4	8.3E-07	1.4E-07	4	NB	NA	NA
MTK-220	1.5E-07	2.7E-08	6	4.1E-07	5.4E-08	6	LB	NA	NA
MTK-221	2.9E-08	1.3E-08	6	3.8E-08	1.3E-08	6	NB	NA	NA
MTK-222	1.3E-07	1.2E-08	6	1.3E-07	1.6E-08	6	LB	NA	NA
MTK-223	7.5E-08	1.4E-08	6	1.9E-07	4.4E-08	6	LB	NA	NA
MTK-224	6.7E-09	4.3E-09	6	7.8E-09	1.6E-09	6	4.3E-07	9.3E-08	4
MTK-225	5.2E-08	2.2E-08	6	8.0E-08	2.8E-08	6	LB	NA	NA
MTK-226	3.9E-08	9.0E-09	6	4.7E-08	1.0E-08	6	1.8E-09	4.6E-10	6
MTK-227	9.9E-08	5.7E-08	6	7.8E-08	6.2E-09	4	8.3E-09	8.5E-10	6
MTK-228	4.2E-08	1.3E-08	6	4.6E-08	1.1E-08	6	1.7E-09	8.3E-10	6
MTK-229	1.8E-08	5.0E-09	6	5.2E-08	2.0E-08	6	LB	NA	NA
MTK-230	8.3E-09	4.2E-09	6	8.5E-09	1.2E-09	6	2.9E-08	3.3E-09	6
MTK-231	2.6E-08	9.5E-09	6	4.8E-08	9.5E-09	6	LB	NA	NA
MTK-232	2.5E-09	1.1E-09	3	LB	NA	NA	NB	NA	NA

[0345] N＝测定次数;NT＝未测试;NA＝不适用;LB＝低结合(低于测量极限);NB＝未检测到结合。

[0346] 这些结果说明，本公开的抗MerTK抗体表现出约1nM至4μM的对MerTK的结合亲和力范围。此外，这些结果显示，本公开的抗MerTK抗体展现在该结合亲和力范围内的一定范围的物种结合特异性，包括人特异性、仅人和食蟹猴交叉反应性，或人、食蟹猴和小鼠交叉反应性。特别地，本公开的抗MerTK抗体结合至人MerTK的亲和力在约1.3nM至440nM范围内；本公开的抗MerTK抗体结合至食蟹猴MerTK的亲和力在1.4nM至3.6μM范围内；并且本公开的抗MerTK抗体结合至鼠科动物MerTK的亲和力1.7nM至460nM范围内。

[0347] 实施例15：抗MerTK抗体对人、cyno和小鼠MerTK的交叉反应性

[0348] 根据上述结合动力学分析数据来确定本公开的抗MerTK抗体的物种交叉反应性。本公开的抗MerTK抗体的物种结合交叉反应性分析的结果概述于下文表9中。

[0349] 表9

[0350]

人 MerTK 强偏好	人-Cyno MerTK 交叉反应性	人-Cyno-小鼠 MerTK 交叉反应性
MTK-207 MTK-216 MTK-232	MTK-202、MTK-204、MTK-205、MTK-206、MTK-208、MTK-210、MTK-211、MTK-215、MTK-217、MTK-219、MTK-220、MTK-221、MTK-222、MTK-223、MTK-225、MTK-229、MTK-231	MTK-203、MTK-209、MTK-212、MTK-213、MTK-214、MTK-218、MTK-224、MTK-226、MTK-227、MTK-228、MTK-230

[0351] 抗MerTK抗体与食蟹猴和小鼠MerTK的结合相比观测到的与人MerTK的结合的相对强度概述于下文表10中。应注意，较高的KD值表示较低的结合亲和力。

[0352] 表10

[0353]

抗体	食蟹猴与人 MerTK 的 KD 比率	小鼠与人 MerTK 的 KD 比率
MTK-201	NT	NT
MTK-202	4.8	LB
MTK-203	1.4	12.5
MTK-204	2.8	LB
MTK-205	0.9	LB
MTK-206	24.7	NB
MTK-207	LB	LB
MTK-208	1.8	NB
MTK-209	1.1	35.4
MTK-210	1.2	NB
MTK-211	1.1	NB
MTK-212	18.3	0.13
MTK-213	0.9	0.08
MTK-214	1.4	32.0
MTK-215	4.3	NB
MTK-216	LB	LB
MTK-217	0.8	NB
MTK-218	1.3	0.10
MTK-219	1.9	NB
MTK-220	2.7	LB
MTK-221	1.3	NB
MTK-222	1.0	LB
MTK-223	2.5	LB
MTK-224	1.2	64.2
MTK-225	1.5	LB
MTK-226	1.2	0.05
MTK-227	0.8	0.08
MTK-228	1.1	0.04
MTK-229	2.9	LB
MTK-230	1.0	3.5
MTK-231	1.8	LB
MTK-232	LB	NB

[0354] NT＝未测试;LB＝低结合(低于测量极限);NB＝未检测到结合

[0355] 这些结合实验的结果显示,本公开的三种抗MerTK抗体仅展现与人MerTK结合的强烈偏好(并且未显示出在可定量范围内的与食蟹猴或小鼠MerTK的结合);这些抗体是抗MerTK抗体MTK-207、MTK-216和MTK-232。

[0356] 本公开的大多数抗MerTK抗体显示出与人和食蟹猴MerTK两者的结合交叉反应性;

这些抗体是抗MerTK抗体MTK-202、MTK-204、MTK-205、MTK-206、MTK-208、MTK-210、MTK-211、MTK-215、MTK-217、MTK-219、MTK-220、MTK-221、MTK-222、MTK-223、MTK-225、MTK-229和MTK-231。在这些抗MerTK抗体中，六种抗体显示出对人MerTK的反应性相较于对食蟹猴MerTK的反应性的5倍的2倍的弱偏好(抗MerTK抗体MTK-202、MTK-204、MTK-215、MTK-220、MTK-223和MTK-229)，六种抗体显示出对人MerTK的反应性相较于对食蟹猴MerTK的反应性的24倍和18倍的中等偏好(分别为抗MerTK MTK-206和MTK-212)。

[0357] 本公开的十一种抗MerTK抗体展现对所测试的所有三种物种(人、食蟹猴和小鼠)的交叉反应性；有抗MerTK抗体MerTK(MTK-203、MTK-209、MTK-212、MTK-213、MTK-214、MTK-218、MTK-224、MTK-226、MTK-227、MTK-228和MTK-230)。在小鼠交叉反应性抗体中，一种抗体显示出对人MerTK相对于小鼠MerTK的3.5倍弱偏好(抗MerTK抗体MTK-230)，并且三种抗体显示出对人相对于小鼠MerTK结合的12.5、35.4和64.2倍中等偏好(抗MerTK抗体MTK-203、MTK-209和MTK-224)。六种抗体显示出对人MerTK相对于小鼠MerTK的中等偏好，相对结合范围为5至30倍(抗MerTK抗体MTK-212、MTK-213、MTK-218、MTK-226、MTK-227和MTK-228)。

[0358] 实施例16:抗MerTK抗体的表位建仓分析

[0359] 通过使用Carterra LSA仪器(Carterra,Salt Lake City,UT)执行串联注射试验，对本公开的抗MerTK抗体执行表位建仓分析。简而言之，用于上述动力学评估的芯片接着在建仓测定中进行测试，其中测试经固定抗体与重组人MerTK细胞外结构域和所注射抗体形成夹心对的能力。在各循环中，将100nM MerTK注射于芯片上持续5分钟，随后是测试抗体(在运行缓冲液中稀释至30μg/ml)持续5分钟，接着是两次30秒的10mM甘氨酸pH2.5(Carterra)注射进行再生。使用表位高通量建仓分析软件(Carterra)来处理并且分析数据。能够结合由经固定抗体捕获的抗原的抗体称作“夹心”或“配对”抗体，并且这些抗体被分配到与经固定抗体的表位仓不同的表位仓中。由这些实验的结合结果构建配对和非配对抗体的矩阵，这允许生成抗MerTK抗体的表位仓景观。一些抗体具有重叠的建仓图谱，表明它们可以识别相邻但不完全重叠的表位。通过在仓名称中添加字母a、b、c和d来表示仓内的轻微异质性。对于似乎与两个表位仓重叠的抗体，仓号用下划线标示以指示重叠仓。通过该测定确定的表位仓概述于下表11中。

[0360] 表11

[0361]

仓	样品ID
1a	MTK-201
1	MTK-211、MTK-217
1_2	MTK-208
2	MTK-210、MTK-229
3a	MTK-221
3b	MTK-222、MTK-227
3c	MTK-219
3_4	MTK-205
4a	MTK-203、MTK-209
4b	MTK-230
4c	MTK-214、MTK-224
5	MTK-212
6	MTK-215
7	MTK-213、MTK-218、MTK-228、MTK-226
7_8	MTK-232

[0362]

8	MTK-225
9a	MTK-202、MTK-204、MTK-216、MTK-220
9b	MTK-231、MTK-223
10	MTK-206、MTK-207

[0363] 作为本文所述的表位建仓实验的一部分，进行了额外的研究以研究Gas6和ProS与由经固定抗MerTK抗体捕获的MerTK结合的能力。不阻断这两种配体结合的抗MerTK抗体预计会显示夹心配对，而阻断Gas6和/或ProS的抗MerTK抗体不会形成结合对。此分析的结果显示于下文表12中。

[0364] 通过此测定评估的，本公开的二十二种抗MerTK抗体与Gas6配对但不与ProS配对。这些结果与上述实验结果一致，显示抗MerTK抗体仅是ProS阻断剂;MTK-202、MTK-203、MTK-205、MTK-206、MTK-207、MTK-213、MTK-214、MTK-215、MTK-218、MTK-219、MTK-220、MTK-221、MTK-222、MTK-223、MTK-224、MTK-225、MTK-227、MTK-228、MTK-229、MTK-230和MTK-232。四种抗MerTK抗体与Gas6和ProS两者配对，这与非阻断剂(MTK-208、MTK-212、MTK-216和MTK-231)一致。五种抗MerTK抗体不与Gas6和ProS任一者配对，这与双阻断剂(MTK-209、MTK-210、MTK-211、MTK-217和MTK-226)一致。应注意的是，缺乏抗体与Gas6或ProS的配对是提示性的，但可能不能完全预测功能性阻断，因为这种特性还将取决于抗体和配体与细胞上的天然受体结合的相对动力学和浓度。

[0365] 表12

[0366]

与 Gas6 配对但不与 ProS 配对(与 ProS 阻断剂一致)	与 Gas6 和 ProS 两者配对(与非阻断剂一致)	不与 Gas6 和 ProS 任一者配对(与双阻断剂一致)
MTK-202、MTK-203、MTK-204、MTK-205、MTK-206、MTK-207、MTK-213、MTK-214、MTK-215、MTK-218、MTK-219、MTK-220、MTK-221、MTK-222、MTK-223、MTK-224、MTK-225、MTK-227、MTK-228、MTK-229、MTK-230、MTK-232	MTK-208、MTK-212、MTK-216、MTK-231	MTK-209、MTK-210、MTK-211、MTK-217、MTK-226

[0367] 实施例17:抗MerTK抗体对MCP-1产生的影响

[0368] 单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)将免疫细胞募集至损伤部位。在脱髓鞘的小鼠EAE模型中,MCP-1的缺乏可以保护小鼠免受疾病进展,因为由于缺乏MCP-1和相关的炎症反应,炎症免疫细胞不会被募集到损伤部位。

[0369] 如下确定本公开的抗MerTK抗体对趋化因子MCP-1产生的影响。根据制造商的说明书,使用人单核细胞分离试剂盒(STEMCELL Technologies)从外周血单核细胞分离人原代单核细胞。在补充有2%Hepes(Life technologies)、2% Glutamax(Life technologies)、2%青霉素/链霉素(Life technologies)、2%丙酮酸钠(Life technologies)、2%非必需氨基酸(Life technologies)、10%热灭活胎牛血清(HyClone)、8%人血清AB(Sigma)和50ng/ml巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF,R&D Systems)的RPMI1640(Gibco)中使单核细胞分化持续6天分化为巨噬细胞。通过去除培养基收集巨噬细胞,用PBS洗涤,接着在37℃下在含有3mM EDTA的PBS中孵育5分钟,之后刮擦细胞以进行取出。对细胞进行计数并以50,000个细胞/孔接种于96孔平底培养皿的100μl培养基中。细胞在与用于分化的相同基础培养基(但省略了血清和M-CSF)中极化为M2c巨噬细胞表型。基础培养基补充50ng/ml转化生长因子β(TGF-β,Peprotech)、20ng/ml白介素-10(IL-10,Peprotech)、100nM地塞米松(Tocris)和抗MerTK抗体(10μg/ml)持续两天。在一些情况下,将细胞在极化过程中在MerTK配体ProS(100nM重组人蛋白S)存在下孵育。

[0370] 凋亡细胞可以通过与所述凋亡细胞相关的内源性配体(例如,Gas6、ProS)相互作

用而活化表达于M2c巨噬细胞上的MerTK。在旨在检查本公开的抗MerTK抗体对增加经由凋亡细胞的存在同时活化的M2c细胞中的MCP-1水平的影响的并行研究中，使巨噬细胞在通过于补充有10％胎牛血清(HyClone)、1％青霉素/链霉素(Life technologies)和0.5μM星形孢菌素(R&D Systems)的RPMI1640(Gibco)中过夜培养而产生的凋亡Jurkat细胞存在下极化为M2c巨噬细胞表型。两天后，收集细胞上清液。使用U-PLEX人MCP-1测定(MesoScale Diagnostics)测定上清液中的MCP-1浓度。

[0371] 图3A显示上清液中的MCP-1水平，相对于在MerTK配体ProS不存在下用hIgG1同种型对照抗体处理的细胞中观测到的水平归一化。图3A中的值以log2标度绘出，因此与同种型相比，MCP-1浓度加倍的值为1，而分析物浓度减半的值为-1。单独的重组MerTK配体ProS诱导MCP-1产生的增加。如图3A中所示，本公开的抗MerTK抗体诱导MCP-1产生的增加，而添加MerTK配体ProS没有进一步增强这一增加。然而，在这组实验中，抗MerTK抗体MTK-231似乎需要ProS配体来显示增加的MCP-1水平，如使用该特定测定所测量。

[0372] 图3B显示来自这些研究的在上清液中测量的MCP-1水平。如图3B中所示，本公开的抗MerTK抗体增加了培养物中的巨噬细胞上清液中的MCP-1水平。

[0373] 图3C显示归一化的并以log2标度绘出的MCP-1产生。如图3C中所示，添加越来越多的凋亡Jurkat细胞(无ProS)降低了与抗MerTK抗体MTK-226和MTK-228相关的MCP-1的MCP-1产生水平的倍数增加。

[0374] 总而言之，这些结果显示本公开的抗MerTK抗体增加MCP-1水平，表明抗MerTK抗体有效地激动MerTK(即，活化或增加MerTK的活性)并因此有效地增强吞噬作用和胞葬作用。

[0375] 实施例18:在Gas6配体不存在或存在下抗MerTK抗体对MerTK酪氨酸磷酸化的影响

[0376] 如下检查在MerTK配体Gas6存在或不存在下抗MerTK抗体对髓样细胞中的MerTK酪氨酸磷酸化(pMerTK)的影响。为了产生单核细胞源性巨噬细胞，根据制造商的方案，使用RosetteSep人单核细胞富集混合液(STEMCELL Technologies)从肝素化人血液(Blood Centers of the Pacific)分离人原代单核细胞。将单核细胞在含有10％胎牛血清(FBS;Hyclone)和50ng/mL M-CSF(Biolegend)的RPMI(Invitrogen)中培养以诱导巨噬细胞分化。6天后，通过去除培养基收获巨噬细胞，在37℃下与3mM EDTA一起孵育5分钟，随后刮擦细胞。接着将巨噬细胞以$0.1x10^6$/孔接种于96孔板上并用50ng/mL M-CSF(Biolegend)、100nM地塞米松(Tocris)、50ng/mL人TGFβ(R&D Systems)和20ng/mL IL-10(Pepro Tech)培养。两天后(约48小时)，通过去除细胞培养基并更换为不含10％ FBS的完全生长培养基(无血清培养基)，使细胞血清饥饿持续两小时。

[0377] 在两小时血清饥饿期结束时，去除细胞培养基，将细胞与各种抗MerTK抗体在存在或不存在200nM Gas6蛋白(R&D Systems)下在无血清培养基中孵育。使用最终浓度为10μg/mL的抗MerTK抗体并将细胞在37℃下孵育8分钟。接着通过去除处理培养基收获细胞，用冰冷PBS洗涤一次，并且用150μL冰冷1X溶解缓冲液(Cell Signaling Technology)溶解。将每个96孔板在4℃下在振荡器上在溶解缓冲液中孵育30分钟。接着通过在4℃下以4,300xg离心10分钟清除板中的细胞碎片。收集上清液以进行phospho-Mer(panTyr)ELISA(Cell Signaling Technology)和BCA(ThermoFisher Scientific)。随后根据制造商的说明书处理溶解物，确定pMerTK水平并将其相对于通过BCA(Thermo Fisher Scientific)测量的总蛋白归一化。

[0378] 如图4中所示，本公开的几种抗MerTK抗体能够在Gas6存在(黑色柱)或不存在(灰色柱)下诱导pMerTK。正如预期的，仅Gas6能够在一定程度上提高pMerTK水平。抗MerTK抗体MTK-201、MTK-202、MTK-203、MTK-206、MTK-209、MTK-210、MTK-211、MTK-212、MTK-213、MTK-215、MTK-217、MTK-221、MTK-222、MTK-224、MTK-226、MTK-227、MTK-229、MTK-230和MTK-232在Gas6配体不存在下均有效地提高巨噬细胞中的pMerTK水平。对于某些抗MerTK抗体，添加Gas6配体导致pMerTK水平进一步增加，高于在不存在Gas6时观测到的水平。抗MerTK抗体使巨噬细胞中的pMerTK水平比用同种型对照抗体处理的细胞中观测到的水平高出约1倍至约4倍。

[0379] 实施例19:抗MerTK抗体对pAKT的影响

[0380] AKT(蛋白激酶B)信号传导通路是促进细胞存活和生长的信号转导通路。如下检查抗MerTK抗体对AKT(pAKT)磷酸化的影响。将来自以指数方式生长的培养物的SK-MEL-5细胞以50,000个细胞/孔的密度接种于96孔板上并孵育过夜。使细胞血清饥饿持续4小时。在37℃下将本公开的抗MerTK抗体添加到细胞中(66.6nM最终抗体浓度)持续15分钟。接着从细胞中去除培养基，并且在振荡下使细胞溶解持续30分钟。在20mL最终体积中根据制造商关于两板测定方案的说明使用Cisbio phosph-AKT(Ser473)试剂盒(Cisbio，号64AKSPEG)测定细胞溶解物中的pAKT测量值。

[0381] 下文表13显示与本公开的抗MerTK抗体一起孵育的SK-MEL-5细胞中的pAKT水平相对于在与对照IgG抗体一起孵育的SK-MEL-5细胞中观测到的pAKT水平的倍数增加。与200nM重组人Gas6(R&D Systems)一起孵育的细胞的pAKT水平比在对照IgG抗体存在下观测到的水平增加约8-12倍。

[0382] 表13

[0383]

抗体	相对于 IgG 对照 pAKT 的倍数增加	EC50 (nM)
MTK-227	4.7	1.89
MTK-205	4.7	nd
MTK-222	4.6	nd
MTK-218	4.5	nd
MTK-225	4.5	nd
MTK-221	4.4	nd
MTK-224	4.3	nd
MTK-209	4.3	nd
MTK-201	4.3	0.65
MTK-203	4.2	nd
MTK-226	4.2	0.53
MTK-228	4.2	0.53
MTK-223	4.1	nd
MTK-229	4.1	1.89
MTK-217	4.1	nd
MTK-211	4.0	nd
MTK-214	4.0	nd
MTK-230	3.9	2.05
MTK-213	3.7	nd
MTK-220	3.6	nd
MTK-219	3.5	nd
MTK-210	3.3	14.98
MTK-212	3.3	96.87
MTK-232	3.2	nd
MTK-216	3.2	nd
MTK-206	3.1	nd
MTK-202	3.0	1.01
MTK-204	3.0	nd

[0384]

抗体	相对于 IgG 对照 pAKT 的倍数增加	EC50 (nM)
MTK-231	3.0	0.65
MTK-215	2.6	208.4
MTK-208	2.6	nd
MTK-207	1.0	nd

[0385] nd＝未测定

[0386] 本公开的某些抗MerTK抗体的EC50值由上述pAKT测定确定。EC50值显示于上文表13中。

[0387] 实施例20:抗MerTK抗体的结构域结合分析

[0388] 执行以下研究以分析本公开的各种抗MerTK抗体在人MerTK上的结合位点。

[0389] MerTK为TAM家族的成员,所述家族的成员共享一种独特的结构域结构,所述结构含有一个N末端区(NT)、两个免疫球蛋白样结构域(Ig1和Ig2)、两个III型纤连蛋白结构域(FN1和FN2)、一个近膜区(JM)和一个细胞内酪氨酸激酶结构域。在近膜区的裂解导致可溶性MerTK细胞外结构域(ECD)的释放。人MerTK ECD可分为以下结构域,其氨基酸序列显示于下文表14中:

[0390] 表14

[0391]

人 MerTK 结构域	氨基酸序列	SEQ ID NO:
人 MerTK ECD 的 N 末端结构域(NT)	AITEAREEAKPYPLFPGPFPGSLQTDHTPLLSLPHASGYQPALMFSPTQPGRPHTGNVAIPQVTSVE	229
人 MerTK ECD 的免疫球蛋白样结构域(Ig1)	SKPLPPLAFKHTVGHIILSEHKGVKFNCSISVPNIYQDTTISWWKDGKELLGAHHAITQFYPDDEVTAIIASFSITSVQRSDNGSYICKMKINNEEIVSDPIYIEVQ	230

[0392]

人 MerTK 结构域	氨基酸序列	SEQ ID NO:
人 MerTK ECD 的免疫球蛋白样结构域(Ig2)	GLPHFTKQPESMNVTRNTAFNLTCQAVGPPEPVNIFWVQNSSRVNEQPEKSPSVLTVPGLTEMAVFSCEAHNDKGLTVSKGVQIN	231
人 MerTK ECD 的 III 型纤连蛋白结构域(FN1)	IKAIPSPPTEVSIRNSTAHSILISWVPGFDGYSPFRNCSIQVKEADPLSNGSVMIFNTSALPHLYQIKQLQALANYSIGVSCMNEIGWSAVSPWILAST	232
人 MerTK ECD 的 III 型纤连蛋白结构域(FN2)	TEGAPSVAPLNVTVFLNESSDNVDIRWMKPPTKQQDGELVGYRISHVWQSAGISKELLEEVGQNGSRARISVQVHNATCTVRIAAVTRGGVGPFSDPV	233
人 MerTK ECD 的近膜结构域区(JM)	KIFIPAHGWVDYAPSSTPAPGNADPVLII	234

[0393] TAM家族的另一成员Axl蛋白与MerTK共享共同的结构域结构,在其ECD中具有以下结构域和相关氨基酸序列:如下文表15中所示:

[0394] 表15

[0395]

人 Axl 结构域	氨基酸序列	SEQ ID NO:
人 Axl ECD 的 N 末端结构域(NT)	APRGTQAEESPFVGNPGNITGARGLTG	235
人 Axl ECD 的免疫球蛋白样结构域(Ig1)	TLRCQLQVQGEPPEVHWLRDGQILELADSTQTQVPLGEDEQDDWIVVSQLRITSLQLSDTGQYQCLVFLGHQTFVSQPGYVGLE	236
人 Axl ECD 的免疫球蛋白样结构域(Ig2)	GLPYFLEEPEDRTVAANTPFNLSCQAQGPPEPVDLLWLQDAVPLATAPGHGPQRSLHVPGLNKTSSFSCEAHNAKGVTTSRTATITVLP	237

[0396]

人 Axl 结构域	氨基酸序列	SEQ ID NO:
人 Axl ECD 的 III 型纤连蛋白结构域(FN1)	QQPRNLHLVSRQPTELEVAWTPGLSGIYPLTHCTLQAVLSDDGMGIQAGEPDPPEEPLTSQASVPPHQLRLGSLHPHTPYHIRVACTSSQGPSSWTHWLPVETPEG	238
人 Axl ECD 的 III 型纤连蛋白结构域(FN2)	VPLGPPENISATRNGSQAFVHWQEPRAPLQGTLLGYRLAYQGQDTPEVLMDIGLRQEVTLELQGDGSVSNLTVCVAAYTAAGDGPWS	239
人 Axl ECD 的近膜结构域(JM)	LPVPLEAWRPGQAQPVHQLVKEPSTPAFSWPWW	240

[0397] 在这些实验中,一系列嵌合蛋白以重组方式表达,其中人MerTK的各结构域与相应人Axl结构域交换。所得嵌合蛋白重组表达于Expi293细胞中,并且接着对本公开的各种抗MerTK抗体的结合针对其结合Axl/MerTK结构域交换的嵌合体的能力进行分析。具有信号序列(在MerTK构建体中为MGWSCIILFLVATATGVHS(SEQ ID NO:241),并且在Axl构建体中为MGWSCIILFLVATATG(SEQ ID NO:242))和接头+His+Avi标签(GGSGHHHHHHGGGLNDIFEAQKIEWHE;SEQ ID NO:243)的编码结构域交换的嵌合体和缺失突变体的DNA通过基因合成来制备并且克隆到表达载体pcDNAtopo3.4(GeneArt,ThermoFisher)中。根据推荐的程序(ThermoFisher),用20μg质粒和ExpiFectamine转染Expi293细胞。使经转染的细胞在37℃和5%CO2下在振荡下在20mL培养物中生长持续四天。细胞通过离心沉淀,并且上清液经由0.2μM过滤器真空过滤。

[0398] 表16显示为用于这些研究中而产生的各种Axl/MerTK结构域交换的嵌合体的配置。在该表中,M(MerTK)或A(Axl)指示来自所述蛋白的特定结构域包括(即,交换)于相应的

嵌合蛋白构建体中;NT(N末端结构域)、Ig1(免疫球蛋白样结构域1)、Ig2(免疫球蛋白样结构域2)、FN1(III型纤连蛋白结构域1)、FN2(III型纤连蛋白结构域2)和JM(近膜结构域)。

[0399] 表16

Axl/MerTK 嵌合体	NT	Ig1	Ig2	FN1	FN2	JM
完整 MerTK	M	M	M	M	M	M
具有交换的 NT 的 MerTK	A	M	M	M	M	M
具有交换的 Ig1 的 MerTK	M	A	M	M	M	M
具有交换的 Ig2 的 MerTK	M	M	A	M	M	M
具有交换的 FN1 的 MerTK	M	M	M	A	M	M
具有交换的 FN2 的 MerTK	M	M	M	M	A	M
具有交换的 JM 的 MerTK	M	M	M	M	M	A
完整 Axl	A	A	A	A	A	A
具有交换的 NT 的 Axl	M	A	A	A	A	A
具有交换的 Ig1 的 Axl	A	M	A	A	A	A
具有交换的 Ig2 的 Axl	A	A	M	A	A	A
具有交换的 FN1 的 Axl	A	A	A	M	A	A
具有交换的 FN2 的 Axl	A	A	A	A	M	A
具有交换的 JM 的 Axl	A	A	A	A	A	M
缺失 NT 的 MerTK		M	M	M	M	M
缺失 NT/Ig1 的 MerTK			M	M	M	M
缺失 NT/Ig1/Ig2 的 MerTK				M	M	M
缺失 NT/Ig1/Ig2/FN1 的 MerTK					M	M
缺失 NT/Ig1/Ig2/FN1/FN2 的 MerTK						M
MerTK N 末端 ECD 半对半嵌合体	M	M	M	A	A	A
MerTK C 末端 ECD 半对半嵌合体	A	A	A	M	M	M

[0400]

[0401] 使用Carterra LSA通过表面等离子共振(SPR)测试本公开的抗MerTK抗体与这些结构域交换的嵌合体或缺失突变体的结合。根据制造商的说明书(先前所述),通过胺偶联将纯化的抗MerTK抗体一式两份固定于HC30M芯片(Carterra)上。

[0402] 将含有这些构建体的上清液用含有0.5mg/mL BSA(HBS-TE,Carterra)的运行缓冲

液1:1稀释并且注射于经固定抗体上。在每次构建体注射之后，用10mM甘氨酸pH2.0使表面再生。使用Carterra Epitope软件分析传感图，以鉴定构建体结合模式。评估与具有结构域缺失或Axl结构域交换的MerTK构建体的结合的损失，和/或与具有MerTK结构域交换的Axl构建体的结合的增益。使用这些研究中的数据来构建抗MerTK抗体及其与人MerTK的各个结构域的结合的结构域结合图。

[0403] 除了本公开的抗MerTK抗体以外，以下抗MerTK抗体也用于这些研究中：小鼠抗人MerTK抗体H1(BioLegend，克隆ID:590H11G1E3，小鼠IgG1)、小鼠抗人MerTK抗体H2(R&D systems，克隆ID:125518，小鼠IgG2b)、小鼠抗人MerTK抗体H3(R&D systems，克隆ID 125508，小鼠IgG2b)、小鼠抗人MerTK抗体H6(eBioscience，克隆ID:A3KCAT，小鼠IgG1)、小鼠抗人MerTK抗体H7(Sino Biological，克隆ID:09，小鼠IgG2b)、人抗人MerTK抗体M6(公开于WO2016/106221中，huIgG1 LALAPS)、人抗人MerTK抗体CDX Ab2000(公开于WO2019/084307中，huIgG1LALAPS)和人抗人MerTK抗体CDX Ab3000(公开于WO2020/106461中，huIgG1 LALAPS)。

[0404] 这些结合研究的结果显示于下文表17中。首先列出结合所需的一个或多个结构域，括号中标识的结构域在较小程度上影响结合，可能通过构象效应间接影响结合。评估与两个半对半嵌合体的结合有助于建立并且/或者确认此处测试的抗体的主要结合结构域。

[0405] 表17

[0406]

抗体	结合所需(或影响结合)的 huMerTK 结构域	半对半嵌合体结合
H6	NT	MerTK N 末端 ECD (NT-Ig1-Ig2)
MTK-204		

[0407]

抗体	结合所需(或影响结合)的 huMerTK 结构域	半对半嵌合体结合
MTK-220		+ Axl C 末端 ECD (FN1-FN2-JM)
MTK-223		
MTK-202	NT (FN1)	
MTK-231		
MTK-213	Ig1	
MTK-218		
MTK-225		
MTK-226		
MTK-228		
M6		
MTK-215	Ig1 (FN1)	
H1	Ig2、FN1	无一结合半对半嵌合体
H2		
CDX AB3000		
MTK-212	Ig2、FN1 (FN2)	
MTK-203	FN1	MerTK C 末端 ECD (FN1-FN2- JM) + Axl N 末端 ECD (NT-Ig1-Ig2)
MTK-209		
MTK-214		
MTK-224		
MTK-222	FN1 (FN2、Ig1)	
MTK-227		
MTK-230		
MTK-221		
MTK-206	FN2、JM (FN1)	
MTK-217		
MTK-229		
H3	JM	
H7		
MTK-205	Fn1、Fn2、JM (Ig1)	
MTK-210		
MTK-219		

[0408] 如表17中所示，抗MerTK抗体MTK-204、MTK-220、MTK-223和H6结合至含有人MerTK N末端区的嵌合蛋白构建体。这包括MerTK N末端半对半嵌合体，但不包括MerTK C末端半对半嵌合体。抗MerTK抗体MTK-202和MTK-231也结合至含有MerTK N末端区的构建体，包括MerTK N末端半对半嵌合体，但不包括MerTK C末端半对半嵌合体，但当MerTK FN1结构域与Axl FN1结构域交换时结合减少。

[0409] 抗MerTK抗体MTK-213、MTK-218、MTK-225、MTK-226和M6结合至含有MerTK Ig1的构

建体,包括MerTK N末端半对半嵌合体,但不包括MerTK C末端半对半嵌合体。抗MerTK抗体MTK-215结合至含有MerTK Ig1的嵌合蛋白构建体,包括MerTK N末端半对半嵌合体,但不包括MerTK C末端半对半嵌合体;然而,当MerTK FN1结构域与Axl FN1结构域交换时其结合减少。

[0410] 抗体H1、H2和CDX Ab3000需要同时存在MerTK Ig2和Fn1结构域用于结合,并且不结合至任一半对半嵌合体,这表明它们的结合位点可能延伸到这两个结构域之间的连接处。类似地,抗MerTK抗体MTK-212的结合需要同时存在Ig2和FN1结构域(并且它也未能结合任一半对半嵌合体),但与上述Ig2/FN1结合抗体不同,当MerTK FN2结构域与Axl FN2结构域交换时,抗体MTK-212结合减少。

[0411] 抗体MTK-203、MTK-209、MTK-214和MTK-224结合至含有MerTK FN1结构域的构建体,包括MerTK C末端半对半嵌合体,但不包括MerTK N末端半对半嵌合体。抗体MTK-222、MTK-227和MTK-230也结合含有MTK FN1结构域的构建体,包括MerTK C末端半对半嵌合体,但不包括MerTK N末端半对半嵌合体,但当MerTK FN2或Ig1结构域不存在时其结合减少。

[0412] 抗体MTK-206、MTK-217和MTK-229结合至含有MerTK FN2和JM结构域的构建体,包括MerTK C末端半对半嵌合体,但不包括MerTK N末端半对半嵌合体,而当MerTK FN1结构域不存在时其结合减少。抗体H3和H7结合至含有MerTK JM结构域的构建体以及MerTK C末端ECD嵌合体。当不存在任何MerTK C末端结构域(FN1、FN2或JM)时,抗体MTK-205、MTK-210和MTK-219的结合减少,并且它们结合至MerTK C末端半对半嵌合体,但不结合至MerTK N末端半对半嵌合体。在不存在MerTK Ig1结构域的情况下,它们的结合也减少。本公开的抗MerTK抗体无一结合至人Axl的ECD结构域(数据未显示)。

[0413] 在将上文表11中的仓分配与表17中的结构域结合进行比较时,表位仓1、2、3、4和10中的抗MerTK抗体包括与MerTK ECD的C末端区的结合物,而表位仓6、7、8和9中的抗体包括与MerTK ECD的N末端区的结合物。表位仓5中的抗体结合MerTK的区域需要MerTK ECD的N末端区和C末端区两者,可能跨越这两个区域之间的连接处。

序列表

<110> 艾莱克特有限责任公司(ALECTOR LLC)

<120> 抗MERTK抗体及其使用方法

<130> 4503.011PC02

<150> US 63/003,070

<151> 2020-03-31

<150> US 63/165,592

<151> 2021-03-24

<160> 243

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 999

<212> PRT

<213> 智人(Homo Sapiens)

<400> 1

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

180 185 190

Val Gln Gly Leu Pro His Phe Thr Lys Gln Pro Glu Ser Met Asn Val
195 200 205

Thr Arg Asn Thr Ala Phe Asn Leu Thr Cys Gln Ala Val Gly Pro Pro
210 215 220

Glu Pro Val Asn Ile Phe Trp Val Gln Asn Ser Ser Arg Val Asn Glu
225 230 235 240

Gln Pro Glu Lys Ser Pro Ser Val Leu Thr Val Pro Gly Leu Thr Glu
245 250 255

Met Ala Val Phe Ser Cys Glu Ala His Asn Asp Lys Gly Leu Thr Val
260 265 270

Ser Lys Gly Val Gln Ile Asn Ile Lys Ala Ile Pro Ser Pro Pro Thr
275 280 285

Glu Val Ser Ile Arg Asn Ser Thr Ala His Ser Ile Leu Ile Ser Trp
290 295 300

Val Pro Gly Phe Asp Gly Tyr Ser Pro Phe Arg Asn Cys Ser Ile Gln
305 310 315 320

Val Lys Glu Ala Asp Pro Leu Ser Asn Gly Ser Val Met Ile Phe Asn
325 330 335

Thr Ser Ala Leu Pro His Leu Tyr Gln Ile Lys Gln Leu Gln Ala Leu
340 345 350

Ala Asn Tyr Ser Ile Gly Val Ser Cys Met Asn Glu Ile Gly Trp Ser
355 360 365

Ala Val Ser Pro Trp Ile Leu Ala Ser Thr Thr Glu Gly Ala Pro Ser
370 375 380

Val Ala Pro Leu Asn Val Thr Val Phe Leu Asn Glu Ser Ser Asp Asn
385 390 395 400

Val Asp Ile Arg Trp Met Lys Pro Pro Thr Lys Gln Gln Asp Gly Glu
405 410 415

Leu Val Gly Tyr Arg Ile Ser His Val Trp Gln Ser Ala Gly Ile Ser
420 425 430

Lys Glu Leu Leu Glu Glu Val Gly Gln Asn Gly Ser Arg Ala Arg Ile
435 440 445

Ser Val Gln Val His Asn Ala Thr Cys Thr Val Arg Ile Ala Ala Val
450 455 460

Thr Arg Gly Gly Val Gly Pro Phe Ser Asp Pro Val Lys Ile Phe Ile
465 470 475 480

Pro Ala His Gly Trp Val Asp Tyr Ala Pro Ser Ser Thr Pro Ala Pro
485 490 495

Gly Asn Ala Asp Pro Val Leu Ile Ile Phe Gly Cys Phe Cys Gly Phe
500 505 510
Ile Leu Ile Gly Leu Ile Leu Tyr Ile Ser Leu Ala Ile Arg Lys Arg
515 520 525
Val Gln Glu Thr Lys Phe Gly Asn Ala Phe Thr Glu Glu Asp Ser Glu
530 535 540
Leu Val Val Asn Tyr Ile Ala Lys Lys Ser Phe Cys Arg Arg Ala Ile
545 550 555 560
Glu Leu Thr Leu His Ser Leu Gly Val Ser Glu Glu Leu Gln Asn Lys
565 570 575
Leu Glu Asp Val Val Ile Asp Arg Asn Leu Leu Ile Leu Gly Lys Ile
580 585 590
Leu Gly Glu Gly Glu Phe Gly Ser Val Met Glu Gly Asn Leu Lys Gln
595 600 605
Glu Asp Gly Thr Ser Leu Lys Val Ala Val Lys Thr Met Lys Leu Asp
610 615 620
Asn Ser Ser Gln Arg Glu Ile Glu Glu Phe Leu Ser Glu Ala Ala Cys
625 630 635 640
Met Lys Asp Phe Ser His Pro Asn Val Ile Arg Leu Leu Gly Val Cys
645 650 655
Ile Glu Met Ser Ser Gln Gly Ile Pro Lys Pro Met Val Ile Leu Pro
660 665 670
Phe Met Lys Tyr Gly Asp Leu His Thr Tyr Leu Leu Tyr Ser Arg Leu
675 680 685
Glu Thr Gly Pro Lys His Ile Pro Leu Gln Thr Leu Leu Lys Phe Met
690 695 700
Val Asp Ile Ala Leu Gly Met Glu Tyr Leu Ser Asn Arg Asn Phe Leu
705 710 715 720
His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met Leu Arg Asp Asp Met Thr
725 730 735
Val Cys Val Ala Asp Phe Gly Leu Ser Lys Lys Ile Tyr Ser Gly Asp
740 745 750
Tyr Tyr Arg Gln Gly Arg Ile Ala Lys Met Pro Val Lys Trp Ile Ala
755 760 765
Ile Glu Ser Leu Ala Asp Arg Val Tyr Thr Ser Lys Ser Asp Val Trp
770 775 780
Ala Phe Gly Val Thr Met Trp Glu Ile Ala Thr Arg Gly Met Thr Pro
785 790 795 800
Tyr Pro Gly Val Gln Asn His Glu Met Tyr Asp Tyr Leu Leu His Gly

805 810 815
His Arg Leu Lys Gln Pro Glu Asp Cys Leu Asp Glu Leu Tyr Glu Ile
820 825 830
Met Tyr Ser Cys Trp Arg Thr Asp Pro Leu Asp Arg Pro Thr Phe Ser
835 840 845
Val Leu Arg Leu Gln Leu Glu Lys Leu Leu Glu Ser Leu Pro Asp Val
850 855 860
Arg Asn Gln Ala Asp Val Ile Tyr Val Asn Thr Gln Leu Leu Glu Ser
865 870 875 880
Ser Glu Gly Leu Ala Gln Gly Ser Thr Leu Ala Pro Leu Asp Leu Asn
885 890 895
Ile Asp Pro Asp Ser Ile Ile Ala Ser Cys Thr Pro Arg Ala Ala Ile
900 905 910
Ser Val Val Thr Ala Glu Val His Asp Ser Lys Pro His Glu Gly Arg
915 920 925
Tyr Ile Leu Asn Gly Gly Ser Glu Glu Trp Glu Asp Leu Thr Ser Ala
930 935 940
Pro Ser Ala Ala Val Thr Ala Glu Lys Asn Ser Val Leu Pro Gly Glu
945 950 955 960
Arg Leu Val Arg Asn Gly Val Ser Trp Ser His Ser Ser Met Leu Pro
965 970 975
Leu Gly Ser Ser Leu Pro Asp Glu Leu Leu Phe Ala Asp Asp Ser Ser
980 985 990
Glu Gly Ser Glu Val Leu Met
995

<210> 2
<211> 505
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人MerTK ECD
<400> 2

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

50 55 60

Phe Ser Pro Thr Gln Pro Gly Arg Pro His Thr Gly Asn Val Ala Ile
65 70 75 80

Pro Gln Val Thr Ser Val Glu Ser Lys Pro Leu Pro Pro Leu Ala Phe
85 90 95

Lys His Thr Val Gly His Ile Ile Leu Ser Glu His Lys Gly Val Lys
100 105 110

Phe Asn Cys Ser Ile Ser Val Pro Asn Ile Tyr Gln Asp Thr Thr Ile
115 120 125

Ser Trp Trp Lys Asp Gly Lys Glu Leu Leu Gly Ala His His Ala Ile
130 135 140

Thr Gln Phe Tyr Pro Asp Asp Glu Val Thr Ala Ile Ile Ala Ser Phe
145 150 155 160

Ser Ile Thr Ser Val Gln Arg Ser Asp Asn Gly Ser Tyr Ile Cys Lys
165 170 175

Met Lys Ile Asn Asn Glu Glu Ile Val Ser Asp Pro Ile Tyr Ile Glu
180 185 190

Val Gln Gly Leu Pro His Phe Thr Lys Gln Pro Glu Ser Met Asn Val
195 200 205

Thr Arg Asn Thr Ala Phe Asn Leu Thr Cys Gln Ala Val Gly Pro Pro
210 215 220

Glu Pro Val Asn Ile Phe Trp Val Gln Asn Ser Ser Arg Val Asn Glu
225 230 235 240

Gln Pro Glu Lys Ser Pro Ser Val Leu Thr Val Pro Gly Leu Thr Glu
245 250 255

Met Ala Val Phe Ser Cys Glu Ala His Asn Asp Lys Gly Leu Thr Val
260 265 270

Ser Lys Gly Val Gln Ile Asn Ile Lys Ala Ile Pro Ser Pro Pro Thr
275 280 285

Glu Val Ser Ile Arg Asn Ser Thr Ala His Ser Ile Leu Ile Ser Trp
290 295 300

Val Pro Gly Phe Asp Gly Tyr Ser Pro Phe Arg Asn Cys Ser Ile Gln
305 310 315 320

Val Lys Glu Ala Asp Pro Leu Ser Asn Gly Ser Val Met Ile Phe Asn
325 330 335

Thr Ser Ala Leu Pro His Leu Tyr Gln Ile Lys Gln Leu Gln Ala Leu
340 345 350

Ala Asn Tyr Ser Ile Gly Val Ser Cys Met Asn Glu Ile Gly Trp Ser
355 360 365

Ala Val Ser Pro Trp Ile Leu Ala Ser Thr Thr Glu Gly Ala Pro Ser
370 375 380
Val Ala Pro Leu Asn Val Thr Val Phe Leu Asn Glu Ser Ser Asp Asn
385 390 395 400
Val Asp Ile Arg Trp Met Lys Pro Pro Thr Lys Gln Gln Asp Gly Glu
405 410 415
Leu Val Gly Tyr Arg Ile Ser His Val Trp Gln Ser Ala Gly Ile Ser
420 425 430
Lys Glu Leu Leu Glu Glu Val Gly Gln Asn Gly Ser Arg Ala Arg Ile
435 440 445
Ser Val Gln Val His Asn Ala Thr Cys Thr Val Arg Ile Ala Ala Val
450 455 460
Thr Arg Gly Gly Val Gly Pro Phe Ser Asp Pro Val Lys Ile Phe Ile
465 470 475 480
Pro Ala His Gly Trp Val Asp Tyr Ala Pro Ser Ser Thr Pro Ala Pro
485 490 495
Gly Asn Ala Asp Pro Val Leu Ile Ile
500 505

<210> 3
<211> 507
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> Cyno MerTK ECD
<400> 3

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

Val Lys Phe Asn Cys Ser Ile Ser Val Pro Asn Ile Tyr Gln Asp Thr
115 120 125
Thr Ile Ser Trp Trp Lys Asp Gly Lys Glu Leu Leu Gly Ala His His
130 135 140
Ala Ile Thr Gln Phe Tyr Pro Asp Asp Glu Val Thr Ala Ile Ile Ala
145 150 155 160
Ser Phe Ser Ile Thr Ser Val Gln Arg Ser Asp Asn Gly Ser Tyr Ile
165 170 175
Cys Lys Met Lys Ile Asn Asn Glu Glu Ile Val Ser Asp Pro Ile Tyr
180 185 190
Ile Glu Val Gln Gly Leu Pro His Phe Thr Lys Gln Pro Glu Ser Met
195 200 205
Asn Val Thr Arg Asn Thr Ala Phe Asn Leu Thr Cys Gln Ala Val Gly
210 215 220
Pro Pro Glu Pro Val Asn Ile Phe Trp Val Gln Asn Ser Ser Arg Val
225 230 235 240
Asn Glu Gln Pro Glu Lys Ser Pro Ser Val Leu Thr Val Pro Gly Leu
245 250 255
Thr Glu Met Ala Val Phe Ser Cys Glu Ala His Asn Asp Lys Gly Leu
260 265 270
Thr Val Ser Lys Gly Val Gln Ile Asn Ile Lys Ala Ile Pro Ser Pro
275 280 285
Pro Thr Glu Val Ser Ile His Asn Ser Thr Ala His Ser Ile Leu Ile
290 295 300
Ser Trp Val Pro Gly Phe Asp Gly Tyr Ser Pro Phe Arg Asn Cys Ser
305 310 315 320
Val Gln Val Lys Glu Val Asp Pro Leu Ser Asn Gly Ser Val Met Ile
325 330 335
Phe Asn Thr Ser Ala Ser Pro His Met Tyr Gln Ile Lys Gln Leu Gln
340 345 350
Ala Leu Ala Asn Tyr Ser Ile Gly Val Ser Cys Met Asn Glu Ile Gly
355 360 365
Trp Ser Ala Val Ser Pro Trp Ile Leu Ala Ser Thr Thr Glu Gly Ala
370 375 380
Pro Ser Val Ala Pro Leu Asn Val Thr Val Phe Leu Asn Glu Ser Arg
385 390 395 400
Asp Asn Val Asp Ile Arg Trp Met Lys Pro Leu Thr Lys Arg Gln Ala
405 410 415
Gly Glu Leu Val Gly Tyr Arg Ile Ser His Val Trp Gln Ser Ala Gly

420 425 430

Ile Ser Lys Glu Leu Leu Glu Glu Val Gly Gln Asn Asn Ser Arg Ala
435 440 445

Gln Ile Ser Val Gln Val His Asn Ala Thr Cys Thr Val Arg Ile Ala
450 455 460

Ala Val Thr Lys Gly Gly Val Gly Pro Phe Ser Asp Pro Val Lys Ile
465 470 475 480

Phe Ile Pro Ala His Gly Trp Val Asp His Ala Pro Ser Ser Thr Pro
485 490 495

Ala Pro Gly Asn Ala Asp Pro Val Leu Ile Ile
500 505

<210> 4
<211> 497
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 鼠科动物MerTK ECD
<400> 4

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

Trp Ser Gly Gly Thr Ala Glu Lys Trp Glu Glu Thr Glu Leu Asp Gln
20 25 30

Leu Phe Ser Gly Pro Leu Pro Gly Arg Leu Pro Val Asn His Arg Pro
35 40 45

Phe Ser Ala Pro His Ser Ser Arg Asp Gln Leu Pro Pro Pro Gln Thr
50 55 60

Gly Arg Ser His Pro Ala His Thr Ala Ala Pro Gln Val Thr Ser Thr
65 70 75 80

Ala Ser Lys Leu Leu Pro Pro Val Ala Phe Asn His Thr Ile Gly His
85 90 95

Ile Val Leu Ser Glu His Lys Asn Val Lys Phe Asn Cys Ser Ile Asn
100 105 110

Ile Pro Asn Thr Tyr Gln Glu Thr Ala Gly Ile Ser Trp Trp Lys Asp
115 120 125

Gly Lys Glu Leu Leu Gly Ala His His Ser Ile Thr Gln Phe Tyr Pro
130 135 140

Asp Glu Glu Gly Val Ser Ile Ile Ala Leu Phe Ser Ile Ala Ser Val
145 150 155 160

Gln Arg Ser Asp Asn Gly Ser Tyr Phe Cys Lys Met Lys Val Asn Asn

165 170 175
Arg Glu Ile Val Ser Asp Pro Ile Tyr Val Glu Val Gln Gly Leu Pro
180 185 190
Tyr Phe Ile Lys Gln Pro Glu Ser Val Asn Val Thr Arg Asn Thr Ala
195 200 205
Phe Asn Leu Thr Cys Gln Ala Val Gly Pro Pro Glu Pro Val Asn Ile
210 215 220
Phe Trp Val Gln Asn Ser Ser Arg Val Asn Glu Lys Pro Glu Arg Ser
225 230 235 240
Pro Ser Val Leu Thr Val Pro Gly Leu Thr Glu Thr Ala Val Phe Ser
245 250 255
Cys Glu Ala His Asn Asp Lys Gly Leu Thr Val Ser Lys Gly Val His
260 265 270
Ile Asn Ile Lys Val Ile Pro Ser Pro Pro Thr Glu Val His Ile Leu
275 280 285
Asn Ser Thr Ala His Ser Ile Leu Val Ser Trp Val Pro Gly Phe Asp
290 295 300
Gly Tyr Ser Pro Leu Gln Asn Cys Ser Ile Gln Val Lys Glu Ala Asp
305 310 315 320
Arg Leu Ser Asn Gly Ser Val Met Val Phe Asn Thr Ser Ala Ser Pro
325 330 335
His Leu Tyr Glu Ile Gln Gln Leu Gln Ala Leu Ala Asn Tyr Ser Ile
340 345 350
Ala Val Ser Cys Arg Asn Glu Ile Gly Trp Ser Ala Val Ser Pro Trp
355 360 365
Ile Leu Ala Ser Thr Thr Glu Gly Ala Pro Ser Val Ala Pro Leu Asn
370 375 380
Ile Thr Val Phe Leu Asn Glu Ser Asn Asn Ile Leu Asp Ile Arg Trp
385 390 395 400
Thr Lys Pro Pro Ile Lys Arg Gln Asp Gly Glu Leu Val Gly Tyr Arg
405 410 415
Ile Ser His Val Trp Glu Ser Ala Gly Thr Tyr Lys Glu Leu Ser Glu
420 425 430
Glu Val Ser Gln Asn Gly Ser Trp Ala Gln Ile Pro Val Gln Ile His
435 440 445
Asn Ala Thr Cys Thr Val Arg Ile Ala Ala Ile Thr Lys Gly Gly Ile
450 455 460
Gly Pro Phe Ser Glu Pro Val Asn Ile Ile Ile Pro Glu His Ser Lys
465 470 475 480

Val Asp Tyr Ala Pro Ser Ser Thr Pro Ala Pro Gly Asn Thr Asp Ser
485 490 495
Met

<210> 5
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-201重链可变
<400> 5

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

<210> 6
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-202重链可变
<400> 6

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

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

<210> 7
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-203重链可变
<400> 7
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Arg Ile His Pro Phe Asp Thr Glu Thr Asn Asp Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Ile Pro Ala Asn Gly Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 8
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-204重链可变

<400> 8

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

<210> 9
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-206重链可变
<400> 9

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

115 120

<210> 10
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-207重链可变
<400> 10

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

<210> 11
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-208重链可变
<400> 11

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

Lys Asp Lys Ser Thr Leu Ser Leu Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Cys Asp Tyr Tyr Gly Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 12
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-209重链可变
<400> 12

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

<210> 13
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-210重链可变
<400> 13

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

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

<210> 14
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-211重链可变
<400> 14

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

<210> 15
<211> 120

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-212重链可变
<400> 15

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

<210> 16
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-213重链可变
<400> 16

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

85 90 95
Ala Arg Gly Ala Tyr Thr Lys Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115
<210> 17
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-214重链可变
<400> 17
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Arg Ile His Pro Phe Asp Ser Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Thr Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ile Gly Thr Leu Ile Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Ala
100 105 110
Ser Ser
<210> 18
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-215重链可变
<400> 18
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

<210> 19
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-216重链可变
<400> 19
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Thr Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Ile
65 70 75 80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Gly Gly Phe His Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 20
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> MTK-217重链可变

<400> 20

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

<210> 21

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MTK-218重链可变

<400> 21

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

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 22
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-219重链可变
<400> 22

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

<210> 23
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-220重链可变
<400> 23

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

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

<210> 24
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-221重链可变
<400> 24
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Met Leu Gln Ser Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Thr Ser
50 55 60
Leu Gln Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln Val
65 70 75 80
Phe Leu Lys Ile Thr Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
85 90 95
Cys Gly Arg Leu Gly Ala Tyr Ser Ala Phe Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 25
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-222重链可变
<400> 25

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

<210> 26
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-223重链可变
<400> 26

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

<210> 27

<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-224重链可变
<400> 27

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

<210> 28
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-225重链可变
<400> 28

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

85 90 95
Ala Arg Arg Arg Arg Tyr Gly Asn Thr Tyr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110
Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 29
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-226重链可变
<400> 29
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60
Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Gly Leu Ile Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Ser Val Thr Val Ser Ser
115
<210> 30
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-227重链可变
<400> 30
Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ser Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Asn
20 25 30

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

<210> 31
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-228重链可变
<400> 31

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

<210> 32
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MTK-229重链可变
<400> 32

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

<210> 33
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-230重链可变
<400> 33

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

100 105 110

Thr Val Ser Ala
115

<210> 34
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-201轻链可变
<400> 34

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

<210> 35
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-202轻链可变
<400> 35

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

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

<210> 36
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-203轻链可变
<400> 36

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

<210> 37
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-204轻链可变
<400> 37

Asn Ile Met Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

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

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

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

<210> 38
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-206轻链可变
<400> 38

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

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

Leu Asn Trp Leu Gln Gln Glu Pro Asp Gly Thr Ile Lys Arg Leu Ile
35 40 45

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

Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Val Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Ser Ser Pro Trp
85 90 95

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

<210> 39
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-207轻链可变
<400> 39

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

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

<210> 40
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-208轻链可变
<400> 40

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

<210> 41
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-209轻链可变

<400> 41

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

<210> 42
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-210轻链可变
<400> 42

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

<210> 43
<211> 106
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-211轻链可变
<400> 43

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

<210> 44
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-212轻链可变
<400> 44

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

<210> 45
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-213轻链可变
<400> 45

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

<210> 46
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-214轻链可变
<400> 46

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

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 47
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-215轻链可变
<400> 47

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

<210> 48
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-216轻链可变
<400> 48

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

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

<210> 49
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-217轻链可变
<400> 49

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

<210> 50
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-218轻链可变
<400> 50

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

35 40 45

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

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

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

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 51
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-219轻链可变
<400> 51

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 52
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-220轻链可变
<400> 52

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

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

<210> 53
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-221轻链可变
<400> 53

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

<210> 54
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-222轻链可变

<400> 54

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

<210> 55

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MTK-223轻链可变

<400> 55

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

<210> 56

<211> 107

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-224轻链可变
<400> 56

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

<210> 57
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-225轻链可变
<400> 57

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

100 105

<210> 58
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-226轻链可变
<400> 58

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

<210> 59
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-227轻链可变
<400> 59

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

Ala Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Arg Thr Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 60
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-228轻链可变
<400> 60

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

<210> 61
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-229轻链可变
<400> 61

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

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

<210> 62
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-230轻链可变
<400> 62
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95
Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 63
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1 MTK-201
<400> 63
Asn Tyr Gly Leu His
1 5

<210> 64
<211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1 MTK-202
<400> 64
Asp Phe Gly Met His
1 5
<210> 65
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1:MTK-203、MTK-208、MTK-214
<400> 65
Asn Tyr Trp Met His
1 5
<210> 66
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1:MTK-204、MTK-215、MTK-216、MTK-220
<400> 66
Asp Tyr Gly Met His
1 5
<210> 67
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1 MTK-206
<400> 67
Ser Tyr Thr Met His
1 5
<210> 68
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> HVR-H1 MTK-207
<400> 68
Ser Tyr Gly Val Ser
1 5
<210> 69
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1 MTK-209
<400> 69
Asn Tyr Trp Ile His
1 5
<210> 70
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1:MTK-210、MTK-229
<400> 70
Arg Ser Trp Met Asn
1 5
<210> 71
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1:MTK-211、MTK-219、MTK-222
<400> 71
Gly Tyr Trp Ile Glu
1 5
<210> 72
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1 MTK-212
<400> 72
Ser Ser Trp Val Asn

1 5

<210> 73

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-H1:MTK-213、MTK-217

<400> 73

Ser Tyr Trp Ile Thr

1 5

<210> 74

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-H1:MTK-218、MTK-226、MTK-228

<400> 74

Ser Tyr Tyr Ile His

1 5

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-H1 MTK-221

<400> 75

Thr Ser Gly Met Gly Val Ser

1 5

<210> 76

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-H1 MTK-223

<400> 76

Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn

1 5

<210> 77

<211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1 MTK-224
<400> 77
Ser Tyr Trp Met His
1 5
<210> 78
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1 MTK-225
<400> 78
Ala Tyr Asn Met Asp
1 5
<210> 79
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1 MTK-227
<400> 79
Asp Asn Tyr Met Thr
1 5
<210> 80
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1 MTK-230
<400> 80
Asp Tyr Asn Met Asp
1 5
<210> 81
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> HVR-H2 MTK-201
<400> 81
Val Ile Trp Ser Gly Gly Ile Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile Ser
1 5 10 15
<210> 82
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-202
<400> 82
Phe Ile Ser Gly Gly Ser Asn Thr Ile Tyr Tyr Thr Asp Thr Val Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 83
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-203
<400> 83
Arg Ile His Pro Phe Asp Thr Glu Thr Asn Asp Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 84
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-204
<400> 84
Tyr Ile Ser Ser Gly Thr Ser Thr Ile Tyr Tyr Glu Asp Thr Val Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 85
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> HVR-H2 MTK-206
<400> 85
Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Ile Lys Asn Ser Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Asp
<210> 86
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-207
<400> 86
Ile Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Ala Leu Ile Ser
1 5 10 15
<210> 87
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-208
<400> 87
Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Ala Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Asp
<210> 88
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-209
<400> 88
Arg Ile His Pro Phe Asp Ser Glu Pro Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 89
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> HVR-H2 MTK-210
<400> 89
Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 90
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-211
<400> 90
Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Gly Ser Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 91
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-212
<400> 91
Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Ser Asn Tyr Asn Gly Asn Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 92
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-213
<400> 92
Glu Ile Tyr Pro Gly Ile Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Ser
<210> 93
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> HVR-H2 MTK-214
<400> 93
Arg Ile His Pro Phe Asp Ser Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Thr
1 5 10 15
Asp
<210> 94
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-215
<400> 94
Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Gly Asp Thr Val Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 95
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-216
<400> 95
Phe Ile Ser Ser Gly Ser Thr Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 96
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-217
<400> 96
Asp Ile His Pro Gly Ser Gly Ile Asn Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Arg
1 5 10 15
Ser
<210> 97
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-218
<400> 97
Trp Ile Phe Pro Gly Asn Arg Asn Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 98
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-219
<400> 98
Glu Ile Leu Thr Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Arg Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 99
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-220
<400> 99
Phe Ile Ser Gly Gly Ser Gly Thr Ile Tyr Tyr Glu Asp Thr Val Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 100
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-221
<400> 100
His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Thr Ser Leu Gln Ser
1 5 10 15
<210> 101
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-222
<400> 101
Glu Ile Leu Thr Gly Ser Gly Ser Ser Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 102
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-223
<400> 102
Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asn
1 5 10 15
<210> 103
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-224
<400> 103
Arg Ile His Pro Phe Asp Ser Asp Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 104
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-225
<400> 104
Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 105
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-226
<400> 105
Trp Ile Phe Pro Gly Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Asn Phe Arg
1 5 10 15
Gly
<210> 106
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-227
<400> 106
Phe Ser Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly
<210> 107
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-228
<400> 107
Trp Ile Phe Pro Gly Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 108
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-229
<400> 108
Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Lys Gly Lys Leu Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 109
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-230
<400> 109
Asn Ile Asn Pro Asn Ile Gly Gly Thr Ile Tyr Ser Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 110
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-201
<400> 110
Lys Gly His Asp Pro Tyr Ala Met Asp Phe
1 5 10
<210> 111
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-202
<400> 111
Asn Gly Asn Ser Phe Ala Tyr
1 5
<210> 112
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-203
<400> 112
Pro Ala Asn Gly Gly Phe Ala Tyr
1 5
<210> 113
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> HVR-H3 MTK-204
<400> 113
Gly Gly Leu Leu Phe Asp Tyr
1 5
<210> 114
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-206
<400> 114
Thr Val Tyr Gly Tyr Tyr Gly Ser Ser Pro Asp Tyr
1 5 10
<210> 115
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-207
<400> 115
Gly Arg Tyr Gly Asn Tyr Glu Asp Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10
<210> 116
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-208
<400> 116
Cys Asp Tyr Tyr Gly Arg Leu Asp Tyr
1 5
<210> 117
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-209
<400> 117

Ala Ser Phe Ala Tyr
1 5
<210> 118
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-210
<400> 118
Lys Gly Gly Tyr Tyr Tyr Ser Ile Ser Asn Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 119
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-211
<400> 119
Gly Glu Pro Ser Tyr Phe Ser Asp Ala Gly Phe Ala Tyr
1 5 10
<210> 120
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-212
<400> 120
Lys Ser His Phe Ile Tyr Tyr Thr Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 121
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-213
<400> 121
Gly Ala Tyr Thr Lys Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 122

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-214
<400> 122
Gly Thr Leu Ile Tyr
1 5
<210> 123
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-215
<400> 123
Gly Gly Arg Tyr Gly Ala Met Asp Tyr
1 5
<210> 124
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-216
<400> 124
Gly Gly Phe His Leu Asp Tyr
1 5
<210> 125
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-217
<400> 125
Gly Gly Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Tyr Val Met Asp Tyr
1 5 10
<210> 126
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> HVR-H3:MTK-218、MTK-226、MTK-228
<400> 126
Leu Gly Leu Ile Tyr Ala Leu Asp Tyr
1 5
<210> 127
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-219
<400> 127
Ser Tyr Phe Thr Asn Ser Trp Phe Pro Tyr
1 5 10
<210> 128
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-220
<400> 128
Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr
1 5
<210> 129
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-221
<400> 129
Leu Gly Ala Tyr Ser Ala Phe Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 130
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-222
<400> 130

Ser Tyr Tyr Ser Asn Ser Trp Phe Pro Tyr
1 5 10
<210> 131
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-223
<400> 131
Gly Ala Gly Tyr
1
<210> 132
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-224
<400> 132
Ala Gly Phe Ala Tyr
1 5
<210> 133
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-225
<400> 133
Arg Arg Arg Tyr Gly Asn Thr Tyr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10
<210> 134
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-227
<400> 134
Phe Pro Pro His Tyr Tyr Ala Gly Gly Tyr Phe Asp Val
1 5 10
<210> 135

<210> 15
<211> PRT
<212> 人工序列(Artificial Sequence)
<213>
<220>
<223> HVR-H3 MTK-229
<400> 135
Gly Gly Gly Tyr Tyr Tyr Asp Ser Arg Tyr Glu Gly Phe Val Tyr
1 5 10 15
<210> 136
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H3 MTK-230
<400> 136
Gly Asp Tyr Gly Phe Ala Ser
1 5
<210> 137
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-201
<400> 137
Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His
1 5 10
<210> 138
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1:MTK-202、MTK-204、MTK-220
<400> 138
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala
<210> 139
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-203
<400> 139
Ile Thr Ser Thr Asp Ile Gly Asp Asp Met Asn
1 5 10
<210> 140
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-206
<400> 140
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Ser Asn Leu Asn
1 5 10
<210> 141
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-207
<400> 141
Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Asn Tyr Leu Ala
1 5 10
<210> 142
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-208
<400> 142
Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Leu
1 5 10
<210> 143
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-209

<400> 143
Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Lys Met Asn
1 5 10
<210> 144
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1:MTK-210、MTK-229
<400> 144
Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1 5 10
<210> 145
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-211
<400> 145
Ser Ala Ser Ser Ser Ile Thr Tyr Met His
1 5 10
<210> 146
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1:MTK-205、MTK-212
<400> 146
Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ser Val Ala
1 5 10
<210> 147
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-213
<400> 147
Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Asp Ala Val Ala
1 5 10

<210> 148
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-214
<400> 148
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Tyr Lys Lys Leu His
1 5 10
<210> 149
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-215
<400> 149
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn Leu His
1 5 10
<210> 150
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-216
<400> 150
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ala Asn Gln Gln Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala
<210> 151
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-217
<400> 151
Arg Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Ser Ile His
1 5 10
<210> 152
<211> 16

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-218
<400> 152
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser Asn Gly His Thr Tyr Leu His
1 5 10 15
<210> 153
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-219
<400> 153
Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His
1 5 10 15
<210> 154
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-221
<400> 154
Lys Ala Ser Gln Asp Ile His Lys His Ile Ala
1 5 10
<210> 155
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-222
<400> 155
Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr Gly Ser Ser Phe Met His
1 5 10 15
<210> 156
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> HVR-L1:MTK-223、MTK-231
<400> 156
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15
<210> 157
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-224
<400> 157
Arg Ala Ser Gln Ile Ile Ser Asp Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 158
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-225
<400> 158
Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ser Leu Ala
1 5 10
<210> 159
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-226
<400> 159
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Ser Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15
<210> 160
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-227
<400> 160
Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 161
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-228
<400> 161
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 162
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-230
<400> 162
Arg Ala Ser Arg Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His
1 5 10 15

<210> 163
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2:MTK-201、MTK-210
<400> 163
Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 164
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2:MTK-202、MTK-204、MTK-216、MTK-220
<400> 164
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 165
<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2 MTK-203
<400> 165
Glu Gly Asn Ser Leu Arg Pro
1 5
<210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2 MTK-206
<400> 166
Ala Thr Ser Ser Leu Glu Ser
1 5
<210> 167
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2 MTK-207
<400> 167
Asn Ala Lys Thr Leu Ala Ala
1 5
<210> 168
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2 MTK-208
<400> 168
Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5
<210> 169
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> HVR-L2 MTK-209
<400> 169
Ala Gly Asn Thr Leu Arg Pro
1 5
<210> 170
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2:MTK-211、MTK-229
<400> 170
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1 5
<210> 171
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2 MTK-212
<400> 171
Trp Ala Ser Ser Arg His Thr
1 5
<210> 172
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2:MTK-213、MTK-232
<400> 172
Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5
<210> 173
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2 MTK-214
<400> 173
Phe Ala Ser Asp Ser Ile Ser

1 5

<210> 174

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L2 MTK-215

<400> 174

Asn Pro Ser Gln Ser Ile Ser

1 5

<210> 175

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L2 MTK-217

<400> 175

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser

1 5

<210> 176

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L2:MTK-218、MTK-226、MTK-228

<400> 176

Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 177

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L2 MTK-219

<400> 177

Arg Ala Tyr Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 178

<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2 MTK-221
<400> 178
Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro
1 5
<210> 179
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2 MTK-222
<400> 179
Arg Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5
<210> 180
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2:MTK-223、MTK-231
<400> 180
Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5
<210> 181
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2 MTK-224
<400> 181
Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser
1 5
<210> 182
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> HVR-L2 MTK-225
<400> 182
Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp
1 5
<210> 183
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2 MTK-227
<400> 183
Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5
<210> 184
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L2 MTK-230
<400> 184
Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5
<210> 185
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-201
<400> 185
His Gln Tyr His His Ser Pro Tyr Thr
1 5
<210> 186
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-202
<400> 186
His Gln Tyr Phe Phe Ser Trp Thr

1 5

<210> 187

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L3 MTK-203

<400> 187

Leu Gln Ser Asp Asn Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 188

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L3:MTK-204、MTK-216、MTK-220

<400> 188

His Gln Tyr Phe Ser Ser Trp Thr

1 5

<210> 189

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L3 MTK-206

<400> 189

Leu Gln Tyr Asp Ser Ser Pro Trp Thr

1 5

<210> 190

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L3 MTK-207

<400> 190

Gln His Phe Trp Ser Ile Pro Leu Thr

1 5

<210> 191

<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-208
<400> 191
Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Pro Ile Thr
1 5 10
<210> 192
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-209
<400> 192
Leu Gln Gly Gly Ala Leu Pro Leu Thr
1 5
<210> 193
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-210
<400> 193
Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Pro Tyr Thr
1 5 10
<210> 194
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-211
<400> 194
His Gln Arg Ser Thr Tyr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 195
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> HVR-L3 MTK-212
<400> 195
Gln Gln Tyr Ser Thr Tyr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 196
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-213
<400> 196
Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Leu Met Tyr Thr
1 5 10
<210> 197
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-214
<400> 197
Leu Gln Gly Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5
<210> 198
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-215
<400> 198
Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Phe Thr
1 5
<210> 199
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-217
<400> 199
Gln Gln Ser Asn Asp Trp Pro Tyr Thr

1 5

<210> 200

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L3:MTK-218、MTK-226、MTK-228

<400> 200

Leu Gln Val Thr His Val Pro Phe Thr

1 5

<210> 201

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L3:MTK-219、MTK-222

<400> 201

Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Arg Thr

1 5

<210> 202

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L3 MTK-221

<400> 202

Leu Gln Tyr Asp Asn Leu Trp Thr

1 5

<210> 203

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L3 MTK-223

<400> 203

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Thr Trp Thr

1 5 10

<210> 204

<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-224
<400> 204
Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Leu Thr
1 5
<210> 205
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-225
<400> 205
Gln His Phe Trp Gly Thr Ser Tyr Thr
1 5
<210> 206
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-227
<400> 206
Gln His Tyr Tyr Arg Thr Pro Pro Thr
1 5
<210> 207
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-229
<400> 207
Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Pro Ile Thr
1 5 10
<210> 208
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> HVR-L3 MTK-230
<400> 208
Gln His Ser Arg Glu Tyr Pro Phe Thr
1 5
<210> 209
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-231重链可变
<400> 209
Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30
Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45
Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Tyr Asn Tyr His Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Asn Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80
Leu Thr Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Phe Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Gly Gly Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
100 105 110
Ser
<210> 210
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-232重链可变
<400> 210
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Ser Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Asp Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30
Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Tyr Met
35 40 45

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

<210> 211
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-231轻链可变
<400> 211

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

<210> 212
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-232轻链可变
<400> 212

Asp Ser Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Leu Val Gly

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

<210> 213
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1 MTK-231
<400> 213
Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn
1 5

<210> 214
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1 MTK-232
<400> 214
Ser Gly Tyr Trp Asn
1 5

<210> 215
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-231
<400> 215
Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Tyr Asn Tyr His Pro Ser Leu Lys Asn

1 5 10 15

<210> 216

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-H2 MTK-232

<400> 216

Tyr Ile Asn Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 217

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-H3 MTK-231

<400> 217

Gly Gly Gly Tyr

1

<210> 218

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-H3 MTK-232

<400> 218

Trp Asn Tyr Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 219

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L3 MTK-231

<400> 219

Ser Gln Thr Thr His Ile Pro Leu Thr

1 5

<210> 220

<211> 11

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L1 MTK-232
<400> 220
Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Ala
1 5 10
<210> 221
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-L3 MTK-232
<400> 221
His Gln Tyr Ser Thr Tyr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 222
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-205重链可变
<400> 222
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
20 25 30
Ile Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Gly Ile Asn Pro Asn Asn Leu Gly Ile Ile Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Glu Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gly Tyr Phe Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110
Leu Lys Val Ser Ser
115

<210> 223
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> MTK-205轻链可变
<400> 223

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

<210> 224
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H1 MTK-205
<400> 224

```
Glu Tyr Ile Met His
1               5
```

<210> 225
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HVR-H2 MTK-205
<400> 225

```
Gly Ile Asn Pro Asn Asn Leu Gly Ile Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1               5                  10                  15
```

Gly

<210> 226

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-H3 MTK-205

<400> 226

Asp Gly Tyr Phe Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 227

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L2 MTK-205

<400> 227

Trp Thr Ser Thr Arg Arg Thr
1 5

<210> 228

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HVR-L3 MTK-205

<400> 228

His Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 229

<211> 67

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人MerTK ECD的N末端结构域(NT)

<400> 229

Ala Ile Thr Glu Ala Arg Glu Glu Ala Lys Pro Tyr Pro Leu Phe Pro
1 5 10 15

Gly Pro Phe Pro Gly Ser Leu Gln Thr Asp His Thr Pro Leu Leu Ser
20 25 30

Leu Pro His Ala Ser Gly Tyr Gln Pro Ala Leu Met Phe Ser Pro Thr
35 40 45
Gln Pro Gly Arg Pro His Thr Gly Asn Val Ala Ile Pro Gln Val Thr
50 55 60
Ser Val Glu
65

<210> 230
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人MerTK ECD的免疫球蛋白样结构域(Ig1)
<400> 230
Ser Lys Pro Leu Pro Pro Leu Ala Phe Lys His Thr Val Gly His Ile
1 5 10 15
Ile Leu Ser Glu His Lys Gly Val Lys Phe Asn Cys Ser Ile Ser Val
20 25 30
Pro Asn Ile Tyr Gln Asp Thr Thr Ile Ser Trp Trp Lys Asp Gly Lys
35 40 45
Glu Leu Leu Gly Ala His His Ala Ile Thr Gln Phe Tyr Pro Asp Asp
50 55 60
Glu Val Thr Ala Ile Ile Ala Ser Phe Ser Ile Thr Ser Val Gln Arg
65 70 75 80
Ser Asp Asn Gly Ser Tyr Ile Cys Lys Met Lys Ile Asn Asn Glu Glu
85 90 95
Ile Val Ser Asp Pro Ile Tyr Ile Glu Val Gln
100 105

<210> 231
<211> 85
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人MerTK ECD的免疫球蛋白样结构域(Ig2)
<400> 231
Gly Leu Pro His Phe Thr Lys Gln Pro Glu Ser Met Asn Val Thr Arg
1 5 10 15
Asn Thr Ala Phe Asn Leu Thr Cys Gln Ala Val Gly Pro Pro Glu Pro
20 25 30
Val Asn Ile Phe Trp Val Gln Asn Ser Ser Arg Val Asn Glu Gln Pro

35 40 45

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

Val Phe Ser Cys Glu Ala His Asn Asp Lys Gly Leu Thr Val Ser Lys
65 70 75 80

Gly Val Gln Ile Asn
85

<210> 232
<211> 99
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人MerTK ECD的III型纤连蛋白结构域(FN1)
<400> 232

Ile Lys Ala Ile Pro Ser Pro Pro Thr Glu Val Ser Ile Arg Asn Ser
1 5 10 15

Thr Ala His Ser Ile Leu Ile Ser Trp Val Pro Gly Phe Asp Gly Tyr
20 25 30

Ser Pro Phe Arg Asn Cys Ser Ile Gln Val Lys Glu Ala Asp Pro Leu
35 40 45

Ser Asn Gly Ser Val Met Ile Phe Asn Thr Ser Ala Leu Pro His Leu
50 55 60

Tyr Gln Ile Lys Gln Leu Gln Ala Leu Ala Asn Tyr Ser Ile Gly Val
65 70 75 80

Ser Cys Met Asn Glu Ile Gly Trp Ser Ala Val Ser Pro Trp Ile Leu
85 90 95

Ala Ser Thr

<210> 233
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人MerTK ECD的III型纤连蛋白结构域(FN2)
<400> 233

Thr Glu Gly Ala Pro Ser Val Ala Pro Leu Asn Val Thr Val Phe Leu
1 5 10 15

Asn Glu Ser Ser Asp Asn Val Asp Ile Arg Trp Met Lys Pro Pro Thr
20 25 30

Lys Gln Gln Asp Gly Glu Leu Val Gly Tyr Arg Ile Ser His Val Trp

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

<210> 234
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人MerTK ECD的近膜结构域区(JM)
<400> 234
Lys Ile Phe Ile Pro Ala His Gly Trp Val Asp Tyr Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15
Thr Pro Ala Pro Gly Asn Ala Asp Pro Val Leu Ile Ile
20 25

<210> 235
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人Axl ECD的N末端结构域(NT)
<400> 235
Ala Pro Arg Gly Thr Gln Ala Glu Glu Ser Pro Phe Val Gly Asn Pro
1 5 10 15
Gly Asn Ile Thr Gly Ala Arg Gly Leu Thr Gly
20 25

<210> 236
<211> 84
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人Axl ECD的免疫球蛋白样结构域(Ig1)
<400> 236
Thr Leu Arg Cys Gln Leu Gln Val Gln Gly Glu Pro Pro Glu Val His
1 5 10 15

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

<210> 237
<211> 89
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人Axl ECD的免疫球蛋白样结构域(Ig2)
<400> 237

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

<210> 238
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人Axl ECD的III型纤连蛋白结构域(FN1)
<400> 238

Gln Gln Pro Arg Asn Leu His Leu Val Ser Arg Gln Pro Thr Glu Leu
1 5 10 15
Glu Val Ala Trp Thr Pro Gly Leu Ser Gly Ile Tyr Pro Leu Thr His
20 25 30

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

<210> 239
<211> 87
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人Axl ECD的III型纤连蛋白结构域(FN2)
<400> 239
Val Pro Leu Gly Pro Pro Glu Asn Ile Ser Ala Thr Arg Asn Gly Ser
1 5 10 15
Gln Ala Phe Val His Trp Gln Glu Pro Arg Ala Pro Leu Gln Gly Thr
20 25 30
Leu Leu Gly Tyr Arg Leu Ala Tyr Gln Gly Gln Asp Thr Pro Glu Val
35 40 45
Leu Met Asp Ile Gly Leu Arg Gln Glu Val Thr Leu Glu Leu Gln Gly
50 55 60
Asp Gly Ser Val Ser Asn Leu Thr Val Cys Val Ala Ala Tyr Thr Ala
65 70 75 80
Ala Gly Asp Gly Pro Trp Ser
85

<210> 240
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人Axl ECD的近膜结构域(JM)
<400> 240
Leu Pro Val Pro Leu Glu Ala Trp Arg Pro Gly Gln Ala Gln Pro Val
1 5 10 15
His Gln Leu Val Lys Glu Pro Ser Thr Pro Ala Phe Ser Trp Pro Trp

20 25 30

Trp

<210> 241

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MerTK构建体中的信号序列

<400> 241

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 242

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> Axl构建体中的信号序列

<400> 242

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

<210> 243

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 接头+His+Avi标签

<400> 243

Gly Gly Ser Gly His His His His His His Gly Gly Gly Leu Asn Asp
1 5 10 15

Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
20 25

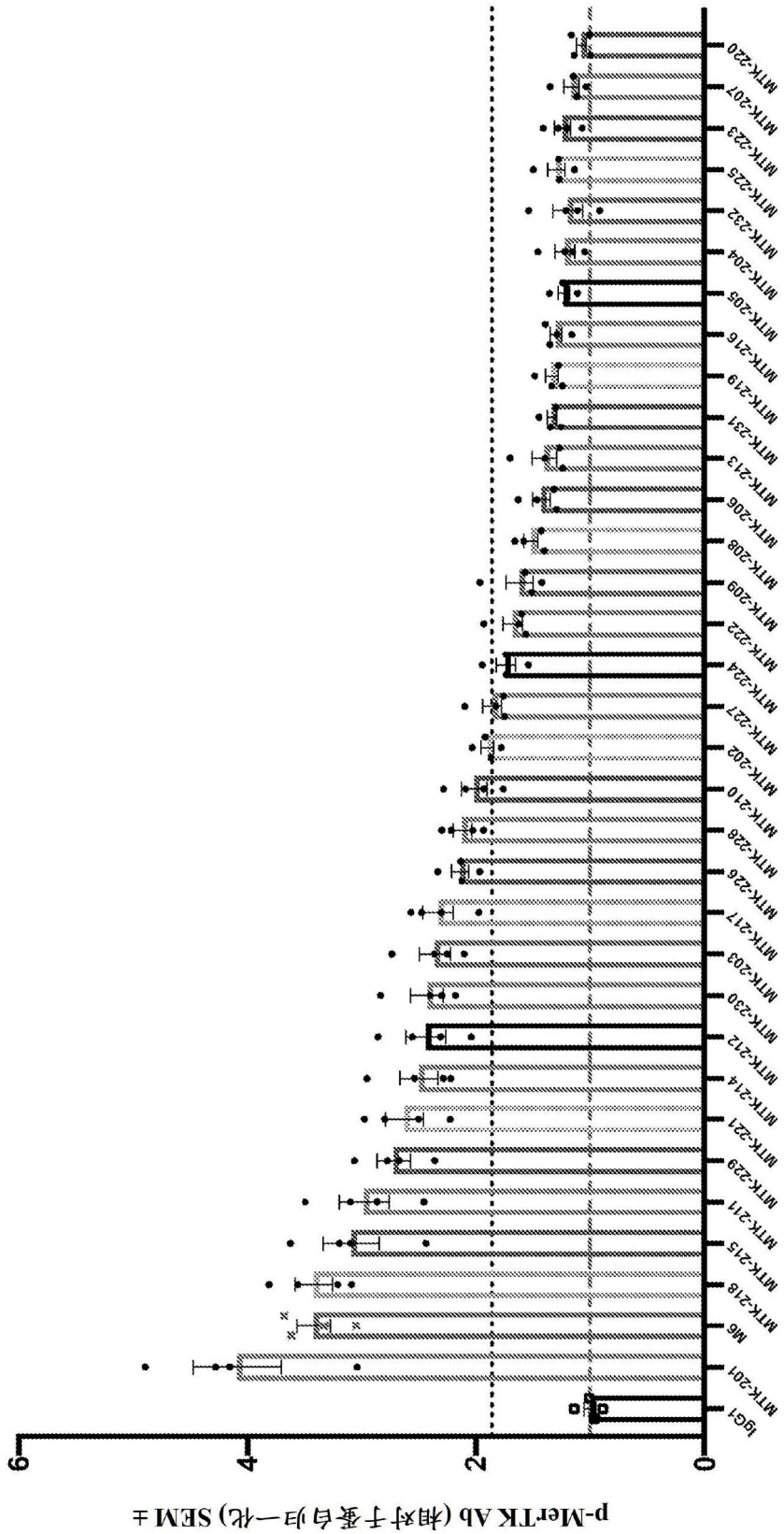

p-MerTK Ab (相对于蛋白归一化) SEM ±
0
2
4
6
IgG1
MTK-201
M6
MTK-218
MTK-215
MTK-211
MTK-229
MTK-221
MTK-214
MTK-212
MTK-230
MTK-203
MTK-217
MTK-226
MTK-228
MTK-210
MTK-202
MTK-227
MTK-224
MTK-222
MTK-209
MTK-208
MTK-206
MTK-213
MTK-231
MTK-219
MTK-216
MTK-205
MTK-204
MTK-232
MTK-225
MTK-223
MTK-207
MTK-220

图1

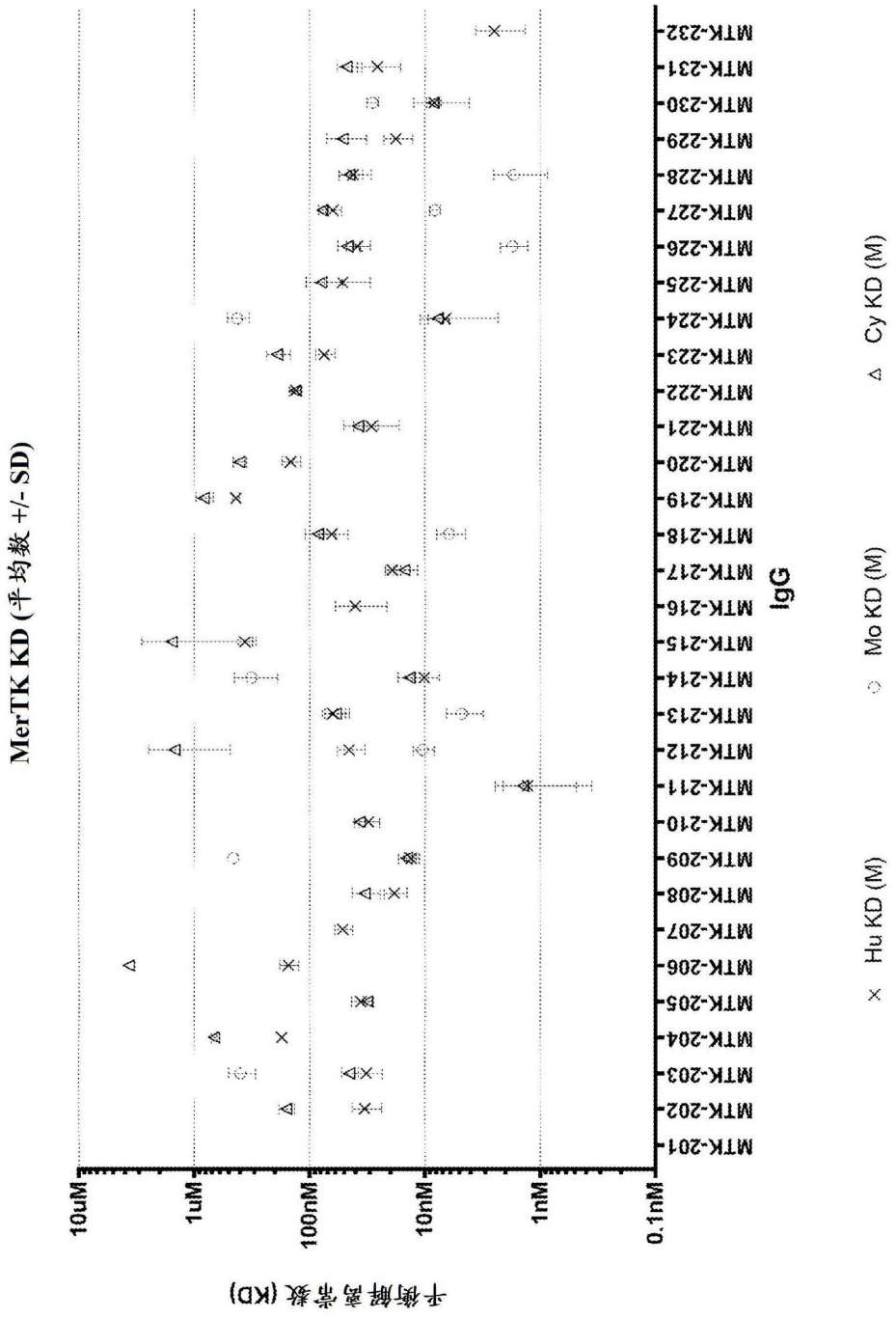

MerTK KD (平均数 +/- SD)
平衡解离常数 (KD)
10uM
1uM
100nM
10nM
1nM
0.1nM
IgG
MTK-201
MTK-202
MTK-203
MTK-204
MTK-205
MTK-206
MTK-207
MTK-208
MTK-209
MTK-210
MTK-211
MTK-212
MTK-213
MTK-214
MTK-215
MTK-216
MTK-217
MTK-218
MTK-219
MTK-220
MTK-221
MTK-222
MTK-223
MTK-224
MTK-225
MTK-226
MTK-227
MTK-228
MTK-229
MTK-230
MTK-231
MTK-232
Hu KD (M)
Mo KD (M)
Cy KD (M)

图2

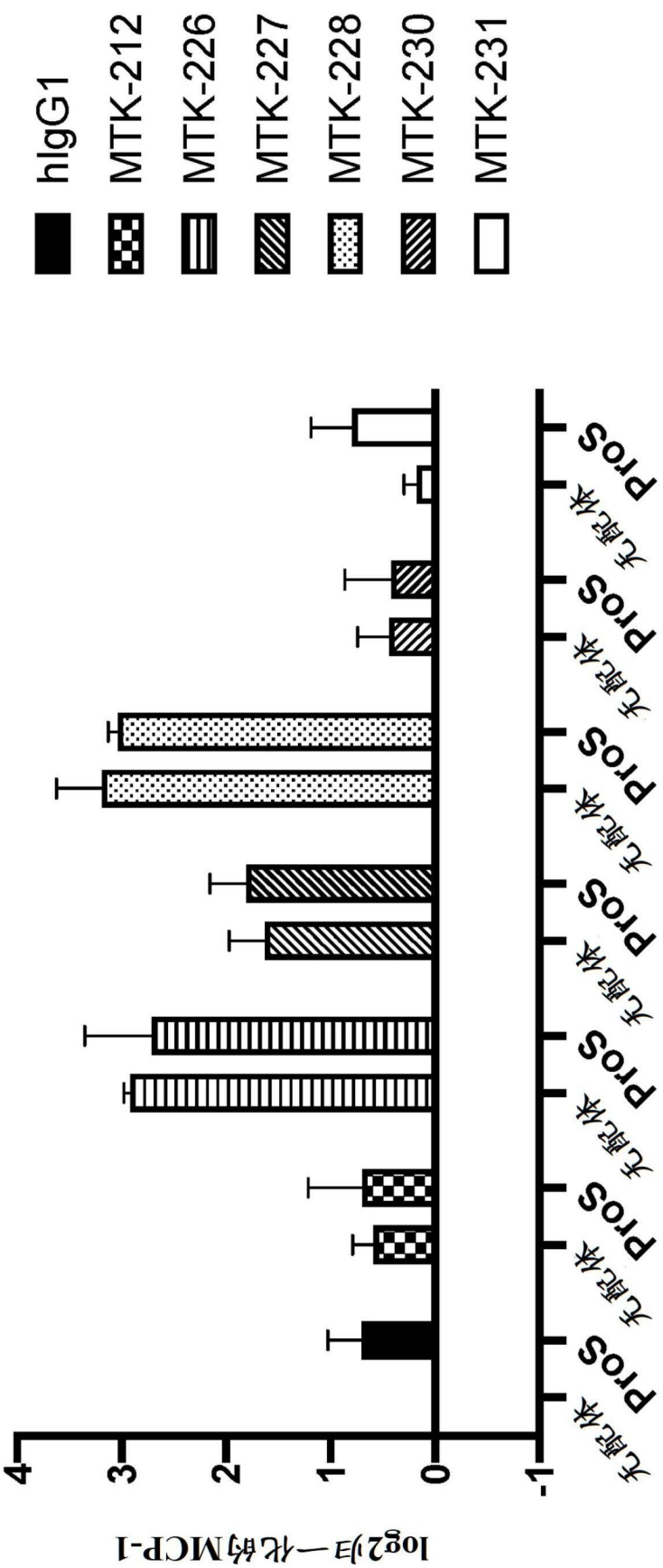

hIgG1
MTK-212
MTK-226
MTK-227
MTK-228
MTK-230
MTK-231
log2归一化的MCP-1
4
3
2
1
0
-1
无靶体
PIOS

图3A

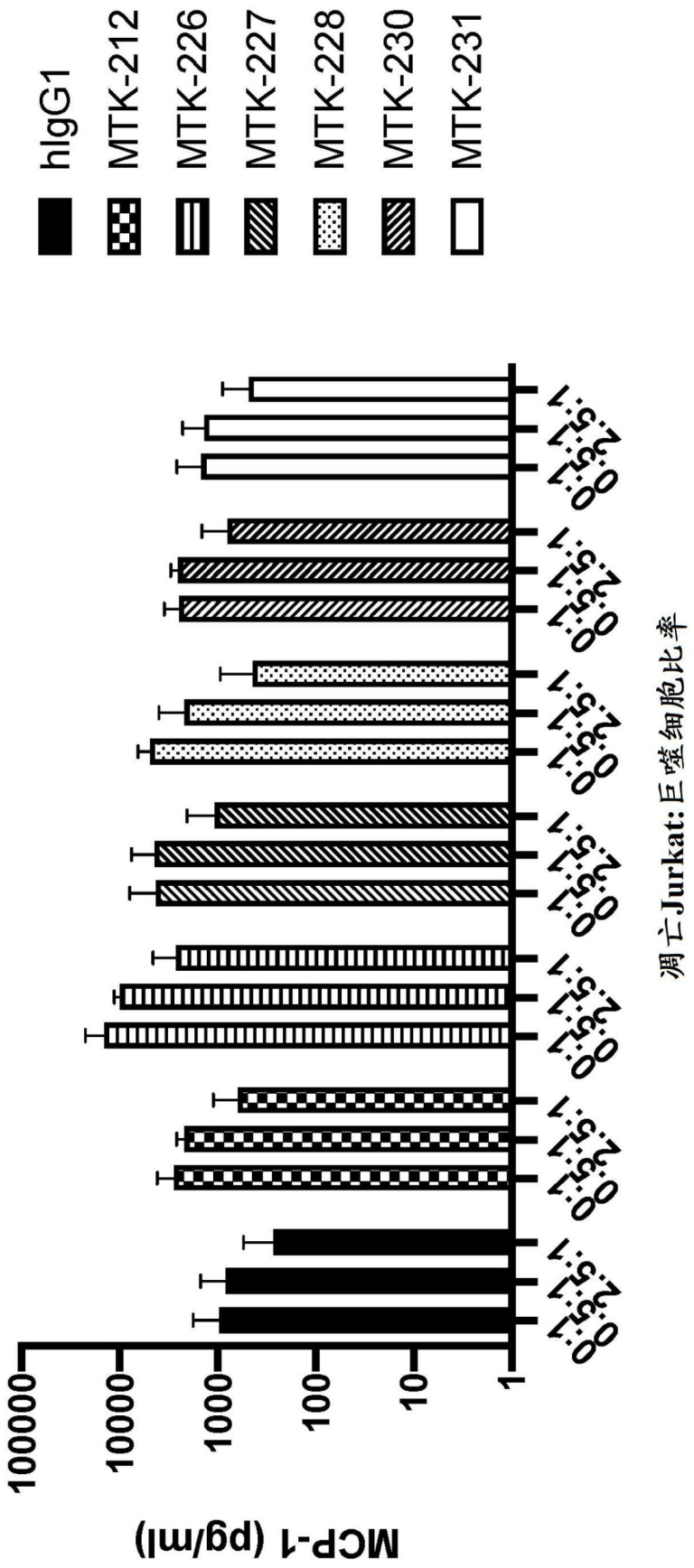

hIgG1
MTK-212
MTK-226
MTK-227
MTK-228
MTK-230
MTK-231
MCP-1 (pg/ml)
100000
10000
1000
100
10
1
凋亡Jurkat:巨噬细胞比率
1:0
1:0.5
1:2.5
1:5
1:10
1:20
1:40
1:80
1:160
1:320
1:640
1:1280

图3B

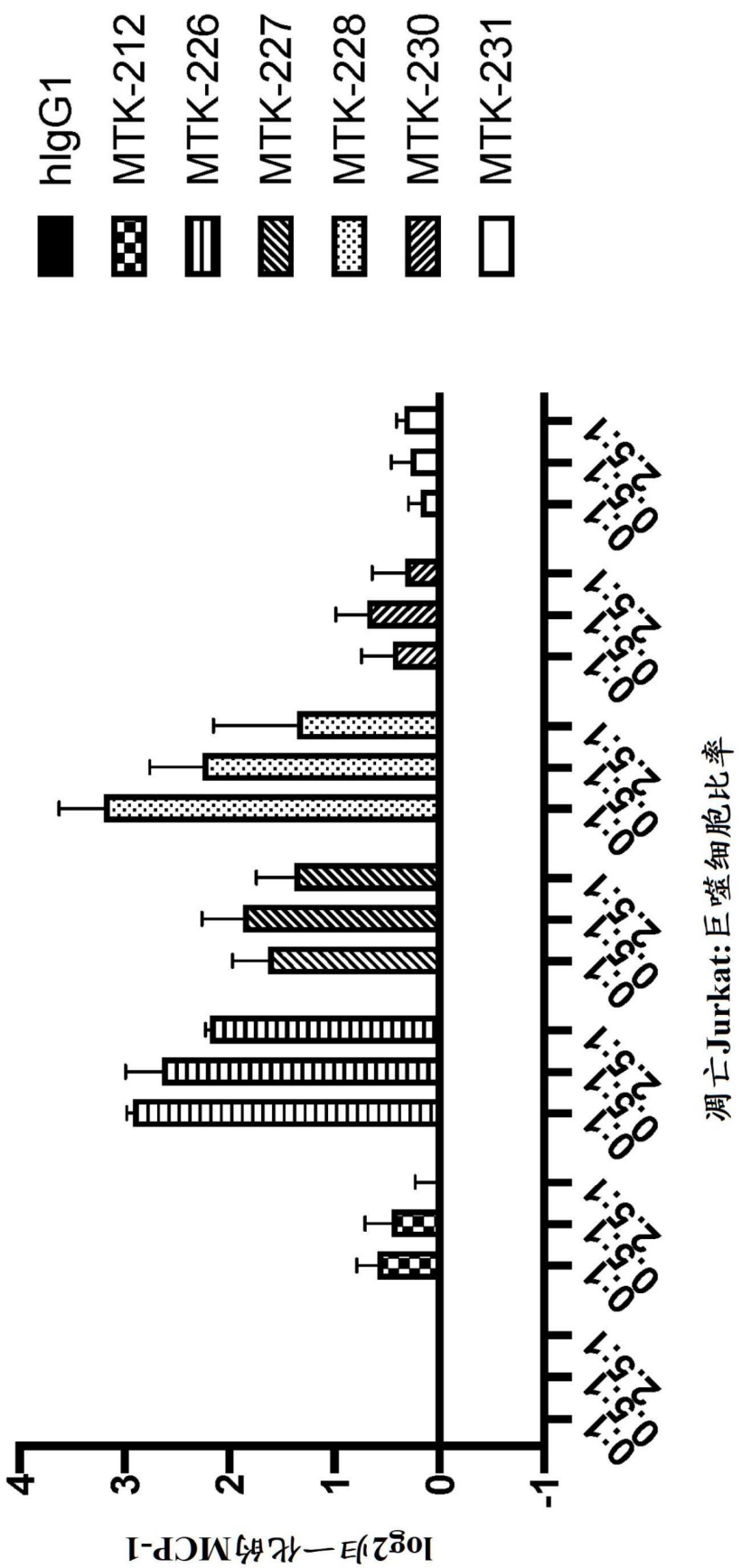

hIgG1
MTK-212
MTK-226
MTK-227
MTK-228
MTK-230
MTK-231
4
3
2
1
0
-1
log2归一化的MCP-1
凋亡Jurkat:巨噬细胞比率
0.5:1
1:1
2:1
0.5:1
1:1
2:1
0.5:1
1:1
2:1
0.5:1
1:1
2:1
0.5:1
1:1
2:1
0.5:1
1:1
2:1
0.5:1
1:1
2:1

图3C

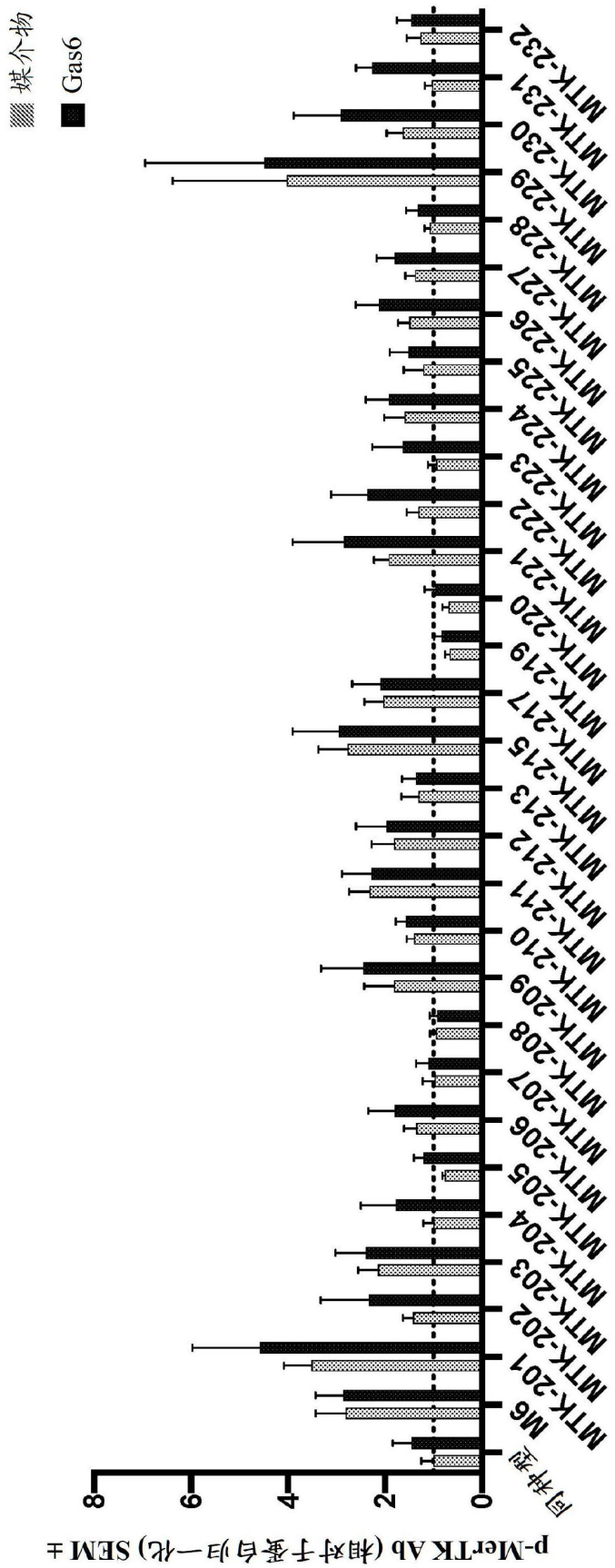

培养物
Gas6
同种型
M6
MTK-201
MTK-202
MTK-203
MTK-204
MTK-205
MTK-206
MTK-207
MTK-208
MTK-209
MTK-210
MTK-211
MTK-212
MTK-213
MTK-215
MTK-217
MTK-219
MTK-220
MTK-221
MTK-222
MTK-223
MTK-224
MTK-225
MTK-226
MTK-227
MTK-228
MTK-229
MTK-230
MTK-231
MTK-232
0
2
4
6
8
p-MerTK Ab (相对于蛋白归一化) SEM ±

图4