



## (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106459196 B

(45)授权公告日 2020.09.22

(21)申请号 201580023098.5

(22)申请日 2015.03.03

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106459196 A

(43)申请公布日 2017.02.22

(30)优先权数据

1403775.8 2014.03.04 GB

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.11.04

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2015/050614 2015.03.03

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/132580 EN 2015.09.11

(73)专利权人 科马布有限公司

地址 英国剑桥

(72)发明人 J·坎贝尔 S·霍尔姆斯

I·卡比 M·科斯马克

(74)专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司

72003

代理人 付文川 王芝艳

(51)Int.Cl.

C07K 16/28(2006.01)

C12N 15/13(2006.01)

C12N 15/85(2006.01)

A61K 39/395(2006.01)

A61P 37/06(2006.01)

A61P 29/00(2006.01)

A61P 19/02(2006.01)

A61P 9/10(2006.01)

A61P 3/10(2006.01)

A61P 1/00(2006.01)

(56)对比文件

CN 101684157 A,2010.03.31

US 2012058906 A1,2012.03.08

CN 101684157 A,2010.03.31

审查员 陈永强

权利要求书4页 说明书116页

序列表75页 附图2页

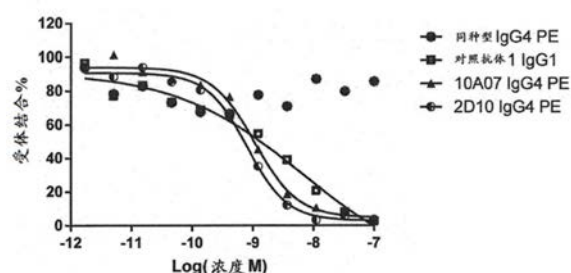
(54)发明名称

抗体、用途和方法

(57)摘要

本发明涉及抗人OX40L抗体、新的医疗用途和方法。

抗OX40L抗体对OX40L/OX40R结合的作用



1. 一种抗体或其抗原结合片段, 其特异性结合hOX40L表位并包含重链和轻链, 并且其中:

- a. 重链包含含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域; 以及
- b. 轻链包含含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域。

2. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 其以通过SPR测定的1nM-10pM的kd特异性结合所述hOX40L表位。

3. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 其以通过SPR测定的1nM-10pM的kd特异性结合恒河猴OX40L。

4. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 与不存在特异于hOX40L的抗体时人PBMC MLR测定中IL-2的产生相比, 其降低至少20%的IL-2分泌。

5. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 其中抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:36或42的HCDR1序列的V<sub>H</sub>结构域。

6. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 其中抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:38或44的HCDR2序列的V<sub>H</sub>结构域。

7. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 其中抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:40或46的HCDR3序列的V<sub>H</sub>结构域。

8. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 其包含第一和第二拷贝的所述V<sub>H</sub>结构域。

9. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 其中抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:50或56的LCDR1序列的V<sub>L</sub>结构域。

10. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 其中抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:52或58的LCDR2序列的V<sub>L</sub>结构域。

11. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 其中抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:54或60的LCDR3序列的V<sub>L</sub>结构域。

12. 一种抗体或其抗原结合片段, 其特异性结合hOX40L表位, 其中抗体或其抗原结合片段包含V<sub>H</sub>结构域和V<sub>L</sub>结构域, 其中所述V<sub>H</sub>结构域含有SEQ ID NO:36的HCDR1序列、SEQ ID NO:38的HCDR2序列和SEQ ID NO:40的HCDR3序列, 并且其中所述V<sub>L</sub>结构域含有SEQ ID NO:50的LCDR1序列、SEQ ID NO:52的LCDR2序列和SEQ ID NO:54的LCDR3序列;

或其中抗体或其抗原结合片段包含V<sub>H</sub>结构域和V<sub>L</sub>结构域, 其中所述V<sub>H</sub>结构域含有SEQ ID NO:42的HCDR1序列、SEQ ID NO:44的HCDR2序列和SEQ ID NO:46的HCDR3序列, 并且其中所述V<sub>L</sub>结构域含有SEQ ID NO:56的LCDR1序列、SEQ ID NO:58的LCDR2序列和SEQ ID NO:60的LCDR3序列。

13. 一种抗体或其抗原结合片段, 其特异性结合hOX40L表位, 其中抗体或其抗原结合片段包含V<sub>H</sub>结构域和V<sub>L</sub>结构域, 其中所述V<sub>H</sub>结构域含有SEQ ID NO:4的HCDR1序列、SEQ ID NO:6的HCDR2序列和SEQ ID NO:8的HCDR3序列, 并且其中所述V<sub>L</sub>结构域含有SEQ ID NO:18的LCDR1序列、SEQ ID NO:20的LCDR2序列和SEQ ID NO:22的LCDR3序列;

或其中抗体或其抗原结合片段包含V<sub>H</sub>结构域和V<sub>L</sub>结构域, 其中所述V<sub>H</sub>结构域含有SEQ ID NO:10的HCDR1序列、SEQ ID NO:12的HCDR2序列和SEQ ID NO:14的HCDR3序列, 并且其中所述V<sub>L</sub>结构域含有SEQ ID NO:24的LCDR1序列、SEQ ID NO:26的LCDR2序列和SEQ ID NO:28

的LCDR3序列。

14. 如权利要求12或13所述的抗体或其抗原结合片段,其进一步包含具有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的重链恒定区。

15. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其进一步包含具有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的重链恒定区。

16. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含第一和第二拷贝的含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域并且包含第一和第二拷贝的含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域。

17. 如权利要求16所述的抗体或其抗原结合片段,其进一步包含具有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的重链恒定区。

18. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其包含第一和第二拷贝的所述V<sub>L</sub>结构域。

19. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含κ轻链。

20. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中轻链包含啮齿动物、大鼠、小鼠、人、兔、鸡、骆驼、绵羊、牛、非人灵长类动物或鲨鱼恒定区。

21. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段进一步包含人或人源化的轻链恒定区。

22. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段进一步包含人CL。

23. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含κ轻链,所述κ轻链包含选自SEQ ID NO:136、138、140、142和144的κ轻链恒定区氨基酸序列的恒定区。

24. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其是全人抗体。

25. 如权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中抗体包含重链和轻链,所述重链氨基酸序列由SEQ ID No:62的序列组成,并且所述轻链氨基酸序列由SEQ ID No:64的序列组成。

26. 一种抗体或其抗原结合片段,其特异性结合hOX40L表位并包含重链和轻链,并且其中:

a. 重链包含:

i. 具有与SEQ ID NO:34的氨基酸序列至少80%同一性的V<sub>H</sub>结构域;和

ii. 具有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的重链恒定区;以及

b. 轻链包含具有与SEQ ID NO:48的氨基酸序列至少80%同一性的V<sub>L</sub>结构域;

并且其中抗体或其抗原结合片段降低来自于体外人T细胞的hOX40L刺激的IL-2分泌,并且其中抗体或其抗原结合片段与抗体02D10竞争结合所述hOX40L表位,该抗体02D10包含V<sub>H</sub>结构域和V<sub>L</sub>结构域,所述V<sub>H</sub>结构域包含由SEQ ID NO:34的序列组成的氨基酸序列,且所述V<sub>L</sub>结构域包含由SEQ ID NO:48的序列组成的氨基酸序列。

27. 如权利要求26所述的抗体或其抗原结合片段,其中%同一性通过出于最佳比对目的的比对氨基酸序列而确定。

28. 如权利要求26所述的抗体或其抗原结合片段,其中%同一性通过使用使用PAM120权重残基表的ALIGN程序中的数学算法而计算。

29. 如权利要求26所述的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段包含含有由SEQ ID NO:2的序列组成的氨基酸序列的重链可变区,和含有由SEQ ID NO:16的序列组成的氨基酸序列的轻链可变区。

30. 一种包含权利要求1至29任一项中所述的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体的药物组合物。

31. 如权利要求30所述的药物组合物,其被配制用于选自静脉或皮下施用的胃肠外施用。

32. 如权利要求30所述的药物组合物,其包含另一种治疗剂,所述另一治疗剂独立地选自雷帕霉素、他克莫司、环孢素、皮质类固醇、甲氨蝶呤、吗替麦考酚酯、抗CD28抗体、抗IL12/IL-23抗体、抗CD20抗体、抗CD30抗体、CTLA4-Fc分子、CCR5受体拮抗剂、抗CD40L抗体、抗VLA4抗体、抗LFA1抗体、氟达拉滨、抗CD52抗体、抗CD45抗体、环磷酰胺、抗胸腺细胞球蛋白、抗补体C5抗体、抗a4b7整联蛋白抗体、抗IL6抗体、抗IL2R抗体、抗CD25抗体、抗TNFa/TNFa-Fc分子和伏立诺他。

33. 如权利要求32所述的药物组合物,其中另一种治疗剂选自西罗莫司、甲基强的松龙、优特克单抗、利妥昔单抗、布妥昔单抗、阿巴西普、马拉维若、那他珠单抗、阿仑单抗、依库珠单抗、维多珠单抗、托珠单抗、巴利昔单抗、达利珠单抗、依那西普、阿达木单抗、英夫利昔单抗、戈利木单抗和赛妥珠单抗。

34. 如权利要求30至33中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物用于治疗或预防选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状、移植物抗宿主疾病或移植排斥的hOX40L介导的疾病或病状。

35. 如权利要求34所述的药物组合物,其中hOX40L介导的疾病或病状选自炎症性肠病、类风湿性关节炎、同种异体移植排斥、系统性红斑狼疮、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化和动脉粥样硬化。

36. 如权利要求35所述的药物组合物,其中炎症性肠病是克罗恩氏病或溃疡性结肠炎。

37. 如权利要求30至33中任一项所述的药物组合物,其与用于治疗 and/or 预防人类中hOX40L介导的疾病或病状的标签或说明书组合。

38. 如权利要求37所述的药物组合物,其中标签或说明书包括上市许可证号。

39. 如权利要求38所述的药物组合物,其中上市许可证号是FDA或EMA许可证号。

40. 一种试剂盒,其包括如权利要求30至39中任一项所定义的药物组合物。

41. 如权利要求40所述的试剂盒,其中试剂盒包括用于治疗 and/or 预防人类中hOX40L介导的疾病或病状的标签或说明书。

42. 如权利要求41所述的试剂盒,其中标签或说明书包括上市许可证号。

43. 如权利要求42所述的试剂盒,其中上市许可证号是FDA或EMA许可证号。

44. 如权利要求40至43任一项所述的试剂盒,其包括包含所述抗体或其抗原结合片段的注射装置。

45. 如权利要求44所述的试剂盒,其包括包含所述抗体或其抗原结合片段的静脉注射装置。



46. 如权利要求1至29任一项中所述的抗体或其抗原结合片段在制备用于治疗的药物中的用途。

47. 如权利要求46所述的用途, 用于治疗或预防选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状、移植物抗宿主疾病或移植排斥的hOX40L介导的疾病或病状。

48. 如权利要求47所述的用途, 其中hOX40L介导的疾病或病状选自炎症性肠病、类风湿性关节炎、同种异体移植排斥、系统性红斑狼疮、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化和动脉粥样硬化。

49. 如权利要求48所述的用途, 其中炎症性肠病是克罗恩氏病或溃疡性结肠炎。

50. 如权利要求47所述的用途, 其中hOX40L介导的疾病或病状为皮炎。

51. 一种核酸, 其编码如权利要求1至29中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的重链或轻链。

52. 一种载体, 其包含如权利要求51所述的核酸。

53. 如权利要求52所述的载体, 其中所述载体为CHO或HEK293载体。

54. 一种宿主, 其包含如权利要求51所述的核酸或如权利要求52或53所述的载体。

## 抗体、用途和方法

[0001] 本发明涉及抗人OX40L抗体、新的医疗用途和方法。

[0002] 背景

[0003] OX40配体 (OX40L) 是TNF家族成员,一种34kDa的II型跨膜蛋白。人OX40和OX40L的结晶复合物是一个OX40L (三聚体) 和三个OX40单体的三聚构型。人胞外结构域与小鼠OX40L 42%同源。

[0004] OX40L非组成型表达,但是可在专职性APC如B细胞、树突状细胞 (DC) 和巨噬细胞上诱导。可诱导其它细胞类型如朗格汉斯细胞 (Langerhans cell)、内皮细胞、平滑肌细胞、肥大细胞和天然杀伤 (NK) 细胞表达OX40L。T细胞也可表达OX40L。OX40L受体,即OX40,在活化T细胞 (CD4和CD8T细胞、Th2、Th1和Th17细胞) 和CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>细胞上表达,即使在未活化时也表达。

[0005] OX40和OX40L之间的相互作用在抗原识别2或3天后的T细胞-DC相互作用期间发生。离开DC后,表达OX40的T细胞可与表达OX40L的细胞而非DC相互作用并且接收来自于该细胞的OX40信号,这样可为产生记忆T细胞、增强Th2反应和延长炎症反应提供必需信号。进入应答T细胞的OX40信号致使其抵抗Treg介导的抑制。

[0006] 移植物抗宿主疾病是同种异体骨髓治疗后死亡的主要原因。在该疾病的急性形式中,骨髓移植物中存在的成熟T细胞在受损组织环境中将供者组织识别为外源性,这经由宿主APC引起供者T细胞活化和增殖,随后T细胞迁移到肝脏、脾脏、肠、皮肤和肺,通过CTL效应子应答和炎症性细胞因子/趋化因子释放而引起组织损伤。急性病的发作通常是在移植后的前100天内 (Hill-Ferrara, Blood, 2000年5月1日第95卷第9号2754-275, Reddy-Ferrara Blood, 第17卷, 第4期, 2003年12月)。

[0007] 慢性GvHD通常在移植100天后出现并且认为涉及几个因素,包括由先前急性GvHD引起的导致病理性T细胞的清除率降低的胸腺损伤 (Zhang等, 2007年9月1日第179卷第5号3305-3314)、引起纤维化的TGF- $\beta$ 上调 (McCormick等J Immuno, 1999年11月15日第163卷第10号5693-5699) 和由升高的B细胞活化因子 (BAFF) 驱动的B细胞组分 (Sarantopoulos等, Clin Cancer Res, 2007年10月15日13;6107) 以及针对血小板源性生长因子受体的自身抗体 (Svegliati等, Blood, 2007年7月1日第110卷第1号237-241)。

[0008] 临床研究已经证实急性 (Morante等, Clinical and Experimental Immunology, 145:36-43) 和慢性 (Kotani等, Blood, 2001年11月15日第98卷第10号3162-3164) GvHD中OX40均上调。施用拮抗性抗OX40L提高了在GvHD致死急性小鼠模型中的存活率,其中与到第43天全部死亡的未处理组相比,处理组中存活率70% (Tsukada等, Blood, 2000年4月1日, 第95卷, 第7号), 而用激动性抗OX40 Ab处理则加速所述疾病和死亡率 (Blazar等, Blood, 2003年5月1日第101卷第9号3741-3748)。已经证实对OX40-OX40L相互作用的阻滞在几种其它炎症性疾病中有效,其中抗OX40L Ab用于治疗结肠炎小鼠模型 (Totsuka等, AJP-GI, 2003年4月1日, 第284卷第4号G595-G603), 并且抗OX40L Ab可以阻滞NOD小鼠中糖尿病的发展 (Pakala等, European Journal of Immunology第34卷, 11期, 第3039-3046页, 2004年11月)。

[0009] 参考文献

[0010] Lamb, L.S., Abhyankar, S.A., Hazlett, L., O'Neal, W., Folk, R.S., Vogt, S., Parrish, R.S., Bridges, K., Henslee-Downey, P.J. and Gee, A.P. (1999), Expression of CD134 (OX-40) on T-cells during the first 100 days following allogeneic bone marrow transplantation as a marker for lymphocyte activation and therapy-resistant graft-versus-host disease. *Cytometry*, 38:238-243.

[0011] Xupeng Ge, Julia Brown, Megan Sykes, Vassiliki A. Boussiotis, CD134-Allodepletion Allows Selective Elimination of Alloreactive Human T-cells without Loss of Virus-Specific and Leukemia-Specific Effectors, *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, Volume 14, Issue 5, May 2008, Pages 518-530.

[0012] Naoto Ishii, Takeshi Takahashi, Pejman Soroosh, Kazuo Sugamura, Chapter 3-OX40-OX40 Ligand Interaction in T-Cell-Mediated Immunity and Immunopathology, In: Frederick W. Alt, Editor(s), *Advances in Immunology*, Academic Press, 2010, Volume 105, Pages 63-98.

[0013] Croft, M., So, T., Duan, W. and Soroosh, P. (2009), The significance of OX40 and OX40L to T-cell biology and immune disease. *Immunological Reviews*, 229:173-191.

[0014] 发明概述

[0015] 本发明提供了抗人OX40L (hOX40L) 抗体和片段以及用于治疗或预防人中hOX40L介导的疾病或病状的新颖医疗应用。为此, 本发明提供:-

[0016] 在第一模式中

[0017] 一种特异性结合hOX40L的抗体或其片段, 其在一种方法中用于治疗或预防人中hOX40L介导的疾病或病状, 在所述方法中将所述抗体或片段施用于所述人, 其中所述抗体或片段用于通过降低下述一项、多项或全部来治疗或预防所述hOX40L介导的疾病或病状:

[0018] a. 选自人的TNF $\alpha$ 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-10、IL-13、IL-17、RANTES和干扰素 $\gamma$ 的细胞因子的分泌;

[0019] b. 人的白细胞的增殖; 和

[0020] c. 人T细胞表达的hOX40受体与内皮细胞表达的hOX40L的结合。

[0021] 在第二模式中

[0022] 一种抗体或其片段, 其特异性结合hOX40L并且与选自02D10、10A07、09H04和19H01的抗体竞争结合所述hOX40L。

[0023] 在第三模式中

[0024] 特异性结合hOX40L的抗体或其片段在制造用于向人施用, 通过降低下述一项、多项或全部来治疗或预防人中hOX40L介导的疾病或病状的药剂中的用途:

[0025] a. 选自人的TNF $\alpha$ 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-10、IL-13、IL-17、RANTES和干扰素 $\gamma$ 的细胞因子的分泌;

[0026] b. 人的白细胞的增殖; 和

[0027] c. 人T细胞表达的hOX40受体与内皮细胞表达的hOX40L的结合。

[0028] 在第四模式中

[0029] 一种通过降低下述一项、多项或全部来治疗或预防hOX40L介导的疾病或病状的方法：

[0030] a. 选自人的TNF $\alpha$ 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-10、IL-13、IL-17、RANTES和干扰素 $\gamma$ 的细胞因子的分泌；

[0031] b. 人的白细胞的增殖；和

[0032] c. 人T细胞表达的hOX40受体与内皮细胞表达的hOX40L的结合；

[0033] 其中所述方法包括向所述人施用治疗有效量的特异性结合hOX40L的抗体或片段。

[0034] 在第五模式中

[0035] 一种抗体或其片段，其特异性结合hOX40L并且与抗体02D10竞争结合所述hOX40L，其中所述抗体或片段包含VH结构域，所述VH结构域包含含基序VRGXYYY的HCDR3，其中X为任何氨基酸。

[0036] 在第六模式中

[0037] 一种抗体或其片段，其特异性结合hOX40L并且与抗体02D10竞争结合所述hOX40L，其中所述抗体或片段包含VH结构域，所述VH结构域包含SEQ ID NO:40或46的HCDR3序列或包含少于5个氨基酸取代的SEQ ID NO:40或46的HCDR3序列。

[0038] 在第七模式中

[0039] 一种人抗体或其片段，其包含16至27个氨基酸的HCDR3并且源自人VH基因片段、人D基因片段和人JH基因片段的重组，其中所述人JH基因片段为IGHJ6，所述抗体或片段特异性结合hOX40L以治疗或预防选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植排斥的自身免疫性疾病。

[0040] 在第八模式中

[0041] 包含16至27个氨基酸的HCDR3并且源自人VH基因片段、人D基因片段和人JH基因片段重组的人抗体或其片段在制造向人施用用于治疗或预防人中hOX40L介导的疾病或病状的药剂中的用途，其中所述人JH基因片段为IGHJ6，所述抗体或片段特异性结合hOX40L，所述hOX40L介导的疾病或病状选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植排斥。

[0042] 在第九模式中

[0043] 一种治疗或预防hOX40L介导的疾病或病状的方法，所述hOX40L介导的疾病或病状选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植排斥，所述方法包括向所述人施用治疗有效量的包含16至27个氨基酸的HCDR3并且源自人VH基因片段、人D基因片段和人JH基因片段重组的人抗体或其片段，其中所述人JH基因片段为IGHJ6，所述抗体或片段特异性结合hOX40L，其中所述hOX40L介导的疾病或病状由此得到治疗或预防。

[0044] 本发明还提供药物组合物、试剂盒、核酸、载体和宿主。

[0045] 附图简述

[0046] 图1：HTRF配体/受体中和测定中全人重组抗OX40L抗体的特征分析。所示数据代表3次重复实验。

[0047] 图2：测定抗OX40L抗体在同种异体PBMC/T混合淋巴细胞反应中的作用。所示数据来自3个独立供者配对，其中假定每个供者是不同的个体。

[0048] 发明详述

[0049] 本发明提供以下方面1-113。

[0050] 本发明例如对于治疗或预防移植排斥,例如移植物抗宿主疾病(GvHD)或同种异体移植排斥有用。本发明例如对于治疗或预防炎症性肠病,例如UC或CD,或对于治疗或预防气道炎症性疾病或病状也有用。在一个实例中,这个方面对于治疗或预防哮喘有用。本发明例如对于治疗或预防纤维化也有用。本发明例如对于治疗或预防糖尿病也有用。本发明例如对于治疗或预防葡萄膜炎也有用。本发明例如对于治疗或预防坏疽性脓皮症也有用。本发明例如对于治疗或预防巨细胞动脉炎也有用。本发明例如对于治疗或预防施尼茨勒综合征(Schnitzler syndrome)也有用。本发明例如对于治疗或预防非感染性巩膜炎也有用。

[0051] 1.一种特异性结合hOX40L的抗体或其片段,其在一种方法中用于治疗或预防人中hOX40L介导的疾病或病状,在所述方法中将所述抗体或片段施用于所述人,其中所述抗体或片段用于通过降低下述一项、多项或全部来治疗或预防所述hOX40L介导的疾病或病状:

[0052] a.选自人的TNF $\alpha$ 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-10、IL-13、IL-17、RANTES和干扰素 $\gamma$ 的细胞因子的分泌;

[0053] b.人的白细胞的增殖;和

[0054] c.人T细胞表达的hOX40受体与内皮细胞表达的hOX40L的结合。

[0055] 发明人因而首次将(a)、(b)和(c)的降低鉴定为治疗和/或预防人中OX40L介导的疾病和病状的途径并且他们提供了用于此目的的抗体和抗体片段。

[0056] 在一个实例中,所述分泌是白细胞分泌。在一个实例中,(a)由人血液、血浆或血清中显著升高的细胞因子水平指示。

[0057] 在一个实例中,细胞因子选自(i) TNF $\alpha$ 、(ii) IL-2和(iii) 干扰素 $\gamma$ 。在一个实例中,细胞因子为TNF $\alpha$ 。在一个实例中,细胞因子为IL-2。在一个实例中,细胞因子为干扰素 $\gamma$ 。在一个实例中,细胞因子为(i)和(ii);或(i)和(iii);或(ii)和(iii);或(i)-(iii)。

[0058] 在一个实例中,(a)、(b)或(c)的降低或本文公开的任何其它降低是与处于hOX40L介导的疾病或病状的风险或患有hOX40L介导的疾病或病状的人中的水平相比,降低至少10或20%。在一个实例中,后者是方面1中叙述的施用所述抗体或片段之前的人;在另一个实例中后者是不同的人。在一个实例中,所述降低为至少10、20、30、40、50或60%。

[0059] (i) 在一个实例中,在体外测定中(如以下进一步所解释)所述抗体或片段能够实现有关细胞因子从白细胞(例如,人T细胞)分泌的降低,因此向人施用此类抗体或片段导致(a)的降低。

[0060] (ii) 在一个实例中,在体外测定中(如以下进一步所解释)所述抗体或片段能够实现白细胞(例如,人PBMC和/或人T细胞)增殖的降低,因此向人施用此类抗体或片段导致(b)的降低。

[0061] (iii) 在一个实例中,在体外测定中(如以下进一步所解释)所述抗体或片段能够实现人T细胞表达的hOX40与内皮细胞表达的hOX40L的结合的降低,因此向人施用此类抗体或片段导致(c)的降低。

[0062] 在一个实例中,(i)和(ii);或(i)和(iii);或(ii)和(iii);或(i)-(iii)适用。

[0063] 另外或可选地,可以使用来自于受治人的样品进行对所述降低的评估。例如,参考J Clin Immunol.2004年1月;24(1):74-85;“Increased expression of CCL20in human inflammatory bowel disease”;Kaser A等。该出版物提供了普遍适用的使用组织活检并

读出降低的细胞因子水平的技术的实例,降低的细胞因子水平表明体内用抗体处理后细胞因子分泌降低。类似方法可用于测定已经接受本发明抗体的人中一种或多种细胞因子分泌的降低。技术人员将熟悉评估患者或患者样品中的细胞因子水平的技术,例如通过使用以下的一种或多种:组织活检、免疫组织化学、免疫荧光、组织染色、细胞因子mRNA定量(例如,使用PCR,如Taqman<sup>TM</sup> PCR)、细胞因子蛋白质检测和定量(例如,使用细胞因子-特异性工具抗体和定量,如通过ELISA或另一种标准的蛋白质定量技术)。例如,所述疾病或病状为胃肠道的疾病或病状(例如,IBD)时,可进行来自于已经接受本发明抗体的患者的相关肠组织的活检,接着为细胞因子mRNA和/或细胞因子蛋白质定量(例如,使用定量PCR)。将结果与来自于抗体施用之前同一患者的相关活检组织中的细胞因子定量比较或与患有相同疾病或病状,但未接受抗OX40L治疗或对该疾病或病状的治疗的另一人患者比较。这样,技术人员可以确定本发明的抗体降低人受者中细胞因子的分泌。不评估肠组织水平,可以视所述疾病或病状的特性和位置而定,改为使用来自于人患者的不同组织或样品。例如,所述疾病或病状为气道(例如,肺部)的疾病或病状时,可能取肺部或其他组织样品进行细胞因子评估。可选地,正如对于技术人员将显而易见的那样,可以使用支气管肺泡灌洗(BAL)样品。在另一个实例中,对于一些疾病或病状而言,可以评估取自已经接受本发明抗体的人的血液、血清或血浆中细胞因子的降低,然后如以上所讨论那样,与接受所述抗体之前的水平比较或与未治人中的水平比较。

[0064] 正如本领域中所知,术语“白细胞”包括(例如)淋巴细胞、多形核白细胞和单核细胞中的一种或多种。正如也对技术人员显而易见的那样,术语“单核细胞”包括(例如)外周血单核细胞(PBMC)或单核细胞来源的细胞,例如,树突状细胞(DC)。参见,例如 *Immunobiology*, 2013年11月;218(11):1392-401.doi:10.1016/j.imbio.2013.07.005.Epub 2013年7月25日;“Leukoreduction system chambers are an efficient,valid,and economic source of functional monocyte-derived dendritic cells and lymphocytes”,Pfeiffer IA等。

[0065] 正如对于技术人员显而易见的那样,可以使用组织活检、染色和组织学技术评估白细胞,例如,固有层淋巴细胞(LPL)的增殖。苏木精和伊红染剂(H&E染剂或HE染剂),例如,在组织学上常用于寻找浸润性淋巴细胞(各种人组织)并且是组织学上的主要染剂之一。它是医疗诊断中使用最广泛的染剂并且常常是黄金标准,并且同样可以用于按照本发明评估白细胞的增殖。例如,可以获得来自于患有hOX40L介导的疾病或病状或处于hOX40L介导的疾病或病状风险的人的胃肠道组织(例如,肠组织),染色并评估LPL浸润的程度。与施用之前得自同一人的组织或得自尚未接受治疗而处于所述疾病或病状的风险或患有所述疾病或病状的另一人的组织中的浸润程度相比,可在来自于已经接受本发明抗体的人的此类组织间做比较。例如,在取自患有IBD的相同(或不同)人的人肠组织间比较。

[0066] 可以使用技术人员熟悉的标准结合测定法,例如使用ELISA或SPR,(例如)测定所述抗体或片段是否能够降低人T细胞表达的hOX40受体与内皮细胞表达的hOX40L的结合。

[0067] 炎症性肠病(IBD)是一种影响胃肠道的慢性炎症性病症,明显地发病率越来越高并且倾向于更严重的临床表型。该疾病特征在于对肠腔菌群(luminal flora)的免疫反应放大,表明可能涉及肠内菌群屏障功能的缺乏,并且研究支持这一见解(Cucchiara等,2012;Jostins等,2012;Manichanh等,2012;Salzman等,2007,全部在Deuring等“The cell

biology of the intestinal epithelium and its relation to inflammatory bowel disease”, The International Journal of Biochemistry&Cell Biology 45 (2013) 798-806中有引用)。IBD包括两大类:克罗恩氏病(CD)和溃疡性结肠炎(UC)。CD患者可在其整个胃肠道中具有炎症性病变,而UC患者中的炎症限于结肠。还参考Hisamatsu等(“Immune aspects of the pathogenesis of inflammatory bowel disease”, Pharmacology& Therapeutics 137 (2013) 283-297)和其中引用的文件。

[0068] 肉芽肿形成是人克罗恩氏病最重要的病理特征之一。Mizoguchi等证明,F4/80-阳性未成熟CD11c<sup>+</sup>树突状细胞(DC)产生IL-23并且有助于鼠类结肠炎模型中的肉芽肿形成(Mizoguchi等,2007)。Th1免疫反应在克罗恩氏病中突出。实际上,克罗恩氏病的LP中的CD4<sup>+</sup>T细胞表达T-bet并且产生大量的干扰素(IFN)- $\gamma$  (Matsuoka等,2004)。Sakuraba等证明,克罗恩氏病患者的肠系膜淋巴结中的DC强烈促进Th1和Th17免疫反应(Sakuraba等,2009)。肠系膜淋巴结DC有助于IBD发病机理,特别是克罗恩氏病的发病机理。

[0069] 细胞因子在疾病和病状中的作用

[0070] 参考Muzes等,World J Gastroenterol 2012年11月7日;18(41):5848-5861ISSN 1007-9327(印刷)ISSN 2219-2840(在线),“Changes of the cytokine profile in inflammatory bowel Diseases”。

[0071] 细胞因子是粘膜相关免疫系统用于维持正常肠稳态必不可少的信号。其有利于炎症发生的特征不平衡可导致疾病状态,如在炎症性肠病(IBD)中观察到的疾病状态,例如,克罗恩氏病(CD)和溃疡性结肠炎(UC)。促炎性细胞因子如IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-2、-6、-8、-12、-17、-23、IFN- $\gamma$ 或TNF $\alpha$ 在IBD中的作用与UC和CD的发生和进展相关。常常将CD描述为T-辅助细胞(Th)1介导的疾病原型,这是因为主要炎症介质为Th1细胞因子如白细胞介素(IL)-12、干扰素(IFN)- $\gamma$ 和肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 。

[0072] 类TNF配体与其受体的结合触发直接涉及细胞增殖、分化和存活的细胞内途径。TNF/TNF受体蛋白超家族的大多数成员在免疫细胞上表达并且在免疫反应的多个组分中起关键性作用。TNF- $\alpha$ 是IBD发病机理中的主要细胞因子。其通过粘附分子的表达、成纤维细胞增殖、促凝血因子以及引发细胞毒性、凋亡和急性期反应发挥其多效性作用。IBD中TNF- $\alpha$ 的来源部分为先天免疫细胞,如巨噬细胞或单核细胞,并且也可以是分化的Th1细胞。TNF- $\alpha$ 的血清水平与UC和CD的临床活性相关联[31]。其在IBD中的慢性炎症中起协调作用。TNF- $\alpha$ 在CD中的作用已经受到广泛研究。使TNF- $\alpha$ 与血清可溶性TNF受体1和2(sTNFR1和2)结合引发促炎性信号传导。sTNFR1和2的水平在CD中升高。

[0073] 肿瘤坏死因子样因子(TL1A),即TNF家族的另一成员,通过与死亡受体3(DR3)结合而刺激IFN- $\gamma$ 分泌。DR3由很高比率的来自于UC和CD粘膜活检的细胞表达,并且在IBD患者中随疾病活性一起观察到IFN- $\gamma$ 水平升高。TL1A/DR3系统涉及CD的发病机理。固有层的巨噬细胞是TL1A的主要生产者,其表达在CD中显著增强。已经发现TL1A和IL-23协同促进粘膜T细胞对IFN- $\gamma$ 的产生。FN-Y:由TH1T-细胞产生。一旦引发炎症,就产生IFN- $\gamma$ 并且随后通过免疫系统的各种分子和途径起作用以加剧炎症过程。存在大量广泛记载IFN- $\gamma$ 的促炎特性的文献,IFN- $\gamma$ 的促炎特性已经导致IFN- $\gamma$ 是炎症和自身免疫性疾病中的主要促炎性细胞因子的主流观念。在小鼠的实验炎症性肠病中成因性地涉及干扰素- $\gamma$  (Ito等,Clinical and Experimental Immunology (2006),146:330-338)。研究明确证明,就体重减轻的程度、

DAI、组织学评分和MPO活性而言,IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠在用DSS刺激后表现出结肠炎减弱。在显示严重IBD样症状的经DSS治疗的野生型(WT)小鼠的结肠中产生越来越多的IFN- $\gamma$ 。

[0074] 白细胞介素-2(IL-2)由T细胞产生并且对于T细胞分化成效应T细胞而言是最重要的。IL-2对于T细胞增殖也很重要。这对于IBD而言很重要,是因为效应T细胞被认为是在IBD中引起损伤的主要细胞类型。

[0075] IL-8(白细胞介素-8;aka CXCL8)主要介导中性粒细胞活化并迁移到来自于外周血的组织和炎症部位。已经发现IL-8的组织水平在活性UC中与正常结肠组织相比更高,并且已将其血清浓度与UC的内窥镜检查和组织学严重程度相关联。IL-8对于炎症情况和癌症很重要(参见,例如,“The Chemokine CXCL8in Carcinogenesis and Drug Response”, ISRN Oncol.2013年10月9日;2013:859154;Gales D等,和Future Oncol,2010年1月;6(1):111-6.doi:10.2217/fon.09.128;“CXCL8and its cognate receptors in melanoma progression and metastasis”,Singh S等)。特别是在癌症中,IL-8被认为还通过支持血管生成起作用。

[0076] 在本文任何模式、方面或实例中所述抗体或片段均拮抗hOX40L与OX40受体的结合。

[0077] 在本文任何模式、方面或实例中,所述抗体或片段均拮抗hOX40L与OX40的结合。

[0078] 在本文任何模式、方面或实例中,OX40L受体可为人OX40。

[0079] 在本文任何模式、方面或实例中,人患有哮喘或处于哮喘风险中并且所述抗体或片段降低人中的IgE。

[0080] 在本文任何模式、方面或实例中,人患有哮喘或处于哮喘风险中并且所述抗体或片段降用于降低人中的IgE。

[0081] 2.根据方面1所述的抗体或片段,其中所述抗体或片段降低人T细胞表达的hOX40受体与内皮细胞表达的hOX40L的结合并且降低人T细胞的增殖;其中所述抗体或片段用于通过降低选自TNF $\alpha$ 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-10、IL-13、IL-17、RANTES和干扰素 $\gamma$ 的细胞因子的分泌来治疗或预防所述hOX40L介导的疾病或病状。

[0082] 在一个实例中,细胞因子选自(i) TNF $\alpha$ 、(ii) IL-2和(iii) 干扰素 $\gamma$ 。在一个实例中,细胞因子为TNF $\alpha$ 。在一个实例中,细胞因子为IL-2。在一个实例中,细胞因子为干扰素 $\gamma$ 。在一个实例中,细胞因子为(i)和(ii);或(i)和(iii);或(ii)和(iii);或(i)-(iii)。

[0083] 3.根据方面1所述的抗体或片段,其中所述白细胞选自多形核白细胞、单核细胞、外周血单核细胞(PBMC)、淋巴细胞、T细胞、抗原呈递细胞(APC)、树突状细胞(DC细胞)和天然杀伤细胞(NK细胞)。

[0084] 在一个实施方案中,白细胞为外周血单核细胞(PBMC)和T细胞(例如PBMC)。

[0085] 4.根据方面3所述的抗体或片段,其中所述白细胞包含固有层淋巴细胞(LPL)并且所述疾病或病状是胃肠道(GI道)的疾病或病状。

[0086] 5.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其中所述上皮细胞包括选自胃肠细胞、结肠细胞、肠细胞和气道(例如,肺部)上皮细胞的细胞。

[0087] 在另一个实施方案中,所述上皮细胞包括选自胃肠细胞、结肠细胞、肠细胞、眼部细胞和气道(例如,肺部)上皮细胞的细胞。在另一个实施方案中,所述上皮细胞包括选自胃肠细胞、结肠细胞、肠细胞和眼部细胞的细胞。再一个实施方案中,所述上皮细胞包括眼部



细胞。

[0088] 6. 根据任一前述方面所述的抗体或片段,其用于通过降低所述人中的T细胞增殖来治疗或预防所述人中的所述hOX40L介导的疾病或病状。

[0089] 在一个实例中,在体外测定中(例如在人DC细胞/T细胞体外测定中,例如以下进一步所解释)所述抗体或片段能够实现T细胞增殖的降低,因此向人施用此类抗体或片段导致所述人中T细胞增殖的降低。

[0090] 7. 根据任一前述方面所述的抗体或片段,其用于通过拮抗人的hOX40L和白细胞之间的相互作用来治疗或预防所述人中的所述hOX40L介导的疾病或病状,其中白细胞增殖降低。

[0091] 在一个实例中,在体外测定中(例如在MLR体外测定中,例如以下进一步所解释)所述抗体或片段能够实现白细胞(例如,单核细胞)增殖的降低,因此向人施用此类抗体或片段导致所述人中白细胞增殖的降低。

[0092] 8. 根据任一前述方面所述的抗体或片段,其用于通过拮抗所述人中由T细胞介导的OX40L/OX40L受体相互作用而降低人白细胞增殖来治疗或预防所述人中的所述hOX40L介导的疾病或病状。

[0093] 在一个实例中,在体外测定中所述抗体或片段能够实现白细胞(例如,单核细胞)增殖的降低,其中在所述测定中所述抗体或片段拮抗T细胞介导的OX40L/OX40L受体相互作用,因此向人施用此类抗体或片段导致所述人中白细胞增殖的降低。

[0094] 9. 根据任一前述方面所述的抗体或片段,其用于通过降低人中选择自TNF $\alpha$ 、IL-2和干扰素 $\gamma$ 的细胞因子的分泌来治疗或预防所述人中的所述hOX40L介导的疾病或病状。

[0095] 在一个实例中,所述抗体或片段是用于通过降低人中(i) IL-2和干扰素 $\gamma$ , (ii) IL-2和TNF $\alpha$ 或(iii) 干扰素 $\gamma$ 和TNF $\alpha$ 的分泌来治疗或预防所述人中的所述hOX40L介导的疾病、病状或上皮细胞损伤。

[0096] 在一个实例中,在体外测定中(例如在MLR体外测定中,例如以下进一步所解释)所述抗体或片段能够实现选自IL-2、TNF $\alpha$ 和干扰素 $\gamma$ 的细胞因子的分泌的降低,因此向人施用此类抗体或片段导致所述人中所述所选细胞因子分泌的降低。

[0097] 在一个实例中,在体外测定中(例如,在MLR体外测定中,例如以下进一步所解释)所述抗体或片段能够实现IL-8分泌的降低,因此向人施用此类抗体或片段导致所述人中IL-8分泌的降低。

[0098] 10. 根据方面9所述的抗体或片段,其用于通过降低人中由树突状细胞(DC细胞)与T细胞的相互作用介导的所述细胞因子的分泌来治疗或预防所述疾病或病状。

[0099] 在一个实例中,在DC细胞/T细胞体外测定中(例如以下进一步所解释)所述抗体或片段能够实现所述细胞因子分泌的降低,因此向人施用此类抗体或片段导致所述人中所述细胞因子分泌的降低。

[0100] 11. 根据任一前述方面所述的抗体或片段,其中胃肠细胞、结肠细胞、肠细胞或气道(例如,肺部)细胞损伤是人中所述疾病或病状的症状或原因。

[0101] 在另一个实施方案中,所述上皮细胞包括选自胃肠细胞、结肠细胞、肠细胞、眼部细胞和气道(例如,肺部)上皮细胞的细胞。在另一个实施方案中,所述上皮细胞包括选自胃肠细胞、结肠细胞、肠细胞和眼部细胞的细胞。再一个实施方案中,所述上皮细胞包括眼部

细胞。

[0102] 12. 根据任一前述方面所述的抗体或片段, 其中所述人患有炎症性肠病 (IBD)、同种异体移植排斥、移植物抗宿主病 (GvHD)、糖尿病或气道炎症或处于这些疾病的风险中并且所述方法治疗或预防人中的 IBD、同种异体移植排斥、GvHD、糖尿病或气道炎症。

[0103] 12a. 根据任一前述方面所述的抗体或片段, 其中所述人患有炎症性肠病 (IBD)、同种异体移植排斥、移植物抗宿主病 (GvHD)、葡萄膜炎、坏疽性脓皮症、巨细胞动脉炎、施尼茨勒综合征、非感染性巩膜炎、糖尿病或气道炎症或处于这些疾病的风险中并且所述方法治疗或预防人中的 IBD、同种异体移植排斥、GvHD、葡萄膜炎、坏疽性脓皮症、巨细胞动脉炎、施尼茨勒综合征、非感染性巩膜炎、糖尿病或气道炎症。

[0104] 在任一前述方面的实例中, 人患有炎症性或自身免疫性疾病或病状或处于炎症性或自身免疫性疾病或病状的风险中或已经被诊断为这样。

[0105] 在一个实例中, 自身免疫性疾病或病状选自以下:—

[0106] 急性播散性脑脊髓炎 (ADEM)

[0107] 爱迪生氏病 (Addison's disease)

[0108] 变应性肉芽肿病和脉管炎或 Churg-Strauss 综合征 (CSS)

[0109] 脱发或斑秃 (AA)

[0110] 强直性脊柱炎

[0111] 自身免疫慢性活动性肝炎 (CAH)

[0112] 自身免疫性溶血性贫血

[0113] 自身免疫性胰腺炎 (AIP)

[0114] 自身免疫性视网膜病变 (AR), 参见视网膜病变

[0115] 自身免疫性血小板减少性紫癜

[0116] 自身免疫性中性白细胞减少症

[0117] 自身免疫性内耳病 (AIED)

[0118] 抗磷脂综合征 (APS)

[0119] 自身免疫性淋巴细胞增生综合征 (ALPS)

[0120] 白塞氏综合征 (Behcet's syndrome)

[0121] 水疱性类天疱疮

[0122] 乳糜泻

[0123] Churg-Strauss 综合征 (CSS) 或变应性肉芽肿病脉管炎

[0124] 儿童慢性大疱病

[0125] 慢性炎症性脱髓鞘性多神经根神经病 (CIDP)

[0126] 瘢痕性类天疱疮 (CP)

[0127] 中枢神经系统血管炎

[0128] 克罗恩氏病

[0129] 冷球蛋白血症

[0130] 疱疹样皮炎 (DH)

[0131] 盘状红斑狼疮 (DLE)

[0132] 脑脊髓炎

- [0133] 获得性大疱性表皮松解 (EBA)
- [0134] 巨细胞动脉炎参见颞动脉炎
- [0135] 移植物抗宿主疾病
- [0136] 格雷夫斯氏病 (Graves' Disease)
- [0137] 格林-巴利综合征 (Gullain-Barre syndrome)
- [0138] 阿诺氏综合征 (Hanot Syndrome) 参见原发性胆汁性肝硬化
- [0139] 桥本氏甲状腺炎 (Hashimoto's thyroiditis), 也称为自身免疫性甲状腺炎和慢性淋巴细胞性甲状腺炎
- [0140] 过敏性血管炎 (HV) 或小血管炎
- [0141] 免疫介导的不育
- [0142] 炎症性肠病
- [0143] 胰岛素依赖型糖尿病
- [0144] 孤立的中枢神经系统血管炎或CNS血管炎
- [0145] 艾萨克综合征 (Isaacs' Syndrome): 神经性肌强直
- [0146] 川崎病 (Kawasaki disease, KD)
- [0147] Lambert-Eaton肌无力综合征 (LEMS)
- [0148] 线状IgA病
- [0149] 狼疮-参见系统性红斑狼疮
- [0150] 梅尼尔氏病 (Meniere's Disease)
- [0151] 显微镜下多血管炎 (MPA)
- [0152] 混合性结缔组织病或MCTD
- [0153] 单克隆丙种球蛋白病
- [0154] 重症肌无力
- [0155] 多发性硬化
- [0156] 多灶性运动神经病
- [0157] 神经性肌强直或艾萨克综合征
- [0158] 中性白细胞减少症参见自身免疫性中性白细胞减少症
- [0159] 卵巢炎
- [0160] 眼阵挛-肌阵挛综合征
- [0161] 睾丸炎
- [0162] 副肿瘤性神经病症
- [0163] 寻常型天疱疮
- [0164] 落叶型天疱疮(PF)
- [0165] 妊娠性类天疱疮 (PG)
- [0166] 恶性贫血
- [0167] 副肿瘤性天疱疮 (PNP)
- [0168] 多血管炎-参见显微镜下多血管炎
- [0169] 结节性多动脉炎 (PAN)
- [0170] 多肌炎/皮肌炎

- [0171] 风湿性多肌痛
- [0172] 原发性胆汁性肝硬化 (PBC), 也称为阿诺氏综合征
- [0173] 原发性硬化性胆管炎 (PSC)
- [0174] 雷诺氏现象 (Raynaud's phenomenon)
- [0175] 恢复蛋白相关的视网膜病变 (RAR), 参见视网膜病变
- [0176] 反应性关节炎, 曾用名赖特综合征 (Reiter's syndrome),
- [0177] 视网膜病变
- [0178] 类风湿性关节炎 (RA)
- [0179] 结节病
- [0180] 硬化性胆管炎, 参见原发性硬化性胆管炎
- [0181] 舍格伦综合征 (Sjogren's syndrome)
- [0182] 全身坏死性血管病变
- [0183] 僵人综合征或Moersch-Woltmann综合征
- [0184] 系统性红斑狼疮
- [0185] 全身性硬化 (硬皮病)
- [0186] 颞动脉炎或巨细胞动脉炎 (GCV)
- [0187] 高安氏动脉炎 (Takayasu's arteritis)
- [0188] 血栓闭塞性脉管炎或伯格氏病 (Buerger's disease)
- [0189] 甲状腺机能减退的甲状腺炎
- [0190] 甲状腺机能亢进的甲状腺炎
- [0191] I型自身免疫性多腺体综合征 (PAS)
- [0192] II型自身免疫性多腺体综合征
- [0193] 血管炎
- [0194] 韦格纳氏肉芽肿 (Wegener's granulomatosis)
- [0195] 在任一方面、模式或实施方案的一个实例中, 人患有葡萄膜炎。例如, 葡萄膜炎实际上是非传染性的和/或自身免疫性的, 即非传染性葡萄膜炎或自身免疫性葡萄膜炎。例如, 非传染性和/或自身免疫性葡萄膜炎是由白塞氏病 (**Behçet disease**)、福斯氏异色性虹膜睫状体炎 (Fuchs heterochromic iridocyclitis)、多血管炎性肉芽肿、HLA-B27相关葡萄膜炎、幼年特发性关节炎、结节病、脊柱关节炎、交感性眼炎、肾小管间质性肾炎或葡萄膜炎综合征引起的和/或与之相关。在一个实例中, 葡萄膜炎实际上系统性的, 即为系统性葡萄膜炎。例如, 系统性葡萄膜炎是由强直性脊柱炎、白塞氏病、慢性肉芽肿病、附着点炎、炎症性肠病、幼年型类风湿性关节炎、川崎病、多发性硬化、结节性多动脉炎、牛皮癣性关节炎、反应性关节炎、结节病、系统性红斑狼疮、Vogt-Koyanagi-Harada综合征或惠普尔病 (Whipple's disease) 引起的和/或与之相关。
- [0196] 在任一方面、模式或实施方案的一个实例中, 人患有坏疽性脓皮症、巨细胞动脉炎、施尼茨勒综合征或非感染性巩膜炎。在一个实例中, 人患有坏疽性脓皮症。在一个实例中, 人患有巨细胞动脉炎。在一个实例中, 人患有施尼茨勒综合征。在一个实例中, 人患有非感染性巩膜炎。
- [0197] 在任一方面、模式或实施方案的一个实例中, 人患有选自自身免疫性疾病或病状、

全身炎症性疾病或病状或移植排斥的h0X40L介导的疾病或病状；例如炎症性肠病 (IBD)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植物抗宿主疾病 (GvHD)、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮 (SLE)、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化和动脉粥样硬化，尤其是GvHD。在另一个实施方案中，人患有多脏器官移植排斥或处于该疾病的风险中。

[0198] 13. 一种抗体或其片段，其特异性结合h0X40L并且与选自02D10、10A07、09H04和19H01的抗体竞争结合所述h0X40L。

[0199] 在任一方面、模式或实施方案的一个实例中，竞争通过表面等离子体共振 (SPR) 测定，此类技术对于技术人员显而易见。SPR可以使用Biacore™、Proteon™或另一种标准的SPR技术进行。此类竞争可能是由于(例如)抗体/片段与h0X40L的相同或重叠表位结合。在任一方面、模式或实施方案的一个实例中，竞争通过ELISA测定，此类技术对于技术人员显而易见。在任一方面、模式或实施方案的一个实例中，竞争通过均相时间分辨荧光 (HTRF) 测定，此类技术对于技术人员显而易见。在任一方面、模式或实施方案的一个实例中，竞争通过荧光激活细胞分选 (FACS) 测定，此类技术对于技术人员显而易见。一方面，HTRF、ELISA和/或FACS方法如下文实施例中所述进行。

[0200] 14. 根据方面13所述的抗体或片段，其中所述抗体或片段是根据方面1-12中的任一项。

[0201] 15. 根据任一前述方面所述的抗体或片段，其包含λ轻链可变结构域(任选地，其为人的)。

[0202] 在本发明的任一方面、模式或实施方案的一个实例中，所述抗体或片段的可变结构域为人的或经人源化。另外，任选地所述抗体或片段还包含人或人源化恒定区(例如，人Fc和/或人CL)。在本发明任一方面的一个实例中，所述抗体或片段的可变结构域由转基因动物(例如，啮齿动物、小鼠、大鼠、兔、鸡、绵羊、骆驼或鲨鱼)产生。在本发明任一方面的一个实例中，通过噬菌体展示、核糖体展示或酵母展示产生或鉴定所述抗体或片段的可变结构域。

[0203] 在本发明的任一方面、模式或实施方案的一个实例中，所述抗体或片段是重组的。

[0204] 在本发明的任一方面、模式或实施方案的一个实例中，所述抗体或片段由重组哺乳动物、细菌、昆虫、植物或酵母细胞产生。在一个实例中，哺乳动物细胞为CHO或HEK293细胞并且所述抗体或片段包含CHO或HEK293细胞糖基化。

[0205] 在本发明的任一方面、模式或实施方案的一个实例中，所述抗体或片段经分离。

[0206] 16. 根据任一前述方面所述的抗体或片段，其包含VH结构域，所述VH结构域包含选自以下抗体的HCDR1的HCDR1序列：

[0207] a. 02D10，并且其中所述抗体或片段与02D10竞争结合所述h0X40L；

[0208] b. 10A07，并且其中所述抗体或片段与10A07竞争结合所述h0X40L；

[0209] c. 09H04，并且其中所述抗体或片段与09H04竞争结合所述h0X40L；和

[0210] d. 19H01，并且其中所述抗体或片段与19H01竞争结合所述h0X40L。

[0211] 17. 根据任一前述方面所述的抗体或片段，其包含VH结构域，所述VH结构域包含选自以下抗体的HCDR2的HCDR2序列：

[0212] a. 02D10，并且其中所述抗体或片段与02D10竞争结合所述h0X40L；

- [0213] b.10A07,并且其中所述抗体或片段与10A07竞争结合所述hOX40L;
- [0214] c.09H04,并且其中所述抗体或片段与09H04竞争结合所述hOX40L;和
- [0215] d.19H01,并且其中所述抗体或片段与19H01竞争结合所述hOX40L。
- [0216] 18.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其包含VH结构域,所述VH结构域包含选自以下抗体的HCDR3的HCDR3序列:
- [0217] a.02D10,并且其中所述抗体或片段与02D10竞争结合所述hOX40L;
- [0218] b.10A07,并且其中所述抗体或片段与10A07竞争结合所述hOX40L;
- [0219] c.09H04,并且其中所述抗体或片段与09H04竞争结合所述hOX40L;和
- [0220] d.19H01,并且其中所述抗体或片段与19H01竞争结合所述hOX40L。
- [0221] 19.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其包含VH结构域,所述VH结构域包含(i) CDR1和2,(ii) CDR1和3,(iii) CDR2和3或(iv) CDR1、2和3序列:
- [0222] a.方面16-18的(a)中叙述的,并且其中所述抗体或片段与02D10竞争结合所述hOX40L;
- [0223] b.方面16-18的(b)中叙述的,并且其中所述抗体或片段与10A07竞争结合所述hOX40L;
- [0224] c.方面16-18的(c)中叙述的,并且其中所述抗体或片段与09H04竞争结合所述hOX40L;或
- [0225] d.方面16-18的(d)中叙述的,并且其中所述抗体或片段与19H01竞争结合所述hOX40L。
- [0226] 20.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其包含VH结构域,所述VH结构域包含选自序列表中的VH氨基酸序列的氨基酸序列。
- [0227] 一方面,本发明提供了一种抗hOX40L抗体或片段(任选地根据本文叙述的任何其它方面),其包含VH结构域,所述VH结构域包含选自序列表中的VH氨基酸序列的氨基酸序列。一方面,所述VH结构域包含选自Seq ID No:2、Seq ID No:34、Seq ID No:66、Seq ID No:94、Seq ID No:122、Seq ID No:124、Seq ID No:126、Seq ID No:128、Seq ID No:132或Seq ID No:134的氨基酸序列。
- [0228] 在本发明的另一个实例中,所述抗体或片段包含下面序列列表中列出的VH结构域氨基酸序列。另外或可选地,所述抗体或片段包含下面序列列表中列出的HCDR1结构域氨基酸序列(即Seq ID No:4、Seq ID No:10、Seq ID No:36、Seq ID No:42、Seq ID No:68、Seq ID No:74、Seq ID No:96或Seq ID No:102,尤其是Seq ID No:36或Seq ID No:42)。另外或可选地,所述抗体或片段包含下面序列列表中列出的HCDR2结构域氨基酸序列(即Seq ID No:6、Seq ID No:12、Seq ID No:38、Seq ID No:44、Seq ID No:70、Seq ID No:76、Seq ID No:98或Seq ID No:104,尤其是Seq ID No:38或Seq ID No:44)。另外或可选地,所述抗体或片段包含下面序列列表中列出的HCDR3结构域氨基酸序列(即Seq ID No:8、Seq ID No:14、Seq ID No:40、Seq ID No:46、Seq ID No:72、Seq ID No:78、Seq ID No:100或Seq ID No:106,尤其是Seq ID No:40或Seq ID No:46)。
- [0229] 在本发明的一个实例中,所述抗体或片段包含下面序列列表中列出的VL结构域氨基酸序列。另外或可选地,所述抗体或片段包含下面序列列表中列出的LCDR1结构域氨基酸序列(即Seq ID No:18、Seq ID No:24、Seq ID No:50、Seq ID No:56、Seq ID No:82、Seq ID

No:88、Seq ID No:110或Seq ID No:116,尤其是Seq ID No:50或Seq ID No:56)。另外或可选地,所述抗体或片段包含下面序列表中列出的LCDR2结构域氨基酸序列(即Seq ID No:20、Seq ID No:26、Seq ID No:52、Seq ID No:58、Seq ID No:84、Seq ID No:90、Seq ID No:112或Seq ID No:118,尤其是Seq ID No:52或Seq ID No:58)。另外或可选地,所述抗体或片段包含下面序列表中列出的LCDR3结构域氨基酸序列(即Seq ID No:22、Seq ID No:28、Seq ID No:54、Seq ID No:60、Seq ID No:86、Seq ID No:92、Seq ID No:114或Seq ID No:120,尤其是Seq ID No:54或Seq ID No:60)。

[0230] 在本文任一方面的一个实例中,所述抗体或片段包含重链,该重链包含选自序列表中的重链恒定区SEQ ID NO的恒定区(即Seq ID No:126、128、132或134中的任一个,尤其是Seq ID No:128的恒定区);和任选地如方面19或20中叙述的VH结构域。在一个实例中,所述抗体或片段包含此类重链的两个拷贝。在另一实例中,重链包含啮齿动物、大鼠、小鼠、人、兔、鸡、骆驼、绵羊、牛、非人灵长类动物或鲨鱼恒定区(例如,Fc),尤其是小鼠恒定区。

[0231] 在本文任一方面的一个实例中,所述抗体或片段包含重链,该重链包含 $\gamma$ (例如,人 $\gamma$ )恒定区,例如人 $\gamma$ 1恒定区。在本文任一方面的另一个实例中,所述抗体或片段包含人 $\gamma$ 4恒定区。在另一个实施方案中,重链恒定区不结合Fc- $\gamma$ 受体,并且例如包含Leu235Glu突变(即其中野生型亮氨酸残基突变为谷氨酸残基)。在另一个实施方案中,重链恒定区包含Ser228Pro突变以增加稳定性。在另一个实施方案中,重链恒定区为包含Leu235Glu突变和Ser228Pro突变两者的IgG4。本文将该重链恒定区称为“IgG4-PE”。

[0232] 在本文任一方面的一个实例中,所述抗体或片段为嵌合型,例如,其包含人可变结构域和非人(例如,啮齿动物、小鼠或大鼠,如小鼠)恒定区。

[0233] 21.根据方面16-20中任一项所述的抗体或片段,其包含第一和第二拷贝的所述VH结构域。

[0234] 22.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其包含VL结构域,所述VL结构域包含选自以下抗体的LCDR1的LCDR1序列:

[0235] a.02D10,并且其中所述抗体或片段与02D10竞争结合所述h0X40L;

[0236] b.10A07,并且其中所述抗体或片段与10A07竞争结合所述h0X40L;

[0237] c.09H04,并且其中所述抗体或片段与09H04竞争结合所述h0X40L;和

[0238] d.19H01,并且其中所述抗体或片段与19H01竞争结合所述h0X40L。

[0239] 23.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其包含VL结构域,所述VL结构域包含选自以下抗体的LCDR2的LCDR2序列:

[0240] a.02D10,并且其中所述抗体或片段与02D10竞争结合所述h0X40L;

[0241] b.10A07,并且其中所述抗体或片段与10A07竞争结合所述h0X40L;

[0242] c.09H04,并且其中所述抗体或片段与09H04竞争结合所述h0X40L;和

[0243] d.19H01,并且其中所述抗体或片段与19H01竞争结合所述h0X40L。

[0244] 24.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其包含VL结构域,所述VL结构域包含选自以下抗体的LCDR3的LCDR3序列:

[0245] a.02D10,并且其中所述抗体或片段与02D10竞争结合所述h0X40L;

[0246] b.10A07,并且其中所述抗体或片段与10A07竞争结合所述h0X40L;

[0247] c.09H04,并且其中所述抗体或片段与09H04竞争结合所述h0X40L;和

[0248] d. 19H01, 并且其中所述抗体或片段与19H01竞争结合所述hOX40L。

[0249] 25. 根据任一前述方面所述的抗体或片段, 其包含VL结构域, 所述VL结构域包含 (i) CDR1和2, (ii) CDR1和3, (iii) CDR2和3或 (iv) CDR1、2和3序列:

[0250] a. 方面22-24的 (a) 中叙述的, 并且其中所述抗体或片段与02D10竞争结合所述hOX40L;

[0251] b. 方面22-24的 (b) 中叙述的, 并且其中所述抗体或片段与10A07竞争结合所述hOX40L;

[0252] c. 方面22-24的 (c) 中叙述的, 并且其中所述抗体或片段与09H04竞争结合所述hOX40L; 或

[0253] d. 方面22-24的 (d) 中叙述的, 并且其中所述抗体或片段与19H01竞争结合所述hOX40L。

[0254] 26. 根据任一前述方面所述的抗体或片段, 其包含VL结构域, 所述VL结构域包含选自序列表中的VL氨基酸序列的氨基酸序列。

[0255] 在本发明的一个方面, 提供了一种抗hOX40L抗体或片段 (任选地根据本文叙述的任何其它方面), 其包含VL结构域, 所述VL结构域包含选自序列表中的VL氨基酸序列的氨基酸序列 (即Seq ID No:16、Seq ID No:48、Seq ID No:80或Seq ID No:108, 尤其是Seq ID No:48)。

[0256] 在本文任一方面的一个实例中, 所述抗体或片段包含轻链 (例如,  $\lambda$ 轻链), 该轻链包含选自序列表中的轻链恒定区序列的恒定区 (即Seq ID No:136、Seq ID No:138、Seq ID No:140、Seq ID No:142、Seq ID No:144、Seq ID No:146、Seq ID No:148、Seq ID No:152、Seq ID No:154、Seq ID No:156、Seq ID No:158、Seq ID No:160、Seq ID No:162、Seq ID No:164或Seq ID No:166); 和任选地如方面25或26中叙述的VL结构域 (例如,  $\lambda$ VL)。在一个实例中, 所述抗体或片段包含此类轻链的两个拷贝 (任选地还包含上述重链的两个拷贝)。在另一个实例中, 轻链包含啮齿动物、大鼠、小鼠、人、兔、鸡、骆驼、绵羊、牛、非人灵长类动物或鲨鱼恒定区。

[0257] 在本文任一方面的一个实例中, 所述抗体或片段包含轻链 (例如,  $\kappa$ 轻链), 该轻链包含选自序列表中的轻链恒定区序列的恒定区 (即Seq ID No:136、Seq ID No:138、Seq ID No:140、Seq ID No:142、Seq ID No:144、Seq ID No:146、Seq ID No:148、Seq ID No:152、Seq ID No:154、Seq ID No:156、Seq ID No:158、Seq ID No:160、Seq ID No:162、Seq ID No:164或Seq ID No:166); 和任选地如方面25或26中叙述的VL结构域 (例如,  $\kappa$ VL)。在一个实例中, 所述抗体或片段包含此类轻链的两个拷贝 (任选地还包含上述重链的两个拷贝)。在另一个实例中, 轻链包含啮齿动物、大鼠、小鼠、人、兔、鸡、骆驼、绵羊、牛、非人灵长类动物或鲨鱼恒定区。

[0258] 在一个实例中, 所述抗体或片段包含 $\lambda$ 轻链, 该轻链包含选自序列表中的轻链恒定区序列的恒定区 (即Seq ID No:146、Seq ID No:148、Seq ID No:152、Seq ID No:154、Seq ID No:156、Seq ID No:158、Seq ID No:160、Seq ID No:162、Seq ID No:164或Seq ID No:166); 和任选地 $\lambda$ VL结构域。

[0259] 在一个实例中, 所述抗体或片段包含 $\kappa$ 轻链, 该轻链包含选自序列表中的轻链恒定区序列的恒定区 (即Seq ID No:136、Seq ID No:138、Seq ID No:140、Seq ID No:142或Seq



ID No:144);和任选地 $\kappa$ VL结构域。

[0260] 在一个实例中,所述抗体或片段的VL结构域为 $\lambda$ 轻链可变结构域。在一个实例中,所述抗体或片段的VL结构域为 $\kappa$ 轻链可变结构域。

[0261] 27.根据方面22-26中任一项所述的抗体或片段,其包含第一和第二拷贝的所述VL结构域。

[0262] 28.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其中所述hOX40L是人细胞表面表达的hOX40L,例如在内皮细胞(例如,气道或GI道内皮细胞)上。

[0263] 在另一个实施方案中,所述上皮细胞包括选自胃肠细胞、结肠细胞、肠细胞、眼部细胞和气道(例如,肺部)上皮细胞的细胞。在另一个实施方案中,所述上皮细胞包括选自胃肠细胞、结肠细胞、肠细胞和眼部细胞的细胞。再一个实施方案中,所述上皮细胞包括眼部细胞。

[0264] 29.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其中与体外对照MLR测定中在hOX40L的存在下对hOX40L有特异性的抗体缺乏时的人PBMC或T细胞的增殖相比,在体外混合淋巴细胞反应(MLR)测定中在hOX40L的存在下所述抗体或片段使人PBMC或T细胞的增殖降低至少20、30、40、50或60%。在下面的实例中提供了对合适的测定的说明。

[0265] 30.根据方面29所述的抗体或片段,其中所述测定中的hOX40L是在人树突状细胞(DC细胞)上表面表达的。

[0266] 在下面的实例中提供了对合适的测定的说明。

[0267] 31.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其中在hOX40L的存在下所述抗体或片段降低体外表达hOX40受体的人HT-1080细胞中的NF- $\kappa$ B活性。

[0268] 在一个实例中,通过检测体外HT-1080细胞(ATCC® CCL-121)(任选地在hOX40的存在下,经hOX40受体转染)的IL-8分泌的减少来测定所述抗体或片段对NF- $\kappa$ B活性的降低。

[0269] 32.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其中在hOX40L的存在下所述抗体或片段降低体外表达hOX40受体的人HT-1080细胞的IL-8分泌。

[0270] 33.根据方面32所述的抗体或片段,其中与在hOX40L的存在下对hOX40L有特异性的抗体缺乏时体外表达hOX40受体的HT-1080细胞的IL-8产量相比,所述抗体或片段使IL-8分泌降低至少20、30、40、50或60%。

[0271] 34.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其中所述抗体或片段降低体外hOX40L刺激的T细胞增殖。

[0272] 35.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其中所述抗体或片段降低来自于体外人T细胞的hOX40L刺激的IL-2分泌。

[0273] 36.根据任一前述方面所述的抗体或片段,其中所述抗体或片段降低由人树突状细胞(DC细胞)与人T细胞的相互作用介导的细胞因子分泌,其中所述细胞因子选自TNF $\alpha$ 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-10、IL-13、IL-17、RANTES和干扰素 $\gamma$ 中的一种、两种、更多种或全部。

[0274] 这可以(例如)使用MLR体外测定(例如,DC/T细胞MLR体外测定)评估。在下面的实例中提供了对合适的测定的说明。

[0275] 在一个实例中,正如例如当DC细胞来自于不同于T细胞人来源的人时可能的那样,DC细胞与T细胞错配,例如MHC错配。在一个实例中,通过人单核细胞经GMCSF和IL-4的体外

诱导产生DC细胞。

[0276] 37. 根据任一前述方面所述的抗体或片段, 其中与对hOX40L有特异性的抗体缺乏时由人树突状细胞 (DC细胞) 与人T细胞的相互作用介导的干扰素  $\gamma$  的产量相比, 所述抗体或片段使干扰素  $\gamma$  分泌降低至少20、30、40、50或60%。

[0277] 38. 根据任一前述方面所述的抗体或片段, 其中与对hOX40L有特异性的抗体缺乏时由人树突状细胞 (DC细胞) 与人T细胞的相互作用介导的TNF $\alpha$ 的产量相比, 所述抗体或片段使TNF $\alpha$ 分泌降低至少20、30、40、50或60%。

[0278] 39. 根据任一前述方面所述的抗体或片段, 其中与对hOX40L有特异性的抗体缺乏时由人树突状细胞 (DC细胞) 与人T细胞的相互作用介导的IL-2的产量相比, 所述抗体或片段使IL-2分泌降低至少10、20、30、40、50或60%。

[0279] 40. 根据任一前述方面所述的抗体或片段, 其中在人外周血单核细胞 (PBMC) 混合淋巴细胞 (MLR) 测定中所述抗体或片段降低细胞因子分泌 (例如, 白细胞细胞因子分泌), 其中所述细胞因子选自TNF $\alpha$ 、IL-2、IL-4、IL-3、IL-6、IL-8、IL-10、IL-17、RANTES和干扰素  $\gamma$  中的一种、两种、更多种或全部。

[0280] 41. 根据任一前述方面所述的抗体或片段, 其中与在人PBMC MLR测定中对hOX40L有特异性的抗体缺乏时干扰素  $\gamma$  的产量相比, 所述抗体或片段使干扰素  $\gamma$  分泌降低至少20、30、40、50或60%。

[0281] 在一个实施方案中, 比较是与人PBMC MLR测定中抗体缺乏时干扰素  $\gamma$  的产量比较。

[0282] 42. 根据任一前述方面所述的抗体或片段, 其中与在人PBMC MLR测定中对hOX40L有特异性的抗体缺乏时TNF $\alpha$ 的产量相比, 所述抗体或片段使TNF $\alpha$ 分泌降低至少20、30、40、50或60%。

[0283] 43. 根据任一前述方面所述的抗体或片段, 其中与在人PBMC MLR测定中对hOX40L有特异性的抗体缺乏时IL-2的产量相比, 所述抗体或片段使IL-2分泌降低至少10、20、30、40、50或60%。

[0284] 44. 根据方面36-43中任一项所述的抗体或片段, 其中所述细胞为原代细胞。

[0285] “原代细胞”是指人体中的细胞或已经从患者体内取出用于体外结合本发明的抗体或片段的此类细胞 (例如, 在诊断人的OX40L状态或疾病/病状状态的方法中可能有用)。如本文中所用的原代细胞并非通常已经经过许多次体外培养的人细胞系的细胞。在该实施方案中本发明的抗体或片段特异性抑制hOX40L与受体结合的能力是有利的, 因为其提供了针对患有hOX40L介导的疾病或病状或处于hOX40L介导的疾病或病状风险的人患者中的细胞的实用性的直接指示。

[0286] 45. 根据任一前述方面所述的抗体或片段, 其中在HTRF (均相时间分辨荧光) 测定中所述抗体或片段抑制hOX40L与hOX40L受体 (例如, hOX40) 的结合, IC<sub>50</sub>为 $1 \times 10^{-8}$ 或更低。

[0287] 在一个实例中, IC<sub>50</sub>在 $1 \times 10^{-8}$ 至 $1 \times 10^{-11}$ 的范围内或在 $1 \times 10^{-9}$ 至 $1 \times 10^{-10}$ 的范围内。

[0288] 46. 一种用于治疗 and/或预防OX40L介导的病状或疾病的药物组合物, 所述组合物包含任一项前述方面所述的抗体或片段和稀释剂、赋形剂或载体; 并且还任选地包含抗炎药物。

[0289] 在一个实例中, 抗炎药物独立地选自皮质类固醇 (例如甲基强的松龙)、抗IL12/

IL-23 抗体 (例如优特克单抗 (ustekinumab))、抗 VLA4 抗体 (例如那他珠单抗 (natalizumab))、抗 LFA1 抗体、抗补体 C5 抗体 (例如依库珠单抗 (eculizumab))、抗 a4b7 整合蛋白抗体 (例如维多珠单抗 (vedolizumab))、抗 IL6 抗体 (例如托珠单抗 (tocilizumab))、抗 IL2R 抗体 (例如巴利昔单抗 (basilixumab)) 或抗 TNF $\alpha$ /TNF $\alpha$ -Fc 分子 (例如依那西普 (etanercept)、阿达木单抗 (adalimumab)、英夫利昔单抗 (infliximab)、戈利木单抗 (golimumab)、赛妥珠单抗 (certolizumab pegol))。在一个实例中,抗炎药物独立地选自皮质类固醇 (例如甲基强的松龙) 和抗 LFA1 抗体。

[0290] 47. 一种用于治疗 and/或预防 OX40L 介导的病状或疾病的药物组合物或试剂盒,所述组合物或试剂盒包含本发明的抗体或片段 (和任选地抗炎药物),任选地与标签或用于治疗 and/或预防人中的所述疾病或病状的使用说明书组合;任选地其中所述标签或说明书包含上市许可证号 (例如, FDA 或 EMA 许可证号);任选地其中所述试剂盒包括含所述抗体或片段的 IV 或注射装置。

[0291] 48. 一种核酸,其编码方面 1-45 中任一项叙述的抗体的 HCDR3。

[0292] 在一个实施方案中,本文的 HCDR 是根据 Kabat 命名法。在另一个实施方案中,本文的 HCDR 是根据 IMGT 命名法。

[0293] 49. 根据方面 48 所述的核酸,其包含与序列列表中的 HCDR3 序列至少 80、85、90、95、96、97、98 或 99% 同一或 100% 同一的核苷酸序列。

[0294] 一方面,本发明提供一种包含编码抗 hOX40L 抗体的 VH 结构域的核苷酸序列的核酸,其中所述核苷酸序列包含与序列列表中的 HCDR3 序列至少 80、85、90、95、96、97、98 或 99% 同一或 100% 同一的 HCDR3 序列。任选地,所述抗体是根据本文的任何其它方面。

[0295] 在另一个实施方案中,提供了根据方面 48 所述的核酸,其包含除 1、2 或 3 个核苷酸取代外与序列列表中的 HCDR3 序列 100% 同一的核苷酸序列,其中每个取代在相应的蛋白质序列上均不产生氨基酸变化或产生保守性氨基酸变化 (即核苷酸取代为同义取代)。技术人员将熟悉保守性氨基酸变化。

[0296] 氨基酸取代包括其中氨基酸被不同的天然产生的氨基酸残基置换的改变。可将此类取代分类为“保守性”,在这种情况下多肽中所含的氨基酸残基被具有关于极性、侧链官能度或大小的相似特征的另一天然产生的氨基酸置换。此类保守性取代在本领域中熟知。本发明所涵盖的取代也可作为“非保守性”,其中肽中存在的氨基酸残基被具有不同性质的氨基酸,如来自于不同类别的天然产生的氨基酸取代 (例如,用丙氨酸取代带电或疏水性氨基酸),或可选地,其中天然产生的氨基酸被非常规氨基酸取代。

[0297] 另外或可选地,提供了根据方面 49 所述的核酸,其包含除 1、2、3、4、5、6 或 7 个同义核苷酸取代外与序列列表中的 HCDR3 序列 100% 同一的核苷酸序列并且没有在相应的蛋白质序列上产生保守性氨基酸变化的 1、2 或 3 个核苷酸取代。

[0298] 50. 编码方面 1-45 中任一项叙述的抗体的 HCDR2 的核酸;任选地其中所述核苷酸是根据方面 48 或 49。

[0299] 51. 根据方面 50 所述的核酸,其包含与序列列表中的 HCDR2 序列至少 80、85、90、95、96、97、98 或 99% 同一或 100% 同一的核苷酸序列。

[0300] 一方面,本发明提供一种包含编码抗 hOX40L 抗体的 VH 结构域的核苷酸序列的核酸,其中所述核苷酸序列包含与序列列表中的 HCDR2 序列至少 80、85、90、95、96、97、98 或 99%

同一或100%同一的HCDR2序列。任选地,所述抗体是根据本文的任何其它方面。

[0301] 在另一个实施方案中,提供了根据方面51所述的核酸,其包含除1、2或3个核苷酸取代外与序列表中的HCDR2序列100%同一的核苷酸序列,其中每个取代在相应的蛋白质序列上均不产生氨基酸变化或产生保守性氨基酸变化(即核苷酸取代为同义取代)。技术人员将熟悉保守性氨基酸变化。

[0302] 另外或可选地,提供了根据方面50所述的核酸,其包含除1、2、3、4、5、6或7个同义核苷酸取代外与序列表中的HCDR2序列100%同一的核苷酸序列并且没有在相应的蛋白质序列上产生保守性氨基酸变化的1、2或3个核苷酸取代。

[0303] 52. 编码方面1-45中任一项叙述的抗体的HCDR1的核酸;任选地其中所述核苷酸是根据方面48-51中的任一项。

[0304] 53. 根据方面52所述的核酸,其包含与序列表中的HCDR1序列至少80、85、90、95、96、97、98或99%同一或100%同一的核苷酸序列。

[0305] 一方面,本发明提供一种包含编码抗h0X40L抗体的VH结构域的核苷酸序列的核酸,其中所述核苷酸序列包含与序列表中的HCDR1序列至少80、85、90、95、96、97、98或99%同一或100%同一的HCDR1序列。任选地,所述抗体是根据本文的任何其它方面。

[0306] 在另一个实施方案中,提供了根据方面52所述的核酸,其包含除1、2或3个核苷酸取代外与序列表中的HCDR1序列100%同一的核苷酸序列,其中每个取代在相应的蛋白质序列上均不产生氨基酸变化或产生保守性氨基酸变化(即核苷酸取代为同义取代)。技术人员将熟悉保守性氨基酸变化。

[0307] 另外或可选地,提供了根据方面52所述的核酸,其包含除1、2、3、4、5、6或7个同义核苷酸取代外与序列表中的HCDR1序列100%同一的核苷酸序列并且没有在相应的蛋白质序列上产生保守性氨基酸变化的1、2或3个核苷酸取代。

[0308] 54. 一种核酸,其编码方面1-45中任一项叙述的抗体的VH结构域和/或VL结构域。

[0309] 55. 根据方面54所述的核酸,其包含与序列表中的VH结构域核苷酸序列至少80、85、90、95、96、97、98或99%同一或100%同一的核苷酸序列。

[0310] 在另一个实施方案中,提供了根据方面54所述的核酸,其包含除1、2或3个核苷酸取代外与序列表中的VH结构域核苷酸序列100%同一的核苷酸序列,其中每个取代在相应的蛋白质序列上均不产生氨基酸变化或产生保守性氨基酸变化(即核苷酸取代为同义取代)。技术人员将熟悉保守性氨基酸变化。

[0311] 另外或可选地,提供了根据方面54所述的核酸,其包含除1、2、3、4、5、6或7个同义核苷酸取代外与序列表中的VH结构域核苷酸序列100%同一的核苷酸序列并且没有在相应的蛋白质序列上产生保守性氨基酸变化的1、2或3个核苷酸取代。

[0312] 56. 根据方面54或55所述的核酸,其包含与序列表中的VL结构域核苷酸序列至少80、85、90、95、96、97、98或99%同一或100%同一的核苷酸序列。

[0313] 在另一个实施方案中,提供了根据方面54或55所述的核酸,其包含除1、2或3个核苷酸取代外与序列表中的VL结构域核苷酸序列100%同一的核苷酸序列,其中每个取代在相应的蛋白质序列上均不产生氨基酸变化或产生保守性氨基酸变化(即核苷酸取代为同义取代)。技术人员将熟悉保守性氨基酸变化。

[0314] 另外或可选地,提供了根据方面54或55所述的核酸,其包含除1、2、3、4、5、6或7个

同义核苷酸取代外与序列表中的VL结构域核苷酸序列100%同一的核苷酸序列并且没有在相应的蛋白质序列上产生保守性氨基酸变化的1、2或3个核苷酸取代。

[0315] 57. 一种核酸,其编码方面1-45中任一项叙述的抗体的重链或轻链。

[0316] 58. 根据方面57所述的核酸,其包含如方面48-56中任一项所叙述的核苷酸序列。

[0317] 59. 一种载体(例如,哺乳动物表达载体),其包含根据方面48-58中任一项所述的核酸;任选地其中所述载体为CHO或HEK293载体。在一个实例中,载体为酵母载体,例如酵母(*Saccharomyces*)或毕赤酵母(*Pichia*)载体。

[0318] 60. 一种宿主,其包含根据方面48-58中任一项所述的核酸或根据方面59所述的载体。在一个实例中,宿主为哺乳动物(例如人,例如CHO或HEK293)细胞系或酵母或细菌细胞系。

[0319] 61. 特异性结合hOX40L的抗体或其片段在制造用于向人施用,通过降低下述一项、多项或全部来治疗或预防人中hOX40L介导的疾病或病状的药剂中的用途:

[0320] a. 选自人的TNF $\alpha$ 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-10、IL-13、IL-17、RANTES和干扰素 $\gamma$ 的细胞因子的分泌;

[0321] b. 人的白细胞的增殖;和

[0322] c. 人T细胞表达的hOX40受体与内皮细胞表达的hOX40L的结合。

[0323] 上述任一方面、模式、实例或实施方案的特征任选地加以必要的变更适用于该用途。

[0324] 在一个实例中,人患有哮喘或处于哮喘风险中并且所述抗体或片段降用于降低人中的IgE,从而治疗、预防或减轻人的哮喘。

[0325] 62. 一种通过降低下述一项、多项或全部来治疗或预防hOX40L介导的疾病或病状的方法:

[0326] a. 选自人的TNF $\alpha$ 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-10、IL-13、IL-17、RANTES和干扰素 $\gamma$ 的细胞因子的分泌;

[0327] b. 人的白细胞的增殖;和

[0328] c. 人T细胞表达的hOX40受体与内皮细胞表达的hOX40L的结合;

[0329] 其中所述方法包括向所述人施用治疗有效量的特异性结合hOX40L的抗体或片段。

[0330] 上述任一方面、实例或实施方案的特征任选地加以必要的变更适用于该用途。

[0331] 本发明的方法治疗或预防人中的所述疾病或病状。所述抗体或片段的“治疗有效量”是产生所述治疗或预防有效的量(分一个或几个剂量施用,可在时间上间隔,例如基本上每月施用一次)。这对于技术人员将显而易见并且可根据特定的人患者和针对的疾病或病状而变化。

[0332] 在一个实例中,人患有哮喘或处于哮喘风险中并且所述抗体或片段降低人中的IgE,从而治疗、预防或减轻人的哮喘。

[0333] 63. 根据方面61或62所述的方法或用途,其用于通过降低所述人中的T细胞增殖来治疗或预防所述人中的所述hOX40L介导的疾病、病状或上皮细胞损伤。

[0334] 64. 根据方面61-63中任一项所述的方法或用途,其用于通过拮抗人的hOX40L和白细胞之间的相互作用来治疗或预防所述人中的所述hOX40L介导的疾病、病状或上皮细胞损伤,其中白细胞增殖降低。

[0335] 65. 根据方面61-64中任一项所述的方法或用途,其用于通过拮抗所述人中由T细胞介导的OX40L/OX40L受体相互作用而降低人白细胞增殖来治疗或预防所述人中的所述hOX40L介导的疾病、病状或上皮细胞损伤。

[0336] 66. 根据方面61-65中任一项所述的方法或用途,其用于通过降低人中IL-8细胞因子的分泌来治疗或预防所述人中的所述hOX40L介导的疾病、病状或上皮细胞损伤。

[0337] 67. 根据方面66所述的方法,其用于通过降低人中由树突状细胞(DC细胞)与T细胞的相互作用介导的所述IL-8的分泌来治疗或预防所述疾病、病状或上皮细胞损伤。

[0338] 68. 根据方面61-67中任一项所述的方法或用途,其中胃肠细胞、结肠细胞、肠细胞或气道(例如,肺部)细胞损伤是人中所述疾病或病状的症状或原因。

[0339] 在另一个实施方案中,所述上皮细胞包括选自胃肠细胞、结肠细胞、肠细胞、眼部细胞和气道(例如,肺部)上皮细胞的细胞。在另一个实施方案中,所述上皮细胞包括选自胃肠细胞、结肠细胞、肠细胞和眼部细胞的细胞。再一个实施方案中,所述上皮细胞包括眼部细胞。

[0340] 69. 根据方面61-68中任一项所述的方法或用途,其中所述人患有炎症性肠病(IBD)、同种异体移植排斥、移植物抗宿主病(GvHD)、糖尿病或气道炎症或处于这些疾病的风险中并且所述方法治疗或预防人中的IBD、同种异体移植排斥、GvHD、糖尿病或气道炎症。

[0341] 69a. 根据方面61-68中任一项所述的方法或用途,其中所述人患有炎症性肠病(IBD)、同种异体移植排斥、移植物抗宿主病(GvHD)、葡萄膜炎、坏疽性脓皮症、巨细胞动脉炎、施尼茨勒综合征、非感染性巩膜炎、糖尿病或气道炎症或处于这些疾病的风险中并且所述方法治疗或预防人中的IBD、同种异体移植排斥、GvHD、葡萄膜炎、坏疽性脓皮症、巨细胞动脉炎、施尼茨勒综合征、非感染性巩膜炎、糖尿病或气道炎症。

[0342] 在任一方面、模式或实施方案中,人患有选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植排斥的hOX40L介导的疾病或病状;例如炎症性肠病(IBD)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植物抗宿主疾病(GvHD)、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮(SLE)、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化和动脉粥样硬化,尤其是GvHD或处于这些疾病的风险中。

[0343] 70. 根据方面61-69a中任一项所述的方法或用途,其中所述抗体或片段是根据方面1-45中的任一项或本文描述的任一实例、模式、方面或实施方案。

[0344] 71. 根据任一前述方面所述的抗体、片段、组合物、试剂盒、方法或用途,其用于治疗或预防人中的炎症性或自身免疫性疾病或病状或用于降低或预防人中的血管生成。

[0345] 72. 根据任一前述方面所述的抗体、片段、组合物、试剂盒、方法或用途,其中所述疾病或病状选自炎症性肠病(IBD)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、银屑病、细支气管炎、龈炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植物抗宿主疾病(GvHD)、哮喘、成人呼吸窘迫综合征(ARDS)、败血性休克、溃疡性结肠炎、舍格伦综合征、气道炎症、系统性红斑狼疮(SLE)、糖尿病、接触性超敏反应、多发性硬化和动脉粥样硬化。

[0346] 72a. 根据任一前述方面所述的抗体、片段、组合物、试剂盒、方法或用途,其中所述疾病或病状选自炎症性肠病(IBD)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、银屑病、细支气管炎、龈炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植物抗宿主疾病(GvHD)、哮喘、成人呼吸窘迫综合征(ARDS)、败血性休克、溃疡性结肠炎、舍格伦综合征、气道炎症、系统性红斑狼疮(SLE)、葡萄

膜炎、坏疽性脓皮症、巨细胞动脉炎、施尼茨勒综合征、非感染性巩膜炎、糖尿病、接触性过敏反应、多发性硬化和动脉粥样硬化。

[0347] 在任一方面、模式或实施方案中,人患有选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植排斥的h0X40L介导的疾病或病状;例如炎症性肠病(IBD)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植植物抗宿主疾病(GvHD)、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮(SLE)、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化和动脉粥样硬化,尤其是GvHD或处于这些疾病的风险中。

[0348] 在一个实例中,所述疾病或病状是US7812133或EP1791869中公开的0X40L介导的疾病或病状。

[0349] 在一个实例中,所述疾病或病状为炎症性或自身免疫性疾病或病状。在一个实例中,所述疾病或病状为移植排斥。

[0350] 如本文中所用,炎症性疾病或病状是指导致炎症,例如由中性粒细胞趋化性引起的病理状态。此类病症的实例包括炎症性皮肤病,包括银屑病;与炎症性肠病相关的反应(如克罗恩氏病和溃疡性结肠炎);缺血再灌注;成人呼吸窘迫综合征;皮炎;脑膜炎;脑炎;葡萄膜炎;自身免疫性疾病如类风湿性关节炎、舍格伦综合征、血管炎;涉及白细胞渗出的疾病;中枢神经系统(CNS)炎症性病症、败血病或外伤继发性多器官损伤综合征;酒精性肝炎、细菌性肺炎、抗原-抗体复合物介导的疾病;肺部炎症,包括胸膜炎、肺炎、血管炎、肺炎、慢性支气管炎、支气管扩张和囊肿性纤维化等。优选的适应症为细菌性肺炎和炎症性肠病如溃疡性结肠炎。因此在一个实例中提供本发明是为了治疗或预防此类病状中的任一种或多种。

[0351] 在一个实例中,所述疾病或病状为癌症。

[0352] 在一个实例中,所述疾病为葡萄膜炎,如系统性葡萄膜炎或自身免疫性/非感染性葡萄膜炎。

[0353] 73. 一种抗体或其片段,其特异性结合h0X40L并且与抗体02D10竞争结合所述h0X40L,其中所述抗体或片段包含VH结构域,所述VH结构域包含含有基序VRGXYYY的HCDR3,其中X为任何氨基酸。

[0354] 根据本文所述任一方面、模式、实例或实施方案所述的抗体的特征任选地加以必要的变更适用于这些抗体,例如所述抗体可为具有本文所述功能特征的人抗体或嵌合抗体。竞争可如本文所述任一方面、实施方案、实例或模式中描述那样测定,例如通过SPR、ELISA、HTRF或FACS测定。

[0355] 在一个实施方案中,所述抗体或片段与02D10的可变区竞争(例如与包含SEQ ID No:34的重链可变区和SEQ ID No:48的轻链可变区的抗体竞争)。在另一个实施方案中,所述抗体或片段与具有SEQ ID No:62的重链氨基酸序列和SEQ ID No:64的轻链氨基酸序列的02D10IgG4-PE竞争。因此,例如,可使用具有SEQ ID No:62的重链氨基酸序列和SEQ ID No:64的轻链氨基酸序列的IgG4-PE抗体作为参考02D10抗体,通过SPR(如本文所述)测定抗体或片段与抗体02D10竞争结合h0X40L的能力。

[0356] 在另一个实施方案中,所述抗体或片段另外或可选地与10A7竞争。在一个实施方案中,所述抗体或片段与10A7的可变区竞争(例如与包含SEQ ID No:2的重链可变区和SEQ ID No:16的轻链可变区的抗体竞争)。在另一个实施方案中,所述抗体或片段与具有SEQ ID

No:30的重链氨基酸序列和SEQ ID No:32的轻链氨基酸序列的02D10IgG4-PE竞争。

[0357] 在一个实施方案中,所述氨基酸是任何天然产生的氨基酸。

[0358] 74.根据方面73所述的抗体或片段,其中X为中性氨基酸,任选地为P或G。

[0359] 在一个实施方案中,X为P或G。在一个实施方案中,X选自P、N、A或G。在另一个实施方案中,X选自P、G或N。在另一个实施方案中,X选自P、G或A。

[0360] 75.任选地根据权利要求1或2所述的抗体或其片段,其特异性结合h0X40L并且与抗体02D10竞争结合所述h0X40L,其中所述抗体或片段包含VH结构域,所述VH结构域包含SEQ ID NO:40或46的HCDR3序列或含有少于5个氨基酸取代的SEQ ID NO:40或46的HCDR3序列。

[0361] 根据本文所述任一方面、模式、实例或实施方案所述的抗体的特征任选地加以必要的变更适用于这些抗体,例如所述抗体可为具有本文所述功能特征的人抗体或嵌合抗体。竞争可如本文所述任一方面、实施方案、实例或模式中描述那样测定,例如通过SPR、ELISA、HTRF或FACS测定。

[0362] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:40或46的HCDR3序列包含少于4个氨基酸取代(即3个或更少)。在一个实施方案中,SEQ ID NO:40或46的HCDR3序列包含少于3个氨基酸取代(即2个或1个取代)。在一个实施方案中,SEQ ID NO:40或46的HCDR3序列包含少于2个氨基酸取代(即1个取代)。

[0363] 在一个实施方案中,所述抗体或片段与02D10的可变区竞争(例如与包含SEQ ID No:34的重链可变区和SEQ ID No:48的轻链可变区的抗体竞争)。在另一个实施方案中,所述抗体或片段与具有SEQ ID No:62的重链氨基酸序列和SEQ ID No:64的轻链氨基酸序列的02D10IgG4-PE竞争。

[0364] 在另一个实施方案中,所述抗体或片段另外或可选地与10A7竞争。在一个实施方案中,所述抗体或片段与10A7的可变区竞争(例如与包含SEQ ID No:2的重链可变区和SEQ ID No:16的轻链可变区的抗体竞争)。在另一个实施方案中,所述抗体或片段与具有SEQ ID No:30的重链氨基酸序列和SEQ ID No:32的轻链氨基酸序列的02D10IgG4-PE竞争。

[0365] 76.根据方面73-75中任一项所述的抗体或片段,所述VH结构域包含16至27个氨基酸的HCDR3并且源自人VH基因片段、人D基因片段和人JH基因片段的重组,其中所述人JH基因片段为IGHJ6(例如IGHJ6\*02)。

[0366] 在一个实施方案中,人JH基因片段选自IGHJ6\*01、IGHJ6\*02、IGHJ6\*03和IGHJ6\*04。在另一个实施方案中,人JH基因片段选自IGHJ6\*01、IGHJ6\*02和IGHJ6\*04。在另一个实施方案中,JH基因片段为IGHJ6\*02。

[0367] 在再一个实施方案中,人VH基因片段为IGHV3-23,例如选自IGHV3-23\*01、IGHV3-23\*02、IGHV3-23\*03、IGHV3-23\*04或IGHV3-23\*05。在另一个实施方案中,人VH基因片段为IGHV3-23\*01或IGHV3-23\*04,尤其是IGHV3-23\*04。

[0368] 在又一个实施方案中,人DH基因片段为IGHD3-10,例如选自IGHD3-10\*01或IGHD3-10\*02。在一个实施方案中,人DH基因片段为IGHD3-10\*01。在一个实施方案中,人DH基因片段为IGHD3-10\*02。

[0369] 77.根据方面73-76中任一项所述的抗体或片段,所述VH结构域包含SEQ ID NO:36或42的HCDR1序列或含有少于4个氨基酸取代的SEQ ID NO:36或42的HCDR1序列。



[0370] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:36或42的HCDR1序列包含少于3个氨基酸取代(即2个或1个取代)。在一个实施方案中,SEQ ID NO:36或42的HCDR1序列包含少于2个氨基酸取代(即1个取代)。

[0371] 78.根据方面73-77中任一项所述的抗体或片段,所述VH结构域包含SEQ ID NO:38或44的HCDR2序列或含有少于5个氨基酸取代的SEQ ID NO:38或44的HCDR2序列。

[0372] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:38或44的HCDR2序列包含少于4个氨基酸取代(即3个或更少)。在一个实施方案中,SEQ ID NO:38或44的HCDR2序列包含少于3个氨基酸取代(即2个或1个取代)。在一个实施方案中,SEQ ID NO:38或44的HCDR2序列包含少于2个氨基酸取代(即1个取代)。

[0373] 79.根据方面73-78中任一项所述的抗体或片段,所述VH结构域包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:34至少80%(例如至少85%)同一的重链可变结构域氨基酸序列。

[0374] 在一个实施方案中,重链可变结构域氨基酸序列与SEQ ID NO:34至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一。

[0375] 80.根据方面73-79中任一项所述的抗体或片段,其包含第一和第二拷贝的所述VH结构域。

[0376] 81.根据方面73-80中任一项所述的抗体或片段,其包含VL结构域,所述VL结构域包含SEQ ID NO:54或60的LCDR1序列或含有少于5个氨基酸取代的SEQ ID NO:54或60的LCDR3序列。

[0377] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:54或60的LCDR3序列包含少于4个氨基酸取代(即3个或更少)。在一个实施方案中,SEQ ID NO:54或60的LCDR3序列包含少于3个氨基酸取代(即2个或1个取代)。在一个实施方案中,SEQ ID NO:54或60的LCDR3序列包含少于2个氨基酸取代(即1个取代)。

[0378] 82.根据方面73-81中任一项所述的抗体或片段,其包含一个或所述VL结构域,所述VL结构域包含SEQ ID NO:52或58的LCDR2序列,或含有少于2个氨基酸取代的SEQ ID NO:52或58的LCDR2序列。

[0379] 83.根据方面73-82中任一项所述的抗体或片段,其包含一个或所述VL结构域,所述VL结构域包含SEQ ID NO:54或60的LCDR1序列,或含有少于4个氨基酸取代的SEQ ID NO:54或60的LCDR1序列。

[0380] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:54或60的LCDR1序列包含少于3个氨基酸取代(即2个或1个取代)。在一个实施方案中,SEQ ID NO:54或60的LCDR1序列包含少于2个氨基酸取代(即1个取代)。

[0381] 84.根据方面73-83中任一项所述的抗体或片段,其包含一个或所述VL结构域,所述VL结构域包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:48至少80%(例如至少85%)同一的轻链可变结构域氨基酸序列。

[0382] 在一个实施方案中,轻链可变结构域氨基酸序列与SEQ ID NO:48至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一。

[0383] 85.根据方面81-84中任一项所述的抗体或片段,其包含第一和第二拷贝的所述VL结构域。

[0384] 86. 根据方面81-85中任一项所述的抗体或片段, 其中所述抗体或片段包含 $\kappa$ 轻链。

[0385] 在另一个实施方案中, 所述VL结构域为 $\kappa$ VL结构域。在一个实施方案中,  $\kappa$ VL结构域源自人VL基因片段和人JL基因片段的重组, 其中所述人VL基因片段为IGKV1D-39。在另一个实施方案中, VL基因片段为IGKV1D-39\*01。

[0386] 在再一个实施方案中, 人JL基因片段为IGKJ1或IGKJ3。在另一个实施方案中, JL基因片段为IGKJ1\*01。在另一个实施方案中, JL基因片段为IGKJ3\*01。

[0387] 87. 根据方面75-86中任一项所述的抗体或片段, 其中所述氨基酸取代为保守性氨基酸取代, 任选地其中所述保守性取代来自于选自以下的六个组之一(每一组含有相互为保守性取代的氨基酸):

[0388] 1) 丙氨酸(A)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T);

[0389] 2) 天冬氨酸(D)、谷氨酸(E);

[0390] 3) 天冬酰胺(N)、谷氨酰胺(Q);

[0391] 4) 精氨酸(R)、赖氨酸(K);

[0392] 5) 异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、蛋氨酸(M)、缬氨酸(V); 和

[0393] 6) 苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)、色氨酸(W)

[0394] 在一个实施方案中, 保守性氨基酸取代如本文所述。例如, 可为F取代Y、S或K取代T、A取代P、D或Q取代E、D或G取代N、K取代R、N或A取代G、S或K取代T、N或E取代D、L或V取代I、Y取代F、T或A取代S、K取代R、N或A取代G、R取代K、S、K或P取代A。在另一个实施方案中, 保守性氨基酸取代可为其中F取代Y、A或S取代T、L或V取代I、Y取代W、L取代M、D取代N、A取代G、A或S取代T、N取代D、L或V取代I、Y或L取代F、A或T取代S及S、G、T或V取代A。

[0395] 88. 根据方面73-87中任一项所述的抗体或片段, 其中所述抗体或片段包含恒定区, 例如IgG4恒定区, 任选地其中所述恒定区为IgG4-PE (Seq ID No:128)。

[0396] 在本文任一方面的另一个实例中, 所述抗体或片段包含人 $\gamma$ 4恒定区。在另一个实施方案中, 重链恒定区不结合Fc- $\gamma$ 受体, 并且例如包含Leu235Glu突变(即其中野生型亮氨酸残基突变为谷氨酸残基)。在另一个实施方案中, 重链恒定区包含Ser228Pro突变以增加稳定性。

[0397] 89. 根据方面73-88中任一项所述的抗体, 其中所述抗体包含重链和轻链, 所述重链氨基酸序列由SEQ ID No:62的序列组成并且所述轻链氨基酸序列由SEQ ID No:64的序列组成。

[0398] 90. 如方面73-89、98、99、101或102中任一项定义的抗体或片段, 其用于治疗或预防选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植排斥的hOX40L介导的疾病或病状; 例如炎症性肠病(IBM)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植物抗宿主疾病(GvHD)、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮(SLE)、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化或动脉粥样硬化, 尤其是GvHD。

[0399] 如本文描述的任一方面、模式、实例或实施方案的抗体和hOX40L介导的疾病的特征任选地加以必要的变更适用于该用途。如本文任一方面、模式、实例或实施方案中描述的任一组合物、给药方案或施用模式任选地加以必要的变更适用于该用途。

[0400] 91. 如方面73-89、98、99、101或102中任一项定义的抗体或片段在生产向人施用用于治疗或预防人中hOX40L介导的疾病或病状的药剂中的用途, hOX40L介导的疾病或病状选

自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植/宿主排斥;例如炎症性肠病(IBD)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植物抗宿主疾病(GvHD)、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮(SLE)、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化或动脉粥样硬化,尤其是GvHD。

[0401] 如本文描述的任一方面、模式、实例或实施方案的抗体和hOX40L介导的疾病的特征任选地加以必要的变更适用于该用途。如本文任一方面、模式、实例或实施方案中描述的任一组合物、给药方案或施用模式任选地加以必要的变更适用于该用途。

[0402] 92. 一种治疗或预防人中hOX40L介导的疾病或病状的方法, hOX40L介导的疾病或病状选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植排斥;例如炎症性肠病(IBD)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植物抗宿主疾病(GvHD)、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮(SLE)、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化或动脉粥样硬化,尤其是GvHD,所述方法包括向所述人施用治疗有效量的如方面73-89、98、99、101或102中任一项定义的抗体或片段,其中所述hOX40L介导的疾病或病状由此得到治疗或预防。

[0403] 如本文描述的任一方面、模式、实例或实施方案的抗体和hOX40L介导的疾病的特征任选地加以必要的变更适用于该方法。如本文任一方面、模式、实例或实施方案中描述的任一组合物、给药方案或施用模式任选地加以必要的变更适用于该方法。

[0404] 93. 根据方面90所述的抗体或片段,根据方面91所述的用途或根据方面92所述的方法,其中所述hOX40L介导的疾病或病状为GvHD。

[0405] 在另一个实施方案中,所述抗体或片段能够治疗或预防GvHD。

[0406] 94. 根据方面90-93中任一项所述的抗体或片段、用途或方法,其中预防性施用所述抗体。

[0407] 在一个实施方案中,所述预防防止所述疾病或病状或所述疾病或病状的症状发作。在一个实施方案中,预防性治疗防止所述疾病或病状恶化或发作。在一个实施方案中,预防性治疗防止所述疾病或病状恶化。

[0408] 在另一个实施方案中,静脉施用所述抗体。在另一个实施方案中,按约5-10mg/kg的剂量(例如约8mg/kg)施用所述抗体。在另一个实施方案中,按选自约0.1mg/kg、约0.5mg/kg、约1mg/kg、3mg/kg、5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约40mg/kg、约50mg/kg、约60mg/kg、约70mg/kg、约80mg/kg、约90mg/kg或约100mg/kg的剂量,尤其是按约1mg/kg或约3mg/kg施用所述抗体。

[0409] 在另一个实施方案中,在移植前1-4天,例如在移植前1-3天或在移植前1-2天施用所述抗体。在另一个实施方案中,在移植后每周、每两周或每月施用所述抗体一次,例如每两周一次。在再一个实施方案中,在移植之前1-3天按约5-10mg/kg的剂量(例如约8mg/kg)预防性静脉施用所述抗体,然后每两周一次按约5-10mg/kg的剂量(例如约8mg/kg)静脉施用。

[0410] 在另一个实施方案中,移植后定期监测患者预测GvHD(例如急性GvHD)发展的生物标志物的存在,并且一旦生物标志物水平使得确定患者处于发展GvHD(例如急性GvHD)的风险中就施用本发明的抗OX40L抗体。这种策略将避免不必要的药物给药和不必要的免疫系统抑制。可用作急性GvHD的预测生物标志物的生物标志物实例可为Levine等,“A

prognostic score for acute graft-versus-host disease based on biomarkers:a multicentre study”,Lancet Haematol 2015;2:e21-29中鉴定的那些。这些生物标志物包括但不限于TNFR1、ST-2、弹力素(elafin)及IL2R $\alpha$ 和Reg3 $\alpha$ 。

[0411] 95.一种人抗体或其片段,其包含16至27个氨基酸的HCDR3并且源自人VH基因片段、人D基因片段和人JH基因片段的重组,其中所述人JH基因片段为IGHJ6(例如IGHJ6\*02),所述人抗体或其片段特异性结合hOX40L以治疗或预防选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植排斥的hOX40L介导的疾病或病状;例如炎症性肠病(IBD)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植物抗宿主疾病(GvHD)、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮(SLE)、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化或动脉粥样硬化,尤其是GvHD(例如其中所述抗体用于GvHD预防)。

[0412] 任一方面、模式、实例或实施方案的抗体和hOX40L介导的疾病的特征任选地加以必要的变更适用于该用途。如本文任一方面、模式、实例或实施方案中描述的任一组合物、给药方案或施用模式任选地加以必要的变更适用于该用途。

[0413] 96.包含16至27个氨基酸的HCDR3并且源自人VH基因片段、人D基因片段和人JH基因片段重组的人抗体或其片段在生产向人施用用于治疗或预防人中hOX40L介导的疾病或病状的药剂中的用途,其中所述人JH基因片段为IGHJ6(例如IGHJ6\*02),所述人抗体或其片段特异性结合hOX40L,hOX40L介导的疾病或病状选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植排斥;例如炎症性肠病(IBD)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植物抗宿主疾病(GvHD)、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮(SLE)、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化或动脉粥样硬化,尤其是GvHD。

[0414] 任一方面、模式、实例或实施方案的抗体和hOX40L介导的疾病的特征任选地加以必要的变更适用于该用途。如本文任一方面、模式、实例或实施方案中描述的任一组合物、给药方案或施用模式任选地加以必要的变更适用于该用途。

[0415] 97.一种治疗或预防人中hOX40L介导的疾病或病状的方法,hOX40L介导的疾病或病状选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植排斥;例如炎症性肠病(IBD)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植物抗宿主疾病(GvHD)、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮(SLE)、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化或动脉粥样硬化,尤其是GvHD,所述方法包括向所述人施用治疗有效量的包含16至27个氨基酸的HCDR3并且源自人VH基因片段、人D基因片段和人JH基因片段重组的人抗体或其片段,其中所述人JH基因片段为IGHJ6(例如IGHJ6\*02),所述人抗体或其片段特异性结合hOX40L,其中所述hOX40L介导的疾病或病状由此得到治疗或预防。

[0416] 任一方面、模式、实例或实施方案的抗体和hOX40L介导的疾病的特征任选地加以必要的变更适用于该方法。如本文任一方面、模式、实例或实施方案中描述的任一组合物、给药方案或施用模式任选地加以必要的变更适用于该方法。

[0417] 在方面95-97中任一项的一个实施方案中,人JH基因片段选自IGHJ6\*01、IGHJ6\*02、IGHJ6\*03和IGHJ6\*04。在方面95-97中任一项的另一个实施方案中,人JH基因片段选自IGHJ6\*01、IGHJ6\*02和IGHJ6\*04。在方面95-97中任一项的另一个实施方案中,人JH基因片段为IGHJ6\*02。

[0418] 在方面95-97中任一项的再一个实施方案中,人VH基因片段为IGHV3-23,例如选自

IGHV3-23\*01、IGHV3-23\*02、IGHV3-23\*03、IGHV3-23\*04或IGHV3-23\*05。在方面95-97中任一项的另一个实施方案中,人VH基因片段为IGHV3-23\*01或IGHV3-23\*04,尤其是IGHV3-23\*04。

[0419] 在方面95-97中任一项的再一个实施方案中,人DH基因片段为IGHD3-10,例如选自IGHD3-10\*01或IGHD3-10\*02。在方面95-97中任一项的一个实施方案中,人DH基因片段为IGHD3-10\*01。在方面95-97中任一项的一个实施方案中,人DH基因片段为IGHD3-10\*02。

[0420] 在方面90-97中任一项的一个实施方案中,所述抗体能够治疗或预防GvHD。在方面90-97中任一项的另一个实施方案中,所述抗体或片段用于治疗或预防除GvD以外的疾病,但是所述抗体或片段能够治疗或预防GvHD。

[0421] 98. 根据方面86所述的抗体或片段,或根据方面95所述的抗体或片段,根据方面96所述的用途或根据方面97所述的方法,其中所述抗体或片段包含 $\kappa$ 轻链,例如其中所述轻链的VL结构域源自人VL基因片段和人JL基因片段的重组,其中所述人VL基因片段为IGKV1D-39(例如IGKV1D-39\*01),并且任选地人JL基因片段为IGKJ1(例如IGKJ1\*01)或IGKJ3(例如IGKJ3\*01)。

[0422] 在另一个实施方案中,所述VL结构域为 $\kappa$ VL结构域。在一个实施方案中, $\kappa$ VL结构域源自人VL基因片段和人JL基因片段的重组,其中所述人VL基因片段为IGKV1D-39。在另一个实施方案中,VL基因片段为IGKV1D-39\*01。

[0423] 在再一个实施方案中,人JL基因片段为IGKJ1。在另一个实施方案中,JL基因片段为IGKJ1\*01。在再一个实施方案中,人JL基因片段为IGKJ3。在另一个实施方案中,JL基因片段为IGKJ3\*01。

[0424] 99. 根据方面73-89、98、101或102中任一项所述的抗体或片段或根据方面90-98中任一项所述的抗体或片段、用途或方法,其中所述抗体或片段在单倍体相合造血干细胞移植的恒河猴模型中到第12天使得高于80%干细胞供者嵌合成为可能,任选地其中所述抗体用于GvHD预防。

[0425] 另一方面,提供了根据方面95-98中任一项所述的抗体或片段、用途或方法,其中所述抗体或片段通过在供者人造血干细胞移植后到第12天使得在人中高于80%干细胞供者嵌合成为可能来治疗或预防所述人中的移植排斥(例如GvHD)。

[0426] 在另一个实施方案中,提供了根据方面73-89、98、101或102中任一项所述的抗体或片段,其中所述抗体或片段在单倍体相合造血干细胞移植的恒河猴模型中到第12天使得高于80%干细胞供者嵌合成为可能。

[0427] 在一个实施方案中,嵌合为T细胞( $CD3^+/CD20^-$ )嵌合。在另一个实施方案中,嵌合为外周血嵌合。在另一个实施方案中,嵌合为外周血或T细胞( $CD3^+/CD20^-$ )嵌合。

[0428] 在一个实施方案中,使用离散供者和受者特异性MHC连接的微卫星标志物,通过比较供者和受者特异性扩增子的峰高来测定干细胞供者嵌合(例如外周血或T细胞( $CD3^+/CD20^-$ )嵌合)。在另一个实施方案中,如Kean,LS等,“Induction of chimerism in rhesus macaques through stem cell transplant and costimulation blockade-based immunosuppression”,Am J Transplant.2007年2月;7(2):320-35中所述,测定干细胞供者嵌合。在另一个实施方案中,如实施例7中所述测定干细胞供者嵌合。

[0429] 在一个实施方案中,单倍体相合造血干细胞的恒河猴模型通过以下实现:移植

(HSCT) 受者动物经历调节程序和抗OX40L抗体施用,接着输注从半同胞供者动物分离的外周血产品,之后动物继续接受周剂量的本发明的抗OX40L抗体,并且取血样并分析嵌合。

[0430] 在另一个实施方案中,在HSCT模型中,受者动物2天(实验第-2天和第-1天)分4个剂量份接受1020cGy的调节辐射剂量以在静脉施用本发明的抗OX40L抗体(第-2天,第5、12、19、26、33、40、47天后续静脉剂量)和移植来自于MHC半匹配(半同胞)供者动物的白血细胞和富含干细胞的外周血之前切除宿主造血系统以恢复受者的免疫系统,同时提供持续支持性护理、采血和监测GVHD体征。

[0431] 在一个实施方案中,所述抗体或片段、用途或方法用于GvHD预防。

[0432] 在一个实施方案中,预防性施用本发明的抗hOX40L抗体。在一个实施方案中,预防性治疗防止所述疾病或病状恶化或发作。

[0433] 在另一个实施方案中,静脉施用所述抗体。在另一个实施方案中,按约5-10mg/kg(例如约8mg/kg)的剂量施用所述抗体。在另一个实施方案中,静脉施用所述抗体。在另一个实施方案中,按约5-10mg/kg(例如约8mg/kg)的剂量施用所述抗体。在另一个实施方案中,按选自约0.1mg/kg、约0.5mg/kg、约1mg/kg、3mg/kg、5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约40mg/kg、约50mg/kg、约60mg/kg、约70mg/kg、约80mg/kg、约90mg/kg或约100mg/kg的剂量,尤其是按约1mg/kg或约3mg/kg施用所述抗体。

[0434] 在另一个实施方案中,在移植前1-4天,例如在移植前1-3天或在移植前1-2天施用所述抗体。在另一个实施方案中,在移植后每周、每两周或每月施用所述抗体一次,例如每两周一次。在再一个实施方案中,在移植之前1-3天按约5-10mg/kg(例如约8mg/kg)的剂量预防性静脉施用所述抗体,然后每两周一次按约5-10mg/kg(例如约8mg/kg)的剂量静脉施用。

[0435] 在另一个实施方案中,移植后定期监测患者预测GvHD(例如急性GvHD)发展的生物标志物的存在,并且一旦生物标志物水平使得确定患者处于发展GvHD(例如急性GvHD)的风险中就施用本发明的抗OX40L抗体。这种策略将避免不必要的药物给药和不必要的免疫系统抑制。可用作急性GvHD的预测生物标志物的生物标志物实例可为Levine等,“A prognostic score for acute graft-versus-host disease based on biomarkers:a multicentre study”,Lancet Haematol 2015;2:e21-29中鉴定的那些。这些生物标志物包括但不限于TNFR1、ST-2、弹力素及IL2R $\alpha$ 和Reg3 $\alpha$ 。

[0436] 在再一个实施方案中,HSCT模型如Miller,Weston P.等,“GVHD after haploidentical transplantation:a novel,MHC-defined rhesus macaque model identifies CD28<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>T cells as a reservoir of breakthrough T-cell proliferation during costimulation blockade and sirolimus-based immunosuppression.”Blood,116,24(2010):5403-5418中描述那样实施。在再一个实施方案中,HSCT模型如实施例7中描述那样实现。

[0437] 100.根据方面95-99中任一项所述的抗体或片段、用途或方法,其中所述抗体如方面73-89、98、99、101或102中任一项所定义。

[0438] 101.根据方面73-89、98、99或102中任一项所述的抗体或片段,或根据方面90-100中任一项所述的抗体或片段、用途或方法,其中所述抗体或片段在Lonza GS-Xceed<sup>TM</sup>中作为稳定转染库以高于1.5g/L的水平在使用Lonza 8版加料系统的加料分批过度生长培养中

表达,过度生长期为14天。

[0439] 在一个实施方案中,表达水平高于1.0g/L、高于1.1g/L、高于1.2g/L、高于1.3g/L或高于1.4g/L。

[0440] 102.根据方面73-89、98、99或101中任一项所述的抗体或片段,或根据方面90-101中任一项所述的抗体或片段、用途或方法,其中在单倍体相合造血干细胞移植的恒河猴模型中在第12天所述抗体或片段保持>总CD4<sup>+</sup>T细胞群20%的天然CD4<sup>+</sup>T细胞群。

[0441] 另一方面,提供了根据方面73-89、98、99或101中任一项所述的抗体或片段,或根据方面90-101中任一项所述的抗体或片段、用途或方法,其中所述抗体或片段用于通过在供者人造造血干细胞移植后在第12天保持人中>总CD4<sup>+</sup>T细胞群20%的天然供者CD4<sup>+</sup>T细胞群来治疗或预防所述人中的移植排斥。

[0442] 在一个实施方案中,HSCT模型如上文所考虑到的任何实施方案中所述,例如结合方面99所述。

[0443] 在另一个实施方案中,通过使用流式细胞术评价特异性T细胞表型的相对比例来测量天然群体,其中通过用荧光抗体探针标记来鉴定细胞亚群并且由此天然CD4或CD8T细胞分别是经标记的CD4<sup>+</sup>/CD28<sup>+</sup>/CD95<sup>-</sup>或CD8<sup>+</sup>/CD28<sup>+</sup>/CD95<sup>-</sup>,中央记忆CD4或CD8T细胞分别是经标记的CD4<sup>+</sup>/CD28<sup>+</sup>/CD95<sup>+</sup>或CD8<sup>+</sup>/CD28<sup>+</sup>/CD95<sup>+</sup>,并且效应记忆CD4或CD8T细胞分别是经标记的CD4<sup>+</sup>/CD28<sup>-</sup>/CD95<sup>+</sup>或CD8<sup>+</sup>/CD28<sup>-</sup>/CD95<sup>+</sup>。

[0444] 103.根据方面90-102中任一项所述的抗体或片段、用途或方法,其进一步包括向所述人施用另一种治疗剂,任选地其中所述另一种治疗剂独立地选自雷帕霉素(rapamycin)(西罗莫司(sirolimus))、他克莫司(racrolimus)、环孢素(ciclosporin)、皮质类固醇(例如甲基强的松龙(methylprednisolone))、甲氨蝶呤(methotrexate)、吗替麦考酚酯(mycophenolate mofetil)、抗CD28抗体、抗IL12/IL-23抗体(例如优特克单抗(ustekinumab))、抗CD20抗体(例如利妥昔单抗(rituximab))、抗CD30抗体(例如布妥昔单抗(brentuximab))、CTLA4-Fc分子(例如阿巴西普(abatacept))、CCR5受体拮抗剂(例如马拉维若(maraviroc))、抗CD40L抗体、抗VLA4抗体(例如那他珠单抗(natalizumab))、抗LFA1抗体、氟达拉滨(fludarabine)、抗CD52抗体(例如阿仑单抗(alemtuzumab))、抗CD45抗体、环磷酰胺、抗胸腺细胞球蛋白、抗补体C5抗体(例如依库珠单抗(eculizumab))、抗a4b7整联蛋白抗体(例如维多珠单抗(vedolizumab))、抗IL6抗体(例如托珠单抗(tocilizumab))、抗IL2R抗体(例如巴利昔单抗(basilixumab))、抗CD25抗体(例如达利珠单抗(daclizumab))、抗TNFa/TNFa-Fc分子(例如依那西普(etanercept)、阿达木单抗(adalimumab)、英夫利昔单抗(infliximab)、戈利木单抗(golimumab)或赛妥珠单抗(certolizumab pegol))和伏立诺他(Vorinostat),尤其是雷帕霉素(西罗莫司)、他克莫司、环孢素、皮质类固醇(例如甲基强的松龙)、甲氨蝶呤、吗替麦考酚酯、抗CD28抗体、CTLA4-Fc分子(例如阿巴西普)、抗CD40L抗体、抗LFA1抗体、抗CD52抗体(例如阿仑单抗)、环磷酰胺和抗胸腺细胞球蛋白。

[0445] 在一个实施方案中,另一治疗剂为抗炎药物。在另一个实施方案中,抗炎药物独立地选自皮质类固醇(例如甲基强的松龙)、抗IL12/IL-23抗体(例如优特克单抗)、抗VLA4抗体(例如那他珠单抗)、抗LFA1抗体、抗补体C5抗体(例如依库珠单抗)、抗a4b7整联蛋白抗体(例如维多珠单抗)、抗IL6抗体(例如托珠单抗)、抗IL2R抗体(例如巴利昔单抗)或抗TNFa/TNFa-Fc分子(例如依那西普、阿达木单抗、英夫利昔单抗、戈利木单抗、赛妥珠单抗)。在一

个实例中,抗炎药物独立地选自皮质类固醇(例如甲基强的松龙)和抗LFA1抗体。

[0446] 104. 根据方面103所述的抗体或片段、用途或方法,其中所述另一治疗剂与抗hOX40L抗体或片段相继或同时施用。

[0447] 105. 一种药物组合物,其包含如方面73-89、98、99、101或102中任一项定义的抗体或片段和药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体并且还任选地包含另一治疗剂,所述另一治疗剂独立地选自雷帕霉素(西罗莫司)、他克莫司、环孢素、皮质类固醇(例如甲基强的松龙)、甲氨蝶呤、吗替麦考酚酯、抗CD28抗体、抗IL12/IL-23抗体(例如优特克单抗)、抗CD20抗体(例如利妥昔单抗)、抗CD30抗体(例如布妥昔单抗)、CTLA4-Fc分子(例如阿巴西普)、CCR5受体拮抗剂(例如马拉维若)、抗CD40L抗体、抗VLA4抗体(例如那他珠单抗)、抗LFA1抗体、氟达拉滨、抗CD52抗体(例如阿仑单抗)、抗CD45抗体、环磷酰胺、抗胸腺细胞球蛋白、抗补体C5抗体(例如依库珠单抗)、抗a4b7整联蛋白抗体(例如维多珠单抗)、抗IL6抗体(例如托珠单抗)、抗IL2R抗体(例如巴利昔单抗)、抗CD25抗体(例如达利珠单抗)、抗TNF $\alpha$ /TNF $\alpha$ -Fc分子(例如依那西普、阿达木单抗、英夫利昔单抗、戈利木单抗或赛妥珠单抗)和伏立诺他,尤其是雷帕霉素(西罗莫司)、他克莫司、环孢素、皮质类固醇(例如甲基强的松龙)、甲氨蝶呤、吗替麦考酚酯、抗CD28抗体、CTLA4-Fc分子(例如阿巴西普)、抗CD40L抗体、抗LFA1抗体、抗CD52抗体(例如阿仑单抗)、环磷酰胺和抗胸腺细胞球蛋白。

[0448] 如本文描述的药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体加以必要的变更适用于这些组合物。

[0449] 在一个实施方案中,另一治疗剂为抗炎药物。在另一个实施方案中,抗炎药物独立地选自皮质类固醇(例如甲基强的松龙)、抗IL12/IL-23抗体(例如优特克单抗)、抗VLA4抗体(例如那他珠单抗)、抗LFA1抗体、抗补体C5抗体(例如依库珠单抗)、抗a4b7整联蛋白抗体(例如维多珠单抗)、抗IL6抗体(例如托珠单抗)、抗IL2R抗体(例如巴利昔单抗)或抗TNF $\alpha$ /TNF $\alpha$ -Fc分子(例如依那西普、阿达木单抗、英夫利昔单抗、戈利木单抗、赛妥珠单抗)。在一个实例中,抗炎药物独立地选自皮质类固醇(例如甲基强的松龙)和抗LFA1抗体。

[0450] 106. 根据方面105所述的药物组合物,或包含如方面105所定义的药物组合物的试剂盒,其中所述组合物是用于治疗 and/或预防选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植排斥的hOX40L介导的疾病或病状;例如炎症性肠病(IBD)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植物抗宿主疾病(GvHD)、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮(SLE)、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化和动脉粥样硬化,尤其是GvHD。

[0451] 本文描述的任一方面、模式、实例或实施方案的hOX40L介导的疾病任选地加以必要的变更适用于这种组合。

[0452] 107. 根据方面105或方面106所述的药物组合物与根据方面106所述的包含标签或说明书的试剂盒的组合,或包含标签或说明书的试剂盒用于治疗 and/或预防人中的所述疾病或病状;任选地其中所述标签或说明书包含上市许可证号(例如,FDA或EMA许可证号);任选地其中所述试剂盒包括含有所述抗体或片段的IV或注射装置。

[0453] 本文描述的任一方面、模式、实例或实施方案的标签、说明书、hOX40L介导的疾病和病状任选地加以必要的变更适用于这种组合。

[0454] 108. 一种核酸,其编码如方面73-89、98、99、101或102中任一项定义的抗体或片段



的HCDR3。

[0455] 109. 一种核酸,其编码如方面73-89、98、99、101或102中任一项定义的抗体或片段的VH结构域和/或VL结构域。

[0456] 110. 根据方面109所述的核酸,其包含与SEQ ID NO:33和/或SEQ ID NO:47的序列至少80%同一的核苷酸序列。

[0457] 在一个实例中,该核苷酸序列与SEQ ID NO:33和/或SEQ ID NO:47至少85%同一、至少90%同一、至少95%同一、至少96%同一、至少97%同一、至少98%同一或至少99%同一。

[0458] 111. 一种核酸,其编码方面73-89、98、99、101或102中任一项叙述的抗体的重链或轻链。

[0459] 112. 一种载体,其包含根据方面108-111中任一项所述的核酸;任选地其中所述载体为CHO或HEK293载体。

[0460] 113. 一种宿主,其包含方面108-111中任一项的核酸或权利要求112的载体。

[0461] 如实例中所解释的那样,发明人设计了一系列对于鉴定本发明的抗体和片段特别有用的标准,这些标准是:-

[0462] (a) 在HTRF测定中所述抗体或片段结合CHO-S细胞(任选地经全长人OX40L转染)上的细胞表面hOX40L和/或结合重组hOX40L的能力;

[0463] (b) 在受体中和HTRF测定和/或流式细胞术受体中和测定中所述抗体或片段中和人OX40(例如中和人OX40L与人OX40受体的结合)的能力;和

[0464] (c) 所述抗体或片段特异性结合人和恒河猴OX40L的能力(有用,使得可以在作为人替代者的恒河猴模型中评估所述抗体或片段的PK、PD、功效和其它参数)。

[0465] 因此,在本发明的一个实例中所述抗体或片段满足标准(a)、(b)和(c)。

[0466] 在一个实例中,设置标准(a),使得通过FACS测定所述抗体或片段显示<70%受体与CHO-S细胞表达的hOX40L结合。

[0467] 在一个实例中,设置标准(a),使得在HTRF测定中所述抗体或片段显示<90%受体与OX40L结合。

[0468] 在一个实例中,设置标准(a),使得在HTRF测定中所述抗体或片段显示至少20%效果。

[0469] 在一个实例中,OX40用于标准(b)中。

[0470] 在一个实施方案中,本发明抗体或片段的测定或试验在或基本上在pH7下(例如,对于体外试验和测定而言)并且在或基本上在室温下进行。

[0471] 任选地,所述抗体或片段特异性结合hOX40L,例如在本文公开的SPR条件下,通过SPR测定,亲和力(表观亲和力,Kd)低于1 $\mu$ M,为1000nM至100nM、100nM至10nM、10nM至1nM、1000pM至500pM、500pM至200pM,低于200pM,为200pM至150pM、200pM至100pM、100pM至10pM、10pM至1pM,例如在1mM至1pM(例如1mM至100pM;10nM至100pM;1nM至10pM;或100pM至1pM)的范围内。另外或可选地,所述抗体或片段特异性结合恒河猴OX40L,例如在本文公开的SPR条件下,通过SPR测定,亲和力(表观亲和力,Kd)低于1 $\mu$ M,为1000nM至100nM、100nM至10nM、10nM至1nM、1000pM至500pM、500pM至200pM,低于200pM,为200pM至150pM、200pM至100pM、100pM至10pM、10pM至1pM,例如在1mM至1pM(例如1mM至100pM;10nM至100pM;1nM至10pM;或

100pM至1pM)的范围内。此类结合测量可使用本领域已知的各种结合测定进行,例如使用表面等离子体共振 (SPR),例如用Biacore™或使用ProteOn XPR36™((Bio-Rad®),使用KinExA® (Sapidyne Instruments, Inc)或使用ForteBio Octet (Pall ForteBio Corp.)。

[0472] OX40L结合能力、特异性和亲和力( $K_d$ ,  $K_{off}$ 和/或 $K_{on}$ )可以通过本领域中的任何常规方法,例如通过表面等离子体共振 (SPR) 测定。术语“ $K_d$ ”,如本文中所用,意在指特定抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。

[0473] 在一个实施方案中,表面等离子体共振 (SPR) 在25℃下进行。在另一个实施方案中,SPR在37℃下进行。

[0474] 在一个实施方案中,SPR在生理pH,如约pH7下或在pH7.6下(例如,使用pH7.6的Hepes缓冲盐水(也称为HBS-EP))进行。

[0475] 在一个实施方案中,SPR在生理盐水平,例如150mM NaCl下进行。

[0476] 在一个实施方案中,SPR在不超过0.05体积%的洗涤剂水平下,例如在0.05%的P20(聚山梨醇酯20;例如吐温-20™(Tween-20™))和3mM的EDTA存在下进行。

[0477] 在一个实例中,SPR在25℃或37℃下在pH7.6的缓冲液、150mM NaCl、0.05%洗涤剂(例如,P20)和3mM EDTA中进行。缓冲液可含10mM Hepes。在一个实例中,SPR在25℃或37℃下在HBS-EP中进行。HBS-EP可从Teknova Inc获得(California;目录号H8022)。

[0478] 在一个实例中,所述抗体或片段的亲和力使用SPR通过以下方式测定:

[0479] 1. 例如通过伯胺偶合使抗小鼠(或其它有关的人、大鼠或非人脊椎动物抗体恒定区物种匹配的) IgG(例如,Biacore™ BR-1008-38) 偶合到生物传感器芯片(例如,GLM芯片)上;

[0480] 2. 使抗小鼠IgG(或其它匹配物种抗体)暴露于试验IgG抗体以将试验抗体捕获在芯片上;

[0481] 3. 在1024nM、256nM、64nM、16nM、4nM和0nM下(即单独的缓冲液)使试验抗原经过芯片的捕获表面;并且

[0482] 4. 例如在以上讨论的SPR条件下(例如,在25℃下在生理缓冲液中),使用表面等离子体共振测定试验抗体与试验抗原的结合亲和力。可以使用任何标准SPR装置,例如用Biacore™或使用ProteOn XPR36™(Bio-Rad®)进行SPR。

[0483] 捕获表面的再生可以用pH1.7的10mM甘氨酸进行。这样去除捕获的抗体并且使表面用于另一次相互作用。可以使用标准技术,例如使用ProteOn XPR36™分析软件所固有的模型将结合数据拟合为1:1固有模型。

[0484] 在一个实例中,本发明的抗体或片段装在医疗容器,例如小瓶、注射器、IV容器或注射装置(例如,眼内或玻璃体内注射装置)中。在一个实例中,所述抗体或片段在体外,例如在无菌容器内。在一个实例中,本发明提供了一种试剂盒,其包括本发明的抗体或片段、包装和用于人中治疗或预防或诊断OX40L介导的疾病或病状的使用说明书。在一个实例中,说明书指出在向人施用所述抗体或片段之前应对本发明的OX40L变体序列为人进行基因分型。在一个实例中,说明书指出在向人施用所述抗体或片段之前应对本发明的OX40L变体为人进行表型分析。在一个实例中,人为中国人(例如,汉族或CHS)并且说明书为中文(例如,

汉语)。

[0485] 在一个实例中所述抗体或片段的结合位点选自多个结合位点(例如,文库)。例如,所述多个结合位点包含或由多个4-链抗体或其片段,例如dAb、Fab或scFv组成。产生供筛选的多个结合位点的合适方法包括噬菌体展示(产生抗体结合位点的噬菌体展示文库)、核糖体展示(产生抗体结合位点的核糖体展示文库)、酵母展示(产生抗体结合位点的酵母展示文库)或用h0X40L或h0X40L表位免疫接种非人脊椎动物(例如,啮齿动物,例如小鼠或大鼠,例如Velocimouse<sup>TM</sup>、Kymouse<sup>TM</sup>、Xenomouse<sup>TM</sup>、Aliva Mouse<sup>TM</sup>、HuMab Mouse<sup>TM</sup>、Omnimouse<sup>TM</sup>、Omnirat<sup>TM</sup>或MeMo Mouse<sup>TM</sup>)和分离抗体生成细胞库(例如,B细胞、浆细胞或浆母细胞库)和/或分离抗体、片段或结合位点库。

[0486] 术语“表位”是抗原被抗体或片段结合的区域。表位可定义为结构性或功能性。功能性表位通常是结构性表位的子集并且具有直接有助于相互作用的亲和力的那些残基。表位也可构象性,即由非线性氨基酸组成。在某些实施方案中,表位可包括是化学活性表面分子类,如氨基酸、糖侧链、磷酸基或磺酰基的决定簇,并且在某些实施方案中,可具有特定三维结构特征和/或特定电荷特征。

[0487] 关于本发明任一方面,例如抗体或片段的术语“分离的”,意指受试抗体或片段等(1)不含通常将与之一起被发现的至少一些其它蛋白质,(2)基本上不含来自于相同来源,例如来自于相同物种的其它蛋白质,(3)由来自于不同物种的细胞表达,(4)已经与至少约50%在自然界中与之缔合的多核苷酸、脂质、碳水化合物或其它物质分开,(5)与在自然界中未与之缔合的多肽(通过共价或非共价相互作用)可操作地缔合,或(6)未出现在自然界中。通常,“分离的”抗体、片段等占给定样品的至少约5%、至少约10%、至少约25%或至少约50%、60%、70%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或>99%。合成来源的基因组DNA、cDNA、mRNA或其它RNA或其任何组合可编码此类分离的抗体、片段等。优选地,分离的抗体、片段等基本上不含在其自然环境中发现的,会干扰其治疗、诊断、预防、研究或其它用途的蛋白质或多肽或其它污染物。

[0488] 例如,“分离的”抗体是已经鉴定,从其生产环境的组分(例如,自然地或重组地)分开和/或回收的抗体。优选地,分离的多肽不与来自于其生产环境的所有其它组分缔合,例如,使得已经将抗体分离到FDA可批准或批准的标准。其生产环境的污染物组分,如由重组转染细胞产生的污染物组分,是通常会干扰抗体的研究、诊断或治疗用途的物质,并且可包括酶、激素和其它蛋白或非蛋白溶质。在优选的实施方案中,多肽将被纯化至:(1)例如通过Lowry法测定,高于95重量%的抗体,并且在一些实施方案中,高于99重量%的抗体;(2)足以通过使用转杯式测序仪获得N端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度;或(3)在非还原或还原条件下使用考马斯蓝(Coomassie blue)或优选地,银染色通过SDS-PAGE达到的均一性。因为抗体自然环境的至少一种组分将不存在,所以分离的抗体包括重组细胞内的原位抗体。然而,通常,将通过至少一个纯化步骤制备分离的多肽或抗体。

[0489] 免疫偶联物

[0490] 本发明涵盖偶联至治疗部分(“免疫偶联物”),如细胞毒素、化疗药物、免疫抑制剂或放射性同位素的抗体或片段。细胞毒素剂包括对细胞有害的任何试剂。用于形成免疫偶联物的合适的细胞毒素剂和化疗剂的实例在本领域中已知,参见例如通过引用整体并入本文的WO 05/103081。

#### [0491] 双特异性

[0492] 本发明的抗体和片段可为单特异性、双特异性或多特异性。多特异性mAb可对一个靶多肽的不同表位有特异性或者可含对一个以上靶多肽有特异性的抗原结合结构域。参见例如Tutt等, (1991) J. Immunol. 147:60-69。人抗hOX40L抗体或片段可与另一种功能分子, 例如另一种肽或蛋白质连接或共表达。例如, 抗体或其片段可与一个或多个其它分子实体, 如另一抗体或抗体片段功能性连接(例如, 通过化学偶合、基因融合、非共价缔合或其它方式)以产生具有第二结合特异性的双特异性或多特异性抗体。

[0493] 可用于本发明情况下的示例性双特异性抗体形式涉及使用第一免疫球蛋白(Ig) CH3结构域和第二Ig CH3结构域, 其中第一和第二Ig CH3结构域相互至少一个氨基酸不同, 并且与没有氨基酸残基的双特异性抗体相比, 至少一个氨基酸差异降低了双特异性抗体与蛋白质A的结合。在一个实施方案中, 第一Ig CH3结构域结合蛋白质A而第二Ig CH3结构域含有降低或消除蛋白质A结合的突变, 如H95R修饰(按IMGT外显子编号; H435R, 按EU编号)。第二CH3结构域还可包含Y96F修饰(按IMGT; Y436F, 按EU)。在第二CH3内可发现的其它修饰包括: 在IgG1抗体情况下的D16E、L18M、N44S、K52N、V57M和V82I(按IMGT; D356E、L358M、N384S、K392N、V397M和V422I, 按EU); 在IgG2抗体情况下的N44S、K52N和V82I(按IMGT; N384S、K392N和V422I, 按EU); 和在IgG4抗体情况下的Q15R、N44S、K52N、V57M、R69K、E79Q和V82I(按IMGT; Q355R、N384S、K392N、V397M、R409K、E419Q和V422I, 按EU)。上述双特异性抗体形式上的改变涵盖在本发明的范围之内。

[0494] 在某些实施方案中, 所述抗体或其OX40L结合片段包含少于6个CDR。在一些实施方案中, 所述抗体或其抗原结合片段包含或由选自HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的1、2、3、4或5个CDR组成。在具体实施方案中, 所述抗体或其抗原结合片段包含或由选自序列表中的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的1、2、3、4或5个CDR组成(即对于HCDR1而言的Seq ID No:4、Seq ID No:10、Seq ID No:36、Seq ID No:42、Seq ID No:68、Seq ID No:74、Seq ID No:96或Seq ID No:102, 尤其是Seq ID No:36或Seq ID No:42; 对于HCDR2而言的Seq ID No:6、Seq ID No:12、Seq ID No:38、Seq ID No:44、Seq ID No:70、Seq ID No:76、Seq ID No:98或Seq ID No:104, 尤其是Seq ID No:38或Seq ID No:44; 对于HCDR3而言的Seq ID No:8、Seq ID No:14、Seq ID No:40、Seq ID No:46、Seq ID No:72、Seq ID No:78、Seq ID No:100或Seq ID No:106, 尤其是Seq ID No:40或Seq ID No:46; 对于LCDR1而言的Seq ID No:18、Seq ID No:24、Seq ID No:50、Seq ID No:56、Seq ID No:82、Seq ID No:88、Seq ID No:110或Seq ID No:116, 尤其是Seq ID No:50或Seq ID No:56; 对于LCDR2而言的Seq ID No:20、Seq ID No:26、Seq ID No:52、Seq ID No:58、Seq ID No:84、Seq ID No:90、Seq ID No:112或Seq ID No:118, 尤其是Seq ID No:52或Seq ID No:58; 和对于LCDR3而言的Seq ID No:22、Seq ID No:28、Seq ID No:54、Seq ID No:60、Seq ID No:86、Seq ID No:92、Seq ID No:114或Seq ID No:120, 尤其是Seq ID No:54或Seq ID No:60)。

[0495] 在具体实施方案中, 本发明的抗体为全人抗体、单克隆抗体、重组抗体、拮抗性抗体、hOX40L中和抗体或其任何组合或本发明提供了其hOX40L结合片段。在一个实例中, 所述抗体是包含人可变结构域和非人(例如, 小鼠或大鼠或兔)恒定结构域的嵌合抗体。在特定实施方案中, 所述抗体为全人抗体, 如全人单克隆抗体或其抗原结合片段, 其特异性结合

hOX40L。在优选实施方案中,所述抗体为拮抗性抗体。在优选实施方案中,所述抗体为中和抗体。

[0496] 在一个实例中,所述抗体或片段为 $\lambda$ 型抗体或片段(即其可变结构域为 $\lambda$ 可变结构域)。任选地,所述抗体或片段还包含 $\lambda$ 恒定结构域。

[0497] 在某些实施方案中,所述抗体与OX40或其融合蛋白(例如,Fc:OX40)竞争(例如,以剂量依赖方式)结合hOX40L,如细胞表面表达的hOX40L或可溶性hOX40L。在本文的实施例中提供了示例性竞争阻断试验。

[0498] 另一方面,本文提供了分离的核酸,其编码结合hOX40L多肽(例如,细胞表面表达的或可溶性hOX40L)、hOX40L多肽片段或hOX40L表位的抗体。在某些实施方案中,所述核酸编码如序列中公开的VH链、VL链、VH结构域、VL结构域、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3(即对于VH链而言的Seq ID No:30或Seq ID No:62;对于VL链而言的Seq ID No:32或Seq ID No:64;对于VH结构域而言的Seq ID No:Seq ID No:2、Seq ID No:34、Seq ID No:66或Seq ID No:94,尤其是Seq ID No:34;对于VL结构域而言的Seq ID No:16、Seq ID No:48、Seq ID No:80或Seq ID No:108,尤其是Seq ID No:48;对于HCDR1而言的Seq ID No:4、Seq ID No:10、Seq ID No:36、Seq ID No:42、Seq ID No:68、Seq ID No:74、Seq ID No:96或Seq ID No:102,尤其是Seq ID No:36或Seq ID No:42;对于HCDR2而言的Seq ID No:6、Seq ID No:12、Seq ID No:38、Seq ID No:44、Seq ID No:70、Seq ID No:76、Seq ID No:98或Seq ID No:104,尤其是Seq ID No:38或Seq ID No:44;对于HCDR3而言的Seq ID No:8、Seq ID No:14、Seq ID No:40、Seq ID No:46、Seq ID No:72、Seq ID No:78、Seq ID No:100或Seq ID No:106,尤其是Seq ID No:40或Seq ID No:46;对于LCDR1而言的Seq ID No:18、Seq ID No:24、Seq ID No:50、Seq ID No:56、Seq ID No:82、Seq ID No:88、Seq ID No:110或Seq ID No:116,尤其是Seq ID No:50或Seq ID No:56;对于LCDR2而言的Seq ID No:20、Seq ID No:26、Seq ID No:52、Seq ID No:58、Seq ID No:84、Seq ID No:90、Seq ID No:112或Seq ID No:118,尤其是Seq ID No:52或Seq ID No:58;和对于LCDR3而言的Seq ID No:22、Seq ID No:28、Seq ID No:54、Seq ID No:60、Seq ID No:86、Seq ID No:92、Seq ID No:114或Seq ID No:120,尤其是Seq ID No:54或Seq ID No:60)。

[0499] 另一方面,本文提供了包含编码本发明的抗体或片段的核酸的载体和宿主细胞。

[0500] 在某些实施方案中,抗体特异性结合hOX40L的一种或多种单核苷酸多态性(SNP)变体。在本发明任一方面的实例中,hOX40L为单体的三聚体。

[0501] 一方面,本文提供了一种降低(例如,至少20、30、40 50或60%,或70%、80%、90%、95%或>90%)或完全抑制受试者(例如,人受试者)中hOX40L与OX40的结合的方法,其包括向受试者施用有效量的特异性结合hOX40L(例如,细胞表面表达的或可溶性hOX40L)的本发明的抗体或其片段。

[0502] 一方面,本文提供了一种治疗或预防受试者(例如,人受试者)中hOX40L介导的疾病或病状的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的特异性结合hOX40L(例如,细胞表面表达的或可溶性hOX40L)的本发明的抗体或其片段,其中所述疾病或病状通过所述抗体或片段治疗或预防。在一个实例中,所述方法包括降低或抑制受试者的hOX40L生物活性,如IL-2、IL-8、TNF $\alpha$ 和干扰素 $\gamma$ 中的一种、多种或全部的分泌。在一个实例中,生物活性选自IL-2、TNF $\alpha$ 和干扰素 $\gamma$ 中的一种、多种或全部的分泌。在一个实例中,生物活性选自IL-8、

CCL20和RANTES中的一种、多种或全部的分泌。

[0503] 一方面,本文提供了一种降低或抑制受试者(例如,人受试者)的hOX40L生物活性,如IL-2、IL-8、TNF $\alpha$ 和干扰素 $\gamma$ 中的一种、多种或全部的分泌的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的特异性结合hOX40L(例如,细胞表面表达的或可溶性hOX40L)的本发明的抗体或其片段,其中hOX40L生物活性通过所述抗体或片段降低。在一个实例中,生物活性选自IL-2、TNF $\alpha$ 和干扰素 $\gamma$ 中的一种、多种或全部的分泌。在一个实例中,生物活性选自IL-8、CCL20和RANTES中的一种、多种或全部的分泌。

[0504] 术语“约”或“大约”意为在给定值或范围的20%,优选10%且更优选5%(或4%或3%或2%,或在一个实例中为1%或更小)的范围内。

[0505] 如本文中所用,“施用”是指如同其在体外所存在那样将物质(例如,本文提供的抗hOX40L抗体)注射或以其它方式物理递送到患者体内的行为,例如通过粘膜、皮内、静脉、肌肉内递送和/或本文描述的或本领域已知的任何其它物理递送方法。在治疗疾病或其症状时,物质的施用通常在疾病或其症状发作之后进行。在预防疾病或其症状时,物质的施用通常在疾病或其症状发作之前进行。

[0506] 为测定两个氨基酸序列或两个核酸序列的百分比同一性,为了最佳比较目的将所述序列进行比对(例如,可以在第一氨基酸或核酸序列中引入空位,以与第二氨基酸或核酸序列最佳比对)。然后比较在相应氨基酸位置或核苷酸位置的氨基酸残基或核苷酸。第一序列中的位置被第二序列中相应位置的相同氨基酸残基或核苷酸占据时,则分子在该位置相同。两个序列之间的百分比同一性是序列共有的相同位置数量的函数(即,同一性% = 相同重叠位置/位置总数 $\times$ 100%)。在一个实施方案中,两个序列为相同长度。

[0507] 两个序列(例如,氨基酸序列或核酸序列)之间百分比同一性的测定也可使用数学算法实现。用于两个序列比较的数学算法的优选、非限制性实例为Karlin和Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:2264-2268的算法,如同Karlin和Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873-5877中所修改。将此类算法并入Altschul等, 1990, J. Mol. Biol. 215:403的NBLAST和XBLAST程序中。BLAST核苷酸搜索可以用设为,例如得分=100、字长=12的NBLAST核苷酸程序参数进行以获得与本发明的核酸分子同源的核苷酸序列。BLAST蛋白质搜索可以用设为,例如得分50、字长=3的XBLAST程序参数进行以获得与本发明的蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空位比对,可如Altschul等, 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402中所述,利用空位BLAST。可选地,可以使用PSI-BLAST进行检测分子间(Id.)远源关系的迭代搜索。当利用BLAST、空位BLAST和PSI-BLAST程序时,可以使用各程序(例如,XBLAST和NBLAST)的默认参数(参见例如,万维网上的美国国家生物技术信息中心(NCBI), [ncbi.nlm.nih.gov](http://ncbi.nlm.nih.gov))。用于序列比较的数学算法的另一个优选、非限制性实例为Myers和Miller, 1988, CABIOS 4:11-17的算法。将此类算法并入ALIGN程序(2.0版本)中,该程序是GCG序列比对软件包的一部分。当利用ALIGN程序比较氨基酸序列时,可以使用PAM120权重残基表、为12的空位长度罚分和为4的空位罚分。

[0508] 可以使用与上述技术相似的技术,允许或不允许空位,测定两个序列之间的百分比同一性。在计算百分比同一性中,通常仅对精确匹配计数。

[0509] 如本文中所用,hOX40L的“拮抗剂”或“抑制剂”是指能够抑制或以其它方式降低,例如在表达hOX40L的细胞中或表达hOX40L配体的细胞中的hOX40L的一种或多种生物活性

的配体(例如,抗体或片段)。例如,在某些实施方案中,本发明的抗体是抑制或以其它方式降低CCL20、IL-8和/或RANTES从具有细胞表面表达的OX40的细胞的分泌(当所述抗体与所述细胞接触时)的拮抗剂。在一些实施方案中,hOX40L的拮抗剂(例如,本发明的拮抗性抗体)可,例如通过抑制或以其它方式降低表达OX40L的细胞的活化和/或细胞信号传导途径而起作用,从而相对于在拮抗剂缺乏时hOX40L的生物活性,抑制细胞的hOX40L介导的生物活性。在某些实施方案中本文提供的抗体为全人、拮抗性抗hOX40L抗体,优选为全人、单克隆、拮抗性抗hOX40L抗体。

[0510] 术语“抗体”和“免疫球蛋白”或“Ig”在本文可互换使用。特异性结合hOX40L抗原的抗体或其片段可与有关抗原交叉反应。优选地,特异性结合hOX40L抗原的抗体或其片段不与其它抗原交叉反应(但是可任选地与不同物种,例如恒河猴或鼠类的OX40L交叉反应)。特异性结合hOX40L抗原的抗体或其片段可以例如通过免疫测定、BIAcore™或本领域技术人员已知的其它技术鉴定。抗体或其片段在其以使用实验技术,如放射性免疫测定(RIA)和酶联免疫吸附测定(ELISA)测定的比对任何交叉反应性抗原更高的亲和力结合hOX40L抗原时,特异性结合hOX40L抗原。通常特异性或选择性反应将是本底信号或噪声的至少两倍并且更通常为本底的10倍以上。关于抗体特异性的讨论,参见例如,Paul编,1989,Fundamental Immunology第2版,Raven Press,New York,第332-336页。

[0511] 本发明的抗体包括但不限于合成抗体、单克隆抗体、重组产生的抗体、多特异性抗体(包括双特异性抗体)、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、胞内抗体、单链Fvs(scFv)(例如,包括单特异性、双特异等)、骆驼化抗体、Fab片段、F(ab')片段、二硫化物连接的Fvs(sdFv)、抗独特型(抗Id)抗体及上述任一种的表位结合片段。具体而言,本发明的抗体包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性部分,即含有特异性结合hOX40L抗原的抗原结合位点(例如,抗hOX40L抗体的一个或多个互补决定区(CDR))的抗原结合结构域或分子。本发明的抗体可为任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、任何类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2,尤其是IgG4)或任何亚类(例如,IgG2a和IgG2b)的免疫球蛋白分子。在优选的实施方案中,hOX40L抗体为全人,如全人单克隆hOX40L抗体。在某些实施方案中,本发明的抗体为IgG抗体,或其一个类别(例如,人IgG1或IgG4)或亚类。在某些实施方案中,本发明的抗体包含人 $\gamma$ 4恒定区。在另一个实施方案中,重链恒定区不结合Fc- $\gamma$ 受体,并且例如包含Leu235Glu突变。在另一个实施方案中,重链恒定区包含Ser228Pro突变以增加稳定性。在另一个实施方案中,重链恒定区为IgG4-PE。

[0512] 术语“抗原结合结构域”、“抗原结合区”、“抗原结合片段”及相似术语是指包含与抗原相互作用并且对结合剂赋予其对抗原的特异性和亲和力的氨基酸残基的抗体部分(例如,互补决定区(CDR))。抗原结合区可源自任何动物种类,如啮齿动物(例如,兔、大鼠或仓鼠)和人。优选地,抗原结合区将为人来源。

[0513] 如本文中所用,术语“组合物”旨在涵盖含有(任选地)指定量的指定成分(例如,本发明的抗体)的产品,以及由(任选地)指定量的指定成分的组合物直接或间接产生的产品。

[0514] 在多肽的情况下,如本文中所用的术语“衍生物”是指包含hOX40L多肽、hOX40L多肽片段,或特异性结合hOX40L多肽的抗体的氨基酸序列,已经通过引入氨基酸残基取代、缺失或添加而改变的多肽。如本文中所用的术语“衍生物”是指(例如)已经通过任何类型的分子与多肽共价连接而化学修饰的hOX40L多肽、hOX40L多肽片段,或特异性结合hOX40L多肽

的抗体。例如,但不以限制的方式,(例如)可通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、用已知保护/封端基团衍生化、蛋白水解裂解、连接到细胞配体或其它蛋白质等,化学修饰hOX40L多肽、hOX40L多肽片段或hOX40L抗体。以不同于自然发生的或起始肽或多肽的方式,在连接的分子的类型或位置上修饰衍生物。衍生物还包括自然存在于所述肽或多肽上的一个或多个化学基团的缺失。可通过化学修饰,使用本领域技术人员已知的技术,包括但不限于特异性化学裂解、乙酰化、配制、衣霉素的代谢合成等,化学修饰hOX40L多肽、hOX40L多肽片段或hOX40L抗体的衍生物。进一步地,hOX40L多肽、hOX40L多肽片段或hOX40L抗体的衍生物可含一个或多个非经典氨基酸。多肽衍生物具有与本文描述的hOX40L多肽、hOX40L多肽片段或hOX40L抗体相似或相同的功能。

[0515] 如本文中所用的术语“有效量”是指足以降低和/或改善给定疾病和/或与之相关的症状的严重程度和/或持续时间的疗法(例如,本文提供的抗体或药物组合物)的量。该术语还涵盖对于减少或改善给定疾病的增进或进展,减少或改善给定疾病的复发、发展或发作,和/或提高或增强另一疗法(例如,除本文提供的抗hOX40L抗体外的疗法)的预防或治疗效果所必需的量。在一些实施方案中,本发明抗体的有效量为约0.1mg/kg (mg抗体/kg受试者重量)至约100mg/kg。在某些实施方案中,其中提供的抗体的有效量为约0.1mg/kg、约0.5mg/kg、约1mg/kg、3mg/kg、5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg、约50mg/kg、约60mg/kg、约70mg/kg、约80mg/kg、约90mg/kg或约100mg/kg (或其中的范围)。在一些实施方案中,如本文中所用的“有效量”还指用于达到指定结果(例如,抑制细胞的hOX40L生物活性,如抑制CCL20、IL-8或RANTES,或INF- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 或IL-2,尤其是INF- $\gamma$ 从细胞中分泌)的本发明抗体的量。

[0516] 如本文中所用的术语“表位”是指在抗原,如hOX40L多肽或hOX40L多肽片段的表面上,能够被抗体的一个或多个抗原结合区结合并且在动物,优选哺乳动物中且最优选在人中具有抗原或免疫原活性,能够引发免疫反应的局部区域。具有免疫原活性的表位是在动物中引发抗体反应的多肽的一部分。具有抗原活性的表位是通过本领域熟知的任何方法,例如通过本文描述的免疫测定法测定,抗体特异性结合的多肽的一部分。抗原表位不一定为免疫原性。表位通常由化学活性表面分子类如氨基酸或糖侧链组成并且具有特定三维结构特征以及特定电荷特征。有助于表位的多肽区域可为多肽的连续氨基酸或表位可一起来自于多肽的两个或更多个非连续区域。表位可能是或可能不是抗原的三维表面特征。在某些实施方案中,hOX40L表位是hOX40L多肽(例如,呈hOX40L多肽的三聚体形式)的三维表面特征。在其它实施方案中,hOX40L表位是hOX40L多肽(例如,呈hOX40L多肽的三聚体形式或单体形式)的线性特征。本文提供的抗体可特异性结合hOX40L单体(变性)形式的表位,hOX40L三聚体(天然)形式的表位或hOX40L单体(变性)形式和三聚体(天然)形式两者的表位。在具体实施方案中,本文提供的抗体特异性结合三聚体形式的hOX40L的表位,而不特异性结合单体形式的hOX40L。

[0517] 如本文中所用的术语“赋形剂”是指常用作药物的稀释剂、媒介物、防腐剂、粘合剂或稳定剂的惰性物质并且包括但不限于蛋白质(例如,血清白蛋白等)、氨基酸(例如,天冬氨酸、谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、甘氨酸、组氨酸等)、脂肪酸和磷脂(例如,烷基磺酸酯、辛酸酯等)、表面活性剂(例如,SDS、聚山梨醇酯、非离子表面活性剂等)、糖类(例如,蔗糖、麦芽糖、海藻糖等)和多元醇(例如,甘露糖醇、山梨糖醇等)。同样参见Remington's



Pharmaceutical Sciences(1990)Mack Publishing Co.,Easton,Pa.,其据此通过引用整体并入。

[0518] 在肽或多肽的情况下,如本文中所用的术语“片段”是指包含少于全长氨基酸序列的肽或多肽。此类片段可(例如)由于在氨基末端截短、在羧基末端截短和/或残基从氨基酸序列的内部缺失而产生。片段可(例如)由选择性RNA剪接或体内蛋白酶活性产生。在某些实施方案中,h0X40L片段包括包含h0X40L多肽或特异性结合h0X40L多肽的抗体的氨基酸序列的至少5个连续氨基酸残基、至少10个连续氨基酸残基、至少15个连续氨基酸残基、至少20个连续氨基酸残基、至少25个连续氨基酸残基、至少40个连续氨基酸残基、至少50个连续氨基酸残基、至少60个连续氨基酸残基、至少70个连续氨基酸残基、至少80个连续氨基酸残基、至少90个连续氨基酸残基、至少100个连续氨基酸残基、至少125个连续氨基酸残基、至少150个连续氨基酸残基、至少175个连续氨基酸残基、至少200个连续氨基酸残基或至少250个连续氨基酸残基的氨基酸序列的多肽。在一个具体实施方案中,h0X40L多肽或特异性结合h0X40L抗原的抗体的片段保持所述多肽或抗体的至少1种、至少2种或至少3种功能。

[0519] 术语“全人抗体”或“人抗体”在本文中可互换使用并且是指包含人可变区和最优选地人恒定区的抗体。在具体实施方案中,该术语是指包含人来源的可变区和恒定区的抗体。在某些实施方案中,“全人”抗h0X40L抗体还可涵盖结合h0X40L多肽并且由是人种系免疫球蛋白核酸序列天然存在的体细胞变体的核酸序列编码的抗体。在一个具体实施方案中,本文提供的抗h0X40L抗体为全人抗体。术语“全人抗体”包括如Kabat等所述,具有对应于人种系免疫球蛋白序列的可变和恒定区的抗体。(参见Kabat等(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH 91-3242号出版物)。例如,在本文的实施例中提供了产生全人抗体的示例性方法,但是可使用本领域已知的任何方法。

[0520] 短语“重组人抗体”包括通过重组方式制备、表达、产生或分离的人抗体,如使用转染到宿主细胞中的重组表达载体表达的抗体,从重组、组合人抗体库分离的抗体,从对于人免疫球蛋白基因而言为转基因和/或转染色体(transchromosomal)的动物(例如,小鼠或牛)分离的抗体(参见例如,Taylor,L.D.等(1992)Nucl.Acids Res.20:6287-6295)或通过涉及将人免疫球蛋白基因序列剪接到其他DNA序列上的任何其他方式制备、表达、产生或分离的抗体。此类重组人抗体可具有源自人种系免疫球蛋白序列的可变和恒定区(参见Kabat,E.A.等(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH第91-3242号出版物)。然而,在某些实施方案中,此类重组人抗体经受体外诱变(或,当使用对于人Ig序列而言为转基因的动物时,为体内体细胞诱变)并且因此重组抗体的VH和VL区的氨基酸序列虽然源自人种系VH和VL序列并与之相关,但不可能天然存在于体内人抗体种系库中的序列。

[0521] 如本文中所用的术语“融合蛋白”是指包含抗体的氨基酸序列和异源多肽或蛋白质(即通常并非抗体(例如,非抗h0X40L抗原抗体)的一部分的多肽或蛋白质)的氨基酸序列的多肽。术语“融合”当关于h0X40L或抗h0X40L抗体使用时是指肽或多肽或其片段、变体和/或衍生物与异源肽或多肽的连接。优选地,融合蛋白保持h0X40L或抗h0X40L抗体的生物活性。在某些实施方案中,融合蛋白包含h0X40L抗体VH结构域、VL结构域、VH CDR(一个、两个或三个VH CDR)和/或VL CDR(一个、两个或三个VL CDR),其中融合蛋白特异性结合h0X40L

表位。

[0522] 术语“重链”当关于抗体使用时是指基于重链恒定结构域的氨基酸序列，称为 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 和 $\mu$ 的5个不同类型。这些不同类型的重链熟知并且分别产生5个类别的抗体IgA、IgD、IgE、IgG和IgM，包括IgG的4个亚类，即IgG1、IgG1、IgG3和IgG4。优选地重链为人重链。在一个实例中，重链为失能IgG同种型，例如失能IgG4。在某些实施方案中，本发明的抗体包含人 $\gamma$  4恒定区。在另一个实施方案中，重链恒定区不结合Fc- $\gamma$ 受体，并且例如包含Leu235Glu突变。在另一个实施方案中，重链恒定区包含Ser228Pro突变以增加稳定性。在另一个实施方案中，重链恒定区为IgG4-PE。

[0523] 如本文中所述的术语“宿主”是指动物，优选为哺乳动物并且更优选为人。

[0524] 如本文中所述的术语“宿主细胞”是指经核酸分子转染的特定受试细胞及此类细胞的子代或可能的子代。由于在下一代中可发生的突变或环境影响或核酸分子整合到宿主细胞基因组中，此类细胞的子代可能与经核酸分子转染的母细胞不同。

[0525] 如本文中所述的术语“免疫调节剂”及其变型，包括但不限于免疫调节剂，是指调节宿主免疫系统的试剂。在某些实施方案中，免疫调节剂为免疫抑制剂。在某些其它实施方案中，免疫调节剂为免疫刺激剂。根据本发明，本发明联合疗法中使用的免疫调节剂不包括抗hOX40L抗体或抗原结合片段。免疫调节剂包括但不限于小分子、肽、多肽、蛋白质、融合蛋白、抗体、无机分子、模拟剂和有机分子。

[0526] 如本文中所述，在施用其它疗法的情况下的术语“联合”是指使用一种以上的疗法。术语“联合”的使用不限制向受感染的受试者施用疗法的顺序。第一疗法可在向已患、患有或易感hOX40L介导的疾病的受试者施用第二疗法之前（例如，1分钟、45分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周）、同时或之后（例如，1分钟、45分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周）施用。任何附加疗法均可与其它附加疗法一起按任何顺序施用。在某些实施方案中，本发明的抗体可与一种或多种疗法（例如，并非本发明的抗体，同时施用以预防、治疗、管理和/或改善hOX40L介导的疾病的疗法）联合施用。可与本发明的抗体联合施用的疗法的非限制性实例包括止痛剂、麻醉剂、抗生素或免疫调节剂或《美国药典》（U.S. Pharmacopoeia）和/或《医师案头参考》（Physician's Desk Reference）中列出的任何其它试剂。

[0527] “分离的”或“纯化的”抗体（例如）基本上不含来自于抗体所来源的细胞或组织源的细胞物质或其他污染蛋白，或当通过化学方法合成时基本上不含化学前体或其他化学药品。用语“基本上不含细胞物质”包括这样的抗体制剂，其中该抗体与其从中分离的细胞的细胞组分相分离或通过重组法产生。因此，基本上不含细胞物质的抗体包括具有少于约30%、20%、10%或5%（按干重计）的异源蛋白（本文也称为“污染蛋白”）的抗体制剂。当通过重组法产生抗体时，其还优选基本上不含培养基，即培养基占蛋白制剂体积的约20%、10%或5%以下。当通过化学合成产生抗体时，其优选基本上不含化学前体或其他化学药品，即将其与蛋白质合成所涉及的化学前体或其他化学药品相分离。因此，此类抗体制剂具有少于约30%、20%、10%、5%（按干重计）的化学前体或除目标抗体以外的化合物。在一个优选的实施方案中，本发明的抗体经分离或纯化。

[0528] “分离的”核酸分子是与核酸分子的自然来源中存在的其他核酸分子相分离的核

酸分子。而且,“分离的”核酸分子,如cDNA分子,当通过重组技术产生时可基本上不含其他细胞物质或培养基,或当通过化学方法合成时基本上不含化学前体或其他化学药品。在一个具体实施方案中,编码本发明抗体的核酸分子经分离或纯化。

[0529] 术语“人OX40L”、“hOX40L”或“hOX40L多肽”及类似术语是指包含序列表及相关多肽,包括其SNP变体中的氨基序列的多肽(“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用)。相关多肽包括等位基因变体(例如,SNP变体);剪接变体;片段;衍生物;取代、缺失和插入变体;融合多肽;和种间同源物,其优选地保持hOX40L活性和/或足以产生抗hOX40L免疫反应。还涵盖足以产生抗hOX40L免疫反应的可溶性形式的hOX40L。正如本领域的技术人员将认识到那样,本发明的抗hOX40L抗体可以结合hOX40L多肽、多肽片段、抗原和/或表位,因为表位是较大抗原的一部分,较大抗原是较大多肽片段的一部分,较大多肽片段又是较大多肽hOX40L的一部分,多肽hOX40L可以呈三聚体(天然)或单体(变性)形式存在。

[0530] 术语“Kabat编号”和类似术语在本领域中被公认并且是指为比抗体或其抗原结合部分的重链可变区中的其它氨基酸残基更加可变(即高变)的氨基酸残基编号的体系(Kabat等(1971)Ann.NY Acad.Sci.190:382-391和Kabat等(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH第91-3242号出版物)。对于重链可变区而言,高变区通常范围对于CDR1从氨基酸位置31到35,对于CDR2从氨基酸位置50到65,且对于CDR3从氨基酸位置95到102。

[0531] 术语“单克隆抗体”是指从一群同源或基本上同源的抗体获得的抗体,并且每种单克隆抗体通常将识别抗原上的单个表位。在优选实施方案中,如本文中所用的“单克隆抗体”是由单个杂交瘤或其它细胞产生的抗体,其中例如通过ELISA或本领域中已知或本文提供的实施例中的其它抗原结合或竞争结合测定法所测定,该抗体仅特异性结合hOX40L表位。术语“单克隆”不限于制备该抗体的任何特定方法。例如,本发明的单克隆抗体可通过如Kohler等;Nature,256:495(1975)中描述的杂交瘤法制备,或者例如可使用如本文所述的技术从噬菌体文库分离。制备克隆细胞系及由此表达的单克隆抗体的其它方法在本领域中熟知(参见例如,Short Protocols in Molecular Biology,(2002)第5版中的第11章,Ausubel等编,John Wiley and Sons,New York)。在本文的实施例中提供了产生其它单克隆抗体的其它示例性方法。

[0532] 术语“天然产生的”或“天然的”当连同生物材料如核酸分子、多肽、宿主细胞等使用时,是指在自然界中发现的并且不受人操纵的那些。

[0533] 如本文中所用的术语“药学上可接受的”意指经联邦或州政府的管理机构批准,或列入《美国药典》或其它通常公认的药典中用于动物,并且更具体地讲用于人。

[0534] 如本文中所用的术语“多克隆抗体”是指在对蛋白质的免疫反应中产生的具有许多表位的抗体群并且包括各种针对蛋白质内的相同和不同表位的不同抗体。产生多克隆抗体的方法在本领域中已知(参见例如Short Protocols in Molecular Biology,(2002)第5版中的第11章,Ausubel等编,John Wiley and Sons,New York)。

[0535] 如本文中所用,术语“多核苷酸”、“核苷酸”、“核酸”、“核酸分子”和其它类似术语可互换使用并且包括DNA、RNA、mRNA等。

[0536] 如本文中所用,术语“预防”是指由施用本文提供的疗法或疗法组合(例如,预防或治疗剂,如本发明抗体的组合)产生的对hOX40L介导的疾病和/或与之相关的症状的发展、

复发、发作或传播的完全或部分抑制。

[0537] 如本文中所用,术语“预防剂”是指可以完全或部分抑制受试者中hOX40L介导的疾病和/或与之相关的症状的发展、复发、发作或传播的任何试剂。在某些实施方案中,术语“预防剂”是指本发明的抗体。在某些其它实施方案中,术语“预防剂”是指除本发明抗体以外的试剂。优选地,预防剂是已知用于或已经或目前用于预防hOX40L介导的疾病和/或与之相关的症状或阻碍hOX40L介导的疾病和/或与之相关的症状的发作、发展、进展和/或严重程度的试剂。在具体实施方案中,预防剂为全人抗hOX40L抗体,如全人抗hOX40L单克隆抗体。

[0538] 在一个实施方案中,所述预防防止所述疾病或病状或所述疾病或病状的症状发作。在一个实施方案中,预防性治疗防止所述疾病或病状恶化或发作。在一个实施方案中,预防性治疗防止所述疾病或病状恶化。

[0539] 在另一个实施方案中,本发明的抗OX40L抗体静脉施用(例如,在移植,例如血液或器官移植之前或同时)。在另一个实施方案中,按约5-10mg/kg的剂量(例如约8mg/kg)施用所述抗体。在另一个实施方案中,按选自约0.1mg/kg、约0.5mg/kg、约1mg/kg、3mg/kg、5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约40mg/kg、约50mg/kg、约60mg/kg、约70mg/kg、约80mg/kg、约90mg/kg或约100mg/kg的剂量,尤其是按约1mg/kg或约3mg/kg施用所述抗体。

[0540] 在另一个实施方案中,在移植(例如血液或器官的移植)前1-4天,例如在移植前1-3天或在移植前1-2天施用所述抗体。在另一个实施方案中,在移植后每周、每两周或每月施用所述抗体一次,例如每两周一次。再一个实施方案中,在移植之前1-3天按约5-10mg/kg的剂量(例如约8mg/kg)预防性静脉施用所述抗体,然后每两周一次按约5-10mg/kg的剂量(例如约8mg/kg)静脉施用。

[0541] 在另一个实施方案中,移植后定期监测患者预测移植排斥或GvHD(例如急性GvHD)发展的生物标志物的存在,并且一旦生物标志物水平使得确定患者处于发展移植排斥或GvHD(例如急性GvHD)的风险中就施用本发明的抗OX40L抗体。这种策略将避免不必要的药物给药和不必要的免疫系统抑制。可用作急性GvHD的预测生物标志物的生物标志物实例可为Levine等,“A prognostic score for acute graft-versus-host disease based on biomarkers:a multicentre study”,Lancet Haematol 2015;2:e21-29中鉴定的那些。这些生物标志物包括但不限于TNFR1、ST-2、弹力素及IL2R $\alpha$ 和Reg3 $\alpha$ 。

[0542] 有助于表位的hOX40L区域可为多肽的连续氨基酸或表位可一起来自于多肽的两个或更多个非连续区域。表位可能是或可能不是抗原的三维表面特征。hOX40L抗原表面上能够引发免疫反应的局部区域是hOX40L表位。表位可能是或可能不是抗原的三维表面特征。

[0543] “hOX40L介导的疾病”和“hOX40L介导的病状”可互换使用并且是指完全或部分由hOX40L引起或是hOX40L的结果的任何疾病或病状。在某些实施方案中,hOX40L在细胞表面上异常(高度)表达。在一些实施方案中,hOX40L可在特定细胞类型上异常上调。在其它实施方案中,由hOX40L与hOX40L配体的结合引起正常、异常或过度细胞信号传导。在某些实施方案中,hOX40L配体是例如在细胞表面,如结肠上皮细胞的表面上表达的OX40。在某些实施方案中,hOX40L介导的疾病是炎症性肠病(IBD),如克罗恩氏病(CD)或溃疡性结肠炎(UC)。在

其它实施方案中,hOX40L介导的疾病是移植物抗宿主病(GVHD)。在其它实施方案中,hOX40L介导的疾病选自坏疽性脓皮症、巨细胞动脉炎、施尼茨勒综合征、非感染性巩膜炎和葡萄膜炎(非感染性/自身免疫性和/或全身性)。在其它实施方案中,hOX40L介导的疾病或病状选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植排斥;例如炎症性肠病(IBD)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植物抗宿主疾病(GvHD)、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮(SLE)、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化和动脉粥样硬化,尤其是GvHD。

[0544] 术语“hOX40L受体”或“hOX40L结合受体”在本文中可互换使用并且是指结合hOX40L的受体多肽。在具体实施方案中,hOX40L受体为Hox40。在一些实施方案中,hOX40L受体在细胞表面,如结肠上皮细胞的表面;或在移植物或移植组织上或在宿主组织上表达。

[0545] 如本文中所用,术语“受试者”和“患者”可互换使用。如本文中所用,受试者优先为哺乳动物如非灵长类动物(例如,牛、猪、马、猫、狗、大鼠等)或灵长类动物(例如,猴子和人),最优选为人。在一个实施方案中,受试者是患有hOX40L介导的疾病的哺乳动物,优选为人。在另一个实施方案中,受试者是处于发展hOX40L介导的疾病风险的哺乳动物,优选为人。

[0546] 如本文中所用,“基本上所有”是指至少约60%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或约100%。

[0547] 如本文中所用的“基本上不含表面活性剂”是指特异性结合hOX40L抗原的抗体制剂,所述制剂含有少于0.0005%、少于0.0003%或少于0.0001%的表面活性剂和/或少于0.0005%、少于0.0003%或少于0.0001%的表面活性剂。

[0548] 如本文中所用的“基本上不含盐”是指特异性结合hOX40L抗原的抗体制剂,所述制剂含有少于0.0005%、少于0.0003%或少于0.0001%的无机盐。

[0549] 如本文中所用的术语“表面活性剂”是指具有两性结构的有机物质;即其由溶解性倾向相反的基团,通常为油溶性烃链和水溶性离子基团组成。可根据表面活性部分的电荷将表面活性剂分类为阴离子、阳离子和非离子型表面活性剂。表面活性剂常用作润湿剂、乳化剂、增溶剂和分散剂,用于各种药物组合物和生物材料的制备。

[0550] 如本文中所用,术语“标签”是指连接到(例如)多肽和/或编码hOX40L或hOX40L抗体或其抗原结合片段的多核苷酸的任何类型的部分。例如,编码hOX40L、hOX40L抗体或其抗原结合片段的多核苷酸可含编码(例如)可检测部分或有助于亲和纯化的部分的一个或多个附加标签编码核苷酸序列。翻译时,标签和抗体可呈融合蛋白的形式。关于标签的术语“可检测”或“检测”是指能够可见的任何标签或其中标签的存在能够另外测定和/或测量(例如,通过定量)。可检测标签的非限制性实例为荧光标签。

[0551] 如本文中所用,术语“治疗剂”是指可用于hOX40L介导的疾病和/或与之相关的症状的治疗、管理或改善的任何试剂。在某些实施方案中,术语“治疗剂”是指本发明的抗体。在某些其它实施方案中,术语“治疗剂”是指除本发明的抗体以外的试剂。优选地,治疗剂是已知用于或已经或目前用于hOX40L介导的疾病或与之相关的一种或多种症状的治疗、管理或改善的试剂。在具体实施方案中,预防剂为全人抗hOX40L抗体,如全人抗hOX40L单克隆抗体。

[0552] 疗法的组合(例如,使用预防或治疗剂)比任两种或更多种单一疗法的加合效应更

有效。例如,预防和/或治疗剂的组合的协同效应允许向患有hOX40L介导的疾病的受试者使用更低剂量的一种或多种试剂和/或不那么频繁地施用所述试剂。能够利用更低剂量的预防或治疗疗法和/或不那么频繁地施用所述疗法降低了向受试者施用所述疗法相关的毒性,而未降低所述疗法在hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗或改善上的功效。另外,协同效应可引起疗法在hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗或改善上的功效提高。最后,疗法(例如,预防或治疗剂)组合的协同效应可避免或减少与使用任何单一疗法相关的不良或有害副作用。

[0553] 在一个实施方案中,所述组合包含本发明的抗OX40L抗体和另一治疗剂,所述另一治疗剂独立地选自雷帕霉素(西罗莫司)、他克莫司、环孢素、皮质类固醇(例如甲基强的松龙)、甲氨蝶呤、吗替麦考酚酯、抗CD28抗体、抗IL12/IL-23抗体(例如优特克单抗)、抗CD20抗体(例如利妥昔单抗)、抗CD30抗体(例如布妥昔单抗)、CTLA4-Fc分子(例如阿巴西普)、CCR5受体拮抗剂(例如马拉维若)、抗CD40L抗体、抗VLA4抗体(例如那他珠单抗)、抗LFA1抗体、氟达拉滨、抗CD52抗体(例如阿仑单抗)、抗CD45抗体、环磷酰胺、抗胸腺细胞球蛋白、抗补体C5抗体(例如依库珠单抗)、抗a4b7整联蛋白抗体(例如维多珠单抗)、抗IL6抗体(例如托珠单抗)、抗IL2R抗体(例如巴利昔单抗)、抗CD25抗体(例如达利珠单抗)、抗TNFa/TNFa-Fc分子(例如依那西普、阿达木单抗、英夫利昔单抗、戈利木单抗或赛妥珠单抗)和伏立诺他。在另一个实施方案中,所述组合包含本发明的抗OX40L抗体和另一治疗剂,所述另一治疗剂独立地选自雷帕霉素(西罗莫司)、他克莫司、环孢素、皮质类固醇(例如甲基强的松龙)、甲氨蝶呤、吗替麦考酚酯、抗CD28抗体、CTLA4-Fc分子(例如阿巴西普)、抗CD40L抗体、抗LFA1抗体、抗CD52抗体(例如阿仑单抗)、环磷酰胺和抗胸腺细胞球蛋白。

[0554] 如本文中所用,术语“疗法”是指可用于hOX40L介导的疾病(例如,IBD或GVHD)的预防、管理、治疗和/或改善的任何方案、方法和/或试剂。在某些实施方案中,术语“疗法”是指在预防、管理、治疗和/或改善本领域技术人员如医务人员所知的hOX40L介导的疾病中有用的生物疗法、支持疗法和/或其它疗法。

[0555] 如本文中所用,术语“治疗”是指由施用一种或多种疗法(包括但不限于施用一种或多种预防或治疗剂,如本发明的抗体)引起的对hOX40L介导的疾病(例如,IBD或GVHD)的进展、严重程度和/或持续时间的降低或改善。在具体实施方案中,此类术语是指对hOX40L与OX40结合的减少或抑制,对CCL20从表达hOX40或hOX40L的细胞的产生或分泌的减少或抑制,对IL-8从表达hOX40或hOX40L的细胞的产生或分泌的减少或抑制,对RANTES从表达hOX40或hOX40L的细胞的产生或分泌的减少或抑制,和/或对与hOX40L介导的疾病如IBD或GVHD相关的一种或多种症状的抑制或减轻。在具体实施方案中,此类术语是指对hOX40L与OX40结合的减少或抑制,对INF- $\gamma$ 从表达hOX40或hOX40L的细胞的产生或分泌的减少或抑制,对TNF- $\alpha$ 从表达hOX40或hOX40L的细胞的产生或分泌的减少或抑制,对IL-2从表达hOX40或hOX40L的细胞的产生或分泌的减少或抑制,和/或对与hOX40L介导的疾病如IBD或GVHD(尤其是GvHD)相关的一种或多种症状的抑制或减轻。在一个实例中,该细胞为人细胞。在具体实施方案中,预防剂为全人抗hOX40L抗体,如全人抗hOX40L单克隆抗体。

[0556] 术语“可变区”或“可变结构域”是指OX40L和重链的一部分,通常是重链中氨基末端约120至130个氨基酸和轻链中约100至110个氨基酸,其在序列上在抗体间广泛不同并且用于每种特定抗体对其特定抗原的结合和特异性中。序列的可变性集中在称为互补决定区

(CDR)的那些区域中,而可变结构域中更加高度保守的区域被称为骨架区(FR)。OX40L和重链的CDR主要负责抗体与抗原的相互作用。本文所用的氨基酸位置的编号是根据EU索引,如同Kabat等(1991)Sequences of proteins of immunological interest (U.S.Department of Health and Human Services,Washington,D.C.)第5版(“Kabat等”)所述。在优选实施方案中,可变区为人可变区。

#### [0557] 抗体

[0558] 本发明的抗体包括但不限于合成抗体、单克隆抗体、重组产生的抗体、多特异性抗体(包括双特异性抗体)、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、胞内抗体、单链Fvs(scFv)(例如,包括单特异性、双特异等)、骆驼化抗体、Fab片段、F(ab')片段、二硫化物连接的Fvs(sdFv)、抗独特型(抗Id)抗体及上述任一种的表位结合片段。

[0559] 具体而言,本文提供的抗体包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性部分,即含有特异性结合hOX40L抗原的抗原结合位点的分子。本文提供的免疫球蛋白分子可为任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类的免疫球蛋白分子。在一个具体的实施方案中,本文提供的抗体为IgG抗体,优选为IgG1或IgG4。在某些实施方案中,本发明的抗体包含人 $\gamma$ 4恒定区。在另一个实施方案中,重链恒定区不结合Fc- $\gamma$ 受体,并且例如包含Leu235Glu突变。在另一个实施方案中,重链恒定区包含Ser228Pro突变以增加稳定性。在另一个实施方案中,重链恒定区为IgG4-PE。

[0560] 抗体的变体和衍生物包括保持特异性结合表位的能力的抗体片段。优选片段包括Fab片段;Fab'(含有包含Fab和通过铰链区的重链附加部分的单个抗结合结构域的抗体片段);F(ab')<sub>2</sub>(通过重链铰链区内的链间二硫键连接的两个Fab'分子;Fab'分子可针对相同或不同表位);双特异性Fab(具有两个抗原结合结构域,其中每一个均可指向不同表位的Fab分子);包含可变区的单链Fab链,也称为sFv;二硫化物连接的Fv或dsFv;骆驼源化VH(其中VH界面处的一些氨基酸是在天然产生的骆驼抗体的重链中发现的氨基酸的抗体单一重链的可变抗原结合决定区);双特异性sFv(具有两个抗原结合结构域,其中每一个均可指向不同表位的sFv或dsFv分子);双链抗体(当第一sFv的VH结构域与第二sFv的VL结构域组装并且第一sFv的VL结构域与第二sFv的VH结构域组装时形成的二聚化sFv;双链抗体的两个抗原结合区可针对相同或不同表位);和三链抗体(以类似于双链抗体的方式形成的三聚化sFv,但是其中在单个复合物中产生3个抗原结合结构域;3个抗原结合结构域可针对相同或不同表位)。抗体的衍生物还包括抗体结合位点的一个或多个CDR序列。当存在两个或更多个CDR序列时CDR序列可在骨架上连接在一起。在某些实施方案中,与本发明一起使用的抗体包含单链Fv(“scFv”)。scFv是包含抗体的VH和VL结构域的抗体片段,其中这些结构域存在于单一多肽链中。通常,scFv多肽还包含介于VH和VL结构域之间,使得scFv能够形成供抗原结合的所需结构的多肽接头。对scFv的综述,参见Pluckthun,在The Pharmacology of Monoclonal Antibodies中,第113卷,Rosenburg和Moore编Springer-Verlag,New York,第269-315页(1994)。

[0561] 本发明的抗体可来自于任何动物来源,包括鸟类和哺乳动物(例如,人、鼠类、驴、绵羊、兔、山羊、豚鼠、骆驼、马或鸡)。在某些实施方案中,本发明的抗体为人或人源化单克隆抗体。如本文中所用,“人”抗体包括具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的抗体并且包括分

离自人免疫球蛋白文库或表达来自于人基因的抗体的小鼠的抗体。

[0562] 在优选实施方案中,本发明的抗体为全人抗体,如特异性结合hOX40L多肽、hOX40L多肽片段或hOX40L表位的全人抗体。此类全人抗体将比全小鼠(或其它全或部分非人物种抗体)、人源化抗体或嵌合抗体有利以在向受试者施用时,最小化有害或不需要的副作用,如针对非全人抗体(例如,源自其它物种的抗hOX40L抗体)的免疫反应。

[0563] 本发明的抗体可为单特异性、双特异性、三特异性或更高多特异性。多特异性抗体可对hOX40L多肽的不同表位有特异性或可对hOX40L多肽以及异源表位,如异源多肽或固体支撑材料均有特异性。在优选实施方案中,本文提供的抗体对hOX40L多肽的给定表位为单特异性并且不特异性结合其它表位。

[0564] 本文还提供了产生本文所述的抗hOX40L抗体或片段的B细胞(例如,永生化B细胞)或杂交瘤。

[0565] 在某些实施方案中,本文提供了一种分离的抗体,其特异性结合hOX40L表位,其中抗体与hOX40L表位的结合受本发明的抗体或片段竞争性阻断(例如,以剂量依赖方式)。所述抗体可能或可能不是全人抗体。在优选实施方案中,所述抗体为全人单克隆抗hOX40L抗体,并且甚至更优选为全人、单克隆、拮抗性抗hOX40L抗体。在本文的实施例中提供了可用的示例性竞争阻断试验。

[0566] 在一些实施方案中,本发明的抗体或片段与OX40受体(或其融合蛋白)竞争(例如,以剂量依赖方式)结合细胞表面表达的hOX40L。在其它实施方案中,本发明的抗体或片段与OX40受体(或其融合蛋白)竞争(例如,以剂量依赖方式)结合可溶性hOX40L。在本文的实施例中提供了可用的示例性竞争结合测定。在一个实施方案中,所述抗体或片段部分或完全抑制hOX40与细胞表面表达的OX40L,如hOX40L的结合。在另一个实施方案中,所述抗体部分或完全抑制hOX40与可溶性hOX40L的结合。在一些实施方案中,所述抗体或片段部分或完全抑制CCL20、IL-8和/或RANTES或INF- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 或IL-2,尤其是INF- $\gamma$ 从具有细胞表面表达的OX40的细胞分泌。在某些实施方案中,表达OX40的细胞是结肠上皮细胞。

[0567] 优选地,本发明的抗体为全人、单克隆抗体,如特异性结合hOX40L的全人、单克隆拮抗性抗体。

[0568] 在一些实施方案中,本文提供的抗体或片段结合hOX40L表位,其是hOX40L多肽(呈hOX40L多肽的三聚体形式)的三维表面特征。有助于表位的hOX40L多肽区域可为多肽的连续氨基酸或表位可一起来自于多肽的两个或更多个非连续区域。hOX40L表位可呈(a) hOX40L的三聚体形式(“三聚体hOX40L表位”),(b) hOX40L的单体形式(“单体hOX40L表位”),(c) hOX40L的三聚体和单体形式,(d) hOX40L的三聚体而非单体形式,或(e) hOX40L的单体形式而非三聚体形式存在。

[0569] 例如,在一些实施方案中,表位仅呈三聚体(天然)形式存在或可用于结合,但不呈单体(变性)形式存在或可用于抗hOX40L抗体结合。在其它实施方案中,hOX40L表位是hOX40L多肽(例如,呈hOX40L多肽的三聚体形式或单体形式)的线性特征。本文提供的抗体可特异性结合(a) hOX40L单体(变性)形式的表位,(b) hOX40L三聚体形式的表位,(c) hOX40L单体而非三聚体形式的表位,(d) hOX40L三聚体而非单体形式的表位,或(e) hOX40L单体和三聚体形式两者。在优选实施方案中,本文提供的抗体特异性结合hOX40L三聚体形式的表位,但不特异性结合hOX40L单体形式的表位。



[0570] 本发明还提供了特异性结合hOX40L表位的抗体,该抗体包含本文所述的特异性结合hOX40L抗原的VH结构域、VH CDR、VL结构域和VL CDR的衍生物。本发明还提供了包含实施例中公开的抗体衍生物的抗体,其中所述抗体特异性结合hOX40L表位。本领域技术人员已知的标准技术可用于在编码本发明的分子的核苷酸序列中引入突变,包括例如产生氨基酸取代的定点诱变和PCR介导的诱变。优选地,衍生物相对于原分子包括少于25个氨基酸取代、少于20个氨基酸取代、少于15个氨基酸取代、少于10个氨基酸取代、少于5个氨基酸取代、少于4个氨基酸取代、少于3个氨基酸取代或少于2个氨基酸取代。在另一个实施方案中,衍生物具有保守性氨基酸取代。在一个优选实施方案中,衍生物具有在一个或多个预测非必需氨基酸残基处产生的保守性氨基酸取代。可选地,突变可沿着整个或部分编码序列,例如通过饱和诱变随机引入,并且可筛选所得突变体的生物活性以鉴定保持活性的突变体。诱变后,可表达编码的蛋白质并测定蛋白质的活性。

[0571] 在另一个实施方案中,特异性结合hOX40L表位的抗体包含与序列的可变结构域氨基酸序列至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%同一的可变结构域氨基酸序列。

[0572] 在具体实施方案中,所述抗体为全人抗人抗体,如全人单克隆抗体。全人抗体可通过本领域已知的任何方法产生。示例性方法包括用hOX40L抗原(能够引发免疫反应并且任选偶联至载体的任何hOX40L多肽)免疫接种转基因动物(例如,小鼠),该动物能够在缺乏内源性免疫球蛋白产生时产生人抗体库;参见例如Jakobovits等,(1993) Proc.Natl.Acad.Sci.,90:2551;Jakobovits等,(1993) Nature,362:255-258(1993); Bruggermann等,(1993) Year in Immunol.,7:33。在本文提供的实施例中可以找到产生全人抗hOX40L抗体的其它方法。

[0573] 可选地,可通过体外筛选噬菌体展示抗体文库产生全人抗体;参见例如Hoogenboom等,J.Mol.Biol.,227:381(1991);Marks等,J.Mol.Biol.,222:581(1991),其通过引用并入本文。已经描述了各种含抗体的噬菌体展示文库并且可易于为本领域技术人员制备。文库可含多种多样的可筛选适当靶标的人抗体序列,如人Fab、Fv和scFv片段。

[0574] 本发明的抗体和片段包括经化学修饰,即通过任何类型的分子与抗体的共价连接修饰的抗体和片段。例如,但不以限制的方式,抗体衍生物包括已经(例如)通过已知糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、用已知保护/封端基团衍生化、蛋白水解裂解、连接到细胞配体或其它蛋白质等化学修饰的抗体。许多化学修饰中的任一种均可通过已知技术进行,包括但不限于特异性化学裂解、乙酰化、配制、衣霉素的代谢合成等。另外,所述抗体可含一个或多个非经典氨基酸。

[0575] 本发明还提供了特异性结合hOX40L抗原的抗体,其包含本领域技术人员已知的骨架区(例如,人或非人骨架)。骨架区可为,例如,天然产生的或共有骨架区。更优选地,本发明抗体的骨架区为人的(对于人骨架区的列表,参见例如Chothia等,1998, J.Mol.Biol.278:457-479,其通过引用整体并入本文)。还参见Kabat等(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest (U.S.Department of Health and Human Services,Washington,D.C.) 第5版。

[0576] 在具体实施方案中,本发明提供了特异性结合hOX40L抗原的抗体,所述抗体包含

序列表中的一个或多个CDR的氨基酸序列(即对于HCDR1而言的Seq ID No:4、Seq ID No:10、Seq ID No:36、Seq ID No:42、Seq ID No:68、Seq ID No:74、Seq ID No:96或Seq ID No:102,尤其是Seq ID No:36或Seq ID No:42;对于HCDR2而言的Seq ID No:6、Seq ID No:12、Seq ID No:38、Seq ID No:44、Seq ID No:70、Seq ID No:76、Seq ID No:98或Seq ID No:104,尤其是Seq ID No:38或Seq ID No:44;对于HCDR3而言的Seq ID No:8、Seq ID No:14、Seq ID No:40、Seq ID No:46、Seq ID No:72、Seq ID No:78、Seq ID No:100或Seq ID No:106,尤其是Seq ID No:40或Seq ID No:46;对于LCDR1而言的Seq ID No:18、Seq ID No:24、Seq ID No:50、Seq ID No:56、Seq ID No:82、Seq ID No:88、Seq ID No:110或Seq ID No:116,尤其是Seq ID No:50或Seq ID No:56;对于LCDR2而言的Seq ID No:20、Seq ID No:26、Seq ID No:52、Seq ID No:58、Seq ID No:84、Seq ID No:90、Seq ID No:112或Seq ID No:118,尤其是Seq ID No:52或Seq ID No:58;和对于LCDR3而言的Seq ID No:22、Seq ID No:28、Seq ID No:54、Seq ID No:60、Seq ID No:86、Seq ID No:92、Seq ID No:114或Seq ID No:120,尤其是Seq ID No:54或Seq ID No:60)和在下列1、2、3个或更多个残基处具有一个或多个氨基酸取代的人骨架区:(a)在鼠类抗体骨架(即供者抗体骨架)和人抗体骨架(即受者抗体骨架)之间不同的稀有骨架残基;(b)在供者抗体骨架和受者抗体骨架之间不同时的游标区(Vernier zone)残基;(c)VH/VL界面处在供者抗体骨架和受者抗体骨架之间不同的链间包装残基;(d)在供者抗体骨架和受者抗体骨架序列,特别是对于鼠类抗体CDR环的规范类别的定义至关重要的骨架区之间不同的规范残基;(e)与CDR相邻的残基;(g)能够与抗原相互作用的残基;(h)能够与CDR相互作用的残基;和(i)VH结构域和VL结构域之间的接触残基。在某些实施方案中,特异性结合包含在以上鉴定的1、2、3个或更多个残基处具有一个或多个氨基酸取代的人骨架区的hOX40L抗原的抗体是拮抗性hOX40L抗体。

[0577] 本发明涵盖特异性结合hOX40L抗原的抗体,所述抗体包含序列表中VH结构域和/或VL结构域的氨基酸序列(即对于VH结构域而言的Seq ID No:2、Seq ID No:34、Seq ID No:66或Seq ID No:94,尤其是Seq ID No:34;对于VL结构域而言的Seq ID No:16、Seq ID No:48、Seq ID No:80或Seq ID No:108,尤其是Seq ID No:48),但是在骨架区中有突变(例如,一个或多个氨基酸取代)。在某些实施方案中,特异性结合hOX40L抗原的抗体包含实施例中公开的抗体的VH结构域和/或VL结构域或其抗原结合片段的氨基酸序列,在VH结构域和/或VL结构域的骨架区中具有一个或多个氨基酸残基取代。

[0578] 在一些实施方案中,本文提供的抗体降低或抑制hOX40L与hOX40的结合,和/或降低或抑制受试者(例如,人受试者)中的hOX40L生物活性,如CCL20、IL8和/或RANTES或INF- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 或IL-2尤其是INF- $\gamma$ 的分泌。在某些实施方案中,本文提供的抗体,如人单克隆抗hOX40L抗体,降低或抑制可溶性或细胞表面表达的hOX40L与hOX40的结合,和/或在接触可溶性或细胞表面表达的hOX40L后降低或抑制受试者中CCL20和/或RANTES或INF- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 或IL-2尤其是INF- $\gamma$ 的分泌。本文提供的抗体对hOX40L与hOX40结合的阻断活性可使用如实施例中所述的测定来检测。本文提供的hOX40L抗体对表达OX40的细胞的生物活性的抑制可使用如实施例中所述的测定来检测。

[0579] 本发明还提供了包含本文提供的特异性结合hOX40L抗原的抗体和异源多肽的融合蛋白。在一些实施方案中,与抗体融合的异源多肽对于使抗体靶向具有细胞表面表达的hOX40L的细胞有用。

[0580] 抗体偶联物和融合蛋白

[0581] 以下关于偶联物和融合蛋白的讨论也适用于片段,以致提到抗体的公开加以必要的变更也可适用于本发明的片段。

[0582] 在一些实施方案中,本发明的抗体偶联或重组融合至诊断剂、可检测试剂或治疗剂或任何其它分子。偶联或重组融合的抗体可作为临床试验程序的一部分用于例如例如监测或预测hOX40L介导的疾病的发作、发展、进展和/或严重程度。

[0583] 此类诊断和检测可(例如)通过使抗体与可检测物质偶合来实现,可检测物质包括但不限于各种酶,例如但不限于辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;辅基,例如但不限于链霉亲和素/生物素和亲和素/生物素;荧光物质,例如但不限于伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、若丹明(rhodamine)、二氯三嗪基胺荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白;发光物质,例如但不限于鲁米诺(luminol);生物发光物质,例如但不限于萤光素酶、萤光素和水母发光蛋白;放射性物质,例如但不限于碘( $^{131}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 和 $^{121}\text{I}$ )、碳( $^{14}\text{C}$ )、硫( $^{35}\text{S}$ )、氚( $^3\text{H}$ )、铟( $^{115}\text{In}$ 、 $^{113}\text{In}$ 、 $^{112}\text{In}$ 和 $^{111}\text{In}$ )、钨( $^{99}\text{Tc}$ )、钽( $^{201}\text{Ti}$ )、镓( $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ )、钯( $^{103}\text{Pd}$ )、钼( $^{99}\text{Mo}$ )、氙( $^{133}\text{Xe}$ )、氟( $^{18}\text{F}$ )、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{159}\text{Gd}$ 、 $^{149}\text{Pm}$ 、 $^{140}\text{La}$ 、 $^{175}\text{Yb}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{142}\text{Pr}$ 、 $^{105}\text{Rh}$ 、 $^{97}\text{Ru}$ 、 $^{68}\text{Ge}$ 、 $^{57}\text{Co}$ 、 $^{65}\text{Zn}$ 、 $^{85}\text{Sr}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{153}\text{Gd}$ 、 $^{169}\text{Yb}$ 、 $^{51}\text{Cr}$ 、 $^{54}\text{Mn}$ 、 $^{75}\text{Se}$ 、 $^{113}\text{Sn}$ 和 $^{117}\text{Sn}$ ;和使用各种正电子发射断层扫描的正电子发射金属,和非放射性顺磁金属离子。

[0584] 本发明还涵盖偶联或重组融合至治疗部分(或一个或多个治疗部分)的本发明抗体的用途。抗体可偶联或重组融合至治疗部分,如细胞毒素(例如,细胞抑制剂或杀细胞剂)、治疗剂或放射性金属离子(例如, $\alpha$ -发射体)。细胞毒素或细胞毒性剂包括对细胞有害的任何试剂。治疗部分包括但不限于抗代谢物(例如,甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、阿糖胞苷(cytarabine)、5-氟尿嘧啶、氮烯咪胺(decarbazine));烷化剂(例如,双氯乙基甲胺(mechlorethamine)、塞替派(thioepa)苯丁酸氮芥(chlorambucil)、美法仑(melphalan)、卡莫司汀(carmustine,BC NU)和洛莫司汀(lomustine,CCNU)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、白消安(busulfan)、二溴甘露醇、链脲菌素(streptozotocin)、丝裂霉素C(mitomycin C)和顺-二氯二胺铂(II)(DDP)和顺铂(cisplatin));蒽环霉素(例如,柔红霉素(daunorubicin)(原道诺霉素(daunomycin))和多柔比星(doxorubicin));抗生素(例如,d放线菌素(d actinomycin)(原放线菌素(actinomycin))、博来霉素(bleomycin)、光神霉素(mithramycin)和蒽霉素(anthracycline,AMC));澳瑞他汀(Auristatin)分子(例如,澳瑞他汀PHE、苔藓抑素1(bryostatins 1)和索拉他汀10(solastatin 10);参见Woyke等,Antimicrob.Agents Chemother.46:3802-8(2002),Woyke等,Antimicrob.Agents Chemother.45:3580-4(2001),Mohammad等,Anticancer Drugs 12:735-40(2001),Wall等,Biochem.Biophys.Res.Commun 266:76-80(1999),Mohammad等,Int.J.Oncol.15:367-72(1999),其全部通过引用并入本文);激素(例如,糖皮质激素(glucocorticoid)、孕酮(progestin)、雄激素(androgen)和雌激素(estrogen))、DNA修复酶抑制剂(例如,依托泊苷(etoposide)或拓扑替康(topotecan))、激酶抑制剂(例如,化合物ST1571、甲磺酸伊马替尼(imatinib mesylate)(Kantarjian等,Clin Cancer Res.8(7):2167-76(2002));细胞毒性剂(例如,紫杉醇(paclitaxel)、细胞松弛素B(cytochalasin B)、短杆菌肽D(gramicidin D)、溴化乙锭(ethidium bromide)、依米丁(emetine)、丝裂霉素、依托泊苷(etoposide)、替尼泊苷(teniposide)、长春新碱(vincristine)、长春花碱(vinblastine)、秋水仙素

(colchicin)、阿霉素(doxorubicin)、柔红霉素、二羟基炭疽菌素二酮(dihydroxy anthracin dione)、米托蒽醌(mitoxantrone)、光神霉素、放线菌素D、1-去氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因(procaine)、丁卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、心得安(propranolol)和嘌呤霉素(puromycin)及其类似物或同系物和美国专利第6,245,759、6,399,633、6,383,790、6,335,156、6,271,242、6,242,196、6,218,410、6,218,372、6,057,300、6,034,053、5,985,877、5,958,769、5,925,376、5,922,844、5,911,995、5,872,223、5,863,904、5,840,745、5,728,868、5,648,239、5,587,459号中公开的那些化合物);法呢基转移酶抑制剂(例如,R115777、BMS-214662,和例如美国专利第6,458,935、6,451,812、6,440,974、6,436,960、6,432,959、6,420,387、6,414,145、6,410,541、6,410,539、6,403,581、6,399,615、6,387,905、6,372,747、6,369,034、6,362,188、6,342,765、6,342,487、6,300,501、6,268,363、6,265,422、6,248,756、6,239,140、6,232,338、6,228,865、6,228,856、6,225,322、6,218,406、6,211,193、6,187,786、6,169,096、6,159,984、6,143,766、6,133,303、6,127,366、6,124,465、6,124,295、6,103,723、6,093,737、6,090,948、6,080,870、6,077,853、6,071,935、6,066,738、6,063,930、6,054,466、6,051,582、6,051,574和6,040,305号中公开的那些);拓扑异构酶抑制剂(例如,喜树碱(camptothecin);伊立替康(irinotecan);SN-38;拓扑替康;9-氨基喜树碱;GG-211(GI 147211);DX-8951f;IST-622;鲁比替康(rubitecan);吡唑啉吡啶(pyrazoloacridine);XR-5000;圣托品(saintopin);UCE6;UCE1022;TAN-1518A;TAN 1518B;KT6006;KT6528;ED-110;NB-506;ED-110;NB-506;和蝴蝶霉素(rebeccamycin));博格雷(bulgarein);DNA小沟结合剂如赫斯特(Hoescht)染料33342和赫斯特染料33258;两面针碱(nitidine);花椒宁碱(fagaronine);表小檗碱(epiberberine);柯楠因(coralyne); $\beta$ -拉帕醌(beta-lapachone);BC-4-1;二膦酸盐(例如,阿仑膦酸盐(alendronate)、英卡膦酸盐(cimadronite)、氯屈膦酸盐(clodronate)、替鲁膦酸盐(tiludronate)、依替膦酸盐(etidronate)、伊班膦酸盐(ibandronate)、奈立膦酸盐(neridronate)、奥盘膦酸盐(olpandronate)、利塞膦酸盐(risedronate)、吡膦酸盐(piridronate)、帕米膦酸盐(pamidronate)、唑来膦酸盐(zolendronate)),HMG-CoA还原酶抑制剂(如洛伐他汀(lovastatin)、辛伐他汀(simvastatin)、阿托伐他汀(atorvastatin)、普伐他汀(pravastatin)、氟伐他汀(fluvastatin)、他汀(statin)、西立伐他汀(cerivastatin)、来适可(lescol)、力普妥(lupitor)、罗苏伐他汀(rosuvastatin)和阿托伐他汀);反义寡核苷酸(例如美国专利第6,277,832、5,998,596、5,885,834、5,734,033和5,618,709中公开的那些);腺苷脱氨酶抑制剂(如磷酸氟达拉滨(Fludarabine phosphate)和2-氯脱氧腺苷);替伊莫单抗(ibritumomab tiuxetan, **Zevalin®**);托西莫单抗(tositumomab, **Bexxar®**)及其药学上可接受的盐、溶剂合物、包合物和前药。

[0585] 进一步地,本发明的抗体可偶联或重组融合至改变给定生物反应的治疗部分或药物部分。治疗部分或药物部分不得被解释为限于经典的化疗剂。例如,药物部分可为具有所需生物活性的蛋白质、肽或多肽。此类蛋白质可包括例如,毒素如相思豆毒素(abrin)、蓖麻毒素A(ricin A)、假单胞菌外毒素、霍乱毒素或白喉毒素;蛋白质,如肿瘤坏死因子、 $\gamma$ -干扰素、 $\alpha$ -干扰素、神经生长因子、血小板源性生长因子、组织纤溶酶原激活物、凋亡剂,如TNF- $\gamma$ 、AIM I(参见国际公开号WO 97/33899)、AIM II(参见国际公开号WO 97/34911)、Fas

配体 (Takahashi等,1994,J.Immunol.,6:1567-1574) 和VEGF (参见国际公开号W0 99/23105),抗-血管新生剂,例如血管抑素 (angiostatin)、内皮抑素 (endostatin) 或凝固途径的组分 (例如,组织因子);或生物反应调节剂,例如,淋巴因子 (例如,干扰素 $\gamma$ 、白细胞介素-1 (“IL-1”)、白细胞介素-2 (“IL-2”)、白细胞介素-5 (“IL-5”)、白细胞介素-6 (“IL-6”)、白细胞介素-7 (“IL-7”)、白细胞介素-9 (“IL-9”)、白细胞介素-10 (“IL-10”)、白细胞介素-12 (“IL-12”)、白细胞介素-15 (“IL-15”)、白细胞介素-23 (“IL-23”)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (“GM-CSF”) 和粒细胞集落刺激因子 (“G-CSF”)) 或生长因子 (例如,生长激素 (“GH”)) 或凝固剂 (例如,钙、维生素K、组织因子,例如但不限于哈格曼因子 (Hageman factor) (因子XII)、高分子量激肽原 (HMWK)、前激肽释放酶 (PK)、凝固蛋白因子II (凝血酶原)、因子V、XIIa、VIII、XIIIa、XI、XIa、IX、IXa、X、磷脂和纤维蛋白单体)。

[0586] 本发明涵盖重组融合或化学偶联至异源蛋白或多肽 (或其片段,优选约10个、约20个、约30个、约40个、约50个、约60个、约70个、约80个、约90个或约100个氨基酸的多肽) 以产生融合蛋白的本发明的抗体。具体而言,本发明提供了包含本发明抗体的抗原结合片段 (例如,Fab片段、Fd片段、Fv片段、F(ab)2片段、VH结构域、VH CDR、VL结构域或VL CDR) 和异源蛋白、多肽或肽的融合蛋白。在一个实施方案中,与抗体融合的异源蛋白、多肽或肽对于使抗体靶向特定细胞类型,如表达hOX40L或hOX40L受体的细胞有用。例如,特异性结合由特定细胞类型 (例如,免疫细胞) 表达的细胞表面受体的抗体可融合或偶联至本发明经修饰的抗体。

[0587] 本发明的偶联或融合蛋白包含本文描述的本发明的抗体和异源多肽。在一个实施方案中,本发明的偶联或融合蛋白包含实施例中公开的抗体的可变结构域和异源多肽。

[0588] 另外,本发明的抗体可偶联至治疗部分,如放射性金属离子如 $\alpha$ 发射物 (如 $^{213}\text{Bi}$ ),或者可偶联至用于将放射性金属离子,包括但不限于 $^{131}\text{In}$ 、 $^{131}\text{Lu}$ 、 $^{131}\text{Y}$ 、 $^{131}\text{Ho}$ 、 $^{131}\text{Sm}$ 与多肽偶联的大环螯合剂。在某些实施方案中,大环螯合剂是1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸 (DOTA),其可通过接头分子与抗体连接。此类接头分子是本领域公知的并且在Denardo等,1998,Clin Cancer Res.4(10):2483-90;Peterson等,1999,Bioconjug.Chem.10(4):553-7;和Zimmerman等,1999,Nucl.Med.Biol.26(8):943-50中有描述,其各自通过引用整体并入。

[0589] 而且,本发明的抗体可与标记序列,如利于纯化的肽融合。在优选实施方案中,标记氨基酸序列为六-组氨酸肽,如pQE载体 (QIAGEN,Inc.) 中提供的标签,其中,许多可购买获得。如Gentz等,1989,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:821-824中所述,例如六-组氨酸提供了对融合蛋白的简便纯化。用于纯化的其它肽标签包括但不限于对应于源自流感血凝素蛋白的表位的血凝素 (“HA”) 标签 (Wilson等,1984,Cell 37:767),及“FLAG”标签。

[0590] 使治疗部分 (包括多肽) 融合或偶联至抗体的方法是熟知的,参见例如Arnon等,“Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy”,在Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy中,Reisfeld等 (编),第243-56页 (Alan R.Liss,Inc.1985);Hellstrom等,“Antibodies For Drug Delivery”,在Controlled Drug Delivery (第2版) 中,Robinson等 (编),第623-53页 (Marcel Dekker,Inc.1987);Thorpe,“Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy:A Review”,在Monoclonal Antibodies 84:Biological And Clinical Applications中,Pinchera等

(编),第475-506页(1985);“Analysis,Results,And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy”,在Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy中,Baldwin等(编),第303-16页(Academic Press 1985),Thorpe等,1982,Immunol.Rev.62:119-58;美国专利第5,336,603、5,622,929、5,359,046、5,349,053、5,447,851、5,723,125、5,783,181、5,908,626、5,844,095、和5,112,946;EP 307,434;EP 367,166;EP 394,827号;PCT公开W0 91/06570、W0 96/04388、W0 96/22024、W0 97/34631、和W0 99/04813;Ashkenazi等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,88:10535-10539,1991;Traunecker等,Nature,331:84-86,1988;Zheng等1,J.Immunol.,154:5590-5600,1995;Vil等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:11337-11341,1992,其通过引用整体并入本文。

[0591] 可(例如)通过基因改组、基序改组、外显子改组和/或密码子改组(统称为“DNA改组”)的技术生成融合蛋白。DNA改组可用于改变本发明抗体的活性(例如,抗体具有更高亲和力和更低解离速率)。通常参见美国专利第5,605,793、5,811,238、5,830,721、5,834,252和5,837,458号;Patten等,1997,Curr.Opinion Biotechnol.8:724-33;Harayama,1998,Trends Biotechnol.16(2):76-82;Hansson等,1999,J.Mol.Biol.287:265-76;及Lorenzo和Blasco,1998,Biotechniques 24(2):308-313(这些专利和出版物中的每一个均据此通过引用整体并入)。可在重组之前通过易错PCR、随机核苷酸插入或其它方法进行随机诱变来改变抗体或编码的抗体。编码本发明的抗体的多核苷酸可与一种或多种异源分子的一个或多个组分、基序、区段、部分、结构域、片段等重新组合。

[0592] 如通过引用整体并入本文的美国专利第4,676,980号中所述,本发明的抗体也可偶联至第二抗体以形成抗体异源偶联物。

[0593] 应选择偶联或重组融合至特异性结合h0X40L抗原的本发明抗体的治疗部分或药物以实现所需预防或治疗效果。在某些实施方案中,抗体是经修饰的抗体。临床或其他医务人员在决定哪种治疗部分或药物偶联或重组融合至本发明的抗体时应考虑以下因素:疾病特征、疾病严重程度和受试者的状况。

[0594] 本发明的抗体也可连接到固体支撑体上,这对靶抗原的免疫测定或纯化特别有用。此类固体支撑体包括但不限于玻璃、纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙(nylon)、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

#### [0595] 药物组合物

[0596] 以下关于组合物的讨论也适用于片段,以致提到抗体的公开加以必要的变更也可适用于本发明的片段。

[0597] 可通过将具有所需程度的纯度的抗体与任选生理上可接受的载体、赋形剂或稳定剂(Remington's Pharmaceutical Sciences(1990)Mack Publishing Co.,Easton,Pa.)混合,制备呈冻干制剂或水溶液形式的含本文提供的本发明的一种或多种抗体的治疗制剂供储存。可接受的载体、赋形剂或稳定剂在所用剂量和浓度下对受者无毒性并且包括:缓冲剂,如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六烃季铵;苯扎氯铵、氯化苄乙氧铵;苯酚、丁醇或苄醇;如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯的对羟基苯甲酸烷基酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免

疫球蛋白；亲水性聚合物，如聚乙烯吡咯烷酮；氨基酸，如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸；单糖、二糖和其它碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合剂如EDTA；糖如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；成盐反离子如钠；金属络合物（例如，Zn-蛋白质络合物）；和/或非离子型表面活性剂如TWEEN<sup>TM</sup>、PLURONICS<sup>TM</sup>或聚乙二醇（PEG）。

[0598] 本文提供的本发明的抗体也可以（例如）配制于脂质体中。含目标分子的脂质体通过本领域已知的方法制备，如Epstein等（1985）Proc.Natl.Acad.Sci.USA 82:3688；Hwang等（1980）Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4030；美国专利第4,485,045和4,544,545号中所述。美国专利第5,013,556号中公开了循环时间延长的脂质体。

[0599] 可通过反相蒸发法，用含有磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG衍化磷脂酰乙醇胺（PEG-PE）的脂质组合物生成特别有用的免疫脂质体。挤压脂质体通过规定孔径的过滤器以产生具有所需直径的脂质体。本文提供的抗体的Fab'片段可经由二硫化物交换反应偶联至如Martin等（1982）J.Biol.Chem.257:286-288中所述的脂质体。化疗剂（如多柔比星）任选地含在脂质体内；参见Gabizon等，（1989）J.National Cancer Inst.81(19):1484。

[0600] 制剂，如本文描述的那些，在对于治疗的特定适应症必要时也可含有一种以上的活性化合物。在某些实施方案中，制剂包含本发明的抗体和一种或多种具有互补活性，不会相互带来不利影响的活性化合物。此类分子以对于预期目的有效的量适当地联合存在。例如，本发明的抗体可与一种或多种其它治疗剂联合。此类联合疗法可连续或同时或按顺序向患者施用。

[0601] 在一个实施方案中，所述组合包含本发明的抗OX40L抗体和另一治疗剂，所述另一治疗剂独立地选自雷帕霉素（西罗莫司）、他克莫司、环孢素、皮质类固醇（例如甲基强的松龙）、甲氨蝶呤、吗替麦考酚酯、抗CD28抗体、抗IL12/IL-23抗体（例如优特克单抗）、抗CD20抗体（例如利妥昔单抗）、抗CD30抗体（例如布妥昔单抗）、CTLA4-Fc分子（例如阿巴西普）、CCR5受体拮抗剂（例如马拉维若）、抗CD40L抗体、抗VLA4抗体（例如那他珠单抗）、抗LFA1抗体、氟达拉滨、抗CD52抗体（例如阿仑单抗）、抗CD45抗体、环磷酰胺、抗胸腺细胞球蛋白、抗补体C5抗体（例如依库珠单抗）、抗a4b7整联蛋白抗体（例如维多珠单抗）、抗IL6抗体（例如托珠单抗）、抗IL2R抗体（例如巴利昔单抗）、抗CD25抗体（例如达利珠单抗）、抗TNF $\alpha$ /TNF $\alpha$ -Fc分子（例如依那西普、阿达木单抗、英夫利昔单抗、戈利木单抗或赛妥珠单抗）和伏立诺他。在另一个实施方案中，所述组合包含本发明的抗OX40L抗体和另一治疗剂，所述另一治疗剂独立地选自雷帕霉素（西罗莫司）、他克莫司、环孢素、皮质类固醇（例如甲基强的松龙）、甲氨蝶呤、吗替麦考酚酯、抗CD28抗体、CTLA4-Fc分子（例如阿巴西普）、抗CD40L抗体、抗LFA1抗体、抗CD52抗体（例如阿仑单抗）、环磷酰胺和抗胸腺细胞球蛋白。

[0602] 也可将本发明的抗体包埋在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊（分别例如为羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚（甲基丙烯酸甲酯）微胶囊）中，包埋在胶态药物递送系统（例如脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米粒子和纳米胶囊）中或包埋在粗乳液中。在Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, Pa. 中公开的此类技术。

[0603] 可用于体内施用的制剂可无菌。这易于通过（例如）无菌滤过膜过滤实现。

[0604] 也可制备持续释放制剂。持续释放制剂的合适实例包括含有拮抗剂的固体疏水性聚合物的半透性基质，所述基质呈成形制品（例如薄膜或微胶囊）的形式。持续释放基质的

实例包括聚酯、水凝胶(例如聚(2-羟基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚丙交酯(美国专利第3,773,919号)、L-谷氨酸与L-谷氨酸-乙酯的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物如LUPRON DEPOT™(由乳酸-乙醇酸共聚物和醋酸亮丙瑞林(leuprolide acetate)组成的可注射微球)以及聚-D-(-)-3-羟基丁酸。虽然聚合物如乙烯-乙酸乙烯酯和乳酸-乙醇酸使得分子能够释放100天以上,但是某些水凝胶释放蛋白质的时间期限较短。当封装抗体在体内长时间保持时,其可由于在37℃下暴露于湿气而变性或聚集,导致生物活性的丧失和可能的免疫原性变化。可根据所涉机制设计合理的策略进行稳定化。例如,如果发现聚集机制是通过巯基-二硫化物交换的分子间S—S键形成,则可通过修饰巯基残基,从酸性溶液中冻干,控制水分含量,使用适当的添加剂,并开发特定聚合物基质组合物来实现稳定化。

[0605] 本文提供的药物组合物含治疗有效量的于药学上可接受的载体中的本文提供的本发明的一种或多种抗体,和任选一种或多种附加预防或治疗剂。此类药物组合物在hOX40L介导的疾病,如炎症性肠病、移植排斥、GvHD或其一种或多种症状的预防、治疗、管理或改善中 useful。

[0606] 适于施用本文提供的化合物的药物载体包括本领域技术人员已知适于特定施用模式的任何此类载体。

[0607] 另外,本发明的抗体可作为组合物中唯一的药物活性成分配制或可与其它活性成分(如一种或多种其它预防或治疗剂)组合。

[0608] 所述组合物可含本发明的一种或多种抗体。在一个实施方案中,将抗体配制成供口服施用的合适药物制剂,如溶液、混悬液、片剂、分散片、丸剂、胶囊、粉剂、持续释放制剂或酞剂或配制成供肠胃外施用的无菌溶液或混悬液,以及透皮贴片制剂和干粉吸入剂。在一个实施方案中,使用本领域熟知的技术和程序将上述抗体配制成药物组合物(参见例如Ansel(1985) Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms,第4版,第126页)。

[0609] 在所述组合物中,有效浓度的一种或多种抗体或其衍生物与合适的药物载体混合。组合物中所述化合物的浓度对于在施用后递送治疗、预防或改善hOX40L介导的疾病或其症状的量有效。

[0610] 在一个实施方案中,所述组合物配制用于单剂量施用。为配制组合物,按有效浓度将一定重量分数的化合物溶解、悬浮、分散或以其它方式与所选载体混合,以便缓解、预防受治病状,或改善一种或多种症状。

[0611] 本发明的抗体按足以在对受治患者没有不良副作用时产生治疗上有用的效果的有效量包括在药学上可接受的载体中。可通过使用常规方法在体外和体内系统中试验化合物根据经验测定治疗有效浓度,然后由其推断出用于人的剂量。

[0612] 药物组合物中抗体的浓度将取决于,例如抗体的物理化学特征、用药方案和施用的量以及本领域技术人员已知的其它因素。

[0613] 在一个实施方案中,治疗有效剂量产生约0.1ng/ml至约50-100μg/ml的抗体血清浓度。在另一个实施方案中,药物组合物提供每天约0.001mg至约2000mg抗体/kg体重的剂量。可制备药物剂量单位形式以提供每个剂量单位形式约0.01mg、0.1mg或1mg至约500mg、1000mg或2000mg,并且在一个实施方案中约10mg至约500mg抗体和/或其它任选必需成分的组合。



[0614] 抗体可一次性施用,或者可分成多个较小剂量在不同的时间间隔施用。应理解,精确剂量和治疗持续时间是受治疾病的函数并且可使用已知的试验方案根据经验测定或通过从体内或体外试验数据推断而测定。应当注意,浓度和剂量值还可随要缓解的病状的严重程度而变化。还应当理解,对于任何特定受试者,具体的剂量方案可随着时间根据个体需要以及管理或监督组合物施用的人员的专业判断而调整,并且本文提出的浓度范围仅为示例性并非旨在限制要求保护的组合物的范围或实践。

[0615] 抗体混合或添加后,所得混合物可为溶液、混悬液、乳液等。所得混合物的形式取决于许多因素,包括预期施用模式和化合物在所选载体或媒介物中的溶解度。有效浓度足以改善受治疾病、病症或病状的症状并且可根据经验确定。

[0616] 药物组合物呈单位剂量形式,如片剂、胶囊、丸剂、粉剂、粒剂、无菌肠胃外溶液或混悬液和口服溶液或混悬液,及含有适量化合物或其药学上可接受的衍生物的油-水乳液提供,以向人和动物施用。在一个实施方案中,抗体呈单位剂量形式或多剂量形式配制和施用。如本文中所用的单位剂量形式是指适于人和动物受试者并且如本领域已知的那样单独包装的物理离散单元。每个单位剂量含有预定量的抗体,该预定量的抗体足以与需要的药物载体、媒介物或稀释剂组合产生所需治疗效果。单位剂量形式的实例包括安瓿和注射器及单独包装的片剂或胶囊。单位剂量形式可分多份或多次施用。多剂量形式是包装在单个容器中呈分开的单位剂量形式施用的多个相同单位剂量形式。多剂量形式的实例包括片剂或胶囊的小瓶、瓶或品脱或加仑瓶。因此,多剂量形式是多个在包装上未分开的单位剂量。

[0617] 在优选实施方案中,本发明的一种或多种抗hOX40L抗体呈液体药物制剂。药学上可施用的液体组合物可以例如通过将以上定义的活性化合物和任选的药物辅料在载体,如水、盐水、右旋糖水溶液、甘油、乙二醇、乙醇等等中溶解、分散或以其它方式混合来制备,从而形成溶液或混悬液。如果需要,要施用的药物组合物也可含微量无毒辅助物质如润湿剂、乳化剂、增溶剂、pH缓冲剂等,例如乙酸盐、柠檬酸钠、环糊精衍生物、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、三乙醇胺乙酸钠、油酸三乙醇胺以及其它此类试剂。

[0618] 制备此类剂型的实际方法是本领域技术人员已知的或将是显而易见的;例如参见 Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, Pa.。

[0619] 可以制备含有在0.005%至100%范围内的抗体,余量由无毒载体构成的剂型或组合物。制备这些组合物的方法为本领域技术人员已知。

[0620] 口服药物剂型为固体、凝胶或液体。固体剂型为片剂、胶囊、粒剂和散装粉剂。口服片剂的类型包括压缩、咀嚼糖锭和片剂,其可有肠溶包衣、糖衣或薄膜包衣。胶囊可为硬或软明胶胶囊,而粒剂和粉剂可与本领域技术人员已知的其它成分的组合一起呈非泡腾或泡腾形式提供。

[0621] 在某些实施方案中,所述制剂为固体剂型。在某些实施方案中,所述制剂为胶囊或片剂。片剂、丸剂、胶囊、锭剂等可含以下成分或相似性质的化合物中的一种或多种:粘合剂;润滑剂;稀释剂;助流剂;崩解剂;着色剂;甜味剂;调味剂;润湿剂;催吐包衣;和薄膜包衣。粘合剂的实例包括微晶纤维素、黄蓍胶、葡萄糖溶液、阿拉伯胶浆、明胶溶液、糖蜜、聚乙烯吡咯烷酮、聚烯吡酮、交聚维酮、蔗糖和淀粉糊。润滑剂包括滑石、淀粉、硬脂酸镁或钙、石松子和硬脂酸。稀释剂包括,例如乳糖、蔗糖、淀粉、高岭土、盐、甘露糖醇和磷酸二钙。助流剂包括但不限于胶态二氧化硅。崩解剂包括交联羧甲基纤维素钠、羟基乙酸淀粉钠、海藻

酸、玉米淀粉、马铃薯淀粉、膨润土、甲基纤维素、琼脂和羧甲基纤维素。着色剂包括,例如经批准认证的水溶性FD和C染料中的任一种及其混合物;和悬浮在氧化铝水合物上的水溶性FD和C染料。甜味剂包括蔗糖、乳糖、甘露糖醇和人工甜味剂如糖精和许多喷雾干燥的调味料。调味剂包括从植物如水果中提取的天然调味料和产生快感的化合物的合成掺合物,例如但不限于薄荷和水杨酸甲酯。润湿剂包括单硬脂酸丙二醇酯、山梨糖醇酐单油酸酯、二乙二醇单月桂酸酯和聚氧乙烯月桂酰醚。催吐包衣包括脂肪酸、脂肪、蜡、虫胶、氮化虫胶和邻苯二甲酸乙酸纤维素。薄膜包衣包括羟乙基纤维素、羧甲基纤维素钠、聚乙二醇4000和邻苯二甲酸乙酸纤维素。

[0622] 本发明的抗体可以在保护其免受胃部酸性环境的组合物中提供。例如,将组合物配制在肠溶衣中,肠溶衣保持其在胃部的完整性并且在肠道释放活性化合物。也可以与抗酸剂或其它此类成分组合配制所述组合物。

[0623] 当剂量单位形式为胶囊时,其除了以上类型的材料外还可以包含液体载体,如脂肪油。另外,剂量单位形式可含改变剂量单位的物理形式的各种其它材料,例如糖和其它肠溶剂包衣。所述化合物也可作为酞剂、混悬液、糖浆剂、糯米纸囊剂、喷剂、口香糖等的组分施用。糖浆剂除了活性化合物外还可含作为甜味剂的蔗糖以及某些防腐剂、染料和着色剂及调味料。

[0624] 所述抗体也可与不损害所需作用的其它活性材料或与对所需作用进行补充的其它材料,如抗酸剂、H<sub>2</sub>阻断剂和利尿剂混合。活性成分是如本文所述的抗体或其药学上可接受的衍生物。可包括高达约98重量%的较高浓度的活性成分。

[0625] 在所有实施方案中,片剂和胶囊制剂可如本领域技术人员已知那样涂有包衣以便改变或维持活性成分的溶解。因此,例如,它们可涂有常规的肠可消化包衣,如水杨酸苯酯、蜡和邻苯二甲酸乙酸纤维素。

[0626] 在优选实施方案中,所述制剂为液体剂型。液体剂型包括水溶液、乳液、混悬液、溶液和/或由非泡腾粒剂复水的混悬液和由泡腾粒剂复水的泡腾制剂。水溶液包括,例如酞剂和糖浆剂。乳液为水包油型或油包水型。

[0627] 酞剂为澄清、甜味、水醇制剂。酞剂中使用的药学上可接受的载体包括溶剂。糖浆剂是糖,例如蔗糖的浓缩水溶液,并且可含防腐剂。乳液是双相体系,其中一种液体呈小球体的形式遍布分散于另一种液体中。乳液中使用的药学上可接受的载体为非水液体、乳化剂和防腐剂。混悬液使用药学上可接受的助悬剂和防腐剂。

[0628] 非泡腾粒剂中用于复水成液体口服剂型的药学上可接受的物质包括稀释剂、甜味剂和润湿剂。泡腾粒剂中用于复水成液体口服剂型的药学上可接受的物质包括有机酸和二氧化碳源。着色剂和调味剂用于上述所有剂型中。

[0629] 溶剂包括甘油、山梨糖醇、乙二醇和糖浆。防腐剂的实例包括甘油、对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸、苯甲酸钠和醇。用于乳液中的非水液体的实例包括矿物油和棉籽油。乳化剂的实例包括明胶、阿拉伯胶、黄芪胶、膨润土和表面活性剂如聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯。助悬剂包括羧甲基纤维素钠、果胶、黄芪胶、Veegum和阿拉伯胶。甜味剂包括蔗糖、糖浆、甘油和人工甜味剂如糖精。润湿剂包括单硬脂酸丙二醇酯、山梨糖醇酐单油酸酯、二乙二醇单月桂酸酯和聚氧乙烯月桂酰醚。有机酸包括柠檬酸和酒石酸。二氧化碳源包括碳酸氢钠和碳酸钠。着色剂包括经批准认证的水溶性FD和C染料中的任一种及其

混合物。调味剂包括从植物如水果中提取的天然调味料和产生愉悦口感的化合物的合成掺合物。

[0630] 对于固体剂型而言,在例如碳酸丙烯、植物油或甘油三酯中的溶液或混悬液,在一个实施方案中,被封装在明胶胶囊中。此类溶液及其制备和封装在美国专利第4,328,245、4,409,239和4,410,545号中公开。对于液体剂型而言,例如在聚乙二醇中的溶液可用足量的药学上可接受的液体载体,例如水稀释以易于测量施用。

[0631] 可选地,可通过将活性化合物或盐溶解或分散在植物油、二醇、甘油三酯、丙二醇酯(例如,碳酸丙烯)和其它此类载体中,并且将这些溶液或混悬液封装在硬或软明胶胶囊壳中来制备液体或半固体口服制剂。其它有用的制剂包括美国专利第RE28,819和4,358,603号中提出的那些。简言之,此类制剂包括但不限于含本文提供的化合物、二烷基化单或聚亚烷基二醇(包括但不限于1,2-二甲氧基甲烷、二甘醇二甲醚、三甘醇二甲醚、四甘醇二甲醚、聚乙二醇-350-二甲醚、聚乙二醇-550-二甲醚、聚乙二醇-750-二甲醚)和一种或多种抗氧化剂(如丁羟甲苯(BHT)、丁羟茴醚(BHA)、没食子酸丙酯、维生素E、氢醌、羟基香豆素、乙醇胺、卵磷脂、脑磷脂、抗坏血酸、苹果酸、山梨糖醇、磷酸、硫代二丙酸及其酯和二硫代氨基甲酸酯)的那些,其中350、550和750是指聚乙二醇的大致平均分子量。

[0632] 其它制剂包括但不限于醇水溶液,包括药学上可接受的缩醛。这些制剂中所用的醇是具有一个或多个羟基的任何药学上可接受的水溶性溶剂,包括但不限于丙二醇和乙醇。缩醛包括但不限于低级烷基醛的二(低级烷基)缩醛如乙醛二乙缩醛。

[0633] 在一个实施方案中,本文还考虑到了特征在于皮下、肌肉或静脉注射的肠胃外施用。注射剂可以常规形式制备,如作为液体溶液或悬浮液、注射前适于在液体中的溶液或悬浮液的固体形式或作为乳液。注射剂、溶液和乳液还含一种或多种赋形剂。合适的赋形剂为,例如水、盐水、右旋糖、丙三醇或乙醇。另外,如果需要,要施用的药物组合物也可含微量无毒辅助物质如润湿剂、乳化剂、pH缓冲剂、稳定剂、溶解度增强剂以及其它此类试剂,例如乙酸钠、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、油酸三乙醇胺和环糊精。

[0634] 本文还考虑到了维持恒定剂量水平的缓释或持续释放系统的植入(参见例如美国专利第3,710,795号)。简言之,本文提供的化合物分散在内部固体基质中,例如聚甲基丙烯酸甲酯、聚甲基丙烯酸丁酯、增塑或未增塑聚氯乙烯、增塑尼龙、增塑聚对苯二甲酸乙二醇酯、天然橡胶、聚异戊二烯、聚异丁烯、聚丁二烯、聚乙烯、乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、硅橡胶、聚二甲硅氧烷、碳酸硅共聚物、亲水性聚合物(如丙烯酸和甲基丙烯酸酯的水凝胶)、胶原蛋白、被外部聚合膜(例如,聚乙烯、聚丙烯、乙烯/丙烯共聚物、乙烯/丙烯酸乙酯共聚物、乙烯/乙酸乙烯酯共聚物)包围的交联聚乙烯醇和部分水解的交联聚乙酸乙烯酯、硅橡胶、聚二甲基硅氧烷、氯丁橡胶、氯化聚乙烯、聚氯乙烯、氯乙烯与乙酸乙烯酯、偏二氯乙烯、乙烯和丙烯的共聚物、离聚物聚对苯二甲酸乙二醇酯、丁基橡胶、表氯醇橡胶、乙烯/乙烯醇共聚物、乙烯/乙酸乙烯酯/乙烯醇三元共聚物和不溶于体液的乙烯/乙烯基氧乙醇。在控制释放速率的步骤中抗体通过外部聚合膜扩散。此类肠胃外组合物中所含的抗体的量高度取决于其特异性性质以及化合物的活性和受试者的需要。

[0635] 供肠胃外施用的制剂包括易于注射的无菌溶液,就在使用之前易于和溶剂组合的无菌干燥可溶性产品(如冻干粉,包括皮下注射片),易于注射的无菌混悬液,就在使用之前易于和媒介物组合的无菌干燥不溶性产品和无菌乳液。所述溶液可为水性或非水性。

[0636] 若静脉施用,则合适的载体包括生理盐水或磷酸盐缓冲盐水(PBS)及含有增稠剂和增溶剂,如葡萄糖、聚乙二醇和聚丙二醇的溶液及其混合物。

[0637] 肠胃外制剂中所用的药学上可接受的载体包括水性媒介物、非水性媒介物、抗菌剂、等渗剂、缓冲剂、抗氧化剂、局部麻醉剂、助悬剂和分散剂、乳化剂、掩蔽或螯合剂和其它药学上可接受的物质。

[0638] 水性媒介物的实例包括氯化钠注射剂、林格氏注射剂(Ringers Injection)、等渗右旋糖注射剂、无菌水注射剂、右旋糖和乳酸林格氏注射剂。非水性肠胃外媒介物包括植物来源的不挥发性油、棉籽油、芝麻油和花生油。可向包装在多剂量容器中的肠胃外制剂添加抑菌或抑真菌浓度的抗菌剂,其包括苯酚或甲酚、汞剂、苯甲醇、氯丁醇、对羟基苯甲酸甲酯和丙酯、硫柳汞、苯扎氯铵和氯化苄乙氧铵。等渗剂包括氯化钠和右旋糖。缓冲剂包括磷酸盐和柠檬酸盐。抗氧化剂包括硫酸氢钠。局部麻醉剂包括盐酸普鲁卡因。助悬剂和分散剂包括羧甲基纤维素钠、羟丙基甲基纤维素和聚乙烯吡咯烷酮。乳化剂包括聚山梨醇酯80(吐温®80)。金属离子的掩蔽或螯合剂包括EDTA。药物载体还包括用于水溶性媒介物的乙醇、聚乙二醇和聚丙二醇;和用于pH调节的氢氧化钠、盐酸、柠檬酸或乳酸。

[0639] 调节药物活性化合物的浓度,使得注射剂提供有效量以产生所需药理学效应。如本领域所知,精确剂量取决于患者或动物的年龄、重量和状况。

[0640] 单位剂量肠胃外制剂可包装在安瓿、小瓶或带针头的注射器中。如本领域已知和实践的那样,用于肠胃外施用的所有制剂均可无菌。

[0641] 说明性地,静脉或动脉输注含活性化合物的无菌水溶液是有效的施用模式。另一个实施方案是必要时注射以产生所需药理学效应的含活性物质的无菌水或油溶液或混悬液。

[0642] 设计用于局部和全身施用的注射剂。在一个实施方案中,将治疗有效剂量配制为含有至少约0.1%w/w至约90%w/w或更高,在某些实施方案中超过1%w/w浓度的活性化合物用于受治组织。

[0643] 抗体呈微粉化或其它合适的形式悬浮。所得混合物的形式取决于许多因素,包括预期施用模式和化合物在所选载体或媒介物中的溶解度。有效浓度足以改善所述病状的症状并且可根据经验确定。

[0644] 在其它实施方案中,药物制剂为冻干粉,其可复水为溶液、乳液和其它混合物进行施用。其也可复水和配制为固体或凝胶。

[0645] 通过将本文提供的抗体或其药学上可接受的衍生物溶解在合适的溶剂中来制备冻干粉。在一些实施方案中,冻干粉无菌。溶剂可含提高稳定性的赋形剂或粉剂或由粉剂制备的复水溶液的其它药理学组分。可用的赋形剂包括但不限于右旋糖、山梨糖醇、果糖、玉米糖浆、木糖醇、甘油、葡萄糖、蔗糖或其它合适的试剂。溶剂还可含缓冲剂,如柠檬酸盐、磷酸钠或钾或本领域技术人员已知的其它此类缓冲剂,在一个实施方案中,大约为中性pH。溶液的后续无菌过滤,接着在本领域技术人员已知的标准条件下冻干提供了所选制剂。在一个实施方案中,所得溶液将被分到小瓶中进行冻干。每个小瓶将装有单个剂量或多个剂量的化合物。冻干粉可储存在适当条件下,如在约4℃至室温下。

[0646] 用注射用水对这种冻干粉复水提供了用于肠胃外施用的制剂。为了复水,将冻干粉添加到无菌水或其它合适的载体中。精确的量取决于所选化合物。此量可根据经由确定。

[0647] 如对于局部和全身施用所述,制备外用混合物。所得混合物可为溶液、混悬液、乳液等并且可配制成乳膏、凝胶、软膏、乳液、溶液、酞剂、洗剂、混悬液、酞剂、糊剂、泡沫、气溶胶、冲洗剂、喷雾剂、栓剂、绷带、皮肤贴片或适于表面施用的任何其它制剂。

[0648] 本发明的抗体可配制成用于例如通过吸入表面应用的气溶胶(参见例如美国专利第4,044,126、4,414,209和4,364,923号,其描述了用于递送对治疗炎症性疾病,特别是哮喘有用的类固醇的气溶胶)。用于向呼吸道施用的这些制剂,单独地或与惰性载体如乳糖组合,对于喷雾器而言可以呈气溶胶或溶液形式,或对于吹入而言呈微细粉末。在此类情况下,制剂的颗粒将具有在一个实施方案中小于50微米,在一个实施方案中小于10微米的直径。

[0649] 所述化合物可配制用于局部或表面应用,例如呈凝胶、乳膏和洗剂向(例如)眼部的皮肤和粘膜表面应用和用于向眼部应用或用于脑池内或脊柱内应用。考虑将表面施用用于透皮递送并且也用于向眼部或粘膜施用,或用于吸入疗法。也可施用单独的或与其它药学上可接受的赋形剂组合的活性化合物的鼻用溶液。

[0650] 这些溶液,特别是预期做眼用的那些,可用适当的盐配制为0.01%-10%等渗溶液,pH约5-7。

[0651] 本文还考虑了其它施用途径,如透皮贴片,包括离子电渗和电泳设备,及直肠施用。

[0652] 透皮贴片,包括离子电渗和电泳设备为本领域技术人员熟知。例如,在美国专利第6,267,983、6,261,595、6,256,533、6,167,301、6,024,975、6,010,715、5,985,317、5,983,134、5,948,433和5,860,957中公开了此类贴片。

[0653] 例如,用于直肠施用的药物剂型为全身作用的直肠栓剂、胶囊和片剂。本文中所用的直肠栓剂意指用于插入直肠,在体温下融化或软化,释放一种或多种药理学或治疗活性成分的固体。用于直肠栓剂中的药学上可接受的物质为基质或媒介物和提高熔点的试剂。用于直肠栓剂中的药学上可接受的物质为基质或媒介物和提高熔点的试剂。基质的实例包括可可油(可可豆油)、甘油-明胶、碳蜡(聚乙二醇)和脂肪酸甘油单酯、甘油二酯和甘油三酯的适当混合物。可使用各种基质的组合。提高栓剂熔点的试剂包括鲸蜡和蜡。直肠栓剂可通过压缩法或通过模塑制备。在一个实施方案中,直肠栓剂的重量为约2至3gm。

[0654] 可以使用与用于口服施用的制剂相同的药学上可接受的物质和通过相同方法制备用于直肠施用的片剂和胶囊。

[0655] 本文提供的抗体和其它组合物也可配制为靶向特定组织、受体或待治受试者身体的其它区域。许多此类靶向方法为本领域技术人员熟知。本文考虑了所有此类靶向方法,用于即用型组合物。对于靶向方法的非限制性实例,参见例如美国专利第6,316,652、6,274,552、6,271,359、6,253,872、6,139,865、6,131,570、6,120,751、6,071,495、6,060,082、6,048,736、6,039,975、6,004,534、5,985,307、5,972,366、5,900,252、5,840,674、5,759,542和5,709,874号。在一些实施方案中,本发明的抗hOX40L抗体靶向(或以其它方式施用)到例如患IBD或处于患IBD风险的患者的结肠。在一些实施方案中,本发明的抗hOX40L抗体靶向(或以其它方式施用)到例如患葡萄膜炎或处于葡萄膜炎风险的患者的眼部。

[0656] 在一个实施方案中,脂质体栓剂,包括组织靶向脂质体,如肿瘤靶向脂质体,也可适合作为药学上可接受的载体。这些均可根据本领域技术人员已知的方法而制备。例如,如

美国专利第4,522,811号中所述,制备脂质体制剂。简言之,可通过在烧瓶内部干燥卵磷脂酰胆碱和脑磷脂酰丝氨酸(7:3摩尔比)形成脂质体如多层囊泡(MLV)。添加本文提供的化合物在缺乏二价阳离子的磷酸盐缓冲盐水(PBS)中的溶液并且振荡烧瓶直至脂质膜分散。洗涤所得囊泡以去除未封装的化合物,通过离心粒化,然后重新悬浮在PBS中。

#### [0657] 施用和给药方法

[0658] 本发明还提供了包含本发明的一种或多种抗体或片段的用于hOX40L介导的疾病(或其症状)的预防、管理、治疗和/或改善的组合物。关于抗体的讨论加以必要的变更也适用于本发明的片段。在一个替代方案中,本发明还提供了包含本发明的一种或多种抗体或片段的用于受试者中OX40L介导的疾病(或其症状)的预防、管理、治疗和/或改善的组合物,其中OX40L为非人(例如,犬、猫、马、牛、绵羊或猪)并且所述受试者分别为狗、猫、马、牛、绵羊或猪。

[0659] 在某些实施方案中,本文提供了包含本发明的一种或多种抗体的用于hOX40L介导的疾病如IBD(例如,溃疡性结肠炎或克罗恩氏病)或其症状的预防、管理、治疗和/或改善的组合物。IBD症状范围可从轻度到重度并且通常取决于所涉肠道的部分。IBD的示例性症状包括腹部痉挛和疼痛、出血性腹泻、严重的排便紧迫性、发烧、食欲不振、重量减轻、贫血、疲劳和/或下肢、脚踝、小腿、大腿和手臂生疮。IBD的示例性肠道并发症包括由溃疡引起的大量出血、肠穿孔或破裂、狭窄和梗阻、瘘管(异常通道)和肛周疾病、中毒性巨结肠(例如,结肠急性肺梗阻性扩张)和/或恶性肿瘤(例如,结肠或小肠癌症)。IBD的示例性肠外并发症包括关节炎、皮肤病、眼部炎症、肝脏和肾脏病症和/或骨质流失。这些症状的任何组合均可使用本文提供的组合物和方法预防、管理、治疗和/或改善。

[0660] 在某些实施方案中,本文提供了包含本发明的一种或多种抗体的用于hOX40L介导的疾病如GVHD或其症状的预防、管理、治疗和/或改善的组合物。GVHD通常在同种异体或匹配的无关骨髓移植(BMT)之后发生。

[0661] 在一些实施方案中,GVHD为急性GVHD。GVHD的症状可以迅速发生并且可为轻度或重度。在某些情况下,急性GVHD在移植后约3个月内发生,例如在移植后血细胞计数恢复时。在某些情况下,急性GVHD影响皮肤、胃肠(GI)道和/或肝脏。例如,在一些患者中,急性皮肤GVHD以例如,患者手掌、脚底或肩部的皮疹开始。然而,皮疹可以变得广泛,并且可使人发痒和疼痛和/或可能起泡和脱皮。急性肝脏GVHD可影响肝脏的正常功能,如肝酶,并且又可引起黄疸。如果肝脏变大,则急性肝脏GVHD也可引起患者腹部变得肿胀和疼痛。最后,急性肠GVHD(或消化系统的GVHD)的症状可包括腹泻、粪便中有粘液或血、痉挛或腹痛、不消化、恶心和/或食欲不振。急性GVHD的其它全身症状可包括贫血、低烧和/或更易感染。急性GVHD的这些症状的任何组合均可使用本文提供的组合物和方法预防、管理、治疗和/或改善。

[0662] 在其它实施方案中,GVHD为慢性GVHD。慢性GVHD可在移植后约3个月至约1年或更长时间发生。慢性GVHD可为轻度或重度,并且通常包括与急性GVHD症状相似的症状。慢性GVHD可影响皮肤和消化系统,包括肝脏,但是也可涉及其它器官和免疫系统(例如,使患者更易感染)和/或结缔组织。慢性皮肤GVHD的症状包括皮疹、皮肤干燥、皮肤紧绷、皮肤瘙痒、肤色变暗、皮肤增厚,和/或可影响毛发(例如,脱发、变成灰白)或指甲(例如,指甲硬或脆)。慢性肠GVHD可影响消化系统、口腔、食道、胃部衬里和/或肠衬里,并且症状可包括腹泻、口干或口疮、吞咽疼痛、胃部营养吸收率低、胃气胀、胃痉挛。慢性肝脏GVHD可引起肝脏的损伤

和瘢痕形成(硬化)。眼部的慢性GVHD可影响产泪腺体,使眼部变得干燥、灼烧和疼痛或难以忍受强光。慢性肺部GVHD可引起呼吸短促、喘息、久咳和/或更易胸部感染。慢性GVHD可影响连接肌肉与骨骼的肌腱(例如,炎症),致使难以伸直或弯曲您的手臂和腿部。慢性GVHD的这些症状的任何组合可使用本文提供的组合物和方法预防、管理、治疗和/或改善。

[0663] 在某些实施方案中,本文提供了包含本发明的一种或多种抗体的用于hOX40L介导的疾病如葡萄膜炎或其症状的预防、管理、治疗和/或改善的组合物。

[0664] 在某些实施方案中,本文提供了包含本发明的一种或多种抗体的用于hOX40L介导的疾病如坏疽性脓皮症、巨细胞动脉炎、施尼茨勒综合征或非感染性巩膜炎的预防、管理、治疗和/或改善的组合物。

[0665] 在某些实施方案中,本文提供了包含本发明的一种或多种抗体的组合物,其用于预防、管理、治疗和/或改善选自自身免疫性疾病或病状、全身炎症性疾病或病状或移植排斥的hOX40L介导的疾病或病状;例如炎症性肠病(IBD)、克罗恩氏病、类风湿性关节炎、移植排斥、同种异体移植排斥、移植抗宿主疾病(GvHD)、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮(SLE)、糖尿病、葡萄膜炎、强直性脊柱炎、接触性超敏反应、多发性硬化和动脉粥样硬化,尤其是GvHD。

[0666] 在一个具体实施方案中,用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善的组合物包含本发明抗体,例如实施例公开的抗体的OX40L结合位点。

[0667] 在另一个实施方案中,用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善的组合物包含一种或多种抗体,所述抗体包含一个或多个具有有序列表(即Seq ID No:2、Seq ID No:34、Seq ID No:66或Seq ID No:94,尤其是Seq ID No:34)中任一VH结构域的氨基酸序列的VH结构域。在另一个实施方案中,用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善的组合物包含一种或多种抗体,所述抗体包含一个或多个具有有序列表(即Seq ID No:4、Seq ID No:10、Seq ID No:36、Seq ID No:42、Seq ID No:68、Seq ID No:74、Seq ID No:96或Seq ID No:102,尤其是Seq ID No:36或Seq ID No:42)中任一VH CDR1的氨基酸序列的VH CDR1。在另一个实施方案中,用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善的组合物包含一种或多种抗体,所述抗体包含一个或多个具有有序列表(即Seq ID No:6、Seq ID No:12、Seq ID No:38、Seq ID No:44、Seq ID No:70、Seq ID No:76、Seq ID No:98或Seq ID No:104,尤其是Seq ID No:38或Seq ID No:44)中任一VH CDR2的氨基酸序列的VH CDR2。在一个优选的实施方案中,用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善的组合物包含一种或多种抗体,所述抗体包含一个或多个具有有序列表(即Seq ID No:8、Seq ID No:14、Seq ID No:40、Seq ID No:46、Seq ID No:72、Seq ID No:78、Seq ID No:100或Seq ID No:106,尤其是Seq ID No:40或Seq ID No:46)中任一VH CDR3的氨基酸序列的VH CDR3。

[0668] 在另一个实施方案中,用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善的组合物包含一种或多种抗体,所述抗体包含一个或多个具有有序列表(即Seq ID No:16、Seq ID No:48、Seq ID No:80或Seq ID No:108,尤其是Seq ID No:48)中任一VL结构域的氨基酸序列的VL结构域,(任选地还包含有序列表(即Seq ID No:2/16、Seq ID No:34/48、Seq ID No:66/80或Seq ID No:94/108,尤其是Seq ID No:34/48)中列出的同源VH结构域。在另一个实施方案中,用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善的组合物包含一种或多种抗体,所述抗体包含一个或多个具有有序列表(即Seq ID No:18、Seq ID No:24、Seq ID No:



50、Seq ID No:56、Seq ID No:82、Seq ID No:88、Seq ID No:110或Seq ID No:116,尤其是Seq ID No:50或Seq ID No:56)中任一VL CDR1的氨基酸序列的VL CDR1。在另一个实施方案中,用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善的组合物包含一种或多种抗体,所述抗体包含一个或多个具有序列列表(即Seq ID No:20、Seq ID No:26、Seq ID No:52、Seq ID No:58、Seq ID No:84、Seq ID No:90、Seq ID No:112或Seq ID No:118,尤其是Seq ID No:52或Seq ID No:58)中任一VL CDR2的氨基酸序列的VL CDR2。在一个优选的实施方案中,用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善的组合物包含一种或多种抗体,所述抗体包含一个或多个具有序列列表(即Seq ID No:22、Seq ID No:28、Seq ID No:54、Seq ID No:60、Seq ID No:86、Seq ID No:92、Seq ID No:114或Seq ID No:120,尤其是Seq ID No:54或Seq ID No:60)中任一VL CDR3的氨基酸序列的VL CDR3。

[0669] 在另一个实施方案中,用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善的组合物包含一种或多种抗体,所述抗体包含一个或多个具有序列列表(即Seq ID No:2、Seq ID No:34、Seq ID No:66或Seq ID No:94,尤其是Seq ID No:34)中任一VH结构域的氨基酸序列的VH结构域,和一个或多个具有序列列表(即Seq ID No:16、Seq ID No:48、Seq ID No:80或Seq ID No:108,尤其是Seq ID No:48)中任一VL结构域的氨基酸序列的VL结构域。

[0670] 在另一个实施方案中,用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善的组合物包含一种或多种抗体,所述抗体包含一个或多个具有序列列表(即Seq ID No:4、Seq ID No:10、Seq ID No:36、Seq ID No:42、Seq ID No:68、Seq ID No:74、Seq ID No:96或Seq ID No:102,尤其是Seq ID No:36或Seq ID No:42)中任一VH CDR1的氨基酸序列的VH CDR1,和一个或多个具有序列列表(即Seq ID No:18、Seq ID No:24、Seq ID No:50、Seq ID No:56、Seq ID No:82、Seq ID No:88、Seq ID No:110或Seq ID No:116,尤其是Seq ID No:50或Seq ID No:56)中任一VL CDR1的氨基酸序列的VL CDR1。在另一个实施方案中,用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善的组合物包含一种或多种抗体,所述抗体包含一个或多个具有序列列表(即Seq ID No:4、Seq ID No:10、Seq ID No:36、Seq ID No:42、Seq ID No:68、Seq ID No:74、Seq ID No:96或Seq ID No:102,尤其是Seq ID No:36或Seq ID No:42)中任一VH CDR1的氨基酸序列的VH CDR1,和一个或多个具有序列列表(即Seq ID No:20、Seq ID No:26、Seq ID No:52、Seq ID No:58、Seq ID No:84、Seq ID No:90、Seq ID No:112或Seq ID No:118,尤其是Seq ID No:52或Seq ID No:58)中任一VL CDR2的氨基酸序列的VL CDR2。在另一个实施方案中,用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善的组合物包含一种或多种抗体,所述抗体包含一个或多个具有序列列表(即Seq ID No:4、Seq ID No:10、Seq ID No:36、Seq ID No:42、Seq ID No:68、Seq ID No:74、Seq ID No:96或Seq ID No:102,尤其是Seq ID No:36或Seq ID No:42)中任一VH CDR1的氨基酸序列的VH CDR1,和一个或多个具有序列列表(即Seq ID No:22、Seq ID No:28、Seq ID No:54、Seq ID No:60、Seq ID No:86、Seq ID No:92、Seq ID No:114或Seq ID No:120,尤其是Seq ID No:54或Seq ID No:60)中任一VL CDR3的氨基酸序列的VL CDR3。

[0671] 如本文别处更详细地讨论,本发明的组合物可单独使用或与其它化合物或组合物联合使用。而且,所述抗体还可重组融合至异源多肽的N-或C-末端,或化学偶联(包括共价和非共价偶联)至多肽或其它组合物。例如,本发明的抗体可重组融合或偶联至在检测测定法中用作标记的分子,和效应分子如异源多肽、药物、放射性核苷酸或毒素。参见例如PCT公



开WO 92/08495、WO 91/14438、WO 89/12624、美国专利第5,314,995号和EP 396,387。

[0672] 在一些实施方案中,本文提供了降低或抑制受试者(例如,人受试者)中hOX40L与OX40L受体或同源配体(例如,OX40)的结合的方法,其包括向受试者施用有效量的特异性结合hOX40L多肽(例如,细胞表面表达的或可溶性hOX40L)的抗体。在一些实施方案中,受试者中的hOX40L生物活性,如CCL20、IL8和/或RANTES或INF- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 或IL-2,尤其是INF- $\gamma$ 或本文公开的另一细胞因子的分泌也被降低,例如降低至少10、20、30、40、50或60%或70%或80%或90%或95%或>95%。

[0673] 在某些实施方案中,本文提供了降低或抑制受试者(例如,人受试者)中的hOX40L生物活性,如干扰素 $\gamma$ 、IL-2、CCL20、IL8和/或RANTES或其它细胞因子,或INF- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 或IL-2,尤其是INF- $\gamma$ 的分泌的方法,其包括向受试者施用有效量的特异性结合hOX40L多肽(例如,细胞表面表达的hOX40L)的抗体,其中hOX40L生物活性被所述抗体降低。

[0674] 在其它实施方案中,本文提供了降低或抑制具有细胞表面表达的hOX40L的细胞中hOX40L与OX40L受体或同源配体(例如OX40)的结合的方法,其包括使细胞接触有效量的特异性结合hOX40L多肽(例如,细胞表面表达的或可溶性hOX40L),如hOX40L多肽、hOX40L多肽片段或hOX40L表位的抗体。在一些实施方案中,细胞中的hOX40L生物活性,如干扰素 $\gamma$ 、IL-2、CCL20、IL8和/或RANTES或INF- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 或IL-2,尤其是INF- $\gamma$ 或本文公开的其它细胞因子的分泌也被降低。

[0675] 在某些实施方案中,本文提供了降低或抑制具有细胞表面表达的hOX40L受体(例如,OX40)的细胞中的hOX40L生物活性,如干扰素 $\gamma$ 、IL-2、CCL20、IL8和/或RANTES或本文公开的其它细胞因子的分泌的方法,其包括使细胞接触有效量的特异性结合hOX40L多肽(例如,细胞表面表达的或可溶性hOX40L)的抗体,其中hOX40L生物活性被所述抗体降低。

[0676] 在体外和体内诊断和治疗方法中,本发明的抗体可用于,例如纯化、检测和靶向hOX40L抗原。例如,经修饰的抗体在免疫测定中具有定性和定量测定生物样品中的hOX40L水平的用途。参见例如Harlow等Antibodies:A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press,第2版,1988)(通过引用整体并入本文)。

[0677] 本发明还提供了通过向受试者施用有效量的抗体或包含本发明抗体的药物组合物来预防、管理、治疗和/或改善hOX40L介导的疾病的方法。一方面,抗体基本上纯化(即,基本上不含限制其效果或产生不良副作用的物质)。在优选实施方案中,抗体为全人单克隆抗体,如全人单克隆拮抗性抗体。施用疗法的受试者优选为哺乳动物如非灵长类动物(例如,牛、猪、马、猫、狗、啮齿动物、小鼠或大鼠)或灵长类动物(例如,猴子如恒河猴或食蟹猴或人)。在一个优选实施方案中,受试者为人。在另一个实施方案中,受试者为人婴幼儿或早产人婴幼儿。在另一个实施方案中,受试者为患有hOX40L介导的疾病的人。

[0678] 各种递送系统已知并且可用于施用预防或治疗剂(例如,本发明的抗体),包括但不限于封装在脂质体、微粒、微胶囊、能够表达抗体的重组细胞中,受体介导的胞吞作用(参见例如Wu和Wu, J. Biol. Chem. 262:4429-4432 (1987)),构建作为逆转录病毒或其他载体的一部分的核酸等。施用预防或治疗剂(例如,本发明的抗体)或药物组合物的方法包括但不限于肠胃外施用(例如,皮内、肌肉内、腹腔内、静脉和皮下)、硬膜外和粘膜施用(例如,鼻内和口腔途径)。在一个具体实施方案中,经鼻内、肌肉内、静脉或皮下施用预防或治疗剂(例如,本发明的抗体)或药物组合物。预防或治疗剂或组合物可通过任何常规途径,例如通过

输注或快速浓注,通过上皮或粘膜衬里(例如,口腔黏膜、鼻内粘膜、直肠和肠粘膜等)施用并且可与其他生物活性剂一起施用。施用可以是全身性的或局部的。另外,也可采用肺部施用,例如通过使用吸入器或喷雾器并且用雾化剂配制。参见例如美国专利第6,019,968、5,985,320、5,985,309、5,934,272、5,874,064、5,855,913、5,290,540和4,880,078号;和PCT公开号W0 92/19244、W0 97/32572、W0 97/44013、W0 98/31346和W0 99/66903,其各自通过引用整体并入本文。

[0679] 在一个具体实施方案中,可期望向需要治疗的区域局部施用预防或治疗剂,或本发明的药物组合物。这可通过,例如但不以限制的方式,局部输注、表面施用(例如,通过鼻腔喷雾)、注射或借助于植入物来实现,所述植入物可为多孔、无孔或明胶材料,包括膜,如硅橡胶膜或纤维。优选地,当施用本发明的抗体时,必须小心使用不吸收抗体的材料。

[0680] 在另一个实施方案中,预防或治疗剂或本发明的组合物可以在囊泡,尤其是脂质体中递送(参见Langer,1990,Science 249:1527-1533;Treat等,在Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer中,Lopez-Berestein和Fidler(编),Liss, New York,第353-365页(1989);Lopez-Berestein,同上,第317-327页;通常参见出处同上)。

[0681] 在另一个实施方案中,预防或治疗剂或本发明的组合物可以在控释或持续释放系统中递送。在一个实施方案中,在一个实施方案中,可用泵实现控释或持续释放(参见Langer,上述;Sefton,1987,CRC Crit.Ref.Biomed.Eng.14:20;Buchwald等,1980,Surgery 88:507;Saudek等,1989,N.Engl.J.Med.321:574)。在另一个实施方案中,可用聚合材料实现预防或治疗剂(例如,本发明的抗体)或本发明的组合物的控释或持续释放(参见例如Medical Applications of Controlled Release,Langer和Wise(编),CRC Pres.,Boca Raton,Fla.(1974);Controlled Drug Bioavailability,Drug Product Design and Performance,Smolen和Ball(编),Wiley,New York(1984);Ranger和Peppas,1983,J.Macromol.Sci.Rev.Macromol.Chem.23:61;还参见Levy等,1985,Science 228:190;During等,1989,Ann.Neurol.25:351;Howard等,1989,J.Neurosurg.71:105);美国专利第5,679,377号;美国专利第5,916,597号;美国专利第5,912,015号;美国专利第5,989,463号;美国专利第5,128,326;PCT公开号W0 99/15154;和PCT公开号W0 99/20253。持续释放制剂中所用的聚合物的实例包括但不限于聚(2-甲基丙烯酸羟乙酯)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸)、聚(乙烯-共-乙酸乙烯酯)、聚(甲基丙烯酸)、聚乙交酯(PLG)、聚酸酐、就(N-乙基吡咯烷酮)、聚(乙烯醇)、聚丙烯酰胺、聚(乙二醇)、聚丙交酯(PLA)、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLGA)和聚原酸酯。在一个优选实施方案中,持续释放制剂中所用的聚合物为惰性,不含可浸出杂质,储存稳定,无菌且生物可降解。再一个实施方案中,控释或持续释放系统可置于治疗靶标,即鼻通道或肺部附近,从而仅需全身剂量的一部分(参见例如Goodson,在Medical Applications of Controlled Release中,上述第2卷,第115-138页(1984))。Langer(1990,Science 249:1527-1533)综述讨论了控释系统。本领域技术人员已知的任何技术均可用于制备包含本发明的一种或多种抗体的持续释放制剂。参见例如,美国专利第4,526,938号、PCT公开W0 91/05548、PCT公开W0 96/20698,Ning等,1996,“Intratumoral Radioimmunotherapy of a Human Colon Cancer Xenograft Using a Sustained-Release Gel,”Radiotherapy&Oncology 39:179-189,Song等,1995,“Antibody Mediated

Lung Targeting of Long-Circulating Emulsions,”PDA Journal of Pharmaceutical Science&Technology 50:372-397,Cleek等,1997,“Biodegradable Polymeric Carriers for a bFGF Antibody for Cardiovascular Application,”Pro.Int’l.Symp.Control.R el.Bioact.Mater.24:853-854,及Lam等,1997,“Microencapsulation of Recombinant Humanized Monoclonal Antibody for Local Delivery,”Proc.Int’l.Symp.Control Rel.Bioact.Mater.24:759-760,其各自通过引用整体并入本文。

[0682] 在一个具体实施方案中,当本发明的组合物是编码预防或治疗剂(例如,本发明的抗体)的核酸时,可例如通过使用逆转录病毒载体(参见美国专利第4,980,286号)将其构建为适当核酸表达载体的一部分并施用使其变成细胞内的,或通过直接注射,或通过使用微粒轰击(例如,基因枪;Biolistic,Dupont)或涂上脂质或细胞表面受体或转染剂,或通过将其与已知会进入细胞核的同源框样肽(homeobox-like peptide)连接在一起施用(参见例如Joliot等,1991,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:1864-1868)等,在体内施用所述核酸以促进其编码的预防或治疗剂的表达。可选地,可在细胞内引入核酸并且通过同源重组并入宿主细胞DNA中进行表达。

[0683] 在一个具体实施方案中,本发明的组合物包含本发明的一种、两种或更多种抗体或片段。在另一个实施方案中,本发明的组合物包含本发明的一种、两种或更多种抗体或片段和除本发明抗体以外的预防或治疗剂。优选地,已知所述试剂用于或已经或目前用于hOX40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或改善。除预防或治疗剂外,本发明的组合物还包含载体。

[0684] 本发明的组合物包括用于制备可用于制备单位剂量形式的药物组合物(例如,适于向受试者或患者施用的组合物)的散装药物组合物。在一个优选实施方案中,本发明的组合物为药物组合物。此类组合物包含预防或治疗有效量的一种或多种预防或治疗剂(例如,本发明的抗体或其他预防或治疗剂)和药学上可接受的载体。优选地,将药物组合物配制为适于向受试者施用的途径。

[0685] 在一个具体实施方案中,术语“载体”是指与治疗剂一起施用的稀释剂、佐剂(例如,弗氏佐剂(Freund’s adjuvant)(完全和不完全)、赋形剂或媒介物。此类药物载体可为无菌液体,如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的油,如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。当静脉施用药物组合物时,水为优选载体。也可采用盐水溶液及右旋糖和甘油水溶液作为液体载体,特别是对于注射液而言。合适的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、稻米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂乳粉、甘油、丙烯、二醇、水、乙醇等。若需要,所述组合物也可含少量润湿或乳化剂或pH缓冲剂。这些组合物可以呈溶液、混悬液、乳液、片剂、丸剂、胶囊、粉剂、持续释放制剂等形式。口服制剂可包括标准载体如制药级甘露糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。合适的药物载体的实例在Remington’s Pharmaceutical Sciences(1990)Mack Publishing Co.,Easton,Pa.中有描述。此类组合物将含有预防或治疗有效量的优选呈纯化形式的抗体,连同适量的载体,以便提供用于向患者恰当施用的形式。制剂应适合施用模式。

[0686] 在一个优选实施方案中,根据如同适于向人静脉施用的药物组合物的常规程序配制组合物。通常,用于静脉施用的组合物是在无菌等渗水性缓冲剂中的溶液。必要时,组合

物也可包括增溶剂和局部麻醉剂如利诺卡因(lignocaine)以减轻注射部位的疼痛。然而,此类组合物可通过除静脉以外的途径施用。

[0687] 通常,本发明组合物的成分单独提供或呈单位剂量形式混在一起,例如在指出活性剂的量的密闭容器如安瓿或小袋呈冻干粉剂或无水浓缩物。要通过输注施用组合物时,可用装有制药级无菌水或盐水的输液瓶将其分散。通过注射施用组合物时,可以提供一安瓿的无菌注射用水或盐水,以便可在施用之前将成分混合。

[0688] 本发明还规定,将本发明的抗体包装在指出抗体的量的密闭容器如安瓿或小袋中。在一个实施方案中,抗体作为干燥灭菌冻干粉或无水浓缩物在密闭容器中提供并且可(例如)用水或盐水复水至适当浓度,向受试者施用。优选地,抗体作为干燥无菌冻干粉在密闭容器中以至少0.1mg、至少0.5mg、至少1mg、至少2mg或至少3mg,并且更优选至少5mg、至少10mg、至少15mg、至少25mg、至少30mg、至少35mg、至少45mg、至少50mg、至少60mg、至少75mg、至少80mg、至少85mg、至少90mg、至少95mg或至少100mg的单位剂量提供。冻干抗体可在2至8℃之间储存在其原始容器中并且抗体可以在复水后12小时内,优选6小时内、5小时内、3小时内或1小时内施用。在一个替代实施方案中,抗体呈液体形式在指出抗体的量和浓度的密闭容器中提供。优选地,在密闭容器中提供液体形式的抗体,至少0.1mg/ml、至少0.5mg/ml或至少1mg/ml,并且更优选至少5mg/ml、至少10mg/ml、至少15mg/ml、至少25mg/ml、至少30mg/ml、至少40mg/ml、至少50mg/ml、至少60mg/ml、至少70mg/ml、至少80mg/ml、至少90mg/ml或至少100mg/ml。

[0689] 本发明的组合物可配制成中性或盐形式。药学上可接受的盐包括与诸如源自盐酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等的阴离子形成的盐,和与诸如源自钠、钾、铵、钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-乙基氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因等的阳离子形成的盐。

[0690] 可通过标准临床技术测定在h0X40L介导的疾病的预防、管理、治疗和/或缓解中将有效的治疗剂(例如,本发明的抗体)或本发明的组合物的量。

[0691] 因此,可向患者施用产生约0.1μg/ml至约450μg/ml,和在一些实施方案中至少0.1μg/ml、至少0.2μg/ml、至少0.4μg/ml、至少0.5μg/ml、至少0.6μg/ml、至少0.8μg/ml、至少1μg/ml、至少1.5μg/ml,并且更优选地至少2μg/ml、至少5μg/ml、至少10μg/ml、至少15μg/ml、至少20μg/ml、至少25μg/ml、至少30μg/ml、至少35μg/ml、至少40μg/ml、至少50μg/ml、至少75μg/ml、至少100μg/ml、至少125μg/ml、至少150μg/ml、至少200μg/ml、至少250μg/ml、至少300μg/ml、至少350μg/ml、至少400μg/ml或至少450μg/ml的血清滴度的剂量的抗体或组合物以预防、管理、治疗和/或缓解h0X40L介导的疾病。另外,可任选地采用体内测定来帮助鉴定最佳剂量范围。制剂中采用的精确剂量还将取决于施用途径和h0X40L介导的疾病严重性,并且应根据医师的判断和每位患者的情形决定。

[0692] 可由从体外或动物模型试验系统得到的剂量-反应曲线推断有效剂量。

[0693] 对于本发明的抗体而言,向患者施用的剂量通常为0.1mg/kg至100mg/kg患者体重。在一些实施方案中,向患者施用的剂量为约1mg/kg至75mg/kg患者体重。优选地,向患者施用的剂量介于1mg/kg至20mg/kg患者体重之间,更优选地为1mg/kg至5mg/kg患者体重。通常,由于对外源多肽的免疫反应,人抗体在人体内比来自其他物种的抗体具有更长的半衰期。因此,更低剂量的人抗体和不太频繁的施用往往是可能的。进一步地,可通过修饰例如脂化,增强抗体的吸收和组织穿透性来降低本发明抗体施用的剂量和频率。

[0694] 在一个实施方案中,施用大约100mg/kg或更少、大约75mg/kg或更少、大约50mg/kg或更少、大约25mg/kg或更少、大约10mg/kg或更少、大约5mg/kg或更少、大约1mg/kg或更少、大约0.5mg/kg或更少或大约0.1mg/kg或更少的本发明的抗体或片段5次、4次、3次、2次或,优选地1次以管理h0X40L介导的疾病。在一些实施方案中,施用本发明的抗体约1-12次,其中由医师确定,必要时该剂量可(例如)每周、每两周、每月、每两个月、每三个月施用一次等等。在一些实施方案中,可以更频繁地(例如,3-6次)施用较低剂量(例如,1-15mg/kg)。在其他实施方案中,可以不那么频繁地(例如,1-3次)施用较高剂量(例如,25-100mg/kg)。然而,正如本领域人员将显而易见的那样,其他给药量和方案易于测定并且在本发明的范围之内。

[0695] 在一个具体实施方案中,向受试者,优选向人施用大约100mg/kg、大约75mg/kg或更少、大约50mg/kg或更少、大约25mg/kg或更少、大约10mg/kg或更少、大约5mg/kg或更少、大约1mg/kg或更少、大约0.5mg/kg或更少、大约0.1mg/kg或更少的呈持续释放制剂的本发明的抗体或片段,以预防、管理、治疗和/或改善h0X40L介导的疾病。在另一个具体实施方案中,向受试者,优选向人施用大约100mg/kg、大约75mg/kg或更少、大约50mg/kg或更少、大约25mg/kg或更少、大约10mg/kg或更少、大约5mg/kg或更少、大约1mg/kg或更少、大约0.5mg/kg或更少或大约0.1mg/kg或更少的不呈持续释放制剂的本发明的抗体药丸,以预防、管理、治疗和/或改善h0X40L介导的疾病,并且在一定时间段后,向所述受试者(例如,经鼻或肌肉内)施用大约100mg/kg、大约75mg/kg或更少、大约50mg/kg或更少、大约25mg/kg或更少、大约10mg/kg或更少、大约5mg/kg或更少、大约1mg/kg或更少、大约0.5mg/kg或更少或大约5mg/kg或更少的本发明的抗体2、3或4次(优选一次)。根据本实施方案,一定时间段可为1至5天、一周、两周或一个月。

[0696] 在一些实施方案中,在一年期内以两周一次(例如,约14天)的间隔向患者施用单剂量的本发明的抗体或片段2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25或26次,以预防、管理、治疗和/或改善h0X40L介导的疾病,其中所述剂量选自约0.1mg/kg、约0.5mg/kg、约1mg/kg、约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg、约50mg/kg、约55mg/kg、约60mg/kg、约65mg/kg、约70mg/kg、约75mg/kg、约80mg/kg、约85mg/kg、约90mg/kg、约95mg/kg、约100mg/kg或其组合(即,每个剂量月剂量可能相同或可能不同)。

[0697] 在另一个实施方案中,在一年期内以约每月一次(例如,约30天)的间隔向患者施用单剂量的本发明的抗体2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12次,以预防、管理、治疗和/或改善h0X40L介导的疾病,其中所述剂量选自约0.1mg/kg、约0.5mg/kg、约1mg/kg、约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg、约50mg/kg、约55mg/kg、约60mg/kg、约65mg/kg、约70mg/kg、约75mg/kg、约80mg/kg、约85mg/kg、约90mg/kg、约95mg/kg、约100mg/kg或其组合(即,每个剂量月剂量可能相同或可能不同)。

[0698] 在一个实施方案中,在一年期内以约每两月一次(例如,约60天)的间隔向患者施用单剂量的本发明的抗体或片段2、3、4、5或6次,以预防、管理、治疗和/或改善h0X40L介导的疾病,其中所述剂量选自约0.1mg/kg、约0.5mg/kg、约1mg/kg、约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg、约50mg/kg

kg、约55mg/kg、约60mg/kg、约65mg/kg、约70mg/kg、约75mg/kg、约80mg/kg、约85mg/kg、约90mg/kg、约95mg/kg、约100mg/kg或其组合(即,每个两月一次剂量可能相同或可能不同)。

[0699] 在一些实施方案中,在一年期内以约每三月一次(例如,约120天)的间隔向患者施用单剂量的本发明的抗体或片段2、3或4次,以预防、管理、治疗和/或改善hOX40L介导的疾病,其中所述剂量选自约0.1mg/kg、约0.5mg/kg、约1mg/kg、约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg、约50mg/kg、约55mg/kg、约60mg/kg、约65mg/kg、约70mg/kg、约75mg/kg、约80mg/kg、约85mg/kg、约90mg/kg、约95mg/kg、约100mg/kg或其组合(即,每个三月一次剂量可能相同或可能不同)。

[0700] 在某些实施方案中,向患者施用一定剂量的本发明的抗体或片段的途径为鼻内、肌肉内、静脉或其组合,但是本文描述的其它途径也可接受。在某些实施方案中,施用的途径为眼内。每个剂量可以或不通过相同施用途径施用。在一些实施方案中,本发明的抗体或片段可经由多种施用途径,与其它剂量的本发明的相同或不同抗体或片段同时或继其之后施用。

[0701] 在某些实施方案中,向受试者预防性或治疗性施用本发明的抗体或片段。本发明的抗体或片段可向受试者预防性或治疗性施用以便预防、减轻或改善hOX40L介导的疾病或其症状。

#### [0702] 基因疗法

[0703] 在一个具体实施方案中,施用本发明的核酸或核苷酸序列以通过基因疗法的方式预防、管理、治疗和/或改善hOX40L介导的疾病。基因疗法是指通过向受试者施用表达或可表达的核酸来进行的疗法。在本发明的一个实施方案中,核酸产生其编码的抗体,并且该抗体介导预防或治疗作用。

[0704] 可根据本发明使用本领域中可用基因疗法的任何方法。

#### [0705] 抗体的诊断用途

[0706] 虽然关于诊断用途提到了抗体,但是本文公开应解读为加以必要的变更也适用于本发明的片段。

[0707] 特异性结合hOX40L抗原的本发明的标记抗体及其衍生物和类似物可用于诊断目的以检测、诊断或监测hOX40L介导的疾病。本发明提供了检测hOX40L介导的疾病的方法,其包括:(a)使用特异性结合hOX40L抗原的本发明的一种或多种抗体测定受试者的细胞或组织样品中hOX40L抗原的表达;并且(b)将hOX40L抗原的水平与对照水平,例如正常组织样品(例如,来自于未患hOX40L介导的疾病的患者,或来自于疾病发作之前的相同患者)中的水平作比较,由此与hOX40L抗原对照水平相比,测定的hOX40L抗原水平升高表明为hOX40L介导的疾病。

[0708] 本发明提供了诊断hOX40L介导的疾病的诊断测定法,其包括:(a)使用特异性结合hOX40L抗原的本发明的一种或多种抗体测定个体的细胞或组织样品中hOX40L抗原的水平;并且(b)将hOX40L抗原的水平与对照水平,例如正常组织样品中的水平作比较,由此与hOX40L抗原对照水平相比,测定的hOX40L抗原水平升高表明为hOX40L介导的疾病。对hOX40L介导的疾病更确定的诊断可允许健康专业人士早期采取预防措施或积极治疗,从而预防hOX40L介导的疾病的发展或进一步进展。

[0709] 本发明的抗体可用于使用如本文所述或如本领域技术人员已知的经典免疫组织

学方法测定生物样品中的hOX40L抗原水平(例如,参见Jalkanen等,1985, J.Cell.Biol.101:976-985;和Jalkanen等,1987, J.Cell.Biol.105:3087-3096)。其它基于抗体的用于检测蛋白质基因表达的方法包括免疫测定,如酶联免疫吸附测定(ELISA)和放射性免疫测定(RIA)。合适的抗体测定标记在本领域中已知并且包括酶标记,如葡萄糖氧化酶;放射性同位素,如碘( $^{125}\text{I}$ 、 $^{121}\text{I}$ )、碳( $^{14}\text{C}$ )、硫( $^{35}\text{S}$ )、氚( $^3\text{H}$ )、铟( $^{121}\text{In}$ )和锝( $^{99}\text{Tc}$ );发光标记,如鲁米诺;和荧光标记,如荧光素和若丹明,及生物素。

[0710] 本发明的一个方面是对人中hOX40L介导的疾病的检测和诊断。在一个实施方案中,诊断包括:a)向受试者施用(例如,经肠胃外、皮下或腹腔内)有效量的特异性结合hOX40L抗原的标记抗体;b)在施用之后等待一定时间间隔以容许标记抗体在受试者表达hOX40L抗原的部位优先浓缩(并且未结合的标记分子被清除至本底水平);c)测定本底水平;并且d)检测受试者中的标记抗体,以致检测到高于本底水平的标记抗体表明受试者患有hOX40L介导的疾病。本底水平可通过各种方法测定,包括将检测到的标记分子的量与先前对特定系统测定的标准值作比较。

[0711] 在本领域中应理解,受试者的尺寸和所用的成像系统将决定产生诊断图像所需的成像部分的量。在放射性同位素部分的情况下,对于人受试者而言,注射的放射活性物质的量通常范围为约5至20毫居里的 $^{99}\text{Tc}$ 。然后标记抗体将优先在含有特异性蛋白质的细胞位置积聚。体内肿瘤成像在S.W.Burchiel等,“Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies and Their Fragments.”(Tumor Imaging中的第13章:The Radiochemical Detection of Cancer,S.W.Burchiel和B.A.Rhodes编,Masson Publishing Inc.(1982)中有描述。

[0712] 根据几个变量,包括所用标记的类型和施用模式,施用之后容许标记抗体在受试者的部位优先浓缩和未结合的标记抗体被清除至本底水平的时间间隔为6至48小时或6至24小时或6至12小时。在另一个实施方案中,施用之后的时间间隔为5至20天或5至10天。

[0713] 在一个实施方案中,对hOX40L介导的疾病的监测通过重复诊断hOX40L介导的疾病的方法来实现,例如,在初次诊断1个月后,在初次诊断6个月后,在初次诊断1年后,等等。

[0714] 可使用本领域已知用于体内扫描的方法在受试者中检测标记分子的存在。这些方法取决于所用标记的类型。技术人员将能够确定用于检测特定标记的适当方法。可用于本发明的诊断方法中的方法和装置包括但不限于计算机断层扫描(CT)、全身扫描如正电子发射断层扫描(PET)、磁共振成像(MRI)和超声波检查法。

[0715] 在一个具体实施方案中,所述分子经放射性同位素标记并且在患者中使用放射响应性手术仪器检测(Thurston等,美国专利第5,441,050号)。在另一个实施方案中,所述分子经荧光化合物标记并且在患者中使用荧光响应性扫描仪器检测。在另一个实施方案中,所述分子经正电子发射金属标记并且在患者中使用正电子发射断层扫描检测。再一个实施方案中,所述分子标记有顺磁性标记并且在患者中使用磁共振成像(MRI)检测。

#### [0716] 生成抗体的方法

[0717] 特异性结合抗原(OX40L)的本发明的抗体和片段可通过本领域中对于抗体合成已知的任何方法,尤其是通过化学合成或优选通过重组表达技术而生成。除非另有说明,否则本发明的实践采用分子生物学、微生物学、遗传分析、重组DNA、有机化学、生物化学、PCR、寡核苷酸合成和修饰、核酸杂交和本领域技术范围内相关领域的常规技术。这些技术在本文

引用的参考文献中有描述并且在文献中得到全面解释。参见例如Maniatis等(1982) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook等(1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook等(2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Ausubel等, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley&Sons (1987年和年度更新); *Current Protocols in Immunology*, John Wiley&Sons (1987年和年度更新) Gait (编) (1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press; Eckstein (编) (1991) *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, IRL Press; Birren等 (编) (1999) *Genome Analysis: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press。

[0718] 可通过本领域熟知的各种程序生成特异性结合抗原的多克隆抗体。例如,可向各种宿主动物,包括但不限于兔、小鼠、大鼠等施用抗原,以诱导产生含有对人抗原有特异性的多克隆抗体的血清。根据宿主种类,可使用各种佐剂来增强免疫反应,并且包括但不限于弗氏佐剂(完全和不完全)、矿物凝胶(如氢氧化铝)、表面活性物质(如溶血卵磷脂、pluronic多元醇、聚阴离子、肽、油乳液、钥孔血蓝素、二硝基酚)和可能有用的人用佐剂如BCG(卡介苗)和短棒状杆菌。此类佐剂也是本领域熟知的。

[0719] 单克隆抗体可使用本领域已知的多种技术制备,包括使用杂交瘤、重组和噬菌体展示技术或其组合。例如,单克隆抗体可使用杂交瘤技术,包括本领域已知和例如在Harlow等, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第2版, 1988); Hammerling等: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563 681 (Elsevier, N.Y., 1981) 中教导的那些技术制备(所述参考文献通过引用整体并入)。如本文中所用的术语“单克隆抗体”不限于通过杂交瘤技术生成的抗体。本文别处讨论了生成单克隆抗体的其它示例性方法,例如使用KM Mouse<sup>TM</sup>。在本文的实施例中提供了生成单克隆抗体另外的示例性方法。

[0720] 使用杂交瘤技术生成和筛选特异性抗体的方法是本领域常规且熟知的。简言之,可用hOX40L抗原为小鼠免疫接种并且一旦检测到免疫反应,例如在小鼠血清中检测到对hOX40L抗原有特异性的抗体,就收获小鼠脾脏并且分离脾细胞。然后通过熟知的技术使脾细胞融合至任何合适的骨髓瘤细胞,例如来自于可从ATCC获得的细胞系SP20的细胞。选择杂交瘤并通过有限稀释法克隆。

[0721] 另外,可以使用RIMMS(重复性免疫多位点)技术为动物免疫接种(Kilpatrick等, 1997 *Hybridoma* 16:381-9, 其通过引用整体并入)。然后通过本领域已知的方法为分泌能够结合本发明的多肽的细胞测定杂交瘤克隆物。可通过用阳性杂交瘤克隆物为小鼠免疫接种产生通常含高水平抗体的腹水。

[0722] 因此,本发明提供了通过培养分泌本发明经修饰的抗体的杂交瘤细胞来产生抗体的方法,其中优选地,通过使分离自经hOX40L抗原免疫接种的小鼠的脾细胞与骨髓瘤细胞融合,然后筛选由融合产生的杂交瘤的杂交瘤克隆物,该克隆物分泌能够结合hOX40L抗原的抗体。

[0723] 识别特异性hOX40L抗原的抗体片段可通过本领域技术人员已知的任何技术产生。



例如,本发明的Fab和F(ab')<sub>2</sub>片段可通过使用酶如木瓜蛋白酶(生成Fab片段)或胃蛋白酶(制备F(ab')<sub>2</sub>片段)对免疫球蛋白分子进行蛋白水解裂解来生成。F(ab')<sub>2</sub>片段含有可变区、轻链恒定区和重链的CH1结构域。进一步地,本发明的抗体也可以使用本领域已知的各种噬菌体展示方法产生。

[0724] 例如,抗体也可以使用各种噬菌体展示方法产生。在噬菌体展示方法中,功能性抗体结构域展示在携带编码它们的多核苷酸序列的噬菌体颗粒的表面。具体而言,由动物cDNA文库(例如,受影响组织的人或鼠类cDNA文库)扩增编码VH和VL结构域的DNA序列。通过PCR使编码VH和VL结构域的DNA与scFv接头重组在一起并且克隆到噬菌粒载体中。该载体在大肠杆菌(E.coli)中电穿孔并且大肠杆菌被辅助噬菌体感染。这些方法中所用的噬菌体通常为丝状噬菌体,包括fd和M13并且VH和VL结构域通常重组融合至噬菌体基因III或基因VIII。可用抗原,例如使用标记抗原或被结合或捕获到固体表面或珠粒上的抗原选择或鉴定表达结合特定抗原的抗原结合结构域的噬菌体。可用于制备本发明抗体的噬菌体展示方法的实例包括在以下参考文献中公开的那些:Brinkman等,1995,J.Immunol.Methods 182:41-50;Ames等,1995,J.Immunol.Methods 184:177-186;Kettleborough等,1994,Eur.J.Immunol.24:952-958;Persic等,1997,Gene 187:9-18;Burton等,1994,Advances in Immunology 57:191-280;PCT申请号PCT/GB91/01134;国际公开号WO 90/02809、WO 91/10737、WO 92/01047、WO 92/18619、WO 93/1 1236、WO 95/15982、WO 95/20401和WO97/13844;和美国专利第5,698,426、5,223,409、5,403,484、5,580,717、5,427,908、5,750,753、5,821,047、5,571,698、5,427,908、5,516,637、5,780,225、5,658,727、5,733,743和5,969,108;其各自通过引用整体并入本文。

[0725] 如以上参考文献中所述,噬菌体选择后,来自噬菌体的抗体编码区可分离并用于生成全抗体,包括人抗体,或任何其他所需的抗原结合片段,并且在任何所需宿主中表达,宿主包括哺乳动物细胞、昆虫细胞、植物细胞、酵母和细菌,例如,如下所述。也可使用本领域已知的方法,如PCT公开号WO 92/22324;Mullinax等,1992,BioTechniques 12(6):864-869;Sawai等,1995,AJRI 34:26-34;和Better等,1988,Science 240:1041-1043中公开的方法(所述参考文献通过引用整体并入),采用重组产生Fab、Fab'和F(ab')<sub>2</sub>片段的技术。

[0726] 为生成全抗体,可以使用包括VH或VL核苷酸序列的PCR引物、限制位点和保护限制位点的侧翼序列扩增scFv克隆物中的VH或VL序列。利用本领域技术人员已知的克隆技术,可将PCR扩增的VH结构域克隆到表达VH恒定区,例如人 $\gamma$ 4恒定区的载体中,并且可将PCR扩增的VL结构域克隆到表达VL恒定区,例如人 $\kappa$ 或 $\lambda$ 恒定区的载体中。也可将VH和VL结构域克隆到表达必需恒定区的一个载体中。然后使用本领域技术人员已知的技术将重链转化载体和轻链转化载体共转染至细胞系中以产生表达全长抗体,例如IgG的稳定或瞬时细胞系中。

[0727] 对于一些用途,包括抗体在人中的体内用途和体外检测测定而言,可优选使用人或嵌合抗体。全人抗体对于人受试者的治疗性治疗而言特别理想。人抗体可通过本领域已知的各种方法制备,包括上述使用源自人免疫球蛋白序列的抗体文库的噬菌体展示方法。也参见美国专利第4,444,887和4,716,111号;和国际公开号WO 98/46645、WO 98/50433、WO 98/24893、WO 98/16654、WO 96/34096、WO 96/33735和WO 91/10741;其各自通过引用整体并入本文。

[0728] 在优选实施方案中,生成人抗体。人抗体和/或全人抗体可以使用本领域已知的任

何方法,包括本文提供的实施例生成。例如,不能表达功能内源性免疫球蛋白,但是可以表达人免疫球蛋白基因的转基因小鼠。例如,可随机地或通过同源重组将人重链和轻链免疫球蛋白基因复合物引入小鼠胚胎干细胞。可选地,除人重链和轻链基因外,还可将人可变区、恒定区和多样性区引入小鼠胚胎干细胞。通过同源重组引入人免疫球蛋白基因座,可单独或同时致使小鼠重链和轻链免疫球蛋白基因无功能性。具体而言,JH区的纯合性缺失防止内源性抗体生成。将修饰过的胚胎干细胞扩增并且显微注射到胚泡中以产生嵌合小鼠。然后培养嵌合小鼠以产生表达人抗体的纯合子后代。以正常方式用所选抗原,例如本发明的整条多肽或一部分免疫接种转基因小鼠。可以使用常规杂交瘤技术从免疫过的转基因小鼠获得针对所述抗原的单克隆抗体。由转基因小鼠携带的人免疫球蛋白转基因在B细胞分化期间重排,并且随后进行类别转换和体细胞突变。因此,使用这种技术,有可能产生在治疗上有用的IgG、IgA、IgM以及IgE抗体。对于这种产生人抗体的技术的综述,参见Lonberg和Huszar (1995, *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93)。对于这种产生人抗体和人单克隆抗体的技术及产生此类抗体的方案的详细讨论,参见例如PCT公开号W0 98/24893、W0 96/34096和W0 96/33735;和美国专利第5,413,923、5,625,126、5,633,425、5,569,825、5,661,016、5,545,806、5,814,318和5,939,598号,其各自通过引用整体并入。在本文的实施例中详述了其他方法。此外,可以使公司如Abgenix, Inc./Amgen. (Thousand Oaks, Calif.) OMT (Paolo Alto, Calif.)、Argen-x (Breda, Netherlands)、Ablexis (San Francisco, Calif.) 或Harbour Antibodies (Cambridge, Mass.) 使用类似于上述的技术提供针对所选抗原的人抗体。

[0729] 嵌合抗体是抗体的不同部分源自不同的免疫球蛋白分子的分子。产生嵌合抗体的方法在本领域中已知。参见例如Morrison, 1985, *Science* 229:1202; Oi等, 1986, *BioTechniques* 4:214; Gillies等, 1989, *J. Immunol. Methods* 125:191-202; 和美国专利第5,807,715、4,816,567、4,816,397和6,331,415,其通过引用整体并入本文。

[0730] 人源化抗体是能够结合预定抗原并且包含基本上具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的骨架区和基本上具有非人免疫球蛋白的氨基酸序列的CDR的抗体或其变体或其片段。人源化抗体包含至少一个并且通常两个下述可变结构域的基本上全部,所述可变结构域(Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fab<sub>2</sub>、Fv)中,CDR区的全部或基本上全部对应于非人免疫球蛋白(即,供者抗体)的CDR区,而骨架区的全部或基本上全部则为人免疫球蛋白共有序列的骨架区。优选地,人源化抗体还包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,该恒定区通常为人免疫球蛋白的恒定区。一般地,抗体将含有轻链以及至少重链的可变结构域。抗体还可包括重链的CH1、铰链、CH2、CH3和CH4区。人源化抗体可选自任何类别的免疫球蛋白,包括IgM、IgG、IgD、IgA和IgE,和任何同种型,包括IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。通常恒定结构域是补体固定恒定结构域,其中期望人源化抗体表现出细胞毒活性,并且该类别通常为IgG1。此类细胞毒活性不合需要时,恒定结构域可为IgG2类。在某些实施方案中,本发明的抗体包含人 $\gamma$ 4恒定区。在另一个实施方案中,重链恒定区不结合Fc- $\gamma$ 受体,并且例如包含Leu235Glu突变。在另一个实施方案中,重链恒定区包含Ser228Pro突变以增加稳定性。在另一个实施方案中,重链恒定区为IgG4-PE。可用于本发明的某些实施方案中的VL和VH恒定结构域的实例包括但不限于Johnson等(1997) *J. Infect. Dis.* 176, 1215-1224中描述的C- $\kappa$ 和C- $\gamma$ -1 (nG1m) 和美国专利第5,824,307号至描述的那些。人源化抗体可包含来自于一个以上类别或同种型的序列,并且选择特定恒定结构域以优化所需效应功能是在本领域的普通技术范围内。人

源化抗体的骨架和CDR区不需要精确对应于亲本序列,例如可通过至少一个残基的置换、插入或缺失诱变供者CDR或共有骨架,使得该位点的CDR或骨架残基不对应于共有或引入抗体。然而,此类突变不会很广泛。通常,至少75%的人源化抗体残基将对应于亲本FR和CDR序列的残基,更经常为90%,且最优选高于95%。人源化抗体可以使用本领域中已知的各种技术产生,包括但不限于CDR移植(欧洲专利第EP 239,400号;国际公开号W0 91/09967;和美国专利第5,225,539、5,530,101和5,585,089号),镶面或表面重修(欧洲专利第EP 592,106和EP 519,596号;Padlan,1991,Molecular Immunology 28(4/5):489-498;Studnicka等,1994,Protein Engineering 7(6):805-814;和Roguska等,1994,PNAS 91:969-973),链改组(美国专利第5,565,332号)和例如美国专利第6,407,213号、美国专利第5,766,886号、W0 9317105,Tan等,J.Immunol.169:1119-25(2002),Caldas等,Protein Eng.13(5):353-60(2000),Morea等,Methods 20(3):267-79(2000),Baca等,J.Biol.Chem.272(16):10678-84(1997),Roguska等,Protein Eng.9(10):895-904(1996),Couto等,Cancer Res.55(23Supp):5973s-5977s(1995),Couto等,Cancer Res.55(8):1717-22(1995),Sandhu J S, Gene 150(2):409-10(1994),和Pedersen等,J.Mol.Biol.235(3):959-73(1994)中公开的技术。还参见美国专利公开第US2005/0042664 A1号(2005年2月24日),其通过引用整体并入本文。常常,骨架区内的骨架残基将被来自于CDR供者抗体的相应残基置换以改变,优选提高抗原结合。通过本领域熟知的方法来鉴定这些骨架置换,例如通过对CDR和骨架残基相互作用的建模来鉴定对抗原结合很重要的骨架残基和通过序列比较来鉴定特定位置的异常骨架残基。(参见例如Queen等,美国专利第5,585,089号;和Reichmann等,1988,Nature 332:323,其通过引用整体并入本文。)

[0731] 单结构域抗体,例如缺乏轻链的抗体,可以通过本领域熟知的方法产生。参见Reichmann等,1999,J.Immunol.231:25-38;Nuttall等,2000,Curr.Pharm.Biotechnol.1(3):253-263;Muylderman,2001,J.Biotechnol.74(4):277302;美国专利第6,005,079号;和国际公开号W0 94/04678、W0 94/25591和W0 01/44301,其各自通过引用整体并入本文。

[0732] 进一步地,特异性结合hOX40L抗原的抗体又可使用本领域技术人员熟知的技术用于产生“模拟”抗原的抗独特型抗体。(参见例如Greenspan和Bona,1989,FASEB J.7(5):437-444;和Nissinoff,1991,J.Immunol.147(8):2429-2438)。

#### [0733] 试剂盒

[0734] 本发明还提供了一种药物或诊断包或试剂盒,其包含填充有本发明药物组合物的一种或多种成分,如本文提供的一种或多种抗体或片段的一个或多个容器。任选地,伴随此类容器的可以是呈管理药物或生物产品的生产、使用或销售的政府机构规定的形式的通知,该通知反映该机构对生产、使用或销售供人施用的批准,例如许可证号。

[0735] 本发明提供了可用于以上方法的试剂盒。在一个实施方案中,试剂盒包含在一个或多个容器中的本发明的抗体,优选纯化抗体。在一个具体实施方案中,本发明的试剂盒含作为对照的基本上分离的hOX40L抗原。优选地,本发明的试剂盒还包含不与hOX40L抗原反应的对照抗体。在另一个具体实施方案中,本发明的试剂盒含用于检测经修饰的抗体与hOX40L抗原的结合的工具(例如,所述抗体可偶联至可检测底物如荧光化合物、酶底物、放射性化合物或发光化合物,或识别第一抗体的第二抗体可偶联至可检测底物)。在具体实施方案中,所述试剂盒可包括重组产生的或化学合成的hOX40L抗原。试剂盒中提供的hOX40L

抗原也可连接到固体支撑体上。在一个更加具体的实施方案至上述试剂盒的检测工具包括 hOX40L 抗原所连接的固体支撑体。此类试剂盒也可包括非偶联报告因子标记的抗人抗体。在这个实施方案中,可通过所述报告因子标记的抗体的结合检测抗体与 hOX40L 抗原的结合。

[0736] “保守性氨基酸取代”是由一个氨基酸经具有类似结构和/或化学性质的另一个氨基酸置换,如异亮氨酸或缬氨酸置换亮氨酸,谷氨酸置换天冬氨酸,或丝氨酸置换苏氨酸而产生。因此,特定氨基酸序列的“保守性取代”是指对多肽活性并非至关重要的那些氨基酸的取代或氨基酸经具有类似性质(例如,酸性、碱性、带正电或负电、极性或非极性等)的其它氨基酸置换,使得甚至至关重要的氨基酸的取代也不会降低所述肽的活性,(即,所述肽穿透血脑屏障(BBB)的能力)。提供功能上相似的氨基酸的保守性取代表在本领域中熟知。例如,以下六组各自含有是对彼此的保守性取代的氨基酸:1) 丙氨酸(A)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T);2) 天冬氨酸(D)、谷氨酸(E);3) 天冬酰胺(N)、谷氨酰胺(Q);4) 精氨酸(R)、赖氨酸(K);5) 异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、甲硫氨酸(M)、缬氨酸(V);和6) 苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)、色氨酸(W)。(也参见 Creighton, Proteins, W.H. Freeman and Company (1984), 其通过引用整体并入)。在一些实施方案中,如果变化不降低所述肽的活性,则将改变、添加或删除单个氨基酸或一小部分氨基酸的单独取代、缺失或添加也可被视为“保守性取代”。插入或缺失通常是在约1至5个氨基酸范围内。保守性氨基酸的选择可以基于所述肽中要取代的氨基酸的定位而选择,例如该氨基酸是在肽的外部并且暴露于溶剂,还是在内部并且不暴露于溶剂。

[0737] 在替代实施方案中,可以基于现有氨基酸的定位,即其对溶剂的暴露(即,如果与未暴露于溶剂的内部定位的氨基酸相比,氨基酸暴露于溶剂或存在于所述肽或多肽的外表面上),选择将要取代现有氨基酸的氨基酸。此类保守性氨基酸取代的选择在本领域中熟知,例如在 Dordo 等, J. Mol. Biol., 1999, 217, 721-739 和 Taylor 等, J. Theor. Biol. 119 (1986); 205-218 及 S. French 和 B. Robson, J. Mol. Evol., 19 (1983) 171 中所公开那样。因此,可以选择适于蛋白质或肽外部的氨基酸(即,暴露于溶剂的氨基酸)的保守性氨基酸取代,例如但不限于,可以使用以下取代:F取代Y、S或K取代T、A取代P、D或Q取代E、D或G取代N、K取代R、N或A取代G、S或K取代T、N或E取代D、L或V取代I、Y取代F、T或A取代S、K取代R、N或A取代G、R取代K、S、K或P取代A。

[0738] 在替代实施方案中,也可以选择所涵盖的适于蛋白质或肽外部的氨基酸的保守性氨基酸取代,例如可以使用适于蛋白质或肽内部的氨基酸(即,氨基酸未暴露于溶剂)的保守性取代,例如但不限于,可以使用以下保守性取代:其中F取代Y、A或S取代T、L或V取代I、Y取代W、L取代M、D取代N、A取代G、A或S取代T、N取代D、L或V取代I、Y或L取代F、A或T取代S及S、G、T或V取代A。在一些实施方案中,在变体的范围内还涵盖非保守性氨基酸取代。

[0739] 如本文中所用,“抗体”是指无论是源自天然产生抗体的任何物种,还是通过重组 DNA 技术产生的,分离自血清、B 细胞、杂交瘤、转染瘤、酵母或细菌的 IgG、IgM、IgA、IgD 或 IgE 分子或其抗原特异性抗体片段(包括但不限于 Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、二硫化物连接的 Fv、scFv、单结构域抗体、闭合构象多特异性抗体、二硫化物连接的 scFv、双链抗体)。可使用常规技术使抗体人源化。

[0740] 如本文所述,“抗原”是被抗体试剂上的结合位点结合的分子。通常,抗原被抗体配

体结合并且能够引起体内抗体反应。抗原可为多肽、蛋白质、核酸或其它分子或其部分。术语“抗原决定簇”是指抗原上被抗原结合分子,并且更特别地,是被所述分子的抗原结合位点识别的表位。

[0741] 如本文中所用,术语“抗体片段”是指包括至少一个免疫球蛋白可变结构域或免疫球蛋白可变结构域序列并且特异性结合给定抗原的多肽。抗体片段可包含抗体或包含抗体的抗原结合结构域的多肽。在一些实施方案中,抗体片段可包含单克隆抗体或包含单克隆抗体的抗原结合结构域的多肽。例如,抗体可包括重(H)链可变区(本文缩写为VH)和0X40L(L)链可变区(本文缩写为VL)。在另一个实例中,抗体包括两个重(H)链可变区和两个0X40L(L)链可变区。术语“抗体片段”涵盖抗体的抗原结合片段(例如,单链抗体、Fab和sFab片段、F(ab')<sub>2</sub>、Fd片段、Fv片段、scFv和结构域抗体(dAb)片段(参见例如de Wildt等,Eur J. Immunol. 1996;26(3):629-39;其通过引用整体并入本文))以及完整抗体。抗体可具有IgA、IgG、IgE、IgD、IgM(及其亚型和组合)的结构特征。抗体可来自于任何来源,包括小鼠、兔、猪、大鼠和灵长类动物(人和非人灵长类动物)及灵长类抗体。抗体还包括微型抗体(midibodies)、人源化抗体、嵌合抗体等。

[0742] 如本文中所用,“抗体可变结构域”是指抗体分子的0X40L和重链包括互补决定区(CDR;即CDR1、CDR2和CDR3)和骨架区(FR)的氨基酸序列的部分。VH是指重链的可变结构域。VL是指轻链的可变结构域。根据本发明中所用的方法,分配给CDR和FR的氨基酸位置可根据Kabat(Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health,Bethesda,Md.,1987和1991))或根据IMGT命名法定义。

[0743] 如本文中所用,术语“抗体结合位点”是指包含抗体的一个或多个CDR并且能够结合抗原的多肽或结构域。例如,多肽包含CDR3(例如,HCDR3)。例如多肽包含抗体可变结构域的CDR1和2(例如,HCDR1和2)或CDR 1-3(例如,HCDR1-3)。在一个实例中,抗体结合位点由单个可变结构域(例如,VH或VL结构域)提供。在另一个实例中,结合位点包含VH/VL对或两个或更多个此类配对。

[0744] 如本文中所用,“基因分型”是指例如通过测定基因组内一个或多个位置的核酸序列来测定细胞和/或受试者在该位置的具体等位基因组成的过程。基因分型是指核酸分子和/或核酸水平的分析。如本文中所用,“表型分析”是指例如通过测定表达产物的多肽序列来测定细胞和/或受试者的表达产物的同一性和/或组成的过程。表型分析是指蛋白质分析和/或蛋白质水平的分析。

[0745] 如本文中所用,术语“治疗”是指治疗性治疗,其中目的是逆转、减轻、改善、抑制、减缓或终止疾病或病症相关的情况的进展或严重程度。术语“治疗”包括减少或减轻病状、疾病或病症的至少一种副作用或症状。如果减少一种或多种症状或临床标志,则通常治疗“有效”。可选地,如果疾病的进展降低或停止,则治疗“有效”。即,“治疗”不仅包括症状或标志的改善,而且包括与在没有治疗时将预计到的相比,症状停止,或至少减缓其进展或恶化。有益或所需的临床结果包括但不限于,可检测或不可检测的一种或多种症状减轻、疾病的程度减弱、疾病状态稳定(即,不恶化)、疾病进展延迟或减缓、疾病状态改善或缓和、缓解(部分或完全)和/或死亡率降低。术语疾病的“治疗”还包括提供疾病症状或副作用的缓解(包括姑息疗法)。为了使治疗有效,不考虑完全治愈。所述方法在某些方面上也可包括治愈。

[0746] 如本文中所用,术语“药物组合物”是指与药学上可接受的载体例如制药业中常用的载体组合的活性剂。短语“药学上可接受的”在本文中用于指在合理医学判断范围内,适合接触人和动物的组织使用,无过度毒性、刺激、变态反应或其他问题或并发症,与合理的利益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0747] 如本文中所用,术语“施用”是指通过引起在所需部位至少部分递送所述制剂的方法或途径将本文公开的化合物置于受试者体内。可通过在受试者中产生有效治疗的任何适当途径施用包含本文公开的化合物的药物组合物。

[0748] 可单独或同时施用多种组合物。单独施用是指在不同时间,例如间隔至少10、20、30或10-60分钟,或间隔1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12小时施用两种组合物。也可以间隔24小时,或甚至间隔更长时间施用组合物。可选地,可同时,例如间隔少于10或少于5分钟施用两种或更多种组合物。同时施用的组合物在一些方面可作为混合物施用,对于每种组分而言有或无相似或不同的时间释放机制。

[0749] 如本文中所用,“授权编号”或“上市授权编号”是指管理机构在该机构确定特定医疗产品和/或组合物可以在机构管辖区域内上市和/或提供出售后颁发的编号。如本文中所用,“管理机构”是指负责评价,例如医疗产品和/或组合物的安全性和功效并且控制此类产品和/或组合物在指定区域的销售/上市的机构之一。美国的食物和药物管理局(FDA)和欧洲的欧洲药品管理局(EPA)仅仅是此类管理机构的两个实例。其他非限制性实例可包括SDA、MPA、MHPRA、IMA、ANMAT、香港卫生署药物办公室(Hong Kong Department of Health-Drug Office)、CDSCO、Medsafe和KFDA。

[0750] 如本文中所用,“注射装置”是指设计用于进行注射的装置,注射包括将注射装置临时流体偶联到人的组织,通常是皮下组织的步骤。注射还包括将一定量的液体药物施用到组织内并且将注射装置从所述组织去偶联或移除。在一些实施方案中,注射装置可为静脉装置或IV装置,这是当靶组织为循环系统中的血液,例如静脉中的血液时使用的一种类型的注射装置。注射装置的常见、但非限制性实例为针头和注射器。

[0751] 如本文中所用,“缓冲剂”是指能够吸收一定量的酸或碱,但是在pH上不经历强烈变化的化学试剂。

[0752] 如本文中所用,“包装”是指如何将组分组织和/或约束到适于分布和/或使用的单位中。包装包括,例如盒子、包、注射器、安瓿、小瓶、管、蛤壳包装、维持无菌性的屏障和/或容器、标签等。

[0753] 如本文中所用,“说明书”是指物品的直接容器上的书写、印刷或图形材料的展示,例如装有药物活性剂的小瓶上展示的书面材料,或关于装有目标组合物的试剂盒中所包括的目标产品的组成和用途的详情。说明书提出了考虑要施用或进行时的治疗方法。

[0754] 如本文中所用,术语“包含”在提及抗体、片段、用途、组合物、方法及其各自对所述方法或组合物必不可少的组分时使用,然而无论是否必不可少,对于包括未指定的要素是开放性的。

[0755] 术语“由……组成”是指如本文所述的抗体、片段、用途、组合物、方法及其各自的组分,其不包括实施方案的描述中未叙述的任何要素。

[0756] 如本文中所用,术语“基本上由……组成”是指指定实施方案所需的那些要素。该术语容许不实质上影响该实施方案的基本和新颖性或功能性特征的要素存在。

[0757] 除非上下文另外明确指出,否则单数术语“一”、“一种(个)”和“所述(该)”包括复数指示物。类似地,除非上下文另外明确指出,否则词“或”旨在包括“和”。虽然与本文所述的那些类似或等效的方法和材料可用于本公开的实践或试验,但下面描述了合适的方法和材料。缩写“例如(e.g.)”来源于拉丁文例如(exempli gratia),并在本文中用于指非限制性实例。因此,缩写“例如(e.g.)”与术语“例如(for example)”同义。

[0758] 细胞生物学和分子生物学中常用术语的定义可以在以下参考文献中找到:Merck Research Laboratories出版的“The Merck Manual of Diagnosis and Therapy”,第19版,2006(ISBN 0-911910-19-0);Robert S.Porter等(编),Blackwell Science Ltd.出版的The Encyclopedia of Molecular Biology,1994(ISBN 0-632-02182-9);Benjamin Lewin,Jones&Bartlett Publishing出版的Genes X,2009(ISBN-10:0763766321);Kendrew等(编),VCH Publishers,Inc.出版的Molecular Biology and Biotechnology:a Comprehensive Desk Reference,1995(ISBN 1-56081-569-8)和Current Protocols in Protein Sciences 2009,Wiley Intersciences,Coligan等编。

[0759] 除非另有说明,否则本发明使用标准程序进行,例如在Sambrook等,Molecular Cloning:A Laboratory Manual(第4版),Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.,USA(2012);Davis等,Basic Methods in Molecular Biology,Elsevier Science Publishing,Inc.,New York,USA(1995);或Methods in Enzymology:Guide to Molecular Cloning Techniques第152卷,S.L.Berger和A.R.Kimmel编,Academic Press Inc.,San Diego,USA(1987);Current Protocols in Protein Science (CPPS)(John E.Coligan等编,John Wiley and Sons,Inc.),Current Protocols in Cell Biology(CPCB)(Juan S.Bonifacino等编,John Wiley and Sons,Inc.),和Culture of Animal Cells:A Manual of Basic Technique by R.Ian Freshney,Publisher:Wiley-Liss;第5版(2005),Animal Cell Culture Methods(Methods in Cell Biology,第57卷,Jennie P.Mather和David Barnes编辑,Academic Press,第1版,1998)中所述,其全部通过引用整体并入本文。

[0760] 其他术语在本文在本发明各个方面的描述中有定义。

[0761] 本申请全篇引用的所有专利和其他出版物;包括参考文献、颁发的专利、发表的专利申请和共同待决专利申请明确地通过引用并入本文用于描述和公开,例如此类出版物中描述的可能连同本文所述技术一起使用的方法的目的。这些出版物仅提供本申请申请日之前的公开内容。就此而言,决不应解释为承认发明人因现有发明或任何其他原因而无权将此公开提前。所有关于日期的陈述或关于这些文件内容的说明均基于申请人可获得的信息,并且不应构成有关这些文件日期或内容的修正的任何许可。

[0762] 本公开的实施方案的描述并非旨在详尽无遗或将本公开限于公开的精确形式。虽然本文描述本公开的具体实施方案和实例是为了说明的目的,但是正如相关领域的技术人员将认识到那样,在本公开的范围内各种等效修改也是可能的。例如,虽然方法步骤或功能以指定顺序呈现,但是替代实施方案可按不同顺序执行功能,或可基本上同时执行功能。本文提供的公开的教导可视情况而定适用于其他程序或方法。可组合本文描述的各个实施方案以提供另外的实施方案。如有必要,可修改本公开的各个面,以采用以上参考文献和申请的组合物、功能和概念来提供本公开另外的实施方案。而且,由于生物功能等效性因素,

可在蛋白质结构上做一些变化,在种类或量上不影响生物或化学作用。在OX40L详细描述中可对本公开做这些和其它变化。旨在将所有此类修改包括在所附权利要求书的范围之内。

[0763] 任何前述实施方案的具体要素可以组合或替换为其他实施方案中的要素。此外,虽然与本公开的某些实施方案相关的优点已经在这些实施方案的上下文中有描述,但是其他实施方案也可表现出此类优点,并非所有实施方案都必须表现出此类优点才属于本公开的范围。

[0764] 应理解,本文描述的特定模式、方面、实例、条款和实施方案是以说明的方式示出而不是作为对本发明的限制。在不脱离本发明范围的前提下,本发明的主要特征可用于各个实施方案。本领域的技术人员使用不超过常规的研究将认识到或能够确定本文所述特定程序的许多等效方案。此类等效方案被视为在本发明的范围内并且被权利要求书所包括。说明书中提到的所有出版物和专利申请表明了本发明所属领域中技术人员的技术水平。所有出版物和专利申请通过引用并入本文,其程度如同特别地且单独地指出将每个单独的出版物或专利申请通过引用并入一样。在权利要求书和/或说明书中词“一”或“一种(个)”当连同术语“包含”使用时可意指“一个”,但是与“一个或多个”、“至少一个”和“一个或一个以上”的含义一致。虽然本公开支持指仅替代方案和“和/或”的定义,但除非明确表明是指仅替代方案或替代方案互相排斥,否则权利要求书中术语“或”的使用是用于意指“和/或”。在本申请通篇,术语“约”用于表明值包括对于用于测定该值的装置、方法的固有误差变化或研究受试者间存在的变化。

[0765] 如本说明书和权利要求书中所用,词“包含”(及包含的任何形式)、“具有”(及具有的任何形式)、“包括”(及包括的任何形式)或“含有”(及含有的任何形式)是包括性或开放式的并且不排除另外、未叙述的要素或方法步骤。

[0766] 除非另外从上下文显而易见,否则本公开的任何部分均可结合本公开的任何其他部分进行阅读。

[0767] 在本公开的OX40L中,制备和执行本文公开且要求保护的所有组合物和/或方法,无需过度实验。虽然已经按照优选实施方案描述了本发明的组合物和方法,但是对于本领域技术人员将显而易见的是,在不脱离本发明的概念、精神和范围的前提下,可对所述组合物和/或方法和在本文所述方法的步骤或步骤的顺序上施以改变。本领域技术人员显而易见的所有此类相似替代和修改均被视为在如所附权利要求书所定义的本发明的精神、范围和概念范围之内。

## 实施例

### [0768] 实施例1

#### [0769] 抗原制备、免疫接种程序和杂交瘤产生

[0770] 以下实施例提供了使用KyMouse™系统(参见例如W02011/004192)产生和鉴定一组抗人OX40L单克隆抗体的详细描述。为此,用小鼠胚胎成纤维细胞(MEF)上展示的可溶性重组人OX40L(商用的或内部生产的)或表面表达的人OX40L免疫接种含有许多人免疫球蛋白基因的基因工程小鼠。提出了各种免疫接种方案,包括常规腹腔内注射以及在多个部位快速免疫接种的方案,经过几周后使动物加强。在每种方案结束时,取出次级淋巴组织如脾脏,和在一些情况下,取出淋巴结。将组织制备成单细胞悬液并且与SP2/0细胞融合产生稳



定的杂交瘤细胞系。

[0771] 材料和方法

[0772] 重组恒河猴和人OX40L的克隆表达和纯化

[0773] 使用标准的分子生物学技术将编码人OX40L的胞外结构域的cDNA克隆到pREP4表达质粒 (Invitrogen) 中。构建体还含有帮助纯化的FLAG肽基序和帮助三聚化的异亮氨酸拉链基序。为构建体测序以确保其正确的序列组成。

[0774] 使用以上产生的人OX40L质粒作为模板并且使用定点诱变引入氨基酸变化来产生恒河猴 (猕猴) OX40L。

[0775] 使用Invitrogen的FreeStyle™ CHO-S悬浮适应细胞系瞬时表达人OX40L以及恒河猴OX40L以产生重组蛋白。使用PEI (聚乙烯亚胺MW40000) 将质粒转染到细胞中并让其过度生长13天,之后收获上清液用于纯化。在过度生长期间为细胞供给来自于GE Healthcare的ActiCHO™ Feeds A和B以帮助提高生产率和促进细胞的长寿。在过度生长期间定期取样以监测细胞生长和活力。

[0776] 在两步法中纯化FLAG标记的OX40L蛋白质;首先使用M2抗FLAG亲和色谱法纯化来自于CHO-S表达的澄清组织培养上清液。然后使含有OX40L蛋白质的洗脱部分经受尺寸排阻色谱法并且通过SDS-PAGE分析评估纯度并通过在OD280nm下读数的分光光度计量化。

[0777] 重组人OX40受体的克隆表达和纯化

[0778] 使用标准的限制酶消化和连接将编码人OX40受体的胞外结构域的cDNA克隆到pREP4表达质粒 (Invitrogen) 中。构建体含有帮助纯化的人Fc部分。为构建体测序以确保其正确的序列组成。

[0779] 使用Invitrogen的FreeStyle™ CHO-S悬浮适应细胞系瞬时表达人OX40受体以产生重组蛋白。使用PEI (聚乙烯亚胺MW40000) 将质粒转染到细胞中并让其过度生长13天,之后收获上清液用于纯化。在过度生长期间为细胞供给来自于GE Healthcare的ActiCHO™ Feeds A和B以帮助提高生产率和促进细胞的长寿。在过度生长期间定期取样以监测细胞生长和活力。

[0780] 在两步法中纯化Fc标记的OX40受体;首先使用蛋白G亲和色谱法纯化来自于CHO-S表达的澄清组织培养上清液。然后使含有OX40受体的洗脱部分经受尺寸排阻色谱法并且通过SDS-PAGE分析评估纯度并通过在OD280nm下读数的分光光度计量化。

[0781] 表达人OX40L的稳定转染的MEF和CHO-S细胞的产生

[0782] 全人OX40L序列经密码子优化 (Seq ID No:173) 用于哺乳动物表达并且克隆到表达载体中在CMV启动子的控制下,启动子两侧是促进稳定整合到细胞基因组中的3' 和5' piggyBac特异性末端重复序列 (参见:“A hyperactive piggyBac transposase for mammalian applications”;Yusa K,Zhou L,Li MA,Bradley A,Craig NL.Proc Natl Acad Sci U S A.2011年1月25日)。此外,表达载体含有嘌呤霉素或新霉素 (neomycin) 选择盒以促进稳定细胞系产生。使用FreeStyle Max转染试剂 (Invitrogen) 根据生产商说明书将hOX40L表达质粒与编码piggyBac转座酶的质粒共同转染至内部来源的小鼠胚胎成纤维细胞 (MEF) 系 (用于产生该系的胚胎得自与C57BL6雌性小鼠交配的129S5) 和CHO-S细胞中。转染24小时后,为培养基补充G418或新霉素并且生长至少2周以选择稳定细胞系,每3-4天更换培养基。使用抗人OX40L-PE偶联抗体 (eBioscience) 通过流式细胞术评估hOX40L的表达。

完全MEF培养基由补充了10% v/v胎牛血清(Gibco)的杜尔贝科改良伊格尔培养基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)(Gibco)构成。完全CHO-S培养基由补充了8mM glutamax(Gibco)的CD-CHO培养基构成。

[0783] 表达OX40R和NF- $\kappa$ 报告基因的HT1080的产生

[0784] 全人OX40受体序列经密码子优化(Seq ID No:175)用于哺乳动物表达并且克隆到表达载体中在CMV启动子的控制下,启动子两侧是促进稳定整合到细胞基因组中的3'和5' piggyBac特异性末端重复序列(参见:“A hyperactive piggyBac transposase for mammalian applications”;Yusa K,Zhou L,Li MA,Bradley A,Craig NL.Proc Natl Acad Sci U S A.2011年1月25日)。此外,表达载体含有嘌呤霉素选择盒以促进稳定细胞系产生。使用FreeStyle Max转染试剂(Invitrogen)根据生产商说明书将hOX40受体表达质粒与编码piggyBac转座酶的质粒共同转染至HT1080细胞(ATCC® CCL-121)中。转染24小时后,为培养基补充嘌呤霉素并且生长至少2周以选择稳定细胞系,每3-4天更换培养基。使用抗人OX40受体-PE偶联抗体(R&D,克隆物443318)通过流式细胞术评估OX40受体的表达。表达OX40受体的稳定细胞系产生后,用含有5个重复NFkB转录因子结合位点的pNiFty-2-SEAP质粒(invivogen),接着用分泌的碱性磷酸酶转染细胞。向培养基中添加博来霉素(zeocin)选择稳定细胞,每3-4天添加新鲜培养基。完全HT1080培养基由补充了10%胎牛血清的MEM构成。

[0785] 用于小鼠免疫接种的MEF细胞的制备:

[0786] 去除细胞培养基并用1×PBS洗涤细胞一次。用胰蛋白酶处理细胞5分钟以将细胞从组织培养表面松开。收集细胞并且通过添加含10% v/v胎牛血清(FCS)的完全培养基来中和胰蛋白酶。然后以300xg离心细胞10分钟并用25mL的1×PBS洗涤。为细胞计数并且按适当浓度重新悬浮在1XPBS中。

[0787] 免疫接种程序:

[0788] 用CHO-S细胞表达的呈可溶性重组形式的或经稳定转染的MEF细胞表达的呈膜结合形式的hOX40L为转基因Kymice免疫接种。

[0789] 用细胞免疫接种时,佐剂与细胞按1:1v/v比率混合并且在腹腔内注射之前通过移液轻轻混合。用蛋白质免疫接种时,佐剂与蛋白质按1:1v/v比率混合并且重复涡旋。所有小鼠在初免之前放血,然后每三周加强一次。收集间隔至少2周的至少3次连续放血并且使用ELISA或基于流式细胞术的测定分析hOX40L特异性IgG滴度。

[0790] 通过FACS使用CHO-S表达的hOX40L测定血清滴度

[0791] 按 $1 \times 10^5$ 个细胞/孔的密度将稀释于FACS缓冲液(PBS+1% w/vBSA+0.1% w/v NaN<sub>3</sub>)中的表达hOX40L的CHO-S细胞或未转染的CHO-S细胞分布到96孔V形底板(Greiner)中。用150μL的PBS洗涤细胞并且以300xg离心3分钟。抽吸上清液并添加150μL的PBS。重复该洗涤步骤。将样品稀释于FACS缓冲液中,制备小鼠血清的滴定液。然后向细胞板添加50μL/孔的这种滴定液。为测定由于免疫接种引起的活性水平的变化,将来自于免疫接种前的每只动物的血清在FACS缓冲液中稀释至1/100并向细胞中添加50μL/孔。将合适的参考抗体(抗OX40L抗体MAB10541,R&D systems)或小鼠IgG1对照抗体(Sigma)稀释于FACS缓冲液中(介于1-9μg/mL之间)并且向细胞中添加50μL。在4℃下温育细胞30分钟。用150μL的PBS洗涤细胞两次,在每个洗涤步骤之后离心并抽吸上清液(300xg离心3分钟)。为检测抗体结合,将

APC山羊抗小鼠IgG (Jackson ImmunoResearch) 在FACS缓冲液中稀释至1/500并向细胞中添加50 $\mu$ l。在4℃下于黑暗中温育细胞30分钟。用150 $\mu$ L的PBS洗涤细胞两次,在每个洗涤步骤之后离心并抽吸上清液(300xg离心3分钟)。为固定细胞,添加100 $\mu$ L 2%v/v多聚甲醛并且在4℃下温育细胞30分钟,通过以300xg离心使细胞沉淀并且使所述板重新悬浮在50 $\mu$ L的FACS缓冲液中。使用BD FACS阵列仪器,通过流式细胞术测量APC信号强度(几何平均值)。

[0792] 使用重组hOX40通过DELFI A免疫测定来测定血清滴度

[0793] 使用反向OX40L ELISA方案测定小鼠血清样品中的滴度。在4℃下使抗小鼠IgG捕获抗体(Southern Biotech) (4 $\mu$ g/ml稀释于PBS中,50 $\mu$ L/孔) 吸附到96孔低自体荧光、高蛋白结合板(Costar) 过夜。通过用PBS-吐温(0.1%v/v) 洗涤去除过量IgG并且在室温下用在PBS中的1%w/v牛血清白蛋白(BSA, Sigma) 封闭孔1小时,之后如先前所述洗涤该板。将样品稀释于试剂稀释剂(0.1%w/v BSA/PBS) 中,制备小鼠血清的滴定液。然后以50 $\mu$ L/孔向ELISA板添加这种滴定液。为测定由于免疫接种引起的活性水平的变化,将来自于免疫接种前的每只动物的血清在试剂稀释剂中稀释至1/100并以50 $\mu$ L/孔向ELISA板中添加。作为生物素化OX40L结合的阳性对照,按稀释至1 $\mu$ g/mL的抗OX40L抗体(MAB10541, R&D systems) 以50 $\mu$ L加入板中。小鼠IgG1同种型对照(Sigma) 作为阴性对照被包括在内并且在试剂稀释剂中稀释至1 $\mu$ g/mL并以50 $\mu$ L/孔向ELISA板中添加。在一些情况下将来自于用非相关抗原免疫接种的小鼠的血清样品稀释至1/1000并以50 $\mu$ L/孔向ELISA板中添加。该板在室温下温育至少1小时。温育之后,如之前洗涤板以去除未结合的蛋白质。然后将生物素化OX40L(100ng/ml于试剂稀释剂中;50 $\mu$ L/孔) 添加到板中并且在室温下温育1小时。通过用PBS-吐温(0.1%v/v) 洗涤去除未结合的生物素化OX40L,而用稀释于 **DELFI A®** 测定缓冲液(Perkin Elmer) 中的链霉亲和素-Europium<sup>3+</sup>偶联物(**DELFI A®**检测,PerkinElmer) 或稀释于试剂稀释剂中的链霉亲和素-HRP检测剩余的生物素化OX40L。

[0794] 在链霉亲和素-HRP的情况下,如先前所述洗涤板并向板中添加50 $\mu$ L的TMB (Sigma)。然后通过添加50 $\mu$ L的1M硫酸(Fluka分析) 终止反应。在Envision酶标仪(PerkinElmer) 上测量450nm下的OD。

[0795] 在链霉亲和素-Europium<sup>3+</sup>的情况下,用TBS(Tris缓冲盐水)-吐温(0.1%v/v) 洗涤板并且向板中添加200 $\mu$ L/孔的DELFI A增强液(Perkin Elmer)。在615nm下在Envision酶标仪(PerkinElmer) 上测量时间分辨荧光。按计数绘制荧光数据。

[0796] 鼠类组织分离和制备:

[0797] 从经过免疫接种的小鼠切除脾脏并且在1 $\times$ PBS中洗涤并保持在冰上直至进一步处理。在含有1 $\times$ PBS(Invitrogen) 和3%热灭活FBS(Invitrogen) 的缓冲液中制备组织。通过45 $\mu$ m滤网(BD Falcon) 捣碎组织并且用30mL 3%FBS/PBS缓冲液冲洗,之后在4℃下以700g离心10分钟,分散脾细胞。为去除红血细胞,使沉淀的脾细胞重新悬浮在4mL红血细胞裂解缓冲液(Sigma) 中。温育4分钟后,通过添加3%FBS/1 $\times$ PBS缓冲液终止裂解反应。用45 $\mu$ m滤网滤出细胞块。使剩余的脾细胞沉淀进行另外的程序。

[0798] 杂交瘤融合

[0799] 对于KM055实验,使沉淀的脾细胞直接进行融合,无需任何选择或过夜CpG刺激。对于KM040实验,使用 **MACS®** 分离系统使B细胞经受正向选择方法。添加抗小鼠IgG1加上抗小鼠IgG2a+b微珠(Miltenyi Biotec) 之前,使细胞重新悬浮在80 $\mu$ L3%FBS/PBS缓冲液(每1

$\times 10^7$ 个细胞)中并且在4℃下温育15分钟。然后将细胞/微珠混合物涂到置于磁性MACS分离器中并用3%FBS/PBS缓冲液洗涤的预湿LS柱上。将IgG阳性细胞收集在3%FBS/PBS缓冲液中经标记、柱结合的成分中。

[0800] 对于KM040实验,用CpG处理富集的B细胞过夜(最终浓度25 $\mu$ M)并且次日于BSA融合缓冲液(0.3M D-山梨糖醇、0.11mM水合醋酸钙、0.5mM醋酸镁四水合物和0.1%BSA(v/w),调至pH7.2)中洗涤一次。对于KM055实验,在组织制备的同一天将来自于红血细胞的沉淀的脾细胞于BSA融合缓冲液中洗涤一次。在这之后对于两项实验而言融合以相同方式进行。经洗涤的细胞重新悬浮在200 $\mu$ L的BSA融合缓冲液并测定细胞计数。以相同方式处理SP2/0细胞,但用BSA融合缓冲液洗涤两次。使用BTX ECM 2001电细胞操纵器(Harvard Apparatus)通过电融合,使B细胞按3:1比率与SP2/0骨髓瘤细胞融合。让每次融合在回收培养基(杜尔贝科改良伊格尔培养基-高葡萄糖(无酚红,无L-G),含0PI(Sigma)、L-Glutamax(Gibco)、20%FBS(Gibco,用于杂交瘤的批量试验)和2-巯基乙醇)中过夜。在最后一天,使细胞沉淀并重新悬浮在1份回收培养基和9份半固体培养基中(Clonacell-HY杂交瘤选择培养基D, Stemcell Technologies)中,然后接种到10cm培替氏培养皿(petri dish)上。12天后将菌落挑选至96孔板中并且在筛选之前再培养2-3天。

#### [0801] 实施例2

##### [0802] 杂交瘤上清液筛选

[0803] 杂交瘤克隆物产生后,在连续的初次和二次筛选中评估杂交瘤上清液并且基于抗体与CHO表达的hOX40L的结合和受体中和活性的标准选择适当的杂交瘤克隆物(参见材料和方法中的详情)(表1)。

[0804] 对于初次筛选,发明人设计了以下选择标准:如果上清液中存在的抗体可以结合细胞表面上表达的天然展示的hOX40L,则选择含杂交瘤克隆物的孔。该测定通过涂布在细胞表面表达hOX40L的CHO-S细胞,接着与杂交瘤上清液温育,接着与荧光检测抗体温育来完成。使用能够读取适当荧光的酶标仪读出上清液中抗OX40L抗体的存在。此外,发明人使用HTRF(均相时间分辨荧光)测定评估了用于结合重组表达的人OX40L的杂交瘤上清液。发明人还确定了杂交瘤上清液是否具有减少人重组OX40L与人OX40R Fc的结合的能力。然后使用来自于以上提到的三种初次筛选测定的数据精选出满足某些选择标准的克隆物(参见下面更多的详细描述)并且移至二次筛选,其中测定了每种抗体中和hOX40L与其受体即OX40受体(也称为CD134)的结合的能力。发明人决定使用受体中和HTRF测定和基于流式细胞术的受体中和测定对此进行评估。最后,发明人决定通过SPR分析杂交瘤上清液以评价抗体对重组三聚体人OX40L的表观亲和力以及与恒河猴OX40L的交叉反应性。

[0805] 当杂交瘤上清液中的抗体以高表观亲和力与hOX40L结合,以及与重组恒河猴OX40L交叉反应时,将抗体定义为二次命中物。另外,在HTRF或基于流式细胞术的测定中,上清液中的抗体一定会显示出中和OX40L与其受体即OX40受体(也称为CD134)的结合的能力。

##### [0806] 材料和方法

##### [0807] 初次筛选-与细胞表达的人OX40L的结合

[0808] 测试从杂交瘤细胞收集的上清液以评估分泌的抗体结合CHO-S细胞表面表达的hOX40L的能力。为测定CHO-S hOX40L结合,按 $2 \times 10^4$ 个细胞/孔将细胞涂布在透明底的经组织培养处理的384孔板(Costar或BRAND)中补充了10%v/v FBS(GIBCO)的F12培养基

(GIBCO) 中并培养过夜。从384孔测定板去除培养基。向每个孔添加至少40μL稀释于杂交瘤维持培养基(HMM)中的清液或杂交瘤上阳性对照抗人OX40L参考抗体(最终浓度为1μg/mL)或同种型IgG1对照抗体(在一些情况下称为Cm7, Sigma M9269, 最终浓度为1μg/mL)。杂交瘤维持培养基由补充了1×Glutamax (Gibco)、20% v/v FBS (Gibco)、0.05mMβ-巯基乙醇、1×HT补充物(Gibco)和1×青霉素/链霉素(Gibco)的改进DMEM (Gibco) 构成。在4℃下温育板1小时。抽吸培养基并且添加50μL、1000ng/mL补充了稀释于FACS缓冲液(PBS+1% w/v BSA+0.1% v/v NaN<sub>3</sub>)中的0.2μM DRAQ5 (Biostat)的山羊抗小鼠Alexa Fluor 790 (Jackson ImmunoResearch, 115-655-071)。在4℃下再温育板1小时。抽吸上清液并且添加25μL的4% v/v多聚甲醛并在室温下温育板15分钟。用100μL PBS洗板两次, 然后完全去除洗涤缓冲液。通过使用Odyssey红外成像系统(LI-COR®)扫描板读取荧光强度。根据LI-COR®推荐的算法将抗小鼠结合(800nm通道)归一化为细胞数量(700nm通道)。如下面所详述(方程式1)计算百分比效应。使用参考抗体在1μg/mL的最终测定浓度下定义总结合。使用小鼠IgG1同种型对照(Sigma)在1μg/mL的最终测定浓度下定义非特异性结合。百分比效应高于或等于5%时, 将孔定义为命中物。

[0809] 方程式1: 由初次筛选(LI-COR)和HTRF计算百分比效应

[0810] (使用800%响应值(LI-COR)或665/620nm比率(参见方程式2)(HTRF))

$$[0811] \quad \text{百分比效应} = \frac{\text{样品孔-非特异性结合}}{\text{总结合-非特异性结合}}$$

[0812] 非特异性结合=来自于含同种型对照小鼠IgG1或HMM或缓冲液的孔的值

[0813] 总结合(结合HTRF和LICOR)=来自于含参考抗体的孔的值总结合(OX40L/OX40RFc测定)=OX40L和OX40RFc

[0814] 初次筛选-与重组人OX40L的结合

[0815] 与筛选与CHO-S表达的OX40L的结合并行, 也测试从杂交瘤孔收集的上清液以评估分泌的抗体结合表达为重组蛋白质(在内部产生, 参见实施例1中的详情)的hOX40L的能力。通过HTRF®(均相时间分辨荧光, Cisbio)测定形式, 使用生物素化hOX40L鉴定分泌的抗体与重组hOX40L的结合。将5μL杂交瘤上清液转移到白色384孔低容量非结合表面聚苯乙烯板(Greiner)。然后添加5μL稀释于HTRF缓冲液(PBS (Sigma)+0.53M KF (Sigma)+0.1% w/v BSA (Sigma)中的生物素化hOX40L(工作浓度20nM)。添加5μL组合检测试剂, 即按1:100稀释于HTRF测定缓冲液中, 最终稀释1:400的链霉亲和素D2 (Cisbio) 和按1:100稀释于HTRF测定缓冲液中, 最终稀释1:400的经硝基状化合物(Cisbio)标记的山羊抗小鼠IgG (Southern Biotech)。经硝基状化合物标记的山羊抗小鼠IgG (Southern Biotech)的浓度取决于批次并且在一些情况下进行1:1000稀释以达到1:4000的最终测定浓度。为了将总测定体积调至20μL, 向所有孔中添加5μL的HTRF测定缓冲液。为定义非特异性结合, 用HTRF测定缓冲液或HMM代替添加阳性对照抗体或杂交瘤培养基。使板在黑暗中温育3小时, 然后使用EnVision酶标仪(Perkin Elmer)在620nm和665nm发射波长下读取时间分辨荧光。可以在Mathis (1995) Clinical Chemistry 41 (9), 1391-1397中找到HTRF®测定技术的更多详情。通过分别根据方程式2和方程式1计算每个样品的665/620比率和百分比效应分析数据。

[0816] 方程式2: 665/620比率的计算

[0817]  $665/620\text{比率} = (\text{样品}665/620\text{nm值}) \times 10000$

[0818] 对于源自KM040-1和KM055-1的克隆物,发明人应用高于或等于20%效应的选择标准,将孔定义为来自于表1所述的重组hOX40L结合的命中物。

[0819] 初次筛选:人OX40L/人OX40R Fc结合测定:

[0820] 为了确定从杂交瘤孔收集的上清液是否抑制OX40L与OX40RFc的结合,在OX40L/OX40RFc结合HTRF测定中试验分泌的抗体。将5 $\mu$ L杂交瘤上清液转移到白色384孔低容量非结合表面聚苯乙烯板(Greiner)。将生物素化OX40L于HTRF测定缓冲液中稀释至2.4nM的工作浓度并添加5 $\mu$ L。然后将OX40RFc稀释至4.8nM的工作浓度并添加5 $\mu$ L。用测定缓冲液或HMM代替OX40RFc来定义非特异性结合。将链霉亲和素穴状化合物(CISBIO)和抗人Fc D2(CISBIO)于HTRF测定缓冲液中分别稀释到1:100和5nM的工作浓度。遮盖板,避光并在室温下温育3小时,然后使用EnVision酶标仪(Perkin Elmer)在620nm和665nm发射波长下读取时间分辨荧光。通过分别根据方程式2和方程式5计算每个样品的665/620比率和百分比效应分析数据。

[0821] 对于源自KM040-1和KM055-1的克隆物,发明人应用低于或等于90%的OX40受体Fc与OX40L结合的测定信号的选择标准,将孔定义为如表1所述的命中物。

[0822] 二次筛选:与细胞表达的和重组人OX40L的结合

[0823] 为确定使用初次筛选选择标准选择的孔是否具有发明人设定的所需特征,进行了许多测定。由初次筛选被选为命中物的杂交瘤克隆物培养3天并且试验从杂交瘤细胞收集的上清液以评估结合CHO-S表达的hOX40L的分泌抗体在一些情况下是否结合未转染的CHO-S细胞并且它们是否中和重组OX40R Fc与CHO-S hOX40L的结合及中和OX40R与重组生物素化hOX40L的结合的能力。

[0824] 与CHO-S表达的hOX40L的结合和受体中和:

[0825] 按 $1 \times 10^5$ 个细胞/孔的密度将稀释于FACS缓冲液(PBS+1%w/v BSA+0.1%w/v  $\text{NaN}_3$ )中的表达hOX40L的CHO-S细胞或未转染的CHO-S细胞分布到96孔V形底板(Greiner)中。用150 $\mu$ L的PBS洗涤细胞并且以300xg离心3分钟。抽吸上清液并添加150 $\mu$ L的PBS。重复该洗涤步骤。

[0826] 向经过洗涤的细胞中添加25 $\mu$ L稀释于FACS缓冲液中的杂交瘤上清液或来自杂交瘤上清液的纯化抗体并且温育10-15分钟。将参考抗体或小鼠IgG1对照抗体(Sigma)于FACS缓冲液中稀释到20 $\mu$ g/mL并向细胞中添加25 $\mu$ L。然后向孔中添加25 $\mu$ L于FACS缓冲液中稀释到1000ng/mL的人OX40R Fc(内部)。在4 $^{\circ}\text{C}$ 下温育细胞30分钟。

[0827] 用150 $\mu$ L的PBS洗涤细胞两次,在每个洗涤步骤之后离心并抽吸上清液(以300xg离心3分钟)。

[0828] 为检测抗体和受体结合,向细胞中添加50 $\mu$ L按1:500稀释于FACS缓冲液中的山羊抗人IgG-PE(Jackson ImmunoResearch)和APC抗小鼠IgG(Jackson ImmunoResearch)。在4 $^{\circ}\text{C}$ 下于黑暗中温育细胞30分钟。

[0829] 用150 $\mu$ L的PBS洗涤细胞两次,在每个洗涤步骤之后离心并抽吸上清液(以300xg离心3分钟)。

[0830] 为固定细胞,添加100 $\mu$ L 2%v/v多聚甲醛并且在4 $^{\circ}\text{C}$ 下温育细胞30分钟,通过以300xg离心使细胞沉淀并且使所述板重新悬浮在50 $\mu$ L的FACS缓冲液中。使用BD FACS阵列仪

器,通过流式细胞术测量PE和APC信号强度(几何平均值)。

[0831] 使用如方程式1中所述的几何平均值荧光计算对照结合%,其中将总结合定义为10 $\mu$ g/mL的参考抗体并且将非特异性结合定义为10 $\mu$ g/mL的小鼠IgG1抗体。使用方程式3计算受体结合%。

[0832] 方程式3:受体结合的百分比(FACS)

[0833] 基于几何平均值荧光

$$[0834] \quad \text{受体结合}\% = \frac{\text{样品值}-\text{非特异性结合}}{\text{总结合}-\text{非特异性结合}} \times 100$$

[0835] 非特异性结合=无抗体,无受体

[0836] 总结合=仅受体(OX40R)结合(无抑制剂)+10 $\mu$ g/mL的同种型对照

[0837] 二次筛选-HTRF配体/受体中和

[0838] 为确定由初次筛选鉴定的抗体是否中和OX40L与OX40RFc的结合,如对于初次筛选所述进行人OX40L/人OX40R Fc结合测定。

[0839] 使板在黑暗中温育3小时,然后使用EnVision酶标仪(Perkin Elmer)在620nm和665nm发射波长下读取时间分辨荧光。可以在Mathis(1995)Clinical Chemistry 41(9), 1391-1397中找到HTRF®测定技术的更多详情。通过如方程式4中所述计算 $\Delta F$ 并且根据方程式5计算每个样品的受体百分比来分析数据。

[0840] 方程式4: $\Delta F$ %的计算

$$[0841] \quad \Delta F\% = \frac{(\text{样品 } 665/620\text{nm 比值})-(\text{非特异性对照 } 665/620\text{nm 比值})}{(\text{非特异性对照 } 665/620\text{nm 比率})} \times 100$$

[0842] 方程式5:受体结合量的百分比(HTRF)

[0843] 基于 $\Delta F$ % (方程式4)或665/620比率(方程式2)的计算

$$[0844] \quad \text{受体结合}\% = \frac{\text{样品值}-\text{非特异性结合}}{\text{总结合}-\text{非特异性结合}} \times 100$$

[0845] 非特异性结合=HMM或缓冲液+OX40L(无受体)

[0846] 总结合=受体(OX40R)和OX40L(无抑制剂)

[0847] 来自二次筛选的命中选择标准:

[0848] 基于结合和中和测定选择一组命中物。发明人将CHO-S OX40L测定中的命中物定义为通过FACS测定与CHO-S OX40L细胞明显结合而不与CHO-S细胞结合。还将命中物进一步定义为具有显著减少OX40RFc与重组OX40L(HTRF)的结合并且显著减少OX40RFc与CHO细胞上表达的hOX40L的结合的能力。表1中总结了数据。还考虑了通过SPR的表观亲和力测量。

[0849] 实施例3

[0850] 抗体先导表征

[0851] 基于筛选,扩大所选孔并且使用基于标准蛋白质G的亲色谱纯化法(参见下面的方法)纯化鼠类/人嵌合抗体。使抗体经受各种测定以评估其阻断hOX40L与其受体OX40R结合的能力,以及每种抗体以高表观亲和力结合人以及恒河猴OX40L的能力。为辨认哪种抗体最佳,使用OX40L/OX40RFc HTRF测定试验所选克隆物并且OX40L诱导从原代人T细胞释放IL2。

[0852] 表1:mAb先导总结

抗体	FACS 结合	HTRF 受体 中和 IC <sub>50</sub> nM(+/-SEM)	原代 T 细胞 测定 IC <sub>50</sub> nM(+/-SEM)	表观亲和 力 hOX40L(n M)	表观亲和 力 RhsOX40L (nM)
10A07( 杂交瘤)	是	+++	+++	CNROR	CNROR
[0853] 10A07( 人)	ND	+++ 1.2nM(+/-0.1 7)	+++ 0.83nM(+/-1. 2)	CNROR	CNROR
2D10( 杂 交瘤)	是	+++	ND	CNROR	CNROR
2D10( 人 )	ND	+++ 0.75nM(+/-0. 04)	+++ 0.81nM(+/-0. 06)	CNROR	CNROR
[0854] 9H04( 杂 交瘤)	是	+	ND	5.3	ND
19H01( 杂交瘤)	是	++	ND	2.2	ND

[0855] CNROR=无法分辨解离速率

[0856] IC<sub>50</sub>数据代表至少3个独立实验或供者的算术平均值+/-平均值标准误差 (SEM)。

[0857] 材料和方法:

[0858] 从杂交瘤上清液纯化抗体:

[0859] 使用蛋白质G亲和色谱法纯化抗体。使用IgG洗脱试剂(Pierce)从蛋白质G培养基洗脱抗体并且洗脱的抗体在使用之前经缓冲液交换到PBS中。通过SDS-PAGE分析评估抗体纯度并通过在OD280nm下读数的分光光度计量化。

[0860] 纯化自杂交瘤上清液的抗体的结合如本文所述进行。

[0861] HTRF配体/受体中和:

[0862] 使用抑制剂的滴定液进行以下方法以便如同在所述测定中通过IC<sub>50</sub>值测量那样,确定克隆效力。通过稀释于HTRF测定缓冲液中滴定从杂交瘤纯化的抗体并且将5μL这种滴定液转移到白色384孔低容量非结合表面聚苯乙烯板(Greiner)。将生物素化OX40L于HTRF测定缓冲液中稀释至2.4nM的工作浓度并添加5μL。然后将OX40RFc稀释至4.8nM的工作浓度并添加5μL。通过用测定缓冲液或HMM代替OX40RFc来定义非特异性结合。链霉亲和素穴状化合物(CISBIO)和抗人Fc D2(CISBIO)于HTRF测定缓冲液中分别稀释到1:100和5nM的工作浓度。遮盖板,避光并在室温下温育3小时,然后使用EnVision酶标仪(Perkin Elmer)在620nm和665nm发射波长下读取时间分辨荧光。通过如方程式4中所述计算ΔF并且根据方程式5或在一些情况下根据方程式6计算每个样品的受体百分比来分析数据。使用GraphPad Prism软件,使用四参数逻辑方程式(方程式7)通过曲线拟合测定IC<sub>50</sub>值。

[0863] 方程式6:受体结合的百分比(HTRF)



[0864] 基于 $\Delta F\%$ 的计算(方程式8)

$$[0865] \quad \text{受体结合}\% = \frac{\text{样品值}}{\text{总结合}} \times 100$$

[0866] 总结合=受体(OX40R)和OX40L(无抑制剂)

[0867] 方程式7:四参数逻辑计算

[0868]  $Y = \text{最小值} + (\text{最大值} - \text{最小值}) / (1 + 10^{((\text{LogIC}_{50} - X) * \text{斜率}))}$

[0869]  $X = \text{浓度的对数}$

[0870]  $Y = \text{特异性结合(方程式6)}$

[0871] 最大值和最小值=与Y相同单位的稳定期(特异性结合)

[0872] 与X相同单位的Log IC<sub>50</sub>。Y从最小值开始并且以S形达到最大值。X增加时,特异性结合降低。

[0873] HTRF配体/受体中和测定中全人重组抗OX40L抗体的谱型分析

[0874] 为了确定重组表达的全人纯化IgG是否抑制人OX40L与OX40RFc结合,进行以下方法。试验全人纯化IgG或其它抑制剂以便如同在所述测定中通过IC<sub>50</sub>值测量那样,确定克隆效力。通过稀释于HTRF测定缓冲液中滴定重组表达且经纯化的的抗体并且将5 $\mu$ L这种滴定液转移到白色384孔低容量非结合表面聚苯乙烯板(Greiner)。将生物素化OX40L于HTRF测定缓冲液中稀释至2.4nM的工作浓度并添加5 $\mu$ L。然后将AF647直接标记的OX40RFc稀释至10nM的工作浓度并添加5 $\mu$ L。用测定缓冲液或HMM代替OX40RFc-AF647来定义非特异性结合。将链霉亲和素穴状化合物(CISBIO)于HTRF测定缓冲液中稀释至1:100的工作浓度并向板的所有孔中添加5 $\mu$ L。遮盖板,避光并在室温下温育3小时,然后使用EnVision酶标仪(Perkin Elmer)在620nm和665nm发射波长下读取时间分辨荧光。通过如方程式4中所述计算 $\Delta F$ 并且根据方程式5或在一些情况下根据方程式6计算每个样品的受体百分比来分析数据。使用GraphPad Prism软件,使用四参数逻辑方程式(方程式7)(图1)通过曲线拟合测定IC<sub>50</sub>值。

[0875] 测定抗OX40L抗体对重组OX40L诱导的IL2从原代分离T细胞释放的影响

[0876] 将重组人OX40L(内部)于培养基中稀释至400ng/mL的浓度并且向经组织培养处理的96孔板(Costar)添加50 $\mu$ L。在96孔板(greiner)中的培养基中滴定抗OX40L抗体或适当物种的同种型对照(Sigma或内部),然后将50 $\mu$ L滴定液转移到装有50 $\mu$ L OX40L的96孔板中。在添加CD3阳性T细胞之前在室温下使抗体滴定液与重组OX40L温育30分钟。

[0877] 使用Ficoll-Paque plus(GE Healthcare)通过密度梯度离心从去白细胞系统室(NHSBT)分离PBMC。使用雌性微珠(Miltenyi Biotech)根据生产商的建议通过阴性选择从人PBMC分离CD3阳性细胞(T细胞)。使分离的细胞以300xg离心5min,重新悬浮在培养基中(培养基定义为RPMI(Gibco)+10%v/v FBS或RPMI+5%v/v人AB血清)并且将50 $\mu$ L细胞悬浮液添加到含有重组OX40L和抗体滴定液的96孔板中以达到 $2 \times 10^5$ 个细胞/孔的最终浓度。

[0878] 然后向所有孔添加50 $\mu$ L、8 $\mu$ g/mL的PHA以达到2 $\mu$ g/mL的最终测定浓度。在收获上清液并分析IL-2浓度之前,在37 $^{\circ}$ C下温育细胞3天。在抑制剂缺乏时通过OX40L刺激定义最大IL-2释放量。仅用培养基(无OX40L)定义最小IL-2释放量。

[0879] 使用人IL-2 DuoSet ELISA试剂盒(R&D Systems)根据生产商的建议测定上清液中的IL-2水平。在4 $^{\circ}$ C下使IL-2捕获抗体(4 $\mu$ g/mL稀释于PBS中,50 $\mu$ L/孔)吸附到96孔低自体荧光、高蛋白结合板(Costar)过夜。通过用PBS-吐温洗涤去除过量IgG并且在室温下用在

PBS中的1%牛血清白蛋白 (BSA) 封闭孔1小时,之后如先前所述洗涤该板。然后添加50 $\mu$ l/孔经调节的培养基,还向ELISA板添加IL-2标准品(从2000pg/ml开始,1:2稀释)作为ELISA对照并且在室温下温育该板至少1小时。

[0880] 温育之后,如之前洗涤板以去除未结合的蛋白质。然后向板中添加生物素化IL-2检测Ab (200ng/mL于试剂稀释剂中(0.1%BSA/PBS);50 $\mu$ L/孔)并且在室温下温育1小时。通过用PBS-吐温(0.1%v/v)洗涤去除未结合的检测抗体,而用链霉亲和素-Europium<sup>3+</sup>偶联物(DELFI<sup>®</sup>A检测,PerkinElmer)检测剩余的生物素化抗体。在615nm下在Envision酶标仪(PerkinElmer)上测量时间分辨荧光。按照根据生产商的建议通过线性回归由标准曲线计算的销计数或IL-2释放浓度绘制荧光数据。使用GraphPad Prism软件,使用四参数逻辑方程式(方程式7)通过曲线拟合测定IC<sub>50</sub>值。

[0881] 表面等离子体共振分析:

[0882] 使用ProteOn<sup>™</sup> XPR36阵列系统(BioRad)进行SPR分析。使用胺偶合将抗小鼠IgG(GE Healthcare BR-1008-38)固定在GLM生物传感器表面,然后使用1M乙醇胺封闭该表面。试验抗体被捕获在该表面上并且使用256nM单一浓度下的重组hOX40L(人和恒河猴),使用缓冲液注射(即,0nM)双重参考结合传感图以去除基线漂移和注射伪差。使用ProteOn XPR36分析软件所固有的1:1模型测定OX40L-抗体相互作用的表观亲和力。使用HBS-EP(Teknova)作为运行缓冲液运行该测定并且在25℃下运行。

[0883] 实施例4

[0884] 先导抗体候选物的序列恢复

[0885] 选择和表征先导候选物后,使用RT-PCR,使用正向和反向引物的混合物恢复其全人可变结构域。使抗体重新格式化为IgG4骨架(IgG4-PE)并且使用瞬时表达体系在CHO-S细胞中表达。序列表中展示了所有序列的总结。

[0886] 从杂交瘤细胞分离RNA:

[0887] 使用TRIzol<sup>™</sup>试剂(Invitrogen)从杂交瘤细胞提取总RNA。通过分光光度法分析分离的RNA的量和质量。

[0888] 通过RT-PCR恢复抗体可变结构域:

[0889] 所选克隆物用于制备总RNA,总RNA在RT-PCR反应中用于恢复重链V区。IgG特异性反向引物和Ig前导序列特异性正向引物集或可选地IgG特异性反向引物和Ig 5'非翻译区(UTR)序列特异性正向引物集用于重链。 $\kappa$ 恒定区特异性反向引物和 $\kappa$ 前导序列特异性正向引物集或可选地 $\kappa$ 恒定区特异性反向引物和 $\kappa$ 5'UTR序列特异性正向引物集用于 $\kappa$ OX40L链。通过琼脂糖凝胶电泳分离RT-PCR产物,在正向和反向为预计尺寸的DNA测序。可选地,将RT-PCR产物亚克隆到克隆载体中并且提交单独克隆物的DNA进行测序。

[0890] 重组抗体的克隆

[0891] 使用标准限制酶消化和连接将编码mAb 10A7的重链可变区的DNA克隆到pREP4表达质粒(Invitrogen)中具有人IgG1恒定区的框内并且将编码mAb 10A7的轻链可变区的DNA克隆到pREP4表达质粒中具有人 $\kappa$ 恒定区的框内。

[0892] 框内具有人IgG4-PE恒定区的mAbs 10A7和2D10的重链可变区编码序列经密码子优化用于哺乳动物表达并且克隆到pXC-18.4表达质粒(Lonza)中,并且框内具有人 $\kappa$ 恒定区的mAbs 10A7和2D10的轻链编码序列经密码子优化用于哺乳动物表达并且使用标准限制酶

消化和连接克隆到pXC-17.4表达质粒(Lonza)中。为了重链和轻链同时表达,使用标准限制酶消化和连接使载体pXC-17.4和pXC-18.4融合成单个载体。

[0893] 为所有构建体测序以确保其正确的序列组成。

[0894] OX40L抗体的瞬时表达

[0895] 使用Invitrogen的FreeStyle™ CHO-S悬浮适应细胞系瞬时表达抗体以产生重组蛋白。使用PEI(聚乙烯亚胺MW40000)将质粒转染到细胞中并让其过度生长13天,之后收获上清液用于纯化。在过度生长期间为细胞供给来自于GE Healthcare的ActiCHO™ Feeds A和B以帮助提高生产率和促进细胞的长寿。在过度生长期间定期取样以监测细胞生长和活力。

[0896] 稳定Lonza库的产生

[0897] 为了产生毒理学研究所需的克数,将10A7和2D10OX40L抗体转移到Lonza GS Xceed系统进行稳定表达。每种抗体的HC和LC首先通过Genewiz密码子优化以在CHO细胞中表达。然后使用标准限制酶消化和连接将HC盒(含有优化的IgG4PE恒定区)克隆到Lonza的pXC18.4载体中并且将LC盒(含有优化的κ恒定区)克隆到Lonza的pXC17.4载体中。然后通过限制酶消化和连接产生编码HC和LC序列的双基因载体(DGV)并且在表达之前确认序列。

[0898] 稳定库产生之前,使用PEI(聚乙烯亚胺MW40000)在LonzaCHOK1SVK0细胞系中瞬时表达分别编码HC和LC的单基因载体以及含有两者的DGV。在收获上清液进行纯化之前,让细胞过度生长13天。在此期间为细胞供给来自于GE Healthcare的ActiCHO™ Feeds A和B以帮助提高生产率和促进细胞的长寿。在过度生长期间定期取样以监测细胞生长和活力。一旦确认瞬时表达并且分析纯化的物质,则抗体作为稳定库表达。

[0899] 使用Lonza的专有方法和培养基产生稳定库。每种抗体产生4个库并让其经10-15天恢复。细胞恢复后,冷冻细胞的预接种原液(PSS)用于稍后回收和产生MCB。然后使用Lonza的专有培养基设置小规模(50mL)摇瓶加料分批过度生长。让细胞过度生长14天。在此期间监测细胞的生长、活力和葡萄糖水平。相应地为细胞补充Lonza的专有供料和400g/L葡萄糖。还在整个过程中取样进行粗样量化。过度生长过程结束时,收获上清液进行纯化。

[0900] 使用Lonza的专有方法和培养基产生稳定库。每种抗体产生4个库并让其经10-15天恢复。细胞恢复后,冷冻细胞的预接种原液(PSS)用于稍后回收和产生MCB。然后使用Lonza的专有培养基设置小规模(50mL)摇瓶加料分批过度生长。让细胞过度生长14天的时期。在此期间监测细胞的生长、活力和葡萄糖水平。相应地为细胞补充Lonza的专有供料和400g/L葡萄糖。还在整个过程中取样进行粗样量化。过度生长过程结束时,收获上清液进行纯化。

[0901] 虽然2D10和10A07在序列上相似,但是在稳定Lonza库中的表达图谱不同,当在4个单独产生的稳定库中使用摇瓶时在最适条件下10A07表达到极低滴定,而2D10在高得多的滴度下表达(参见表2)。

[0902] 表2(浓度,按mg/L计)

	稳定库	第 7 天	第 8 天	第 9 天	第 10 天	第 11 天	第 12 天	第 13 天	第 14 天
[0903]	2D10-1	261	492	681	993	1157	1590	1530	1575
	2D10-2	245	461	665	983	1127	1485	2025	1995
	2D10-3	317	528	731	1163	1367	1785	1905	1860
	2D10-4	372	677	785	1286	1350	1935	1965	1800
	对照抗体 1	92	129	167	229	297	357	416	N/A
	对照抗体 1	66	95	127	161	208	238	266	N/A
	对照抗体 1	68	102	132	192	266	324	314	N/A
[0904]	体 1								
	对照抗体 1	88	129	165	245	328	410	385	N/A

[0905] 表达后,使用两步纯化法纯化恒河猴GvHD模型中使用的抗体。首先使用MabSelect SuRe (GE Healthcare) 亲和色谱法纯化抗体。使用IgG洗脱试剂 (Pierce) 从MabSelect SuRe 培养基洗脱抗体并且在第二个纯化步骤之前在乙酸钠 (pH 5.5) 中透析洗脱的抗体。然后通过阳离子交换纯化抗体并且用氯化钠在乙酸钠缓冲液中洗脱。在PBS中透析洗脱的抗体。通过在OD280nm下读数的分光光度计量化抗体并且调节到所需浓度 (10mg/ml)。通过SDS-PAGE 分析和尺寸排阻色谱法评估抗体纯度。用Endosafe PTS和LAL试验药筒 (Charles River Laboratories) 测量内毒素浓度。

#### [0906] 实施例5

[0907] 测定抗OX40L抗体在同种异体PBMC混合淋巴细胞反应中的作用

[0908] 使用Ficoll-Paque plus (GE Healthcare) 密度梯度离心从去白细胞系统室 (NHSBT) 分离PBMC。在37℃下于PBS中将PBMC与10μg/mL丝裂霉素C (Sigma) 预先温育。然后在PBS中洗涤细胞3次,以300xg离心3分钟,每次洗涤后抽吸上清液。按 $2 \times 10^6$ /ml的浓度、50μL/孔将同种异体PBMC (未经丝裂霉素C处理) 添加到96孔板中补充了10%v/v FBS的RPMI中。将抗OX40L抗体稀释于培养基中并且按50μL/孔添加到含有PBMC (未经丝裂霉素C处理) 的96孔板中。然后向96孔板中的同种异体PBMC (未经丝裂霉素C处理) 中添加经丝裂霉素C处理的PBMC,基于细胞数量/孔,最终细胞比率在1:1至4:1经丝裂霉素C处理:未经丝裂霉素C处理的范围内。在37℃/5%CO<sub>2</sub>下温育细胞5天。5天之后,根据生产商的建议通过duoset ELISA (R&D Systems) 测量TNF-α、IFN-γ 和IL-2。根据生产商的建议通过CFSE稀释测量增殖。

[0909] 使用Ficoll-Paque plus (GE Healthcare) 密度梯度离心从去白细胞系统室 (NHSBT) 分离PBMC。在37℃下于PBS中将PBMC与10μg/mL丝裂霉素C (Sigma) 预先温育。然后在PBS中洗涤细胞3次,以300xg离心3分钟,每次洗涤后抽吸上清液。使用雌性微珠 (Miltenyi Biotech) 根据生产商的建议通过阴性选择从同种异体PBMC分离在一些情况下为CD3阳性而在其它情况下为CD4和CD8阳性的T淋巴细胞 (T细胞)。在一些情况下,使用未经丝裂霉素C处理的PBMC代替T细胞。将分离的细胞以300xg离心5min,重新悬浮在培养基中 (培养基定义为RPMI (Gibco) +10%v/v FBS或RPMI+5%v/v人AB血清) 并且将50μL细胞悬浮液添加到含有重

组OX40L和抗体滴定液的96孔板中以达到 $2 \times 10^5$ 个细胞/孔的最终浓度。将抗OX40L抗体于培养基中稀释到最终测定浓度100nM或在一些情况下使用抗体滴定液。按50 $\mu$ L/孔将抗体添加到含有T细胞或未经丝裂霉素C处理的PBMC的96孔板中。然后向96孔板中的T细胞或未经丝裂霉素C处理的PBMC中添加经丝裂霉素C处理的PBMC,基于细胞数量/孔,最终细胞比率在1:1至4:1经丝裂霉素C处理的PBMC:T细胞(或PBMC)的范围内。在37 $^{\circ}$ C/5%CO<sub>2</sub>下温育细胞5天。5天之后,根据生产商的建议通过duoset ELISA (R&D Systems) 测量IFN- $\gamma$ 。

[0910] 当相对于缺乏抗体的对照孔观察到因子释放 (IFN- $\gamma$ ) >20%抑制(参见方程式8)时,将抗OX40L抗体定义为同种异体PBMC/T细胞MLR或PBMC/PBMC1 MLR中的抑制剂。从进行的4次实验看,一次实验为技术失败,定义为在同种异体供者间未检测到MLR反应 (IFN- $\gamma$  释放)。其余三次实验中,三次用2D10、10A07和阳性对照1全部显示出抑制(相对于缺乏抗体的对照孔观察到因子释放 (IFN- $\gamma$ ) >20%抑制),然而在三次实验之一中,用同种型对照抗体也观察到显著抑制(图2)。对于PBMC/PBMC MLR,进行三次实验。三次实验中,两次被视为技术失败,因为IFN- $\gamma$  释放不存在或很低。然而,在另一实验中与同种型对照相比时10A07抑制IFN- $\gamma$  释放。

[0911] 方程式8:百分比抑制 (MLR)

[0912] 基于来自于如所述测定的IFN- $\gamma$  或IL2释放 (pg/mL) 的值

$$[0913] \quad \text{抑制}\% = 100 - \frac{\text{样品值} - \text{无刺激物}}{\text{无 IgG} - \text{无刺激物}} \times 100$$

[0914] 无刺激物=仅添加T细胞或未经丝裂霉素C处理的PBMC(未经丝裂霉素C处理的PBMC)的孔

[0915] 无IgG=添加T细胞或在一些情况下添加未经丝裂霉素C处理的PBMC和经丝裂霉素C处理的PBMC,但无IgG的孔

[0916] 实施例6

[0917] 测定抗OX40L抗体对CD3初免原代人T淋巴细胞的作用

[0918] 为了确定抗OX40L是否具有在OX40L缺乏时诱导T细胞反应的能力,使用改编自Wang等,Hybridoma (Larchmt). 2009年8月;28(4):269-76的方法进行以下测定,其中描述了激动性抗OX40L抗体。

[0919] 将小鼠抗人CD3抗体(Becton Dickinson)于无菌PBS中稀释到0.5 $\mu$ g/mL并且以50 $\mu$ L/孔向96孔高结合无菌板中添加并且在4 $^{\circ}$ C下温育过夜。

[0920] 过夜温育之后,用100 $\mu$ L无菌PBS洗涤该板三次。

[0921] 如实施例3中所述从源自去白细胞系统室(NHSBT)的PBMC分离T细胞(CD3阳性)。分离之后,按100 $\mu$ L向孔中添加细胞以达到 $1 \times 10^5$ 个细胞/孔的最终浓度。

[0922] 将试验抗体稀释于RPMI+10%FBS并且以50 $\mu$ L或100 $\mu$ L/孔向细胞板添加以达到10 $\mu$ g/mL的最终测定浓度。在一些情况下,还按1 $\mu$ g/mL的最终浓度向孔内添加小鼠抗人CD28抗体(Becton Dickinson)。

[0923] 测定物温育5天。5天后,收获上清液并且如实施例5中所述测定上清液中的IFN- $\gamma$ 水平。

[0924] 在4个独立供者中进行测定并且没有观察到添加呈IgG4PE形式的10A07或2D10

(IFN- $\gamma$  释放) 优于用人IgG4PE同种型对照所观察到的效果。

[0925] 实施例7

[0926] 恒河猴移植抗宿主疾病 (GvHD) 模型

[0927] 在单倍体相合造血干细胞移植 (HSCT) 的恒河猴模型中检查了抗体2D10IgG4PE作为对GvHD治疗有预防性的单一疗法的有效性。先前已经描述在这种模型中经历HSCT的猴子存活时间为6-8天 (Miller, Weston P.等“GVHD after haploidentical transplantation: a novel, MHC-defined rhesus macaque model identifies CD28<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>T cells as a reservoir of breakthrough T-cell proliferation during costimulation blockade and sirolimus-based immunosuppression.”Blood, 116, 24 (2010) :5403-5418.)

[0928] 所有移植物均介于在一个MHC单倍体 (“单倍体相合-HCT”) 错配的半同胞对之间。受者动物经历使用直线加速器的基于辐射的骨髓前移植前调节。剂量率: 7cGy/min。1020cGy剂量分4份给药。白细胞去除供者动物经历GCSF迁移并且经历使用Spectra Optia血清分离置换机的白细胞去除。下表给出了对于4次成功实验而言CD3<sup>+</sup>细胞和CD34<sup>+</sup>细胞的有核细胞总数 (TNC) 剂量的每kg剂量。

[0929] 表3

	受者 ID#	动物 编号	受者体 重(kg)	TNC(10 <sup>9</sup> 个/kg)	CD3 <sup>+</sup> T 细胞 10 <sup>6</sup> 个/kg	CD34 <sup>+</sup> 细胞 10 <sup>6</sup> 个/kg
[0930]	A14079	#2	9.75	1.13	149.76	0.51
	A14081	#4	7.02	2.99	389.08	4.79
	A14082	#5	7.6	2.24	312.95	2.69
[0931]	A14087	#6	5.75	3.44	385.66	9.99

[0932] 根据定于移植后第-2天、第+5天、第+12天、第+19天、第+26天、第+33天、第+40天、第+47天进行的计划给药方案, 2D10IgG4PE按10mg/kg给药。用任何动物未由于施用2D10IgG4PE见到严重的不良给药副作用。

[0933] 研究过程中取样以监测供者嵌合 (表4) 并且也监测白血细胞计数。初级终点基于存活率, 将存活到15天视为成功预防性治疗的迹象 (并且与无预防记录存活6-8天相比较)。虽然计划用GvHD分级评分、T细胞活化标志物 (如Ki-67和颗粒酶B) 和基因阵列分析的完全病理学和组织学, 但是其不可包含在内。

[0934] 这些研究的方法基本上如Miller WP等, (2010) “GVHD after haploidentical transplantation: a novel, MHC-defined rhesus macaque model identifies CD28-CD8+ T cells as a reservoir of breakthrough T-cell proliferation during costimulation blockade and sirolimus-based immunosuppression”, Blood 116:5403-5418中所述。

[0935] GvHD的临床分期

[0936] 临床症状的评分基于观察评估和临床化学, 根据表5中列出的标准分类。

[0937] 组织病理学

[0938] 在尸体剖检时收集组织, 包括肺部、肝脏、皮肤和胃肠道并且在福尔马林 (formalin) 中固定并石蜡包埋。切片, 安装载玻片并且用苏木精/伊红或用T细胞标志物染

色以可视化受淋巴细胞的组织浸润。由具有GvHD的特定专业知识的组织病理学家使用半定量评分系统读取准备的切片。

#### [0939] 流式细胞术

[0940] 在造血干细胞移植之前和之后及在尸体剖检时收集纵向外周血样用于进行淋巴细胞亚群的流式细胞分析。在尸体剖检时收集肺部、肝脏、结肠、脾脏和淋巴结(腋窝和腹股沟)组织并且酌情解离或酶促消化以通过流式细胞术进行淋巴细胞浸润物的后续分析。使用以下T淋巴细胞标记探针通过使用LSRFortessa细胞分析仪(BD Biosciences)的多色流式细胞术分析样品:CD3 (APC-Cy7标记;克隆物SP34-2,BD Biosciences)、CD4 (BV786标记;克隆物L200,BD Biosciences)、CD8 (BUV395标记;克隆物RPA-T8,BD Biosciences)、CD28 (PE-Cy7标记;克隆物CD28.2,eBioscience)、CD95 (BV605标记;克隆物DX2,Biolegend)。使用Ki-67 (FITC标记,Dako) 鉴定增殖细胞群。CD4+或CD8+T细胞亚区室标记如下:天然T细胞(CD28+/CD95-)、中央记忆T细胞(CD28+/CD95+)、效应记忆T细胞(CD28-/CD95+)。

#### [0941] 嵌合

[0942] 使用离散供者和受者特异性MHC连接的微卫星标志物,通过比较供者和受者特异性扩增子的峰高来测定外周血或T细胞(CD3+/CD20-) 嵌合(Penedo MC等,(2005) “Microsatellite typing of the rhesus macaque MHC region”,Immunogenetics 57: 198-209。

#### [0943] 表5

分期	皮肤	肝脏(胆红素)	GI
0	无 GVHD 皮疹	比基线增加<4 倍	无腹泻
1	皮疹<25%表面积	增加 4-8 倍	“轻度”腹泻
2	皮疹 25-50%表面积	增加 8-20 倍	“中度”腹泻
3	皮疹>50%表面积	增加 20-50 倍	“重度”腹泻
4	伴大疱形成的全身性红皮病	增加>50 倍	“极重度”腹泻

[0945] 总共选择6只动物接受HSCT。这6只动物中,两次实验被视为技术失败,一只动物经历可阻碍移植的病毒再活化并且看到最初供者嵌合上升,但之后下降,表明第二次重构为自体再增殖。在嵌合下降和自体再增殖的同时看到单个高的巨细胞病毒(CMV)和恒河猴淋巴潜伏病毒(rhLCV)读数。第二次技术失败是血浆分离置换机不能产生用于移植的合适产品的结果。因为受者动物已经受辐射,所以必须处死。另外4只动物全部存活到15天的初级终点,与历史和同时期无预防对照两者相比表现出更长的存活期。下面的表6概述了这项研究中对每只动物的总结。

#### [0946] 实施例8

#### [0947] 药代动力学

[0948] 在第0天为恒河猴给药10mg/kg的2D10或适当的非功能性同种型对照抗体。在+15分钟、+1小时、+8小时、+24-36小时、+72小时、+96小时、+第8天、+第11天、+第15天、+第18天、+第22天、+第25天后取样。在第29天,为动物给药3mg/kg的2D10或适当的非功能性同种型对

照抗体。在第29天+15分钟、+1小时、+8小时后取样,然后在第29天后24-36小时取样。在第+32天、第+33天、第+36天、第+39天、第+43天、第+46天、第+50天、第+53天、第+57天、第+60天、第+64天、第+67天和第+71天继续取样。

[0949] 为测定PK,将抗人IgG于PBS中稀释到8 $\mu$ g/mL并且在4 $^{\circ}$ C下吸附到96孔低自体荧光、高蛋白结合板(Costar)过夜。通过用PBS-吐温洗涤去除过量IgG并且在室温下用5%w/v脱脂奶粉(封闭缓冲液)封闭孔1小时。温育期后,洗涤板。将血浆样品于封闭缓冲液中稀释(多次稀释)。还使用从10 $\mu$ g/mL开始稀释于封闭缓冲液中(1:3稀释)的阳性对照抗OX40L抗体的滴定液产生标准曲线。向板中添加滴定液或稀释的血浆样品并且在室温下温育1小时。然后洗涤板并且在室温下将生物素化人OX40L于添加的封闭缓冲液中稀释1小时到500ng/mL。然后洗涤板并且添加稀释于 DELFIA<sup>®</sup>测定缓冲液(Perkin Elmer)中的链霉亲和素-Europium<sup>3+</sup>偶联物(DELFIA<sup>®</sup>检测,PerkinElmer)。然后在Tris缓冲盐水+0.1%吐温中洗涤板3次。然后,向板中添加DELFIA增强液(Perkin Elmer)并且在615nm下在Envision酶标仪(PerkinElmer)上测量时间分辨荧光。通过将来自于样品孔的荧光值外推到使用四参数对数曲线拟合算法从由阳性对照抗OX40L抗体的滴定产生的标准曲线得到的荧光值,计算血浆中抗OX40L抗体的浓度。



[0950]

表 4

动物 编号	动物 ID	存活持 续时间 (天数)	全血嵌合(%)																	
			第 0 天	第 1 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天	第 8 天	第 11 天	第 12 天	第 14 天	第 15 天	第 16 天	第 18 天	第 20 天	第 21 天	第 23 天	第 26 天	
(#1)	(13189)	(24)	0		6.6			27.5		90.4		81.8			19.7		0			
#2	14079	16	0	5.7		31.7			66.3		82.3		88.2	79.8						
(#3)	(14075)	(0)																		
#4	14081	26		22.9		68.2			82.9		92.1		97.5			98.4		98.8	98.7	
#5	14082	22				91.4			98.4		98.6		99.1			99.2		98.6		
#6	14087	16		16.6		66.3			97.4		99.5		99.4							

括号内的数据表示由于感染(动物 1)或技术失败(动物 3)的实验失败。

[0951]

表6

[0952]

2D10 IgG4PE 恒河猴 GvHD 研究	
动物	详情
#1	存活到第 24 天。接受 4 个剂量的 2D10 IgG4PE。双相造血重建；外周血嵌合数据表示初期供体移植，接着是与 CMV 和 rhLCV 感染证据同时发生的自体再增殖。病毒感染被视为移植失败的可能原因。记录为技术失败。
#2	存活到第 16 天。接受 3 个剂量的 2D10 IgG4PE。第 15 天为 88% 的峰值外周血供者嵌合。无 CMV 或 rhLCV 感染的证据。由于导管部位的伤口按兽医的意见终止研究(未被视为治疗或 GvHD 相关)。尸体剖检时的 GvHD 分期：皮肤 1(皮疹 < 25%)；肝脏 0(胆红素未升高)；GI 0(无腹泻)。
#3	记录为技术失败。单采设备故障产生明显次最佳的供者血液产品。
#4	存活到第 26 天。接受 4 个剂量的 2D10 IgG4PE。到第 23 天清楚的造血重建与 99% 的峰值外周血供者嵌合。无 CMV 或 rhLCV 感染的证据。由于阴囊水肿按兽医的意见终止研究。尸体剖检时的 GvHD 分期：皮肤 2(皮疹 25-50%)；肝脏 0(胆红素未升高)；GI 0(无腹泻)。肉眼尸检确认无明显的内脏 GvHD。
#5	存活到第 22 天。接受 4 个剂量的 2D10 IgG4PE。到第 12 天清楚的造血重建与 99% 的峰值外周血供者嵌合。无 CMV 或 rhLCV 感染的证据。由于持续较低的血小板计数与高出血风险和发展出急性全身性 GVHD 的体征而研究终止。尸体剖检时的 GvHD 分期：皮肤 3(皮疹 > 50%)；肝脏 1(胆红素升高 4-8x)；GI 3(重度腹泻)。
#6	存活到第 16 天。接受 3 个剂量的 2D10 IgG4PE。到第 12 天清楚的造血重建与 100% 的峰值外周血供者嵌合。无 CMV 或 rhLCV 感染的证据。尸体剖检时的 GvHD 分期：皮肤 2(皮疹 25-50%)；肝脏 1(胆红素升高 4-8x)；GI 2(中度腹泻)。

[0953]

序列表

SEQ ID NO:			
1	10A07	VH 核苷酸序列	GAGGTGCAACTGGTGAGTCTGGGGAGTCTTGGTACAGCCGGGGGGTCCCTGAG ACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTAGCAGTTATATGACTTGGGTCCGCC AGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGGTATTAGTGGTAGTGGTGGT ACATACTACGCAGACTCCATGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAG AACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCCGTATATTAC TGTGCGAAAGATCGGTAGGTCCGATTACTTTGGTTCGGGGGGCTATTACTACGGTA TGGACGCTCTGGGGCCAAGGGACCAACGGTCAACCGTCTCCTCA
2		VH 氨基酸序列	EVQLVESGGVLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYIMTWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGGTY YADSMKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRVEDTAVYYCAKDRLGPITLVRGGYYGMDV WGQGTTVTVSS
3		HCDR1 核苷酸序列(IMG1)	GGATTCACCTTTAGCAGTTATATT
4		HCDR1 氨基酸序列(IMG1)	GFTSSYI
5		HCDR2 核苷酸序列(IMG1)	ATTAGTGGTAGTGGTGGTGATACA
6		HCDR2 氨基酸序列(IMG1)	ISGSGGGT
7		HCDR3 核苷酸序列(IMG1)	GCGAAAGATCGGTAGGTCCGATTACTTTGGTTCGGGGGGGCTATTACTACGGTATGG ACGTC
8		HCDR3 氨基酸序列(IMG1)	AKDRLGPITLVRGGYYGMDV
9		HCDR1 核苷酸序列(KABAT)	AGTTATATTGACT
10		HCDR1 氨基酸序列(KABAT)	SYIMT
11		HCDR2 核苷酸序列(KABAT)	GGTATTAGTGGTAGTGGTGGTGACATACACGACACTCCATGAAGGGC
12		HCDR2 氨基酸序列(KABAT)	GISGSGGGTYADSMKG
13		HCDR3 核苷酸序列(KABAT)	GATCGGTAGTCCGATTACTTTGGTTCGGGGGGGCTATTACTACGGTATGGACGTC
14		HCDR3 氨基酸序列(KABAT)	DRLGPITLVRGGYYGMDV
15		VL 核苷酸序列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTC ACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCGACTATTATAATTGGTATCAGCAGA AACCAGGGAAGCCCTAAAGTTCTCTGATCTGATCTGATCCAGTTTGCAAAAGTGGAG TCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACCTCTCACCGTCAGCA

[0954]

				GTCTGCAACCTGAAGATTGTCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCG GACGTTCCGGCCAAAGGACCAGGGTGGAATCAAA
16			VL 氨基酸序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQISIDYLNWYQQKPKAPKFLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTIVSSLPEDFATYYCQQSYSTPRTFGQGRVEIK
17			LCDR1 核苷酸序列(IMG)	CAGAGCATTAGCGACTAT
18			LCDR1 氨基酸序列(IMG)	QSIDY
19			LCDR2 核苷酸序列(IMG)	GCTGCATCC
20			LCDR2 氨基酸序列(IMG)	AAS
21			LCDR3 核苷酸序列(IMG)	CAACAGAGTTACAGTACCCCTCGGACG
22			LCDR3 氨基酸序列(IMG)	QQSYSTPRT
23			LCDR1 核苷酸序列(KABAT)	CGGCAAGTCAGAGCATTAGCGACTATTAAAT
24			LCDR1 氨基酸序列(KABAT)	RASQISIDYLN
25			LCDR2 核苷酸序列(KABAT)	GCTGCATCCAGTTTGCAAAAGT
26			LCDR2 氨基酸序列(KABAT)	AASSLQS
27			LCDR3 核苷酸序列(KABAT)	CAACAGAGTTACAGTACCCCTCGGACG
28			LCDR3 氨基酸序列(KABAT)	QQSYSTPRT
29			重链核苷酸序列	GAGGTCCAGCTCGTGGAAGGAGGAGTGCTCGTGACGCTGGAGGCAGCCTCAG GCTGTCTGTGCCGCTCCGGCTTCACTTCAAGCAGCTACATCATGACCTGGTGAG GCAGGCTCCCGGAAAGGCTGGAGTGGTCCGGCATCTCCGGATCCGGAGGAG GCACATACTACGCCGACAGCATGAAGGCCGGTTTCAACCATCAGCCGGGACATAAGCA AGAATACCTCTACCTGCAATGAACAGCCTGCGGGTGAGGATACCGCCGTGTACT ACTGCGCCAAAGATAGGTGGGCCAGGCCACCAACCGTGACAGTGTCAGGCCAGCACAAG GCATGGATGTGGGGCCAGGCCACCAACCGTGACAGTGTCAGGCCAGCACAAG GGCCCTCCGTGTTCCCTGGCCCTTGCAGCAGGAGCACTCCGATCCACAGCT GCCCTGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAA CAGCGGCGCTCTGATCCGGGCTCCACACCTTCTCCGCTCTGCACTCCCTCCG CCTCTACTCCCTGTCTCCGTGGTGACCGTGCTAGCTCTCCCTCGGACCAAGACC TACACCTGTAAACGTGGACCAACACCTCCACCAAGGTGGACAAACGGGTGGA GAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCTTGTCTGCCCTCCGAGTTCGAAGGCGGACC CAGCGGTTCCTGTTCCCTCCTAAGCCCAAGGACACCTCATGATCAGCCGGACACC CGAGGTGACCTGCGTGGTGGATGTGAGCCAGGAGGACCTGAGGTCCAGTTCA ACTGGTATGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAAACGCCAAGACAAAGCCCCGGGAAGAG

[0955]

				CAGTTCAACTCCACCTACAGGGTGGTCAGCGTGTGACCGTGTGCATCAGGACTGG CTGAACGGCAAGGAGTACAAAGTGCAAGTCAAGGAGTGCACGAGTGCACGAGCAT CGAGAAGACCATCTCCAAGGTAAAGGCCAGCCCCGGGAACCTCAGGTGTACACCC TGCCTCCAGCCAGGAGGATGACCAAGAACAGGTGAGCTGACCTGCCTGGTG AAGGATTCTACCTTCCGACATCGCGTGGAGTGGAGTCCAAACGCCAGCCCCGA GAACAATTATAAGACCAACCCCTCCGTCCTCGACAGCAGGATCCTTCTTCTGTAC TCCAGGCTGACCGTGGATAAGTCCAGGTGGCAGGAAGCAACGTGTTCAAGCTGCTC CGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATC/ACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGTCCCT GGAAAG
30	重链氨基酸序列			EVQLVESGGVLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYIMTWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGT YADSMKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRVEDTAVYYCAKDRLGPITLVRGGVYYGMDV WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVEKYGPPCPPC PAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLTVQLQDWLNKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCVSMHEALHNHYTQKSLSLGLK
31	轻链核苷酸序列			GACATCCAGATGACCCAGTCCCTTCTCCCTGTCCTCCGCTCCGTGGGAGACAGGGTG ACCATCACCTGCCGGGCCAGCCAGTCCATCAGCAGTACCTGAACCTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCAAGGCCCTAAGTTCCTGATCAGCGCTTCTCCTCCTGCAGTCCCGGA GTGCCCAGCAGGTTTCCGGCTCCGGATCCGGCACCGACTTCACTCAGCAGTACAGACCCCC AGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCGCAGCAGAGTACAGACCCCTC AGGACATTTGGCCAGGGCACCCGGGTGGAGATCAAGAGGACCGTCCGCTGCCCTC CGTGTATTATCTTCCCCCGACGACGAGAGTGAATCCGGCACCCGCTCCGTGGT CTGCCTGCTGAATAACTTACTCCCTCGGGAGGCCAAAGTGCAGTGAAGGTGGACA ACGCCCTGCAGAGCGGAAACTCCCAAGGAGAGCGGTGACCGCAGGAGTCCCAAGGA CTCCACATACCTCCTGTCTCCACCTGACACTGTCCAAAGGCCGATTACGAGAAGCA CAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAAGGACTGTCTCTCCCCCGTGACCAAGT CCTTCAACCGGGGCGAGTGC
32	轻链氨基酸序列			DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQSIDYLNWYQQKPGKAPKFLIYAASSLSQGVPS RFSGSGSGTDFTLTVSSLPEDFATYYCQQSYSTPRTFGGQTRVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
33	VH 核苷酸序列	02D10		GAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAG

[0956]

				ACTCTCTGTGCAGCCTCTGTGATTCACCTTTTAGCAACTATGCCATGAACCTGGGTCCGC CAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGTCTCAACTATTAGCGGAAGTGGTGGTGC CACAAGGTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATATCCAGACAAATCCAG GAACACGGTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGTCGAGACACGGCCGTTTTTA CTGTACGAAGATCGGCTCATTTATGGCTACGGTTCGGGACCCCTATTACTACGGTATG GACGTCTGGGGCCAAAGGGACACCGGTACCCGTCTCCTCA
34			VH 氨基酸序列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWRQAPGKGLEWVSTISGSGGAT RYADSVKGRFTISRDNRSNTVYLQMNSLRVEDTAVFYCTKDRLIMATVRGPYYGMDV WGQGTTVTVSS
35			HCDR1 核苷酸序列(IMG)	GGATTCACCTTTTAGCAACTATGCC
36			HCDR1 氨基酸序列(IMG)	GFTFSNYA
37			HCDR2 核苷酸序列(IMG)	ATTAGCGGAAGTGGTGGTGCACACA
38			HCDR2 氨基酸序列(IMG)	ISGSGGAT
39			HCDR3 核苷酸序列(IMG)	ACGAAAGATCGGCTCATTATGGCTACGGTTCGGGGACCCCTATTACTACGGTATGGACG TC
40			HCDR3 氨基酸序列(IMG)	TKDRLIMATVRGPYYGMDV
41			HCDR1 核苷酸序列(KABAT)	AACTATGCCATGAAC
42			HCDR1 氨基酸序列(KABAT)	NYAMN
43			HCDR2 核苷酸序列(KABAT)	ACTATTAGCGGAAGTGGTGGTGCACAAAGGTATGCAGACTCCGTGAAGGGC
44			HCDR2 氨基酸序列(KABAT)	TISGSGGATRYADSVKG
45			HCDR3 核苷酸序列(KABAT)	GATCGGCTCATTATGGCTACGGTTCGGGGACCCCTATTACTACGGTATGGACGTC
46			HCDR3 氨基酸序列(KABAT)	DRLIMATVRGPYYGMDV
47			VL 核苷酸序列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTC ACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGCAGA AACCAGGGAAGCCCTAACCTCTGATCTATGCTGATCCAGTTTGCAAAAGTGGGG TCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGAGACAGATTTCACCTCTCACCATCAGCA GTCTGCAACCTGAAGATTTCGAACCTACTGTCTCAACAGAGTCAAGTGTCTCAT CACTTTCGGCCCTGGGACCAAAAGTGATATCAAA
48			VL 氨基酸序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSEDTFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSVSFTFGPGTKVDIK
49			LCDR1 核苷酸序列(IMG)	CAGAGCATTAGCAGCTAT

[0957]

50			LCDR1 氨基酸序列(IMGT)	QSISSY	
51			LCDR2 核苷酸序列(IMGT)	GCTGCATCC	
52			LCDR2 氨基酸序列(IMGT)	AAS	
53			LCDR3 核苷酸序列(IMGT)	CAACAGAGTCACAGTGTCTCATTCACT	
54			LCDR3 氨基酸序列(IMGT)	QQSHSVSFT	
55			LCDR1 核苷酸序列(KABAT)	CGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTATAAT	
56			LCDR1 氨基酸序列(KABAT)	RASQSISSYLN	
57			LCDR2 核苷酸序列(KABAT)	GCTGCATCCAGTTTGCAAAAGT	
58			LCDR2 氨基酸序列(KABAT)	AASSLQS	
59			LCDR3 核苷酸序列(KABAT)	CAACAGAGTCACAGTGTCTCATTCACT	
60			LCDR3 氨基酸序列(KABAT)	QQSHSVSFT	
61			重链核苷酸序列	GAAAGTGCAACTGGTGGAGTCCGGAGGAGGCCTGGTGACGCTGGAGGAAAGCCTGA GGCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACTACGCCATGAAGCTGGGTGA GGCAGGCCCTGGCAAGGGAAGTGGAGTGGTCTCCACCCATCAGCGGCTCCGGAGGC GCTACACGGTACGCCGATAGCGTGAAGGGCCGGTTTACCATTTCGCCGGGACAACTCC CGGAACACCCGTGTACCTCCAGATGAACAGCCTGAGGGTGGAGGATACCGCGTGTTC TACTGCACCAAGGACAGGCTGATTATGGCACCCGTGACCGTGTCTCCGCTCCACCAAGGG ATGGATGTGTGGGGCCAGGGCACAAACCGTCAACCGTGTCTCCGCTCCACCAAGGG ACCTAGCGTGTTCCTCTCGCCCTGTTCAGGTCCACAAAGCGAGTCCACCGCTGC CCTCGGCTGTCTGGTGAAGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTCTCCTGGAATAG CGGAGCCCTGACCTCCGGGTGCACACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGAC TGTATAGCCTGAGCAGCGTGTGACCGTGCCAGCTCCAGCCTCGGCACCAAAACCT ACACCTGCAACGTGGACCAAGCCCTCCAAACCAAGGTGGACAAAGCGGGTGGA GAGCAAGTACGGCCCCCTTGCCCTCCTTGTCTGCCCTGAGTTCGAGGGAGGACC CTCCTGTCTCTGTTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTGATGATCTCCCGACACC CGAGGTGACCTGTGTGTGTGGAGCTCAGCCAGGAGACCCGAGGTGCAGTTCA ACTGGTATGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAAACCAAGCCAGGGAGGAG CAGTTCAATTCCACCTACAGGTGTGTGAGCGTGTGACCGTCTGCTCATCAGGATTGG CTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCTCAACAAAGGACTGCCCAAGCTCCAT CGAGAAAGACCATCAGCAAGGTAAAGGGCCAGCCGAGGGAGCCCAAGGTATACCC TGCCTCTAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAACCAAGTGTCTGACCTGACCTGCTGGTG AAGGGATTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCCAGCCCCGA	

[0958]

62				重链氨基酸序列	GAACAACATAAAACAACCCCTCCCGTGCTCGATAGCAGCGCAGCTTCTTCTCTA CAGCCGGCTGACAGTGGACAAAGACAGGTGGCAGGAGGCAACGTGTTCTCCTGTT CCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACTACACACCCAGAAAGCCTCTCCCTGTCCCT TGGCAAG
					EVQLVESGGGLVQPGLSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAPGKGLEWVSTISGSGGAT RYADSVKGRFTISRDNRSNTVYLQMNSLRVEDTAVFYCTKDRIMATVRGPYYGMDV WQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTITYCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPC PAPEFEGGPSVFLPPKIDILMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK
63				轻链核苷酸序列	GACATCCAGATGACCCAGTCCCTTCTCCCTGAGCGCTAGCGTGGGAGATAGGGTG ACCATCACTGCAAGGGCTCCCAAGCATCTCTCTACCTGAACTGGTACCAGCAG AAACCCGGCAAGGCCCAACCTGTGATCTACGCTGCTCTCTCCCTCCAGTCCGGC GTGCTAGCAGGTTAGCGGCTCCGGAAGCAGACCGACTTCACCTGACCATCTCC TCCCTGACGCCGAGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAATCCACAGCGTGTCC TTCACCTCGGCCCGGCACCAAGGTGGACATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCTC CGTGTTCATCTTCCCTCCGATGAACAGCTGAAGAGCGGACCGCTAGCGTGGT GTGCTGCTGAACAACTTCTACCCAGGAGGCCAAGGTGCAAGTGAAGGTGGACA ATGCCCTGCAAGTCCGGCAACAGCCAGGAGAGCGGTGACCGAGCAGACTCCAAAGGAC AGCACCTACAGCCTGTCTCCACCTGACCTGTCCAAAGGCCGACTACGAGAAAGCAC AAAGTGTAACGCTGCGAAGTGACCCATCAGGGCCTGAGCTCCCTCCCTGACCAAGTC CTTTAACAGGGCGGAGTGC
64				轻链氨基酸序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASSLSQGVPSR FSGSGSETDFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSVSFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
65		09H04		VH 核苷酸序列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAG ACTCTCTGTGACGCTCTCGATTCAACCTCAAGTACTACTACATGACCTGGATCCGC CAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATAGTAGTAGTGGTAATACC ATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACACACGCCAAG AACTCACTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTAC TGTGCGAGAGATCTGAGTGGGAGCTACTGGGACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGG



[0959]

				GGCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA
66		VH 氨基酸序列		QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASRFTLSDYYMTWIRQAPGKGLEWVSYISSGNITYY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLSGSYWDYYYGMDVWG QGTTVTVSS
67		HCDR1 核苷酸序列(IMG)		CGATTACCCCTCAGTGACTACTAC
68		HCDR1 氨基酸序列(IMG)		RFTLSDYY
69		HCDR2 核苷酸序列(IMG)		ATTAGTAGTAGTGTAATACCATATA
70		HCDR2 氨基酸序列(IMG)		ISSSGNTI
71		HCDR3 核苷酸序列(IMG)		GCGAGAGATCTGAGTGGGAGCTACTGGGACTACTACTACGGTATGGACGTC
72		HCDR3 氨基酸序列(IMG)		ARDLSGSYWDYYYGMDV
73		HCDR1 核苷酸序列(KABAT)		GACTACTACATGACC
74		HCDR1 氨基酸序列(KABAT)		DYYMT
75		HCDR2 核苷酸序列(KABAT)		TACATTAGTAGTAGTGTAATACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGC
76		HCDR2 氨基酸序列(KABAT)		YISSSGNTIYYADSVKG
77		HCDR3 核苷酸序列(KABAT)		GATCTGAGTGGGAGCTACTGGGACTACTACTACGGTATGGACGTC
78		HCDR3 氨基酸序列(KABAT)		DLGSYWDYYYGMDV
79		VL 核苷酸序列		GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTACATCTGTAGGAGACAGAGTCA CCATCGCTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAACAATGCTTAGCCTGGTATCAGCAGA AACCAGGGAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCTCCAGTTTGGAAAGTGGGG TCCCATCAAGGTTTCAGCGGAGTGGATCTGGGACAGATTTCACCTCTCACCATCAGCA GCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCCTCG GACGTTCCGGCCAAAGGACCAAGGTGGAATCAAA
80		VL 氨基酸序列		AIQLTQSPSSLSTSVGDRVTIACRASQGINNALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESQVPSR FSGSGSTDFLTITSLQPEDFATYYCQQFNISYPRTFGQGTKVEIK
81		LCDR1 核苷酸序列(IMG)		CAGGGCATTAACAATGCT
82		LCDR1 氨基酸序列(IMG)		QGINNA
83		LCDR2 核苷酸序列(IMG)		GATGCCTCC
84		LCDR2 氨基酸序列(IMG)		DAS
85		LCDR3 核苷酸序列(IMG)		CAACAGTTTAATAGTTACCCCTCGGACG
86		LCDR3 氨基酸序列(IMG)		QQFNISYPRT

[0960]

87			LCDR1 核苷酸序列(KABAT)	CGGGCAAGTCAGGGCATTAAACAATGCTTTAGCC
88			LCDR1 氨基酸序列(KABAT)	RASQGINNALA
89			LCDR2 核苷酸序列(KABAT)	GATGCCTCCAGTTTGGAAAGT
90			LCDR2 氨基酸序列(KABAT)	DASSLES
91			LCDR3 核苷酸序列(KABAT)	CAACAGTTTAATAGTTACCCCTCGGACG
92			LCDR3 氨基酸序列(KABAT)	QQFNSYPRT
93	19H01		VH 核苷酸序列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTAAAGCCTGGGGGTCCCTTAG ACTCTCTGTGCAGCCTCTGTGATTCACCTTTCAGTAACGCTGGATGAGCTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTGGCCGTATTAAAGCAAAACTGAAG GTGGGACAACAGACTACGCTGCACCCGTGAAGGACAGATTCACCATCTCAAGAGAT GATTCAAAACACAGCTGTATCTGCAATGAAACAGCCTGAAACCCGAGGACACAGC CGTGATTACTGTACACAGATTTTCTATGGTTCGGGGAGTTCCTCTTTGACTACTGGG GCCAGGGAACCTGGTCAACCGTCTCCTCA
94			VH 氨基酸序列	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVGRISKTEGG TTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTDFLWFGEFPPDYWGQG TLVTVSS
95			HCDR1 核苷酸序列(IMG)	GGATTCACCTTTCAGTAACGCCTGG
96			HCDR1 氨基酸序列(IMG)	GFTFSNAW
97			HCDR2 核苷酸序列(IMG)	ATTAAAAGCAAAACTGAAGGTGGGACAAACA
98			HCDR2 氨基酸序列(IMG)	IKSKTEGGTT
99			HCDR3 核苷酸序列(IMG)	ACCACAGATTTTCTATGTTTCGGGGAGTTCCTTTTGACTAC
100			HCDR3 氨基酸序列(IMG)	TTDFLWFGEFPPDY
101			HCDR1 核苷酸序列(KABAT)	AACGCTTGGATGAGC
102			HCDR1 氨基酸序列(KABAT)	NAWMS
103			HCDR2 核苷酸序列(KABAT)	CGTATTAAAAGCAAAACTGAAGGTGGGACAAACAGACTACGCTGCACCCGTGAAAAGG C
104			HCDR2 氨基酸序列(KABAT)	RIKSKTEGGTTDYAAPVKG
105			HCDR3 核苷酸序列(KABAT)	GATTTTCTATGTTTCGGGGAGTTCCCTTTTGACTAC
106			HCDR3 氨基酸序列(KABAT)	DFLWFGEFPPDY
107			VL 核苷酸序列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTC ACCATCACTTGCCGGGGAGTCAGGGCATTAGCAATTATTAGCCTGGTATCAGCAGA



[0962]

[illegible]

[0963]

[illegible]







[0966]

143	人 C $\kappa$ 恒定区	IG KC*05	C $\kappa$ 轻链恒定区核苷酸序列	cgaactggtgctgcaccatctgtctctatcttccgccatctgtagcagctgaaatctgaaactggaactgcctctgttggtagcctgctgtaataaacttc tatccagagagccaaagtacgttggaaggtggataaacgccctccaatcgggtaactccagagagatggtcacagagcagagcagagcga aggacagcacctacagcctcagcaaacctcgagcctgagcaagagcagactacgagaacaacacaaagtctactgctgcggaaatcaccca tcagggcctgagctgcctcctacaaagagcttcaacaggggagagtcg
144			C $\kappa$ 轻链恒定区氨基酸序列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSSTYSLSNLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
145	人 C $\lambda$ 恒定区	IGC $\lambda$ 1*01	C $\lambda$ 轻链恒定区核苷酸序列	cccaaggccaaccccaacggctactctgttctcccgccctctctgtgagagctcccaaggccaacaggccacactagtgtgtgtctgatactgact ctatcccgggagctgtgacagtggtgtggaaaggcagatggcagcccccgtcaaggcgcggtgtgtgagagcagaccacaacccctccacaacaga gcaacaacagtacgcggccacagcactactgtgagccctgacgcccgagcagatgggaagtccacagaagctacagctgcccaggtctacgcg atgaagggaagcacccgtgtgagaagacagtggccccctacagaatgttca
146			C $\lambda$ 轻链恒定区氨基酸序列	PKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
147	人 C $\lambda$ 恒定区	IGC $\lambda$ 1*02	C $\lambda$ 轻链恒定区核苷酸序列	ggtcagcccaaggccaaccccaactcactctgtcttcccgccctctctgtgagagctcccaaggccaacaaaggccacactagtgtgtctgtatca gtgacttctacccgggagctgtgacagtggtcctggaaaggcagatggcagccccgtcaaggcgggaggtggagaccaccaaacccctccaa acagagcaacaacaaagtacgcggccagcagctactctgagcctgacgcccgagcagatgggaagtcccacagaagctacagctgtccaggtg cacgcataaggaggacaccgtgtggagaagacagtgggccccctacagaatgttca
148			C $\lambda$ 轻链恒定区氨基酸序列	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
149	人 C $\lambda$ 恒定区	IGC $\lambda$ 2*01	C $\lambda$ 轻链恒定区核苷酸序列 - 型式 A	ggctcagcccaaggccaaccccaactcactctgttctcccgccctctctgtgagagctcccaaggccaacaaaggccacactagtgtgtctgtatca gtgacttctacccgggagctgtgacagtggtcctggaaaggcagatggcagccccgtcaaggcggtgtgtgagagcaccaccaaacccctccaa acagagcaacaacaaagtacgcggccacagcactctgagcctgacgcccgagcagatgggaagtcccacagaagctacagctgtccaggtg cacgcataaggaggacaccgtgtggagaagacagtgggccccctacagaatgttca
150			C $\lambda$ 轻链恒定区核苷酸序列 - 型式 B	ggccagcctaaaggccgtctctgtgacccctgttcccccctatctccggaggaactcagcagctaacaaaggccacccctgtgtgtccctgataca gcgacttctacccgtggcgacccgtgagccctggaaaggctgatatgtctctctgtgaaaggccggcggtggaaaccacaccccttccaaagc agtcacaacaacaaataacgcgcctctctactactgttccctgacccctgagcagtggaagtctccacccggctctactacgctgcgcaagtgaccc acgaggggctctcacccgtggaaaagaccgtggctctctactaccgagtgctcc
151			C $\lambda$ 轻链恒定区核苷酸序列 - 型式 C	ggccagcctaaaggctgtccccccagcgtaccctgtttctctccctccagcggagagagctccagggccaacaaaggccacccctgtgtgtccctgatac tccgactctatcccggcgctgtgtgacctgtggaaaggccgactccagccctgtctaaagccggcggtggagaccacacaccctccaaag cagttccaacaacaaagtacgcgcctccagctatctctccctgacacctgagcagtggaagtcccaaccggctcctactcctgtgtcaggtgtgaccc acgagggtctcacccgtggaaaagaccgtgcggccccccaccaggatgctcc
152			C $\lambda$ 轻链恒定区氨基酸序列 - 由型式 A、B 和 C 编码	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
153	人 C $\lambda$ 恒定区	IGC	C $\lambda$ 轻链恒定区核苷酸序列	ggctcagcccaaggctgtccccccagcgtaccctgtttctctccctccagcggagagagctccagggccaacaaaggccacccctgtgtgtccctgatac tccgactctatcccggcgctgtgtgacctgtggaaaggccgactccagccctgtctaaagccggcggtggagaccacacaccctccaaag cagttccaacaacaaagtacgcgcctccagctatctctccctgacacctgagcagtggaagtcccaaccggctcctactcctgtgtcaggtgtgaccc acgagggtctcacccgtggaaaagaccgtgcggccccccaccaggatgctcc



[0967]

154	定区	λ2* 02	Cλ 轻链恒定区氨基酸序列	gtgacttctaccggggagccggtgacagtggtggtggaagcagatagcagcccccgtcaagggcggtgagtgagaccacacacacccctccaa acaaagcaacaacagtagtcggccagcagctatctgagccgctgacgctgagagtcgccacagtgtagagtgccacacagctgccaaggtc acgcatggaagggagaccggtggagagacagtggtggccctctacagaatgttca
155	人 Cλ 恒 定区	IGC λ3* 01	Cλ 轻链恒定区核苷酸序列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
156				cccaaggtgccccctgggtactctgttccacctctctgaggtcctcaagcacaacagggccacactggtgtgtctatataagtgactt ctaccgggagccgtgacagttgcttggaagcagatagcagccccgtcaagggcggtggtgagacacacacacccctccaaacaaag caacaacagtagtcggccagcagctacgtgagccctgagcgtgagagtggtgaaaggtcccaacaaaagctacagctgccaaggtcagcat gaaagggagaccggtgggagaaagacagttgcccctctacgggaatgttca
157	人 Cλ 恒 定区	IGC λ3* 02	Cλ 轻链恒定区氨基酸序列	PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
158				gggtcagcccaaggtgccccctgggtactctgttccacctctctgaggtcctcaagcacaagggccacacgtggtgtgtctcataa gtgacttctaccggggccagtagtcggtggaagcagatagcagccccgtcaagggcggtggtgagacacacacacccctccaa acaaagcaacaacagtagtcggccagcagctacgtgagcctgagcgtgagagtggtgaaaggtcccaacaaaagctacagctgccaaggtc acgcatggaagggagaccggtgggagaaagacagtggtggccctctacagaatgttca
159	人 Cλ 恒 定区	IGC λ3* 03	Cλ 轻链恒定区核苷酸序列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
160				gggtcagcccaaggtgccccctgggtactctgttccacctctctgaggtcctcaagcacaagggccacacgtggtgtgtgtctcataa gtgacttctaccggggagccgtgacagtggtggtggaagcagatagcagccccgtcaagggcggtggtgagacacacacacccctccaa acaaagcaacaacagtagtcggccagcagctacgtgagcctgagcgtgagagtggtgaaaggtcccaacaaaagctacagctgccaaggtc acgcatggaagggagaccggtgggagaaagacagtggtggccctctacagaatgttca
161	人 Cλ 恒 定区	IGC λ3* 04	Cλ 轻链恒定区氨基酸序列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
162				gggtcagcccaaggtgccccctgggtactctgttccacctctctgaggtcctcaagcacaagggccacacgtggtgtgtgtctcataa gtgacttctaccggggagccgtgacagtggtggtggaagcagatagcagccccgtcaagggcggtggtgagacacacacacccctccaa acaaagcaacaacagtagtcggccagcagctacgtgagcctgagcgtgagagtggtgaaaggtcccaacaaaagctacagctgccaaggtc acgcatggaagggagaccggtgggagaaagacagtggtggccctctacagaatgttca
163	人 Cλ 恒 定区	IGC λ6* 01	Cλ 轻链恒定区核苷酸序列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
				gggtcagcccaaggtgccccctgggtactctgttccacctctctgaggtcctcaagcacaagggccacacgtggtgtgtgtgtgtatca gtgacttctaccggggagccgtgtaaggtggccgtggaagcagatgagcagccccgtcaacacgggagtggtgagacacacacccctccaa acagagcaacaacagtagtcggccagcagctacgtgagcctgagcgtgagagtggtgaaaggtcccaacaaaagctacagctgccaaggtc acgcatggaagggagaccggtgggagaaagacagtggtggccctctacagaatgttca

[0968]

164			Cλ 轻链恒定区氨基酸序列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVKVAWKADGSPVNTGVETTTTPSK QSNKYYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSQCVTHEGSTVEKTVAPAECS
165	人 Cλ 恒定区	IGC λ7* 02	Cλ 轻链恒定区核苷酸序列	ggtagcccaaggctgccccatcggtcaactctgttccaccctctcttgaggattcaagcccaacagggccacactgggtgtctctgtaa gtgacttaccgccgggagccggtgacagtggcctggagagcagatggcagcccgtaaggtggagtgaggagaccacacacccctccaa acaaagcaacaagaagtatggccagcagctactgagcctgacgcccggagcagtgaggagtgccacagaaagctacagctgcccgggtc acgcatgaaggaggaccggggaagagacagtgggccctgacgaatgctct
166			Cλ 轻链恒定区氨基酸序列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKPS KQSNKYYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSRCRVTHEGSTVEKTVAPAECS
167	重组人 OX40L(包括前导序列、异亮氨酸拉链和 FLAG 序列)		核苷酸序列	ATGGGCTGGTCTGCATCATCTGTTTCTGGTGCCACCGCCACCGGCGTGCACAGC GATTACAAAGGATGACGACGATAAGCGTATGAAACAGATCGAAGATAAAATTGAAGAG ATCTTGAGCAAAATCTATCATATCGAAAACGAAATTGCGCGTATCAAAAAGCTGATTG GCGAAAGTGGCGGTGGCAGCGGTGGCGGTAGCGGCGGTGGCAGCCAGGTGTCCAC CGATACCCAGGATCCAGTCCATCAAGGTCCAGTTACCGAGTACAAAGGAGAA GGGATTCATCTGACCTCCCAAAGGAGGACGAGATCATGAAGTGTCAAAACAACT CCGTGATCATCAACTGCGAGCGGCTTCTACCTGATCTCCCTGAAAGGCTACTTCTCCCA GGAGGTGAACATCTCCCTGCACACCAAGGACGAGGAGCCCTGTTCAGCTGA AGAAAGTGAGTCCGTGATTCCTGTATGGTGGCAGCTGACCTACAAAGGACAAG GTCTACCTGAACGTGACCCACGACAAACACCAAGCTGGACGACTTCCATGTCAACGG CGCGAGCTGATCCTGATCCATCAGAACCCCGCGAGTTTTCGCTCCTG
168			氨基酸序列	MGWSCHILFLVATATGVHSDYKDDDDKRMKQIEDKIEILSKIYHIENEIARIKLIIGERG GSGGSGGGSQVSHRYPRIQSIKVFTEYKKEKGFLTQKDEIMKVQNNSVIINCDF YLISLKGYSQEVNISLHYQKDEEPLFQLKKVRSVNSLMVASLTYKDKVYLNVTDTNTS LDFHVNNGGELILIHQNPGEFVL
169	重组恒河猴 OX40L(包括前导序列、FLAG 和异亮氨酸拉链)		核苷酸序列	ATGGGCTGGTCTGCATCATCTGTTTCTGGTGCCACCGCCACCGGCGTGCACAGC GATTACAAAGGATGACGACGATAAGCGTATGAAACAGATCGAAGATAAAATTGAAGAG ATCTTGAGCAAAATCTATCATATCGAAAACGAAATTGCGCGTATCAAAAAGCTGATTG GCGAAAGTGGCGGTGGCAGCGGTGGCGGTAGCGGCGGTGGCAGCCAGGTGTCCAC CAATACCCAGGATCCAGTCCATCAAGGTCCAGTTACCGAGTACAAAGGAGGA GGGATTCATCTGACCTCCCAAAGGAGGACGAGATCATGAAGTGTCAAAACAACT CCGTGATCATCAACTGCGAGCGGCTTCTACCTGATCTCCCTGAAAGGCTACTTCTCCCA GGAGGTGAACATCTCCCTGCACACCAAGGACGAGGAGCCCTGTTCAGCTGA AGAAAGTGAGTCCGTGATTCCTGTATGGTGGCAGCTGACCTACAAAGGACAAG GTCTACCTGAACGTGACCCACGACAAACACCAAGCTGGACGACTTCCATGTCAACGG CGCGAGCTGATCCTGATCCATCAGAACCCCGCGAGTTTTCGCTCCTG

[0969]

170		氨基酸序列	MGWSCILFLVATATGVHSDYKDDDDDKRMKQIEDKIEILSKIYHIENEIARIKILIGERG GSGGSGGGSQVSHQYPIQSIKVQFTEYKKEEGFILTQKEDEIMKVQNNSVIINCDFG YLISLKGYSQEVNISLHYQKDEEPLFQLKKVRSVNSLMVASLTYKDKVYLVNVTIDNTS LDDFHVNGGELILJHQNPGFEFVL
171	重组人 OX40R( 包括前 导序列 和人Fc 序列)	核苷酸序列	ATGGGCTGTCCTGCATCATCTCTTTCTGGTGGCCACCGCCACCGGGCTGCACAGC CTGCATTGCGTGGCGACACCTATCCCTCCAAACGACAGAGTGTGCTGCCACGAGTGCAGG CCTGGAACCGCATGTGAGCAGGTGACGCGGTCCCAAGATACCGTGTGTAGGCC CTGGGCCCGGCTTTACAAACGACGTGTCTCCAAAGCCCTGCAAGCCCTGCAC ATGGTGCAACCTGCGGTCCGGCAGCGAGAGAGAGCTCTGCACAGCCACCCAGG ACACCGTCTGTAGGTGTAGGGTGGCACCCAGCCTCTGGACTCCTACAAAGCCCGCG TGGATTGTGCTCTTGGCCCTCCCGGCCATTCTCCCTTGGCGACAACAGGCTTGCAA GCCCTGGAACCAACTGTACCTCGCCGGCAAGCATACACTGCAAGCTGCTTCCAACTC CTCCGACGCTATCTGCGAGGATAGGACCCCTGCCACACACCCAGGAGACAC AGGGCCCTCCTGTAGGCCCATCACAGTCCAAACCCAGAGCTGGCCCAAGGACAT CCCAAGGCCCTTCCACAGGCTGTGAAGTGCCTGGAGGAAGGGCTGTGGCCATT GAAGTCTGTATGATGAACCAAGTCTCGGACAAGACCCACACCTGTCCCTTGT CCTGCCCTGAACCTGTGGCGGACCTTCCGTGTCTTCCCCCAAGCCCAAG GACACCTGATGATCTCCCGACCCCGAAGTGAACCTGCGTGGTGGATGTCTCC CACGAGGACCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAA CGCCAAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGTGGTGTCCG TGCTGACCGTGTGTCACCAAGGATTGGCTGAACGGCAAGAGATACAAGTGCAAGGTG TCCAAACAAGGCCCTGCTGCCCTCCATCGAAAAGACCATCTCCAAAGGCCAAGGCCA GCCCGGGAACCCAGGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGA ACCAGGTGTCCTGACCTGTCTCGTGAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGG AATGGGAGTCCACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCAACCCCTGTGCTG GACTCCGACGGCTCATCTTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGAAGTCCCGGTGG CAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCGTGTGATGACGAGGCCCTGCACAACCACTAC ACCCAGAAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCCTGA
172		氨基酸序列	MGWSCILFLVATATGVHSLHCVGDTYPSNDRCCHECRPGNGMVSRCRSQNTVCRPCG PGFYNDVVSCKPKPCTWCNLRSGSERKQLCTATQDTCRCRAGTQPLDSYKPGVDC/A PCPPGHFSPGDNQACKPW/TNCTLAGKHTLQPASNSSDAICEDRDPATQ/PQETQGP/AR ITV/QPTEAWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAIEGRMDEPKSCDKTHTCP/PAPELLGGPS VFLFPKPKD/TLMISRTP/ETCVVVDVSHEDPEVKFNWYV/DGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTTISKAKGQPREPQVYVTLPPSRD

[0970]

173	细胞表 达的 OX40L( CHO/ME F)(包括 前导序 列)		核苷酸序列	ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP ATGGAGAGGGTGCAGCCCCCTCGAGGAGAACGTGGGAAACGCCGCCAGGCCTAGGTT CGAGAGGAACAAGCTGCTGGTGGCTCCGTGATCCAAAGGACTCGGCCTGCTGC TCTGCTTCACTACATCTCCCTCCACTTCAGCGCCCTCAGGTGTCCACCCGATACCC CAGGATCCAGTCCATCAAGGTCCAGTTCACCGAGTACAAAAGGAGAAAGGATTCA TCCTGACCTCCCAAAAGGAGGACGAGATCATGAAGTGCAAAACAACCTCCGTGATC ATCAACTGCGACGGCTTCTACCTGATCTCCCTGAAGGGTACTTCTCCAGGAGGTG AACATCTCCCTGCACTACCAAGGACGAGGAGGCCCTGTTCAGCTGAAGAAGGT GAGGTCCGTGAATTCCTGATGTGGCCAGCCTGACCTACAAGGACAAGGTCTACCT GAACGTGACCAACGACAACACAGCCTGGACGACTTCCATGTCAACGGCGGCGAGC TGATCCTGATCCATCAGAACCCCGGCGAGTTTTCGCTCTGTAA
174			氨基酸序列	MERVQPLEENVGNAARPRFERNKLLVASVIOGLGLLLCFTYICLHFSALQVSHRYPRIQ SIKVQFTYEYKKEKGFLT SQKEDEIMKVQNNSVIINCDFYLISLKGYSQEVNISLHYQK DEEPLFQLKKVRSVNSLMVASLTYKDKVYLVNVTDTNTSLDDFHVNGGELILHQNPGEF C
175	细胞表 达的 OX40 受 体 (HT1080 )		核苷酸序列	ATGTGCGTGGGGGCTGGCGGCTGGGGCCGGGGCGCTGTGCGGCTCTGCTCCTCCTG GGCTGGGGCTGAGCACCGTGACGGGGCTCCACTGTGTCGGGACACCTACCCAG CAACGACCGGTGCTGCCACGAGTGCAGGCCAGGCAACGGGATGTGAGCCGCTGCA GCCGCTCCCAGAACACCGTGTGCCGTCCGTGCGGGCCGGCTTCTACAACGACGTG GTCAGCTCCAAAGCCGTGCAAGCCCTGCACGTGTGTAACCTCAAGAGTGGGAGTGA GCGGAAGCAGCTGTGCACGGCCACACAGGACACAGTCTGCCGCTGCCGGGGGGC ACCCAGCCCTGGACAGCTACAAAGCCTGGAGTTGACTGTGCCCTGCCCTCCAGG GCACTTCTCCCGAGGCGACAACAGGCTGCAAGCCCTGGACCAACTGCACCTTGG CTGGGAAGCACACCTGCAAGCCGGCCAGCAATAGCTCGGACGCAATCTGTGAGGAC AGGACCCCCCAGCCACGACGCCCGGAGAGACCCAGGGCCCCCGGCCAGGCCCAT CACTGTCCAGCCCACTGAAGCCTGGCCAGAACCTCAGAGGACCTCCACCCCGG CCGTGAGGTCCCCGGGGCGGTGCGGTTGCCGCCATCTGGGCTGGGCTGGCTGGT CTGGGCTGCTGGGCCCCCTGGCCATCTGCTGGCCCTGTACCTGCTCCGGAGGAC CAGAGGTGCCCCCGGATGCCCCACAAGCCCCCTGGGGAGGCAAGTTTCCGGACCCC CATCCAAGAGGAGCAGGCCGACGCCCACTCCACCTGGCCAAGATCTGA
176			氨基酸序列	MCVGARRLGRGPCAALLLLGLSTVTGLHCVGDTYPSNDRCCHECRPGNGMVSRC RSQNTVCRPCGPGFYNDVVSSKPKCTWCNLRSGSERKQLCTATQDTVCRCRAGTQP LDSYKPGVDCAPCPGPHFSPGDNQACKPWTNCTLAGKHTLQPASNSSDAICEDRDPPAT

[0971]

				QPQETQGPPARPITVQPTTEAWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLVLGLLGPLAILL ALYLLRRDQRLPPDAHKPPGGGSGFRTPIQEEQADAHSTLAKI
--	--	--	--	---

IMGT 表明使用 IMGT 命名法确定 CDR;

KABAT 表明使用 Kabat 命名法确定 CDR。

序列相关表中的编号优先于该文本别处任何不一致的编号。

## 序列表

&lt;110&gt; 科马布有限公司

&lt;120&gt; 抗体、用途和方法

&lt;130&gt; KYMBT/P57656PC

&lt;160&gt; 176

&lt;170&gt; PatentIn version 3.5

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 384

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人类

&lt;400&gt; 1

gaggtgcaac tggtaggagtc tgggggagtc ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agttatatta tgacttgggt ccgccagget 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attagtggta gtggtgggtg tacatactac 180

gcagactcca tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agtcgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcgg 300

[0001] ttaggtccga ttactttggt tcgggggggc tattactacg gtatggacgt ctggggccaa 360

gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 128

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人类

&lt;400&gt; 2

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

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

65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Lys Asp Arg Leu Gly Pro Ile Thr Leu Val Arg Gly Gly Tyr Tyr			
	100	105	110
Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser			
	115	120	125

<210> 3  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人类

<400> 3  
 ggattcacct ttagcagtta tatt

24

[0002]

<210> 4  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人类

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ile  
 1 5

<210> 5  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人类

<400> 5  
 attagtggta gtggtggtgg taca

24

<210> 6  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人类

<400> 6

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr  
 1 5

<210> 7  
 <211> 63

	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 7	
	gcgaaagatc ggtaggtcc gattactttg gttcgggggg gctattacta cgtatggac	60
	gtc	63
	<210> 8	
	<211> 21	
	<212> PRT	
	<213> 人类	
	<400> 8	
	Ala Lys Asp Arg Leu Gly Pro Ile Thr Leu Val Arg Gly Gly Tyr Tyr	
	1 5 10 15	
	Tyr Gly Met Asp Val	
	20	
	<210> 9	
	<211> 15	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
[0003]	<400> 9	
	agttatatta tgact	15
	<210> 10	
	<211> 5	
	<212> PRT	
	<213> 人类	
	<400> 10	
	Ser Tyr Ile Met Thr	
	1 5	
	<210> 11	
	<211> 51	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 11	
	ggtattagtg gtagtggtgg tggtagatcac tacgcagact ccatgaaggg c	51
	<210> 12	
	<211> 17	
	<212> PRT	
	<213> 人类	



<400> 12

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

Gly

<210> 13

<211> 57

<212> DNA

<213> 人类

<400> 13

gatcggttag gtccgattac tttggttcgg gggggctatt actacggtat ggacgtc 57

<210> 14

<211> 19

<212> PRT

<213> 人类

<400> 14

Asp Arg Leu Gly Pro Ile Thr Leu Val Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Gly  
1 5 10 15

[0004]

Met Asp Val

<210> 15

<211> 321

<212> DNA

<213> 人类

<400> 15

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc gactatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagttcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg agtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccgtcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctcggac gttcggccaa 300

gggaccaggg tggaatcaa a 321

<210> 16

<211> 107

<212> PRT

<213> 人类

<400> 16

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

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

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

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

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

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

[0005]

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

<210> 17

<211> 18

<212> DNA

<213> 人类

<400> 17

cagagcatta gcgactat

18

<210> 18

<211> 6

<212> PRT

<213> 人类

<400> 18

Gln Ser Ile Ser Asp Tyr  
1 5

<210> 19

<211> 9

<212> DNA

<213> 人类

	<400> 19 gctgcatcc	9
	<210> 20 <211> 3 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 20 Ala Ala Ser 1	
	<210> 21 <211> 27 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 21 caacagagtt acagtacccc tcggacg	27
	<210> 22 <211> 9 <212> PRT <213> 人类	
[0006]	<400> 22 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Arg Thr 1 5	
	<210> 23 <211> 33 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 23 cgggcaagtc agagcattag cgactattta aat	33
	<210> 24 <211> 11 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 24 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr Leu Asn 1 5 10	
	<210> 25 <211> 21	

	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 25	
	gctgcatcca gtttgcaaag t	21
	<210> 26	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人类	
	<400> 26	
	Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser	
	1 5	
	<210> 27	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 27	
	caacagagtt acagtacccc tcggacg	27
[0007]	<210> 28	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人类	
	<400> 28	
	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Arg Thr	
	1 5	
	<210> 29	
	<211> 1365	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 29	
	gaggtccagc tcgtggaaag cggaggagtg ctctgtcagc ctggaggcag cctcaggctg	60
	tcctgtgccg cctccggctt caccttcagc agctacatca tgacctgggt gaggcaggct	120
	cccggaaaag gcctggagtg ggtgtccggc atctccgat ccggaggagg cacatactac	180
	gccgacagca tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca atagcaagaa taccctctac	240
	ctgcaaatac acagcctgcg ggtggaggat accgccgtgt actactgcgc caaagatagg	300
	ctgggcccga ttaccctcgt gaggggagge tattactacg gcatggatgt gtggggccag	360
	ggcaccaccg tgacagtgtc cagcgccagc accaagggcc cttccgtgtt ccccttgccc	420

	ccttgacgca ggagcacctc cgaatccaca gctgccctgg gctgtctggt gaaggactac	480
	tttcccgagc ccgtgaccgt gagctggaac agcggcgctc tgacatccgg cgtccacacc	540
	tttctgccc tctgcagtc ctccggcctc tactccctgt cctccgtggt gaccgtgcct	600
	agctcctccc tcggcaccaa gacctacacc tgtaacgtgg accacaaacc ctccaacacc	660
	aaggtggaca aacgggtcga gagcaagtac ggccctccct gccctccttg tctgcccc	720
	gagttcgaag gcggaccag cgtgttcctg ttcctccta agcccaagga caccctcatg	780
	atcagccgga cacccgaggt gacctgcgtg gtggtggatg tgagccagga ggacctgag	840
	gtccagttca actggtatgt ggatggcgtg gaggtgcaca acgccaagac aaagccccgg	900
	gaagagcagt tcaactccac ctacagggtg gtcagcgtgc tgacctgct gcatcaggac	960
	tggtgaacg gcaaggagta caagtcaag gtcagcaata agggactgcc cagcagcatc	1020
	gagaagacca tctccaaggc taaaggccag ccccggaac ctcaggtgta caccctgcct	1080
	cccagccagg aggagatgac caagaaccag gtgagcctga cctgcctggt gaagggatc	1140
	tacccttccg acatcgccgt ggagtgggag tccaacggcc agcccgagaa caattataag	1200
[0008]	accaccctc ccgtcctcga cagcgacgga tccttcttctc tgtactccag gctgaccgtg	1260
	gataagtcca ggtggcagga aggcaacgtg ttcagctgct ccgtgatgca cgaggccctg	1320
	cacaatcact acaccagaa gtccctgagc ctgtccctgg gaaag	1365

<210> 30  
 <211> 455  
 <212> PRT  
 <213> 人类

<400> 30

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

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

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

Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Met  
 50 55 60

	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
	65					70					75					80
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Val	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85						90					95	
	Ala	Lys	Asp	Arg	Leu	Gly	Pro	Ile	Thr	Leu	Val	Arg	Gly	Gly	Tyr	Tyr
				100					105					110		
	Tyr	Gly	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser
			115					120					125			
	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
		130					135					140				
	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
	145					150					155					160
	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
					165					170					175	
[0009]	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
				180					185					190		
	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr
			195					200					205			
	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
		210					215					220				
	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
	225					230					235					240
	Glu	Phe	Glu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
				245						250					255	
	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
				260					265					270		
	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
			275					280					285			
	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe

	290	295	300	
	Asn 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 Gly Leu 325 330 335			
	Pro Ser Ser 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 Gln 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			
[0010]	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser 405 410 415			
	Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser 420 425 430			
	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser 435 440 445			
	Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys 450 455			
<210>	31			
<211>	642			
<212>	DNA			
<213>	人类			
<400>	31			
	gacatccaga tgaccagtc ccttcctcc ctgtccgcct ccgtgggaga cagggtgacc			60
	atcacctgcc gggccagcca gtccatcagc gactacctga actggtatca gcagaagccc			120
	ggcaaggccc ctaagtccct gatctacgcc gcttcctccc tgcagtccgg agtgcccage			180
	aggttttccg gctccggatc cggcaccgac ttcacctga ccgtgtccag cctgcagccc			240

```

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag agctacagca cccccaggac atttgccag      300
ggcacccggg tggagatcaa gaggaccgtc gctgccccct ccgtgtttat cttccccccc      360
agcgacgagc agctgaaatc cggcaccgcc tccgtggtct gcctgctgaa taacttctac      420
cctcgggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagagcgg aaactcccag      480
gagagcgtga ccgagcagga ctccaaggac tccacatact ccctgtcctc caccctgaca      540
ctgtccaagg ccgattacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccaggga      600
ctgtctctccc ccgtgaccaa gtccttcaac cggggcgagt gc                        642

```

<210> 32  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 人类

<400> 32

```

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

```

[0011]

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```



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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

<210> 33  
<211> 381  
<212> DNA  
<213> 人类

[0012] <400> 33  
gaggtgcagt tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt cacttttagc aactatgcca tgaactgggt ccgccaggct 120  
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact attagcgga gtggtgggtgc cacaaggtat 180  
gcagactccg tgaagggccg attcaccata tccagagaca attccaggaa cacggtgtat 240  
ctgcaaatga acagcctgag agtcgaggac acggccggtt tttactgtac gaaagatcgg 300  
ctcattatgg ctacggttcg gggaccctat tactacggtg tggacgtctg gggccaaggg 360  
accacgtca ccgtctcctc a 381

<210> 34  
<211> 127  
<212> PRT  
<213> 人类

<400> 34

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 Thr Phe Ser Asn Tyr  
20 25 30

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

Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

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

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

Thr Lys Asp Arg Leu Ile Met Ala Thr Val Arg Gly Pro Tyr Tyr Tyr  
100 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

<210> 35  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人类

[0013]

<400> 35  
ggattcactt ttagcaacta tgcc

24

<210> 36  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人类

<400> 36

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala  
1 5

<210> 37  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人类

<400> 37  
attagcggaa gtggtggtgc caca

24

<210> 38  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人类

	<400> 38	
	Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr	
	1 5	
	<210> 39	
	<211> 60	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 39	
	acgaaagatc ggctcattat ggctacggtt cggggaccct attactacgg tatggacgtc	60
	<210> 40	
	<211> 20	
	<212> PRT	
	<213> 人类	
	<400> 40	
	Thr Lys Asp Arg Leu Ile Met Ala Thr Val Arg Gly Pro Tyr Tyr Tyr	
	1 5 10 15	
[0014]	Gly Met Asp Val	
	20	
	<210> 41	
	<211> 15	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 41	
	aactatgccca tgaac	15
	<210> 42	
	<211> 5	
	<212> PRT	
	<213> 人类	
	<400> 42	
	Asn Tyr Ala Met Asn	
	1 5	
	<210> 43	
	<211> 51	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 43	

	actatttagcg gaagtgggtgg tgccacaagg tatgcagact ccgtgaaggg c	51
	<210> 44 <211> 17 <212> PRT <213> 人类  <400> 44 Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys 1 5 10 15  Gly	
	<210> 45 <211> 54 <212> DNA <213> 人类  <400> 45 gatcggctca ttatggctac gggtcgggga ccctattact acggtatgga cgtc	54
[0015]	<210> 46 <211> 18 <212> PRT <213> 人类  <400> 46 Asp Arg Leu Ile Met Ala Thr Val Arg Gly Pro Tyr Tyr Tyr Gly Met 1 5 10 15  Asp Val	
	<210> 47 <211> 321 <212> DNA <213> 人类  <400> 47 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
	atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca	120
	gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180
	aggttcagtg gcagtggatc tgagacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct	240
	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agtcacagtg tctcattcac tttcggcct	300

gggaccaaag tggatatcaa a

321

<210> 48  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人类

&lt;400&gt; 48

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

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

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

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

[0016]

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

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
 100 105

<210> 49  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> 人类

&lt;400&gt; 49

cagagcatta gcagctat

18

<210> 50  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人类

&lt;400&gt; 50

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
 1 5

	<210> 51 <211> 9 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 51 gctgcatcc	9
	<210> 52 <211> 3 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 52  Ala Ala Ser 1	
	<210> 53 <211> 27 <212> DNA <213> 人类	
[0017]	<400> 53 caacagagtc acagtgtctc attcact	27
	<210> 54 <211> 9 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 54  Gln Gln Ser His Ser Val Ser Phe Thr 1 5	
	<210> 55 <211> 33 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 55 cgggcaagtc agagcattag cagctattta aat	33
	<210> 56 <211> 11 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 56	

	Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn 1 5 10	
	<210> 57 <211> 21 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 57 gctgcatcca gtttgcaaag t	21
	<210> 58 <211> 7 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 58 Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser 1 5	
[0018]	<210> 59 <211> 27 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 59 caacagagtc acagtgtctc attcact	27
	<210> 60 <211> 9 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 60 Gln Gln Ser His Ser Val Ser Phe Thr 1 5	
	<210> 61 <211> 1362 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 61 gaagtgaac tggaggagtc cggaggagc ctggtgcagc ctggaggaag cctgaggctg	60
	agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc aactacgcca tgaactgggt gaggcaggcc	120
	cctggcaagg gactggagtg ggtctccacc atcagcggct ccggaggcgc tacacggtac	180

	gccgatagcg tgaagggccg gtttaccatt tcccgggaca actcccggaa caccgtgtac	240
	ctccagatga acagcctgag ggtggaggat accgccgtgt tctactgcac caaggacagg	300
	ctgattatgg ccaccgtgag gggaccttac tactatggca tggatgtgtg gggccagggc	360
	acaaccgtca ccgtgtcctc cgcctccacc aaggaccta gcgtgttccc tctcgcccc	420
	tgttccaggt ccacaagcga gtccaccgct gccctcggct gtctggtgaa agactacttt	480
	cccagacccc tgaccgtctc ctggaatagc ggagccctga cctccggcgt gcacacattt	540
	cccgccgtgc tgcagagcag cggactgtat agcctgagca gcgtggtgac cgtgcccagc	600
	tccagcctcg gcacaaaaac ctacacctgc aacgtggacc acaagccctc caacaccaag	660
	gtggacaagc ggggtggagag caagtacggc cccccttgcc ctcttgtcc tgcccctgag	720
	ttcagaggag gaccctccgt gttcctgttt cccccaaac ccaaggacac cctgatgatc	780
	tcccggacac ccgaggtgac ctgtgtggtc gtggacgtca gccaggagga ccccagggtg	840
	cagttcaact ggtatgtgga cggcgtggag gtgcacaatg ccaaaaccaa gcccaggag	900
	gagcagttca attccaccta cagggtggtg agcgtgctga ccgtcctgca tcaggattgg	960
	ctgaacggca aggagtacaa gtgcaagggtg tccaacaagg gactgcccag ctccatcgag	1020
[0019]	aagaccatca gcaaggctaa gggccagccg agggagcccc aggtgtatac cctgcctcct	1080
	agccaggaag agatgaccaa gaaccaagtg tccctgacct gcctggtgaa gggattctac	1140
	ccctccgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatggccagc ccgagaacaa ctacaaaaca	1200
	accctcccc tgctcgatag cgacggcagc ttctttctct acagccggct gacagtggac	1260
	aagagcaggt ggcaggaggg caacgtgttc tcctgttccg tgatgcacga ggccctgcac	1320
	aatcactaca cccagaagag cctctccctg tccctgggca ag	1362

<210> 62  
 <211> 454  
 <212> PRT  
 <213> 人类

<400> 62

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 Thr Phe Ser Asn Tyr  
 20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val



	35	40	45	
	Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val 50 55 60			
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Thr Val Tyr 65 70 75 80			
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Phe Tyr Cys 85 90 95			
	Thr Lys Asp Arg Leu Ile Met Ala Thr Val Arg Gly Pro Tyr Tyr Tyr 100 105 110			
	Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala 115 120 125			
	Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser 130 135 140			
[0020]	Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe 145 150 155 160			
	Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly 165 170 175			
	Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu 180 185 190			
	Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr 195 200 205			
	Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg 210 215 220			
	Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu 225 230 235 240			
	Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp 245 250 255			
	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp 260 265 270			

Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
275 280 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn  
290 295 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp  
305 310 315 320

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

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

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

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
370 375 380

[0021]

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

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

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys  
420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
435 440 445

Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
450

<210> 63  
<211> 642  
<212> DNA  
<213> 人类

<400> 63  
gacatccaga tgaccagtc ccttctctcc ctgagcgcta gcgtgggaga tagggtgacc

60

```

atcacctgca gggcctccca aagcatctcc tcctacctga actggtacca gcagaaaccc 120
ggcaaggccc ccaacctgct gatctacgct gcctcctccc tccagtcgg cgtgcctagc 180
aggtttagcg gctccggaag cgagaccgac ttcacctga ccatctctc cctgcagccc 240
gaggacttgc ccacctacta ctgccagcaa tcccacagcg tgctcttcac ctteggcccc 300
ggcaccaagg tggacatcaa gaggaccgtg gccgccccct ccgtgttcat ctttcccccc 360
tccgatgaac agctgaagag cggcaccgct agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420
cccagggagg ccaagggtgca gtggaagggtg gacaatgcc tgcagtcgg caacagccag 480
gagagcgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctaca gcctgtctc caccctgacc 540
ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaaa gtgtacgcct gcgaagtgc ccatcagggc 600
ctgagctccc ccgtgaccaa gtcctttaac aggggcgagt gc 642

```

<210> 64  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 人类

[0022] <400> 64

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100          105          110

```

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

[0023]

<210> 65  
 <211> 372  
 <212> DNA  
 <213> 人类

<400> 65  
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctcgatt caccctcagt gactactaca tgacctggat ccgccaggct 120  
 ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagtagta gtggtataac catatactac 180  
 gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagggaca acgccaagaa ctactgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatctg 300  
 agtgggagct actgggacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360  
 accgtctcct ca 372

<210> 66  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> 人类

<400> 66  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1	5	10	15
Ser Leu Arg	Leu Ser Cys Ala Ala	Ser Arg Phe Thr Leu Ser	Asp Tyr
20		25	30
Tyr Met Thr Trp	Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly	Leu Glu Trp Val	
35	40	45	
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser	Gly Asn Thr Ile Tyr Tyr	Ala Asp Ser Val	
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr	Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr		
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Asp Leu Ser Gly Ser Tyr Trp Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp			
	100	105	110
[0024] Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser			
	115	120	
<210>	67		
<211>	24		
<212>	DNA		
<213>	人类		
<400>	67		
cgattcaccc tcagtgacta ctac			24
<210>	68		
<211>	8		
<212>	PRT		
<213>	人类		
<400>	68		
Arg Phe Thr Leu Ser Asp Tyr Tyr			
1	5		
<210>	69		
<211>	24		
<212>	DNA		
<213>	人类		
<400>	69		

	attagtagta gtggtaatac cata	24
	<210> 70 <211> 8 <212> PRT <213> 人类  <400> 70  Ile Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ile 1 5	
	<210> 71 <211> 51 <212> DNA <213> 人类  <400> 71 gcgagagatc tgagtgggag ctactgggac tactactacg gtatggacgt c	51
	<210> 72 <211> 17 <212> PRT <213> 人类  [0025] <400> 72  Ala Arg Asp Leu Ser Gly Ser Tyr Trp Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp 1 5 10 15  Val	
	<210> 73 <211> 15 <212> DNA <213> 人类  <400> 73 gactactaca tgacc	15
	<210> 74 <211> 5 <212> PRT <213> 人类  <400> 74  Asp Tyr Tyr Met Thr 1 5	

	<210> 75 <211> 51 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 75 tacattagta gtagtggttaa taccatatac tacgcagact ctgtgaaggg c	51
	<210> 76 <211> 17 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 76 Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys 1 5 10 15 Gly	
[0026]	<210> 77 <211> 45 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 77 gatctgagtg ggagctactg ggactactac tacggtatgg acgtc	45
	<210> 78 <211> 15 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 78 Asp Leu Ser Gly Ser Tyr Trp Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val 1 5 10 15	
	<210> 79 <211> 321 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 79 gccatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctacat ctgtaggaga cagagtcacc	60
	atcgcttgcc gggcaagtca gggcattaac aatgctttag cctggatatca gcagaaacca	120
	gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca	180

```

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct      240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt accctcggac gttcggccaa      300
gggaccaagg tggaaatcaa a                                              321

```

<210> 80  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人类

<400> 80

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

[0027]

```

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

```

```

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

```

```

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

```

<210> 81  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> 人类

<400> 81

cagggcatta acaatgct

18

<210> 82  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人类

<400> 82



	Gln Gly Ile Asn Asn Ala 1 5	
	<210> 83 <211> 9 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 83 gatgcctcc	9
	<210> 84 <211> 3 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 84 Asp Ala Ser 1	
[0028]	<210> 85 <211> 27 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 85 caacagttta atagttaccc tcggacg	27
	<210> 86 <211> 9 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 86 Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr 1 5	
	<210> 87 <211> 33 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 87 cgggcaagtc agggcattaa caatgcttta gcc	33
	<210> 88 <211> 11 <212> PRT	

	<213> 人类	
	<400> 88	
	Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Ala Leu Ala	
	1 5 10	
	<210> 89	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 89	
	gatgcctcca gtttggaag t	21
	<210> 90	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> 人类	
	<400> 90	
	Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser	
	1 5	
[0029]	<210> 91	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 91	
	caacagttta atagttaccc tcggacg	27
	<210> 92	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> 人类	
	<400> 92	
	Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr	
	1 5	
	<210> 93	
	<211> 369	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 93	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctggggggtc ccttagactc	60
	tcttgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt ccgccagget	120

ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagca aaactgaagg tgggacaaca 180  
 gactacgctg caccctgtaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacg 240  
 ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300  
 gattttctat ggttcgggga gttccctttt gactactggg gccagggaac cctggtcacc 360  
 gtctcctca 369

<210> 94  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人类

<400> 94

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

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

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

[0030]

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

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr  
 65 70 75 80

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

Tyr Cys Thr Thr Asp Phe Leu Trp Phe Gly Glu Phe Pro Phe Asp Tyr  
 100 105 110

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

<210> 95  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> 人类

<400> 95

	ggattcactt tcagtaacgc ctgg	24
	<p>&lt;210&gt; 96 &lt;211&gt; 8 &lt;212&gt; PRT &lt;213&gt; 人类</p> <p>&lt;400&gt; 96</p> <p>Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp 1 5</p>	
	<p>&lt;210&gt; 97 &lt;211&gt; 30 &lt;212&gt; DNA &lt;213&gt; 人类</p> <p>&lt;400&gt; 97 attaaaagca aaactgaagg tgggacaaca</p>	30
	<p>&lt;210&gt; 98 &lt;211&gt; 10 &lt;212&gt; PRT &lt;213&gt; 人类</p> <p>[0031] &lt;400&gt; 98</p> <p>Ile Lys Ser Lys Thr Glu Gly Gly Thr Thr 1 5 10</p>	
	<p>&lt;210&gt; 99 &lt;211&gt; 42 &lt;212&gt; DNA &lt;213&gt; 人类</p> <p>&lt;400&gt; 99 accacagatt ttctatggtt cggggagttc ccttttgact ac</p>	42
	<p>&lt;210&gt; 100 &lt;211&gt; 14 &lt;212&gt; PRT &lt;213&gt; 人类</p> <p>&lt;400&gt; 100</p> <p>Thr Thr Asp Phe Leu Trp Phe Gly Glu Phe Pro Phe Asp Tyr 1 5 10</p>	
	<p>&lt;210&gt; 101 &lt;211&gt; 15 &lt;212&gt; DNA</p>	

	<213> 人类	
	<400> 101 aacgcctgga tgagc	15
	<210> 102 <211> 5 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 102  Asn Ala Trp Met Ser 1 5	
	<210> 103 <211> 57 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 103 cgtattataaaa gcaaaactga aggtgggaca acagactacg ctgcacccgt gaaaggc	57
[0032]	<210> 104 <211> 19 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 104  Arg Ile Lys Ser Lys Thr Glu Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala Pro 1 5 10 15  Val Lys Gly	
	<210> 105 <211> 36 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 105 gattttctat gggtcgggga gttccctttt gactac	36
	<210> 106 <211> 12 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 106	

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

<210> 107  
<211> 321  
<212> DNA  
<213> 人类

<400> 107  
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgcc gggcgagtc gggcattagc aattatttag cctggtatca gcagaaacca 120  
gggaaaattc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180  
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg cccctcggac gttcggccaa 300  
gggaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 108  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人类

[0033]

<400> 108

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

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

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

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

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

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

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

[0034]	<210>	109		
	<211>	18		
	<212>	DNA		
	<213>	人类		
	<400>	109		
		cagggcatta gcaattat		18
	<210>	110		
	<211>	6		
	<212>	PRT		
	<213>	人类		
	<400>	110		
		Gln Gly Ile Ser Asn Tyr		
		1 5		
	<210>	111		
	<211>	9		
	<212>	DNA		
	<213>	人类		
	<400>	111		
		gctgcatcc		9
	<210>	112		
	<211>	3		
	<212>	PRT		
	<213>	人类		
	<400>	112		
		Ala Ala Ser		
		1		
	<210>	113		
	<211>	27		
	<212>	DNA		
	<213>	人类		
	<400>	113		
		caaaagtata acagtgcgcc tcggacg		27
	<210>	114		
	<211>	9		
	<212>	PRT		
	<213>	人类		
	<400>	114		

	Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Arg Thr 1 5	
	<210> 115 <211> 33 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 115 cgggcgagtc agggcattag caattattta gcc	33
	<210> 116 <211> 11 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 116 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala 1 5 10	
[0035]	<210> 117 <211> 21 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 117 gctgcatcca ctttgcaatc a	21
	<210> 118 <211> 7 <212> PRT <213> 人类	
	<400> 118 Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser 1 5	
	<210> 119 <211> 27 <212> DNA <213> 人类	
	<400> 119 caaaagtata acagtgcgcc tcggacg	27
	<210> 120 <211> 9 <212> PRT <213> 人类	



<400> 120

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Arg Thr  
1 5

<210> 121

<211> 981

<212> DNA

<213> 人类

<400> 121

[0036]

```
gcttcacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag      60
agcacagccg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgtcg    120
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgttcct acagtcctca    180
ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc    240
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc    300
aaatatggtc ccccatgccc atcatgccc gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc    360
ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg    420
tgcggtggtg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat    480
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac    540
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag    600
tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa    660
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag    720
aaccagggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag    780
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc    840
gacggctcct tcttctctta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg    900
aatgtcttct catgtccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc    960
ctctccctgt ctctgggtaa a                                           981
```

<210> 122

<211> 327

<212> PRT

<213> 人类

<400> 122

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

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

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr  
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro  
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
115 120 125

[0037]

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys  
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser  
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
325

<210> 123

<211> 981

<212> DNA

[0038] <213> 人类

<400> 123

gcttccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60

agcacagccg ccctgggctg cctggtaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 240

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc 300

aaatatggtc ccccggtgcc atcatgcca gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc 360

ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 420

tgcggtggtg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 480

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 540

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcgtgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 600

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgctc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 660

gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag 720

aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 780

	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc	840
	gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg	900
	aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc	960
	ctctccctgt ctctgggtaa a	981
	<210> 124	
	<211> 327	
	<212> PRT	
	<213> 人类	
	<400> 124	
	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg	
	1 5 10 15	
	Ser Thr Ser Glu Ser 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	
[0039]	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 Lys Thr	
	65 70 75 80	
	Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys	
	85 90 95	
	Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro	
	100 105 110	
	Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys	
	115 120 125	
	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val	
	130 135 140	
	Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp	
	145 150 155 160	
	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe	

	165	170	175
	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp 180 185 190		
	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu 195 200 205		
	Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg 210 215 220		
	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys 225 230 235 240		
	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp 245 250 255		
	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys 260 265 270		
[0040]	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser 275 280 285		
	Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser 290 295 300		
	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser 305 310 315 320		
	Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys 325		
	<210> 125 <211> 981 <212> DNA <213> 人类		
	<400> 125		
	gcttccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag	60	
	agcacagccg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg	120	
	tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtcctca	180	
	ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcctcca gcagcttggg cacgaagacc	240	

```

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc 300
aaatatggtc ccccatgccc atcatgccc gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc 360
ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 420
tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 480
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 540
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 600
tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgctc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 660
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag 720
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 780
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc 840
gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg 900
aacgttctct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 960
ctctccctgt ctctgggtaa a 981

```

[0041]

<210> 126  
 <211> 327  
 <212> PRT  
 <213> 人类  
 <400> 126

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

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

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr  
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro  
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
195 200 205

[0042]

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys  
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser  
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
325

<210> 127  
<211> 981  
<212> DNA  
<213> 人类

<400> 127  
gcctccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 60  
agcacggccg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccagt gacggtgtcg 120  
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgttcct acagtccctca 180  
ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 240  
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc 300  
aaatatggtc ccccatgccc accatgccc gcgcctgaat ttgagggggg accatcagtc 360  
ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 420  
tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 480  
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 540  
[0043] cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 600  
tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtca tgcgtcaga aaaccatctc caaagccaaa 660  
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag 720  
aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 780  
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc 840  
gacggatcct tcttctctta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg 900  
aatgtcttct catgtccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc 960  
ctctccctgt ctctgggtaa a 981

<210> 128  
<211> 327  
<212> PRT  
<213> 人类

<400> 128

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

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr




Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser  
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
325

<210> 129  
<211> 981  
<212> DNA  
<213> 人类

<400> 129  
[0045] gcctccacca agggacctag cgtgttccct ctcgccccct gttccaggtc cacaagcgag 60  
tccaccgctg ccctcggtg tctggtgaaa gactactttc ccgagcccgt gaccgtctcc 120  
tggaatagcg gagccctgac ctccggcgtg cacacatttc ccgccgtgct gcagagcagc 180  
ggactgtata gcctgagcag cgtggtgacc gtgccagct ccagcctcgg caccaaaacc 240  
tacacctgca acgtggacca caagccctcc aacaccaagg tggacaagcg ggtggagagc 300  
aagtacggcc ccccttgccc tccttgtcct gcccctgagt tcgaggagg accctccgtg 360  
ttcctgtttc ccccaaaacc caaggacacc ctgatgatct cccggacacc cgaggtgacc 420  
tgtgtggtcg tggacgtcag ccaggaggac cccgaggtgc agttcaactg gtatgtggac 480  
ggcgtggagg tgcacaatgc caaaaccaag cccaggagg agcagttcaa ttccacctac 540  
agggtggtga gcgtgctgac cgtcctgcat caggattggc tgaacggcaa ggagtacaag 600  
tgcaaggtgt ccaacaaggg actgcccagc tccatcgaga agaccatcag caaggctaag 660  
ggccagccga gggagcccca ggtgtatacc ctgcctccta gccaggaaga gatgaccaag 720  
aaccaagtgt cctgacctg cctggtgaag ggattctacc cctccgacat cgccgtggag 780  
tgggagagca atggccagcc cgagaacaac tacaaaacaa cccctcccgt gctcgatagc 840  
gacggcagct tctttctcta cagccggctg acagtggaca agagcagggtg gcaggagggc 900

	aacgtgttct cctgttccgt gatgcacgag gccctgcaca atcactacac ccagaagagc	960
	ctctccctgt ccctgggcaa g	981
	<210> 130	
	<211> 981	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 130	
	gccagcacca agggcccttc cgtgttcccc ctggccctt gcagcaggag cacctccgaa	60
	tccacagctg ccctgggctg tctggtgaag gactactttc ccgagcccgt gaccgtgagc	120
	tggaacagcg gcgctctgac atccggcgtc cacacctttc ctgccgtcct gcagtcctcc	180
	ggcctctact cctgtcctc cgtggtgacc gtgcctagct cctccctcgg caccaagacc	240
	tacacctgta acgtggacca caaacctcc aacaccaagg tggacaaacg ggtcgagagc	300
	aagtacggcc ctccctgccc tccttgcct gccccgagt tcgaaggcgg acccagcgtg	360
	ttcctgttcc ctccaaagcc caaggacacc ctcatgatca gccggacacc cgaggtgacc	420
	tgcgtggtgg tggatgtgag ccaggaggac cctgaggtcc agttcaactg gtatgtggat	480
[0046]	ggcgtggagg tgcacaacgc caagacaaag ccccggaag agcagttcaa ctccacctac	540
	agggtggtca gcgtgctgac cgtgctgcat caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	600
	tgcaaggtea gcaataaggg actgcccagc agcatcgaga agaccatctc caaggctaaa	660
	ggccagcccc gggaacctca ggtgtacacc ctgcctcca gccaggagga gatgaccaag	720
	aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaag ggattctacc ctccgacat cgccgtggag	780
	tgggagtcca acggccagcc cgagaacaat tataagacca cccctcccgt cctcgacagc	840
	gacggatcct tctttctgta ctccaggtg accgtggata agtccaggtg gcaggaaggc	900
	aacgtgttca gctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca atcactacac ccagaagtcc	960
	ctgagcctgt ccctgggaaa g	981
	<210> 131	
	<211> 981	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 131	
	gcctccacca agggcccatc cgttctcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag	60
	agcacggccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccagt gacggtgtcg	120

	tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtcttctt acagtcctca	180
	ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc	240
	tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	300
	aaatatggtc ccccatgccc accatgccc a gcgcctccag ttgcgggggg accatcagtc	360
	ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	420
	tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	480
	ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	540
	cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	600
	tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgta tcatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	660
	gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	720
	aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag	780
	tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc	840
	gacggatcct tcttctctta cagcaggeta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg	900
	aatgtcttct catgtccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	960
[0047]	ctctccctgt ctctgggtaa a	981

&lt;210&gt; 132

&lt;211&gt; 327

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人类

&lt;400&gt; 132

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

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

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr  
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
100 105 110

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

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
180 185 190

[0048]

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys  
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser  
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
325

<210> 133  
<211> 990  
<212> DNA  
<213> 人类

<400> 133  
gcctccacca agggcccacg ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60  
ggcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgtcg 120  
tggaactcag gcgccctgac cagcggcggtg cacaccttcc cggctgtcct acagtctctca 180  
ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccttcca gcagcttggg caccagacc 240  
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agtggagccc 300  
aaatcttgtg acaaaactca cacatgcccc ccgtgcccag cacctgaact cgcgggggca 360  
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct 420  
[0049] gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480  
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcggggagga gcagtacaac 540  
agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600  
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660  
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720  
ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780  
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840  
ctggactccg acggtctctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900  
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960  
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 990

<210> 134  
<211> 330  
<212> PRT  
<213> 人类

<400> 134

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

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
325 330

<210> 135

<211> 321

<212> DNA

[0051] <213> 人类

<400> 135

cgtagcgttg ccgctccctc cgtgttcac tccccac ttc ccgacgagca gctgaagtcc 60

ggcaccgctt ctgtcgtgtg cctgtgaac aacttctacc cccgcgaggc caaggtgcag 120

tggaaggttg acaacgccct gcagtcggc aactcccagg aatccgtgac cgagcaggac 180

tccaaggaca gcacctactc cctgtcctcc accctgaccc tgtccaaggc cgactacgag 240

aagcacaagg tgtacgcctg cgaagtgacc caccagggcc tgtctagccc cgtgaccaag 300

tctttcaacc ggggcgagtg t 321

<210> 136

<211> 107

<212> PRT

<213> 人类

<400> 136

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

<210> 137  
 <211> 321  
 <212> DNA  
 <213> 人类

[0052]

<400> 137  
 cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcac ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60  
 ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120  
 tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggag 180  
 agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240  
 aaacacaaag tctacgccgg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300  
 agcttcaaca ggggagagtg t 321

<210> 138  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人类

<400> 138

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 Glu 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 Gly Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
85 90 95

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

<210> 139  
<211> 321  
<212> DNA  
<213> 人类

<400> 139  
cgaactgtgg ctgcaccate tgttctcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60  
[0053] ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120  
cggaaggtgg ataacgcctt ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggag 180  
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240  
aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300  
agcttcaaca ggggagagtg t 321

<210> 140  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人类

<400> 140

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 Arg Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Glu 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

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

<210> 141  
<211> 321  
<212> DNA  
<213> 人类

[0054] <400> 141  
cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcac ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60  
ggaactgcct ctgttggtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120  
tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180  
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240  
aaacacaaac tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300  
agcttcaaca ggggagagtg t 321

<210> 142  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人类

<400> 142

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

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

<210> 143  
<211> 321  
<212> DNA  
<213> 人类

<400> 143  
cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcac ttccegccat ctgatgagca gttgaaatct 60  
ggaactgcct ctgttggtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120  
tggaaggtgg ataacgcct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180  
agcaaggaca gcacctacag cctcagcaac accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240  
aaacacaaag tctacgctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300  
agcttcaaca ggggagagtg c 321

[0055]

<210> 144  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人类

<400> 144

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 Asn 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
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	100	105	
<210> 145			
<211> 312			
<212> DNA			
<213> 人类			
<400> 145			
cccaaggcca accccaacggt cactctgttc ccgccctcct ctgaggagct ccaagccaac			60
aaggccacac tagtgtgtct gatcagtgac ttctaccgga gagctgtgac agtggcttgg			120
aaggcagatg gcagccccgt caaggcggga gtggagacga ccaaaccctc caaacagagc			180
aacaacaagt acgcggccag cagctacctg agcctgacgc ccgagcagtg gaagtccac			240
agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa gggagcaccg tggagaagac agtggcccct			300
[0056] acagaatgtt ca			312
<210> 146			
<211> 104			
<212> PRT			
<213> 人类			
<400> 146			
Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu	1	5	10 15
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr	20	25	30
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys	35	40	45
Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr	50	55	60
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His	65	70	75 80

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

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
100

<210> 147  
<211> 318  
<212> DNA  
<213> 人类

<400> 147  
ggtcagccca aggccaaccc cactgtcact ctgttccgc cctcctctga ggagctccaa 60  
gccaacaagg ccacactagt gtgtctgac agtgacttct acccgggagc tgtgacagtg 120  
gcctggaagg cagatggcag ccccgtaag ggggagtg agaccaccaa accctccaaa 180  
cagagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgccga gcagtggaag 240  
tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300  
gcccctacag aatgttca 318

[0057]

<210> 148  
<211> 106  
<212> PRT  
<213> 人类

<400> 148

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

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

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro  
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn  
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val  
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
100 105

<210> 149  
<211> 318  
<212> DNA  
<213> 人类

<400> 149  
ggtcagccca aggccaaccc cactgtcact ctgttcccgc cctcctctga ggagctccaa 60  
gccaacaagg ccacactagt gtgtctgac agtgacttct acccgggagc tgtgacagtg 120  
gcctggaagg cagatggcag ccccgtaag gcgggagtgg agaccaccaa accctccaaa 180  
cagagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcccga gcagtggaag 240  
tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300  
gccctacag aatgttca 318

<210> 150  
<211> 318  
<212> DNA  
<213> 人类

[0058]

<400> 150  
ggccagccta aggcgctcc ttctgtgacc ctgttcccc catcctccga ggaactgcag 60  
gctaacaagg ccaccctcgt gtgcctgac agcgacttct accctggcgc cgtgaccgtg 120  
gcctggaagg ctgatagctc tcctgtgaag gccggcgtgg aaaccaccac cccttccaag 180  
cagtccaaca acaatacgc cgcctcctcc tacctgtccc tgaccctga gcagtggaag 240  
tcccaccggt cctacagctg ccaagtgacc cacgagggt ccaccgtgga aaagaccgtg 300  
gtcctaccg agtgetcc 318

<210> 151  
<211> 318  
<212> DNA  
<213> 人类

<400> 151  
ggccagccta aagctgcccc cagcgtcacc ctgtttctc cctccagcga ggagctccag 60  
gccaacaagg ccaccctcgt gtgcctgac tccgacttct atcccggcgc tgtgaccgtg 120  
gcttggaag ccgactccag cctgtcaaa gccggcgtgg agaccaccac accctccaag 180  
cagtccaaca acaagtacgc cgcctccagc tatctctccc tgaccctga gcagtggaag 240

tcccaccggt cctactcctg tcaggtgacc caccgagggt ccaccgtgga aaagaccgtc	300
gccccaccg agtgetcc	318
<210> 152	
<211> 106	
<212> PRT	
<213> 人类	
<400> 152	
Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser	
1 5 10 15	
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp	
20 25 30	
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro	
35 40 45	
Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn	
50 55 60	
[0059] Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys	
65 70 75 80	
Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val	
85 90 95	
Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser	
100 105	
<210> 153	
<211> 318	
<212> DNA	
<213> 人类	
<400> 153	
ggtcagccca aggctgcccc ctcggtcact ctgttcccgc cctcctctga ggagcttcaa	60
gccacaagg ccacactggt gtgtctcata agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg	120
gcctggaagg cagatagcag ccccgtaag gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa	180
caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaag	240
tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg	300
gccctacag aatgttca	318



<210> 154  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人类

<400> 154

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

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

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro  
 35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn  
 50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
 65 70 75 80

[0060] Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val  
 85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 100 105

<210> 155  
 <211> 312  
 <212> DNA  
 <213> 人类

<400> 155

cccaaggctg cccctcggt cactctgttc ccacctcct ctgaggagct tcaagccaac 60  
 aaggccacac tgggtgtgtct cataagtac ttctaccgagg gagccgtgac agttgcctgg 120  
 aaggcagata gcagccccgt caaggcgggg gtggagacca ccacacctc caaacaagc 180  
 aacaacaagt acgcggccag cagctacctg agcctgacgc ctgagcagtg gaagtccac 240  
 aaaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa gggagcacgc tggagaagac agttgcccct 300  
 acggaatgtt ca 312

<210> 156

<211> 104  
 <212> PRT  
 <213> 人类

<400> 156

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

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

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys  
 35 40 45

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr  
 50 55 60

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His  
 65 70 75 80

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

[0061]

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 100

<210> 157  
 <211> 318  
 <212> DNA  
 <213> 人类

<400> 157

ggtcagccca aggctgcccc ctcggtcaact ctgttccac cctcctctga ggagcttcaa 60

gccacaagg ccacactggt gtgtctcata agtgacttct acccggggcc agtgacagtt 120

gcctggaagg cagatagcag ccccgtaag gcgggggtgg agaccaccac accctccaaa 180

caaagcaaca acaagtaagc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcctga gcagtgggaag 240

tcccacaaaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300

gcccctacgg aatgttca 318

<210> 158  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人类

&lt;400&gt; 158

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

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

Phe Tyr Pro Gly Pro Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro  
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn  
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
65 70 75 80

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

[0062] Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
100 105

&lt;210&gt; 159

&lt;211&gt; 318

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人类

&lt;400&gt; 159

ggtcagccca aggctgcccc ctcggtcact ctgttcccac cctcctctga ggagcttcaa 60

gccacaagg ccacactggt gtgtctcata agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg 120

gcctggaagg cagatagcag ccccgtaag gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa 180

caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcctga gcagtggaag 240

tcccacaaaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300

gcccctacag aatgttca 318

&lt;210&gt; 160

&lt;211&gt; 106

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人类

&lt;400&gt; 160

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

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

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro  
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn  
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
65 70 75 80

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

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
100 105

[0063]

<210> 161  
<211> 318  
<212> DNA  
<213> 人类

<400> 161  
ggtcagccca aggtgcgcc ctcggtcact ctgttccgc cctcctctga ggagcttcaa 60  
gccaacaagg ccacactggt gtgtctcata agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg 120  
gcctggaagg cagatagcag ccccgtaag gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa 180  
caaagcaaca acaagtaagc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcctga gcagtggaag 240  
tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300  
gccctacag aatgttca 318

<210> 162  
<211> 106  
<212> PRT  
<213> 人类

<400> 162

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

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

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro  
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn  
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val  
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
100 105

<210> 163  
<211> 318  
<212> DNA  
<213> 人类

[0064]

<400> 163  
ggtcagccca aggctgcccc atcggtcact ctgttccgc cctcctctga ggagcttcaa 60  
gccaacaagg ccacactggt gtgcctgata agtgacttct acccgggagc tgtgaaagtg 120  
gcctggaagg cagatggcag ccccgtaac acgggagtg agaccaccac accctccaaa 180  
cagagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcctga gcagtggaag 240  
tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300  
gcccctgcag aatgttca 318

<210> 164  
<211> 106  
<212> PRT  
<213> 人类

<400> 164

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

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

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Lys Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro  
35 40 45

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

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val  
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser  
100 105

<210> 165  
<211> 318  
<212> DNA  
<213> 人类

[0065] <400> 165  
ggtcagccca aggctgcccc atcggtcact ctgttcccac cctcctctga ggagcttcaa 60  
gccacaagg ccacactggt gtgtctcgta agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg 120  
gcctggaagg cagatggcag ccccgtaag gtgggagtgg agaccaccaa accctccaaa 180  
caaagcaaca acaagtatgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcccga gcagtggaag 240  
tcccacagaa gctacagctg ccgggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300  
gcccctgcag aatgctct 318

<210> 166  
<211> 106  
<212> PRT  
<213> 人类

<400> 166

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

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

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

	35	40	45	
	Val Lys Val Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn			
	50	55	60	
	Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys			
	65	70	75	80
	Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Arg Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val			
	85	90	95	
	Glu Lys Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser			
	100	105		
	<210> 167			
	<211> 615			
	<212> DNA			
	<213> 人类			
	<400> 167			
	atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtggccaccg ccaccggcgt gcacagcgat		60	
[0066]	tacaaggatg acgacgataa gcgtatgaaa cagatcgaag ataaaattga agagatcttg		120	
	agcaaaatct atcatatcga aaacgaaatt gcgcgtatca aaaagctgat tggcgaacgt		180	
	ggcgggtggca gcggtggcgg tagcggcggg ggcagccagg tgtcccaccg ataccccagg		240	
	atccagtcca tcaagggtcca gttcaccgag tacaaaaagg agaagggtt catcctgacc		300	
	tcccaaaagg aggacgagat catgaagggtg caaaacaact ccgtgatcat caactgcgac		360	
	ggcttctacc tgatctccct gaagggtac ttctcccagg aggtgaacat ctccctgcac		420	
	taccagaagg acgaggagcc cctgttccag ctgaagaagg tgagggtccgt gaattccctg		480	
	atggtggcca gcctgacct caaggacaag gtctacctga acgtgaccac cgacaacacc		540	
	agcctggacg acttccatgt caacggcggc gagctgatcc tgatccatca gaaccccggc		600	
	gagttttgcg tcctg		615	
	<210> 168			
	<211> 205			
	<212> PRT			
	<213> 人类			
	<400> 168			
	Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly			
	1	5	10	15

Val His Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Arg Met Lys Gln Ile  
20 25 30

Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile Glu Asn  
35 40 45

Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly Gly Gly Ser  
50 55 60

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val Ser His Arg Tyr Pro Arg  
65 70 75 80

Ile Gln Ser Ile Lys Val Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly  
85 90 95

Phe Ile Leu Thr Ser Gln Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn  
100 105 110

Asn Ser Val Ile Ile Asn Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys  
115 120 125

[0067]

Gly Tyr Phe Ser Gln Glu Val Asn Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp  
130 135 140

Glu Glu Pro Leu Phe Gln Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu  
145 150 155 160

Met Val Ala Ser Leu Thr Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr  
165 170 175

Thr Asp Asn Thr Ser Leu Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu  
180 185 190

Ile Leu Ile His Gln Asn Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu  
195 200 205

<210> 169

<211> 615

<212> DNA

<213> 人类

<400> 169

atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtggccaccg ccaccggcgt gcacagcgat

60



$\langle 210 \rangle$	170
$\langle 211 \rangle$	205
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	人类

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

Asn Ser Val Ile Ile Asn Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys  
115 120 125

Gly Tyr Phe Ser Gln Glu Val Asn Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp  
130 135 140

Glu Glu Pro Leu Phe Gln Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu  
145 150 155 160

Met Val Ala Ser Leu Thr Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr  
165 170 175

Thr Asp Asn Thr Ser Leu Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu  
180 185 190

Ile Leu Ile His Gln Asn Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu  
195 200 205

<210> 171  
<211> 1332  
<212> DNA  
<213> 人类

[0069]

<400> 171  
atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtggccaccg ccaccggcgt gcacagcctg 60  
cattgcgtgg gcgacaccta tccctccaac gacaggtgct gccacgagtg caggcctgga 120  
aacggcatgg tgagcaggtg cagccggtcc cagaataccg tgtgtaggcc ctgcggcccc 180  
ggctttttaca acgacgtggt gtctccaag ccctgcaagc cctgcacatg gtgcaacctg 240  
cgggtccggca gcgagaggaa gcagctctgc acagccaccc aggacaccgt ctgtaggtgt 300  
agggttgga cccagcctct ggactcctac aagcccggcg tggattgtgc tccttgccct 360  
cccggcatt tctcccctgg cgacaaccag gcttgcaagc cctggaccaa ctgtaccctg 420  
gccggcaagc atacactgca gcctgcttcc aactcctccg acgtatctg cgaggatagg 480  
gacccccctg ccacacaacc ccaggagaca cagggccctc ctgctaggcc catcacagtc 540  
caaccaccg aagcctggcc caggacatcc caaggccctt ccaccaggcc tgtggaagtg 600  
cctggaggaa gggctgtggc cattgaaggt cgtatggatg aacccaagtc ctgcgacaag 660  
accacacct gtcccccttg tcctgccct gaactgctgg gcggaccttc cgtgttcctg 720  
ttcccccaa agcccaagga caccctgatg atctcccgga ccccgaagt gacctgcgtg 780  
gtggtgatg tgtccacga ggaccctgaa gtgaagttca attggtacgt ggacggcgtg 840

```

gaagtgcaca acgccaagac caagcctaga gaggaacagt acaactccac ctaccgggtg      900
gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggat tggctgaacg gcaaagagta caagtgcaag      960
gtgtccaaca aggccctgcc tgcccccatc gaaaagacca tctccaaggc caagggccag     1020
ccccgggaac cccagggtgta cacactgccc cctagcaggg acgagctgac caagaaccag     1080
gtgtccctga cctgtctcgt gaaaggttc taccctccg atatcgccgt ggaatgggag     1140
tccaacggcc agcctgagaa caactacaag accaccccc ctgtgctgga ctccgacggc     1200
tcattcttcc tgtacagcaa gctgacagtg gacaagtccc ggtggcagca gggcaacgtg     1260
ttctcctgct ccgtgatgca cgaggccctg cacaaccact acaccagaa gtccctgtcc     1320
ctgagccct ga                                     1332

```

&lt;210&gt; 172

&lt;211&gt; 443

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人类

&lt;400&gt; 172

[0070] Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
1 5 10 15

Val His Ser Leu His Cys Val Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg  
20 25 30

Cys Cys His Glu Cys Arg Pro Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser  
35 40 45

Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn  
50 55 60

Asp Val Val Ser Ser Lys Pro Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu  
65 70 75 80

Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr  
85 90 95

Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro  
100 105 110

Gly Val Asp Cys Ala Pro Cys Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp  
115 120 125

Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His  
130 135 140

Thr Leu Gln Pro Ala Ser Asn Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg  
145 150 155 160

Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg  
165 170 175

Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly  
180 185 190

Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ile  
195 200 205

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

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

[0071]

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
435 440

<210> 173

<211> 552

<212> DNA

[0072] <213> 人类

<400> 173

atggagaggg tgcagcccct cgaggagaac gtgggaaacg ccgccaggcc taggttcgag 60

aggaacaagc tgctgctggt ggcttcctg atccaaggac tcggcctgct gctctgcttc 120

acctacatct gcctccactt cagcgccctg caggtgtccc accgataccc caggatccag 180

tccatcaagg tccagttcac cgagtacaaa aaggagaagg gattcatcct gacctcccaa 240

aaggaggacg agatcatgaa ggtgcaaaac aactccgtga tcatcaactg cgacggttc 300

tacctgatct ccctgaaggg ctacttctcc caggaggtga acatctccct gcactaccag 360

aaggacgagg agcccctggt ccagctgaag aaggtgaggt ccgtgaattc cctgatggtg 420

gccagcctga cctacaagga caaggtctac ctgaacgtga ccaccgacaa caccagcctg 480

gacgacttcc atgtcaacgg cggcgagctg atcctgatcc atcagaaccc cggcgagttt 540

tgcgtcctgt aa 552

<210> 174

<211> 181

<212> PRT

<213> 人类

&lt;400&gt; 174

Met Glu Arg Val Gln Pro Leu Glu Glu Asn Val Gly Asn Ala Ala Arg  
1 5 10 15

Pro Arg Phe Glu Arg Asn Lys Leu Leu Leu Val Ala Ser Val Ile Gln  
20 25 30

Gly Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Thr Tyr Ile Cys Leu His Phe Ser  
35 40 45

Ala Leu Gln Val Ser His Arg Tyr Pro Arg Ile Gln Ser Ile Lys Val  
50 55 60

Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser Gln  
65 70 75 80

Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn Asn Ser Val Ile Ile Asn  
85 90 95

Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys Gly Tyr Phe Ser Gln Glu  
100 105 110

[0073]

Val Asn Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp Glu Glu Pro Leu Phe Gln  
115 120 125

Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr  
130 135 140

Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu  
145 150 155 160

Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn  
165 170 175

Pro Gly Glu Phe Cys  
180

&lt;210&gt; 175

&lt;211&gt; 834

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人类

&lt;400&gt; 175

atgtgcgtgg gggctcggcg gctgggccgc gggccgtgtg cggtcttgct cctcctgggc

60

```

ctggggctga gcaccgtgac ggggctccac tgtgtcgggg acacctaccc cagcaacgac      120
cggtgctgcc acgagtgcag gccaggcaac gggatgggtga gccgctgcag ccgctcccag      180
aacacggtgt gccgtccgtg cgggccgggc ttctacaacg acgtggtcag ctccaagccg      240
tgcaagccct gcacgtgggtg taacctcaga agtgggagtg agcggaagca gctgtgcacg      300
gccacacagg acacagtctg ccgctgccgg gcgggcaccc agcccctgga cagtacaag      360
cctggagttg actgtgcccc ctgccctcca gggcacttct ccccaggcga caaccaggcc      420
tgcaagccct ggaccaactg caccttggtt gggaagcaca ccctgcagcc ggccagcaat      480
agctcggacg caatctgtga ggacagggac cccccagcca cgcagcccca ggagaccag      540
ggcccccccg ccaggcccat cactgtccag cccactgaag cctggcccag aacctcacag      600
ggaccctcca cccggcccggt ggaggtcccc gggggccgtg cggttgccgc catcctgggc      660
ctgggcctgg tgctggggct gctgggcccc ctggccatcc tgctggccct gtacctgtc      720
cggagggacc agaggctgcc ccccgatgcc cacaagcccc ctgggggagg cagtttccgg      780
acccccatcc aagaggagca ggccgacgcc cactccaccc tggccaagat ctga      834

```

[0074]

<210> 176  
 <211> 277  
 <212> PRT  
 <213> 人类

<400> 176

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

Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val  
20 25 30

Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro  
35 40 45

Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys  
50 55 60

Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val Ser Ser Lys Pro  
65 70 75 80

Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys  
85 90 95

Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly  
100 105 110

Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp Cys Ala Pro Cys  
115 120 125

Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp  
130 135 140

Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala Ser Asn  
145 150 155 160

Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro  
165 170 175

Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr  
180 185 190

[0075]

Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu  
195 200 205

Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val  
210 215 220

Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu  
225 230 235 240

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly  
245 250 255

Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser  
260 265 270

Thr Leu Ala Lys Ile  
275



抗OX40L抗体对OX40L/OX40R结合的作用

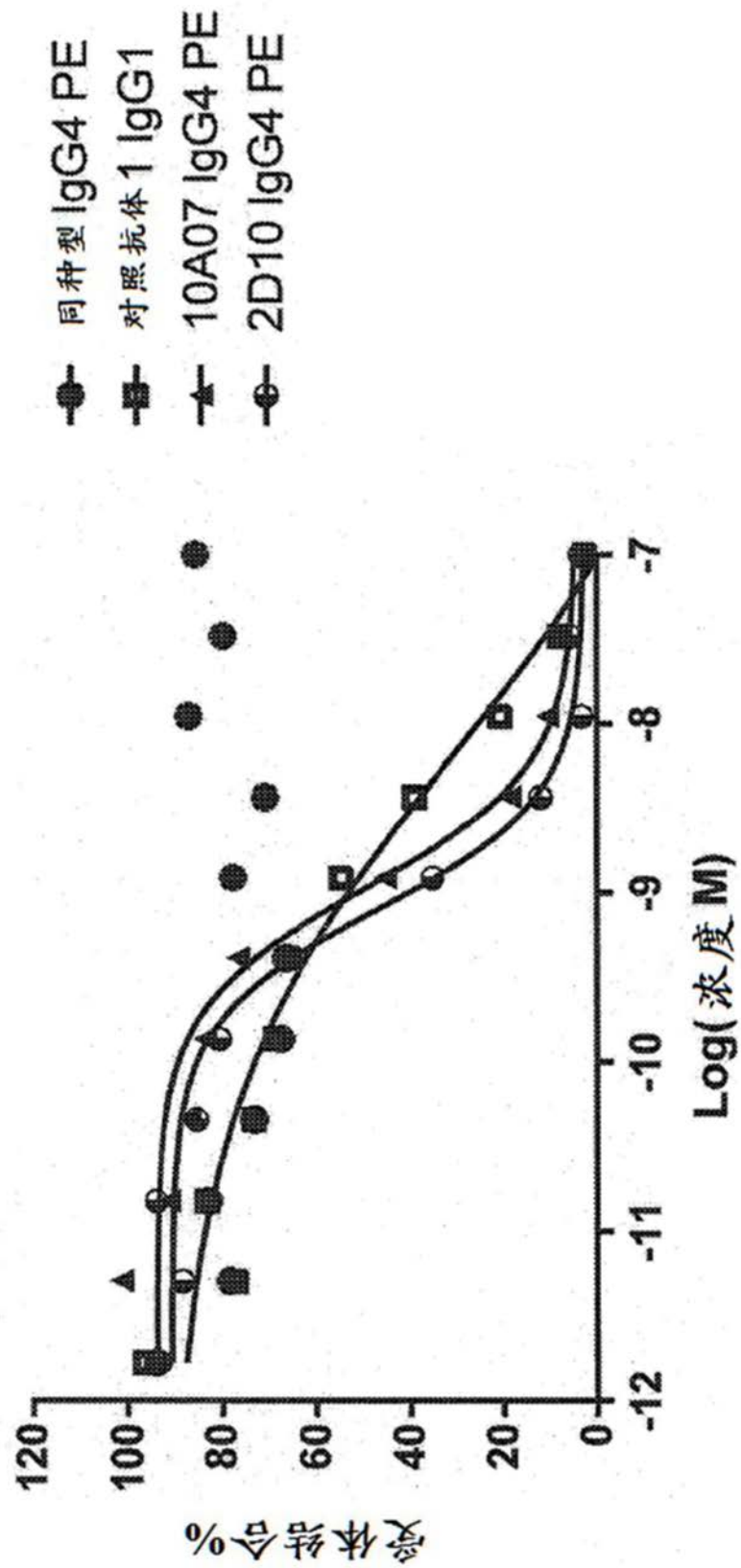


图1

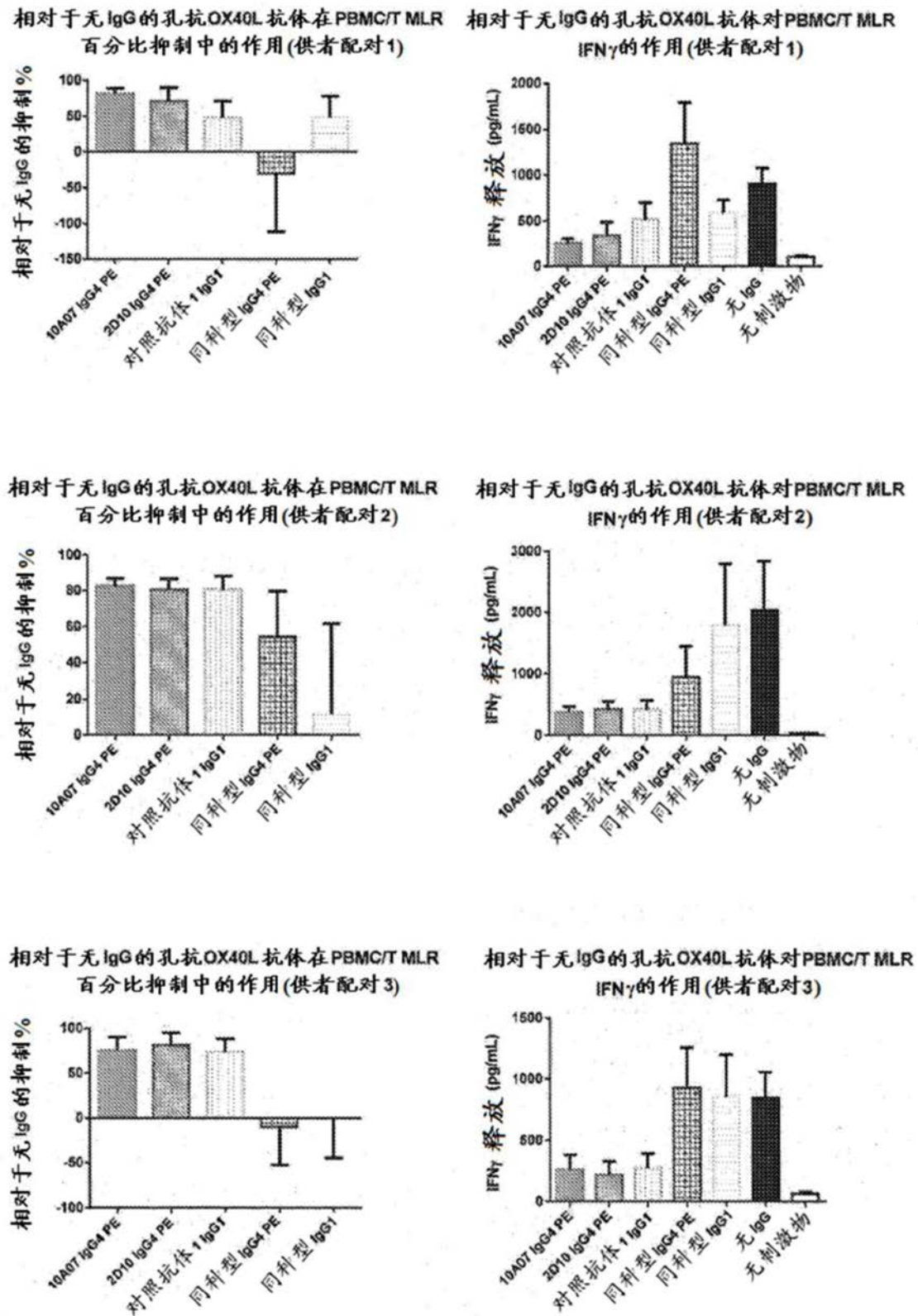


图2