

(19) 国家知识产权局



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 111868086 B
(45) 授权公告日 2024.07.16

(21) 申请号 201780086859.0

瓦尔德希伯伦肿瘤研究所

(22) 申请日 2017.12.18

(72) 发明人 琼·塞奥尼苏亚雷斯

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111868086 A

茱蒂特·艾尼多弗古艾拉
约翰·弗兰松
让-菲利普·朱利安
斯威萨·拉曼

(43) 申请公布日 2020.10.30

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

(30) 优先权数据

专利代理人 李波 李唐

16382617.5 2016.12.19 EP
17382683.5 2017.10.13 EP
62/467,017 2017.03.03 US

(51) Int.CI.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

C07K 16/24 (2006.01)

2019.08.19

A61K 39/395 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61P 35/00 (2006.01)

PCT/IB2017/001677 2017.12.18

(56) 对比文件

(87) PCT国际申请的公布数据

CN 103797031 A, 2014.05.14

W02018/115960 EN 2018.06.28

WO 9323556 A1, 1993.11.25

(73) 专利权人 免疫医疗有限公司

审查员 殷岑楠

地址 英国剑桥郡

权利要求书1页 说明书62页
序列表72页 附图21页

专利权人 加泰罗尼亚高等研究院

(54) 发明名称

抗LIF抗体及其用途

(57) 摘要

本文描述了针对白血病抑制因子(LIF)的抗体。本文还描述了这些抗体在癌症治疗中的用途。

1. 一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,其包含:
 - a) 由SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成的重链互补决定区1(VH-CDR1);
 - b) 由SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列组成的重链互补决定区2(VH-CDR2);
 - c) 由SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列组成的重链互补决定区3(VH-CDR3);
 - d) 由SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列组成的轻链互补决定区1(VL-CDR1);
 - e) 由SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列组成的轻链互补决定区2(VL-CDR2);和
 - f) 由SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列组成的轻链互补决定区3(VL-CDR3),其中所述重组抗体与LIF特异性结合。
2. 根据权利要求1所述的重组抗体,其中所述重组抗体与糖基化的LIF结合。
3. 根据权利要求1或2所述的重组抗体,其中所述重组抗体包含衍生自人抗体框架区的至少一个框架区。
4. 根据权利要求1或2所述的重组抗体,其中所述重组抗体是人源化的。
5. 根据权利要求1或2所述的重组抗体,其中所述重组抗体是去免疫的。
6. 根据权利要求1或2所述的重组抗体,其中所述重组抗体包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。
7. 根据权利要求1或2所述的重组抗体,其中所述重组抗体以小于200皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。
8. 根据权利要求1或2所述的重组抗体,其中所述重组抗体以小于100皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。
9. 根据权利要求1或2所述的重组抗体,其用于治疗表达高水平LIF、LIF受体或表现出LIF依赖性生长的癌症,其中所述癌症选自多形性胶质母细胞瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌和结直肠癌。
10. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1至9中任一项所述的重组抗体和药学上可接受的载体。
11. 根据权利要求10所述的药物组合物,其被配制用于静脉内给药。
12. 根据权利要求10所述的药物组合物,其被配制用于大脑内给药。
13. 根据权利要求10或12中任一项所述的药物组合物,其用于治疗表达高水平LIF、LIF受体或表现出LIF依赖性生长的癌症,其中所述癌症选自多形性胶质母细胞瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌和结直肠癌。
14. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1-9中任一项所述的重组抗体。
15. 根据权利要求1所述的重组抗体,其中,当与人LIF结合时,所述重组抗体与至少一个以下残基结合:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。

抗LIF抗体及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2016年12月19日提交的欧洲专利申请EP16382617.5、2017年3月3日提交的美国临时专利申请62/467,017和2017年10月13日提交的欧洲专利申请EP17382683.5的权益，所有这些申请均通过引用整体并入本文。

背景技术

[0003] 白血病抑制因子(LIF)是白细胞介素6(IL-6)型细胞因子，其参与多种生物活性，包括对细胞分化的抑制。人LIF是具有202个氨基酸的多肽，其通过结合与gp130发生异二聚化的细胞表面LIF受体(LIFR或CD118)而发挥生物学效应。这导致诸如促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)和Janus活化激酶(JAK/STAT)途径等促生长信号传导途径的激活。已经证明，LIF的高表达水平和高血清水平与许多类型癌症的不良预后相关。

发明内容

[0004] 本文描述了拮抗或阻断LIF活性的新型抗LIF抗体。这些抗体可用于治疗癌症。这些抗体可以被人源化，以便开发针对表达高水平LIF、LIF受体或表现出LIF依赖性生长的癌症的临床疗法。本文所述的一种这样的抗体在人源化过程后在结合亲和力和生物学效应方面表现出出乎意料的改善。

[0005] 在一方面，本文描述了一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体，其包含：a) 包含SEQ ID NO:1-7或33中任一个所示的氨基酸序列的重链互补决定区1(VH-CDR1)；b) 包含SEQ ID NO:9-13或35中任一个所示的氨基酸序列的重链互补决定区2(VH-CDR2)；c) 包含SEQ ID NO:15-19或37中任一个所示的氨基酸序列的重链互补决定区3(VH-CDR3)；d) 包含SEQ ID NO:21-23或39中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(VL-CDR1)；e) 包含SEQ ID NO:25-27或41中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区2(VL-CDR2)；和f) 包含SEQ ID NO:29、30或43中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区3(VL-CDR3)，其中所述重组抗体与LIF特异性结合。在某些实施方案中，所述重组抗体与糖基化的LIF结合。在某些实施方案中，所述重组抗体包含衍生自人抗体框架区的至少一个框架区。在某些实施方案中，所述重组抗体是人源化的。在某些实施方案中，所述重组抗体是去免疫的(deimmunized)。在某些实施方案中，所述重组抗体包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施方案中，所述重组抗体包括Fab、F(ab)₂、单域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施方案中，所述重组抗体以小于约200皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。在某些实施方案中，所述重组抗体以小于约100皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。在某些实施方案中，所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列(GFTFSNAWMH)，其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列(QIKDKSDNYATYYAESVKG)，其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列(TCWEWYLD)；其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列(RSSQSLLSDGHTYLN)，其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列(SVSNLES)，

并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列(MQATHAPPYT)。在某些实施方案中,所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列(SKFMY),其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列(WIYPGDGDTEYNQKFSE),其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:19所示的氨基酸序列(RDYHSSHFAY),其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:23所示的氨基酸序列(RSSQSLLHNNGNTYLS),其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列(QVSNRFS),并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列(GQGTQYPYT)。在某些实施方案中,所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列(TAGMQ),其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列(WINTQSGEPQYVDDFRG),其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列(WALYSEYDVMDY),其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列(KASENVDSYVS),其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列(GASNRYT),并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列(GQSYRYPPT)。在某些实施方案中,所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列(GFTFSHAWMH),其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列(QIKAKSDDYATYYAESVKG),其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列(TCWEWDLDF),其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列(RSSQSLLSDGHTYLN),其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列(SVSNLES),并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列(MQATHAPPYT)。在某些实施方案中,所述重组抗体包含一个或多个以下序列:与SEQ ID NO:44-47中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链框架1(VH-FR1)区氨基酸序列,与SEQ ID NO:48-49中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链框架2(VH-FR2)区氨基酸序列,与SEQ ID NO:50-52中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链框架3(VH-FR3)区氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:53-55中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链框架4(VH-FR4)区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含一个或多个以下序列:与SEQ ID NO:56-59中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链框架1(VL-FR1)区氨基酸序列,与SEQ ID NO:60-63中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链框架2(VL-FR2)区氨基酸序列,与SEQ ID NO:64-67中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链框架3(VL-FR3)区氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68-70中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链框架4(VL-FR4)区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列

至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体用于治疗癌症。在某些实施方案中,所述癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌或肺癌。在某些实施方案中,所述重组抗体是药物组合物的组分,该药物组合物包含所述重组抗体和药学上可接受的载体。在某些实施方案中,所述药物组合物被配制用于静脉内给药。在某些实施方案中,所述药物组合物被配制用于大脑内给药。在某些实施方案中,所述药物组合物用于治疗癌症。在某些实施方案中,所述癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。

[0006] 在另一方面,本文描述了一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,其包含:a)具有与SEQ ID NO:71、72或74中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白重链可变区(VH)序列;和b)具有与SEQ ID NO:75-78中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白轻链可变区(VL)序列。在某些实施方案中,所述VH序列与SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同;并且所述VL序列与SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同。

[0007] 在另一方面,本文描述了一种治疗患有癌症的个体的方法,其包括向该个体施用特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,该重组抗体包含:a)包含SEQ ID NO:1-7或33中任一个所示的氨基酸序列的重链互补决定区1(VH-CDR1);b)包含SEQ ID NO:9-13或35中任一个所示的氨基酸序列的重链互补决定区2(VH-CDR2);c)包含SEQ ID NO:15-19或37中任一个所示的氨基酸序列的重链互补决定区3(VH-CDR3);d)包含SEQ ID NO:21-23或39中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(VL-CDR1);e)包含SEQ ID NO:25-27或41中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区2(VL-CDR2);和f)包含SEQ ID NO:29、30或43中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区3(VL-CDR3),其中所述重组抗体与LIF特异性结合。在某些实施方案中,所述重组抗体与糖基化的LIF结合。在某些实施方案中,所述重组抗体包含衍生自人抗体框架区的至少一个框架区。在某些实施方案中,所述重组抗体是人源化的。在某些实施方案中,所述重组抗体是去免疫的。在某些实施方案中,所述重组抗体包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施方案中,所述重组抗体是Fab、F(ab)₂、单域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施方案中,所述重组抗体以小于约200皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。在某些实施方案中,所述重组抗体以小于约100皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。在某些实施方案中,所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列(GFTFSNAWMH),其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列(QIKDKSDNYATYYAESVKG),其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列(TCWIEWYLDF),其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列(RSSQSLLSDDGHTYLN),其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列(SVSNLES),

并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列(MQATHAPPYT)。在某些实施方案中,所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列(SKFMY),其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列(WIYPGDGDTEYNQKFSE),其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:19所示的氨基酸序列(RDYHSSHFAY),其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:23所示的氨基酸序列(RSSQSLLHNNGNTYLS),其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列(QVSNRFS),并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列(GQGTQYPYT)。在某些实施方案中,所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列(TAGMQ),其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列(WINTQSGEPQYVDDFRG),其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列(WALYSEYDVMDY),其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列(KASENVDSYVS),其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列(GASNRYT),并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列(GQSYRYPPT)。在某些实施方案中,所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列(GFTFSHAWMH),其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列(QIKAKSDDYATYYAESVKG),其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列(TCWEWDLDF),其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列(RSSQSLLSDGHTYLN),其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列(SVSNLES),并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列(MQATHAPPYT)。在某些实施方案中,所述重组抗体包含一个或多个以下序列:与SEQ ID NO:44-47中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链框架1(VH-FR1)区氨基酸序列,与SEQ ID NO:48-49中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链框架2(VH-FR2)区氨基酸序列,与SEQ ID NO:50-52中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链框架3(VH-FR3)区氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:53-55中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链框架4(VH-FR4)区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含一个或多个以下序列:与SEQ ID NO:56-59中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链框架1(VL-FR1)区氨基酸序列,与SEQ ID NO:60-63中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链框架2(VL-FR2)区氨基酸序列,与SEQ ID NO:64-67中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链框架3(VL-FR3)区氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68-70中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链框架4(VL-FR4)区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列

至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。在某些实施方案中,所述重组抗体静脉内施用。在某些实施方案中,所述重组抗体大脑内施用。

[0008] 在另一方面,本文描述了一种治疗患有癌症的个体的方法,其包括向该个体施用特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,该重组抗体包含:a)具有与SEQ ID NO:71、72或74中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白重链可变区(VH)序列;和b)具有与SEQ ID NO:75-78中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白轻链可变区(VL)序列。在某些实施方案中,所述VH序列与SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同;并且所述VL序列与SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同。

[0009] 在另一方面,本文描述了一种准备用于治疗患有癌症的受试者的癌症治疗方法,其包括混合药学上可接受的载体和特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,该重组抗体包含重链互补决定区1(VH-CDR1),该VH-CDR1包含:a)包含SEQ ID NO:1-7或33中任一个所示的氨基酸序列的重链互补决定区1(VH-CDR1);b)包含SEQ ID NO:9-13或35中任一个所示的氨基酸序列的重链互补决定区2(VH-CDR2);c)包含SEQ ID NO:15-19或37中任一个所示的氨基酸序列的重链互补决定区3(VH-CDR3);d)包含SEQ ID NO:21-23或39中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(VL-CDR1);e)包含SEQ ID NO:25-27或41中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区2(VL-CDR2);和f)包含SEQ ID NO:29、30或43中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区3(VL-CDR3),其中所述重组抗体与LIF特异性结合。在某些实施方案中,所述重组抗体与糖基化的LIF结合。在某些实施方案中,所述重组抗体包含衍生自人抗体框架区的至少一个框架区。在某些实施方案中,所述重组抗体是人源化的。在某些实施方案中,所述重组抗体是去免疫的。在某些实施方案中,所述重组抗体包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施方案中,所述重组抗体是Fab、F(ab)₂、单域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施方案中,所述重组抗体以小于约200皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。在某些实施方案中,所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列(GFTFSNAWMH),其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列(QIKDKSDNYATYYAESVKG),其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列(TCWEWYLD),其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列(RSSQSLLSDGHTYLN),其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列(SVSNLES),并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列(MQATHAPPYT)。在某些实施方案中,所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列(SKFMY),其中所述VH-CDR2包含SEQ

ID NO:13所示的氨基酸序列(WIYPGDGDTEYNQKFSE),其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:19所示的氨基酸序列(RDYHSSHFAY),其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:23所示的氨基酸序列(RSSQSLLHNNGNTYLS),其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列(QVSNRFS),并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列(GQGTQYPYT)。在某些实施方案中,所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列(TAGMQ),其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列(WINTQSGEPQYVDDFRG),其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列(WALYSEYDVMDY),其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列(KASENVDSYVS),其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列(GASNRYT),并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列(GQSYRYPPT)。在某些实施方案中,所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列(GFTFSHAWMH),其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列(QIKAKSDDYATYYAESVKKG),其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列(TCWEWDLDF),其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列(RSSQSLLSDGHTYLN),其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列(SVSNLES),并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列(MQATHAPPYT)。在某些实施方案中,所述重组抗体包含一个或多个以下序列:与SEQ ID NO:44-47中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链框架1(VH-FR1)区氨基酸序列,与SEQ ID NO:48-49中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链框架2(VH-FR2)区氨基酸序列,与SEQ ID NO:50-52中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链框架3(VH-FR3)区氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:53-55中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链框架4(VH-FR4)区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含一个或多个以下序列:与SEQ ID NO:56-59中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链框架1(VL-FR1)区氨基酸序列,与SEQ ID NO:60-63中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链框架2(VL-FR2)区氨基酸序列,与SEQ ID NO:64-67中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链框架3(VL-FR3)区氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68-70中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链框架4(VL-FR4)区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸

序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。

[0010] 在另一方面,本文描述了一种准备用于治疗患有癌症的受试者的癌症治疗方法,其包括混合药学上可接受的载体和特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,该重组抗体包含:a)具有与SEQ ID NO:71、72或74中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白重链可变区(VH)序列;b)以及具有与SEQ ID NO:75-78中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白轻链可变区(VL)序列。在某些实施方案中,所述VH序列与SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同;并且所述VL序列与SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同。

[0011] 在另一方面,本文描述了一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,其包含至少一个大鼠来源的互补决定区(CDR)和至少一个人类来源的免疫球蛋白框架区(FR),其中所述至少一个大鼠来源的CDR与LIF特异性结合。在某些实施方案中,所述重组抗体与糖基化的LIF结合。在某些实施方案中,所述重组抗体包含衍生自人抗体框架区的至少一个框架区。在某些实施方案中,所述重组抗体是人源化的。在某些实施方案中,所述重组抗体是去免疫的。在某些实施方案中,所述重组抗体包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施方案中,所述重组抗体是Fab、F(ab)₂、单域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施方案中,所述重组抗体以小于约200皮摩尔的解离常数(K_d)特异性结合LIF。在某些实施方案中,所述重组抗体以小于约100皮摩尔的解离常数(K_d)特异性结合LIF。在某些实施方案中,所述至少一个大鼠来源的CDR包含SEQ ID NO:1-3、9、10、15、16、21、22、25、26或29中任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述至少一个大鼠来源的CDR包含SEQ ID NO:1、9、15、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述至少一个人类来源的免疫球蛋白框架区包含SEQ ID NO:44-70中任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含SEQ ID NO:1所示的重链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:9所示的重链CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:15所示的重链CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含SEQ ID NO:21所示的轻链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:25所示的轻链CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:29所示的轻链CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含SEQ ID NO:1所示的重链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:9所示的重链CDR2氨基酸序列、SEQ ID NO:15所示的重链CDR3氨基酸序列、SEQ ID NO:21所示的轻链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:25所示的轻链CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:29所示的轻链CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR4氨基酸序列。在某些实施方案

中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体进一步包含药学上可接受的载体。在某些实施方案中,所述重组抗体被配制用于静脉内给药。在某些实施方案中,所述重组抗体被配制用于大脑内给药。在某些实施方案中,所述重组抗体用于治疗癌症。在某些实施方案中,所述癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。

[0012] 在另一方面,本文描述了一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,其包含具有与SEQ ID NO:71、72或74中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白重链序列;和具有与SEQ ID NO:75-78中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白轻链序列。在某些实施方案中,所述免疫球蛋白重链序列与SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同;并且所述免疫球蛋白轻链序列与SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同。

[0013] 在另一方面,本文描述了一种治疗患有癌症的受试者的方法,其包括向个体施用特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,其中所述特异性结合LIF的重组抗体包含至少一个大鼠来源的互补决定区(CDR)和至少一个人类来源的免疫球蛋白框架区(FR),其中所述至少一个大鼠来源的CDR与LIF特异性结合。在某些实施方案中,所述重组抗体与糖基化的LIF结合。在某些实施方案中,所述重组抗体包含衍生自人抗体框架区的至少一个框架区。在某些实施方案中,所述重组抗体是人源化的。在某些实施方案中,所述重组抗体是去免疫的。在某些实施方案中,所述重组抗体包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施方案中,所述重组抗体是Fab、F(ab)₂、单域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施方案中,所述重组抗体以小于约200皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。在某些实施方案中,所述重组抗体以小于约100皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。在某些实施方案中,至少一个大鼠来源的CDR包含SEQ ID NO:1-3、9、10、15、16、21、22、25、26或29中任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述至少一个大鼠来源的CDR包含SEQ ID NO:1、7、11、15、17和19中任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述至少一个大鼠来源的CDR包含SEQ ID NO:1、9、15、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述至少一个人类来源的免疫球蛋白框架区包含SEQ ID NO:44-70中

任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的重组抗体包含SEQ ID NO:1所示的重链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:9所示的重链CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:15所示的重链CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的重组抗体包含SEQ ID NO:21所示的轻链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:25所示的轻链CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:29所示的轻链CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的重组抗体包含SEQ ID NO:1所示的重链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:9所示的重链CDR2氨基酸序列、SEQ ID NO:15所示的重链CDR3氨基酸序列、SEQ ID NO:21所示的轻链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:25所示的轻链CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:29所示的轻链CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的重组抗体包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的重组抗体包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体静脉内施用。在某些实施方案中,所述重组抗体大脑内施用。在某些实施方案中,所述癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。

[0014] 在另一方面,本文描述了一种治疗患有癌症的受试者的方法,其包括向个体施用特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,其中所述特异性结合LIF的重组抗体包含具有与SEQ ID NO:71、72或74中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白重链序列;和具有与SEQ ID NO:75-78中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白轻链序列。在某些实施方案中,所述免疫球蛋白重链序列与SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同;并且所述免疫球蛋白轻链序列与SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同。

[0015] 在另一方面,本文描述了一种准备用于治疗患有癌症的受试者的癌症治疗方法,其包括混合药学上可接受的载体和特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,其中

所述特异性结合LIF的重组抗体包含至少一个大鼠来源的互补决定区(CDR)和至少一个人类来源的免疫球蛋白框架区(FR),其中所述至少一个大鼠来源的CDR与LIF特异性结合。在某些实施方案中,所述重组抗体与糖基化的LIF结合。在某些实施方案中,所述重组抗体包含衍生自人抗体框架区的至少一个框架区。在某些实施方案中,所述重组抗体是人源化的。在某些实施方案中,所述重组抗体是去免疫的。在某些实施方案中,所述重组抗体包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施方案中,所述重组抗体是Fab、F(ab)₂、单域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施方案中,所述重组抗体以小于约200皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。在某些实施方案中,所述重组抗体以小于约100皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。在某些实施方案中,所述至少一个大鼠来源的CDR包含SEQ ID NO:1-3、9、10、15、16、21、22、25、26或29中任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述至少一个大鼠来源的CDR包含SEQ ID NO:1、9、15、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述至少一个人类来源的免疫球蛋白框架区包含SEQ ID NO:44-70中任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的重组抗体包含SEQ ID NO:1所示的重链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:9所示的重链CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:15所示的重链CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的重组抗体包含SEQ ID NO:21所示的轻链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:25所示的轻链CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:29所示的轻链CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的重组抗体包含SEQ ID NO:1所示的重链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:9所示的重链CDR2氨基酸序列、SEQ ID NO:15所示的重链CDR3氨基酸序列、SEQ ID NO:21所示的轻链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:25所示的轻链CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:29所示的轻链CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的重组抗体包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述重组抗体包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的重组抗体包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的重链FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的轻链FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述药学上

可接受的载体适合于静脉内给药。在某些实施方案中，所述药学上可接受的载体适合于大脑内给药。在某些实施方案中，所述癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。

[0016] 在另一方面，本文描述了一种准备用于治疗患有癌症的受试者的癌症治疗方法，其包括混合药学上可接受的载体和特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体，其中所述特异性结合LIF的重组抗体包含具有与SEQ ID N0:71、72或74中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白重链序列；和具有与SEQ ID N0:75-78中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的氨基酸序列的免疫球蛋白轻链序列。在某些实施方案中，所述免疫球蛋白重链序列与SEQ ID N0:72所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同；并且所述免疫球蛋白轻链序列与SEQ ID N0:76所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同。

[0017] 在另一个方面，本文描述了一种结合LIF的重组抗体，其中所述抗体包含：SEQ ID N0:1所示的重链CDR1氨基酸序列、SEQ ID N0:9所示的重链CDR2氨基酸序列、SEQ ID N0:15所示的重链CDR3氨基酸序、与SEQ ID N0:45所示的氨基酸序列至少90%相同的重链FR1氨基酸序列、与SEQ ID N0:49所示的氨基酸序列至少90%相同的重链FR2氨基酸序列、与SEQ ID N0:50所示的氨基酸序列至少90%相同的重链FR3氨基酸序列、与SEQ ID N0:54所示的氨基酸序列至少90%相同的重链FR4氨基酸序列、SEQ ID N0:21所示的轻链CDR1氨基酸序列、SEQ ID N0:25所示的轻链CDR2氨基酸序列、SEQ ID N0:29所示的轻链CDR3氨基酸序列、与SEQ ID N0:57所示的氨基酸序列至少90%相同的轻链FR1氨基酸序列、与SEQ ID N0:61所示的氨基酸序列至少90%相同的轻链FR2氨基酸序列、与SEQ ID N0:65所示的氨基酸序列至少90%相同的轻链FR3氨基酸序列，以及与SEQ ID N0:68所示的氨基酸序列至少90%相同的轻链FR4氨基酸序列。

[0018] 在另一个方面，本文描述了一种特异性结合LIF的重组抗体，其中所述抗体包含：与SEQ ID N0:72所示的氨基酸至少90%、95%、97%、98%或99%相同的人源化重链可变区，以及与SEQ ID N0:76所示的氨基酸至少90%、95%、97%、98%或99%相同的人源化轻链可变区。在某些实施方案中，所述抗体用药学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂配制形成药物组合物。

[0019] 在另一个方面，本文描述了一种特异性结合LIF的重组抗体，其包含：a) 包含SEQ ID N0:1-7或33中任一个所示的氨基酸序列的重链CDR1；b) 包含SEQ ID N0:9-13或35中任一个所示的氨基酸序列的重链CDR2；和c) 包含SEQ ID N0:15-19或37中任一个所示的氨基酸序列的重链CDR3，其中所述重组抗体与LIF特异性结合。在某些实施方案中，所述抗体用药学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂配制形成药物组合物。

[0020] 在另一个方面，本文描述了一种特异性结合LIF的重组抗体，其包含：a) 包含SEQ ID N0:21-23或39中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(VL-CDR1)；b) 包含SEQ ID N0:25-27或41中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区2(VL-CDR2)；和c) 包含SEQ ID N0:29、30或43中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区3(VL-CDR3)，其中所述重组抗体与LIF特异性结合。在某些实施方案中，所述抗体用药学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂配制形成药物组合物。

[0021] 在另一个方面，本文描述了一种结合LIF的重组抗体，其中所述抗体包含：包含SEQ

ID NO:1所示的重链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:9所示的重链CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:15所示的重链CDR3氨基酸序列的重链可变域,以及包含SEQ ID NO:21所示的轻链CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:25所示的轻链CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:29所示的轻链CDR3氨基酸序列的轻链可变域。在某些实施方案中,所述抗体包含含有SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列的重链可变区。在某些实施方案中,所述抗体包含含有SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列的轻链可变区。在某些实施方案中,所述抗体包含含有SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列的重链可变区;和含有SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列的轻链可变区。在某些实施方案中,所述抗体用药物学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂配制形成药物组合物。

[0022] 在另一个方面,本文描述了一种特异性结合LIF的重组抗体,其包含:a) 包含与SEQ ID NO:91-94中任一个所示的氨基酸序列至少90%、95%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列的轻链;和b) 包含与SEQ ID NO:87-90中任一个所示的氨基酸序列至少90%、95%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列的重链,其中所述重组抗体与LIF特异性结合。在某些实施方案中,所述轻链具有SEQ ID NO:91-94中任一个所示的氨基酸序列;并且所述重链具有SEQ ID NO:87-90中任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述轻链具有SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列;并且所述重链具有SEQ ID NO:88所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体用药物学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂配制形成药物组合物。

[0023] 在另一个方面,本文描述了一种结合LIF的重组抗体,其中所述抗体包含:具有与SEQ ID NO:1至少90%相同的氨基酸序列的重链CDR1,具有与SEQ ID NO:9至少90%相同的氨基酸序列的重链CDR2,具有与SEQ ID NO:15至少90%相同的氨基酸序列的重链CDR3,具有与SEQ ID NO:21至少90%相同的氨基酸序列的轻链CDR1,具有与SEQ ID NO:25至少90%相同的氨基酸序列的轻链CDR2,以及具有与SEQ ID NO:29至少90%相同的氨基酸序列的轻链CDR3。在某些实施方案中,所述抗体用药物学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂配制形成药物组合物。

[0024] 在另一个方面,本文提供了一种结合LIF的重组抗体,其中所述抗体包含:具有与SEQ ID NO:1相比含有不超过3、2或1个氨基酸置换、缺失或插入的氨基酸序列的重链CDR1,具有与SEQ ID NO:9相比含有不超过3、2或1个氨基酸置换、缺失或插入的氨基酸序列的重链CDR2,具有与SEQ ID NO:15相比含有不超过3、2或1个氨基酸置换、缺失或插入的氨基酸序列的重链CDR3,具有与SEQ ID NO:21相比含有不超过3、2或1个氨基酸置换、缺失或插入的氨基酸序列的轻链CDR1,具有与SEQ ID NO:25相比含有不超过3、2或1个氨基酸置换、缺失或插入的氨基酸序列的轻链CDR2,以及具有与SEQ ID NO:29相比含有不超过3、2或1个氨基酸置换、缺失或插入的氨基酸序列的轻链CDR3。在某些实施方案中,所述抗体用药物学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂配制形成药物组合物。

[0025] 在另一个方面,本文描述了一种重组抗体,其结合LIF并与如下定义的抗体竞争:具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列的重链CDR1,具有SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的重链CDR2,具有SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的重链CDR3,具有SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列的轻链CDR1,具有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的轻链CDR2,以及具有SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的轻链CDR3。在某些实施方案中,所述抗体是人源化的。在某些实施方案中,所述抗体用药物学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂配制形成药物组合物。

[0026] 在另一个方面,本文描述了一种分离的单克隆抗体,其中,当与人LIF结合时,所述

单克隆抗体与至少一个以下残基结合:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与A13结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与I14结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与R15结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与H16结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与P17结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与C18结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与H19结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与N20结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与Q25结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与Q29结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与Q32结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与D120结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与R123结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与S127结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与N128结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与L130结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与C131结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与C134结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与S135结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体至少与H138结合。在某些实施方案中,所述单克隆抗体与人LIF的两个不同的 α 螺旋结合,其中所述两个不同的 α 螺旋被多个氨基酸隔开。在某些实施方案中,所述单克隆抗体阻断人LIF与人gp130的结合。在某些实施方案中,所述抗体阻断人LIF在细胞培养模型中的生物活性。在某些实施方案中,所述生物活性是LIF诱导的STAT3磷酸化。在某些实施方案中,所述抗体是嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。在某些实施方案中,药物组合物包含所述分离的单克隆抗体和药学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂。在某些实施方案中,所述药物组合物被配制用于静脉内注射。在某些实施方案中,所述分离的单克隆抗体或药物组合物用于治疗癌症的方法中。在某些实施方案中,本文描述了一种治疗被诊断为或被怀疑患有癌症的个体的方法,其包括向该个体施用所述单克隆抗体或药物组合物。

[0027] 在另一个方面,本文描述了一种分离的单克隆抗体,其中,当与人LIF结合时,所述单克隆抗体与至少一个以下残基结合:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中,所述单克隆抗体与至少两个以下残基结合:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中,所述单克隆抗体与至少五个以下残基结合:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中,所述单克隆抗体与至少10个以下残基结合:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中,所述单克隆抗体与所有以下残基结合:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中,所述单克隆抗体与人LIF的两个不同的 α 螺旋结合,其中所述两个不同的 α 螺旋被多个氨基酸隔开。在某些实施方案中,所述单克隆抗体阻断人LIF与人gp130的结合。在某些实施方案中,所述抗体阻断人LIF在细胞培养模型中的生物活性。在某些实施方案中,所述生物活性是LIF诱导的STAT3磷酸化。在某些实施方案中,所述抗体是嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。在某些实施方案中,药物组合物包含所述分离的单克隆抗体和药学

上可接受的稀释剂、载体或赋形剂。在某些实施方案中，所述药物组合物被配制用于静脉内注射。在某些实施方案中，所述分离的单克隆抗体或药物组合物用于治疗癌症的方法中。在某些实施方案中，本文描述了一种治疗被诊断为或被怀疑患有癌症的个体的方法，其包括向该个体施用所述单克隆抗体或药物组合物。

[0028] 在另一个方面，本文描述了一种分离的单克隆抗体，其中所述VH-CDR1包含与SEQ ID NO:1所示序列(GFTFSHAWMH)有0、1、2、3或4个氨基酸残基不同的氨基酸序列，其中所述VH-CDR2包含与SEQ ID NO:9所示序列(QIKAKSDDYATYYAESVKG)有0、1、2、3或4个氨基酸残基不同的氨基酸序列，其中所述VH-CDR3包含与SEQ ID NO:15所示序列(TCWEWDLDF)有0、1、2、3或4个氨基酸残基不同的氨基酸序列，其中所述VL-CDR1包含与SEQ ID NO:21所示序列(RSSQSLLSDGHTYLN)有0、1、2、3或4个氨基酸残基不同的氨基酸序列，其中所述VL-CDR2包含与SEQ ID NO:25所示序列(SVSNLES)有0、1、2、3或4个氨基酸残基不同的氨基酸序列，其中所述VL-CDR3包含与SEQ ID NO:29所示序列(MQATHAPPYT)有0、1、2、3或4个氨基酸残基不同的氨基酸序列，并且其中所述单克隆抗体与至少一个以下残基结合：SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中，所述单克隆抗体与至少两个以下残基结合：SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中，所述单克隆抗体与至少五个以下残基结合：SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中，所述单克隆抗体与至少10个以下残基结合：SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中，所述单克隆抗体与所有以下残基结合：SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中，所述单克隆抗体与人LIF的两个不同的 α 螺旋结合，其中所述两个不同的 α 螺旋被多个氨基酸隔开。在某些实施方案中，所述单克隆抗体阻断人LIF与人gp130的结合。在某些实施方案中，所述抗体阻断人LIF在细胞培养模型中的生物活性。在某些实施方案中，所述生物活性是LIF诱导的STAT3磷酸化。在某些实施方案中，所述抗体是嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。在某些实施方案中，药物组合物包含所述分离的单克隆抗体和药学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂。在某些实施方案中，所述药物组合物被配制用于静脉内注射。在某些实施方案中，所述分离的单克隆抗体或药物组合物用于治疗癌症的方法中。在某些实施方案中，本文描述了一种治疗被诊断为或被怀疑患有癌症的个体的方法，其包括向该个体施用所述单克隆抗体或药物组合物。

[0029] 在另一个方面，本文描述了一种分离的单克隆抗体，其中所述VH-CDR1包含与SEQ ID NO:1所示序列(GFTFSHAWMH)有0、1、2、3或4个氨基酸残基不同的氨基酸序列，其中所述VH-CDR2包含与SEQ ID NO:9所示序列(QIKAKSDDYATYYAESVKG)有0、1、2、3或4个氨基酸残基不同的氨基酸序列，其中所述VH-CDR3包含与SEQ ID NO:95所示序列(TSWEWDLDF)有0、1、2、3或4个氨基酸残基不同的氨基酸序列，其中所述VL-CDR1包含与SEQ ID NO:21所示序列(RSSQSLLSDGHTYLN)有0、1、2、3或4个氨基酸残基不同的氨基酸序列，其中所述VL-CDR2包含与SEQ ID NO:25所示序列(SVSNLES)有0、1、2、3或4个氨基酸残基不同的氨基酸序列，其中所述VL-CDR3包含与SEQ ID NO:29所示序列(MQATHAPPYT)有0、1、2、3或4个氨基酸残基不

同的氨基酸序列，并且其中所述单克隆抗体与至少一个以下残基结合：SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中，所述单克隆抗体与至少两个以下残基结合：SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中，所述单克隆抗体与至少五个以下残基结合：SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中，所述单克隆抗体与10个以下残基结合：SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中，所述单克隆抗体与所有以下残基结合：SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中，所述单克隆抗体与人LIF的两个不同的 α 螺旋结合，其中所述两个不同的 α 螺旋被多个氨基酸隔开。在某些实施方案中，所述单克隆抗体阻断人LIF与人gp130的结合。在某些实施方案中，所述抗体阻断人LIF在细胞培养模型中的生物活性。在某些实施方案中，所述生物活性是LIF诱导的STAT3磷酸化。在某些实施方案中，所述抗体是嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。在某些实施方案中，药物组合物包含所述分离的单克隆抗体和药学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂。在某些实施方案中，所述药物组合物被配制用于静脉内注射。在某些实施方案中，所述药物组合物被配制用于大脑内注射。在某些实施方案中，所述分离的单克隆抗体或药物组合物用于治疗癌症的方法中。在某些实施方案中，本文描述了一种治疗被诊断为或被怀疑患有癌症的个体的方法，其包括向该个体施用所述单克隆抗体或药物组合物。

[0030] 在某个方面，本文描述了一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体，其包含：包含SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列的重链互补决定区1(VH-CDR1)；包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的重链互补决定区2(VH-CDR2)；包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的重链互补决定区3(VH-CDR3)；包含SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(VL-CDR1)；和包含SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的轻链互补决定区2(VL-CDR2)；和包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的轻链互补决定区3(VL-CDR3)。

[0031] 在某个方面，本文描述了一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体，其包含：包含SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列的重链互补决定区1(VH-CDR1)；包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的重链互补决定区2(VH-CDR2)；包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的重链互补决定区3(VH-CDR3)；包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(VL-CDR1)；和包含SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的轻链互补决定区2(VL-CDR2)；和包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的轻链互补决定区3(VL-CDR3)。

[0032] 在某个方面，本文描述了一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体，其包含：包含SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列的重链互补决定区1(VH-CDR1)；包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的重链互补决定区2(VH-CDR2)；包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的重链互补决定区3(VH-CDR3)；包含SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(VL-CDR1)；和包含SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的轻链互补决定区2(VL-CDR2)；和包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的轻链互补决定区3(VL-CDR3)。

[0033] 在某个方面，本文描述了一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体，其包

含:a) 包含SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列的重链互补决定区1(VH-CDR1); b) 包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的重链互补决定区2(VH-CDR2); c) 包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的重链互补决定区3(VH-CDR3); d) 包含SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(VL-CDR1); e) 包含SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的轻链互补决定区2(VL-CDR2); 和f) 包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的轻链互补决定区3(VL-CDR3), 其中所述重组抗体与LIF特异性结合。在某些实施方案中, 所述重组抗体与糖基化的LIF结合。在某些实施方案中, 所述重组抗体是人源化的。在某些实施方案中, 所述重组抗体是去免疫的。在某些实施方案中, 所述重组抗体包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施方案中, 所述重组抗体包括Fab、F(ab)₂、单域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施方案中, 所述重组抗体以小于约200皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。在某些实施方案中, 所述重组抗体以小于约100皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。在某些实施方案中, 所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列(GFTFSHAWMH), 其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列(QIKAKSDDYATYYAESVKG), 其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列(TCWEWDLDF), 其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列(RSSQSLLSDGHTYLN), 其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列(SVSNLES), 并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列(MQATHAPPYT)。在某些实施方案中, 所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列(GFTFSHAWMH), 其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列(QIKAKSDDYATYYAESVKG), 其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:95所示的氨基酸序列(TSWEWDLDF), 其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列(RSSQSLLSDGHTYLN), 其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列(SVSNLES), 并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列(MQATHAPPYT)。在某些实施方案中, 所述重组抗体包含与SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列至少约80%相同的VH序列; 以及与SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列至少约80%相同的VL序列。在某些实施方案中, 所述重组抗体包含与SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列至少约90%相同的VH序列; 以及与SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列至少约90%相同的VL序列。在某些实施方案中, 所述重组抗体阻断人LIF与人gp130的结合。在某些实施方案中, 所述重组抗体当与LIF结合时, 与至少一个以下残基结合: SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中, 所述重组抗体当与LIF结合时, 与所有以下残基结合: SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135、H138。在某些实施方案中, 所述重组抗体包含在药物组合物中, 该药物组合物包含该重组抗体和药学上可接受的载体。在某些实施方案中, 所述重组抗体或药物组合物用于治疗癌症的方法中。在某些实施方案中, 治疗个体的癌症的方法包括向该个体施用所述重组抗体或药物组合物。在某些实施方案中, 所述癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。在某些实施方案中, 所述癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。在某些实施方案中, 准备用于治疗患有癌症的受试者的癌症治疗的方法包括混合药学上可接受的载体和所述重组抗体。

[0034] 在某个方面, 本文描述了一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体, 其包含:a) 包含SEQ ID NO:4-7或33中任一个所示的氨基酸序列的重链互补决定区1(VH-CDR1);

b) 包含SEQ ID NO:11-13或35中任一个所示的氨基酸序列的重链互补决定区2(VH-CDR2)；
c) 包含SEQ ID NO:17-19或37中任一个所示的氨基酸序列的重链互补决定区3(VH-CDR3)；
d) 包含SEQ ID NO:21-23或39中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(VL-CDR1)；
e) 包含SEQ ID NO:25-27或41中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区2(VL-CDR2)；
和f) 包含SEQ ID NO:29、30或43中任一个所示的氨基酸序列的轻链互补决定区3(VL-CDR3)；其中所述重组抗体与LIF特异性结合。在某些实施方案中，所述重组抗体与糖基化的LIF结合。在某些实施方案中，所述重组抗体是人源化的。在某些实施方案中，所述重组抗体是去免疫的。在某些实施方案中，所述重组抗体包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施方案中，所述重组抗体是Fab、F(ab)₂、单域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施方案中，所述重组抗体以小于约200皮摩尔的解离常数(K_d)特异性结合LIF。在某些实施方案中，所述-CDR1包含SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列(NAWMH)，其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列(IKDKSDNYAT)，其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列(WEWYLDLDF)，其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列(QSLLDSDGHTY)，其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列(SVS)，并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列(MQATHAPPYT)。在某些实施方案中，所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列(SKFMY)，其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列(WIYPGDGDTEYNQKFSE)，其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:19所示的氨基酸序列(RDYHSSHFAFAY)，其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:23所示的氨基酸序列(RSSQSLLHNNGNTYLS)，其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列(QVSNRFS)，并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列(GQGTQYPYT)。在某些实施方案中，所述VH-CDR1包含SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列(TAGMQ)，其中所述VH-CDR2包含SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列(WINTQSGEPQYVDDFRG)，其中所述VH-CDR3包含SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列(WALYSEYDVMDY)，其中所述VL-CDR1包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列(KASENVDSYVS)，其中所述VL-CDR2包含SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列(GASNRYT)，并且其中所述VL-CDR3包含SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列(GQSYRYPPT)。在某些实施方案中，所述单克隆抗体阻断人LIF与人gp130的结合。在某些实施方案中，所述重组抗体包含在药物组合物中，该药物组合物包含该重组抗体和药学上可接受的载体。在某些实施方案中，所述重组抗体或药物组合物用于治疗癌症的方法中。在某些实施方案中，治疗个体的癌症的方法包括向该个体施用所述重组抗体或药物组合物。在某些实施方案中，所述癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。在某些实施方案中，所述癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。在某些实施方案中，准备用于治疗患有癌症的受试者的癌症治疗的方法包括混合药学上可接受的载体和所述重组抗体。

[0035] 在某个方面，本文描述了一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体，其包含：a) 包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列(GFTFSHAWMH)的VH-CDR1；b) 包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列(QIKAKSDDYATYYAESVKG)的VH-CDR2；c) 包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列(TCWEWDLDF)的VH-CDR3，d) 包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列(RSSQSLLDSDGHTYLN)的VL-CDR1，e) 包含SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列(SVSNLES)的VL-CDR2；和f) 包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列(MQATHAPPYT)的VL-CDR3；其中SEQ ID NO:15的半胱氨酸残基是除酪氨酸、色氨酸、组氨酸、赖氨酸或精氨酸外的任意氨基酸。在某些实施方案中，所述重组抗

体与糖基化的LIF结合。在某些实施方案中，所述重组抗体是人源化的。在某些实施方案中，所述重组抗体是去免疫的。在某些实施方案中，所述重组抗体包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链。在某些实施方案中，所述重组抗体是Fab、F(ab)₂、单域抗体、单链可变片段(scFv)或纳米抗体。在某些实施方案中，所述重组抗体以小于约200皮摩尔的解离常数(K_D)特异性结合LIF。在某些实施方案中，所述重组抗体阻断人LIF与人gp130的结合。在某些实施方案中，所述重组抗体包含在药物组合物中，该药物组合物包含该重组抗体和药学上可接受的载体。在某些实施方案中，所述重组抗体或药物组合物用于治疗癌症的方法中。在某些实施方案中，治疗个体的癌症的方法包括向该个体施用所述重组抗体或药物组合物。在某些实施方案中，所述癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。在某些实施方案中，所述癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。在某些实施方案中，准备用于治疗患有癌症的受试者的癌症治疗的方法包括混合药学上可接受的载体和所述重组抗体。

附图说明

- [0036] 图1描绘了显示不同抗LIF人源化抗体对LIF诱导的STAT3磷酸化的抑制的Western印迹。
- [0037] 图2A和2B描绘了显示人源化和亲本5D8抗体对LIF诱导的STAT3磷酸化的抑制的Western印迹。
- [0038] 图3A显示了使用h5D8抗体在U-251细胞中抑制LIF的 IC_{50} 。
- [0039] 图3B显示了在内源性LIF刺激条件下，r5D8和h5D8-1抑制pSTAT3的代表性IC50剂量响应曲线。显示了代表性曲线($n=1$ h5D8, $n=2$ r5D8)。
- [0040] 图4描绘了显示本公开内容中描述的不同单克隆抗体对LIF诱导的STAT3磷酸化的抑制的Western印迹。
- [0041] 图5描绘了来自人类患者的多形性胶质母细胞瘤(GBM)、NSCLC(非小细胞肺癌)、卵巢癌和结直肠癌肿瘤中LIF表达的免疫组织化学染色和定量。线条表示平均值+/-SEM。
- [0042] 图6是显示使用人源化5D8抗体在非小细胞肺癌小鼠模型中进行的实验的图。
- [0043] 图7A显示了在GBM的原位小鼠模型中，r5D8对U251细胞的抑制的影响，在第26天显示定量。
- [0044] 图7B显示了来自小鼠的数据，所述小鼠接种表达萤光素酶的人U251GBM细胞，然后每周两次用100、200或300 μ g的h5D8或媒介物处理。在第7天通过生物发光(Xenogen IVIS Spectrum)确定肿瘤大小。该图显示了各个肿瘤测量值，水平线条表示平均值±SEM。使用非配对非参数Mann-Whitney U-检验计算统计学显著性。
- [0045] 图8A显示了在同系小鼠模型中，r5D8对卵巢癌细胞生长的抑制的影响。
- [0046] 图8B显示了肿瘤在第25天的各个测量值。
- [0047] 图8C表明，当每周两次以200 μ g/小鼠施用时，h5D8显示出肿瘤生长的显著降低($p < 0.05$)。符号是平均值±SEM，与媒介物相比的统计学显著性(采用非配对非参数Mann-Whitney U-检验)。
- [0048] 图9A显示了在同系小鼠模型中，r5D8对结直肠癌细胞生长的抑制的影响。
- [0049] 图9B显示了肿瘤在第17天的各个测量值。

- [0050] 图10A通过CCL22+细胞的代表性图像和定量,显示了在GBM的原位小鼠模型中,巨噬细胞向肿瘤部位的浸润减少。
- [0051] 图10B显示了在人类器官型组织切片培养模型中,巨噬细胞浸润减少。
- [0052] 图10C通过CCL22+细胞的代表性图像和定量,显示了在卵巢癌的同系小鼠模型中,巨噬细胞向肿瘤位点的浸润减少。
- [0053] 图10D通过CCL22+细胞的代表性图像和定量,显示了在结直肠癌的同系小鼠模型中,巨噬细胞向肿瘤部位的浸润减少。
- [0054] 图11A显示了用r5D8处理后,卵巢癌的同系小鼠模型中非髓样效应细胞增加。
- [0055] 图11B显示了用r5D8处理后,结直肠癌的同系小鼠模型中非髓样效应细胞增加。
- [0056] 图11C显示了用r5D8处理后,NSCLC癌的小鼠模型中CD4+T_{REG}细胞百分比降低。
- [0057] 图12显示了来自携带CT26肿瘤的小鼠的数据,所述小鼠每周两次在存在或不存在抗CD4和抗CD8消耗性抗体的情况下通过腹膜内施用PBS(对照)或r5D8进行处理。该图显示在d13的各个肿瘤测量值,表示为平均肿瘤体积+SEM。组间的统计学差异通过非配对非参数Mann-Whitney U-检验来确定。R5D8抑制CT26肿瘤的生长(*p<0.05)。在抗CD4和抗CD8消耗性抗体的存在下,r5D8对肿瘤生长的抑制显著降低(****p<0.0001)。
- [0058] 图13A示出了与LIF复合的h5D8Fab的共晶结构的概览。gp130相互作用位点被定位在LIF的表面上(深色阴影)
- [0059] 图13B示出了LIF与h5D8之间的详细相互作用,显示了形成盐桥的残基和具有大于100 Å²的隐藏表面积的h5D8残基。
- [0060] 图14A示出了五种h5D8Fab晶体结构的叠加,并表明尽管在不同的化学条件下结晶,但仍具有高度的相似性。
- [0061] 图14B示出了由未配对的Cys100介导的范德华相互作用的广泛网络。该残基是良好有序的,参与HCDR1和HCDR3的构象成形,并且不参与不希望的二硫键加扰。残基之间的距离以虚线显示并标记。
- [0062] 图15A示出了通过ELISA测得的h5D8C100突变体与人LIF的结合。
- [0063] 图15B示出了通过ELISA测得的h5D8C100突变体与小鼠LIF的结合。
- [0064] 图16A表明,如Octet所示,h5D8不会阻断对LIF与LIFR之间的结合。h5D8顺序地结合LIF,然后是LIFR。
- [0065] 图16B和16C示出了LIF/mAb复合物与固定的LIFR或gp130结合的ELISA分析。物种特异性过氧化物酶缀合的抗IgG抗体(对于(-)和h5D8为抗人,对于r5d8和B09为抗大鼠)的信号检测mAb/LIF复合物的抗体部分与固定的LIFR(图16B)或gp130(图16C)包被的板的结合。
- [0066] 图17A和17B示出了LIF(图17A)或LIFR(图17B)在72种不同人体组织中的mRNA表达。

具体实施方式

- [0067] 某些定义
- [0068] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。如在本说明书和所附权利要求书中所用的,单数形式“一

种”、“一个”和“该”包括复数指代物，除非上下文另有明确说明。除非另有说明，否则本文对“或”的任何提及均旨在涵盖“和/或”。

[0069] 如本文所用的，除非另有说明，否则术语“约”是指接近所述量的量，例如相差10%、5%或1%。

[0070] 如本文所用的，术语“个体”、“受试者”和“患者”可互换使用，并且包括被诊断为或被怀疑患有肿瘤、癌症或其它赘生物的人。

[0071] 如本文所用的，除非另有说明，否则术语“抗体”包括抗体的抗原结合片段，即保留特异性结合被全长抗体所结合的抗原的能力的抗体片段，例如，保留一个或多个CDR区的片段。抗体片段的实例包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')2和Fv片段；双抗体；线性抗体；重链抗体，单链抗体分子，例如单链可变区片段(scFv)，纳米抗体，和由具有不同特异性的抗体片段形成的多特异性抗体，如双特异性抗体。在某些实施方案中，抗体以降低个体对该抗体的免疫应答的方式被人源化。例如，抗体可以是嵌合的，例如非人可变区与人恒定区，或是CDR移植的，例如非人CDR区与人恒定区和可变区框架序列。在某些实施方案中，抗体在人源化后去免疫。去免疫包括去除或突变抗体恒定区中的一个或多个T细胞表位。在某些实施方案中，本文所述的抗体是单克隆的。如本文所用的，“重组抗体”是包含来源于两个不同物种或两个不同来源的氨基酸序列的抗体，并且包括合成分子，例如，包含非人CDR和人框架或恒定区的抗体。在某些实施方案中，本发明的重组抗体由重组DNA分子产生或合成获得。

[0072] 术语“癌症”和“肿瘤”涉及以细胞生长失调为特征的哺乳动物的生理学状况。癌症是一类疾病，其中一组细胞显示出不受控制的生长或不希望的生长。癌细胞也可以扩散到其它位置，这可导致转移的形成。癌细胞在体内的扩散可以例如通过淋巴或血液发生。不受控制的生长、侵入和转移形成也被称为癌症的恶性特征。这些恶性特征将癌症与良性肿瘤区分开来，良性肿瘤通常不侵入或转移。

[0073] 相对于参考多肽或抗体序列的百分比(%)序列同一性是在比对序列并在必要时引入缺口以实现最大百分比序列同一性后，不考虑任何保守置换作为序列同一性的一部分，候选序列中与参考多肽或抗体序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比的比对可以以已知的各种方式实现，例如，使用可公开获得的计算机软件，如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。能够确定用于比对序列的适当参数，包括在所比较的序列的全长上实现最大比对所需的算法。然而，对于本文来说，使用序列比较计算机程序ALIGN-2生成%氨基酸序列同一性值。ALIGN-2序列比较计算机程序由Genentech, Inc.开发，并且其源代码已经以用户文档提交于美国版权局，Washington D.C., 20559，以美国版权登记号TXU510087登记。ALIGN-2程序可从Genentech, Inc., South San Francisco, Calif.公开获得，或者可以从源代码编译。应编译ALIGN-2程序以供在包括数字UNIX V4.0D在内的UNIX操作系统上使用。所有序列比较参数均由ALIGN-2程序设置，而不改变。

[0074] 在使用ALIGN-2进行氨基酸序列比较的情况下，给定氨基酸序列A与或相对于给定氨基酸序列B的%氨基酸序列同一性(或者也可以表述为与或相对于给定氨基酸序列B具有或包含一定%氨基酸序列同一性的给定氨基酸序列A)如下计算：X/Y分数乘以100，其中X是被序列比对程序ALIGN-2在该程序的A和B比对中评分为相同匹配的氨基酸残基数，并且其中Y是B中氨基酸残基的总数。可以理解，在氨基酸序列A的长度不等于氨基酸序列B的长度

时,A与B的%氨基酸序列同一性不等于B与A的%氨基酸序列同一性。除非另有特别说明,否则本文所用的所有%氨基酸序列同一性值均如在使用ALIGN-2计算机程序的上一段中所描述的那样获得。

[0075] 术语“表位”包括能够被抗原结合蛋白质如抗体结合的任何决定簇。表位是抗原的区域,其被针对该抗原的抗原结合蛋白质结合,并且当抗原是蛋白质时,包括直接接触该抗原结合蛋白质的特定氨基酸。大多数情况下,表位存在于蛋白质上,但在某些情况下可以存在于其它种类的分子如糖类或脂类上。表位决定簇可以包括分子的化学活性表面基团,如氨基酸、糖侧链、磷酰基或磺酰基,并且可以具有特定的三维结构特征和/或特定的电荷特征。通常,对特定靶抗原具有特异性的抗体将优先识别蛋白质和/或大分子的复杂混合物中靶抗原上的表位。

[0076] 本文所述的抗体的结构属性

[0077] 互补决定区(“CDR”)是免疫球蛋白(抗体)可变区的一部分,其主要负责抗体的抗原结合特异性。甚至在抗体特异性结合相同的靶标或表位时,CDR区也在抗体之间是高度可变的。重链可变区包含三个CDR区,缩写为VH-CDR1、VH-CDR2和VH-CDR3;轻链可变区包含三个CDR区,缩写为VL-CDR1、VL-CDR2和VL-CDR3。这些CDR区在可变区中连续排序,其中CDR1处于最N末端而CDR3处于最C末端。在CDR之间散布有框架区,框架区有助于结构并且显示出比CDR区低得多的可变性。重链可变区包含四个框架区,缩写为VH-FR1、VH-FR2、VH-FR3和VH-FR4;轻链可变区包含四个框架区,缩写为VL-FR1、VL-FR2、VL-FR3和VL-FR4。包含两条重链和轻链的完整全尺寸二价抗体将包含:12个CDR,具有三个独特的重链CDR和三个独特的轻链CDR;16个FR区,具有四个独特的重链FR区和四个独特的轻链FR区。在某些实施方案中,本文所述的抗体最低限度包含三个重链CDR。在某些实施方案中,本文所述的抗体最低限度包含三个轻链CDR。在某些实施方案中,本文所述的抗体最低限度包含三个重链CDR和三个轻链CDR。给定CDR或FR的精确氨基酸序列边界可以使用许多公知方案中的任何方案容易地确定,包括以下文献中描述的方案:Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”第5版. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (“Kabat” 编号方案); Al-Lazikani等人(1997) JMB273, 927-948 (“Chothia” 编号方案); MacCallum等人, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), “Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography,” (“Contact” 编号方案); Lefranc MP等人, “IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains,” Dev Comp Immunol, 2003年1月; 27 (1):55-77 (“IMGT” 编号方案); 以及 Honegger A 和 Plückthun A, “Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool,” J Mol Biol, 2001 Jun 8; 309 (3):657-70 (“Aho” 编号方案)。CDR在本文中从使用不同编号体系提供的可变序列鉴定,在此使用Kabat、IMGT、Chothia编号体系或三者的任何组合。给定CDR或FR的边界可以根据鉴定所用的方案而不同。例如,Kabat方案基于结构比对,而Chothia方案基于结构信息。Kabat和Chothia方案的编号均基于最常见的抗体区序列长度,通过插入字母来适应插入,例如“30a”,并且在一些抗体中出现缺失。这两种方案在不同位置放置特定的插入和缺失(“插入缺失”),导致差异编号。Contact方案基于对复杂晶体结构的分析,并且在许多方面类似于Chothia编号方案。

[0078] 术语“可变区”或“可变域”是指抗体重链或轻链中参与抗体与抗原的结合的结构域。天然抗体的重链和轻链可变域(分别为VH和VL)通常具有相似的结构,每个结构域包含四个保守的框架区(FR)和三个CDR(参见例如Kindt等人.Kuby Immunology,第6版,W.H.Freeman and Co.,第91页(2007))。单个VH或VL域可以赋予抗原结合特异性。此外,可以使用来自结合抗原的抗体的VH或VL域来分离结合特定抗原的抗体,以分别筛查互补VL或VH域的文库(参见例如,Portolano等人,J. Immunol. 150:880-887 (1993);Clarkson等人Nature 352:624-628 (1991))。在某些实施方案中,本文所述的抗体包含大鼠来源的可变区。在某些实施方案中,本文所述的抗体包含大鼠来源的CDR。在某些实施方案中,本文所述的抗体包含小鼠来源的可变区。在某些实施方案中,本文所述的抗体包含小鼠来源的CDR。

[0079] 可以在CDR中进行改变(例如,置换),例如以改善抗体亲和力。这样的改变可以在体细胞成熟过程中在具有高突变率的CDR编码密码子中进行(参见例如Chowdhury,Methods Mol.Biol. 207:179-196 (2008)),并且可以针对结合亲和力测试所得到的变体。亲和力成熟(例如,使用易错PCR、链改组、CDR随机化或寡核苷酸定向诱变)可用来改善抗体亲和力(参见例如Hoogenboom等人.Methods in Molecular Biology 178:1-37 (2001))。参与抗原结合的CDR残基可以具体地鉴定出来,例如,使用丙氨酸扫描诱变或建模(参见例如Cunningham和Wells Science,244:1081-1085 (1989))。特别是,通常针对CDR-H3和CDR-L3。备选地,或者另外,分析抗原-抗体复合物的晶体结构以鉴定抗体与抗原之间的接触点。可以靶向或消除这类接触残基和邻近残基作为置换候选。可以筛选变体以确定它们是否含有所需的性质。

[0080] 在某些实施方案中,除可变区外,本文所述的抗体还包含恒定区。重链恒定区(C_H)包含缩写为 C_H1 、 C_H2 、 C_H3 和 C_H4 的四个结构域,位于完整重链多肽的C末端,可变区的C末端侧。轻链恒定区(C_L)远小于 C_H 且位于完整轻链多肽的C末端,可变区的C末端侧。恒定区是高度保守的,并且包含与略微不同的功能和性质相关的不同同种型。在某些实施方案中,恒定区对于抗体与靶抗原的结合是不必要的。在某些实施方案中,抗体重链和轻链的恒定区对于抗体结合都是不必要的。在某些实施方案中,本文所述的抗体缺少轻链恒定区、重链恒定区或两者中的一个或多个。大多数单克隆抗体属于IgG同种型;其进一步分为IgG₁、IgG₂、IgG₃和IgG₄四个亚类。在某些实施方案中,本文所述的抗体包含任何IgG亚类。在某些实施方案中,IgG亚类包含IgG₁。在某些实施方案中,IgG亚类包含IgG₂。在某些实施方案中,IgG亚类包含IgG₃。在某些实施方案中,IgG亚类包含IgG₄。

[0081] 抗体包含片段可结晶区(Fc区),该区负责与补体和Fc受体的结合。Fc区包含抗体分子的 C_H2 、 C_H3 和 C_H4 区。抗体的Fc区负责激活补体和抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。Fc区也有助于抗体的血清半衰期。在某些实施方案中,本文所述抗体的Fc区包含一个或多个促进补体介导的细胞裂解的氨基酸置换。在某些实施方案中,本文所述抗体的Fc区包含一个或多个促进ADCC的氨基酸置换。在某些实施方案中,本文所述抗体的Fc区包含一个或多个减少补体介导的细胞裂解的氨基酸置换。在某些实施方案中,本文所述抗体的Fc区包含一个或多个增加抗体与Fc受体的结合的氨基酸置换。在某些实施方案中,Fc受体包含Fc γ RI (CD64)、Fc γ RIIA (CD32)、Fc γ RIIIA (CD16a)、Fc γ RIIIB (CD16b) 或其任何组合。在某些实施方案中,本文所述抗体的Fc区包含一个或多个延长抗体的血清半衰期的氨基酸置换。在某些实施方案中,所述一个或多个延长抗体的血清半衰期的氨基酸置换增加抗体对新生Fc

受体(FcRn)的亲和力。

[0082] 在一些实施方案中,本公开内容的抗体是具有一些但不是所有效应子功能的变体,这些功能使其成为抗体的体内半衰期重要但某些效应子功能(如补体和ADCC)不必要或有害的应用的理想候选物。可以进行体外和/或体内细胞毒性试验以确认CDC和/或ADCC活性的减少/消耗。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合试验,以确保抗体缺乏Fc γ R结合(因此可能缺乏ADCC活性),但保留FcRn结合能力。用来评估目标分子的ADCC活性的体外试验的非限制性实例描述于美国专利5,500,362和5,821,337中。或者,可以使用非放射性测定方法(例如,ACTITM和CytoTox96®非放射性细胞毒性试验)。用于此类试验的有用的效果细胞包括外周血单个核细胞(PBMC)、单核细胞、巨噬细胞和自然杀伤(NK)细胞。

[0083] 抗体可具有延长的半衰期和改善的与新生Fc受体(FcRn)的结合(参见例如US 2005/0014934)。此类抗体可包含在其中具有一个或多个改善Fc区与FcRn结合的置换的Fc区,并包括在一个或多个以下Fc区残基处具有置换的Fc区:根据EU编号体系,238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434(参见例如美国专利7,371,826)。还考虑了Fc区变体的其它实例(参见例如,Duncan & Winter,Nature 322:738-40(1988);美国专利5,648,260和5,624,821;以及W094/29351)。

[0084] 在临上有用的抗体通常是“人源化的”,以降低在人类个体中的免疫原性。人源化抗体改善了单克隆抗体疗法的安全性和功效。一种常用的人源化方法是在任何合适的动物(例如小鼠、大鼠、仓鼠)中产生单克隆抗体,并将恒定区替换为人恒定区,以这种方式工程化的抗体被称为“嵌合的”。另一种常用方法是“CDR移植”,其用人V-FR替换非人V-FR。在CDR移植方法中,除CDR区之外的所有残基都是人源的。在某些实施方案中,本文所述的抗体是人源化的。在某些实施方案中,本文所述的抗体是嵌合的。在某些实施方案中,本文所述的抗体是CDR移植的。

[0085] 人源化通常降低抗体的总体亲和力,或者对其几乎没有影响。本文描述了在人源化后出乎意料地对其靶标具有更高亲和力的抗体。在某些实施方案中,人源化使得抗体的亲和力提高10%。在某些实施方案中,人源化使得抗体的亲和力提高25%。在某些实施方案中,人源化使得抗体的亲和力提高35%。在某些实施方案中,人源化使得抗体的亲和力提高50%。在某些实施方案中,人源化使得抗体的亲和力提高60%。在某些实施方案中,人源化使得抗体的亲和力提高75%。在某些实施方案中,人源化使得抗体的亲和力提高100%。使用表面等离子体共振(SPR)适当地测量亲和力。在某些实施方案中,使用糖基化的人LIF测量亲和力。在某些实施方案中,将糖基化的人LIF固定在SPR芯片的表面上。在某些实施方案中,所述抗体以小于约300纳摩尔、200纳摩尔、150纳摩尔、125纳摩尔、100纳摩尔、90纳摩尔、80纳摩尔、70纳摩尔、60纳摩尔、50纳摩尔、40纳摩尔或更低的K_d结合。

[0086] 本公开内容的新型抗体

[0087] 本文所述的抗体从用编码人LIF的DNA免疫的大鼠和小鼠中生成。

[0088] 在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含SEQ ID NO:1-7或33中任一个所示的VH-CDR1、SEQ ID NO:9-13或35中任一个所示的VH-CDR2和SEQ ID NO:15-19或37中任一个所示的VH-CDR3。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含SEQ ID NO:21-23或39中任一个所示的VL-CDR1、SEQ ID NO:25-27或41所示的VL-CDR2和SEQ ID NO:29、30、43中任一个所示的VL-CDR3。在某些实施方案中,本文

描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含SEQ ID NO:1-7或33中任一个所示的VH-CDR1、SEQ ID NO:9-13或35中任一个所示的VH-CDR2和SEQ ID NO:15-19或37中任一个所示的VH-CDR3、SEQ ID NO:21-23或39中任一个所示的VL-CDR1、SEQ ID NO:25-27或41所示的VL-CDR2和SEQ ID NO:29、30、43中任一个所示的VL-CDR3。在某些实施方案中,所述抗体与人LIF特异性结合。

[0089] 在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多个人重链框架区,该重链框架区包含:与SEQ ID NO:44-47中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:48-49中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50-52中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:53-55中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多个人重链框架区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多个人轻链框架区,该轻链框架区包含:与SEQ ID NO:56-59中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:60-63中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:64-67中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:68-70中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多个人轻链框架区包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多个人重链框架区和所述一个或多个人轻链区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少90%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、90%或95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少80%、90%或95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少80%、90%或95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多个人重链框架区,该重链框架区包含:与SEQ ID NO:44-47中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:48-49中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50-52中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:53-55中任一个所示的

氨基酸序列相同的VH-FR4区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多人轻链框架区,该轻链框架区包含:与SEQ ID NO:56-59中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:60-63中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:64-67中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:68-70中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人轻链框架区包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区和所述一个或多人轻链区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体特异性结合人LIF。

[0090] 5D8

[0091] 本文所述的抗体从用编码人LIF的DNA免疫的大鼠和小鼠中生成。对一种这样的抗体(5D8)进行克隆并测序,其包含具有以下氨基酸序列的CDR(使用Kabat和IMGT CDR编号方法的组合):对应于SEQ ID NO:1(GFTFSHAWMH)的VH-CDR1,对应于SEQ ID NO:9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)的VH-CDR2,对应于SEQ ID NO:15(TCWEWDLDF)的VH-CDR3,对应于SEQ ID NO:21(RSSQSLLSDGHTYLN)的VL-CDR1,对应于SEQ ID NO:25(SVSNLES)的VL-CDR2,和对应于SEQ ID NO:29(MQATHAPPYT)的VL-CDR3。

[0092] 在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含与SEQ ID NO:1所示序列(GFTFSHAWMH)至少80%或90%相同的VH-CDR1,与SEQ ID NO:9所示序列(QIKAKSDDYATYYAESVKG)至少80%、90%或95%相同的VH-CDR2,以及与SEQ ID NO:15所示序列(TCWEWDLDF)至少80%或90%相同的VH-CDR3。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含与SEQ ID NO:21所示序列(RSSQSLLSDGHTYLN)至少80%或90%相同的VL-CDR1,与SEQ ID NO:25所示序列(SVSNLES)至少80%相同的VL-CDR2,以及与SEQ ID NO:29所示序列(MQATHAPPYT)至少80%或90%相同的VL-CDR3。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含SEQ ID NO:1(GFTFSHAWMH)所示的VH-CDR1,SEQ ID NO:9(QIKAKSDDYATYYAESVKG)所示的VH-CDR2,SEQ ID NO:15(TCWEWDLDF)所示的VH-CDR3,SEQ ID NO:21(RSSQSLLSDGHTYLN)所示的VL-CDR1,SEQ ID NO:25(SVSNLES)所示的VL-CDR2,和SEQ ID NO:29(MQATHAPPYT)所示的VL-CDR3。本公开内容的CDR的氨基酸序列中预期有某些保守氨基酸置换。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO:1、9、15、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3或4个氨基酸不同的CDR。在某些实施方案

中,所述抗体包含与SEQ ID N0:1、9、15、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3或4个氨基酸不同的CDR并且不会影响结合亲和力超过10%、20%或30%。在某些实施方案中,特异性结合LIF的抗体包含一个或多人重链框架区,该重链框架区包含:与SEQ ID N0:44-47中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:48-49中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:50-52中任一个所示的氨基酸序列至少90%相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID N0:53-55中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区包含与SEQ ID N0:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID N0:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多人轻链框架区,该轻链框架区包含:与SEQ ID N0:56-59中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:60-63中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:64-67中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID N0:68-70中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人轻链框架区包含与SEQ ID N0:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID N0:68所示的氨基酸序列至少约90%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区和所述一个或多人轻链区包含以下所有序列:与SEQ ID N0:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID N0:54所示的氨基酸序列至少90%相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID N0:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID N0:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体特异性结合人LIF。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多人重链框架区,该重链框架区包含:与SEQ ID N0:44-47中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:48-49中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:50-52中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID N0:53-55中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR4区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区包含与SEQ ID N0:45所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:49所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:50所示的氨基酸

序列相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多人轻链框架区,该轻链框架区包含:与SEQ ID NO:56-59中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:60-63中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:64-67中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:68-70中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人轻链框架区包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区和所述一个或多人轻链区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体特异性结合人LIF。

[0093] 在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含与SEQ ID NO:1所示序列(GFTFSHAWMH)至少80%或90%相同的VH-CDR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:9所示序列(QIKAKSDDYATYYAESVKG)至少80%、90%或95%相同的VH-CDR2氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:95所示序列(TSWEWDLDF)至少80%或90%相同的VH-CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含与SEQ ID NO:21所示序列(RSSQSLLSDGHTYLN)至少80%或90%相同的VL-CDR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:25所示序列(SVSNLES)至少80%相同的VL-CDR2氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:29所示序列(MQATHAPPYT)至少80%或90%相同的VL-CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含SEQ ID NO:1(GFTFSHAWMH)所示的VH-CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG)所示的VH-CDR2氨基酸序列、SEQ ID NO:95 (TSWEWDLDF)所示的VH-CDR3氨基酸序列、SEQ ID NO:21 (RSSQSLLSDGHTYLN)所示的VL-CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:25 (SVSNLES)所示的VL-CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:29 (MQATHAPPYT)所示的VL-CDR3氨基酸序列。本公开内容的CDR的氨基酸序列中预期有某些保守氨基酸置换。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO:1、9、95、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3或4个氨基酸不同的CDR。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO:1、9、95、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3或4个氨基酸不同的CDR并且不会影响结合亲和力超过10%、20%或30%。在某些实施方案中,特异性结合LIF的抗体包含一个或多人重链框架区,该重链框架区包含:与SEQ ID NO:44-47中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:48-49中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50-52中任一个所示的氨基酸序列至少约90%相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:53-55中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4区氨基酸

序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多人轻链框架区,该轻链框架区包含:与SEQ ID NO:56-59中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:60-63中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:64-67中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:68-70中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人轻链框架区包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少90%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区和所述一个或多人轻链区包含以下所有序列:与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少90%相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体特异性结合人LIF。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多人重链框架区,该重链框架区包含:与SEQ ID NO:44-47中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:48-49中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50-52中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:53-55中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR4区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多人轻链框架区,该轻链框架区包含:与SEQ ID NO:56-59中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:60-63中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:64-67中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:68-70中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人轻链框架区包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列。

VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区和所述一个或多人轻链区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体特异性结合人LIF。

[0094] 在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含人源化重链可变区,该人源化重链可变区包含与SEQ ID NO:71、72和74中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含人源化重链可变区,该人源化重链可变区包含SEQ ID NO:71、72和74中任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含人源化轻链可变区,该人源化轻链可变区包含与SEQ ID NO:75-78中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含人源化轻链可变区,该人源化轻链可变区包含SEQ ID NO:75-78中任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体特异性结合人LIF。

[0095] 在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含人源化重链可变区和人源化轻链可变区,该人源化重链可变区包含与SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列;该人源化轻链可变区包含与SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含人源化重链可变区和人源化轻链可变区,该人源化重链可变区包含SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列;该人源化轻链可变区包含SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列。

[0096] 在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含人源化重链可变区和人源化轻链可变区,该人源化重链可变区包含与SEQ ID NO:96所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列;该人源化轻链可变区包含与SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含人源化重链可变区和人源化轻链可变区,该人源化重链可变区包含SEQ ID NO:96所示的氨基酸序列;该人源化轻链可变区包含SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列。

[0097] 在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含人源化重链和人源化轻链,该人源化重链包含与SEQ ID NO:79-82中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列;该人源化轻链包含与SEQ ID NO:83-86中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含人源化重链和人源化轻链,该人源化重链包含SEQ ID NO:79-82中任一个所示的氨

基酸序列；该人源化轻链包含SEQ ID N0:83-86中任一个所示的氨基酸序列。在某些实施方案中，本文描述了一种特异性结合LIF的抗体，其包含人源化重链和人源化轻链，该人源化重链包含与SEQ ID N0:87-90中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列；该人源化轻链包含与SEQ ID N0:91-94中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施方案中，本文描述了一种特异性结合LIF的抗体，其包含人源化重链和人源化轻链，该人源化重链包含SEQ ID N0:87-90中任一个所示的氨基酸序列；该人源化轻链包含SEQ ID N0:91-94中任一个所示的氨基酸序列。

[0098] 在某些实施方案中，本文描述了一种特异性结合LIF的抗体，其包含人源化重链和人源化轻链，该人源化重链包含与SEQ ID N0:80所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列；该人源化轻链包含与SEQ ID N0:84所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施方案中，本文描述了一种特异性结合LIF的抗体，其包含人源化重链和人源化轻链，该人源化重链包含SEQ ID N0:80所示的氨基酸序列；该人源化轻链包含SEQ ID N0:84所示的氨基酸序列。在某些实施方案中，本文描述了一种特异性结合LIF的抗体，其包含人源化重链和人源化轻链，该人源化重链包含与SEQ ID N0:88所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列；该人源化轻链包含与SEQ ID N0:92所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施方案中，本文描述了一种特异性结合LIF的抗体，其包含人源化重链和人源化轻链，该人源化重链包含SEQ ID N0:88所示的氨基酸序列；该人源化轻链包含SEQ ID N0:92所示的氨基酸序列。在某些实施方案中，本文描述了一种特异性结合LIF的抗体，其包含人源化重链和人源化轻链，该人源化重链包含与SEQ ID N0:88所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列；该人源化轻链包含与SEQ ID N0:97所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列。在某些实施方案中，本文描述了一种特异性结合LIF的抗体，其包含人源化重链和人源化轻链，该人源化重链包含SEQ ID N0:88所示的氨基酸序列；该人源化轻链包含SEQ ID N0:97所示的氨基酸序列。

[0099] 在某些实施方案中，本文描述了一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体，其包含：包含SEQ ID N0:2所示的氨基酸序列的重链互补决定区1(VH-CDR1)；包含SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列的重链互补决定区2(VH-CDR2)；包含SEQ ID N0:15所示的氨基酸序列的重链互补决定区3(VH-CDR3)；包含SEQ ID N0:22所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(VL-CDR1)；和包含SEQ ID N0:26所示的氨基酸序列的轻链互补决定区2(VL-CDR2)；和包含SEQ ID N0:29所示的氨基酸序列的轻链互补决定区3(VL-CDR3)。

[0100] 在某些实施方案中，本文描述了一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体，其包含：包含SEQ ID N0:3所示的氨基酸序列的重链互补决定区1(VH-CDR1)；包含SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列的重链互补决定区2(VH-CDR2)；包含SEQ ID N0:16所示的氨基酸序列的重链互补决定区3(VH-CDR3)；包含SEQ ID N0:21所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(VL-CDR1)；和包含SEQ ID N0:25所示的氨基酸序列的轻链互补决定区2(VL-CDR2)；和包含SEQ ID N0:29所示的氨基酸序列的轻链互补决定区3(VL-CDR3)。

[0101] 在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合白血病抑制因子(LIF)的重组抗体,其包含:包含SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列的重链互补决定区1(VH-CDR1);包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的重链互补决定区2(VH-CDR2);包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的重链互补决定区3(VH-CDR3);包含SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(VL-CDR1);和包含SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的轻链互补决定区2(VL-CDR2);和包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的轻链互补决定区3(VL-CDR3)。

[0102] 10G7

[0103] 从大鼠免疫克隆并测序的另一种抗体(10G7)包含具有以下氨基酸序列的CDR(使用Kabat和IMGT CDR编号方法的组合):对应于SEQ ID NO:4(GFTFSNAWMH)的VH-CDR1、对应于SEQ ID NO:11(QIKDKSDNYATYYAESVKG)的VH-CDR2、对应于SEQ ID NO:17(TCWEWYLD)的VH-CDR3、对应于SEQ ID NO:21(RSSQSLLSDDGHTYLN)的VL-CDR1、对应于SEQ ID NO:25(SVSNLES)的VL-CDR2和对应于SEQ ID NO:29(MQATHAPPYT)的VL-CDR3。

[0104] 在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含:包含与SEQ ID NO:4所示序列(GFTFSNAWMH)至少80%或90%相同的氨基酸序列的VH-CDR1,包含与SEQ ID NO:11所示序列(QIKDKSDNYATYYAESVKG)至少80%、90%或95%相同的氨基酸序列的VH-CDR2,和包含与SEQ ID NO:17所示序列(TCWEWYLD)至少80%或90%相同的氨基酸序列的VH-CDR3。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含:包含与SEQ ID NO:21所示序列(RSSQSLLSDDGHTYLN)至少80%或90%相同的氨基酸序列的VL-CDR1,包含与SEQ ID NO:25所示序列(SVSNLES)至少80%相同的氨基酸序列的VL-CDR2,和包含与SEQ ID NO:29所示序列(MQATHAPPYT)至少80%或90%相同的氨基酸序列的VL-CDR3。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含:包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列(GFTFSNAWMH)的VH-CDR1,包含SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列(QIKDKSDNYATYYAESVKG)的VH-CDR2,包含SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列(TCWEWYLD)的VH-CDR3,包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列(RSSQSLLSDDGHTYLN)的VL-CDR1,包含SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列(SVSNLES)的VL-CDR2,以及包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列(MQATHAPPYT)的VL-CDR3。本公开内容的CDR的氨基酸序列中预期有某些保守氨基酸置换。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO:4、11、17、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3或4个氨基酸不同的CDR氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO:4、11、17、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3或4个氨基酸不同的CDR氨基酸序列并且不会影响结合亲和力超过10%、20%或30%。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多个人重链框架区,该重链框架区包含:与SEQ ID NO:44-47中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:48-49中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列、与SEQ ID NO:50-52中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:53-55中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多个人重链框架区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相

同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID N0:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多个人轻链框架区,该轻链框架区包含:与SEQ ID N0:56-59中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:60-63中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:64-67中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID N0:68-70中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人轻链框架区包含与SEQ ID N0:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID N0:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区和所述一个或多人轻链区包含以下所有序列:与SEQ ID N0:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID N0:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID N0:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID N0:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体特异性结合人LIF。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多人重链框架区,该重链框架区包含:与SEQ ID N0:44-47中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:48-49中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:50-52中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID N0:53-55中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR4区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区包含与SEQ ID N0:45所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:49所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:50所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID N0:54所示的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多人轻链框架区,该轻链框架区包含:与SEQ ID N0:56-59中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:60-63中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:64-67中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID N0:68-70中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人轻链框架区包含与SEQ ID N0:57所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID N0:61所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID N0:65所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID N0:68所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区和所述一个或多人轻链区包含与SEQ ID N0:45所示的氨基酸序列

相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体特异性结合人LIF。

[0105] 6B5

[0106] 从大鼠免疫接种克隆并测序的另一种抗体(6B5)包含具有以下氨基酸序列的CDR(使用Kabat编号方法):对应于SEQ ID NO:7(SKFMY)的VH-CDR1,对应于SEQ ID NO:13(WIYPGDGDTEYNQKFSE)的VH-CDR2,对应于SEQ ID NO:19(RDYHSSHFAY)的VH-CDR3,对应于SEQ ID NO:23(RSSQSLLHNNGNTYLS)的VL-CDR1,对应于SEQ ID NO:27(QVSNRFS)的VL-CDR,和对应于SEQ ID NO:30(GQGTQYPYT)的VL-CDR3。

[0107] 在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含与SEQ ID NO:7所示序列(SKFMY)至少80%相同的VH-CDR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:13所示序列(WIYPGDGDTEYNQKFSE)至少80%或90%相同的VH-CDR2氨基酸序列,和与SEQ ID NO:19所示序列(RDYHSSHFAY)至少80%或90%相同的VH-CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含与SEQ ID NO:23所示序列(RSSQSLLHNNGNTYLS)至少80%或90%相同的VL-CDR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:27所示序列(QVSNRFS)至少80%相同的VL-CDR2氨基酸序列,和与SEQ ID NO:30(GQGTQYPYT)至少80%相同的VL-CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含SEQ ID NO:7(SKFMY)所示的VH-CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:13(WIYPGDGDTEYNQKFSE)所示的VH-CDR2氨基酸序列、SEQ ID NO:19(RDYHSSHFAY)所示的VH-CDR3氨基酸序列、SEQ ID NO:23(RSSQSLLHNNGNTYLS)所示的VL-CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:27(QVSNRFS)所示的VL-CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:30(GQGTQYPYT)所示的VL-CDR3氨基酸序列。本公开内容的CDR的氨基酸序列中预期有某些保守氨基酸置换。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO:7、13、19、23、27和30中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3或4个氨基酸不同的CDR氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO:7、13、19、23、27和30中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3或4个氨基酸不同的CDR氨基酸序列并且不会影响结合亲和力超过10%、20%或30%。在某些实施方案中,特异性结合LIF的抗体包含一个或多个重链框架区,该重链框架区包含:与SEQ ID NO:44-47中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:48-49中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列、与SEQ ID NO:50-52中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:53-55中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多个重链框架区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,特

异性结合LIF的抗体包含一个或多人轻链框架区,该轻链框架区包含:与SEQ ID NO:56-59中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:60-63中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:64-67中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:68-70中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人轻链框架区包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区和所述一个或多人轻链区包含以下所有序列:与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体特异性结合人LIF。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多人重链框架区,该重链框架区包含:与SEQ ID NO:44-47中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:48-49中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50-52中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:53-55中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR4区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多人轻链框架区,该轻链框架区包含:与SEQ ID NO:56-59中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:60-63中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:64-67中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:68-70中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人轻链框架区包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区和所述一个或多人轻链区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列。

列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体特异性结合人LIF。

[0108] 9G7

[0109] 从小鼠免疫克隆并测序的另一抗体(9G7)包含具有以下氨基酸序列的CDR(使用Kabat编号方法):对应于SEQ ID NO:33(TAGMQ)的VH-CDR1、对应于SEQ ID NO:35(WINTQSGEPQYVDDFRG)的VH-CDR2、对应于SEQ ID NO:37(WALYSEYDVMFY)的VH-CDR3、对应于SEQ ID NO:39(KASENVDSYVS)的VL-CDR1、对应于SEQ ID NO:41(GASNRYT)的VL-CDR2和对应于SEQ ID NO:43(GQSYRYPPT)的VL-CDR3。

[0110] 在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含与SEQ ID NO:33所示序列(TAGMQ)至少80%相同的VH-CDR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:35所示序列(WINTQSGEPQYVDDFRG)至少80%或90%相同的VH-CDR2氨基酸序列,和与SEQ ID NO:37所示序列(WALYSEYDVMFY)至少80%或90%相同的VH-CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含与SEQ ID NO:39所示序列(KASENVDSYVS)至少80%或90%相同的VL-CDR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:41所示序列(GASNRYT)至少80%相同的VL-CDR2氨基酸序列,和与SEQ ID NO:43所示序列(GQSYRYPPT)至少80%或90%相同的VL-CDR3氨基酸序列。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含SEQ ID NO:33(TAGMQ)所示的VH-CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:35(WINTQSGEPQYVDDFRG)所示的VH-CDR2氨基酸序列、SEQ ID NO:37(WALYSEYDVMFY)所示的VH-CDR3氨基酸序列、SEQ ID NO:39(KASENVDSYVS)所示的VL-CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:41(GASNRYT)所示的VL-CDR2氨基酸序列1和SEQ ID NO:43(GQSYRYPPT)所示的VL-CDR3氨基酸序列。本公开内容的CDR的氨基酸序列中预期有某些保守氨基酸置换。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO:39、41、43、33、35和37中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3或4个氨基酸不同的CDR氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO:39、41、43、33、35和37中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3或4个氨基酸不同的CDR氨基酸序列并且不会影响结合亲和力超过10%、20%或30%。在某些实施方案中,特异性结合LIF的抗体包含一个或多个人重链框架区,该重链框架区包含:与SEQ ID NO:44-47中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:48-49中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50-52中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:53-55中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多个人重链框架区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,特异性结合LIF的抗体包含一个或多个人轻链框架区,该轻链框架区包含:与SEQ ID NO:56-

59中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:60-63中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:64-67中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:68-70中任一个所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人轻链框架区包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区和所述一个或多人轻链区包含以下所有序列:与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列至少约80%、约90%或约95%相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体特异性结合人LIF。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多人重链框架区,该重链框架区包含:与SEQ ID NO:44-47中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:48-49中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50-52中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:53-55中任一个所示的氨基酸序列相同的VH-FR4区氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述特异性结合LIF的抗体包含一个或多人轻链框架区,该轻链框架区包含:与SEQ ID NO:56-59中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:60-63中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:64-67中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,或与SEQ ID NO:68-70中任一个所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人轻链框架区包含与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述一个或多人重链框架区和所述一个或多人轻链区包含与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列相同的VH-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列,与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列相同的VH-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列相同的VH-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列相同的VH-FR4氨基酸序列。

氨基酸序列相同的VL-FR1氨基酸序列,与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列相同的VL-FR2氨基酸序列,与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列相同的VL-FR3氨基酸序列,以及与SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列相同的VL-FR4氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体特异性结合人LIF。

[0111] 本文所述的抗体直接结合人LIF。人LIF的规范氨基酸序列由SEQ ID NO:98给出。本领域技术人员将会理解,SEQ ID NO:98的天然变体在人群中是可能的,其可导致SEQ ID NO:98与任何给定人类个体表达的LIF之间有1、2、3、4或5个氨基酸的差异。由于天然变异而产生的微小变化预计不会在用本文所述的任何抗体治疗时产生不同的结合动力学或功效。

[0112] 被治疗上有用的LIF抗体结合的表位

[0113] 本文描述了人LIF的独特表位,其在结合时抑制LIF生物活性(例如,STAT3磷酸化)并抑制体内肿瘤生长。本文所述的表位由不连续的两段氨基酸(从人LIF的残基13至残基32和残基120至138)组成,这两段氨基酸存在于人LIF蛋白质的两个不同的拓扑结构域(α 螺旋A和C)中。该结合是弱(范德华吸引)、中等(氢结合)和强(盐桥)相互作用的组合。在某些实施方案中,接触残基是LIF上与抗LIF抗体上的残基形成氢键的残基。在某些实施方案中,接触残基是LIF上与抗LIF抗体上的残基形成盐桥的残基。在某些实施方案中,接触残基是LIF上导致与抗LIF抗体上的残基的范德华吸引并且在距其至少5、4或3埃内的残基。

[0114] 在某些实施方案中,本文描述了一种分离的抗体,其结合任意一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个或二十个以下残基:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施方案中,本文描述了一种分离的抗体,其结合所有以下残基:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135和H138。在某些实施方案中,本文描述了一种分离的抗体,其结合所有以下残基:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135和H138。在某些实施方案中,所述抗体仅结合与该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施方案中,所述抗体仅结合与该抗体一起参与强相互作用的残基。在某个实施方案中,所述抗体与LIF的螺旋A和C相互作用。在某个实施方案中,所述抗体阻断LIF与gp130的相互作用。

[0115] 在某些实施方案中,本文描述了一种包含具有SEQ ID NO:1、9、15、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列的CDR的抗体,其结合任意一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个或二十个以下残基:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施方案中,本文描述了一种包含具有SEQ ID NO:1、9、15、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列的CDR的抗体,其与所有以下残基结合:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135和H138。在某些实施方案中,所述抗体仅结合与该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施方案中,所述抗体仅结合与该抗体一起参与强相互作用的残基。

[0116] 在某些实施方案中,本文描述了一种包含具有SEQ ID NO:1、9、95、21、25和29中任

一个所示的氨基酸序列的CDR的抗体,其结合任意一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个或二十个以下残基:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施方案中,本文描述了一种包含具有SEQ ID NO:1、9、95、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列的CDR的抗体,其与所有以下残基结合:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135和H138。在某些实施方案中,所述抗体仅结合与该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施方案中,所述抗体仅结合与该抗体一起参与强相互作用的残基。

[0117] 在某些实施方案中,本文描述了一种包含与SEQ ID NO:1、9、15、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3、4或5个氨基酸不同的CDR的抗体,其结合任意一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个或二十个以下残基:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施方案中,本文描述了一种包含与SEQ ID NO:1、9、15、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3、4或5个氨基酸不同的CDR的抗体,其与所有以下残基结合:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135和H138。在某些实施方案中,所述抗体仅结合与该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施方案中,所述抗体仅结合与该抗体一起参与强相互作用的残基。

[0118] 在某些实施方案中,本文描述了一种包含与SEQ ID NO:1、9、95、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3、4或5个氨基酸不同的CDR的抗体,其结合任意一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个或二十个以下残基:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施方案中,本文描述了一种包含与SEQ ID NO:1、9、95、21、25和29中任一个所示的氨基酸序列有1、2、3、4或5个氨基酸不同的CDR的抗体,其与所有以下残基结合:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135和H138。在某些实施方案中,所述抗体仅结合与该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施方案中,所述抗体仅结合与该抗体一起参与强相互作用的残基。

[0119] 在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含与SEQ ID NO:72所示氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化重链可变区氨基酸序列;和与SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化轻链可变区氨基酸序列,并且结合任意一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四个、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个或二十个以下残基:SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施方案中,本文描述了一种特异性结合LIF的抗体,其包含与SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化重链可变区氨基酸序列;和与SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%

或约99%相同的人源化轻链可变区氨基酸序列，并且结合所有以下残基：SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135和H138。在某些实施方案中，所述抗体仅结合与该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施方案中，所述抗体仅结合与该抗体一起参与强相互作用的残基。

[0120] 在某些实施方案中，本文描述了一种特异性结合LIF的抗体，其包含与SEQ ID NO:96所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化重链可变区氨基酸序列；和与SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化轻链可变区氨基酸序列，并且结合任意一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三个、十四、十五个、十六个、十七个、十八个、十九个或二十个以下残基：SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135或H138。在某些实施方案中，本文描述了一种特异性结合LIF的抗体，其包含与SEQ ID NO:96所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化重链可变区氨基酸序列；和与SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列至少约80%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%相同的人源化轻链可变区氨基酸序列，并且结合所有以下残基：SEQ ID NO:98的A13、I14、R15、H16、P17、C18、H19、N20、Q25、Q29、Q32、D120、R123、S127、N128、L130、C131、C134、S135和H138。在某些实施方案中，所述抗体仅结合与该抗体一起参与强或中等相互作用的残基。在某些实施方案中，所述抗体仅结合与该抗体一起参与强相互作用的残基。

[0121] 治疗适应症

[0122] 在某些实施方案中，本文公开的抗体抑制细胞中的LIF信号传导。在某些实施方案中，在U-251细胞中在血清饥饿条件下，该抗体的生物抑制的IC₅₀小于或等于约100、75、50、40、30、20、10、5或1纳摩尔。在某些实施方案中，在U-251细胞中在血清饥饿条件下，该抗体的生物抑制的IC₅₀小于或等于约900、800、700、600、500、400、300、200，或100纳摩尔。

[0123] 在某些实施方案中，本文公开的抗体可用于治疗表达LIF的肿瘤和癌症。在某些实施方案中，选择具有LIF阳性肿瘤/癌症的个体作为用本公开内容的抗体治疗的个体。在某些实施方案中，该肿瘤是LIF阳性的或产生高水平的LIF。在某些实施方案中，与参考值或设定的病理学标准相比，确定LIF阳性。在某些实施方案中，与衍生出肿瘤的非转化细胞相比，LIF阳性肿瘤表达大于2倍、3倍、5倍、10倍、100倍或更多的LIF。在某些实施方案中，该肿瘤已获得LIF的异位表达。LIF阳性肿瘤可以如下确定：使用例如采用抗LIF抗体的免疫组织化学在组织学上确定；通过常用的分子生物学方法，例如通过实时PCR或RNA-seq进行的mRNA定量；或蛋白质定量，例如，通过Western印迹法、流式细胞术、ELISA或同源蛋白质定量测定（例如，αLISA）。在某些实施方案中，所述抗体可用来治疗被诊断为患有癌症的患者。在某些实施方案中，该癌症包含一种或多种癌症干细胞或是一种或多种癌症干细胞。

[0124] 在某些实施方案中，本文公开的抗体可用于治疗表达LIF受体(CD118)的癌症中的肿瘤。LIF受体阳性肿瘤可通过组织病理学或流式细胞术确定，并且在某些实施方案中，包含与同种型对照相比大于2倍、3倍、3倍、4倍、5倍、10倍或更多倍地结合LIF受体抗体的细胞。在某些实施方案中，该肿瘤已获得LIF受体的异位表达。在某个实施方案中，该癌症是癌症干细胞。在某个实施方案中，可以使用抗LIF抗体通过免疫组织化学确定LIF阳性肿瘤或

癌症。在某个实施方案中,通过IHC分析确定LIF阳性肿瘤,其中LIF水平在肿瘤的前10%、20%、30%、40%或前50%中。

[0125] 本文所述的抗体影响许多结果。在某个实施方案中,在肿瘤模型中,与对照抗体(例如,同种型对照)相比,本文所述的抗体可以将肿瘤中M2巨噬细胞的存在减少至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。可以通过在IHC切片中对CCL22和CD206染色或通过肿瘤浸润免疫或骨髓细胞的流式细胞术来鉴定M2巨噬细胞。在某个实施方案中,与对照抗体(例如,同种型对照)相比,本文所述的抗体可以将LIF与gp130肿瘤的结合降低至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。在某个实施方案中,在LIF响应性细胞系中,与对照抗体(例如,同种型对照)相比,本文所述的抗体可以将LIF信号传导减少至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。LIF信号传导可以通过例如磷酸化STAT3(LIF信号传导的下游靶标)的Western印迹法来测量。与其它IL-6家族成员细胞因子相比,本文的抗体对LIF也是高度特异的。在某些实施方案中,所述抗体与人LIF结合的亲和力是对其它任何IL-6家族成员细胞因子的亲和力的约10倍、约50倍或约100倍。在某些实施方案中,所述LIF抗体不与在哺乳动物系统中产生的其它IL-6家族成员细胞因子结合。在某些实施方案中,所述抗体不与在哺乳动物系统中产生的制癌蛋白M结合。

[0126] 在某些实施方案中,本文公开了可用于治疗癌症或肿瘤的抗体。在某些实施方案中,该癌症包括乳腺、心脏、肺、小肠、结肠、脾、肾、膀胱、头、颈、卵巢、前列腺、脑、胰腺、皮肤、骨、骨髓、血液、胸腺、子宫、睾丸和肝脏肿瘤。在某些实施方案中,可以用本发明的抗体治疗的肿瘤包括腺瘤、腺癌、血管肉瘤、星形细胞瘤、上皮癌、生殖细胞瘤、胶质母细胞瘤、神经胶质瘤、血管内皮瘤、血管肉瘤、血肿、肝母细胞瘤、白血病、淋巴瘤、髓母细胞瘤、黑素瘤、神经母细胞瘤、骨肉瘤、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤和/或畸胎瘤。在某些实施方案中,所述肿瘤/癌症选自肢端黑素瘤、光化性角化病、腺癌、腺样囊性癌、腺瘤、腺肉瘤、腺鳞癌、星形细胞瘤、前庭大腺癌、基底细胞癌、支气管腺癌、毛细血管类癌、癌、癌肉瘤、胆管癌、软骨肉瘤、囊腺瘤、内胚层窦瘤、子宫内膜增生、子宫内膜间质肉瘤、子宫内膜样腺癌、室管膜肉瘤、尤因肉瘤、局灶性结节增生、胃泌素瘤(gastronoma)、生殖细胞瘤、胶质母细胞瘤、胰高血糖素瘤、血管母细胞瘤、血管内皮瘤、血管瘤、肝腺瘤、肝腺瘤病、肝细胞癌、胰岛素瘤(insulinite)、上皮内瘤变、上皮内鳞状细胞瘤、侵袭性鳞状细胞癌、大细胞癌、脂肪肉瘤、肺癌、淋巴母细胞白血病、淋巴细胞白血病、平滑肌肉瘤、黑素瘤、恶性黑素瘤、恶性间皮瘤、神经鞘瘤、髓母细胞瘤、髓上皮瘤、间皮瘤、粘液表皮样癌、髓样白血病、神经母细胞瘤、神经上皮腺癌、结节性黑素瘤、骨肉瘤、卵巢癌、乳头状浆液性腺癌、垂体瘤、浆细胞瘤、假性肉瘤、前列腺癌、肺母细胞瘤、肾细胞癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤、浆液性癌、鳞状细胞癌、小细胞癌、软组织癌、分泌生长抑素的肿瘤、鳞状癌、鳞状细胞癌、未分化癌、葡萄膜黑素瘤、疣状癌、阴道/外阴癌、VIPoma和维尔姆斯瘤。在某些实施方案中,待用一种或多种本发明抗体治疗的肿瘤/癌症包括脑癌、头颈癌、结直肠癌、急性髓样白血病、前B细胞急性淋巴母细胞白血病、膀胱癌、星形细胞瘤(优选II、III或IV级星形细胞瘤)、胶质母细胞瘤、多形性胶质母细胞瘤、小细胞癌和非小细胞癌(优选非小细胞肺癌)、肺腺癌、转移性黑素瘤、雄激素非依赖性转移性前列腺癌、雄激素依赖性转移性前列腺癌、前列腺腺癌和乳腺癌,优选乳腺导管癌和/或乳腺癌。在某些实施方案中,用本公开内容的抗体治疗的癌症包

括胶质母细胞瘤。在某些实施方案中,用一种或多种本公开内容的抗体治疗的癌症包括胰腺癌。在某些实施方案中,用一种或多种本公开内容的抗体治疗的癌症包括卵巢癌。在某些实施方案中,用一种或多种本公开内容的抗体治疗的癌症包括肺癌。在某些实施方案中,用一种或多种本公开内容的抗体治疗的癌症包括前列腺癌。在某些实施方案中,用一种或多种本公开内容的抗体治疗的癌症包括结肠癌。在某些实施方案中,所治疗的癌症包括胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。在某个实施方案中,该癌症对其他治疗而言是难治性的。在某个实施方案中,所治疗的癌症是复发的。在某个实施方案中,该癌症是复发/难治性胶质母细胞瘤、胰腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌或肺癌。

[0127] 治疗方法

[0128] 在某些实施方案中,所述抗体可以通过任何适合于施用含有抗体的药物组合物的途径施用,例如皮下、腹膜内、静脉内、肌肉内、瘤内或大脑内等。在某些实施方案中,静脉内施用所述抗体。在某些实施方案中,所述抗体以合适的剂量方案施用,例如,每周一次、每周两次、每月一次、每月两次等。在某些实施方案中,所述抗体每三周施用一次。所述抗体可以以任何治疗有效量施用。在某些实施方案中,治疗上可接受的量为约0.1mg/kg至约50mg/kg。在某些实施方案中,治疗上可接受的量为约1mg/kg至约40mg/kg。在某些实施方案中,治疗上可接受的量为约5mg/kg至约30mg/kg。

[0129] 另外的治疗剂

[0130] 在某些实施方案中,所述抗体可以与另外的治疗剂一起施用或在用另外的治疗剂治疗期间施用。在某些实施方案中,该治疗剂包括重组蛋白或单克隆抗体。在某些实施方案中,该重组蛋白或单克隆抗体包括埃达珠单抗(Etaracizumab) (Abegrin)、Tacatuzumab tetraxetan、贝伐珠单抗(Avastin)、拉贝珠单抗(Labetuzumab)、西妥昔单抗(Erbitux)、阿托珠单抗(Obinutuzumab) (Gazyva)、曲妥珠单抗(Herceptin)、Clivatuzumab、曲妥珠单抗(Kadcyla)、雷莫芦单抗(Ramucirumab)、利妥昔单抗(MabThera、Rituxan)、吉妥珠单抗(Gemtuzumab ozogamicin) (Mylotarg)、帕妥珠单抗(Pertuzumab) (Omnitarg)、吉瑞昔单抗(Girentuximab) (Rencarex) 或尼妥珠单抗(Nimotuzumab) (Theracim, Theraloc)。在某些实施方案中,该单克隆抗体包括靶向检查点抑制剂例如PD-1或CTLA-4的免疫调节剂。在某些实施方案中,该免疫调节剂包括纳武单抗(Nivolumab)、伊匹木单抗(Ipilimumab)、阿特朱单抗(Atezolizumab)或派姆单抗(Pembrolizumab)。在某些实施方案中,所述另外的治疗剂是化疗剂。在某些实施方案中,该化疗剂是烷化剂(例如,环磷酰胺、异环磷酰胺、苯丁酸氮芥、白消安、美法仑、氮芥、乌拉莫司汀、噻替派、亚硝基脲或替莫唑胺)、蒽环霉素(例如,多柔比星、阿霉素、柔红霉素、表柔比星或米托蒽醌(mitoxantrone))、细胞骨架破坏剂(例如,紫杉醇或多西他赛)、组蛋白脱乙酰酶抑制剂(例如,伏立诺他或罗米地辛)、拓扑异构酶抑制剂(例如,伊立替康、拓扑替康、安吖啶、依托泊苷或替尼泊苷)、激酶抑制剂(例如,硼替佐米、厄洛替尼、吉非替尼、伊马替尼、维莫非尼或vismodegib)、核苷类似物或前体类似物(例如,阿扎胞苷、硫唑嘌呤、卡培他滨、阿糖胞苷、氟尿嘧啶、吉西他滨、羟基脲、巯嘌呤、氨甲蝶呤或硫鸟嘌呤)、肽类抗生素(例如,放线菌素或博来霉素)、铂类药剂(例如,顺铂、奥沙利铂或卡铂)或植物生物碱(例如,长春新碱、长春碱、长春瑞滨(vinorelbine)、长春地辛、鬼臼毒素、紫杉醇或多西他赛)。在一些实施方案中,该化疗剂是核苷类似物。在一些实施方案中,该化疗剂是吉西他滨。在某些实施方案中,所述另外的治疗剂是放射疗法。

[0131] 药学上可接受的载体

[0132] 在某些实施方案中,将本公开内容的抗体悬浮在无菌溶液中施用。在某些实施方案中,该溶液包含生理学上合适的盐浓度(例如,NaCl)。在某些实施方案中,该溶液包含约0.6%至1.2%的NaCl。在某些实施方案中,该溶液包含约0.7%至1.1%的NaCl。在某些实施方案中,该溶液包含约0.8%至1.0%的NaCl。在某些实施方案中,高度浓缩的抗体储备溶液可以在约0.9%NaCl中稀释。在某些实施方案中,该溶液包含约0.9%NaCl。在某些实施方案中,该溶液还包含以下一种或多种:缓冲液,例如乙酸盐、柠檬酸盐、组氨酸、琥珀酸盐、磷酸盐、碳酸氢盐和羟甲基氨基甲烷(Tris);表面活性剂,例如聚山梨醇酯80(吐温80)、聚山梨醇酯20(吐温20)、聚山梨醇酯和泊洛沙姆188;多元醇/二糖/多糖,例如葡萄糖、右旋糖、甘露糖、甘露醇、山梨醇、蔗糖、海藻糖和葡聚糖40;氨基酸,例如组氨酸、甘氨酸或精氨酸;抗氧化剂,例如抗坏血酸、甲硫氨酸;和螯合剂,例如EGTA或EGTA。在某些实施方案中,本公开内容的抗体冻干运输/储存并在施用前重建。在某些实施方案中,冻干的抗体制剂包含填充剂,如甘露醇、山梨醇、蔗糖、海藻糖和葡聚糖40。在某个实施方案中,本公开内容的抗LIF抗体可以作为浓缩储备溶液运输和储存,其将在所用的治疗地点稀释。在某些实施方案中,该储备溶液包含约25mM组氨酸、约6%蔗糖、约0.01%聚山梨醇酯和约20mg/mL抗LIF抗体。

[0133] 实施例

[0134] 以下说明性实施例代表本文描述的软件应用程序、系统和方法的实施方案,并不意味着以任何方式进行限制。

[0135] 实施例1-LIF特异性大鼠抗体的生成

[0136] 将编码人LIF的氨基酸23-202的cDNA克隆到表达质粒(Aldevron GmbH, Freiburg, Germany)中。通过使用用于粒子轰击的手持装置(“基因枪”)皮内施用DNA包被的金颗粒来免疫实验大鼠组(Wistar)。用识别添加到LIF蛋白质N末端的标签的抗标签抗体确认瞬时转染的HEK细胞上的细胞表面表达。在一系列免疫后收集血清样品,并对用上述表达质粒瞬时转染的HEK细胞进行流式细胞术检测。根据标准程序分离产生抗体的细胞并与小鼠骨髓瘤细胞(Ag8)融合。在如上所述的流式细胞术测定中通过筛选鉴定产生LIF特异性抗体的杂交瘤。使用RNA保护剂(RNALater, 目录号AM7020, ThermoFisher Scientific)制备阳性杂交瘤细胞的细胞沉淀物,并进一步处理以便对抗体的可变域进行测序。

[0137] 实施例2-LIF特异性小鼠抗体的生成

[0138] 将编码人LIF的氨基酸23-202的cDNA克隆到表达质粒(Aldevron GmbH, Freiburg, Germany)中。通过使用用于粒子轰击的手持装置(“基因枪”)皮内施用DNA包被的金颗粒来免疫实验小鼠组(NMRI)。用识别添加到LIF蛋白质N末端的标签的抗标签抗体确认瞬时转染的HEK细胞上的细胞表面表达。在一系列免疫后收集血清样品,并对用上述表达质粒瞬时转染的HEK细胞进行流式细胞术检测。根据标准程序分离产生抗体的细胞并与小鼠骨髓瘤细胞(Ag8)融合。在如上所述的流式细胞术测定中通过筛选鉴定产生LIF特异性抗体的杂交瘤。使用RNA保护剂(RNALater, 目录号AM7020, ThermoFisher Scientific)制备阳性杂交瘤细胞的细胞沉淀物,并进一步处理以便对抗体的可变域进行测序。

[0139] 实施例3-LIF特异性大鼠抗体的人源化

[0140] 选择来自大鼠免疫的一个克隆(5D8)用于随后的人源化。使用标准CDR移植方法进行人源化。使用标准分子克隆技术从5D8杂交瘤克隆重链和轻链区,并通过Sanger方法测

序。然后针对人重链和轻链可变序列进行BLAST搜索，并选择来自每一个的4个序列作为人源化的接受体框架。对这些接受体框架进行去免疫，以除去T细胞应答表位。将5D8的重链和轻链CDR1、CDR2和CDR3克隆到4种不同的重链接受体框架(H1至H4)和4种不同的轻链框架(L1至L4)中。然后通过表面等离子体共振(SPR)测试所有16种不同的抗体在CHO-S细胞(Selexis)中的表达、LIF诱导的STAT3磷酸化的抑制以及结合亲和力。这些实验总结在表1中。

表1. 5D8人源化的总结			
重链轻链组合	来自 图1 的LIF诱导的pSTAT3的抑制	通过SPR测得的亲和力K _{D1} (pM)	表达(ug/mL)
H0L0	+++	133±46	393
H1L1	-	N/A	627
H1L2	+++	55±23	260
H1L3	+++	54±31	70
H1L4	-	N/A	560
H2L1	-	N/A	369
H2L2	+++	52±22	392
H2L3	++	136±19	185
H2L4	-	N/A	78
H3L1	N/A	N/A	不表达
H3L2	N/A	N/A	不表达
H3L3	N/A	N/A	不表达
H3L4	N/A	N/A	不表达
H4L1	-	N/A	259
H4L2	++	913±308	308
H4L3	+		252

[0141]

[0142]	H4L4	-	N/A	186
N/A=未尝试；H0L0=具有完全大鼠重链和轻链可变区的嵌合抗体				

[0143] 在细胞培养10天后的补料分批培养中，在锥形瓶(接种 3×10^5 个细胞/mL, 200mL培养体积)中比较转染细胞的表达表现。此时收获细胞，并使用蛋白A柱纯化分泌的抗体，然后定量。除了使用H3重链的抗体之外，表达所有人源化抗体。

[0144] 通过Western印迹法测定对LIF诱导的在酪氨酸705处的STAT3磷酸化的抑制。将U251神经胶质瘤细胞以100,000个细胞/孔的密度接种在6孔板中。在任何处理之前将细胞在完全培养基中培养24小时，之后，对细胞进行血清饥饿8小时。之后，细胞与浓度为10 μ g/ml的指定抗体过夜。处理后，在含有磷酸酶和蛋白酶抑制剂的放射免疫沉淀测定(RIPA)裂解缓冲液中获得蛋白质，定量(BCA-蛋白质测定，Thermo Fisher Scientific)，并在Western印迹分析中使用。对于Western印迹分析，将膜在5%脱脂奶粉-TBST中封闭1小时，并与第一抗体一起孵育过夜(p-STAT3，目录号9145，Cell Signaling，或STAT3，目录号9132，Cell Signaling)或30分钟(β -肌动蛋白-过氧化物酶，目录号A3854，Sigma-Aldrich)。然后用TBS洗涤膜，与第二抗体一起孵育，并再次洗涤。通过化学发光(SuperSignal Substrate，目录号34076，Thermo Fisher Scientific)检测蛋白质。这些结果在图1中示出。pSTAT3条带颜色越深，存在的抑制作用越小。在标记为5D8(非人源化大

鼠)、A(H0L0)、C(H1L2)、D(H1L3)和G(H2L2)的泳道中的抑制作用高;在H(H2L3)、O(H4L2)和P(H4L3)中的抑制作用适中;在B(H1L1)、E(H1L4)、F(H2L1)、I(H2L4)、N(H4L1)和Q(H4L4)中不存在抑制作用。

[0145] 然后通过SPR来分析表现出抑制LIF诱导的STAT3磷酸化的抗体,以确定结合亲和力。简而言之,使用BiacoreTM2002仪器观察A(H0L0)、C(H1L2)、D(H1L3)和G(H2L2)、H(H2L3)和O(H4L2)人源化抗体与胺偶联的hLIF的结合。通过在六种配体浓度下在所有传感器芯片表面上生成的所有传感图的数学传感图拟合(Langmuir相互作用模型[A+B=AB])确定动力学常数和亲和力。每种浓度的最佳拟合曲线(最小Chi₂)用于计算动力学常数和亲和力。见表1。

[0146] 由于实验设置使用二价抗体作为分析物,因此还基于二价分析物拟合模型[A+B=AB;AB+B=AB₂]分析了最佳拟合传感图,以便更详细地了解人源化抗体的靶标结合机制。使用二价拟合模型[A+B=AB;AB+B=AB₂]的动力学传感图分析证实了mAb样品的相对亲和力排名。

[0147] 选择包含H2和L2的人源化5D8用于更深入的分析,因为其具有高结合亲和力和来自分批培养的高产率。

[0148] 实施例4-克隆5D8的人源化改善了与LIF的结合

[0149] 我们选择H2L2克隆(h5D8)进一步分析,并通过SPR与亲本大鼠5D8(r5D8)和小鼠克隆1B2比较结合。1B2抗体是先前公开的小鼠抗LIF抗体,先前保藏在Deutsche Sammlung von Mikroorganismen and Zellkulturen GmbH (DSM ACC3054),将其包括在内以用于比较。分别从大肠杆菌和HEK-293细胞纯化的重组人LIF用作配体。使用胺偶联化学法将来自人或大肠杆菌来源的LIF共价偶联至Biacore光学传感器芯片的表面,并且由动力学常数计算结合亲和力。

[0150] 材料与方法

[0151] 来自大肠杆菌的人LIF获自Millipore,参考LIF 1010;来自HEK-293细胞的人LIF获自ACRO Biosystems,参考LIF-H521b。使用Biacore胺偶联试剂盒(BR-1000-50;GE-Healthcare,Uppsala)将LIF偶联至传感器芯片。使用CM5光学传感器芯片(BR-1000-12;GE-Healthcare,Uppsala)在BiacoreTM2002仪器上运行样品。在机器运行期间使用Biacore HBS-EP缓冲液(BR-1001-88;GE-Healthcare,Uppsala)。使用BIAevaluation 4.1软件进行结合传感图的动力学分析。通过在逐渐增加的分析物浓度下在所有传感器芯片表面上生成的所有传感图的数学传感图拟合(Langmuir相互作用模型[A+B=AB])确定动力学常数和亲和力。还基于二价分析物传感图拟合模型[A+B=AB;AB+B=AB₂]分析了传感图,包括成分分析,以生成对确定的Langmuir抗体-靶标亲和力的二价贡献(例如,亲合力贡献)的估计值。每种浓度的最佳拟合曲线(最小Chi₂)用于计算动力学常数和亲和力。这些亲和力实验的总结显示在表2(在大肠杆菌中制备的人LIF)和表3(在HEK 293细胞中制备的人LIF)中。

[0152]

表2. 5D8在人源化后改善的结合		K_D [pM]
hLIF (大肠杆菌)	Langmuir 1:1 传感图拟合	二价分析物拟合
小鼠1B2	400±210	1500±200
r5D8 (大鼠)	130±30	780±130
h5D8 (人源化)	26±14	82±25

[0153]

表3. 5D8在人源化后改善的结合		K_D [pM]
hLIF (HEK 293)	Langmuir 1:1 传感图拟合	二价分析物拟合
小鼠1B2	320±150	3900±900
r5D8 (大鼠)	135±100	410±360
h5D8 (人源化)	13±6	63±30

[0154] 来自该组实验的Langmuir 1:1传感图拟合模型表明,人源化5D8(h5D8)抗体与人LIF结合的亲和力是小鼠1B2和r5D8的大约10-25倍。

[0155] 接下来,通过SPR针对多种物种的LIF测试了h5D8抗体。对来源于不同物种和表达系统的重组LIF分析物进行了h5D8SPR结合动力学:人LIF(大肠杆菌,HEK293细胞);小鼠LIF(大肠杆菌,CHO细胞);大鼠LIF(大肠杆菌);食蟹猴LIF(酵母,HEK293细胞)。

[0156] 材料与方法

[0157] 通过非共价的Fc特异性捕获将h5D8抗体固定到传感器芯片表面上。使用重组的Ig(Fc)特异性金黄色葡萄球菌蛋白A/G作为捕获剂,允许将抗LIF抗体在空间上均匀且灵活地呈递给LIF分析物。LIF分析物的来源如下:人LIF(来自大肠杆菌;Millipore参考LIF 1050);人LIF(来自HEK细胞ACRO Biosystems LIF-H521);小鼠LIF(大肠杆菌;Millipore目录号NF-LIF2010);小鼠LIF(来自CHO细胞;Reprokine目录号RCP09056);猴LIF(酵母Kingfisher Biotech目录号RP1074Y);在HEK-293细胞中产生的猴LIF。总体上,h5D8表现出与来自几个物种的LIF结合。该亲和力实验的总结在表4中示出。

表4. 人源化5D8的广谱物种反应性	Langmuir 1:1传感图拟合		
分析物	平均K _a (1/Ms) [10 ⁵]	平均K _d (1/S) [10 ⁻⁵]	平均K _D [pM]
人LIF(大肠杆菌)	8.5 ± 0.7	7.2 ± 0.7	86 ± 9
[0158] 人LIF(HEK-293)	5.5 ± 0.02	3.1 ± 0.7	56 ± 13
	小鼠LIF(大肠杆菌)	21.4 ± 3.7	5.7 ± 1.0
	小鼠LIF(CHO细胞)	6.5 ± 0.7	1.1 ± 0.3
	食蟹猴LIF(酵母)	6.3 ± 0.8	5.4 ± 0.7
	食蟹猴LIF(HEK-293)	2.4 ± 0.2	3.3 ± 0.3
			134 ± 6

[0159] 实施例5-人源化克隆5D8在体外抑制LIF诱导的STAT3磷酸化

[0160] 为了确定h5D8的生物活性,在LIF活化的细胞培养模型中测试人源化形式和亲本形式。图2A显示,当人神经胶质瘤细胞系与人LIF一起孵育时,人源化克隆表现出对STAT3磷酸化(Tyr 705)的抑制作用增强。图2B显示了用不同稀释度的h5D8抗体重复进行的与图2A相同设置的实验。

[0161] 方法

[0162] 将U251神经胶质瘤细胞以150,000个细胞/孔的密度接种在6孔板中。在任何处理之前,将细胞在完全培养基中培养24小时。之后,用浓度为10μg/ml的r5D8抗LIF抗体或h5D8抗LIF抗体处理细胞过夜,或不予处理(对照细胞)。

[0163] 处理后,在含有磷酸酶和蛋白酶抑制剂的放射免疫沉淀测定(RIPA)裂解缓冲液中获得蛋白质,定量(BCA-蛋白质测定,Thermo Fisher Scientific),并在Western印迹分析中使用。对于Western印迹分析,将膜在5%脱脂奶粉-TBST中封闭1小时,并与第一抗体一起孵育过夜(p-STAT3,目录号9145,Cell Signaling,或STAT3,目录号9132,Cell Signaling)或30分钟(β-肌动蛋白-过氧化物酶,目录号A3854,Sigma-Aldrich)。然后用TBST洗涤膜,如果需要,与第二抗体一起孵育,并再次洗涤。通过化学发光(SuperSignal Substrate,目录号34076,Thermo Fisher Scientific)检测蛋白质。

[0164] 实施例6-h5D8抗体处理对U-251细胞中LIF内源水平的IC₅₀值。

[0165] 我们还在U-251细胞中在血清饥饿条件下对h5D8的生物抑制测得低至490皮摩尔的IC₅₀(图3A)。见代表性结果图3A和3B以及表5。

表 5								
细胞系组织	细胞系名称	处理	IC ₅₀ (nM)			IC ₉₀ (nM)	JAK 抑制 (%)	
内源性 LIF 条件			n=1	n=2	平均值	SD	平均值	平均值
[0166] GBM	U251	h5D8	0.78	0.54	0.66	0.12	4.1	84%
		r5D8	1.6	1.5	1.4	0.15	8.5	86%
			1.2	1.4				

[0167] 方法

[0168] 以每个6cm平板600,000个细胞(每种条件)接种U-251细胞。在血清饥饿(0.1% FBS)下,在37℃下用相应浓度(滴定)的h5D8处理细胞过夜。作为pSTAT3的阳性对照,使用重组LIF(R&D#7734-LF/CF)在37℃下以1.79nM刺激细胞10min。作为pSTAT3的阴性对照,JAK I抑制剂(Calbiochem#420099)在37℃下以1uM使用30min。然后按照Meso Scale Discovery Multi-Spot Assay System Total STAT3(目录号K150SND-2)和Phospho-STAT3(Tyr705)(目录号K150SVD-2)试剂盒方案,在冰上收获细胞用于获得裂解物,以测定可通过MSD Meso Sector S600检测的蛋白质水平。

[0169] 实施例7-与人LIF特异性结合的另外的抗体

[0170] 鉴定了特异性结合人LIF的其它大鼠抗体克隆(10G7和6B5),并且其结合特性的总结显示在以下表6中,克隆1B2用作比较。

[0171] 方法

[0172] 对固定在CM5光学传感器芯片表面上的抗LIF mAb 1B2、10G7和6B5进行动力学实时结合分析,应用重组LIF靶蛋白[人LIF(大肠杆菌);Millipore目录号LIF 1010和人LIF(HEK293细胞);ACRO Biosystems目录号LIF-H521b]作为分析物。

[0173] 使用Langmuir 1:1结合模型,应用全局(同时拟合传感图集)以及单曲线拟合算法,通过数学传感图拟合获得动力学常数和亲和力。通过k_{obs}分析评估全局拟合的似真性。

表6. 另外的抗LIF抗体的亲和力 测量		Langmuir 1:1传感图拟合		
分析物	克隆	平均K _a (1/Ms)	平均K _d (1/S)	平均K _D [nM]
[0174]	人LIF (大肠杆菌)	1B2	1.1 ± 0.4E5	1.1 ± 0.3E-3
	人LIF (HEK-293)	1B2	2.0 ± 0.04E6	1.4 ± 0.2E-3
	人LIF (大肠杆菌)	10G7	7.9 ± 5.8E4	6.0 ± 2.3E-4
	人LIF (HEK-293)	10G7	3.6 ± 1.75E5	3.1 ± 0.5E-4
	人LIF (大肠杆菌)	6B5	N/A	N/A
	人LIF (HEK-293)	6B5	3.6 ± 1.7E5	3.1± 0.5E-4

[0175] 实施例8-另外的抗LIF抗体在体外抑制LIF诱导的STAT3磷酸化

[0176] 测试另外的克隆在细胞培养中抑制LIF诱导的STAT3磷酸化的能力。如图4所示,与1B2克隆相比,克隆10G7和先前详述的r5D8表现出对LIF诱导的STAT3磷酸化的高度抑制。包括抗LIF多克隆抗血清(阳性)作为阳性对照,而6B5不表现出抑制,这可以通过6B5可能不与本实验中使用的非糖基化LIF结合来解释。

[0177] 方法

[0178] 将来源于患者的神经胶质瘤细胞以150,000个细胞/孔的密度接种在6孔板中。在任何处理之前,将细胞在GBM培养基中培养24小时,该培养基由补充有B27 (Life Technologies)、青霉素/链霉素和生长因子(20ng/ml EGF和20ng/ml FGF-2 [PeproTech])的Neurobasal培养基(Life Technologies)组成。第二天,用大肠杆菌中产生的重组LIF或重组LIF加上指定抗体的混合物处理或不处理细胞15分钟(抗体的终浓度为10μg/ml,重组LIF的终浓度为20ng/ml)。处理后,在含有磷酸酶和蛋白酶抑制剂的放射免疫沉淀测定(RIPA)裂解缓冲液中获得蛋白质,定量(BCA-蛋白质测定, Thermo Fisher Scientific),并在Western印迹分析中使用。对于Western印迹分析,将膜在5%脱脂奶粉-TBST中封闭1小时,并与第一抗体一起孵育过夜(p-STAT3, 目录号9145, Cell Signaling)或30分钟(β-肌动蛋白-过氧化物酶, 目录号A3854, Sigma-Aldrich)。然后用TBST洗涤膜,如果需要,与第二抗体一起孵育,并再次洗涤。通过化学发光(SuperSignal Substrate, 目录号34076, Thermo Fisher Scientific)检测蛋白质。

[0179] 实施例9-LIF在多种肿瘤类型中高表达

[0180] 对多种人类肿瘤类型进行免疫组织化学,以确定LIF表达的程度。如图5所示,LIF在多形性胶质母细胞瘤(GBM)、非小细胞肺癌(NSCLC)、卵巢癌和结直肠癌(CRC)中高表达。

[0181] 实施例10-人源化克隆h5D8抑制非小细胞肺癌小鼠模型中的肿瘤生长

[0182] 为了确定人源化5D8克隆在体内抑制LIF阳性癌症的能力,在非小细胞肺癌(NSCLC)的小鼠模型中测试该抗体。图6显示与媒介物阴性对照相比,用该抗体处理的小鼠

中肿瘤生长减少。

[0183] 方法

[0184] 具有高LIF水平的鼠非小细胞肺癌 (NSCLC) 细胞系KLN205用表达萤火虫萤光素酶基因的慢病毒稳定感染,以用于体内生物发光监测。为了开发小鼠模型,通过肋间穿刺将 5×10^5 个KLN205非小细胞肺癌 (NSCLC) 细胞原位植入到8周龄免疫活性同系DBA/2小鼠的左肺中。每周两次通过腹膜内施用对照媒介物或15mg/kg或30mg/kg h5D8抗体处理小鼠,并通过生物发光监测肿瘤生长。对于生物发光成像,小鼠在1-2%吸入异氟烷麻醉下接受0.2mL 15mg/mL D-萤光素的腹膜内注射。使用由冷却的高灵敏度CCD相机组成的IVIS系统2000系列(Xenogen Corp., Alameda, CA, USA) 监测生物发光信号。使用Living Image软件(Xenogen Corp.) 对成像数据进行网格化,并将每个框选出来的区域中的总生物发光信号进行积分。使用感兴趣区域(ROI) 中的总光子通量发射(光子/秒) 分析数据。结果表明,用h5D8抗体治疗促进肿瘤消退。数据呈现为平均值±SEM。

[0185] 实施例11-h5D8抑制多形性胶质母细胞瘤小鼠模型中的肿瘤生长

[0186] 在使用表达萤光素酶的人细胞系U251的原位GBM肿瘤模型中,在每周两次通过腹膜内(IP) 注射施用300μg r5D8和h5D8的小鼠中,r5D8显著减小了肿瘤体积。该研究的结果在图7A中示出(治疗后第26天的定量)。还使用用200μg或300μg人源化h5D8处理的小鼠进行了该实验,在处理7天后显示肿瘤在统计学上显著减小。

[0187] 方法

[0188] 收获稳定表达萤光素酶的U251细胞,在PBS中洗涤,以400g离心5min,重悬于PBS中,并用自动细胞计数器(Countess, Invitrogen) 计数。将细胞保持在冰上以维持最佳活力。通过腹膜内施用氯胺酮(Ketolar50®)/Xylacine(Rompún®)(分别为75mg/kg和10mg/kg) 麻醉小鼠。将每只小鼠小心地置于立体定位装置中并固定。用脱毛膏除去头部毛发,并用手术刀切开头部皮肤以暴露颅骨。用钻头在Lambda外侧1.8mm和前侧1mm处仔细地制作小切口。使用Hamilton 30G注射器将5μL细胞接种到右侧纹状体中,深度为2.5mm。用Hystoacryl组织粘合剂(Braun) 封闭头部切口,并给小鼠注射皮下镇痛药美洛昔康(Meloxicam)(Metacam®)(1mg/kg)。植入每只小鼠的最终细胞数为 3×10^5 。

[0189] 每周两次通过腹膜内施用h5D8处理小鼠。在肿瘤细胞接种后立即在第0天开始处理。小鼠接受总共2剂h5D8或媒介物对照。

[0190] 体重和肿瘤体积:每周2次测量体重,并在第7天通过生物发光对肿瘤生长进行定量(Xenogen IVIS Spectrum)。为了量化体内的生物发光活性,使用异氟烷麻醉小鼠,并腹膜内注射萤光素底物(PerkinElmer)(167μg/kg)。

[0191] 在第7天评价通过生物发光(Xenogen IVIS Spectrum) 测定的肿瘤大小。计算每个处理组的各个肿瘤测量值和平均值±SEM。统计显著性通过非配对非参数Mann-Whitney U-检验来确定。

[0192] 实施例12-h5D8抑制卵巢癌小鼠模型中的肿瘤生长

[0193] 在另外两个同系肿瘤模型中评价r5D8的功效。在卵巢原位肿瘤模型ID8中,通过腹部体积测量表明,每周两次腹膜内施用300μg r5D8显著抑制了肿瘤生长(图8A和8B)。图8C中的结果显示,h5D8在200μg及以上的剂量时也减小肿瘤体积。

[0194] 方法

[0195] ID8细胞在补充有10%胎牛血清(FBS)(Gibco, Invitrogen)、40U/mL青霉素和40 μ g/mL链霉素(PenStrep)(Gibco, Invitrogen)和0.25 μ g/mL Plasmocin(Invivogen)的Dulbecco改良Eagle培养基(DMEM)(Gibco, Invitrogen)中培养。

[0196] 收获ID8细胞,在PBS中洗涤,以400g离心5min,并重悬于PBS中。将细胞保持在冰上以维持最佳活力,并用27G针腹膜内注射200 μ L细胞悬浮液。植入小鼠的最终细胞数为5x10⁶。

[0197] 如图所示,每周两次通过以不同剂量腹膜内施用h5D8处理小鼠。每周2次测量体重,并通过使用卡尺(Fisher Scientific)测量腹围来监测肿瘤进展。

[0198] 实施例13-r5D8抑制结直肠癌小鼠模型中的肿瘤生长

[0199] 在具有皮下结肠CT26肿瘤的小鼠中,r5D8(每周两次腹膜内施用300 μ g)显著抑制肿瘤生长(图9A和9B)。

[0200] 方法

[0201] CT26细胞在补充有10%胎牛血清(FBS)、40U/mL青霉素和40 μ g/mL链霉素(PenStrep)和0.25 μ g/mL Plasmocin的Roswell Park Memorial Institute培养基(RPMI[Gibco, Invitrogen])中培养。

[0202] CT26细胞(8x 10⁵)用胰蛋白酶消化,用PBS冲洗,以400g离心5分钟,并重悬于100 μ L PBS中。将细胞保持在冰上以避免细胞死亡。使用27G针通过皮下注射向小鼠施用CT26细胞。

[0203] 从CT26细胞植入后第3天开始,每周两次通过腹膜内注射(IP)向小鼠施用300 μ g r5D8或媒介物对照。

[0204] 每周三次测量体重和肿瘤体积。使用卡尺(Fisher Scientific)测量肿瘤体积。

[0205] 实施例14-r5D8减少肿瘤模型中的炎性浸润

[0206] 在U251GBM原位模型中,用r5D8处理的肿瘤中CCL22(M2极化巨噬细胞的标志物)的表达显著降低,如图10A所示。在使用h5D8的生理学相关的器官型组织切片培养模型中也证实了这一发现,其中三个患者样品在图10B(比较左上方,对照,与右下方,治疗,针对MRC1和CCL22两者)所示的处理后显示CCL22和CD206(MRC1)表达(也是M2巨噬细胞的标志物)显著降低。此外,r5D8还减少了同系ID8中的CCL22⁺M2巨噬细胞(图10C)和免疫活性小鼠中的CT26(图10D)肿瘤。

[0207] 实施例15-r5D8增加非髓样效应细胞

[0208] 为了研究其它免疫机制,评价了r5D8对肿瘤微环境内的T细胞和其它非髓样免疫效应细胞的影响。在卵巢原位ID8同系模型中,r5D8处理导致肿瘤内NK细胞增加以及总的活化CD4⁺和CD8⁺T细胞增加,如图11A所示。类似地,在结肠同系CT26肿瘤模型中,r5D8增加肿瘤内NK细胞,增加CD4⁺和CD8⁺T细胞,并倾向于减少CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T⁻reg细胞,如图11B所示。在r5D8处理后,在同系原位KLN205肿瘤模型中也观察到CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺T⁻reg细胞减少的趋势,如图11C所示。与T细胞介导功效的要求一致,CT26模型中CD4⁺和CD8⁺T细胞的消耗抑制了r5D8的抗肿瘤功效,如图12所示。

[0209] CT26细胞在补充有10%胎牛血清(FBS[Gibco, Invitrogen])、40U/mL青霉素和40 μ g/mL链霉素(PenStrep[Gibco, Invitrogen])和0.25 μ g/mL Plasmocin(Invivogen)的RPMI培养基(Gibco, Invitrogen)中培养。收集CT26细胞(5x 10⁵),用PBS冲洗,以400g离心5分

钟，并重悬于100μL PBS中。将细胞保持在冰上以避免细胞死亡。使用27G注射器通过皮下注射将CT26细胞在肋腹侧施用于小鼠。如研究设计中所示，每周两次通过腹膜内施用r5D8处理小鼠。如研究设计中所示，每周两次通过腹膜内注射(IP)向小鼠施用媒介物对照(PBS)、大鼠r5D8和/或抗CD4和抗CD8。所有抗体处理均伴随施用。

[0210] 实施例16-与人LIF复合的h5D8的晶体结构

[0211] 将h5D8的晶体结构以3.1埃的分辨率解析，以便确定h5D8所结合的LIF上的表位，并确定参与结合的h5D8的残基。共晶结构显示，LIF的N末端环位于h5D8的轻链和重链可变区之间的中心位置(图13A)。另外，h5D8与LIF的螺旋A和C上的残基相互作用，从而形成不连续的和构象的表位。结合由数个盐桥、H键和范德华相互作用驱动(表7,图13B)。LIF的h5D8表位跨越与gp130相互作用的区域。参见Boulanger,M.J.,Bankovich,A.J.,Kortemme,T.,Baker,D.&Garcia,K.C.Convergent mechanisms for recognition of divergent cytokines by the shared signaling receptor gp130.Molecular cell 12,577-589(2003)。结果总结在下面的表7中并描绘在图13中。

表 7. 与人 LIF 复合的 h5D8 的 X-射线晶体结构的总结

LIF 残基 (表位)	相互作用类型	h5D8 残基 (互补位, Kabat 编号)
Ala13	VDW	L-Tyr49, L-Asn53
Ile14-O	HB	L-Ser50-OG
Ile	VDW	L-His30, L-Tyr32, L-Tyr49, L-Ser50
		H-Trp97
Arg15-NE	SB	L-Glu55-OE1, L-Glu55-OE2
Arg15-NH1	SB	L-Glu55-OE1, L-Glu55-OE2
Arg15-NH2	SB	L-Glu55-OE1, L-Glu55-OE2
Arg15-O	HB	L-Asn34-ND2
Arg15	VDW	L-Asn34, L-Leu46, L-Tyr49, L-Glu55, L-Ser56
		H-Glu96, H-Trp97, H-Asp98, H-Leu99, H-Asp101
His16-NE2	SB	H-Asp101-OD2
His16	VDW	L-Tyr32, L-Asn34, L-Met89
		H-Trp95, H-Glu96, H-Trp97, H-Asp101
Pro17	VDW	L-Tyr32, L-Ala91
		H-Trp97
Cys18	VDW	L-Tyr32
		H-Trp33, H-Trp97
His19-NE2	SB	H-Glu96-OE1, H-Glu96-OE2

[0212]

His19	VDW	H-His31, H-Trp33, H-Glu96
Asn20-OD1	HB	H-Lys52-NZ
Asn20-ND2	HB	H-Asp53-OD1
Asn20	VDW	H-Trp33, H-Lys52, H-Asp53
Gln25-NE2	HB	H-Asp53-OD2
Gln25	VDW	H-His31, H-Ser52C, H-Asp53
Gln29	VDW	H-His31
Gln32	VDW	H-Lys52B
Asp120-OD2	HB	H-Ser30-OG
Asp120	VDW	H-Thr28, H-Ser30
Arg123-NE	HB	H-Thr28-OG
Arg123	VDW	H-Thr28
Gly124	VDW	H-His31
Leu125	VDW	H-His31
Ser127-OG	HB	H-Asp98-OD2
Ser127-O	HB	H-Trp97-NE1
Ser127	VDW	H-His31, H-Trp97, H-Asp98
Asn128-OD1	HB	H-His31-NE2
Asn128	VDW	H-His31
Leu130	VDW	H-Trp97
Cys131	VDW	H-Trp97
Cys134	VDW	H-Trp97
Ser135-O	HB	L-His30-NE2
Ser135	VDW	L-His30
His138	VDW	L-His30
VDW , 范德华 低能量结合; HB , 氢键(中等能量结合); SB , 盐桥(高能量结合)		

[0213]

[0214] 方法

[0215] LIF在HEK 293S(Gnt I^{-/-})细胞中瞬时表达,并使用Ni-NTA亲和色谱法纯化,随后在20mM Tris pH 8.0和150mM NaCl中进行凝胶过滤色谱法。重组h5D8Fab在HEK 293F细胞中瞬时表达,并使用KappaSelect亲和色谱法纯化,随后进行阳离子交换色谱法。将纯化的h5D8Fab和LIF以1:2.5的摩尔比混合,并在室温下孵育30min,之后使用EndoH进行去糖基化。随后使用凝胶过滤色谱法纯化复合物。将复合物浓缩至20mg/mL,并使用稀疏基质筛网进行结晶试验。晶体在4℃下在含有19% (v/v) 异丙醇、19% (w/v) PEG 4000、5% (v/v) 甘油、0.095M柠檬酸钠pH 5.6的条件下形成。晶体在Canadian Light Source (CLS) 的08ID-1光束线处衍射到3.1A的分辨率。根据Kabsch等人,Xds.Acta crystallographica.Section D, Biological crystallography 66, 125-132 (2010)

[0216] 所述,使用XDS收集、处理和缩放数据。根据McCoy等人,Phaser crystallographic software.J Appl Crystallogr 40, 658-674 (2007) 所述,使用Phaser通过分子置换确定结构。使用Coot和phenix.refine进行了几次模型构建和精修的迭代,直到结构汇集于可接受

的 R_{work} 和 R_{free} 。分别参见Emsley等人,Features and development of Coot.Acta crystallographica.Section D,Biological crystallography 66,486-501 (2010);和Adams等人,PHENIX:a comprehensive Python-based system for macromolecular structure solution.Acta crystallographica.Section D,Biological crystallography 66,213-221 (2010)。这些图是在PyMOL (PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0Schrödinger,LLC) 中生成的。

- [0217] 实施例17-h5D8对LIF具有高度特异性
 [0218] 我们试图测试h5D8与其它LIF家族成员的结合以确定结合特异性。使用Octet96分析,当这两种蛋白质均在大肠杆菌中产生时,h5D8与人LIF的结合是与LIF最高同源性IL-6家族成员制癌蛋白M(OSM)的结合的大约100倍。当这两种蛋白质均在哺乳动物系统中产生时,h5D8不表现出与OSM结合。数据总结在表8中。

表 8: 如通过 Octet 测量的, h5D8 对细胞因子的亲和力测量值的总结

	KD [M]	k_{on} [1/Ms]	k_{dis} [1/s]
[0219]	h5D8 + huLIF (大肠杆菌)	4.3E-10 +/- 2.0E-11	3.1E+05 +/- 3.1E+03
	h5D8 + huLIF (哺乳动物)	1.3E-09 +/- 7.2E-11	1.2E+05 +/- 1.3E+03
	h5D8 + huOSM (大肠杆菌)	3.6E-08 +/- 1.4E-09	8.5E+04 +/- 3.1E+03
	h5D8 + huOSM (哺乳动物)	ND	ND
	h5D8 + huIL-6 (大肠杆菌)	ND	ND

ND = 无结合

- [0220] 方法
 [0221] Octet结合实验:按照制造商提供的手册使用和制备试剂。使用Octet Data Acquisition软件ver.9.0.0.26如下进行基本动力学实验:传感器/程序的设置:i) 平衡(60秒);ii) 加载(15秒);iii) 基线(60秒);iv) 缔合(180秒);和v) 解离(600秒)。
 [0222] h5D8对细胞因子的Octet亲和力:使用Octet Data Acquisition软件ver.9.0.0.26如下进行基本动力学实验:Amine Reactive 2ndGeneration Biosensors (AR2G) 在水中水合至少15分钟。使用Amine Coupling Second Generation Kit,根据ForteBio Technical Note 26(请参见参考文献)进行h5D8与生物传感器的胺缀合。浸渍步骤如下在30°C、1000rpm下进行:i) 在水中平衡60秒;ii) 在20mM ECD、10mM磺基-NHS水溶液中活化300秒;iii) 在10mM乙酸钠pH 6.0中固定10μg/ml h5D8 600秒;iv) 在1M乙醇胺pH 8.5中猝灭300秒;v) 水中基线120秒。然后在30°C、1000rpm下用以下浸渍和读取步骤进行力学实验:vi) 在1X力学缓冲液中基线60秒;vii) 在1X力学缓冲液中适当连续稀释度的细胞因子缔合180秒;viii) 在1X力学缓冲液中解离300秒;ix) 分别在10mM甘氨酸pH 2.0与1X力学缓冲液之间交替的三次再生/中和循环(每次5秒,3个循环)。再生后,将生物传感器重新用于随后的结合分析。

- [0223] 由哺乳动物细胞产生的人重组LIF来自ACROBiosystems (LIF-H521b);在哺乳动物

细胞中产生的人重组OSM来自R&D(8475-0M/CF)；在大肠杆菌细胞中产生的人重组OSM来自R&D(295-0M-050/CF)。

[0224] 实施例18-h5D8fab的晶体结构

[0225] 确定了h5D8Fab在广谱化学条件下的五种晶体结构。这些结构的高分辨率表明，CDR残基的构象与较小的柔性相关，并且在不同的化学环境中高度相似。该抗体的独特特征是在可变重链区的第100位存在非规范半胱氨酸。结构分析表明，该半胱氨酸是未配对的并且基本上溶剂不可及。

[0226] 通过木瓜蛋白酶消化其IgG获得H5D8Fab，随后使用标准亲和力、离子交换和大小色谱技术进行纯化。使用蒸汽扩散法获得晶体，并允许确定分辨率范围在1.65 Å至2.0 Å之间的五种晶体结构。所有结构均在相同的结晶学空间群中解析，具有相似的晶胞尺寸(P212121, a~53.8 Å, b~66.5 Å, c~143.3 Å)，尽管在5.6、6.0、6.5、7.5和8.5这五种不同pH水平的结晶条件下。因此，这些晶体结构允许在广谱化学条件下比较不受晶体堆积假象影响的h5D8Fab的三维布置。

[0227] 观察所有互补决定区(CDR)残基的电子密度，随后对其进行建模。值得注意的是，LCDR1和HCDR2采取细长的构象，其与浅LCDR3和HCDR3区域一起在互补位的中心形成结合沟(图14A)。这五种结构在所有残基上高度相似，全原子均方根偏差的范围为0.197 Å至0.327 Å(图14A)。这些结果表明，CDR残基的构象在各种化学环境中得到保持，包括范围为5.6至8.5的pH水平和范围为150mM至1M的离子强度。对h5D8互补位的静电表面的分析显示，带正电荷和负电荷的区域同样有助于亲水性，没有普遍存在的疏水性斑块。h5D8在HCDR3基部(Cys100)具有非规范半胱氨酸的罕见特征。在所有五种结构中，该游离半胱氨酸是有序的，不会形成任何二硫键加扰。另外，它不会通过添加Cys(半胱氨酰化)或谷胱甘肽(谷胱甘肽化)被修饰，并且与重链的Leu4、Phe27、Trp33、Met34、Glu102和Leu105的主链和侧链原子形成范德华相互作用(3.5-4.3 Å距离)(图14B)。最后，Cys100是主要隐藏的结构残基，其似乎参与介导CDR1和HCDR3的构象。因此，不可能与其它半胱氨酸具有反应性，如通过在我们的五种晶体结构中该区域的均匀布置所观察到的。

[0228] 方法

[0229] H5D8-1IgG从Catalent Biologics获得，并配制在25mM组氨酸、6%蔗糖、0.01%聚山梨醇酯80(pH 6.0)中。使用10K MWCO浓缩器(Millipore)将配制的IgG充分缓冲液交换到PBS中，然后用1:100微克木瓜蛋白酶(Sigma)在37°C下在PBS、1.25mM EDTA、10mM半胱氨酸中消化1小时。使用AKTA Start色谱系统(GE Healthcare)使木瓜蛋白酶消化的IgG流过蛋白A柱(GE Healthcare)。回收含有h5D8Fab的蛋白A流过滤液，并使用10K MWCO浓缩器(Millipore)缓冲液交换到20mM乙酸钠pH 5.6中。使用AKTA Pure色谱系统(GE Healthcare)将所得样品上样到Mono S阳离子交换柱(GE Healthcare)上。用1M氯化钾梯度洗脱得到主要的h5D8Fab峰，使用Superdex 200 Increase凝胶过滤柱(GE Healthcare)在20mM Tris-HCl、150mM氯化钠pH 8.0中回收、浓缩并纯化至大小均匀。在还原和非还原条件下通过SDS-PAGE确认h5D8Fab的高纯度。

[0230] 使用10K MWCO浓缩器(Millipore)将纯化的h5D8Fab浓缩至25mg/mL。使用Oryx 4分配器(Douglas Instruments)，在20°C下使用稀疏基质96-条件商业筛选JCSG TOP96

(Rigaku Reagents) 和MCSG-1 (Anatrace) 建立蒸汽扩散结晶实验。在以下五种结晶条件下4天后获得并收获晶体:1) 0.085M 柠檬酸钠, 25.5% (w/v) PEG 4000, 0.17M 乙酸铵, 15% (v/v) 甘油, pH 5.6; 2) 0.1M MES, 20% (w/v) PEG 6000, 1M 氯化锂, pH 6.0; 3) 0.1M MES, 20% (w/v) PEG 4000, 0.6M 氯化钠, pH 6.5; 4) 0.085M HEPES 钠, 17% (w/v) PEG 4000, 8.5% (v/v) 2-丙醇, 15% (v/v) 甘油, pH 7.5; 和5) 0.08M Tris, 24% (w/v) PEG4000, 0.16M 氯化镁, 20% (v/v) 甘油, pH 8.5。在液氮中快速冷冻之前, 根据需要, 向含有晶体的母液中补充5-15% (v/v) 甘油或10% (v/v) 乙二醇。在Advanced Photon Source, beamline 23-ID-D (Chicago, IL) 对晶体进行X射线同步辐射, 并在Pilatus3 6M检测器上记录衍射图案。使用XDS处理数据, 并使用Phaser通过分子置换确定结构。精修在PHENIX中进行, 在Coot中进行迭代模型构建。图形在PyMOL中生成。所有软件都通过SBGrid访问。

[0231] 实施例19-h5D8在半胱氨酸100处的突变保持结合

[0232] 对h5D8的分析揭示了重链可变区中第100位的游离半胱氨酸残基 (C100)。通过用每种天然存在的氨基酸置换C100生成H5D8变体, 以表征针对人和小鼠LIF的结合和亲和力。使用ELISA和Octet试验表征结合。结果总结于表9中。ELISA EC50曲线显示在图15中 (图15A 人LIF, 图15B 小鼠LIF)。

表 9. 通过 Octet 试验确定的亲和力和通过 ELISA 确定的 EC50 的总结

突变	亲和力/ k_D (M)		结合 EC50 (nM)	
	人 LIF	小鼠 LIF	人 LIF	小鼠 LIF
C100	<1.0E-12 ± 2.252E-11	9.946E-11 ± 8.272E-12	0.09878	0.1605
C100S	8.311E-10 ± 5.886E-11	2.793E-09 ± 5.925E-11	n.d.	n.d.
C100Q	3.87E-09 ± 1.55E-10	2.84E-09 ± 4.85E-11	10.18	26.33
C100N	5.59E-09 ± 1.01E-10	6.68E-09 ± 9.8E-11	13.18	45.87
C100E	2.67E-09 ± 4.64E-11	4.1E-09 ± 7.56E-11	7.179	25.3
C100D	2.02E-09 ± 8.08E-11	6.49E-09 ± 7.16E-11	11.89	22.88
C100T	4.36E-10 ± 2.1E-11	1.02E-09 ± 1.77E-11	5.575	8.753
C100G	2.49E-09 ± 4.2E-11	3.33E-09 ± 5.42E-11	21.94	40.17
C100P	2.74E-10 ± 2.97E-10	<1.0E-12 ± 7.64E-10	34.44	101.9
C100A	<1.0E-12 ± 2.713E-11	<1.0E-12 ± 1.512E-11	0.6705	0.9532
C100V	<1.0E-12 ± 1.805E-11	<1.0E-12 ± 8.086E-12	0.2785	0.3647
C100L	<1.0E-12 ± 1.963E-11	1.998E-10 ± 1.055E-11	0.454	0.547
C100I	<1.0E-12 ± 1.424E-11	3.361E-11 ± 7.545E-12	0.299	0.3916
C100M	1.155E-09 ± 3.400E-11	2.676E-09 ± 2.449E-11	0.7852	1.563
C100F	4.376E-09 ± 1.127E-10	1.147E-08 ± 9.099E-11	8.932	21.53
C100Y	1.444E-08 ± 1.159E-09	2.514E-08 ± 2.047E-09	n.d.	n.d.
C100W	2.508E-08 ± 7.036E-09	4.819E-08 ± 4.388E-09	n.d.	n.d.
C100H	1.304E-10 ± 1.416E-10	4.284E-09 ± 1.231E-10	8.254	n.d.
C100K	7.477E-08 ± 1.581E-09	6.053E-08 ± 2.589E-09	n.d.	n.d.
C100R	1.455E-07 ± 6.964E-09	5.142E-08 ± 3.247E-09	n.d.	n.d.

[0233]

方法

[0235] ELISA: 通过ELISA测定h5D8C100变体与人和小鼠LIF的结合。将重组人或小鼠LIF蛋白质以1 μ g/mL在Maxisorp 384孔板上于4℃包被过夜。将板用1x封闭缓冲液在室温下封闭2小时。添加滴定量的每种h5D8C100变体，并使其在室温下结合1小时。用PBS+0.05%吐温-20将板洗涤三次。加入HRP缀合的抗人IgG，并使其在室温下结合30min。将板用PBS+0.05%吐温-20洗涤三次，并使用1x TMB底物显色。用1M HCl终止反应，测量450nm处的吸光度。使用Graphpad Prism进行图形的生成和非线性回归分析。

[0236] Octet RED96: 使用Octet RED96系统通过BLI测定h5D8C100变体对人和小鼠LIF的亲和力。在1x动力学缓冲液中，在30秒基线后，将h5D8C100变体以7.5 μ g/mL加载到抗人Fc生物传感器上。滴定量的人或小鼠LIF蛋白质与加载的生物传感器缔合90秒，并使其在1x动力学缓冲液中解离300秒。通过数据分析软件使用1:1全局拟合模型计算KD。

[0237] 实施例20-h5D8在体外阻断LIF与gp130的结合

[0238] 为了确定h5D8是否阻止LIF与LIFR结合，使用Octet RED 96平台进行分子结合试验。通过抗人Fc捕获将H5D8加载到AHC生物传感器上。然后，将生物传感器浸入LIF中，并且

如预期的那样,观察到缔合(图16A,三个图中的中间图)。随后,将生物传感器浸入不同浓度的LIFR中。观察到剂量依赖性缔合(图16A,三个图中的右图)。对照实验证明该缔合是LIF特异性的(未示出),并且不是由于LIFR与h5D8或与生物传感器的非特异性相互作用。

[0239] 为了进一步表征h5D8和LIF的结合,进行了一系列ELISA结合实验。将H5D8和LIF预孵育,然后将其引入用重组人LIFR(hLIFR)或gp130包被的平板上。h5D8/LIF复合物与包被的底物之间缺乏结合将表明h5D8以某种方式破坏LIF与受体的结合。另外,也使用了不结合LIF的对照抗体(同种型对照,用(-)表示)或在已知结合位点结合LIF的抗体(B09不与gp130或LIFR竞争结合LIF;r5D8是h5D8的大鼠亲本形式)。ELISA结果证明,h5D8/LIF复合物能够结合hLIFR(与r5D8/LIF复合物一样),表明这些抗体不会阻止LIF/LIFR缔合(图16B)。相反,h5D8/LIF复合物(和r5D8/LIF复合物)不能结合重组人gp130(图16C)。这表明当LIF与h5D8结合时,LIF的gp130结合位点受到影响。

[0240] 对许多不同类型的人类组织进行定量实时PCR,以确定LIF和LIFR的表达水平。图17A和17B中示出的平均表达水平以每100ng总RNA的拷贝数给出。大多数组织表达每100ng总RNA至少100个拷贝。LIF mRNA表达在人类脂肪组织(肠系膜-回肠[1])、血管组织(脉络膜丛[6]和肠系膜[8])和脐带[68]组织中最高,在大脑组织(皮质[20]和黑质[28])中最低。LIFR mRNA表达在人类脂肪组织(肠系膜-回肠[1])、血管组织(肺[9])、大脑组织[11-28]和甲状腺[66]组织中最高,在PBMC[31]中最低。食蟹猴组织中的LIF和LIFR mRNA表达水平与在人类组织中观察到的水平相似,其中LIF表达在脂肪组织中高,而LIFR表达在脂肪组织中高并且在PBMC中低(数据未示出)。

[0241] 图17A和图17B的组织编号为:1-脂肪(肠系膜-回肠);2-肾上腺;3-膀胱;4-膀胱(膀胱三角区);5-血管(大脑:大脑中动脉);6-血管(脉络膜丛);7-血管(冠状动脉);8-血管(肠系膜(结肠));9-血管(肺);10-血管(肾);11-脑(杏仁核);12-脑(尾状核);13-脑(小脑);14-脑(皮质:前扣带回);15-脑(皮质:后扣带回);16-脑(皮质:额叶外侧);17-脑(皮质:额叶内侧);18-脑(皮质:枕叶);19-脑(皮质:顶叶);20-脑(皮质:颞叶);21-脑(中缝背核);22-脑(海马);23-脑(下丘脑:前部);24-脑(下丘脑:后部);25-脑(蓝斑);26-脑(延髓);27-脑(伏隔核);28-脑(黑质);29-乳房;30-盲肠;31-外周血单个核细胞(PBMC);32-结肠;33-背根神经节(DRG);34-十二指肠;35-输卵管;36-胆囊;37-心脏(左心房);38-心脏(左心室);39-回肠;40-空肠;41-肾(皮质);42-肾(髓质);43-肾(肾盂);44-肝脏(实质);45-肝脏(支气管:初级);46-肝脏(支气管:三级);47-肺(实质);48-淋巴腺(扁桃体);49-肌肉(骨骼肌);50-食道;51-卵巢;52-胰腺;53-松果腺;54-垂体;55-胎盘;56-前列腺;57-直肠;58-皮肤(包皮);69-脊髓;60-脾脏(实质);61-胃(胃窦);62-胃(胃体);63-胃(胃底);64-胃(幽门管);65-睾丸;66-甲状腺;67-气管;68-脐带;69-输尿管;70-子宫(子宫颈);71-子宫(子宫肌层);72-输精管。

[0242] 虽然本文已经显示并描述了本发明的优选实施方案,但是对于本领域技术人员显而易见的是,这些实施方案仅以举例的方式提供。在不脱离本发明的情况下,本领域技术人员现在将会想到许多变化、改变和替换。应当理解,本文所述的本发明实施方案的各种替代方案可用于实施本发明。

[0243] 本说明书中提及的所有出版物、专利申请、授权专利和其它文献均通过引用并入本文,如同具体且单独地指出每个单独的出版物、专利申请、授权专利或其它文献通过引用

而整体并入。如果与本公开内容中的定义相矛盾，则不包括通过引用而并入的文本中包含的定义。

[0244] 序列

SEQ ID NO	序列
1	GFTFSHAWMH
2	GFTFSHAW
3	HAWMH
4	GFTFSNAWMH
5	GFTFSNAW
6	NAWMH
7	SKFMY
8	SNFIH
9	QIKAKSDDYATYYAESVKG
10	IKAKSDDYAT
11	QIKDKSDNYATYYAESVKG
12	IKDKSDNYAT
13	WIYPGDGDTEYNQKFSE
14	WIYPGDGDIYEYNQKFIG
15	TCWEWDLDF
16	WEWDLDF
17	TCWEWYLDF
18	WEWYLDF
19	RDYHSSHFA
20	HYSSSMDA
21	RSSQSLLSDDGHTYLN
22	QSLLSDGHTY
23	RSSQSLLHNNGNTYLS
24	RSSQSLVHSNGNTFLS
25	SVSNLES
26	SVS
27	QVSNRFS
28	KVSNRFS
29	MQATHAPPYT
30	GQGTQYPYT
31	GQGTQYPFT
32	SGYYWN
33	TAGMQ
34	CISYDGRNNYNPSLKN
35	WINTQSGEPQYVDDFRG
36	RYRYYNYGSYYAVDY
37	WALYSEYDVMDY
38	RASENIDGYLE
39	KASENVDSYVS
40	AATLLAD
41	GASNRYT

[0246]

42	QHYYNTPLT
43	GQSRYPPPT
44	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAAS
45	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAAS
46	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS
47	EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATS
48	WVRQAPGKGLEWVA
49	WVRQAPGKGLEWVG
50	RFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYC
51	RFSISRDNAKNSLYLQMNSLRVEDTVVYYC
52	RFTISRDDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVYYC
53	WGQGTLTVSS
54	WGQGTMVTVSS
55	WGQGTTTVSS
56	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISC
57	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISC
58	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISC
59	DVVMTQSPLSQPVTLGQPASISC
60	WFQQRPGQSPRRLIY
61	WLQQRPGQPPRLLIY
62	WLLQKPGQPPQQLIY
63	WLQQRPGQSPRRLIY
64	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYC
65	GVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC
66	GVPNRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYC
67	GVPDRFNGSGSGTDFTLSISRVEAEDVGVYYC
68	FGQGTKLEIK
69	FGGGTKVEIK
70	FGQGTKVEIK
71	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVAQ IKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCW EWDLDFWGQGTLTVSS
72	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVG QIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTC WEWDLDFWGQGTMVTVSS
73	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVAQ IKAKSDDYATYYAESVKGRFSISRDNAKNSLYLQMNSLRVEDTVVYYCTCW EWDLDFWGQGTTTVSS
74	EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVGQ IKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVYYCTCW EWDLDFWGQGTLTVSS
75	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLLSDGHTYLNWFQQRPGQSPRRLI YSVSNLESGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIK
76	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLSDGHTYLNWLQQRPGQPPRLLIY SVSNLESGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQ GTKLEIK

[0247]

77	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLLSDGHTYLNWLLQKPGQPPQLLIY SVSNLESGVPNRFGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGG GTKVEIK
78	DVVMTQSPLSQPVTLGQPASISCRSSQSLLSDGHTYLNWLQQRPGQSPRRLI YSVSNLESGVPDRFNGSGSGTDFTLSIRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFG QGTKVEIK
79	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSHA WMHWVRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWLDFWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
80	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSQVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHA WMHWVRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWLDFWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSS SVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
81	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVESGGGVQGRSLRLSCAASGFTFSHA WMHWVRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFSISRDNAKNSLY LQMNSLRVEDTVVYYCTCWEWLDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
82	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHA WMHWVRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKSTLF LQMNNLKTEDTAVYYCTCWEWLDFWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
83	MVSSAQFLLLLLCFQGTRCDVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLLSD GHTYLNWFQQRPGQSPRRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE DVGLYYCMQATHAPPYTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLNNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

	84	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLSDG HTYLNWLQQRPGQPPRLLIYSVSNLESGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAED VGYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	85	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIVMTQTPLSLSTPGQPASISCRSSQSLLSDG HTYLNWLQQRPGQPPRLLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED VGLYYCMQATHAPPYTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	86	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDVVMTQSPLSQPVTLGQPASISCRSSQSLLSDG GHTYLNWLQQRPGQSPRLLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLSISRVEAED DVGYYCMQATHAPPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTTLSKA ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	87	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVAQ IKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCW EWDLDFWGQGTLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTWSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT DKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHTQKSLSLSPGK
[0248]	88	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVG QIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCW WEWDLDFWGQGTMVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT TVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHTQKSLSLSPGK
	89	EVQLVESGGGVQGRSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVAQ IKAKSDDYATYYAESVKGRFSISRDNAKNSLYLQMNSLRVEDTVVYYCTCW EWDLDFWGQGTTTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTWSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT DKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHTQKSLSLSPGK
	90	EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVGQ IKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVYYCTCW EWDLDFWGQGTLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTWSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT DKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHTQKSLSLSPGK

[0249]

91	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLLSDGHTYLNWFQQRPGQSPRRLI YSVNLESGVPDRFSGSGSTDFTLKISRVEADVGLYCMQATHAPPYTFG QGTKLEIKRTVAAPSVIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTTLSKADYEHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
92	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLSDGHTYLNWLQQRPGQPPRLIY SVSNLESGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEADVGVYYCMQATHAPPYTFGQ GTKLEIKRTVAAPSVIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTTLSKADYEHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
93	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLLSDGHTYLNWLLQKPGQPPQLLIY SVSNLESGVPNRFSFGSGSGTDFTLKISRVEADVGLYCMQATHAPPYTFGG GTKVEIKRTVAAPSVIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTTLSKADYEHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
94	DVVMTQSPLSQPVTLGQPASISCRSSQSLLSDGHTYLNWLQQRPGQSPRRLI YSVNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLSIRVEADVGVYYCMQATHAPPYTFG QGTKVEIKRTVAAPSVIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTTLSKADYEHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
95	TSWEWDLDF
96	QVQLQESGGGLVKPGGLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVG QIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS WEWDLDFWGQGTMVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLPPPKDLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASKAGQPREPVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHTQKSLSLSPGK
97	QVQLQESGGGLVKPGGLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVG QIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTS WEWDLDFWGQGTMVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLPPPKDLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASKAGQPREPVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHTQKSLSLSPGK
98	SPLPITPVNATCAIRHPCHNNLMNQIRSQLAQLNGSANALFILYYTAQGEFP NNLDKLCGPNTDFPPFHANGTEAKLVELYRIVVYLGTSLGNITRDQKILNP SALSLHSKLNATADILRGLLSNVLCRLCSKYHVGHDVTYGPDTSGKDVFQ KKKLGCLLGKYKQIIAVLAQAF

<110> 马赛克生物医学一人有限责任公司
瓦尔德希伯伦肿瘤研究所
加泰罗尼亚高等研究院

<120> 抗 LIF 抗体及其用途

<130> 48885-704. 601

<140> PCT/IB2017/001677

<141> 2017-12-18

<150> ES EP17382683. 5

<151> 2017-10-13

<150> 62/467, 017

<151> 2017-03-03

<150> ES EP16382617. 5

<151> 2016-12-19

[0001] <160> 98

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 1

Gly Phe Thr Phe Ser His Ala Trp Met His

1

5

10

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 2

Gly Phe Thr Phe Ser His Ala Trp

1 5

<210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 3

His Ala Trp Met His

1 5

[0002]

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp Met His

1 5 10

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 5
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp
1 5

<210> 6
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 6
Asn Ala Trp Met His
1 5

[0003] <210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 7
Ser Lys Phe Met Tyr
1 5

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 8
Ser Asn Phe Ile His

1 5

<210> 9

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 9

Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 10

[0004] <211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 10

Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr

1 5 10

<210> 11

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 11

Gln Ile Lys Asp Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 12

Ile Lys Asp Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr
1 5 10

[0005]

<210> 13

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 13

Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Glu Tyr Asn Gln Lys Phe Ser
1 5 10 15

Glu

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 14

Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Ile Glu Tyr Asn Gln Lys Phe Ile

1 5 10 15

Gly

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

[0006] <400> 15

Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe

1 5

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 16

Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe

1 5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 17

Thr Cys Trp Glu Trp Tyr Leu Asp Phe

1 5

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 18

Trp Glu Trp Tyr Leu Asp Phe

1 5

[0007]

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 19

Arg Asp Tyr His Ser Ser His Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 20

His Tyr Ser Ser Ser Met Asp Ala

1 5

<210> 21

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 21

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 22

[0008] <211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 22

Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly His Thr Tyr

1 5 10

<210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 23

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

<210> 24

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 24

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

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

[0009] <213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 25

Ser Val Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 26

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 26

Ser Val Ser

1

<210> 27
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 27
Gln Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 28
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
[0010] <223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 28
Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 29
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 29
Met Gln Ala Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr
1 5 10

<210> 30
<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 30

Gly Gln Gly Thr Gln Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

[0011] <400> 31

Gly Gln Gly Thr Gln Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 32

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 32

Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn

1 5

<210> 33

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 33

Thr Ala Gly Met Gln

1 5

<210> 34

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 34

Cys Ile Ser Tyr Asp Gly Arg Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asn

1 5 10 15

[0012]

<210> 35

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 35

Trp Ile Asn Thr Gln Ser Gly Glu Pro Gln Tyr Val Asp Asp Phe Arg

1 5 10 15

Gly

<210> 36

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 36

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

<210> 37

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 37

Trp Ala Leu Tyr Ser Glu Tyr Asp Val Met Asp Tyr
1 5 10

[0013]

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 38

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Gly Tyr Leu Glu
1 5 10

<210> 39

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 39

Lys Ala Ser Glu Asn Val Asp Ser Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 40

Ala Ala Thr Leu Leu Ala Asp
1 5

<210> 41

[0014] <211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 41

Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 42

Gln His Tyr Tyr Asn Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 43
Gly Gln Ser Tyr Arg Tyr Pro Pro Thr
1 5

[0015] <210> 44
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 44
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 45
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 45

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20 25

<210> 46

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 46

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

[0016]

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20 25

<210> 47

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 47

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser

20 25

<210> 48
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 48
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10

<210> 49
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
[0017] <223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 49
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
1 5 10

<210> 50
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 50
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

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

<210> 51
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 51
Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 52
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
[0018]

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 52
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Thr Leu Phe Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 53
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 53

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

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 54

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

<210> 55

<211> 11

[0019] <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 55

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

<210> 56

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 56

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly

1

5

10

15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 57

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 57

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly

1

5

10

15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

[0020]

20

<210> 58

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 58

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly

1

5

10

15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 59

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 59

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 60

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0021] <221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 60

Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 61

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 61

Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 62

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 62
Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 63
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

[0022]

<400> 63
Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 64
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 64
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 65
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 65
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 66
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
[0023]

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 66
Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 67
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 67

Gly Val Pro Asp Arg Phe Asn Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Ser Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 68

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

[0024]

<210> 69

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 69

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

<210> 70

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 70
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 71
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 71
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Ala
 20 25 30

[0025]

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
 50 55 60

Ser 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 Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 72
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 72
Gln Val Gln Leu Gln 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 His Ala
20 25 30

[0026] Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser 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 Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 73
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 73
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

[0027] Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 74
<211> 118
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 74

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

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

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

Gly	Gln	Ile	Lys	Ala	Lys	Ser	Asp	Asp	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu
							50						60		

[0028]

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

Leu	Phe	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
								85					90		95

Tyr	Cys	Thr	Cys	Trp	Glu	Trp	Asp	Leu	Asp	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
								100					105		110

Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
					115

<210> 75

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 75

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Leu	Gly
1															
															15

Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
															20
															25
															30

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

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

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

[0029]

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

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

Lys

<210> 76

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 76

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
[0030] 85 90 95

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

Lys

<210> 77

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述：合成多肽"

<400> 77

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

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

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

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

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 [0031] 100 105 110

Lys

<210> 78

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 78

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20	25	30
----	----	----

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser	35	40	45
---	----	----	----

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro	50	55	60
---	----	----	----

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

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

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile	100	105	110
---	-----	-----	-----

[0032]

Lys

<210> 79

<211> 467

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 79

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

Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys	20	25	30
---	----	----	----

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser His Ala Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr
 65 70 75 80

Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
 85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr
 100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly
 115 120 125

[0033]

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

210	215	220
-----	-----	-----

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys	225	230	235
---	-----	-----	-----

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly	245	250	255
---	-----	-----	-----

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met	260	265	270
---	-----	-----	-----

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His	275	280	285
---	-----	-----	-----

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val	290	295	300
---	-----	-----	-----

[0034]

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr	305	310	315
---	-----	-----	-----

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly	325	330	335
---	-----	-----	-----

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile	340	345	350
---	-----	-----	-----

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val	355	360	365
---	-----	-----	-----

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser	370	375	380
---	-----	-----	-----

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu	385	390	395
---	-----	-----	-----

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

[0035] <210> 80
<211> 467
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /备注=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 80
Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30

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

Ser His Ala Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50	55	60
----	----	----

Glu	Trp	Val	Gly
Gln	Ile	Lys	Ala
Ser	Asp	Asp	Tyr
Asp	Tyr	Ala	Thr
Asp	Tyr		

65	70	75	80
----	----	----	----

Tyr	Ala	Glu	Ser
Val	Lys	Gly	Arg
Phe	Thr	Ile	Ser
Arg	Asp	Asp	Ser
Asp			

85	90	95
----	----	----

Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr

100	105	110
-----	-----	-----

Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Cys	Trp	Glu	Trp	Asp	Leu	Asp	Phe	Trp	Gly

115	120	125
-----	-----	-----

Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser

130	135	140
-----	-----	-----

[0036]

Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val

195	200	205
-----	-----	-----

Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His

210	215	220
-----	-----	-----

Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

[0037] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460

Pro Gly Lys
 465

<210> 81
 <211> 467
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0038] <220>
 <221> 来源
 <223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 81
 Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln
 20 25 30

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

Ser His Ala Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr
 65 70 75 80

Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85 90 95

Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr
 100 105 110

Val Val Tyr Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly
 115 120 125

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 145 150 155 160

[0039] Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 325 330 335

[0040] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460

Pro Gly Lys
 465

<210> 82
 <211> 467
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

[0041] <400> 82
 Met Gly Trp Thr Leu Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Gln Leu Met Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
 20 25 30

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

Ser His Ala Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

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

Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
 85 90 95

Lys Ser Thr Leu Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr
 100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly
 115 120 125

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 165 170 175

[0042] Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

[0043]

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

450

455

460

Pro Gly Lys

465

<210> 83

<211> 240

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 83

Met	Val	Ser	Ser	Ala	Gln	Phe	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Cys	Phe	Gln
1														
														15

[0044] Gly Thr Arg Cys Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro
 20 25 30

Val	Thr	Leu	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser
35															45

Leu	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	His	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Phe	Gln	Gln	Arg
50															60

Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Arg	Arg	Leu	Ile	Tyr	Ser	Val	Ser	Asn	Leu	Glu
65															80

Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe
85															95

Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Leu	Tyr	Tyr
100															110

Cys Met Gln Ala Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr
 115 120 125

Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
 130 135 140

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
 145 150 155 160

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 165 170 175

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
 180 185 190

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 [0045] 195 200 205

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
 210 215 220

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235 240

<210> 84

<211> 240

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 84

Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro
 20 25 30

Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
 35 40 45

Leu Leu Asp Ser Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg
 50 55 60

Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu
 65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe
 85 90 95

[0046] Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
 100 105 110

Cys Met Gln Ala Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr
 115 120 125

Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
 130 135 140

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
 145 150 155 160

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 165 170 175

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
 180 185 190

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 195 200 205

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
 210 215 220

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235 240

<210> 85

<211> 240

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

[0047] <400> 85
 Met Val Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
 20 25 30

Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
 35 40 45

Leu Leu Asp Ser Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys
 50 55 60

Pro Gly Gln Pro Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Ser Val Ser Asn Leu Glu
 65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr
 100 105 110

Cys Met Gln Ala Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 115 120 125

Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
 130 135 140

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
 145 150 155 160

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 165 170 175

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
 [0048] 180 185 190

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 195 200 205

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
 210 215 220

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235 240

<210> 86

<211> 240

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 86

Met	Val	Ser	Ser	Ala	Gln	Phe	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Cys	Phe	Gln
1				5				10				15		

Gly	Thr	Arg	Cys	Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Gln	Pro
					20			25				30			

Val	Thr	Leu	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser
					35			40			45				

Leu	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	His	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Gln	Gln	Arg
					50			55			60				

Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Arg	Arg	Leu	Ile	Tyr	Ser	Val	Ser	Asn	Leu	Glu
					65			70			75			80	

[0049] Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

Thr	Leu	Ser	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr
					100			105			110				

Cys	Met	Gln	Ala	Thr	His	Ala	Pro	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr
					115			120			125				

Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe
					130			135			140				

Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys
					145			150			155			160	

Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val
					165			170			175				

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
 180 185 190

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 195 200 205

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
 210 215 220

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235 240

<210> 87

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列

[0050] <220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 87

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Ala
 20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
 50 55 60

Ser 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 Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

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

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

[0051] Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

[0052] Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

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

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

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

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

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

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

<210> 88
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 88
 Gln Val Gln Leu Gln 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 His Ala
 20 25 30

[0053] Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
 50 55 60

Ser 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 Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

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

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
145	150	155
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
195	200	205
[0054] Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
210	215	220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser		
225	230	235
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
290	295	300

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

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

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

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

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

[0055] Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400

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

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

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

<210> 89

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 89

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

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

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

Ala	Gln	Ile	Lys	Ala	Lys	Ser	Asp	Asp	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu
	50				55					60					

Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Ser	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser
	65				70				75			80			

[0056] Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Val Val Tyr
85 90 95

Tyr	Cys	Thr	Cys	Trp	Glu	Trp	Asp	Leu	Asp	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
	100				105					110					

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

[0057]

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

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

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

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

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

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355	360	365
-----	-----	-----

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

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

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

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

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

[0058]

<210> 90

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 90

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

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

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

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
 50 55 60

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

Leu Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Thr Cys Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

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

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

[0059]

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

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

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

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

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

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

225	230	235	240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg			
245		250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro			
260		265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala			
275		280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val			
290		295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
305		310	315
320			
[0060]			
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
325		330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
340		345	350
350			
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys			
355		360	365
365			
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
370		375	380
380			
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp			
385		390	395
400			
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser			
405		410	415

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

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

<210> 91

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 91

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

[0061]

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

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

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

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

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100	105	110
-----	-----	-----

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

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

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

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

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

[0062]

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

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

<210> 92

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 92

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
 35 40 45

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

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

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

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

[0063]

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

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

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

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

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

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

195	200	205
-----	-----	-----

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

<210> 93
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /备注=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 93
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

[0064] Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

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

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

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

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

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

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

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

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

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

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 [0065] 195 200 205

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

<210> 94

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 94

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Asp Gly His Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

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

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

Thr His Ala Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

[0066] Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

<210> 95
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /备注="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 95
 Thr Ser Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe
 1 5

<210> 96
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0067]

<220>
 <221> 来源
 <223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 96
 Gln Val Gln Leu Gln 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 His Ala
 20 25 30

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

Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
 50 55 60

Ser 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 Ser Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr			
100		105	110
Met Val Thr Val Ser Ser			
115			
<210> 97			
<211> 448			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
[0068] <221> 来源			
<223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"			
<400> 97			
Gln Val Gln Leu Gln 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 His Ala			
20		25	30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35		40	45
Gly Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asp Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu			
50	55	60	
Ser 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 Ser Trp Glu Trp Asp Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

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

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

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

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

[0069]

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

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

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

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

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

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

260	265	270
-----	-----	-----

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

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

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

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

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

[0070]

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

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

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

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

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

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

<210> 98
 <211> 180
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /备注="人工序列的描述: 合成多肽"

<400> 98
 Ser Pro Leu Pro Ile Thr Pro Val Asn Ala Thr Cys Ala Ile Arg His
 1 5 10 15

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

Leu Asn Gly Ser Ala Asn Ala Leu Phe Ile Leu Tyr Tyr Thr Ala Gln
 35 40 45

[0071]

Gly Glu Pro Phe Pro Asn Asn Leu Asp Lys Leu Cys Gly Pro Asn Val
 50 55 60

Thr Asp Phe Pro Pro Phe His Ala Asn Gly Thr Glu Lys Ala Lys Leu
 65 70 75 80

Val Glu Leu Tyr Arg Ile Val Val Tyr Leu Gly Thr Ser Leu Gly Asn
 85 90 95

Ile Thr Arg Asp Gln Lys Ile Leu Asn Pro Ser Ala Leu Ser Leu His
 100 105 110

Ser Lys Leu Asn Ala Thr Ala Asp Ile Leu Arg Gly Leu Leu Ser Asn
 115 120 125

Val Leu Cys Arg Leu Cys Ser Lys Tyr His Val Gly His Val Asp Val

130 135 140

Thr Tyr Gly Pro Asp Thr Ser Gly Lys Asp Val Phe Gln Lys Lys Lys
145 150 155 160

[0072]

Leu Gly Cys Gln Leu Leu Gly Lys Tyr Lys Gln Ile Ile Ala Val Leu
165 170 175

Ala Gln Ala Phe
180

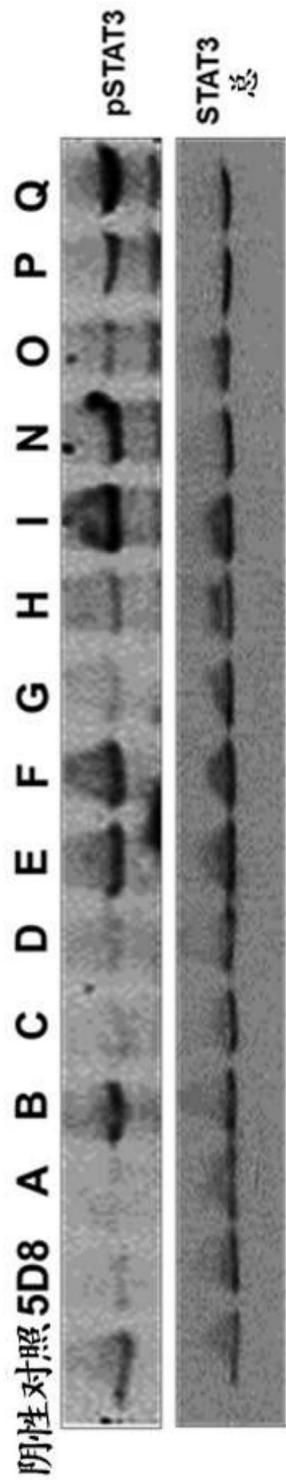


图1

阴性对照 5D8 h5D8

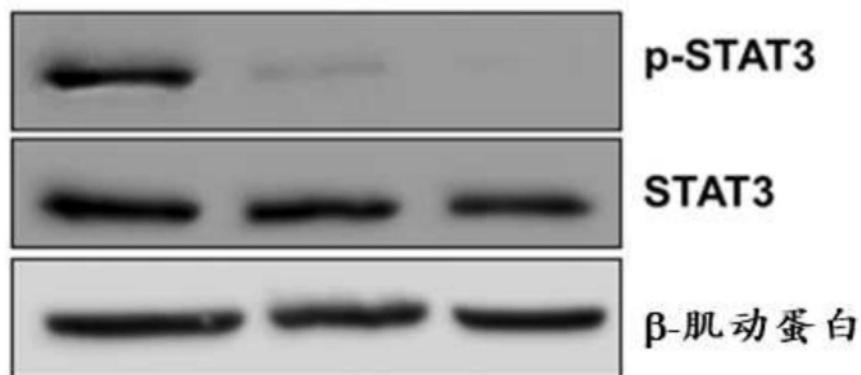


图2A

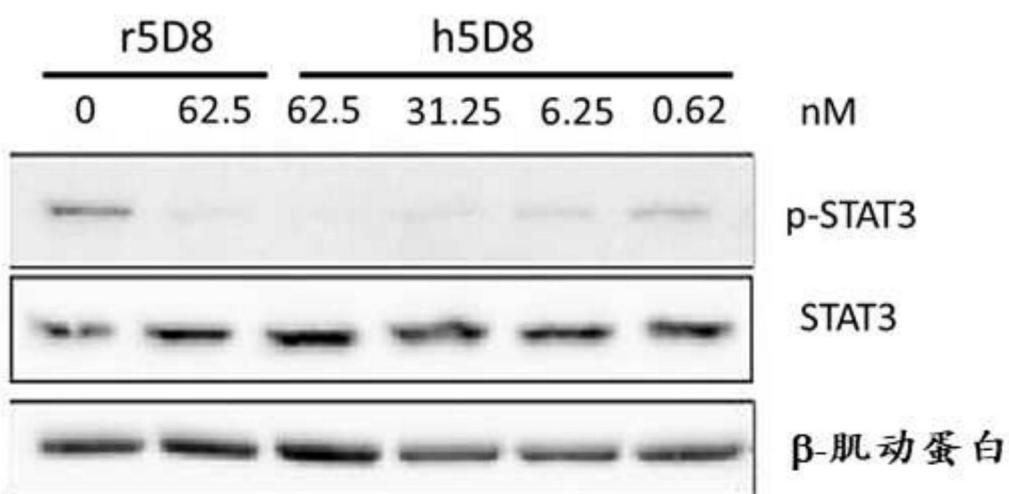


图2B

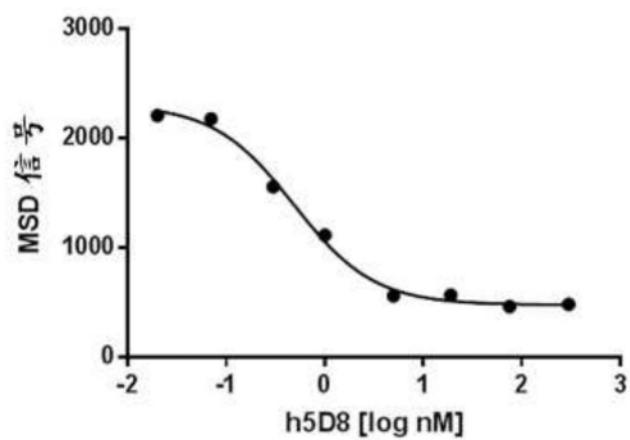


图3A

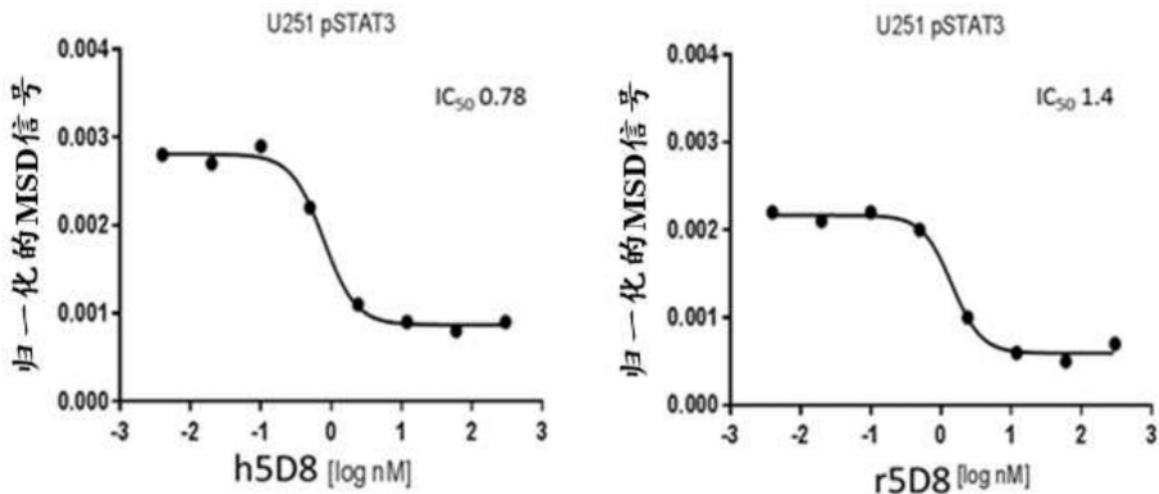


图3B

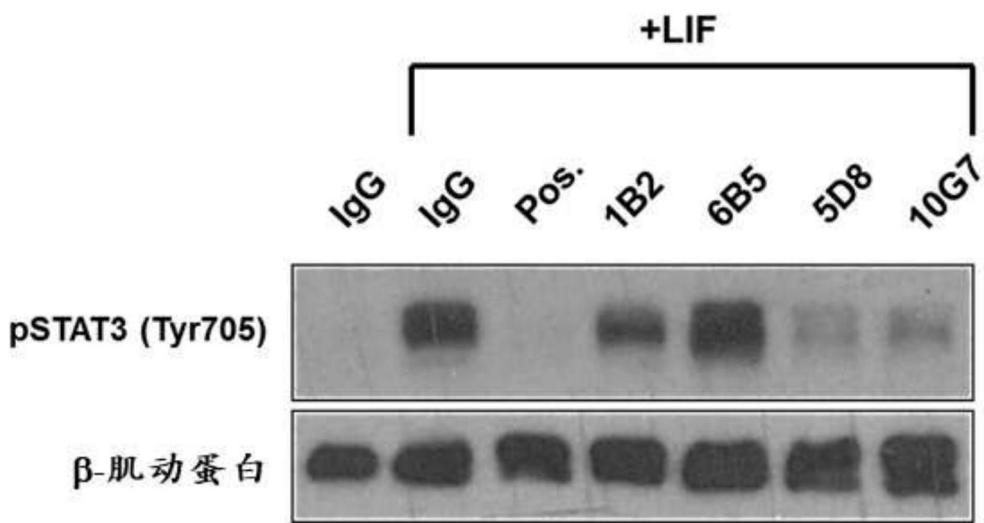


图4

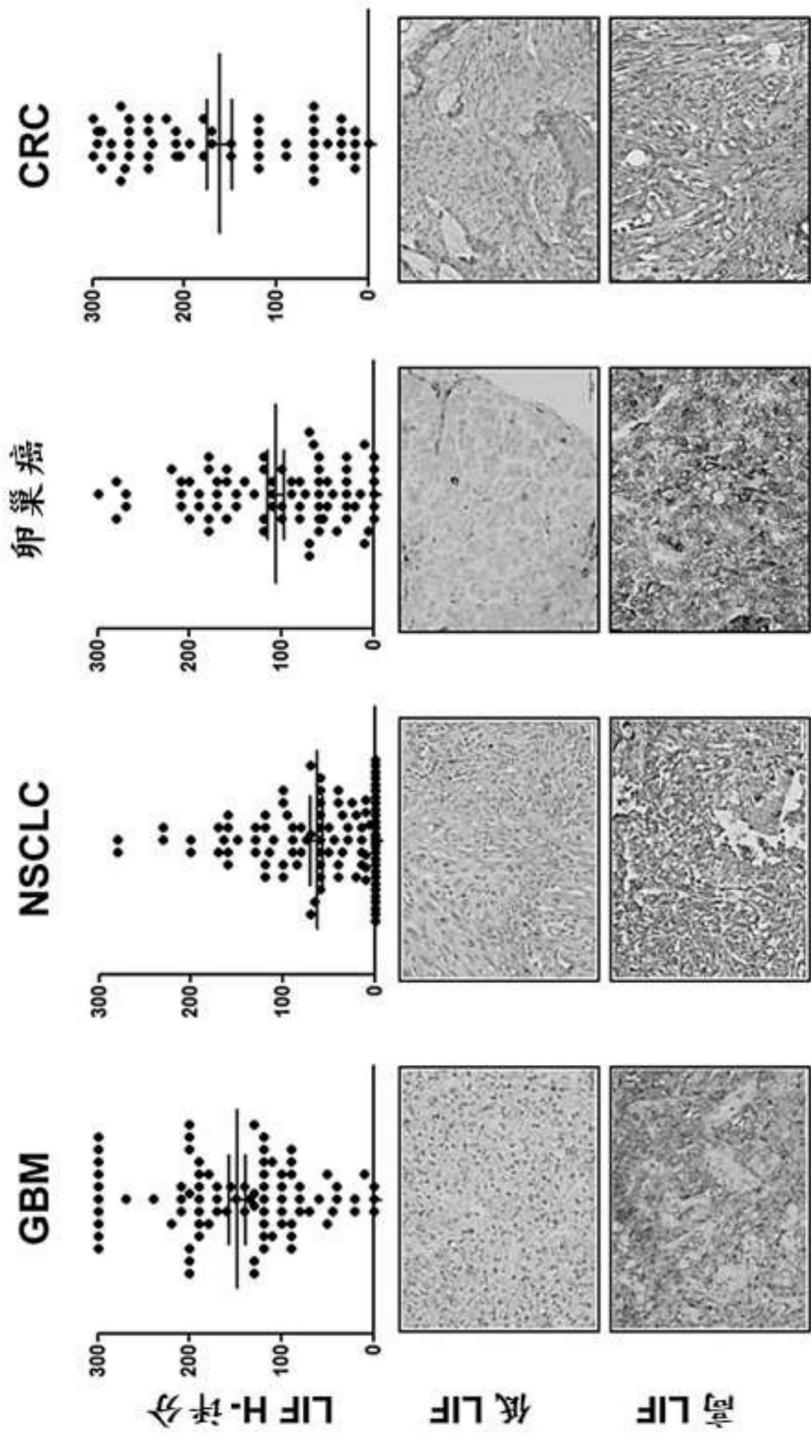


图5

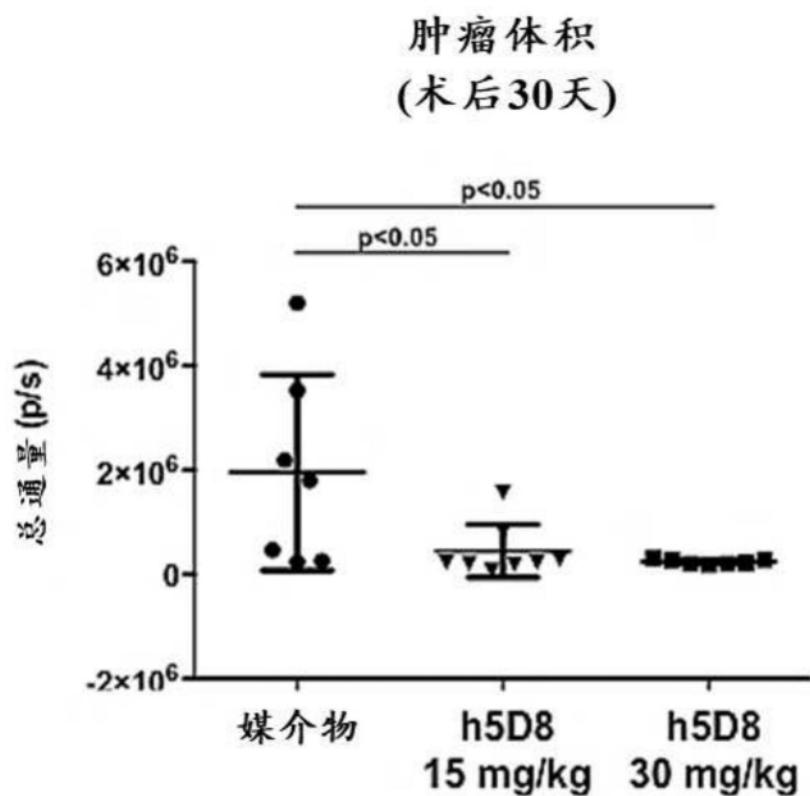


图6

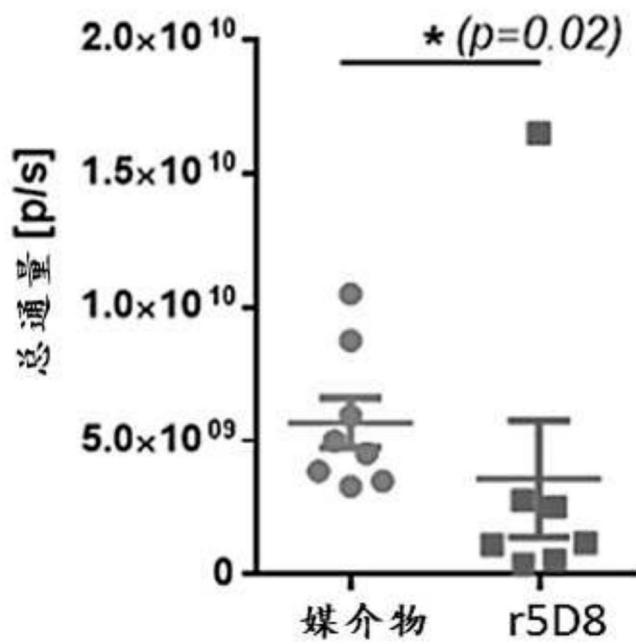


图7A

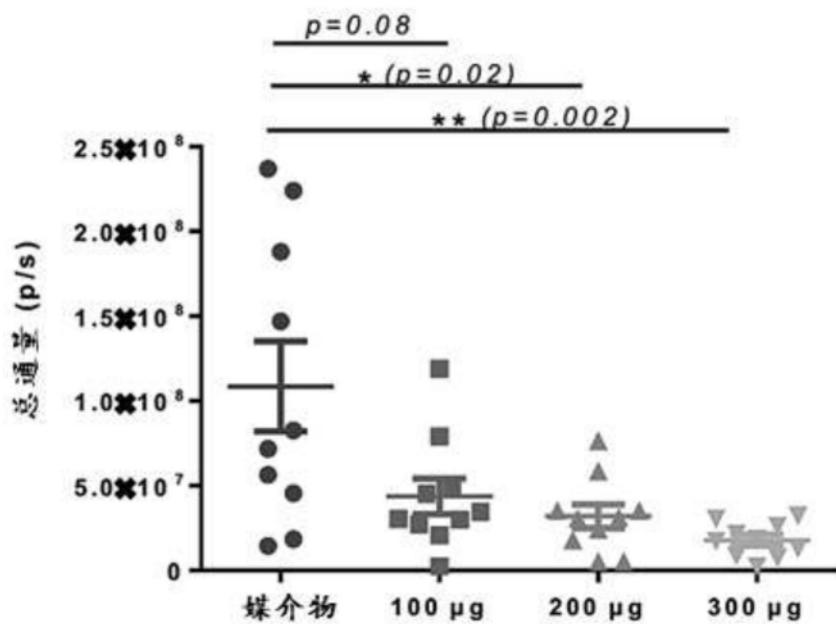


图7B

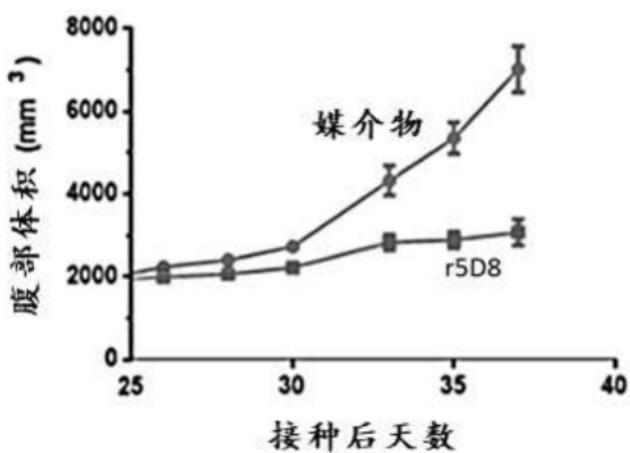


图8A

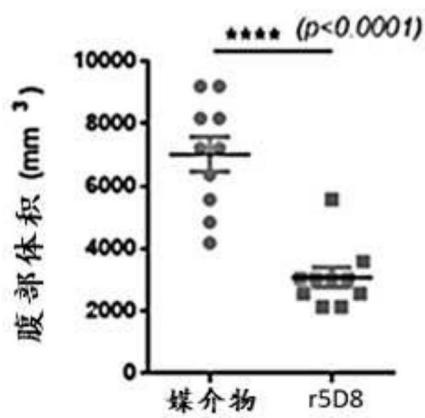


图8B

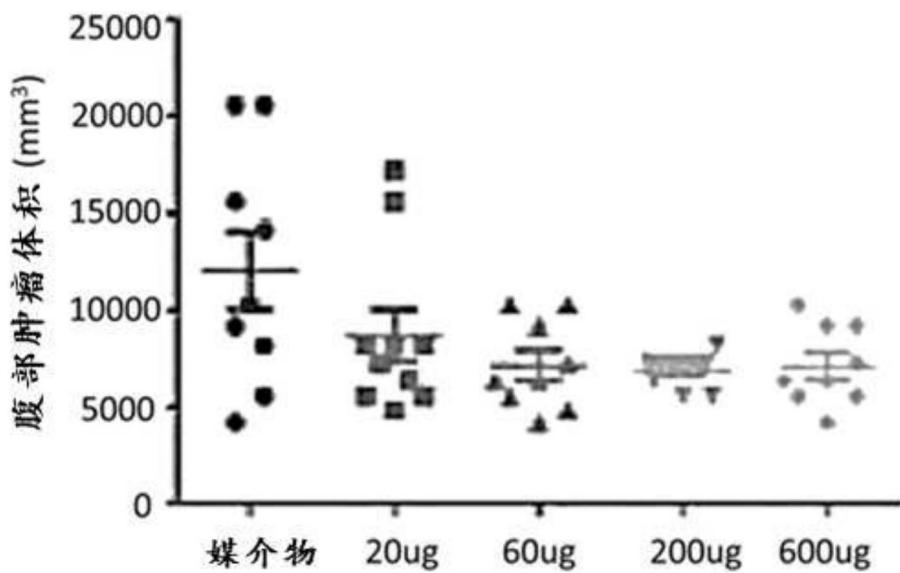


图8C

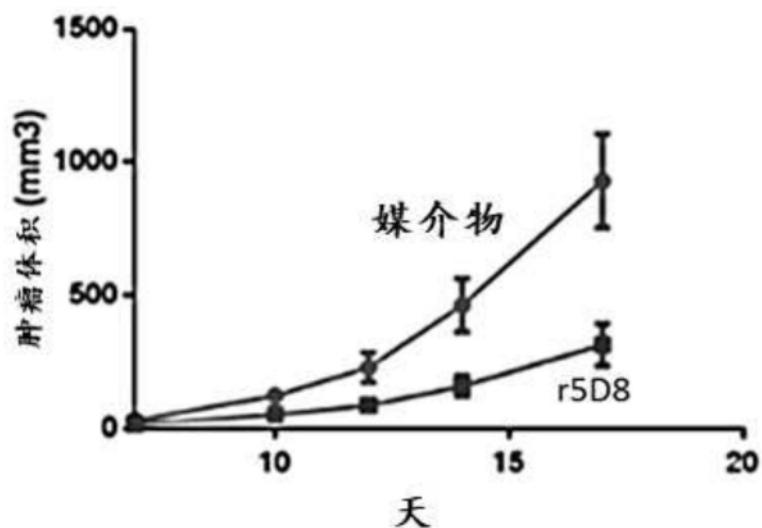


图9A

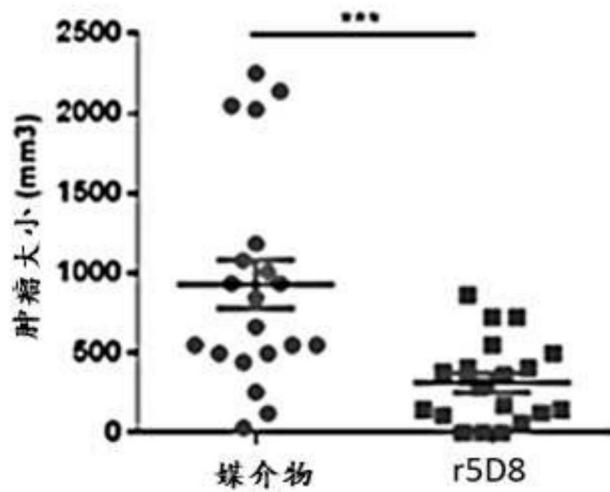


图9B

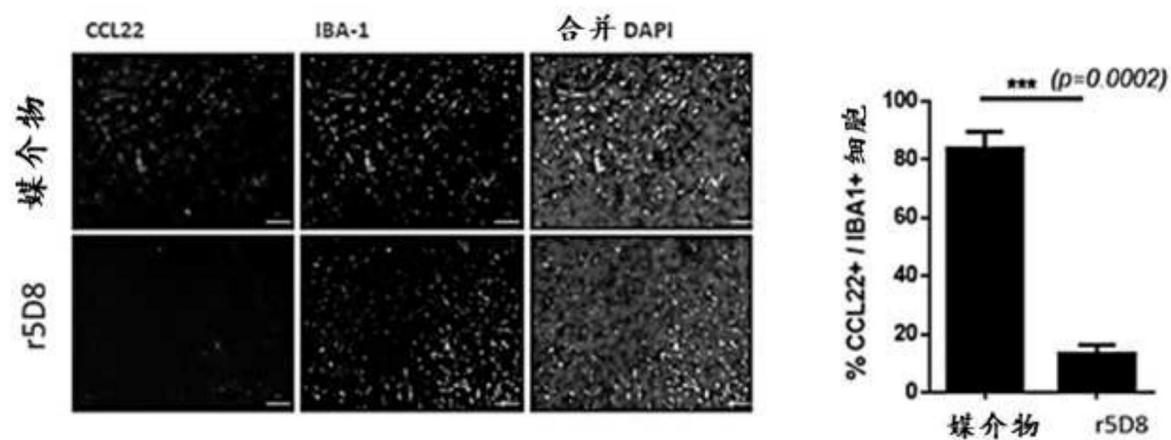


图10A

对照、
h5D8

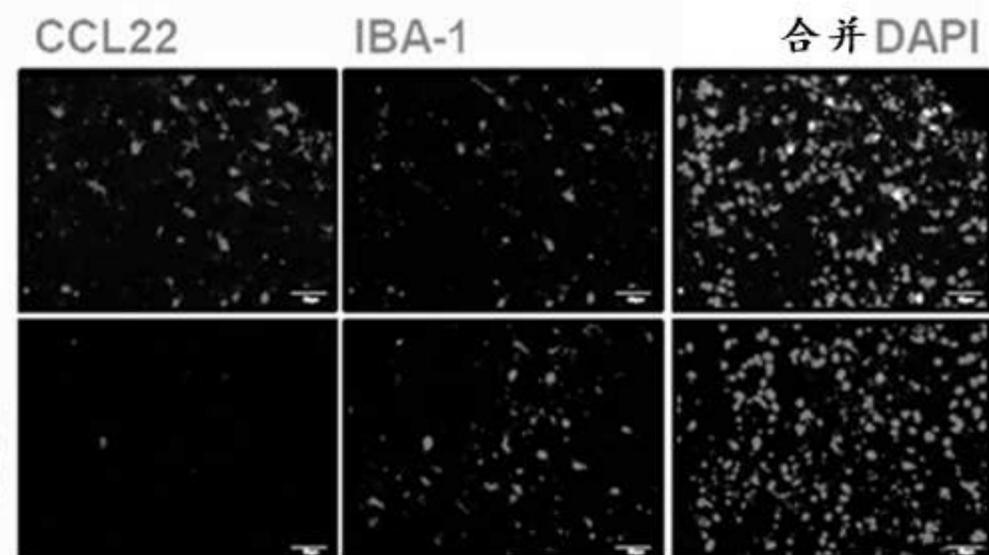
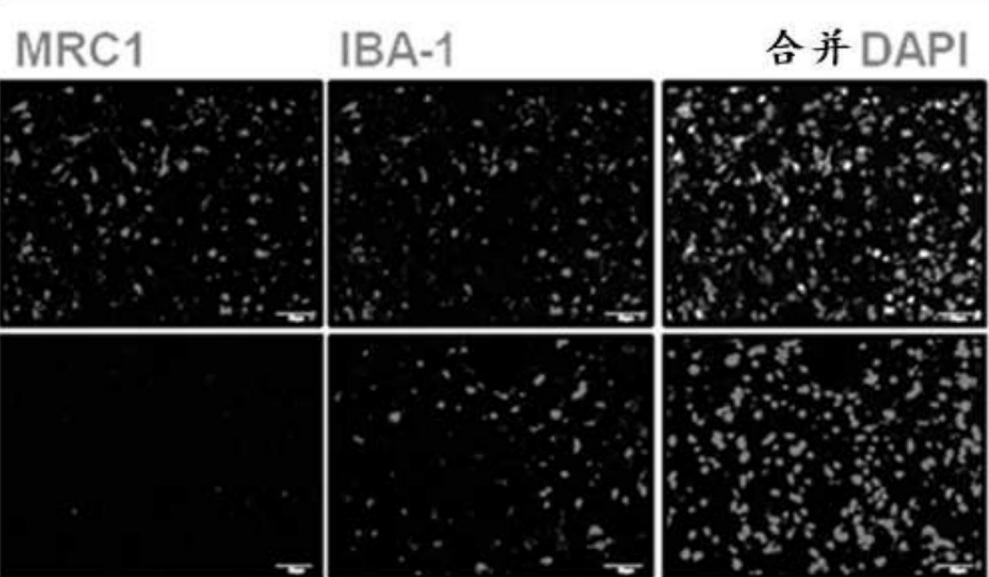


图10B

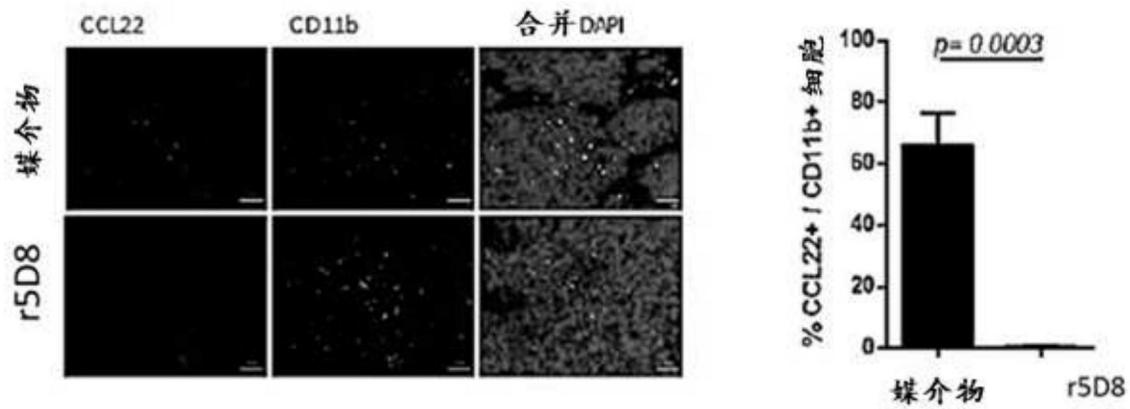


图10C

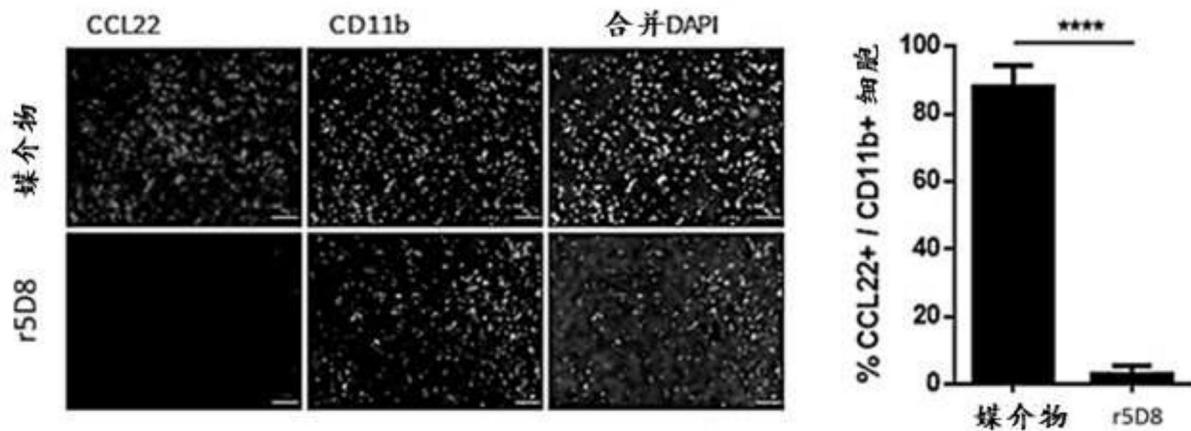


图10D

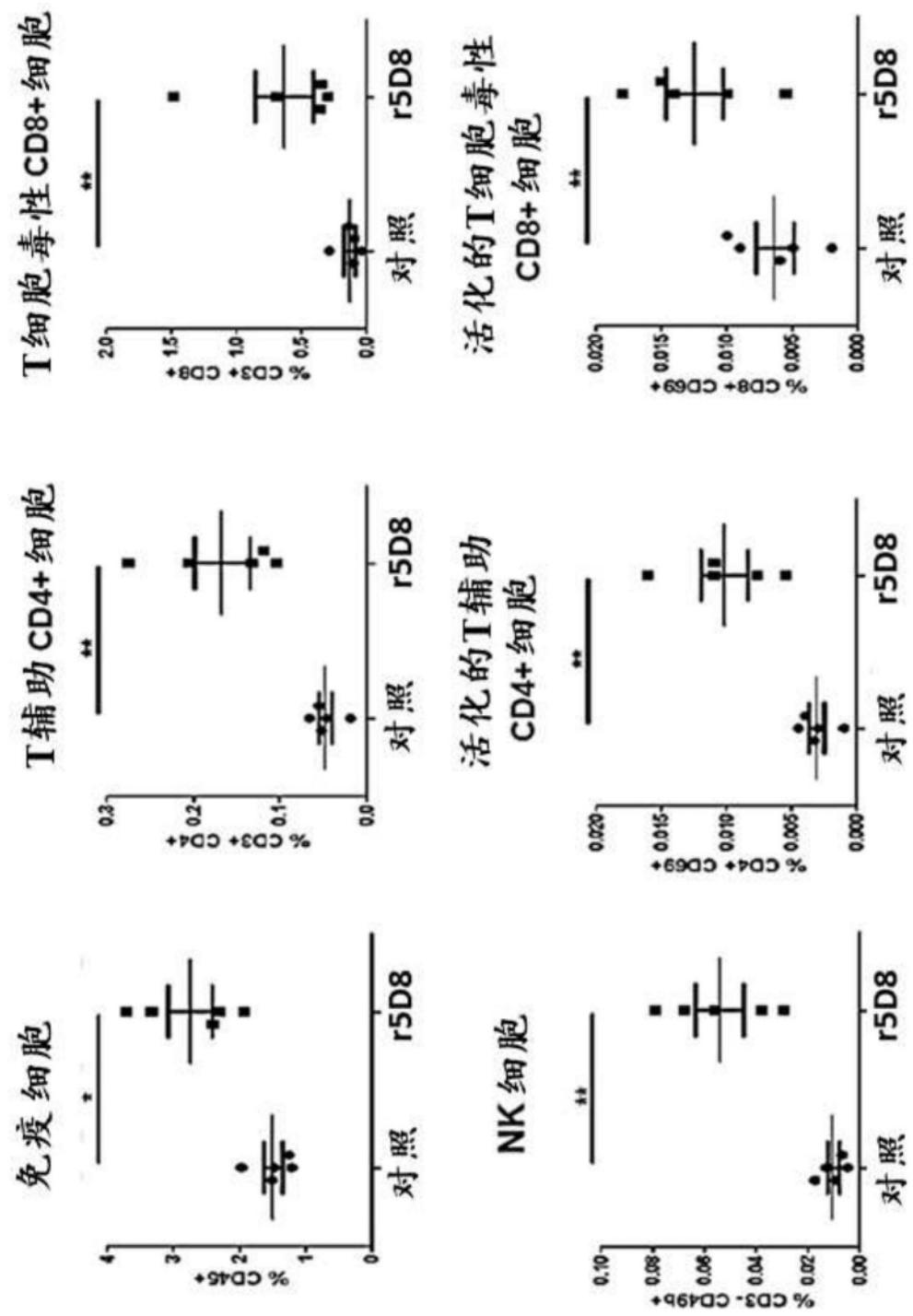


图11A

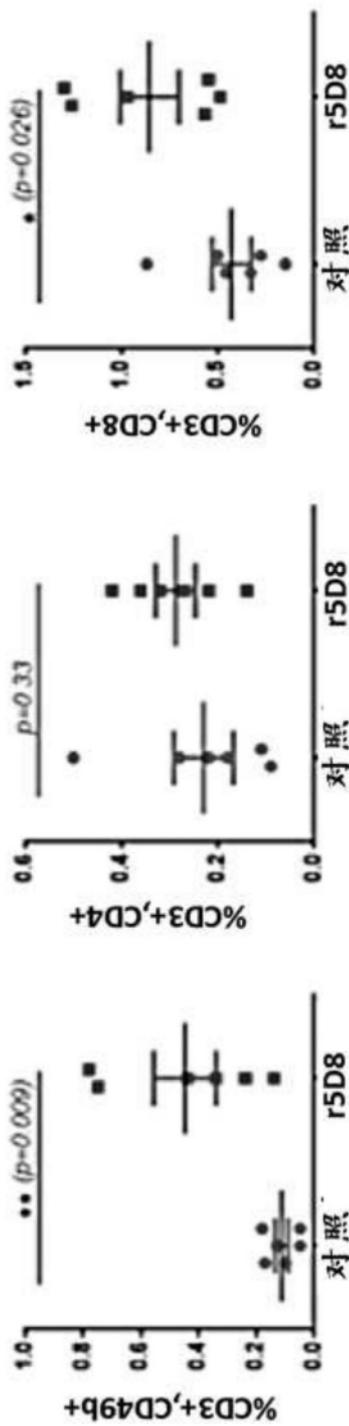


图11B

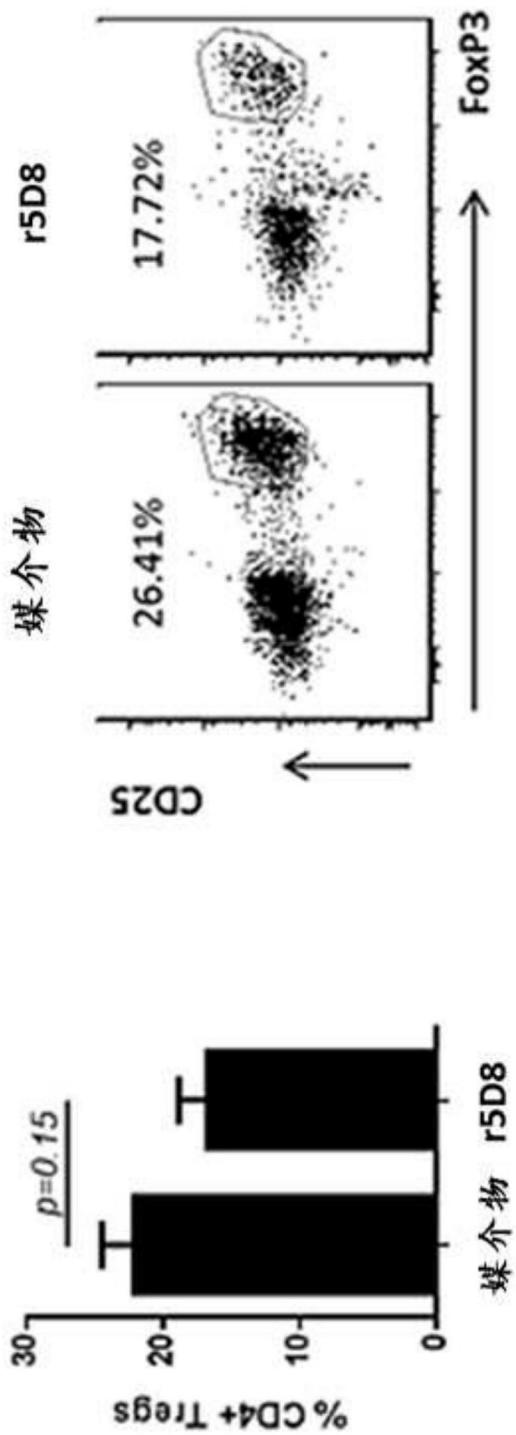


图11C

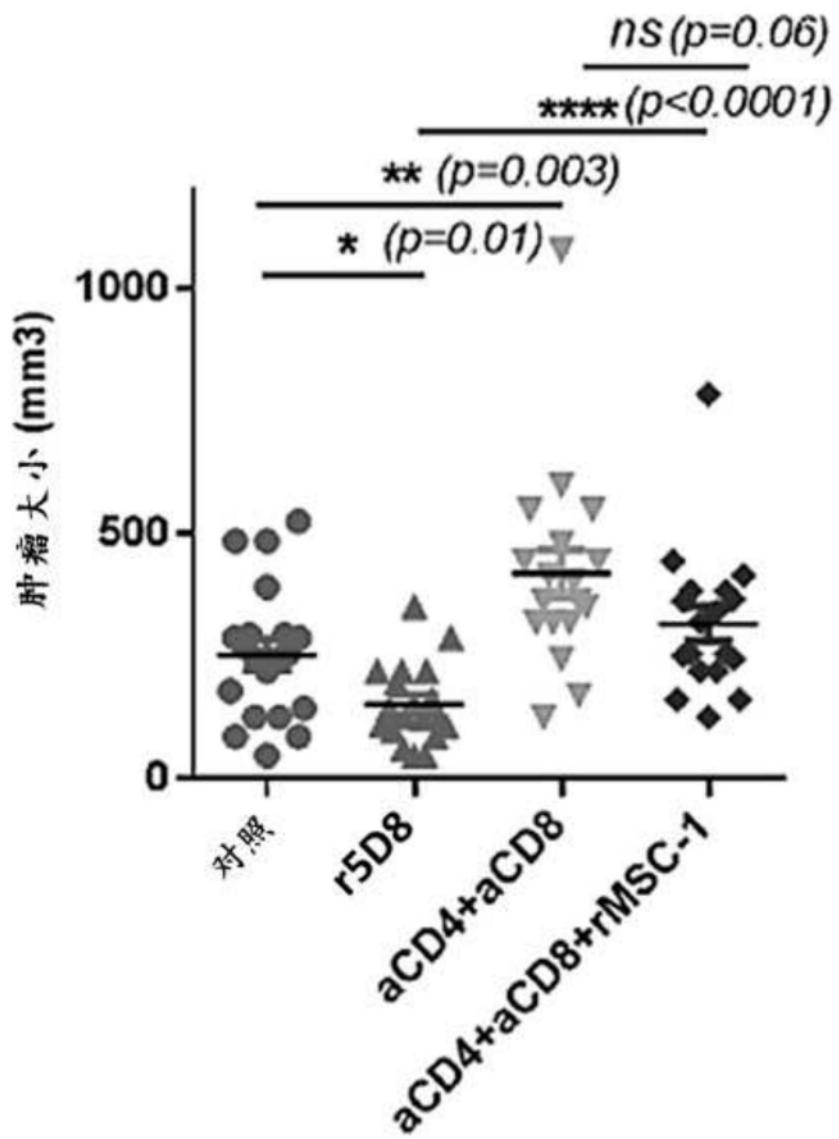


图12

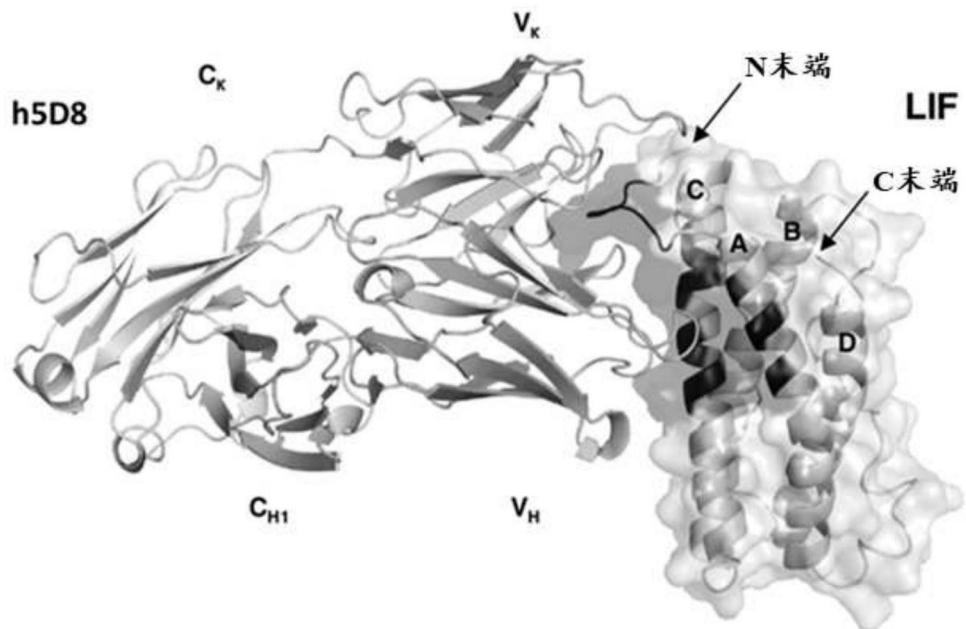


图13A

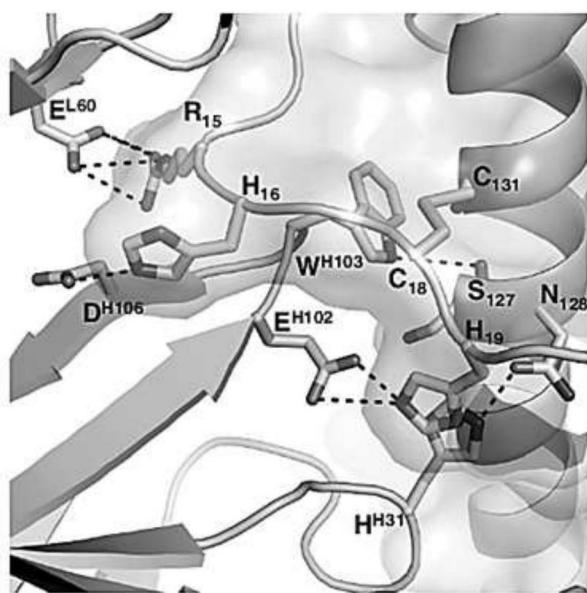


图13B

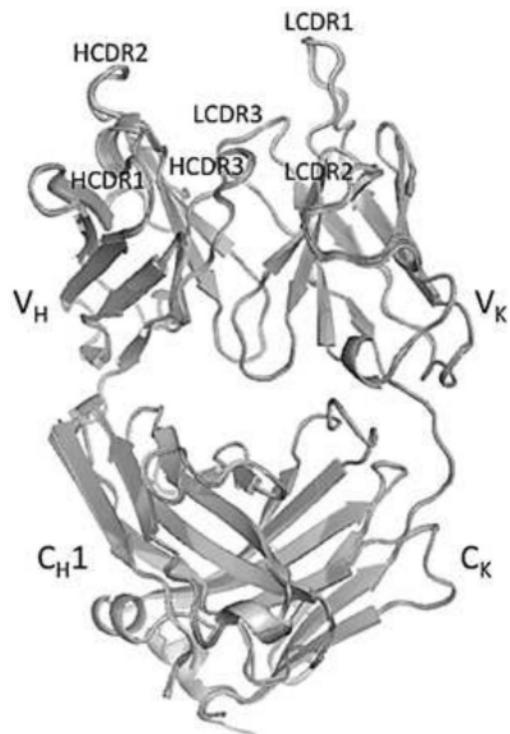


图14A

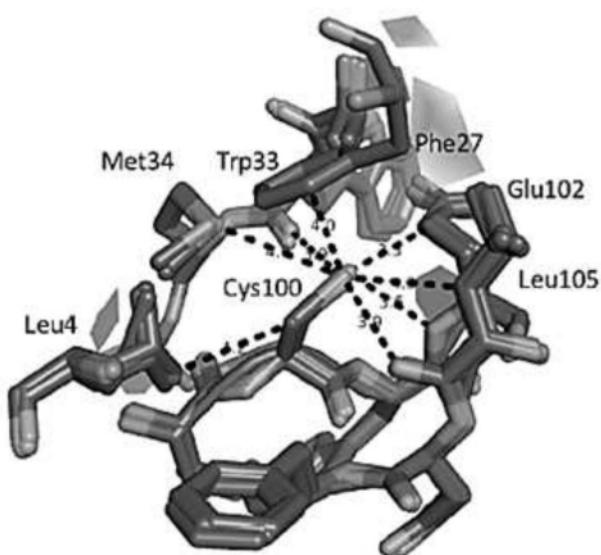


图14B

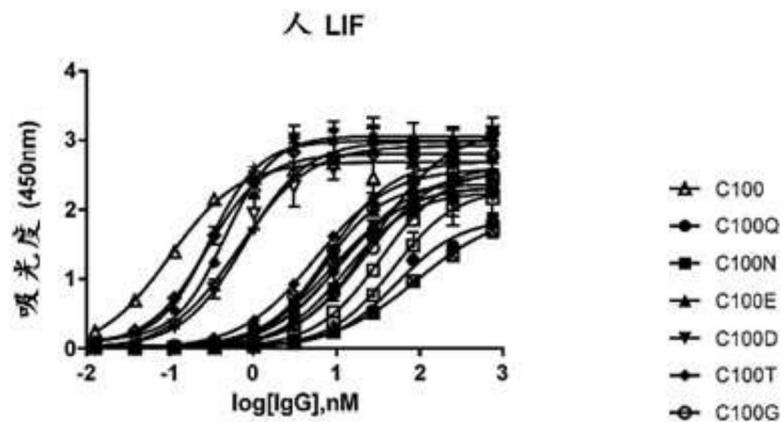


图 15A

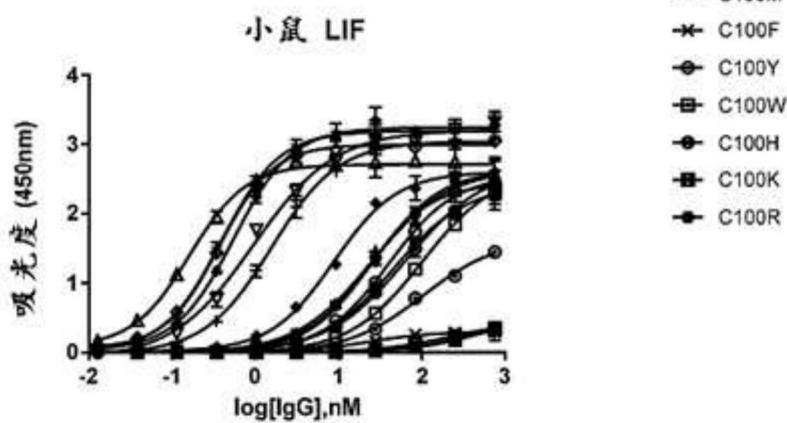


图 15B

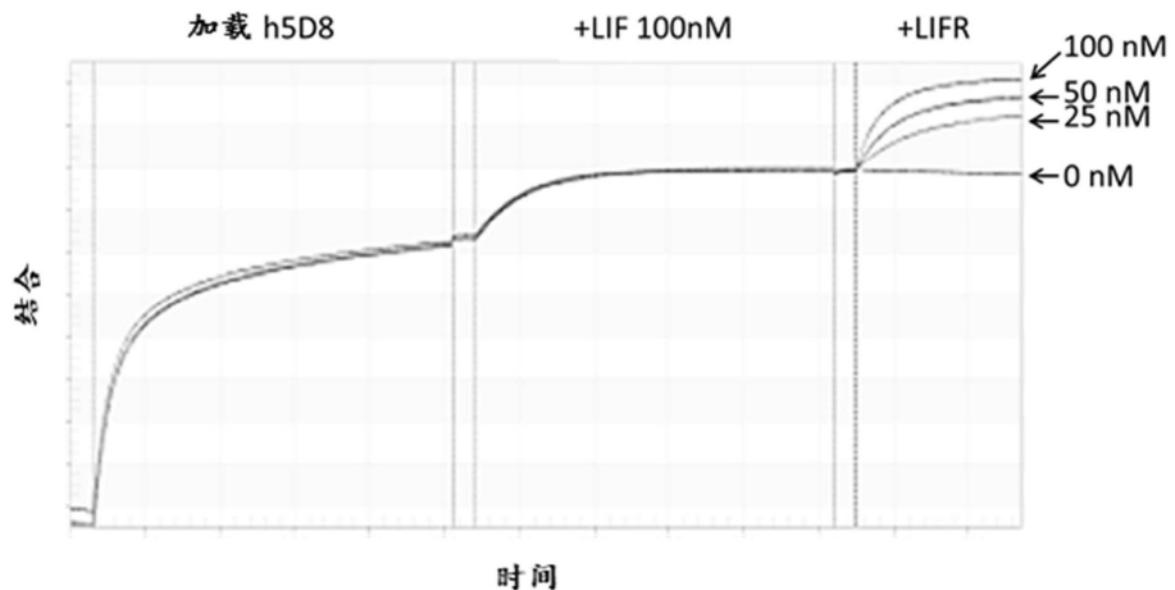


图16A

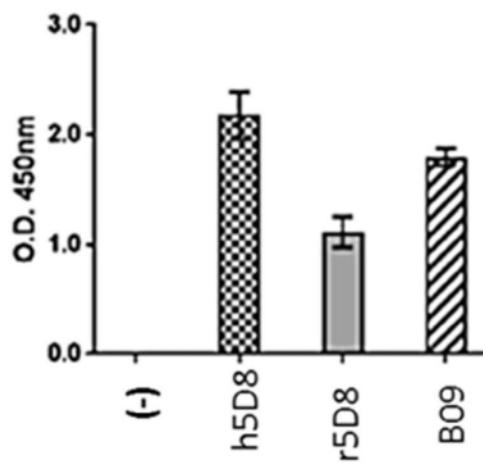


图16B

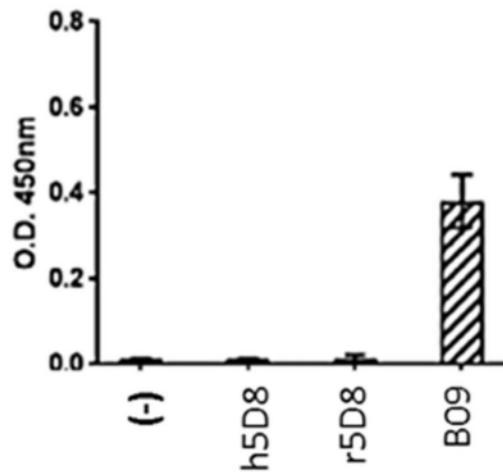


图16C

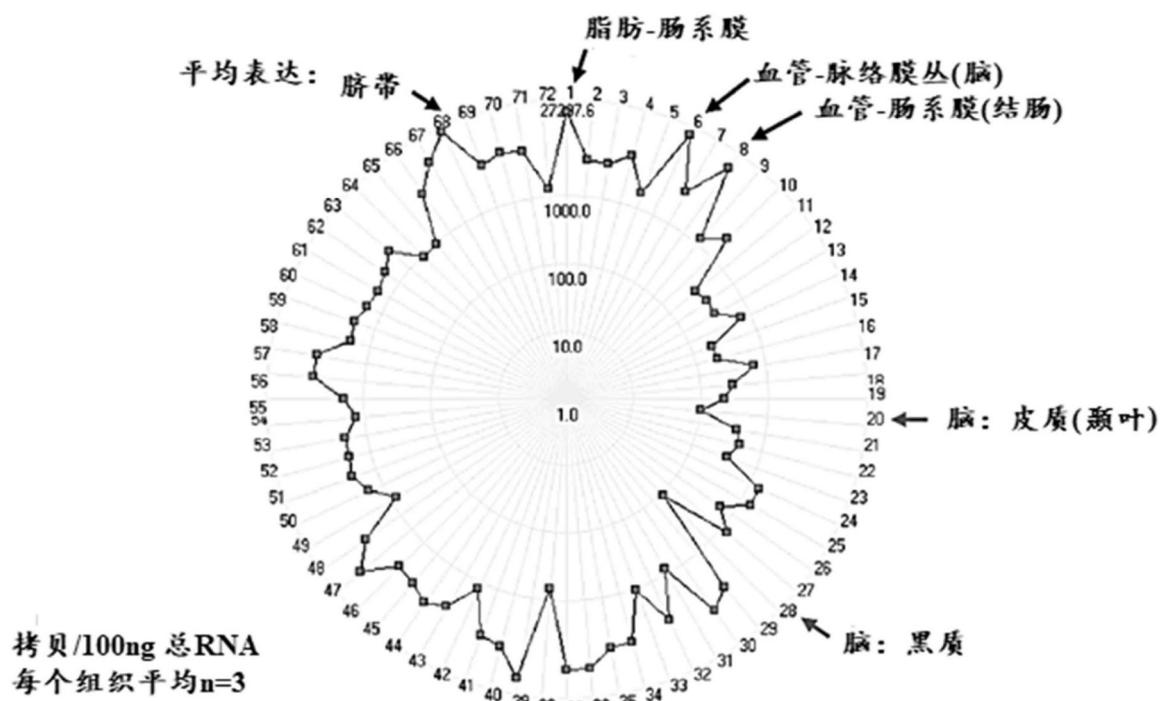


图17A

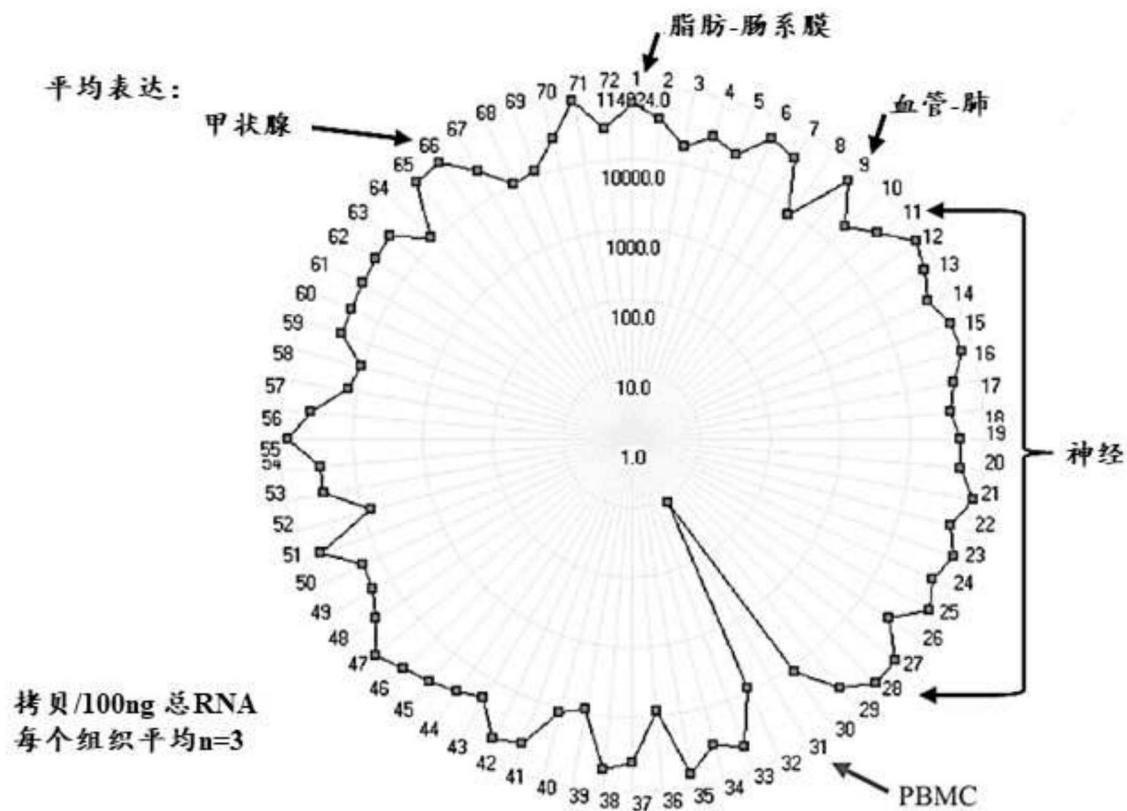


图17B