



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115515633 A

(43) 申请公布日 2022.12.23

(21) 申请号 202180033213.2

(22) 申请日 2021.05.11

(30) 优先权数据

63/023,850 2020.05.12 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.11.04

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/031670 2021.05.11

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2021/231346 EN 2021.11.18

(71) 申请人 百时美施贵宝公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 L·P·詹姆斯 M·布朗

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 封新琴

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

权利要求书1页 说明书11页

序列表19页

(54) 发明名称

可活化的抗CTLA-4抗体的给药及施用

(57) 摘要

本发明提供可活化的抗CTLA-4抗体,诸如可活化的伊匹单抗(ipilimumab)的给药及施用的方法。

1. 一种使用可活化的抗CTLA-4抗体治疗有需要的人类受试者中癌症的方法,该方法包括每四周一次(Q4W)或每八周一次(Q8W)施用该可活化的抗CTLA-4抗体;及其中该可活化的抗CTLA-4抗体包含:
  - a. 包含SEQ ID NO:9的重链可变域序列的重链;及
  - b. 包含选自SEQ ID NO:21、22及23组成的群的轻链可变域序列的轻链。
2. 根据权利要求1的方法,其中该可活化的抗CTLA-4抗体包含:
  - a. 包含SEQ ID NO:11的序列的重链;及
  - b. 包含SEQ ID NO.24的序列的轻链。
3. 根据前述权利要求中任一项的方法,其中Q8W施用该可活化的抗CTLA-4抗体。
4. 根据前述权利要求中任一项的方法,其中以240、800、1600或2400mg的均一剂量施用该可活化的抗CTLA-4抗体。
5. 根据权利要求4的方法,其中以1600mg的均一剂量Q8W施用该可活化的抗CTLA-4抗体。
6. 根据前述权利要求中任一项的方法,其中该癌症选自以下组成的组:
  - a. 不可切除或转移性黑色素瘤;及
  - b. 黑色素瘤的辅助治疗。
7. 一种使用可活化的抗CTLA-4抗体与纳武单抗组合治疗有需要的人类受试者中癌症的方法,该方法包括每四周一次(Q4W)或每八周一次(Q8W)施用该可活化的抗CTLA-4抗体,其中该可活化的抗CTLA-4抗体包含:
  - a. 包含SEQ ID NO:9的重链可变域序列的重链;及
  - b. 包含选自SEQ ID NO:21、22及23组成的群的轻链可变域序列的轻链。
8. 根据权利要求7的方法,其中该可活化的抗CTLA-4抗体包含:
  - a. 包含SEQ ID NO:11的序列的重链;及
  - b. 包含SEQ ID NO.24的序列的轻链。
9. 根据权利要求7或8中任一项的方法,其中Q8W施用该可活化的抗CTLA-4抗体。
10. 根据权利要求7至9中任一项的方法,其中该可活化的抗CTLA-4抗体以240、600、800、1200或1600mg的均一剂量施用。
11. 根据权利要求10的方法,其中纳武单抗以480mg的均一剂量Q4W施用。
12. 根据权利要求11的方法,其中以600mg的均一剂量Q4W施用可活化的伊匹单抗(Ipilimumab)。
13. 根据权利要求11的方法,其中以1200mg的均一剂量Q8W施用可活化的伊匹单抗。
14. 根据权利要求7至13中任一项的方法,其中该癌症选自以下组成的组:
  - a. 晚期肾细胞癌;
  - b. 微卫星不稳定性高(MSI-H)或错误配对修补缺陷(dMMR)转移性结肠直肠癌;
  - c. 黑色素瘤;
  - d. 非小细胞肺癌(NSCLC);
  - e. 恶性胸膜间皮瘤;及
  - f. 肝细胞癌。

## 可活化的抗CTLA-4抗体的给药及施用

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请根据35 U.S.C. §119(e) 要求美国临时申请号63/023850的权益,其公开内容以引用方式并入

[0003] 序列表

[0004] 通过电子提交的序列表全文也在此以引用方式并入(文件名:20210421\_SEQ1\_13580WOPCT\_GB.txt;创建日期:21 April 2021;文件大小:38KB)。

### 技术领域

[0005] 本申请公开用于治疗癌症的可活化的抗CTLA-4抗体的给药及施用的方法。

### 背景技术

[0006] 免疫系统能够控制肿瘤发展且介导肿瘤消退。这需要肿瘤抗原特异性T细胞的产生及活化。多种T细胞共刺激受体及T细胞负调节剂或共抑制受体配合作用以控制T细胞活化、增殖及效应功能的获得或丧失。T细胞共刺激及共抑制分子中最早且最佳表征的为CD28及CTLA-4。Rudd等人(2009) *Immunol. Rev.* 229:12。CD28通过结合至抗原呈递细胞上的B7-1及B7-2配位体提供对T细胞受体接合的共刺激信号,而CTLA-4提供负信号向下调节T细胞增殖及功能。CTLA-4,其亦结合B7-1 (CD80) 及B7-2 (CD86) 配位体但比CD28具有更高亲和力,透过细胞自主(或内在)及细胞非自主(或外在)途径,充作T细胞功能的负调节剂。CD8及CD4 T效应( $T_{eff}$ )功能的内在控制由以下介导:因T细胞活化所致的CTLA-4的可诱导的表面表达、T细胞增殖的抑制及因相对细胞上的B7配位体的多价接合的细胞因子产生。Peggs等人(2008) *Immunol. Rev.* 224:141。

[0007] 抗CTLA-4抗体在交联时抑制体外T细胞功能。Krummel及Allison(1995) *J. Exp. Med.* 182:459;Walunas等人(1994) *Immunity* 1:405。调节T细胞( $T_{regs}$ ),其组成性地表达CTLA-4,以非细胞自主方式控制效应T细胞( $T_{eff}$ )功能。针对CTLA-4缺乏的 $T_{regs}$ 具有受损的抑制能力(Wing等人(2008) *Science* 322:271)及阻断CTLA-4与B7相互作用的抗体可抑制 $T_{reg}$ 功能(Read等人(2000) *J. Exp. Med.* 192:295;Quezada等人(2006) *J. Clin. Invest.* 116:1935)。更近, $T_{effs}$ 亦已显示透过外在途径控制T细胞功能(Corse及Allison(2012) *J. Immunol.* 189:1123;Wang等人(2012) *J. Immunol.* 189:1118)。通过 $T_{regs}$ 及 $T_{effs}$ 对T细胞功能之外在控制透过CTLA-4阳性细胞移除抗原呈递细胞上的B7配位体的能力发生,由此限制其共刺激潜力。Qureshi等人(2011) *Science* 332:600;Onishi等人(2008) *Proc. Nat'l Acad. Sci. (USA)* 105:10113。CTLA-4/B7相互作用的抗体阻断被认为通过干扰通过CTLA-4接合传递的负信号来促进 $T_{eff}$ 活化;此种对T细胞活化及增殖的内在控制可促进 $T_{eff}$ 及 $T_{reg}$ 二者增殖(Krummel及Allison(1995) *J. Exp. Med.* 182:459;Quezada等人(2006) *J. Clin. Invest.* 116:1935)。在早期动物模型的研究中,CTLA-4的抗体阻断显示会加剧自体免疫。Perrin等人(1996) *J. Immunol.* 157:1333;Hurwitz等人(1997) *J. Neuroimmunol.* 73:57。通过扩展至肿瘤免疫,抗CTLA-4引起确立的肿瘤消退的能力提供CTLA-4阻断的治疗潜

力的生动实施例。Leach等人(1996) Science 271:1734。

[0008] 针对人类CTLA-4的人类抗体伊匹单抗及曲美木单抗(tremelimumab)经选择以抑制CTLA-4-B7相互作用(Keler等人(2003) J. Immunol. 171:6251; Ribas等人(2007) Oncologist 12:873)且已在多种恶性病的各种临床试验中进行测试。Hoos等人(2010) Semin. Oncol. 37:533; Ascierto等人(2011) J. Transl. Med. 9:196。伊匹单抗,其首先被核准用于治疗转移性黑色素瘤,此后已被核准用于其他癌症,且在还有其他癌症中正处于临床测试。Hoos等人(2010) Semin. Oncol. 37:533; Hodi等人(2010) N. Engl. J. Med. 363:711; Pardoll (2012) Nat. Immunol. 13 (12) :1129。在2011年,基于先前经治疗的患有晚期黑色素瘤的患者的III期试验中总存活的改良,伊匹单抗(其具有IgG1恒定区)在US及EU被核准用于治疗不可切除或转移性黑色素瘤。Hodi等人(2010) N. Engl. J. Med. 363:711。经常观测到肿瘤消退及疾病稳定,但用这些抗体治疗伴随着不良事件与能够影响各种器官系统的发炎浸润。利用伊匹单抗治疗的副作用的严重度及频率,其携带免疫介导的不良反应的警告,且当与纳武单抗(nivolumab) (OPDIVO<sup>®</sup>)组合时甚至达到更大程度,限制许多主治医师使用伊匹单抗。

[0009] 已开发出伊匹单抗的可活化的形式,其中轻链包含干扰结合至CTLA-4的掩蔽部分,但在通过在肿瘤中比在周边组织中更普遍和/或更具活性的蛋白酶裂解后优先释放于肿瘤微环境中。WO 18/085555。此种肿瘤特异性活化实现肿瘤微环境中的完全CTLA-4阻断活性,从而促进抗肿瘤免疫反应,同时最小化正常组织中的CTLA-4阻断,否则在正常组织中其可导致全身毒性。由此,可活化的形式结果为与初生亲本分子相比增加的治疗指数。

[0010] 尽管可活化的CTLA-4抗体的新颖作用机制提供治疗益处,但由于利用伊匹单抗的治疗中不存在的新颖药物动力学及药效学考虑,其在就给药及施用的方法方面提出挑战。已知的用于伊匹单抗的给药施用的方法可因此不适用于可活化的CTLA-4抗体的治疗。需要可活化的抗CTLA-4抗体(诸如可活化的伊匹单抗)的给药及施用的方法,所述方法最大化其治疗指数且优化对经活化的伊匹单抗的暴露。

## 发明内容

[0011] 本发明提供可活化的抗CTLA-4抗体的给药及施用的方法,其中该抗体作为单药疗法每四周一次(Q4W)或每八周一次(Q8W)施用。本发明进一步提供可活化的抗CTLA-4抗体与抗PD1或抗PD-L1抗体(诸如纳武单抗)的给药的组合的给药及施用的方法,其中该可活化的抗CTLA-4抗体每四周一次(Q4W)或每八周一次(Q8W)施用。

[0012] 在一些实施方案中,可活化的抗CTLA-4抗体为伊匹单抗的可活化的形式,诸如抗体,其包含包含SEQ ID NO:9的重链可变区序列的重链及包含选自SEQ ID NO:21、22及23组成的群的轻链可变区序列的轻链(“可活化的伊匹单抗”)。

[0013] 在各种实施方案中,可活化的抗CTLA-4抗体,诸如可活化的伊匹单抗,为作为单药疗法以240、800、1600或2400mg的均一剂量施用。在一个实施方案中,可活化的抗CTLA-4抗体以1600mg施用,且可视需要Q8W施用。

[0014] 在另外实施方案中,可活化的抗CTLA-4抗体与抗PD-1或抗PD-L1抗体(诸如纳武单抗)组合以240、600、800、1200或1600mg的均一剂量施用。在各种组合实施方案中,该抗PD-1或抗PD-L1抗体(诸如纳武单抗)以160、360或480mg的均一剂量施用。

[0015] 在一个组合疗法实施方案中,可活化的抗CTLA-4抗体以240mg的均一剂量施用及抗PD-1或抗PD-L1抗体以360mg的均一剂量施用,二者均为Q3W。在另一个实施方案中,施用前述组合疗法持续四个疗程,接着连续地以Q4W360mg纳武单抗维持治疗。

[0016] 在一个组合疗法实施方案中,可活化的抗CTLA-4抗体以800mg的均一剂量Q8W施用及抗PD-1或抗PD-L1抗体以480mg的均一剂量Q4W施用。在另一个组合疗法实施方案中,可活化的抗CTLA-4抗体以1200mg的均一剂量Q8W施用及抗PD-1或抗PD-L1抗体以480mg的均一剂量Q4W施用。在一个特定实施方案中,可活化的伊匹单抗以1200mg的均一剂量Q8W施用及纳武单抗以480mg的均一剂量Q4W施用。

[0017] 在另一个组合疗法实施方案中,可活化的抗CTLA-4抗体以600mg的均一剂量Q4W施用及抗PD-1或抗PD-L1抗体以480mg的均一剂量Q4W施用。在选定的组合疗法实施方案中,该可活化的抗CTLA-4抗体为可活化的伊匹单抗及该抗PD-1或抗PD-L1抗体为纳武单抗。在一个特定实施方案中,可活化的伊匹单抗以600mg的均一剂量Q4W施用及纳武单抗以480mg的均一剂量Q4W施用。

[0018] 在一些实施方案中,本发明的治疗性抗体的单位剂量以选自由小瓶、安瓿、预填充式注射器及自动注射器组成的群的形式经包装。

[0019] 在一些实施方案中,可活化的伊匹单抗如本文所用是指伊匹单抗的可活化的形式,其包含包含SEQ ID NO:9的重链可变区的重链及包含选自由SEQ ID NO:21、22及23组成的群的轻链可变区序列的轻链。可活化的伊匹单抗的轻链可变域可视需要进一步包含SEQ ID NO:16之间隔子且该轻链可包含SEQ ID NO:14的 $\kappa$ 恒定域,例如SEQ ID NO:24所提供之间隔子YV39-2011轻链。可活化的伊匹单抗的重链可进一步包含SEQ ID NO:10的IgG1恒定域,例如如在SEQ ID NO:11或12所提供的伊匹单抗重链中。可活化的伊匹单抗可包含包含SEQ ID NO:11或12的重链及包含SEQ ID NO:24的轻链。

[0020] 在各种实施方案中,抗PD1或抗PD-L1为包含SEQ ID NO:25或26的重链序列及SEQ ID NO:27的轻链序列的纳武单抗。

[0021] 本发明的给药及施用的方法可用于治疗多种疾病,诸如癌症,包括小细胞肺癌(SCLC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、结肠直肠癌(CRC)、肾细胞癌(RCC)、去势抗性前列腺癌(CRPC)、膀胱癌、胃癌、食道癌及黑色素瘤。在特定实施方案中,本发明的给药及施用的方法用于治疗核准伊匹单抗用于其的适应症,诸如不可切除或转移性黑色素瘤、或黑色素瘤的辅助治疗,或当与抗PD1或抗PD-L1抗体(诸如纳武单抗)组合施用时,晚期肾细胞癌(RCC)、微卫星(microsatellite)不稳定性高(MSI-H)或错误配对修补缺陷(dMMR)转移性结肠直肠癌、黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、恶性胸膜间皮瘤或肝细胞癌。在一个实施方案中,本发明的给药及施用的方法用于治疗先前未经治疗的不可切除的III至IV期黑色素瘤。

## 具体实施方式

[0022] 定义

[0023] 为了可更容易地理解本发明,首先定义某些术语。如本申请中所用,除非本文另有明确提供,否则以下术语中的各者应具有以下陈述的含义。在整篇申请中陈述另外定义。

[0024] “可活化的抗CTLA-4抗体”如本文所用是指阻断CTLA-4结合至B7配位体的拮抗剂抗CTLA-4抗体的经修饰形式,其包含抑制结合至CTLA-4直至通过在肿瘤微环境中更为普遍

和/或更具活性的蛋白酶裂解的结构修饰。“可活化的抗CTLA-4抗体”涵盖伊匹单抗的可活化的形式,诸如包含经修饰以包含掩蔽部分(masking moiety;MM)及可裂解部分(cleavable moiety;CM)的轻链的抗体,如WO 18/085555中所公开,例如可活化的伊匹单抗。

[0025] “可活化的伊匹单抗”如本文所用是指伊匹单抗的可活化的形式,其包含包含SEQ ID NO:9的重链可变区序列的重链及包含选自由SEQ ID NO:21、22及23组成的群的轻链可变区序列的轻链。可活化的伊匹单抗的轻链可变域可视需要进一步包含SEQ ID NO:16之间隔子且该轻链可包含SEQ ID NO:14的 $\kappa$ 恒定域,例如SEQ ID NO:24所提供之间隔子YV39-2011轻链。可活化的伊匹单抗的重链可进一步包含SEQ ID NO:10的IgG1恒定域,例如如在SEQ ID NO:11或12所提供的伊匹单抗重链中。可活化的伊匹单抗可包含包含SEQ ID NO:11或12的重链及包含SEQ ID NO:24的轻链。

[0026] “佐剂”如本文所用是指与疫苗结合施用给个体,与在无佐剂下施用疫苗所致的免疫反应相比增强对疫苗的免疫反应的剂。佐剂亦可指在手术移除肿瘤后使用的剂以降低疾病复发风险,诸如在手术移除黑色素瘤后使用伊匹单抗或可活化的伊匹单抗。

[0027] “施用(Administering)”、“施用(administer)”或“施用(administration)”是指使用本领域技术人员已知的各种方法及递送系统中的任何者,将包含治疗剂的组合物以物理性方式引入至个体。本发明抗体的优选施用途径包括静脉内、腹膜内、肌肉内、皮下、脊柱或其他非经肠施用途径,例如通过注射或输注。词组“非经肠施用”如本文所用意指除经肠及局部施用之外的施用模式,通常通过注射,且包括但不限于静脉内、腹膜内、肌肉内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心脏内、皮内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外及胸骨内注射及输注以及体内电穿孔。或者,本发明的抗体可经由非注射途径,诸如局部、表皮或黏膜施用途径,例如经鼻内、经口、经阴道、经直肠、经舌下或局部施用。施用亦可执行例如一次、复数次和/或历时一个或多个延长的时段。

[0028] 除非另有说明,否则用于治疗癌症的抗体的施用为非经肠,诸如静脉内(iv)或皮下(sc)。本发明的给药及施用的方法可进行任意数目的治疗周期,自一个、两个、三个、四个周期等直至连续治疗(重复给药直至不再需要、疾病复发或达到不可接受的毒性)。出于本发明的组合疗法实施方案的目的,一个周期包括最小施用单位,其包含至少一个剂量的每种组分(药物)。

[0029] “初始剂量”或“初始给药”如本文所用是指对利用该方案的患者的首次给药、及该相同给药方案的任何后续重复(诸如第二、第三及第四周期等),且与“维持剂量”或“维持给药”相反,其是指在一个或多个初始剂量后在更长时期(例如长于三个月上至数年或甚至无限期)内施用之后续剂量。维持给药可视需要包括比初始剂量更小频率的给药和/或更低的剂量。除非另有说明,否则本文公开且主张的给药方案构成初始剂量及初始给药。

[0030] “组合疗法”如本文所用是指在协调治疗计划中施用两种或更多种治疗剂,其中该组合的第一组分的剂量及给药时间间隔为基于第二组分的剂量及给药时间间隔,以引起整体治疗益处。其不限于施用的任何特定细节,且涵盖呈所述组分的混合物的施用、呈单独组合物的施用,无论是在给定日同时或依序。尽管当给药时程表相同或为彼此的倍数(例如Q4W及Q8W)时组合疗法最方便,但其亦涵盖若任何给定周期的给药时间间隔不一致,在不同日的施用。

[0031] “抗体”(Ab)应包括但不限于特异性结合至抗原的糖蛋白免疫球蛋白且包含经二硫键互连的至少两条重链(HC)及两条轻链(LC)。各重链包含重链可变区(本文缩写为 $V_H$ )及重链恒定区。重链恒定区包含三个域 $C_{H1}$ 、 $C_{H2}$ 及 $C_{H3}$ 。各轻链包含轻链可变区(本文缩写为 $V_L$ )及轻链恒定区。轻链恒定区由一个域 $C_L$ 组成。该 $V_H$ 及 $V_L$ 区可进一步细分为称为互补决定区(CDR)的高变区,其间散布着更加保守的称为框架区(FR)的区域。各 $V_H$ 及 $V_L$ 由自氨基端至羧基端按以下顺序排列的三个CDR及四个FR组成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链及轻链的可变区包含与抗原相互作用的结合域。

[0032] 如本文所用,且根据常规解释,经描述为包含“一”重链和/或“一”轻链的抗体是指包含所引述重链和/或轻链中的“至少一者”的抗体,且因此将涵盖具有两条或更多条重链和/或轻链的抗体。具体而言,如此描述的抗体将涵盖具有两条实质上相同的重链及两条实质上相同的轻链的常规抗体。抗体链可实质上相同但若其由于翻译后修饰(诸如赖氨酸残基的C端裂解、替代糖基化模式等)而不同则不完全相同。然而,聚糖内岩藻糖基化不同的抗体并不实质上相同。

[0033] 如本文所用,抗体轻链的“轻链可变域”包含轻链框架区(FR)及CDR序列,诸如FR1-CDRL1-FR2-CDRL2-FR3-CDRL3-FR4,诸如SEQ ID NO:13所提供的伊匹单抗的轻链可变域。当提及可活化的抗CTLA-4抗体使用时,“轻链可变域”可进一步包含掩蔽部分、可裂解部分及视需要的如本文所公开的其他序列组件。

[0034] 除非另有说明或从上下文明确,否则由其靶特异性定义的抗体(例如“抗CTLA-4抗体”)是指可结合至其人类标靶(亦即人类CTLA-4)的抗体。此种抗体可或可不结合至来自其他物种的CTLA-4。

[0035] 免疫球蛋白可源自任何通常已知的同型物,包括但不限于IgA、分泌型IgA、IgG及IgM。在某些物种中,IgG同型物可分为亚类:人类中的IgG1、IgG2、IgG3及IgG4、及小鼠中的IgG1、IgG2a、IgG2b及IgG3。“同型物”是指由重链恒定区基因编码的抗体类别(例如IgM或IgG1)。“抗体”包括例如天然存在的抗体及非天然存在的抗体,包括同种异型变体;单克隆抗体及多克隆抗体;嵌合抗体及人源化抗体;人类抗体或非人类抗体;完全合成抗体;及单链抗体。除非另有说明或从上下文明确,否则本文公开的抗体为人类IgG1抗体。IgG1恒定域序列包括但不限于已知IgG1同种异型变体。序列列表中的序列当然包含所提供的序列而不是任何其他序列。

[0036] “经分离的抗体”是指实质上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体(例如,特异性结合至CTLA-4的经分离的抗体实质上不含特异性结合至除CTLA-4之外的抗原的抗体)。然而,特异性结合至CTLA-4的经分离的抗体可与其他抗原交叉反应,诸如来自不同物种的CTLA-4分子。此外,经分离的抗体可实质上不含其他细胞材料和/或化学品。通过比较,“经分离的”核酸是指物质的核酸组成,其与存在于自然界中的核酸明显不同,亦即具有独特化学身份、性质及效用。例如,不同于天然DNA的经分离的DNA为天然DNA的独立部分,而不是在自然界中发现的更大结构复合体(染色体)的组成部分。此外,不同于天然DNA的经分离的DNA可用作PCR引物或杂交探针用于尤其测量基因表达及检测生物标志物基因或突变以诊断疾病或预测治疗剂的功效。亦可使用本领域熟知的标准技术纯化经分离的核酸以便实质上不含其他细胞组分或其他污染物,例如其他细胞核酸或蛋白质。

[0037] 术语“单克隆抗体”(“mAb”)是指单分子组成的抗体分子的制剂,亦即其一级序列

基本上相同,且其展现针对特定抗原决定基的单一结合特异性及亲和力的抗体分子。单克隆抗体可通过杂交瘤、重组体、转基因或本领域技术人员已知的其他技术来产生。

[0038] “人类”抗体 (HuMAb) 是指具有其中框架及CDR区二者均源自人类生殖系免疫球蛋白序列的可变区的抗体。此外,若抗体包含恒定区,则该恒定区亦源自人类生殖系免疫球蛋白序列。本发明的人类抗体可包含不是由人类生殖系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或定点诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。然而,术语“人类抗体”如本文所用非意在包括其中源自另一哺乳动物物种(诸如小鼠)的生殖系的CDR序列已接枝至人类框架序列上的抗体。术语“人类”抗体及“完全人类”抗体为同义使用。

[0039] “抗体片段”是指完整抗体的一部分,一般包括完整抗体的“抗原结合部分”(“抗原结合片段”),其保留特异性结合至完整抗体所结合的抗原的能力且亦保留介导FcR结合能力的抗体的Fc区。

[0040] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”(“ADCC”)是指体外或体内细胞介导的反应,其中表达FcR的非特异性细胞毒性细胞(例如,自然杀手(NK)细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞及嗜酸性粒细胞)识别结合至靶细胞上的表面抗原的抗体且于随后导致靶细胞的裂解。原则上,具有活化FcR的任何效应细胞可经触发以介导ADCC。

[0041] “癌症”是指以身体内异常细胞的不受控制生长为特征的各种各样的疾病。不受调节的细胞分裂及生长分裂及生长导致形成会侵入邻近组织且亦可透过淋巴系统或血流转移至身体的远侧部分的恶性肿瘤或细胞。

[0042] “细胞表面受体”是指能够接收信号且跨细胞的质膜传递此种信号的分子及分子的复合体。

[0043] “效应功能”是指抗体Fc区与Fc受体或配位体的相互作用、或由其产生的生物化学事件。示例性“效应功能”包括Clq结合、补体依赖性细胞毒性(CDC)、Fc受体结合、Fc $\gamma$ R介导的效应功能,诸如ADCC及抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)、及细胞表面受体(例如,B细胞受体;BCR)的下调。此种效应功能一般需要将Fc区与结合域(例如,抗体可变域)组合。

[0044] “免疫反应”是指脊椎动物内针对外来的剂的生物反应,该反应保护生物体免受这些剂及由其引起的疾病的影响。免疫反应为由免疫系统的细胞(例如,T淋巴细胞、B淋巴细胞、自然杀手(NK)细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、树突细胞或嗜中性粒细胞)及由任何这些细胞或肝脏产生的可溶性大分子(包括抗体、细胞因子及补体)的作用介导,其导致选择性靶向侵入病原体的脊椎动物身体、感染病原体的细胞或组织、癌细胞或其他异常细胞、或(在自体免疫或病理性发炎的情况下)正常人类细胞或组织;结合至其等;损坏其等;破坏其等和/或自其等消除。

[0045] “免疫调节剂(immunomodulator)”或“免疫调节剂(immunoregulator)”是指可参与调节(modulating)、调节(regulating)或改变免疫反应的信号传导路径的组分。“调节(Modulating)”、“调节(regulating)”或“改变”免疫反应是指免疫系统的细胞或此种细胞的活性的任何改动。此种调节包括免疫系统的刺激或抑制,其可表达为各种细胞类型的数目的增加或减少、这些细胞的活性的增加或减少、或可在免疫系统内发生的任何其他变化。已识别出抑制性及刺激性免疫调节剂,其中一些可在肿瘤微环境中具有增强的功能。在所公开的发明的优选实施方案中,免疫调节剂位于T细胞的表面上。“免疫调节靶(immunomodulatory target/immunoregulatory target)”为免疫调节剂所靶向用于通过

物质、剂、部分、化合物或分子的结合且其活性因物质、剂、部分、化合物或分子的结合而改变。免疫调节靶包括例如细胞的表面上的受体(“免疫调节受体”)及受体配位体(“免疫调节配位体”)。

[0046] “免疫疗法”是指通过包括诱导、增强、抑制或以其他方式改变免疫反应的方法来治疗罹患疾病或处于感染或罹患疾病复发风险中的个体。

[0047] “增强内源性免疫反应”意指增加个体中现有免疫反应的有效性或效力。可例如通过抑制内源宿主免疫反应的克服机制或通过增强内源宿主免疫反应的刺激机制来达成此种有效性及效力的增加。

[0048] “蛋白质”是指包含至少两个连续连接的氨基酸残基的链,其中对链的长度没有上限。蛋白质中的一个或多个氨基酸残基可包含修饰,诸如但不限于糖基化、磷酸化或二硫键形成。术语“蛋白质”在本文中与“多肽”可互换使用。

[0049] “个体”包括任何人类或非人类动物。术语“非人类动物”包括但不限于脊椎动物,诸如非人类灵长类动物、绵羊、狗、兔、啮齿动物(诸如小鼠、大鼠及天竺鼠)、禽类物种(诸如鸡)、两栖动物及爬行动物。在优选实施方案中,个体为哺乳动物,诸如非人类灵长类动物、绵羊、狗、猫、兔、雪貂或啮齿动物。在所公开的发明的任何方面的更优选实施方案中,个体为人类。除非另有说明,否则本文所指的个体为人类。术语“个体”及“患者”在本文中可互换使用。

[0050] 药物或治疗剂(诸如本发明的Fc融合蛋白)的“治疗有效量”或“治疗有效剂量”为药物当单独或与另一种治疗剂组合使用时可促进疾病消退的任何量,疾病消退通过以下证明:疾病症状的严重度降低,增加疾病无症状期的频率及持续时间,或预防因疾病病痛所引起的受损或失能。药物的治疗有效量或剂量包括“预防有效量”或“预防有效剂量”,其为药物当单独或与另一种治疗剂组合施用给处于发展出疾病风险或罹患疾病的复发风险中的个体时抑制疾病的发展或复发的任何量。治疗剂促进疾病消退或抑制疾病的发展或复发的能力可使用本领域技术人员已知的多种方法来评估,诸如在临床试验期间在人类受试者中,在预测人类中功效的动物模型系统中,或通过在外体检定中测定该剂的活性。

[0051] 举例而言,抗癌剂促进个体的癌症消退。在优选实施方案中,治疗有效量的药物促进癌症消退至消除癌症的点。“促进癌症消退”意指单独或与抗肿瘤剂组合施用有效量的药物导致肿瘤生长或大小减少,肿瘤坏死,至少一种疾病症状的严重度降低,增加疾病无症状期的频率及持续时间,预防因疾病病痛所引起的受损或失能,或以其他方式改善患者的疾病症状。此外,关于治疗的术语“有效”及“有效性”包括药理学有效性及生理安全性。药理学有效性是指药物促进患者的癌症消退的能力。生理安全性是指由于药物的施用所致的毒性的程度、或在细胞、器官和/或生物体层级上的其他不良生理效应(不良效应)。

[0052] 举治疗肿瘤的例子而言,相对于未经治疗的个体,药物的治疗有效量或剂量优选抑制细胞生长或肿瘤生长至少约20%,更优选至少约40%,甚至更优选至少约60%,且又更优选至少约80%。在最佳实施方案中,药物的治疗有效量或剂量完全抑制细胞生长或肿瘤生长,亦即优选抑制细胞生长或肿瘤生长100%。化合物抑制肿瘤生长的能力可在动物模型系统中进行评估,诸如CT26结肠腺癌、MC38结肠腺癌及Sa1N纤维肉瘤小鼠肿瘤模型,所述模型预测在人类肿瘤中的功效。或者,组合物的此种性质可通过检查化合物抑制细胞生长的能力来评估,此种抑制可通过本领域技术人员已知的检定来体外测量。在本发明的其他优

选实施方案中,可观测到肿瘤消退且持续至少约20天、更优选至少约40天或甚至更优选至少约60天的时间。

[0053] 个体的“治疗”或“疗法”是指以逆转、缓解、改善、抑制、减缓或预防与疾病相关的症状、并发症、病状或生化指标的发作、进展、发展、严重度或复发为目标对个体进行或施用活性剂至个体的任何类型的干预或过程。

[0054] 可活化的抗CTLA-4抗体的给药及施用

[0055] 唯一经核准的抗CTLA-4抗体伊匹单抗(YERVOY<sup>®</sup>)当以3mg/kg (转移性黑色素瘤)或10mg/kg (辅助黑色素瘤)施用时在高达25%的转移性黑色素瘤患者中提供长期生存,但治疗往往伴随着毒性。偏好通过肿瘤相关蛋白酶活化的可活化的抗体在给定剂量下降低周边毒性中具有前景性,从而对于任何给定的毒性程度允许更高(且因此可能更有效)剂量、或该二者的一些中间折衷(tread-off)。已提出可活化的伊匹单抗作为靶向CTLA-4路径相比伊匹单抗的改良、更安全的方式,已知伊匹单抗导致在较高剂量下限制副作用。WO 18/085555。本文所提供的给药及施用的方法为对于自可活化的抗体方法获得最大益处及最大化治疗指数是必要的。肿瘤可活化的抗CTLA-4抗体治疗的新颖作用机制意指不存在可仰赖的先前给药数据及经验。

[0056] 本发明部分基于可活化的伊匹单抗的早期人类临床试验的结果。肿瘤活组织检查的分析证实,如所预期,与血浆相比,可活化的伊匹单抗在TME内优先转化为经单-及双-裂解形式。此种优先裂解导致提高的安全性,因为对于肿瘤内抗CTLA-4活性的任何给定水平,周边抗CTLA-4活性(经裂解的物质)较低。

[0057] 此外,基于经可活化的伊匹单抗治疗的个体的活组织检查的基因表达研究显示,先前利用伊匹单抗所见的结果的相同模式,这表明可活化的伊匹单抗的效应通过与伊匹单抗相同的抗CTLA-4活性介导,与预期的作用机制一致。显示来自利用可活化的伊匹单抗的治疗的临床益处(标靶病灶缩小)的个体在其第一个治疗周期的第15天展现与治疗前的表达相比升高的一组发炎基因的表达。相比之下,具有稳定疾病(标靶病灶生长<20%,但没有缩小)的个体或那些没有显示临床益处(标靶病灶生长>20%)者均没有展现发炎基因的此种升高的表达。在伊匹单抗的临床试验中观测到相同模式。

[0058] 此外,可活化的伊匹单抗的给药研究令人意外地显示,可活化的伊匹单抗的Q8W给药优于Q4W给药。第一周期的PK研究显示,以1600mg Q8W治疗的个体展现与经1600mg Q4W治疗的个体相当的经单-及双裂解的物质的C<sub>max</sub>暴露。经1600mg Q8W治疗的个体亦显示与那些经800mg Q4W治疗者相比约两倍的经单-及双裂解的物质的暴露。亦发现,Q8W比利用相同量的药物Q4W的给药更安全。与经800mg Q4W治疗的个体相比,经1600mg Q8W施用的个体的不良事件的频率较低。这些结果一起表明,可活化的伊匹单抗的Q8W给药优于Q4W给药,其为给定量的所施用药物提供增强的暴露,且副作用显著降低。此种改良的概况可部分归因于经活化的化合物的暴露的动力学,因为活性药物为自亲本化合物连续产生且因此具有更长表观半衰期。

[0059] 尽管如此,可活化的伊匹单抗与抗PD-1或抗PD-L1抗体(诸如纳武单抗)的Q4W给药仍旧是可行的替代组合疗法给药时程表。此种Q4W给药将此种组合物疗法方案与与纳武单抗(OPDIVO<sup>®</sup>)单药疗法使用的Q2W或Q4W给药时程表对齐,且因此比现有经核准的针对

**YERVOY®**及**OPDIVO®**的Q3W组合疗法方案更方便且更廉价。**OPDIVO®**处方信息，2020年3月更新。

[0060] 用于治疗癌症的治疗性抗体通常以约为抗体在人类受试者中的半衰期(对于IgG, 该半衰期为约21天)的时间间隔施用。目前经核准的用于治疗癌症的单克隆抗体通常为每一周(QW)、两周(Q2W)、三周(Q3W)或四周(Q4W)给药,其中Q2W及Q3W最为常见。Hendrikx等人(2017) *Oncologist* 22:1212, Ovacik与Lin(2018) *Clin. Transl. Sci.* 11:540。例如,用于治疗癌症的各种经核准的治疗性抗体为Q2W/Q4W(**OPDIVO®**);Q3W

(**KEYTRUDA®**; **YERVOY®**);Q2W/Q3W/Q4W(**TECENTRIQ®**)施用。**YERVOY®** (伊匹单抗)的半衰期为15.4天,且其经核准用于Q3W施用,尽管其亦Q12W施用用于在初始四次剂量Q3W后长期维持辅助黑色素瘤使用。**YERVOY**处方信息,2020年3月更新。约为抗体半衰期的给药时间间隔为合理的,因为其确保在药物含量显著下降之前补给,因此促进在稳定状态下的均匀循环药物含量(暴露)。

[0061] 可活化的伊匹单抗包含在常规二价IgG结构中的两条重链及两条轻链,尽管在轻链的氨基端处具有另外序列组件(包括MM及CM)。由于各CM可经独立裂解,故可活化的伊匹单抗可在相同时间以完整/未裂解、单裂解及双裂解形式全部存在。在无意受理论限制下,关于Q8W给药的惊人结果可为此三种不同抗体物质的复杂药物动力学的结果,其中经单-及双裂解的物质随着时间的推移通过蛋白酶裂解自完整可活化的伊匹单抗产生,同时在相同时间所有物质的含量随着其自身独特半衰期而衰减。在无意受理论限制下,Q8W给药可防止经单-及双-裂解(活性)物质在周边积聚,否则此可能发生(如以Q4W给药)且导致副作用。

[0062] 表1

[0063] 序列表总结

[0064]

SEQ ID NO.	描述
1	人类CTLA-4 (NP_005205.2)
2	人类CD28 (NP_006130.1)
3	伊匹单抗CDRH1
4	伊匹单抗CDRH2
5	伊匹单抗CDRH3
6	伊匹单抗CDRL1
7	伊匹单抗CDRL2
8	伊匹单抗CDRL3
9	伊匹单抗重链可变域
10	IgG1恒定域
11	缺乏C端K的伊匹单抗重链
12	伊匹单抗重链
13	伊匹单抗轻链可变域
14	κ恒定域
15	伊匹单抗轻链
16	间隔子QGQSGS
17	掩蔽部分YV39
18	可裂解部分2001
19	可裂解部分2011
20	可裂解部分2012

	21	YV39-2001 VL
	22	YV39-2011 VL
	23	YV39-2012 VL
[0065]	24	间隔子YV39-2011 LC
	25	缺乏C端K的纳武单抗重链
	26	纳武单抗重链
	27	纳武单抗轻链

[0066] 关于抗体序列,序列表提供成熟可变区及重链及轻链的序列,亦即所述序列不包含信号肽。

[0067] 等效物:

[0068] 本领域技术人员当知晓或能够仅使用例行实验来确定本文公开的特定实施方案的许多等效物。此种等效物意在由随附的权利要求书涵盖。

## 【序列表】

&lt;110&gt; 百时美施贵宝公司

&lt;120&gt; 可活化的抗CTLA-4抗体的给药及施用

&lt;130&gt; 13580-W0-PCT

&lt;150&gt; 63/023850

&lt;151&gt; 2020-05-12

&lt;160&gt; 27

&lt;170&gt; PatentIn version 3.5

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 223

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 1

```

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

```

195	200	205
Pro Glu Cys Glu Lys Gln Phe	Gln Pro Tyr Phe Ile	Pro Ile Asn
210	215	220
<210> 2		
<211> 220		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 2		
Met Leu Arg Leu Leu Leu Ala Leu Asn Leu Phe Pro Ser Ile Gln Val		
1	5	10
Thr Gly Asn Lys Ile Leu Val Lys Gln Ser Pro Met Leu Val Ala Tyr		
	20	30
Asp Asn Ala Val Asn Leu Ser Cys Lys Tyr Ser Tyr Asn Leu Phe Ser		
	35	45
Arg Glu Phe Arg Ala Ser Leu His Lys Gly Leu Asp Ser Ala Val Glu		
	50	60
Val Cys Val Val Tyr Gly Asn Tyr Ser Gln Gln Leu Gln Val Tyr Ser		
65	70	80
Lys Thr Gly Phe Asn Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr		
	85	95
Phe Tyr Leu Gln Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys		
	100	110
Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser		
	115	125
Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro		
	130	140
Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly		
145	150	160
Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile		
	165	175
Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met		
	180	190
Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro		
	195	205
Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser		
	210	220
<210> 3		
<211> 5		
<212> PRT		

<213> 人造序列

<220>

<223> 伊匹单抗的CDR1 HC

<400> 3

Ser Tyr Thr Met His

1                    5

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 伊匹单抗的CDR2 HC

<400> 4

Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1                    5                    10                    15

Gly

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 伊匹单抗的CDR3 HC

<400> 5

Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr

1                    5

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 伊匹单抗的CDR1 LC

<400> 6

Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Ser Tyr Leu Ala

1                    5                    10

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 伊匹单抗的CDR2 LC

<400> 7

Gly Ala Phe Ser Arg Ala Thr

1                   5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 伊匹单抗的CDR3 LC

<400> 8

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr

1                   5

<210> 9

<211> 118

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 伊匹单抗-VH

<400> 9

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

1                   5                   10                   15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20                   25                   30

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

35                   40                   45

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

50                   55                   60

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

65                   70                   75                   80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85                   90                   95

Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100                   105                   110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 10

<211> 329

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 人类IgG1恒定HC

<400> 10

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
Arg	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															
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															
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
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
325		
<210> 11		
<211> 447		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 11		
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr		
20	25	30
Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Thr Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
145	150	155
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
195	200	205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		





Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
 355 360 365  
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
 370 375 380  
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 385 390 395 400  
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
 405 410 415  
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
 420 425 430  
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 13

<211> 108

<212> PRT

<213> 智人

<400> 13

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

<210> 14

<211> 107

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 人类κ恒定LC

<400> 14

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu



	165		170		175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val					
	180		185		190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys					
	195		200		205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys					
	210		215		
<210> 16					
<211> 6					
<212> PRT					
<213> 人造序列					
<220>					
<223> 间隔子					
<400> 16					
Gln Gly Gln Ser Gly Ser					
1		5			
<210> 17					
<211> 13					
<212> PRT					
<213> 人造序列					
<220>					
<223> 掩蔽部分——YV39					
<400> 17					
Cys Arg Thr Gln Leu Tyr Gly Tyr Asn Leu Cys Pro Tyr					
1		5		10	
<210> 18					
<211> 13					
<212> PRT					
<213> 人造序列					
<220>					
<223> 可裂解部分 ——2001					
<400> 18					
Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His					
1		5		10	
<210> 19					
<211> 13					
<212> PRT					
<213> 人造序列					
<220>					

<223> 可裂解部分——2011

<400> 19

Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn Pro  
1                   5                   10

<210> 20

<211> 13

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 可裂解部分——2012

<400> 20

Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro  
1                   5                   10

<210> 21

<211> 146

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> YV39-2001 VL

<400> 21

Cys Arg Thr Gln Leu Tyr Gly Tyr Asn Leu Cys Pro Tyr Gly Gly Gly  
1                   5                   10                   15

Ser Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp  
                  20                   25                   30

Asn His Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr  
                  35                   40                   45

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser  
                  50                   55                   60

Gln Ser Val Gly Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly  
65                   70                   75                   80

Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Phe Ser Arg Ala Thr Gly  
                  85                   90                   95

Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu  
                  100                   105                   110

Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln  
                  115                   120                   125

Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu  
                  130                   135                   140

Ile Lys

145

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 146

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; YV39-2011 VL

&lt;400&gt; 22

Cys Arg Thr Gln Leu Tyr Gly Tyr Asn Leu Cys Pro Tyr Gly Gly Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp  
                   20                    25                    30  
 Asn Pro Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr  
                   35                    40                    45  
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser  
                   50                    55                    60  
 Gln Ser Val Gly Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly  
 65                    70                    75                    80  
 Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Phe Ser Arg Ala Thr Gly  
                   85                    90                    95  
 Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu  
                   100                    105                    110  
 Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln  
                   115                    120                    125  
 Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu  
                   130                    135                    140  
 Ile Lys

145

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 146

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人造序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; YV39-2012 VL

&lt;400&gt; 23

Cys Arg Thr Gln Leu Tyr Gly Tyr Asn Leu Cys Pro Tyr Gly Gly Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Ala  
                   20                    25                    30

Asn Pro Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr  
 35 40 45  
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser  
 50 55 60  
 Gln Ser Val Gly Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly  
 65 70 75 80  
 Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Phe Ser Arg Ala Thr Gly  
 85 90 95  
 Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu  
 100 105 110  
 Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln  
 115 120 125  
 Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu  
 130 135 140  
 Ile Lys  
 145  
 <210> 24  
 <211> 259  
 <212> PRT  
 <213> 人造序列  
 <220>  
 <223> 间隔子——YV39-2011 LC  
 <400> 24  
 Gln Gly Gln Ser Gly Ser Cys Arg Thr Gln Leu Tyr Gly Tyr Asn Leu  
 1 5 10 15  
 Cys Pro Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Leu  
 20 25 30  
 Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn Pro Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu  
 35 40 45  
 Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr  
 50 55 60  
 Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Ser Tyr Leu Ala Trp  
 65 70 75 80  
 Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala  
 85 90 95  
 Phe Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser  
 100 105 110  
 Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe  
 115 120 125

Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr Phe Gly  
 130 135 140  
 Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val  
 145 150 155 160  
 Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser  
 165 170 175  
 Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln  
 180 185 190  
 Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val  
 195 200 205  
 Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu  
 210 215 220  
 Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu  
 225 230 235 240  
 Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg  
 245 250 255  
 Gly Glu Cys  
 <210> 25  
 <211> 439  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 25  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
 100 105 110  
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser  
 115 120 125  
 Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp

130	135	140
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr		
145	150	155
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr		
	165	170
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys		
	180	185
Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp		
	195	200
Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala		
210	215	220
Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro		
225	230	235
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val		
	245	250
Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val		
	260	265
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		
275	280	285
Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln		
290	295	300
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly		
305	310	315
Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro		
	325	330
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr		
	340	345
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser		
	355	360
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr		
370	375	380
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr		
385	390	395
Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe		
	405	410
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys		
	420	425
Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly		430
435		

<210> 26  
 <211> 440  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 26  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1                   5                   10                   15  
 Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser  
                   20                   25                   30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                   40                   45  
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
                   50                   55                   60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe  
 65                   70                   75                   80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                   90                   95  
 Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
                   100                   105                   110  
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser  
                   115                   120                   125  
 Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp  
                   130                   135                   140  
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr  
 145                   150                   155                   160  
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr  
                   165                   170                   175  
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys  
                   180                   185                   190  
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp  
                   195                   200                   205  
 Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
                   210                   215                   220  
 Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 225                   230                   235                   240  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
                   245                   250                   255  
 Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val  
                   260                   265                   270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 275 280 285  
 Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 290 295 300  
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly  
 305 310 315 320  
 Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 325 330 335  
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr  
 340 345 350  
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 355 360 365  
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 370 375 380  
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 385 390 395 400  
 Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe  
 405 410 415  
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 420 425 430  
 Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 435 440  
 <210> 27  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 27  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln 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			