



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 112390887 B

(45) 授权公告日 2023. 09. 26

(21) 申请号 202011258954.4

(22) 申请日 2015.04.10

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112390887 A

(43) 申请公布日 2021.02.23

(30) 优先权数据
61/977,824 2014.04.10 US
62/057,381 2014.09.30 US

(62) 分案原申请数据
201580011286.6 2015.04.10

(73) 专利权人 台湾浩鼎生技股份有限公司
地址 中国台湾台北市

(72) 发明人 游丞德 赖建勋 陈怡如 王正琪
蔡易芊

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105

专利代理师 张文辉

(51) Int.Cl.
C07K 16/30 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C12N 5/20 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 101115773 A, 2008.01.30
CN 101589062 A, 2009.11.25
CN 1535282 A, 2004.10.06
CN 1997670 A, 2007.07.11

审查员 周洁

权利要求书1页 说明书47页
序列表21页 附图3页

(54) 发明名称
抗体、产生所述抗体的杂交瘤、及其用途

(57) 摘要
本发明提供一种结合至一个或多个糖类抗原的抗体或其抗原结合部份。本发明亦公开一种药学组成物以及在有需求的受试者中抑制癌细胞的方法。药学组成物包含抗体或其抗原结合部份以及至少一个药学上可接受载体。

1. 一种抗体或其抗原结合部份, 包含:
重链可变域, 为SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列; 以及
轻链可变域, 为SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列,
其中抗体或其抗原结合部分与肿瘤相关的碳水化合物抗原 (TACA) 结合。
2. 一种抗体或其抗原结合部份, 包含:
第一重链互补决定区 (HCDR1), 其氨基酸序列为SEQ ID NO:31,
第二重链互补决定区 (HCDR2), 其氨基酸序列为SEQ ID NO:32,
第三重链互补决定区 (HCDR3), 其氨基酸序列为SEQ ID NO:33,
第一轻链互补决定区 (LCDR1), 其氨基酸序列为SEQ ID NO:34,
第二轻链互补决定区 (LCDR2), 其氨基酸序列为SEQ ID NO:35, 和
第三轻链互补决定区 (LCDR3), 其氨基酸序列为SEQ ID NO:36,
其中抗体或其抗原结合部分与肿瘤相关的碳水化合物抗原 (TACA) 结合。
3. 一种抗体或其抗原结合部份, 包含:
重链可变域, 为SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列; 以及
轻链可变域, 为SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列,
其中抗体或其抗原结合部分与肿瘤相关的碳水化合物抗原 (TACA) 结合。
4. 一种抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 由寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121137指定为2F8的杂交瘤或寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121312指定为1E1的杂交瘤产生。
5. 如权利要求1至4所述的抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 所述一个或多个糖类抗原是Globo H, sLe^x, sTn, Tn, sLe^a, α -NeuAc-OCH₂C₆H₄-p-NHC(=O)CH₂, Fuc α 1-2Gal β 1-4GalNAc β , NeuAca2-6Galb, Gala1-3Galb1-4GlaNAcb, (NeuAca2-8)₃, 6Gal-HSO₃-SiaLex, 6GluNAc-HSO₃-SiaLex, α 2-6唾液酸二天线型N-聚糖或聚唾液酸。
6. 如权利要求1至5任一所述的抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 所述抗体或其抗原结合部份是选自 (a) 全免疫球蛋白分子; (b) scFv; (c) Fab片段; (d) F(ab')₂; 或 (e) 双硫键结Fv。
7. 药物组合物, 其包含:
权利要求1-6中任一项所述的抗体或其抗原结合部分; 和
药学上可接受的载体。
8. 权利要求7的药物组合物, 进一步包含至少一种其他治疗剂。
9. 权利要求1-6任一项所述的抗体或其抗原结合部分在制备用于治疗癌症的药物中的用途。
10. 权利要求9的用途, 其中所述癌症是乳腺癌, 肺癌, 前列腺癌, 胰腺癌, 胃癌, 卵巢癌, 子宫内膜癌, 结肠癌, 肝癌, 鼻咽癌, 皮肤癌, 口腔癌, 肾癌, 脑癌, 子宫颈癌或膀胱癌。
11. 一种杂交瘤, 其特征在于, 其是寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121137指定为2F8的杂交瘤。
12. 一种杂交瘤, 其特征在于, 其是寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121312指定为1E1的杂交瘤。

抗体、产生所述抗体的杂交瘤、及其用途

[0001] 本申请是申请日2015年4月10日、申请号201580011286.6、发明名称“抗体、产生所述抗体的杂交瘤、及其用途”的中国发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请案交互参照

[0003] 本申请声明于2014年4月10日申请的美国专利申请号61/977,824,以及2014年9月30日申请的美国专利申请号62/057,381的权益,其全部内容于此并入本文中作为参考。

技术领域

[0004] 本发明是关于对肿瘤相关糖类抗原的抗体,其包含特定针对至少一个肿瘤相关糖类抗原或其片段的特定部份或变异体、以及编码这些抗体的核酸、互补核酸、载体、宿主细胞和其制造与使用方法,其包括包含所述抗体的治疗制剂及药学组成物。进一步,提供用于给予有效量的抗体予受试者以抑制癌细胞的方法。

背景技术

[0005] 数种表面糖类会表现在恶性肿瘤细胞上。举例来说,Globo H (Fuc α 1 \rightarrow 2Gal β 1 \rightarrow 3GalNAc β 1 \rightarrow 3Gal α 1 \rightarrow 4Gal β 1 \rightarrow 4Glc)已经显示出在多种上皮癌中会过表现,且其在乳癌和小细胞肺癌中与肿瘤侵袭性和差预后有关联。先前研究显示出Globo H及阶段特异性胚抗原3(Stage-specific embryonic antigen 3,SSEA3,也被称为Gb5)于乳癌和乳癌干细胞上被观察到(WW Chang等人,「Globo H与SSEA3在乳癌干细胞中的表现以及岩藻糖基转移酶1和2在Globo H合成中的参与」(Expression of Globo H and SSEA3 in breast cancer stem cells and the involvement of fucosyl transferases 1 and 2 in Globo H synthesis),PNAS,105(33):11667-11672)。

[0006] 这些发现支持针对肿瘤相关糖类抗原的抗体的发展的合理解释,然而仍有针对癌症在有效治疗及/或预防上的未满足需求。本发明提供对肿瘤相关糖类抗原的抗体以满足这些与其他需求。

发明内容

[0007] 本发明提供抗体、或其抗原结合部份,其包含结合至糖类抗原的可变域、这些抗体的共轭版本、编码或互补核酸、载体、宿主细胞、组成物、制剂、装置、基因转殖动物、其相关的基因转殖植物、以及其制造及使用方法,如本文所描述和启用的,与本发明所属领域公知的组合。抗体或其抗原结合部份可具有大约 $10E-7M$ 或更小、大约 $10E-8M$ 或更小、大约 $10E-9M$ 或更小、大约 $10E-10M$ 或更小、大约 $10E-11M$ 或更小、或大约 $10E-12M$ 或更小的解离常数(K_D)。抗体或其抗原结合部份可为人源化的或嵌合的。

[0008] 在一个实施例中,本发明提供抗体、或其抗原结合部份,其包含包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的重链可变域。

[0009] 在另一个实施例中,本发明提供抗体、或其抗原结合部份,其包含包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的轻链可变域。

[0010] 在又一个实施例中,本发明提供抗体、或其抗原结合部份,其包含包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的重链可变域;以及包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的轻链可变域。

[0011] 在第四个实施例中,本发明提供抗体、或其抗原结合部份,包含重链区,其中所述重链区包含三个互补决定区(complementarity determining region(s),CDRs),CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:5、6及7中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。在一个例示性实施例中,重链进一步包含在前导序列和所述CDR1之间的框架(Framework),其具有大约80%至大约100%与SEQ ID NO:87同源的氨基酸序列。在另一个实施例中,重链进一步包含在所述CDR2和CDR3之间的框架,其具有大约80%至大约100%与SEQ ID NO:89同源的氨基酸序列。在又一个例示性实施例中,重链进一步包含在具有大约80%至大约100%与SEQ ID NO:11同源的氨基酸序列的重链的所述CDR1和CDR2之间的框架,其中所述框架含有在位置9的甘氨酸,且其抗体或其抗原结合部份结合至糖类抗原,诸如Globo H。

[0012] 在第五个实施例中,本发明提供抗体、或其抗原结合部份,包含轻链区,其中轻链区包含三个CDR,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至100%与SEQ ID NOs:8、9及10中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。在一个例示性实施例中,轻链进一步包含在前导序列和所述CDR1之间的框架,其具有大约80%至大约100%与SEQ ID NO:88同源的氨基酸序列。在另一个例示性实施例中,轻链进一步包含在轻链的所述CDR2和CDR3之间的框架,其具有大约80%至大约100%与SEQ ID NO:90同源的氨基酸序列。在又一个例示性实施例中,轻链进一步包含在具有大约80%至大约100%与SEQ ID NO:12同源的氨基酸序列的轻链的所述CDR1和CDR2之间的框架,其中所述框架含有在位置12的脯氨酸,且抗体或其抗原结合部份结合至Globo H。在又一个例示性实施例中,轻链进一步包含在具有大约80%至大约100%与SEQ ID NO:12同源的氨基酸序列的轻链的所述CDR1和CDR2之间的框架,其中所述框架含有在位置13的色氨酸,且抗体或其抗原结合部份结合至糖类抗原,诸如Globo H。

[0013] 在第六个实施例中,本发明提供抗体、或其抗原结合部份,其包含重链区和轻链区,其中所述重链区包含三个CDR,CDR1、CDR2以及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:5、6及7中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列,且其中轻链区包含三个CDR,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:8、9及10中阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。

[0014] 在一些实施例中,所提供的是抗体或其抗原结合部份,其包含:重链区,其中所述重链区包含具有大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:5、6或7的氨基酸序列同源的氨基酸序列的CDR。在其他实施例中,所提供的是抗体或其抗原结合部份,其包含轻链区,其中轻链区包含具有大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:8、9或10的氨基酸序列同源的氨基酸序列的CDR。

[0015] 本发明也针对抗体、或其抗原结合部份,其包含:包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的重链可变域。

[0016] 本发明也关于抗体、或其抗原结合部份,其包含:包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的轻链可变域。

[0017] 本发明也关于抗体、或其抗原结合部份,其包含:包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的重链可变域;以及包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的轻链可变域。

[0018] 一例示性实施例提供抗体、或其抗原结合部份,包含重链区,其中重链区包含三个CDR,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:15、16及17中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。另一个例示性实施例提供抗体、或其抗原结合部份,包含轻链区,其中轻链区包含三个CDR,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:18、19及20中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。

[0019] 另一个例示性实施例提供抗体、或其抗原结合部份,其包含重链区和轻链区,其中重链区包含三个CDR,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:15、16及17中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列,且其中轻链区包含三个CDRs,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:18、19及20所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。

[0020] 在一些实施例中,所提供的是抗体、或其抗原结合部份,其包含:重链区,其中重链区包括具有大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:15、16或17的氨基酸序列同源的氨基酸序列的CDR。在其他实施例中,所提供的是抗体或其抗原结合部份,其包含轻链区,其中轻链区包含具有大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:18、19或20的氨基酸序列同源的氨基酸序列的CDR。

[0021] 本发明的一个实施例是抗体、或其抗原结合部份,其包含:包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的重链可变域。

[0022] 另一个本发明的实施例是抗体或其抗原结合部份,其包含:包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的轻链可变域。

[0023] 在本发明的另一个实施例是抗体或其抗原结合部份,其包含:包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的重链可变域;以及包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:22中所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的轻链可变域。

[0024] 一例示性实施例提供抗体、或其抗原结合部份,包含重链区,其中所述重链区包含三个CDRs,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:23、24及25中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。另一个例示性实施例提供抗体、或其抗原结合部份,包含轻链区,其中所述轻链区包含三个CDRs,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:26、27及28中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。

[0025] 另一个例示性实施例提供抗体、或其抗原结合部份,其包括重链区和轻链区,其中重链区包含三个CDRs,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:23、24及25中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列,且其中轻链区包含三个CDRs,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:26、27及28所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。

[0026] 在一些实施例中,所提供的是抗体或其抗原结合部份,其包含:重链区,其中所述重链区包括具有大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:23、24或25的氨基酸序列同源的氨基酸序列的CDR。在其他实施例中,所提供的是抗体或其抗原结合部份,其包含轻链区,其

中轻链区包括具有大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:26、27或28的氨基酸序列同源的氨基酸序列的CDR。

[0027] 本发明也揭露抗体、或其抗原结合部份,其包含:包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的重链可变域。

[0028] 本发明也揭露抗体、或其抗原结合部份,其包含:包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的轻链可变域。

[0029] 本发明也揭露抗体、或其抗原结合部份,其包含:包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的重链可变域;以及包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的轻链可变域。

[0030] 一例示性实施例提供抗体、或其抗原结合部份,包含重链区,其中所述重链区包含三个CDRs,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:31、32及33中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。另一个例示性实施例提供抗体、或其抗原结合部份,包含轻链区,其中所述轻链区包含三个CDRs,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:34、35及36中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。

[0031] 另一个例示性实施例提供抗体、或其抗原结合部份,其包含重链区和轻链区,其中重链区包含三个CDRs,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:31、32及33中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列,且其中轻链区包含三个CDRs,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:34、35及36所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。

[0032] 在一些实施例中,所提供的是抗体或其抗原结合部份,其包含:重链区,其中所述重链区包括具有大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:31、32或33的氨基酸序列同源的氨基酸序列的CDR。在其他实施例中,所提供的是抗体或其抗原结合部份,其包含轻链区,其中轻链区包含具有大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:34、35或36的氨基酸序列同源的氨基酸序列的CDR。

[0033] 本发明的一个实施例是抗体、或其抗原结合部份,其包含:包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的重链可变域。

[0034] 另一个本发明的实施例提供抗体或其抗原结合部份,其包含:包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的轻链可变域。

[0035] 在本发明的另一个实施例中提供抗体或其抗原结合部份,其包含:包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的重链可变域;以及包括大约80%至大约100%与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列的轻链可变域。

[0036] 一例示性实施例提供抗体、或其抗原结合部份,包含重链区,其中所述重链区包含三个CDRs,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:39、40及41中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。另一个例示性实施例揭露抗体、或其抗原结合部份,包含轻链区,其中所述轻链区包含三个CDRs,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:42、43及44中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。

[0037] 另一个例示性实施例提供抗体、或其抗原结合部份,其包含重链区和轻链区,其中重链区包含三个CDRs,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:

39、40及41中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列,且其中轻链区包含三个CDRs,CDR1、CDR2及CDR3,其分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:42、43及44所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列。

[0038] 在一些实施例中,所提供的是抗体或其抗原结合部份,其包含:重链区,其中所述重链区包含具有大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:39、40或41的氨基酸序列同源的氨基酸序列的CDR。在其他实施例中,所提供的是抗体或其抗原结合部份,其包含轻链区,其中轻链区包含具有大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:42、43或44的氨基酸序列同源的氨基酸序列的CDR。

[0039] 本发明提供包含如本文描述的抗体或其抗原结合部份以及至少一个药学上可接受的载体的药学组成物。

[0040] 本发明也提供用于抑制Globo H表现的癌细胞的方法,其包含对需要的受试者投以如本文所提供的抗体或其抗原结合部份的有效量,其中Globo H表现的癌细胞被抑制。

[0041] 本发明也提供指定为2C2(寄存于美国菌种保存中心(American Type Culture Collection,ATCC)寄存号码PTA-121138);3D7(寄存于美国菌种保存中心寄存号码PTA-121310);7A11(寄存于美国菌种保存中心寄存号码PTA-121311);2F8(寄存于美国菌种保存中心寄存号码PTA-121137;以及1E1(寄存于美国菌种保存中心寄存号码PTA-121312)的杂交瘤克隆(clones),以及从其产生的抗体与抗原结合部份。

附图说明

[0042] 第1图为显示PBS、Globo H-VK9 mAbs、Globo H-2C2 mAbs和Globo H-3D7 mAb对于在小鼠中胰腺癌(HPAC)体积的效果的线性图。

[0043] 第2图为显示正常食盐水和Globo H-2C2 mAbs的不同剂量对于在小鼠中乳癌(MCF7)体积的效果的线性图。

[0044] 第3A图至第3F图为显示Globo H-2C2 mAb(第3A图)、Globo H-7A11 mAb(第3B图)、Globo H-3D7 mAb(第3C图)、Globo H-2F8 mAb(第3D图)、Globo H-1E1 mAb(第3E图)以及Globo H-VK9 mAb(第3F图)与多种糖类抗原的结合亲和力的条形图。

具体实施方式

[0045] 如本文所使用的,文章「一」指称文章的文法对象的一个或一个以上(即,至少一个)。以实例的方式,「一组件」意思为一个组件或一个以上组件。

[0046] 如本文所使用的「有效量」,意指足以降低癌症的症状和征象的疫苗或药学组成物的剂量,癌症的症状和征象诸如体重减轻、疼痛和可触及肿块,其为临床上为可触及肿块或通过多种成像装置放射性地可侦测的。术语「有效量」和「治疗有效量」可互换使用。

[0047] 术语「受试者」可指称具有癌症的脊椎动物或被认为需要癌症治疗的脊椎动物。受试者包括所有温血动物,诸如哺乳动物、诸如灵长类,以及优选地,人类。非人类的灵长类也是受试者。术语受试者包括驯养动物,诸如猫、狗等,家畜(举例来说,牛、马、猪、绵羊、山羊等)以及实验动物(举例来说,小鼠、兔、大鼠、沙鼠、豚鼠等)。如此,兽医用途和医药制剂是本文所预期的。

[0048] 所有本文的数目是近似值且可以「大约」修饰。

[0049] 本发明提供用于癌细胞的治疗或抑制的药学组成物和方法。药学组成物包含辨识糖类抗原的抗体,其包括小鼠单株抗体、人源化抗体、嵌合抗体、或前述的任一抗原结合部份。这些抗体(或其抗原结合部份)可中和糖类抗原,及/或抑制癌细胞。因此,本发明的抗体或其抗原结合部份可被使用于癌细胞的治疗或抑制。

[0050] 本发明的抗体包括包含重链或轻链、或其配体结合部份的至少一个互补决定区(CDR)的任何蛋白或肽,其源自如本文所描述的,指定为2C2(寄存于美国菌种保存中心寄存号码PTA-121138)的杂交瘤;指定为3D7(寄存于美国菌种保存中心寄存号码PTA-121310)的杂交瘤;指定为7A11(寄存于美国菌种保存中心寄存号码PTA-121311)的杂交瘤;指定为2F8(寄存于美国菌种保存中心寄存号码PTA-121137)的杂交瘤;或指定为1E1(寄存于美国菌种保存中心寄存号码PTA-121312)的杂交瘤所产生的抗体。抗体包括抗体片段、抗体变异体、单株抗体、多株抗体;以及重组抗体之类。抗体可在小鼠、兔或人类中产生。

[0051] 本发明的抗体也包括从本发明的抗体产生的嵌合的或人源化的单株抗体。

[0052] 如此,本发明的抗癌抗体包括非鼠类来源的重链或轻链可变区、重链或轻链恒定区、框架区、或任何其部份的组合,优选地为人类来源,其可并入本发明的抗体。

[0053] 本发明的抗体能够调节、减少、拮抗、减轻、缓和、阻断、抑制、消除及/或干扰在体外、原位及/或体内的至少一个Globo-H表现的癌细胞活性。

[0054] 术语「抗体」进一步旨在涵盖抗体、消化片段、特异的部份和其变异体,其包括抗体模拟物或包含模拟抗癌抗体或其特异片段或部份的结构及/或功能的抗体的部份,其包括其单链抗体及片段,每一个含有至少一个从本发明的抗癌抗体衍生的CDR。功能片段包括结合至Globo-H表现的癌细胞的抗原结合片段。举例来说,能够结合至Globo-H表现的癌细胞的抗体片段或其部份,其包括,但不限于,Fab(例如,通过木瓜酶消化)、Fab'(例如,通过胃蛋白酶消化且部份还原)、F(ab')₂(例如,通过胃蛋白酶消化)、facb(例如,通过胞浆素消化)、pFc'(例如,通过胃蛋白酶或胞浆素消化)、Fd(例如,通过胃蛋白酶消化、部份还原和再聚集)、Fv或scFv(例如,通过分子生物技术)片段,被涵盖在本发明中(参见,例如, Colligan,免疫学(Immunology),如上述)。

[0055] 如本文使用的,2C2指称杂交瘤克隆或通过相应的杂交瘤克隆产生的抗体。

[0056] 抗体的抗原结合部份可包括特异性结合至糖类抗原(例如,Globo H、SSEA-3或SSEA-4)的抗体的一部份。

[0057] 本发明的人源化抗体是来自非人类物种的抗体,其中在非抗原结合区(及/或所述抗原结合区)中的氨基酸序列被改变,使得所述抗体更接近类似于人类抗体,然而同时维持其原有的结合能力。

[0058] 人源化抗体可通过以源自人类可变区的等价序列来替换非直接涉及抗原结合的可变区的序列来产生。这些方法包括分离、操作、以及表现编码来自重链或轻链的至少一个的全部或部分可变区的核酸序列。这样的核酸的来源对所属技术领域的人员而言是公知的。编码人源化抗体、或其片段的重组DNA,可接着被转殖进入合适的表现载体。

[0059] 抗体轻链或重链可变区包含被三个高度变异区中断的框架区,称为CDR。在一个实施例中,人源化抗体是具有来自非人类物种的一个、两个或全部CDRs,以及来自人类免疫球蛋白分子的一个、两个或全部三个框架区的源自非人类物种的抗体分子。

[0060] 根据本发明的一个态样,CDRs和框架残基的位置是通过揭露于Kabat,E.A.,等人,

(1991年)《免疫学感兴趣的蛋白质的序列》(Sequences of Proteins of Immunological Interest), 第五版, 美国, 卫生和公众服务部 (Department of Health and Human Services), NIH出版No.91-3242的方法来测定。根据本发明的另一个态样, 抗体或其抗原结合部份可具有下列结构:

[0061] 前导序列-FW1-CDR1-FW2-CDR2-FW3-CDR3-,

[0062] 其中, 框架区FW1、FW2、FW3及CDRs, CDR1、CDR2、CDR3具有揭露于表1的氨基酸序列。

[0063] 本发明的人源化抗体可通过所属技术领域中公知的方法来制造。举例来说, 一旦获得非人类 (例如, 鼠类) 抗体, 可变区可被定序、且CDRs的位置和框架残基可被测定。Kabat, E.A. 等人, (1991年)《免疫学感兴趣的蛋白质的序列》, 第五版, 美国, 卫生和公众服务部, NIH出版No.91-3242。Chothia, C. 等人, (1987年), 分子生物学期刊 (J. Mol. Biol.), 196:901-917, 编码轻链和重链可变区的DNA可选择地被连接至相应的恒定区且接着次转殖进入合适的表现载体。CDR接枝的抗体分子可通过CDR接枝或CDR取代来产生。免疫球蛋白链的一个、两个或全部CDRs可被替换。举例来说, 特定的抗体的CDRs的全部可来自非人类动物 (例如, 小鼠诸如表1所示的CDRs) 的至少一部份或所述CDRs的仅一些可被替换。只需要保持需要用于抗体对预定的糖类抗原 (例如, Globo H) 的结合的CDRs。Morrison, S.L., 1985年, 科学期刊 (Science), 229:1202-1207。Oi 等人, 1986年, 生物技术期刊 (BioTechniques), 4:214。美国专利号 (Patent Nos.) 5,585,089; 5,225,539; 5,693,761 及 5,693,762。EP 519596。Jones 等人, 1986年, 自然期刊 (Nature), 321:552-525。Verhoeyan 等人, 1988, 科学期刊 (Science), 239:1534。Beidler 等人, 1988年, 免疫学期刊 (J. Immunol.), 141:4053-4060。

[0064] 本发明亦涵盖的是抗体或其抗原结合部份, 其包含一个或两个如本文所揭露的可变区, 其被来自至少一个不同物种的序列所替换的其他区, 至少一个不同物种包括但不限于, 人类、兔、绵羊、狗、猫、母牛、马、山羊、猪、猴、猿、大猩猩、黑猩猩、鸭、鹅、鸡、两栖类、爬虫类以及其他动物。

[0065] 嵌合抗体是其中不同部份源自不同动物物种的分子。举例来说, 抗体可含有源自鼠类mAb的可变区和人类免疫球蛋白恒定区。嵌合抗体可通过重组DNA技术来产生。Morrison 等人, 美国国家科学院院刊 (Proc Natl Acad Sci), 81:6851-6855 (1984年)。举例来说, 编码鼠类 (或其他物种) 抗体分子的基因是用限制酶来酶切以移除编码所述鼠类Fc的区域, 且编码人类Fc恒定区的基因的等价部份接着取代进入所述重组DNA分子。嵌合抗体也可通过重组DNA技术来创造, 其中编码鼠类V区域的DNA可被接合至编码所述人类恒定区的DNA。Better 等人, 科学期刊 (Science), 1988年, 240:1041-1043。Liu 等人, 美国国家科学院院刊 (PNAS), 1987年, 84:3439-3443。Liu 等人, 免疫学期刊 (J. Immunol.), 1987年, 139:3521-3526。Sun 等人, 美国国家科学院院刊 (PNAS), 1987年, 84:214-218。Nishimura 等人, 癌症研究期刊 (Canc. Res.), 1987年, 47:999-1005。Wood 等人, 自然期刊 (Nature), 1985年, 314:446-449。Shaw 等人, 美国国家癌症研究所期刊 (J. Natl. Cancer Inst.), 1988年, 80:1553-1559。国际专利公开号W01987002671及W0 86/01533。欧洲专利申请号184,187;171,496;125,023;以及173,494。美国专利号4,816,567。

[0066] 抗体可为全长或可包含具有抗原结合部份的抗体的片段 (或复数个片段), 其特征不在于, 但不限于, Fab、F(ab')₂、Fab'、F(ab)'、Fv、单链Fv (scFv)、二价的scFv (bi-scFv)、三

价的scFv(tri-scFv)、Fd、dAb片段(例如,Ward等人,自然期刊(Nature),341:544-546(1989年))、分离的CDR、二聚抗体、三聚抗体、四聚抗体、线性抗体、单链抗体分子、以及从抗体片段形成的多特异性抗体。通过使用重组方法、或合成的链接物来接附抗体片段所产生的单链抗体,也被本发明所涵盖。Bird等人,科学期刊(Science),1988年,242:423-426。Huston等人,美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.),美国,1988年,85:5879-5883。

[0067] 本发明的抗体或其抗原结合部份可为单特异性、双特异性或多特异性。多特异性或双特异性抗体或其片段可针对一个目标糖类(例如,Globo H)的不同表位为特异性,或可含有针对一个以上目标糖类(例如,针对Globo H、SSEA-3与SSEA-4特异性的抗原结合域)特异性的抗原结合域。在一个实施例中,多特异性抗体或其抗原结合部份包含至少两个不同的可变域,其中每一个可变域能够特异地结合至分开的糖类抗原或是在相同的糖类抗原上的不同表位。Tutt等人,1991年,免疫学期刊(J. Immunol.),147:60-69。Kufer等人,2004年,生物技术趋势(Trends Biotechnol.),22:238-244。本发明的抗体可链接到另一个功能性分子或与另一个功能性分子共表现,例如,另一个肽或蛋白质。举例来说,抗体或其片段可功能性地连接(例如,通过化学耦合、遗传融合、非共价结合或其他方式)至一个或多个其他分子实体,诸如另一个抗体或抗体片段以产生双特异性或有着第二结合特异性的多特异性抗体。

[0068] 所有抗体同型被本发明所涵盖,其包括IgG(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)、IgM、IgA(IgA1、IgA2)、IgD或IgE(所有类型和子类型被本发明所涵盖)。抗体或其抗原结合部份可为哺乳类(例如,小鼠、人类)抗体或其抗原结合部份。抗体的轻链可为 κ 或 λ 类型。

[0069] 本发明的抗体或其抗原结合部份的可变区可来自非人类或人类来源。本发明的抗体或其抗原结合部份的框架可为人类、人源化的、非人类(例如,修饰以减少在人类中的抗原性的鼠类框架)、或合成的框架(例如,共有框架)。

[0070] 在一个实施例中,本发明的抗体或其抗原结合部份,包含至少一个重链可变区及/或至少一个轻链可变区。

[0071] 本发明的抗体或其抗原结合部份以小于约 $10E-7M$ 、小于约 $10E-8M$ 、小于约 $10E-9M$ 、小于约 $10E-10M$ 、小于约 $10E-11M$ 、或小于约 $10E-12M$ 的解离常数(K_D)特异性地结合至Globo H。在一个实施例中,抗体或其抗原结合部份具有 $1\sim 10\times 10E-9$ 或小于其的解离常数(K_D)。在另一个实施例中, K_D 是通过表面等离子共振来测定。

[0072] 抗体有着可变重链区和可变轻链区以至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约81%、至少约82%、至少约83%、至少约84%、至少约85%、至少约86%、至少约87%、至少约88%、至少约89%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%同源于由克隆2C2所产生的抗体的可变重链区和可变轻链区,并且也可结合至糖类抗原(例如,Globo H)。同源性可以氨基酸或核苷酸序列层级来表现。

[0073] 在一些实施例中,抗体或其抗原结合部份,举例来说,通过杂交瘤2C2、杂交瘤3D7、杂交瘤7A11、杂交瘤2F8、以及杂交瘤1E1所产生的抗体的可变重链及/或可变轻链,显示于表1中。

[0074] 在相关的实施例中,抗体或其抗原结合部份包括,举例来说,从杂交瘤2C2、杂交瘤3D7、杂交瘤7A11、杂交瘤2F8、以及杂交瘤1E1产生的抗体的可变重链的CDRs及/或可变轻链

的CDRs。来自这些杂交瘤克隆中可变重链和可变轻链的CDRs和框架显示于表1。

[0075] 表1:SEQ ID NO:1-90

[0076]

杂交瘤克隆	链区域	序列	SEQ ID No.
2C2	重链可变区(Vh)	核酸序列 TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCT GGATTTTCACTGTACACTTTTGATATGG GTGTAGGCTGGATTCGTCAGCCTTCAGG GAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACAT TTGGTGGGATGATGATAAGTACTATAAC CCAGCCCTGAAGAGTCGGCTCACAGTCT CCAAGGATACCTCCAAAAACCAGGTCTT CCTCAAGATCCCCAATGTGGACACTGCA GATAGTGCCACATACTACTGTGCTCGAG TAAGGGGCCTCCATGATTATTACTACTG GTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTG GTCACTGTCTCT	1
2C2	轻链可变区(VL)	核酸序列 GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATG ACTTGCAGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTT ACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAG	2

[0077]

		GATCCTCCCCCAAACCCTGGATTTATGC CACATCCAACCTGGCGTCTGGAGTCCCT GCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGA CCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGT GGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTTT TGCCAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTC ACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAA ATAAGA	
2C2	重链可变区 (Vh)	氨基酸序列 SGPG ILQPSQTL SL TCSFSGFSLY TFDMGVGWIR QPSGKGLEWL AHIWWDDDKY YNPALKSRLT VSKDTSKNQV FLKIPNVDTA DSATYYCARV RGLHDYYYWF AYWGQGT LVT VS	3
2C2	轻链 (VL)	氨基酸序列 ASPG EKVT MTCRASSSVS YMH WYQQKPG SSPKPWIYAT SNLASGV PAR FSGSGSGTSY SLTISRVEAE DAATYFCQQW SRNPFTFGSG TKLEIR	4
2C2	重链 CDR1	氨基酸序列 YTFDMGVG	5
2C2	重链 CDR2	氨基酸序列 HIWWDDDKYYNPALKS	6
2C2	重链 CDR3	氨基酸序列 VRGLHDYYYWFAY	7
2C2	轻链 CDR1	氨基酸序列 RASSSVSYMH	8
2C2	轻链 CDR2	氨基酸序列 ATSNLAS	9
2C2	轻链 CDR3	氨基酸序列 QQWSRNPFT	10
2C2	重链框架 2	氨基酸序列 WIRQPSGKGLEWLA	11
2C2	轻链框架 2	氨基酸序列 WYQQKPGSSPKPWIY	12
3D7	重链可变区(Vh)	氨基酸序列 SGPGILQPSQTL SL TCSFSGFSLYTFDMGV GWIRQPSGKGLEWLAHIWWDDDKYYNP ALKSRLTVSKDTSKNQVFLKIPNVDTADS ATYYCARVRGLHDYYYWFAYWGQGT L VTVS	13

[0078]

3D7	轻链 可变区 (VL)	氨基酸序列 ASPGKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPG SSPKPWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTSY SLTISRVEAEDAATYFCQQWSRNPFTFGS GTKLEIR	14
3D7	重链 CDR1	氨基酸序列 YTFDMGVG	15
3D7	重链 CDR2	氨基酸序列 HIWWDDDKYYNPALKS	16
3D7	重链 CDR3	氨基酸序列 VRGLHDYYYWFAY	17
3D7	轻链 CDR1	氨基酸序列 RASSSVSYMH	18
3D7	轻链 CDR2	氨基酸序列 ATSNLAS	19
3D7	轻链 CDR3	氨基酸序列 QQWSRNPFT	20
7A11	重链可变 区(Vh)	氨基酸序列 SGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLYTFDMGV GWIRQPSGKGLEWLAQIWWDDDKYYNP GLKSRLTISKDTSKNQVFLKIPNVDTADSA TYYCARIRGLRDYYYWFAYWGQGTSLV VS	21
7A11	轻链 可变区 (VL)	氨基酸序列 ASPGKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPG SSPKPWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTSY SLTISRVEAEDAATYFCQQWSRNPFTFGS GTKLEIR	22
7A11	重链 CDR1	氨基酸序列 YTFDMGVG	23
7A11	重链 CDR2	氨基酸序列 QIWWDDDKYYNPGLKS	24
7A11	重链 CDR3	氨基酸序列 IRGLRDYYYWFAY	25
7A11	轻链 CDR1	氨基酸序列 RASSSVSYMH	26
7A11	轻链 CDR2	氨基酸序列 ATSNLAS	27
7A11	轻链 CDR3	氨基酸序列 QQWSRNPFT	28
2F8	重链可变 区(Vh)	氨基酸序列 SGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTFGLGVG WIRQPSGKGLEWLAHIWWDDDKSYNPAL KSRLTISKDTSKNQVFLMIANVDTADTAT	29

[0079]

		YYCARIGPKWSNYYYYCDYWGQGTTLT VS	
2F8	轻链 可变区 (VL)	氨基酸序列 ASPGKVTMTTCRASSSVSYMHYQQKPG SSPKPYIYATSNLSSGVPARFSGSGSGTSYS LTISRVEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGT KLEIK	30
2F8	重链 CDR1	氨基酸序列 STFGLGVG	31
2F8	重链 CDR2	氨基酸序列 HIWWDDDKSYNPALKS	32
2F8	重链 CDR3	氨基酸序列 IGPKWSNYYYYCDY	33
2F8	轻链 CDR1	氨基酸序列 RASSSVSYMH	34
2F8	轻链 CDR2	氨基酸序列 ATSNLSS	35
2F8	轻链 CDR3	氨基酸序列 QQWSSNPFT	36
1E1	重链可变 区(Vh)	氨基酸序列 SGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTFGLGVG WIRQPSGKGLEWLAHIWWDDDKSYNPAL KSQLTISKDTSKNQVLLKIANVDTADTATY YCARIGPKWSNYYYYCDYWGQGTTLTVS	37
1E1	轻链 可变区 (VL)	氨基酸序列 ASPGKVTMTTCRASSSVSYMHYQQKPG SSPKPYIYATSNLSSGVPARFSGSGSGTSYS LTISRVEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGT KLEIK	38
1E1	重链 CDR1	氨基酸序列 STFGLGVG	39
1E1	重链 CDR2	氨基酸序列 HIWWDDDKSYNPALKS	40
1E1	重链 CDR3	氨基酸序列 IGPKWSNYYYYCDY	41
1E1	轻链 CDR1	氨基酸序列 RASSSVSYMH	42
1E1	轻链 CDR2	氨基酸序列 ATSNLSS	43
1E1	轻链 CDR3	氨基酸序列 QQWSSNPFT	44
2C2	重链 CDR1	核酸序列 TACACTTTTGATATGGGTGTAGGC	45
2C2	重链	核酸序列	46

[0080]

	CDR2	CACATTTGGTGGGATGATGATAAGTACTA TAACCCAGCCCTGAAGAGT	
2C2	重链 CDR3	核酸序列 GTAAGGGGCCTCCATGATTATTACTACTG GTTTTGCTTAC	47
2C2	轻链 CDR1	核酸序列 AGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTTACATGC AC	48
2C2	轻链 CDR2	核酸序列 GCCACATCCAACCTGGCGTCT	49
2C2	轻链 CDR3	核酸序列 CAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTACAG	50
3D7	重链可变 区(Vh)	核酸序列 TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCT GGATTTTCACTGTACACTTTTGATATGGG TGTAGGCTGGATTTCGTCAGCCTTCAGGG AAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATTT GGTGGGATGATGATAAGTACTATAACCC AGCCCTGAAGAGTCGGCTCACAGTCTCC AAGGATACCTCCAAAAACCAGGTCTTCC TCAAGATCCCCAATGTGGACACTGCAGA TAGTGCCACATACTACTGTGCTCGAGTA AGGGGCCTCCATGATTATTACTACTGGTT TGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTC ACTGTCTCT	51
3D7	轻链 可变区 (VL)	核酸序列 GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATG ACTTGCAGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTT ACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAG GATCCTCCCCCAAACCCTGGATTATGCC ACATCCAACCTGGCGTCTGGAGTCCCTG CTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGAC CTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGTG GAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTTCT GCCAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTAC GTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATA AGA	52
3D7	重链 CDR1	核酸序列 TACACTTTTGATATGGGTGTAGGC	53
3D7	重链 CDR2	核酸序列 CACATTTGGTGGGATGATGATAAGTACTA TAACCCAGCCCTGAAGAGT	54
3D7	重链 CDR3	核酸序列 GTAAGGGGCCTCCATGATTATTACTACTG	55

[0081]

		GTTTGCTTAC	
3D7	轻链 CDR1	核酸序列 AGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTTACATGC AC	56
3D7	轻链 CDR2	核酸序列 GCCACATCCAACCTGGCGTCT	57
3D7	轻链 CDR3	核酸序列 CAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTCACG	58
7A11	重链可变 区(Vh)	核酸序列 TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCT GGATTTTCACTGTACACTTTTGATATGGG TGTAGGCTGGATTTCGTCAGCCTTCAGGG AAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACAAATTT GGTGGGATGATGATAAGTACTATAACCC AGGCCTGAAGAGTCGGCTCACAATCTCC AAGGATACCTCCAAAAACCAGGTATTCC TCAAGATCCCCAATGTGGACACTGCAGA TAGTGCCACATACTACTGTGCTCGAATAA GGGGCCTCCGTGATTATTACTACTGGTTT GCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCA CTGTCTCT	59
7A11	轻链 可变区 (VL)	核酸序列 GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATG ACTTGCAGGGCCAGCTCAAGTGTAAGTT ACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAG GATCCTCCCCCAAACCCTGGATTTATGCC ACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTG CTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGAC CTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGTG GAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTTCT GCCAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTCAC GTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATA AGA	60
7A11	重链 CDR1	核酸序列 TACACTTTTGATATGGGTGTAGGC	61
7A11	重链 CDR2	核酸序列 CAAATTTGGTGGGATGATGATAAGTACTA TAACCCAGGCCTGAAGAGT	62
7A11	重链 CDR3	核酸序列 ATAAGGGGCCTCCGTGATTATTACTACTG GTTTGCTTAC	63
7A11	轻链 CDR1	核酸序列 AGGGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGC AC	64

[0082]

7A11	轻链 CDR2	核酸序列 GCCACATCCAACCTGGCTTCT	65
7A11	轻链 CDR3	核酸序列 CAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTACG	66
2F8	重链可变 区(Vh)	核酸序列 TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCT GGGTTTTCTGCTGAGCACTTTTGGTTTGG GTGTAGGCTGGATTCGTCAGCCTTCAGG GAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATT TGGTGGGATGATGATAAGTCCTATAACCC AGCCCTGAAGAGTCGGCTCACAATCTCC AAGGATACCTCCAAAAACCAGGTCTTCC TCATGATCGCCAATGTGGACACTGCAGA TACTGCCACATACTACTGTGCTCGAATAG GCCCCGAAATGGAGCAACTACTACTACTA CTGTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACT CTCACAGTCTCC	67
2F8	轻链 可变区 (VL)	核酸序列 GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATG ACTTGCAGGGCCAGCTCAAGTGTTAGTT ACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAG GATCCTCCCCCAAACCCTACATTTATGCC ACATCCAACCTGTCTTCTGGAGTCCCTG CTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGAC CTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGTG GAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACT GCCAGCAGTGGAGTAGTAACCCCTTCAC GTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATA AAA	68
2F8	重链 CDR1	核酸序列 AGCACTTTTGGTTTGGGTGTAGGC	69
2F8	重链 CDR2	核酸序列 CACATTTGGTGGGATGATGATAAGTCCTA TAACCCAGCCCTGAAGAGT	70
2F8	重链 CDR3	核酸序列 ATAGGCCCCGAAATGGAGCAACTACTACT ACTACTGTGACTAC	71
2F8	轻链 CDR1	核酸序列 AGGGCCAGCTCAAGTGTTAGTTACATGC AC	72
2F8	轻链 CDR2	核酸序列 GCCACATCCAACCTGTCTTCT	73
2F8	轻链 CDR3	核酸序列 CAGCAGTGGAGTAGTAACCCCTTCACG	74

[0083]

1E1	重链可变区(Vh)	核酸序列 TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCT GGGTTTTTCGCTGAGCACTTTTGGTTTGG GTGTAGGCTGGATTTCGTCAGCCTTCAGG GAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATT TGGTGGGATGATGATAAGTCCTATAACCC AGCCCTGAAGAGTCAGCTCACAATCTCC AAGGATACCTCCAAAAACCAGGTACTCC TCAAGATCGCCAATGTGGACACTGCAGA TACTGCCACATACTACTGTGCTCGAATAG GCCCCGAAATGGAGCAACTACTACTACTA CTGTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACT CTCACAGTCTCC	75
1E1	轻链可变区(VL)	核酸序列 GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAAT GACTTGCAGGGCCAGCTCAAGTGTTA GTTACATGCACTGGTACCAGCAGAAG CCAGGATCCTCCCCCAAACCCTACAT TTATGCCACATCCAACCTGTCTTCTGG AGTCCCTGCTCGCTTCAGTGGCAGTG GGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAA TCAGCAGAGTGGAGGCTGAAGATGCT GCCACTTATTACTGCCAGCAGTGGAG TAGTAACCCCTTCACGTTTCGGCTCGG GGACAAAGTTGGAAATAAAA	76
1E1	重链 CDR1	核酸序列 AGCACTTTTGGTTTGGGTGTAGGC	77
1E1	重链 CDR2	核酸序列 CACATTTGGTGGGATGATGATAAGTCCTA TAACCCAGCCCTGAAGAGT	78
1E1	重链 CDR3	核酸序列 ATAGGCCCGAAATGGAGCAACTACTACT ACTACTGTGACTAC	79
1E1	轻链 CDR1	核酸序列 AGGGCCAGCTCAAGTGTTAGTTACATGC AC	80
1E1	轻链 CDR2	核酸序列 GCCACATCCAACCTGTCTTCT	81
1E1	轻链 CDR3	核酸序列 CAGCAGTGGAGTAGTAACCCCTTCACG	82
2C2	重链框架 1	氨基酸序列 SGPGILQPSQTLSTCSFSGFSL	83
2C2	轻链框架 1	氨基酸序列 ASPGEKVTMTC	84

[0084]

2C2	重链框架 3	氨基酸序列 RLTVSKDTSKNQVFLKIPNVDTA DSATYYCAR	85
2C2	轻链框架 3	氨基酸序列 GVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAE DAATYFC	86
2C2	重链框架 1	人源化抗体的氨基酸序列 SGPTLVKPTQTLTLCTFSGFSL	87
2C2	轻链框架 1	人源化抗体的氨基酸序列 LSPGERATLSC	88
2C2	重链框架 3	人源化抗体的氨基酸序列 RLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYY CAR	89
2C2	轻链框架 3	人源化抗体的氨基酸序列 GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYY C	90

[0085] 本发明也涵盖编码可特异地结合至糖类抗原的本发明的抗体或其抗原结合部份的核酸。在一个实施例中,糖类抗原是Globo H。在另一个实施例中,糖类抗原是SSEA-3。在又另一个实施例中,糖类抗原是SSEA-4。核酸可表现在一细胞中以产生本发明的抗体或其抗原结合部份。

[0086] 在特定实施例中,本发明的抗体或其抗原结合部份包括包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约81%、至少约82%、至少约83%、至少约84%、至少约85%、至少约86%、至少约87%、至少约88%、至少约89%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%同源至下列:

[0087] a) SEQ ID NO:3 (杂交瘤2C2);

[0088] b) SEQ ID NO:13 (杂交瘤3D7);

[0089] c) SEQ ID NO:21 (杂交瘤7A11);

[0090] d) SEQ ID NO:29 (杂交瘤2F8);或

[0091] e) SEQ ID NO:37 (杂交瘤1E1)的任一个的氨基酸序列的可变重链区。

[0092] 在特定实施例中,本发明的抗体或其抗原结合部份包括包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约81%、至少约82%、至少约83%、至少约84%、至少约85%、至少约86%、至少约87%、至少约88%、至少约89%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%同源至下列:

[0093] a) SEQ ID NO:4 (杂交瘤2C2);

[0094] b) SEQ ID NO:14 (杂交瘤3D7);

[0095] c) SEQ ID NO:22 (杂交瘤7A11);

[0096] d) SEQ ID NO:30 (杂交瘤2F8);或

[0097] e) SEQ ID NO:38 (杂交瘤1E1)的任一个的氨基酸序列的可变轻链区。

[0098] 在特定实施例中,抗体或其抗原结合部份的可变重链区包含至少约70%、至少约

100%同源至SEQ ID NO:37的氨基酸序列,且抗体或其抗原结合部份的可变轻链区包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约81%、至少约82%、至少约83%、至少约84%、至少约85%、至少约86%、至少约87%、至少约88%、至少约89%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%同源至SEQ ID NO:38的氨基酸序列。

[0103] 抗体或其抗原结合部份的可变重链区可包含一个、两个、三个或更多CDRs包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源至下列:

[0104] a) 通过杂交瘤2C2所产生的抗体的可变重链区的CDRs (SEQ ID NOs:5、6及7);

[0105] b) 通过杂交瘤3D7所产生的抗体的可变重链区的CDRs (SEQ ID NOs:15、16及17);

[0106] c) 通过杂交瘤7A11所产生的抗体的可变重链区的CDRs (SEQ ID NOs:23、24及25);

[0107] d) 通过杂交瘤2F8所产生的抗体的可变重链区的CDRs (SEQ ID NOs:31、32及33);

或

[0108] e) 通过杂交瘤1E1所产生的抗体的可变重链区的CDRs (SEQ ID No:39、40及41) 任一个的氨基酸序列。

[0109] 抗体或其抗原结合部份的可变轻链区可包含一个、两个、三个或更多CDRs包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源至下列:

[0110] a) 通过杂交瘤2C2所产生的抗体的可变轻链区的CDRs (SEQ ID NOs:8、9及10);

[0111] b) 通过杂交瘤3D7所产生的抗体的可变轻链区的CDRs (SEQ ID NOs:18、19及20);

[0112] c) 通过杂交瘤7A11所产生的抗体的可变轻链区的CDRs (SEQ ID NOs:26、27及28);

[0113] d) 通过杂交瘤2F8所产生的抗体的可变轻链区的CDRs (SEQ ID NOs:34、35及36);

或

[0114] e) 通过杂交瘤1E1所产生的抗体的可变轻链区的CDRs (SEQ ID NOs:42、43及44) 任一个的氨基酸序列。

[0115] 抗体或其抗原结合部份的可变重链区可包含一个、两个或三个或更多CDRs包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源至通过杂交瘤2C2所产生的抗体的可变重链区的CDRs (SEQ ID NOs:5、6及7)、或通过杂交瘤3D7所产生的抗体的可变重链区的CDRs (SEQ ID NOs:15、16及17) 的氨基酸序列,且抗体或其抗原结合部份的可变轻链区可包含一个、两个或三个或更多CDRs,包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或

约100%同源至通过杂交瘤2C2所产生的抗体的可变轻链区的CDRs (SEQ ID NOs:8、9及10) 或通过杂交瘤3D7所产生的抗体的可变轻链区的CDRs (SEQ ID NOs:18、19及20) 的氨基酸序列。

[0116] 在一个实施例中, 抗体或其抗原结合部份进一步包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源至SEQ ID NO:83 (2C2抗体的重链框架1) 或SEQ ID NO:87 (人源化2C2抗体的重链框架1, 参见表1) 的框架, 其中框架是在前导序列与通过杂交瘤2C2产生的抗体的可变重链区的CDR1之间。在另一个实施例中, 抗体或其抗原结合部份进一步包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源至SEQ ID NO:84 (2C2抗体的轻链框架1) 或SEQ ID NO:88 (人源化2C2抗体的轻链框架1, 参见表1) 的框架, 且所述框架是在前导序列与通过杂交瘤2C2产生的抗体的可变轻链区的CDR1之间。

[0117] 在一个实施例中, 抗体或其抗原结合部份进一步包含介于由杂交瘤2C2产生的抗体的可变重链区的CDR1和CDR2之间的框架, 其中框架可至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源至SEQ ID NO:11 (在表1中的重链框架2)。在例示性实施例中, 在具有大约80%至大约100%同源至SEQ ID NO:11的氨基酸序列的可变重链区的CDR1和CDR2之间的框架, 含有在位置9的甘氨酸。SEQ ID NO:11的氨基酸的位置如下描述:

[0118]	氨基酸	W*	I	R	Q	P	S	G	K	G	L	E	W	L	A**
	位置 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

[0119] *在FW2(W) 的位置1的氨基酸是邻近于CDR1的残基。

[0120] **在FW2(A) 的位置14的氨基酸是邻近于CDR2的残基。

[0121] 在另一个实施例中, 抗体或其抗原结合部份进一步包含在由杂交瘤2C2产生的抗体的可变轻链区的CDR1和CDR2之间的框架, 其中框架是至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源至SEQ ID NO:12 (在表1中的轻链框架2)。在一例示性实施例中, 在通过杂交瘤2C2产生的抗体的可变轻链区的CDR1和CDR2之间的框架含有在位置12的脯氨酸。在另一个例示性实施例中, 在通过杂交瘤2C2产生的抗体的可变轻链区的CDR1和CDR2之间的框架含有在位置13的色氨酸。在又另

一个例示性实施例中,在通过杂交瘤2C2产生的抗体的可变轻链区的CDR1和CDR2之间的框架含有在位置12的脯氨酸和位置13的色氨酸。SEQ ID NO:12的氨基酸的位置如下描述:

氨基酸	W*	Y	Q	Q	K	P	G	S	S	P	K	P	W	I	Y**
位置 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

[0123] *在FW2(W)的位置1的氨基酸是邻近于CDR1的残基。

[0124] **在FW2(Y)的位置15的氨基酸是邻近于CDR2的残基。

[0125] 在一个实施例中,抗体或其抗原结合部份进一步包含至少大约70%、至少大约75%、至少大约80%、至少大约85%、至少大约90%、至少大约95%、至少大约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源至SEQ ID NO:85(重链框架3)或SED ID NO:89(人源化抗体的重链框架3,见于表1)的框架,其中所述框架是在通过杂交瘤2C2产生的抗体的可变重链区的CDR2和CDR3之间。在另一个实施例中,抗体或其抗原结合部份进一步包含至少大约70%、至少大约75%、至少大约80%、至少大约85%、至少大约90%、至少大约95%、至少大约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源至SEQ ID NO:86(轻链框架3)或SEQ ID NO:90(人源化抗体的轻链框架3,见于表1)的框架,且所述框架是在通过杂交瘤2C2产生的抗体的可变轻链区的CDR2和CDR3之间。

[0126] 抗体或其抗原结合部份的可变重链区可包含一个、两个或三个或更多CDRs包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源至通过杂交瘤7A11所产生的抗体的可变重链区的CDRs (SEQ ID NOs:23、24及25)的氨基酸序列,且抗体或其抗原结合部份的可变轻链区可包含一个、两个或三个或更多CDRs包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源至通过杂交瘤7A11所产生的抗体的可变轻链区的CDRs (SEQ ID NOs:26、27及28)的氨基酸序列。

[0127] 抗体或其抗原结合部份的可变重链区可包含一个、两个或三个或更多CDRs包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源至通过杂交瘤2F8所产生的抗体的可变重链区的CDRs (SEQ ID NOs:31、32及33)、或通过杂交瘤1E1所产生的抗体的可变重链区的CDRs (SEQ ID NOs:39、40及41)的氨基酸序列,且抗体或其抗原结合部份的可变轻链区可包含一个、两个或三个或更多CDRs,包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%、约70%、约75%、约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、

约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源至通过杂交瘤2F8所产生的抗体的可变轻链区的CDRs (SEQ ID NOs:34、35及36) 或通过杂交瘤1E1所产生的抗体的可变轻链区的CDRs (SEQ ID NOs:42、43及44) 的氨基酸序列。

[0128] 在特定实施例中,对应于表1中可变区的可变区具有序列变异。举例来说,一重链可变区,在其中有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个或8个残基,或小于40%、小于约30%、约25%、约20%、约15%、约10%、约9%、约8%、约7%、约6%、约5%、约4%、约3%、约2%或约1%氨基酸残基经取代或剔除,但保有实质上相同的免疫特质,其包括,但不限于,结合至糖类抗原。

[0129] 在特定实施例中,相应于在表1中的CDRs的CDRs具有序列变异。举例来说,CDRs,在其中1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个或8个残基,或在CDR中的总残基的小于20%、小于30%、或小于约40%经取代或剔除,可存在于结合至糖类抗原的抗体(或其抗原结合部份)中。

[0130] 抗体或其抗原结合部份可为肽。这类肽可包括肽的变异型、类似物、异种同源物、同源物以及衍生物,其展现生物活性,例如糖类抗原的结合。肽可含有一个或多个氨基酸的类似物(其包括,举例来说,非天然存在的氨基酸、仅天然存在于非相关生物系统中的氨基酸、源自哺乳类系统修饰的氨基酸等)、有着取代键联(substituted linkages)的肽、以及所属技术领域中公知的其他修饰物。

[0131] 也在本发明的范畴中的是抗体或其抗原结合部份,在其中特异的氨基酸已经被取代、剔除或添加。在例示性实施例中,这些替换不具有对于肽的生物特质上的实质效应,诸如结合亲和力。在另一个例示性实施例中,抗体可具有在框架区中的氨基酸取代基,如此以增进所述抗体对抗原的结合亲和力。在又一个例示性实施例中,一个选定的,受体的框架残基的小数目可通过相应的供体氨基酸来替换。供体框架可为成熟或生克隆人类抗体框架序列或相应的序列。考虑如何制造表型静默氨基酸取代作用的导引提供于Bowie等人,科学期刊(Science),247:1306-1310(1990年)。Cunningham等人,科学期刊(Science),244:1081-1085(1989年)。Ausubel(编着),《分子生物学现行操作方法》(Current Protocols in Molecular Biology),约翰威立出版公司(John Wiley and Sons,Inc.) (1994年)。T.Maniatis,E.F.Fritsch及J.Sambrook,《分子选殖:实验室手册》(Molecular Cloning:A Laboratory Manual),冷泉港实验室(Cold Spring Harbor laboratory),冷泉港出版社(Cold Spring Harbor),N.Y. (1989年)。Pearson,分子生物学方法期刊(Methods Mol.Biol.),243:307-31(1994年)。Gonnet等人,科学期刊(Science),256:1443-45(1992年)。

[0132] 抗体、或其抗原结合部份,可被衍生或链接至另一个功能分子。举例来说,抗体可为功能性地连接(通过化学耦合、遗传融合、非共价交互作用等)至一个或多个其他分子实体,诸如另一个抗体、可侦测试剂、细胞毒性试剂、药学试剂、可介导关联另一个分子(诸如链霉素亲和素核心区或聚组氨酸标签)的蛋白或肽、氨基酸连接物、讯息序列、免疫性的载体、或有助于蛋白质纯化的配体,诸如麸胱甘肽-S-转移酶(glutathione-S-transferase)、组氨酸标签、以及葡萄球菌的蛋白A。衍生的蛋白质的一个类型是通过交联两个或更多(相同类型或不同类型的)蛋白质来产生。合适的交联物包括那些为异双官能者,具有被合适的间

隔物(例如,M-马来酰亚胺苯甲酸-N-羟基琥珀酰亚胺酯(m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimide ester))分开的两个相异反应基团,或同双官能的(例如,双琥珀酰亚胺辛二酸酯(disuccinimidyl suberate))。这类链接物可从Pierce化学公司,Rockford,IL取得。藉以可衍生(或标记)蛋白质的有用的可侦测试剂包括荧光化合物、多种酵素、辅基、发光材料、生物发光材料、以及放射性材料。非限制性的例示荧光可侦测试剂包括荧光素、硫氰酸盐荧光素、玫瑰红、以及藻红素。蛋白质或抗体也可以可侦测酵素衍生化,诸如碱性磷酸酶、山葵过氧化酶、 β -半乳糖苷酶、乙酰胆碱酯酶、葡萄糖氧化酶之类。蛋白质也可以辅基衍生化(例如,链霉亲和素/生物素以及抗生物素蛋白/生物素)。

[0133] 编码本发明的抗体或其抗原结合部份的功能性活性变异型的核酸也可被本发明涵盖。这些核酸分子可在中度严谨、高严谨或非常高严谨的条件的下与编码本发明的抗体或其抗原结合部份的任一个的核酸杂合。用于执行杂合反应的引导可在《分子生物学的现行操作》(Current Protocols in Molecular Biology),John Wiley&Sons,N.Y.,6.3.1-6.3.6,1989年中找到。其通过参考并入本文。本文所称的特异的杂合条件可如下:1)中度严谨杂合条件:6X SSC于大约45℃,随后以0.2X SSC,0.1%SDS于60℃洗涤一次或多次;2)高严谨杂合条件:6X SSC于大约45℃,随后在0.2X SSC,0.1%SDS于65℃洗涤一次或多次;以及3)非常高严谨杂合条件:0.5M磷酸钠,7%SDS于65℃,随后在0.2X SSC,1%SDS于65℃洗涤一次或多次。

[0134] 编码本发明的抗体或其抗原结合部份的核酸可被引介进入可在合适的表现系统中表现的表现载体中,接续分离或纯化所述表现抗体或其抗原结合部份。可选地,编码本发明的抗体或其抗原结合部份的核酸可被转译到无细胞转译系统中。美国专利号4,816,567。Queen等人,美国国家科学院院刊(Proc Natl Acad Sci),美国,86:10029-10033(1989年)。

[0135] 本发明的抗体或其抗原结合部份可通过转形有着编码所期望的抗体的轻链和重链(或其部分)的DNA的宿主细胞来产生。抗体可从这些培养上清液及/或细胞使用标准技术来分离和纯化。举例来说,宿主细胞可被转形有着编码抗体的轻链、重链、或两者的DNA。重组DNA技术也可被使用以移除一些或全部编码不需要用于结合的轻链和重链的任一者或两者的DNA,例如,恒定区。

[0136] 本发明的核酸可在多种合适的细胞中表现,其包括原核和真核细胞,例如,细菌细胞(例如,E.coli)、酵母细胞、植物细胞、昆虫细胞、以及哺乳类细胞。许多哺乳类细胞株可为在所属领域中为公知的,且包括从美国菌种保存中心(ATCC)可得的永生细胞株。细胞的非限制性实例包括哺乳类来源或是类似哺乳类特性的全部细胞株,其包括但不限于,猴子肾细胞(COS,例如,COS-1、COS-7)、HEK293、幼仓鼠肾(BHK,例如,BHK21)、中国仓鼠卵巢(CHO)、NS0、PerC6、BSC-1、人类肝细胞癌细胞(例如,Hep G2)、SP2/0、HeLa、Madin-Darby牛肾(MDBK)、骨髓瘤以及淋巴瘤细胞的亲代细胞、衍生物及/或改造变异型。改造变异型包括,例如,聚糖谱修饰及/或位置特异性整合位置衍生物。

[0137] 本发明也提供用于包含本文所描述的核酸的细胞。细胞可为杂交瘤或转染子,诸如指名为2C2的杂交瘤。

[0138] 备选地,本发明的抗体或其抗原结合部份可通过所属技术领域所公知的固相程序来合成。《固相肽合成:实行方法》(Solid Phase Peptide Synthesis:A Practical Approach),E.Atherton与R.C.Sheppard着,IRL于牛津大学出版社(Oxford University

Press) 出版(1989年)。《分子生物学方法》(Methods in Molecular Biology), 卷35:肽合成程序(Peptide Synthesis Protocols), (M.W.Pennington与B.M.Dunn编着), 第七章。《固相肽合成》, 第二版, Pierce化学公司, Rockford, IL (1984年)。G.Barany与R.B.Merrifield, 《肽:分析、合成、生物学》(The Peptides:Analysis,Synthesis,Biology), 编者E.Gross与J.Meienhofer, 卷1及卷2, 学术出版社(Academic Press), New York, (1980年), 页次3-254。M.Bodansky, 《肽合成原则》(Principles of Peptide Synthesis), Springer-Verlag, 柏林(1984年)。

[0139] 本发明提供用于制造特异性地结合至糖类抗原(例如,Globo H)的抗体或其抗原结合部份的方法。举例来说,非人类动物是以包括糖类抗原(例如,Globo H)的组成物来免疫接种(is immunized with),且接着特异性抗体从所述动物分离。所述方法可进一步包括评估抗体对糖类抗原的结合。

[0140] 各种糖类抗原的任何一个,特别是Globo H,可被使用于本发明的实践中。糖类抗原的实例包括,但不限于Globo抗原诸如Globo H、阶段特异性胚抗原3 (SSEA-3) (也被称为Gb5)、阶段特异性胚抗原4 (SSEA-4)、Gb-4以及Gb-3、Lewis抗原诸如sLe^x、Le^x、sLe^a、Le^a以及Le^y,多糖抗原诸如聚唾液酸(PSA)、sTn(c)以及Tn(c)、Thomsen-Friedenreich抗原(TF(c))、神经节苷脂诸如GD1、GD2、GD3、岩藻糖基GM1、GM1、GM2、GM3、GD1 α 以及GM2、硫脂抗原(sulfitide antigen)诸如6Gal-HSO₃-SiaLex以及6GluNAc-HSO₃-SiaLex。其他糖类抗原包括,但不限于: α -半乳糖、 α -Man-6-磷酸盐(α -Man-6-phosphate)、 α -L-鼠李糖、 α -GalNAc(Tn)、 α -NeuAc-OCH₂C₆H₄-p-NHCOOCH₂、Fuc α 1-2Gal β 1-4GalNAc β (H第三型)、NeuAca2-8NeuAc α 、(NeuAca2-8)₂聚唾液酸、NeuAca2-6Galb、NeuAc β 2-6Gala(STn)、Gala1-3Galb1-4GlaNAcb(NeuAca2-8)₃、GalNAca α -3(Fuc α 1-2)Gal β (血型A型)、Gal α 1-3(Fuc α 1-2)Gal β (血型B型)、6Gal-HSO₃-SiaLex、6GluNAc-HSO₃-SiaLex以及 α 2-6唾液酸二天线型N-聚糖(α 2-6sialylated biantennary N-glycans)。

[0141] 在一个实施例中,抗-Globo H抗体或其抗原结合部份可交互反应或与其他有着高选择性的糖类抗原结合,诸如在第3A图和第3B图中所绘示的。糖类抗原的非限制性实例为:SSEA-3、SSEA-4、Lewis抗原。

[0142] 在一个实施例中,本发明提供用于制作表现特异性结合至糖类抗原(例如,Globo H)的抗体的杂交瘤的方法。所述方法含有下列步骤:以包括糖类抗原(例如,Globo H)的组成物来免疫化动物;从所述动物分离脾细胞;从脾细胞产生杂交瘤;以及挑选产生特异性结合至Globo H的抗体的杂交瘤。Kohler及Milstein,自然期刊(Nature),256:495,1975年。Harlow,E.及Lane,D.,《抗体:实验室手册》(Antibodies:A Laboratory Manual),冷泉港实验室出版(Cold Spring Harbor Laboratory Press),冷泉港实验室,N.Y.,1988年。

[0143] 在一个实施例中,糖类抗原被用于皮下注射地免疫化小鼠。可或不施予一或多次追加。在血浆中抗体的效价可通过,例如ELISA(酵素结合免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay))或流动式细胞测量术监测。有着足够抗糖类抗原抗体的效价的小鼠被使用于融合。小鼠在牺牲及移除脾脏前三天可以或可不以抗原追加。小鼠脾细胞被分离且以PEG融合成小鼠骨髓瘤细胞株。所得杂交瘤接着被筛选制备抗原特异性抗体。细胞被涂盘,且接着在选择性培养基中培养。来自个别孔的上清液接着通过ELISA针对人类抗糖类抗原单株抗体来筛选。分泌抗体的杂交瘤被重新涂盘,再次筛选,且如果针对抗糖类抗原抗

体仍为阳性,可通过限制性稀释次转殖。

[0144] 佐剂可被使用以增加糖类抗原的一个或多个的免疫原性。佐剂的非限制性实例包括铝磷酸盐、氢氧化铝、MF59 (4.3%w/v角鲨烯、0.5%w/v聚山梨醇酯80 (Tween 80)、0.5%w/v山梨醇三油酸酯 (Span 85))、含有CpG-的核酸、QS21 (皂苷佐剂)、 α -半乳糖苷脑酰胺或其合成的类似物 (例如, C34, 参见US 8,268,969)、MPL (单磷酸脂质A (Monophosphoryl Lipid A))、3DMPL (3-O-去酰MPL)、源自安奎拉 (Aquila) 的萃取物、ISCOMS (参见, Sjolander 等人, (1998年), 白血球生物学期刊 (J. Leukocyte Biol.), 64:713; W090/03184; W096/11711; W0 00/48630; W098/36772; W000/41720; W006/134423以及W007/026190)、LT/CT突变、聚 (D,L-丙交酯-共-乙交酯) (PLG) 微粒、Quil A、介白素、佛朗氏佐剂 (Freund's)、N-乙酰基-胞壁酰-L-苏胺酰基-D-异麸酰氨酸 (thr-MDP)、N-乙酰基-去甲胞壁酰-L-丙胺酰基-D-异麸酰氨酸 (CGP 11637, 称为nor-MDP)、N-乙酰胞壁酰-L-丙胺酰基-D-异麸酰氨酸-L-丙氨酸-2- (1'-2'-二棕榈酰基-sn-甘油-3-羟基磷酸)-乙胺 (CGP 19835A, 称为MTP-PE)、以及RIBI, 其含有从细菌萃取的三种成分: 单磷酸脂质A、茁蜜糖二霉菌酸酯 (trehalose dimycolate) 以及细胞壁骨架 (MPL+TDM+CWS) 于2%的角鲨烯/吐恩80 (Tween 80) 乳化液。

[0145] 免疫化动物可为当给予免疫原时, 任何能够产生可恢复抗体的动物, 诸如但不限于, 兔、小鼠、大鼠、仓鼠、山羊、马、猴、狒狒、以及人类。在一个态样中, 宿主是基因转殖的且产生人类抗体, 例如, 表现人类免疫球蛋白基因区段的小鼠。美国专利号8,236,311; 7,625,559以及5,770,429, 其每一篇揭露整体作为参考并入本文。Lonberg等人, 自然期刊 (Nature), 368 (6474): 856-859, 1994年。Lonberg, N., 《实验药理学课本》(Handbook of Experimental Pharmacology), 113:49-101, 1994年。Lonberg, N. 以及Huszar, D., 免疫学国际评论 (Intern. Rev. Immunol.), 13:65-93, 1995。Harding, F. 以及Lonberg, N., 纽约科学学院年刊 (Ann. N.Y. Acad. Sci.), 764:536-546, 1995年。

[0146] 在宿主被免疫化且抗体生成后, 抗体被检测以确定其对目标抗原是特异性的, 且确定其是否展现与其他抗原的任何交互反应。执行这些检测的一个方法是血清筛选检测, 如描述于美国专利公开号2004/0126829。抗糖类抗原抗体可通过多种公知技术定性为结合至所述糖类。举例来说, 在ELISA中, 微量滴定盘涂布在PBS中的毒素或类毒素抗原, 且接着以不相关的蛋白质来阻断, 诸如稀释于PBS中的牛血清白蛋白 (BSA)。来自毒素免疫化的小鼠的血浆的稀释液被添加至每一个孔且培养。微量滴定盘被洗涤且接着以共轭至酵素 (例如, 碱性磷酸酶) 的二级抗体培养。在洗涤的后, 微量滴定盘以酵素的基质 (例如, ABTS) 显影, 且在特定OD下被分析。在其他实施例中, 为了测定选定的单株抗体是否结合至目标糖类抗原或表位, 抗体可被生物素化, 其接着可以链霉亲和素标记探针来侦测。抗糖类抗原抗体可通过西方印渍术测试与糖类的反应性。

[0147] 产生结合至糖类抗原的抗体的杂交瘤, 优选地以高亲和力结合至糖类抗原的抗体的杂交瘤, 可接着被次转殖且进一步被定性。源自各杂交瘤维持亲代细胞的反应性 (依ELISA) 的一个克隆, 可接着被挑选用于制作细胞库, 且用于抗体纯化。

[0148] 本发明的抗体、或抗原结合片段、其变异型或衍生物也可以就其对抗原的结合亲和力而言来描述或指定。针对糖类抗原的抗体的亲和力可使用任何合适的方法来实验地测定 (参见, 例如, Berzofsky等人, 《抗体-抗原交互作用》(Antibody-Antigen Interactions), 于《基础免疫学》(Fundamental Immunology), Paul, W.E. 编着, Raven

Press:New York,N.Y. (1984年);Kuby,Janis,《免疫学》(Immunology),W.H.Freeman以及Company:New York,N.Y. (1992年);以及本文所描述的方法)。特定抗体-糖类抗原交互作用的测量亲和力若在不同条件下(例如,盐浓度、pH)测量可能有所变化。如此,亲和力以及其他抗原结合参数(例如, K_D 、 K_a 、 K_d)的测量可优选地以抗体和抗原的标准化溶液、以及标准化缓冲液进行。

[0149] 本抗体或其抗原结合部份具有体外和体内治疗、预防、及/或诊断效用。举例来说,这些抗体可被给药至培养基中的细胞,例如,体外或离体、或给药至受试者,例如,体内、以处理、抑制、防止复发、及/或诊断癌症。

[0150] 抗体或其抗原结合部份可被使用在培养基中的细胞上,例如,体外或离体。举例来说,细胞可在体处于培养基中被培养,且通过抗Globo H抗体或其片段来接触。所述方法可存在于受试者中的细胞上执行,作为体内程序的一部份(例如,治疗的或预防的)。针对体内实施例,接触步骤在受试者内是有效的,且包括给药抗毒素抗体或其部份予所述受试者,在有效于允许抗体或其部份,对表现在受试者内的一个或更多癌细胞上,例如,乳癌细胞上的糖类抗原(例如,Globo H)的结合条件下。

[0151] 抗体或其抗原结合部份可单独给药或可与另一个治疗剂组合给药,例如,第二单株或多株抗体或其抗原结合部份或化学治疗剂。组合产物可为两个化合物的混合物或其可为共价地连接。在一个实例中,特异地接合至Globo H的抗体或其抗原结合部份可与特异地结合VEGF的抗体(单株或多株)或其抗原结合部份组合。在另一个实例中,第二用剂是化学治疗剂(例如,环磷酰胺、5-氟尿嘧啶或放射菌素-D)。抗体也可以与癌症疫苗组合给药,例如,Globo H共轭至白喉毒素以及皂苷佐剂。

[0152] 用于抑制癌细胞的方法

[0153] 本发明也提供用于抑制在体外、离体、或体内的细胞生长的方法,其中所述细胞,诸如癌细胞,可与如本文所描述的抗体或其抗原结合部份的有效量接触。病理细胞或组织诸如过度增生细胞或组织可通过接触所述细胞或所述组织与本发明的抗体或其抗原结合部份的有效量来处理。细胞、诸如癌细胞,可为原发癌细胞或可为从组织银行可得的培养细胞,诸如美国菌种保存中心(ATCC)。病理学细胞可为表现Globo H的癌、神经胶质瘤、脑脊髓膜瘤、垂体线瘤、或从全身性癌、肺癌、前列腺癌、乳癌、造血性癌或卵巢癌、CNS转移的细胞。细胞可来自脊椎动物,优选地为哺乳类,更佳地为人类。美国专利公开号2004/0087651。Balassiano等人,(2002年),分子医学国际期刊(Intern.J.Mol.Med.),10:785-788。Thorne,等人,(2004年),神经科学期刊(Neuroscience),127:481-496。Fernandes等人,(2005年),肿瘤报告(Oncology Reports),13:943-947。Da Fonseca等人,(2008年),神经外科期刊(Surgical Neurology),70:259-267。Da Fonseca等人,(2008年),实验免疫学与治疗学文献(Arch.Immunol.Ther.Exp.),56:267-276。Hashizume等人,(2008年),神经肿瘤学期刊(Neuroncology),10:112-120。在一个实施例中,癌症是表现Globo H的癌。在另一个实施例中,癌症是表现SSEA-3的癌。在又一个实施例中,癌症是表现SSEA-4的癌。表现Globo H的癌、表现SSEA-3的癌以及表现SSEA-4的癌包括,但不限于,乳癌、肺癌、前列腺癌、胰腺癌、胃癌、卵巢癌以及子宫内膜癌以及结肠癌、肝癌、鼻咽癌、皮肤癌、口腔癌、肾癌、脑癌、子宫颈癌以及膀胱癌。

[0154] 本发明的抗体或其抗原结合部份的体外功效可使用所属领域中公知的方法来测

定。举例来说,抗体或其抗原结合部份的细胞毒性可通过MTT[3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-联苯四唑溴化物](3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)细胞毒性检测来研究。MTT检测是基于MTT、四唑盐被代谢地活性细胞所摄取的原理进行,其中其代谢为可以光谱测定的蓝色甲臞产物(blue colored formazon product)。免疫学方法期刊(J.of Immunological Methods),65:55-63,1983年。本发明的抗体或其抗原结合部份的细胞毒性可通过集落形成检测来研究。针对结合Globo H抗原的功能性检测可通过ELISA来执行。依照抗体或其抗原结合部份的细胞周期钟可通过标准碘化丙啶(propidium iodide,PI)染色以及流动式细胞测量术来研究。侵入抑制可通过博伊登室(Boyden chamber)来研究。在此检测中,重新建构的基底膜的一层,Matrigel,被涂在趋化性过滤器上,且作为在博伊登室中细胞迁移的屏障。只有有着侵入能力的细胞可穿过所述Matrigel屏障。其他检测包括,但不限于,细胞活力检测、细胞凋亡检测、以及形态检测。

[0155] 检测也可使用鼠类模型在体内进行。参见,例如,B.Teicher,用于测定功效的肿瘤模型(Tumor Models for Efficacy Determination),分子癌症治疗期刊(Mol Cancer Ther),2006年;5:2435-2443。

[0156] 药学组成物

[0157] 在一个实施例中,本发明提供药学组成物,其包含本文描述的抗体或其抗原结合部份、以及药学上可接受的载体。在另一个实施例中,药学组成物包含编码本发明的抗体或其抗原结合部份的分离核酸、以及药学上可接受的载体。药学上可接受的载体包括任何及所有生理上兼容的溶剂、分散介质、等张和吸收延迟剂以及类似物。在一个实施例中,组成物有效于在受试者中抑制癌细胞。

[0158] 本发明的药学组成物的给药途径包括,但不限于,静脉内、肌内、鼻内、皮下的、经口、局部、皮下的、皮内、经皮、真皮下、非经口、直肠、脊髓、或表皮给药。

[0159] 本发明的药学组成物可被制备为可注射的,不论为液体溶液或是悬浮液、或在注射之前于液体载体中适用为溶液或悬浮液的固体形式。药学组成物也可被制备成固体形式、乳化或封在脂质体载体或其他被使用于持续递送的颗粒载体中的活性成分。举例来说,药学组成物可为油乳化剂的形式、油包水乳剂、水包油包水乳剂、位置特异性的乳剂、稳定乳剂、黏性乳剂、微乳剂、奈米乳剂、脂质体、微颗粒、微球、奈米球、奈米颗粒以及多种天然或合成聚合物,诸如不可吸收的不渗透聚合物诸如乙烯醋酸乙烯酯共聚合物以及Hytrel[®]共聚合物、可吞的聚合物诸如水凝胶、或可吸收的聚合物诸如胶原蛋白和特定聚合酸或聚酯,诸如被用以制作可吸收缝线者,其允许药学组成物的持续释放。

[0160] 本发明抗体或其抗原结合部份被制剂进入药学组成物用于递送至哺乳类受试者。药学组成物是单独给药、及/或与药学上可接受的载体、赋形剂或载体混合。合适的载体诸如、举例来说,水、盐水、右旋糖、甘油、乙醇、或类似物、以及其组合物。此外,载体可含有少量辅助物质诸如润湿或乳化剂、pH缓冲剂、或佐剂。药学上可接受的载体可含有作用如,例如,稳定、或增加或减少本发明的药学上组成物的吸收或清除率的生理上可接受化合物。生理上可接受化合物可包括,例如,糖类,诸如葡萄糖、蔗糖、或聚葡萄糖;抗氧化剂,诸如抗坏血酸或胱甘肽;螯合剂;低分子重量的蛋白质;清洁剂;脂质体载体;或赋形剂或其他稳定剂及/或缓冲液。其他生理上可接受的化合物包括润湿剂、乳化剂、分散剂或防腐剂。参见,例如,《芮明通药理学科学》(Remington's Pharmaceutical Science)的第二十一版,Mack

Publishing Company, Easton, Pa. (“Remington’s”)。本发明的药学组成物也可包括辅助物质, 诸如药理学剂、细胞介素、或其他生物反应修饰物。

[0161] 此外, 药学组成物可被制剂为中性或盐形式的药学组成物。药学上可接受的盐包括酸加成盐(以活性多肽的自由胺基团形成), 且其以无机酸形成, 诸如, 举例来说, 氢氯酸或磷酸; 或以有机酸形成, 诸如乙酸、草酸、酒石酸、杏仁酸等。从自由羧基团形成的盐也可从无机碱衍生, 诸如, 举例来说, 钠、钾、铵、钙、或氢氧化铁, 以及诸如有机碱如异丙胺、三甲胺、2-乙胺基乙醇、组氨酸、普罗卡因等。

[0162] 制备这类剂量形式的实际方法是公知的, 或对所属技术领域的技术人员而言是显而易见的。参见, 例如, 《茈明通药理学科学》, Mack Publishing Company, Easton, 宾州, Pennsylvania, 第二十一版。

[0163] 药学组成物可依行程表以单一剂量治疗或于多重剂量处理来给药, 且历时对所述受试者的年龄、体重和情况适合的时间期间, 使用特定的组成物以及给药的路径、不论所述药学组成物被使用于预防或治病目的等。举例来说, 在一个实施例中, 根据本发明的药学组成物是每月一次、每月两次、每月三次、每隔周一次(qow)、每周一次(qw)、每周两次(biw)、每周三次(tiw)、每周四次、每周五次、每周六次、每隔日一次(qod)、每日(qd)、一日两次(qid)、或一日三次(tid)给药。

[0164] 根据本发明的抗体的给药期间, 例如, 药学组成物被给药的时间时段, 可取决于多种变因中的任一个来变化, 例如受试者的反应等。举例来说, 药学组成物可历时范围从大约一或多秒至一或多个小时、一天至约一周、从大约两周至大约四周、从大约一个月至大约两个月、从大约两个月至大约四个月、从大约四个月至大约六个月、从大约六个月至约八个月、从约八个月至约1年、从约1年至2年、或从约2年至约4年或更多的时间期间来给药。

[0165] 为了便于剂量的给药和均匀性, 依单位剂量形式的口服或非经口的药物组成物可被使用。本文所使用的单位剂量形式指物理性的离散单位, 适合作为用于要被治疗的受试者的单一剂量; 每一剂量含有与需要的药学载体相关联的计算好产生期望治疗效果的活性化合物预定量。

[0166] 从细胞培养检测以及动物研究中获得的数据可用于制定针对动物使用的剂量范围。在一个实施例中, 这样的化合物的剂量处于包括ED₅₀具极小或无毒性的循环浓度的范围内。剂量可在此范围内取决于执行的剂量形式和给药利用的途径而变化。在另一个实施例中, 治疗有效剂量可初始地从细胞培养检测来估计。在动物模型中剂量可被制剂以达到循环血浆浓度范围, 包括如在细胞培养中所测定的IC₅₀(即, 达到症状的半最大抑制的测试化合物的浓度)。Sonderstrup, Springer, 病理免疫学研讨会(Sem. Immunopathol.), 25:35-45, 2003年。Nikula等人, 吸入毒理学(Inhal. Toxicol.) 4(12):123-53, 2000年。

[0167] 本发明的抗体或其抗原结合部份的治疗或预防有效量的例示性非限制范围是从约0.001至约60mg/kg体重、约0.01至约30mg/kg体重、约0.01至约25mg/kg体重、约0.5至约25mg/kg体重、约0.1至约20mg/kg体重、约10至约20mg/kg体重、约0.75至约10mg/kg体重、约1至约10mg/kg体重、约2至约9mg/kg体重、约1至约2mg/kg体重、约3至约8mg/kg体重、约4至约7mg/kg体重、约5至约6mg/kg体重、约8至约13mg/kg体重、约8.3至约12.5mg/kg体重、约4至约6mg/kg体重、约4.2至约6.3mg/kg体重、约1.6至约2.5mg/kg体重、约2至约3mg/kg体重、或约10mg/kg体重。

[0168] 药学组成物被制剂以含有本发明的抗体或其抗原结合部份的有效量,其中所述量取决于要被治疗的动物和被治疗的情况。在一个实施例中,本发明的抗体或其抗原结合部份是以范围从约0.01mg至约10g、从约0.1mg至约9g、从约1mg至约8g、从约2mg至约7g、从约3mg至约6g、从约10mg至约5g、从约20mg至约1g、从约50mg至约800mg、从约100mg至约500mg、从约0.01 μ g至约10g、从约0.05 μ g至约1.5mg、从约10 μ g至约1mg蛋白质、从约30 μ g至约500 μ g、从约40 μ g至约300 μ g、从约0.1 μ g至约200 μ g、从约0.1 μ g至约5 μ g、从约5 μ g至约10 μ g、从约10 μ g至约25 μ g、从约25 μ g至约50 μ g、从约50 μ g至约100 μ g、从约100 μ g至约500 μ g、从约500 μ g至约1mg、从约1mg至约2mg的剂量来给药。针对任何特定受试者的特异剂量程度取决于多种因素,其包括经受疗程的特异性肽活性、年龄、体重、整体健康、性别、饮食、给药时间、给药途径、以及排泄速率、药物组合和特定疾病严重性,且所属技术领域的技术人员不须过度实验便可决定。

[0169] 本发明的抗体和其抗原结合部份、药学组成物和方法可使用于所有脊椎动物,例如,哺乳类和非哺乳类,其包括人类、小鼠、大鼠、天竺鼠、仓鼠、狗、猫、牛、马、山羊、绵羊、猪、猴、猿、大猩猩、黑猩猩、兔、鸭、鹅、鸡、两栖类、爬虫类以及其他动物。

[0170] 所用于执行本发明的特定态样的下列实例仅是为了描述的目的提供,而非旨在以任何方式限制本发明的范畴。

[0171] 实例

[0172] 实例1:杂交瘤融合和筛选

[0173] 执行典型的杂交瘤融合。小鼠接受以Globo H-KLH(钥孔笠贝血蓝蛋白(Keyhole Limpet Hemocyanin))与皂苷佐剂共轭的初次免疫接种(immunization),且在第7、14、及24天依续追加。在第10、17、21及24天执行出血试验,且血清被检测以检查抗Globo H抗体的效价。有五只小鼠被发现产生高抗Globo H IgG以及抗Globo H IgM效价,且被使用于杂交瘤生产。小鼠杂交瘤细胞被使用以与小鼠脾细胞融合,依照K \ddot{O} hler和Milstein(K \ddot{O} hler G.及Milstein C,1975年)的程序。杂交瘤上清液通过亲和力ELISA以0.2 μ g Globo H-脑酰胺/孔来筛选。抗Globo H Vk9 mAb作为正控制组。具上清液无稀释的杂交瘤克隆的OD>两倍背景值被挑选。前五个杂交瘤克隆为1E1、2C2、2F8、3D7、7A11。

[0174] 实例2:小鼠单株抗体的动力学分析

[0175] 动力学结合实验在25 $^{\circ}$ C下,以Biacore T100(奇异医疗(GE Healthcare))通过单循环动力学(single-cycle kinetics,SCK)和多循环动力学(multi-cycle kinetics,MCK)方法执行。

[0176] 根据制造商的指示,Globo H通过胺耦合来固定(immobilized)。Globo H-胺在固定缓冲液中(10mM的醋酸钠,pH4.5)被稀释成15mg/ml,且在25 $^{\circ}$ C使用5 μ l/分的流速固定。

[0177] 抗Globo H抗体(Globo H-Vk9 mab、Globo H-2C2 mAb以及Globo H-3D7 mAb)在电泳缓冲液中被稀释成200nM(50nM)。200 μ l的200nM(50nM)溶液可与200 μ l的电泳缓冲液混合以获得100nM(25nM)溶液。持续稀释成下列系列稀释:200、100、50、25以及12.5nM(分析浓度:50nM、25nM、12.5nM、6.25nM、3.125nM)。稀释样本被放置在搁架位置(Rack Positions)上,并通过MCK和SCK方法测试。用于MCK和SCK序列的样本接受420秒的解离时间。表面被10mM甘氨酸pH2.0/1.5(v/v=1)溶液的40秒注射再生。SCK和MCK数据以Biacore Evaluation软件2.0套入1:1结合模型。

[0178] 对结果分析解离常数 (K_D)，其为被使用以描述抗体和抗原之间的结合强度的量值； k_{on} (1/Ms)，其为抗体抗原复合物形成的结合速率； k_{off} (1/s)，抗体抗原复合物解离的解离速率； R_{max} ，分析物反应的最大量。表2显示源自下列杂交瘤：VK9、2C2以及3D7的抗Globo H抗体的亲和力和动力学数据。3D7抗体和2C2抗体具有比VK9抗体较高的结合亲和力。

[0179] 表2、针对抗Globo H抗体的动力学资料

杂交瘤	K_D (M)	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	R_{max}	χ^2
VK9	1.436E-7	2.994E+4	4.298E-3	68.3	8.48
3D7	7.854E-9	2.760E+5	2.168E-3	203.5	0.6514
2C2	7.631E-9	2.810E+5	2.144E-3	187.4	0.542

[0181] 实例3：抗Globo H抗体的亲和力分析

[0182] 下列抗Globo H抗体可针对 EC_{50} 及细胞结合的百分比作测试：Globo H-VK9 mAb、Globo H-1E1 mAb、Globo H-2C2 mAb、Globo H-2F8 mAb、Globo H-3D7 mAb、Globo H-7A11 mAb。

[0183] 步骤：

[0184] 针对 EC_{50} 的ELISA亲和力：孔在冰上每孔涂以0.2 μ g的Globo H-脑酰胺。阻断之后，介于6.2ng/ml至51200ng/ml的测试抗体被添加至所述孔中。在室温下培养1小时之后，过量的抗体通过洗涤3次移除。山羊抗-小鼠IgG-HRP (1:533) 被添加。颜色显影以490nm于盘式分析仪定量。 EC_{50} 通过Prism 5.0软件测定。

[0185] 针对细胞与抗体的结合百分比的FACS：依每试管50 μ l FACS缓冲液以200,000细胞的总数来准备癌细胞株。指定的抗体被添加以达到1 μ g/ml的最后浓度。在轻柔震荡后，试管被放置在冰上且培养大约1hr。在以FACS缓冲液洗涤之后，抗小鼠IgG-PE在FACS缓冲液中被添加以达到4 μ g/ml的最后浓度。在轻柔震荡后，试管被放置在冰上并培养大约30分。在以FACS缓冲液洗涤之后，测试的细胞在200 μ l的FACS缓冲液中再悬浮。执行流动式细胞测量术之后，细胞结合的百分比可通过WinMDI软件来分析。在直方图中，二级抗体的培养仅被使用以界定背景 (M1) 以及结合 (M2) 区。基于仅作为背景 (M1) 的二级抗体设置，指定抗体的结合区 (M2) 的百分比被测定。

[0186] 在乳癌细胞株 (MCF-7)、肺癌细胞株 (LLC1) 以及胰腺癌细胞株 (HPAC) 中，结合至Globo H的抗体可使用荧光活化细胞分类 (fluorescence activated cell sorting, FACS) 分析来评估。

[0187] 结果：表3总结Globo H-2C2 mAb、Globo H-2F8 mAb、Globo H-3D7 mAb、Globo H-7A11 mAb、以及Globo H-1E1 mAb的 EC_{50} 数据。结果显示Globo H-2C2 mAb、Globo H-2F8 mAb、Globo H-3D7 mAb、以及Globo H-7A11 mAb在中和Globo H抗原中相比于Globo H-VK9 mAb更为有效。FACS分析显示Globo H-2C2 mAb以及Globo H-3D7 mAb在乳癌细胞株中，相比于Globo H VK9 mAb而言针对Globo H抗原具有更高的结合亲和力。此外，Globo H-2C2 mAb和Globo H-3D7 mAb在胰腺癌细胞株 (HPAC) 中，相比于Globo H VK9 mAb而言针对Globo H抗原具有更高的结合亲和力。此外，Globo H-1E1 mAb、Globo H-2C2 mAb、Globo H-3D7 mAb以及Globo H-7A11 mAb在肺癌细胞株 (LLC1) 中，相比于Globo H VK9 mAb而言针对Globo H抗原具有更高的结合亲和力。

[0188] 表3、抗Globo H抗体的EC₅₀和结合亲和力

杂交瘤	ELISA EC ₅₀ (ng/ml)	闸控(Gated)的 MCF-7 %	闸控(Gated)的 LLC1 %	闸控(Gated)的 HPAC %
VK9	8915.85	82.63	7.67	33.63
1E1	12914.62	70.63	14.61	24.47
2C2	2161.56	87.44	10.24	39.73
2F8	8691.14	65.95	8.87	12.32
3D7	4072.24	86.87	11.00	34.11
7A11	3478.15	59.64	16.70	15.05

[0190] EC₅₀值是中和掉Globo H的50%的抗体浓度。

[0191] 实例4:抗Globo H抗体的体内抗肿瘤评估

[0192] 以人类胰腺癌(HPAC)异种移植的体重33g的裸鼠被随机分成下列6个实验组:

在第1图中的组别	处理	N	剂量	杂交瘤
PBS (控制组)	单独 PBS (磷酸盐缓冲盐水)	4	一周两次通过腹腔注射 0.4 µg/g	-
VK9	Globo H VK9 mAb	4		Vk9
2C2	Globo H 2C2 mAb	4		2C2
3D7	Globo H 3D7 mAb	4		3D7

[0194] 针对肿瘤体积观察小鼠29天期间,且结果被记录并总结在第1图中。

[0195] 结果:在第29天,肿瘤体积以下列顺序减少:VK9=3D7<2C2组别。在2C2组别中的肿瘤体积相比于控制组显著地减少(P<0.05)。

[0196] 实例5:抗Globo H抗体的体内抗肿瘤评估

[0197] 以人类乳癌(MCF7)异种移植的体重27g的裸鼠被随机分成下列5个实验组:

在第2图中的组别	处理	N	剂量	杂交瘤
正常盐水(载体)	单独 PBS	8		-
2C2	Globo H 2C2 mAb	8	第1天 0.4 mg/kg	2C2
2C2	Globo H 2C2 mAb	8	第1天 4 mg/kg	2C2

[0199] 针对肿瘤体积观察小鼠18天的期间,且结果被记录并总结在第2图中。

[0200] 结果:如在第2图显示的,在第15天之后,与控制组相比肿瘤体积于下列组别中减少:2C2(4mg/kg)>2C2(0.4mg/kg)。从第8天开始,在2C2(4mg/kg)中的肿瘤体积相比于控制组显著地减少(P<0.05)。

[0201] 实例6:抗Globo H抗体的交互反应

[0202] 执行抗Globo H抗体(Globo H 2C2、7A11、3D7、2F8、1E1 mAb以及Globo H Vk9)的体外交互评估。

[0203] 步骤:

[0204] GlycoDx盒(GlycoDx cartridges)加入620μL的洗涤缓冲液、100μL的稀释抗Globo H抗体、100μL的阻断缓冲液、120μL的共轭缓冲液、以及120μL的基质缓冲液。盒以CCD分析仪侦测,且数据输出至Excel电子表格以进一步分析。

[0205] 结果:如在第3A图中显示的,Globo H 2C2 mAb结合至Globo H,且显示对其他糖类抗原的交互反应,诸如Lewis抗原(sLe^x以及sLe^a)和S15-S27抗原(参见表4的糖类抗原的列表)。Globo H 7A11 mAb结合至Globo H并且显示对其他糖类抗原的交互反应,诸如Lewis抗原(sLe^x以及sLe^a)以及S15-S17、S19-S22抗原(见第3B图)。Globo H 3D7 mAb结合至Globo H,且显示对其他糖类抗原的交互反应,诸如Lewis抗原(sLe^x、sLe^a、以及Le^y)以及S15-S22抗原(见第3C图)。Globo H 2F8 mAb结合至Globo H并且显示对其他糖类抗原的交互反应,诸如Lewis抗原(sLe^x及sLe^a)以及S15、S17以及S21抗原(见第3D图)。Globo H 1E1 mAb结合至Globo H且显示对其他糖类抗原的交互反应,诸如Lewis抗原(sLe^x)以及S16、S17和S20-S22抗原(见第3E图)。相比之下,Globo H VK9 mAb仅结合至Globo H且不显示对其他糖类抗原的交互反应(见第3F图)。

[0206] 表4、在第3A图至第3C图中的糖类抗原的列表

[0207]

缩写	糖类抗原	缩写	糖类抗原
S15	α-GalNAc(Tn)	S25	6Gal-HSO3-SiaLex
S16	α-NeuAc-OCH ₂ C ₆ H ₄ -p-NHCOOCH ₂	S26	6GluNAc-HSO3-SiaLex
S17	Fuca1-2Galβ1-4GalNAcβ (H第三型)	S27	α2-6 唾液酸二天线型N-聚糖(α2-6 sialylated biantennary N-glycans)
S18	NeuAcα2-8NeuAcα, (NeuAcα2-8)2 聚唾液酸(NeuAcα2-8NeuAcα, (NeuAcα2-8)2 Polysialic acid)	S28	GalNAcβ1-4(NeuAcα2-8NeuAcα2-3) Galβ1-4Glc-β-Nac-间隔物 3-生物素 (GD2)

[0208]

S19	NeuAcα2-6Galb	S29	GalNAcβ1-4(NeuAcα2-3)Galβ1-4Glc-β-Nac-间隔物 3-生物素 (GM2)
S20	NeuAcβ2-6Gala(STn)	S30 (SSEA4)	Neu5Acα2-3Galβ1-3GalNAcβ1-3Gala 1-4Galβ1-4Glcβ-Nac-间隔物 3-生物 素 (SSEA4)
S21	Gala1-3Galb1-4GlaNAcb	S31	NeuAcα2-8NeuAcα2-3Galβ1-4Glc-β- Nac-间隔物 3-生物素 (GD3)
S22	(NeuAcα2-8)3	S32	Fuca1-2Galβ1-3GalNAcβ1-4(Neu5Ac α2-3)Galβ1-4Glcβ-Nac-间隔物 3-生 物素 (岩藻糖基-GM1)

[0209] 实例7:抗Globo H抗体的结合亲和力

[0210] 执行下列抗Globo H人源化抗体的体外评估。表5列出源自杂交瘤2C2的人源化抗体的重链区和轻链区的氨基酸序列。

[0211] 表5、2C2人源化抗体的氨基酸序列

[0212]

轻链区或重链区	氨基酸序列
轻链 2	FW1: LSPGERATLSC (SEQ ID NO: 88) CDR1: RASSSVSYMH (SEQ ID NO: 8) FW2: WYQQKPGSSPKPWIY (SEQ ID NO: 12) CDR2: ATSNLAS (SEQ ID NO: 9) FW3: GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC (SEQ ID NO: 90) CDR3: QQWSRNPFT (SEQ ID NO: 10)
轻链 2-22	FW1: SEQ ID NO: 88 CDR1: SEQ ID NO: 8 FW2: WYQQKPGSSPKLWIY CDR2: SEQ ID NO: 9 FW3: SEQ ID NO: 90 CDR3: SEQ ID NO: 10

[0213]

轻链 2-23	FW1: SEQ ID NO: 88 CDR1: SEQ ID NO: 8 FW2: WYQQKPGSSPKPLIY CDR2: SEQ ID NO: 9 FW3: SEQ ID NO: 90 CDR3: SEQ ID NO: 10
重链 2	FW1: SGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSL (SEQ ID NO: 87) CDR1: YTFDMGVG (SEQ ID NO: 5) FW 2: WIRQPSGKGLEWLA (SEQ ID NO: 11) CDR 2: HIWWDDDKYYNPALKS (SEQ ID NO: 6) FW3: RLTISKDTSKNQVVLTMNMDPVDATYYCAR (SEQ ID NO: 89) CDR 3: VRGLHDYYYWFAY (SEQ ID NO: 7)
重链 2-21	FW1: SEQ ID NO: 87 CDR1: SEQ ID NO: 5 FW 2: WIRQPPGKGLEWLA CDR 2: SEQ ID NO: 6 FW3: SEQ ID NO: 89 CDR 3: SEQ ID NO: 7
重链 2-22	FW1: SEQ ID NO: 87 CDR1: SEQ ID NO: 5 FW 2: WIRQPSGKALEWLA CDR 2: SEQ ID NO: 6 FW3: SEQ ID NO: 89 CDR 3: SEQ ID NO: 7

[0214] 通过ELISA方法测定的结合亲和力的结果被列在表6-9中。

[0215] 表6:具嵌合轻链和人源化重链的抗体的结合亲和力

[0216]	轻链	重链	亲和力ELISA (光学密度)
	嵌合轻链 (SEQ ID NO: 4)	重链 2-22	0.17
	嵌合轻链 (SEQ ID NO: 4)	重链 2	0.4

[0217] 这些结果显示重链的FW2中位置9的氨基酸替换(从G到A)使抗体的结合亲和力从0.4降低到0.17。

[0218] 表7:具人源化轻链和人源化重链的抗体的结合亲和力

[0219]	轻链	重链	亲和力ELISA (光学密度)
	轻链2	重链2	0.42
	轻链2-22	重链2	0.08
	轻链2-23	重链2	0.09

[0220] 表8:具人源化轻链和人源化重链的抗体的结合亲和力

[0221]	轻链	重链	亲和力ELISA (光学密度)
	轻链2	重链2-21	0.53
	轻链2-22	重链2-21	0.08
	轻链2-23	重链2-21	0.12

[0222] 表9:具人源化轻链和人源化重链的抗体的结合亲和力

[0223]	轻链	重链	亲和力ELISA (光学密度)
	轻链2	重链2-22	0.32
	轻链2-22	重链2-22	0.07
	轻链2-23	重链2-22	0.08

[0224] 这些结果显示在轻链的FW2的位置12的氨基酸替换(从P至L)使结合亲和力从0.32-0.53减少到0.07-0.08,且在轻链的FW2的位置13的氨基酸替换(从W到L)使结合亲和力从0.32-0.53减少至0.08-0.12。

[0225] 诚然本发明的具体态样已经被叙述和描绘,这样的态样可被认为仅是本发明的描述而非作为本发明的限制,如根据附录的权利要求书所解释的。所有在本说明书中引用的公开文献和专利申请于所有目的通过引用而整体并入本文中,如同每一个别公开文献或专利申请被特定地和个别地指定以于所有目的上通过引用而整体并入。虽然上述发明已为了清楚理解的目的而以描述和举例的方式进行部分细节的描述,然而显而易见的是,对所属技术领域中的技术人员而言根据此发明教导可在不悖离所附权利要求书的精神或范畴下进行一些变化和修饰。

[0226] 本发明提供了

[0227] 14. 一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:

[0228] 重链可变域,包含大约80%至大约100%与SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列;以及/或轻链可变域,包含大约80%至大约100%与SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列。

- [0229] 15. 一种抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 包含:
- [0230] 重链区, 其中所述重链区包含大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:5、6或7的氨基酸序列同源的互补决定区(CDR)氨基酸序列。
- [0231] 16. 如项2所述的抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 还包含大约80%至大约100%与SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列同源的框架, 其中所述框架是在所述重链区的CDR1与CDR2之间。
- [0232] 17. 一种抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 包含:
- [0233] 轻链区, 其中所述轻链区包含大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:8、9或10的氨基酸序列同源的互补决定区氨基酸序列。
- [0234] 18. 如项4所述的抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 还包含大约80%至大约100%与SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列同源的框架, 其中所述框架在所述轻链区的CDR1和CDR2之间。
- [0235] 19. 一种抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 由寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121138指定为2C2的杂交瘤产生。
- [0236] 20. 如项1至6任一所述的抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 所述抗体或其抗原结合部份的可变域能够结合一个或多个糖类抗原。
- [0237] 21. 如项7所述的抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 所述一个或多个糖类抗原为Globo H、sLe^x、sTn、Tn、sLe^a、 α -NeuAc-OCH₂C₆H₄-p-NHC(=O)CH₂-Fuc α 1-2Gal β 1-4GalNAc β -NeuAca2-6Gal β -Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc β -(NeuAca2-8)3、6Gal-HSO₃-SiaLex、6GluNAc-HSO₃-SiaLex、 α 2-6唾液酸二天线型N-聚糖或聚唾液酸。
- [0238] 22. 如项1至6任一所述的抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 所述抗体或其抗原结合部份是选自: (a) 全免疫球蛋白分子; (b) scFv; (c) Fab片段; (d) F(ab')₂; 或(e) 双硫键结Fv。
- [0239] 23. 一种药学组成物, 其特征在于, 包含:
- [0240] 如项1至9任一所述的抗体或其抗原结合部份; 以及至少一个药学上可接受载体。
- [0241] 24. 如项10所述的药学组成物, 其特征在于, 还包含至少一个额外治疗剂。
- [0242] 25. 一种抑制癌细胞增殖的方法, 其特征在于, 包含通过将有效量的如项1至9所述的抗体或其抗原结合部份施予有需要的受试者, 其中癌细胞的增殖被抑制。
- [0243] 26. 一种杂交瘤, 其特征在于, 其是寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121138指定为2C2的杂交瘤。
- [0244] 27. 一种抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 包含:
- [0245] 重链可变域, 包含大约80%至大约100%与SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列; 以及/或轻链可变域, 包含大约80%至大约100%与SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列。
- [0246] 28. 一种抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 包含:
- [0247] 重链区, 其中所述重链区包含大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:15、16或17的氨基酸序列同源的互补决定区氨基酸序列。
- [0248] 29. 一种抗体或其抗原结合部份, 其特征在于, 包含:
- [0249] 轻链区, 其中所述轻链区包含大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:18、19或

20的氨基酸序列同源的互补决定区氨基酸序列。

[0250] 30.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,由寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121310指定为3D7的杂交瘤产生。

[0251] 31.如项14至17任一所述的抗体或其抗原结合部份,其特征在于,所述抗体或其抗原结合部份的可变域能够结合一个或多个糖类抗原。

[0252] 32.如项18所述的抗体或其抗原结合部份,其特征在于,所述一个或多个糖类抗原为Globo H、sLe^x、sTn、Tn、sLe^a、Le^y、 α -NeuAc-0CH₂C₆H₄-p-NHC00CH₂、Fuc α 1-2Gal β 1-4GalNAc β 、NeuAca2-6Galb、Gala1-3Galb1-4GlaNAcb、(NeuAca2-8)₃或聚唾液酸。

[0253] 33.如项14至17任一所述的抗体或其抗原结合部份,其特征在于,所述抗体或其抗原结合部份是选自:(a)全免疫球蛋白分子;(b)scFv;(c)Fab片段;(d)F(ab')₂;或(e)双硫键结Fv。

[0254] 34.一种杂交瘤,其特征在于,其是寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121310指定为3D7的杂交瘤。

[0255] 35.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:

[0256] 重链可变域,包含大约80%至大约100%与SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列;以及/或轻链可变域,包含大约80%至大约100%与SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列。

[0257] 36.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:

[0258] 重链区,其中所述重链区包含大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:23、24或25的氨基酸序列同源的互补决定区氨基酸序列。

[0259] 37.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:

[0260] 轻链区,其中所述轻链区包含大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:26、27或28的氨基酸序列同源的互补决定区氨基酸序列。

[0261] 38.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,由寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121311指定为7A11的杂交瘤产生。

[0262] 39.如项22至25任一所述的抗体或其抗原结合部份,其特征在于,所述抗体或其抗原结合部份的可变域能够结合一个或多个糖类抗原。

[0263] 40.如项26所述的抗体或其抗原结合部份,其特征在于,所述一个或多个糖类抗原为Globo H、sLe^x、sTn、Tn、sLe^a、 α -NeuAc-0CH₂C₆H₄-p-NHC00CH₂、Fuc α 1-2Gal β 1-4GalNAc β 、NeuAca2-6Galb、Gala1-3Galb1-4GlaNAcb或(NeuAca2-8)₃。

[0264] 41.如项22至25任一所述的抗体或其抗原结合部份,其特征在于,所述抗体或其抗原结合部份是选自(a)全免疫球蛋白分子;(b)scFv;(c)Fab片段;(d)F(ab')₂;或(e)双硫键结Fv。

[0265] 42.一种杂交瘤,其特征在于,其是寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121311指定为7A11的杂交瘤。

[0266] 43.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:

[0267] 重链可变域,包含大约80%至大约100%与SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列;以及/或轻链可变域,包含大约80%至大约100%与SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列。

- [0268] 44.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:
- [0269] 重链区,其中所述重链区包含大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:31、32或33的氨基酸序列同源的互补决定区氨基酸序列。
- [0270] 45.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:
- [0271] 轻链区,其中所述轻链区包含大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:34、35或36的氨基酸序列同源的互补决定区氨基酸序列。
- [0272] 46.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,由寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121137指定为2F8的杂交瘤产生。
- [0273] 47.如项30至33任一所述的抗体或其抗原结合部份,其特征在于,所述抗体或其抗原结合部份的可变域能够结合一个或多个糖类抗原。
- [0274] 48.如项34所述的抗体或其抗原结合部份,其特征在于,所述一个或多个糖类抗原是Globo H、sLe^x、Tn、sLe^a、Fuc α 1-2Gal β 1-4GalNAc β 或Gala1-3Galb1-4GlaNAcb。
- [0275] 49.如项30至33任一所述的抗体或其抗原结合部份,其特征在于,所述抗体或其抗原结合部份是选自(a)全免疫球蛋白分子;(b)scFv;(c)Fab片段;(d)F(ab')₂;或(e)双硫键结Fv。
- [0276] 50.一种杂交瘤,其特征在于,其是寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121137指定为2F8的杂交瘤。
- [0277] 51.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:
- [0278] 重链可变域,包含大约80%至大约100%与SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列;以及/或轻链可变域,包含大约80%至大约100%与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列同源的氨基酸序列。
- [0279] 52.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:
- [0280] 重链区,其中所述重链区包含大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:39、40或41的氨基酸序列同源的互补决定区氨基酸序列。
- [0281] 53.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:
- [0282] 轻链区,其中所述轻链区包含大约80%至大约100%与选自SEQ ID NOs:42、43或44的氨基酸序列同源的互补决定区氨基酸序列。
- [0283] 54.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,由寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121312指定为1E1的杂交瘤产生。
- [0284] 55.如项38至41任一所述的抗体或其抗原结合部份,其特征在于,所述抗体或其抗原结合部份的可变域能够结合一个或多个糖类抗原。
- [0285] 56.如项42所述的抗体或其抗原结合部份,其特征在于,所述一个或多个糖类抗原为Globo H、sLe^x、sTn、 α -NeuAc-0CH₂C₆H₄-p-NHC00CH₂、Fuc α 1-2Gal β 1-4GalNAc β 、Gala1-3Galb1-4GlaNAcb、或(NeuAca2-8)₃。
- [0286] 57.如项38至41任一所述的抗体或其抗原结合部份,其特征在于,所述抗体或其抗原结合部份是选自(a)全免疫球蛋白分子;(b)scFv;(c)Fab片段;(d)F(ab')₂;或(e)双硫键结Fv。
- [0287] 58.一种杂交瘤,其特征在于,其是寄存于美国菌种保存中心所寄存号码PTA-121312指定为1E1的杂交瘤。

[0288] 59.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:

[0289] 轻链区,其中所述轻链区包含三个互补决定区CDR1、CDR2及CDR3,分别具有大约80%至大约100%与在SEQ ID NOs:8、9及10中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列;以及

[0290] 框架,在具有大约80%至大约100%与SEQ ID NO:12同源的氨基酸序列的轻链的CDR1和CDR2之间,其中所述框架包含在位置12的脯氨酸或在位置13的色氨酸或其组合,其中所述抗体或其抗原结合部份结合至Globo H。

[0291] 60.一种抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:

[0292] 重链区,其中所述重链区包含三个互补决定区CDR1、CDR2及CDR3,分别具有大约80%至大约100%与在SEQ ID NOs:5、6及7中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列;以及

[0293] 框架,在具有大约80%至大约100%与SEQ ID NO:11同源的氨基酸序列的重链的CDR1和CDR2之间,其中所述框架包含在位置9的甘氨酸,其中所述抗体或其抗原结合部份结合至Globo H。

[0294] 61.一种人源化抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:

[0295] 轻链区,其中所述轻链区包含三个互补决定区CDR1、CDR2及CDR3,分别具有大约80%至大约100%与在SEQ ID NOs:8、9及10中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列;以及

[0296] 在所述轻链的前导序列和CDR1之间的框架,其具有大约80%至大约100%与SEQ ID NO:88同源的氨基酸序列;以及

[0297] 在所述轻链的CDR2和CDR3之间的框架,其具有大约80%至大约100%与SEQ ID NO:90同源的氨基酸序列。

[0298] 62.一种人源化抗体或其抗原结合部份,其特征在于,包含:

[0299] 重链区,其中所述重链区包含三个互补决定区CDR1、CDR2及CDR3,分别具有大约80%至大约100%与SEQ ID NOs:5、6及7中所阐明的氨基酸序列同源的氨基酸序列;

[0300] 在所述重链的前导序列和CDR1之间的框架,其具有大约80%至大约100%与SEQ ID NO:87同源的氨基酸序列;以及在所述重链的CDR2和CDR3之间的框架,其具有大约80%至大约100%与SEQ ID NO:89同源的氨基酸序列。

[0301] 序列表清单:SEQ ID No.1-90

[0302]

杂交瘤克隆	链区域	序列	SEQ ID No.
2C2	重链可变区(Vh)	核酸序列 TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCT GGATTTTCACTGTACACTTTTGATATGG GTGTAGGCTGGATTCGTCAGCCTTCAGG GAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACAT TTGGTGGGATGATGATAAGTACTATAAC CCAGCCCTGAAGAGTCGGCTCACAGTCT CCAAGGATACCTCCAAAAACCAGGTCTT CCTCAAGATCCCCAATGTGGACACTGCA GATAGTGCCACATACTACTGTGCTCGAG TAAGGGGCCTCCATGATTATTACTACTG GTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTG GTCACTGTCTCT	1
2C2	轻链可变区(VL)	核酸序列 GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATG ACTTGCAGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTT ACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAG GATCCTCCCCCAAACCCTGGATTTATGC CACATCCAACCTGGCGTCTGGAGTCCCT GCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGA CCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGT GGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTTT TGCCAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTC ACGTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAA ATAAGA	2
2C2	重链可变区(Vh)	氨基酸序列 SGPG ILQPSQTL SL TCSFSGFSLY TFDMGVGWIR QPSGKGLEWL AHIWWDDDKY YNPALKSRLT VSKDTSKNQV FLKIPNVDTA DSATYYCARV RGLHDYYYWF AYWQGGLVT VS	3
2C2	轻链(VL)	氨基酸序列 ASPGEKVT MTCRASSSVS YMHYQQKPG SSPKPWIYAT SNLASGV PAR FSGSGSGTSY SLTISRVEAE DAATYFCQQW SRNPFTFGSG TKLEIR	4
2C2	重链	氨基酸序列	5

[0303]

	CDR1	YTFDMGVG	
2C2	重链 CDR2	氨基酸序列 HIWWDDDKYYNPALKS	6
2C2	重链 CDR3	氨基酸序列 VRGLHDYYYWFAY	7
2C2	轻链 CDR1	氨基酸序列 RASSSVSYMH	8
2C2	轻链 CDR2	氨基酸序列 ATSNLAS	9
2C2	轻链 CDR3	氨基酸序列 QQWSRNPFT	10
2C2	重链框架 2	氨基酸序列 WIRQPSGKGLEWLA	11
2C2	轻链框架 2	氨基酸序列 WYQQKPGSSPKPWIY	12
3D7	重链可变 区(Vh)	氨基酸序列 SGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLYTFDMGV GWIRQPSGKGLEWLAHIWWDDDKYYNP ALKSRLTVSKDTSKNQVFLKIPNVDTADS ATYYCARVRGLHDYYYWFAYWGQGTL VTVS	13
3D7	轻链 可变区 (VL)	氨基酸序列 ASPGKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPG SSPKPWIYATSNLASGVPARFSGSGSTSY SLTISRVEAEDAATYFCQQWSRNPFTFGS GTKLEIR	14
3D7	重链 CDR1	氨基酸序列 YTFDMGVG	15
3D7	重链 CDR2	氨基酸序列 HIWWDDDKYYNPALKS	16
3D7	重链 CDR3	氨基酸序列 VRGLHDYYYWFAY	17
3D7	轻链 CDR1	氨基酸序列 RASSSVSYMH	18
3D7	轻链 CDR2	氨基酸序列 ATSNLAS	19
3D7	轻链 CDR3	氨基酸序列 QQWSRNPFT	20
7A11	重链可变 区(Vh)	氨基酸序列 SGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLYTFDMGV GWIRQPSGKGLEWLAQIWWDDDKYYNP	21

[0304]

		GLKSRLTISKDTSKNQVFLKIPNVDTADSA TYYCARIRGLRDYYYWFAYWGQGLT VS	
7A11	轻链 可变区 (VL)	氨基酸序列 ASPGKVTMTCRASSSVSYMHYQQKPG SSPKPWIYATSNLASGVPARFSGSGGTSY SLTISRVEAEDAATYFCQQWSRNPFTFGS GTKLEIR	22
7A11	重链 CDR1	氨基酸序列 YTFDMGVG	23
7A11	重链 CDR2	氨基酸序列 QIWWDDEKYYNPGLKS	24
7A11	重链 CDR3	氨基酸序列 IRGLRDYYYWFAY	25
7A11	轻链 CDR1	氨基酸序列 RASSSVSYMH	26
7A11	轻链 CDR2	氨基酸序列 ATSNLAS	27
7A11	轻链 CDR3	氨基酸序列 QQWSRNPFT	28
2F8	重链可变 区(Vh)	氨基酸序列 SGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTFGLGVG WIRQPSGKGLEWLAHIWWDDDKSYNPAL KSRLTISKDTSKNQVFLMIANVDTADTAT YYCARIGPKWSNYYYYCDYWGQGTTLT VS	29
2F8	轻链 可变区 (VL)	氨基酸序列 ASPGKVTMTCRASSSVSYMHYQQKPG SSPKPYIYATSNLSSGVPARFSGSGGTSYS LTISRVEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGT KLEIK	30
2F8	重链 CDR1	氨基酸序列 STFGLGVG	31
2F8	重链 CDR2	氨基酸序列 HIWWDDDKSYNPALKS	32
2F8	重链 CDR3	氨基酸序列 IGPKWSNYYYYCDY	33
2F8	轻链 CDR1	氨基酸序列 RASSSVSYMH	34
2F8	轻链 CDR2	氨基酸序列 ATSNLSS	35
2F8	轻链 CDR3	氨基酸序列 QQWSSNPFT	36
1E1	重链可变	氨基酸序列	37

[0305]

	区(Vh)	SGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTFGLGVG WIRQPSGKGLEWLAHIWWDDDKSYNPAL KSQLTISKDTSKNQVLLKIANVDTADTATY YCARIGPKWSNYYYYCDYWGQGTTLTVS	
1E1	轻链 可变区 (VL)	氨基酸序列 ASPG EKVTMTCRASSSVSYMH WYQQKPG SSPKPYIYATSNLSSGVPARFSGSGSGTSYS LTISRVEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGT KLEIK	38
1E1	重链 CDR1	氨基酸序列 STFGLGVG	39
1E1	重链 CDR2	氨基酸序列 HIWWDDDKSYNPALKS	40
1E1	重链 CDR3	氨基酸序列 IGPKWSNYYYYCDY	41
1E1	轻链 CDR1	氨基酸序列 RASSSVSYMH	42
1E1	轻链 CDR2	氨基酸序列 ATSNLSS	43
1E1	轻链 CDR3	氨基酸序列 QQWSSNPFT	44
2C2	重链 CDR1	核酸序列 TACACTTTTGATATGGGTGTAGGC	45
2C2	重链 CDR2	核酸序列 CACATTGGTGGGATGATGATAAGTACTA TAACCCAGCCCTGAAGAGT	46
2C2	重链 CDR3	核酸序列 GTAAGGGGCCTCCATGATTATTACTACTG GTTTTGCTTAC	47
2C2	轻链 CDR1	核酸序列 AGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTTACATGC AC	48
2C2	轻链 CDR2	核酸序列 GCCACATCCAACCTGGCGTCT	49
2C2	轻链 CDR3	核酸序列 CAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTACG	50
3D7	重链可变 区(Vh)	核酸序列 TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCT GGATTTTCACTGTACACTTTTGATATGGG TGTAGGCTGGATTTCGTCAGCCTTCAGGG AAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATT GGTGGGATGATGATAAGTACTATAACCC AGCCCTGAAGAGTCGGCTCACAGTCTCC AAGGATACCTCCAAAACCAGGTCTTCC	51

[0306]

		TCAAGATCCCCAATGTGGACACTGCAGATAGTGCCACATACTACTGTGCTCGAGTAGGGGCCTCCATGATTATTACTACTGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCT	
3D7	轻链可变区(VL)	核酸序列 GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATGACTTGACAGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTTACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGATCCTCCCCCAAACCCTGGATTTATGCCACATCCAACCTGGCGTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTTCTGCCAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAGA	52
3D7	重链CDR1	核酸序列 TACACTTTTGATATGGGTGTAGGC	53
3D7	重链CDR2	核酸序列 CACATTTGGTGGGATGATGATAAGTACTATAACCCAGCCCTGAAGAGT	54
3D7	重链CDR3	核酸序列 GTAAGGGGCCTCCATGATTATTACTACTGGTTTGCTTAC	55
3D7	轻链CDR1	核酸序列 AGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTTACATGCAC	56
3D7	轻链CDR2	核酸序列 GCCACATCCAACCTGGCGTCT	57
3D7	轻链CDR3	核酸序列 CAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTACG	58
7A11	重链可变区(Vh)	核酸序列 TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCAGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCTGGATTTTCACTGTACACTTTTGATATGGGTGTAGGCTGGATTTCGTCAGCCTTCAGGGAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACAAATTTGGTGGGATGATGATAAGTACTATAACCCAGGCCTGAAGAGTCGGCTCACAATCTCCAAGGATACCTCCAAAAACCAGGTATTCCATCAAGATCCCCAATGTGGACACTGCAGATAGTGCCACATACTACTGTGCTCGAATAAGGGGCCTCCGTGATTATTACTACTGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCA	59

[0307]

		CTGTCTCT	
7A11	轻链 可变区 (VL)	核酸序列 GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATG ACTTGCAGGGCCAGCTCAAGTGTAAGTT ACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAG GATCCTCCCCCAAACCCTGGATTTATGCC ACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTG CTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGAC CTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGTG GAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTTCT GCCAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTAC GTTTCGGCTCGGGACAAAGTTGGAAATA AGA	60
7A11	重链 CDR1	核酸序列 TACACTTTTGATATGGGTGTAGGC	61
7A11	重链 CDR2	核酸序列 CAAATTGGTGGGATGATGATAAGTACTA TAACCCAGGCCTGAAGAGT	62
7A11	重链 CDR3	核酸序列 ATAAGGGGCCTCCGTGATTATTACTACTG GTTTGCTTAC	63
7A11	轻链 CDR1	核酸序列 AGGGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGC AC	64
7A11	轻链 CDR2	核酸序列 GCCACATCCAACCTGGCTTCT	65
7A11	轻链 CDR3	核酸序列 CAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTACG	66
2F8	重链可变 区(Vh)	核酸序列 TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCT GGGTTTTTCGCTGAGCACTTTTGGTTTGG GTGTAGGCTGGATTCGTCAGCCTTCAGG GAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATT TGGTGGGATGATGATAAGTCCTATAACCC AGCCCTGAAGAGTCGGCTCACAATCTCC AAGGATACCTCCAAAAACCAGGTCTTCC TCATGATCGCCAATGTGGACACTGCAGA TACTGCCACATACTACTGTGCTCGAATAG GCCCCGAAATGGAGCACTACTACTACTA CTGTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACT CTCACAGTCTCC	67
2F8	轻链 可变区 (VL)	核酸序列 GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATG ACTTGCAGGGCCAGCTCAAGTGTTAGTT	68

[0308]

		ACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAG GATCCTCCCCCAAACCCTACATTTATGCC ACATCCAACCTGTCTTCTGGAGTCCCTG CTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGAC CTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGTG GAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACT GCCAGCAGTGGAGTAGTAACCCCTTCAC GTTCCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATA AAA	
2F8	重链 CDR1	核酸序列 AGCACTTTTGGTTTGGGTGTAGGC	69
2F8	重链 CDR2	核酸序列 CACATTTGGTGGGATGATGATAAGTCCTA TAACCCAGCCCTGAAGAGT	70
2F8	重链 CDR3	核酸序列 ATAGGCCCCGAAATGGAGCAACTACTACT ACTACTGTGACTAC	71
2F8	轻链 CDR1	核酸序列 AGGGCCAGCTCAAGTGTTAGTTACATGC AC	72
2F8	轻链 CDR2	核酸序列 GCCACATCCAACCTGTCTTCT	73
2F8	轻链 CDR3	核酸序列 CAGCAGTGGAGTAGTAACCCCTTCACG	74
1E1	重链可变 区(Vh)	核酸序列 TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCT GGGTTTTTCGCTGAGCACTTTTGGTTTGG GTGTAGGCTGGATTCGTCAGCCTTCAGG GAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATT TGGTGGGATGATGATAAGTCCTATAACCC AGCCCTGAAGAGTCAGCTCACAATCTCC AAGGATACCTCCAAAAACCAGGTACTCC TCAAGATCGCCAATGTGGACACTGCAGA TACTGCCACATACTACTGTGCTCGAATAG GCCCCGAAATGGAGCAACTACTACTACTA CTGTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACT CTCACAGTCTCC	75
1E1	轻链 可变区 (VL)	核酸序列 GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAAT GACTTGCAGGGCCAGCTCAAGTGTTA GTTACATGCACTGGTACCAGCAGAAG CCAGGATCCTCCCCCAAACCCTACAT TTATGCCACATCCAACCTGTCTTCTGG AGTCCCTGCTCGCTTCAGTGGCAGTG	76

[0309]

		GGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAA TCAGCAGAGTGGAGGCTGAAGATGCT GCCACTTATTACTGCCAGCAGTGGAG TAGTAACCCCTTCACGTTTCGGCTCGG GGACAAAGTTGGAAATAAAA	
1E1	重链 CDR1	核酸序列 AGCACTTTTGGTTTGGGTGTAGGC	77
1E1	重链 CDR2	核酸序列 CACATTTGGTGGGATGATGATAAGTCCTA TAACCCAGCCCTGAAGAGT	78
1E1	重链 CDR3	核酸序列 ATAGGCCCCGAAATGGAGCAACTACTACT ACTACTGTGACTAC	79
1E1	轻链 CDR1	核酸序列 AGGGCCAGCTCAAGTGTTAGTTACATGC AC	80
1E1	轻链 CDR2	核酸序列 GCCACATCCAACCTGTCTTCT	81
1E1	轻链 CDR3	核酸序列 CAGCAGTGGAGTAGTAACCCCTTCACG	82
2C2	重链框架 1	氨基酸序列 SGPGILQPSQTLSTCSFSGFSL	83
2C2	轻链框架 1	氨基酸序列 ASPGKVTMTC	84
2C2	重链框架 3	氨基酸序列 RLTVSKDTSKNQVFLKIPNVDTA DSATYYCAR	85
2C2	轻链框架 3	氨基酸序列 GVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAE DAATYFC	86
2C2	重链框架 1	人源化抗体的氨基酸序列 SGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSL	87
2C2	轻链框架 1	人源化抗体的氨基酸序列 LSPGERATLSC	88
2C2	重链框架 3	人源化抗体的氨基酸序列 RLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYY CAR	89
2C2	轻链框架 3	人源化抗体的氨基酸序列 GVPSRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDIATYY C	90

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 台湾浩鼎生技股份有限公司(OBI Pharma Inc.)
- [0003] 游丞德(Yu, Cheng-Der Tony)
- [0004] <120> 抗体、产生所述抗体的杂交瘤、及其用途
- [0005] <130> 5076-0014-PCT
- [0006] <150> 61/977,824
- [0007] <151> 2014-04-10
- [0008] <150> 62/057,381
- [0009] <151> 2014-09-30
- [0010] <160> 90
- [0011] <170> PatentIn version 3.5
- [0012] <210> 1
- [0013] <211> 348
- [0014] <212> DNA
- [0015] <213> 小鼠
- [0016] <400> 1
- [0017] tctggccctg ggatattgca gccctcccag accctcagtc tgacttggtc tttctctgga 60
- [0018] ttttactgt acacttttga tatgggtgta ggctggattc gtcagccttc agggaagggt 120
- [0019] ctggagtggc tggcacacat ttggtgggat gatgataagt actataaccc agccctgaag 180
- [0020] agtcggctca cagtctccaa ggatacctcc aaaaaccagg tcttctctca gatccccaat 240
- [0021] gtggacactg cagatagtgc cacatactac tgtgctcgag taaggggcct ccatgattat 300
- [0022] tactactggt ttgcttactg gggccaaggg actctgggtca ctgtctct 348
- [0023] <210> 2
- [0024] <211> 282
- [0025] <212> DNA
- [0026] <213> 小鼠
- [0027] <400> 2
- [0028] gcatctccag gggagaaggt cacaatgact tgcagggcca gttcaagtgt aagttacatg 60
- [0029] cactggtacc agcagaagcc aggatcctcc cccaaaccct ggatttatgc cacatccaac 120
- [0030] ctggcgtctg gagtccctgc tcgcttcagt ggcagtgggt ctgggacctc ttactctctc 180
- [0031] acaatcagca gagtggaggc tgaagatgct gccacttatt tctgccagca gtggagtcga 240
- [0032] aaccatttca cgttcggctc ggggacaaag ttggaaataa ga 282
- [0033] <210> 3
- [0034] <211> 116
- [0035] <212> PRT
- [0036] <213> 小鼠
- [0037] <400> 3
- [0038] Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys

[0039]	1	5	10	15
[0040]	Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Tyr Thr Phe Asp Met Gly Val Gly Trp			
[0041]	20	25	30	
[0042]	Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp			
[0043]	35	40	45	
[0044]	Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr			
[0045]	50	55	60	
[0046]	Val Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu Lys Ile Pro Asn			
[0047]	65	70	75	80
[0048]	Val Asp Thr Ala Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Arg Gly			
[0049]	85	90	95	
[0050]	Leu His Asp Tyr Tyr Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
[0051]	100	105	110	
[0052]	Val Thr Val Ser			
[0053]	115			
[0054]	<210> 4			
[0055]	<211> 94			
[0056]	<212> PRT			
[0057]	<213> 小鼠			
[0058]	<400> 4			
[0059]	Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser			
[0060]	1	5	10	15
[0061]	Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys			
[0062]	20	25	30	
[0063]	Pro Trp Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg			
[0064]	35	40	45	
[0065]	Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg			
[0066]	50	55	60	
[0067]	Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Trp Ser Arg			
[0068]	65	70	75	80
[0069]	Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg			
[0070]	85	90		
[0071]	<210> 5			
[0072]	<211> 8			
[0073]	<212> PRT			
[0074]	<213> 小鼠			
[0075]	<400> 5			
[0076]	Tyr Thr Phe Asp Met Gly Val Gly			
[0077]	1	5		

[0078]	<210> 6
[0079]	<211> 16
[0080]	<212> PRT
[0081]	<213> 小鼠
[0082]	<400> 6
[0083]	His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser
[0084]	1 5 10 15
[0085]	<210> 7
[0086]	<211> 13
[0087]	<212> PRT
[0088]	<213> 小鼠
[0089]	<400> 7
[0090]	Val Arg Gly Leu His Asp Tyr Tyr Tyr Trp Phe Ala Tyr
[0091]	1 5 10
[0092]	<210> 8
[0093]	<211> 10
[0094]	<212> PRT
[0095]	<213> 小鼠
[0096]	<400> 8
[0097]	Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
[0098]	1 5 10
[0099]	<210> 9
[0100]	<211> 7
[0101]	<212> PRT
[0102]	<213> 小鼠
[0103]	<400> 9
[0104]	Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser
[0105]	1 5
[0106]	<210> 10
[0107]	<211> 9
[0108]	<212> PRT
[0109]	<213> 小鼠
[0110]	<400> 10
[0111]	Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Phe Thr
[0112]	1 5
[0113]	<210> 11
[0114]	<211> 14
[0115]	<212> PRT
[0116]	<213> 小鼠

[0117]	<400> 11
[0118]	Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala
[0119]	1 5 10
[0120]	<210> 12
[0121]	<211> 15
[0122]	<212> PRT
[0123]	<213> 小鼠
[0124]	<400> 12
[0125]	Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
[0126]	1 5 10 15
[0127]	<210> 13
[0128]	<211> 116
[0129]	<212> PRT
[0130]	<213> 小鼠
[0131]	<400> 13
[0132]	Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys
[0133]	1 5 10 15
[0134]	Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Tyr Thr Phe Asp Met Gly Val Gly Trp
[0135]	20 25 30
[0136]	Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp
[0137]	35 40 45
[0138]	Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr
[0139]	50 55 60
[0140]	Val Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu Lys Ile Pro Asn
[0141]	65 70 75 80
[0142]	Val Asp Thr Ala Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Arg Gly
[0143]	85 90 95
[0144]	Leu His Asp Tyr Tyr Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[0145]	100 105 110
[0146]	Val Thr Val Ser
[0147]	115
[0148]	<210> 14
[0149]	<211> 94
[0150]	<212> PRT
[0151]	<213> 小鼠
[0152]	<400> 14
[0153]	Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser
[0154]	1 5 10 15
[0155]	Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys

[0156]	20	25	30
[0157]	Pro Trp Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg		
[0158]	35	40	45
[0159]	Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg		
[0160]	50	55	60
[0161]	Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Trp Ser Arg		
[0162]	65	70	75
[0163]	Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg		
[0164]	85	90	
[0165]	<210> 15		
[0166]	<211> 8		
[0167]	<212> PRT		
[0168]	<213> 小鼠		
[0169]	<400> 15		
[0170]	Tyr Thr Phe Asp Met Gly Val Gly		
[0171]	1	5	
[0172]	<210> 16		
[0173]	<211> 16		
[0174]	<212> PRT		
[0175]	<213> 小鼠		
[0176]	<400> 16		
[0177]	His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser		
[0178]	1	5	10
[0179]	<210> 17		
[0180]	<211> 13		
[0181]	<212> PRT		
[0182]	<213> 小鼠		
[0183]	<400> 17		
[0184]	Val Arg Gly Leu His Asp Tyr Tyr Tyr Trp Phe Ala Tyr		
[0185]	1	5	10
[0186]	<210> 18		
[0187]	<211> 10		
[0188]	<212> PRT		
[0189]	<213> 小鼠		
[0190]	<400> 18		
[0191]	Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His		
[0192]	1	5	10
[0193]	<210> 19		
[0194]	<211> 7		

[0195] <212> PRT
 [0196] <213> 小鼠
 [0197] <400> 19
 [0198] Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 [0199] 1 5
 [0200] <210> 20
 [0201] <211> 9
 [0202] <212> PRT
 [0203] <213> 小鼠
 [0204] <400> 20
 [0205] Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Phe Thr
 [0206] 1 5
 [0207] <210> 21
 [0208] <211> 116
 [0209] <212> PRT
 [0210] <213> 小鼠
 [0211] <400> 21
 [0212] Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys
 [0213] 1 5 10 15
 [0214] Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Tyr Thr Phe Asp Met Gly Val Gly Trp
 [0215] 20 25 30
 [0216] Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala Gln Ile Trp
 [0217] 35 40 45
 [0218] Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Gly Leu Lys Ser Arg Leu Thr
 [0219] 50 55 60
 [0220] Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu Lys Ile Pro Asn
 [0221] 65 70 75 80
 [0222] Val Asp Thr Ala Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Arg Gly
 [0223] 85 90 95
 [0224] Leu Arg Asp Tyr Tyr Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 [0225] 100 105 110
 [0226] Val Thr Val Ser
 [0227] 115
 [0228] <210> 22
 [0229] <211> 94
 [0230] <212> PRT
 [0231] <213> 小鼠
 [0232] <400> 22
 [0233] Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser

[0234]	1	5	10	15
[0235]	Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys			
[0236]	20	25	30	
[0237]	Pro Trp Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg			
[0238]	35	40	45	
[0239]	Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg			
[0240]	50	55	60	
[0241]	Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Trp Ser Arg			
[0242]	65	70	75	80
[0243]	Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg			
[0244]	85	90		
[0245]	<210> 23			
[0246]	<211> 8			
[0247]	<212> PRT			
[0248]	<213> 小鼠			
[0249]	<400> 23			
[0250]	Tyr Thr Phe Asp Met Gly Val Gly			
[0251]	1	5		
[0252]	<210> 24			
[0253]	<211> 16			
[0254]	<212> PRT			
[0255]	<213> 小鼠			
[0256]	<400> 24			
[0257]	Gln Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Gly Leu Lys Ser			
[0258]	1	5	10	15
[0259]	<210> 25			
[0260]	<211> 13			
[0261]	<212> PRT			
[0262]	<213> 小鼠			
[0263]	<400> 25			
[0264]	Ile Arg Gly Leu Arg Asp Tyr Tyr Tyr Trp Phe Ala Tyr			
[0265]	1	5	10	
[0266]	<210> 26			
[0267]	<211> 10			
[0268]	<212> PRT			
[0269]	<213> 小鼠			
[0270]	<400> 26			
[0271]	Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His			
[0272]	1	5	10	

[0273]	<210> 27
[0274]	<211> 7
[0275]	<212> PRT
[0276]	<213> 小鼠
[0277]	<400> 27
[0278]	Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser
[0279]	1 5
[0280]	<210> 28
[0281]	<211> 9
[0282]	<212> PRT
[0283]	<213> 小鼠
[0284]	<400> 28
[0285]	Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Phe Thr
[0286]	1 5
[0287]	<210> 29
[0288]	<211> 117
[0289]	<212> PRT
[0290]	<213> 小鼠
[0291]	<400> 29
[0292]	Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys
[0293]	1 5 10 15
[0294]	Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe Gly Leu Gly Val Gly Trp
[0295]	20 25 30
[0296]	Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp
[0297]	35 40 45
[0298]	Trp Asp Asp Asp Lys Ser Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr
[0299]	50 55 60
[0300]	Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu Met Ile Ala Asn
[0301]	65 70 75 80
[0302]	Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Gly Pro
[0303]	85 90 95
[0304]	Lys Trp Ser Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Cys Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
[0305]	100 105 110
[0306]	Thr Leu Thr Val Ser
[0307]	115
[0308]	<210> 30
[0309]	<211> 94
[0310]	<212> PRT
[0311]	<213> 小鼠

[0312]	<400>	30
[0313]	Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser	
[0314]	1 5 10 15	
[0315]	Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys	
[0316]	20 25 30	
[0317]	Pro Tyr Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ser Ser Gly Val Pro Ala Arg	
[0318]	35 40 45	
[0319]	Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg	
[0320]	50 55 60	
[0321]	Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser	
[0322]	65 70 75 80	
[0323]	Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
[0324]	85 90	
[0325]	<210>	31
[0326]	<211>	8
[0327]	<212>	PRT
[0328]	<213>	小鼠
[0329]	<400>	31
[0330]	Ser Thr Phe Gly Leu Gly Val Gly	
[0331]	1 5	
[0332]	<210>	32
[0333]	<211>	16
[0334]	<212>	PRT
[0335]	<213>	小鼠
[0336]	<400>	32
[0337]	His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Ser Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser	
[0338]	1 5 10 15	
[0339]	<210>	33
[0340]	<211>	14
[0341]	<212>	PRT
[0342]	<213>	小鼠
[0343]	<400>	33
[0344]	Ile Gly Pro Lys Trp Ser Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Cys Asp Tyr	
[0345]	1 5 10	
[0346]	<210>	34
[0347]	<211>	10
[0348]	<212>	PRT
[0349]	<213>	小鼠
[0350]	<400>	34

[0351]	Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
[0352]	1 5 10
[0353]	<210> 35
[0354]	<211> 7
[0355]	<212> PRT
[0356]	<213> 小鼠
[0357]	<400> 35
[0358]	Ala Thr Ser Asn Leu Ser Ser
[0359]	1 5
[0360]	<210> 36
[0361]	<211> 9
[0362]	<212> PRT
[0363]	<213> 小鼠
[0364]	<400> 36
[0365]	Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
[0366]	1 5
[0367]	<210> 37
[0368]	<211> 117
[0369]	<212> PRT
[0370]	<213> 小鼠
[0371]	<400> 37
[0372]	Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys
[0373]	1 5 10 15
[0374]	Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe Gly Leu Gly Val Gly Trp
[0375]	20 25 30
[0376]	Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp
[0377]	35 40 45
[0378]	Trp Asp Asp Asp Lys Ser Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Gln Leu Thr
[0379]	50 55 60
[0380]	Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Leu Leu Lys Ile Ala Asn
[0381]	65 70 75 80
[0382]	Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Gly Pro
[0383]	85 90 95
[0384]	Lys Trp Ser Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Cys Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
[0385]	100 105 110
[0386]	Thr Leu Thr Val Ser
[0387]	115
[0388]	<210> 38
[0389]	<211> 94

[0390] <212> PRT
 [0391] <213> 小鼠
 [0392] <400> 38
 [0393] Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser
 [0394] 1 5 10 15
 [0395] Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys
 [0396] 20 25 30
 [0397] Pro Tyr Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ser Ser Gly Val Pro Ala Arg
 [0398] 35 40 45
 [0399] Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg
 [0400] 50 55 60
 [0401] Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser
 [0402] 65 70 75 80
 [0403] Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 [0404] 85 90
 [0405] <210> 39
 [0406] <211> 8
 [0407] <212> PRT
 [0408] <213> 小鼠
 [0409] <400> 39
 [0410] Ser Thr Phe Gly Leu Gly Val Gly
 [0411] 1 5
 [0412] <210> 40
 [0413] <211> 16
 [0414] <212> PRT
 [0415] <213> 小鼠
 [0416] <400> 40
 [0417] His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Ser Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser
 [0418] 1 5 10 15
 [0419] <210> 41
 [0420] <211> 14
 [0421] <212> PRT
 [0422] <213> 小鼠
 [0423] <400> 41
 [0424] Ile Gly Pro Lys Trp Ser Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Cys Asp Tyr
 [0425] 1 5 10
 [0426] <210> 42
 [0427] <211> 10
 [0428] <212> PRT

[0429] <213> 小鼠
[0430] <400> 42
[0431] Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
[0432] 1 5 10
[0433] <210> 43
[0434] <211> 7
[0435] <212> PRT
[0436] <213> 小鼠
[0437] <400> 43
[0438] Ala Thr Ser Asn Leu Ser Ser
[0439] 1 5
[0440] <210> 44
[0441] <211> 9
[0442] <212> PRT
[0443] <213> 小鼠
[0444] <400> 44
[0445] Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
[0446] 1 5
[0447] <210> 45
[0448] <211> 24
[0449] <212> DNA
[0450] <213> 小鼠
[0451] <400> 45
[0452] tacacttttg atatgggtgt aggc 24
[0453] <210> 46
[0454] <211> 48
[0455] <212> DNA
[0456] <213> 小鼠
[0457] <400> 46
[0458] cacatttggt gggatgatga taagtactat aaccagccc tgaagagt 48
[0459] <210> 47
[0460] <211> 40
[0461] <212> DNA
[0462] <213> 小鼠
[0463] <400> 47
[0464] gtaaggggcc tccatgatta ttactactgg ttttgettac 40
[0465] <210> 48
[0466] <211> 30
[0467] <212> DNA

[0468]	<213> 小鼠
[0469]	<400> 48
[0470]	agggccagtt caagtgtgtaag ttacatgcac 30
[0471]	<210> 49
[0472]	<211> 21
[0473]	<212> DNA
[0474]	<213> 小鼠
[0475]	<400> 49
[0476]	gccacatcca acctggcgtc t 21
[0477]	<210> 50
[0478]	<211> 27
[0479]	<212> DNA
[0480]	<213> 小鼠
[0481]	<400> 50
[0482]	cagcagtgga gtcgaaaccc attcacg 27
[0483]	<210> 51
[0484]	<211> 348
[0485]	<212> DNA
[0486]	<213> 小鼠
[0487]	<400> 51
[0488]	tctggccctg ggatattgca gccctcccag accctcagtc tgacttggtc tttctctgga 60
[0489]	ttttcactgt acacttttga tatgggtgta ggctggattc gtcagccttc aggggaagggt 120
[0490]	ctggagtggc tggcacacat ttgggtgggat gatgataagt actataaccc agccctgaag 180
[0491]	agtcggctca cagtctccaa ggatacctcc aaaaaccagg tcttcctcaa gatccccaat 240
[0492]	gtggacactg cagatagtgc cacatactac tgtgctcgag taaggggcct ccatgattat 300
[0493]	tactactggg ttgcttactg gggccaaggg actctgggtca ctgtctct 348
[0494]	<210> 52
[0495]	<211> 282
[0496]	<212> DNA
[0497]	<213> 小鼠
[0498]	<400> 52
[0499]	gcattctccag gggagaagggt cacaatgact tgcagggccca gttcaagtgt aagttacatg 60
[0500]	cactgggtacc agcagaagcc aggatcctcc cccaaaccct ggatttatgc cacatccaac 120
[0501]	ctggcgctctg gagtcacctgc tcgcttcagt ggcagtggtg ctgggacctc ttactctctc 180
[0502]	acaatcagca gagtggaggc tgaagatgct gccacttatt tctgccagca gtggagtcga 240
[0503]	aaccatttca cgttcggctc ggggacaaag ttggaaataa ga 282
[0504]	<210> 53
[0505]	<211> 24
[0506]	<212> DNA

[0507] <213> 小鼠
[0508] <400> 53
[0509] tacacttttg atatgggtgt aggc 24
[0510] <210> 54
[0511] <211> 48
[0512] <212> DNA
[0513] <213> 小鼠
[0514] <400> 54
[0515] cacatttggt gggatgatga taagtactat aaccagccc tgaagagt 48
[0516] <210> 55
[0517] <211> 39
[0518] <212> DNA
[0519] <213> 小鼠
[0520] <400> 55
[0521] gtaaggggcc tccatgatta ttactactgg ttgcttac 39
[0522] <210> 56
[0523] <211> 30
[0524] <212> DNA
[0525] <213> 小鼠
[0526] <400> 56
[0527] agggccagtt caagtgtgag ttacatgcac 30
[0528] <210> 57
[0529] <211> 21
[0530] <212> DNA
[0531] <213> 小鼠
[0532] <400> 57
[0533] gccacatcca acctggcgtc t 21
[0534] <210> 58
[0535] <211> 27
[0536] <212> DNA
[0537] <213> 小鼠
[0538] <400> 58
[0539] cagcagtgga gtcgaaacc attcacg 27
[0540] <210> 59
[0541] <211> 348
[0542] <212> DNA
[0543] <213> 小鼠
[0544] <400> 59
[0545] tctggcctg ggatattgca gccctcccag accctcagtc tgacttggtc tttctctgga 60

[0546] ttttactgt acacttttga tatgggtgta ggctggattc gtcagccttc aggggaagggt 120
[0547] ctggagtggc tggcacaaat ttggtgggat gatgataagt actataaccc aggcctgaag 180
[0548] agtcggctca caatctccaa ggatacctcc aaaaaccagg tattcctcaa gatccccaat 240
[0549] gtggacactg cagatagtgc cacatactac tgtgctcgaa taaggggcct ccgtgattat 300
[0550] tactactggg ttgcttactg gggccaaggg actctgggtca ctgtctct 348
[0551] <210> 60
[0552] <211> 282
[0553] <212> DNA
[0554] <213> 小鼠
[0555] <400> 60
[0556] gcatctccag gggagaagggt cacaatgact tgcagggccca gctcaagtgt aagttacatg 60
[0557] cactgggtacc agcagaagcc aggatcctcc cccaaaccct ggatttatgc cacatccaac 120
[0558] ctggcttctg gagtcctgc tcgcttcagt ggcagtgggt ctgggacctc ttactctctc 180
[0559] acaatcagca gagtggaggc tgaagatgct gccacttatt tctgccagca gtggagtcga 240
[0560] aaccattca cgttcggctc ggggacaaag ttggaaataa ga 282
[0561] <210> 61
[0562] <211> 24
[0563] <212> DNA
[0564] <213> 小鼠
[0565] <400> 61
[0566] tacacttttg atatgggtgt aggc 24
[0567] <210> 62
[0568] <211> 48
[0569] <212> DNA
[0570] <213> 小鼠
[0571] <400> 62
[0572] caaatttggg gggatgatga taagtactat aaccaggcc tgaagagt 48
[0573] <210> 63
[0574] <211> 39
[0575] <212> DNA
[0576] <213> 小鼠
[0577] <400> 63
[0578] ataaggggcc tccgtgatta ttactactgg ttigtctac 39
[0579] <210> 64
[0580] <211> 30
[0581] <212> DNA
[0582] <213> 小鼠
[0583] <400> 64
[0584] aggccagct caagtgtgtaag ttacatgcac 30

[0585]	<210> 65
[0586]	<211> 21
[0587]	<212> DNA
[0588]	<213> 小鼠
[0589]	<400> 65
[0590]	gccacatcca acctggcttc t 21
[0591]	<210> 66
[0592]	<211> 27
[0593]	<212> DNA
[0594]	<213> 小鼠
[0595]	<400> 66
[0596]	cagcagtgga gtcgaaaccc attcacg 27
[0597]	<210> 67
[0598]	<211> 351
[0599]	<212> DNA
[0600]	<213> 小鼠
[0601]	<400> 67
[0602]	tctggccctg ggatattgca gccctcccag accctcagtc tgacttgctc tttctctggg 60
[0603]	ttttcgctga gcacttttgg tttgggtgta ggctggattc gtcagccttc aggggaagggt 120
[0604]	ctggagtggc tggcacacat ttggtgggat gatgataagt cctataaccc agccctgaag 180
[0605]	agtcggctca caatctccaa ggatacctcc aaaaaccagg tcttcctcat gatcgccaat 240
[0606]	gtggacactg cagatactgc cacatactac tgtgctcgaa taggccccgaa atggagcaac 300
[0607]	tactactact actgtgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc c 351
[0608]	<210> 68
[0609]	<211> 282
[0610]	<212> DNA
[0611]	<213> 小鼠
[0612]	<400> 68
[0613]	gcatctccag gggagaagggt cacaatgact tgcagggcca gctcaagtgt tagttacatg 60
[0614]	cactgggtacc agcagaagcc aggatcctcc cccaaaccct acatttatgc cacatccaac 120
[0615]	ctgtcttctg gagtccttgc tcgcttcagt ggcagtgggt ctgggacctc ttactctctc 180
[0616]	acaatcagca gagtggaggc tgaagatgct gccacttatt actgccagca gtggagtagt 240
[0617]	aacccttca cgttcggctc ggggacaaag ttggaaataa aa 282
[0618]	<210> 69
[0619]	<211> 24
[0620]	<212> DNA
[0621]	<213> 小鼠
[0622]	<400> 69
[0623]	agcacttttg gtttgggtgt aggc 24

[0624]	<210> 70
[0625]	<211> 48
[0626]	<212> DNA
[0627]	<213> 小鼠
[0628]	<400> 70
[0629]	cacatttggt gggatgatga taagtcctat aaccagccc tgaagagt 48
[0630]	<210> 71
[0631]	<211> 42
[0632]	<212> DNA
[0633]	<213> 小鼠
[0634]	<400> 71
[0635]	ataggcccgaa aatggagcaa ctactactac tactgtgact ac 42
[0636]	<210> 72
[0637]	<211> 30
[0638]	<212> DNA
[0639]	<213> 小鼠
[0640]	<400> 72
[0641]	agggccagct caagtgttag ttacatgcac 30
[0642]	<210> 73
[0643]	<211> 21
[0644]	<212> DNA
[0645]	<213> 小鼠
[0646]	<400> 73
[0647]	gccacatcca acctgtcttc t 21
[0648]	<210> 74
[0649]	<211> 27
[0650]	<212> DNA
[0651]	<213> 小鼠
[0652]	<400> 74
[0653]	cagcagtgga gtagtaaccc cttcacg 27
[0654]	<210> 75
[0655]	<211> 351
[0656]	<212> DNA
[0657]	<213> 小鼠
[0658]	<400> 75
[0659]	tctggccctg ggatattgca gccctcccag accctcagtc tgacttggtc tttctctggg 60
[0660]	ttttcgctga gcacttttgg ttgggtgta ggctggattc gtcagccttc aggggaagggt 120
[0661]	ctggagtggc tggcacacat ttgggtgggat gatgataagt cctataaccc agccctgaag 180
[0662]	agtcagctca caatctccaa ggatacctcc aaaaaccagg tactcctcaa gatcgccaat 240

[0663]	gtggacactg cagatactgc cacatactac tgtgctcgaa taggccccgaa atggagcaac 300
[0664]	tactactact actgtgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc c 351
[0665]	<210> 76
[0666]	<211> 282
[0667]	<212> DNA
[0668]	<213> 小鼠
[0669]	<400> 76
[0670]	gcattctccag gggagaaggt cacaatgact tgcagggcca gctcaagtgt tagttacatg 60
[0671]	cactggtacc agcagaagcc aggatcctcc cccaaaccct acatttatgc cacatccaac 120
[0672]	ctgtcttctg gagtccttgc tcgcttcagt ggcagtgggt ctgggacctc ttactctctc 180
[0673]	acaatcagca gagtggaggc tgaagatgct gccacttatt actgccagca gtggagtagt 240
[0674]	aacccttca cgttcggctc ggggacaaag ttggaaataa aa 282
[0675]	<210> 77
[0676]	<211> 24
[0677]	<212> DNA
[0678]	<213> 小鼠
[0679]	<400> 77
[0680]	agcacttttg gtttggtgt aggc 24
[0681]	<210> 78
[0682]	<211> 48
[0683]	<212> DNA
[0684]	<213> 小鼠
[0685]	<400> 78
[0686]	cacatttggt gggatgatga taagtcctat aaccagccc tgaagagt 48
[0687]	<210> 79
[0688]	<211> 42
[0689]	<212> DNA
[0690]	<213> 小鼠
[0691]	<400> 79
[0692]	ataggccga aatggagcaa ctactactac tactgtgact ac 42
[0693]	<210> 80
[0694]	<211> 30
[0695]	<212> DNA
[0696]	<213> 小鼠
[0697]	<400> 80
[0698]	aggccagct caagtgttag ttacatgcac 30
[0699]	<210> 81
[0700]	<211> 21
[0701]	<212> DNA

[0702] <213> 小鼠
[0703] <400> 81
[0704] gccacatcca acctgtcttc t 21
[0705] <210> 82
[0706] <211> 27
[0707] <212> DNA
[0708] <213> 小鼠
[0709] <400> 82
[0710] cagcagtgga gtagtaaccc cttcacg 27
[0711] <210> 83
[0712] <211> 23
[0713] <212> PRT
[0714] <213> 小鼠
[0715] <400> 83
[0716] Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys
[0717] 1 5 10 15
[0718] Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu
[0719] 20
[0720] <210> 84
[0721] <211> 11
[0722] <212> PRT
[0723] <213> 小鼠
[0724] <400> 84
[0725] Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
[0726] 1 5 10
[0727] <210> 85
[0728] <211> 32
[0729] <212> PRT
[0730] <213> 小鼠
[0731] <400> 85
[0732] Arg Leu Thr Val Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu Lys
[0733] 1 5 10 15
[0734] Ile Pro Asn Val Asp Thr Ala Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
[0735] 20 25 30
[0736] <210> 86
[0737] <211> 32
[0738] <212> PRT
[0739] <213> 小鼠
[0740] <400> 86

[0741]	Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser
[0742]	1 5 10 15
[0743]	Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys
[0744]	20 25 30
[0745]	<210> 87
[0746]	<211> 23
[0747]	<212> PRT
[0748]	<213> 人工序列
[0749]	<220>
[0750]	<223> 人-小鼠序列
[0751]	<400> 87
[0752]	Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys
[0753]	1 5 10 15
[0754]	Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu
[0755]	20
[0756]	<210> 88
[0757]	<211> 11
[0758]	<212> PRT
[0759]	<213> 人工序列
[0760]	<220>
[0761]	<223> 人-小鼠序列
[0762]	<400> 88
[0763]	Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
[0764]	1 5 10
[0765]	<210> 89
[0766]	<211> 32
[0767]	<212> PRT
[0768]	<213> 人工序列
[0769]	<220>
[0770]	<223> 人-小鼠序列
[0771]	<400> 89
[0772]	Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Thr
[0773]	1 5 10 15
[0774]	Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
[0775]	20 25 30
[0776]	<210> 90
[0777]	<211> 32
[0778]	<212> PRT
[0779]	<213> 人工序列

[0780] <220>
[0781] <223> 人-小鼠序列
[0782] <400> 90
[0783] Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
[0784] 1 5 10 15
[0785] Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys
[0786] 20 25 30

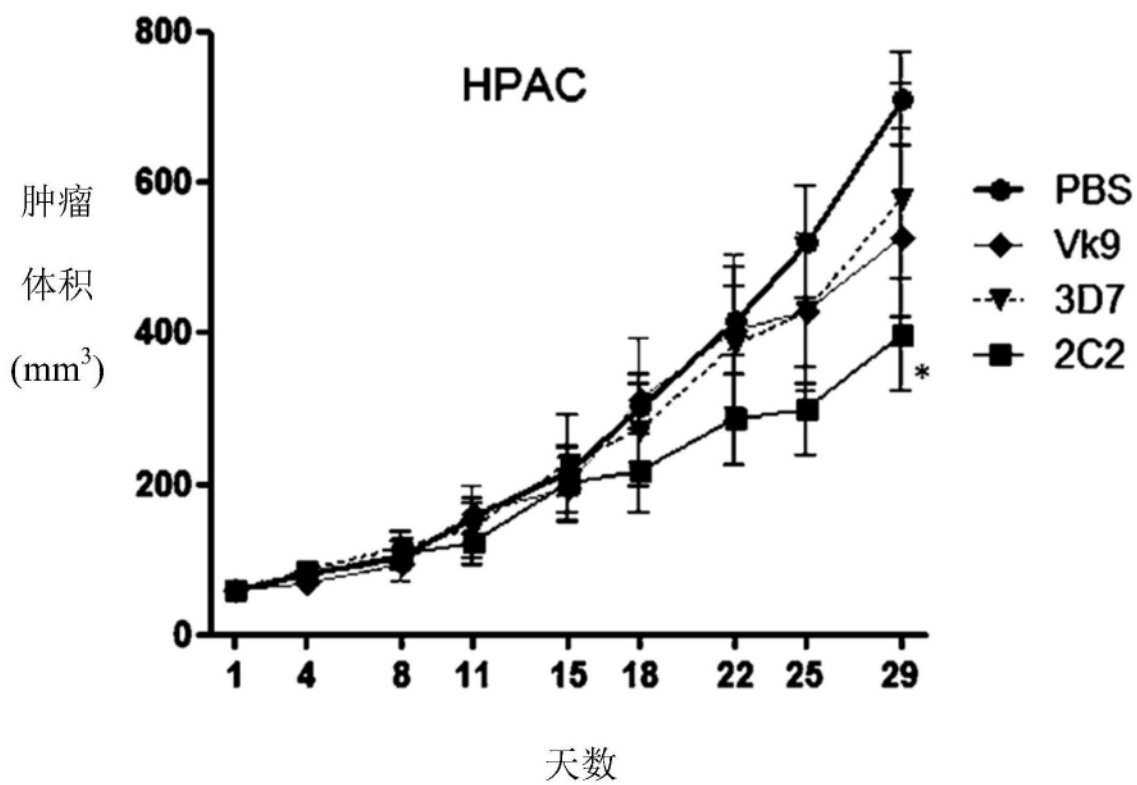


图1

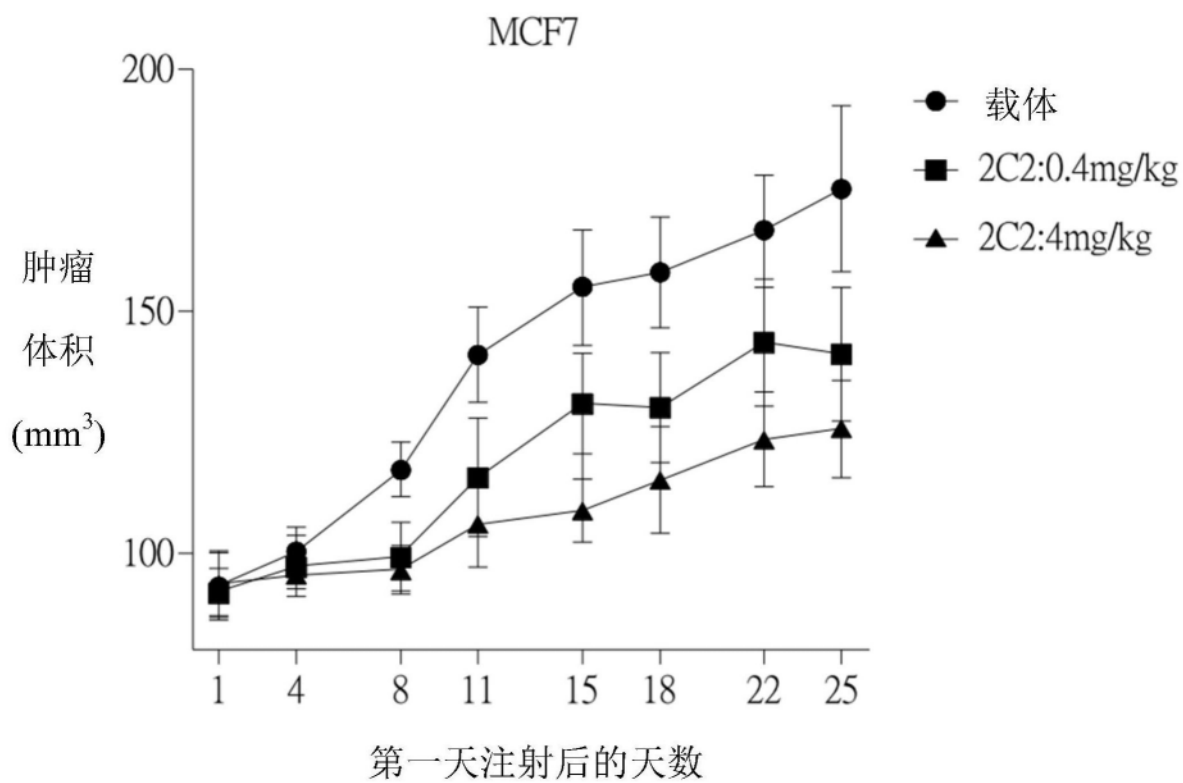


图2

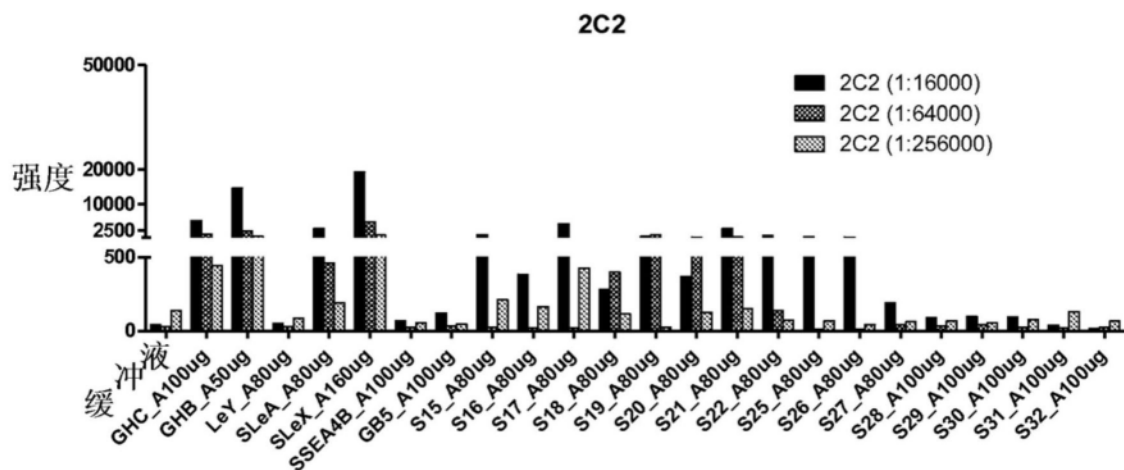


图3A

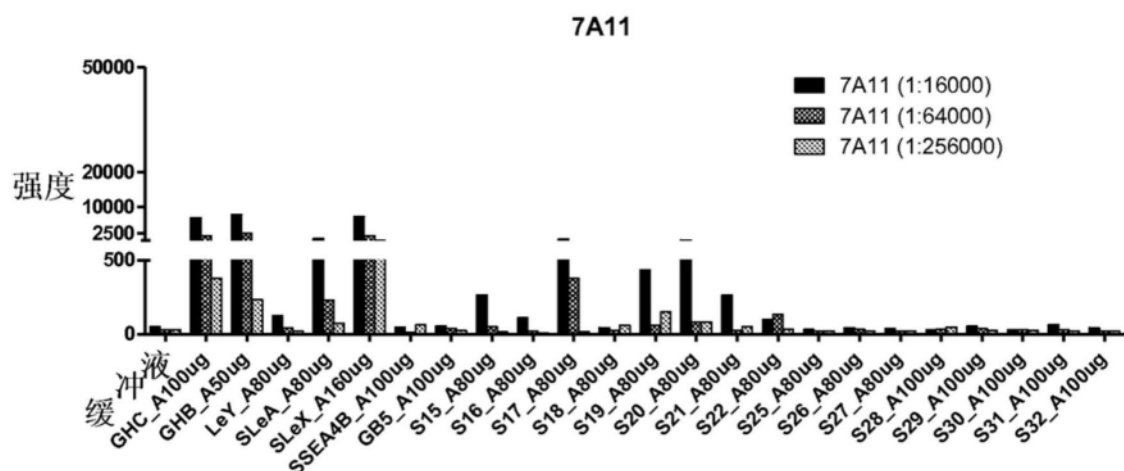


图3B

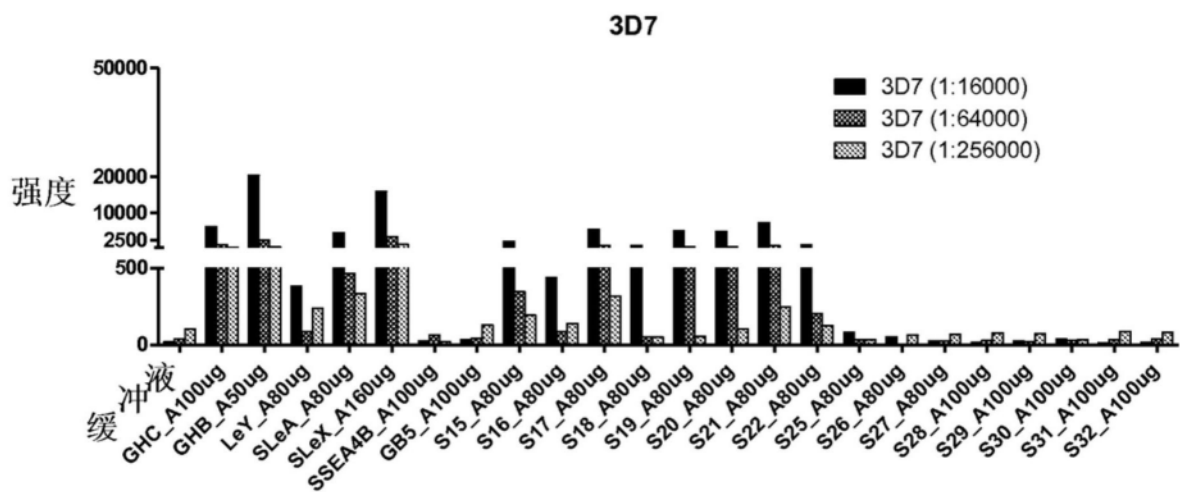


图3C

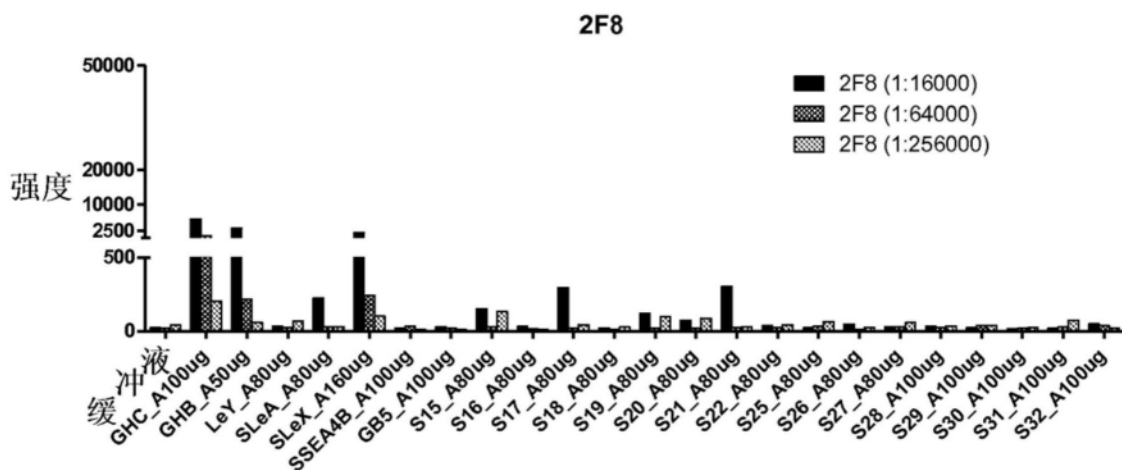


图3D

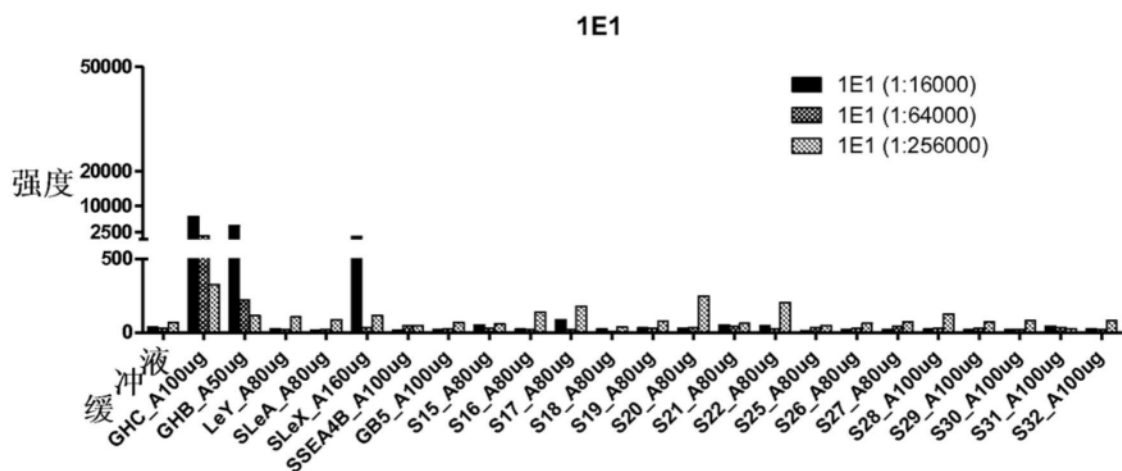


图3E

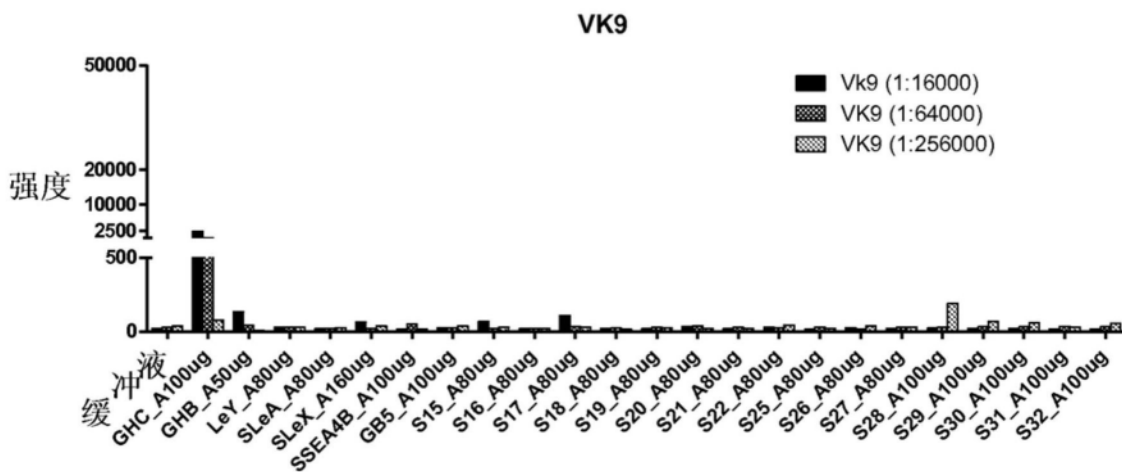


图3F