



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111556876 B

(45) 授权公告日 2024. 10. 18

(21) 申请号 201880069901.2
(22) 申请日 2018.10.16
(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111556876 A
(43) 申请公布日 2020.08.18
(30) 优先权数据
62/577,922 2017.10.27 US
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.04.26
(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/IB2018/058013 2018.10.16
(87) PCT国际申请的公布数据
W02019/082020 EN 2019.05.02
(83) 生物保藏信息
PTA-124283 2017.06.29
PTA-124284 2017.06.29
(73) 专利权人 辉瑞公司
地址 美国纽约

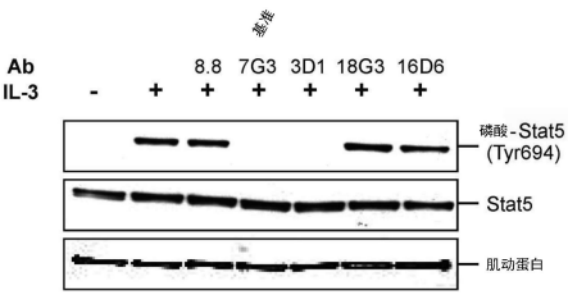
(72) 发明人 M·B·查拉蒂 Y·C·韩
M·卡特拉格达
N·M·皮什-尼古拉斯
L·N·图梅
(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
72002
专利代理师 王健 林晓红
(51) Int.Cl.
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 47/68 (2006.01)
C07F 9/6561 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
(56) 对比文件
W0 2017004026 A1, 2017.01.05
CN 106459055 A, 2017.02.22
US 2013230543 A1, 2013.09.05
审查员 李雪莹
权利要求书4页 说明书56页
序列表71页 附图2页

(54) 发明名称

对CD123具有特异性的抗体和抗体-药物缀合物及其用途

(57) 摘要

本发明提供特异性结合CD123的抗体。本发明进一步涉及包含这些抗体的免疫缀合物(例如抗体-药物缀合物或ADC)、编码抗体的核酸及获得这些抗体的方法。本发明进一步涉及使用这些抗体及ADC治疗与表达CD123的细胞有关的病症(例如癌症或自身免疫病)的治疗方法。



1. 一种分离的抗体,其特异性结合CD123,其中该抗体包含重链可变区及轻链可变区,所述重链可变区包含:
 - (i) 重链可变区互补决定区1,其由SEQ ID NO:7的氨基酸序列组成;
 - (ii) 重链可变区互补决定区2,其由SEQ ID NO:8或25的氨基酸序列组成;和
 - (iii) 重链可变区互补决定区3,其由SEQ ID NO:9的氨基酸序列组成;所述轻链可变区包含:
 - (iv) 轻链可变区互补决定区1,其由SEQ ID NO:18的氨基酸序列组成;
 - (v) 轻链可变区互补决定区2,其由SEQ ID NO:19的氨基酸序列组成;和
 - (vi) 轻链可变区互补决定区3,其由SEQ ID NO:20的氨基酸序列组成。
2. 权利要求1的分离的抗体,其中所述重链可变区包含重链可变区互补决定区2,所述重链可变区互补决定区2由SEQ ID NO:25的氨基酸序列组成。
3. 权利要求2的分离的抗体,其中所述重链可变区由SEQ ID NO:24的氨基酸序列或其不在互补决定区内的残基中具有一或若干个保守性氨基酸取代的变体组成,和/或所述轻链可变区由SEQ ID NO:28的氨基酸序列或其不在互补决定区内的氨基酸中具有一或若干个氨基酸取代的变体组成。
4. 权利要求2的分离的抗体,其中所述抗体包含轻链及重链,所述轻链由SEQ ID NO:30所示的序列组成,所述重链由SEQ ID NO:27所示的序列组成。
5. 权利要求1的分离的抗体,其中所述重链可变区由SEQ ID NO:6的氨基酸序列或其不在互补决定区内的残基中具有一或若干个保守性氨基酸取代的变体组成,和/或所述轻链可变区由SEQ ID NO:17的氨基酸序列或其不在互补决定区内的氨基酸中具有一或若干个氨基酸取代的变体组成。
6. 权利要求5的分离的抗体,其中所述抗体包含轻链及重链,所述轻链由SEQ ID NO:23的氨基酸序列组成,所述重链由SEQ ID NO:15的氨基酸序列组成。
7. 一种分离的抗体,其特异性结合CD123,其中所述抗体包含由具有ATCC登记号PTA-124283的表达载体产生的重链可变区及由具有ATCC登记号PTA-124284的表达载体产生的轻链可变区。
8. 权利要求1-7任一项的分离的抗体,其中所述抗体包含于特定位置经工程改造的含有酰基供体谷氨酰胺的标签。
9. 权利要求8的分离的抗体,其中所述含有酰基供体谷氨酰胺的标签包含选自如下的氨基酸序列:Q、LQG、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、LLQ、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:93、SEQ ID NO:94、SEQ ID NO:95、SEQ ID NO:96、SEQ ID NO:97、SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107及SEQ ID NO:108。
10. 权利要求9的分离的抗体,其中所述含有酰基供体谷氨酰胺的标签是SEQ ID NO:78。
11. 权利要求9或10的分离的抗体,其中所述抗体进一步包含在位置222、340或370的氨基酸修饰。

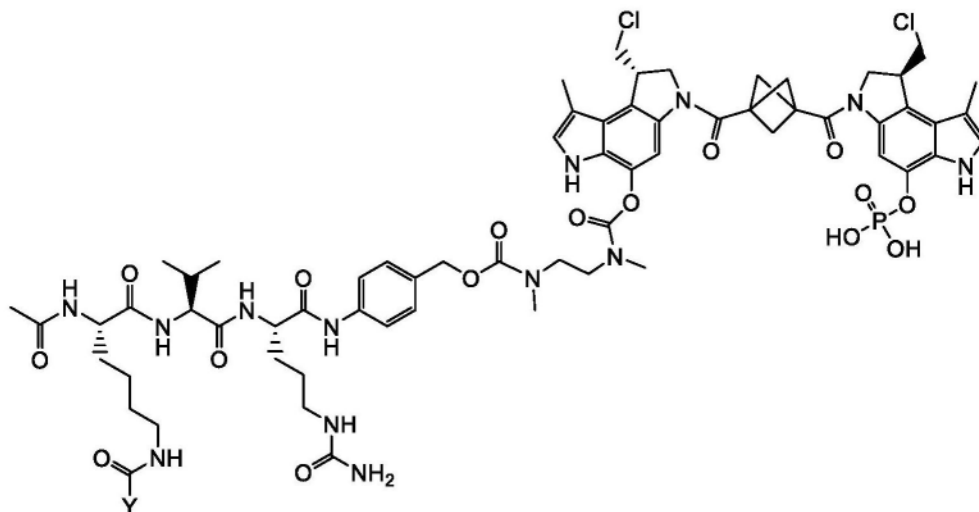
12. 权利要求11的分离的抗体,其中所述氨基酸修饰是将赖氨酸取代为精氨酸。
13. 权利要求12的分离的抗体,其中所述氨基酸修饰是K222R。
14. 权利要求1的分离的抗体,其中所述抗体包含接头。
15. 权利要求14的分离的抗体,其中所述接头是可切割接头。
16. 权利要求14的分离的抗体,其中所述接头选自:乙酰基-赖氨酸-甘氨酸、氨基己酸、乙酰基-赖氨酸- β -丙氨酸、氨基-PEG2(聚乙二醇)-C2、氨基-PEG3-C2、氨基-PEG6-C2、乙酰基-赖氨酸-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基、氨基-PEG6-C2-Val-Cit-PABC、氨基己酰基-Val-Cit-PABC、[(3R,5R)-1-{3-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]丙酰基}哌啶-3,5-二基]双-Val-Cit-PABC、[(3S,5S)-1-{3-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]丙酰基}哌啶-3,5-二基]双-Val-Cit-PABC、腐胺及Ac-Lys-腐胺。
17. 权利要求16的分离的抗体,其中所述接头是乙酰基-赖氨酸-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基。
18. 一种权利要求1-17任一项的分离的抗体的缀合物,其中所述抗体与药剂缀合。
19. 权利要求18的缀合物,其中所述药剂选自:细胞毒性剂、免疫调节剂、显影剂、治疗蛋白质、生物聚合物及寡核苷酸。
20. 权利要求19的缀合物,其中所述细胞毒性剂选自:环丙基吡咯并吡啶(CPI)二聚体、CTI二聚体和iPr-卡利奇霉素。
21. 权利要求19或20的缀合物,其中所述细胞毒性剂是环丙基吡咯并吡啶二聚体。
22. 权利要求21的缀合物,其中所述环丙基吡咯并吡啶二聚体是C31H31C12N4O7P或其在药学上可接受的盐或溶剂合物,包括C31H31C12N4O7P·C2HF3O2。
23. 权利要求19的缀合物,其中所述缀合物包含下式:抗体-(含有酰基供体谷氨酰胺的标签)-(接头)-(细胞毒性剂)。
24. 权利要求23的缀合物,其中所述含有酰基供体谷氨酰胺的标签包含氨基酸序列SEQ ID NO:78且其中所述接头包含乙酰基-赖氨酸-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基。
25. 权利要求23的缀合物,其中所述含有酰基供体谷氨酰胺的标签在位置E294-N297插入抗体。
26. 权利要求18的缀合物,其中所述缀合物在根据Kabat的EU指数编号的抗体位置222处包含由赖氨酸成为精氨酸的氨基酸取代。
27. 一种药物组合物,其包含治疗有效量的权利要求1-17任一项的分离的抗体或权利要求18-26任一项的缀合物及药学上可接受的载体。
28. 一种分离的多核苷酸,其包含编码权利要求1-17任一项的分离的抗体的核苷酸序列。
29. 一种载体,其包含权利要求28的多核苷酸。
30. 一种分离的宿主细胞,其重组产生权利要求1-17任一项的分离的抗体。
31. 一种产生分离的抗体的方法,其中所述方法包括在导致产生所述抗体的条件下培养权利要求30的宿主细胞及自该宿主细胞或培养物分离所述抗体。
32. 权利要求27的药物组合物在制备用于治疗对象中与表达CD123的细胞相关的病症的药物中的用途,
其中所述抗体与选自环丙基吡咯并吡啶(CPI)二聚体、CTI二聚体和iPr-卡利奇霉素

的细胞毒性剂缀合;并且

其中所述与表达CD123的细胞相关的病症是急性髓性白血病、人髓性单核细胞白血病或人急性髓性白血病。

33. 权利要求32的用途,其中所述对象中与表达CD123的细胞相关的病症是急性髓性白血病。

34. 一种用于将权利要求1-7任一项的分离的抗体与具有如下结构的AcLysValCitPABC-DMAE-CO₂CPI-000638314 (AcLysPABC-CPI-8314) 缀合的方法,



所述方法包含:

制备组合物,该组合物于包含30至100mM KPO₄及150至200mM NaCl的缓冲剂中包含抗体与AcLysPABC-CPI-8314;

添加细菌转谷氨酰胺酶至该组合物;及

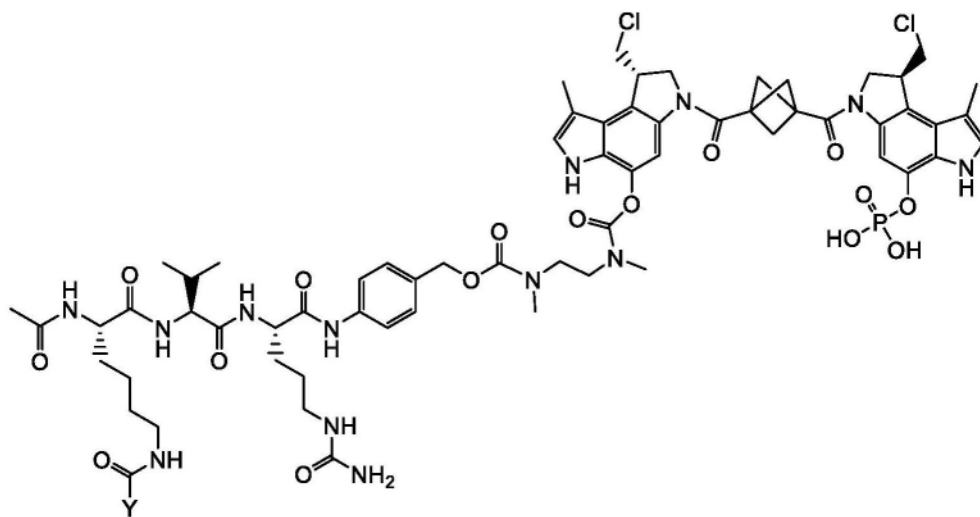
保温该组合物以允许所述抗体与所述AcLysPABC-CPI-8314缀合。

35. 权利要求34的方法,其中所述组合物的pH为7。

36. 权利要求34或35的方法,其中所述组合物包含每mg抗体0.5至2单位的细菌转谷氨酰胺酶。

37. 权利要求34的方法,其中所述组合物包含每mg抗体1单位的细菌转谷氨酰胺酶。

38. 权利要求34的方法,其中所述具有如下结构的AcLysPABC-CPI-8314以对所述抗体10倍摩尔过量存在



39. 权利要求34的方法,其中所述组合物在25℃和持续混合下过夜保温。
40. 权利要求34的方法,其中所述组合物进一步包含7.5% (v/v)的二甲亚砷。
41. 权利要求34的方法,其中所述缓冲剂包含30mM KPO_4 及150mM NaCl 。
42. 权利要求34的方法,其中所述缓冲剂包含100mM KPO_4 及200mM NaCl 。

对CD123具有特异性的抗体和抗体-药物缀合物及其用途

[0001] 序列表的引用

[0002] 本申请经EFS-Web以电子方式提交,包括.txt格式的电子提交序列表。该.txt文档包含标题为“PC72333_SEQ_LIST_ST25.txt”的序列表,建立日期2017年10月27日,大小78KB。此.txt文档包含的序列表是本说明书的一部分,以其全文并入本文参考。

技术领域

[0003] 本发明涉及抗体,例如特异性结合CD123的全长抗体。本发明进一步涉及包含所述CD123抗体的缀合物(例如抗体-药物缀合物或“ADC”)、包含所述CD123抗体或其缀合物的组合物及使用所述CD123抗体或其缀合物治疗与表达CD123的细胞有关的病症(例如癌症)的方法。

背景技术

[0004] CD123是介白素-3受体的 α 链(IL-3R α 或IL3RAa),其与常见 β 链CD131形成异二聚体以帮助传递IL-3的信号。IL-3的生物学作用是刺激多能性细胞的存活及增殖。据信CD123涉及刺激急性骨髓性白血病(AML)细胞的增殖且在肿瘤生物学上具有直接功能。CD123经常表达在白血病干细胞(LSC)上,这种细胞群与病患复发相关。在正常人组织中,CD123表达大多限制在造血细胞,特别是浆细胞样树突细胞(pDC),其构成<0.4%的人外周血单个核细胞。作为先天性免疫的组分,pDC应达病毒及细菌性刺激产生大量1型干扰素(IFN- α/β)。重要的是,CD123不表达在造血干细胞上。

[0005] 预期白血病、淋巴瘤及骨髓瘤的新病例将占2017年在美国所诊断的1,688,780例预估新癌症病例的10.2%。CD123表达在多种血液恶性病的癌细胞上,包括急性骨髓性白血病(AML),其中其表达>80%。表达CD123的血液癌细胞实例包括母细胞及白血病干细胞。与CD123表达相关的疾病包括AML、骨髓增生异常综合征(MDS;低及高风险)、急性淋巴细胞性白血病(ALL,所有亚型)、弥漫性大型B细胞淋巴瘤(DLBCL)、慢性骨髓性白血病(CML)及母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤(BPDCN)。

[0006] 目前,这些疾病的治疗包括超过50种个别药物,尚有其他正在进行研究及临床试验。放射疗法还经常用于治疗血液癌症,有时连同药物疗法一起施用。还使用免疫疗法、基因疗法及个体化用药。然而,这些疗法可具有显著副作用及不良反应。因此,需要为表达CD123(IL-3R α)的血液癌症提供新的改善的治疗。

发明内容

[0007] 在本文中揭示的本发明涉及结合CD123的抗体及包含结合CD123的抗体的缀合物,如抗体-药物缀合物(ADC),以及制备及使用这些抗体及ADC治疗病症的方法。

[0008] 本文提供了特异性结合CD123的抗体。在一些实施方案中,本发明提供了一种分离的抗体,其特异性结合CD123,其中该抗体包含:重链可变区(VH)及轻链可变区(VL),所述重链可变区包含如下VH的三个互补决定区(CDR),该VH包含SEQ ID NO:6、24、32、44、51或64的

氨基酸序列,所述轻链可变区包含如下VL的三个CDR,该VL包含SEQ ID NO:17、28、39、48、57或71的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH可包含:(i)VH CDR1,其包含SEQ ID NO:7、33、52或65的氨基酸序列;(ii)VH CDR2,其包含SEQ ID NO:8、25、34、45、53或66的氨基酸序列;及(iii)VH CDR3,其包含SEQ ID NO:9、35、46或67的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL区可包含:(i)VL CDR1,其包含SEQ ID NO:18、40、58或72的氨基酸序列;(ii)VL CDR2,其包含SEQ ID NO:19、42、60或74的氨基酸序列;及(iii)VL CDR3,其包含SEQ ID NO:20、42、60或74的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH可包含:(i)VH CDR1,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;(ii)VH CDR2,其包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列;及(iii)VH CDR3,其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VL可包含:(i)VL CDR1,其包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;(ii)VL CDR2,其包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列;及(iii)VL CDR3,其包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH可包含如SEQ ID NO:24或其在非CDR内的残基中具有一或多个保守性氨基酸取代的变体所示的序列,和/或所述VL可包含如SEQ ID NO:28或其在非CDR内的氨基酸中具有一或多个氨基酸取代的变体所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗体可包含轻链及重链,所述轻链包含如SEQ ID NO:30所示的序列,所述重链包含如SEQ ID NO:27所示的序列。

[0009] 还提供一种分离的抗体,其特异性结合CD123且包含由具有ATCC登记号PTA-124283的表达载体所产生的重链可变区及由具有ATCC登记号PTA-124284的表达载体所产生的轻链可变区。

[0010] 还提供分离的抗体,其特异性结合CD123且与包含下列重链可变区(VH)及VL的抗体竞争结合CD123,所述重链可变区包含如下VH的三个CDR,该VH包含SEQ ID NO:6、24、32、44、51或64的氨基酸序列;所述VL包含如下VL的三个CDR,该VL包含SEQ ID NO:17、28、39、48、57或71的氨基酸序列。

[0011] 还提供分离的CD123抗体,其包含:包含SEQ ID NO:7、8及9的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:18、19及20的氨基酸序列的VL。

[0012] 还提供分离的CD123抗体,其包含:包含SEQ ID NO:7、25及9的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:18、19及20的氨基酸序列的VL。

[0013] 还提供分离的CD123抗体,其包含:包含SEQ ID NO:33、34及35的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:40、41及42的氨基酸序列的VL。

[0014] 还提供分离的CD123抗体,其包含:包含SEQ ID NO:33、45及46的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:40、41及42的氨基酸序列的VL。

[0015] 还提供分离的CD123抗体,其包含:包含SEQ ID NO:52、53及54的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:58、59及60的氨基酸序列的VL。

[0016] 还提供分离的CD123抗体,其包含:包含SEQ ID NO:65、66及67的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:72、73及74的氨基酸序列的VL。

[0017] 在一些实施方案中,如本文所述的CD123抗体可包含经工程改造于特定位点包含含有酰基供体谷氨酰胺的标签。在一些实施方案中,该标签可包含选自如下的氨基酸序列:Q、LQG、LLQGG (SEQ ID NO:77)、LLQG (SEQ ID NO:78)、LSLSQG (SEQ ID NO:79)、GGLLQGG (SEQ ID NO:80)、GLLQG (SEQ ID NO:81)、LLQ、GSPLAQSHGG (SEQ ID NO:82)、GLLQGGG (SEQ ID NO:83)、GLLQGG (SEQ ID NO:84)、GLLQ (SEQ ID NO:85)、LLQLLQGA (SEQ ID NO:86)、

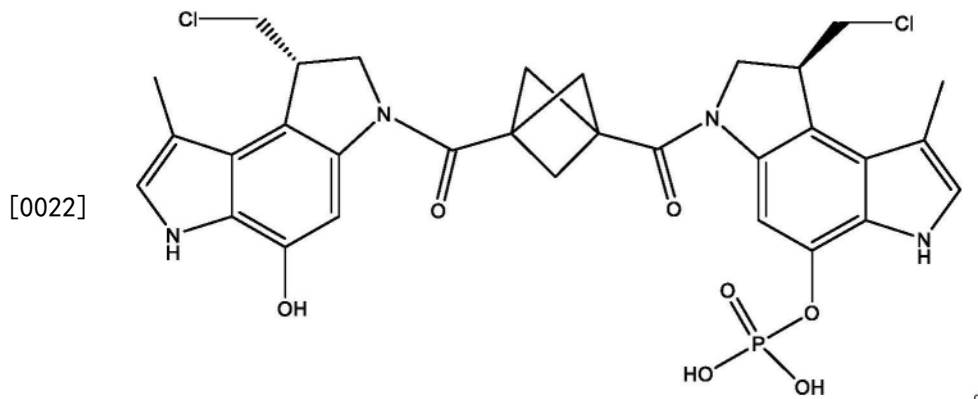
LLQGA (SEQ ID NO:87)、LLQYQGA (SEQ ID NO:88)、LLQSG (SEQ ID NO:89)、LLQYQG (SEQ ID NO:90)、LLQLLQ (SEQ ID NO:91)、SLLQ (SEQ ID NO:92)、LLQLQ (SEQ ID NO:93)、LLQLLQ (SEQ ID NO:94)、LLQGR (SEQ ID NO:95)、LLQGPP (SEQ ID NO:96)、LLQGPA (SEQ ID NO:97)、GGLLQGPP (SEQ ID NO:98)、GGLLQGA (SEQ ID NO:99)、LLQGPGK (SEQ ID NO:100)、LLQGPG (SEQ ID NO:101)、LLQGP (SEQ ID NO:102)、LLQP (SEQ ID NO:103)、LLQPGK (SEQ ID NO:104)、LLQAPGK (SEQ ID NO:105)、LLQGAPG (SEQ ID NO:106)、LLQGAP (SEQ ID NO:107) 及 LLQLQG (SEQ ID NO:108)。在一些实施方案中,所述含有谷氨酰胺的标签是LLQG (SEQ ID NO:78)。

[0018] 在一些实施方案中,本文所述的CD123抗体可包含在位置222、340或370处的氨基酸修饰。在一些实施方案中,所述氨基酸修饰可是赖氨酸至精氨酸的取代。在一些实施方案中,所述氨基酸修饰可为K222R。

[0019] 在一些实施方案中,本文所述的CD123抗体可包含接头。在一些实施方案中,所述接头可以是可切割的。在一些实施方案中,所述接头可选自:Ac-Lys-Gly (乙酰基-赖氨酸-甘氨酸)、氨基己酸、Ac-Lys- β -Ala (乙酰基-赖氨酸- β -丙氨酸)、氨基-PEG2 (聚乙二醇)-C2、氨基-PEG3-C2、氨基-PEG6-C2、Ac-Lys-Val-Cit-PABC (乙酰基-赖氨酸-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基)、氨基-PEG6-C2-Val-Cit-PABC、氨基己酰基-Val-Cit-PABC、[(3R,5R)-1-{3-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]丙酰基}哌啶-3,5-二基]双-Val-Cit-PABC、[(3S,5S)-1-{3-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]丙酰基}哌啶-3,5-二基]双-Val-Cit-PABC、腐胺及Ac-Lys-腐胺。在一些实施方案中,所述接头可为Ac-Lys-Val-Cit-PABC (乙酰基-赖氨酸-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基)。

[0020] 在一些实施方案中,本文所述的抗体包含恒定区。在一些实施方案中,所述抗体是人源化抗体。在一些实施方案中,所述抗体属于人IgG1、IgG2或IgG2 Δ a、IgG3或IgG4亚型。在一些实施方案中,所述抗体是IgG1抗体。在一些实施方案中,所述抗体包含N60G突变。

[0021] 还提供缀合物,其包含与药剂(agent)缀合的本文所述的CD123抗体。在一些实施方案中,所述药剂可选自:细胞毒性剂、免疫调节剂、显影剂、治疗蛋白质、生物聚合物及寡核苷酸。在一些实施方案中,所述药剂可为细胞毒性剂。在一些实施方案中,所述细胞毒性剂可选自:蒽环类化合物(anthracycline)、耳抑素(auristatin)、喜树碱、考布他汀(combretastatin)、CBI二聚体、环丙基吡咯并吡啶(CPI)二聚体、CTI二聚体、海兔毒素(dolastatin)、多卡米星(duocarmycin)、烯二炔、格尔德霉素(geldanamycin)、吡咯并苯并二氮杂卓二聚体、美坦辛(maytansine)、嘌呤霉素、吡咯并苯并二氮杂卓二聚体、紫杉烷、长春花生物碱、微管溶素(tubulysin)、半星芒体(hemiasterlin)、司普利西欧他汀(spliceostatin)、普拉二烯内酯(pladienolide)及其立体异构体、电子等排体、类似物或衍生物。在一些实施方案中,所述细胞毒性剂可为CPI二聚体。在一些实施方案中,所述CPI二聚体是CPI-8314。在一些实施方案中,所述CPI二聚体可具有下列结构:



[0023] 在一些实施方案中,所述细胞毒性剂可具有IUPAC名称:(8S)-8-(氯甲基)-6-[(3-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吡啶-3(2H)-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吡啶-4-基二氢磷酸盐。在一些实施方案中,所述细胞毒性剂可为C31H31Cl2N4O7P或药物可接受的盐或溶剂合物。在一些实施方案中,所述细胞毒性剂可为三氟乙酸(TFA)盐形式:C31H31Cl2N4O7P.C2HF3O2。

[0024] 在其他实施方案中,所述细胞毒性剂可为MMAD(单甲基耳抑素D)、0101(2-甲基丙氨酰基-N-[(3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-{[(1S)-2-苯基-1-(1,3-噻唑-2-基)乙基]氨基}丙基]吡咯烷-1-基}-5-甲基-1-氧庚-4-基]-N-甲基-L-缬氨酰胺)、3377(N,2-二甲基丙氨酰基-N-{(1S,2R)-4-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S)-1-羧基-2-苯基乙基]氨基}-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基]吡咯烷-1-基}-2-甲氧基-1-[(1S)-1-甲基丙基]-4-氧代丁基}-N-甲基-L-缬氨酰胺)、0131(2-甲基-L-脯氨酰基-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S)-1-羧基-2-苯基乙基]氨基}-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基]吡咯烷-1-基}-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基]-N-甲基-L-缬氨酰胺)或0121(2-甲基-L-脯氨酰基-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-甲氧基-1-氧代-3-苯基丙-2-基]氨基}-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基]吡咯烷-1-基}-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基]-N-甲基-L-缬氨酰胺)。

[0025] 在一些实施方案中,所述缀合物可包含下式:抗体-(含有酰基供体谷氨酰胺的标签)-(接头)-(细胞毒性剂)。在一些实施方案中,所述含有酰基供体谷氨酰胺的标签可包含氨基酸序列LLQG(SEQ ID NO:78)且所述接头可包含乙酰基-赖氨酸-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基。在一些实施方案中,所述含有酰基供体谷氨酰胺的标签可插入抗体位置E294-N297。在一些实施方案中,所述缀合物可在根据Kabat的EU指数编号的抗体位置222处进一步包含赖氨酸至精氨酸的氨基酸取代(K222R)。

[0026] 还提供药物组合物,其包含治疗有效量的本文所述CD123抗体或本文所述的CD123ADC及药学可接受的载剂。

[0027] 还提供分离的多核苷酸,其包含编码本文所述CD123抗体的核苷酸序列。还提供载体,其包含这种多核苷酸。

[0028] 还提供分离的宿主细胞,其重组产生本文所述CD123抗体的任一者。还提供产生抗体的方法,包括在导致产生所述抗体的条件下培养这种宿主细胞及自所述宿主细胞或培养物分离所述抗体。

[0029] 还提供治疗对象中与表达CD123的细胞相关的病症的方法,包括给有需要的对象

施用治疗有效量的药物组合物,该药物组合物包含本文所述CD123抗体之任一者或任一所述抗体的缀合物及药学上可接受的载剂。在一些实施方案中,所述病症是癌症。在一些实施方案中,所述癌症可为选自下组中的癌症:急性髓性白血病(AML)、急性淋巴细胞性白血病(ALL)、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤(BPDCN)、毛细胞白血病、B细胞非霍奇金氏(non-Hodgkin's)淋巴瘤(NHL)、多发性骨髓瘤、恶性浆细胞肿瘤、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)、结节性淋巴细胞为主型霍奇金氏淋巴瘤、卡勒氏病(Kahler's disease)及骨髓瘤病、浆细胞白血病、浆细胞瘤、B细胞幼淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、滤泡性淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、边缘区淋巴瘤、外套细胞淋巴瘤、大细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞淋巴瘤、髓样白血病、瓦登斯特隆巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、粘膜相关淋巴组织淋巴瘤、小细胞淋巴细胞性淋巴瘤、外套细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)、原发性纵隔(胸腺)大B细胞淋巴瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤、瓦登斯特隆巨球蛋白血症(Waldenström macroglobulinemia)、结内边缘区B细胞淋巴瘤、脾边缘区淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、淋巴瘤样肉芽肿病、富含T细胞/组织细胞大B细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性皮肤弥漫性大B细胞淋巴瘤(腿型)、老年人之EBV阳性弥漫性大B细胞淋巴瘤、炎症相关弥漫性大B细胞淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、ALK阳性大B细胞淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、HHV8相关多中心型克氏特曼病(HHV8-associated multicentric Castleman disease)中产生的大B细胞淋巴瘤、特征介于弥漫性大B细胞淋巴瘤与伯基特淋巴瘤之间的未分类的B细胞淋巴瘤、特征介于弥漫性大B细胞淋巴瘤与典型霍奇金淋巴瘤之间的未分类的B细胞淋巴瘤及其他B细胞相关淋巴瘤。在一些实施方案中,所述癌症是AML。

[0030] 还提供在具有表达CD123的恶性细胞的对象中抑制肿瘤生长或进展的方法,包括给有需要的对象施用治疗有效量的药物组合物,该药物组合物包含本文所提供的CD123抗体之任一者或所述抗体任一者的缀合物及药学上可接受的载剂。

[0031] 还提供抑制对象中表达CD123的恶性细胞转移的方法,包括给有需要的对象施用治疗有效量的药物组合物,该药物组合物包含本文所提供的CD123抗体之任一者或所述抗体任一者的缀合物及药学上可接受的载剂。

[0032] 还提供在具有表达CD123的恶性细胞的对象中诱导肿瘤退行的方法,包括给有需要的对象施用治疗有效量的药物组合物,该药物组合物包含本文所提供的CD123抗体之任一者或所述抗体任一者的缀合物及药学上可接受的载剂。

[0033] 在另一方面,本发明提供有效量的组合物(例如药物组合物),其包含本文所述CD123抗体或CD123 ADC用于治疗有需要的对象中与CD123表达相关的病症(例如癌症或自身免疫病)。在一些实施方案中,有效量的组合物(例如药物组合物)包含用于在具有表达CD123的恶性细胞的对象中抑制肿瘤生长或进展的本文所述的CD123抗体或CD123 ADC。在一些实施方案中,提供有效量的组合物(例如药物组合物),其包含用于在有需要的对象中抑制表达CD123的恶性细胞转移的本文所述的CD123抗体或CD123 ADC。在一些实施方案中,有效量的组合物(例如药物组合物)包含用于在具有表达CD123的恶性细胞的对象中诱导肿瘤退行的本文所述的CD123抗体或CD123 ADC。

[0034] 在另一方面中,本发明提供本文所述的CD123抗体或CD123 ADC用于治疗有需要的

对象中与CD123表达相关的病症(例如癌症或自身免疫病)。在一些实施方案中,提供本文所述的CD123抗体或CD123 ADC用于在具有表达CD123的恶性细胞的对象中抑制肿瘤生长或进展。在一些实施方案中,提供本文所述的CD123抗体或CD123 ADC用于在有需要的对象中抑制表达CD123的恶性细胞的转移。在一些实施方案中,提供本文所述的CD123抗体或CD123 ADC用于在具有表达CD123的恶性细胞的对象中诱导肿瘤退行。

[0035] 在另一方面,本发明提供本文所述的CD123抗体或CD123 ADC在制备用于治疗与CD123表达相关的病症(例如癌症或自身免疫病)的药物中的用途。在一些实施方案中,提供了本文所述的CD123抗体或CD123 ADC在制备用于抑制肿瘤生长或进展的药物中的用途。在一些实施方案中,提供了本文所述的CD123抗体或CD123 ADC在制备用于抑制表达CD123的恶性细胞转移的药物中的用途。在一些实施方案中,提供了本文所述的CD123抗体或CD123 ADC在制备用于诱导肿瘤退行的药物中的用途。

[0036] 本文还提供了将抗体与AcLysValCitPABC-DMAE-CO₂-CPI-000638314 (AcLysPABC-CPI-8314) 缀合的方法。在一些实施方案中,该方法包括制备组合物,该组合物包含于包含30至100mM KPO₄及150至200mM NaCl的缓冲剂中的抗体与AcLysPABC-CPI-8314;添加细菌转谷氨酰胺酶至该组合物;及温育该组合物以允许所述抗体与AcLysPABC-CPI-8314缀合。在一些实施方案中,该组合物的pH为7。在一些实施方案中,该组合物包含每mg抗体0.5至2单位(U)的细菌转谷氨酰胺酶。在一些实施方案中,该组合物包含每mg抗体1U的细菌转谷氨酰胺酶。在一些实施方案中,AcLysPABC-CPI-8314以对所述抗体10倍摩尔过量存在。在一些实施方案中,该组合物在25℃和持续混合下过夜保温。在一些实施方案中,该组合物进一步包含7.5% (v/v) 二甲亚砜(DMSO)。在一些实施方案中,缓冲剂包含30mM KPO₄及150mM NaCl。在一些实施方案中,缓冲剂包含100mM KPO₄及200mM NaCl。在一些实施方案中,所述抗体是抗肿瘤抗体。在一些实施方案中,所述抗肿瘤抗体是CD123抗体。

[0037] 附图简述

[0038] 图1描绘用IL-3加抗体(“Ab”)处理的细胞的Western印迹分析结果。7G3是基准抗体且3D1、18G3及16D6是CD123抗体;8.8是不结合CD123的阴性对照抗体。分析STAT5、磷酸化的STAT5及肌动蛋白水平。

[0039] 图2描绘代表性流式细胞术分析,显示在用媒介物或CD123-ADC(CD123-18G3-CPI)治疗后的动物模型中,外周血(左图)及骨髓(右图)中剩余的肿瘤细胞百分比。

[0040] 图3描绘的图总结了用媒介物或所示剂量的CD123 ADC治疗的动物的存活期长度(以天计)。

[0041] 发明详述

[0042] 本文揭示的发明提供特异性结合CD123(例如人CD123)的抗体及抗体-药物缀合物(ADC)。本发明还提供编码这些抗体的多核苷酸、包含这些抗体的组合物及制备及使用这些抗体的方法。本发明还提供治疗对象中与CD123表达相关的病症如癌症或自身免疫病的方法。

[0043] 一般技术

[0044] 除非另外说明,本发明的实施将采用分子生物学(包括重组技术)、微生物学、细胞生物学、生物化学及免疫学的常规技术,这些均在本领域技术范围内。这些技术于文献中充分解释,如Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook et

al.,1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M.J.Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E.Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I.Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P.Mather and P.E.Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A.Doyle, J.B.Griffiths, and D.G.Newell, eds., 1993-1998) J.Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D.M.Weir and C.C.Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M.Miller and M.P.Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F.M.Ausubel et al., eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J.E.Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C.A.Janeway and P.Travers, 1997); Antibodies (P.Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D.Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P.Shepherd and C.Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E.Harlow and D.Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M.Zanetti and J.D.Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)。

[0045] 定义

[0046] “抗体”是免疫球蛋白分子,可通过位于该免疫球蛋白分子的可变区的至少一个抗原辨认位点特异性结合靶,如碳水化合物、多核苷酸、脂质、多肽等。如本文所用,该术语不仅涵盖完整多克隆或单克隆抗体,还涵盖其抗原结合片段(如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv)、单链抗体(ScFv)和结构域抗体(包括例如鲨鱼及骆驼抗体)、及包含抗体的融合蛋白,及任何其他包含抗原辨认位点的免疫球蛋白分子的经修饰的构型。抗体包括任何类型的抗体,如IgG、IgA或IgM(或其亚型),且该抗体不需要是任何特定类型。根据其重链恒定区的抗体氨基酸序列,免疫球蛋白可被分成不同类型。有五种主要的免疫球蛋白类型: IgA、IgD、IgE、IgG及IgM,其中某些类型可进一步分成亚型(同种型),例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。对应不同类型免疫球蛋白的重链恒定区分别被称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 。不同类型免疫球蛋白的亚基结构及三维构型是熟知的。

[0047] 如本文所用,抗体术语“抗原结合片段”或“抗原结合部分”是指完整抗体的一或多个片段,其保留特异性结合给定抗原(例如CD123)的能力。抗体的抗原结合功能可藉由完整抗体的片段实现。抗体术语“抗原结合片段”所涵盖的结合片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')₂、由重链可变区(VH)及CH1结构域组成的Fd片段、由抗体单臂的VL及VH结构域组成的Fv片段、单结构域抗体(dAb)片段(Ward et al., Nature 341:544-546, 1989)及分离的互补决定区(CDR)。

[0048] 与靶(例如CD123蛋白质)“优先结合”或“特异性结合”(本文可互换使用)的抗体、ADC或多肽是本领域熟知的术语,且确定这种特异性或优先结合的方法也是本领域熟知的。若分子与特定细胞或物质的反应或缔合相较于其与其他细胞或物质更频繁、更快速、更长持续时间和/或具有更高亲和性,则该分子被称为展现“特异性结合”或“优先结合”。若抗体

与靶相较于与其他物质以更高亲和性、亲合力(avidity)、更快速和/或更长持续时间结合,则该抗体“特异性结合”或“优先结合”靶。例如,特异性或优先结合CD123表位的抗体是指相较于与其他CD123表位或非CD123表位结合,以更高亲和性、亲合力、更快速和/或更长持续时间与此表位结合的抗体。藉由阅读此定义还可了解,例如,与第一靶特异性或优先结合的抗体(或部分或表位)可能与第二靶或不与第二靶特异性或优先结合。因此,“特异性结合”或“优先结合”不一定需要(虽然可包括)排他性结合。一般来说(但不必然),提及结合是指优先结合。

[0049] 抗体的“可变区”是指抗体轻链的可变区或抗体重链的可变区(不论单独或组合指称)。如本领域所知,重链及轻链的可变区各由四个构架区(FR)及连接该四个构架区的三个互补决定区(CDR)组成,CDR还称为超变区。各链中的CDR藉由FR被拉近,且与另一链的CDR形成抗体的抗原结合位点。有至少两种用于确定CDR的技术:(1)基于跨物种序列变异性的方法(即Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5th ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda MD));及(2)基于抗原-抗体复合物的结晶学研究的方法(Al-lazikani et al., 1997, J. Molec. Biol. 273:927-948)。如本文所用,CDR可以指以任一方法或两种方法组合所定义的CDR。

[0050] 可变结构域的“CDR”是位于可变区内的氨基酸残基,其根据Kabat定义、Chothia定义、Kabat和Chothia二者的累积定义、AbM定义、接触定义和/或构象定义或本领域熟知的任何CDR确定方法来鉴定。抗体CDR可能被识别为原本由Kabat等人所定义的超变区。见例如Kabat et al., 1992, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, NIH, Washington D.C.。CDR的位置还可能被识别为最先由Chothia等人所描述的结构性环结构。见例如Chothia et al., Nature 342:877-883, 1989。其他识别CDR的方法包括“AbM定义”,其为Kabat及Chothia的折衷,源自利用Oxford Molecular's AbM抗体建模软件(现为Accelrys®),或如MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745, 1996所述的基于抗原接触观察的CDR的“接触定义”。在此处称为CDR的“构象定义”的另一方法中,CDR的位置可能被识别为对抗原结合造成焓贡献的残基。见例如Makabe et al., Journal of Biological Chemistry, 283:1156-1166, 2008。其他CDR边界定义可能仍不严格遵守上述方法之一,但将与至少部分的Kabat CDR重叠,不过它们可能根据特定残基或残基群或甚至整个CDR不显著影响抗原结合的预测或实验结果被缩短或延长。如本文所用,CDR可能指由本领域已知的任何方法(包括方法组合)所定义的CDR。本文所用的方法可利用根据这些方法中任一者所定义的CDR。以包含超过一个CDR的任何给定实施方案而言,该CDR可根据Kabat、Chothia、延长、AbM、接触和/或构象定义中任一者加以定义。

[0051] 术语“多肽”、“寡肽”、“肽”及“蛋白质”在本文可互换使用以指称任何长度的氨基酸链,优选相对短(例如10至100个氨基酸)的氨基酸链。该链可为线性或分支的,其可能包含经修饰的氨基酸和/或可能被非氨基酸中断。该术语还涵盖经天然或人为干预修饰的氨基酸链;例如二硫键形成、糖基化、脂化、乙酰化、磷酸化或任何其他操纵或修饰,如与标记成份缀合。该定义还包括例如含一或多个氨基酸类似物(包括例如非天然氨基酸等)的多肽,以及包含本领域已知其他修饰的多肽。应理解,该多肽可以单链或缔合链存在。

[0052] 本发明的抗体可利用本领域熟知的技术产生,例如重组技术、噬菌体展示技术、合

成技术或这些技术的组合、或本领域容易已知的其他技术(见例如Jayasena, S. D., Clin. Chem., 45:1628-50, 1999及Fellouse, F. A., et al, J. Mol. Biol., 373(4):924-40, 2007)。

[0053] 如本领域所知,“多核苷酸”或“核酸”在本文可互换使用,指任何长度的核苷酸链,包括DNA及RNA。该核苷酸可为脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、经修饰的核苷酸或碱基和/或其类似物,或任何可藉由DNA或RNA聚合酶被掺入链中的底物。多核苷酸可包含经修饰的核苷酸,如甲基化的核苷酸及其类似物。若存在的话,对核苷酸结构的修饰可在该链组装之前或之后进行。核苷酸的序列可被非核苷酸成分中断。多核苷酸在聚合之后可进一步被修饰,如与标记成分缀合。其它类型的修饰包括例如“加帽(caps)”、以类似物取代一或多个天然发生的核苷酸、核苷酸间修饰如例如用具有不带电的键(例如甲基磷酸酯、磷酸三酯、磷酸酰胺化物、氨基甲酸酯等)及带电的键(例如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯等)的那些、含有侧基团的那些,如例如蛋白质(例如核酸酶、毒素、抗体、信号肽、聚L-赖氨酸等)、具有嵌入剂(例如吡啶、补骨脂素等)的那些、含有螯合剂(例如金属、放射性金属、硼、氧化性金属等)的那些、含有烷化剂的那些、具有经修饰的键(例如 α 异头核酸等)的那些以及未经修饰的多核苷酸形式。另外,任何通常存在于糖类中的羟基可能被例如磷酸基、磷酸基取代、被标准保护基保护或被活化以制备与其他核苷酸的额外键,或可能与固体支持物缀合。该5'及3'端OH可被磷酸化或被胺或1至20个碳原子的有机加帽基团取代。其他羟基还可被衍生化为标准保护基。多核苷酸还可含有本领域通常已知的核糖或脱氧核糖糖类的类似形式,包括例如2'-O-甲基-核糖、2'-O-烯丙基核糖、2'-氟代-核糖或2'-叠氮基-核糖、碳环糖类似物、 α 或 β 异头糖类、差向异构体糖类如阿拉伯糖、木糖或来苏糖、吡喃糖糖类、呋喃糖糖类、景天庚酮糖、非环类似物及无碱基核苷类似物如甲基核苷。一或多个磷酸二酯键可被替代性连接基团取代。该些替代性连接基团包括但不限于其中磷酸酯被P(O)S(“硫代酯”)、P(S)S(“二硫代酯”)、(O)NR₂(“酰胺化物”)、P(O)R、P(O)OR'、CO或CH₂(“甲缩醛”)取代的实施方案,其中各R或R'是独立地H或经取代或未经取代的烷基(1至20个碳),该烷基任选地含有醚(-O-)键结、芳基、烯基、环烷基、环烯基或芳烷基(araldyl)。多核苷酸中的所有键不需要完全相同。前面的叙述适用于本文提及的所有多核苷酸,包括RNA及DNA。

[0054] 如本领域已知,抗体的“恒定区”是指单独或组合的抗体轻链的恒定区或抗体重链的恒定区。

[0055] 如本文所用,“实质上纯的”指其是至少50%纯的(即不含污染物)、更优选至少90%纯的、更优选至少95%纯的、甚至更优选至少98%纯的、且最优选至少99%纯的材料。

[0056] “宿主细胞”包括可以或已经接受载体以导入多核苷酸插入物的个别细胞或细胞培养物。宿主细胞包括单一宿主细胞的后代,且该后代可能因为天然、意外或蓄意突变而不一定与原始亲代细胞完全相同(在形态学或基因组DNA互补性上)。宿主细胞包括用本发明的多核苷酸体内转染的细胞。

[0057] 如本领域所知,术语“Fc区”是用于定义免疫球蛋白重链的C端区域。所述“Fc区”可能是天然序列Fc区或变体Fc区。虽然免疫球蛋白重链Fc区的边界可能不同,人IgG重链Fc区通常被定义为从Cys226或Pro230位置的氨基酸残基至其羧基端的片段。Fc区中残基的编号是如Kabat所述的EU指数编号。Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda,

Md., 1991。免疫球蛋白的Fc区通常包含两个恒定区CH2及CH3。

[0058] 如本文所用,关于抗体的术语“竞争”是指第一抗体或其抗原结合片段(或部分)与一个表位的结合的方式足够类似于第二抗体或其抗原结合部分的结合,使得第一抗体与其同源表位在第二抗体存在时的结合结果相较于第二抗体不存在时该第一抗体与其同源表位的结合可检测地降低。或者,可能是另一种情况但不一定是,即第二抗体与其表位的结合也因第一抗体的存在而可检测地降低。也就是说,第一抗体可抑制第二抗体与其表位的结合,但第二抗体不抑制该第一抗体与其各自表位的结合。然而,当各种抗体不论以相同、较高或较低程度可检测地抑制其它抗体与其同源表位或配体的结合时,该等抗体被称为彼此“交叉竞争”结合各自表位。本发明涵盖竞争抗体及交叉竞争抗体二者。不论这种竞争或交叉竞争所藉以发生的机制为何(例如空间位阻、构象变化或与共同表位或其部分结合),技术人员将了解根据本文提供的教导,本发明涵盖竞争和/或交叉竞争抗体且其可被用于本文所揭示的方法。

[0059] “天然序列Fc区”包含与天然发现的Fc区的氨基酸序列相同的氨基酸序列。“变体Fc区”包含与天然序列Fc区有至少一个氨基酸修饰之差异的氨基酸序列,但仍保留该天然序列Fc区的至少一种效应物功能。在一些实施方案中,该变体Fc区相较于天然序列Fc区或亲代多肽的Fc区具有至少一个氨基酸取代,例如在天然序列Fc区或亲代多肽的Fc区中约1至约10个氨基酸取代,且优选约1至约5个氨基酸取代。本文的变体Fc区将优选与天然序列Fc区和/或与亲代多肽的Fc区具有至少约80%的序列相同性,最优选至少约90%的序列相同性,更优选至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%的序列相同性。

[0060] 如本文所用,术语“CD123”指保留至少部分的CD123活性的任何形式的CD123及其变体。除非不同地指明,如特别提及人CD123,否则CD123包括所有哺乳动物物种的天然序列CD123,例如人、犬、猫、马及牛。例示性CD123序列示于表1。

[0061] 表1

SEQ ID NO:	描述	序列
1	人 CD123, 长亚型(信号肽下划线)	<u>METDTLLLWVLLWVPGSTG</u> TKEDPNPPITNLRMKAKAQQLTWDLNRNVTDIECVKADADYSMPAVN NSYCQFGAISLCEVTNYTVRVANPPFSTWILFPENSGKPWAGAENLTC WIHDVDFLSCSWAVGPGAPADVQYDLYLVANRRQQYECLHYKTD AQGTRIGCRFDDISRLSSGSQSSHILVRGRSAAFIPCTDKFVVFSSQIEI LTTPNMTAKCNKTHSFMHWKMRSHFNRKFRYELQIQKRMQPVITEQ VRDRTSFQLLNPGTYTVQIRARERVYEFLSAWSTPQRFECDEEGAN TRAWRTSLIALGTLLALVCVFVICRRYLVMQRLFPRIHPMKDPIGDS FQNDKLVVWEAGKAGLEECLVTEVQVVQKT
2	人 CD123, 长亚型 ECD 具有 Flag 和 Avi 标签(信号肽和标签)	<u>METDTLLLWVLLWVPGSTG</u> TKEDPNPPITNLRMKAKAQQLTWDLNRNVTDIECVKADADYSMPAVN NSYCQFGAISLCEVTNYTVRVANPPFSTWILFPENSGKPWAGAENLTC WIHDVDFLSCSWAVGPGAPADVQYDLYLVANRRQQYECLHYKTD AQGTRIGCRFDDISRLSSGSQSSHILVRGRSAAFIPCTDKFVVFSSQIEI

[0062]

[0063]

SEQ ID NO:	描述	序列
	下划线)	LTPPNMTAKCNKT HSFMHWKMRS HFNRKFRYELQIQKRMQPVITEQ VRDRTSFQLLNPGTYT VQIRARERVYEFLSAWSTPQRFECDAQEEGAN TRAWR <u>GGPPDYKDDDDKGGGLNDIFEAQKIEWHE</u>
3	人 CD123, 短亚型(信号肽下划线)	<u>METDTLLLWVLLWVPGSTG</u> TKEGKP WAG AENLT CWIHD VDF LSCSWAVGPGAPADVQYDLYLNVA NRRQQYECLHYKTD AQGTRIGCRFDDISRLSSGSQSSHILVRGRSAAF GIPCTDKF VVFSQIEILT PPNMTAKCNKT HSFMHWKMRS HFNRKFRY ELQIQKRMQPVITEQ VRDRTSFQLLNPGTYT VQIRARERVYEFLSAWS TPQRFECDAQEEGANTRAWRTSLIALGTLLALVCVF VICRRYLVMQR LFPRIPHKDPIGDSFQNDKLVVWEAGKAGLEECLVTEQVVQKT
4	食蟹猴 CD123, ECD 具有 Flag 和 Avi 标签(信号肽和标签下划线)	<u>METDTLLLWVLLWVPGSTGQ</u> TKEDPNAPIRNLRMKEKAQQLMWDLNRNVT DVECIKGT DY SMPAM NNSYCQFGAISLCEVTNYT VRVASPPFSTWILFPENSGT PRAGAENLT CWVHDVDFLSCSWVVGPAAPADVQYDLYLNNPNSHEQYRCLHYKT DARGTQIGCRFDDIARLSRGSQSSHILVRGRSAAVSIPCTDKF VVFSQI ERLTPPNMTGECNET HSFMHWKMKS HFNRKFRYELRIQKRMQPVRT EQVRDTSFQLPNPGTYT VQIRARETVYEFLSAWSTPQRFECDAQEEG <u>ASSRAWRGPPDYKDDDDKGGGLNDIFEAQKIEWHE</u>

[0064] 如本文所用,“CD123抗体”指特异性结合CD123且调节由CD123所介导的生物学活性和/或下游事件的抗体。在一些实施方案中,所述CD123抗体是拮抗抗体。CD123拮抗抗体包含(以任何程度包括显著地)阻断、拮抗、抑制或减少CD123生物学活性的抗体,所述生物学活性包括由CD123介导的下游事件,如IL-3结合和/或下游信号传导、STAT5磷酸化及多能细胞存活。CD123抗体及CD123抗体-药物缀合物(“CD123 ADC”)的实例在本文提供。

[0065] 如本文所用,“治疗”是获得有益或所需临床结果的方法。就本发明目的而言,有益或所需临床结果包括但不限于下列一或多者:减少(或摧毁)肿瘤或癌细胞的增殖、抑制肿瘤性细胞的转移、缓解CD123相关疾病(例如癌症或自身免疫病)、降低CD123相关疾病(例如癌症或自身免疫病)所致的症状、增加罹患CD123相关疾病(例如癌症或自身免疫病)者的生活质量、降低治疗CD123相关疾病(例如癌症或自身免疫病)所需的其他药物的剂量、延迟CD123相关疾病(例如癌症或自身免疫病)的进展、治愈CD123相关疾病(例如癌症或自身免疫病)和/或延长具有CD123相关疾病(例如癌症或自身免疫病)的对象的存活期。

[0066] “改善”指相较于未施用CD123抗体或CD123 ADC,一或多种症状的减轻或改善(improvement)。“改善”还包括缩短或减少症状的持续时间。

[0067] 如本文所用,药物、化合物或药物组合物的“有效剂量”或“有效量”是足以影响任一或多种有益或所需结果的量。就预防性用途而言,有益或所需结果包括消除或减少风险、减轻严重性或延迟疾病发作,包括疾病的生化、组织学和/或行为学症状、其并发症及在疾病发展期间所表现的中间病理学表型。就治疗性用途而言,有益或所需结果包括诸如下列的临床结果:减少发生或改善多种CD123相关疾病或病症(如例如但不限于癌症)的一或多种症状、降低治疗该疾病所需的其他药物的剂量、提高其他药物的效果和/或延迟对象的

CD123相关疾病的进展。有效剂量可分一或多次施用来施用。就本发明目的而言,药物、化合物或药物组合物的有效剂量是足以直接或间接完成预防性或治疗性治疗的量。如在临床上所了解的,药物、化合物或药物组合物的有效剂量可能与或可能不与另一药物、化合物或药物组合物组合达成。因此,“有效剂量”可在施用一或多种治疗剂的情况中被考虑,且如果与一或多种其它药剂联合时可以实现或实现所需结果,可考虑以有效量给予单一药剂。

[0068] “个体”或“对象”是哺乳动物,更优选是人。哺乳动物还包括但不限于农场动物、竞赛动物、宠物、灵长动物、马、犬、猫、小鼠及大鼠。

[0069] 如本文所用,“载体”是指构建体,其能在宿主细胞中递送及优选表达一或多种感兴趣的基因或序列。载体的实例包括但不限于病毒载体、裸DNA或RNA表达载体、质粒、粘粒或噬菌体载体、与阳离子缩合剂有关的DNA或RNA表达载体、包封于脂质体中的DNA或RNA表达载体及某些真核细胞如生产者细胞。

[0070] 如本文所用,“表达控制序列”是指导核酸转录的核酸序列。表达控制序列可为启动子如组成性或诱导性启动子或增强子。表达控制序列可操作地与待转录的核酸序列连接。

[0071] 如本文所用,“药学上可接受的载剂”或“药学上可接受的赋形剂”包括任何当与活性成分组合时能使该成分保留生物学活性且不与对象的免疫系统反应的任何材料。实例包括但不限于任何标准药学载剂如磷酸盐缓冲盐水溶液、水、乳液如油/水乳液及各种类型的润湿剂。优选的用于气雾剂或肠胃外施用的稀释剂是磷酸盐缓冲盐水(PBS)或生理(0.9%)盐水。包含这种载剂的组合物由众所周知的常规方法配制(见例如Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990; 及Remington, The Science and Practice of Pharmacy 21st Ed. Mack Publishing, 2005)。

[0072] 如本文所用,术语“含有酰基供体谷氨酰胺的标签”或“谷氨酰胺标签”指含有一或多个作为转谷氨酰胺酶受体的Gln残基的多肽或蛋白质。见例如PCT公开号W02012059882及W02015015448,其以全文并入本文参考。

[0073] 如本文所用,术语“ k_{on} ”指抗体与抗原缔合的速率常数。特别地,该速率常数(k_{on} 及 k_{off})及平衡解离常数利用IgG及CD123蛋白(例如CD123-Fc融合蛋白)测量。

[0074] 如本文所用,术语“ k_{off} ”指抗体自抗体/抗原复合物解离的速率常数。

[0075] 如本文所用,术语“ K_D ”指抗体-抗原交互作用的平衡解离常数。

[0076] 本文提及“约”某数值或参数时,其包括(且描述)涉及该数值或参数本身的实施方案。例如,提及“约X”的描述包括“X”的描述。数字范围包含界定该范围的数字。

[0077] 如本文所用,CPI指1,2,8,8a-四氢环丙[c]吡咯并[3,2-e]吡啶-4(5H)-酮或其经取代或衍生形式。CPI还可指CPI的seco形式或seco-CPI,其还称为8-(氯甲基)-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吡啶-4-醇或其经取代或衍生形式(或多种形式)。

[0078] 应了解的是,只要此处的实施方案以语言“包含”描述,其还提供其他以“由...组成”和/或“基本上由...组成”的用语所描述的类似实施方案。

[0079] 本发明的方面或实施方案以马库什组或其他选择性分组描述,本发明不仅涵盖列为整体的整个组,还涵盖该组各个成员及该主要组中所有可能的亚组,且还包含不含一或多个组成员的主要组。本发明还设想明确排除请求保护的发明中任何组成员之一或多个。

[0080] 除非另行定义,本文所用的所有技术及科学术语具有本发明所属领域的一般技术人员通常了解的含义。若发生冲突,以本说明书(包括定义)为主。在本说明书及权利要求书中,用语“包含”或变化用语如“包括”或“含有”将被理解为意指包括被叙述的整数或整数组,但不排除任何其他整数或整数组。除非上下文另外要求,单数术语应包括复数且复数术语应包括单数。

[0081] 本文描述了示例性方法及材料,尽管与本文所述的方法及材料类似或等价的方法和材料也可用于实施或检测本发明。所述材料、方法及实例仅是说明性的而非意图限制。

[0082] CD123抗体及抗体-药物缀合物

[0083] 本发明提供结合CD123(例如人CD123(例如SEQ ID NO:1))的抗体及包含抗CD123抗体的缀合物(如抗体-药物缀合物或ADC),其特征在于任一或多个如下特征:(a)治疗、预防、改善与对象中表达CD123的恶性细胞有关的病症(例如癌症如但不限于AML、B-ALL、HCL等)的一或多种症状;(b)抑制对象(具有表达CD123的恶性肿瘤)的肿瘤生长或进展;(c)抑制对象(具有一或多种表达CD123的恶性细胞)中表达CD123的癌(恶性)细胞的转移;(d)诱导表达CD123的肿瘤退行(例如长期退行);及(e)在表达CD123的恶性细胞中发挥细胞毒性活性。

[0084] 本发明所用的抗体可涵盖单克隆抗体、多克隆抗体、抗体片段(例如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、Fc等)、嵌合抗体、双特异性抗体、杂缀合抗体、单链抗体(ScFv)、其突变体、包含抗体部分的融合蛋白(例如结构域抗体)、人源化抗体及任何其他包含具有所需特异性的抗原识别位点的免疫球蛋白分子的经修饰构型,包括抗体的糖基化变体、抗体的氨基酸序列变体及经共价修饰的抗体。所述抗体可为小鼠、大鼠、人或任何其他来源(包括嵌合或人源化抗体)。在一些实施方案中,本文所述CD123抗体是单克隆抗体。例如,CD123抗体可为人源化单克隆抗体、人抗体或嵌合单克隆抗体。

[0085] 在一些实施方案中,所述抗体可包含经修饰的恒定区,诸如例如但不限于具有增加的引发免疫反应潜力的恒定区。例如,所述恒定区可经修饰为对Fc γ 受体(例如Fc γ RI、Fc γ RIIA或Fc γ RIII)具有增加的亲和性。在一些实施方案中,所述抗体可包含免疫惰性的恒定区,即具有减少的引发免疫反应潜力的恒定区。在一些实施方案中,所述恒定区如Eur.J.Immunol.,29:2613-2624,1999;PCT申请号PCT/GB99/01441和/或英国专利申请号98099518所述修饰。所述Fc可为人IgG1、人IgG2、人IgG3或人IgG4。所述Fc可为含有突变A330P331至S330S331(IgG2 Δ a)的人IgG2,其中所述氨基酸残基参考野生型IgG2序列编号。Eur.J.Immunol.,29:2613-2624,1999。在一些实施方案中,所述抗体包含包含有下列突变的IgG4的恒定区(Armour et al.,Molecular Immunology 40 585-593,2003):E233F234L235至P233V234A235(IgG4 Δ c),其中编号参考野生型IgG4。在另一实施方案中,所述Fc是人IgG4E233F234L235至P233V234A235并具有缺失G236(IgG4 Δ b)。在另一实施方案中,所述Fc是含绞链稳定突变S228至P228的任何人IgG4Fc(IgG4、IgG4 Δ b或IgG4 Δ c)(Aalberse et al.,Immunology 105,9-19,2002)。在另一实施方案中,所述Fc可为非糖基化Fc。

[0086] 在一些实施方案中,所述恒定区可通过突变寡糖连接残基(如Asn297)和/或恒定区中是糖基化识别序列的一部分的侧翼残基而去糖基化。在一些实施方案中,所述恒定区之N-连接糖基化经酶促去糖基化。所述恒定区之N-连接糖基化可经酶促去糖基化或藉由在

糖基化缺陷宿主细胞中表达以去糖基化。

[0087] 确定抗体与CD123的结合亲和性的一个方法是测量该抗体的单官能性Fab片段的结合亲和性。为得到单官能性Fab片段,抗体(例如IgG)可经木瓜酶裂解或经重组表达。抗体的CD123Fab片段的亲和性可藉由装备有预先固定的链霉抗生物素蛋白传感器芯片(SA)或抗小鼠Fc或抗人Fc的表面等离子体共振(Biacore™3000™表面等离子体共振(SPR)系统,Biacore™,INC,Piscataway NJ)使用HBS-EP运行缓冲液(0.01M HEPES,pH 7.4,0.15NaCl,3mM EDTA,0.005%v/v表面活性剂P20)确定。生物素化或Fc融合人CD123可经HBS-EP缓冲液稀释至浓度低于0.5μg/mL并利用不同的接触时间注射经过各个芯片信道以达到两种抗原密度范围,即用于详细动力学研究的50至200反应单位(RU)或用于筛选测定的800至1,000RU。再生研究显示于25%v/v乙醇中的25mM NaOH有效移除结合的Fab同时保持芯片上CD123的活性超过200次注射。通常,纯化的Fab样品的连续稀释液(浓度自0.1至10倍预估 K_D 的浓度)以100μL/分钟注射1min并允许最高2小时的解离时间。Fab蛋白的浓度藉由使用已知浓度(如氨基酸分析确定)的Fab作为标准物通过ELISA和/或SDS-PAGE电泳确定。使用BIAevaluation程序将数据全局拟合至1:1Langmuir结合模型(Karlsson,R.Roos,H.Fagerstam,L.Petersson,B.(1994).Methods Enzymology 6.99-110)以同时得到动力学缔合速率(k_{on})及解离速率(k_{off})。平衡解离常数(K_D)数值以 k_{off}/k_{on} 计算。此方法适合用于确定抗体与任何CD123包括人CD123、另一哺乳动物的CD123(如小鼠CD123、大鼠CD123或灵长动物CD123)以及不同形式的CD123(例如糖基化CD123)的结合亲和性。抗体的结合亲和性通常在25℃测量,但还可在37℃测量。如本文所述之CD123抗体对CD123(如人CD123(例如SEQ ID NO:1)的结合亲和性(K_D)可为约0.002nM至约6500nM。在一些实施方案中,结合亲和性为约6500nm、6000nm、5986nm、5567nm、5500nm、4500nm、4000nm、3500nm、3000nm、2500nm、2134nm、2000nm、1500nm、1000nm、750nm、500nm、400nm、300nm、250nm、200nm、193nm、100nm、90nm、50nm、45nm、40nm、35nm、30nm、25nm、20nm、19nm、18nm、17nm、16nm、15nm、10nm、8nm、7.5nm、7nm、6.5nm、6nm、5.5nm、5nm、4nm、3nm、2nm、1nm、0.5nm、0.3nm、0.1nm、0.01nm或0.002nm之任一者。在一些实施方案中,结合亲和性小于约6500nm、6000nm、5500nm、5000nm、4000nm、3000nm、2000nm、1000nm、900nm、800nm、250nm、200nm、100nm、50nm、30nm、20nm、10nm、7.5nm、7nm、6.5nm、6nm、5nm、4.5nm、4nm、3.5nm、3nm、2.5nm、2nm、1.5nm、1nm或0.5nm之任一者。

[0088] 本文所述之CD123抗体可由本领域已知的任何方法制备。就产生杂交瘤细胞系而言,免疫接种宿主动物的途径及方案通常与已建立及常规抗体刺激及产生技术一致,如本文进一步描述。用于产生人及小鼠抗体的通用技术是本领域已知和/或于本文描述。

[0089] 在一些实施方案中,CD123抗体可包含重链可变区(VH),其包含下述VH的三个CDR,该VH包含SEQ ID NO:6、24、32、44、51或64的氨基酸序列。在本发明的一些方面,抗体包含轻链可变区(VL),其包含下述VL的三个CDR,该VL包含SEQ ID NO:17、28、39、48、57或71的氨基酸序列。在本发明的一些方面,抗体包含VH及VL,该VH包含下述VH的三个CDR,所述VH包含SEQ ID NO:6、24、32、44、51或64的氨基酸序列,该VL包含下述VL的三个CDR,所述VL包含SEQ ID NO:17、28、39、48、57或71的氨基酸序列。在其他实施方案中,CD123抗体可包含:包含SEQ ID NO:7、8及9的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:18、19及20的氨基酸序列的VL。在其他实施方案中,CD123抗体可包含:包含SEQ ID NO:7、25及9的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID

NO:18、19及20的氨基酸序列的VL。在其他实施方案中,CD123抗体可包含:包含SEQ ID NO:33、34及35的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:40、41及42的氨基酸序列的VL。在其他实施方案中,CD123抗体可包含:包含SEQ ID NO:33、45及46的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:40、41及42的氨基酸序列的VL。在其他实施方案中,CD123抗体可包含:包含SEQ ID NO:52、53及54的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:58、59及60的氨基酸序列的VL。在其他实施方案中,CD123抗体可包含:包含SEQ ID NO:65、66及67的氨基酸序列的VH及包含SEQ ID NO:72、73及74的氨基酸序列的VL。

[0090] 代表性CD123抗体重链可变区及轻链可变区可分别包含SEQ ID NO:6、24、32、44、51及64和SEQ ID NO:17、28、39、48、57及71的氨基酸序列。代表性CD123抗体重链及轻链可分别包含SEQ ID NO:15、27、37、47、55及69和SEQ ID NO:23、30、43、49、62及76的氨基酸序列。代表性CD123抗体序列示于表2.0。

[0091] 表2.0代表性CD123抗体序列

[0092]

抗体	重链序列					轻链序列				
	HC	HC	HC	VH	HC	LC	LC	LC	VL	LC
	CDR1	CDR2	CDR3			CDR1	CDR2	CDR3		
18G3	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 23
h18G3	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 30
16D6	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 32	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 40	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 43
h16D6	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 45	SEQ ID NO: 46	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 40	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 48	SEQ ID NO: 49
3D1	SEQ ID NO: 52	SEQ ID NO: 53	SEQ ID NO: 54	SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 55	SEQ ID NO: 58	SEQ ID NO: 59	SEQ ID NO: 60	SEQ ID NO: 57	SEQ ID NO: 62
20D7	SEQ ID NO: 65	SEQ ID NO: 66	SEQ ID NO: 67	SEQ ID NO: 64	SEQ ID NO: 69	SEQ ID NO: 72	SEQ ID NO: 73	SEQ ID NO: 74	SEQ ID NO: 71	SEQ ID NO: 76

[0093] 本文提供的例示性CD123抗体包括表2.1所示的18G3、人源化18G3(h18G3)、16D6、人源化16D6(h16D6)、3D1及20D7。表2.1显示之序列是氨基酸序列(除非另外指明)。

[0094] 表2.1

[0095]

SEQ ID NO:	描述	序列
5	18G3 VH 核苷酸序列	CAGGTGAAACTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCGCACAGAGTCTGTCCAT TACCTGCACTGTCTCTGGATTCTCATTAAACAGTGGTGACATAAGTTGGATTGCCAGCCA CCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTTGGAGTAATATGGTCTGGCGGAGGCACAAATTATAA TTCTCGTCTCATGTCCAGACTGAGCATCACCAAGGACAACTCCAGGAGTCAAGTGTTCTTA AAAATGAACAGTCTGCAAACTGATGACACCGCCATATATTATTGTGTAAGAGATTGGGGTA ACTTTTACTTTGACTATTGGGGCCAAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
6	18G3 VH, CDR 下划线	QVKLKESGPGLVAPAQSLITCTVSGFSLTSGDISWIRQPPGKGLEWLGVIWSGGGTNYNSRL <u>MSRLSITKDNSRSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCVRDWGNFYFDYWGQGTTTLTVSS</u>
7	18G3 CDRH1	GFSLTSGDIS
8	18G3 CDRH2	VIWSGGGTNYNSRLMS
9	18G3 CDRH3	DWGNFYFDY
10	18G3 JH	WGQGTTTLTVSS
11	CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
12	铰链	EPKSCDRTHTCPPCP
13	CH2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP RELLQGSTYRVVSVLTVHLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
14	CH3	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
15	18G3 HC	QVKLKESGPGLVAPAQSLITCTVSGFSLTSGDISWIRQPPGKGLEWLGVIWSGGGTNYNSRL MSRLSITKDNSRSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCVRDWGNFYFDYWGQGTTTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDRTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRELLQGSTYRVVSVLTVHLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG

[0096]

SEQ ID NO:	描述	序列
16	18G3 VL 核苷酸序列	GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTGGCTGTGTGTCAGTAGGAGAGAAGGTCACTA TGAGCTGCAAATCCAGTCAGAGTCTGCTCAGCAGTGGAACCCGAAAGAACTACTTGGCTT GGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGTCTCTAACTGCTGATCTACTGGGCATCCACTAGGC AATCTGGGGTCCCTGATCGCTTACAGGCGGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTACCAT CAGCAGTGTGCAGGCTGAGGACCTGGCAGTTTATTACTGCAGTCAATCTTATAATCTATAC ACATTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA
17	18G3 VL, CDR 下划 线	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSC <u>KSSQSLSSGTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRQS</u> GVPDRFTGGGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYC <u>SQSYNLYT</u> FGGGTKLEIK
18	18G3 CDRL1	KSSQSLSSGTRKNYLA
19	18G3 CDRL2	WASTRQS
20	18G3 CDRL3	SQSYNLYT
21	18G3 JK	FGGGTKLEIK
22	CL	(R)TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
23	18G3 LC	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSCKSSQSLSSGTRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRQS GVPDRFTGGGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCSQSYNLYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSDKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
24	h18G3 VH, CDR 下划线	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLTSGDISWVRQAPGKGLEWVAVIWSGGGTNYGS <u>RLMSRFTISRDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDWGNFYFDYWGQGLTVTVSS</u>
25	h18G3 CDRH2	VIWSGGGTNYGSRLMS
26	h18G3 JH	WGQGLTVTVSS
27	h18G3 HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLTSGDISWVRQAPGKGLEWVAVIWSGGGTNYGS RLMSRFTISRDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDWGNFYFDYWGQGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDRTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRELLQGSGTYRVSFLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFGLYSLKTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHN

[0097]

SEQ ID NO:	描述	序列
		HYTQKSLSLSPG
28	h18G3 VL, CDR 下划线	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLSSGTRKNYLAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCSQSYNLYTFGQGTKEIK
29	h18G3 JK	FGQGTKEIK
30	h18G3 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLSSGTRKNYLAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCSQSYNLYTFGQGTKEIKRTVAAPSVFI FPPSDE QLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
31	16D6 VH 核苷酸序 列	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCAT AACCTGCACTGTCTCTGGGTTCTCATTAAACCACTTTGATATAAGTTGGATTGCGCAGCCAC CAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTTGGAGTAATGTGGACTGGTGGAGGCACAAATTATAAT TCAGCTTTCATGTCCAGACTGAGCATCAGCAGGGACATCTCCAAAAGCCAAGTTCTCTAA AAATGAGCAGTCTGCAACTGATGACACAGCCATATATTACTGTGTAAGAGGGGATACTTA CTTCTTTGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCCGTCACCGTCTCATCAG
32	16D6 VH, CDR 下划线	QVQLKESGPGLVAPSSQSLITCTVSGFSLTNFDISWIRQPPG KGLEWLGVMWTTGGGTNYNS AFMSRLSISRDISKQVSLKMSLQTD DTAIYCVRGDTYFFAMDYWGQGTSTVTVSS
33	16D6 CDRH1	GFSLTNFDIS
34	16D6 CDRH2	VMWTGGGTNYNSAFMS
35	16D6 CDRH3	GDTYFFAMDY
36	16D6 JH	WGQGTSTVTVSS
37	16D6 HC	QVQLKESGPGLVAPSSQSLITCTVSGFSLTNFDISWIRQPPG KGLEWLGVMWTTGGGTNYNS AFMSRLSISRDISKQVSLKMSLQTD DTAIYCVRGDTYFFAMDYWGQGTSTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDRTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRELLQGSTRYVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHN HYTQKSLSLSPG
38	16D6 VL 核苷酸序 列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCA TCACTTGCAAATCCAGTCAGAGTCTGCTCAGCAGTGGAACCCGAAAGAAGTCTTGTCTT GGTATCAGCAGAAACAGGGAAAGCCCTAAGCTCCTGATCTATTGGGCATCCACTAGGG GATCTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTAAACAATCTTATAATCTATACA CGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
39	16D6 VL, CDR 下划 线	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLSSGTRKNFLSWYQQKGTGQSPKLLIYWASTRGS GVPRFTGSGSGTDFTLTISVQTEDLAVYYCKQSYNLYTFGGGTKEIK

[0098]

SEQ ID NO:	描述	序列
40	16D6 CDRL1	KSSQSLSSGTRKNFLS
41	16D6 CDRL2	WASTRGS
42	16D6 CDRL3	KQSYNLYT
43	16D6 LC	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLSSGTRKNFLSWYQQKTGQSPKLLIYWASTRGS GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQTEDLAVYYCKQSYNLYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
44	h16D6 VH, CDR 下划线	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS <u>GFSLTNFDISWVRQAPGKGLEWVAVMWTGGGTNY</u> <u>QSAFMSRFTISRDN</u> AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGD <u>VYFFAMDYWGQGLTVVSS</u>
45	h16D6 CDRH2	VMWTGGGTNYQSAFMS
46	h16D6 CDRH3	GDVYFFAMDY
47	h16D6 HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLTNFDISWVRQAPGKGLEWVAVMWTGGGTNY QSAFMSRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGD <u>VYFFAMDYWGQGLTVVSSAS</u> TKGPSVFLPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDRTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRELLQGSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
48	h16D6 VL, CDR 下划线	DIQMTQSPSSLSASVSGDRVTITCKSSQSLSSGTRKNFLSWYQQKPGKAPKLLIYWASTRGS VPSRFGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCKQSYNLYTFGGGTKEIK
49	h16D6 LC	DIQMTQSPSSLSASVSGDRVTITCKSSQSLSSGTRKNFLSWYQQKPGKAPKLLIYWASTRGS VPSRFGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCKQSYNLYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
50	3D1 VH 核苷酸序 列	GAGGTCCAGCTACAACAGTCTGGACCTGAAGCTGGTGAAGCTGGGGCTCAGTGAAGAT GTCCTGTAAGGCTTCTGGATACACCTTCAGTGACTACTTCATGAAGTGGGTGAAACAGAG CCATGGAAAGAGACTTGAGTGGATTGGAGATATTAATCCTAACAATGGTGAACTTTCTAC AACCATCATTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACAATAGACAAATCCTCCAGTACAGCCTACA TGCAGCTCAACAGCCTGACATCTGACGACTCTGCAGTCTATTACTGTGAAGACCCCGGC GGGGGAATGCTATGGACTTCTGGGGTCAAGGAACCTCAGTACCGTCTCCTCA
51	3D1 VH, CDR 下划 线	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSDFYFMKWVQSHGKRLEWIGDINPNNGETFY <u>NHHFKG</u> KATLTIDKSSSTAYMQLNSLTSDDSAVYYCAR <u>PRRG</u> NAMDFWGQGSVTVSS
52	3D1 CDRH1	GYTFSDFYFMK

[0099]

SEQ ID NO:	描述	序列
53	3D1 CDRH2	DINPNNGETFYNHHFKG
54	3D1 CDRH3	PRRGNAMDF
55	3D1 HC	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFSDFYFMKWVKQSHGKRLEWIGDINPNNGETFYNHHFKGKATLTIDKSSSTAYMQLNSLTSDDSAVYYCARPRRGNAMDFWGGQTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDRTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRELLQGSTYRVVSVLTVLTQHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
56	3D1 VL 核苷酸序列	GACATTGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCTGGCTATGTCAGTAGGACAGAAGGTCACCATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGCCTTTTAAATAGAGGCAATCAAAGAAGTATTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGTCTCCTAAATTTCTGGTATATTTGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCATAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCACTCTTACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGATTATTTTGTGAGCAACATTATAGTATTCGGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATACAA
57	3D1 VL, CDR 下划线	DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLNLRGNQKNYLAWYQQKPGQSPKFLVYFASTR ESGVPDRFIGSGSGTDFTLTISVQAEDLADYFCQQHYSIPYTFGGGTKEIQ
58	3D1 CDRL1	KSSQSLNLRGNQKNYLA
59	3D1 CDRL2	FASTRES
60	3D1 CDRL3	QQHYSIPYT
61	3D1 JK	FGGGTKEIQ
62	3D1 LC	DIVMTQSPSSLAMSVGQKVTMSCKSSQSLNLRGNQKNYLAWYQQKPGQSPKFLVYFASTR ESGVPDRFIGSGSGTDFTLTISVQAEDLADYFCQQHYSIPYTFGGGTKEIQRVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVCLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
63	20D7 VH 核苷酸序列	GAAGTACAGCTGCAGCAGTCTGGGCCCAGCTTCGGAGACCTGGGACCTCAGTCAAGCTGTCTTGTAAGGCTTCTGGCTACAGTATTACAGATTTCTTATGTACTGGGTAAACATAGGCCAGAATACGGCCTGGAATGGATTGGATGGATTGATCCTGAGGATGGTGAACAAAATATGCTCAGAAGTTCCAAAGCAAGGCCGACTGACTGCAGATACGTCCTCCAAAAAGCCTACATGGAAGTCTCAGCAGCTGACGTCTGAGGACACAGCAACCTATTTTGTGCTAGATGGGGCTATATCACGGATTATTTCTATGGCGGGTTTACTTACTGGGGCCGAGGCACTCTGGTCACTGTCTCTCA
64	20D7 VH, CDR 下划线	EVQLQQSGPELRRPGTSVKLSCKASGYSITDFLMYVWVKHRPEYGLEWIGWIDPEDGETKYA QKFQSKARLTADTSSKTAYMELSSLTSEDATYFCARWGYITDYFYGGFTYWGRGTLTVSS

[0100]

SEQ ID NO:	描述	序列
65	20D7 CDRH1	GYSITDFLMY
66	20D7 CDRH2	WIDPEDGETKYAQKFQS
67	20D7 CDRH3	WGYITDYFYGGFTY
68	20D7 JH	WGRGTLTVSS
69	20D7 HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITDFLMYWVRQAPGKGLEWVAVIDPEDGETKYA QKFQSKARFTISRDNANKNSLYQMNSLRAEDTAVYYCARWGYITDYFYGGFTYWGRGTLTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDRTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRELLQGSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
70	20D7 VL 核苷酸序 列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTCCAGTCTGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACTC TCAGCTGCAAAGCAAGTCAGAAATTAATAAGAACTTAGACTGGTATCAGCAAAAGCATG GAGAAGCTCCAAAACCTGATATATCATAAAACACTTTGCAAATGGGCATCCCATCAAG GTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGTACAGATTACGCACTCACCATCACCAGCCTGCAGCCTGA AGATGTTGCCACATATTACTGCTATCAATATAACAGTGGGCCCACGTTTGGAGCTGGGACC AAGCTGGAAGTGA
71	20D7 VL, CDR 下划 线	DIQMTQSPVLSASVGDRVTLSCKASQININKNLDWYQQKHGEAPKLLIYHTNTLQMGIPSR FSGSGSGTDYALTITSLQPEDVATYYCYQYNSGPTFGAGTKLELR
72	20D7 CDRL1	KASQININKNLD
73	20D7 CDRL2	HTNTLQM
74	20D7 CDRL3	YQYNSGPT
75	20D7 JL	FGAGTKLELR
76	20D7 LC	DIQMTQSPVLSASVGDRVTLSCKASQININKNLDWYQQKHGEAPKLLIYHTNTLQMGIPSR FSGSGSGTDYALTITSLQPEDVATYYCYQYNSGPTFGAGTKLELRRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0101] 取代变体在所述抗体分子中具有至少一个氨基酸残基被移除且在其位置插入不同残基。最受到关注的取代性诱变的位点包括超变区,但还可考虑构架改变。保守性取代示于表3中标题“保守性取代”下。若这种取代导致生物学活性改变,则表3称为“示例性取代”或如下参照氨基酸分类进一步描述的更实质的改变可被导入,然后筛选产物。

[0102] 表3:氨基酸取代

[0103]

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

[0104] 抗体的生物学特性的实质修饰藉由选择在维持下列特性的作用上有显著差异的取代而完成：(a) 取代区的多肽骨架结构，例如 β -折叠或螺旋构象，(b) 靶位点处分子的带电或疏水性，或(c) 侧链大小。天然发生残基基于常见侧链性质分成下列组：

[0105] (1) 非极性：正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

[0106] (2) 不带电极性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

[0107] (3) 酸性(带负电)：Asp、Glu；

[0108] (4) 碱性(带正电)：Lys、Arg；

[0109] (5) 影响链方向的残基：Gly、Pro；及

[0110] (6) 芳香性：Trp、Tyr、Phe、His。

[0111] 非保守性取代通过将这类别中一个的成员交换为另一类别而进行。

[0112] 例如，可能产生的一种取代类型是将抗体中可能是化学反应性的一或多个半胱氨酸改变为另一残基如但不限于丙氨酸或丝氨酸。例如，可是非规范半胱氨酸的取代。所述取代可于抗体的可变结构域的CDR或构架区或恒定区中进行。在一些实施方案中，所述半胱氨酸是规范的。任何不参与维持抗体适当构象的半胱氨酸残基还可被取代(通常用丝氨酸取

代)以改善该分子的氧化稳定性及防止异常交联。相反地,半胱氨酸键可加入抗体以改善其稳定性,特别是当抗体是抗体片段如Fv片段时。

[0113] 本发明还提供本文所述的CD123抗体或其抗原结合片段的缀合物,其中所述抗体直接或经由接头间接与药剂(例如细胞毒性剂)缀合以用于靶向性免疫疗法(例如抗体-药物缀合物或ADC)。例如,细胞毒性剂可如本文所述与所述CD123抗体连接或缀合以用于靶向性局部递送该细胞毒性剂部分至肿瘤(例如表达CD123的肿瘤)。

[0114] 用于将细胞毒性剂或其他治疗剂与抗体缀合的方法已于许多文献中说明。例如,抗体的化学修饰可经由赖氨酸侧链胺或藉由还原链间二硫键而被活化的半胱氨酸硫氢基进行,以使缀合反应发生。见例如Tanaka et al.,FEBS Letters 579:2092-2096,2005及Gentle et al.,Bioconjugate Chem.15:658-663,2004。还已描述了于抗体特定定位点工程化的反应性半胱氨酸残基用于以限定化学计量的特定药物缀合。见例如Junutula et al.,Nature Biotechnology,26:925-932,2008。在转谷氨酰胺酶及胺(例如包含或连接至反应性胺的细胞毒性剂)存在时,使用藉由多肽工程改造的含有酰基供体谷氨酰胺的标签或使成反应性的内源性谷氨酰胺(即形成共价键以作为酰基供体的能力)的缀合还描述于国际专利申请W02012/059882及W02015015448,其以全文并入本文参考。转谷氨酰胺酶是蛋白质-谷氨酰胺 γ -谷氨酰转移酶(EC 2.3.2.13),其一般催化谷氨酰胺残基与赖氨酸残基的pH依赖性转酰胺作用。本文所述的本发明所用的转谷氨酰胺酶可获自或自多种来源制造或经工程改造以催化一或多个内源性谷氨酰胺残基与一或多个赖氨酸残基或含有一或多种反应性胺的胺供体剂的转酰胺作用。使用转谷氨酰胺酶以制备ADC的方法描述于例如美国专利申请公开号20170043033,其以全文并入本文参考。

[0115] ADC包含通常经由使用接头与药物制剂缀合的抗体组分。在一些实施方案中,本文揭示的ADC包含经由工程改造的含有谷氨酰胺的标签、内源性谷氨酰胺(即未经工程改造的天然谷氨酰胺,如可变结构域、CDR等中的谷氨酰胺)和/或反应性内源性谷氨酰胺与胺供体物质(例如以胺供体单元与接头偶合的小分子)定点缀合的抗体。

[0116] 藉由修饰抗体中一或多个氨基酸(例如氨基酸缺失、插入、取代或突变)、藉由酶促去糖基化或藉由与经工程改造的转谷氨酰胺酶反应,可使内源性谷氨酰胺具有反应性(即在胺及转谷氨酰胺酶存在下形成共价键作为酰基供体的能力)。因此,在一个方面,提供包含下式的抗体-药物缀合物(ADC):抗体-(T-(X-Y-Z_a)_b)_c,其中:T是1)在特定定位点经工程改造的含有谷氨酰胺的标签,2)内源性谷氨酰胺和/或3)藉由抗体工程改造或经工程改造的转谷氨酰胺酶而具有反应性的内源性谷氨酰胺;X是胺供体单元;Y是接头;且Z是药剂部分;X-Y-Z是与含有谷氨酰胺的标签、内源性谷氨酰胺和/或反应性内源性谷氨酰胺定点缀合的胺供体药剂;a是1至6的整数;b是1至6的整数;c是1至20的整数;且其中a、b及c之乘积(药物-抗体比例)至少为约1。本文所述的抗体上含有谷氨酰胺的标签、内源性谷氨酰胺和/或反应性谷氨酰胺以及胺供体药剂(X-Y-Z)皆为转谷氨酰胺酶的底物,且介于含有谷氨酰胺的标签和/或内源性/反应性谷氨酰胺与胺供体药剂之间的键具有式CH₂-CH₂-CO-NH-,其中NH-与接头及药剂部分连接。

[0117] 在一些实施方案中,本文所述CD123抗体或缀合物包含于抗体之特定定位点(例如CD123抗体的羧基端、氨基端或另一位点)经工程改造的含有酰基供体谷氨酰胺的标签。在一些实施方案中,该标签包含氨基酸谷氨酰胺(Q)或氨基酸序列LQG、LLQGG(SEQ ID NO:

77)、LLQG (SEQ ID NO:78)、LSLSQG (SEQ ID NO:79)、GGLLQGG (SEQ ID NO:80)、GLLQG (SEQ ID NO:81)、LLQ、GSPLAQSHGG (SEQ ID NO:82)、GLLQGGG (SEQ ID NO:83)、GLLQGG (SEQ ID NO:84)、GLLQ (SEQ ID NO:85)、LLQLLQGA (SEQ ID NO:86)、LLQGA (SEQ ID NO:87)、LLQYQGA (SEQ ID NO:88)、LLQSG (SEQ ID NO:89)、LLQYQG (SEQ ID NO:90)、LLQLLQG (SEQ ID NO:91)、SLLQG (SEQ ID NO:92)、LLQLQ (SEQ ID NO:93)、LLQLLQ (SEQ ID NO:94)、LLQGR (SEQ ID NO:95)、LLQGPP (SEQ ID NO:96)、LLQGPA (SEQ ID NO:97)、GGLLQGPP (SEQ ID NO:98)、GGLLQGA (SEQ ID NO:99)、LLQGP (SEQ ID NO:100)、LLQGP (SEQ ID NO:101)、LLQGP (SEQ ID NO:102)、LLQP (SEQ ID NO:103)、LLQPGK (SEQ ID NO:104)、LLQAPGK (SEQ ID NO:105)、LLQGAPG (SEQ ID NO:106)、LLQGAP (SEQ ID NO:107) 及 LLQLQG (SEQ ID NO:108)。

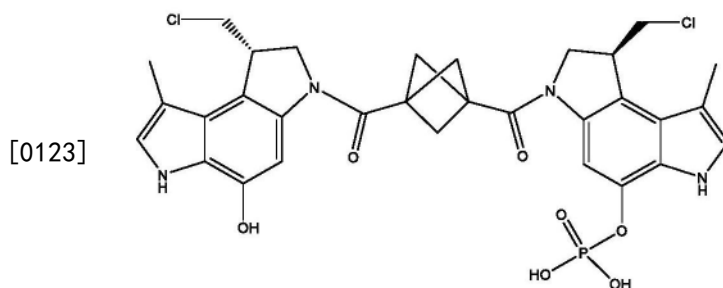
[0118] 在一些实施方案中,含有酰基供体谷氨酰胺的标签包含例如LLQG (SEQ ID NO:78),其取代抗体重链中的氨基酸残基E294-N297。

[0119] 本发明还提供一种分离的抗体,其包含含有酰基供体谷氨酰胺的标签及在该抗体位置222、340或370 (EU编号系统)的氨基酸修饰,其中所述修饰是氨基酸缺失、插入、取代、突变或其任何组合。在一些实施方案中,所述氨基酸修饰是赖氨酸至精氨酸的取代(例如K222R、K340R或K370R)。

[0120] 可与本发明CD123抗体或抗原结合片段缀合的药剂包括但不限于细胞毒性剂、免疫调节剂、显影剂、治疗性蛋白质、生物聚合物或寡核苷酸。

[0121] 细胞毒性剂的实例包括但不限于蒽环类化合物、耳抑素、海兔毒素、考布他汀、多卡米星、吡咯并苯并二氮杂卓二聚体、吲哚啉并-苯并二氮杂卓二聚体、烯二炔、格尔德霉素、美坦辛、嘌呤霉素、紫杉烷、长春花生物碱、喜树碱、微管溶素、半星芒体、司普利西他汀、普拉二烯内酯及其立体异构体、电子等排体、类似物或衍生物。

[0122] 在一些方面,药物/药剂是环丙基吡咯并吲哚啉 (CPI) 二聚体、CTI二聚体或CBI二聚体。CPI二聚体诱导链间DNA交联及强力的细胞毒性。PCT国际公开号W02015/110935 (其全文并入本文参考) 揭示可用于本发明CD123 ADC的CPI及CBI二聚体且提供产生CPI及CBI二聚体的方法。例如,药剂 (8S)-8-(氯甲基)-6-[(3-[(1S)-1-(氯甲基)-5-羟基-8-甲基-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吲哚-3(2H)-基]羰基]双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吲哚-4-基二氢磷酸盐 (又名“CPI-8314二聚体”) 具有下列结构:

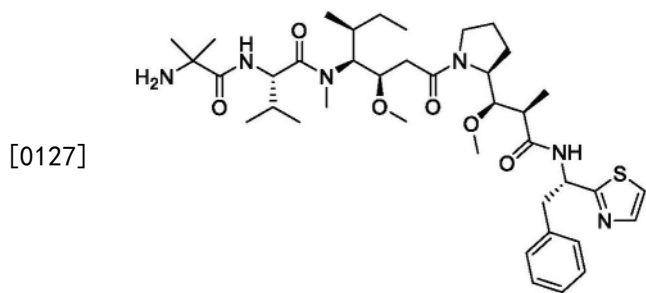


[0124] 具有式C31H31Cl2N4O7P。

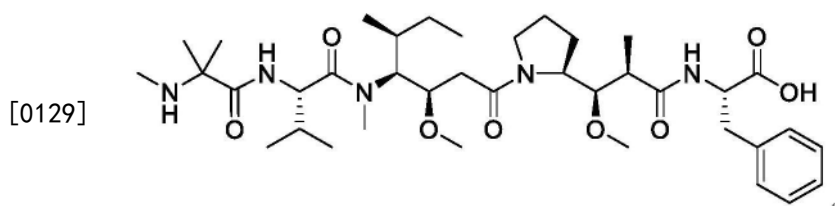
[0125] 蒽环类衍生自链霉菌属 (Streptomyces) 细菌,已被用于治疗多种癌症,如白血病、淋巴瘤、乳癌、子宫癌、卵巢癌及肺癌。例示性蒽环类包括但不限于道诺霉素、多柔比星 (即阿霉素)、表柔比星、伊达比星、戊柔比星及米托蒽醌。

[0126] 海兔毒素及其肽类似物及衍生物耳抑素是高度强力抗有丝分裂剂,已显示具有抗癌及抗真菌活性。见例如美国专利号5,663,149及Pettit et al., Antimicrob. Agents

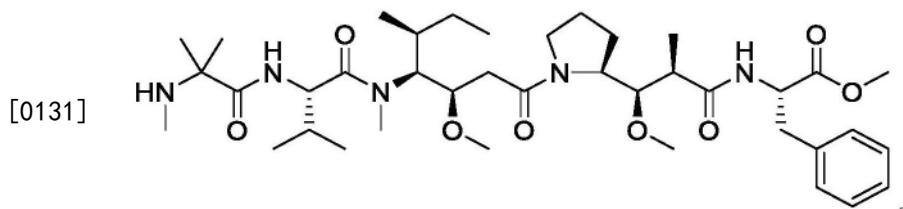
Chemother. 42:2961-2965, 1998。示例性海兔毒素及耳抑素包括但不限于海兔毒素10、耳抑素E、耳抑素EB (AEB)、耳抑素EFP (AEFP)、MMAD (单甲基耳抑素D或单甲基海兔毒素10)、MMAF (单甲基耳抑素F或N-甲基缬氨酸-缬氨酸-海兔异亮氨酸 (dolaisoleuine)-海兔脯氨酸 (dolaproine)-苯丙氨酸)、MMAE (单甲基耳抑素E或N-甲基缬氨酸-缬氨酸-海兔异亮氨酸-海兔脯氨酸-降麻黄碱)、5-苯甲酰基戊酸-AE酯 (AEVB) 及其他新耳抑素 (如美国专利公开号 2013/0129753 中所述者)。在一些实施方案中,耳抑素是0101 (2-甲基丙氨酰基-N-[(3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-[(1S)-2-苯基-1-(1,3-噻唑-2-基)乙基]氨基]丙基]吡咯烷-1-基]-5-甲基-1-氧代庚-4-基]-N-甲基-L-缬氨酰胺),其具有下列结构:



[0128] 在一些实施方案中,耳抑素是3377 (N,2-二甲基丙氨酰基-N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-羧基-2-苯基乙基]氨基]-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基]吡咯烷-1-基]-2-甲氧基-1-[(1S)-1-甲基丙基]-4-氧代丁基]-N-甲基-L-缬氨酰胺),其具有下列结构:

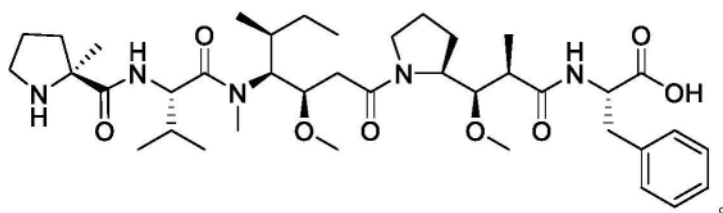


[0130] 在一些实施方案中,耳抑素是0131-OMe (N,2-二甲基丙氨酰基-N-[(3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-甲氧基-3-[(2S)-1-甲氧基-1-氧代-3-苯基丙-2-基]氨基]-2-甲基-3-氧代丙基]吡咯烷-1-基]-5-甲基-1-氧代庚-4-基]-N-甲基L-缬氨酰胺),其具有下列结构:



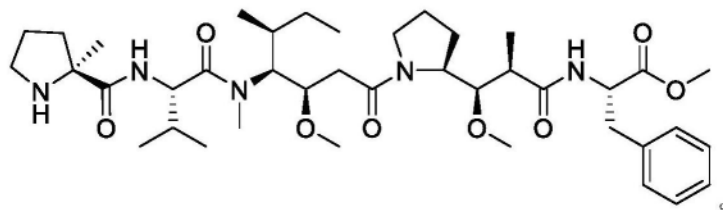
[0132] 在其他实施方案中,耳抑素是0131 (2-甲基-L-脯氨酰基-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-羧基-2-苯基乙基]氨基]-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基]吡咯烷-1-基]-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基]-N-甲基-L-缬氨酰胺),其具有下列结构:

[0133]



[0134] 在其他实施方案中,耳抑素是0121 (2-甲基-L-脯氨酸基-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-甲氧基-1-氧代-3-苯基丙-2-基]氨基}-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基]吡咯烷-1-基}-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基]-N-甲基-L-缬氨酸酰胺), 其具有下列结构:

[0135]

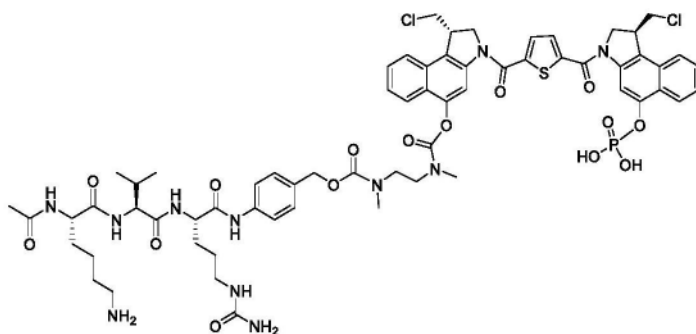


[0136] 喜树碱是细胞毒性喹啉生物碱,其抑制拓扑异构酶I。喜树碱及其衍生物的实例包括但不限于托泊替康及伊立替康及其代谢物如SN-38。

[0137] 考布他汀是具有肿瘤血管破坏特性的天然酚类。例示性考布他汀及其衍生物包括但不限于考布他汀A-4(CA-4)及奥瑞布林(ombrabulin)。

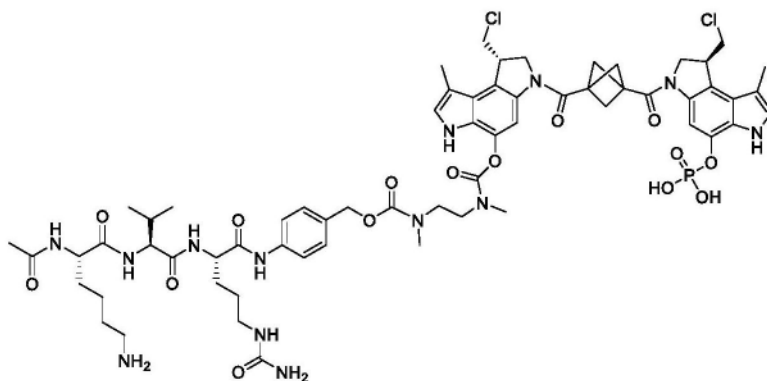
[0138] 多卡米星及CC-1065是具有细胞毒性效力的DNA烷化剂。见Boger and Johnson, PNAS 92:3642-3649 (1995)。例示性多卡米星及CC-1065包括但不限于(+)-多卡米星A及(+)-多卡米星SA、(+)-CC-1065及如国际申请PCT/IB2015/050280所揭示的化合物,包括但不限于N~2~-乙酰基-L-赖氨酸基-L-缬氨酸基-N~5~-氨基甲酰基-N-[4-({[(2-{[({(1S)-1-(氯甲基)-3-[(5-{[(1S)-1-(氯甲基)-5-(膦酰基氧)-1,2-二氢-3H-苯并[e]吡啶-3-基]羰基}噻吩-2-基)羰基]-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡啶-5-基}氧)羰基](甲基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酰基]氧}甲基)苯基]-L-鸟氨酸酰胺,其具有下列结构:

[0139]



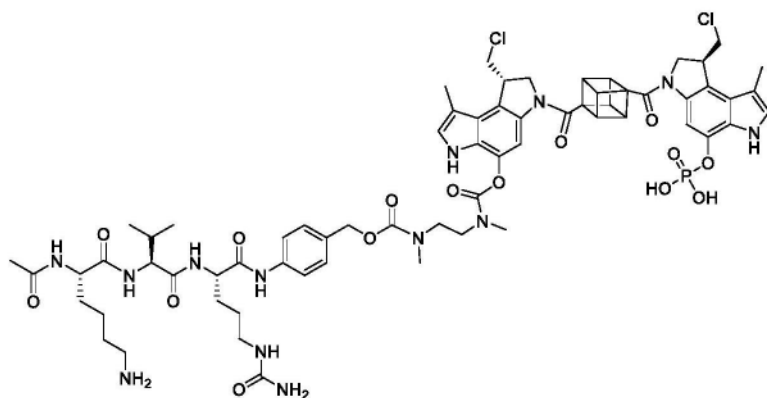
[0140] N~2~-乙酰基-L-赖氨酸基-L-缬氨酸基-N~5~-氨基甲酰基-N-[4-({[(2-{[({(8S)-8-(氯甲基)-6-[(3-{[(1S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰基氧)-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吡啶-3(2H)-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基)羰基]-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吡啶-4-基}氧)羰基](甲基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酰基]氧}甲基)苯基]-L-鸟氨酸酰胺,其具有下列结构:

[0141]



[0142] N~2~-乙酰基-L-赖氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-N~5~-氨甲酰基-N-[4-({[(2-{{[(8S)-8-(氯甲基)-6-[(4-{{[(1S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰基氧)-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吡啶-3(2H)-基]羰基}五环[4.2.0.0~2,5~.0~3,8~.0~4,7~]辛-1-基)羰基]-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吡啶-4-基]氧)羰基](甲基)氨基}乙基)(甲基)氨甲酰基]氧)甲基)苯基]-L-鸟氨酸酰胺,其具有下列结构:

[0143]



[0144] 烯二炔类(Enediynes)是一类抗肿瘤细菌产物,其特征为具有九元及十元环或存在共轭三键-双键-三键的环状系统。例示性烯二炔类包括但不限于卡利奇霉素(calicheamicin)、埃斯培拉霉素(esperamicin)、恩西拉霉素(uncialamicin)、达内霉素(dynemicin)及其衍生物。

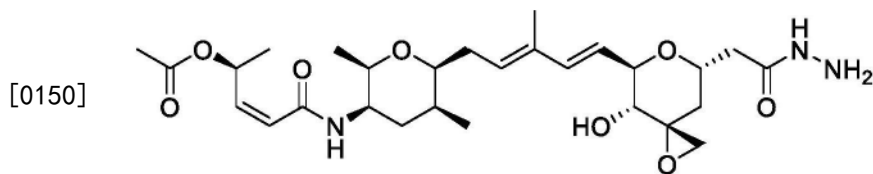
[0145] 格尔德霉素是结合Hsp90(热休克蛋白90)的苯醌安莎霉素抗生素并已被用作抗肿瘤药。例示性格尔德霉素包括但不限于17-AAG(17-N-烯丙基氨基-17-去甲氧基格尔德霉素)及17-DMAG(17-二甲基氨基乙基氨基-17-去甲氧基格尔德霉素)。

[0146] 半星芒体及其类似物(例如HTI-286)结合微管蛋白、破坏正常微管动力学且以化学计量量使微管解聚合。

[0147] 美坦辛或其衍生物类美坦辛(maytansinoid)通过在有丝分裂时通过抑制微管蛋白聚合抑制微管形成来抑制细胞增殖。见Remillard et al., Science 189:1002-1005, 1975。例示性美坦辛及类美坦辛包括但不限于美登素(mertansine)(DM1)及其衍生物以及安丝菌素。

[0148] 吡咯并苯并二氮杂卓二聚体(PBD)及吡啶并-苯并二氮杂卓二聚体(IGN)是含有一或多个与双链DNA结合的亚胺(imine)官能基或其等价物的抗肿瘤剂。PBD及IGN分子基于天然产物安曲霉素(athramycin)且与DNA以序列选择性方式相互作用,优选为嘌呤-鸟嘌呤-嘌呤序列。例示性PBD及其类似物包括但不限于SJG-136。

[0149] 司普力西欧他汀及普拉二烯内酯是抗肿瘤化合物,其抑制剪接且与剪接体SF3b相互作用。司普力西欧他汀的实例包括但不限于司普力西欧他汀A、FR901464及(2S,3Z)-5-[[[(2R,3R,5S,6S)-6-[(2E,4E)-5-[(3R,4R,5R,7S)-7-(2-肼基-2-氧代乙基)-4-羟基-1,6-二氧杂螺[2.5]辛-5-基]-3-甲基戊-2,4-二烯-1-基]-2,5-二甲基四氢-2H-吡喃-3-基]氨基]-5-氧代戊-3-烯-2-基]乙酸酯,其具有下列结构:



[0151] 普拉二烯内酯的实例包括但不限于普拉二烯内酯B、普拉二烯内酯D或E7107。

[0152] 紫杉烷是作为抗微管蛋白剂或有丝分裂抑制剂的二萜。例示性紫杉烷包括但不限于太平洋紫杉醇(paclitaxel)(例如TAXOL®)及多西紫杉醇(TAXOTERE®)。

[0153] 微管溶素是分离自粘球菌菌株的天然产物,其显示可使微管解聚合且诱导有丝分裂停止。例示性微管溶素包括但不限于微管溶素A、微管溶素B及微管溶素D。

[0154] 长春花生物碱也是抗微管蛋白剂。例示性长春花生物碱包括但不限于长春新碱、长春碱、长春地辛及长春瑞滨。

[0155] 在一些实施方案中,所述细胞毒性剂选自:MMAD(单甲基耳抑素D)、0101(2-甲基丙氨酰基-N-[(3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-[(1S)-2-苯基-1-(1,3-噻唑-2-基)乙基]氨基]丙基]吡咯烷-1-基]-5-甲基-1-氧代庚-4-基]-N-甲基-L-缬氨酰胺)、3377(N,2-二甲基丙氨酰基-N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-羧基-2-苯基乙基]氨基]-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基]吡咯烷-1-基]-2-甲氧基-1-[(1S)-1-甲基丙基]-4-氧代丁基]-N-甲基-L-缬氨酰胺)、0131(2-甲基-L-脯氨酰基-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-羧基-2-苯基乙基]氨基]-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基]吡咯烷-1-基]-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基]-N-甲基-L-缬氨酰胺)、0131-OMe(N,2-二甲基丙氨酰基-N-[(3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-甲氧基-3-[(2S)-1-甲氧基-1-氧代-3-苯基丙-2-基]氨基]-2-甲基-3-氧代丙基]吡咯烷-1-基]-5-甲基-1-氧代庚-4-基]-N-甲基-L-缬氨酰胺)、0121(2-甲基-L-脯氨酰基-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-甲氧基-1-氧代-3-苯基丙-2-基]氨基]-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基]吡咯烷-1-基]-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基]-N-甲基-L-缬氨酰胺)及(2S,3Z)-5-[[[(2R,3R,5S,6S)-6-[(2E,4E)-5-[(3R,4R,5R,7S)-7-(2-肼基-2-氧代乙基)-4-羟基-1,6-二氧杂螺[2.5]辛-5-基]-3-甲基戊-2,4-二烯-1-基]-2,5-二甲基四氢-2H-吡喃-3-基]氨基]-5-氧代戊-3-烯-2-基]乙酸酯。

[0156] 在一些实施方案中,所述药剂是免疫调节剂。免疫调节剂的实例包括但不限于更昔洛韦(gancyclovir)、依那西普、他克莫司(tacrolimus)、西罗莫司、伏环孢素(voclosporin)、环孢灵(cyclosporine)、雷帕霉素、环磷酰胺、硫唑嘌呤、霉酚酸酯(mycophenolate mofetil)、甲氨蝶呤、糖皮质激素及其类似物、细胞因子、干细胞生长因子、淋巴毒素、肿瘤坏死因子(TNF)、造血因子、白介素(例如白介素-1(IL-1)、IL-2、IL-3、IL-6、IL-10、IL-12、IL-18及IL-21)、集落刺激因子(例如粒细胞集落刺激因子(G-CSF)及粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF))、干扰素(例如干扰素- α 、干扰素- β 及干扰素- γ)、命名为

“S1因子”的干细胞生长因子、红细胞生成素和血小板生成素,或其组合。

[0157] 在一些实施方案中,所述药剂部分是显影剂(例如荧光团或螯合剂),如荧光素、玫瑰红、镧系元素磷光体及其衍生物、或键合至螯合剂的放射性同位素。荧光团的实例包括但不限于荧光素异硫氰酸酯(FITC)(例如5-FITC)、荧光素氨基磷酸酯(fluorescein amidite)(FAM)(例如5-FAM)、伊红、羧基荧光素、赤藓红、AlexaFluor®(例如Alexa 350、405、430、488、500、514、532、546、555、568、594、610、633、647、660、680、700或750)、羧基四甲基玫瑰红(TAMRA)(例如5,-TAMRA)、四甲基玫瑰红(TMR)及磺基玫瑰红(SR)(例如SR101)。螯合剂的实例包括但不限于1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(DOTA)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1-戊二酸-4,7-乙酸(去铁胺)、二乙撑三胺五乙酸(DTPA)及1,2-双(邻氨基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸(BAPTA)。

[0158] 荧光团的实例包括但不限于荧光素异硫氰酸酯(FITC)(例如5-FITC)、荧光素氨基磷酸酯(FAM)(例如5-FAM)、伊红、羧基荧光素、赤藓红、AlexaFluor®(例如Alexa 350、405、430、488、500、514、532、546、555、568、594、610、633、647、660、680、700或750)、羧基四甲基玫瑰红(TAMRA)(例如5,-TAMRA)、四甲基玫瑰红(TMR)及磺基玫瑰红(SR)(例如SR101)。

[0159] 在一些实施方案中,治疗性或诊断性放射性同位素或其他标记(例如PET或SPECT标记)可被掺入与本文所述CD123抗体或抗原结合片段缀合的药剂中。放射性同位素或其他标记的实例包括但不限于³H、¹¹C、¹³N、¹⁴C、¹⁵N、¹⁵O、³⁵S、¹⁸F、³²P、³³P、⁴⁷Sc、⁵¹Cr、⁵⁷Co、⁵⁸Co、⁵⁹Fe、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁷⁵Se、⁷⁶Br、⁷⁷Br、⁸⁶Y、⁸⁹Zr、⁹⁰Y、⁹⁴Tc、⁹⁵Ru、⁹⁷Ru、⁹⁹Tc、¹⁰³Ru、¹⁰⁵Rh、¹⁰⁵Ru、¹⁰⁷Hg、¹⁰⁹Pd、¹¹¹Ag、¹¹¹In、¹¹³In、¹²¹Te、¹²²Te、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁵Te、¹²⁶I、¹³¹I、¹³¹In、¹³³I、¹⁴²Pr、¹⁴³Pr、¹⁵³Pb、¹⁵³Sm、¹⁶¹Tb、¹⁶⁵Tm、¹⁶⁶Dy、¹⁶⁶Hf、¹⁶⁷Tm、¹⁶⁸Tm、¹⁶⁹Yb、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁸⁹Re、¹⁹⁷Pt、¹⁹⁸Au、¹⁹⁹Au、²⁰¹Tl、²⁰³Hg、²¹¹At、²¹²Bi、²¹²Pb、²¹³Bi、²²³Ra、²²⁴Ac或²²⁵Ac。

[0160] 在一些实施方案中,所述药剂是治疗性蛋白质,包括但不限于毒素、激素、酶及生长因子。

[0161] 毒素蛋白(或多肽)的实例包括但不限于白喉毒素(例如白喉毒素A链)、假单胞菌外毒素及内毒素、蓖麻蛋白(例如蓖麻蛋白A链)、相思豆毒蛋白(例如相思豆毒蛋白A链)、蒴莲根毒蛋白(例如蒴莲根毒蛋白A链)、 α -帚曲毒蛋白、油桐(Aleurites fordii)蛋白质、石竹素蛋白质、核糖核酸酶(RNase)、DNase I、葡萄球菌肠毒素-A、商陆抗病毒蛋白、白树毒素、白喉毒素、美洲商陆(Phytolacca americana)蛋白质(PAPI、PAPII及PAP-S)、苦瓜(momordica charantia)抑制剂、泻果素、巴豆毒蛋白、肥皂草(Saponaire officinalis)抑制剂、丝裂胶素(mitogellin)、局限曲菌素、酚霉素、伊诺霉素(enomycin)、新月毒素(tricothecene)、抑制剂胱氨酸结(ICK)肽(例如角毒素(ceratotoxin))及芋螺毒素(例如KIIIA或SmIIIA)。

[0162] 在一些实施方案中,所述药剂是生物相容性聚合物。本文所述CD123抗体或抗原结合片段可与生物相容性聚合物缀合以增加血清半衰期及生物活性和/或延长体内半衰期。生物相容性聚合物的实例包括水溶性聚合物,如聚乙二醇(PEG)或其衍生物及含有两性离子的生物相容性聚合物(例如含有磷酸胆碱的聚合物)。

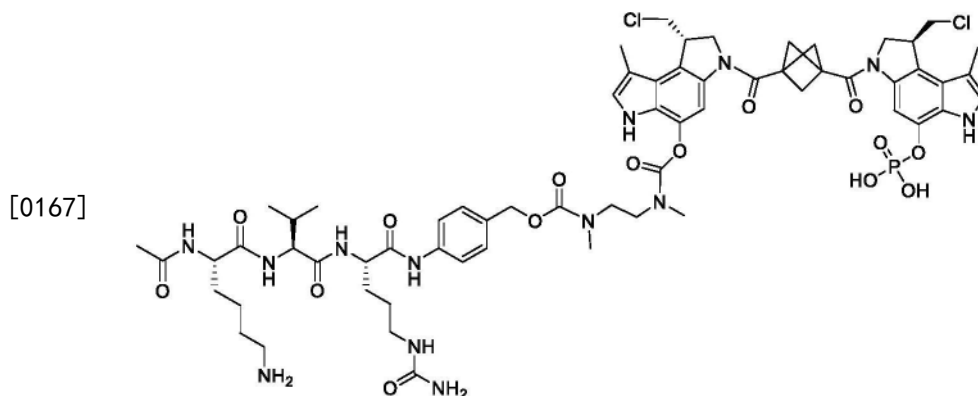
[0163] 在一些实施方案中,所述药剂是寡核苷酸,如反义寡核苷酸。

[0164] 在另一方面,本发明提供本文所述的抗体的缀合物,其中该缀合物包含下式:抗

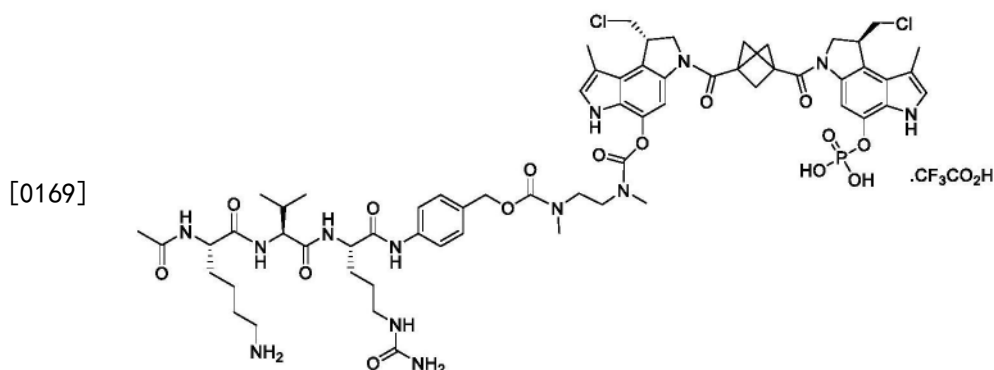
体-(含有酰基供体谷氨酰胺的标签)-(接头)-(细胞毒性剂),其中该含有酰基供体谷氨酰胺的标签是于抗体特定位点经工程改造的(例如重链或轻链的羧基端、在抗体重链的残基T135之后或另一位点),其中该标签缀合于接头(例如含有一或多个反应性胺(例如伯胺NH₂)的接头)且其中所述接头缀合于细胞毒性剂(例如MMAD或其他耳抑素如0101、0131或3377)。

[0165] 含有一或多个反应性胺的接头实例包括但不限于:Ac-Lys-Gly(乙酰基-赖氨酸-甘氨酸)、氨基己酸、Ac-Lys-β-Ala(乙酰基-赖氨酸-β-丙氨酸)、氨基-PEG2(聚乙二醇)-C2、氨基-PEG3-C2、氨基-PEG6-C2(或氨基PEG6-丙酰基)、Ac-Lys-Val-Cit-PABC(乙酰基-赖氨酸-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基)、氨基-PEG6-C2-Val-Cit-PABC、氨基己酰基-Val-Cit-PABC、[(3R,5R)-1-{3-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]丙酰基}哌啶-3,5-二基]双-Val-Cit-PABC、[(3S,5S)-1-{3-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]丙酰基}哌啶-3,5-二基]双-Val-Cit-PABC、腐胺或Ac-Lys-腐胺。

[0166] 在一些实施方案中,(接头)-(细胞毒性剂)是N²-乙酰基-L-赖氨酰基-L-缬氨酰基-N⁵-氨甲酰基-N-[4-({[(2-{[({(8S)-8-(氯甲基)-6-[3-{[(1S)-1-(氯甲基)-8-甲基-5-(膦酰基氧)-1,6-二氢吡咯并[3,2-e]吡啶-3(2H)-基]羰基}双环[1.1.1]戊-1-基]羰基)-1-甲基-3,6,7,8-四氢吡咯并[3,2-e]吡啶-4-基]氧)羰基}(甲基)氨基}乙基)(甲基)氨甲酰基]氧}甲基)苯基]-L-鸟氨酰胺,分子式C₆₃H₈₂C₁₂N₁₃O₁₅P,其具有下列结构:



[0168] 在一些实施方案中,(接头)-(细胞毒性剂)是C₆₃H₈₂C₁₂N₁₃O₁₅P的三氟乙酸盐形式,其具有下列结构:



[0170] 上述三氟乙酸盐形式的式为C₆₃H₈₂C₁₂N₁₃O₁₅P.C₂H₃F₃O₂。

[0171] 在一些实施方案中,所述ADC是1) 抗体-LLQG (SEQ ID NO:78)-Ac-Lys-Val-Cit-PABC-CPI-8314。在一些实施方案中,含有酰基供体谷氨酰胺的标签包含例如LLQG (SEQ ID

N0:78),其置换抗体重链中的氨基酸残基E294-N297。在一些实施方案中,所述ADC在位置K222(在绞链中)包含氨基酸修饰。在一些实施方案中,所述修饰是K222R。抗体的实例包括但不限于h18G3、18G3、h18G3、16D6、h16D6、3D1及20D7。

[0172] 在一些实施方案中,本发明涵盖组合物(包括药物组合物),其包含本文所述抗体或ADC或由本文所述方法制备的且具有所述特征的抗体或ADC。如本文所用,组合物包含一或多种结合CD123的抗体或ADC。这些组合物可进一步包含适当的赋形剂,如本领域众所周知的药学上可接受的赋形剂,包括缓冲剂。

[0173] 使用CD123抗体及其ADC的方法

[0174] 本发明的抗体及ADC可用于许多应用,包括但不限于治疗性处理方法及诊断性处理方法。

[0175] 在一方面,本发明提供一种治疗对象中与CD123表达相关的病症的方法。在一些实施方案中,该治疗对象中与CD123表达相关的病症的方法包含向需要治疗的对象施用有效量的组合物(例如药物组合物),该组合物包含本文所述CD123抗体或CD123 ADC。与CD123表达相关的病症包括但不限于异常CD123表达、改变的或异常CD123表达、表达CD123的恶性细胞及增生性疾病(例如癌症)或自身免疫疾病。

[0176] 因此,在一些实施方案中,提供一种治疗对象中癌症的方法,该方法包含向需要治疗的对象施用有效量的组合物,该组合物包含本文所述CD123抗体或CD123 ADC。如本文所用,癌症可为例如但不限于:多发性骨髓瘤、恶性浆细胞肿瘤、霍奇金氏淋巴瘤、结节性淋巴瘤为主型霍奇金氏淋巴瘤、卡勒氏病及骨髓瘤病、浆细胞白血病、浆细胞瘤、B细胞前淋巴瘤白血病、毛细胞白血病(HCL)、B细胞非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性淋巴细胞性白血病(ALL,B-ALL)、慢性髓性白血病(CML)、滤泡性淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、外套细胞淋巴瘤、大细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞淋巴瘤、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤(BPDCN)、髓性白血病、瓦登斯特隆巨球蛋白血症、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、粘膜相关性淋巴组织淋巴瘤、小细胞淋巴细胞性淋巴瘤、外套细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、原发性纵隔(胸腺)大B细胞淋巴瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤、瓦登斯特隆巨球蛋白血症、结内边缘区B细胞淋巴瘤、脾边缘区淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、淋巴瘤样肉芽肿病、富含T细胞/组织细胞大B细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性皮肤弥漫性大B细胞淋巴瘤(腿型)、老年人EBV阳性弥漫性大B细胞淋巴瘤、炎症相关弥漫性大B细胞淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、ALK阳性大B细胞淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、HHV8相关多中心型克斯特曼病(HHV8-associated multicentric Castleman disease)产生的大B细胞淋巴瘤、特征介于弥漫性大B细胞淋巴瘤与伯基特淋巴瘤之间的未分类B细胞淋巴瘤、特征介于弥漫性大B细胞淋巴瘤与典型霍奇金淋巴瘤之间的未分类B细胞淋巴瘤及其他B细胞相关淋巴瘤。在一些实施方案中,所述癌症是AML、B-ALL、BPDCN、NHL或HCL。

[0177] 在一些实施方案中,提供一种在具有表达CD123的恶性细胞的对象中抑制肿瘤生长或进展的方法,该方法包含向需要的对象施用有效量的组合物,该组合物包含本文所述CD123抗体或CD123 ADC。在其他实施方案中,本发明提供一种抑制对象中表达CD123的细胞转移的方法,该方法包含向需要的对象施用有效量的组合物,该组合物包含本文所述CD123抗体或CD123 ADC。在其他实施方案中,本发明提供一种诱导对象中恶性细胞肿瘤退行的方

法,该方法包含向需要的对象施用有效量的组合物,该组合物包含本文所述CD123抗体或CD123 ADC。

[0178] 在一些实施方案中,提供一种治疗对象的自身免疫病的方法,该方法包含向需要的对象施用有效量的组合物,该组合物包含本文所述CD123抗体或CD123 ADC。

[0179] 如本文所用,自身免疫病包括但不限于:全身性红斑狼疮、类风湿性关节炎、糖尿病(I型)、多发性硬化症、Addison氏病、乳糜泻、皮炎、Graves氏病、桥本氏甲状腺炎、桥本氏脑病、重症肌无力、恶性贫血、反应性关节炎、Sjogren综合征、急性播散性脑脊髓炎、 γ 球蛋白缺乏症、肌萎缩性侧索硬化、强直性脊柱炎、抗磷脂综合征、抗合成酶综合征、特应性变态反应、特应性皮炎、自身免疫性肠病变、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳疾病、自身免疫性淋巴细胞增生综合征、自身免疫性周围神经病、自身免疫性胰腺炎、自身免疫性多发性内分泌综合征、自身免疫性黄体酮皮炎、自身免疫性血小板减少性紫癜、自身免疫性荨麻疹、自身免疫性葡萄膜炎、Bechet氏病、Castleman氏病、冷凝集素疾病、克隆氏病、皮炎、嗜酸性筋膜炎、胃肠道类天疱疮、Goodpasture氏综合征、Guillain-Barré综合征、化脓性汗腺炎、特发性血小板减少性紫癜、发作性睡病、寻常天疱疮、恶性贫血、多发性肌炎、原发性胆道性肝硬化、复发性多软骨炎、风湿热、颞动脉炎、横贯性脊髓炎、溃疡性结肠炎、未分化结缔组织疾病、血管炎及Wegener氏肉芽肿病。

[0180] 在另一方面,本发明提供有效量的用于治疗有需要的对象中与CD123表达相关的病症(例如癌症或自身免疫病)的组合物(例如药物组合物),其包含本文所述之CD123抗体或CD123 ADC。在一些实施方案中,提供有效量的用于抑制具有表达CD123的恶性细胞的对象中肿瘤生长或进展的组合物(例如药物组合物),其包含本文所述之CD123抗体或CD123 ADC。在一些实施方案中,提供有效量的用于抑制有需要的对象中表达CD123的恶性细胞的转移的组合物(例如药物组合物),其包含本文所述之CD123抗体或CD123 ADC。在一些实施方案中,提供有效量的用于在具有表达CD123的恶性细胞的对象中诱导肿瘤退行的组合物(例如药物组合物),其包含本文所述之CD123抗体或CD123 ADC。

[0181] 在另一方面,本发明提供本文所述之CD123抗体或CD123 ADC用于在有需要的对象中治疗与CD123表达相关的病症(例如癌症或自身免疫病)。在一些实施方案中,提供本文所述之CD123抗体或CD123 ADC用于在具有表达CD123的恶性细胞的对象中抑制肿瘤生长或进展。在一些实施方案中,提供本文所述之CD123抗体或CD123 ADC用于在需要的对象中抑制表达CD123的恶性细胞的转移。在一些实施方案中,提供本文所述之CD123抗体或CD123 ADC用于在具有表达CD123的恶性细胞的对象中诱导肿瘤退行。

[0182] 在另一方面,本发明提供本文所述之CD123抗体或CD123 ADC在制备用于治疗与CD123表达相关的病症(例如癌症或自身免疫病)的药物中的用途。在一些实施方案中,提供本文所述之CD123抗体或CD123 ADC在制备用于抑制肿瘤生长或进展的药物中的用途。在一些实施方案中,提供本文所述之CD123抗体或CD123 ADC在制备用于抑制表达CD123的恶性细胞转移的药物中的用途。在一些实施方案中,提供本文所述之CD123抗体或CD123 ADC在制备用于诱导肿瘤退行的药物中的用途。

[0183] 在另一方面,本发明提供一种检测、诊断和/或监测与CD123表达相关的病症的方法。例如,本文所述之CD123抗体可用可检测部分标记,如显影剂及酶-底物标记。本文所述之抗体还可用于体内诊断性测定如体内显影(例如PET或SPECT)或染色试剂。

[0184] 在一些实施方案中,本文描述之方法另包含以其他形式的疗法治疗对象的步骤。在一些实施方案中,所述其他形式的疗法是其他抗癌疗法,包括但不限于化学疗法、放射疗法、手术、激素疗法和/或其他免疫疗法。

[0185] 在一些实施方案中,所述其他形式的疗法包含施用一或多种除本文所述CD123抗体或CD123 ADC以外的治疗剂。所述一或多种治疗剂可为例如但不限于:第二抗体(例如抗VEGF(血管内皮生长因子)抗体(例如AVASTIN®)、抗HER2抗体(例如HERCEPTIN®)、抗CD25抗体、抗CD33抗体、抗CD20抗体(例如RITUXAN®)、抗粘蛋白样糖蛋白抗体、抗TNF抗体、抗PD-1或PD-L1抗体和/或表皮生长因子受体(EGFR)抗体(例如ERBITUX®))、血管生成抑制剂、细胞毒性剂(例如蒽环类(例如道诺霉素、多柔比星、表柔比星、伊达比星、戊柔比星及米托蒽醌)、紫杉烷(例如太平洋紫杉醇及多西他赛)、海兔毒素、多卡米星、烯二炔、格尔德霉素、美坦辛、嘌呤霉素、长春花生物碱(例如长春新碱)、拓扑异构酶抑制剂(例如依托泊苷)、微管溶素、嘧啶类似物(例如氟尿嘧啶)、含铂剂(例如顺铂、卡铂及奥沙利铂)、烷化剂(例如美法仑、环磷酰胺或卡莫司汀)及半星芒体)、免疫调节剂(例如泼尼松)、消炎剂(例如地塞米松)、芳香酶抑制剂(例如阿那曲唑、依西美坦、来曲唑、伏氯唑、福美坦或甾内酯)、蛋白酶体抑制剂(例如硼替佐米诸如VELCADE®([(1R)-3-甲基-1-[(2S)-1-氧代-3-苯基-2-[(吡嗪基羰基)氨基]丙基]氨基]丁基]硼酸)及其他药剂如它莫西芬。

[0186] 例如,在一些实施方案中,提供一种治疗AML的方法,该方法包含向需要治疗的对象施用有效量的组合物,该组合物包含本文所述CD123抗体或CD123 ADC及一种其他治疗剂如化学治疗剂或沙利度胺或其衍生物(例如,来那度胺(lenalidomide))。在一些实施方案中,所述一种其他治疗剂选自:硼替佐米(例如VELCADE®)、美法仑、泼尼松、多柔比星、来那度胺、沙利度胺、泼尼松、卡莫司汀、依托泊苷、顺铂、环磷酰胺及长春新碱。在一些实施方案中,所述其他治疗剂是硼替佐米(例如VELCADE®)、美法仑或泼尼松。在一些实施方案中,所述对象复发或是先前AML疗法所难治的。

[0187] CD123抗体或CD123 ADC可经由任何适当途径施用给个体。本领域技术人员应了解的是,本文所描述的实例不意图是限制性的而是可用技术的说明。因此,在一些实施方案中,CD123抗体或CD123 ADC根据已知方法施用给个体,如静脉内施用例如推注或在一段时间内连续输注、肌肉内、腹腔内、脑脊髓内、颅内、经皮、皮下、关节内、舌下、滑膜内、经吸入、脊椎鞘内、经口、吸入或局部途径。施用可为全身性例如静脉内施用或局部施用。自商业途径获得的液体配制剂喷雾器(包括喷射喷雾器及超声喷雾器)可用于施用。液体配制剂可经直接喷雾,冷冻干燥粉末可在重构后经喷雾施用。替代地,CD123抗体或CD123 ADC可利用氟碳配制剂及定量吸入器加以雾化或以经冷冻干燥及磨细粉末形式吸入。

[0188] 在一个实施方案中,CD123抗体或CD123 ADC经定点或靶向性局部递送技术施用。定点或靶向性局部递送技术的实例包括各种Trop抗体或CD123 ADC的植入式贮剂来源或局部递送导管,诸如输注导管、留置导管、或针头导管、合成性移植物、外膜层包覆、分流器及支架或其他植入式装置、定点载剂、直接注射或直接应用。见例如PCT公开号WO 00/53211及美国专利第5,981,568号。

[0189] CD123抗体或CD123 ADC的多种配制物可用于施用。在一些实施方案中,CD123抗体或CD123 ADC可被用于单独施用。在一些实施方案中,CD123抗体(或CD123 ADC)及药学上可接受的赋形剂可为多种配制物。药学上可接受的赋形剂为本领域所知,且是有助于施用药

理有效物质的相对惰性物质。例如,赋形剂可提供外形或稠度,或作为稀释剂。适当赋形剂包括但不限于稳定剂、润湿剂、乳化剂、用于改变渗透性的盐、包封剂、缓冲剂及皮肤穿透增强剂。用于肠胃外及非肠胃外药物递送的赋形剂以及配制物阐述于Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Mack Publishing, 2005。

[0190] 在一些实施方案中,这些药剂配制为用于注射施用(例如腹膜内、静脉内、皮下、肌肉内等)。因此,这些药剂可与药学上可接受的媒介物(如盐水、林格(Ringer)氏液、葡萄糖溶液等)组合。特定给药方案(即剂量、时间及重复)将根据特定个体及该个体的医学病史而定。

[0191] 本文所述CD123抗体或CD123 ADC可利用任何适当方法施用,包括注射(例如腹腔内、静脉内、皮下、肌肉内等)。CD123抗体或CD123 ADC还可经本文所述的吸入施用。通常,在施用CD123抗体及CD123 ADC时,初始候选剂量可为约2mg/kg。就本发明目的而言,根据上述因素,典型的每日剂量可为约3微克/公斤至30微克/公斤、至300微克/公斤、至3毫克/公斤、至30毫克/公斤、至100毫克/公斤或以上的任何范围。例如,可使用约1毫克/公斤、约2.5毫克/公斤、约5毫克/公斤、约10毫克/公斤及约25毫克/公斤的剂量。在数天或更久期间内重复施用时,根据病症,治疗持续进行直到发生所需的症状抑制或达成足够的治疗水平,例如抑制或延迟肿瘤生长/癌细胞的进展或转移。一种例示性给药方案包含施用初始剂量约2毫克/公斤的CD123抗体或CD123 ADC,随后每周约1毫克/公斤的维持剂量,或随后隔周约1毫克/公斤的维持剂量。另一种例示性给药方案包含施用初始剂量每周或每三周约0.21、约0.5或约0.8mg/kg。其他例示性给药方案包含施用渐增剂量(例如初始剂量1mg/kg,逐渐增加至每周或更长期间施用一或多个更高剂量)。其他给药方案还可根据医师所希望达成的药物动力学衰减模式使用。例如,在一些实施方案中,考虑每周给药一至四次。在其他实施方案中,考虑每月给药一次或隔月或每三个月给药一次。此治疗的进展可由常规技术及测定容易地监测。给药方案(包括所使用的CD123抗体或CD123 ADC)可随时间变化。

[0192] 就本发明目的而言,CD123抗体或CD123 ADC的适当剂量将依赖于所用CD123抗体或CD123 ADC(或其组合物)、要治疗的症状的类型及严重性、该药剂是否以治疗性目的施用、先前治疗、对象的临床病史及对该药剂的反应、对象对施用的药剂的清除速率及主治医师的考虑而定。通常医师将施用CD123抗体或CD123 ADC直到达到可完成所需结果的剂量。剂量和/或频率可依治疗疗程变化。经验性考虑诸如半衰期通常将影响该剂量的决定。例如,与人免疫系统相容的抗体诸如人源化抗体或全人抗体可用以延长抗体的半衰期及防止抗体被宿主免疫系统攻击。施用频率可在疗程当中决定及调整,通常但不一定根据症状的治疗和/或抑制和/或改善和/或延迟,例如肿瘤生长抑制或延迟等。替代地,CD123抗体或CD123 ADC的持续性连续释放配制物可能是适当的。各种用于达成持续释放的配制物及装置是本领域已知的。

[0193] 在一个实施方案中,在已经接受一或多次CD123抗体或其CD123 ADC施用的个体中,CD123抗体或CD123 ADC的剂量可凭经验确定。给予个体渐增剂量的CD123抗体或CD123拮抗剂。为评估疗效,可追踪疾病的指标。

[0194] 根据本发明的方法施用CD123抗体或CD123 ADC可为连续性或间歇性的,根据例如接受者的生理状况、施用目的是治疗性或预防性的及本领域技术人员所知的其他因素而定。CD123抗体或CD123 ADC的施用可为实质上连续一段预先决定的时间或可为一系列间隔

剂量。

[0195] 在一些实施方案中,可能存在超过一种CD123抗体或CD123 ADC。可能存在至少一种、至少两种、至少三种、至少四种、至少五种不同或更多种CD123抗体或CD123 ADC。通常,这些CD123抗体或CD123 ADC可能具有不会互相不良影响的互补活性。例如,可使用一或多种下列CD123抗体:针对CD123上一个表位的第一CD123抗体及针对CD123上不同表位的第二CD123抗体。

[0196] 本发明所用之CD123抗体或CD123 ADC的治疗性配制物藉由混合具有所需纯度的抗体与任选的药理学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂 (Remington, The Science and Practice of Pharmacy 21st Ed. Mack Publishing, 2005) 制备成供储存的冷冻干燥配制物或水性溶液的形式。可接受的载剂、赋形剂或稳定剂在所采用之剂量及浓度下对接受者是无毒的,可包含缓冲剂诸如磷酸盐、柠檬酸盐及其他有机酸;盐诸如氯化钠;抗氧化剂包括抗坏血酸及甲硫氨酸;防腐剂(诸如十八基二甲基苄基氯化铵;氯化六甲双铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁醇或苄醇;烷基对羟基苯甲酸酯诸如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;及间甲酚);低分子量(小于约10个残基)多肽;蛋白质诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物诸如聚乙烯吡咯烷酮;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、二糖及其他碳水化合物包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂诸如EDTA;糖诸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;盐形成反离子诸如钠;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TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。

[0197] 含有CD123抗体或CD123 ADC的脂质体藉由本领域已知方法制备,诸如Epstein, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688, 1985, Hwang, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030, 1980及美国专利第4,485,045及4,544,545号所述。循环时间延长的脂质体公开于美国专利第5,013,556号。特别有用的脂质体可利用逆相蒸发方法以包含磷脂酰胆碱、胆固醇及PEG-衍生的磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂质组合物产生。脂质体被挤压通过限定孔径大小的滤网以产生具有所需直径的脂质体。

[0198] 所述活性成分还可被包封于藉由例如凝聚技术或藉由界面聚合化所制备的微胶囊中,例如分别于羟甲基纤维素或明胶微胶囊及聚-(异丁烯酸甲酯)微胶囊中、于胶体药物递送系统中(例如脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米微粒及纳米微囊)或于巨乳液中。这些技术公开于Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Mack Publishing, 2005。

[0199] 可制备持续释放制剂。持续释放制剂的适当实例包括含有该抗体的固相疏水性聚合物的半透性基体,该基体是成形物品的形式(例如膜或微胶囊)。持续释放基质的实例包括聚酯、水凝胶(例如聚(2-羟乙基-甲基丙烯酸酯)或聚乙烯醇)、聚交酯(美国专利第3,773,919号)、L-谷氨酸及7-乙基-L-谷氨酸盐的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物诸如LUPRON DEPOT™(由乳酸-乙醇酸共聚物及醋酸亮丙瑞林所组成的可注射微球)、乙酸异丁酸蔗糖酯及聚-D-(-)-3-羟丁酸。

[0200] 欲用于体内施用的配制物必须为无菌。此可轻易地藉由例如无菌过滤膜的过滤达成。治疗性CD123抗体或CD123 ADC组合物通常被置放于具有无菌接口的容器中,例如具有可被皮下注射针穿刺的塞子的静脉溶液袋或小瓶。

[0201] 本发明之组合物可呈单位剂量形式,诸如片剂、丸剂、胶囊、粉剂、颗粒剂、溶液、悬浮液或栓剂,以口服、肠胃外或经直肠施用,或藉由吸入或喷入施用。

[0202] 为制备固体组合物诸如片剂,主要活性成份与药学载剂(例如常规压片成分诸如玉米淀粉、乳糖、蔗糖、山梨醇、滑石、硬脂酸、硬脂酸镁、磷酸二钙或胶)及其他药学稀释剂(例如水)混合,以形成含有本发明化合物或其非毒性药学上可接受盐的均质混合物的固体预配制组合物。当提到这些均质的预配制组合物,表示该活性成分均匀分散于该组合物内,以使该组合物可被轻易地细分为同样有效的单位剂量形式诸如片剂、丸剂及胶囊。此固体预配制组合物接着被细分为上述类型的单位剂量形式,含有自0.1至约500mg的本发明活性成分。该新颖组合物的片剂或丸剂可经包覆或经其他方式复合以提供具有长效优点的剂型。例如,该片剂或丸剂可包含内部剂量及外部剂量成分,后者呈包封前者的形式。该两种成分可以肠溶层分开,该肠溶层用来抵抗胃中崩解,以使该内部成分完整通过到达十二指肠或被延迟释放。多种材料可用于该肠溶层或包覆层,该材料包括多种聚合酸及聚合酸与诸如虫胶、鲸蜡醇及醋酸纤维素等材料的混合物。

[0203] 适当的表面活性剂包括特别是非离子剂,诸如聚氧乙烯去水山梨醇(例如Tween™ 20、40、60、80或85)及其他去水山梨醇(例如Span™ 20、40、60、80或85)。含有表面活性剂的组合物将方便地包含0.05-5%的表面活性剂,且可为0.1-2.5%。将了解若需要的话,其他成分可被添加,例如甘露醇或其他药学上可接受的媒介物。

[0204] 适当乳液可利用商业途径获得的脂肪乳液制备,如Intralipid™、Liposyn™、Infonutrol™、Lipofundin™及Lipiphysan™。活性成分可溶解于预先混合的乳液组合物中或者可溶解于油中(例如大豆油、红花油、棉籽油、芝麻油、玉米油或杏仁油),再与磷脂(例如卵磷脂、大豆磷脂或大豆卵磷脂)及水混合以形成乳液。将了解的是可添加其他成分例如甘油或葡萄糖以调整该乳液的张力。适当乳液通常将含有最高20%例如5-20%的油。该脂肪乳液可包含0.1-1.0μm,特别是0.1-0.5μm的脂肪液滴,且具有5.5-8.0范围的pH。

[0205] 乳液组合物可为藉由混合CD123抗体或CD123 ADC与Intralipid™或其成分(大豆油、卵磷脂、甘油及水)所制备的那些。

[0206] 用于吸入或喷入的组合物包括在药学上可接受的水性或有机溶剂中的溶液及悬浮液,或其混合物,以及粉末。该液体或固体组合物可能包含如前述之适当的药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,该组合物经口或经鼻呼吸途径施用以提供局部或全身效应。在优选无菌的药学上可接受的溶剂中的组合物可藉由使用气体加以雾化。经雾化的溶液可从喷雾装置直接吸入,或该雾化装置可与面罩、帷幕或间歇性正压呼吸机连接。溶液、悬浮液或粉末组合物可自装置、优选经口或经鼻施用,该装置以适当方式递送配制物。

[0207] 组合物

[0208] 用于本发明方法中的组合物包含有效量的本文所述CD123抗体或CD123 ADC。这种组合物的实例以及如何配制也描述于较早段落及下文。在一些实施方案中,该组合物包含一或多种CD123抗体或CD123 ADC。例如,CD123抗体识别人CD123。在一些实施方案中,CD123抗体是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。在一些实施方案中,CD123抗体包含能引发所需免疫反应(诸如抗体介导的裂解或ADCC)的恒定区。在其他实施方案中,CD123抗体包含不引发非所要或非所需的免疫反应(诸如抗体介导的裂解或ADCC)的恒定区。在其他实施方案中,CD123抗体包含抗体的一或多个CDR(诸如一、二、三、四、五或在一些实施方案中所有六个

CDR)。

[0209] 应了解该组合物可包含超过一种的CD123抗体或CD123 ADC (例如识别CD123的不同表位的CD123抗体的混合物)。其他例示性组合物包含超过一种的识别相同表位的CD123抗体或CD123 ADC,或结合CD123 (例如人CD123) 的不同表位的不同物种CD123抗体或CD123 ADC。

[0210] 在一些实施方案中,CD123抗体可与施用一或多种额外治疗剂组合施用。这些包括但不限于施用下列:化学治疗剂、疫苗、基于CAR-T细胞的治疗、放射疗法、细胞因子疗法、疫苗、CD123双特异性抗体、其他免疫抑制途径抑制剂、血管生成抑制剂、T细胞活化剂、代谢途径抑制剂、mTOR抑制剂、腺苷途径抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂包括但不限于英立达(inlyta)、ALK抑制剂及舒尼替尼、BRAF抑制剂、表观遗传修饰剂、IDO1抑制剂、Treg细胞和/或骨髓来源抑制细胞的抑制剂或耗尽剂、JAK抑制剂、STAT抑制剂、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂、生物治疗剂(包括但不限于抗VEGF、VEGFR、EGFR、Her2/neu、其他生长因子受体、CD20、CD40、CD-40L、CTLA-4、OX-40、4-1BB、CD123、PD-L1、TIGIT及ICOS的抗体)、免疫原性剂(例如减弱的癌细胞、肿瘤抗原、抗原呈递细胞诸如以肿瘤衍生抗原或核酸刺激的树突细胞、免疫刺激细胞因子(例如IL-2、IFN α 2、GM-CSF)及经编码免疫刺激细胞因子诸如但不限于GM-CSF的基因转染的细胞)。化学治疗剂的实例包括烷化剂诸如塞替派及环磷酰胺;烷基磺酸酯诸如白消安、英丙舒凡及哌泊舒凡;氮丙啶类诸如苯佐替派(benzodopa)、卡波醌、美妥替派(meturedopa)和乌瑞替派(uredopa);乙烯亚胺类和甲基蜜胺类,包括六甲蜜胺、三乙撑蜜胺、三乙撑磷酰胺、三乙撑硫代磷酰胺及三羟甲基蜜胺(trimethylolomelamine);番荔枝内酯类(acetogenins)(尤其是布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone));喜树碱(包括合成的类似物托泊替康);苔藓虫素(bryostatin);海绵多聚乙酰(callystatin);CC-1065(包括其合成类似物阿多来新、卡折来新及比折来新);念珠藻素(尤其是念珠藻素1及念珠藻素8);海兔毒素;多卡米星(包括合成类似物KW-2189及CBI-TMI);艾榴塞洛素(eleutherobin);水鬼蕉碱(pancratistatin);匍枝珊瑚醇(sarcodictyin);海绵抑制素(spongistatin);氮芥诸如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺(cholophosphamide)、雌莫司汀、异环磷酰胺、二氯甲基二乙胺(mechlorethamine)、二氯甲基二乙胺氧化物盐酸盐、美法仑、新氮芥、胆甾醇苯乙酸氮芥(phenesterine)、松龙苯芥(prednimustine)、氯乙环磷酰胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥;亚硝基脲(nitrosourea)诸如卡莫司汀、吡葡亚硝脲、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀、雷莫司汀;抗生素诸如烯二炔抗生素(例如卡利奇霉素,特别是卡利奇霉素 γ 1I及卡利奇霉素phi1I,见例如Agnew, Chem.Intl.Ed.Engl.,33:183-186(1994);达内霉素,包括达内霉素A;双膦酸盐类,诸如氯屈膦酸盐;埃斯培拉霉素;以及新制癌菌素(neocarzinostatin)发色团及相关色蛋白烯二炔抗生素发色团)、阿克拉霉素、放线菌素、安曲霉素(authramycin)、偶氮丝氨酸、博莱霉素、放线菌素C、卡拉比辛(carabycin)、洋红霉素(caminomycin)、嗜癌素、色霉素、放线菌素D、道诺霉素、地托比星、6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸、多柔比星(包括吗啉代-多柔比星、氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯啉基-多柔比星及脱氧多柔比星)、聚乙二醇化脂质体多柔比星、表柔比星、依索比星、伊达比星、麻西罗霉素、丝裂霉素诸如丝裂霉素C、麦考酚酸、诺拉霉素、橄榄霉素、培洛霉素、波弗霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑霉素、链佐星、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁、佐柔比星;抗代谢物诸如甲氨蝶呤及5-

氟尿嘧啶 (5-FU) ; 叶酸类似物诸如二甲叶酸、甲氨蝶呤、蝶罗呤、三甲曲沙; 嘌呤类似物诸如氟达拉滨、6-巯嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤; 嘧啶类似物诸如安西他滨、阿扎胞苷、6-阿扎尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、二脱氧尿苷、脱氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷; 雄激素类诸如卡普罗酮、丙酸屈他雄酮、硫雄甾醇 (epitiostanol)、美雄烷、睾内酯; 抗肾上腺类诸如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦; 叶酸补充剂诸如亚叶酸 (frolinic acid) ; 醋葡萄糖内酯; 醛磷酸胺糖苷 (aldophosphamide glycoside) ; 氨基酮戊酸; 恩尿嘧啶; 安吡啶; 贝斯特氮芥 (bestrabucil) ; 比生群; 依达曲沙; 得弗伐胺 (defofamine) ; 秋水仙胺; 地吡醌; 艾弗尼辛 (elformithine) ; 依利醋铵; 埃博霉素 (epothilone) ; 依托格鲁; 硝酸镓; 羟基脲; 香菇多糖; 氯尼达明; 类美坦辛 (maytansinoid) 诸如美坦辛及安丝菌素; 米托胍脲; 米托蒽醌; 莫派达醇; 二胺硝吡啶 (nitracrine) ; 喷司他丁; 蛋氨酸氮芥; 吡柔比星; 洛索蒽醌; 鬼臼酸; 2-乙酰肼; 丙卡巴肼; 雷佐生; 利索新 (rhizoxin) ; 西佐喃 (sizofuran) ; 锗螺胺; 细交链孢菌酮酸 (tenuazonic acid) ; 三亚胺醌; 2,2',2''-三氯三乙胺; 新月毒素 (特别是T-2毒素、韦拉库林 A (verracurin A)、杆孢菌素A及蛇形菌素 (anguidine)) ; 乌拉坦; 长春地辛; 达卡巴嗪; 甘露莫司汀; 二溴甘露醇; 二溴卫矛醇; 哌泊溴烷; 瓜西托辛 (gacytosine) ; 阿糖胞苷 ("Ara-C") ; 环磷酸胺; 塞替派; 紫杉烷类 (taxoids) , 例如太平洋紫杉醇及多西他赛; 苯丁酸氮芥; 吉西他滨; 6-硫鸟嘌呤; 巯嘌呤; 甲氨蝶呤; 铂类似物诸如顺铂及卡铂; 长春碱; 铂; 依托泊苷 (VP-16) ; 异环磷酸胺; 米托蒽醌; 长春新碱; 长春瑞滨; 诺安托 (novantrone) ; 替尼泊苷; 依达曲沙; 道诺霉素; 氨基蝶呤; 截瘤达 (xeloda) ; 伊班膦酸盐; CPT-11; 拓扑异构酶抑制剂RFS 2000; 二氟甲基鸟氨酸 (DMFO) ; 维生素A酸类诸如视黄酸; 卡培他滨; 及上述任一者的药学上可接受的盐、酸或衍生物。还包括可作为调节或抑制激素对肿瘤作用的抗激素剂, 诸如抗雌激素及选择性雌激素受体调节剂 (SERM) , 包括例如他莫昔芬、雷洛昔芬 (raloxifene) 、屈洛昔芬、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、雷洛昔芬 (keoxifene) 、LY117018、奥那司酮及托瑞米芬 (法乐通) ; 抑制调节肾上腺中雌激素产生的芳香酶的芳香酶抑制剂, 诸如例如4 (5) -咪唑、氨鲁米特、乙酸甲地孕酮、依西美坦、福美司坦 (formestane) 、法倔唑、伏氯唑、来曲唑及阿那曲唑; 及抗雄激素类, 诸如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、亮丙瑞林 (leuprolide) 及戈舍瑞林; 及上述任一者之药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0211] 在一些实施方案中, CD123抗体与一或多种靶向免疫检查点调节剂的其他治疗剂组合使用, 例如但不限于靶向下列的治疗剂: CD123、PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG-3、B7-H3、B7-H4、B7-DC (PD-L2) 、B7-H5、B7-H6、B7-H8、B7-H2、B7-1、B7-2、ICOS、ICOS-L、TIGIT、CD2、CD47、CD80、CD86、CD48、CD58、CD226、CD155、CD112、LAIR1、2B4、BTLA、CD160、TIM1、TIM-3、TIM4、VISTA (PD-H1) 、OX40、OX40L、GITR、GITRL、CD70、CD27、4-1BB、4-BBL、DR3、TL1A、CD40、CD40L、CD30、CD30L、LIGHT、HVEM、SLAM (SLAMF1、CD150) 、SLAMF2 (CD48) 、SLAMF3 (CD229) 、SLAMF4 (2B4、CD244) 、SLAMF5 (CD84) 、SLAMF6 (NTB-A) 、SLAMCF7 (CS1) 、SLAMF8 (BLAME) 、SLAMF9 (CD2F) 、CD28、CEACAM1 (CD66a) 、CEACAM3、CEACAM4、CEACAM5、CEACAM6、CEACAM7、CEACAM8、CEACAM1-3AS CEACAM3C2、CEACAM1-15、PSG1-11、CEACAM1-4C1、CEACAM1-4S、CEACAM1-4L、IDO、TDO、CCR2、CD39-CD73-腺苷途径 (A2AR) 、BTKs、TIKs、CXCR2、CCR4、CCR8、CCR5、VEGF途径、CSF-1或先天免疫反应调节剂。在一些实施方案中, CD123抗体与下列组合使用: 例如, 抗PD-L1拮抗剂抗体诸如例如BMS-936559 (MDX-1105) ; CD123抗体诸如例如纳武单抗 (nivolumab) 、派姆单抗 (pembrolizumab) 及匹利珠单抗 (pidilizumab) ; 抗CTLA-4拮抗

剂抗体诸如例如伊匹单抗(ipilimumab);抗LAG-3拮抗剂抗体诸如BMS-986016及IMP701;抗TIM-3拮抗剂抗体;抗B7-H3拮抗剂抗体诸如例如MGA271;抗VISTA拮抗剂抗体;抗TIGIT拮抗剂抗体;抗CD28拮抗剂抗体;抗CD80抗体;抗CD86抗体;抗B7-H4拮抗剂抗体;抗ICOS激动剂抗体;抗CD28激动剂抗体;先天免疫反应调节剂(例如TLR、KIR、NKG2A)及IDO抑制剂。在一些实施方案中,CD123抗体与4-1BB(CD137)激动剂诸如例如PF-05082566或BMS-663513组合使用。在一些实施方案中,CD123抗体与OX40激动剂诸如例如抗OX-40激动剂抗体组合使用。在一些实施方案中,CD123抗体与GITR激动剂诸如例如抗GITR激动剂抗体诸如例如但不限于TRX518组合使用。在一些实施方案中,CD123抗体与IDO抑制剂组合使用。在一些实施方案中,CD123抗体与细胞因子疗法诸如例如但不限于IL-15、CSF-1、MCSF-1等组合使用。

[0212] 在一些实施方案中,CD123抗体与一或多种其它治疗性抗体诸如例如但不限于靶向CD19、CD22、CD40、CD52或CCR4的抗体组合使用。

[0213] 在一些实施方案中,CD123抗体疗法可在其他药剂治疗之前或之后相隔数分钟至数周进行。在其中其他药剂和/或蛋白质或多核苷酸分开施用的实施方案中,通常会确保在各次递送之间不会超过显著时间,使得本发明的药剂及组合物仍然能够对对象发挥有利的组合效应。在这种情况下,所考虑的是可将两种方案彼此在约12-24h内且更优选彼此在约6-12h内施用。然而在一些情况下,所需的可能是显著延长施用时间,其中在各个施用之间经过数天(2、3、4、5、6或7)至数周(1、2、3、4、5、6、7或8)。

[0214] 在一些实施方案中,CD123抗体组合物包含第二药剂,其选自克唑替尼(crizotinib)、帕博西尼(palbociclib)、吉西他滨、环磷酰胺、氟尿嘧啶、FOLFOX、亚叶酸、奥沙利铂、阿西替尼(axitinib)、苹果酸舒尼替尼(sunitinib malate)、托法替尼(tofacitinib)、贝伐珠单抗、利妥昔单抗及曲妥珠单抗(trastuzumab)。

[0215] 在一些实施方案中,CD123抗体组合物与治疗方案组合,该治疗方案进一步包含选自手术、放射疗法、化学疗法、靶向性疗法、免疫疗法、激素疗法、血管生成抑制及姑息疗法的传统疗法。

[0216] 本发明所用组合物可另包含药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂(Remington: The Science and practice of Pharmacy 21st Ed., 2005, Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K.E. Hoover)以呈冷冻干燥配制物或水性溶液的形式。可接受的载剂、赋形剂或稳定剂在剂量及浓度下对接受者不具毒性,可能包含缓冲剂诸如磷酸盐、柠檬酸盐及其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸及甲硫氨酸;防腐剂(诸如十八基二甲基苄基氯化铵;氯化六甲双铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁醇或苄醇;烷基对羟基苯甲酸酯诸如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;及间甲酚);低分子量(小于约10个残基)多肽;蛋白质诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物诸如聚乙烯吡咯烷酮;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、二糖及其他碳水化合物包括葡萄糖、甘露糖或葡聚糖;螯合剂诸如EDTA;糖诸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;盐形成反离子诸如钠;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TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。药学上可接受的赋形剂在本文进一步描述。

[0217] 多核苷酸、载体及宿主细胞

[0218] 本发明还提供编码本发明抗体的分离的多核苷酸,及包含该多核苷酸的载体及宿主细胞。在另一方面,本发明提供包含本发明任何多核苷酸的组合物(诸如药物组合物)。在

一些实施方案中,该组合物包含表达载体,该表达载体包含编码本文所述任何抗体的多核苷酸。在另一方面,本发明提供制备本文所述任何多核苷酸的方法。

[0219] 与任何这种序列互补的多核苷酸也涵盖在本发明中。多核苷酸可能为单链(编码或反义)或双链,且可能为DNA(基因组、cDNA或合成的)或RNA分子。RNA分子包括HnRNA分子及mRNA分子,该HnRNA分子含有内含子且以一对一方式对应DNA分子,该mRNA分子不含有内含子。其他编码或非编码序列可能(但不一定)存在于本发明的多核苷酸内,且多核苷酸可能(但不一定)与其他分子和/或支持材料连接。

[0220] 多核苷酸可能包含天然序列(即编码抗体或其部分的内源性序列)或可能包含该序列的变体。多核苷酸变体包含一或多个取代、添加、缺失和/或插入,以使该编码的多肽的免疫反应性相对于天然免疫反应性分子不减少。对该编码的多肽的免疫反应性的影响通常如本文所述评估。变体优选展现与编码天然抗体或其部分的多核苷酸序列具有至少约70%的相同性,更优选至少约80%的相同性,甚至更优选至少约90%的相同性及优选至少约95%的相同性。

[0221] 若两个多核苷酸或多肽序列如下所述以最大对应性比对时该两个序列中核苷酸或氨基酸的序列相同,则该两个序列被称为是“相同的”。两序列之间的比较通常藉由在比较窗中比较序列加以进行,以识别及比较具有序列相似性的局部区域。如本文所用,“比较窗”指至少约20个、通常30个至约75个、或40个至约50个连续位置的区段,其中一序列可与具有相同连续位置数量的参考序列在该二序列经最佳比对后进行比较。

[0222] 供比较之序列的最佳比对可利用Lasergene生物信息软件包中的Megalign程序(威斯康星州麦迪逊市DNASTAR公司)以默认参数进行。此程序实现下列文献中描述的数种比对法:Dayhoff,M.O.,1978,A model of evolutionary change in proteins-Matrices for detecting distant relationships.In Dayhoff,M.O.(ed.)Atlas of Protein Sequence and Structure,National Biomedical Research Foundation,Washington DC Vol.5,Suppl.3,pp.345-358;Hein J.,1990,Unified Approach to Alignment and Phylogenesis pp.626-645Methods in Enzymology vol.183,Academic Press,Inc.,San Diego,CA;Higgins,D.G.and Sharp,P.M.,1989,CABIOS 5:151-153;Myers,E.W.and Muller W.,1988,CABIOS 4:11-17;Robinson,E.D.,1971,Comb.Theor.11:105;Santou,N.,Nes,M.,1987,Mol.Biol.Evol.4:406-425;Sneath,P.H.A.and Sokal,R.R.,1973,Numerical Taxonomy the Principles and Practice of Numerical Taxonomy,Freeman Press,San Francisco,CA;Wilbur,W.J.and Lipman,D.J.,1983,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 80:726-730。

[0223] 优选地,“序列相同性百分比”藉由在至少20个位置的比较窗中比较2个最佳比对的序列加以决定,其中在比较窗中多核苷酸或多肽序列的部分相较于供该2个序列最佳比对的参考序列(其不包含添加或缺失)可包含20%或更低、通常5%至15%、或10%至12%的添加或缺失(即缺口)。百分比如下计算:测定2个序列中出现相同核酸碱基或氨基酸残基的位置数目以得到匹配位置数目,将该匹配位置数目除以参考序列的位置总数(即窗口大小)并将该结果乘以100以得到序列相同性百分比。

[0224] 变体还可能或替代地与天然基因或其部分或互补部分实质上同源。该多核苷酸变体能在中等严格条件下与编码天然抗体的天然发生DNA序列(或互补序列)杂交。

[0225] 合适的“中等严格条件”包括用5X SSC、0.5% SDS、1.0mM EDTA (pH 8.0) 溶液预先洗涤;在50℃-65℃、5X SSC杂交过夜;随后在65℃用含有0.1% SDS的2X、0.5X及0.2X SSC各洗涤二次20分钟。

[0226] 如本文所用,“高度严格条件”或“高度严格性条件”指:(1) 采用低离子强度及高温洗涤,例如在50℃0.015M氯化钠/0.0015M柠檬酸钠/0.1%十二基硫酸钠;(2) 在42℃杂交期间采用变性剂,如甲酰胺,例如具有0.1%牛血清白蛋白/0.1%Ficoll/0.1%聚乙烯基吡咯烷酮/含有750mM氯化钠、75mM柠檬酸钠的pH 6.5的50mM磷酸钠缓冲液的50% (体积/体积) 甲酰胺;或(3) 在42℃采用50%甲酰胺、5×SSC (0.75M NaCl、0.075M柠檬酸钠)、50mM磷酸钠 (pH 6.8)、0.1%焦磷酸钠、5×Denhardt氏溶液、经超声的鲑鱼精子DNA (50μg/ml)、0.1% SDS及10%硫酸葡聚糖,并在42℃以0.2×SSC (氯化钠/柠檬酸钠) 洗涤且在55℃以50%甲酰胺清洗,之后在55℃以含有EDTA的0.1×SSC进行高严格洗涤。本领域技术人员将知道当有需要时如何调整温度、离子强度等条件以配合诸如探针长度等因素。

[0227] 本领域技术人员将了解的是,由于遗传密码简并性的结果,有许多核苷酸序列编码本文所述多肽。这些多核苷酸中有些与任何天然基因的核苷酸序列具有极低同源性。然而,本发明特别考虑因为密码子使用差异而变化的多核苷酸。另外,包含本文所提供的多核苷酸序列的基因的等位基因在本发明的范围内。等位基因是因为一或多个突变如核苷酸的缺失、添加和/或取代而被改变的内源性基因。所得mRNA及蛋白质可能但不一定具有改变的结构或功能。等位基因可利用标准技术(诸如杂交、扩增和/或数据库序列比较)加以识别。

[0228] 本发明的多核苷酸可利用化学合成、重组方法或PCR获得。化学多核苷酸合成的方法为本领域熟知,不须在此详细说明。本领域技术人员可利用本文所提供的序列及商用DNA合成仪产生所需DNA序列。

[0229] 为利用重组方法制备多核苷酸,包含所需序列的多核苷酸可插入适当载体中,该载体接着可被导入适当宿主细胞以供复制及扩增,在下面进一步讨论。多核苷酸可藉由本领域所知的任何手段插入宿主细胞中。通过直接摄取、胞吞作用、转染、F交配(F-mating)或电穿孔导入外源性多核苷酸来转化细胞。一旦导入后,该外源性多核苷酸可以非整合性载体(诸如质粒)或整合至该宿主细胞基因组中而维持在细胞内。经此扩增的多核苷酸可利用本领域熟知方法自宿主细胞分离。见例如Sambrook et al.,1989。

[0230] 另外,PCR能复制DNA序列。PCR技术是本领域熟知的并描述于美国专利4,683,195、4,800,159、4,754,065及4,683,202及PCR:The Polymerase Chain Reaction,Mullis et al.eds.,Birkawer Press,Boston,1994中描述。

[0231] RNA可通过使用适当载体中分离的DNA且将其插入适当宿主细胞中获得。当细胞复制且该DNA被转录成RNA时,该RNA即可利用本领域技术人员熟知的方法分离,例如于Sambrook et al.,1989(同上)所述。

[0232] 适当的克隆载体可根据标准技术构建,或可选自本领域可用的众多克隆载体。虽然经选择的克隆载体可能因所意图使用的宿主细胞而变化,适用的克隆载体通常具有自我复制的能力、可能具有特定限制内切核酸酶的单一靶和/或可能带有可用于选择含有该载体的克隆的标记基因。适当实例包括质粒及细菌病毒,例如pUC18、pUC19、Bluescript(例如pBS SK+)及其衍生物、mp18、mp19、pBR322、pMB9、ColE1、pCR1、RP4、噬菌体DNA及穿梭载体如pSA3及pAT28。这些及许多其他克隆载体可购自商业卖方如BioRad、Stratagene及

Invitrogen。

[0233] 表达载体通常是可复制多核苷酸构建体,其含有本发明的多核苷酸。这表示表达载体必需能在宿主细胞中以附加体或染色体DNA的组成部分被复制。适当的表达载体包括但不限于质粒、病毒载体(包括腺病毒、腺相关病毒、反转录病毒)、粘粒及PCT公开号W0 87/04462中所揭示的表达载体。载体组分通常包括但不限于下列一或多个:信号序列;复制起点;一或多个标记基因;合适的转录控制元件(如启动子、增强子及终止子)。为表达(即翻译),通常也需要一或多个翻译控制元件,如核糖体结合位点、翻译起始位点及终止密码子。

[0234] 含有感兴趣的多核苷酸的载体可通过任何适当手段导入宿主细胞,包括电穿孔、使用氯化钙、氯化铷、磷酸钙、DEAE-葡聚糖或其他物质的转染;微粒轰击;脂转染;及感染(例如该载体为感染剂如痘苗病毒)。导入载体或多核苷酸的选择通常将根据宿主细胞特征而定。

[0235] 本发明还提供包含本文所述任何多核苷酸的宿主细胞。任何能过表达异源DNA的宿主细胞可被使用以分离编码感兴趣的抗体、多肽或蛋白质的基因的目的。哺乳动物宿主细胞的非限制性实例包括但不限于COS、HeLa及CHO细胞。还见PCT公开号W0 87/04462。适当的非哺乳动物宿主细胞包括原核生物(如大肠杆菌(*E. coli*)或枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*))及酵母(如酿酒酵母(*S. cerevisiae*)、裂殖酵母(*S. pombe*);或乳酸克鲁维酵母(*K. lactis*))。优选地,宿主细胞以相较于对应的感兴趣内源性抗体或蛋白质(若存在于宿主细胞中)约高5倍、更优选高10倍、甚至更优选高20倍的量表达cDNA。筛选特异性结合CD123的宿主细胞通过免疫测定或FACS进行。过表达感兴趣的抗体或蛋白的细胞可被鉴别。

[0236] 试剂盒

[0237] 本发明还提供用于本发明方法的试剂盒。本发明的试剂盒包括一或多个包含本文所述CD123抗体或CD123 ADC的容器及根据本文所述的本发明任一方法的使用说明。通常,这些说明包含施用CD123抗体或CD123 ADC以用于上述治疗性处理的描述。

[0238] 有关使用本文所述CD123抗体或CD123 ADC的说明通常包括用于所述意图处理的剂量、给药计划及施用途径的信息。所述容器可为单位剂量、大量包装(例如多剂量包装)或次单位剂量。本发明试剂盒中提供的说明通常为在标签或包装插页上的书面说明(例如包含在试剂盒中的纸张),但机器可读说明(例如磁性或光学储存磁盘上携有的说明)也可接受。

[0239] 本发明试剂盒经适当包装。适当包装包括但不限于小瓶、瓶子、罐、可弯折包装(例如密封的Mylar或塑料袋)等。还考虑的是与特殊装置组合使用的包装,诸如吸入器、经鼻施用装置(例如雾化器)或输注装置诸如小型泵。试剂盒可能具有无菌接口(例如所述容器可能为具有可被皮下注射针穿刺的塞子的静脉内溶液袋或小瓶)。所述容器也可能具有无菌接口(例如所述容器可能为具有可被皮下注射针穿刺的塞子的静脉内溶液袋或小瓶)。所述组合物中至少一种活性药剂是CD123抗体。所述容器可能另包含第二药学活性药剂。

[0240] 试剂盒可任选地提供额外成分如缓冲剂及解说信息。通常,该试剂盒包含容器及在该容器上或与容器相关的标签或包装插页。

[0241] 生物保藏

[0242] 本发明的代表性材料于2017年6月29日保藏于美国典型培养物保藏中心(ATCC)。具有ATCC编号PTA-124283的载体是编码人源化CD123抗体重链序列的多核苷酸,且具有

ATCC编号PTA-124284的载体是编码人源化CD123抗体轻链序列的多核苷酸。该保藏根据国际承认用于专利程序的微生物保存布达佩斯条约(布达佩斯条约)及其法规规定进行。这确保保存活的保藏物培养物自保藏日开始维持30年。该保藏物将依照布达佩斯条约规定由ATCC提供,且将受限于辉瑞(Pfizer, Inc.)与ATCC合约,该合约确保当颁发相关美国专利或公开任何美国或外国专利申请案时(以先到者为主),该保藏物培养物的子代可永久且不受限制地供公众使用,且确保由美国专利商标局局长依据35U.S.C.122节及该局长所依据之法则(包括37C.F.R.1.14节,特别参照8860G 638)判定有权获得者可获得该子代。

[0243] 本申请受让人同意,若该保藏材料的培养物在适当条件下培养时死亡或遗失或毁损,一经通知应立即以另一相同材料取代该材料。不得将该保藏材料的可得性视为可藉以实施本发明而侵犯由任何政府机关依据该国专利法所授予权利的许可。

实施例

[0244] 提供下列实施例仅用于说明目的,无意以任何方式限制本发明的范围。事实上,根据前述说明,除本文显示及描述之外的本发明的许多修饰对于本领域技术人员将是明显的且落入所附权利要求书的范围内。

[0245] 实施例1:CD123抗体-药物缀合物的体外细胞毒性

[0246] 此实施例说明各种CD123 ADC的细胞毒性。

[0247] 在本研究中,使用2D体外细胞毒性测定在下列AML细胞系中测试各种CD123 ADC的细胞毒性:MOLM13、MV411、JVM3、Granta519、OCI-AML3、NB4及HL60。表4表明所使用各个细胞每一种的CD123表达水平。

[0248] 表4:在各种AML细胞系中CD123的表达水平

	细胞系						
	MOLM13	MV411	JVM3	Granta519	OCI-AML3	NB4	HL60
CD123 表达水平	+++	+++	++	++	+	+	-

[0250] 第一组测试的ADC为用AcLysValCitPABC接头与CPI缀合的CD123 ADC。这些ADC为:18G3-CPI、16D6-CPI、3D1-CPI及20D7-CPI,其均具有约2的药物:抗体比例(DAR)。CD123 ADC的制备详细描述于以下实施例5。使用DAR约2的具有CPI药剂的对照IgG(不结合CD123的IgG) (“Neg.8.8”)作为阴性对照。

[0251] 对2D体外细胞毒性测定而言,将AML细胞与下列剂量的ADC或对照保温96小时:100ng/ml、25ng/ml、6.25ng/ml、1.56ng/ml、0.39ng/ml、0.09ng/ml、0.024ng/ml、0.006ng/ml、0.002ng/ml及0.0004ng/ml。用CelltiterGlo(Promega, Madison, WI) 测量细胞存活性,并使用Victor平板读数仪(Perkin Elmer, Waltham, MA) 确定发光。使用XLfit (IDBS, Boston, MA) 4参数曲线拟合产生50%抑制值(IC50) 计算。结果总结于表5。

[0252] 表5:AML细胞中CD123-CPI ADC的IC50值

[0253]

ADC	AML 细胞中 IC50 (ng/mL)						
	MOLM13	MV411	JVM3	Granta519	OCI-AML3	NB4	HL60

[0254]

18G3-CPI	0.25 ± 0.04	0.41 ± 0.07	0.69 ± 0.22	0.38 ± 0.01	2.65 ± 0.12	63.92 ± 36.08	>84.4 ± 33.30
16D6-CPI	0.22 ± 0.05	0.4 ± 0.15	0.59 ± 0.24	-	-	-	>105.34 ± 94.66
3D1-CPI	0.33 ± 0.06	-	-	-	-	-	>104.68 ± 95.32
20D7-CPI	0.32 ± 0.14	-	-	-	-	-	-
Neg.8.8-CPI	>88.43 ± 18.66	>90.82 ± 8.64	>77 ± 14.3	>87.85 ± 12.14	>100 ± 0	>100 ± 0	>113.43 ± 19.09

[0255] 结果显示CD123-CPI对表达CD123的细胞具有细胞毒性,且比非特异性CP1 (Neg8.8-CPI) 更具细胞毒性。例如,在MOLM13细胞中,CD123 ADC 18G3-CPI、16D6-CPI及3D1-CPI的IC50分别为0.25±0.04ng/mL、0.22±0.05ng/mL、0.33±0.06ng/mL及0.32±0.14ng/mL。相对地,Neg.8.8-CPI的IC50为>88.43±18.66 (表5,最后一列)。DAR约2的Neg.8.8-CPI在最高测试剂量下实质上较不具活性 (表5,最后一列)。表明的CD123 ADC的IC50值与细胞上CD123表达水平有良好相关 (表4及5)。例如,18G3-CPI在表达高水平CD123的MV411细胞中的IC50为0.41±0.07。相对地,18G3-CPI在表达低水平CD123的NB4细胞中的IC50为63.92±36.08,且18G3-CPI在不表达CD123的HL60细胞中的IC50为>84.4±33.30。

[0256] CD123-18G3ADC与不同药剂iPr-卡利奇霉素或CTI (葡萄糖醛酸苷) 缀合具有类似的细胞毒性作用。18G3与iPr-卡利奇霉素 (“iPr”) 缀合的细胞毒性测定结果总结于表6。18G3与CTI (葡萄糖醛酸苷) 缀合的细胞毒性测定结果总结于表7。

[0257] 表6: AML细胞中CD123-iPr ADC的IC50值

[0258]

细胞系	AML 细胞中 IC50 (ng/mL)	
	MOLM13	MV4-11
CD123 表达水平	+++	+++
18G 3- iPr	0.05075 ± 0.01	0.125 ± 0.06
Neg 8.8- iPr	96.23	>100

[0259] 表7: AML细胞中CD123-CTI ADC的IC50值

细胞系	AML 细胞中 IC50 (ng/mL)						
	MOLM13	MV411	Granta519	JVM3	OCI-AML3	NB4	HL60
CD123 表达水平	+++	+++	++	++	+	+	-
18G3-CTI	0.33 ± 0.05	0.51 ± 0.06	0.26 ± 0.04	1.3 ± 0.36	2.58 ± 0.6	38.60 ± 9.18	>100 ± 0
Neg.8.8-CTI	>100 ± 0	84.96 ± 15.04	>100 ± 0	>100 ± 0	>100 ± 0	>100 ± 0	>100 ± 0

[0261] 这些数据显示DAR约2的CD123-ADC在表达CD123的癌细胞系中具有活性且诱导细胞死亡,但在不表达CD123的细胞中不具活性。这显示这些ADC的效力及特异性。

[0262] 实施例2:介白素-3 (IL-3) 信号传导途径及CD123抗体及ADC的细胞毒性

[0263] 此实施例说明CD123抗体阻断IL-3信号传导的能力及CD123 ADC的细胞毒性。

[0264] 进行此研究以确定任何CD123抗体克隆是否在表达CD123/IL-3R α 的TF-1细胞中竞争性结合IL-3结合位点。将表达CD123/IL-3R α 的TF-1细胞与20ng/ml的IL-3及下列CD123抗体共保温:3D1、18G3及16D6,剂量为100ng/ml、25ng/ml、6.25ng/ml、1.56ng/ml、0.39ng/ml、0.09ng/ml、0.024ng/ml、0.006ng/ml、0.002ng/ml及0.0004ng/ml。使用CD123抗体7G3作为已显示阻断IL-3信号传导途径的基准抗体且使用Neg.8.8抗体作为阴性对照。在测量细胞存活的CTG测定中,将细胞在37℃处理四天。在处理期之后,收集细胞并制备蛋白质。使用Western印迹分析,分析STAT5、磷酸化STAT5及肌动蛋白水平。Western印迹结果显示于图1。

[0265] 下游信号传导蛋白质磷酸化STAT5 (“磷酸化Stat5”)的存在表明活化IL-3信号传导途径。用单独IL-3或IL-3加上Neg.8.8对照抗体 (“8.8”)处理TF-1细胞活化IL-3信号传导,如磷酸化Stat5存在所示(图1)。用CD123抗体7G3处理阻断IL-3信号传导。CD123抗体3D1也阻断此途径。相对地,CD123抗体18G3及16D6不阻断IL-3介导的STAT5磷酸化。

[0266] CD123-18G3-CPI及CD123-16D6-CPI的细胞毒性在IL-3存在下仍维持(表8)。

[0267] 表8

细胞系	IL-3 (ng/ml)	AML 细胞中 IC50 (ng/mL)		
		Neg.8.8-CPI	CD123-18G3-CPI	CD123-16D6-CPI
MOLM13	0	44.24 ± 0.0	0.14 ± 0.0	0.23 ± 0.0
MOLM13	0.3	42.93 ± 0.0	0.12 ± 0.0	0.23 ± 0.0
MOLM13	1	28.38 ± 0.0	0.14 ± 0.0	0.19 ± 0.0
MV4-11	0	>200	1.07 ± 0.0	1.25 ± 0.0
MV4-11	0.3	>200	1.05 ± 0.0	1.13 ± 0.0
MV4-11	1	>200	0.21 ± 0.0	1.13 ± 0.0

[0269] 实施例3:CD123-ADC的体内效力

[0270] 此实施例说明CD123 ADC的体内效力。

[0271] 使用急性髓性白血病(AML)细胞系异种移植模型,体内测试CD123 ADC的抗肿瘤活性。下述之各模型中,第一剂于第0天给予。每周至少测量一次肿瘤,其体积以下式计算:肿瘤体积(mm³) = 0.5x(肿瘤宽度²) (肿瘤长度)。各治疗组的平均肿瘤体积(±S.E.M.)由包括的10只动物计算。所有动物实验皆于经Association for Assessment of Laboratory Animal Care认证的机构在Institutional Animal Care and Use Committee准则及适当

动物研究批准下进行。CD123 ADC在具有各种基因突变或过表达基因和/或蛋白质的细胞系中以剂量依赖性方式显示高效力。

[0272] A.H.1 MOLM13AML异种移植

[0273] CD123 ADC的抗肿瘤活性于NOD/SCID免疫缺陷小鼠中对于人肿瘤体内生长评估。在皮下(sc)AML模型中,将 5×10^6 个MOLM13细胞植入雌性小鼠胁部皮下。当肿瘤到达 200mm^3 的平均体积时,将动物分期以确保在不同治疗组之间肿瘤大小的一致性。MOLM13 AML sc异种移植模型经每四天静脉内给药四次(Q4dx4):PBS媒介物、0.3mg/kg或1mg/kg的CD123-CPI (18G3、16D6或3D1)或0.3mg/kg或1mg/kg的对照Neg-8.8-CPI。数据总结于表9。

[0274] 表9

[0275]

	MOLM-13 AML 异种移植, 平均肿瘤体积(mm^3 +/- SEM)								
Q4dx4	PBS	CD123-CPI						Neg 8.8-CPI	
		18G3-CPI		16D6-CPI		3D1-CPI			
剂量(mg/kg)	0	0.3	1	0.3	1	0.3	1	0.3	1
第 0 天	248 ± 10	251 ± 7	250 ± 13	241 ± 17	248 ± 6	249 ± 5	247 ± 12	252 ± 14	246 ± 14
第 2 天	660 ± 38	407 ± 25	386 ± 35	391 ± 43	319 ± 24	337 ± 18	405 ± 43	553 ± 49	448 ± 52
第 5 天	1313 ± 51	322 ± 27	239 ± 36	293 ± 37	173 ± 19	261 ± 15	261 ± 30	651 ± 60	388 ± 43
第 9 天	2802 ± 90	123 ± 14	95 ± 8	136 ± 17	64 ± 7	127 ± 7	96 ± 13	486 ± 64	193 ± 38
第 12 天	-	16 ± 11	0 ± 0	28 ± 14	0 ± 0	20 ± 11	0 ± 0	374 ± 72	83 ± 15
第 17 天	-	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	169 ± 67	0 ± 0
第 20 天	-	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	354 ± 115	0 ± 0
第 25 天	-	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1148 ± 307	0 ± 0
第 27 天	-	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1010 ± 324	0 ± 0
第 33 天	-	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	2015 ± 487	0 ± 0
第 40 天	-	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	2703 ± 590	0 ± 0
第 48 天	-	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	-	0 ± 0

[0276]

第 54 天	-	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	-	0±0
第 54 天	-	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	-	0±0
第 60 天	-	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	-	0±0

[0277] CD123-CPI相较于Neg.8.8-CPI显著抑制肿瘤(表9)。在0.3mg/kg剂量,所有三种CD123 ADC:18G3-CPI、16D6-CPI及3D1-CPI皆具细胞毒性。到第17天,各组中十只动物中有十只显示肿瘤退行。所有这些小鼠维持无肿瘤直到至少第60天,此时研究结束。在1mg/kg的CD123 ADC剂量,肿瘤退行发生较早(第12天)。

[0278] 这些数据显示,CD123-CPI抑制MOLM13 AML异种移植肿瘤的生长。

[0279] 为测试CD123-ADC在更低剂量的效力,使用相同MOLM13模型执行体内效力研究。动物如上述进行治疗。如下表10所示,0.1mg/kg的CD123-CPI非常有效且以剂量依赖性方式抑制所有小鼠中的肿瘤生长(表10,中间栏“18G3-CPI”及“16D6-CPI”)。相对地,Neg.8.8-CPI治疗小鼠的肿瘤持续生长(表10,右栏“Neg 8.8-CPI”)。

[0280] 表10

[0281]

MOLM-13 AML 异种移植, 平均肿瘤体积(mm ³ +/- SEM)										
Q4dx4	PBS	CD123 -CPI						Neg 8.8- CPI		
		18G3-CPI			16D6-CPI			对照		
剂量 → (mg/kg)	0	0.03	0.1	0.3	0.03	0.1	0.3	0.03	0.1	0.3
第 0 天	177 ± 10	187 ± 14	183 ± 15	181 ± 11	184 ± 13	181 ± 12	182 ± 9	181 ± 15	183 ± 14	188 ± 24
第 4 天	551 ± 47	199 ± 21	147 ± 21	112 ± 14	226 ± 22	178 ± 20	87 ± 9	494 ± 43	324 ± 56	209 ± 50
第 9 天	1614 ± 125	120 ± 19	40 ± 13	4 ± 4	169 ± 27	51 ± 13	0 ± 0	1530 ± 123	1060 ± 159	157 ± 38
第 11 天	2216 ± 149	110 ± 29	13 ± 10	0 ± 0	217 ± 52	10 ± 10	0 ± 0	2075 ± 79	1253 ± 170	78 ± 25
第 14 天	-	112 ± 45	0 ± 0	0 ± 0	371 ± 94	0 ± 0	0 ± 0	-	2217 ± 219	77 ± 31
第 16 天	-	106 ± 49	0 ± 0	0 ± 0	411 ± 104	0 ± 0	0 ± 0	-	1749 ± 280	38 ± 23

[0282]

第 22 天	-	385 ± 143	0 ± 0	0 ± 0	1319 ± 275	0 ± 0	0 ± 0	-	-	147 ± 67
第 25 天	-	859 ± 308	0 ± 0	0 ± 0	1470 ± 344	0 ± 0	0 ± 0	-	-	356 ± 136
第 29 天	-	720 ± 273	0 ± 0	0 ± 0	1948 ± 653	0 ± 0	0 ± 0	-	-	865 ± 298
第 31 天	-	805 ± 349	0 ± 0	0 ± 0	-	0 ± 0	0 ± 0	-	-	577 ± 251
第 37 天	-	927 ± 653	0 ± 0	0 ± 0	-	0 ± 0	0 ± 0	-	-	1154 ± 352
第 42 天	-	747 ± 747	0 ± 0	0 ± 0	-	0 ± 0	0 ± 0	-	-	2363 ± 158
第 47 天	-	-	0 ± 0	0 ± 0	-	0 ± 0	0 ± 0	-	-	-
第 53 天	-	-	0 ± 0	0 ± 0	-	0 ± 0	0 ± 0	-	-	-
第 57 天	-	-	0 ± 0	0 ± 0	-	0 ± 0	0 ± 0	-	-	-
第 65 天	-	-	0 ± 0	0 ± 0	-	0 ± 0	0 ± 0	-	-	-

[0283] 为测试CD123-18G3-CTI的效力,使用相同MOLM13模型执行体内效力研究。动物如上述进行治疗。如表11所示,CD123-18G3-CTI治疗以剂量依赖性方式抑制小鼠中的肿瘤生长。相对地,Neg.8.8-CTI治疗小鼠的肿瘤持续生长。

[0284] 表11

[0285]

	MOLM-13 AML 异种移植, 平均肿瘤体积(mm ³ +/- SEM)								
Q4dx4	Neg.8.8-CTI		CD123-18G3-CTI (葡萄糖醛酸苷)			CD123-18G3-CTI (半乳糖苷)			
剂量 (mg/kg)	0.1 (Glu)	0.3 (Gal)	0.01	0.03	0.1	0.01	0.03	0.1	0.3
第-1 天	207 ± 12	213 ± 12	205 ± 11	211 ± 9	213 ± 11	208 ± 8	202 ± 7	209 ± 14	213 ± 15
第 5 天	698 ± 46	805 ± 67	702 ± 41	640 ± 48	358 ± 32	808 ± 88	688 ± 46	391 ± 30	320 ± 34
第 8 天	1264 ± 80	1304 ± 106	121 ± 5 71	834 ± 77	307 ± 27	150 ± 0 113	1191 ± 85	354 ± 33	248 ± 31

[0286]

第 12 天	2551 ± 117	2062 ± 142	233 8 ± 118	1196 ± 133	147 ± 17	-	2165 ± 160	278 ± 27	127 ± 17
第 15 天	-	-	-	1214 ± 128	61 ± 6	-	-	175 ± 21	59 ± 14
第 19 天	-	-	-	1583 ± 192	38 ± 12	-	-	142 ± 28	13 ± 8
第 22 天	-	-	-	-	0 ± 0	-	-	115 ± 36	18 ± 12
第 26 天	-	-	-	-	0 ± 0	-	-	194 ± 58	0 ± 0
第 29 天	-	-	-	-	0 ± 0	-	-	266 ± 93	0 ± 0
第 36 天	-	-	-	-	0 ± 0	-	-	635 ± 194	0 ± 0
第 39 天	-	-	-	-	0 ± 0	-	-	906 ± 254	0 ± 0
第 42 天	-	-	-	-	0 ± 0	-	-	-	0 ± 0
第 49 天	-	-	-	-	0 ± 0	-	-	-	0 ± 0
第 54 天	-	-	-	-	0 ± 0	-	-	-	0 ± 0
第 60 天	-	-	-	-	0 ± 0	-	-	-	0 ± 0

[0287] B.H.2 MV4-11AML异种移植

[0288] 使用免疫缺陷小鼠评估CD123 ADC对人肿瘤生长的作用。在皮下(sc) AML模型中, 将 5×10^6 个MV4-11细胞皮下植入雌性NOD-SCID小鼠胁部。当肿瘤到达 200mm^3 的平均体积时, 将动物分期以确保在不同治疗组之间肿瘤大小的一致性。MV4-11AML sc异种移植动物经每四天静脉内给药四次(Q4dx4): PBS媒介物、下列剂量的CD123-CPI或8.8-CPI: 0.1、0.3及0.6mg/kg。数据总结于表12。将CD123-18G3-H16-CPI与Neg 8.8-CPI及PBS媒介物比较。

[0289] 0.6mg/kg剂量的CD123-CPI是此研究中测试的最有效的ADC, 到第65天, 仍在研究中的10只动物中有10只维持无肿瘤。甚至在0.3mg/kg剂量, 十只小鼠中有九只在约第25天显示肿瘤退行且维持无肿瘤直到研究在第65天结束。数据显示, CD123-CPI抑制MV4-11异种移植肿瘤的生长。

[0290] 表12

[0291]

	MV4-11 AML 异种移植, 平均肿瘤体积(mm ³ +/- SEM)						
q4dx4	PBS	CD123-18G3-H16-CPI				Neg 8.8-H16-CPI	
剂量 (mg/kg)	0	0.1	0.3	0.6	0.1	0.3	0.6
第 0 天	235 ± 14	236 ± 17	232 ± 13	232 ± 15	236 ± 9	233 ± 11	228 ± 12
第 3 天	373 ± 19	225 ± 19	183 ± 11	174 ± 16	310 ± 20	289 ± 13	204 ± 16
第 8 天	579 ± 62	142 ± 15	114 ± 9	101 ± 7	509 ± 41	230 ± 39	118 ± 11
第 11 天	961 ± 112	161 ± 24	98 ± 9	79 ± 7	767 ± 72	289 ± 55	107 ± 16
第 15 天	1876 ± 200	189 ± 63	70 ± 18	57 ± 12	1428 ± 157	395 ± 77	60 ± 20
第 18 天	1781 ± 467	226 ± 84	60 ± 17	57 ± 12	1773 ± 136	615 ± 123	77 ± 23
第 21 天	-	392 ± 144	96 ± 23	67 ± 14	2560 ± 220	954 ± 186	112 ± 32
第 25 天	-	729 ± 271	111 ± 56	49 ± 20	-	1632 ± 230	168 ± 87
第 28 天	-	626 ± 337	125 ± 101	67 ± 30	-	1684 ± 688	301 ± 150
第 32 天	-	215 ± 197	208 ± 183	113 ± 79	-	1645 ± 677	431 ± 197
第 36 天	-	385 ± 367	40 ± 16	198 ± 177	-	1541	494 ± 129
第 39 天	-	0 ± 0	21 ± 11	265 ± 249	-	1901	603 ± 153
第 44 天	-	15 ± 15	29 ± 12	31 ± 15	-	-	1346 ± 348
第 51 天	-	0 ± 0	20 ± 10	32 ± 18	-	-	711 ± 411
第 58 天	-	40 ± 23	20 ± 10	27 ± 13	-	-	1450 ± 818
第 65 天	-	0 ± 0	9 ± 6	19 ± 10	-	-	
第 73 天		0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0			

[0292] 为测试CD123-CTI的效力,使用相同MV4-11模型执行体内效力研究。动物如上述进行治疗。如表13所示,CD123-CTI也以剂量依赖性方式抑制小鼠肿瘤生长,然而Neg.8.8-CTI治疗小鼠的肿瘤持续生长。

[0293] 表13

[0294]

	MV4-11 AML 异种移植, 平均肿瘤体积(mm ³ +/- SEM)		
Q4dx4	Neg.8.8-CTI	CD123-18G3-CTI (葡萄糖醛酸苷)	CD123-18G3-CTI (半乳糖苷)

[0295]

剂量(mg/kg)	0.3 (Glu)	0.3 (Gal)	0.03	0.1	0.3	0.03	0.1	0.3
第-1 天	229 ± 14	232 ± 10	235 ± 21	232 ± 11	235 ± 14	233 ± 11	232 ± 14	229 ± 13
第 4 天	307 ± 18	301 ± 18	299 ± 28	221 ± 15	189 ± 9	270 ± 23	260 ± 14	216 ± 18
第 7 天	361 ± 37	408 ± 49	468 ± 37	193 ± 10	122 ± 9	333 ± 19	214 ± 23	163 ± 12
第 12 天	458 ± 58	759 ± 74	804 ± 85	215 ± 30	96 ± 12	625 ± 52	325 ± 52	121 ± 25
第 15 天	513 ± 57	868 ± 78	1165 ± 128	214 ± 35	83 ± 14	873 ± 86	425 ± 68	114 ± 25
第 18 天	640 ± 85	1367 ± 179	1551 ± 107	229 ± 43	75 ± 11	1348 ± 104	519 ± 88	96 ± 19
第 21 天	867 ± 108	1970 ± 227	2263 ± 90	311 ± 60	94 ± 19	2140 ± 162	716 ± 124	86 ± 20
第 25 天	1264 ± 179	-	-	391 ± 85	50 ± 14	-	900 ± 170	70 ± 16
第 28 天	1497 ± 159	-	-	484 ± 99	73 ± 16	-	1192 ± 251	64 ± 16
第 32 天	-	-	-	627 ± 121	107 ± 19	-	-	82 ± 21
第 35 天	-	-	-	771 ± 144	89 ± 17	-	-	92 ± 21
第 40 天	-	-	-	1056 ± 205	65 ± 16	-	-	74 ± 24
第 43 天	-	-	-	-	46 ± 11	-	-	113 ± 44
第 47 天	-	-	-	-	58 ± 10	-	-	135 ± 72
第 50 天	-	-	-	-	67 ± 12	-	-	198 ± 107
第 54 天	-	-	-	-	49 ± 9	-	-	339 ± 210

[0296]

第 61 天	-	-	-	-	61 ± 8	-	-	337 ± 273
第 70 天	-	-	-	-	41 ± 7	-	-	-
第 78 天	-	-	-	-	23 ± 7	-	-	-
第 84 天	-	-	-	-	35 ± 8	-	-	-
第 92 天	-	-	-	-	16 ± 6	-	-	-
第 99 天	-	-	-	-	11 ± 5	-	-	-

[0297] 这些结果显示,CD123 ADC高度有效地治疗肿瘤。

[0298] 实施例4:CD123-ADC的体内效力

[0299] 此实施例使用AML病患衍生性散播型异种移植 (AML PDX) 说明CD123 ADC的体内效力。

[0300] 于免疫缺陷小鼠中评估CD123-CPI对利用根据适当同意程序获得的病患骨髓细胞所建立的散播型模型的体内生长的效力。表14提供此研究中使用的病患样品的总结。

[0301] 表14

[0302]

模型	风险	亚型	异常	细胞遗传学
PDX2407	不良, 复发	M2	FLT3-ITD	46, XY
PDX0407	中度	M2	NPM-1 FLT3-ITD	46, XY
CTG 2226	不良, 难治性	M4	FLT3-ITD 细胞遗传学	46,XY,add(6)(p21),del(8)(p21),add(12)(q24.1)[13]/46,XY,del(1)(q32),del(7)(q22q32),der(6;12)(q10;p10),add(22)(q?11.2),+mar[3]/45,XY,t(1;2)(p?22;q11.2),-21[1]/46,XY[3]
CTG 2229	不良, 难治性	M1	细胞遗传学	46,XY,del(2)(p13p?23),t(4;13)(q31;q34),add(4)(q?25),del(6)(q13q25),t(9;22)(q34;q11.2),del(10)(q24),add(16)(q24)[20]
CTG 2235	中度, 重新 (De Novo)	AML-MLD	细胞遗传学	46,XY,del(20)(q11.2q13.1)[20]

[0303]

模型	风险	亚型	异常	细胞遗传学
CTG 2238	不良 重新	未选择	FLT3-ITD	无法使用
CTG2240	中度, 重新	AML-MLD	细胞遗传学	46,XY,t(9;11)(p22;q23),?add(10)(q?24)[5]/46,XY[5]
50170	不良, 复发	M1	FLT3-ITD	46, XY
50102	较佳	不明确	未检测	未检测

[0304] 在研究中,将 1.0×10^6 个病患骨髓细胞静脉内注射至经辐照NSG小鼠的侧尾静脉。基于人CD45+/CD123+/CD33+细胞的植入(外周血液中12-55%,如流式细胞分析染色所测量),将研究分期并随机分组。AML PDX小鼠每七天静脉内给药2次(Q7dx2):PBS媒介物或18G3-CPI。在第二次/最后一次剂量后约3-5天,自处死小鼠收集外周血液及骨髓。处死动物的骨髓及血液中剩余的肿瘤细胞由流式细胞术分析。结果总结于图2及表15。在表15中,数字代表外周血液及骨髓中剩余肿瘤细胞的百分比。

[0305] 各研究中,每组具有约6至10只小鼠。数据显示,CD123 ADC以剂量依赖性方式有效减少外周血液及骨髓中肿瘤细胞数量(图2及表15)。

[0306] 表15

[0307]

模型	剂量 CD123-CPI	外周血	骨髓
	mg / kg	% 治疗的 / % 媒介物 (% \pm SEM)	% 治疗的 / % 媒介物 (% \pm SEM)
PDX2407	0.1	0.56 \pm 0.1 / 88 \pm 1.1	3.04 \pm 0.7 / 90 \pm 2
	0.5	0.3 \pm 0.05 / 88 \pm 1.1	0.14 \pm 0.03 / 90 \pm 2
PDX0407	0.03	1.1 \pm 0.2 / 29 \pm 4.8	1.3 \pm 0.4 / 30 \pm 14
	0.1	0.16 \pm 0.04 / 29 \pm 4.8	0.8 \pm 0.3 / 30 \pm 14
CTG 2226	0.03	1.5 \pm 0.4 / 21 \pm 2	18 \pm 1.9 / 77 \pm 7.4
	0.1	0.9 \pm 0.3 / 22 \pm 2	8 \pm 1.6 / 77 \pm 7.4
CTG 2229	0.03	54 \pm 9 / 65 \pm 3.2	83 \pm 6.9 / 84 \pm 6
	0.1	16 \pm 2.5 / 65 \pm 3.2	50 \pm 9.7 / 84 \pm 6
CTG 2235	0.03	1.8 \pm 0.6 / 31 \pm 6	73 \pm 6.1 / 83 \pm 4.5
	0.1	0.7 \pm 0.23 / 31 \pm 6	59 \pm 6.3 / 83 \pm 4.5
CTG 2238	0.03	5.8 \pm 0.7 / 32 \pm 2	45 \pm 9.7 / 95 \pm 0.6

模型	剂量	外周血	骨髓
	CD123-CPI		
	mg / kg	% 治疗的 / % 媒介物 (% ± SEM)	% 治疗的 / % 媒介物 (% ± SEM)
[0308]	0.1	1.7 ± 0.5 / 32 ± 2	12 ± 1.6 / 95 ± 0.6
	CTG2240	0.03	1 ± 0.4 / 52 ± 2.9
		0.1	0.2 ± 0.07 / 52 ± 2.9
	PDX 50170	0.03	0.4 ± 0.1 / 14 ± 1.4
	PDX 50120	0.03	53 ± 0.8 / 58 ± 0.8
		0.1	40 ± 4.2 / 58 ± 0.8
		0.3	31 ± 2.4 / 58 ± 0.8

[0309] 为判定CD123-18G3-CPI是否可增加荷瘤小鼠的整体存活期,当外周血液显示高度植入(即平均约32%)时,使用PDX2407执行存活研究。小鼠每七天静脉内给药2次(Q7dx2): PBS媒介物或CD123-CPI,且每天监测。当小鼠显示临床迹象,诸如疲倦及体重减轻(根据 Association for Assessment of Laboratory Animal Care, Institutional Animal Care and Use Committee 准则),将小鼠安乐死。

[0310] 结果总结于图3。CD123-18G3-CPI治疗以剂量依赖性方式延长荷瘤动物的整体存活期。具体而言,0.1mg/kg剂量的CD123-18G3-CPI治疗延长约25%的存活期,0.3mg/kg剂量的CD123-18G3-CPI治疗大约使存活期长度加倍(图3)。

[0311] 这些结果显示,CD123-ADC治疗诱导AML退行且抑制进展,并延长存活期。

[0312] 实施例5:制备CD123抗体药物缀合物(ADC)

[0313] 此实施例说明h18G3-AcLysValCitPABC-DMAE-CO₂-CPI-000638314(一种CD123ADC,在本文中还称为“18G3-CPI”或“CD123-18G3-CPI”)的缀合及制备。

[0314] 18G3-CPI是一种包含CD123人源化mAb 18G3(见表2.0及2.1,同上,“h18G3”)、AcLysValCitPABC接头及环丙基吡咯并吡啶(CPI)药剂的ADC。K222R、E295L、Q295L、Y296Q、N297G突变导入上绞链及Fc,以使转谷氨酰胺酶能够催化CPI药剂的定点缀合。CD123-18G3-H16-N60G-K222R人源化IgG1抗体(在本文中称为“h18G3”)的轻链及重链氨基酸序列如下:

[0315] 轻链:

[0316] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLSSGTRKNYLAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCSQSYNLYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:30)

[0317] 重链:

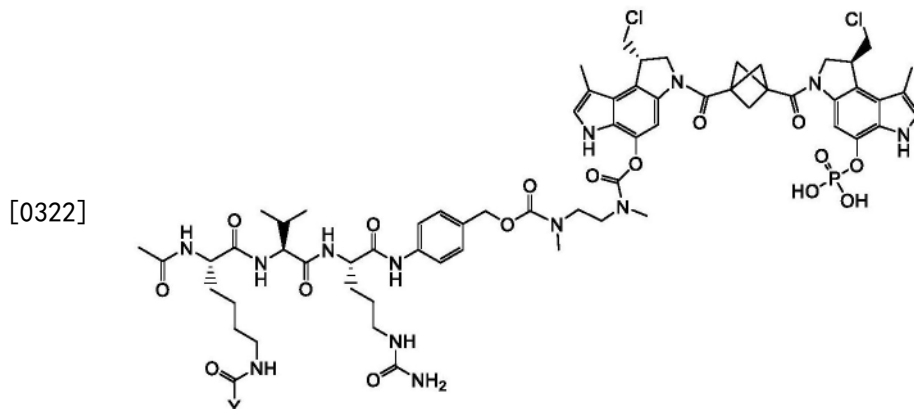
[0318] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLTSGDISWVRQAPGKGLEWVAVIWSGGGTNYGSRLMSRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDWGNFYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

DRTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRELLQ
GSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
(SEQ ID NO:27)

[0319] H16定点突变序列如上以粗体斜体字表示且包括五个H16定点转谷氨酰胺酶突变K222R(在绞链中)、E294L、Q295L、Y296Q及N297G。LLQG序列是转谷氨酰胺酶的识别标签,且接头-药剂在Q296缀合。CDR-H2中的G(下划线)是N60G突变。

[0320] 接头-药剂(AcLysValCitPABC-DMAE-CO_CPI)于氨基酸Q296定点缀合。

[0321] AcLysValCitPABC-DMAE-CO_CPI-000638314接头-药剂结构如下所示。



[0323] h18G3通过使用细菌转谷氨酰胺酶(Sigma, 45U/mg蛋白质)与AcLysValCitPABC-DMAE-CO_CPI-000638314接头-药剂缀合。具体而言,将抗体交换至含有100mM KPO4、200mM NaCl pH 7的缓冲剂中。接头-药剂在7.5% (v/v) 二甲亚砜(DMSO)存在下对抗体10倍摩尔过量添加。藉由每mg抗体添加1U的细菌转谷氨酰胺酶以起始酶促反应且在25℃和持续混合下保温过夜。

[0324] 将反应混合物在室温与15%异丙醇保温30min。接着稀释至4体积的1M KPO4缓冲剂且使用丁基-琼脂糖HP柱(GE Lifesciences)经由疏水性相互作用层析法(HIC)纯化。该方法利用1M KPO4、50mM Tris pH 7来结合并以50mM Tris, pH 7经10CV洗脱ADC。将经HIC纯化的化合物透析至20mM组氨酸、85mg/mL蔗糖pH 5.8的最终缓冲剂中。经由SEC进一步表征ADC的纯度,且经由反相层析法计算药物-抗体比例。蛋白质浓度经由UV分光光度计测定。

[0325] 前导抗体具有非常好的表达,在CHO池中评估至多700mg/L, 88%回收产率及三个纯化步骤后99%纯度。18G3的缀合执行得非常好,如达成DAR 1.9-2.0及纯化后55-60%的缀合产率所评估。所得ADC(CD123-18G3-H16-N60G-K222R-hG1-(Q)AcLysValCitPABC-DMAE-CO_CPI)展现良好热稳定性及分子完整性。

[0326] 实施例6:使用转谷氨酰胺酶将抗体与AcLysValCitPABC-DMAE-CO_CPI-000638314缀合的方法

[0327] 此实施例说明抗体与接头-药剂(AcLysValCitPABC-DMAE-CO_CPI-000638314,在本文中还称为AcLysPABC-CPI-8314)的缀合。

[0328] CPI接头-细胞毒性剂的缀合。AcLysPABC-CPI-8314(结构示于上述实施例5)与抗体H16位点的缀合藉由改变多种不同参数来优化,诸如摩尔浓度及盐组成、pH、酶浓度、时间及温度(表16)。简言之,将抗体用缓冲剂交换至表16所示之各种条件的适当缓冲剂及pH中。

将10倍摩尔过量的AcLysPABC-CPI-8314接头-药剂添加至抗体且添加5-10%二甲亚砜以使接头-药剂溶解于反应混合物中。在添加细菌转谷氨酰胺酶(0.5-5U/mg抗体)之后,将反应混合物连续混合规定的时间及温度。经由粒径排阻层析法和/或疏水性相互作用层析法移除未反应的接头-药剂及转谷氨酰胺酶。经由LCMS或RP-HPLC计算药物-抗体比例。

[0329] 在各种条件下藉由抗体-药物比例(DAR)测量的缀合效率显示于表16。例如,当抗体交换至含有30mM KP04、150mM NaCl pH 7的缓冲剂时,达成DAR 1.6。

[0330] 靶向CD33、CD123、Her2、PRLR、CD22及其他抗原(包括抗原)的抗体使用这些优化条件与接头-药剂AcLysValCitPABC-DMAE-CO_CPI-000638314缀合。

[0331] 表16

[0332]

缓冲液离子强度	NaCl浓度, mM	pH	TG单位/mg Ab	药物-抗体比例(DAR)
20mM NaAc	75	5.8	1	0.3
30mM KP04	150	6.5	1	1.3
30mM KP04	150	7.0	0.5	1.6
30mM KP04	150	7.0	2	1.6
30mM KP04	150	7.0	5	1.4
30mM KP04	150	7.5	1	1.5
30mM KP04	150	8.0	1	0.6
25mM Tris	150	8.0	1	0.6

[0333] 虽然本公开教导已参考各种应用、方法、试剂盒及组合物加以说明,应了解可进行各种改变及修饰而不背离本文的教导及以下请求保护的发明。提供前述实施例为更清楚地说明公开的教导,并无意限制本文教导的范围。虽然本教导已藉由这些示范性实施方案说明,本领域技术人员将轻易了解可能针对该示范性实施方案进行许多变异及修饰而无需过度实验。所有这种变异及修饰皆包含在本教导的范围内。

[0334] 本文引证文献(包括专利、专利申请案、论文、教科书等)以及该文献中所引证之文献若未并入本文,则以其全文并入本文参考。若一或多篇该并入文献及类似材料与本申请不同或冲突,包括但不限于经定义之用语、用语使用、经描述之技术等,则以本申请为准。

[0335] 前述详细说明及实施例详细描述本发明的某些特定实施方案并说明发明人所考虑的最佳模式。然而应了解的是,不论前述内容说明得多详细,本发明可以许多方式实施,且本发明应根据所附权利要求书及其任何等价范围被解读。

序列表

<110> 辉瑞公司

<120> 对 CD123 具有特异性的抗体和抗体-药物缀合物及其用途

<130> PC72333

<160> 108

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 380

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

[0001]

Gly Ser Thr Gly Thr Lys Glu Asp Pro Asn Pro Pro Ile Thr Asn Leu
20 25 30

Arg Met Lys Ala Lys Ala Gln Gln Leu Thr Trp Asp Leu Asn Arg Asn
35 40 45

Val Thr Asp Ile Glu Cys Val Lys Asp Ala Asp Tyr Ser Met Pro Ala
50 55 60

Val Asn Asn Ser Tyr Cys Gln Phe Gly Ala Ile Ser Leu Cys Glu Val
65 70 75 80

Thr Asn Tyr Thr Val Arg Val Ala Asn Pro Pro Phe Ser Thr Trp Ile
85 90 95

Leu Phe Pro Glu Asn Ser Gly Lys Pro Trp Ala Gly Ala Glu Asn Leu

100	105	110
Thr Cys Trp Ile His Asp Val	Asp Phe Leu Ser Cys Ser Trp Ala Val	
115	120	125
Gly Pro Gly Ala Pro Ala Asp Val	Gln Tyr Asp Leu Tyr Leu Asn Val	
130	135	140
Ala Asn Arg Arg Gln Gln Tyr Glu Cys Leu His Tyr Lys Thr Asp Ala		
145	150	155 160
Gln Gly Thr Arg Ile Gly Cys Arg Phe Asp Asp Ile Ser Arg Leu Ser		
165	170	175
Ser Gly Ser Gln Ser Ser His Ile Leu Val Arg Gly Arg Ser Ala Ala		
180	185	190
[0002]		
Phe Gly Ile Pro Cys Thr Asp Lys Phe Val Val Phe Ser Gln Ile Glu		
195	200	205
Ile Leu Thr Pro Pro Asn Met Thr Ala Lys Cys Asn Lys Thr His Ser		
210	215	220
Phe Met His Trp Lys Met Arg Ser His Phe Asn Arg Lys Phe Arg Tyr		
225	230	235 240
Glu Leu Gln Ile Gln Lys Arg Met Gln Pro Val Ile Thr Glu Gln Val		
245	250	255
Arg Asp Arg Thr Ser Phe Gln Leu Leu Asn Pro Gly Thr Tyr Thr Val		
260	265	270
Gln Ile Arg Ala Arg Glu Arg Val Tyr Glu Phe Leu Ser Ala Trp Ser		

275	280	285
Thr Pro Gln Arg Phe Glu Cys Asp Gln Glu Glu Gly Ala Asn Thr Arg		
290	295	300
Ala Trp Arg Thr Ser Leu Leu Ile Ala Leu Gly Thr Leu Leu Ala Leu		
305	310	315 320
Val Cys Val Phe Val Ile Cys Arg Arg Tyr Leu Val Met Gln Arg Leu		
325	330	335
Phe Pro Arg Ile Pro His Met Lys Asp Pro Ile Gly Asp Ser Phe Gln		
340	345	350
Asn Asp Lys Leu Val Val Trp Glu Ala Gly Lys Ala Gly Leu Glu Glu		
355	360	365
[0003]		
Cys Leu Val Thr Glu Val Gln Val Val Gln Lys Thr		
370	375	380
<210> 2		
<211> 336		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 2		
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro		
1	5	10 15
Gly Ser Thr Gly Thr Lys Glu Asp Pro Asn Pro Pro Ile Thr Asn Leu		
20	25	30
Arg Met Lys Ala Lys Ala Gln Gln Leu Thr Trp Asp Leu Asn Arg Asn		
35	40	45

	Val	Thr	Asp	Ile	Glu	Cys	Val	Lys	Asp	Ala	Asp	Tyr	Ser	Met	Pro	Ala
	50						55					60				
	Val	Asn	Asn	Ser	Tyr	Cys	Gln	Phe	Gly	Ala	Ile	Ser	Leu	Cys	Glu	Val
	65					70					75				80	
	Thr	Asn	Tyr	Thr	Val	Arg	Val	Ala	Asn	Pro	Pro	Phe	Ser	Thr	Trp	Ile
					85					90					95	
	Leu	Phe	Pro	Glu	Asn	Ser	Gly	Lys	Pro	Trp	Ala	Gly	Ala	Glu	Asn	Leu
					100					105					110	
	Thr	Cys	Trp	Ile	His	Asp	Val	Asp	Phe	Leu	Ser	Cys	Ser	Trp	Ala	Val
		115						120					125			
[0004]	Gly	Pro	Gly	Ala	Pro	Ala	Asp	Val	Gln	Tyr	Asp	Leu	Tyr	Leu	Asn	Val
	130						135					140				
	Ala	Asn	Arg	Arg	Gln	Gln	Tyr	Glu	Cys	Leu	His	Tyr	Lys	Thr	Asp	Ala
	145					150					155					160
	Gln	Gly	Thr	Arg	Ile	Gly	Cys	Arg	Phe	Asp	Asp	Ile	Ser	Arg	Leu	Ser
					165					170					175	
	Ser	Gly	Ser	Gln	Ser	Ser	His	Ile	Leu	Val	Arg	Gly	Arg	Ser	Ala	Ala
					180					185					190	
	Phe	Gly	Ile	Pro	Cys	Thr	Asp	Lys	Phe	Val	Val	Phe	Ser	Gln	Ile	Glu
		195						200					205			
	Ile	Leu	Thr	Pro	Pro	Asn	Met	Thr	Ala	Lys	Cys	Asn	Lys	Thr	His	Ser
	210						215					220				

Phe Met His Trp Lys Met Arg Ser His Phe Asn Arg Lys Phe Arg Tyr
225 230 235 240

Glu Leu Gln Ile Gln Lys Arg Met Gln Pro Val Ile Thr Glu Gln Val
245 250 255

Arg Asp Arg Thr Ser Phe Gln Leu Leu Asn Pro Gly Thr Tyr Thr Val
260 265 270

Gln Ile Arg Ala Arg Glu Arg Val Tyr Glu Phe Leu Ser Ala Trp Ser
275 280 285

Thr Pro Gln Arg Phe Glu Cys Asp Gln Glu Glu Gly Ala Asn Thr Arg
290 295 300

[0005] Ala Trp Arg Gly Gly Pro Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly
305 310 315 320

Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
325 330 335

<210> 3
<211> 301
<212> PRT
<213> 智人

<400> 3

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Thr Lys Glu Gly Lys Pro Trp Ala Gly Ala Glu Asn
20 25 30

Leu Thr Cys Trp Ile His Asp Val Asp Phe Leu Ser Cys Ser Trp Ala
 35 40 45

Val Gly Pro Gly Ala Pro Ala Asp Val Gln Tyr Asp Leu Tyr Leu Asn
 50 55 60

Val Ala Asn Arg Arg Gln Gln Tyr Glu Cys Leu His Tyr Lys Thr Asp
 65 70 75 80

Ala Gln Gly Thr Arg Ile Gly Cys Arg Phe Asp Asp Ile Ser Arg Leu
 85 90 95

Ser Ser Gly Ser Gln Ser Ser His Ile Leu Val Arg Gly Arg Ser Ala
 100 105 110

[0006]

Ala Phe Gly Ile Pro Cys Thr Asp Lys Phe Val Val Phe Ser Gln Ile
 115 120 125

Glu Ile Leu Thr Pro Pro Asn Met Thr Ala Lys Cys Asn Lys Thr His
 130 135 140

Ser Phe Met His Trp Lys Met Arg Ser His Phe Asn Arg Lys Phe Arg
 145 150 155 160

Tyr Glu Leu Gln Ile Gln Lys Arg Met Gln Pro Val Ile Thr Glu Gln
 165 170 175

Val Arg Asp Arg Thr Ser Phe Gln Leu Leu Asn Pro Gly Thr Tyr Thr
 180 185 190

Val Gln Ile Arg Ala Arg Glu Arg Val Tyr Glu Phe Leu Ser Ala Trp
 195 200 205

Ser Thr Pro Gln Arg Phe Glu Cys Asp Gln Glu Glu Gly Ala Asn Thr
210 215 220

Arg Ala Trp Arg Thr Ser Leu Leu Ile Ala Leu Gly Thr Leu Leu Ala
225 230 235 240

Leu Val Cys Val Phe Val Ile Cys Arg Arg Tyr Leu Val Met Gln Arg
245 250 255

Leu Phe Pro Arg Ile Pro His Met Lys Asp Pro Ile Gly Asp Ser Phe
260 265 270

Gln Asn Asp Lys Leu Val Val Trp Glu Ala Gly Lys Ala Gly Leu Glu
275 280 285

[0007] Glu Cys Leu Val Thr Glu Val Gln Val Val Gln Lys Thr
290 295 300

<210> 4

<211> 337

<212> PRT

<213> 食蟹猴

<400> 4

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Gln Thr Lys Glu Asp Pro Asn Ala Pro Ile Arg Asn
20 25 30

Leu Arg Met Lys Glu Lys Ala Gln Gln Leu Met Trp Asp Leu Asn Arg
35 40 45

	Asn	Val	Thr	Asp	Val	Glu	Cys	Ile	Lys	Gly	Thr	Asp	Tyr	Ser	Met	Pro	
	50						55					60					
	Ala	Met	Asn	Asn	Ser	Tyr	Cys	Gln	Phe	Gly	Ala	Ile	Ser	Leu	Cys	Glu	
	65				70					75					80		
	Val	Thr	Asn	Tyr	Thr	Val	Arg	Val	Ala	Ser	Pro	Pro	Phe	Ser	Thr	Trp	
				85					90					95			
	Ile	Leu	Phe	Pro	Glu	Asn	Ser	Gly	Thr	Pro	Arg	Ala	Gly	Ala	Glu	Asn	
				100				105					110				
	Leu	Thr	Cys	Trp	Val	His	Asp	Val	Asp	Phe	Leu	Ser	Cys	Ser	Trp	Val	
		115					120					125					
[0008]	Val	Gly	Pro	Ala	Ala	Pro	Ala	Asp	Val	Gln	Tyr	Asp	Leu	Tyr	Leu	Asn	
	130					135				140							
	Asn	Pro	Asn	Ser	His	Glu	Gln	Tyr	Arg	Cys	Leu	His	Tyr	Lys	Thr	Asp	
	145				150					155					160		
	Ala	Arg	Gly	Thr	Gln	Ile	Gly	Cys	Arg	Phe	Asp	Asp	Ile	Ala	Arg	Leu	
				165					170				175				
	Ser	Arg	Gly	Ser	Gln	Ser	Ser	His	Ile	Leu	Val	Arg	Gly	Arg	Ser	Ala	
			180					185					190				
	Ala	Val	Ser	Ile	Pro	Cys	Thr	Asp	Lys	Phe	Val	Phe	Phe	Ser	Gln	Ile	
		195					200					205					
	Glu	Arg	Leu	Thr	Pro	Pro	Asn	Met	Thr	Gly	Glu	Cys	Asn	Glu	Thr	His	
	210						215					220					

	Ser Phe Met His Trp Lys Met Lys Ser His Phe Asn Arg Lys Phe Arg	
	225 230 235 240	
	Tyr Glu Leu Arg Ile Gln Lys Arg Met Gln Pro Val Arg Thr Glu Gln	
	245 250 255	
	Val Arg Asp Thr Thr Ser Phe Gln Leu Pro Asn Pro Gly Thr Tyr Thr	
	260 265 270	
	Val Gln Ile Arg Ala Arg Glu Thr Val Tyr Glu Phe Leu Ser Ala Trp	
	275 280 285	
	Ser Thr Pro Gln Arg Phe Glu Cys Asp Gln Glu Glu Gly Ala Ser Ser	
	290 295 300	
[0009]	Arg Ala Trp Arg Gly Gly Pro Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys	
	305 310 315 320	
	Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His	
	325 330 335	
	Glu	
	<210> 5	
	<211> 351	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 5	
	caggtgaaac tgaaggagtc aggacctggc ctggtggcgc ccgcacagag tctgtccatt	60
	acctgcactg tctctggatt ctcattaacc agtggtgaca taagttggat tcgccagcca	120
	ccaggaaagg gtctggagtg gcttggagta atatggtctg gcggaggcac aaattataat	180

tctcgtctca tgtccagact gagcatcacc aaggacaact ccaggagtca agtgttctta 240
 aaaatgaaca gtctgcaaac tgatgacacc gccatatatt attgtgtaag agattggggt 300
 aacttttact ttgactattg gggccaaggc accactctca cagtctcctc a 351

<210> 6

<211> 117

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 6

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Gly
 20 25 30

[0010]

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

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Arg Leu Met
 50 55 60

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

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

Arg Asp Trp Gly Asn Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
 115

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 7

Gly Phe Ser Leu Thr Ser Gly Asp Ile Ser
1 5 10

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 8

Val Ile Trp Ser Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Arg Leu Met Ser
1 5 10 15

[0011]

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 9

Asp Trp Gly Asn Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 10

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 11
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<400> 11

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

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

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

[0012] 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

<210> 12
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 12

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Arg Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10 15

<210> 13

<211> 110

<212> PRT

<213> 智人

<400> 13

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45

[0013]

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Leu
 50 55 60

Leu Gln Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 100 105 110

<210> 14

<211> 106

<212> PRT

<213> 智人

<400> 14

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

[0014]

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
100 105

<210> 15

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 15

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

	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn	
	195	200 205
	Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Arg Thr His	
	210	215 220
	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val	
	225	230 235 240
	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr	
		245 250 255
	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu	
		260 265 270
[0016]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys	
	275	280 285
	Thr Lys Pro Arg Glu Leu Leu Gln Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser	
	290	295 300
	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys	
	305	310 315 320
	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile	
		325 330 335
	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro	
		340 345 350
	Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu	
	355	360 365

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

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

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

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

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

[0017] <210> 16
<211> 336
<212> DNA
<213> 小家鼠

<400> 16
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctggctgtgt cagtaggaga gaaggtcact 60
atgagctgca aatccagtca gagtctgctc agcagtggaa cccgaaagaa ctacttggt 120
tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tctactgggc atccactagg 180
caatctgggg tccctgatcg cttcacaggc ggtggatctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagtg tgcaggctga ggacctggca gtttattact gcagtcaatc ttataatcta 300
tacacattcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 17
<211> 112
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 17

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser
20 25 30

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

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

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

[0018]

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

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

<210> 18

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 18

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser Gly Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 19

Trp Ala Ser Thr Arg Gln Ser
1 5

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 20

Ser Gln Ser Tyr Asn Leu Tyr Thr
1 5

[0019]

<210> 21
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 22
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 22

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

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

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

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

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

[0020] Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 23

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 23

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser
20 25 30

Gly Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35	40	45
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Gln Ser Gly Val		
50	55	60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr		
65	70	75 80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Gln		
85	90	95
Ser Tyr Asn Leu Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
100	105	110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
115	120	125
[0021]		
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
130	135	140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
145	150	155 160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
165	170	175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
180	185	190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
195	200	205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		

210

215

<210> 24

<211> 117

<212> PRT

<213> 智人

<400> 24

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

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

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

[0022]

Ala Val Ile Trp Ser Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Gly Ser Arg Leu Met
50 55 60

Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

Arg Asp Trp Gly Asn Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 25

<211> 16

<212> PRT
<213> 智人

<400> 25

Val Ile Trp Ser Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Gly Ser Arg Leu Met Ser
1 5 10 15

<210> 26
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 26

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

[0023]

<210> 27
<211> 446
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27

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

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

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

Ala Val Ile Trp Ser Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Gly Ser Arg Leu Met
50 55 60

Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65	70	75	80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala			
	85	90	95
Arg Asp Trp Gly Asn Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
	100	105	110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu			
	115	120	125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys			
	130	135	140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser			
145	150	155	160
[0024]			
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser			
	165	170	175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser			
	180	185	190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn			
	195	200	205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Arg Thr His			
	210	215	220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val			
225	230	235	240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			

255

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

420

425

430

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

435

440

445

<210> 28

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人

<400> 28

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 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser

20

25

30

[0026]

Gly Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

35

40

45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Gln Ser Gly Val

50

55

60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65

70

75

80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ser Gln

85

90

95

Ser Tyr Asn Leu Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

110

<210> 29

<211> 10

<212> PRT
<213> 智人

<400> 29

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 30
<211> 219
<212> PRT
<213> 智人

<400> 30

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

[0027] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

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

[0028] Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 31

<211> 355

<212> DNA

<213> 小家鼠

<400> 31

caggtgcagc tgaaggagtc aggacctggc ctggtggcgc cctcacagag cctgtccata 60

acctgcactg tctctgggtt ctcattaacc aactttgata taagttggat tcgccagcca 120

ccaggaaagg gtctggagtg gcttggagta atgtggactg gtggaggcac aaattataat 180

tcagctttca tgtccagact gagcatcage agggacatct ccaaaagcca agtttctta 240

aaaatgagca gtctgcaaac tgatgacaca gccatatatt actgtgtaag aggggatact 300

tactttctttg ctatggacta ctgggggtcaa ggaacctccg tcaccgtctc atcag

355

<210> 32

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 32

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Phe
20 25 30

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

[0029]

Gly Val Met Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Phe Met
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asp Ile Ser Lys Ser Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

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

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

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 33

Gly Phe Ser Leu Thr Asn Phe Asp Ile Ser
1 5 10

<210> 34

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 34

Val Met Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Phe Met Ser
1 5 10 15

[0030]

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 35

Gly Asp Thr Tyr Phe Phe Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 36

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 37

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 37

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Phe
20 25 30

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

[0031] Gly Val Met Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Phe Met
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asp Ile Ser Lys Ser Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

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

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

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

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

	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	
	145					150					155					160	
	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	
					165				170						175		
	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	
				180					185					190			
	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	
		195						200					205				
	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Arg	Thr	
	210						215					220					
[0032]	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	
	225					230					235					240	
	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	
				245						250					255		
	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	
				260					265					270			
	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	
		275						280				285					
	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Leu	Leu	Gln	Gly	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	
		290					295					300					
	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
	305					310					315				320		

	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr	
	325 330 335	
	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu	
	340 345 350	
	Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys	
	355 360 365	
	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser	
	370 375 380	
	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp	
	385 390 395 400	
[0033]	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser	
	405 410 415	
	Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala	
	420 425 430	
	Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
	435 440 445	
	<210> 38	
	<211> 336	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 38	
	gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
	atcacttgca aatccagtca gagtctgctc agcagtggaa cccgaaagaa cttcttgtct	120
	tggtatcagc agaaaccagg gaaagcccct aagctcctga tctattgggc atccactagg	180

ggatctgggg tccatcaag gttcagtggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagtc tgcaacctga agattttgca acttactact gtaaacaatc ttataatcta 300
tacacgtttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 39

<211> 112

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 39

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser
20 25 30

[0034]

Gly Thr Arg Lys Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln
35 40 45

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

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

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

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

<210> 40

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 40

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser Gly Thr Arg Lys Asn Phe Leu
1 5 10 15

Ser

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 41

Trp Ala Ser Thr Arg Gly Ser
1 5

[0035]

<210> 42

<211> 8

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 42

Lys Gln Ser Tyr Asn Leu Tyr Thr
1 5

<210> 43

<211> 219

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 43

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser
20 25 30

Gly Thr Arg Lys Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln
35 40 45

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

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

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

[0036] Ser Tyr Asn Leu Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 44
<211> 118
<212> PRT
<213> 智人

<400> 44

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

[0037] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Phe
20 25 30

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

Ala Val Met Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Gln Ser Ala Phe Met
50 55 60

Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 45
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 45

Val Met Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Gln Ser Ala Phe Met Ser
1 5 10 15

<210> 46
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 46

[0038]

Gly Asp Val Tyr Phe Phe Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 47
<211> 447
<212> PRT
<213> 智人

<400> 47

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Phe
20 25 30

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

	Ala	Val	Met	Trp	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Gln	Ser	Ala	Phe	Met	
	50						55					60					
	Ser	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	Leu	
	65				70					75					80		
	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	
					85					90					95		
	Arg	Gly	Asp	Val	Tyr	Phe	Phe	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
				100					105					110			
	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	
			115					120					125				
[0039]	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	
	130					135						140					
	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	
	145					150					155				160		
	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	
					165				170						175		
	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	
				180					185					190			
	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	
		195						200					205				
	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Arg	Thr	
	210						215					220					

	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser	
	225	230 235 240
	Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg	
		245 250 255
	Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro	
		260 265 270
	Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala	
		275 280 285
	Lys Thr Lys Pro Arg Glu Leu Leu Gln Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val	
		290 295 300
[0040]	Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr	
	305	310 315 320
	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr	
		325 330 335
	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu	
		340 345 350
	Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys	
		355 360 365
	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser	
		370 375 380
	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp	
	385	390 395 400

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

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

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

<210> 48

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人

<400> 48

[0041] 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 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser
 20 25 30

Gly Thr Arg Lys Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 35 40 45

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

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

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

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

<210> 49
<211> 219
<212> PRT
<213> 智人

<400> 49

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 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser
20 25 30

[0042] Gly Thr Arg Lys Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
35 40 45

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

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

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

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

[0043]

<210> 50

<211> 354

<212> DNA

<213> 小家鼠

<400> 50

gaggtccagc tacaacagtc tggacctgaa ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgtaagg ctcttgata caccctcagt gactacttca tgaagtgggt gaaacagagc 120

catggaaaga gacttgagtg gattggagat attaatccta acaatggtga aactttctac 180

aaccatcatt tcaagggcaa ggccacattg acaatagaca aatcctccag tacagctac 240

atgcagctca acagcctgac atctgacgac tctgcagtct attactgtgc aagaccccg 300

cgggggaatg ctatggactt ctgggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctca 354

<210> 51

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 51

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 Ser Asp Tyr
20 25 30

Phe Met Lys Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Glu Thr Phe Tyr Asn His His Phe
50 55 60

[0044]

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

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

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

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 52

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 52

Gly Tyr Thr Phe Ser Asp Tyr Phe Met Lys
1 5 10

<210> 53
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 53

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

Gly

[0045]

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 54

Pro Arg Arg Gly Asn Ala Met Asp Phe
1 5

<210> 55
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 55

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

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

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

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

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

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

[0048] <210> 56
<211> 339
<212> DNA
<213> 小家鼠

<400> 56
gacattgtga tgacacagtc tccatcctcc ctggctatgt cagtaggaca gaaggtcacc 60
atgagctgca agtccagtca gagcctttta aatagaggca atcaaaagaa ctatttggcc 120
tggtaccagc agaaaccagg acagtctcct aaatttctgg tatattttgc atccactagg 180
gaatctgggg tccctgatcg ctccataggc agtggatctg ggacagattt cactcttacc 240
atcagcagtg tgcaggctga agacctggca gattatTTTT gtcagcaaca ttatagtatt 300
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gaaatacaa 339

<210> 57
<211> 113
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 57

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

Gln Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Arg
20 25 30

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

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

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

[0049]

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

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

Gln

<210> 58

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 58

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Arg Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 59

Phe Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

[0050] <400> 60

Gln Gln His Tyr Ser Ile Pro Tyr Thr

1 5

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 61

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Gln

1 5 10

<210> 62

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 62

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

Gln	Lys	Val	Thr	Met	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Arg
			20					25					30		

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

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

[0051] Pro Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

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

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

Gln	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp
				115				120				125			

Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn
	130						135				140				

Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu
145					150					155					160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 180 185 190

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

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

<210> 63
 <211> 369
 <212> DNA
 <213> 小家鼠

[0052] <400> 63
 gaagtacagc tgcagcagtc tgggcccagag cttcggagac ctgggacctc agtcaagctg 60
 tcttgtaagg cttctggcta cagtattaca gatttcctta tgtactgggt aaaacatagg 120
 ccagaatacg gcctggaatg gattggatgg attgacctg aggatggtga aacaaaatat 180
 gctcagaagt tccaaagcaa ggcccgaactg actgcagata cgtcctccaa aacagcctac 240
 atggaactca gcagcctgac gtctgaggac acagcaacct atttttgtgc tagatggggc 300
 tatatcacgg attatttcta tggcgggttt acttactggg gccgaggcac tctggtcact 360
 gtctcttca 369

<210> 64
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> 小家鼠

<400> 64

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

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

Leu Met Tyr Trp Val Lys His Arg Pro Glu Tyr Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

[0053] Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Gly Tyr Ile Thr Asp Tyr Phe Tyr Gly Gly Phe Thr Tyr
100 105 110

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 65

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 65

Gly Tyr Ser Ile Thr Asp Phe Leu Met Tyr
1 5 10

<210> 66

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 66

Trp Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Ser

<210> 67

<211> 14

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 67

[0054]

Trp Gly Tyr Ile Thr Asp Tyr Phe Tyr Gly Gly Phe Thr Tyr

1 5 10

<210> 68

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 68

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 69

<211> 454

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 69

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

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

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

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

Gln Ser Lys Ala Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80

[0055]

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

Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Tyr Ile Thr Asp Tyr Phe Tyr Gly Gly Phe
100 105 110

Thr Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

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

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

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His

	165	170	175
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser			
	180	185	190
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys			
	195	200	205
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu			
	210	215	220
Pro Lys Ser Cys Asp Arg Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro			
225	230	235	240
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys			
	245	250	255
[0056]			
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val			
	260	265	270
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp			
	275	280	285
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Leu Leu Gln			
	290	295	300
Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp			
305	310	315	320
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu			
	325	330	335
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg			

	340		345		350
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys					
	355		360		365
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp					
	370		375		380
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys					
	385		390		395
					400
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser					
	405		410		415
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser					
	420		425		430

[0057]

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser			
	435	440	445
Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
	450		

<210>	70	
<211>	318	
<212>	DNA	
<213>	小家鼠	
<400>	70	
gacatccaga tgaccagtc tcctccagtc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcact		60
ctcagctgca aagcaagtca gaatattaat aagaacttag actggtatca gaaaagcat		120
ggagaagctc caaaactcct gatatatcat acaaacactt tgcaaatggg catcccatca		180
aggttcagtg gcagtggatc tggtagagat tacgcactca ccatcaccag cctgcagcct		240

gaagatgttg ccacatatta ctgctatcaa tataacagtg ggcccacgtt tggagctggg 300

accaagctgg aactgaga 318

<210> 71

<211> 106

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 71

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

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

[0058] Leu Asp Trp Tyr Gln Gln Lys His Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr His Thr Asn Thr Leu Gln Met Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 72

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 72

Lys Ala Ser Gln Asn Ile Asn Lys Asn Leu Asp
1 5 10

<210> 73

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 73

His Thr Asn Thr Leu Gln Met
1 5

<210> 74

<211> 8

<212> PRT

[0059]

<213> 小家鼠

<400> 74

Tyr Gln Tyr Asn Ser Gly Pro Thr
1 5

<210> 75

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 75

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Arg
1 5 10

<210> 76

<211> 213

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 76

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

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

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

Tyr His Thr Asn Thr Leu Gln Met Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0060]

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

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

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

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

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

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu

145	150	155	160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser	165	170	175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala	180	185	190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe	195	200	205
Asn Arg Gly Glu Cys	210		

[0061]

<210> 77
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 77

Gln Leu Gln Gly Leu Leu Gln Gly Gly
1 5

<210> 78
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 78

Leu Leu Gln Gly

1

<210> 79

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 79

Leu Ser Leu Ser Gln Gly

1 5

<210> 80

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

[0062]

<220>

<223> 合成构建体

<400> 80

Gly Gly Gly Leu Leu Gln Gly Gly

1 5

<210> 81

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 81

Gly Leu Leu Gln Gly

1 5

<210> 82

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 82

Leu Leu Gln Gly Ser Pro Leu Ala Gln Ser His Gly Gly
1 5 10

<210> 83

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

[0063]

<400> 83

Gly Leu Leu Gln Gly Gly Gly
1 5

<210> 84

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 84

Gly Leu Leu Gln Gly Gly
1 5

<210> 85

<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 85

Gly Leu Leu Gln
1

<210> 86
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

[0064] <400> 86

Leu Leu Gln Leu Leu Gln Gly Ala
1 5

<210> 87
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 87

Leu Leu Gln Gly Ala
1 5

<210> 88
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 88

Leu Leu Gln Tyr Gln Gly Ala

1 5

<210> 89

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 89

[0065] Leu Leu Gln Gly Ser Gly

1 5

<210> 90

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 90

Leu Leu Gln Tyr Gln Gly

1 5

<210> 91

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 91

Leu Leu Gln Leu Leu Gln Gly

1 5

<210> 92

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 92

Ser Leu Leu Gln Gly

1 5

[0066]

<210> 93

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 93

Leu Leu Gln Leu Gln

1 5

<210> 94

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 94

Leu Leu Gln Leu Leu Gln
1 5

<210> 95

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 95

Leu Leu Gln Gly Arg
1 5

[0067]

<210> 96

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 96

Leu Leu Gln Gly Pro Pro
1 5

<210> 97

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 97

Leu Leu Gln Gly Pro Ala
1 5

<210> 98

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 98

Gly Gly Leu Leu Gln Gly Pro Pro
1 5

<210> 99

<211> 7

<212> PRT

[0068] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 99

Gly Gly Leu Leu Gln Gly Ala
1 5

<210> 100

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 100

Leu Leu Gln Gly Pro Gly Lys

1 5

<210> 101

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 101

Leu Leu Gln Gly Pro Gly

1 5

<210> 102

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

[0069]

<220>

<223> 合成构建体

<400> 102

Leu Leu Gln Gly Pro

1 5

<210> 103

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 103

Leu Leu Gln Pro

1

<210> 104
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 104

Leu Leu Gln Pro Gly Lys
1 5

<210> 105
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

[0070]

<400> 105

Leu Leu Gln Ala Pro Gly Lys
1 5

<210> 106
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 106

Leu Leu Gln Gly Ala Pro Gly
1 5

<210> 107

<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 107

Leu Leu Gln Gly Ala Pro
1 5

[0071]

<210> 108
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 108

Leu Leu Gln Leu Gln Gly
1 5

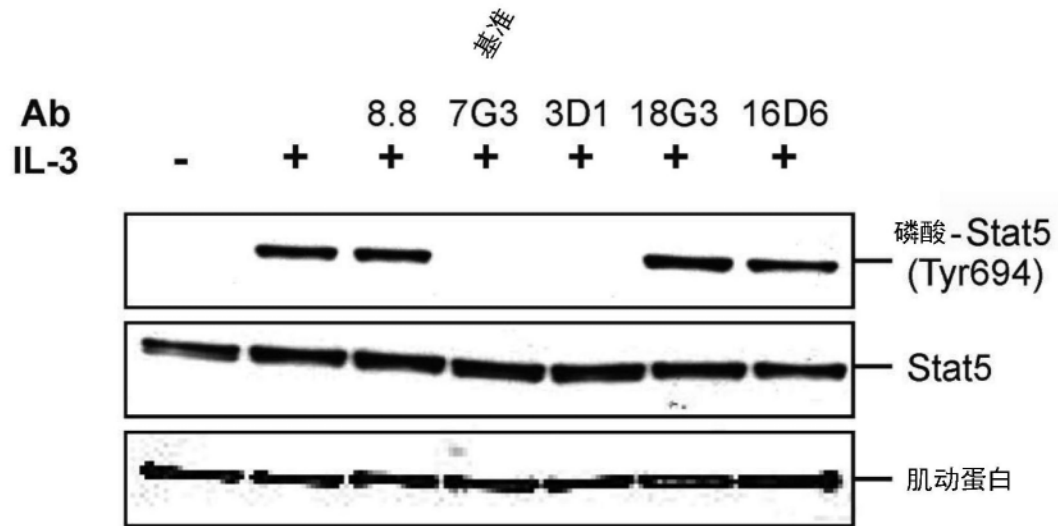


图1

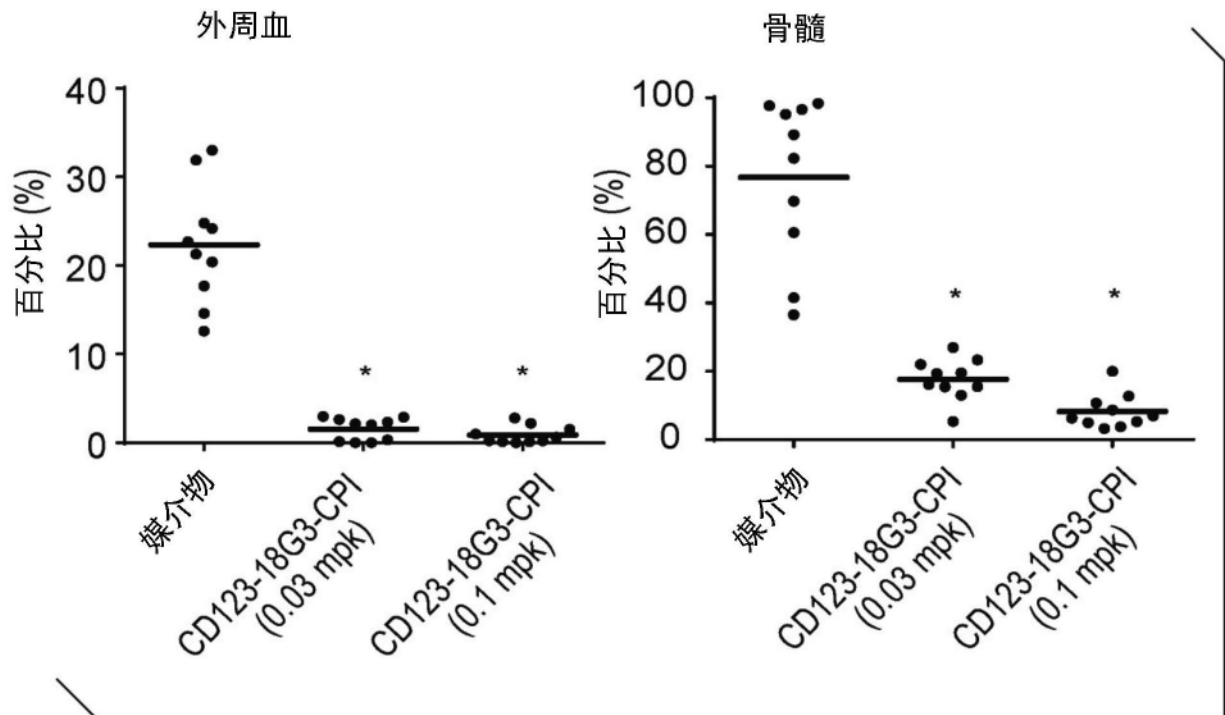


图2

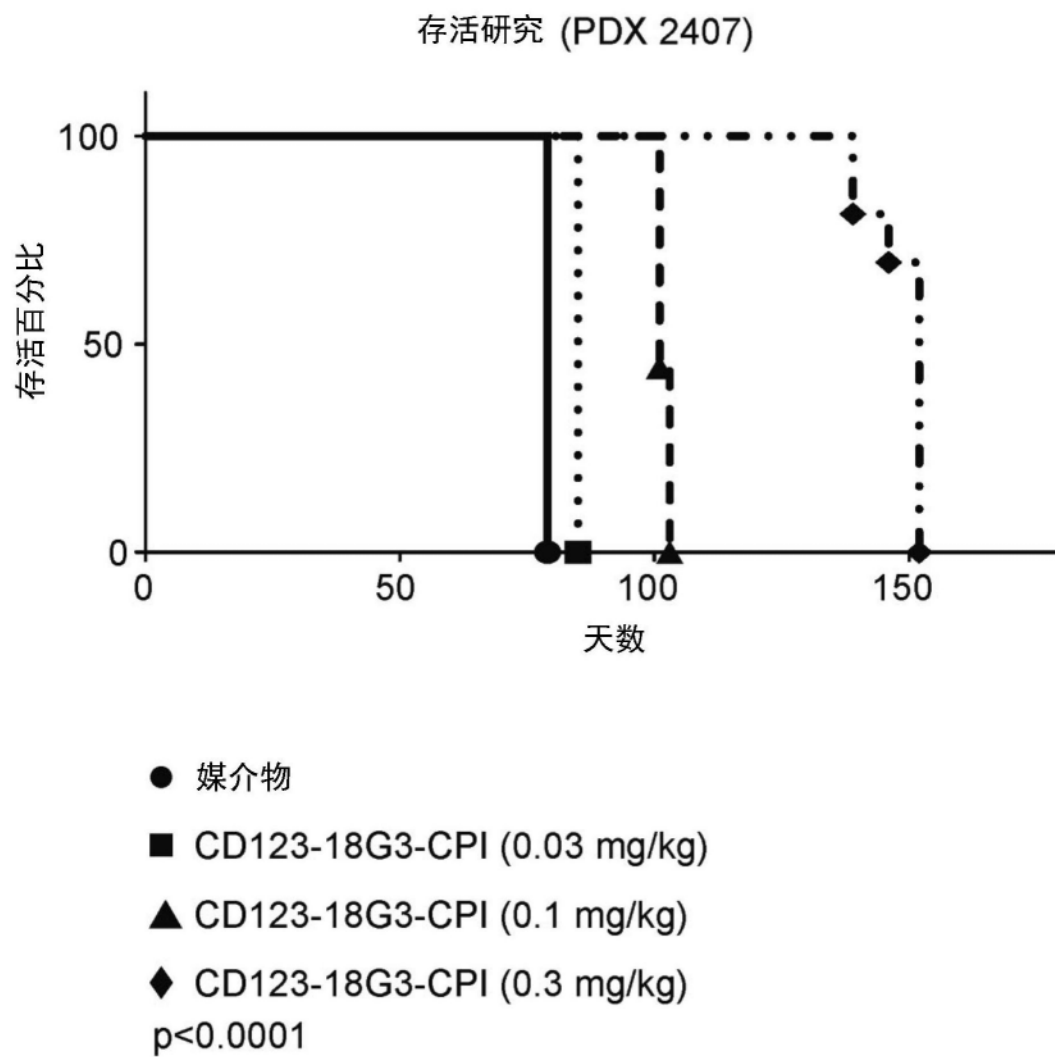


图3