



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103261227 B

(45) 授权公告日 2015. 08. 26

(21) 申请号 201180058450. 0

CN 101495516 A, 2009. 07. 29, 全文.

(22) 申请日 2011. 10. 04

Caron P. 等. Biological and

(30) 优先权数据

10186468. 4 2010. 10. 04 EP

immunological features of humanized

M195(anti-CD33) monoclonal antibodies.

《Cancer Research》. 1992, 第 52 卷 (第 24 期),

第 6761-6767 页.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 06. 04

Caron P. 等. Engineered humanized

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2011/067339 2011. 10. 04

dimeric forms of IgG are more effective

antibodies. 《Journal of Experimental

Medicine》. 1992, 第 176 卷 (第 4 期), 第

1191-1195 页.

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/045752 EN 2012. 04. 12

审查员 蔡苗

(73) 专利权人 贝林格尔. 英格海姆国际有限公

司

地址 德国英格海姆

(72) 发明人 R. 克诺皮兹基 E. 伯格斯 P. 亚当

K-H. 海德尔

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 张平元

(51) Int. Cl.

C07K 16/28(2006. 01)

A61K 39/395(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1795009 A, 2006. 06. 28, 全文.

CN 101210048 A, 2008. 07. 02, 全文.

权利要求书4页 说明书29页

序列表115页 附图5页

(54) 发明名称

CD33 结合剂

(57) 摘要

本发明涉及基于髓系细胞清除的免疫疗法。

本发明尤其涉及用于所述疗法、例如用于治疗髓

系细胞恶性肿瘤及骨髓发育不良综合征 (MDS) 的

CD33 结合剂。

1. 一种结合人类 CD33 的 CD33 结合剂, 该 CD33 结合剂为特异性结合人类 CD33 的氨基酸序列 FFHPIPYYDKNSPVHGYW(SeqID No:141) 内的表位的抗体或抗体衍生物, 其中所述 CD33 结合剂选自

包含 SeqID No:1 的 CDR1、SeqID No:15 的 CDR2、SeqID No:29 的 CDR3、SeqID No:43 的 CDR4、SeqID No:57 的 CDR5 及 SeqID No:71 的 CDR6 的抗体,

包含 SeqID No:2 的 CDR1、SeqID No:16 的 CDR2、SeqID No:30 的 CDR3、SeqID No:44 的 CDR4、SeqID No:58 的 CDR5 及 SeqID No:72 的 CDR6 的抗体,

包含 SeqID No:3 的 CDR1、SeqID No:17 的 CDR2、SeqID No:31 的 CDR3、SeqID No:45 的 CDR4、SeqID No:59 的 CDR5 及 SeqID No:73 的 CDR6 的抗体,

包含 SeqID No:4 的 CDR1、SeqID No:18 的 CDR2、SeqID No:32 的 CDR3、SeqID No:46 的 CDR4、SeqID No:60 的 CDR5 及 SeqID No:74 的 CDR6 的抗体,

包含 SeqID No:5 的 CDR1、SeqID No:19 的 CDR2、SeqID No:33 的 CDR3、SeqID No:47 的 CDR4、SeqID No:61 的 CDR5 及 SeqID No:75 的 CDR6 的抗体,

包含 SeqID No:6 的 CDR1、SeqID No:20 的 CDR2、SeqID No:34 的 CDR3、SeqID No:48 的 CDR4、SeqID No:62 的 CDR5 及 SeqID No:76 的 CDR6 的抗体,

包含 SeqID No:7 的 CDR1、SeqID No:21 的 CDR2、SeqID No:35 的 CDR3、SeqID No:49 的 CDR4、SeqID No:63 的 CDR5 及 SeqID No:77 的 CDR6 的抗体,

包含 SeqID No:8 的 CDR1、SeqID No:22 的 CDR2、SeqID No:36 的 CDR3、SeqID No:50 的 CDR4、SeqID No:64 的 CDR5 及 SeqID No:78 的 CDR6 的抗体,

包含 SeqID No:9 的 CDR1、SeqID No:23 的 CDR2、SeqID No:37 的 CDR3、SeqID No:51 的 CDR4、SeqID No:65 的 CDR5 及 SeqID No:79 的 CDR6 的抗体,

包含 SeqID No:10 的 CDR1、SeqID No:24 的 CDR2、SeqID No:38 的 CDR3、SeqID No:52 的 CDR4、SeqID No:66 的 CDR5 及 SeqID No:80 的 CDR6 的抗体,

包含 SeqID No:11 的 CDR1、SeqID No:25 的 CDR2、SeqID No:39 的 CDR3、SeqID No:53 的 CDR4、SeqID No:67 的 CDR5 及 SeqID No:81 的 CDR6 的抗体,

包含 SeqID No:12 的 CDR1、SeqID No:26 的 CDR2、SeqID No:40 的 CDR3、SeqID No:54 的 CDR4、SeqID No:68 的 CDR5 及 SeqID No:82 的 CDR6 的抗体,

包含 SeqID No:13 的 CDR1、SeqID No:27 的 CDR2、SeqID No:41 的 CDR3、SeqID No:55 的 CDR4、SeqID No:69 的 CDR5 及 SeqID No:83 的 CDR6 的抗体,

包含 SeqID No:14 的 CDR1、SeqID No:28 的 CDR2、SeqID No:42 的 CDR3、SeqID No:56 的 CDR4、SeqID No:70 的 CDR5 及 SeqID No:84 的 CDR6 的抗体。

2. 一种结合人类 CD33 的 CD33 结合剂, 该 CD33 结合剂为特异性结合人类 CD33 的氨基酸序列 FFHPIPYYDKNSPVHGYW(SeqID No:141) 内的表位的抗体或抗体衍生物, 其中所述 CD33 结合剂选自

包含 SeqID No:85 的重链可变区及 SeqID No:99 的轻链可变区的抗体,

包含 SeqID No:86 的重链可变区及 SeqID No:100 的轻链可变区的抗体,

包含 SeqID No:87 的重链可变区及 SeqID No:101 的轻链可变区的抗体,

包含 SeqID No:88 的重链可变区及 SeqID No:102 的轻链可变区的抗体,

包含 SeqID No:89 的重链可变区及 SeqID No:103 的轻链可变区的抗体,

包含 SeqID No:90 的重链可变区及 SeqID No:104 的轻链可变区的抗体,
包含 SeqID No:91 的重链可变区及 SeqID No:105 的轻链可变区的抗体,
包含 SeqID No:92 的重链可变区及 SeqID No:106 的轻链可变区的抗体,
包含 SeqID No:93 的重链可变区及 SeqID No:107 的轻链可变区的抗体,
包含 SeqID No:94 的重链可变区及 SeqID No:108 的轻链可变区的抗体,
包含 SeqID No:95 的重链可变区及 SeqID No:109 的轻链可变区的抗体,
包含 SeqID No:96 的重链可变区及 SeqID No:110 的轻链可变区的抗体,
包含 SeqID No:97 的重链可变区及 SeqID No:111 的轻链可变区的抗体,
包含 SeqID No:98 的重链可变区及 SeqID No:112 的轻链可变区的抗体。

3. 一种结合人类 CD33 的 CD33 结合剂,该 CD33 结合剂为特异性结合人类 CD33 的氨基酸序列 FFHPIPYYDKNSPVHGYW(SeqID No:141) 内的表位的抗体或抗体衍生物,其中所述 CD33 结合剂选自

包含 SeqID No:113 的重链及 SeqID No:127 的轻链的抗体,
包含 SeqID No:114 的重链及 SeqID No:128 的轻链的抗体,
包含 SeqID No:115 的重链及 SeqID No:129 的轻链的抗体,
包含 SeqID No:116 的重链及 SeqID No:130 的轻链的抗体,
包含 SeqID No:117 的重链及 SeqID No:131 的轻链的抗体,
包含 SeqID No:118 的重链及 SeqID No:132 的轻链的抗体,
包含 SeqID No:119 的重链及 SeqID No:133 的轻链的抗体,
包含 SeqID No:120 的重链及 SeqID No:134 的轻链的抗体,
包含 SeqID No:121 的重链及 SeqID No:135 的轻链的抗体,
包含 SeqID No:122 的重链及 SeqID No:136 的轻链的抗体,
包含 SeqID No:123 的重链及 SeqID No:137 的轻链的抗体,
包含 SeqID No:124 的重链及 SeqID No:138 的轻链的抗体,
包含 SeqID No:125 的重链及 SeqID No:139 的轻链的抗体,
包含 SeqID No:126 的重链及 SeqID No:140 的轻链的抗体。

4. 如权利要求 1 的 CD33 结合剂,其中所述 CD33 结合剂的内在化动力学使得在培育后 4 小时所述 CD33 结合剂的初始量的至少 30%保留于 HL60 细胞的细胞表面上。

5. 如权利要求 2 的 CD33 结合剂,其中所述 CD33 结合剂的内在化动力学使得在培育后 4 小时所述 CD33 结合剂的初始量的至少 30%保留于 HL60 细胞的细胞表面上。

6. 如权利要求 3 的 CD33 结合剂,其中所述 CD33 结合剂的内在化动力学使得在培育后 4 小时所述 CD33 结合剂的初始量的至少 30%保留于 HL60 细胞的细胞表面上。

7. 如权利要求 1 的 CD33 结合剂,其中所述 CD33 结合剂的内在化动力学使得在培育后 4 小时所述 CD33 结合剂的初始量的至少 40%保留于 HL60 细胞表面上。

8. 如权利要求 2 的 CD33 结合剂,其中所述 CD33 结合剂的内在化动力学使得在培育后 4 小时所述 CD33 结合剂的初始量的至少 40%保留于 HL60 细胞表面上。

9. 如权利要求 3 的 CD33 结合剂,其中所述 CD33 结合剂的内在化动力学使得在培育后 4 小时所述 CD33 结合剂的初始量的至少 40%保留于 HL60 细胞表面上。

10. 如权利要求 1 的 CD33 结合剂,其中该 CD33 结合剂对人类 CD33 及短尾猴 CD33 二者

具有 K_D 小于或等于 10nM 的亲合力。

11. 如权利要求 2 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂对人类 CD33 及短尾猴 CD33 二者具有 K_D 小于或等于 10nM 的亲合力。

12. 如权利要求 3 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂对人类 CD33 及短尾猴 CD33 二者具有 K_D 小于或等于 10nM 的亲合力。

13. 如权利要求 4 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂对人类 CD33 及短尾猴 CD33 二者具有 K_D 小于或等于 10nM 的亲合力。

14. 如权利要求 5 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂对人类 CD33 及短尾猴 CD33 二者具有 K_D 小于或等于 10nM 的亲合力。

15. 如权利要求 6 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂对人类 CD33 及短尾猴 CD33 二者具有 K_D 小于或等于 10nM 的亲合力。

16. 如权利要求 7 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂对人类 CD33 及短尾猴 CD33 二者具有 K_D 小于或等于 10nM 的亲合力。

17. 如权利要求 8 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂对人类 CD33 及短尾猴 CD33 二者具有 K_D 小于或等于 10nM 的亲合力。

18. 如权利要求 9 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂对人类 CD33 及短尾猴 CD33 二者具有 K_D 小于或等于 10nM 的亲合力。

19. 如权利要求 1-18 中任一项的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂是人类化结合剂。

20. 如权利要求 1-18 中任一项的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂是完全人类结合剂。

21. 如权利要求 1-18 中任一项的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂进一步包含效应子功能。

22. 如权利要求 19 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂进一步包含效应子功能。

23. 如权利要求 20 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂进一步包含效应子功能。

24. 如权利要求 21 的 CD33 结合剂, 其中该效应子功能由 F_c 结构域介导。

25. 如权利要求 22 的 CD33 结合剂, 其中该效应子功能由 F_c 结构域介导。

26. 如权利要求 23 的 CD33 结合剂, 其中该效应子功能由 F_c 结构域介导。

27. 如权利要求 21 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂在该 F_c 结构域中包含一或多个调节该 F_c 结构域功能的突变。

28. 如权利要求 22 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂在该 F_c 结构域中包含一或多个调节该 F_c 结构域功能的突变。

29. 如权利要求 23 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂在该 F_c 结构域中包含一或多个调节该 F_c 结构域功能的突变。

30. 如权利要求 27 的 CD33 结合剂, 其中该 F_c 结构域功能的调节是 ADCC 增强至少 10%。

31. 如权利要求 28 的 CD33 结合剂, 其中该 F_c 结构域功能的调节是 ADCC 增强至少 10%。

32. 如权利要求 29 的 CD33 结合剂, 其中该 F_c 结构域功能的调节是 ADCC 增强至少 10%。

33. 如权利要求 30 的 CD33 结合剂, 其中该 F_c 结构域功能的调节是 ADCC 增强至少

50%。

34. 如权利要求 31 的 CD33 结合剂, 其中该 Fc 结构域功能的调节是 ADCC 增强至少 50%。

35. 如权利要求 32 的 CD33 结合剂, 其中该 Fc 结构域功能的调节是 ADCC 增强至少 50%。

36. 如权利要求 33 的 CD33 结合剂, 其中该 Fc 结构域功能的调节是 ADCC 增强至少 100%。

37. 如权利要求 34 的 CD33 结合剂, 其中该 Fc 结构域功能的调节是 ADCC 增强至少 100%。

38. 如权利要求 35 的 CD33 结合剂, 其中该 Fc 结构域功能的调节是 ADCC 增强至少 100%。

39. 如权利要求 3 的 CD33 结合剂, 其中该 CD33 结合剂在该 F_c 结构域中包含一或多个调节该 F_c 结构域功能的突变, 该 F_c 结构域中的突变位于一或多个位置, 所述位置选自根据 Kabat EU 编号索引的位置 332 及 / 或 239 及 / 或 236 的氨基酸。

40. 如权利要求 39 的 CD33 结合剂, 其中该 F_c 结构域中的突变是位置 239 及 332 的取代的组合。

41. 如权利要求 40 的 CD33 结合剂, 其中该 F_c 结构域中的突变是 S239D/I332E。

42. 一种 DNA 分子, 其包含编码如前述权利要求中任一项的 CD33 结合剂。

43. 一种表达载体, 其含有如权利要求 42 的 DNA 分子。

44. 一种宿主细胞, 其携带一或多种如权利要求 43 的载体。

45. 一种生产如权利要求 1 至 41 中任一项的 CD33 结合剂的方法, 其包括用一或多种如权利要求 43 的载体转染宿主细胞、培养该宿主细胞及回收并纯化该抗体分子。

46. 一种药物组合物, 其包含作为活性成份的一或多种如权利要求 1 至 41 中任一项的 CD33 结合剂及至少一种生理上可接受的载剂。

47. 如权利要求 46 的药物组合物, 其进一步包含一或多种其它治疗剂。

48. 如权利要求 46 至 47 中任一项的药物组合物, 其用于清除表面上表达 CD33 的细胞。

49. 如权利要求 1 至 41 中任一项的 CD33 结合剂或如权利要求 46 至 47 中任一项的药物组合物在制备用于清除患者中表达 CD33 的髓系细胞的方法的药物中的用途, 所述方法包括向所述患者给予一或多种如权利要求 1 至 41 中任一项的 CD33 结合剂或如权利要求 46 至 47 中任一项的药物组合物。

CD33 结合剂

技术领域

[0001] 本发明涉及基于髓系细胞清除的免疫疗法。特别是,本发明涉及用于所述疗法中的 CD33 结合剂,例如,用于治疗髓系细胞恶性肿瘤及骨髓发育不良综合征 (MDS)。

现有技术

[0002] 在 1980 年代早期,将 CD33 鉴定为骨髓性白血病的标记 (Andrews 等人, Blood 62, 24-132, 1983)。CD33 是在包括骨髓性白血病细胞在内的髓系细胞上特异性表达的细胞表面抗原。其为涎凝集素 (siglec) (结合唾液酸的 Ig 相关凝集素) 家族的最小成员。CD33 在早期多谱系造血祖细胞及骨髓单核细胞前体上表达。其无多潜能造血干细胞 (Andrews 等人, Journal of Experimental Medicine 169, 1721-1731, 1989)。其在成熟粒细胞上下调但保留于巨噬细胞、单核细胞及树突细胞上 (Andrews 等人, Blood 62, 24-132, 1983)。除骨髓单核细胞性细胞外,发现 CD33 亦可在人类肥大细胞及血液嗜碱性粒细胞上表达 (Valent 等人, Blood 15; 73(7):1778-85, 1989)。针对 CD33 的单克隆抗体用于诊断白血病以及用于治疗性靶向及活体外吹扫骨髓以进行急性骨髓性白血病 (AML) 中的自体移植 (Duzkale 等人, Biol Blood Marrow Transplant. 9(6):364-72, 2003)。治疗性靶向的初始努力聚焦于使用与毒素蓖麻毒素偶联的抗 CD33 抗体研发免疫毒素。由于 CD33 在结合抗体时快速内在化 (Audran 等人, J Immunol Methods. 188(1):147-54, 1995), 故免疫毒素方法显而易见。

[0003] CD33 是 67KD 跨膜糖蛋白。CD33 的结合唾液酸的细胞外结构域参与细胞-细胞黏着。细胞内免疫受体酪氨酸基抑制基元 (ITIM) 赋予细胞抑制信号,从而影响增生及细胞存活。对 CD33 的实际信号传导路径尚缺乏了解,但认为其涉及 ITIM 及 ITIM 样基元及酪氨酸磷酸酶的募集 (von Gunten 等人, Ann. N. Y. Acad. Sci. 1143:61-82, 2008)。已经定义鼠类 CD33 同源基因,但其与人类 CD33 的功能可比性仍受到质疑 (Brinkman-Van der Linden 等人, Mol Cell Biol., 23(12):4199-206, 2003)。人类 CD33 对正常及恶性白细胞的功能作用仍未知。

[0004] 若干出版物已阐述 CD33 是 70% 至 100% 测试患者在原代 AML 及 CML 细胞上表达的稳定的细胞表面标记 (Plesa 等人, Cancer 112(3), 572-80, 2007; Hauswirt 等人, Eur J Clin Invest. Jan 73-82, 2007; Scheinberg 等人, Leukemia, 第 3 卷, 440-445, 1989)。CD33 在恶性髓系母细胞 (其代表白血病患者的外周血及骨髓中的大多数恶性细胞) 及白血病干细胞 (即骨髓中的相对较少数量的低分化细胞,其特征在于其能自我更新并维持白血病纯系层级) 上表达。白血病干细胞的清除被视为持久无肿瘤存活的关键机制。靶向 CD33 的免疫毒素 Mylotarg[®] (与毒素查敏素 (chaliceamicin) 偶联的人类化 IgG₄ 抗体) 用于通过将其毒性有效荷载递送至 CD33 阳性 AML 细胞来治疗 AML 患者 (Amadori 等人, Cancer Treat Rev. 34(1):49-60, 2008)。在治疗 AML 及 MDS 的 II 期临床试验中,利用得自 I 期剂量递增研究的初期临床功效迹象及所报道的可耐受不良事件来评价林妥珠单抗 (Lintuzumab) (SGN-33, HuM195, 一种“裸”CD33 特异性人类化单克隆抗体) (Raza 等人摘要第 983 号, 14th

EHA Congress, 2009 年 6 月 4 日至 7 日)。

[0005] 利用 CD33 特异性 HuM195 活体外靶向 AML 细胞系会减少 TNF- α 诱导的炎性细胞因子 (如 IL-8、MCP-1 及 RANTES) 的分泌 (Sutherland 等人, Mabs1:5, 481-490, 2009)。针对 AML 疗法的此效应的相关性尚未知, 但调节肿瘤微环境的细胞因子环境可有利于抗体的治疗功效。另外, 抗体在活体外诱导 AML 细胞系的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 及抗体依赖性细胞介导的吞噬作用 (ADCP) (Sutherland 等人, Mabs1:5, 481-490, 2009)。ADCC 被视为血液恶性肿瘤中抗体抗肿瘤活性的决定性机制。利用 CD20 特异性单克隆抗体利妥昔单抗 (Rituximab) 的临床试验的数据显示, 效应细胞介导的机制对于响应于抗体治疗的 B 细胞恶性肿瘤治疗的重要性 (Weng 及 Levy, J Clin Oncol. 21 (21):3940-7, 2003)。

[0006] 总之, 已显示, CD33 抗原在骨髓单核细胞谱系的正常细胞上表达且时常在骨髓性白血病中的肿瘤细胞上表达。在利用针对 CD33 的抗体 (林妥珠单抗) 的 I 期试验中, 观察到第一临床功效迹象而无严重不良事件。然而, 在 II 期试验与化学疗法组合的结果不产生所期望的功效改良后, 中断了林妥珠单抗的临床研发。因此, 显然需要研发改良的靶向 CD33 的治疗形式。

[0007] 鉴于现有技术, 需要提供用于髓系细胞恶性肿瘤及 MDS、尤其是急性骨髓性白血病的进一步改良的疗法。

[0008] 特别是, 需要提供用于治疗癌症、尤其是 AML 的针对 CD33 的进一步改良的拮抗性结合剂。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明提供结合人类 CD33 的新颖 CD33 结合剂, 且其通过以下定义

[0011] a) 具有包含 CDR1、CDR2 及 CDR3 的重链可变区及包含 CDR4、CDR5 及 CDR6 的轻链可变区, 其中 CDR1 具有选自 SeqID No:1-14 的氨基酸序列, CDR2 具有选自 SeqID No:14-28 的氨基酸序列, CDR3 具有选自 SeqID No:29-42 的氨基酸序列, CDR4 具有选自 SeqID No:43-56 的氨基酸序列, CDR5 具有选自 SeqID No:57-70 的氨基酸序列, CDR6 具有选自 SeqID No:71-84 的氨基酸序列, 或

[0012] b) 识别人类 CD33 的氨基酸序列 FFHP1PYDKNSPVHGYW (SeqID No:141) 内的表位。

[0013] 本发明进一步提供 CD33 结合剂, 其中 CD33 结合剂的内在化动力学使得在培育后 4 小时抗体初始量的至少 30% (优选 40%) 保留于 HL60 细胞的细胞表面上。

[0014] 本发明进一步提供 CD33 结合剂, 其中重链可变区包含选自 SeqID No:85-98 的氨基酸序列且轻链可变区包含选自 SeqID No:99-112 的氨基酸序列。

[0015] 本发明进一步提供 CD33 结合剂, 其中重链具有选自 SeqID No:113-126 的氨基酸序列且轻链具有选自 SeqID No:127-140 的氨基酸序列。

[0016] 本发明进一步提供在 F_c 结构域中具有可增强 ADCC 的突变的 CD33 结合剂。

[0017] 在以下说明书及权利要求中概述更优选的实施方案。

[0018] 已发现本发明的 CD33 结合剂对人类 CD33 具有高亲和力且进一步具有有利内在化动力学, 该动力学的特征在于所述 CD33 结合剂在结合靶细胞表面上的 CD33 时可长期存在, 此可转变成有利 ADCC 活性。

[0019] 本发明者亦已发现, 与林妥珠单抗相比, 本发明的 CD33 结合剂结合 CD33 的细胞外结构域的不同表位。不希望受限于任何特定理论, 据信此为本发明的 CD33 结合剂与林妥珠

单抗的不同内在化动力学的原因。

附图说明

[0020] 图 1-3 显示本发明例示性 CD33 结合剂与林妥珠单抗相比在 HL60 细胞上的内在化。

[0021] 图 4 显示本发明的两种例示性抗体与林妥珠单抗相比在 HL60 细胞上的内在化率。

[0022] 图 5 显示本发明的两种例示性抗体与林妥珠单抗相比在 HL60 细胞上的 ADCC 性能。

[0023] 发明详述

[0024] CD33 结合剂

[0025] 本文所用术语“结合剂”意指特异性结合靶抗原的蛋白质或肽。结合剂可为（例如）抗体、该抗体的衍生物或特异性结合靶抗原的另一试剂。结合剂亦可为包含 Fv 区或其一部分（例如，特异性结合靶抗原的抗体的 V_H 或 V_L 或 CDR）的蛋白质。在本文的优选实施方案中，结合剂是抗体。

[0026] 本文所用术语“CD33 结合剂”是指特异性结合 CD33、通常特异性结合人类 CD33 的细胞外结构域的一部分的结合剂。

[0027] 本文所用术语“抗体”是指 (a) 免疫球蛋白多肽及免疫球蛋白多肽的免疫活性部分（即，含有免疫特异性结合特异性靶抗原的抗原结合位点的免疫球蛋白家族的多肽、或其片段）、或 (b) 免疫特异性结合靶抗原的所述免疫球蛋白多肽或片段的保守取代衍生物。抗体通常阐述于（例如）Harlow 及 Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988) 中。术语“抗体”是指呈现期望生物活性（例如抗原结合）的完整的单克隆抗体、多克隆抗体、单特异性抗体、多特异性抗体（例如，双特异性抗体）、及抗体片段。抗体可属于任一类型或类别（例如，IgG、IgE、IgM、IgD 及 IgA）或子类（IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 及 IgA2），优选属于 IgG 类、更优选 IgG1。

[0028] “完整”抗体是视抗体类别需要包含抗原结合可变区以及轻链恒定结构域及重链恒定结构域的抗体。恒定结构域可为天然序列恒定结构域（例如，人类天然序列恒定结构域）或其氨基酸序列变体。

[0029] “抗体片段”包含抗体的一部分，包括抗原结合区或可变区或其一部分。抗体片段的实例包括 Fab、Fab'、F(ab')₂、及 Fv 片段、 V_H 及 V_L 抗原结合片段、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体、单链抗体、scFv、scFv-Fc、SMTP、及自抗体片段形成的多特异性抗体。

[0030] “重链可变区”或“ V_H ”意指包含 CDR1、CDR2 及 CDR3 及周围骨架区的重链的部分。

[0031] “轻链可变区”或“ V_L ”意指包含 CDR4、CDR5 及 CDR6 及周围骨架区的轻链的部分。

[0032] “CDR”意指重链及轻链的超变区，其决定抗体或抗体片段的互补性 / 结合特异性。本申请案中 CDR 的次序仅是数字性的。

[0033] 本文中的“表位”意指抗原的一部分，其由抗体或抗体片段识别。特别是，此术语是指 CD33 中可由抗体识别的部分。

[0034] 如本文所用“mAb”是指单克隆抗体。

[0035] 抗体可具有一或多种“效应子功能”，其是指那些归因于抗体的 Fc 区（天然序列 Fc 区或氨基酸序列变体 Fc 区）的生物活性。抗体效应子功能的实例包括 C1q 结合；补体依赖

性细胞毒性 (CDC) ;Fc 受体结合 ;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) ;吞噬作用 ;细胞表面受体 (例如, B 细胞受体 ;BCR) 的下调等。

[0036] “单链 Fv”或“scFv”抗体片段包含抗体的 V_H 及 V_L 结构域,其中所述结构域存在于单一多肽链中。通常, Fv 多肽进一步包含位于 V_H 与 V_L 结构域之间的多肽连接子,其使 scFv 能够形成期望的抗原结合结构。scFv 的综述可参见 Plückthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 第 113 卷, Rosenberg 及 Moore 编辑, Springer-Verlag, New York, 第 269-315 页 (1994)。

[0037] 结合剂,例如“针对”、“结合”或“特异性结合”目标抗原(即靶抗原)的抗体,是能够以足够亲和力结合该抗原以使该结合剂可用于靶向表达抗原的细胞的结合剂。通常,结合剂以至少约 $1 \times 10^7 M^{-1}$ 的亲和力结合,且以比对结合除预定抗原或紧密相关抗原外的非特异性抗原(例如, BSA、酪蛋白)的亲和力大至少两倍的亲和力结合预定抗原。

[0038] 如本文所用“抗体衍生物”是指如上文所定义的抗体,其通过共价连接异源分子(例如通过连接异源多肽)、或通过糖基化、去糖基化、乙酰化或磷酸化或通常与抗体无关的其它修饰进行修饰。在一些实施方案中,异源分子并非治疗剂。在一些实施方案中,异源分子本身并不呈现细胞生长抑制或细胞毒性效应。

[0039] 本文所用所有术语及操作的进一步全面参考文献是 Sambrook 等人, Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Laboratory Press ;第 3 版 (2001 年 1 月 15 日)。

[0040] CD33 结合剂特异性结合与给定靶细胞群缔合的受体 CD33。CD33 是唾液酸黏附素家族的成员,其在造血谱系的细胞(包括髓系前体、单核细胞、巨噬细胞、树突细胞及肥大细胞)上表达。CD33 亦在与骨髓增生性或肥大细胞增生性疾病(包括急性骨髓性白血病及骨髓发育不良综合征)相关的肿瘤细胞、及白血病干细胞上表达。已大体阐述靶向 CD33 的抗体及其用途(例如,参见 Pierelli 等人, 1993, Br. J. Haematol. 84:24-30 ;Matutes 等人, 1985, Hematol. Oncol. 3:179-186 ;Taussig 等人, 2005, Blood 106:4086-4092 ;Florian 等人, 2006, Leuk. & Lymph. 47:207-222)。

[0041] 在一些实施方案中, CD33 结合剂是抗体(例如单克隆抗体)。有用的单克隆抗体可为与 CD33(例如, 人类 CD33 的细胞外结构域)同源的抗体群组。单克隆抗体 (mAb) 可通过使用本领域已知的任一技术制得。所述技术包括但不限于最初由 Köhler 及 Milstein (1975, Nature 256:495-497) 阐述的杂交瘤技术、人类 B 细胞杂交瘤技术 (Kozbor 等人, 1983, Immunology Today 4:72)、及 EBV- 杂交瘤技术 (Cole 等人, 1985, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss 公司, 第 77-96 页)。所述抗体可属于任一免疫球蛋白类别,包括 IgG、IgM、IgE、IgA 及 IgD 及其任一子类。可活体外或活体内培养产生单克隆抗体的杂交瘤。

[0042] 有用的单克隆抗体包括但不限于人类单克隆抗体、人类化单克隆抗体、嵌合单克隆抗体及其中的任一者的功能活性抗体片段。

[0043] 有用的 CD33 抗体包括可通过本领域已知的各种机制(例如抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC)、抗体依赖性细胞吞噬作用 (ADCP) 及 / 或补体依赖性细胞毒性 (CDC)) 达成治疗效应的抗体。举例而言,抗体可通过与免疫效应细胞(例如 NK 细胞、单核细胞及巨噬细胞)相互作用来介导 ADCC。

[0044] 重组抗体(例如嵌合及人类化单克隆抗体)包含人类及非人类部分,其可使用

标准重组 DNA 技术制得。(例如,参见 Cabilly 等人,美国专利第 4,816,567 号;及 Boss 等人,美国专利第 4,816,397 号;两个案件的全文皆以引用方式并入本文中)。“人类化抗体”是具有非人类物种的一或多个互补决定区(CDR)及人类免疫球蛋白分子的骨架区的非人类物种抗体分子。(例如,参见 Queen,美国专利第 5,585,089 号,该案件的全文以引用方式并入本文中)。所述嵌合及人类化单克隆抗体可通过本领域已知的重组 DNA 技术、例如使用以下中所阐述方法产生:国际公开案第 W087/02671 号;欧洲专利公开案第 0184187 号;欧洲专利公开案第 0171496 号;欧洲专利公开案第 0173494 号;国际公开案第 W086/01533 号;美国专利第 4,816,567 号;欧洲专利公开案第 012023 号;Berter 等人,1988, Science240:1041-1043;Liu 等人,1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA84:3439-3443;Liu 等人,1987, J. Immunol. 139:3521-3526;Sun 等人,1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA84:214-218;Nishimura 等人,1987, Cancer. Res. 47:999-1005;Wood 等人,1985, Nature314:446-449;Shaw 等人,1988, J. Natl. Cancer Inst. 80:1553-1559;Morrison, 1985, Science229:1202-1207;Oi 等人,1986, BioTechniques4:214;美国专利第 5,225,539 号;Jones 等人,1986, Nature321:552-525;Verhoeyan 等人,1988, Science239:1534;及 Beidler 等人,1988, J. Immunol. 141:4053-4060;每一案件的全文皆以引用方式并入本文中。

[0045] 人类单克隆抗体可通过本领域已知的各种技术中的任一者制得(例如,参见 Teng 等人,1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80:7308-7312;Kozbor 等人,1983, Immunology Today4:72-79;Olsson 等人,1982, Meth. Enzymol. 92:3-16;及美国专利第 5,939,598 号及第 5,770,429 号)。

[0046] 完全人类抗体可使用不能表达内源性免疫球蛋白重链及轻链基因但可表达人类重链及轻链基因的转基因小鼠产生。以正常方式利用所选抗原(例如,CD33 多肽的全部或一部分)对转基因小鼠进行免疫。可使用常规杂交瘤技术获得针对抗原的单克隆抗体。转基因小鼠含有的人类免疫球蛋白转基因在 B 细胞分化期间重排,且随后经受类别转换及体细胞突变。因此,可使用该技术产生治疗有用的 IgG、IgA、IgM 及 IgE 抗体。关于产生人类抗体的此技术的综述,参见(例如)Lonberg 及 Huszar(1995, Int. Rev. Immunol. 13:65-93)。关于产生人类抗体及人类单克隆抗体的此技术及产生所述抗体的方案的详细论述,参见(例如)美国专利第 5,625,126 号;第 5,633,425 号;第 5,569,825 号;第 5,661,016 号;及第 5,545,806 号。其它人类抗体可购自(例如)Medarex(Princeton, NJ),其通过对小鼠进行免疫获得。

[0047] 亦可使用称作“导向选择”的技术生成识别所选表位的完全人类抗体。在此方法中,所选非人类单克隆抗体(例如小鼠抗体)用于引导识别相同表位的完全人类抗体的选择。(例如,参见 Jespers 等人,1994, Biotechnology12:899-903)。人类抗体亦可使用本领域已知的各种技术(包括噬菌体展示文库)产生(例如,参见 Hoogenboom 及 Winter,1991, J. Mol. Biol227:381;Marks 等人,1991, J. Mol. Biol222:581;Quan 及 Carter,2002, The rise of monoclonal antibodies as therapeutics, In Anti-IgE and Allergic Disease, Jardieu 及 Fick Jr. 编辑, Marcel Dekker, New York, NY, 第 20 章,第 427-469 页)。

[0048] 有用的抗体片段包括但不限于 F(ab')₂ 片段、Fab' 片段、Fab 片段、Fv、单链抗体

(SCA) (例如,如美国专利第 4,946,778 号:Bird, 1988, Science242:423-42;Huston 等人, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA85:5879-5883;及 Ward 等人 1989, Nature334:544-54 中所述)、scFv、scFv-Fc、FvdsFv、微小抗体 (minibody)、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体、SMIP (例如,参见已公开的美国专利申请案第 2005-0238646 号) 及包含一或多个 CDR 且具有与抗体相同特异性的任一其它分子。

[0049] 在其它实施方案中,抗体是连结另一蛋白质的抗体的融合蛋白、或其功能活性片段。举例而言,抗体或抗体片段可经由共价键 (例如,肽键) 在 N 末端或 C 末端与不为该抗体或抗体片段的另一蛋白质 (或其部分,通常蛋白质的至少 10、20 或 50 个氨基酸部分) 的氨基酸序列融合。在一些实施方案中,抗体或其片段可在可变结构域或恒定结构域的 C 末端共价连接另一蛋白质。

[0050] 抗体可通过例如共价连接任一类型的分子来修饰,只要该共价连接允许抗体保留其结合抗原的免疫特异性。举例而言,抗体的衍生物可为已经以下进一步修饰者:例如糖基化、去糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、由已知保护 / 阻断基团去现实化 (derealization)、溶蛋白性裂解、与另一蛋白质键联等。多种化学修饰的任一者可通过已知技术实施,包括 (但不限于) 特异性化学裂解、乙酰化、甲酰化、在衣霉素 (tunicamycin) 存在下的代谢合成,等等。另外,该衍生物可含有一或多个非天然氨基酸。

[0051] 在具体实施方案中,可能期望改良该抗体的结合亲和性及 / 或其它生物特性。(例如,参见美国专利公开案第 2006-0003412 号及第 2006-0008882 号)。所述抗体的氨基酸序列变体由向该抗体核酸中引入适宜核苷酸变化或由肽合成而制备。这些修饰包括例如该抗体的氨基酸序列中残基的缺失及 / 或插入及 / 或取代。实施缺失、插入及 / 或取代的任一组合以获得最终构造物,前提是最终构造物具有期望特征。氨基酸变化亦可改变抗体的翻译后过程,例如改变糖基化位点的数量或位置。

[0052] 一种用于鉴定抗体中有利诱变位置的某些残基或区域的有用方法称为“丙氨酸扫描诱变”,如 Cunningham 及 Wells (1989, Science244:1081-1085) 中所述。此处,鉴定目标残基的一个残基或基团 (例如带电荷残基,例如 arg、asp、his、lys 及 glu) 并由一个中性或带负电荷氨基酸 (通常为丙氨酸或聚丙氨酸) 替代以影响所述氨基酸与抗原的相互作用。然后通过取代位点或针对取代位点引入另外或其它变体来改良所述显示对取代具有功能敏感性的氨基酸位置。因此,在预定引入氨基酸序列变体的位点时,突变本身的性质无需预定。举例而言,为分析给定位点突变的性能,在目标密码子或区实施丙氨酸扫描诱变或随机诱变并以期望活性筛选所表达的抗体变体。

[0053] 氨基酸序列插入可包括氨基及 / 或羧基 - 末端融合 (长度介于 1 个残基至含有上百或更多残基的多肽的范围内) 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- 末端甲硫胺酰基残基的抗体或与细胞毒性多肽融合的抗体。

[0054] 另一类型的抗体是抗体的氨基酸取代变体。这些变体是抗体分子中至少一个氨基酸残基为不同残基所替代的变体。用于取代诱变的最受关注的位点包括超变区,但亦涵盖骨架区改变。

[0055] 对抗体生物特性的实质修饰可通过选择在保持下列特征的作用方面显著不同的取代来实现:(a) 取代区域中多肽主链的结构,例如,呈薄板或螺旋构象;(b) 靶位点处分子的电荷或疏水性,或 (c) 侧链的大小。根据常见侧链特性将天然残基分为以下各类:

[0056] (1) 疏水性 : 正亮氨酸、met、ala、val、leu、ile ;

[0057] (2) 中性亲水性 :cys、ser、thr ;

[0058] (3) 酸性 :asp、glu ;

[0059] (4) 碱性 :asn、gin、his、lys、arg ;

[0060] (5) 影响链取向的残基 :gly、pro ;及

[0061] (6) 芳香族 :trp、tyr、phe。

[0062] 非保守性取代使得需要将所述类别中一者的成员交换为另一类别。

[0063] 期望修饰抗体的效应子功能以 (例如) 增强抗体的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC)、抗体依赖性细胞吞噬作用 (ADCP) 及 / 或补体依赖性细胞毒性 (CDC)。特别是, 可通过在抗体的恒定区中引入氨基酸突变来增强 ADCC 活性 (Lazar 等人, PNAS103, 11, 4005-4010, 2006)。此可通过在抗体的 Fc 区中引入一或多个氨基酸取代来达成, 例如, 参见已公开的美国专利申请案第 2006-0160996 号。或者或另外, 可在 Fc 区中引入半胱氨酸残基, 藉此在此区中形成链间二硫键。由此产生的同源二聚体抗体可具有改良的内在化能力及 / 或增强的 CDC 及 ADCC。(例如, 参见 Caron 等人, 1992, J Exp. Med176:1191-1195 ; 及 Shopes, 1992, J. Immunol. 148:2918-2922)。具有增强的抗肿瘤活性的同源二聚体抗体亦可使用异型双功能交联剂制得, 如 Wolff 等人, 1993, Cancer Research53:2560-2565 中所述, 或者, 可改造具有双 Fc 区的抗体, 该抗体藉此具有增强的补体溶解及 ADCC 能力。(例如, 参见 Stevenson 等人, 1989, Anti-Cancer Drug Design3:219-230)。

[0064] 本领域在科学文献及专利文件中均已提出多种对 Fc 区的修饰, 例如 EP0307434、W09304173、W09734631、W09744362、W09805787、W09943713、W09951642、W09958572、W002060919、W003074679、W02004016750、W02004029207、W02004063351、W02004074455、W02004035752、W02004099249、W02005077981、W02005092925、W02006019447、W02006031994、W02006047350、W02006053301、W02006088494 及 W02007041635。

[0065] 在优选实施方案中, 本发明的抗体是在位置 332 及 / 或 239 及 / 或 236 处具有氨基酸取代的 Fc 变体。在优选实施方案中, 本发明的抗体在 Fc 结构域中具有选自以下的突变

[0066] i) 位置 332 处的单一取代, 优选 I332E ;

[0067] ii) 位置 239 及 332 处的取代的组合, 优选 S239D/I332E ;

[0068] iii) 位置 236 及 332 处的取代的组合, 优选 G236A/I332E ;

[0069] iv) 位置 236、239 及 332 处的取代的组合, 优选 G236A/S239D/I332E。

[0070] 在此上下文中, 根据 Kabat EU 编号索引, 尤其优选在 Fc 结构域中选自位置 332 及 / 或 239 及 / 或 236 处的氨基酸的一或多个位置处引入突变。位置 239 及 332 处的取代、尤其是 S239D/I332E 是尤其优选的。

[0071] 根据构成本发明的抗体中的 Fc 变体的氨基酸修饰对其进行定义。因此, 举例而言, I332E 是相对亲本 Fc 多肽具有取代 I332E 的 Fc 变体。同样, S239D/I332E 定义相对于亲本 Fc 多肽具有取代 S239D 和 I332E 的 Fc 变体, 且 S239D/I332E/G236A 定义相对于亲本 Fc 多肽具有取代 S239D、I332E 及 G236A 的 Fc 变体。

[0072] 为延长抗体的血清半衰期, 例如, 可向抗体 (尤其是抗体片段) 中纳入补救受体结

合表位,如美国专利第 5,739,277 号中所述。本文所用术语“补救受体结合表位”是指负责延长 IgG 分子的活体内血清半衰期的 IgG 分子(例如, IgG₁、IgG₂、IgG₃或 IgG₄)Fc 区的表位。

[0073] 抗体可在其恒定区中的保守位置处糖基化(例如,参见 Jefferis 及 Lund, 1997, Chem. Immunol. 65:111-128; Wright 及 Morrison, 1997, TibTECH15:26-32)。免疫球蛋白的寡糖侧链可影响蛋白质的功能(例如,参见 Boyd 等人, 1996, Mol. Immunol. 32:1311-1318; Wittwe 及 Howard, 1990, Biochem. 29:4175-4180), 及糖蛋白各部分之间的分子内相互作用,该作用可影响构象并提供糖蛋白的三维表面(例如,参见 Jefferis 及 Lund, 同上; Wyss 及 Wagner, 1996, Current Opin. Biotech. 7:409-416)。寡糖亦可用于将给定糖蛋白靶向某些基于特定识别结构的分子。举例而言,已报道,在半乳糖化 IgG 中,寡糖部分“翻转”出内部 -C_H2 空间且末端 N-乙酰葡萄糖胺残基可用于结合甘露糖结合蛋白(例如,参见 Malhotra 等人, 1995, Nature Med. 1:237-243)。由糖肽酶自中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中产生的 CAMPATH-1H(重组人类化鼠类单克隆 IgG1 抗体,其识别人类淋巴细胞的 CDw52 抗原)移除寡糖可完全降低补体介导的溶解(CMCL 或 CDC)(Boyd 等人, 1996, Mol. Immunol. 32:131, 1-1318),而使用神经氨酸酶选择性移除唾液酸不降低 CMCL。亦报道,抗体的糖基化可影响 ADCC。特别是,据报道,具有 β (1.4)-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 III(GnTIII)(催化等分 GlcNAc 形成的糖基转移酶)的四环素调控表达的 CHO 细胞具有改良的 ADCC 活性(例如,参见 Umana 等人, 1999, Nature Biotech. 17:176-180)。

[0074] 抗体的糖基化通常是 N-连接或 O-连接。N-连接是指碳水化合物部分连接至天冬酰胺残基侧链。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸及天冬酰胺-X-苏氨酸(其中 X 为除脯氨酸外的任何氨基酸)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,多肽中存在所述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 N-乙酰基半乳糖胺、半乳糖或木糖中的一种糖与羟基氨基酸(最常见为丝氨酸或苏氨酸,但亦可使用 5-羟基脯氨酸或 5-羟基赖氨酸)的连接。

[0075] 抗体的糖基化变体是改变抗体的糖基化模式的变体。改变意指清除抗体中发现的一或多个碳水化合物部分、向抗体中增加一或多个碳水化合物部分、改变糖基化的组成(即糖基化模式)、糖基化程度等等。

[0076] 可通过改变氨基酸序列而使抗体中含有一或多个上述三肽序列来将糖基化位点容易地加入抗体中(对于 N-连接糖基化位点)。亦可通过在原始抗体序列中添加一或多个丝氨酸或苏氨酸残基(或用一或多个丝氨酸或苏氨酸残基取代)来达成改变(对于 O-连接糖基化位点)。类似地,可通过抗体的天然糖基化位点内的氨基酸改变完成糖基化位点的移除。

[0077] 通常通过改变基本(underlying)核酸序列改变氨基酸序列。所述方法包括但不限于将先前制备的变体或非变体形式的抗体自天然来源分离(在天然氨基酸序列变体的情形下),或通过寡核苷酸介导(或定点)的突变、PCR 突变、或盒式突变制备。

[0078] 亦可改变抗体的糖基化(包括糖基化模式),而不改变氨基酸序列或基本核苷酸序列。糖基化在很大程度上取决于用于表达抗体的宿主细胞。由于用于表达作为潜在治疗剂的重组糖蛋白(例如抗体)的细胞类型很少为天然细胞,故可期望抗体的糖基化模式的显著变化。(例如,参见 Hse 等人, 1997, Biol. Chem. 272:9062-9070)。除宿主细胞的选择

外,在抗体的重组产生期间影响糖基化的因素亦包括生长模式、培养基配方、培养密度、氧合、pH、纯化方案等等。已提出改变特定宿主有机体中达成的糖基化模式的各种方法(包括引入涉及寡糖产生的某些酶或使其过表达)(例如,参见美国专利第 5,047,335 号;第 5,510,261 号;第 5,278,299 号)。可使用(例如)糖苷内切酶 H(Endo H)以酶方式自糖蛋白移除糖基化、或某些类型的糖基化。另外,可遗传改造重组宿主细胞,例如,使某些类型的多糖的处理产生缺陷。所述技术及类似技术已为本领域所熟知。

[0079] 可通过常规碳水化合物分析技术(包括凝集素色谱、NMR、质谱法、HPLC、GPC、单糖组成分析、依序酶消化、及基于电荷使用高 pH 阴离子交换色谱分离寡糖的 HPAEC-PAD)容易地分析抗体的糖基化结构。出于分析目的释放寡糖的方法亦已知,且包括(但不限于)酶处理(通常使用肽-N-糖苷酶 F/内- β -半乳糖苷酶实施)、使用苛性碱环境以主要释放 O-连接的结构消除、及使用无水肼释放 N-连接及 O-连接寡糖的化学方法。

[0080] 抗体中氨基酸残基亦可具有与 Fc 受体相互作用的修饰(例如,取代、缺失或添加)。特别是,抗体中氨基酸残基可具有鉴定为涉及抗 Fc 结构域与 FcRn 受体之间的相互作用的修饰(例如,参见国际公开案第 W097/34631 号)。

[0081] 在本发明的最宽广方面中,本发明涉及结合人类 CD33 的 CD33 结合剂,且其通过以下定义

[0082] a) 具有包含 CDR1、CDR2 及 CDR3 的重链可变区及包含 CDR4、CDR5 及 CDR6 的轻链可变区,其中 CDR1 具有选自 SeqID No:1-14 的氨基酸序列,CDR2 具有选自 SeqID No:15-28 的氨基酸序列,CDR3 具有选自 SeqID No:29-42 的氨基酸序列,CDR4 具有选自 SeqID No:43-56 的氨基酸序列,CDR5 具有选自 SeqID No:57-70 的氨基酸序列,CDR6 具有选自 SeqID No:71-84 的氨基酸序列,或

[0083] b) 识别人类 CD33 的氨基酸序列 FFHPIPYDKNSPVHGYW(SeqID No:141) 内的表位。

[0084] 本发明进一步提供 CD33 结合剂,其中 CD33 结合剂的内在化动力学使得在培育后 4 小时抗体初始量的至少 30% 保留于 HL60 细胞的细胞表面上。

[0085] 已发现,本发明的 CD33 结合剂与林妥珠单抗结合不同表位,参见本文中的实施例 4。两个表位(SeqID No:141 及 SeqID No:142)均为非重迭表位。据信 CD33 的细胞外结构域上的不同表位(其由本发明的 CD33 结合剂及林妥珠单抗识别)是本发明的 CD33 结合剂与林妥珠单抗的内在化行为及 ADCC 性能不同的原因(参见本文中的实施例 2 及 3)。

[0086] 在一个优选实施方案中,在培育后 4 小时 CD33 结合剂的初始量的至少 40% 保留在细胞表面上。

[0087] 在一个优选实施方案中,重链可变区包含选自 SeqID No:85-98 的氨基酸序列且轻链可变区包含选自 SeqID No:99-112 的氨基酸序列。

[0088] 在一个优选实施方案中,CD33 结合剂含有具有选自 SeqID No:113-126 的氨基酸序列的重链及具有选自 SeqID No:127-140 的氨基酸序列的轻链。

[0089] 在一个优选实施方案中,CD33 结合剂对人类 CD33 及短尾猴(cynomolgus)CD33 二者的亲和力为 K_D 小于或等于 10nM。

[0090] 在一个优选实施方案中,CD33 结合剂是人类化结合剂。

[0091] 在一个优选实施方案中,CD33 结合剂是完全人类结合剂。

[0092] 在一个优选实施方案中,CD33 结合剂进一步包含效应子功能。

[0093] 在一个优选实施方案中,效应子功能是由 F_c结构域介导。

[0094] 在一个优选实施方案中, CD33 结合剂的 F_c结构域中包含一或多个调节 F_c结构域的功能的突变。

[0095] 在一个优选实施方案中, F_c结构域的功能的调节是 ADCC 增强至少 10%、优选 50% 或 100%。

[0096] 本发明的尤其优选的 CD33 结合剂列举于表 1 中：

[0097]

编号	纯系 ID 编号	SeqID CDR1	SeqID CDR2	SeqID CDR3	SeqID CDR4	SeqID CDR5	SeqID CDR6	SeqID V _H	SeqID V _L	SeqID 重链	SeqID 轻链
1	280-03-08	1	15	29	43	57	71	85	99	113	127
2	280-21-09	2	16	30	44	58	72	86	100	114	128
3	280-29-12	3	17	31	45	59	73	87	101	115	129
4	280-31-01	4	18	32	46	60	74	88	102	116	130
5	280-31-01(mut)	5	19	33	47	61	75	89	103	117	131
6	280-34-02	6	20	34	48	62	76	90	104	118	132
7	280-50-01	7	21	35	49	63	77	91	105	119	133
8	280-50-01(mut)	8	22	36	50	64	78	92	106	120	134
9	280-61-07	9	23	37	51	65	79	93	107	121	135
10	283-03-03	10	24	38	52	66	80	94	108	122	136
11	283-05-01	11	25	39	53	67	81	95	109	123	137
12	283-07-03	12	26	40	54	68	82	96	110	124	138
13	283-11-03	13	27	41	55	69	83	97	111	125	139
14	283-14-01	14	28	42	56	70	84	98	112	126	140

[0098] 表 1

[0099] 癌症治疗

[0100] 若干出版物已将 CD33 阐述为在 70% 至 100% 患者的恶性细胞上表达的原代 AML 及 CML 细胞上的细胞表面标记 (Scheinberg 等人, 1989, Hauswirt 等人, 2007, Plesa 等人, 2007, Webber 等人, 2008)。CD33 在恶性髓系母细胞 (其代表白血病患者的外周血及骨髓中的大多数恶性细胞)、及白血病干细胞 (即骨髓中的相对较少数量的低分化细胞, 其特征在于能自我更新并维持白血病纯系层级) 上表达。使用抗体靶向 CD33 的临床可行性已由 Mylotarg[®] (吉姆单抗 (Gemtuzumab ozogamizin), 经许可用于治疗不适于其它治疗选择的复发 AML 患者的抗体-刺孢霉素偶联物) 得以证实。针对 CD33 的替代方法是研发林妥珠单抗 (SGN-33, HuM195), 一种在 I 期临床试验中显示早期功效迹象的人类化 IgG1 单克隆抗体 (Raza 等人, 2009)。总之, 存在大量临床前及临床数据, 其强调用 CD33 靶向治疗 AML 及其它 CD33 阳性恶性肿瘤的相关性及可行性。

[0101] 急性骨髓性白血病 (AML) 是白血细胞的髓系谱系的恶性肿瘤。此血液肿瘤是一种若不经治疗则通常在数周至数月内致命的血液及骨髓疾病。在美国有 30000 例 AML 且在欧盟有 47000 例 AML 的估计患病率 (由 Mattson-Jack, 2010 确认的 10 年患病率数据)。AML 是成年急性白血病的最流行形式 (约 90%), 其包含约 33% 新白血病病例。诊断患有 AML 的患者的中值年龄系 67 岁。在美国, AML 占癌症死亡的约 1.2%。

[0102] AML 引起非特异性症状, 例如体重损失、疲劳、发热及盗汗。AML 通过血液测试、骨髓检查及实验室测试来诊断以确定 AML 亚型及确定治疗决定。

[0103] 针对 AML 的疗法高度取决于患者的年龄及体力状况。利用细胞毒性药物的组合强烈地治疗那些可耐受强化诱导 (及随后加固及维持) 化学疗法的患者。所述患者达成完全

响应的可能性约为 75%。在此患者群中,治疗目标是治愈。此外,在达成完全响应后一年内约一半患者发生 AML 复发。长期治愈率在 30% 范围内。

[0104] 然而,在共病诊断或存在时,较高年龄不容许给予强化诱导疗法,其导致姑息性治疗目标。因此,患有 AML 的老年患者中的缓解率显著降低。患有 AML 的老年患者的中值存活期小于 6 个月。

[0105] 在一个方面中,CD33 结合剂可用于通过例如在哺乳动物(优选人类患者)中延迟癌症进展及/或减少癌症相关恶病质、或防止或延迟血液恶性肿瘤(例如白血病)的复发来治疗癌症。CD33 结合剂可单独给予或与另一治疗剂共给予。在一些实施方案中,CD33 结合剂与护理化学治疗的标准物共给予。CD33 结合剂可以以未偶联形式(即未与细胞毒素偶联)或偶联物形式给予。

[0106] 在此部分中,“患者”是进行癌症治疗或已诊断为患有癌症的人类或其它哺乳动物。

[0107] 在一些实施方案中,CD33 结合剂可用于患者中延迟癌症进展及/或减少癌症相关恶病质,通过向有需要的患者给予有效剂量的 CD33 结合剂。不受限于特定机制,CD33 结合剂结合髓系或单核细胞谱系的效应细胞或辅助细胞(例如单核细胞、巨噬细胞、树突细胞、及嗜中性粒细胞),藉此抑制或减少各种细胞因子、趋化因子及生长因子自所述效应细胞或辅助细胞及/或肿瘤细胞产生。所述可促进肿瘤细胞生长及增生及/或导致癌症恶病质的细胞因子、趋化因子及生长因子包括(但不限于)白介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6 (IL-6)、白介素-8 (IL-8)、干扰素- γ (IFN- γ)、血管内皮生长因子 (VEGF)、白血病抑制因子 (LIF)、单核细胞化学吸引蛋白-1 (MCP-1)、RANTES、白介素-10 (IL-10)、白介素-12 (IL-12)、基质金属蛋白酶 2 (MMP2)、IP-10 及/或巨噬细胞炎症蛋白 1 α (MIP1 α)。CD33 结合剂亦可减少巨噬细胞移动至肿瘤细胞的位点。

[0108] 在一些实施方案中,向患者给予有效剂量的 CD33 结合剂可降低至少一种细胞因子、趋化因子或生长因子的含量,该细胞因子、趋化因子或生长因子可促进肿瘤细胞的生长及增生、促进非恶性效应细胞(例如肿瘤相关性巨噬细胞(TAMS))向肿瘤位点附近迁移及/或导致癌症恶病质。在具体实施方案中,细胞因子、趋化因子或生长因子系(例如)白介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6 (IL-6)、白介素-8 (IL-8)、干扰素- γ (IFN- γ)、血管内皮生长因子 (VEGF)、白血病抑制因子 (LIF)、单核细胞化学吸引蛋白-1 (MCP-1)、RANTES、白介素-10 (IL-10)、白介素-12 (IL-12)、基质金属蛋白酶 2 (MMP2)、IP-10 及/或巨噬细胞炎症蛋白 1 α (MIP1 α)。

[0109] 在另一实施方案中,提供通过向患者给予 CD33 结合剂的有效方案来延迟癌症进展的方法,该 CD33 结合剂可特异性结合 CD33。由于 CD33 结合剂的给予,通过(例如)减少肿瘤细胞的增生生长、减少转移、降低至少一种细胞因子、趋化因子或生长因子的含量、减少肿瘤细胞附近的非恶性效应细胞等等来延迟癌症进展。

[0110] 在另一实施方案中,提供通过向患者给予 CD33 结合剂的有效方案来降低患者中的肿瘤负荷的方法,该 CD33 结合剂可特异性结合 CD33。由于 CD33 结合剂的给予,通过(例如)减小肿瘤的大小或质量、降低至少一种细胞因子、趋化因子或生长因子的含量、减少肿瘤细胞附近的非恶性效应细胞、抑制肿瘤细胞附近巨噬细胞的迁移、减少肿瘤中的非恶性效应细胞(例如,TAMS 或巨噬细胞)的数量等等阻止或减少肿瘤负荷。

[0111] 在另一实施方案中,提供通过向患者给予 CD33 结合剂的有效方案而在患者中降低肿瘤负荷或延迟癌症进展的方法,该 CD33 结合剂可特异性结合 CD33。由于 CD33 结合剂的给予,通过(例如)募集免疫效应细胞(如 NK 细胞或巨噬细胞或单核细胞)阻止或减少患者中的肿瘤负荷,所述免疫效应细胞可通过免疫介导的机制消灭肿瘤细胞。

[0112] 抗体依赖性细胞毒性 (ADCC) 是可使单克隆抗体具有抗肿瘤活性的免疫效应细胞介导的机制 (Weiner GJ. Monoclonal antibody mechanisms of action in cancer. Immunol Res. 2007;39(1-3):271-8)。已以临床前模型(例如,小鼠肿瘤模型)证实 ADCC 对抗肿瘤功效的相关性(例如, Clynes RA, Towers TL, Presta LG, Ravetch JV. Inhibitory Fc receptors modulate vivo cytotoxicity against tumor targets. Nat Med., 2000 年 4 月;6(4):443-6)。临床试验数据支持 ADCC 对治疗性抗体的临床功效的相关性(例如, Weng WK, Levy R Two immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms independently predict response to rituximab in patients with follicular lymphoma. J Clin Oncol. 2003 年 11 月 1 日;21(21):3940-7. Epub 2003 年 9 月 15 日)。单克隆抗体与 Fc 受体在免疫细胞上的相互作用有助于 ADCC。抗体的 Fc 可经修饰以对 Fc 受体表现出更强的亲和力(例如, Presta LG Engineering of therapeutic antibodies to minimize immunogenicity and optimize function. Adv Drug Deliv Rev., 2006 年 8 月 7 日;58(5-6):640-56. Epub, 2006 年 5 月 23 日)。该对 Fc 受体的更强的亲和力产生增强的 ADCC 活性,其可导致患者中的抗肿瘤功效增强。

[0113] 在此部分中所述的各种实施方案中,CD33 结合剂可用于治疗 CD33 阳性癌症(即,包含如下癌细胞的癌症:在其细胞表面上过表达 CD33,或以视为对利用 CD33 抗体的疗法可接受的程度表达 CD33)。CD33 结合剂亦可用于治疗相对于相同类型的正常组织在非恶性效应细胞上不过表达 CD33 的癌症。癌症可为(例如)非血液恶性肿瘤或血液恶性肿瘤。在具体实施例中,血液恶性肿瘤可为 CD33 阳性肿瘤且可为(例如)急性淋巴样白血病、急性骨髓性白血病、慢性骨髓单核细胞性白血病、红细胞白血病、急性成巨核细胞白血病、组织细胞性淋巴瘤、髓系肉瘤、肥大细胞增生病症或骨髓发育不良综合征 (MDS)。在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是 CD33 阳性恶性肿瘤,例如急性骨髓性白血病或骨髓发育不良综合征 (MDS)。

[0114] 在此段中所述的各种实施方案中,CD33 结合剂可为未偶联的抗 CD33 抗体。举例而言,抗体可为完全人类抗体、人类化抗体或嵌合抗体,例如嵌合或人类化 M195 抗体。抗体亦可为另一抗体,例如与 M195 抗体竞争特异性结合 CD33 的抗体。抗体亦可结合与 M195 抗体相同或不同的表位。

[0115] 在其它实施方案中,CD33 结合剂可与细胞毒素结合(即偶联)。细胞毒素可为(例如)肽毒素,例如皂草素、蓖麻毒素、氯毒素、假单胞菌 (pseudomonas) 外毒素、假单胞菌内毒素或白喉毒素。细胞毒素亦可为化学(即非肽基)毒素,例如刺孢霉素 (calicheamicin)、多柔比星 (doxorubicin)、喜树碱 (camptothecin)、柔红霉素 (daunorubicin) 或其它 DNA 结合剂。细胞毒素亦可为奥里斯他汀 (auristatin)、类美登素 (maytansinoid)、多拉司他汀 (dolastatin) 或其它微管阻断剂。

[0116] 可以以 0.1mg/kg 或更小至约 25mg/kg、优选 1.0mg/kg 至约 10mg/kg 的剂量向患者经静脉内或皮下给予作为抗 CD33 抗体的 CD33 结合剂。可以以等效于 0.1mg/kg 至约 25mg/

kg、1.0mg/kg 至约 10mg/kg 完整抗体的剂量给予作为抗 CD33 抗体片段或其他 CD33 结合蛋白质的 CD33 结合剂。可按时间表向患者经静脉内或皮下给予 CD33 结合剂，亦即以（例如）每日、每周、每两周、每三周（即每三个周）或每月或其组合给予患者。根据需要，可给予 CD33 结合剂达至少一个月、至少两个月、至少三个月、至少四个月、至少五个月、至少六个月的时间或更长时间。在一些实施方案中，在上述 CD33 结合剂的治疗期之后是维持期，其中以低于治疗期期间的频率给予 CD33 结合剂的剂量。举例而言，可每周、每两周、每三周或每月给予维持剂量达 1 至 6 个月的时段。维持期中的剂量可与治疗期中的剂量相同。

[0117] 血液恶性肿瘤缓解中的治疗

[0118] 在另一方面中，提供通过向自血液恶性肿瘤缓解中的患者给予有效剂量的 CD33 结合剂（此可防止或延迟基本血液恶性肿瘤复发）来防止或延迟患者中的血液恶性肿瘤（例如白血病）的复发的方法。CD33 结合剂特异性结合血液恶性肿瘤（即白血病细胞）表面上的 CD33 及 / 或结合非恶性效应细胞。

[0119] 在本发明公开的内容中，“患者”通常是经历血液恶性肿瘤治疗或已诊断为患有血液恶性肿瘤的人类。在一些实施方案中，血液恶性肿瘤是 CD33 阳性血液恶性肿瘤。血液恶性肿瘤包括但不限于白血病（例如，急性淋巴母细胞白血病（ALL）、急性骨髓性白血病（AML）、慢性骨髓性白血病（CML）、慢性骨髓单核细胞性白血病、毛细胞白血病）。相关血液病症包括但不限于骨髓发育不良综合征（MDS）、骨髓纤维化、骨髓增生性疾病（例如，真性红细胞增多（PV、PCV 或 PRV）、原发性血小板增多（ET））及轻链性淀粉样病。

[0120] 术语“CD33 阳性血液恶性肿瘤”是指特征在于在恶性细胞表面上表达 CD33 的血液恶性肿瘤。CD33 阳性血液恶性肿瘤包括但不限于急性骨髓性白血病（AML）、慢性骨髓性白血病（CML）、慢性骨髓单核细胞性白血病、血小板白血病、骨髓发育不良综合征、骨髓增生性疾病、难治性贫血、白血病前期综合征、淋巴样白血病、或未分化白血病。

[0121] 在一些实施方案中，所述方法包括向自 CD33 阳性血液恶性肿瘤缓解中的患者给予 CD33 结合剂的有效方案，藉此防止或延迟血液恶性肿瘤复发。在一些实施方案中，患者缺乏血液恶性肿瘤的可检测细胞。如本文所用“缺乏可检测细胞”是通过标准诊断或预后方法确定的。自 AML 缓解中的患者通常呈现异常临床特征消退、骨髓中恢复正常血液计数及正常血细胞生成（<5% 母细胞、嗜中性粒细胞计数 >1,000-1,500、血小板计数 >100,000）、及白血病纯系消失。例如，参见 The Merck Manual, Sec. 11, Ch. 138（第 17 版，1997）：Estey, 2001, Cancer 92(5) : 1059-1073。

[0122] CD33 结合剂可为（例如）特异性结合 CD33 的抗体且血液恶性肿瘤可为急性骨髓性白血病（AML）、慢性骨髓性白血病（CML）、慢性骨髓单核细胞性白血病、胸腺系（thymoid）白血病、骨髓发育不良综合征、骨髓增生性疾病、难治性贫血、白血病前期综合征、淋巴样白血病、或未分化白血病。

[0123] 在一些实施方案中，自血液恶性肿瘤缓解中的患者不经历骨髓移植。在其它实施方案中，自血液恶性肿瘤缓解中的患者已经历骨髓移植。骨髓移植可为自体骨髓移植或异体骨髓移植。

[0124] 本发明的抗体尤其适于治疗以下癌症类型：

[0125] 骨髓癌，包括但不限于：急性淋巴母细胞白血病“ALL”、急性淋巴母细胞 B 细胞白血病、急性淋巴母细胞 T 细胞白血病、急性髓母细胞白血病“AML”、急性前髓细胞性白血病

“APL”、急性成单核细胞性白血病、急性红白血病、急性成巨核细胞白血病、急性骨髓单核细胞性白血病、急性非淋巴细胞性白血病、急性未分化白血病、慢性髓细胞性白血病“CML”、慢性淋巴细胞白血病“CLL”、毛细胞白血病、多发性骨髓瘤。

[0126] 适于由 CD33 结合剂治疗的急性及慢性白血病包括：淋巴母细胞、髓系、淋巴细胞、髓细胞性白血病及血小板白血病。其它骨髓发育不良综合征、骨髓增生性病症、难治性贫血、白血病前期综合征、淋巴样白血病、或未分化白血病可由 CD33 结合剂治疗。

[0127] 与其它活性物质的组合

[0128] 根据拟治疗的病症，本发明的 CD33 结合剂可单独或与一或多种其它治疗剂组合使用，所述治疗剂尤其选自 DNA 破坏剂、DNA 去甲基化剂或微管蛋白结合剂、或抑制血管生成、信号转导路径或癌细胞有丝分裂检查点或具有免疫调节功能 (IMiD) 的治疗活性化合物。

[0129] 该其它治疗剂可与 CD33 结合剂同时给予（任选作为相同医药制剂的组份），或在 CD33 结合剂给予之前或之后给予。

[0130] 在某些实施方案中，其它治疗剂可为（但不限于）一或多种选自 EGFR 家族、VEGFR 家族、VEGF、IGF-1R、胰岛素受体、AuroraA、AuroraB、PLK 及 PI3 激酶、FGFR、PDGFR、Raf、KSP 或 PDK1 抑制剂的抑制剂。

[0131] 其它治疗剂的其它实例为 CDK、Akt、Src、Bcr-Abl、cKit、cMet/HGF、Her2、Her3、c-Myc、Flt3、HSP90 的抑制剂；刺猬拮抗剂；JAK/STAT、Mek、mTor、NF κ B、蛋白酶体、Rho 的抑制剂；Wnt 信号传导抑制剂或 Notch 信号传导或泛素化路径抑制剂。

[0132] 其它治疗剂的其它实例为 DNA 聚合酶、拓扑异构酶 II 的抑制剂；多重酪氨酸激酶抑制剂、CXCR4 拮抗剂、IL3RA 抑制剂、RAR 拮抗剂、KIR 抑制剂、免疫治疗疫苗、TUB 抑制剂、Hsp70 诱导剂、IAP 家族抑制剂、DNA 甲基转移酶抑制剂、TNF 抑制剂、ErbB1 受体酪氨酸激酶抑制剂、多激酶抑制剂、JAK2 抑制剂、RR 抑制剂、细胞凋亡诱导剂、HGPRTase 抑制剂、组胺 H2 受体拮抗剂及 CD25 受体激动剂。

[0133] Aurora 抑制剂的实例为（但不限于）PHA-739358、AZD-1152、AT-9283、CYC-116、R-763、VX-667、MLN-8045、PF-3814735、SNS-314、VX-689、GSK-1070916、TTP-607、PHA-680626、MLN-8237、BI847325 及 ENMD-2076。

[0134] PLK 抑制剂的实例为 GSK-461364、BI2536 及 BI6727。

[0135] raf 抑制剂的实例为 BAY-73-4506（亦为 VEGFR 抑制剂）、PLX-4032、RAF-265（亦为 VEGFR 抑制剂）、索拉非尼 (sorafenib)（亦为 VEGFR 抑制剂）、XL-281、Nevavar（亦为 VEGFR 抑制剂）及 PLX4032。

[0136] KSP 抑制剂的实例为伊帕尼西 (ispinesib)、ARRY-520、AZD-4877、CK-1122697、GSK-246053A、GSK-923295、MK-0731、SB-743921、LY-2523355 及 EMD-534085。

[0137] src 及 / 或 bcr-abl 抑制剂的实例为达沙替尼 (dasatinib)、AZD-0530、博舒替尼 (bosutinib)、XL-228（亦为 IGF-1R 抑制剂）、尼罗替尼 (nilotinib)（亦为 PDGFR 及 cKit 抑制剂）、伊马替尼 (imatinib)（亦为 cKit 抑制剂）、NS-187、KX2-391、AP-24534（亦为 EGFR、FGFR、Tie2、Flt3 抑制剂）、KM-80 及 LS-104（亦为 Flt3、Jak2 抑制剂）。

[0138] PDK1 抑制剂的实例为 AR-12。

[0139] Rho 抑制剂的实例为 BA-210。

[0140] PI3 激酶抑制剂的实例为 PX-866、PX-867、BEZ-235 (亦为 mTor 抑制剂)、XL-147、及 XL-765 (亦为 mTor 抑制剂)、BGT-226、CDC-0941。

[0141] cMet 或 HGF 抑制剂的实例为 XL-184 (亦为 VEGFR、cKit、Flt3 抑制剂)、PF-2341066、MK-2461、XL-880 (亦为 VEGFR 抑制剂)、MGCD-265 (亦为 VEGFR、Ron、Tie2 抑制剂)、SU-11274、PHA-665752、AMG-102、AV-299、ARQ-197、MetMAb、CGEN-241、BMS-777607、JNJ-38877605、PF-4217903、SGX-126、CEP-17940、AMG-458、INCB-028060 及 E-7050。

[0142] c-Myc 抑制剂的实例为 CX-3543。

[0143] Flt3 抑制剂的实例为 AC-220 (亦为 cKit 及 PDGFR 抑制剂)、KW-2449、LS-104 (亦为 bcr-abl 及 Jak2 抑制剂)、MC-2002、SB-1317、来他替尼 (lestaurtinib) (亦为 VEGFR、PDGFR、PKC 抑制剂)、TG-101348 (亦为 JAK2 抑制剂)、XL-999 (亦为 cKit、FGFR、PDGFR 及 VEGFR 抑制剂)、舒尼替尼 (sunitinib) (亦为 PDGFR、VEGFR 及 cKit 抑制剂) 及坦度替尼 (tandutinib) (亦为 PDGFR 及 cKit 抑制剂)。

[0144] HSP90 抑制剂的实例为坦螺旋霉素 (tanespimycin)、阿螺旋霉素 (alvespimycin)、IPI-504、STA-9090、MEDI-561、AUY-922、CNF-2024 及 SNX-5422。

[0145] JAK/STAT 抑制剂的实例为 CYT-997 (亦与微管蛋白相互作用)、TG-101348 (亦为 Flt3 抑制剂) 及 XL-019。

[0146] Mek 抑制剂的实例为 ARRY-142886、AS-703026、PD-325901、AZD-8330、ARRY-704、RDEA-119 及 XL-518。

[0147] mTor 抑制剂的实例为西罗莫司脂化物 (temsirolimus)、德福莫司 (deforolimus) (其亦起 VEGF 抑制剂作用)、依维莫司 (everolimus) (亦为 VEGF 抑制剂)、XL-765 (亦为 PI3 激酶抑制剂) 及 BEZ-235 (亦为 PI3 激酶抑制剂)。

[0148] Akt 抑制剂的实例为哌立福辛 (perifosine)、GSK-690693、RX-0201 及曲西立滨 (triciribine)。

[0149] cKit 抑制剂的实例为马赛替尼 (masitinib)、OSI-930 (亦起 VEGFR 抑制剂作用)、AC-220 (亦为 Flt3 及 PDGFR 抑制剂)、坦度替尼 (亦为 Flt3 及 PDGFR 抑制剂)、阿西替尼 (axitinib) (亦为 VEGFR 及 PDGFR 抑制剂)、舒尼替尼 (亦为 Flt3、PDGFR、VEGFR 抑制剂) 及 XL-820 (亦起 VEGFR 及 PDGFR 抑制剂作用)、伊马替尼 (亦为 bcr-abl 抑制剂)、尼罗替尼 (亦为 bcr-abl 及 PDGFR 抑制剂)。

[0150] 刺猬拮抗剂的实例为 IPI-609、CUR-61414、GDC-0449、IPI-926 及 XL-139。

[0151] CDK 抑制剂的实例为塞来昔布 (seliciclib)、AT-7519、P-276、ZK-CDK (亦抑制 VEGFR2 及 PDGFR)、PD-332991、R-547、SNS-032、PHA-690509、PHA-848125 及 SCH-727965。

[0152] 蛋白酶体抑制剂的实例为硼替佐米 (bortezomib)、卡菲佐米 (carfilzomib) 及 NPI-0052 (亦为 NF κ B 抑制剂)。

[0153] 蛋白酶体抑制剂 /NF κ B 路径抑制剂的实例为硼替佐米 (bortezomib)、卡菲佐米 (carfilzomib)、NPI-0052、CEP-18770、MLN-2238、PR-047、PR-957、AVE-8680 及 SPC-839。

[0154] 泛素化路径抑制剂的实例为 HBX-41108。

[0155] 去甲基化剂的实例为 5- 阿扎胞苷 (5-azacitidine) 及地西他滨 (decitabine)。

[0156] 抗血管生成剂的实例为 FGFR、PDGFR 及 VEGF(R) 的抑制剂及沙立度胺 (thalidomide)，所述药物选自 (但不限于) 贝伐单抗 (bevacizumab)、莫替沙尼

(motesanib)、CDP-791、SU-14813、替拉替尼 (telatinib)、KRN-951、ZK-CDK (亦为 CDK 抑制剂)、ABT-869、BMS-690514、RAF-265、IMC-KDR、IMC-18F1、IMiD、沙立度胺、CC-4047、来那度胺 (lenalidomide)、ENMD-0995、IMC-D11、Ki-23057、布瑞法尼 (brivanib)、西地尼布 (cediranib)、1B3、CP-868596、IMC-3G3、R-1530 (亦为 Flt3 抑制剂)、舒尼替尼 (亦为 cKit 及 Flt3 抑制剂)、阿西替尼 (亦为 cKit 抑制剂)、来他替尼 (亦为 Flt3 及 PKC 抑制剂)、瓦他拉尼 (vatalanib)、坦度替尼 (亦为 Flt3 及 cKit 抑制剂)、帕唑帕尼 (pazopanib)、PF-337210、阿柏西普 (aflikercept)、E-7080、CHIR-258、索拉非尼甲苯磺酸盐 (亦为 Raf 抑制剂)、凡德他尼 (vandetanib)、CP-547632、OSI-930、AEE-788 (亦为 EGFR 及 Her2 抑制剂)、BAY-57-9352 (亦为 Raf 抑制剂)、BAY-73-4506 (亦为 Raf 抑制剂)、XL-880 (亦为 cMet 抑制剂)、XL-647 (亦为 EGFR 及 EphB4 抑制剂)、XL-820 (亦为 cKit 抑制剂)、尼罗替尼 (亦为 cKit 及 bcr-abl 抑制剂)、CYT-116、PTC-299、BMS-584622、CEP-11981、多韦替尼 (dovitinib)、CY-2401401、ENMD-2976 及 BIBF1120。

[0157] 该其它治疗剂亦可选自 EGFR 抑制剂,其可为小分子 EGFR 抑制剂或抗 -EGFR 抗体。抗 EGFR 抗体的实例为 (但不限于) 西妥昔单抗 (cetuximab)、帕尼单抗 (panitumumab)、尼妥珠单抗 (nimotuzumab)、扎妥木单抗 (zalutumumab) ;小分子 EGFR 抑制剂的实例为吉非替尼 (gefitinib)、埃罗替尼 (erlotinib)、凡德他尼 (vandetanib) (亦为 VEGFR 抑制剂) 及阿法替尼 (afatinib) (亦为 Her2 抑制剂)。EGFR 调节剂的另一实施例系 EGF 融合毒素。

[0158] 可与本发明的 CD33 结合剂组合使用的其它 EGFR 及 / 或 Her2 抑制剂是拉帕替尼 (lapatinib)、曲妥珠单抗 (trastuzumab)、帕妥珠单抗 (pertuzumab)、XL-647、来那替尼 (neratinib)、BMS-599626ARRY-334543、AV-412、mAB-806、BMS-690514、JNJ-26483327、AEE-788 (亦 为 VEGFR 抑 制 剂)、AZD-8931、ARRY-380ARRY-333786、IMC-11F8、Zemab、TAK-285、AZD-4769 及阿法替尼 (Her2 及 EGFR 的双重抑制剂)。

[0159] 可与本发明的 CD33 结合剂组合使用的 DNA 聚合酶抑制剂是 Ara-C/ 阿糖胞苷 (cytarabine)、Clolar/ 氯苯吩嗪 (clofarabine)。

[0160] 可与本发明的 CD33 结合剂组合使用的 DNA 甲基转移酶抑制剂是 Vidaza/ 阿扎胞苷。

[0161] 可与本发明的 CD33 结合剂组合使用的细胞凋亡诱导剂是 Trisenox/ 三氧化二砷。

[0162] 可与本发明的 CD33 结合剂组合使用的拓扑异构酶 II 抑制剂是伊达比星 (idarubicin)、柔红霉素及米托蒽醌 (mitoxantrone)。

[0163] 可与本发明的 CD33 结合剂组合使用的 RAR 拮抗剂是 Vesanoid/ 维生素 A 酸 (tretinoin)。

[0164] 可与本发明的 CD33 结合剂组合使用的 HGPRTase 抑制剂是 Mercapto/ 巯嘌呤 (mercaptopurine)。

[0165] 可与本发明的 CD33 结合剂组合使用的组胺 H2 受体拮抗剂是 Ceplene/ 组胺二盐酸盐。

[0166] 可与本发明的 CD33 结合剂组合使用的 CD25 受体激动剂是 IL-2。

[0167] 其它药物亦可选自靶向 IGF-1R 及胰岛素受体路径的药物。所述药物包括与 IGF-1R 结合的抗体 (例如 CP-751871、AMG-479、IMC-A12、MK-0646、AVE-1642、R-1507、BIIB-022、SCH-717454、rhu Mab IGF1R) 及靶向 IGF1-R 的激酶结构域的新颖化学个体 (例

如 OSI-906 或 BMS-554417、XL-228、BMS-754807)。

[0168] 可与本发明的 CD33 结合剂有利地组合用于疗法中的其它药物是靶向 CD20 的分子,包括 CD20 特异性抗体(如利妥昔单抗、LY-2469298、奥瑞珠单抗(ocrelizumab)、MEDI-552、IMMU-106、GA-101(=R7159)、XmAb-0367、奥法妥木单抗(ofatumumab))、放射标记的 CD20 抗体(如托西莫单抗(tositumumab)及替伊莫单抗(ibritumomab tiuxetan))或其它 CD20 定向蛋白质(如 SMIP Tru015、PR0-131921、FBT-A05、维妥珠单抗(veltuzumab)、R-7159)。

[0169] CD33 结合剂可与在白细胞上表达的其它表面抗原的抑制剂、尤其是抗体或抗体样分子组合,例如抗 CD2(西利珠单抗(siplizumab))、抗 CD4(扎木单抗 zanolimumab))、抗 CD19(MT-103、MDX-1342、SAR-3419、XmAb-5574)、抗 CD22(依派佐单抗(epratuzumab))、抗 CD23(鲁昔单抗(lumiliximab))、抗 CD30(伊妥木单抗(iratumumab))、抗 CD32B(MGA-321)、抗 CD38(HuMax-CD38)、抗 CD40(SGN40)、抗 CD52(阿来组单抗(alemtuzumab))、抗 CD80(加利昔单抗(galiximab))。

[0170] 欲与 CD33 结合剂组合的其它药物是免疫毒素样 BL-22(抗 CD22 免疫毒素)、奥英妥珠单抗(inotuzumab ozogamicin)(抗 CD23 抗体-刺孢霉素偶联物)、RFT5. dgA(A 链抗 CD25 蓖麻毒素毒素)、SGN-35(抗 CD30-奥里斯他汀 E 偶联物)、及吉姆单抗(抗 CD33 刺孢霉素偶联物)、MDX-1411(抗 CD70 偶联物)、或放射标记的抗体(如 90Y-依派佐单抗)(抗 CD22 放射免疫偶联物)。

[0171] 另外,CD33 结合剂可与免疫调节剂、诱导细胞凋亡或修饰信号转导路径的药物(例如抗体)组合,如 TRAIL 受体调节剂马帕木单抗(mapatumumab)(TRAIL-1 受体激动剂)、来沙木单抗(lexatumumab)(TRAIL-2 受体激动剂)、替加珠单抗(tigatuzumab)、Apomab、AMG-951 及 AMG-655;抗 HLA-DR 抗体(如 1D09C3)、抗 CD74、破骨细胞分化因子配体抑制剂(如地舒单抗(denosumab))、BAFF 拮抗剂(如 AMG-623a)或 Toll 样受体(例如 TLR-4 或 TLR-9)激动剂。

[0172] 可与本发明的 CD33 结合剂组合使用的其它药物选自但不限于:激素、激素类似物及抗激素(例如他莫昔芬(tamoxifen)、托瑞米芬(toremifene)、雷洛昔芬(raloxifene)、氟维司群(fulvestrant)、乙酸甲地孕酮(megestrol acetate)、氟他胺(flutamide)、尼鲁米特(nilutamide)、比卡鲁胺(bicalutamide)、乙酸环丙孕酮(cyproterone acetate)、非那雄胺(finasteride)、乙酸布舍瑞林(buserelin acetate)、氟氢可的松(fludrocortisone)、氟甲睾酮(flouxymesterone)、甲羟孕酮(medroxyprogesterone)、己酸羟孕酮(hydroxyprogesterone caproate)、己烯雌酚(diethylstilbestrol)、丙酸睾酮(testosterone propionate)、氟羟甲睾酮(flouxymesterone)/等效物、奥曲肽(octreotide)、阿佐昔芬(arzoxifene)、帕西瑞肽(pasireotide)、伐普肽(vapreotide)、肾上腺皮质类固醇/拮抗剂、泼尼松(prednisone)、地塞米松(dexamethasone)、胺鲁米特(aminoglutethimide)、芳香酶抑制剂(例如阿那曲唑(anastrozole)、来曲唑(letrozole)、利阿唑(liarozole)、依西美坦(exemestane)、阿他美坦(atamestane)、福美坦(formestane))、LHRH 激动剂及拮抗剂(例如乙酸戈舍瑞林(goserelin acetate)、亮丙瑞林(leuprolide)、阿巴瑞克(abarelix)、西曲瑞克(cetrorelix)、地洛瑞林(deslorelin)、组胺瑞林(histrelin)、曲普瑞林(triptorelin))、抗代谢物(例如,如

甲胺蝶呤 (methotrexate)、曲美沙特 (trimetrexate)、培美曲塞 (pemetrexed) 等抗叶酸药、如 5- 氟尿嘧啶 (5-fluorouracil)、氟脱氧尿苷 (fluorodeoxyuridine)、卡培他滨 (capecitabine)、地西他滨、耐拉滨 (nelarabine)、5- 氮杂胞苷 (5-azacytidine)、及吉西他滨 (gemcitabine) 等嘧啶类似物、例如巯嘌呤、硫鸟嘌呤 (thioguanine)、硫唑嘌呤 (azathioprine)、克拉屈滨 (cladribine) 及喷司他丁 (pentostatin)、阿糖胞苷、氟达拉滨 (fludarabine)、氯苯吩嗪等嘌呤及腺苷类似物) ; 抗肿瘤抗生素 (例如蒽环抗生素 (anthracycline), 如多柔比星、柔红霉素、表柔比星 (epirubicin) 及伊达比星、丝裂霉素 (mitomycin-C)、博来霉素 (bleomycin)、放线菌素 D (dactinomycin)、普卡霉素 (plicamycin)、splicamycin、放线菌素 -D (actinomycinD)、米托蒽醌、米托蒽醌伊达比星、匹杉琼 (pixantrone)、链尿霉素 (streptozocin)、阿非科林 (aphidicolin)) ; 铂衍生物 (例如顺铂、奥沙利铂 (oxaliplatin)、卡铂 (carboplatin)、洛铂 (lobaplatin)、沙铂 (satraplatin)) ; 烷化剂 (例如雌莫司汀 (estramustine)、司莫司汀 (semustine)、氮芥 (mechlorethamine)、美法仑 (melphalan)、苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、白消安 (busulphan)、达卡巴嗪 (dacarbazine)、环磷酰胺 (cyclophosphamide)、异环磷酰胺 (ifosfamide)、羟基脲 (hydroxyurea)、替莫唑胺 (temozolomide)、例如卡莫司汀 (carmustine) 及洛莫司汀 (lomustine) 等亚硝基脲类 (nitrosoureas)、噻替派 (thiotepa)) ; 抗有丝分裂剂 (例如长春花生物碱, 如长春碱 (vinblastine)、长春地辛 (vindesine)、长春瑞滨 (vinorelbine)、长春氟宁 (vinflunine) 及长春新碱 (vincristine) ; 及紫杉烷 (taxane), 如紫杉醇 (paclitaxel)、多西他赛 (docetaxel) 及其调配物、拉洛他赛 (larotaxel) ; 西莫他赛 (simotaxel) 及埃博霉素, 如伊沙匹隆 (ixabepilone)、帕土匹隆 (patupilone)、ZK-EP0) ; 拓扑异构酶抑制剂 (例如表鬼臼毒素 (epipodophyllotoxin), 如依托泊苷 (etoposide) 及凡毕复 (etopophos)、替尼泊苷 (teniposide)、安吡啶 (amsacrine)、托泊替康 (topotecan)、伊立替康 (irinotecan)、巴诺蒽醌 (banoxantrone)、喜树碱) 及各种化学药物, 例如视黄酸衍生物、胺磷汀 (amifostine)、阿那格雷 (anagrelide)、干扰素 α 、干扰素 β 、干扰素 γ 、白介素 -2、丙卡巴肼 (procarbazine)、N- 甲基肼、米托坦 (mitotane)、及吡菲尔钠 (porfimer)、贝沙罗汀 (bexarotene)、塞来昔布 (celecoxib)、亚乙基亚胺 / 甲基 - 密胺、三亚乙基密胺、三亚乙基硫代磷酰胺、六甲基密胺、及酶 L- 天冬酰胺酶、L- 精氨酸酶及甲硝唑 (metronidazole)、醚醇硝唑 (misonidazole)、去甲基醚醇硝唑 (desmethylnisonidazole)、哌莫硝唑 (pimonidazole)、依他硝唑 (etanidazole)、硝唑吗啉 (nimorazole)、RSU1069、E09、RB6145、SR4233、烟酰胺 (nicotinamide)、5- 溴脱氧尿苷 (5-bromodeoxyuridine)、5- 碘脱氧尿苷 (5-iododeoxyuridine)、溴脱氧胞苷 (bromodeoxycytidine)、赤型羟基壬基腺嘌呤 (erythrohydroxynonyl-adenine)、蒽二酮 (anthracenedione)、GRN-163L (竞争性端粒酶模板拮抗剂)、SDX-101 (PPAR 激动剂)、他波司他 (talabostat) (DPP 抑制剂)、呋咯地辛 (forodesine) (PNP 抑制剂)、阿塞西普 (atacept) (靶向 TNF 家族成员 BlyS 及 APRIL 的可溶性受体)、TNF- α 中和剂 (Enbrel、Humira、Remicade)、XL-844 (CHK1/2 抑制剂)、VNP-40101M (DNA 烷化剂)、SPC-2996 (反义 bcl2 抑制剂)、奥巴克拉 (obatoclax) (bcl2 抑制剂)、因扎斯道宁 (enzastaurin) (PKC β 调节剂)、伏林司他 (vorinostat) (HDAC 抑制剂)、罗米地辛 (romidepsin) (HDAC 抑制剂)、AT-101 (Bcl-2/Bcl-xL 抑制剂)、普利肽新

(plittidepsin)(多作用缩肽)、SL-11047(聚胺代谢调节剂)。

[0173] 本发明的 CD33 结合剂亦可与其它疗法组合使用,所述疗法包括外科手术、干细胞移植、放射疗法、内分泌疗法、生物反应调节剂、高温疗法及冷冻疗法、及减少任何不利效应的药物(例如,止吐药)、G-CSF、GM-CSF;例如血卟啉衍生物、Photofrin、苯并卟啉衍生物、Npe6、初卟啉锡(tin etioporphyrin)、pheoboride-a 细菌叶绿素-a、萘酞菁、酞菁、锌酞菁等光敏剂。

[0174] 药物组合物及给予方法

[0175] CD33 结合剂可呈容许将组合物给予患者的任一形式。举例而言,组合物可呈固态或液体形式。施用的优选方式是通过输注或注射(静脉内、肌内、皮下、腹腔内、皮内)的非经肠施用方式,但亦可采用例如吸入、经皮、鼻内、含服、口服及肿瘤内等其它施用方式。非经肠给予包括皮下注射、静脉内、肌内、胸骨内(intrasternal)注射或输注技术。在一个方面中,非经肠给予组合物。在又一方面中,静脉内给予化合物。

[0176] 药物组合物可经调配以使在给予患者组合物时化合物具有生物利用度。组合物可采取一或多个剂量单元形式,例如,其中呈气溶胶形式的化合物的容器可容纳复数个剂量单元。

[0177] 用于制备药物组合物的材料的所用量可为非毒性。本领域技术人员将明了,药物组合物中的活性成份的最佳剂量将取决于多个因素。相关因素包括但不限于患者类型(例如人类)、化合物的特定形式、给予方式及所用组合物。

[0178] 医药上可接受的载剂或媒剂可为颗粒,以使组合物呈(例如)粉末形式。载剂可为液体,其中组合物为(例如)可注射液。组合物可呈(例如)用于非经肠注射的液体形式。在通过注射给予的组合物中,亦可包括表面活性剂、防腐剂、润湿剂、分散剂、助悬剂、缓冲剂、稳定剂及等渗剂中的一或多者。

[0179] 液体组合物不管是液体、悬浮液还是其它类似形式均亦可包括以下中的一或多者:无菌稀释剂,例如注射用水、盐水溶液(优选生理盐水)、林格氏溶液(Ringer's solution)、等渗氯化钠、固定油(例如合成甘油单酯或甘油二酯,其可用作溶剂或悬浮介质)、聚乙二醇、甘油、环糊精、丙二醇或其它溶剂;稳定剂,例如氨基酸;表面活性剂,例如聚山梨醇酯;抗菌剂,例如苄醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,例如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,例如乙二胺四乙酸;缓冲剂,例如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐;及用于调节等渗性的试剂,例如氯化钠或右旋糖。非经肠组合物可封闭于安瓿(由玻璃、塑料或其它材料制得的可弃式唧筒或多剂量小瓶)中。生理盐水是例示性佐剂。可注射组合物优选无菌。

[0180] CD33 结合剂亦可经干燥(冷冻干燥、喷雾干燥、喷雾冷冻干燥、借助近临界或超临界气体干燥、真空干燥、风干)、沉淀或结晶或包封于微囊中,所述微囊在胶体药物递送系统(例如,脂质体、白蛋白微球体、微乳液、奈米颗粒及奈米胶囊)、粗滴乳液中通过(例如)凝聚技术或界面聚合分别使用(例如)羟甲基纤维素或明胶及聚-(甲基丙烯酸甲酯)制备,或(例如)通过 pcmc 技术(蛋白质涂覆微晶)沉淀或固定于载剂或表面上。所述技术公开于 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第 21 版(Hendrickson R. 编辑)中。

[0181] 可有效治疗特定病症或病况的组合物的量将取决于该病症或病况的性质,且可通过标准临床技术测定。另外,可任选采用活体外或活体内分析以有助于确定最佳剂量范围。

组合物中所用确切剂量亦将取决于给予途径、及疾病或病症的严重性，且应根据从业医师的判断及各患者的情况来决定。

[0182] 组合物包含有效量的药物或药剂以使得可获得适宜剂量。通常，此量以组合物的重量计至少为约 0.01% 的药物或药剂。在意欲口服给予时，此量可变为以组合物的重量计约 0.1% 至约 80% 的范围。在一个方面中，口服组合物可包含以组合物的重量计约 4% 至约 50% 的化合物。在又一方面中，制备本发明组合物以使非经肠剂量单元含有约 0.01 重量 % 至约 2 重量 % 化合物。

[0183] 对于静脉内给予而言，组合物可包含约 1mg 至约 50mg 药物或药剂 /kg 患者体重。在一个方面中，组合物可包括约 1mg、1.5mg 或 2.5mg 至约 50mg 药物或药剂 /kg 患者体重。在另一方面中，所给予量可在约 1mg、1.5mg 或 2.5mg 至约 25mg 药物或药剂 /kg 体重范围内。

[0184] 在一些实施方案中，给予患者的剂量是 0.1mg/kg 以下至约 50mg/kg 患者体重。（换算成 mg/mm² 时，可使用 1.8m² 的 BSA 及 80kg 的体重）。

[0185] 如本文所论述，可以（例如）每日、每周、每两周、每三周或每月的时间表向患者经静脉内或皮下给予 CD33 结合剂。举例而言，可每周给予 CD33 结合剂达 2 至 10 周、通常 3 至 6 周的时段。在一些实施方案中，CD33 结合剂的给药方案将抗体的血清浓度在给药循环期间维持为至少 5 μg/ml 或至少 10 μg/ml。可给予 CD33 结合剂（例如）1 至 8 或更多个循环。在一些实施方案中，长期向个体给予 CD33 结合剂。

[0186] 举例而言，本发明包括治疗癌症（例如骨髓性白血病）的方法，其通过每周给予 0.1mg/kg 至 50mg/kg、例如约 1.5-8 或 2.5-8mg/kg 本发明的抗 CD33 抗体来完成。此治疗通常可持续约 1 至 3 个月、通常约 2 个月。在一实施方案中，维持给药时间表直至注意到急剧降低。举例而言，给药可持续高达约 6 个月。此治疗之后可实行较不频繁的给药时间表，包括（例如）每两周给药（或每月两次）。此给予时间表可维持 1、2、3、4、5、6 个月或更长时间以维持急剧降低及 / 或缓解。

[0187] 在一些实施方案中，预防性药物可与 CD33 结合剂一起给予以使输注反应最小化。适宜的预防性药物包括（例如）甲基泼尼松龙 (methyl prednisolone)、苯海拉明 (diphenhydramine)、对乙酰氨基酚 (acetaminophen) 或其他适宜药物。预防性药物可在 CD33 结合剂之前或同时给予。

[0188] 可通过任一方便途径（例如，通过输注或推注、通过经由上皮或皮肤黏膜衬里（例如，口腔黏膜、直肠及肠黏膜等）吸收）给予药物或药剂。给予可为全身性或局部给予。已知各种递送系统，例如，囊封于脂质体、微粒、微囊、胶囊等中，且其可用于给予化合物。在某些实施方案中，向患者给予一种以上药物或药剂或组合物。

[0189] 视药物或药剂的需要，可期望向需要治疗的区域局部给予一或多种药物或药剂或组合物。此可通过（例如，且不限于）在外科手术期间局部输注；在外科手术术后外敷施用（例如，结合伤口敷料）；通过注射：借助导管；借助栓剂；或借助植入体，该植入体为多孔、非多孔或凝胶状材料，包括例如硅橡胶膜 (sialastic membrane) 等膜或纤维）来达成。在一个实施方案中，可为在癌症、肿瘤或瘤形成或瘤形成组织前组织的位点（或前位点）直接注射而达成给予。

[0190] 药物或药剂或组合物可以控制释放系统（例如帮浦或各种聚合材料）递送。在又一实施方案中，控制释放系统可靠近药物或药剂或组合物的靶放置，因此仅需要全身

剂量的一部分（例如，参见 Goodson, Medical Applications of Controlled Release, 第 2 卷, 第 115-138 页 (1984)）。可使用论述于 Langer 的综述中的其他控制释放系统 (1990, Science249:1527-1533)。

[0191] 视药物或药剂的需要, 根据常规操作将药物或药剂调配为适于静脉内给予动物（尤其人类）的药物组合物。通常, 用于静脉内给予的载剂或媒剂是无菌等渗缓冲水溶液。若需要, 组合物亦可包括增溶剂。用于静脉内给予的组合物可视需要包含局部麻醉剂（例如利多卡因 (lignocaine) 以减轻注射维持处的疼痛。通常, 各成份单独或混合在一起以单位剂型来供应, 例如, 作为冻干粉末或无水浓缩物存于例如安瓿或药囊等标明活性剂的量的密封容器中。若药物或药剂是通过输注来给予, 则可将其分配至（例如）含有无菌医药级水或盐水的输注瓶中。若药物或药剂是通过注射来给予, 则可提供含有注射用无菌水或盐水的安瓿以使得可在给予之前混合各成份。

[0192] 亦可根据接受剂型以（例如）片剂、锭剂、水性或油性悬浮液、颗粒、粉末、乳液、胶囊、糖浆或酏剂形式给予治疗剂的组合物。口服给予的组合物可含有一或多种可选试剂（例如, 甜味剂, 例如果糖、天冬甜素或糖精; 矫味剂, 例如薄荷、冬青油或樱桃; 着色剂; 及防腐剂）以提供医药上可口的制剂。此外, 若呈片剂或丸剂形式, 则组合物可经包衣以延迟在胃肠道中的崩解及吸收, 藉此在延长时间段内提供持续作用。包围渗透活性驱动化合物 (driving compounds) 的选择性可渗透膜亦适用于口服给予的药物或药剂。在后者这些平台中, 通过驱动化合物吸取胶囊周围环境的流体, 该驱动化合物会膨胀以经由孔转移该药物或药物组合物。与即刻释放调配物的有尖顶曲线相比, 所述递送平台可提供基本上零级的递送曲线。亦可使用例如甘油单硬脂酸酯或甘油硬脂酸酯等延时材料。

[0193] 组合物可包括修饰固体或液体剂量单元的物理形式的各种材料。举例而言, 组合物可包括在活性成份周围形成包衣壳的材料。形成包衣壳的材料通常是惰性材料且可选自（例如）糖、虫胶或其它肠溶包衣试剂。或者, 可将活性成份封装于明胶胶囊中。

[0194] 可以由主治医师确定的频率或持续时间段向有需要的患者给予组合物。可经 1 天、2 天、3 天、5 天、7 天、10 天、14 天、21 天、28 天、1 个月、2 个月的时间或更长时间给予组合物。应理解, 可经介于 1 天与两个月或更长时间之间的任一时间段给予组合物。

[0195] 抗体的产生

[0196] 可使用用于抗体的合成的任一方法、具体而言例如通过重组表达或化学合成产生抗体。

[0197] 抗体或其片段或衍生物的重组表达通常包括编码抗体的核酸的构建。若已知抗体的核苷酸序列, 则编码抗体或其多肽的核酸可自化学合成的寡核苷酸组装（例如, 如 Kutmeier 等人, 1994, BioTechniques17:242 中所述）, 其包括含有编码抗体的序列的部分的重迭寡核苷酸的合成、那些寡核苷酸的退火及连接、及随后通过（例如）PCR 使连接的寡核苷酸扩增。

[0198] 或者, 可自适宜的来源生成编码抗体或其多肽的核酸分子。若不能获得含有编码特定抗体的核酸的纯系, 但已知抗体的序列, 则编码抗体的核酸可自适宜来源（例如, 自表达免疫球蛋白的任何组织或细胞生成的抗体 cDNA 文库、或 cDNA 文库）通过（例如）使用可与序列的 3' 及 5' 末端杂交的合成引物的 PCR 扩增或通过使用对特定基因序列具有特异性的寡核苷酸探针选殖来获得。

[0199] 若特异性识别特定抗原的抗体不可购得（或用于选殖编码该免疫球蛋白的核酸的 cDNA 文库的来源不可购得），则可通过本领域已知的任一方法（例如，通过对患者进行免疫）、或适宜动物模型（例如兔或小鼠）以生成多克隆抗体、或更优选的通过生成单克隆抗体来生成对特定抗原具有特异性的抗体，如（例如）Kohler 及 Milstein(1975, Nature256:495-497) 所述，或如 Kozbor 等人 (1983, Immunology Today4:72) 或 Cole 等人 (1985, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss 公司, 第 77-96 页) 所述。或者，至少编码抗体的 Fab 部分的纯系，可通过筛选结合特定抗原的 Fab 片段的纯系的 Fab 表达文库（例如，如 Huse 等人, 1989, Science246, 1275-1281 中所述）或通过筛选抗体文库（例如，参见 Clackson 等人, 1991, Nature352:624 ;Hane 等人, 1997, Proc. Natl. Acad. Sci. USA94:4937) 获得。

[0200] 在获得至少编码抗体的可变结构域的核酸序列后，可将其引入含有编码抗体的恒定区的核苷酸序列的载体中（例如，参见国际公开案第 W086/05807 号；第 W089/01036 号；及美国专利第 5, 122, 464 号）。可获得含有完整轻链或重链，从而可表达完整抗体分子的载体。随后，编码抗体的核酸可用于引入核苷酸取代或缺失，该取代或缺失对用不含巯基的氨基酸残基取代（或缺失）一或多个参与链内二硫键的可变区半胱氨酸残基而言是必需的。所述修饰可通过本领域已知的在核苷酸序列中引入特定突变或缺失的任一方法（例如但不限于化学诱变及活体外定向诱变）来实施（例如，参见 Hutchinson 等人, 1978, J. Biol. Chem. 253:6551）。

[0201] 另外，已研发产生“嵌合抗体”的技术（例如，参见 Morrison 等人, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA81:851-855 ;Neuberger 等人, 1984, Nature312:604-608 ;Takeda 等人, 1985, Nature314:452-454）。嵌合抗体是不同部分源自不同动物物种的分子，例如那些具有源自鼠类单克隆抗体的可变区及人类免疫球蛋白恒定区的分子（例如人类化抗体）。

[0202] 在获得编码抗体的核酸序列后，可通过使用本领域已知的技术的重组 DNA 技术产生用于产生抗体的载体。可用本领域技术人员已知来构建含有编码抗体的序列及适当转录及翻译控制信号的表达载体。所述方法包括（例如）活体外重组 DNA 技术、合成技术及活体内遗传重组。举例而言，参见以下中所述技术：Sambrook 等人 (1990, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 第 2 版, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY；及 Sambrook 等人, 2001 ;Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 第 3 版, Cold Spring Harbor Publish., Cold Spring Harbor, N. Y.) 及 Ausubel 等人（编辑, 1993-2006, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY）。

[0203] 可通过常规技术（例如，电穿孔、脂质体异动、磷酸钙沉淀或转导）将包含抗体核苷酸序列或抗体核苷酸序列的表达载体转移至宿主细胞，且随后通过常规技术培养所得细胞以产生抗体。在具体实施方案中，通过组成型、诱导型或组织特异性启动子调控抗体的表达。

[0204] 尤其对于重组免疫球蛋白分子的表达而言，用于表达重组抗体的宿主细胞可为细菌细胞（例如大肠杆菌 (*Escherichia coli*)）或优选真核细胞。特别是，哺乳动物细胞（例如中国仓鼠卵巢细胞 (CHO)）与含有来自人类巨细胞病毒的主要中早期基因启动子组件的载体的组合是免疫球蛋白的有效表达系统（例如，参见 Foecking 等人, 1986, Gene45:101；Cockett 等人, 1990, BioTechnology8:2）。CHO 细胞系可为（例如）DG44 或 CHO-S。在另一

实施例中,可使用 CHEF 系统表达抗体。(例如,参见美国专利第 5,888,809 号)。

[0205] 可采用多种其它宿主-表达载体来表达抗体。所述宿主表达系统表示可产生且随后纯化抗体的编码序列的媒介,但亦表示在利用适当核苷酸编码序列转化或转染时可原位表达抗体免疫球蛋白分子的细胞。所述系统包括但不限于经含有免疫球蛋白编码序列的重组噬菌体 DNA、质粒 DNA 或黏粒 DNA 表达载体转化的微生物(例如细菌,例如大肠杆菌及枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*));经含有抗体编码序列的重组酵母表达载体转化的酵母(例如,毕氏酵母(*Saccharomyces pichia*));经含有免疫球蛋白编码序列的重组病毒表达载体(例如,杆状病毒)感染的昆虫细胞系统;经重组病毒表达载体(例如,花椰菜花叶病毒(CaMV)及烟草花叶病毒(TMV))感染或经含有抗体编码序列的重组质粒表达载体(例如 Ti 质粒)转化的植物细胞系统;或具有重组表达构建体的哺乳动物细胞系统(例如, COS、CHO、CHO-S、BH、293、293T 或 3T3 细胞),所述构建体含有源自哺乳动物细胞的基因组的启动子(例如,金属硫蛋白启动子)或源自哺乳动物病毒的启动子(例如,腺病毒晚期启动子;疫苗病毒 7.5K 启动子)。

[0206] 在细菌系统中,可根据所表达抗体的既定用途有利地选择多种表达载体。举例而言,在欲产生大量该蛋白质时,可期望引导表达大量易纯化融合蛋白产物的载体。所述载体包括但不限于大肠杆菌表达载体 pUR278(Ruther 等人,1983,EMBOJ. 2:1791-94),其中可将抗体编码序列个别地连接至载体中并与 lac Z 编码区同框,从而使得可产生融合蛋白;pIN 载体(Inouye 及 Inouye,1985,Nucleic Acids Res. 13:3101-3109;Van Heeke 及 Schuster,1989,J. Biol. Chem. 24:5503-5509);等等。pGEX 载体亦可用于将外来多肽表达为与谷胱甘肽 S-转移酶(GST)的融合蛋白。一般而言,所述融合蛋白可溶且易于通过以下方式自溶解细胞纯化:吸附并结合至谷胱甘肽-琼脂糖珠粒基质,之后在游离谷胱甘肽存在下洗脱。pGEX 载体经设计以包括凝血酶或因子 Xa 蛋白酶裂解位点以使得可自 GST 部分释放所选靶基因产物。

[0207] 在昆虫系统中,苜蓿银纹夜蛾(*Autographa californica*)核型多角体病毒(AcNPV)或来自黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)的类似病毒可作为载体用于表达外来基因。病毒在福吉斜纹夜蛾(*Spodopiera frugipenta*)细胞中生长。可将抗体编码序列个别地选殖至病毒的非必需区(例如,多角体蛋白基因)中并置于 AcNPV 启动子(例如多角体蛋白启动子)控制下。

[0208] 在哺乳动物宿主细胞中,可采用多种基于病毒的表达系统。在使用腺病毒作为表达载体的情形下,可将目标抗体编码序列连接至腺病毒转录/翻译控制复合物(例如,晚期启动子及三联前导序列)。随后可通过活体外或活体内重组将此嵌合基因插入腺病毒基因组中。于病毒基因组的非必需区(例如,区 E1 或 E3)中的插入,产生有活力且能够表达感染宿主中的免疫球蛋白分子的重组病毒。(例如,参见 Logan 及 Shenk,1984,Proc. Natl. Acad. Sci. USA81:355-359)。亦可需要特异性起始信号以便有效翻译插入的抗体编码序列。所述信号包括 ATG 起始密码子及毗邻序列。此外,起始密码子可操作地与期望编码序列的读码框(reading frame)相关以确保完整插入的翻译。所述外源性翻译控制信号及起始密码子可具有多种天然和合成的起源。可通过纳入适当转录增强子组件、转录终止子等增强表达效率(例如,参见 Bittner 等人,1987,Methods in Enzymol. 153:51-544)。

[0209] 另外,宿主细胞菌株可选择以调节插入序列的表达、或以期望的特定方式修饰

并处理基因产物。蛋白产物的所述修饰（例如糖基化）及处理（例如裂解）对于蛋白质的功能可为重要的。不同宿主细胞针对蛋白质及基因产物的翻译后处理及修饰具有独特且特异的机制。适当细胞系或宿主系统可经选择以确保所表达外来蛋白质的正确修饰及处理。为此，可使用对初级转录物的适宜加工、基因产物的糖基化及磷酸化具有细胞机制的真核宿主细胞。所述哺乳动物宿主细胞包括但不限于 CHO（例如 DG44 或 CHO-S）、VERY、BH、HeLa、COS、MDCK、293、293T、3T3、WI38、BT483、Hs578T、HTB2、BT20 及 T47D、CRL7030 及 Hs578Bst。

[0210] 对于重组蛋白的长期、高产率生产而言，稳定表达为优选。举例而言，可对稳定表达抗体的细胞系进行改造。与其使用含有病毒复制起源的表达载体，宿主细胞可用受适当表达控制组件（例如，启动子、增强子、序列、转录终止子、聚腺苷酸化位点等）控制的 DNA 及可选择标记转化。在引入外来 DNA 之后，可使经改造的细胞在富集培养基（enriched media）中生长 1 至 2 天且随后转换至选择性培养基。重组质粒的可选择标记可赋予针对该选择的抗性并容许细胞将质粒稳定地整合入其染色体中并生长，形成随后可经选殖并扩增成细胞系的转化灶的细胞。此方法可有利地用于改造表达抗体的细胞系。所述经改造细胞系尤其可用于直接或间接与抗体相互作用的肿瘤抗原的筛选及评价。

[0211] 可使用多种选择系统。举例而言，单纯性疱疹病毒胸苷激酶（例如，参见 Wigler 等人，1977, Cell 11:223）、次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶（例如，参见 Szybalska 及 Szybalski, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:202）及腺嘌呤磷酸核糖转移酶（例如，参见 Lowy 等人，1980, Cell 22:817）基因可分别用于 tk⁻、hgp⁺ 或 ap⁺ 细胞中。同样，抗代谢物抗性可用作对于下列基因进行选择的基础：DHFR，其赋予甲胺蝶呤抗性（例如，参见 Wigler 等人，1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:3567-70；O'Hare 等人，1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527-31）；gpt，其赋予霉酚酸抗性（例如，参见 Mulligan 及 Berg, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072-76）；neo，其赋予氨基糖苷 G-418 抗性（例如，参见 Clinical Pharmacology 12:488-505；Wu 及 Wu, 1991, Biotherapy 3:87-95；Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596；Mulligan, 1993, Science 260:926-932；Morgan 及 Anderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217；及 May, 1993, TIB TECH 11(5):155-215）及 hyg⁺，其赋予潮霉素抗性（例如，参见 Santerre 等人，1984, Gene 30:147-50）。重组 DNA 技术领域公知的可使用的方法阐述于以下文献中：Ausubel 等人（编辑，1993-2006, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY；Kriegler, 1990, Gene Transfer and Expression. A laboratory Manual, Stockton Press, NY；及第 12 及 13 章，Dracopoli 等人（编辑，1994, Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY；及 Colberre-Garapin 等人，1981, Mol. Biol. 150:1-14）。

[0212] 可通过载体扩增提高抗体的表达程度（关于综述，参见 Bebbington 及 Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, 第 3 卷 (Academic Press, New York, 1987)）。在表达抗体的载体系统中的标记可扩增时，增加存于宿主细胞的培养物中的抑制剂的含量可增加标记基因的拷贝数。由于该扩增区与抗体的核苷酸序列缔合，因此亦可增加抗体的产量（例如，参见 Crouse 等人，1983, Mol. Cell. Biol. 3:257-66）。

[0213] 宿主细胞可与两个表达载体共转染，第一载体编码重链衍生的多肽且第二载体编码轻链衍生的多肽。两个载体可含有使得重链及轻链多肽同等表达的相同或不同的可选

择标记。或者,单一载体可用于编码重链及轻链两种多肽。在该情况下,通常将轻链置于重链之前以避免毒性游离重链的过量(例如,参见 Proudfoot, 1986, Nature322:562-65; Kohler, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA77:2197-9)。重链及轻链的编码序列可包含 cDNA 或基因组 DNA。

[0214] 在重组表达抗体后,其可使用适于纯化抗体的任一方法来纯化,例如通过色谱(例如,离子交换色谱、亲和色谱(尤其是用于特异性抗原的蛋白 A 亲和色谱)及分子筛(sizing)柱色谱)、离心、差别性溶解或通过用于纯化蛋白的任一其它标准技术。

[0215] 用于制备本发明单克隆抗体的所有步骤的全面参考文献是 Yokoyama 等人,“Production of Monoclonal Antibodies”, Current Protocols in Immunology, Unit2.5, 2006。

实施例

[0216] 实施例 1, 对 CD33 的亲和力

[0217] 在细胞系 HL60 及 HEK293- 短尾猴 CD33 中, CD33 结合剂对人类及短尾猴 CD33 的亲和力 K_D 分别为 10nM 或更小。

[0218] 在 CD33 表达细胞 (AML 衍生的 HL60 细胞系、重组 HEK293- 短尾猴 CD33 细胞系) 上通过 FACS 斯卡查德分析 (Scatchard analysis) (如 Brockhoff 等人 (Cytometry. 1994 年 9 月 1 日; 17(1):75-83) 所述) 来确定针对人类及短尾猴 CD33 的 14 种 CD33 结合剂 (如表 1 中分别列举为 1 至 14 号的完全人类单克隆抗体)。简言之, 在 96 孔板中以第一孔中的 100-400nM 开始制备 CD33 结合剂稀释物 (80 μ l), 之后进行 11 个稀释步骤 (1:2, 40+40 μ l)。向 FACS 管中添加 50 μ l CD33 结合剂稀释物, 向每一 FACS 管中添加 150 μ l 细胞 ($0.8 \times 10^6/\text{ml} = 1.2 \times 10^5$ 个细胞 / 管)。轻柔混合各细胞并在冰上培育 1 小时。其后, 添加 50 μ l FITC 偶联二级抗体 (浓度 15 μ g/ml; 小鼠 mAb 抗人类 IgG), 混合并在冰上培育 30 分钟。其后添加 4ml 含有 0.02% 酸的 PBS (pH7.2), 使细胞沉淀并重新悬浮于 300 μ l PBS (pH7.2) 中并使用 BD FACS Canto 进行分析。所有实验步骤均为在湿冰上实施, 所有 CD33 结合剂稀释物均在 PBS/0.5%BSA+0.02% 酸中制得。使用 Quantum FITC MESF (Premix) Beads (Bangs Laboratories) 实施 FACS 校正。使用相同 FACS 参数测量所有试样。在不同 CD33 结合剂浓度下自 MFI 值计算结合 IgG 对游离 IgG 之比, 并将其绘制为斯卡查德图。通过所得数据点绘示回归线, 此线的斜率对应于缔合常数的负值。结果列举于表 2 中。

[0219]

编号	纯系 ID 编号	人类 CD33 K _D (nM)	短尾猴 CD33 K _D (nM)
1	280-03-08	0.3	0.03
2	280-21-09	0.4	0.3
3	280-29-12	0.5	0.6
4	280-31-01	0.4	0.3
5	280-31-01(mut)	1	0.5
6	280-34-02	0.3	0.5
7	280-50-01	0.3	0.5
8	280-50-01(mut)	0.4	1.7
9	280-61-07	0.3	0.4
10	283-03-03	0.3	1.9
11	283-05-01	0.2	1.1
12	283-07-03	0.3	2.1
13	283-11-03	0.3	0.6
14	283-14-01	3.2	2.3

[0220] 表 2

[0221] 实施例 2 :内在化动力学

[0222] 抗体的内在化是指在与抗体一起培育后靶细胞的细胞表面上的抗体 / 抗原复合物的量减少。利用表达 CD33 的 HL60 细胞系实施内在化测试。在 37° C 将细胞与固定量的 CD33 结合剂 (10 μg/ml 的如表 1 中列举为 1 至 14 号的完全人类单克隆抗体) 一起培育预定的时间段 (0 小时、1 小时、4 小时、24 小时) 以使抗体 / 抗原复合物内在化。在指定时间点时,向培育混合物中添加酸以防止进一步内在化。其后,添加固定量的 CD33 结合剂以使细胞表面上的所有 CD33 抗原位点饱和。通过 FACS 分析利用 FITC 偶联抗人类 IgG 二级抗体测定结合于细胞表面的 CD33 结合剂的总量。时间点 0 小时用于测定表面上的 CD33 抗体 / 抗原复合物的初始含量且定义为 100%。结果列举于表 3 中且绘示于图 1-3 中。

[0223]

编号	纯系 ID 编号	在与抗体培育 4 小时后细胞表面上剩余的 CD33 抗体/抗原复合物(%)
1	280-03-08	49
2	280-21-09	41
3	280-29-12	49
4	280-31-01	44
5	280-31-01(mut)	52
6	280-34-02	44
7	280-50-01	53
8	280-50-01(mut)	55
9	280-61-07	47
10	283-03-03	45
11	283-05-01	51
12	283-07-03	48
13	283-11-03	46
14	283-14-01	47

[0224] 表 3

[0225] 包括林妥珠单抗作为参照抗体。根据公开资料,林妥珠单抗 /CD33 复合物在林妥珠单抗结合时快速内在化。在 4 小时培育时段后,仅 CD33/ 林妥珠单抗复合物的初始量的约 20% 留在细胞表面上。其可证实,出人意料地,与林妥珠单抗相比,本发明的所有 14 种 CD33 结合剂的内在化均减速。

[0226] 实施例 3 :ADCC 活性

[0227] 内在化速率的减速转变成活体外 ADCC 活性的增强。为评定减速内在化对 CD33 结合剂(如表 1 中列举为 1 至 14 号的完全人类单克隆抗体)的 ADCC 活性的效应,将靶细胞(HL60)与 CD33 结合剂一起培育 0 小时、1 小时、4 小时及 24 小时。随后,利用 IL-2 刺激的 PBMC 作为效应细胞及经抗体涂覆的 HL60 细胞作为靶细胞实施 ADCC 分析。对于所有实验而言,使用 30 μ g/ml 的 mAb 浓度。在 96 孔圆底微量滴定板中在 CD33 结合剂存在下一式四份或一式三份地共培养效应细胞与靶细胞,其中使用由存于 RPMI 中的 10% 人类血清及 1%BSA(两者之比为 1:1)组成的最终体积 200 μ l/ 孔的分析培养基。首先,平铺效应细胞(新鲜分离的 PBMC 细胞,将其置于溶于 RPMI 中的 10% 人类血清(100 μ l/ 孔)中),之后平铺靶细胞及 CD33 结合剂溶液(稀释于溶于 RPMI 中的 1%BSA(50 μ l)中)。作为对照,在单独分析培养基中培养效应细胞(效应细胞对照)且在单独分析培养基中(自发溶解)或在补充有 1%TritonX-100 的分析培养基中(最大溶解)培养靶细胞。在 37° C 将共培养物在湿 CO₂ 培育箱中培育 3 小时。在培育结束时,于室温下通过离心(200 $\times$ g,即 1000rpm;10 分钟)自培养基移出培育细胞。将无细胞的上清液(100 μ l/ 孔)转移至 96 孔平板的相应孔中。为测定所述上清液中的 LDH 活性,向每一孔中添加 100 μ l 反应混合物(新鲜混合的 250 μ l 催化剂与 11.25ml 染料溶液)并在室温于黑暗中培育 30 分钟。随后如下文所述测量吸光度。

[0228] 使用细胞毒性检测试剂盒(LDH ;Roche11644793001) 测量 ADCC 活性。细胞毒性的检测基于自质膜受损细胞释放的 LDH 酶活性的测量。释放至培养物上清液中的 LDH 将试剂盒的四唑盐还原为甲臞(formazan)。于 490nm 下针对 650nm 的参照波长在 ELISA 板读数器中测量甲臞染料的最大吸收。为测定细胞介导的细胞毒性百分比,计算一式四份或一式三份的平均吸光度并减去背景。将所述校正值代入以下方程中以计算 ADCC(%) :

[0229] (效应 / 靶细胞混合物 - 效应细胞对照 - 自发释放) 除以 (最大释放 - 自发释放)

[0230] 将时间点 0 小时(无靶细胞的抗体预培育)时的 ADCC 活性定义为 100%ADCC 活性。相对于时间点 0 小时计算抗体预培育的不同时间点的 ADCC 活性并表示为相对细胞毒性(%)。

[0231] CD33 结合剂与林妥珠单抗相比的减速内在化产生与林妥珠单抗相比增强的 ADCC 活性。总之,减速内在化导致 ADCC 活性增强。所述 CD33 结合剂的内在化与 CD33 结合剂的 ADCC 活性呈负相关,其可指示关于所述 CD33 结合剂的临床活性的优势。针对此实验中的内在化动力学的结果绘示于图 4 中且针对 ADCC 活性的结果绘示于图 5 中。

[0232] 实施例 4 :表位的测绘(mapping)

[0233] 通过氢交换质谱(HXMS)测定相对于林妥珠单抗的表位的本文所述 CD33 结合剂的结合表位。

[0234] 此方法测定 CD33 蛋白质的酰胺骨架氢与 D₂O 交换的易感性。利用单独重组 CD33

蛋白质及添加有 CD33 结合剂 / 林妥珠单抗的 CD33 蛋白质（在此实施例的下文中称作“抗体”）执行所述实验。由此鉴定 CD33 蛋白质中由于结合抗体而显示显著抗交换保护的区。通过利用胃蛋白酶消化产生的肽测定该方法的分辨率,例如,所得氨基酸序列可大于抗体的实际表位。通过其它对照实验利用使用标准精确质量及 HPLC MS/MS 技术的未变化试样鉴定所述 CD33 衍生的肽。

[0235] 对于蛋白质 + 抗体试样而言,于室温下将 CD33 蛋白质及抗体培育 15 分钟。抗体 / CD33 的最终摩尔比为 2:1。使用 LEAP 机器人系统（交换板保持在 25° C 下,试样 / 淬灭板保持在 4° C 下）向 80 μ l 交换缓冲液（10mM NaH_2PO_4 , 存于 D_2O 中, pH=7 或 10mM NaH_2PO_4 , 存于 H_2O 中, pH=7）中添加 8 μ l 试样,混合,并于 25° C 下交换不同时间（15、60、120、240、及 600 秒）。随后在 4° C 将 80 μ l 此溶液转移至 80 μ l 淬灭缓冲液（1M 脲, 0.1M TCEP-HCl）并混合。随后在 4° C 将 90 μ l 此溶液转移至 10 μ l 胃蛋白酶（4mg/ml）并混合。2 分钟后,将 60 μ l 此溶液注射至 Michrom C18 捕集柱上。将该柱用 H_2O +0.1%TFA 以 100 μ l/ 分钟洗涤 2 分钟。随后切换阀并将该柱洗脱于 Phenomenex Jupiter C5 柱（1.0 $\times$ 50mm, 5 μ m, 300A）上。流动相 A 是水 / 乙腈 / TFA（99/0.95/0.05）且流动相 B 是乙腈 / 水 / TFA（95/4.95/0.05）。流速是 100 μ l/ 分钟。梯度是 :0 分钟（0%B）、6 分钟（40%B）、7 分钟（40%B）、8 分钟（90%B）、10 分钟（90%B）、11 分钟（0%B）。LEAP 系统将流动相预冷却至 4° C 并亦维持捕集柱及分析柱在 4° C。对于 MS 实验（用于定量与 D_2O 缓冲液的交换）而言,于 60,000 分辨率下使用 300-2000 的单次扫描方法达 14 分钟。对于 MS/MS 实验（用于鉴定与 H_2O 缓冲液交换的肽）而言,使用 7 次扫描的方法达 14 分钟。第一次扫描是 30,000 分辨率下 300-2000 的全范围扫描。随后的扫描是自第 1 次扫描的 6 种最强离子的 CID 扫描。隔离宽度是 1.5amu,碰撞能量是 35V,活化时间是 30msec。使用片段数据及程序 Proteome Discoverer (Thermo) 鉴定胃蛋白酶肽。使用计算交换肽的平均质量的内部程序分析所鉴定的肽。

[0236] 所有 CD33 结合剂均保护具有氨基酸序列 FFHPIPYDKNSPVHGYW (SeqID No:141)（表 4）的相同肽片段。由本文所述 CD33 结合剂保护的 CD33 的序列与通过结合林妥珠单抗保护的 CD33 的肽序列（MDPNFWLQVQE, SeqID No:142）不同且不重迭。在使用 SIGLEC-5 的晶体结构的计算机建模中,与 CD33 同源的 SIGLEC 家族成员揭示蛋白质的近端结构域中的所有抗体的结合表位,其中林妥珠单抗的结合表位不同于本文所述 CD33 结合剂的结合表位。总之,本专利申请案中阐述的 CD33 结合剂与林妥珠单抗结合不同表位。

[0237]

编号	纯系 ID 编号	CD33 表位
1	280-03-08	FFHPIPYDKNSPVHGYW
2	280-21-09	FFHPIPYDKNSPVHGYW
3	280-29-12	FFHPIPYDKNSPVHGYW
4	280-31-01	FFHPIPYDKNSPVHGYW
5	280-31-01 (mut)	FFHPIPYDKNSPVHGYW

6	280-34-02	FFHPIPYDKNSPVHGYW
7	280-50-01	FFHPIPYDKNSPVHGYW
8	280-50-01 (mut)	FFHPIPYDKNSPVHGYW
9	280-61-07	FFHPIPYDKNSPVHGYW
10	283-03-03	FFHPIPYDKNSPVHGYW
11	283-05-01	FFHPIPYDKNSPVHGYW
12	283-07-03	FFHPIPYDKNSPVHGYW
13	283-11-03	FFHPIPYDKNSPVHGYW
14	283-14-01	FFHPIPYDKNSPVHGYW
15	林妥珠单抗	MDPNFWLQVQE

[0238] 表 4

[0001]

序列表

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

<120> CD33 结合剂

<130> I2-0321-PCT

<160> 142

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 1

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 2

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

[0002]

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 3

His Trp Leu Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 4

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 5

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

[0003]

<220>

<223> CDR

<400> 6

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 7

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 7

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 8

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 8

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 9

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

[0004]

<400> 9

Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile
1 5

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 10

Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 11

Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 12

[0005]

Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 13
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 13

Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 14
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 14

Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 15
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 15

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

[0006]

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 16

Arg Ile Ile Pro Ile Ile Asn Ile Ala Ser Tyr Ala Gln Asn Phe Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 17

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 17

Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 18

[0007]

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 18

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 19
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 19

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 20
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 20

[0008]

Arg Ile Ile Pro Ile Val Gly Ile Val Asn Tyr Ala Glu Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 21
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 21

Arg Val Ile Pro Ile Ile Gly Ile Ala Ser Tyr Ala Gln Asn Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 22
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 22

Arg Val Ile Pro Ile Ile Gly Ile Ala Ser Tyr Ala Gln Asn Phe Gln
1 5 10 15

Gly

[0009]

<210> 23
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 23

Arg Val Ile Pro Ile Ile Gly Ile Ala Ser Tyr Ala Gln Asn Phe Glu
1 5 10 15

Gly

<210> 24
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 24

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Asp Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 25
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

[0010]

<400> 25

Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 26

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 27

Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

[0011]

<210> 28
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 28

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

Gly

<210> 29
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 29

Asp Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 30
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 30

[0012]

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 31

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 32
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 32

Asp Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 33
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 33

Asp Tyr Ala Ile Ser

[0013]

1 5

<210> 34
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 34

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 35
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 35

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 36
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 36

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

[0014]

<210> 37
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 37

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 38
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 38

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 39
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 39

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 40

[0015]

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 40

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 41
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 41

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 42
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 42

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 43
<211> 8
<212> PRT

[0016]

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 43

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 44

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 44

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 45

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 45

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 46

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

[0017]

<220>

<223> CDR

<400> 46

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 47

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 47

Gln Gln Phe Asp Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 48

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 48

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Tyr Thr
1 5

<210> 49

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

[0018]

<400> 49

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 50

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 50

Gln Gln Phe Asp Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 51

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 51

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 52

[0019]

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 53
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 53

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 54
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 54

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
1 5

<210> 55
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 55

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr

[0020]

1 5

<210> 56

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 56

Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr

1 5

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 57

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 58

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 58

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

[0021]

<210> 59
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 59

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 60
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 60

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 61
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 61

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 62

[0022]

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 62

Asp Ala Ser Arg Leu Glu Ser
1 5

<210> 63
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 63

Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 64
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 64

Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 65
<211> 7
<212> PRT

[0023]

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 65

Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 66

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 67

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 68

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

[0024]

<220>

<223> CDR

<400> 68

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 69

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 69

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 70

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 70

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 71

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

[0025]

<400> 71

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
1 5 10

<210> 72

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 72

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 73

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 73

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR

<400> 74

[0026]

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
1 5 10

<210> 75
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 75

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
1 5 10

<210> 76
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 76

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 77
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 77

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala

[0027]

1 5 10

<210> 78
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 78

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
1 5 10

<210> 79
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 79

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val Leu Ala
1 5 10

<210> 80
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 80

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

[0028]

<210> 81
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 81

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 82
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 82

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 83
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 83

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 84

[0029]

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR

<400> 84

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 85
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 85

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

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

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

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

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

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0030]

	85	90	95
Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met			
	100	105	110
Val Thr Val Ser Ser			
	115		
<210> 86			
<211> 117			
<212> PRT			
<213> 人工			
<220>			
<223> VH			
<400> 86			
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr			
	20	25	30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
	35	40	45
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Ile Asn Ile Ala Ser Tyr Ala Gln Asn Phe			
	50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95

[0031]

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 87
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 87

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

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

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

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

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

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

Ala Arg His Trp Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met

[0032]

100	105	110
Val Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 88		
<211> 117		
<212> PRT		
<213> 人工		
<220>		
<223> VH		
<400> 88		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser		
1 5 10 15		
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr		
20 25 30		
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35 40 45		
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe		
50 55 60		
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Arg Thr Ala Tyr		
65 70 75 80		
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85 90 95		
Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met		
100 105 110		

[0033]

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 89
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 89

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

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

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

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

[0034]

115

<210> 90

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VH

<400> 90

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

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

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

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Val Gly Ile Val Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

[0035]

<210> 91
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> VH

<400> 91

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 92

[0036]

<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 92

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 93
<211> 117
<212> PRT

[0037]

<213> 人工

<220>

<223> VH

<400> 93

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 94

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工

[0038]

<220>

<223> VH

<400> 94

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

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

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

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Asp Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 95

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VH

[0039]

<400> 95

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 96

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VH

<400> 96

[0040]

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

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

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

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 97

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VH

<400> 97

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

[0041]

1	5	10	15
Ser Met Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asp Thr Phe Ser Ser Tyr			
20	25	30	
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
35	40	45	
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe			
50	55	60	
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Cys Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly			
100	105	110	
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
115			
<210> 98			
<211> 119			
<212> PRT			
<213> 人工			
<220>			
<223> VH			
<400> 98			
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser			
1	5	10	15

[0042]

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 99

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VL

<400> 99

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val

[0043]

	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
35	40	45	
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr			
85	90	95	
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg			
100	105		
<210> 100			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工			
<220>			
<223> VL			
<400> 100			
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala			
20	25	30	
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
35	40	45	

[0044]

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
85 90 95

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

<210> 101
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 101

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

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

Leu Ala Trp Ser Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

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

[0045]

65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr			
85	90	95	
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg			
100	105		
<210> 102			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工			
<220>			
<223> VL			
<400> 102			
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val			
20	25	30	
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
35	40	45	
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr			
85	90	95	

[0046]

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

<210> 103
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 103

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

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

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

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

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

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

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

<210> 104

[0047]

<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 104

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Thr Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Tyr Thr
85 90 95

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

<210> 105
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

[0048]

<400> 105

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
85 90 95

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

<210> 106

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VL

<400> 106

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

[0049]

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

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

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

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

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

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

<210> 107

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VL

<400> 107

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

[0050]

	35	40	45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr			
	85	90	95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg			
	100	105	
<210>	108		
<211>	107		
<212>	PRT		
<213>	人工		
<220>			
<223>	VL		
<400>	108		
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala			
	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Met Ile			
35	40	45	
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50	55	60	

[0051]

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
85 90 95

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

<210> 109
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 109

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr

[0052]

	85	90	95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg			
	100	105	
<210>	110		
<211>	107		
<212>	PRT		
<213>	人工		
<220>			
<223>	VL		
<400>	110		
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala			
	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Met Ile			
	35	40	45
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr			
	85	90	95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg			
	100	105	

[0053]

<210> 111
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 111

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
 85 90 95

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

<210> 112
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

[0054]

<220>

<223> VL

<400> 112

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
85 90 95

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

<210> 113

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VH

<400> 113

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

[0055]

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

[0056]

180	185	190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		
195	200	205
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		
210	215	220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		
225	230	235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		
260	265	270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
275	280	285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
290	295	300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
305	310	315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		
325	330	335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
340	345	350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		

[0057]

355	360	365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
370	375	380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
385	390	395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
405	410	415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
420	425	430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
435	440	445
<210> 114		
<211> 447		
<212> PRT		
<213> 人工		
<220>		
<223> VH		
<400> 114		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser		
1	5	10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr		
20	25	30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35	40	45

[0058]

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

[0059]

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

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

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

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

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

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

[0060]

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

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

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

<210> 115

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VH

<400> 115

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

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

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

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

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

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0061]

85	90	95
Ala Arg His Trp Leu Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met		
100	105	110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu		
115	120	125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys		
130	135	140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser		
145	150	155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
165	170	175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		
180	185	190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		
195	200	205
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		
210	215	220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		
225	230	235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		

[0062]

	260							265							270
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
	275						280					285			
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
	290					295					300				
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
305				310						315					320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
			325					330						335	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
		340						345					350		
Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
	355					360						365			
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
	370				375						380				
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
385				390						395				400	
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
			405						410					415	
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
		420						425					430		
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	

[0063]

435	440	445
<210> 116		
<211> 447		
<212> PRT		
<213> 人工		
<220>		
<223> VH		
<400> 116		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser		
1 5 10 15		
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr		
20 25 30		
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35 40 45		
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe		
50 55 60		
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Arg Thr Ala Tyr		
65 70 75 80		
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85 90 95		
Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met		
100 105 110		
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu		
115 120 125		

[0064]

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

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

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

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

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

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

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

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

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

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

[0065]

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

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

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

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

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

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

<210> 117

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VH

[0066]

<400> 117

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

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

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

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

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

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

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

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

[0067]

	165	170	175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser			
180	185	190	
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn			
195	200	205	
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His			
210	215	220	
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val			
225	230	235	240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
245	250	255	
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu			
260	265	270	
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
275	280	285	
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
290	295	300	
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
305	310	315	320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile			
325	330	335	
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro			

[0068]

	340		345		350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu					
	355		360		365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn					
	370		375		380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser					
	385		390		395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg					
	405		410		415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu					
	420		425		430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
	435		440		445
<210> 118					
<211> 447					
<212> PRT					
<213> 人工					
<220>					
<223> VH					
<400> 118					
Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Gln Lys Pro Gly Ser					
1 5 10 15					
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr					
20 25 30					

[0069]

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

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Val Gly Ile Val Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

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

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

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

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

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

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

[0070]

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

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

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

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

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

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

[0071]

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

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

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

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

<210> 119
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 119

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

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

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

[0072]

65	70	75	80
Met Ala Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met			
	100	105	110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu			
	115	120	125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys			
	130	135	140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser			
	145	150	155
			160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser			
	165	170	175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser			
	180	185	190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn			
	195	200	205
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His			
	210	215	220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val			
	225	230	235
			240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			

[0073]

	245		250		255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu					
	260		265		270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys					
	275		280		285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser					
	290		295		300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys					
	305		310		315
					320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile					
	325		330		335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro					
	340		345		350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu					
	355		360		365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn					
	370		375		380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser					
	385		390		395
					400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg					
	405		410		415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu					

[0074]

420

425

430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435

440

445

<210> 120

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VH

<400> 120

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ala Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr

20

25

30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

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

50

55

60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Arg Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Ala Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met

100

105

110

[0075]

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

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

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

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

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

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

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

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

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

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

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

[0076]

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

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

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

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

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

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

<210> 121

<211> 447

<212> PRT

[0077]

<213> 人工

<220>

<223> VH

<400> 121

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

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

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

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

[0078]

145	150	155	160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser			
165	170	175	
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser			
180	185	190	
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn			
195	200	205	
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His			
210	215	220	
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val			
225	230	235	240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
245	250	255	
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu			
260	265	270	
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
275	280	285	
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
290	295	300	
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
305	310	315	320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile			

[0079]

	325	330	335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro			
340	345	350	
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu			
355	360	365	
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn			
370	375	380	
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser			
385	390	395	400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg			
405	410	415	
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu			
420	425	430	
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
435	440	445	
<210> 122			
<211> 449			
<212> PRT			
<213> 人工			
<220>			
<223> VH			
<400> 122			
Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser			
1	5	10	15

[0080]

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

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

Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Asp Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

[0081]

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

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

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

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

[0082]

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys

<210> 123

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VH

<400> 123

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

[0083]

	35	40	45
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Ile Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe			
50	55	60	
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Tyr Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly			
	100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe			
	115	120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu			
	130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp			
145	150	155	160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu			
	165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
	180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro			
	195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys			

[0084]

210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		

[0085]

385	390	395	400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
405	410	415	
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
420	425	430	
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
435	440	445	
Lys			
<210> 124			
<211> 449			
<212> PRT			
<213> 人工			
<220>			
<223> VH			
<400> 124			
Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr			
20	25	30	
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
35	40	45	
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Met Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe			
50	55	60	

[0086]

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

[0087]

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

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

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

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

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

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

[0088]

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys

<210> 125
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VH

<400> 125

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

Ser Met Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

Met Glu Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0089]

85										90										95									
Ala	Arg	Glu	Gly	Gly	Val	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Leu	Trp	Gly	Arg	Gly														
100										105										110									
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe														
115										120										125									
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu														
130										135										140									
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp														
145										150										155									
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu														
165										170										175									
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser														
180										185										190									
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro														
195										200										205									
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys														
210										215										220									
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro														
225										230										235									
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser														
245										250										255									
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp														

[0090]

	260		265		270
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn
			Trp	Tyr	Val
			Asp	Gly	Val
			Glu	Val	His
			Asn		
	275		280		285
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg
			Glu	Glu	Gln
			Tyr	Asn	Ser
			Thr	Tyr	Arg
			Val		
	290		295		300
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val
			Leu	His	Gln
			Asp	Trp	Leu
			Asn	Gly	Lys
			Glu		
	305		310		315
					320
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser
			Asn	Lys	Ala
			Leu	Pro	Ala
			Pro	Ile	Glu
			Lys		
			325		330
					335
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys
			Gly	Gln	Pro
			Arg	Glu	Pro
			Gln	Val	Tyr
			Thr		
			340		345
					350
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu
			Glu	Met	Thr
			Lys	Asn	Gln
			Val	Ser	Leu
			Thr		
			355		360
					365
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe
			Tyr	Pro	Ser
			Asp	Ile	Ala
			Val	Glu	Trp
			Glu		
			370		375
					380
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu
			Asn	Asn	Tyr
			Lys	Thr	Thr
			Pro	Pro	Val
			Leu		
			385		390
					395
					400
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe
			Phe	Leu	Tyr
			Ser	Lys	Leu
			Thr	Val	Asp
			Lys		
			405		410
					415
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly
			Asn	Val	Phe
			Ser	Cys	Ser
			Val	Met	His
			Glu		
			420		425
					430
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr
			Thr	Gln	Lys
			Ser	Leu	Ser
			Leu	Ser	Pro
			Gly		

[0091]

435

440

445

Lys

<210> 126

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VH

<400> 126

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Val Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

[0092]

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

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

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

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

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

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

[0093]

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys

[0094]

<210> 127
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 127

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
85 90 95

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

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

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

[0095]

130

135

140

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 128

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VL

<400> 128

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

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

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

[0096]

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

[0097]

<210> 129
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> VL

<400> 129

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

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

Leu Ala Trp Ser Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
 85 90 95

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

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

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

[0098]

	130	135	140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu			
145	150	155	160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser			
	165	170	175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala			
	180	185	190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe			
	195	200	205
Asn Arg Gly Glu Cys			
	210		
<210>	130		
<211>	213		
<212>	PRT		
<213>	人工		
<220>			
<223>	VL		
<400>	130		
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val			
	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
	35	40	45

[0099]

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

[0100]

<210> 131
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> VL

<400> 131

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

[0101]

130	135	140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu		
145	150	155 160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser		
165	170	175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala		
180	185	190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe		
195	200	205
Asn Arg Gly Glu Cys		
210		
<210>	132	
<211>	213	
<212>	PRT	
<213>	人工	
<220>		
<223>	VL	
<400>	132	
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala		
20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
35	40	45

[0102]

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

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

Glu Asp Phe Thr Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Tyr Thr
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

[0103]

<210> 133
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> VL

<400> 133

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
 85 90 95

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

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

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

[0104]

130	135	140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu		
145	150	155 160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser		
	165	170 175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala		
	180	185 190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe		
	195	200 205
Asn Arg Gly Glu Cys		
210		
<210> 134		
<211> 213		
<212> PRT		
<213> 人工		
<220>		
<223> VL		
<400> 134		
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Val		
	20	25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
	35	40 45

[0105]

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

[0106]

<210> 135
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> VL

<400> 135

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
 85 90 95

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

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

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

[0107]

140

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

141

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

[0109]

130	135	140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu		
145	150	155 160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser		
165	170	175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala		
180	185	190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe		
195	200	205
Asn Arg Gly Glu Cys		
210		
<210> 138		
<211> 213		
<212> PRT		
<213> 人工		
<220>		
<223> VL		
<400> 138		
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala		
20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Met Ile		
35	40	45

[0111]

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

[0112]

<210> 139
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> VL

<400> 139

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
 85 90 95

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

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

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

[0113]

130

135

140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu

145

150

155

160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser

165

170

175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala

180

185

190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe

195

200

205

Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 140

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> VL

<400> 140

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala

20

25

30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Met Ile

35

40

45

[0114]

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Ser Ile Thr
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

[0115]

<210> 141

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> Epitope range

<400> 141

Phe Phe His Pro Ile Pro Tyr Tyr Asp Lys Asn Ser Pro Val His Gly
1 5 10 15

Tyr Trp

<210> 142

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> Epitope range

<400> 142

Met Asp Pro Asn Phe Trp Leu Gln Val Gln Glu
1 5 10

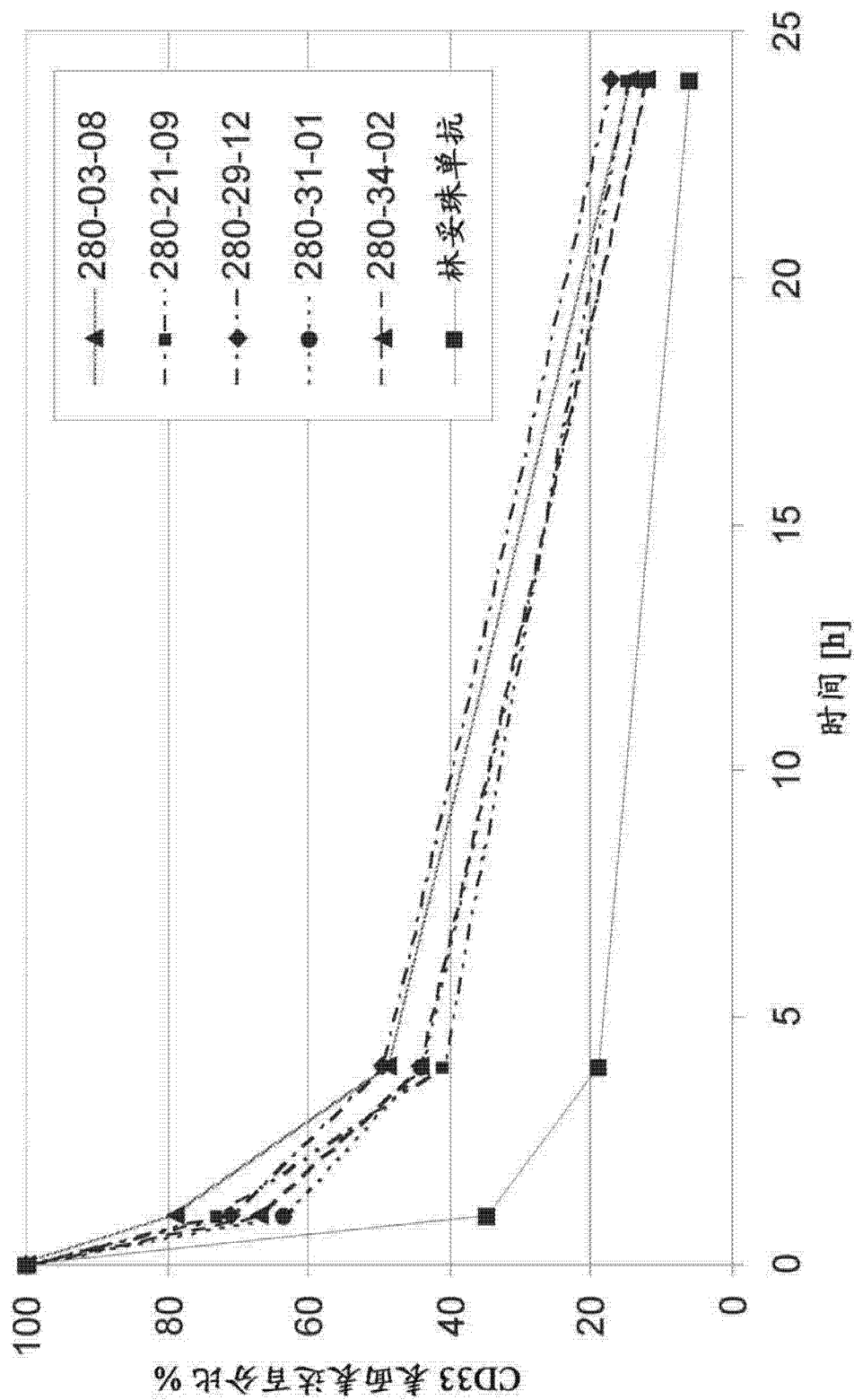


图 1

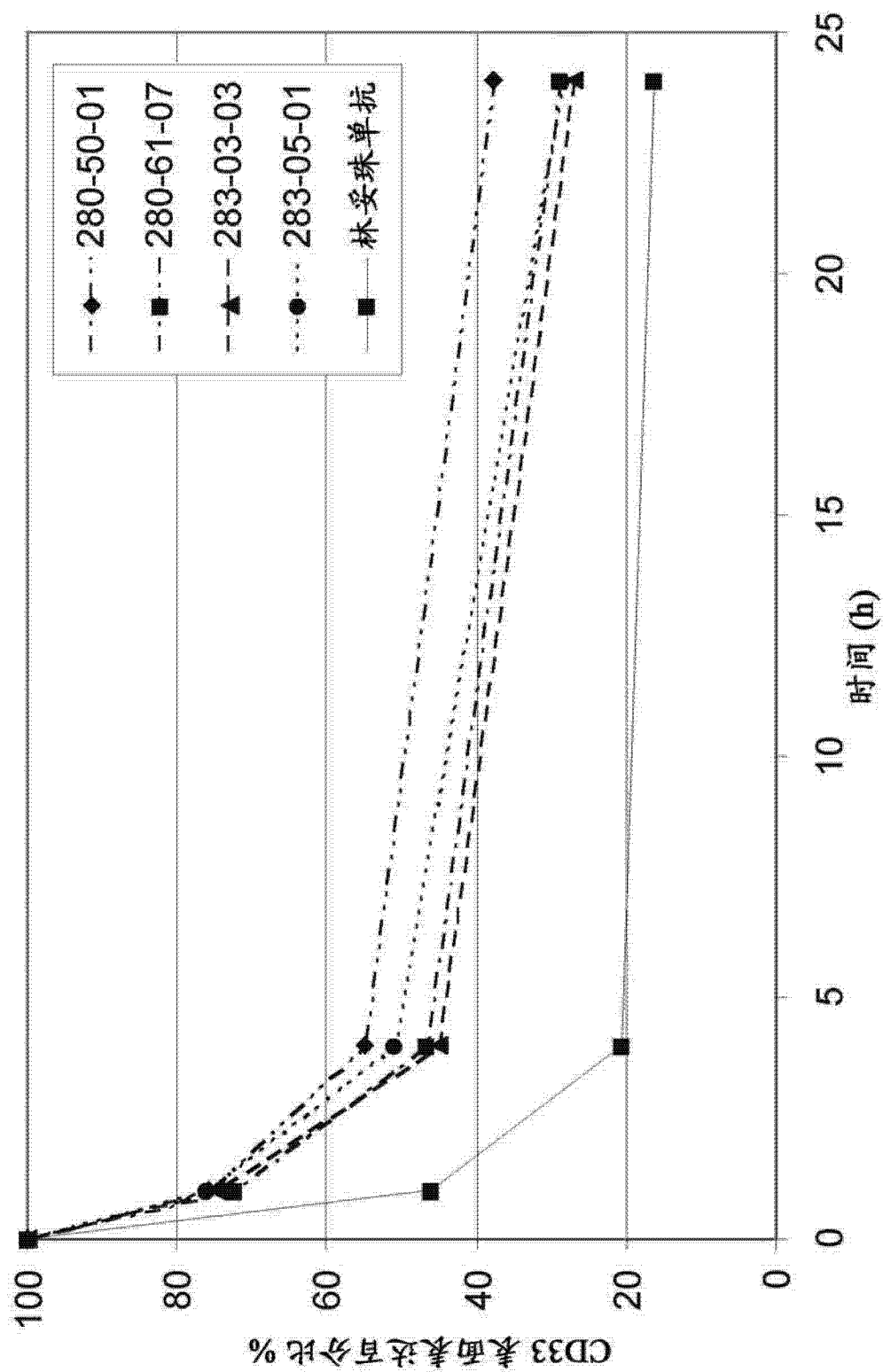


图 2

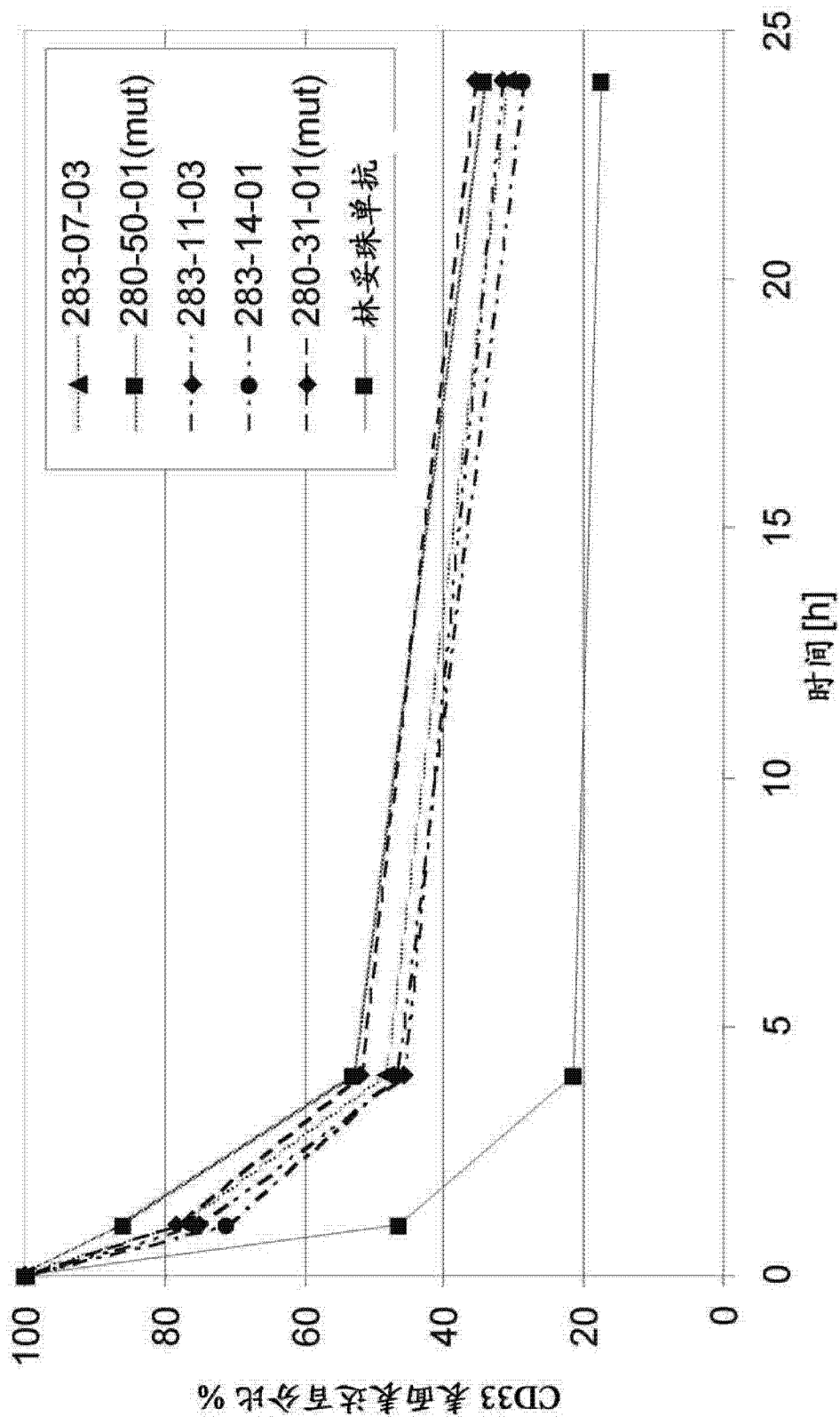


图 3

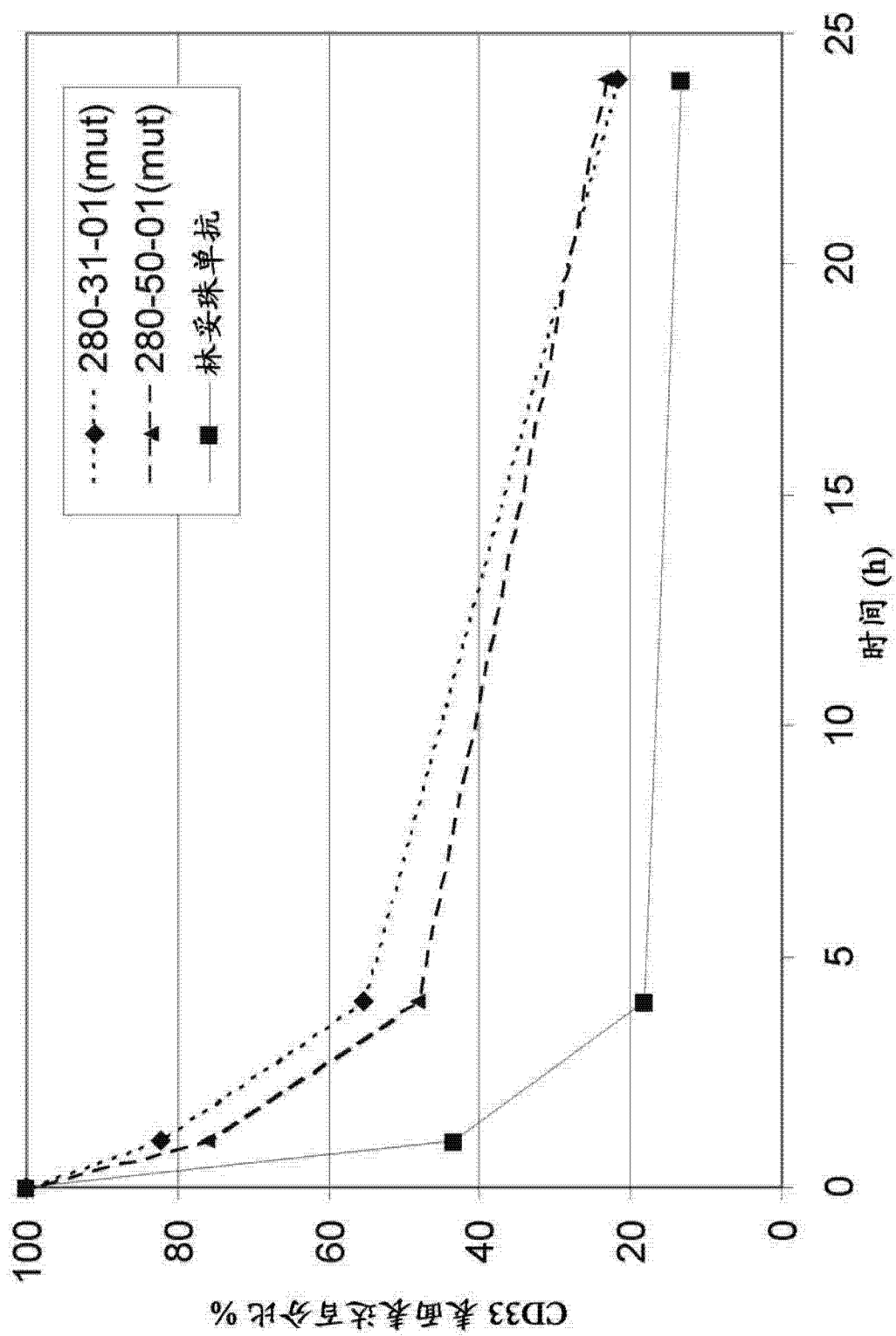


图 4

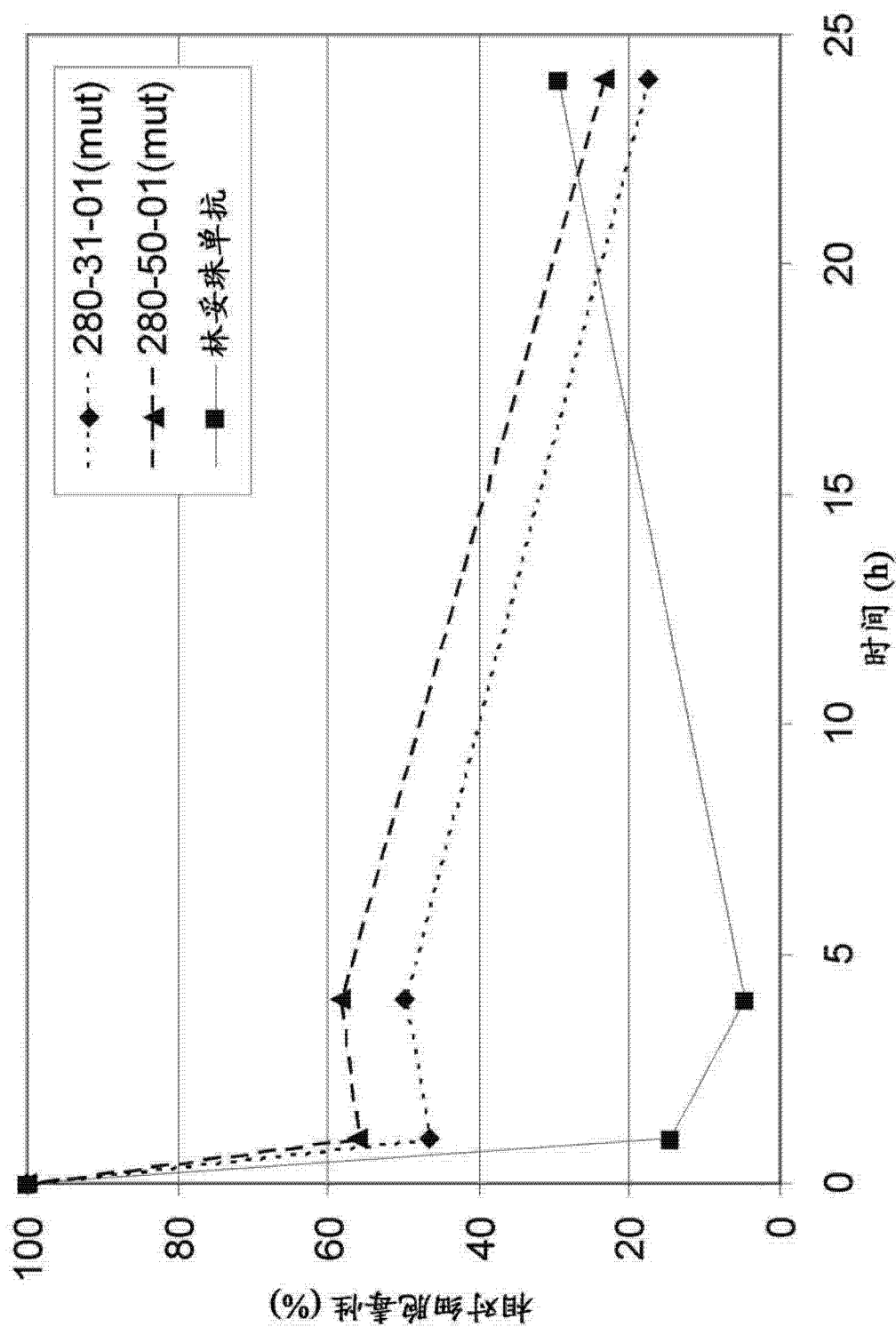


图 5