



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113330026 A

(43) 申请公布日 2021.08.31

(21) 申请号 201980081477.8

(22) 申请日 2019.10.23

(30) 优先权数据

62/749,662 2018.10.23 US

62/773,839 2018.11.30 US

62/807,363 2019.02.19 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.06.09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/057741 2019.10.23

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/086776 EN 2020.04.30

(71) 申请人 美真达治疗公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 R.帕尔乔杜里 A.博伊塔诺

M.库克 C.F.麦克唐纳

B.R.皮尔斯 G.N.萨马

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105

代理人 易方方

(51) Int.Cl.

C07K 16/00 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/36 (2006.01)

权利要求书15页 说明书148页

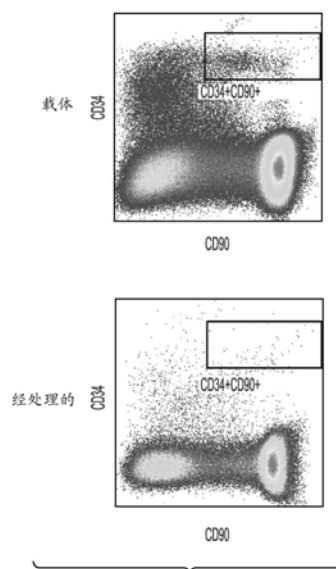
序列表134页 附图43页

(54) 发明名称

Fc沉默的抗体药物缀合物(ADC)及其用途

(57) 摘要

公开了具有Fc区域的抗体和抗体药物缀合物,所述Fc区域具有产生基本上沉默的Fc区域的取代。本文所述的抗体和抗体药物缀合物可用于细胞耗尽和治疗各种造血系统疾病、代谢紊乱、癌症,例如急性髓细胞性白血病和自身免疫性疾病等。本文所述的组合物和方法可用于例如通过耗尽例如CD45+或CD117+癌细胞群或CD45+自身免疫细胞群来直接治疗病症。本文所述的组合物和方法还可以通过在移植程序之前选择性地耗尽内源性造血干细胞来用于使患者做好造血干细胞移植疗法的准备和改善造血干细胞移植的植入。



1. 抗体或其抗原结合部分, 包含Fc区域, 其中所述Fc区域包含L234、L235 (EU索引) 和D265 (EU索引) 位处的氨基酸取代。

2. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述D265氨基酸取代是D265C或D265A (EU索引)。

3. 根据权利要求1或2所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述L235氨基酸取代是L235A。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含N297位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

6. 根据权利要求5所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q (EU索引)。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含E233位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

8. 根据权利要求7所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述E233氨基酸取代是E233P (EU索引)。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含G236 (EU索引) 的缺失。

10. 根据权利要求1-9中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含P331位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

11. 根据权利要求10所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述P331氨基酸取代是P331G。

12. 根据权利要求1-9中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域不包含P331位 (EU索引) 处的取代。

13. 根据权利要求1-12中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含P329位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

14. 根据权利要求13所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述P329氨基酸取代是P329G。

15. 根据权利要求1-12中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域不包含P329位 (EU索引) 处的取代。

16. 根据权利要求1-15中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含I253位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

17. 根据权利要求16所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述I253氨基酸取代是I253A。

18. 根据权利要求1-17中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含H310位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

19. 根据权利要求18所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述H310氨基酸取代是H310A。

20. 抗体或其抗原结合部分, 其包含Fc区域, 其中所述Fc区域包含N297和D265位 (EU索

引)处的氨基酸取代。

21. 根据权利要求20所述的抗体或其抗原结合部分,其中D265位处的氨基酸取代是D265C或D265A(EU索引)。

22. 根据权利要求20或21所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q(EU索引)。

23. 根据权利要求20-22中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含L234和L235位(EU索引)处的氨基酸取代。

24. 根据权利要求23所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。

25. 根据权利要求23或24所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述L235氨基酸取代是L235A。

26. 根据权利要求20-25中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含E233位(EU索引)处的氨基酸取代。

27. 根据权利要求26所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述E233氨基酸取代是E233P(EU索引)。

28. 根据权利要求20-27中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含G236(EU索引)的缺失。

29. 根据权利要求20-28中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含P331位(EU索引)处的氨基酸取代。

30. 根据权利要求29所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述P331氨基酸取代是P331G。

31. 根据权利要求20-28中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域不包含P331位(EU索引)处的取代。

32. 根据权利要求20-31中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含P329位(EU索引)处的氨基酸取代。

33. 根据权利要求32所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述P329氨基酸取代是P329G。

34. 根据权利要求20-31中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域不包含P329位(EU索引)处的取代。

35. 根据权利要求20-34中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含I253位(EU索引)处的氨基酸取代。

36. 根据权利要求35所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述I253氨基酸取代是I253A。

37. 根据权利要求20-36中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含H310位(EU索引)处的氨基酸取代。

38. 根据权利要求37所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述H310氨基酸取代是H310A。

39. 抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含E233、L234、L235和D265位(EU索引)处的氨基酸取代和G236(EU索引)的缺失,以及D265位(EU索引)处的氨基酸

取代。

40. 根据权利要求39所述的抗体或其抗原结合部分,其中D265处的氨基酸取代是D265C或D265A (EU索引)。

41. 根据权利要求39或40所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。

42. 根据权利要求39-41中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述L235氨基酸取代是L235A。

43. 根据权利要求39-42中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述E233氨基酸取代是E233P (EU索引)。

44. 根据权利要求39-43中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含N297位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

45. 根据权利要求44所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q (EU索引)。

46. 根据权利要求39-45中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含P331位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

47. 根据权利要求46所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述P331氨基酸取代是P331G。

48. 根据权利要求39-45中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域不包含P331位 (EU索引) 处的取代。

49. 根据权利要求39-48中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含P329位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

50. 根据权利要求49所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述P329氨基酸取代是P329G。

51. 根据权利要求39-48中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中Fc区域不包含P329位 (EU索引) 处的取代。

52. 根据权利要求39-51中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中Fc区域还包含I253位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

53. 根据权利要求52所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述I253氨基酸取代是I253A。

54. 根据权利要求39-53中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含H310位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

55. 根据权利要求54所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述H310氨基酸取代是H310A。

56. 抗体或其抗原结合部分,包含Fc区域,其中所述Fc区域包含H435和D265位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

57. 根据权利要求56所述的抗体或其抗原结合部分,其中D265位处的氨基酸取代是D265C或D265A (EU索引)。

58. 根据权利要求56或57所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述H435氨基酸取代是H435A。

59. 根据权利要求56-58中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含N297位(EU索引)处的氨基酸取代。

60. 根据权利要求59所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q(EU索引)。

61. 根据权利要求56-60中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含L234和L235位(EU索引)处的氨基酸取代。

62. 根据权利要求61所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。

63. 根据权利要求61或62所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述L235氨基酸取代是L235A。

64. 根据权利要求56-63中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含E233位(EU索引)处的氨基酸取代。

65. 根据权利要求64所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述E233氨基酸取代是E233P(EU索引)。

66. 根据权利要求56-65中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含G236(EU索引)的缺失。

67. 根据权利要求56-66中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含P331位(EU索引)处的氨基酸取代。

68. 根据权利要求67所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述P331氨基酸取代是P331G。

69. 根据权利要求56-66中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域不包含P331位(EU索引)处的取代。

70. 根据权利要求56-69中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含P329位(EU索引)处的氨基酸取代。

71. 根据权利要求70所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述P329氨基酸取代是P329G。

72. 根据权利要求56-69中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域不包含P329位(EU索引)处的取代。

73. 根据权利要求56-72中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含I253位(EU索引)处的氨基酸取代。

74. 根据权利要求73所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述I253氨基酸取代是I253A。

75. 根据权利要求56-74中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中Fc区域还包含H310位(EU索引)处的氨基酸取代。

76. 根据权利要求75所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述H310氨基酸取代是H310A。

77. 抗体或其抗原结合部分, 包含Fc区域, 其中所述Fc区域包含L234和L235位(EU索引)处的氨基酸取代和P329(EU索引)氨基酸取代。

78. 根据权利要求77所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述L234氨基酸取代是L234A

或L234V。

79. 根据权利要求77或78所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述L235氨基酸取代是L235A。

80. 根据权利要求77-79中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含D265位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

81. 根据权利要求80所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述D265氨基酸取代是D265C或D265A (EU索引)。

82. 根据权利要求77-81中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含N297位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

83. 根据权利要求82的抗体或其抗原结合部分, 其中所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q (EU索引)。

84. 根据权利要求77-83中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含E233位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

85. 根据权利要求84所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述E233氨基酸取代是E233P (EU索引)。

86. 根据权利要求77-85中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含G236 (EU索引) 的缺失。

87. 根据权利要求77-86中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含P331位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

88. 根据权利要求87所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述P331氨基酸取代是P331G。

89. 根据权利要求77-86中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域不包含P331位 (EU索引) 处的取代。

90. 根据权利要求77-89中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中Fc区域还包含I253位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

91. 根据权利要求90所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述I253氨基酸取代是I253A。

92. 根据权利要求77-91中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含H310位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

93. 根据权利要求92所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述H310氨基酸取代是H310A。

94. 抗体或其抗原结合部分, 包含Fc区域, 其中所述Fc区域包含L234和L235位 (EU索引) 处的氨基酸取代和P331 (EU索引) 氨基酸取代。

95. 根据权利要求94所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。

96. 根据权利要求94或95所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述L235氨基酸取代是L235A。

97. 根据权利要求94-96中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含D265位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

98. 根据权利要求97所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述D265氨基酸取代是D265C或D265A (EU索引)。

99. 根据权利要求94-98中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含N297位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

100. 根据权利要求99所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q (EU索引)。

101. 根据权利要求94-100中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含E233位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

102. 根据权利要求101所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述E233氨基酸取代是E233P (EU索引)。

103. 根据权利要求94-102中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含G236 (EU索引) 的缺失。

104. 根据权利要求94-103中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含P329位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

105. 根据权利要求104所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述P329氨基酸取代是P329G。

106. 根据权利要求94-103中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域不包含P329位 (EU索引) 处的取代。

107. 根据权利要求94-106中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含I253位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

108. 根据权利要求107所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述I253氨基酸取代是I253A。

109. 根据权利要求94-108中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含H310位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

110. 根据权利要求109所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述H310氨基酸取代是H310A。

111. 抗体或其抗原结合部分, 包含Fc区域, 其中所述Fc区域包含E233和L234和L235位 (EU索引) 处的氨基酸取代, G236 (EU索引) 的缺失。

112. 根据权利要求111所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。

113. 根据权利要求112或113所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述L235氨基酸取代是L235A。

114. 根据权利要求111-113中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述E233氨基酸取代是E233P (EU索引)。

115. 根据权利要求111-114中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含H435位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

116. 根据权利要求115的抗体或其抗原结合部分, 其中所述H435氨基酸取代是H435A。

117. 根据权利要求111-116中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含N297位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

118. 根据权利要求117所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q (EU索引)。

119. 根据权利要求111-118中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含P331位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

120. 根据权利要求119所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述P331氨基酸取代是P331G。

121. 根据权利要求111-118中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域不包含P331位 (EU索引) 处的取代。

122. 根据权利要求111-121中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含P329位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

123. 根据权利要求122所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述P329氨基酸取代是P329G。

124. 根据权利要求111-121中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域不包含P329位 (EU索引) 处的取代。

125. 根据权利要求111-124中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含I253位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

126. 根据权利要求125所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述I253氨基酸取代是I253A。

127. 根据权利要求111-126中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含H310位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

128. 根据权利要求127所述的抗体, 其中所述H310氨基酸取代是H310A。

129. 抗体或其抗原结合部分, 包含Fc区域, 其中所述Fc区域包含I253、H310和H345位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

130. 根据权利要求129所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述I253氨基酸取代是I253A。

131. 根据权利要求129或130所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述H310氨基酸取代是H310A。

132. 根据权利要求129-131中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述H435氨基酸取代是H435A。

133. 根据权利要求129-132中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含N297位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

134. 根据权利要求133的抗体或其抗原结合部分, 其中所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q (EU索引)。

135. 根据权利要求129-134中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含D265位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

136. 根据权利要求135所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述D265氨基酸取代是D265C或D265A (EU索引)。

137. 根据权利要求129-136中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含E233位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

138. 根据权利要求137所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述E233氨基酸取代是E233P (EU索引)。

139. 根据权利要求129-138中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含G236 (EU索引) 的缺失。

140. 根据权利要求129-139中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包括P329位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

141. 根据权利要求140的抗体或其抗原结合部分, 其中所述P329氨基酸取代是P329G。

142. 根据权利要求129-139中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域不包含P329位 (EU索引) 处的取代。

143. 根据权利要求129-142中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含P331位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

144. 根据权利要求143所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述P331氨基酸取代是P331G。

145. 根据权利要求129-142中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域不包含P329位 (EU索引) 处的取代。

146. 抗体或其抗原结合部分, 其包含Fc区域, 其中所述Fc区域包含N297位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

147. 根据权利要求146所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含L234和L235位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

148. 根据权利要求147所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。

149. 根据权利要求147或148所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述L235氨基酸取代是L235A。

150. 根据权利要求146所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域不包含L234和L235位 (EU索引) 处的取代。

151. 根据权利要求146-150中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q。

152. 根据权利要求146-151中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含E233位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

153. 根据权利要求152所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述E233氨基酸取代是E233P (EU索引)。

154. 根据权利要求146-153中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含G236 (EU索引) 的缺失。

155. 根据权利要求146-154中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域还包含P331位 (EU索引) 处的氨基酸取代。

156. 根据权利要求155所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述P331氨基酸取代是P331G。

157. 根据权利要求146-154中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc区域不包含P331位 (EU索引) 处的取代。

158. 根据权利要求146-157中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含P329位(EU索引)处的氨基酸取代。

159. 根据权利要求158所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述P329氨基酸取代是P329G。

160. 根据权利要求146-159中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域不包含P329位(EU索引)处的取代。

161. 根据权利要求146-160中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含I253位(EU索引)处的氨基酸取代。

162. 根据权利要求161所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述I253氨基酸取代是I253A。

163. 根据权利要求146-162中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含H310位(EU索引)处的氨基酸取代。

164. 根据权利要求163所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述H310氨基酸取代是H310A。

165. 根据权利要求1-164中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含S239位(EU索引)处的氨基酸取代。

166. 根据权利要求165所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述S239氨基酸取代是S239C。

167. 根据权利要求1-55、77-114、117-132和134-166中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述Fc区域还包含H435位(EU索引)处的氨基酸取代。

168. 根据权利要求165所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述H435氨基酸取代是H435A。

169. 根据权利要求166所述的抗体或其抗原结合部分,其中相对于包含未经修饰的Fc区域的相同完整IgG抗体,包含氨基酸取代H435A的抗体的半衰期减少。

170. 抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含氨基酸取代L234A、L235A、S239C和D265A(EU索引)。

171. 抗体或其抗原结合部分,包含Fc区域,其中所述Fc区域包含氨基酸取代L234A、L235A、S239C和D265C(EU索引)。

172. 抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代L234A、L235A和D265C(EU索引)组成的氨基酸取代。

173. 抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代L234A、L235A和D265A(EU索引)组成的氨基酸取代。

174. 抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代L234A、L235A、S239C和D265A(EU索引)组成的氨基酸取代。

175. 抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代H435A、L234A、L235A和D265C(EU索引)组成的氨基酸取代。

176. 抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代N297A和D265C(EU索引)组成的氨基酸取代。

177. 抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取

代N297G和D265C (EU索引) 组成的氨基酸取代。

178. 抗体或其抗原结合部分, 其包含Fc区域, 其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代N297Q和D265C (EU索引) 组成的氨基酸取代。

179. 抗体或其抗原结合部分, 其包含Fc区域, 其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代N297A和D265A (EU索引) 组成的氨基酸取代。

180. 抗体或其抗原结合部分, 其包含Fc区域, 其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代N297G和D265A (EU索引) 组成的氨基酸取代。

181. 抗体或其抗原结合部分, 其包含Fc区域, 其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代N297Q和D265A (EU索引) 组成的氨基酸取代。

182. 根据权利要求1至181中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述抗体的效应子功能降低, 效应子功能降低被定义为相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体与Fc γ 受体 (Fc γ R) 的结合, 与Fc γ R的结合的减少。

183. 根据权利要求182所述的抗体或其抗原结合部分, 其中结合的减少是相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体与Fc γ R的结合, 抗体与Fc γ R的结合减少至少70%、减少至少80%、减少至少90%、减少至少95%、减少至少98%、减少至少99%或减少100%。

184. 根据权利要求182所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述抗体不以可检测的方式结合Fc γ R。

185. 根据权利要求182-184中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中抗体与Fc γ R的结合通过生物层干涉术 (BLI) 评估。

186. 根据权利要求182至185中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc γ R是Fc γ R1受体。

187. 根据权利要求182-186中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc γ R受体是Fc γ R2受体或Fc γ R3受体。

188. 根据权利要求187所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc γ R2受体是Fc γ R2A、Fc γ R2B或Fc γ R2C。

189. 根据权利要求187所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc γ R3受体是Fc γ R3A或Fc γ R3B。

190. 根据权利要求182至189中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述Fc受体是人Fc受体。

191. 根据权利要求1至181中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中在体外细胞因子释放测定中所述抗体减少细胞因子释放, 相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体的细胞因子释放, 细胞因子释放减少至少50%。

192. 根据权利要求191所述的抗体或其抗原结合部分, 其中细胞因子释放的减少是相对于包含未修饰Fc区域的相同抗体的细胞因子释放, 细胞因子释放减少至少60%、减少至少70%、减少至少80%、减少至少90%、减少至少95%、减少至少98%、减少至少99%或减少100%。

193. 根据权利要求191所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述抗体不显示可检测的细胞因子释放。

194. 根据权利要求191至193中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中体外细胞因

子释放测定是Meso Scale Discovery (MSD) 组织培养促炎测定。

195. 根据权利要求1至181中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中在体外肥大细胞脱颗粒测定中所述抗体减少肥大细胞脱颗粒, 相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体的肥大细胞脱颗粒, 肥大细胞脱颗粒减少至少50%。

196. 根据权利要求195所述的抗体或其抗原结合部分, 其中肥大细胞脱颗粒的减少是相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体的肥大细胞脱颗粒, 肥大细胞脱颗粒减少至少60%、减少至少70%、减少至少80%、减少至少90%、减少至少95%、减少至少98%、减少至少99%或减少100%。

197. 根据权利要求196所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述抗体不显示可检测的肥大细胞脱颗粒。

198. 根据权利要求195至197中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述体外肥大细胞脱颗粒测定是基于 β -己糖胺酶的肥大细胞脱颗粒测定。

199. 根据权利要求1至198中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述IgG同种型是IgG1同种型、IgG2同种型、IgG3同种型或IgG4同种型。

200. 根据权利要求1至199中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述抗体是人抗体、嵌合抗体或人源化抗体。

201. 根据权利要求1至200中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述抗体是双特异性抗体。

202. 根据权利要求1至201中任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述抗体是单克隆抗体。

203. 根据权利要求1至202中任一项所述的抗体, 其中所述抗体是完整的IgG抗体。

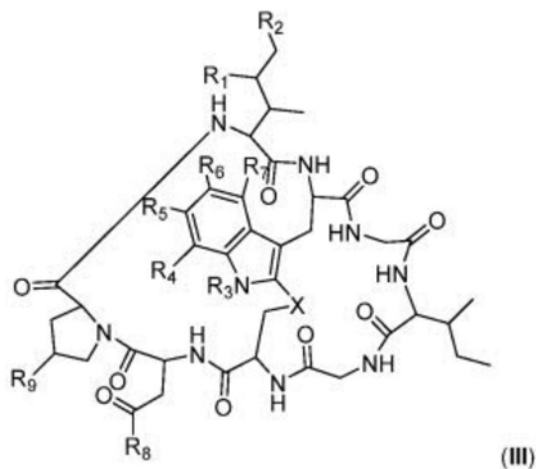
204. 根据权利要求1至203中任一项所述的抗体, 其中所述抗体特异性结合CD117、CD45、CD2、CD5、CD137或CD252。

205. 抗体药物缀合物(ADC), 其包含根据权利要求1-204中任一项的抗体或其抗原结合部分, 其中所述抗体或其抗原结合部分通过接头与细胞毒素缀合。

206. 根据权利要求205所述的ADC, 其中所述细胞毒素是RNA聚合酶抑制剂。

207. 根据权利要求206所述的ADC, 其中所述RNA聚合酶抑制剂是鹅膏蕈毒素。

208. 根据权利要求207所述的ADC, 其中所述鹅膏蕈毒素由式(III)表示



其中 R_1 是H、OH、 OR_A 或 OR_C ;

R_2 是H、OH、 OR_B 或 OR_C ;

R_A 和 R_B 与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基;

R_3 是H、 R_C 或 R_D ;

R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 各自独立地是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 或 $NR_C R_D$;

R_9 是H、OH、 OR_C 或 OR_D ;

x是-S-、-S(O-)-或-SO₂-;

R_C 是-L-Z;

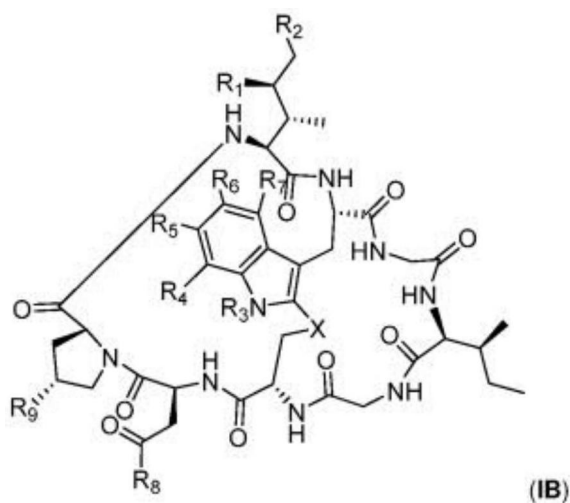
R_D 是任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₁-C₆杂烷基、任选经取代的C₂-C₆烯基、任选经取代的C₂-C₆杂烯基、任选经取代的C₂-C₆炔基、任选经取代的C₂-C₆杂炔基、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基;

L是任选经取代的C₁-C₆亚烷基、任选经取代的C₁-C₆杂亚烷基、任选经取代的C₂-C₆亚烯基、任选经取代的C₂-C₆杂亚烯基、任选经取代的C₂-C₆亚炔基、任选经取代的C₂-C₆杂亚炔基、任选经取代的环亚烷基、任选经取代的杂环亚烷基、任选经取代的亚芳基、任选经取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-、二硫化物、脲或其组合;并且

Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分,

其中Am确切地包含一个 R_C 取代基。

209. 根据权利要求207所述的ADC, 其中所述鹅膏蕈毒素由式(1B)表示



其中 R_1 是H、OH、 OR_A 或 OR_C ;

R_2 是H、OH、 OR_B 或 OR_C ;

R_A 和 R_B 与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基;

R_3 是H、 R_C 或 R_D ;

R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 各自独立地是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 或 $NR_C R_D$;

R_9 是H、OH、 OR_C 或 OR_D ;

x是-S-、-S(O-)-或-SO₂-;

R_C 是-L-Z;

R_D 是任选经取代的 C_1-C_6 烷基、任选经取代的 C_1-C_6 杂烷基、任选经取代的 C_2-C_6 烯基、任选经取代的 C_2-C_6 杂烯基、任选经取代的 C_2-C_6 炔基、任选经取代的 C_2-C_6 杂炔基、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基；

L是任选经取代的 C_1-C_6 亚烷基、任选经取代的 C_1-C_6 杂亚烷基、任选经取代的 C_2-C_6 亚烯基、任选经取代的 C_2-C_6 杂亚烯基、任选经取代的 C_2-C_6 亚炔基、任选经取代的 C_2-C_6 杂亚炔基、任选经取代的环亚烷基、任选经取代的杂环亚烷基、任选经取代的亚芳基、任选经取代的杂亚芳基、肽、二肽、 $-(C=O)-$ 、二硫化物、脲或其组合；并且

Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，

其中Am确切地包含一个 R_C 取代基。

210. 根据权利要求206所述的ADC，其中所述RNA聚合酶抑制剂是鹅膏蕈碱。

211. 根据权利要求210所述的ADC，其中所述鹅膏蕈碱选自 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏无毒环肽、鹅膏无毒环肽酸和前鹅膏无毒环肽。

212. 根据权利要求205所述的ADC，其中所述细胞毒素选自假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、皂草素、美登素、美登木素生物碱、奥瑞他汀、蒽环类、加里刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体。

213. 根据权利要求212所述的ADC，其中所述奥瑞他汀是MMAE或MMAF。

214. 根据权利要求205-213中任一项所述的ADC，其中所述抗体或其抗原结合部分通过与天然铰链半胱氨酸的链间缀合与细胞毒素缀合。

215. 根据权利要求205至214中任一项所述的ADC，其中所述抗体或其抗原结合部分通过所述抗体的Fc结构域中的半胱氨酸残基与细胞毒素缀合。

216. 根据权利要求215所述的ADC，其中所述半胱氨酸残基是通过所述抗体的Fc结构域中的氨基酸取代引入的。

217. 根据权利要求216所述的ADC，其中所述氨基酸取代是D265C。

218. 根据权利要求216所述的ADC，其中所述氨基酸取代是S239C。

219. 药物组合物，其包含根据权利要求1至218中任一项的抗体或ADC、和药学上可接受的载体。

220. 用于在人患者中耗尽造血干细胞(HSC)群的方法，所述方法包括向患者施用有效量的根据权利要求1至218中任一项所述的抗体或ADC。

221. 根据权利要求220所述的方法，其还包括向患者施用包含造血干细胞的移植物。

222. 根据权利要求221所述的方法，其中所述移植物是同种异体的。

223. 根据权利要求221所述的方法，其中所述移植物是自体的。

224. 包括向人患者施用包含造血干细胞的移植物的方法，其中所述患者先前已经施用足以耗尽患者的造血干细胞群的量的根据权利要求1至218中任一项所述的抗体或ADC。

225. 根据权利要求224所述的方法，其中所述造血干细胞是CD117+或CD45+细胞。

226. 根据权利要求220至224中任一项所述的方法，其中所述患者患有血液疾病、代谢紊乱、癌症或自身免疫性疾病或严重联合免疫缺陷病(SCID)。

227. 用于在人患者中治疗白血病的方法,所述方法包括向患有白血病的人患者施用根据权利要求1至218中任一项所述的抗体或ADC。

228. 方法,包括向人患者施用包含造血干细胞的移植物,其中所述患者先前施用如下量的根据权利要求1至218中任一项所述的抗体或ADC,所述量足以耗尽患者的免疫细胞群体。

229. 根据权利要求228所述的方法,其中所述免疫细胞是CD137+、CD2+或CD5+细胞。

230. 根据权利要求228或229所述的方法,其中所述免疫细胞是T细胞。

231. 包含根据权利要求1-218中任一项所述的抗体或ADC的组合物,其中所述组合物在热应激后包含小于25%的疏水性降解物。

232. 根据权利要求231所述的组合物,其中所述组合物在热应激后包含小于20%的疏水性降解物。

233. 根据权利要求231所述的组合物,其中所述组合物在热应激后包含小于15%的疏水性降解物。

234. 根据权利要求231所述的组合物,其中所述组合物在热应激后包含小于10%的疏水性降解物。

235. 根据权利要求231所述的组合物,其中所述组合物在热应激后包含小于5%的疏水性降解物。

236. 用于在人患者中治疗干细胞病症的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的根据权利要求1-218中任一项所述的抗体、其抗原结合片段或ADC。

237. 用于在人患者中治疗免疫缺陷病症的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的根据权利要求1-218中任一项所述的抗体、其抗原结合片段或ADC。

238. 根据权利要求237所述的方法,其中所述免疫缺陷病症是先天性免疫缺陷或获得性免疫缺陷。

239. 用于在人患者中治疗代谢紊乱的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的根据权利要求1-218中任一项所述的抗体、其抗原结合片段或ADC。

240. 根据权利要求239所述的方法,其中所述代谢紊乱选自糖原累积病、黏多糖贮积症、高歇病、胡尔勒氏病、鞘脂类代谢障碍和异染性脑白质营养不良。

241. 用于在人患者中治疗自身免疫病症的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的根据权利要求1-218中任一项所述的抗体、其抗原结合片段或ADC。

242. 根据权利要求241所述的方法,其中所述自身免疫病症选自多发性硬化症、人系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎症性肠疾病、治疗银屑病、1型糖尿病、急性播散性脑脊髓炎、爱迪生氏病、普秃、强直性脊椎炎、抗磷脂抗体综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳疾病、自身免疫性淋巴增生综合征、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病、克罗恩氏病、疤痕性类天疱疮、腹腔口炎性腹泻疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状狼疮、家族性自主神经异常、子宫内膜异位症、特发性混合型冷沉淀球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、古德帕斯丘综合征、格雷夫斯病、格林-巴利综合征、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病、间质性膀胱炎、幼年型关节炎、川崎病、

扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病、重症肌无力、神经性肌强直、斜视眼阵挛-肌阵挛综合征、视神经炎、奥德甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺性综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、赖特综合征、风湿热、结节病、硬皮病、Sjögren综合征、僵人综合征、无脉病、颞动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛和韦格纳肉芽肿病。

243. 用于在人患者中治疗癌症的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的根据权利要求1-218中任一项所述的抗体、其抗原结合片段或ADC。

244. 根据权利要求243所述的方法,其中所述癌症选自白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤和神经母细胞瘤。

Fc沉默的抗体药物缀合物(ADC)及其用途

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2018年10月23日提交的美国临时申请号62/749,662的优先权;于2018年11月30日提交的美国临时申请号62/773,839;和于2019年2月19日提交的美国临时申请号62/807,363。每个优先申请的内容通过引用并入本文中。

技术领域

[0003] 本公开内容涉及包含Fc区域的抗体或其抗体药物缀合物的领域,所述Fc区域由于Fc区域中的一个或多个氨基酸取代而改变了效应子功能。本公开内容还涉及通过施用具有经修饰的Fc区域的抗体或抗体药物缀合物(ADC)来治疗患有各种病理(例如血液疾病、代谢紊乱、癌症和自身免疫性疾病等)的患者,其中所述抗体或ADC能够结合由造血细胞(例如造血干细胞或宿主免疫系统的细胞)表达的抗原。

背景技术

[0004] 抗体的Fc区域控制抗体的细胞毒性活性,并且可以影响抗体的血清半衰期。然而,在治疗背景下,抗体的细胞毒性效应子功能经常是不理想的,并且可能通过激活宿主免疫防御产生安全性和不希望副作用。据报道,Fc区域的数个氨基酸改变使抗体的效应子功能沉默或降低。事实上,先前的研究已经鉴定出抗体Fc区域内影响抗体结合Fc受体能力的氨基酸位置(参见,例如王等(2018)Protein Cell.2018Jan;9(1):63-73)。例如,Fc突变S239D和I332E在文献中已经被描述为增强ADCC功能(参见,例如,Lazar等(2006)Engineered antibody Fc variants with enhanced effector function.Proc Natl Acad Sci USA.103:4005-4010)。其他突变与Fc γ R和C1q结合减少有关,例如在IG1中,氨基酸改变L234A/L235A,或在IG4中,氨基酸改变F234A/L235A(徐等In vitro characterization of five humanized OKT3 effector function variant antibodies.Cell Immunol.2000;200:16-26)。然而,不太为人所知的是Fc突变可能如何影响抗体药物缀合物(ADC),特别是当毒素与抗体或Fc区域内含有Fc的片段缀合时。

[0005] 尽管在医学领域取得了进步,但是仍然需要治疗造血系统的病理,例如特定血液细胞的疾病、代谢紊乱、癌症和自身免疫性疾病等。虽然造血干细胞具有显著的治疗潜力,但是阻碍其临床应用的限制因素已经是与在宿主中确保造血干细胞(HSC)移植物的植入相关的难题。特别地,涉及靶向内源性HSC上的细胞表面抗原的抗体的造血干细胞疗法可能触发不需要的免疫刺激和效应子功能,阻碍外源性HSC移植物的植入。目前需要用于促进外源性造血干细胞移植物植入的组合物和方法,使得在移植后保留这些细胞的多潜能和造血功能。还需要改进的ADC,例如,其可用于降低效应子功能的预处理,以减少潜在的细胞因子分泌和可能的副作用。

发明内容

[0006] 本文描述了抗体及其抗原结合部分,其包含Fc区域,所述Fc区域由于Fc区域中的

一个或更多个氨基酸取代而改变了效应子功能,以及描述了抗体药物缀合物、组合物和使用所述抗体的方法。特别地,本文提供了具有经修饰的Fc区域的抗体或抗体药物缀合物(ADC),其中所述抗体或ADC能够结合由造血细胞(例如造血干细胞或成熟免疫细胞(例如T细胞))表达的抗原。此外,本文提供了含有Fc突变的ADC,其提供毒素的缀合位点并且降低效应子功能,以及提供稳定性。因此,本公开内容向ADC提供了Fc突变的独特组合。

[0007] 在一个方面,本文提供了抗体,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含L234和L235位(EU索引)处的氨基酸取代和氨基酸取代D265C(EU索引),并且其中所述抗体是完整的IgG抗体。在一个实施方案中,所述Fc区域包含L234和L235位(EU索引)处的氨基酸取代和氨基酸取代D265A(EU索引),并且其中所述抗体是完整的IgG抗体。在一个实施方案中,所述L234氨基酸取代是L234A。在一个实施方案中,所述L235氨基酸取代是L235A。

[0008] 在一些实施方案中,所述Fc区域还包含H435位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述H435氨基酸取代是H435A。在一个实施方案中,相对于包含未经修饰的Fc区域的相同完整IgG抗体,包含氨基酸取代H435A的抗体的半衰期减少。

[0009] 在另一方面,本文提供了抗体,其包含Fc区域,所述Fc区域具有基本上由氨基酸取代L234A、L235A和D265C(EU索引)组成的氨基酸取代,并且其中所述抗体是完整的IgG抗体。在一个实施方案中,所述抗体包含具有氨基酸取代的Fc区域,所述氨基酸取代基本上由氨基酸取代L234A、L235A和D265A(EU索引)组成,并且其中所述抗体是完整的IgG抗体。

[0010] 在另一方面,本文提供了本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含L234、L235(EU索引)和D265(EU索引)位处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述D265氨基酸取代是D265C或D265A(EU索引)。在另一个实施方案中,所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。在另一个实施方案中,所述L235氨基酸取代是L235A。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含N297位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q(EU索引)。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含E233位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述E233氨基酸取代是E233P(EU索引)。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包括G236(EU索引)的缺失。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含P331位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述P331氨基酸取代是P331G。在另一个实施方案中,所述Fc区域不包含P331位(EU索引)处的取代。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含P329位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述P329氨基酸取代是P329G。在另一个实施方案中,所述Fc区域不包含P329位(EU索引)处的取代。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含I253位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述I253氨基酸取代是I253A。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含H310位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述H310氨基酸取代是H310A。

[0011] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含N297和D265位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,D265位处的氨基酸取代是D265C或D265A(EU索引)。在另一个实施方案中,所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q(EU索引)。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含L234和L235位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。在另一个实施方案中,所述L235氨基酸取代是L235A。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含E233位(EU索

引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述E233氨基酸取代是E233P(EU索引)。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含G236(EU索引)的缺失。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含P331位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述P331氨基酸取代是P331G。在另一个实施方案中,所述Fc区域不包含P331位(EU索引)处的取代。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含P329位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述P329氨基酸取代是P329G。在另一个实施方案中,所述Fc区域不包含P329位(EU索引)处的取代。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含I253位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述I253氨基酸取代是I253A。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含H310位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述H310氨基酸取代是H310A。

[0012] 另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含E233、L234、L235和D265位(EU索引)处的氨基酸取代和G236(EU索引)的缺失,以及D265位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,D265处的氨基酸取代是D265C或D265A(EU索引)。在另一个实施方案中,所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。在另一个实施方案中,所述L235氨基酸取代是L235A。在另一个实施方案中,所述E233氨基酸取代是E233P(EU索引)。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含N297位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q(EU索引)。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含P331位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述P331氨基酸取代是P331G。

[0013] 在另一个实施方案中,所述Fc区域不包含P331位(EU索引)处的取代。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含P329位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述P329氨基酸取代是P329G。在另一个实施方案中,所述Fc区域不包含P329位(EU索引)处的取代。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含I253位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述I253氨基酸取代是I253A。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含H310位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述H310氨基酸取代是H310A。

[0014] 另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含H435和D265位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,D265位处的氨基酸取代是D265C或D265A(EU索引)。在另一个实施方案中,所述H435氨基酸取代是H435A。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含N297位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q(EU索引)。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含L234和L235位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。在另一个实施方案中,所述L235氨基酸取代是L235A。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含E233位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述E233氨基酸取代是E233P(EU索引)。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含G236(EU索引)的缺失。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含P331位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述P331氨基酸取代是P331G。在另一个实施方案中,所述Fc区域不包含P331位(EU索引)处的取代。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含P329位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述P329氨基酸取代是P329G。在另一个实施方案中,所述Fc区域不包含P329位(EU索引)处的取代。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含I253位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述I253氨基酸取代是I253A。在另一个实施方

案中,所述Fc区域还包含H310位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述H310氨基酸取代是H310A。

[0015] 另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含L234和L235位(EU索引)处的氨基酸取代和P329位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。在另一个实施方案中,所述L235氨基酸取代是L235A。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含D265位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述D265氨基酸取代是D265C或D265A(EU索引)。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含N297位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q(EU索引)。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含E233位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述E233氨基酸取代是E233P(EU索引)。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含G236(EU索引)的缺失。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含P331位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述P331氨基酸取代是P331G。在一个实施方案中,所述Fc区域不包含P331位(EU索引)处的取代。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含I253位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述I253氨基酸取代是I253A。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含H310位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述H310氨基酸取代是H310A。

[0016] 另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含L234和L235位(EU索引)处的氨基酸取代和氨基酸取代P331(EU索引)。在一个实施方案中,所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。在一个实施方案中,所述L235氨基酸取代是L235A。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含D265位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述D265氨基酸取代是D265C或D265A(EU索引)。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含N297位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q(EU索引)。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含E233位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述E233氨基酸取代是E233P(EU索引)。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含G236(EU索引)的缺失。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含P329位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述P329氨基酸取代是P329G。在一个实施方案中,所述Fc区域不包含P329位(EU索引)处的取代。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含I253位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述I253氨基酸取代是I253A。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含H310位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述H310氨基酸取代是H310A。

[0017] 另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含E233、L234和L235位(EU索引)处的氨基酸取代,G236(EU索引)的缺失。在一个实施方案中,所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。在一个实施方案中,所述L235氨基酸取代是L235A。在一个实施方案中,所述E233氨基酸取代是E233P(EU索引)。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含H435位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述H435氨基酸取代是H435A。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含N297位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q(EU索引)。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含P331位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述P331氨基酸取代是P331G。在一个实施方案中,所述Fc区域不包含P331位(EU索引)处的取代。在一个

实施方案中,所述Fc区域还包含P329位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述P329氨基酸取代是P329G。在一个实施方案中,所述Fc区域不包含P329位(EU索引)处的取代。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含I253位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述I253氨基酸取代是I253A。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含H310位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述H310氨基酸取代是H310A。

[0018] 另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含I253、H310和H345位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述I253氨基酸取代是I253A。在另一个实施方案中,所述H310氨基酸取代是H310A。在另一个实施方案中,所述H435氨基酸取代是H435A。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含N297位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q(EU索引)。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含D265位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述D265氨基酸取代是D265C或D265A(EU索引)。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含E233位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述E233氨基酸取代是E233P(EU索引)。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包括G236(EU索引)的缺失。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含P329位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述P329氨基酸取代是P329G。在另一个实施方案中,所述Fc区域不包含P329位(EU索引)处的取代。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含P331位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述P331氨基酸取代是P331G。在另一个实施方案中,所述Fc区域不包含P329位(EU索引)处的取代。

[0019] 另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含N297位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述Fc区域还包含L234和L235位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述L234氨基酸取代是L234A或L234V。在另一个实施方案中,所述L235氨基酸取代是L235A。在另一个实施方案中,所述Fc区域不包含L234和L235位(EU索引)处的取代。在另一个实施方案中,所述N297氨基酸取代选自N297A、N297G和N297Q。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含E233位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述E233氨基酸取代是E233P(EU索引)。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含G236(EU索引)的缺失。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含P331位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述P331氨基酸取代是P331G。在另一个实施方案中,所述Fc区域不包含P331位(EU索引)处的取代。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含P329位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述P329氨基酸取代是P329G。在另一个实施方案中,所述Fc区域不包含P329位(EU索引)处的取代。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含I253位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述I253氨基酸取代是I253A。在另一个实施方案中,所述Fc区域还包含H310位(EU索引)处的氨基酸取代。在另一个实施方案中,所述H310氨基酸取代是H310A。

[0020] 在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合部分包含本文所述的Fc区域的取代的任何组合。

[0021] 在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合部分还包含S239位(EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,所述S239氨基酸取代是S239C。

[0022] 在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合部分还包含H435位(EU索引)处的氨基

酸取代。在一个实施方案中,所述H435氨基酸取代是H435A。在另一个实施方案中,所述抗体包含氨基酸取代H435A,并且相对于包含未经修饰的Fc区域的相同完整的IgG抗体,半衰期减少。

[0023] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含氨基酸取代L234A、L235A、S239C和D265A (EU索引)。

[0024] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含氨基酸取代L234A、L235A、S239C和D265C (EU索引)。

[0025] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代L234A、L235A和D265C (EU索引)组成的氨基酸取代。

[0026] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代L234A、L235A和D265A (EU索引)组成的氨基酸取代。

[0027] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代L234A、L235A、S239C和D265A (EU索引)组成的氨基酸取代。

[0028] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代H435A、L234A、L235A和D265C (EU索引)组成的氨基酸取代。

[0029] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代N297A和D265C (EU索引)组成的氨基酸取代。

[0030] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代N297G和D265C (EU索引)组成的氨基酸取代。

[0031] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代N297Q和D265C (EU索引)组成的氨基酸取代。

[0032] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代N297A和D265A (EU索引)组成的氨基酸取代。

[0033] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代N297G和D265A (EU索引)组成的氨基酸取代。

[0034] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其包含Fc区域,其中所述Fc区域包含基本上由氨基酸取代N297Q和D265A (EU索引)组成的氨基酸取代。

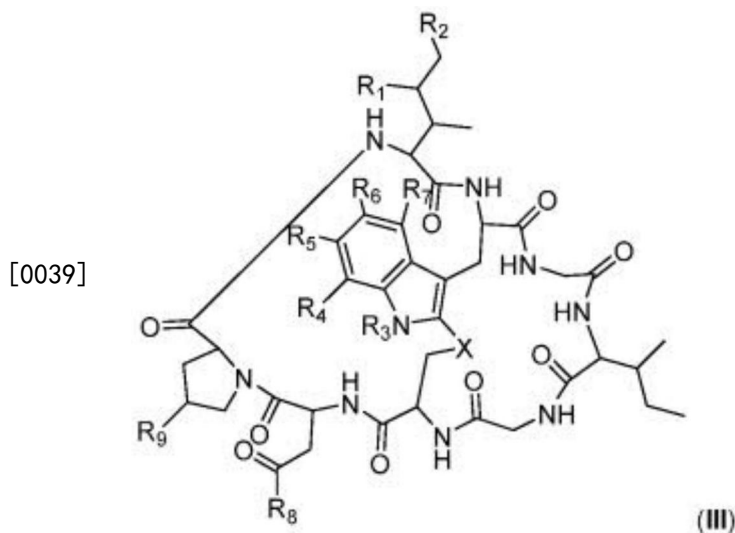
[0035] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体的效应子功能降低,效应子功能降低被定义为相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体与Fc γ R的结合,与Fc γ 受体(Fc γ R)的结合的减少。在一些实施方案中,结合的减少是相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体与Fc γ R的结合,与Fc γ R结合的抗体减少至少70%、减少至80%、减少至少90%、减少至少95%、减少至少98%、减少至少99%或减少100%。在另一个实施方案中,抗体不可检测地结合Fc γ R。在另一个实施方案中,与Fc γ R结合的抗体通过生物层干涉术(BLI)评估。在另一个实施方案中,与Fc γ R结合的抗体使用本领域普通技术人员已知的测定评估。在另一个实施方案中,所述Fc γ R是Fc γ R1受体。在另一个实施方案中,所述Fc γ R受体是Fc γ R2受体或Fc γ R3受体。在另一个实施方案中,所述Fc γ R2受体是Fc γ R2A、Fc γ R2B或Fc γ R2C。在另一个实施方案中,所述Fc γ R3受体是Fc γ R3A或Fc γ R3B。在另一个实施方案中,所述Fc受体是人Fc受体。在另一些实施方案中,所述Fc γ R受体是Fc γ R2A 167R受体。在另一些实施方案中,实施Fc γ R受体是Fc γ R3A 176V受体。在另一些实施方案中,所述

Fc γ R受体是Fc γ R3A 176F受体。

[0036] 在另一方面,本文提供了抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体在体外细胞因子释放测定中减少细胞因子释放,相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体的细胞因子释放,细胞因子释放减少至少50%。在一个实施方案中,细胞因子释放的减少是相对于包含未经修饰Fc区域的相同抗体的细胞因子释放,细胞因子释放减少至少60%、减少至少70%、减少至少80%、减少至少90%、减少至少95%、减少至少98%、减少至少99%或减少100%。在另一个实施方案中,抗体不显示可检测的细胞因子释放。在另一个实施方案中,体外细胞因子释放测定是Meso Scale Discovery (MSD) 组织培养促炎测定。在另一个实施方案中,体外细胞因子释放测定使用本领域普通技术人员已知的测定评估。在另一个实施方案中,在体外肥大细胞脱颗粒测定中所述抗体减少肥大细胞脱颗粒,相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体的肥大细胞脱颗粒,肥大细胞脱颗粒减少至少50%。在另一个实施方案中,肥大细胞脱颗粒的减少是相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体的肥大细胞脱颗粒,肥大细胞脱颗粒减少至少60%、减少至少70%、减少至少80%、减少至少90%、减少至少95%、减少至少98%、减少至少99%或减少100%。在另一个实施方案中,所述抗体不显示可检测的肥大细胞脱颗粒。在另一个实施方案中,所述体外肥大细胞脱颗粒测定是基于 β -己糖胺酶的肥大细胞脱颗粒测定。

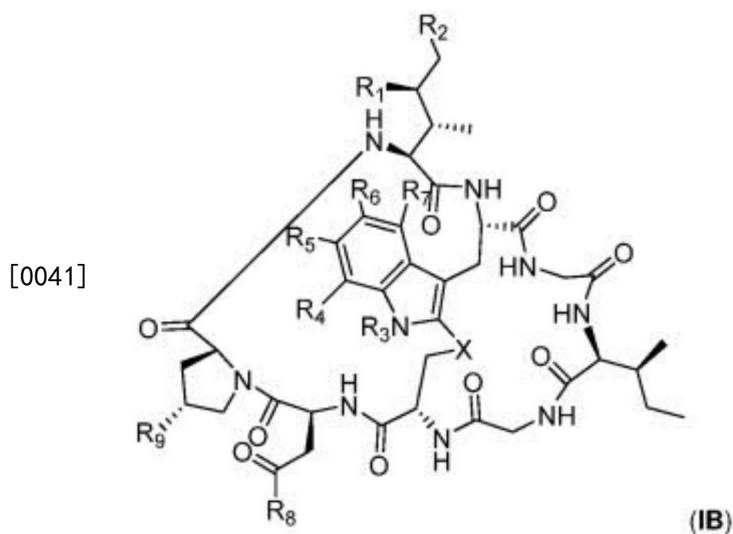
[0037] 在一些实施方案中,所述IgG同种型是IgG1同种型、IgG2同种型、IgG3同种型或IgG4同种型。在另一个实施方案中,所述抗体是人抗体、嵌合抗体或人源化抗体。在又一个实施方案中,所述抗体是双特异性抗体。在另一个实施方案中,所述抗体是单克隆抗体。在另一个实施方案中,所述抗体是完整的IgG抗体。在另一个实施方案中,所述抗体特异性结合CD117、CD45、CD2、CD5、CD137或CD252。

[0038] 另一方面,本文提供了抗体药物缀合物(ADC),其包含如本文所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体或其抗原结合部分通过接头与细胞毒素缀合。在一个实施方案中,所述细胞毒素是RNA聚合酶抑制剂。在另一个实施方案中,所述RNA聚合酶抑制剂是鹅膏蕈毒素。在另一个实施方案中,所述鹅膏蕈毒素由式(III)表示



[0040] 其中 R_1 是H、OH、OR_A或OR_C; R_2 是H、OH、OR_B或OR_C; R_A 和 R_B 与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基; R_3 是H、R_C或R_D; R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、

R_C 或 R_D ; R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 或 $NR_C R_D$; R_9 是H、OH、 OR_C 或 OR_D ; x 是-S-、-S(O-)或-SO₂-; R_C 是-L-Z; R_D 是任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₁-C₆杂烷基、任选经取代的C₂-C₆烯基、任选经取代的C₂-C₆杂烯基、任选经取代的C₂-C₆炔基、任选经取代的C₂-C₆杂炔基、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基; L是任选经取代的C₁-C₆亚烷基、任选经取代的C₁-C₆杂亚烷基、任选经取代的C₂-C₆亚烯基、任选经取代的C₂-C₆杂亚烯基、任选经取代的C₂-C₆亚炔基、任选经取代的C₂-C₆杂亚炔基、任选经取代的环亚烷基、任选经取代的杂环亚烷基、任选经取代的亚芳基、任选经取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-、二硫化物、脞或其组合; 并且Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分, 其中Am确切地包含一个 R_C 取代基。在另一个实施方案中, 所述鹅膏蕈毒素由式(1B)表示



[0042] 其中 R_1 是H、OH、 OR_A 或 OR_C ; R_2 是H、OH、 OR_B 或 OR_C ; R_A 和 R_B 与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基; R_3 是H、 R_C 或 R_D ; R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 各自独立地是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ; R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 或 $NR_C R_D$; R_9 是H、OH、 OR_C 或 OR_D ; x 是-S-、-S(O-)或-SO₂-; R_C 是-L-Z; R_D 是任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₁-C₆杂烷基、任选经取代的C₂-C₆烯基、任选经取代的C₂-C₆杂烯基、任选经取代的C₂-C₆炔基、任选经取代的C₂-C₆杂炔基、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基; L是任选经取代的C₁-C₆亚烷基、任选经取代的C₁-C₆杂亚烷基、任选经取代的C₂-C₆亚烯基、任选经取代的C₂-C₆杂亚烯基、任选经取代的C₂-C₆亚炔基、任选经取代的C₂-C₆杂亚炔基、任选经取代的环亚烷基、任选经取代的杂环亚烷基、任选经取代的亚芳基、任选经取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-、二硫化物、脞或其组合; 并且Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分, 其中Am确切地包含一个 R_C 取代基。在另一个实施方案中, 所述RNA聚合酶抑制剂是鹅膏蕈碱。在另一个实施方案中, 所述鹅膏蕈碱选自 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏无毒环肽、鹅膏无毒环肽酸和前鹅膏无毒环肽。在另一个实施方案中, 所述细胞毒素选自假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、皂草素、美登素、美登木素生物碱、奥瑞他汀、蒽环类、加里刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吡咯并苯二氮卓类和吡咯并苯二氮卓类二聚体。。在另一个实施方案中, 所述奥

瑞他汀是MMAE或MMAF。在另一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合部分通过与天然铰链半胱氨酸的链间缀合来与细胞毒素缀合。在另一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合部分通过所述抗体的Fc结构域中的半胱氨酸残基与细胞毒素缀合。在另一个实施方案中,所述半胱氨酸残基是通过所述抗体的Fc结构域中的氨基酸取代引入的。在另一个实施方案中,所述氨基酸取代是D265C。在另一个实施方案中,所述氨基酸取代是S239C。

[0043] 在另一方面,本文提供了药物组合物,其包含根据权利要求1至218中任一项的抗体或ADC、和药学上可接受的载体。

[0044] 在另一方面,本文提供了用于在人患者中耗尽造血干细胞(HSC)群的方法,所述方法包括向患者施用有效量的本文所述的抗体或ADC。在一个实施方案中,所述方法包括向患者施用包含造血干细胞的移植物。在一个实施方案中,所述移植物是异源的。在一个实施方案中,所述移植物是自体同源的。

[0045] 在另一方面,本文提供了包括向人患者施用包含造血干细胞的移植物的方法,其中所述患者先前已经施用足以耗尽患者的造血干细胞群的量的本文所述的抗体或ADC。在一个实施方案中,所述造血干细胞是CD117+或CD45+细胞。在另一个实施方案中,所述患者患有血液疾病、代谢紊乱、癌症或自身免疫性疾病或严重联合免疫缺陷病(SCID)。

[0046] 另一方面,本文提供了用于在人患者中治疗白血病的方法,所述方法包括向患有白血病的人患者施用本文所述的抗体或ADC。

[0047] 在另一方面,本文提供了包括向人患者施用包含造血干细胞的移植物的方法,其中所述患者先前已经施用足以耗尽患者的造血干细胞群的量的本文所述的抗体或ADC。在一个实施方案中,所述免疫细胞是CD137+、CD2+或CD5+细胞。在另一个实施方案中,所述免疫细胞是T细胞。

[0048] 在另一方面,本文提供了包含本文所述的抗体或ADC的组合物,其中所述组合物在热应激后包含小于25%的疏水性降解物。在一个实施方案中,所述组合物在热应激后包含小于20%的疏水性降解物。在另一个实施方案中,所述组合物在热应激后包含小于15%的疏水性降解物。在另一个实施方案中,所述组合物在热应激后包含小于10%的疏水性降解物。在另一个实施方案中,所述组合物在热应激后包含小于5%的疏水性降解物。

[0049] 在另一方面,本文提供了用于在人患者中治疗干细胞病症的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的本文所述的抗体、其抗原结合片段或ADC。

[0050] 在另一方面,本文提供了用于在人患者中治疗免疫缺陷病症的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的本文所述的抗体、其抗原结合片段或ADC。在一个实施方案中,所述免疫缺陷病症是先天性免疫缺陷或获得性免疫缺陷。

[0051] 在另一方面,本文提供了用于在人患者中治疗代谢紊乱的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的本文所述的抗体、其抗原结合片段或ADC。在一个实施方案中,所述代谢紊乱选自糖原累积病、黏多糖贮积症、高歇病、胡尔勒氏病、鞘脂类代谢障碍和异染性脑白质营养不良。

[0052] 在另一方面,本文提供了用于在人患者中治疗自身免疫病症的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的本文所述的抗体、其抗原结合片段或ADC。在一些实施方案中,所述自身免疫病症选自多发性硬化症、人系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎症性肠疾病、治疗银屑病、1型糖尿病、急性播散性脑脊髓炎、爱迪生氏病、普秃、强直性脊椎炎、抗磷

脂抗体综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳疾病、自身免疫性淋巴增生综合征、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病、克罗恩氏病、疤痕性类天疱疮、腹腔口炎性腹泻疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状狼疮、家族性自主神经异常、子宫内膜异位症、特发性混合型冷沉淀球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、古德帕斯丘综合征、格雷夫斯病、格林-巴利综合征、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病、间质性膀胱炎、幼年型关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病、重症肌无力、神经性肌强直、斜视眼阵挛-肌阵挛综合征、视神经炎、奥德甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺性综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、赖特综合征、风湿热、结节病、硬皮病、Sjögren综合征、僵人综合征、无脉病、颞动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛和韦格纳肉芽肿病。

[0053] 在另一方面，本文提供了用于在人患者中治疗癌症的方法，所述方法包括向患者施用治疗有效量的本文所述的抗体、其抗原结合片段或ADC。在一些实施方案中，所述癌症选自白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤和神经母细胞瘤。

[0054] 在上述方面中任一个的一些实施方案中，所述抗体的效应子功能降低，效应子功能降低被定义为相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体与Fc γ R的结合，与Fc γ 受体(Fc γ R)的结合的减少。在一个实施方案中，结合的减少是相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体与Fc γ R的结合，与Fc γ R结合的抗体减少至少70%、减少至80%、减少至少90%、减少至少95%、减少至少98%、减少至少99%或减少100%。在某些实施方案中，抗体不可检测地结合Fc γ R。在一些实施方案中，与Fc γ R结合的抗体通过生物层干涉术(BLI)评估。在一些实施方案中，所述Fc γ R是Fc γ R1受体、Fc γ R2受体或Fc γ R3受体。在一些实施方案中，所述Fc γ R1受体是Fc γ R1A、Fc γ R1B或Fc γ R1C。在一些实施方案中，所述Fc γ R1受体是Fc γ R2A、Fc γ R2B或Fc γ R2C。在一些实施方案中，所述Fc γ R1受体是Fc γ R3A或Fc γ R3B。在一些实施方案中，所述Fc受体是人Fc受体。

[0055] 在上述方面中任一个的一些实施方案中，所述IgG同种型是IgG1同种型、IgG2同种型、IgG3同种型或IgG4同种型。

[0056] 在上述方面中任一个的一些实施方案中，所述抗体是人抗体。

[0057] 在上述方面中任一个的一些实施方案中，所述抗体是嵌合抗体或人源化抗体。

[0058] 在上述方面中任一个的一些实施方案中，所述抗体是单克隆抗体。

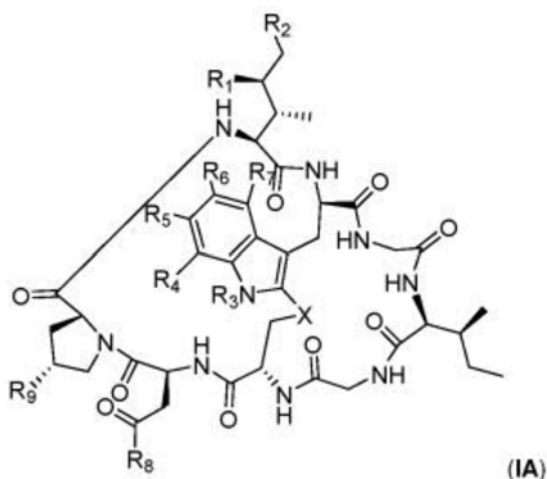
[0059] 在上述方面中任一个的一些实施方案中，所述抗体特异性结合CD117、CD45、CD2、CD5、CD137或CD252。

[0060] 在另一方面，本文提供了包含本文中的任何抗体的抗体药物缀合物(ADC)，其中所述抗体通过接头与细胞毒素缀合。

[0061] 在本文中的缀合物的一些实施方案中，所述细胞毒素是RNA聚合酶抑制剂。在一些实施方案中，所述RNA聚合酶抑制剂是鹅膏蕈毒素。

[0062] 在一些实施方案中，所述鹅膏蕈毒素由式(1A)表示

[0063]

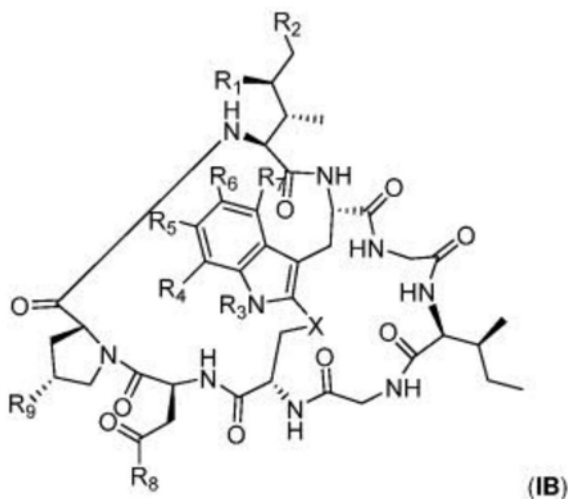
[0064] 其中 R_1 是H、OH、 OR_A 或 OR_C ；[0065] R_2 是H、OH、 OR_B 或 OR_C ；[0066] R_A 和 R_B 与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基；[0067] R_3 是H、 R_C 或 R_D ；[0068] R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 各自独立地是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ；[0069] R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 或 $NR_C R_D$ ；[0070] R_9 是H、OH、 OR_C 或 OR_D ；[0071] x是-S-、-S(O-)-或-SO₂-；[0072] R_C 是-L-Z；[0073] R_D 是任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₁-C₆杂烷基、任选经取代的C₂-C₆烯基、任选经取代的C₂-C₆杂烯基、任选经取代的C₂-C₆炔基、任选经取代的C₂-C₆杂炔基、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基；[0074] L是任选经取代的C₁-C₆亚烷基、任选经取代的C₁-C₆杂亚烷基、任选经取代的C₂-C₆亚烯基、任选经取代的C₂-C₆杂亚烯基、任选经取代的C₂-C₆亚炔基、任选经取代的C₂-C₆杂亚炔基、任选经取代的环亚烷基、任选经取代的杂环亚烷基、任选经取代的亚芳基、任选经取代的杂亚芳基；并且

[0075] Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，

[0076] 其中Am确切地包含一个 R_C 取代基。

[0077] 在一些实施方案中，所述鹅膏蕈毒素由式(IB)表示

[0078]

[0079] 其中 R_1 是H、OH、 OR_A 或 OR_C ；[0080] R_2 是H、OH、 OR_B 或 OR_C ；[0081] R_A 和 R_B 与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基；[0082] R_3 是H、 R_C 或 R_D ；[0083] R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 各自独立地是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ；[0084] R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 $NHRC$ 或 $NR_C R_D$ ；[0085] R_9 是H、OH、 OR_C 或 OR_D ；[0086] X是-S-、-S(O-)-或-SO₂-；[0087] R_C 是-L-Z；[0088] R_D 是任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₁-C₆杂烷基、任选经取代的C₂-C₆烯基、任选经取代的C₂-C₆杂烯基、任选经取代的C₂-C₆炔基、任选经取代的C₂-C₆杂炔基、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基；[0089] L是任选经取代的C₁-C₆亚烷基、任选经取代的C₁-C₆杂亚烷基、任选经取代的C₂-C₆亚烯基、任选经取代的C₂-C₆杂亚烯基、任选经取代的C₂-C₆亚炔基、任选经取代的C₂-C₆杂亚炔基、任选经取代的环亚烷基、任选经取代的杂环亚烷基、任选经取代的亚芳基、任选经取代的杂亚芳基；并且

[0090] Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，

[0091] 其中Am确切地包含一个 R_C 取代基。[0092] 在一些实施方案中，所述RNA聚合酶抑制剂是鹅膏蕈碱。在一些实施方案中，所述鹅膏蕈碱选自 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏无毒环肽、鹅膏无毒环肽酸和前鹅膏无毒环肽。

[0093] 在一些实施方案中，所述细胞毒素选自假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、皂草素、美登素、美登木素生物碱、奥瑞他汀、蒽环类、加里刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体。在一些实施方案中，所述奥瑞他汀是MMAE或MMAF。

[0094] 在本文中的缀合物的一些实施方案中，所述抗体通过所述抗体的Fc结构域中的半胱氨酸残基与毒素缀合。在一些实施方案中，所述半胱氨酸残基是通过所述抗体的Fc结构

域中的氨基酸取代引入的。在一些实施方案中,所述氨基酸取代是D265C。

[0095] 在另一方面,本文提供了药物组合物,其包含本文所述的抗体或ADC、和药学上可接受的载体。

[0096] 在又一方面,本文提供了用于在人患者中耗尽造血干细胞(HSC)群的方法,所述方法包括向患者施用有效量的本文所述的抗体或ADC。

[0097] 在本文所述方法的一些实施方案中,所述方法还包括向患者施用包含造血干细胞的移植物。在一些实施方案中,所述移植物是异源的。在一些实施方案中,所述移植物是异源的。

[0098] 在另一方面,本文提供了包括向人患者施用包含造血干细胞的移植物的方法,其中所述患者先前已经施用足以耗尽患者体内造血干细胞群的量的本文所述的抗体或ADC。

[0099] 在本文所述方法的一些实施方案中,所述患者患有血液疾病、代谢紊乱、癌症或自身免疫性疾病或严重联合免疫缺陷病(SCID)。

[0100] 在另一方面,本文提供了用于在人患者中治疗白血病的方法,所述方法包括向患有白血病的人患者施用本文所述的抗体或ADC。

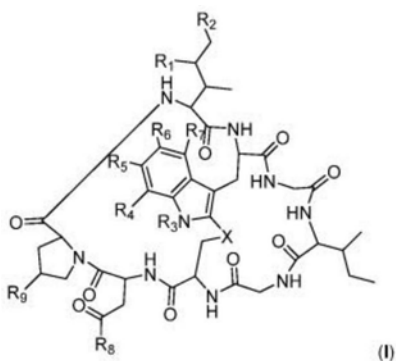
[0101] 在一个方面,本文提供了用于在有此需要的人患者中耗尽CD117+细胞群的方法,所述方法包括向患者施用有效量的抗CD117抗体药物缀合物(ADC),其中所述抗体药物缀合物(ADC)包含通过接头与鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体,并且由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是抗CD117抗体,其在抗体的Fc区域中包含H435A突变(EU索引),L是接头,Z是化学部分,并且Am是鹅膏蕈毒素。在一个实施方案中,在患者接受包含造血干细胞的移植物之前,施用所述ADC。在另一个实施方案中,在患者接受包含造血干细胞的移植物同时施用所述ADC。

[0102] 在另一方面,本文提供了用于在由此需要的患者中以足以耗尽CD117+细胞群的量向人患者施用抗CD117抗体药物缀合物(ADC)的方法,其中所述抗体药物缀合物(ADC)包含通过接头与鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体,并且由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是抗CD117抗体,其在抗体的Fc区域中包含H435A突变(EU索引),L是接头,Z是化学部分,并且Am是鹅膏蕈毒素;以及随后向患者施用包含造血干细胞的移植物。在一个实施方案中,包含造血干细胞的移植物在ADC的浓度基本上已经从患者血液中清除后施用到患者。在另一个实施方案中,造血干细胞或其后代在将造血干细胞移植到患者中后的两天或更多天后保持造血干细胞的功能潜能。在又一个实施方案中,造血干细胞或其后代能够在将造血干细胞移植到患者中后定位于造血组织和/或重建造血。在另一个实施方案中,患者患有选自以下的病症:腺苷脱氨酶缺乏和重症联合免疫缺陷、高免疫球蛋白M综合征、Chediak-Higashi疾病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨石化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、系统性硬化病、系统性红斑狼疮、多发性硬化症和幼年型类风湿性关节炎。在另一个实施方案中,患者患有自身免疫病症或血液学癌症。在另一个实施方案中,自身免疫病症选自多发性硬化症、人系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎症性肠疾病、治疗银屑病、1型糖尿病、急性播散性脑脊髓炎、爱迪生氏病、普秃、强直性脊椎炎、抗磷脂抗体综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳疾病、自身免疫性淋巴增生综合征、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病、克罗恩氏病、疤痕性类天疱疮、腹腔口炎性腹泻疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状狼疮、家族性自主神

经异常、子宫内膜异位症、特发性混合型冷沉淀球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、古德帕斯丘综合征、格雷夫斯病、格林-巴利综合征、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病、间质性膀胱炎、幼年型关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病、重症肌无力、神经性肌强直、斜视眼阵挛-肌阵挛综合征、视神经炎、奥德甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺性综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、赖特综合征、风湿热、结节病、硬皮病、Sjögren综合征、僵人综合征、无脉病、颞动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛和韦格纳肉芽肿病。

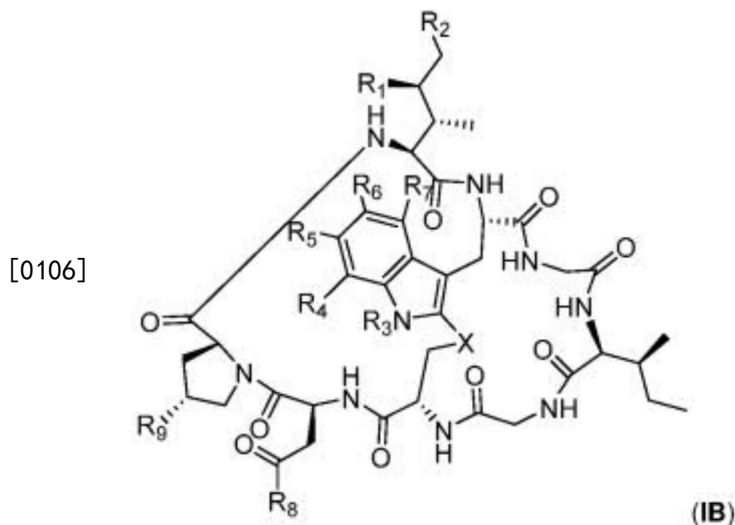
[0103] 在另一方面,本文提供了用于治疗患有血液学癌症的人受试者的方法,其包括给患有血液学癌症的人受试者施用有效量的抗CD117抗体药物缀合物(ADC),其中所述抗体药物缀合物(ADC)包含通过接头与鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体,并且由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是抗CD117抗体,其在抗体的Fc区域中包含H435A突变(EU索引),L是接头,Z是化学部分,并且Am是鹅膏蕈毒素。在一个实施方案中,血液学癌症是白血病。在另一个实施方案中,抗CD117抗体的Fc区域包含D265C突变(EU索引)。在又一个实施方案中,抗CD117抗体包含重链可变区,该重链可变区包含含有SEQ ID NO:7中所述的氨基酸序列的CDR1、含有SEQ ID NO:8中所述的氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:9中所述的氨基酸序列的CDR3;并且包含轻链可变区,该轻链可变区包含含有SEQ ID NO:10中所述的氨基酸序列的CDR1、含有SEQ ID NO:11中所述的氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:12中所述的氨基酸序列的CDR3。在另一个实施方案中,抗CD117抗体包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO13中所述的氨基酸序列,该轻链可变区包含SEQ ID NO14中所述的氨基酸序列。在另一个实施方案中,在向患者施用后,ADC被癌细胞、自身免疫细胞或造血干细胞内化。在另一个实施方案中,Am-L-Z由式(I)表示

[0104]



[0105] 其中 R_1 是H、OH、 OR_A 或 OR_C ; R_2 是H、OH、 OR_B 或 OR_C ; R_A 和 R_B ,当存在时,与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基; R_3 是H、 R_C 或 R_D ; R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 各自独立地是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ; R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 或 $NR_C R_D$; R_9 是H、OH、 OR_C 或 OR_D ; x是-S-、-S(O-)或-SO₂-; R_C 是-L-Z; R_D 是任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₁-C₆杂烷基、任选经取代的C₂-C₆烯基、任选经取代的C₂-C₆杂烯基、任选经取代的C₂-C₆炔基、任选经取代的C₂-C₆杂炔基、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基; L是任选经取代的C₁-C₆亚烷基、任选经取代的C₁-C₆杂亚烷基、任选经取代的C₂-C₆亚烯基、任选经取代的C₂-C₆杂亚烯基、任选经取代的C₂-C₆亚炔基、任选经取代的C₂-C₆杂亚炔基、任选经取代的环亚烷基、任选经取代的杂环亚烷基、任选经取代的亚芳基、任选经取代的杂亚芳

基、二肽、- (C=O) -、二硫化物、肽、或其组合；并且Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，其中Am确切地包含一个 R_C 取代基。在另一个实施方案中，Am-L-Z由式 (IB) 表示。



[0107] 其中 R_1 是H、OH、 OR_A 或 OR_C ； R_2 是H、OH、 OR_B 或 OR_C ； R_A 和 R_B ，当存在时，与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基； R_3 是H、 R_C 或 R_D ； R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 各自独立地是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ； R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 或 $NR_C R_D$ ； R_9 是H、OH、 OR_C 或 OR_D ；x是-S-、-S(O-)或-SO₂-； R_C 是-L-Z； R_D 是任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₁-C₆杂烷基、任选经取代的C₂-C₆烯基、任选经取代的C₂-C₆杂烯基、任选经取代的C₂-C₆炔基、任选经取代的C₂-C₆杂炔基、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基；L是任选经取代的C₁-C₆亚烷基、任选经取代的C₁-C₆杂亚烷基、任选经取代的C₂-C₆亚烯基、任选经取代的C₂-C₆杂亚烯基、任选经取代的C₂-C₆亚炔基、任选经取代的C₂-C₆杂亚炔基、任选经取代的环亚烷基、任选经取代的杂环亚烷基、任选经取代的亚芳基、任选经取代的杂亚芳基、二肽、- (C=O) -、二硫化物、肽或其组合；并且Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，其中Am确切地包含一个 R_C 取代基。在另一个实施方案中，ADC以约0.1mg/kg至约0.3mg/kg的剂量施用到人患者。

附图说明

[0108] 图1A-1E以图的方式描绘了标准生物层干涉术 (BLI) 测定的结果，以评估具有所示氨基酸取代的抗体与图例中所示的Fc γ 受体的结合应答。相对于WT IgG1结合，每种抗CD117抗体变体的归一化结合应答示于图1A中，并且每种抗CD117抗体变体的归一化结合应答的定量示于图1B中。图1C描述了相对于WT抗CD45抗体结合的抗CD45抗体变体的归一化结合应答的定量 (图1C；本文所用的“ic”是指与天然铰链半胱氨酸的链间缀合物)。相对于WT IgG1 (同种型对照) 结合，另外的抗CD117抗体变体的归一化结合应答示于图1D中，每种抗CD117抗体变体的归一化结合应答的定量示于图1E中。

[0109] 图2以图的方式描绘了肥大细胞脱颗粒测定的结果，其中在将肥大细胞与所示抗体一起孵育后测量 β -己糖胺酶。通过监测从4-硝基苯基N-乙酰基- β -D-氨基葡萄糖苷底物产生的对硝基苯酚来测量从肥大细胞释放的 β -己糖胺酶，并且以y轴上405nm处的对硝基苯

酚的吸光度给出。

[0110] 图3A、3B、3C、3D和3E以图的方式描绘了体外细胞因子释放测定的结果,以测量在与所示抗体一起孵育后从人外周血单核细胞(PBMC)释放的IL-6(图3A)、IL-8(图3B)、TNF α (图3C)、IL-1B(图3D)和GM-CSF(图3E)。图3A-3D的人PBMC是从四个供体中的一个中分离的,如图例中界定的。

[0111] 图4A和4B以图的方式描绘了体外抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)测定的结果,其示出了与对照相比,由于某些Fc变体中的Fc效应子沉默引起的ADCP活性降低。图4A描绘了CFSE和CD134染色的共表达的流式细胞术分析的结果。图4B描述了将MDM和Kasumi-1细胞的混合物(摩尔比1:2)与递增浓度的所示抗体一起在37℃下孵育2小时的结果。

[0112] 图5A、5B和5C描绘了热稳定性测定的结果的色谱图,其中评估了每种所示抗体的解链温度。

[0113] 图6A和6B是表,其示出了在图5A(参见图6A)和图5B和5C(参见图6B)中描绘的热稳定性测定中确定的每种所示抗体的Tm 1(CH2折叠)和Tm2(fab/CH3折叠)的解链温度。

[0114] 图7A和7B描绘了色谱图,其显示了通过疏水相互作用色谱法(HIC)分析后在室温下时间=0(非应激条件)时或在60℃下孵育30分钟(应激条件)后所示抗体的洗脱曲线。图7A描绘了色谱图,其显示了通过疏水相互作用色谱法(HIC)分析后在室温在时间=0时(非应激条件;图7A(下图为色谱图))或在60℃孵育30分钟后(应激条件;图7A(上图为色谱图))Ab1抗体和某些Ab1 Fc变体的洗脱曲线。图7B描绘了色谱图,其显示了通过疏水相互作用色谱法(HIC)分析后在室温下时间=0时(非应激条件)或在60℃下孵育30分钟(应激条件)后Ab2抗体和某些Ab2 Fc变体的洗脱曲线。

[0115] 图8A-8E以图的方式描绘了图7A和7B的HIC测定的结果,示出了所示抗体在暴露于应激或非应激条件后的抗体单体(即“主要”)峰(图8A和8D)或疏水性降解峰(图8B、8C和8E)的面积百分比。

[0116] 图9A-9E以图的方式描绘了尺寸排阻色谱测定的结果,其中确定了所示抗体在暴露于室温下时间=0(非应激条件)或60℃下孵育30分钟后(应激条件)后的抗体单体峰的面积百分比(图9A和9D)或高分子聚集体峰的百分比(图9B、9C和9E)。

[0117] 图10A和10B以图的方式描绘了非人灵长类药物代谢动力学测定的结果,表示为作为作用时间(即使用后的小时;x轴)的在不同剂量(0.1mg/kg和0.3mg/kg)下的基因工程化快半衰期抗CD117-鹅膏蕈毒素ADC的浓度(ng/mL)。图10B说明了ADC介导的耗尽和清除的时间为施用后移植预处理提供了窗口。

[0118] 图11A-11E以图的方式描绘了使用流式细胞术(图11A和图11C)检测表型造血干细胞(即,CD34+CD90+CD45RA-HSC)的耗尽或评估骨髓穿刺液中菌落形成单位(图11B和图11D)的测定结果,作为ADC1抗体药物缀合物(ADC)的不同剂量相对于对照(即PBS)(x轴)的函数。图11C和11D还示出了对应于未缀合的抗CD117抗体(“抗CD117”)的数据。图11E示出了使用流式细胞术(剂量施用后第7天)对骨髓造血干细胞(经处理相对于未经处理)的表型分析。

[0119] 图12A-12C以图的方式描绘了检测(图12A)中性粒细胞计数(10^3 /mL)和(图12B和12C)淋巴细胞计数(10^3 /mL)的测定的结果,作为不同剂量的ADC1抗体药物偶联物(ADC)(相对于对照(即PBS))剂量施用后的天数的函数。图12C还示出了对应于施用未缀合的抗CD117抗体(“抗CD117”)的食蟹猴的淋巴细胞计数的数据。

[0120] 图13A-13C以图的方式描绘了检测(图13A和13C) 血浆丙氨酸氨基转氨酶(ALT;以U/mL计)和(图13B) 血浆胆红素(以U/mL计) 的水平测定的结果,作为不同剂量的ADC1抗体药物偶联物(ADC)(相对于对照(即PBS)) 剂量施用后的天数的函数。图13C还示出了对应于施用未缀合的抗CD117抗体(“抗CD117”) 的食蟹猴的血浆ALT水平的数据。

[0121] 图14示出了在施用ADC1 (0.3mg/kg) 或对照(PBS) 后35天从食蟹猴中分离的肝和肾组织的图像。

[0122] 图15以图的方式描绘了检测网状细胞计数(10^9 /mL) 的测定的结果,作为不同剂量(0.1mg/kg或0.3mg/kg) 的ADC1抗体药物缀合物(相对于对照(即PBS) 或未缀合的抗CD117抗体) 剂量施用后的天数的函数。

具体实施方式

[0123] 本文公开了抗体及其缀合物(抗体药物缀合物;ADC),其具有经修饰的Fc区域,其中修饰降低或基本上消除了抗体效应子功能。对Fc区域的修饰还可以允许抗体-药物缀合和/或减少抗体的半衰期。抗体和抗体-抗原复合物与免疫系统细胞的相互作用可能影响多种响应,包括抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC) 和补体依赖性细胞毒性(CDC)。抗体的Fc区域与细胞表面的Fc受体的结合可以触发许多生物响应,包括吞噬和破坏经抗体包被的颗粒、清除免疫复合物、通过杀伤细胞(即ADCC) 裂解经抗体包被的靶细胞、释放炎症介质、胎盘转移和控制免疫球蛋白产生。通过降低或基本上消除抗体效应子功能,目前公开的抗体可以例如有利地避免触发在某些疗法(例如,造血干细胞疗法(例如,造血干细胞移植疗法)) 中可能是有害的多种免疫系统反应(例如,避免细胞因子释放或避免肥大细胞脱颗粒) 和造血细胞耗尽(例如,用于治疗血癌、免疫系统疾病和病症、自身免疫性疾病、移植抗宿主病等)。

[0124] 因此,本文包括在疗法中有用的具有经修饰的Fc区域的抗造血细胞抗体(也称为抗HC抗体)。例如,本文中的抗体或ADC可用于预处理程序,其中患者准备接受包含造血干细胞的移植。此类程序促进造血干细胞移植物的植入。根据本文所述的方法,在一些实施方案中,可以通过向患者施用ADC、抗体或其抗原结合片段来预处理患者(例如用于造血干细胞移植疗法或免疫系统重置),该ADC、抗体或其抗原结合片段能够结合由造血细胞(例如造血干细胞,例如造血干细胞和/或成熟免疫细胞(例如T细胞)) 表达的抗原,例如CD117(例如GNNK+CD117)、CD45、CD2、CD5、CD137、CD252及其组合。在一些实施方案中,本文中考考虑的抗体或ADC可以用于治疗造血系统的疾病或病症。例如,在一些实施方案中,本文中考考虑的抗体或ADC可以用于治疗血癌。在另一个非限制性实例中,本文中考考虑的抗体或ADC可以用于治疗移植抗宿主病(“GvHD”)。在某些实施方案中,本文中考考虑的抗体或ADC可以用于治疗T细胞介导的疾病或病症。如本文所述,抗体可以与细胞毒素共价结合,从而形成抗体药物缀合物(ADC)。向需要造血干细胞移植疗法的患者施用能够结合一种或更多种前述抗原的ADC、抗体或其抗原结合片段可以促进造血干细胞移植物的植入,例如,通过选择性地耗尽内源性造血干细胞,从而产生由外源性造血干细胞移植填补的空缺。

[0125] 在一个特定方面,本发明提供了分离的抗CD117抗体,特别是分离的人抗CD117抗体,其与人CD117的胞外结构域结合,其中该分离的抗CD117抗体具有经修饰的Fc区域,其中修饰降低或基本上消除了抗体效应子功能。本文中鉴定出的分离的抗CD117抗体的结合区

域描述如下。

[0126] 以下部分描述了可以向患者施用的抗体或其缀合物,例如遭受癌症或自身免疫性疾病的患者,或需要造血干细胞移植疗法以促进造血干细胞移植植入的患者,以及提供了向患者施用此类疗法的方法(例如,在造血干细胞移植之前)。

[0127] 定义

[0128] 如本文所用,术语“约”是指高于或低于所述值5%以内的值。

[0129] 如本文所用,术语“异源的”,当在移植的上下文中使用时,用于定义从供体移植到同一物种但遗传上不同的受体的细胞(或组织或器官)。因此,术语“异源细胞”是指两个个体之间遗传上不同的细胞类型,但属于同一物种,例如人。通常,术语“异源的”用于定义从供体移植到同一物种的不相关受体的细胞,例如干细胞。

[0130] 如本文所用,术语“自体同源的”是指其中供体和受体是同一受试者的细胞或移植

物。

[0131] 如本文所用,术语“异种的”是指其中供体和受体物种不同的细胞。

[0132] 如本文所用,术语“免疫细胞”旨在包括但不限于造血来源并在免疫响应中起作用的细胞。免疫细胞包括但不限于T细胞和自然杀伤(NK)细胞。在一个实施方案中,自然杀伤细胞包括细胞系,例如NK-92细胞。NK细胞系的另外实例包括NKG、YT、NK-YS、HANK-1、YTS细胞和NKL细胞。免疫细胞可以是异源的,也可以是自体同源的。

[0133] 如本文所用,术语“抗体”是指与特定抗原特异性结合或免疫反应的免疫球蛋白分子。抗体包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)、基因工程化抗体和其他修饰形式的抗体,包括但不限于嵌合抗体、人源化抗体、异源缀合的抗体(例如双特异性抗体、三特异性抗体和四特异性抗体、双抗体、三抗体和四抗体)和抗体片段(即抗体的抗原结合片段),包括例如Fab'、F(ab')₂、Fab、Fv、rIgG和scFv片段,只要它们表现出期望的抗原结合活性等。

[0134] 本公开内容的抗体通常是分离的或重组的。“分离的”,当在本文中使用,是指多肽,例如抗体,其已经从表达它的细胞或细胞培养物中鉴定、分离和/或回收。通常,分离的抗体通过至少一个纯化步骤制备。因此,“分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体。例如,特异性结合CD117的分离抗体基本上不含特异性结合除CD117之外抗原的抗体。

[0135] 如本文所用,术语“单克隆抗体”是指通过本领域中任何可用或已知的方法从单个克隆(包括任何真核、原核或噬菌体克隆)衍生的抗体,并且不限于通过杂交瘤技术产生的抗体。可用于本公开内容的单克隆抗体可以使用本领域已知的各种各样技术制备,包括使用杂交瘤、重组和噬菌体展示技术或其组合。除非另有说明,否则术语“单克隆抗体”(mAb)意指包括完整的分子,以及能够特异性结合靶蛋白的抗体片段(包括例如Fab和F(ab')₂片段)。如本文所用,Fab和F(ab')₂片段是指缺少完整的抗体的Fc片段的抗体片段。在一个实施方案中,抗体片段包含Fc区域。

[0136] 通常,抗体包括含有抗原结合区的重链和轻链。每个重链由重链可变区(在本文中缩写为HCVR或VH)和重链恒定区组成。重链恒定区由三个结构域(CH1、CH2和CH3)组成。每个轻链由轻链可变区(在本文中缩写为LCVR或VL)和轻链恒定区组成。轻链恒定区由一个结构域CL组成。VH和VL区域可以进一步细分为高度可变区,称为互补性决定区,其被那些更加保

守的称为框架结构区 (FR) 的区域分隔开。每个VH和VL由三个CDR和四个FRs组成,从氨基末端到羧基末端按以下顺序设置:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区包含与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,包括免疫系统的多种细胞 (例如效应细胞) 和经典补体系统的第一组分 (C1q)。

[0137] 如本文所用,术语“抗原结合片段”是指抗体的一个或更多个保持特异性结合靶抗原的能力的部分。抗体的抗原结合功能可以通过全长抗体的片段实现。抗体片段可以是例如Fab、F(ab')₂、单链抗体、双抗体、三抗体、抗体结合体、纳米体、适体或结构域抗体。术语抗体的“抗原结合片段”涵盖的结合片段的实例包括但不限于:(i) Fab片段,由VL、VH、CL和CH1结构域组成的单价片段;(ii) F(ab')₂片段,在铰链区含有通过二硫键连接两个Fab片段的二价片段;(iii) 由VH和CH1结构域组成的Fd片段;(iv) 由抗体单臂的VL和VH结构域组成的Fv片段;(v) 包括VH和VL结构域的dAb;(vi) 由VH结构域组成的dAb片段 (参见例如,Ward等,Nature 341:544-546,1989);(vii) 由VH或VL结构域组成的dAb;(viii) 分离的互补性决定区 (CDR);和 (ix) 两个或更多个 (例如,两个、三个、四个、五个或六个) 分离的CDR的组合,其可以任选地通过合成接头连接。此外,虽然Fv片段的两个结构域,VL和VH,是由独立的基因编码的,但是它们可以通过接头使用重组方法连接,使它们成为单个蛋白质链,其中VL和VH区域配对形成单价分子 (称为单链Fv (scFv);参见例如,Bird等,Science 242:423-426,1988和Huston等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883,1988)。这些抗体片段可以使用本领域技术人员已知的常规技术获得,并且可以以与完整的抗体相同的方式筛选片段的实用性。抗原结合片段可以通过重组DNA技术、完整免疫球蛋白的酶促或化学切割产生,或者在某些情况下,通过本领域已知的化学肽合成程序产生。在一个实施方案中,抗体的抗原结合片段包含Fc区域。

[0138] 如本文所用,术语“抗CD117抗体”或“结合CD117的抗体”是指能够以足够的亲和力结合CD117的抗体,使得该抗体可用作靶向CD117的诊断剂和/或治疗剂。

[0139] 如本文所用,术语“抗CD45抗体”或“结合CD45的抗体”是指能够以足够的亲和力结合CD45的抗体,使得该抗体可用作靶向CD45的诊断剂和/或治疗剂。

[0140] 如本文所用,术语“抗CD2抗体”或“结合CD2的抗体”或“抗CD2 ADC”或“结合CD2的ADC”是指当在细胞例如T细胞的细胞表面发现CD2时特异性结合人CD2的抗体或ADC。

[0141] 如本文所用,术语“抗CD5抗体”或“结合CD5的抗体”或“抗CD5 ADC”或“结合CD5的ADC”是指当在细胞例如T细胞的细胞表面发现CD5时特异性结合人CD5的抗体或ADC。

[0142] 如本文所用,术语“抗CD137抗体”或“结合CD137的抗体”是指能够以足够的亲和力结合CD137的抗体,使得该抗体可用作靶向CD137的诊断剂和/或治疗剂。

[0143] 如本文所用,术语“抗CD252抗体”或“结合CD252的抗体”是指能够以足够的亲和力结合CD252的抗体,使得该抗体可用作靶向CD252的诊断剂和/或治疗剂。在一个优选的实施方案中,抗体特异性结合人CD252 (hCD252)。CD252出现在抗原呈递细胞上。

[0144] 如本文所用,术语“双特异性抗体”是指例如单克隆抗体,例如人或人源化抗体,其能够结合至少两种不同的抗原或两种不同的表位。例如,一种结合特异性可以针对造血干细胞表面抗原CD117 (例如GNNK+CD117) 上的表位,并且另一种可以特异性结合不同造血干细胞表面抗原或另一种细胞表面蛋白上的表位,例如参与增强细胞生长的信号转导途径的受体或受体亚基等。在一些实施方案中,结合特异性可以针对相同靶抗原上独特的非重叠

的表位(即双抗体)。

[0145] 如本文所用,“完整”或“全长”抗体是指具有通过二硫键相互连接的两个重链(H)多肽和两个轻链(L)多肽的抗体。每个重链由重链可变区(在本文中缩写为HCVR或VH)和重链恒定区组成。重链恒定区由三个结构域(CH1、CH2和CH3)组成。每个轻链由轻链可变区(在本文中缩写为LCVR或VL)和轻链恒定区组成。轻链恒定区由一个结构域CL组成。VH和VL区域可以进一步细分为高度可变区,称为互补性决定区,其被那些更加保守的称为框架结构区(FR)的区域分隔开。每个VH和VL由三个CDR和四个FR组成,从氨基末端到羧基末端按以下顺序设置:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区包含与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,包括免疫系统的多种细胞(例如效应细胞)和经典补体系统的第一组分(C1q)。

[0146] 如本文所用,术语“互补性决定区”(CDR)是指在抗体的轻链和重链可变区中发现的高度可变区。可变结构域中更高度保守的部分被称为框架区(FR)。描述抗体高度可变区的氨基酸位置可以变化,取决于上下文和本领域已知的各种定义。可变结构域内的一些位置可以被视为杂交高度可变位置,因为在一组标准下这些位置可以被认为是在高度可变区内,而在另一组标准下被认为是在高度可变区外。这些位置中的一个或更多个也可以在扩展的高度可变区中发现。本文所述的抗体可以在这些杂交高度可变位置包含修饰。天然重链和轻链的可变结构域各自包含四个框架区,主要采用 β -折叠构型,由三个CDR连接,形成连接 β -折叠结构的环,并且在一些情况下,形成 β -折叠结构的一部分。每个链中CDR由FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4顺序的框架区紧密保持在一起,并且与来自其他抗体链的CDR一起,有助于抗体靶结合位点的形成(参见Kabat等, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institute of Health, Bethesda, MD., 1987)。在某些实施方案中,除非另有说明,否则免疫球蛋白氨基酸残基的编号是根据Kabat等的免疫球蛋白氨基酸残基编号系统进行的,(尽管可以使用任何抗体编号方案,包括但不限于IMGT和Chothia)。

[0147] 如本文所用,术语“热应激”是指由温度的任何变化对分子(例如抗体、其含Fc的抗原结合片段或ADC)产生的应力。在一个实施方案中,热应激是抗体、其含Fc的抗原结合片段或ADC在60°C下孵育30分钟。

[0148] 如本文所用,术语“特异性结合”是指抗体(或ADC)识别和结合特定蛋白质结构(表位)而不是一般的蛋白质的能力。如果抗体对表位“A”具有特异性,在含有经标记的“A”和抗体的反应中,含有表位A(或游离的、未经标记的A)的分子的存在减少结合到抗体上的经标记的A的量。通过示例的方式,如果抗体在被标记时可以被相应的未经标记抗体竞争离开其靶标,则抗体“特异性结合”靶标。在一个实施方案中,抗体特异性结合靶标,例如由造血干细胞表达的抗原,例如CD117(例如GNNK+CD117)或CD45或者由成熟免疫细胞(例如T细胞)表达的抗原,例如CD45、CD2、CD5、CD137或CD252,如果该抗体对靶的 K_D 为至少约 10^{-4} M、 10^{-5} M、 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M或更小(更小意指小于 10^{-12} 的数,例如 10^{-13})。在一个实施方案中,术语“特异性结合”是指抗体以至少约 1×10^{-6} M、 1×10^{-7} M、 1×10^{-8} M、 1×10^{-9} M、 1×10^{-10} M、 1×10^{-11} M、 1×10^{-12} M或更大的 K_D 结合抗原和/或以比其对非特异性抗原的亲和力至少大两倍的亲和力结合抗原的能力。在一个实施方案中,根据标准生物层干涉术(BLI)来确定 K_D 。然而,应理解,抗体可能能够特异性结合两种或更多种序列相关的抗原。例如,在一

个实施方案中,抗体可以特异性结合抗原的人和/或非人(例如小鼠或非人灵长类动物)直系同源物,例如CD117(例如GNNK+CD117)、CD45、CD2、CD5、CD137或CD252。

[0149] 如本文所用,术语“嵌合”抗体是指具有源自非人免疫球蛋白(例如大鼠或小鼠抗体)的可变序列和人免疫球蛋白恒定区(通常选自人免疫球蛋白模板)的抗体。用于产生嵌合抗体的方法是本领域已知的。参见,例如Morrison,1985,Science 229(4719):1202-7;Oi等,1986,BioTechniques 4:214-221;Gillies等,1985,J.Immunol.Methods 125:191-202;美国专利号5,807,715;4,816,567;和4,816,397。

[0150] 如本文所用,术语“Fc”、“Fc区域”、“Fc结构域”和“IgG Fc结构域”是指免疫球蛋白的部分,例如IgG分子,其与通过木瓜蛋白酶消化IgG分子获得的可结晶片段相关。Fc区域包含通过二硫键连接的两个IgG分子重链的C末端半部分。它没有抗原结合活性,但是含有碳水化合物部分和补体及Fc受体的结合位点,包括Fc γ Rn受体(参见下文)。例如,Fc结构域包含第二恒定结构域CH2(例如,人IgG1的EU位置231-340处的残基)和第三恒定结构域CH3(例如,人IgG1的EU位置341-447处的残基)。如本文所用,Fc结构域包含“下铰链区”(例如,IgG1的EU位置233-239处的残基)。

[0151] Fc可以单独是指该区域,或者在抗体、抗体片段或Fc融合蛋白的上下文中是指该区域。已经在Fc结构域的多个位置处观察到多态性,包括但不限于EU位置270、272、312、315、356和358,并且因此在本申请中呈现的序列和本领域已知的序列之间可能存在微小差异。因此,“野生型IgG Fc结构域”或“WT IgG Fc结构域”是指任何天然存在的IgG Fc区域(即任何等位基因)。人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的重链序列可以在许多序列数据库中发现,例如,在Uniprot数据库(www.uniprot.org)中分别在登记号P01857(IGHG1_HUMAN)、P01859(IGHG2_HUMAN)、P01860(IGHG3_HUMAN)、和P01861(IGHG1_HUMAN)下。在SEQ ID NO:15中提供了一个“WT”Fc区域的实例(其提供了包含Fc区域的重链恒定区)。

[0152] 如本文所用,术语“经修饰的Fc区域”或“变体Fc区域”是指包含一个或更多个在Fc区域内任何位置处引入的氨基酸取代、缺失、插入或修饰的IgG Fc区域。在某些方面,与不包含一个或更多个氨基酸取代的野生型Fc结构域相比,变体IgG Fc结构域包含一个或更多个氨基酸取代,导致对Fc γ R和/或C1q的结合亲和力降低或消失。此外,Fc结合相互作用是多种效应子功能和下游信号传导事件必不可少的,包括但不限于抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)。因此,在某些方面,相对于具有相同氨基酸序列但不包含一个或更多个氨基酸取代、缺失、插入或修饰的相应抗体,例如如在Fc区域的相应位置处包含天然存在的氨基酸残基的未经修饰Fc的区域,包含变体Fc结构域(例如抗体、融合蛋白或缀合物)的抗体可以对至少一种或更多种Fc配体(例如Fc γ R)表现出改变的结合亲和力。

[0153] 本文所述的变体Fc结构域是根据组成它们的氨基酸修饰定义的。对于本文讨论的所有关于Fc区域的氨基酸取代,编号总是根据如Kabat中的EU索引。因此,例如,D265C是一种Fc变体,其EU位置265处的天冬氨酸(D)相对于亲本Fc结构域被半胱氨酸(C)取代。同样,例如D265C/L234A/L235A定义了一种变体Fc变型,其在相对于亲本Fc结构域的EU位置265(D至C)、234(L至A)和235(L至A)处具有取代。变体也可以根据其突变体的EU氨基酸位置的最终氨基酸组成来指定。例如,L234A、L235A突变体可以称为“LALA”。作为另一个实例,E233P、L234V、L235A、delG236(缺失236)突变体可称为“EPLVLAdelG”。作为又一个实例,I253A、

H310A、H435A突变体可以称为“IHH”。注意,提供取代的顺序是任意的。

[0154] 如本文所用,术语“Fc γ 受体”或“Fc γ R”是指结合IgG抗体Fc区域并且由Fc γ R基因编码的蛋白质家族的任何成员。在人中,该家族包括但不限于Fc γ RI (CD64),包括同种型Fc γ RIa、Fc γ RIb和Fc γ RIc;Fc γ RII (CD32),包括同种型Fc γ RIIa (包括同种异型H131和R131)、Fc γ RIIb (包括Fc γ RIIb-1和Fc γ RIIb-2)和Fc γ RIIc;和Fc γ RIII (CD16),包括同种型Fc γ RIIIa (包括同种异型V158和F158)和Fc γ RIIIb (包括同种异型Fc γ RIIIb-NA1和Fc γ RIIIb-NA2),以及任何未发现的人Fc γ Rs或Fc γ R同种型或同种异型。Fc γ R可以来自任何生物体,包括但不限于人、小鼠、大鼠、兔和猴。小鼠Fc γ Rs包括但不限于Fc γ RI (CD64)、Fc γ RII (CD32)、Fc γ RIII (CD16)和Fc γ RIII-2 (CD16-2),以及任何未发现的小鼠Fc γ Rs或Fc γ R同种型或同种异型。

[0155] 如本文所用,术语“效应子功能”是指Fc结构域与Fc受体相互作用产生的生化事件。效应子功能包括但不限于ADCC、ADCP和CDC。如本文所用,“效应细胞”意指免疫系统中表达一种或更多种Fc受体并且介导一种或更多种效应子功能的细胞。效应细胞包括但不限于单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、血小板、B细胞、大颗粒淋巴细胞、Langerhan细胞、自然杀伤(NK)细胞和 $\gamma\delta$ T细胞,并且可以来自任何生物体,包括但不限于人、小鼠、大鼠、兔和猴。

[0156] 如本文所用,术语“沉默的(“silent”、“silenced”或“silencing”)”是指具有本文所述的经修饰的Fc区域的抗体,相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体与Fc γ R的结合,其与Fc γ 受体(Fc γ R)的结合降低(例如,如通过例如BLI测量的,相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体与Fc γ R的结合,与Fc γ R的结合降低至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%)。在一些实施方案中,Fc沉默的抗体没有可检测与Fc γ R的结合。具有经修饰的Fc区域的抗体与Fc γ R的结合可以使用本领域已知的多种技术确定,例如但不限于平衡方法(例如,酶联免疫吸附测定(ELISA);KinExA,Rathanaswami等Analytical Biochemistry,第373:52-60卷,2008;或放射免疫测定(RIA)),或通过表面等离子体共振测定或其他机制的基于动力学的测定(例如,BIACORE.RTM分析或Otelete.RTM分析(forteBIO))以及其他方法,例如间接结合测定、竞争性结合测定、荧光共振能量转移(FRET)、凝胶电泳和色谱法(例如凝胶过滤)。这些方法和其他方法可以利用被检查的一种或更多种组分上的标记和/或采用多种检测方法,包括但不限于显色、荧光、发光或同位素标记。关于结合亲和力和动力学的详细描述可以在Paul,W.E.,编辑,Fundamental Immunology,第4版,Lippincott-Raven,Philadelphia (1999) (其集中于抗体-免疫原的相互作用)中发现。竞争性结合测定的一个实例是放射免疫测定,包括在递增量的未经标记的抗原的存在下,将经标记的抗原与目标抗体一起孵育,并检测与经标记的抗原结合的抗体。目标抗体对特定抗原的亲和力和结合偏离率可以通过scatchard图分析从数据中确定。与第二抗体的竞争也可以使用放射免疫测定来确定。在这种情况下,在递增量的未经标记的第二抗体的存在下,将抗原与标记化合物缀合的目标抗体一起孵育。

[0157] 如本文所用,术语“包含未经修饰的Fc区域的相同抗体”是指这样的抗体,缺乏所述氨基酸取代(例如D265C、L234A、L235A和/或H435A),但除此以外;具有与其进行比较的Fc修饰抗体相同的氨基酸序列。

[0158] 术语“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是指一种细胞毒性形式,其中包

含Fc结构域的多肽(例如抗体)结合到某些细胞毒性细胞(例如主要是NK细胞、中性粒细胞和巨噬细胞)上存在的Fc受体(FcR)上,并且使这些细胞毒性效应细胞特异性结合到携带抗原的“靶细胞”上,并且随后用细胞毒素杀死靶细胞。(Hogarth等,Nature review Drug Discovery 2012,11:313)。预期的是,除抗体及其片段之外,包含Fc结构域的其他多肽,例如Fc融合蛋白和Fc缀合蛋白,具有特异性结合到携带抗原的靶细胞的能力能够实现细胞介导的细胞毒性。

[0159] 为了简单起见,由包含Fc结构域的多肽的活性引起的细胞介导的细胞毒性在本文中也称为ADCC活性。可以测试本公开内容的任何特定多肽介导ADCC裂解靶细胞的能力。为了评估ADCC活性,将目标多肽(例如抗体)与免疫效应细胞组合添加到靶细胞中,导致靶细胞的细胞溶解。细胞溶解通常通过从裂解的细胞中释放标记物(例如,放射性底物、荧光染料或天然细胞内蛋白质)检测。用于此类测定的效应细胞包括外周血单核细胞(PBMC)和自然杀伤(NK)细胞。体外ADCC测定的具体实例在Bruggemann等,J.Exp.Med.166:1351(1987);Wilkinson等,J.Immunol.Methods 258:183(2001);Patel等,J.Immunol.Methods 184:29(1995)中被描述。替代地或另外地,目标抗体的ADCC活性可以在体内进行评估,例如,在动物模型中,例如在Clynes等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 95:652(1998)中公开的。

[0160] 如本文所用,术语“预处理(“condition”和“conditioning”)”是指患者准备接受移植的过程,例如包含造血干细胞的移植物。此类程序促进了造血干细胞移植物的植入(例如,从在预处理程序和随后的造血干细胞移植后从患者中分离的血液样品中活的造血干细胞数量的持续增加推断。根据本文所述的方法,可以通过向患者施用能够结合由造血干细胞表达的抗原(例如CD117(例如GNNK+CD117)、CD45、CD2、CD5、CD137或CD252)的ADC、抗体或其抗原结合片段,来预处理患者进行造血干细胞移植疗法。如本文所述,抗体可以与细胞毒素共价缀合,从而形成ADC。向需要造血干细胞移植疗法的患者施用能够结合一种或更多种前述抗原的抗体、其抗原结合片段或ADC可以促进造血干细胞移植物的植入,例如,通过选择性地耗尽内源性造血干细胞,从而产生由外源性造血干细胞移植物填补的空缺。

[0161] 如本文所用,术语“有效量”或“治疗有效量”是指足以实现期望结果或对自身免疫性疾病或癌症具有效果的量。

[0162] 如本文所用,术语“半衰期”是指机体中的抗体药物的血浆浓度降低一半或50%所需的时间。血清浓度降低50%反映了药物循环的量。

[0163] 如本文所用,术语“人抗体”旨在包括具有来源于人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。人抗体可以包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性突变、在基因重排期间或通过体内体细胞突变引入的突变)。然而,如本文所用,术语“人抗体”并不旨在包括这样的抗体,其中来源于另一种哺乳动物物种(例如小鼠)种系的CDR序列已经被移植到人框架序列中。人抗体可以在人细胞中产生(例如,通过重组表达),或通过能够表达功能重排的人免疫球蛋白(例如重链和/或轻链)基因的非人动物或原核或真核细胞产生。当人抗体是单链抗体时,它可以包括天然人抗体中没有的接头肽。例如,Fv可以包含连接重链可变区和轻链可变区的接头肽,例如2至约8个甘氨酸或其他氨基酸残基。此类接头肽被认为是人来源的。人抗体可以通过本领域已知的多种方法制备,包括使用来源于人免疫球蛋白序列的抗体文库的噬菌体展示方法。还可以使用不能表达功能性内源性免疫球蛋白但可以表达人免疫球蛋白基因的转基因小鼠来产生人

抗体(参见例如,PCT公开号W01998/24893;W01992/01047;W01996/34096;W01996/33735;美国专利号5,413,923;5,625,126;5,633,425;5,569,825;5,661,016;5,545,806;5,814,318;5,885,793;5,916,771;和5,939,598)。

[0164] 非人(例如鼠)抗体的“人源化”形式是嵌合免疫球蛋白,其包含源自非人免疫球蛋白的最小序列。通常,人源化抗体包含基本上所有的至少一个(通常是两个)可变结构域,其中所有或基本上所有的CDR区域对应于非人免疫球蛋白的那些,并且所有或基本上所有的FR区域是人免疫球蛋白序列的那些。人源化抗体还可以包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常是人免疫球蛋白共有序列的一部分。抗体人源化的方法在本领域是已知的。参见例如,Riechmann等,1988,Nature 332:323-7;授予Queen等的美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,761;5,693,762;和6,180,370;EP239400;PCT公开W0 91/09967;美国专利号5,225,539;EP592106;EP519596;Padlan,1991,Mol.Immunol.,28:489-498;Studnicka等,1994,Prot.Eng.7:805-814;Roguska等,1994,Proc.Natl.Acad.Sci.91:969-973;和美国专利号5,565,332。

[0165] 如本文所用,术语“植入潜力”用于是指造血干细胞和祖细胞再植入组织的能力,无论此类细胞是自然循环的还是由移植提供的。该术语涵盖围绕或导致植入的所有事件,例如细胞的组织归巢和细胞在目标组织内的定居(colonization)。植入效率或植入率可以使用本领域技术人员已知的任何临床上可接受的参数来评价或定量,并且可以包括例如竞争性再植单位(CRU)的评估;干细胞已经归巢、定居或被移植的组织中标志物的并入或表达;或者通过疾病进展、造血干细胞和祖细胞的存活或受体的存活评价受试者的进展。植入也可以通过测量移植后时间段期间外周血中的白细胞计数来确定。植入也可以通过测量骨髓抽取样品中供体细胞的骨髓细胞回收率来评估。

[0166] 如本文所用,术语“造血干细胞”(“HSC”)是指具有自我更新和分化为成熟血细胞的能力的未成熟血细胞,该成熟血细胞包含不同的谱系,包括但不限于粒细胞(例如,早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞(例如,网状细胞、红细胞)、凝血细胞(例如,成巨核细胞、产生血小板的成巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如,单核细胞、巨噬细胞)、树突细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞(例如,NK细胞、B细胞和T细胞)。此类细胞可以包括CD34⁺细胞。CD34⁺细胞是表达CD34细胞表面标志物的未成熟细胞。在人中,CD34⁺细胞被认为包括具有以上定义的干细胞特性的细胞亚群,而在小鼠中,HSC是CD34⁻。此外,HSC也是指长期再植HSC(LT-HSC)和短期再植HSC(ST-HSC)。基于功能潜力和细胞表面标志物表达,LT-HSC和ST-HSC是有区别的。例如,人HSC是CD34⁺、CD38⁻、CD45RA⁻、CD90⁺、CD49F⁺、和lin⁻(对于包括CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD10、CD11B、CD19、CD20、CD56、CD235A的成熟谱系标志物为阴性)。在小鼠中,骨髓LT-HSC是CD34⁻、SCA-1⁺、C-kit⁺、CD135⁻、Slamf1/CD150⁺、CD48⁻和lin⁻(对于包括Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7ra的成熟谱系标志物为阴性),而ST-HSC是CD34⁺、SCA-1⁺、C-kit⁺、CD135⁻、Slamf1/CD150⁺和lin⁻(对于包括Ter11、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7ra的成熟谱系标志物为阴性)。此外,在自身稳定条件下,ST-HSC比LT-HSC更少静止并且更易增殖。然而,LT-HSC具有更大的自我更新潜力(即,它们在整个成年期存活,并且可以通过连续的受体连续移植),而ST-HSC具有有限的自我更新(即,它们仅存活有限的时间,并且不具有连续移植潜力)。这些HSC中的任一种都可用于本文所述的方法。ST-HSC特别有用,因为它们是高度增殖的,并

且因此可以更快地产生分化的后代。

[0167] 如本文所用,术语“抗造血细胞抗体”或“抗HC抗体”是指特异性结合由造血干细胞表达的抗原的抗体,例如CD117(例如GNNK+CD117)或CD45;或由成熟免疫细胞(例如T细胞)表达的抗原,例如CD45、CD2、CD5、CD137或CD252。

[0168] 如本文所用,术语“造血干细胞功能潜力”是指造血干细胞的功能特性,其包括1)多潜能(其是指分化为多种不同血统的能力,包括但不限于粒细胞(例如早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞(例如网状细胞、红细胞)、凝血细胞(例如成巨核细胞、产生血小板的成巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如单核细胞、巨噬细胞)、树突细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞(例如,NK细胞、B细胞和T细胞),2)自我更新(其是指造血干细胞产生子细胞的能力,子细胞具有与母细胞相同的潜能,并且这种能力可以在个体寿命中反复出现而不会衰竭),以及3)造血干细胞或其后代被重新引入移植受体的能力,在移植受体中它们回到造血干细胞龛并重建生产性和持续的造血。

[0169] 如本文所用,术语“受试者”和“患者”是指接受本文所述的特定疾病或病症治疗的生物体,例如人。例如,患者,例如人患者,可以在造血干细胞移植疗法之前接受治疗,以促进外源性造血干细胞的植入。

[0170] 如本文所用,术语“供体”是指在将细胞或其后代施用到受体中之前从中分离出一种或更多种细胞的人或动物。一种或更多种细胞可以是例如造血干细胞群。

[0171] 如本文所用,术语“双链抗体”是指含有两条多肽链的二价抗体,其每条多肽链包含通过接头(例如,由五个氨基酸组成的接头)连接的 V_H 和 V_L 结构域,该接头太短而不使 V_H 和 V_L 结构域在同一肽链上分子内缔合。该构型迫使每个结构域与另一条多肽链上的互补结构域配对,从而形成同二聚体结构。因此,术语“三链抗体”是指含有三条肽链的三价抗体,其每条肽链包含通过接头连接的一个 V_H 结构域和一个 V_L 结构域,该接头极其短(例如,由1-2个氨基酸组成的接头)以允许同一肽链内的 V_H 和 V_L 结构域的分子内缔合。为了折叠成它们的天然结构,以这种方式配置的肽通常三聚体化,以使相邻肽链的 V_H 和 V_L 结构域在空间上彼此接近(参见例如,Holliger等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-48,1993)。

[0172] 如本文所用,术语“内源性”描述这样的物质,例如分子、细胞、组织或器官(例如造血干细胞或造血谱系细胞,例如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、髓母细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞或B淋巴细胞),其在特定生物体(例如人患者)中天然存在。

[0173] 如本文所用,术语“受体”是指接受移植的患者,例如含有造血干细胞群的移植物。向受体施用的移植细胞可以是例如自体同源的、同系的或异源的细胞。

[0174] 如本文所用,术语“样品”是指取自受试者的样本(例如,血液、血液组分(例如,血清或血浆)、尿、唾液、羊水、脑脊液、组织(例如,胎盘或皮肤)、胰液、绒毛膜绒毛取样和细胞)。

[0175] 如本文所用,术语“scFv”是指单链Fv抗体,其中抗体的重链和轻链的可变结构域已经连接形成一条链。scFv片段包含单个多肽链,该多肽链包含通过接头分开的抗体轻链可变区(V_L) (例如CDR-L1、CDR-L2和/或CDR-L3)和抗体重链可变区(V_H) (例如CDR-H1、CDR-H2和/或CDR-H3)。连接scFv片段的 V_L 和 V_H 区域的接头可以由蛋白原氨基酸组成的肽接头。可以使用替代接头来增加scFv片段对蛋白水解降解的抗性(例如,含有D-氨基酸的接头),以

增强scFv片段的溶解性(例如,亲水性接头例如含有聚乙二醇的接头或含有重复甘氨酸和丝氨酸残基的多肽),以提高分子的生物物理稳定性(例如,含有形成分子内或分子间二硫键的半胱氨酸残基的接头),或减弱scFv片段的免疫原性(例如,含有糖基化位点的接头)。本领域普通技术人员还将理解,本文所述的scFv分子的可变区可以被修饰,使得它们在氨基酸序列上不同于其来源的抗体分子。例如,可以进行导致氨基酸残基处保守取代或改变的核苷酸或氨基酸取代(例如,在CDR和/或框架残基中),以保持或增强scFv与相应抗体识别的抗原结合的能力。

[0176] 如本文所用,短语“基本上从血液中清除”是指当从患者分离的血液样品中的治疗剂的浓度是这样的使得治疗剂不可通过常规手段检测(例如,使得在用于检测治疗剂的装置或测定的噪声阈值以上,治疗剂是不可检测的)时,向患者施用治疗剂(例如,抗CD117抗体或其抗原结合片段)后的时间点。本领域已知的多种技术可用于检测抗体、抗体片段和蛋白质配体,例如本领域已知或本文所述的基于ELISA的检测测定。可用于检测抗体或抗体片段的另外的测定包括免疫沉淀技术和免疫印迹测定以及本领域已知的其他测定。

[0177] 如本文所用,术语“转染”是指通常用于将外源性DNA引入原核或真核宿主细胞的各种各样技术中的任一种,例如电穿孔、脂转染、磷酸钙沉淀、DEAE-葡聚糖转染等。

[0178] 如本文所用,“治疗”是指降低疾病症状的严重程度和/或频率、消除疾病症状和/或所述症状的潜在原因、降低疾病症状和/或其潜在原因的频率或可能性以及改善或补救由疾病直接或间接引起的损害,疾病任何后果的任何改善,例如延长存活期、减少发病率和/或减轻作为替代治疗方式副产物的副作用;如本领域中容易理解的,完全根除疾病是优选的,但不是治疗行为的要求。有益的或期望的临床结果包括,但不限于,在如本文所述的抗体预处理疗法和随后的造血干细胞移植疗法之后,在患者中促进外源性造血细胞的植入。另外的有益结果包括,在预处理疗法和随后向患者施用外源性造血干细胞移植后,在需要造血干细胞移植的患者中,造血干细胞的细胞计数或相对浓度增加。本文所述的疗法的有益结果还可以包括在预处理疗法和随后造血干细胞移植疗法后,造血谱系的一种或更多种细胞的细胞计数或相对浓度的增加,例如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、成髓细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞或B淋巴细胞。另外的有益结果可以包括减少致病细胞群的数量,例如癌细胞群(例如CD117+白血病细胞)或自身免疫细胞(例如CD117+自身免疫淋巴细胞,例如表达与自身抗原交叉反应的T细胞受体的CD117+T细胞)。就本公开内容的方法涉及预防病症而言,应理解,术语“预防”不要求疾病状态被完全阻断。相反,如本文所用,术语预防是指技术人员鉴定易患病症的群体的能力,使得本发明化合物的施用可以在疾病发作之前进行。该术语不意味着疾病状态被完全避免。

[0179] 如本文所用,“需要”造血干细胞移植的患者包括在一种或更多种血细胞类型中表现出缺陷或不足的患者,以及具有干细胞病症、自身免疫性疾病、癌症或本文所述的其他病理的患者。造血干细胞通常表现出1)多潜能,并且因此可以分化为多种不同的血液谱系,包括但不限于粒细胞(例如,早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞(例如,网状细胞、红细胞)、凝血细胞(例如,成巨核细胞、产生血小板的成巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如,单核细胞、巨噬细胞)、树突细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞

(例如,NK细胞、B细胞和T细胞),2)自我更新,并且因此可以产生具有与母细胞等同潜能的子细胞,3)重新引入移植受体的能力,在移植受体中它们回到造血干细胞龛并重建生产性和持续的造血。因此,可以将造血干细胞施用到在一种或更多种造血谱系细胞类型中有缺陷或不足的患者,以在体内重建有缺陷或不足的细胞群。例如,患者可能遭受癌症,并且该缺陷可能是由于施用化疗剂或选择性地或非特异性地耗尽癌细胞群的其他药物而引起的。另外地或替代地,患者可能遭受血红蛋白病(例如,非恶性血红蛋白病),例如镰状细胞性贫血、地中海贫血、Fanconi贫血、再生障碍性贫血和Wiskott-Aldrich综合征。受试者可能是遭受腺苷脱氨酶严重联合免疫缺陷症(ADA SCID)、HIV/AIDS、异染性脑白质营养不良、Diamond-Blackfan贫血和Schwachman-Diamond综合征的受试者。受试者可能患有遗传性血液病症(例如镰状细胞性贫血)或自身免疫病症或受其影响。另外地或者替代地,受试者可能患有恶性肿瘤(例如神经母细胞瘤或血液学癌症)或受其影响。例如,受试者可能患有白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中,受试者患有急性髓细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,受试者患有骨髓增生异常综合征。在一些实施方案中,受试者患有自身免疫性疾病,例如硬皮病、多发性硬化、溃疡性结肠炎、克罗恩病、1型糖尿病或本文所述的另一种自身免疫性疾病。在一些实施方案中,受试者需要嵌合抗原受体T细胞疗法。在一些实施方案中,受试者患有或以其他方式受代谢储存病症影响。受试者可能遭受或以其他方式受代谢紊乱影响,这些代谢紊乱选自糖原沉积病、粘多糖血症、高歇病、Hurlers病、鞘脂类代谢障碍、异染性脑白质营养不良或任何其他可以受益于本文公开的治疗和疗法的疾病或病症,包括但不限于重症联合免疫缺陷、Wiscott-Aldrich综合征、高免疫球蛋白M(IgM)综合征、Chediak-Higashi疾病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化症、成骨不全、贮疾病、地中海贫血、镰状细胞性贫血、系统性硬化病、系统性红斑狼疮、多发性硬化、幼年类风湿性关节炎和那些在“Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease,”ASH Education Book,1:319-338(2000)中描述的疾病或病症,其公开内容通过引用整体并入本文,因为其涉及可以通过施用造血干细胞移植疗法来治疗的病理学。另外地或替代地,“需要”造血干细胞移植的患者可以是患有或未遭受上述病理学之一,但仍表现出造血谱系中一种或更多种内源性细胞类型水平降低(例如,与其他健康受试者相比)的患者,该内源性细胞类型例如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、髓母细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞。本领域技术人员可以容易地确定相对于其他健康受试者,一种或更多种前述细胞类型或其他血液细胞类型的水平是否降低,例如,通过流式细胞术和荧光激活细胞分选(FACS)方法以及本领域已知的其他程序。

[0180] 如本文所用,术语“变体”和“衍生物”可互换使用,并且是指本文所述的化合物、肽、蛋白质或其它物质的天然存在的、合成的和半合成的类似物。本文所述的化合物、肽、蛋白质或其他物质的变体或衍生物可以保留或改善原始材料的生物活性。

[0181] 如本文所用,短语“干细胞病症”广义地是指可以通过预处理受试者的靶组织和/或通过消融靶组织中的内源性干细胞群(例如,从受试者的骨髓组织中消融内源性造血干细胞或祖细胞群)和/或通过受试者的靶组织中移植或植入干细胞来治疗或治愈的任何

疾病、病症或症状。例如,1型糖尿病已经表面通过造血干细胞移植治愈,并且可以受益于根据本文所述的组合物和方法进行的预处理。可以使用本文所述的组合物和方法治疗的另外的疾病包括但不限于镰状细胞性贫血、地中海贫血、范科尼贫血、再生障碍性贫血、Wiskott-Aldrich综合征、ADA SCID、HIV/AIDS、异染性脑白质营养不良、Diamond-Blackfan贫血和Schwachman-Diamond综合征。可以使用本文所述的患者预处理和/或造血干细胞移植方法治疗的另外的疾病包括遗传性血液疾病(例如镰状细胞性贫血)和自身免疫步骤,例如硬皮病、多发性硬化、溃疡性结肠炎和克罗恩病。可以使用本文所述的预处理和/或移植方法治疗的另外的疾病包括恶性肿瘤,例如神经母细胞瘤或血液学癌症,例如白血病、淋巴瘤和骨髓瘤。例如,癌症可以是急性髓细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。使用本文所述的预处理和/或移植方法可治疗的另外的疾病包括骨髓增生异常综合征。在一些实施方案中,受试者患有或以其他方式受代谢储存病症影响。例如,受试者可能患有或以其他方式受代谢紊乱影响,这些代谢紊乱选自糖原沉积病、粘多糖血症、高歇病、Hurlers病、鞘脂类代谢障碍、异染性脑白质营养不良或任何其他可以受益于本文公开的治疗和疗法的疾病或病症,包括但不限于重症联合免疫缺陷、Wiskott-Aldrich综合征、高免疫球蛋白M(IgM)综合征、Chediak-Higashi疾病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化症、成骨不全、贮疾病、地中海贫血、镰状细胞性贫血、系统性硬化病、系统性红斑狼疮、多发性硬化、幼年类风湿性关节炎和那些在“Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease,” ASH Education Book,1:319-338 (2000)中描述的疾病或病症,其公开内容通过引用整体并入本文,因为它涉及可以通过施用造血干细胞移植疗法来治疗的病理学。

[0182] 如本文所用,术语“载体”包括核酸载体,例如质粒、DNA载体、质粒、RNA载体、病毒或其他合适的复制子。本文所述的表达载体可以包含多核苷酸序列以及例如用于蛋白质表达和/或将这些多核苷酸序列整合到哺乳动物细胞基因组中的另外的序列元件。可用于表达本发明的抗体和抗体片段的某些载体包括质粒,其含有调控序列,例如启动子和增强子区域,其指导基因转录。用于表达抗体和抗体片段的其他有用载体包含多核苷酸序列,其提高了这些基因的翻译速率或改善了由基因转录产生的mRNA的稳定性或核输出。这些序列元件可以包括例如5' 和3' 非翻译区和聚腺苷酸化信号位点,以指导表达载体上携带的基因的有效转录。本文所述的表达载体还可以包含编码用于选择包含此种载体的细胞的标志物的多核苷酸。合适的标志物的实例包括编码抗生素(例如氨苄青霉素、氯霉素、卡那霉素和诺尔丝菌素)抗性的基因。

[0183] 如本文所用,术语“缀合物”或“抗体药物缀合物”或“ADC”是指与细胞毒素连接的抗体。ADC是通过一种分子的反应性官能团(例如抗体或其抗原结合片段)与另一种分子的适当反应性官能团(例如本文所述的细胞毒素)的化学键合而形成的。缀合物可以包含两个相互结合的分子之间的接头,例如抗体与细胞毒素之间的接头。可用于形成缀合物的接头的实例包括含肽的接头,例如含有天然存在或非天然存在氨基酸的接头,例如D-氨基酸。这些接头可以使用本文所述或本领域已知的多种策略来制备。根据其中的反应组分,接头可以被切割,例如通过酶水解、光解、酸性条件下的水解、碱性条件下的水解、氧化、二硫化物还原、亲核切割或有机金属切割(参见例如,Leriche等,Bioorg.Med.Chem.,20:571-582,2012)。

[0184] 如本文所用,术语“微管结合剂”是指通过破坏细胞中有丝分裂和间期细胞功能所必需的微管网络起作用的化合物。微管结合剂的实例包括,但不限于,美登素、美登木素及其衍生物,例如本文所述或本领域已知的那些;长春花生物碱,例如长春碱、硫酸长春碱、长春新碱、硫酸长春新碱、长春地辛和长春瑞滨;紫杉烷,例如多西他赛和紫杉醇;大环内酯类,例如圆皮海绵内酯、秋水仙碱和埃博霉素;及其衍生物,如埃博霉素B或其衍生物。

[0185] 如本文所用,术语“鹅膏蕈毒素”是指由死亡帽 (*Amanita phalloides*) 产生的肽的鹅膏蕈毒素家族的成员,或其变体或衍生物,例如能够抑制RNA聚合酶II活性的其变体或衍生物。与本文所述的组合物和方法结合使用的鹅膏蕈毒素包括这样的化合物,例如但不限于式(III)、(IIIA)、(IIIB)和(IIIC)的化合物,每种化合物如下文所述(例如, α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏无毒环肽、鹅膏无毒环肽酸和前鹅膏无毒环肽)。如本文所述,鹅膏蕈毒素例如可以通过接头部分(L)与抗体或其抗原结合片段缀合(从而形成ADC)。用于此类过程的鹅膏蕈毒素缀合和接头的示例性方法在下文进行描述。根据组合物和方法,可用于与抗体或抗原结合片段缀合的示例性含接头的鹅膏蕈毒素也在本文进行描述。

[0186] 如本文所用,术语“酰基”是指 $-C(=O)R$,其中R是氢(“醛”)、 C_1 - C_{12} 烷基、 C_2 - C_{12} 烯基、 C_2 - C_{12} 炔基、C3-C7碳环基、 C_6 - C_{20} 芳基、5-10元杂芳基或5-10元杂环基,如本文所定义。非限制性实例包括甲酰基、乙酰基、丙酰基、苯甲酰基和丙烯酰基。

[0187] 如本文所用,术语“ C_1 - C_{12} 烷基”是指具有1至12个碳原子的直链或支化的饱和烃。代表性的 C_1 - C_{12} 烷基包括,但不限于,-甲基、-乙基、-正丙基、-正丁基、-正戊基和-正己基;而支化的 C_1 - C_{12} 烷基包括,但不限于,-异丙基、-仲丁基、-异丁基、-叔丁基、-异戊基和2-甲基丁基。支化的烷基可以是未经取代的或经取代的。

[0188] 如本文所用,术语“烯基”是指含有具有至少一个不饱和位点的正、仲或叔碳原子的 C_2 - C_{12} 烃,即碳-碳 sp^2 双键。实例包括但不限于:乙烯或乙烯基、-烯丙基、-1-丁烯基、-2-丁烯基、-异丁烯基、-1-戊烯基、-2-戊烯基、-3-甲基-1-丁烯基、-2-甲基-2-丁烯基、-2,3-二甲基-2-丁烯基等。烯基可以是未经取代的或经取代的。

[0189] 如本文所用,“炔基”是指包含具有至少一个不饱和位点的正、仲或叔碳原子的 C_2 - C_{12} 烃,即碳-碳 sp 三键。实例包括但不限于乙炔和丙炔。炔基可以是未经取代的或经取代的。

[0190] 如本文所用,“芳基”是指 C_6 - C_{20} 碳环芳香族基团。芳基的实例包括但不限于苯基、萘基和蒽基。芳基可以是未经取代的或经取代的。

[0191] 如本文所用,“芳基烷基”是指无环烷基,其中键合到碳原子(通常是末端或 sp^3 碳原子)上的氢原子之一被芳基取代。典型的芳基烷基包括但不限于苄基、2-苯基乙-1-基、2-苯基乙-1-基、萘基甲基、2-萘基乙-1-基、2-萘基乙-1-基、萘苄基、2-萘基乙-1-基等。芳基烷基包含6至20个碳原子,例如芳基烷基的烷基部分(包括烷基、烯基或炔基)为1至6个碳原子,芳基部分为5至14个碳原子。烷芳基可以是未经取代的或经取代的。

[0192] 如本文所用,“环烷基”是指饱和碳环基团,其可以是单环或双环的。环烷基包括具有3-7个碳原子的单环或7-12个碳原子的双环的环。单环环烷基的实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。环烷基可以是未经取代的或经取代的。

[0193] 如本文所用,“环烯基”是指不饱和碳环基团,它可以是单环或双环的。环烯基包括具有3至6个碳原子的单环或7至12个碳原子的双环的环。单环环烯基的实例包括1-环戊-1-

烯基、1-环戊-2-烯基、1-环戊-3-烯基、1-环己-1-烯基、1-环己-2-烯基和1-环己-3-烯基。环烯基可以是未经取代的或经取代的。

[0194] 如本文所用,“杂芳烷基”是指无环烷基,其中键合到碳原子(通常是末端或 sp^3 碳原子)上的氢原子之一被杂芳基取代。典型的杂芳基烷基包括但不限于2-苯并咪唑基甲基、2-呋喃基乙基等。杂芳基烷基包含6至20个碳原子,例如杂芳基烷基的烷基部分(包括烷基、烯基或炔基)为1至6个碳原子,杂芳基部分为5至14个碳原子和选自N、O、P和S的1至3个杂原子。杂芳基烷基的杂芳基部分可以是具有3至7个环成员(2至6个碳原子)的单环或具有7至10个环成员(4至9个碳原子和选自N、O、P和S的1至3个杂原子)的双环,例如:双环[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系统。

[0195] 如本文所用,“杂芳基”和“杂环烷基”分别是指芳香族或非芳香族环系统,其中一个或更多个环原子是杂原子,例如氮、氧和硫。杂芳基或杂环烷基包含2至20个碳原子和选自氮、氧、磷和硫的1至3个杂原子。杂芳基或杂环烷基可以是具有3至7个环成员(2至6个碳原子和选自N、O、P和S的1至3个杂原子)的单环或具有7至10个环成员(4至9个碳原子和选自N、O、P和S的1至3个杂原子)的双环,例如:双环[4,5]、[5,5]、[5,6]或[6,6]系统。杂芳基和杂环芳基可以未经取代的或经取代的。

[0196] 杂芳基和杂环烷基在Paquette, Leo A.; "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A. Benjamin, New York, 1968), 特别是第1、3、4、6、7和9章; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950 to present), 特别是第13、14、16、19和28卷; 和J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566中被描述。

[0197] 杂芳基的实例包括,作为实例而非限制,吡啶基、噻唑基、四氢噻吩基、嘧啶基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、四唑基、苯并呋喃基、噻萘基、吲哚基、indolenyl、喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基、异噻唑基、吡嗪基、哒嗪基、吡啶基、异吡啶基、3H-吡啶基、1H-吡啶基、嘌呤基、4H-喹啉基、酞嗪基、茶啉基、喹啉基、喹唑啉基、肉桂啉基、蝶啶基、4aH-咪唑基、咪唑基、菲啶基、吡啶基、嘧啶基、菲咯啉基、吩嗪基、吩噻嗪基、咪唑基、吩噻嗪基、异色满基、色满基、咪唑烷基、咪唑啉基、吡唑烷基、吡唑啉基、苯并三唑基、苯并异噻唑基和靛红基(isatinoyl)。

[0198] 杂环烷基的实例包括,作为实例而非限制,二氢吡啶基、四氢吡啶基(哌啶基)、四氢噻吩基、哌啶基、4-哌啶基、吡咯烷基、2-吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、双-四氢吡喃基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、十氢喹啉基、八氢异喹啉基、哌嗪基、奎宁环基和吗啉基。

[0199] 作为实例而非限制,碳键合的杂芳基和杂环烷基在吡啶的2、3、4、5或6位处,在哒嗪的3、4、5或6位处,在嘧啶的2、4、5或6位处,在吡嗪的2、3、5或6位处,在呋喃、四氢呋喃、硫代呋喃(thiofuran)、噻吩、吡咯或四氢吡咯的2、3、4或5位处,在噻唑、咪唑或噻唑的2、4或5位处,在异噻唑、吡唑或异噻唑的3、4或5位处,在氮丙啶的2或3位处,在氮杂环丁烷的2、3或4位处,在喹啉的2、3、4、5、6、7或8位处,或者在异喹啉的1、3、4、5、6、7或8位位处键合。更通常,碳键合的杂环包括2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、5-吡啶基、6-吡啶基、3-哒嗪基、4-哒嗪基、5-哒嗪基、6-哒嗪基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-嘧啶基、6-嘧啶基、2-吡嗪基、3-吡嗪基、5-吡嗪基、6-吡嗪基、2-噻唑基、4-噻唑基或5-噻唑基。

[0200] 作为示例而非限制,氮键合的杂芳基和杂环烷基在氮丙啶、氮杂环丁烷、吡咯、吡

咯烷、2-吡咯啉、3-吡咯啉、咪唑、咪唑烷、2-咪唑啉、3-咪唑啉、吡唑、吡唑啉、2-吡唑啉、3-吡唑啉、哌啶、哌嗪、吡啶、吡啶啉、1H-吡啶的1位处，在异吡啶或异吡啶啉的2位处、在吗啉的4位处和在咪唑或β-咪啉的9位处键合。更通常，氮键合的杂环包括1-氮丙啶基、1-氮杂环丁烷基、1-吡咯基、1-咪唑基、1-吡唑基和1-哌啶基。

[0201] 如本文所用以及应用于任何上述烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、环烷基、杂芳基、杂环基等的，“经取代的”意指一个或多个氢原子各自独立地被取代基取代。除非另外受到单个取代基的定义的限制，否则前述化学部分，例如“烷基”、“杂烷基”、“烯基”、“杂烯基”、“炔基”、“杂炔基”、“环烷基”、“杂环烷基”、“芳基”和“杂芳基”，可以任选地被例如选自以下的1至5个取代基取代：烷基、炔基、环烷基、杂环烷基、烷基芳基、烷基杂芳基、烷基环烷基、烷基杂环烷基、氨基、铵、酰基、酰氧基、酰氨基、氨基羰基、烷氧基羰基、脲基、氨基甲酸酯、芳基、杂芳基、亚磺酰基、磺酰基、烷氧基、硫烷基、卤素、羧基、三卤代甲基、氰基、羟基、巯基、硝基等。典型的取代基包括，但不限于，-X、-R、-OH、-OR、-SH、-SR、 NH_2 、-NHR、-N(R)₂、-N⁺(R)₃、-CX₃、-CN、-OCN、-SCN、-NCO、-NCS、-NO、-NO₂、-N₃、-NC(=O)H、-NC(=O)R、-C(=O)H、-C(=O)R、-C(=O)NH₂、-C(=O)N(R)₂、-SO₃⁻、-SO₃H、-S(=O)₂R、-OS(=O)₂OR、-S(=O)₂NH₂、-S(=O)₂N(R)₂、-S(=O)R、-OP(=O)(OH)₂、-OP(=O)(OR)₂、-P(=O)(OR)₂、-PO₃、-PO₃H₂、-C(=O)X、-C(=S)R、-CO₂H、-CO₂R、-CO₂⁻、-C(=S)OR、-C(=O)SR、-C(=S)SR、-C(=O)NH₂、-C(=O)N(R)₂、-C(=S)NH₂、-C(=S)N(R)₂、-C(=NH)NH₂和-C(=NR)N(R)₂；其中每个X在每种情况下独立地选自F、Cl、Br和I；并且每个R在每种情况下独立地选自C₁-C₁₂烷基、C₆-C₂₀芳基、C₃-C₁₄杂环烷基或杂芳基、保护基团和前药部分。当基团被描述为“任选经取代的”时，该基团在每种情况下可以独立地被一个或多个上述取代基取代。取代可以包括其中相邻取代基经历环闭合的情况，例如邻位官能取代基的环闭合，以形成例如通过环闭合形成的内酰胺、内酯、环酸酐、缩醛、半缩醛、硫缩醛、缩醛胺和半缩醛胺，例如以提供保护基团。

[0202] 应理解，根据上下文，某些基团命名惯例可以包括单基团或双基团。例如，当取代基需要与分子的其余部分的两个附接点时，应理解该取代基是双基团。例如，被鉴定为需要两个附接点的烷基的取代基包括双基团，例如-CH₂-、-CH₂CH₂-、-CH₂CH(CH₃)CH₂-等。其他基团命名惯例清楚地表明该基团是双基团，例如“亚烷基”、“亚烯基”、“亚芳基”、“杂环亚烷基”等。

[0203] 如本文所用，术语“偶联反应”是指这样的化学反应，其中两个或多个适于彼此反应的取代基反应，从而形成连接（例如共价地）与每个取代基结合的分子片段的化学部分。偶联反应包括其中结合到细胞毒素片段（例如本领域已知或本文所述的细胞毒素）的反应性取代基与结合到抗体片段或其抗原结合片段（例如本领域已知或本文所述的对CD117（例如GNK+CD117）具有特异性的抗体或其抗原结合片段）的适当反应性取代基反应的那些。合适的反应性取代基的实例包括亲核试剂/亲电子试剂对（例如，硫醇/卤代烷基对、胺/羰基对或硫醇/α,β-不饱和羰基对等）、二烯/二烯亲合物对（例如，叠氮化物/炔对等）等。偶联反应包括但不限于硫醇烷基化、羟基烷基化、胺烷基化、胺缩合、酰胺化、酯化、二硫化物形成、环加成（例如，[4+2]Diels-Alder环加成、[3+2]Huisen环加成等）、亲核芳香族取代、亲电子芳香族取代以及本领域已知或本文所述的其他反应形式。

[0204] 如本文所用，“CRU（竞争性再植单位）”是指长期移植干细胞的测量单位，其可以在体内移植后检测。

[0205] 如本文所用,“药物-抗体比”或“DAR”是指附接至ADC抗体的细胞毒素(例如,鹅膏蕈毒素)的数量。虽然根据抗体上连接位点的数量,更高的负载也是可能的,但是ADC的DAR的范围可以为1至8。因此,在某些实施方案中,本文所述的ADC的DAR为1、2、3、4、5、6、7或8。

[0206] 在所有取代基被描述为双基团(即具有与分子的其余部分的两个附接点)的情况下,应理解,取代基可以以任何定向构型附接,除非另有说明。

[0207] Fc修饰的抗体

[0208] 本公开内容部分基于如下发现,具有允许Fc沉默的Fc修饰、能够结合由造血细胞表达的抗原的抗体或其抗原结合片段可用作治疗剂。例如,本公开内容部分基于如下发现,具有允许Fc沉默的Fc修饰、能够结合(i)由造血细胞表达的抗原,包括但不限于CD117(例如GNNK+CD117)或CD45;或由成熟免疫细胞(例如T细胞)表达的抗原,包括但不限于CD45、CD2、CD5、CD137或CD252的抗体或其抗原结合片段可用作治疗剂(例如作为“裸”抗体或作为ADCs),以(i)治疗以CD117+(例如GNNK+CD117)或CD45+造血干细胞;或CD45+、CD2+、CD5+、CD137+、或CD252+免疫细胞(例如T细胞)为特征的癌症和自身免疫性疾病和(ii)促进移植的造血干细胞在需要移植疗法的患者中的植入。这些治疗活性可以例如由抗造血细胞(HC)抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体、抗CD252抗体等)或其抗原结合片段的结合引起,其结合抗原(例如CD117(例如GNNK+CD117)、CD45、CD2、CD5、CD137、CD252等),该抗原由造血细胞(例如造血干细胞白细胞、免疫细胞,例如成熟免疫细胞(例如T细胞))(例如癌细胞、自身免疫细胞或造血干细胞)表达,并且随后诱导细胞死亡。内源性造血干细胞的耗尽可以提供移植造血干细胞可以定居的龛,并且随后建立生产性造血。通过这种方式,移植的造血干细胞可以成功地植入患者中,例如遭受本文所述的干细胞病症的人患者。

[0209] 本文所述的抗体或其抗原结合片段也可以包括改变抗体和/或片段特性的修饰和/或突变,例如增加半衰期或增加或减少ADCC的那些。

[0210] 在一个实施方案中,提供了包含一个或更多个经放射性标记的氨基酸的抗体。经放射性标记的抗体可用于诊断和治疗目的(与经放射性标记的分子缀合是另一个可能的特征)。多肽标记的非限制性实例包括但不限于³H、¹⁴C、¹⁵N、³⁵S、⁹⁰Y、⁹⁹Tc和¹²⁵I、¹³¹I和¹⁸⁶Re。用于制备经放射性标记的氨基酸和相关肽衍生物的方法在本领域是已知的(参见例如,Junghans等,in *Cancer Chemotherapy and Biotherapy* 655-686(第2版编辑,Chafner and Longo,编辑.,Lippincott Raven(1996))和美国专利号4,681,581、美国专利号4,735,210、美国专利号5,101,827、美国专利号5,102,990(美国RE35,500)、美国专利号5,648,471和美国专利号5,697,902。例如,放射性同位素可以通过氯胺T方法缀合。

[0211] 在一个实施方案中,抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)或其抗原结合片段包含经修饰的Fc区域,其中所述经修饰的Fc区域包含相对于野生型Fc区域的至少一个氨基酸修饰,使得所述分子对FcγR(Fc γ R)的亲和力或与其的结合改变。Fc区域内的某些氨基酸位置通过结晶学研究已知与Fc γ R直接接触。特别地,氨基酸234-239(铰链区)、氨基酸265-269(B/C环)、氨基酸297-299(C'/E环)和氨基酸327-332(F/G环)。(参见Sondermann等,2000Nature,406:267-273)。在一些实施方案中,本文所述的抗体可以包含变体Fc区域,该变体Fc区域包含至少一个残基的修饰,基于结构和晶体学分析该修饰与Fc γ R直接接触。在一个实施方案中,根据如Kabat

等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版编辑Public Health Service, NH1, MD (1991) 中的EU索引, 抗HC抗体的Fc区域(例如, 抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体、抗CD252抗体等) 或其抗原片段包含氨基酸265处的氨基酸取代, 其通过引用明确地并入本文中。“如Kabat中的EU索引”是指人IgG1 EU抗体的编号。在一个实施方案中, Fc区域包含D265A突变。在一个实施方案中, Fc区域包含D265C突变。在一些实施方案中, 根据如Kabat中的EU索引, 抗体(或其片段)的Fc区域包含氨基酸234处的氨基酸取代。在一个实施方案中, Fc区域包含L234A突变。在一些实施方案中, 根据如Kabat中的EU索引, 抗HC抗体(例如, 抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体) 或其抗原片段的Fc区域包含氨基酸235处的氨基酸取代。在一个实施方案中, Fc区域包含L235A突变。在又一个实施方案中, Fc区域包含L234A和L235A突变(在本文中也称为“L234A.L235A”或“LALA”。在另一个实施方案中, Fc区域包含L234A和L235A突变, 其中Fc区域不包含P329G突变。在另一个实施方案中, Fc区域包含D265C、L234A和L235A突变(在本文中也称为“D265C.L234A.L235A”)。在另一个实施方案中, Fc区域包含D265C、L234A和L235A突变, 其中Fc区域不包含P329G突变。在又一个实施方案中, Fc区域包含D265C、L234A、L235A和H435A突变(在本文中也称为“D265C.L234A.L235A.H435A”)。在另一个实施方案中, Fc区域包含D265C、L234A、L235A和H435A突变, 其中Fc区域不包含P329G突变。在另一个实施方案中, Fc区域包含D265C和H435A突变(在本文中也称为“D265C.H435A”)。在又一个实施方案中, Fc区域包含D265A、S239C、L234A和L235A突变(在本文中也称为“D265A.S239C.L234A.L235A”)。在又一个实施方案中, Fc区域包含D265A、S239C、L234A和L235A突变, 其中Fc区域不包含P329G突变。在另一个实施方案中, Fc区域包含D265C、N297G和H435A突变(在本文中也称为“D265C.N297G.H435A”)。在另一个实施方案中, Fc区域包含D265C、N297Q和H435A突变(在本文中也称为“D265C.N297Q.H435A”)。在另一个实施方案中, Fc区域包含E233P、L234V、L235A和delG236(缺失236)突变(在本文中也称为“E233P.L234V.L235A.delG236”或称为“EPLVLAdelG”)。在另一个实施方案中, Fc区域包含E233P、L234V、L235A和delG236(缺失236)突变, 其中Fc区域不包含P329G突变。在另一个实施方案中, Fc区域包含E233P、L234V、L235A、delG236(缺失236)和H435A突变(在本文中也称为“E233P.L234V.L235A.delG236.H435A”或称为“EPLVLAdelG.H435A”)。在另一个实施方案中, Fc区域包含E233P、L234V、L235A、delG236(缺失236)和H435A突变, 其中Fc区域不包含P329G突变。在另一个实施方案中, Fc区域包含L234A、L235A、S239C和D265A突变。在另一个实施方案中, Fc区域包含L234A、L235A、S239C和D265A突变, 其中Fc区域不包含P329G突变。在另一个实施方案中, Fc区域包含H435A、L234A、L235A和D265C突变。在另一个实施方案中, Fc区域包含H435A、L234A、L235A和D265C突变, 其中Fc区域不包含P329G突变。

[0212] 在一些实施方案中, 抗体具有经修饰的Fc区域, 使得在体外效应子功能测定中抗体降低效应子功能, 相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体与FcR的结合, 与Fc受体(FcR)的结合减少。在一些实施方案中, 抗体具有经修饰的Fc区域, 使得抗体在体外效应子功能测定中降低效应子功能, 相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体与Fc γ R的结合, 与Fc γ 受体(Fc γ R)的结合减少。在一些实施方案中, Fc γ R是Fc γ R1。在一些实施方案中, Fc γ R是Fc γ R2A。在一些实施方案中, Fc γ R是Fc γ R2B。在另一些实施方案中, Fc γ R是Fc γ R2C。在一些实施方案中, Fc γ R是Fc γ R3A。在一些实施方案中, Fc γ R是Fc γ R3B。在另一些实施方

案中,结合的减少是相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体与Fc γ R的结合,与Fc γ R结合的抗体减少至少70%、减少至少80%、减少至少90%、减少至少95%、减少至少98%、减少至少99%或减少100%。在另一些实施方案中,结合的减少是相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体与Fc γ R的结合,与Fc γ R结合的抗体减少至少70%至100%、减少至少80%至100%、减少至少90%至100%、减少至少95%至100%或减少至少98%至100%。

[0213] 在一些实施方案中,抗体具有经修饰的Fc区域,使得在体外细胞因子释放测定中抗体减少细胞因子释放,相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体的细胞因子释放,细胞因子释放减少至少50%。在一些实施方案中,细胞因子释放的减少是相对于包含未修饰Fc区域的相同抗体的细胞因子释放,细胞因子释放减少至少70%、减少至少80%、减少至少90%、减少至少95%、减少至少98%、减少至少99%或减少100%。在一些实施方案中,细胞因子释放的减少是相对于包含未修饰Fc区域的相同抗体的细胞因子释放,细胞因子释放减少至少70%至100%、减少至少80%至100%、减少至少90%至100%、减少至少95%至100%。在一些优选的实施方案中,细胞因子释放是通过免疫细胞。

[0214] 在一些实施方案中,抗体具有经修饰的Fc区域,使得在体外肥大细胞脱颗粒测定中抗体减少肥大细胞脱颗粒,相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体的肥大细胞脱颗粒,肥大细胞脱颗粒减少至少50%。在一些实施方案中,肥大细胞脱颗粒的减少是相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体的肥大细胞脱颗粒,肥大细胞脱颗粒减少至少70%、减少至少80%、减少至少90%、减少至少95%、减少至少98%、减少至少99%或减少100%。在一些实施方案中,肥大细胞脱颗粒的减少是相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体的肥大细胞脱颗粒,肥大细胞脱颗粒减少至少为70%至100%、减少至少80%至100%、减少至少90%至100%或减少至少95%至100%。

[0215] 在一些实施方案中,抗体具有经修饰的Fc区域,使得在体外抗体依赖性细胞吞噬作用测定中,抗体降低或阻止抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP),相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体的ADCP,ADCP降低至少50%。在一些实施方案中,ADCP的降低是相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体的抗体依赖性细胞吞噬作用,抗体依赖性细胞吞噬作用降低至少70%、降低至少80%、降低至少90%、降低至少95%、降低至少98%、降低至少99%或降低100%。

[0216] 在一些实施方案中,本文所述的抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)包含Fc区域,该Fc区域包含以下修饰之一或这些修饰的组合:D265A、D265C、D265C/H435A、D265C/LALA、D265C/LALA /H435A、D265A /S239C/L234A/L235A/H435A、D265A/S239C/L234A/L235A、D265C/N297G、D265C/N297G/H435A、D265C(EPLVLAdelG*)、D265C(EPLVLAdelG) /H435A、D265C/N297Q/H435A、D265C/N297Q、EPLVLAdelG/H435A、EPLVLAdelG/D265C、EPLVLAdelG/D265A、N297A、N297G或N297Q。

[0217] 经修饰的Fc区域与Fc γ 受体之间的结合或亲和力可以使用本领域已知的多种技术确定,例如但不限于平衡方法(例如,酶联免疫吸附测定(ELISA);KinExA,Rathanaswami等Analytical Biochemistry,第373:52-60卷,2008;或放射免疫测定(RIA))、或通过表面等离子体共振测定或基于动力学的测定的其他机制(例如,BIACORE.RTM分析或Octet.RTM分析(forteBIO))以及其他方法,例如间接结合测定、竞争性结合测定法、荧光共振能量转移(FRET)、凝胶电泳和色谱法(例如,凝胶过滤)。这些和其他方法可以利用被检查的一种或

更多种组分上的标记和/或采用多种检测方法,包括但不限于显色、荧光、发光或同位素标记。关于结合亲和力和动力学的详细描述可以在Paul, W.E., 编辑, Fundamental Immunology, 第4版, Lippincott-Raven, Philadelphia (1999) 中发现, 其聚焦于抗体-免疫原的相互作用。竞争性结合测定的一个实例是放射免疫测定, 包括在递增量的未经标记的抗原的存在下, 将经标记的抗原与目标抗体一起孵育, 并且检测与经标记的抗原结合的抗体。目标抗体对特定抗原的亲和力和结合偏离率可以通过scatchard图分析从数据中确定。与第二抗体的竞争也可以用放射免疫测定确定。在这种情况下, 在递增量的未经标记的第二抗体的存在下, 将抗原与与标记化合物缀合的目标抗体一起孵育。

[0218] 在一个实施方案中, 相对于包含未经修饰的Fc区域的相同抗体与Fc γ 受体的结合, 具有本文所述Fc修饰的抗体(例如, D265C、L234A、L235A和/或H435A)与Fc γ 受体的结合减少至少70%、减少至少75%、减少至少80%、减少至少85%、减少至少90%、减少至少95%、减少至少98%、减少至少99%或减少100%(例如, 如通过生物层干涉术(BLI)评估, 例如, 如实施例1中所述)。

[0219] 不希望受任何理论的束缚, 据信Fc区域与Fc γ 受体的结合相互作用是多种效应子功能和下游信号传导事件必不可少的, 包括但不限于抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)。因此, 在某些方面, 包含经修饰的Fc区域(例如, 包含L234A、L235A和/或D265C突变)的抗体具有显著减低或消除的效应子功能。效应子功能可以使用本领域已知的多种方法测定, 例如, 通过测量对目标抗体的细胞响应(例如, 肥大细胞脱颗粒或细胞因子释放)。例如, 使用本领域的标准方法, 可以测定Fc修饰的抗体在体外触发肥大细胞脱颗粒的能力(例如, 如实施例2中所述)或触发细胞因子释放的能力, 例如通过人外周血单核细胞(例如, 如实施例3中所述)。

[0220] 因此, 在一个实施方案中, Fc区域包含导致半衰期减少(例如, 相对于具有经未修饰的Fc区域的抗体)的突变。在其中预期抗体起短寿命治疗剂作用的某些情况(例如, 本文所述的预处理步骤, 其中在施用抗体之后施用HSC)下, 具有短半衰期的抗体可能是有利的。理想地, 抗体在递送HSC之前基本上被清除, HSC通常也表达靶抗原(例如, CD117(例如, GNNK+CD117)、CD45、CD2、CD5、CD137或CD252), 但是不是抗HC抗体(例如, 抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)的靶标, 不同于内源性干细胞。在一个实施方案中, Fc区域包含435位(根据Kabat的EU索引)处的突变。在一个实施方案中, 突变是H435A突变。

[0221] 在一个实施方案中, 本文所述的抗HC抗体(例如, 抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)的半衰期(例如, 在人中)等于或小于约24小时、等于或小于约23小时、等于或小于约22小时、等于或小于约21小时、等于或小于约20小时、等于或小于约19小时、等于或小于约18小时、等于或小于约17小时、等于或小于约16小时、等于或小于约15小时、等于或小于约14小时、等于或小于约13小时、等于或小于约12小时、或等于或小于约11小时。

[0222] 在一个实施方案中, 本文所述的抗HC抗体(例如, 抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)的半衰期(例如, 在人体中)为约1-5小时、约5-10小时、约10-15小时、约15-20小时或约20-25小时。

[0223] 在一些方面, Fc区域包含两个或更多个突变, 这些突变赋予抗体减少的半衰期和

降低的效应子功能。在一些实施方案中,Fc区域包含导致半衰期减少的突变和至少一个可以与Fc γ R直接接触的残基的突变(例如,基于结构和晶体学分析)。在一个实施方案中,Fc区域包含H435A突变、L234A突变和L235A突变。在一个实施方案中,Fc区域包含H435A突变和D265C突变。在一个实施方案中,Fc区域包含H435A突变、L234A突变、L235A突变和D265C突变。

[0224] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段通过抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中的半胱氨酸残基与细胞毒素(例如,鹅膏蕈毒素)缀合。在一些实施方案中,半胱氨酸残基通过抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中的突变引入。例如,半胱氨酸残基可以选自Cys118、Cys239和Cys265。在一个实施方案中,抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)或其抗原结合片段的Fc区域包含氨基酸265(根据Kabat的EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,Fc区域包含D265C突变。在一个实施方案中,Fc区域包含D265C和H435A突变。在一个实施方案中,Fc区域包含D265C、L234A和L235A突变。在一个实施方案中,Fc区域包含D265C、L234A、L235A和H435A突变。在一个实施方案中,抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)或其抗原结合片段的Fc区域包含氨基酸239(根据Kabat的EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,Fc区域包含S239C突变。在一个实施方案中,Fc区域包含L234A突变、L235A突变、S239C突变和D265A突变。在另一个实施方案中,Fc区域包含S239C和H435A突变。在另一个实施方案中,Fc区域包含L234A突变、L235A突变和S239C突变。在又一个实施方案中,Fc区域包含H435A突变、L234A突变、L235A突变和S239C突变。在又一个实施方案中,Fc区域包含H435A突变、L234A突变、L235A突变、S239C突变和D265A突变。

[0225] 值得注意的是,除非另有说明,否则Fc氨基酸位置参照EU编号索引。

[0226] 用于将抗体基因工程化以包含本文中任何Fc修饰的方法是本领域众所周知的。这些方法包括但不限于通过对编码抗体或至少抗体恒定区的制备的DNA分子进行定点(或寡核苷酸介导的)诱变、PCR诱变和盒诱变的制备。定点诱变是本领域众所周知的(参见例如,Carter等,Nucleic Acids Res.,13:4431-4443(1985)和Kunkel等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,82:488(1987))。PCR诱变也适用于制备起始多肽的氨基酸序列变体。参见Higuchi,在PCR协议中,第177-183页(Academic Press,1990);和Vallette等,Nuc.Acids Res.17:723-733(1989)。另一种用于制备序列变体的方法,盒诱变,是基于由威尔斯等,Gene,34:315-323(1985)所述的技术。

[0227] 抗CD117抗体

[0228] 本公开内容还部分基于如下发现,能够结合CD117(例如GNNK+CD117)的抗体或其抗原结合片段可以单独用作治疗剂或用作ADC,以(i)治疗以CD117+细胞为特征的癌症(例如急性髓性白血病或骨髓增生异常综合征)和自身免疫性疾病,和(ii)促进在需要移植疗法的患者中移植的造血干细胞的植入。这些治疗活性可以通过以下引起:例如抗CD117抗体或其抗原结合片段与细胞(例如癌细胞、自身免疫细胞或造血干细胞)表面上表达的CD117(例如GNNK+CD117)结合,并且随后诱导细胞死亡。内源性造血干细胞的耗尽可以提供移植造血干细胞可以定居的龛,并且随后建立生产性造血。通过这种方式,移植的造血干细胞可以成功地植入患者中,例如患有本文所述的干细胞病症的人患者。

[0229] 能够结合人CD117的抗体和抗原结合片段(也称为c-Kit,mRNA NCBI参考序列:NM_

000222.2, 蛋白质NCBI参考序列:NP_000213.1), 包括能够结合GNNK+CD117的那些, 可以与本文所述的组合物和方法结合使用, 以预处理进行造血干细胞移植疗法的患者。在相当大比例的群体中, 影响CD117编码区或胞外结构域的多态性目前在非肿瘤适应症中尚不为人所知。CD117的至少有四种同种型已被鉴定, 有在肿瘤细胞中表达另外的同种型的潜力。两种CD117同种型位于蛋白质的胞内结构域, 并且两种存在于外部近膜区。两种细胞外同种型, GNNK+和GNNK-在4个氨基酸序列的存在(GNNK+)或缺失(GNNK-)方面有所不同。据报道, 这些同种型对配体(SCF)具有相同的亲和力, 但是据报道, 配体与GNNK-同种型结合增加内化和降解。GNNK+同种型可用作免疫原, 以产生能够结合CD117的抗体, 因为针对这种同种型产生的抗体包括GNNK+和GNNK-蛋白。

[0230] 在一个实施方案中, 抗CD117抗体或其抗原结合部分包含如SEQ ID NO:13的氨基酸序列中所述的重链可变区和如SEQ ID NO:14的氨基酸序列中所述的轻链可变区。

[0231] 在另一个实施方案中, 抗CD117抗体或其抗原结合部分包含Ab85的重链可变区(VH)氨基酸序列的三个CDR序列和轻链可变区(LH)氨基酸序列的三个CDR序列。

[0232] 在另一个实施方案中, 抗CD117抗体或其抗原结合部分包含Ab85的重链可变区(VH)氨基酸序列和轻链可变区(LH)氨基酸序列(在本文中也可互换称为Ab2)。

[0233] 在下文提供重链可变区氨基酸序列作为SEQ ID NO:13。Ab85的VH CDR氨基酸序列在下文加下划线并且如下: NYWIG(VH CDR 1; SEQ ID NO:7); IINPRDS DTRYRPSFQG(VH CDR 2; SEQ ID NO:8); 和HGRGYEGYEGAFDI(VH CDR3; SEQ ID NO:9)。

[0234] Ab85 VH序列

[0235] EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWMAIINPRDS DTRYRPSFQGGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGRGYEGYEGAFDIWGQGT LTVTVSS (SEQ ID NO:13)

[0236] 在下文提供Ab85的轻链可变区(VL)氨基酸序列作为SEQ ID NO:14。Ab85的VL CDR氨基酸序列在下文加下划线并且如下: RSSQGIRSDLG(VLCDR1; SEQ ID NO:10); DASNLET(VL CDR2; SEQ ID NO:11); 和QQANGFPLT(VL CDR3; SEQ ID NO:12)。

[0237] Ab85 VL序列

[0238] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRSSQGIRSDLGWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANGFPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:14)。

[0239] 在另一个实施方案中, 抗CD117抗体或其抗原结合部分包含Ab249的重链可变区(VH)氨基酸序列和轻链可变区(LH)氨基酸序列(在本文中也可互换称为Ab3)。

[0240] 在下文提供Ab249的重链可变区(VH)氨基酸序列作为SEQ ID NO:346。Ab249的VH CDR氨基酸序列在下文加下划线并且如下: TSWIG(VHCDR1; SEQ ID NO:340); IIYPGDS DTRYSPSFQG(VH CDR2; SEQ ID NO:341); 和HGLGYNGYEGAFDI(VH CDR3; SEQ ID NO:342)。

[0241] Ab249 VH序列

[0242] EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYRFTTSWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS DTRYSPSFQGGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGLGYNGYEGAFDIWGQGT LTVTVSS (SEQ ID NO:346)。

[0243] 在下文提供Ab249的轻链可变区(VL)氨基酸序列作为SEQ ID NO:347。Ab249的VL CDR氨基酸序列在下文加下划线并且如下: RASQGIGSALA(VL CDR1; SEQ ID NO:343); DASNLET(VL CDR2; SEQ ID NO:344); 和QQLNGYPLT(VL CDR3; SEQ ID NO:345)

[0244] Ab249 VL序列

[0245] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSG
TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNGYPLTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:347)

[0246] 人抗体Ab85和Ab249都来源于抗体CK6,其是一种抗CD117抗体的拮抗剂。与CK6相比,Ab85和Ab249具有改善的特性,例如改善的结合特征。

[0247] 因此,在某些实施方案中,抗CD117抗体包含含有如SEQ ID NO:7、8和9中所述的CDR组(CDR1、CDR2和CDR3)的重链和含有如SEQ ID NO10、11和12中所述的CDR组的轻链。在另一些实施方案中,抗CD117抗体包含含有如SEQ ID NO:340、341和342中所述的CDR组(CDR1、CDR2和CDR3)的重链和含有如SEQ ID NO:343、344和345中所述的CDR组的轻链。

[0248] 在另一个实施方案中,抗CD117抗体或其抗原结合部分包含Ab67(中性抗体;在本文中也可互换称为Ab1)的重链可变区(VH)氨基酸序列和轻链可变区(LH)氨基酸序列。

[0249] 在下文提供Ab67的重链可变区(VH)氨基酸序列作为SEQ ID NO:354。Ab67的VH CDR氨基酸序列在下文加下划线并且如下:FTFSDADMD(VHCDR1;SEQ ID NO:348);RTRNKAGSYTTEYAASVKG(VH CDR2;SEQ ID NO:349);和AREPKYWIDFDL(VH CDR3;SEQ ID NO:350)。

[0250] Ab67VH序列

[0251] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDADMDWVRQAPGKGLEWVGRTRNKAGSYTTEYAASVKG
RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAREPKYWIDFDLWGRGTLTVSS (SEQ ID NO:354)

[0252] 在下文提供Ab67的轻链可变区(VL)氨基酸序列作为SEQ ID NO:355。Ab67的VL CDR氨基酸序列在下文加下划线并且如下:RASQSISSYLN(VLCDR 1;SEQ ID NO:351);AASSLQS(VL CDR 2;SEQ ID NO:352);和QQSYIAPYT(VL • CDR3;SEQ ID NO:353)

[0253] Ab67 VL序列

[0254] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYIAPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:355)

[0255] 因此,在某些实施方案中,抗CD117抗体包含含有如SEQ ID NO348、349和350中所述的CDR组(CDR1、CDR2和CDR3)的重链和含有如SEQ ID NO351、352和353中所述的CDR组的轻链。

[0256] 本文所述的抗CD117抗体或结合片段的另外的序列在表5中提供。

[0257] 本文所述的抗CD117抗体或结合片段还可包括改变抗体和/或片段特性的修饰和/或突变,例如增加半衰期、增加或减少ADCC等的那些,如本领域已知的。

[0258] 在一个实施方案中,抗CD117抗体或其结合片段包含变体Fc区域,其中所述变体Fc区域包含相对于野生型Fc区域的至少一个氨基酸修饰,使得所述分子对Fc γ R的亲和力改变。Fc区域内的某些氨基酸位置通过结晶学研究已知与Fc γ R直接接触。特别地,氨基酸234-239(铰链区)、氨基酸265-269(B/C环)、氨基酸297-299(C'/E环)和氨基酸327-332(F/G环)。(参见Sondermann等,2000Nature,406:267-273)。例如,Fc区域中的234和235氨基酸位处的氨基酸取代已被鉴定为降低IgG抗体与Fc受体,特别是Fc γ 受体(Fc γ R)结合的亲和力。在一个实施方案中,本文所述的抗CD117抗体包含Fc区域,该Fc区域包含L234和/或L235处的氨基酸取代,例如L234A和L235A(EU索引)。因此,本文所述的抗CD117抗体可以包含变体Fc区域,该变体Fc区域包含至少一个残基的修饰,基于结构和晶体学分析该修饰与Fc γ R

直接接触。在一个实施方案中,抗CD117抗体的Fc区域(或其含Fc的片段)包含氨基酸265处的氨基酸取代,根据如Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版编辑Public Health Service,NH1,MD(1991)中的EU索引,其通过引用明确地并入本文中。除非另有说明,否则“如Kabat中的EU索引”或“EU索引”是指人IgG1 EU抗体的编号,并且在本文中关于Fc氨基酸位置使用。

[0259] 在一个实施方案中,Fc区域包含D265A突变。在一个实施方案中,Fc区域包含D265C突变。

[0260] 在一些实施方案中,根据如Kabat中的EU索引,抗CD117抗体(或其片段)的Fc区域包含氨基酸234处的氨基酸取代。在一个实施方案中,Fc区域包含L234A突变。在一些实施方案中,根据如Kabat中的EU索引,抗CD117抗体(或其片段)的Fc区域包含氨基酸235处的氨基酸取代。在一个实施方案中,Fc区域包含L235A突变。在又一个实施方案中,Fc区域包含L234A和L235A突变。在另一个实施方案中,Fc区域包含D265C、L234A和L235A突变。

[0261] 在某些方面,与不包含一个或更多个氨基酸取代的野生型Fc结构域相比,变体IgG Fc结构域包含导致对Fc γ R和/或C1q的结合亲和力降低或消失的一个或更多个氨基酸取代。Fc结合相互作用是多种效应子功能和下游信号传导事件必不可少的,包括但不限于抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)。因此,在某些方面,包含经修饰的Fc区域(例如,包含L234A、L235A和D265C突变)的抗体具有显著减少或消除的效应子功能。

[0262] 对Fc区域的亲和力可以使用本领域已知的多种技术确定,例如但不限于平衡方法(例如,酶联免疫吸附测定(ELISA);KinExA,Rathanaswami等Analytical Biochemistry,第373:52-60卷,2008;或放射免疫测定(RIA)),或通过表面等离子体共振测定或其他机制的基于动力学的测定(例如,BIACORE™分析或Octet™分析(forteBIO))以及其他方法,例如间接结合测定、竞争性结合测定、荧光共振能量转移(FRET)、凝胶电泳和色谱法(例如凝胶过滤)。这些方法和其他方法可以利用被检查的一种或更多种组分上的标记和/或采用多种检测方法,包括但不限于显色、荧光、发光或同位素标记。关于结合亲和力和动力学的详细描述可以在Paul,W.E.,编辑,Fundamental Immunology,第4版,Lippincott-Raven,Philadelphia(1999)(其集中于抗体-免疫原的相互作用)中发现。竞争性结合测定的一个实例是放射免疫测定,包括在递增量的未经标记的抗原的存在下,将经标记的抗原与目标抗体一起孵育,并检测与经标记的抗原结合的抗体。目标抗体对特定抗原的亲和力和结合偏离率可以通过scatchard图分析从数据中确定。与第二抗体的竞争也可以使用放射免疫测定来确定。在这种情况下,在递增量的未经标记的第二抗体的存在下,将抗原与标记化合物缀合的目标抗体一起孵育。

[0263] 在一个实施方案中,本文所述的抗CD117抗体包含Fc区域,该Fc区域包含L235A、L235A和D265C(EU索引)。本发明的抗体可以通过引入另外的Fc突变进一步基因工程化以进一步调整抗体半衰期,例如在(Dall'Acqua等(2006)J Biol Chem 281:23514-24)、(Zalevsky等(2010)Nat Biotechnol 28:157-9)、(Hinton等(2004)J Biol Chem 279:6213-6)、(Hinton等(2006)J Immunol 176:346-56)、(Shields等(2001)J Biol Chem 276:6591-604)、(Petkova等(2006)Int Immunol 18:1759-69)、(Datta-Mannan等(2007)Drug Metab Dispos 35:86-94)、(Vaccaro等(2005)Nat Biotechnol 23:1283-8)、(Yeung等

(2010) Cancer Res 70:3269-77) 和 (Kim等 (1999) Eur J Immunol 29:2819-25) 中描述的那些, 并且包括250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434和435位。可以单独或组合制备的示例性突变是T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257I、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435A和H435R突变。

[0264] 因此, 在一个实施方案中, Fc区域包含导致半衰期减少的突变。在其中预期抗体起短寿命治疗剂作用的某些情况 (例如, 本文所述的预处理步骤, 其中在施用抗体之后施用HSC) 下, 具有短半衰期 (在本文中也称为“快速”半衰期) 的抗体可能是有利的。理想地, 抗体在递送HSC之前基本上被清除, HSC通常也表达CD117, 但是不是抗CD117抗体的靶标, 不同于内源性干细胞。在一个实施方案中, Fc区域包含435位 (根据Kabat的EU索引) 处的突变。在一个实施方案中, 突变是H435A突变。在另一个实施方案中, 突变是D265C突变。在又一个实施方案中, 突变是H435A突变和D265C突变。

[0265] 在一个实施方案中, 本文所述的抗CD117抗体的半衰期等于或小于24小时、等于或小于22小时、等于或小于20小时、等于或小于18小时、等于或小于16小时、等于或小于14小时、等于或小于13小时、等于或小于12小时、等于或小于11小时、等于或小于10小时、等于或小于9小时、等于或小于8小时、等于或小于7小时, 等于或小于6小时、或等于或小于5小时。在一个实施方案中, 抗体的半衰期为5小时至7小时; 为5小时至9小时; 为15小时到11小时; 为5小时至13小时; 为5小时至15小时; 为5小时至20小时; 为5小时至24小时; 为7小时到24小时; 为9小时到24小时; 为11小时到24小时; 12小时至22小时; 10小时至20小时; 8小时至18小时; 或14小时至24小时。

[0266] 可以与本文所述的患者预处理方法结合使用的抗CD117抗体包括, 例如, 从ATCC登录号10716 (保藏为BA7.3C.9) 产生和释放的抗体, 例如SR-1抗体, 其例如在美国专利号5, 489, 516号中描述, 其公开内容通过引入并入本文中, 因为其涉及抗CD117抗体。

[0267] 在一个实施方案中, 本文所述的抗CD117抗体包含Fc区域, 该Fc区域包含L235A、L235A、D265C和H435A (EU索引)。

[0268] 可以与本文所述的患者预处理方法结合使用的另外的抗CD117抗体包括美国专利号7, 915, 391中描述的那些, 其描述了例如人源化SR-1抗体; 美国专利号5, 808, 002, 其描述了例如抗CD117 A3C6E2抗体; 以及在例如WO 2015/050959中描述的那些, 其描述了抗CD117抗体, 该抗CD117抗体结合包含人CD117的Pro317、Asn320、Glu329、Val331、Asp332、Lys358、Glu360、Glu376、His378和/或Thr380的表位; 和US 2012/0288506 (也作为美国专利号8, 552, 157号公开的), 其描述了例如抗CD117抗体CK6 (在本文中也互称为Ab4), 其具有以下CDR序列:

[0269] 具有氨基酸序列SYWIG的CDR-H1 (SEQ ID NO:1);

[0270] 具有氨基酸序列IIYPGDS DTRYSPSFQG的CDR-H2 (SEQ ID NO:2);

[0271] 具有氨基酸序列HGRGYNGYEGAFDI的CDR-H3 (SEQ ID NO:3);

[0272] 具有氨基酸序列RASQGISSALA的CDR-L1 (SEQ ID NO:4);

[0273] 具有氨基酸序列DASSLES的CDR-L2 (SEQ ID NO:5); 和

[0274] 具有氨基酸序列CQQFN SYPLT的CDR-L3 (SEQ ID NO:6)。

[0275] CK6的重链可变区氨基酸序列在SEQ ID NO 27) 中提供:

QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRFTSYWIGWVRQMPGKGLEWM
GIIYPGDSSDTRYSPSFQGQVTISAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMY^YCARH
GRGYNGYEGAFDIWGQGTMTVSS (SEQ ID NO: 27; CDR加下划线且呈粗体)。

[0276] CK6的轻链氨基酸可变序列在SEQ ID NO28中提供:

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLI
[0277] YDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGG
GTKVEIK (SEQ ID NO: 28; CDR加下划线且呈粗体)。

[0278] 可以与本文所述的组合物和方法结合使用的另外的抗CD117抗体及其抗原结合片段包括在US 2015/0320880中描述的那些,例如克隆9P3、NEG024、NEG027、NEG085、NEG086和20376。

[0279] 前述出版物中的每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及抗CD117抗体。可以与本文所述的组合物和方法结合使用的抗体和抗原结合片段包括上述抗体及其抗原结合片段,以及上述那些非人抗体和抗原结合片段的人源化变体和与如上述那些的相同表位(如例如通过竞争性CD117结合测定评估的)结合的抗体或抗原结合片段。

[0280] 前述抗体的示例性抗原结合片段包括双可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双链抗体、三链抗体、纳米体、抗体样蛋白质支架、Fv片段、Fab片段、F(ab')₂分子和串联双scFv等。

[0281] 抗体可以使用重组方法和组合物产生,例如,如美国专利号4,816,567中所述的。在一个实施方案中,提供了编码本文所述的抗CD117抗体的分离的核酸。此种核酸可以编码包含VL的氨基酸序列和/或包含抗体的VH的氨基酸序列(例如,抗体的轻链和/或重链)。在另一个实施方案中,提供了包含此种核酸的一种或更多种载体(例如,表达载体)。在另一个实施方案中,提供了包含此种核酸的宿主细胞。在一个这样的实施方案中,宿主细胞包含(例如,已被转化):(1)载体,其包含编码包含抗体VL的氨基酸序列和包含抗体VH的氨基酸序列的核酸,或(2)第一载体,其包含编码包含抗体VL的氨基酸序列的核酸,和第二载体,其包含编码包含抗体VH的氨基酸序列的核酸。在一个实施方案中,宿主细胞是真核细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴细胞(例如,Y0、NS0、Sp20细胞)。在一个实施方案中,提供了一种制备抗CLL-1抗体的方法,其中该方法包括在适用于抗体表达的条件下培养包含编码抗体的核酸的宿主细胞,如上提供的,并任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)中回收抗体。

[0282] 为了重组产生抗CD117抗体,分离编码抗体的核酸(例如如上所述),并将其插入一个或更多个载体中,用以进一步在宿主细胞中克隆和/或表达。可以使用常规方法(例如,通过使用能够特异性结合编码抗体重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)容易地分离和测序此种核酸。

[0283] 适用于克隆或表达编码抗体的载体的宿主细胞包括本文所述的原核或真核细胞。例如,可以在细菌中产生抗体,特别是当不需要糖基化和Fc效应子功能时。关于抗体片段和多肽在细菌中的表达,参见例如美国专利号5,648,237、5,789,199和5,840,523(还参见

Charlton, *Methods in Molecular Biology*, 第248卷 (B.K.C.Lo, 编辑, Humana Press, Totowa, N.J., 2003), 第245-254页, 描述了抗体片段在大肠杆菌中的表达)。表达后, 可以从细菌细胞糊中在可溶性级分中分离出抗体, 并且可以进一步纯化。

[0284] 还可以使用脊椎动物细胞作为宿主。例如, 适于悬浮生长的哺乳动物细胞系可以是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其他实例是由SV40 (COS-7) 转化的猴肾CV1细胞系; 人胚胎肾系 (293或293细胞, 如例如在Graham等, *J. Gen. Virol.* 36:59 (1977) 中所述的); 幼仓鼠肾细胞 (BHK); 小鼠足细胞 (TM4细胞, 如例如在Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980) 中所述的); 猴肾细胞 (CV1); 非洲绿猴肾细胞 (VERO-76); 人宫颈癌细胞 (HELA); 犬肾细胞 (MDCK); 水牛鼠肝细胞 (BRL 3A); 人肺细胞 (W138); 人肝细胞 (Hep G2); 小鼠乳腺肿瘤 (MMT 060562); TRI细胞, 如例如在Mather等, *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982) 中所述的; MRC 5细胞; 和FS4细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞, 包括DHFR-CHO细胞 (Urlaub等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); 和骨髓瘤细胞系, 例如Y0、NS0和Sp2/0。关于适用于抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的综述, 参见例如, Yazaki和Wu, *Methods in Molecular Biology*, 第248卷 (B.K.C.Lo, 编辑, Humana Press, Totowa, N.J.), 第255-268页 (2003)。

[0285] 在一个实施方案中, 抗CD117抗体或其抗原结合片段包含可变区, 该可变区具有与本文公开的SEQ ID NO至少95%、96%、97%或99%相同的氨基酸序列。可替代地, 抗CD117抗体或其抗原结合片段包含含有本文公开的SEQ ID NO的CDR, 其中本文所述的可变区的框架区具有与本文公开的SEQ ID NO至少95%、96%、97%或99%相同的氨基酸序列。

[0286] 在一个实施方案中, 抗CD117抗体或其抗原结合片段包含具有本文公开的氨基酸序列的重链可变区和重链恒定区。在另一个实施方案中, 抗CD117抗体或其抗原结合片段包含具有本文公开的氨基酸序列的轻链可变区和轻链恒定区。在又一个实施方案中, 抗CD117抗体或其抗原结合片段包含具有本文公开的氨基酸序列的重链可变区、轻链可变区、重链恒定区和轻链恒定区。

[0287] 在US 2019/0153114 A1和US 2019/0144558 A1中描述了另外的抗CD117抗体, 这两个申请的内容在此通过引用以其整体明确地并入本文中。

[0288] 本文所述的抗CD117抗体和ADC可用于治疗多种病症的方法, 例如造血谱系中的细胞类型疾病、癌症、自身免疫性疾病、代谢紊乱和干细胞病症等。本文所述的组合物和方法可以 (i) 直接耗尽引起病理的细胞群, 例如癌细胞 (例如白血病细胞) 和自身免疫细胞群 (例如自身反应性T细胞) 群, 和/或 (ii) 耗尽内源性造血干细胞群, 从而通过提供移植细胞可以定居的龛来促进移植造血干细胞的植入。前述活性可以通过施用能够结合由内源性致病细胞、自身免疫细胞或造血干细胞表达的抗原的ADC、抗体或其抗原结合片段来实现。在直接治疗疾病的情况下, 该施用可以导致引起目标病理的细胞数量减少。在准备患者进行造血干细胞移植疗法的情况下, 该施用可以导致内源性造血干细胞群的选择性耗尽, 从而在造血组织例如骨髓中产生空缺, 随后可以由移植的外源性造血干细胞填补。本发明部分基于如下发现, 可以向患者施用能够结合CD117 (例如GNNK+CD117) 的ADC、抗体或其抗原结合片段以影响上述两种活性。可以向遭受癌症或自身免疫性疾病的患者施用结合CD117的ADC、抗体或其抗原结合片段以直接耗尽癌细胞或自身免疫性细胞群, 并且可以向需要造血干细胞移植疗法的患者施用, 以促进移植的造血干细胞的存活和植入潜力。

[0289] 由于施用抗CD117 ADC、抗体或其抗原结合片段而导致的造血干细胞移植物的植入,可以在多种经验测量中显现。例如,在施用能够结合CD117的ADC、抗体或其抗原结合片段并随后施用造血干细胞移植物后,可以通过评估患者骨髓中存在的竞争性再植单位(CRU)的数量来评价移植的造血干细胞的植入。另外地,可以通过观察造血干细胞移植物的植入:将报告基因(例如催化产生荧光、发色或发光产物的化学反应的酶)并入供体造血干细胞已转染的载体中,并随后监测造血干细胞已定居的组织(例如骨髓)中的相应信号。还可以通过评价造血干细胞和祖细胞的数量和存活来观察造血干细胞植入,例如如通过本领域已知的荧光激活细胞分选(FACS)分析方法确定的。还可以通过在移植后期间测量外周血中的白细胞计数和/或通过测量骨髓抽吸样品中供体细胞对骨髓细胞的回收来确定植入。

[0290] 抗CD2抗体

[0291] 人CD2也称为T细胞表面抗原T11/Leu-5、T11、CD2抗原(p50)和绵羊红细胞受体(SRBC)。CD2在T细胞上表达。人CD2的两种同种型已经被鉴定。包含351个氨基酸的同种型1在Seed,B.等(1987)84:3365-69(还参见Sewell等(1986)83:8718-22)和以下(NCBI参考序列:NP_001758.2)中被描述:

[0292] msfpckfvas fllifnvssk gavskeitna letwgalgqd inldipsfqm sddiddikwe

[0293] ktsdkkkiaq frkeketfke kdtyslflkng tlkikhktd dqdiykvsy dtkgknvlek

[0294] ifdlkiqerv skpkiswtci nttltcevnm gtdpelnyq dgkhlklsqr vithkwttsl

[0295] sakfkctagn kvskessvep vscpekgldi yliigicggg sllmvfvall vfyitrkkq

[0296] rsrrndeele trahrdatee rgrkphqipa stpqnatsq hpppppghrs qapshrpppp

[0297] ghrvqhqpqk rppapsgtqv hqqkgpplpr prvpkpphg aaenslspss n(SEQ ID NO: 29)

[0298] CD2的第二同种型是377个氨基酸,并且在本文中被鉴定为NCBI参考序列:NP_001315538.1。

[0299] 在一个实施方案中,可以与本文所述的组合物和方法结合使用的抗CD2抗体包括具有一个或更多个或所有以下CDR的那些:

[0300] a.具有氨基酸序列EYYMY的CDR-H1(SEQ ID NO:30);

[0301] b.具有氨基酸序列RIDPEDGSIDYVEKFKK的CDR-H2(SEQ ID NO:31);

[0302] c.具有氨基酸序列GKFNYRFAY的CDR-H3(SEQ ID NO:32);

[0303] d.具有RSSQSLHSSGNTYLN的氨基酸序列的CDR-L1(SEQ ID NO:33);

[0304] e.具有氨基酸序列LVSKLES的CDR-L2(SEQ ID NO:34);和

[0305] f.具有氨基酸序列MQFTHYPYT的CDR-L3(SEQ ID NO:35)。

[0306] 在一个实施方案中,抗CD2抗体或其抗原结合部分包含如在SEQ ID NO36的氨基酸序列中所述的重链可变区和如在SEQ ID NO:37的氨基酸序列中所述的轻链可变区。

[0307] 在一个实施方案中,可以与本文所述的组合物和方法结合使用的抗CD2抗体包括具有一个或更多个或所有以下CDR的那些:

[0308] a.具有氨基酸序列GFTFSSY的CDR-H1(SEQ ID NO:38);

[0309] b.具有氨基酸序列SGGGF的CDR-H2(SEQ ID NO:39);

[0310] c.具有氨基酸序列SSYGEIMDY的CDR-H3(SEQ ID NO:40);

[0311] d.具有氨基酸序列RASQRIGTSIH的CDR-L1(SEQ ID NO:42);

[0312] e.具有氨基酸序列YASESIS的CDR-L2 (SEQ ID NO:43) ;和

[0313] f.具有氨基酸序列QQSHGWPFTF的CDR-L3 (SEQ ID NO:44) 。

[0314] 在一个实施方案中,抗CD2抗体或其抗原结合部分包含如在SEQ ID NO45的氨基酸序列中所述的重链可变区和如在SEQ ID NO47的氨基酸序列中所述的轻链可变区。

[0315] 在另一个实施方案中,可以与本文所述的组合物和方法结合使用的抗CD2抗体包括具有一个或更多个或所有以下CDR的那些:

[0316] a.具有氨基酸序列GFTFSSY的CDR-H1 (SEQ ID NO:38) ;

[0317] b.具有氨基酸序列SGGGF的CDR-H2 (SEQ ID NO:39) ;

[0318] c.具有氨基酸序列SSYGELMDY的CDR-H3 (SEQ ID NO:41) ;

[0319] d.具有氨基酸序列RASQRIGTSIH的CDR-L1 (SEQ ID NO:42) ;

[0320] e.具有氨基酸序列YASESIS的CDR-L2 (SEQ ID NO:43) ;和

[0321] f.具有氨基酸序列QQSHGWPFTF的CDR-L3 (SEQ ID NO:44) 。

[0322] 在一个实施方案中,抗CD2抗体或其抗原结合部分包含如在SEQ ID NO46的氨基酸序列中所述的重链可变区和如在SEQ ID NO47的氨基酸序列中所述的轻链可变区。

[0323] 包含前述CDR序列的抗体及其抗原结合片段在例如美国专利号6,849,258中被描述,其公开内容通过引用并入本文中,因为其涉及抗CD2抗体及其抗原结合片段。

[0324] 此外,在某些实施方案中,抗CD2抗体在人受试者中的血清半衰期为3天或更少。

[0325] 本文所述的抗CD2抗体或结合片段的另外的序列在表5中提供。

[0326] 可用于本文所述的组合物和方法的另外的抗CD2抗体、其抗原结合片段或其ADC可以使用本领域已知的技术鉴定,例如杂交瘤产生。杂交瘤可以使用鼠系统制备。免疫和随后分离脾细胞用于进行融合的协议是本领域已知的。融合伴侣和用于杂交瘤产生的程序也是已知的。可替代地,抗CD2抗体可以使用HuMAb-**Mouse**®或XenoMouse™产生。在制备另外的抗CD2抗体时,分离和/或纯化CD2抗原。CD2抗原可以是CD2胞外结构域的CD2片段。动物免疫可以通过本领域已知的任何方法进行。参见,例如,Harlow和Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Press, 1990。用于免疫动物(例如小鼠、大鼠、绵羊、山羊、猪、牛和马)的方法是本领域众所周知的。参见Harlow和Lane, 如上, 和美国专利号5,994,619。CD2抗原可以与佐剂一起施用以刺激免疫响应。本领域已知的佐剂包括完全或不完全弗氏佐剂、RIBI (胞壁酰二肽) 或ISCOM (免疫刺激复合物)。用CD2抗原免疫动物后,从免疫动物分离的细胞制备产生抗体的永生化细胞系。免疫后,处死动物,并通过本领域已知的方法(例如,癌基因转移、致癌病毒转导、暴露于致癌或突变化合物、与永生化细胞例如骨髓瘤细胞融合以及灭活肿瘤抑制基因)使淋巴结和/或脾B细胞永生化。参见例如,Harlow和Lane, 如上。可以选择、克隆和进一步筛选杂交瘤的期望特征,包括强健的生长、高抗体产量和期望的抗体特征。

[0327] 用于本文所述的抗CD2 ADC的抗CD2抗体还可以使用针对能够结合CD2的分子的抗体或抗体片段文库的高通量筛选来鉴定。此类方法包括本领域已知的体外展示技术,例如噬菌体展示、细菌展示、酵母展示、哺乳动物细胞展示、核糖体展示、mRNA展示和cDNA展示等。使用噬菌体展示来分离结合生物相关分子的抗体、抗原结合片段或配体,已经在例如 Felici 等, *Biotechnol. Annual Rev.* 1:149-183, 1995; Katz, *Annual Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 26:27-45, 1997; 和 Hoogenboom 等, *Immunotechnology* 4:1-

20,1998中概述,其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及体外展示技术。已经构建了随机组合肽文库来选择结合细胞表面抗原的多肽,如Kay, *Perspect. Drug Discovery Des.* 2:251-268,1995和Kay等, *Mol. Divers.* 1:139-140,1996中所述的,其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及抗原结合分子的发现。蛋白质,例如多聚体蛋白质,已经成功地作为功能分子进行噬菌体展示(参见,例如,EP 0349578;EP 4527839;和EP 0589877,以及Chiswell和McCafferty, *Trends Biotechnol.* 10:80-84 1992,其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及使用体外展示技术来发现抗原结合分子。另外,功能性抗体片段,例如Fab和scFv片段,已经以体外展示形式表达(参见,例如,McCafferty等, *Nature* 348:552-554,1990;Barbas等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7978-7982,1991;和Clackson等, *Nature* 352:624-628,1991,其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及用于发现抗原结合分子的体外展示平台)。

[0328] 除了体外展示技术之外,可以在计算机中使用计算建模技术来设计和鉴定抗CD2抗体或抗体片段,例如,使用US 2013/0288373中描述的程序,其公开内容并入本文中,因为它涉及用于鉴定抗CD2抗体的分子建模方法。例如,使用计算建模技术,本领域技术人员可以在计算机中筛选抗体或抗体片段的文库中能够结合CD2上的特定表位(例如CD2的细胞外表位)的分子。

[0329] 在一个实施方案中,用于本文所述的ADC的抗CD2抗体能够内化到细胞中。在鉴定抗CD2抗体(或其片段)时,可以使用另外的技术来鉴定在细胞(例如,T细胞)表面上结合CD2并且还能够被细胞内化(例如,通过受体介导的内吞作用)的抗体或抗原结合片段。例如,上述体外展示技术可适合于筛选在造血干细胞表面上结合CD2并随后内在化的抗体或其抗原结合片段。噬菌体展示代表了一种可以与这种筛选模式结合使用的技术。为了鉴定结合CD2并随后内在化为CD2+细胞的抗CD2抗体或其片段,本领域技术人员可以使用Williams等, *Leukemia* 19:1432-1438,2005中描述的噬菌体展示技术,其公开内容通过引用整体并入本文中。

[0330] 抗CD2抗体或其片段的内在化能力可以例如使用本领域已知的放射性核素内在化测定来评估。例如,使用本文所述或本领域已知的体外展示技术鉴定的抗CD2抗体或其片段可以通过并入放射性同位素来功能化,例如 ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{77}Br 、 ^{122}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{129}I 、 ^{131}I 、 ^{211}At 、 ^{67}Ga 、 ^{111}In 、 ^{99}Tc 、 ^{169}Yb 、 ^{186}Re 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{177}Lu 、 ^{77}As 、 ^{72}As 、 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 或 ^{225}Ac 。例如,放射性卤素,例如 ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{77}Br 、 ^{122}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{129}I 、 ^{131}I 、 ^{211}At ,可以使用包含亲电子卤素试剂(例如,碘化珠,Thermo Fisher Scientific, Inc., Cambridge, MA)的珠(例如,聚苯乙烯珠)并入到抗体、其片段或配体中。经放射性标记的抗体或其片段可以与造血干细胞一起孵育足以允许内在化的时间。内在化的抗体或其片段可以通过检测所得造血干细胞发出的辐射(例如, γ -辐射)并与回收的洗涤缓冲液发出的辐射(例如 γ -辐射)进行比较来鉴定。前述内在化测定还可用于表征ADC。

[0331] 在一些实施方案中,抗CD2抗体(或其片段)具有明确的血清半衰期。例如,抗CD2抗体(或其片段)在人患者中的血清半衰期可以为约1-24小时。例如,含有此种抗CD2抗体的ADC在人患者中的血清半衰期也可以为约1-24小时。通过测量血清水平的药代动力学分析可以通过本领域已知的测定来进行。

[0332] 为了重组产生抗CD2抗体,分离编码抗体的核酸(例如如上所述),并将其插入一个或多个载体中,用以进一步在宿主细胞中克隆和/或表达。可以使用常规程序(例如,通过使用能够特异性结合编码抗体重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)容易地分离和测序此种核酸。

[0333] 适用于克隆或表达编码抗体的载体的宿主细胞包括本文所述的原核或真核细胞。例如,可以在细菌中产生抗体,特别是当不需要糖基化和Fc效应子功能时。关于抗体片段和多肽在细菌中的表达,参见例如美国专利号5,648,237、5,789,199和5,840,523(还参见Charlton,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo,编辑,Humana Press,Totowa,N.J.,2003),第245-254页,描述了抗体片段在大肠杆菌中的表达)。表达后,可以从细菌细胞糊中在可溶性级分中分离出抗体,并且可以进一步纯化。

[0334] 还可以使用脊椎动物细胞作为宿主。例如,适于悬浮生长的哺乳动物细胞系可以是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其他实例是由SV40(COS-7)转化的猴肾CV1细胞系;人胚胎肾系(293或293细胞,如例如在Graham等,J.Gen Virol.36:59(1977)中所述的);幼仓鼠肾细胞(BHK);小鼠足细胞(TM4细胞,如例如在Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)中所述的);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);水牛鼠肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,如例如在Mather等,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)中所述的;MRC 5细胞;和FS4细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR-CHO细胞(Urlaub等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));和骨髓瘤细胞系,例如Y0、NS0和Sp2/0。关于适用于抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,参见例如,Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo,编辑,Humana Press,Totowa,N.J.),第255-268页(2003)。在一个实施方案中,宿主细胞是真核细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴细胞(例如,Y0、NS0、Sp20细胞)。

[0335] 抗CD5抗体

[0336] 人CD5也称为淋巴细胞抗原T1、T1、Leu-1和LEU1。CD5在人T细胞上表达。人CD5的两种同种型已经被鉴定。同种型1包含495个氨基酸,并且在Gladkikh等(2017)Cancer Med.6(12):2984和Jones等(1986)Nature 323(6086):346)中被描述。在下文提供CD5(同种型1)的氨基酸序列(NCBI参考序列:NP_055022.2):

[0337]

```
mpmgslqpla tlyllgmlva sclgrlswyd pdfqarltrs nskcqqgqlev ylkdgwhmvc  
sgswgrsskg wedpsqaskv cqrlnqcgvpl slqpflvtvt pgssliicyqg lgsfncshs  
rndmchslgl tclepqkttp pttrpppttt peptapprlg lvagsgqghc agvvefysgs  
lggtisyeag dktgdlenfl cnnlqcgsfl khlpeteagr agdpgepreh qplpiqwkig  
nssctslchc frkikpqksg rvlallcsgf qpkvqsrllvq gssicegtve vrggagwaal  
cdsssarssl rweevcregg cgsvnsvrvl dagdptsrgl fcphqklsqc helwernsync  
kkvfvtcggp npaglaagtv asiialvlv vlllvvcgpl aykklvkkfr qkkqrqwigp  
tgmngnmsfh rnhtatvrsh aenptashvd neysqpprns hlsaypaleg alhrssmqpd  
nssdsdydlh gaqrl (SEQ ID NO: 48)
```

[0338] 人CD5的第二同种型(SEQ ID NO:339)是438个氨基酸(参见上文加下划线部分),并且被鉴定为NCBI参考序列:NP_001333385.1。与同种型1不同,CD5同种型2是细胞内蛋白。与同种型1相比,同种型2包含不同的5' UTR,并且缺少5' 编码区的框内部分。与同种型1相比,所得同种型2具有较短的N末端。与同种型1相比,CD5同种型2缺少前导肽,并且表示在B淋巴细胞亚群中发现的细胞内同种型。本文所述的ADC对表示人CD5细胞外形式的人CD5同

种型1具有特异性。

[0339] 在一个实施方案中,可用于本文所述的方法和组合物的抗CD5抗体是抗体5D7v (Ab5D7v)。Ab5D7v的重链可变区 (VH) 氨基酸序列在下文提供为SEQ ID NO:49。

[0340] QVTLKESGPVLVKPTETLTCTFSGFSLSTSGMGVGVIRQAPGKGLEWVAHIWWDDDDVYYNPSLKSR
LTITKDASKDQVSLKLSSVTAADTAVYYCVRRRATGTGFDYWGQGTLTVTSS (SEQ ID NO:49)

[0341] Ab5D7v的VH CDR氨基酸序列在上文加下划线,并且如下:FSLSTSGMG (VH CDR1;SEQ ID NO:51);WWDDD (VH CDR2;SEQ ID NO:52);和RRATGTGFDY (VH CDR3;SEQ ID NO:53)。

[0342] Ab5D7v的轻链可变区 (VL) 氨基酸序列在下文提供为SEQ ID NO:50。

[0343] NIVMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDVGTAVAWYQQKPDQSPKLLIYWTSTRHTGVPDRFTGSGSG
TDFTLTISSLQPEDIATYFCHQYNSYNTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:50)

[0344] Ab5D7v的VL CDR氨基酸序列在上文加下划线,并且如下:QDVGTA (VL CDR1;SEQ ID NO:54);WTSTRHT (VL CDR2;SEQ ID NO:55);和YNSYNT (VL CDR3;SEQ ID NO:56)。

[0345] 在一个实施方案中,抗CD5 ADC包含抗CD5抗体,该抗CD5抗体包含重链,该重链包含含有如在SEQ ID NO:51中所述的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如在SEQ ID NO:52中所述的氨基酸序列的CDR2结构域和含有如在SEQ ID NO:53中所述的氨基酸序列的CDR3结构域;并且包含轻链,该轻链包含含有如在SEQ ID NO:54中所述的氨基酸序列的CDR1结构域、含有如在SEQ ID NO:55中所述的氨基酸序列的CDR2结构域和含有如在SEQ ID NO:56中所述的氨基酸序列的CDR3结构域,其中该抗体通过接头与细胞毒素缀合。

[0346] 在一个实施方案中,抗CD5 ADC包含抗CD5抗体,该抗CD5抗体包含含有可变区的重链,该可变区包含如在SEQ ID NO:49中所述的氨基酸序列;并且包含含有可变区的轻链,该可变区包含如在SEQ ID NO:50中所述的氨基酸序列,其中该抗体通过接头与细胞毒素缀合。

[0347] 在另一个实施方案中,用于本文所述的ADCs的抗CD5抗体是5D7抗体 (参见例如,US 20080254027,其公开内容通过引用并入本文中)。在另一个实施方案中,可用于本文所述的方法和组合物 (包括ADC) 的抗CD5抗体是5D7抗体的变体 (参见例如,US 20080254027,其公开内容通过引用并入本文中)。

[0348] 此外,在某些实施方案中,抗CD5 ADC在人受试者中的血清半衰期为3天或更少。本文所述的抗CD5抗体或结合片段的另外的序列在表5中提供。

[0349] 可用于本文所述的ADC的另外的抗CD5抗体可以使用本领域已知的技术鉴定,例如杂交瘤产生。杂交瘤可以用鼠系统制备。免疫和随后分离脾细胞用于进行融合的协议是本领域已知的。融合伴侣和用于杂交瘤产生的程序也是已知的。可替代地,抗CD5抗体可以使用HuMAb-**Mouse**®或XenoMouseTM产生。在制备另外的抗CD5抗体时,分离和/或纯化CD5抗原。CD5抗原可以是CD5胞外结构域的CD5片段。动物免疫可以通过本领域已知的任何方法进行。参见,例如,Harlow和Lane,Antibodies:A Laboratory Manual,New York: Cold Spring Harbor Press,1990。用于免疫动物 (例如小鼠、大鼠、绵羊、山羊、猪、牛和马) 的方法是本领域众所周知的。参见Harlow和Lane,如上,和美国专利号5,994,619。CD5抗原可以与佐剂一起施用以刺激免疫响应。本领域已知的佐剂包括完全或不完整弗氏佐剂、RIBI (胞壁酰二肽) 或ISCOM (免疫刺激复合物)。用CD5抗原免疫动物后,从免疫动物分离的细胞制备产生抗体的永生化细胞系。免疫后,处死动物,并通过本领域已知的方法 (例如,癌基因转移、致癌

病毒转导、暴露于致癌或突变化合物、与永生化细胞例如骨髓瘤细胞融合以及灭活肿瘤抑制基因)使淋巴结和/或脾B细胞永生化。参见例如,Harlow和Lane,如上。可以选择、克隆和进一步筛选杂交瘤的期望特征,包括强健的生长、高抗体产量和期望的抗体特征。

[0350] 用于本文所述的抗CD5 ADC的抗CD5抗体还可以使用针对能够结合CD5的分子的抗体或抗体片段文库的高通量筛选来鉴定。此类方法包括本领域已知的体外展示技术,例如噬菌体展示、细菌展示、酵母展示、哺乳动物细胞展示、核糖体展示、mRNA展示和cDNA展示等。使用噬菌体展示来分离结合生物相关分子的抗体、抗原结合片段或配体,已经在例如Felici等,Biotechnol. Annual Rev. 1:149-183,1995;Katz, Annual Rev. Biophys. Biomol. Struct. 26:27-45,1997;和Hoogenboom等,Immunotechnology 4:1-20,1998中概述,其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及体外展示技术。已经构建了随机组合肽文库来选择结合细胞表面抗原的多肽,如Kay, Perspect. Drug Discovery Des. 2:251-268,1995和Kay等, Mol. Divers. 1:139-140,1996中所述的,其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及抗原结合分子的发现。蛋白质,例如多聚体蛋白质,已经成功地作为功能分子进行噬菌体展示(参见,例如,EP 0349578;EP 4527839;和EP 0589877,以及Chiswell和McCafferty, Trends Biotechnol. 10:80-84 1992,其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及使用体外展示技术来发现抗原结合分子。另外,功能性抗体片段,例如Fab和scFv片段,已经以体外展示形式表达(参见,例如,McCafferty等, Nature 348:552-554,1990;Barbas等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7978-7982,1991;和Clackson等, Nature 352:624-628,1991,其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及用于发现抗原结合分子的体外展示平台)。

[0351] 除了体外展示技术之外,可以在计算机中使用计算建模技术来设计和鉴定抗CD5抗体或抗体片段,例如,使用US 2013/0288373中描述的程序,其公开内容并入本文中,因为它涉及用于鉴定抗CD2抗体的分子建模方法。例如,使用计算建模技术,本领域技术人员可以在计算机中筛选抗体或抗体片段的文库中能够结合CD5上的特定表位(例如CD5的细胞外表位)的分子。

[0352] 在一个实施方案中,用于本文所述的ADC的抗CD5抗体能够内化到细胞中。在鉴定抗CD5抗体(或其片段)时,可以使用另外的技术来鉴定在细胞(例如,T细胞)表面上结合CD5并且还能够被细胞内化(例如,通过受体介导的内吞作用)的抗体或抗原结合片段。例如,上述体外展示技术可适合于筛选在造血干细胞表面上结合CD5并随后内在化的抗体或其抗原结合片段。噬菌体展示代表了一种可以与这种筛选模式结合使用的技术。为了鉴定结合CD5并随后内在化为CD5+细胞的抗CD5抗体或其片段,本领域技术人员可以使用Williams等, Leukemia 19:1432-1438,2005中描述的噬菌体展示技术,其公开内容通过引用整体并入本文中。

[0353] 抗CD5抗体或其片段的内在化能力可以例如使用本领域已知的放射性核素内在化测定来评估。例如,使用本文所述或本领域已知的体外展示技术鉴定的抗CD5抗体或其片段可以通过并入放射性同位素来功能化,例如¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁷Br、¹²²I、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、¹³¹I、²¹¹At、⁶⁷Ga、¹¹¹In、⁹⁹Tc、¹⁶⁹Yb、¹⁸⁶Re、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、¹⁷⁷Lu、⁷⁷As、⁷²As、⁸⁶Y、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、²¹²Bi、²¹³Bi或²²⁵Ac。例如,放射性卤素,例如¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁷Br、¹²²I、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、¹³¹I、²¹¹At,可以使用包

含亲电子卤素试剂(例如,碘化珠,Thermo Fisher Scientific,Inc.,Cambridge,MA)的珠(例如,聚苯乙烯珠)并入到抗体、其片段或配体中。经放射性标记的抗体或其片段可以与造血干细胞一起孵育足以允许内在化的时间。内在化的抗体或其片段可以通过检测所得造血干细胞发出的辐射(例如, γ -辐射)并与回收的洗涤缓冲液发出的辐射(例如 γ -辐射)进行比较来鉴定。前述内在化测定还可用于表征ADC。

[0354] 在一些实施方案中,抗CD5抗体(或其片段)具有明确的血清半衰期。例如,抗CD5抗体(或其片段)在人患者中的血清半衰期可以为约1-24小时。例如,含有此种抗CD5抗体的ADC在人患者中的血清半衰期也可以为约1-24小时。通过测量血清水平的药代动力学分析可以通过本领域已知的测定来进行。

[0355] 为了重组产生抗CD5抗体,分离编码抗体的核酸(例如如上所述),并将其插入一个或多个载体中,用以进一步在宿主细胞中克隆和/或表达。可以使用常规程序(例如,通过使用能够特异性结合编码抗体重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)容易地分离和测序此种核酸。

[0356] 适用于克隆或表达编码抗体的载体的宿主细胞包括本文所述的原核或真核细胞。例如,可以在细菌中产生抗体,特别是当不需要糖基化和Fc效应子功能时。关于抗体片段和多肽在细菌中的表达,参见例如美国专利号5,648,237、5,789,199和5,840,523(还参见Charlton,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo,编辑,Humana Press,Totowa,N.J.,2003),第245-254页,描述了抗体片段在大肠杆菌中的表达)。表达后,可以从细菌细胞糊中在可溶性级分中分离出抗体,并且可以进一步纯化。

[0357] 还可以使用脊椎动物细胞作为宿主。例如,适于悬浮生长的哺乳动物细胞系可以是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其他实例是由SV40(COS-7)转化的猴肾CV1细胞系;人胚胎肾系(293或293细胞,如例如在Graham等,J.Gen Virol.36:59(1977)中所述的);幼仓鼠肾细胞(BHK);小鼠足细胞(TM4细胞,如例如在Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)中所述的);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);水牛鼠肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,如例如在Mather等,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)中所述的;MRC 5细胞;和FS4细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR-CHO细胞(Urlaub等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));和骨髓瘤细胞系,例如Y0、NS0和Sp2/0。关于适用于抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,参见例如,Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo,编辑,Humana Press,Totowa,N.J.),第255-268页(2003)。在一个实施方案中,宿主细胞是真核细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴细胞(例如,Y0、NS0、Sp20细胞)。

[0358] 在一些实施方案中,可以与本文所述的组合物和方法结合使用的抗CD5抗体包括含有下表1和2中所述的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3区域的组合的抗体。

[0359] 表1

[0360]

Ab No.	名称	CDRH1	SEQ ID NO:	CDRH2	SEQ ID NO:	CDRH3	SEQ ID NO:
1	1D8	SGYSFTGYT M	57	LINPYNGGTT	94	CARDYYGSSPDFDYW	131
2	3I21	SGYSFTDYM	58	LINPYNGGTM	95	CARDNYGSSPDFDYW	132
3	4H10	SGYSFTGYT M	59	LINPYNGGTM	96	CARDNYGSSPYFDYW	133
4	8J23	SGYSFTGYT M	60	LINPYNGGTM	97	CARDNYGSSPYFDYW	134
5	5O4	SGYSFTGYT M	61	LINPYNGGTT	98	CARDYYGSSPDFDYW	135
6	4H2	SGFTFSNYA M	62	SISSGGNTF	99	CVRYYYGVTYWYFDVW	136
7	5G2	SGFTFSSYA M	63	SISSGGSTY	100	CVRYYYGIRYWYFDVW	137
8	8G8	SGYSFTAYNI	64	SIDPYYGDTK	101	CARRMITMGDWYFDVW	138
9	6M4	SGYSFTAYS M	65	SIDPYYGDTK	102	CARRMITTGDWYFDVW	139
10	2E3	SGYTFTNFAI	66	LISSNSGDVS	103	CARHYGAHNYFDYW	140
11	4E24	SGYTFTNFAI	67	LISTSSGDVS	104	CARHYGANNYFDYW	141

[0361]

Ab No.	名称	CDRH1	SEQ ID NO:	CDRH2	SEQ ID NO:	CDRH3	SEQ ID NO:
12	4F10	SGYTFTNFAI	68	LISSNSGDVS	105	CARHYGAHNYFDYW	142
13	7J9	SGYTFTNFAI	69	LISSNSGDVS	106	CARHYGAHNYFDYW	143
14	7P9	SGFNIKDTYM	70	RIDPANGNTK	107	CAREENYYGTYYFDYW	144
15	8E24	SGYSFTSYW M	71	MIHPDSETR	108	CARWGDHDDAMDFW	145
16	6L18	SGFSLTNYDV	72	VIWSSGNTD	109	CARNHGDGYFNWYFDV W	146
17	7H7	SGFSLTNYDV	73	VIWSSGNTD	110	CARNHGDGYNWWYFDV W	147
18	1E7	SGFTFSNYG M	74	AINSGNDITY	111	CARGTAWFTYW	148
19	8J21	SGYSFTGYT M	75	LINPYNGGTR	112	CARDGDDGWDIDVW	149
20	7I11	SGYIFANYGM	76	WINTYTGEPT	113	CARRGTYWHFVW	150
21	8M9	SGYNFTNYG M	77	WINTYTGEPT	114	CARRGSYWHFVW	151
22	1P21	SGYTFTNYG M	78	WINTYTGEPT	115	CARRSTLVFDYW	152
23	2H11	SGYTFTDYYI	79	WIYPGGGNT R	116	CARNGYWYFDVW	153
24	3M22	SGYTFTDYYI	80	WIYPGGGNT R	117	CARNGYWYFDVW	154
25	5M6	SGNTFTNFYL	81	CIYPGNVKTK	118	CAKEGDYDGTAYFDYW	155
26	5H8	SGYTFTNYG M	82	WINTYTGEPT	119	CARRRDGNFDYW	156
27	7I19	SEFTFSNYAM	83	TISSGGSYTY	120	CVRHGYFDVW	157
28	1A20	SGYTFTSYR M	84	RIDPYDSGTH	121	CAFYDGAYW	158
29	8E15	SGFNIKDTYM	85	RIDPANGNTK	122	CASYDPDYW	159
30	8C10	SGYSFTDYM	86	LINPYNGGTR	123	CARDTTATYYFDYW	160
31	3P16	SGYMFTNHG M	87	WINTYTGEPT	124	CARRVATYFDVW	161
32	4F3	SGYMFTNYG M	88	WINTYTGEPT	125	CTRRSHITLDYW	162
33	5M24	SGYIFTNYGM	89	WINTYTGEPT	126	CARRRTTAFDYW	163
34	5O24	SGFNIKDYYI	90	WIDPENGRT E	127	CNNGNYVRHYFDYW	168
35	7B16	SGYTFINYGM	91	WINTYTGEPT	128	CTRRREITFDYW	164
36	1E8	SGYTFTDYFI	92	EIYPGSSNTY	129	CARSGISPFTYW	165
37	2H16	SGYIFTGYNI	93	AVYPGNGDT S	130	CAKYDRFFASW	166

[0362] 表2

[0363]

Ab No.	名称	CDRL1	SEQ ID NO:	CDRL2	SEQ ID NO:	CDRL3	SEQ ID NO:
1	1D8	SQGISNHL	167	YFTSS	204	CQQYSNLPYTF	241
2	3I21	SQGIRNYL	185	YFTSS	205	CQQYSNLPYTF	242
3	4H10	SQGISNHL	169	YFTSS	206	CQQYSNLPYTF	243

[0364]

Ab No.	名称	CDRL1	SEQ ID NO:	CDRL2	SEQ ID NO:	CDRL3	SEQ ID NO:
4	8J23	SQGINNYL	170	YYTSS	207	CQQYSKIPYTC	244
5	5O4	SQGISNHL	171	YFTSS	208	CQQYSNLPYTF	245
6	4H2	SQSVDDHGD SYM	172	YAASN	209	CQQNYEDPTF	246
7	5G2	SQSVDDYDGD SYM	173	YAASN	210	CQQSNEDPTF	247
8	8G8	SQDISNYL	174	YYTSR	211	CQQGDALPWTF	248
9	6M4	SQDISTYL	175	FYTSR	212	CQQGNSLPFTF	249
10	2E3	TSSISSSYL	176	YGTSN	213	CQQWSSRPPTF	250
11	4E24	NSSVSSSYL	177	YGTSN	214	CQQYSGYPLTF	251
12	4F10	TSSISSSYL	178	YGTSN	215	CQQYSDYPLTF	252
13	7J9	TSSISSSYL	179	YGTSN	216	CQQRSYFPPTF	253
14	7P9	SENIYYNL	180	YNANS	217	CKQVYDVPPTF	254
15	8E24	SENIYGYF	181	YNAKT	218	CQHHYGTPTF	255
16	6L18	SQDINNYI	182	HYTST	219	CLQYDNLWTF	256
17	7H7	SQDINKYI	183	HYTST	220	CLQYDNLWTF	257
18	1E7	SENIYSYL	184	YNAKT	221	CQHHYGYPTF	258
19	8J21	SQGIRNYL	185	YHTST	222	CQQYSNLPPLTF	259
20	7I11	SQDVRTDV	186	YSASF	223	CQQHYTSPWTF	260
21	8M9	SQDVITAV	187	YSASY	224	CQQHYSTPWTF	261
22	1P21	SQSIGTSI	188	KSASE	225	CQQSNRWPLTF	262
23	2H11	SSQSLLNQK NYL	189	YWAST	226	CQNDYDYPYTF	263
24	3M22	SSSVSSSYL	190	YSTSN	227	CHQYHRSPLTF	264
25	5M6	SENIYYNL	191	YNANS	228	CQQTFDVPWTF	265
26	5H8	SQTIGTSI	192	KNASE	229	CQQSNSWPLTY	266
27	7I19	SQSLLYSSDQ KNYL	193	YWAST	230	CQQYYNYPLTF	267
28	1A20	NSSVSYM	194	YDTSK	231	CQQWSSNPPTF	268
29	8E15	SENIYYNL	195	YNANS	232	CKQAYDVPWTF	269
30	8C10	SSLSYM	196	YDTSN	233	CQQWSSFPTF	270
31	3P16	SQRIGTSM	197	KSASE	234	CQQSNSWPLTF	271
32	4F3	SQSIGTSI	198	KSASE	235	CQQSNSWPLTF	272
33	5M24	SQNIGTSI	199	KDASE	236	CQQSDSWPLTF	273
34	5O24	ISSVSYM	200	YATSN	237	CQQWSSNPRTF	274
35	7B16	SQTIATSI	201	KNASE	238	CQQSNSWPLTF	275
36	1E8	SQSLVHSNG NTYL	202	YKVSN	239	CWQNTHFQTF	276
37	2H16	NESVEYSGT SLM	203	SAASN	240	CQQSRQVPLTF	277

[0365] 抗CD137抗体

[0366] CD137也称为CDw137、TNFRSF9、4-1BB和ILA。抗CD137抗体、其抗原结合片段及其ADC可用作治疗剂,以在遭受GVHD或自身免疫性疾病或处于GVHD或自身免疫性疾病风险中的患者中预防和治疗来自造血干细胞的GVHD。另外地,已经发现结合CD137的配体,例如人CD137L,可以用作治疗剂以预防或治疗遭受GVHD或处于GVHD风险中的患者。这些配体,例如可溶性人CD137,可以共价结合到效应结构域,例如Fc结构域,例如以促进抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)。

[0367] T细胞已进步表明表达CD137,因为该抗原是共刺激分子的跨膜TNF受体超家族,并且在多种造血细胞上表达,促进T细胞活化,以及调节T细胞的增殖和存活(参见例如,Cannons等,J.Immunol.167:1313-1324,2001,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及通过T细胞表达CD137)。抗体及其抗原结合片段可以使用本领域已知的和本文所述的技术来鉴定,例如通过免疫、计算建模技术和体外选择方法,例如以下所述的噬菌体展示和基于细胞的展示平台。

[0368] 通过本文公开的方法可用于预防和治疗GVHD或自身免疫性疾病的抗CD137抗体包括具有一个或更多个或所有以下CDR的那些:

[0369] a.具有氨基酸序列STYWIS的CDR-H1 (SEQ ID NO:278);

[0370] b.具有氨基酸序列KIYPGDSYTNYSFQSG的CDR-H2 (SEQ ID NO:279);

[0371] c.具有氨基酸序列RGYGIFDY的CDR-H3 (SEQ ID NO:280);

[0372] d.具有氨基酸序列SGDNIGDQYAH的CDR-L1 (SEQ ID NO:281);

[0373] e.具有氨基酸序列QDKNRPS的CDR-L2 (SEQ ID NO:282);和

[0374] f.具有氨基酸序列ATYTGFGSLAV的CDR-L3 (SEQ ID NO:283)

[0375] 通过本文公开的方法可用于预防和治疗GVHD和自身免疫性疾病的另外的抗CD137抗体包括具有一个或更多个或所有以下CDR的那些:

[0376] a.具有氨基酸序列STYWIS的CDR-H1 (SEQ ID NO:278);

[0377] b.具有氨基酸序列KIYPGDSYTNYSFQSG的CDR-H2 (SEQ ID NO:279);

[0378] c.具有氨基酸序列RGYGIFDY的CDR-H3 (SEQ ID NO:280);

[0379] d.具有氨基酸序列SGDNIGDQYAH的CDR-L1 (SEQ ID NO:281);

[0380] e.具有氨基酸序列QDKNRPS的CDR-L2 (SEQ ID NO:282);和

[0381] f.具有氨基酸序列STYTFVGFTTV的CDR-L3 (SEQ ID NO:284)

[0382] 另外的抗CD137抗体包括具有一个或更多个或所有以下CDR的那些:

[0383] a.具有氨基酸序列NSYAIS的CDR-H1 (SEQ ID NO:285);

[0384] b.具有氨基酸序列GIIPGFGTANYAQKFQSG的CDR-H2 (SEQ ID NO:286);

[0385] c.具有氨基酸序列RKNEEDGGFDH的CDR-H3 (SEQ ID NO:287);

[0386] d.具有氨基酸序列SGDNLGDYYAS的CDR-L1 (SEQ ID NO:288);

[0387] e.具有氨基酸序列DDSNRPS的CDR-L2 (SEQ ID NO:289);和

[0388] f.具有氨基酸序列QTWDGTLHFV的CDR-L3 (SEQ ID NO:290)。

[0389] 另外的抗CD137抗体或ADC包括具有一个或更多个或所有以下CDR的那些:

[0390] a.具有氨基酸序列SDYYMH的CDR-H1 (SEQ ID NO:291);

[0391] b.具有氨基酸序列VISGSGSNTYYADSVKG的CDR-H2 (SEQ ID NO:292);

[0392] c.具有氨基酸序列RLYAQFEGDF的CDR-H3 (SEQ ID NO:293);

[0393] d.具有氨基酸序列SGDNIGSKYVS的CDR-L1 (SEQ ID NO:294)

[0394] e.具有氨基酸序列SDSERPS的CDR-L2 (SEQ ID NO:295);和

[0395] f.具有氨基酸序列QSWDGSISRVS的CDR-L3 (SEQ ID NO:296)。

[0396] 前述抗体在例如美国专利号9,468,678中被描述,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及抗CD137抗体及其抗原结合片段。美国专利号9,468,678中公开的抗体及其片段可以与本文公开的方法结合使用。

[0397] 在另一个实施方案中,可用于本文所述的方法和组合物(包括ADC)的抗CD137抗体是鼠抗CD137抗体BBK 2(Thermo Fisher;MS621PABX)或包含对应于BBK2抗体的抗原结合区的抗CD137抗体。BBK2抗体(其也可称为BBK-2抗体或抗4-1BB抗体)是与人4-1BB重组蛋白(4-1BB也称为CD137)的胞外结构域结合的小鼠单克隆抗体(IgG1,κ)。在某些实施方案中,本公开内容的方法和组合物包括抗CD137抗体,其包含BBK2抗体的结合区(例如CDR)。在另一个实施方案中,本公开内容的方法和组合物包含竞争性抑制BBK2抗体与其在CD137上的表位结合的抗体。在某些实施方案中,抗CD137抗体是人源化BBK2或嵌合BBK2。

[0398] 在一个实施方案中,本文所述的方法和组合物包括嵌合抗CD137(ch-BBK2)抗体,其包含BBK2的可变重链区和可变轻链区。在某些实施方案中,嵌合BBK2抗体是包含人恒定区的IgG1抗体。ch-BBK2的重链氨基酸序列在SEQ ID NO:297中被描述,ch-BBK2的轻链氨基酸序列在SEQ ID NO:298中被描述。每个重链和轻链序列的CDR区(CDR1、CDR2和CDR3)以下以粗体描述。可变区是斜体的。

[0399] QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKA**SGYTFTSYW**INWVKQRPGQGLE
WIG**NIYPSDSYT**NYNQKFKDKATLTVDKSSNTVYMQNLSPTSEDSAVYYC
TRNGVEGYPHYAMEYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT
AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
[0400] TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK (SEQ ID NO: 297)

DIQMTQTTSALSASLGDRVITIGCRA**SQDLSNH**LYWYQQKPDGTVKLL
IYYSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTIRNLEQEDVATYF**CQQGYTL**PYTF
GGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 298)

[0401] 前述CDR区(和BBK2抗体)在Lee等(2002)European J of Immunogenetics29(5):449-452中被描述。因此,在一个实施方案中,抗CD137抗体BBK2(包括ch-BBK2)的VH CDR氨基酸序列如下:SGYTFTSYW(VH CDR 1;SEQ ID NO:299);NIYPSDSYT(VH cdr 2;SEQ ID NO:300)和TRNGVEGYPHYAME(VH CDR3;SEQ ID NO:301)。抗CD137抗体BBK2(包括ch-BBK2)的VL CDR氨基酸序列如下:SQDLSNH(VL CDR 1;SEQ ID NO:302);YYTS(VL CDR 2;SEQ ID NO:303)和CQQGYTLPY(VL CDR3;SEQ ID NO:304)。

[0402] 可替代地,BBK2的CDR区域可以根据Kabat编号来定义。由Kabat编号定义的CDR在下面描述了每个重链和轻链序列(以下以粗体描述)。BBK2的可变区域是斜体的。

*QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWINWVKQRPQGQGLEWIG
NIYPSDSYTNYNQKFKDKATLTVDKSSNTVYMQLNSTSEDSAVYYCTRNGVE
GYPHYAMEYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
[0403] DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(ch-BBK2 重链; SEQ ID NO: 297)*

*DIQMTQTTSALSASLGDRVTIGCRASQDLSNHLYWYQQKPDGTVKLLIYY
[0404] TSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTIRNLEQEDVATYFCQQGYTLPTYTFGGG
LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL
QSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNRGEC (ch-BBK2 轻链; SEQ ID NO: 298)*

[0405] 因此,在一个实施方案中,抗CD137抗体BBK2(包括ch-BBK2)的VH CDR氨基酸序列如下:SYWIN(VH CDR 1;SEQ ID NO:305);NIYPSDSYTNYNQKFKD(VH CDR2;SEQ ID NO:306)和NGVEYPHYAMEY(CDR3;SEQ ID NO:307),并且抗CD137抗体BBK2(包括ch-BBK2)的VL CDR氨基酸序列如下:RASQDLSNHLY(VL CDR 1;SEQ ID NO:308);YTSRLHS(VL CDR 2;SEQ ID NO:309)和QQGYTLPTY(VL CDR3;SEQ ID NO:310)。

[0406] BBK2的重链可变区在SEQ ID NO:311中阐述为

[0407] QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWINWVKQRPQGQGLEWIGNIYPSDSYTNYNQKFKDKATLTVDKSSNTVYMQLNSTSEDSAVYYCTRNGVEGYPHYAMEYWGQGTSTVTVSS。BBK2的轻链可变区在SEQ ID NO:312中阐述为

[0408] DIQMTQTTSALSASLGDRVTIGCRASQDLSNHLYWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTIRNLEQEDVATYFCQQGYTLPTYTFGGGTKLEIK。抗CD137抗体(包括抗CD137抗体)可以包含分别如在SEQ ID NO:311和312中所述的重链和轻链可变区氨基酸序列。

[0409] 在一个实施方案中,抗CD137抗体,例如嵌合(ch-BBK2)抗体或人源化BBK2抗体,包含重链可变区,该重链可变区包含含有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的CDR1、含有SEQ ID NO:306的氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:307的氨基酸序列的CDR3;并且包含轻链可变区,该轻链可变区包含含有SEQ ID NO:308的氨基酸序列的CDR1、含有SEQ ID NO:309的氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:310的氨基酸序列的CDR3。

[0410] 在一个实施方案中,抗CD137抗体,例如嵌合(ch-BBK2)抗体或人源化BBK2抗体,包含重链可变区,该重链可变区包含含有SEQ ID NO:299的氨基酸序列的CDR1、含有SEQ ID NO:300的氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:301的氨基酸序列的CDR3;并且包含轻链可变区,该轻链可变区包含含有SEQ ID NO:302的氨基酸序列的CDR1、含有SEQ ID NO:303的

氨基酸序列的CDR2和含有SEQ ID NO:304的氨基酸序列的CDR3。

[0411] 因此, BBK2、人源化BBK2或嵌合BBK2抗体可用于本文所述的抗CD137ADC和方法。这些抗体中的每一种可以使用本领域已知的方法和本文所述的那些与以下所述的任何细胞毒素缀合。

[0412] 本文所述的抗CD137抗体或结合片段的另外的序列在表5中提供。

[0413] 可用于与本文所述的细胞毒素缀合的其他抗CD137抗体可以使用本领域已知的技术(例如杂交瘤产生)鉴定。杂交瘤可以使用鼠系统制备。免疫和随后分离脾细胞用于进行融合的协议是本领域已知的。融合伴侣和用于杂交瘤产生的程序也是已知的。人抗CD137抗体可以在HuMAb-**Mouse**®或XenoMouse™中产生。在制备抗CD137抗体时, 分离和/或纯化CD137抗原。CD137抗原可以是CD137胞外结构域的CD137片段。动物免疫可以通过本领域已知的任何方法进行。参见, 例如, Harlow和Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Press, 1990。用于免疫动物(例如小鼠、大鼠、绵羊、山羊、猪、牛和马)的方法是本领域众所周知的。参见例如Harlow和Lane, 如上, 和美国专利号5, 994, 619。CD137抗原可以与佐剂一起施用以刺激免疫响应。本领域已知的佐剂包括完全或不完全弗氏佐剂、RIBI(胞壁酰二肽)或ISCOM(免疫刺激复合物)。用CD137抗原免疫动物后, 从免疫动物分离的细胞制备产生抗体的永生化细胞系。免疫后, 处死动物, 并通过本领域已知的方法(例如, 癌基因转移、致癌病毒转导、暴露于致癌或突变化合物、与永生化细胞例如骨髓瘤细胞融合以及灭活肿瘤抑制基因)使淋巴结和/或脾B细胞永生化。参见例如, Harlow和Lane, 如上。可以选择、克隆和进一步筛选杂交瘤的期望特征, 包括强健的生长、高抗体产量和期望的抗体特征。

[0414] 抗CD137抗体可以由分离的核酸分子产生, 该核酸分子包含编码由本公开内容提供的CD137结合分子的氨基酸序列的核苷酸序列。由核苷酸序列编码的氨基酸序列可以是抗体的任何部分, 例如CDR, 包含一个、两个或三个CDR的序列, 重链的可变区, 轻链的可变区, 或者可以是全长重链或全长轻链。本公开内容的核酸可以是例如DNA或RNA, 并且可以包含或不包含内含子序列。通常, 核酸是cDNA分子。

[0415] 除了抗体和抗原结合片段之外, 可溶性CD137配体, 例如人CD137配体, 可以根据本文所述的方法施用到患者, 以在造血干细胞移植疗法之前预处理患者。例如, CD137配体, 例如人CD137配体, 可以与细胞毒素(例如, 根据以下所述的方法或本领域已知的方法)或另一种效应分子(例如Fc结构域)缀合。用于本文所述的方法的美登素细胞毒素包括, 例如, 人CD137配体-IgG1 Fc缀合物、人CD137配体-IgG2 Fc缀合物、人CD137配体-IgG3 Fc缀合物、人CD137配体-IgG4 Fc缀合物、人CD137配体-IgA Fc缀合物、人CD137配体-IgE Fc缀合物、人CD137配体-IgM Fc缀合物和人CD137配体-IgD Fc缀合物。

[0416] 与本文所述的组合物和方法结合使用的抗体和配体包括上述那些抗体的变体, 例如含有或缺乏Fc结构域的抗体片段, 以及本文所述的非人抗体的人源化变体和抗体样蛋白质支架(例如¹⁰Fn3结构域), 其含有本文所述的抗体、抗体片段或可溶性配体的一个或多个或所有CDR或其等同区域。

[0417] 抗CD252抗体

[0418] 本发明还提供了能够结合CD252的抗体或其抗原结合片段(也称为OX40配体(OX40L), 蛋白质NCBI参考序列: NP_003317.1; Uniprot登录号: P23510; SEQ ID NO: 313或

314), 可用作治疗剂预防和治疗GVHD。此种抗体可以单独使用或作为抗体药物缀合物(ADC)与细胞毒素缀合。

[0419] 在一个实施方案中, 本文所述的方法和组合物(例如, ADC) 包括抗CD252抗体, 其重链和轻链氨基酸序列分别在SEQ ID NO:315和316中阐述。在一个实施方案中, 抗CD252抗体或其抗原结合部分包含如在SEQ ID NO:315的氨基酸序列中所述的重链可变区和如在SEQ ID NO:316的氨基酸序列中所述的轻链可变区。在一个实施方案中, 抗CD252抗体或其抗原结合部分包含含有如在SEQ ID NO:315的氨基酸序列中所述的CDR的重链可变区和含有如在SEQ ID NO:316的氨基酸序列中所述的CDR的轻链可变区。在下文提供SEQ ID NO:315和316的氨基酸序列。

[0420] 在某些实施方案中, 抗CD252抗体或其抗原结合部分包含含有如在SEQ ID NO:317-319的氨基酸序列中所述的CDR的重链可变区和包含如在SEQ ID NO:320-322的氨基酸序列中所述的CDR的轻链可变区。在下文提供SEQ ID NO:317-319的氨基酸序列。

[0421] 抗CD252 VH氨基酸序列(以下CDR序列由IMGT定义)

[0422] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAPGKGLEWVSTISGSGGATRYADSVKGRF TISRDNRSRTVYLQMNSLRVEDTAVFYCTKDRLIMATVRGPYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:315)

[0423] CDR-H1:GFTFSNYA (SEQ ID NO:317)

[0424] CDR-H2:ISGSGGAT (SEQ ID NO:318)

[0425] CDR-H3:TKDRLIMATVRGPYYYGMDV (SEQ ID NO:319)

[0426] 抗CD252 VL氨基酸序列(以下CDR序列由IMGT定义)

[0427] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSE TDFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSVSFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:316)

[0428] CDR-L1:QSISSY (SEQ ID NO:320)

[0429] CDR-L2:AAS (SEQ ID NO:321)

[0430] CDR-L3:QQSHSVSFT (SEQ ID NO:322)

[0431] 在一个实施方案中, 用于本文公开的方法和组合物的抗CD252抗体是完整的抗体, 其包含如在SEQ ID NO:315的氨基酸序列中所述的重链可变区和如在SEQ ID NO:316的氨基酸序列中所述的轻链可变区。在一个实施方案中, 抗CD252抗体被基因工程化为具有短的半衰期。

[0432] 在一个实施方案中, 可用于本文所述的方法和组合物(包括ADC)的抗CD252抗体是选自11c3.1 (Biologend, 目录#326302)、159403 (R&D系统, 目录#MAB10541)、159408 (R&D系统, 目录#MAB1054)、MM0505-8S23 (Novus, 目录#NBP2-11969) 或奥塞芦单抗(oxelumab) (Novus目录#NBP2) 的抗体

[0433] 在一个实施方案中, 可用于本文所述的方法和组合物(包括ADC)的抗CD252抗体是鼠单克隆抗CD252抗体11C3.1或包含对应于11C3.1抗体的抗原结合区的抗CD252抗体。11C3.1 (由Biologend Cat出售的, Cat.No.326302 (日期2019年2月27日))。

[0434] 在一个实施方案中, 抗CD252抗体包含含有抗CD252抗体11C3.1的CDR1、CDR2和CDR3重链和包含抗CD252抗体11C3.1的CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区。在另一个实施方案中, 用于本文所述的组合物和方法的抗CD252抗体是人源化抗CD252抗体。

[0435] 在一个实施方案中, 可用于本文所述的方法和组合物(包括ADC)的抗CD252抗体是

鼠单克隆抗CD252抗体159403或包含对应于159403抗体的抗原结合区的抗CD252抗体。159403(由R&D系统出售,目录#MAB10541(日期2019年2月27日))。

[0436] 在一个实施方案中,抗CD252抗体包含含有抗CD252抗体159403的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有抗CD252抗体159403的CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区。在另一个实施方案中,用于本文公开的组合物和方法的抗CD252抗体是人源化159403抗体。

[0437] 在一个实施方案中,可用于本文所述的方法和组合物(包括ADC)的抗CD252抗体是鼠单克隆抗CD252抗体159408或包含对应于159408抗体的抗原结合区的抗CD252抗体。159408(由R&D系统出售,目录#MAB1054(日期2019年2月27日))。

[0438] 在一个实施方案中,抗CD252抗体包含含有抗CD252抗体159408的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有抗CD252抗体159408的CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区。在另一个实施方案中,用于本文公开的组合物和方法的抗CD252抗体是人源化159408抗体。

[0439] 在一个实施方案中,可用于本文所述的方法和组合物(包括ADC)的抗CD252抗体是鼠单克隆抗CD252抗体MM0505-8S23或包含对应于MM0505-8S23抗体的抗原结合区的抗CD252抗体。MM0505-8S23(由Novus出售,目录#NBP2-11969(日期2019年2月27日))。该抗体是由杂交瘤(与用人TNFSF4免疫的小鼠的脾细胞融合的小鼠骨髓瘤,也称为OX40配体)产生的。

[0440] 在一个实施方案中,抗CD252抗体包含含有抗CD252抗体MM0505-8S23的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有抗CD252抗体MM0505-8S23的CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区。在另一个实施方案中,用于本文公开的组合物和方法的抗CD252抗体是人源化MM0505-8S23抗体。

[0441] 在一个实施方案中,可用于本文所述的方法和组合物(包括ADC)的抗CD252抗体是兔单克隆抗CD252抗体奥塞芦单抗或包含对应于奥塞芦单抗抗体的抗原结合区的抗CD252抗体。奥塞芦单抗(由Novus出售,目录#NBP2-52687-0.1(日期2019年2月27日))。

[0442] 在一个实施方案中,抗CD252抗体包含含有抗CD252抗体奥塞芦单抗的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有抗CD252抗体奥塞芦单抗的CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区。在另一个实施方案中,用于本文公开的组合物和方法的抗CD252抗体是人源化奥塞芦单抗抗体。在一些实施方案中,抗CD252抗体或其抗原结合部分包含如在SEQ ID NO:323的氨基酸序列中所述的重链和如在SEQ ID NO:324的氨基酸序列中所述的轻链。在一些实施方案中,抗CD252抗体或其抗原结合部分包含如在SEQ ID NO331的氨基酸序列中所述的重链可变区和如在SEQ ID NO332的氨基酸序列中所述的轻链可变区。在一个实施方案中,抗CD252抗体或其抗原结合部分包含含有如在SEQ ID NO:325-327的氨基酸序列中所述的CDR的重链可变区和含有如在SEQ ID NO:328-330的氨基酸序列中所述的CDR的轻链可变区。在一个实施方案中,抗体是完整的抗体,其包含如在SEQ ID NO:331的氨基酸序列中所述的重链可变区和如在SEQ ID NO:332的氨基酸序列中所述的轻链可变区。在下文提供SEQ ID NO:323-330的氨基酸序列。

[0443] 奥塞芦单抗全长重链序列(以下CDR序列由IMGT定义;重链可变区(SEQ编号:331)已加下划线):

[0444] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMSWVRQAPGKGLEWVSIISGSGGFTYYADSVKGRF
TISRDNSTTLTLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRLVAPGTFDYWGQALVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP

KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
(SEQ ID NO:323)

[0445] CDR-H1:GFTFNSYA (SEQ ID NO:325)

[0446] CDR-H2:ISGSGGFT (SEQ ID NO:326)

[0447] CDR-H3:AKDRLVAPGTFDY (SEQ ID NO:327)

[0448] 奥塞芦单抗全长轻链序列(以下CDR序列由IMGT定义;轻链可变区(SEQ编号:332)已加下划线):

[0449] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSG
TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREA
KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO:324)

[0450] CDR-L1:QGISSW (SEQ ID NO:328)

[0451] CDR-L2:AAS (SEQ ID NO:329)

[0452] CDR-L3:QQYNSYPYT (SEQ ID NO:330)

[0453] 本文所述的抗CD252抗体或结合片段也可以包含改变抗体和/或片段特性的修饰和/或突变,例如增加半衰期、增加或减少ADCC等的那些。如本领域已知的。

[0454] 在一个实施方案中,用于本文公开的方法和组合物的抗CD252抗体或其结合片段包含变体Fc区域,其中所述变体Fc区域包含相对于野生型Fc区域的至少一个氨基酸修饰,使得所述分子对Fc γ R具有改变的亲和力。Fc区域内的某些氨基酸位置通过结晶学研究已知与Fc γ R直接接触。特别地,氨基酸234-239(铰链区)、氨基酸265-269(B/C环)、氨基酸297-299(C'/E环)和氨基酸327-332(F/G环)。(参见Sondermann等,2000Nature,406:267-273)。因此,本文所述的抗体可以包含变体Fc区域,该变体Fc区域包含至少一个残基的修饰,基于结构和晶体学分析该修饰与Fc γ R直接接触。在一个实施方案中,根据如Kabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版编辑Public Health Service,NH1,MD(1991)中的EU索引,抗CD252抗体(或其片段)的Fc区域包含氨基酸265处的氨基酸取代,其通过引用明确地并入本文中。“如Kabat中的EU索引”是指人IgG1 EU抗体的编号。在一个实施方案中,Fc区域包含D265A突变。在一个实施方案中,Fc区域包含D265C突变。在一些实施方案中,抗CD252抗体(或其片段)的Fc区域包含氨基酸234(根据如Kabat中的EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,Fc区域包含L234A突变。在一些实施方案中,抗CD252抗体(或其片段)的Fc区域包含氨基酸235(根据如Kabat中的EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,Fc区域包含L235A突变。在又一个实施方案中,Fc区域包含L234A和L235A突变。在另一个实施方案中,Fc区域包含D265C、L234A和L235A突变。

[0455] 在某些方面,与不包含一个或更多个氨基酸取代的野生型Fc结构域相比,变体IgG Fc结构域包含一个或更多个氨基酸取代,导致对Fc γ R和/或C1q的结合亲和力降低或消失。Fc结合相互作用是多种效应子功能和下游信号传导事件必不可少的,包括但不限于抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)。因此,在某些方面,包含经修饰的Fc区域(例如,包含L234A、L235A和D265C突变)的抗CD252抗体具有显著降低或消除

的效应子功能。

[0456] 对Fc区域的亲和力可以使用本领域已知的多种技术确定,例如但不限于平衡方法(例如,酶联免疫吸附测定(ELISA);KinExA,Rathanaswami等Analytical Biochemistry,第373:52-60卷,2008;或放射免疫测定(RIA))、或通过表面等离子体共振测定或基于动力学的测定的其他机制(例如,BIACORE™分析或Octet™分析(forteBIO))以及其他方法,例如间接结合测定、竞争性结合测定法、荧光共振能量转移(FRET)、凝胶电泳和色谱法(例如,凝胶过滤)。这些和其他方法可以利用被检查的一种或更多种组分上的标记和/或采用多种检测方法,包括但不限于显色、荧光、发光或同位素标记。关于结合亲和力和动力学的详细描述可以在Paul, W.E., 编辑, Fundamental Immunology, 第4版, Lippincott-Raven, Philadelphia (1999) 中发现,其聚焦于抗体-免疫原的相互作用。竞争性结合测定的一个实例是放射免疫测定,包括在递增量的未经标记的抗原的存在下,将经标记的抗原与目标抗体一起孵育,并且检测与经标记的抗原结合的抗体。目标抗体对特定抗原的亲和力和结合偏离率可以通过scatchard图分析从数据中确定。与第二抗体的竞争也可以使用放射免疫测定确定。在这种情况下,在递增量的未经标记的第二抗体的存在下,将抗原与与标记化合物缀合的目标抗体一起孵育。

[0457] 本发明的抗体可以通过引入另外的Fc突变进一步基因工程化以进一步调整抗体半衰期,例如在(Dall'Acqua等(2006) J Biol Chem 281:23514-24)、(Zalevsky等(2010) Nat Biotechnol 28:157-9)、(Hinton等(2004) J Biol Chem 279:6213-6)、(Hinton等(2006) J Immunol 176:346-56)、(Shields等(2001) J Biol Chem 276:6591-604)、(Petkova等(2006) Int Immunol 18:1759-69)、(Datta-Mannan等(2007) Drug Metab Dispos 35:86-94)、(Vaccaro等(2005) Nat Biotechnol 23:1283-8)、(Yeung等(2010) Cancer Res 70:3269-77)和(Kim等(1999) Eur J Immunol 29:2819-25)中描述的那些,并且包括250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434和435位。可以单独或组合制备的示例性突变是T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257I、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435A和H435R突变。

[0458] 因此,在一个实施方案中,Fc区域包含导致半衰期减少的突变。在其中预期抗体起短寿命治疗剂作用的某些情况(例如,本文所述的预处理步骤,其中在施用抗体之后施用HSC)下,具有短半衰期的抗体可能是有利的。理想地,抗体在递送HSC之前基本上被清除,HSC通常也表达CD117,但是不是抗CD117抗体的靶标,不同于内源性干细胞。在一个实施方案中,Fc区域包含435位(根据Kabat的EU索引)处的突变。在一个实施方案中,突变是H435A突变。

[0459] 在一个实施方案中,本文所述的抗CD252抗体的半衰期等于或小于14小时、等于或小于13小时、等于或小于12小时、或等于或小于11小时。在一个实施方案中,本文所述的抗CD252抗体的半衰期等于或小于24小时、等于或小于22小时、等于或小于20小时、或等于或小于18小时、等于或小于16小时、等于或小于14小时、等于或小于13小时、等于或小于12小时、等于或小于11小时。在一个实施方案中,抗体的半衰期为约1小时至约20小时、约2小时至约18小时、约4小时至约16小时、约6小时至约14小时、约8小时至约12小时、约11小时至约12小时、约11小时至约24小时、约12小时至约22小时、约10小时至约20小时、约8小时至约18小时、约1小时至约6小时、约2小时至约5小时、约3小时至约4小时、或约14小时至约24小时。

[0460] 在一些方面,Fc区域包含两个或更多个突变,这些突变赋予减少的半衰期并且极大地减少或完全消除抗体的效应子功能。在一些实施方案中,Fc区域包含导致半衰期减少的突变和至少一个可以与Fc γ R直接接触的残基的突变(例如,基于结构和晶体学分析)。在一个实施方案中,Fc区域包含H435A突变、L234A突变和L235A突变。在一个实施方案中,Fc区域包含H435A突变和D265C突变。在一个实施方案中,Fc区域包含H435A突变、L234A突变、L235A突变和D265C突变。

[0461] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段通过抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中的半胱氨酸残基与细胞毒素(例如,鹅膏蕈毒素)缀合。在一些实施方案中,半胱氨酸残基通过抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中的突变引入。例如,半胱氨酸残基可以选自Cys118、Cys239和Cys265。在一个实施方案中,抗CD252抗体(或其片段)的Fc区域包含氨基酸265(根据如Kabat中的EU索引)处的氨基酸取代。在一个实施方案中,Fc区域包含D265C突变。在一个实施方案中,Fc区域包含D265C和H435A突变。在一个实施方案中,Fc区域包含D265C、L234A和L235A突变。在一个实施方案中,Fc区域包含D265C、L234A、L235A和H435A突变。

[0462] 在这些方面的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中天然存在半胱氨酸残基。例如,Fc结构域可以是IgG Fc结构域,例如人IgG1 Fc结构域,并且半胱氨酸残基可以选自Cys261、Cys321、Cys367和Cys425。

[0463] 本文所述的变体Fc结构域是根据组成它们的氨基酸修饰来定义的。对于本文所讨论的所有与Fc区域相关的氨基酸取代,编号总是根据EU索引。因此,例如,D265C是Fc变体,其中相对于亲本Fc结构域,EU位置265处的天冬氨酸(D)被半胱氨酸(C)取代。同样,例如D265C/L234A/L235A定义了变体Fc变体,其相对于亲本Fc结构域,在EU位置265(D至C)、234(L至A)和235(L至A)处具有取代。变体也可以根据其在突变的EU氨基酸位置的最终氨基酸组成来指定。例如,L234A/L235A突变体可以称为LALA。注意,提供取代的顺序是任意的。

[0464] 在一个实施方案中,抗CD252抗体或其抗原结合片段包含可变区,该可变区具有与本文公开的SEQ ID NO至少95%、96%、97%或99%相同的氨基酸序列。可替代地,抗CD252抗体或其抗原结合片段包含含有本文公开的SEQ ID NO的CDR,其中本文所述的可变区的框架区具有与本文公开的SEQ ID NO至少95%、96%、97%或99%相同的氨基酸序列。

[0465] 在某些实施方案中,抗CD252抗体或其抗原结合片段具有一定的解离速率,当用作缀合物的一部分时,这是特别有利的。例如,在某些实施方案中,抗CD252抗体对人CD252和/或恒河猴CD252的解离速率常数(K_{off})为 1×10^{-2} 至 1×10^{-3} 、 1×10^{-3} 至 1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 至 1×10^{-6} 、 1×10^{-6} 至 1×10^{-7} 、或 1×10^{-7} 至 1×10^{-8} ,如通过生物层干涉术(BLI)测量的。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段以如通过生物层干涉术(BLI)测定的约100nM或更小、约90nM或更小、约80nM或更小、约70nM或更小、约60nM或更小、约50nM或更小、约40nM或更小、约30nM或更小、约20nM或更小、约10nM或更小、约8nM或更小、约6nM或更小、约4nM或更小、约2nM或更小、约1nM或更小的 K_D 结合CD252(例如,人CD252和/或恒河猴CD252)。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段以如通过生物层干涉术(BLI)测定的约90nM-100nM、约80nM-90nM、约70nM-80nM、约60nM-70nM、约50nM-60nM、约40nM-50nM、约30nM-40nM、约20nM-30nM、约10nM-20nM、约8nM-10nM、约6nM-8nM、约4nM-6nM、约2nM-4nM、约1nM-2nM、或约1nM或更小的 K_D 结合CD252(例如,人CD252和/或恒河猴CD252)。

[0466] 本文公开的抗体及其结合片段可用于缀合物,如下文更详细描述。

[0467] 前述抗体的示例性抗原结合片段包括双可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双链抗体、三链抗体、纳米抗体、抗体样蛋白质支架、Fv片段、Fab片段、F(ab')₂分子和串联双scFv等。本文所述的抗CD252抗体可以是全长抗体、双特异性抗体、双可变结构域抗体、多链或单链抗体和/或特异性结合人CD252的结合片段的形式,包括但不限于Fab、Fab'、(Fab')₂、Fv、scFv(单链Fv)、替代抗体(包括替代轻链构建体)、单结构域抗体、骆驼源化抗体等。它们也可以是或衍生自任何同种型,包括例如IgA(例如IgA1或IgA2)、IgD、IgE、IgG(例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)或IgM。在一些实施方案中,抗CD252抗体是IgG(例如,IG1、IG2、IG3或IG4)。

[0468] 在一个实施方案中,抗CD252抗体或其抗原结合片段包含可变区,该可变区具有与本文公开的SEQ ID NO至少95%、96%、97%或99%相同的氨基酸序列。可替代地,抗CD252抗体或其抗原结合片段包含含有本文公开的SEQ ID NO的CDR,其中本文所述的可变区的框架区具有与本文公开的SEQ ID NO至少95%、96%、97%或99%相同的氨基酸序列。

[0469] 抗CD45抗体

[0470] 能够结合人CD45的抗体和抗原结合片段(NCBI基因参考序列:NM_080921.3,NCBI蛋白参考序列:NP_563578.2),包括能够结合CD45R0同种型的那些,可以与本文公开的组合物和方法结合使用,例如以促进造血干细胞移植在需要造血干细胞移植疗法的。在一个实施方案中,本文公开的组合物和方法包括结合人CD45R0的抗CD45抗体或ADC,如在SEQ ID NO:336的氨基酸序列中所述。结合本文公开的CD45的多种同种型的抗体也考虑用于本文公开的方法和组合物中。CD45的多种同种型来源于初级转录物中34个外显子的选择性剪接。外显子4、5、6和可能7的剪接导致多种CD45变体。在下表3中所述的CD45同种型中观察到选择性外显子表达。

[0471] 表3. 多种CD45同种型的外显子表达

[0472]

CD45同种型	外显子表达模式
CD45RA (SEQ ID NO:333)	仅表达外显子4
CD45RB (SEQ ID NO:334)	仅表达外显子5
CD45RC (SEQ ID NO:335)	仅表达外显子6
CD45R0 (SEQ ID NO:336)	不表达外显子4-6

[0473] 选择性剪接可以产生CD45蛋白的多种同种型(例如CD45RA、CD45RAB、CD45RABC)中表达的单个外显子或外显子组合。相反,CD45R0缺少外显子4-6的表达,并且由外显子1-3和7-34的组合产生。有证据表明,外显子7也可以从蛋白质中排除,导致外显子1-3和8-34剪接在一起。该被指定为E3-8的蛋白质已经在mRNA水平上被检测到,但是目前还未通过流式细胞术鉴定。

[0474] CD45R0是目前唯一已知的在造血干细胞上表达的CD45同种型。CD45RA和CD45RABC未被检测到或被排除在造血干细胞表型之外。在小鼠中进行的研究表明,CD45RB在胎儿造血干细胞上表达,但是在成人骨髓造血干细胞上不存在。值得注意的是,在亚洲群体中发现的CD45RC的外显子6中的多态性比率很高(在约25%的日本人群中发现CD45RC外显子6的多态性)。该多态性导致CD45R0的高表达和CD45RA、CD45RB和CD45RC水平的降低。另外地,CD45RA变体(例如CD45RAB和CD45RAC)在外显子4中表现出多态性,这与自身免疫性疾病有

关。

[0475] CD45RO在造血干细胞上的存在及其在其他免疫细胞(例如T和B淋巴细胞亚群和各种髓细胞)上相对有限的表达,使得CD45RO特别适合作为需要造血干细胞移植的患者的预处理疗法的靶标。由于CD45RO仅缺少外显子4、5和6的表达,将其用作免疫原使得能够筛选pan CD45 Abs和CD45RO特异性抗体。

[0476] 可以与本文所述的患者调节方法结合使用的抗CD45抗体包括抗CD45抗体及其抗原结合部分。抗体的抗原结合部分是本领域众所周知的,并且可以基于抗体的抗原结合区容易地构建。在一些示例性实施方案中,与本文所述的预处理方法结合使用的抗CD45抗体可以是单克隆抗体或其抗原结合片段、多克隆抗体或其抗原结合片段、人源化抗体或其抗原结合片段、全人抗体或其抗原结合片段、嵌合抗体或其抗原结合片段、双特异性抗体或其抗原结合片段、双可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双链抗体、三链抗体、纳米抗体、抗体样蛋白质支架、Fv片段、Fab片段、F(ab')₂分子、或串联双scFv。在下文提供了可以全部或部分用于本文所述的ADC或方法中的示例性抗CD45抗体。

[0477] 在一个实施方案中,抗CD45抗体是或衍生自克隆HI30(可从BIOLEGEND®(San Diego,CA)购得)或其人源化变体。抗体的人源化可以根据本领域已知的程序(例如如下实施例7中所述),通过用种系人抗体的框架残基和恒定区残基替换非人抗体的框架残基和恒定区残基来进行。可以与本文所述的方法结合使用的另外的抗CD45抗体包括抗CD45抗体ab10558、EP322Y、MEM-28、ab10559、O.N.125、F10-89-4、H1e-1、2B11、YTH24.5、PD7/26/16、F10-89-4、1B7、ab154885、B-A11、磷光体S1007、ab170444、EP350、Y321、GA90、D3/9、X16/99和LT45(其可从ABCAM®(Cambridge,MA)购得)及其人源化变体。可以与本文所述的患者预处理程序结合使用的另外的抗CD45抗体包括抗CD45抗体HPA000440(可从SIGMA-ALDRICH®(St.Louis,MO)购得)及其人源化变体。可以与本文所述的患者预处理方法结合使用的另外的抗CD45抗体包括鼠单克隆抗体BC8,其在例如Matthews等,Blood 78:1864-1874,1991中被描述,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及抗CD45抗体及其人源化变体。可以与本文所述的方法结合使用的另外的抗CD45抗体包括单克隆抗体YAML568,其在例如Glatting等,J.Nucl.Med.8:1335-1341,2006中被描述,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及抗CD45抗体及其人源化变体。可以与本文所述的患者预处理程序结合使用的另外的抗CD45抗体包括单克隆抗体YTH54.12和YTH25.4,其例如在Brenner等,Ann.N.Y.Acad.Sci.996:80-88,2003中被描述,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及抗CD45抗体及其人源化变体。用于本文所述的患者预处理方法的另外的抗CD45抗体包括UCHL1、2H4、SN130、MD4.3、MBI和MT2,其在例如Brown等,Immunology64:331-336,1998中被描述,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及抗CD45抗体及其人源化变体。可以与本文所述的方法结合使用的另外的抗CD45抗体包括从美国类型培养物保藏中心(ATCC)登录号RA3-6132、RA3-2C2和TIB122中产生和释放的那些,以及单克隆抗体C363.16A和13/2,其在例如Johnson等,J.Exp.Med.169:1179-1184,1989中被描述,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及抗CD45抗体及其人源化变体。可以与本文所述的患者预处理方法结合使用的另外的抗CD45抗体包括单克隆抗体AHN-12.1、AHN-12、AHN-12.2、AHN-12.3、AHN-12.4、H1e-1和KC56(T200),其在例如Harvath等,J.Immunol.146:949-957,1991中被描述,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及抗CD45抗体及其人源化变体。

[0478] 可以与本文所述的患者预处理方法结合使用的另外的抗CD45抗体包括例如在美国专利号7,265,212中(其描述了例如抗CD45抗体39E11、16C9和1G10,与其他克隆一起);7,160,987(其描述了例如由ATCC登录号HB-11873产生和释放的抗CD45抗体,例如单克隆抗体6G3);和6,099,838(其描述了例如抗CD45抗体MT3,以及由ATCC登录号HB220(也指定为MB23G2)和HB223产生和释放的抗体),以及US 2004/0096901和US 2008/0003224(其描述了例如由ATCC登录号PTA-7339产生和释放的抗CD45抗体,例如单克隆抗体17.1)中描述的那些,其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及抗CD45抗体。

[0479] 可以与本文所述的患者预处理方法结合使用的另外的抗CD45抗体包括由ATCC登录号MB4B4、MB23G2、14.8、GAP 8.3、74-9-3、I/24.D6、9.4、4B2、M1/9.3.4.HL.2产生和释放的抗体,以及其人源化和/或亲和力成熟的变体。亲和力成熟可以例如使用本文所述或本领域已知的体外展示技术来进行,例如噬菌体展示,如以下实施例6所述。

[0480] 可以与本文所述的患者预处理方法结合使用的另外的抗CD45抗体包括抗CD45抗体T29/33,其在例如Morikawa等,Int.J.Hematol.54:495-504,1991中被描述,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及抗CD45抗体。

[0481] 在某些实施方案中,抗CD45抗体选自艾妥单抗(也称为90Y-BC8、Imoab-B、BC8;如例如US20170326259、W02017155937和Orozco等Blood.127.3(2016):352-359中所述)或BC8-(如例如Li等PloS one 13.10(2018):e0205135中所述),其中每一篇文献通过引用并入。其他抗CD45抗体已被描述,例如在W02003/048327、W02016/016442、US2017/0226209、US2016/0152733、US9,701,756;US2011/0076270或US7,825,222中,其中每一篇通过引用整体并入本文中。

[0482] 例如,在一个实施方案中,抗CD45抗体或其抗原结合片段包含结合区,例如CDR、可变区,对应于艾妥单抗(Apamistamab)的那些。艾妥单抗的重链可变区(VH)氨基酸序列在SEQ ID NO:337中阐述。艾妥单抗的轻链可变区(VL)氨基酸序列在SEQ ID NO:338中描述。在另一些实施方案中,抗CD45抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:337中所述的氨基酸残基的可变重链和如SEQ ID NO:338中所述的轻链可变区。在一个实施方案中,抗CD45抗体包含含有艾妥单抗的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有艾妥单抗的CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区。

[0483] 在一个实施方案中,抗CD45抗体包含本文所述的抗CD45抗体的重链和本文所述的抗CD45抗体的轻链可变区。在一个实施方案中,抗CD45抗体包含含有本文所述抗CD45抗体的CDR1、CDR2和CDR3的重链和含有本文所述的抗CD45抗体的CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区。

[0484] 在另一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区,其包含与本文的抗CD45抗体具有至少95%同一性(例如与本文的抗CD45抗体具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性)的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗体包含经修饰的重链(HC)可变区,其包含本文的抗CD45抗体的HC可变区或其变体,该变体(i)与抗CD45抗体在1、2、3、4或5个氨基酸的取代、添加或缺失上不同;(ii)与抗CD45抗体在至多5、4、3、2或1个氨基酸的取代、添加或缺失上不同;(iii)与抗CD45抗体在1-5、1-3、1-2、2-5或3-5个氨基酸的取代、添加或缺失上不同;和/或(iv)包含与抗CD45抗体至少约75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列,其中在(i)-(iv)中的任一项中,氨基酸取代可

以是保守氨基酸取代或非保守氨基酸取代;并且其中经修饰的重链可变区相对于抗CD45抗体的重链可变区具有增强的生物活性,同时保持抗体的CD45结合特异性。

[0485] 前述出版物中每一篇的公开内容通过引用整体并入本文中。可以与本文所述的组合物和方法结合使用的抗体及抗原结合片段包括上述抗体及其抗原结合片段,以及上述那些非人抗体及抗原结合片段的人源化变体和与上述那些相同的表位结合的抗体或抗原结合片段,如例如通过竞争性CD45结合测定评估的。

[0486] 用于鉴定抗体的方法

[0487] 用于高通量筛选抗体或抗体片段文库中能够结合由造血干细胞表达的抗原(例如CD117(例如GNNK+CD117)或CD45)或由成熟免疫细胞(例如T细胞)表达的抗原(例如CD2、CD5、CD137或CD252)的分子的方法可用于鉴定和亲和用于治疗癌症、自身免疫性疾病和预处理需要造血干细胞疗法的患者(例如人患者)的成熟抗体,如本文所述。此类方法包括本领域已知的体外展示技术,例如噬菌体展示、细菌展示、酵母展示、哺乳动物细胞展示、核糖体展示、mRNA展示和cDNA展示等。使用噬菌体展示来分离结合生物相关分子的抗体或抗原结合片段,已经在例如Felici等,Biotechnol. Annual Rev. 1:149-183, 1995; Katz, Annual Rev. Biophys. Biomol. Struct. 26:27-45, 1997; 和Hoogenboom等, Immunotechnology 4:1-20, 1998中概述,其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及体外展示技术。已经构建了随机组合肽文库来选择结合细胞表面抗原的多肽,如Kay, Perspect. Drug Discovery Des. 2:251-268, 1995和Kay等, Mol. Divers. 1:139-140, 1996中所述的,其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及抗原结合分子的发现。蛋白质,例如多聚体蛋白质,已经成功地作为功能分子进行噬菌体展示(参见,例如,EP 0349578; EP 4527839; 和EP 0589877, 以及Chiswell和McCafferty, Trends Biotechnol. 10:80-84 1992, 其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及使用体外展示技术来发现抗原结合分子。另外,功能性抗体片段,例如Fab和scFv片段,已经以体外展示形式表达(参见,例如,McCafferty等, Nature 348:552-554, 1990; Barbas等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7978-7982, 1991; 和Clackson等, Nature 352:624-628, 1991, 其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及用于发现抗原结合分子的体外展示平台)。人抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)也可以例如在HuMAb-**Mouse**®或XenoMouse™中产生。其中,这些技术可用于鉴定和改善抗体、抗体或片段的亲和力,该抗体、抗体或片段能够结合由造血干细胞表达的抗原(例如CD117(例如GNNK+CD117)或CD45)或由成熟免疫细胞(例如T细胞)表达的抗原(例如CD2、CD5、CD137或CD252),其又可用于耗尽需要造血干细胞的患者(例如人患者)中的内源性造血干细胞。

[0488] 除了体外展示技术之外,可以在计算机中使用计算建模技术来设计和鉴定能够结合由造血干细胞表达的抗原(例如CD117(例如GNNK+CD117)或CD45)或由成熟免疫细胞(例如T细胞)表达的抗原(例如CD2、CD5、CD137或CD252)的抗体或抗体片段。例如,使用计算建模技术,本领域技术人员可以在计算机中筛选抗体或抗体片段的文库中能够结合由造血干细胞(例如CD117(例如GNNK+CD117)或CD45)表达的抗原或由成熟免疫细胞(例如T细胞(例如CD2、CD5、CD137或CD252))表达的抗原上的特定表位(例如抗原的细胞外表位)的分子。通过这些计算技术鉴定的抗体或其抗原结合片段可以与本文所述的治疗方法结合使用,例如

本文所述的癌症和自身免疫性疾病治疗方法和本文所述的患者预处理程序。

[0489] 可以使用另外的技术来鉴定能够结合由造血干细胞(例如CD117(例如GNNK+CD117)或CD45)表达的抗原或由成熟免疫细胞(例如T细胞(例如CD2、CD5、CD137或CD252))表达的抗原并且被细胞内在化(例如通过受体介导的内吞作用)的抗体或抗体片段。例如,上述体外展示技术可适于筛选结合由造血干细胞(例如CD117(例如GNNK+CD117)或CD45)表达的抗原或由成熟免疫细胞(例如T细胞(例如CD2、CD5、CD137或CD252))表达的抗原并且随后被内在化的抗体或抗体片段。噬菌体展示代表了一种可以与这种筛选模式结合使用的技术。为了鉴定抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)或抗体片段,并随后被造血干细胞(或免疫细胞)内在化,本领域技术人员可以使用Williams等,Leukemia 19:1432-1438,2005中描述的噬菌体展示技术,其公开内容通过引用整体并入本文中。例如,使用本领域已知的诱变方法,可以产生重组噬菌体文库,其编码抗体、抗体片段,例如scFv片段、Fab片段、双链抗体、三链抗体和¹⁰Fn3结构域等,或含有随机氨基酸盒的配体(例如,在一个或更多个或所有CDR或其等同区域或抗体或抗体片段中)。抗体或抗体片段的框架区、铰链区、Fc区域和其他区域可以被设计成使得它们在人是非免疫原性的,例如,借助于具有人种系抗体序列或相对于人种系抗体仅表现出微小变化的序列。

[0490] 使用本文所述或本领域已知的噬菌体展示技术,与噬菌体颗粒共价结合的含有随机抗体或抗体片段的噬菌体文库可以与抗原(例如CD117(例如GNNK+CD117)、CD45、CD2、CD5、CD137或CD252)一起孵育,例如通过首先将噬菌体文库与封闭剂(例如乳蛋白、牛血清白蛋白和/或IgG)一起孵育以除去编码抗体或抗体片段的噬菌体,其表现出非特异性蛋白结合和编码结合Fc结构域的抗体或其片段的噬菌体,并然后将噬菌体文库与造血干细胞或成熟免疫细胞(例如T细胞)群(其表达例如CD117(例如GNNK+CD117)、CD45、CD2、CD5、CD137或CD252)一起孵育。可以将噬菌体文库与靶细胞(例如癌细胞、免疫细胞或造血干细胞)一起孵育足以进行以下的时间:允许抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)或其抗体片段结合同源细胞表面抗原(例如,CD117(例如GNNK+CD117)、CD45、CD2、CD5、CD137或CD252)并随后被造血干细胞内在化(例如,在4℃下30分钟至6小时,例如在4℃下1小时)。含有抗体或其抗体片段的噬菌体,其对抗原(CD117(例如GNNK+CD117)、CD45、CD2、CD5、CD137或CD252)没有表现出足够的亲和力,以允许与靶细胞(例如癌细胞、自身免疫细胞或造血干细胞)结合并其内在化,随后可以通过例如用pH 2.8的冷(4℃)0.1M甘氨酸缓冲液洗涤细胞来除去。例如,通过裂解细胞并从细胞培养基中回收内在化的噬菌体,可以鉴定已被靶细胞(例如癌细胞、自身免疫细胞或造血干细胞)内在化的与抗体或其抗体片段结合的噬菌体。然后,可以在细菌细胞中扩增噬菌体,例如,通过使用本领域已知的方法在2xYT培养基中将细菌细胞与回收的噬菌体一起孵育。然后,可以对从该培养基中回收的噬菌体进行表征,例如,通过确定插入噬菌体基因组中编码抗体或抗体片段的基因的核酸序列。编码的抗体或其抗体片段可以随后通过化学合成(例如,其抗体片段,例如scFv片段)或通过重组表达(例如,全长抗体)重新制备。

[0491] 制备的抗体或其抗体片段的内在化能力可以例如使用本领域已知的放射性核素内在化测定来评估。例如,使用本文所述或本领域已知的体外展示技术鉴定的抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)或其抗

体片段可以通过并入放射性同位素来功能化,例如 ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{77}Br 、 ^{122}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{129}I 、 ^{131}I 、 ^{211}At 、 ^{67}Ga 、 ^{111}In 、 ^{99}Tc 、 ^{169}Yb 、 ^{186}Re 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{177}Lu 、 ^{77}As 、 ^{72}As 、 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 或 ^{225}Ac 。例如,放射性卤素,例如 ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{77}Br 、 ^{122}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{129}I 、 ^{131}I 、 ^{211}At ,可以使用包含亲电子卤素试剂(例如,碘化珠,Thermo Fisher Scientific, Inc., Cambridge, MA)的珠(例如,聚苯乙烯珠)并入到抗体或片段中。经放射性标记的抗体或其片段或ADC可以与靶细胞(例如癌细胞、自身免疫细胞或造血干细胞)一起孵育足以允许内在化的时间(例如,在 4°C 下30分钟至6小时,例如在 4°C 下1小时)。然后可以洗涤细胞以除去未内在化的抗体或其片段(例如,使用pH 2.8的冷(4°C)0.1M甘氨酸缓冲液)。内在化的抗体或其抗体片段可以通过检测所得靶细胞(例如癌细胞、自身免疫细胞或造血干细胞)发出的辐射(例如 γ 辐射)与回收的洗涤缓冲液发出的辐射(例如 γ 辐射)进行比较来鉴定。前述内在化测定也可用于表征ADC。

[0492] 抗体可以使用重组方法和组合物来产生,例如,如美国专利号4,816,567中所述。在一个实施方案中,提供了本文所述的编码抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)的分离的核酸。此种核酸可以编码包含VL的氨基酸序列和/或包含抗体的VH的氨基酸序列(例如,抗体的轻链和/或重链)。在另一个实施方案中,提供了包含此种核酸的一种或更多种载体(例如表达载体)。在另一个实施方案中,提供了包含此种核酸的宿主细胞。在一个这样的实施方案中,宿主细胞包含(例如,已被转化):(1)载体,其包含编码包含抗体VL的氨基酸序列和包含抗体VH的氨基酸序列的核酸,或(2)第一载体,其包含编码包含抗体VL的氨基酸序列的核酸,和第二载体,其包含编码包含抗体VH的氨基酸序列的核酸。在一个实施方案中,宿主细胞是真核细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴细胞(例如,YO、NSO、Sp20细胞)。在一个实施方案中,提供了一种制备抗CLL-1抗体的方法,其中该方法包括在适用于抗体表达的条件下培养包含编码抗体的核酸的宿主细胞,如上提供的,并任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)中回收抗体。

[0493] 为了重组生产抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体),分离编码抗体的核酸(例如如上所述),并将其插入一个或多个载体中,用以进一步在宿主细胞中克隆和/或表达。可以使用常规方法(例如,通过使用能够特异性结合编码抗体重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)容易地分离和测序此种核酸。

[0494] 适用于克隆或表达编码抗体的载体的宿主细胞包括本文所述的原核或真核细胞。例如,可以在细菌中产生抗体,特别是当不需要糖基化和Fc效应子功能时。关于抗体片段和多肽在细菌中的表达,参见例如美国专利号5,648,237、5,789,199和5,840,523(还参见Charlton, Methods in Molecular Biology, 第248卷(B.K.C.Lo, 编辑, Humana Press, Totowa, N.J., 2003), 第245-254页,描述了抗体片段在大肠杆菌中的表达)。表达后,可以从细菌细胞糊中在可溶性级分中分离出抗体,并且可以进一步纯化。

[0495] 还可以使用脊椎动物细胞作为宿主。例如,适于悬浮生长的哺乳动物细胞系可以是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其他实例是由SV40(COS-7)转化的猴肾CV1细胞系;人胚胎肾系(293或293细胞,如例如在Graham等, J. Gen Virol. 36:59 (1977)中所述的);幼仓鼠肾细胞(BHK);小鼠足细胞(TM4细胞,如例如在Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)中所述的);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾

细胞(MDCK);水牛鼠肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,如例如在Mather等,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)中所述的;MRC 5细胞;和FS4细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR-CHO细胞(Urlaub等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));和骨髓瘤细胞系,例如Y0、NS0和Sp2/0。关于适用于抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,参见例如,Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo,编辑,Humana Press,Totowa,N.J.),第255-268页(2003)。在一个实施方案中,宿主细胞是真核细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴细胞(例如Y0、NS0、Sp20细胞)。

[0496] 抗体药物缀合物(ADC)

[0497] 本文所述的抗体(包括抗CD117抗体)及其抗原结合片段可以通过接头与细胞毒素缀合(连接)。在一些实施方案中,细胞毒性分子与如本文公开的细胞内在化抗体或其抗原结合片段缀合,使得在细胞摄取抗体或其片段后,细胞毒素可以到达其细胞内靶标并介导造血细胞死亡。任何数量的细胞毒素可以与抗CD117抗体(例如1、2、3、4、5、6、7或8)缀合。

[0498] 适用于本文所述的组合物和方法的细胞毒素包括DNA嵌入剂(例如蒽环类)、能够破坏有丝分裂纺锤体的试剂(例如长春花生物碱、美登素、美登木素生物碱及其衍生物)、RNA聚合酶抑制剂(例如鹅膏蕈毒素,例如 α -鹅膏蕈碱及其衍生物)和能够破坏蛋白质生物合成的试剂(例如,表现出rrnA N-糖苷酶活性的试剂,例如皂草素和蓖麻毒素A链)以及本领域已知的其他物质。

[0499] 细胞毒素

[0500] 多种细胞毒素可以通过用于本文所述的疗法的接头与抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)缀合。特别地,抗HC ADC(例如,抗CD117 ADC、抗CD45 ADC、抗CD2 ADC、抗CD5 ADC、抗CD137 ADC或抗CD252 ADC)包括与细胞毒性部分(或细胞毒素)缀合(即,通过接头共价连接)的抗体(或其抗原结合片段)。在多个实施方案中,当结合在缀合物中时,细胞毒性部分表现出降低的细胞毒性或没有细胞毒性,但是在从接头切割后恢复细胞毒性。在多个实施方案中,细胞毒性部分保持细胞毒性而不从接头切割。在一些实施方案中,细胞毒性分子与本文公开的细胞内在化的抗体或其抗原结合片段缀合,使得在细胞摄取抗体或其片段后,细胞毒素可以到达其细胞内靶标,并例如介导T细胞死亡。

[0501] 因此,本公开内容本公开内容的ADC可以具有通式 $Ab-(Z-L-D)_n$,其中抗体或其抗原结合片段(Ab)通过化学部分(Z)与接头(L)缀合(共价连接)到细胞毒性部分(“药物”,D),每一个都如本文公开的。

[0502] 因此,抗体或其抗原结合片段可以与由整数n表示的多个药物部分缀合,整数n表示每种抗体的细胞毒素的平均数量,其范围可以例如约1至约20。在一些实施方案中,n为1至4。在一些实施方案中,n为1。通过缀合反应制备的ADC中每种抗体的药物部分的平均数量可以通过常规手段(例如质谱、ELISA测定和HPLC)来表征。也可以确定ADC在n方面的定量分布。在一些情况下,可以通过例如反相HPLC或电泳的手段实现均相ADC的分离、纯化和表征,其中n为来自其他药物负载的ADC的某个值。

[0503] 对于一些抗HC ADC(例如抗CD117 ADC、抗CD45 ADC、抗CD2 ADC、抗CD5 ADC、抗CD137 ADC或抗CD252 ADC),可能受到抗体上附接位点数量的限制。例如,当附接是半胱氨

酸硫醇时,抗体可以仅具有一个或数个半胱氨酸硫醇基团,或者可以仅具有一个或数个足够反应性的硫醇基团,通过这些基团可以附接接头。通常,抗体不含许多可以与药物部分连接的游离和反应性半胱氨酸硫醇基团;主要是,抗体中的半胱氨酸硫醇残基以二硫键存在。在某些实施方案中,抗体可以在部分或全部还原条件下用还原剂(例如二硫苏糖醇(DTT)或三巯基乙基膦(TCEP))还原,以产生反应性半胱氨酸硫醇基团。在某些实施方案中,较高的药物负载,例如 $n>5$,可能导致某些抗体-药物缀合物的聚集、不溶性、毒性或细胞渗透性的丧失。

[0504] 在某些实施方案中,在缀合反应期间,少于理论最大药物部分与抗体结合。抗体可以包含例如不与药物-接头中间体或接头试剂反应的赖氨酸残基,如下所讨论。仅最具反应性的赖氨酸基团可以与胺反应性接头试剂反应。在某些实施方案中,抗体经受变性条件以显示反应性亲核基团,例如赖氨酸或半胱氨酸。

[0505] ADC的负载(药物/抗体比)可以以不同方式来控制,例如通过:(i)限制药物-接头中间体或接头试剂相对于抗体的摩尔过量,(ii)限制缀合反应时间或温度,(iii)半胱氨酸硫醇修饰的部分或限制性还原条件,(iv)通过重组技术将抗体的氨基酸序列基因工程化,使得半胱氨酸残基的数量和位置被修饰用以控制接头-药物附接的数量和/或位置。

[0506] 适用于本文所述的组合物和方法的细胞毒素包括DNA嵌入剂(例如蒽环类)、能够破坏有丝分裂纺锤体的试剂(例如长春花生物碱、美登素、美登木素生物碱及其衍生物)、RNA聚合酶抑制剂(例如鹅膏蕈毒素,例如 α -鹅膏蕈碱及其衍生物)和能够破坏蛋白质生物合成的试剂(例如,表现出rrnA N-糖苷酶活性的试剂,例如皂草素和蓖麻毒素A链)以及本领域已知的其他物质。

[0507] 在一些实施方案中,细胞毒素是微管结合剂(例如,美登素或美登木素生物碱)、鹅膏蕈毒素、假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、皂草素、美登素、美登木素生物碱、奥瑞他汀、蒽环类、加里刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吡咯并苯二氮卓类假二聚体或其变体,或本文所述或本领域已知的另一种细胞毒性化合物。

[0508] 在一些实施方案中,抗体-药物缀合物的细胞毒素是RNA聚合酶抑制剂。在一些实施方案中,RNA聚合酶抑制剂是鹅膏蕈毒素或其衍生物。在一些实施方案中,如本文公开的抗体-药物缀合物的细胞毒素是鹅膏蕈毒素或其衍生物,例如 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏无毒环肽、鹅膏无毒环肽酸、前鹅膏无毒环肽或其衍生物。

[0509] 下文描述了可用于本发明的方法中的抗HC ADC(例如,抗CD117 ADC、抗CD45 ADC、抗CD2 ADC、抗CD5 ADC、抗CD137 ADC或抗CD252 ADC)的细胞毒素的另外详细信息。

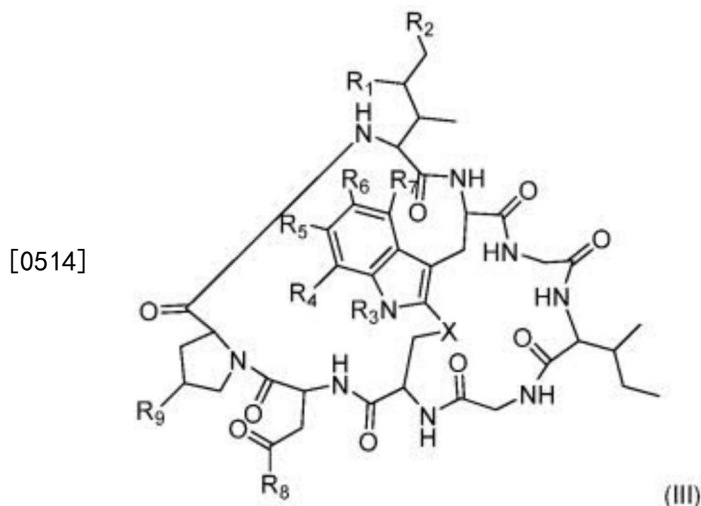
[0510] 鹅膏蕈毒素

[0511] 本文公开的方法和组合物包含含有RNA聚合酶抑制剂(例如,鹅膏蕈毒素)作为与抗HC抗体(例如,抗CD117抗体)缀合的细胞毒素的ADC。在一些实施方案中,抗体-药物缀合物的细胞毒素是RNA聚合酶抑制剂。在一些实施方案中,RNA聚合酶抑制剂是鹅膏蕈毒素或其衍生物。在一些实施方案中,如本文公开的抗体-药物缀合物的细胞毒素是鹅膏蕈毒素或其衍生物。例如 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏无毒环肽、鹅膏无毒环肽酸、前鹅膏无毒环肽或其衍生物。合适的鹅膏蕈毒素在例如

Zanotti等, Int. J. Peptide Protein Res. 30, 1987, 450-459中公开。

[0512] 与本文所述的组合物和方法结合使用的鹅膏蕈毒素包括但不限于根据式(III)的化合物, 包括 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏无毒环肽、鹅膏无毒环肽酸或前鹅膏无毒环肽。

[0513] 式(III)如下:



[0515] 其中 R_1 是H、OH或 OR_A ;

[0516] R_2 是H、OH或 OR_B ;

[0517] R_A 和 R_B , 当存在时, 与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基;

[0518] R_3 是H或 R_D ;

[0519] R_4 是H、OH、 OR_D 或 R_D ;

[0520] R_5 是H、OH、 OR_D 或 R_D ;

[0521] R_6 是H、OH、 OR_D 或 R_D ;

[0522] R_7 是H、OH、 OR_D 或 R_D ;

[0523] R_8 是OH、 NH_2 或 OR_D ;

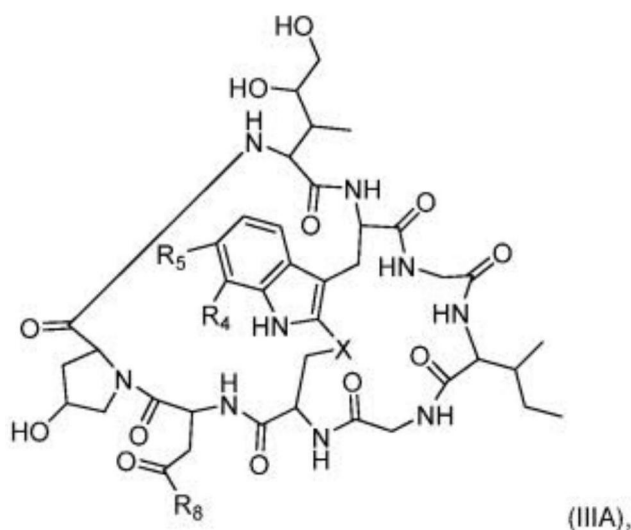
[0524] R_9 是H、OH或 OR_D ;

[0525] x是-S-、-S(O-)或-SO₂-; 并且

[0526] R_D 是任选经取代的烷基(例如, C_1 - C_6 烷基)、任选经取代的杂烷基(例如, C_1 - C_6 杂烷基)、任选经取代的烯基(例如, C_2 - C_6 烯基)、任选经取代的杂烯基(例如, C_2 - C_6 杂烯基)、任选经取代的炔基(例如, C_2 - C_6 炔基)、任选经取代的杂炔基(例如, C_2 - C_6 杂炔基)、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基。

[0527] 例如, 在一个实施方案中, 与本文所述的组合物和方法结合使用的鹅膏蕈毒素包括根据式(IIIA)的化合物

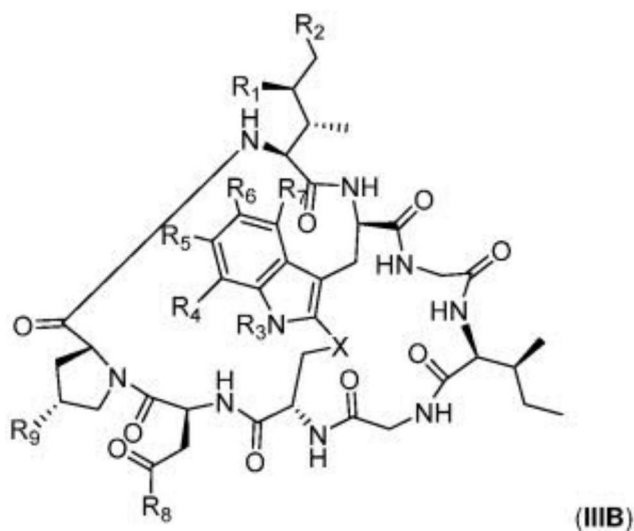
[0528]



[0529] 其中 R_4 、 R_5 、 X 和 R_8 各自如上定义。

[0530] 例如,在一个实施方案中,与本文所述的组合物和方法结合使用的鹅膏蕈毒素包括根据下式 (IIIB) 的化合物:

[0531]



[0532] 其中 R_1 是H、OH或 OR_A ;

[0533] R_2 是H、OH或 OR_B ;

[0534] R_A 和 R_B ,当存在时,与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基;

[0535] R_3 是H或 R_D ;

[0536] R_4 是H、OH、 OR_D 或 R_D ;

[0537] R_5 是H、OH、 OR_D 或 R_D ;

[0538] R_6 是H、OH、 OR_D 或 R_D ;

[0539] R_7 是H、OH、 OR_D 或 R_D ;

[0540] R_8 是OH、 NH_2 或 OR_D ;

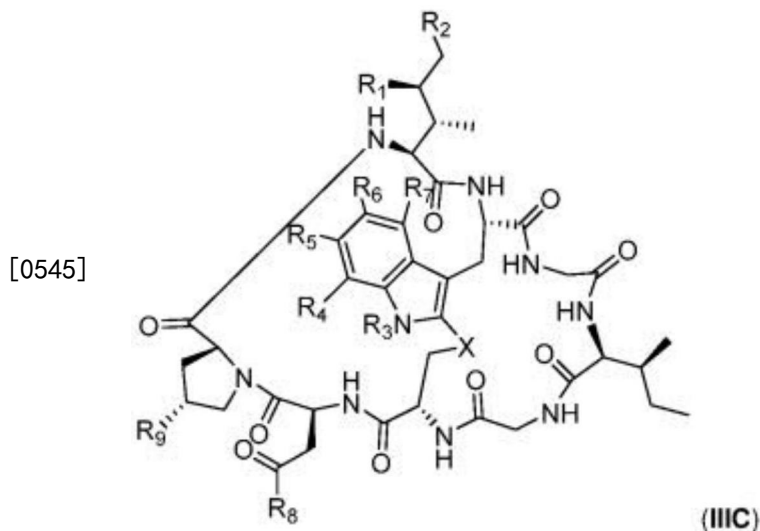
[0541] R_9 是H、OH或 OR_D ;

[0542] x 是-S-、-S(O-)或-SO₂-;并且

[0543] R_D 是任选经取代的烷基(例如, C_1 - C_6 烷基)、任选经取代的杂烷基(例如, C_1 - C_6 杂烷

基)、任选经取代的烯基(例如, C_2-C_6 烯基)、任选经取代的杂烯基(例如, C_2-C_6 杂烯基)、任选经取代的炔基(例如, C_2-C_6 炔基)、任选经取代的杂炔基(例如, C_2-C_6 杂炔基)、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基。

[0544] 在一个实施方案中,与本文所述的组合物和方法结合使用的鹅膏蕈毒素还包括根据下式(IIIC)的化合物:



[0546] 其中 R_1 是H、OH或 OR_A ;

[0547] R_2 是H、OH或 OR_B ;

[0548] R_A 和 R_B ,当存在时,与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基;

[0549] R_3 是H或 R_D ;

[0550] R_4 是H、OH、 OR_D 或 R_D ;

[0551] R_5 是H、OH、 OR_D 或 R_D ;

[0552] R_6 是H、OH、 OR_D 或 R_D ;

[0553] R_7 是H、OH、 OR_D 或 R_D ;

[0554] R_8 是OH、 NH_2 或 OR_D ;

[0555] R_9 是H、OH或 OR_D ;

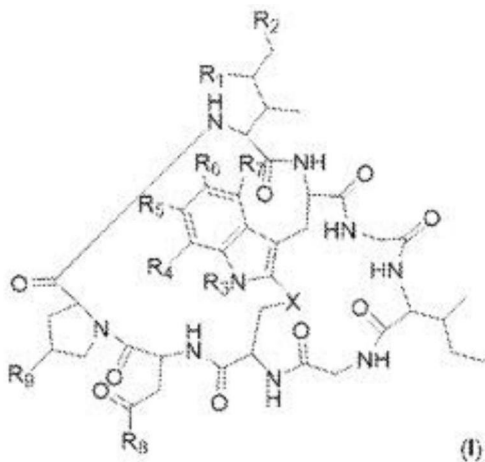
[0556] x是-S-、-S(O-)或-SO₂-;并且

[0557] R_D 是任选经取代的烷基(例如, C_1-C_6 烷基)、任选经取代的杂烷基(例如, C_1-C_6 杂烷基)、任选经取代的烯基(例如, C_2-C_6 烯基)、任选经取代的杂烯基(例如, C_2-C_6 杂烯基)、任选经取代的炔基(例如, C_2-C_6 炔基)、任选经取代的杂炔基(例如, C_2-C_6 杂炔基)、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基。

[0558] 在一个实施方案中,细胞毒素是鹅膏蕈碱。例如,本文所述的抗体和抗原结合片段可以与鹅膏蕈毒素结合,从而形成由式Ab-Z-L-Am表示的缀合物,其中Ab是抗体或其抗原结合片段,L是接头,Z是化学部分,并且Am是鹅膏蕈毒素。鹅膏蕈毒素或其衍生物上的许多位置可以用作共价键合连接部分L的位置,并且因此用作共价键合抗体或其抗原结合片段的位置。下文描述了用于此类过程的鹅膏蕈毒素缀合和接头的示例性方法。根据本文所述的组合物和方法,可用于与抗体或抗原结合片段缀合的示例性含接头的鹅膏蕈毒素示于本文所述的结构式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIA)和(IIB)中。

[0559] 在一些实施方案中,鹅膏蕈毒素-接头缀合物Am-L-Z由式(I)表示

[0560]



[0561] 其中 R_1 是H、OH、 OR_A 或 OR_C ;

[0562] R_2 是H、OH、 OR_B 或 OR_C ;

[0563] R_A 和 R_B ,当存在时,与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基;

[0564] R_3 是H、 R_C 或 R_D ;

[0565] R_4 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

[0566] R_5 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

[0567] R_6 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

[0568] R_7 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

[0569] R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 或 $NR_C R_D$;

[0570] R_9 是H、OH、 OR_C 或 OR_D ;

[0571] x是-S-、-S(O-)-或-SO₂-;

[0572] R_C 是-L-Z;

[0573] R_D 是任选经取代的C₁-C₆烷基、任选经取代的C₁-C₆杂烷基、任选经取代的C₂-C₆烯基、任选经取代的C₂-C₆杂烯基、任选经取代的C₂-C₆炔基、任选经取代的C₂-C₆杂炔基、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基;

[0574] L是接头,例如任选经取代的亚烷基(例如,C₁-C₆亚烷基)、任选经取代的杂亚烷基(例如,C₁-C₆杂亚烷基)、任选经取代的亚烯基(例如,C₂-C₆亚烯基)、任选经取代的杂亚烯基(例如,C₂-C₆杂亚烯基)、任选经取代的亚炔基(例如,C₂-C₆亚炔基)、任选经取代的杂亚炔基(例如,C₂-C₆杂亚炔基)、任选经取代的环亚烷基、任选经取代的杂环亚烷基、任选经取代的亚芳基、任选经取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-、二硫化物、脲或其组合;

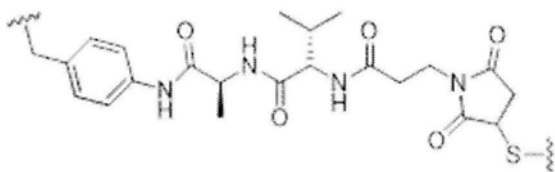
[0575] 并且

[0576] Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分,其结合靶抗原(例如,CD117)。

[0577] 在一些实施方案中,Am确切地包含一个 R_C 取代基。

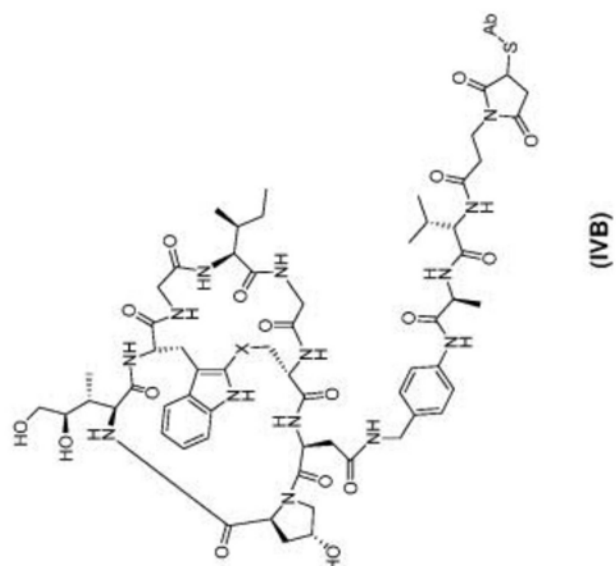
[0578] 在一些实施方案中,L-Z是

[0579]

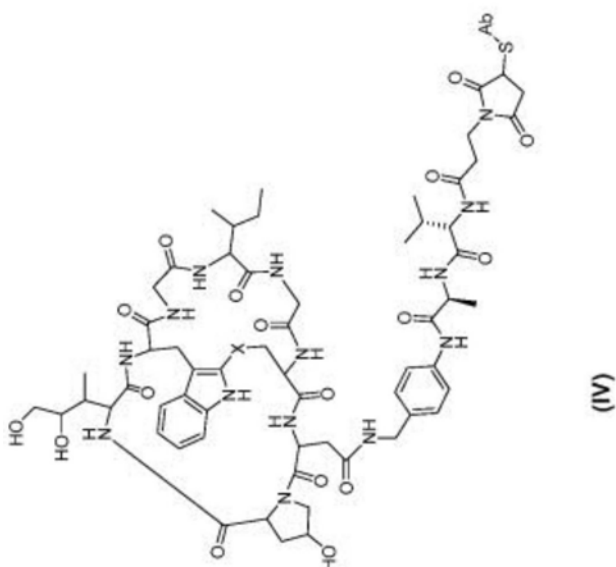
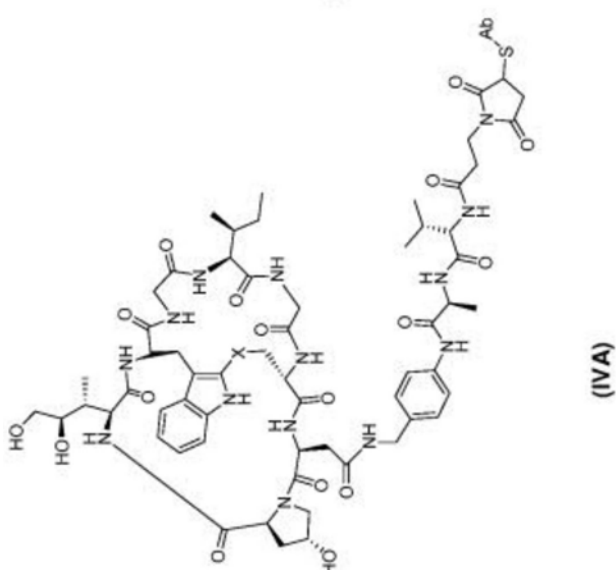


[0580] 其中S是表示抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基的硫原子,其结合靶抗原(例如,半胱氨酸残基的-SH基)。

[0581] 在一些实施方案中,缀合物Am-L-Z-Ab由式IV、IVA或IVB之一表示:



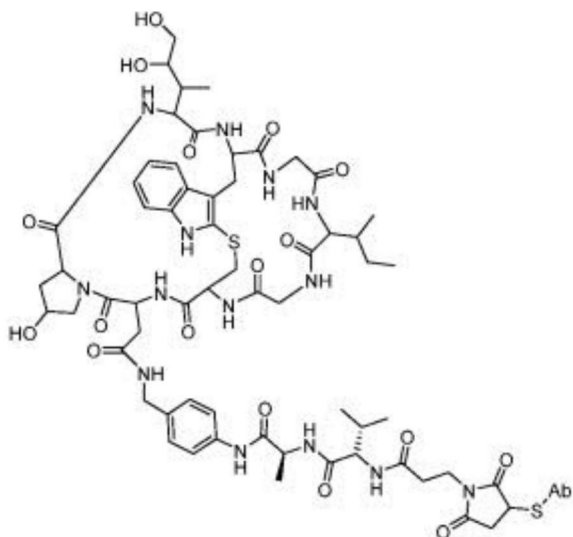
[0582]



[0583] 其中X是S、S₀或S₀₂,并且Ab表示Ab附接点。

[0584] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是

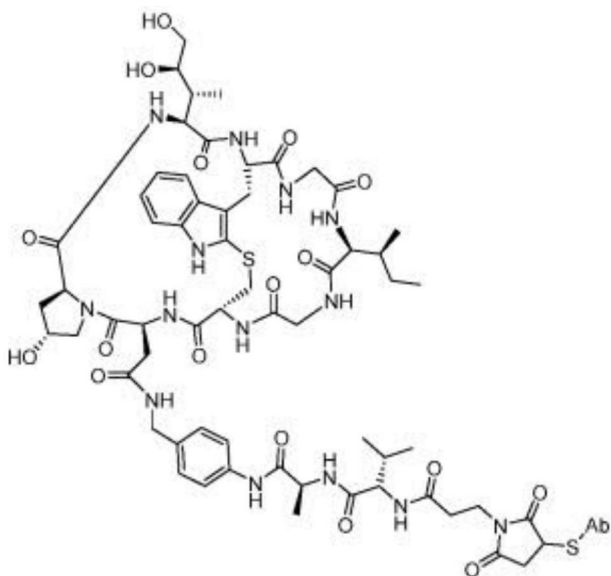
[0585]



[0586] 其中Ab表示Ab附接点。

[0587] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是

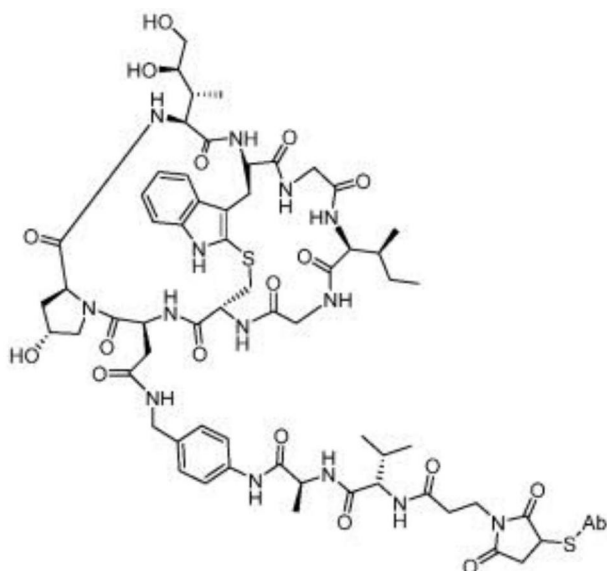
[0588]



[0589] 其中Ab表示Ab连接点。

[0590] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是

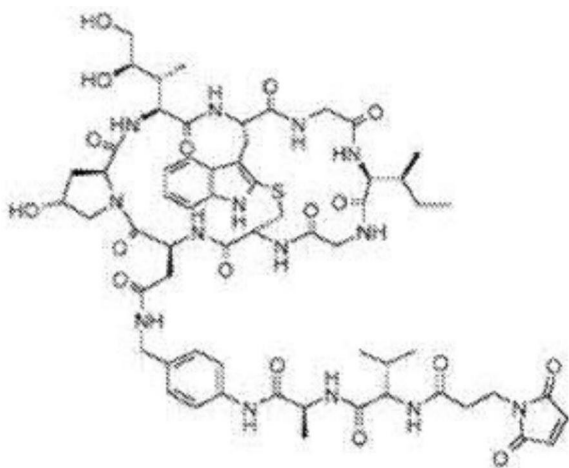
[0591]



[0592] 其中Ab表示Ab附接点。

[0593] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab前体,Am-L-Z',是

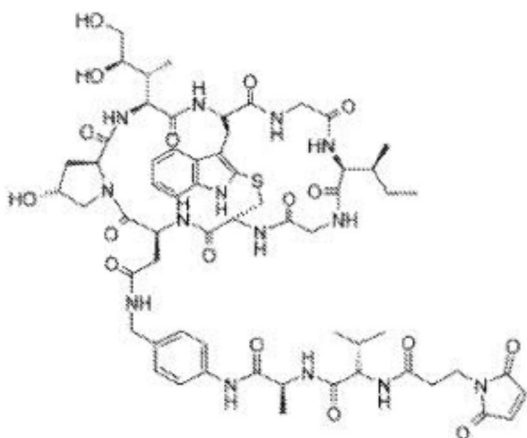
[0594]



[0595] 其中马来酰亚胺与抗体中半胱氨酸上发现的硫醇基团反应。

[0596] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab前体,Am-L-Z',是

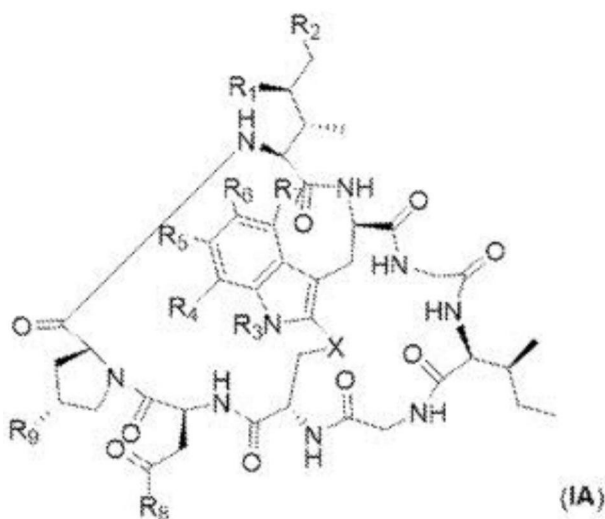
[0597]



[0598] 其中马来酰亚胺与抗体中半胱氨酸上发现的硫醇基团反应。

[0599] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 表示

[0600]

[0601] 其中 R_1 是H、OH、 OR_A 或 OR_C ；[0602] R_2 是H、OH、 OR_B 或 OR_C ；[0603] R_A 和 R_B ，当存在时，与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基；[0604] R_3 是H、 R_C 或 R_D ；[0605] R_4 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ；[0606] R_5 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ；[0607] R_6 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ；[0608] R_7 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ；[0609] R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 或 $NR_C R_D$ ；[0610] R_9 是H、OH、 OR_C 或 OR_D ；[0611] x是-S-、-S(O-)-或-SO₂-；[0612] R_C 是-L-Z；[0613] R_D 是任选经取代的烷基(例如， C_1 - C_6 烷基)、任选经取代的杂烷基(例如， C_1 - C_6 杂烷基)、任选经取代的烯基(例如， C_2 - C_6 烯基)、任选经取代的杂烯基(例如， C_2 - C_6 杂烯基)、任选经取代的炔基(例如， C_2 - C_6 炔基)、任选经取代的杂炔基(例如， C_2 - C_6 杂炔基)、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基；[0614] L是接头，例如任选经取代的亚烷基(例如， C_1 - C_6 亚烷基)、任选经取代的杂亚烷基(例如， C_1 - C_6 杂亚烷基)、任选经取代的亚烯基(例如， C_2 - C_6 亚烯基)、任选经取代的杂亚烯基(例如， C_2 - C_6 杂亚烯基)、任选经取代的亚炔基(例如， C_2 - C_6 亚炔基)、任选经取代的杂亚炔基(例如， C_2 - C_6 杂亚炔基)、任选经取代的环亚烷基、任选经取代的杂环亚烷基、任选经取代的亚芳基、任选经取代的杂亚芳基、肽、二肽、-(C=O)-、二硫化物、脲或其组合；

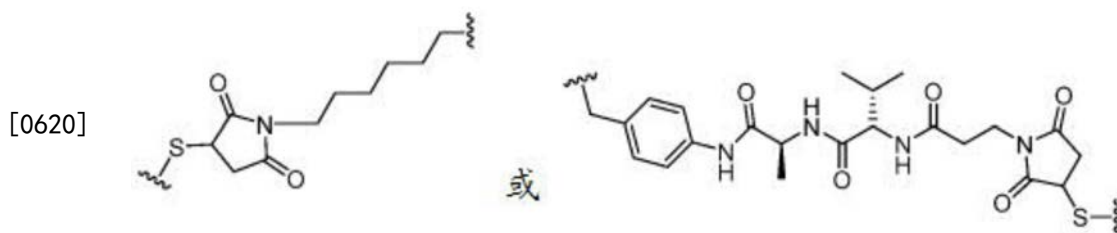
[0615] Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，

[0616] 其中Am确切地包含一个 R_C 取代基。

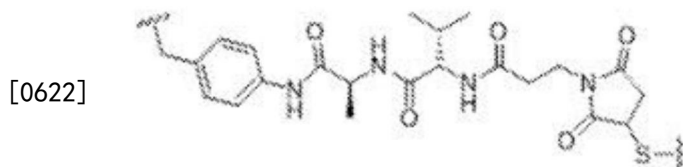
[0617] Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，其结合HC抗原(即抗HC抗体，例如抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)；并且

[0618] 其中Am确切地包含一个 R_C 取代基。

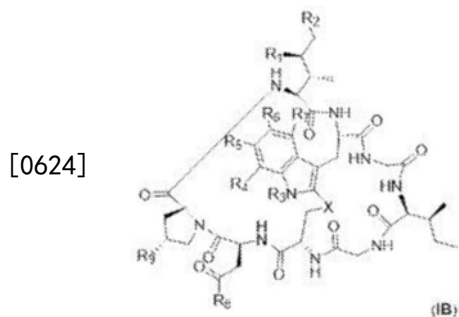
[0619] 在一些实施方案中,L-Z是



[0621] 在一些实施方案中,L-Z是



[0623] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IB) 表示



[0625] 其中 R_1 是H、OH、 OR_A 或 OR_C ;

[0626] R_2 是H、OH、 OR_B 或 OR_C ;

[0627] R_A 和 R_B ,当存在时,与它们所结合的氧原子一起结合形成任选经取代的5元杂环烷基;

[0628] R_3 是H、 R_C 或 R_D ;

[0629] R_4 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

[0630] R_5 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

[0631] R_6 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

[0632] R_7 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

[0633] R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 、 OR_D 、 NHR_C 或 $NR_C R_D$;

[0634] R_9 是H、OH、 OR_C 或 OR_D ;

[0635] x是-S-、-S(O-)-或-SO₂-;

[0636] R_C 是-L-Z;

[0637] R_D 是任选经取代的烷基(例如, C_1 - C_6 烷基)、任选经取代的杂烷基(例如, C_1 - C_6 杂烷基)、任选经取代的烯基(例如, C_2 - C_6 烯基)、任选经取代的杂烯基(例如, C_2 - C_6 杂烯基)、任选经取代的炔基(例如, C_2 - C_6 炔基)、任选经取代的杂炔基(例如, C_2 - C_6 杂炔基)、任选经取代的环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基;

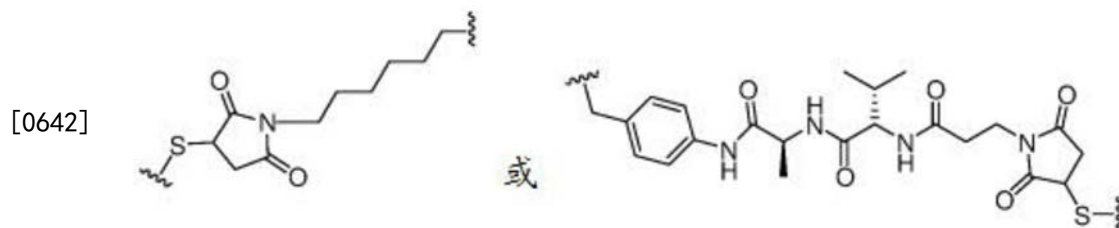
[0638] L是接头,例如任选经取代的亚烷基(例如, C_1 - C_6 亚烷基)、任选经取代的杂亚烷基(例如, C_1 - C_6 杂亚烷基)、任选经取代的亚烯基(例如, C_2 - C_6 亚烯基)、任选经取代的杂亚烯基

(例如, C_2-C_6 杂亚烯基)、任选经取代的亚炔基(例如, C_2-C_6 亚炔基)、任选经取代的杂亚炔基(例如, C_2-C_6 杂亚炔基)、任选经取代的环亚烷基、任选经取代的杂环亚烷基、任选经取代的亚芳基、任选经取代的杂亚芳基、肽、二肽、 $-(C=O)-$ 、二硫化物、胺或其组合;

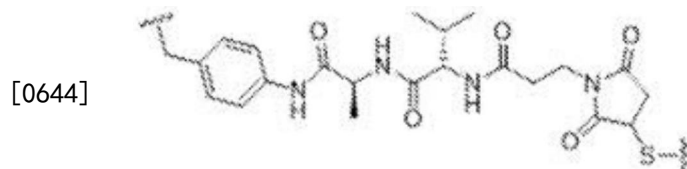
[0639] Z是由L上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分,其结合HC抗原(即,抗HC抗体,例如抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体);并且

[0640] 其中Am确切地包含一个 R_C 取代基。

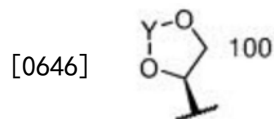
[0641] 在一些实施方案中,L-Z是



[0643] 在一些实施方案中,L-Z是



[0645] 在一些实施方案中, R_A 和 R_B ,当存在时,与它们所结合的氧原子一起结合形成以下式的5元杂环烷基:



[0647] 其中Y是 $-(C=O)-$ 、 $-(C=S)-$ 、 $-(C=NR_E)-$ 或 $-(CR_E R_{E'})-$;并且

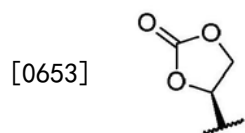
[0648] R_E 和 $R_{E'}$ 各自独立地是任选经取代的 C_1-C_6 亚烷基- R_C 、任选经取代的 C_1-C_6 杂亚烷基- R_C 、任选经取代的 C_2-C_6 亚烯基- R_C 、任选经取代的 C_2-C_6 杂亚烯基- R_C 、任选经取代的 C_2-C_6 亚炔基- R_C 、任选经取代的 C_2-C_6 杂亚炔基- R_C 、任选经取代的环亚烷基- R_C 、任选经取代的杂环亚烷基- R_C 、任选经取代的亚芳基- R_C 或任选经取代的杂芳基- R_C 。

[0649] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,

[0650] 其中 R_1 是H、OH、 OR_A 或 OR_C ;

[0651] R_2 是H、OH、 OR_B 或 OR_C ;

[0652] R_A 和 R_B ,当存在时,与它们所结合的氧原子一起结合形成:



[0654] R_3 是H或 R_C ;

[0655] R_4 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

[0656] R_5 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

[0657] R_6 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

[0658] R_7 是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、 R_C 或 R_D ;

[0659] R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 或 NHR_C ;

[0660] R_9 是H或OH;

[0661] x是-S-、-S(O-)或 $-SO_2^-$;并且

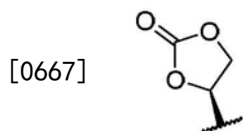
[0662] 其中 R_C 和 R_D 各自如上定义。

[0663] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,

[0664] 其中 R_1 是H、OH、 OR_A 或 OR_C ;

[0665] R_2 是H、OH、 OR_B 或 OR_C ;

[0666] R_A 和 R_B ,当存在时,与它们所结合的氧原子一起结合形成:



[0668] R_3 是H或 R_C ;

[0669] R_4 和 R_5 各自独立地是H、OH、 OR_C 、 R_C 或 OR_D ;

[0670] R_6 和 R_7 各自独立地是H;

[0671] R_8 是OH、 NH_2 、 OR_C 或 NHR_C ;

[0672] R_9 是H或OH;

[0673] x是-S-、-S(O-)或 $-SO_2^-$;并且

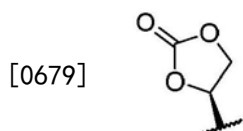
[0674] 其中 R_C 如上定义。

[0675] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,

[0676] 其中 R_1 是H、OH或 OR_A ;

[0677] R_2 是H、OH或 OR_B ;

[0678] R_A 和 R_B ,当存在时,与它们所结合的氧原子一起结合形成:



[0680] R_3 、 R_4 、 R_6 和 R_7 各自是H;

[0681] R_5 是 OR_C ;

[0682] R_8 是OH或 NH_2 ;

[0683] R_9 是H或OH;

[0684] x是-S-、-S(O-)或 $-SO_2^-$;并且

[0685] 其中 R_C 如上定义。此类鹅膏蕈毒素缀合物例如在美国专利申请公开号2016/0002298中被描述,其公开内容通过引用整体并入本文中。

[0686] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,

[0687] 其中 R_1 和 R_2 各自独立地是H或OH;

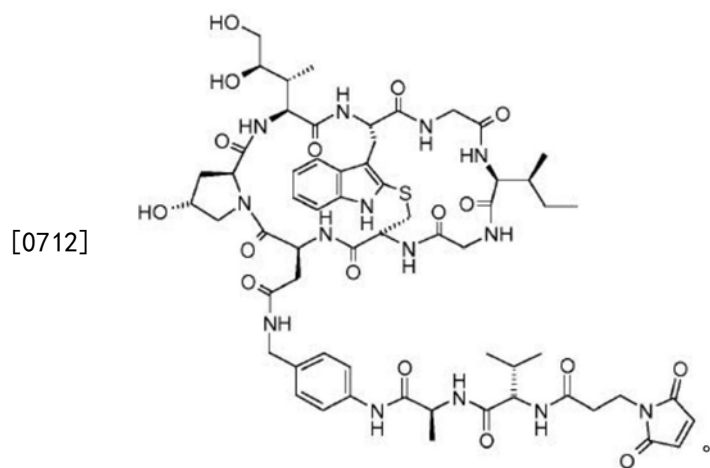
[0688] R_3 是 R_C ;

[0689] R_4 、 R_6 和 R_7 各自是H;

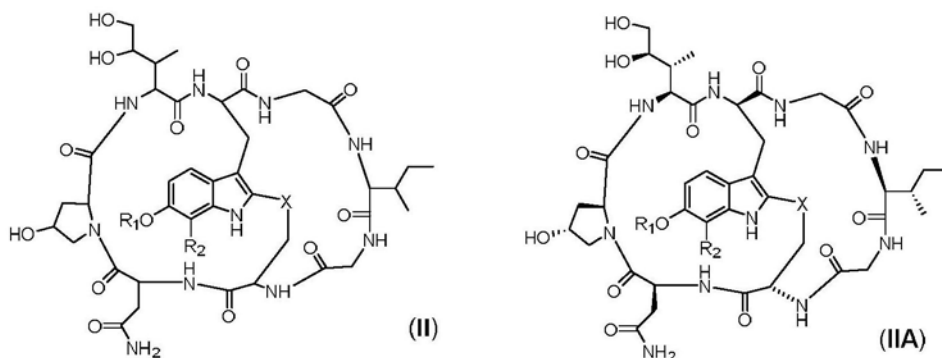
[0690] R_5 是H、OH或 $O-C_1-C_6$ 烷基;

[0691] R_8 是OH或 NH_2 ;

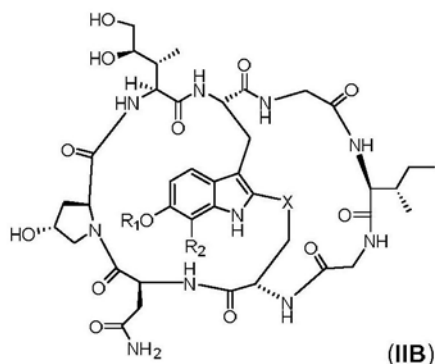
- [0692] R_9 是H或OH;
- [0693] x 是-S-、-S(O-)或-SO₂-;并且
- [0694] 其中 R_c 如上定义。此类鹅膏蕈毒素缀合物例如在美国专利申请公开号2014/0294865中被描述,其公开内容通过引用整体并入本文中。
- [0695] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,
- [0696] 其中 R_1 和 R_2 各自独立地是H或OH;
- [0697] R_3 、 R_6 和 R_7 各自是H;
- [0698] R_4 和 R_5 各自独立地是H、OH、OR_c或R_c;
- [0699] R_8 是OH或NH₂;
- [0700] R_9 是H或OH;
- [0701] x 是-S-、-S(O-)或-SO₂-;并且
- [0702] 其中 R_c 如上定义。此类鹅膏蕈毒素缀合物例如在美国专利申请公开号2015/0218220中被描述,其公开内容通过引用整体并入本文中。
- [0703] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,
- [0704] 其中 R_1 和 R_2 各自独立地是H或OH;
- [0705] R_3 、 R_6 和 R_7 各自是H;
- [0706] R_4 和 R_5 各自独立地是H或OH;
- [0707] R_8 是OH、NH₂、OR_c或NHR_c;
- [0708] R_9 是H或OH;
- [0709] x 是-S-、-S(O-)或-SO₂-;并且
- [0710] 其中 R_c 如上定义。此类鹅膏蕈毒素缀合物例如在美国专利号9,233,173和9,399,681以及US 2016/0089450中被描述,其公开内容通过引用整体并入本文中。
- [0711] 在一些实施方案中,Am-L-Z'是



- [0713] 根据本文所述的组合物和方法,可用于与抗体或其抗原结合片段缀合的另外的鹅膏蕈毒素例如在W0 2016/142049;W02016/071856;W02017/149077;W02018/115466;和W0 2017/046658中被描述,其中每一篇的公开内容通过引用整体并入本文中。
- [0714] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(II)、式(IIA)或式(IIB)表示

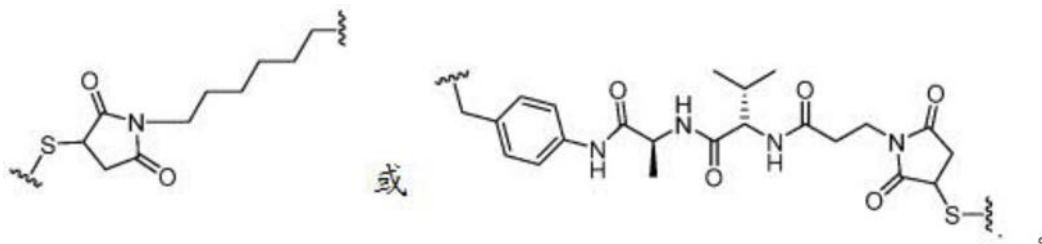


[0715]



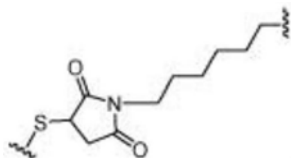
[0716] 其中X是S、SO或SO₂; R₁是H或通过化学部分Z与抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,该化学部分Z是由接头上存在的反应性取代基Z'与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的;并且R₂是H或通过化学部分Z与抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,该化学部分Z是由接头上存在的反应性取代基Z'与抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基之间的偶联反应形成的;其中当R₁是H时,R₂是接头,并且当R₂是H时,R₁是接头。在一些实施方案中,R₁是接头,并且R₂是H,接头和化学部分合在一起作为L-Z是

[0717]



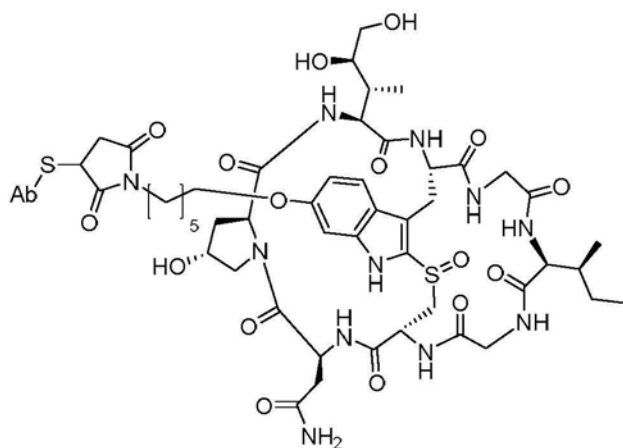
[0718] 在一些实施方案中,L-Z是

[0719]



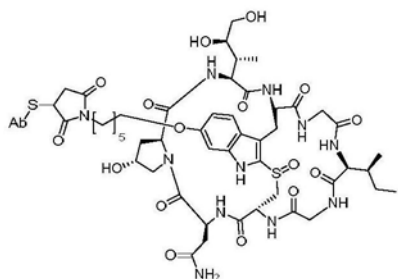
[0720] 在一个实施方案中,Am-L-Z-Ab是:

[0721]



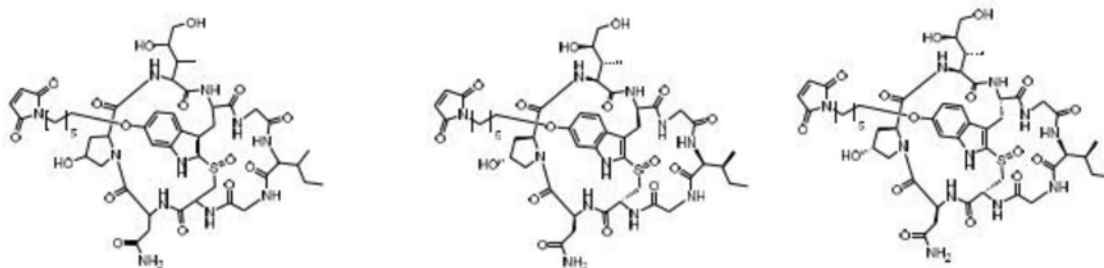
[0722] 在一个实施方案中,Am-L-Z-Ab是:

[0723]



[0724] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab前体(即Am-L-Z')是以下之一:

[0725]

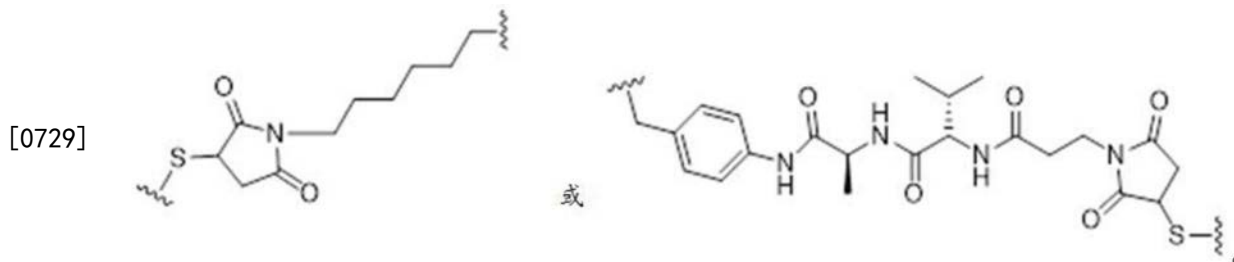


[0726] 其中马来酰亚胺与抗体中半胱氨酸上发现的硫醇基团反应。

[0727] 在一些实施方案中,细胞毒素是 α -鹅膏蕈碱。在一些实施方案中, α -鹅膏蕈碱是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的 α -鹅膏蕈碱通过接头L附接到抗HC抗体上。接头L可以附接到式III的 α -鹅膏蕈碱的几个可能位置中的任一个(例如, R^1 - R^9 中的任一个)上,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的 α -鹅膏蕈碱-接头缀合物。在一些实施方案中,接头附接在 R^1 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^2 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^3 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^4 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^5 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^6 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^7 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^8 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^9 位。在一些实施方案中,接头包括肼、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包括 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 单元,其中n为1-6的整数。

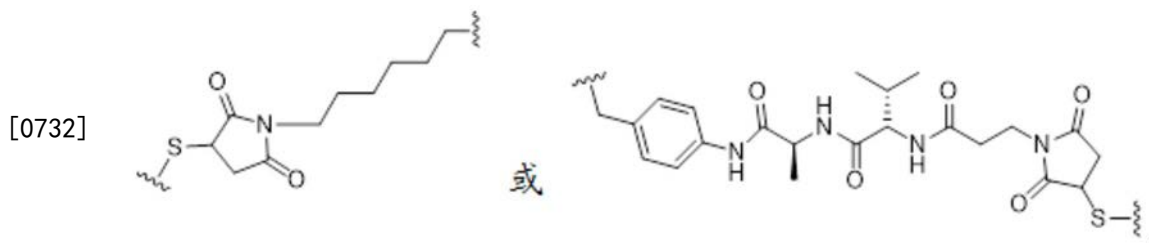
[0728] 在一些实施方案中,接头包括 $-(CH_2)_n-$ 单元,其中n为2-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n)-$ 。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Ala-Val-((C=$

0) $(\text{CH}_2)_n$ -。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起作为L-Z,是



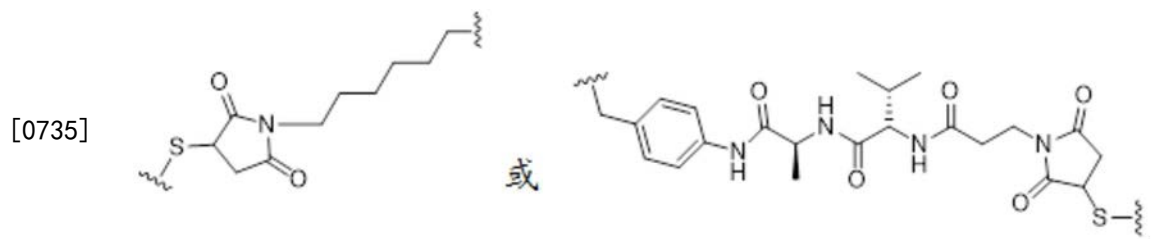
[0730] 在一些实施方案中,细胞毒素是 β -鹅膏蕈碱。在一些实施方案中, α -鹅膏蕈碱是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的 α -鹅膏蕈碱通过接头L附接到抗HC抗体上。接头L可以附接到式III的 α -鹅膏蕈碱的几个可能位置中的任一个(例如, R^1 - R^9 中的任一个)上,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的 α -鹅膏蕈碱-接头缀合物。在一些实施方案中,接头附接在 R^1 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^2 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^3 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^4 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^5 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^6 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^7 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^8 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^9 位。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包括- $((\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n$ -单元,其中n为1-6的整数。

[0731] 在一些实施方案中,接头包括- $(\text{CH}_2)_n$ -单元,其中n为2-6的整数。在一些实施方案中,接头是-PAB-Cit-Val- $((\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n$ -。在一些实施方案中,接头是-PAB-Ala-Val- $((\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n$ -。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起作为L-Z,是



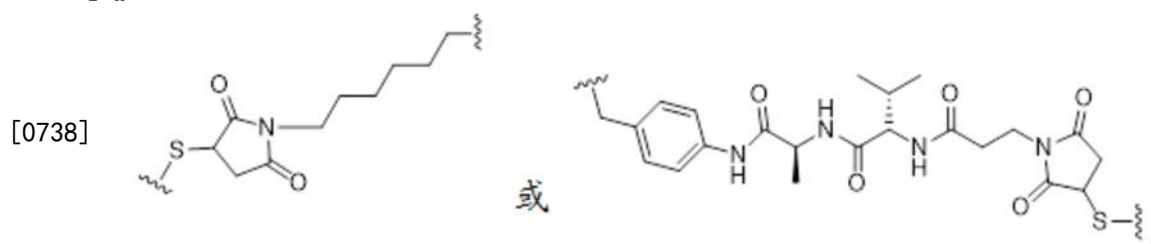
[0733] 在一些实施方案中,细胞毒素是 γ -鹅膏蕈碱。在一些实施方案中, γ -鹅膏蕈碱是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的 γ -鹅膏蕈碱通过接头L附接到抗HC抗体上。接头L可以附接到式III的 γ -鹅膏蕈碱的几个可能位置中的任一个(例如, R^1 - R^9 中的任一个)上,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的 γ -鹅膏蕈碱-接头缀合物。在一些实施方案中,接头附接在 R^1 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^2 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^3 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^4 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^5 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^6 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^7 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^8 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^9 位。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包括- $((\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n$ -单元,其中n为1-6的整数。

[0734] 在一些实施方案中,接头包括 $-(\text{CH}_2)_n-$ 单元,其中 n 为2-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-\text{PAB-Cit-Val}-((\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n)-$ 。在一些实施方案中,接头是 $-\text{PAB-Ala-Val}-((\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n)-$ 。在一些实施方案中,接头 L 和化学部分 Z 合在一起作为 $L-Z$,是



[0736] 在一些实施方案中,细胞毒素是 ϵ -鹅膏蕈碱。在一些实施方案中, ϵ -鹅膏蕈碱是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的 ϵ -鹅膏蕈碱通过接头 L 附接到抗HC抗体上。接头 L 可以附接到式III的 ϵ -鹅膏蕈碱的几个可能位置中的任一个(例如, R^1-R^9 中的任一个)上,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的 ϵ -鹅膏蕈碱-接头缀合物。在一些实施方案中,接头附接在 R^1 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^2 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^3 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^4 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^5 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^6 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^7 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^8 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^9 位。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包括 $-(\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n-$ 单元,其中 n 为1-6的整数。

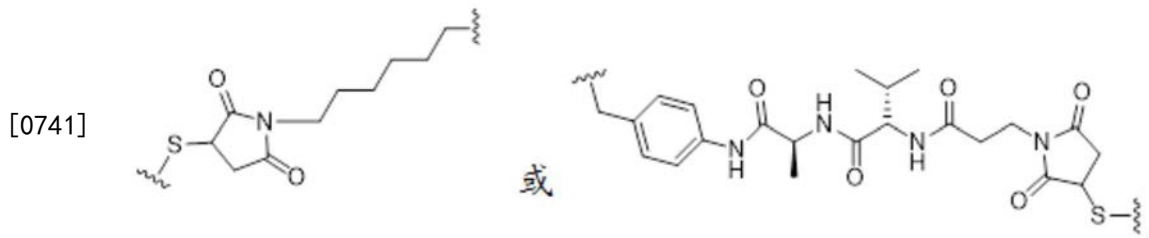
[0737] 在一些实施方案中,接头包括 $-(\text{CH}_2)_n-$ 单元,其中 n 为2-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-\text{PAB-Cit-Val}-((\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n)-$ 。在一些实施方案中,接头是 $-\text{PAB-Ala-Val}-((\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n)-$ 。在一些实施方案中,接头 L 和化学部分 Z 合在一起作为 $L-Z$,是



[0739] 在一些实施方案中,细胞毒素是鹅膏素。在一些实施方案中,鹅膏素是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的鹅膏素通过接头 L 附接到抗HC抗体上。接头 L 可以附接到式III的鹅膏素的几个可能位置中的任一个(例如, R^1-R^9 中的任一个)上,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的鹅膏素-接头缀合物。在一些实施方案中,接头附接在 R^1 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^2 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^3 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^4 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^5 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^6 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^7 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^8 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^9 位。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头

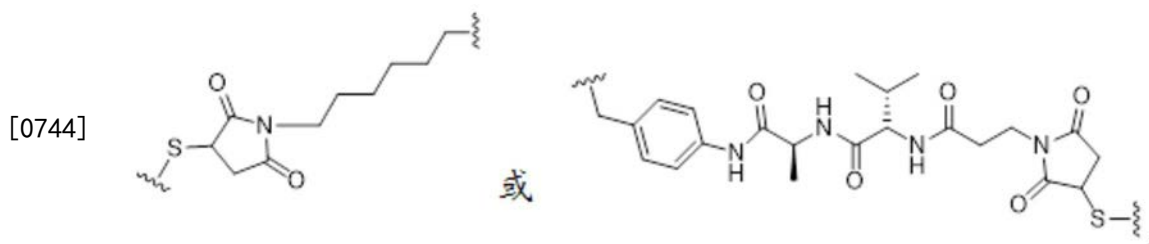
包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包括-((C=O)(CH₂)_n)-单元,其中n为1-6的整数。

[0740] 在一些实施方案中,接头包括-(CH₂)_n-单元,其中n为2-6的整数。在一些实施方案中,接头是-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n)-。在一些实施方案中,接头是-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n)-。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起作为L-Z,是



[0742] 在一些实施方案中,细胞毒素是鹅膏素酰胺。在一些实施方案中,鹅膏素酰胺是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的鹅膏素酰胺通过接头L附接到抗HC抗体上。接头L可以附接到式III的鹅膏素酰胺的几个可能位置中的任一个(例如,R¹-R⁹中的任一个)上,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的鹅膏素酰胺-接头缀合物。在一些实施方案中,接头附接在R¹位置。在一些实施方案中,接头附接在R²位置。在一些实施方案中,接头附接在R³位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁴位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁵位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁶位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁷位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁸位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁹位。在一些实施方案中,接头包括肼、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包括-((C=O)(CH₂)_n)-单元,其中n为1-6的整数。

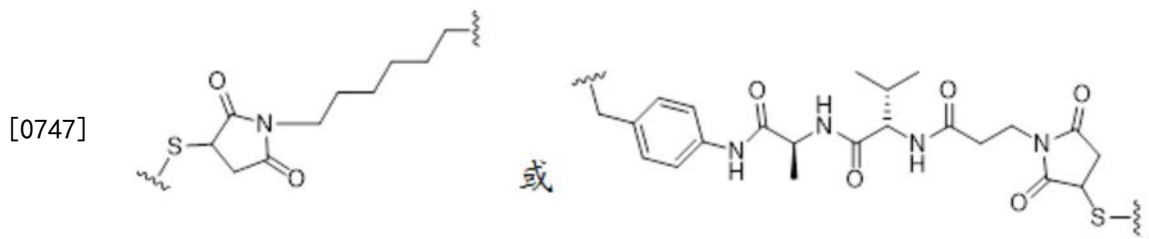
[0743] 在一些实施方案中,接头包括-(CH₂)_n-单元,其中n为2-6的整数。在一些实施方案中,接头是-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n)-。在一些实施方案中,接头是-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n)-。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起作为L-Z,是



[0745] 在一些实施方案中,细胞毒素是鹅膏无毒环肽。在一些实施方案中,鹅膏无毒环肽是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的鹅膏无毒环肽通过接头L附接到抗HC抗体上。接头L可以附接到式III的鹅膏无毒环肽的几个可能位置中的任一个(例如,R¹-R⁹中的任一个)上,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的鹅膏无毒环肽-接头缀合物。在一些实施方案中,接头附接在R¹位置。在一些实施方案中,接头附接在R²位置。在一些实施方案中,接头附接在R³位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁴位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁵位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁶位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁷位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁸位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁹位。在一些实施方案中,

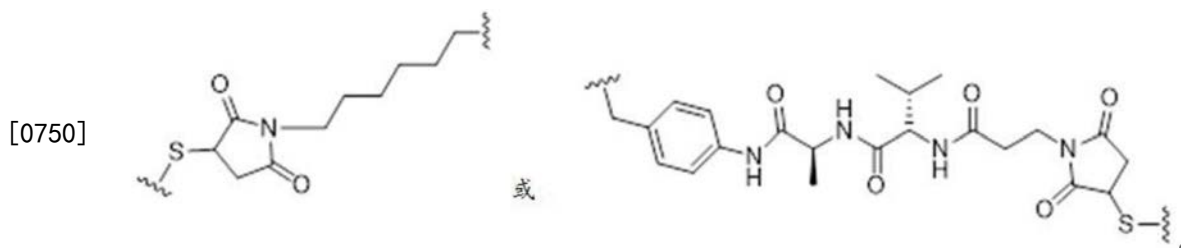
接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包括 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 单元,其中n为1-6的整数。

[0746] 在一些实施方案中,接头包括 $-(CH_2)_n-$ 单元,其中n为2-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n)-$ 。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)_n)-$ 。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起作为L-Z,是



[0748] 在一些实施方案中,细胞毒素是鹅膏蕈环肽酸。在一些实施方案中,鹅膏蕈环肽酸是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的鹅膏蕈环肽酸通过接头L附接到抗HC抗体上。接头L可以附接到式III的鹅膏蕈环肽酸的几个可能位置中的任一个(例如, R^1-R^9 中的任一个)上,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的鹅膏蕈环肽酸-接头缀合物。在一些实施方案中,接头附接在 R^1 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^2 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^3 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^4 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^5 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^6 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^7 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^8 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^9 位。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包括 $-(C=O)(CH_2)_n-$ 单元,其中n为1-6的整数。

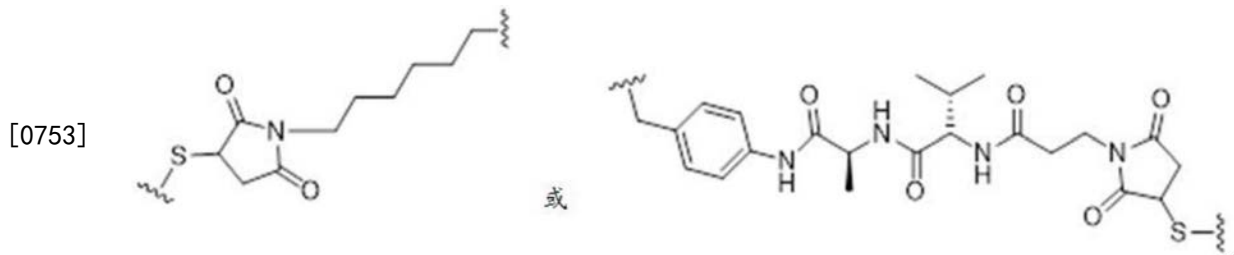
[0749] 在一些实施方案中,接头包括 $-(CH_2)_n-$ 单元,其中n为2-6的整数。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH_2)_n)-$ 。在一些实施方案中,接头是 $-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH_2)_n)-$ 。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起作为L-Z,是



[0751] 在一些实施方案中,细胞毒素是前鹅膏蕈环肽。在一些实施方案中,前鹅膏蕈环肽是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的前鹅膏蕈环肽通过接头L附接到抗HC抗体上。接头L可以附接到式III的前鹅膏蕈环肽的几个可能位置中的任一个(例如, R^1-R^9 中的任一个)上,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的前鹅膏蕈环肽-接头缀合物。在一些实施方案中,接头附接在 R^1 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^2 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^3 位置。在一些实施方案中,接头附接在 R^4 位置。在一些实施方案中,接头附接在

R⁵位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁶位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁷位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁸位置。在一些实施方案中,接头附接在R⁹位。在一些实施方案中,接头包括肼、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包括-(C=O)(CH₂)_n-单元,其中n为1-6的整数。

[0752] 在一些实施方案中,接头包括-(CH₂)_n-单元,其中n为2-6的整数。在一些实施方案中,接头是-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n)-。在一些实施方案中,接头是-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n)-。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起作为L-Z,是



[0754] 用于制备鹅膏蕈毒素的合成方法在美国专利号9,676,702中被描述,其通过引用并入本文中。

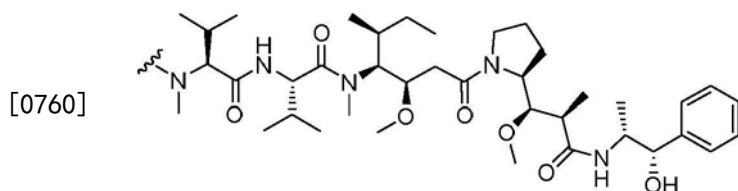
[0755] 用于本文所述的组合物和方法的抗体或抗原结合片段可以使用本领域已知或本文所述的缀合技术与鹅膏蕈毒素(例如α-鹅膏蕈碱)或其变体缀合。例如,识别和结合靶抗原(抗HC抗体,例如抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)的抗体或其抗原结合片段可以与鹅膏蕈毒素(例如α-鹅膏蕈碱)或其变体缀合,如US2015/0218220中所述,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及例如(例如α-鹅膏蕈碱)或其变体,以及可以用于共价缀合的共价接头。

[0756] 奥瑞他汀

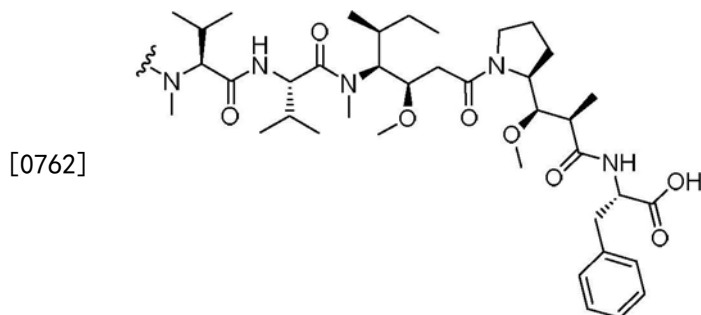
[0757] 本文所述的抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)及其抗原结合片段可以与奥瑞他汀细胞毒素缀合(美国专利号5,635,483;5,780,588)。奥瑞他汀是抗有丝分裂剂,其干扰微管动力学、GTP水解、核和细胞分裂(Woyke等(2001)Antimicrob.Agents and Chemother.45(12):3580-3584),并且具有抗癌活性(美国专利号5,663,149)和抗真菌活性(Pettit等(1998)Antimicrob.Agents Chemother.42:2961-2965)。(美国专利号5,635,483;5,780,588)。奥瑞他汀药物部分可以通过肽药物部分的N(氨基)末端或C(羧基)末端附接到抗体上(WO 02/088172)。

[0758] 示例性的奥瑞他汀实施方案包括N-末端连接的单甲基奥瑞他汀药物部分DE和DF,在于2004年3月28日提交的Senter等,Proceedings of the American Association for Cancer Research,第45卷,摘要号623中公开,其公开内容通过引用整体明确地并入本文中。

[0759] 示例性的奥瑞他汀实施方案是MMAE,其中波浪线表示抗体-接头缀合物(-L-Z-Ab或-L-Z',如本文所述)共价附接到接头的点。



[0761] 另一个示例性的奥瑞他汀实施方案是MMAF,其中波浪线表示抗体-接头缀合物(-L-Z-Ab或-L-Z',如本文所述)共价附接到接头的点,如US2005/0238649中公开的:



[0763] 奥瑞他汀可以根据美国专利号5,635,483;美国专利号5,780,588;Pettit等(1989) J. Am. Chem. Soc. 111:5463-5465;Pettit等(1998) Anti-Cancer Drug Design 13:243-277;Pettit, G.R., 等 Synthesis, 1996, 719-725;Pettit等(1996) J. Chem. Soc. Perkin Trans. 15:859-863;和Doronina (2003) Nat. Biotechnol. 21 (7):778-784中的方法制备。

[0764] 美登木素生物碱

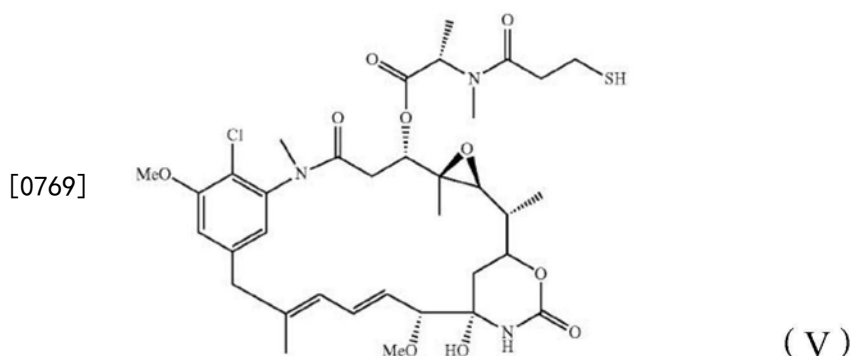
[0765] 本文所述的抗体及其抗原结合片段可以与微管结合剂的细胞毒素缀合。在一些实施方案中,微管结合剂是美登素、美登木素生物碱或美登木素生物碱类似物。美登木素生物碱是有丝分裂抑制剂,其结合微管并通过抑制微管蛋白聚合起作用。美登素最早是从东非灌木 *Maytenus serrata* 中分离的(美国专利号3,896,111)。随后,发现某些微生物也产生美登木素生物碱,例如美登醇和C-3美登醇酯(美国专利号4,151,042)。合成的美登醇及其衍生物和类似物在例如美国专利号4,137,230;4,248,870;4,256,746;4,260,608;4,265,814;4,294,757;4,307,016;4,308,268;4,308,269;4,309,428;4,313,946;4,315,929;4,317,821;4,322,348;4,331,598;4,361,650;4,364,866;4,424,219;4,450,254;4,362,663;和4,371,533中公开。美登木素生物碱药物部分是抗体药物缀合物中有吸引力的药物部分,因为它们: (i) 相对容易通过发酵或化学修饰、发酵产物的衍生化来制备, (ii) 可用于适用于通过非二硫键与抗体缀合的官能团衍生化, (iii) 在血浆中稳定,以及 (iv) 对多种肿瘤细胞系有效。

[0766] 合适的美登木素生物碱的实例包括美登醇的酯、合成美登醇以及美登醇类似物和衍生物。本文包括抑制微管形成并且对哺乳动物细胞具有高度毒性的任何细胞毒素,如美登木素生物碱、美登醇和美登醇类似物以及其衍生物。

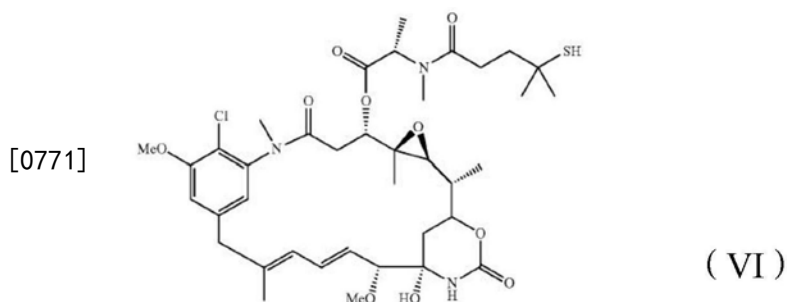
[0767] 合适的美登醇酯的实例包括具有经修饰的芳香族环的那些和在其他位置具有修饰的那些。此类合适的美登木素生物碱在美国专利号4,137,230;4,151,042;4,248,870;4,256,746;4,260,608;4,265,814;4,294,757;4,307,016;4,308,268;4,308,269;4,309,428;4,313,946;4,315,929;4,317,821;4,322,348;4,331,598;4,361,650;4,362,663;4,364,866;4,424,219;4,450,254;4,322,348;4,362,663;4,371,533;5,208,020;5,416,064;5,475,092;5,585,499;5,846,545;6,333,410;7,276,497;和7,473,796中公开,其中

每一篇的公开内容通过引用并入本文中,因为它们涉及美登木素生物碱及其衍生物。

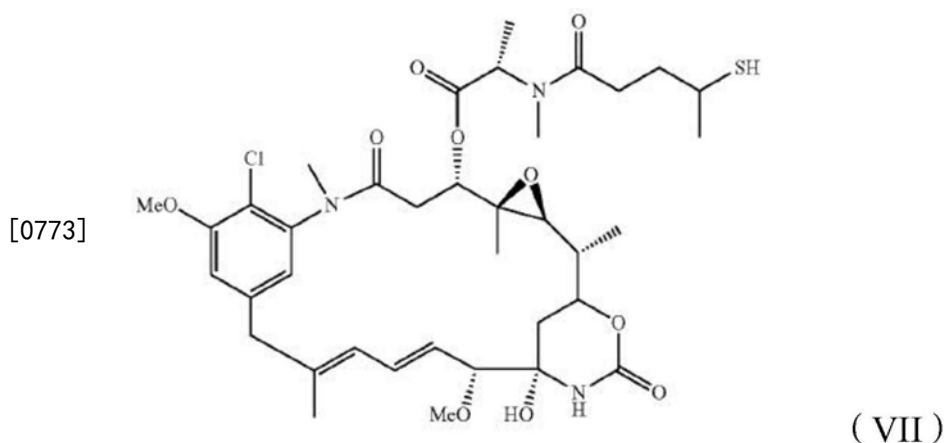
[0768] 在一些实施方案中,本公开内容的抗体-药物缀合物(ADC)利用含硫醇的美登木素生物碱(DM1)(正式称为N2'-脱乙酰基-N2'-(3-巯基-1-氧代丙基)-美登素)作为细胞毒剂。DM1由以下结构式V表示:



[0770] 在另一个实施方案中,本公开内容的缀合物利用含硫醇的美登木素生物碱N2'-脱乙酰基-N2'-(4-甲基-4-巯基-1-氧代戊基)-美登素(例如,DM4)作为细胞毒剂。DM4由以下结构式VI表示:



[0772] 另一种包含含有空间位阻硫醇键的侧链的美登木素生物碱是N2'-脱乙酰基-N2'-(4-巯基-1-氧代戊基)-美登素(称为DM3),由以下结构式VII表示:



[0774] 美国专利号5,208,020和7,276,497中教导的每一种美登木素生物碱也可用于本公开内容的缀合物中。在这方面,5,208,020和7,276,697的全部公开内容通过引用并入本文中。

[0775] 美登木素生物碱上的许多位置可以用作共价键合连接部分的位置,并且因此抗体或其抗原结合片段(-L-Z-Ab或-L-Z',如本文所述)。例如,具有羟基的C-3位、经羟甲基修饰的C-14位、经羟基修饰的C-15位和具有羟基的C-20位都预期是有用的。在一些实施方案中,

C-3位用作共价键合接头部分的位置,并且在一些特定的实施方案中,美登醇的C-3位用作共价键合连接部分的位置。在制备抗体-美登木素生物碱缀合物的领域中有许多已知的连接基团,包括例如美国专利号5,208,020、6,441,163和欧洲专利号0425235B1;Chari等, *Cancer Research* 52:127-131 (1992);和U.S.2005/0169933A1中公开的那些,其公开内容通过引用明确地并入本文中。本文描述并例示了另外的连接基团。

[0776] 本公开内容还包括美登木素生物碱和缀合物的各种异构体和混合物。本公开内容的某些化合物和缀合物可以以各种立体异构体、对映异构体和非对映异构体形式存在。用于产生此类抗体-美登木素生物碱缀合物的几个描述在美国专利号5,208,020;5,416,064;6,333,410;6,441,163;6,716,821;和7,368,565中提供,其中每一篇整体并入本文中。

[0777] 蒽环类

[0778] 在另一些实施方案中,本文所述的抗体及其抗原结合片段可以与蒽环类分子的细胞毒素缀合。蒽环类是表现出细胞毒性活性的抗生素化合物。研究表明,蒽环类可以通过多种不同的机制杀伤细胞,包括:1) 将药物分子嵌入细胞的DNA中,从而抑制DNA依赖性核酸合成;2) 通过药物产生自由基,然后使其与细胞大分子反应,以引起细胞损伤,或3) 药物分子与细胞膜相互作用[参见例如,C.Peterson等,“Transport And Storage Of Anthracycline In Experimental Systems And Human Leukemia”in *Anthracycline Antibiotics In Cancer Therapy*;N.R.Bachur,“Free Radical Damage”id.第97-102页]。由于蒽环类的细胞毒性潜力,它们已被用于治疗多种癌症,例如白血病、乳腺癌、肺癌、卵巢癌和肉瘤[参见例如,P.H-Wiernik,in *Anthracycline: Current Status And New Developments*第11页]。常用的蒽环类包括阿霉素、表柔比星、伊达比星和柔红霉素。

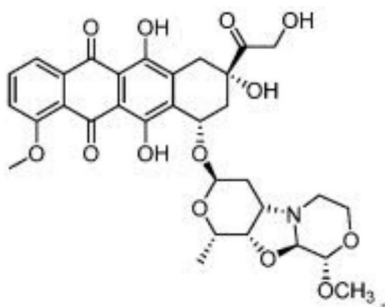
[0779] 蒽环类类似物阿霉素(ADRIAMYCINO)被认为是通过嵌入和抑制拓扑异构酶II的进程与DNA相互作用的,拓扑异构酶II将DNA解链用以转录。阿霉素在拓扑异构酶II复合物破坏DNA链进行复制后稳定它,防止DNA双螺旋被重新密封,从而停止复制过程。阿霉素和柔红霉素(DAUNOMYCIN)是蒽环类化疗药物的原型细胞毒性天然产物(Sessa等,(2007) *Cardiovasc.Toxicol.*7:75-79)。

[0780] 常用的蒽环类包括阿霉素、表柔比星、伊达比星和柔红霉素。在一些实施方案中,细胞毒素是选自柔红霉素、阿霉素、表柔比星和伊达比星的蒽环类。

[0781] 蒽环类的代表性实例包括但不限于柔红霉素(Cerubidine;贝德福德实验室)、阿霉素(亚德里亚霉素;贝德福德实验室;也称为盐酸阿霉素、羟基柔红霉素和Rubex)、表柔比星(Ellence;辉瑞)、伊达比星(Idamycin;辉瑞公司)。蒽环类类似物阿霉素(ADRIAMYCINO)被认为是通过嵌入和抑制拓扑异构酶II的进程与DNA相互作用,拓扑异构酶II将DNA解链用于转录。阿霉素在拓扑异构酶II复合物破坏用于复制的DNA链后稳定它,防止DNA双螺旋被重新密封,从而停止复制过程。阿霉素和柔红霉素(DAUNOMYCIN)是蒽环类化疗的原型细胞毒性天然产物(Sessa等,(2007) *Cardiovasc.Toxicol.*7:75-79)。

[0782] 适用于本文的蒽环类的一个非限制性实例是PNU-159682(“PNU”)。PNU表现出相对于母体奈莫柔比星大于3000倍的细胞毒性(Quintieri等,*Clinical Cancer Research* 2005,11,1608-1617)。PNU由以下结构式表示:

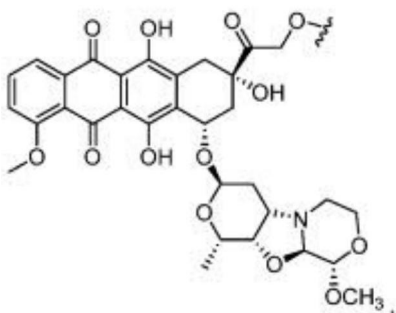
[0783]



[0784] 蒽环类(粒料如PNU)上的多个位置可以用作共价键合连接部分的位置,并且因此抗CD117抗体或其抗原结合片段如本文所述。例如,可以通过对羟甲基酮侧链的修饰来引入接头。

[0785] 在一些实施方案中,细胞毒素是由以下结构式表示的PNU衍生物:

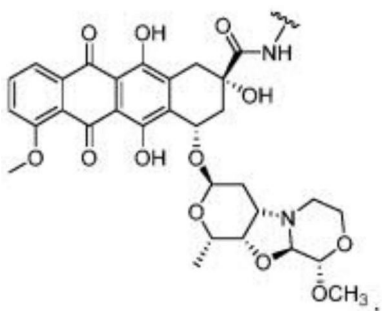
[0786]



[0787] 其中波浪线表示共价附接到如本文所述的ADC接头的点。

[0788] 在一些实施方案中,细胞毒素是由以下结构式表示的PNU衍生物:

[0789]



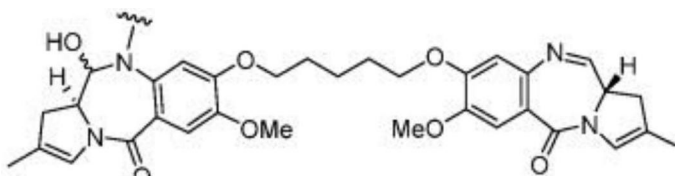
[0790] 其中波浪线表示共价附接到如本文所述的ADC的接头的点。

[0791] 吡咯并苯二氮卓类(PBD)

[0792] 在另一些实施方案中,本文所述的抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)或其抗原结合片段可以与吡咯并苯二氮卓类(PBD)的细胞毒素或包含PBD的细胞毒素缀合。PBD是由某些放线菌产生的天然产物,并且已被证明是序列选择性的DNA烷基化化合物。PBD细胞毒素包括但不限于蒽霉素、二聚PBD以及例如在Hartley, JA (2011) The development of pyrrolobenzodiazepines as antitumour agents. Expert Opin Inv Drug, 20 (6), 733-744和Antonow D, Thurston DE (2011) Synthesis of DNA-interactive pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepines (PBDs). Chem Rev 111:2815-2864中公开的那些。

[0793] 在一些实施方案中,细胞毒素是由以下结构式表示的吡咯并苯二氮卓类二聚体:

[0794]



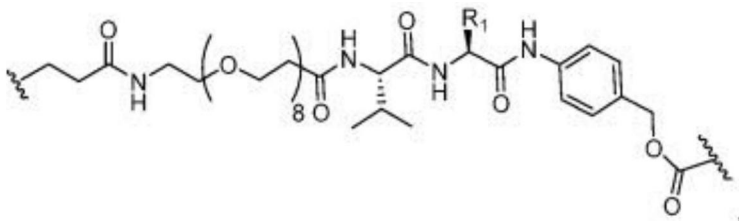
[0795] 其中波浪线表示接头的附接点。

[0796] 在一些实施方案中,细胞毒素通过马来酰亚胺己酰基接头与抗体或其抗原结合片段缀合。

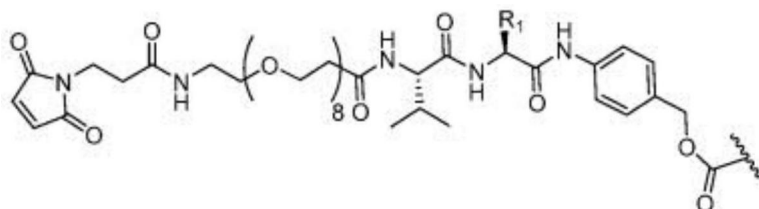
[0797] 在一些实施方案中,接头包含以下中的一种或更多种:肽、寡糖- $(\text{CH}_2)_p$ -、 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_q$ -、 $(\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_r$ -、 $(\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_t$ -、 $(\text{NHCH}_2\text{CH}_2)_u$ -、-PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB或Ala-PAB,其中p、q、r、t和u中的每一个为1-12的整数,每次出现时独立地选择。

[0798] 在一些实施方案中,接头具有以下式的结构:

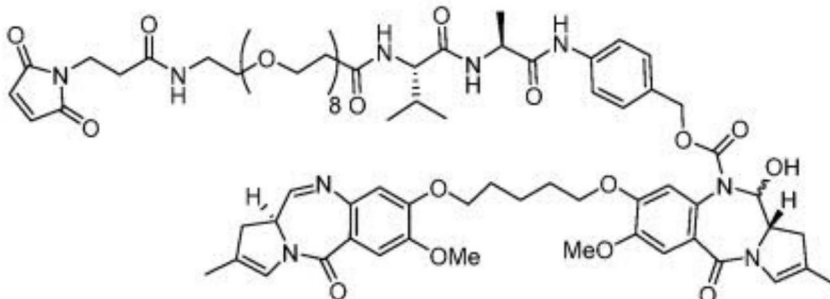
[0799]

[0800] 其中 R_1 是 CH_3 (Ala) 或 $(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CO})\text{NH}_2$ (Cit)。[0801] 在一些实施方案中,在与抗体缀合之前并且靶反应性取代基 Z' (合在一起作为L- Z')的接头具有以下结构:

[0802]

[0803] 其中波浪线表示细胞毒素(例如,PBD)的附接点。在某些实施方案中, R_1 是 CH_3 。[0804] 在一些实施方案中,在与抗体缀合之前并且包含反应性取代基 Z' (合在一起作为Cy-L- Z')的细胞毒素-接头缀合物具有以下结构式:

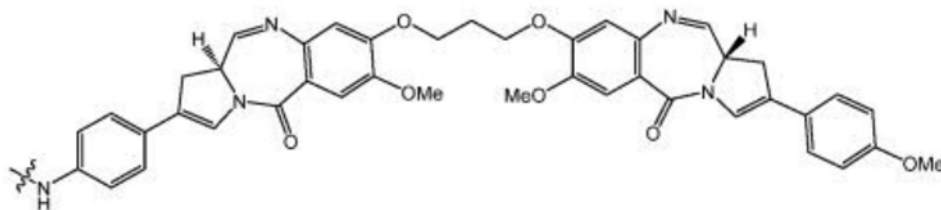
[0805]



[0806] 该特定的细胞毒素-接头缀合物称为tesirine(SG3249),并且例如在Howard等, ACS Med.Chem.Lett.2016,7(11),983-987中被描述,其公开内容通过引用整体并入本文中。

[0807] 在一些实施方案中,细胞毒素是由以下结构式表示的吡咯并苯二氮卓二聚体:

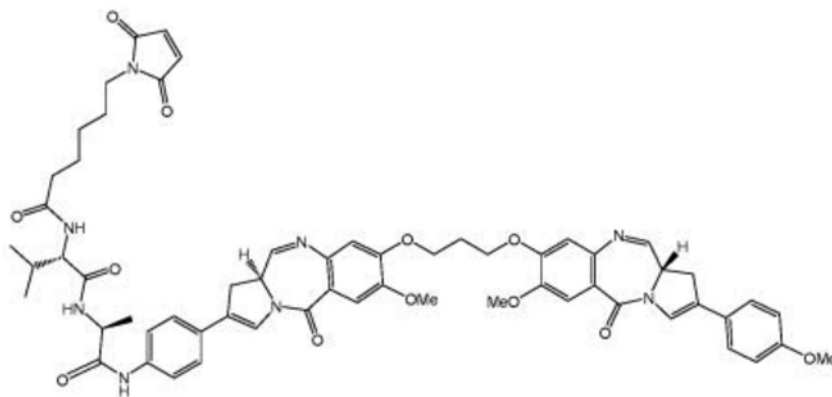
[0808]



[0809] 其中波浪线表示接头的附接点。

[0810] 在一些实施方案中,,在与抗体缀合之前并且包含反应性取代基Z' (合在一起作为 Cy-L-Z') 的细胞毒素-接头缀合物具有以下结构式:

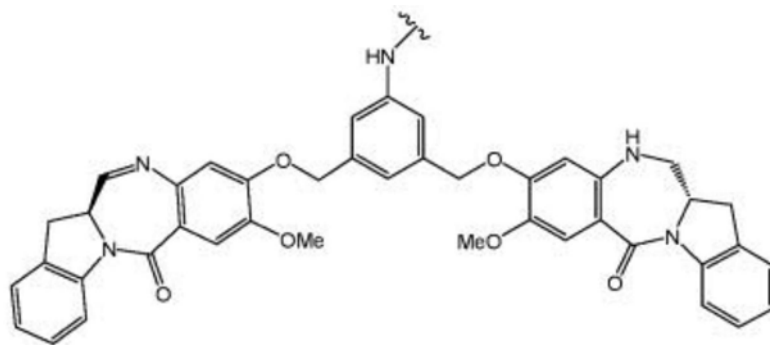
[0811]



[0812] 该特定的细胞毒素-接头缀合物称为他立林,并且例如结合ADC他立林-伐达妥昔单抗 (SGN-CD33A),在Mantaj等,Angewandte Chemie International Edition English 2017,56,462-488中被描述,其公开内容通过引用整体并入本文中。

[0813] 在一些实施方案中,细胞毒素是具有以下结构式的吡咯并苯二氮卓类二聚体:

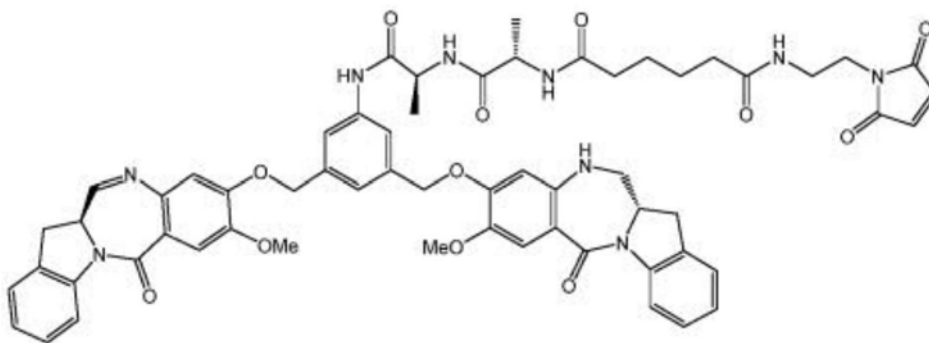
[0814]



[0815] 其中波浪线表示接头的附接点。

[0816] 在一些实施方案中,,在与抗体缀合之前并且包含反应性取代基Z' (合在一起作为 Cy-L-Z') 的细胞毒素-接头缀合物具有以下结构式:

[0817]



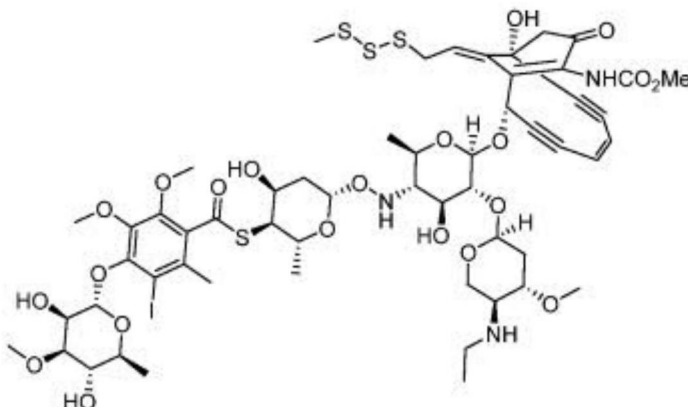
[0818] 其包括在例如国际专利申请公开号W02017004026中公开的ADC IMGN632,其通过引用并入本文中。

[0819] 卡奇霉素

[0820] 在另一些实施方案中,本文所述的抗体及其抗原结合片段可以与烯二炔类抗肿瘤抗生素(例如卡奇霉素、奥佐米星)的细胞毒素缀合。卡奇霉素抗生素家族能够在亚皮摩尔浓度下产生双链DNA断裂。关于卡奇霉素家族缀合物的制备,参见美国专利号5,712,374;5,714,586;5,739,116;5,767,285;5,770,701;5,770,710;5,773,001;和5,877,296(全部属于美国Cyanamid Company)。可以使用的卡奇霉素的结构类似物包括,但不限于,在例如Hinman等,Cancer Research 53:3336-3342(1993);Lode等,Cancer Research 58:2925-2928(1998)和前述美国Cyanamid的美国专利中公开的那些。

[0821] 示例性的卡奇霉素指定为 γ_1 ,其在本文中简称为 γ ,并且具有以下结构式:

[0822]

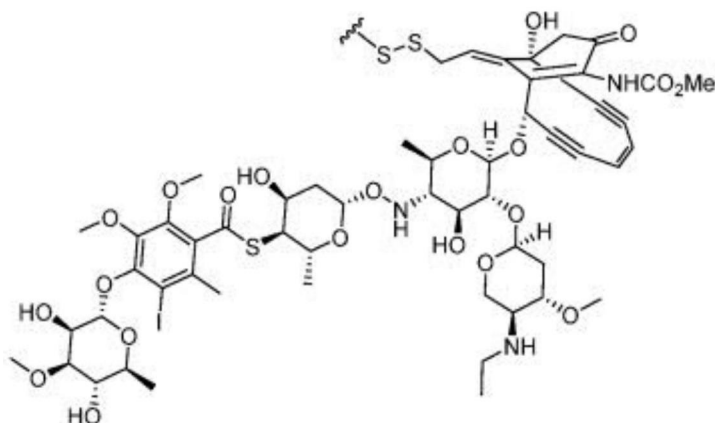


[0823] 在一些实施方案中,卡奇霉素是 γ -卡奇霉素衍生物或N-乙酰基 γ -卡奇霉素衍生物。可以使用的卡奇霉素的结构类似物包括,但不限于,在例如Hinman等,Cancer Research 53:3336-3342(1993);Lode等,Cancer Research 58:2925-2928(1998)和前述美国专利中公开的那些。卡奇霉素包含甲基三硫化物部分,该部分可以与适当的硫醇反应形成二硫化物,同时引入官能团,该官能团可用于通过接头将卡奇霉素衍生物附接到本文所述的抗CD117抗体或其抗原结合片段上。关于卡奇霉素家族缀合物的制备,参见美国专利号5,712,374;5,714,586;5,739,116;5,767,285;5,770,701;5,770,710;5,773,001;和5,877,296(全部属于美国Cyanamid Company)。可以使用的卡奇霉素的结构类似物包括,但不限于,在例如Hinman等,Cancer Research 53:3336-3342(1993);Lode等,Cancer Research 58:2925-2928(1998)和前述美国Cyanamid的美国专利中公开的那些。

[0824] 在一个实施方案中,如本文公开的ADC的细胞毒素是由以下结构式表示的卡奇霉

素二硫化物衍生物:

[0825]



[0826] 其中波浪线表示接头的附接点。

[0827] 另外的细胞毒素

[0828] 在另一些实施方案中,本文所述的抗体及其抗原结合片段可以与不同于上文公开的那些细胞毒素或除了其之外的细胞毒素缀合。适用于本文所述的组合物和方法的另外的细胞毒素包括,但不限于,5-乙炔基尿嘧啶、阿比特龙、酰基富烯、腺环戊醇、阿多来新、阿地白介素、六甲蜜胺、安巴司丁、amidox、阿米斯丁、氨基- γ -酮戊酸、氨柔比星、安吡啶、阿那格雷、阿纳托唑、穿心莲内酯、血管生成抑制剂、安雷利克斯、抗背化形态发生蛋白-1、抗雄激素物质、前列腺癌、抗雌激素、抗肿瘤物质、反义寡核苷酸、甘氨酸阿非迪霉素、细胞凋亡基因调制剂、细胞凋亡调节剂、脱嘌呤核酸、asulacrine、阿他美坦、阿曲氮芥、axinastatin1、axinastatin 2、axinastatin 3、阿扎司琼、阿扎毒素、重氮酪氨酸、浆果赤霉素III衍生物、balanol、巴马司他、BCR/ABL拮抗剂、苯并二氢卟吩(benzochlorins)、苯甲酰星形孢菌素、 β -内酰胺衍生物、 β -alethine、 β -clamycin B、桦木酸、bFGF抑制剂、比卡鲁胺、比生群、双吡丙啶基精胺(bisaziridinylspermine)、双奈法德、bistratene A、比折来新、breflate、博来霉素A2、博来霉素B2、溴匹利明、布多替钛、丁硫氨酸亚砷胺、钙泊三醇、卡弗他丁C、喜树碱衍生物(例如10-羟基-喜树碱)、卡培他滨、羧酰胺-氨基-三唑、羧胺三唑、卡折来新、酪蛋白激酶抑制剂、溴粟精胺、杀菌肽B、西曲瑞克、绿素类、氯代喹啉磺酰胺、西卡前列素、顺-吡啶、克拉屈滨、氯米芬及其类似物、克霉唑、Collismycin A、Collismycin B、考布他汀A4、考布他汀类似物、conagenin、crambescidin 816、克立那托、念珠藻素、cryptophycin A类似物、curacin、环戊萘醌、cycloplatan、塞普霉素、阿糖胞苷烷磷酸酯、溶细胞因子、磷酸己烷雌酚、达昔单抗、地西他滨、脱氢膜海鞘素B、2'脱氧助间型霉素(DCF)、地洛瑞林、右异环磷酰胺、右丙亚胺、右维拉帕米、地吡酮、膜海鞘素B、didox、二氢-5-氮杂胞啶、二氢紫杉醇、二草霉素、二苯基螺莫司汀、圆皮海绵内酯、二十二醇、多拉司琼、去氧氮尿苷、屈洛昔芬、屈大麻酚、倍癌霉素SA、依布硒啉、依考莫司汀、依地福新、依决可单抗、依洛尼塞、榄烯、乙嘧替氟、埃坡霉素、epithilone、依立雄胺、雌氮芥及其类似物、依托泊苷、依托泊苷4'-磷酸酯(也称为依托泊福司etopofos)、依西美坦、法倔唑、法扎拉滨、芬维A胺、非格司亭、非那雄胺、夫拉平度、氟卓斯汀、fluasterone、氟达拉滨、盐酸氟代柔红霉素(fluorodaunorubicin hydrochloride)、福酚美克、福美坦、福司曲星、福替目丁、莫特沙芬钆、硝酸镓、加洛他滨、加尼瑞克、白明胶酶抑制剂、吉西他滨、谷胱甘肽抑制剂、hepsulfam、高三尖杉酯碱(HHT)、金丝桃素、伊班膦酸、碘昔芬、伊决孟酮、依莫佛新、伊洛马

司他、咪唑并吡啶酮、咪唑莫特、免疫刺激肽、碘苄胍、碘多柔比星、甘薯苦醇、伊立替康、伊罗普拉、伊索拉定、异本格唑、jasplakinolide、kahalalide F、片螺素-N三乙酸酯、兰瑞肽、雷拉霉素、来诺拉提、蘑菇多糖硫酸酯、莱托斯汀、来曲唑、亲脂性铂化合物、lissoclinamide 7、洛铂、洛美曲索、氯尼达明、洛索萘醌、罗唑利宾、勒托替康、莫特沙芬、利索茶碱、马丙考、乳腺丝抑蛋白(maspin)、基质金属蛋白酶抑制剂、美诺立尔、rnerbarone、美替瑞林、蛋氨酸酶、甲氧氯普胺、MIF抑制剂、米非司酮(ifepristone)、米替福新、米立司亭、光辉霉素、丙双脒脞、二溴卫矛醇、米托蒽胺、米托蒽醌、莫法罗汀、莫拉司亭、mycaperoxide B、myriaporone、N-乙酰地那林、N-取代的苯甲酰胺、那法瑞林、那瑞替喷(nagrestip)、纳帕英(napavin)、naphterpin、那托司亭、奈达铂、奈莫柔比星、奈立麟酸、尼鲁米特、nisamycin、nitrullyn、奥曲肽、okicenone、奥那司酮、奥坦西隆、oracin、奥马铂、奥沙利铂、oxaunomycin、紫杉醇及其类似物、帕劳胺、palmitoylrhizoxin、帕米麟酸、人参三醇、帕诺米芬、parabactin、帕折普汀、天门冬酰胺酶、培得星、戊聚糖多硫酸钠、喷司他丁、戊唑、潘氟隆、过磷酸胺、phenazinomycin、溶链菌、吡柔比星、吡曲克辛、鬼臼毒素、紫杉醇核苷、嘌呤核苷磷酸化酶抑制剂、雷替曲塞、根霉素、洛太米特、罗希吐碱、卢比格酮B1、ruboxyl、沙芬戈、saintopin、sarcophytol A、沙莫司亭、索布佐生、索纳明、麟门冬酸、穗霉素D(spicamycin D)、螺莫司汀、stipiamide、磺胺肌苷、他莫司汀、替加氟、替莫唑胺、替尼泊苷、thalblastine、噻可拉林、替拉扎明、托泊替康、Topsentin、曲西立滨、曲美沙特、藜芦明、长春瑞滨、vinxaltine、伏氯唑、折尼拉汀和zilascorb等。

[0829] 接头

[0830] 多种接头可用于将本文所述的抗体或其抗体片段(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)与细胞毒性分子缀合。

[0831] 如本文所用的术语“接头”意指包含共价键或原子链的二价化学部分,该共价键或原子链共价附接本公开内容的抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)药物缀合物(ADC)(ADC;Ab-Z-L-D,其中D是细胞毒素)。合适的接头具有两个反应性末端,一个用于与抗体缀合,另一个用于与细胞毒素缀合。接头的抗体缀合反应性末端(反应性部分,Z')通常是能够通过抗体上的半胱氨酸硫醇或赖氨酸胺基团与抗体缀合的位点,并且因此通常是巯基反应性基团(例如双键(如马来酰亚胺))或离去基团(例如氯、溴、碘或R-磺酰基),或胺反应性基团(例如羧基);而接头的抗体缀合反应性末端通常是能够通过与细胞毒素上的碱性胺或羧基形成酰胺键而与细胞毒素缀合的位点,并且因此通常是羧基或碱性胺基。当术语“接头”用于描述缀合形式的接头时,由于接头和/或细胞毒素之间以及接头和/或抗体或其抗原结合片段之间的键的形成,一个或两个反应性末端将不存在(例如反应性部分Z',已经转化为化学部分Z)或不完整(例如仅仅是羧酸的羧基)。此类缀合反应进一步在下文描述。

[0832] 在一些实施方案中,接头在细胞内条件下是可切割的,使得接头的切割从细胞内环境中的抗体中释放药物单元。在又一些实施方案中,接头单元是不可切割的,药物例如通过抗体降解释放。用于本发明的ADC的接头优选在细胞外稳定,防止ADC分子的聚集,并且保持ADC在水性介质中自由溶解并处于单体状态。在运输或递送到细胞中之前,ADC优选是稳定的并且保持完整,即抗体保持与药物部分连接。接头在靶细胞外是稳定的,并且可以在细胞内以某种有效速率被切割。有效的接头:(1)保持抗体的特异性结合特性;(ii)允许缀合

物或药物部分的细胞内递送；(iii)保持稳定和完整，即不切割，直到缀合物已被递送或运输到其靶标位点；和(iv)保持细胞毒性部分的细胞毒性、细胞杀伤作用或细胞抑制作用。ADC的稳定性可以通过标准分析技术来测量，例如质谱、HPLC和分离/分析技术LC/MS。抗体和药物部分的共价附接需要接头具有两个反应性官能团，即在反应性意义上的二价性。用于附接两个或更多个功能性或生物活性部分的二价接头试剂(例如肽、核酸、药物、毒素、抗体、半抗原和报告基团)是已知的，并且已经描述了其所得缀合物的方法(Hermanson, G.T. (1996) *Bioconjugate Techniques*; Academic Press: New York, 第234-242页)。

[0833] 接头包括可以例如通过酶水解、光解、酸性条件下的水解、碱性条件下的水解、氧化、二硫化物还原、亲核裂解或有机金属切割来切割的接头(参见例如, Leriche等, *Bioorg. Med. Chem.*, 20:571-582, 2012, 其公开内容通过引用并入本文中, 因为它涉及适用于共价缀合的接头)。合适的可切割接头可以包括例如, 化学部分, 例如肼、二硫化物、硫醚或二肽。

[0834] 在酸性条件下可切割的接头包括例如, 脲、缩氨基脲、缩氨基硫脲、顺乌头酰胺、原酸酯、缩醛、缩酮等。(参见例如, 美国专利号5,122,368; 5,824,805; 5,622,929; Dubowchik和Walker, 1999, *Pharm. Therapeutics* 83:67-123; Neville等, 1989, *Biol. Chem.* 264:14653-14661, 其中每一篇的公开内容通过引用整体并入本文中, 因为它涉及适用于共价缀合的接头。此类接头在中性pH条件(例如在血液中的那些)下相对稳定, 但是在低于pH 5.5或5.0(溶酶体的近似pH)下不稳定。

[0835] 在还原条件下可切割的接头包括例如, 二硫化物。多种二硫键接头是本领域已知的, 包括例如可以使用以下形成的那些: SATA (N-琥珀酰亚胺基-S-乙酰硫代乙酸酯)、SPDP (N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯)、SPDB (N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丁酸酯)和SMPT (N-琥珀酰亚胺基-氧羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基-二硫代)甲苯)、SPDB和SMPT(参见例如, Thorpe等, 1987, *Cancer Res.* 47:5924-5931; Wawrzynczak等, *In Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimaging and Therapy of Cancer* (C.W. Vogel编辑, Oxford U. Press, 1987)。还参见美国专利号4,880,935, 其中每一篇的公开内容通过引用并入本文中, 因为它涉及适用于共价缀合的接头。

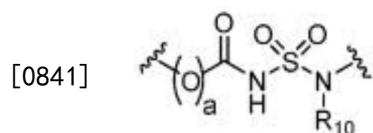
[0836] 对酶水解敏感的接头可以是例如被细胞内肽酶或蛋白酶切割的含肽接头, 包括但不限于溶酶体或内体蛋白酶。使用治疗剂的细胞内蛋白水解释放的一个优点是当缀合时, 药剂通常被减弱, 并且缀合物的血清稳定性通常较高。在一些实施方案中, 肽基接头至少两个氨基酸长或至少三个氨基酸长。示例性的氨基酸接头包括二肽、三肽、四肽、五肽。合适的肽的实例包括含有氨基酸(例如缬氨酸、丙氨酸、瓜氨酸(Cit)、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸和甘氨酸)的那些。包含氨基酸接头组分的氨基酸残基包括天然存在的那些, 以及次要氨基酸和非天然存在的氨基酸类似物, 例如瓜氨酸。示例性的二肽包括缬氨酸-瓜氨酸(vc或val-cit)和丙氨酸-苯丙氨酸(af或ala-phe)。示例性的三肽包括甘氨酸-缬氨酸-瓜氨酸(gly-val-cit)和甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(gly-gly-gly)。在一些实施方案中, 接头包括二肽, 例如Val-Cit、Ala-Val或Phe-Lys、Val-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Phe-Arg、或rp-Cit。含有二肽的接头(例如Val-Cit或Phe-Lys)在例如美国专利号6,214,345中被公开, 其公开内容通过引用整体并入本文中, 因为它涉及适用于共价缀合的接头。在一些实施方案中, 接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。

[0837] 适用于将本文所述的抗体或其抗体片段与细胞毒性分子缀合的接头包括能够通过1,6-消除过程释放细胞毒素的那些(“自杀式”基团)。能够进行该消除过程的化学部分包括对氨基苄基(PAB)基团、6-马来酰亚氨基环己烷酸、对pH敏感的碳酸盐和其他试剂,如在Jain等,Pharm.Res.32:3526-3540,2015中所述的,其公开内容通过引用整体并入本文中,因为它涉及适用于共价缀合的的接头。

[0838] 在一些实施方案中,接头包括“自杀式”基团,例如前述的PAB或PABC(对氨基苄氧羰基),其在例如Carl等,J.Med.Chem.(1981)24:479-480;Chakravarty等(1983)J.Med.Chem.26:638-644;US 6214345;US20030130189;US20030096743;US6759509;US20040052793;US6218519;US6835807;US6268488;US20040018194;W098/13059;US20040052793;US6677435;US5621002;US20040121940;W02004/032828中公开。能够进行该过程的其他此类化学部分(“自杀式接头”)包括亚甲基氨基甲酸酯和杂芳基,例如氨基噻唑、氨基咪唑、氨基嘧啶等。包含此类杂环自杀式基团的接头在例如美国专利公开号20160303254和20150079114以及美国专利号7,754,681;Hay等(1999)Bioorg.Med.Chem.Lett.9:2237;US 2005/0256030;de Groot等(2001)J.Org.Chem.66:8815-8830;和US 7223837中公开。在一些实施方案中,二肽与自杀式接头组合使用。

[0839] 适用于本文的接头还可以包括选自以下的一种或更多种基团: C_1-C_6 亚烷基、 C_1-C_6 杂亚烷基、 C_2-C_6 亚烯基、 C_2-C_6 杂亚烯基、 C_2-C_6 亚炔基、 C_2-C_6 杂亚炔基、 C_3-C_6 亚环烷基、杂环亚烷基、亚芳基、杂亚芳基及其组合,其中每一种可以任选被取代。此类基团的非限制性实例包括 $(CH_2)_p$ 、 $(CH_2CH_2O)_p$ 和 $-(C=O)(CH_2)_p-$ 单元,其中p为1-6的整数,在每种情况下独立选择。

[0840] 合适的接头可以包含具有提高溶解度特性的基团。例如,包含 $(CH_2CH_2O)_p$ 单元(聚乙二醇,PEG)的接头可以提高溶解度,如经氨基、磺酸、膦酸或磷酸残基取代的烷基链可以的。包含此类部分的接头在例如美国专利号8,236,319和9,504,756中公开,其中每一篇的公开内容都通过引用整体并入本文中,因为它涉及适用于共价缀合的接头。另外的提高溶解度基团包括例如,酰基和氨基甲酰基磺酰胺基团,其具有以下结构:



[0842] 其中a是0或1;并且

[0843] R^{10} 选自氢、 C_1-C_{24} 烷基、 C_3-C_{24} 环烷基、 C_1-C_{24} (杂)芳基、 C_1-C_{24} 烷基(杂)芳基和 C_1-C_{24} (杂)芳基烷基、 C_1-C_{24} 烷基、 C_3-C_{24} 环烷基、 C_2-C_{24} (杂)芳基、 C_3-C_{24} 烷基(杂)芳基和 C_3-C_{24} (杂)芳基烷基,其中每一种可以任选被选自O、S和 $NR^{11}R^{12}$ 的一个或更多个杂原子取代和/或任选被其打断,其中 R^{11} 和 R^{12} 独立地选自氢和 C_1-C_4 烷基;或者 R^{10} 是细胞毒素,其中细胞毒素任选通过间隔部分连接到氮上。包含此类基团的接头例如在美国专利号9,636,421和美国专利申请公开号2017/0298145中被描述,其公开内容通过引用整体并入本文中,因为它们涉及适用于细胞毒素和抗体或其抗原结合片段共价缀合的接头。

[0844] 在一些实施方案中,接头可以包括以下中的一种或更多种:肼、二硫化物、硫醚、二肽、对氨基苄基(PAB)基团、杂环自杀式基团、任选经取代的 C_1-C_6 烷基、任选经取代的 C_1-C_6 杂烷基、任选经取代的 C_2-C_6 烯基、任选经取代的 C_2-C_6 杂烯基、任选经取代的 C_2-C_6 炔基、任选

经取代的 C_2-C_6 杂炔基、任选经取代的 C_3-C_6 环烷基、任选经取代的杂环烷基、任选经取代的芳基、任选经取代的杂芳基、溶解度提高基团、酰基、 $-(C=O)-$ 或 $-(CH_2CH_2O)_p-$ (其中 p 为1-6的整数)。本领域技术人员认识到,所列的一种或更多种基团可以以二价(双自由基)物质的形式存在,例如 C_1-C_6 亚烷基等。

[0845] 在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基(PAB)。在一个实施方案中,对氨基苄基位于细胞毒性药物与接头中的蛋白酶切割位点之间。在一个实施方案中,对氨基苄基是对氨基苄基氧羰基单元的一部分。在一个实施方案中,对氨基苄基是对氨基苄基氨基单元的一部分。

[0846] 在一些实施方案中,接头包含PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys (Ac) -PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys (Ac) -PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB或Ala-PAB。

[0847] 在一些实施方案中,接头包含以下中一种或更多种的组合:肽、寡糖、 $-(CH_2)_p-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_p-$ 、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys (Ac) -PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys (Ac) -PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB或Ala-PAB。

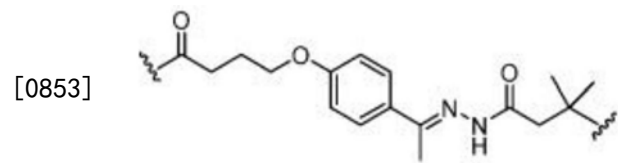
[0848] 在一些实施方案中,接头包含 $-(C=O)(CH_2)_p-$ 单元,其中 p 为1-6的整数。

[0849] 在一些实施方案中,接头包含 $-(CH_2)_n$ 单元,其中 n 为2至6的整数。

[0850] 在某些实施方案中,ADC的接头是马来酰亚胺己酰基-Val-Ala-对氨基苄基(mc-Val-Ala-PAB)。

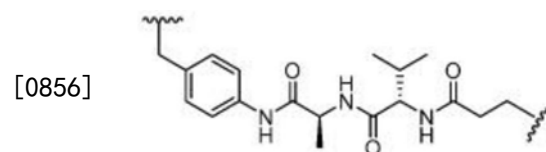
[0851] 在某些实施方案中,ADC的接头是马来酰亚胺己酰基-Val-Cit-对氨基苄基(mc-vc-PAB)。

[0852] 在一些实施方案中,接头包含

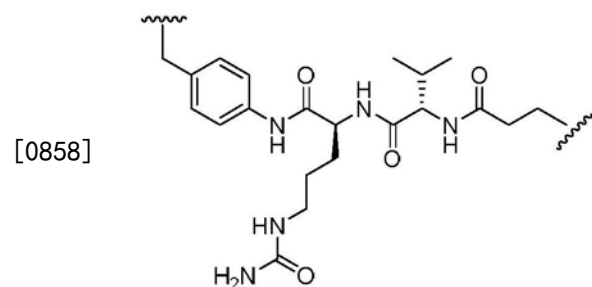


[0854] 在一些实施方案中,接头包含MCC (4-[N-马来酰亚胺甲基]环己烷-1-羧酸酯)。

[0855] 在一个特定的实施方案中,接头包含以下结构



[0857] 其中波浪线表示细胞毒素和反应性部分 Z' 的附接点。在另一个特定的实施方案中,接头包含以下结构



[0859] 其中波浪线表示细胞毒素和反应性部分Z'的附接点。此类PAB-二肽-丙酰基接头在例如专利申请公开号W02017/149077中公开,其全部内容通过引用整体并入本文中。此外,W02017/149077中公开的细胞毒素通过引用并入本文中。

[0860] 可用于将抗体或其抗原结合片段与细胞毒性剂缀合的接头包括在接头一端与细胞毒性剂共价结合,在接头另一端含有化学部分的那些,该化学部分由接头上存在的反应性取代基与抗体或其抗原结合片段中存在的结合CD117(例如GNNK+CD117)的反应性取代基之间的偶联反应形成。抗体或其抗原结合片段内可能存在的结合CD117(例如GNNK+CD117)的反应性取代基包括但不限于丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基的羟基部分;赖氨酸残基的氨基部分;天冬氨酸和谷氨酸残基的羧基部分;和半胱氨酸残基的硫醇部分;以及非天然存在的氨基酸的炔丙基、叠氮基、卤代芳基(例如氟代芳基)、卤代杂芳基(例如氟代杂芳基)、卤代烷基和卤代杂烷基部分。

[0861] 可用于合成药物-抗体缀合物缀合物的接头的实例包括含有亲电子体的那些,例如Michael受体(例如马来酰亚胺)、活化酯、缺电子羰基化合物和醛类等,适用于与抗体或抗原结合片段内存在的亲核取代基(例如胺和硫醇部分)反应。例如,适用于合成药物-抗体缀合物的接头包括但不限于琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺甲基)-环己烷-L-羧酸酯(SMCC)、N-琥珀酰亚胺基碘乙酸酯(SIA)、磺基-SMCC、间马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯(MBS)、磺基-MBS和琥珀酰亚胺基碘乙酸酯等,如例如刘等,18:690-697,1979中所述的,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及用于化学缀合的接头。另外的接头包括不可切割的马来酰亚胺己酰基接头,其对于微管破坏剂(例如澳瑞他汀)的缀合特别有用,Doronina等,Bioconjugate Chem.17:14-24,2006描述了这些接头,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及用于化学缀合的接头。

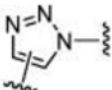
[0862] 本领域技术人员认识到,本文公开的任何一种或更多种化学基团、部分和特征可以以多种方式组合,以形成用于如本文公开的抗体和细胞毒素缀合的接头。另外的与本文公开的组合物和方法结合使用的接头例如在美国专利申请公开号2015/0218220中被描述,其公开内容通过引用整体并入本文中。

[0863] 在某些实施方案中,作为接头前体的中间体在合适的条件下与药物部分反应。在某些实施方案中,在药物和/或中间体或接头上使用反应性基团。药物与中间体或衍生药物之间的反应产物随后在合适的条件下与抗体或抗原结合片段反应。可替代地,接头或中间体可以首先与抗体或衍生抗体反应,并然后与药物或衍生药物反应。现在将更全面地描述此类缀合反应。

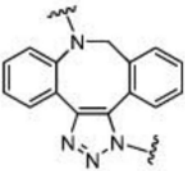
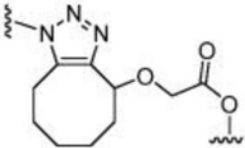
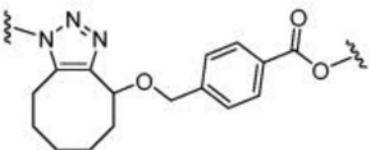
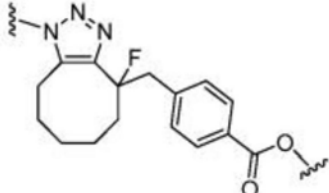
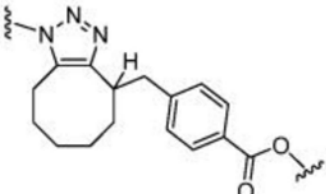
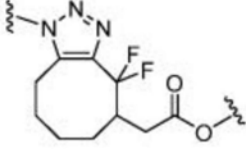
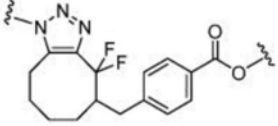
[0864] 许多不同的反应可用于接头或药物-接头缀合物与抗体或其抗原结合片段的共价附接。抗体分子上合适的附接点包括赖氨酸的胺基、谷氨酸和天冬氨酸的游离羧酸基团、半胱氨酸的巯基和芳香族氨基酸的各种部分。例如,可以使用碳二亚胺反应将化合物上的羧基(或氨基)连接到抗体部分上的氨基(或羧基)来进行非特异性共价附接。另外,双官能试剂(例如二醛或酰亚胺酯)也可用于将化合物上的氨基连接到抗体部分上的氨基。希夫碱反应也可用于药物与结合剂的附接。这种方法包括对含有乙二醇或羟基的药物进行高碘酸盐氧化,从而形成醛,然后将其与结合剂反应。通过与结合剂的氨基形成席夫碱发生附接。异硫氰酸酯也可用作偶联剂用以将药物与结合剂共价附接。其他技术是技术人员已知的,并且在本公开内容的范围内。

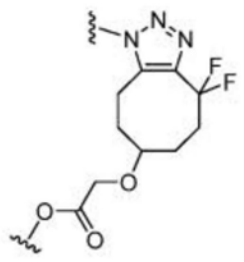
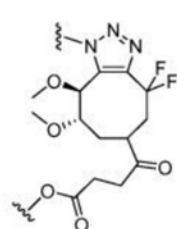
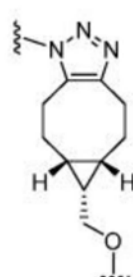
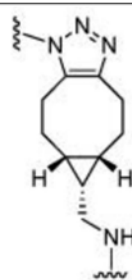
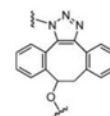
[0865] 用于与如本文所述的抗体或抗原结合片段缀合的接头包括但不限于含有由偶联反应形成的化学部分Z的接头,如下表4所示。曲线分别表示抗体或抗原结合片段和细胞毒性分子的附接点。

[0866] 表4. 在抗体-药物缀合物的形成中通过偶联反应形成的示例性化学部分Z

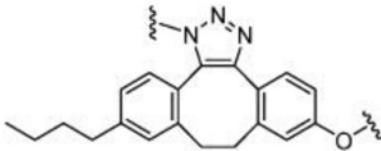
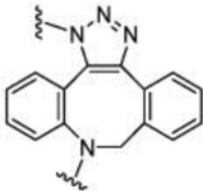
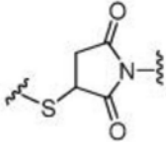
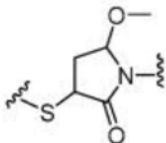
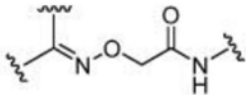
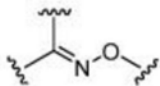
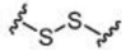
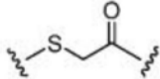
示例性偶联反应	由偶联反应形成的化学部分 Z
[0867] [3+2]环加成	

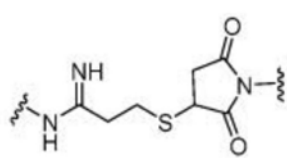
[0868]

[3+2]环加成	
[3+2]环加成, 酯化	
[3+2]环加成, 酯化	
[3+2]环加成, 酯化	
[3+2]环加成, 酯化	
[3+2]环加成, 酯化	
[3+2]环加成, 酯化	

[3+2]环加成， 酯化	
[3+2]环加成， 酯化	
[3+2]环加成， 酯化	
[3+2]环加成， 酯化	
[3+2]环加成， 酯化	

[0870]

[3+2]环加成, 酯化	
[3+2]环加成	
Michael 加成	
Michael 加成	
亚胺缩合, 酰胺化	
亚胺缩合	
二硫化物形成	
硫醇烷基化	

[0871] 冷凝， Michael 加成	

[0872] 本领域技术人员认识到,附接到接头上的反应性取代基 Z' 和抗体或其抗原结合片段上的反应性取代基参与共价偶联反应以产生化学部分 Z ,并且认识到反应性部分 Z' 。因此,与本文所述的方法结合使用的抗体-药物缀合物可以通过抗体或其抗原结合片段与接头或细胞毒素-接头缀合物的反应形成,如本文所述,接头或细胞毒素-接头缀合物包括反应性取代基 Z' ,适用于与抗体或其抗原结合片段上的反应性取代基反应,以形成化学部分 Z 。

[0873] 如表4所示,接头和抗体或其抗原结合片段上适当的反应性取代基的实例包括亲核试剂/亲电子试剂对(例如,硫醇/卤代烷基对、胺/羰基对或硫醇/ α,β -不饱和羰基对等)、二烯/二烯亲和物对(例如,叠氮化物/炔对、或二烯/ α,β -不饱和羰基对等)等。反应性取代基之间形成化学部分 Z 的偶联反应包括但不限于硫醇烷基化、羟基烷基化、胺烷基化、胺或羟胺缩合、肼形成、酰胺化、酯化、二硫化物形成、环加成(例如,[4+2]Diels-Alder环加成、[3+2]Huisen环加成等)、亲核芳香族取代、亲电芳香族取代及本领域已知或本文所述的其他反应形式。优选地,接头包含用于与抗体或其抗原结合片段上的亲核官能团反应的亲电官能团。

[0874] 如本文公开的,抗体或其抗原结合片段中可以存在的反应性取代基包括但不限于亲核基团,例如(i) N-末端胺基;(ii) 侧链胺基,例如赖氨酸;(iii) 侧链硫醇基团,例如半胱氨酸;和(iv) 糖羟基或氨基,其中抗体被糖基化。如本文公开的,抗体或其抗原结合片段中可能存在的反应性取代基包括但不限于丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基的羟基部分;赖氨酸残基的氨基部分;天冬氨酸和谷氨酸残基的羧基部分;和半胱氨酸残基的硫醇部分;以及非天然存在的氨基酸的炔丙基、叠氮基、卤代芳基(例如氟代芳基)、卤代杂芳基(例如氟代杂芳基)、卤代烷基和卤代杂烷基部分。在一些实施方案中,如本文公开的,抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基是胺或硫醇部分。某些抗体具有可还原的链间二硫化物,即半胱氨酸桥。通过用还原剂(例如DTT(二硫苏糖醇))处理,可以使抗体对与接头试剂的缀合具有反应性。理论上,因此每个半胱氨酸桥形成两个反应性硫醇亲核试剂。另外的亲核基团可以通过赖氨酸与2-亚氨基硫代硅烷(Traut试剂)的反应引入抗体中,导致胺转化为硫醇。可以通过引入一个、两个、三个、四个或更多个半胱氨酸残基(例如,制备包含一个或更多个非天然半胱氨酸氨基酸残基的突变抗体)将反应性硫醇基团引入抗体(或其片段)中。美国专利号7,521,541号教导了通过引入反应性半胱氨酸氨基酸来基因工程化抗体。

[0875] 在一些实施方案中,附接到接头上的反应性部分 Z' 是亲核基团,其与抗体上存在的亲电基团反应。抗体上有用的亲电基团包括但不限于醛和酮羰基。亲核基团的杂原子可以与抗体上的亲电基团反应,并且与抗体形成共价键。有用的亲核基团包括但不限于酰肼、肼、氨基、羟基、肼、缩氨基硫脲、肼羧酸盐和芳基酰肼。

[0876] 在一些实施方案中, Z 是抗体或其抗原结合片段(例如胺和硫醇部分)中存在的反应性亲核取代基与反应性亲电取代基 Z' 之间的反应产物。例如, Z' 可以是Michael受体(例

如马来酰亚胺)、活化酯、缺电子羰基化合物和醛等。

[0877] 例如,适用于合成ADC的接头包括但不限于,反应性取代基Z',例如马来酰亚胺或卤代烷基。这些可以通过试剂附接到接头上,例如琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺甲基)-环己烷-L-羧酸酯(SMCC)、N-琥珀酰亚胺基碘乙酸酯(SIA)、磺基-SMCC、间马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯(MBS)、磺基-MBS和琥珀酰亚胺基碘乙酸酯,以及其他在例如刘等,18:690-697,1979中所述的试剂,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及用于化学缀合的接头。

[0878] 在一些实施方案中,附接到接头L上的反应性取代基Z'是马来酰亚胺、叠氮化物或炔烃。含马来酰亚胺的接头的实例是不可切割的基于马来酰亚胺基的接头,它对微管破坏剂(例如澳瑞他汀)的缀合特别有用。此类接头被Doronina等,Bioconjugate Chem.17:14-24,2006描述,其公开内容通过引用并入本文中,因为它涉及用于化学缀合的接头。

[0879] 在一些实施方案中,反应性取代基Z'是-(C=O)-或-NH(C=O)-,使得接头可以通过酰胺或脲部分分别连接到抗体或其抗原结合片段,由-(C=O)-或-NH(C=O)-基团与抗体或其抗原结合片段的氨基反应产生。

[0880] 在一些实施方案中,反应性取代基是N-马来酰亚胺基、卤化N-烷基酰氨基、磺酰氧基N-烷基酰氨基、碳酸酯基、磺酰基卤化物基团、硫醇基团或其衍生物、包含内部碳-碳三键的炔基、(杂-过)环炔基、双环[6.1.0]非-4-炔-9-基、包含内部碳-碳双键的烯基、环烯基、四嗪基、叠氮基、膦基、胍氧化物基、硝酮基、胍亚胺基、重氮基、酮基、(O-烷基)羟基氨基、肼基、卤化N-马来酰亚胺基、1,1-双(磺酰基甲基)甲基羰基或其消除衍生物、羰基卤化物基团或联烯基酰胺(allenamide),其中每一种可以任选被取代。在一些实施方案中,反应性取代基包含环烯基、环炔基或任选经取代的(杂)环炔基。

[0881] 含有适用于与抗体或其抗原结合片段上的反应性残基反应的反应性取代基Z'的鹅膏蕈毒素-接头缀合物的非限制性实例包括但不限于,7'C-(4-(6-(马来酰亚胺基)己酰基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;

[0882] 7'C-(4-(6-(马来酰亚胺基)己酰氨基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;

[0883] 7'C-(4-(6-(6-(马来酰亚胺基)己酰氨基)己酰基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;

[0884] 7'C-(4-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷羰基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;

[0885] 7'C-(4-(6-(4-(马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰氨基)己酰基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;

[0886] 7'C-(4-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰氨基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;

[0887] 7'C-(4-(2-(6-(6-(马来酰亚胺基)己酰氨基)己酰氨基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;

[0888] 7'C-(4-(2-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰氨基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;

[0889] 7'C-(4-(2-(6-(4-(马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰氨基(己酰氨基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;

[0890] 7'C-(4-(2-(3-羧丙酰氨基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;

[0891] 7'C-(4-(2-(2-溴乙酰氨基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;

[0892] 7'C-(4-(2-(3-(吡啶-2-基二磺酰基)丙酰氨基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;

- [0893] 7' C- (4- (2- (4- (马来酰亚氨基) 丁酰氨基) 乙基) 哌啶-1-基) -鹅膏蕈毒素;
- [0894] 7' C- (4- (2- (马来酰亚氨基) 乙酰基) 哌嗪-1-基) -鹅膏蕈毒素;
- [0895] 7' C- (4- (3- (马来酰亚氨基) 丙酰基) 哌嗪-1-基) -鹅膏蕈毒素;
- [0896] 7' C- (4- (4- (马来酰亚氨基) 丁酰基) 哌嗪-1-基) -鹅膏蕈毒素;
- [0897] 7' C- (4- (2- (6- (4- (马来酰亚氨基) 甲基) 环己烷甲酰氨基 (己酰氨基) 乙基) 哌啶-1-基) -鹅膏蕈毒素;
- [0898] 7' C- (3- ((6- (马来酰亚氨基) 己酰氨基) 甲基) 吡咯烷-1-基) -鹅膏蕈毒素;
- [0899] 7' C- (3- ((6- (6- (马来酰亚氨基) 己酰氨基) 己酰氨基) 甲基) 吡咯烷-1-基) -鹅膏蕈毒素;
- [0900] 7' C- (3- ((4- ((马来酰亚氨基) 甲基) 环己烷甲酰氨基) 甲基) 吡咯烷-1-基) -鹅膏蕈毒素;
- [0901] 7' C- (3- ((6- ((4- (马来酰亚氨基) 甲基) 环己烷甲酰氨基) 己酰氨基) 甲基) 吡咯烷-1-基) -鹅膏蕈毒素;
- [0902] 7' C- (4- (2- (6- (2- (氨基) 乙酰氨基) 己酰氨基) 乙基) 哌啶-1-基) -鹅膏蕈毒素;
- [0903] 7' C- (4- (2- (4- (2- (氨基) 乙酰氨基) 丁酰氨基) 乙基) 哌啶-1-基) -鹅膏蕈毒素;
- [0904] 7' C- (4- (4- (2- (氨基) 乙酰氨基) 丁酰基) 哌嗪-1-基) -鹅膏蕈毒素;
- [0905] 7' C- (4- (6- (2- (氨基) 乙酰氨基) 己酰基) 哌嗪-1-基) -鹅膏蕈毒素;
- [0906] 7' C- ((4- (6- (马来酰亚氨基) 己酰氨基) 哌啶-1-基) 甲基) -鹅膏蕈毒素;
- [0907] 7' C- ((4- (2- (6- (马来酰亚氨基) 己酰氨基) 乙基) 哌啶-1-基) 甲基) -鹅膏蕈毒素;
- [0908] 7' C- ((4- (6- (马来酰亚氨基) 己酰基) 哌嗪-1-基) 甲基) -鹅膏蕈毒素;
- [0909] (R) -7' C- ((3- ((6- (马来酰亚氨基) 己酰氨基) 甲基) 吡咯烷-1-基) 甲基) -鹅膏蕈毒素;
- [0910] (S) -7' C- ((3- ((6- (马来酰亚氨基) 己酰氨基) 甲基) 吡咯烷-1-基) 甲基) -鹅膏蕈毒素;
- [0911] 7' C- ((4- (2- (6- (6- (马来酰亚氨基) 己酰氨基) 己酰氨基) 乙基) 哌啶-1-基) 甲基) -鹅膏蕈毒素;
- [0912] 7' C- ((4- (2- (4- ((马来酰亚氨基) 甲基) 环己烷甲酰氨基) 乙基) 哌啶-1-基) 甲基) -鹅膏蕈毒素;
- [0913] 7' C- ((4- (2- (6- (4- ((马来酰亚氨基) 甲基) 环己烷甲酰氨基) 己酰氨基) 乙基) 哌啶-1-基) 甲基) -鹅膏蕈毒素;
- [0914] 7' C- ((4- (2- (6- (马来酰亚氨基) 己酰氨基) 乙基) 哌嗪-1-基) 甲基) -鹅膏蕈毒素;
- [0915] 7' C- ((4- (2- (6- (6- (马来酰亚氨基) 己酰氨基) 己酰氨基) 乙基) 哌嗪-1-基) 甲基) -鹅膏蕈毒素;
- [0916] 7' C- ((4- (2- (4- ((马来酰亚氨基) 甲基) 环己烷甲酰氨基) 乙基) 哌嗪-1-基) 甲基) -鹅膏蕈毒素;
- [0917] 7' C- ((4- (2- (6- (4- ((马来酰亚氨基) 甲基) 环己烷甲酰氨基) 己酰氨基) 乙基) 哌嗪-1-基) 甲基) -鹅膏蕈毒素;
- [0918] 7' C- ((3- ((6- (6- (马来酰亚氨基) 己酰氨基) 己酰氨基) -S-甲基) 吡咯烷-1-基) 甲基) -鹅膏蕈毒素;

- [0919] 7' C-((3-((6-(6-(马来酰亚氨基)己酰氨基)己酰氨基)-R-甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0920] 7' C-((3-((4-((马来酰亚氨基)甲基)环己烷甲酰氨基)-S-甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0921] 7' C-((3-((4-((马来酰亚氨基)甲基)环己烷甲酰氨基)-R-甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0922] 7' C-((3-((6-(4-((马来酰亚氨基)甲基)环己烷甲酰氨基)己酰氨基)甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0923] 7' C-((4-(2-(3-羧丙酰氨基)乙基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0924] 7' C-((4-(6-(6-(马来酰亚氨基)己酰氨基)己酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0925] 7' C-((4-(6-(4-((马来酰亚氨基)甲基)环己烷甲酰氨基)己酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0926] 7' C-((4-(2-(马来酰亚氨基)乙酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0927] 7' C-((4-(3-(马来酰亚氨基)丙酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0928] 7' C-((4-(4-(马来酰亚氨基)丁酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0929] 7' C-((4-(2-(2-(马来酰亚氨基)乙酰氨基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0930] 7' C-((4-(2-(4-(马来酰亚氨基)丁酰氨基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0931] 7' C-((4-(2-(6-(4-((马来酰亚氨基)甲基)环己烷甲酰氨基)己酰氨基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0932] 7' C-((3-((6-(马来酰亚氨基)己酰氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0933] 7' C-((3-(2-(6-(马来酰亚氨基)己酰氨基)乙基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0934] 7' C-((3-((4-((马来酰亚氨基)甲基)环己烷甲酰氨基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0935] 7' C-((3-(2-(4-((马来酰亚氨基)甲基)环己烷甲酰氨基)乙基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0936] 7' C-((3-(2-(6-(4-((马来酰亚氨基)甲基)环己烷甲酰氨基)己酰氨基)乙基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0937] 7' C-(((2-(6-(马来酰亚氨基)-N-甲基己酰氨基)乙基)(甲基)氨基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0938] 7' C-(((4-(6-(马来酰亚氨基)-N-甲基己酰氨基)丁基)(甲基)氨基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0939] 7' C-((2-(2-(6-(马来酰亚氨基)己酰氨基)乙基)氮丙啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0940] 7' C-((2-(2-(6-(4-((马来酰亚氨基)甲基)环己烷甲酰氨基)己酰氨基)乙基)氮丙啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;
- [0941] 7' C-((4-(6-(6-(2-(氨基)乙酰氨基)己酰氨基)己酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅

膏蕈毒素；

[0942] 7' C-((4-(1-(氨氧基)-2-氧代-6,9,12,15-四氧杂-3-氮杂十七碳-17-酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0943] 7' C-((4-(2-(2-(氨氧基)乙酰氨基)乙酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0944] 7' C-((4-(3-(2-(氨氧基)乙酰氨基)丙酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0945] 7' C-((4-(4-(2-(氨氧基)乙酰氨基)丁酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0946] 7' C-((4-(2-(6-(2-(氨氧基)乙酰氨基)己酰氨基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0947] 7' C-((4-(2-(2-(2-(氨氧基)乙酰氨基)乙酰氨基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0948] 7' C-((4-(2-(4-(2-(氨氧基)乙酰氨基)丁酰氨基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0949] 7' C-((4-(20-(氨氧基)-4,19-二氧化-6,9,12,15-四氧杂-3,18-diazaicosyl)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0950] 7' C-(((2-(6-(2-(氨氧基)乙酰氨基)-N-甲基己酰氨基)乙基)(甲基)氨基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0951] 7' C-(((4-(6-(2-(氨氧基)乙酰氨基)-N-甲基己酰氨基)丁基)(甲基)氨基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0952] 7' C-((3-((6-(4-((马来酰亚氨基)甲基)环己烷甲酰氨基)己酰氨基)甲基)吡咯烷-1-基)-S-甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0953] 7' C-((3-((6-(4-((马来酰亚氨基)甲基)环己烷甲酰氨基)己酰氨基)-R-甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0954] 7' C-((4-(2-(2-溴乙酰氨基)乙基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0955] 7' C-((4-(2-(2-溴乙酰氨基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0956] 7' C-((4-(2-(3-(吡啶-2-基二磺酰基)丙酰氨基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素；

[0957] 6'-O-(6-(6-(马来酰亚氨基)己酰氨基)己基)-鹅膏蕈毒素；

[0958] 6' O-(5-(4-((马来酰亚氨基)甲基)环己烷甲酰氨基)戊基)-鹅膏蕈毒素；

[0959] 6' O-(2-((6-(马来酰亚氨基)己基)氧)-2-氧代乙基)-鹅膏蕈毒素；

[0960] 6' O-((6-(马来酰亚氨基)己基)氨基甲酰基)-鹅膏蕈毒素；

[0961] 6' O-((6-(4-((马来酰亚氨基)甲基)环己烷甲酰氨基)己基)氨基甲酰基)-鹅膏蕈毒素；

[0962] 6'-O-(6-(2-溴乙酰胺基)己基)-鹅膏蕈毒素；

[0963] 7' C-(4-(6-(叠氮基)己酰氨基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素；

[0964] 7' C-(4-(己-5-酰基氨基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素；

[0965] 7' C-(4-(2-(6-(马来酰亚氨基)己酰氨基)乙基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素；

[0966] 7' C-(4-(2-(6-(6-(马来酰亚氨基)己酰氨基)己酰氨基)乙基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素；

[0967] 6' O-(6-(6-(11,12-二脱氢-5,6-二氢-二苯并[b,f]azocin-5-基)-6-氧代己酰氨基

基)-己基)-鹅膏蕈毒素;

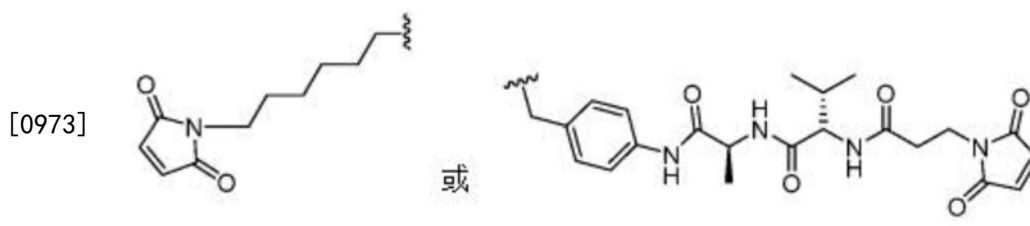
[0968] 6'-O-(6-(己-5-酰基氨基)己基)-鹅膏蕈毒素;

[0969] 6'-O-(6-(2-(氨基氧基)乙酰氨基)己基)-鹅膏蕈毒素;

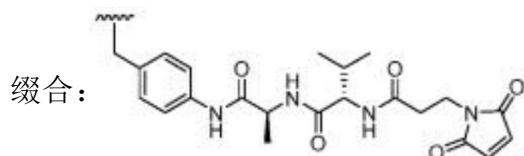
[0970] 6'-O-((6-氨基氧基)己基)-鹅膏蕈毒素;和6'-O-(6-(2-碘乙酰氨基)己基)-鹅膏蕈毒素。

[0971] 本领域技术人员认识到,在与抗体或其抗原结合片段缀合之前,接头反应性取代基结构包含马来酰亚胺作为基团Z'。前述接头部分和鹅膏蕈毒素-接头缀合物,以及与本文所述的组合物和方法结合使用的其他物质例如在美国专利申请公开号2015/0218220和专利申请公开号W02017/149077中被描述,其中每一篇的公开内容通过引用整体并入本文中。

[0972] 在一些实施方案中,在与抗体或其抗原结合片段缀合之前,接头反应性取代基结构L-Z'是:

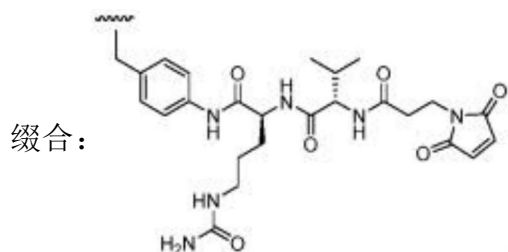


[0974] 在一些实施方案中,本文公开的鹅膏蕈毒素与具有下式的接头反应性部分-L-Z'



[0975]

[0976] 在一些实施方案中,本文公开的鹅膏蕈毒素与具有下式的接头反应性部分-L-Z'



[0977]

[0978] 前述接头部分和鹅膏蕈毒素-接头缀合物,以及与本文所述的组合物和方法结合使用的其他物质例如在美国专利申请公开号2015/0218220和专利申请公开号W02017/149077中被描述,其中每一篇的公开内容通过引用整体并入本文中。

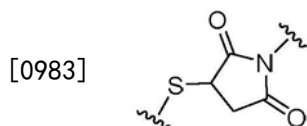
[0979] 前述接头部分和鹅膏蕈毒素-接头缀合物,以及与本文所述的组合物和方法结合使用的其他物质例如在美国专利申请公开号2015/0218220和专利申请公开号W02017/149077中被描述,其中每一篇的公开内容通过引用整体并入本文中。

[0980] 在一些实施方案中,ADC包含通过接头和化学部分Z与鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体,该鹅膏蕈毒素包括但不限于本文公开的式I、IA、IB、II、IIA或IIB中任一种的鹅膏蕈毒素。在一些实施方案中,接头包括胍、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基(PAB)。在一些

实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包括一个-((C=O)(CH₂)_n)-单元,其中n为1-6的整数。在一些实施方案中,接头是-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n)-。

[0981] 在一些实施方案中,接头包括-(CH₂)_n-单元,其中n为2-6的整数。在一些实施方案中,接头是-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n)-。在一些实施方案中,接头是-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n)-。在一些实施方案中,接头是-(CH₂)_n-。在一些实施方案中,接头是-((CH₂)_n)-,其中n为6。

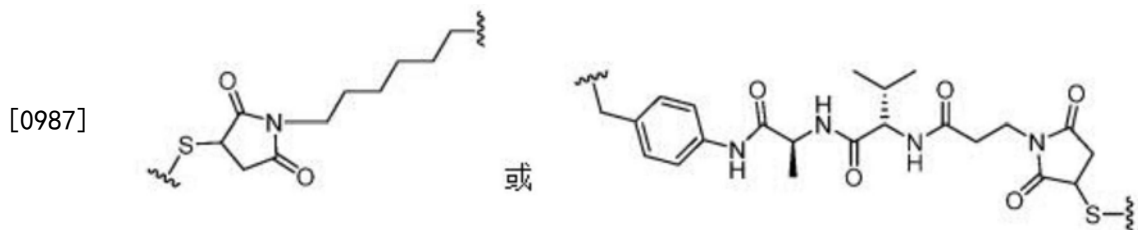
[0982] 在一些实施方案中,化学部分Z选自表4。在一些实施方案中,化学部分Z是



[0984]

[0985] 其中S是表示抗体或其抗原结合片段中存在的反应性取代基的硫原子,其结合CD117(例如,来自半胱氨酸残基的-SH基)。

[0986] 在一些实施方案中,接头L和化学部分Z合在一起作为L-Z,是



[0988] 抗体-药物偶联物的制备

[0989] 在本公开内容的ADC(ADC;D-L-Z-Ab,其中D是细胞毒素),如本文公开的,抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)或其抗原结合片段通过如本文公开的接头L和化学部分Z与一个或多个细胞毒性药物部分(D)缀合,例如每个抗体约1至约20个药物部分。本公开内容的ADC可以通过数种途径制备,采用本领域技术人员已知的有机化学反应、条件和试剂,包括:(1)抗体或其抗原结合片段的反应性取代基与二价连接试剂反应,以形成如上所述的Ab-Z-L,随后与药物部分D反应;或(2)药物部分的反应性取代基与二价连接试剂反应以形成D-L-Z',随后与如上文所述的抗体或其抗原结合片段的反应性取代基反应以形成式D-L-Z-Ab的ADC,例如Am-Z-L-Ab。本文描述了用于制备ADC的另外的方法。

[0990] 在另一方面,抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)或其抗原结合片段具有一个或多个赖氨酸残基,其可被化学修饰以引入一个或多个巯基。然后,如上所述,通过经由巯基的硫原子缀合形成ADC。可用于修饰赖氨酸的试剂包括但不限于,N-琥珀酰亚胺基S-乙酰硫代乙酸酯(SATA)和2-亚氨基硫环戊烷盐酸盐(Traut试剂)。

[0991] 在另一方面,抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)或其抗原结合片段可以具有一个或多个碳水化合物基团,其可以被化学修饰以具有一个或多个巯基。然后,如上所述,通过经由巯基的硫原子缀合形成ADC。

[0992] 在又一方面,抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)或其抗原结合片段可以具有一个或更多个碳水化合物基团,其可以被氧化以提供醛基(-CHO)(参见,例如,Laguzza等,J.Med.Chem.1989,32(3),548-55)。然后,如上所述,通过经由相应的醛缀合形成ADC。其他用于细胞毒素附接或缔合的蛋白质修饰的协议在Coligan等.,Current Protocols in Protein Science,vol.2,John Wiley&Sons(2002)中被描述,通过引用并入本文中。

[0993] 用于将接头-药物部分与细胞靶向蛋白(例如抗体、免疫球蛋白或其片段)缀合的方法在例如美国专利号5,208,020;美国专利号6,441,163;W02005037992;W02005081711;和W02006/034488中发现,其全部通过引用整体并入本文中。

[0994] 可替代地,可以制备包含抗体和细胞毒性剂的融合蛋白,例如通过重组技术或肽合成。DNA的长度可以包含编码缀合物的两个部分的各自区域,这两个部分彼此相邻,或者被编码不会破坏缀合物的期望特性的接头肽的区域隔开。

[0995] 本文所述的ADC可以以多种剂型施用到患者(例如,遭受免疫性疾病或癌症的人患者)。例如,本文所述的ADC可以以水溶液(例如含有一种或更多种药学上可接受的赋形剂的水溶液)的形式ADC遭受免疫性疾病或癌症的患者。合适的与本文所述的组合物和方法一起使用的药学上可接受的赋形剂包括粘度调节剂。可以使用本领域已知的技术对水溶液进行灭菌。

[0996] 包含本文所述的抗-HC ADC(例如,抗CD117 ADC、抗CD45 ADC、抗CD2 ADC、抗CD5 ADC、抗CD137 ADC或抗CD252 ADC)的药物制剂通过将此种ADC与一种或更多种任选的药学上可接受的载体混合(雷明顿药学科学第16版,Osol,A.Ed.(1980)),以冻干制剂或水溶液的形式来制备。药学上可接受的载体在使用的剂量和浓度下通常对受体无毒,并且包括但不限于:缓冲剂,例如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和蛋氨酸;防腐剂(例如十八烷基二甲基苄基氯化铵;六甲基氯化铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁醇或苯甲醇;羟苯甲酸烷基酯,例如羟苯甲酸甲酯或羟苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(小于约10个残基)多肽;蛋白质,例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,例如EDTA;糖类,例如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;成盐抗衡离子,例如钠;金属复合物(例如,Zn-蛋白质复合物);和/或非离子表面活性剂,例如聚乙二醇(PEG)。

[0997] 治疗方法

[0998] 本文还公开了用于治疗多种疾病的组合物和方法,例如造血谱系中的细胞类型疾病、癌症、自身免疫性疾病、代谢紊乱、干细胞病症、移植物抗宿主疾病等。本文所述的组合物和方法可以(i)直接耗尽引起病理的细胞群,例如癌细胞群(例如,白血病细胞)和自身免疫细胞(例如,自身反应性T细胞),和/或(ii)耗尽内源性造血干细胞群,从而通过提供移植细胞可以定居的龛来促进移植造血干细胞的植入。前述活性可以通过施用能够结合由内源性致病细胞或造血干细胞表达的抗原的ADC、抗体或其抗原结合片段来实现。在直接治疗疾病的情况下,该施用可以导致引起目标病理的细胞数量减少。在准备患者进行造血干细胞移植疗法的情况下,该施用可以导致内源性造血干细胞群的选择性耗尽,从而在造血组织例如骨髓中产生空缺,随后可以由移植的外源性造血干细胞填补。本发明部分基于如下发

现,可以向患者施用能够结合由造血干细胞表达的抗原(例如,CD117(例如,GNNK+CD117),或CD45)或由成熟免疫细胞表达的抗原(例如T细胞(例如,CD45、CD2、CD5、CD137或CD252))的ADC、抗体或其抗原结合片段以影响上述两种活性。可以向遭受癌症或自身免疫性疾病的患者施用结合由造血干细胞表达的抗原(例如,CD117(例如,GNNK+CD117),或CD45)或由成熟免疫细胞表达的抗原(例如T细胞(例如,CD45、CD2、CD5、CD137或CD252))的ADC、抗体或其抗原结合片段以直接耗尽癌细胞或自身免疫性细胞群,并且也可以向需要造血干细胞移植疗法的患者施用,以促进移植的造血干细胞的存活和植入潜力。

[0999] 如本文所述,可以向需要治疗的受试者施用造血干细胞移植疗法,从而使一种或更多种血细胞类型增殖或再增殖。造血干细胞通常表现出多潜能,并且因此可以分化为多种不同的血液谱系,包括但不限于粒细胞(例如,早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞(例如,网状细胞、红细胞)、凝血细胞(例如,成巨核细胞、产生血小板的成巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如,单核细胞、巨噬细胞)、树突细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞(例如,NK细胞、B细胞和T细胞)。造血干细胞另外地能够自我更新,并且因此产生具有与母细胞等同潜力的子细胞,并且还具有重新引入移植受体的能力的特征,在移植受体中它们回到造血干细胞龛(niche)并重建生产性和持续性造血。

[1000] 因此,还可以向一种或更多种造血谱系细胞类型有缺陷或不足的患者施用造血干细胞,以在体内重建有缺陷或不足的细胞群,从而治疗与内源性血细胞群缺陷或耗尽相关的病理。因此,本文所述的组合物和方法可用于治疗非恶性血红蛋白病(例如,选自镰状细胞性贫血、地中海贫血、Fanconi贫血、再生障碍性贫血和Wiskott-Aldrich综合征的血红蛋白病)。另外地或可替代地,本文所述的组合物和方法可用于治疗免疫缺陷,例如先天性免疫缺陷症。另外地或可替代地,本文所述的组合物和方法可用于治疗获得性免疫缺陷(例如,选自HIV和AIDS的获得性免疫缺陷)。本文所述的组合物和方法可用于治疗代谢紊乱(例如,选自糖原累积病、黏多糖贮积症、高歇病、胡尔勒氏病、鞘脂类代谢障碍和异染性脑白质营养不良的代谢紊乱)。

[1001] 另外地或可替代地,本文所述的组合物和方法可用于治疗恶性肿瘤或增殖性疾病,例如血液学癌症、骨髓增殖性疾病。在癌症治疗的情况下,可以向患者施用本文所述的组合物和方法,从而在造血干细胞移植疗法之前耗尽内源性造血干细胞群,在这种情况下,移植的细胞可以回到由内源性细胞耗尽步骤产生的龛并建立生产性造血。反过来,这可以重构在癌细胞清除期间(例如在全身化疗期间)耗尽的细胞群。可以使用本文所述的组合物和方法治疗的示例性血液学癌症包括但不限于急性髓细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤,以及其他癌症病症,包括神经母细胞瘤。

[1002] 可以用本文所述的组合物和方法治疗的另外的疾病包括但不限于腺苷脱氨酶缺乏和重症联合免疫缺陷、高免疫球蛋白M综合征、Chediak-Higashi疾病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨石化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、系统性硬化病、系统性红斑狼疮、多发性硬化症和幼年型类风湿性关节炎。

[1003] 本文所述的抗体或其抗原结合片段和缀合物可用于诱导实体器官移植耐受性。例如,本文所述的组合物和方法可用于从靶组织耗尽或消除细胞群(例如,从骨髓干细胞龛中耗尽造血干细胞)。在靶组织的细胞耗尽后,可以先移植手提施用器官供体的干细胞或祖细

胞群(例如,器官供体的造血干细胞),并且在植入此类干细胞或祖细胞后,可以获得暂时或稳定的混合嵌合体,从而实现长期的移植器官耐受性,而不需要进一步的免疫抑制剂。例如,本文所述的组合物和方法可用于诱导实体器官移植受体的移植耐受性(例如,肾移植、肺移植、肝移植和心脏移植等)。本文所述的组合物和方法非常适合用于诱导实体器官移植耐受性,例如,因为低百分比的暂时或稳定的供体移植足以诱导移植器官的长期耐受性。

[1004] 另外,本文所述的组合物和方法可用于直接治疗癌症,例如以CD117+ (例如,GNNK+CD117)、CD45+、CD2+、CD5+、CD137+、或CD252+细胞为特征的癌症。例如,本文所述的组合物和方法可用于治疗白血病,例如表现出CD117+白血病患者。通过耗尽CD117+癌细胞,例如白血病细胞,本文所述的组合物和方法可用于直接治疗多种癌症。可以以这种方式治疗的示例性癌症包括血液学癌症,例如急性髓细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤。

[1005] 急性髓细胞白血病(AML)是一种髓系血细胞癌症,其特征是在骨髓中积累的异常白细胞快速生长,并干扰正常血细胞的产生。AML是最常见的影响成人的急性白血病,并且其发病率随着年龄而增加。AML的症状是由白血病细胞替换正常骨髓引起的,这导致红细胞、血小板和正常白细胞下降。作为急性白血病,AML进展迅速,并且如果不治疗,可能在几周或几个月内致命。在一个实施方案中,本文所述的抗CD117抗体用于在有此需要的人患者中治疗AML。在某些实施方案中,抗CD117 ADC治疗耗尽了经治疗的受试者中的AML细胞。在一些实施方案中,50%或更多的AML细胞被耗尽。在另一些实施方案中,60%或更多的AML细胞被耗尽,或70%或更多的AML细胞被耗尽,或者80%或更多或90%或更多、或95%或更多的AML细胞被耗尽。在某些实施方案中,抗CD117 ADC治疗是单剂量治疗。在某些实施方案中,单剂量抗CD117 ADC治疗耗尽60%、70%、80%、90%或95%或更多的AML细胞。

[1006] 另外,本文所述的组合物和方法可用于治疗自身免疫病症。例如,可以向受试者(例如,遭受自身免疫病症的人患者)施用抗体或其抗原结合片段,以杀伤CD45+、CD2+、CD5+、CD137+或CD252+免疫细胞。例如,CD45+、CD2+、CD5+、CD137+或CD252+免疫细胞可以是自身反应性淋巴细胞,例如表达特异性结合自身抗原并针对自身抗原产生免疫反应的T细胞受体的T细胞。通过耗尽自身反应性CD45+、CD2+、CD5+、CD137+或CD252+细胞,本文所述的组合物和方法可用于治疗自身免疫性病理,例如下文所述的那些。另外地或可替代地,本文所述的组合物和方法可用于通过在造血干细胞移植疗法之前耗尽内源性造血干细胞群来治疗自身免疫性疾病,在这种情况下,移植的细胞可以回到由内源性细胞耗尽步骤产生的龕并建立生产性造血。反过来,这可以重构在自身免疫细胞清除期间耗尽的细胞群。

[1007] 可以使用本文所述的组合物和方法治疗的自身免疫性疾病包括但不限于银屑病、银屑病关节炎、1型糖尿病(Type 1 diabetes mellitus或Type 1 diabetes)、类风湿性关节炎(RA)、人系统性红斑狼疮(SLE)、多发性硬化症(MS)、炎症性肠疾病(IBD)、淋巴细胞性结肠炎、急性播散性脑脊髓炎(ADEM)、爱迪生氏病、普秃、强直性脊椎炎、抗磷脂抗体综合征(APS)、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳疾病(AIED)、自身免疫性淋巴增生综合征(ALPS)、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征(CFIDS)、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、克罗恩氏病、瘢痕性类天疱疮、腹腔口炎性腹泻疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状狼疮、家族性自主神经异常、子宫内膜异位症、特发

性混合型冷沉淀球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、古德帕斯丘综合征、格雷夫斯病、格林-巴利综合征(GBS)、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病、间质性膀胱炎、幼年型关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病(MCTD)、重症肌无力、神经性肌强直、斜视眼阵挛-肌阵挛综合征(OMS)、视神经炎、奥德甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺性综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、赖特综合征、风湿热、结节病、硬皮病、**Sjögren**综合征、僵人综合征、无脉病、颞动脉炎(也称为“巨细胞动脉炎”)、溃疡性结肠炎、胶原性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛(“外阴前庭炎”)和韦格纳肉芽肿病。

[1008] 本文还提供了通过施用能够结合由造血干细胞表达的抗原(例如,CD137、CD2或CD5)的抗体、其抗原结合片段或ADC来预防和治疗移植物抗宿主病(GVHD)和自身免疫性疾病的方法,其中该抗体包含含有D265C、L234A、L235A和/或H435A突变的Fc区域。该施用可以导致对宿主有反应的T细胞群的选择性耗尽。例如,可以向患者施用能够结合CD137的抗体、其抗原结合片段或ADC,以预防和治疗GVHD和自身免疫性疾病,例如由造血干细胞移植疗法引起的那些。抗CD137抗体及其缀合物以及相关的使用方法可以在例如美国专利申请号62/448,741和PCT公开号WO 2018/134787中发现,其全部内容通过引用并入本文中。

[1009] 本文所述的组合物和方法可用于耗尽与移植失败和自身免疫性疾病有关的活化T细胞(例如,表达CD137、CD252、CD134等)以实现移植耐受性。本文所述的组合物和方法对预防和治疗GVHD和自身免疫性疾病是特别有用的。本文公开的方法和组合物也用于在接受同种异体移植的人患者中降低移植失败的风险。优选的受试者是人。施用的抗体、抗体-药物缀合物或配体-药物缀合物的量应足以耗尽促进GVHD或自身免疫性疾病的细胞(例如,活化T细胞)。

[1010] 抗体或抗体-药物缀合物可以在将细胞或实体器官移植到患者之前、同时或之后,施用到有需要的人患者。在一个实施方案中,在移植细胞或实体器官(例如,约3天前、约2天前、约12小时前、约12小时至3天前、约1至3天前、约12小时至2天前或约1-2天前)之前向有需要的人患者施用抗CD137 ADC。在一个实施方案中,在移植细胞或实体器官(例如,约1天后、约2天后、约3天后或约4天后)之后向有需要的人患者施用抗CD137 ADC。在移植细胞或器官之前、同时或之后可以向人患者施用单剂量的抗CD137 ADC,其中此种单剂量足以治疗或预防GVHD或移植失败。

[1011] 本文公开的方法和组合物可用于预防或治疗移植失败。移植失败或移植排斥,包括异源造血干细胞移植后的失败,通常可能表现为供体细胞初始植入的缺乏,或初始植入后供体细胞的丢失(综述参见Mattsson等(2008) Biol Blood Marrow Transplant.14 (Suppl 1):165-170)。例如,在关注移植失败的移植物或移植方案中,本文公开的组合物和方法可用于耗尽表达CD137的活化T细胞,例如,其中人患者在实体器官或细胞移植后有发生移植失败的风险,特别是其中移植的细胞或器官是同种异体的。

[1012] 在一个实施方案中,抗CD137抗体、抗体-药物缀合物或配体-药物缀合物用于在将细胞、移植物或器官移植到人患者之前通过使细胞、移植物或实体器官与抗CD137抗体、抗体-药物缀合物或配体-药物缀合物接触来耗尽表达CD137的供体细胞,例如表达CD137的活化T细胞。在一个实施方案中,细胞、移植物或器官是同种异体的。

[1013] 用目前的疗法进行移植后, GVHD的风险仍然很高。本文公开的方法和组合物可用于抑制人患者的移植物抗宿主病 (GVHD)。抗CD137抗体可用于在会接受移植 (例如干细胞移植) 的患者中选择性靶向活化T细胞。如本文所述, 抗CD137 ADC也可用于通过在即将接受或已经接受移植 (例如但不限于HSC移植) 的人患者中靶向和耗尽CD137阳性细胞来降低GVHD的风险。如本文所述, 抗CD252 ADC也可用于通过在即将接受或已经接受移植 (例如但不限于HSC移植) 的人患者中靶向和耗尽CD137阳性细胞来降低GVHD的风险。在某些实施方案中, 本文公开的组合物和方法用于在移植疗法 (例如, 同种异体HSC) 后患者出现GVHD症状之前治疗GVHD。

[1014] 本文所述的方法也可用于预防宿主抗移植物 (HvG) 反应。例如, 抗CD137-ADC也可用作免疫抑制剂, 以预防宿主抗移植物 (HvG) 反应, 从而预防或降低同种异体移植物失败的风险。在处于HvG反应风险的患者中使用抗CD137 ADC能够植入具有更大程度的HLA错配的供体细胞。另外的用途包括实体器官移植中的耐受性诱导, 其中宿主抗移植物反应被CD137-ADC防止或抑制。这些包括有或没有进行造血干细胞移植的实体器官移植, 包括异种移植, 其中器官是非人来源的和/或经过基因修饰的。

[1015] 在一个实施方案中, 在使用两种供体的同种异体移植的背景下, 抗CD137-ADC用于预防移植物抗移植物 (GvG)。实例包括在成人和儿童患者中使用2个脐带血干细胞供体。GvG的预防能够更快的造血 (例如, 中性粒细胞和血小板) 在移植后重建, 因为两种干细胞来源成功地植入。

[1016] 使用抗CD137抗体或ADC的其他治疗方法在US 10,434,185中被描述, 其通过引用并入本文中。

[1017] 使用抗CD252抗体或ADC的其他治疗方法, 包括预防移植物抗宿主病或诱导移植后移植物耐受性, 在US WO 2019/173780中被描述, 其通过引用并入本文中。

[1018] 使用抗CD2抗体或ADCs的其他治疗方法在WO 2019/108860中被描述, 其通过引用并入本文中。

[1019] 使用抗CD5抗体或ADCs的其他治疗方法在WO 2019/108863中被描述, 其通过引用并入本文中。

[1020] 在一些实施方案中, 移植是同种异体的。在一些实施方案中, 移植是自体的。

[1021] 在一些实施方案中, 移植是骨髓移植、外周血移植或脐带血移植。

[1022] 在一些实施方案中, 移植物包括造血细胞 (例如, 造血干细胞)。

[1023] 在本文所述的任何实施方案中, 移植物可以是任何实体器官或皮肤移植物。在一些实施方案中, 移植选自肾移植、心脏移植、肝移植、胰腺移植、肺移植、肠移植和皮肤移植。

[1024] 另外地, 本文公开了用于在人受试者中治疗或预防移植的同种异体细胞排斥的方法, 即使用具有本文公开的经修饰的Fc区域的抗体或其缀合物治疗或预防宿主抗移植物 (HvG) 疾病。例如, 本文公开的方法包括施用抗CD137抗体药物缀合物 (其结合内源性CD137+免疫细胞, 例如, 活化T细胞) 和同种异体细胞疗法二者, 其中抗CD137抗体包含含有D265C、L234A、L235A和/或H435A突变的Fc区域。通过向接受同种异体细胞移植的人患者施用抗CD137 ADC, 内源性CD137+T细胞被耗尽, 因此降低内源性细胞对同种异体细胞疗法反应的风险。

[1025] 施用途径和剂量

[1026] 本文所述的抗体、其抗原结合片段或ADC可以以多种剂型施用到患者(例如,遭受癌症、自身免疫性疾病或需要造血干细胞移植疗法的人患者)中。例如,本文所述的抗体、其抗原结合片段或ADC可以以水溶液(例如含有一种或更多种药学上可接受的赋形剂的水溶液)的形式施用到遭受癌症、自身免疫性疾病或需要造血干细胞移植疗法的患者中。用于本文所述的组合物和方法的药学上可接受的赋形剂包括粘度调节剂。可以使用本领域已知的技术对水溶液进行灭菌。

[1027] 包含本文所述的抗-HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)的药物制剂通过将此种抗体或ADC与一种或更多种任选的药学上可接受的载体混合(雷明顿药学科学第16版, 0sol, A.Ed. (1980)), 以冻干制剂或水溶液的形式来制备。药学上可接受的载体在使用的剂量和浓度下通常对受体无毒, 并且包括但不限于: 缓冲剂, 例如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸; 抗氧化剂, 包括抗坏血酸和蛋氨酸; 防腐剂(例如十八烷基二甲基苄基氯化铵; 六甲基氯化铵; 苯扎氯铵; 苄索氯铵; 苯酚、丁醇或苯甲醇; 羟苯甲酸烷基酯, 例如羟苯甲酸甲酯或羟苯甲酸丙酯; 儿茶酚; 间苯二酚; 环己醇; 3-戊醇; 和间甲酚); 低分子量(小于约10个残基)多肽; 蛋白质, 例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白; 亲水聚合物, 例如聚乙烯吡咯烷酮; 氨基酸, 例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸; 单糖、二糖和其他碳水化合物, 包括葡萄糖、甘露糖或糊精; 螯合剂, 例如EDTA; 糖类, 例如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇; 成盐抗衡离子, 例如钠; 金属复合物(例如, Zn-蛋白质复合物); 和/或非离子表面活性剂, 例如聚乙二醇(PEG)。

[1028] 本文所述的抗体、抗原结合片段或ADC可以通过多种途径施用, 例如经口、透皮、皮下、鼻内、静脉内、肌内、眼内或胃肠外。在任何给定情况下, 最合适的施用途取决于施用的特定抗体或抗原结合片段、患者、药物制剂方法、施用方法(例如, 施用时间和施用途)、患者年龄、体重、性别、要治疗疾病的严重程度、患者的饮食和患者的排泄率。

[1029] 本文所述的抗体或其抗原结合片段的有效剂量可以为例如下(例如, 丸剂)施用、多次施用或连续施用的体重的约0.001至约100mg/kg, 或达到抗体或其抗原结合片段的最佳血清浓度(例如, 0.0001-5000 μ g/mL的血清浓度)。可以向遭受癌症、自身免疫性疾病或正在进行准备接受造血干细胞移植的预处理疗法的受试者(例如, 人)每天、每周或每月施用一次或更多次(例如, 2-10次)剂量。

[1030] 在一个实施方案中, 向人患者施用的抗-HC ADC(例如, 通过接头与鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体)的剂量为约0.1mg/kg至约0.3mg/kg。

[1031] 在一个实施方案中, 向人患者施用的抗-HC ADC(例如, 通过接头与鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体)的剂量为约0.15mg/kg至约0.3mg/kg。

[1032] 在一个实施方案中, 向人患者施用的抗-HC ADC(例如, 通过接头与鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体)的剂量为约0.15mg/kg至约0.25mg/kg。

[1033] 在一个实施方案中, 向人患者施用的抗-HC ADC(例如, 通过接头与鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体)的剂量为约0.2mg/kg至约0.3mg/kg。

[1034] 在一个实施方案中, 向人患者施用的抗-HC ADC(例如, 通过接头与鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体)的剂量为约0.25mg/kg至约0.3mg/kg。

[1035] 在一个实施方案中, 向人患者施用的抗-HC ADC(例如, 通过接头与鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体)的剂量为约0.1mg/kg。

[1036] 在一个实施方案中,向人患者施用的抗-HC ADC (例如,通过接头与鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体)的剂量为约0.2mg/kg。

[1037] 在一个实施方案中,向人患者施用的抗-HC ADC (例如,通过接头与鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体)的剂量为约0.3mg/kg。

[1038] 在一个实施方案中,向人患者施用的本文所述的抗-HC ADC的剂量为约0.001mg/kg至10mg/kg、约0.01mg/kg至9.5mg/kg、约0.1mg/kg至9mg/kg、约0.1mg/kg至8.5mg/kg、约0.1mg/kg至8mg/kg、约0.1mg/kg至7.5mg/kg、约0.1mg/kg至7mg/kg、0.1mg/kg至6.5mg/kg、0.1mg/kg至6mg/kg、0.1mg/kg至5.5mg/kg、约0.1至0.1mg/kg至5mg/kg、约0.1mg/kg至4.5mg/kg、约0.1mg/kg至4mg/kg、约0.5mg/kg至3.5mg/kg、约0.5mg/kg至3mg/kg、约1mg/kg至10mg/kg、约1mg/kg至9mg/kg、约1mg/kg至8mg/kg、约1mg/kg至7mg/kg、约1mg/kg至6mg/kg、约1mg/kg至5mg/kg、约1mg/kg至4mg/kg、约1mg/kg至3mg/kg。

[1039] 在一个实施方案中,向人患者施用用于治疗或预处理的本文所述的抗-HC ADC的半衰期等于或小于24小时、等于或小于22小时、等于或小于20小时、等于或小于18小时、等于或小于16小时、等于或小于14小时、等于或小于13小时、等于或小于12小时、等于或小于11小时、等于或小于10小时、等于或小于9小时、等于或小于8小时、等于或小于7小时、等于或小于6小时、或等于或小于5小时。在一个实施方案中,抗HC ADC的半衰期为5小时至7小时;为5小时至9小时;为15小时至11小时;为5小时至13小时;为5小时至15小时;为5小时至20小时;为5小时至24小时;为7小时到24小时;为9小时到24小时;为11小时至24小时;12小时至22小时;10小时至20小时;8小时至18小时;或者14小时至24小时。

[1040] 在一个实施方案中,本文公开的方法使接受ADC用于预处理的患者的肝毒性最小化。例如,在某些实施方案中,本文公开的方法导致患者的肝标志物水平保持低于已知毒性水平超过24小时、48小时、72小时或96小时。在另一些实施方案中,本文公开的方法导致患者的肝标志物水平保持在参考范围内超过24小时、48小时、72小时或96小时。在某些实施方案中,本文公开的方法导致肝标志物水平在超过24小时、48小时、72小时或96小时内升高不超过参考范围的1.5倍、不超过参考范围的3倍、不超过参考范围的5倍或不超过参考范围的10倍。可用于毒性测试的肝标志物的实例包括丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、乳酸脱氢酶 (LDH) 和天冬氨酸氨基转移酶 (AST)。在某些实施方案中,如本文所述的ADC的施用,即其中施用两个剂量而不是单个剂量,导致肝标志物的瞬时增加,例如,AST、LDH和/或ALT。在一些情况下,可以达到指示毒性的肝标志物的升高水平,但是在某个时间段内,例如,约12小时、约18小时、约24小时、约36小时、约48小时、约72小时、3天以上、约3.5天、约4天、约4.5天、约5天、约5.5天、约6天、约6.5天、约7天、约7.5天或不到一周,肝标志物水平恢复到与肝脏毒性无关的正常水平。例如,在人(平均成年男性)中,ALT的正常无毒水平为每升7至55单位(U/L);并且正常无毒水平为8至48U/L。在某些实施方案中,在向患者施用ADC的第一剂量与施用第一剂量后14天之间,患者血液AST、ALT或LDH水平中的至少一种没有达到毒性水平,例如,可以向患者施用第一剂量,随后施用第二剂量、第三剂量、第四剂量或更多剂量,例如,施用第一剂量的5、10或14天,但是在向患者施用ADC的第一剂量与施用第一剂量后14天之间,患者血液AST、ALT或LDH水平中的至少一种没有达到毒性水平。

[1041] 在某些实施方案中,患者血液AST、ALT或LDH水平中的至少一种没有升高到正常水平以上,没有升高超过正常水平的1.5倍,没有升高超过正常水平的3倍,没有升高超过正常

水平的5倍,或者没有升高超过正常水平的10倍。

[1042] 本发明包括使用能够结合由造血细胞(例如造血干细胞、免疫细胞或癌细胞)表达的抗原的ADC来减少不良事件和毒性的给药方案。此类抗原的实例包括但不限于CD117、CD2、CD5、CD45、CD252、CD134和CD137。

[1043] 在造血干细胞移植之前的预处理程序的情况下,抗体或其抗原结合片段可以在最佳促进外源性造血干细胞植入的时间施用到患者,例如在施用外源性造血干细胞移植前约1小时至约1周(例如,约1小时、约2小时、约3小时、约4小时、约5小时、约6小时、约7小时、约8小时、约9小时、约10小时、约11小时、约12小时、约13小时、约14小时、约15小时、约16小时、约17小时、约18小时、约19小时、约20小时、约21小时、约22小时、约23小时、约24小时、约2天、约3天、约4天、约5天、约6天、约7天)或更长。包括本文所述的数字的范围也包括在所考虑的方法中。

[1044] 上述的给药范围可以与具有本文所述的半衰期的抗HC ADC组合。

[1045] 使用本文公开的方法,本领域技术人员可以向需要造血干细胞移植疗法的人患者施用能够结合由造血干细胞表达的抗原(例如,CD117(例如,GNNK+CD117),或CD45)或由成熟免疫细胞表达的抗原(例如T细胞(例如,CD45、CD2、CD5、CD137或CD252))的抗体或其抗原结合片段。以这种方式,可以在施用外源性造血干细胞移植之前耗尽内源性造血干细胞群,从而促进造血干细胞移植物的植入。抗体可以共价缀合到毒素上,例如本文所述或本领域已知的细胞毒性分子。例如,抗CD117抗体或其抗原结合片段(例如,抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)或其抗原结合片段)可以共价缀合到细胞毒素上,例如假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、鹅膏蕈毒素(例如 γ -鹅膏蕈碱、 α -鹅膏蕈碱)、美登素、美登木素生物碱、奥瑞他汀、葱环类、加里刹霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类、吲哚并苯二氮卓类二聚体或其变体。该缀合可以使用本文所述或本领域已知的共价键形成技术来进行。抗体、其抗原结合片段或药物-抗体缀合物可以随后在将外源性造血干细胞(例如自体、同源或异源造血干细胞)移植到患者之前,例如通过静脉内施用,向患者施用。

[1046] 抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)、其抗原结合片段或ADC可以在造血干细胞移植疗法之前以足以减少内源性造血干细胞数量(例如约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%或更多)的量施用。造血干细胞计数的减少可以使用本领域已知的常规技术来监测,例如通过在预处理疗法期间以不同间隔从患者抽取的血液样品中的表达特征性造血干细胞表面抗原的细胞的FACS分析。例如,本领域技术人员可以在预处理疗法期间的不同时间点从患者中抽取血液样品,并且通过FACS分析来确定内源性造血干细胞减少的程度,以使用结合造血干细胞标志物抗原的抗体来阐明样品中造血干细胞的相对浓度。根据一些实施方案,当造血干细胞的浓度响应于用抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)、其抗原结合片段或ADC进行的预处理疗法而达到最小值时,医生可以结束预处理疗法,并且可以开始为患者准备造血干细胞移植疗法。

[1047] 抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体

或抗CD252抗体)、其抗原结合片段或ADC可以在含有一种或更多种药理学上可接受的赋形剂(例如粘度调节剂)的水溶液中施用到患者。水溶液可以使用本文所述或本领域已知的技术进行灭菌。抗体、其抗原结合片段或药物-抗体缀合物可以以例如约0.001mg/kg至约100mg/kg、约0.001mg/kg至约10mg/kg、约0.01mg/kg至9.5mg/kg、约0.1mg/kg至9mg/kg、约0.1mg/kg至8.5mg/kg、约0.1mg/kg至8mg/kg、约0.1mg/kg至7.5mg/kg、约0.1mg/kg至7mg/kg、约0.1mg/kg至6.5mg/kg、约0.1mg/kg至6mg/kg、约0.1mg/kg至5.5mg/kg、约0.1mg/kg至5mg/kg、约0.1mg/kg至4.5mg/kg、约0.1mg/kg至4mg/kg、约0.5mg/kg至3.5mg/kg、约0.5mg/kg至3mg/kg、约1mg/kg至10mg/kg、约1mg/kg至9mg/kg、约1mg/kg至8mg/kg、约1mg/kg至7mg/kg、约1mg/kg至6mg/kg、约1mg/kg至5mg/kg、约1mg/kg至约4mg/kg至4mg/kg或约1mg/kg至3mg/kg的剂量施用到患者。抗体、其抗原结合片段或药物-抗体缀合物可以在最佳促进外源性造血干细胞植入的时间施用到患者,例如在施用外源性造血干细胞移植前约1小时至约1周(例如,约1小时、约2小时、约3小时、约4小时、约5小时、约6小时、约7小时、约8小时、约9小时、约10小时、约11小时、约12小时、约13小时、约14小时、约15小时、约16小时、约17小时、约18小时、约19小时、约20小时、约21小时、约22小时、约23小时、约24小时、约2天、约3天、约4天、约5天、约6天或约7天)或更长。

[1048] 在预处理疗法结束后,患者可以接受灌注(例如,静脉内灌注)外源性造血干细胞,例如来自进行预处理疗法的同一医生或来自不同的医生。医生可以向患者例如以 1×10^3 至 1×10^9 造血干细胞/kg的剂量施用自体、同源或异源造血干细胞的注入物。医生可以监测造血干细胞移植物的植入,例如通过从患者中抽取血液样品并且在施用移植后确定造血干细胞或造血谱系细胞(例如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、成髓细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞)浓度的增加。该分析可以在造血干细胞移植疗法后例如约1小时至约6个月或更长(例如,约1小时、约2小时、约3小时、约4小时、约5小时、约6小时、约7小时、约8小时、约9小时、约10小时、约11小时、约12小时、约13小时、约14小时、约15小时、约16小时、约17小时、约18小时、约19小时、约20小时、约21小时、约22小时、约23小时、约24小时、约2天、约3天、约4天、约5天、约6天、约7天、约2周、约3周、约4周、约5周、约6周、约7周、约8周、约9周、约10周、约11周、约12周、约13周、约14周、约15周、约16周、约17周、约18周、约19周、约20周、约21周、约22周、约23周、约24周或更长)进行。发现移植治疗后造血干细胞或造血谱系细胞的浓度相对于移植疗法前相应细胞类型的浓度增加(例如,约1%、约2%、约3%、约4%、约5%、约6%、约7%、约8%、约9%、约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约100%、约200%、约500%或更多),该发现提供了一个指示,用抗HC抗体治疗(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)、其抗原结合片段或ADC已成功促进移植造血干细胞移植物的植入。

[1049] 由于施用抗HC抗体(例如,抗CD117抗体、抗CD45抗体、抗CD2抗体、抗CD5抗体、抗CD137抗体或抗CD252抗体)、其抗原结合片段或ADC而引起造血干细胞移植的植入可以在各种经验测量中表现出来。例如,移植造血干细胞的植入可以通过以下来评价:评估在施用能够结合由造血干细胞表达的抗原(例如,CD117(例如,GNKG+CD117),或CD45)或由成熟免疫细胞表达的抗原(例如T细胞(例如,CD2、CD5、CD137或CD252))的抗体或其抗原结合片段并

随后施用造血干细胞移植后患者骨髓内存在的竞争性再植单位 (CRU) 的数量。另外地, 可以通过将报告基因 (例如催化产生荧光、显色或发光产物的化学反应的酶) 并入供体造血干细胞已转染的载体中, 并随后监测造血干细胞所在组织 (例如骨髓) 中的相应信号来观察造血干细胞移植物的植入。还可以通过评价造血干细胞和祖细胞的数量和存活来观察造血干细胞植入, 例如, 通过本领域已知的荧光激活细胞分选 (FACS) 分析方法确定。还可以通过在移植后期间测量外周血中的白细胞计数, 和/或通过测量骨髓抽吸样品中供体细胞对骨髓细胞的回收来确定植入。

[1050] 实施例

[1051] 提出以下实施例, 从而向本领域普通技术人员提供如何使用、制备和; 评价本文所述的组合物和方法的描述, 并且旨在纯粹作为本发明的示例, 而不是旨在限制发明人认为其发明的范围。Ab1 指具有抗CD117抗体Ab67可变区的抗CD117抗体, 其序列在表5中提供。Ab2 指具有抗CD117抗体Ab85可变区的抗CD117抗体, 其序列在表5中提供。Ab3 指具有抗CD117抗体Ab249可变区的抗CD117抗体, 其序列在表5中提供。Ab4 是指具有抗CD117抗体CK6可变区的抗CD117抗体, 其序列在表5中提供。Ab5 是指导向CD45的单克隆抗体 (即, 抗CD45抗体)。此外, “ADC1” 和 “ADC2” 是指包含与至少一种药物缀合的抗体 (如本文公开的) 的两种抗体药物缀合物, 其中该药物是本文公开的鹅膏蕈毒素变体, 其中ADC1的鹅膏蕈毒素变体不同于ADC2的鹅膏蕈毒素变体。实施例7至实施例11中使用的抗CD117抗体被称为ADC1, 并且是通过可切割的接头与鹅膏蕈毒素缀合的具有Fc突变D265C和H435A (由EU索引定义) 的抗CD117抗体Ab85 (Ab2)。

[1052] 实施例1.Fc变体的体外Fc结合研究

[1053] 为了鉴定消除Fc γ 受体结合并且从而使抗体效应子功能沉默的Fc修饰, 在Octet结合测定中评估了Fc区域中含有一个或更多个氨基酸取代的IgG抗体, 以测量其结合不同Fc γ 受体的能力。测试了IgG1的Fc区域内的以下氨基酸取代 (根据EU索引, 氨基酸位置是指Fc区域):

[1054] D265A

[1055] D265C

[1056] D265C/H435A

[1057] D265C/LALA

[1058] D265A/LALA

[1059] D265C/LALA/H435A

[1060] D265C/N297G

[1061] D265C/N297G/H435A

[1062] D265C (EPLVLAdelG; 在本文中也称为 “IgG2*”)

[1063] D265C (EPLVLAdelG; 在本文中也称为 “IgG2*”) /H435A

[1064] D265C/N297Q/H435A

[1065] D265C/N297Q

[1066] EPLVLAdelG/H435A

[1067] N297A

[1068] N297G

- [1069] N297Q
[1070] D265C/N297A/H435A
[1071] LALA/P329G
[1072] EPLVLAdelG
[1073] LALA/P331G
[1074] D265A/H435A
[1075] D265C/LALA/P331G/H435A
[1076] N297A.IHH (即N297A.I253A.H310A.H435A)
[1077] CH2缺失
[1078] D265C/LALA
[1079] D265C/LALA/P329A/H435A

[1080] 在Fc修饰的上下文中在这些实施例中使用的“IgG2*”是指具有以下突变的Fc区域:E233P、L234V、L235A、hIgG1骨架中G236的缺失(即EPLVLAdelG)。

[1081] 在这些实施例中使用的野生型(WT)是指没有任何取代(除非另有说明)的IgG1 Fc区域,包括本文所述的那些取代。所有实施例中使用的“LALA”是指234和235位的两个氨基酸取代,特别是L234A和L235A。在一些实施方案中,本文的抗CD117抗体(或抗CD45抗体)包含Fc区域,该Fc区域包含以下修饰或修饰组合中的一种:D265A、D265C、D265C/H435A、D265C/LALA、D265C/LALA/H435A、D265C/N297G、D265C/N297G/H435A、D265C(in IgG1中的EPLVLAdelG)、D265C(in IgG1中的EPLVLAdelG)/H435A、D265C/N297Q/H435A、D265C/N297Q、EPLVLAdelG/H435A、N297A、N297G、N297Q、D265C/N297A/H435A、LALA/P329G、EPLVLAdelG、LALA/P331G、D265A/H435A、D265C/LALA/P331G/H435A、N297A.IHH、CH2缺失、D265C/LALA、或D265C/LALA/P329A/H435A。在许多不同的抗CD117抗体中测试了多种取代和取代的组合(参见图.1A-1E),包括中性抗CD117人抗体(即,Ab1)、CK6(也称为3100(即,Ab4))、拮抗抗CD117人抗体(即,Ab2和Ab3;Ab2和Ab3二者都是与CK6不同的拮抗抗体)和导向CD45的单克隆抗体(即,Ab5(抗CD45抗体))。

[1082] 结合测定使用生物层干涉装置(ForteBio)在具有(0.1%BSA,0.02%吐温-20)的磷酸盐缓冲盐水中在25℃下进行。多种Fcγ受体(即,人FcγR1(hFcγR1)、食蟹猴FcγRI(cyno FcγR1)、hFcγR2A 167R、hFcγR2A 167H、hFcγR2B、hFcγR2A 167F、hFcγR3A 176V或hFcγR3B)分别用生物素(“Bio”)或组氨酸(“His”)标签化,并且以10-25nM的浓度固定在链霉亲和素生物传感器或抗组氨酸生物传感器上。对于关联步骤,针对FcγR1结合研究,以25nM的浓度添加所示抗体,或者针对FcγR2A、2B或3A结合研究,以300nM的浓度添加所示抗体。在相似条件下,每种抗体变体的测量的结合响应被归一化为WT IgG1结合的水平。

[1083] 每种抗体变体相对于WT IgG1结合的归一化结合响应示于图1A中。每种抗体变体的归一化结合响应的定量示于图1B中。

[1084] 如上所述进行另外的结合测定,以测试多种Fc突变和基于抗CD45抗体的Fc突变组合(即,Ab5)和相应的抗CD45 ADC(参见图.1C)以及抗CD117抗体(即,Ab2)和相应的抗CD117 ADC(参见图.1D和1E),在相似条件下被归一化为WT IgG1结合的水平。

[1085] 这些结果证明,D265C单独不能完全消除Fcγ受体结合(参见图.1A和1B)。数据表

明,为了消除Fc γ 受体结合,D265C突变必须与其他突变组合,例如氨基酸取代L234A和L235A(“LALA”) (参见图.1A和1B)。应注意,含有突变D265C LALA的抗体基本上不结合Fc γ 受体,因此在效应子功能方面沉默(参见图.1A和1B)。事实上,具有带D265C LALA突变的Fc区域的抗CD117抗体的结合水平(参见图.1A和1B)基本上为零或检测不到。另外,图1C中的数据表明尽管D265A变体(单独)或LALA变体(单独)显示出与Fc γ R1(即,“Hu Fc1”)的一些可观察的结合,D265A和LALA的组合,以及D265C、N297A和H435A的组合(即,“D265C.N297A.H435A”)基本上不结合Fc γ 受体,因此在效应子功能方面沉默。抗体“YTH24.5 rIgG2b”是已知具有效应子功能的抗CD45抗体对照。数据表明人Fc γ R1(即,“Hu Fc1”)上的沉默顺序对于D265A和LALA的组合(即,“D265A.LALA”)以及D265C和N297A的组合(数据未提供),然后LALA(单独)、N297A(单独;数据未提供)、D265A(单独)和野生型(WT)是最显著的(参见图.1C)。数据还表明裸(未缀合的)抗体Ab5和相应的ADC(即,缀合抗体)是相似的(参见图.1C),表明毒素没有显著影响Fc沉默,并且还表明相应的Fc沉默ADC使非靶标毒性最小化。图1D和1E中的数据表明D265C、LALA和H435A的组合(即,“D265C.LALA.H435A”)基本上不结合Fc γ 受体,因此在效应子功能方面沉默。该数据还证明裸(未缀合的)抗体(即,同种型对照)和Ab2ADC(即,缀合抗体)基本上不结合所测试的Fc γ 受体,因此在效应子功能方面沉默(参见图.1D和1E),表明毒素不影响Fc沉默,并且还表明相应的Fc沉默的ADC使非靶标毒性最小化。

[1086] 实施例2.使用肥大细胞脱颗粒测定的Fc变体的体外分析

[1087] 为了分析Fc修饰可以减少抗体触发的肥大细胞脱颗粒,使用体外肥大细胞脱颗粒测定评估了实施例1中所述的具有Fc突变的抗体。

[1088] 肥大细胞来源于在IL-6和SCF的存在下体外培养8-12周后动员的外周血CD34+细胞。细胞在没有IL-6和SCF的情况下,在150mg/kg干扰素 γ (IFN γ)的存在下培养过夜。将100nM的每种所示抗体与肥大细胞在37 $^{\circ}$ C下孵育30分钟。在用阳性对照抗体(即,“NEG085”和“104D2”)、阴性对照抗体(hIgG1)或每种指示的中性或拮抗抗体变体处理肥大细胞后通过测量 β -己糖胺酶释放到培养物上清液中来评估肥大细胞脱颗粒。

[1089] 通过将上清液与对硝基苯基N-乙酰基- β -D-葡萄糖酰胺(PNAG)在37 $^{\circ}$ C混合60-90分钟,然后添加甘氨酸来测量 β -己糖胺酶释放,在图2中显示为405nm处的吸光度。这些结果表明,在实施例1中被鉴定为Fc沉默突变的D265C LALA突变的组合(即,“D265C.LALA”)在中性抗体(即,Ab1)的情况下也能够减少肥大细胞脱颗粒的活化,因为确定的水平类似于阴性对照(IgG1匹配同种型)。

[1090] 实施例3.使用细胞因子释放测定的Fc变体的体外分析

[1091] 使用体外人外周血单核细胞(PBMC)细胞因子释放(CRA)测定评估具有经修饰的Fc区域的抗体的每种抗体(例如,Ab1、Ab2、Ab4和Ab5)触发细胞因子释放的能力。

[1092] 将从四个供体分离的人PBMC悬浮在具有2%自体血清的Roswell Park Memorial Institute (RPMI)培养基中(图.3A-3D)。通过在添加人PBMC之前将抗体在37 $^{\circ}$ C下湿法包被(如下所述的程序)到非组织培养板上1小时(图.3A-3D),将指示抗CD117抗体(即,Ab1和Ab2)及变体(即,Ab1和Ab2变体)或阳性对照(OKT3)固定。将PBMC与包被的抗体一起孵育过夜。收集上清液并用Meso Scale Discovery (MSD)组织培养物(TC)促炎试剂盒进行分析,以评估与阳性对照(即,同种型hIgG1、OKT3(阳性对照)、阿仑单抗(阳性对照))相比的细胞因

子释放。

[1093] 所测试的细胞因子是IL-6(图3A)、IL-8(图3B)、TNF α (图3C)、IL-1 β (图3D)、IL12p70(数据未显示)、IL-10(数据未显示)和IFN γ (数据未显示)。IL12p70、IL10和IFN γ 水平低于定量限。

[1094] 对于所有所测试的细胞因子(图.3A-3D),在Fc沉默的抗CD117抗体(例如,D265C.LALA)中观察到细胞因子释放的显著减少。

[1095] 进行另外的体外细胞因子释放测定以使用体外人外周血单核细胞(PBMC)细胞因子释放(CRA)测定评估另外抗体变体(即,Ab4和Ab5)触发细胞因子释放(例如,粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF))的能力(即,图.3E)。

[1096] 对于这些体外细胞因子测定,使用了三种不同的抗体呈递方法。对于湿法包被方法,使用100-150 μ L的PBS中的10 μ g抗体在37 $^{\circ}$ C下湿法包被经非组织培养物处理的圆底96孔板1-2小时。湿法包被抗体后,除去过量抗体,并用1x的200 μ L PBS洗涤。从四个供体的全血中分离出新鲜的人PBMC。将PBMC重悬于具有2%自体血清的RPMI培养基中。然后向每个孔中添加200 μ L培养基中的250,000PBMC,并在5%CO₂组织培养培养箱中在37 $^{\circ}$ C下与湿包被的抗体一起孵育过夜。然后将96孔板以500G离心10分钟,收集100 μ L上清液,并使用中尺度发现多重测定(MSD)人TC促炎试剂盒(Meso Scale Diagnostics,LLC;产品编号K15008B)分析。抗CD3单克隆抗体OKT3用作细胞因子释放测定的阳性对照。

[1097] 对于干法包被方法,将20 μ L PBS中的1或10 μ g抗体添加到经非组织培养处理的圆底96孔板中,并在室温下孵育过夜,以蒸发溶液并干法包被抗体。从供体的全血中分离出新鲜的人PBMC并重悬浮。在RPMI 1640培养基中,将在具有1%Pen-strep的200 μ L 2%自体血清中的250,000PBMC添加到板的每个孔中,并在5%CO₂组织培养培养箱中在37 $^{\circ}$ C下孵育过夜。然后将96孔板以500G离心10分钟,收集100 μ L上清液,并使用中尺度发现多重测定(MSD)人TC促炎试剂盒(Meso Scale Diagnostics,LLC;产品编号K15008B)分析。抗CD3 mAb抗体OKT3用作细胞因子释放测定的阳性对照。

[1098] 对于溶液包被法,从供体的全血中分离出新鲜的人PBMC。在RPMI 1640培养基中,将250,000细胞重悬于具有1%Pen-strep的200 μ L 2%自体血清中。然后将细胞置于经非组织培养处理的圆底96孔板中。将10 μ g抗体添加到含有PBMC的孔中,并在5%CO₂组织培养培养箱中在37 $^{\circ}$ C孵育过夜。然后将板以500G离心10分钟,收集100 μ L上清液,并使用中尺度发现多重测定(MSD)人TC促炎试剂盒(Meso Scale Diagnostics,LLC;产品编号K15008B)分析。抗CD3 mAb抗体OKT3用作细胞因子释放测定的阳性对照。

[1099] 图.3E中的结果证明对于三种抗体呈递方法中每一种,在Fc沉默的抗CD45抗体(即,Ab5)(例如,D265C.H435A)和Ab4中细胞因子GM-CSF的释放显著减少。对于TNF α 、IL-1 β 、IFN γ 和IL-6观察到相似的结果,其表明Fc沉默的抗CD45抗体(即,Ab5)防止体外细胞因子的释放(数据未显示)。

[1100] 实施例4.使用吞噬作用测定体外分析Fc变体

[1101] 为了分析Fc修饰可以降低抗体依赖性细胞吞噬作用的程度,与对照相比,使用体外抗体依赖性细胞吞噬作用测定评估具有Fc突变D265C.LALA.H435A或D265C.H435A的抗CD117抗体(即,Ab2)。

[1102] 使用RosetteSep试剂盒(StemCell Technologies)从新鲜抽取的人全血中分离出

单核细胞,然后在巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的存在下孵育6天,以产生单核细胞衍生的巨噬细胞(MDM)。通过对暴露于表面的CD14染色来标记所得的MDM,并与经CFSE标记的Kasumi-1细胞和1:2摩尔比的MDM与Kasumi-1细胞一起孵育2小时。将所得混合物在37℃下与递增浓度的所示抗体一起孵育2小时。通过确定CFSE和CD134染色的共表达,使用流式细胞术评估抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)(图4A)与所示抗体(即,Ab2(WT)、Ab2 D265C.LALA.H435A和Ab2 D265C.H435A)孵育后,阳性对照(即,效应子增强的抗CD117抗体)或阴性对照(即,同种型hIgG4和同种型hIgG1)。

[1103] 结果表明,效应子增强的抗CD117抗体(阳性对照)和Ab2(WT)有利于了强有力的ADCP活性(图4B)。另外,观察到Ab2 D265C.H435A由于Fc效应子沉默增加而导致ADCP活性部分降低(即, EC_{50} 从效应子增强的抗CD117抗体的14.7pM的 EC_{50} 和Ab2(WT)的23.7pM的 EC_{50} 增加到Ab2D265C.H435A的36.4pM的 EC_{50}),而Ab2 D265C.LALA.H435A的结果表明,与适当的对照相比,由于强有力的Fc效应子沉默,ADCP活性显著降低(图4B)。这些数据一起表明,ADCP活性可以降低到基线水平,其中抗体被基因工程化以使Fc沉默。

[1104] 实施例5.Fc变体热稳定性的体外分析

[1105] 通过差示扫描荧光分析法(DSF)评价经Fc修饰的抗体,以评估具有所示氨基酸取代的每种抗体的热稳定性。根据蛋白质热转移试剂盒说明书(Applied biosystems,蛋白质热转移染料试剂盒(部件#4461146)),使用Life Technologies的应用生物系统Quant Studio 7Flex仪器分析20微克与蛋白质热转移缓冲液和染料组合的抗体,并确定每种抗体的熔化温度(T_m)(参见图5A、5B和5C,及图6A和6B)。

[1106] 同一抗体骨架上的突变仅导致CH2结构域去折叠温度的变化。Fab去折叠温度保持不变(图6A和6B)。D265C的引入降低了WT的热稳定性(图6A)。H435A还导致稳定性进一步下降(图6A)。然而,将LALA突变引入经修饰的Fc区域并没有导致另外的不稳定性(图6A和6B)。

[1107] 实施例6:Fc变体的加速稳定性的体外分析

[1108] 在60℃下孵育30分钟后,通过疏水相互作用色谱(HIC)和尺寸排阻色谱(SEC)评价每种所示抗体(和抗体变体)的加速稳定性。为了评估在60℃下处理每种所示抗体30分钟后疏水性降解物的水平,将25μg所示抗体注射到Waters ACQUITY Arc HPLC系统上的Tosoh TSKgel Phenyl-5PW,7.5mm ID x7.5cm,10μM的柱上。使用280nm处的UV吸光度来检测洗脱的蛋白质,并将结果报告为抗体单体峰的面积百分比(图7A、7B、8A和8D)或疏水性降解物峰(图7A、7B、8B、8C和8E)。D265C LALA和D265C H435A LALA变体在热应激后表现出低水平的疏水性降解(图8A)。另外,D265C.H435A.LALA变体与D265C.H435A变体相比显示出显著提高的稳定性(图8C)。

[1109] 在每种抗体在60℃下处理30分钟后,使用SEC还测试了每种抗体变体的高分子量(HMW)物种形成百分比,这是聚集倾向的指示。SEC分析在具有Waters ACQUITY UPLC蛋白质BEH SEC柱(1.7μm,4.6mm X 150mm柱)的Waters ACQUITY Arc HPLC系统上进行。将25μg所示抗体注射到柱上,并用280nm处的UV吸光度检测洗脱的蛋白质。结果报告为抗体单体峰的面积百分比(图9A和9D)或HMW聚集峰百分比(图9B、9C和9E)。D265C LALA和D265C H435A LALA变体在热应激后显示出低水平的聚集(图9B)。另外,与D265C.H435A相比,D265C.H435A.LALA变体显示出提高的稳定性,以及更低的聚集(图9C)。

[1110] 实施例7.非人灵长类动物药代动力学分析

[1111] 进行非人灵长类动物药代动力学测定,以确定通过接头(可切割)与鹅膏蕈毒素缀合的包含具有Fc突变D265C和H435A(由EU索引定义,即,Ab2D265C.H435A)的抗CD117抗体Ab85(在本文中也可互换称为Ab2)的抗CD117 ADC的清除率。图10A和10B中的结果表明具有经Fc修改的Ab85(即,Ab2)抗体的ADC在食蟹猴中显示出快速清除,其半衰期适用于患者准备移植($n=3$ /组)。总ADC(实线)和鹅膏蕈毒素(虚线)检测的清除率相似。图10A示出了总ADC(实线)和鹅膏蕈毒素(虚线)的清除率。如图10A和10B所示,施用后三天不再可检测到ADC。这为安全的移植物灌注提供了目标靶细胞耗尽和ADC快速消除后的窗口。

[1112] 实施例8. 体内剂量递增研究中靶细胞群耗尽的分析

[1113] 将包含通过接头与鹅膏蕈毒素缀合的抗CD117抗体Ab2的抗CD117 ADC基因工程化以具有D265C和H435A突变(即,ADC1),产生快半衰期的抗CD117 ADC。在第0天食蟹猴的组群(每组群3只猴)施用不同剂量的ADC1或对照(即,0.1mg/kg;0.3mg/kg;或对照(PBS))。在施用后第7天收集骨髓抽吸物。通过流式细胞术(结果数据在图11A和11C中提供)和评估骨髓抽吸物中菌落形成单位(CFU)(结果数据在图11B和11D中提供)来定量表型HSC。数据以图的方式表示为不同剂量的ADC1抗体药物缀合物(ADC)相对于对照(即,PBS)的函数(x轴),如图11A-11D所示。图11C和11D还示出了对应于未缀合的抗CD117抗体(“抗CD117”)的数据。图11E示出了在第7天收集并通过流式细胞术检测的骨髓的表型分析(图11E)。

[1114] 图11A-11D中的结果表明,经基因工程化的快半衰期抗CD117-鹅膏蕈毒素ADC(即,ADC1)选择性地耗尽食蟹猴的靶细胞群。特别地,数据显示,观察到目标剂量依赖性耗尽HSC(图11A和11C)和CFU(图11B和11D)。因此,这些数据证明,ADC1在体内表现出对NHP HSC和祖细胞的有效选择性消除,从而快半衰期ADC1为骨髓移植前的靶细胞耗尽和快速清除提供了模型,这潜在地在骨髓移植前患者准备的标准护理程序方面提供了显著改善,并且允许更多患者接受移植。

[1115] 实施例9. 体内剂量递增研究中嗜中性细胞计数和淋巴细胞计数的分析

[1116] 在第0天食蟹猴组群(每组群3只猴)施用不同剂量的ADC1(即,0.1mg/kg;0.3mg/kg;或对照(PBS))。在整个研究过程中收集了外周血。在整个研究过程中对血液学进行了评价。测量嗜中性细胞计数($10^3/\text{mL}$)和淋巴细胞计数($10^3/\text{mL}$),并且以图的方式表示为施用后天数的函数,如图12A-12C所示。图12C还示出了对应于施用未缀合的抗CD117抗体(“抗CD117”)的食蟹猴的淋巴细胞计数的数据。

[1117] 图12A-12C中的结果表明,当淋巴细胞被保留(即,淋巴细胞计数保持在正常范围内)。这些数据还表明,适应性免疫系统的保护以及嗜中性细胞最低点的延迟发作(18天),潜在地缩短嗜中性白血球减少症的周期。

[1118] 实施例10. 体内剂量递增研究中血浆ALT和胆红素的分析

[1119] 在第0天食蟹猴组群(每组群3只猴)施用不同剂量的ADC1,该ADC1被基因工程化以具有D265C和H435A突变,产生快半衰期抗CD117 ADC(即,0.1mg/kg;0.3mg/kg;或对照(PBS))。在整个研究过程中对临床化学进行了评价。测量血浆ALT(丙氨酸氨基转移酶)和胆红素水平,用图的方式表示为施用后天数的函数,如图13A-13C所示。图13C还示出了对应于施用未缀合的抗CD117抗体(“抗CD117”)的食蟹猴的血浆ALT水平的数据。处理后35天另外对肝和肾组织进行评价(图14)。组织经福尔马林固定,石蜡包埋,用苏木精和伊红(H&E)染色,用Aperio AT2高通量扫描仪成像(图14)。

[1120] 图13A-13C中的结果表明,在用最高剂量的同种型-AM处理的组(数据未显示)和不同剂量的ADC1处理的组中观察到肝酶和胆红素的瞬时剂量依赖性升高(*p<0.05,**p<0.01,当比较ADC1与载体时)。观察到另外的参数(即,GGT、白蛋白、BUN、PT、ALP、肌酐、葡萄糖、LDH或PTT)的正常上限(ULN)以上无变化。此外,在处理35天后,在肝和肾组织中没有观察到组织病理学变化,如图14所示。

[1121] 实施例11. 体内研究中网织红细胞计数的分析

[1122] 在第0天食蟹猴组群施用不同剂量的ADC1,该ADC1被基因工程化以具有D265C和H435A突变,产生快半衰期抗CD117 ADC (0.1mg/kg,0.3mg/kg)、未缀合的CD117抗体或对照(PBS)。使用血液分析仪测量网织红细胞计数($10^9/L$),并且以图的方式表示为施用后天数的函数,如图15所示。

[1123] 图15中的结果表明,与基线(即,PBS)网织红细胞计数相比,施用快半衰期ADC 1 (0.1mg/kg剂量-0.3mg/kg剂量)时网织红细胞的剂量依赖性耗尽。未观察到同种型AM对照的耗尽(数据未显示),表明网织红细胞的目标耗尽。

[1124] 表5:氨基酸序列总结

[1125]	序列标识符	描述	氨基酸序列
	SEQ ID NO:1	CK6 CDR-H1	SYWIG
	SEQ ID NO:2	CK6 CDR-H2	IIYPGDS DTRYSPSFQG
	SEQ ID NO:3	CK6 CDR-H3	HGRGYNGYEGAFDI
	SEQ ID NO:4	CK6 CDR-L1	RASQGISSALA
	SEQ ID NO:5	CK6 CDR-L2	DASSLES

[1126]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO:6	CK6 CDR-L3	CQQFNSYPLT
SEQ ID NO:7	Ab85 CDR-H1	NYWIG
SEQ ID NO:8	Ab85 CDR-H2	IINPRDS TRYRPSFQG
SEQ ID NO:9	Ab85 CDR-H3	HGRGYEGYEGAFDI
SEQ ID NO:10	Ab85 CDR-L1	RSSQGIRSDLG
SEQ ID NO:11	Ab85 CDR-L2	DASNLET
SEQ ID NO:12	Ab85 CDR-L3	QQANGFPLT
SEQ ID NO:13	Ab 85 的重链 可变区	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT NYWIGWVRQMPGKGLEWMAIINPRSDT RYRPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKA SDTAMYYCARHGRGYEGYEGAFDIWGQG TLVTVSS
SEQ ID NO:14	Ab 85 的轻链 可变区	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRSSQGIRS DLGWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQA NGFPLTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:15	重链恒定区 (野生型 (WT))	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSL SLSPGK
SEQ ID NO:16	具有 L234A、 L235A (LALA)突变 的重链恒定区 (突变呈粗 体)*	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSL SLSPGK

[1127]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO:17	具有 D265C 突变的重链恒定区 (突变呈粗体) *	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVCV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
SEQ ID NO:18	具有 H435A 突变的重链恒定区 (突变呈粗体) *	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNAYTQKSL SLSPGK
SEQ ID NO:19	重链恒定区: 具有 L234A、 L235A、D265C 突变的经修饰 的 Fc 区域 (突 变呈粗体) *	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVCV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK

[1128]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO:20	重链恒定区： 具有 L234A、 L235A、 D265C、 H435A 突变的 经修饰的 Fc 区 域（突变呈粗 体）*	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVCV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNAYTQKSL SLSPGK
SEQ ID NO:21	Ab85 全长重 链序列；恒定 区域加下划线	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT NYWIGWVRQMPGKGLEWMAIINPRSDT RYRPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKA SDTAMYYCARHGRGYEGYEGAFDIWGQG TLVTVSS <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA</u> <u>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP</u> <u>AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV</u> <u>NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA</u> <u>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV</u> <u>VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT</u> <u>KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK</u> <u>EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ</u> <u>VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA</u> <u>VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY</u> <u>SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH</u> <u>YTQKSLSLSPGK</u>

[1129]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO:22	Ab85 全长重链序列; 恒定区加下划线; 具有 L234A、L235A 突变的经修饰的 Fc 区域 (突变呈粗体) *	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT NYWIGWVRQMPGKGLEWMAIINPRSDT RYPSPFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKA SDTAMYYCARHGRGYEGYEGAFDIWGQG TLVTVSS <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA</u> <u>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP</u> <u>AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV</u> <u>NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA</u> <u>PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC</u> <u>VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK</u> <u>TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG</u> <u>KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP</u> <u>QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD</u> <u>IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL</u> <u>YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN</u> <u>HYTQKSLSLSPGK</u>
SEQ ID NO:23	Ab85 全长重链序列; 恒定区: 加下划线; 具有 L234A、L235A、D265C 突变的经修饰的 Fc 区域 (突变呈粗体) *	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT NYWIGWVRQMPGKGLEWMAIINPRSDT RYPSPFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKA SDTAMYYCARHGRGYEGYEGAFDIWGQG TLVTVSS <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA</u> <u>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP</u> <u>AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV</u> <u>NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA</u> <u>PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC</u> <u>VVVCVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK</u> <u>TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG</u> <u>KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP</u> <u>QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD</u> <u>IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL</u> <u>YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN</u> <u>HYTQKSLSLSPGK</u>

[1130]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO:24	Ab85 全长重链序列 (LALA - D265C - H435A 突变); 恒定区加下划线	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT NYWIGWVRQMPGKGLEWMAIINPRSDT RYRPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKA SDTAMYYCARHGRGYEGYEGAFDIWGQG TLVTVSS <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA</u> <u>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA</u> <u>AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV</u> <u>NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA</u> <u>PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC</u> <u>VVVCVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK</u> <u>TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG</u> <u>KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP</u> <u>QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD</u> <u>IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL</u> <u>YSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALHN</u> <u>AYTQKSLSLSPGK</u>
SEQ ID NO:25	轻链恒定区	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO:26	Ab85 全长轻链; 恒定区加下划线	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQGIRS DLGWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPS RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQA NGFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD <u>EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV</u> <u>DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSSTLT</u> <u>LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF</u> <u>NRGEC</u>
SEQ ID NO:27	CK6 重链可变区氨基酸序列 (CDR 粗体)	QVQLVQSGAAVKKPGESLKISCKGSGYRF <u>TSYWIG</u> WVRQMPGKGLEWMG <u>IIYPGDSD</u> <u>TRYSPSFQG</u> QVTI SAGKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR <u>H</u> <u>GRGYNGYEGAFDI</u> WGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO:28	CK6 轻链可变区氨基酸序列 (CDR 粗体)	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>RASQGISS</u> <u>ALA</u> WYQQKPGKAPKLLIY <u>DASSLES</u> GVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYY <u>CQQFNSYPLT</u> FGG GTKVEIK

[1131]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 29	人 CD2 序列	MSFPCKFVAS FLLIFNVSSK GAVSKEITNA LETWGALGQD INLDIPSFQM SDDIDDIKWE KTSDKKKIAQ FRKEKETFKE KDTYKLFKNG TLKIKHLKTD DQDIYKVSIIY DTKGKNVLEK IFDLKIQERV SKPKISWTCI NTTLTCEVMN GTDPELNLYQ DGKHLKLSQR VITHKWTTSL SAKFKCTAGN KVSKESSVEP VSCPEKGLDI YLIIGICGGG SLLMVFVALL VFYITKRKKQ RSRRNDEELE TRAHRVATEE RGRKPHQIPA STPQNPATSQ HPPPPPGHRS QAPSHRPPPP GHRVQHQPQK RPPAPSGTQV HQQKGPPPLPR PRVQPKPPHG AAENSLSPSS N
SEQ ID NO: 30	抗 CD2 抗体 H1	EYYMY
SEQ ID NO: 31	抗 CD2 抗体 H2	RIDPEDGSIDYVEKFKK
SEQ ID NO: 32	抗 CD2 抗体 H3	GKFNYRFAY
SEQ ID NO: 33	抗 CD2 抗体 L1	RSSQSLLHSSGNTYLN
SEQ ID NO: 34	抗 CD2 抗体 L2	LVSLES
SEQ ID NO: 35	抗 CD2 抗体 CDR-L3	MQFTHYPYT
SEQ ID NO: 36	抗 CD2 重链可 变区	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTF TEYYMYWVRQAPGQGLELMGRIDPEDGSI DYVEKFKKKVTLTADTSSSTAYMELSSLTS DDTAVYYCARGKFNYRFAYWGQGLTVTV SS
SEQ ID NO: 37	抗 CD2 轻链可 变区	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLH SSGNTYLNWLLQRPQGSPQPLIYLVSKLES GVPDRFSGSGSGTDFTLKISGVEAEDVGV YYCMQFTHYPYTFGQGTKLEIK

[1132]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 38	抗 CD2 (RPA-2.10) CDR-H1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 39	抗-CD2 (RPA-2.10) CDR-H2	SGGGF
SEQ ID NO: 40	抗 CD2 (RPA-2.10) CDR-H3 变体 1	SSYGEIMDY
SEQ ID NO: 41	抗 CD2 (RPA-2.10) CDR-H3 变体 2	SSYGELMDY
SEQ ID NO: 42	抗-CD2 (RPA-2.10) CDR-L1	RASQRIGTSIH
SEQ ID NO: 43	抗-CD2 (RPA-2.10) CDR-L2	YASESIS
SEQ ID NO: 44	抗-CD2 (RPA-2.10) CDR-L3	QQSHGWPF
SEQ ID NO: 45	抗-CD2 (RPA-2.10) 重链可变区 变体 1	EVKLVESGGGLVLPKPGGSLKLSAASGFTFS SYDMSWVRQTPEKRLEWVASISGGGFLYY LDSVKGRFTISRDNARNILYLHMTSLRSED TAMYYCARSSYGEIMDYWGQGTSTVTVSS
SEQ ID NO: 46	抗 CD2 (RPA-2.10) 重链可变区 变体 2	EVKLVESGGGLVLPKPGGSLKLSAASGFTFS SYDMSWVRQTPEKRLEWVASISGGGFLYY LDSVKGRFTISRDNARNILYLHMTSLRSED TAMYYCARSSYGEIMDYWGQGTSTVTVSS
SEQ ID NO: 47	抗 CD2 (RPA-2.10) 轻链可变区	DILLTQSPAILSVPGERVSFSCRASQRIGTSI HWYQQRTTGSPRLIKYASESISGIPSRFSG SGSGTDFTLINSVESEDVADYYCQQSHG WPFTEGGGKLEIE

[1133]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 48	人 CD5 氨基酸 序列 (同种型 1)	MPMGSLQPLATLYLLGMLVASCLGRLSWY DPDFQARLTRSNSKCQGQLEVYLDGWH MVCSQSWGRS SKQWEDPSQA SKVCQRLNCG VPLSLGPFLV TYTPQSSIIC YGQLGSFSNCSHSRNDMCHS LGLTCLEPQK TTPPTTRPPP TTTPEPTAPP RLQLVAQSGG QHCAGVVEFYSGSLGGTISY EAQDKTQDLE NFLC>NNLQCG SFLKHLPETE AGRAQDPGEP REHQPLPIQWKIQNSSCTSL EHCFRKIKPQ KSGRVLALLC SGFQPKVQSR LVGGSSICEG TVEVRQGAQWAALCDSSAR SSLRWEEVCR EQQCGSVNSY RVLDAGDPTS RGLFCPHQKL SQCHELWERNYSYCKKVFTVC QDPNPAGLAA GTVASIILAL VLLVLLVVC GPLAYKKLVK KFRQKKQRQWIGPTGMNQNM SFHRNHTATV RSHAENPTAS HVDNEYSQPP RNSHLSAYPA LEGALHRSSMQPDNSSDSY DLHGAQRL
SEQ ID NO: 49	抗 CD5 (人源 化 5D7) 重链 可变区 (CDR 呈粗体)	QVTLKESGPVLVKPTETLTCTFSG FSLST SGMG VGWIRQAPGKGLEWVAHI WWDDD VYYNPSLKSRLTITKDASKDQVSLKLSSVT AADTAVYYCVR RRATGTGFDY WGQGT LTVSS
SEQ ID NO: 50	抗 CD5 (人源 化 5D7) 轻链 可变区 (CDR 呈粗体)	NIVMTQSPSSLSASVGDRVITITCQAS QDVG TAVAWYQQKPDQSPKLLIYWTSTRHTGV PDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDIATYFCH QYNSYNTFGSGTKLEIK
SEQ ID NO: 51	抗 CD5 (人源 化 5D7) CDR-H1	FSLSTSGMG
SEQ ID NO: 52	抗 CD5 (人源 化 5D7) CDR-H2	WWDDD
SEQ ID NO: 53	抗 CD5 (人源 化 5D7) CDR-H3	RRATGTGFDY

[1134]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 54	抗 CD5 (人源 化 5D7) CDR-L1	QDVGTA
SEQ ID NO: 55	抗 CD5 (人源 化 5D7) CDR-L2	WTSTRHT
SEQ ID NO: 56	抗 CD5 (人源 化 5D7) CDR-L3	YNSYNT
SEQ ID NO: 57-277	多种抗 CD5 抗体的 CDR 氨基酸序列	
SEQ ID NO: 278	抗 CD137 抗体 CDR-H1	STYWIS
SEQ ID NO: 279	抗 CD137 抗体 CDR-H2	KIYPGDSYTNYSFQGG
SEQ ID NO: 280	抗 CD137 抗体 CDR-H3	RGYGIFDY
SEQ ID NO: 281	抗 CD137 抗体 CDR-L1	SGDNIGDQYAH
SEQ ID NO: 282	抗 CD137 抗体 CDR-L2	QDKNRPS
SEQ ID NO: 283	抗 CD137 抗体 CDR-L3	ATYTGFGSLAV
SEQ ID NO: 284	抗 CD137 抗体 CDR-L3	STYTFVGFTTV
SEQ ID NO: 285	抗 CD137 抗体 CDR-H1	NSYAIS
SEQ ID NO: 286	抗 CD137 抗体 CDR-H2	GIIPGFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 287	抗 CD137 抗体 CDR-H3	RKNEEDGGFDH
SEQ ID NO: 288	抗 CD137 抗体 CDR-L1	SGDNLGDYYAS
SEQ ID NO: 289	抗 CD137 抗体 CDR-L2	DDSNRPS
SEQ ID NO: 290	抗 CD137 抗体 CDR-L3	QTWDGTLHFV
SEQ ID NO: 291	抗 CD137 抗体 CDR-H1	SDYYMH

[1135]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 292	抗 CD137 抗体 CDR-H2	VISGSGSNTYYADSVKG
SEQ ID NO: 293	抗 CD137 抗体 CDR-H3	RLYAQFEGDF
SEQ ID NO: 294	抗 CD137 抗体 CDR-L1	SGDNIGSKYVS
SEQ ID NO: 295	抗 CD137 抗体 CDR-L2	SDSERPS
SEQ ID NO: 296	抗 CD137 抗体 CDR-L3	QSWDGSISRV
SEQ ID NO: 297	抗 CD137 (ch-BBK2) 重链序列 (CDR 呈粗体)	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKAS <u>SGYTF</u> <u>TSYW</u> INWVKQRPGQGLEWIG <u>NIYPSDSYT</u> NYNQKFKDKATLTVDKSSNTVYMQLNSPT SEDSAVYYC <u>TRNGVEGYPHYAME</u> YWG QGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 298	抗 CD137 (ch-BBK2) 轻链序列 (CDR 呈粗体)	DIQMTQTTSALSASLGDRVTIGCRAS <u>SQDLS</u> <u>NH</u> LYWYQQKPDGTVKLLI <u>YYTS</u> RLHSGVP SRFSGSGSGTDYSLTIRNLEQEDVATYF <u>CQ</u> <u>QGYTL</u> PYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
SEQ ID NO: 299	抗 CD137 (ch-BBK2) CDR-H1	SGYTFTSYW
SEQ ID NO: 300	抗-CD137 (ch-BBK2) CDR-H2	NIYPSDSYT

[1136]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 301	抗-CD137 (ch-BBK2) CDR-H3	TRNGVEGYPHYAME
SEQ ID NO: 302	抗-CD137 (ch-BBK2) CDR-L1	SQDLSNH
SEQ ID NO: 303	抗-CD137 (ch-BBK2) CDR-L2	YYTS
SEQ ID NO: 304	抗-CD137 (ch-BBK2) CDR-L3	CQQGYTLPY
SEQ ID NO: 305	抗-CD137 (ch-BBK2) CDR-H1	SYWIN
SEQ ID NO: 306	抗-CD137 (ch-BBK2) CDR-H2	NIYPSDSYTNYNQKFKD
SEQ ID NO: 307	抗-CD137 (ch-BBK2) CDR-H3	NGVEGYPHYAMEY
SEQ ID NO: 308	抗-CD137 (ch-BBK2) CDR-L1	RASQDLSNHLY
SEQ ID NO: 309	抗-CD137 (ch-BBK2) CDR-L2	YTSRLHS
SEQ ID NO: 310	抗-CD137 (ch-BBK2) CDR-L3	QQGYTLPYT
SEQ ID NO: 311	抗-CD137 重 链可变区序列 (BBK2)	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYTF TSYWINWVKQRPGQGLEWIGNIYPSDSYT NYNQKFKDKATLTVDKSSNTVYMQNLSPT SEDSAVYYCTRNGVEGYPHYAMEYWGQ GTSVTVSS
SEQ ID NO: 312	抗-CD137 轻 链可变区序列 (BBK2)	DIQMTQTTSALSASLGDRVTIGCRASQDLS NHLYWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVP SRFSGSGSGTDYSLTIRNLEQEDVATYFCQ QGYTLPYTFGGGTKLEIK

[1137]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 313	人 CD252 (即 OX40L) -同种 型 1	MERVQPLEENVGNAARPRFERNKLLLVAS VIQGLGLLLCFTYICLHFSALQVSHRYPRIQ SIKVQFTEYKKEKGFIILTSQKEDEIMKVQN NSVIINCDGFYILSLKGYFSQEVNISLHYQK DEEPLFQLKKVRSVNSLMVASLTYKDKVY LNVTTDNTSLDDFHVNGGELILIHQNPGEF CVL
SEQ ID NO: 314	人 CD252 (即 OX40L) -同种 型 2	MVSHRYPRIQSIKVQFTEYKKEKGFIILTSQ KEDEIMKVQNNNSVIINCDGFYILSLKGYFS QEVNISLHYQKDEEPLFQLKKVRSVNSLM VASLTYKDKVYLNVTDDNTSLDDFHVNGG EL ILIHQNPGEFCVL
SEQ ID NO: 315	抗-CD252 VH 氨基酸序列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYAMNWVRQAPGKGLEWVSTISGSGGAT RYADSVKGRFTISRDNRSNTVYLQMNSLR VEDTAVFYCTKDRLIMATVRGPYYYGMD VWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 316	抗-CD252 VL 氨基酸序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISS YLNWYQQKPGKAPNLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSETDFTLTISLQPEDFATYYCQQS HSVSFTFGPGTKVDIK
SEQ ID NO: 317	抗-CD252 CDR-H1 氨基 酸序列	GFTFSNYA
SEQ ID NO: 318	抗-CD252 CDR-H2 氨基 酸序列	ISGSGGAT
SEQ ID NO: 319	抗-CD252 CDR-H3 氨基 酸序列	TKDRLIMATVRGPYYYGMDV
SEQ ID NO: 320	抗-CD252 CDR-L1 氨基 酸序列	QSISSY
SEQ ID NO: 321	抗-CD252 CDR-L2 氨基 酸序列	AAS
SEQ ID NO: 322	抗-CD252 CDR-L3 氨基 酸序列	QQSHSVSFT

[1138]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 323	奥塞芦单抗 (oxelumab) 全长重链氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFN SYAMSWVRQAPGKGLEWVSIISGSGGFTY YADSVKGRFTISRDNSTTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKDRLVAPGTFDYWGQGalVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
SEQ ID NO: 324	奥塞芦单抗全 长轻链氨基酸 序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISS WLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQY NSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
SEQ ID NO: 325	奥塞芦单抗 CDR-H1 氨基酸序列	GFTFNSYA
SEQ ID NO: 326	奥塞芦单抗 CDR-H2 氨基酸序列	ISGSGGFT
SEQ ID NO: 327	奥塞芦单抗 CDR-H3 氨基酸序列	AKDRLVAPGTFDY
SEQ ID NO: 328	奥塞芦单抗 CDR-L1 氨基酸序列	QGISSW
SEQ ID NO: 329	奥塞芦单抗 CDR-L2 氨基酸序列	AAS

[1139]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 330	奥塞芦单抗 CDR-L3 氨基酸序列	QQYNSYPYT
SEQ ID NO: 331	奥塞芦单抗 VH 氨基酸序列	<u>EVQLLES</u> <u>GGGLVQPGGSLRL</u> <u>SCAASGFTFN</u> <u>SYAMSWVRQAPGKGLEWVSIISGSGGFTY</u> <u>YADSVKGRFTISRDN</u> <u>SRTTLYLQMNSLRAE</u> <u>DTAVYYCAKDRLVAPGTFDYWGQ</u> <u>GALVT</u> <u>VSS</u>
SEQ ID NO: 332	奥塞芦单抗 VL 氨基酸序列	<u>DIQMTQSPSSLSASV</u> <u>GDRV</u> <u>TITCRASQGISS</u> <u>WLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPS</u> <u>RFGSGSGTDFTLTIS</u> <u>SLQPEDFATYYCQ</u> <u>QY</u> <u>NSYPYTFGQGTKLEIK</u>

[1140]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 333	CD45RA (人 CD45 同种型)	MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPT PSPTGLTTAKMPSVPLSSDPLPHTTAFSPA STFERENDFSETTTSLSPDNTSTQVSPDSL NASAFNTTDAYLNASETTTLSPSGSAVISTT TIATTPSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLF TAKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTEC KNASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKF QLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTCDT QNITYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEY KCDSEILYNNHKFTNASKIIKTDGFGSPGEPQ IIFCRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYI KETEKDCLNLDKNLIK YDLQNLKPYTKYV LSLHAYIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPS QVWNMTVSM TSDNSMHVKCRPPRDRNG PHERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVK DLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHST SYNSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDL HKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPI HADILLETYKRKIADEGRLFLAEFQSIPRVF SKFPIKEARKPFNQKNRYVDILPYDYNRV ELSEINGDAGSNYINASYIDGFKEPRKYIA AQGPRDETVD DFWRM IWEQKATVIVMVT RCEEGNRNKCAEYWPSMEEGTRAFGDVV VKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGRE VTHIQFTSWPDHGVPEDPHLLKLRRRVN AFSNFFSGPIVVHCSAGVGRTGTYIGIDAM LEGLEAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQ VEAQYILIHQALVEYNQFGETEVNLSELHP YLHNMKKRDPPSEPSPLEAEFQRLPSYRS WRTQHIGNQEENKSKNRNSNVIPYDYNRV PLKHELEMSKESEHDSDESSDDSDSEEPS KYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPLKETIGD FWQMIFQRKVKVIVMLTELKHGDQEICAQ YWGEKGQTYGDIEVDLKD TDKSSTYTLRV FELRH SKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQLPA EPKELISMIQVVKQKLPQKNSSEGNKHHK STPLLIHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAETE EVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFL YDVIASTYPAQNGQVKKNNHQEDKIEFDN EVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQA EGSEPTSGTEGPEHSVNGPASPALNQGS

[1141]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 334	CD45RB (人 CD45 同种型)	MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPT PSPTGVSSVQTPHLPTHADSQTPSAGTDTQ TFSGSAANAKLNPTPGSNAISDAYLNASET TTLSPSGSAVISTTTTIATTPSKPTCDEKYANI TVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNT CTNNEVHNLTECKNASVSISHNSCTAPDKT LILDVPPGVVEKFQLHDCTQVEKADTTICLK WKNIEFTFTCDTQNIYRFQCGNMIFDNKEI KLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKII KTDFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVITWNPP QRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKYD LQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAA MCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMTSDNSMH VKCRPPRDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRN ESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGD YPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAFLIIVTSI ALLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVER DDEKQLMNVEPIHADILLETYKRKIADEG RLFLAEFQSIPRVFSKFPIKEARKPFNQKN RYVDILPYDYNRVELSEINGDAGSNYINAS YIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDFFWRMI WEQKATVIVMVTTRCEEGRNRNKCAEYWPS MEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKL NIVNKKEKATGREVTHIQFTSWPDHGVPE DPHLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAG VGRGTGYIGIDAMLEGLEAENKVDVYGYV VKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQ FGETEVLNSELHPYLHNMMKKRDPPSEPSPL EAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNR NSNVIPYDYNRVPLKHELEMSKESEHDS ESSDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVM IAAQGPLKETIGDFWQMIFQRKVKVIVMLT ELKHGDQEICAQYWGEKGQTYGDIEVDL KDTDKSSTYTLRVFELRHSKRKDSRTVYQ YQYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKL PQKNSSEGKHHKSTPLLIHCRDGSQQGTGI FCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKALRKA RPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQV KKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNP LGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTEGPEHSV NGPASPALNQGS

[1142]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 335	CD45RC (人 CD45 同种型)	MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPT PSPTDVPGERSTASTFPTDPVSPLTTTSLA HHSSAALPARTSNTTITANTSDAYLNASET TTLSPSGSAVISTTTIATTPSKPTCDEKYANI TVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNT CTNNEVHNLTECKNASVSISHNSCTAPDKT LILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICKL WKNIETFTCDTQNITYRFQCGNMIFDNKEI KLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKII KTDFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVITWNPP QRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKYD LQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAA MCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMTSDNSMH VKCRPPRDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRN ESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGD YPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAFLIIVTSI ALLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVER DDEKQLMNVEPIHADILLETYKRKIADEG RLFLAEFQSIPRVFSKFPIKEARKPFNQKN RYVDILPYDYNRVELSEINGDAGSNYINAS YIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDFFWRMI WEQKATVIVMVTRCEEGRNRNKCAEYWPS MEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKL NIVNKKEKATGREVTHIQFTSWPDHGVPE DPHLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAG VGRTGTYIGIDAMLEGLEAENKVDVYGYV VKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQ FGETEVNLSELHPYLHNMMKKRDPPEPSPL EAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNR NSNVIPYDYNRVPLKHELEMSKESEHDS ESSDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVM IAAQGPLKETIGDFWQMIFQRKVKVIVMLT ELKHGDQEICAQYWGEKGQTYGDIEVDL KDTDKSSTYTLRVFELRHSKRKDSRTVYQ YQYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKL PQKNSSEGKHHKSTPLLIHCRDGSQQGTGI FCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKALRKA RPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQV KKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNP LGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTEGPEHSV NGPASPALNQGS

[1143]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 336	人 CD45 同种 型	MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPT PSPTDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTIATT PSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKL NVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECKNAS VSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHD CTQVEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNITY RFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSE ILYNNHKFTNASKIIKTDGFGSPGEPQIIFCRS EAAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKETEK DCLNLDKNLIKYDLQNLKPYTKYVLSLHA YIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQVWN MTVSMTSDNSMHVKCRPPRDRNGPHERY HLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQYS TDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSK ALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDLHKKRS CNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADIL LETYKRKIADEGRLFLAEFQSIPRVFSKFPI KEARKPFNQKNRYVDILPYDYNRVELSEI NGDAGSNYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPR DETVDDFWRMWEQKATVIVMVTTRCEE NRNKCAEYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQ HKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGREVTHIQ FTSWPDHGVPEDPHLLKLRRRVNAFSNFF SGPIVVHCSAGVGRTGTYIGIDAMLEGLEA ENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYI LIHQALVEYNQFGETEVNLSELHPYLHNM KKRDPPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHI GNQEENKSKNRNSNVIPYDYNRVPLKHEL EMSKESHDSDDESSDDSDSEEPSKYINAS FIMSYWKPEVMIAAQGPLKETIGDFWQMI FQRKVKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGE GKQTYGDIEVDLKDSDKSSTYTLRVFELR HSKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKE LISMIQVVKQKLPQKNSSEGKHHKSTPLL IHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDI FQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIA STYPAQNGQVKKNNHQEDKIEFDNEVDK VKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEP TSGTEGPEHSVNGPASPALNQGS

[1144]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 337	艾妥单抗重链可变区	EVKLLSEGGGLVQPGGSLKLSAASGFD FSRYWMSWVRQAPGKGLEWIGEINPTS STINFTPSLKDKVFISRDNAKNTLYLQ MSKVRSEDTALYYCARGNYYRYGDAMDY WGQGTSTVTVSSA
SEQ ID NO: 338	艾妥单抗轻链可变区	DIALTQSPASLAVSLGQRATISCRASK SVSTSGYSYLHWYQQKPGQPPKLLIY LASNLESGVPARFSGSGGTDFTLNIH PVEEEDAATYYCQHSRELPTFGSGTK LEIKR
SEQ ID NO: 339	人 CD5 氨基酸序列 (同种型 2)	MVCSQSWGRSSKQWEDPSQASKVCQ RLNCGVPLSLGPFLVITYTPQSSIICY GQLGSFSNCSHSRNDMCHSLGLTCL EPQKTTPTTRPPPTTTPEPTAPPR LQQLVAQSGGQHCAGVVEFYSGSLG GTISYEAQDKTQDLENFLCNNLQCG SFLKHLPETEAGRAQDPGEPREHQPL PIQWKIQNSSCTSLEHCFRRIKPKQK SGRVLALLCSGFQPKVQSRLVGGSS ICEGTVEVRQGAQWAALCDSSSARSS LRWEEVCREQQCGSVNSYRVLDAGD PTSRGLFCPHQKLSQCHELWERN SYCKKVFTVCQDPNPAGLAAGTVA SIILALVLLVLLVVCPLAYKKLVKK FRQKKQRQWIGPTGMNQNM SFHRNHTATVRS HAENPTASHVDNE YSQPPRNSHLSAYPALEGALHRSS MQPDNSSDSYDLHGAQRL
SEQ ID NO: 340	Ab249 CDR-H1	TSWIG
SEQ ID NO: 341	Ab249 CDR-H2	IIYPGDS DTRYSPSFQG
SEQ ID NO: 342	Ab249 CDR-H3	HGLGYNGYEGAFDI
SEQ ID NO: 343	Ab249 CDR-L1	RASQGIGSALA
SEQ ID NO: 344	Ab249 CDR-L2	DASNLET
SEQ ID NO: 345	Ab249 CDR-L3	QQLNGYPLT
SEQ ID NO: 346	Ab 249 的重链可变区	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSG YRFTTSWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADK SISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARH GLGYNGYEGAFDIWGQGT LTVSS

[1145]

序列标识符	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO:347	Ab 249 的轻链 可变区	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIGS ALAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQL NGYPLTFGQGTRLEIK
SEQ ID NO:348	Ab67 CDR-H1	FTFSDADMD
SEQ ID NO:349	Ab67 CDR-H2	RTRNKAGSYTTEYAASVKG
SEQ ID NO:350	Ab67 CDR-H3	AREPKYWIDFDL
SEQ ID NO:351	Ab67 CDR-L1	RASQSISSYLN
SEQ ID NO:352	Ab67 CDR-L2	AASSLQS
SEQ ID NO:353	Ab67 CDR-L3	QQSYIAPYT
SEQ ID NO:354	Ab 67 的重链 可变区	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS DADMDWVRQAPGKGLEWVGRTRNKAGS YTTEYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNS LKTEDTAVYYCAREPKYWIDFDLWGRGTL VTVSS
SEQ ID NO:355	Ab 67 的轻链 可变区	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISS YLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQS YIAPYTFGGGTKVEIK

[1146] 其他实施方案

[1147] 本说明书中提到的所有出版物、专利和专利申请都通过引用并入本文中,如同每个独立的出版物或专利申请都被具体地和单独地指出通过引用并入。

[1148] 虽然已经结合本发明的具体实施方案描述了本发明,但是应理解,本发明能够进一步修改,并且本申请旨在覆盖本发明的任何变化、使用或修改,这些变化、使用或修改一般地遵循本发明的原理,并且包括在本发明所属领域的已知或习惯实践内的对本发明的偏离,并且可以应用于上文阐述的基本特征,并且在权利要求书的范围内。

[1149] 其他实施方案在权利要求书的范围内。

序列表

<110> 美真达治疗公司

<120> Fc沉默的抗体药物缀合物(ADC)及其用途

<130> M103034 1700W0

<140>

<141>

<150> 62/807,363

<151> 2019-02-19

<150> 62/773,839

<151> 2018-11-30

<150> 62/749,662

<151> 2018-10-23

<160> 355

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 1

Ser Tyr Trp Ile Gly

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成肽

<400> 2

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 3

His Gly Arg Gly Tyr Asn Gly Tyr Glu Gly Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 5

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 6

Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5 10

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 7

Asn Tyr Trp Ile Gly

1 5
 <210> 8
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列描述：合成肽
 <400> 8
 Ile Ile Asn Pro Arg Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Arg Pro Ser Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 9
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列描述：合成肽
 <400> 9
 His Gly Arg Gly Tyr Glu Gly Tyr Glu Gly Ala Phe Asp Ile
 1 5 10
 <210> 10
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列描述：合成肽
 <400> 10
 Arg Ser Ser Gln Gly Ile Arg Ser Asp Leu Gly
 1 5 10
 <210> 11
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列描述：合成肽
 <400> 11
 Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
 1 5
 <210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 12

Gln Gln Ala Asn Gly Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 13

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 13

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Ala Ile Ile Asn Pro Arg Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Arg Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Gly Arg Gly Tyr Glu Gly Tyr Glu Gly Ala Phe Asp Ile

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 14

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 14

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 Ser	Ser Gln Gly Ile	Arg Ser Asp
20	25	30	
Leu Gly Trp Tyr	Gln Gln Lys Pro Gly	Lys Ala Pro Lys	Leu Leu Ile
35	40	45	
Tyr Asp Ala Ser	Asn Leu Glu Thr 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 Ala Asn	Gly Phe Pro Leu
85	90	95	
Thr Phe Gly Gly	Gly Thr Lys Val	Glu Ile Lys	
100	105		
<210>	15		
<211>	330		
<212>	PRT		
<213>	智人		
<400>	15		
Ala Ser Thr Lys	Gly Pro Ser Val	Phe Pro Leu Ala	Pro Ser Ser Lys
1	5	10	15
Ser Thr Ser Gly	Gly Thr Ala Ala	Leu Gly Cys Leu	Val Lys Asp Tyr
20	25	30	
Phe Pro Glu Pro	Val Thr Val Ser	Trp Asn Ser Gly	Ala Leu Thr Ser
35	40	45	
Gly Val His Thr	Phe Pro Ala Val	Leu Gln Ser Ser	Gly Leu Tyr Ser
50	55	60	
Leu Ser Ser Val	Val Thr Val Pro	Ser Ser Ser Leu	Gly Thr Gln Thr
65	70	75	80
Tyr Ile Cys Asn	Val Asn His Lys	Pro Ser Asn Thr	Lys Val Asp Lys
85	90	95	
Lys Val Glu Pro	Lys Ser Cys Asp	Lys Thr His Thr	Cys Pro Pro Cys
100	105	110	
Pro Ala Pro Glu	Leu Leu Gly Gly	Pro Ser Val Phe	Leu Phe Pro Pro
115	120	125	
Lys Pro Lys Asp	Thr Leu Met Ile	Ser Arg Thr Pro	Glu Val Thr Cys
130	135	140	
Val Val Val Asp	Val Ser His Glu	Asp Pro Glu Val	Lys Phe Asn Trp
145	150	155	160
Tyr Val Asp Gly	Val Glu Val His	Asn Ala Lys Thr	Lys Pro Arg Glu

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

<210> 16

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 16

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys		
1	5	10
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		

				85					90					95			
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys		
				100				105						110			
Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro		
				115				120						125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys		
				130				135						140			
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp		
145						150				155					160		
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu		
				165				170						175			
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu		
				180				185						190			
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn		
				195				200						205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly		
				210				215						220			
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu		
225						230				235					240		
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr		
				245						250				255			
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn		
				260				265						270			
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe		
				275				280						285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn		
				290				295						300			
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr		
305						310				315					320		
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys								
				325						330							

<210> 17

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 17

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

1	5	10	15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr			
20	25	30	
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser			
35	40	45	
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser			
50	55	60	
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr			
65	70	75	80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys			
85	90	95	
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys			
100	105	110	
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro			
115	120	125	
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
130	135	140	
Val Val Val Cys Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp			
145	150	155	160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu			
165	170	175	
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
180	185	190	
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
195	200	205	
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
210	215	220	
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu			
225	230	235	240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
245	250	255	
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn			
260	265	270	
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
275	280	285	
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn			
290	295	300	
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr			
305	310	315	320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 18
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列描述：合成多肽
 <400> 18

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

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
	245	250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
	260	265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
	275	280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
	290	295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr		
	305	310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
	325	330

<210> 19

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 19

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

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

<210> 20

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 20

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1	5				10				15						
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
20				25				30							
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
35				40				45							
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
50				55				60							
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65	70				75				80						

Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85					90					95	
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
			115					120					125		
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
			130					135					140		
Val	Val	Val	Cys	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145							150				155				160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
							165				170				175
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
							180						185		190
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
							195						200		205
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
							210						215		220
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu
225							230					235			240
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
							245						250		255
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
							260						265		270
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
							275						280		285
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
							290						295		300
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	Ala	Tyr	Thr
305							310					315			320
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
							325								330

<210> 21

<211> 453

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 21

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu
1				5					10					15	
Ser	Leu	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Asn	Tyr
			20					25						30	
Trp	Ile	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Met	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40						45		
Ala	Ile	Ile	Asn	Pro	Arg	Asp	Ser	Asp	Thr	Arg	Tyr	Arg	Pro	Ser	Phe
	50					55					60				
Gln	Gly	Gln	Val	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Lys	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Trp	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	His	Gly	Arg	Gly	Tyr	Glu	Gly	Tyr	Glu	Gly	Ala	Phe	Asp	Ile
			100					105					110		
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
		115					120						125		
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly
		130				135					140				
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
145					150					155					160
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
				165					170					175	
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
		180					185						190		
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
		195					200					205			
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys
	210					215					220				
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu
225					230					235					240
Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
			245					250						255	
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
		260						265						270	
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
		275					280						285		
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser
	290					295					300				
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu

305	310	315	320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala			
	325	330	335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro			
	340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln			
	355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala			
	370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr			
385	390	395	400
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu			
	405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser			
	420	425	430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser			
	435	440	445
Leu Ser Pro Gly Lys			
450			
<210> 22			
<211> 453			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列描述: 合成多肽			
<400> 22			
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu			
1	5	10	15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr			
	20	25	30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met			
	35	40	45
Ala Ile Ile Asn Pro Arg Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Arg Pro Ser Phe			
	50	55	60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg His Gly Arg Gly Tyr Glu Gly Tyr Glu Gly Ala Phe Asp Ile			

100	105	110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly		
115	120	125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly		
130	135	140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val		
145	150	155
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe		
165	170	175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val		
180	185	190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val		
195	200	205
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys		
210	215	220
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala		
225	230	235
Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr		
245	250	255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val		
260	265	270
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val		
275	280	285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser		
290	295	300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu		
305	310	315
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala		
325	330	335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		
340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln		
355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
385	390	395
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu		
405	410	415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445
 Leu Ser Pro Gly Lys
 450
 <210> 23
 <211> 453
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列描述：合成多肽
 <400> 23
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Ala Ile Ile Asn Pro Arg Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Arg Pro Ser Phe
 50 55 60
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg His Gly Arg Gly Tyr Glu Gly Tyr Glu Gly Ala Phe Asp Ile
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 115 120 125
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
 130 135 140
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 145 150 155 160
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 165 170 175
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 180 185 190
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
 195 200 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys		
210	215	220
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala		
225	230	235 240
Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr		
	245	250 255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Cys Val		
	260	265 270
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val		
	275	280 285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser		
	290	295 300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu		
305	310	315 320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala		
	325	330 335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		
	340	345 350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln		
	355	360 365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
	370	375 380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
385	390	395 400
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu		
	405	410 415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser		
	420	425 430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
	435	440 445
Leu Ser Pro Gly Lys		
450		

<210> 24

<211> 453

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 24

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu
1				5					10					15	
Ser	Leu	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Asn	Tyr
			20					25						30	
Trp	Ile	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Met	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40						45		
Ala	Ile	Ile	Asn	Pro	Arg	Asp	Ser	Asp	Thr	Arg	Tyr	Arg	Pro	Ser	Phe
	50					55					60				
Gln	Gly	Gln	Val	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Lys	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Trp	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	His	Gly	Arg	Gly	Tyr	Glu	Gly	Tyr	Glu	Gly	Ala	Phe	Asp	Ile
			100					105					110		
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
		115					120						125		
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly
	130					135					140				
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
145					150					155					160
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
				165					170					175	
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
		180					185						190		
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
		195					200					205			
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys
	210					215					220				
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala
225					230					235					240
Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
			245					250						255	
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Cys	Val
		260					265						270		
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
	275						280						285		
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser
	290					295					300				
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu

305	310	315	320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala			
	325	330	335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro			
	340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln			
	355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala			
	370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr			
385	390	395	400
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu			
	405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser			
	420	425	430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser			
	435	440	445
Leu Ser Pro Gly Lys			
450			
<210> 25			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列描述: 合成多肽			
<400> 25			
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu			
1	5	10	15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe			
	20	25	30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln			
	35	40	45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser			
	50	55	60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu			
65	70	75	80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser			
	85	90	95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			

100	105
<210> 26	
<211> 214	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列描述：合成多肽	
<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 Ser Ser Gln Gly Ile Arg Ser Asp	
20 25 30	
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
35 40 45	
Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr 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 Ala Asn Gly Phe Pro Leu	
85 90 95	
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala	
100 105 110	
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly	
115 120 125	
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala	
130 135 140	
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln	
145 150 155 160	
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser	
165 170 175	
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr	
180 185 190	
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser	
195 200 205	
Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
210	
<210> 27	
<211> 123	
<212> PRT	

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 27

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

<210> 28

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 28

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 29
 <211> 351
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 29
 Met Ser Phe Pro Cys Lys Phe Val Ala Ser Phe Leu Leu Ile Phe Asn
 1 5 10 15
 Val Ser Ser Lys Gly Ala Val Ser Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu
 20 25 30
 Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe
 35 40 45
 Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp
 50 55 60
 Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu
 65 70 75 80
 Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His
 85 90 95
 Leu Lys Thr Asp Asp Gln Asp Ile Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asp Thr
 100 105 110
 Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu
 115 120 125
 Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu
 130 135 140
 Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln
 145 150 155 160
 Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp
 165 170 175
 Thr Thr Ser Leu Ser Ala Lys Phe Lys Cys Thr Ala Gly Asn Lys Val
 180 185 190
 Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu
 195 200 205
 Asp Ile Tyr Leu Ile Ile Gly Ile Cys Gly Gly Gly Ser Leu Leu Met
 210 215 220
 Val Phe Val Ala Leu Leu Val Phe Tyr Ile Thr Lys Arg Lys Lys Gln
 225 230 235 240
 Arg Ser Arg Arg Asn Asp Glu Glu Leu Glu Thr Arg Ala His Arg Val
 245 250 255

Ala Thr Glu Glu Arg Gly Arg Lys Pro His Gln Ile Pro Ala Ser Thr
 260 265 270
 Pro Gln Asn Pro Ala Thr Ser Gln His Pro Pro Pro Pro Gly His
 275 280 285
 Arg Ser Gln Ala Pro Ser His Arg Pro Pro Pro Gly His Arg Val
 290 295 300
 Gln His Gln Pro Gln Lys Arg Pro Pro Ala Pro Ser Gly Thr Gln Val
 305 310 315 320
 His Gln Gln Lys Gly Pro Pro Leu Pro Arg Pro Arg Val Gln Pro Lys
 325 330 335
 Pro Pro His Gly Ala Ala Glu Asn Ser Leu Ser Pro Ser Ser Asn
 340 345 350

<210> 30

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 30

Glu Tyr Tyr Met Tyr

1 5

<210> 31

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 31

Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly Ser Ile Asp Tyr Val Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Lys

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 32

Gly Lys Phe Asn Tyr Arg Phe Ala Tyr

1 5
 <210> 33
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列描述：合成肽
 <400> 33
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10 15
 <210> 34
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列描述：合成肽
 <400> 34
 Leu Val Ser Lys Leu Glu Ser
 1 5
 <210> 35
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列描述：合成肽
 <400> 35
 Met Gln Phe Thr His Tyr Pro Tyr Thr
 1 5
 <210> 36
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列描述：合成多肽
 <400> 36
 Gln Val Gln 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 Glu Tyr
 20 25 30

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

<210> 37

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 37

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

<210> 38

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 38

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 39

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 39

Ser Gly Gly Gly Phe

1 5

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 40

Ser Ser Tyr Gly Glu Ile Met Asp Tyr

1 5

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 41

Ser Ser Tyr Gly Glu Leu Met Asp Tyr

1 5

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 42

Arg Ala Ser Gln Arg Ile Gly Thr Ser Ile His

1 5 10

<210> 43

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 43

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser

1 5

<210> 44

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 44

Gln Gln Ser His Gly Trp Pro Phe Thr Phe

1 5 10

<210> 45

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 45

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Ser Ile Ser Gly Gly Gly Phe Leu Tyr Tyr Leu Asp Ser Val Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

His Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Ser Ser Tyr Gly Glu Ile Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 46

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 46

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Ser Ile Ser Gly Gly Gly Phe Leu Tyr Tyr Leu Asp Ser Val Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

His Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Ser Ser Tyr Gly Glu Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 47

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 47

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

1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Ile Gly Thr Ser

20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Thr Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser		
65	70	75
Glu Asp Val Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Gly Trp Pro Phe		
85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Glu		
100	105	
<210> 48		
<211> 495		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 48		
Met Pro Met Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Thr Leu Tyr Leu Leu Gly		
1	5	10
Met Leu Val Ala Ser Cys Leu Gly Arg Leu Ser Trp Tyr Asp Pro Asp		
20	25	30
Phe Gln Ala Arg Leu Thr Arg Ser Asn Ser Lys Cys Gln Gly Gln Leu		
35	40	45
Glu Val Tyr Leu Lys Asp Gly Trp His Met Val Cys Ser Gln Ser Trp		
50	55	60
Gly Arg Ser Ser Lys Gln Trp Glu Asp Pro Ser Gln Ala Ser Lys Val		
65	70	75
Cys Gln Arg Leu Asn Cys Gly Val Pro Leu Ser Leu Gly Pro Phe Leu		
85	90	95
Val Thr Tyr Thr Pro Gln Ser Ser Ile Ile Cys Tyr Gly Gln Leu Gly		
100	105	110
Ser Phe Ser Asn Cys Ser His Ser Arg Asn Asp Met Cys His Ser Leu		
115	120	125
Gly Leu Thr Cys Leu Glu Pro Gln Lys Thr Thr Pro Pro Thr Thr Arg		
130	135	140
Pro Pro Pro Thr Thr Thr Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Arg Leu Gln		
145	150	155
Leu Val Ala Gln Ser Gly Gly Gln His Cys Ala Gly Val Val Glu Phe		
165	170	175
Tyr Ser Gly Ser Leu Gly Gly Thr Ile Ser Tyr Glu Ala Gln Asp Lys		
180	185	190
Thr Gln Asp Leu Glu Asn Phe Leu Cys Asn Asn Leu Gln Cys Gly Ser		
195	200	205
Phe Leu Lys His Leu Pro Glu Thr Glu Ala Gly Arg Ala Gln Asp Pro		

210	215	220
Gly Glu Pro Arg Glu His Gln Pro Leu Pro Ile Gln Trp Lys Ile Gln		
225	230	235
Asn Ser Ser Cys Thr Ser Leu Glu His Cys Phe Arg Lys Ile Lys Pro		240
	245	250
Gln Lys Ser Gly Arg Val Leu Ala Leu Leu Cys Ser Gly Phe Gln Pro		255
	260	265
Lys Val Gln Ser Arg Leu Val Gly Gly Ser Ser Ile Cys Glu Gly Thr		270
	275	280
Val Glu Val Arg Gln Gly Ala Gln Trp Ala Ala Leu Cys Asp Ser Ser		285
290	295	300
Ser Ala Arg Ser Ser Leu Arg Trp Glu Glu Val Cys Arg Glu Gln Gln		
305	310	315
Cys Gly Ser Val Asn Ser Tyr Arg Val Leu Asp Ala Gly Asp Pro Thr		320
	325	330
Ser Arg Gly Leu Phe Cys Pro His Gln Lys Leu Ser Gln Cys His Glu		335
	340	345
Leu Trp Glu Arg Asn Ser Tyr Cys Lys Lys Val Phe Val Thr Cys Gln		350
355	360	365
Asp Pro Asn Pro Ala Gly Leu Ala Ala Gly Thr Val Ala Ser Ile Ile		
370	375	380
Leu Ala Leu Val Leu Leu Val Val Leu Leu Val Val Cys Gly Pro Leu		
385	390	395
Ala Tyr Lys Lys Leu Val Lys Lys Phe Arg Gln Lys Lys Gln Arg Gln		400
	405	410
Trp Ile Gly Pro Thr Gly Met Asn Gln Asn Met Ser Phe His Arg Asn		415
	420	425
His Thr Ala Thr Val Arg Ser His Ala Glu Asn Pro Thr Ala Ser His		430
	435	440
Val Asp Asn Glu Tyr Ser Gln Pro Pro Arg Asn Ser His Leu Ser Ala		445
450	455	460
Tyr Pro Ala Leu Glu Gly Ala Leu His Arg Ser Ser Met Gln Pro Asp		
465	470	475
Asn Ser Ser Asp Ser Asp Tyr Asp Leu His Gly Ala Gln Arg Leu		480
	485	490
		495

<210> 49

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 49

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

<210> 50

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成多肽

<400> 50

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

100	105
<210> 51 <211> 9 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列描述：合成肽 <400> 51 Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly 1 5	
<210> 52 <211> 5 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列描述：合成肽 <400> 52 Trp Trp Asp Asp Asp 1 5	
<210> 53 <211> 10 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列描述：合成肽 <400> 53 Arg Arg Ala Thr Gly Thr Gly Phe Asp Tyr 1 5 10	
<210> 54 <211> 6 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列描述：合成肽 <400> 54 Gln Asp Val Gly Thr Ala 1 5	
<210> 55 <211> 7	

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽
<400> 55
Trp Thr Ser Thr Arg His Thr
1 5
<210> 56
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽
<400> 56
Tyr Asn Ser Tyr Asn Thr
1 5
<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽
<400> 57
Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met
1 5 10
<210> 58
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽
<400> 58
Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Thr Met
1 5 10
<210> 59
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 59

Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met

1 5 10

<210> 60

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 60

Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met

1 5 10

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 61

Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met

1 5 10

<210> 62

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 62

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met

1 5 10

<210> 63

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 63

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met

1	5	10

<210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 64
Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ala Tyr Asn Ile
1 5 10
<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 65
Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ala Tyr Ser Met
1 5 10
<210> 66
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 66
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Phe Ala Ile
1 5 10
<210> 67
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 67
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Phe Ala Ile
1 5 10
<210> 68
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽
<400> 68
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Phe Ala Ile
1 5 10
<210> 69
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽
<400> 69
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Phe Ala Ile
1 5 10
<210> 70
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽
<400> 70
Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Met
1 5 10
<210> 71
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽
<400> 71
Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Met
1 5 10
<210> 72
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 72

Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Asp Val

1 5 10

<210> 73

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 73

Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Asp Val

1 5 10

<210> 74

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 74

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met

1 5 10

<210> 75

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 75

Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met

1 5 10

<210> 76

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 76

Ser Gly Tyr Ile Phe Ala Asn Tyr Gly Met

1	5	10

<210> 77
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 77
Ser Gly Tyr Asn Phe Thr Asn Tyr Gly Met
1 5 10
<210> 78
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 78
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met
1 5 10
<210> 79
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 79
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Ile
1 5 10
<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 80
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Ile
1 5 10
<210> 81
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽
<400> 81
Ser Gly Asn Thr Phe Thr Asn Phe Tyr Leu
1 5 10
<210> 82
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽
<400> 82
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met
1 5 10
<210> 83
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽
<400> 83
Ser Glu Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met
1 5 10
<210> 84
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述: 合成肽
<400> 84
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Arg Met
1 5 10
<210> 85
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 85

Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Met

1 5 10

<210> 86

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 86

Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Thr Met

1 5 10

<210> 87

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 87

Ser Gly Tyr Met Phe Thr Asn His Gly Met

1 5 10

<210> 88

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 88

Ser Gly Tyr Met Phe Thr Asn Tyr Gly Met

1 5 10

<210> 89

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 89

Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met

1	5	10

<210> 90
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 90
Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Tyr Ile
1 5 10
<210> 91
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 91
Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Asn Tyr Gly Met
1 5 10
<210> 92
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 92
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Phe Ile
1 5 10
<210> 93
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 93
Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Gly Tyr Asn Ile
1 5 10
<210> 94
<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 94

Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Thr

1 5 10

<210> 95

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 95

Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Met

1 5 10

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 96

Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Met

1 5 10

<210> 97

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 97

Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Met

1 5 10

<210> 98

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 98

Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Thr

1 5 10

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 99

Ser Ile Ser Ser Gly Gly Asn Thr Phe

1 5

<210> 100

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 100

Ser Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr

1 5

<210> 101

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 101

Ser Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Asp Thr Lys

1 5 10

<210> 102

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成肽

<400> 102

Ser Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Asp Thr Lys

1	5	10

<210> 103
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 103
Leu Ile Ser Ser Asn Ser Gly Asp Val Ser
1 5 10
<210> 104
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 104
Leu Ile Ser Thr Ser Ser Gly Asp Val Ser
1 5 10
<210> 105
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 105
Leu Ile Ser Ser Asn Ser Gly Asp Val Ser
1 5 10
<210> 106
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 106
Leu Ile Ser Ser Asn Ser Gly Asp Val Ser
1 5 10
<210> 107
<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 107

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys

1 5 10

<210> 108

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 108

Met Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Arg

1 5 10

<210> 109

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 109

Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp

1 5

<210> 110

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 110

Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp

1 5

<210> 111

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 111
Ala Ile Asn Ser Asn Gly Asp Ile Thr Tyr
1 5 10
<210> 112
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 112
Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Arg
1 5 10
<210> 113
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 113
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr
1 5 10
<210> 114
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 114
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr
1 5 10

<210> 115

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 115

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr

1 5 10

<210> 116

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 116

Trp Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Asn Thr Arg

1 5 10

<210> 117

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 117

Trp Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Asn Thr Arg

1 5 10

<210> 118

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 118

Cys Ile Tyr Pro Gly Asn Val Lys Thr Lys

1	5	10

<210> 119
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 119
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr
1 5 10
<210> 120
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 120
Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr
1 5 10
<210> 121
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 121
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Gly Thr His
1 5 10
<210> 122
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 122

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys

1 5 10

<210> 123

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 123

Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Arg

1 5 10

<210> 124

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 124

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr

1 5 10

<210> 125

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 125

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr

1 5 10

<210> 126

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 126

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr

1 5 10

<210> 127

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 127

Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Arg Thr Glu

1 5 10

<210> 128

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 128

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr

1 5 10

<210> 129

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 129

Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Ser Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 130

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 130

Ala Val Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser

1 5 10

<210> 131

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 131

Cys Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Pro Asp Phe Asp Tyr Trp

1 5 10 15

<210> 132

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 132

Cys Ala Arg Asp Asn Tyr Gly Ser Ser Pro Asp Phe Asp Tyr Trp

1 5 10 15

<210> 133

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 133

Cys Ala Arg Asp Asn Tyr Gly Ser Ser Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp

1 5 10 15

<210> 134

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 134

Cys Ala Arg Asp Asn Tyr Gly Ser Ser Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp

1 5 10 15

<210> 135

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 135

Cys Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Pro Asp Phe Asp Tyr Trp

1 5 10 15

<210> 136

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 136

Cys Val Arg Tyr Tyr Tyr Gly Val Thr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp

1 5 10 15

<210> 137

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 137

Cys Val Arg Tyr Tyr Tyr Gly Ile Arg Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp

1 5 10 15

<210> 138

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 138

Cys Ala Arg Arg Met Ile Thr Met Gly Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp

1 5 10 15

<210> 139

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 139

Cys Ala Arg Arg Met Ile Thr Thr Gly Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp

1 5 10 15

<210> 140

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 140

Cys Ala Arg His Tyr Gly Ala His Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp

1 5 10

<210> 141

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 141

Cys Ala Arg His Tyr Gly Ala Asn Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp

1 5 10

<210> 142

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 142

Cys Ala Arg His Tyr Gly Ala His Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp
1 5 10

<210> 143

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 143

Cys Ala Arg His Tyr Gly Ala His Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp
1 5 10

<210> 144

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 144

Cys Ala Arg Glu Glu Asn Tyr Tyr Gly Thr Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp
1 5 10 15

<210> 145

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 145

Cys Ala Arg Trp Gly Asp His Asp Asp Ala Met Asp Phe Trp
1 5 10

<210> 146

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 146

Cys Ala Arg Asn His Gly Asp Gly Tyr Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10 15

Trp

<210> 147

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 147

Cys Ala Arg Asn His Gly Asp Gly Tyr Tyr Asn Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10 15

Trp

<210> 148

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 148

Cys Ala Arg Gly Thr Ala Trp Phe Thr Tyr Trp

1 5 10

<210> 149

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 149

Cys Ala Arg Asp Gly Asp Asp Gly Trp Asp Ile Asp Val Trp

1	5	10

<210> 150
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 150
Cys Ala Arg Arg Gly Thr Tyr Trp His Phe Asp Val Trp
1 5 10
<210> 151
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 151
Cys Ala Arg Arg Gly Ser Tyr Trp His Phe Asp Val Trp
1 5 10
<210> 152
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 152
Cys Ala Arg Arg Ser Thr Leu Val Phe Asp Tyr Trp
1 5 10
<210> 153
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 153

Cys Ala Arg Asn Gly Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp

1 5 10

<210> 154

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 154

Cys Ala Arg Asn Gly Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp

1 5 10

<210> 155

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 155

Cys Ala Lys Glu Gly Asp Tyr Asp Gly Thr Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp

1 5 10 15

<210> 156

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 156

Cys Ala Arg Arg Arg Asp Gly Asn Phe Asp Tyr Trp

1 5 10

<210> 157

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 157

Cys Val Arg His Gly Tyr Phe Asp Val Trp

1 5 10

<210> 158

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 158

Cys Ala Phe Tyr Asp Gly Ala Tyr Trp

1 5

<210> 159

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 159

Cys Ala Ser Tyr Asp Pro Asp Tyr Trp

1 5

<210> 160

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 160

Cys Ala Arg Asp Thr Thr Ala Thr Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp

1 5 10

<210> 161

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 161

Cys Ala Arg Arg Val Ala Thr Tyr Phe Asp Val Trp

1 5 10

<210> 162

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 162

Cys Thr Arg Arg Ser His Ile Thr Leu Asp Tyr Trp

1 5 10

<210> 163

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 163

Cys Ala Arg Arg Arg Thr Thr Ala Phe Asp Tyr Trp

1 5 10

<210> 164

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 164

Cys Thr Arg Arg Arg Glu Ile Thr Phe Asp Tyr Trp

1 5 10

<210> 165

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 165

Cys Ala Arg Ser Gly Ile Ser Pro Phe Thr Tyr Trp

1 5 10

<210> 166

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 166

Cys Ala Lys Tyr Asp Arg Phe Phe Ala Ser Trp

1 5 10

<210> 167

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 167

Ser Gln Gly Ile Ser Asn His Leu

1 5

<210> 168

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 168

Cys Asn Asn Gly Asn Tyr Val Arg His Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp

1 5 10 15

<210> 169

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 169

Ser Gln Gly Ile Ser Asn His Leu

1 5

<210> 170

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 170

Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr Leu

1 5

<210> 171

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 171

Ser Gln Gly Ile Ser Asn His Leu

1 5

<210> 172

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 172

Ser Gln Ser Val Asp His Asp Gly Asp Ser Tyr Met

1 5 10

<210> 173

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 173

Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met

1 5 10

<210> 174

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 174

Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu

1 5

<210> 175

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 175

Ser Gln Asp Ile Ser Thr Tyr Leu

1 5

<210> 176

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 176

Thr Ser Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Leu

1 5

<210> 177

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 177

Asn Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu

1 5

<210> 178

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 178

Thr Ser Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Leu

1 5

<210> 179

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 179

Thr Ser Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Leu

1 5

<210> 180

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 180

Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Asn Leu

1 5

<210> 181

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 181
Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Tyr Phe
1 5
<210> 182
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 182
Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr Ile
1 5
<210> 183
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 183
Ser Gln Asp Ile Asn Lys Tyr Ile
1 5
<210> 184
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 184
Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu
1 5

<210> 185

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 185

Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu

1 5

<210> 186

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 186

Ser Gln Asp Val Arg Thr Asp Val

1 5

<210> 187

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 187

Ser Gln Asp Val Ile Thr Ala Val

1 5

<210> 188

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 188

Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser Ile

1 5
<210> 189
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 189
Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10
<210> 190
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 190
Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu
1 5
<210> 191
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 191
Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Asn Leu
1 5
<210> 192
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 192

Ser Gln Thr Ile Gly Thr Ser Ile

1 5

<210> 193

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 193

Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asp Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10

<210> 194

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 194

Asn Ser Ser Val Ser Tyr Met

1 5

<210> 195

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 195

Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Asn Leu

1 5

<210> 196

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 196

Ser Ser Ser Leu Ser Tyr Met

1 5

<210> 197

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 197

Ser Gln Arg Ile Gly Thr Ser Met

1 5

<210> 198

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 198

Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser Ile

1 5

<210> 199

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 199

Ser Gln Asn Ile Gly Thr Ser Ile

1 5

<210> 200

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 200

Ile Ser Ser Val Ser Tyr Met

1 5

<210> 201

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 201

Ser Gln Thr Ile Ala Thr Ser Ile

1 5

<210> 202

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 202

Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu

1 5 10

<210> 203

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 203

Asn Glu Ser Val Glu Tyr Ser Gly Thr Ser Leu Met

1 5 10

<210> 204

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 204

Tyr Phe Thr Ser Ser

1 5

<210> 205

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 205

Tyr Phe Thr Ser Ser

1 5

<210> 206

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 206

Tyr Phe Thr Ser Ser

1 5

<210> 207

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 207

Tyr Tyr Thr Ser Ser

1 5

<210> 208

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 208

Tyr Phe Thr Ser Ser

1 5

<210> 209

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 209

Tyr Ala Ala Ser Asn

1 5

<210> 210

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 210

Tyr Ala Ala Ser Asn

1 5

<210> 211

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 211

Tyr Tyr Thr Ser Arg

1 5

<210> 212

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 212
Phe Tyr Thr Ser Arg
1 5
<210> 213
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 213
Tyr Gly Thr Ser Asn
1 5
<210> 214
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 214
Tyr Gly Thr Ser Asn
1 5
<210> 215
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 215
Tyr Gly Thr Ser Asn
1 5
<210> 216
<211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 216
Tyr Gly Thr Ser Asn
1 5
<210> 217
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 217
Tyr Asn Ala Asn Ser
1 5
<210> 218
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 218
Tyr Asn Ala Lys Thr
1 5
<210> 219
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 219
His Tyr Thr Ser Thr
1 5
<210> 220

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 220
His Tyr Thr Ser Thr
1 5
<210> 221
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 221
Tyr Asn Ala Lys Thr
1 5
<210> 222
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 222
Tyr His Thr Ser Thr
1 5
<210> 223
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 223
Tyr Ser Ala Ser Phe
1 5

<210> 224
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 224
Tyr Ser Ala Ser Tyr
1 5
<210> 225
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 225
Lys Ser Ala Ser Glu
1 5
<210> 226
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 226
Tyr Trp Ala Ser Thr
1 5
<210> 227
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 227
Tyr Ser Thr Ser Asn

1 5
<210> 228
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 228
Tyr Asn Ala Asn Ser
1 5
<210> 229
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 229
Lys Asn Ala Ser Glu
1 5
<210> 230
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 230
Tyr Trp Ala Ser Thr
1 5
<210> 231
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成
肽
<400> 231

Tyr Asp Thr Ser Lys

1 5

<210> 232

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 232

Tyr Asn Ala Asn Ser

1 5

<210> 233

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 233

Tyr Asp Thr Ser Asn

1 5

<210> 234

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 234

Lys Ser Ala Ser Glu

1 5

<210> 235

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 235

Lys Ser Ala Ser Glu

1 5

<210> 236

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 236

Lys Asp Ala Ser Glu

1 5

<210> 237

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 237

Tyr Ala Thr Ser Asn

1 5

<210> 238

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 238

Lys Asn Ala Ser Glu

1 5

<210> 239

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 239

Tyr Lys Val Ser Asn

1 5

<210> 240

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 240

Ser Ala Ala Ser Asn

1 5

<210> 241

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 241

Cys Gln Gln Tyr Ser Asn Leu Pro Tyr Thr Phe

1 5 10

<210> 242

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 242

Cys Gln Gln Tyr Ser Asn Leu Pro Tyr Thr Phe

1 5 10

<210> 243

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 243

Cys Gln Gln Tyr Ser Asn Leu Pro Tyr Thr Phe

1 5 10

<210> 244

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 244

Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Ile Pro Tyr Thr Cys

1 5 10

<210> 245

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 245

Cys Gln Gln Tyr Ser Asn Leu Pro Tyr Thr Phe

1 5 10

<210> 246

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 246

Cys Gln Gln Asn Tyr Glu Asp Pro Thr Phe

1 5 10

<210> 247

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 247

Cys	Gln	Gln	Ser	Asn	Glu	Asp	Pro	Thr	Phe
1				5					10

<210> 248

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 248

Cys	Gln	Gln	Gly	Asp	Ala	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe
1				5						10

<210> 249

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 249

Cys	Gln	Gln	Gly	Asn	Ser	Leu	Pro	Phe	Thr	Phe
1				5						10

<210> 250

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 250

Cys	Gln	Gln	Trp	Ser	Ser	Arg	Pro	Pro	Thr	Phe
1				5						10

<210> 251

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 251

Cys	Gln	Gln	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Pro	Leu	Thr	Phe
1				5					10	

<210> 252

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 252

Cys	Gln	Gln	Tyr	Ser	Asp	Tyr	Pro	Leu	Thr	Phe
1				5					10	

<210> 253

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 253

Cys	Gln	Gln	Arg	Ser	Tyr	Phe	Pro	Phe	Thr	Phe
1				5					10	

<210> 254

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 254

Cys	Lys	Gln	Val	Tyr	Asp	Val	Pro	Phe	Thr	Phe
1				5					10	

<210> 255

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 255

Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Phe Thr Phe

1 5 10

<210> 256

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 256

Cys Leu Gln Tyr Asp Asn Leu Trp Thr Phe

1 5 10

<210> 257

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 257

Cys Leu Gln Tyr Asp Asn Leu Trp Thr Phe

1 5 10

<210> 258

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 258

Cys Gln His His Tyr Gly Tyr Pro Tyr Thr Phe

1 5 10

<210> 259

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 259

Cys Gln Gln Tyr Ser Asn Leu Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 260

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 260

Cys Gln Gln His Tyr Thr Ser Pro Trp Thr Phe

1 5 10

<210> 261

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 261

Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp Thr Phe

1 5 10

<210> 262

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 262

Cys Gln Gln Ser Asn Arg Trp Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 263

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 263

Cys Gln Asn Asp Tyr Asp Tyr Pro Tyr Thr Phe

1 5 10

<210> 264

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 264

Cys His Gln Tyr His Arg Ser Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 265

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 265

Cys Gln Gln Thr Phe Asp Val Pro Trp Thr Phe

1 5 10

<210> 266

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 266

Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu Thr Tyr

1	5	10

<210> 267
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 267
Cys Gln Gln Tyr Tyr Asn Tyr Pro Leu Thr Phe

1	5	10

<210> 268
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 268
Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe

1	5	10

<210> 269
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 269
Cys Lys Gln Ala Tyr Asp Val Pro Trp Thr Phe

1	5	10

<210> 270
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 270

Cys Gln Gln Trp Ser Ser Phe Pro Pro Thr Phe

1 5 10

<210> 271

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 271

Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 272

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 272

Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 273

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 273

Cys Gln Gln Ser Asp Ser Trp Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 274

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 274

Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Arg Thr Phe

1 5 10

<210> 275

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 275

Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 276

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 276

Cys Trp Gln Asn Thr His Phe Pro Gln Thr Phe

1 5 10

<210> 277

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 277

Cys Gln Gln Ser Arg Gln Val Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 278

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 278

Ser Thr Tyr Trp Ile Ser

1 5

<210> 279

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 279

Lys Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 280

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 280

Arg Gly Tyr Gly Ile Phe Asp Tyr

1 5

<210> 281

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 281

Ser Gly Asp Asn Ile Gly Asp Gln Tyr Ala His

1 5 10

<210> 282

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 282

Gln Asp Lys Asn Arg Pro Ser

1

5

<210> 283

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 283

Ala Thr Tyr Thr Gly Phe Gly Ser Leu Ala Val

1

5

10

<210> 284

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 284

Ser Thr Tyr Thr Phe Val Gly Phe Thr Thr Val

1

5

10

<210> 285

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 285

Asn Ser Tyr Ala Ile Ser

1

5

<210> 286

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 286

Gly Ile Ile Pro Gly Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 287

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 287

Arg Lys Asn Glu Glu Asp Gly Gly Phe Asp His

1 5 10

<210> 288

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 288

Ser Gly Asp Asn Leu Gly Asp Tyr Tyr Ala Ser

1 5 10

<210> 289

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 289

Asp Asp Ser Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 290

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 290

Gln Thr Trp Asp Gly Thr Leu His Phe Val

1 5 10

<210> 291

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 291

Ser Asp Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 292

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 292

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

1 5 10 15

Gly

<210> 293

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 293

Arg Leu Tyr Ala Gln Phe Glu Gly Asp Phe

1	5	10

<210> 294
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 294
Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser Lys Tyr Val Ser
1 5 10
<210> 295
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 295
Ser Asp Ser Glu Arg Pro Ser
1 5
<210> 296
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成肽
<400> 296
Gln Ser Trp Asp Gly Ser Ile Ser Arg Val
1 5 10
<210> 297
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列描述：合成poly肽
<400> 297

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Pro	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Arg	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
			20					25						30	
Trp	Ile	Asn	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40						45		
Gly	Asn	Ile	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ser	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Lys	Asp	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Asn	Thr	Val	Tyr
65					70					75					80
Met	Gln	Leu	Asn	Ser	Pro	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Thr	Arg	Asn	Gly	Val	Glu	Gly	Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Ala	Met	Glu	Tyr
			100					105					110		
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
		115					120						125		
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly
	130					135					140				
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
145					150					155					160
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
				165					170					175	
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
		180						185					190		
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
		195					200						205		
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys
	210					215					220				
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu
225					230					235					240
Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
			245					250						255	
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
			260					265						270	
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
		275					280						285		
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser
	290					295						300			
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu

305	310	315	320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala			
	325	330	335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro			
	340	345	350
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln			
	355	360	365
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala			
	370	375	380
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr			
385	390	395	400
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu			
	405	410	415
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser			
	420	425	430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser			
	435	440	445
Leu Ser Pro Gly Lys			
450			
<210> 298			
<211> 214			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列描述: 合成			
poly肽			
<400> 298			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ala Leu Ser Ala Ser Leu Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Gly Cys Arg Ala Ser Gln Asp Leu Ser Asn His			
	20	25	30
Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile			
	35	40	45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Arg Asn Leu Glu Gln			
65	70	75	80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Tyr Thr Leu Pro Tyr			
	85	90	95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 299

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 299

Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
1 5

<210> 300

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 300

Asn Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Tyr Thr
1 5

<210> 301

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 301

Thr Arg Asn Gly Val Glu Gly Tyr Pro His Tyr Tyr Ala Met Glu
1 5 10 15

<210> 302

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 302

Ser Gln Asp Leu Ser Asn His
1 5

<210> 303

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 303

Tyr Tyr Thr Ser
1

<210> 304

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 304

Cys Gln Gln Gly Tyr Thr Leu Pro Tyr
1 5

<210> 305

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 305

Ser Tyr Trp Ile Asn

1 5

<210> 306

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 306

Asn Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 307

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 307

Asn Gly Val Glu Gly Tyr Pro His Tyr Tyr Ala Met Glu Tyr

1 5 10

<210> 308

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 308

Arg Ala Ser Gln Asp Leu Ser Asn His Leu Tyr

1 5 10

<210> 309

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 309

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 310

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 310

Gln Gln Gly Tyr Thr Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 311

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

poly肽

<400> 311

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asn Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

				85						90					95				
Thr	Arg	Asn	Gly	Val	Glu	Gly	Tyr	Pro	His	Tyr	Tyr	Ala	Met	Glu	Tyr				
				100						105					110				
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
				115						120									

<210> 312

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

poly肽

<400> 312

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

<210> 313

<211> 183

<212> PRT

<213> 智人

<400> 313

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

50	55	60
Gln Phe Thr Glu Tyr Lys	Lys Glu Lys Gly Phe	Ile Leu Thr Ser Gln
65	70	75
Lys Glu Asp Glu Ile Met	Lys Val Gln Asn Asn	Ser Val Ile Ile Asn
85	90	95
Cys Asp Gly Phe Tyr Leu	Ile Ser Leu Lys Gly Tyr	Phe Ser Gln Glu
100	105	110
Val Asn Ile Ser Leu His	Tyr Gln Lys Asp Glu Glu	Pro Leu Phe Gln
115	120	125
Leu Lys Lys Val Arg Ser	Val Asn Ser Leu Met	Val Ala Ser Leu Thr
130	135	140
Tyr Lys Asp Lys Val Tyr	Leu Asn Val Thr Thr	Asp Asn Thr Ser Leu
145	150	155
Asp Asp Phe His Val Asn	Gly Gly Glu Leu Ile	Leu Ile His Gln Asn
165	170	175
Pro Gly Glu Phe Cys	Val Leu	
180		

<210> 314

<211> 133

<212> PRT

<213> 智人

<400> 314

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

130
 <210> 315
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列描述：合成
 poly肽
 <400> 315
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Phe Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Lys Asp Arg Leu Ile Met Ala Thr Val Arg Gly Pro Tyr Tyr Tyr
 100 105 110
 Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 316
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列描述：合成
 poly肽
 <400> 316
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ser Val Ser Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 317

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 317

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala
1 5

<210> 318

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 318

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr
1 5

<210> 319

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 319

Thr Lys Asp Arg Leu Ile Met Ala Thr Val Arg Gly Pro Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Val

20

<210> 320

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 320

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 321

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 321

Ala Ala Ser

1

<210> 322

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 322

Gln Gln Ser His Ser Val Ser Phe Thr

1 5

<210> 323

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
poly肽

<400> 323

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	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	Asn	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Ile	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Phe	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Arg	Thr	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	Leu	Val	Ala	Pro	Gly	Thr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		
Gly	Ala	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
		115					120					125			
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
		130					135				140				
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145					150				155					160	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
			165						170					175	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
		180						185					190		
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
		195					200					205			
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
		210					215				220				
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly
225					230				235					240	
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
			245						250					255	
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
		260						265					270		
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
		275					280					285			
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
		290					295				300				
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys

305	310	315	320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu			
	325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr			
	340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu			
	355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp			
	370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val			
385	390	395	400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp			
	405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His			
	420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro			
	435	440	445

Gly

<210> 324

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述: 合成

poly肽

<400> 324

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp			
	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser 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 Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr			
	85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala			

100	105	110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly		
115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		
130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
145	150	155
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser		
165	170	175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr		
180	185	190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser		
195	200	205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys		

210

<210> 325

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 325

Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr Ala

1 5

<210> 326

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 326

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Phe Thr

1 5

<210> 327

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 327

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

<210> 328

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 328

Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 329

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 329

Ala Ala Ser
1

<210> 330

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 330

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 331

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

poly肽

<400> 331

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	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	Asn	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35				40					45			
Ser	Ile	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Phe	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55				60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Arg	Thr	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	Leu	Val	Ala	Pro	Gly	Thr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		
Gly	Ala	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
			115				120								

<210> 332

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

poly肽

<400> 332

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Trp
			20					25					30		
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Glu	Lys	Ala	Pro	Lys	Ser	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 Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 333
 <211> 1211
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 333
 Met Thr Met Tyr Leu Trp Leu Lys Leu Leu Ala Phe Gly Phe Ala Phe
 1 5 10 15
 Leu Asp Thr Glu Val Phe Val Thr Gly Gln Ser Pro Thr Pro Ser Pro
 20 25 30
 Thr Gly Leu Thr Thr Ala Lys Met Pro Ser Val Pro Leu Ser Ser Asp
 35 40 45
 Pro Leu Pro Thr His Thr Thr Ala Phe Ser Pro Ala Ser Thr Phe Glu
 50 55 60
 Arg Glu Asn Asp Phe Ser Glu Thr Thr Thr Ser Leu Ser Pro Asp Asn
 65 70 75 80
 Thr Ser Thr Gln Val Ser Pro Asp Ser Leu Asp Asn Ala Ser Ala Phe
 85 90 95
 Asn Thr Thr Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Ser Glu Thr Thr Thr Leu Ser
 100 105 110
 Pro Ser Gly Ser Ala Val Ile Ser Thr Thr Thr Ile Ala Thr Thr Pro
 115 120 125
 Ser Lys Pro Thr Cys Asp Glu Lys Tyr Ala Asn Ile Thr Val Asp Tyr
 130 135 140
 Leu Tyr Asn Lys Glu Thr Lys Leu Phe Thr Ala Lys Leu Asn Val Asn
 145 150 155 160
 Glu Asn Val Glu Cys Gly Asn Asn Thr Cys Thr Asn Asn Glu Val His
 165 170 175
 Asn Leu Thr Glu Cys Lys Asn Ala Ser Val Ser Ile Ser His Asn Ser
 180 185 190
 Cys Thr Ala Pro Asp Lys Thr Leu Ile Leu Asp Val Pro Pro Gly Val
 195 200 205
 Glu Lys Phe Gln Leu His Asp Cys Thr Gln Val Glu Lys Ala Asp Thr
 210 215 220
 Thr Ile Cys Leu Lys Trp Lys Asn Ile Glu Thr Phe Thr Cys Asp Thr
 225 230 235 240

Gln Asn Ile Thr Tyr Arg Phe Gln Cys Gly Asn Met Ile Phe Asp Asn		
245	250	255
Lys Glu Ile Lys Leu Glu Asn Leu Glu Pro Glu His Glu Tyr Lys Cys		
260	265	270
Asp Ser Glu Ile Leu Tyr Asn Asn His Lys Phe Thr Asn Ala Ser Lys		
275	280	285
Ile Ile Lys Thr Asp Phe Gly Ser Pro Gly Glu Pro Gln Ile Ile Phe		
290	295	300
Cys Arg Ser Glu Ala Ala His Gln Gly Val Ile Thr Trp Asn Pro Pro		
305	310	315
Gln Arg Ser Phe His Asn Phe Thr Leu Cys Tyr Ile Lys Glu Thr Glu		
325	330	335
Lys Asp Cys Leu Asn Leu Asp Lys Asn Leu Ile Lys Tyr Asp Leu Gln		
340	345	350
Asn Leu Lys Pro Tyr Thr Lys Tyr Val Leu Ser Leu His Ala Tyr Ile		
355	360	365
Ile Ala Lys Val Gln Arg Asn Gly Ser Ala Ala Met Cys His Phe Thr		
370	375	380
Thr Lys Ser Ala Pro Pro Ser Gln Val Trp Asn Met Thr Val Ser Met		
385	390	395
Thr Ser Asp Asn Ser Met His Val Lys Cys Arg Pro Pro Arg Asp Arg		
405	410	415
Asn Gly Pro His Glu Arg Tyr His Leu Glu Val Glu Ala Gly Asn Thr		
420	425	430
Leu Val Arg Asn Glu Ser His Lys Asn Cys Asp Phe Arg Val Lys Asp		
435	440	445
Leu Gln Tyr Ser Thr Asp Tyr Thr Phe Lys Ala Tyr Phe His Asn Gly		
450	455	460
Asp Tyr Pro Gly Glu Pro Phe Ile Leu His His Ser Thr Ser Tyr Asn		
465	470	475
Ser Lys Ala Leu Ile Ala Phe Leu Ala Phe Leu Ile Ile Val Thr Ser		
485	490	495
Ile Ala Leu Leu Val Val Leu Tyr Lys Ile Tyr Asp Leu His Lys Lys		
500	505	510
Arg Ser Cys Asn Leu Asp Glu Gln Gln Glu Leu Val Glu Arg Asp Asp		
515	520	525
Glu Lys Gln Leu Met Asn Val Glu Pro Ile His Ala Asp Ile Leu Leu		
530	535	540
Glu Thr Tyr Lys Arg Lys Ile Ala Asp Glu Gly Arg Leu Phe Leu Ala		

545	550	555	560
Glu Phe Gln Ser Ile Pro Arg Val Phe Ser Lys Phe Pro Ile Lys Glu			
	565	570	575
Ala Arg Lys Pro Phe Asn Gln Asn Lys Asn Arg Tyr Val Asp Ile Leu			
	580	585	590
Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Glu Leu Ser Glu Ile Asn Gly Asp Ala			
	595	600	605
Gly Ser Asn Tyr Ile Asn Ala Ser Tyr Ile Asp Gly Phe Lys Glu Pro			
	610	615	620
Arg Lys Tyr Ile Ala Ala Gln Gly Pro Arg Asp Glu Thr Val Asp Asp			
625	630	635	640
Phe Trp Arg Met Ile Trp Glu Gln Lys Ala Thr Val Ile Val Met Val			
	645	650	655
Thr Arg Cys Glu Glu Gly Asn Arg Asn Lys Cys Ala Glu Tyr Trp Pro			
	660	665	670
Ser Met Glu Glu Gly Thr Arg Ala Phe Gly Asp Val Val Val Lys Ile			
	675	680	685
Asn Gln His Lys Arg Cys Pro Asp Tyr Ile Ile Gln Lys Leu Asn Ile			
	690	695	700
Val Asn Lys Lys Glu Lys Ala Thr Gly Arg Glu Val Thr His Ile Gln			
705	710	715	720
Phe Thr Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Glu Asp Pro His Leu Leu			
	725	730	735
Leu Lys Leu Arg Arg Arg Val Asn Ala Phe Ser Asn Phe Phe Ser Gly			
	740	745	750
Pro Ile Val Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Thr Tyr			
	755	760	765
Ile Gly Ile Asp Ala Met Leu Glu Gly Leu Glu Ala Glu Asn Lys Val			
	770	775	780
Asp Val Tyr Gly Tyr Val Val Lys Leu Arg Arg Gln Arg Cys Leu Met			
785	790	795	800
Val Gln Val Glu Ala Gln Tyr Ile Leu Ile His Gln Ala Leu Val Glu			
	805	810	815
Tyr Asn Gln Phe Gly Glu Thr Glu Val Asn Leu Ser Glu Leu His Pro			
	820	825	830
Tyr Leu His Asn Met Lys Lys Arg Asp Pro Pro Ser Glu Pro Ser Pro			
	835	840	845
Leu Glu Ala Glu Phe Gln Arg Leu Pro Ser Tyr Arg Ser Trp Arg Thr			
	850	855	860

Gln His Ile Gly Asn Gln Glu Glu Asn Lys Ser Lys Asn Arg Asn Ser			
865	870	875	880
Asn Val Ile Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Pro Leu Lys His Glu Leu			
	885	890	895
Glu Met Ser Lys Glu Ser Glu His Asp Ser Asp Glu Ser Ser Asp Asp			
	900	905	910
Asp Ser Asp Ser Glu Glu Pro Ser Lys Tyr Ile Asn Ala Ser Phe Ile			
	915	920	925
Met Ser Tyr Trp Lys Pro Glu Val Met Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu			
	930	935	940
Lys Glu Thr Ile Gly Asp Phe Trp Gln Met Ile Phe Gln Arg Lys Val			
945	950	955	960
Lys Val Ile Val Met Leu Thr Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile			
	965	970	975
Cys Ala Gln Tyr Trp Gly Glu Gly Lys Gln Thr Tyr Gly Asp Ile Glu			
	980	985	990
Val Asp Leu Lys Asp Thr Asp Lys Ser Ser Thr Tyr Thr Leu Arg Val			
	995	1000	1005
Phe Glu Leu Arg His Ser Lys Arg Lys Asp Ser Arg Thr Val Tyr			
	1010	1015	1020
Gln Tyr Gln Tyr Thr Asn Trp Ser Val Glu Gln Leu Pro Ala Glu			
	1025	1030	1035
Pro Lys Glu Leu Ile Ser Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu			
	1040	1045	1050
Pro Gln Lys Asn Ser Ser Glu Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr			
	1055	1060	1065
Pro Leu Leu Ile His Cys Arg Asp Gly Ser Gln Gln Thr Gly Ile			
	1070	1075	1080
Phe Cys Ala Leu Leu Asn Leu Leu Glu Ser Ala Glu Thr Glu Glu			
	1085	1090	1095
Val Val Asp Ile Phe Gln Val Val Lys Ala Leu Arg Lys Ala Arg			
	1100	1105	1110
Pro Gly Met Val Ser Thr Phe Glu Gln Tyr Gln Phe Leu Tyr Asp			
	1115	1120	1125
Val Ile Ala Ser Thr Tyr Pro Ala Gln Asn Gly Gln Val Lys Lys			
	1130	1135	1140
Asn Asn His Gln Glu Asp Lys Ile Glu Phe Asp Asn Glu Val Asp			
	1145	1150	1155
Lys Val Lys Gln Asp Ala Asn Cys Val Asn Pro Leu Gly Ala Pro			

1160	1165	1170
Glu Lys Leu Pro Glu Ala	Lys Glu Gln Ala Glu Gly Ser Glu Pro	
1175	1180	1185
Thr Ser Gly Thr Glu Gly	Pro Glu His Ser Val Asn Gly Pro Ala	
1190	1195	1200
Ser Pro Ala Leu Asn Gln Gly Ser		
1205	1210	
<210> 334		
<211> 1192		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 334		
Met Thr Met Tyr Leu Trp Leu Lys Leu Leu Ala Phe Gly Phe Ala Phe		
1	5	10
Leu Asp Thr Glu Val Phe Val Thr Gly Gln Ser Pro Thr Pro Ser Pro		
20	25	30
Thr Gly Val Ser Ser Val Gln Thr Pro His Leu Pro Thr His Ala Asp		
35	40	45
Ser Gln Thr Pro Ser Ala Gly Thr Asp Thr Gln Thr Phe Ser Gly Ser		
50	55	60
Ala Ala Asn Ala Lys Leu Asn Pro Thr Pro Gly Ser Asn Ala Ile Ser		
65	70	75
Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Ser Glu Thr Thr Thr Leu Ser Pro Ser Gly		
85	90	95
Ser Ala Val Ile Ser Thr Thr Thr Ile Ala Thr Thr Pro Ser Lys Pro		
100	105	110
Thr Cys Asp Glu Lys Tyr Ala Asn Ile Thr Val Asp Tyr Leu Tyr Asn		
115	120	125
Lys Glu Thr Lys Leu Phe Thr Ala Lys Leu Asn Val Asn Glu Asn Val		
130	135	140
Glu Cys Gly Asn Asn Thr Cys Thr Asn Asn Glu Val His Asn Leu Thr		
145	150	155
Glu Cys Lys Asn Ala Ser Val Ser Ile Ser His Asn Ser Cys Thr Ala		
165	170	175
Pro Asp Lys Thr Leu Ile Leu Asp Val Pro Pro Gly Val Glu Lys Phe		
180	185	190
Gln Leu His Asp Cys Thr Gln Val Glu Lys Ala Asp Thr Thr Ile Cys		
195	200	205
Leu Lys Trp Lys Asn Ile Glu Thr Phe Thr Cys Asp Thr Gln Asn Ile		

210	215	220
Thr Tyr Arg Phe Gln Cys Gly Asn Met Ile Phe Asp Asn Lys Glu Ile		
225	230	235
Lys Leu Glu Asn Leu Glu Pro Glu His Glu Tyr Lys Cys Asp Ser Glu		240
	245	250
Ile Leu Tyr Asn Asn His Lys Phe Thr Asn Ala Ser Lys Ile Ile Lys		255
	260	265
Thr Asp Phe Gly Ser Pro Gly Glu Pro Gln Ile Ile Phe Cys Arg Ser		270
	275	280
Glu Ala Ala His Gln Gly Val Ile Thr Trp Asn Pro Pro Gln Arg Ser		285
290	295	300
Phe His Asn Phe Thr Leu Cys Tyr Ile Lys Glu Thr Glu Lys Asp Cys		
305	310	315
Leu Asn Leu Asp Lys Asn Leu Ile Lys Tyr Asp Leu Gln Asn Leu Lys		320
	325	330
Pro Tyr Thr Lys Tyr Val Leu Ser Leu His Ala Tyr Ile Ile Ala Lys		335
	340	345
Val Gln Arg Asn Gly Ser Ala Ala Met Cys His Phe Thr Thr Lys Ser		350
	355	360
Ala Pro Pro Ser Gln Val Trp Asn Met Thr Val Ser Met Thr Ser Asp		365
370	375	380
Asn Ser Met His Val Lys Cys Arg Pro Pro Arg Asp Arg Asn Gly Pro		
385	390	395
His Glu Arg Tyr His Leu Glu Val Glu Ala Gly Asn Thr Leu Val Arg		400
	405	410
Asn Glu Ser His Lys Asn Cys Asp Phe Arg Val Lys Asp Leu Gln Tyr		415
	420	425
Ser Thr Asp Tyr Thr Phe Lys Ala Tyr Phe His Asn Gly Asp Tyr Pro		430
	435	440
Gly Glu Pro Phe Ile Leu His His Ser Thr Ser Tyr Asn Ser Lys Ala		445
450	455	460
Leu Ile Ala Phe Leu Ala Phe Leu Ile Ile Val Thr Ser Ile Ala Leu		
465	470	475
Leu Val Val Leu Tyr Lys Ile Tyr Asp Leu His Lys Lys Arg Ser Cys		480
	485	490
Asn Leu Asp Glu Gln Gln Glu Leu Val Glu Arg Asp Asp Glu Lys Gln		495
	500	505
Leu Met Asn Val Glu Pro Ile His Ala Asp Ile Leu Leu Glu Thr Tyr		510
515	520	525

Lys Arg Lys Ile Ala Asp Glu Gly Arg Leu Phe Leu Ala Glu Phe Gln		
530	535	540
Ser Ile Pro Arg Val Phe Ser Lys Phe Pro Ile Lys Glu Ala Arg Lys		
545	550	555 560
Pro Phe Asn Gln Asn Lys Asn Arg Tyr Val Asp Ile Leu Pro Tyr Asp		
	565	570 575
Tyr Asn Arg Val Glu Leu Ser Glu Ile Asn Gly Asp Ala Gly Ser Asn		
	580	585 590
Tyr Ile Asn Ala Ser Tyr Ile Asp Gly Phe Lys Glu Pro Arg Lys Tyr		
	595	600 605
Ile Ala Ala Gln Gly Pro Arg Asp Glu Thr Val Asp Asp Phe Trp Arg		
	610	615 620
Met Ile Trp Glu Gln Lys Ala Thr Val Ile Val Met Val Thr Arg Cys		
625	630	635 640
Glu Glu Gly Asn Arg Asn Lys Cys Ala Glu Tyr Trp Pro Ser Met Glu		
	645	650 655
Glu Gly Thr Arg Ala Phe Gly Asp Val Val Val Lys Ile Asn Gln His		
	660	665 670
Lys Arg Cys Pro Asp Tyr Ile Ile Gln Lys Leu Asn Ile Val Asn Lys		
	675	680 685
Lys Glu Lys Ala Thr Gly Arg Glu Val Thr His Ile Gln Phe Thr Ser		
	690	695 700
Trp Pro Asp His Gly Val Pro Glu Asp Pro His Leu Leu Leu Lys Leu		
705	710	715 720
Arg Arg Arg Val Asn Ala Phe Ser Asn Phe Phe Ser Gly Pro Ile Val		
	725	730 735
Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Thr Tyr Ile Gly Ile		
	740	745 750
Asp Ala Met Leu Glu Gly Leu Glu Ala Glu Asn Lys Val Asp Val Tyr		
	755	760 765
Gly Tyr Val Val Lys Leu Arg Arg Gln Arg Cys Leu Met Val Gln Val		
	770	775 780
Glu Ala Gln Tyr Ile Leu Ile His Gln Ala Leu Val Glu Tyr Asn Gln		
785	790	795 800
Phe Gly Glu Thr Glu Val Asn Leu Ser Glu Leu His Pro Tyr Leu His		
	805	810 815
Asn Met Lys Lys Arg Asp Pro Pro Ser Glu Pro Ser Pro Leu Glu Ala		
	820	825 830
Glu Phe Gln Arg Leu Pro Ser Tyr Arg Ser Trp Arg Thr Gln His Ile		

835	840	845
Gly Asn Gln Glu Glu Asn Lys Ser Lys Asn Arg Asn Ser Asn Val Ile		
850	855	860
Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Pro Leu Lys His Glu Leu Glu Met Ser		
865	870	875
Lys Glu Ser Glu His Asp Ser Asp Glu Ser Ser Asp Asp Asp Ser Asp		880
885	890	895
Ser Glu Glu Pro Ser Lys Tyr Ile Asn Ala Ser Phe Ile Met Ser Tyr		
900	905	910
Trp Lys Pro Glu Val Met Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu Lys Glu Thr		
915	920	925
Ile Gly Asp Phe Trp Gln Met Ile Phe Gln Arg Lys Val Lys Val Ile		
930	935	940
Val Met Leu Thr Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile Cys Ala Gln		
945	950	955
Tyr Trp Gly Glu Gly Lys Gln Thr Tyr Gly Asp Ile Glu Val Asp Leu		
965	970	975
Lys Asp Thr Asp Lys Ser Ser Thr Tyr Thr Leu Arg Val Phe Glu Leu		
980	985	990
Arg His Ser Lys Arg Lys Asp Ser Arg Thr Val Tyr Gln Tyr Gln Tyr		
995	1000	1005
Thr Asn Trp Ser Val Glu Gln Leu Pro Ala Glu Pro Lys Glu Leu		
1010	1015	1020
Ile Ser Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu Pro Gln Lys Asn		
1025	1030	1035
Ser Ser Glu Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr Pro Leu Leu Ile		
1040	1045	1050
His Cys Arg Asp Gly Ser Gln Gln Thr Gly Ile Phe Cys Ala Leu		
1055	1060	1065
Leu Asn Leu Leu Glu Ser Ala Glu Thr Glu Glu Val Val Asp Ile		
1070	1075	1080
Phe Gln Val Val Lys Ala Leu Arg Lys Ala Arg Pro Gly Met Val		
1085	1090	1095
Ser Thr Phe Glu Gln Tyr Gln Phe Leu Tyr Asp Val Ile Ala Ser		
1100	1105	1110
Thr Tyr Pro Ala Gln Asn Gly Gln Val Lys Lys Asn Asn His Gln		
1115	1120	1125
Glu Asp Lys Ile Glu Phe Asp Asn Glu Val Asp Lys Val Lys Gln		
1130	1135	1140

Asp Ala Asn Cys Val Asn Pro Leu Gly Ala Pro Glu Lys Leu Pro
 1145 1150 1155
 Glu Ala Lys Glu Gln Ala Glu Gly Ser Glu Pro Thr Ser Gly Thr
 1160 1165 1170
 Glu Gly Pro Glu His Ser Val Asn Gly Pro Ala Ser Pro Ala Leu
 1175 1180 1185
 Asn Gln Gly Ser
 1190
 <210> 335
 <211> 1193
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 335
 Met Thr Met Tyr Leu Trp Leu Lys Leu Leu Ala Phe Gly Phe Ala Phe
 1 5 10 15
 Leu Asp Thr Glu Val Phe Val Thr Gly Gln Ser Pro Thr Pro Ser Pro
 20 25 30
 Thr Asp Val Pro Gly Glu Arg Ser Thr Ala Ser Thr Phe Pro Thr Asp
 35 40 45
 Pro Val Ser Pro Leu Thr Thr Thr Leu Ser Leu Ala His His Ser Ser
 50 55 60
 Ala Ala Leu Pro Ala Arg Thr Ser Asn Thr Thr Ile Thr Ala Asn Thr
 65 70 75 80
 Ser Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Ser Glu Thr Thr Thr Leu Ser Pro Ser
 85 90 95
 Gly Ser Ala Val Ile Ser Thr Thr Thr Ile Ala Thr Thr Pro Ser Lys
 100 105 110
 Pro Thr Cys Asp Glu Lys Tyr Ala Asn Ile Thr Val Asp Tyr Leu Tyr
 115 120 125
 Asn Lys Glu Thr Lys Leu Phe Thr Ala Lys Leu Asn Val Asn Glu Asn
 130 135 140
 Val Glu Cys Gly Asn Asn Thr Cys Thr Asn Asn Glu Val His Asn Leu
 145 150 155 160
 Thr Glu Cys Lys Asn Ala Ser Val Ser Ile Ser His Asn Ser Cys Thr
 165 170 175
 Ala Pro Asp Lys Thr Leu Ile Leu Asp Val Pro Pro Gly Val Glu Lys
 180 185 190
 Phe Gln Leu His Asp Cys Thr Gln Val Glu Lys Ala Asp Thr Thr Ile
 195 200 205

Cys	Leu	Lys	Trp	Lys	Asn	Ile	Glu	Thr	Phe	Thr	Cys	Asp	Thr	Gln	Asn
210						215					220				
Ile	Thr	Tyr	Arg	Phe	Gln	Cys	Gly	Asn	Met	Ile	Phe	Asp	Asn	Lys	Glu
225					230					235					240
Ile	Lys	Leu	Glu	Asn	Leu	Glu	Pro	Glu	His	Glu	Tyr	Lys	Cys	Asp	Ser
				245					250					255	
Glu	Ile	Leu	Tyr	Asn	Asn	His	Lys	Phe	Thr	Asn	Ala	Ser	Lys	Ile	Ile
				260					265					270	
Lys	Thr	Asp	Phe	Gly	Ser	Pro	Gly	Glu	Pro	Gln	Ile	Ile	Phe	Cys	Arg
				275					280					285	
Ser	Glu	Ala	Ala	His	Gln	Gly	Val	Ile	Thr	Trp	Asn	Pro	Pro	Gln	Arg
290						295					300				
Ser	Phe	His	Asn	Phe	Thr	Leu	Cys	Tyr	Ile	Lys	Glu	Thr	Glu	Lys	Asp
305						310					315				320
Cys	Leu	Asn	Leu	Asp	Lys	Asn	Leu	Ile	Lys	Tyr	Asp	Leu	Gln	Asn	Leu
				325						330				335	
Lys	Pro	Tyr	Thr	Lys	Tyr	Val	Leu	Ser	Leu	His	Ala	Tyr	Ile	Ile	Ala
				340					345					350	
Lys	Val	Gln	Arg	Asn	Gly	Ser	Ala	Ala	Met	Cys	His	Phe	Thr	Thr	Lys
				355					360					365	
Ser	Ala	Pro	Pro	Ser	Gln	Val	Trp	Asn	Met	Thr	Val	Ser	Met	Thr	Ser
370						375					380				
Asp	Asn	Ser	Met	His	Val	Lys	Cys	Arg	Pro	Pro	Arg	Asp	Arg	Asn	Gly
385						390					395				400
Pro	His	Glu	Arg	Tyr	His	Leu	Glu	Val	Glu	Ala	Gly	Asn	Thr	Leu	Val
				405						410				415	
Arg	Asn	Glu	Ser	His	Lys	Asn	Cys	Asp	Phe	Arg	Val	Lys	Asp	Leu	Gln
				420					425					430	
Tyr	Ser	Thr	Asp	Tyr	Thr	Phe	Lys	Ala	Tyr	Phe	His	Asn	Gly	Asp	Tyr
				435					440				445		
Pro	Gly	Glu	Pro	Phe	Ile	Leu	His	His	Ser	Thr	Ser	Tyr	Asn	Ser	Lys
450						455					460				
Ala	Leu	Ile	Ala	Phe	Leu	Ala	Phe	Leu	Ile	Ile	Val	Thr	Ser	Ile	Ala
465						470					475				480
Leu	Leu	Val	Val	Leu	Tyr	Lys	Ile	Tyr	Asp	Leu	His	Lys	Lys	Arg	Ser
				485						490				495	
Cys	Asn	Leu	Asp	Glu	Gln	Gln	Glu	Leu	Val	Glu	Arg	Asp	Asp	Glu	Lys
				500					505					510	
Gln	Leu	Met	Asn	Val	Glu	Pro	Ile	His	Ala	Asp	Ile	Leu	Leu	Glu	Thr

515	520	525
Tyr Lys Arg Lys Ile Ala Asp	Glu Gly Arg Leu Phe	Leu Ala Glu Phe
530	535	540
Gln Ser Ile Pro Arg Val Phe	Ser Lys Phe Pro Ile Lys	Glu Ala Arg
545	550	555
Lys Pro Phe Asn Gln Asn Lys	Asn Arg Tyr Val Asp	Ile Leu Pro Tyr
565	570	575
Asp Tyr Asn Arg Val Glu Leu	Ser Glu Ile Asn Gly	Asp Ala Gly Ser
580	585	590
Asn Tyr Ile Asn Ala Ser Tyr	Ile Asp Gly Phe Lys	Glu Pro Arg Lys
595	600	605
Tyr Ile Ala Ala Gln Gly Pro	Arg Asp Glu Thr Val	Asp Asp Phe Trp
610	615	620
Arg Met Ile Trp Glu Gln Lys	Ala Thr Val Ile Val	Met Val Thr Arg
625	630	635
Cys Glu Glu Gly Asn Arg Asn	Lys Cys Ala Glu Tyr	Trp Pro Ser Met
645	650	655
Glu Glu Gly Thr Arg Ala Phe	Gly Asp Val Val Val	Lys Ile Asn Gln
660	665	670
His Lys Arg Cys Pro Asp Tyr	Ile Ile Gln Lys Leu	Asn Ile Val Asn
675	680	685
Lys Lys Glu Lys Ala Thr Gly	Arg Glu Val Thr His	Ile Gln Phe Thr
690	695	700
Ser Trp Pro Asp His Gly Val	Pro Glu Asp Pro His	Leu Leu Leu Lys
705	710	715
Leu Arg Arg Arg Val Asn Ala	Phe Ser Asn Phe Phe	Ser Gly Pro Ile
725	730	735
Val Val His Cys Ser Ala Gly	Val Gly Arg Thr Gly	Thr Tyr Ile Gly
740	745	750
Ile Asp Ala Met Leu Glu Gly	Leu Glu Ala Glu Asn	Lys Val Asp Val
755	760	765
Tyr Gly Tyr Val Val Lys	Leu Arg Arg Gln Arg	Cys Leu Met Val Gln
770	775	780
Val Glu Ala Gln Tyr Ile Leu	Ile His Gln Ala Leu	Val Glu Tyr Asn
785	790	795
Gln Phe Gly Glu Thr Glu Val	Asn Leu Ser Glu Leu	His Pro Tyr Leu
805	810	815
His Asn Met Lys Lys Arg Asp	Pro Pro Ser Glu Pro	Ser Pro Leu Glu
820	825	830

Ala Glu Phe Gln Arg Leu Pro Ser Tyr Arg Ser Trp Arg Thr Gln His		
835	840	845
Ile Gly Asn Gln Glu Glu Asn Lys Ser Lys Asn Arg Asn Ser Asn Val		
850	855	860
Ile Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Pro Leu Lys His Glu Leu Glu Met		
865	870	875
Ser Lys Glu Ser Glu His Asp Ser Asp Glu Ser Ser Asp Asp Asp Ser		
885	890	895
Asp Ser Glu Glu Pro Ser Lys Tyr Ile Asn Ala Ser Phe Ile Met Ser		
900	905	910
Tyr Trp Lys Pro Glu Val Met Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu Lys Glu		
915	920	925
Thr Ile Gly Asp Phe Trp Gln Met Ile Phe Gln Arg Lys Val Lys Val		
930	935	940
Ile Val Met Leu Thr Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile Cys Ala		
945	950	955
Gln Tyr Trp Gly Glu Gly Lys Gln Thr Tyr Gly Asp Ile Glu Val Asp		
965	970	975
Leu Lys Asp Thr Asp Lys Ser Ser Thr Tyr Thr Leu Arg Val Phe Glu		
980	985	990
Leu Arg His Ser Lys Arg Lys Asp Ser Arg Thr Val Tyr Gln Tyr Gln		
995	1000	1005
Tyr Thr Asn Trp Ser Val Glu Gln Leu Pro Ala Glu Pro Lys Glu		
1010	1015	1020
Leu Ile Ser Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu Pro Gln Lys		
1025	1030	1035
Asn Ser Ser Glu Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr Pro Leu Leu		
1040	1045	1050
Ile His Cys Arg Asp Gly Ser Gln Gln Thr Gly Ile Phe Cys Ala		
1055	1060	1065
Leu Leu Asn Leu Leu Glu Ser Ala Glu Thr Glu Glu Val Val Asp		
1070	1075	1080
Ile Phe Gln Val Val Lys Ala Leu Arg Lys Ala Arg Pro Gly Met		
1085	1090	1095
Val Ser Thr Phe Glu Gln Tyr Gln Phe Leu Tyr Asp Val Ile Ala		
1100	1105	1110
Ser Thr Tyr Pro Ala Gln Asn Gly Gln Val Lys Lys Asn Asn His		
1115	1120	1125
Gln Glu Asp Lys Ile Glu Phe Asp Asn Glu Val Asp Lys Val Lys		

1130	1135	1140
Gln Asp Ala Asn Cys Val	Asn Pro Leu Gly Ala	Pro Glu Lys Leu
1145	1150	1155
Pro Glu Ala Lys Glu Gln	Ala Glu Gly Ser Glu	Pro Thr Ser Gly
1160	1165	1170
Thr Glu Gly Pro Glu His	Ser Val Asn Gly Pro	Ala Ser Pro Ala
1175	1180	1185
Leu Asn Gln Gly Ser		
1190		
<210> 336		
<211> 1145		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 336		
Met Thr Met Tyr Leu Trp	Leu Lys Leu Leu Ala Phe	Gly Phe Ala Phe
1	5	10
Leu Asp Thr Glu Val Phe	Val Thr Gly Gln Ser Pro	Thr Pro Ser Pro
20	25	30
Thr Asp Ala Tyr Leu Asn	Ala Ser Glu Thr Thr Thr	Leu Ser Pro Ser
35	40	45
Gly Ser Ala Val Ile Ser	Thr Thr Thr Ile Ala Thr	Thr Pro Ser Lys
50	55	60
Pro Thr Cys Asp Glu Lys	Tyr Ala Asn Ile Thr Val	Asp Tyr Leu Tyr
65	70	75
Asn Lys Glu Thr Lys Leu	Phe Thr Ala Lys Leu Asn	Val Asn Glu Asn
85	90	95
Val Glu Cys Gly Asn Asn	Thr Cys Thr Asn Asn Glu	Val His Asn Leu
100	105	110
Thr Glu Cys Lys Asn Ala	Ser Val Ser Ile Ser His	Asn Ser Cys Thr
115	120	125
Ala Pro Asp Lys Thr Leu	Ile Leu Asp Val Pro Pro	Gly Val Glu Lys
130	135	140
Phe Gln Leu His Asp Cys	Thr Gln Val Glu Lys Ala	Asp Thr Thr Ile
145	150	155
Cys Leu Lys Trp Lys Asn	Ile Glu Thr Phe Thr Cys	Asp Thr Gln Asn
165	170	175
Ile Thr Tyr Arg Phe Gln	Cys Gly Asn Met Ile Phe	Asp Asn Lys Glu
180	185	190
Ile Lys Leu Glu Asn Leu	Glu Pro Glu His Glu Tyr	Lys Cys Asp Ser

195	200	205
Glu Ile Leu Tyr Asn Asn His Lys Phe Thr Asn Ala Ser Lys Ile Ile		
210	215	220
Lys Thr Asp Phe Gly Ser Pro Gly Glu Pro Gln Ile Ile Phe Cys Arg		
225	230	235
Ser Glu Ala Ala His Gln Gly Val Ile Thr Trp Asn Pro Pro Gln Arg		
245	250	255
Ser Phe His Asn Phe Thr Leu Cys Tyr Ile Lys Glu Thr Glu Lys Asp		
260	265	270
Cys Leu Asn Leu Asp Lys Asn Leu Ile Lys Tyr Asp Leu Gln Asn Leu		
275	280	285
Lys Pro Tyr Thr Lys Tyr Val Leu Ser Leu His Ala Tyr Ile Ile Ala		
290	295	300
Lys Val Gln Arg Asn Gly Ser Ala Ala Met Cys His Phe Thr Thr Lys		
305	310	315
Ser Ala Pro Pro Ser Gln Val Trp Asn Met Thr Val Ser Met Thr Ser		
325	330	335
Asp Asn Ser Met His Val Lys Cys Arg Pro Pro Arg Asp Arg Asn Gly		
340	345	350
Pro His Glu Arg Tyr His Leu Glu Val Glu Ala Gly Asn Thr Leu Val		
355	360	365
Arg Asn Glu Ser His Lys Asn Cys Asp Phe Arg Val Lys Asp Leu Gln		
370	375	380
Tyr Ser Thr Asp Tyr Thr Phe Lys Ala Tyr Phe His Asn Gly Asp Tyr		
385	390	395
Pro Gly Glu Pro Phe Ile Leu His His Ser Thr Ser Tyr Asn Ser Lys		
405	410	415
Ala Leu Ile Ala Phe Leu Ala Phe Leu Ile Ile Val Thr Ser Ile Ala		
420	425	430
Leu Leu Val Val Leu Tyr Lys Ile Tyr Asp Leu His Lys Lys Arg Ser		
435	440	445
Cys Asn Leu Asp Glu Gln Gln Glu Leu Val Glu Arg Asp Asp Glu Lys		
450	455	460
Gln Leu Met Asn Val Glu Pro Ile His Ala Asp Ile Leu Leu Glu Thr		
465	470	475
Tyr Lys Arg Lys Ile Ala Asp Glu Gly Arg Leu Phe Leu Ala Glu Phe		
485	490	495
Gln Ser Ile Pro Arg Val Phe Ser Lys Phe Pro Ile Lys Glu Ala Arg		
500	505	510

Lys	Pro	Phe	Asn	Gln	Asn	Lys	Asn	Arg	Tyr	Val	Asp	Ile	Leu	Pro	Tyr				
515					520					525									
Asp	Tyr	Asn	Arg	Val	Glu	Leu	Ser	Glu	Ile	Asn	Gly	Asp	Ala	Gly	Ser				
530					535					540									
Asn	Tyr	Ile	Asn	Ala	Ser	Tyr	Ile	Asp	Gly	Phe	Lys	Glu	Pro	Arg	Lys				
545					550					555					560				
Tyr	Ile	Ala	Ala	Gln	Gly	Pro	Arg	Asp	Glu	Thr	Val	Asp	Asp	Phe	Trp				
565					570					575									
Arg	Met	Ile	Trp	Glu	Gln	Lys	Ala	Thr	Val	Ile	Val	Met	Val	Thr	Arg				
580					585					590									
Cys	Glu	Glu	Gly	Asn	Arg	Asn	Lys	Cys	Ala	Glu	Tyr	Trp	Pro	Ser	Met				
595					600					605									
Glu	Glu	Gly	Thr	Arg	Ala	Phe	Gly	Asp	Val	Val	Val	Lys	Ile	Asn	Gln				
610					615					620									
His	Lys	Arg	Cys	Pro	Asp	Tyr	Ile	Ile	Gln	Lys	Leu	Asn	Ile	Val	Asn				
625					630					635					640				
Lys	Lys	Glu	Lys	Ala	Thr	Gly	Arg	Glu	Val	Thr	His	Ile	Gln	Phe	Thr				
645					650					655									
Ser	Trp	Pro	Asp	His	Gly	Val	Pro	Glu	Asp	Pro	His	Leu	Leu	Leu	Lys				
660					665					670									
Leu	Arg	Arg	Arg	Val	Asn	Ala	Phe	Ser	Asn	Phe	Phe	Ser	Gly	Pro	Ile				
675					680					685									
Val	Val	His	Cys	Ser	Ala	Gly	Val	Gly	Arg	Thr	Gly	Thr	Tyr	Ile	Gly				
690					695					700									
Ile	Asp	Ala	Met	Leu	Glu	Gly	Leu	Glu	Ala	Glu	Asn	Lys	Val	Asp	Val				
705					710					715					720				
Tyr	Gly	Tyr	Val	Val	Lys	Leu	Arg	Arg	Gln	Arg	Cys	Leu	Met	Val	Gln				
725					730					735									
Val	Glu	Ala	Gln	Tyr	Ile	Leu	Ile	His	Gln	Ala	Leu	Val	Glu	Tyr	Asn				
740					745					750									
Gln	Phe	Gly	Glu	Thr	Glu	Val	Asn	Leu	Ser	Glu	Leu	His	Pro	Tyr	Leu				
755					760					765									
His	Asn	Met	Lys	Lys	Arg	Asp	Pro	Pro	Ser	Glu	Pro	Ser	Pro	Leu	Glu				
770					775					780									
Ala	Glu	Phe	Gln	Arg	Leu	Pro	Ser	Tyr	Arg	Ser	Trp	Arg	Thr	Gln	His				
785					790					795					800				
Ile	Gly	Asn	Gln	Glu	Glu	Asn	Lys	Ser	Lys	Asn	Arg	Asn	Ser	Asn	Val				
805					810					815									
Ile	Pro	Tyr	Asp	Tyr	Asn	Arg	Val	Pro	Leu	Lys	His	Glu	Leu	Glu	Met				

820	825	830
Ser Lys Glu Ser Glu His Asp	Ser Asp Glu Ser Ser Asp	Asp Asp Ser
835	840	845
Asp Ser Glu Glu Pro Ser Lys Tyr Ile Asn Ala Ser Phe Ile Met Ser		
850	855	860
Tyr Trp Lys Pro Glu Val Met Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu Lys Glu		
865	870	875
Thr Ile Gly Asp Phe Trp Gln Met Ile Phe Gln Arg Lys Val Lys Val		
885	890	895
Ile Val Met Leu Thr Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile Cys Ala		
900	905	910
Gln Tyr Trp Gly Glu Gly Lys Gln Thr Tyr Gly Asp Ile Glu Val Asp		
915	920	925
Leu Lys Asp Thr Asp Lys Ser Ser Thr Tyr Thr Leu Arg Val Phe Glu		
930	935	940
Leu Arg His Ser Lys Arg Lys Asp Ser Arg Thr Val Tyr Gln Tyr Gln		
945	950	955
Tyr Thr Asn Trp Ser Val Glu Gln Leu Pro Ala Glu Pro Lys Glu Leu		
965	970	975
Ile Ser Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu Pro Gln Lys Asn Ser		
980	985	990
Ser Glu Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr Pro Leu Leu Ile His Cys		
995	1000	1005
Arg Asp Gly Ser Gln Gln Thr Gly Ile Phe Cys Ala Leu Leu Asn		
1010	1015	1020
Leu Leu Glu Ser Ala Glu Thr Glu Glu Val Val Asp Ile Phe Gln		
1025	1030	1035
Val Val Lys Ala Leu Arg Lys Ala Arg Pro Gly Met Val Ser Thr		
1040	1045	1050
Phe Glu Gln Tyr Gln Phe Leu Tyr Asp Val Ile Ala Ser Thr Tyr		
1055	1060	1065
Pro Ala Gln Asn Gly Gln Val Lys Lys Asn Asn His Gln Glu Asp		
1070	1075	1080
Lys Ile Glu Phe Asp Asn Glu Val Asp Lys Val Lys Gln Asp Ala		
1085	1090	1095
Asn Cys Val Asn Pro Leu Gly Ala Pro Glu Lys Leu Pro Glu Ala		
1100	1105	1110
Lys Glu Gln Ala Glu Gly Ser Glu Pro Thr Ser Gly Thr Glu Gly		
1115	1120	1125

Pro Glu His Ser Val Asn Gly Pro Ala Ser Pro Ala Leu Asn Gln
 1130 1135 1140

Gly Ser
 1145

<210> 337

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

poly肽

<400> 337

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Thr Ser Ser Thr Ile Asn Phe Thr Pro Ser Leu
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Asn Tyr Tyr Arg Tyr Gly Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala
 115 120

<210> 338

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

poly肽

<400> 338

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser

	20		25		30														
Gly	Tyr	Ser	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro				
	35						40					45							
Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Asn	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ala				
	50					55					60								
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Asn	Ile	His				
65					70					75					80				
Pro	Val	Glu	Glu	Glu	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	His	Ser	Arg				
				85				90				95							
Glu	Leu	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg				
	100							105					110						
<210>	339																		
<211>	438																		
<212>	PRT																		
<213>	智人																		
<400>	339																		
Met	Val	Cys	Ser	Gln	Ser	Trp	Gly	Arg	Ser	Ser	Lys	Gln	Trp	Glu	Asp				
1			5				10					15							
Pro	Ser	Gln	Ala	Ser	Lys	Val	Cys	Gln	Arg	Leu	Asn	Cys	Gly	Val	Pro				
	20						25					30							
Leu	Ser	Leu	Gly	Pro	Phe	Leu	Val	Thr	Tyr	Thr	Pro	Gln	Ser	Ser	Ile				
	35						40					45							
Ile	Cys	Tyr	Gly	Gln	Leu	Gly	Ser	Phe	Ser	Asn	Cys	Ser	His	Ser	Arg				
	50					55					60								
Asn	Asp	Met	Cys	His	Ser	Leu	Gly	Leu	Thr	Cys	Leu	Glu	Pro	Gln	Lys				
65					70					75					80				
Thr	Thr	Pro	Pro	Thr	Thr	Arg	Pro	Pro	Pro	Thr	Thr	Thr	Pro	Glu	Pro				
				85				90				95							
Thr	Ala	Pro	Pro	Arg	Leu	Gln	Leu	Val	Ala	Gln	Ser	Gly	Gly	Gln	His				
	100						105					110							
Cys	Ala	Gly	Val	Val	Glu	Phe	Tyr	Ser	Gly	Ser	Leu	Gly	Gly	Thr	Ile				
	115						120					125							
Ser	Tyr	Glu	Ala	Gln	Asp	Lys	Thr	Gln	Asp	Leu	Glu	Asn	Phe	Leu	Cys				
	130					135						140							
Asn	Asn	Leu	Gln	Cys	Gly	Ser	Phe	Leu	Lys	His	Leu	Pro	Glu	Thr	Glu				
145					150					155					160				
Ala	Gly	Arg	Ala	Gln	Asp	Pro	Gly	Glu	Pro	Arg	Glu	His	Gln	Pro	Leu				
				165				170				175							
Pro	Ile	Gln	Trp	Lys	Ile	Gln	Asn	Ser	Ser	Cys	Thr	Ser	Leu	Glu	His				

180	185	190
Cys Phe Arg Lys Ile Lys Pro Gln Lys Ser Gly Arg Val Leu Ala Leu		
195	200	205
Leu Cys Ser Gly Phe Gln Pro Lys Val Gln Ser Arg Leu Val Gly Gly		
210	215	220
Ser Ser Ile Cys Glu Gly Thr Val Glu Val Arg Gln Gly Ala Gln Trp		
225	230	235
Ala Ala Leu Cys Asp Ser Ser Ser Ala Arg Ser Ser Leu Arg Trp Glu		
245	250	255
Glu Val Cys Arg Glu Gln Gln Cys Gly Ser Val Asn Ser Tyr Arg Val		
260	265	270
Leu Asp Ala Gly Asp Pro Thr Ser Arg Gly Leu Phe Cys Pro His Gln		
275	280	285
Lys Leu Ser Gln Cys His Glu Leu Trp Glu Arg Asn Ser Tyr Cys Lys		
290	295	300
Lys Val Phe Val Thr Cys Gln Asp Pro Asn Pro Ala Gly Leu Ala Ala		
305	310	315
Gly Thr Val Ala Ser Ile Ile Leu Ala Leu Val Leu Leu Val Val Leu		
325	330	335
Leu Val Val Cys Gly Pro Leu Ala Tyr Lys Lys Leu Val Lys Lys Phe		
340	345	350
Arg Gln Lys Lys Gln Arg Gln Trp Ile Gly Pro Thr Gly Met Asn Gln		
355	360	365
Asn Met Ser Phe His Arg Asn His Thr Ala Thr Val Arg Ser His Ala		
370	375	380
Glu Asn Pro Thr Ala Ser His Val Asp Asn Glu Tyr Ser Gln Pro Pro		
385	390	395
Arg Asn Ser His Leu Ser Ala Tyr Pro Ala Leu Glu Gly Ala Leu His		
405	410	415
Arg Ser Ser Met Gln Pro Asp Asn Ser Ser Asp Ser Asp Tyr Asp Leu		
420	425	430
His Gly Ala Gln Arg Leu		
435		

<210> 340

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 340

Thr Ser Trp Ile Gly

1 5

<210> 341

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 341

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 342

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 342

His Gly Leu Gly Tyr Asn Gly Tyr Glu Gly Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 343

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 343

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gly Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 344

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 344

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210> 345

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 345

Gln Gln Leu Asn Gly Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 346

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

poly肽

<400> 346

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Gly Leu Gly Tyr Asn Gly Tyr Glu Gly Ala Phe Asp Ile

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 347

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
poly肽

<400> 347

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 Gly Ser Ala
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr 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 Leu Asn Gly Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 348

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成
肽

<400> 348

Phe Thr Phe Ser Asp Ala Asp Met Asp
1 5

<210> 349

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 349

Arg Thr Arg Asn Lys Ala Gly Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 350

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 350

Ala Arg Glu Pro Lys Tyr Trp Ile Asp Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 351

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 351

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 352

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 352

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 353

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

肽

<400> 353

Gln Gln Ser Tyr Ile Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 354

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

poly肽

<400> 354

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 Asp Ala

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Gly Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Pro Lys Tyr Trp Ile Asp Phe Asp Leu Trp Gly

100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 355

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列描述：合成

poly肽

<400> 355

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 Ile Ala Pro Tyr			
85	90	95	
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
100	105		

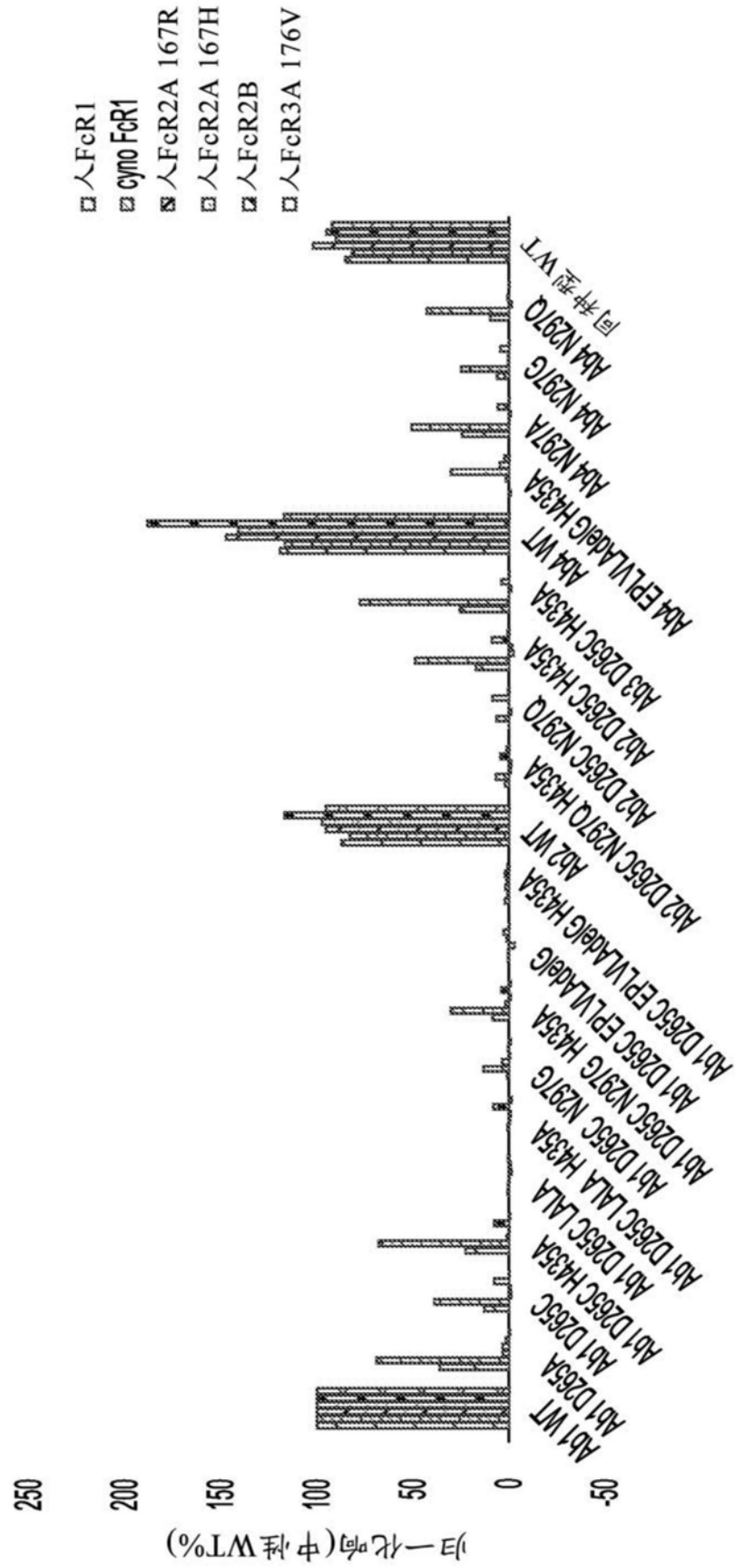


图1A

	Bio-hFcR1 归一化	His-hFcR1 响应	His-cyno FcR1 响应	Bio- hFcR2A 167R	Bio hFcR2A 167H	Bio- hFcR2B	Bio- hFcR3A 176V
抗体	人 FcR1	人 FcR1	cyno FcR1	人 FcR2A 167R	人 FcR2A 167H	人 FcR2B	人 FcR3A 176V
Ab1 WT	100	100	100	100	100	100	100
Ab1 D265A	48	36	69	3	3	2	-1
Ab1 D265C	18	13	39	-1	-1	8	0
Ab1 D265C H435A	25	23	68	1	0	8	0
Ab1 D265C LALA	-1	1	1	0	-1	-1	0
Ab1 D265C LALA H435A	-3	0	1	0	-1	8	-1
Ab1 D265C N297G	3	1	13	4	0	0	-1
Ab1 D265C N297G H435A	16	9	30	2	-1	4	-1
Ab1 D265C EPLVLAdeIG	-1	1	1	-3	1	3	0
Ab1 D265C EPLVLAdeIG H435A	-1	2	1	2	1	2	1
Ab2 WT	83	87	83	95	97	117	95
Ab2 D265C N297Q H435A	1	2	7	-1	-1	4	1
Ab2 D265C N297Q	-1	0	7	-1	0	9	0
Ab2 D265C H435A	19	17	49	-2	-2	9	1
Ab3 D265C H435A	14	26	78	0	-1	4	0
Ab4 WT	97	119	117	147	141	188	117
Ab4 EPLVLAdeIG H435A	-2	-1	0	1	30	5	2
Ab4 N297A	36	24	51	0	-1	6	0
Ab4 N297G	10	6	25	0	0	4	0
Ab4 N297Q	13	10	43	-1	1	0	0
同种型WT	91	85	82	102	90	95	92

图1B

抗体	Hu Fc1	Hu Fc2A 167R	Hu Fc2A 167H	Hu Fc2B	Hu Fc3A 176F	Hu Fc3A 176V
Ab5 (WT)	100	100	100	100	100	100
Ab5 D265C.H435A	33	0	0	3	-3	-1
Ab5 D265C.N297A.H435A	1	0	-1	2	-4	0
Ab5 LALA.P329G	1	2	-1	-1	-1	-1
Ab5 EPLVLAdeIG	1	15	66	10	9	16
Ab5 LALA.P331G	4	1	-1	8	0	0
Ab5 D265A.H435A	35	0	3	1	-4	-1
Ab5 D265C.LALA.P331G.H435A	0	-1	0	-1	0	0
Ab5 N297A.I253A.H310A.H435A	25	-2	0	0	-3	0
Ab5 CH2缺失的	-1	0	-1	1	0	0
Ab5 D265A	40	-1	2	2	0	0
Ab5 LALA	21	2	4	3	19	34
Ab5 D265A.LALA	0	0	1	-1	-2	1
Ab5 D265C.LALA.P329G.H435A	4	0	0	-4	1	1
rIgG2a(大鼠IgG2a同种型对照)	0	74	3	8	1	0
YTH24.5(抗CD45 rIgG2b)	121	56	150	120	62	51
Ab5 ADC1 (WT)链间DAR 4	94	152	146	175	150	107
Ab5 ADC1 D265A.H435A链间DAR 4	43	2	5	10	2	1
Ab5 ADC1 D265A链间DAR 4	49	24	46	11	4	1
Ab5 ADC1 D265C.H435A DAR 2	37	0	0	3	2	0

图1C

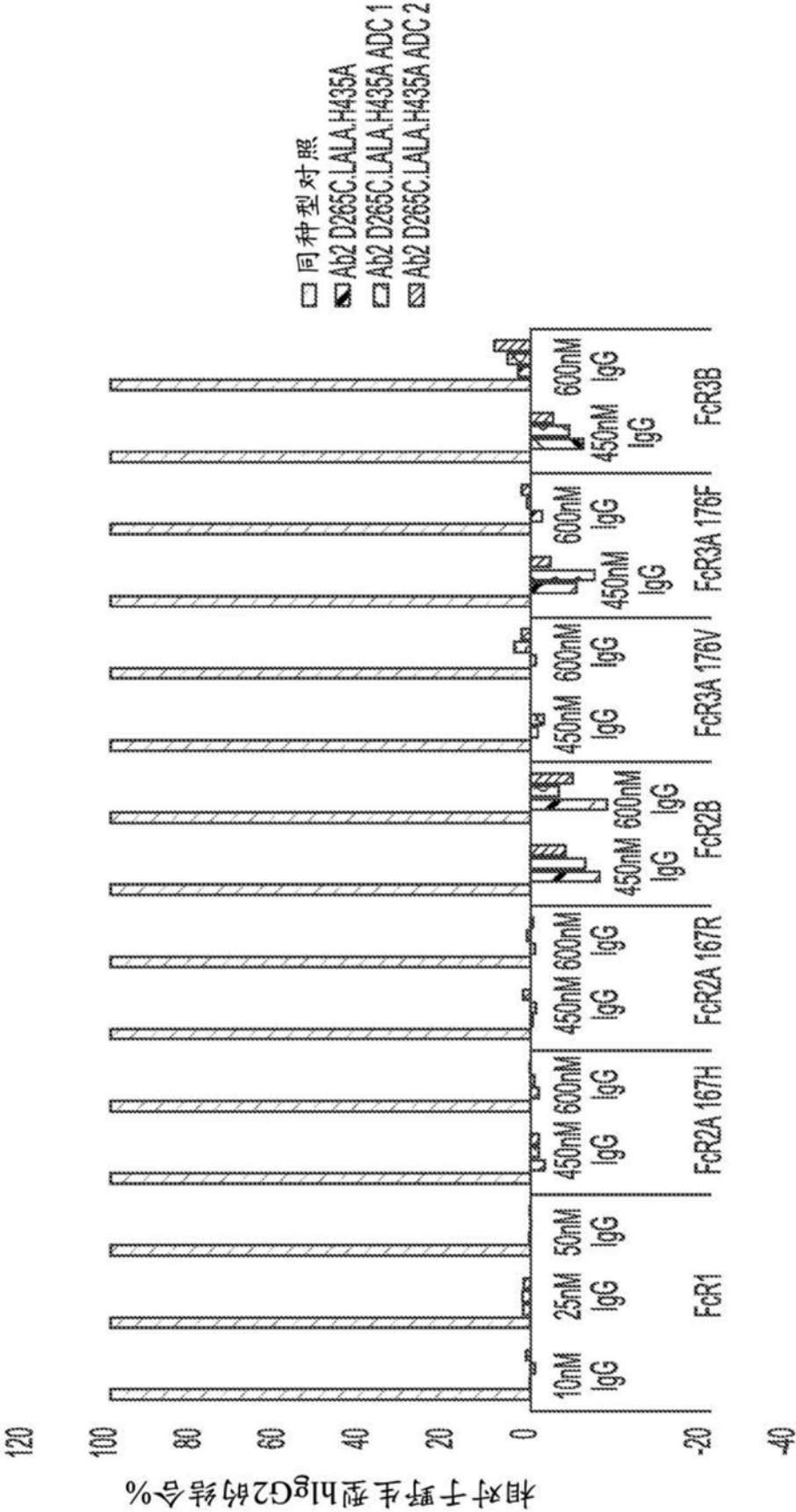


图1D

	FcR1			FcR2A 167H		FcR2A 167R		FcR2B		FcR3A 176V		FcR3A 176F		FcR3B	
	10nM IgG	25nM IgG	50nM IgG	450nM IgG	600nM IgG	450nM IgG	600nM IgG	450nM IgG	600nM IgG	450nM IgG	600nM IgG	450nM IgG	600nM IgG	450nM IgG	600nM IgG
抗体	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
同种型对照	0	2	0	-3	-2	-1	-1	-16	-18	-2	-1	-11	-3	-13	3
Ab2 D265C. LALA.H435A	-1	2	0	-2	-1	-1	1	-13	-7	-3	4	-15	1	-9	5
Ab2 D265C. LALA.H435A ADC1	1	2	0	-2	0	2	-1	-8	-10	0	2	-5	2	-5	9

图1E

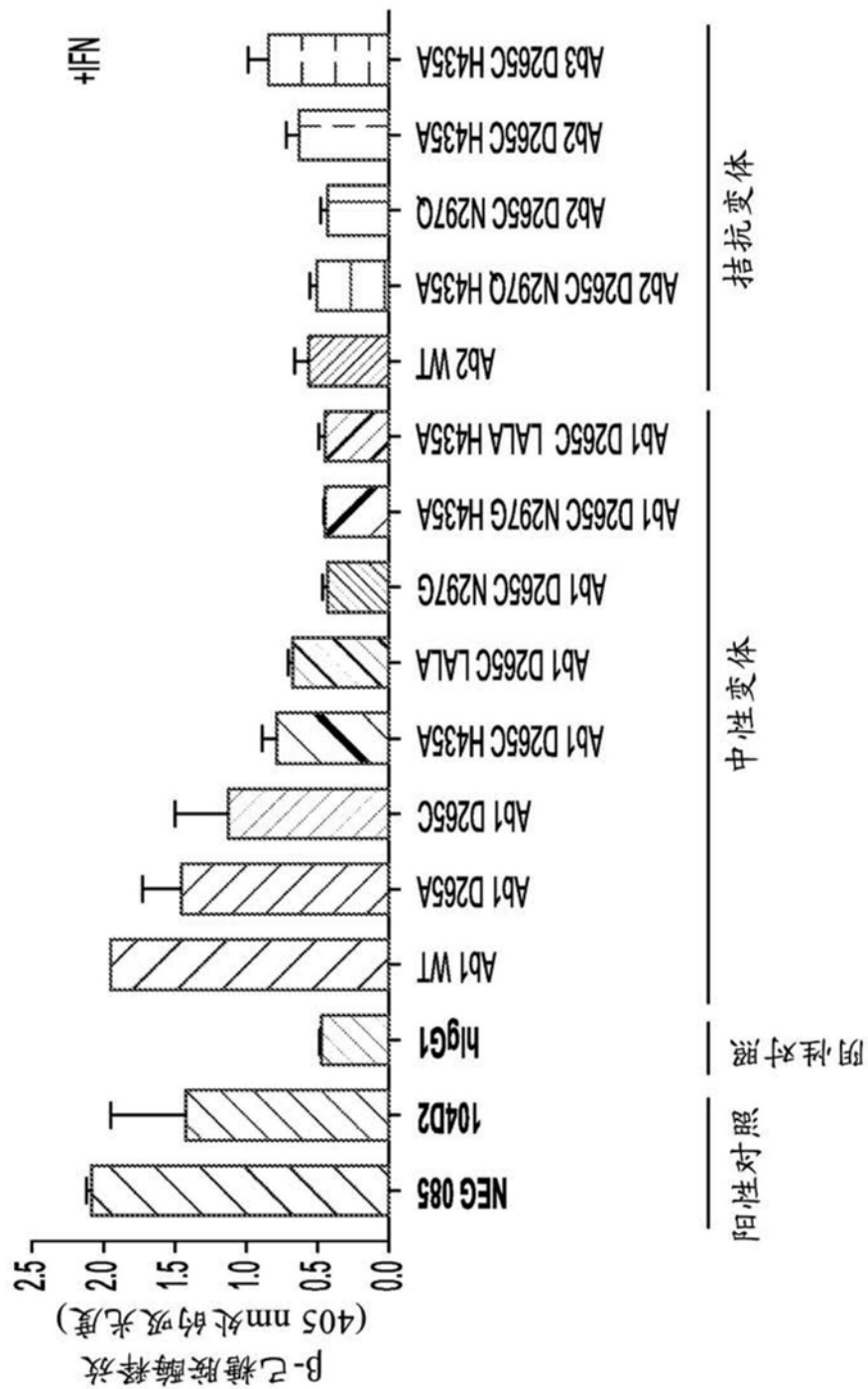


图2

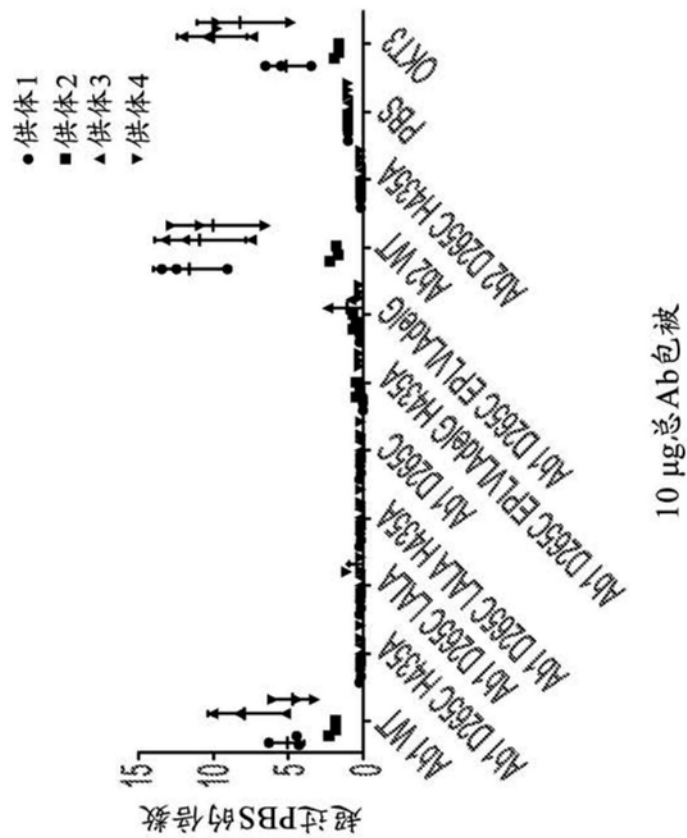


图3A

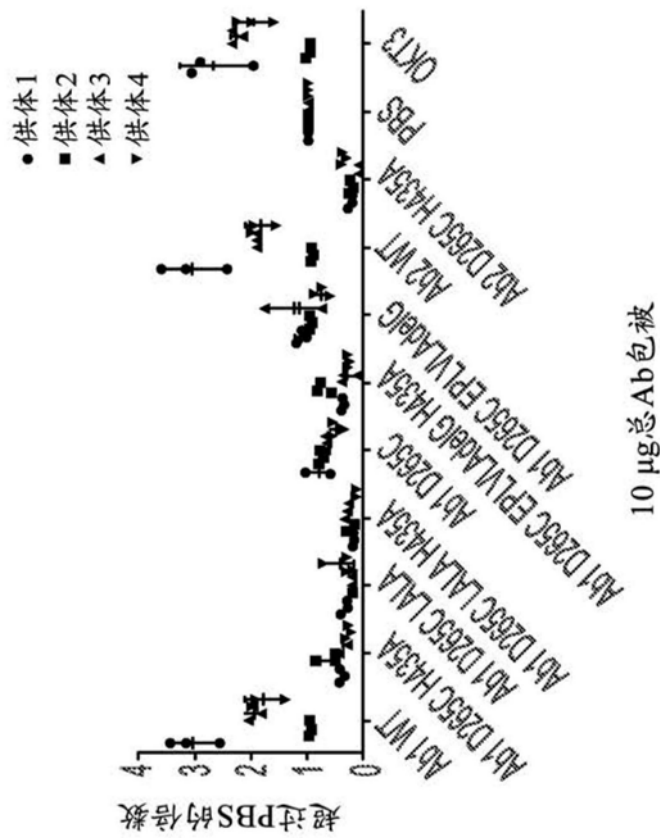


图3B

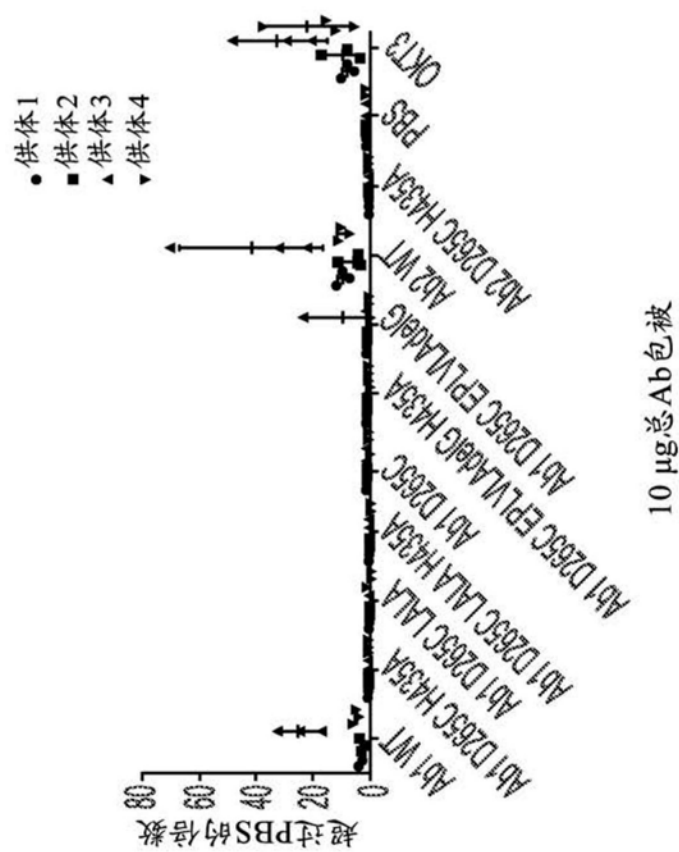


图3C

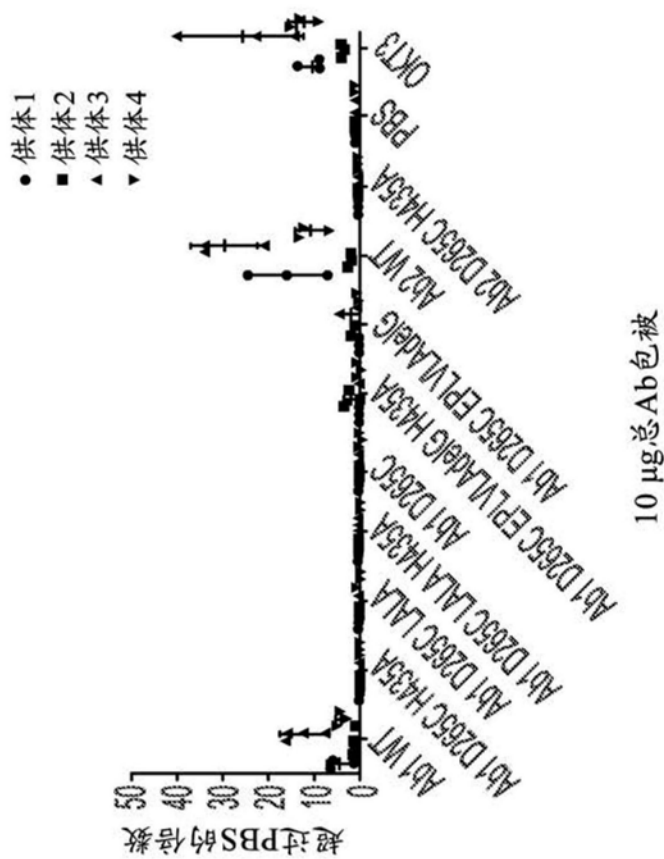


图3D

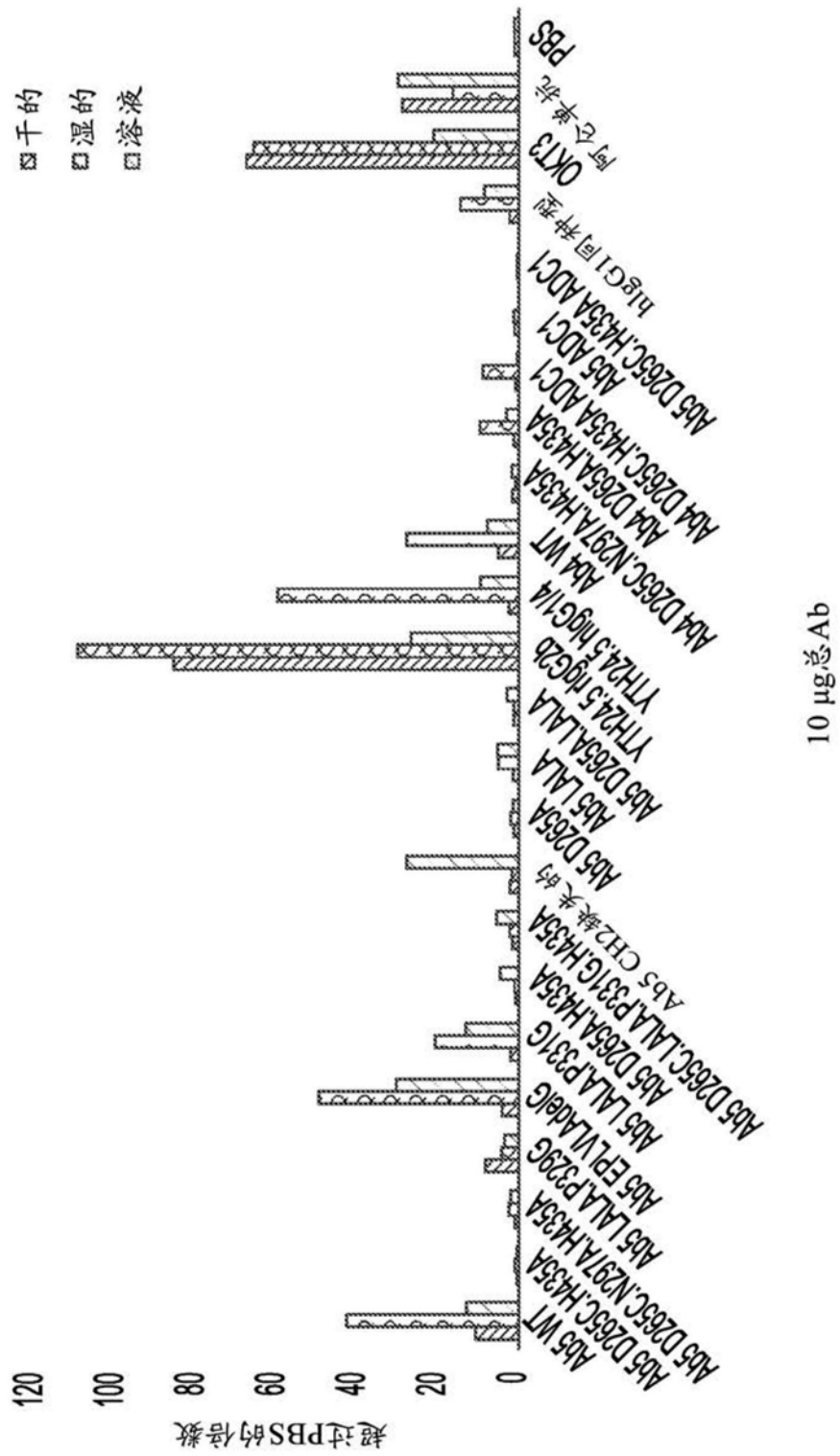


图3E

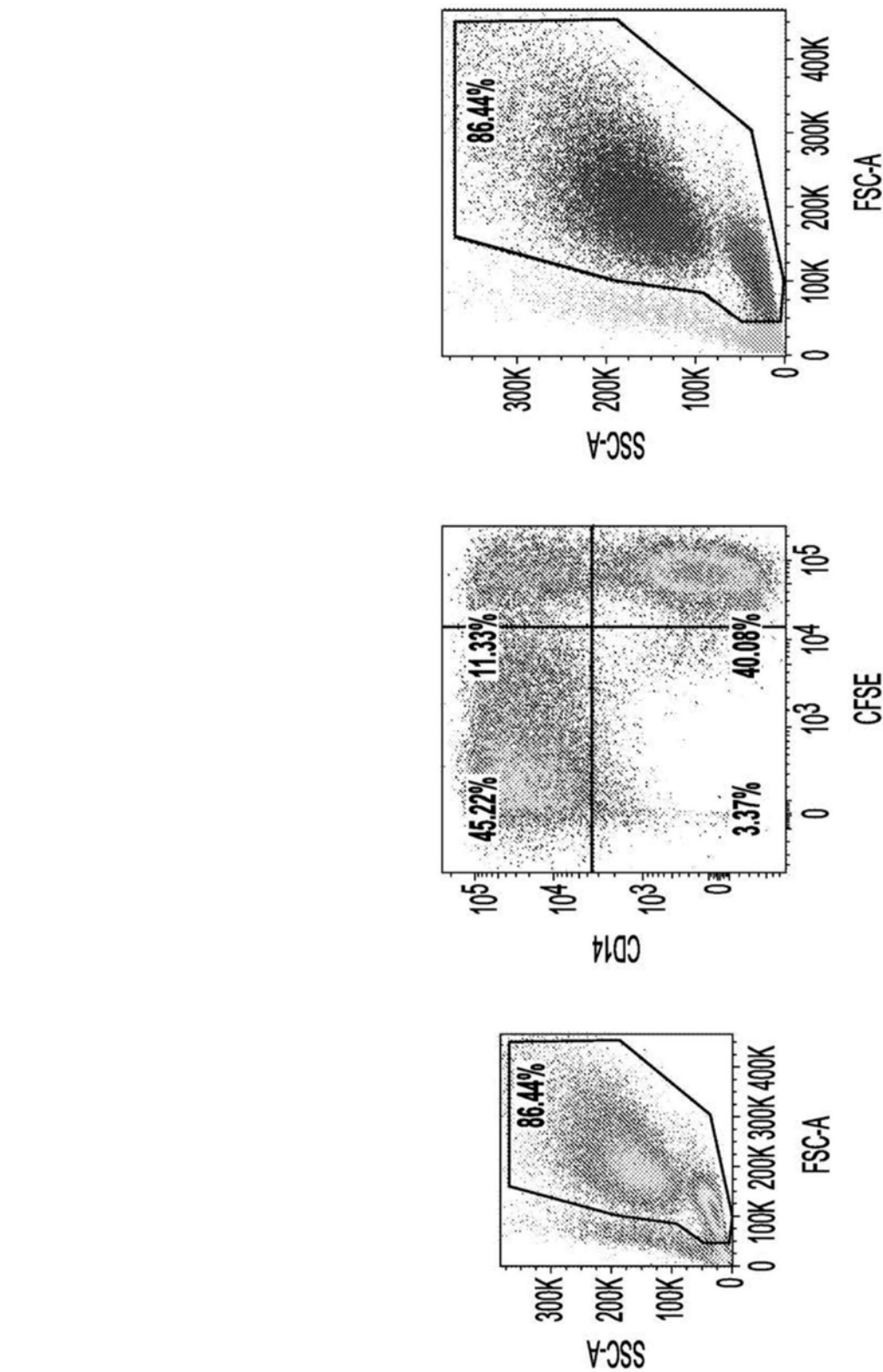


图4A

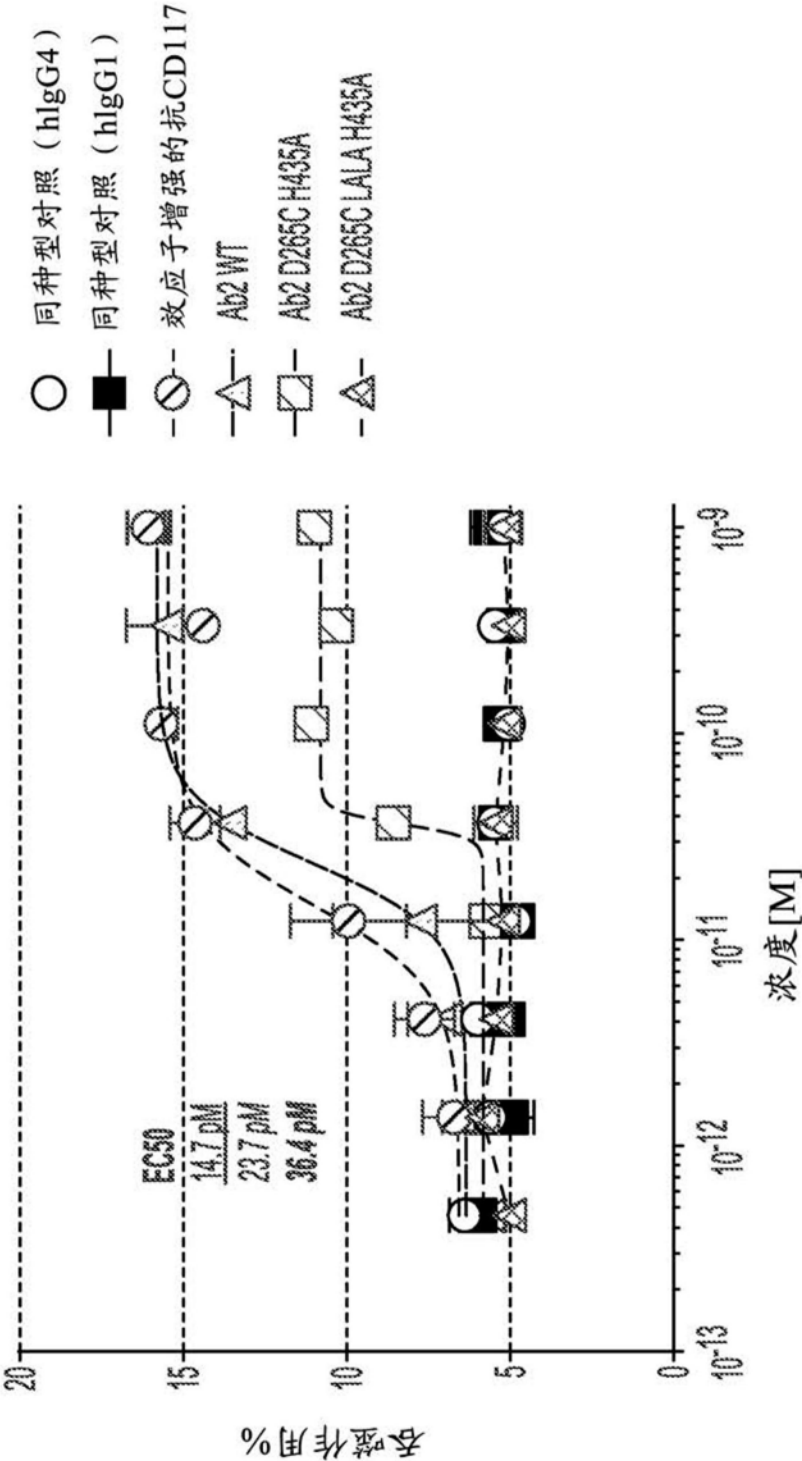


图4B

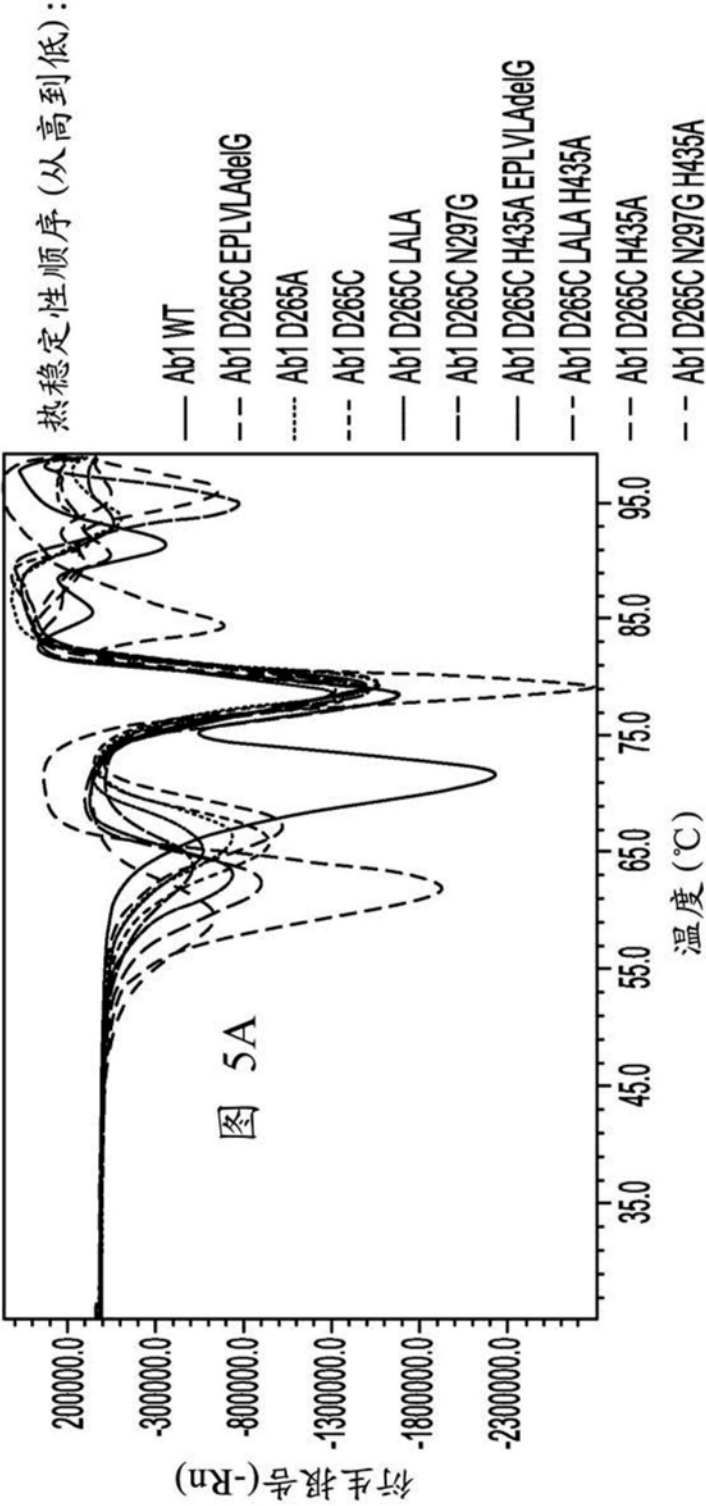


图5A

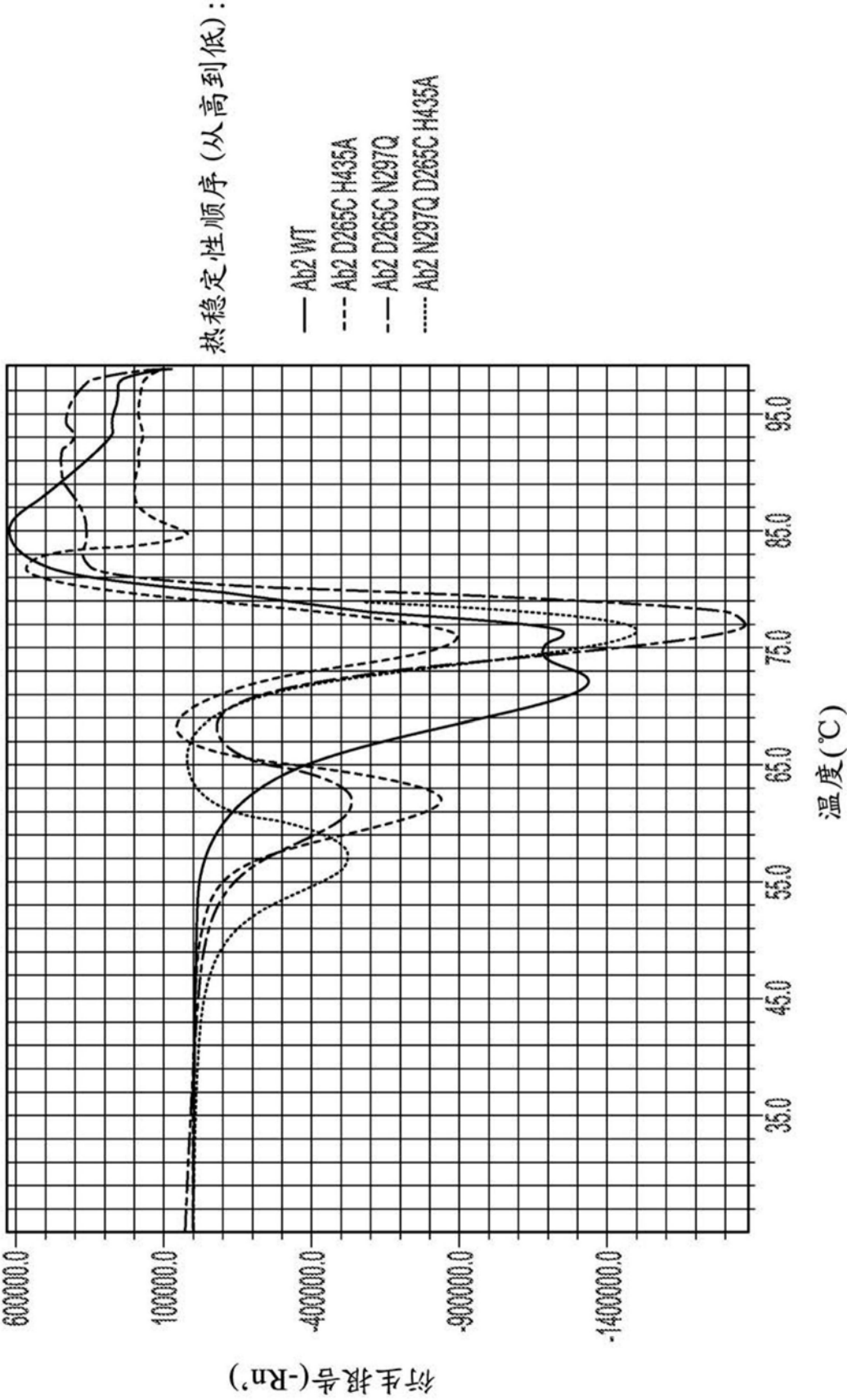


图5B

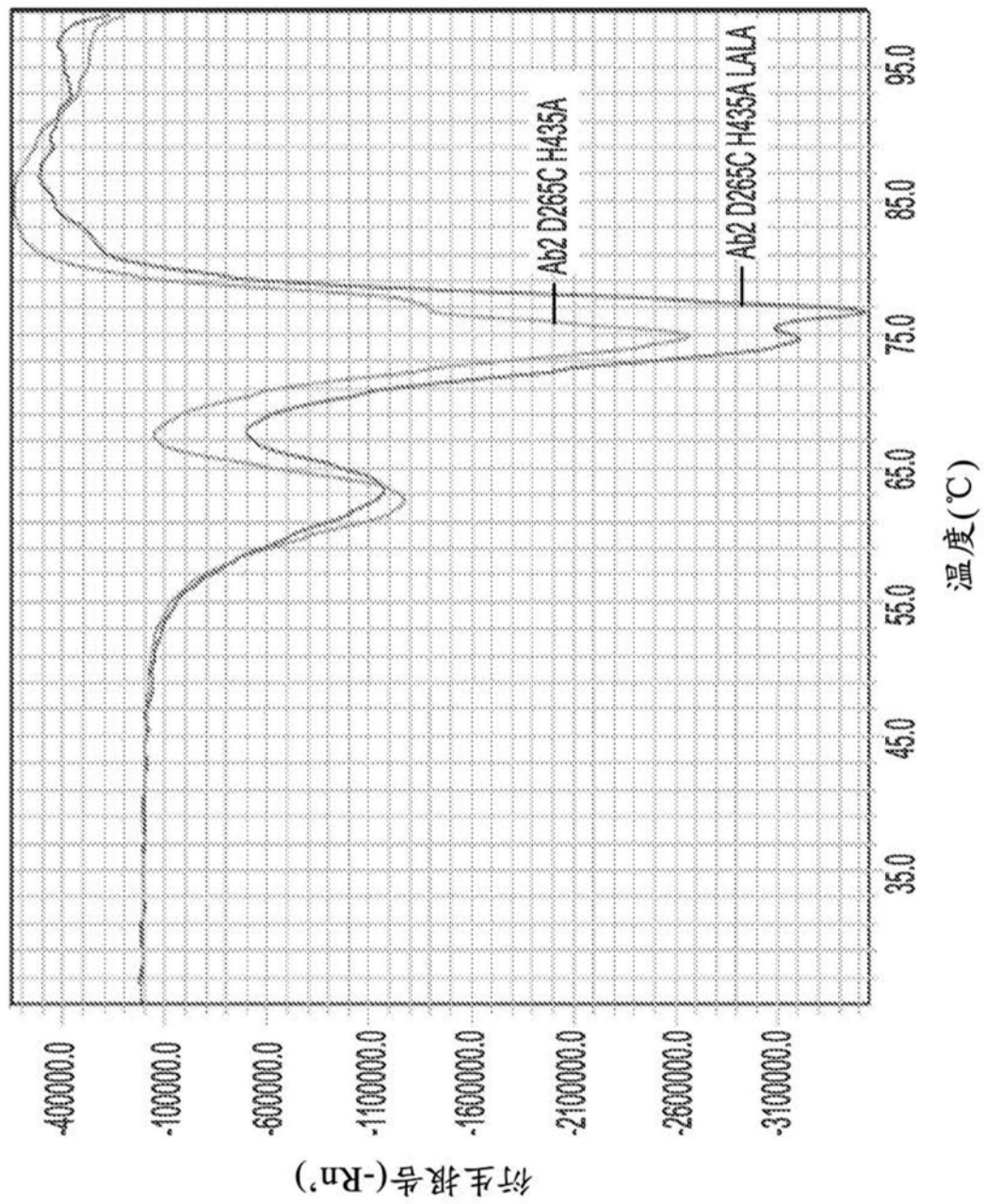


图5C

抗体	Tm1(CH2展开)	Tm2 (Fab/CH3展开)
Ab1 WT	71.48	78.28
Ab1 D265C H435A	61.87	79.17
Ab1 D265C LALA	65.27	78.43
Ab1 D265C LALA H435A	62.31	78.28
Ab1 D265A	66.16	79.32
Ab1 D265C N297G	63.64	78.88
Ab1 D265C N297G H435A	59.50	78.88
Ab1 D265C	65.86	79.17
Ab1 D265C E233P.L234V.L235A.DelG236	67.19	78.73
Ab1 D265C H435A E233P.L234V.L235A.DelG236	62.90	79.17

图6A

抗体	Tm1 (CH2展开)	Tm2 (Fab/CH3展开)
Ab2 WT	72.07	-
Ab2 D265C N297Q H435A	57.14	76.36
Ab2 D265C N297Q	61.87	77.10
Ab2 D265C H435A	62.02	75.92
Ab2 D265C H435A LALA	63.33	76.06

图6B

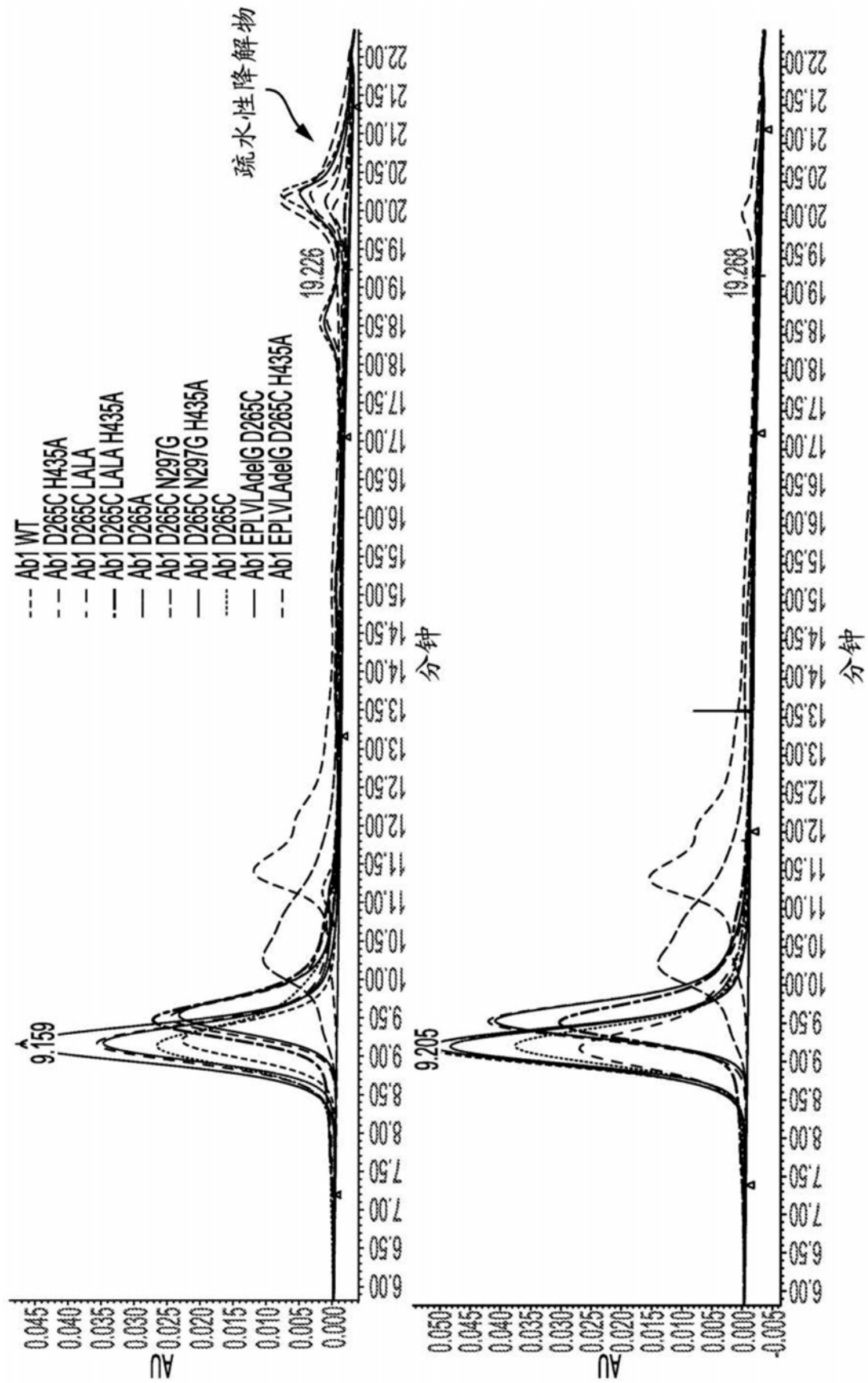


图7A

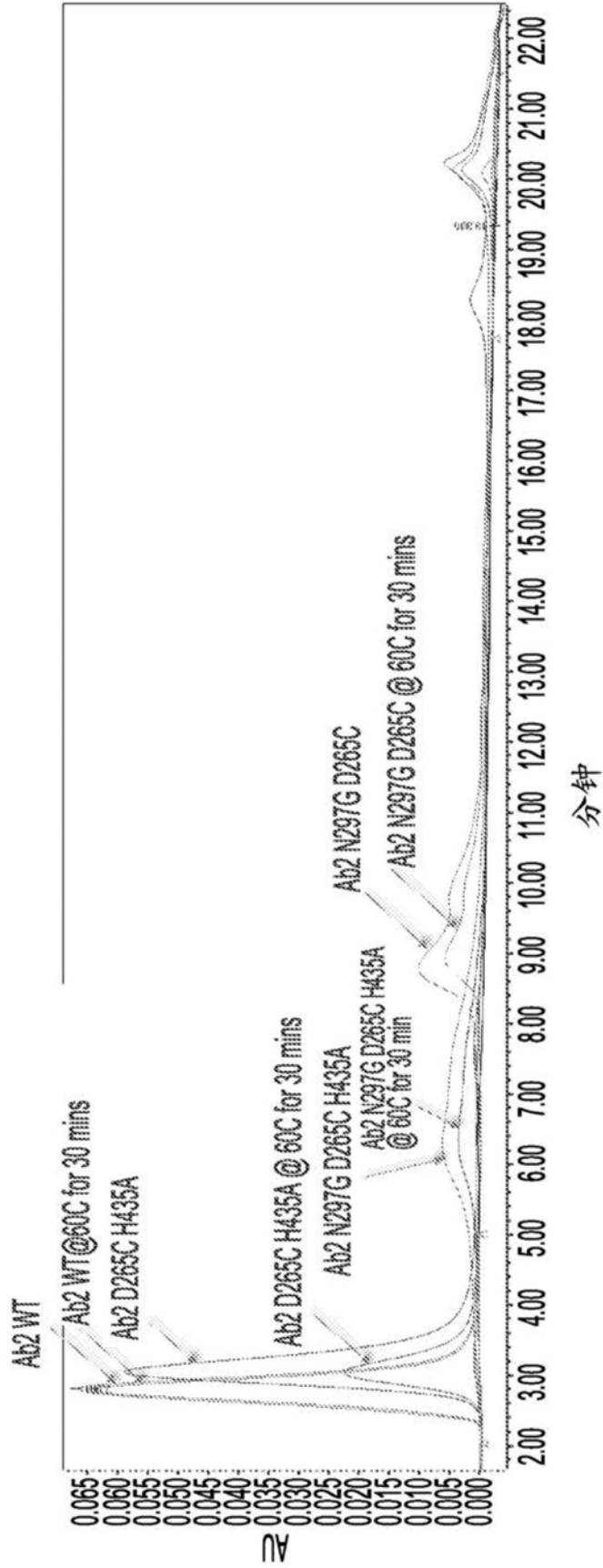


图7B

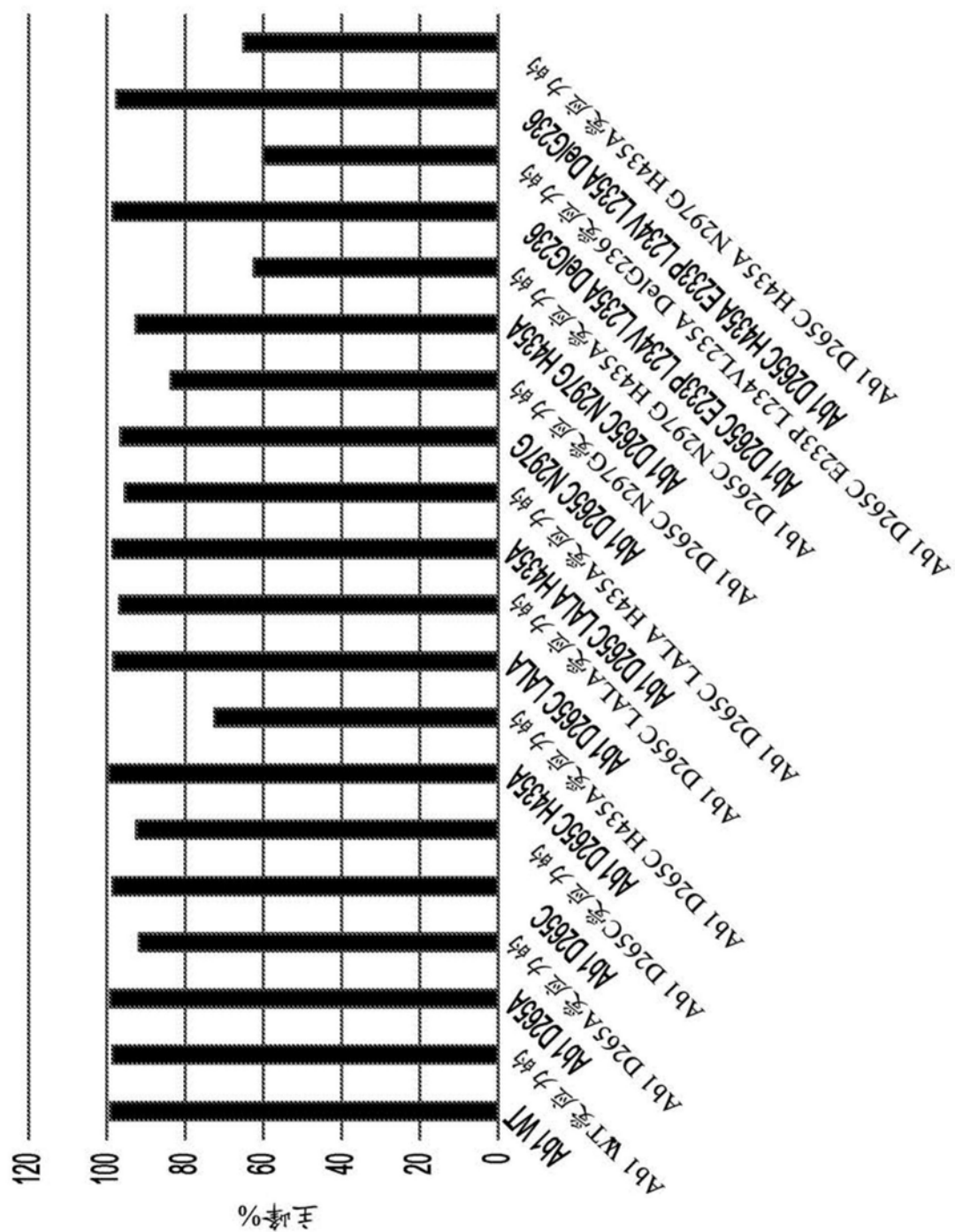


图8A

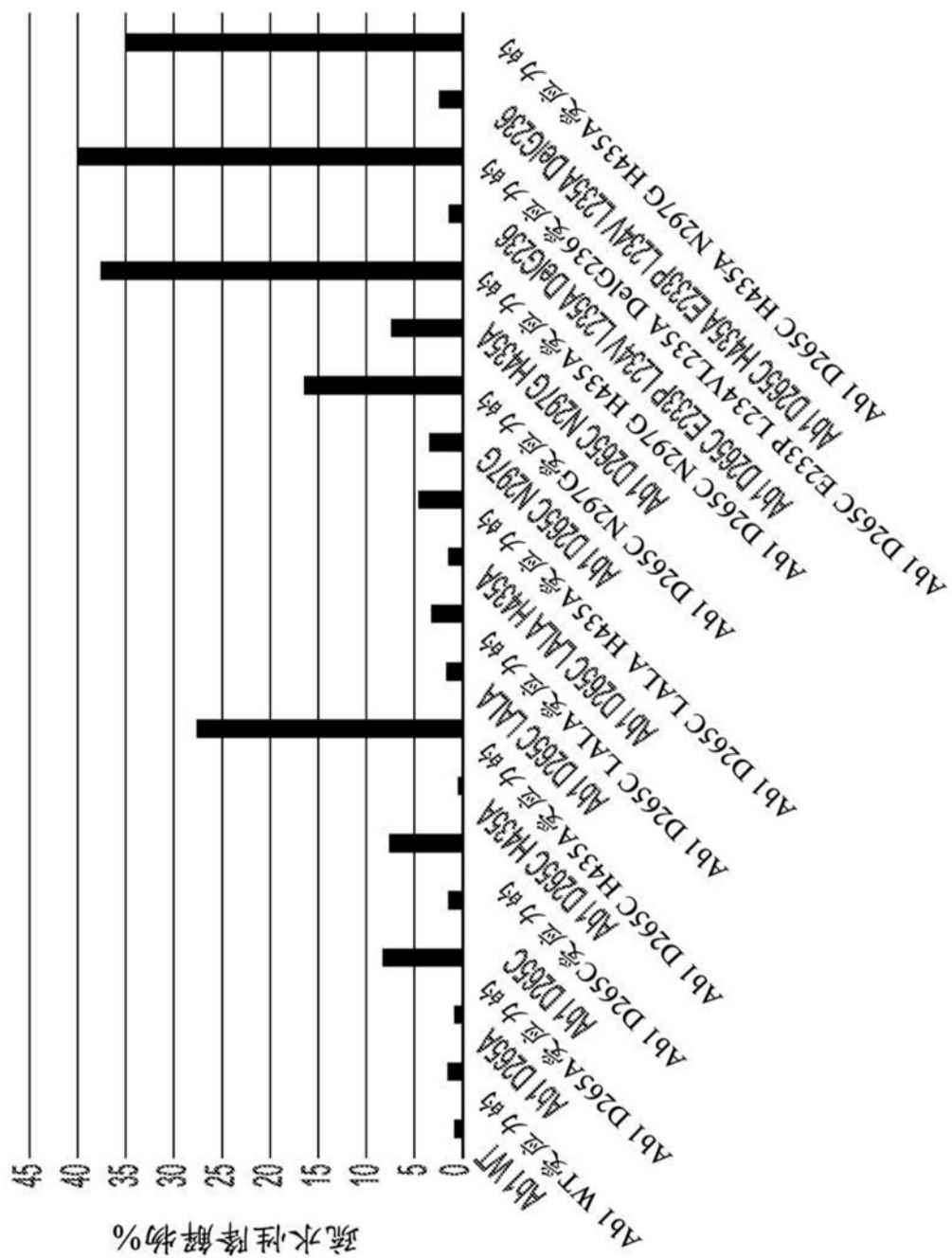


图8B

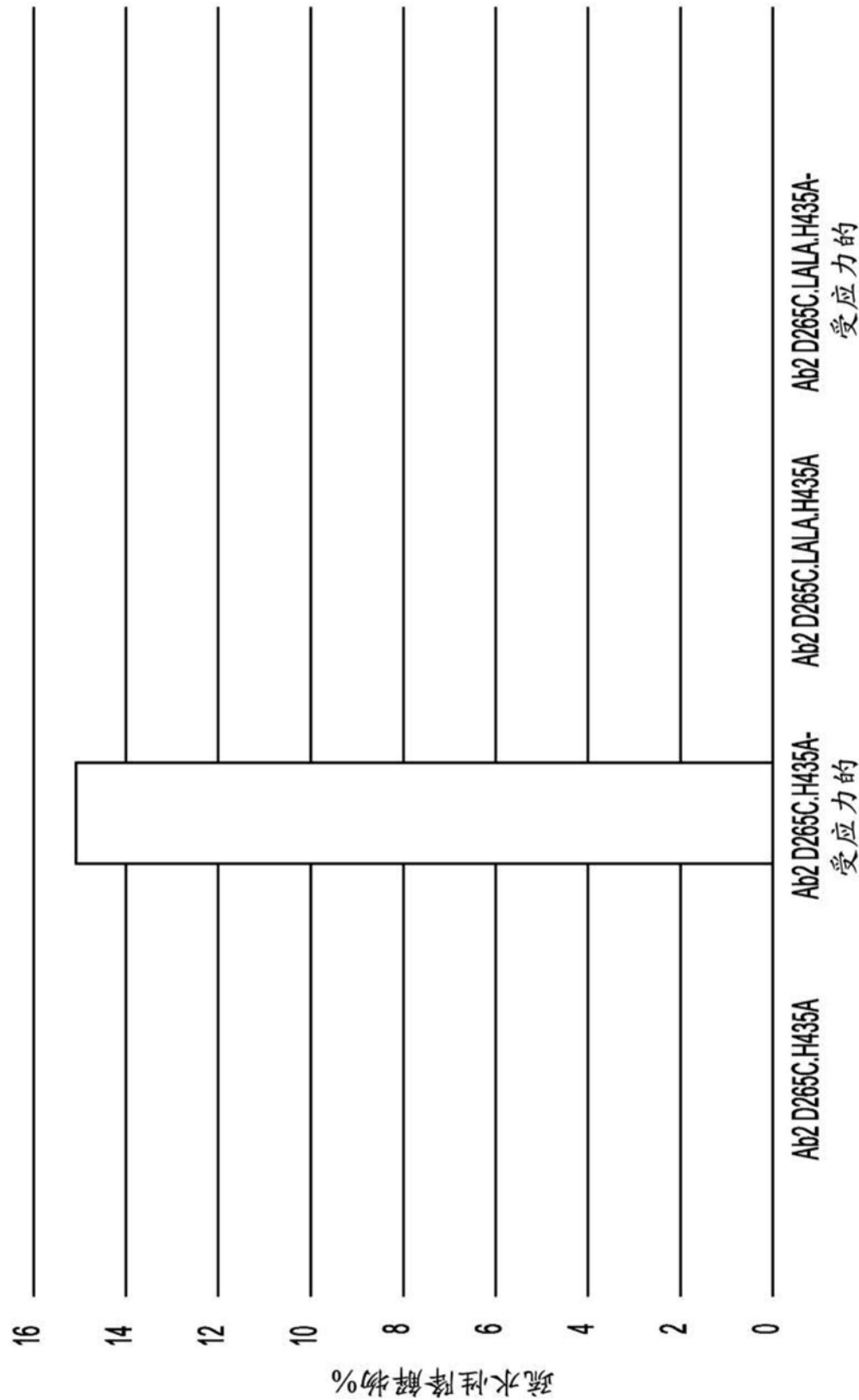


图8C

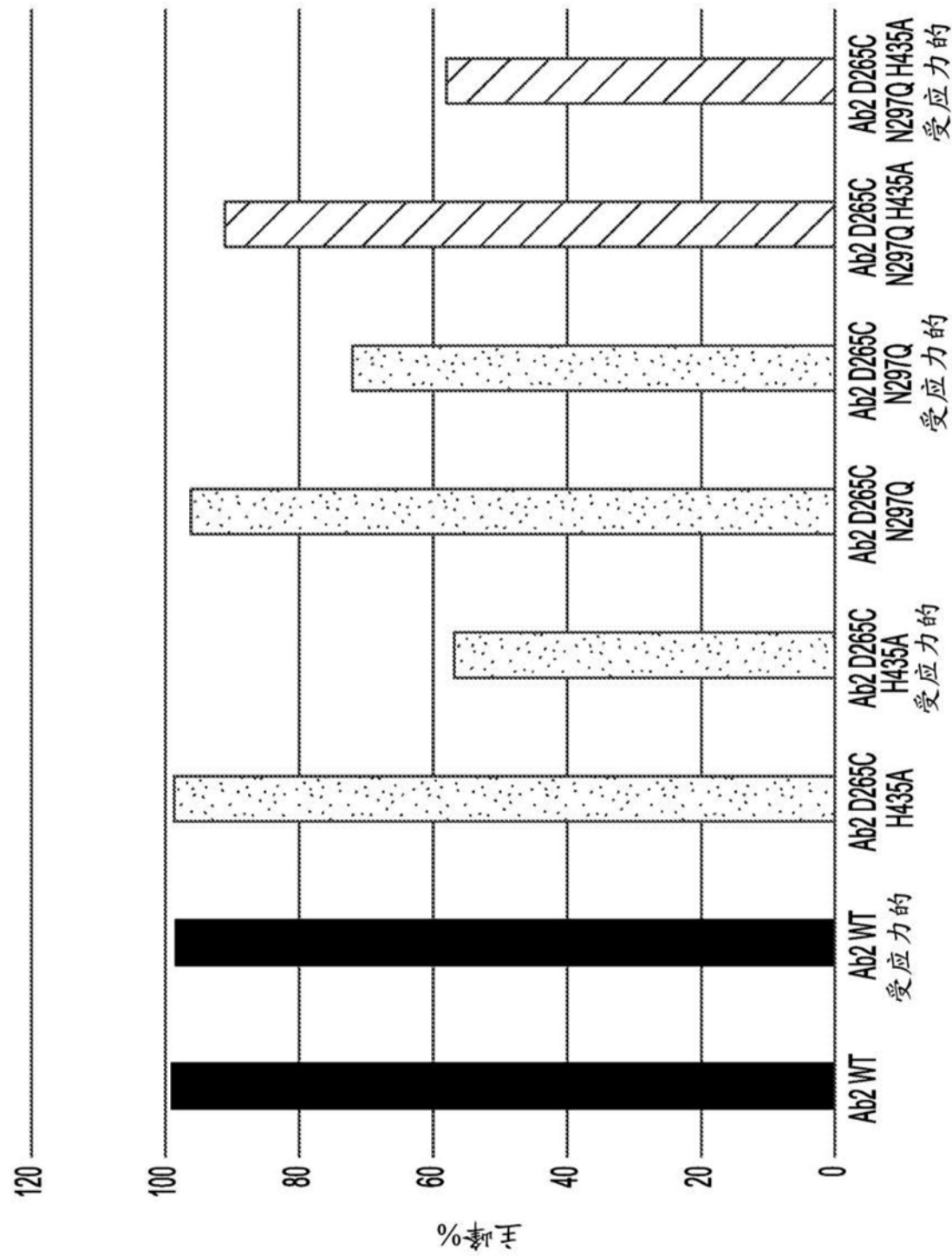


图8D

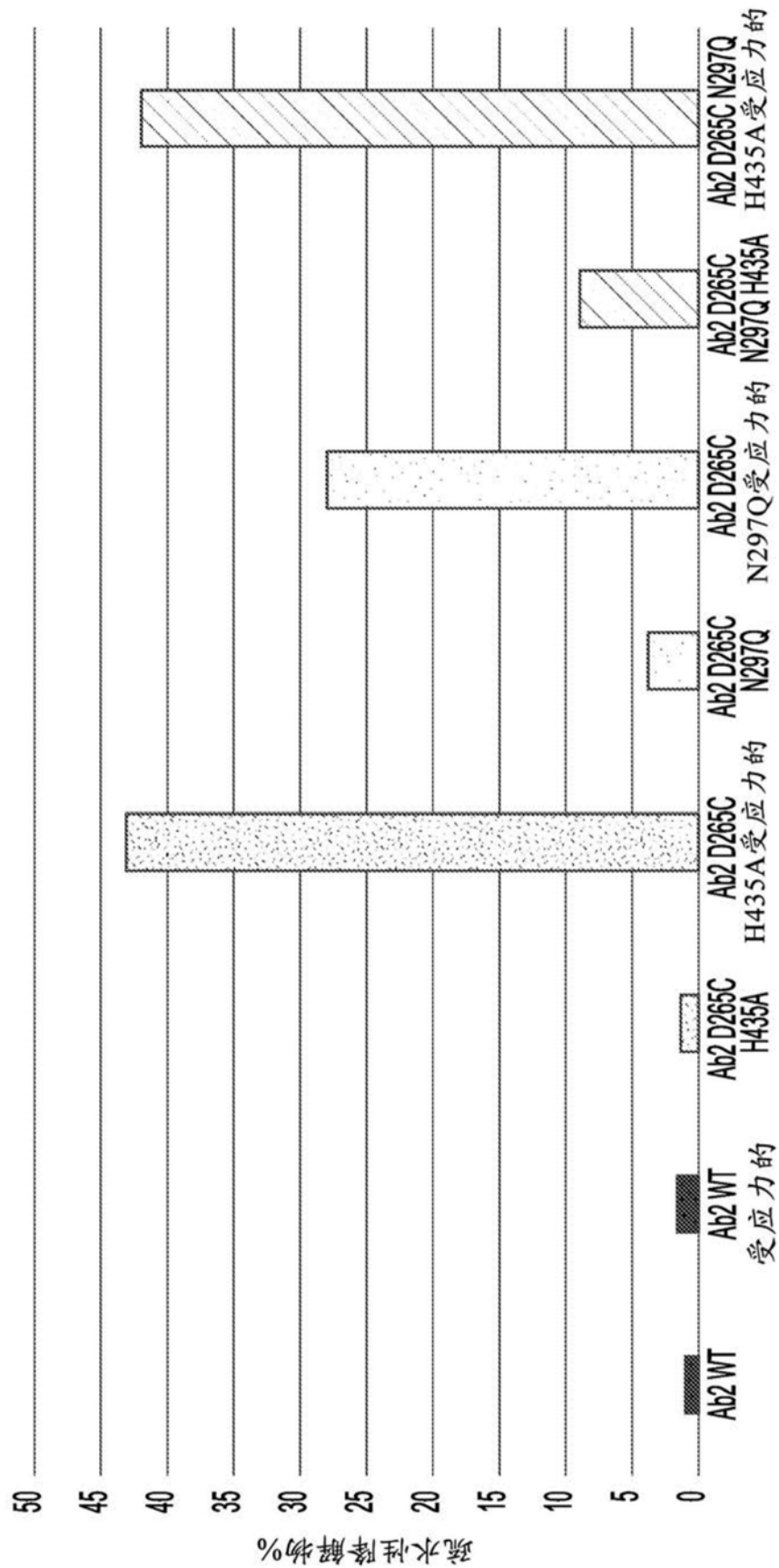


图8E

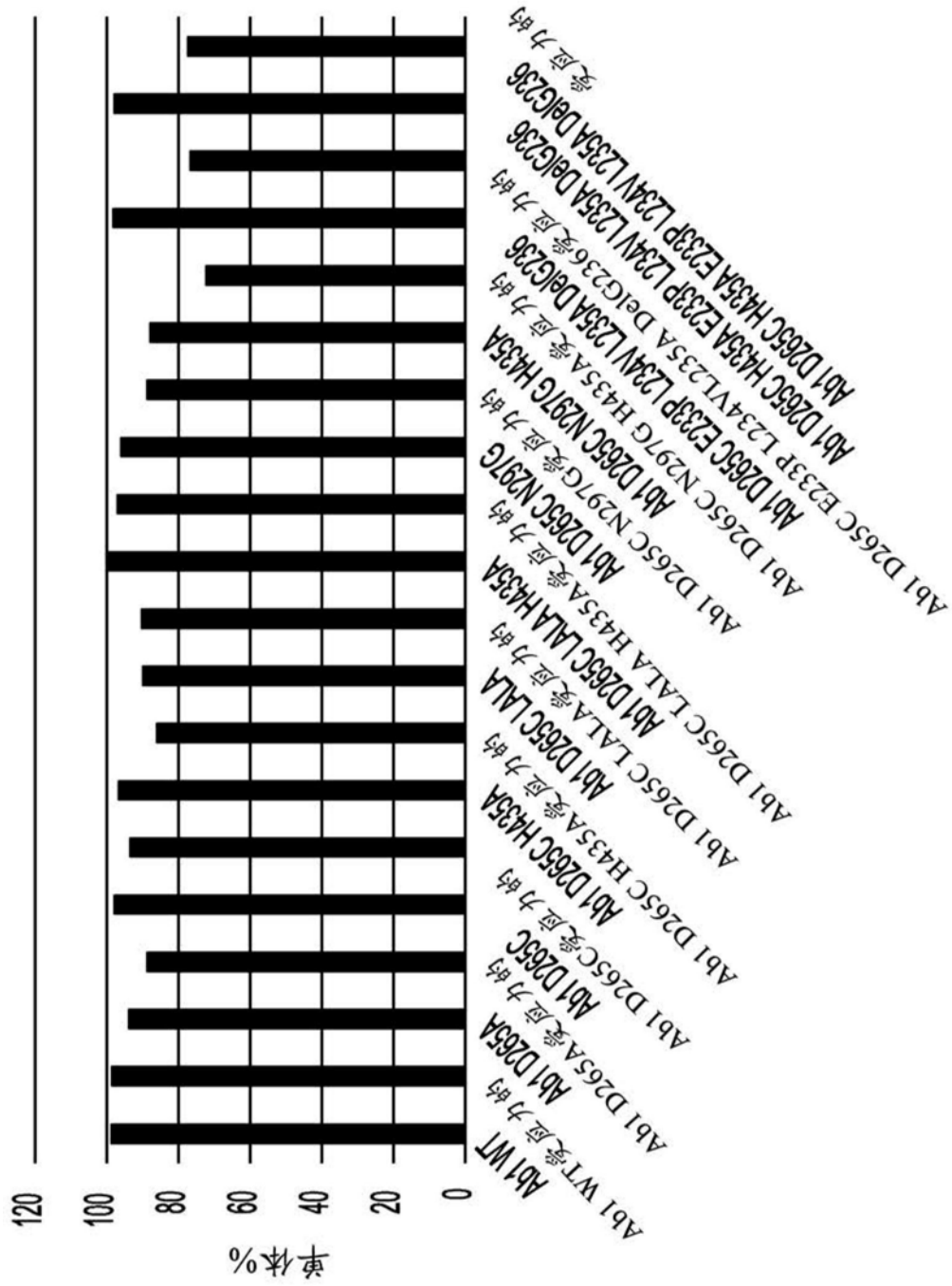


图9A

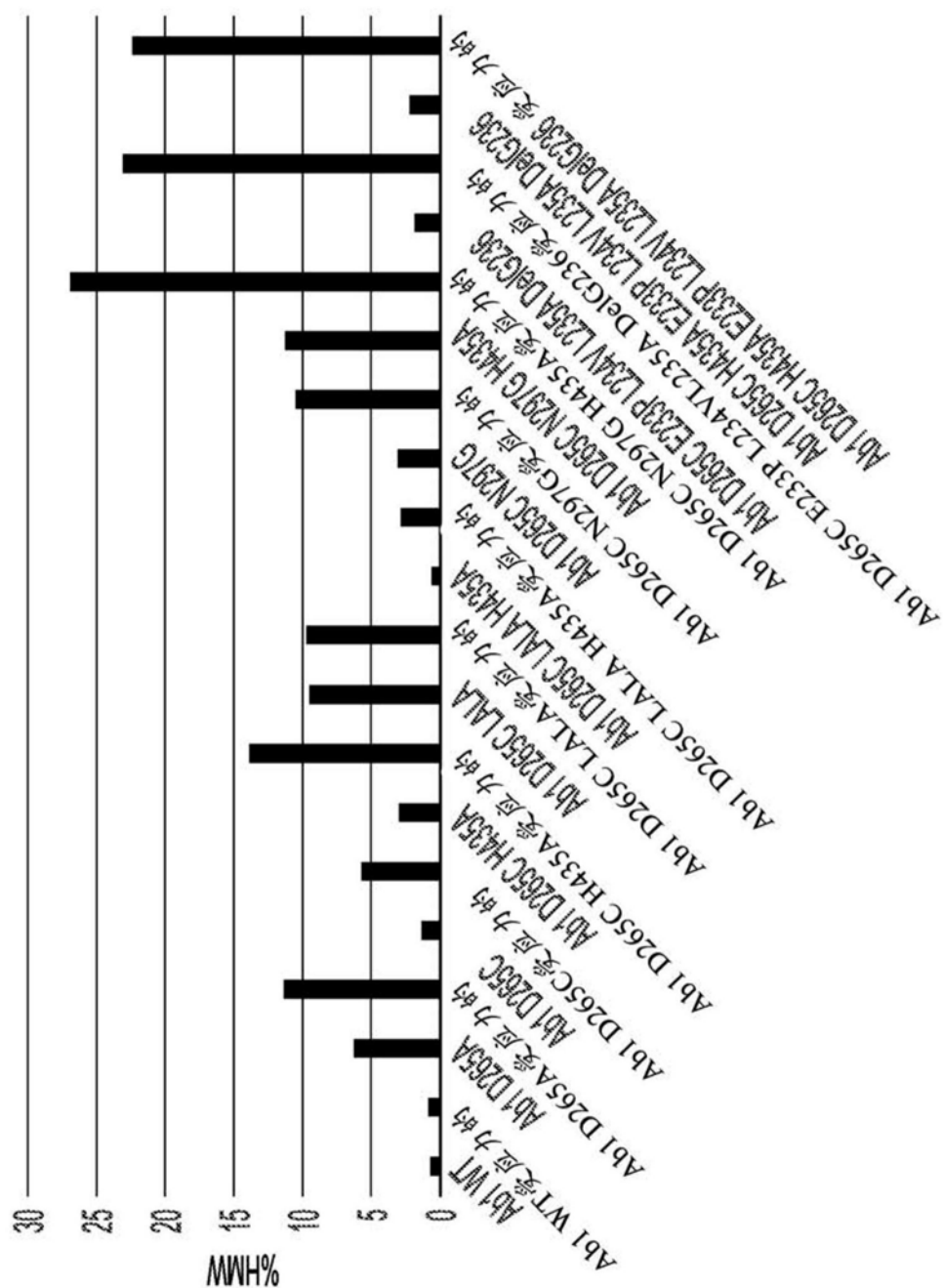


图9B

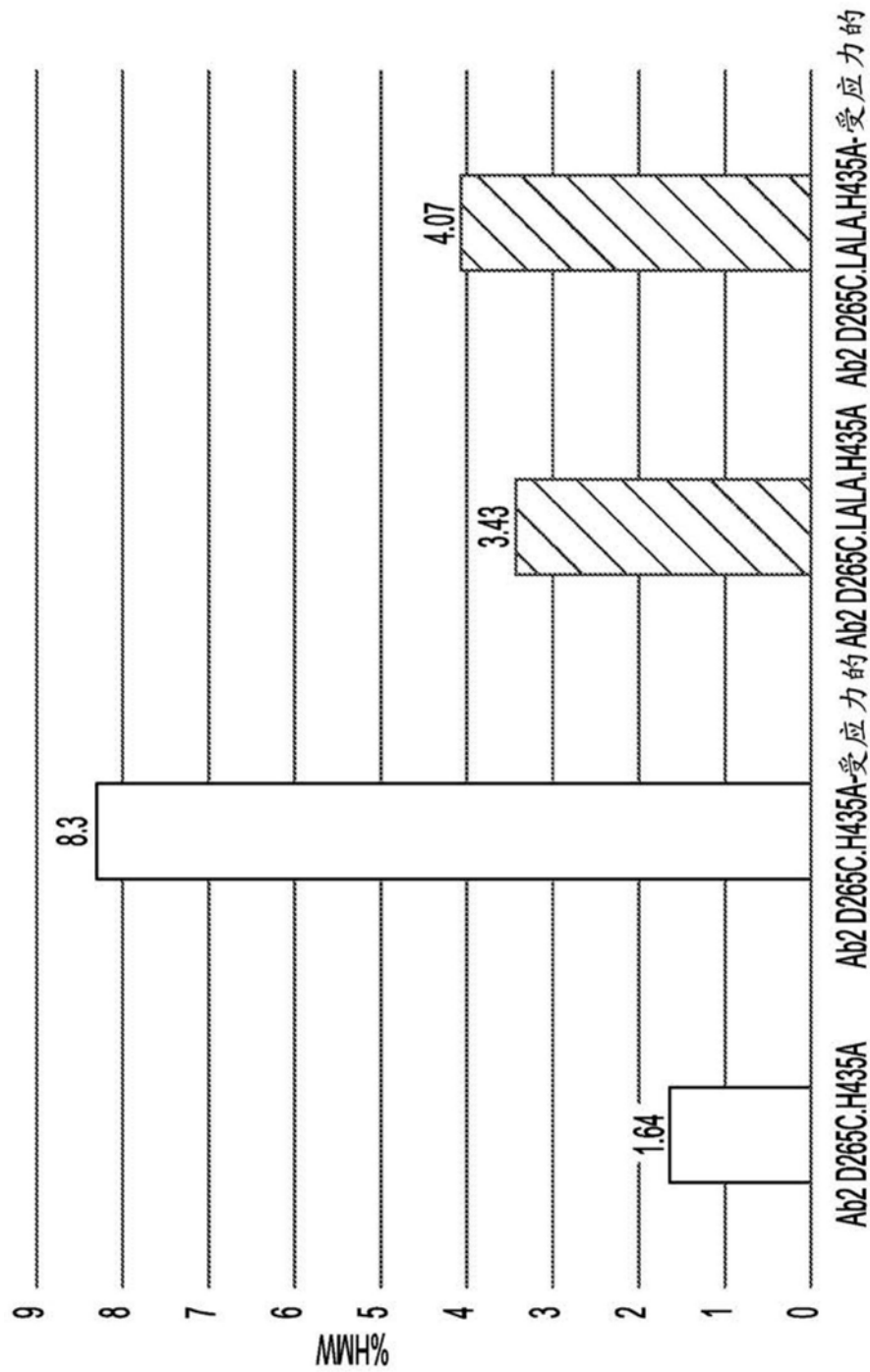


图9C

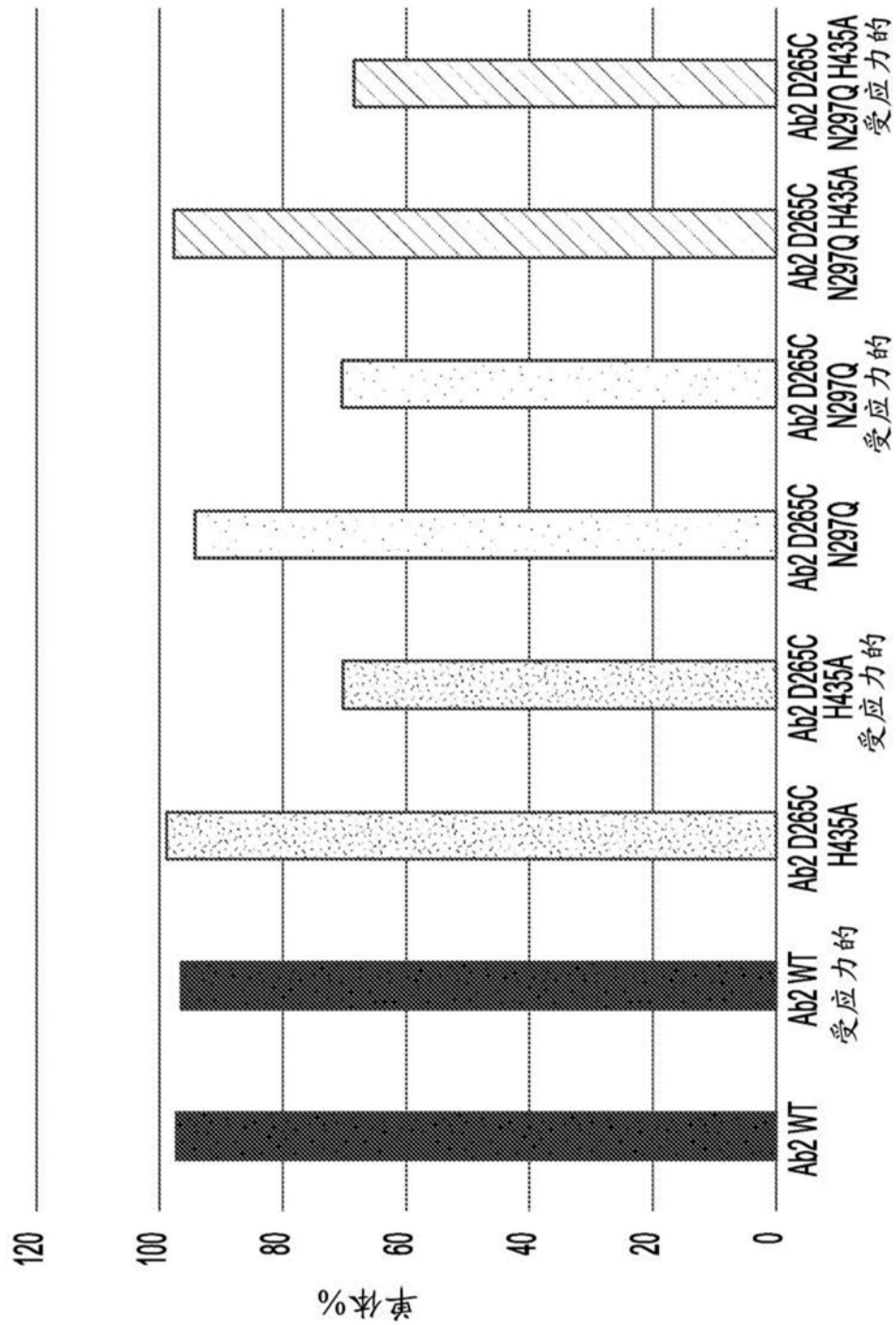


图9D

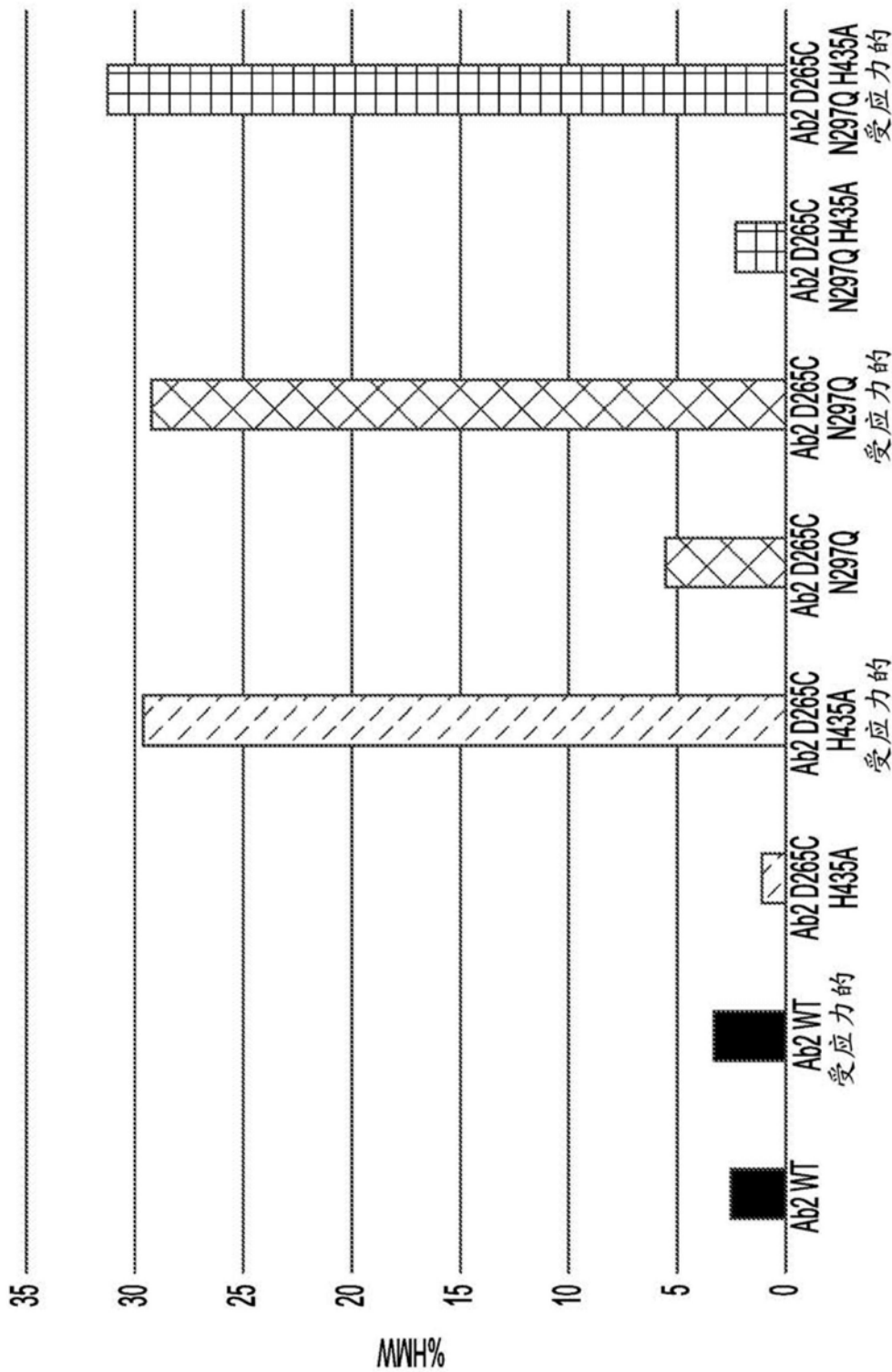


图9E

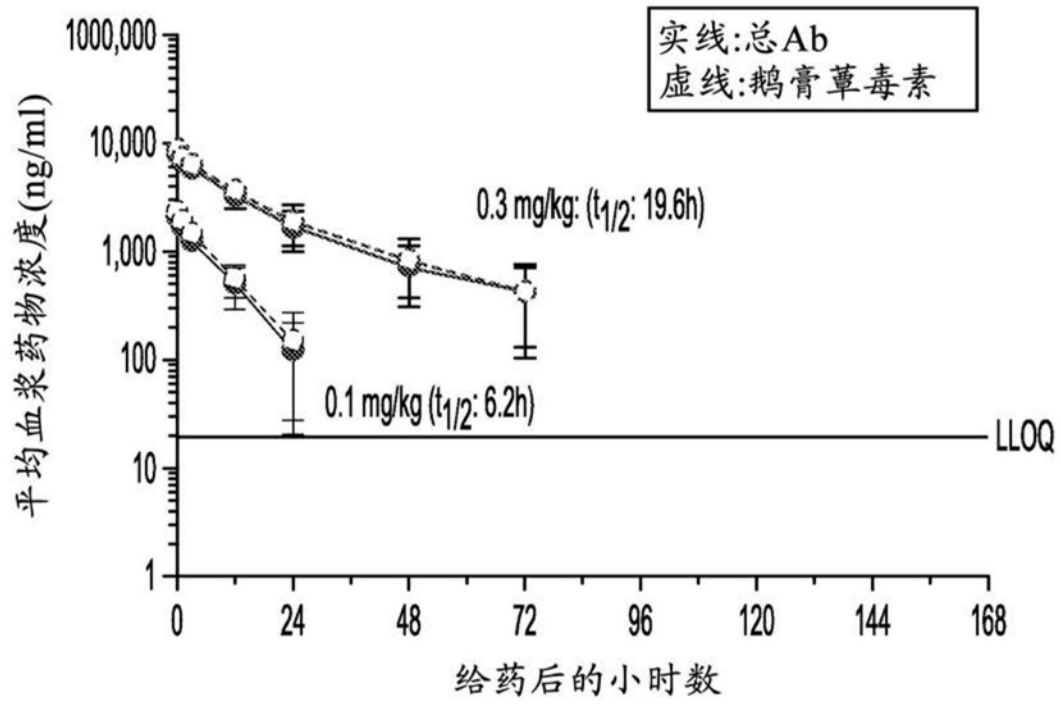


图10A

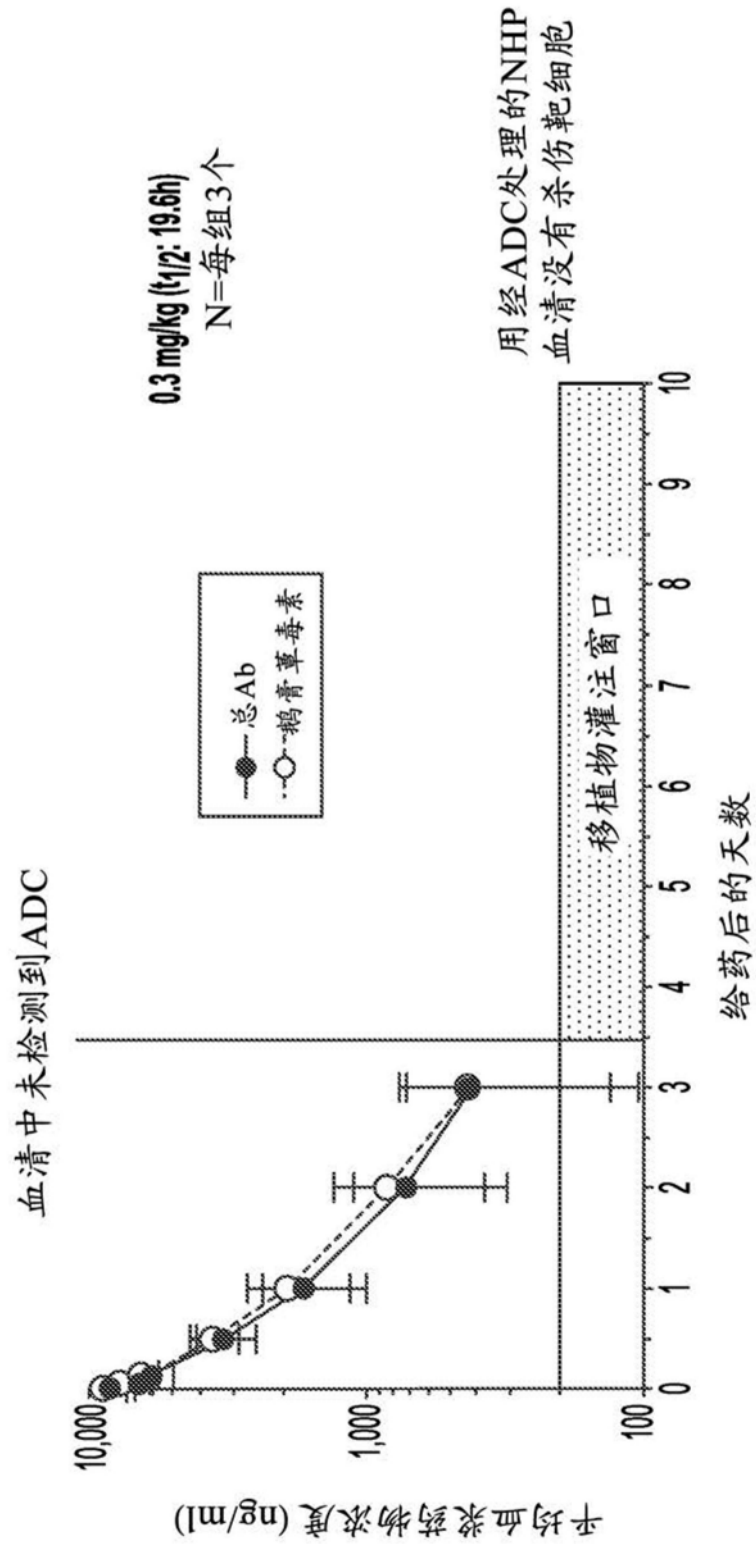


图10B

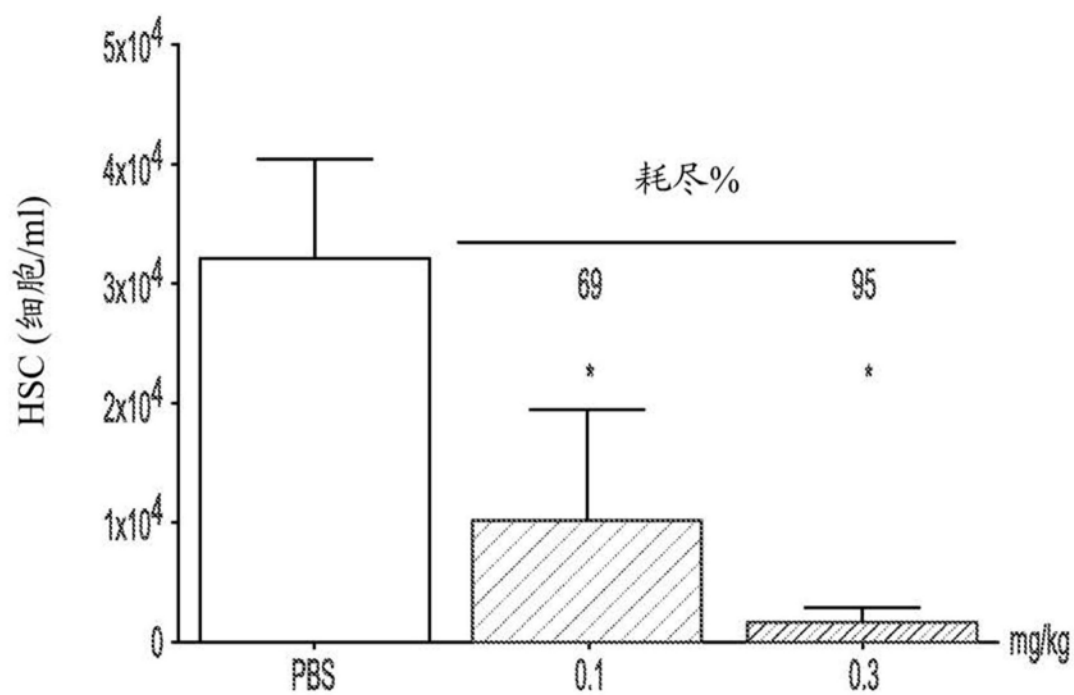


图11A

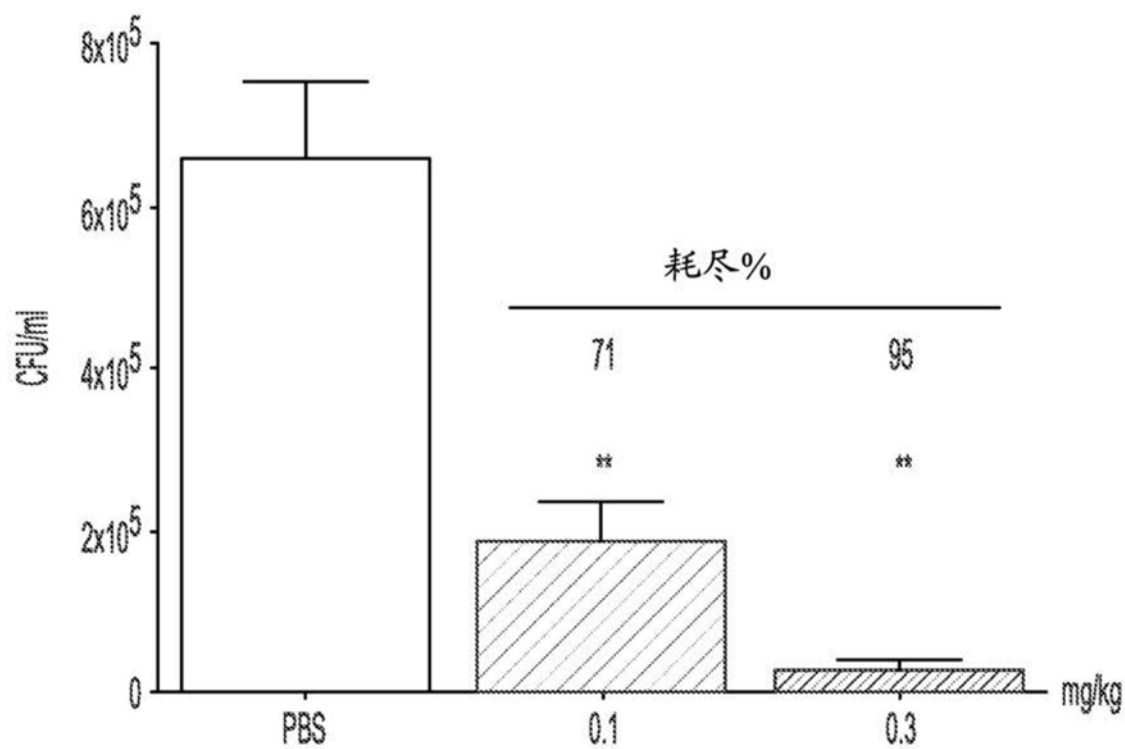


图11B

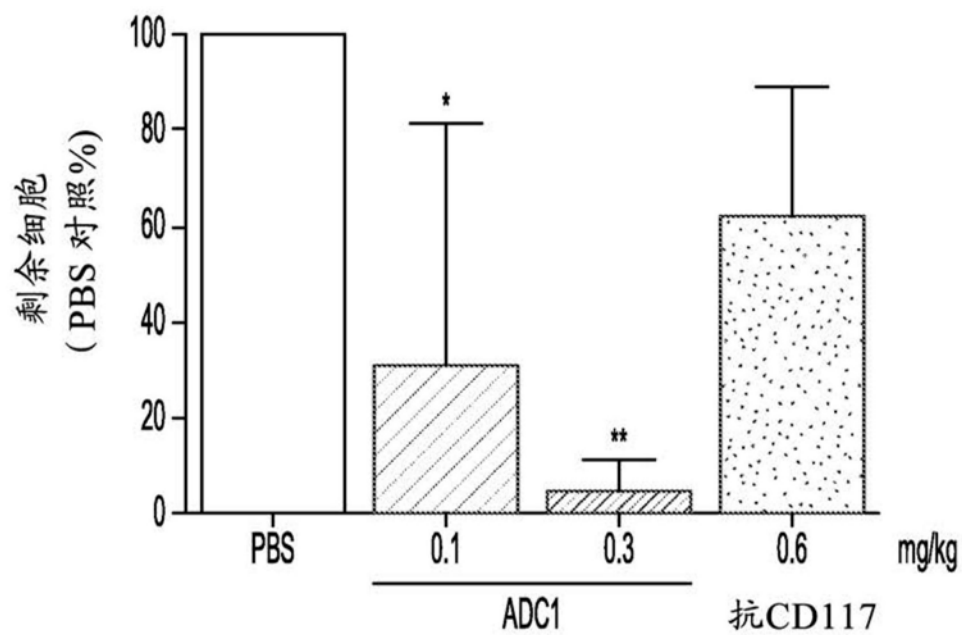


图11C

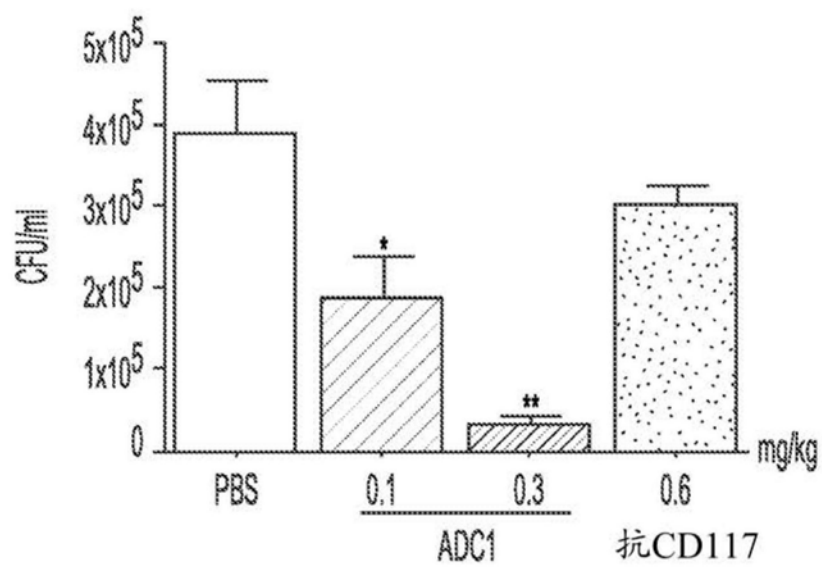


图11D

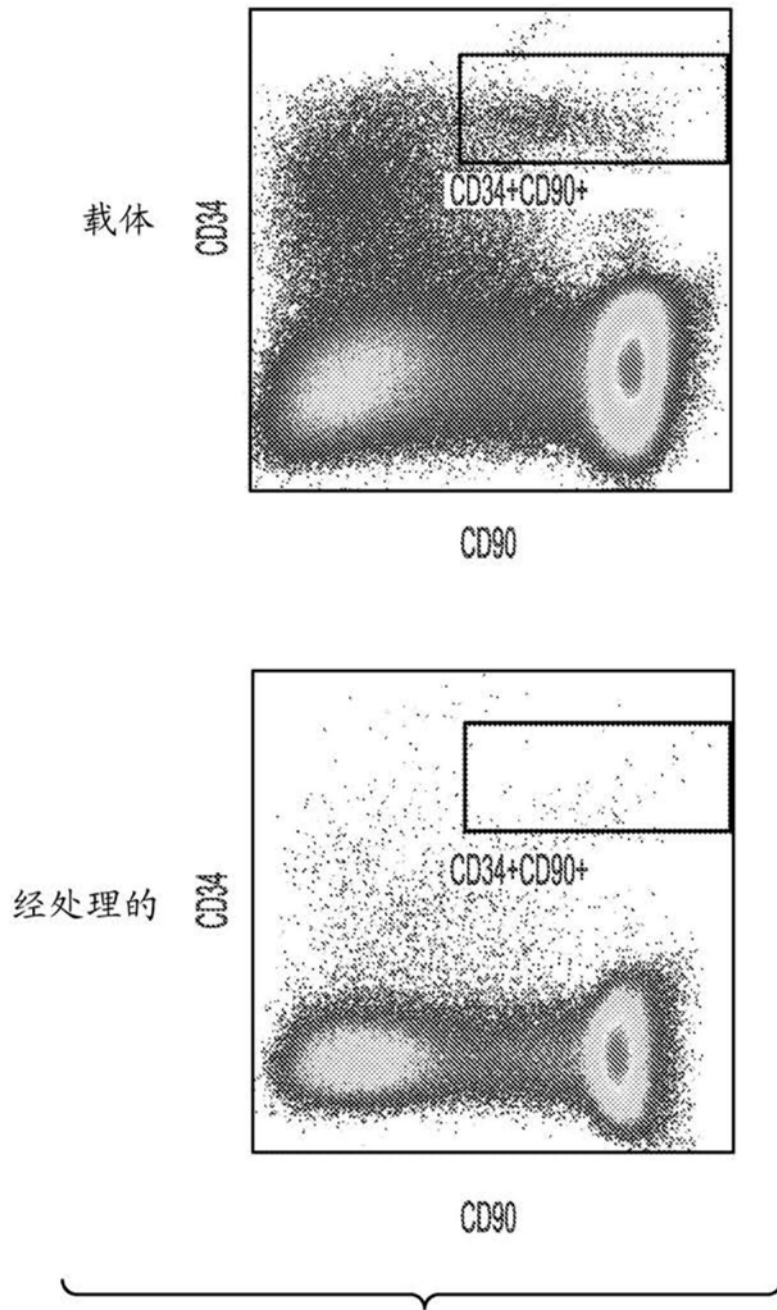


图 11E

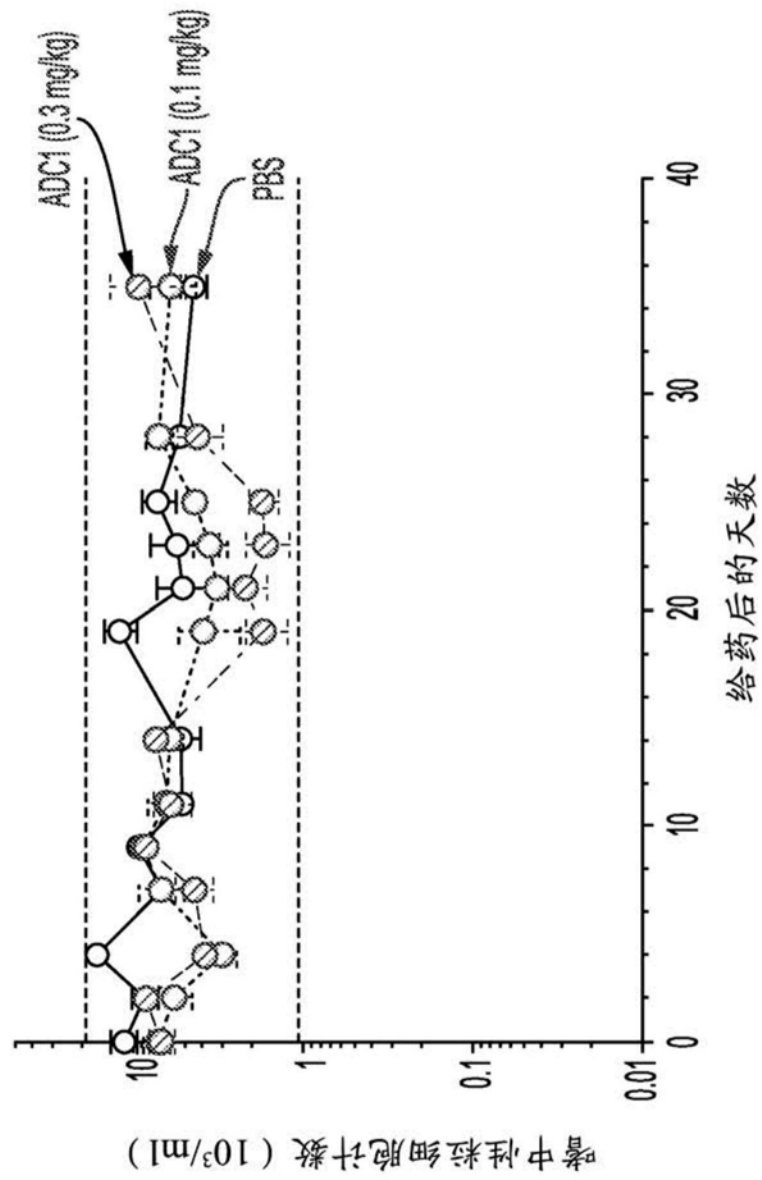


图12A

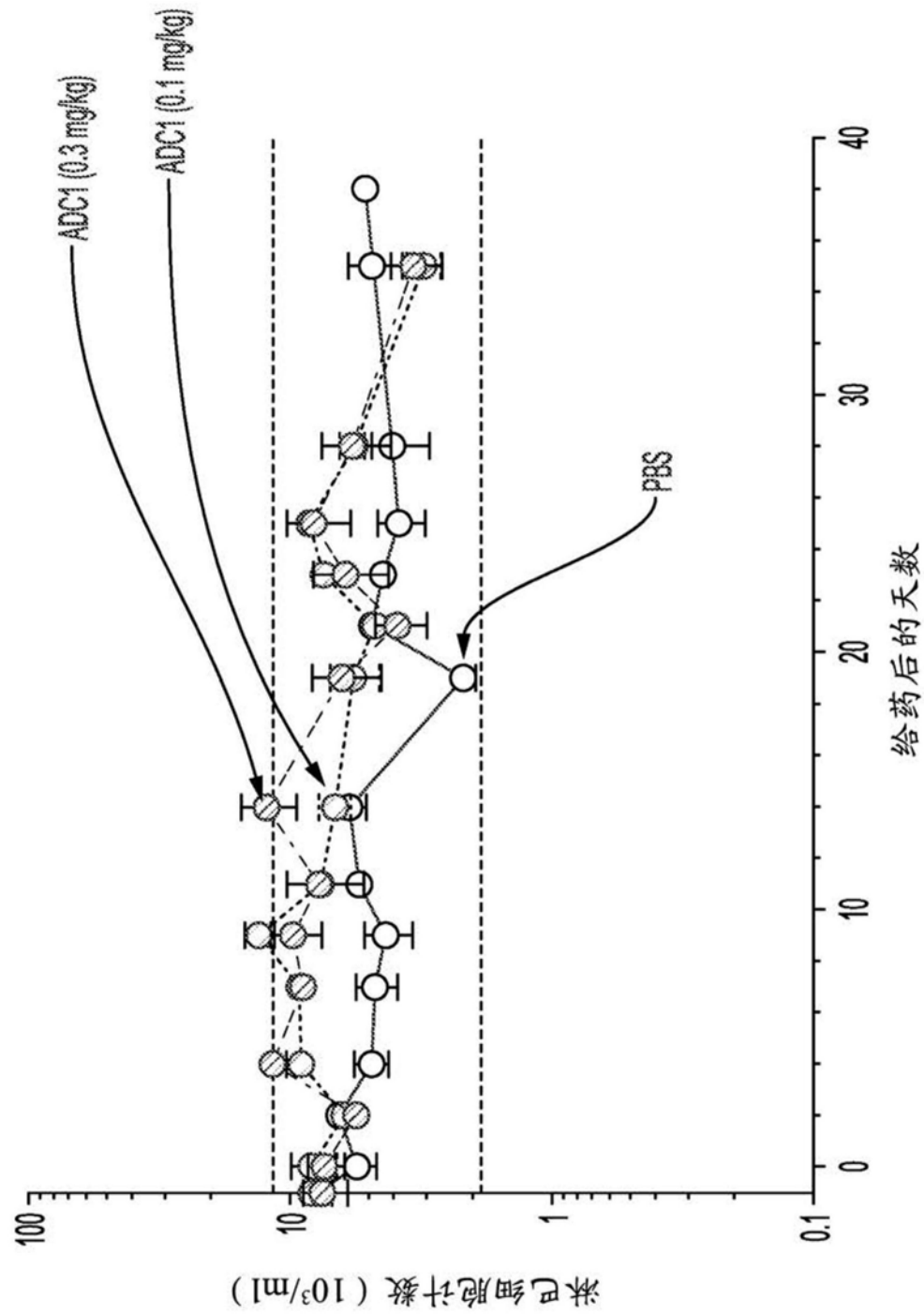


图12B

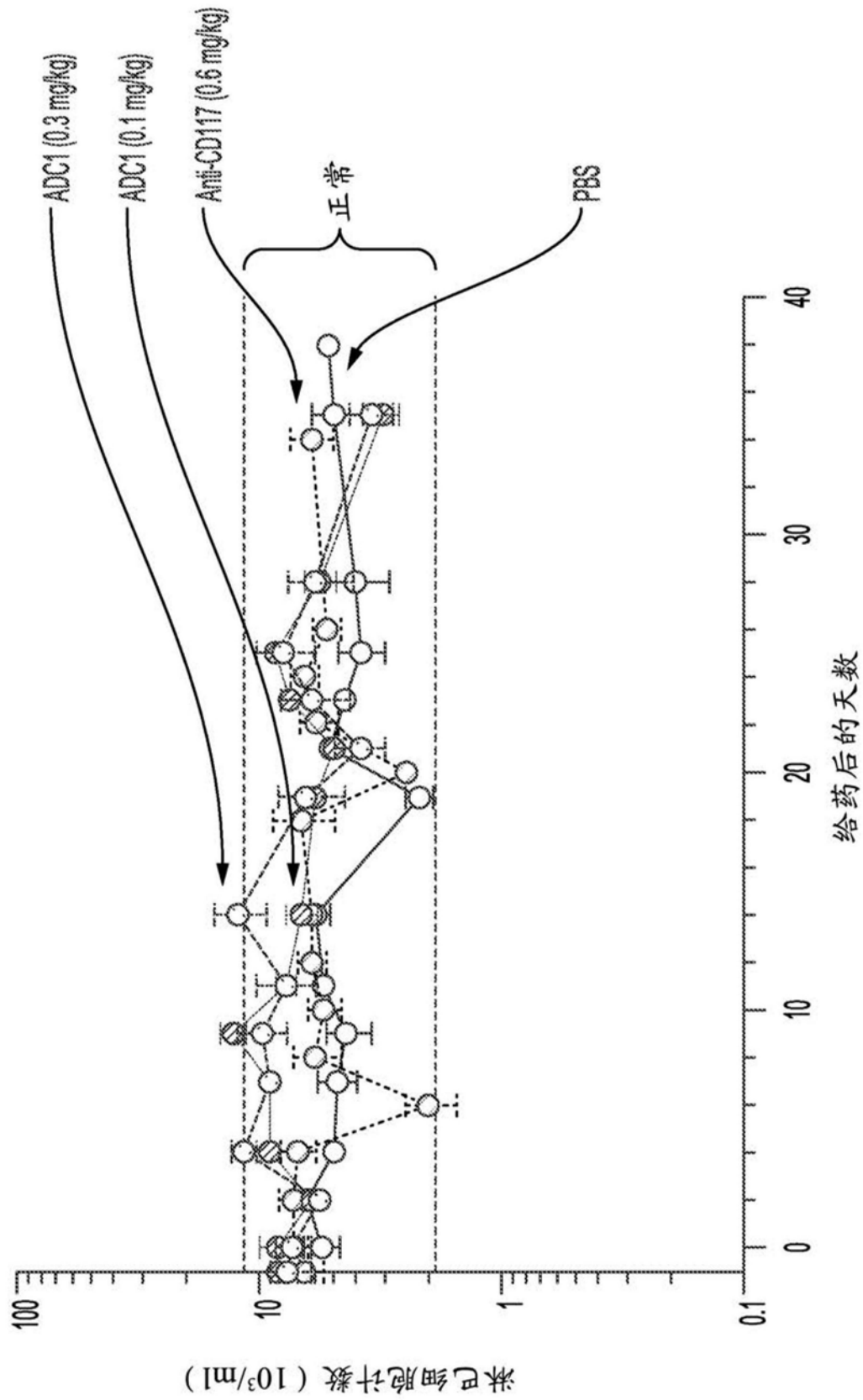


图12C

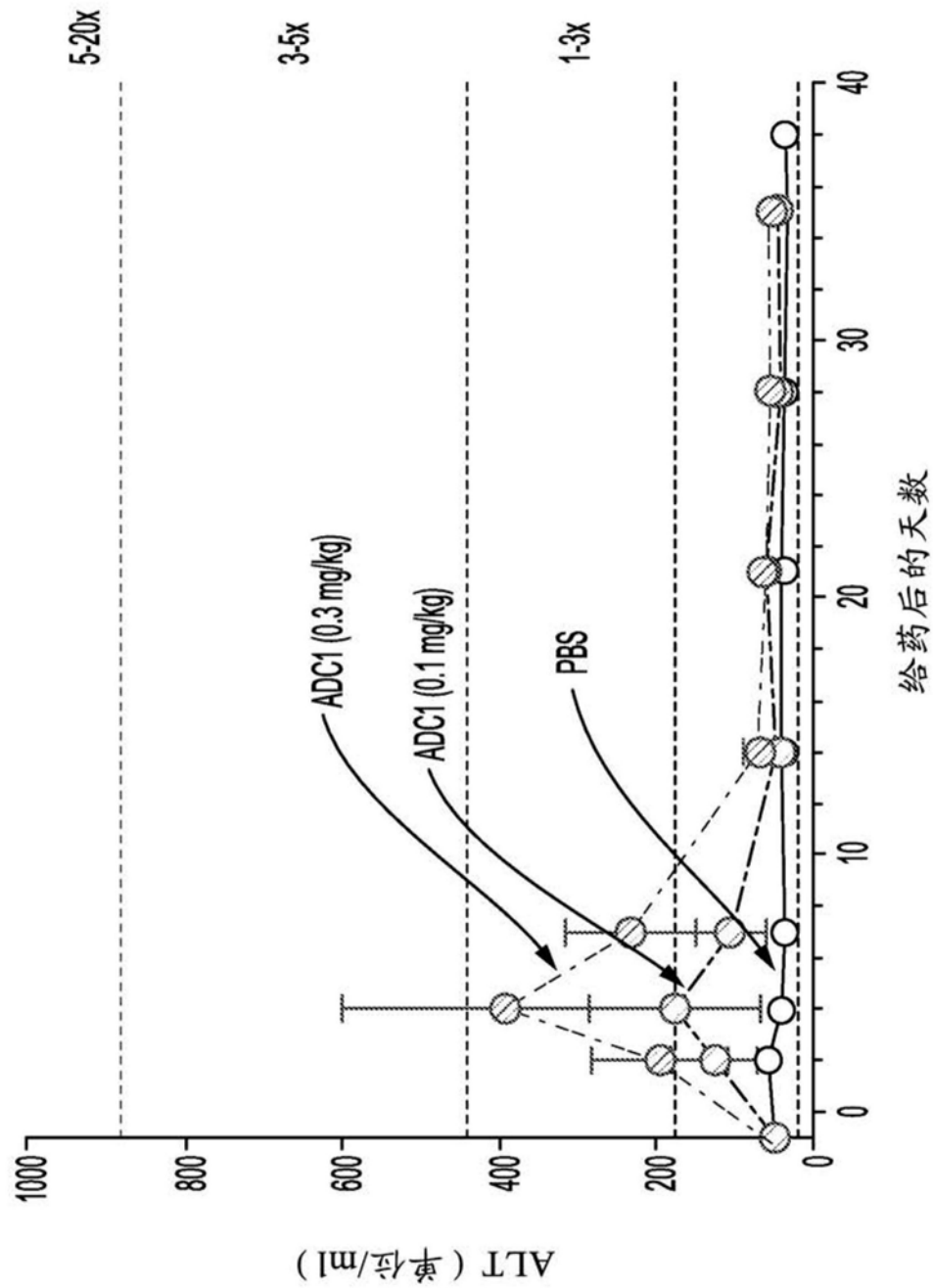


图13A

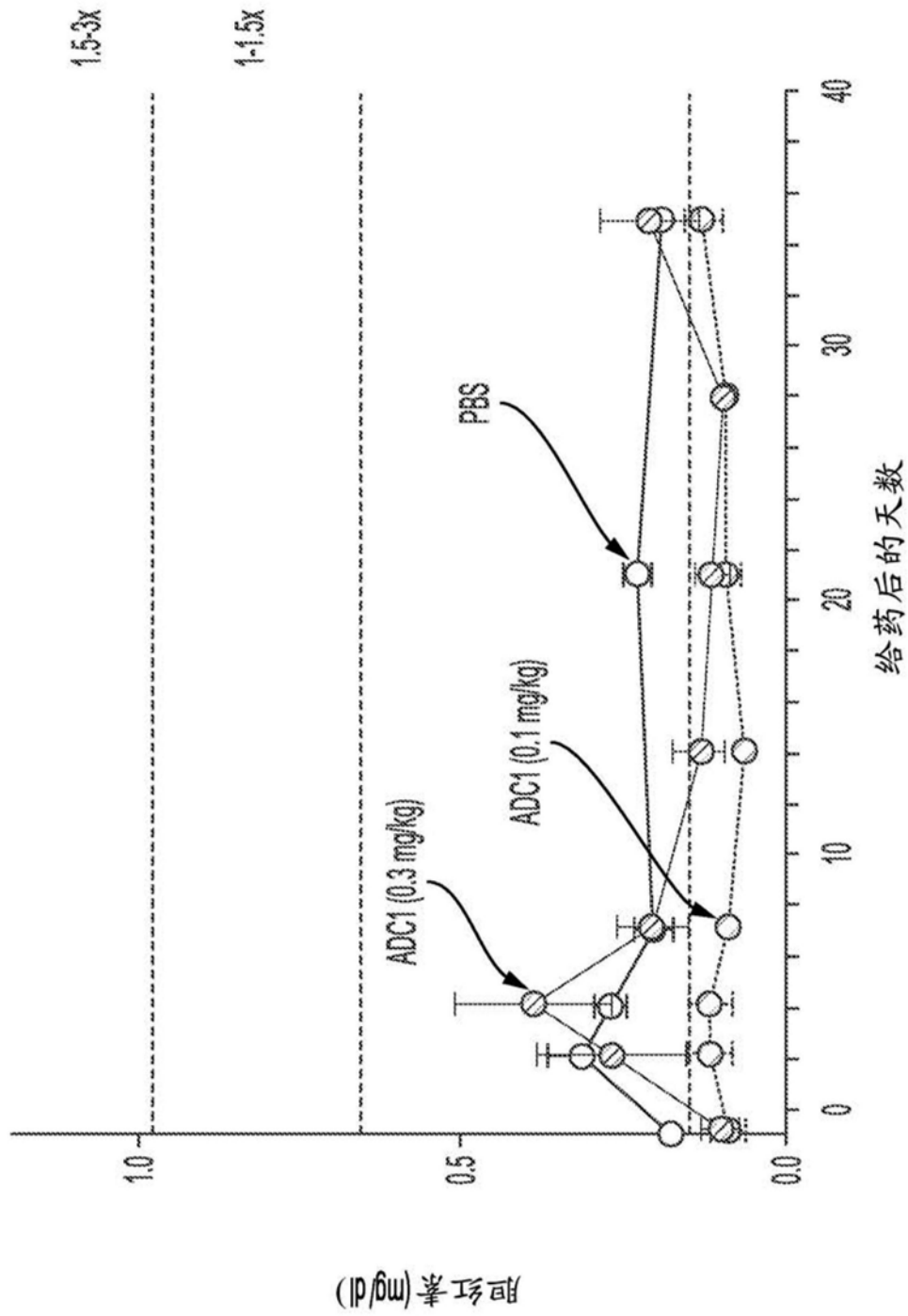


图13B

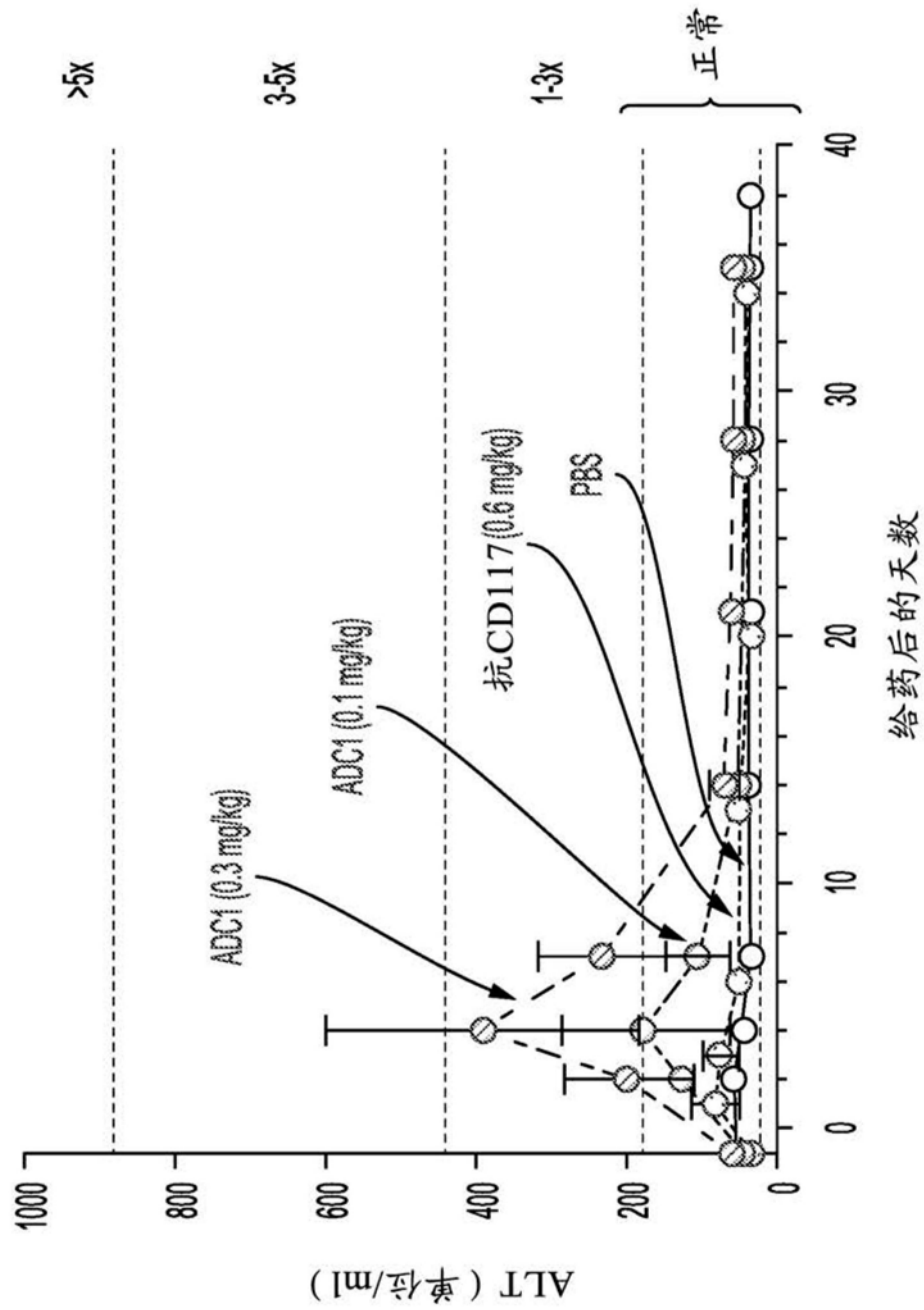


图13C

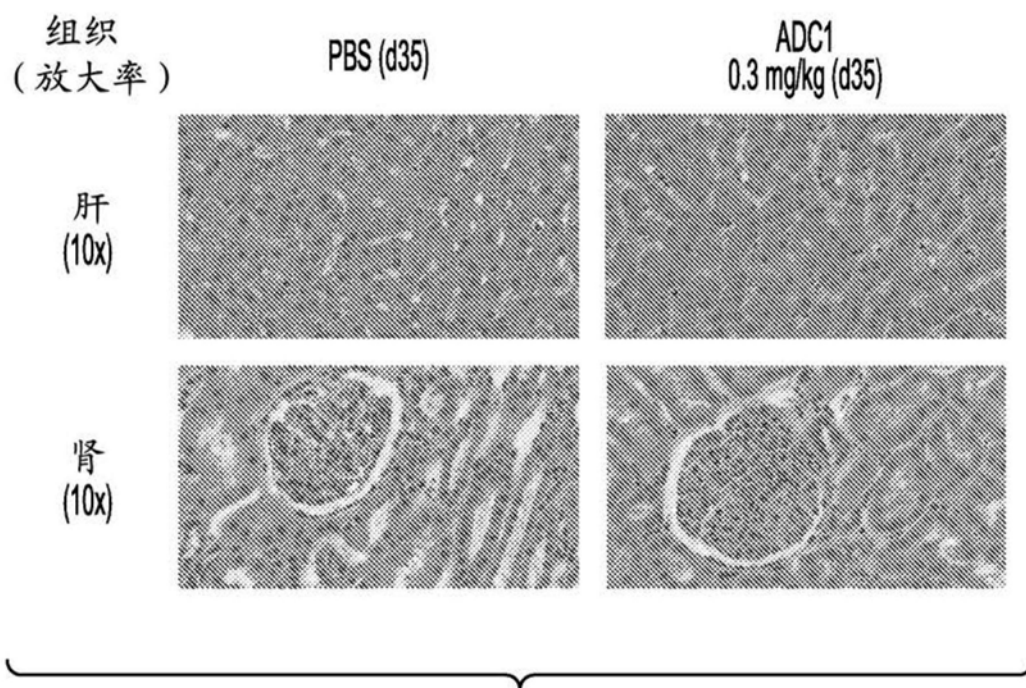


图 14

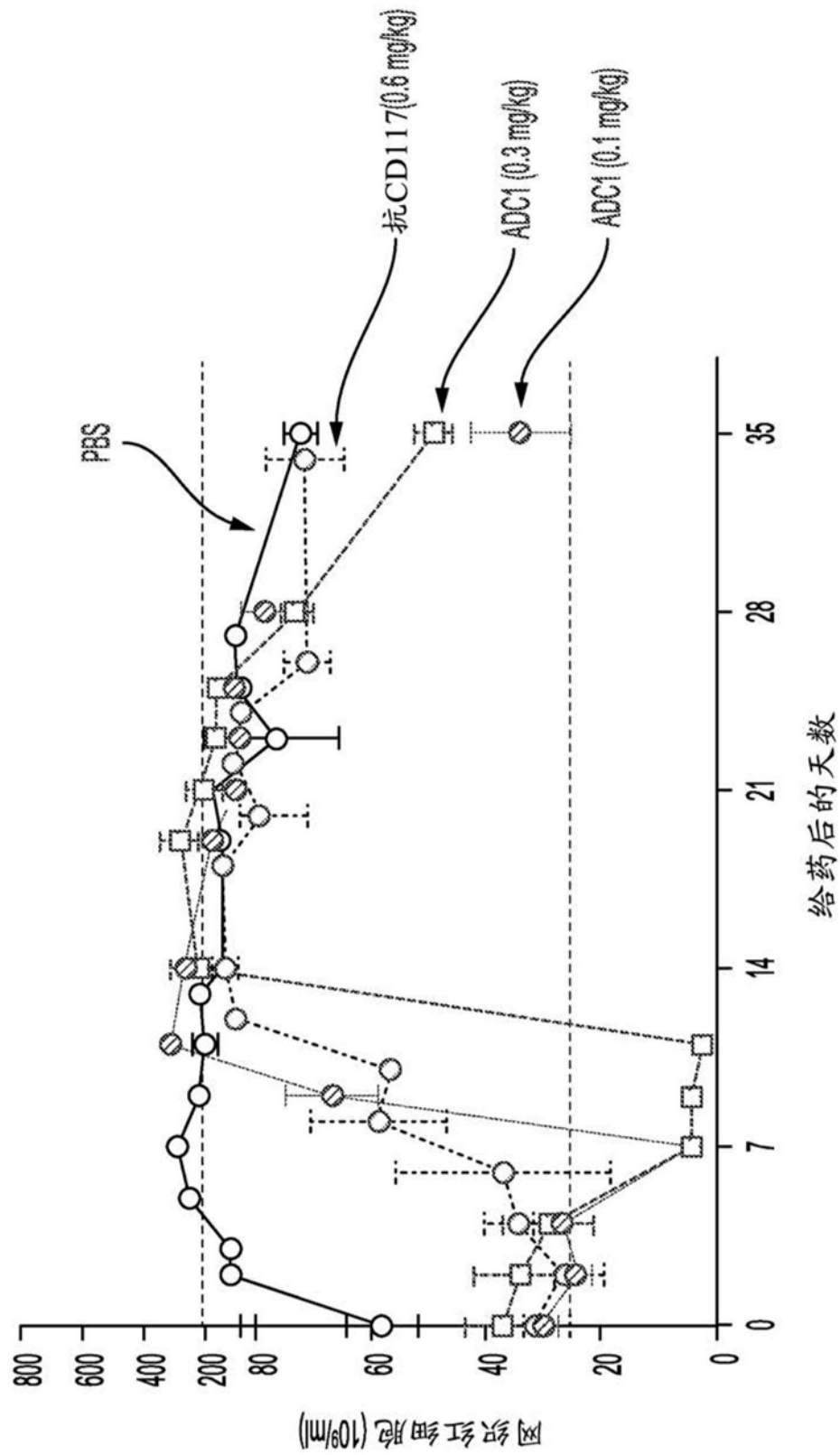


图15