



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105814084 B

(45)授权公告日 2019.09.24

(21)申请号 201480067319.4

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

(22)申请日 2014.12.12

代理人 岑晓东

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105814084 A

(51)Int.Cl.

C07K 16/28(2006.01)

(43)申请公布日 2016.07.27

A61K 39/395(2006.01)

(30)优先权数据

A61P 35/02(2006.01)

61/916,087 2013.12.13 US

(56)对比文件

CN 103261227 A,2013.08.21,

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

CN 102875680 A,2013.01.16,

2016.06.08

WO 2013173496 A2,2013.11.21,

(86)PCT国际申请的申请数据

Sgouros G等.Pharmacokinetics and

PCT/US2014/069874 2014.12.12

dosimetry of an alpha-particle emitter  
labeled antibody: 213Bi-HuM195 (anti-  
CD33) in patients with leukemia.《J Nucl  
Med》.1999,第40卷(第11期),

(87)PCT国际申请的公布数据

审查员 孙雅圣娴

W02015/089344 EN 2015.06.18

(73)专利权人 基因泰克公司

权利要求书6页 说明书96页

地址 美国加利福尼亚州

序列表48页 附图38页

(72)发明人 S-F • 于 W-C • 梁 Y • 吴 S • 梁

A • 波尔森

(54)发明名称

抗CD33抗体和免疫缀合物

(57)摘要

本公开文本提供抗CD33抗体和免疫缀合物  
及其使用方法。

1. 一种分离的结合CD33的抗体,其中该抗体包含(a)包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

2. 权利要求1的抗体,其中该抗体包含(a)包含SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:24,SEQ ID NO:31,SEQ ID NO:32,SEQ ID NO:33,SEQ ID NO:34,或SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:26,SEQ ID NO:27,SEQ ID NO:28,或SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

3. 权利要求1的抗体,其中该抗体包含:(i)(a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

(ii) (a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

(iii) (a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

(iv) (a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

(v) (a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

(vi) (a)包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

(vii) (a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

(viii) (a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:32的氨基酸

序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2；和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3；

(ix) (a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2；和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3；

(x) (a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2；和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3；或

(xi) (a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2；和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

4. 权利要求1至3任一项的抗体，其中该抗体包含：a)包含SEQ ID NO:80的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:79的序列的轻链可变区；

b)包含SEQ ID NO:82的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:81的序列的轻链可变区；  
c)包含SEQ ID NO:84的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:83的序列的轻链可变区；  
d)包含SEQ ID NO:86的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:85的序列的轻链可变区；  
e)包含SEQ ID NO:88的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:87的序列的轻链可变区；  
f)包含SEQ ID NO:90的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:89的序列的轻链可变区；  
g)包含SEQ ID NO:92的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:91的序列的轻链可变区；  
h)包含SEQ ID NO:94的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:93的序列的轻链可变区；  
i)包含SEQ ID NO:96的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:95的序列的轻链可变区；  
j)包含SEQ ID NO:98的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:97的序列的轻链可变区；

或

k)包含SEQ ID NO:100的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:99的序列的轻链可变区。

5. 权利要求1至4任一项的抗体，其中该抗体具有一项或多项下述特征：

- a)结合重组人CD33；
- b)结合重组食蟹猴CD33；
- c)结合人外周血单个核细胞(PBMC)表面上的内源CD33；
- d)结合食蟹猴PBMC表面上的内源CD33；
- e)结合癌细胞表面上的内源CD33；
- f)结合AML癌细胞表面上的内源CD33；
- g)结合Mo1m-13细胞表面上的内源CD33；
- h)结合包含R69G突变的CD33；
- i)结合CD33Ig V域；

- j) 结合N100处没有N连接的糖基化的CD33;
- k) 结合N113处没有N连接的糖基化的CD33;
- l) 结合包含S102A突变的CD33;
- m) 结合包含S115A突变的CD33;
- n) 不结合CD33 Ig C2域; o) 以小于10nM, 小于7nM, 小于5nM, 或小于3nM的Kd结合内源人CD33, 通过Scatchard分析测量;

p) 以小于5nM, 或小于3nM的Kd结合重组人CD33, 通过Scatchard分析测量; 和/或  
q) 以小于2nM或小于1nM的Kd结合重组食蟹猴CD33, 通过Scatchard分析测量。

6. 权利要求1至5任一项的抗体, 其为单克隆抗体。

7. 权利要求1至6任一项的抗体, 其为人或嵌合抗体。

8. 权利要求1至7任一项的抗体, 其为结合CD33的抗体片段。

9. 权利要求1至8任一项的抗体, 其中CD33为包含SEQ ID NO:1氨基酸18至364的人CD33。

10. 权利要求1至9任一项的抗体, 其为IgG1, IgG2a或IgG2b抗体。

11. 一种分离的核酸, 其编码权利要求1至10任一项的抗体。

12. 一种宿主细胞, 其包含权利要求11的核酸。

13. 一种生成抗体的方法, 其包括培养权利要求12的宿主细胞, 使得该抗体生成。

14. 一种免疫缀合物, 其包含权利要求1至10任一项的抗体和细胞毒剂。

15. 权利要求14的免疫缀合物, 其具有式Ab-(L-D)p, 其中:

(a) Ab为抗体;

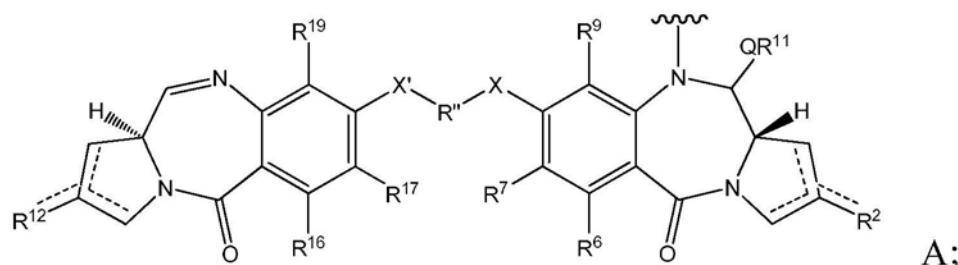
(b) L为接头;

(c) D为细胞毒剂; 且

(d) p范围为1-8。

16. 权利要求14或权利要求15的免疫缀合物, 其中该细胞毒剂选自美登木素生物碱(maytansinoid), 加利车霉素(calicheamicin), 吡咯并苯并二氮卓(pyrrrolobenzodiazepine), 和奈莫柔比星(nemorubicin)衍生物。

17. 权利要求15的免疫缀合物, 其中D为式A的吡咯并苯并二氮卓:



其中虚线表示C1与C2或C2与C3之间任选存在双键;

R<sup>2</sup>独立选自H, OH, =O, =CH<sub>2</sub>, CN, R, OR, =CH-R<sup>D</sup>, =C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>, O-SO<sub>2</sub>-R, CO<sub>2</sub>R和COR, 且任选还选自卤素或二卤素, 其中R<sup>D</sup>独立选自R, CO<sub>2</sub>R, COR, CHO, CO<sub>2</sub>H, 和卤素;

R<sup>6</sup>和R<sup>9</sup>独立选自H, R, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NHR, NRR', NO<sub>2</sub>, Me<sub>3</sub>Sn和卤素;

R<sup>7</sup>独立选自H, R, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NHR, NRR', NO<sub>2</sub>, Me<sub>3</sub>Sn和卤素;

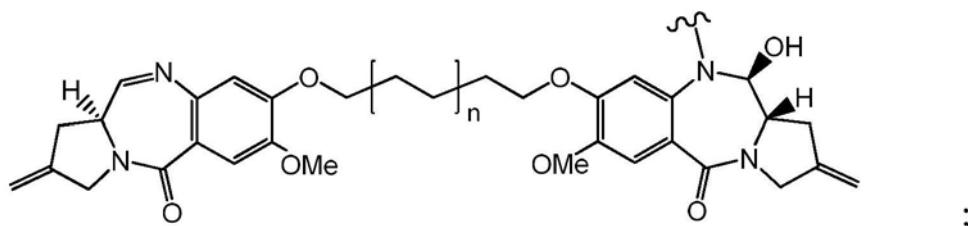
Q独立选自O, S和NH;

$R^{11}$ 为H或R,或在Q为O的情况下,SO<sub>3</sub>M,其中M为金属阳离子;  
R和R'各自独立选自任选取代的C<sub>1-8</sub>烃基,C<sub>3-8</sub>杂环基和C<sub>5-20</sub>芳基基团,且任选涉及基团NRR'时,R和R'与它们所附着的氮原子一起形成任选取代的4,5,6或7元杂环环;

$R^{12}, R^{16}, R^{19}$ 和R<sup>17</sup>分别如为R<sup>2</sup>,R<sup>6</sup>,R<sup>9</sup>和R<sup>7</sup>定义的;

R"为C<sub>3-12</sub>亚烃基基团,该链可以由一个或多个杂原子和/或任选取代的芳香环中断;且X和X'独立选自O,S和N(H)。

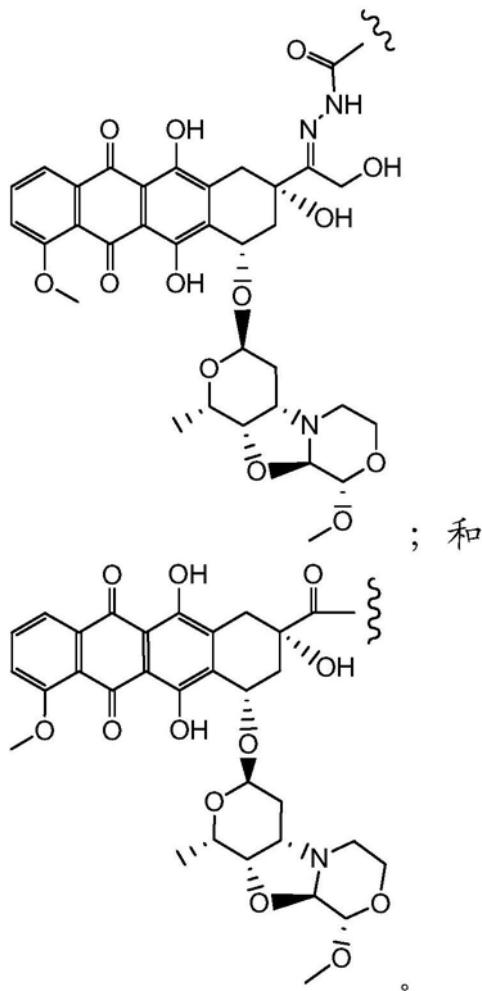
18. 权利要求17的免疫缀合物,其中D具有结构:



其中n为0或1。

19. 权利要求15的免疫缀合物,其中D为奈莫柔比星衍生物。

20. 权利要求19的免疫缀合物,其中D具有选自下述的结构:

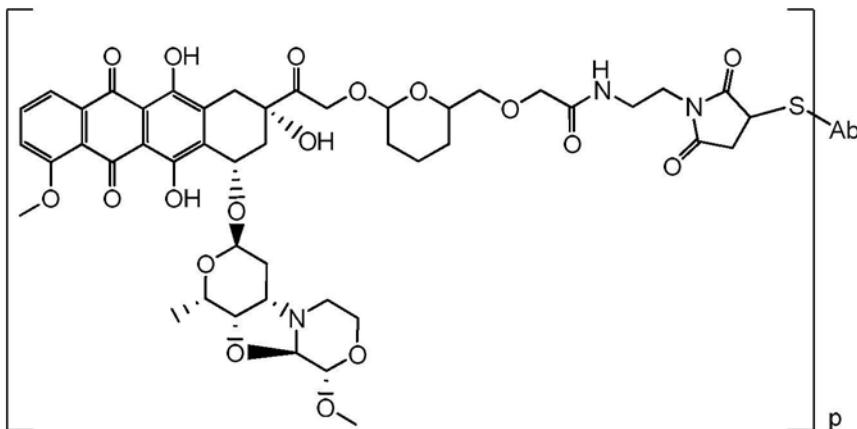


21. 权利要求15至20任一项的免疫缀合物,其中该接头是蛋白酶可切割的。

22. 权利要求15至20任一项的免疫缀合物,其中该接头是酸不稳定的。

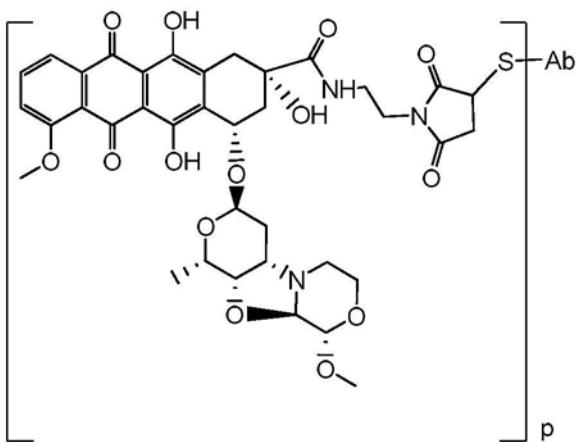
23. 权利要求22的免疫缀合物,其中该接头包含腙。

24. 权利要求20的免疫缀合物,其具有选自下述的式:



; 和

。



25. 权利要求15至24任一项的免疫缀合物,其中p范围为2-5。

26. 一种药物制剂,其包含权利要求15至25任一项的免疫缀合物和药学可接受载体。

27. 权利要求26的药物制剂,其进一步包含别的治疗剂。

28. 一种抑制CD33阳性细胞增殖的非治疗方法,该方法包括在允许权利要求14至25任一项的免疫缀合物结合该细胞表面上的CD33的条件下将该细胞暴露于该免疫缀合物,由此抑制该细胞增殖。

29. 权利要求28的方法,其中该细胞为AML癌细胞。

30. 权利要求1至10任一项的抗体,其是缀合至标记物的。

31. 权利要求30的抗体,其中该标记物为正电子发射体。

32. 权利要求31的抗体,其中该正电子发射体为<sup>89</sup>Zr。

33. 权利要求14至25任一项的免疫缀合物或权利要求26的药物制剂制造供一种治疗具有CD33阳性癌症的个体的方法使用的药物的用途,该方法包括对该个体施用有效量的权利要求14至25任一项的免疫缀合物或权利要求26的药物制剂。

34. 权利要求33的用途,其中该CD33阳性癌症为AML。

35. 权利要求33或权利要求34的用途,其进一步包括对该个体施用别的治疗剂。

36. 权利要求14至25任一项的免疫缀合物制造供一种抑制CD33阳性细胞增殖的方法使用的药物的用途,该方法包括在允许权利要求14至25任一项的免疫缀合物结合该细胞表面

上的CD33的条件下将该细胞暴露于该免疫缀合物,由此抑制该细胞增殖。

37. 权利要求36的用途,其中该细胞为AML癌细胞。

38. 权利要求1至10任一项的抗CD33抗体制造用于检测生物学样品中的人CD33的试剂或试剂盒的用途,其中所述检测包括在允许权利要求1至10任一项的抗CD33抗体结合天然发生人CD33的条件下使该生物学样品与该抗CD33抗体接触,并检测该抗CD33抗体和该生物学样品中的天然发生人CD33之间是否形成复合物。

39. 权利要求38的用途,其中该生物学样品为AML子宫内膜癌样品。

40. 权利要求1至10任一项的抗CD33抗体制造用于检测CD33阳性癌症的试剂或试剂盒的用途,其中所述检测包括(i)对具有或怀疑具有CD33阳性癌症的受试者施用已标记的抗CD33抗体,其中该已标记的抗CD33抗体包含权利要求1至10任一项的抗CD33抗体,并(ii)检测该受试者中的该已标记的抗CD33抗体,其中检测到该已标记的抗CD33抗体指示该受试者中的CD33阳性癌症。

41. 权利要求40的用途,其中该已标记的抗CD33抗体包含缀合至正电子发射体的抗CD33抗体。

42. 权利要求41的用途,其中该正电子发射体为<sup>89</sup>Zr。

## 抗CD33抗体和免疫缀合物

### 发明领域

[0001] 本发明涉及抗CD33抗体和免疫缀合物及其使用方法。

[0002] 发明背景

[0003] CD33是结合唾液酸的免疫球蛋白样凝集素家族的一个成员，是一种67kDa糖基化跨膜蛋白。在定向骨髓单核细胞和红细胞样祖细胞以外，它在大多数髓样和单核细胞性白血病细胞上表达。在最早的多能干细胞，成熟的粒细胞，淋巴样细胞，或非造血细胞上没有看到它。参见Sabbath et al., J.Clin.Invest. 75:756-56 (1985) 和Andrews et al., Blood 68:1030-5 (1986)。CD33在它的胞质尾上含有两个酪氨酸残基，它们每一个后面有疏水性残基，与在许多抑制性受体中看到的免疫受体基于酪氨酸的抑制性基序(ITIM)相似。

[0004] 基于单克隆抗体(单抗)的疗法已经成为癌症的一种重要治疗模态。白血病非常适合这种办法，原因在于恶性细胞在血液，骨髓，脾，和淋巴结中的可及性及造血分化的各种谱系和阶段的适当定义的免疫表型，允许鉴定抗原性靶物。急性髓样白血病(AML)的大多数研究聚焦于CD33。未缀合的抗CD33单抗林托珠单抗(lintuzumab)的响应具有轻微的针对AML的单一药剂活性，而且在两项随机化试验中在与常规化疗组合时未能改善患者结局。免疫缀合物吉姆单抗奥佐米星(gemtuzumab ozogamicin) (GO; Mylotarg)，一种抗CD33单克隆抗体缀合至抗肿瘤抗生素加利车霉素，在与标准化疗组合时在AML患者的一个子集中改善存活，但是安全性担忧导致在美国召回销售。另外，在AML患者中进行了三项抗CD33-美登素缀合物(AVE9633; huMy9-6-DM4)的I期研究。只在一项I期研究(施用日程表第1/8天)中测定了最大耐受剂量(MTD)，而其它两项研究在达到MTD之前就中止了，因为在比饱和剂量高得多的剂量没有明显的活性迹象。AVE9633在I期施用日程表第1/8天中的活性是适度的。参见Lapusan et al., Invest.New Drugs 30:1121-1131 (2012)。

[0005] 本领域需要靶向CD33的安全且有效药剂来诊断和治疗CD33相关状况，诸如癌症。本发明满足该需要且提供其它好处。

[0006] 发明概述

[0007] 本发明提供抗CD33抗体和免疫缀合物及其使用方法。

[0008] 在一些实施方案中，提供一种分离的结合CD33的抗体。在一些实施方案中，该抗体结合CD33且具有一项或多项下述特征：

[0009] a)结合重组人CD33；

[0010] b)结合重组食蟹猴CD33；

[0011] c)结合人外周血单个核细胞(PBMC)表面上的内源CD33；

[0012] d)结合食蟹猴PBMC表面上的内源CD33；

[0013] e)结合癌细胞表面上的内源CD33；

[0014] f)结合AML癌细胞表面上的内源CD33；

[0015] g)结合Molm-13细胞表面上的内源CD33；

[0016] h)结合包含R69G突变的CD33；

[0017] i)结合CD33 Ig V域；

- [0018] j) 结合N100处没有N连接的糖基化的CD33;
- [0019] k) 结合N113处没有N连接的糖基化的CD33;
- [0020] l) 结合包含S102A突变的CD33;
- [0021] m) 结合包含S115A突变的CD33;
- [0022] n) 不结合CD33 Ig C2域;
- [0023] o) 与My9.6抗体竞争人CD33结合;
- [0024] p) 与抗体33H4竞争人CD33结合;
- [0025] q) 与抗体23E4竞争人CD33结合;
- [0026] r) 以小于15nM, 小于10nM, 小于7nM, 小于5nM, 或小于3nM的Kd结合内源人CD33;
- [0027] s) 以小于10nM, 小于7nM, 小于5nM, 或小于3nM的Kd结合重组人CD33; 和/或
- [0028] t) 以小于10nM, 小于7nM, 小于5nM, 小于3nM, 小于2nM, 或小于1nM的Kd结合重组食蟹猴CD33。

[0029] 在一些实施方案中, 提供一种分离的结合CD33的抗体, 其中该抗体包含 (a) 包含 SEQ ID NO:112的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中, 该抗体包含 (a) 包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中, 该抗体包含 (a) 包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0030] 在一些实施方案中, 结合CD33的抗体包含 (a) 包含SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:23, 或SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, 或SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:22, 或SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, 或SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0031] 在一些实施方案中, 结合CD33的抗体包含:

[0032] (i) (a) 包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

[0033] (ii) (a) 包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:7

的氨基酸序列的HVR-L3；

[0034] (iii) (a) 包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

[0035] (iv) (a) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

[0036] (v) (a) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1；(b) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2；(c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；(d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1；(e) 包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L2；和(f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3；

[0037] (vi) (a) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

[0038] (vi) (a) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

[0039] (viii) (a) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1；(b) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2；(c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；(d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1；(e) 包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2；和(f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3；

[0040] (ix) (a) 包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

[0041] (x) (a) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

[0042] (xi) (a) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;

[0043] (xi) (a) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的

氨基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2；和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3；

[0044] (xiii) (a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2；和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3；或

[0045] (xiv) (a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2；和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0046] 在一些实施方案中，结合CD33的抗体包含：

[0047] a)包含SEQ ID NO:66的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:65的序列的轻链可变区；

[0048] b)包含SEQ ID NO:68的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:67的序列的轻链可变区；

[0049] c)包含SEQ ID NO:78的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:77的序列的轻链可变区；

[0050] d)包含SEQ ID NO:80的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:79的序列的轻链可变区；

[0051] e)包含SEQ ID NO:82的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:81的序列的轻链可变区；

[0052] f)包含SEQ ID NO:84的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:83的序列的轻链可变区；

[0053] g)包含SEQ ID NO:86的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:85的序列的轻链可变区；

[0054] h)包含SEQ ID NO:88的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:87的序列的轻链可变区；

[0055] i)包含SEQ ID NO:90的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:89的序列的轻链可变区；

[0056] j)包含SEQ ID NO:92的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:91的序列的轻链可变区；

[0057] k)包含SEQ ID NO:94的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:93的序列的轻链可变区；

[0058] l)包含SEQ ID NO:96的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:95的序列的轻链可变区；

[0059] m)包含SEQ ID NO:98的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:97的序列的轻链可变区；或

[0060] n)包含SEQ ID NO:100的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:99的序列的轻链可变区。

[0061] 在一些实施方案中,提供一种分离的结合CD33的抗体。在一些实施方案中,该抗体结合CD33且具有一项或多项下述特征:

[0062] a)结合重组人CD33;

[0063] b)结合重组食蟹猴CD33;

[0064] c)结合人外周血单个核细胞(PBMC)表面上的内源CD33;

[0065] d)以小于10nM,小于7nM,小于5nM,小于3nM,小于2nM,或小于1nM的Kd结合重组人CD33;和/或

[0066] e)以小于10nM,小于7nM,小于5nM,小于3nM,小于2nM,或小于1nM的Kd结合重组食蟹猴CD33。

[0067] 在一些实施方案中,分离的结合CD33的抗体包含(a)包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。

[0068] 在一些实施方案中,结合CD33的抗体包含:

[0069] a)包含SEQ ID NO:70的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:69的序列的轻链可变区;

[0070] b)包含SEQ ID NO:72的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:71的序列的轻链可变区;

[0071] c)包含SEQ ID NO:74的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:73的序列的轻链可变区;或

[0072] d)包含SEQ ID NO:76的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:75的序列的轻链可变区。

[0073] 在一些实施方案中,分离的结合CD33的抗体包含(a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0074] 在一些实施方案中,分离的结合CD33的抗体包含(a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0075] 在一些实施方案中,分离的结合CD33的抗体包含(a)包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。

[0076] 在一些实施方案中,该抗体是单克隆抗体。在一些实施方案中,该抗体是人,人源化,或嵌合抗体。在一些实施方案中,该抗体是IgG1,IgG2a或IgG2b抗体。在一些实施方案中,该抗体是结合CD33的抗体片段。在一些实施方案中,CD33是具有SEQ ID NO:1的序列的人CD33,有或无信号序列(例如有或无氨基酸1-17)。

[0077] 在一些实施方案中,提供一种分离的核酸,其编码本文中描述的抗体。在一些实施

方案中,提供一种宿主细胞,其包含该核酸。在一些实施方案中,提供一种生成抗体的方法,其包括培养该宿主细胞使得该抗体生成。

[0078] 在一些实施方案中,提供一种免疫缀合物,其包含本文中描述的抗体和细胞毒剂。在一些实施方案中,该免疫缀合物具有式Ab-(L-D)p,其中:

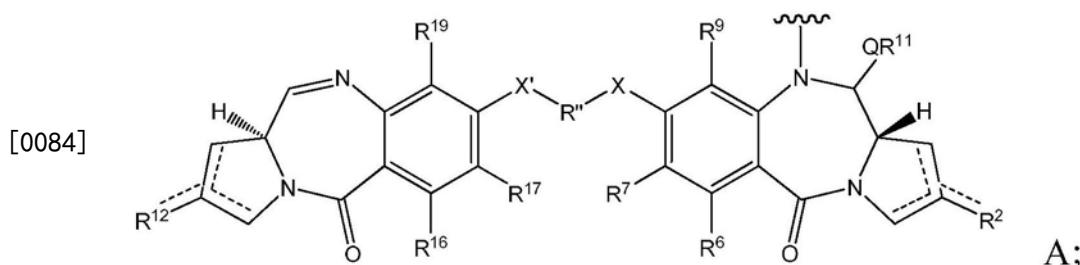
[0079] (a) Ab是本文中描述的抗体;

[0080] (b) L是接头;

[0081] (c) D是细胞毒剂;且

[0082] (d) p范围为1-8。

[0083] 在一些实施方案中,该细胞毒剂选自美登木素生物碱(maytansinoid),加利车霉素(calicheamicin),吡咯并苯并二氮卓(pyrrolobenzodiazepine),和奈莫柔比星(nemorubicin)衍生物。在一些实施方案中,D是式A的吡咯并苯并二氮卓:



[0085] 其中虚线表示C1与C2或C2与C3之间任选存在双键;

[0086] R<sup>2</sup>独立选自H,OH,=O,=CH<sub>2</sub>,CN,R,OR,=CH-R<sup>D</sup>,=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>,O-SO<sub>2</sub>-R,CO<sub>2</sub>R和COR,且任选还选自卤素或二卤素,其中R<sup>D</sup>独立选自R,CO<sub>2</sub>R,COR,CHO,CO<sub>2</sub>H,和卤素;

[0087] R<sup>6</sup>和R<sup>9</sup>独立选自H,R,OH,OR,SH,SR,NH<sub>2</sub>,NHR,NRR',NO<sub>2</sub>,Me<sub>3</sub>Sn和卤素;

[0088] R<sup>7</sup>独立选自H,R,OH,OR,SH,SR,NH<sub>2</sub>,NHR,NRR',NO<sub>2</sub>,Me<sub>3</sub>Sn和卤素;

[0089] Q独立选自O,S和NH;

[0090] R<sup>11</sup>为H或R,或在Q为O的情况下,SO<sub>3</sub>M,其中M为金属阳离子;

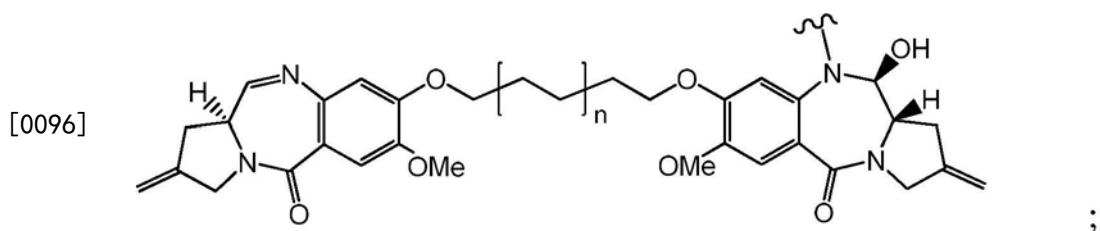
[0091] R和R'各自独立选自任选取代的C<sub>1-8</sub>烃基,C<sub>3-8</sub>杂环基和C<sub>5-20</sub>芳基基团,且任选涉及基团NRR'时,R和R'与它们所附着的氮原子一起形成任选取代的4,5,6或7元杂环;

[0092] R<sup>12</sup>,R<sup>16</sup>,R<sup>19</sup>和R<sup>17</sup>分别如为R<sup>2</sup>,R<sup>6</sup>,R<sup>9</sup>和R<sup>7</sup>定义的;

[0093] R''为C<sub>3-12</sub>亚烃基基团,该链可以由一个或多个杂原子和/或任选取代的芳香环中断;且

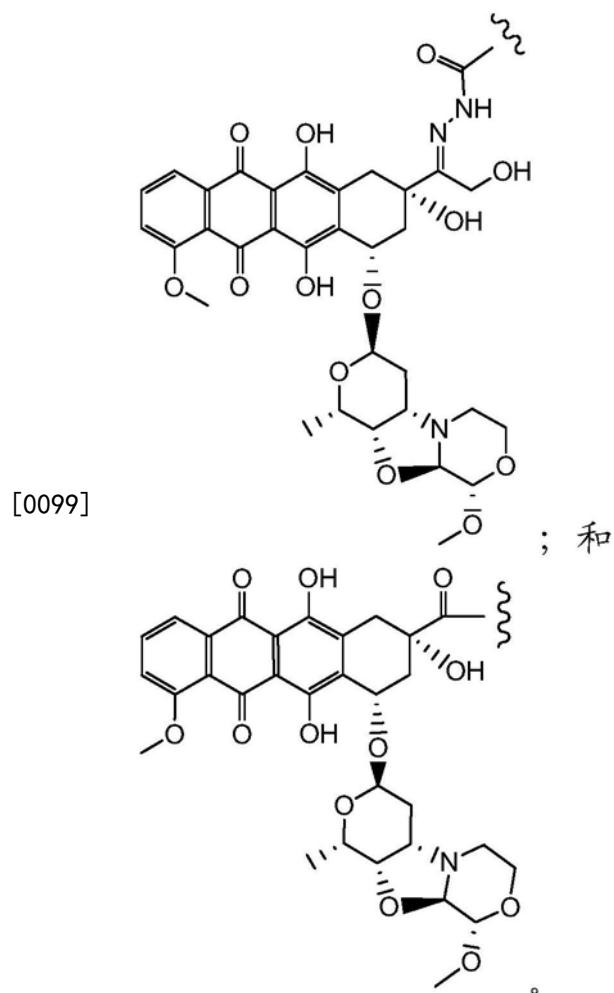
[0094] X和X'独立选自O,S和N(H)。

[0095] 在一些实施方案中,D具有结构:



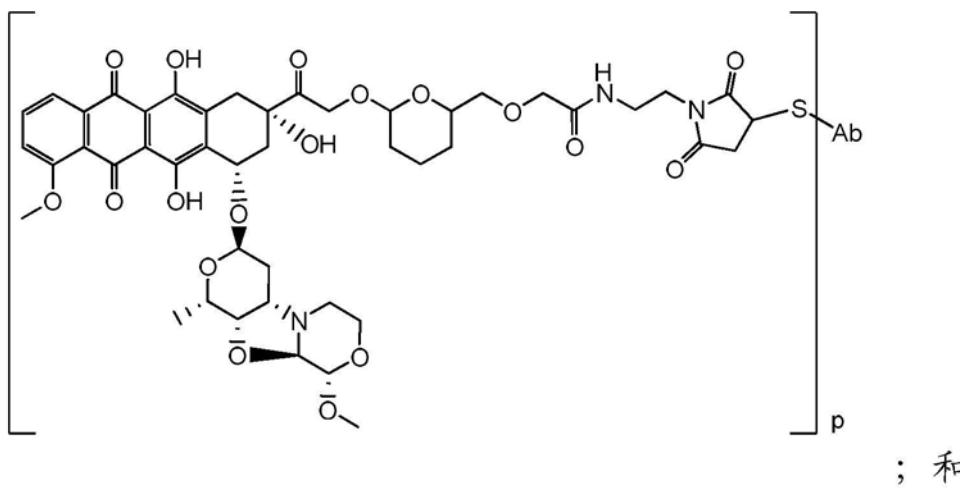
[0097] 其中n是0或1。

[0098] 在一些实施方案中,D是奈莫柔比星衍生物。在一些实施方案中,D具有选自下述的结构:

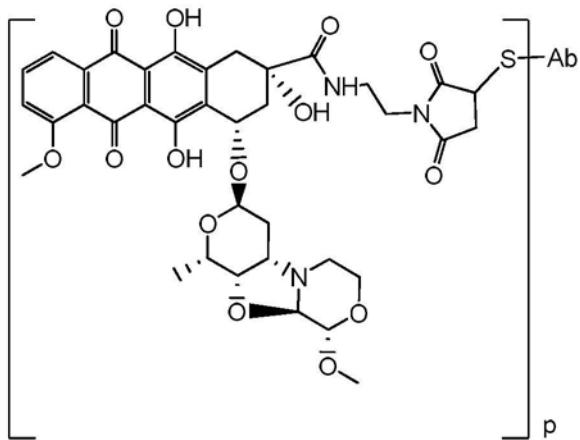


[0100] 在一些实施方案中，免疫缀合物包含蛋白酶可切割的接头。在一些实施方案中，免疫缀合物包含酸不稳定的接头。在一些实施方案中，该接头包含腙。

[0101] 在一些实施方案中，包含本文中描述的抗体的免疫缀合物具有选自下述的式：



[0102]



。

[0103] 在本文中描述的任何免疫缀合物实施方案中, p范围为2-5。

[0104] 在一些实施方案中, 提供药物制剂。在一些实施方案中, 药物制剂包含本文中描述的免疫缀合物和药学可接受载剂。在一些实施方案中, 该药物制剂包含别的治疗剂。

[0105] 在一些实施方案中, 提供治疗方法。在一些实施方案中, 提供治疗CD33阳性癌症的方法。在一些实施方案中, 治疗方法包括对个体施用有效量的本文中描述的免疫缀合物或本文中描述的药物制剂。在一些实施方案中, 该CD33阳性癌症是AML。在一些实施方案中, 该方法包括对该个体施用别的治疗剂。

[0106] 在一些实施方案中, 提供抑制CD33阳性细胞增殖的方法。在一些实施方案中, 该方法包括在允许本文中描述的免疫缀合物结合该细胞表面上的CD33的条件下将该细胞暴露于该免疫缀合物, 由此抑制该细胞增殖。在一些实施方案中, 该细胞是AML癌细胞。

[0107] 在一些实施方案中, 提供一种检测生物学样品中的人CD33的方法。在一些实施方案中, 方法包括在允许抗CD33抗体结合天然发生人CD33的条件下使该生物学样品接触该抗CD33抗体, 并检测该抗CD33抗体和该生物学样品中的天然发生人CD33之间是否形成复合物。在一些实施方案中, 抗CD33抗体是本文中描述的抗体。在一些实施方案中, 该生物学样品是AML癌症样品。

[0108] 在一些实施方案中, 提供一种检测CD33阳性癌症的方法。在一些此类实施方案中, 方法包括(i)对具有或怀疑具有CD33阳性癌症的受试者施用已标记的抗CD33抗体, 并(ii)

检测该受试者中的该已标记的抗CD33抗体，其中检测到该已标记的抗CD33抗体指示该受试者中的CD33阳性癌症。在一些实施方案中，抗CD33抗体是本文中描述的抗体。在一些此类实施方案中，该已标记的抗CD33抗体包含缀合至正电子发射体的抗CD33抗体。在一些实施方案中，该正电子发射体是<sup>89</sup>Zr。

[0109] 附图简述

[0110] 图1A-B显示7A1,9C2,10D3,和15G15的轻链可变区序列(A)和重链可变区序列(B)的比对。

[0111] 图2A-B显示15G15,15G15.33,15G15.37,15G15.83,15G15.88,15G15.7,15G15.17,15G15.30,15G15.31,15G15.39,和15G15.84的轻链可变区序列(A)和重链可变区序列(B)的比对。

[0112] 图3A-B显示23E4,27C6,33F3,33F9,和33H4的轻链可变区序列(A)和重链可变区序列(B)的比对。

[0113] 图4A-B显示9C3,9C3.2,9C3.3,和9C3.4的轻链可变区序列(A)和重链可变区序列(B)的比对。

[0114] 图5A-D显示抗CD33抗体对重组CD33的物种交叉反应性。显示抗CD33抗体结合表达重组人(hu)CD33(A,C)和食蟹猴(cyno)CD33(B,D)的293细胞。

[0115] 图6A-D显示抗CD33抗体结合在Mo1m-13(A,C)和AML(B,D)细胞中表达的内源huCD33。

[0116] 图7A-D显示抗CD33抗体对内源CD33的物种交叉反应性。抗CD33抗体结合huCD33+(A,C)和cynoCD33+(B,D)髓样细胞。

[0117] 图8A-D显示抗CD33抗体表位分仓和与MY9.6的比较，使用huCD33(A-C)和cynoCD33(D)进行。关于MY9参见例如Griffin et al., Leuk Res. 8:521 (1984)。

[0118] 图9显示抗CD33抗体15G15和抗CD33抗体27C6,9C2,33F9,10D3,7A1,15G15,23E4,和33H4之间对于人CD33结合的一种例示性抗体竞争实验。

[0119] 图10A-C显示抗CD33抗体9C3不与抗CD33抗体15G15.33竞争且与15G15.33结合不同的表位。

[0120] 图11显示9C3抗体的变体9C3.2,9C3.3,和9C3.4具有改善的对huCD33的结合。

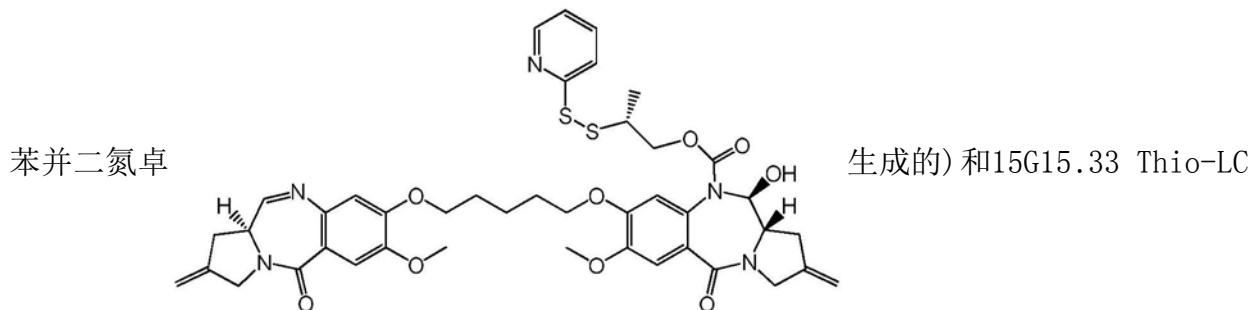
[0121] 图12A-D。图12A显示实施例中使用的域交换多肽的示意图。图12B-D显示抗CD33抗体7A1,9C2,10D3和15G15结合huCD33的Ig样V域。

[0122] 图13A-C显示抗CD33抗体WM53(A)和15G15(B)能够结合没有N连接的糖基化的huCD33 Ig样V域。在图13C中，huCD33的Ig样V域的共有N-糖基化位点序列以框标示，包括突变位点S102A和S115A。(因为只显示Ig样V域，所以该图中显示的编号方式不同于全长CD33的编号方式。)

[0123] 图14A-C显示CD33的R69和G69Ig-V域的野生型和单核苷酸多态性(SNP)序列(A)，而且显示抗CD33抗体7A1,9C2,10D3,15G15,23E4,27C6,33F9,和33H4的结合不受SNP(r2455069)(例如R69G)影响。

[0124] 图15A-B显示抗CD33抗体15G15和15G15.33 L-D#1的内在化和体外效力。

[0125] 图16A-B显示HL-60(A)和EOL-1(B)异种移植植物中以多种剂量用15G15.33Thio-HCA118C L-D#1(L-D#1是通过缀合接头-药物模块单甲基-吡啶基二硫化物，N10连接的吡咯并



V205C L-D#1处理后肿瘤体积( $\text{mm}^3$ )随时间的变化。

[0126] 图17显示HL-60异种移植植物中以多种浓度用15G15 Thio-HC A118C L-D#2 (L-D#2是通过缀合接头-药物模块具有乙缩醛接头-PNU的马来酰亚胺



变化。

[0127] 发明详述

[0128] I. 定义

[0129] 出于本文中的目的，“受体人框架”指包含自人免疫球蛋白框架或如下文定义的人共有框架衍生的轻链可变域(VL)框架或重链可变域(VH)框架的氨基酸序列的框架。自人免疫球蛋白框架或人共有框架“衍生”的受体人框架可以包含其相同的氨基酸序列，或者它可以含有氨基酸序列变化。在一些实施方案中，氨基酸变化的数目是10或更少，9或更少，8或更少，7或更少，6或更少，5或更少，4或更少，3或更少，或2或更少。在一些实施方案中，VL受体人框架与VL人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列在序列上相同。

[0130] “亲和力”指分子(例如抗体)的单一结合位点与其结合配偶(例如抗原)之间全部非共价相互作用总和的强度。除非另有指示，如本文中使用的，“结合亲和力”指反映结合对的成员(例如抗体和抗原)之间1:1相互作用的内在结合亲和力。分子X对其配偶Y的亲和力通常可以用解离常数( $K_d$ )来表述。亲和力可以通过本领域知道的常用方法来测量，包括本文中所描述的方法。下文描述了用于测量结合亲和力的具体的说明性和例示性的实施方案。

[0131] “亲和力成熟的”抗体指在一个或多个高变区(HVR)中具有一处或多处改变的抗体，与不拥有此类改变的亲本抗体相比，此类改变导致该抗体对抗原的亲和力改善。

[0132] 术语“抗CD33抗体”和“结合CD33的抗体”指能够以足够亲和力结合CD33，使得该抗体可作为诊断剂和/或治疗剂用于靶向CD33的抗体。在一个实施方案中，根据例如通过放射免疫测定法(RIA)的测量，抗CD33抗体结合无关的，非CD33的蛋白质的程度小于该抗体对CD33的结合的约10%。在某些实施方案中，结合CD33的抗体具有 $\leq 1\mu\text{M}$ ,  $\leq 100\text{nM}$ ,  $\leq 10\text{nM}$ ,  $\leq$

5nM, ≤4nM, ≤3nM, ≤2nM, ≤1nM, ≤0.1nM, ≤0.01nM, 或≤0.001nM(例如 $10^{-8}$ M或更少, 例如 $10^{-8}$ M到 $10^{-13}$ M, 例如 $10^{-9}$ M到 $10^{-13}$ M)的解离常数(Kd)。在某些实施方案中, 抗CD33抗体结合在来自不同物种的CD33中保守的CD33表位。

[0133] 术语“抗体”在本文中以最广义使用, 并且涵盖各种抗体结构, 包括但不限于单克隆抗体, 多克隆抗体, 多特异性抗体(例如双特异性抗体), 和抗体片段, 只要它们展现出期望的抗原结合活性。

[0134] “抗体片段”指与完整抗体不同的分子, 其包含完整抗体的一部分且结合完整抗体结合的抗原。抗体片段的例子包括但不限于Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')<sub>2</sub>; 双抗体; 线性抗体; 单链抗体分子(例如scFv); 和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0135] 与参照抗体“结合相同表位的抗体”指在竞争测定法中将参照抗体对其抗原的结合阻断50%或更多的抗体, 且相反, 参照抗体在竞争测定法中将该抗体对其抗原的结合阻断50%或更多。本文中提供了一种例示性的竞争测定法。

[0136] 术语“癌症”和“癌性”指向或描述哺乳动物中特征通常为细胞生长/增殖不受调控的生理疾患。癌症的例子包括但不限于瘤瘤, 淋巴瘤(例如何杰金(Hodgkin)氏淋巴瘤和非何杰金氏淋巴瘤), 母细胞瘤, 肉瘤和白血病。此类癌症的更具体例子包括急性髓样白血病(AML), 骨髓增生异常综合征(MDS), 慢性髓细胞性白血病(CML), 慢性骨髓单核细胞性白血病, 急性早幼粒细胞性白血病(APL), 慢性骨髓增生性病症, 血小板细胞性白血病, 前体B细胞急性成淋巴细胞性白血病(pre-B-ALL), 前体T细胞急性成淋巴细胞性白血病(preT-ALL), 多发性骨髓瘤(MM), 肥大细胞病, 肥大细胞性白血病, 肥大细胞肉瘤, 髓样肉瘤, 淋巴样白血病, 和未分化性白血病。在一些实施方案中, 癌症是髓样白血病。在一些实施方案中, 癌症是急性髓样白血病(AML)。

[0137] 术语“嵌合”抗体指其中的重和/或轻链的一部分自特定的来源或物种衍生, 而重和/或轻链的剩余部分自不同来源或物种衍生的抗体。

[0138] 抗体的“类”指其重链拥有的恒定域或恒定区的类型。抗体有5大类:IgA, IgD, IgE, IgG, 和IgM, 并且这些中的几种可以进一步分成亚类(同种型), 例如, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub>, 和IgA<sub>2</sub>。与不同类免疫球蛋白对应的重链恒定域分别称作 $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$ , 和 $\mu$ 。

[0139] 如本文中使用的, 术语“细胞毒剂”指抑制或阻止细胞功能和/或引起细胞死亡或破坏的物质。细胞毒剂包括但不限于: 放射性同位素(例如At<sup>211</sup>, I<sup>131</sup>, I<sup>125</sup>, Y<sup>90</sup>, Re<sup>186</sup>, Re<sup>188</sup>, Sm<sup>153</sup>, Bi<sup>212</sup>, P<sup>32</sup>, Pb<sup>212</sup>和Lu的放射性同位素); 化疗剂或化疗药物(例如甲氨蝶呤(methotrexate), 阿霉素(adriamycin), 长春花生物碱类(vinca alkaloids)(长春新碱(vincristine), 长春碱(vinblastine), 依托泊苷(etoposide)), 多柔比星(doxorubicin), 美法伦(melphalan), 丝裂霉素(mitomycin) C, 苯丁酸氮芥(chlorambucil), 柔红霉素(daunorubicin)或其它嵌入剂); 生长抑制剂; 酶及其片段, 诸如溶核酶; 抗生素; 毒素, 诸如小分子毒素或者细菌, 真菌, 植物或动物起源的酶活性毒素, 包括其片段和/或变体; 及下文公开的各种抗肿瘤剂或抗癌剂。

[0140] “效应器功能”指那些可归于抗体Fc区且随抗体同种型而变化的生物学活性。抗体效应器功能的例子包括:C1q结合和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)下调; 和B细胞活化。

[0141] 药剂(例如药物制剂)的“有效量”指在必需的剂量和时段上有效实现期望的治

疗或预防结果的量。

[0142] 术语“表位”指抗原分子上抗体所结合的特定位点。

[0143] 本文中的术语“Fc区”用于定义免疫球蛋白重链中至少含有恒定区一部分的C端区。该术语包括天然序列Fc区和变体Fc区。在一个实施方案中，人IgG重链Fc区自Cys226，或自Pro230延伸至重链的羧基端。然而，Fc区的C端赖氨酸(Lys447)可以存在或不存在。除非本文中另有规定，Fc区或恒定区中的氨基酸残基的编号方式依照EU编号系统，也称作EU索引，如记载于Kabat等，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，Public Health Service，National Institutes of Health，Bethesda，MD，1991。

[0144] “框架”或“FR”指除高变区(HVR)残基外的可变域残基。一般地，可变域的FR由4个FR域组成：FR1，FR2，FR3，和FR4。因而，HVR和FR序列在VH(或VL)中一般以如下的顺序出现：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

[0145] 术语“全长抗体”，“完整抗体”，和“全抗体”在本文中可互换使用，指与天然抗体结构具有基本上类似的结构或者具有含有如本文中定义的Fc区的重链的抗体。

[0146] 术语“CD33的糖基化形式”指通过添加碳水化合物残基经过翻译后修饰的天然存在形式的CD33。

[0147] 术语“宿主细胞”，“宿主细胞系”，和“宿主细胞培养物”可互换使用，并且指已经导入有外源核酸的细胞，包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“经转化的细胞”，其包括原代的经转化的细胞及自其衍生的后代而不考虑传代的次数。后代在核酸内容物上可以与亲本细胞不完全相同，而是可以含有突变。本文中包括具有与在初始转化细胞中筛选或选择的相同功能或生物学活性的突变体后代。

[0148] “人抗体”指拥有与由人或人细胞生成的或利用人抗体全集或其它人抗体编码序列自非人来源衍生的抗体的氨基酸序列对应的氨基酸序列的抗体。人抗体的此定义明确排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

[0149] “人共有框架”指代表人免疫球蛋白VL或VH框架序列选集中最常存在的氨基酸残基的框架。通常，人免疫球蛋白VL或VH序列选集来自可变域序列亚组。通常，序列亚组是如Kabat等，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，NIH Publication 91-3242，Bethesda MD (1991)，第1-3卷中的亚组。在一个实施方案中，对于VL，亚组是如Kabat等，见上文中的亚组κI。在一个实施方案中，对于VH，亚组是如Kabat等，见上文中的亚组III。

[0150] “人源化”抗体指包含来自非人HVR的氨基酸残基和来自人FR的氨基酸残基的嵌合抗体。在某些实施方案中，人源化抗体会包含至少一个，通常两个基本上整个如下的可变域，其中所有或基本上所有HVR(例如CDR)对应于非人抗体的那些，且所有或基本上所有FR对应于人抗体的那些。任选地，人源化抗体可以至少包含自人抗体衍生的抗体恒定区的一部分。抗体(例如非人抗体)的“人源化形式”指已经经历人源化的抗体。

[0151] 如本文中使用的，术语“高变区”或“HVR”指抗体可变域中在序列上高变的和/或形成结构上定义的环(“高变环”)的每个区。一般地，天然的4链抗体包含6个HVR；三个在VH中(H1, H2, H3)，且三个在VL中(L1, L2, L3)。HVR一般包含来自高变环和/或来自“互补决定区”(CDR)的氨基酸残基，后一种是最高序列变异性的和/或牵涉抗原识别。例示性高变区存在于氨基酸残基26-32(L1), 50-52(L2), 91-96(L3), 26-32(H1), 53-55(H2)，和96-101(H3)

(Chothia和Lesk, J.Mol.Biol.196:901–917 (1987))。例示性CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, 和CDR-H3) 存在于氨基酸残基L1的24–34, L2的50–56, L3的89–97, H1的31–35B, H2的50–65, 和H3的95–102 (Kabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))。除了VH中的CDR1外, CDR一般包含形成高变环的氨基酸残基。CDR还包含“特异性决定残基”, 或“SDR”, 其是接触抗原的残基。SDR包含在称作缩短的-CDR, 或 $\alpha$ -CDR的CDR区内。例示性的 $\alpha$ -CDR ( $\alpha$ -CDR-L1,  $\alpha$ -CDR-L2,  $\alpha$ -CDR-L3,  $\alpha$ -CDR-H1,  $\alpha$ -CDR-H2, 和 $\alpha$ -CDR-H3) 存在于氨基酸残基L1的31–34, L2的50–55, L3的89–96, H1的31–35B, H2的50–58, 和H3的95–102 (参见Almagro和Fransson, Front.Biosci.13:1619–1633 (2008))。除非另有指示, 可变域中的HVR残基和其它残基(例如, FR残基) 在本文中依照Kabat等, 见上文编号。

[0152] “免疫缀合物”指与一种或多种异源分子(包括但不限于细胞毒剂) 缀合的抗体。

[0153] “个体”或“受试者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于驯养的动物(例如, 牛, 绵羊, 猫, 犬, 和马), 灵长类(例如, 人和非人灵长类诸如猴), 家兔, 和啮齿类(例如, 小鼠和大鼠)。在某些实施方案中, 个体或受试者是人。

[0154] “分离的抗体”指已经与其天然环境的一种成分分开的抗体。在一些实施方案中, 抗体纯化至大于95%或99%的纯度, 如通过例如电泳(例如, SDS-PAGE, 等电聚焦(IEF), 毛细管电泳)或层析(例如, 离子交换或反相HPLC)测定的。关于用于评估抗体纯度的方法的综述, 见例如Flatman等, J.Chromatogr.B 848:79–87 (2007)。

[0155] “分离的核酸”指已经与其天然环境的一种成分分开的核酸分子。分离的核酸包括通常含有核酸分子的细胞中含有的核酸分子, 但是核酸分子在染色体外或在与其天然染色体位置不同的染色体位置处存在。

[0156] “编码抗CD33抗体的分离的核酸”指编码抗体重和轻链(或其片段)的一种或多种核酸分子, 包括单一的载体或分开的载体中的此类核酸分子, 和存在于宿主细胞中的一个或多个位置的此类核酸分子。

[0157] 如本文中使用的, 术语“CD33”指源自细胞中CD33前体蛋白加工的任何天然, 成熟CD33。该术语包括来自任何脊椎动物来源的CD33, 包括哺乳动物诸如灵长类动物(例如人和食蟹猴) 和啮齿类动物(例如小鼠和大鼠), 除非另有说明。该术语还包括CD33的天然存在变体, 例如剪接变体或等位变体。一种例示性的人CD33前体蛋白(带信号序列, 氨基酸1–17) 的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:1。一种例示性的成熟人CD33的氨基酸序列是SEQ ID NO:1的氨基酸18–364。一种例示性的胞外域的氨基酸序列是SEQ ID NO:1的氨基酸18–259。一种例示性的Ig样V型(Ig V) 域的氨基酸序列是SEQ ID NO:2。一种例示性的Ig样C2型(Ig C2) 域的氨基酸序列是SEQ ID NO:3。一种例示性的食蟹猴CD33前体蛋白(带信号序列) 的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:4。

[0158] 术语“CD33阳性癌症”指包含在其表面上表达CD33的细胞的癌症。在一些实施方案中, 例如使用针对CD33的抗体在诸如免疫组织化学, FACS, 等方法中测定细胞表面上CD33的表达。或者, 认为CD33 mRNA表达与细胞表面上的CD33表达有关, 而且可通过选自原位杂交和RT-PCR(包括定量RT-PCR)的方法来测定。

[0159] 术语“CD33阳性细胞”指在其表面上表达CD33的细胞。

[0160] 如本文中使用的, 术语“单克隆抗体”指从一群基本上同质的抗体获得的抗体, 即

构成群体的各个抗体是相同的和/或结合相同表位,除了例如含有天然存在的突变或在单克隆抗体制备物的生成期间发生的可能的变体抗体外,此类变体一般以极小量存在。与通常包含针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制备物不同,单克隆抗体制备物的每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。如此,修饰语“单克隆”指示抗体自一群基本上同质的抗体获得的特性,而不应解释为要求通过任何特定方法来生成抗体。例如,可以通过多种技术来生成要依照本发明使用的单克隆抗体,包括但不限于杂交瘤方法,重组DNA方法,噬菌体展示方法,和利用含有所有或部分人免疫球蛋白基因座的转基因动物的方法,本文中描述了用于生成单克隆抗体的此类方法和其它例示性方法。

[0161] “裸抗体”指未与异源模块(例如细胞毒性模块)或放射性标记物缀合的抗体。裸抗体可以存在于药物制剂中。

[0162] “天然抗体”指具有不同结构的天然存在的免疫球蛋白分子。例如,天然IgG抗体是约150,000道尔顿的异四聚糖蛋白,由成二硫键的两条相同轻链和两条相同重链构成。从N至C端,每条重链具有一个可变区(VH),也称作可变重域或重链可变域,接着是三个恒定域(CH1, CH2, 和CH3)。类似地,从N至C端,每条轻链具有一个可变区(VL),也称作可变轻域或轻链可变域,接着是一个恒定轻(CL)域。根据其恒定域氨基酸序列,抗体轻链可归入两种型中的一种,称作卡帕( $\kappa$ )和拉姆达( $\lambda$ )。

[0163] 术语“包装插页”用于指治疗产品的商业包装中通常包含的用法说明书,其含有关于涉及此类治疗产品应用的适应症,用法,剂量,施用,联合疗法,禁忌症和/或警告的信息。

[0164] 关于参照多肽序列的“百分比(%)氨基酸序列同一性”定义为比对序列并在必要时引入缺口以获取最大百分比序列同一性后,且不将任何保守替代视为序列同一性的一部分时,候选序列中与参照多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分率。为测定百分比氨基酸序列同一性的比对可以以本领域技术范围内的多种方式进行,例如使用公众可得到的计算机软件,诸如BLAST,BLAST-2,ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以决定用于比对序列的合适参数,包括对所比较序列全长获得最大比对所需的任何算法。然而,为了本文中的目的,%氨基酸序列同一性值是使用序列比较计算机程序ALIGN-2产生的.ALIGN-2序列比较计算机程序由Genentech, Inc.编写,并且源代码已经连同用户文档一起提交给美国版权局(US Copyright Office, Washington D.C., 20559),其中其以美国版权注册号TXU510087注册。公众自Genentech, Inc., South San Francisco, California可获得ALIGN-2程序,或者可以从源代码编译.ALIGN-2程序应当编译成在UNIX操作系统(包括数码UNIX V4.0D)上使用。所有序列比较参数由ALIGN-2程序设定且不变。

[0165] 在采用ALIGN-2来比较氨基酸序列的情况下,给定氨基酸序列A相对于(to),与(with),或针对(against)给定氨基酸序列B的%氨基酸序列同一性(或者可表述为具有或包含相对于,与,或针对给定氨基酸序列B的某一%氨基酸序列同一性的给定氨基酸序列A)如下计算:

[0166] 分数X/Y乘100

[0167] 其中X是由序列比对程序ALIGN-2在该程序的A和B比对中评分为相同匹配的氨基酸残基数,且其中Y是B中的氨基酸残基总数。应当领会,若氨基酸序列A的长度与氨基酸序列B的长度不相等,则A相对于B的%氨基酸序列同一性会不等于B相对于A的%氨基酸序列同一性。除非另有明确说明,本文中所使用的所有%氨基酸序列同一性值都是依照上一段

所述,使用ALIGN-2计算机程序获得的。

[0168] 术语“药物制剂”指处于如下的形式,使得容许其中含有的活性组分的生物学活性是有效的,且不含对会接受制剂施用的受试者具有不可接受的毒性的别的成分的制剂。

[0169] “药学可接受载剂”指药物制剂中与活性组分不同的,且对受试者无毒的组分。药学可接受载剂包括但不限于缓冲剂,赋形剂,稳定剂,或防腐剂。

[0170] 如本文中使用的,“治疗”(及其语法变化形式,诸如“处理”或“处置”)指试图改变所治疗个体的自然进程的临床干预,可以是为了预防或在临床病理学的进程中进行。治疗的期望效果包括但不限于预防疾病的发生或复发,缓解症状,削弱疾病的任何直接或间接病理学后果,预防转移,减缓疾病进展的速率,改善或减轻疾病状态,及消退或改善预后。在有些实施方案中,本发明的抗体用于延迟疾病的发生/发展,或用于减缓疾病的进展。

[0171] 术语“可变区”或“可变域”指抗体重或轻链中牵涉抗体结合抗原的域。天然抗体的重链和轻链可变域(分别为VH和VL)一般具有类似的结构,其中每个域包含4个保守的框架区(FR)和3个高变区(HVR)。(参见例如Kindt等,Kuby Immunology,第6版,W.H.Freeman and Co.,第91页(2007))。单个VH或VL域可以足以赋予抗原结合特异性。此外,可以分别使用来自结合抗原的抗体的VH或VL域筛选互补VL或VH域的文库来分离结合特定抗原的抗体。见例如,Portolano等,J.Immunol.150:880-887(1993);Clarkson等,Nature352:624-628(1991)。

[0172] 如本文中使用的,术语“载体”指能够增殖与其连接的另一种核酸的核酸分子。该术语包括作为自身复制型核酸结构的载体及并入接受其导入的宿主细胞的基因组中的载体。某些载体能够指导与其可操作连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。

[0173] “烃基”(alkyl)指含正,仲,叔或环碳原子的C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烃(碳氢化合物)。例子有甲基(Me,-CH<sub>3</sub>),乙基(Et,-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),1-丙基(n-Pr,正丙基,-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),2-丙基(i-Pr,异丙基,-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>),1-丁基(n-Bu,正丁基,-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),2-甲基-1-丙基(i-Bu,异丁基,-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>),2-丁基(s-Bu,仲丁基,-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),2-甲基-2-丙基(t-Bu,叔丁基,-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>),1-戊基(正戊基,-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),2-戊基(-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),3-戊基(-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>),2-甲基-2-丁基(-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),3-甲基-2-丁基(-CH(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>),3-甲基-1-丁基(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>),2-甲基-1-丁基(-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),1-己基(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),2-己基(-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),3-己基(-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)),2-甲基-2-戊基(-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),3-甲基-2-戊基(-CH(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>),4-甲基-2-戊基(-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>),3-甲基-3-戊基(-C(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>),2-甲基-3-戊基(-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>),2,3-二甲基-2-丁基(-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>),3,3-二甲基-2-丁基(-CH(CH<sub>3</sub>)C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)。

[0174] 如本文中使用的,术语“C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基”指具有1至8个碳原子的直链的或分支的,饱和的或不饱和的烃(碳氢化合物)。代表性的“C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基”基团包括但不限于-甲基,-乙基,-正丙基,-正丁基,-正戊基,-正己基,-正庚基,-正辛基,-正壬基和-正癸基;而分支的C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基包括但不限于-异丙基,-仲丁基,-异丁基,-叔丁基,-异戊基,2-甲基丁基,不饱和的C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基包括但不限于-乙烯基,-丙烯基,-1-丁烯基,-2-丁烯基,-异丁烯基,-1-戊烯基,-2-戊烯基,-3-甲基-1-丁烯基,-2-甲基-2-丁烯基,-2,3-二甲基-2-丁烯基,1-己烯基,2-己烯基,3-己烯基,-乙炔基,-丙炔基,-1-丁炔基,-2-丁炔基,-1-戊炔基,-2-戊炔基,-3-甲基-

1-丁炔基。 $C_1-C_8$ 烃基基团可以是未取代的,或者是用一个或多个下述基团取代的,包括但不限于 $-C_1-C_8$ 烃基, $-O-(C_1-C_8\text{烃基})$ , $-$ 芳基, $-C(O)R'$ , $-OC(O)R'$ , $-C(O)OR'$ , $-C(O)NH_2$ , $-C(O)NHR'$ , $-C(O)N(R')_2$ , $-NHC(O)R'$ , $-SO_3R'$ , $-S(O)_2R'$ , $-S(O)R'$ , $-OH$ , $-$ 卤素, $-N_3$ , $-NH_2$ , $-NH(R')$ , $-N(R')_2$ 和 $-CN$ ;其中每一个 $R'$ 独立选自H, $-C_1-C_8$ 烃基和芳基。

[0175] 如本文中使用的,术语“ $C_1-C_{12}$ 烃基”指具有1至12个碳原子的直链的或分支的,饱和的或不饱和的烃。 $C_1-C_{12}$ 烃基基团可以是未取代的,或者是用一个或多个下述基团取代的,包括但不限于 $-C_1-C_8$ 烃基, $-O-(C_1-C_8\text{烃基})$ , $-$ 芳基, $-C(O)R'$ , $-OC(O)R'$ , $-C(O)OR'$ , $-C(O)NH_2$ , $-C(O)NHR'$ , $-C(O)N(R')_2$ , $-NHC(O)R'$ , $-SO_3R'$ , $-S(O)_2R'$ , $-S(O)R'$ , $-OH$ , $-$ 卤素, $-N_3$ , $-NH_2$ , $-NH(R')$ , $-N(R')_2$ 和 $-CN$ ;其中每一个 $R'$ 独立选自H, $-C_1-C_8$ 烃基和芳基。

[0176] 如本文中使用的,术语“ $C_1-C_6$ 烃基”指具有1至6个碳原子的直链的或分支的,饱和的或不饱和的烃。代表性“ $C_1-C_6$ 烃基”基团包括但不限于-甲基,-乙基,-正丙基,-正丁基,-正戊基,和-正己基;而分支的 $C_1-C_6$ 烃基包括但不限于-异丙基,-仲丁基,-异丁基,-叔丁基,-异戊基,和2-甲基丁基;不饱和的 $C_1-C_6$ 烃基包括但不限于-乙烯基,-丙烯基,-1-丁烯基,-2-丁烯基,-异丁烯基,-1-戊烯基,-2-戊烯基,-3-甲基-1-丁烯基,-2-甲基-2-丁烯基,-2,3-二甲基-2-丁烯基,1-己烯基,2-己烯基,和3-己烯基。 $C_1-C_6$ 烃基基团可以是未取代的,或者是用一个或多个上文关于 $C_1-C_8$ 烃基基团所述的基团取代的。

[0177] 术语“ $C_1-C_4$ 烃基”,如本文中使用的,指具有1至4个碳原子的直链的或分支的,饱和的或不饱和的烃。代表性“ $C_1-C_4$ 烃基”基团包括但不限于-甲基,-乙基,-正丙基,和-正丁基;而分支的 $C_1-C_4$ 烃基包括但不限于-异丙基,-仲丁基,-异丁基,-叔丁基;不饱和的 $C_1-C_4$ 烃基包括但不限于-乙烯基,-丙烯基,-1-丁烯基,-2-丁烯基,和-异丁烯基。 $C_1-C_4$ 烃基基团可以是未取代的,或者是用一个或多个上文关于 $C_1-C_8$ 烃基基团所述的基团取代的。

[0178] “烃氧基”指与氧形成单键的烃基基团。例示性烃氧基包括但不限于甲氧基( $-OCH_3$ )和乙氧基( $-OCH_2CH_3$ )。“ $C_1-C_5$ 烃氧基”指有1至5个碳原子的烃氧基基团。烃氧基基团可以是未取代的,或者是用一个或多个上文关于烃基基团所述的基团取代的。

[0179] “烯基”指有至少一个不饱和位点即碳-碳, $sp^2$ 双键的含正,仲,叔或环碳原子的 $C_2-C_{18}$ 烃。例子包括但不限于:次乙基或乙烯基( $-CH=CH_2$ ),丙烯基( $-CH_2CH=CH_2$ ),环戊烯基( $-C_5H_7$ ),和5-己烯基( $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH=CH_2$ )。“ $C_2-C_8$ 烯基”指有至少一个不饱和位点即碳-碳, $sp^2$ 双键的含2至8个正,仲,叔或环碳原子的烃。

[0180] “炔基”指有至少一个不饱和位点即碳-碳, $sp$ 三键的含正,仲,叔或环碳原子的 $C_2-C_{18}$ 烃。例子包括但不限于:乙炔基( $-C\equiv CH$ )和丙炔基( $-CH_2C\equiv CH$ )。“ $C_2-C_8$ 炔基”指有至少一个不饱和位点即碳-碳, $sp$ 三键的含2至8个正,仲,叔或环碳原子的烃。

[0181] “亚烷基”(alkylene)指1-18个碳原子且具有两个单价基心(radical center)(通过自亲本烷烃的同一碳原子或两个不同碳原子除去两个氢原子而衍生的)的饱和的,分支的或直链的或环状的烃基。典型的亚烷基包括但不限于:亚甲基( $-CH_2-$ ),1,2-乙基( $-CH_2CH_2-$ ),1,3-丙基( $-CH_2CH_2CH_2-$ ),1,4-丁基( $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ ),等等。

[0182] “ $C_1-C_{10}$ 亚烷基”指通式 $-(CH_2)_{1-10}-$ 的直链,饱和烃基团。 $C_1-C_{10}$ 亚烷基的例子包括亚甲基,亚乙基,亚丙基,亚丁基,亚戊基,亚己基,亚庚基,亚辛基,亚壬基和亚癸基。

[0183] “亚烯基”指2-18个碳原子且具有两个单价基心(radical center)(通过自亲本烯烃的同一碳原子或两个不同碳原子除去两个氢原子而衍生的)的不饱和的,分支的或直链

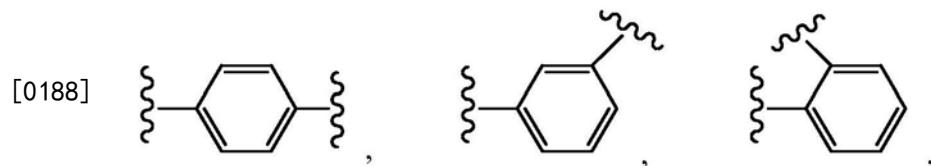
的或环状的烃基。典型的亚烯基包括但不限于：1,2-亚乙烯基（-CH=CH-）。

[0184] “亚炔基”指2-18个碳原子且具有两个单价基心（radical center）（通过自亲本炔烃的同一碳原子或两个不同碳原子除去两个氢原子而衍生的）的不饱和的，分支的或直链的或环状的烃基。典型的亚炔基包括但不限于：亚乙炔基（-C≡C-），亚丙炔基（-CH<sub>2</sub>C≡C-），和亚4-戊炔基（-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C≡C-）。

[0185] “芳基”指碳环芳香族基团。芳基基团的例子包括但不限于苯基，萘基和蒽基。碳环芳香族基团或杂环芳香族基团可以是未取代的，或者是用一个或多个下述基团取代的，包括但不限于-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基，-O-（C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基），-芳基，-C（0）R'，-OC（0）R'，-C（0）OR'，-C（0）NH<sub>2</sub>，-C（0）NHR'，-C（0）N（R'）<sub>2</sub>，-NHC（0）R'，-S（0）<sub>2</sub>R'，-S（0）R'，-OH，-卤素，-N<sub>3</sub>，-NH<sub>2</sub>，-NH（R'），-N（R'）<sub>2</sub>和-CN；其中每一个R'独立选自H，-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基和芳基。

[0186] “C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>芳基”指碳环芳香环中有5至20个碳原子的芳基基团。C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>芳基基团的例子包括但不限于苯基，萘基和蒽基。C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>芳基基团可以是取代的或未取代的，如上文关于芳基基团所述。“C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub>芳基”指碳环芳香环中有5至14个碳原子的芳基基团。C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub>芳基基团的例子包括但不限于苯基，萘基和蒽基。C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub>芳基基团可以是取代的或未取代的，如上文关于芳基基团所述。

[0187] “亚芳基”指具有两个共价键且可以是邻位，间位，或对位构型（如下示结构所示）的芳基基团：



[0189] 其中苯基基团可以是未取代的，或者是用至多四个下述基团取代的，包括但不限于-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基，-O-（C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基），-芳基，-C（0）R'，-OC（0）R'，-C（0）OR'，-C（0）NH<sub>2</sub>，-C（0）NHR'，-C（0）N（R'）<sub>2</sub>，-NHC（0）R'，-S（0）<sub>2</sub>R'，-S（0）R'，-OH，-卤素，-N<sub>3</sub>，-NH<sub>2</sub>，-NH（R'），-N（R'）<sub>2</sub>和-CN；其中每一个R'独立选自H，-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基和芳基。

[0190] “芳基烃基”指与碳原子（通常是末端或sp<sup>3</sup>碳原子）成键的氢原子之一用芳基替换的无环烃基。典型的芳基烃基包括但不限于苄基，2-苯基乙烷-1-基，2-苯基乙烯-1-基，萘基甲基，2-萘基乙烷-1-基，2-萘基乙烯-1-基，萘并苄基，2-萘并苯基乙烷-1-基等等。芳基烃基基团包含6至20个碳原子，例如芳基烃基基团的烃基模块（包括烷基，烯基或炔基）是1至6个碳原子，芳基模块是5至14个碳原子。

[0191] “杂芳基烃基”指与碳原子（通常是末端或sp<sup>3</sup>碳原子）成键的氢原子之一用杂芳基替换的无环烃基。典型的杂芳基烃基基团包括但不限于2-苯并咪唑基甲基，2-呋喃基乙基，等等。杂芳基烃基基团包含6至20个碳原子，例如杂芳基烃基基团的烃基模块（包括烷基，烯基或炔基）是1至6个碳原子，杂芳基模块是5至14个碳原子和1至3个选自N,O,P,和S的杂原子。杂芳基烃基基团的杂芳基模块可以是具有3至7个环成员（2至6个碳原子）的单环或具有7至10个环成员（4至9个碳原子和1至3个选自N,O,P,和S的杂原子）的双环，例如双环[4,5],[5,5],[5,6],或[6,6]体系。

[0192] “取代的烃基”，“取代的芳基”，和“取代的芳基烃基”分别指其中一个或多个氢原子各自独立用取代基替换的烃基，芳基，和芳基烃基。典型的取代基包括但不限于-X，-R，-

$O^-$ ,  $-OR$ ,  $-SR$ ,  $-S^-$ ,  $-NR_2$ ,  $-NR_3$ ,  $=NR$ ,  $-CX_3$ ,  $-CN$ ,  $-OCN$ ,  $-SCN$ ,  $-N=C=O$ ,  $-NCS$ ,  $-NO$ ,  $-NO_2$ ,  $=N_2$ ,  $-N_3$ ,  $NC(=O)R$ ,  $-C(=O)R$ ,  $-C(=O)NR_2$ ,  $-SO_3^-$ ,  $-SO_3H$ ,  $-S(=O)_2R$ ,  $-OS(=O)_2OR$ ,  $-S(=O)_2NR$ ,  $-S(=O)R$ ,  $-OP(=O)(OR)_2$ ,  $-P(=O)(OR)_2$ ,  $-PO_3^-$ ,  $-PO_3H_2$ ,  $-C(=O)R$ ,  $-C(=O)X$ ,  $-C(=S)R$ ,  $-CO_2R$ ,  $-CO_2^-$ ,  $-C(=S)OR$ ,  $-C(=S)SR$ ,  $-C(=O)NR_2$ ,  $-C(=S)NR_2$ ,  $-C(=NR)NR_2$ , 其中每一个X独立为卤素: F, Cl, Br, 或 I; 且每一个R独立为-H, C<sub>2</sub>-C<sub>18</sub>烃基, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>芳基, C<sub>3</sub>-C<sub>14</sub>杂环, 保护基团或前体药物模块。上文所述亚烷基, 亚烯基, 和亚炔基也可以被类似的取代。

[0193] “杂芳基”和“杂环”指其中一个或多个环原子是杂原子(例如氮, 氧和硫)的环体系。杂环基包含3至20个碳原子和1至3个选自N, O, P, 和S的杂原子。杂环可以是具有3至7个环成员(2至6个碳原子和1至3个选自N, O, P, 和S的杂原子)的单环或具有7至10个环成员(4至9个碳原子和1至3个选自N, O, P, 和S的杂原子)的双环, 例如双环[4, 5], [5, 5], [5, 6], 或[6, 6]体系。

[0194] 例示性杂环记载于例如Paquette, Leo A., “Principles of Modern Heterocyclic Chemistry” (W.A.Benjamin, New York, 1968), 特别是第1, 3, 4, 6, 7, 和9章; “The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs” (John Wiley & Sons, New York, 1950至今), 特别是第13, 14, 16, 19, 和28卷; 及J. Am. Chem. Soc. (1960) 82: 5566。

[0195] 举例而言, 杂环的例子包括但不限于吡啶基, 二氢吡啶基, 四氢吡啶基(哌啶基), 嘻唑基, 四氢硫苯基(tetrahydrothiophenyl), 硫氧化的四氢硫苯基, 噻啶基, 呋喃基, 嘻吩基, 吡咯基, 吡唑基, 吡啶基, 四唑基, 苯并呋喃基, 硫萘基(thianaphthalenyl), 吲哚基, indolenyl, 噇啉基, 异喹啉基, 苯并咪唑基, 哌啶基, 4-哌啶酮基, 吡咯烷基, 2-吡咯烷酮基, 吡咯啉基, 四氢呋喃基, 双-四氢呋喃基, 四氢吡喃基, 双-四氢吡喃基, 四氢喹啉基, 四氢异喹啉基, 十氢喹啉基, 八氢异喹啉基, 叶辛因基(azocinyl), 三嗪基, 6H-1, 2, 5-噻二嗪基, 2H, 6H-1, 5, 2-二噻嗪基, 噻吩基, 噻蒽基, 吡喃基, 异苯并呋喃基, 色烯基, 吲吨基, 酚噁噻基(phenoxyathinyl), 2H-吡咯基, 异噻唑基, 异噁唑基, 吡嗪基, 吡嗪基, 吲哚基, 异吲哚基, 3H-吲哚基, 1H-吲唑基, 嘌呤基(purinyl), 4H-喹嗪基, 酸嗪基, 萘啶基, 喹喔啉基, 噻唑啉基, 噻啉基, 噻啶基, 4aH-咔唑基, 咪唑基,  $\beta$ -咔啉基, 菲啶基, 吡啶基, 噻啶基, 菲咯啉基, 酚嗪基, 酚噻嗪基, 呋咱基, 酚噁嗪基, 异色满基, 色满基, 咪唑烷基, 咪唑啉基, 吡唑烷基, 吡唑啉基, 哌嗪基, 二氢吲哚基, 异二氢吲哚基, 奎宁环基, 吗啉基, 噁唑烷基, 苯并三唑基, 苯并异噁唑基, 羟吲哚基, 苯并噁唑啉基, 和靛红酰基(isatinoyl)。

[0196] 举例而言而非限制, 碳键合的杂环键合于吡啶的2, 3, 4, 5, 或6位, 吡嗪的3, 4, 5, 或6位, 噻啶的2, 4, 5, 或6位, 吡唑的2, 3, 5, 或6位, 呋喃, 四氢呋喃, 噻吩(thiofuran), 噻吩(thiophene), 吡咯或四氢吡咯的2, 3, 4, 或5位, 噁唑, 吡啶或噻唑的2, 4, 或5位, 异噁唑, 吡唑或异噻唑的3, 4, 或5位, 吲丙啶的2或3位, 吲丁啶的2, 3, 或4位, 噻啉的2, 3, 4, 5, 6, 7, 或8位, 或异喹啉的1, 3, 4, 5, 6, 7, 或8位。还要更典型的是, 碳键合的杂环包括2-吡啶基, 3-吡啶基, 4-吡啶基, 5-吡啶基, 6-吡啶基, 3-哒嗪基, 4-哒嗪基, 5-哒嗪基, 6-哒嗪基, 2-嘧啶基, 4-嘧啶基, 5-嘧啶基, 6-嘧啶基, 2-吡嗪基, 3-吡嗪基, 5-吡嗪基, 6-吡嗪基, 2-噻唑基, 4-噻唑基, 或5-噻唑基。

[0197] 举例而言而非限制, 氮键合的杂环键合于吖丙啶, 吖丁啶, 吡咯, 吡咯烷, 2-吡咯

咻,3-吡咯啉,咪唑,咪唑啉,2-咪唑啉,3-咪唑啉,吡唑,吡唑啉,2-吡唑啉,3-吡唑啉,哌啶,哌嗪,吲哚,二氢吲哚,1H-吲哚的1位,异吲哚或异二氢吲哚的2位,吗啉的4位,及咔唑或β-咔啉的9位。还要更典型的是,氮键合的杂环包括1-吖丙啶基(aziridyl),1-吖丁啶基(azetedyl),1-吡咯基,1-咪唑基,1-吡唑基,和1-哌啶基。

[0198] “C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环”指其中1至4个环碳原子独立地用选自O,S和N的杂原子替换的芳香族或非芳香族C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环。C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环的代表性例子包括但不限于苯并呋喃基,苯并噻吩(benzothiophene),吲哚基,苯并吡唑基,香豆素基,异喹啉基,吡咯基,硫苯基,呋喃基,噻唑基,咪唑基,吡唑基,三唑基,喹啉基,嘧啶基,吡啶基,吡啶酮基,吡嗪基,哒嗪基,异噻唑基,异恶唑基和四唑基。C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环可以是未取代的,或者是用至多7个下述基团取代的,包括但不限于-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基,-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基),-芳基,-C(O)R',-OC(O)R',-C(O)OR',-C(O)NH<sub>2</sub>,-C(O)NHR',-C(O)N(R')<sub>2</sub>,-NHC(O)R',-S(O)<sub>2</sub>R',-S(O)R',-OH,-卤素,-N<sub>3</sub>,-NH<sub>2</sub>,-NH(R'),-N(R')<sub>2</sub>和-CN;其中每一个R'独立选自H,-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基和芳基。

[0199] “C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环基/C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环并”指其中杂环基团的氢原子之一用键替换的上文定义的C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环基团。C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环基可以是未取代的,或者是用至多6个下述基团取代的,包括但不限于-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基,-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基),-芳基,-C(O)R',-OC(O)R',-C(O)OR',-C(O)NH<sub>2</sub>,-C(O)NHR',-C(O)N(R')<sub>2</sub>,-NHC(O)R',-S(O)<sub>2</sub>R',-S(O)R',-OH,-卤素,-N<sub>3</sub>,-NH<sub>2</sub>,-NH(R'),-N(R')<sub>2</sub>和-CN;其中每一个R'独立选自H,-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基和芳基。

[0200] “C<sub>3</sub>-C<sub>20</sub>杂环”指其中1至4个环碳原子独立地用选自O,S和N的杂原子替换的芳香族或非芳香族C<sub>3</sub>-C<sub>20</sub>碳环。C<sub>3</sub>-C<sub>20</sub>杂环可以是未取代的,或者是用至多7个下述基团取代的,包括但不限于-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基,-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基),-芳基,-C(O)R',-OC(O)R',-C(O)OR',-C(O)NH<sub>2</sub>,-C(O)NHR',-C(O)N(R')<sub>2</sub>,-NHC(O)R',-S(O)<sub>2</sub>R',-S(O)R',-OH,-卤素,-N<sub>3</sub>,-NH<sub>2</sub>,-NH(R'),-N(R')<sub>2</sub>和-CN;其中每一个R'独立选自H,-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基和芳基。

[0201] “C<sub>3</sub>-C<sub>20</sub>杂环基/C<sub>3</sub>-C<sub>20</sub>杂环并”指其中杂环基团的氢原子之一用键替换的上文定义的C<sub>3</sub>-C<sub>20</sub>杂环基团。

[0202] “碳环”指饱和的或不饱和的环,作为单环具有3至7个碳原子,作为双环具有7至12个碳原子。单环碳环具有3至6个环原子,还要更典型的是5或6个环原子。双环碳环具有7至12个环原子,例如排列成双环[4,5],[5,5],[5,6]或[6,6]体系,或者具有9或10个环原子,排列成双环[5,6]或[6,6]体系。单环碳环的例子包括环丙基,环丁基,环戊基,1-环戊-1-烯基,1-环戊-2-烯基,1-环戊-3-烯基,环己基,1-环己-1-烯基,1-环己-2-烯基,1-环己-3-烯基,环庚基,和环辛基。

[0203] “C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环”指3,4,5,6,7或8个成员的饱和的或不饱和的非芳香族碳环。代表性C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环包括但不限于-环丙基,-环丁基,-环戊基,-环戊二烯基,-环己基,-环己烯基,-1,3-环己二烯基,-1,4-环己二烯基,-环庚基,-1,3-环庚二烯基,-1,3,5-环庚三烯基,-环辛基,和-环辛二烯基。C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基团可以是未取代的,或者是用一个或多个下述基团取代的,包括但不限于-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基,-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基),-芳基,-C(O)R',-OC(O)R',-C(O)OR',-C(O)NH<sub>2</sub>,-C(O)NHR',-C(O)N(R')<sub>2</sub>,-NHC(O)R',-S(O)<sub>2</sub>R',-S(O)R',-OH,-卤素,-N<sub>3</sub>,-NH<sub>2</sub>,-NH(R'),-N(R')<sub>2</sub>和-CN;其中每一个R'独立选自H,-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基和芳基。

[0204] “C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基/C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环并”指其中碳环基团的氢原子之一用键替换的上文定义的C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环基团。

[0205] “接头”指包含使抗体共价附着于药物模块的共价键或原子链的化学模块。在各个实施方案中，接头包括二价基，诸如烃二基(alkyldiyl)，芳二基，杂芳二基，诸如-(CR<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O(CR<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-，烃氧基重复单元(例如聚亚乙基氧基(polyethyleneoxy)，PEG，聚亚甲基氧基(polymethyleneoxy))和烃氨基(例如聚乙烯氨基，Jeffamine<sup>TM</sup>)等模块；及二酸酯和酰胺，包括琥珀酸酯，琥珀酰胺，二乙醇酸酯，丙二酸酯，和己酰胺。在各种实施方案中，接头可包含一个或多个氨基酸残基，诸如缬氨酸，苯丙氨酸，赖氨酸，和高赖氨酸。

[0206] 术语“手性”指分子具有镜像对映体不可重叠的特性，而术语“非手性”指分子可重叠于其镜像对映体上。

[0207] 术语“立体异构体”指具有相同的化学结构，但是在原子或基团的空间排列方面有所不同的化合物。

[0208] “非对映异构体”指具有两个或更多个手性中心且其分子彼此不为镜像对映体的空间异构体。非对映异构体具有不同的物理特性，例如熔点，沸点，光谱特性，和反应性。非对映异构体的混合物可以在高分辨率的分析规程下分开，诸如电泳和层析。

[0209] “对映异构体”指化合物的彼此为不可重叠镜像的两种空间异构体。

[0210] 本文中使用的立体化学的定义和规则一般遵循S.P.Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; 及Eliel, E. and Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds (1994) John Wiley&Sons, Inc., New York。许多有机化合物以旋光形式存在，即它们有能力旋转平面偏振光的平面。在描述旋光化合物时，前缀D和L或R和S用于表示分子关于其手性中心的绝对构型。前缀d和l或(+)和(-)用于表示化合物对平面偏振光的旋转的标记，其中(-)或l指化合物是左旋的。以(+)或d为前缀的化合物是右旋的。对于指定的化学结构，这些立体异构体是相同的，只是它们互为镜像。一种特定立体异构体还可称作对映异构体，此类异构体的混合物通常称作对映异构体混合物。对映异构体的50:50混合物称作外消旋混合物或外消旋物，它们可以在没有立体选择性或立体特异性的化学反应或工艺中存在。术语“外消旋混合物”和“外消旋物”指两种对映异构体等摩尔混合从而没有旋光性的混合物。

[0211] “离去基团”指可以用另一官能团取代的官能团。某些离去基团是本领域公知的，例子包括但不限于卤化物(例如氯化物，溴化物，碘化物)，甲烷磺酰基(甲磺酰基)，对甲苯磺酰基(甲苯磺酰基)，三氟甲基磺酰基(三氟甲磺酸根)，和三氟甲基磺酸根。

[0212] 术语“保护基团”指常用于使化合物上的其它官能团起反应的同时封闭或保护特定官能度的取代基。例如，“氨基保护基团”指附着至化合物中的氨基基团并阻断或保护氨基官能度的取代基。合适的氨基保护基团包括但不限于乙酰基，三氟乙酰基，叔丁氧羰基(BOC)，苄氧羰基(CBZ)和9-芴甲氧羰基(Fmoc)。关于保护基团及其用途的一般性说明参见T.W.Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley&Sons, New York, 1991或更晚的版本。

[0213] II. 组合物和方法

[0214] 一方面，本发明部分基于结合CD33的抗体和包含此类抗体的免疫缀合物。本发明的抗体和免疫缀合物可用于例如诊断或治疗CD33阳性癌症。

[0215] A. 例示性抗CD33抗体

[0216] 本文中提供的是分离的结合CD33的抗体。CD33是结合唾液酸的免疫球蛋白样凝集

素家族的一个成员,是一种67kDa糖基化I型跨膜蛋白。在定向骨髓单核细胞和红细胞样祖细胞以外,在大多数髓样和单核细胞性白血病细胞上表达。

[0217] SEQ ID NO:1提供一种带信号序列(氨基酸1-17)的例示性天然发生人CD33前体蛋白序列,而SEQ ID NO:1的氨基酸18-364对应于对应的成熟CD33蛋白质序列。

[0218] 在某些实施方案中,抗CD33抗体具有至少一项或多项下述特征(任意组合):

[0219] a)结合重组人CD33;

[0220] b)结合重组食蟹猴CD33;

[0221] c)结合人外周血单个核细胞(PBMC)表面上的内源CD33;

[0222] d)结合食蟹猴PBMC表面上的内源CD33;

[0223] e)结合癌细胞表面上的内源CD33;

[0224] f)结合AML癌细胞表面上的内源CD33;

[0225] g)结合Molm-13细胞表面上的内源CD33;

[0226] h)结合包含R69G突变的CD33;

[0227] i)结合CD33 Ig V域;

[0228] j)结合N100处没有N连接的糖基化的CD33;

[0229] k)结合N113处没有N连接的糖基化的CD33;

[0230] l)结合包含S102A突变的CD33;

[0231] m)结合包含S115A突变的CD33;

[0232] n)不结合CD33 Ig C2域;

[0233] o)与My9.6抗体竞争人CD33结合;

[0234] p)与抗体33H4竞争人CD33结合;

[0235] q)与抗体23E4竞争人CD33结合;

[0236] r)以小于15nM,小于10nM,小于7nM,小于5nM,或小于3nM的Kd结合内源人CD33;

[0237] s)以小于10nM,小于7nM,小于5nM,或小于3nM的Kd结合重组人CD33;和/或

[0238] t)以小于10nM,小于7nM,小于5nM,小于3nM,小于2nM,或小于1nM的Kd结合重组食蟹猴CD33。

[0239] 在一些实施方案中,抗体的特征是如本文中在下文实施例中所述测定的。非限制性的例示性的此类抗体包括本文中描述的7A1,9C2,10D3,和15G15,及其变体。在一些实施方案中,结合CD33的抗体结合重组和内源人和食蟹猴CD33二者且与My9.6,33H4,和23E4竞争人CD33结合。在一些实施方案中,结合CD33的抗体结合重组和内源人和食蟹猴CD33二者且与My9.6竞争人CD33结合,但是与My9.6具有交叠但不同的表位。

[0240] 在某些实施方案中,抗CD33抗体具有至少一项或多项下述特征(任意组合):

[0241] a)结合重组人CD33;

[0242] b)结合重组食蟹猴CD33;

[0243] c)结合人外周血单个核细胞(PBMC)表面上的内源CD33;

[0244] d)以小于10nM,小于7nM,小于5nM,小于3nM,小于2nM,或小于1nM的Kd结合重组人CD33;和/或

[0245] e)以小于10nM,小于7nM,小于5nM,小于3nM,小于2nM,或小于1nM的Kd结合重组食蟹猴CD33。

[0246] 在一些实施方案中,抗体的特征是如本文中在下文实施例中所述测定的。非限制性的例示性的此类抗体包括本文中描述的9C3及其变体。

[0247] 抗体7A1,9C2,10D3,15G15,15G15.33,15G15.37,15G15.83,15G15.88,15G15.7,15G15.17,15G15.30,15G15.31,15G15.39和其它实施方案

[0248] 在一些实施方案中,本发明提供一种抗CD33抗体,其包含至少一种,两种,三种,四种,五种,或六种选自下述的HVR:(a)包含SEQ ID NO:8,SEQ ID NO:11,SEQ ID NO:20,SEQ ID NO:23,和/或SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:12,SEQ ID NO:21,SEQ ID NO:24,SEQ ID NO:31,SEQ ID NO:32,SEQ ID NO:33,SEQ ID NO:34,或SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:10,SEQ ID NO:13,SEQ ID NO:22,或SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:26,SEQ ID NO:27,SEQ ID NO:28,或SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0249] 一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列:(a)包含SEQ ID NO:8,SEQ ID NO:11,SEQ ID NO:20,SEQ ID NO:23,或SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:12,SEQ ID NO:21,SEQ ID NO:24,SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:12,SEQ ID NO:21,SEQ ID NO:24,SEQ ID NO:31,SEQ ID NO:32,SEQ ID NO:33,SEQ ID NO:34,或SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:10,SEQ ID NO:13,SEQ ID NO:22,或SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:10,SEQ ID NO:13,SEQ ID NO:22,或SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:10,SEQ ID NO:13,SEQ ID NO:22,或SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3和包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。在又一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:10,SEQ ID NO:13,SEQ ID NO:22,或SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3,包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3,和包含SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:12,SEQ ID NO:21,SEQ ID NO:24,SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:12,SEQ ID NO:21,SEQ ID NO:24,SEQ ID NO:31,SEQ ID NO:32,SEQ ID NO:33,SEQ ID NO:34,或SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2。在又一个实施方案中,该抗体包含(a)包含SEQ ID NO:8,SEQ ID NO:11,SEQ ID NO:20,SEQ ID NO:23,或SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:12,SEQ ID NO:21,SEQ ID NO:24,SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:12,SEQ ID NO:21,SEQ ID NO:24,SEQ ID NO:31,SEQ ID NO:32,SEQ ID NO:33,SEQ ID NO:34,或SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:10,SEQ ID NO:13,SEQ ID NO:22,或SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3。

[0250] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(a)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:26,SEQ ID NO:27,SEQ ID NO:28,或SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:26,SEQ ID NO:27,SEQ ID NO:28,或SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0251] 另一方面,本发明的抗体包含(a)VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选

自下述的VH HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:23, 或SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H1，(ii) 包含SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, 或SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2；和(iii) 包含选自SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:22, 或SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；和(b) VL域, 其包含至少一种, 至少两种, 或所有三种选自下述的VL HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1, (ii) 包含SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, 或SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2, 和(c) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0252] 另一方面, 本发明提供一种抗体, 其包含(a) 包含SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:23, 和/或SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:21, 和/或SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, 和/或SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, 和/或SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0253] 另一方面, 本发明的抗体包含(a) VH域, 其包含至少一种, 至少两种, 或所有三种选自下述的VH HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的HVR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的HVR-H2, 和(iii) 包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的HVR-H3；和(b) VL域, 其包含至少一种, 至少两种, 或所有三种选自下述的VL HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1, (ii) 包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HVR-L2, 和(c) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0254] 另一方面, 本发明提供一种抗体, 其包含(a) 包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0255] 另一方面, 本发明的抗体包含(a) VH域, 其包含至少一种, 至少两种, 或所有三种选自下述的VH HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的HVR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的HVR-H2, 和(iii) 包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列的HVR-H3；和(b) VL域, 其包含至少一种, 至少两种, 或所有三种选自下述的VL HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1, (ii) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2, 和(c) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0256] 另一方面, 本发明提供一种抗体, 其包含(a) 包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0257] 另一方面, 本发明的抗体包含(a) VH域, 其包含至少一种, 至少两种, 或所有三种选自下述的VH HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列的HVR-H1, (ii) 包含SEQ ID

NO:119的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;和(b) VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0258] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0259] 另一方面,本发明的抗体包含(a)VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H3;和(b)VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0260] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0261] 另一方面,本发明的抗体包含(a)VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HVR-H3;和(b)VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0262] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0263] 另一方面,本发明的抗体包含(a)VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-H3;和(b)VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0264] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0265] 另一方面,本发明的抗体包含(a)VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选

自下述的VH HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1，(ii) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2，和(iii) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；和(b) VL域，其包含至少一种，至少两种，或所有三种选自下述的VL HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1，(ii) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2，和(c) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0266] 另一方面，本发明提供一种抗体，其包含(a) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1；(b) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2；(c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；(d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1；(e) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2；和(f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0267] 另一方面，本发明的抗体包含(a) VH域，其包含至少一种，至少两种，或所有三种选自下述的VH HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1，(ii) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2，和(iii) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；和(b) VL域，其包含至少一种，至少两种，或所有三种选自下述的VL HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1，(ii) 包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L2，和(c) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0268] 另一方面，本发明提供一种抗体，其包含(a) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1；(b) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2；(c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；(d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1；(e) 包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-L2；和(f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0269] 另一方面，本发明的抗体包含(a) VH域，其包含至少一种，至少两种，或所有三种选自下述的VH HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1，(ii) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2，和(iii) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；和(b) VL域，其包含至少一种，至少两种，或所有三种选自下述的VL HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1，(ii) 包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-L2，和(c) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0270] 另一方面，本发明提供一种抗体，其包含(a) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1；(b) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2；(c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；(d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1；(e) 包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-L2；和(f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0271] 另一方面，本发明的抗体包含(a) VH域，其包含至少一种，至少两种，或所有三种选自下述的VH HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1，(ii) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2，和(iii) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；和(b) VL域，其包含至少一种，至少两种，或所有三种选自下述的VL HVR序列：(i) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1，(ii) 包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-L2，和(c) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0272] 另一方面，本发明提供一种抗体，其包含(a) 包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1；(b) 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2；(c) 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3；(d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1；(e) 包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-L2；和(f) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0273] 另一方面,本发明的抗体包含(a) VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;和(b) VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0274] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0275] 另一方面,本发明的抗体包含(a) VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;和(b) VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0276] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0277] 另一方面,本发明的抗体包含(a) VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;和(b) VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0278] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0279] 另一方面,本发明的抗体包含(a) VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;和(b) VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0280] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸

序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0281] 另一方面,本发明的抗体包含(a)VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;和(b)VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0282] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0283] 另一方面,本发明的抗体包含(a)VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;和(b)VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0284] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0285] 另一方面,本发明的抗体包含(a)VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;和(b)VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0286] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0287] 在任何上述实施方案中,抗CD33抗体是人源化的。在一个实施方案中,抗CD33抗体包含任何上述实施方案中的HVR,而且进一步包含人受体框架,例如人免疫球蛋白框架或人共有框架。在某些实施方案中,该人受体框架是人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>)框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。在某些实施方案中,该人受体框架是包含下述突变任一的人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>)框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。

[0288] 另一方面,抗CD33抗体包含与SEQ ID NO:66,SEQ ID NO:68,SEQ ID NO:78,SEQ ID NO:80,SEQ ID NO:82,SEQ ID NO:84,SEQ ID NO:86,SEQ ID NO:88,SEQ ID NO:90,SEQ ID NO:92,SEQ ID NO:94,SEQ ID NO:96,SEQ ID NO:98,或SEQ ID NO:100的氨基酸序列具

有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:66,SEQ ID NO:68,SEQ ID NO:78,SEQ ID NO:80,SEQ ID NO:82,SEQ ID NO:84,SEQ ID NO:86,SEQ ID NO:88,SEQ ID NO:90,SEQ ID NO:92,SEQ ID NO:94,SEQ ID NO:96,SEQ ID NO:98,和/或SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VH序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:66,SEQ ID NO:78,SEQ ID NO:80,SEQ ID NO:82,SEQ ID NO:84,SEQ ID NO:86,SEQ ID NO:88,SEQ ID NO:90,SEQ ID NO:92,SEQ ID NO:94,SEQ ID NO:96,SEQ ID NO:98,和/或SEQ ID NO:100中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:66,SEQ ID NO:68,SEQ ID NO:78,SEQ ID NO:80,SEQ ID NO:82,SEQ ID NO:84,SEQ ID NO:86,SEQ ID NO:88,SEQ ID NO:90,SEQ ID NO:92,SEQ ID NO:94,SEQ ID NO:96,SEQ ID NO:98,和/或SEQ ID NO:100中替代,插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:66,SEQ ID NO:68,SEQ ID NO:78,SEQ ID NO:80,SEQ ID NO:82,SEQ ID NO:84,SEQ ID NO:86,SEQ ID NO:88,SEQ ID NO:90,SEQ ID NO:92,SEQ ID NO:94,SEQ ID NO:96,SEQ ID NO:98,和/或SEQ ID NO:100的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中,该VH包含一种,两种或三种选自下述的HVR:(a)包含SEQ ID NO:8,SEQ ID NO:11,SEQ ID NO:20,SEQ ID NO:23,或SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:12,SEQ ID NO:21,SEQ ID NO:24,SEQ ID NO:31,SEQ ID NO:32,SEQ ID NO:33,SEQ ID NO:34,或SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:10,SEQ ID NO:13,SEQ ID NO:22,或SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H3。

[0289] 另一方面,提供一种抗CD33抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:65,SEQ ID NO:67,SEQ ID NO:77,SEQ ID NO:79,SEQ ID NO:81,SEQ ID NO:83,SEQ ID NO:85,SEQ ID NO:87,SEQ ID NO:89,SEQ ID NO:91,SEQ ID NO:93,SEQ ID NO:95,SEQ ID NO:97,和/或SEQ ID NO:99的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:65,SEQ ID NO:67,SEQ ID NO:77,SEQ ID NO:79,SEQ ID NO:81,SEQ ID NO:83,SEQ ID NO:85,SEQ ID NO:87,SEQ ID NO:89,SEQ ID NO:91,SEQ ID NO:93,SEQ ID NO:95,SEQ ID NO:97,或SEQ ID NO:99的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:65,SEQ ID NO:67,SEQ ID NO:77,SEQ ID NO:79,SEQ ID NO:81,SEQ ID NO:83,SEQ ID NO:85,SEQ ID NO:87,SEQ ID NO:89,SEQ ID NO:91,SEQ ID NO:93,SEQ ID NO:95,SEQ ID NO:97,和/或SEQ ID NO:99中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:65,SEQ ID NO:67,SEQ ID NO:77,SEQ ID NO:79,SEQ ID NO:81,SEQ ID NO:83,SEQ ID NO:85,SEQ ID NO:87,SEQ ID NO:89,SEQ ID NO:91,SEQ ID NO:93,SEQ ID NO:95,SEQ ID NO:97,和/或SEQ ID NO:99中替代,插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗CD33抗体包含SEQ

ID NO:65,SEQ ID NO:67,SEQ ID NO:77,SEQ ID NO:79,SEQ ID NO:81,SEQ ID NO:83,SEQ ID NO:85,SEQ ID NO:87,SEQ ID NO:89,SEQ ID NO:91,SEQ ID NO:93,SEQ ID NO:95,SEQ ID NO:97,或SEQ ID NO:99的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中,该VL包含一种,两种或三种选自下述的HVR:(a)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:26,SEQ ID NO:27,SEQ ID NO:28,或SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。

[0290] 另一方面,提供一种抗CD33抗体,其中该抗体包含上文提供的任何实施方案中的VH和上文提供的任何实施方案中的VL。

[0291] 在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:66和SEQ ID NO:65中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:68和SEQ ID NO:67中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:78和SEQ ID NO:77中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:79中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:82和SEQ ID NO:81中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:84和SEQ ID NO:83中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:86和SEQ ID NO:85中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:88和SEQ ID NO:87中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:90和SEQ ID NO:89中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:92和SEQ ID NO:91中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:94和SEQ ID NO:93中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:96和SEQ ID NO:95中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:98和SEQ ID NO:97中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:100和SEQ ID NO:99中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0292] 另一方面,本文中提供的是与本文中提供的抗CD33抗体结合相同表位的抗体。例如,在某些实施方案中,提供与包含VH序列SEQ ID NO:66,SEQ ID NO:68,SEQ ID NO:78,SEQ ID NO:80,SEQ ID NO:82,SEQ ID NO:84,SEQ ID NO:86,SEQ ID NO:88,SEQ ID NO:90,SEQ ID NO:92,SEQ ID NO:94,SEQ ID NO:96,SEQ ID NO:98,或SEQ ID NO:100和VL序列SEQ ID NO:65,SEQ ID NO:67,SEQ ID NO:77,SEQ ID NO:79,SEQ ID NO:81,SEQ ID NO:83,SEQ ID NO:85,SEQ ID NO:87,SEQ ID NO:89,SEQ ID NO:91,SEQ ID NO:93,SEQ ID NO:95,SEQ ID NO:97,或SEQ ID NO:99的抗CD33抗体结合相同表位的抗体。

[0293] 本文中提供的是如下的抗体,其包含轻链可变域和重链可变域,该轻链可变域包含如图1A和/或2A中所示依照Kabat编号方式的HVR1-LC,HVR2-LC和HVR3-LC序列,该重链可变域包含如图1B和/或2B中所示依照Kabat编号方式的HVR1-HC,HVR2-HC和HVR3-HC序列。在一些实施方案中,该抗体包含如下轻链可变域,其包含如图1A和/或2A中所示HVR1-LC,HVR2-LC和/或HVR3-LC序列,和FR1-LC,FR2-LC,FR3-LC和/或FR4-LC序列。在一些实施方案

中,该抗体包含如下重链可变域,其包含如图1B和/或2B中所示HVR1-HC,HVR2-HC和/或HVR3-HC序列,和FR1-HC,FR2-HC,FR3-HC和/或FR4-HC序列。

[0294] 在本发明的又一方面,依照任何上述实施方案的抗CD33抗体是单克隆抗体,包括人抗体。在一个实施方案中,抗CD33抗体是抗体片段,例如Fv,Fab,Fab',scFv,双抗体,或F(ab')<sub>2</sub>片段。在另一个实施方案中,该抗体是基本上全长抗体,例如IgG1抗体,IgG2a抗体或本文中定义的其它抗体类或同种型。

[0295] 另一方面,依照任何上述实施方案的抗CD33抗体可单一地或组合地并入下文描述的任何特征。

[0296] 抗体9C3和其它实施方案

[0297] 在一些实施方案中,本发明提供一种抗CD33抗体,其包含至少一种,两种,三种,四种,五种,或六种选自下述的HVR:(a)包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。

[0298] 一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列:(a)包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H3和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。在又一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H3,包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3,和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H2。在又一个实施方案中,该抗体包含(a)包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H3。

[0299] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(a)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。

[0300] 另一方面,本发明的抗体包含(a)VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H3;和(b)VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。

[0301] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。

[0302] 在任何上述实施方案中,抗CD33抗体是人源化的。在一个实施方案中,抗CD33抗体

包含任何上述实施方案中的HVR,而且进一步包含人受体框架,例如人免疫球蛋白框架或人共有框架。在某些实施方案中,该人受体框架是人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>)框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。在某些实施方案中,该人受体框架是包含下述突变任一的人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>)框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。

[0303] 另一方面,抗CD33抗体包含与SEQ ID NO:70,SEQ ID NO:72,SEQ ID NO:74,和/或SEQ ID NO:76的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:70,SEQ ID NO:72,SEQ ID NO:74,和/或SEQ ID NO:76的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VH序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:70,SEQ ID NO:72,SEQ ID NO:74,和/或SEQ ID NO:76中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:70,SEQ ID NO:72,SEQ ID NO:74,和/或SEQ ID NO:76中替代,插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:70,SEQ ID NO:72,SEQ ID NO:74,或SEQ ID NO:76的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中,该VH包含一种,两种或三种选自下述的HVR:(a)包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H3。

[0304] 另一方面,提供一种抗CD33抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:69,SEQ ID NO:71,SEQ ID NO:73,和/或SEQ ID NO:75的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:69,SEQ ID NO:71,SEQ ID NO:73,和/或SEQ ID NO:75的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:69,SEQ ID NO:71,SEQ ID NO:73,和/或SEQ ID NO:75中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:69,SEQ ID NO:71,SEQ ID NO:73,和/或SEQ ID NO:75中替代,插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:69,SEQ ID NO:71,SEQ ID NO:73,或SEQ ID NO:75的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中,该VL包含一种,两种或三种选自下述的HVR:(a)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。

[0305] 另一方面,提供一种抗CD33抗体,其中该抗体包含上文提供的任何实施方案中的VH和上文提供的任何实施方案中的VL。

[0306] 在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:69中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰.在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:72和SEQ ID NO:71中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰.在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:73中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰.在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:76和SEQ ID NO:75中的VH和VL序列,包括

那些序列的翻译后修饰。

[0307] 另一方面,本文中提供的是与本文中提供的抗CD33抗体结合相同表位的抗体。例如,在某些实施方案中,提供与包含VH序列SEQ ID NO:70,SEQ ID NO:72,SEQ ID NO:74,和SEQ ID NO:76和VL序列SEQ ID NO:69,SEQ ID NO:71,SEQ ID NO:73,和SEQ ID NO:75的抗CD33抗体结合相同表位的抗体。

[0308] 本文中提供的是如下的抗体,其包含轻链可变域和重链可变域,该轻链可变域包含如图4A中所示依照Kabat编号方式的HVR1-LC,HVR2-LC和HVR3-LC序列,该重链可变域包含如图4B中所示依照Kabat编号方式的HVR1-HC,HVR2-HC和HVR3-HC序列。在一些实施方案中,该抗体包含如下轻链可变域,其包含如图4A中所示HVR1-LC,HVR2-LC和/或HVR3-LC序列,和FR1-LC,FR2-LC,FR3-LC和/或FR4-LC序列。在一些实施方案中,该抗体包含如下重链可变域,其包含如图4B中所示HVR1-HC,HVR2-HC和/或HVR3-HC序列,和FR1-HC,FR2-HC,FR3-HC和/或FR4-HC序列。

[0309] 在本发明的另一方面,依照任何上述实施方案的抗CD33抗体是单克隆抗体,包括人抗体。在一个实施方案中,抗CD33抗体是抗体片段,例如Fv,Fab,Fab',scFv,双抗体,或F(ab')<sub>2</sub>片段。在另一个实施方案中,该抗体是基本上全长抗体,例如IgG1抗体,IgG2a抗体或本文中定义的其它抗体类或同种型。

[0310] 另一方面,依照任何上述实施方案的抗CD33抗体可单一地或组合地并入下文描述的任何特征。

#### [0311] 抗体23E4和其它实施方案

[0312] 在一些实施方案中,本发明提供一种抗CD33抗体,其包含至少一种,两种,三种,四种,五种,或六种选自下述的HVR: (a) 包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L3。

[0313] 一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列: (a) 包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-H2; 和 (c) 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HVR-H3和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L3。在又一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HVR-H3,包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L3,和包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-H2。在又一个实施方案中,该抗体包含 (a) 包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-H2; 和 (c) 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HVR-H3。

[0314] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列: (a) 包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (c) 包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含 (a) 包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (c) 包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L3。

[0315] 另一方面,本发明的抗体包含 (a) VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选

自下述的VH HVR序列: (i) 包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-H2, 和 (iii) 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HVR-H3; 和 (b) VL域, 其包含至少一种, 至少两种, 或所有三种选自下述的VL HVR序列: (i) 包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-L1, (ii) 包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-L2, 和 (c) 包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L3。

[0316] 另一方面, 本发明提供一种抗体, 其包含 (a) 包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L3。

[0317] 在任何上述实施方案中, 抗CD33抗体是人源化的。在一个实施方案中, 抗CD33抗体包含任何上述实施方案中的HVR, 而且进一步包含人受体框架, 例如人免疫球蛋白框架或人共有框架。在某些实施方案中, 该人受体框架是人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>) 框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。在某些实施方案中, 该人受体框架是包含下述突变任一的人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>) 框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。

[0318] 另一方面, 抗CD33抗体包含与SEQ ID NO:102的氨基酸序列具有至少90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%序列同一性的重链可变域(VH) 序列。在某些实施方案中, 与SEQ ID NO:102的氨基酸序列具有至少90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 或99%同一性的VH序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代), 插入, 或删除, 但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中, 在SEQ ID NO:102中替代, 插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中, 在SEQ ID NO:102中替代, 插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中, 替代, 插入, 或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地, 抗CD33抗体包含SEQ ID NO:102的VH序列, 包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中, 该VH包含一种, 两种或三种选自下述的HVR: (a) 包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-H1, (b) 包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-H2, 和 (c) 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HVR-H3。

[0319] 另一方面, 提供一种抗CD33抗体, 其中该抗体包含与SEQ ID NO:101的氨基酸序列具有至少90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中, 与SEQ ID NO:101的氨基酸序列具有至少90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 或99%同一性的VL序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代), 插入, 或删除, 但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中, 在SEQ ID NO:101中替代, 插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中, 在SEQ ID NO:101中替代, 插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中, 替代, 插入, 或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地, 抗CD33抗体包含SEQ ID NO:101的VL序列, 包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中, 该VL包含一种, 两种或三种选自下述的HVR: (a) 包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (c) 包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L3。

[0320] 另一方面, 提供一种抗CD33抗体, 其中该抗体包含上文提供的任何实施方案中的VH和上文提供的任何实施方案中的VL。

[0321] 在一个实施方案中, 该抗体包含分别在SEQ ID NO:102和SEQ ID NO:101中的VH和

VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0322] 又一方面,本文中提供的是与本文中提供的抗CD33抗体结合相同表位的抗体。例如,在某些实施方案中,提供与包含VH序列SEQ ID NO:102和VL序列SEQ ID NO:101的抗CD33抗体结合相同表位的抗体。

[0323] 本文中提供的是23E4抗体,其包含轻链可变域和重链可变域,该轻链可变域包含如图3A中所示依照Kabat编号方式的HVR1-LC,HVR2-LC和HVR3-LC序列,该重链可变域包含如图3B中所示依照Kabat编号方式的HVR1-HC,HVR2-HC和HVR3-HC序列。在一些实施方案中,23E4抗体包含如下轻链可变域,其包含如图3A中所示HVR1-LC,HVR2-LC和/或HVR3-LC序列,和FR1-LC,FR2-LC,FR3-LC和/或FR4-LC序列。在一些实施方案中,23E4抗体包含如下重链可变域,其包含如图3B中所示HVR1-HC,HVR2-HC和/或HVR3-HC序列,和FR1-HC,FR2-HC,FR3-HC和/或FR4-HC序列。

[0324] 在本发明的又一方面,依照任何上述实施方案的抗CD33抗体是单克隆抗体,包括人抗体。在一个实施方案中,抗CD33抗体是抗体片段,例如Fv,Fab,Fab',scFv,双抗体,或F(ab')<sub>2</sub>片段。在另一个实施方案中,该抗体是基本上全长抗体,例如IgG1抗体,IgG2a抗体或本文中定义的其它抗体类或同种型。

[0325] 另一方面,依照任何上述实施方案的抗CD33抗体可单一地或组合地并入下文描述的任何特征。

#### [0326] 抗体27C6和其它实施方案

[0327] 在一些实施方案中,本发明提供一种抗CD33抗体,其包含至少一种,两种,三种,四种,五种,或六种选自下述的HVR: (a) 包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-L3。

[0328] 一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列: (a) 包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-H2; 和(c) 包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-H3和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-L3。在又一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-H3,包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-L3,和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-H2。在又一个实施方案中,该抗体包含(a) 包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-H2; 和(c) 包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-H3。

[0329] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列: (a) 包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-L2; 和(c) 包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a) 包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-L2; 和(c) 包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-L3。

[0330] 另一方面,本发明的抗体包含(a) VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列: (i) 包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:

46的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-H3;和(b)VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-L3。

[0331] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-L3。

[0332] 在任何上述实施方案中,抗CD33抗体是人源化的。在一个实施方案中,抗CD33抗体包含任何上述实施方案中的HVR,而且进一步包含人受体框架,例如人免疫球蛋白框架或人共有框架。在某些实施方案中,该人受体框架是人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>)框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。在某些实施方案中,该人受体框架是包含下述突变任一的人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>)框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。

[0333] 另一方面,抗CD33抗体包含与SEQ ID NO:104的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:104的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VH序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:104中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:104中替代,插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:104的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中,该VH包含一种,两种或三种选自下述的HVR:(a)包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-H3。

[0334] 另一方面,提供一种抗CD33抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:103的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:103的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:103中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:103中替代,插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:103的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中,该VL包含一种,两种或三种选自下述的HVR:(a)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-L3。

[0335] 另一方面,提供一种抗CD33抗体,其中该抗体包含上文提供的任何实施方案中的VH和上文提供的任何实施方案中的VL。

[0336] 在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:104和SEQ ID NO:103中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0337] 又一方面,本文中提供的是与本文中提供的抗CD33抗体结合相同表位的抗体。例如,在某些实施方案中,提供与包含VH序列SEQ ID NO:104和VL序列SEQ ID NO:103的抗CD33抗体结合相同表位的抗体。

[0338] 本文中提供的是27C6抗体,其包含轻链可变域和重链可变域,该轻链可变域包含如图3A中所示依照Kabat编号方式的HVR1-LC,HVR2-LC和HVR3-LC序列,该重链可变域包含如图3B中所示依照Kabat编号方式的HVR1-HC,HVR2-HC和HVR3-HC序列。在一些实施方案中,27C6抗体包含如下轻链可变域,其包含如图3A中所示HVR1-LC,HVR2-LC和/或HVR3-LC序列,和FR1-LC,FR2-LC,FR3-LC和/或FR4-LC序列。在一些实施方案中,27C6抗体包含如下重链可变域,其包含如图3B中所示HVR1-HC,HVR2-HC和/或HVR3-HC序列,和FR1-HC,FR2-HC,FR3-HC和/或FR4-HC序列。

[0339] 在本发明的又一方面,依照任何上述实施方案的抗CD33抗体是单克隆抗体,包括人抗体。在一个实施方案中,抗CD33抗体是抗体片段,例如Fv,Fab,Fab',scFv,双抗体,或F(ab')<sub>2</sub>片段。在另一个实施方案中,该抗体是基本上全长抗体,例如IgG1抗体,IgG2a抗体或本文中定义的其它抗体类或同种型。

[0340] 另一方面,依照任何上述实施方案的抗CD33抗体可单一地或组合地并入下文描述的任何特征。

#### [0341] 抗体33F3和其它实施方案

[0342] 在一些实施方案中,本发明提供一种抗CD33抗体,其包含至少一种,两种,三种,四种,五种,或六种选自下述的HVR: (a) 包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-L3。

[0343] 一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列: (a) 包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2; 和 (c) 包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3和包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-L3。在又一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3,包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-L3,和包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2。在又一个实施方案中,该抗体包含 (a) 包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2; 和 (c) 包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3。

[0344] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列: (a) 包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (c) 包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含 (a) 包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (c) 包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-L3。

[0345] 另一方面,本发明的抗体包含 (a) VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列: (i) 包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2, 和 (iii) 包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3; 和 (b) VL域,

其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-L3。

[0346] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-L3。

[0347] 在任何上述实施方案中,抗CD33抗体是人源化的。在一个实施方案中,抗CD33抗体包含任何上述实施方案中的HVR,而且进一步包含人受体框架,例如人免疫球蛋白框架或人共有框架。在某些实施方案中,该人受体框架是人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>)框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。在某些实施方案中,该人受体框架是包含下述突变任一的人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>)框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。

[0348] 另一方面,抗CD33抗体包含与SEQ ID NO:106的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:106的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VH序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:106中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:106中替代,插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:106的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中,该VH包含一种,两种或三种选自下述的HVR:(a)包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3。

[0349] 另一方面,提供一种抗CD33抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:105的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:105的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:105中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:105中替代,插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:105的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中,该VL包含一种,两种或三种选自下述的HVR:(a)包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-L3。

[0350] 另一方面,提供一种抗CD33抗体,其中该抗体包含上文提供的任何实施方案中的VH和上文提供的任何实施方案中的VL。

[0351] 在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:105中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0352] 另一方面,本文中提供的是与本文中提供的抗CD33抗体结合相同表位的抗体。例

如,在某些实施方案中,提供与包含VH序列SEQ ID NO:106和VL序列SEQ ID NO:105的抗CD33抗体结合相同表位的抗体。

[0353] 本文中提供的是33F3抗体,其包含轻链可变域和重链可变域,该轻链可变域包含如图3A中所示依照Kabat编号方式的HVR1-LC,HVR2-LC和HVR3-LC序列,该重链可变域包含如图3B中所示依照Kabat编号方式的HVR1-HC,HVR2-HC和HVR3-HC序列。在一些实施方案中,33F3抗体包含如下轻链可变域,其包含如图3A中所示HVR1-LC,HVR2-LC和/或HVR3-LC序列,和FR1-LC,FR2-LC,FR3-LC和/或FR4-LC序列。在一些实施方案中,33F3抗体包含如下重链可变域,其包含如图3B中所示HVR1-HC,HVR2-HC和/或HVR3-HC序列,和FR1-HC,FR2-HC,FR3-HC和/或FR4-HC序列。

[0354] 在本发明的又一方面,依照任何上述实施方案的抗CD33抗体是单克隆抗体,包括人抗体。在一个实施方案中,抗CD33抗体是抗体片段,例如Fv,Fab,Fab',scFv,双抗体,或F(ab')<sub>2</sub>片段。在另一个实施方案中,该抗体是基本上全长抗体,例如IgG1抗体,IgG2a抗体或本文中定义的其它抗体类或同种型。

[0355] 又一方面,依照任何上述实施方案的抗CD33抗体可单一地或组合地并入下文描述的任何特征。

[0356] 抗体33F9和其它实施方案

[0357] 在一些实施方案中,本发明提供一种抗CD33抗体,其包含至少一种,两种,三种,四种,五种,或六种选自下述的HVR: (a) 包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L3。

[0358] 一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列: (a) 包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的HVR-H2; 和 (c) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H3和包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L3。在又一个实施方案中,该抗体包含包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H3,包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L3,和包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的HVR-H2。在又一个实施方案中,该抗体包含 (a) 包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的HVR-H2; 和 (c) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H3。

[0359] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列: (a) 包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HVR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (c) 包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含 (a) 包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HVR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (c) 包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L3。

[0360] 另一方面,本发明的抗体包含 (a) VH域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VH HVR序列: (i) 包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的HVR-H2, 和 (iii) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H3; 和 (b) VL域,其包含至少一种,至少两种,或所有三种选自下述的VL HVR序列: (i) 包含SEQ ID NO:53的

氨基酸序列的HVR-L1, (ii) 包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L2, 和(c) 包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L3。

[0361] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a) 包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L3。

[0362] 在任何上述实施方案中,抗CD33抗体是人源化的。在一个实施方案中,抗CD33抗体包含任何上述实施方案中的HVR,而且进一步包含人受体框架,例如人免疫球蛋白框架或人共有框架。在某些实施方案中,该人受体框架是人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>) 框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。在某些实施方案中,该人受体框架是包含下述突变任一的人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>) 框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。

[0363] 另一方面,抗CD33抗体包含与SEQ ID NO:108的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的重链可变域(VH) 序列。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:108的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VH序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:108中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:108中替代,插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:108的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中,该VH包含一种,两种或三种选自下述的HVR: (a) 包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-H1, (b) 包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的HVR-H2, 和(c) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H3。

[0364] 另一方面,提供一种抗CD33抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:107的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:107的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:107中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:107中替代,插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:107的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中,该VL包含一种,两种或三种选自下述的HVR: (a) 包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HVR-L1; (b) 包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L2; 和(c) 包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L3。

[0365] 另一方面,提供一种抗CD33抗体,其中该抗体包含上文提供的任何实施方案中的VH和上文提供的任何实施方案中的VL。

[0366] 在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:108和SEQ ID NO:107中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0367] 另一方面,本文中提供的是与本文中提供的抗CD33抗体结合相同表位的抗体。例如,在某些实施方案中,提供与包含VH序列SEQ ID NO:108和VL序列SEQ ID NO:107的抗

CD33抗体结合相同表位的抗体。

[0368] 本文中提供的是33F9抗体，其包含轻链可变域和重链可变域，该轻链可变域包含如图3A中所示依照Kabat编号方式的HVR1-LC,HVR2-LC和HVR3-LC序列，该重链可变域包含如图3B中所示依照Kabat编号方式的HVR1-HC,HVR2-HC和HVR3-HC序列。在一些实施方案中，33F9抗体包含如下轻链可变域，其包含如图3A中所示HVR1-LC,HVR2-LC和/或HVR3-LC序列，和FR1-LC,FR2-LC,FR3-LC和/或FR4-LC序列。在一些实施方案中，33F9抗体包含如下重链可变域，其包含如图3B中所示HVR1-HC,HVR2-HC和/或HVR3-HC序列，和FR1-HC,FR2-HC,FR3-HC和/或FR4-HC序列。

[0369] 在本发明的又一方面，依照任何上述实施方案的抗CD33抗体是单克隆抗体，包括人抗体。在一个实施方案中，抗CD33抗体是抗体片段，例如Fv,Fab,Fab',scFv,双抗体，或F(ab')<sub>2</sub>片段。在另一个实施方案中，该抗体是基本上全长抗体，例如IgG1抗体，IgG2a抗体或本文中定义的其它抗体类或同种型。

[0370] 另一方面，依照任何上述实施方案的抗CD33抗体可单一地或组合地并入下文描述的任何特征。

#### [0371] 抗体33H4和其它实施方案

[0372] 在一些实施方案中，本发明提供一种抗CD33抗体，其包含至少一种，两种，三种，四种，五种，或六种选自下述的HVR：(a)包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-L2；和(f)包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HVR-L3。

[0373] 一方面，本发明提供一种抗体，其包含至少一种，至少两种，或所有三种选自下述的VH HVR序列：(a)包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-H2；和(c)包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中，该抗体包含包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中，该抗体包含包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-H3和包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HVR-L3。在又一个实施方案中，该抗体包含包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-H3，包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HVR-L3，和包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-H2。在又一个实施方案中，该抗体包含(a)包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-H2；和(c)包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-H3。

[0374] 另一方面，本发明提供一种抗体，其包含至少一种，至少两种，或所有三种选自下述的VL HVR序列：(a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-L1；(b)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-L2；和(c)包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中，该抗体包含(a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-L1；(b)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-L2；和(c)包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HVR-L3。

[0375] 另一方面，本发明的抗体包含(a)VH域，其包含至少一种，至少两种，或所有三种选自下述的VH HVR序列：(i)包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-H1，(ii)包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-H2，和(iii)包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-H3；和(b)VL域，其包含至少一种，至少两种，或所有三种选自下述的VL HVR序列：(i)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-L1，(ii)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-L2，和(c)包含SEQ ID

NO:61的氨基酸序列的HVR-L3。

[0376] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HVR-L3。

[0377] 在任何上述实施方案中,抗CD33抗体是人源化的。在一个实施方案中,抗CD33抗体包含任何上述实施方案中的HVR,而且进一步包含人受体框架,例如人免疫球蛋白框架或人共有框架。在某些实施方案中,该人受体框架是人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>)框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。在某些实施方案中,该人受体框架是包含下述突变任一的人VL卡帕I共有(VL<sub>KI</sub>)框架和/或VH框架VH<sub>1</sub>。

[0378] 另一方面,抗CD33抗体包含与SEQ ID NO:110的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:110的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VH序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:110中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:110中替代,插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:110的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中,该VH包含一种,两种或三种选自下述的HVR:(a)包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-H3。

[0379] 另一方面,提供一种抗CD33抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:109的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,与SEQ ID NO:109的氨基酸序列具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗CD33抗体保留结合CD33的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:109中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:109中替代,插入和/或删除了总共1至5个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗CD33抗体包含SEQ ID NO:109的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定的实施方案中,该VL包含一种,两种或三种选自下述的HVR:(a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HVR-L3。

[0380] 另一方面,提供一种抗CD33抗体,其中该抗体包含上文提供的任何实施方案中的VH和上文提供的任何实施方案中的VL。

[0381] 在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:109中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0382] 另一方面,本文中提供的是与本文中提供的抗CD33抗体结合相同表位的抗体。例如,在某些实施方案中,提供与包含VH序列SEQ ID NO:110和VL序列SEQ ID NO:109的抗CD33抗体结合相同表位的抗体。

[0383] 本文中提供的是33H4抗体，其包含轻链可变域和重链可变域，该轻链可变域包含如图3A中所示依照Kabat编号方式的HVR1-LC,HVR2-LC和HVR3-LC序列，该重链可变域包含如图3B中所示依照Kabat编号方式的HVR1-HC,HVR2-HC和HVR3-HC序列。在一些实施方案中，33H4抗体包含如下轻链可变域，其包含如图3A中所示HVR1-LC,HVR2-LC和/或HVR3-LC序列，和FR1-LC,FR2-LC,FR3-LC和/或FR4-LC序列。在一些实施方案中，33H4抗体包含如下重链可变域，其包含如图3B中所示HVR1-HC,HVR2-HC和/或HVR3-HC序列，和FR1-HC,FR2-HC,FR3-HC和/或FR4-HC序列。

[0384] 在本发明的又一方面，依照任何上述实施方案的抗CD33抗体是单克隆抗体，包括人抗体。在一个实施方案中，抗CD33抗体是抗体片段，例如Fv,Fab,Fab',scFv,双抗体，或F(ab')<sub>2</sub>片段。在另一个实施方案中，该抗体是基本上全长抗体，例如IgG1抗体,IgG2a抗体或本文中定义的其它抗体类或同种型。

[0385] 另一方面，依照任何上述实施方案的抗CD33抗体可单一地或组合地并入下文描述的任何特征。

#### [0386] 1. 抗体亲和力

[0387] 在某些实施方案中，本文中提供的抗体具有≤1μM,≤100nM,≤50nM,≤10nM,≤5nM,≤1nM,≤0.1nM,≤0.01nM,或≤0.001nM的解离常数(Kd)，且任选≥10<sup>-13</sup>M(例如10<sup>-8</sup>M或更少，例如10<sup>-8</sup>M至10<sup>-13</sup>M，例如，10<sup>-9</sup>M至10<sup>-13</sup>M)。

[0388] 在一个实施方案中，Kd是通过如下述测定法所述用Fab型式的感兴趣抗体及其抗原实施的放射性标记抗原结合测定法(RIA)来测量的。通过在存在未标记抗原的滴定系列的情况下用最小浓度的(<sup>125</sup>I)标记抗原平衡Fab，然后用抗Fab抗体包被板捕捉结合的抗原来测量Fab对抗原的溶液结合亲和力(见例如Chen等，J.Mol.Biol.293:865-881(1999))。为了建立测定法的条件，将MICROTITER®多孔板(Thermo Scientific)用50mM碳酸钠(pH 9.6)中的5μg/ml捕捉用抗Fab抗体(Cappel Labs)包被过夜，随后用PBS中的2% (w/v)牛血清清蛋白于室温(约23℃)封闭2-5小时。在非吸附板(Nunc#269620)中，将100pM或26pM<sup>125</sup>I-抗原与连续稀释的兴趣Fab(例如与Presta等，Cancer Res.57:4593-4599(1997)中抗VEGF抗体，Fab-12的评估一致)混合。然后将感兴趣的Fab温育过夜；然而，温育可持续更长时间(例如约65小时)以确保达到平衡。此后，将混合物转移至捕捉板，于室温温育(例如1小时)。然后除去溶液，并用PBS中的0.1%聚山梨酯20(TWEEN-20®)洗板8次。平板干燥后，加入150μl/孔闪烁液(MICROSCINT-20™; Packard)，然后在TOPCOUNT™伽马计数器(Packard)上对平板计数10分钟。选择各Fab给出小于或等于最大结合之20%的浓度用于竞争性结合测定法。

[0389] 依照另一个实施方案，Kd是使用表面等离子共振测定法使用BIACore®-2000或BIACore®-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)于25℃使用固定化抗原CM5芯片在约10个响应单位(RU)测量的。简言之，依照供应商的用法说明书用盐酸N-乙基-N'-(3-二甲氨基丙基)-碳二亚胺(EDC)和N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)活化羧甲基化右旋糖苷生物传感器芯片(CM5, BIACORE, Inc.)。将抗原用10mM乙酸钠pH 4.8稀释至5μg/ml(约0.2μM)，然后以5μl/分钟的流速注射以获得约10个响应单位(RU)的偶联蛋白质。注入抗原后，注入1M乙醇胺以封闭未反应基团。为了进行动力学测量，于25℃以约25μl/分钟的流速注入在含0.05%聚山

梨酯20 (TWEEN-20<sup>TM</sup>) 表面活性剂的PBS (PBST) 中两倍连续稀释的Fab (0.78nM至500nM)。使用简单一对一朗格缪尔 (Langmuir) 结合模型 (BIACORE® Evaluation Software version 3.2) 通过同时拟合结合和解离传感图计算结合速率 ( $k_{on}$ ) 和解离速率 ( $k_{off}$ )。平衡解离常数 ( $K_d$ ) 以比率  $k_{off}/k_{on}$  计算。见例如Chen等, J.Mol.Biol. 293:865–881 (1999)。如果根据上文表面等离振子共振测定法,结合速率超过  $10^6 \text{M}^{-1}\text{S}^{-1}$ ,那么结合速率可使用荧光淬灭技术来测定,即根据分光计诸如配备了断流装置的分光光度计 (Aviv Instruments) 或8000系列SLM-AMINCO<sup>TM</sup> 分光光度计 (ThermoSpectronic) 中用搅拌比色杯的测量,在存在浓度渐增的抗原的情况下,测量PBS pH 7.2中20nM抗抗原抗体 (Fab形式) 于25°C的荧光发射强度 (激发=295nm; 发射=340nm, 16nm带通) 的升高或降低。

[0390] 2. 抗体片段

[0391] 在某些实施方案中,本文中提供的抗体是抗体片段。抗体片段包括但不限于Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')<sub>2</sub>, Fv, 和scFv片段,及下文所描述的其它片段。关于某些抗体片段的综述,见Hudson等,Nat.Med.9:129–134 (2003)。关于scFv片段的综述,见例如Pluckthün,于The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 第113卷,Rosenburg和Moore编,(Springer-Verlag, New York),第269–315页(1994); 还可见WO 93/16185; 及美国专利No.5,571,894和5,587,458。关于包含补救受体结合表位残基,并且具有延长的体内半衰期的Fab和F(ab')<sub>2</sub>片段的讨论,见美国专利No.5,869,046。

[0392] 双抗体是具有两个抗原结合位点的抗体片段,其可以是二价的或双特异性的。见例如EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson等,Nat.Med.9:129–134 (2003); 及Hollinger等, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444–6448 (1993)。三抗体和四抗体也记载于Hudson等, Nat.Med.9:129–134 (2003)。

[0393] 单域抗体是包含抗体的整个或部分重链可变域或整个或部分轻链可变域的抗体片段。在某些实施方案中,单域抗体是人单域抗体 (Domantis, Inc., Waltham, MA; 见例如美国专利No.6,248,516B1)。

[0394] 可以通过多种技术,包括但不限于对完整抗体的蛋白水解消化及重组宿主细胞 (例如大肠杆菌或噬菌体) 的生成来生成抗体片段,如本文中所描述的。

[0395] 3. 嵌合的和人源化的抗体

[0396] 在某些实施方案中,本文中提供的抗体是嵌合抗体。某些嵌合抗体记载于例如美国专利No.4,816,567; 及Morrison等, Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851–6855 (1984))。在一个例子中,嵌合抗体包含非人可变区 (例如,自小鼠,大鼠,仓鼠,家兔,或非人灵长类,诸如猴衍生的可变区) 和人恒定区。在又一个例子中,嵌合抗体是“类转换的”抗体,其中类或亚类已经自亲本抗体的类或亚类改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0397] 在某些实施方案中,嵌合抗体是人源化抗体。通常,将非人抗体人源化以降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。一般地,人源化抗体包含一个或多个可变域,其中HVR,例如CDR (或其部分) 自非人抗体衍生,而FR (或其部分) 自人抗体序列衍生。任选地,人源化抗体还会至少包含人恒定区的一部分。在一些实施方案中,将人源化抗体中的一些FR残基用来自非人抗体 (例如衍生HVR残基的抗体) 的相应残基替代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0398] 人源化抗体及其生成方法综述于例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:

1619–1633 (2008) , 并且进一步记载于例如Riechmann等, Nature 332:323–329 (1988) ; Queen 等, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029–10033 (1989) ; 美国专利No.5,821,337,7,527,791,6,982,321和7,087,409; Kashmiri等, Methods 36:25–34 (2005) (描述了SDR (a-CDR) 嫁接) ; Padlan, Mol. Immunol. 28:489–498 (1991) (描述了“重修表面”) ; Dall' Acqua等, Methods 36:43–60 (2005) (描述了“FR改组”) ; 及Osbourne等, Methods 36:61–68 (2005) 和 Klimka等, Br. J. Cancer, 83:252–260 (2000) (描述了FR改组的“引导选择”方法) 。

[0399] 可以用于人源化的人框架区包括但不限于: 使用“最佳拟合 (best-fit)”方法选择的框架区 (见例如Sims等, J. Immunol. 151:2296 (1993)) ; 自轻或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列衍生的框架区 (见例如Carter等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992) ; 及Presta等, J. Immunol., 151:2623 (1993)) ; 人成熟的 (体细胞突变的) 框架区或人种系框架区 (见例如Almagro和Fransson, Front. Biosci. 13:1619–1633 (2008)) ; 和通过筛选FR文库衍生的框架区 (见例如Baca等, J. Biol. Chem. 272:10678–10684 (1997) 及Rosok等, J. Biol. Chem. 271:22611–22618 (1996)) 。

[0400] 4. 人抗体

[0401] 在某些实施方案中, 本文中提供的抗体是人抗体。可以使用本领域中已知的多种技术来生成人抗体。一般地, 人抗体记载于van Dijk和van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368–74 (2001) 及Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450–459 (2008) 。

[0402] 可以通过对转基因动物施用免疫原来制备人抗体, 所述转基因动物已经修饰为响应抗原性攻击而生成完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。此类动物通常含有所有或部分人免疫球蛋白基因座, 其替换内源免疫球蛋白基因座, 或者其在染色体外存在或随机整合入动物的染色体中。在此类转基因小鼠中, 一般已经将内源免疫球蛋白基因座灭活。关于自转基因动物获得人抗体的方法的综述, 见Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117–1125 (2005) 。还可见例如美国专利No.6,075,181和6,150,584, 其描述了XENOMOUSE<sup>TM</sup>技术; 美国专利No.5,770,429, 其描述了HUMAB<sup>®</sup>技术; 美国专利No.7,041,870, 其描述了K-M MOUSE<sup>®</sup>技术, 和美国专利申请公开文本No.US 2007/0061900, 其描述了VELOCIMOUSE<sup>®</sup>技术) 。可以例如通过与不同人恒定区组合进一步修饰来自此类动物生成的完整抗体的人可变区。

[0403] 也可以通过基于杂交瘤的方法生成人抗体。已经描述了用于生成人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人异骨髓瘤细胞系 (见例如Kozbor J. Immunol., 133:3001 (1984) ; Brodeur等, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 第51–63页 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987) ; 及Boerner等, J. Immunol., 147:86 (1991)) 。经由人B细胞杂交瘤技术生成的人抗体也记载于Li等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557–3562 (2006) 。其它方法包括那些例如记载于美国专利No.7,189,826 (其描述了自杂交瘤细胞系生成单克隆人IgM抗体) 和Ni, Xiandai Mianyixue, 26 (4) :265–268 (2006) (其描述了人-人杂交瘤) 的。人杂交瘤技术 (Trioma技术) 也记载于Vollmers和Brandlein, Histology and Histopathology, 20 (3) :927–937 (2005) 及Vollmers和Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27 (3) :185–91 (2005) 。

[0404] 也可以通过分离自人衍生的噬菌体展示文库选择的Fv克隆可变域序列生成人抗

体。然后,可以将此类可变域序列与期望的人恒定域组合。下文描述了自抗体文库选择人抗体的技术。

[0405] 5. 文库衍生的抗体

[0406] 可以通过对组合文库筛选具有期望的一种或多种活性的抗体来分离本发明的抗体。例如,用于生成噬菌体展示文库并对此类文库筛选拥有期望结合特征的抗体的多种方法是本领域中已知的。此类方法综述于例如Hoogenboom等,于Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien等编,Human Press,Totowa,NJ,2001),并且进一步记载于例如McCafferty等,Nature 348:552-554;Clackson等,Nature 352:624-628 (1991);Marks等,J.Mol.Biol.222:581-597 (1992);Marks和Bradbury,于Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo编,Human Press,Totowa,NJ,2003);Sidhu等,J.Mol.Biol.338(2):299-310 (2004);Lee等,J.Mol.Biol.340(5):1073-1093 (2004);Fellouse,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101(34):12467-12472 (2004);及Lee等,J.Immunol.Methods 284(1-2):119-132 (2004)。

[0407] 在某些噬菌体展示方法中,将VH和VL基因的全集分别通过聚合酶链式反应(PCR)克隆,并在噬菌体文库中随机重组,然后可以对所述噬菌体文库筛选抗原结合噬菌体,如记载于Winter等,Ann.Rev.Immunol.,12:433-455 (1994)的。噬菌体通常以单链Fv(scFv)片段或以Fab片段展示抗体片段。来自经免疫的来源的文库提供针对免疫原的高亲和力抗体,而不需要构建杂交瘤。或者,可以(例如自人)克隆天然全集以在没有任何免疫的情况下提供针对一大批非自身和还有自身抗原的抗体的单一来源,如由Griffiths等,EMBO J,12:725-734 (1993)描述的。最后,也可以通过自干细胞克隆未重排的V基因区段,并使用含有随机序列的PCR引物编码高度可变的CDR3区并在体外实现重排来合成生成未免疫文库,如由Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.,227:381-388 (1992)所描述的。描述人抗体噬菌体文库的专利公开文本包括例如:美国专利No.5,750,373,和美国专利公开文本No.2005/0079574,2005/0119455,2005/0266000,2007/0117126,2007/0160598,2007/0237764,2007/0292936和2009/0002360。

[0408] 认为自人抗体文库分离的抗体或抗体片段是本文中的人抗体或人抗体片段。

[0409] 6. 多特异性抗体

[0410] 在某些实施方案中,本文中提供的抗体是多特异性抗体,例如双特异性抗体。多特异性抗体是对至少两个不同位点具有结合特异性的单克隆抗体。在某些实施方案中,结合特异性之一针对CD33,而另一种针对任何其它抗原。在某些实施方案中,结合特异性之一针对CD33,而另一种针对CD3。参见例如美国专利No.5,821,337。在某些实施方案中,双特异性抗体可以结合CD33的两个不同表位。也可以使用双特异性抗体来将细胞毒剂定位于表达CD33的细胞。双特异性抗体可以以全长抗体或抗体片段制备。

[0411] 用于生成多特异性抗体的技术包括但不限于具有不同特异性的两对免疫球蛋白重链-轻链对的重组共表达(见Milstein和Cuello,Nature 305:537 (1983)),W0 93/08829,和Traunecker等,EMBO J.10:3655 (1991)),和“突起-入-空穴”工程化(见例如美国专利No.5,731,168)。也可以通过用于生成抗体Fc-异二聚体分子的工程化静电操纵效应(WO 2009/089004A1);交联两个或更多个抗体或片段(见例如美国专利No.4,676,980,及Brennan等,Science,229:81 (1985));使用亮氨酸拉链来生成双特异性抗体(见例如

Kostelny等,J. Immunol.,148(5):1547-1553(1992);使用用于生成双特异性抗体片段的“双抗体”技术(见例如Hollinger等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90:6444-6448(1993));及使用单链Fv(sFv)二聚体(见例如Gruber等,J. Immunol.,152:5368(1994));及如例如Tutt等,J. Immunol.147:60(1991)中所描述的,制备三特异性抗体来生成多特异性抗体。

[0412] 本文中还包括具有三个或更多个功能性抗原结合位点的工程化改造抗体,包括“章鱼抗体”(见例如US 2006/0025576A1)。

[0413] 本文中的抗体或片段还包括包含结合CD33及另一种不同抗原的抗原结合位点的“双重作用FAb”或“DAF”(见例如US 2008/0069820)。

#### [0414] 7. 抗体变体

[0415] 在某些实施方案中,涵盖本文中提供的抗体的氨基酸序列变体。例如,可以期望改善抗体的结合亲和力和/或其它生物学特性。可以通过将合适的修饰引入编码抗体的核苷酸序列中,或者通过肽合成为制备抗体的氨基酸序列变体。此类修饰包括例如对抗体的氨基酸序列内的残基的删除,和/或插入和/或替代。可以进行删除,插入,和替代的任何组合以得到最终的构建体,只要最终的构建体拥有期望的特征,例如,抗原结合。

#### [0416] a) 替代,插入,和删除变体

[0417] 在某些实施方案中,提供了具有一处或多处氨基酸替代的抗体变体。替代诱变感兴趣的位点包括HVR和FR。保守替代在表1中在“优选的替代”的标题下显示。更实质的变化在表1中在“例示性替代”的标题下提供,并且如下文参照氨基酸侧链类别进一步描述的。可以将氨基酸替代引入感兴趣的抗体中,并且对产物筛选期望的活性,例如保留/改善的抗原结合,降低的免疫原性,或改善的ADCC或CDC。

#### [0418] 表1

#### [0419]

初始残基	例示性替代	优选的替代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln

[0420]

Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸	Leu

[0421] 依照共同的侧链特性,氨基酸可以如下分组:

[0422] (1) 疏水性的:正亮氨酸,Met,Ala,Val,Leu,Ile;

[0423] (2) 中性,亲水性的:Cys,Ser,Thr,Asn,Gln;

[0424] (3) 酸性的:Asp,Glu;

[0425] (4) 碱性的:His,Lys,Arg;

[0426] (5) 影响链取向的残基:Gly,Pro;

[0427] (6) 芳香族的:Trp,Tyr,Phe。

[0428] 非保守替代会需要用这些类别之一的成员替换另一个类别的。

[0429] 一类替代变体牵涉替代亲本抗体(例如人源化或人抗体)的一个或多个高变区残基。一般地,为进一步研究选择的所得变体相对于亲本抗体会具有某些生物学特性的改变(例如改善)(例如升高的亲和力,降低的免疫原性)和/或会基本上保留亲本抗体的某些生物学特性。例示性的替代变体是亲和力成熟的抗体,其可以例如使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术诸如本文中所描述的那些技术来方便地生成。简言之,将一个或多个HVR残基突变,并将变体抗体在噬菌体上展示,并对其筛选特定的生物学活性(例如结合亲和力)。

[0430] 可以对HVR做出变化(例如,替代),例如以改善抗体亲和力。可以对HVR“热点”,即

由在体细胞成熟过程期间以高频率经历突变的密码子编码的残基(见例如Chowdhury, Methods Mol.Biol.207:179–196 (2008)),和/或SDR(a-CDR)做出此类变化,其中对所得的变体VH或VL测试结合亲和力。通过次级文库的构建和再选择进行的亲和力成熟已经记载于例如Hoogenboom等,于Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien等编,Human Press,Totowa,NJ,(2001))。在亲和力成熟的一些实施方案中,通过多种方法(例如,易错PCR,链改组,或寡核苷酸指导的诱变)将多样性引入为成熟选择的可变基因。然后,创建次级文库。然后,筛选文库以鉴定具有期望的亲和力的任何抗体变体。另一种引入多样性的方法牵涉HVR指导的方法,其中将几个HVR残基(例如,一次4-6个残基)随机化。可以例如使用丙氨酸扫描诱变或建模来特异性鉴定牵涉抗原结合的HVR残基。特别地,经常靶向CDR-H3和CDR-L3。

[0431] 在某些实施方案中,可以在一个或多个HVR内发生替代,插入,或删除,只要此类变化不实质性降低抗体结合抗原的能力。例如,可以对HVR做出保守变化(例如,保守替代,如本文中提供的),其不实质性降低结合亲和力。此类变化可以在HVR“热点”或SDR外部。在上文提供的变体VH和VL序列的某些实施方案中,每个HVR是未改变的,或者含有不超过1,2或3处氨基酸替代。

[0432] 一种可用于鉴定抗体中可以作为诱变靶位的残基或区域的方法称作“丙氨酸扫描诱变”,如由Cunningham和Wells (1989) Science,244:1081-1085所描述的。在此方法中,将残基或靶残基的组(例如,带电荷的残基诸如arg,asp,his,lys,和glu)鉴定,并用中性或带负电荷的氨基酸(例如,丙氨酸或多丙氨酸)替换以测定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可以在对初始替代表明功能敏感性的氨基酸位置引入进一步的替代。或者/另外,利用抗原-抗体复合物的晶体结构来鉴定抗体与抗原间的接触点。作为替代的候选,可以靶向或消除此类接触残基和邻近残基。可以筛选变体以确定它们是否含有期望的特性。

[0433] 氨基酸序列插入包括长度范围为1个残基至含有100或更多个残基的多肽的氨基和/或羧基端融合,及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的例子包括具有N端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的其它插入变体包括抗体的N或C端与酶(例如对于ADEPT)或延长抗体的血清半衰期的多肽的融合物。

#### [0434] b) 糖基化变体

[0435] 在某些实施方案中,改变本文中提供的抗体以提高或降低抗体糖基化的程度。可以通过改变氨基酸序列,使得创建或消除一个或多个糖基化位点来方便地实现对抗体的糖基化位点的添加或删除。

[0436] 在抗体包含Fc区的情况下,可以改变其附着的碳水化合物。由哺乳动物细胞生成的天然抗体通常包含分支的,双触角寡糖,其一般通过N连接附着于Fc区的CH2域的Asn297。见例如Wright等,TIBTECH 15:26-32 (1997)。寡糖可以包括各种碳水化合物,例如,甘露糖,N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc),半乳糖,和唾液酸,以及附着于双触角寡糖结构“主干”中的GlcNAc的岩藻糖。在一些实施方案中,可以对本发明抗体中的寡糖进行修饰以创建具有某些改善的特性的抗体变体。

[0437] 在一个实施方案中,提供了抗体变体,其具有缺乏附着(直接或间接)于Fc区的岩藻糖的碳水化合物结构。例如,此类抗体中的岩藻糖量可以是1%至80%,1%至65%,5%至65%或20%至40%。通过相对于附着于Asn297的所有糖结构(例如,复合的,杂合的和高甘

露糖的结构)的总和,计算Asn297处糖链内岩藻糖的平均量来测定岩藻糖量,如通过MALDI-TOF质谱术测量的,例如如记载于WO 2008/077546的。Asn297指位于Fc区中的约第297位(Fc区残基的Eu编号方式)的天冬酰胺残基;然而,Asn297也可以由于抗体中的微小序列变异而位于第297位上游或下游约±3个氨基酸,即在第294位和第300位之间。此类岩藻糖基化变体可以具有改善的ADCC功能。见例如美国专利公开文本No.US 2003/0157108 (Presta,L.) ; US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co.,Ltd)。涉及“脱岩藻糖基化的”或“岩藻糖缺乏的”抗体变体的出版物的例子包括:US 2003/0157108;WO 2000/61739;WO 2001/29246;US 2003/0115614;US 2002/0164328;US 2004/0093621;US 2004/0132140;US 2004/0110704;US 2004/0110282;US 2004/0109865;WO 2003/085119;WO 2003/084570;WO 2005/035586;WO 2005/035778;WO2005/053742;WO2002/031140;Okazaki等,J.Mol.Biol.336:1239-1249 (2004);Yamane-Ohnuki等,Biotech.Bioeng.87:614 (2004)。能够生成脱岩藻糖基化抗体的细胞系的例子包括蛋白质岩藻糖基化缺陷的Lec13 CHO细胞(Ripka等,Arch.Biochem.Biophys.249:533-545 (1986);美国专利申请No US2003/0157108 A1, Presta,L;及WO 2004/056312 A1, Adams等,尤其在实施例11),和敲除细胞系,诸如α-1,6-岩藻糖基转移酶基因FUT8敲除CHO细胞(见例如Yamane-Ohnuki等,Biotech.Bioeng.87:614 (2004);Kanda,Y.等,Biotechnol.Bioeng.,94 (4):680-688 (2006);及WO2003/085107)。

[0438] 进一步提供了具有两分型寡糖的抗体变体,例如其中附着于抗体Fc区的双触角寡糖是通过GlcNAc两分的。此类抗体变体可以具有降低的岩藻糖基化和/或改善的ADCC功能。此类抗体变体的例子记载于例如WO 2003/011878 (Jean-Mairet等);美国专利No.6,602,684 (Umana等);及US 2005/0123546 (Umana等)。还提供了在附着于Fc区的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的抗体变体。此类抗体变体可以具有改善的CDC功能。此类抗体变体记载于例如WO 1997/30087 (Patel等);WO 1998/58964 (Raju,S.) ;及WO 1999/22764 (Raju,S.)。

[0439] c) Fc区变体

[0440] 在某些实施方案中,可以将一处或多处氨基酸修饰引入本文中提供的抗体的Fc区中,由此生成Fc区变体。Fc区变体可以包含在一个或多个氨基酸位置包含氨基酸修饰(例如替代)的人Fc区序列(例如,人IgG1, IgG2, IgG3或IgG4 Fc区)。

[0441] 在某些实施方案中,本发明涵盖拥有一些但不是所有效应器功能的抗体变体,所述效应器功能使其成为如下应用的期望候选物,其中抗体的体内半衰期是重要的,而某些效应器功能(诸如补体和ADCC)是不必要的或有害的。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定法以确认CDC和/或ADCC活性的降低/消减。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合测定法以确保抗体缺乏Fc γ R结合(因此有可能缺乏ADCC活性),但是保留FcRn结合能力。介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达Fc γ RIII,而单核细胞表达Fc γ RI,Fc γ RII和Fc γ RIII。在Ravetch和Kinet,Annu.Rev.Immunol.9:457-492 (1991)的第464页上的表3中汇总了造血细胞上的FcR表达。评估感兴趣分子的ADCC活性的体外测定法的非限制性例子记载于美国专利No.5,500,362(见例如Hellstrom,I.等,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 83:7059-7063 (1986))和Hellstrom,I等,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 82:1499-1502 (1985);5,821,337(见Bruggemann,M.等,J.Exp.Med.166:1351-1361 (1987))。或者,可以采用非放射性测定方法(见例如用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定法(Cell Technology, Inc.Mountain View,CA;和CytoTox96®非放射性细胞毒性测定法(Promega, Madison,

WI)。对于此类测定法有用的效应细胞包括外周血单个核细胞 (PBMC) 和天然杀伤 (NK) 细胞。或者/另外,可以在体内评估感兴趣分子的ADCC活性,例如在动物模型中,诸如披露于 Clynes等,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA95:652-656(1998)的。也可以实施C1q结合测定法以确认抗体不能结合C1q,并且因此缺乏CDC活性。见例如WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体激活,可以实施CDC测定法(见例如Gazzano-Santoro等,J.Immunol.Methods 202:163(1996);Cragg,M.S.等,Blood 101:1045-1052(2003);及Cragg,M.S.和M.J.Glennie,Blood103:2738-2743(2004))。也可以使用本领域中已知的方法来实施FcRn结合和体内清除/半衰期测定(见例如Petkova,S.B.等,Int'l.Immunol.18(12):1759-1769(2006))。

[0442] 具有降低的效应器功能的抗体包括那些具有Fc区残基238,265,269,270,297,327和329中的一个或多个的替代的(美国专利No.6,737,056)。此类Fc突变体包括在氨基酸位置265,269,270,297和327中的两处或多处具有替代的Fc突变体,包括残基265和297替代成丙氨酸的所谓的“DANA”Fc突变体(美国专利No.7,332,581)。

[0443] 描述了具有改善的或降低的对FcR的结合的某些抗体变体(见例如美国专利No.6,737,056;WO 2004/056312,及Shields等,J.Biol.Chem.9(2):6591-6604(2001))。

[0444] 在某些实施方案中,抗体变体包含具有改善ADCC的一处或多处氨基酸替代,例如Fc区的位置298,333,和/或334(残基的EU编号方式)的替代的Fc区。

[0445] 在一些实施方案中,对Fc区做出改变,其导致改变的(即,改善的或降低的)C1q结合和/或补体依赖性细胞毒性(CDC),例如,如记载于美国专利No.6,194,551,WO 99/51642,及Idusogie等,J.Immunol.164:4178-4184(2000)的。

[0446] 具有延长的半衰期和改善的对新生儿Fc受体(FcRn)的结合的抗体记载于US2005/0014934A1(Hinton等),新生儿Fc受体(FcRn)负责将母体IgG转移至胎儿(Guyer等,J.Immunol.117:587(1976)及Kim等,J.Immunol.124:249(1994))。那些抗体包含其中具有改善Fc区对FcRn结合的一处或多处替代的Fc区。此类Fc变体包括那些在Fc区残基238,256,265,272,286,303,305,307,311,312,317,340,356,360,362,376,378,380,382,413,424或434中的一处或多处具有替代,例如,Fc区残基434的替代的(美国专利No.7,371,826)。

[0447] 还可见Duncan和Winter,Nature 322:738-40(1988);美国专利No.5,648,260;美国专利No.5,624,821;及WO 94/29351,其关注Fc区变体的其它例子。

[0448] d)经半胱氨酸工程化改造的抗体变体

[0449] 在某些实施方案中,可以期望创建经半胱氨酸工程化改造的抗体,例如,“thioMAb”,其中抗体的一个或多个残基用半胱氨酸残基替代。在具体的实施方案中,替代的残基存在于抗体的可接近位点。通过用半胱氨酸替代那些残基,反应性硫醇基团由此定位在抗体的可接近位点,并且可以用于将抗体与其它模块,诸如药物模块或接头-药物模块缀合,以创建免疫缀合物,如本文中进一步描述的。在某些实施方案中,可以用半胱氨酸替代下列残基之任一个或多个:轻链的V205(Kabat编号方式);重链的A118(EU编号方式);和重链Fc区的S400(EU编号方式)。可以如例如美国专利No.7,521,541所述生成经半胱氨酸工程化改造的抗体。

[0450] e)抗体衍生物

[0451] 在某些实施方案中,可以进一步修饰本文中提供的抗体以含有本领域知道的且易

于获得的额外非蛋白质性质模块。适合于抗体衍生化的模块包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性例子包括但不限于聚乙二醇(PEG),乙二醇/丙二醇共聚物,羧甲基纤维素,右旋糖苷,聚乙烯醇,聚乙烯吡咯烷酮,聚-1,3-二氧戊环,聚-1,3,6-三噁烷,乙烯/马来酸酐共聚物,聚氨基酸(均聚物或随机共聚物),和右旋糖苷或聚(n-乙烯吡咯烷酮)聚乙二醇,丙二醇均聚物,环氧丙烷/环氧乙烷共聚物,聚氧乙烯化多元醇(例如甘油),聚乙烯醇及其混合物。由于其在水中的稳定性,聚乙二醇丙醛在生产中可能具有优势。聚合物可以是任何分子量,而且可以是分支的或不分支的。附着到抗体上的聚合物数目可以变化,而且如果附着了超过一个聚合物,那么它们可以是相同或不同的分子。一般而言,可根据下列考虑来确定用于衍生化的聚合物的数目和/或类型,包括但不限于抗体要改进的具体特性或功能,抗体衍生物是否将用于指定条件下的治疗等。

[0452] 在另一个实施方案中,提供了抗体和可以通过暴露于辐射选择性加热的非蛋白质性质模块的缀合物。在一个实施方案中,非蛋白质性质模块是碳纳米管(Kam等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102:11600-11605(2005))。辐射可以是任何波长的,并且包括但不限于对普通细胞没有损害,但是将非蛋白质性质模块加热至抗体-非蛋白质性质模块附近的细胞被杀死的温度的波长。

[0453] B. 重组方法和组合物

[0454] 可以使用重组方法和组合物来生成抗体,例如,如记载于美国专利No.4,816,567的。在一个实施方案中,提供了编码本文中所描述的抗CD33抗体的分离的核酸。此类核酸可以编码包含抗体VL的氨基酸序列和/或包含VH的氨基酸序列(例如,抗体的轻和/或重链)。在又一个实施方案中,提供了包含此类核酸的一种或多种载体(例如,表达载体)。在又一个实施方案中,提供了包含此类核酸的宿主细胞。在一个此类实施方案中,宿主细胞包含(例如,已经用下列载体转化):(1)包含核酸的载体,所述核酸编码包含抗体的VL的氨基酸序列和包含抗体的VH的氨基酸序列,或(2)第一载体和第二载体,所述第一载体包含编码包含抗体的VL的氨基酸序列的核酸,所述第二载体包含编码包含抗体的VH的氨基酸序列的核酸。在一个实施方案中,宿主细胞是真核的,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴样细胞(例如,Y0,NS0,Sp20细胞)。在一个实施方案中,提供了生成抗CD33抗体的方法,其中该方法包括在适合于表达抗体的条件下培养包含编码抗体的核酸的宿主细胞,如上文提供的,并且任选地,自宿主细胞(或宿主细胞培养液)回收抗体。

[0455] 对于抗CD33抗体的重组生成,将编码抗体的核酸(例如如上文所描述的)分离,并插入一种或多种载体中,以在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。可以使用常规规程将此类核酸容易地分离并测序(例如,通过使用寡核苷酸探针来进行,所述寡核苷酸探针能够特异性结合编码抗体的重和轻链的基因)。

[0456] 适合于克隆或表达抗体编码载体的宿主细胞包括本文中所描述的原核或真核细胞。例如,可以在细菌中生成抗体,特别是在不需要糖基化和Fc效应器功能时。对于抗体片段和多肽在细菌中的表达,见例如美国专利No.5,648,237,5,789,199和5,840,523(还可见Charlton,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo编,Humana Press,Totowa,NJ,2003),第245-254页,其描述了抗体片段在大肠杆菌(E.coli.)中的表达)。表达后,可以将抗体在可溶性分级中自细菌细胞团糊分离,并可以进一步纯化。

[0457] 在原核生物外,真核微生物诸如丝状真菌或酵母是适合于抗体编码载体的克隆或

表达宿主,包括其糖基化途径已经“人源化”,导致生成具有部分或完全人的糖基化样式的抗体的真菌和酵母菌株。见Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004),及Li等,Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0458] 适合于表达糖基化抗体的宿主细胞也自多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)衍生。无脊椎动物细胞的例子包括植物和昆虫细胞。已经鉴定出许多杆状病毒株,其可以与昆虫细胞一起使用,特别是用于转染草地夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)细胞。

[0459] 也可以利用植物细胞培养物作为宿主。见例如美国专利No.5,959,177,6,040,498,6,420,548,7,125,978和6,417,429(其描述了用于在转基因植物中生成抗体的PLANTIBODIES<sup>TM</sup>技术)。

[0460] 也可以使用脊椎动物细胞作为宿主。例如,适合于在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系可以是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其它例子是经SV40转化的猴肾CV1系(COS-7);人胚肾系(293或293细胞,如记载于例如Graham等,J.Gen Virol.36:59(1977)的);幼年仓鼠肾细胞(BHK);小鼠塞托利(sertoli)细胞(TM4细胞,如记载于例如Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)的);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK;牛鼠(buffalo rat)肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳房肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,如记载于例如Mather等,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)的;MRC 5细胞;和FS4细胞。其它有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR<sup>-</sup>CHO细胞(Urlaub等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));和骨髓瘤细胞系诸如Y0,NS0和Sp2/0。关于适合于抗体生成的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,见例如Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo编,Humana Press,Totowa,NJ),第255-268页(2003)。

[0461] C. 测定法

[0462] 可以通过本领域中已知的多种测定法对本文中提供的抗CD33抗体鉴定,筛选,或表征其物理/化学特性和/或生物学活性。

[0463] 一方面,对本发明的抗体测试其抗原结合活性,例如通过已知的方法诸如ELISA,BIACore®,FACS,或Western印迹来进行。

[0464] 另一方面,可使用竞争测定法来鉴定与本文所述任何抗体竞争对CD33的结合的抗体。在某些实施方案中,此类竞争性抗体结合与本文所述抗体所结合表位相同的表位(例如线性或构象表位)。用于定位抗体所结合表位的详细例示性方法见Morris(1996)“Epitope Mapping Protocols”,Methods in Molecular Biology vol.66(Humana Press,Totowa,NJ)。

[0465] 在一种例示性竞争测定法中,在包含第一经标记抗体(其结合CD33,例如本文所述任何抗体)和第二未标记抗体(其要测试与第一抗体竞争对CD33的结合的能力)的溶液中温育固定化CD33。第二抗体可存在于杂交瘤上清液中。作为对照,在包含第一经标记抗体但不包含第二未标记抗体的溶液中温育固定化CD33。在允许第一抗体结合CD33的条件下温育后,除去过量的未结合抗体,并测量与固定化CD33联合的标记物的量。如果测试样品中与固定化CD33联合的标记物的量与对照样品相比实质性降低,那么这指示第二抗体与第一抗体竞争对CD33的结合。参见Harlow and Lane(1988)Antibodies:A Laboratory Manual ch.14(Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,NY)。

[0466] D. 免疫缀合物

[0467] 本发明还提供包含缀合有一种或多种细胞毒剂(诸如化疗剂或化疗药物,生长抑制剂,毒素(例如蛋白质毒素,细菌,真菌,植物,或动物起源的酶活性毒素,或其片段),或放射性同位素(即放射缀合物))的本文中抗CD33抗体的免疫缀合物。

[0468] 免疫缀合物容许将药物模块靶向投递至肿瘤,而且在一些实施方案中,在其中胞内积累,在那里系统施用未缀合的药物可对正常细胞导致不可接受水平的毒性(Polakis, P. (2005) Current Opinion in Pharmacology 5:382-387)。

[0469] 抗体-药物缀合物(ADC)是靶向化疗分子,其通过将有力的细胞毒性药物靶向表达抗原的肿瘤细胞而组合抗体和细胞毒性药物二者的特性(Teicher, B.A. (2009) Current Cancer Drug Targets 9:982-1004),由此通过最大化功效及最小化脱靶毒性而增强治疗指数(Carter, P.J. and Senter P.D. (2008) The Cancer Jour. 14 (3) :154-169; Chari, R.V. (2008) Acc. Chem. Res. 41:98-107)。

[0470] 本发明的ADC化合物包括那些具有抗癌活性的。在一些实施方案中,该ADC化合物包括缀合(即共价附着)至药物模块的抗体。在一些实施方案中,经由接头将抗体共价附着至药物模块。本发明的抗体-药物缀合物(ADC)将有效剂量的药物选择性投递至肿瘤组织,由此在提高治疗指数(“治疗窗”)的同时可实现更大的选择性(即更低的有效剂量)。

[0471] 抗体-药物缀合物(ADC)的药物模块(D)可包括任何具有细胞毒性或细胞抑制性效果的化合物,模块或基团。药物模块可通过包括但不限于微管蛋白结合,DNA结合或插层,和抑制RNA聚合酶,蛋白质合成,和/或拓扑异构酶的机制来发挥它们的细胞毒性和细胞抑制性效果。例示性药物模块包括但不限于美登木素生物碱(maytansinoid),多拉司他汀(dolastatin),奥瑞司他汀(auristatin),加利车霉素(calicheamicin),吡咯并苯并二氮卓(pyrrolobenzodiazepine,PBD),奈莫柔比星(nemorubicin)及其衍生物,PNU-159682,蒽环类抗生素(anthracycline),度卡霉素(duocarmycin),长春花生物碱(vinca alkaloid),紫杉烷(taxane),单端孢菌素(trichothecene),CC1065,喜树碱(camptothecin),依利奈法德(elinafide),及其具有细胞毒性活性的立体异构体,电子等排体,类似物,和衍生物。下文更为详细地讨论了此类免疫缀合物的非限制性例子。

[0472] 1. 例示性抗体-药物缀合物

[0473] 抗体-药物缀合物(ADC)化合物的一个例示性实施方案包含靶向肿瘤细胞的抗体(Ab),药物模块(D),和将Ab附着至D的接头模块(L)。在一些实施方案中,经由一个或多个氨基酸残基(诸如赖氨酸和/或半胱氨酸)将抗体附着至接头模块(L)。

[0474] 一种例示性ADC具有式I:

[0475]  $\text{Ab}-(\text{L}-\text{D})_p-\text{I}$

[0476] 其中p为1至约20。在一些实施方案中,可缀合至抗体的药物模块的数目受到游离半胱氨酸残基的数目限制。在一些实施方案中,通过本文所述方法将游离半胱氨酸残基引入抗体氨基酸序列中。式I的例示性ADC包括但不限于具有1,2,3,或4个工程化改造的半胱氨酸氨基酸的抗体(Lyon, R. et al. (2012) Methods in Enzym. 502:123-138)。在一些实施方案中,抗体中早就存在一个或多个游离半胱氨酸残基,无需使用工程化改造,在这种情况下,可利用现有的游离半胱氨酸残基将抗体缀合至药物。在一些实施方案中,在缀合抗体之前将抗体暴露于还原条件,从而生成一个或多个游离半胱氨酸残基。

[0477] a) 例示性接头

[0478] “接头”(L)为双功能或多功能模块,其可用于将一个或多个药物模块(D)连接至抗体(Ab)以形成式I的抗体-药物缀合物(ADC)。在一些实施方案中,可使用具有反应性官能度(用于共价附着至药物和抗体)的接头来制备抗体-药物缀合物(ADC)。例如,在一些实施方案中,抗体(Ab)的半胱氨酸硫醇可与接头或药物-接头中间体的反应性官能团形成键以生成ADC。

[0479] 一方面,接头具有能够与抗体上存在的游离半胱氨酸反应以形成共价键的官能度。非限制性例示性此类反应性官能度包括马来酰亚胺,卤代乙酰胺, $\alpha$ -卤代乙酰基,活化的酯诸如琥珀酰亚胺酯,4-硝基苯基酯,五氟苯基酯,四氟苯基酯,酸酐,氯化酸,碘酰氯,异氰酸酯,和异硫氰酸酯。参见例如Klussman et al. (2004) Bioconjugate Chemistry 15 (4):765-773第766页上的缀合方法及本文中的实施例。

[0480] 在一些实施方案中,接头具有能够与抗体上存在的亲电子基团反应的官能度。例示性此类亲电子基团包括但不限于醛和酮羰基。在一些实施方案中,接头的反应性官能度的杂原子能与抗体上的亲电子基团反应并与抗体单元形成共价键。非限制性例示性此类反应性官能度包括但不限于酰肼(hydrazide),肟(oxime),氨基(amino),肼(hydrazine),硫代半卡巴腙(thiosemicarbazone),肼羧酸酯(hydrazine carboxylate),和芳酰肼(arylhydrazide)。

[0481] 接头可包含一种或多种接头构件。例示性接头构件包括6-马来酰亚胺基己酰基(“MC”),马来酰亚胺基丙酰基(“MP”),缬氨酸-瓜氨酸(“val-cit”或“vc”),丙氨酸-苯丙氨酸(“ala-phe”),对氨基苄氧羰基(“PAB”),N-琥珀酰亚胺基4-(2-吡啶基硫基)戊酸酯(“SPP”),和4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1羧酸酯(“MCC”)。本领域已知多种接头构件,下文描述了其中一些。

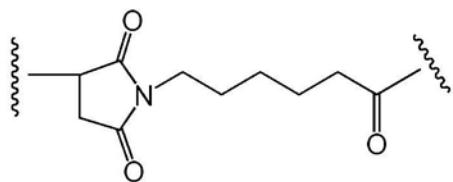
[0482] 接头可以是便于释放药物的“可切割接头”。非限制性例示性可切割接头包括酸不稳定接头(例如包含腙),蛋白酶敏感(例如胰酶敏感)接头,光不稳定接头,或含二硫化物接头(Chari et al. (1992) Cancer Research 52:127-131; US 5,208,020)。

[0483] 在某些实施方案中,接头具有下示式II:

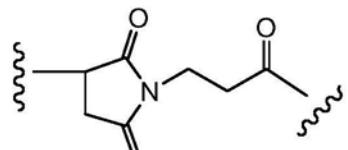
[0484]  $-A_a-W_w-Y_y-$  II,

[0485] 其中A为“延伸物单元”(stretcher unit),而a为0至1的整数;W为“氨基酸单元”,而w为0至12的整数;Y为“间隔物单元”(spacer unit),而y是0,1,或2;且Ab,D,和p如上文关于式I定义的。此类接头的例示性实施方案记载于美国专利No.7,498,298,通过述及明确将其收入本文。

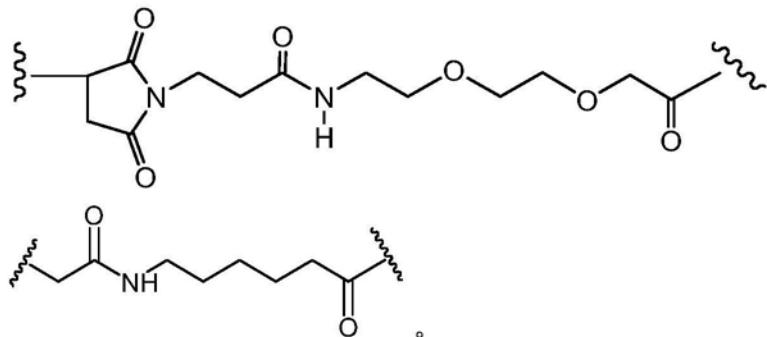
[0486] 在一些实施方案中,接头构件包含将抗体连接至另一接头构件或药物模块的“延伸物单元”。非限制性例示性延伸物单元显示于下文(其中波形线指示共价附着至抗体,药物,或别的接头构件的位点):



MC,



[0487] MP,



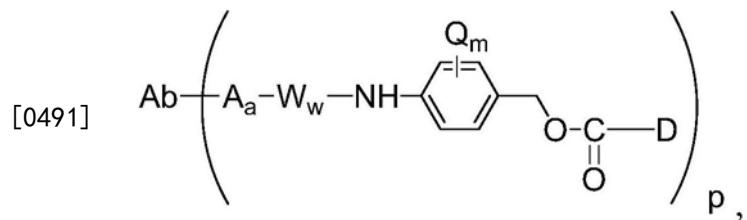
mPEG,

[0488] 在一些实施方案中,接头构件包含“氨基酸单元”。在一些此类实施方案中,氨基酸单元容许蛋白酶切割接头,由此便于一暴露于胞内蛋白酶(诸如溶酶体酶)就从免疫缀合物释放药物(Doronina et al. (2003) Nat. Biotechnol. 21:778-784)。例示性氨基酸单元包括但不限于二肽,三肽,四肽,和五肽。例示性二肽包括但不限于缬氨酸-瓜氨酸(vc或val-cit),丙氨酸-苯丙氨酸(af或ala-phe),苯丙氨酸-赖氨酸(fk或phe-lys),苯丙氨酸-高赖氨酸(phe-homolys),和N-甲基-缬氨酸-瓜氨酸(Me-val-cit)。例示性三肽包括但不限于甘氨酸-缬氨酸-瓜氨酸(gly-val-cit)和甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(gly-gly-gly)。氨基酸单元可包含天然存在的氨基酸残基和/或次要氨基酸(minor amino acid)和/或非天然存在氨基酸类似物,诸如瓜氨酸。可以针对特定酶(例如肿瘤相关蛋白酶,组织蛋白酶B,C和D,或纤溶酶蛋白酶)的酶促切割来设计和优化氨基酸单元。

[0489] 在一些实施方案中,接头构件包含将抗体连接(或是直接地或是经由延伸物单元和/或氨基酸单元)至药物模块的“间隔物”单元。间隔物单元可以是“自我牺牲的”(self-immolative)或“非自我牺牲的”。“非自我牺牲的”间隔物单元指间隔物单元的部分或整体在ADC受到切割后保持结合至药物模块的间隔物单元。非自我牺牲的间隔物单元的例子包括但不限于甘氨酸间隔物单元和甘氨酸-甘氨酸间隔物单元。在一些实施方案中,肿瘤细胞相关蛋白酶对包含甘氨酸-甘氨酸间隔物单元的ADC的酶促切割导致甘氨酸-甘氨酸-药物模块自ADC的剩余部分释放。在一些此类实施方案中,甘氨酸-甘氨酸-药物模块在肿瘤细胞中进行水解步骤,如此自药物模块切割甘氨酸-甘氨酸间隔物单元。

[0490] “自我牺牲的”间隔物单元容许释放药物模块。在某些实施方案中,接头的间隔物单元包含对氨基苯甲基单元。在一些此类实施方案中,将对氨基苯甲醇经酰胺键附着至氨基酸单元,并且在苯甲醇与药物之间生成氨基甲酸酯,甲基氨基甲酸酯,或碳酸酯(Hamann

et al. (2005) Expert Opin.Ther.Patents 15:1087-1103)。在一些实施方案中,间隔物单元为对氨基苯甲基氧羰基(PAB)。在一些实施方案中,包含自我牺牲的接头的ADC具有结构:

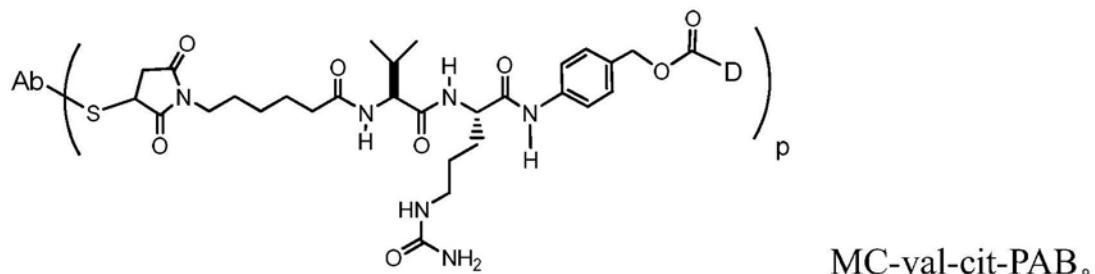
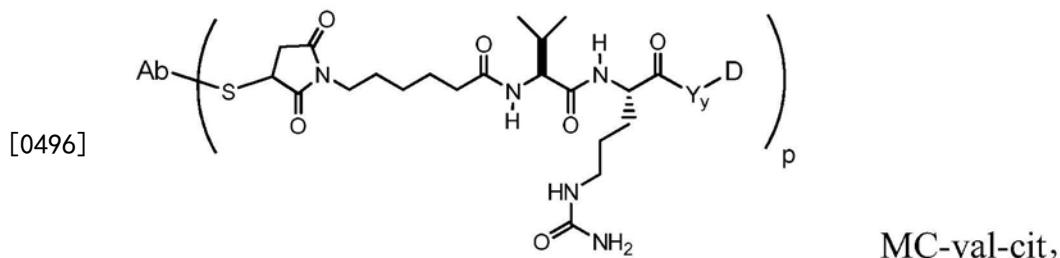
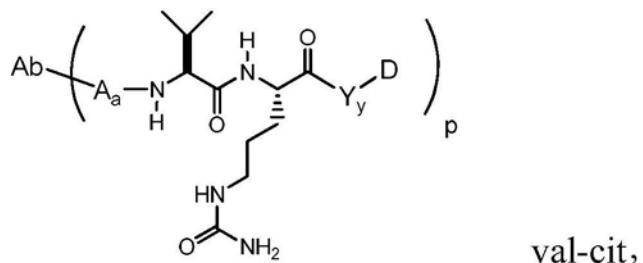


[0492] 其中Q为-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基,-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基),-卤素,-硝基,或-氰基;m为范围为0至4的整数;且p范围为1至约20。在一些实施方案中,p范围为1至10,1至7,1至5,或1至4。

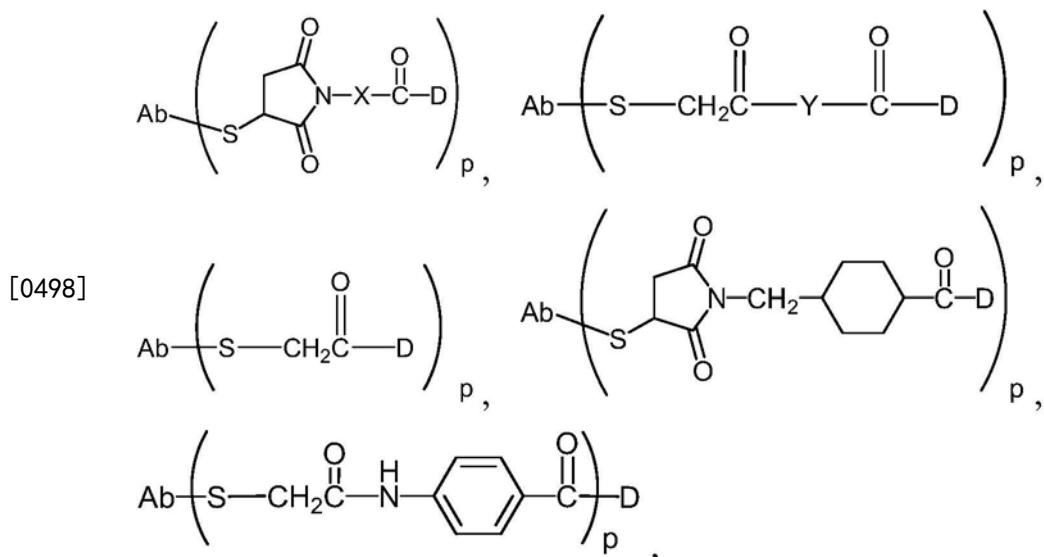
[0493] 自我牺牲的间隔物的其它例子包括但不限于在电子上与PAB基团相似的芳族化合物,诸如2-氨基咪唑-5-甲醇衍生物(美国专利No.7,375,078;Hay et al. (1999) Bioorg.Med.Chem.Lett.9:2237)和邻位或对位氨基苯甲基乙缩醛。在一些实施方案中,可使用在酰胺键水解后发生环化的间隔物,诸如取代的和未取代的4-氨基丁酸酰胺(Rodrigues et al. (1995) Chemistry Biology2:223),恰当取代的双环[2.2.1]和双环[2.2.2]环体系(Storm et al. (1972) J.Amer.Chem.Soc.94:5815)及2-氨基苯基丙酸酰胺(Amsberry et al. (1990) J.Org.Chem.55:5867)。药物与甘氨酸残基α碳的连接是在ADC中可能有用的自我牺牲的间隔物的另一个例子(Kingsbury et al. (1984) J.Med.Chem.27:1447)。

[0494] 在一些实施方案中,接头L可以为树枝状类型接头,其用于经由分支的多官能接头模块将多于一个药物模块共价结合至抗体(Sun et al. (2002) Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters 12:2213-2215;Sun et al. (2003) Bioorganic&Medicinal Chemistry 11:1761-1768)。树枝状接头可提高药物与抗体的摩尔比,即载荷,它与ADC的效力相关。因此,在抗体仅带有一个反应性半胱氨酸硫醇基的情况下,可经由树枝状接头附着众多药物模块。

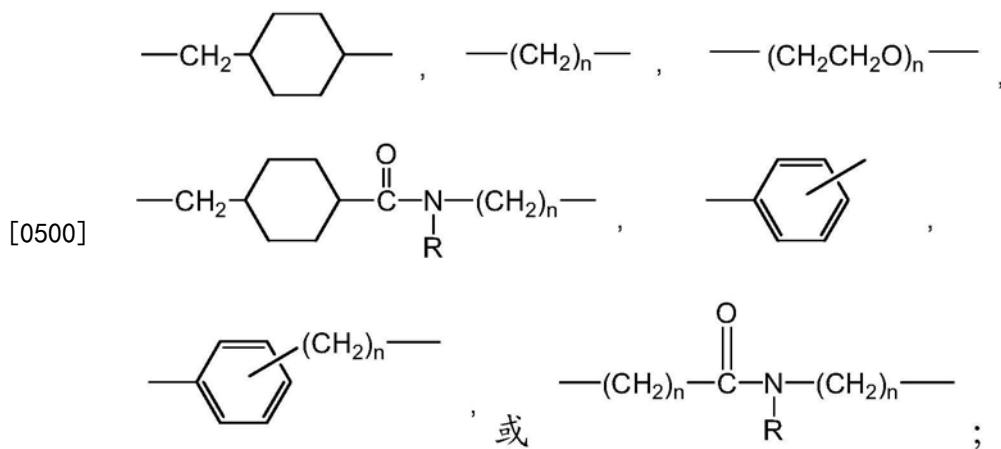
[0495] 下文在式I的ADC的背景中显示非限制性例示性接头:



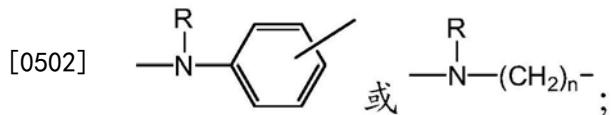
[0497] 别的非限制性例示性ADC包括下示结构：



[0499] 其中X为：



[0501] Y为:



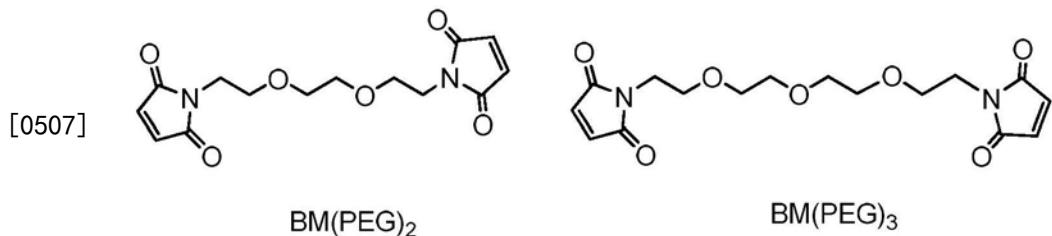
[0503] 每一个R独立为H或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烃基;且n为1至12。

[0504] 典型地,可通过在两个或更多个氨基酸和/或肽片段之间形成肽键来制备肽型接头。例如,可依照液相合成法来制备此类肽键(例如E. Schröder and K. Lübke (1965) "The Peptides", volume 1, pp 76-136, Academic Press)。

[0505] 在一些实施方案中,用调控溶解度和/或反应性的基团对接头进行取代。作为一个非限制性例子,带电荷的取代基诸如磺酸酯(-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)或铵可提高接头试剂的水溶性及便于接头试剂与抗体和/或药物模块的偶联反应,或便于Ab-L(抗体-接头中间体)与D或D-L(药物-接头中间体)与Ab的偶联反应,这取决于制备ADC所采用的合成路径。在一些实施方案中,将接头的一部分偶联至抗体并将接头的一部分偶联至药物,然后将Ab-(接头部分)<sup>a</sup>偶联至药物-(接头部分)<sup>b</sup>以形成式I的ADC。在一些此类实施方案中,抗体包含多于一个(接头部分)<sup>a</sup>取代基,使得将多于一个药物偶联至式I的ADC中的抗体。

[0506] 本发明的化合物明确涵盖但不限于用下述接头试剂制备的ADC:二-马来酰亚胺基-三氧乙二醇(BMPEO),N-(β-马来酰亚胺基丙基氧)-N-羟基琥珀酰亚胺酯(BMPS),N-(ε-马来酰亚胺基己酰基氧)琥珀酰亚胺酯(EMCS),N-[γ-马来酰亚胺基丁酰基氧]琥珀酰亚胺酯(GMBS),1,6-己烷-2-乙烯基砜(HBVS),琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧基-(6-氨基己酸酯)(LC-SMCC),m-马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯(MBS),4-(4-N-马来酰亚胺基苯基)丁酸酰肼(MPBH),琥珀酰亚胺基3-(溴乙酰胺基)丙酸酯(SBAP),琥珀酰亚胺基碘乙酸酯(SIA),琥珀酰亚胺基(4-碘乙酰基)氨基苯甲酸酯(SIAB),N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP),N-琥珀酰亚胺基-4-(2-吡啶基硫代)戊酸酯(SPP),琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸酯(SMCC),琥珀酰亚胺基4-(p-马来酰亚胺基苯基)丁酸酯(SMPB),琥珀酰亚胺基6-[(β-马来酰亚胺基丙酰胺基)己酸酯](SMPH),亚氨基硫烷(IT),sulfo-EMCS,sulfo-GMBS,sulfo-KMUS,sulfo-MBS,sulfo-SIAB,sulfo-SMCC,和sulfo-SMPB,和琥珀酰亚胺基-(4-乙烯基砜)苯甲酸酯(SVSB),而且包括二-马来酰亚胺试剂:二硫代二马来酰亚胺基乙烷(DTME),1,4-二马来酰亚胺基丁烷(BMB),1,4-二马来酰亚胺基-2,3-二羟基丁烷(BMDB),二马来酰亚胺基己烷(BMH),二马

来酰亚胺基乙烷(BMOE),BM(PEG)<sub>2</sub>(下文所示),和BM(PEG)<sub>3</sub>(下文所示);亚胺酸酯(诸如盐酸己二酰亚胺酸二甲酯),活性酯(诸如辛二酸二琥珀酰亚胺基酯),醛(诸如戊二醛),双叠氮化合物(诸如双(对-叠氮苯甲酰基)己二胺),双重氮衍生物(诸如双(对-重氮苯甲酰基)乙二胺),二异氰酸酯(诸如甲苯2,6-二异氰酸酯),和双活性氟化合物(诸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)的双功能衍生物。在一些实施方案中,二-马来酰亚胺试剂容许将抗体中的半胱氨酸的硫醇基团附着至含硫醇的药物模块,接头,或接头-药物中间体。与硫醇基团反应性的其它官能团包括但不限于碘乙酰胺,溴乙酰胺,乙烯基吡啶,二硫化物,吡啶基二硫化物,异氰酸酯,和异硫氰酸酯。



[0508] 某些有用的接头试剂可得自各种商业来源,诸如Pierce Biotechnology, Inc. (Rockford, IL), Molecular Biosciences Inc. (Boulder, CO),或者依照本领域中记载的规程合成;例如Toki et al. (2002) J.Org.Chem. 67:1866-1872; Dubowchik et al. (1997) Tetrahedron Letters 38:5257-60; Walker, M.A. (1995) J.Org.Chem. 60:5352-5355; Frisch et al. (1996) Bioconjugate Chem. 7:180-186; US 6,214,345; WO 02/088172; US 2003130189; US 2003096743; WO03/026577; WO 03/043583; 及WO 04/032828。

[0509] 碳-14标记的1-异硫氰酸苄基-3-甲基二亚乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)是用于将放射性核苷酸缀合至抗体的一种例示性螯合剂。参见例如W094/11026。

[0510] b) 例示性药物模块

[0511] (1) 美登素和美登木素生物碱

[0512] 在一些实施方案中,免疫缀合物包含缀合至一个或多个美登木素生物碱分子的抗体。美登木素生物碱是美登素(maytansine)的衍生物,而且是通过抑制微管蛋白聚合来发挥作用的有丝分裂抑制剂。美登素最初从东非灌木齿叶美登木(*Maytenus serrata*)分离得到(美国专利No. 3,896,111)。随后发现某些微生物也生成美登木素生物碱,诸如美登醇和C-3美登醇酯(美国专利No. 4,151,042)。例如下述美国专利公开了合成美登木素生物碱:4,137,230;4,248,870;4,256,746;4,260,608;4,265,814;4,294,757;4,307,016;4,308,268;4,308,269;4,309,428;4,313,946;4,315,929;4,317,821;4,322,348;4,331,598;4,361,650;4,364,866;4,424,219;4,450,254;4,362,663;及4,371,533。

[0513] 美登木素生物碱药物模块在抗体-药物缀合物中是有吸引力的药物模块,因为它们:(i)相对易于通过发酵或发酵产物的化学修饰或衍生化来制备;(ii)易于用适于经由非二硫化物接头缀合至抗体的官能团衍生化;(iii)在血浆中稳定;且(iv)有效针对多种肿瘤细胞系。

[0514] 适于用作美登木素生物碱药物模块的某些美登木素生物碱是本领域已知的,而且可以依照已知方法自天然来源分离,或是使用遗传工程技术生产(参见例如Yu et al. (2002) PNAS 99:7968-7973)。美登木素生物碱也可依照已知方法合成制备。

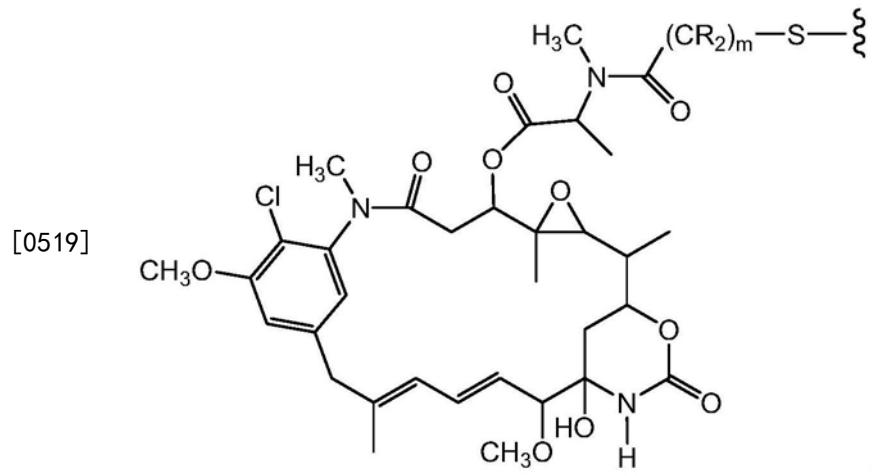
[0515] 例示性美登木素生物碱药物模块包括但不限于那些具有经修饰的芳香环的,诸

如:C-19-脱氯(美国专利No.4,256,746)(例如通过安丝菌素(ansamytocin)P2的氢化铝锂还原来制备);C-20-羟基(或C-20-脱甲基)+/-C-19-脱氯(美国专利No.4,361,650和No.4,307,016)(例如通过使用链霉菌或放线菌的脱甲基化或使用LAH的脱氯化来制备);及C-20-脱甲氧基,C-20-酰氧基(-OCOR),+/-脱氯(美国专利No.4,294,757)(例如通过使用酰氯的酰化来制备),以及那些在芳香环的其它位置具有修饰的。

[0516] 例示性美登木素生物碱药物模块还包括那些具有修饰的,诸如:C-9-SH(美国专利No.4,424,219)(例如通过美登醇与H<sub>2</sub>S或P<sub>2</sub>S<sub>5</sub>的反应来制备);C-14-烷氧基甲基(脱甲氧基/CH<sub>2</sub>OR)(US 4,331,598);C-14-羟甲基或酰氧甲基(CH<sub>2</sub>OH或CH<sub>2</sub>OAc)(美国专利No.4,450,254)(例如自诺卡氏菌制备);C-15-羟基/酰氧基(US 4,364,866)(例如通过链霉菌对美登醇的转化来制备);C-15-甲氧基(美国专利No.4,313,946和No.4,315,929)(例如自Trewia nudiflora分离);C-18-N-脱甲基(美国专利No.4,362,663和No.4,322,348)(例如通过链霉菌对美登醇的脱甲基化来制备);及4,5-脱氧(US 4,371,533)(例如通过美登醇的三氯化钛/LAH还原来制备)。

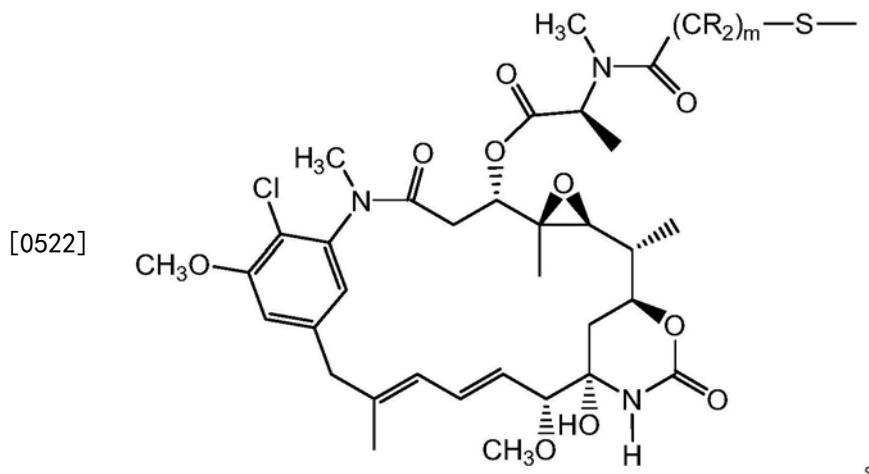
[0517] 美登木素生物碱化合物上的许多位置作为连接位置是有用的。例如,可使用常规偶联技术通过与羟基的反应来形成酯连接。在一些实施方案中,反应可发生于具有羟基的C-3位,用羟甲基修饰的C-14位,用羟基修饰的C-15位,和具有羟基的C-20位。在一些实施方案中,在美登醇或美登醇类似物的C-3位形成连接。

[0518] 美登木素生物碱药物模块包括那些具有下示结构的:

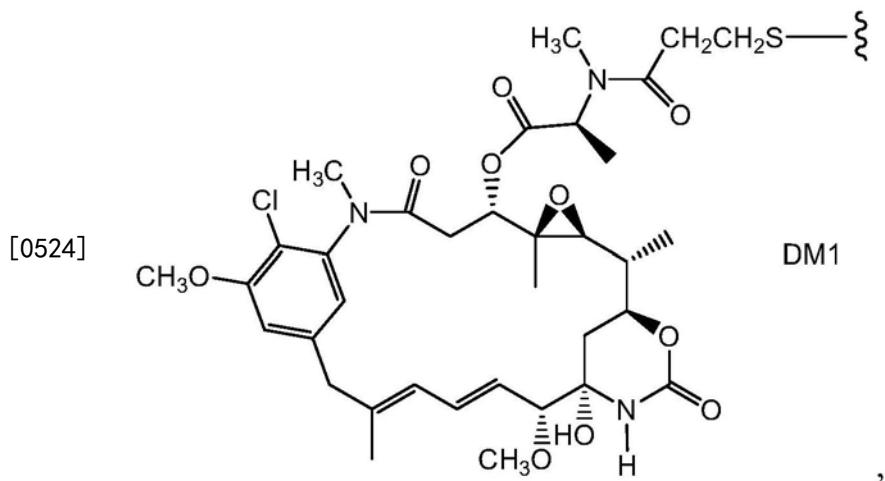


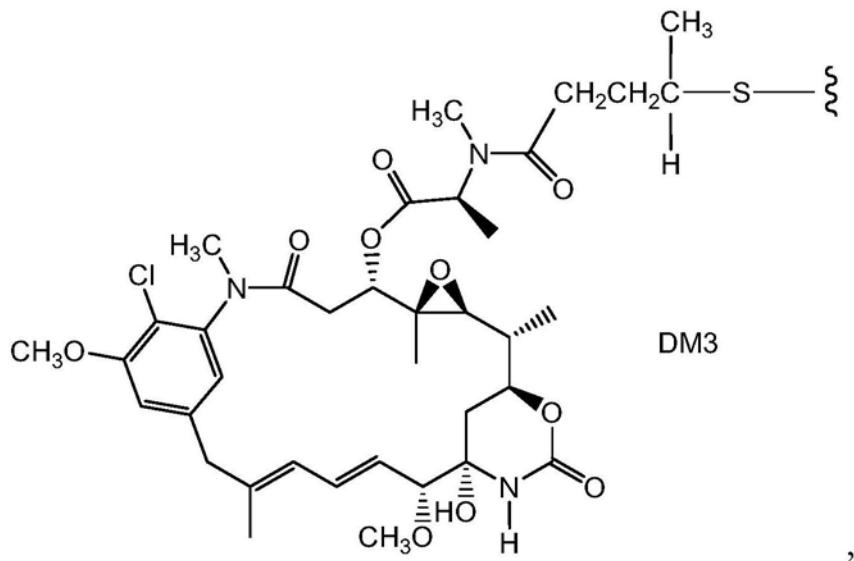
[0520] 其中波状线表示美登木素生物碱药物模块的硫原子共价附着至ADC的接头。每一个R可以独立为H或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烃基。将酰胺基团附着至硫原子的亚烃基链可以为甲烷基(methanyl),乙烷基(ethanyl),或丙基,即m为1,2,或3(US633410;US 5,208,020;Chari et al. (1992) Cancer Res. 52:127-131;Liu et al. (1996) Proc.Natl.Acad.Sci USA 93: 8618-8623)。

[0521] 本发明的ADC涵盖美登木素生物碱药物模块的所有立体异构体,即手性碳处的R和S构型的任何组合(US 7,276,497;US 6,913,748;US 6,441,163;US 633410 (RE39151);US 5,208,020;Widdison et al. (2006) J.Med.Chem.49:4392-4408,通过述及将其完整收录)。在一些实施方案中,美登木素生物碱药物模块具有下示立体化学:

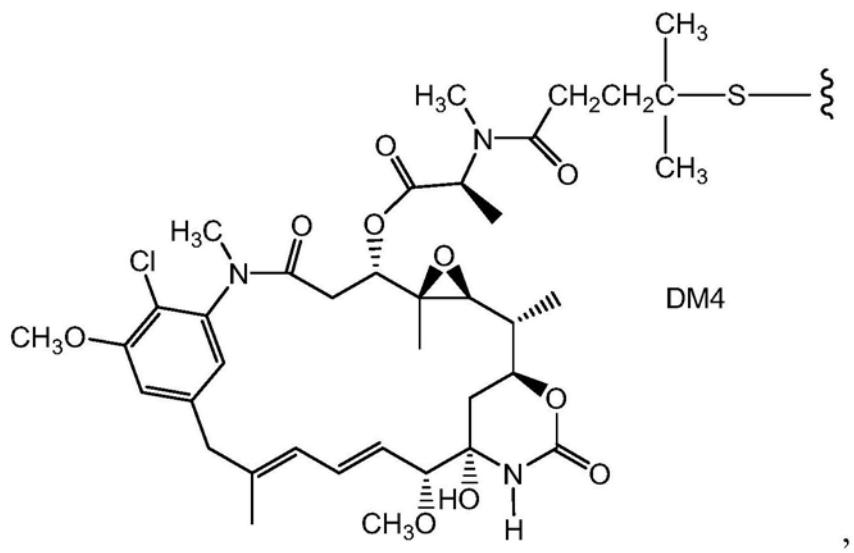


[0523] 美登木素生物碱药物模块的例示性实施方案包括但不限于具有下示结构的DM1，DM3，和DM4：





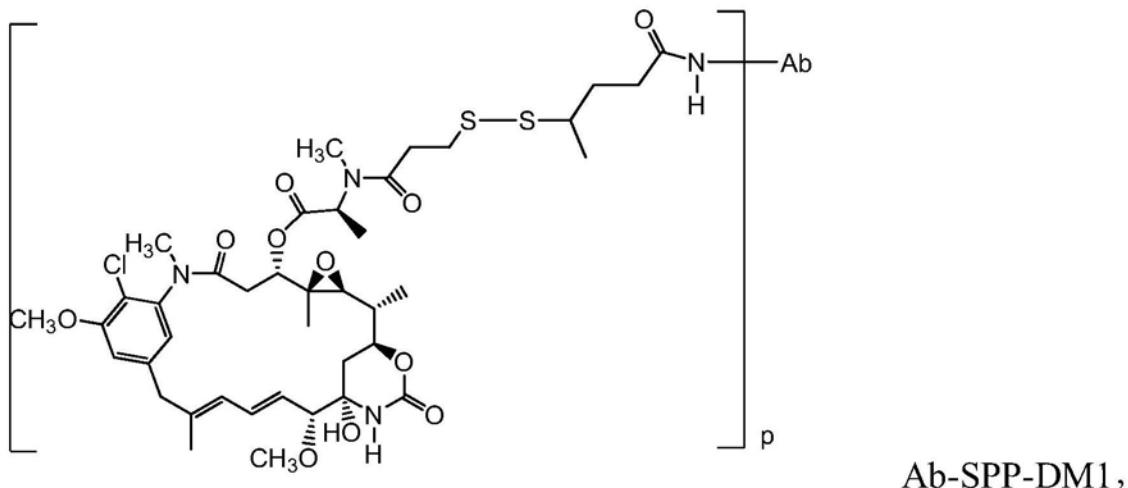
[0525]



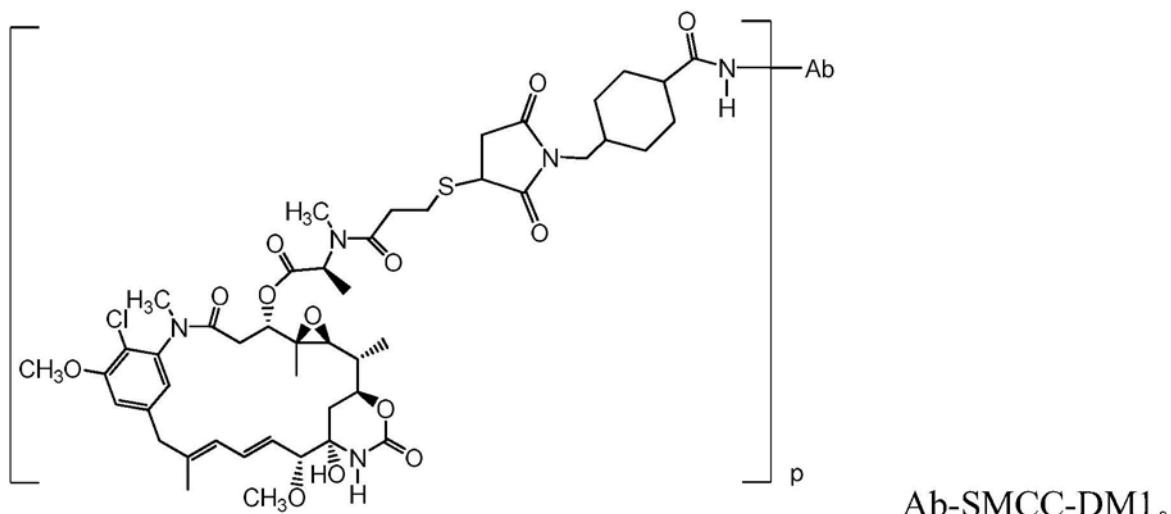
[0526] 其中波形线表示药物的硫原子对抗体-药物缀合物的接头(L)的共价附着。

[0527] 其它例示性美登木素生物碱抗体-药物缀合物具有如下结构和缩写(其中Ab为抗体,而p为1至约20。在一些实施方案中,p为1至10,p为1至7,p为1至5,或p为1至4) :

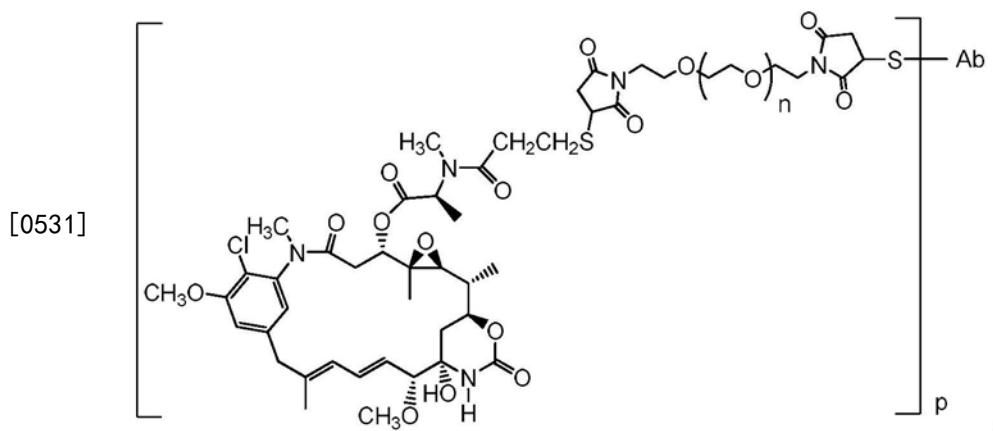
[0528]



[0529]



[0530] DM1经由BMPEO接头连接至抗体硫醇基团的例示性抗体-药物缀合物具有如下结构和缩写：



[0532] 其中Ab为抗体;n为0,1,或2;而p为1至约20。在一些实施方案中,p为1至10,p为1至7,p为1至5,或p为1至4。

[0533] 包含美登木素生物碱的免疫缀合物及其制备方法和治疗用途公开于例如美国专利No.5,208,020;No.5,416,064;US 2005/0276812 A1;及欧洲专利EP 0 425 235 B1,据此

通过述及明确收录其公开内容。还可参见Liu et al. (1996) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 93: 8618-8623; 及Chari et al. (1992) Cancer Research 52:127-131。

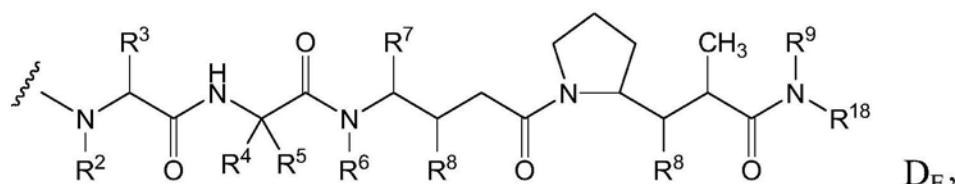
[0534] 在一些实施方案中,抗体-美登木素生物碱缀合物可通过在不显著削弱抗体或美登木素生物碱分子的生物学活性的情况下将抗体化学连接至美登木素生物碱分子来制备。参见例如美国专利No.5,208,020,据此通过述及明确收录其公开内容。在一些实施方案中,每个抗体分子缀合平均3-4个美登木素生物碱分子的ADC在对抗体的功能或溶解度没有负面影响的情况下在增强靶细胞的细胞毒性方面显示功效。在一些情况中,甚至一个分子的毒素/抗体预期增强细胞毒性,胜过使用裸抗体。

[0535] 用于制备抗体-美登木素生物碱缀合物的例示性连接基团包括例如本文中描述的那些和美国专利No.5,208,020;欧洲专利0 425 235 B1;Chari et al. (1992) Cancer Research 52:127-131;US 2005/0276812A1;及US 2005/016993A1中披露的那些,据此通过述及明确收录其公开内容。

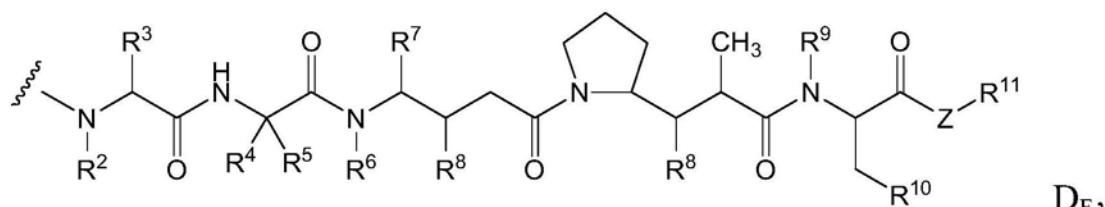
[0536] (2) 奥瑞司他汀和多拉司他汀

[0537] 药物模块包括多拉司他汀,奥瑞司他汀,及其类似物和衍生物(US5,635,483;US 5,780,588;US 5,767,237;US 6,124,431)。奥瑞司他汀是海洋软体动物化合物多拉司他汀-10的衍生物。虽然并非意图限于任何特定理论,多拉司他汀和奥瑞司他汀已经显示出干扰微管动力学,GTP水解,及核和细胞分裂(Woyke et al. (2001) Antimicrob.Agents and Chemother.45 (12) :3580-3584)且具有抗癌(US 5,663,149)和抗真菌活性(Pettit et al. (1998) Antimicrob.Agents Chemother.42:2961-2965)。可将多拉司他汀/奥瑞司他汀药物模块经由肽药物模块的N(氨基)末端或C(羧基)末端附着于抗体(W002/088172;Doronina et al. (2003) Nature Biotechnology 21 (7) :778-784;Francisco et al. (2003) Blood 102 (4) :1458-1465)。

[0538] 例示性奥瑞司他汀实施方案包括N-末端连接的单甲基奥瑞司他汀药物模块D<sub>E</sub>和D<sub>F</sub>,披露于US 7,498,298及US 7,659,241,通过述及明确收录其完整公开内容:



[0539]

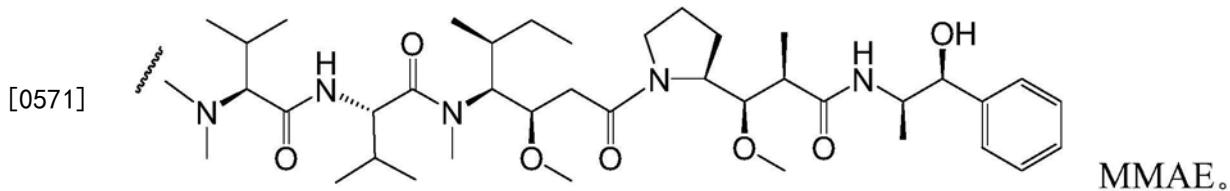


[0540] 其中D<sub>E</sub>和D<sub>F</sub>的波形线表示抗体或抗体-接头构件的共价附着位点,且每一个位置独立地:

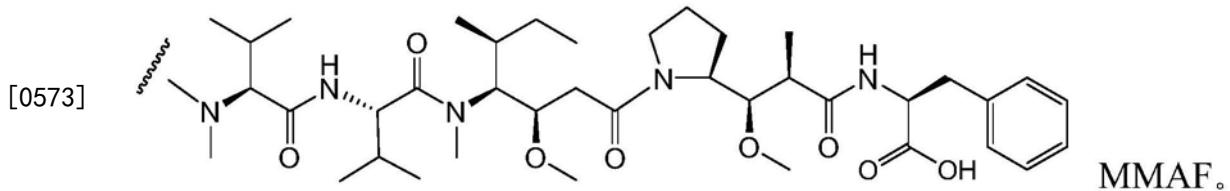
[0541] R<sup>2</sup>选自H和C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基;

[0542] R<sup>3</sup>选自H,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基,C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环,芳基,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基-芳基,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环),C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环和C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环);

- [0543]  $R^4$ 选自H,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基,C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环,芳基,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基-芳基,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环),C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环和C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环);
- [0544]  $R^5$ 选自H和甲基;
- [0545] 或者 $R^4$ 与 $R^5$ 一起形成碳环且具有式-(CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)<sub>n</sub>-,其中R<sup>a</sup>和R<sup>b</sup>独立地选自H,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基和C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环,而n选自2,3,4,5和6;
- [0546]  $R^6$ 选自H和C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基;
- [0547]  $R^7$ 选自H,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基,C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环,芳基,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基-芳基,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环),C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环和C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环);
- [0548] 每一个R<sup>8</sup>独立地选自H,OH,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基,C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环和O-(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基);
- [0549]  $R^9$ 选自H和C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基;
- [0550]  $R^{10}$ 选自芳基或C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环;
- [0551] Z为O,S,NH,或NR<sup>12</sup>,其中R<sup>12</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基;
- [0552]  $R^{11}$ 选自H,C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烃基,芳基,C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环,-(R<sup>13</sup>O)<sub>m</sub>-R<sup>14</sup>或-(R<sup>13</sup>O)<sub>m</sub>-CH(R<sup>15</sup>)<sub>2</sub>;
- [0553] m为范围为1-1000的整数;
- [0554]  $R^{13}$ 为C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>烃基;
- [0555]  $R^{14}$ 为H或C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基;
- [0556]  $R^{15}$ 的每一次出现独立地为H,COOH,-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-N(R<sup>16</sup>)<sub>2</sub>,-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-SO<sub>3</sub>H,或-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-SO<sub>3</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基;
- [0557]  $R^{16}$ 的每一次出现独立地为H,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基,或-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COOH;
- [0558]  $R^{18}$ 选自-C(R<sup>8</sup>)<sub>2</sub>-C(R<sup>8</sup>)<sub>2</sub>-芳基,-C(R<sup>8</sup>)<sub>2</sub>-C(R<sup>8</sup>)<sub>2</sub>-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>杂环),和-C(R<sup>8</sup>)<sub>2</sub>-C(R<sup>8</sup>)<sub>2</sub>-(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>碳环);且
- [0559] n为范围为0至6的整数。
- [0560] 在一个实施方案中,R<sup>3</sup>,R<sup>4</sup>和R<sup>7</sup>独立地为异丙基或仲丁基,而R<sup>5</sup>为-H或甲基。在一个例示性实施方案中,R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自为异丙基,R<sup>5</sup>为-H,而R<sup>7</sup>为仲丁基。
- [0561] 在还有另一个实施方案中,R<sup>2</sup>和R<sup>6</sup>各自为甲基,而R<sup>9</sup>为-H。
- [0562] 在仍有另一个实施方案中,R<sup>8</sup>的每一次出现为-OCH<sub>3</sub>。
- [0563] 在一个例示性实施方案中,R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自为异丙基,R<sup>2</sup>和R<sup>6</sup>各自为甲基,R<sup>5</sup>为-H,R<sup>7</sup>为仲丁基,R<sup>8</sup>的每一次出现为-OCH<sub>3</sub>,而R<sup>9</sup>为-H。
- [0564] 在一个实施方案中,Z为-O-或-NH-。
- [0565] 在一个实施方案中,R<sup>10</sup>为芳基。
- [0566] 在一个例示性实施方案中,R<sup>10</sup>为-苯基。
- [0567] 在一个例示性实施方案中,当Z为-O-时,R<sup>11</sup>为-H,甲基或叔丁基。
- [0568] 在一个实施方案中,当Z为-NH时,R<sup>11</sup>为-CH(R<sup>15</sup>)<sub>2</sub>,其中R<sup>15</sup>为-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-N(R<sup>16</sup>)<sub>2</sub>,而R<sup>16</sup>为-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基或-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COOH。
- [0569] 在另一个实施方案中,当Z为-NH时,R<sup>11</sup>为-CH(R<sup>15</sup>)<sub>2</sub>,其中R<sup>15</sup>为-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-SO<sub>3</sub>H。
- [0570] 式DE的一种例示性奥瑞司他汀实施方案为MMAE,其中波形线表示共价附着至抗体-药物缀合物的接头(L):



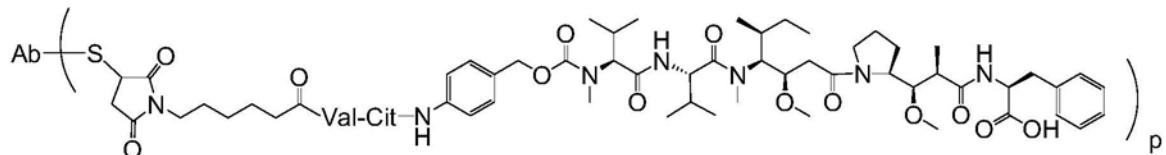
[0572] 式D<sub>F</sub>的一种例示性奥瑞司他汀实施方案为MMAF，其中波形线表示共价附着至抗体-药物缀合物的接头(L)：



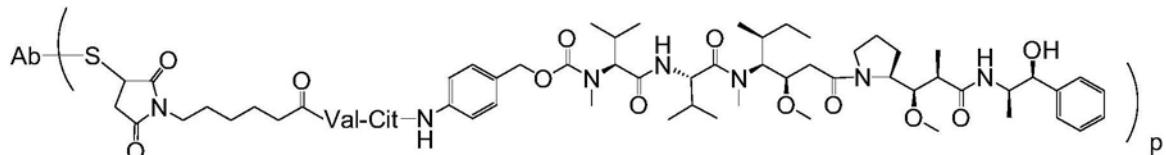
[0574] 其它例示性实施方案包括在五肽奥瑞司他汀药物模块C末端处具有苯丙氨酸羧基修饰的单甲基缬氨酸化合物(WO 2007/008848)和在五肽奥瑞司他汀药物模块C末端处具有苯丙氨酸侧链修饰的单甲基缬氨酸化合物(WO2007/008603)。

[0575] 包含MMAE或MMAF及各种接头构件的式I的ADC的非限制性例示性实施方案具有如下结构和缩写(其中“Ab”为抗体;p为1至约8;“Val-Cit”为缬氨酸-瓜氨酸二肽;而“S”为硫原子)：

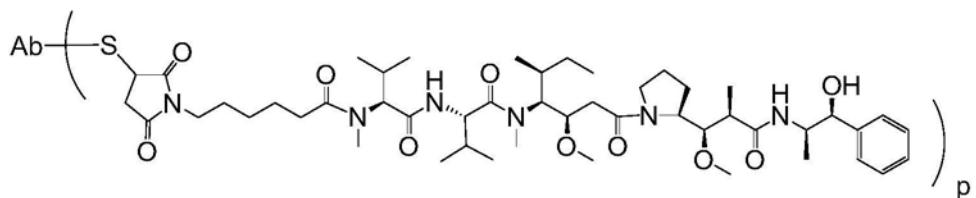
[0576]



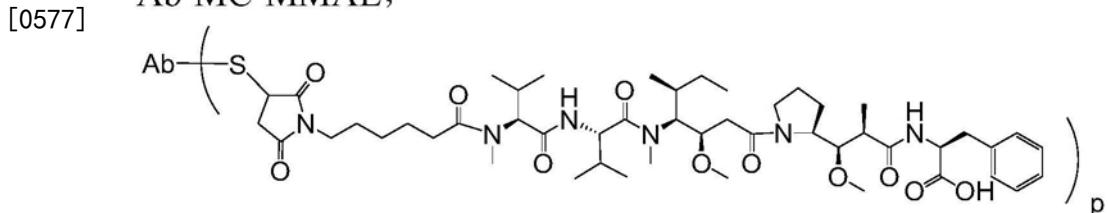
Ab-MC-vc-PAB-MMAF,



Ab-MC-vc-PAB-MMAE,



Ab-MC-MMAE,



Ab-MC-MMAF。

[0578] 包含MMAF及各种接头构件的式I的ADC的非限制性例示性实施方案进一步包括Ab-MC-PAB-MMAF和Ab-PAB-MMAF。包含通过不可蛋白水解切割的接头附着至抗体的MMAF的免疫缀合物已经显示出拥有与包含通过可蛋白水解切割的接头附着至抗体的MMAF的免疫缀合物相当的活性(Doronina et al. (2006) *Bioconjugate Chem.* 17:114-124)。在一些此类实施方案中,认为药物释放是通过细胞中的抗体降解来实现的。

[0579] 典型地,可通过在两个或更多个氨基酸和/或肽片段之间形成肽键来制备基于肽的药物模块。可依照例如液相合成法来制备此类肽键(参见例如E. Schröder and K. Lübke, "The Peptides", volume 1, pp 76-136, 1965, Academic Press)。在一些实施方案中,奥瑞司他汀/多拉司他汀药物模块可依照下述文献中的方法来制备:US 7,498,298;US 5,635,483;US 5,780,588;Pettit et al. (1989) *J. Am. Chem. Soc.* 111:5463-5465;Pettit et al. (1998) *Anti-Cancer Drug Design* 13:243-277;Pettit, G.R. et al. (1996) *Synthesis* 719-725;Pettit et al. (1996) *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 5:859-863;及Doronina (2003) *Nat. Biotechnol.* 21 (7) :778-784。

[0580] 在一些实施方案中,式D<sub>E</sub>的奥瑞司他汀/多拉司他汀药物模块(诸如MMAE),和式D<sub>F</sub>的奥瑞司他汀/多拉司他汀药物模块(诸如MMAF),和药物-接头中间体及其衍生物(诸如MC-MMAF, MC-MMAE, MC-vc-PAB-MMAF, 和MC-vc-PAB-MMAE)可使用US 7,498,298;Doronina et al. (2006) *Bioconjugate Chem.* 17:114-124;及Doronina et al. (2003) *Nat. Biotech.* 21: 778-784中记载的方法来制备,然后将它们缀合至感兴趣的抗体。

#### [0581] (3) 加利车霉素

[0582] 在一些实施方案中,免疫缀合物包含缀合至一个或多个加利车霉素分子的抗体。加利车霉素抗生素家族及其类似物能够在亚皮摩尔浓度生成双链DNA断裂(Hinman et al. (1993) *Cancer Research* 53:3336-3342;Lode et al. (1998) *Cancer Research* 58:2925-2928)。加利车霉素具有胞内作用位点,但在某些情况下不易穿过质膜。因此,这些试剂经由抗体介导的内在化的细胞摄取在一些实施方案中可大大增强它们的细胞毒性效果。制备带有加利车霉素药物模块的抗体-药物缀合物的非限制性例示性方法记载于例如US5,712,374;US 5,714,586;US 5,739,116;及US 5,767,285。

#### [0583] (4) 吡咯并苯并二氮卓

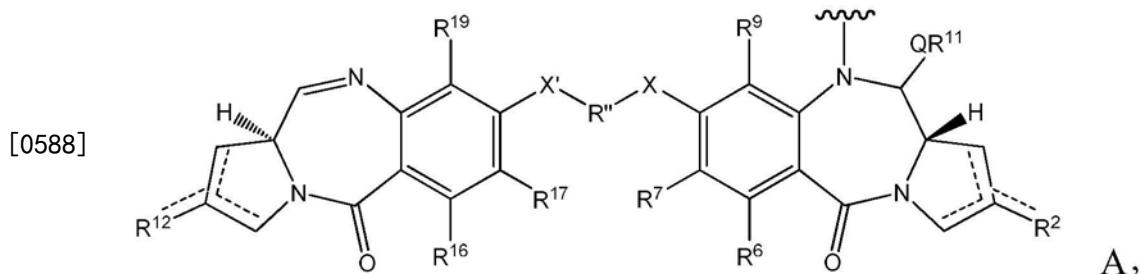
[0584] 在一些实施方案中,ADC包含吡咯并苯并二氮卓(PBD)。在一些实施方案中,PDB二聚体识别并结合特定DNA序列。天然产物安曲霉素(anthramycin)(一种PBD)首次报告于1965年(Leimgruber et al. (1965) *J. Am. Chem. Soc.* 87:5793-5795;Leimgruber et al. (1965) *J. Am. Chem. Soc.* 87:5791-5793)。自此以后,报告了一些PBD(天然发生的和类似物二者)(Thurston et al. (1994) *Chem. Rev.* 1994, 433-465),包括三环PBD支架的二聚体(US 6,884,799;US 7,049,311;US 7,067,511;US 7,265,105;US 7,511,032;US 7,528,126;US 7,557,099)。并非意图限于任何特定理论,认为二聚体结构赋予适宜的三维形状以实现与B型DNA的小沟的同螺旋度(isohelicity),导致在结合位点处的紧密贴合(Kohn, in *Antibiotics III*. Springer-Verlag, New York, pp. 3-11 (1975); Hurley and Needham-VanDevanter (1986) *Acc. Chem. Res.* 19:230-237)。携带C2芳基取代基的二聚PBD化合物已经显示出作为细胞毒剂是有用的(Hartley et al. (2010) *Cancer Res.* 70 (17) :6849-6858; Antonow (2010) *J. Med. Chem.* 53 (7) :2927-2941;Howard et al. (2009) *Bioorganic and*

Med. Chem. Letters 19 (22) :6463-6466)。

[0585] 在一些实施方案中,可采用PBD化合物作为药物前体,这通过用在体内可移除的氮保护基团在N10位置处保护它们来实现 (WO 00/12507; WO2005/023814)。

[0586] 已经将PBD二聚体缀合至抗体,而且所得ADC显示出具有抗癌特性 (US2010/0203007)。PBD二聚体上的非限制性例示性连接位点包括五元吡咯环,PBD单元之间的系链,和N10-C11亚胺基团 (WO 2009/016516; US2009/304710; US 2010/047257; US 2009/036431; US 2011/0256157; WO2011/130598)。

[0587] ADC的非限制性例示性PBD二聚体构件为式A:



[0589] 及其盐和溶剂合物,其中:

[0590] 波形线表示共价附着至接头的位点;

[0591] 虚线表示C1与C2或C2与C3之间任选存在双键;

[0592] R<sup>2</sup>独立地选自H,OH,=O,=CH<sub>2</sub>,CN,R,OR,=CH-R<sup>D</sup>,=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>,0-SO<sub>2</sub>-R,CO<sub>2</sub>R和COR,且任选还选自卤素或二卤素,其中R<sup>D</sup>独立地选自R,CO<sub>2</sub>R,COR,CHO,CO<sub>2</sub>H,和卤素;

[0593] R<sup>6</sup>和R<sup>9</sup>独立地选自H,R,OH,OR,SH,SR,NH<sub>2</sub>,NHR,NRR',NO<sub>2</sub>,Me<sub>3</sub>Sn和卤素;

[0594] R<sup>7</sup>独立地选自H,R,OH,OR,SH,SR,NH<sub>2</sub>,NHR,NRR',NO<sub>2</sub>,Me<sub>3</sub>Sn和卤素;

[0595] Q独立地选自O,S和NH;

[0596] R<sup>11</sup>为H或R,或在Q为O的情况下,SO<sub>3</sub>M,其中M为金属阳离子;

[0597] R和R'各自独立地选自任选取代的C<sub>1-8</sub>烃基,C<sub>1-12</sub>烃基,C<sub>3-8</sub>杂环基,C<sub>3-20</sub>杂环基,和C<sub>5-20</sub>芳基基团,且任选涉及基团NRR'时,R和R'与它们所附着的氮原子一起形成任选取代的4,5,6或7元杂环;

[0598] R<sup>12</sup>,R<sup>16</sup>,R<sup>19</sup>和R<sup>17</sup>分别如为R<sup>2</sup>,R<sup>6</sup>,R<sup>9</sup>和R<sup>7</sup>定义的;

[0599] R"为C<sub>3-12</sub>亚烃基基团,该链可以由一个或多个杂原子(例如O,S,N(H),NMe)和/或芳香环(例如苯或吡啶)(该环是任选取代的)中断;

[0600] 且X和X'独立地选自O,S和N(H)。

[0601] 在一些实施方案中,R和R'各自独立选自任选取代的C<sub>1-12</sub>烃基,C<sub>3-20</sub>杂环,和C<sub>5-20</sub>芳基,且任选涉及基团NRR'时,R和R'与它们所附着的氮原子一起形成任选取代的4,5,6或7元杂环。

[0602] 在一些实施方案中,R<sup>9</sup>和R<sup>19</sup>为H。

[0603] 在一些实施方案中,R<sup>6</sup>和R<sup>16</sup>为H。

[0604] 在一些实施方案中,R<sup>7</sup>和R<sup>17</sup>均为OR<sup>7A</sup>,其中R<sup>7A</sup>为任选取代的C<sub>1-4</sub>烃基。在一些实施方案中,R<sup>7A</sup>为Me。在一些实施方案中,R<sup>7A</sup>为Ch<sub>2</sub>PH,其中Ph为苯基基团。

[0605] 在一些实施方案中,X为O。

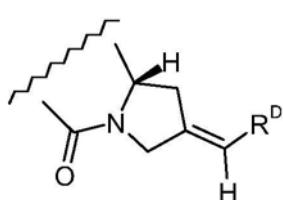
[0606] 在一些实施方案中,R<sup>11</sup>为H。

[0607] 在一些实施方案中,每一个单体单元中的C2与C3之间存在双键。

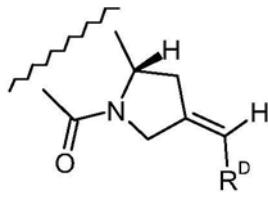
[0608] 在一些实施方案中,R<sup>2</sup>和R<sup>12</sup>独立选自H和R。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>和R<sup>12</sup>独立为R。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>和R<sup>12</sup>独立为任选取代的C<sub>5-20</sub>芳基或C<sub>5-7</sub>芳基或C<sub>8-10</sub>芳基。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>和R<sup>12</sup>独立为任选取代的苯基,噻吩基,萘基,吡啶基,喹啉基,或异喹啉基。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>和R<sup>12</sup>独立选自=O,=CH<sub>2</sub>,=CH-R<sup>D</sup>,和=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>和R<sup>12</sup>各自为=CH<sub>2</sub>。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>和R<sup>12</sup>各自为H。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>和R<sup>12</sup>各自为=O。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>和R<sup>12</sup>各自为=CF<sub>2</sub>。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>和/或R<sup>12</sup>独立为=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>和/或R<sup>12</sup>独立为=CH-R<sup>D</sup>。

[0609] 在一些实施方案中,当R<sup>2</sup>和/或R<sup>12</sup>为=CH-R<sup>D</sup>时,每一个基团可独立具有下文所示任一构型:

[0610]



(I)



(II)

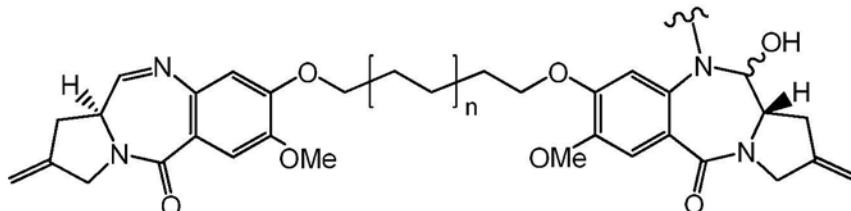
。

[0611] 在一些实施方案中,一个=CH-R<sup>D</sup>处于构型(I)。

[0612] 在一些实施方案中,R”为C<sub>3</sub>亚烃基基团或C<sub>5</sub>亚烃基基团。

[0613] 在一些实施方案中,ADC的一种例示性PBD二聚体构件具有式A(I)的结构:

[0614]

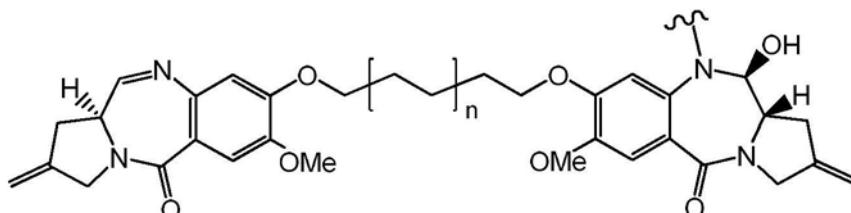


A(I);

[0615] 其中n为0或1。

[0616] 在一些实施方案中,ADC的一种例示性PBD二聚体构件具有式A(II)的结构:

[0617]

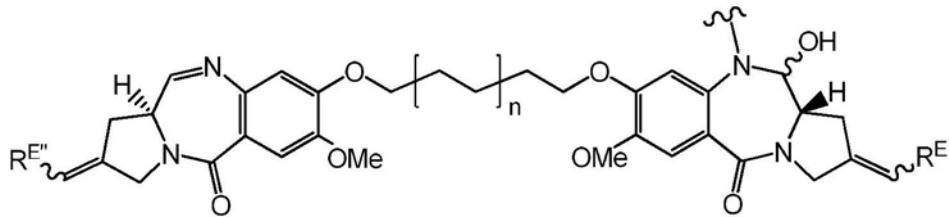


A(II);

[0618] 其中n为0或1。

[0619] 在一些实施方案中,ADC的一种例示性PBD二聚体构件具有式A(III)的结构:

[0620]



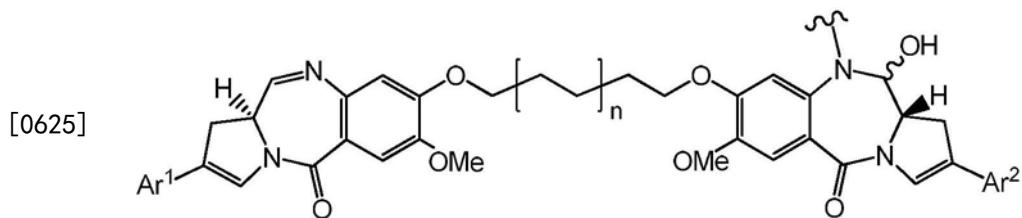
A(III);

[0621] 其中R<sup>E</sup>和R<sup>E''</sup>各自独立选自H或R<sup>D</sup>,其中R<sup>D</sup>如上文定义的;且

[0622] 其中n为0或1。

[0623] 在一些实施方案中,n为0。在一些实施方案中,n为1。在一些实施方案中,R<sup>E</sup>和/或R<sup>E''</sup>为H。在一些实施方案中,R<sup>E</sup>和R<sup>E''</sup>为H。在一些实施方案中,R<sup>E</sup>和/或R<sup>E''</sup>为R<sup>D</sup>,其中R<sup>D</sup>为任选取代的C<sub>1-12</sub>烃基。在一些实施方案中,R<sup>E</sup>和/或R<sup>E''</sup>为R<sup>D</sup>,其中R<sup>D</sup>为甲基。

[0624] 在一些实施方案中,ADC的一种例示性PBD二聚体构件具有式A (IV) 的结构:

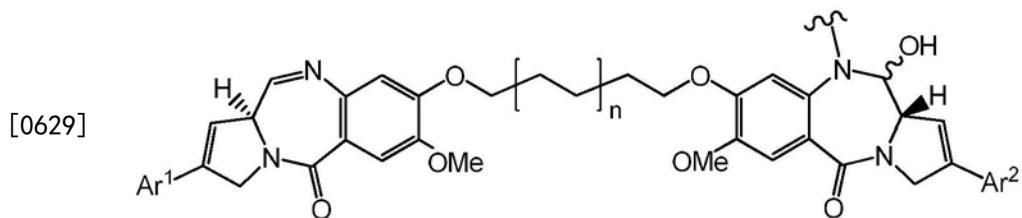


A(IV);

[0625] 其中Ar<sup>1</sup>和Ar<sup>2</sup>各自独立为任选取代的C<sub>5-20</sub>芳基;其中Ar<sup>1</sup>和Ar<sup>2</sup>可以是相同的或不同的;且

[0627] 其中n为0或1。

[0628] 在一些实施方案中,ADC的一种例示性PBD二聚体构件具有式A (V) 的结构:



A(V);

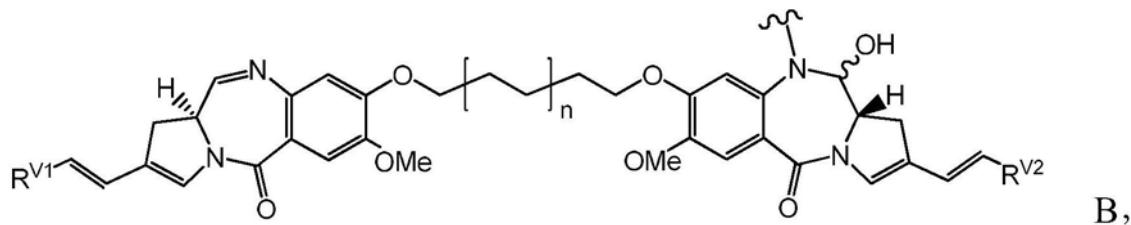
[0629] 其中Ar<sup>1</sup>和Ar<sup>2</sup>各自独立为任选取代的C<sub>5-20</sub>芳基;其中Ar<sup>1</sup>和Ar<sup>2</sup>可以是相同的或不同的;且

[0631] 其中n为0或1。

[0632] 在一些实施方案中,Ar<sup>1</sup>和Ar<sup>2</sup>各自独立选自任选取代的苯基,呋喃基,硫苯基和吡啶基。在一些实施方案中,Ar<sup>1</sup>和Ar<sup>2</sup>各自独立为任选取代的苯基。在一些实施方案中,Ar<sup>1</sup>和Ar<sup>2</sup>各自独立为任选取代的噻吩-2-基或噻吩-3-基。在一些实施方案中,Ar<sup>1</sup>和Ar<sup>2</sup>各自独立为任选取代的喹啉基或异喹啉基。喹啉基或异喹啉基基团可以经由任何可利用环位置结合至PBD核。例如,喹啉基可以是喹啉-2-基,喹啉-3-基,喹啉-4-基,喹啉-5-基,喹啉-6-基,喹啉-7-基和喹啉-8-基。在一些实施方案中,喹啉基选自喹啉-3-基和喹啉-6-基。异喹啉基可以是异喹啉-1-基,异喹啉-3-基,异喹啉-4-基,异喹啉-5-基,异喹啉-6-基,异喹啉-7-基和异喹啉-8-基。在一些实施方案中,异喹啉基选自异喹啉-3-基和异喹啉-6-基。

[0633] ADC的别的非限制性例示性PBD二聚体构件为式B:

[0634]



[0635] 及其盐和溶剂合物,其中:

[0636] 波形线表示共价附着至接头的位点;

[0637] 连接至OH的波形线表示S或R构型;

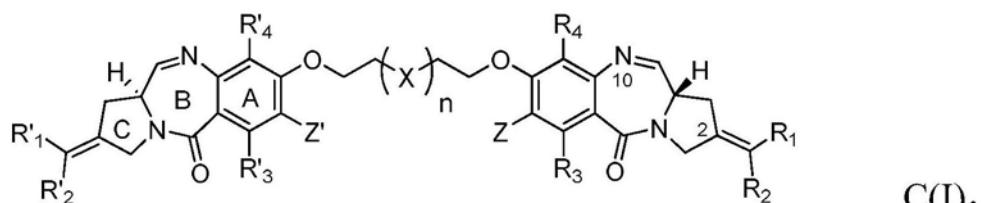
[0638] R<sup>V1</sup>和R<sup>V2</sup>独立选自H,甲基,乙基和苯基(苯基可以是任选用氟取代的,特别是在4位)和C<sub>5-6</sub>杂环基;其中R<sup>V1</sup>和R<sup>V2</sup>可以是相同的或不同的;且

[0639] n为0或1。

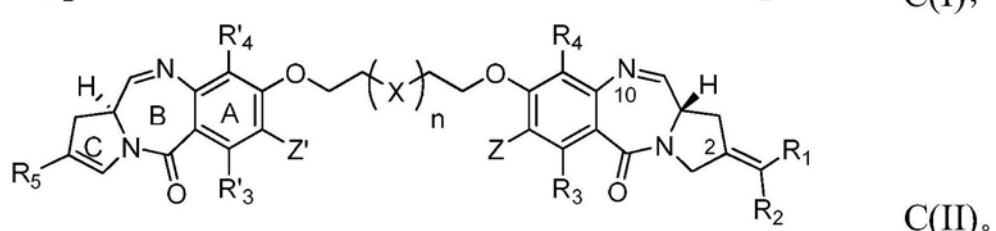
[0640] 在一些实施方案中,R<sup>V1</sup>和R<sup>V2</sup>独立选自H,苯基,和4-氟苯基。

[0641] 在一些实施方案中,接头可附着于PBD二聚体药物模块的多个位点之一,包括B环的N10亚胺,C环的C-2内/外位,或连接A环的系链单元(见下文结构C(I)和C(II))。

[0642] ADC的非限制性例示性PBD二聚体构件包括式C(I)和C(II):



[0643]



[0644] 式C(I)和C(II)以它们的N10-C11亚胺形式显示。例示性PBD药物模块还包括甲醇胺以及受到保护的甲醇胺形式,如下文表中显示的:

[0645]

亚胺	甲醇胺	受到保护的甲醇胺

[0646] 其中:

[0647] X为CH<sub>2</sub>(n=1至5),N,或O;[0648] Z和Z'独立选自OR和NR<sub>2</sub>,其中R为含有1至5个碳原子的伯,仲或叔烃基链;R<sub>1</sub>,R'<sub>1</sub>,R<sub>2</sub>和R'<sub>2</sub>各自独立选自H,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基,C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>烯基,C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>炔基,C<sub>5-20</sub>芳基(包括取代的芳基),C<sub>5-20</sub>杂芳基基团,-NH<sub>2</sub>,-NHMe,-OH,和-SH,

[0649] 其中,在一些实施方案中,烷基,烯基和炔基链包含多至5个碳原子;

[0650] R<sub>3</sub>和R'<sub>3</sub>独立选自H,OR,NHR,和NR<sub>2</sub>,其中R为含有1至5个碳原子的伯,仲或叔烃基

链；

[0651] R<sub>4</sub>和R'<sub>4</sub>独立选自H, Me, 和OMe；

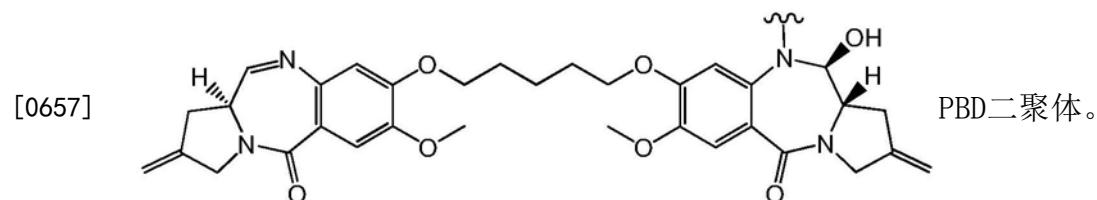
[0652] R<sub>5</sub>选自C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基,C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>烯基,C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>炔基,C<sub>5-20</sub>芳基(包括用卤素, 硝基, 氟基, 烷氧基, 烃基, 杂环基取代的芳基) 和C<sub>5-20</sub>杂芳基基团, 其中, 在一些实施方案中, 烷基, 烯基和炔基链包含多至5个碳原子；

[0653] R<sub>11</sub>为H,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基, 或保护基团(诸如乙酰基, 三氟乙酰基, 叔丁氧羰基(BOC), 苄氧羰基(CBZ), 9-芴基甲基烯酰基羰基(Fmoc), 或包含自我牺牲单元的模块诸如缬氨酸-瓜氨酸-PAB)；

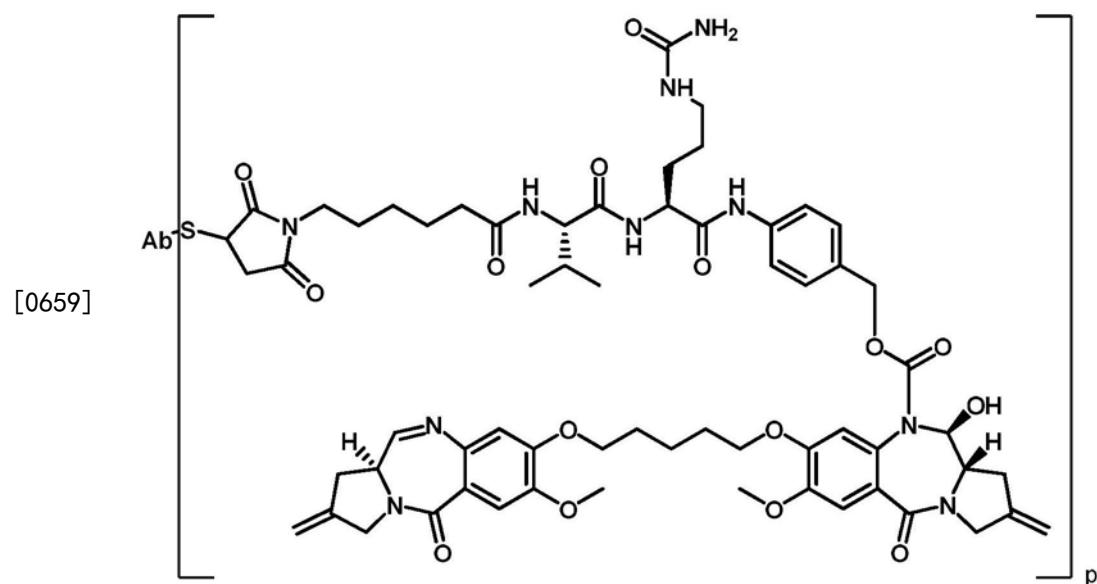
[0654] R<sub>12</sub>为H,C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烃基, 或保护基团；

[0655] 其中R<sub>1</sub>, R'<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R'<sub>2</sub>, R<sub>5</sub>, 或R<sub>12</sub>之一的一个氢或A环之间的-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(X)<sub>n</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-间隔物的一个氢用连接至ADC的接头的键替换。

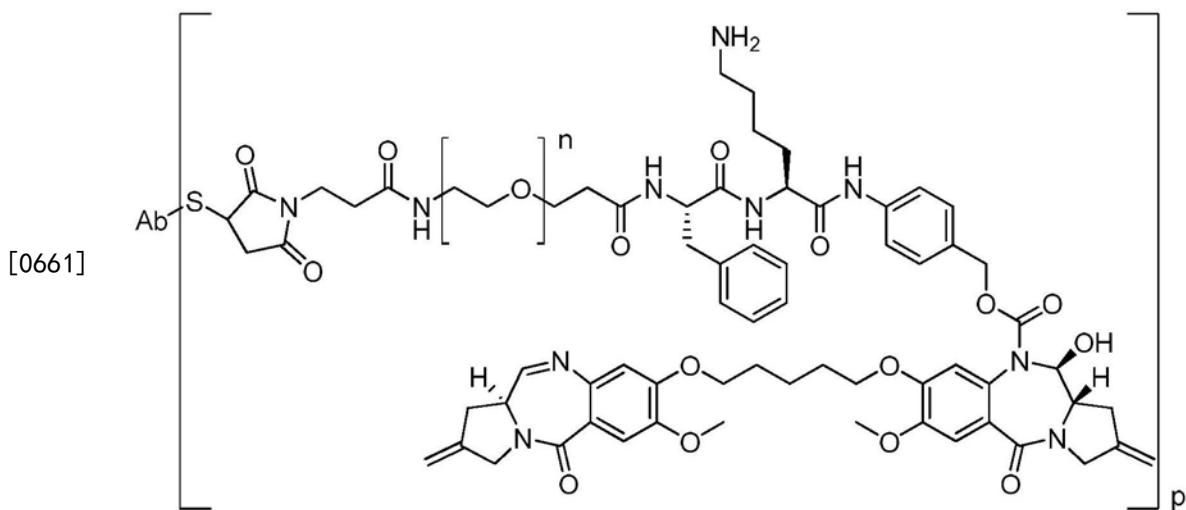
[0656] ADC的例示性PDB二聚体部分包括但不限于(波形线表示共价附着至接头的位点)：



[0658] 包含PBD二聚体的ADC的非限制性例示性实施方案具有下示结构：



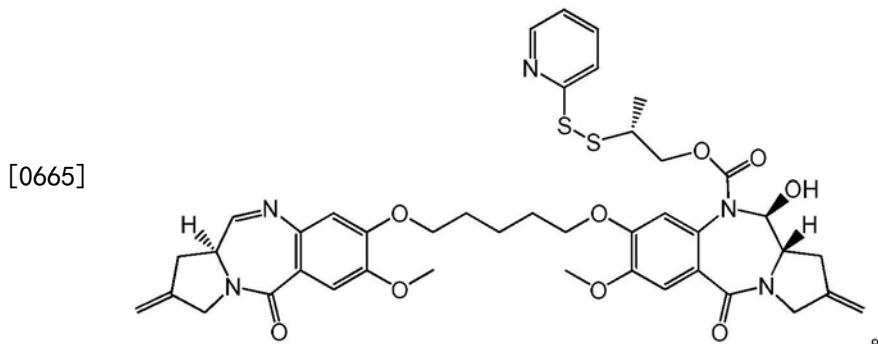
[0660] PBD二聚体-val-cit-PAB-Ab；



[0662] PBD二聚体-Phe-Lys-PAB-Ab, 其中:

[0663] n为0至12。在一些实施方案中,n为2至10。在一些实施方案中,n为4至8。在一些实施方案中,n选自4,5,6,7,和8。

[0664] 又一种非限制性的例示性的包含PBD二聚体的ADC可以通过将单甲基吡啶基二硫化物,N10连接的PBD(下文所示)缀合至抗体来生成:



[0666] PBD二聚体-val-cit-PAB-Ab和PBD二聚体-Phe-Lys-PAB-Ab的接头是蛋白酶可切割的,而PBD二聚体-马来酰亚胺-乙缩醛的接头是酸不稳定的。

[0667] PBD二聚体和包含PBD二聚体的ADC可依照本领域已知方法来制备。参见例如WO 2009/016516;US 2009/304710;US 2010/047257;US 2009/036431;US 2011/0256157;WO 2011/130598。

[0668] (5) 菸环类抗生素

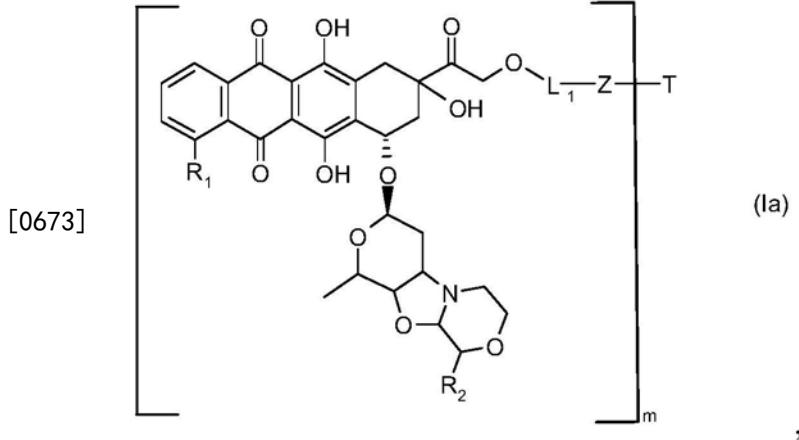
[0669] 在一些实施方案中,ADC包含蔸环类抗生素。蔸环类抗生素是展现细胞毒性活性的抗生化合物。并非意图限于任何特定理论,研究已经指出蔸环类抗生素可通过多种不同机制运作来杀伤细胞,包括:1) 将药物分子插入细胞的DNA中,由此抑制DNA依赖性核酸合成;2) 由药物生成自由基,然后自由基与细胞高分子反应以引起对细胞的损害,和/或3) 药物分子与细胞膜相互作用(参见例如C.Peterson et al., "Transport And Storage Of Anthracycline In Experimental Systems And Human Leukemia" in Anthracycline Antibiotics In Cancer Therapy;N.R.Bachur, "Free Radical Damage" id. at pp.97-102)。由于它们的细胞毒性潜力,蔸环类抗生素已经用于治疗众多癌症,诸如白血病,乳腺癌,肺癌,卵巢腺癌和肉瘤(参见例如P.H-Wiernik, in Anthracycline: Current Status

And New Developments p 11)。

[0670] 非限制性例示性蒽环类抗生素包括多柔比星,表柔比星,伊达比星,道诺霉素,奈莫柔比星,及其衍生物。已经制备并研究柔红霉素和多柔比星的免疫缀合物和药物前体(Kratz et al. (2006) Current Med. Chem. 13:477-523; Jeffrey et al. (2006) Bioorganic&Med. Chem. Letters 16:358-362; Torgov et al. (2005) Bioconj. Chem. 16: 717-721; Nagy et al. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834; Dubowchik et al. (2002) Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532; King et al. (2002) J. Med. Chem. 45: 4336-4343; EP 0 328 147; US 6,630,579)。抗体-药物缀合物BR96-多柔比星与肿瘤相关抗原Lewis-Y特异性反应,而且已经在I和II期研究中进行评估(Saleh et al. (2000) J. Clin. Oncology 18:2282-2292; Ajani et al. (2000) Cancer Jour. 6:78-81; Tolcher et al. (1999) J. Clin. Oncology 17:478-484)。

[0671] PNU-159682是一种有力的奈莫柔比星代谢物(或衍生物)(Quintieri et al. (2005) Clinical Cancer Research 11(4):1608-1617)。奈莫柔比星是多柔比星的一种半合成类似物,在多柔比星的糖昔氨基上具有2-甲氧基吗啉基团,而且已经处于临床评估(Grandi et al. (1990) Cancer Treat. Rev. 17:133; Ripamonti et al. (1992) Brit. J. Cancer 65:703),包括针对肝细胞癌瘤的II/III期试验(Sun et al. (2003) Proceedings of the American Society for Clinical Oncology 22, Abs 1448; Quintieri (2003) Proceedings of the American Association of Cancer Research 44: 1st Ed, Abs 4649; Pacciarini et al. (2006) Jour. Clin. Oncology 24:14116)。

[0672] 包含奈莫柔比星或奈莫柔比星衍生物的一种非限制性例示性ADC如式Ia所示:



[0674] 其中R<sub>1</sub>为氢原子,羟基或甲氧基基团且R<sub>2</sub>为C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烃氧基基团,或其药学可接受盐;

[0675] L<sub>1</sub>和Z一起为本文所述接头(L);

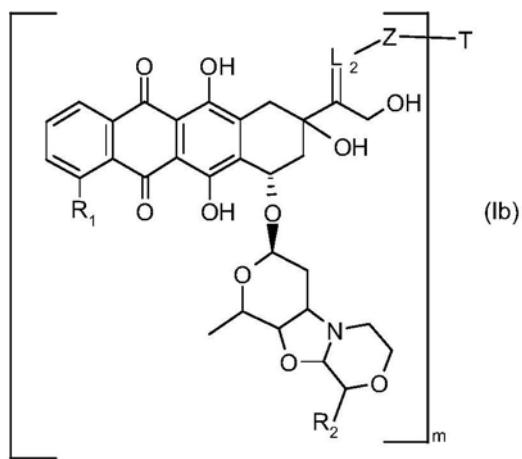
[0676] T为本文所述抗体(Ab);且

[0677] m为1至约20。在一些实施方案中,m为1至10,1至7,1至5,或1至4。

[0678] 在一些实施方案中,R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>二者为甲氧基(-OMe)。

[0679] 包含奈莫柔比星或奈莫柔比星衍生物的又一种非限制性例示性ADC如式Ib所示:

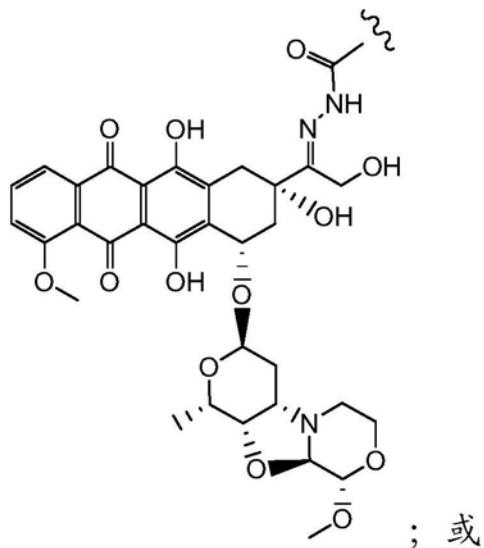
[0680]



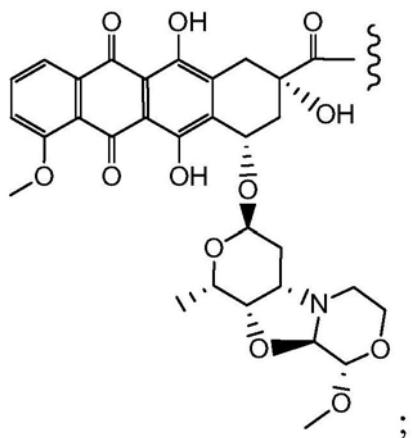
,

- [0681] 其中R<sub>1</sub>为氢原子,羟基或甲氧基基团且R<sub>2</sub>为C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>羟基基团,或其药学可接受盐;
- [0682] L<sub>2</sub>和Z一起为本文所述接头(L);
- [0683] T为本文所述抗体(Ab);且
- [0684] m为1至约20。在一些实施方案中,m为1至10,1至7,1至5,或1至4。
- [0685] 在一些实施方案中,R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>二者为甲氧基(-OMe)。
- [0686] 在一些实施方案中,含奈莫柔比星的ADC的奈莫柔比星构件为PNU-159682。在一些此类实施方案中,ADC的药物部分可具有下示结构之一:

[0687]



[0688]

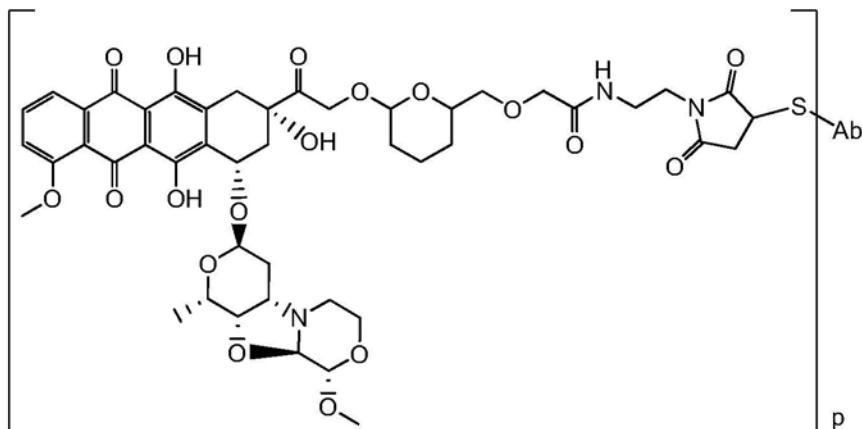


[0689] 其中波形线表示附着至接头 (L)。

[0690] 可以经由数个连接位点和多种接头 (US 2011/0076287; WO2009/099741; US 2010/0034837; WO 2010/009124) (包括本文所述接头) 将蒽环类抗生素 (包括PNU-159682) 缀合至抗体。

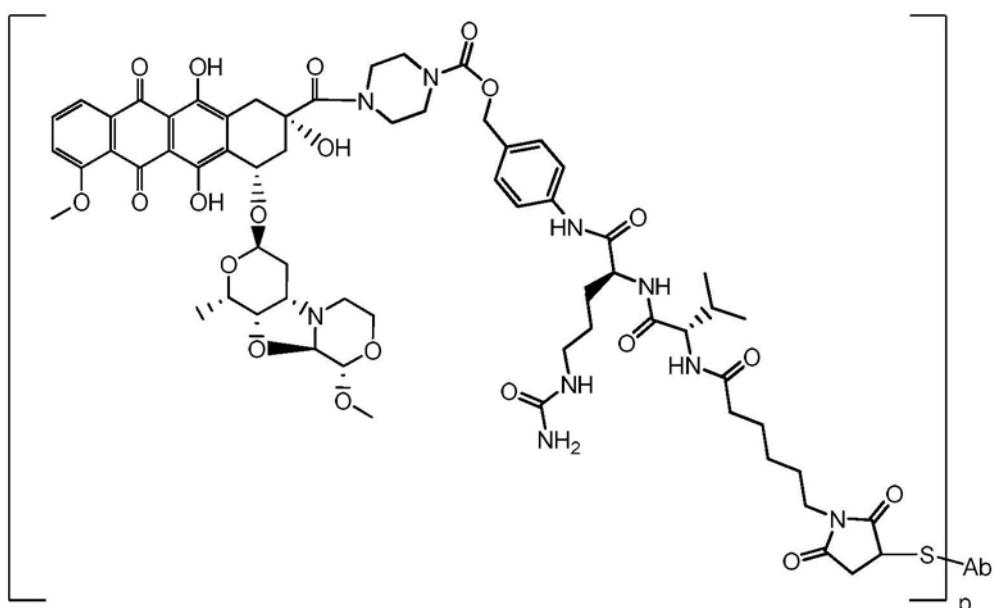
[0691] 包含奈莫柔比星和接头的例示性ADC包括但不限于：

[0692]



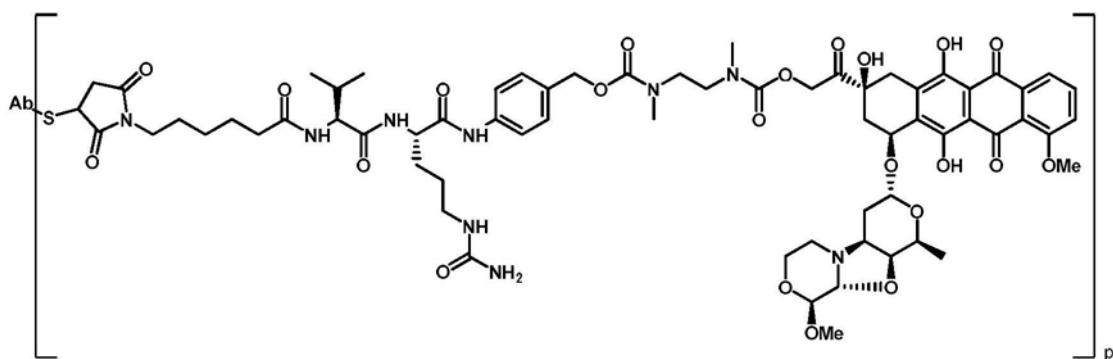
[0693] PNU-159682马来酰亚胺乙缩醛-Ab；

[0694]



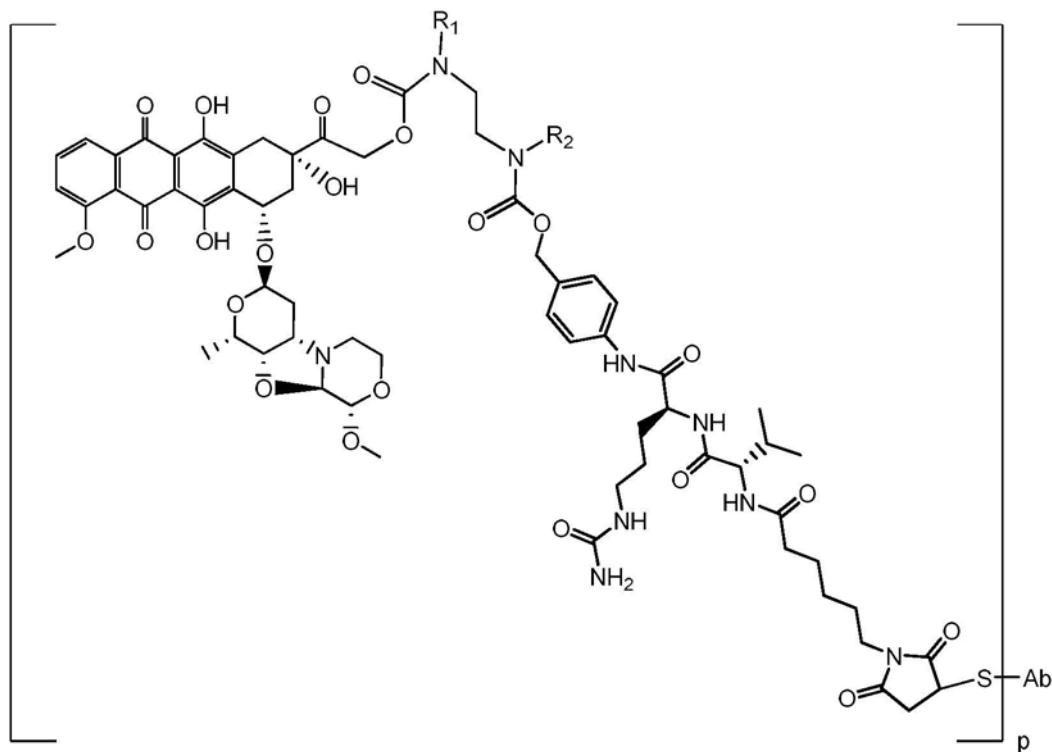
[0695] PNU-159682-val-cit-PAB-Ab；

[0696]



[0697] PNU-159682-val-cit-PAB-间隔物-Ab;

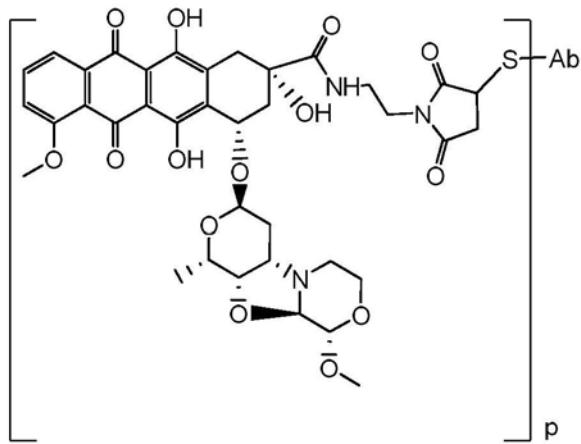
[0698]



[0699] PNU-159682-val-cit-PAB-间隔物( $R^1R^2$ )-Ab,其中:

[0700]  $R_1$ 和 $R_2$ 独立选自H和C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烃基;和

[0701]



[0702] PNU-159682-马来酰亚胺-Ab。

[0703] PNU-159682马来酰亚胺乙缩醛-Ab的接头是酸不稳定的,而PNU-159682-val-cit-PAB-Ab,PNU-159682-val-cit-PAB-间隔物-Ab,和PNU-159682-val-cit-PAB-间隔物( $R^1R^2$ )-Ab的接头是蛋白酶可切割的。

[0704] (6) 其它药物模块

[0705] 药物模块还包括格尔德霉素(Mandler et al. (2000) J.Nat.Cancer Inst.92 (19):1573-1581; Mandler et al. (2000) Bioorganic&Med.Chem.Letters 10:1025-1028; Mandler et al. (2002) Bioconjugate Chem.13:786-791);和酶活性毒素及其片段,包括但不限于白喉毒素A链,白喉毒素的非结合活性片段,外毒素A链(来自铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)),蓖麻毒蛋白(ricin)A链,相思豆毒蛋白(abrin)A链,蓖莲根

毒蛋白 (modeccin) A链,  $\alpha$ -帚曲霉素 (sarcin), 油桐 (*Aleurites fordii*) 毒蛋白, 香石竹 (*dianthin*) 毒蛋白, 美洲商陆 (*Phytolaca americana*) 毒蛋白 (PAPI, PAPII和PAP-S), 苦瓜 (*Momordica charantia*) 抑制物, 麻疯树毒蛋白 (curcin), 巴豆毒蛋白 (crotin), 肥皂草 (*sapaonaria officinalis*) 抑制物, 白树毒蛋白 (gelonin), 丝林霉素 (mitogellin), 局限曲菌素 (restrictocin), 酚霉素 (phenomycin), 依诺霉素 (enomycin) 和单端孢菌素 (trichothecenes)。参见例如WO 93/21232。

[0706] 药物模块还包括具有核酸降解活性的化合物 (例如核糖核酸酶或DNA内切核酸酶)。

[0707] 在某些实施方案中, 免疫缀合物可包含高度放射性原子。多种放射性同位素可用于生成放射缀合抗体。例子包括At<sup>211</sup>, I<sup>131</sup>, I<sup>125</sup>, Y<sup>90</sup>, Re<sup>186</sup>, Re<sup>188</sup>, Sm<sup>153</sup>, Bi<sup>212</sup>, P<sup>32</sup>, Pb<sup>212</sup>和Lu的放射性同位素。在一些实施方案中, 在将免疫缀合物用于检测时, 它可包含用于闪烁照相研究的放射性原子, 例如Tc<sup>99</sup>或I<sup>123</sup>, 或是包含用于核磁共振 (NMR) 成像 (也称为磁共振成像, MRI) 的自旋标记物, 诸如镥-89, 碘-123, 碘-131, 钇-111, 氟-19, 碳-13, 氮-15, 氧-17, 钇, 锰或铁。可以将镥-89与各种金属螯合剂络合及与抗体缀合, 例如用于PET成像 (WO 2011/056983)。

[0708] 可以以已知方式将放射性标记物或其它标记物掺入免疫缀合物。例如, 可生物合成肽, 或是化学合成肽, 其中使用包含例如一个或多个氟-19原子代替一个或多个氢的合适氨基酸前体。在一些实施方案中, 可以经抗体中的半胱氨酸残基来附着标记物, 诸如Tc<sup>99</sup>, I<sup>123</sup>, Re<sup>186</sup>, Re<sup>188</sup>和In<sup>111</sup>。在一些实施方案中, 可以经抗体的赖氨酸残基来附着钇-90。在一些实施方案中, IODOGEN法 (Fraker et al. (1978) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 80:49-57) 可用于掺入碘-123。"Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy" (Chatal, CRC Press 1989) 记载了某些其它方法。

[0709] 在某些实施方案中, 免疫缀合物可包含缀合至药物前体活化酶的抗体。在一些此类实施方案中, 药物前体活化酶将药物前体 (例如肽基化疗剂, 参见WO 81/01145) 转变成活性药物, 诸如抗癌药。在一些实施方案中, 此类免疫缀合物在抗体依赖性酶介导的药物前体疗法 ("ADEPT") 中是有用的。可缀合至抗体的酶包括但不限于对于将含磷酸盐/酯的药物前体转变为游离药物有用的碱性磷酸酶; 对于将含硫酸盐/酯的药物前体转变为游离药物有用的芳基硫酸酯酶; 对于将无毒5-氟胞嘧啶转变为抗癌药物5-氟尿嘧啶有用的胞嘧啶脱氨酶; 对于将含肽的药物前体转变为游离药物有用的蛋白酶, 诸如沙雷氏菌蛋白酶, 嗜热菌蛋白酶, 枯草杆菌蛋白酶, 羧肽酶和组织蛋白酶 (诸如组织蛋白酶B和L); 对于转化含D-氨基酸替代的药物前体有用的D-丙氨酰羧肽酶; 对于将糖基化药物前体转变为游离药物有用的碳水化合物切割酶, 诸如 $\beta$ -半乳糖苷酶和神经氨酸酶; 对于将用 $\beta$ -内酰胺衍生的药物转变为游离药物有用的 $\beta$ -内酰胺酶; 及对于将在其氨基处分别用苯氧乙酰基或苯乙酰基基团衍生的药物转变为游离药物有用的青霉素酰胺酶, 诸如青霉素V酰胺酶或青霉素G酰胺酶。在一些实施方案中, 可通过本领域公知的重组DNA技术将酶共价结合至抗体。参见例如Neuberger et al. (1984) *Nature* 312:604-608。

[0710] c) 药物载荷

[0711] 药物载荷 (loading) 由p表示, 即式I的分子中每个抗体的平均药物模块数。药物载荷的范围可以为每个抗体1至20个药物模块 (D)。式I的ADC包括缀合有一定范围 (1至20个)

药物模块的抗体的集合。来自缀合反应的ADC制备物中每个抗体的平均药物模块数可通过常规手段来表征,诸如质谱术,ELISA测定法,和HPLC。还可测定ADC在p方面的定量分布。在一些情况中,将p为某数值的同质ADC自具有其它药物载荷的ADC分离,纯化,和表征可通过诸如反相HPLC或电泳等手段来实现。

[0712] 对于一些抗体-药物缀合物,p可能受到抗体上附着位点数目限制。例如,在附着为半胱氨酸硫醇的情况下,正如上文某些例示性实施方案中的那样,抗体可能只有一个或数个半胱氨酸硫醇基团,或者可能只有一个或数个有足够反应性的硫醇基团,可附着接头。在某些实施方案中,较高的药物载荷(例如p>5)可引起某些抗体-药物缀合物的聚集,不溶性,毒性,或丧失细胞通透性。在某些实施方案中,ADC的平均药物载荷的范围为1至约8;约2至约6;或约3至约5。事实上,对于某些ADC已经显示了每个抗体的药物模块的最佳比率可以为小于8,而且可以为约2至约5(US 7,498,298)。

[0713] 在某些实施方案中,在缀合反应中少于理论最大值的药物模块缀合至抗体。抗体可包含例如赖氨酸残基,其不与药物-接头中间物或接头试剂反应,如下文讨论的。一般地,抗体不包含许多游离的和反应性的半胱氨酸硫醇基团,其可连接至药物模块;事实上,抗体中的大多数半胱氨酸硫醇残基作为二硫桥存在。在某些实施方案中,可以在部分或完全还原条件下用还原剂诸如二硫苏糖醇(DTT)或三羰基乙基膦(TCEP)还原抗体以产生反应性半胱氨酸硫醇基团。在某些实施方案中,将抗体置于变性条件以暴露反应性亲核基团,诸如赖氨酸或半胱氨酸。

[0714] ADC的载荷(药物/抗体比率)可以以不同方式来控制,例如通过:(i)限制药物-接头中间体或接头试剂相对于抗体的摩尔过量,(ii)限制缀合反应的时间或温度,和(iii)半胱氨酸硫醇修饰的部分或限制性还原性条件。

[0715] 应当理解,在多于一个亲核基团与药物-接头中间体或与接头试剂反应的情况下,所得产物是具有一个或多个药物模块附着于抗体之分布的ADC化合物混合物。可通过对抗体特异性的和对药物特异性的双重ELISA抗体测定法自混合物计算每个抗体的平均药物数。混合物中的各种ADC分子可通过质谱术来鉴定,并通过HPLC来分离,例如疏水相互作用层析(参见例如McDonagh et al.(2006) Prot. Engr. Design&Selection 19(7):299-307; Hamblett et al.(2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Hamblett, K.J. et al., "Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate," Abstract No. 624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004; Alley, S.C. et al., "Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates," Abstract No. 627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004)。在某些实施方案中,可通过电泳或层析自缀合混合物分离具有单一载荷值的同质ADC。

[0716] d) 某些制备免疫缀合物的方法

[0717] 可采用本领域技术人员知道的有机化学反应,条件,和试剂通过数种路径来制备式I的ADC,包括:(1)抗体的亲核基团经共价键与二价接头试剂反应以形成Ab-L,接着与药物模块D反应;和(2)药物模块的亲核基团经共价键与二价接头试剂反应以形成D-L,接着与

抗体的亲核基团反应。经后一种路径制备式I的ADC的例示性方法记载于US 7,498,298,通过述及明确将其收入本文。

[0718] 抗体上的亲核基团包括但不限于：(i) N末端胺基团；(ii) 侧链胺基团，例如赖氨酸；(iii) 侧链硫醇基团，例如半胱氨酸；和(iv) 在抗体糖基化的情况下糖的羟基或氨基基团。胺，硫醇，和羟基基团是亲核的，而且能够与接头模块上的亲电子基团反应以形成共价键，而接头试剂包括：(i) 活性酯，诸如NHS酯，HOBT酯，卤代甲酸酯，和酸性卤化物；(ii) 烃基和苄基卤化物，诸如卤代乙酰胺；和(iii) 醛，酮，羧基，和马来酰亚胺基团。某些抗体具有可还原的链间二硫化物，即半胱氨酸桥。可通过用还原剂诸如DTT（二硫苏糖醇）或三羰基乙基膦(TCEP)处理使得抗体完全或部分还原，从而使抗体具有与接头试剂缀合的反应性。每个半胱氨酸桥理论上会如此形成两个反应性硫醇亲核体。可经由赖氨酸残基的修饰将别的亲核基团引入抗体，例如通过使赖氨酸残基与2-亚氨基硫烷(Traut氏试剂)反应，导致胺转变为硫醇。也可通过引入一个，两个，三个，四个，或更多个半胱氨酸残基(例如通过制备包含一个或多个非天然半胱氨酸氨基酸残基的变体抗体)而将反应性硫醇基团引入抗体。

[0719] 还可通过抗体上的亲电子基团(诸如醛或酮羰基)与接头试剂或药物上的亲核基团之间的反应来生成本发明的抗体-药物缀合物。接头试剂上的有用亲核基团包括但不限于酰肼，肟，氨基，肼，硫代半卡巴腙，肼羧酸酯，和芳基酰肼。在一个实施方案中，修饰抗体以引入能够与接头试剂或药物上的亲核取代基反应的亲电子模块。在另一个实施方案中，可以用例如高碘酸盐氧化剂氧化糖基化抗体的糖，从而形成可与接头试剂或药物模块的胺基团反应的醛或酮基团。所得亚胺Schiff碱基团可形成稳定的连接，或者可以用例如硼氢化物试剂还原而形成稳定的胺连接。在一个实施方案中，糖基化抗体的碳水化合物部分与半乳糖氧化酶或偏高碘酸钠的反应可以在抗体中生成羰基(醛和酮)基团，它们能与药物上的适宜基团反应(Hermanson, Bioconjugate Techniques)。在另一个实施方案中，包含N-末端丝氨酸或苏氨酸残基的抗体可以与偏高碘酸钠反应，导致生成醛替换第一个氨基酸(Geoghegan&Stroh (1992) Bioconjugate Chem. 3:138-146; US 5,362,852)。此类醛能与药物模块或接头亲核体反应。

[0720] 药物模块上的例示性亲核基团包括但不限于：胺，硫醇，羟基，酰肼，肟，肼，硫代半卡巴腙，肼羧酸酯，和芳基酰肼基团，它们能够与接头模块上的亲电子基团反应而形成共价键，而接头试剂包括：(i) 活性酯，诸如NHS酯，HOBT酯，卤代甲酸酯，和酸性卤化物；(ii) 烃基和苄基卤化物，诸如卤代乙酰胺；(iii) 醛，酮，羧基，和马来酰亚胺基团。

[0721] 本文中标题为“例示性接头”的节中描述了可用于制备ADC的非限制性例示性交联剂试剂。使用此类交联剂试剂来连接两个模块(包括蛋白质性质模块和化学模块)的方法是本领域已知的。在一些实施方案中，可通过例如重组技术或肽合成来制备包含抗体和细胞毒剂的融合蛋白。重组DNA分子可包含编码缀合物的抗体和细胞毒性部分的区域，或是彼此毗邻或是由编码接头肽的区域分开，该接头肽不破坏缀合物的期望特性。

[0722] 在还有另一个实施方案中，可以将抗体缀合至“受体”(诸如链霉亲合素)从而用于肿瘤预靶向，其中对患者施用抗体-受体缀合物，接着使用清除剂自循环清除未结合的缀合物，然后施用缀合至细胞毒剂(例如药物或放射性核苷酸)的“配体”(例如亲合素)。

[0723] E. 用于诊断和检测的方法和组合物

[0724] 在某些实施方案中，本文中提供的任何抗CD33抗体可用于检测生物学样品中CD33

的存在。如本文中使用的，术语“检测”涵盖定量或定性检测。“生物学样品”包括例如细胞或组织(例如活检材料，包括癌性或潜在癌性的淋巴样组织，诸如淋巴细胞，成淋巴细胞，单核细胞，骨髓单核细胞，及其混合物)。

[0725] 在一个实施方案中，提供了在诊断或检测方法中使用的抗CD33抗体。在又一方面，提供了检测生物学样品中CD33的存在的方法。在某些实施方案中，该方法包括在容许抗CD33抗体结合CD33的条件下使生物学样品与抗CD33抗体接触，如本文中所描述的，并检测是否在抗CD33抗体与生物学样品中的CD33间形成复合物。此类方法可以是体外或体内方法。在一个实施方案中，使用抗CD33抗体来选择适合用抗CD33抗体治疗的受试者，例如其中CD33是一种用于选择患者的生物标志。在又一个实施方案中，生物学样品是细胞或组织。

[0726] 在又一个实施方案中，体内使用抗CD33抗体来检测(例如通过体内成像)受试者中的CD33阳性癌症，例如为了癌症诊断，预后，或分期，确定适宜的治疗过程，或监测癌症对治疗的响应的目的。本领域已知用于体内检测的一种方法是免疫-正电子发射体层摄影术(immuno-PET)，如记载于例如van Dongen et al., The Oncologist 12:1379-1389 (2007)及Verel et al., J. Nucl. Med. 44:1271-1281 (2003)。在此类实施方案中，提供了一种用于检测受试者中的CD33阳性癌症的方法，该方法包括将经过标记的抗CD33抗体施用于具有或怀疑具有CD33阳性癌症的受试者，并检测所述受试者中所述经过标记的抗CD33抗体，其中检测到所述经过标记的抗CD33抗体指示所述受试者中的CD33阳性癌症。在某些此类实施方案中，经过标记的抗CD33抗体包含与正电子发射体偶联的抗CD33抗体，诸如<sup>68</sup>Ga, <sup>18</sup>F, <sup>64</sup>Cu, <sup>86</sup>Y, <sup>76</sup>Br, <sup>89</sup>Zr, 和<sup>124</sup>I。在一个具体的实施方案中，正电子发射体是<sup>89</sup>Zr。

[0727] 在又一些实施方案中，诊断或检测方法包括使固定化至基片的第一抗CD33抗体与要测试CD33存在情况的生物学样品接触，使该基片暴露于第二抗CD33抗体，并检测该第二抗CD33抗体是否结合至该第一抗CD33抗体和该生物学样品中的CD33之间的复合物。基片可以是任何支持性介质，例如玻璃，金属，陶瓷，聚合物珠，载玻片，芯片，和其它基片。在某些实施方案中，生物学样品包括细胞或组织。在某些实施方案中，第一或第二抗CD33抗体是本文所述任何抗体。

[0728] 可依照任何上述实施方案来诊断或检测的示例性病症包括CD33阳性癌症，诸如CD33阳性AML, CD33阳性CML, CD33阳性MDS, CD33阳性慢性骨髓单核细胞性白血病, CD33阳性APL, CD33阳性慢性骨髓增生性病症, CD33阳性血小板性白血病, CD33阳性pre-B-ALL, CD33阳性preT-ALL, CD33阳性多发性骨髓瘤, CD33阳性肥大细胞病, CD33阳性肥大细胞性白血病, CD33阳性肥大细胞肉瘤, CD33阳性髓样肉瘤, CD33阳性淋巴样白血病, 和CD33阳性未分化性白血病。在一些实施方案中，CD33阳性癌症是在实施例B中本文所述条件下得到大于“0”的抗CD33免疫组织化学(IHC)或原位杂交ISH得分的癌症，这对应于>90%的肿瘤细胞中染色很弱或无染色。在另一个实施方案中，CD33阳性癌症以1+, 2+或3+水平表达CD33，如在实施例B中本文所述条件下定义的。在一些实施方案中，CD33阳性癌症是根据检测CD33mRNA的逆转录酶PCR(RT-PCR)测定法表达CD33的癌症。在一些实施方案中，所述RT-PCR是定量RT-PCR。

[0729] 在某些实施方案中，提供了经标记的抗CD33抗体。标记物包括但不限于直接检测的标记物或模块(诸如荧光，发色，电子致密，化学发光，和放射性标记物)，及例如经由酶反应或分子相互作用间接检测的模块，诸如酶或配体。示例性的标记物包括但不限于放射性

同位素<sup>32</sup>P, <sup>14</sup>C, <sup>125</sup>I, <sup>3</sup>H, 和<sup>131</sup>I, 荧光团诸如稀土螯合物或荧光素及其衍生物, 罗丹明 (rhodamine) 及其衍生物, 丹酰, 伞形酮, 萤光素酶, 例如, 萤火虫萤光素酶和细菌萤光素酶 (美国专利No. 4,737,456), 萤光素, 2,3-二氢酞嗪二酮, 辣根过氧化物酶(HRP), 碱性磷酸酶, β-半乳糖苷酶, 葡糖淀粉酶, 溶菌酶, 糖类氧化酶, 例如, 葡萄糖氧化酶, 半乳糖氧化酶, 和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶, 杂环氧化酶诸如尿酸酶和黄嘌呤氧化酶(其与采用过氧化氢氧化染料前体的酶诸如HRP偶联), 乳过氧化物酶, 或微过氧化物酶, 生物素/亲合素, 自旋标记物, 噬菌体标记物, 稳定的自由基, 等等。在另一个实施方案中, 标记物是正电子发射体。正电子发射体包括但不限于<sup>68</sup>Ga, <sup>18</sup>F, <sup>64</sup>Cu, <sup>86</sup>Y, <sup>76</sup>Br, <sup>89</sup>Zr, 和<sup>124</sup>I。在一个具体的实施方案中, 正电子发射体是<sup>89</sup>Zr。

[0730] F. 药物制剂

[0731] 通过混合具有期望纯度的此类抗体或免疫缀合物与一种或多种任选的药学可接受载体 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 第16版, Osol, A. 编 (1980)) 以冻干配制剂或水性溶液形式制备如本文中所描述的抗CD33抗体或免疫缀合物的药物制剂。一般地, 药学可接受载体在所采用的剂量和浓度对接受者是无毒的, 而且包括但不限于缓冲剂, 诸如磷酸盐, 柠檬酸盐, 和其它有机酸; 抗氧化剂, 包括抗坏血酸和甲硫氨酸; 防腐剂(诸如氯化十八烷基二甲基苄基铵; 氯化己烷双胺; 苯扎氯铵, 苯索氯铵; 酚, 丁醇或苯甲醇; 对羟基苯甲酸烃基酯, 诸如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯; 邻苯二酚; 间苯二酚; 环己醇; 3-戊醇; 和间甲酚); 低分子量(少于约10个残基) 多肽; 蛋白质, 诸如血清清蛋白, 明胶或免疫球蛋白; 亲水性聚合物, 诸如聚乙烯吡咯烷酮; 氨基酸, 诸如甘氨酸, 谷氨酰胺, 天冬酰胺, 组氨酸, 精氨酸或赖氨酸; 单糖, 二糖和其它碳水化合物, 包括葡萄糖, 甘露糖或糊精; 融合剂, 诸如EDTA; 糖类, 诸如蔗糖, 甘露醇, 海藻糖或山梨醇; 成盐相反离子, 诸如钠; 金属复合物(例如Zn-蛋白质复合物); 和/或非离子表面活性剂, 诸如聚乙二醇(PEG)。本文中的例示性的药学可接受载体进一步包含间质药物分散剂诸如可溶性中性活性透明质酸酶糖蛋白(sHASEGP), 例如人可溶性PH-20透明质酸酶糖蛋白, 诸如rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.)。某些例示性的sHASEGP和使用方法, 包括rHuPH20记载于美国专利公开文本No. 2005/0260186和2006/0104968。在一方面, 将sHASEGP与一种或多种别的糖胺聚糖酶诸如软骨素酶组合。

[0732] 例示性的冻干抗体或免疫缀合物制剂记载于美国专利No. 6,267,958。水性抗体或免疫缀合物制剂包括那些记载于美国专利No. 6,171,586和W02006/044908的, 后一种制剂包含组氨酸-乙酸盐缓冲液。

[0733] 本文中的制剂还可含有超过一种所治疗具体适应症所必需的活性组分, 优选那些活性互补且彼此没有不利影响的。

[0734] 活性成分可包载于例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中(例如分别是羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊), 在胶状药物投递系统中(例如脂质体, 清蛋白微球体, 微乳剂, 纳米颗粒和纳米胶囊), 或在粗滴乳状液中。此类技术披露于例如Remington's Pharmaceutical Sciences, 第16版, Osol, A. 编 (1980)。

[0735] 可以制备持续释放制剂。持续释放制剂的合适的例子包括含有抗体或免疫缀合物的固体疏水性聚合物的半透性基质, 该基质为成形商品形式, 例如膜, 或微胶囊。

[0736] 用于体内施用的制剂一般是无菌的。无菌性可容易地实现, 例如通过穿过无菌

滤膜过滤。

[0737] G. 治疗性方法和组合物

[0738] 可以在方法例如治疗性方法中使用本文中提供的任何抗CD33抗体或免疫缀合物。

[0739] 在一方面，本文中提供的抗CD33抗体或免疫缀合物用于抑制CD33阳性细胞增殖的方法，该方法包括在允许抗CD33抗体或免疫缀合物结合细胞表面上的CD33的条件下将细胞暴露于抗CD33抗体或免疫缀合物，由此抑制细胞增殖。在某些实施方案中，所述方法是体外或体内方法。在又一些实施方案中，所述细胞是淋巴细胞，成淋巴细胞，单核细胞，或骨髓单核细胞。

[0740] 体外细胞增殖抑制可使用可购自Promega (Madison, WI) 的CellTiter-Glo<sup>TM</sup>发光细胞存活力测定法来测定。该测定法基于存在的ATP (它是代谢活跃细胞的指标) 的量化来测定培养物中的可存活细胞数目。参见Crouch et al. (1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88; 美国专利No. 6602677。该测定法可以以96孔或384孔形式进行，使之适应自动化高通量筛选 (HTS)。参见Cree et al. (1995) AntiCancer Drugs 6:398-404。该测定法规程牵涉直接向培养细胞添加单一试剂 (CellTiter-Glo<sup>®</sup> 试剂)。这导致细胞溶解和通过萤光素酶反应产生的发光信号的生成。发光信号与存在的ATP的量成正比，后者直接与培养物中存在的可存活细胞数成正比。可以通过光度计或CCD照相机成像装置来记录数据。发光输出表述成相对光单位 (RLU)。

[0741] 在另一方面，提供了作为药物使用的抗CD33抗体或免疫缀合物。在其它的方面，提供了在治疗方法中使用的抗CD33抗体或免疫缀合物。在某些实施方案中，提供了用于治疗CD33阳性癌症的抗CD33抗体或免疫缀合物。在某些实施方案中，本发明提供了在治疗具有CD33阳性癌症的个体的方法中使用的抗CD33抗体或免疫缀合物，所述方法包括对个体施用有效量的抗CD33抗体或免疫缀合物。在一个此类实施方案中，所述方法进一步包括对个体施用有效量的至少一种其它的治疗剂，例如下文描述的。

[0742] 在又一方面，本发明提供了抗CD33抗体或免疫缀合物在制造或制备药物中的用途。在一个实施方案中，所述药物用于治疗CD33阳性癌症。在又一个实施方案中，所述药物用于治疗CD33阳性癌症的方法，该方法包括对具有CD33阳性癌症的个体施用有效量的所述药物。在一个此类实施方案中，所述方法进一步包括对个体施用有效量的至少一种其它的治疗剂，例如如下文所描述的。

[0743] 在又一方面，本发明提供了治疗CD33阳性癌症的方法。在一个实施方案中，所述方法包括对具有此类CD33阳性癌症的个体施用有效量的抗CD33抗体或免疫缀合物。在一个此类实施方案中，所述方法进一步包括对个体施用有效量的至少一种其它的治疗剂，如下文所描述的。

[0744] 依照任何上述实施方案的CD33阳性癌症可以是例如CD33阳性AML, CD33阳性CML, CD33阳性MDS, CD33阳性慢性骨髓单核细胞性白血病, CD33阳性APL, CD33阳性慢性骨髓增生性病症, CD33阳性血小板性白血病, CD33阳性pre-B-ALL, CD33阳性preT-ALL, CD33阳性多发性骨髓瘤, CD33阳性肥大细胞病, CD33阳性肥大细胞性白血病, CD33阳性肥大细胞肉瘤, CD33阳性髓样肉瘤, CD33阳性淋巴样白血病, 和CD33阳性未分化性白血病。在一些实施方案中，CD33阳性癌症是在实施例B中本文所述条件下得到大于“0”的抗CD33免疫组织化学 (IHC) 或原位杂交 (ISH) 得分的癌症，这对应于>90%的肿瘤细胞中染色很弱或无染色。在另

一个实施方案中,CD33阳性癌症以1+,2+或3+水平表达CD33,如在实施例B中本文所述条件下定义的。在一些实施方案中,CD33阳性癌症是根据检测CD33 mRNA的逆转录酶PCR (RT-PCR) 测定法表达CD33的癌症。在一些实施方案中,所述RT-PCR是定量RT-PCR。

[0745] 依照任何上述实施方案的“个体”可以是人。

[0746] 在又一方面,本发明提供了药物制剂,其包含本文中提供的任何抗CD33抗体或免疫缀合物,例如在任何上述治疗性方法中使用。在一个实施方案中,药物制剂包含本文中提供的任何抗CD33抗体或免疫缀合物和药学可接受载体。在另一个实施方案中,药物制剂包含本文中提供的任何抗CD33抗体或免疫缀合物和至少一种其它的治疗剂,例如如下文所描述的。

[0747] 可以单独或与疗法中的其它药剂组合使用本发明的抗体或免疫缀合物。例如,可以与至少一种其它的治疗剂共施用本发明的抗体或免疫缀合物。

[0748] 上文记录的此类联合疗法涵盖联合施用(其中两种或更多种治疗剂包含在同一制剂或分开的制剂中),和分开施用,在该情况中,可以在施用其它的治疗剂和/或佐剂之前,同时,和/或之后发生本发明的抗体或免疫缀合物的施用。也可以与放射疗法组合使用本发明的抗体或免疫缀合物。

[0749] 可以通过任何合适的手段,包括胃肠外,肺内,和鼻内,及若期望用于局部治疗的话,损伤内施用来施用本发明的抗体或免疫缀合物(和任何其它的治疗剂)。胃肠外输注包括肌肉内,静脉内,动脉内,腹膜内,或皮下施用。部分根据施用是短暂的还是长期的,剂量给药可以通过任何合适的路径,例如通过注射,诸如静脉内或皮下注射进行。本文中涵盖各种剂量给药日程表,包括但不限于单次施用或在多个时间点里的多次施用,推注施用,和脉冲输注。

[0750] 本发明的抗体或免疫缀合物应当以一种符合良好的医学实践的方式配制,确定剂量及给药。关于这一点考虑的因素包括在治疗的特定病症,在治疗的特定哺乳动物,患者个体的临床状态,病因,药物递送部位,给药方法,服药日程以及其它为开业医生所知的因素。抗体或免疫缀合物无需但可任选地与一种或多种目前用于预防或治疗所述病症的药物一起配制。上述其它药物的有效量取决于配方中所存在的抗体或免疫缀合物的量,疗法和病症的类型,以及其它上述讨论的因素。这些药物通常以相同的剂量使用并具有本文中所描述的给药途径,或以约1-99%的本文所描述的剂量使用,或以任何剂量并通过任何途径使用,所述剂量和途径是凭经验确定的/经临床测定合适的。

[0751] 为了预防或治疗疾病,本发明的抗体或免疫缀合物(当单独或与一种或多种其它另外的治疗剂联合使用时)的合适剂量应取决于所要治疗的疾病的类型,抗体或免疫缀合物的种类,疾病的严重性和病程,所给予抗体或免疫缀合物的预防或治疗目的,之前的治疗,患者的临床史和对抗体或免疫缀合物的应答,以及主治医师的斟酌决定。抗体或免疫缀合物适合于在一次或一系列的治疗中给予患者。取决于疾病的类型和严重性,约1 $\mu$ g/kg-15mg/kg(例如0.1mg/kg-10mg/kg)的抗体或免疫缀合物可作为首次候选用量给予患者,无论是例如通过一次或多次单独的给药或通过连续输注。取决于上述提及的因素,一个典型的日剂量可在约1 $\mu$ g/kg-100mg/kg或更多的范围内。对于几天或更长时间的重复给药,取决于病情,治疗应通常持续直至出现病症得到期望的抑制为止。抗体或免疫缀合物的一种示例性剂量会在约0.05mg/kg到约10mg/kg的范围中。如此,可以对患者施用一剂或多剂约

0.5mg/kg, 2.0mg/kg, 4.0mg/kg或10mg/kg(或其任意组合)。上述剂量可间歇给予,如每周或每三周给予一次(如使得患者得到约2-约20个,或例如约6个剂量的抗体)。可给予初始较高的负荷剂量,接着给予一个或多个较低的剂量。然而,可使用其它给药方案。通过常规技术和测定方法易于监测该治疗的进展。

[0752] 应当理解,可以使用本发明的免疫缀合物和抗CD33抗体二者实施任何上述配制剂或治疗性方法。

[0753] H. 制品

[0754] 在本发明的另一方面,提供了一种制品,其含有可用于治疗,预防和/或诊断上文所描述的病症的材料。制品包含容器和容器上或与容器联合的标签或包装插页。合适的容器包括例如瓶,管形瓶,注射器,IV溶液袋,等等。容器可以由多种材料诸如玻璃或塑料形成。容器容纳单独或与另一种组合物组合有效治疗,预防和/或诊断病症的组合物,并且可以具有无菌存取口(例如,容器可以是具有由皮下注射针可穿过的塞子的管形瓶或静脉内溶液袋)。组合物中的至少一种活性剂是本发明的抗体或免疫缀合物。标签或包装插页指示使用组合物来治疗选择的状况。此外,制品可以包含(a)具有其中含有的组合物的第一容器,其中组合物包含本发明的抗体或免疫缀合物;和(b)具有其中含有的组合物的第二容器,其中组合物包含其它的细胞毒性或其它方面治疗性的药剂。在本发明的此实施方案中的制品可以进一步包含包装插页,其指示可以使用组合物来治疗特定的状况。或者/另外,制品可以进一步包含第二(或第三)容器,其包含药学可接受缓冲液,诸如抑菌性注射用水(BWFI),磷酸盐缓冲盐水,Ringer氏溶液或右旋糖溶液。它可以进一步包含从商业和用户观点看期望的其它材料,包括其它缓冲液,稀释剂,滤器,针,和注射器。

[0755] III. 实施例

[0756] 以下是本发明的方法和组合物的实施例。应当理解,鉴于上文提供的一般描述,可以实施各种其它实施方案。

[0757] 实施例1

[0758] A. 单克隆抗体生成

[0759] 使用下述规程生成针对人(hu)和食蟹猴(cyno)CD33的单克隆抗体,即给动物免疫接种在哺乳动物表达系统中表达的融合至C端Flag(RADYKDDDK)的重组huCD33和cynoCD33胞外域(ECD, huCD33的氨基酸1-262和cynoCD33的氨基酸1-257)。

[0760] 扩充阳性克隆,并通过ELISA和FACS重筛选对huCD33和cynoCD33的结合。鉴定出9个克隆:33H4,33F9,27C6,2E4,7A1,9C2,9C3,10D3和15G15,它们与表达重组人和食蟹猴CD33的稳定细胞系(根据荧光激活细胞分选(FACS))和在急性髓样白血病肿瘤细胞系上表达的肿瘤衍生CD33强烈反应。生成了9C3和15G15的变体,包括9C3.2,9C3.3,9C3.4,15G15.33,15G15.37,15G15.83,15G15.88,15G15.7,15G15.17,15G15.30,15G15.31,15G15.39,和15G15.84。在一些情况中,通过Biacore测定单价结合亲和力(数据未显示)。

[0761] 分离的重和轻链的序列见下文序列表和图1-4。残基编号依照Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest, 5th Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)。

[0762] B. 物种交叉反应性

[0763] 测试单克隆抗体以测定它们是否与cynoCD33(它与huCD33蛋白质86.3%同一)交

叉反应。使用稳定表达人或食蟹猴CD33的HEK293AD细胞通过FACS来测定物种特异性。将细胞与 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 抗体克隆一起于 $4^\circ\text{C}$ 温育40分钟,清洗,并用山羊抗mIgG (H+L) F(ab') $_2$ -488或山羊抗hIgG (H+L) F(ab') $_2$ -488二抗检测。图5A-D显示6种抗体(7A1, 9C2, 10D3, 15G15, 27C6和33F9)识别重组huCD33和cynoCD33二者,而2种抗体(33H4和23E4)具有与MY9.6相似的结合概况,只结合人CD33。通过来自食蟹猴(毛里求斯起源)的血液的FACS分析,进行对cynoCD33的交叉反应性的进一步确认。图7A-D显示7A1, 9C2, 10D3, 15G15, 33F9和27C6染色食蟹猴CD14 $^+$ /CD33 $^+$ 髓样细胞,但是33H4, 23E4或MY9.6不然。还对人CD14 $^+$ /CD33 $^+$ 髓样细胞确认抗体结合。肿瘤细胞具有改变蛋白质的糖基化样式的潜力,例如为了逃避免疫应答,因此为了确保我们的抗体不会受到这种修饰影响,对AML肿瘤细胞系Mo1m-13, HL-60, EOL-1, THP-1和U937,及来自确认了AML病例的患者的骨髓进行FACS。图6A-D显示抗体结合Mo1m-13或阳性AML样品的一个代表例。这些结果提示抗体结合CD33不受在AML肿瘤细胞系或患者样品中找到的改变的糖基化影响。

[0764] C. 单克隆抗体表位分组

[0765] 使用Octet RED384仪器(ForteBio)实施抗CD33抗体的表位分仓。以 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 将生物素化CD33捕捉到链霉亲合素生物传感器上达60秒。通过添加 $50\mu\text{g}/\text{ml}$ 达600秒实现第一抗体结合饱和。以 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 将这些生物传感器浸入竞争性抗体中,并测量结合达300秒。在饱和数量的第一抗体存在下第二抗体结合失败指示这两种抗体在相同的表位仓中;在饱和数量的第一抗体存在下第二抗体结合成功指示这两种抗体在不同的表位仓中。使用MY9.6作为第一饱和抗体,接着是竞争性抗体27C6, 23E4, 33H4, 33F9, 9C2, 7A1, 10D3, 和15G15。后续实验使用抗体33H4, 27C6, 23E4, 7A1, 33F9, 和15G15作为饱和抗体来完成和确认分析(数据未显示)。

[0766] 图8A-C显示抗体对CD33的表位分仓,而且显示33F9, 7A1, 9C2, 10D3和15G15与MY9.6同仓,但是27C6, 23E4和33H4不然。还测定了27C6与所有其它抗体具有不同表位,而23E4和33H4分享交叠表位(数据未显示)。对cynoCD33的表位分仓显示7A1, 9C2, 10D3, 和15G15分仓在一起,但是这个仓不包括27C6和33F9(图8D)。这提示27C6和33F9结合cynoCD33上的不同表位。数据还揭示27C6和33F9没有分仓在一起(数据未显示)。虽然人分仓显示MY9.6与7A1, 9C2, 10D3, 15G15和33F9交叠,但是FACS数据显示MY9.6, 23E4和33H4不结合cynoCD33,因此MY9.6对CD33的表位大概与7A1, 9C2, 10D3, 15G15和33F9不同。

[0767] 还使用一种基于细胞的竞争结合FACS测定法来测定表位分组。将表达重组人CD33的HEK293AD细胞同时与Dy1light-650标记的示踪抗体( $0.3\text{--}1\mu\text{g}/\text{ml}$ )和50-100倍过量的未标记的竞争抗体一起温育。当示踪物被未标记的抗体置换时,竞争发生,指示该抗体结合CD33上相同或相似的区域-这应当在使用同一抗体作为示踪物和竞争物时发生。当示踪物没有被不同的未标记的抗体置换时,未标记的抗体结合CD33中不同的区域。

[0768] 图9显示使用15G15Dy1light-650示踪抗体与未标记的竞争抗体(相对于示踪物50倍过量)的一个代表例。如Octet数据观察到的,27C6不与15G15竞争。3种其它抗体(9C2, 33F9, 和10D3)显示竞争,但是没有达到对未标记的15G15看到的程度,提示它们的表位可能是相似的,但是不是相同的。

[0769] 如图10A-B中所示,9C3显示出结合huCD33和cynoCD33。然而,竞争抗体15G15未能置换9C3已标记的示踪抗体,提示它结合huCD33上不同的区域(图10C)。9C3的物理表征鉴定

出重链中CDR2和CDR3之间位于第69位(Kabat编号)的一个非典型的N连接的糖基化位点。使用定点诱变去除该位点,而图11通过FACS和Scatchard分析显示结合CD33的改善(表2)。

[0770] 为了测定抗CD33抗体是否结合CD33的Ig样V域或Ig样C域,使用标准分子克隆方法改造嵌合Ig样域膜蛋白,含有连接至无关Ig样C域(包括TM/CD)的CD33 Ig样V域(M17-V136,包括间隔物H137-H143)(构建物-88B)或连接至CD33Ig样C域(R144-Q228,包括TM/CD L229)的无关Ig样V域(构建物-88)。见图12A。附着N端或胞质标签以确认经这些构建物转染的293细胞在细胞膜上表达蛋白质(数据未显示)。简言之,使用Polyfect用构建物88和88B瞬时转染293细胞。48小时后,于4°C用1-10μg/ml Dylight-650标记的7A1,9C2,10D3或15G15染色细胞达30-40分钟,清洗,并在BD FACS caliber上分析。

[0771] 在图12D中,抗体7A1,9C2,10D3和15G5显示显著结合构建物88B中的CD33 Ig样V域-与同种型对照相比多至少100倍。然而,构建物88没有结合CD33 Ig样C域(图12C)-事实上,结合等同于模拟转染细胞(图12B)。在构建物88中检测到针对无关Ig样V域的抗体的阳性信号,确认该构建物在细胞表面上表达(数据未显示)。

[0772] CD33的Ig样V域含有两个N连接的糖基化位点(NXS/T)和CD33第69位处的SNP(R69G;r2455069),可能影响抗体对CD33的结合。为了测试两个N连接的糖基化位点的影响,使用标准定点诱变(QuikChange II,Agilent Technologies)用丙氨酸替代S102和S115位置处的丝氨酸残基以分别降低或消除全长huCD33膜构建物的Ig样V域中N100和N113位置处的N连接的糖基化。构建物含有单一突变(S115A)或双重突变(S102A/S115A),并通过使用Polyfect(Promega)的瞬时转染在293AD细胞中表达(图13A)。48小时后使用1μg/ml缀合至Dylight-650的抗体进行FACS。图13B显示一个代表例,克隆15G15的结果,其展现对表达部分或完全去糖基化Ig样V形式huCD33的瞬时转染细胞的显著结合-显示为与同种型对照相比高18-44倍的荧光。实验证明抗体的结合不依赖于Ig样V域中的N连接的糖基化。(使用稳定表达高水平的rhCD33的HEK 293AD作为阳性对照染色且不适合作为瞬时转染细胞的表达量化的参照。)

[0773] 如上所述,使用标准位点特异性诱变及在293AD细胞中表达R69G变体,通过huCD33中氨基酸位置编号69处甘氨酸和精氨酸的影响调查SNP(R69G)对抗体结合Ig样V域的影响(图14A)。

[0774] 图14B-C显示测试的抗体结合R69 CD33和G69 CD33,而且结合在两种形式的huCD33之间是相似的(数据未显示)。

#### [0775] D. 抗体亲和力

[0776] 遵循标准规程(Holmes et al., Science 256:1205-1210 (1992))实施Scatchard分析以测定抗体的相对结合亲和力,包括33H4,33F9,27C6,2E4,7A1,9C2,9C3,9C3.2,9C3.3,9C3.4,10D3,15G15,15G15.33,15G15.83,和15G15.88。

[0777] 使用间接Iodogen方法[ $I^{125}$ ]标记抗CD33抗体。使用NAP-5柱(GE Healthcare)通过凝胶过滤自游离 $I^{125}$ -Na纯化[ $I^{125}$ ]标记的抗CD33抗体;纯化后的碘化抗CD33抗体具有8-10μCi/μg的比活性范围。将50μL体积的含有固定浓度的[ $I^{125}$ ]标记的抗体和递减浓度的连续稀释的未标记的抗体的竞争测定法混合物分配入96孔板中。于37°C在5%CO<sub>2</sub>中在生长培养基中培养稳定表达重组huCD33或cynoCD33的HEK293AD细胞或表达内源CD33的Molm-13肿瘤细胞。使用Sigma细胞解离溶液自烧瓶脱离细胞,并用由含1%牛血清清蛋白(BSA),300mM人

IgG和0.1%叠氮化钠的Dulbecco氏改良Eagle培养基(DMEM)组成的结合缓冲液清洗。以0.2mL结合缓冲液中100,000个细胞的密度将清洗后的细胞添加至96孔板。每个孔中 [ $I^{125}$ ] 标记的抗体的终浓度为约250pM。竞争测定法中未标记的抗体的终浓度范围为1000nM(经由10个2倍稀释步骤)至0nM仅测定缓冲液。一式三份进行竞争测定法。竞争测定体系于室温温育2小时。2小时温育后,将竞争测定体系转移至Millipore Multiscreen滤板(Billerica, MA),并用结合缓冲液清洗4次以自结合的 [ $I^{125}$ ] 标记的抗体分出游离的 [ $I^{125}$ ] 标记的抗体。在Wallac Wizard 1470伽马计数器(PerkinElmer Life and Analytical Sciences Inc.; Wellesley, MA)上对滤器计数。使用NewLigand软件(Genentech)评估结合数据,该软件使用Munson和Robard的拟合算法来确定抗体的结合亲和力(Munson and Robard, 1980)。

[0778] 表2显示对由HEK293AD CD33稳定细胞表达的重组huCD33和cynoCD33和Molm-13细胞的亲和力(kD范围0.2–23nM)。

[0779] 表2:抗体对CD33的亲和力[kD=nM] (Scatchard分析)

[0780]

抗体身份	293-huCD33	293-cynoCD33	Molm-13
2E3	2.5	X	3.0
33H4	2.4	X	0.6
27C6	13.4	4.5	23
33F9	8.7	0.92	92
7A1	3.0	0.54	6.3
9C2	6.5	0.7	10.3
9C3	0.8	0.6	5.8
9C3.2	ND	ND	2.0
9C3.3	ND	ND	2.2
9C3.4	ND	ND	2.7
10D3	3.3	0.7	2.6
15G15	1.3	0.3	4.8
15G15.33	0.7	0.3	0.9
15G15.83	0.5	0.2	0.5

[0781]

15G15.88	0.7	0.2	0.8
----------	-----	-----	-----

[0782] E. 抗CD33抗体的内在化

[0783] ADC靶的一项期望属性是将抗体内在化入细胞中的降解隔室中的能力。为了测定抗CD33抗体是否在结合后得以内在化,将HL-60或Molm-13细胞与0.3mg/ml hIgG一起在

RPMI培养基中于37°C预温育2小时以降低对FcR的非特异性结合,之后在细胞培养物处理的4孔腔式载玻片(Nalge Nunc International)中接种。将终浓度1 $\mu$ g/mL的直接缀合至Dylight 488的抗体与hIgG封闭后的细胞一起在冰上在黑暗中温育30分钟。于37°C用Leica SP5共焦显微镜立即将细胞成像以显示膜染色(T0),接着是10个小时时段上的延时摄影。如图15A中所示,代表例15G15在30分钟内被HL-60细胞快速内在化。使用测量抗体药物缀合物杀伤靶细胞的能力的一种体外基于细胞的测定法确认了15G15定位至溶酶体。简言之,将Molm-13或EOL-1细胞与含有0.3mg/ml低内毒素hIgG的RPMI一起于37°C预温育2小时以降低对FcR的非特异性结合,并以8,000-16,000个细胞/孔的密度在96孔板中分配。以0-1000ng/ml的终浓度范围(3倍步骤)将测试物品同种型L-D#1或15G15.33 L-D#1添加至细胞,并于37°C在5%CO<sub>2</sub>中温育约60小时。使用CellTiter-Glo(Promega, Inc)和Envision 2012多标记物读数仪(Perkin Elmer)测定细胞存活力。图15B显示15G15.33 L-D#1 ADC对靶细胞的特异性杀伤和完全消除,与同种型ADC比较(EC<sub>50</sub>分别为6和63ng/ml),如此确认了ADC在溶酶体中交通和加工。这两种ADC具有相似的药物载荷。

[0784] F. 抗CD33抗体药物缀合物的生产

[0785] 对于大规模抗体生产,在CHO细胞中生成抗体。将编码VL和VH的载体转染入CHO细胞中,并通过蛋白A亲和层析自细胞培养液纯化IgG。

[0786] 通过将具有重链A118C突变的15G15(15G15thio-HC A118C)和具有重链A118C突变(15G15.33 thio-HC A118C)或轻链V205C突变(15G15.33 thio-LC V205C)的15G15.33缀合至药物-接头模块单甲基-吡啶基二硫化物,N10连接的吡咯并苯并二氮卓(见图16;L-D#1)或具有乙缩醛接头-PNU的马来酰亚胺(见图17;L-D#2)来生成抗CD33抗体-药物缀合物(ADC)。在初始分离时,抗体15G15和15G15.33中的工程化改造的半胱氨酸残基作为与细胞硫醇(例如谷胱甘肽)的混合二硫化物存在,因此不可用于缀合。如先前描述的,例如Junutula et al. (2008) Nat. Biotechnol. 26:925-932和US 2011/0301334,这些抗体的部分还原(例如用DTT),纯化,及用脱氢抗坏血酸(DHAA)再氧化给予抗体以可用于缀合的游离半胱氨酸巯基团。简言之,组合抗体与药物-接头模块以容许药物-接头模块缀合至抗体的游离半胱氨酸残基。数个小时后,纯化ADC。测定每种ADC的药物载荷(每个抗体的药物模块的平均数),PBD缀合物为1.4-1.6,PNU缀合物为1.3。

[0787] G. 抗CD33抗体药物缀合物在HL-60和EOL-1人急性髓样白血病细胞系异种移植物模型中的功效

[0788] 使用人急性髓样白血病异种移植物模型HL-60(AML亚型M2)和EOL-1(AML亚型M4a)调查抗CD33 ADC的功效。由于它们的遗传学和分子异常,二者均与中等至差的预后有关。在体侧区域中给每只雌性C.B-17 SCID小鼠(Charles River Laboratories; Hollister, CA)皮下接种5x10<sup>6</sup>个HL-60或EOL-1细胞。当异种移植物肿瘤达到平均肿瘤体积100-300mm<sup>3</sup>时(称作第0天),将动物随机化分组,每组7-10只小鼠,并接受单次静脉内注射ADC。施用ADC之前大约4小时,对动物腹膜内给药过量(30mg/kg)的抗gD对照抗体以封闭肿瘤细胞上可能的非特异性抗体结合位点。贯穿研究一周1-2次测量小鼠的肿瘤和体重。当体重损失大于它们起始重量的20%时,迅速对小鼠处以安乐死。在肿瘤达到3000mm<sup>3</sup>或显示即将溃疡的迹象之前,对所有动物处以安乐死。通过注射后1,7和14天时的PK采血确认抗体的存在。

[0789] 如图16A-B中所示,与阴性对照抗体-药物缀合物相比,以1mg/kg或20 $\mu$ g/m<sup>2</sup>剂量的

15G15.33-L-D#1在HL-60和EOL-1模型二者中实现了实质性肿瘤生长抑制,而更低的剂量导致迟滞的肿瘤生长。如图17中所示,发现单剂11.9mg/kg 15G15L-D#2在HL-60模型中迟滞肿瘤生长。

[0790] 尽管为了清楚理解的目的已经通过举例说明的方式较为详细地描述了上述发明,说明书和实施例不应解释为限制发明范围。通过述及明确收录本文中引用的所有专利和科学文献的完整公开内容。

[0791] 序列的表

[0792]

名称	序列	SEQ ID NO
人 CD33 (UniProt No. 20138)	MPLLLLLPLL WAGALAMDPN FWLQVQESVT VQEGLCVLVP CTFFHPIPYY DKNSPVHGYW FREGAIIISRD SPVATNKLDQ EVQEETQGRF RLLGDPSPRN CSLSIVDARR RDNGSYFFRM ERGSTKYSYK SPQLSVHVTDLTHRPKILIP GTLEPGHSKN LTCVS梧ACE QGTPPIFSWL SAAPTS LGPR TTHSSVLIIT PRPQDHGTNL TCQVKFAGAG VTTERTIQLN VTYVPQNPTT GIFT PGDGSGK QETRAGVVHG AIGGAGVTAL LALCLCLIFF IVKTHRRKAA RTAVGRNDTH PTTGSASP KH QKKS KLHGPT ETSSCSGAAP TVEMDEELHY ASLF NFHGMNP SKDTSTEYSE VRTQ	1
Ig 样 V 型域 (全长 CD33 的 氨基酸 19-135)	PNFWLQVQES VTVQEGLCVL VPCTFFHPIP YYDKNSPVHG YWFREGAIIS RDSPVATNKL DQEVAEETQG RFRLLGDPSPR NNCSLSIVDA RRRDNGSYFF RMERGSTKYS YKSPQLS	2
Ig 样 C 型域 (全长 CD33 的 氨基酸 145-228)	PKILIPGTLE PGHSKNLTCVS VSWACEQGTP PIFSWLSAAP TSLGPRTTHS SVLIITPRPQ DHGTNLTCQV KFAGAGVTTE RTIQ	3
食蟹猴 CD33	MPLLLLPLLWAGALAMDPVRLEVQESVT VQEGLCVLVPCTFFHPVPHTRNSPVH GYWFREGAIVSLDSPVATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSPRNCSLSIVDARRDN GSYFFRMEKGSTKYSYKSTQLSVHVTDLTHRPQILIPGALDPDHSKNLTCSPWAC EQGTPPIFSWMSAAPTSLGLRTTHSSVLIITPRPQDHGTNLTCQVKFPGAGVTTER TIQLNVSYASQNPRTDIFLGDGSGKQGVVQGAIGGAGVTVLLALCLCLIFFTVKTH RRKAARTAVGRIDTHPATGPTSSKHQKKS KLHGATE TSGCSGTTLTVE MDEELHYA SLNFHGMNPSEDTSTEYSEVRTQ	4
7A1, 9C2, 10D3, 15G15, 15G15.33, 15G15.37, 15G15.83, 15G15.88, 15G15.7, 15G15.17, 15G15.30, 15G15.31, 15G15.39, 15G15.84-HVR L1	RSSQSLLHSNGNYLD	5
7A1, 9C2, 10D3, 15G15, 15G15.7, 15G15.17, 15G15.30, 15G15.31, 15G15.39, 15G15.84-HVR L2	LGSNRAS	6
7A1, 9C2, 10D3, 15G15, 15G15.33, 15G15.37, 15G15.83, 15G15.88, 15G15.7, 15G15.17, 15G15.30, 15G15.31, 15G15.39, 15G15.84-HVR L3	MQALQTPWT	7

[0793]

7A1-HVR H1	SYAVS	8
7A1-HVR H2	GIIPIFGTADYAQKFQG	9
7A1-HVR H3	ELADVF DI	10
9C2-HVR H1	SYSIS	11
9C2-HVR H2	EIIPIFGTADYAQKFQG	12
9C2-HVR H3	TWADAFDI	13
9C3-HVR L1	RASQGIRNDLG	14
9C3-HVR L2	AASSLQS	15
9C3-HVR L3	LQHNSYPWT	16
9C3-HVR H1	GNYMS	17
9C3-HVR H2	LIYSGDSTYYADSVKG	18
9C3-HVR H3	DGYYVSDMVV	19
10D3-HVR H1	SHAIS	20
10D3-HVR H2	GIIPIFGSANYAQKFQG	21
10D3-HVR H3	ELLDVFDI	22
15G15, 15G15.33, 15G15.37, 15G15.83, 15G15.88, 15G15.17, 15G15.30, 15G15.31, 15G15.39, 15G15.84-HVR H1	NHAIS	23
15G15, 15G15.33, 15G15.37, 15G15.83, 15G15.88, 15G15.7, 15G15.17 -HVR H2	GIIPIFGTANYAQKFQG	24
15G15, 15G15.33, 15G15.37, 15G15.83, 15G15.88, 15G15.7, 15G15.17, 15G15.30, 15G15.31, 15G15.39, 15G15.84-HVR H3	EWADVFDI	25
15G15.33-HVR L2	LGVNSVS	26
15G15.37-HVR L2	LGSHRDS	27
15G15.83-HVR L2	LGAYTVS	28
15G15.88-HVR L2	LGNYRVS	29
15G15.7-HVR H1	GHKVS	30
15G15.17-HVR H2	GIIPILGLDYAQKFQG	31

[0794]

15G15.30-HVR H2	GIIPVLGYAYYAQKFQG	32
15G15.31-HVR H2	GIIPILGYAYYAQKFQG	33
15G15.39-HVR H2	GIIPILGISYYAQKFQG	34
15G15.84-HVR H2	SIIPVIGYDYYAQKFQG	35
23E4-HVR L1	RSSQTIVHSNGNTYLE	36
23E4-HVR L2	KVSNRFS	37
23E4-HVR L3	FQGSHVPPT	38
23E4-HVR H1	NYWMN	39
23E4-HVR H2	MIDPSDNETHYSQMFKD	40
23E4-HVR H3	YYGNFGFWFVY	41
27C6-HVR L1	KASQDVGDAVA	42
27C6-HVR L2	WTSTRHT	43
27C6-HVR L3	QQYRSTPLT	44
27C6, 33F3- HVR H1	SYNMY	45
27C6-HVR H2	YIDPYNGGTRHNQKFKD	46
27C6-HVR H3	QNYEYFDY	47
33F3-HVR L1	KASQDVNTAVA	48
33F3-HVR L2	WASTRHT	49
33F3-HVR L3	QQHSGTPLT	50
33F3-HVR H2	YIDPYNGGTSYNQKFKG	51
33F3-HVR H3	AAYFYFDY	52
33F9-HVR L1	LASQTIGTWLA	53
33F9-HVR L2	AATTLAD	54
33F9-HVR L3	QQLYSTPLT	55
33F9-HVR H1	SYVMH	56
33F9-HVR H2	YINPYNDGTKYNDKFKG	57
33F9-HVR H3	GSNYEDFAMY	58
33H4-HVR L1	RASESVDSYGNSYLH	59
33H4-HVR L2	LASNLES	60
33H4-HVR L3	QQNNEDPWT	61
33H4-HVR H1	TFPIE	62
33H4-HVR H2	NFHPYNDQTKYNEEFKG	63
33H4-HVR H3	GYYYAFDF	64
7A1 V <sub>L</sub>	EIVLTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLI HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGSNRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDEVGV YYCMQALQTP WTFGQGTTKVE IK	65
7A1 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGTFT SYAVSWVRQA PGQGLEWMGG IIPIFGTADY AQKFQGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAREL ADVFDIWGQG TMVTVSS	66
9C2 V <sub>L</sub>	DVVMTQSPLS LPVAPGEPAS ISCRSSQSLI HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGSNRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDEVGV YYCMQALQTP WTFGQGTTKLE IK	67
9C2 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGDTFS SYSISWVRQA PGQGLEWMGE IIPIFGTADY AQKFQGRVTI TADISTTTAY MELSSLRSED TAVYYCARTW ADAFDIWGQG TMVTVSS	68
9C3 V <sub>L</sub>	DIQMTQSPSS LSASVGDRV ITCRASQGIR ND LGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPWTFGQ GTTKLEIK	69
9C3 V <sub>H</sub>	EVQLVESGGA LIQPGGSLRL SCVASGFTIS GNYMSWVRQA PGKGLEWVSL IYSGDSTYYA DSVKGRFNIS RDISKNTVYL QMNSLRVEDT AVYYCVRDGY YVSDMVVWGK GTTVTVSS	70

[0795]

9C3.2 V <sub>L</sub>	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR ND LGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVP S RFSGSGSGTE FT LTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPWTFGQ GTKLEIK	71
9C3.2 V <sub>H</sub>	EVQLVESGG A LIQPGGSLRL SCVASGFTIS GNYMSWVRQA PGKGLEWVSL IYSGDSTYYA DSVKGRFTIS RDISKNTVYL QMNSLRVEDT AVYYCVRDGY YVSDMVVWGK GTTVVSS	72
9C3.3 V <sub>L</sub>	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR ND LGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVP S RFSGSGSGTE FT LTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPWTFGQ GTKLEIK	73
9C3.3 V <sub>H</sub>	EVQLVESGG A LIQPGGSLRL SCVASGFTIS GNYMSWVRQA PGKGLEWVSL IYSGDSTYYA DSVKGRFSIS RDISKNTVYL QMNSLRVEDT AVYYCVRDGY YVSDMVVWGK GTTVVSS	74
9C3.4 V <sub>L</sub>	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR ND LGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVP S RFSGSGSGTE FT LTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPWTFGQ GTKLEIK	75
9C3.4 V <sub>H</sub>	EVQLVESGG A LIQPGGSLRL SCVASGFTIS GNYMSWVRQA PGKGLEWVSL IYSGDSTYYA DSVKGRFAIS RDISKNTVYL QMNSLRVEDT AVYYCVRDGY YVSDMVVWGK GTTVVSS	76
10D3 V <sub>L</sub>	DVVMTQSPLS LPVTPGE PAS ISCRSSQSLL HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGSNRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAE DVGV YYCMQALQTP WTFGQGKTKE IK	77
10D3 V <sub>H</sub>	EVQLVESGAE VKKPGSSVKV SCKASGGTLI SHAISWVRQV PGQGLEWMGG IIPIFGSANY AQKFQGRVTI TADDSTNTAY LE LSSLRSED TAVYYCAREL LDVFDIWGQG TMVTVSS	78
15G15 V <sub>L</sub>	EIVLTQSPLS LPVTPGE PAS ISCRSSQSLL HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGSNRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAE DVGV YYCMQALQTP WTFGQGKTKE IK	79
15G15 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGIFS NHAISWVRQA PGQGLEWMGG IIPIFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAF MELSSLRSED TAVYYCAREW ADVFDIWGQG TMVTVSS	80
15G15.33 V <sub>L</sub>	EIVLTQSPLS LPVTPGE PAS ISCRSSQSLL HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGVNSV SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAE DVGV YYCMQALQTP WTFGQGKTKE IK	81
15G15.33 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGIFS NHAISWVRQA PGQGLEWMGG IIPIFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAF MELSSLRSED TAVYYCAREW ADVFDIWGQG TMVTVSS	82
15G15.37 V <sub>L</sub>	EIVLTQSPLS LPVTPGE PAS ISCRSSQSLL HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGSHRD SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAE DVGV YYCMQALQTP WTFGQGKTKE IK	83
15G15.37 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGIFS NHAISWVRQA PGQGLEWMGG IIPIFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAF MELSSLRSED TAVYYCAREW ADVFDIWGQG TMVTVSS	84
15G15.83 V <sub>L</sub>	EIVLTQSPLS LPVTPGE PAS ISCRSSQSLL HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGAYTV SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAE DVGV YYCMQALQTP WTFGQGKTKE IK	85
15G15.83 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGIFS NHAISWVRQA PGQGLEWMGG IIPIFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAF MELSSLRSED TAVYYCAREW ADVFDIWGQG TMVTVSS	86
15G15.88 V <sub>L</sub>	EIVLTQSPLS LPVTPGE PAS ISCRSSQSLL HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGNYRV SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAE DVGV YYCMQALQTP WTFGQGKTKE IK	87
15G15.88 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGIFS NHAISWVRQA PGQGLEWMGG IIPIFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAF MELSSLRSED TAVYYCAREW ADVFDIWGQG TMVTVSS	88
15G15.7 V <sub>L</sub>	EIVLTQSPLS LPVTPGE PAS ISCRSSQSLL HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGSNRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAE DVGV YYCMQALQTP WTFGQGKTKE IK	89
15G15.7 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGIFS GHKVSWVRQA PGQGLEWMGG IIPIFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAF MELSSLRSED TAVYYCAREW ADVFDIWGQG TMVTVSS	90

[0796]

15G15.17 V <sub>L</sub>	EIVLTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSL HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGSNRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEVGV YYCMQALQTP WTFGQQGTKE IK	91
15G15.17 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGIFS NHAISWVRQA PGQGLEWMGG IIPILGLDYY AQKFQGRVTI TADESTSTAF MELSSLRSED TAVYYCAREW ADVFDIWGQG TMVTVSS	92
15G15.30 V <sub>L</sub>	EIVLTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSL HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGSNRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEVGV YYCMQALQTP WTFGQQGTKE IK	93
15G15.30 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGIFS NHAISWVRQA PGQGLEWMGG IIPVLGYAYY AQKFQGRVTI TADESTSTAF MELSSLRSED TAVYYCAREW ADVFDIWGQG TMVTVSS	94
15G15.31 V <sub>L</sub>	EIVLTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSL HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGSNRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEVGV YYCMQALQTP WTFGQQGTKE IK	95
15G15.31 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGIFS NHAISWVRQA PGQGLEWMGG IIPILGYAYY AQKFQGRVTI TADESTSTAF MELSSLRSED TAVYYCAREW ADVFDIWGQG TMVTVSS	96
15G15.39 V <sub>L</sub>	EIVLTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSL HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGSNRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEVGV YYCMQALQTP WTFGQQGTKE IK	97
15G15.39 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGIFS NHAISWVRQA PGQGLEWMGG IIPILGISYY AQKFQGRVTI TADESTSTAF MELSSLRSED TAVYYCAREW ADVFDIWGQG TMVTVSS	98
15G15.84 V <sub>L</sub>	EIVLTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSL HSNGNYLDW YLQKPGQSPQ LLIYLGSNRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEVGV YYCMQALQTP WTFGQQGTKE IK	99
15G15.84 V <sub>H</sub>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGIFS NHAISWVRQA PGQGLEWMGS IIPVIGYDYY AQKFQGRVTI TADESTSTAF MELSSLRSED TAVYYCAREW ADVFDIWGQG TMVTVSS	100
23E4 V <sub>L</sub>	DIFMTQTPLS LPVSLGDPAS ISCRSSQTIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDELGV YYCFQGSHVP PTFGGGTKVE IK	101
23E4 V <sub>H</sub>	EVQLQQSGAE LVRPGASVKL SCKASGYTFT NYWMNWVKQR PGQGLEWIGM IDPSDNETHY SQMFKDATAL TVDKSSSTAY MQLISLTSED SAVYYCAGYY GNFGFWFYWG QGTLTVSA	102
27C6 V <sub>L</sub>	DIVLTQSPKF MSTSVGDRV ITCKASQDV DAVAWYQQKP GQSPKLLFYW TSTRHTGVPD RFTGSGSGTE FTLLTIRNVQS EDLADYFCQQ YRSTPLTFGS GTKVEIK	103
27C6 V <sub>H</sub>	EVQLQQSGPE LVKPGASVKG SCKASGYAFT SYNMYWVKQS HGKSLEWIGY IDPYNGGTRH NQKFKDKATL TVDKSSSTAY MHLNSLTSED SAVYYCASQN YEYFDYWGQG TTLTVSS	104
33F3 V <sub>L</sub>	EIQMTQSPKF MSTSVGDRV ITCKASQDV TAVAWYQQKP GQSPKLLIYW ASTRHTGVPD RFTGSGSGTD YTLLTISSVQA EDLALYYCQQ HSGTPLTFGA GTKVEIK	105
33F3 V <sub>H</sub>	EVQLQQSGPE LVKPGASVKG SCKASGYAFT SYNMYWVKQS HGKSLEWIGY IDPYNGGTSY NQKFKDKATL TVDKSSSTAY MHLNSLTSED SAVYFCAPAA YFYFDYWGQG TTLTVSS	106
33F9 V <sub>L</sub>	DIVMTQSPAS QSASLGESVT ITCLASQTIG TWLAWYQQKP GKSPQOLLIYA ATTLADGVPS RFSGSGSGTK FSFKISSLQA EDFVSYYCQQ LYSTPLTFGG GTKVEIK	107
33F9 V <sub>H</sub>	EVQLQQSGPE LVKPGASVKG SCKASGYTFT SYVMHWMKQK PGQGLEWIGY INPYNDGTY NDKFKDKATL TSDKSSSTAY MELSSLTSED SAVYYCARGS NYEDFAMDYR GQGTSVTVSS	108
33H4 V <sub>L</sub>	DIQMTQSPAS LTVSLGQRAT ISCRASESVD SYGNSYLYHWY QQKPGQPPQL LIYLASNLES GVPARFSGSG SRTDFTLTID PVEADDAATY YCQQNNEDPW TFGGGTKEIK	109

[0797]

33H4 V <sub>H</sub>	EVQLQQSGAE LVKPGASVKM SCKAFGYTFT TFPIEWMKQS HGKSLEWIGN FHPYNDQTKY NEEFKGRAKL TIDRSSSTVY LELGRLTSDD SAVYYCARGY YYAFDFWGQG TTLTVSS	110
CON1-HVR L2	LGX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> S, 其中 X <sub>1</sub> 是 S, V, A 或 N, X <sub>2</sub> 是 N, H, 或 Y, X <sub>3</sub> 是 R, S, 或 T, 且 X <sub>4</sub> 是 A, V, 或 D	111
CON1-HVR H1	X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> S, 其中 X <sub>5</sub> 是 S, N, 或 G, X <sub>6</sub> 是 Y 或 H, X <sub>7</sub> 是 A, S, 或 K, 且 X <sub>8</sub> 是 V 或 I	112
CON1-HVR H2	X <sub>9</sub> IIPX <sub>10</sub> X <sub>11</sub> GX <sub>12</sub> X <sub>13</sub> X <sub>14</sub> YAQKFQG, 其中 X <sub>9</sub> 是 G, E, 或 S, X <sub>10</sub> 是 I 或 V, X <sub>11</sub> 是 F, L, 或 I, X <sub>12</sub> 是 T, S, L, Y, 或 I, X <sub>13</sub> 是 A, D, 或 S, 且 X <sub>14</sub> 是 D, N, 或 Y	113
CON1-HVR H3	X <sub>15</sub> X <sub>16</sub> X <sub>17</sub> DX <sub>18</sub> FDI, 其中 X <sub>15</sub> 是 E 或 T, X <sub>16</sub> 是 L 或 W, X <sub>17</sub> 是 A 或 L, X <sub>18</sub> 是 V 或 A	114
CON2-HVR H1	X <sub>19</sub> X <sub>20</sub> X <sub>21</sub> X <sub>22</sub> S, 其中 X <sub>19</sub> 是 S 或 N, X <sub>20</sub> 是 Y 或 H, X <sub>21</sub> 是 A 或 S, 且 X <sub>22</sub> 是 V 或 I	115
CON2-HVR H2	X <sub>23</sub> IIPIFGX <sub>24</sub> AX <sub>25</sub> YAQKFQG, 其中 X <sub>23</sub> 是 G 或 E, X <sub>24</sub> 是 T 或 S, X <sub>25</sub> 是 D 或 N	116
CON2-HVR H3	X <sub>26</sub> X <sub>27</sub> X <sub>28</sub> DX <sub>29</sub> FDI, 其中 X <sub>26</sub> 是 E 或 T, X <sub>27</sub> 是 L 或 W, X <sub>28</sub> 是 A 或 L, X <sub>29</sub> 是 V 或 A	117
CON3-HVR H1	X <sub>30</sub> HX <sub>31</sub> X <sub>32</sub> S, 其中 X <sub>30</sub> 是 N 或 G, X <sub>31</sub> 是 A 或 K, 且 X <sub>32</sub> 是 V 或 I	118
CON3-HVR H2	X <sub>31</sub> IIPX <sub>32</sub> X <sub>33</sub> GX <sub>34</sub> X <sub>35</sub> X <sub>36</sub> YAQKFQG, 其中 X <sub>31</sub> 是 G 或 S, X <sub>32</sub> 是 I 或 V, X <sub>33</sub> 是 F, L, 或 I, X <sub>34</sub> 是 T, L, Y, 或 I, X <sub>35</sub> 是 A, D, 或 S, 且 X <sub>36</sub> 是 N 或 Y	119
V205C 半胱氨酸改造轻链恒定区(Igκ)	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYSLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPCTKS FNRGEC	120
A118C 半胱氨酸改造重链恒定区(IgG1)	CSTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTI KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK	121

## 序列表

<110> 基因泰克公司 (GENENTECH, INC.)

<120> 抗 CD33 抗体和免疫缀合物

<130> GENE-33488/WO-1/ORD

<150> US 61/916, 087

<151> 2013-12-13

<160> 121

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 364

<212> PRT

<213> 人 (Homo sapiens)

<400> 1

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

Met Asp Pro Asn Phe Trp Leu Gln Val Gln Glu Ser Val Thr Val Gln  
20 25 30

Glu Gly Leu Cys Val Leu Val Pro Cys Thr Phe Phe His Pro Ile Pro  
35 40 45

Tyr Tyr Asp Lys Asn Ser Pro Val His Gln Tyr Trp Phe Arg Glu Gly  
50 55 60

[0001]

Ala Ile Ile Ser Arg Asp Ser Pro Val Ala Thr Asn Lys Leu Asp Gln  
65 70 75 80

Glu Val Gln Glu Glu Thr Gln Gly Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asp Pro  
85 90 95

Ser Arg Asn Asn Cys Ser Leu Ser Ile Val Asp Ala Arg Arg Arg Asp  
100 105 110

Asn Gly Ser Tyr Phe Arg Met Glu Arg Gly Ser Thr Lys Tyr Ser  
115 120 125

Tyr Lys Ser Pro Gln Leu Ser Val His Val Thr Asp Leu Thr His Arg  
130 135 140

Pro Lys Ile Leu Ile Pro Gln Thr Leu Glu Pro Gln His Ser Lys Asn  
145 150 155 160

Leu Thr Cys Ser Val Ser Trp Ala Cys Glu Gln Gly Thr Pro Pro Ile  
165 170 175

Phe Ser Trp Leu Ser Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Pro Arg Thr Thr  
180 185 190

His Ser Ser Val Leu Ile Ile Thr Pro Arg Pro Gln Asp His Gly Thr  
195 200 205

Asn Leu Thr Cys Gln Val Lys Phe Ala Gly Ala Gly Val Thr Thr Glu  
210 215 220

Arg Thr Ile Gln Leu Asn Val Thr Tyr Val Pro Gln Asn Pro Thr Thr  
225 230 235 240

Gly Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Gly Lys Gln Glu Thr Arg Ala Gly  
245 250 255

Val Val His Gly Ala Ile Gly Gly Ala Gly Val Thr Ala Leu Leu Ala  
260 265 270

Leu Cys Leu Cys Leu Ile Phe Phe Ile Val Lys Thr His Arg Arg Lys  
275 280 285

Ala Ala Arg Thr Ala Val Gly Arg Asn Asp Thr His Pro Thr Thr Gly  
290 295 300

Ser Ala Ser Pro Lys His Gln Lys Lys Ser Lys Leu His Gly Pro Thr  
305 310 315 320

Glu Thr Ser Ser Cys Ser Gly Ala Ala Pro Thr Val Glu Met Asp Glu  
325 330 335

Glu Leu His Tyr Ala Ser Leu Asn Phe His Gly Met Asn Pro Ser Lys  
340 345 350

[0002] Asp Thr Ser Thr Glu Tyr Ser Glu Val Arg Thr Gln  
355 360

<210> 2

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 2

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

Leu Cys Val Leu Val Pro Cys Thr Phe Phe His Pro Ile Pro Tyr Tyr  
20 25 30

Asp Lys Asn Ser Pro Val His Gly Tyr Trp Phe Arg Glu Gly Ala Ile  
35 40 45

Ile Ser Arg Asp Ser Pro Val Ala Thr Asn Lys Leu Asp Gln Glu Val  
50 55 60

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

Asn Asn Cys Ser Leu Ser Ile Val Asp Ala Arg Arg Asp Asn Gly  
85 90 95

Ser Tyr Phe Phe Arg Met Glu Arg Gly Ser Thr Lys Tyr Ser Tyr Lys  
 100 105 110

Ser Pro Gln Leu Ser  
 115

<210> 3  
 <211> 84  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 3

Pro Lys Ile Leu Ile Pro Gly Thr Leu Glu Pro Gly His Ser Lys Asn  
 1 5 10 15

Leu Thr Cys Ser Val Ser Trp Ala Cys Glu Gln Gly Thr Pro Pro Ile  
 20 25 30

Phe Ser Trp Leu Ser Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Pro Arg Thr Thr  
 35 40 45

His Ser Ser Val Leu Ile Ile Thr Pro Arg Pro Gln Asp His Gly Thr  
 50 55 60

[0003] Asn Leu Thr Cys Gln Val Lys Phe Ala Gly Ala Gly Val Thr Thr Glu  
 65 70 75 80

Arg Thr Ile Gln

<210> 4  
 <211> 359  
 <212> PRT  
 <213> 食蟹猴 (*Macaca fascicularis*)

<400> 4

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

Asp Pro Arg Val Arg Leu Glu Val Gln Glu Ser Val Thr Val Gln Glu  
 20 25 30

Gly Leu Cys Val Leu Val Pro Cys Thr Phe Phe His Pro Val Pro Tyr  
 35 40 45

His Thr Arg Asn Ser Pro Val His Gly Tyr Trp Phe Arg Glu Gly Ala  
 50 55 60

Ile Val Ser Leu Asp Ser Pro Val Ala Thr Asn Lys Leu Asp Gln Glu  
 65 70 75 80

Val Gln Glu Glu Thr Gln Gly Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asp Pro Ser  
 85 90 95

Arg Asn Asn Cys Ser Leu Ser Ile Val Asp Ala Arg Arg Arg Asn  
100 105 110

Gly Ser Tyr Phe Phe Arg Met Glu Lys Gly Ser Thr Lys Tyr Ser Tyr  
115 120 125

Lys Ser Thr Gln Leu Ser Val His Val Thr Asp Leu Thr His Arg Pro  
130 135 140

Gln Ile Leu Ile Pro Gly Ala Leu Asp Pro Asp His Ser Lys Asn Leu  
145 150 155 160

Thr Cys Ser Val Pro Trp Ala Cys Glu Gln Gly Thr Pro Pro Ile Phe  
165 170 175

Ser Trp Met Ser Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Leu Arg Thr Thr His  
180 185 190

Ser Ser Val Leu Ile Ile Thr Pro Arg Pro Gln Asp His Gly Thr Asn  
195 200 205

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

Thr Ile Gln Leu Asn Val Ser Tyr Ala Ser Gln Asn Pro Arg Thr Asp  
225 230 235 240

[0004]

Ile Phe Leu Gly Asp Gly Ser Gly Lys Gln Gly Val Val Gln Gly Ala  
245 250 255

Ile Gly Gly Ala Gly Val Thr Val Leu Leu Ala Leu Cys Leu Cys Leu  
260 265 270

Ile Phe Phe Thr Val Lys Thr His Arg Arg Lys Ala Ala Arg Thr Ala  
275 280 285

Val Gly Arg Ile Asp Thr His Pro Ala Thr Gly Pro Thr Ser Ser Lys  
290 295 300

His Gln Lys Lys Ser Lys Leu His Gly Ala Thr Glu Thr Ser Gly Cys  
305 310 315 320

Ser Gly Thr Thr Leu Thr Val Glu Met Asp Glu Glu Leu His Tyr Ala  
325 330 335

Ser Leu Asn Phe His Gly Met Asn Pro Ser Glu Asp Thr Ser Thr Glu  
340 345 350

Tyr Ser Glu Val Arg Thr Gln  
355

<210> 5  
<211> 16  
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 5

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp  
1 5 10 15

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 6

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser  
1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 7

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Trp Thr  
[0005] 1 5

<210> 8

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 8

Ser Tyr Ala Val Ser  
1 5

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 9

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1 5 10 15

Gly

<210> 10

<211> 8

<212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 10

Glu Leu Ala Asp Val Phe Asp Ile  
 1 5

<210> 11  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 11

Ser Tyr Ser Ile Ser  
 1 5

<210> 12  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 12

[0006] Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
 1 5 10 15

Gly

<210> 13  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 13

Thr Trp Ala Asp Ala Phe Asp Ile  
 1 5

<210> 14  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 14

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

<210> 15

<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 15

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser  
1 5

<210> 16  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 16

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp Thr  
1 5

<210> 17  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 17

[0007]

Gly Asn Tyr Met Ser  
1 5

<210> 18  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 18

Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
1 5 10 15

<210> 19  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 19

Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val  
1 5 10

<210> 20  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 20

Ser His Ala Ile Ser  
1 5

<210> 21  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 21

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

Gly

<210> 22  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

[0008] <400> 22

Glu Leu Leu Asp Val Phe Asp Ile  
1 5

<210> 23  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 23

Asn His Ala Ile Ser  
1 5

<210> 24  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Artificial sequence

<400> 24

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

Gly

<210> 25  
<211> 8

<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 25

Glu Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile  
1 5

<210> 26  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 26

Leu Gly Val Asn Ser Val Ser  
1 5

<210> 27  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 27

[0009] Leu Gly Ser His Arg Asp Ser  
1 5

<210> 28  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 28

Leu Gly Ala Tyr Thr Val Ser  
1 5

<210> 29  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 29

Leu Gly Asn Tyr Arg Val Ser  
1 5

<210> 30  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 30

Gly His Lys Val Ser  
1 5

<210> 31  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 31

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

Gly

<210> 32  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

[0010] <400> 32

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

Gly

<210> 33  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 33

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

Gly

<210> 34  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 34

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

Gly

<210> 35  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 35

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

Gly

<210> 36  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 36

[0011] Arg Ser Ser Gln Thr Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu  
 1 5 10 15

<210> 37  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 37

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser  
 1 5

<210> 38  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 38

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr  
 1 5

<210> 39  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 39

Asn Tyr Trp Met Asn  
1 5

<210> 40  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的  
<400> 40

Met Ile Asp Pro Ser Asp Asn Glu Thr His Tyr Ser Gln Met Phe Lys  
1 5 10 15

Asp

<210> 41  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的  
<400> 41

[0012]

Tyr Tyr Gly Asn Phe Gly Trp Phe Val Tyr  
1 5 10

<210> 42  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的  
<400> 42

Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Asp Ala Val Ala  
1 5 10

<210> 43  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的  
<400> 43

Trp Thr Ser Thr Arg His Thr  
1 5

<210> 44  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 44

Gln Gln Tyr Arg Ser Thr Pro Leu Thr  
1 5

<210> 45  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 45

Ser Tyr Asn Met Tyr  
1 5

<210> 46  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 46

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Arg His Asn Gln Lys Phe Lys  
1 5 10 15

[0013]

Asp

<210> 47  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 47

Gln Asn Tyr Glu Tyr Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 48  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 48

Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala  
1 5 10

<210> 49  
<211> 7  
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 49

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr  
1 5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 50

Gln Gln His Ser Gly Thr Pro Leu Thr  
1 5

<210> 51

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 51

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys  
[0014] 1 5 10 15

Gly

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 52

Ala Ala Tyr Phe Tyr Phe Asp Tyr  
1 5

<210> 53

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 53

Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Ala  
1 5 10

<210> 54

<211> 7

<212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 54

Ala Ala Thr Thr Leu Ala Asp  
 1 5

<210> 55  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 55

Gln Gln Leu Tyr Ser Thr Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 56  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 56

[0015] Ser Tyr Val Met His  
 1 5

<210> 57  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 57

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Asp Lys Phe Lys  
 1 5 10 15

Gly

<210> 58  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 58

Gly Ser Asn Tyr Glu Asp Phe Ala Met Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 59

<211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 59

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Tyr Leu His  
 1 5 10 15

<210> 60  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 60

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser  
 1 5

<210> 61  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

[0016]

<400> 61

Gln Gln Asn Asn Glu Asp Pro Trp Thr  
 1 5

<210> 62  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 62

Thr Phe Pro Ile Glu  
 1 5

<210> 63  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 63

Asn Phe His Pro Tyr Asn Asp Gln Thr Lys Tyr Asn Glu Glu Phe Lys  
 1 5 10 15

Gly

<210> 64  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 64

Gly Tyr Tyr Tyr Ala Phe Asp Phe  
1 5

<210> 65  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 65

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

[0017] Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
50 55 60

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

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

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

<210> 66  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 66

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 Thr Ser Tyr  
20 25 30

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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 Glu Leu Ala Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 67  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 67

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

[0018] Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

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

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

Leu Gln Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 68  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 68

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

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 69  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

[0019] <400> 69

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

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

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

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

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

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

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

<210> 70  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

&lt;400&gt; 70

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Gly Asn  
 20 25 30

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

Ser Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

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

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

Arg Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val Trp Gly Lys Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115

[0020] &lt;210&gt; 71

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 71

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

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

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

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

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

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

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

&lt;210&gt; 72

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 72

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Gly Asn  
 20 25 30

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

Ser Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

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

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

Arg Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val Trp Gly Lys Gly Thr  
 100 105 110

[0021]

Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 73

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 73

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp

85

90

95

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

<210> 74  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 74

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Gly Asn  
 20 25 30

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

Ser Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

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

[0022]

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

Arg Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val Trp Gly Lys Gly Thr  
 100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 75  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 75

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

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

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

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

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

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

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

<210> 76

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 76

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Gly Asn  
20 25 30

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

[0023] Ser Leu Ile Tyr Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

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

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

Arg Asp Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Met Val Val Trp Gly Lys Gly Thr  
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 77

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 77

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

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

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

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

<210> 78

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 78

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

[0024] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ile Ser His  
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Glu Leu Leu Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 79

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 79

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

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

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

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

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

<210> 80

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

[0025] <400> 80

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 Ile Phe Ser Asn His  
 20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Phe  
 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 Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 81

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 81

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

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

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

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

[0026]

<210> 82

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 82

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 Ile Phe Ser Asn His  
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Phe  
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 Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 83  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的  
<400> 83

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser His Arg Asp Ser Gly Val Pro  
50 55 60

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

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

[0027]

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

<210> 84  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的  
<400> 84

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 Ile Phe Ser Asn His  
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Phe  
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 Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 85  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 85

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

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

[0028]

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

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

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

<210> 86  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<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 Gly Ile Phe Ser Asn His  
 20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Phe  
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 Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 87  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 87

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30

[0029] Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

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

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

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

<210> 88  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<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 Ile Phe Ser Asn His  
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Phe  
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 Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 89

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 89

[0030] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

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

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

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

<210> 90

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 90

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 Ile Phe Ser Gly His  
 20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Phe  
 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 Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 91  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0031]

<220>  
 <223> 合成的  
 <400> 91

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

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

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

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

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

<210> 92  
 <211> 117  
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<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 Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ile Phe Ser Asn His  
20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Phe  
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 Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

[0032] Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 93

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 93

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

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

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

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

<210> 94  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的  
<400> 94

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 Ile Phe Ser Asn His  
20 25 30

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

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

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

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

[0033]

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

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 95  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的  
<400> 95

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65	70	75	80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala			
85	90	95	

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

<210> 96  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的  
<400> 96

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 Ile Phe Ser Asn His			
20	25	30	

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

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

[0034] Gln Gln Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Phe  
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 Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met			
100	105	110	

Val Thr Val Ser Ser			
115			

<210> 97  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的  
<400> 97

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser			
20	25	30	

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			
35	40	45	

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

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

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

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

<210> 98

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 98

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 Ile Phe Ser Asn His  
 20 25 30

[0035] Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Phe  
 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 Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 99

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 99

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

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

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

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

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

<210> 100

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 100

[0036] 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 Ile Phe Ser Asn His  
 20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Phe  
 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 Trp Ala Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 101

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 101

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

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

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

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

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

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

<210> 102

<211> 119

<212> PRT

[0037] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 102

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

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

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

Gly Met Ile Asp Pro Ser Asp Asn Glu Thr His Tyr Ser Gln Met Phe  
50 55 60

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

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

Ala Gly Tyr Tyr Gly Asn Phe Gly Trp Phe Val Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala  
115

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

<220>  
<223> 合成的

<400> 103

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

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

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

Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Arg Asn Val Gln Ser  
65 70 75 80

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

[0038] Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 104  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 104

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

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

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

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

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

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

Ala Ser Gln Asn Tyr Glu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser  
115

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

<220>  
<223> 合成的

<400> 105

Glu Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly  
1 5 10 15

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
50 55 60

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

[0039]

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 106  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 106

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

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

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

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

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65                   70                   75                   80  
 Met His Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
 85                   90                   95

Ala Pro Ala Ala Tyr Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 100               105               110

Leu Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 107  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 107

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

Glu Ser Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp  
 20               25               30

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

[0040] Tyr Ala Ala Thr Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50               55               60

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

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

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

<210> 108  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<400> 108

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

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

Val Met His Trp Met Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35               40               45

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

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

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

Ala Arg Gly Ser Asn Tyr Glu Asp Phe Ala Met Asp Tyr Arg Gly Gln  
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 109

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 109

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

[0041] Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr  
20 25 30

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

Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala  
50 55 60

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

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

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 110

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 110

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

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

Pro Ile Glu Trp Met Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Asn Phe His Pro Tyr Asn Asp Gln Thr Lys Tyr Asn Glu Glu Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Tyr Tyr Ala Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser  
115

<210> 111  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
[0042] <223> 合成的

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (3)...(3)  
<223> S, V, A 或 N

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (4)...(4)  
<223> N, H, 或 Y

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (5)...(5)  
<223> R, S, 或 T

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (6)...(6)  
<223> A, V, 或 D

<400> 111

Leu Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Ser  
1 5

<210> 112  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> S, N, 或 G

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Y 或 H

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> A, S, 或 K

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..(4)  
 <223> V 或 I

<400> 112

Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Ser
1				5

<210> 113  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

[0043] <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> G, E, 或 S

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> I 或 V

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..(6)  
 <223> F, L, 或 I

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (8)..(8)  
 <223> T, S, L, Y, 或 I

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (9)..(9)  
 <223> A, D, 或 S

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (10)..(10)  
 <223> D, N, 或 Y

<400> 113

Xaa	Ile	Ile	Pro	Xaa	Xaa	Gly	Xaa	Xaa	Xaa	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1						5				10				15	

Gly

<210> 114  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> E 或 T

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)..(2)  
 <223> L 或 W

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> A 或 L

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> V 或 A

<400> 114

Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Phe Asp Ile  
 1 5

[0044] <210> 115  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> S 或 N

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Y 或 H

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> A 或 S

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..(4)  
 <223> V 或 I

<400> 115

Xaa Xaa Xaa Xaa Ser  
 1 5

<210> 116

<211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> G 或 E

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (8)..(8)  
 <223> T 或 S

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (10)..(10)  
 <223> D 或 N

<400> 116

Xaa Ile Ile Pro Ile Phe Gly Xaa Ala Xaa Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
 1 5 10 15

Gly

[0045] <210> 117  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成的

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> E 或 T

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)..(2)  
 <223> L 或 W

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> A 或 L

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> V 或 A

<400> 117

Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Phe Asp Ile  
 1 5

<210> 118  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;222&gt; (1)..(1)

&lt;223&gt; N 或 G

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;222&gt; (3)..(3)

&lt;223&gt; A 或 K

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;222&gt; (4)..(4)

&lt;223&gt; V 或 I

&lt;400&gt; 118

Xaa	His	Xaa	Xaa	Ser
1				5

&lt;210&gt; 119

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

[0046]

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;222&gt; (1)..(1)

&lt;223&gt; G 或 S

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;222&gt; (5)..(5)

&lt;223&gt; I 或 V

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;222&gt; (6)..(6)

&lt;223&gt; F, L, 或 I

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;222&gt; (8)..(8)

&lt;223&gt; T, L, Y 或 I

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;222&gt; (9)..(9)

&lt;223&gt; A, D, 或 S

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;222&gt; (10)..(10)

&lt;223&gt; N 或 Y

&lt;400&gt; 119

Xaa	Ile	Ile	Pro	Xaa	Xaa	Gly	Xaa	Xaa	Xaa	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	
1						5								10		15

Gly

&lt;210&gt; 120

&lt;211&gt; 106

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 120

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

[0047] Cys Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 100 105

&lt;210&gt; 121

&lt;211&gt; 330

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成的

&lt;400&gt; 121

Cys Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

[0048] Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

## 轻链可变区

Kabat 编号	CDR L1 - Chothia		CDR L1 - Kabat	
	CDR L2 - Chothia	CDR L2 - Kabat	CDR L3 - Chothia	CDR L3 - Kabat
7A1	E I V L T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L	E I V M T Q S P L S L P V A P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L	E I V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L	E I V L T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L
9C2	D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L	D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L	D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L	D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L
10D3	D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L	D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L	D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L	D V V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L
15G15	E I V L T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L	E I V L T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L	E I V L T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L	E I V L T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L

图 1A

## 重链可变区

Kabat 編號	CDR H1 - 接触																				CDR H1 - Chothia																				CDR H1 - Kabat																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42																		
7A1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	G	T	F	T	S	Y	A	V	S	W	V	R	Q	A	P	G																			
9C2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	D	T	F	S	S	Y	S	I	S	W	V	R	Q	A	P	G																			
10D3	E	V	Q	L	V	E	S	G	A	E	V	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	G	T	L	I	S	H	A	I	S	W	V	R	Q	V	P	G																			
15G15	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	G	I	F	S	N	H	A	I	S	W	V	R	Q	A	P	G																			

Kabat 編號	CDR H2 - 接触																				CDR H2 - Chothia																				CDR H2 - Kabat																			
	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83a																			
7A1	Q	G	L	E	W	M	G	G	I	I	P	I	F	G	T	A	D	Y	A	Q	K	F	Q	G	R	V	T	I	A	D	E	S	T	A	Y	M	E	L	S																					
9C2	Q	G	L	E	W	M	G	E	I	I	P	I	F	G	T	A	D	Y	A	Q	K	F	Q	G	R	V	T	I	A	D	I	S	T	T	A	Y	M	E	L	S																				
10D3	Q	G	L	E	W	M	G	G	I	I	P	I	F	G	S	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	R	V	T	I	A	D	D	S	T	N	T	A	Y	L	E	L	S																			
15G15	Q	G	L	E	W	M	G	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	R	V	T	I	A	D	E	S	T	A	F	M	E	L	S																					

Kabat 編號	CDR H3 - 接触																				CDR H3 - Chothia																				CDR H3 - Kabat																			
	82b	82c	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113																											
7A1	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	L	A	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S																			
9C2	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	T	W	A	D	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S																				
10D3	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	L	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	M	V	T	V	S	S	S	S	S	S	S																					
15G15	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	W	A	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	M	V	T	V	S	S	S	S	S	S																					

图1B

轻链可变区

Kabat 编号	CDR L1 - Chothia			CDR L1 - Kabat			CDR L2 - Kabat	CDR L2 - Chothia			CDR L2 - Kabat			CDR L1 - Kabat	CDR L1 - Chothia			CDR L2 - Kabat																								
	24	25	26	27	27a	27b		27c	27d	27e	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37																						
15G15	E	I	T	Q	S	P	L	S	I	S	C	R	S	S	G	Y	N	L	D	W	Y	L																				
15G15.33	E	I	V	L	T	Q	S	P	I	S	C	R	S	S	G	Y	N	L	D	W	Y	L																				
15G15.37	E	I	V	L	T	Q	S	P	I	S	C	R	S	S	G	Y	N	L	D	W	Y	L																				
15G15.83	E	I	V	L	T	Q	S	P	I	S	C	R	S	S	G	Y	N	L	D	W	Y	L																				
15G15.88	E	I	V	L	T	Q	S	P	I	S	C	R	S	S	G	Y	N	L	D	W	Y	L																				
15G15.7	E	I	V	L	T	Q	S	P	I	S	C	R	S	S	G	Y	N	L	D	W	Y	L																				
15G15.17	E	I	V	L	T	Q	S	P	I	S	C	R	S	S	G	Y	N	L	D	W	Y	L																				
15G15.30	E	I	V	L	T	Q	S	P	I	S	C	R	S	S	G	Y	N	L	D	W	Y	L																				
15G15.31	E	I	V	L	T	Q	S	P	I	S	C	R	S	S	G	Y	N	L	D	W	Y	L																				
15G15.39	E	I	V	L	T	Q	S	P	I	S	C	R	S	S	G	Y	N	L	D	W	Y	L																				
15G15.84	E	I	V	L	T	Q	S	P	I	S	C	R	S	S	G	Y	N	L	D	W	Y	L																				
Kabat 编号	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79
15G15	Q	K	P	G	Q	S	P	Q	L	I	Y	L	G	S	N	R	A	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	K	I	S	R	V	E	
15G15.33	Q	K	P	G	Q	S	P	Q	L	I	Y	L	G	V	N	S	V	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	K	I	S	R	V	E	
15G15.37	Q	K	P	G	Q	S	P	Q	L	I	Y	L	G	S	H	R	D	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	K	I	S	R	V	E	
15G15.83	Q	K	P	G	Q	S	P	Q	L	I	Y	L	G	A	Y	T	V	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	K	I	S	R	V	E	
15G15.88	Q	K	P	G	Q	S	P	Q	L	I	Y	L	G	N	Y	R	V	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	K	I	S	R	V	E	
15G15.17	Q	K	P	G	Q	S	P	Q	L	I	Y	L	G	S	N	R	A	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	K	I	S	R	V	E	
15G15.30	Q	K	P	G	Q	S	P	Q	L	I	Y	L	G	S	N	R	A	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	K	I	S	R	V	E	
15G15.31	Q	K	P	G	Q	S	P	Q	L	I	Y	L	G	S	N	R	A	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	K	I	S	R	V	E	
15G15.39	Q	K	P	G	Q	S	P	Q	L	I	Y	L	G	S	N	R	A	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	K	I	S	R	V	E	
15G15.84	Q	K	P	G	Q	S	P	Q	L	I	Y	L	G	S	N	R	A	S	G	V	P	D	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	K	I	S	R	V	E	

图2A-1

轻链可变区

CDR L3 - 接触		
	CDR L3 - Chothia	CDR L3 - Kabat
Kabat 编号	80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107	

15G15	A E D V G V Y C M Q A L Q T P W T F G O G T K V E I K
15G15.33	A E D V G V Y C M Q A L Q T P W T F G O G T K V E I K
15G15.37	A E D V G V Y C M Q A L Q T P W T F G O G T K V E I K
15G15.83	A E D V G V Y C M Q A L Q T P W T F G O G T K V E I K
15G15.88	A E D V G V Y C M Q A L Q T P W T F G O G T K V E I K
15G15.7	A E D V G V Y C M Q A L Q T P W T F G O G T K V E I K
15G15.17	A E D V G V Y C M Q A L Q T P W T F G O G T K V E I K
15G15.30	A E D V G V Y C M Q A L Q T P W T F G O G T K V E I K
15G15.31	A E D V G V Y C M Q A L Q T P W T F G O G T K V E I K
15G15.39	A E D V G V Y C M Q A L Q T P W T F G O G T K V E I K
15G15.84	A E D V G V Y C M Q A L Q T P W T F G O G T K V E I K

图2A-2

重链可变区

图2B-1

重链可变区

Kabat 编号	CDR H3 - 接触			CDR H3 - Chothia			CDR H3 - Kabat																									
	82b	82c	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112
15G15	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	W	A	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	S	S	
15G15.33	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	W	A	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	S	S	
15G15.37	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	W	A	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	S	S	
15G15.83	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	W	A	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	S	S	
15G15.88	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	W	A	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	S	S	
15G15.7	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	W	A	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	S	S	
15G15.17	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	W	A	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	S	S	
15G15.30	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	W	A	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	S	S	
15G15.31	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	W	A	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	S	S	
15G15.39	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	W	A	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	S	S	
15G15.84	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	C	A	R	E	W	A	D	V	F	D	I	W	G	Q	G	T	M	V	T	S	S	

图2B-2

## 轻链可变区

Kabat 编号	CDR L1 - Chothia		CDR L1 - Kabat	
	P	A	P	A
23E4	D	I	F	M
27C6	D	I	V	L
33F3	E	I	Q	M
33F9	D	I	V	M
33H4	D	I	Q	M
	2	3	4	5
	6	7	8	9
	10	11	12	13
	14	15	16	17
	18	19	20	21
	22	23	24	25
	26	27	27a	27b
	27c	27d	27e	28
	29	30	31	32
	33	34	35	36
	37			

Kabat 编号	CDR L2 - Chothia		CDR L2 - Kabat	
	P	A	P	A
23E4	Q	K	P	G
27C6	Q	K	P	G
33F3	Q	K	P	G
33F9	Q	K	P	G
33H4	Q	K	P	G
	38	39	40	41
	42	43	44	45
	46	47	48	49
	50	51	52	53
	54	55	56	57
	58	59	60	61
	62	63	64	65
	66	67	68	69
	70	71	72	73
	74	75	76	77
	78	79		

Kabat 编号	CDR L3 - Chothia		CDR L3 - Kabat	
	P	A	P	A
23E4	A	E	D	L
27C6	S	E	D	L
33F3	A	E	D	L
33F9	A	E	D	F
33H4	A	A	D	D
	80	81	82	83
	84	85	86	87
	88	89	90	91
	92	93	94	95
	96	97	98	99
	100	101	102	103
	104	105	106	107

图3A

重链可变区

图3B

## 轻链可变区

		CDR L1 - 接触		CDR L1 - Chothia		CDR L1 - Kabat	
Kabat 编号	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42						
9C3	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K P G K						
9C3.2	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K P G K						
9C3.3	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K P G K						
9C3.4	D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K P G K						
		CDR L2 - 接触		CDR L2 - Chothia		CDR L2 - Kabat	
Kabat 编号	43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84						
9C3	A P K R L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G T E P T L T I S S L Q P E D F A						
9C3.2	A P K R L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G T E P T L T I S S L Q P E D F A						
9C3.3	A P K R L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G T E P T L T I S S L Q P E D F A						
9C3.4	A P K R L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G T E P T L T I S S L Q P E D F A						
		CDR L3 - 接触		CDR L3 - Chothia		CDR L3 - Kabat	
Kabat 编号	85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107						
9C3	T Y Y C L Q H N S Y P W T F G Q G T K L E I K						
9C3.2	T Y Y C L Q H N S Y P W T F G Q G T K L E I K						
9C3.3	T Y Y C L Q H N S Y P W T F G Q G T K L E I K						
9C3.4	T Y Y C L Q H N S Y P W T F G Q G T K L E I K						

图4A

## 重链可变区

Kabat 编号	CDR H1 - Chothia		CDR H1 - Kabat	
	CDR H2 - Chothia	CDR H2 - Kabat	CDR H3 - Chothia	CDR H3 - Kabat
9C3	E V Q L V E S G G A L I Q P G G S L R L S C V A S G F T I S G N Y M S W V R Q A P G			
9C3.2	E V Q L V E S G G A L I Q P G G S L R L S C V A S G F T I S G N Y M S W V R Q A P G			
9C3.3	E V Q L V E S G G A L I Q P G G S L R L S C V A S G F T I S G N Y M S W V R Q A P G			
9C3.4	E V Q L V E S G G A L I Q P G G S L R L S C V A S G F T I S G N Y M S W V R Q A P G			
Kabat 编号	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42			
9C3	K G L E W V S L I Y S G D S T Y Y A D S V K G R F N I S R D I S K N T V Y L Q M N S			
9C3.2	K G L E W V S L I Y S G D S T Y Y A D S V K G R F T I S R D I S K N T V Y L Q M N S			
9C3.3	K G L E W V S L I Y S G D S T Y Y A D S V K G R F S I S R D I S K N T V Y L Q M N S			
9C3.4	K G L E W V S L I Y S G D S T Y Y A D S V K G R F A I S R D I S K N T V Y L Q M N S			
Kabat 编号	43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 82a 82b			
9C3	I R V E D T A V Y C V R D G Y Y V S D M V W G K G T V T V S S			
9C3.2	I R V E D T A V Y C V R D G Y Y V S D M V W G K G T V T V S S			
9C3.3	I R V E D T A V Y C V R D G Y Y V S D M V W G K G T V T V S S			
9C3.4	I R V E D T A V Y C V R D G Y Y V S D M V W G K G T V T V S S			

图4B

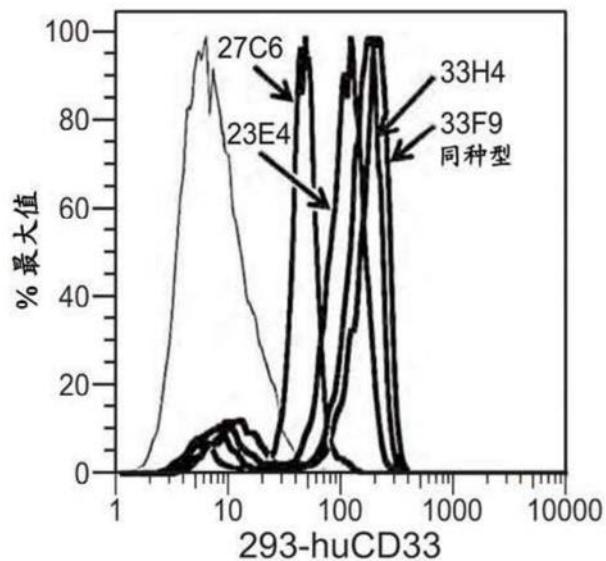


图5A

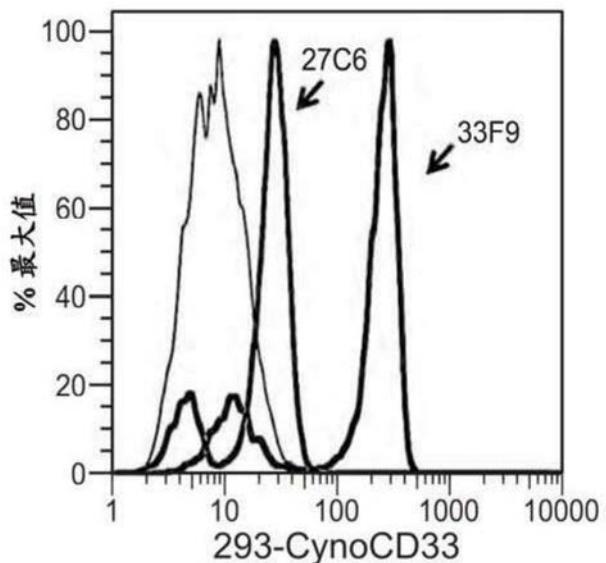


图5B

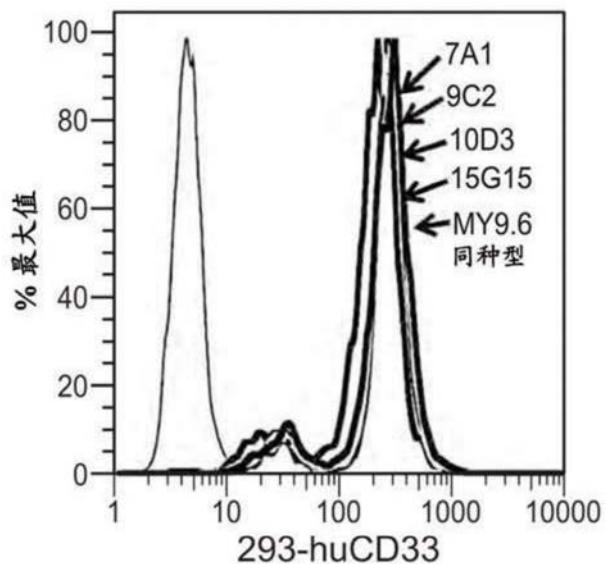


图5C

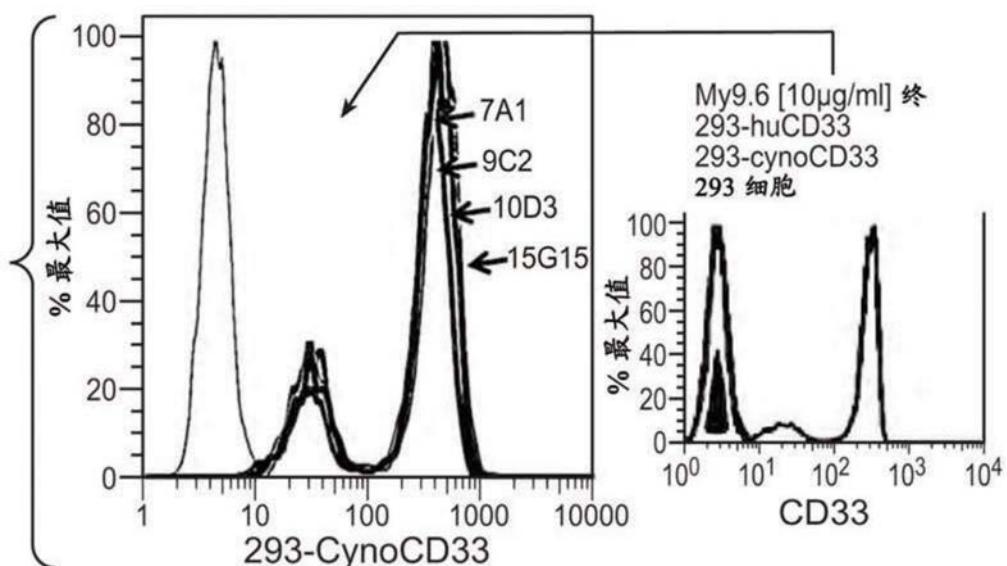


图5D

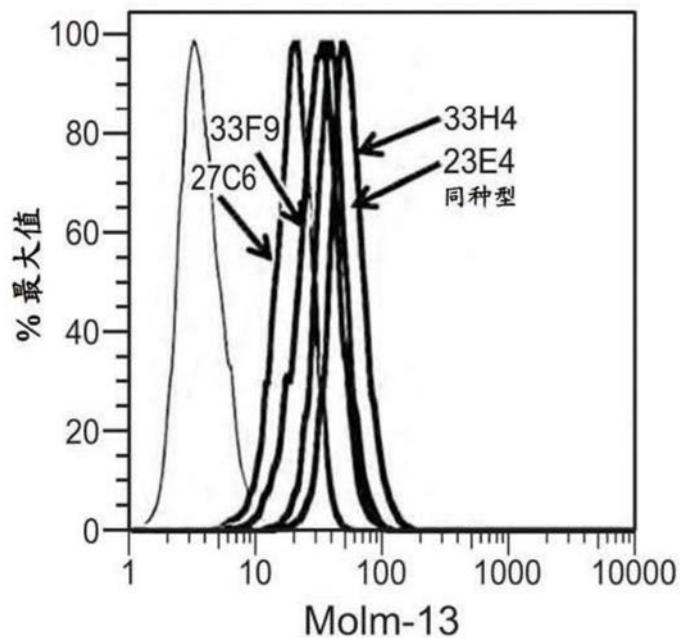


图6A

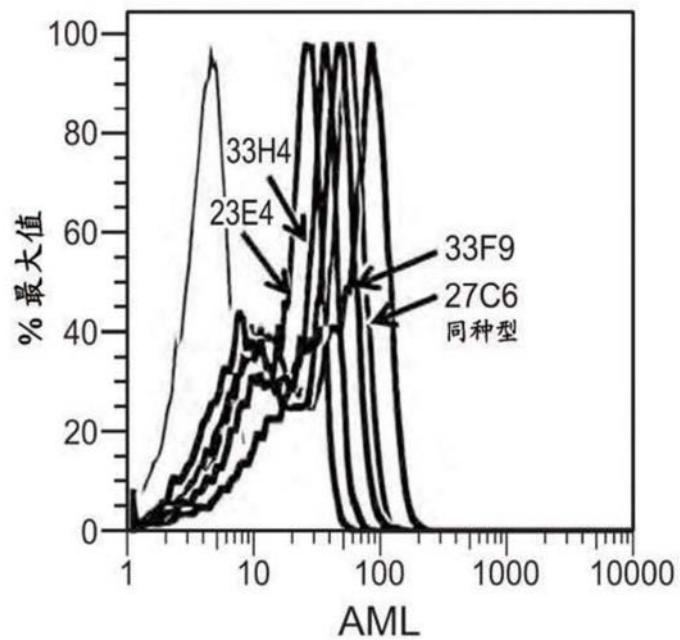


图6B

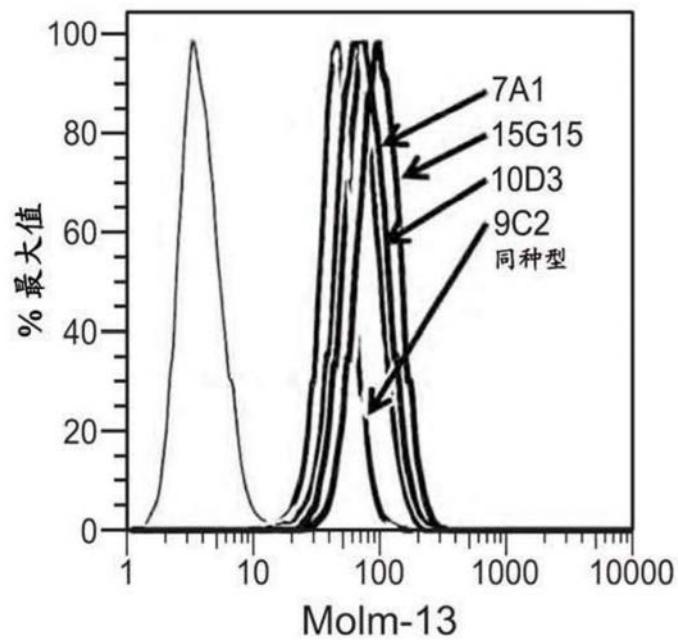


图6C

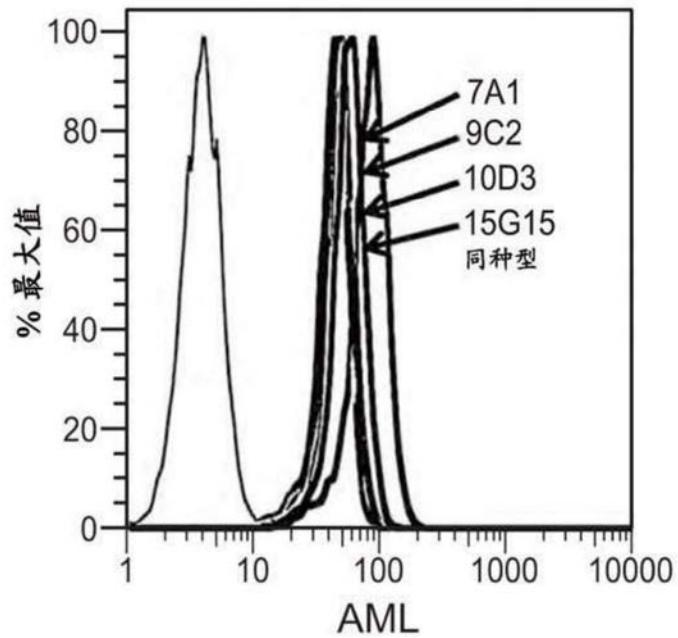


图6D

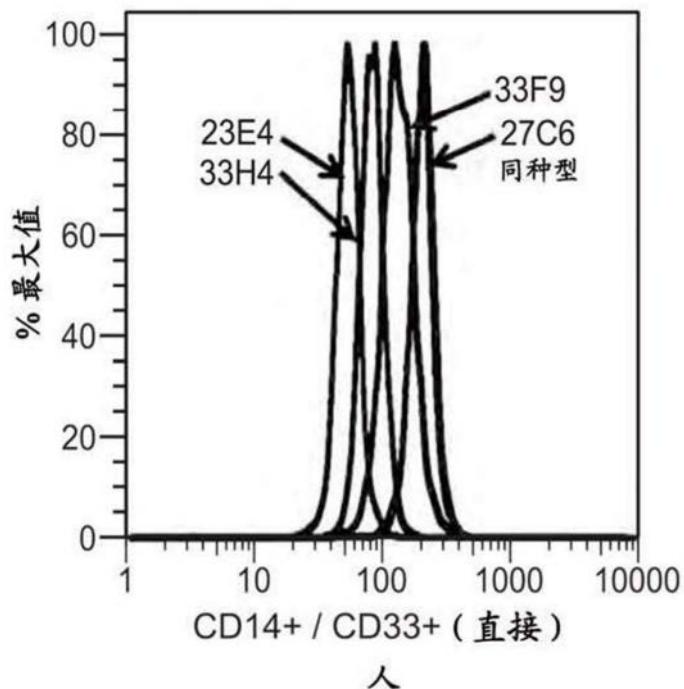


图7A

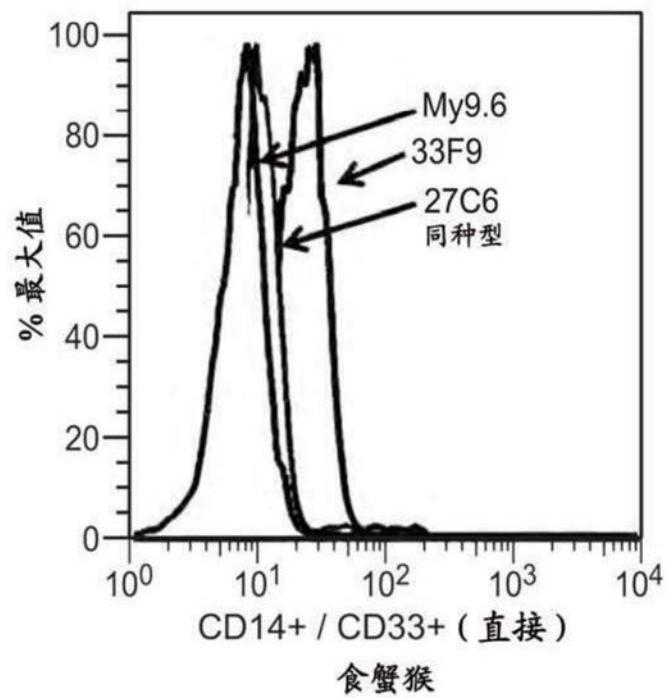


图7B

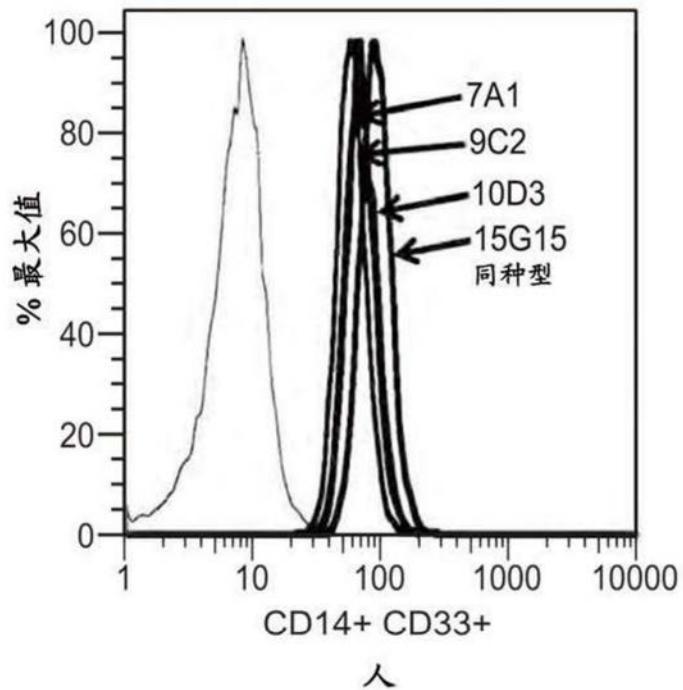


图7C

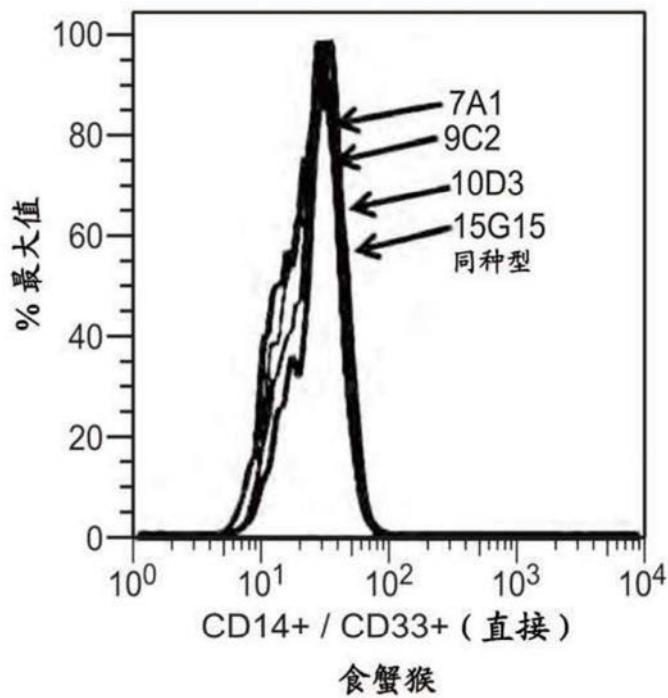


图7D

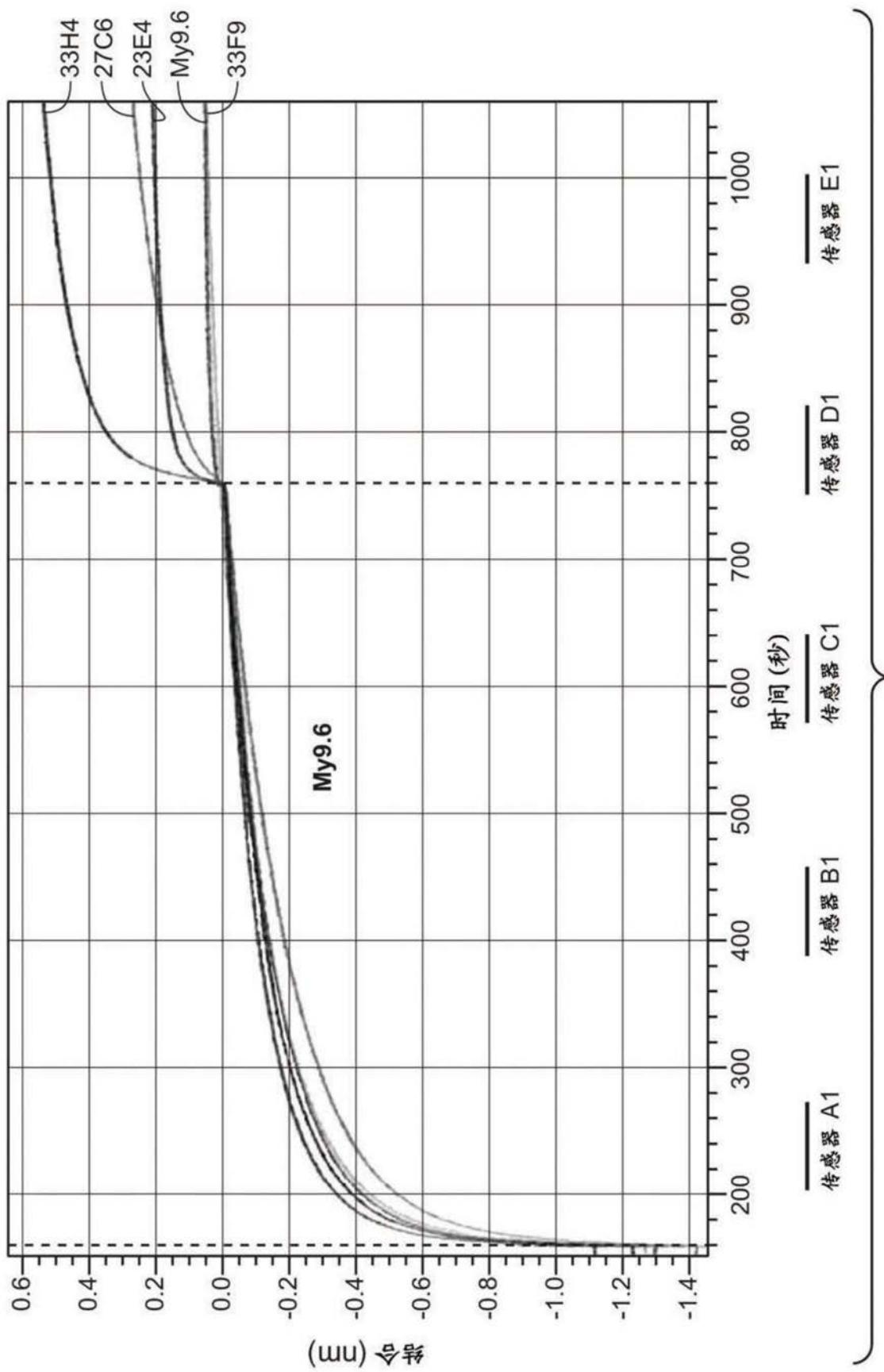


图8A

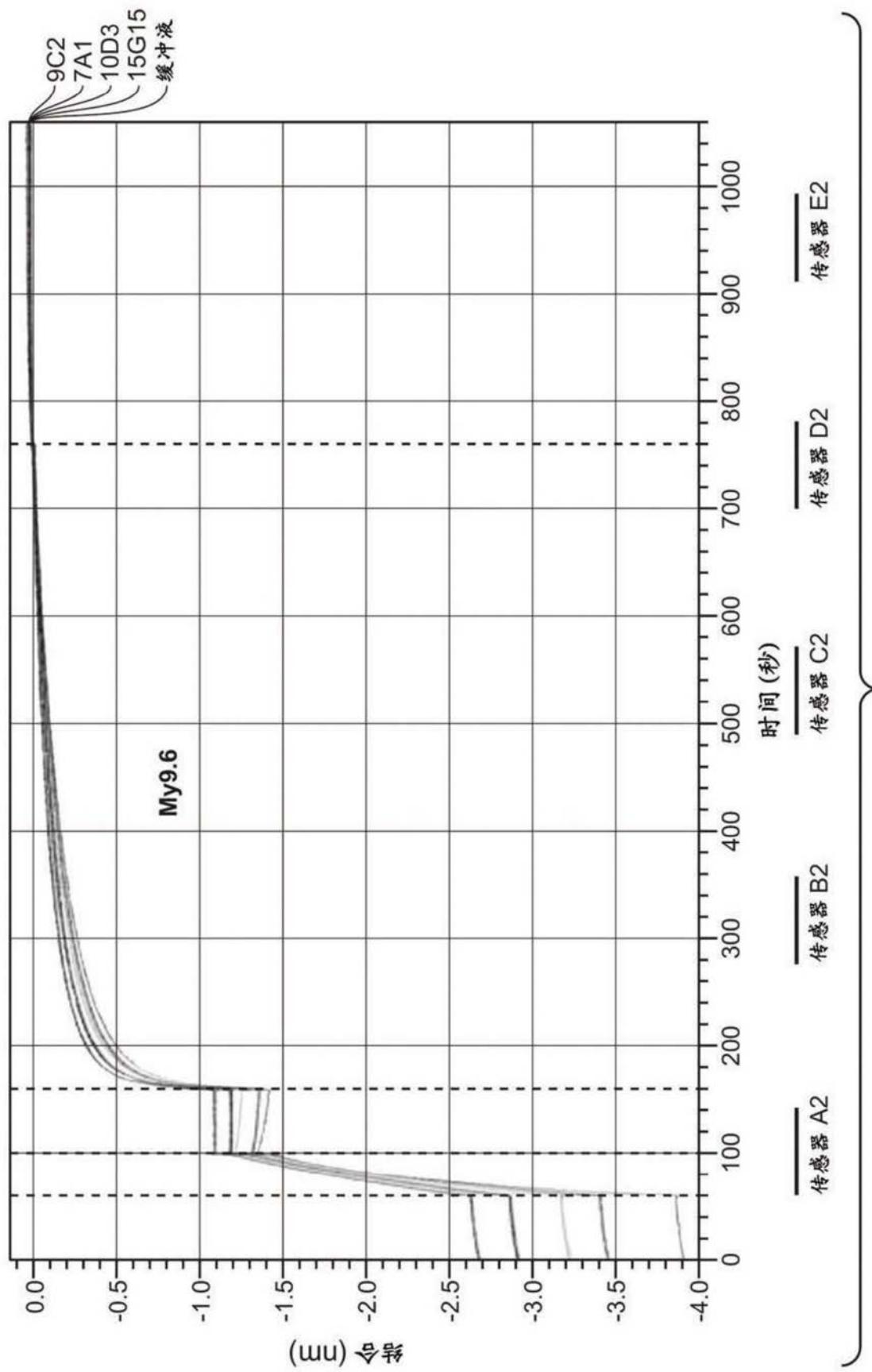


图8B

		分仓抗体				分仓抗体			
		参照抗体	My9.6	9C2	7A1	10D3	15G15	缓冲液	
分仓抗体	参照抗体	My9.6	27C6	23E4	33H4	33F9			
	不同表位	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)

图8C

		分仓抗体				分仓抗体				
		参照抗体		15G15		9C2	7A1	10D3	15G15	缓冲液
		15G15	My9.6	27C6	23E4	33H4	33F9			
不同表位		(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)			
不同表位		(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

图8D

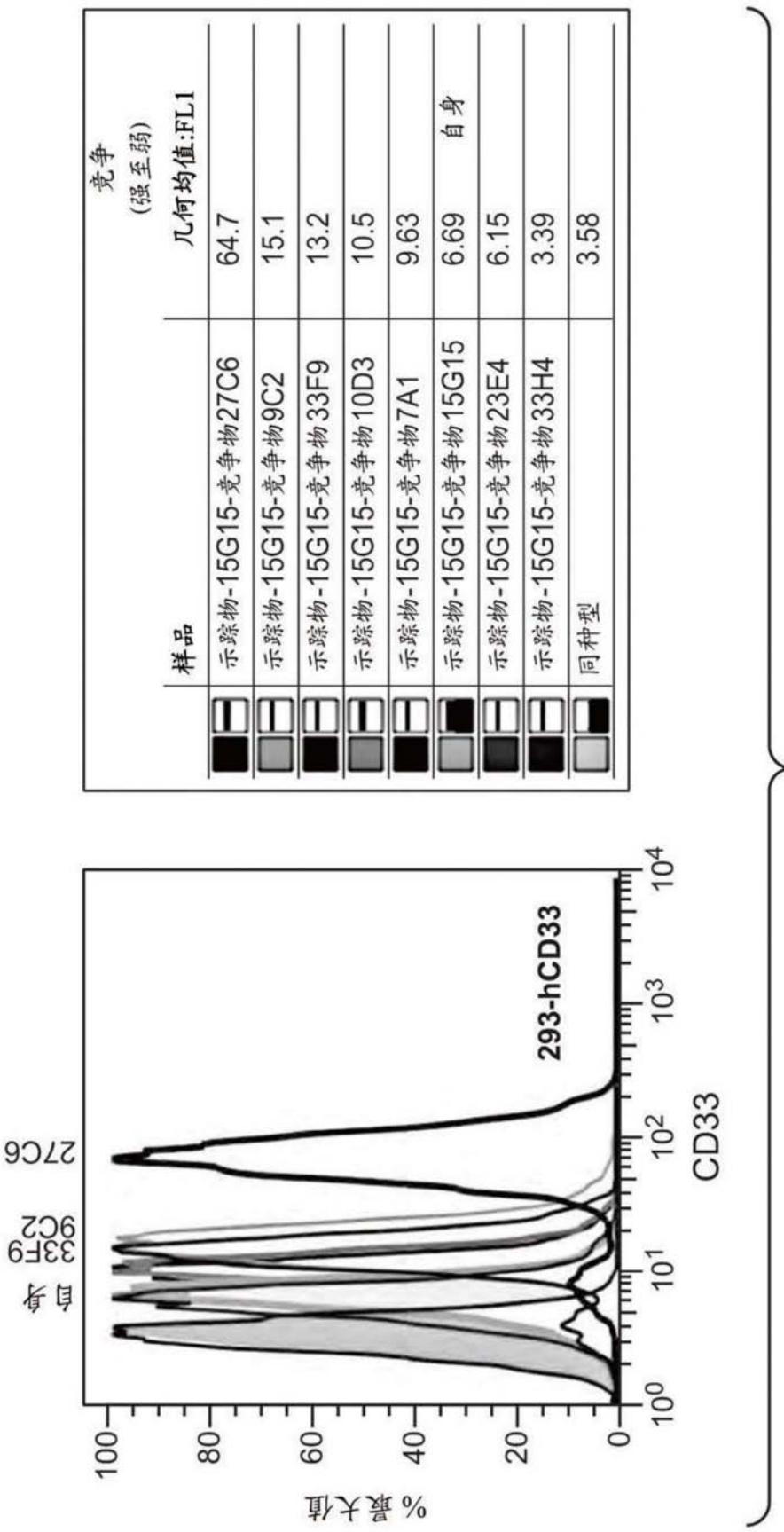


图9

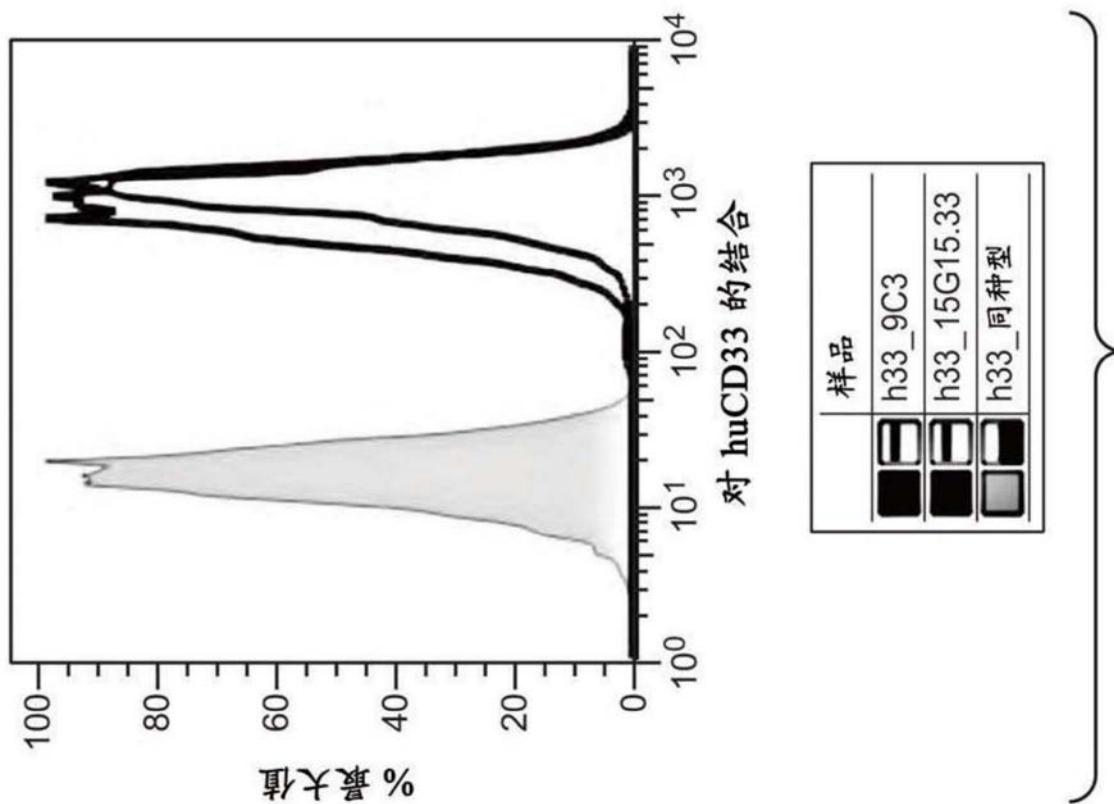


图10A

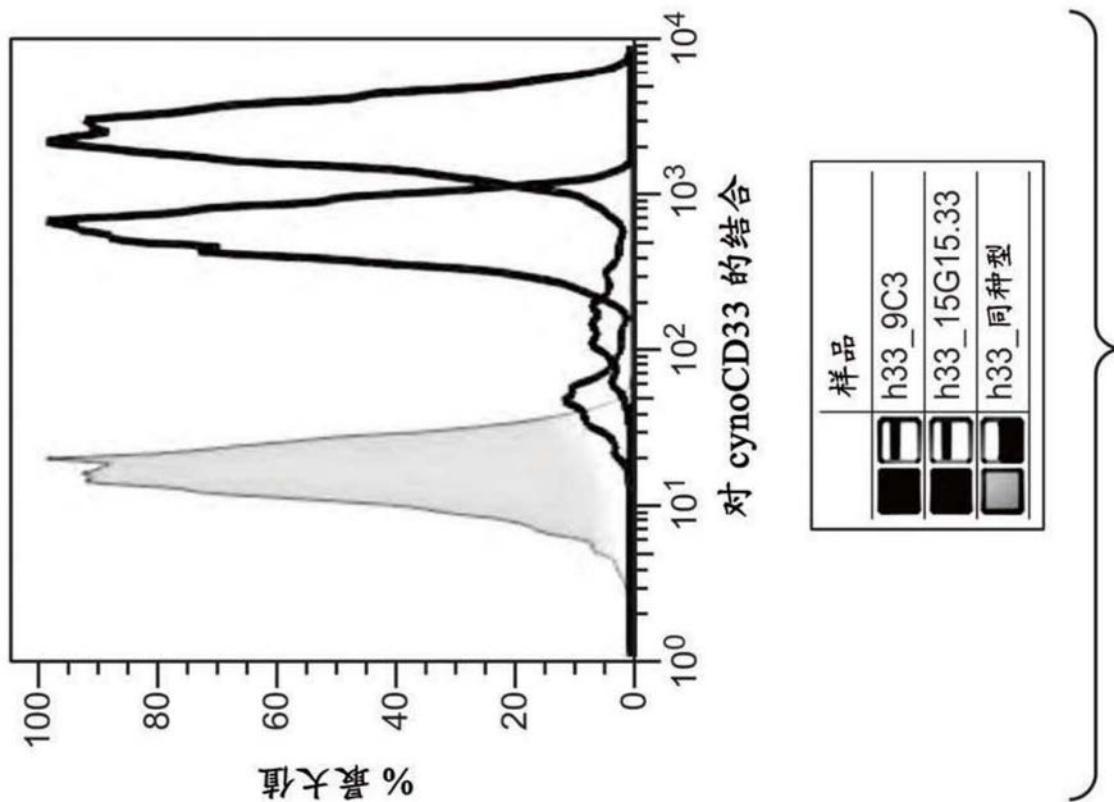


图10B

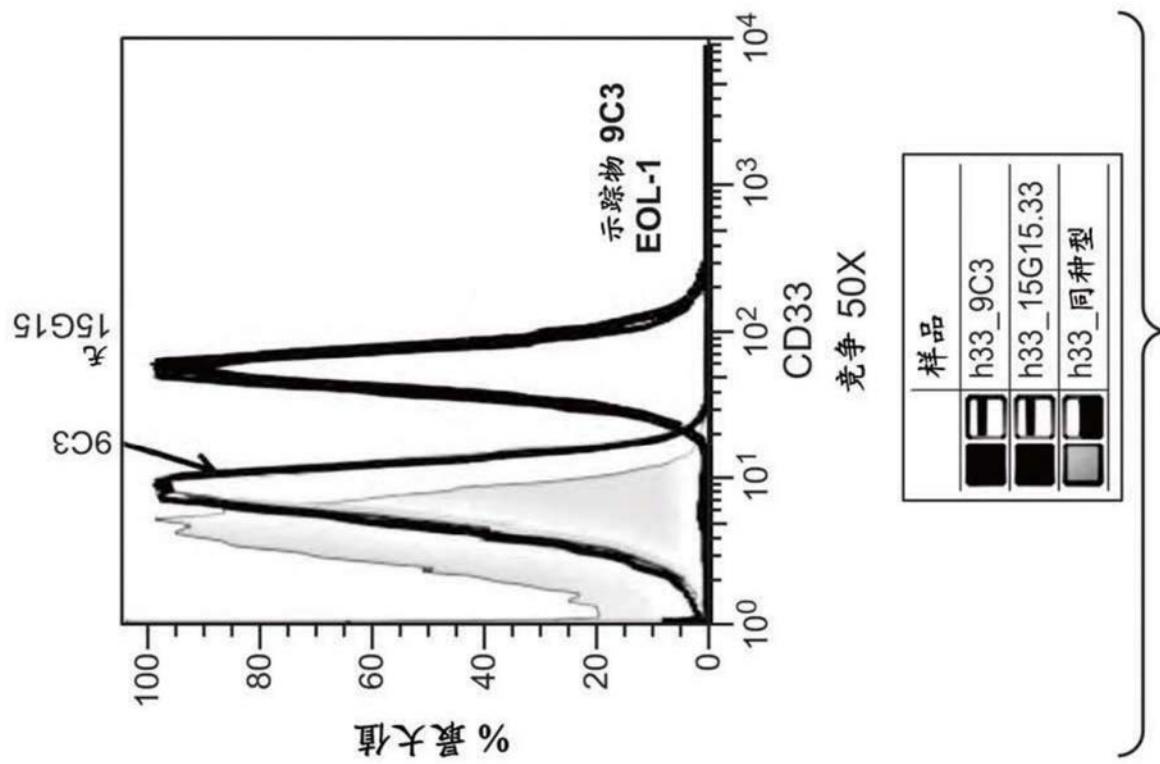


图10C

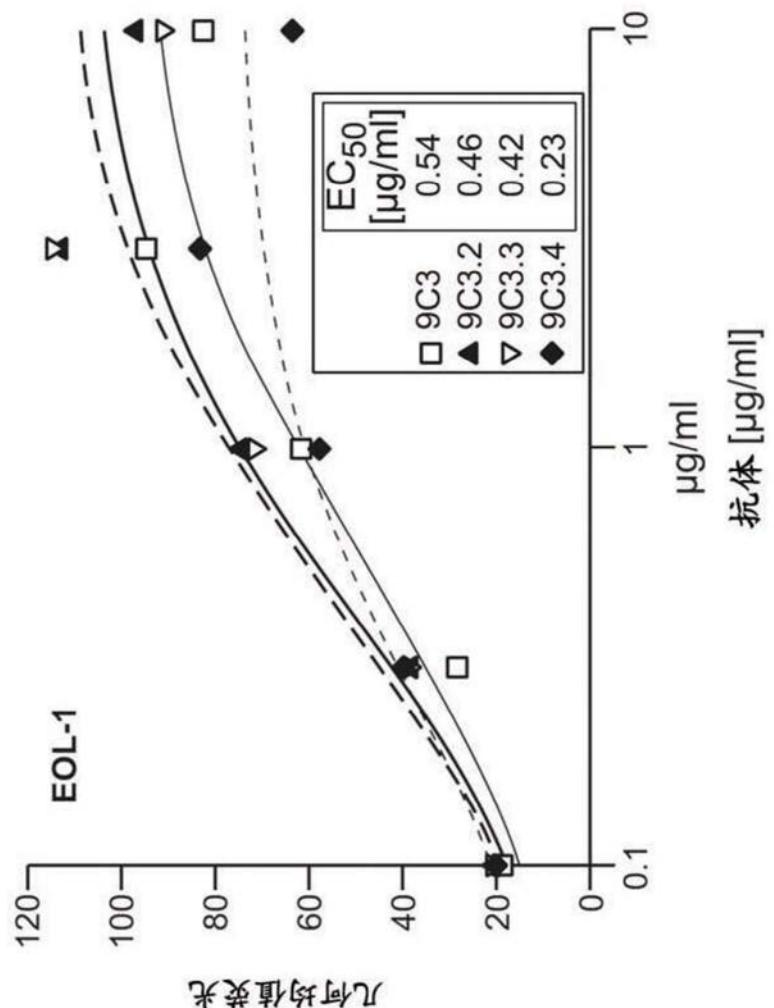


图11

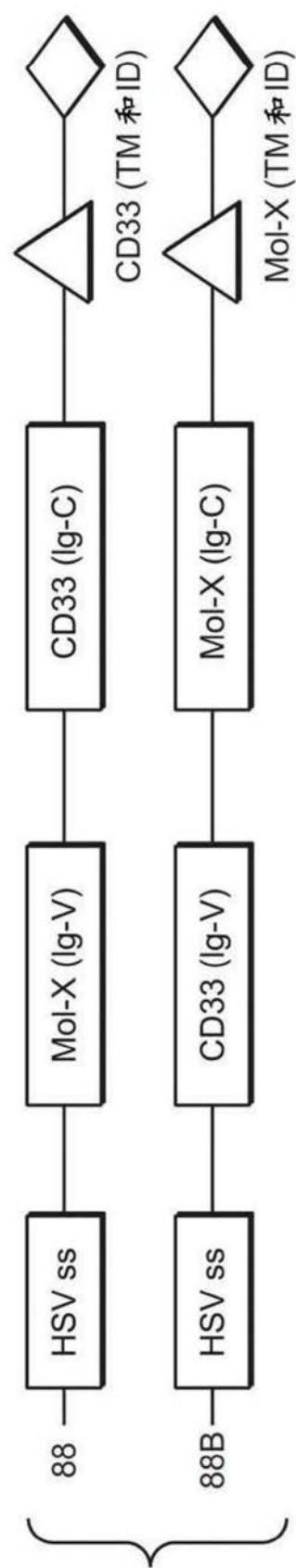


图12A

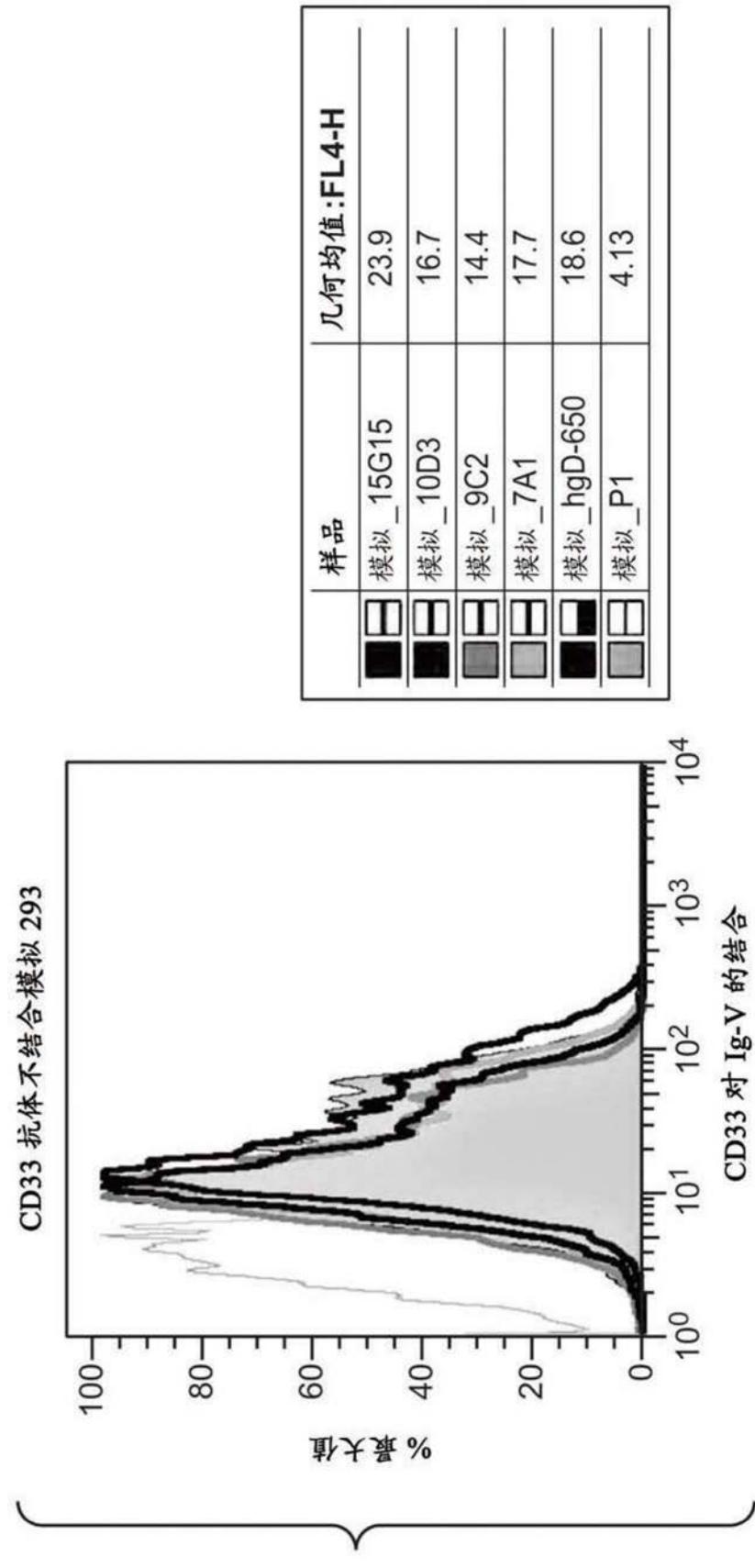


图12B

CD33 抗体不结合 CD33-IgC

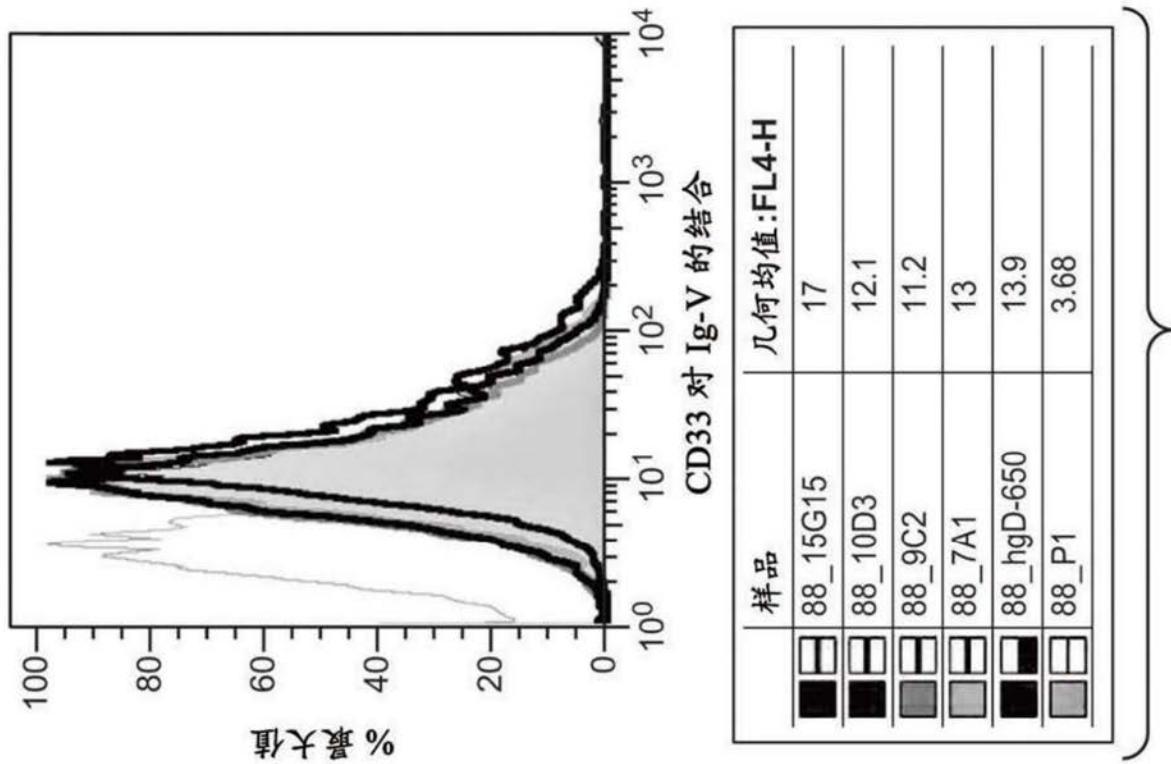


图12C

CD33 抗体结合 CD33-IgV

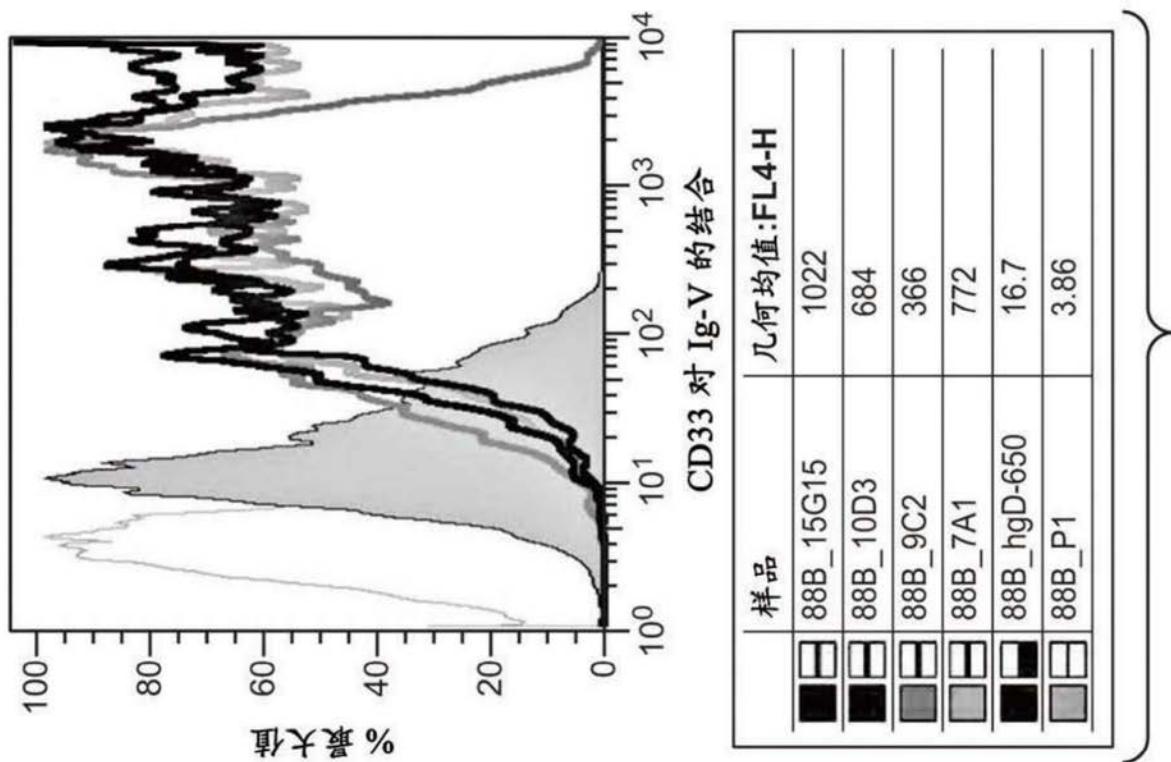


图12D

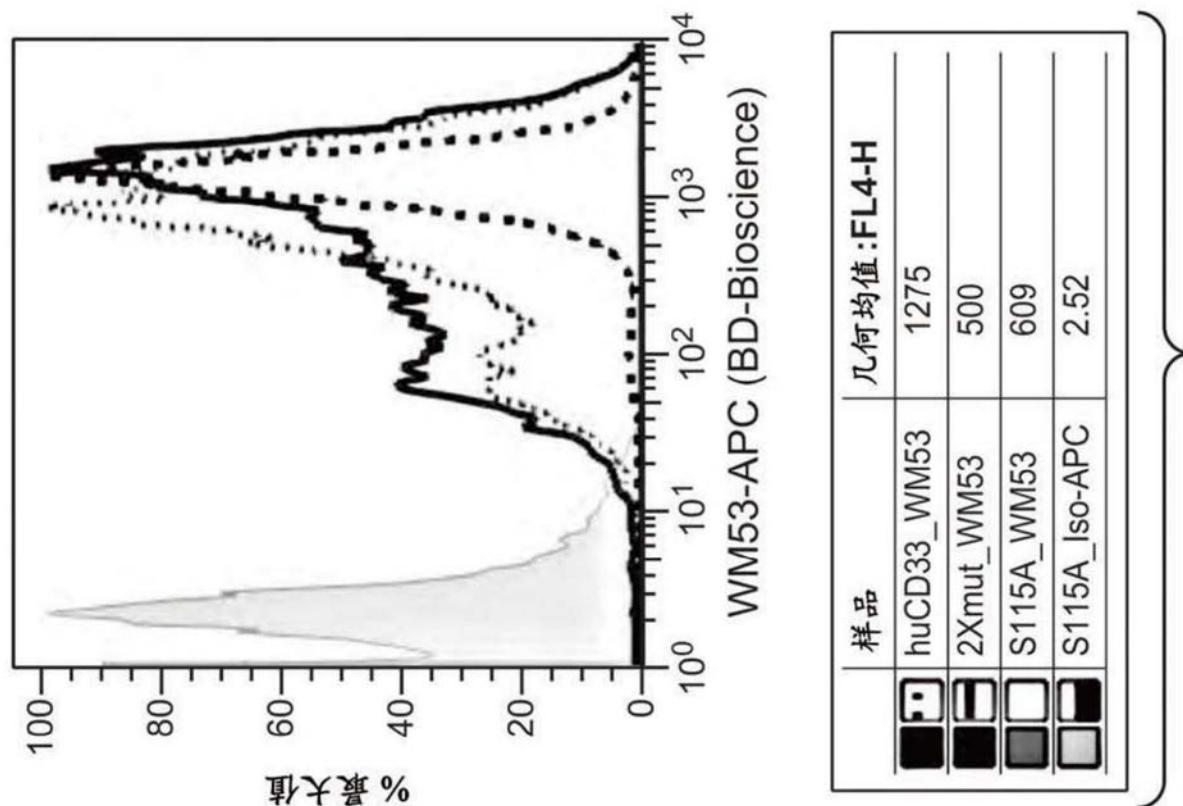


图13A

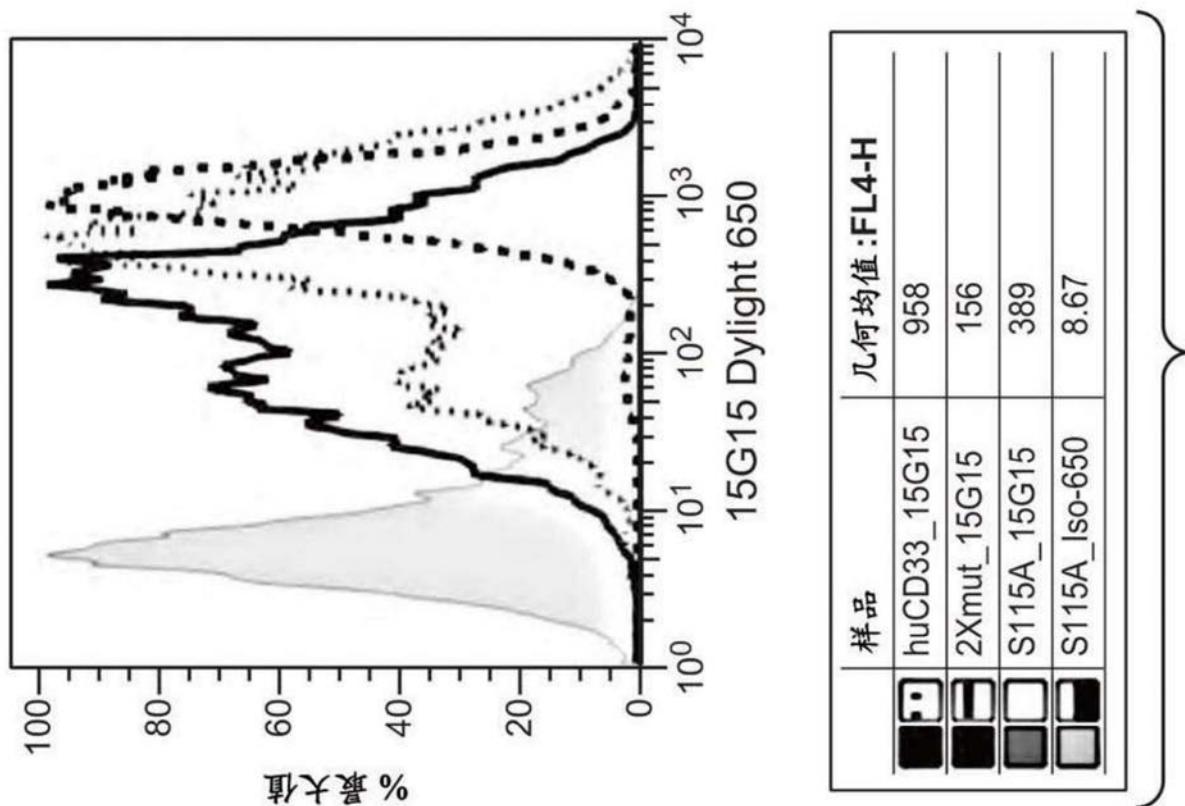


图13B

huCD33_G69	1	M D P N F W L Q V Q E S V T V Q E G L C V I L V P C T F H P I P Y Y D K N S P V H G Y W F R E G A I	50
huCD33_R69	1	M D P N F W L Q V Q E S V T V Q E G L C V I L V P C T F H P I P Y Y D K N S P V H G Y W F R E G A I	50
		(S102A)	(S115A)
huCD33_G69	51	I S G D S P V A T N K L D Q E V Q E E T Q G R F R L L G D P S R N N C S L S I V D A R R R D N G S Y	100
huCD33_R69	51	I S R D S P V A T N K L D Q E V Q E E T Q G R F R L L G D P S R N N C S L S I V D A R R R D N G S Y	100
		Ig-V 框域	
huCD33_G69	101	F F R M E R G S T K Y S Y K S P Q L S	119
huCD33_R69	101	F F R M E R G S T K Y S Y K S P Q L S	119

图13C

huCD33_G69	1	M D P N F W I L Q V Q E S V T V Q E G I C V I L V P C T F H P I P Y Y D K N S P V H G Y W F R E G A I	50
huCD33_R69	1	M D P N F W I L Q V Q E S V T V Q E G I C V I L V P C T F H P I P Y Y D K N S P V H G Y W F R E G A I	50
		(R69G)	
huCD33_G69	51	I S G D S P V A T N K L D Q E V Q E E T Q G R F R L L G D P S R N N C S L S I V D A R R D N G S Y	100
huCD33_R69	51	I S R D S P V A T N K L D Q E V Q E E T Q G R F R L L G D P S R N N C S L S I V D A R R D N G S Y	100
		Ig-V 样域	
huCD33_G69	101	F F R M E R G S T K Y S Y K S P Q L S	119
huCD33_R69	101	F F R M E R G S T K Y S Y K S P Q L S	119

图14A

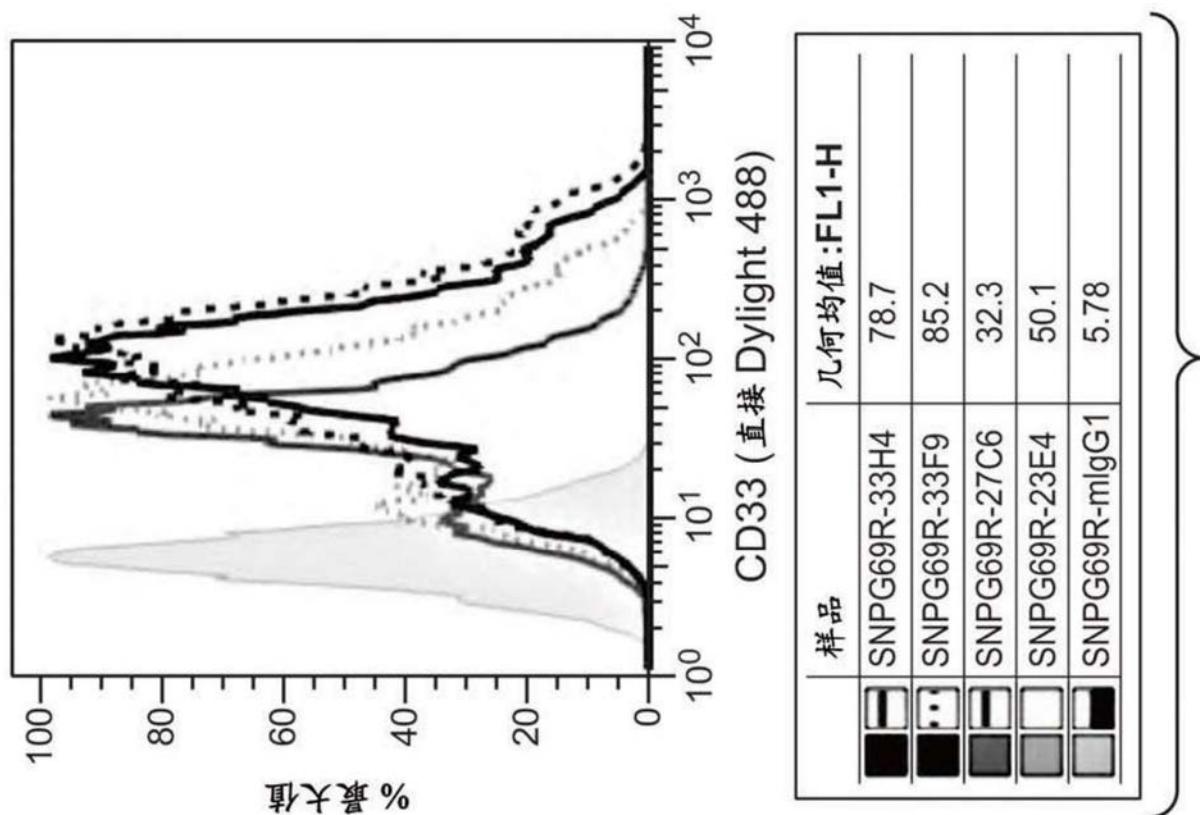


图14B

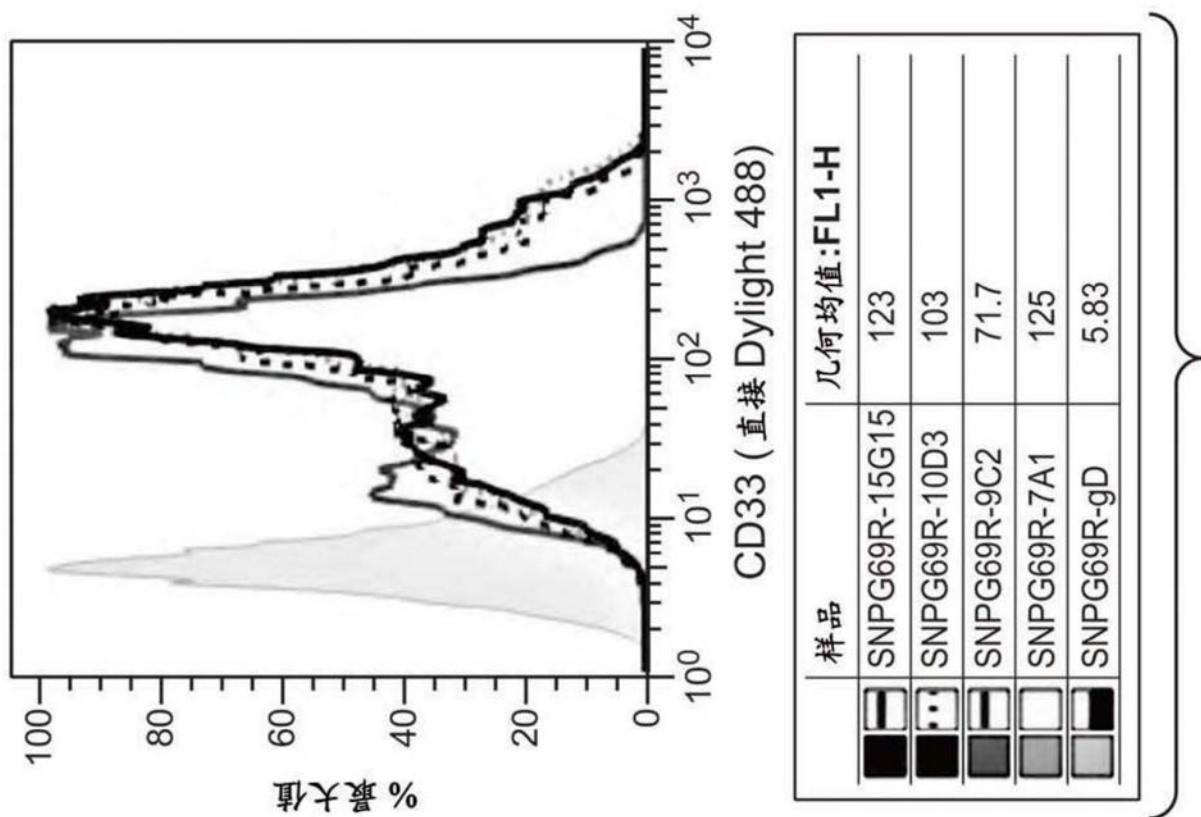


图14C

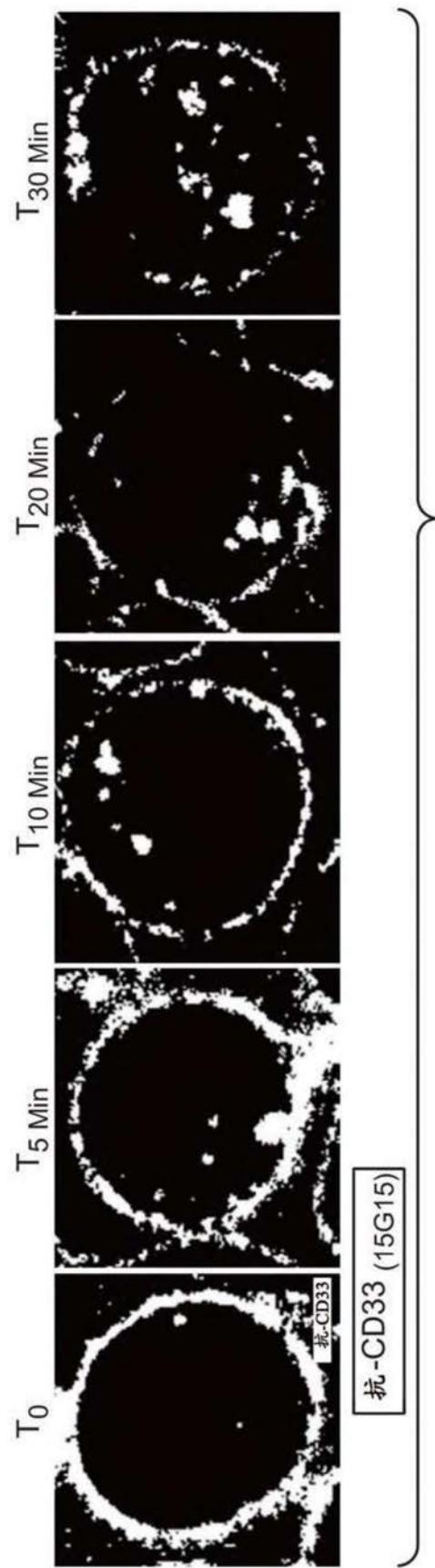


图15A

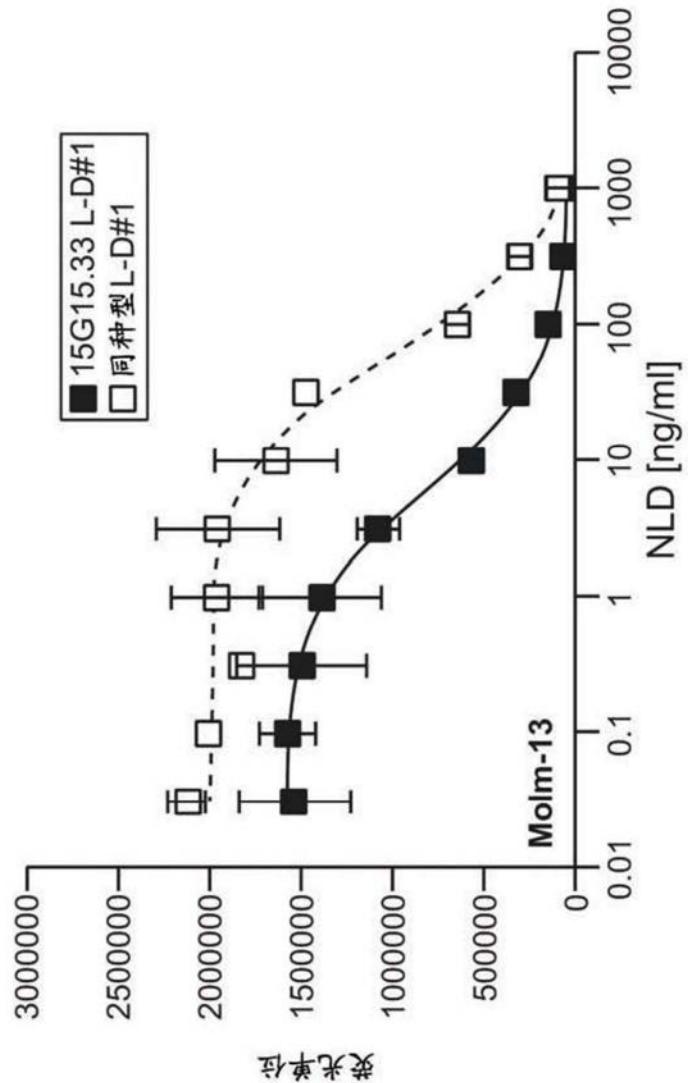


图15B

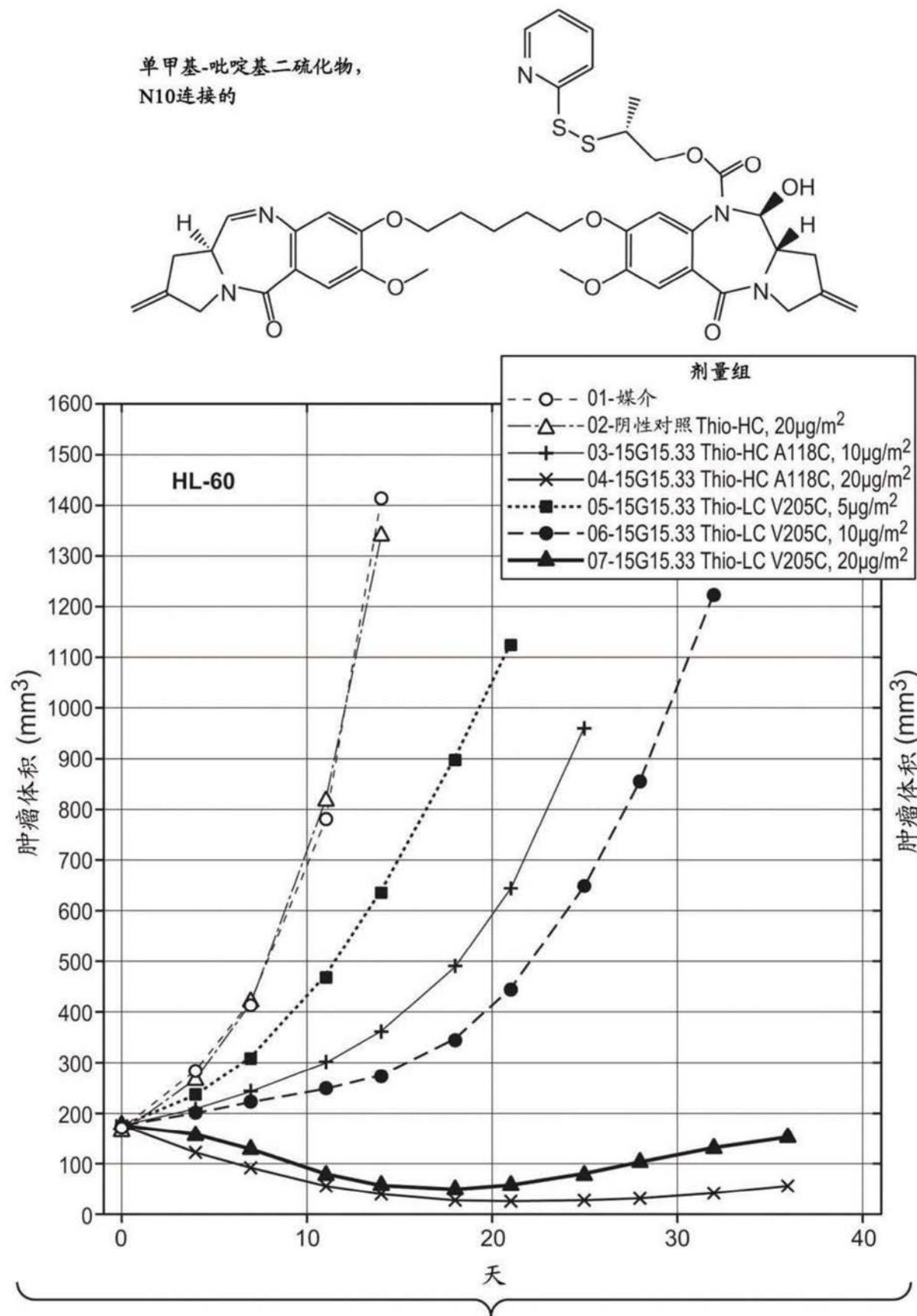


图16A

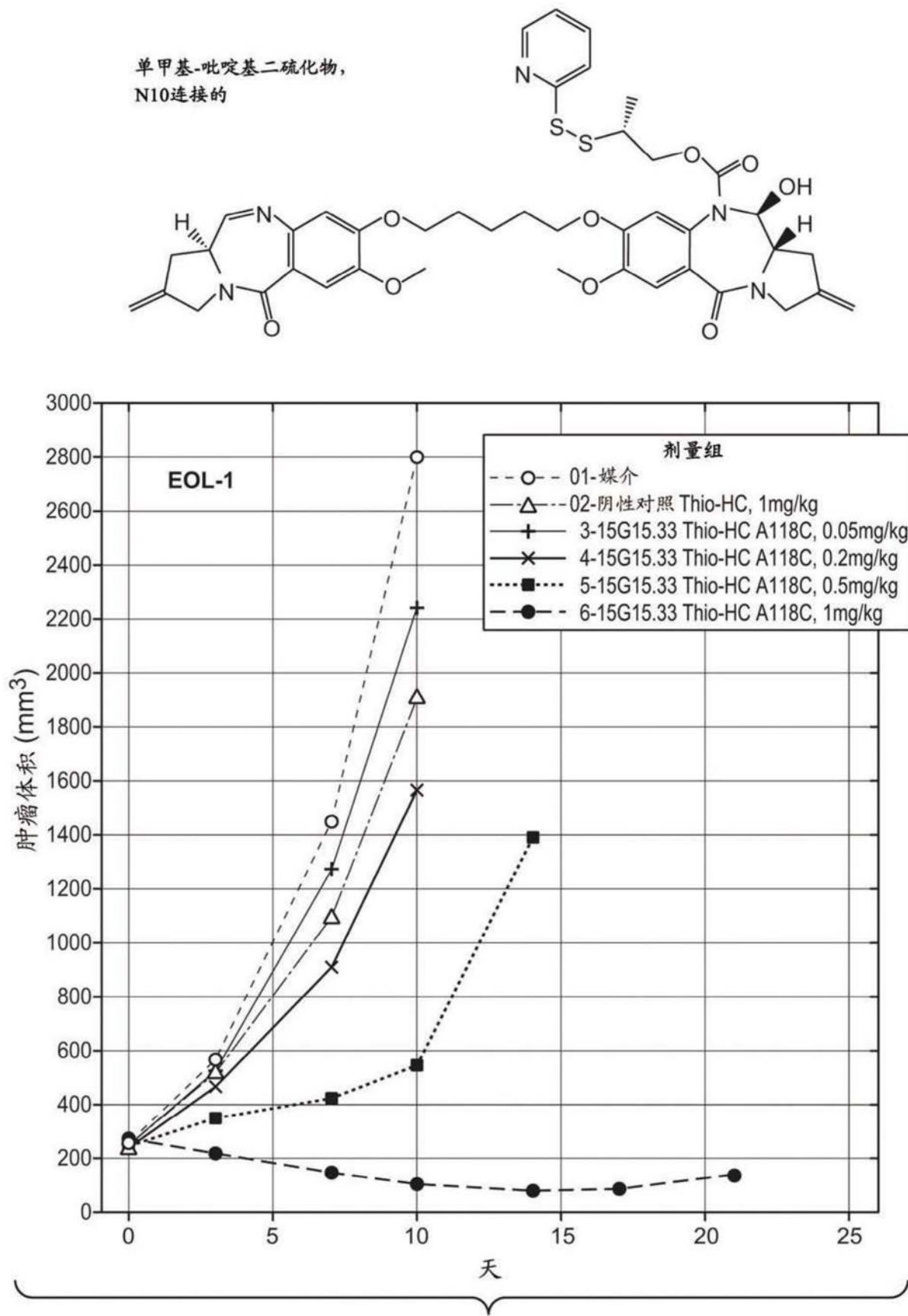


图16B

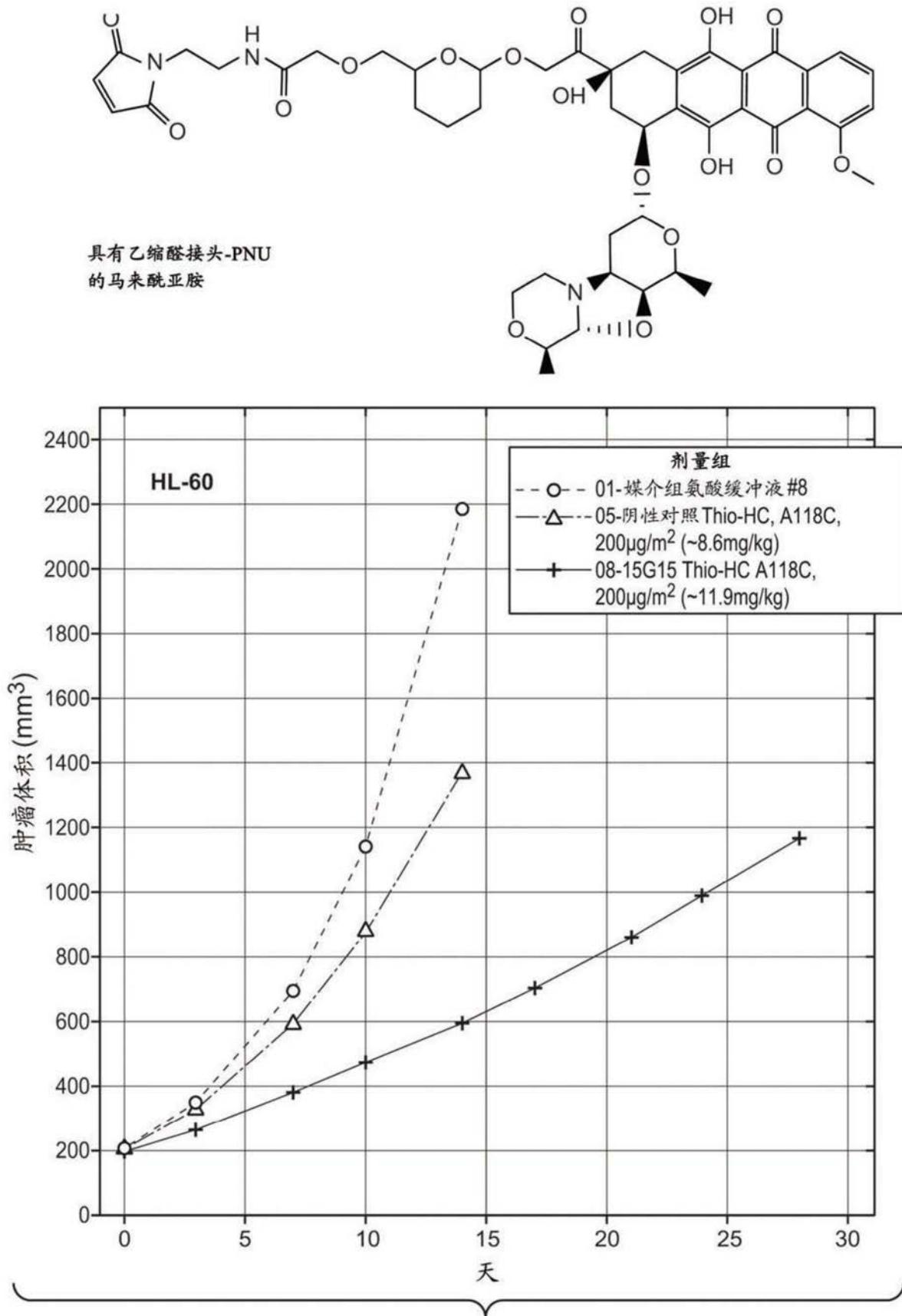


图17