



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I680138 B

(45)公告日：中華民國 108 (2019) 年 12 月 21 日

(21)申請案號：104101892

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 01 月 21 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2014/01/23 美國

61/930,582

2014/12/09 美國

62/089,549

(71)申請人：美商再生元醫藥公司(美國) REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (US)

美國

(72)發明人：帕帕多波洛斯 尼可拉斯 PAPADOPOULOS, NICHOLAS J. (US)；墨菲 安德魯  
MURPHY, ANDREW J. (US)；索斯頓 蓋文 THURSTON, GAVIN (US)；伊歐夫  
艾拉 IOFFE, ELLA (US)；布洛瓦 艾倫那 BUROVA, ELENA (US)

(74)代理人：林秋琴；陳彥希

(56)參考文獻：

US 2013/0247234A1

WO 2010/077634A1

WO 2011/066389A1

WO 2012/145493A1

WO 2014/008218A1

審查人員：黃教威

申請專利範圍項數：29 項 圖式數：3 共 191 頁

(54)名稱

抗 PD-L1 之人類抗體

(57)摘要

本發明係提供與 T-細胞共抑制劑配體程序性死亡配體 1(PD-L1)蛋白結合之抗體，及使用方法。在本發明的各種實施例中，此等抗體為與 PD-L1 結合之全人類抗體。在特定的實施例中，本發明係提供多-專一性抗原結合分子，其係包括一與 PD-L1 結合之第一結合專一性，以及一與腫瘤細胞抗原、感染細胞特異性抗原或 T-細胞共抑制劑結合之第二結合專一性。在某些實施例中，本發明之抗體可用於抑制或中和 PD-L1 活性，因此提供一治療疾病或病症，例如癌症或病毒感染之方法。

The present invention provides antibodies that bind to the T-cell co-inhibitor ligand programmed death-ligand 1 (PD-L1) protein, and methods of use. In various embodiments of the invention, the antibodies are fully human antibodies that bind to PD-L1. In certain embodiments, the present invention provides multi-specific antigen-binding molecules comprising a first binding specificity that binds to PD-L1 and a second binding specificity that binds to a tumor cell antigen, an infected cell-specific antigen, or a T-cell co-inhibitor. In some embodiments, the antibodies of the invention are useful for inhibiting or neutralizing PD-L1 activity, thus providing a means of treating a disease or disorder such as cancer or viral infection.

# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

## 【發明名稱】(中文/英文)

抗PD-L1之人類抗體

HUMAN ANTIBODIES TO PD-L1

## 【技術領域】

【0001】 本發明係關於專一與免疫調節受體配體程序性死亡配體1 (programmed death-ligand1 ; PD-L1)結合之人類抗體和人類抗體之抗原結合片段，以及使用這些抗體之治療和診斷方法。

## 【先前技術】

【0002】 程序性死亡配體1 (PD-L1)(亦稱為B7-H1或CD274)為一種290個胺基酸蛋白受體配體，係廣泛表現在淋巴和非淋巴組織，例如CD4和CD8 T-細胞、巨噬細胞譜系細胞、週邊組織以及在腫瘤細胞，和病毒感染的細胞(Dong等人 1999, Nature Med.)。PD-L1係與受體PD-1和B7-1結合，其係屬於T-細胞共抑制受體之CD28/CTLA-4 (細胞毒性T淋巴細胞抗原)/ICOS(可誘導共刺激分子)家族(Chen等人 2013, Nature Rev. Immunol. 13: 227-242)並藉由抑制T-細胞活化減弱免疫反應。PD-L1與PD-1或B7-1結合使得在疾病，例如癌症和病毒感染中T-細胞增生和細胞激素分泌，包括體液和細胞免疫反應降低。

【0003】 PD-L1 在腫瘤細胞和病毒性感染細胞上的表現被腫瘤和慢性病毒感染利用來規避免疫反應。PD-L1 係表現在廣泛的各種腫瘤上且動物模型上的研究已顯示腫瘤上的 PD-L1 抑制 T-細胞活化及腫瘤細胞解離，並可能導致腫瘤-專一性的 T-細胞死亡增加。在慢性病毒感染中，表現在病毒感染細胞上的 PD-L1 係與病毒感染細胞上的 PD-1 結合且這些 T-細胞變成「精疲力盡」及喪失效應子功能和增生能力(Freeman 2008, PNAS 105: 10275-10276)。PD-1:PD-L1 系統在引發 T-調節(Treg)細胞發展及在維持 Treg

功能上亦扮演一重要角色(Francisco 等人 2010, Immunol. Rev. 236: 219-242)。

【0004】 因為 PD-L1 在腫瘤免疫和感染免疫上扮演一個重要角色，其為免疫治療之理想目標。在治療癌症和慢性病毒感染中已研究以拮抗劑，包括單株抗體，阻斷 PD-L1 (Ribas 2012, NEJM 366: 2517-2519；Freeman 2008, PNAS 105：10275-10276；Sheridan 2012, Nature Biotechnology 30：729-730)。

【0005】 PD-L1之單株抗體在本項技術中已為所知且已有描述，例如於美國專利/公開案第 7943742、8383796、8217149、20090055944、20120003056、20130034559、20130045200、20130045201、20130045202號中，及在WO2007005874、WO2011066389、WO2010077634、EP1907424和EP1899379中。

### 【發明內容】

【0006】 本發明係提供與 PD-L1 結合之抗體和其抗原結合片段。本發明之抗體可用於，其中包括，以表現 PD-L1 之細胞，例如癌細胞或病毒感染細胞為目標，及用於調節 PD-L1 活性。在特定的實施例中，本發明之抗體可用於抑制或中和 PD-L1 活性及用於刺激 T 細胞活化，例如於其中 T 細胞媒介的殺除為有利的或所欲的環境下。本發明之抗-PD-L1 抗體，或其抗原結合片段，可包括作為多-專一性抗原結合分子之部份，例如用以調節免疫反應及/或以特定細胞類型，例如腫瘤細胞或病毒感染細胞之抗體為目標。此等抗體可用於治療疾病或病症，例如癌症和病毒感染。

【0007】 本發明之抗體可為全長的(例如，IgG1 或 IgG4 抗體)或可能僅包括一抗原-結合部份(例如，一 Fab、F(ab')<sub>2</sub> 或 scFv 片段)，且可經修飾影響功能性，例如消除殘餘效應子功能(Reddy 等人, 2000, J. Immunol. 164:1925-1933)。在某些實施例中，此等抗體可為雙專一性。

【0008】 在第一方面，本發明係提供專一與 PD-L1 結合之分離的單株抗體或其抗原結合片段。本發明之示例的抗-PD-L1 抗體係列於文中的表 1 和表 2 中。表 1 列出了重鏈可變區(HCVR)、輕鏈可變區(LCVR)之胺基酸

序列辨識符，示例的抗-PD-L1 抗體之重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2 和 HCDR3)和輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2 和 LCDR3)。表 2 列出了示例的抗-PD-L1 抗體之 HCVR、LCVR、HCDR1、HCDR2 HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的核酸序列辨識符。

**【0009】** 本發明係提供包括一 HCVR 之抗體或其抗原結合片段，而該 HCVR 係包含一選自表 1 中所列的任何 HCVR 胺基酸序列之胺基酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%其序列一致性之其實質上類似序列。

**【0010】** 本發明亦提供包括一 LCVR 之抗體或其抗原結合片段，而該 LCVR 係包含一選自表 1 中所列的任何 LCVR 胺基酸序列之胺基酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%其序列一致性之其實質上類似序列。

**【0011】** 本發明亦提供包括一 HCVR 和一 LCVR 胺基酸序列對 (HCVR/LCVR)之抗體或其抗原結合片段，而該 HCVR 和 LCVR 胺基酸序列對係包含表 1 中所列的任何 HCVR 胺基酸序列與表 1 中所列的任何 LCVR 胺基酸序列配對。根據特定的實施例，本發明係提供抗體或其抗原結合片段，其係包括一對包含在表 1 中所列的任何示例抗-PD-L1 中之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對。在特定的實施例中，此 HCVR/LCVR 胺基酸序列對係由下列組成之群中選出：SEQ ID NO：2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/170、186/194、202/210、218/226、234/242、250/258、266/274、282/274、290/274、298/274、306/274、314/274、322/274、330/274 和 338/274。在特定的實施例中，此 HCVR/LCVR 胺基酸序列對係選自下列其中之一：SEQ ID NO：82/90 (例如，H2M8314N)、162/170 (例如，H2M8718N)、306/274 (例如，H1H9364P2)和 314/274(例如，H1H9373P2)。在特定的其他實施例中，此 HCVR/LCVR 胺基酸序列對係選自下列其中之一：SEQ ID NO：98/106(例如，H2M8316N)、146/154 (例如，H2M8323N)、290/274 (例如，H1H9351P2)和 330/274 (例如，H1H9387P2)。

**【0012】** 本發明亦提供包括一重鏈 CDR1 (HCDR1)之抗體或其抗原結合片段，而該重鏈 CDR1(HCDR1)係包含一選自表 1 中所列的任何 HCDR1

胺基酸序列之胺基酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似的序列。

【0013】 本發明亦提供包括一重鏈 CDR2 (HCDR2)之抗體或其抗原結合片段，而該重鏈 CDR2(HCDR2)係包含一選自表 1 中所列的任何 HCDR2 胺基酸序列之胺基酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似的序列。

【0014】 本發明亦提供包括一重鏈 CDR3 (HCDR3)之抗體或其抗原結合片段，而該重鏈 CDR3(HCDR3)係包含一選自表 1 中所列的任何 HCDR3 胺基酸序列之胺基酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似的序列。

【0015】 本發明亦提供包括一輕鏈 CDR1 (LCDR1)之抗體或其抗原結合片段，而該輕鏈 CDR1(LCDR1)係包含一選自表 1 中所列的任何 LCDR1 胺基酸序列之胺基酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似的序列。

【0016】 本發明亦提供包括一輕鏈 CDR2(LCDR2)之抗體或其抗原結合片段，而該輕鏈 CDR2(LCDR2)係包含一選自表 1 中所列的任何 LCDR2 胺基酸序列之胺基酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似的序列。

【0017】 本發明亦提供包括一輕鏈 CDR3 (LCDR3)之抗體或其抗原結合片段，而該輕鏈 CDR3(LCDR3)係包含一選自表 1 中所列的任何 LCDR3 胺基酸序列之胺基酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似的序列。

【0018】 本發明亦提供包括一 HCDR3 和一 LCDR3 胺基酸序列對 (HCDR3/LCDR3)之抗體或其抗原結合片段，而該 HCDR3 和 LCDR3 胺基酸序列對係包含表 1 中所列的任何 HCDR3 胺基酸序列與表 1 中所列的任何 LCDR3 胺基酸序列配對。根據特定的實施例，本發明係提供抗體或其抗原結合片段，其係包括一對包含在表 1 中所列的任何示例抗-PD-L1 抗體中之 HCDR3/LCDR3 胺基酸序列對。在特定的實施例中，此 HCDR3/LCDR3 胺基酸序列對係由下列組成之群中選出：SEQ ID NO：88/96（例如，

H2M8314N)、168/176 (例如, H2M8718N)、312/280 (例如, H1H9364P2)和 320/280 (例如, H1H9373P2)。在特定的其他實施例中, 此 HCDR3/LCDR3 胺基酸序列對係由下列組成之群中選出: SEQ ID NO: 104/112 (例如, H2M8316N)、152/160 (例如, H2M8323N)、296/280 (例如, H1H9351P2)和 336/280 (例如, H1H9387P2)。

【0019】 本發明亦提供包括一組六個包含在表 1 中所列的任何示例抗-PD-L1 抗體中之 CDR (亦即, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)。在特定的實施例中, 該 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 胺基酸序列組係由下列組成之群中選出: SEQ ID NO: 84-86-88-92-94-96 (例如, H2M8314N); 164-166-168-172-174-176 (例如, H2M8718N); 308-310-312-276-278-280 (例如, H1H9364P2); 和 316-318-320-276-278-280 (例如, H1H9373P2)。在特定的其他實施例中, 此 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 胺基酸序列組係由下列組成之群中選出: SEQ ID NO: 100-102-104-108-110-112 (例如, H2M8316N); 148-150-152-156-158-160 (例如, H2M8323N); 292-294-296-276-278-280 (例如, H1H9351P2); 和 332-334-336-276-278-280 (例如, H1H9387P2)。

【0020】 在一相關的實施例中, 本發明提供抗體或其抗原結合片段, 其係包括一組六個包含在列於表 1 中的任何示例抗-PD-L1 抗體所定義之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對內的 CDR (亦即, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)。例如, 本發明包括抗體或其抗原結合片段, 其係包括包含在由下列組成之群中選出的 HCVR/LCVR 胺基酸序列對內之 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 胺基酸序列組: SEQ ID NO: 82/90 (例如, H2M8314N)、98/106 (例如, H2M8316N)、146/154 (例如, H2M8323N)、162/170 (例如, H2M8718N)、290/274 (例如, H1H9351P2)、306/274 (例如, H1H9364P2)、314/274 (例如, H1H9373P2)和 330/274 (例如, H1H9387P2)。用於鑑定 HCVR 和 LCVR 胺基酸序列內之 CDR 的方法和技術已為本項技術所熟知並可用於鑑定文中所揭示的特定 HCVR 及/或 LCVR 胺基酸序列內的 CDR。可用於鑑定 CDR 範圍之示例性慣用法包括, 例如 Kabat 定義、Chothia 定義及 AbM 定義。一般而言, Kabat 定義係以序列的

變異性為基礎，Chothia 定義係以結構環區域之位置為基礎，而 AbM 定義為介於 Kabat 和 Chothia 方法間之折衷。參見，例如，Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)；Al-Lazikani 等人, *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997)；及 Martin 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:9268-9272 (1989)。亦可取得公開的資料庫供鑑定抗體內的 CDR 序列。

【0021】 本發明包括具有修飾糖基化模式之抗-PD-L1 抗體。在某些實施例中，移除不欲的糖基化位置之修飾作用可能為有用的，或在寡糖鏈上缺乏岩藻糖基團存在之抗體，例如，用以增加抗體依賴的細胞毒殺(ADCC)功能(參見 Shield 等人(2002) *JBC* 277:26733 (2002))。在其他的應用上，可進行半乳糖基化之修飾作用以修改補體依賴的細胞毒殺作用(CDC)。

【0022】 本發明亦提供，與包括 HCVR 之 CDR 和 LCVR 之 CDR 的抗體或其抗原結合片段競爭對 PD-L1 專一結合之抗體及其抗原結合片段，其中該 HCVR 和 LCVR 各自具有選自表 1 所列的 HCVR 和 LCVR 序列之胺基酸序列。

【0023】 本發明亦提供阻斷 PD-L1 與 PD-1 或與 B7-1 結合之分離的抗體及其抗原結合片段。在某些實施例中，此阻斷 PD-L1 與 PD-1 或與 B7-1 結合之抗體或其抗原結合片段可與如同 PD-1/B7-1 與 PD-L1 上的相同表位結合，或可能如 PD-1/B7-1 在 PD-L1 上的不同表位結合。在特定的實施例中，阻斷 PD-L1 與 PD-1 或與 B7-1 結合之本發明抗體係包括 HCVR 之 CDR，而該 HCVR 具有由表 1 所列的 HCVR 序列組成之群中選出的胺基酸序列；及包括 LCVR 之 CDR，而該 LCVR 具有由表 1 所列的 LCVR 序列組成之群中選出的胺基酸序。

【0024】 在替代的實施例中，本發明係提供不會阻斷 PD-L1 與 PD-1 或與 B7-1 結合之抗體及其抗原結合片段。在特定的實施例中，本發明係提供與 PD-L1 結合之分離的抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段增進 PD-L1 與 PD-1 或與 B7-1 結合。在某些實施例中，此等增進 PD-L1 與 PD-1 或與 B7-1 結合之分離的抗體或其抗原結合片段係包括 HCVR 之 CDR，其中該 HCVR 具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID

NO：18、66、114、130、202、218、266、282、298、322 和 338；及包括 LCVR 之 CDR，其中該 LCVR 具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：26、74、122、138、210、226 和 274。在某些實施例中，此等分離的抗體或其抗原結合片段係包括一對由下列組成之群中選出的 HCVR/LCVR 胺基酸序列對：SEQ ID NO：18/26 (例如，H2M8307N)、66/74 (例如，H2M8312N)、114/122 (例如，H2M8317N)、130/138 (例如，H2M8321N)、202/210 (例如，H1H9323P)、218/226 (例如，H1H9327P)、266/274 (例如，H1H9344P2)、282/274 (例如，H1H9345P2)、298/274 (例如，H1H9354P2)、322/274 (例如，H1H9382P2)和 338/274 (例如，H1H9396P2)。

【0025】 本發明亦提供與來自人類或其他物種之 PD-L1 專一結合之抗體及其抗原結合片段。在特定的實施例中，此等抗體可與人類 PD-L1 及/或與獼猴 PD-L1 結合。

【0026】 本發明亦提供抗體及其抗原結合片段，其係與包括 HCVR 之 CDR 和 LCVR 之 CDR 的參照抗體及其抗原結合片段交叉競爭與 PD-L1 結合，其中該 HCVR 和 LCVR 各自具有選自表 1 所列的 HCVR 和 LCVR 序列之胺基酸序列。

【0027】 在一實施例中，本發明係提供具有一或多項下列特徵之分離的抗體或抗原結合片段：(a)阻斷 PD-L1 與 PD-1 或與 B7-1 結合；(b)專一與人類 PD-L1 及/或獼猴 PD-L1 結合；(c)在混合的淋巴細胞反應(MLR)分析中，抑制 T-細胞增生；及(d)在 MLR 分析中，增加 IL-2 及/或干擾素- $\gamma$  分泌。

【0028】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段可以促效劑方式專一與 PD-L1 結合，亦即其可增進或刺激 PD-L1 結合及/或活性；在其他實施例中，抗體可以拮抗劑的方式專一與 PD-L1 結合，亦即其可阻斷 PD-L1 與其受體結合。

【0029】 在特定的實施例中，本發明之抗體或抗原結合片段為雙專一性的，其包括一與 PD-L1 結合之第一結合專一性及與第二目標表位結合之第二結合專一性。此第二目標表位可為 PD-L1 上或不同蛋白，例如一 T-細胞共抑制劑上的另外表位。在特定的實施例中，此目標表位可位在不同的細胞上，包括例如，不同的 T-細胞、B-細胞、腫瘤細胞、自體免疫組織細

胞或病毒染感的細胞。

【0030】 在第二方面，本發明係提供編碼抗-PD-L1 抗體或其部分之核酸分子。例如，本發明係提供編碼任何表 1 所列的 HCVR 胺基酸序列之核酸分子；在特定的實施例中此核酸分子係包括由表 2 所列的任何 HCVR 核酸序列中選出的多核苷酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98% 或至少 99% 其序列一致性之其實質上類似序列。

【0031】 本發明亦提供編碼任何表 1 所列的 LCVR 胺基酸序列之核酸分子；在特定的實施例中此核酸分子係包括由表 2 所列的任何 LCVR 核酸序列中選出的多核苷酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98% 或至少 99% 其序列一致性之其實質上類似序列。

【0032】 本發明亦提供編碼任何表 1 所列的 HCDR1 胺基酸序列之核酸分子；在特定的實施例中此核酸分子係包括由表 2 所列的任何 HCDR1 核酸序列中選出的多核苷酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98% 或至少 99% 其序列一致性之其實質上類似序列。

【0033】 本發明亦提供編碼任何表 1 所列的 HCDR2 胺基酸序列之核酸分子；在特定的實施例中此核酸分子係包括由表 2 所列的任何 HCDR2 核酸序列中選出的多核苷酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98% 或至少 99% 其序列一致性之其實質上類似序列。

【0034】 本發明亦提供編碼任何表 1 所列的 HCDR3 胺基酸序列之核酸分子；在特定的實施例中此核酸分子係包括由表 2 所列的任何 HCDR3 核酸序列中選出的多核苷酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98% 或至少 99% 其序列一致性之其實質上類似序列。

【0035】 本發明亦提供編碼任何表 1 所列的 LCDR1 胺基酸序列之核酸分子；在特定的實施例中此核酸分子係包括由表 2 所列的任何 LCDR1 核酸序列中選出的多核苷酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98% 或至少 99% 其序列一致性之其實質上類似序列。

【0036】 本發明亦提供編碼任何表 1 所列的 LCDR2 胺基酸序列之核酸分子；在特定的實施例中此核酸分子係包括由表 2 所列的任何 LCDR2 核酸序列中選出的多核苷酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98% 或

至少 99%其序列一致性之其實質上類似序列。

【0037】 本發明亦提供編碼任何表 1 所列的 LCDR3 胺基酸序列之核酸分子；在特定的實施例中此核酸分子係包括由表 2 所列的任何 LCDR3 核酸序列中選出的多核苷酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%其序列一致性之其實質上類似序列。

【0038】 本發明亦提供編碼 HCVR 之核酸分子，其中該 HCVR 係包括一組三個 CDR(亦即 HCDR1-HCDR2-HCDR3)，其中該 HCDR1-HCDR2-HCDR3 胺基酸序列組係如表 1 所列的任何示例抗-PD-L1 抗體所定義。

【0039】 本發明亦提供編碼 LCVR 之核酸分子，其中該 LCVR 係包括一組三個 CDR(亦即 LCDR1-LCDR2-LCDR3)，其中該 LCDR1-LCDR2-LCDR3 胺基酸序列組係如表 1 所列的任何示例抗-PD-L1 抗體所定義。

【0040】 本發明亦提供編碼 HCVR 和 LCVR 二者之核酸分子，其中該 HCVR 係包括表 1 所列的任何 HCVR 胺基酸序列之胺基酸序列，及其中該 LCVR 係包括表 1 所列的任何 LCVR 胺基酸序列之胺基酸序列。在特定的實施例中，核酸分子係包括由表 2 所列的任何 HCVR 核酸序列選出的多核苷酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%其序列一致性之其實質上類似序列，及由表 2 所列的任何 LCVR 核酸序列選出的多核苷酸序列，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%其序列一致性之其實質上類似序列。在特定的實施例中根據本發明此方面，此核酸分子係編碼 HCVR 和 LCVR，其中該 HCVR 和 LCVR 二者係衍生自表 1 所列的相同抗-PD-L1 抗體。

【0041】 在一相關方面，本發明係提供重組的表現載體，其能表現一包括抗-PD-L1 抗體之重鏈或輕鏈可變區的多肽。例如，本發明係包括重組的表現載體，其係包含任何上述之核酸分子，亦即編碼任何如表 1 中所示的 HCVR、LCVR 及/或 CDR 序列之核酸分子。本發明之範圍亦包括其中已導入此等載體之宿主細胞，以及藉由在得以產生抗體或抗體片段之條件下培養宿主細胞，並回收所產生的抗體或抗體片段來製造抗體或其部份之方

法。

**【0042】** 在第三方面，本發明係提供多專一性抗原結合分子及其抗原結合片段，其係包括專一與 PD-L1 結合之第一抗原結合專一性和專一與由 PD-L1、腫瘤細胞專一性抗原、感染細胞專一性抗原和 T-細胞共抑制劑組成之群中選出的抗原結合之第二抗原結合專一性。在特定的實施例中，第一抗原結合專一性可包括三個 CDR，其係衍生自具有選自表 1 中 HCVR 序列之胺基酸序列的 HCVR。在一實施例中，此第一抗原結合專一性可包括一 PD-1 或 B7-1 之胞外區，或其片段。第二抗原結合專一性可以如同 PD-L1 的相同細胞上，或相同組織類型的不同細胞上之抗原為目標。例如，多專一性抗原結合分子可與 T-細胞結合，其中該第一抗原結合專一性可專一與 PD-L1 結合而該第二抗原結合專一性可與 T-細胞上的 T 細胞共抑制劑結合。另一種選擇，在另外的實施例中，此第一抗原專一性係專一與 T-細胞上的 PD-L1 結合，而該第二抗原結合專一性係以 B 細胞或巨噬細胞或抗原表現細胞上的抗原/受體為目標。在特定的實施例中，此第二抗原結合專一性係針對腫瘤細胞或被病毒感染的細胞上之抗原。在一實施例中，此第一抗原結合專一性係包括一 PD-1 之胞外區，而此第二抗原結合專一性係與 PD-L1 上的不同表位結合。在特定的實施例中，此第一抗原專一性係以較低的親和力，例如以大於  $10^{-8}$  M，大於  $10^{-7}$  M，大於  $10^{-6}$  M，或大於  $10^{-5}$  M 之  $K_D$ ，與 PD-L1 結合。

**【0043】** 在第四方面，本發明係提供包括專一與 PD-L1 結合之重組的人類抗體或其抗原結合片段以及醫藥上可接受載劑的醫藥組成物。在一相關的方面，本發明之特徵為組合抗-PD-L1 抗體和第二治療劑之組成物。在一實施例中，此第二治療劑為任何有利地與抗-PD-L1 抗體組合之試劑。可有利地與抗-PD-L1 抗體組合之示例性試劑係包括(不限於)結合及/或調節 PD-L1 訊號傳遞之其他試劑(包括其他抗體或其抗原結合片段等)及/或不會直接與 PD-L1 結合然而會調節免疫細胞活性之試劑。包括本發明抗-PD-L1 抗體和多專一性抗原結合分子之另外的組合治療和共調配物係揭示於文中的他處。

**【0044】** 在第五方面，本發明係提供於一患者中調節免疫反應之方法，

該方法係包括將一治療上有效量之本發明抗-PD-L1 抗體或其抗原結合片段投予有此需要之患者。在特定的實施例中，本發明係提供於一患者中增進免疫反應之方法，該方法係包括將一治療上有效量之結合 PD-L1 或阻斷 PD-L1 與 PD-1 或 B7-1 結合之本發明抗體或其片段投予該患者。在一實施例中，本發明係提供於一患者中刺激或增進 T-細胞活化之方法，該方法係包括將一本發明之阻斷抗體或其抗原結合片段投予有此需要的患者。在一實施例中，本發明係提供於一患者中抑制 T-調節(Treg)細胞之方法，該方法係包括將一本發明之阻斷抗體或其抗原結合片段投予有此需要的患者。在特定的實施例中，該有此需要之患者可能患有疾病或病症，例如癌症或病毒感染。在替代的實施例中，本發明係提供抑制 T-細胞活化之方法，該方法係包括將一本發明之活化抗體或其抗原結合片段投予有此需要的患者。在特定的進一步之實施例中，有此需要之患者可能患有自體免疫疾病。

**【0045】** 在第六方面，本發明係提供於一患者中使用本發明之抗-PD-L1 抗體或抗體之抗原結合部份供治療疾病或病症，例如癌症或病毒感染之治療方法，其中該治療方法係包括將一治療上有效量之包括本發明抗體或抗體之片段的醫藥組成物投予有此需要之患者。所治療的病症為任何藉由刺激或抑制 PD-L1 結合或活性而加以改善、改進、抑制或防止之疾病或症狀。在特定的實施例中，本發明之抗體或其抗原結合片段係與第二治療劑組合，投予有此需要之患者。此第二治療劑可由下列組成之群中選出：T-細胞共抑制劑之抗體、腫瘤細胞抗原之抗體、T-細胞受體之抗體、Fc 受體之抗體、病毒感染細胞上表位之抗體、PD-1 之抗體、細胞毒性劑、抗癌藥物、抗病毒藥物、抗發炎藥(例如，皮質類固醇)、VEGF 拮抗劑及本項技術中已知的任何其他藥物或治療。在特定的實施例中，此第二治療劑可為幫助抵消或降低與本發明抗體或其抗原結合片段有關之任何可能的副作用之試劑，若此(等)副作用可能發生的話。

**【0046】** 在特定的實施例中，本發明係提供抑制腫瘤生長之方法。在特定的實施例中，本發明係提供增進癌症病患存活之方法。癌症之實例，包括(但不限於)原發性及/或復發的癌症，包括腦癌(例如，多形性膠質母細胞瘤)、肺癌(例如，非小細胞肺癌)、頭和頸部之鱗狀細胞癌、腎細胞癌、

黑色素瘤、多發性骨髓瘤、前列腺癌和大腸癌。此等方法係包括投予包括一治療上有效量之本發明抗-PD-L1 抗體與由下列組成之群中選出的第二治療治療劑組合之醫藥組成物：血管內皮生長因子(VEGF)拮抗劑(例如，阿柏西普(aflibercept)、貝伐單抗(bevacizumab)、血管生成素-2(Ang2)抑制劑(例如，抗-Ang2 抗體，如內斯伐單抗(nesvacumab))、淋巴細胞活化基因 3 (LAG-3)抑制劑、細胞毒性 T-淋巴細胞抗原 4(CTLA-4)抑制劑(例如，伊匹單抗(ipilimumab))、CCR4 抑制劑(例如，莫加珠單抗(mogamulizumab))、化療劑及放射線治療。可用於與本發明抗-PD-L1 抗體組合供用於治療癌症之另外的治療/治療劑實例係描述於文中之他處。

【0047】 抗體或其片段可皮下、靜脈內、皮內、腹膜內、口服、肌肉內或顱內給藥。抗體或其片段可以約 0.1 mg/kg 患者體重至約 100 mg/kg 患者體重之劑量來給藥。

【0048】 本發明亦包括抗-PD-L1 抗體或其抗原結合片段用於製造醫藥品供治療因阻斷或增進 PD-L1 結合及/或訊號傳遞而得利之疾病或病症(例如，癌症和慢性病毒感染)之用途。

【0049】 從確認詳細說明之論述中其他的實施例將變得顯而易見。

### 【圖式簡單說明】

【0050】 圖 1 為文中實例 8 所述以螢光酶為基礎的 PD-L1 生物分析之示意圖。A 圖：失活的 Jurkat 細胞；B 圖：Jurkat 細胞經由 CD3xCD20 雙專一性抗體被 T-細胞受體(TCR)集群活化；C 圖：PD-1 活化減弱了活化的 Jurkat 細胞中之反應；D 圖：阻斷 PD-L1 救回活化的 Jurkat 細胞中之反應。

【0051】 圖 2-3 係說明植入 Colon-26 腫瘤細胞在第 0 天時，及以所示的分子組合物藉由注射治療在第 3、6、10、13 和 19 天時(「早期治療腫瘤模型」)小鼠的腫瘤生長和存活結果。圖 2 係描繪植入後，不同實驗組在不同的時間點之腫瘤體積(以 mm<sup>3</sup> 表示)。沿著 X 軸向上的箭頭係指治療注射的時間。圖 3 係顯示於植入後 28 天時各實驗組中個別小鼠之腫瘤體積(以

mm<sup>3</sup>表示)。「mIgG2a」為 IgG2 同型對照組；「Fc」為人類 Fc 對照組；「VEGF Trap」為阿柏西普(flibercept)；「抗-PD-1」為抗小鼠 PD-1 選質株 RPMI-14；「抗-PD-L1」為文中他處所述之抗-PD-L1 單株抗體。

### 【實施方式】

【0052】 在描述本發明之前，應了解，本發明不限於所述的特定方法和實驗條件，因為此等方法和條件可改變。亦應了解，文中所用的術語僅作為描述特定實施例之目的，且不希望受限，因為本發明之範圍將僅受限於所附的申請專利範圍。

【0053】 除非另有說明，否則所有文中所用的技術和科學術語係具有如本發明所屬技術之一般技術者所正常理解之相同意義。雖然在施行或試驗本發明時可使用任何該等與文中所述的方法和物質類似或相當者，但較佳的方法和物質為目前所述。本說明書中所提及的所有刊物係以全文引用的方式併入本文中。

【0054】 術語「PD-L1」係指程序性死亡配體 1，亦稱為 CD274 和 B7H1。全長的 PD-L1 之胺基酸序列係提供於 GenBank 中登錄號 NP\_054862.1，且在文中亦指 SEQ ID NO：351。術語「PD-L1」亦包括具有 SEQ ID NO：345、346、347 或 348 胺基酸序列之 PD-L1 的蛋白變體。術語「PD-L1」包括重組的 PD-L1 或其片段。此術語亦涵蓋結合，例如組胺酸標籤、小鼠或人類 Fc，或訊號序列例如 ROR1 之 PD-L1 或其片段。例如，此術語係包括例如 SEQ ID NO：347 或 348 之序列，其係在 C-端包括了小鼠 Fc(mIgG2a)或人類 Fc (hIgG1)與全長 PD-L1(SEQ ID NO：351；NP\_054862.1)之胺基酸殘基 19-239 結合。蛋白變體例如 SEQ ID NO：345，係在 C-端包括一組胺酸標籤與 NP\_054862.1 之胺基酸殘基 19-239 結合。除非有指出係來自非人類物種，否則術語「PD-L1」係指人類 PD-L1。

【0055】 PD-L1 為一 290 個胺基酸的蛋白，具有類-IgV 和類-IgC 區(全長 PD-L1 之胺基酸 19-239)、跨膜區和約 30 個胺基酸之胞內區。PD-L1 組成上表現在許多細胞，例如抗原呈現細胞(例如，樹突細胞、巨噬細胞和 B-細胞)及在非造血細胞上(例如，血管內皮細胞、胰小島及免疫特權位置)。

PD-L1 亦表現在廣泛的各種腫瘤及病毒感染的細胞中，且為免疫抑制環境之組份(Ribas 2012, NEJM 366 : 2517-2519)。PD-L1 係與 T-細胞共抑制劑 PD-1 和 B7-1 二者之一結合。

【0056】 術語「PD-1」係指程序性死亡-1 蛋白，一種 T-細胞共抑制劑，亦稱為 CD279。全長的 PD-1 之胺基酸序列係提供於 GenBank 中登錄號為 NP\_005009.2 且在本文中亦指 SEQ ID NO : 352。此術語亦涵蓋結合例如組胺酸標籤、小鼠或人類 Fc，或訊號序列例如 ROR1 之 PD-1 或其片段。例如，此術語包括例如 SEQ ID NO : 349 或 350 之序列，其在 C-端包括一小鼠 Fc (mIgG2a)或人類 Fc (hIgG1)，與帶有 C93S 改變之 NP\_005009.2 的胺基酸殘基 25-170 結合。

【0057】 PD-1 為 T-細胞共抑制劑之 CD28/ CTLA-4/ICOS 家族的成員。PD-1 為一 288-胺基酸蛋白，具有類-IgV 之胞外 N-端區、跨膜區和含有免疫受體酪胺酸基底的抑制(ITIM)膜體和免疫受體酪胺酸基底的轉換(ITSM)膜體(Chattopadhyay 等人 2009, Immunol. Rev.)。PD-1 受體具有二種配體，PD-L1 和 PD-L2。

【0058】 術語「B7-1」係指 T-淋巴細胞活化抗原，亦稱為協同刺激因子 CD80。B7-1 為一 288 個胺基酸之膜受體，具有包括類-IgV(aa 37-138)和類-IgC (aa 154-232)區之胞外 N-端區、跨膜區(aa 243-263)和 C-端胞內區(aa 263-288)。全長的 B7-1 之胺基酸序列係提供於 GenBank 中登錄號為 NP\_005182.1。

【0059】 如文中所用，術語「T-細胞共抑制劑」係指經由 T-細胞活化或抑制來調節免疫反應之配體及/或受體。術語「T-細胞共抑制劑」亦稱為 T-細胞共訊號傳遞分子，包括(但不限於)PD-1、淋巴細胞活化基因 3 蛋白 (LAG-3，亦稱為 CD223)、細胞毒性 T-淋巴細胞抗原-4(CTLA-4)、B 和 T 淋巴細胞衰減劑(BTLA)、CD-28、2B4、LY108、T-細胞免疫球蛋白和黏液素-3 (TIM3)、具有免疫球蛋白之 T-細胞免疫受體及 ITIM(TIGIT；亦稱為 VSIG9)、白細胞有關的類-免疫球蛋白受體 1 (LAIR1；亦稱為 CD305)、可誘導的 T-細胞協同刺激因子(ICOS;亦稱為 CD278)、B7-1 (CD80)及 CD160。

【0060】 術語「抗體」，如文中所用，希望係指包含藉由雙硫鍵相連

接的四條多肽鏈(二條重(H)鏈和二條輕(L)鏈)之免疫球蛋白分子以及其多聚體(例如 IgM)或其抗原結合片段。各重鏈係由一重鏈可變區(HCVR 或  $V_H$ )及一重鏈恆定區(包括  $C_{H1}$ 、 $C_{H2}$  和  $C_{H3}$  區)所組成。各輕鏈係由一輕鏈可變區(LCVR 或  $V_L$ )及一輕鏈恆定區( $C_{L1}$ )所組成。 $V_H$  和  $V_L$  區可進一步細分為高變區,稱為互補決定區(CDR),其間散佈著較保守性區域,稱為框架區(FR)。各  $V_H$  和  $V_L$  係由三個 CDR 和四個 FR 所組成,以下列順序由胺基端排列至羧基端:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本發明特定的實施例中,抗體(或其抗原結合部分)之 FR 可與人類生殖系序列相同,或可為天然的或經人工修飾。胺基酸共有序列可以二或多個 CDR 之並排(side-by-side)分析為基準來定義。

【0061】 一或多個 CDR 殘基之取代,或一或多個 CDR 之刪除亦為可能的。抗體已描述於科學文獻中,其中一或多個 CDR 可經分配供結合。Padlan 等人(1995 FASEB J. 9:133-139)以公開的晶體結構為基礎,分析了抗體及其抗原間的接觸區,並結論出僅約五分之一至三分一的 CDR 殘基實際與抗原接觸。Padlan 亦發現許多抗體,其中一至二個 CDR 並無胺基酸與抗原接觸(亦參見 Vajdos 等人, 2002 J Mol Biol 320:415-428)。

【0062】 未與抗原接觸之 CDR 殘基可基於之前的研究(例如 CDRH2 中之 H60-H65 殘基通常不需要),由位於 Chothia CDR 外部之 Kabat CDR 區,藉由分子模型及/或以經驗加以鑑定。若 CDR 或其殘基被消除,其通常係經一在另外的人類抗體序列或相同之此等序列中占據對應位置之胺基酸取代。CDR 內供取代的位置和取代的胺基酸亦可以經驗來選擇。根據經驗的取代可為保守的或非保守取代。

【0063】 相較於對應的生殖系序列,文中所揭示的全長人類抗-PD-L1 單株抗體可在重鏈和輕鏈可變區之框架及/或 CDR 區中包括一或多個胺基酸取代、插入及/或刪除。此等突變可藉由將文中所揭示之胺基酸序列與得自,例如公開的抗體序列資料庫之生殖系序列相比較,容易地確定。本發明包括由任何文中所揭示的胺基酸序列所衍生之抗體及其抗原結合片段,其中在一或多個框架及/或 CDR 區中的一或多個胺基酸係突變成從其衍生抗體之生殖系序列的對應殘基,或另一種人類生殖系序列之對應殘基,

或對應生殖系殘基之保守胺基酸取代(此等序列之改變在文中統稱為「生殖系突變」)。本項技術之一般技術者，由文中所揭示之重鏈和輕鏈可變區序列開始，可容易地製造許多包括一或多個個別的生殖系突變或其組合之抗體和抗原結合片段。在特定的實施例中， $V_H$  及/或  $V_L$  區內的所有框架及/或 CDR 殘基係突變回到衍生此抗體之原始生殖系序列中所發現的殘基。在其他實施例中，僅特定的殘基突變回到原始的生殖系序列，例如僅在 FR1 的前 8 個胺基酸中或 FR4 的後 8 個胺基酸中發現突變的殘基，或僅在 CDR1、CDR2 或 CDR3 內發現突變的殘基。在其他的實施例中，一或多個框架及/或 CDR 殘基係突變成不同生殖系序列之對應殘基(亦即與最初從其衍生抗體之生殖系序列不同的生殖系序列)。再者，本發明抗體在框架及/或 CDR 區內可含有任何二或多個生殖系突變之組合，例如，其中特定的個別殘基係突變成特定生殖系序列之對應殘基，而與原始生殖系序列不同的其他殘基係維持原樣或突變成不同生殖系序列之對應殘基。一旦得到後，含有一或多個生殖系突變之抗體和抗原結合片段可容易地測試其一或多種所欲的性質，例如結合專一性改善、結合親和力增加、拮抗或促效性生物性質改善或增進(視情況而定)、致免疫力降低等。以此通用方法所得的抗體和抗原結合片段係涵蓋在本發明中。

**【0064】** 本發明亦包括全長的人類抗-PD-L1 單株抗體，其係包含具有一或多個保守取代之文中所揭示的任何 HCVR、LCVR 及/或 CDR 胺基酸序列的變體。例如，本發明包括抗-PD-L1 抗體，其相對於文中所揭示之任何 HCVR、LCVR 及/或 CDR 胺基酸序列，係具有含例如 10 個或更少、8 個或更少、6 個或更少、4 個或更少等之保守性胺基酸取代的 HCVR、LCVR 及/或 CDR 胺基酸序列。

**【0065】** 術語「人類抗體」，如文中所用，希望係包括具有衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區和恆定區的抗體。本發明之人類 mAb 可包括並非由人類生殖系免疫球蛋白序列所編碼之胺基酸殘基(例如藉由隨機或活體外位置專一性誘變所導入之突變或活體內體細胞突變)，例如在 CDR 中及特別是 CDR3。然而，術語「人類抗體」，如文中所用，不希望包括其中衍生自另外哺乳動物物種(例如小鼠)之生殖系的 CDR 序列已嫁接在

人類 FR 序列上之 mAb。此術語包括於非人類哺乳動物中，或於非人類哺乳動物細胞中重組產生的抗體。此術語不希望包括分離自或產生自人類對象之抗體。

【0066】 術語「多專一性抗原結合分子」如文中所用係指雙專一性、三專一性或多專一性抗原結合分子及其抗原結合片段。多專一性抗原結合分子可對一目標多肽之不同的表位具專一性或可含有對一個以上的目標多肽具專一性之抗原結合區。多專一性抗原結合分子可為單一多功能性多肽，或其可為彼此共價或非共價相連結之二或多個多肽的多聚性複合物。術語「多專一性抗原結合分子」包括可與另外的功能分子，例如另外的多肽或蛋白相連接或共表現之本發明抗體。例如，抗體或其片段可與一或多個其他的分子實體，例如一蛋白或其片段功能性連接(例如以化學偶合、基因融合、非共價連結或其他)，產生帶有第二結合專一性之雙專一性或多專一性抗原結合分子。根據本發明，術語「多專一性抗原結合分子」亦包括雙專一性、三專一性或多專一性抗體或其抗原結合片段。在特定的實施例中，本發明之抗體係與另外的抗體或抗體片段功能性連接，產生帶有第二結合專一性之雙專一性抗體。本發明之雙專一性和多專一性抗體係描述於文中的他處。

【0067】 術語「專一結合(specifically binds 或 binds specifically to)」或其類似術語係指抗體或其抗原結合片段與抗原形成一在生理條件下相當穩定的複合物。專一結合其特徵為平衡解離常數至少約  $1 \times 10^{-8}$  M 或更低(例如，較小的  $K_D$  係代表較高的結合)。測定二種分子是否為專一結合之方法已為本項技術所熟知並包括，例如平衡透析、表面電漿共振及類似方法。如文中所述，與 PD-L1 專一結合之抗體係藉由表面電漿共振，例如 BIACORE™來鑑別。再者，與 PD-L1 之一區及與一或多個另外的抗原結合之多專一性抗體，或與 PD-L1 之二個不同區結合的雙專一性抗體，雖然如此，如文中所用係被視為「專一結合」之抗體。

【0068】 術語「高親和力」抗體係指該等具有對 PD-L1 之結合親和力，如表面電漿共振，例如 BIACORE™或溶液親和性 ELISA 所測，以  $K_D$  表示，至少  $10^{-8}$  M；較佳地  $10^{-9}$  M；更佳地  $10^{-10}$  M，甚佳地  $10^{-11}$  M，甚佳

地  $10^{-12}$  M。

【0069】術語「緩慢解離速率」或「 $k_d$ 」係指一抗體，如表面電漿共振，例如 BIACORE™所測，以  $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  或更低，較佳地  $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  或更低之速率常數，從 PD-L1 解離。

【0070】術語抗體之「抗原結合部分」、抗體之「抗原結合片段」等等，如文中所用，包括任何與抗原專一結合形成一複合物之天然生成、酵素製得、合成或基因工程化的多肽或糖蛋白。術語抗體之「抗原結合片段」或「抗體片段」，如文中所用，係指一或多種保留與 PD-L1 結合能力之抗體片段。

【0071】在特定的實施例中，本發明之抗體或抗體片段可與一基團，例如配體或治療基團，例如抗生素、第二抗-PD-L1 抗體，或另外抗原，例如腫瘤特異性抗原、病毒感染細胞抗原之抗體，或 T-細胞共抑制劑或免疫毒素，或可用於治療疾病或症狀，例如癌症、慢性病毒感染或自體免疫疾病之任何其他的治療基團接合(免疫接合物)。

【0072】「分離的抗體」，如文中所用，希望係指一抗體其實質上不具有不同抗原專一性之其他抗體(例如，專一與 PD-L1 結合之分離的抗體或其片段實質上無專一結合 PD-L1 以外的抗原之 Ab)。

【0073】「阻斷」或「中和」抗體，如文中所用(或「中和 PD-L1 活性之抗體」希望係指一抗體其與 PD-L1 結合產生抑制至少一項 PD-L1 之生物活性。例如，本發明抗體可防止或阻斷 PD-L1 與 PD-1 或與 B7-1 結合。

【0074】「活化抗體」或「增進抗體」，如文中所用(或「促效劑抗體」希望係指一抗體其與 PD-L1 結合造成增加或刺激至少一項 PD-L1 之生物活性。例如，本發明抗體可增加或增進 PD-L1 與 PD-1 或 B7-1 結合。

【0075】術語「表面電漿共振」，如文中所用，係指得以藉由偵測生物感測器基質內的蛋白濃度改變，例如使用 BIACORE™系統(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.)，進行即時分子生物相互作用之分析的光學現象。

【0076】術語「 $K_D$ 」，如文中所用，希望係指特定抗體-抗原相互作用之平衡解離常數。

【0077】 術語「表位」係指與抗體分子可變區中稱為補位(paratope)的特定抗原結合位置相互作用之抗原決定位。單一抗原可具有一個以上的表位。因此，不同的抗體可與抗原上不同的區域結合並可具有不同的生物效應。術語「表位」亦指抗原與 B 及/或 T 細胞反應之抗原上的位置。其亦指被抗體結合之抗原區。表位可以結構或功能加以定義。功能表位一般為結構表位之子群，且具有該等直接促成相互作用之親和力的殘基。表位亦可為構型的，亦即由非線性胺基酸組成。在特定的實施例中，表位可包括分子之化學活性表面分類，例如胺基酸、糖側鏈、磷醯基或磺醯基之決定位，及在特定的實施例中，可具有特異的三維結構特性，及/或特異的帶電特性。

【0078】 術語「實質上一致」或「實質上相同」當指核酸或其片段時，係表示當以適當的核苷酸插入或刪除與另一核酸(或其互補股)最佳化對齊時，以任何熟知的序列一致性演算法，例如下文所論述的 FASTA、BLAST 或 GAP 來測量，有至少約 95%，及更佳地至少約 96%、97%、98%或 99%之核苷酸鹼基具核苷酸序列一致性。具有與參照核酸分子實質上一致性的核酸分子，在特定情況下，可編碼與參照核酸分子所編碼的多肽具有相同或實質上類似胺基酸序列之多肽。

【0079】 當用於多肽時，術語「實質類似」或「實質上類似」係指二個胜肽序列，當以 GAP 或 BESTFIT 程式使用內建缺位權重最佳化對齊時，享有至少 95%序列一致性，甚佳地至少 98%或 99%序列一致性。較佳地，不同的殘基位置係相差在保守性胺基酸取代。「保守性胺基酸取代」為其中一胺基酸殘基係經另一帶有類似化學性質(例如電荷或疏水性)側鏈(R 基)之胺基酸殘基所取代。一般而言，保守性胺基酸取代實質上不會改變蛋白的功能性質。在其中彼此有二或多個保守性取代之不同胺基酸序列的案例中，可上調序列一致性之百分比或類似程度以修正此取代作用之保守性質。調整之方法已為熟習本項技術者所熟知。參見，例如 Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331，其係以引用的方式併入本文中。具有類似化學性質之側鏈的胺基酸基團實例包括 1)脂系側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸；2)脂系-羥基側鏈：絲胺酸及蘇胺酸；3)含醯胺側鏈：天

門冬醯胺酸和麩醯胺酸；4)芳香側鏈：苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸；5)鹼性側鏈：離胺酸、精胺酸及組胺酸；6)酸性側鏈：天門冬胺酸和麩胺酸，及7)含硫側鏈：半胱胺酸和甲硫胺酸。較佳的保守性胺基酸取代基群有：纈胺酸-白胺酸-異白胺酸、苯丙胺酸-酪胺酸、離胺酸-精胺酸、丙胺酸-纈胺酸、麩胺酸-天門冬胺酸及天門冬醯胺酸-麩醯胺酸。另外，保守性置換為在 Gonnet 等人(1992) *Science* 256: 1443-45(其係以引用的方式併入本文中)所揭示的 PAM250 對數似然矩陣中具有正值之任何變化。「中度保守性」置換為在 PAM250 對數似然矩陣中具有非負值之任何變化。

**【0080】** 多肽之序列類似性，典型地係使用序列分析軟體來測量。蛋白分析軟體使用分配至各種取代、刪除和其他修飾作用(包括保守性胺基酸取代)之類似度量值配出類似的序列。例如，GCG 軟體含有例如 GAP 和 BESTFIT 程式，其可使用內定參數，測定密切相關的多肽間，例如來自不同生物物種之同源多肽，或野生型和其突變蛋白間之序列同源性或序列一致性。參見，例如 GCG Version 6.1。多肽序列亦可使用 FASTA，利用內定或建議參數，一種 GCG Version 6.1 內的程式，作比較。FASTA(例如 FASTA2 和 FASTA3)提供查詢序列和搜尋序列間最佳重疊區之比對和序列一致性百分比(前文 Pearson (2000))。當本發明序列與含有較大量來自不同生物體的序列資料庫作比較時，另一較佳的演算法為使用內定參數之電腦程式 BLAST，特別是 BLASTP 或 TBLASTN。參見，例如 Altschul 等人(1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 及(1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402，其各自係以引用的方式併入本文中。

**【0081】** 「治療上有效量」一詞係指就其投予產生所欲的效用之量。確切的量將依照治療目的而定，且可由熟習本項技術者使用已知的技術確定(參見，例如 Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*)。

**【0082】** 如文中所用，「患者」係指需要改善、防止及/或治療疾病或病症，例如慢性病毒感染、癌症或自體免疫疾病之動物，較佳的哺乳動物。

**【0083】** 如文中所用，「抗癌藥物」係指任何可用於治療癌症之藥劑，包括(但不限於)細胞毒素和例如抗代謝物、烷化劑、蔥環類、抗生素、抗有

絲分裂藥劑、甲基苄肼、羥基尿素、天門冬醯胺酶、皮質類固醇、米托坦(mytotane)(O,P'-(DDD))、干擾素和放射活性試劑之藥劑。如文中所用，「細胞毒素或細胞毒性劑」係指任何對細胞有害的藥劑。實例包括 Taxol® (太平洋紫杉醇(paclitaxel))、細胞鬆弛素 B (cytochalasinB)、短桿菌肽 D (gramicidin D)、溴化乙錠(ethidium bromide)、吐根鹼(emetine)、絲裂黴素(mitomycin)、依託泊苷(etoposide)、替尼泊苷(tenoposide)、長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、秋水仙素(colchicin)、多柔比星(doxorubicin)、柔紅黴素(daunorubicin)、二羥基炭疽菌素二酮(dihydroxy anthracin dione)、米托蒽醌(mitoxantrone)、光神黴素(mithramycin)、放線菌素 D (actinomycin D)、1-去氫辜酮(1-dehydrotestosterone)、糖皮質類固醇(glucocorticoids)、普魯卡因(procaine)、丁卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛爾(propranolol)和嘌呤黴素(puromycin)及其類似物或同系物。

【0084】 如文中所用，術語「抗病毒藥物」係指任何用於治療、防止或改善宿主患者之病毒感染的藥物或治療。術語「抗病毒藥物」包括(但不限於)齊多夫定(zidovudine)、拉米夫定(lamivudine)、阿巴卡韋(abacavir)、利巴韋林(ribavirin)、洛匹那韋(lopinavir)、依法韋侖(efavirenz)、cobicistat、泰諾福韋(tenofovir)、利匹韋林(rilpivirine)、止痛劑和皮質類固醇。在本發明內文中，病毒感染係包括由病毒，包括(但不限於)人類免疫缺陷病毒(HIV)、B 型肝炎病毒(HBV)、C 型肝炎病毒(HCV)、人類乳突病毒(HPV)、淋巴細胞性脈絡叢腦膜炎病毒(LCMV)及猴免疫缺陷病毒(SIV)所造成的長期或慢性感染。

【0085】 本發明之抗體及抗原結合片段係專一與 PD-L1 結合並調節 PD-L1 與 PD-1 或 B7-1 之相互作用。抗-PD-L1 抗體可以高親和力或以低親和力與 PD-L1 結合。在特定的實施例中，本發明之抗體係阻斷其中抗體係與 PD-L1 結合之抗體及阻斷 PD-L1 與 PD-1 或 B7-1 之相互作用。在某些實施例中，本發明之阻斷抗體係阻斷 PD-L1 與 PD-1 或 B7-1 結合及/或刺激或增進 T-細胞活化。在某些實施例中，此等阻斷抗體可用於刺激或增進免疫反應及/或用於治療患有癌症或慢性病毒感染之患者。此抗體當投予有此需要的患者中時，可降低該患者之病毒，例如 HIV、LCMV 或 HBV 感染。其

可用於抑制患者中腫瘤細胞的生長。其可單獨使用或作為本項技術中已知的其他治療部份或形式之輔助治療，供治療癌症或病毒感染。在特定的實施例中，係使用以低親和力與 PD-L1 結合之抗-PD-L1 抗體作為多專一性抗原結合分子，其中第一結合專一性係以低親和力與 PD-L1 結合，而第二結合專一性係與由下列組成之群中選出的抗原結合：PD-L1 的不同表位、T-細胞共抑制劑，例如 PD-1、腫瘤特異性抗原及感染細胞特異性抗原。

【0086】 在特定的實施例中，本發明抗體為促效劑抗體，其中該抗體係與 PD-L1 結合並增進 PD-L1 和 PD-1/B7-1 的相互作用。在某些實施例中，活化的抗體增進 PD-L1 與 PD-1 或 B7-1 之結合，及/或抑制或壓抑 T-細胞活化。本發明之活化的抗體可用於患者中抑制免疫反應及/或治療自體免疫疾病。

【0087】 在特定的實施例中，此抗-PD-L1 抗體為多專一性抗原結合分子，其中其係包括結合 PD-L1 之第一結合專一性以及結合由下列組成之群中選出的抗原之第二結合專一性：PD-L1 的不同表位、T-細胞共抑制劑例如 PD-1、腫瘤特異性抗原及感染細胞特異性抗原。在特定的實施例中，第一結合專一性係以低親和力，例如以  $10^{-8}\text{M}$ 、 $10^{-7}$  或更高之  $K_D$  與 PD-L1 結合。

【0088】 本發明之特定的抗-PD-L1 抗體，如活體外或活體內分析所測定，能結合及中和 PD-L1 活性。本發明抗體結合及中和 PD-L1 活性之能力可使用熟習本項技術者已知的標準方法來測量，包括如文中所述之活性分析。

【0089】 用於測量結合活性之非限定、示例的活體外分析係如文中實例 3 中所示。在實例 3 中，人類抗-PD-L1 抗體對人類 PD-L1 和獼猴 PD-L1 之結合親和力和動力學常數係以表面電漿共振來測定且該測量係在 T200 Biacore 儀器上進行。在實例 4 和 5 中，阻斷分析係用於測定活體外抗-PD-L1 抗體阻斷 PD-L1 與 PD-1 或與 B7-1 結合能力之能力。在實例 6 中，阻斷分析係用於測定不同的抗-PD-L1 抗體間之交叉競爭。實例 7 係描述抗體與過度表現 PD-L1 之細胞的結合。在實例 8 中，螢光素酶分析係用於測定 T-細胞中抗-PD-L1 抗體拮抗 PD-1/PD-L1 訊號傳遞之能力。

【0090】 在特定的實施例中，本發明抗體能在活體外及患有癌症的患者或被病毒感染(例如 LCMV)的患者中增進或刺激 T-細胞活化。在特定的實施例中，本發明抗體係與第二治療劑，例如腫瘤特異性抗原或 T-細胞共抑制劑組合使用，用以增進免疫反應及抑制患者中腫瘤生長。在特定的實施例中，本發明之促效劑抗體能增進 PD-L1 與 PD-1 或 B7-1 結合且可在活體外及/或患有自體免疫疾病的患者中抑制 T-細胞活化。

【0091】 對 PD-L1 具專一性的抗體可能不含有另外的標記或基團，或其可含有 N-端或 C-端標記或基團。在一實施例中，此標記或基團為生物素。在一結合分析中，標記的位置(若有)，依所結合的胜肽可決定相對於表面之胜肽向位。例如，若表面係塗覆上抗生物素(avidin)，則含有 N-端生物素之胜肽方向將使得胜肽的 C-端部分為表面的遠端。在一實施例中，此標記可為放射性核素、螢光染劑或 MRI-可偵測標記。在特定的實施例中，此等標定的抗體可用於診斷分析中，包括造影分析。

### 抗體之抗原結合片段

【0092】 除非另有說明，否則術語「抗體」如文中所用，應了解係涵蓋包括二條免疫球蛋白重鏈和二條免疫球蛋白輕鏈之抗體分子(亦即「全抗體分子」)以及其抗原結合片段。術語抗體之「抗原結合部分」、抗體之「抗原結合片段」等等，如文中所用，包括任何與抗原專一結合形成一複合物之天然生成、酵素製得、合成或基因工程化的多肽或糖蛋白。術語抗體之「抗原結合片段」或「抗體片段」如文中所用，係指一或多種保留與 PD-L1 專一結合能力之抗體的片段。抗體片段可包括 Fab 片段、F(ab')<sub>2</sub> 片段、Fv 片段、dAb 片段、含 CDR 之片段或分離的 CDR。在特定的實施例中，術語「抗原結合片段」係指多專一性抗原結合分子之多肽或其片段。在此等實施例中，術語「抗原結合片段」包括，例如，專一與 PD-L1 結合之 PD-1 的胞外區。抗體之抗原結合片段可使用任何適合的標準技術，例如蛋白質水解消化作用或涉及編碼抗體可變區和(視需要)恆定區之 DNA 操作和表現的重組基因工程技術，衍生自例如全抗體分子。此 DNA 為已知的及/或容易地從例如市面來源、DNA 資料庫(包括，例如噬菌體-抗體資料庫)取得

或可經合成。此 DNA 可用化學或藉由使用分子生物技術來定序和操作，例如將一或多個可變及/或恆定區排列成適合的組態，或導入密碼子，產生半胱胺酸殘基，修飾、增添或刪除胺基酸等。

**【0093】** 抗原結合片段之非限定實例包括：(i) Fab 片段；(ii) F(ab')<sub>2</sub> 片段；(iii) Fd 片段；(iv) Fv 片段；(v) 單鏈 Fv (scFv) 分子；(vi) dAb 片段；和 (vii) 由模擬抗體高變區之胺基酸殘基所組成的最小識別單位(例如分離的互補決定區(CDR)，例如 CDR3 胜肽)或限制性 FR3-CDR3-FR4 胜肽。其他工程化分子，例如區域專一性抗體、單區抗體、區域刪除抗體、嵌合抗體、CDR-嫁接抗體、雙抗體、三抗體、四抗體、微抗體、奈米抗體(例如單價奈米抗體、雙價奈米抗體等)、小模組免疫醫藥(SMIP)及鯊可變 IgNAR 區，亦涵蓋在文中所用的「抗原結合片段」之詞語內。

**【0094】** 抗體之抗原結合片段典型地將包括至少一可變區。可變區可為任何大小或胺基酸組成之區域且一般應包括與一或多個框架序列相鄰或在其框架內之 CDR。在具有 V<sub>L</sub> 區與 V<sub>H</sub> 區結合之抗原結合片段中，V<sub>H</sub> 和 V<sub>L</sub> 區可以任何適合的排列位於彼此相對處。例如可變區可為二聚化並含有 V<sub>H</sub>-V<sub>H</sub>、V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub> 或 V<sub>L</sub>-V<sub>L</sub> 二聚體。另一種選擇，抗體之抗原結合片段可含有單一 V<sub>H</sub> 或 V<sub>L</sub> 區。

**【0095】** 在特定的實施例中，抗體之抗原結合片段可含有至少一個可變區與至少一個恆定區共價連接。可在本發明之抗體的抗原結合片段內發現的可變區和恆定區之非限定、示例性組態包括：(i) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1；(ii) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>2；(iii) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>3；(iv) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2；(v) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3；(vi) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3；(vii) V<sub>H</sub>-C<sub>L</sub>；(viii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1；(ix) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>2；(x) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>3；(xi) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2；(xii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3；(xiii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3；和(xiv) V<sub>L</sub>-C<sub>L</sub>。在任何可變區和恆定區之組態中，包括上列任何的示例性組態，可變區和恆定區可直接彼此相連接或可藉由完整或部分的絞鏈區或連接子區相連接。絞鏈區可由至少 2 個(例如 5、10、15、20、40、60 或更多個)胺基酸所組成，使其在單一多肽分子中相鄰的可變及/或恆定區間產生柔性和半柔性連結。再者，在本發明之抗體的抗原結合片段可包括以非共價彼此相互連結及/或與一或多個單一 V<sub>H</sub> 或 V<sub>L</sub> 區相連結(例如以雙硫鍵)之任何上列的可變和恆定區組態之同型二

聚體或異型二聚體(或其他多聚體)。

【0096】 如同全抗體分子，抗原結合片段可為單專一性或多專一性(例如雙專一性)。抗體之多專一性抗原結合片段典型地應包括至少二個不同的可變區，其中各可變區能專一與個別的抗原結合或與相同抗原上不同的表位結合。任何多專一性抗體型式，包括文中所揭示的示例性雙專一性抗體型式，可使用本項技術中可取得的習用技術來改造，使其適用於本發明抗體之抗原結合片段狀況。

### 製備人類抗體

【0097】 於基因轉殖小鼠中產生人類抗體之方法已為本項技術所知。任何此等已知的方法可用於本發明內文中製造專一與 PD-L1 結合之人類抗體。

【0098】 包括下列任一之免疫原可用於產生 PD-L1 之抗體。在特定的實施例中，本發明抗體係由小鼠中以初級免疫原例如全長的 PD-L1[參見 GenBank 登錄號 NP\_054862.1 (SEQ ID NO : 351)]或以 PD-L1 之重組形式或經修飾的人類 PD-L1 片段(SEQ ID NO : 345、347 或 348)或以經修飾的獼猴 PD-L1 片段(SEQ ID NO : 346)賦與免疫性，接著以二級免疫原，或以 PD-L1 之免疫性活性片段賦與免疫性，所獲得。

【0099】 在特定的實施例中，此免疫原可為來自 PD-L1 之 N 端或 C 端的胜肽。在一實施例中，此免疫原為 PD-L1 之胞外類-IgV 及/或類-IgC 區。在本發明特定的實施例中，此免疫原為範圍從約 SEQ ID NO : 351(NP\_054862.1)之胺基酸殘基 19-239 的 PD-L1 片段

【0100】 在某些實施例中，此免疫原可為表現在大腸桿菌(*E. coli*)或任何其他真核或哺乳動物細胞，例如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞之重組的 PD-L1 胜肽。

【0101】 在特定的實施例中，專一與 PD-L1 結合之抗體可使用上述區域或從文中所述區域之 N 或 C 端或二端延伸至所指的區域外 5 至 20 個胺基酸之胜肽。在特定的實施例中，上述區域或其片段之任何組合可用於製備 PD-L1 專一性抗體。

【0102】 使用 VELOCIMMUNE™技術(參見，例如 US 6,596,541,

Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE®), 或任何用於產生單株抗體之其他已知方法, 最初將具有人類可變區和小鼠恆定區之 PD-L1 的高親和力嵌合抗體分離。VELOCIMMUNE®技術係涉及產生具有包括人類重鏈和輕鏈可變區操作上連接內生性小鼠恆定區位置之基因體的基因轉殖小鼠, 使得此小鼠反應抗原刺激, 產生包括人類可變區和小鼠恆定區之抗體。將編碼此抗體之重鏈和輕鏈可變區的 DNA 分離出並與編碼人類重鏈和輕鏈恆定區之 DNA 操作性連接。然後將此 DNA 表現在能表現全人類抗體之細胞中。

### 生物等效性

【0103】 本發明之抗-PD-L1 抗體及抗體片段係涵蓋具有與所述的抗體不同但保留與 PD-L1 結合能力之胺基酸序列的蛋白。此等變異抗體及抗體片段, 當與親代序列相比較時, 係包括一或多個胺基酸之添加、刪除或取代, 但具有與所述的抗體基本上相當之生物活性。同樣地, 本發明之編碼抗-PD-L1 抗體的 DNA 序列, 當與所揭示的序列相比較時, 係涵蓋包括一或多個核苷酸之添加、刪除或取代之序列, 但編碼抗體或抗體片段者其基本上與本發明之抗體或抗體片段為生物等效的。

【0104】 二種抗原結合蛋白或抗體, 若例如其為醫藥同等物或醫藥替代品, 當於類似的實驗條件下以單一劑量或多劑量之相同的莫耳劑量投予時, 其吸收速率和程度並無顯示顯著的差異, 則係視為生物等效的。某些抗體若其吸收程度相當但是吸收速率不同應可視為等效物或醫藥替代品, 且仍可視為生物等效, 因為此等吸收速率上的差異為故意的並反映在標示上, 對於達到例如長期使用之有效體藥濃度並非必要的, 且就特定藥物產品的研究上被視為無醫療上的顯著性。

【0105】 在一實施例中, 二種抗原結合蛋白若在其安全性、純度及效力上不具有臨床上有意義的差異, 則為生物等效的。

【0106】 在一實施例中, 二種抗原結合蛋白, 若相較於無此變更之持續治療, 病患可在參照產品和生物產品間作一或多次變更而無增加預期的有害效應之風險(包括臨床上致免疫性之明顯改變或效用減低), 則為生物等

效的。

**【0107】** 在一實施例中，若二種抗原結合蛋白係藉由共同的機制或作用機制作用於症狀或所用症狀，而達到此等機制已知的程度，則二者係為生物等效的。

**【0108】** 生物等效性可藉由活體內和活體外方法來驗證。生物等效性測量包括，例如(a)人類或其他哺乳動物之活體內試驗，其中係測量血液、血漿、血清或其他生物體液中隨著時間變化之抗體或其代謝物濃度；(b)與人類活體內生物可利用性數據有相互關係及可合理預測此數據之活體外試驗；(c)人類或其他哺乳動物之活體內試驗，其中係測量隨時間變化之抗體(或其目標)的適當急性藥理效用；及(d)以建立抗原結合蛋白之安全性、效力或生物可利用性或生物等效性之良好對照的臨床試驗。

**【0109】** 本發明抗體之生物等效變體可藉由，例如製造各種殘基或序列之取代，或刪除生物活性不需要的末端或內部殘基或序列來建構。例如，生物活性不需要的半胱胺酸殘基可刪除或以其他的胺基酸置換，以防止因變性而形成不必要或不正確的分子內雙硫橋。在其他內容中，生物等效的抗體可包括抗體變體，其係包含修飾抗體之糖基化特性的胺基酸改變，例如消除或移除糖基化之突變。

### 包括 Fc 變體之抗-PD-L1 抗體

**【0110】** 根據本發明之特定的實施例，抗-PD-L1 抗體係提供包括一 Fc 區，其包括，例如，相較於中性 pH，在酸性 pH 增進或減低抗體與 FcRn 受體結合之一或多個突變。例如，本發明係包括抗-PD-L1 抗體，其係包括在 Fc 區之 C<sub>H</sub>2 或 C<sub>H</sub>3 區的突變，其中該(等)突變增加了在酸性環境中(例如，在其中 pH 範圍從約 5.5 至約 6.0 的核內體中)Fc 區對 FcRn 之親和力。此等突變，當投予動物時可使得抗體在血清中之半衰期增加。此等 Fc 修飾之非限定實例包括，例如，在位置 250 (例如，E 或 Q)；250 和 428 (例如，L 或 F)；252 (例如，L/Y/F/W 或 T)，254(例如，S 或 T)，及 256(例如，S/R/Q/E/D 或 T)之修飾；或在位置 428 及/或 433 (例如，H/L/R/S/P/Q 或 K)及/或 434 (例如，A、W、H、F 或 Y[N434A、N434W、N434H、N434F 或 N434Y])之修

飾；或在位置 250 及/或 428 之修飾；或在位置 307 或 308(例如，308F, V308F) 及 434 之修飾。在一實施例中，此修飾係包括一 428L (例如，M428L)和 434S (例如，N434S)修飾；一 428L、259I (例如，V259I)和 308F (例如，V308F) 修飾；一 433K (例如，H433K)和一 434 (例如，434Y)修飾；一 252、254 和 256 (例如，252Y、254T 和 256E)修飾；一 250Q 和 428L 修飾(例如，T250Q 和 M428L)；以及一 307 及/或 308 修飾(例如，308F 或 308P)。又在另外的實施例中，此修飾係包括一 265A (例如，D265A)及/或一 297A (例如，N297A) 修飾。

**【0111】** 例如，本發明係包括包含一 Fc 區之抗-PD-L1 抗體，而該 Fc 區係包括一或多對或多群的由下列組成之群中選出的突變：250Q 和 248L (例如，T250Q 和 M248L)；252Y、254T 和 256E(例如，M252Y、S254T 和 T256E)；428L 和 434S (例如，M428L 和 N434S)；257I 和 311I (例如，P257I 和 Q311I)；257I 和 434H (例如，P257I 和 N434H)；376V 和 434H (例如，D376V 和 N434H)；307A、380A 和 434A (例如，T307A、E380A 和 N434A)；以及 433K 和 434F (例如，H433K 和 N434F)。在一實施例中，本發明係包括包含一 Fc 區之抗-PD-L1 抗體，而該 Fc 區係在 IgG4 的絞鏈區包括一 S108P 突變，用以增進二聚體安定化。前述 Fc 區突變之所有可能的組合，以及文中所揭示的抗體可變區中的其他突變，係涵蓋在本發明的範圍內。

**【0112】** 本發明亦包括包含一嵌合重鏈恆定(C<sub>H</sub>)區之抗-PD-L1 抗體，其中該嵌合的 C<sub>H</sub> 區係包括衍生自一個以上的免疫球蛋白同型之 C<sub>H</sub> 區的片段。例如，本發明之抗體可包括一嵌合的 C<sub>H</sub> 區，其係包括部份或全部衍生自人類 IgG1、人類 IgG2 或人類 IgG4 分子之 C<sub>H</sub>2 區，與部份或全部衍生自人類 IgG1、人類 IgG2 或人類 IgG4 分子之 C<sub>H</sub>3 區組合。根據特定的實施例，本發明之抗體係包括一具有嵌合絞鏈區之嵌合 C<sub>H</sub> 區。例如，嵌合絞鏈可包括一衍生自人類 IgG1、人類 IgG2 或人類 IgG4 絞鏈區之「上絞鏈」胺基酸序列(根據 EU 編號，從位置 216 至 227 之胺基酸殘基)，與衍生自人類 IgG1、人類 IgG2 或人類 IgG4 絞鏈區之「下絞鏈」序列(根據 EU 編號，從位置 228 至 236 之胺基酸殘基)組合根據特定的實施例，此嵌合絞鏈區係包括衍生自人類 IgG1 或人類 IgG4 上絞鏈之胺基酸殘基以及衍生自人類 IgG2 下絞鏈之

胺基酸殘基。包括如文中所述之嵌合 C<sub>H</sub> 區的抗體，在特定的實施例中，在對抗體之治療或藥物動力學性質無不利的影響下，可具有修飾的 Fc 效應子功能。(參見，例如 2014 年 1 月 31 日申請的 USSN. 14/170,166，其揭示文係以全文引用的方式併入本文中)。

### 抗體之生物特性

【0113】 一般而言，本發明抗體係藉由與 PD-L1 結合來作用。本發明係包括以高親和力與可溶性單體或二聚體 PD-L1 分子結合之抗-PD-L1 抗體及其抗原結合片段。例如，本發明係包括抗體及抗體之抗原結合片段，其如以表面電漿共振測量，例如使用如文中實例 3 所定義的分析形式，係以低於約 318 pM 之 K<sub>D</sub> 與單體的 PD-L1(例如，於 25°C 或於 37°C)結合。在特定的實施例中，此等抗體或其抗原結合片段，如以表面電漿共振測量，例如使用如文中實例 3 所定義的分析形式或實質上類似的分析，係以低於約 300 pM，低於約 250 pM，低於約 150 pM，低於約 100 pM 或低於約 50 pM 之 K<sub>D</sub> 與單體的 PD-L1 結合。

【0114】 本發明亦包括抗體及其抗原結合片段，其如以表面電漿共振測量，例如使用如文中實例 3 所定義的分析形式，係以低於約 15 pM 之 K<sub>D</sub> 與二聚體的 PD-L1(例如，於 25°C 或於 37°C)結合。在特定的實施例中，此等抗體或其抗原結合片段，如以表面電漿共振測量，例如使用如文中實例 3 所定義的分析形式或實質上類似的分析，係以低於約 12 pM，低於約 10 pM，低於約 8 pM 或低於約 5 pM 之 K<sub>D</sub> 與二聚體的 PD-L1 結合。

【0115】 本發明亦包括抗體及其抗原結合片段，其如以表面電漿共振測量，例如使用如文中實例 3 所定義的分析形式，係以低於約 28 nM 之 K<sub>D</sub> 與獼猴(長尾獼猴(*Macaca fascicularis*))PD-L1(例如，於 25°C 或於 37°C)結合。在特定的實施例中，此等抗體或其抗原結合片段，如以表面電漿共振測量，例如使用如文中實例 3 所定義的分析形式或實質上類似的分析，係以低於約 25 nM，低於約 20 nM，低於約 15 nM，低於約 10 nM 或低於約 5 nM 之 K<sub>D</sub> 與獼猴 PD-L1 結合。

【0116】 本發明亦包括抗體及其抗原結合片段，其如以表面電漿共振

於 25°C 或 37°C 測量，例如使用如文中實例 3 所定義的分析形式或實質上類似的分析，係以大於約 1 分鐘之解離半衰期( $t_{1/2}$ )與 PD-L1 結合。在特定的實施例中，本發明之抗體或抗原結合片段，如以表面電漿共振於 25°C 或 37°C 測量，例如使用如文中實例 3 所定義的分析形式(例如，mAb-捕捉或抗原-捕捉形式)或實質上類似的分析，係以大於約 5 分鐘，大於約 10 分鐘，大於約 30 分鐘，大於約 50 分鐘，大於約 60 分鐘，大於約 70 分鐘，大於約 80 分鐘，大於約 90 分鐘，大於約 100 分鐘，大於約 200 分鐘，大於約 300 分鐘，大於約 400 分鐘，大於約 500 分鐘，大於約 600 分鐘，大於約 700 分鐘或大於約 800 分鐘之  $t_{1/2}$  與 PD-L1 結合。

【0117】 本發明亦包括抗體及其抗原結合片段，其如使用 ELISA-為基礎之免疫分析，例如實例 4 中所示或實質上類似的分析所測定，係以低於約 770 pM 之  $IC_{50}$  阻斷 PD-L1 與 PD-1 結合。本發明亦包括抗體及抗體之抗原結合片段，其如使用 ELISA-為基礎之免疫分析，例如實例 4 中所示或實質上類似的分析所測定，係以低於約 10 nM 之  $IC_{50}$  阻斷 PD-L1 與 B7-1 結合。本發明亦包括與 PD-L1 結合及增進 PD-L1 與 PD-1 或 B7-1 結合之抗體及其抗原結合片段。

【0118】 在某些實施例中，本發明抗體可與 PD-L1 的胞外區或該區之片段結合。在某些實施例中，本發明之抗體可與一個以上的區域結合(交叉反應性抗體)。在特定的實施例中，本發明之抗體可與位在胞外區之表外結合，而該胞外區係包括 NP\_054862.1 (SEQ ID NO: 351)之胺基酸殘基 19–239。在某些實施例中，此等抗體可與包括一或多個由下列組成之群中選出的胺基酸之表位結合：SEQ ID NO: 345–348 或 353 之胺基酸殘基 1–221。

【0119】 在特定的實施例中，本發明之抗體可藉由阻斷或抑制與 PD-L1 有關的 PD-1-結合和 B7-1-結合活性，藉由與全長蛋白之任何其他區或片段結合來作用，其胺基酸序列係如 SEQ ID NO: 351 所示。在特定的實施例中，此抗體係減弱或調節 PD-L1 與 PD-1/B7-1 間的相互作用。

【0120】 在特定的實施例中，本發明之抗體可為雙專一性抗體。本發明之雙專一性抗體可與 PD-L1 一區中的一個表位結合及亦可與 PD-L1 不同區中的第二表位結合。在特定的實施例中，本發明之雙專一性抗體可與相

同區中的二個不同表位結合。在一實施例中，多專一性抗原結合分子係包括一第一抗原結合專一性，其中該第一結合專一性係包括 PD-1 之胞外區或其片段；及對 PD-L1 另外表位之第二抗原結合專一性。在另外的實施例中，多專一性抗原結合分子係包括一第一抗原結合專一性，其中該第一結合專一性係包括 B7-1 之胞外區或其片段；及對 PD-L1 另外表位之第二抗原結合專一性。

**【0121】** 在一實施例中，本發明係提供與 PD-L1 結合之全人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其片段係具有一或多項下列特性：(i) 包括一 HVCD，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、186、202、218、234、250、258、266、274、282、290、298、306、314、322、330 和 338，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；(ii)包括一 LCVR，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、194、210、226、242、258 和 274，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；(iii) 包括一 HCDR3 區，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、192、208、224、240、256、272、280、288、296、304、312、320、328、336 和 344，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；及一 LCDR3 區，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、200、216、232、248、264 和 280，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；(iv)包括一 HCDR1 區，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、188、204、220、236、252、268、284、292、300、308、316、324、332 和 340，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；一 HCDR2 區，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、

182、190、206、222、238、254、270、286、294、302、310、318、326、334 和 342，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；一 LCDR1 區，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、196、212、228、244、260 和 276，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；及一 LCDR2 區，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、198、214、230、246、262 和 278，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；(v)為一多專一性抗原結合分子，係包括對 PD-L1 之第一結合專一性，及對由 PD-L1 之不同表位、腫瘤特異性抗原、病毒感染細胞抗原及 T-細胞共抑制劑組成之群中選出的抗原之第二結合專一性；(vi)以約 4 pM 至約 645 nM 之  $K_D$  與人類 PD-L1 結合；(vii)以約 70 pM 至約 400 nM 之  $K_D$  與獼猴 PD-L1 結合；(viii)以  $IC_{50} \leq 770$  pM 阻斷或增進 PD-L1 與 PD-1 結合；(ix)以  $IC_{50} \leq 10$  nM 阻斷或增進 PD-L1 與 B7-1 結合；(x)於 T-細胞/APC 螢光酶報導子分析中阻斷 PD-1-誘發的 T-細胞下調及/或拯救 T-細胞訊號傳遞；(xi)在混合的淋巴細胞反應(MLR)分析中刺激 T-細胞增生及活性；(xii)於 MLR 分析中誘發 IL-2 及/或 IFN $\gamma$  產生；及(xiii)抑制腫瘤生長並增加癌症患者之存活。

【0122】 在一實施例中，本發明係提供阻斷 PD-L1 與 PD-1 或 B7-1 結合之全人類單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其片段係具有一或多項下列特性：(i) 包括一 HCVR，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：82、98、146、162、290、306、314 和 330，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；(ii)包括一 LCVR，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：90、106、154、170 和 274，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；(iii)包括一 HCDR3 區，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：88、104、152、168、296、312、320 和 336，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；及一 LCDR3 區，其具有由下列組成之群

中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：96、112、160、176 和 280，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；(iv)包括一 HCDR1 區，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：84、100、148、164、292、308、316 和 332，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；一 HCDR2 區，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：86、102、150、166、294、310、318 和 334，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；一 LCDR1 區，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：92、108、156、172 和 276，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；及一 LCDR2 區，其具有由下列組成之群中選出的胺基酸序列：SEQ ID NO：94、110、158、174 和 278，或具有至少 90%，至少 95%，至少 98%或至少 99%序列一致性之其實質上類似序列；(v)為一多專一性抗原結合分子，係包括對 PD-L1 之第一結合專一性，及對由 PD-L1 之不同表位、腫瘤特異性抗原、病毒感染細胞抗原及 T-細胞共抑制劑組成之群中選出的抗原之第二結合專一性；(vi)以  $K_D \leq 10^{-10}M$  與人類 PD-L1 結合；(vii)以  $K_D \leq 10^{-7}M$  與獼猴 PD-L1 結合；(viii)阻斷 PD-L1 與 PD-1 或與 B7-1 結合；(ix)於 T-細胞/APC 螢光酶報導子分析中阻斷 PD-1-誘發的 T-細胞下調及/或拯救 T-細胞訊號傳遞；(xi)在混合的淋巴細胞反應(MLR)分析中刺激 T-細胞增生及活性；(xii)於 MLR 分析中誘發 IL-2 及/或 IFN $\gamma$  產生；及(xiii)抑制腫瘤生長並增加癌症患者之存活。

【0123】 本發明之抗體可具有一或多項前述生物特性或其任何組合。本發明抗體之其他的生物特性，熟習技術之一般技術者由包括文中操作實例之本揭示文的論述中，應顯而易見。

### 物種選擇性和物種交叉反應

【0124】 根據特定的實施例，抗-PD-L1 抗體係與人類 PD-L1 結合，但不與來自其他物種的 PD-L1 結合。另一種選擇，本發明之抗-PD-L1 抗體，在特定的實施例中，係與人類 PD-L1 及來自一或多種非人類物種之 PD-L1

結合。例如，本發明之抗-PD-L1 抗體 可與人類 PD-L1，以及可或不可(視情況而定)與一或多種小鼠、大鼠、天竺鼠、倉鼠、沙鼠、豬、貓、狗、兔、山羊、綿羊、牛、馬、駱駝、獼猴、絨猴、恆河猴或黑猩猩 PD-L1 結合。在特定的實施例中，本發明之抗-PD-L1 抗體可以相同的親和力或以不同的親和力與人類和獼猴 PD-L1 結合。

### 表位定位及相關技術

【0125】 本發明係包括與一或多個 PD-L1 分子內所發現的胺基酸相互作用之抗-PD-L1 抗體，例如在胞外(類-IgV)區、胞外類-IgC 區、跨膜區及胞內區。與抗體結合之表位可由 3 或更多個(例如 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 或更多個)位於 PD-L1 分子之前述區內的單一連續序列所組成。另外，表位可由多數個位於 PD-L1 分子之任一或二個前述區內的非連續胺基酸(或胺基酸序列)所組成(例如構形表位)。

【0126】 各種本項技術之一般技術者已知的技術皆可用於測定抗體是否與多肽或蛋白內的「一或多個胺基酸相互作用」。示例的技術包括，例如，交叉阻斷分析，例如描述於 Antibodies, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY)中。其他的方法包括丙胺酸掃描突變分析、胜肽墨點分析(Reineke (2004) Methods Mol. Biol. 248 : 443-63)、胜肽裂解分析結晶學研究及 NMR 分析。此外，可使用例如表位切除、表位萃取及抗原之化學修飾等方法(Tomer, Protein Science 9 : 487-496(2000))。可用於辨識多肽內與抗體相互作用之胺基酸的另外方法係以質譜偵測氫/氘交換。一般而言，氫/氘交換方法係包括以氘標定有關的蛋白，接著讓抗體與氘-標定的蛋白結合。接著，將蛋白/抗體複合物轉置於水中，讓受抗體複合物保護的胺基酸內之可交換質子，以比非介面部份之胺基酸內可交換質子更慢的速率，進行氘-至-氫回復交換。因此，形成蛋白/抗體介面部份之胺基酸可保留氘，且因此相較於非包括在界面中的胺基酸，具有相對較高的質量。解離抗體後，將目標蛋白以蛋白酶裂解並以質譜分析，藉此找出氘標定殘基，其係相當於與抗體相互作用之專一性胺基酸。參見，例如 Ehring (1999)

Analytical Biochemistry 267:252-259; Engen and Smith (2001) Anal. Chem. 73 : 256A-265A。

【0127】術語「表位」係指位於 B 及/或 T 細胞反應的抗原上之位置。B-細胞表位可由連續的胺基酸或由蛋白之三級摺疊並列的非連續胺基酸所形成。由連續胺基酸所形成的表位典型地在暴露於變性溶劑時仍保持原狀，而由三級摺疊所形成的表位典型地在以變性溶劑處理時則會流失。一表位典型地在一獨特的空間構形中係包括至少 3 個，或更多個通常，至少 5 個或 5 或 8-10 個胺基酸。

【0128】修飾-輔助的作圖(MAP)，亦稱為抗原結構為基礎之抗體作圖(ASAP)為一種根據各抗體對化學性或酵素性修飾抗原表面之結合相似性來分類抗相同抗原之大量單株抗體(mAb)之方法(參見\US 2004/0101920，其係以全文引用的方式併入本文中)。各類可反映與另一類代表的表位明顯不同或部分重疊之獨特表位。此技術能快速過濾基因相同的抗體，使得定性可集中在基因不同的抗體上。當應用於雜交瘤篩選時，MAP 可過濾產生具有所性特性之 mAb 之稀有雜交瘤選植株的身份。MAP 可用於將本發明抗體分類成與不同表為結合之抗體組。

【0129】在特定的實施例中，抗-PD-L1 抗體或其抗原結合片段係與任何 PD-L1，天然形式，如示例 SEQ ID NO: 351 或重組產生，例如 SEQ ID NOS: 345-348 或其片段中作為示例的一或多個區內之表位結合。在某些實施例中，本發明抗體係與一胞外區結合，該胞外區係包括由 PD-L1 的胺基酸殘基 19-239 組成之群中選出的一或多個胺基酸。在某些實施例中，本發明抗體係與一區域結合，該區域係包括由獼猴 PD-L1 的胺基酸殘基 1-221，例如 SEQ ID NO: 346 組成之群中選出的一或多個胺基酸。

【0130】在特定的實施例中，本發明抗體，如表 1 所示，係與至少一個由下列組成之群中選出的胺基酸序列相互作用：範圍從 SEQ ID NO: 351 之約位置 19 至約位置 130 的胺基酸殘基；或範圍從 SEQ ID NO: 351 之約位置 130 至約位置 153 的胺基酸殘基；或範圍從 SEQ ID NO: 351 之約位置 153 至約位置 210 的胺基酸殘基；或範圍從 SEQ ID NO: 351 之約位置 210 至約位置 239 的胺基酸殘基。這些區域係部分以 SEQ ID NO: 345-348

作為示例。

【0131】 本發明，如文中表 1 所述的任何特定示例之抗體或具有如文中表 1 所述的任何示例抗體之 CDR 的抗體，係包括與相同表位或表位部份結合之抗-PD-L1 抗體。同樣的，本發明亦包括與如文中表 1 所述的任何特定示例之抗體競爭與 PD-L1 或 PD-L1 片段結合之抗-PD-L1 抗體。例如，本發明係包括與一或多個如文中實例 6 所定義的抗體交叉競爭與 PD-L1 結合之抗-PD-L1 抗體(例如，H2aM8309N、H1H9329P、H1H9336P、H2aM8314N、H2aM8316N、H2aM8718N、H1H9387P2、H1H9351P2、H1H9364P2、H1H9373P2 和 H2aM8306N)。本發明亦包括與一或多個如文中實例 6 所定義的抗體交叉競爭與 PD-L1 結合之抗-PD-L1 抗體(例如，H1H9396P2、H2aM8317N、H2aM8321N、H1H9323P、H1H9382P2、H1H9344P2、H1H9345P2 和 H1H9354P2)。

【0132】 藉由使用本項技術中已知及的習用方法，可容易地測定一抗體是否與參照的抗-PD-L1 抗體相同之表位結合或是與其競爭結合。例如，測定試驗抗體是否與本發明之參照抗-PD-L1 抗體上相同的表位結合，係讓參照抗體與 PD-L1 蛋白或於飽和的條件下結合。接著，評估試驗抗體與 PD-L1 分子結合之能力。若試驗抗體在與參照的抗-PD-L1 抗體飽和結合後，能與 PD-L1A 結合，則其可結論出，該試驗抗體係與參照的抗-PD-L1 抗體不同的表位結合。另一方面，若試驗抗體在與參照的抗-PD-L1 抗體飽和結合後，不能與 PD-L1 蛋白結合，則試驗抗體可能與如同本發明參照抗-PD-L1 抗體結合的表位之相同表位結合。

【0133】 為了測定一抗體是否與參照的抗-PD-L1 抗體競爭結合，係以二個方向進行上述結合方法：第一個方向：讓參照的抗體在飽和的條件下與 PD-L1 蛋白結合，接著評估試驗抗體與 PD-L1 分子之結合。第二個方向：讓試驗抗體在飽和的條件下與 PD-L1 分子結合，接著評估參照的抗體與 PD-L1 分子之結合。若在二個方向中，僅有第一(飽和)抗體能與 PD-L1 結合，則結論出試驗抗體係和參照的抗體競爭與 PD-L1 相結合。本項技術之一般技術者應了解，與參照的抗體競爭結合之抗體可能不一定係與如同參照抗體之相同表位結合，但可能係藉由與重疊或相鄰的表位結合，在立

體上阻斷參照抗體之結合。

【0134】 若各競爭性抑制(阻斷)另一抗體對抗原的結合，則此二種抗體係與相同或重疊的表位結合。亦即，如於競爭性結合分析中所測，一 1-、5-、10-、20-或 100-倍過量的抗體抑制另一抗體之結合至少 50%，但較佳地 75%、90%或甚至 99%(參見，例如 Junghans 等人, *Cancer Res.* 1990 50: 1495-1502)。另一種選擇，若基本上降低或消除一抗體之結合的抗原中所有的胺基酸突變，係降低或消除另一種抗體之結合，則二種抗體被認為係具有相同的表位。若降低或消除一抗體結合之某些胺基酸突變降低或消除另一種抗體之結合，則二種抗體係具有重疊的表位。

【0135】 然後可進行另外例行的實驗(例如胜肽突變和結合分析)，以確定所觀察到無試驗抗體結合是否事實上係由於與如同參照抗體之相同表位結合所致，或是否係因立體阻斷(或另外的現象)造成無觀察到結合。此類實驗可使用 ELISA、RIA、表面電漿共振、流式細胞儀或本項技術中可取得的其他量性或質性抗體-結合分析來進行。

### 免疫接合物

【0136】 本發明係涵蓋與療效成份，例如細胞毒素或治療癌症之化療藥物接合之人類抗-PD-L1 單株抗體(免疫接合物)。如文中所用，術語「免疫接合物」係指化學上或生物上與一細胞毒素、放射線試劑、細胞激素、干擾素、標靶或受體基團、酵素、毒素、胜肽或治療劑連接之抗體。此抗體可能沿著分子在任何位置與細胞毒素、放射線試劑、細胞激素、干擾素、標靶或受體基團、酵素、毒素、胜肽或治療劑連接，只要其能與其目標結合。免疫接合物之實例包括抗體藥物接合物和抗體-毒素融合蛋白。在一實施例中，此試劑可為抗 PD-L1 之第二不同的抗體。在特定的實施例中，此抗體可與對腫瘤細胞或病毒感染細胞具特異性之抗原接合。此類可與抗-PD-L1 抗體接合之治療基團應考慮所欲治療的症狀和所希望達到的治療效用。用於形成免疫接合物之適合的試劑已為本項技術所知；參見，例如 WO 05/103081。

### 多專一性抗體

【0137】 本發明之抗體可為單專一性、雙專一性或多專一性。多專一性抗體可對一目標多肽之不同的表位具專一性或可含有對一個以上的目標多肽具專一性之抗原結合區。參見，例如 Tutt 等人, 1991, J. Immunol. 147 : 60-69 ; Kufer 等人, 2004, Trends Biotechnol. 22 : 238-244 。

【0138】 在一方面本發明係包括多專一性抗原結合分子或其抗原結合片段，其中一免疫球蛋白之抗原結合專一性係對 PD-L1 胞外區或其片段內的表位具專一性(例如，在類-IgV-區)，及另一的免疫球蛋白之抗原結合專一性係對與 PD-L1 胞外區內的不同表位(例如，在類-IgC 區)或不同的治療目標具專一性，或與治療基團接合。在特定的實施例中，此第一抗原結合專一性可包括 PD-1 或 B7-1 或其片段。在一實施例中，與 PD-L1 結合之第一抗原結合專一性係包括 PD-1 的胞外區。在本發明特定的實施例，一免疫球蛋白之抗原結合專一性係對 PD-L1 之胺基酸殘基 19-239 (SEQ ID NO : 351)或其片段內的表位具專一性，而免疫球蛋白的另一專一性係對第二目標抗原具專一性。第二目標抗原可在 PD-L1 相同的細胞上或在不同的細胞上。在一實施例中，第二目標細胞係在 T-細胞以外的免疫細胞，例如 B-細胞、抗原呈現細胞、單核細胞、巨噬細胞或樹突上。在某些實施例中，第二目標抗原可存在腫瘤細胞或病毒感染細胞上。

【0139】 在另外方面，本發明係提供多專一性抗原結合分子或其抗原結合片段，其係包括一與 PD-L1 結合之第一抗原結合專一性，以及與腫瘤細胞上的目標抗原專一結合之第二抗原結合專一性。在各種實施例中，此腫瘤特異性抗原為 CA9、CA125、黑色素瘤相關抗原(MAGE)、癌胚抗原(CEA)、波形蛋白(vimentin)、腫瘤-M2-PK、前列腺-特異性抗原(PSA)、MART-1 或 CA19-9 之一。其他特定的腫瘤相關抗原之非限定實例包括，例如 AFP、ALK、BAGE 蛋白、 $\beta$ -連環蛋白( $\beta$ -catenin)、bcr-abl、BRCA1、BORIS、碳酸酐酶 IX、caspase-8、CCR5、CD19、CD20、CD30、CD40、CDK4、CTLA4、週期素-B1、CYP1B1、EGFR、EGFRvIII、ErbB2/Her2、ErbB3、ErbB4、ETV6-AML、EpCAM、EphA2、Fra-1、FOLR1、GAGE 蛋白(例如，GAGE-1、-2)、GD2、GD3、GloboH、磷脂醯肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3)、GM3、gp100、Her2、HLA/B-raf、HLA/k-ras、HLA/MAGE-A3、hTERT、

LMP2、MAGE 蛋白(例如，MAGE-1、-2、-3、-4、-6 和-12)、HLA-A2、MART-1、間皮素(mesothelin)、ML-IAP、Muc1、Muc2、Muc3、Muc4、Muc5、Muc16 (CA-125)、MUM1、NA17、NY-BR1、NY-BR62、NY-BR85、NY-ESO1、OX40、p15、p53、PAP、PAX3、PAX5、PCTA-1、PLAC1、PRLR、PRAME、PSMA (FOLH1)、RAGE 蛋白、Ras、RGS5、Rho、SART-1、SART-3、Steap-1、Steap-2、生存素(survivin)、TAG-72、TGF- $\beta$ 、TMPRSS2、Tn、TRP-1、TRP-2、酪胺酸酶和尿溶蛋白-3(uroplakin-3)。在其他實施例中，此第二抗原結合專一性係與存在對(不限於)腎細胞癌、前列腺癌、大腸直腸癌、黑色素瘤、乳癌、腎癌、卵巢癌和胰臟癌具特異性之腫瘤細胞上的腫瘤抗原結合。本發明抗體，在此方面，可抑制 PD-L1 之活性。

【0140】 在另外的方面，本發明係提供多專一性抗原結合分子或其抗原結合片段，其中該第二抗原結合專一性係與對病毒感染細胞具專一性之抗原結合。在特定的實施例中，此第二抗原結合專一性係與感染由 HIV、HBV、HCV、HPV、LCMV 和 SIV 組成之群中選出的病毒之細胞具專一性的抗原結合。

【0141】 在另外的方面，本發明係提供多專一性抗原結合分子或其抗原結合片段，其係包括與 PD-L1 結合之第一抗原專一性及與 T-細胞共抑制劑，例如 PD-1、LAG-3、TIM3、B7-1、CTLA-4、BTLA、CD-28、2B4、LY108、TIGIT、LAIR1、ICOS 和 CD160 結合之第二專一性。

【0142】 任何多專一性抗原結合分子或其變體，如本項技術之一般技術者所熟知，可使用標準的分子生物技術(例如，重組的 DNA 和蛋白表現技術)建構。

【0143】 在某些實施例中，PD-L1-專一性抗體係以雙專一性形式產生(「雙專一性」)其中與 PD-L1 不同區結合之可變區係連接一起，賦予單一結合分子內之雙-區專一性。適當設計的雙專一性可經由增加專一性和結合親和性二者來增進整體 PD-L1 抑制效用。具有對個別區專一性之可變區(例如，N-端區的片段)，或其可與一區域內的不同區結合，在結構骨幹上為成對的，使得各區能同時與個別的表位，或與一區域內的不同區結合。在一雙專一性的實例中，來自對一區域具有專一性之結合子的重鏈可變區(V<sub>H</sub>)

係與來自一系列對第二區域具專一性之結合子的輕鏈可變區( $V_L$ )組合，在無破壞原本對  $V_H$  之專一性下，用以鑑別可與原來  $V_H$  配對之非同源  $V_L$  夥伴。以此方式，單一  $V_L$  片段(例如， $V_{L1}$ )可與二個不同的  $V_H$  區(例如， $V_{H1}$  and  $V_{H2}$ )組合，產生包括二條結合「臂」( $V_{H1}-V_{L1}$  和  $V_{H2}-V_{L1}$ )之雙專一性抗體。使用單一  $V_L$  片段降低了此系統的複雜性且藉此簡化及增加用於產生雙專一性之選殖、表現和純化程序的效率(參見，例如 USSN13/022759 和 US2010/0331527)。

**【0144】** 另一種選擇，與一個以上的區和第二目標，例如(但不限於)，例如第二不同的抗-PD-L1 抗體結合之抗體，可使用文中所述的技術，或熟習本項技術者已知的其他技術以雙專一形式來製備。與不同區結合的抗體可變區可與在，例如 PD-L1 胞外區上相關位置結合的可變區連結一起，賦予單一結合分子內的雙抗原專一性。此性質之適當設計的雙專一性係作為雙功能。對胞外區具專一性的可變區與對胞外區外部具專一性的可變區組合，且在結構骨幹上為成對的，其使得各可變區得以與個別的抗原結合。

**【0145】** 可用於本發明內文中之示例的雙專一性抗體形式係涉及使用第一免疫球蛋白(Ig)  $C_H3$  區和第二 Ig  $C_H3$  區，其中該第一和第二 Ig  $C_H3$  區彼此至少有一個胺基酸不同，且相較於缺乏此胺基酸差異之雙專一性抗體，其中至少一個胺基酸的差異降低了此雙專一性抗體與蛋白 A 之結合。在一實施例中，第一 Ig  $C_H3$  區與蛋白 A 結合而第二 Ig  $C_H3$  區含有降低或消除蛋白 A 結合之突變，例如 H95R 修飾(IMGT 外顯子編號；EU 編號為 H435R)。第二  $C_H3$  可進一步包括 Y96F 修飾(IMGT 外顯子編號；EU 編號為 Y436F)。在第二  $C_H3$  中可發現的另外修飾作用，就 IgG1 抗體之情況而言係包括：D16E、L18M、N44S、K52N、V57M 和 V82I (IMGT；EU 為 D356E、L358M、N384S、K392N、V397M 和 V422I)；就 IgG2 抗體之情況為 N44S、K52N 和 V82I (IMGT；EU 為 N384S、K392N 和 V422I)；及就 IgG4 抗體之情況為 Q15R、N44S、K52N、V57M、R69K、E79Q 和 V82I (IMGT；EU 為 Q355R、N384S、K392N、V397M、R409K、E419Q 和 V422I)。上述之雙專一性抗體形式之變異係涵蓋在本發明的範圍內。

**【0146】** 可用於本發明內容中之其他示例雙專一性抗體形式係包括

(不限於)，例如 scFv-為基礎或雙抗體雙專一性形式、IgG-scFv 融合物、雙可變區(DVD)-Ig、細胞雜交瘤(Quadroma)、knobs-into-holes、共同輕鏈(例如帶有 knobs-into-holes 之共同輕鏈等)、CrossMab、CrossFab、(SEED)body、白胺酸拉鏈(leucine zipper)、Duobody、IgG1/IgG2、雙作用 Fab (DAF)-IgG 和 Mab<sup>2</sup> 雙專一形式(參見，例如 Klein 等人 2012, mAbs 4:6, 1-11 及文中所引述的參考文獻，供審閱前述形式)。雙專一性抗體亦可使用胜肽/核酸接合來建構，例如其中係使用具有垂直化學反應性之非天然胺基酸來產生位點-專一性之抗體-寡核苷酸接合物，然後其可自我組合成帶有定義組成、價數和幾何形狀之多聚合複合物(參見，例如 Kazane 等人, J. Am. Chem. Soc. [Epub : 2012 年 12 月 4 日])。

### 治療給藥及調配物

【0147】 本發明係提供包括本發明之抗-PD-L1 抗體或其抗原結合片段的治療組成物。本發明之治療組成物係以適合的載劑、賦形劑和其他併入調配物中提供改善轉移、運送、耐受性及類似性質之試劑來給藥。許多適合的調配物可參見所有醫藥化學家已知的處方集：賓州伊斯頓馬克出版公司之 Remington's Pharmaceutical Sciences。這些調配物包括，例如散劑、糊膏、軟膏、軟凍、蠟、油、脂質、含脂質(陽離子或陰離子)之囊泡(例如 LIPOFECTIN™)、DNA 接合物、無水吸收糊膏、水包油和油包水乳劑、乳劑碳蠟(各種分子量之聚乙二醇)、半固體凝膠及含碳蠟(carbowax)之半固體混合物。亦參見 Powell 等人 "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311。

【0148】 抗體之劑量可依照給藥病患的年齡和體型大小、目標疾病、症狀、給藥路徑及其類似因素而不同。當本發明之抗體係治療成人病患之疾病或症狀，或用於預防此一疾病時，有利的一般可以約 0.1 至約 100 mg/kg 體重，更佳的約 5 至約 80，約 10 至約 60 或約 20 至約 50 mg/kg 體重之單一劑量投予本發明抗體。依照症狀之嚴重度，治療之頻率和作用期可調整。在特定的實施例中，可投予本發明之抗體或其抗原結合片段至少約 0.1 mg 至約 800 mg，約 1 至約 500 mg，約 5 至約 300 mg 或約 10 至約 200 mg，至

約 100 mg 或至約 50 mg 作為起始劑量。在特定的實施例中，起始劑量之後可接著第二或多數個後續劑量之抗體或其抗原結合片段，其量可大約與起始劑量相同或略少，其中該後續劑量係隔開至少 1 天至 3 天；至少一週，至少 2 週；至少 3 週；至少 4 週；至少 5 週；至少 6 週；至少 7 週；至少 8 週；至少 9 週；至少 10 週；至少 12 週；或至少 14 週。

【0149】 各種的遞送系統已為所知並可用於投予本發明之醫藥組成物，例如包膠之微脂體、微粒、微膠囊、能表現本發明抗體或其他治療蛋白之重組細胞、受體媒介的內吞作用(參見，例如 Wu 等人, *J. Biol. Chem.* 262 : 4429-4432(1987))。導入方法包括(但不限於)皮內、經皮、肌肉內、腹膜內、靜脈內、皮下、鼻內、硬膜外和口服路徑。組成物可以任何方便的路徑，例如以輸注或團注、以經由上皮或黏膜層(例如口腔黏膜、直腸和腸黏膜等)吸收來給藥，並可與其他生物活性劑共同給藥。醫藥組成物亦可以囊泡，特別是脂質囊來遞送(參見，例如 Langer (1990) *Science* 249:1527-1533)。

【0150】 使用奈米粒子遞送本發明抗體亦涵蓋在本文中。抗體-接合的奈米粒子可用於治療和診斷應用。抗體-接合的奈米粒子及製備方法係詳細描述於 Arruebo, M., 等人 2009 中(“Antibody-conjugated nanoparticles for biomedical applications” in *J. Nanomat.* Volume 2009, Article ID 439389, 24 pages, doi : 10.1155/2009/439389)，其係以引用的方式併入本文中。可開發奈米粒子並與抗體-接合包含在以癌細胞或自體免疫組織細胞或病毒感染細胞為目標之醫藥組成物中。用於藥物遞送之奈米粒子亦已描述於，例如 US 8257740 或 US 8246995 中，其各自係以全文引用的方式併入本文中。

【0151】 在特定的情況下，醫藥組成物可以控制釋放系統來遞送。在一實施例中，可使用幫浦。又在另外的實施例中，控制釋放系統可放置在靠近組成物的目標處，因此僅需要全身劑量之一部分。

【0152】 可注射的製備物可包括用於靜脈內、皮下、皮內、顱內、腹膜內和肌肉內注射、點滴輸注等之劑型。這些可注射製備物可以公開已知的方法來製備。例如，可注射製備物可，例如藉由將上述抗體或其鹽溶解、懸浮或乳化於注射上習用的無菌水性媒劑或油性媒劑中來製備。就注射用之水性媒劑有，例如生理食鹽水、含葡萄糖和其他佐劑之等張溶液等，其

可與適合的增溶劑例如醇(例如乙醇)、多醇(例如丙二醇、聚乙二醇)、非離子介面活性劑[例如聚山梨醇酯 80、HCO-50(氫化蓖麻油之聚環氧乙烷(50 莫耳)加合物)]等組合使用。就油性媒劑，可使用的有芝麻油、大豆油等，其可與增溶劑例如苯甲酸苯甲基酯、苯甲醇等組合使用。由此所製備的注射液較佳地係填充於適當的安瓶中。

**【0153】** 本發明之醫藥組成物可以標準針和注射器由皮下或靜脈內來遞送。此外，就皮下遞送而言，筆型遞送裝置可容易地用於遞送本發明之醫藥組成物。此筆型遞送裝置可為重複使用型或拋棄型。可重複使用的筆型遞送裝置一般係利用含有醫藥組成物之可更換補充匣。一旦匣內的所有醫藥組成物投予後而補充匣變空，則此空匣可容易丟棄並更換新的含醫藥組成物之補充匣。然後此筆型遞送裝置便可再使用。在拋棄型筆型遞送裝置中無可置換的補充匣。取而代之的，拋棄型筆型遞送裝置係預先填充醫藥組成物收藏在裝置內的儲槽中。一旦醫藥組成物的儲槽變空，整個裝置便可丟棄。

**【0154】** 許多可重複使用的筆型和自動注射器遞送裝置已應用於皮下遞送本發明之醫藥組成物。實例包括(但不限於)AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONIC™ 筆 (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25™ 筆、HUMALOG™ 筆、HUMALIN 70/30™ 筆 (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II 和 III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD™ 筆 (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPEN™、OPTIPEN PRO™、OPTIPEN STARLET™ 和 OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany)，僅提出一些。用於皮下遞送本發明醫藥組成物之拋棄型筆型遞送裝置包括(但不一定僅限於)SOLOSTAR™ 筆 (Sanofi-Aventis)、FLEXPEN™ (Novo Nordisk) 和 KWIKPEN™ (Eli Lilly)、SURECLICK™ 自動注射器 (Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN (Dey, L.P.) 和 HUMIRA™ 筆 (Abbott Labs, Abbott Park, IL)，僅提出一些。

**【0155】** 有利地，上述之口服或非經腸用途之醫藥組成物係製備成適

合活性成份劑量之單位劑型。此等單位劑量之劑型包括，例如錠劑、片劑、膠囊、注射劑(安瓶)、栓劑等。所含的抗體之量一般每單位劑量之劑型為約 5 至約 500 毫克；特別是注射形式，較佳的抗體係含有約 5 至約 100 毫克而其他劑型為約 10 至約 250 毫克。

### **抗體的治療用途**

**【0156】** 本發明之抗體可用於治療、預防及/或改善疾病或病症或症狀，例如癌症、自體免疫疾病或病毒感染及/或改善至少一種與此等疾病或病症或症狀有關的癥狀。在本發明某些實施例中，文中所述的抗體可用於治療患有原發性或再發性癌症之患者，包括例如，腎細胞癌、前列腺癌、卵巢癌、腎癌、大腸直腸癌、胃癌、乳癌、頭和頸癌、非小細胞肺癌、腦癌、多發性骨髓瘤和黑色素瘤。此等抗體可用於治療早期或晚期的癌症癥狀。在一實施例中，本發明之抗體或其片段可用於治療轉移的癌症。此等抗體可用於降低或抑制或縮小實體腫瘤和血液癌症之生長。在特定的實施例中，此等抗體可用於防止腫瘤復發。在特定的實施例中，以本發明抗體或其抗原結合片段治療可在患者中產生大於 50%的腫瘤消退，大於 60%消退，大於 70%消退，大於 80%消退或大於 90%消退。在特定的實施例中，此等抗體可用於增加患有癌症之患者的存活。

**【0157】** 在特定的實施例中，本發明抗體可用於治療患有慢性病毒感染之患者。在某些實施例中，本發明抗體可用於宿主中降低病毒效價及/或拯救精疲力盡的 T-細胞。在一實施例中，本發明抗體或其抗原結合片段可以一治療劑量投予被人類免疫缺陷病毒(HIV)或人類乳突病毒(HVP)或 B/C 型肝炎(HBV/HCV)感染之病患。在一相關的實施例中，本發明抗體或其抗原結合片段可用於猿猴患者，例如於獼猴中治療猿猴免疫缺陷病毒(SIV)之感染。在另外的實施例中，本發明抗體或其抗原結合片段可用於治療淋巴細胞性脈絡叢腦膜炎病毒(LCMV)之慢性病毒感染。

**【0158】** 在特定的實施例中，本發明之阻斷抗體可以一治療上有效量投予患有癌症或病毒感染之患者。

**【0159】** 在特定的實施例中，本發明抗體可用於治療自體免疫疾病，

包括但不限於圓禿、自體免疫肝炎、乳糜瀉、葛瑞夫茲氏症(Graves'disease)、格林-巴厘症候群(Guillain-Barre syndrome)、橋本氏病(Hashimoto's disease)、溶血性貧血、發炎性腸道疾病、發炎性肌病變、多發性硬化症、原發性膽汁性肝硬化、乾癬、類風濕性關節炎、硬皮病、薛格連氏症候群(sjogren's syndrome)、全身性紅斑性狼瘡、白斑症(Vitiligo)、自體免疫胰臟炎、自體免疫蕁麻疹、自體免疫血小板減少性紫斑、克隆氏症、第 I 型糖尿病、嗜酸細胞性筋膜炎、嗜酸細胞性胃腸炎、古巴士德氏症候群(Goodpasture's syndrome)、重肌無力症、乾癬性關節炎、風濕熱、潰瘍性大腸炎、血管炎和韋格納肉芽腫。在特定的實施例中，本發明之活化抗體可用於治療患有自體免疫疾病之患者。

【0160】 可投予一或多種本發明抗體用以減緩或防止或降低一或多種疾病或病症之癥狀或症狀的嚴重性。

【0161】 本文亦涵蓋將一或多種本發明之抗體用於預防處於發生疾病或病症，例如癌症和慢性病毒感染風險之病患。

【0162】 在本發明另一實施例中，本發明抗體係用於製備醫藥組成物供治療患有癌症、自體免疫疾病或病毒感染之病患。在本發明另外的實施例中，本發明抗體係與熟習本項技術者已知可用於治療癌症、自體免疫疾病或病毒感染的任何其他試劑或任何其他治療一起，作為輔助治療。

## 組合治療

【0163】 組合治療可包括本發明之抗-PD-L1 抗體及可有利地與本發明抗體，或與本發明抗體之生物活性片段組合之任何另外的治療劑。

【0164】 本發明抗體可與用於治療癌症，包括例如腎細胞癌、卵巢癌、前列腺癌、大腸直腸癌、非小細胞肺癌和黑色素瘤之一或多種抗癌藥物或治療協同性組合。本文亦涵蓋本發明之抗-PD-L1 抗體與免疫刺激性及/或免疫支持性治療組合使用，用以抑制腫瘤生長，及/或增進癌症病患存活。免疫刺激性治療包括藉由在抑制的細胞上「鬆開煞車」，或「踩油門」來活化免疫反應，增大免疫細胞活性之直接免疫刺激性治療。免疫支持形式可藉由增進致免疫細胞死亡、發炎來增加腫瘤的抗原性，或具有增進抗腫瘤

免疫反應之其他間接效應。實例包括放射線、化療、抗血管新生劑和手術。

**【0165】** 在各種實施例中，一或多種本發明抗體可與 PD-L1 之第二抗體、抗 PD-1 之抗體(例如，nivolumab)、LAG-3 抑制劑、CTLA-4 抑制劑(例如，易普利單抗(ipilimumab))、TIM3 抑制劑、BTLA 抑制劑、TIGIT 抑制劑、CD47 抑制劑、例外的 T-細胞共抑制劑或配體之拮抗劑(例如，CD-28、2B4、LY108、LAIR1、ICOS、CD160 或 VISTA 之抗體)、吲哚胺-2,3-二氧酶(IDO)抑制劑、血管內皮生長因子(VEGF)拮抗劑[例如，“VEGF-Trap”例如阿柏西普或如 US 7,087,411 中所述之其他的 VEGF-抑制融合蛋白或抗-VEGF 抗體或其抗原結合片段(例如，貝伐單抗(bevacizumab)或雷珠單抗(ranibizumab))或 VEGF 受體之小分子激酶抑制劑(例如，舒尼替尼(sunitinib)、索拉非尼(sorafenib)或帕唑帕尼(pazopanib)]、Ang2 抑制劑(例如，nesvacumab)、轉化生長因子  $\beta$ (TGF $\beta$ )抑制劑、表皮生長因子受體(EGFR)抑制劑(例如，厄洛替尼(erlotinib)、西妥昔單抗(cetuximab))、協同刺激受體之促效劑(例如，糖皮質類固醇-誘發的 TNFR-相關蛋白之促效劑)、腫瘤專一性抗原之抗體(例如，CA9、CA125、黑色素瘤-相關抗原 3(MAGE3)、癌胚抗原(CEA)、波形蛋白、腫瘤-M2-PK、前列腺-特異性抗原(PSA)、MART-1 和 CA19-9)、疫苗(例如，卡介苗、癌症疫苗)、增加抗原表現之助劑(例如，顆粒球巨噬細胞株刺激因子)、雙專一性抗體(例如，CD3xCD20、雙專一性抗體、PSMAxCD3 雙專一性抗體)、細胞毒素、化療劑(例如，達卡巴嗪(dacarbazine)、替莫唑胺(temozolomide)、環磷醯胺、多西它賽(docetaxel)、多柔比星(doxorubicin)、柔紅黴素(daunorubicin)、順鉑(cisplatin)、卡鉑(carboplatin)、吉西他濱(gemcitabine)、甲胺喋呤(methotrexate)、米托蒽醌(mitoxantrone)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)和長春新鹼(vincristine))、放射線治療、IL-6R 抑制劑(例如，sarilumab)、IL-4R 抑制劑(例如，dupilumab)、IL-10 抑制劑、細胞激素例如 IL-2、IL-7、IL-21 和 IL-15、抗體-藥物接合物(ADC)(例如，抗-CD19-DM4 ADC 及抗-DS6-DM4 ADC)、抗-發炎藥(例如，皮質類固醇、非類固醇抗發炎藥)、膳食補充劑例如抗-氧化劑或任何治療癌症之減緩照護組合使用。在特定的實施例中，本發明之抗-PD-L1 抗體可與癌症疫苗組合使用，包括樹突細胞疫苗、溶瘤病毒、腫

瘤細胞疫苗等，用以增大抗腫瘤反應。可與本發明抗-PD-L1 抗體組合使用之癌症疫苗的實例包括用於黑色素瘤和膀胱癌之 MAGE3 疫苗、用於乳癌之 MUC1 疫苗、用於腦癌(包括多形性膠質母細胞瘤)之 EGFRv3 (例如，Rindopepimut)，或 ALVAC-CEA(用於 CEA+癌症)。在特定的實施例中，本發明之抗-PD-L1 抗體可與膳食補充劑例如抗氧化劑或任何治療癌症之減緩照護組合使用。

【0166】 在特定的實施例中，本發明之抗-PD-L1 抗體係與放射線治療組合給藥用於產生長期持久的抗-腫瘤反應及/或增進癌症病患存活之方法中。在某些實施例中，本發明之抗-PD-L1 抗體可在放射線治療投予癌症病患之前、同時或之後給藥。例如，放射線治療可以一或多個劑量投予癌症病灶，接著投予一或多個劑量的本發明抗-PD-L1 抗體。在某些實施例中，放射線治療可部投予癌症病灶以增進病患腫瘤的局部致免疫力(輔助性放射線)及/或殺死腫瘤細胞(破壞性放射線)，接著本發明抗-PD-L1 抗體之全身性給藥。例如，可投予腦癌患者(例如多形性膠質母細胞瘤)顱內放射線以及全身性給藥之本發明抗-PD-L1 抗體。在特定的實施例中，本發明之抗-PD-L1 抗體可與放射線治療及化療劑(例如替莫唑胺)或 VEGF 拮抗劑(例如阿柏西普)組合給藥。

【0167】 本發明之抗體或其片段可與本項技術中已知的一或多種抗病毒藥物組合給藥，包括(但不限於)齊多夫定(zidovudine)、拉米夫定(lamivudine)、阿巴卡韋(abacavir)、雷巴威林(ribavirin)、洛匹那韋(lopinavir)、依法韋侖(efavirenz)、考比泰特(cobicistat)、泰諾福韋(tenofovir)、利匹韋林(rilpivirine)和皮質類固醇。在某些實施例中，本發明之抗-PD-L1 抗體可與LAG3 抑制劑、CTLA-4 抑制劑、PD-1 抑制劑或另外的 T-細胞共抑制劑之任何拮抗劑組合給藥，用以治療慢性病毒感染。

【0168】 本發明之抗體或其片段可與本項技術中已知的任何藥物或治療(例如，皮質類固醇和其他免疫抑制劑)組合給藥，用以治療自體免疫疾病或病症，包括(但不限於)圓禿、自體免疫肝炎、乳糜瀉、葛瑞夫茲氏症(Graves'disease)、格林-巴厘症候群(Guillain-Barre syndrome)、橋本氏病(Hashimoto's disease)、溶血性貧血、發炎性腸道疾病、發炎性肌病變、多發

性硬化症、原發性膽汁性肝硬化、乾癬、類風濕性關節炎、硬皮病、薛格連氏症候群(sjogren's syndrome)、全身性紅斑性狼瘡、白斑症(Vitiligo)、自體免疫胰臟炎、自體免疫蕁麻疹、自體免疫血小板減少性紫斑、克隆氏症、第 I 型糖尿病、嗜酸細胞性筋膜炎、嗜酸細胞性腸胃炎、古巴士德氏症候群(Goodpasture's syndrome)、重肌無力症、乾癬性關節炎、風濕熱、潰瘍性大腸炎、血管炎和韋格納肉芽腫。

【0169】 另外的治療活性組份可在投予本發明抗-PD-L1 抗體之前、同時或之後給藥。就本揭示文之目的，此等給藥療法係視為抗-PD-L1 抗體與第二治療活性組份「組合」給藥。

【0170】 另外的治療活性組份可在本發明抗-PD-L1 抗體給藥之前投予患者。例如，若第一組份係在投予第二組份 1 週前，72 小時前，60 小時前，48 小時前，36 小時前，24 小時前，12 小時前，6 小時前，5 小時前，4 小時前，3 小時前，2 小時前，1 小時前，30 分鐘前，15 分鐘前，10 分鐘前，5 分鐘前或少於 1 分鐘前給藥，則第一組份可視為係在第二組「之前」給藥。在其他實施例中，另外的治療活性組份可在本發明抗-PD-L1 抗體給藥之後投予患者。例如，若第一組份係在投予第二組份 1 分鐘後，5 分鐘後，10 分鐘後，15 分鐘後，30 分鐘後，1 小時後，2 小時後，3 小時後，4 小時後，5 小時後，6 小時後，12 小時後，24 小時後，36 小時後，48 小時後，60 小時後，72 小時後給藥，則第一組份可視為係在第二組「之後」給藥。又在其他的實施例中，另外的治療活性組份可在本發明抗-PD-L1 抗體給藥的同時投予患者。「同時」給藥，就本發明之目的係包括，例如抗-PD-L1 抗體和另外的治療活性組份係以單一劑型(例如共調配)投予患者或以分開的劑型彼此相隔 30 分鐘之內或更短，投予患者。若以分開的劑型給藥，各劑型可經由相同的路徑給藥(例如抗-PD-L1 抗體和另外的治療活性組份可以靜脈內、皮下等給藥)；另一種選擇，各劑型可經由不同的路徑給藥(例如抗-PD-L1 抗體可以靜脈內給藥而另外的治療活性組份可以皮下給藥)。無論如何，就本揭示文之目的，以單一劑型、以相同路徑之分開的劑型，或以不同路徑之分開的劑型投予組份全部皆視為「同時給藥」。就本揭示文之目的，在另外的治療活性組份給藥「之前」、「同時」或「之後」(該等術語係

如上文中所定義)授予抗-PD-L1 抗體係視為抗-PD-L1 抗體與另外的治療活性組份「組合」給藥。

【0171】 本發明係包括其中本發明之抗-PD-L1 抗體與一或多種如文中他處所述之另外的治療活性組份共調配之醫藥組成物。

【0172】 在示例的實施例中，其中本發明之抗-PD-L1 抗體係與 VEGF 拮抗劑(例如，VEGF trap 例如阿柏西普)組合給藥，其包括給予包含抗-PD-L1 抗體和 VEGF 拮抗劑之共調配物，個別的組份可使用各種劑量組合授予患者及/或共調配。例如，抗-PD-L1 抗體可以由下列組成之群中選出的量，授予患者及/或包含在共調配物中：0.01 mg、0.02 mg、0.03 mg、0.04 mg、0.05 mg、0.1 mg、0.2 mg、0.3 mg、0.4 mg、0.5 mg、0.6 mg、0.7 mg、0.8 mg、0.9 mg、1.0 mg、1.5 mg、2.0 mg、2.5 mg、3.0 mg、3.5 mg、4.0 mg、4.5 mg、5.0 mg、6.0 mg、7.0 mg、8.0 mg、9.0 mg 和 10.0 mg；而 VEGF 拮抗劑(例如，VEGF trap 例如阿柏西普)可以由下列組成之群中選出的量，授予患者及/或包含在共調配物中：0.1 mg、0.2 mg、0.3 mg、0.4 mg、0.5 mg、0.6 mg、0.7 mg、0.8 mg、0.9 mg、1.0 mg、1.1 mg、1.2 mg、1.3 mg、1.4 mg、1.5 mg、1.6 mg、1.7 mg、1.8 mg、1.9 mg、2.0 mg、2.1 mg、2.2 mg、2.3 mg、2.4 mg、2.5 mg、2.6 mg、2.7 mg、2.8 mg、2.9 mg 和 3.0 mg。組合物/共調配物可根據文中他處所揭示的給藥療法，授予患者，包括，例如一週二次、每週一次、每 2 週一次、每 3 週一次、每月一次、每 2 個月一次、每 3 個月一次、每 4 個月一次、每 5 個月一次、每 6 個月一次等。

## 給藥療法

【0173】 根據本發明特定的實施例，多劑量的抗-PD-L1 抗體(或包括抗-PD-L1 抗體與任何文中所提及的另外治療活性劑組合之醫藥組成物) 可於一定義的時程內授予患者。根據本發明此方面之方法係包括先後將多劑量之本發明抗-PD-L1 抗體授予患者。如文中所用，「先後給藥」係指各劑量之抗-PD-L1 抗體係於不同的時間點授予該患者，例如以預定的間隔隔開(例如小時、日、週或月)之不同日。本發明係包括，包含將一單一起始劑量之抗-PD-L1 抗體先後授予病患，接著一或多個第二劑量之抗-PD-L1 抗體及視

需要接著一或多個第三劑量之抗-PD-L1 抗體之方法。抗-PD-L1 抗體可用介於 0.1 mg/kg 至約 100 mg/kg 間之劑量來給藥。

【0174】 術語「起始劑量」、「第二劑量」和「第三劑量」係指投予本發明活抗-PD-L1 抗體之暫時順序。因此，「起始劑量」為治療療法開始時所投予之劑量(亦稱為「基線」劑量)；「第二劑量」為在起始劑量之後所投予之劑量；而「第三劑量」為在第二劑量之後所投予之劑量。起始、第二和第三劑量皆可含有相同量之抗-PD-L1 抗體，但就給藥的頻率而言，一般可彼此不同。然而，在特定的實施例中，包含在起始、第二及/或第三劑量中之抗-PD-L1 抗體之量，在治療期間可互不相同(例如，若適當經上調或下調)。在特定的實施例中，係在治療療法開始時投予二或多個(例如 2、3、4 或 5 個)劑量作為「承載劑量」，接著以較低頻率為基礎，投予後續劑量(例如「維持劑量」)。

【0175】 在本發明特定的示例性實施例中，各第二及/或第三劑量係緊接前面劑量之後的 1 至 26 週(例如 1、1½、2、2½、3、3½、4、4½、5、5½、6、6½、7、7½、8、8½、9、9½、10、10½、11、11½、12、12½、13、13½、14、14½、15、15½、16、16½、17、17½、18、18½、19、19½、20、20½、21、21½、22、22½、23、23½、24、24½、25、25½、26、26½，或更久)給藥。「緊接前面劑量」一詞，如文中所用，係指在一多重給藥之順序中，抗-PD-L1 抗體之劑量，在每個相鄰接的劑量給藥之前係以無插入劑量之順序投予患者。

【0176】 根據本發明此方面之方法可包括將任何數目之第二及/或第三劑量之抗-PD-L1 抗體投予一病患。例如，在特定的實施例中，僅將一單一第二劑量投予該病患。在其他實施例中，係將二或多個(例如 2、3、4、5、6、7、8 或更多個)第二劑量投予該病患。同樣地，在特定的實施例中，僅將一單一的第三劑量投予該病患。在其他實施例中，係將二或多個(例如 2、3、4、5、6、7、8 或更多個)第三劑量投予該病患。

【0177】 在涉及多重第二劑量之實施例中，各第二劑量可以如同其他第二劑量之相同頻率來給藥。例如，各第二劑量可在緊接前面劑量後 1 至 2 週或 1 至 2 個月，投予該病患。同樣地，在涉及多重第三劑量之實施例中，

各第三劑量可以如同其他第三劑量之相同頻率來給藥。例如，各第三劑量可在緊接前面劑量後 2 至 12 週，投予該病患。在本發明特定的實施例中，投予病患之第二及/或第三劑量的頻率，在治療法期間可不同。在治療期間，給藥頻率亦可依照個別病患之需求在臨床檢查後由醫師做調整。

【0178】 本發明包括其中以第一頻率將 2 至 6 個承載劑量投予病患(例如每週一次、每 2 週一次、每 3 週一次、每月一次、每 2 個月一次等)，接著以較低頻率為基礎將二或多個維持劑量投予病患之給藥療法。例如，根據本發明此方面，若承載劑量係以每月一次的頻率給藥(例如每月一次投予二、三、四或更多個承載劑量)，則維持劑量可以每 5 週一次、每 6 週一次、每 7 週一次、每 8 週一次、每 10 週一次、每 12 週一次等，投予病患。

### 抗體之診斷用途

【0179】 本發明之抗-PD-L1 抗體亦可用於偵測或測量樣本中之 PD-L1，例如供作診斷目的。某些實施例係涵蓋使用本發明之一或多種抗體於分析中用以偵測疾病或病症，例如癌症、自體免疫疾病或慢性病毒感染。PD-L1 之示例性診斷分析可包括，例如將得自病患的樣本與本發明之抗-PD-L1 抗體接觸，其中該抗-PD-L1 抗體係經可偵測的標記或報導子分子標定，或用作為選擇性分離來自病患樣本之 PD-L1 的捕捉配體。另一種選擇，未標定的抗-PD-L1 抗體可與本身經可偵測標記標定之第二抗體組合，用於診斷用途。可偵測標記或報導子分子可為放射性同位素，例如  $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$  或  $^{125}\text{I}$ ；螢光或化學發光基團，例如螢光素異硫氰酸酯或羅丹明(rhodamine)；或酵素例如鹼性磷酸酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶、辣根過氧化酶或螢光素酶(luciferase)。可用於樣本中偵測或測量 PD-L1 之特定示例性分析包括酵素連結免疫吸附法(ELISA)、放射性免疫分析(RIA)及螢光活化細胞分類(FACS)。

【0180】 根據本發明可用於 PD-L1 診斷分析之樣本包括任何含有可偵測量之 PD-L1 蛋白或其片段，其係在正常或病理條件下可由病患得來之組織或液體樣本。一般而言，係測量得自健康病患(例如未罹患癌症或自體免疫疾病之病患)之特定樣本中 PD-L1 的量，以先建立一基線或標準的

PD-L1 量。然後可將此 PD-L1 之基線量與得自疑似患有癌症相關症狀或與此等症狀有關的癥候群之個體樣本中所測量的 PD-L1 量相比較。

【0181】 對 PD-L1 具專一性的抗體可能不含有另外的標記或基團，或其可含有 N-端或 C-端標記或基團。在一實施例中，此標記或基團為生物素。在一結合分析中，標記的位置(若有)，在與胜肽結合時，可決定相對於表面之胜肽向位。例如，若一表面係塗覆上抗生物素蛋白，則含有 N-端生物素物之胜肽將會朝向使胜肽的 C-端部分遠離此表面。

【0182】 本發明之態樣係關於所揭示的抗體作為預測病患中癌症預後或自體免疫病症之標記的用途。本發明之抗體可用於診斷分析中，評估病患之癌症預後及預測存活性。

## 實例

【0183】 提出下列實例以提供本項技術之一般技術者如何製造及使用本發明方法和組合物之完整揭示和說明，且不希望限制發明者所認為之發明範圍。雖已盡力確保所用的相關數字(例如量、溫度等)之正確性，但仍應考量某些實驗誤差和偏差。除非另有指出，否則份數為重量份，分子量為平均分子量，溫度係以攝氏度數表示，室溫為約 25°C，而壓力為或接近大氣壓。

### 實例 1：產生 PD-L1 之人類抗體

【0184】 使用範圍從 SEQ ID NO:351 (Genbank 登錄號 NP\_054862.1) 之約胺基酸 19-239 的 PD-L1 片段，產生人類 PD-L1 抗體。將一免疫原與一刺激免疫反應之助劑直接投予一包括編碼人類免疫球蛋白重鏈和  $\kappa$  輕鏈可變區之 DNA 的 VELOCIMMUNE<sup>®</sup> 小鼠。以 PD-L1-專一性免疫分析監測抗體免疫反應。當達到所欲的免疫反應時，收取脾臟細胞並與小鼠骨髓瘤細胞融合以保留其生存力及形成雜交瘤細胞株。篩選及選擇雜交瘤細胞株用以鑑別產生 PD-L1-專一性抗體之細胞株。使用此技術及上述免疫原得到數種抗-PD-L1 嵌合抗體(亦即，具有人類可變區和小鼠恆定區之抗體)；亦此

方式所產生的示例抗體係命名為 H2M8306N、H2M8307N、H2M8309N、H2M8310N、H2M8312N、H2M8314N、H2M8316N、H2M8317N、H2M8321N、H2M8323N、H2M8718N、H2M8718N2 及 H2M8719N。

【0185】 如 US 2007/0280945A1 中所述，亦直接從沒有與骨髓瘤細胞融合的抗原-陽性 B 細胞分離抗-PD-L1 抗體，該文係特定以全文引用的方式併入本文中。使用此法，得到數種全人類抗-PD-L1 抗體(亦即具有人類可變區和人類恆定區之抗體)；以此方式產生的示例性抗體係命名如下：H1H9323P、H1H9327P、H1H9329P、H1H9336P、H1H9344P2、H1H9345P2、H1H9351P2、H1H9354P2、H1H9364P2、H1H9373P2、H1H9382P2、H1H9387P2 和 H1H9396P2。

【0186】 依照此實例之方法所產生的示例性抗體之生物性質係詳述於下文所述的實例中。

實例 2：重鏈和輕鏈可變區胺基酸序列及核苷酸序列

【0187】 表 1 係列出所選的本發明抗-PD-L1 抗體之重鏈和輕鏈可變區和 CDR 的胺基酸序列辨識碼。對應的核酸序列辨識碼係列於表 2 中。

表 1：胺基酸序列辨識碼

|          | SEQ ID NO: |       |       |       |      |       |       |       |
|----------|------------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|
| 抗體名稱     | HCVR       | HCDR1 | HCDR2 | HCDR3 | LCVR | LCDR1 | LCDR2 | LCDR3 |
| H2M8306N | 2          | 4     | 6     | 8     | 10   | 12    | 14    | 16    |
| H2M8307N | 18         | 20    | 22    | 24    | 26   | 28    | 30    | 32    |
| H2M8309N | 34         | 36    | 38    | 40    | 42   | 44    | 46    | 48    |
| H2M8310N | 50         | 52    | 54    | 56    | 58   | 60    | 62    | 64    |
| H2M8312N | 66         | 68    | 70    | 72    | 74   | 76    | 78    | 80    |
| H2M8314N | 82         | 84    | 86    | 88    | 90   | 92    | 94    | 96    |
| H2M8316N | 98         | 100   | 102   | 104   | 106  | 108   | 110   | 112   |
| H2M8317N | 114        | 116   | 118   | 120   | 122  | 124   | 126   | 128   |
| H2M8321N | 130        | 132   | 134   | 136   | 138  | 140   | 142   | 144   |

|               |     |     |     |     |     |     |     |     |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| H2M8323N      | 146 | 148 | 150 | 152 | 154 | 156 | 158 | 160 |
| H2M8718N      | 162 | 164 | 166 | 168 | 170 | 172 | 174 | 176 |
| H2M8718N<br>2 | 178 | 180 | 182 | 184 | 170 | 172 | 174 | 176 |
| H2M8719N      | 186 | 188 | 190 | 192 | 194 | 196 | 198 | 200 |
| H1H9323P      | 202 | 204 | 206 | 208 | 210 | 212 | 214 | 216 |
| H1H9327P      | 218 | 220 | 222 | 224 | 226 | 228 | 230 | 232 |
| H1H9329P      | 234 | 236 | 238 | 240 | 242 | 244 | 246 | 248 |
| H1H9336P      | 250 | 252 | 254 | 256 | 258 | 260 | 262 | 264 |
| H1H9344P2     | 266 | 268 | 270 | 272 | 274 | 276 | 278 | 280 |
| H1H9345P2     | 282 | 284 | 286 | 288 | 274 | 276 | 278 | 280 |
| H1H9351P2     | 290 | 292 | 294 | 296 | 274 | 276 | 278 | 280 |
| H1H9354P2     | 298 | 300 | 302 | 304 | 274 | 276 | 278 | 280 |
| H1H9364P2     | 306 | 308 | 310 | 312 | 274 | 276 | 278 | 280 |
| H1H9373P2     | 314 | 316 | 318 | 320 | 274 | 276 | 278 | 280 |
| H1H9382P2     | 322 | 324 | 326 | 328 | 274 | 276 | 278 | 280 |
| H1H9387P2     | 330 | 332 | 334 | 336 | 274 | 276 | 278 | 280 |
| H1H9396P2     | 338 | 340 | 342 | 344 | 274 | 276 | 278 | 280 |

表 2：核酸序列辨識碼

|          | SEQ ID NO: |       |       |       |      |       |       |       |
|----------|------------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|
| 抗體名稱     | HCVR       | HCDR1 | HCDR2 | HCDR3 | LCVR | LCDR1 | LCDR2 | LCDR3 |
| H2M8306N | 1          | 3     | 5     | 7     | 9    | 11    | 13    | 15    |
| H2M8307N | 17         | 19    | 21    | 23    | 25   | 27    | 29    | 31    |
| H2M8309N | 33         | 35    | 37    | 39    | 41   | 43    | 45    | 47    |
| H2M8310N | 49         | 51    | 53    | 55    | 57   | 59    | 61    | 63    |
| H2M8312N | 65         | 67    | 69    | 71    | 73   | 75    | 77    | 79    |
| H2M8314N | 81         | 83    | 85    | 87    | 89   | 91    | 93    | 95    |

|           |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| H2M8316N  | 97  | 99  | 101 | 103 | 105 | 107 | 109 | 111 |
| H2M8317N  | 113 | 115 | 117 | 119 | 121 | 123 | 125 | 127 |
| H2M8321N  | 129 | 131 | 133 | 135 | 137 | 139 | 141 | 143 |
| H2M8323N  | 145 | 147 | 149 | 151 | 153 | 155 | 157 | 159 |
| H2M8718N  | 161 | 163 | 165 | 167 | 169 | 171 | 173 | 175 |
| H2M8718N2 | 177 | 179 | 181 | 183 | 169 | 171 | 173 | 175 |
| H2M8719N  | 185 | 187 | 189 | 191 | 193 | 195 | 197 | 199 |
| H1H9323P  | 201 | 203 | 205 | 207 | 209 | 211 | 213 | 215 |
| H1H9327P  | 217 | 219 | 221 | 223 | 225 | 227 | 229 | 231 |
| H1H9329P  | 233 | 235 | 237 | 239 | 241 | 243 | 245 | 247 |
| H1H9336P  | 249 | 251 | 253 | 255 | 257 | 259 | 261 | 263 |
| H1H9344P2 | 265 | 267 | 269 | 271 | 273 | 275 | 277 | 279 |
| H1H9345P2 | 281 | 283 | 285 | 287 | 273 | 275 | 277 | 279 |
| H1H9351P2 | 289 | 291 | 293 | 295 | 273 | 275 | 277 | 279 |
| H1H9354P2 | 297 | 299 | 301 | 303 | 273 | 275 | 277 | 279 |
| H1H9364P2 | 305 | 307 | 309 | 311 | 273 | 275 | 277 | 279 |
| H1H9373P2 | 313 | 315 | 317 | 319 | 273 | 275 | 277 | 279 |
| H1H9382P2 | 321 | 323 | 325 | 327 | 273 | 275 | 277 | 279 |
| H1H9387P2 | 329 | 331 | 333 | 335 | 273 | 275 | 277 | 279 |
| H1H9396P2 | 337 | 339 | 341 | 343 | 273 | 275 | 277 | 279 |

【0188】 抗體典型地在文中係根據下列命名法來命名：Fc 字首(例如「H1H」、「H2M」、「H2aM」等)，接著數字辨識碼(例如，如表 1 中所示之「8306」、「9323」等)，接著「P」、「N」、「P2」或「N2」字尾。因此，根據此命名法，一抗體在文中可稱為，例如「H2M8306N」、「H1H9344P2」等。在用於文中之抗體命名上 H1M、H2M 和 H2aM 字首係指抗體特定的 Fc 區同型。例如，「H1H」抗體係具有人類 IgG1 Fc，「H1M」抗體係具有小鼠 IgG1 Fc，而「H2M」或「H2aM」抗體係具有小鼠 IgG2 Fc(當抗體中以首字「H」

表示時，則所有的可變區為全人類)。本項技術之一般技術者應了解，具有特定 Fc 同型之抗體可轉變為具有不同 Fc 同型之抗體(例如帶有小鼠 IgG1 Fc 之抗體可轉變為帶有人類 IgG4 之抗體等)，但無論如何，可變區(包括 CDR)-其係以如表 1 所示的數字辨識碼表示-則仍不變，且結合性質預期為相同的或實質上類似的，與 Fc 之性質無關。

### 實例 3：以表面電漿共振測定抗體與 PD-L1 結合

【0189】 與純化的抗-PD-L1 單株抗體結合之抗原的結合和解離速率常數(分別為  $k_a$  和  $k_d$ )、平衡解離常數和解離半衰期(分別為  $K_D$  和  $t_{1/2}$ )係使用即時表面電漿共振生物感測器分析於 Biacore 4000 儀器上所測定。將 Biacore 感測器表面以多株兔抗-小鼠抗體(GE, #BR-1008-38)或單株小鼠抗-人類 Fc 抗體(GE, #BR-1008-39)衍生化，捕捉分別以小鼠 Fc 或人類 Fc 表現之大約 200-300 RU 的抗-PD-L1 抗體。用於與抗-PD-L1 抗體結合之受檢測的 PD-L1 試劑包括以 C-端 myc-myc-六組胺酸標籤(hPD-L1-MMH; SEQ ID: 345)表現之重組的人類 PD-L1(登錄號 NP\_054862.1 之胺基酸 19-239)，以 C-端 myc-myc-六組胺酸標籤表現之重組的獼猴 PD-L1(MfPD-L1-MMH; SEQ ID: 346)、以 C-端人類 IgG1 Fc 標籤(hPD-L1-hFc; SEQ ID: 347)或以 C-端小鼠 IgG2a Fc 標籤(hPD-L1-mFc; SEQ ID: 348)表現之重組的人類 PD-L1 (登錄號 NP\_054862.1 之胺基酸 19 – 239)，以及以 C-端小鼠 IgG2a Fc 標籤表示之重組的獼猴 PD-L1(MfPD-L1-mFc; SEQ ID: 353)。將不同濃度的 PD-L1 試劑，以 30 $\mu$ L/分鐘之流速注射於抗-PD-L1 單株抗體捕捉表面。監測 PD-L1 試劑與捕捉單株抗體之結合 3 至 4 分鐘同時監測結合 PD-L1 試劑之抗體於 HBST 電泳緩衝液(0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% v/v 界面活性劑 tween-20)中的解離 10 分鐘。實驗係於 25°C 或 37°C 下進行。動力結合( $k_a$ )和解離( $k_d$ )速率常數係藉由處理數據及將數據使用 Scrubber 2.0c 曲線擬合軟體與 1:1 結合模型擬合，加以測定。然後從動力速率常數計算結合解離平衡常數( $K_D$ )和解離半衰期( $t_{1/2}$ ):  $K_D$  (M) =  $k_d / k_a$  而  $t_{1/2}$  (min) =  $[\ln 2 / (60 * k_d)]$ 。於 25°C 和 37°C 與不同 PD-L1 試劑結合之不同抗-PD-L1 單株抗體的結合動力學參數係製成表 3-8。

表 3：25°C 與 hPD-L1-MMH 結合之抗-PD-L1 單株抗體的結合動力學參數

| 25°C 時 hPD-L1-MMH 單株抗體結合 |                 |                |              |                    |
|--------------------------|-----------------|----------------|--------------|--------------------|
| 抗體                       | $k_a$<br>(1/Ms) | $k_d$<br>(1/s) | $K_D$<br>(M) | $t_{1/2}$<br>(min) |
| H2aM8306N                | 1.44E+05        | 1.00E-02       | 6.96E-08     | 1.2                |
| H2aM8307N                | 3.27E+04        | 1.47E-04       | 4.50E-09     | 79                 |
| H2aM8309N                | 6.42E+05        | 1.04E-02       | 1.63E-08     | 1.1                |
| H2aM8310N                | 8.86E+04        | 3.10E-04       | 3.50E-09     | 37                 |
| H2aM8312N                | 7.59E+04        | 7.22E-04       | 9.51E-09     | 16                 |
| H2aM8314N                | 9.25E+05        | 5.17E-05       | 5.58E-11     | 224                |
| H2aM8316N                | 9.57E+05        | 1.12E-03       | 1.17E-09     | 10                 |
| H2aM8317N                | 9.40E+04        | 3.95E-02       | 4.21E-07     | 0.3                |
| H2aM8321N                | 1.03E+05        | 3.59E-03       | 3.49E-08     | 3.2                |
| H2aM8323N                | 9.37E+05        | 2.23E-04       | 2.38E-10     | 52                 |
| H2aM8718N                | 9.27E+05        | 8.01E-05       | 8.63E-11     | 144                |
| H2aM8719N                | 8.64E+04        | 2.26E-03       | 2.62E-08     | 5.1                |
| H1H9323P                 | 5.51E+04        | 1.88E-02       | 3.41E-07     | 0.6                |
| H1H9327P                 | 4.19E+05        | 2.59E-04       | 6.19E-10     | 45                 |
| H1H9329P                 | 1.77E+06        | 1.34E-01       | 7.58E-08     | 0.1                |
| H1H9336P                 | 7.92E+05        | 3.90E-04       | 4.92E-10     | 30                 |
| H1H9345P2                | 9.02E+04        | 1.49E-02       | 1.65E-07     | 0.8                |
| H1H9351P2                | 4.56E+05        | 8.96E-04       | 1.96E-09     | 13                 |
| H1H9354P2                | 4.76E+04        | 3.83E-04       | 8.04E-09     | 30                 |
| H1H9364P2                | 9.32E+05        | 2.99E-04       | 3.21E-10     | 39                 |
| H1H9373P2                | 2.65E+06        | 2.91E-04       | 1.10E-10     | 40                 |
| H1H9382P2                | 7.90E+04        | 4.79E-03       | 6.06E-08     | 2.4                |
| H1H9387P2                | 2.64E+06        | 5.82E-02       | 2.21E-08     | 0.2                |
| H1H9396P2                | 1.72E+05        | 2.18E-03       | 1.27E-08     | 5.3                |

表 4：37°C 與 hPD-L1-MMH 結合之抗-PD-L1 單株抗體的結合動力學參數

| 37°C 時 hPD-L1-MMH 單株抗體結合 |                 |                |              |                    |
|--------------------------|-----------------|----------------|--------------|--------------------|
| 抗體                       | $k_a$<br>(1/Ms) | $k_d$<br>(1/s) | $K_D$<br>(M) | $t_{1/2}$<br>(min) |
| H2aM8306N                | 1.80E+05        | 3.10E-02       | 1.72E-07     | 0.4                |
| H2aM8307N                | 5.35E+04        | 8.79E-04       | 1.64E-08     | 13                 |
| H2aM8309N                | 1.06E+06        | 3.14E-02       | 2.97E-08     | 0.4                |
| H2aM8310N                | 1.32E+05        | 1.28E-03       | 9.70E-09     | 9.0                |
| H2aM8312N                | 8.89E+04        | 4.03E-03       | 4.53E-08     | 2.9                |
| H2aM8314N                | 1.07E+06        | 1.50E-04       | 1.40E-10     | 77                 |
| H2aM8316N                | 1.01E+06        | 5.30E-03       | 5.24E-09     | 2.2                |
| H2aM8317N                | 9.03E+04        | 5.85E-02       | 6.47E-07     | 0.2                |
| H2aM8321N                | 1.01E+05        | 9.29E-03       | 9.16E-08     | 1.2                |
| H2aM8323N                | 1.38E+06        | 6.84E-04       | 4.97E-10     | 17                 |
| H2aM8718N                | 1.08E+06        | 1.55E-04       | 1.44E-10     | 74                 |
| H2aM8719N                | 1.50E+05        | 5.76E-03       | 3.84E-08     | 2.0                |
| H1H9323P                 | 1.21E+05        | 4.25E-02       | 3.52E-07     | 0.3                |
| H1H9327P                 | 5.21E+05        | 4.29E-04       | 8.24E-10     | 27                 |
| H1H9329P                 | 2.82E+06        | 3.29E-01       | 1.17E-07     | 0.04               |
| H1H9336P                 | 1.07E+06        | 7.88E-04       | 7.33E-10     | 15                 |
| H1H9345P2                | 1.72E+05        | 3.40E-02       | 1.97E-07     | 0.3                |
| H1H9351P2                | 6.82E+05        | 1.68E-03       | 2.47E-09     | 6.9                |
| H1H9354P2                | 7.39E+04        | 1.14E-03       | 1.54E-08     | 10                 |
| H1H9364P2                | 1.35E+06        | 5.63E-04       | 4.17E-10     | 21                 |
| H1H9373P2                | 3.09E+06        | 5.58E-04       | 1.80E-10     | 21                 |
| H1H9382P2                | 9.97E+04        | 1.07E-02       | 1.07E-07     | 1.1                |
| H1H9387P2                | 3.49E+06        | 1.37E-01       | 3.91E-08     | 0.08               |

|           |          |          |          |     |
|-----------|----------|----------|----------|-----|
| H1H9396P2 | 3.44E+05 | 1.13E-02 | 3.30E-08 | 1.0 |
|-----------|----------|----------|----------|-----|

表 5：25°C 時與人類 PD-L1 二聚體結合之抗-PD-L1 單株抗體的結合動力學  
參數

| 25°C 時人類 PD-L1 二聚體結合 |                 |                |              |                    |
|----------------------|-----------------|----------------|--------------|--------------------|
| 抗體                   | $k_a$<br>(1/Ms) | $k_d$<br>(1/s) | $K_D$<br>(M) | $t_{1/2}$<br>(min) |
| H2aM8306N            | 7.39E+05        | 3.09E-04       | 4.18E-10     | 37                 |
| H2aM8307N            | 1.89E+04        | 2.89E-05       | 1.54E-09     | 399                |
| H2aM8309N            | 3.36E+06        | 1.44E-04       | 4.29E-11     | 80                 |
| H2aM8310N            | 3.13E+05        | 5.71E-05       | 1.83E-10     | 202                |
| H2aM8312N            | 2.47E+05        | 1.02E-04       | 4.13E-10     | 113                |
| H2aM8314N            | 3.16E+06        | 1.35E-05       | 4.26E-12     | 859                |
| H2aM8316N            | 3.08E+06        | 1.44E-04       | 4.68E-11     | 80                 |
| H2aM8317N            | 3.59E+05        | 4.50E-04       | 1.25E-09     | 26                 |
| H2aM8321N            | 8.13E+05        | 2.87E-04       | 3.53E-10     | 40                 |
| H2aM8323N            | 2.91E+06        | 2.05E-05       | 7.04E-12     | 565                |
| H2aM8718N            | 3.20E+06        | 1.62E-05       | 5.06E-12     | 713                |
| H2aM8719N            | 3.42E+05        | 2.62E-04       | 7.67E-10     | 44                 |
| H1H9323P             | 2.24E+05        | 1.69E-04       | 7.54E-10     | 68                 |
| H1H9327P             | 4.66E+05        | 7.87E-05       | 1.69E-10     | 147                |
| H1H9329P             | 2.97E+06        | 7.68E-04       | 2.59E-10     | 15                 |
| H1H9336P             | 1.38E+06        | 1.09E-04       | 7.86E-11     | 106                |
| H1H9345P2            | 5.00E+05        | 2.37E-04       | 4.74E-10     | 49                 |
| H1H9351P2            | 9.16E+05        | 1.53E-04       | 1.67E-10     | 76                 |
| H1H9354P2            | 1.68E+05        | 1.16E-04       | 6.89E-10     | 100                |
| H1H9364P2            | 2.42E+06        | 1.06E-04       | 4.37E-11     | 109                |
| H1H9373P2            | 4.08E+06        | 1.06E-04       | 2.60E-11     | 109                |

|           |          |          |          |    |
|-----------|----------|----------|----------|----|
| H1H9382P2 | 2.23E+05 | 1.48E-04 | 6.63E-10 | 78 |
| H1H9387P2 | 5.07E+06 | 2.17E-04 | 4.27E-11 | 53 |
| H1H9396P2 | 7.76E+05 | 1.90E-04 | 2.45E-10 | 61 |

表 6：37°C 時與人類 PD-L1 二聚體結合之抗-PD-L1 單株抗體的結合動力學參數

| 37°C 時人類 PD-L1 二聚體結合 |                 |                |              |                    |
|----------------------|-----------------|----------------|--------------|--------------------|
| 抗體                   | $k_a$<br>(1/Ms) | $k_d$<br>(1/s) | $K_D$<br>(M) | $t_{1/2}$<br>(min) |
| H2aM8306N            | 9.97E+05        | 4.16E-04       | 4.17E-10     | 28                 |
| H2aM8307N            | 4.41E+04        | 2.21E-04       | 5.00E-09     | 52                 |
| H2aM8309N            | 4.41E+06        | 1.66E-04       | 3.76E-11     | 70                 |
| H2aM8310N            | 4.81E+05        | 1.24E-04       | 2.58E-10     | 93                 |
| H2aM8312N            | 3.57E+05        | 2.61E-04       | 7.32E-10     | 44                 |
| H2aM8314N            | 3.89E+06        | 2.30E-05       | 5.91E-12     | 503                |
| H2aM8316N            | 4.06E+06        | 2.37E-04       | 5.85E-11     | 49                 |
| H2aM8317N            | 4.81E+05        | 6.57E-04       | 1.36E-09     | 18                 |
| H2aM8321N            | 9.46E+05        | 2.69E-04       | 2.85E-10     | 43                 |
| H2aM8323N            | 4.32E+06        | 1.21E-04       | 2.80E-11     | 96                 |
| H2aM8718N            | 3.72E+06        | 1.98E-05       | 5.32E-12     | 584                |
| H2aM8719N            | 4.37E+05        | 2.91E-04       | 6.66E-10     | 40                 |
| H1H9323P             | 5.19E+05        | 2.03E-04       | 3.91E-10     | 57                 |
| H1H9327P             | 6.83E+05        | 1.36E-04       | 2.00E-10     | 85                 |
| H1H9329P             | 3.87E+06        | 2.67E-03       | 6.89E-10     | 4.3                |
| H1H9336P             | 2.75E+06        | 8.31E-05       | 3.02E-11     | 139                |
| H1H9345P2            | 6.82E+05        | 2.03E-04       | 2.97E-10     | 57                 |
| H1H9351P2            | 1.25E+06        | 1.46E-04       | 1.17E-10     | 79                 |
| H1H9354P2            | 4.56E+05        | 1.45E-04       | 3.17E-10     | 80                 |

|           |          |          |          |     |
|-----------|----------|----------|----------|-----|
| H1H9364P2 | 3.34E+06 | 6.96E-05 | 2.08E-11 | 166 |
| H1H9373P2 | 5.12E+06 | 8.97E-05 | 1.75E-11 | 129 |
| H1H9382P2 | 4.92E+05 | 1.37E-04 | 2.78E-10 | 84  |
| H1H9387P2 | 6.12E+06 | 3.92E-04 | 6.39E-11 | 29  |
| H1H9396P2 | 1.09E+06 | 2.58E-04 | 2.37E-10 | 45  |

表 7：25°C 時與 MfPD-L1-MMH 結合之抗-PD-L1 單株抗體的結合動力學參數

| 25°C 時 MfPD-L1-MMH 單體結合 |                 |                |              |                    |
|-------------------------|-----------------|----------------|--------------|--------------------|
| 抗體                      | $k_a$<br>(1/Ms) | $k_d$<br>(1/s) | $K_D$<br>(M) | $t_{1/2}$<br>(min) |
| H2aM8306N               | 1.65E+05        | 7.88E-03       | 4.77E-08     | 1.5                |
| H2aM8307N               | 2.61E+04        | 1.07E-03       | 4.09E-08     | 11                 |
| H2aM8309N               | 8.70E+05        | 1.30E-02       | 1.49E-08     | 0.9                |
| H2aM8310N               | 1.03E+05        | 3.06E-04       | 2.97E-09     | 38                 |
| H2aM8312N               | 7.09E+04        | 5.97E-04       | 8.42E-09     | 19                 |
| H2aM8314N               | 9.66E+05        | 7.00E-05       | 7.24E-11     | 165                |
| H2aM8316N               | 9.71E+05        | 1.64E-03       | 1.69E-09     | 7.0                |
| H2aM8317N               | 1.06E+05        | 2.38E-02       | 2.26E-07     | 0.5                |
| H2aM8321N               | 1.34E+05        | 4.02E-03       | 2.99E-08     | 2.9                |
| H2aM8323N               | 5.47E+05        | 8.68E-03       | 1.59E-08     | 1.3                |
| H2aM8718N               | 9.04E+05        | 6.64E-05       | 7.35E-11     | 174                |
| H2aM8719N               | 8.17E+04        | 2.68E-03       | 3.28E-08     | 4.3                |
| H1H9323P                | 8.22E+04        | 2.40E-02       | 2.92E-07     | 0.5                |
| H1H9327P                | 3.59E+05        | 3.33E-04       | 9.28E-10     | 35                 |
| H1H9329P                | 1.76E+06        | 1.35E-01       | 7.69E-08     | 0.09               |
| H1H9336P                | 6.79E+05        | 5.94E-04       | 8.76E-10     | 19                 |
| H1H9345P2               | 1.10E+05        | 8.50E-03       | 7.73E-08     | 1.4                |

|           |          |          |          |     |
|-----------|----------|----------|----------|-----|
| H1H9351P2 | 3.49E+05 | 1.11E-03 | 3.19E-09 | 10  |
| H1H9354P2 | 4.60E+04 | 3.05E-04 | 6.64E-09 | 38  |
| H1H9364P2 | 7.57E+05 | 3.12E-04 | 4.12E-10 | 37  |
| H1H9373P2 | 2.21E+06 | 2.82E-04 | 1.27E-10 | 41  |
| H1H9382P2 | 8.22E+04 | 1.29E-02 | 1.57E-07 | 0.9 |
| H1H9387P2 | 2.37E+06 | 6.04E-02 | 2.55E-08 | 0.2 |
| H1H9396P2 | 2.06E+05 | 2.52E-03 | 1.22E-08 | 4.6 |

表 8：37°C 時與 MfPD-L1-MMH 結合之抗-PD-L1 單株抗體的結合動力學參數

| 37°C 時 MfPD-L1-MMH 單體結合 |                 |                |              |                    |
|-------------------------|-----------------|----------------|--------------|--------------------|
| 抗體                      | $k_a$<br>(1/Ms) | $k_d$<br>(1/s) | $K_D$<br>(M) | $t_{1/2}$<br>(min) |
| H2aM8306N               | 2.74E+05        | 3.68E-02       | 1.34E-07     | 0.3                |
| H2aM8307N               | 1.87E+05        | 1.43E-03       | 7.63E-09     | 8.1                |
| H2aM8309N               | 1.07E+06        | 2.81E-02       | 2.63E-08     | 0.4                |
| H2aM8310N               | 4.71E+05        | 1.07E-03       | 2.27E-09     | 11                 |
| H2aM8312N               | 1.01E+05        | 3.32E-03       | 3.27E-08     | 3.5                |
| H2aM8314N               | 1.07E+06        | 1.52E-04       | 1.42E-10     | 76                 |
| H2aM8316N               | 1.02E+06        | 5.38E-03       | 5.27E-09     | 2.1                |
| H2aM8317N               | 2.66E+05        | 4.76E-02       | 1.79E-07     | 0.2                |
| H2aM8321N               | 1.59E+05        | 8.16E-03       | 5.11E-08     | 1.4                |
| H2aM8323N               | 9.56E+05        | 2.82E-02       | 2.95E-08     | 0.4                |
| H2aM8718N               | 1.10E+06        | 1.46E-04       | 1.33E-10     | 79                 |
| H2aM8719N               | 1.35E+05        | 6.99E-03       | 5.19E-08     | 1.7                |
| H1H9323P                | 1.25E+05        | 4.99E-02       | 3.98E-07     | 0.2                |
| H1H9327P                | 4.77E+05        | 5.34E-04       | 1.12E-09     | 22                 |
| H1H9329P                | 2.66E+06        | 3.64E-01       | 1.37E-07     | 0.03               |

|           |          |          |          |      |
|-----------|----------|----------|----------|------|
| H1H9336P  | 9.09E+05 | 1.25E-03 | 1.38E-09 | 9.2  |
| H1H9345P2 | 1.64E+05 | 1.97E-02 | 1.21E-07 | 0.6  |
| H1H9351P2 | 5.60E+05 | 2.01E-03 | 3.59E-09 | 5.8  |
| H1H9354P2 | 8.59E+04 | 8.44E-04 | 9.82E-09 | 14   |
| H1H9364P2 | 1.12E+06 | 6.33E-04 | 5.66E-10 | 18   |
| H1H9373P2 | 2.81E+06 | 5.69E-04 | 2.03E-10 | 20   |
| H1H9382P2 | 1.30E+05 | 2.45E-02 | 1.89E-07 | 0.5  |
| H1H9387P2 | 3.20E+06 | 1.57E-01 | 4.89E-08 | 0.07 |
| H1H9396P2 | 3.94E+05 | 1.20E-02 | 3.05E-08 | 1.0  |

表 9：25°C 時與猴子 PD-L1-mFc 結合之抗-PD-L1 單株抗體的結合動力學參數

| 25°C 時 MfPD-L1-mFc 結合 |                 |                |              |                    |
|-----------------------|-----------------|----------------|--------------|--------------------|
| 抗體                    | $k_a$<br>(1/Ms) | $k_d$<br>(1/s) | $K_D$<br>(M) | $t_{1/2}$<br>(min) |
| H1H8314N              | 2.58E+06        | 6.77E-05       | 2.63E-11     | 171                |
| H1H8316N              | 2.71E+06        | 5.23E-05       | 1.93E-11     | 221                |
| H1H8323N              | 2.67E+06        | 6.16E-05       | 2.31E-11     | 188                |
| H1H9351P2             | 7.81E+05        | 7.19E-05       | 9.22E-11     | 161                |
| H1H9364P2             | 1.32E+06        | 7.75E-05       | 5.87E-11     | 149                |
| H1H9373P2             | 2.85E+06        | 4.96E-05       | 1.74E-11     | 233                |
| H1H9387P2             | 3.55E+06        | 1.61E-04       | 4.52E-11     | 72                 |
| H1H9351P2             | 8.64E+05        | 7.80E-05       | 9.03E-11     | 148                |
| H1H9364P2             | 1.25E+06        | 5.80E-05       | 4.62E-11     | 199                |
| H1H9373P2             | 3.27E+06        | 6.55E-05       | 2.00E-11     | 176                |
| H1H9387P2             | 2.90E+06        | 2.12E-04       | 7.30E-11     | 55                 |
| H1H9323P              | 2.80E+05        | 1.45E-04       | 5.19E-10     | 79                 |
| H1H9327P              | 3.48E+05        | 1.02E-04       | 2.94E-10     | 113                |
| H1H9329P              | 1.74E+06        | 6.72E-04       | 3.86E-10     | 17                 |

|           |          |          |          |     |
|-----------|----------|----------|----------|-----|
| H1H9336P  | 9.90E+05 | 6.16E-05 | 6.22E-11 | 188 |
| H1H9344P2 | 3.50E+05 | 1.38E-04 | 3.93E-10 | 84  |
| H1H9345P2 | 2.96E+05 | 1.51E-04 | 5.12E-10 | 76  |
| H1H9354P2 | 2.05E+05 | 9.14E-05 | 4.47E-10 | 126 |
| H1H9382P2 | 2.13E+05 | 1.33E-04 | 6.26E-10 | 87  |
| H1H9396P2 | 8.37E+05 | 1.88E-04 | 2.25E-10 | 61  |

表 10：37°C 時與猴子 PD-L1-mFc 結合之抗-PD-L1 單株抗體的結合動力學  
參數

| 37°C 時 MfPD-L1-mFc 結合 |                 |                |              |                    |
|-----------------------|-----------------|----------------|--------------|--------------------|
| 抗體                    | $k_a$<br>(1/Ms) | $k_d$<br>(1/s) | $K_D$<br>(M) | $t_{1/2}$<br>(min) |
| H1H8314N              | 2.89E+06        | 9.60E-05       | 3.33E-11     | 120                |
| H1H8316N              | 2.96E+06        | 6.16E-05       | 2.08E-11     | 187                |
| H1H8323N              | 2.99E+06        | 1.35E-04       | 4.51E-11     | 86                 |
| H1H9351P2             | 1.06E+06        | 9.46E-05       | 8.91E-11     | 122                |
| H1H9364P2             | 2.36E+06        | 1.11E-04       | 4.71E-11     | 104                |
| H1H9373P2             | 3.15E+06        | 8.59E-05       | 2.73E-11     | 134                |
| H1H9387P2             | 3.41E+06        | 4.74E-04       | 1.39E-10     | 24                 |
| H1H9351P2             | 1.61E+06        | 1.04E-04       | 6.47E-11     | 111                |
| H1H9364P2             | 2.41E+06        | 6.76E-05       | 2.80E-11     | 171                |
| H1H9373P2             | 3.86E+06        | 1.23E-04       | 3.19E-11     | 94                 |
| H1H9387P2             | 2.90E+06        | 4.65E-04       | 1.61E-10     | 25                 |
| H1H9323P              | 3.84E+05        | 2.44E-04       | 6.36E-10     | 47                 |
| H1H9327P              | 7.64E+05        | 2.94E-04       | 3.85E-10     | 39                 |
| H1H9329P              | 2.18E+06        | 1.54E-03       | 7.08E-10     | 8                  |
| H1H9336P              | 1.86E+06        | 4.60E-05       | 2.47E-11     | 251                |
| H1H9344P2             | 9.05E+05        | 2.17E-04       | 2.40E-10     | 53                 |

|           |          |          |          |    |
|-----------|----------|----------|----------|----|
| H1H9345P2 | 8.61E+05 | 2.92E-04 | 3.39E-10 | 40 |
| H1H9354P2 | 2.72E+05 | 2.03E-04 | 7.46E-10 | 57 |
| H1H9382P2 | 2.84E+05 | 2.35E-04 | 8.25E-10 | 49 |
| H1H9396P2 | 1.57E+06 | 5.02E-04 | 3.19E-10 | 23 |

【0190】 如表 3 所示，在 25°C 時，所有 25 種本發明之抗-PD-L1 抗體係以範圍從 55.8pM 至 421nM 之  $K_D$  值與 hPD-L1-MMH 結合。如表 4 所示，在 37°C 時，所有 25 種本發明之抗-PD-L1 抗體係以範圍從 140pM 至 647nM 之  $K_D$  值與 hPD-L1-MMH 結合。如表 5 所示，在 25°C 時，所有 25 種本發明之抗-PD-L1 抗體係以範圍從 4.26pM 至 1.54nM 之  $K_D$  值與 hPD-L1 二聚體結合。如表 6 所示，在 37°C 時，所有 25 種本發明之抗-PD-L1 抗體係以範圍從 5.32pM 至 5.0nM 之  $K_D$  值與 hPD-L1 二聚體結合。如表 7 所示，在 25°C 時，所有 25 種本發明之抗-PD-L1 抗體係以範圍從 72.4pM 至 292nM 之  $K_D$  值與 MfPD-L1-MMH 結合。如表 8 所示，在 37°C 時，所有 25 種本發明之抗-PD-L1 抗體係以範圍從 133pM 至 398nM 之  $K_D$  值與 MfPD-L1-MMH 結合。如表 9 所示，在 25°C 時，所有 25 種受檢測之本發明抗-PD-L1 抗體係以範圍從 17.4pM 至 626pM 之  $K_D$  值與 MfPD-L1-mFc 結合。如表 10 所示，在 37°C 時，所有 25 種受檢測之本發明抗-PD-L1 抗體係以範圍從 20.8pM 至 825pM 之  $K_D$  值與 MfPD-L1-mFc 結合。

**實例 4：如 ELISA 所測阻斷 PD-L1 與 PD-1 結合**

【0191】 單株抗-PD-L1 抗體阻斷人類 PD-L1 與其結合夥伴人類 PD-1 和人類 B7-1 受體結合之能力係使用二種競爭三明治 ELISA 形式來測量。

【0192】 將包括以 C-端 hFc 標籤(hPD-1-hFc；SEQ ID：350)表現之胞外區(帶有 C93S 改變之登錄號 NP\_005009.2 的胺基酸 25-170)部份的二聚體人類 PD-1 蛋白，及包括以 C-端 hFc 標籤和六組胺酸標籤(hB7-1-hFc-6His；R&D Systems, #140-B1)表現的胞外區部分之二聚體人類 B7-1 蛋白個別於 4°C 以 2 µg/mL 塗覆在 96-孔微量滴定盤上的 CPBS 緩衝液中。隨後使用 0.5% (w/v)的 BSA 之 PBS 溶液阻斷非專一性結合位置。將包括以 C-端 mFc 標籤

(hPD-L1-mFc ; SEQ ID : 348)表現的人類 PD-L1 胞外區部份之固定量的 0.5 nM 或 8.0 nM 二聚體 hPD-L1 蛋白分別以範圍介於 0-210 nM 連續稀釋之抗-PD-1 抗體及同型對照抗體的濃度滴定。然後將這些抗體-蛋白複合物於室溫(RT)培養 1 小時。隨後將含 0.5 nM 固定 hPD-L1-mFc 之複合物轉置於塗覆上 hPD-1-hFc 之微量滴定盤，並將含 8 nM 固定 hPD-L1-mFc 之複合物轉置於塗覆 hB7-1-hFc-6His 的盤上。讓複合物與塗覆的滴定盤於 RT 結合 1 小時。1 小時培養後，清洗孔槽並以接合辣根過氧化酶(Jackson ImmunoResearch, # 115-035-164)之抗-mFc 多株抗體偵測盤-結合的 hPD-L1-mFc。以 TMB 溶液(BD Biosciences, #51-2606KC 和#51-2607KC)將樣本展開，產生比色反應並以 1M 硫酸中和，之後於 Victor X5 盤式判讀儀上以 450 nm 測量吸收度。數據分析係使用 Prism™軟體內的反曲劑量-反應模型。將所計算的 IC<sub>50</sub> 值，其係定義為阻斷 50% hPD-L1-mFc 與 hPD-1-hFc 或 hB7-1-hFc-6His 結合所需之抗體濃度，用作阻斷效力的指標。最大阻斷值代表相對於基線，抗體阻斷 hPD-L1-mFc 結合之能力。於劑量曲線上以固定量之 hPD-L1 所測量的吸收度係定義為 0%阻斷而無添加 hPD-L1 的吸收度係定義為 100%阻斷。就各抗體含有最高濃度之孔槽的吸收值，係用來測定受檢測抗體在最大濃度時之阻斷百分比。具有低於 25%最大百分比阻斷力之抗體係定為非阻斷劑，且其 IC<sub>50</sub> 值並未列於表 11 中。具有低於-25%最大百分比阻斷力之抗體係定為非阻斷劑/增進劑。

表 11：ELISA 以抗-PD-L1 抗體阻斷 hPD-L1-mFc 與 hPD-1-hFc 和 hB7-1-hFc-6His 結合

| 抗體         | hPD-1-hFc 塗層上所檢測的最高抗體濃度 (nM) | 阻斷 0.5 nM 的 hPD-L1-mFc 與 hPD-1-hFc 結合, IC <sub>50</sub> (M) | 阻斷 0.5 nM 的 hPD-L1-mFc 與 hPD-1-hFc 結合, 最大阻斷% | hB7-1-hFc-6His 塗層上所檢測的最高抗體濃度 (nM) | 阻斷 8 nM 的 hPD-L1-mFc 與 hB7-1-hFc-6His 結合, IC <sub>50</sub> (M) | 阻斷 8 nM 的 hPD-L1-mFc 與 hB7-1-hFc-6His 結合, 最大阻斷% |
|------------|------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| H2aM8 306N | 50                           | <2.5E-10 (*)                                                | 99                                           | 150                               | <4.0E-09 (*)                                                   | 93                                              |

|               |    |              |     |     |              |      |
|---------------|----|--------------|-----|-----|--------------|------|
| H2aM8<br>307N | 50 | IC           | 29  | 150 | NBI/促進劑      | -44  |
| H2aM8<br>309N | 50 | <2.5E-10 (*) | 98  | 150 | <4.0E-09 (*) | 98   |
| H2aM8<br>310N | 50 | 3.9E-10      | 76  | 150 | <4.0E-09 (*) | 98   |
| H2aM8<br>312N | 50 | NBI          | 23  | 150 | <4.0E-09 (*) | 98   |
| H2aM8<br>314N | 50 | <2.5E-10 (*) | 93  | 150 | <4.0E-09 (*) | 97   |
| H2aM8<br>316N | 50 | <2.5E-10 (*) | 96  | 150 | <4.0E-09 (*) | 98   |
| H2aM8<br>317N | 50 | NBI          | -11 | 150 | NBI/促進劑      | -166 |
| H2aM8<br>321N | 50 | NBI          | 10  | 150 | NBI/促進劑      | -124 |
| H2aM8<br>323N | 50 | <2.5E-10 (*) | 100 | 150 | <4.0E-09 (*) | 99   |
| H2aM8<br>718N | 50 | <2.5E-10 (*) | 97  | 150 | 1.0E-08      | 57   |
| H2aM8<br>719N | 50 | 7.7E-10      | 95  | 150 | NBI/促進劑      | -50  |
| H1H932<br>3P  | 50 | <2.5E-10 (*) | 43  | 210 | NBI/促進劑      | -25  |
| H1H932<br>7P  | 50 | NBI/促進劑      | -28 | 210 | IC           | 41   |
| H1H932<br>9P  | 50 | <2.5E-10 (*) | 100 | 210 | 4.9E-09      | 100  |
| H1H933<br>6P  | 50 | <2.5E-10 (*) | 100 | 210 | 4.4E-09      | 99   |
| H1H934<br>4P2 | 50 | NBI          | 15  | 210 | NBI/促進劑      | -51  |
| H1H934<br>5P2 | 50 | <2.5E-10 (*) | 26  | 210 | NBI/促進劑      | -34  |

|                           |    |              |     |     |              |     |
|---------------------------|----|--------------|-----|-----|--------------|-----|
| H1H935<br>1P2             | 50 | <2.5E-10 (*) | 100 | 210 | 4.4E-09      | 100 |
| H1H935<br>4P2             | 50 | 5.3E-10      | 34  | 210 | NBI          | -13 |
| H1H936<br>4P2             | 50 | <2.5E-10 (*) | 100 | 210 | 4.1E-09      | 101 |
| H1H937<br>3P2             | 50 | <2.5E-10 (*) | 100 | 210 | 4.6E-09      | 101 |
| H1H938<br>2P2             | 50 | <2.5E-10 (*) | 39  | 210 | NBI/促進劑      | -30 |
| H1H938<br>7P2             | 50 | <2.5E-10 (*) | 100 | 210 | <4.0E-09 (*) | 100 |
| H1H939<br>6P2             | 50 | <2.5E-10 (*) | 59  | 210 | NBI          | 8   |
| 同型對<br>照組-人<br>類 IgG1     | 50 | NBI          | -11 | 210 | NBI          | -3  |
| 同型對<br>照組-小<br>鼠<br>IgG2a | 50 | NBI          | 5   | 210 | NBI          | -3  |

(\*)-低於分析的理論下限；就 hPD-1-hFc 塗層之分析理論下限為 2.5E-10 M，而 hB7-1-hFc-6His 塗層為 4.0E-09 M；NBI-非阻斷劑；IC-非決定性的

【0193】 如表 11 中所示，25 種本發明抗-PD-L1 抗體中有 19 種以範圍從低於 250pM 至 770pM 之 IC<sub>50</sub> 值阻斷 0.5nM 的 hPD-L1-mFc 與 hPD-1-hFc 結合，其中最大百分比阻斷範圍係從 26% 至 100%。受檢測的 25 種抗-PD-L1 抗體中有 4 種被定性為 hPD-L1-mFc 與 hPD-1-hFc 結合之非阻斷劑，而有 1 種受檢測抗體(H1H9327P)被定性為 hPD-L1-mFc 與 hPD-1-hFc 結合之非阻斷劑/促進劑。一抗體(H2aM8307N)以 29% 的最大百分比阻斷力顯示微弱阻斷 hPD-L1-mFc 與 hPD-1-hFc 結合；然而此樣本之 IC<sub>50</sub> 值無法測定。

【0194】 另外，25 種本發明抗-PD-L1 抗體中有 14 種以範圍從<4nM

至 10nM 之  $IC_{50}$  值阻斷 8 nM 的 hPD-L1-mFc 與 hB7-1-hFc-6His 結合，其中最大百分比阻斷範圍係從 57%至 101%。25 種受檢測的抗-PD-L1 抗體中有 2 種被定性為 hPD-L1-mFc 與 hB7-1-hFc-6His 結合之非阻斷劑，而 8 種受檢測抗體被定性為 hPD-L1-mFc 與 hB7-1-hFc-6His 結合之非阻斷劑/促進劑。一種抗體 (H1H9327P) 以 41% 的最大百分比阻斷力顯示微弱阻斷 hPD-L1-mFc 與 hB7-1-hFc-6His 結合物；然而就樣本之  $IC_{50}$  值無法測定。

#### 實例 5：如生物感測器分析和表面電漿共振所測阻斷 PD-L1 與 PD-1 結合

【0195】 使用即時生物薄膜干涉分析於 Octet Red96 生物感測儀器 (Fortebio Inc.) 上，或使用即時表面電漿共振生物感測器分析於 Biacore 3000 儀器上，進行不同的抗-PD-L1 單株抗體抑制人類 PD-L1 與人類 PD-1 結合之研究。

【0196】 以小鼠 Fc 表現之抗-PD-L1 單株抗體的抑制研究係於 Octet Red96 儀器上進行。首先，將 100nM 之 C-端小鼠 IgG2a Fc 標籤表現的重組人類 PD-L1 (hPD-L1-mFc；SEQ ID：348) 以 500nM 的各抗-PD-L1 單株抗體培養至少 1 小時，之後進行抑制分析。使用抗-人類 IgG Fc 捕捉生物感測器捕捉 0.8 nm 至 1.2 nm 以 C-端人類 IgG1 Fc 表現的重組人類 PD-1 (hPD-1-hFc；SEQ ID：350)。將以 hPD-1-hFc 捕捉的 Octet 生物感測器隨後浸入含有 hPD-L1-mFc 和不同抗-PD-L1 單株抗體混合物之孔槽中。整個實驗係於 25°C 在 Octet HBST 緩衝液 (0.01 M HEPES pH7.4, 0.15M NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% v/v 界面活性劑 P20, 0.1mg/mL BSA) 中以 1000 rpm 速度震盪測定盤來進行。在實驗的各步驟之間將生物感測器以 Octet HBST 緩衝液清洗。於實驗過程期間監測即時結合反應，及在每個步驟結束時記錄結合反應。比較在有或無不同抗-PD-L1 單株抗體下 hPD-L1-mFc 與捕捉的 hPD-1-hFc 之結合並用於測定受檢測的抗體(如表 12 所示)之阻斷行為。

**表 12：**於 Octet Red96 儀器上進行藉由以小鼠 Fc 表現之不同的抗-PD-L1 單株抗體抑制人類 PD-1 與人類 PD-L1 結合

| 抗-PD-L1 單株抗體 | 捕捉的<br>hPD-1-hFc<br>量(nm) | 100nM<br>hPD-L1-mFc 和<br>500nM 抗-PD-L1 單<br>株抗體之混合物的<br>結合(nm) | 阻斷% |
|--------------|---------------------------|----------------------------------------------------------------|-----|
| 無抗體          | 1.05                      | 0.31                                                           | 0   |
| H2aM8306N    | 0.98                      | 0.02                                                           | 94  |
| H2aM8307N    | 1.01                      | 0.46                                                           | -48 |
| H2aM8309N    | 0.89                      | 0.02                                                           | 94  |
| H2aM8310N    | 0.95                      | 0.13                                                           | 58  |
| H2aM8312N    | 1.06                      | 0.52                                                           | -68 |
| H2aM8314N    | 0.99                      | 0.02                                                           | 94  |
| H2aM8316N    | 1.06                      | 0.01                                                           | 97  |
| H2aM8317N    | 0.92                      | 0.58                                                           | -87 |
| H2aM8321N    | 1.04                      | 0.60                                                           | -94 |
| H2aM8323N    | 1.00                      | 0.02                                                           | 94  |
| H2aM8718N    | 1.08                      | 0.01                                                           | 97  |
| H2aM8719N    | 0.93                      | 0.11                                                           | 65  |
| 同型對照抗體       | 1.10                      | 0.35                                                           | -13 |

【0197】 如表 12 所示，12 種受檢測的抗-PD-L1 抗體中有 8 種在 Octet Red96 儀器上以範圍從 58%至 97%，展現阻斷 hPD-L1-mFc 與 hPD-1-hFc 結合。4 種受檢測的抗-PD-L1 抗體展現增進 hPD-L1-mFc 與 hPD-1-hFc 結合之能力。

【0198】 接著，以人類 Fc 表現之抗-PD-L1 單株抗體之抑制研究係在 Biacore 3000 儀器上進行。首先，將 100nM 之 C-端人類 IgG1 Fc 標籤表現的重組人類 PD-L1 (hPD-L1-hFc；SEQ ID：350)以 500nM 的各抗-PD-L1 單株抗體培養至少 1 小時，之後進行抑制分析。先以抗-小鼠 IgG2a 專一性多

株抗體(Southern Biotech, # 1080-01)使用標準 EDC-NHS 化學將 CM5 Biacore 感測器表面衍生化。然後捕捉大約 230 RU 之以 C-端小鼠 IgG2a Fc 標籤表現的人類 PD-1 (hPD-1-mFc ; SEQ ID : 348)及接著在有或無不同抗-PD-L1 單株抗體下以 25μL/min 的流速注射 100nM 的 hPD-L1-hFc 歷時 2 分鐘。整個實驗係於 25°C 在 HBST 電泳緩衝液(0.01 M HEPES pH7.4, 0.15M NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% v/v 界面活性劑 P20)中進行。於整個實驗過程期間監測即時結合反應，及在每個步驟結束時記錄結合反應。比較在有或無不同抗-PD-L1 單株抗體下 hPD-L1-hFc 與捕捉的 hPD-1-mFc 之結合並用於測定受檢測的抗體(如表 13 所示)之阻斷行為。

表 13：於 Biacore 3000 儀器上進行藉由以人類 Fc 表現之不同的抗-PD-L1 單株抗體抑制人類 PD-1 與人類 PD-L1 結合

| 抗-PD-L1 單株抗體 | 捕捉的 hPD-1-mFc 量(RU) | 100nM hPD-L1-hFc 和 500nM 抗-PD-L1 單株抗體之混合物的結合(nm) | 阻斷%  |
|--------------|---------------------|--------------------------------------------------|------|
| No mAb       | 222                 | 56                                               | 0    |
| H1H9323P     | 224                 | 262                                              | -368 |
| H1H9327P     | 226                 | 172                                              | -207 |
| H1H9329P     | 227                 | 2                                                | 97   |
| H1H9336P     | 227                 | 9                                                | 84   |
| H1H9345P2    | 229                 | 292                                              | -422 |
| H1H9351P2    | 227                 | 6                                                | 90   |
| H1H9354P2    | 229                 | 296                                              | -428 |
| H1H9364P2    | 228                 | 8                                                | 86   |
| H1H9373P2    | 227                 | 6                                                | 89   |
| H1H9382P2    | 228                 | 307                                              | -448 |
| H1H9387P2    | 228                 | 5                                                | 91   |
| H1H9396P2    | 228                 | 164                                              | -193 |

|        |     |    |   |
|--------|-----|----|---|
| 同型對照抗體 | 228 | 56 | 0 |
|--------|-----|----|---|

【0199】 如表 13 所示，12 種本發明之抗-PD-L1 抗體中有 6 種在 Biacore 3000 儀器上以從 84%至 97%範圍，展現阻斷 hPD-L1-hFc 與 hPD-1-mFc 結合。6 種受檢測的抗-PD-L1 抗體展現增進 hPD-L1-hFc 與 hPD-1-mFc 結合之能力。

**實例 6：抗-PD-L1 抗體之間 Octet 交叉競爭**

【0200】 抗-PD-L1 單株抗體間的結合競爭係使用即時、無標定的生物薄膜干涉分析於 Octet RED384 生物感測器(Pall ForteBio Corp.)上所測定。整個實驗係於 25°C 在 Octet HBST 緩衝液(0.01 M HEPES pH7.4, 0.15M NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% v/v 界面活性劑 P20, 0.1mg/mL BSA)中以 1000 rpm 速度震盪測定盤來進行。就評估 2 種抗體是否能彼此競爭與 C-端 myc-myc-六組胺酸標籤(hPD-L1-MMH；SEQ ID：345)表現的重組人類 PD-L1 上各別的表位結合，係藉由將尖端浸入含有 20µg/mL 的 hPD-L1-MMH 溶液之孔槽中 5 分鐘，將約~0.3nm 的 hPD-L1-MMH 先捕捉至塗覆抗-Penta-His 抗體的生物感測器尖端(Fortebio Inc, # 18-5079)。然後將抗原捕捉生物感測器尖端先以抗-PD-L1 單株抗體(後續稱為 mAb-1)藉由浸入含 50µg/mL 的 mAb-1 溶液之孔槽中 5 分鐘，使其飽和。然後隨後將生物感測器尖端浸入含 50µg/mL 的第二抗-PD-L1 單株抗體(後續稱為 mAb-2)溶液之孔槽中。在實驗的各步驟之間將生物感測器以 Octet HBST 緩衝液清洗生物感測器尖端。於實驗過程期間監測即時結合反應，及在每個步驟結束時記錄結合反應，如圖 1 所示。比較 mAb-2 以及與 mAb-1 預先複合的 hPD-L1-MMH 相結合的反應，並決定不同抗-PD-L1 單株抗體之競爭/非競爭行為。

【0201】 於本實例所使用的實驗條件下，(a) H2aM8309N、H1H9329P、H1H9336P、H2aM8314N、H2aM8316N、H2aM8718N、H1H9387P2、H1H9351P2、H1H9364P2、H1H9373P2 和 H2aM8306N 彼此相互競爭；(b) H2aM8310N、H2aM8321N 和 H2aM8312N 彼此交叉競爭；(c) H1H9396P2、H2aM8317N、H2aM8321N、H1H9323P、H1H9382P2、H1H9344P2、

H1H9345P2 和 H1H9354P2 彼此交叉競爭；及(d) H1H9327P 和 H2aM8307N 彼此交叉競爭。在一實例中，觀察到單一方向之競爭，但相反的方向則無：亦即當先施用 H2aM8307N 時，則與 H2aM8309N、H1H9329P、H1H9336P、H2aM8314N、H2aM8316N、H2aM8718N、H1H9387P2、H1H9351P2、H1H9364P2、H1H9373P2 和 H2aM8306N 競爭；然而，以相反的方向，當先施用 H2aM8309N、H1H9329P、H1H9336P、H2aM8314N、H2aM8316N、H2aM8718N、H1H9387P2、H1H9351P2、H1H9364P2、H1H9373P2 和 H2aM8306N 時，則不會與 H2aM8307N 競爭。

**實例 7：抗體與表現 PD-L1 之細胞結合**

【0202】 抗-PD-L1 抗體與以全長人類 PD-L1(登錄號 NP\_054862.1 之胺基酸 1 至 290)(HEK293/hPD-L1)穩定轉染之人類胚腎細胞株(HEK293；ATCC, #CRL-1573)的結合係以 FACS 來測定。

【0203】 就此分析，係使用無酵素解離緩衝液將黏附的細胞脫除並以完全培養基阻斷。將細胞離心並以  $2.8 \times 10^6$  細胞/mL 之濃度再懸浮於含 2% FBS 之冷的 PBS 中。然後將 HEK293 親代及 HEK293/hPD-L1 細胞於冰上以 100nM 的各抗-PD-L1 抗體或同型對照抗體培養 15 至 30 分鐘。藉由以含 2% FBS 之 D-PBS 清洗，移除未結合的抗體，並將細胞隨後以藻紅素接合的第二 Fc $\gamma$  片段專一辨識的人類 Fc (Jackson ImmunoResearch, # 109-116-170) 或小鼠 Fc (Jackson ImmunoResearch, #115-115-164)於冰上培養 15 至 30 分鐘。以含 2% FBS 之 D-PBS 清洗細胞，移除未結合的刪除試劑並使用 HyperCyte (IntelliCyt, Inc.)流式細胞儀得到螢光測量值。使用 HyperCyte 軟體分析數據。

**表 14：**抗-PD-L1 抗體與 HEK293/hPD-L1 細胞和親代 HEK293 細胞之 FACS 結合

| 抗體       | HEK293 親代細胞上之 FACS [MFI] | HEK293/hPD-L1 細胞上之 FACS [MFI] | HEK293/hPD-L1 與 HEK293 親代細胞之比率 |
|----------|--------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| H1H9323P | 1909                     | 154992                        | 81                             |

|                  |      |        |     |
|------------------|------|--------|-----|
| H1H9327P         | 2120 | 317592 | 150 |
| H1H9329P         | 1504 | 282088 | 188 |
| H1H9336P         | 2263 | 379009 | 168 |
| H1H9344P2        | 1691 | 200976 | 119 |
| H1H9345P2        | 1885 | 228406 | 121 |
| H1H9351P2        | 1685 | 289523 | 172 |
| H1H9354P2        | 2204 | 275839 | 125 |
| H1H9364P2        | 2066 | 323663 | 157 |
| H1H9373P2        | 2151 | 333236 | 155 |
| H1H9382P2        | 1473 | 205563 | 140 |
| H1H9387P2        | 1232 | 323793 | 263 |
| H1H9396P2        | 2340 | 227961 | 97  |
| H2aM8306N        | 1286 | 316485 | 246 |
| H2aM8307N        | 1382 | 73976  | 54  |
| H2aM8309N        | 1160 | 192678 | 166 |
| H2aM8310N        | 1357 | 14918  | 11  |
| H2aM8312N        | 1380 | 158331 | 115 |
| H2aM8314N        | 2053 | 194832 | 95  |
| H2aM8316N        | 1601 | 172104 | 108 |
| H2aM8317N        | 1270 | 67600  | 53  |
| H2aM8321N        | 1322 | 112495 | 85  |
| H2aM8323N        | 2250 | 163497 | 73  |
| H2aM8718N        | 2225 | 194341 | 87  |
| H2aM8719N        | 1272 | 133399 | 105 |
| 小鼠 IgG 同型<br>對照  | 1273 | 1115   | 0.9 |
| 人類 IgG1 同型<br>對照 | 1179 | 1099   | 0.9 |

|                  |      |      |     |
|------------------|------|------|-----|
| 人類 IgG4 同型<br>對照 | 1991 | 1839 | 0.9 |
|------------------|------|------|-----|

【0204】 如表 14 中所示，相較於親代 HEK293 株上的結合，全部 25 種之本發明抗-PD-L1 抗體顯示與 HEK293/ hPD-L1 細胞強力的結合。

**實例 8：於一 T-細胞/APC 螢光素酶報導子分析中阻斷 PD-L1-誘發的 T-細胞下調**

【0205】 T-細胞活化係藉由刺激辨識專一性胜肽之 T-細胞受體(TcR)來進行，而該胜肽係以抗原呈現細胞(APC)上的主要組織相容性複合物第 I 或 II 型蛋白表示。活化的 TcR 轉而啟動訊號傳遞事件集聯，其可藉由轉錄因子，例如活化子-蛋白 1 (AP-1)、活化的 T-細胞(NFAT)之核因子或活化的 B 細胞之核因子  $\kappa$  輕鏈強化子(NF $\kappa$ b)所驅動的報導子基因來監測。T-細胞反應係經由組成性或誘導性表現在 T-細胞上的協同受體結合來調節。此一受體為程序性細胞死亡蛋白 1(PD-1)，一種 T-細胞活性之負調節子。PD-1 與其配體 PD-L1 相互作用，該配體係表現在目標細胞，包括 APC 或癌細胞上，且此相互作用使得招募的磷酸酶將抑制訊號傳遞至 TcR 訊號轉導體，造成了正訊號傳遞之抑制。

【0206】 開發一生物分析，利用一衍生自下列二種哺乳動物細胞株之混和培養：Jurkat 細胞(一種無限增殖化 T 細胞株)和 Raji 細胞(一種 B 細胞株)，測量由 APC 和 T 細胞間的相互作用所引發的 T 細胞訊號傳遞(圖 1)。就此生物分析的第一組份，係將 Jurkat 選殖株 E6-1 細胞(ATCC, #TIB-152)依製造商說明以 Cignal Lenti AP-1 Luc 受體(Qiagen – Sabiosciences, #CLS-011L)轉導。此慢病毒在最小的 CMV 啟動子控制下編碼螢火蟲螢光素酶基因，TPA-可誘發的轉錄反應元素(TRE)之短縱列重複序列和嘌呤黴素抗性基因。隨後將工程化 Jurkat 細胞株以一包括人類 PD-1 胞外區(從 1 至 170 之人類 PD1 的胺基酸；登錄號 NP\_005009.2)及人類 CD300a 之跨膜和胞漿區(從 181 至 299 之人類 CD300a 的胺基酸；登錄號 NP\_009192.2)的 PD-1 嵌合體轉導。選擇所產生的穩定細胞株 (Jurkat/AP1-Luc/ hPD1-hCD300a)並

保存在添補 500ug/mL G418+1ug/mL 嘌呤黴素之 RPMI/10% FBS/青黴素/鏈黴素/麩醯胺酸中。

【0207】 就此分析的第二組份，係將 Raji 細胞(ATCC, #CCL-86)以已選殖至慢病毒(pLEX)載體系統(Thermo Scientific Biosystems, #OHS4735)中的人類 PD-L1 基因(登錄號 NP\_054862.1 之胺基酸 1-290)轉導。以 FACS 使用 PD-L1 抗體分離出對 PD-L1 為陽性(Raji/ hPD-L1)之 Raji 細胞，並保存在添補 1ug/mL 嘌呤黴素之 Iscove/10% FBS/青黴素/鏈黴素/麩醯胺酸中。

【0208】 就刺激 APC/T 細胞相互作用，係利用由一與 T 細胞上的 CD3 結合之 Fab 臂和另一與 Raji 細胞上的 CD20 結合之 Fab 臂所組成的雙專一性抗體(CD3xCD20 雙專一性抗體；例如，揭示於 US20140088295 中)。在此分析中雙專一性分子的存在使得 T 細胞和 APC 藉由將 T-細胞上的 CD3 亞單元與內生性表現在 Raji 細胞上的 CD2 相連接而活化。CD3 與抗-CD3 抗體之綁紮已驗證導致 T 細胞活化。在此分析中，阻斷 PD1/PD-L1 相互作用之抗體藉由無法抑制訊號傳遞及隨後導致 AP1-Luc 活性增加而拯救 T-細胞活性。

【0209】 在以螢光素酶為基礎的生物分析中，係使用添補 10% FBS 和青黴素/鏈黴素/麩醯胺酸之 RPMI1640 作為分析培養基來製備細胞懸浮液及進行抗-PD-L1 單株抗體(mAb)篩選之抗體稀釋液。在篩選當天，在固定濃度的 CD3xCD20 雙專一性抗體(30 pM)之存在下，測定抗-PD-L1 mAb 之 EC<sub>50</sub> 值，以及單獨的雙專一性抗體之 EC<sub>50</sub>。以下列順序，將細胞和試劑加到 96 孔白色平底盤中。就抗-PD-L1 mAb EC<sub>50</sub> 測量，係先製備一固定濃度的 CD3xCD20 雙專一性抗體(最終 30 pM)並加到微量滴定盤的孔槽中。然後加入抗-PD-L1 mAb 之 12 點連續稀釋液及對照組(最終濃度範圍係從 1.7 pM 至 100 nM;加上只含分析培養液的孔槽)。就雙專一性抗體(單獨)EC<sub>50</sub> 測量，係將雙專一性抗體，以範圍從 0.17 pM 至 10 nM 的最終濃度(加上只含分析培養液的孔槽)，加到微量滴定盤的孔槽中。隨後製備 2.5x10<sup>6</sup>/mL Raji/hPD-L1 細胞懸浮液並於每槽中加入 20 uL(最終細胞數/孔 5x10<sup>4</sup> 個細胞)。將滴定盤置於室溫(15-20 分鐘)，同時製備 2.5x10<sup>6</sup>/mL 的 Jurkat/AP1-Luc/hPD1(ecto)-hCD300a(TM-Cyto)之懸浮液。每孔加入 20 uL 的

Jurka 懸浮液(最終細胞數/孔  $5 \times 10^4$  個細胞)。將含有共培養之滴定盤以 37°C 於 5% CO<sub>2</sub> 培養 5 至 6 小時。然後在加入 ONE-Glo™ (Promega, # E6051) 試劑後偵測螢光素酶活性並於 Victor 亮度計上測量相對的光單位(RLU)。所有的樣本係以雙重複進行試驗。

【0210】 各篩選抗體的 RLU 值藉由以固定(30 pM)濃度的 CD3/CD20 雙專一性抗體，但無抗-PD-L1 抗體設定分析條件，正常化至 100%。此條件相當於由雙專一性分子在 PD-1/PD-L1 抑制訊號的存在下，所引起的最大 AP1-Luc 反應。因加入抗-PD-L1 抗體，抑制訊號受到抑制，且此增加的刺激在本處係顯示為  $E_{max}$ ，在最高受檢測的抗體劑量(100 nM)之存在下訊號增加的百分比。就比較受檢測的抗-PD-L1 抗體之效力，從四參數邏輯方程式於 12-點反應曲線中使用 GraphPad Prism 測定在正常化 RLU 值達到 125%活化時之抗體濃度。結果係匯整於表 15 中。

表 15：抗-PD-L1 抗體阻斷 PD-1/PD-L1 依賴的 AP1-Luc 訊號傳遞之抑制

| 抗體        | 拮抗分析<br>抗體在 125%活<br>化時之濃度[M] | 拮抗分析<br>$E_{max}$ 平均[%]<br>@ 100nM |
|-----------|-------------------------------|------------------------------------|
| H2aM8306N | 3.78E-09                      | 166.8                              |
| H2aM8307N | N/A                           | 87.7                               |
| H2aM8309N | 3.09E-10                      | 180.9                              |
| H2aM8310N | N/A                           | 112.8                              |
| H2aM8312N | N/A                           | 75.6                               |
| H2aM8314N | 1.44E-11                      | 234.9                              |
| H2aM8316N | 1.47E-10                      | 177.4                              |
| H2aM8317N | N/A                           | 109.2                              |
| H2aM8321N | N/A                           | 116.8                              |
| H2aM8323N | 2.20E-10                      | 173.3                              |
| H2aM8718N | 1.51E-10                      | 182.0                              |
| H1H9323P  | N/A                           | 101.1                              |

|             |          |       |
|-------------|----------|-------|
| H1H9327P    | N/A      | 77.1  |
| H1H9329P    | N/A      | 124.5 |
| H1H9336P    | 9.81E-11 | 162.6 |
| H1H9344P2   | N/A      | 98.3  |
| H1H9345P2   | N/A      | 89.2  |
| H1H9351P2   | 3.44E-10 | 154.4 |
| H1H9354P2   | N/A      | 89.9  |
| H1H9364P2   | 7.93E-11 | 164.5 |
| H1H9373P2   | 1.34E-10 | 150.2 |
| H1H9382P2   | N/A      | 86.5  |
| H1H9387P2   | 1.86E-11 | 141.2 |
| H1H9396P2   | N/A      | 102.6 |
| H1H8314N    | 6.57E-11 | 147.9 |
| H1H9364P2   | 1.62E-10 | 158.1 |
| H1H9373P2   | 7.07E-11 | 152.5 |
| mIgG2a 同型對照 | N/A      | 80.2  |
| hIgG1 同型對照  | N/A      | 96.8  |
| hIgG4 同型對照  | N/A      | 87.6  |

N/A=不適用，因為在受檢測濃度時這些抗體未活化 125%

【0211】 如表 15 中所示，27 種受檢測的本發明抗-PD-L1 抗體中有 14 種以範圍從 234.9 至 138.1 之  $E_{max}$  值阻斷 PD-1/PD-L1 抑制。27 種本發明抗-PD-L1 抗體中有 13 種當以此分析檢測時並未展現實質的阻斷力。同型對照組並未干擾 PD1/PD-L1 相互作用。

#### 實例 9：抗-PD-L1 抗體之活體內效力

【0212】 就測定選擇數之本發明抗-PD-L1 抗體在相關活體模型中之效用，係於小鼠中進行一涉及皮下注射腫瘤細胞並於不同日開始之

MC38.Ova 腫瘤生長研究，其對於人類 PD-L1 之胞外區替代小鼠 PD-L1 之胞外區(PD-L1 HumIn 小鼠)之表現在 75%C57/Bl6/25%129 品系背景上為同型結合的。將 MC38.Ova(小鼠結腸腺癌)細胞工程化用以表現雞卵白蛋白，以便於增加腫瘤的致免疫性，並得以監測對定義明確的抗原卵白蛋白胜肽之 T-細胞免疫反應。

【0213】 就第一項研究(研究#1)，根據體重將小鼠平均分成 5 個治療組或對照(每組 n=5 至 8 隻小鼠)。在第 0 天，將小鼠以吸入異氟烷麻醉，及然後將  $1 \times 10^6$  MC38.ova 細胞之 100  $\mu$ L 的 DMEM 懸浮液以皮下注射至右側腹。治療組係於實驗的第 3、7、10、14 和 17 天以腹腔內注射 500  $\mu$ g 的三種本發明抗-PD-L1 抗體之其中一種，或二種無關專一性的同型對照抗體之其中一種，同時一組小鼠係未加以治療。

【0214】 在第二項研究(研究#2)中，將 PD-L1 人源化小鼠隨機分成 7 組治療組(n=5 至 6 隻小鼠)。在第 0 天，將小鼠以皮下植入  $1 \times 10^6$  MC38.Ova 細胞。將 REGN a-PD-L1 ab (H1H8314N 或 H1H9364P2 或 H1H9373P2)，或同型對照組 abs hIgG4 mut 或 hIgG1 以 10 mg/kg 或 5 mg/kg 劑量投予小鼠。各組小鼠係在第 3、7、10、14 和 17 天投予抗體。在實驗期間(21 天)以每週二次測徑器測量來監測腫瘤體積。就各組小鼠之實驗給劑和治療方法係如表 16 中所示。

表 16：各組小鼠之實驗給劑及治療方法

| 研究# | 檢測樣本      | 各給劑時間點之劑量   | 給劑間隔             |
|-----|-----------|-------------|------------------|
| 1   | 同型對照組 1   | 500 $\mu$ g | 第 3、7、10、14、17 天 |
|     | H1H8314N  | 500 $\mu$ g | 第 3、7、10、14、17 天 |
|     | H1H9364P2 | 500 $\mu$ g | 第 3、7、10、14、17 天 |
|     | H1H9373P2 | 500 $\mu$ g | 第 3、7、10、14、17 天 |
|     | 同型對照組 2   | 500 $\mu$ g | 第 3、7、10、14、17 天 |
| 2   | 同型對照組 1   | 10 mg/kg    | 第 3、7、10、14、17 天 |
|     | H1H8314N  | 10 mg/kg    | 第 3、7、10、14、17 天 |
|     | H1H8314N  | 5 mg/kg     | 第 3、7、10、14、17 天 |

|  |           |          |                  |
|--|-----------|----------|------------------|
|  | H1H9364P2 | 10 mg/kg | 第 3、7、10、14、17 天 |
|  | H1H9364P2 | 5 mg/kg  | 第 3、7、10、14、17 天 |
|  | H1H9373P2 | 10 mg/kg | 第 3、7、10、14、17 天 |
|  | H1H9373P2 | 5 mg/kg  | 第 3、7、10、14、17 天 |

【0215】 就此等研究，在實驗期間(17 天)以每週二次之測徑器測量的平均腫瘤體積而存活百分率係於實驗結束時記錄。此外，亦在研究結束時評估無腫瘤小鼠之數目。結果，以平均腫瘤體積(mm<sup>3</sup>)(±SD)、存活百分率和無腫瘤小鼠之數目來表示，係如表 17 和 18 中所示。

表 17：來自研究#1 之各治療組的平均腫瘤體積、存活百分率和無腫瘤小鼠之數目

| 抗體        | 腫瘤體積, mm <sup>3</sup><br>平均(±SD) |           | 存活%    |        | 無腫瘤<br>小鼠 |
|-----------|----------------------------------|-----------|--------|--------|-----------|
|           | 第 10 天                           | 第 17 天    | 第 10 天 | 第 17 天 | 第 17 天    |
| 同型對照組 1   | 65(±27)                          | 148(±109) | 100%   | 100%   | 0/5(0%)   |
| 同型對照組 2   | 54(±44)                          | 80(±63)   | 100%   | 100%   | 0/5(0%)   |
| H1H8314N  | 6(±10)                           | 2(±5)     | 100%   | 100%   | 4/5(80%)  |
| H1H9364P2 | 16(±17)                          | 0(±0)     | 100%   | 100%   | 5/5(100%) |
| H1H9373P2 | 13(±14)                          | 0(±0)     | 100%   | 100%   | 5/5(100%) |

【0216】 如研究#1 之表 17 中所示，全部 3 種本發明抗-PD-L1 抗體於 500ug/小鼠之劑量時在增進腫瘤消退上為有效的，其中接受二種抗體 H1H9364P2 和 H1H9373P2 之所有治療組小鼠，在第 17 天時為無腫瘤的。在此治療組中，本發明抗-PD-L1 抗體之一 H1H8314N，在 5 隻小鼠中有 4 隻在第 17 天之前為無腫瘤，而在同型對照組中 5 隻動物中有 0 隻為無腫瘤。鄧奈特氏(Dunnett's)多重比較事後檢測之單因子 ANOVA 顯示，以本發明抗-PD-L1 抗體和同型對照組抗體治療之間在腫瘤體積上具 p 值<0.05 之顯著差異性。

表 18：來自研究#2 之各治療組的平均腫瘤體積、存活百分率和無腫瘤小鼠之數目

| 抗體          | 腫瘤體積, mm3<br>平均(SD) |              |              |              | 存活%       |           |           |           | 無腫<br>瘤小<br>鼠 | 無腫<br>瘤小<br>鼠 |
|-------------|---------------------|--------------|--------------|--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------------|---------------|
|             | 第<br>10<br>天        | 第<br>10<br>天 | 第 21<br>天    | 第 21<br>天    | 第 10<br>天 | 第 10<br>天 | 第 21<br>天 | 第 21<br>天 | 第 21<br>天     | 第 21<br>天     |
|             | 10<br>MPK           | 5<br>MPK     | 10<br>MPK    | 5<br>MPK     | 10<br>MPK | 5<br>MPK  | 10<br>MPK | 5<br>MPK  | 10<br>MPK     | 5<br>MPK      |
| 同型對照<br>組 1 | 55<br>(37)          | N/A          | 534<br>(356) | N/A          | 100<br>%  | N/A       | 100<br>%  | N/A       | 0/6<br>(0%)   | N/A           |
| H1H8314N    | 14<br>(15)          | 17<br>(4)    | 19<br>922)   | 108<br>(101) | 100<br>%  | 100<br>%  | 100<br>%  | 100<br>%  | 3/6<br>(50%)  | 2/5<br>(40%)  |
| H1H9364P2   | 18<br>(10)          | 23<br>(10)   | 34<br>(81)   | 231<br>(238) | 100<br>%  | 100<br>%  | 100<br>%  | 100<br>%  | 5/6<br>(83%)  | 1/5<br>(20%)  |
| H1H9373P2   | 10<br>(8)           | 25<br>929)   | 7<br>(16)    | 37<br>(59)   | 100<br>%  | 100<br>%  | 100<br>%  | 100<br>%  | 5/6<br>(83%)  | 3/5<br>(60%)  |

【0217】 如研究#2 中表 18 所示，給予所選的抗-PD-L1 抗體造成抑制腫瘤生長促進腫瘤消退。全部 3 種抗-PD-L1 抗體於 10 mg/kg 劑量和 5 mg/kg 劑量時為有效的且在整個實驗過程於經治療的小鼠中以劑量依賴的方式促進腫瘤消退，而在同型對照組中 5 隻動物中有 0 隻為無腫瘤。杜凱氏(Tukey's)多重比較事後檢測之單因子 ANOVA 顯示，以本發明抗-PD-L1 抗體和同型對照組抗體治療之間在腫瘤體積上具有 p 值<0.05 之顯著差異性。

實例 10：抗-PD-L1 抗體與 VEGF 拮抗劑之組合於小鼠早期治療腫瘤模型中的抗腫瘤效應

【0218】 開發一早期治療模型用以檢測抗-PD-L1 抗體和 VEGF 拮抗劑組合之效力。在此模型中，組合治療係在腫瘤植入後不久即投予。此實驗亦使用單獨的抗-PD-1 抗體及與 VEGF 拮抗劑之組合。用於此實驗的抗-PD-L1 抗體為根據 US20100203056A1 具有抗體“YW243.55S70”之 V<sub>H</sub>/V<sub>L</sub> 序列，具有小鼠 IgG2a 且其係與小鼠 PD-L1 交叉反應的抗-PD-L1 單株抗體 (Genentech, Inc.)。用於此實驗的 VEGF 拮抗劑為阿柏西普(一種 VEGF 受體為基礎的嵌合分子，亦稱為"VEGF-trap"或"VEGFR1R2-FcΔC1(a)"，其完整的描述係提供於文中的他處)。用於此實驗的抗-PD-1 抗體為具有大鼠 IgG2b 之抗-小鼠 PD-1 選殖株"RPMI-14"(Bio X Cell, West Lebanon, NH)。

【0219】 就此實驗模型，於第 0 天將 1.0x10<sup>6</sup> 個 Colon-26 腫瘤細胞以皮下植入 BALB/c 小鼠中。在第 3 天開始，在可測量的腫瘤建立之前，以其中一種單一或組合治療或對照組合來治療小鼠，係如表 19 中所示。

表 19：實驗給劑和治療組

| 治療組                   | 第一試劑                            | 第二試劑               |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------|
| 對照組合                  | IgG2a 同型對照(250 µg, IP)          | hFc 對照(250 µg, SC) |
| 僅 VEGF                | IgG2a 同型對照(250 µg, IP)          | 阿柏西普(10 mg/kg, SC) |
| 僅抗-PD-1               | 抗-PD-1 mAb RPMI-14 (250 µg, IP) | hFc 對照(250 µg, SC) |
| 僅抗-PD-L               | 抗-PD-L1 mAb (250 µg, IP)        | hFc 對照(250 µg, SC) |
| VEGF Trap+<br>抗-PD-1  | 抗-PD-1 mAb RPMI-14 (250 µg, IP) | 阿柏西普(10 mg/kg, SC) |
| VEGF Trap+<br>抗-PD-L1 | 抗-PD-L1 mAb (250 µg, IP)        | 阿柏西普(10 mg/kg, SC) |

【0220】 各治療在二週的期間內於五個不同的時間點給藥(亦即於第 3 天、第 6 天、第 10 天、第 13 天及第 19 天注射)。

【0221】 各治療組的動物係經由腫瘤發病率、腫瘤體積、平均存活時間和在第 50 天時無腫瘤動物之數目來評估。腫瘤生長的程度係彙整於圖 2(腫瘤生長曲線)和圖 3(第 28 天的腫瘤體積)。結果亦彙整於表 20 中。

表 20：治療時無腫瘤小鼠

| 治療組               | 第 50 天無腫瘤動物之數目 |
|-------------------|----------------|
| 對照組合              | 0/10           |
| 僅 VEGF Trap       | 3/10           |
| 僅抗-PD-1           | 4/10           |
| 僅抗-PD-L1          | 5/10           |
| VEGF Trap+抗-PD-1  | 7/10           |
| VEGF Trap+抗-PD-L1 | 9/10           |

【0222】 相較於涉及任一單獨的治療劑之治療療法，在以 VEGF Trap +抗-PD-L1 抗體組合治療隻動物中，腫瘤生長實質上降低(參見圖 2 和 3)。再者，在 VEGF Trap +抗-PD-L1 抗體組中，存活力實質上增加，其中 90% 的動物存活到腫瘤植入後的至少第 50 天。相反的，抗-PD-L1 和 VEGF Trap 單一治療組，分別僅有 50%和 30%存活至第 50 天(參見圖 3 和表 20)。

【0223】 本發明不限於文中所述的特定實施例之範圍。實際上，除了該等文中所述之外，由前述說明及伴隨的圖示，本發明之各種修改對於熟習本項技術者將變得顯而易見。此等修改希望落在所附的申請專利之範圍中。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

無

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

無

【序列表】(請換頁單獨記載)

I680138

## 發明摘要

※ 申請案號：104101892

※ 申請日：104年1月21日

※IPC 分類：C07K 16/28 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)

## 【發明名稱】(中文/英文)

抗PD-L1之人類抗體

HUMAN ANTIBODIES TO PD-L1

## 【中文】

本發明係提供與T-細胞共抑制劑配體程序性死亡配體1(PD-L1)蛋白結合之抗體，及使用方法。在本發明的各種實施例中，此等抗體為與PD-L1結合之全人類抗體。在特定的實施例中，本發明係提供多-專一性抗原結合分子，其係包括一與PD-L1結合之第一結合專一性，以及一與腫瘤細胞抗原、感染細胞特異性抗原或T-細胞共抑制劑結合之第二結合專一性。在某些實施例中，本發明之抗體可用於抑制或中和PD-L1活性，因此提供一治療疾病或病症，例如癌症或病毒感染之方法。

## 【英文】

The present invention provides antibodies that bind to the T-cell co-inhibitor ligand programmed death-ligand 1 (PD-L1) protein, and methods of use. In various embodiments of the invention, the antibodies are fully human antibodies that bind to PD-L1. In certain embodiments, the present invention provides multi-specific antigen-binding molecules comprising a first binding specificity that binds to PD-L1 and a second binding specificity that binds to a tumor cell antigen, an infected cell-specific antigen, or a T-cell co-inhibitor. In some embodiments, the antibodies of the invention are useful for inhibiting or neutralizing PD-L1 activity, thus providing a means of treating a disease or disorder such as cancer or viral infection.

**【代表圖】**

**【本案指定代表圖】：** 無

**【本代表圖之符號簡單說明】：**

無

**【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：** 無

## 104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

## 序列表

<110> 再生元醫藥公司  
REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

<120> 抗PD-L1之人類抗體

<160> 353

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 1

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccitttagt aggttttggg tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaaccaag atggaactga gaaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccggggac acggctgtgt attactgtgc gaatacgtat 300
tacgattttt ggagtgggtca ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca
363

```

<210> 2

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 2

```

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

```

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 3    |
| <211> | 24   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 3  
ggattcacct ttagtaggtt ttgg 24

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 4    |
| <211> | 8    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 4  
Gly Phe Thr Phe Ser Arg Phe Trp  
1 5

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 5    |
| <211> | 24   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 5  
ataaaccaag atggaactga gaaa 24

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 6    |
| <211> | 8    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 6  
Ile Asn Gln Asp Gly Thr Glu Lys  
1 5

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 7    |
| <211> | 42   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

 $\langle 220 \rangle$

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<223> 合成的

<400> 7

gcgaatacgt attacgattt ttggagtggg cactttgact ac42

<210> 8

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 8

Ala Asn Thr Tyr Tyr Asp Phe Trp Ser Gly His Phe Asp Tyr

1510

<210> 9

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 9

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggccagtc gagtattagt aattggttgg cctggatatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gatgattttg caacttatta ctgccaacag tatcatagtt attcgtacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa a321

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 10

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

151015

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Trp

202530

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

354045

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

505560

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

65707580

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His Ser Tyr Ser Tyr

859095

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100105

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 11

cagagtatta gtaattgg18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 12

Gln Ser Ile Ser Asn Trp

15

<210> 13

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 13

aaggcgtct9

<210> 14

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 14

Lys Ala Ser

1

<210> 15

<211> 27

<212> DNA

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 15

caacagtatc atagttattc gtacact27

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 16

Gln Gln Tyr His Ser Tyr Ser Tyr Thr

15

<210> 17

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 17

caggagcacc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgaag cgtctggatt caccctcagt aactttggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagct ttatggtctg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggtcg agtcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtct attactgtgc gagagggaga 300

ggagcccccg gtattccgat ttttgggtac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca363

<210> 18

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 18

Gln Glu His Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

151015

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe

202530

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

354045

Ala Ala Leu Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

505560

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Lys | Gly | Arg | Val | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asn | Ser | Lys | Asn | Thr | Leu | Tyr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Leu | Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Arg | Ala | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |
| Ala | Arg | Gly | Arg | Gly | Ala | Pro | Gly | Ile | Pro | Ile | Phe | Gly | Tyr | Trp | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 19  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 19

ggattcacct tcagtaactt tggc

24

<210> 20  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 20

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe Gly

15

<210> 21  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 21

ttatggtctg atggaagtaa taaa

24

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

<220>  
<223> 合成的

<400> 22

Leu Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

|                                                                   |   |       |
|-------------------------------------------------------------------|---|-------|
| 1                                                                 | 5 |       |
| <210> 23                                                          |   |       |
| <211> 42                                                          |   |       |
| <212> DNA                                                         |   |       |
| <213> 人工序列                                                        |   |       |
| <220>                                                             |   |       |
| <223> 合成的                                                         |   |       |
| <400> 23                                                          |   |       |
| gcgagaggga gaggagcccc cggtattccg atttttgggt ac                    |   | 42    |
| <210> 24                                                          |   |       |
| <211> 14                                                          |   |       |
| <212> PRT                                                         |   |       |
| <213> 人工序列                                                        |   |       |
| <220>                                                             |   |       |
| <223> 合成的                                                         |   |       |
| <400> 24                                                          |   |       |
| Ala Arg Gly Arg Gly Ala Pro Gly Ile Pro Ile Phe Gly Tyr           |   |       |
| 1                                                                 | 5 | 10    |
| <210> 25                                                          |   |       |
| <211> 321                                                         |   |       |
| <212> DNA                                                         |   |       |
| <213> 人工序列                                                        |   |       |
| <220>                                                             |   |       |
| <223> 合成的                                                         |   |       |
| <400> 25                                                          |   |       |
| gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc  |   | 60    |
| atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatitag gctggtatca gcagaaacca |   | 120   |
| gggaaagccc ctaagcgctt gatctatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca |   | 180   |
| agattcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctacagcct |   | 240   |
| gaagattttg caacttatta ctgtctacaa cataatagtt accctctcac attcggcgga |   | 300   |
| gggaccaagg tggcgatcaa a                                           |   | 321   |
| <210> 26                                                          |   |       |
| <211> 107                                                         |   |       |
| <212> PRT                                                         |   |       |
| <213> 人工序列                                                        |   |       |
| <220>                                                             |   |       |
| <223> 合成的                                                         |   |       |
| <400> 26                                                          |   |       |
| Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly   |   |       |
| 1                                                                 | 5 | 10 15 |
| Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp   |   |       |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |  |
| Leu | Gly | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Arg | Leu | Ile |  |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |
| Tyr | Thr | Ala | Ser | Ser | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |  |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Glu | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |  |
|     | 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Leu | Gln | His | Asn | Ser | Tyr | Pro | Leu |  |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |
| Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Ala | Ile | Lys |     |     |     |     |     |  |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |  |

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 27   |
| <211> | 18   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 27  
cagggcatta gaaatgat 18

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 28   |
| <211> | 6    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 28  
Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
1 5

<210> 29  
<211> 9  
<212> DNA  
<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 29  
actgcatcc 9

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 30   |
| <211> | 3    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<400> 30  
Thr Ala Ser  
1

<210> 31  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 31  
ctacaacata atagttaccc tctcaca 27

<210> 32  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 32  
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr  
1 5

<210> 33  
<211> 390  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 33  
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaaagc ctgggggggtc ccttagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggct 120  
ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt attaaaagga aaactgatgg tgggacaaca 180  
gactacgctg caccctgaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaatagc 240  
ctgcatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaca 300  
gatgatattg tagttgtacc agctgttatg agggaatact acttcggtat ggacgtctgg 360  
ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 390

<210> 34  
<211> 130  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<400> 34  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala  
20 25 30  
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Gly Arg Ile Lys Arg Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala  
50 55 60  
Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr  
65 70 75 80  
Leu His Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
85 90 95  
Tyr Cys Thr Thr Asp Asp Ile Val Val Val Pro Ala Val Met Arg Glu  
100 105 110  
Tyr Tyr Phe Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val  
115 120 125  
Ser Ser  
130

<210> 35  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 35  
ggattcactt tcagtaacgc ctgg 24

<210> 36  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 36  
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala Trp  
1 5

<210> 37  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 37  
attaaaagga aaactgatgg tgggacaaca 30

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<210> 38  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 38  
Ile Lys Arg Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr  
1 5 10

<210> 39  
<211> 63  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 39  
accacagatg atattgtagt tgtaccagct gttatgaggg aatactactt cggatatggac 60  
gtc 63

<210> 40  
<211> 21  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 40  
Thr Thr Asp Asp Ile Val Val Val Pro Ala Val Met Arg Glu Tyr Tyr  
1 5 10 15  
Phe Gly Met Asp Val  
20

<210> 41  
<211> 321  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 41  
gacatccaga tgacccagtc tccatccctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgcc ggacaagtca gggcattaga aatgatffag gctggtatca gcagaaacca 120  
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
aggttcagcg gcagiggatc tgggacagaa ttactcttca caatcagcag cctgcagcct 240  
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataataatt acccgtacac ttttggccag 300

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

gggaccaagc tggagatcaa a

321

<210> 42  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 42  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
20 25 30  
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Asn Tyr Pro Tyr  
85 90 95  
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 43  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 43

cagggcatta gaaatgat

18

<210> 44  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 44  
Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
1 5

<210> 45  
<211> 9  
<212> DNA  
<213> 人工序列

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<220>

<223> 合成的

<400> 45

gctgcatcc

9

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 46

Ala Ala Ser

1

<210> 47

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 47

ctacagcata ataattaccc gtacact

27

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 48

Leu Gln His Asn Asn Tyr Pro Tyr Thr

1

5

<210> 49

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 49

caggtgcaat tgggtgcagtc tggggcggag gtgaagaagc ctggggcctc agtgcaggtc 60  
tcctgcaagg ctcttgata ctccctcacc ggctactata tacactgggt gcgacaggcc 120

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

cctggacaag gacttgagtg gatgggatgg atcaacccta acagtggcac caaaaagtat 180  
gcacacaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcga cacagcctac 240  
atgattttga gcagtctgat atccgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatgag 300  
gactggaact ttgggagctg gttcgactcc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360  
tca 363

<210> 50  
<211> 121  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 50  
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Ser Val Gln Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr  
20 25 30  
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Thr Lys Lys Tyr Ala His Lys Phe  
50 55 60  
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asp Thr Ala Tyr  
65 70 75 80  
Met Ile Leu Ser Ser Leu Ile Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg Asp Glu Asp Trp Asn Phe Gly Ser Trp Phe Asp Ser Trp Gly  
100 105 110  
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 51  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 51  
ggatactcct tcaccggcta ctat 24

<210> 52  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 52  
Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Tyr  
1 5

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<210> 53  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 53  
atcaacccta acagtggcac caaa24  
  
<210> 54  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 54  
Ile Asn Pro Asn Ser Gly Thr Lys  
15  
  
<210> 55  
<211> 42  
<212> DNA  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 55  
gcgagagatg aggactggaa ctttgggagc tggttcgact cc42  
  
<210> 56  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 56  
Ala Arg Asp Glu Asp Trp Asn Phe Gly Ser Trp Phe Asp Ser  
1510  
  
<210> 57  
<211> 336  
<212> DNA  
<213> 人工序列

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 57  
gatattgtga tgacccagac tccactctcc tcacctgtca cccittggaca gccggcctcc 60  
atctcctgca ggtctagtca aaccctcgta cacggtgatg gaaacacgta cttgagttgg 120  
attcagcaga ggccaggcca gcctccgaga ctcttcattt ataaggtttc taatcagttc 180  
tctgggggtcc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac actgaaaatc 240  
agcagggtgg aagctgagga tgtcgggctt tatttctgca tgcaagctac acattttccg 300  
atcaccttcg gccaaaggac acgactggag attaaa 336

<210> 58  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 58  
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 Thr Leu Val His Gly  
20 25 30  
Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Ile Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro  
35 40 45  
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Gln Phe 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 Leu Tyr Phe Cys Met Gln Ala  
85 90 95  
Thr His Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 59  
<211> 33  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 59  
caaaccctcg tacacggtga tggaacacg tac 33

<210> 60  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| 104030_201906_ANX5_SeqListing                                     |    |
| <400> 60<br>Gln Thr Leu Val His Gly Asp Gly Asn Thr Tyr<br>1 5 10 |    |
| <210> 61<br><211> 9<br><212> DNA<br><213> 人工序列                    |    |
| <220><br><223> 合成的                                                |    |
| <400> 61<br>aaggttttct                                            | 9  |
| <210> 62<br><211> 3<br><212> PRT<br><213> 人工序列                    |    |
| <220><br><223> 合成的                                                |    |
| <400> 62<br>Lys Val Ser<br>1                                      |    |
| <210> 63<br><211> 27<br><212> DNA<br><213> 人工序列                   |    |
| <220><br><223> 合成的                                                |    |
| <400> 63<br>atgcaagcta cacattttcc gatcacc                         | 27 |
| <210> 64<br><211> 9<br><212> PRT<br><213> 人工序列                    |    |
| <220><br><223> 合成的                                                |    |
| <400> 64<br>Met Gln Ala Thr His Phe Pro Ile Thr<br>1 5            |    |
| <210> 65<br><211> 363                                             |    |

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 65  
caggtacacc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
tcctgcaagg ctcttgata cacccttcacc ggctactata tacattgggt gcgacaggcc 120  
cctggacacg ggcttgagtg gatgggatgg ctcaacccta atactgggtac cacaaagtat 180  
atacagaact ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccagcag cacagcctac 240  
atggagctga ccaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatgag 300  
gactggaatt atgggagctg gttcgacacc tggggccagg gaaccctggt cacagtctcc 360  
tca 363

<210> 66  
<211> 121  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 66  
Gln Val His Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr  
20 25 30  
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
Gly Trp Leu Asn Pro Asn Thr Gly Thr Thr Lys Tyr Ile Gln Asn Phe  
50 55 60  
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80  
Met Glu Leu Thr Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg Asp Glu Asp Trp Asn Tyr Gly Ser Trp Phe Asp Thr Trp Gly  
100 105 110  
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 67  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 67  
ggatacacct tcaccggcta ctat 24

<210> 68  
<211> 8

|                                                |    |  |
|------------------------------------------------|----|--|
| 104030_201906_ANX5_SeqListing                  |    |  |
| <212> PRT                                      |    |  |
| <213> 人工序列                                     |    |  |
| <220>                                          |    |  |
| <223> 合成的                                      |    |  |
| <400> 68                                       |    |  |
| Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr                |    |  |
| 1 5                                            |    |  |
| <210> 69                                       |    |  |
| <211> 24                                       |    |  |
| <212> DNA                                      |    |  |
| <213> 人工序列                                     |    |  |
| <220>                                          |    |  |
| <223> 合成的                                      |    |  |
| <400> 69                                       |    |  |
| ctcaacccta atactggtac caca                     | 24 |  |
| <210> 70                                       |    |  |
| <211> 8                                        |    |  |
| <212> PRT                                      |    |  |
| <213> 人工序列                                     |    |  |
| <220>                                          |    |  |
| <223> 合成的                                      |    |  |
| <400> 70                                       |    |  |
| Leu Asn Pro Asn Thr Gly Thr Thr                |    |  |
| 1 5                                            |    |  |
| <210> 71                                       |    |  |
| <211> 42                                       |    |  |
| <212> DNA                                      |    |  |
| <213> 人工序列                                     |    |  |
| <220>                                          |    |  |
| <223> 合成的                                      |    |  |
| <400> 71                                       |    |  |
| gcgagagatg aggactggaa ttatgggagc tggttcgaca cc | 42 |  |
| <210> 72                                       |    |  |
| <211> 14                                       |    |  |
| <212> PRT                                      |    |  |
| <213> 人工序列                                     |    |  |
| <220>                                          |    |  |
| <223> 合成的                                      |    |  |
| <400> 72                                       |    |  |

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

Ala Arg Asp Glu Asp Trp Asn Tyr Gly Ser Trp Phe Asp Thr

1510

<210> 73

<211> 336

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 73

gatattgtaa tgaccagac tccactctcc tcacctgtca cccttggaca gccggcctcc 60

atctcctgca ggtctagtc aagcctcgta cacagtgaig gaaacaccta cttgagttgg 120

cttcagcaga ggccaggcca gcctccaaga ctccfaattt ataagatttc taaccgattc 180

tctgggggtcc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac gctgaaaatc 240

agcagggtgg aagctgagga tgtcgggggt tattactgca tgcaagctac acattttccg 300

atcaccttcg gcccaaggac acgactggag attaga 336

<210> 74

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 74

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

151015

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Pro Ser Leu Val His Ser

202530

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro

354045

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

505560

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65707580

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

859095

Thr His Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Arg

100105110

<210> 75

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 75

ccaagcctcg tacacagtga tggaacacc tac

33

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<210> 76  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 76  
Pro Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr  
1 5 10

<210> 77  
<211> 9  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 77  
aagatttct 9

<210> 78  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 78  
Lys Ile Ser  
1

<210> 79  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 79  
atgcaagcta cacattttcc gatcacc 27

<210> 80  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<223> 合成的

<400> 80

Met Gln Ala Thr His Phe Pro Ile Thr  
1 5

<210> 81

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 81

gaggtgcagc tgggtggaatc tgggggaggt gtggtgcggc ctggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt cacttttgat gattatggca tgacctgggt ccgccaagct 120  
ccagggaggg gcctggaatg ggtctctggt attcattggc atggtaaacc cacaggttat 180  
gcagactctg tgaagggccg attcaccata tccagagaca acgccaagaa atccctgtat 240  
ctgcaaatga acagtctgaa aggcgaggac acggccttgt atcatttgtt gaggggggga 300  
atgagtacag gggacttggt cgacccctgg ggccaggga ccctggtcat cgtctcctca 360

<210> 82

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 82

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

<210> 83

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<220>

<223> 合成的

<400> 83

ggattcactt ttgatgatta tggc

24

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 84

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Gly  
1 5

<210> 85

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 85

attcattggc atggtaaacg caca

24

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 86

Ile His Trp His Gly Lys Arg Thr  
1 5

<210> 87

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 87

gtgagggggg gaatgagtac aggggactgg ttcgacccc

39

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 88   |
| <211> | 13   |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 88  
Val Arg Gly Gly Met Ser Thr Gly Asp Trp Phe Asp Pro  
1 5 10

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 89   |
| <211> | 324  |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

|             |            |            |             |            |             |     |  |
|-------------|------------|------------|-------------|------------|-------------|-----|--|
| <400>       | 89         |            |             |            |             |     |  |
| gacatccaga  | tgaccagtc  | tccatcctcc | ctgtctgcat  | ctctaggaga | cagagtcacc  | 60  |  |
| atcacttgcc  | gggcaagtc  | gagcattaac | agttatttaa  | attggtatca | gcagaaacca  | 120 |  |
| gggaaaagccc | ctaaactcct | gatctatgtt | gcattccagtt | tgc aaagtg | gggtcccatca | 180 |  |
| aggttcagtg  | gcagtggaac | tgggacagaa | ttcactctca  | ccatcagcaa | tctgcaacct  | 240 |  |
| gaagattttg  | caacttacta | ctgtcaacag | agttacagta  | cccctccgat | caccttcggc  | 300 |  |
| caagggacac  | gactggagat | taaa       |             |            |             | 324 |  |

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 90   |
| <211> | 108  |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

|       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| <400> | 90  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Asp   | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Leu | Gly |  |  |
| 1     |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |  |  |
| Asp   | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Ser | Ile | Asn | Ser | Tyr |  |  |
|       |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |  |  |
| Leu   | Asn | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |  |  |
|       |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |  |
| Tyr   | Val | Ala | Ser | Ser | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |  |  |
|       | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |  |
| Ser   | Gly | Ser | Gly | Thr | Glu | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Asn | Leu | Gln | Pro |  |  |
| 65    |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |  |
| Glu   | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Pro |  |  |
|       |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |  |
| Ile   | Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Arg | Leu | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |  |  |
|       |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |  |  |

&lt;210&gt; 91

- <211> 18
- <212> DNA
- <213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 91  
cagagcatta acagttat

18

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 92   |
| <211> | 6    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 92  
Gln Ser Ile Asn Ser Tyr  
1 5

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 93   |
| <211> | 9    |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 93  
gttgcatcc

9

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 94   |
| <211> | 3    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 94  
Val Ala Ser  
1

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 95   |
| <211> | 30   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<400> 95  
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

<210> 96  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 96  
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr  
1 5 10

<210> 97  
<211> 360  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 97  
gagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggt gtggtacggc cggggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatggca tgacctgggt ccgccaagtt 120  
ccagggaagg ggctggagtg ggtctctggt attcatigga gtggtagaag cacaggttat 180  
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240  
ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggccttgt attactgtgc gaggggggga 300  
atgagtacgg gggactgggt cgacccttgg ggccagggaa ccttggtcac cgtctcctca 360

<210> 98  
<211> 120  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 98  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
20 25 30  
Gly Met Thr Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ser Gly Ile His Trp Ser Gly Arg Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg Gly Gly Met Ser Thr Gly Asp Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 99

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 99

ggattcacct ttgatgatta tggc

24

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 100

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Gly

1

5

<210> 101

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 101

attcattgga gtggtagaag caca

24

<210> 102

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 102

Ile His Trp Ser Gly Arg Ser Thr

1

5

<210> 103

<211> 39

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<212> DNA  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 103  
gcgagggggg gaatgagtac gggggactgg ttcgacccc 39

<210> 104  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 104  
Ala Arg Gly Gly Met Ser Thr Gly Asp Trp Phe Asp Pro  
1 5 10

<210> 105  
<211> 324  
<212> DNA  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 105  
gacatccaga igacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120  
gggaaagccc ctaagctcct gatctatggt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300  
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 106  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 106  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
20 25 30  
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

|                               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 104030_201906_ANX5_SeqListing |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Ser                           | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65                            |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Glu                           | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Pro |
|                               |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |
| Ile                           | Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Arg | Leu | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |
|                               |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |
| <210> 107                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <211> 18                      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <212> DNA                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <213> 人工序列                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <220>                         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <223> 合成的                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <400> 107                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| cagagcatta gcagctat           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 18  |
| <210> 108                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <211> 6                       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <212> PRT                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <213> 人工序列                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <220>                         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <223> 合成的                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <400> 108                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Gln                           | Ser | Ile | Ser | Ser | Tyr |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 1                             |     |     |     | 5   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <210> 109                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <211> 9                       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <212> DNA                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <213> 人工序列                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <220>                         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <223> 合成的                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <400> 109                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| gttgcatcc                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 9   |
| <210> 110                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <211> 3                       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <212> PRT                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <213> 人工序列                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <220>                         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <223> 合成的                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <400> 110                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Val                           | Ala | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 1                             |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<210> 111  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 111  
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

<210> 112  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 112  
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr  
1 5 10

<210> 113  
<211> 345  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 113  
gaggtgcagt tggtaggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctaagactc 60  
tctgtgcag cctctgggtt caccgtcggg agtaactaca tgaactgggt ccgtcaggct 120  
ccagggaagg gactggagtg ggtctcagtt attatagtg gtggtagtag atactacgca 180  
gattccgtga agggccgatt caccatctcc agactcactt ccaagaacac actgtatctt 240  
caaatgagca gcctgagacc tgaggacacg gccgtgtatt attgtgtagg agggattagg 300  
ggtctggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct ctcca 345

<210> 114  
<211> 115  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 114  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Gly Ser Asn  
20 25 30  
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

505560

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Leu Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

65707580

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

859095

Arg Gly Ile Arg Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr

100105110

Val Ser Ser

115

<210> 115

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 115

gggttcaccg tcggtagtaa ctac

24

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 116

Gly Phe Thr Val Gly Ser Asn Tyr

15

<210> 117

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 117

atttatagtg gtggtagtac a

21

<210> 118

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

第 31 頁

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<400> 118  
Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr  
1 5

<210> 119  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 119  
gcgagaggga ttaggggtct ggacgtc 27

<210> 120  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 120  
Ala Arg Gly Ile Arg Gly Leu Asp Val  
1 5

<210> 121  
<211> 324  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 121  
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgcc gggcaagtca gaccattaac atctatttaa attggtatca gcagaaacca 120  
gggagagccc ctaggctcct gatctatgct gcatccagti tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
gaagattttg caacttacta ctgtcaccag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300  
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 122  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 122

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Thr | Ile | Asn | Ile | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asn | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Arg | Ala | Pro | Arg | Leu | Leu | Ile |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Ser | Leu | Gln | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | His | Gln | Ser | Tyr | Ser | Thr | Pro | Pro |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Ile | Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Arg | Leu | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 123

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 123

cagaccatta acatctat

<210> 124

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 124

Gln Thr Ile Asn Ile Tyr

1 5

<210> 125

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 125

gctgcatcc

<210> 126

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

18

9

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<220>  
<223> 合成的

<400> 126  
Ala Ala Ser  
1

<210> 127  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 127  
caccagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

<210> 128  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 128  
His Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr  
1 5 10

<210> 129  
<211> 345  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 129  
gaggaacggt tgggtggagtc tggaggagac ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggcat caccgtcggc actaattata tgaactgggt ccgccaggct 120  
ccagggaagg gactggagtg ggtctcagtt atttctagcg gtggtatac aactacgca 180  
gactccgtga agggccgatt cattatgtcc agacaaactt ccaaaaacac gctgtatctt 240  
cagatgaata gcctggaaac tgaggacacg gccgtatatt attgtgcgag ggggatcaga 300  
ggtttggacg tctggggcca agggaccatg gtcaccgtct cctca 345

<210> 130  
<211> 115  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>

|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| 104030_201906_ANX5_SeqListing                                   |    |
| <223> 合成的                                                       |    |
| <400> 130                                                       |    |
| Glu Glu Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly |    |
| 1 5 10 15                                                       |    |
| Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Val Gly Thr Asn |    |
| 20 25 30                                                        |    |
| Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val |    |
| 35 40 45                                                        |    |
| Ser Val Ile Ser Ser Gly Gly Asn Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys |    |
| 50 55 60                                                        |    |
| Gly Arg Phe Ile Met Ser Arg Gln Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu |    |
| 65 70 75 80                                                     |    |
| Gln Met Asn Ser Leu Glu Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala |    |
| 85 90 95                                                        |    |
| Arg Gly Ile Arg Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr |    |
| 100 105 110                                                     |    |
| Val Ser Ser                                                     |    |
| 115                                                             |    |
| <210> 131                                                       |    |
| <211> 24                                                        |    |
| <212> DNA                                                       |    |
| <213> 人工序列                                                      |    |
| <220>                                                           |    |
| <223> 合成的                                                       |    |
| <400> 131                                                       |    |
| ggcatcaccg tcggtactaa ttat                                      | 24 |
| <210> 132                                                       |    |
| <211> 8                                                         |    |
| <212> PRT                                                       |    |
| <213> 人工序列                                                      |    |
| <220>                                                           |    |
| <223> 合成的                                                       |    |
| <400> 132                                                       |    |
| Gly Ile Thr Val Gly Thr Asn Tyr                                 |    |
| 1 5                                                             |    |
| <210> 133                                                       |    |
| <211> 21                                                        |    |
| <212> DNA                                                       |    |
| <213> 人工序列                                                      |    |
| <220>                                                           |    |
| <223> 合成的                                                       |    |
| <400> 133                                                       |    |
| atttctagcg gtggtaatat a                                         | 21 |

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 134  |
| <211> | 7    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 134  
Ile Ser Ser Gly Gly Asn Thr  
1 5

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 135  |
| <211> | 27   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 135  
gcgaggggga tcagaggttt ggacgtc 27

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 136  |
| <211> | 9    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 136  
Ala Arg Gly Ile Arg Gly Leu Asp Val  
1 5

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 137  |
| <211> | 324  |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

|            |            |            |            |            |            |     |  |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|--|
| <400>      | 137        |            |            |            |            |     |  |
| gacatccaga | tgacccagtc | tccatcctcc | ctgtctgcat | ctgtaggaga | cagagtcacc | 60  |  |
| atcacttgcc | gggcaagtca | gagcatgagc | agctatttta | attggtatca | gcagaaacca | 120 |  |
| gggagagccc | ctaagctcct | gatctttgct | gcatccagtt | tgcaaagtgg | ggtcccatca | 180 |  |
| aggttcagtg | gcagtggatc | tgggacagat | ttcactctca | ccatcagcag | tctgcaacct | 240 |  |
| gaagattttg | caacttacta | ctgtcaacag | agttacagta | cccctccgat | caccttcggc | 300 |  |
| caagggacac | gactggagat | taaa       |            |            |            | 324 |  |

<210> 138

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<211> 108  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 138  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Met Ser Ser Tyr  
20 25 30  
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45  
Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro  
85 90 95  
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 139  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 139  
cagagcatga gcagctat 18

<210> 140  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 140  
Gln Ser Met Ser Ser Tyr  
1 5

<210> 141  
<211> 9  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 141  
gctgcatcc 9

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 142  |
| <211> | 3    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 142  
Ala Ala Ser  
1

<210> 143  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 143  
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 144  |
| <211> | 10   |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 144  
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr  
1 5 10

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 145  |
| <211> | 354  |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

|             |             |            |            |            |             |     |  |
|-------------|-------------|------------|------------|------------|-------------|-----|--|
| <400> 145   |             |            |            |            |             |     |  |
| cagggtccagc | tgggtgcagtc | tggggctgag | gtgaagatgc | ctgggtcctc | ggtgagggtc  | 60  |  |
| tcttgcaagg  | cctctggagg  | catcttcagc | agttctacta | tcagttgggt | ggcacaggcc  | 120 |  |
| cctggacaag  | ggcttgaatg  | gatgggagag | atcatccctg | tctttgttac | agtaaaactac | 180 |  |
| gcacagaagt  | tccaggacag  | agtcataatt | accgcggacg | aatctacgac | tacagcctac  | 240 |  |
| atggagctga  | gcagccctgaa | atctggggac | acggccgtat | atttctgtgc | gcgaaattgg  | 300 |  |

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

ggattaggct ctttttatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca

354

<210> 146  
<211> 118  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 146  
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Met Pro Gly Ser  
1 5 10 15  
Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ile Phe Ser Ser Ser  
20 25 30  
Thr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
Gly Glu Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60  
Gln Asp Arg Val Ile Phe Thr Ala Asp Glu Ser Thr Thr Thr Ala Tyr  
65 70 75 80  
Met Glu Leu Ser Ser Leu Lys Ser Gly Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys  
85 90 95  
Ala Arg Asn Trp Gly Leu Gly Ser Phe Tyr Ile Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110  
Met Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 147  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 147

ggaggcatct tcagcagttc tact

24

<210> 148  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 148  
Gly Gly Ile Phe Ser Ser Ser Thr  
1 5

<210> 149  
<211> 24

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 149  
atcatccctg tctttggtac agta24

<210> 150  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 150  
Ile Ile Pro Val Phe Gly Thr Val  
15

<210> 151  
<211> 33  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 151  
gcgcgaaatt ggggattagg ctctttttat atc33

<210> 152  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 152  
Ala Arg Asn Trp Gly Leu Gly Ser Phe Tyr Ile  
1510

<210> 153  
<211> 324  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 153

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

gaaattgtgt

ctctcctgca

cctggccagg

gacaggttca

cctgaagatt

caagggacca

tgacgcagtc

gggccagtca

ctcccagact

gtggcagtgg

ttggagtgtt

aggtggaaat

tccaggcacc

gagttttaac

cctcatctat

gtctgggaca

ttattgtcag

caaa

ctgtctttgt

ttcaactact

ggtgcatcca

gacttcactc

cagtatgaaa

ctccagggga

tagcctggta

gcagggccac

tcaccatcaa

gcgcaccttg

aagagccacc

ccagcagaaa

tggcatccca

caggctggag

gacgttcggc

60

120

180

240

300

324

<210> 154

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 154

Glu

1

Ile

5

Val

10

Leu

15

Thr

20

Gln

25

Ser

30

Pro

35

Gly

40

Thr

45

Leu

50

Ser

55

Leu

60

Ser

65

Pro

70

Gly

75

Thr

80

Leu

85

Ser

90

Leu

95

Ser

100

Pro

105

Gly

110

Thr

115

Leu

120

Ser

125

Pro

130

Gly

135

Thr

140

Leu

145

Ser

150

Pro

154

<210> 155

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 155

cagagtttta

acttcaacta

c

21

<210> 156

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 156

Gln

1

Ser

5

Phe

10

Asn

15

Phe

20

Asn

25

Tyr

30

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<210> 157  
<211> 9  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 157  
ggtgcatcc9

<210> 158  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 158  
Gly Ala Ser  
1

<210> 159  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 159  
cagcagtatg aaagcgcacc ttggacg27

<210> 160  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 160  
Gln Gln Tyr Glu Ser Ala Pro Trp Thr  
15

<210> 161  
<211> 345  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<223> 合成的

<400> 161  
gagggtgcagc ttgtagagtc tgggggagac ttggtacatc ctggcaggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctgggtt cccctttgat gagtatgccca tgcactgggt ccggcaagtt 120  
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttagga gtaataataa cataggctat 180  
gcggactctg tgaagggccg attcaccaic tccagagaca acgccaaaaa ctccctgtat 240  
ctacaaatga acagtctgag acctgaggac acggccctttt attactgtgc aaaatctgga 300  
atctttgact cctggggcca gggaacccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 162  
<211> 115  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 162  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val His Pro Gly Arg  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Asp Glu Tyr  
20 25 30  
Ala Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ser Gly Ile Ser Trp Ser Asn Asn Asn Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Lys Ser Gly Ile Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
100 105 110  
Val Ser Ser  
115

<210> 163  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 163  
ggtttcccct ttgatgagta tgcc 24

<210> 164  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 164  
Gly Phe Pro Phe Asp Glu Tyr Ala  
1 5

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 165  |
| <211> | 24   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 165  
attagttagga gtaataataa cata 24

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 166  |
| <211> | 8    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 166  
Ile Ser Trp Ser Asn Asn Asn Ile  
1 5

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 167  |
| <211> | 24   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 167  
gcaaaatctg gaatctttga ctcc 24

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 168  |
| <211> | 8    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 168  
Ala Lys Ser Gly Ile Phe Asp Ser  
1 5

<210> 169

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<211> 315  
<212> DNA  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 169  
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120  
gggaagctcc tgatctatgc tgcattccagt ttgcaaagtg ggggtccatc acggttcagt 180  
ggcgggtggat ctgggacaga tttcactcic accatcagca gtctgcgacc tgaagatttt 240  
gcaacttact actgtcaaca gagttactgt acccctccga tcacctcgg ccaagggaca 300  
cgactggaga ttaaa 315

<210> 170  
<211> 105  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 170  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
20 25 30  
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala  
35 40 45  
Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser  
50 55 60  
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Arg Pro Glu Asp Phe  
65 70 75 80  
Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Cys Thr Pro Pro Ile Thr Phe  
85 90 95  
Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 171  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 171  
cagagcatta gcagctat 18

<210> 172  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$ 

<400> 172

<210> 173

<212> DNA

 $\langle 220 \rangle$ 

<400> 173

9

&lt;210&gt; 174

 $\langle 211 \rangle$  3

<212> PRT

 $\langle 220 \rangle$ 

<400> 174

Ala Ala Ser

1

<210> 175

$\langle 211 \rangle$  30

<212> DNA

 $\langle 220 \rangle$ 

<400> 175

30

&lt;210&gt; 176

 $\langle 211 \rangle$  10

<212> PRT

 $\langle 220 \rangle$ 

<400> 176

Gln Gln Ser Tyr Cys Thr Pro Pro Ile Thr  
1 5 10

1

5

10

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<210> 177  
<211> 354  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 177  
gaggtgcagc tgggtggagtc cggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
ccaggcaagg gactggagtg ggtgacactt atatcatatg agggaaggaa taaatactat 180  
gcagactccg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggtgtat attactgtgc gaaagatagg 300  
accctttacg gtatggacgt ctggggccaa ggaaccacgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 178  
<211> 118  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 178  
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 Ser Tyr  
20 25 30  
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Thr Leu Ile Ser Tyr Glu Gly Arg Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Lys Asp Arg Thr Leu Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110  
Thr Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 179  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 179  
ggattcacct tcagtagtta tggc

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 180  |
| <211> | 8    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 180  
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly  
1 5

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 181  |
| <211> | 24   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 181  
atatcatatg agggaaggaa taaa

24

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 182  |
| <211> | 8    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 182  
Ile Ser Tyr Glu Gly Arg Asn Lys  
1 5

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 183  |
| <211> | 33   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$  合成的

<400> 183  
gcgaaagata ggacccttta cggatatggac gtc

33

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 184  |
| <211> | 11   |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

 $\langle 220 \rangle$

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<223> 合成的

<400> 184

Ala Lys Asp Arg Thr Leu Tyr Gly Met Asp Val  
1 5 10

<210> 185

<211> 363

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 185

caggtcacct tgagggagtc tggtcctgcg ctggtgaaaa ccacacagac cctcacactg 60  
acctgcacct tctctgggtt ctcactcagc actaatagaa tgtgtgtgac ctggatccgt 120  
cagccccag ggaaggccct ggagtggctt gcgcgcattg attgggatgg tgtaaatac 180  
tacaacacat ctctgaagac caggctcacc atctccaagg acacctccaa aaaccaggtg 240  
gtccttacia tgaccaacat ggacctgtg gacacagcca ctttttactg tgcacggctg 300  
acttcgttga ctttttacta ctttgactac tggggccagg gaacctggt caccgtctcc 360  
tca 363

<210> 186

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 186

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Thr Thr Gln  
1 5 10 15  
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Asn  
20 25 30  
Arg Met Cys Val Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu  
35 40 45  
Trp Leu Ala Arg Ile Asp Trp Asp Gly Val Lys Tyr Tyr Asn Thr Ser  
50 55 60  
Leu Lys Thr Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val  
65 70 75 80  
Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Phe Tyr  
85 90 95  
Cys Ala Arg Ser Thr Ser Leu Thr Phe Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110  
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 187

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$ 

<400> 187

30

<211> 10

### <213> 人工序列

<223> 合成的

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Asn Arg Met Cys  
1 5 10

$\langle 211 \rangle$  21

### <213> 人工序列

<223> 合成的

21

<211> 7

### <213> 人工序列

<223> 合成的

Ile Asp Trp Asp Gly Val Lys  
1 5

<211> 39

### <213> 人工序列

<223> 合成的

39

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<210> 192  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 192  
Ala Arg Ser Thr Ser Leu Thr Phe Tyr Tyr Phe Asp Tyr  
1 5 10

<210> 193  
<211> 324  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 193  
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120  
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300  
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 194  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 194  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
20 25 30  
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro  
85 90 95  
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 195

<211> 18  
<212> DNA  
<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 195  
cagagcatta gcagctat

18

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 196  |
| <211> | 6    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 196  
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
1 5

<210> 197  
<211> 9  
<212> DNA  
<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 197  
gctgcatcc 9

9

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 198  |
| <211> | 3    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 198  
Ala Ala Ser  
1

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 199  |
| <211> | 30   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<400> 199  
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

<210> 200  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 200  
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr  
1 5 10

<210> 201  
<211> 345  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 201  
gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc cggggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctgagtt caccgtcggg accaaccaca tgaactgggt ccgccaggct 120  
ccagggaagg gactggagtg ggtctcagtt atttatagcg gtggtaacac attctacgca 180  
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agacacactt ccaagaacac gctgtatctt 240  
caaataaaca gcctgacagc agaggacacg gccgtatatt actgtgcgcg aggattgggg 300  
ggtatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctca 345

<210> 202  
<211> 115  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 202  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Phe Thr Val Gly Thr Asn  
20 25 30  
His Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60  
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
65 70 75 80  
Gln Met Asn Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95  
Arg Gly Leu Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr  
100 105 110

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

Val Ser Ser  
115

<210> 203  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 203  
gagttcaccg tcggtaccaa ccac 24

<210> 204  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 204  
Glu Phe Thr Val Gly Thr Asn His  
1 5

<210> 205  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 205  
atttatagcg gtggtaacac a 21

<210> 206  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 206  
Ile Tyr Ser Gly Gly Asn Thr  
1 5

<210> 207  
<211> 27  
<212> DNA

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 207

gcgcgaggat tgggggggtat ggacgtc27

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 208

Ala Arg Gly Leu Gly Gly Met Asp Val

15

<210> 209

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 209

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcgagtca ggtcattagc aattatitag cctgggtatca gcagaaacca 120

gggaaagtgc ctaggctcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180

cgtttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg cccctcggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa a321

<210> 210

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 210

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

151015

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Ser Asn Tyr

202530

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

354045

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

505560

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

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

65

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Arg

70

85

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

90

100

105

75

80

95

<210> 211

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 211

caggtcatta gcaattat

18

<210> 212

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 212

Gln Val Ile Ser Asn Tyr

15

<210> 213

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 213

gctgcatcc

9

<210> 214

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 214

Ala Ala Ser

1

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<210> 215  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 215  
caaaagtata acagtgcgcc tcggacg

27

<210> 216  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 216  
Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Arg Thr  
1 5

<210> 217  
<211> 360  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 217  
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ggggggagtc cctgagactt 60  
tactgtgcag cctctggatt cacctttagt aaatatggga tgaactgggt ccgccaggct 120  
ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaaggag atggaagtga gaaatactat 180  
gtggactctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactatat 240  
ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagattat 300  
tggggatcag gctactactt tgacttctgg ggccaggga ccctgggtcac cgtctcctca 360

<210> 218  
<211> 120  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 218  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Arg Gly Glu  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Tyr Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Tyr  
20 25 30  
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Asn | Ile | Lys | Gly | Asp | Gly | Ser | Glu | Lys | Tyr | Tyr | Val | Asp | Ser | Val |
| 50  |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Lys | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asn | Ala | Lys | Asn | Ser | Leu | Tyr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Leu | Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Arg | Ala | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Ala | Arg | Asp | Tyr | Trp | Gly | Ser | Gly | Tyr | Tyr | Phe | Asp | Phe | Trp | Gly | Gln |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 219  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 219  
ggattcacct ttagtaaata ttgg 24

<210> 220  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 220  
Gly Phe Thr Phe Ser Lys Tyr Trp  
1 5

<210> 221  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 221  
ataaaggag atggaagtga gaaa 24

<210> 222  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<400> 222  
Ile Lys Gly Asp Gly Ser Glu Lys  
1 5

<210> 223  
<211> 39  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 223  
gcgagagatt attggggatc aggctactac ttgacttc 39

<210> 224  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 224  
Ala Arg Asp Tyr Trp Gly Ser Gly Tyr Tyr Phe Asp Phe  
1 5 10

<210> 225  
<211> 321  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 225  
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgcc gggcaagtca gaacattaac aactatitaa attggtatca gcagaaacca 120  
gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tccaaaatgc ggtcccatca 180  
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacaata ccccgctcac ttcggcgagg 300  
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 226  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 226

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Val | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Asn | Ile | Asn | Asn | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asn | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys | Ala | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Tyr | Ala | Ala | Ser | Ser | Phe | Gln | Asn | Ala | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr | Ile | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Ser | Tyr | Asn | Thr | Pro | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 227  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 227  
cagaacatta acaactat18

<210> 228  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 228  
Gln Asn Ile Asn Asn Tyr  
15

<210> 229  
<211> 9  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 229  
gctgcatcc9

<210> 230  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<220>

<223> 合成的

<400> 230

Ala Ala Ser

1

<210> 231

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 231

caacagagtt acaatacccc gctcact

27

<210> 232

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 232

Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Pro Leu Thr

1

5

<210> 233

<211> 390

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 233

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtccagt ctggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt caccittagt agctattgga tgagctgggt ccgccaggct 120  
ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatactat 180  
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat 240  
ctgcaaatga acagcctgag agccgatgac acggctgtgt attactgtgc gagagatgat 300  
attgtagtag taccagctcc tatgggatat tactactact acttcggtat ggacgtctgg 360  
ggccaaggga ccacggtcac cgctcctca 390

<210> 234

<211> 130

<212> PRT

<213> 人工序列

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 234  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30  
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg Asp Asp Ile Val Val Val Pro Ala Pro Met Gly Tyr Tyr Tyr  
100 105 110  
Tyr Tyr Phe Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val  
115 120 125  
Ser Ser  
130

<210> 235  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 235  
ggattcacct ttagtagcta ttgg 24

<210> 236  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 236  
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp  
1 5

<210> 237  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<400> 237  
ataaagcaag atggaagtga gaaa 24

<210> 238  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 238  
Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys  
1 5

<210> 239  
<211> 69  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 239  
gcgagagatg atattgtagt agtaccagct cctatgggat attactacta ctacttcggt 60  
atggacgtc 69

<210> 240  
<211> 23  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 240  
Ala Arg Asp Asp Ile Val Val Val Pro Ala Pro Met Gly Tyr Tyr Tyr  
1 5 10 15  
Tyr Tyr Phe Gly Met Asp Val  
20

<210> 241  
<211> 321  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 241  
gacatccaga tgaccacgtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240  
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtacac ttttggccag 300  
gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 242  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 242  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
20 25 30  
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Tyr  
85 90 95  
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 243  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 243  
cagggcatta gaaatgat 18

<210> 244  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 244  
Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
1 5

<210> 245

## 104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<211> 9  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 245  
gctgcatcc

9

<210> 246  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 246  
Ala Ala Ser  
1

<210> 247  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 247  
ctacagcata atagttaccc gtacact

27

<210> 248  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 248  
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr  
1 5

<210> 249  
<211> 369  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<400> 249  
gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggttcagc ctggcaggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt caccittgat gatattgcca tgcactgggt ccgacaagct 120  
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga ctggtggtaa catggactat 180  
gcgaactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagagg acgccaagaa ttccctgtat 240  
ctgcaaatga acagtctgag agctgcggac acggccttgt attacttgtt aaaagatata 300  
agggggatag tggctacggg gggggctttt gatatctggg gccgaggac aatggtcacc 360  
gtctcttca 369

<210> 250  
<211> 123  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 250  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Phe  
20 25 30  
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ser Gly Ile Ser Trp Thr Gly Gly Asn Met Asp Tyr Ala Asn Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asp Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Val Lys Asp Ile Arg Gly Ile Val Ala Thr Gly Gly Ala Phe Asp Ile  
100 105 110  
Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 251  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 251  
ggattcacct ttgatgattt tgcc 24

<210> 252  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

|                                                                 |    |  |
|-----------------------------------------------------------------|----|--|
| 104030_201906_ANX5_SeqListing                                   |    |  |
| <400> 252                                                       |    |  |
| Gly Phe Thr Phe Asp Asp Phe Ala                                 |    |  |
| 1 5                                                             |    |  |
| <210> 253                                                       |    |  |
| <211> 24                                                        |    |  |
| <212> DNA                                                       |    |  |
| <213> 人工序列                                                      |    |  |
| <220>                                                           |    |  |
| <223> 合成的                                                       |    |  |
| <400> 253                                                       |    |  |
| attagttgga ctggtggtaa catg                                      | 24 |  |
| <210> 254                                                       |    |  |
| <211> 8                                                         |    |  |
| <212> PRT                                                       |    |  |
| <213> 人工序列                                                      |    |  |
| <220>                                                           |    |  |
| <223> 合成的                                                       |    |  |
| <400> 254                                                       |    |  |
| Ile Ser Trp Thr Gly Gly Asn Met                                 |    |  |
| 1 5                                                             |    |  |
| <210> 255                                                       |    |  |
| <211> 48                                                        |    |  |
| <212> DNA                                                       |    |  |
| <213> 人工序列                                                      |    |  |
| <220>                                                           |    |  |
| <223> 合成的                                                       |    |  |
| <400> 255                                                       |    |  |
| gtaaaagata taaggggat agtggctacg gggggggctt ttgatatc             | 48 |  |
| <210> 256                                                       |    |  |
| <211> 16                                                        |    |  |
| <212> PRT                                                       |    |  |
| <213> 人工序列                                                      |    |  |
| <220>                                                           |    |  |
| <223> 合成的                                                       |    |  |
| <400> 256                                                       |    |  |
| Val Lys Asp Ile Arg Gly Ile Val Ala Thr Gly Gly Ala Phe Asp Ile |    |  |
| 1 5 10 15                                                       |    |  |
| <210> 257                                                       |    |  |
| <211> 321                                                       |    |  |

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 257  
gacatccaga tgaccacgic tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atctcttgcc gggcaagtca gaccattagc acttatttaa attggtttca gcagaaacca 120  
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgtt gtgtccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag agttacagta cccatttcac tttcggccct 300  
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 258  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 258  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Thr Tyr  
20 25 30  
Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Val Val Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Phe  
85 90 95  
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
100 105

<210> 259  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 259  
cagaccatta gcacttat 18

<210> 260  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 260  
Gln Thr Ile Ser Thr Tyr  
1 5

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 261  |
| <211> | 9    |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 261  
g t t g t g t c c 9

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 262  |
| <211> | 3    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 262  
Val Val Ser  
1

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 263  |
| <211> | 27   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 263  
caacagagtt acagtacccc attcact 27

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 264  |
| <211> | 9    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 264  
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Phe Thr  
1 5

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<210> 265  
<211> 345  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 265  
gaggtgcagc tggaggagtc tggaggagtc ttggtccagc cggggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcggg accaactaca tgaactgggt ccgccaggct 120  
ccagggaagg gactggagtg gatctcagtt atttatagcg gtggtagcac attctacgca 180  
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agacagactt cccagaacac gctgtatctt 240  
caaatgaaca gcctgagacc tgaggacacg gccgtatatt actgtgcgag aggtatacgt 300  
ggttttgata tctggggcca agggacaatg gtcaccgtct ctcca 345

<210> 266  
<211> 115  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 266  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Gly Thr Asn  
20 25 30  
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45  
Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60  
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Gln Thr Ser Gln Asn Thr Leu Tyr Leu  
65 70 75 80  
Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95  
Arg Gly Ile Arg Gly Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr  
100 105 110  
Val Ser Ser  
115

<210> 267  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 267  
ggattcaccg tcggtaccaa ctac

|                                 |  |    |
|---------------------------------|--|----|
| 104030_201906_ANX5_SeqListing   |  |    |
| <210> 268                       |  |    |
| <211> 8                         |  |    |
| <212> PRT                       |  |    |
| <213> 人工序列                      |  |    |
| <220>                           |  |    |
| <223> 合成的                       |  |    |
| <400> 268                       |  |    |
| Gly Phe Thr Val Gly Thr Asn Tyr |  |    |
| 1 5                             |  |    |
| <210> 269                       |  |    |
| <211> 21                        |  |    |
| <212> DNA                       |  |    |
| <213> 人工序列                      |  |    |
| <220>                           |  |    |
| <223> 合成的                       |  |    |
| <400> 269                       |  |    |
| atttatagcg gtggtagcac a         |  | 21 |
| <210> 270                       |  |    |
| <211> 7                         |  |    |
| <212> PRT                       |  |    |
| <213> 人工序列                      |  |    |
| <220>                           |  |    |
| <223> 合成的                       |  |    |
| <400> 270                       |  |    |
| Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr     |  |    |
| 1 5                             |  |    |
| <210> 271                       |  |    |
| <211> 27                        |  |    |
| <212> DNA                       |  |    |
| <213> 人工序列                      |  |    |
| <220>                           |  |    |
| <223> 合成的                       |  |    |
| <400> 271                       |  |    |
| gcgagaggta tacgtggttt tgatatac  |  | 27 |
| <210> 272                       |  |    |
| <211> 9                         |  |    |
| <212> PRT                       |  |    |
| <213> 人工序列                      |  |    |
| <220>                           |  |    |
| <223> 合成的                       |  |    |

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<400> 272  
Ala Arg Gly Ile Arg Gly Phe Asp Ile  
1 5

<210> 273  
<211> 324  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 273  
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120  
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaaagtg ggtcccgta 180  
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300  
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 274  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 274  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
20 25 30  
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro  
85 90 95  
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 275  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

|                                                  |    |
|--------------------------------------------------|----|
| 104030_201906_ANX5_SeqListing                    |    |
| <400> 275<br>cagagcatta gcagctat                 | 18 |
| <210> 276<br><211> 6<br><212> PRT<br><213> 人工序列  |    |
| <220><br><223> 合成的                               |    |
| <400> 276<br>Gln Ser Ile Ser Ser Tyr<br>1 5      |    |
| <210> 277<br><211> 9<br><212> DNA<br><213> 人工序列  |    |
| <220><br><223> 合成的                               |    |
| <400> 277<br>gctgcatcc                           | 9  |
| <210> 278<br><211> 3<br><212> PRT<br><213> 人工序列  |    |
| <220><br><223> 合成的                               |    |
| <400> 278<br>Ala Ala Ser<br>1                    |    |
| <210> 279<br><211> 30<br><212> DNA<br><213> 人工序列 |    |
| <220><br><223> 合成的                               |    |
| <400> 279<br>caacagagtt acagtacccc tccgatcacc    | 30 |
| <210> 280<br><211> 10<br><212> PRT<br><213> 人工序列 |    |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 281  |
| <211> | 345  |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 282  |
| <211> | 115  |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

|       |     |
|-------|-----|
| <210> | 283 |
| <211> | 24  |
| <212> | DNA |

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| 104030_201906_ANX5_SeqListing   |    |
| <213> 人工序列                      |    |
| <220>                           |    |
| <223> 合成的                       |    |
| <400> 283                       |    |
| gggtttacca tcagtaccaa ctac      | 24 |
| <210> 284                       |    |
| <211> 8                         |    |
| <212> PRT                       |    |
| <213> 人工序列                      |    |
| <220>                           |    |
| <223> 合成的                       |    |
| <400> 284                       |    |
| Gly Phe Thr Ile Ser Thr Asn Tyr |    |
| 1 5                             |    |
| <210> 285                       |    |
| <211> 21                        |    |
| <212> DNA                       |    |
| <213> 人工序列                      |    |
| <220>                           |    |
| <223> 合成的                       |    |
| <400> 285                       |    |
| atttatagca gtggttccac a         | 21 |
| <210> 286                       |    |
| <211> 7                         |    |
| <212> PRT                       |    |
| <213> 人工序列                      |    |
| <220>                           |    |
| <223> 合成的                       |    |
| <400> 286                       |    |
| Ile Tyr Ser Ser Gly Ser Thr     |    |
| 1 5                             |    |
| <210> 287                       |    |
| <211> 27                        |    |
| <212> DNA                       |    |
| <213> 人工序列                      |    |
| <220>                           |    |
| <223> 合成的                       |    |
| <400> 287                       |    |
| gcgaggggga tcaggggttt tgatatt   | 27 |

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<210> 288  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 288  
Ala Arg Gly Ile Arg Gly Phe Asp Ile  
1 5

<210> 289  
<211> 372  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 289  
gaagtgcagc tgggtggagtc gggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt caccattgat gatagtcca tgcactgggt ccggcaaact 120  
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagtggga aaagtggtag cataggttat 180  
gcggaactctg tgaggggccc attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ttccctctat 240  
ctgcaaatga acagtctgag agttgaggac acggccttgt attacttgtt aaaagatata 300  
aggggcaact ggaactacgg gggaaactgg ttcgaccctt gggggccagg aaccctggtc 360  
actgtctcct ca 372

<210> 290  
<211> 124  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 290  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Asp Asp Ser  
20 25 30  
Ala Met His Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ser Gly Ile Ser Trp Lys Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Val Lys Asp Ile Arg Gly Asn Trp Asn Tyr Gly Gly Asn Trp Phe Asp  
100 105 110  
Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

| 104030_201906_ANX5_SeqListing                                                                                                                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 115                                                                                                                                                                                                                                              | 120 |
| <div>&lt;210&gt; 291</div> <div>&lt;211&gt; 24</div> <div>&lt;212&gt; DNA</div> <div>&lt;213&gt; 人工序列</div> <div>&lt;220&gt;</div> <div>&lt;223&gt; 合成的</div> <div>&lt;400&gt; 291</div> <div>ggattcacca ttgatgatag tgcc</div> <div>24</div>     |     |
| <div>&lt;210&gt; 292</div> <div>&lt;211&gt; 8</div> <div>&lt;212&gt; PRT</div> <div>&lt;213&gt; 人工序列</div> <div>&lt;220&gt;</div> <div>&lt;223&gt; 合成的</div> <div>&lt;400&gt; 292</div> <div>Gly Phe Thr Ile Asp Asp Ser Ala</div> <div>15</div> |     |
| <div>&lt;210&gt; 293</div> <div>&lt;211&gt; 24</div> <div>&lt;212&gt; DNA</div> <div>&lt;213&gt; 人工序列</div> <div>&lt;220&gt;</div> <div>&lt;223&gt; 合成的</div> <div>&lt;400&gt; 293</div> <div>attagttaga aaagtggtag cata</div> <div>24</div>     |     |
| <div>&lt;210&gt; 294</div> <div>&lt;211&gt; 8</div> <div>&lt;212&gt; PRT</div> <div>&lt;213&gt; 人工序列</div> <div>&lt;220&gt;</div> <div>&lt;223&gt; 合成的</div> <div>&lt;400&gt; 294</div> <div>Ile Ser Trp Lys Ser Gly Ser Ile</div> <div>15</div> |     |
| <div>&lt;210&gt; 295</div> <div>&lt;211&gt; 51</div> <div>&lt;212&gt; DNA</div> <div>&lt;213&gt; 人工序列</div>                                                                                                                                      |     |

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<220>

<223> 合成的

<400> 295

gtaaaagata taaggggcaa ctggaactac gggggaaact ggttcgaccc c 51

<210> 296

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 296

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Lys | Asp | Ile | Arg | Gly | Asn | Trp | Asn | Tyr | Gly | Gly | Asn | Trp | Phe | Asp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |
| Pro |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 297

<211> 345

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 297

|            |            |            |             |            |            |     |
|------------|------------|------------|-------------|------------|------------|-----|
| gaggtgcagc | tggtggagtc | tggaggaggc | tfggtccagc  | ctgggggggc | cctgagactc | 60  |
| tcatgtgaag | cctctgggtt | caccgtcggf | gtcaaccaca  | tgaactgggt | ccgccaggct | 120 |
| ccagggaagg | gtctggagtg | ggtctcagtt | attttcagta  | gtggtaggac | attctacgga | 180 |
| gactacgtga | aggggcgatt | aaccatcttc | agacaaacct  | cccagaacac | ggtgtatctt | 240 |
| caaataaata | gcctgagaag | tgaggacacg | gccatatatt  | actgtgcgag | agggattggc | 300 |
| ggtttggaca | tcfggggccg | agggacaatg | gtcacccgtct | cttca      |            | 345 |

<210> 298

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 298

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Val | Gln | Leu | Val | Glu | Ser | Gly | Gly | Gly | Leu | Val | Gln | Pro | Gly | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |
| Ser | Leu | Arg | Leu | Ser | Cys | Glu | Ala | Ser | Gly | Phe | Thr | Val | Gly | Val | Asn |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| His | Met | Asn | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Val |
|     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     |
| Ser | Val | Ile | Phe | Ser | Ser | Gly | Arg | Thr | Phe | Tyr | Gly | Asp | Tyr | Val | Lys |
| 50  |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Arg | Leu | Thr | Ile | Phe | Arg | Gln | Thr | Ser | Gln | Asn | Thr | Val | Tyr | Leu |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Ile | Tyr | Tyr | Cys | Ala |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |
| Arg | Gly | Ile | Gly | Gly | Leu | Asp | Ile | Trp | Gly | Arg | Gly | Thr | Met | Val | Thr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     | 115 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 299  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 299

gggttcaccg tcggtgtcaa ccac

24

<210> 300  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 300

|     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Phe | Thr | Val | Gly | Val | Asn | His |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |

<210> 301  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 301

attttcagta gtggtaggac a

21

<210> 302  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 302

Ile Phe Ser Ser Gly Arg Thr

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

1

5

<210> 303  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 303  
gcgagaggga ttggcggttt ggacatc 27

<210> 304  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 304  
Ala Arg Gly Ile Gly Gly Leu Asp Ile  
1 5

<210> 305  
<211> 369  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 305  
gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggttcagc ctggcaggtc cctaagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt cacccttgat gattatgcct tgcactgggt ccggcaagct 120  
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagtggga ctggtggtac tatagactat 180  
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240  
ctgcaaatga gcagtctgag aactgaggac acggccatat attactgtac aagagatatc 300  
cgggggaact ggaagtacgg aggctggttc gaccctggg gccagggaac cctggtcacc 360  
gtctcctca 369

<210> 306  
<211> 123  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 306  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Leu | Arg | Leu | Ser | Cys | Ala | Ala | Ser | Gly | Phe | Thr | Phe | Asp | Asp | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ala | Leu | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Val |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Ser | Gly | Ile | Ser | Trp | Thr | Gly | Gly | Thr | Ile | Asp | Tyr | Ala | Asp | Ser | Val |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Lys | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Asp | Asn | Ala | Lys | Asn | Ser | Leu | Tyr |
|     | 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Leu | Gln | Met | Ser | Ser | Leu | Arg | Thr | Glu | Asp | Thr | Ala | Ile | Tyr | Tyr | Cys |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |
| Thr | Arg | Asp | Ile | Arg | Gly | Asn | Trp | Lys | Tyr | Gly | Gly | Trp | Phe | Asp | Pro |
|     |     | 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 307  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 307  
ggattcacct ttgatgatta tgcc24

<210> 308  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 308  
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala  
15

<210> 309  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 309  
attagttgga ctggtggtac tata24

<210> 310  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<220>

<223> 合成的

<400> 310

Ile Ser Trp Thr Gly Gly Thr Ile  
1 5

<210> 311

<211> 48

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 311

acaagagata tccgggggaa ctggaagtac ggaggctggt tgcacccc 48

<210> 312

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 312

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

<210> 313

<211> 360

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 313

cagggtgcagc tgggtgcagtc tgggactgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
tcctgcaagg ctctctggata caccttcacc gcctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120  
cctggtcaag gacttgactg gatgggatgg atcagcccta acagtggttt cacaactat 180  
gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcaa cacattttat 240  
atggagctga gtggactgag atctgacgac acggccgtat attactgtgc gcgagagggt 300  
tctactcacc acaattcttt cgacccctgg ggccaggga ccctgggtcac cgtctcctca 360

<210> 314

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<220>  
<223> 合成的

<400> 314  
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr  
20 25 30  
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Asp Trp Met  
35 40 45  
Gly Trp Ile Ser Pro Asn Ser Gly Phe Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60  
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Phe Tyr  
65 70 75 80  
Met Glu Leu Ser Gly Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg Glu Gly Ser Thr His His Asn Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln  
100 105 110  
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 315  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 315  
ggatacacct tcaccgccta ctat 24

<210> 316  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 316  
Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr Tyr  
1 5

<210> 317  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 317

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

atcagcccta acagtgggtt caca 24

<210> 318  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 318  
Ile Ser Pro Asn Ser Gly Phe Thr  
1 5

<210> 319  
<211> 39  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 319  
gcgcgagagg gttctactca ccacaattct ttcgacccc 39

<210> 320  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 320  
Ala Arg Glu Gly Ser Thr His His Asn Ser Phe Asp Pro  
1 5 10

<210> 321  
<211> 342  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 321  
gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttggtccaac cggggggggtc cctgaggctc 60  
tcctgtgcag cctctgggtt caccgtcggg actaacttca tgaattgggt ccgccaggct 120  
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagcg atttatagcg gtggtaccgc taactacgca 180  
gactccgtga agggccgatt caccatttcc agagacactt ccaggaacac gctgtatctt 240  
caaataaaca gcctgagaac tgaggacacg gccgtttatt attgtgcgag aggggggggt 300  
atggacgtct ggggcccaagg gaccacggtc accgtctcct ca 342

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<210> 322  
<211> 114  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 合成的  
  
<400> 322  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1                  5                  10                  15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Gly Thr Asn  
                  20                  25                  30  
Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                  35                  40                  45  
Ser Ala Ile Tyr Ser Gly Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50                  55                  60  
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Arg Asn Thr Leu Tyr Leu  
65                  70                  75                  80  
Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
                  85                  90                  95  
Arg Gly Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val  
                  100                  105                  110  
Ser Ser

<210> 323  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 323  
gggttcaccg tcggtactaa cttc 24

<210> 324  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 324  
Gly Phe Thr Val Gly Thr Asn Phe  
1                  5

<210> 325  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> 人工序列

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<220>  
<223> 合成的

<400> 325  
atttatagcg gtggtaccgc t21

<210> 326  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 326  
Ile Tyr Ser Gly Gly Thr Ala  
15

<210> 327  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 327  
gcgagagggg ggggtatgga cgtc24

<210> 328  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 328  
Ala Arg Gly Gly Gly Met Asp Val  
15

<210> 329  
<211> 354  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 329  
caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
tcttgaagg ctcttgagg caccttcaac acctatgttc tcagctgggt gcgacaggcc 120

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

cctggacaag ggcttgagtg gatgggagag atcatcccta tcttaggtgc agcaaactac 180  
gcacagaact tccagggcag agtcactitt accacggacg aatccacgaa tacagcctac 240  
atggacctga gcagcctaag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcgg 300  
acctccggggg ggttcgaccc ctggggccag ggaaccctgg tcactgtctc ctca 354

<210> 330  
<211> 118  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 330

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Asn Thr Tyr  
20 25 30  
Val Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
Gly Glu Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ala Ala Asn Tyr Ala Gln Asn Phe  
50 55 60  
Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Glu Ser Thr Asn Thr Ala Tyr  
65 70 75 80  
Met Asp Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg Asp Arg Thr Ser Gly Gly Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110  
Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 331  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 331

ggaggcacct tcaacaccta tggt 24

<210> 332  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 332

Gly Gly Thr Phe Asn Thr Tyr Val  
1 5

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<210> 333  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 333  
atcatcccta tcttaggtgc agca 24

<210> 334  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 334  
Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ala Ala  
1 5

<210> 335  
<211> 33  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 335  
gcgagagatc ggacctccgg ggggttcgac ccc 33

<210> 336  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的

<400> 336  
Ala Arg Asp Arg Thr Ser Gly Gly Phe Asp Pro  
1 5 10

<210> 337  
<211> 357  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>

|                                                                    |  |                               |  |
|--------------------------------------------------------------------|--|-------------------------------|--|
|                                                                    |  | 104030_201906_ANX5_SeqListing |  |
| <223> 合成的                                                          |  |                               |  |
| <400> 337                                                          |  |                               |  |
| caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtggagaagc ciggggcctc agtgaaggtc |  | 60                            |  |
| tcctgcaagg cttctgggta catctttacc cactatggta tcagctgggt gcgacaggcc  |  | 120                           |  |
| cctggacaag gacttgagtg ggtgggctgg atcagccctt acaatgggta cacagactat  |  | 180                           |  |
| gcacagaaac tccagggcag agtcaccttg accacagaca catccacgac cacagcctac  |  | 240                           |  |
| atggagctga ggaacctgag atctgacgac acggccatgt attactgttc gagagggagg  |  | 300                           |  |
| ggcccttact ggtccttcga tctctggggc cgtggcaccc tggtcaccgt ctctca      |  | 357                           |  |
| <210> 338                                                          |  |                               |  |
| <211> 119                                                          |  |                               |  |
| <212> PRT                                                          |  |                               |  |
| <213> 人工序列                                                         |  |                               |  |
| <220>                                                              |  |                               |  |
| <223> 合成的                                                          |  |                               |  |
| <400> 338                                                          |  |                               |  |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Glu Lys Pro Gly Ala    |  |                               |  |
| 1 5 10 15                                                          |  |                               |  |
| Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr His Tyr    |  |                               |  |
| 20 25 30                                                           |  |                               |  |
| Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val    |  |                               |  |
| 35 40 45                                                           |  |                               |  |
| Gly Trp Ile Ser Pro Tyr Asn Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Leu    |  |                               |  |
| 50 55 60                                                           |  |                               |  |
| Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Ala Tyr    |  |                               |  |
| 65 70 75 80                                                        |  |                               |  |
| Met Glu Leu Arg Asn Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys    |  |                               |  |
| 85 90 95                                                           |  |                               |  |
| Ser Arg Gly Arg Gly Pro Tyr Trp Ser Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly    |  |                               |  |
| 100 105 110                                                        |  |                               |  |
| Thr Leu Val Thr Val Ser Ser                                        |  |                               |  |
| 115                                                                |  |                               |  |
| <210> 339                                                          |  |                               |  |
| <211> 24                                                           |  |                               |  |
| <212> DNA                                                          |  |                               |  |
| <213> 人工序列                                                         |  |                               |  |
| <220>                                                              |  |                               |  |
| <223> 合成的                                                          |  |                               |  |
| <400> 339                                                          |  |                               |  |
| ggttacatct ttaccacctg tggt                                         |  | 24                            |  |
| <210> 340                                                          |  |                               |  |
| <211> 8                                                            |  |                               |  |
| <212> PRT                                                          |  |                               |  |
| <213> 人工序列                                                         |  |                               |  |
| <220>                                                              |  |                               |  |
| <223> 合成的                                                          |  |                               |  |

<400> 340  
Gly Tyr Ile Phe Thr His Tyr Gly  
1 5

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 341  |
| <211> | 24   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 341  
atcagccctt acaatggtta caca 24

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 342  |
| <211> | 8    |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 342  
Ile Ser Pro Tyr Asn Gly Tyr Thr  
1 5

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 343  |
| <211> | 36   |
| <212> | DNA  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

```
<400> 343
tcgagagggga ggggccctta ctggtccttc gatctc 36
```

|       |      |
|-------|------|
| <210> | 344  |
| <211> | 12   |
| <212> | PRT  |
| <213> | 人工序列 |

$\langle 220 \rangle$   
 $\langle 223 \rangle$  合成的

<400> 344  
Ser Arg Gly Arg Gly Pro Tyr Trp Ser Phe Asp Leu  
1 5 10

<210> 345

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<211> 249  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> hPD-L1-MMH

<220>  
<223> 1-221:NP\_054862.1之 aa 19-239

<220>  
<223> 222-249: myc-myc-六組胺酸標籤

<400> 345  
Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser  
1 5 10 15  
Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp Leu  
20 25 30  
Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile Gln  
35 40 45  
Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser Tyr Arg  
50 55 60  
Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn Ala Ala  
65 70 75 80  
Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg Cys  
85 90 95  
Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys Val  
100 105 110  
Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp Pro  
115 120 125  
Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Lys  
130 135 140  
Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly Lys  
145 150 155 160  
Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn Val Thr  
165 170 175  
Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Thr  
180 185 190  
Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val Ile  
195 200 205  
Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr Glu Gln Lys  
210 215 220  
Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu  
225 230 235 240  
Glu Asp Leu His His His His His His  
245

<210> 346  
<211> 249  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> MfPD-L1-MMH

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<220>

<223> 1-221:MFPD-L1

<220>

<223> 222-249: myc-myc-六組胺酸標籤

<400> 346

```

Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser
 1          5          10          15
Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp Leu
 20          25          30
Thr Ser Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile Gln
 35          40          45
Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Asn Tyr Arg
 50          55          60
Gln Arg Ala Gln Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn Ala Ala
 65          70          75          80
Leu Arg Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg Cys
 85          90          95
Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys Val
100          105          110
Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp Pro
115          120          125
Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Lys
130          135          140
Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly Lys
145          150          155          160
Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Leu Asn Val Thr
165          170          175
Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Ala Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Ile
180          185          190
Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val Ile
195          200          205
Pro Glu Leu Pro Leu Ala Leu Pro Pro Asn Glu Arg Thr Glu Gln Lys
210          215          220
Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu
225          230          235          240
Glu Asp Leu His His His His His
                245

```

<210> 347

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hPD-L1-hFc

<220>

<223> 1-221: NP\_054862.1之 aa 19-239

<220>

<223> 222-448: P01857之 aa 104-330

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

<400> 347

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Phe | Thr | Val | Thr | Val | Pro | Lys | Asp | Leu | Tyr | Val | Val | Glu | Tyr | Gly | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asn | Met | Thr | Ile | Glu | Cys | Lys | Phe | Pro | Val | Glu | Lys | Gln | Leu | Asp | Leu |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ala | Ala | Leu | Ile | Val | Tyr | Trp | Glu | Met | Glu | Asp | Lys | Asn | Ile | Ile | Gln |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Val | His | Gly | Glu | Glu | Asp | Leu | Lys | Val | Gln | His | Ser | Ser | Tyr | Arg |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Gln | Arg | Ala | Arg | Leu | Leu | Lys | Asp | Gln | Leu | Ser | Leu | Gly | Asn | Ala | Ala |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Leu | Gln | Ile | Thr | Asp | Val | Lys | Leu | Gln | Asp | Ala | Gly | Val | Tyr | Arg | Cys |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |
| Met | Ile | Ser | Tyr | Gly | Gly | Ala | Asp | Tyr | Lys | Arg | Ile | Thr | Val | Lys | Val |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Asn | Ala | Pro | Tyr | Asn | Lys | Ile | Asn | Gln | Arg | Ile | Leu | Val | Val | Asp | Pro |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Val | Thr | Ser | Glu | His | Glu | Leu | Thr | Cys | Gln | Ala | Glu | Gly | Tyr | Pro | Lys |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ala | Glu | Val | Ile | Trp | Thr | Ser | Ser | Asp | His | Gln | Val | Leu | Ser | Gly | Lys |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     | 160 |     |
| Thr | Thr | Thr | Thr | Asn | Ser | Lys | Arg | Glu | Glu | Lys | Leu | Phe | Asn | Val | Thr |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Ser | Thr | Leu | Arg | Ile | Asn | Thr | Thr | Thr | Asn | Glu | Ile | Phe | Tyr | Cys | Thr |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Phe | Arg | Arg | Leu | Asp | Pro | Glu | Glu | Asn | His | Thr | Ala | Glu | Leu | Val | Ile |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Pro | Glu | Leu | Pro | Leu | Ala | His | Pro | Pro | Asn | Glu | Arg | Thr | 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 |     |     |
| 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 |

|                                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| 104030_201906_ANX5_SeqListing       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|                                     |     |     | 420 |     |     |     | 425 |     |     |     | 430 |     |     |     |     |  |  |
| Leu                                 | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys |  |  |
|                                     |     |     | 435 |     |     |     | 440 |     |     |     | 445 |     |     |     |     |  |  |
| <210> 348                           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| <211> 454                           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| <212> PRT                           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| <213> 人工序列                          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| <220>                               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| <223> hPD-L1-mFc                    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| <220>                               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| <223> 1-221: NP_054862.1之 aa 19-239 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| <220>                               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| <223> 222-454: P01863之 aa 98-330    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| <400> 348                           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Phe                                 | Thr | Val | Thr | Val | Pro | Lys | Asp | Leu | Tyr | Val | Val | Glu | Tyr | Gly | Ser |  |  |
| 1                                   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     | 15  |     |     |     |  |  |
| Asn                                 | Met | Thr | Ile | Glu | Cys | Lys | Phe | Pro | Val | Glu | Lys | Gln | Leu | Asp | Leu |  |  |
|                                     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     | 30  |     |     |     |     |  |  |
| Ala                                 | Ala | Leu | Ile | Val | Tyr | Trp | Glu | Met | Glu | Asp | Lys | Asn | Ile | Ile | Gln |  |  |
|                                     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |  |
| Phe                                 | Val | His | Gly | Glu | Glu | Asp | Leu | Lys | Val | Gln | His | Ser | Ser | Tyr | Arg |  |  |
|                                     |     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |  |
| Gln                                 | Arg | Ala | Arg | Leu | Leu | Lys | Asp | Gln | Leu | Ser | Leu | Gly | Asn | Ala | Ala |  |  |
| 65                                  |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |     |     |  |  |
| Leu                                 | Gln | Ile | Thr | Asp | Val | Lys | Leu | Gln | Asp | Ala | Gly | Val | Tyr | Arg | Cys |  |  |
|                                     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     | 95  |     |     |     |     |  |  |
| Met                                 | Ile | Ser | Tyr | Gly | Gly | Ala | Asp | Tyr | Lys | Arg | Ile | Thr | Val | Lys | Val |  |  |
|                                     |     |     | 100 |     |     |     | 105 |     |     |     | 110 |     |     |     |     |  |  |
| Asn                                 | Ala | Pro | Tyr | Asn | Lys | Ile | Asn | Gln | Arg | Ile | Leu | Val | Val | Asp | Pro |  |  |
|                                     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |  |
| Val                                 | Thr | Ser | Glu | His | Glu | Leu | Thr | Cys | Gln | Ala | Glu | Gly | Tyr | Pro | Lys |  |  |
|                                     |     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |  |  |
| Ala                                 | Glu | Val | Ile | Trp | Thr | Ser | Ser | Asp | His | Gln | Val | Leu | Ser | Gly | Lys |  |  |
| 145                                 |     |     |     | 150 |     |     |     | 155 |     |     |     | 160 |     |     |     |  |  |
| Thr                                 | Thr | Thr | Thr | Asn | Ser | Lys | Arg | Glu | Glu | Lys | Leu | Phe | Asn | Val | Thr |  |  |
|                                     |     |     | 165 |     |     |     | 170 |     |     |     | 175 |     |     |     |     |  |  |
| Ser                                 | Thr | Leu | Arg | Ile | Asn | Thr | Thr | Thr | Asn | Glu | Ile | Phe | Tyr | Cys | Thr |  |  |
|                                     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |     |  |  |
| Phe                                 | Arg | Arg | Leu | Asp | Pro | Glu | Glu | Asn | His | Thr | Ala | Glu | Leu | Val | Ile |  |  |
|                                     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |  |
| Pro                                 | Glu | Leu | Pro | Leu | Ala | His | Pro | Pro | Asn | Glu | Arg | Thr | Glu | Pro | Arg |  |  |
|                                     |     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |  |  |
| Gly                                 | Pro | Thr | Ile | Lys | Pro | Cys | Pro | Pro | Cys | Lys | Cys | Pro | Ala | Pro | Asn |  |  |
| 225                                 |     |     |     | 230 |     |     |     | 235 |     |     |     | 240 |     |     |     |  |  |
| Leu                                 | Leu | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Ile | Phe | Pro | Pro | Lys | Ile | Lys | Asp |  |  |
|                                     |     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     | 255 |     |     |     |     |  |  |
| Val                                 | Leu | Met | Ile | Ser | Leu | Ser | Pro | Ile | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp |  |  |
|                                     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |     |  |  |
| Val                                 | Ser | Glu | Asp | Asp | Pro | Asp | Val | Gln | Ile | Ser | Trp | Phe | Val | Asn | Asn |  |  |

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Glu | Val | His | Thr | Ala | Gln | Thr | Gln | Thr | His | Arg | Glu | Asp | Tyr | Asn |
| 275 |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |     |
| 290 | Ser | Thr | Leu | Arg | Val | Val | Ser | Ala | Leu | Pro | Ile | Gln | His | Gln | Asp |
| 305 | Met | Ser | Gly | Lys | Glu | Phe | Lys | Cys | Lys | Val | Asn | Asn | Lys | Asp | Leu |
|     |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
|     |     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |
|     | Ala | Pro | Ile | Glu | Arg | Thr | Ile | Ser | Lys | Pro | Lys | Gly | Ser | Val | Arg |
|     |     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     |     | 350 |
|     | Pro | Gln | Val | Tyr | Val | Leu | Pro | Pro | Pro | Glu | Glu | Glu | Met | Thr | Lys |
|     |     |     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     |     | 365 |
|     | Gln | Val | Thr | Leu | Thr | Cys | Met | Val | Thr | Asp | Phe | Met | Pro | Glu | Asp |
|     |     |     |     | 370 |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     | Ile |
|     | Tyr | Val | Glu | Trp | Thr | Asn | Asn | Gly | Lys | Thr | Glu | Leu | Asn | Tyr | Lys |
|     |     |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     | 400 |
|     | Thr | Glu | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Tyr | Phe | Met | Tyr | Ser |
|     |     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |
|     | Leu | Arg | Val | Glu | Lys | Lys | Asn | Trp | Val | Glu | Arg | Asn | Ser | Tyr | Ser |
|     |     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     |     | 430 |
|     | Ser | Val | Val | His | Glu | Gly | Leu | His | Asn | His | His | Thr | Thr | Lys | Ser |
|     |     |     |     | 435 |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     | Phe |
|     | Ser | Arg | Thr | Pro | Gly | Lys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     | 450 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 349  
<211> 379  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> hPD-1-mFc

<220>  
<223> 1-146:具有 C93S 之 NP\_005009.2的 aa 25-170

<220>  
<223> 147-379:P01863之 aa 98-330

<400> 349

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asp | Ser | Pro | Asp | Arg | Pro | Trp | Asn | Pro | Pro | Thr | Phe | Ser | Pro | Ala |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |
| Leu | Leu | Val | Val | Thr | Glu | Gly | Asp | Asn | Ala | Thr | Phe | Thr | Cys | Ser | Phe |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ser | Asn | Thr | Ser | Glu | Ser | Phe | Val | Leu | Asn | Trp | Tyr | Arg | Met | Ser | Pro |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Ser | Asn | Gln | Thr | Asp | Lys | Leu | Ala | Ala | Phe | Pro | Glu | Asp | Arg | Ser | Gln |
|     |     |     | 50  |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Pro | Gly | Gln | Asp | Ser | Arg | Phe | Arg | Val | Thr | Gln | Leu | Pro | Asn | Gly | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |     |
| Asp | Phe | His | Met | Ser | Val | Val | Arg | Ala | Arg | Arg | Asn | Asp | Ser | Gly | Thr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |
| Tyr | Leu | Cys | Gly | Ala | Ile | Ser | Leu | Ala | Pro | Lys | Ala | Gln | Ile | Lys | Glu |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Ser | Leu | Arg | Ala | Glu | Leu | Arg | Val | Thr | Glu | Arg | Arg | Ala | Glu | Val | Pro |

| 104030_201906_ANX5_SeqListing |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| 115                           |     |     | 120 |     |     | 125 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Thr                           | Ala | His | Pro | Ser | Pro | Ser | Pro | Arg | Pro | Ala | Gly | Gln | Phe | Gln | Thr |  |  |
| 130                           |     |     | 135 |     |     | 140 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Leu                           | Val | Glu | Pro | Arg | Gly | Pro | Thr | Ile | Lys | Pro | Cys | Pro | Pro | Cys | Lys |  |  |
| 145                           |     |     | 150 |     |     | 155 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Cys                           | Pro | Ala | Pro | Asn | Leu | Leu | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Ile | Phe | Pro |  |  |
| 165                           |     |     | 170 |     |     | 175 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Pro                           | Lys | Ile | Lys | Asp | Val | Leu | Met | Ile | Ser | Leu | Ser | Pro | Ile | Val | Thr |  |  |
| 180                           |     |     | 185 |     |     | 190 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Cys                           | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | Glu | Asp | Asp | Pro | Asp | Val | Gln | Ile | Ser |  |  |
| 195                           |     |     | 200 |     |     | 205 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Trp                           | Phe | Val | Asn | Asn | Val | Glu | Val | His | Thr | Ala | Gln | Thr | Gln | Thr | His |  |  |
| 210                           |     |     | 215 |     |     | 220 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Arg                           | Glu | Asp | Tyr | Asn | Ser | Thr | Leu | Arg | Val | Val | Ser | Ala | Leu | Pro | Ile |  |  |
| 225                           |     |     | 230 |     |     | 235 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Gln                           | His | Gln | Asp | Trp | Met | Ser | Gly | Lys | Glu | Phe | Lys | Cys | Lys | Val | Asn |  |  |
| 245                           |     |     | 250 |     |     | 255 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Asn                           | Lys | Asp | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Arg | Thr | Ile | Ser | Lys | Pro | Lys |  |  |
| 260                           |     |     | 265 |     |     | 270 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Gly                           | Ser | Val | Arg | Ala | Pro | Gln | Val | Tyr | Val | Leu | Pro | Pro | Pro | Glu | Glu |  |  |
| 275                           |     |     | 280 |     |     | 285 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Glu                           | Met | Thr | Lys | Lys | Gln | Val | Thr | Leu | Thr | Cys | Met | Val | Thr | Asp | Phe |  |  |
| 290                           |     |     | 295 |     |     | 300 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Met                           | Pro | Glu | Asp | Ile | Tyr | Val | Glu | Trp | Thr | Asn | Asn | Gly | Lys | Thr | Glu |  |  |
| 305                           |     |     | 310 |     |     | 315 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Leu                           | Asn | Tyr | Lys | Asn | Thr | Glu | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Tyr |  |  |
| 325                           |     |     | 330 |     |     | 335 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Phe                           | Met | Tyr | Ser | Lys | Leu | Arg | Val | Glu | Lys | Lys | Asn | Trp | Val | Glu | Arg |  |  |
| 340                           |     |     | 345 |     |     | 350 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Asn                           | Ser | Tyr | Ser | Cys | Ser | Val | Val | His | Glu | Gly | Leu | His | Asn | His | His |  |  |
| 355                           |     |     | 360 |     |     | 365 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
| Thr                           | Thr | Lys | Ser | Phe | Ser | Arg | Thr | Pro | Gly | Lys |     |     |     |     |     |  |  |
| 370                           |     |     | 375 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |

- <210> 350

<211> 373

<212> PRT

<213> 人工序列
- <220>

<223> hPD-1-hFc
- <220>

<223> 1-146:具有 C93S 之 NP\_005009.2的 aa 25-170
- <220>

<223> 147-373:P01857之 aa 104-330

|           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| <400> 350 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Leu       | Asp | Ser | Pro | Asp | Arg | Pro | Trp | Asn | Pro | Pro | Thr | Phe | Ser | Pro | Ala |  |
| 1         |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |  |
| Leu       | Leu | Val | Val | Thr | Glu | Gly | Asp | Asn | Ala | Thr | Phe | Thr | Cys | Ser | Phe |  |
|           |     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |  |
| Ser       | Asn | Thr | Ser | Glu | Ser | Phe | Val | Leu | Asn | Trp | Tyr | Arg | Met | Ser | Pro |  |

| 104030_201906_ANX5_SeqListing |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
|                               | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     |  |  |
| Ser                           | Asn | Gln | Thr | Asp | Lys | Leu | Ala | Ala | Phe | Pro | Glu | Asp | Arg | Ser | Gln |  |  |
|                               | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |  |  |
| Pro                           | Gly | Gln | Asp | Ser | Arg | Phe | Arg | Val | Thr | Gln | Leu | Pro | Asn | Gly | Arg |  |  |
| 65                            |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |  |  |
| Asp                           | Phe | His | Met | Ser | Val | Val | Arg | Ala | Arg | Arg | Asn | Asp | Ser | Gly | Thr |  |  |
|                               |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |  |
| Tyr                           | Leu | Cys | Gly | Ala | Ile | Ser | Leu | Ala | Pro | Lys | Ala | Gln | Ile | Lys | Glu |  |  |
|                               |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |  |
| Ser                           | Leu | Arg | Ala | Glu | Leu | Arg | Val | Thr | Glu | Arg | Arg | Ala | Glu | Val | Pro |  |  |
|                               |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |  |
| Thr                           | Ala | His | Pro | Ser | Pro | Ser | Pro | Arg | Pro | Ala | Gly | Gln | Phe | Gln | Thr |  |  |
|                               | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |  |
| Leu                           | Val | Asp | Lys | Thr | His | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Glu | Leu |  |  |
| 145                           |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     | 160 |     |  |  |
| Leu                           | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr |  |  |
|                               |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |  |
| Leu                           | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val |  |  |
|                               |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |  |
| Ser                           | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val |  |  |
|                               | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |  |
| Glu                           | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser |  |  |
|                               | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |  |
| Thr                           | Tyr | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu |  |  |
| 225                           |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     | 240 |     |  |  |
| Asn                           | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu | Pro | Ala |  |  |
|                               |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |  |
| Pro                           | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro |  |  |
|                               |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |  |
| Gln                           | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Asp | Glu | Leu | Thr | Lys | Asn | Gln |  |  |
|                               | 275 |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |  |
| Val                           | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala |  |  |
|                               | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |  |
| Val                           | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr |  |  |
| 305                           |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     | 320 |     |  |  |
| Pro                           | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu |  |  |
|                               |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |  |
| Thr                           | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser |  |  |
|                               |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |  |
| Val                           | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser |  |  |
|                               | 355 |     |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |  |
| Leu                           | Ser | Pro | Gly | Lys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|                               | 370 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |

- <210> 351
- <211> 290
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> hPD-L1 NP\_054862.1
- <400> 351
- Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu

| 104030_201906_ANX5_SeqListing |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1                             |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     | 15  |     |     |     |
| Asn                           | Ala | Phe | Thr | Val | Thr | Val | Pro | Lys | Asp | Leu | Tyr | Val | Val | Glu | Tyr |
|                               |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     | 30  |     |     |     |     |
| Gly                           | Ser | Asn | Met | Thr | Ile | Glu | Cys | Lys | Phe | Pro | Val | Glu | Lys | Gln | Leu |
|                               |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     | 45  |     |     |     |     |
| Asp                           | Leu | Ala | Ala | Leu | Ile | Val | Tyr | Trp | Glu | Met | Glu | Asp | Lys | Asn | Ile |
|                               |     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Ile                           | Gln | Phe | Val | His | Gly | Glu | Glu | Asp | Leu | Lys | Val | Gln | His | Ser | Ser |
| 65                            |     |     |     | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |     |     |
| Tyr                           | Arg | Gln | Arg | Ala | Arg | Leu | Leu | Lys | Asp | Gln | Leu | Ser | Leu | Gly | Asn |
|                               |     |     | 85  |     |     |     | 90  |     |     |     | 95  |     |     |     |     |
| Ala                           | Ala | Leu | Gln | Ile | Thr | Asp | Val | Lys | Leu | Gln | Asp | Ala | Gly | Val | Tyr |
|                               |     |     | 100 |     |     |     | 105 |     |     |     | 110 |     |     |     |     |
| Arg                           | Cys | Met | Ile | Ser | Tyr | Gly | Gly | Ala | Asp | Tyr | Lys | Arg | Ile | Thr | Val |
|                               |     |     | 115 |     |     |     | 120 |     |     |     | 125 |     |     |     |     |
| Lys                           | Val | Asn | Ala | Pro | Tyr | Asn | Lys | Ile | Asn | Gln | Arg | Ile | Leu | Val | Val |
|                               |     |     | 130 |     |     |     | 135 |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Asp                           | Pro | Val | Thr | Ser | Glu | His | Glu | Leu | Thr | Cys | Gln | Ala | Glu | Gly | Tyr |
| 145                           |     |     |     | 150 |     |     |     | 155 |     |     |     | 160 |     |     |     |
| Pro                           | Lys | Ala | Glu | Val | Ile | Trp | Thr | Ser | Ser | Asp | His | Gln | Val | Leu | Ser |
|                               |     |     | 165 |     |     |     | 170 |     |     |     | 175 |     |     |     |     |
| Gly                           | Lys | Thr | Thr | Thr | Thr | Asn | Ser | Lys | Arg | Glu | Glu | Lys | Leu | Phe | Asn |
|                               |     |     | 180 |     |     |     | 185 |     |     |     | 190 |     |     |     |     |
| Val                           | Thr | Ser | Thr | Leu | Arg | Ile | Asn | Thr | Thr | Thr | Asn | Glu | Ile | Phe | Tyr |
|                               |     |     | 195 |     |     |     | 200 |     |     |     | 205 |     |     |     |     |
| Cys                           | Thr | Phe | Arg | Arg | Leu | Asp | Pro | Glu | Glu | Asn | His | Thr | Ala | Glu | Leu |
|                               |     |     | 210 |     |     |     | 215 |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Val                           | Ile | Pro | Glu | Leu | Pro | Leu | Ala | His | Pro | Pro | Asn | Glu | Arg | Thr | His |
| 225                           |     |     |     | 230 |     |     |     | 235 |     |     |     | 240 |     |     |     |
| Leu                           | Val | Ile | Leu | Gly | Ala | Ile | Leu | Leu | Cys | Leu | Gly | Val | Ala | Leu | Thr |
|                               |     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     | 255 |     |     |     |     |
| Phe                           | Ile | Phe | Arg | Leu | Arg | Lys | Gly | Arg | Met | Met | Asp | Val | Lys | Lys | Cys |
|                               |     |     | 260 |     |     |     | 265 |     |     |     | 270 |     |     |     |     |
| Gly                           | Ile | Gln | Asp | Thr | Asn | Ser | Lys | Lys | Gln | Ser | Asp | Thr | His | Leu | Glu |
|                               |     |     | 275 |     |     |     | 280 |     |     |     | 285 |     |     |     |     |
| Glu                           | Thr |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|                               |     | 290 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 352  
<211> 288  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> hPD-1 NP\_005009.2

|           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| <400> 352 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Met       | Gln | Ile | Pro | Gln | Ala | Pro | Trp | Pro | Val | Val | Trp | Ala | Val | Leu | Gln |  |
| 1         |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |  |
| Leu       | Gly | Trp | Arg | Pro | Gly | Trp | Phe | Leu | Asp | Ser | Pro | Asp | Arg | Pro | Trp |  |
|           |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |  |
| Asn       | Pro | Pro | Thr | Phe | Ser | Pro | Ala | Leu | Leu | Val | Val | Thr | Glu | Gly | Asp |  |
|           |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |
| Asn       | Ala | Thr | Phe | Thr | Cys | Ser | Phe | Ser | Asn | Thr | Ser | Glu | Ser | Phe | Val |  |

104030\_201906\_ANX5\_SeqListing

|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 50 | Leu | Asn | Trp | Tyr | Arg | Met | 55  | Ser | Pro | Ser | Asn | Gln | Thr | Asp | Lys | Leu | Ala |
| 65 | Ala | Phe | Pro | Glu | Asp | Arg | 70  | Ser | Gln | Pro | Gly | 75  | Gln | Asp | Cys | Arg | 80  |
|    |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
|    | Val | Thr | Gln | Leu | Pro | Asn | 100 | Gly | Arg | Asp | Phe | 105 | His | Met | Ser | Val | Arg |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 110 |     |
|    | Ala | Arg | Arg | Asn | Asp | Ser | 115 | Gly | Thr | Tyr | Leu | 120 | Cys | Gly | Ala | Ile | Ser |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Ala | Pro | Lys | Ala | Gln | Ile | 130 | Lys | Glu | Ser | Leu | 135 | Arg | Ala | Glu | Leu | Arg |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Thr | Glu | Arg | Arg | Ala | Glu | 145 | Val | Pro | Thr | Ala | 150 | His | Pro | Ser | Pro | Ser |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Arg | Pro | Ala | Gly | Gln | Phe | 165 | Gln | Thr | Leu | Val | 170 | Val | Gly | Val | Val | Gly |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Leu | Leu | Gly | Ser | Leu | Val | 180 | Leu | Leu | Val | Trp | 185 | Val | Leu | Ala | Val | Ile |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Ser | Arg | Ala | Ala | Arg | Gly | 195 | Thr | Ile | Gly | Ala | 200 | Arg | Arg | Thr | Gly | Gln |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Leu | Lys | Glu | Asp | Pro | Ser | 210 | Ala | Val | Pro | Val | 215 | Phe | Ser | Val | Asp | Tyr |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Glu | Leu | Asp | Phe | Gln | Trp | 225 | Arg | Glu | Lys | Thr | 230 | Pro | Glu | Pro | Pro | Val |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Cys | Val | Pro | Glu | Gln | Thr | 245 | Glu | Tyr | Ala | Thr | 250 | Ile | Val | Phe | Pro | Ser |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Met | Gly | Thr | Ser | Ser | Pro | 260 | Ala | Arg | Arg | Gly | 265 | Ser | Ala | Asp | Gly | Pro |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Ser | Ala | Gln | Pro | Leu | Arg | 275 | Pro | Glu | Asp | Gly | 280 | His | Cys | Ser | Trp | Pro |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 353  
 <211> 454  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> MfPD-L1-mFc  
 aa1-221: Mf PD-L1 ( XP\_005581836.1之aa 19-239)  
 aa222-454: mFc 標籤( P01863之aa 98-330)

<400> 353  
 Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp Leu  
 20 25 30  
 Thr Ser Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile Gln  
 35 40 45  
 Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Asn Tyr Arg  
 50 55 60  
 Gln Arg Ala Gln Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn Ala Ala  
 65 70 75 80  
 Leu Arg Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg Cys  
 85 90 95  
 Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys Val

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |
| Asn | Ala | Pro | Tyr | Asn | Lys | Ile | Asn | Gln | Arg | Ile | Leu | Val | Val | Asp | Pro |  |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |
| Val | Thr | Ser | Glu | His | Glu | Leu | Thr | Cys | Gln | Ala | Glu | Gly | Tyr | Pro | Lys |  |
|     |     | 130 |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
| Ala | Glu | Val | Ile | Trp | Thr | Ser | Ser | Asp | His | Gln | Val | Leu | Ser | Gly | Lys |  |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
| Thr | Thr | Thr | Thr | Asn | Ser | Lys | Arg | Glu | Glu | Lys | Leu | Leu | Asn | Val | Thr |  |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
| Ser | Thr | Leu | Arg | Ile | Asn | Thr | Thr | Ala | Asn | Glu | Ile | Phe | Tyr | Cys | Ile |  |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
| Phe | Arg | Arg | Leu | Asp | Pro | Glu | Glu | Asn | His | Thr | Ala | Glu | Leu | Val | Ile |  |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
| Pro | Glu | Leu | Pro | Leu | Ala | Leu | Pro | Pro | Asn | Glu | Arg | Thr | Glu | Pro | Arg |  |
|     |     | 210 |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
| Gly | Pro | Thr | Ile | Lys | Pro | Cys | Pro | Pro | Cys | Lys | Cys | Pro | Ala | Pro | Asn |  |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
| Leu | Leu | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Ile | Phe | Pro | Pro | Lys | Ile | Lys | Asp |  |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
| Val | Leu | Met | Ile | Ser | Leu | Ser | Pro | Ile | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
| Val | Ser | Glu | Asp | Asp | Pro | Asp | Val | Gln | Ile | Ser | Trp | Phe | Val | Asn | Asn |  |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
| Val | Glu | Val | His | Thr | Ala | Gln | Thr | Gln | Thr | His | Arg | Glu | Asp | Tyr | Asn |  |
|     |     | 290 |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
| Ser | Thr | Leu | Arg | Val | Val | Ser | Ala | Leu | Pro | Ile | Gln | His | Gln | Asp | Trp |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
| Met | Ser | Gly | Lys | Glu | Phe | Lys | Cys | Lys | Val | Asn | Asn | Lys | Asp | Leu | Pro |  |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |
| Ala | Pro | Ile | Glu | Arg | Thr | Ile | Ser | Lys | Pro | Lys | Gly | Ser | Val | Arg | Ala |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |
| Pro | Gln | Val | Tyr | Val | Leu | Pro | Pro | Pro | Glu | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Lys |  |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
| Gln | Val | Thr | Leu | Thr | Cys | Met | Val | Thr | Asp | Phe | Met | Pro | Glu | Asp | Ile |  |
|     |     | 370 |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
| Tyr | Val | Glu | Trp | Thr | Asn | Asn | Gly | Lys | Thr | Glu | Leu | Asn | Tyr | Lys | Asn |  |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
| Thr | Glu | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Tyr | Phe | Met | Tyr | Ser | Lys |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |
| Leu | Arg | Val | Glu | Lys | Lys | Asn | Trp | Val | Glu | Arg | Asn | Ser | Tyr | Ser | Cys |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |

## 申請專利範圍

1. 一種與人類程序性死亡配體 1 (PD-L1)蛋白結合之分離的抗體或其抗原結合片段，其中該分離的抗體或其抗原結合片段係包括具有 SEQ ID NO: 82 胺基酸序列的重鏈可變區(HCVR)之三個重鏈互補決定區(CDR)(HCDR1、HCDR2 及 HCDR3)，以及具有 SEQ ID NO: 90 胺基酸序列的輕鏈可變區(LCVR)之三個輕鏈 CDR (LCDR1、LCDR2 及 LCDR3)。
2. 如請求項 1 之分離的抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段係包括具有 SEQ ID NO: 84 胺基酸序列之 HCDR1，具有 SEQ ID NO: 86 胺基酸序列之 HCDR2，具有 SEQ ID NO: 88 胺基酸序列之 HCDR3，具有 SEQ ID NO: 92 胺基酸序列之 LCDR1，具有 SEQ ID NO: 94 胺基酸序列之 LCDR2，及具有 SEQ ID NO: 96 胺基酸序列之 LCDR3。
3. 如請求項 1 或 2 之分離的抗體或其抗原結合片段，其係包括 SEQ ID NO: 82/90 的 HCVR/LCVR 胺基酸序列對。
4. 如請求項 1 或 2 之分離的抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包括 IgG1 或 IgG4 抗體。
5. 如請求項 1 或 2 項之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體為多專一性抗原結合分子。
6. 一種醫藥組成物，其係包括如請求項 1 或 2 項之與 PD-L1 結合之分離的抗體或其抗原結合片段以及醫藥上可接受的載劑或稀釋劑。
7. 一種分離的多核苷酸分子，其係包括編碼如請求項 1 或 2 項的抗體或其抗原結合片段之 HCVR 及 LCVR 的多核苷酸序列。
8. 一種載體，其係包括如請求項 7 之多核苷酸序列。
9. 一種包含如請求項 8 之載體的細胞。
10. 一種製造抗-PD1 抗體或其抗原結合片段之方法，其包括在得以產生抗體或其抗原結合片段之條件下培養如請求項 9 之宿主細胞，並回收所產生的抗體或片段。

11. 如請求項 10 之方法，其進一步包括調配該抗體或其抗原結合片段為包括可接受載劑之醫藥組成物。
12. 一種如請求項 1 之分離的抗體或其抗原結合片段之用途，其用於製造增進免疫反應之醫藥品。
13. 一種如請求項 1 之分離的抗體或其抗原結合片段之用途，其用於製造於一患者中抑制 T-調節(Treg)細胞之醫藥品。
14. 一種如請求項 1 之分離的抗體或其抗原結合片段之用途，其用於製造於一患者中增進 T-細胞活化之醫藥品。
15. 一種如請求項 2 之分離的抗體或其抗原結合片段之用途，其用於製造增進免疫反應之醫藥品。
16. 一種如請求項 2 之分離的抗體或其抗原結合片段之用途，其用於製造於一患者中抑制 T-調節(Treg)細胞之醫藥品。
17. 一種如請求項 2 之分離的抗體或其抗原結合片段之用途，其用於製造於一患者中增進 T-細胞活化之醫藥品。
18. 如請求項 12-17 中任一項之用途，其中該患者係患有包括下列的疾病或病症：腎細胞癌、腦癌、頭和頸部之鱗狀細胞癌、胃癌、腎癌、乳癌、卵巢癌、前列腺癌、非小細胞肺癌、大腸直腸癌、多發性骨髓瘤或黑色素瘤。
19. 如請求項 12-17 中任一項之用途，其中該患者係患有包括下列的病毒所造成之慢性病毒感染：HIV、HCV、HBV、HPV、LCMV 或 SIV。
20. 一種如請求項 1 之分離的抗體或其抗原結合片段之用途，其用於製造於一患者中抑制腫瘤或腫瘤細胞生長之醫藥品。
21. 如請求項 20 之用途，其中該腫瘤或腫瘤細胞係包括腎細胞癌、腦癌、頭和頸部之鱗狀細胞癌、胃癌、腎癌、乳癌、卵巢癌、前列腺癌、非小細胞肺癌、大腸直腸癌、多發性骨髓瘤或黑色素瘤。
22. 一種如請求項 2 之分離的抗體或其抗原結合片段之用途，其用於製造於一患者中抑制腫瘤或腫瘤細胞生長之醫藥品。
23. 如請求項 22 之用途，其中該腫瘤或腫瘤細胞包括腎細胞癌、腦癌、頭和頸部之鱗狀細胞癌、胃癌、腎癌、乳癌、卵巢癌、前列腺癌、非小

細胞肺癌、大腸直腸癌、多發性骨髓瘤或黑色素瘤。

24. 如請求項 12-17 或 20-23 中任一項之用途，其中該抗體或其抗原結合片段與第二治療劑或療法組合使用。
25. 如請求項 24 之用途，其中該第二治療劑或療法係包括 NSAID、皮質類固醇、T-細胞共抑制劑之抗體、腫瘤特異性抗原之抗體、病毒感染的細胞抗原之抗體、PD-1 之抗體、吡咯胺-2,3-二氧酶抑制劑、Ang2 抑制劑、EGFR 抑制劑、TGFβ抑制劑、膳食補充劑、VEGF 拮抗劑、手術、放射線、疫苗、化療劑、細胞毒性劑或抗-病毒藥物。
26. 如請求項 12-17 或 20-23 中任一項之用途，其中該抗體或其抗原結合片段係以皮下、靜脈內、皮內、腹膜內、口服、肌肉內或顱內來給藥。
27. 如請求項 12-17 或 20-23 中任一項之用途，其中該抗體或抗原結合片段之給藥劑量係為 0.1 mg/kg 患者體重至 60 mg/kg 患者體重。
28. 如請求項 25 之用途，其中該膳食補充劑為抗氧化劑。
29. 如請求項 25 之用途，其中該 VEGF 拮抗劑為抗-VEGF 抗體、VEGF 受體的小分子激酶抑制劑或 VEGF-抑制融合蛋白。