



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102574926 B

(45) 授权公告日 2014. 10. 15

(21) 申请号 201080033969. 9

(22) 申请日 2010. 07. 30

(30) 优先权数据

09009942. 5 2009. 07. 31 EP

61/230, 211 2009. 07. 31 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012. 01. 31

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2010/004663 2010. 07. 30

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/012309 EN 2011. 02. 03

(83) 生物保藏信息

DSM ACC2605 2003. 08. 14

DSM ACC2606 2003. 08. 14

DSM ACC2806 2006. 09. 15

DSM ACC2807 2006. 10. 05

DSM ACC2856 2007. 08. 08

DSM ACC2858 2007. 09. 07

(73) 专利权人 葛莱高托普有限公司

地址 德国柏林

(72) 发明人 S · 高尔兹 A · 丹尼尔奇克

R · 施塔恩 U · 卡斯滕

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专
利商标事务所 11038

代理人 罗菊华

(51) Int. Cl.

C07K 16/30 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 20060292643 A1, 2006. 12. 28, 全文.

Juan C. Almagro, Johan Fransson.

Humanization of antibodies. 《Frontiers in
Bioscience》. 2008, 第 13 卷 1619 — 1633.

审查员 刘婷

权利要求书2页 说明书36页

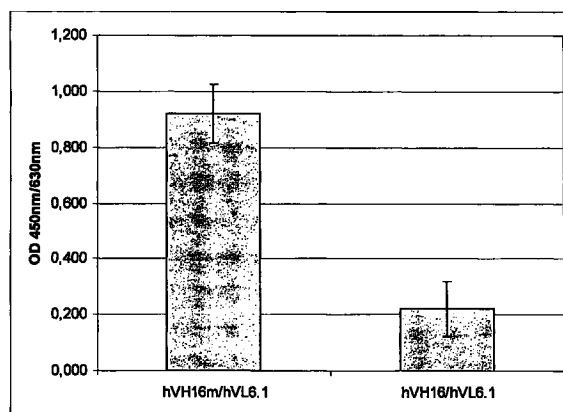
序列表26页 附图4页

(54) 发明名称

MUC1 抗体

(57) 摘要

本发明关于具有改进的抗原结合和 / 或识别特性的抗 mucin 抗体以及用于改进抗 mucin 抗体的抗原结合和 / 或识别的方法。特别地, 本发明涉及用于癌症的治疗的抗 MUC1 抗体。



1. 抗体或其片段或衍生物,其:
 - (a) 能够结合 mucin 蛋白,即包含氨基酸序列 PDTRP 的糖基化的 MUC1 肿瘤表位 ;和
 - (b) 包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区由 SEQ ID NO :16 的氨基酸序列组成,所述轻链可变区由 SEQ ID NO :28 的氨基酸序列组成 ;其中抗体的片段或衍生物选自由下述组成的组 :
 - (i) Fab 片段,其为由各重链和轻链的可变区及第一恒定结构域组成的单价片段 ;
 - (i i) F(ab)2 片段,其为由包含在铰链区通过二硫桥连接的两个 Fab 片段的二价片段 ;
 - (iii) Fv 片段,其由抗体单臂的重链和轻链可变区组成 ;
 - (i v) s cFv 片段,其为由单一多肽链组成的 Fv 片段 ;
 - (v) (Fv)₂ 片段,其由共价连接在一起的两个 Fv 片段组成 ;以及
 - (vi) 多体,其由以下述方式共价连接在一起的重链可变区和轻链可变区组成 :重链与轻链可变区的缔合仅可发生在分子间而不发生在分子内。
2. 根据权利要求 1 的抗体或其片段或衍生物,其相对其他抗体或其抗体片段或衍生物而言能够以较低的解离常数结合糖基化的 MUC1 肿瘤表位,其中所述的其他抗体或其抗体片段或衍生物与权利要求 1 所述抗体或其片段或衍生物相同,但不同之处在于其根据 Kabat 编号在第 28 位氨基酸处不包含脯氨酸残基。
3. 根据权利要求 1 的抗体或其片段或衍生物,其具有一个或多个下列特征 :
 - (a) 与其表位的特异性结合取决于所述表位的构象和 / 或糖基化模式 ;
 - (b) 其特异性结合经糖基化的 MUC1 肿瘤表位,从而使得与和相同长度及相同肽序列的非糖基化的肽的键相比,键的强度增加至少 20 倍 ;
 - (c) 其被工程化或被人源化 ;和 / 或
 - (d) 其显示与包含氨基酸序列 SEQ ID NO :29 作为重链可变区和 SEQ ID NO :30 作为轻链可变区的抗体 Pankomab 的交叉特异性。
4. 编码根据权利要求 1-3 中任一项的抗体或其片段或衍生物的核酸。
5. 包含根据权利要求 4 的核酸和与所述核酸可操作地连接的启动子的表达盒或载体。
6. 包含根据权利要求 4 的核酸或根据权利要求 5 的表达盒或载体的宿主细胞。
7. 包含根据权利要求 1-3 中任一项的抗体或其片段或衍生物、根据权利要求 4 的核酸、根据权利要求 5 的表达盒或载体或根据权利要求 6 的宿主细胞的组合物。
8. 根据权利要求 7 的组合物,其为药物组合物,还包含一种或多种选自下列的组分 :溶剂、稀释剂和赋形剂。
9. 根据权利要求 1-3 中任一项的抗体或其片段或衍生物在制备用于癌症的治疗、预后、诊断和 / 或监测的药物组合物中的用途。
10. 根据权利要求 9 的用途,其中所述癌症选自结肠癌、胃癌、肝癌、胰腺癌、肾癌、血癌、肺癌和卵巢癌。
11. 根据权利要求 1-3 中任一项的抗体或其片段或衍生物,其具有的糖基化模式具有一个或多个下列特征 :
 - (a) 其为人糖基化模式 ;
 - (b) 其提高抗体的活性,即,所述抗体与其特定表位的结合亲和力,所述抗体与一个或多个其下游受体的结合亲和力,其补体依赖性细胞毒性 (CDC),和 / 或其抗体依赖性细胞介

导的细胞毒性 (ADCC) ;和 / 或

(c) 其为如在选自下组的细胞系中表达抗体或其片段或衍生物时所获得的糖基化模式 :K562, KG1, MUTZ-3, NM-F9 [DSM ACC2606], NM-D4 [DSM ACC2605], NM-H9D8 [DSM ACC2806], NM-H9D8-E6 [DSM ACC2807], NM H9D8-E6Q12 [DSM ACC2856], 和 GT-2X [DSM ACC2858]。

MUC1 抗体

发明领域

[0001] 本发明属于抗体领域。特别地,提供了显示出改进的抗原结合和 / 或识别的改进的抗 mucin 抗体以及用于改进抗 mucin 抗体的抗原结合和 / 或识别的方法。在具体的实施方案中,本发明涉及改进的抗 -MUC1 抗体,其可用于癌症的治疗。

[0002] 发明背景

[0003] 如今,抗体是医药和研究领域中广泛使用的试剂。在医药中,它们在许多不同的领域中都有应用。例如,抗体被用作检测某些标志物的标记试剂,这允许疾病的诊断和 / 或预后或测定特定的身体参数(例如某些激素的存在或浓度)。

[0004] 此外,在各种疾病的治疗和预防中,抗体也被用作治疗剂,所述疾病为例如癌症、心血管疾病、炎性疾病、黄斑变性、移植排斥、多发性硬化和病毒感染。在这些治疗中,抗体可本身具有治疗活性,例如通过阻碍受体或信使分子、从而抑制它们的疾病相关的功能,或者通过募集和活化患者免疫系统的组分。备选地,抗体可与具有治疗活性的另一种试剂相偶联。特别是在癌症和感染的治疗中,所述其它的试剂具有细胞杀伤活性并且可以是例如放射性同位素或细胞毒素。在另一个应用中,可通过将合适的抗体转移到患者的循环系统中而将抗体用于被动免疫。

[0005] 通过将抗原注射到哺乳动物(例如小鼠、大鼠、兔子、山羊、绵羊或马)中而产生特异性的抗体。从这些动物分离的血液在血清中含有针对所述抗原的多克隆抗体。为了获得特异于抗原的单一表位的抗体,从动物中分离了分泌抗体的淋巴细胞并通过将它们与癌细胞系融合而使其永生化,产生杂交瘤细胞。然后通过进行稀释克隆来分离单个的杂交瘤细胞,以产生均产生相同的单克隆抗体的细胞克隆。

[0006] 然而,在治疗应用中这些单克隆抗体具有这样的问题:它们源自动物生物体并且在氨基酸序列方面区别于人抗体。因此,人免疫系统将这些动物抗体识别为外来的并将它们从循环中快速去除。此外,可引起全身性炎性效应。此问题的解决方案是用人的相应部分替换单克隆抗体的某些恒定部分。如果仅替换了重链和轻链恒定区,就获得了嵌合抗体,而进一步替换重链和轻链可变区的框架区产生了所谓的人源化抗体。

[0007] 在研究中,纯化的抗体用于许多应用中。它们最常用于鉴别和定位生物学分子,例如特别是蛋白质。生物学分子可在分离后被检测,例如用于确定它们的存在、浓度、完整性或大小。另一方面,它们可在细胞或组织样品中被检测,例如用于确定其存在或位置。此外,抗体被用于特定生物学物质(特别是蛋白质)的分离程序中,其中抗体将目的生物学物质从含有它的样品中特异性地分离。

[0008] 在所有这些应用中,对抗原的紧密结合和特异性识别对于所使用的抗体而言是至关重要的。由此获得了更高的活性和更少的交叉反应性,特别是在治疗应用中获得了更少的不良副作用。然而,在单克隆抗体的人源化过程中,通常降低了经工程化的抗体的亲和力和特异性。

[0009] 有趣且重要的抗体组是针对 mucin 蛋白的那些。Mucin 是脊椎动物中由许多上皮组织产生的高分子量、严重糖基化的蛋白家族。它们可被细分为膜结合的 mucin 蛋白(由

于存在有利于保留在质膜中的疏水性跨膜结构域)和被分泌到粘膜表面上或被分泌以成为唾液的组分的 mucin。人 mucin 蛋白家族由至少下列家族成员组成:MUC1, MUC2, MUC3A, MUC3B, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC6, MUC7, MUC8, MUC12, MUC13, MUC15, MUC16, MUC17, MUC19 和 MUC20;其中 MUC1, MUC3A(亚型 1), MUC3B 和 MUC4 是膜结合的。

[0010] 增加的 mucin 生产发生在许多腺癌中,包括胰腺癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠癌等。Mucin 也在肺疾病中过表达,所述肺疾病例如哮喘、支气管炎、慢性阻塞性肺疾病或囊性纤维化。关于两种膜 mucin(MUC1 和 MUC4)在疾病进程中的病理学意义,已对其进行了广泛研究。此外,还就 mucin 作为诊断标志物的潜在可能性对其进行研究。

[0011] 数种针对 mucin 蛋白(特别是 MUC1)的抗体是本领域中已知的。其中的一些已被批准用于医药应用。然而,如果能够提高它们的抗原亲和力和/或特异性,其应用仍可被改进。

[0012] 鉴于此,本领域中需要提供改进的抗 mucin 抗体,其优选具有提高的抗原结合和/或识别特性;还需要适合用于改进已知抗体(特别是治疗性 MUC1 抗体)的抗原结合和/或识别的方法。

[0013] 发明概述

[0014] 当前的发明者发现了如果根据 Kabat 编号,脯氨酸残基存在于抗体重链可变区的第 28 位,则针对 mucin 蛋白的抗体的抗原结合特性良好。

[0015] 因此,在第一个方面,本发明涉及能够结合 mucin 蛋白且包含重链可变区的至少一部分的抗体或者其片段或衍生物,所述重链可变区的至少一部分根据 Kabat 编号在第 28 位氨基酸包含脯氨酸残基。

[0016] 在第二个方面,本发明提供编码根据本发明的抗体或者其片段或衍生物的核酸。此外,在第三个方面提供了包含根据本发明的核酸以及与所述核酸可操作地连接的启动子的表达盒或载体,并且在第四个方面提供了包含根据本发明的核酸或表达盒或载体的宿主细胞。

[0017] 在第五个方面,本发明涉及包含根据本发明的抗体或者其片段或衍生物、根据本发明的核酸、根据本发明的表达盒或载体、或者根据本发明的宿主细胞的组合物。

[0018] 根据第六个方面,本发明提供了根据本发明的抗体或者其片段或衍生物、核酸、表达盒或载体、宿主细胞或组合物用于医药,特别是用于治疗、预后、诊断和/或监测癌症,其中所述癌症优选选自结肠癌、胃癌、肝癌、胰腺癌、肾癌、血癌、肺癌和卵巢癌。

[0019] 在第七个方面,本发明涉及用于改进能够结合 mucin 蛋白且包含重链可变区的抗体或其片段或衍生物的抗原结合和/或识别的方法,所述方法包括根据 Kabat 编号在重链可变区的第 28 位提供脯氨酸残基的步骤。

[0020] 在第八个方面,本发明涉及用于制备根据本发明的核酸的方法,所述方法包括下列步骤

[0021] (a) 提供包含编码能够结合 MUC1 且包含重链可变区的抗体或者其片段或衍生物的核酸序列的核酸,其中所述重链可变区根据 Kabat 编号在第 28 位氨基酸不包含脯氨酸残基;

[0022] (b) 根据 Kabat 编号,向编码重链可变区的第 28 位氨基酸的密码子中引入突变,从而所述密码子编码脯氨酸残基。

[0023] 从下文的描述和所附的权利要求,本发明的其它目的、特征、优势和方面对于本领域技术人员而言将变得显而易见。然而,应该理解,表明本申请的优选实施方案的下文的描述、所附的权利要求和具体实施例,仅是通过例举的方式给出。通过阅读下文,在所公开的发明的精神和范围内的各种改变和修饰对于本领域技术人员而言将变得非常显而易见。

[0024] 发明详述

[0025] 定义:

[0026] 如本文中所使用的,下面的表述通常意在优选地具有如下所示的含义,除非其所用于的上下文另有所指。

[0027] 如本文中所使用的,表述“包含”除了其字面含义之外,还包括并特别指表述“基本上由...组成”和“由...组成”。因此,表述“包含”指这样的实施方案,其中“包含”特别列出的元素的主题不包含其它的元素;表述“包含”还指这样的实施方案,其中“包含”特别列出的元素的主题可以和/或的确涵盖其它的元素。同样地,表述“具有”将被理解为表述“包含”,其也包括并特别指表述“基本上由...组成”和“由...组成”。

[0028] 术语“抗体”特别指蛋白,其包含通过二硫键连接的至少两条重链和两条轻链。术语“抗体”包括天然存在的抗体以及抗体的重组形式,例如在原核生物中表达的抗体、未糖基化的抗体、人源化的抗体和嵌合抗体。每条重链包含重链可变区(VH)和重链恒定区(CH)。每条轻链包含轻链可变区(VL)和轻链恒定区(CL)。重链恒定区包含三个或(在IgM型或IgE型抗体的情况下)四个重链恒定结构域(CH1, CH2, CH3和CH4),其中第一恒定结构域CH1邻近可变区并且可通过铰链区与第二恒定结构域CH2相连。轻链恒定区仅由一个恒定结构域组成。可变区还可被进一步细分为高变区(称为互补决定区(CDR)),其间散布有更为保守的区域(称为框架区(FR)),其中每个可变区包含三个CDR和四个FR。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可介导免疫球蛋白与宿主组织或因子(包括免疫系统的各种细胞(例如效应子细胞)和经典补系统的第一组分(C1q))的结合。然而,根据本发明的术语“抗体”也包括不常见的抗体,例如重链抗体(即仅由一个或多个(特别是两个)重链构成的抗体)和纳米抗体(即仅由单一的单体可变结构域构成的抗体)。

[0029] 为了表明重链和轻链可变区的氨基酸位置,在本申请中使用了Kabat编号系统(Kabat, E. A. 等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edition, NIH Publication No. 91-3242)。根据所述系统,重链包含0位至113位的氨基酸位置,包括位置35A、35B、52A至52C,82A至82C和100A至100K。根据Kabat编号,重链可变区的CDR位于位置31至35B(CDR1)、50至65(CDR2)和95至102(CDR3)。剩余的氨基酸位置形成框架区FR1至FR4。轻链可变区包含位置0至109,包括位置27A至27F、95A至95F和106A。CDR位于位置24至34(CDR1)、50至56(CDR2)和89至97(CDR3)。取决于抗体的特定基因的起初形成,在给定的重链可变区或轻链可变区中不是必须存在所有这些位置。当在本文中提及重链或轻链可变区中的氨基酸位置时,除非另有所指,其是指根据Kabat编号的位置。

[0030] 抗体的“片段或衍生物”特别是这样的蛋白或糖蛋白,其衍生自所述抗体并且能够作为抗体结合相同的抗原,特别是结合相同的表位。因此,在本文中抗体的片段或衍生物通常是指有功能的片段或衍生物。在特别优选的实施方案中,抗体的片段或衍生物包含重链

可变区。已显示,抗体的抗原结合功能可通过全长抗体的片段或其衍生物实行。抗体的片段或衍生物的实例包括 (i) Fab 片段,其为由各重链和轻链的可变区及第一恒定结构域组成的单价片段;(ii) F(ab)₂ 片段,其为由包含在铰链区通过二硫桥连接的两个 Fab 片段的二价片段;(iii) Fd 片段,其由重链的可变区和第一恒定结构域 CH1 组成;(iv) Fv 片段,其由抗体单臂的重链和轻链可变区组成;(v) scFv 片段,其为由单一多肽链组成的 Fv 片段;(vi) (Fv)₂ 片段,其由共价连接在一起的两个 Fv 片段组成;(vii) 重链可变结构域;以及 (viii) 多体,其由以下述方式共价连接在一起的重链可变区和轻链可变区组成:重链与轻链可变区的缔合仅可发生在分子间而不发生在分子内。这些抗体片段和衍生物是使用本领域技术人员已知的常规技术获得的。

[0031] 例如,如果靶氨基酸序列在其全长中与参考氨基酸序列的相应部分享有至少 60%,优选至少 70%,至少 75%,更优选至少 80%,至少 85%,至少 90%,至少 93%,至少 95%或至少 97%的同源性或同一性,则靶氨基酸序列“衍生自”参考氨基酸序列。例如,如果人源化抗体的框架区衍生自特定的人抗体的可变区,则所述人源化抗体的框架区的氨基酸在其全长上与人抗体的相应框架区享有至少 60%,优选至少 70%,至少 75%,更优选至少 80%,至少 85%,至少 90%,至少 93%,至少 95%或至少 97%的同源性或同一性。“相应部分”或“相应框架区”是指,例如,靶抗体重链可变区的框架区 1(FRH1) 相应于参考抗体重链可变区的框架区 1。这同样适用于例如,FRH2,FRH3,FRH4,FRL1,FRL2,FRL3 和 FRL4。在特定的实施方案中,“衍生自”参考氨基酸序列的靶氨基酸序列在其全长上与参考氨基酸序列的相应部分 100%同源或特别是 100%同一。

[0032] “特异性结合”优选是指试剂(例如抗体)对于其所特异于的靶标(例如表位)的结合比与另一靶标的结合更强。如果试剂与第一靶标的结合所具有的解离常数(K_d)低于与第二靶标结合的解离常数,则所述试剂与第一靶标的结合比与第二靶标的结合更强。优选地,与对于试剂所非特异性结合的靶标的解离常数相比,对于试剂所特异性结合的靶标的解离常数为多于 2 倍,优选多于 5 倍,更优选多于 10 倍,甚至更优选多于 20 倍,50 倍,100 倍,200 倍,500 倍或 1000 倍更低。

[0033] 如本文中所使用的,术语“蛋白”是指氨基酸的分子链或多于一个氨基酸链的复合物。蛋白可含有任何天然存在的氨基酸以及人工氨基酸,并且可以是生物学或合成来源的。蛋白可以通过例如糖基化、酰胺化、羧化和/或磷酸化作用而经修饰(天然地(翻译后修饰)或合成地)。蛋白包含至少两个氨基酸,但是不必为任何特定的长度;此术语不包括任何大小限制。在本申请中,术语“蛋白”、“多肽”和“肽”可互换地使用。优选地,蛋白包含至少 10 个氨基酸,优选至少 50 个氨基酸,至少 100 个氨基酸且最优选至少 100 个氨基酸。

[0034] 术语“核酸”包括单链和双链核酸和核糖核酸以及脱氧核糖核酸。其可包含天然存在的以及合成的核苷酸,并且可以是经天然或合成地修饰的,例如通过甲基化作用,5'-和/或 3'-加帽。

[0035] 术语“缀合物”特别指连接在一起的两种或更多种化合物,从而每种化合物的至少一些性质保留在缀合物中。可通过共价键或非共价键实现连接。优选地,缀合物的化合物是通过共价键连接的。缀合物的不同化合物可通过化合物的原子之间的一个或多个共价键彼此直接结合。备选地,化合物可通过连接子分子彼此结合,其中所述连接子与化合物的原子共价连接。如果缀合物由多于两种化合物构成,那么这些化合物可例如以链构象被连接,

其中一个化合物连接至下一个化合物,或者数个化合物各可与一个中央化合物连接。

[0036] 术语“表达盒”特别指核酸构建体,其能够使其中所引入的编码核酸序列能够表达并且能够调控其表达。表达盒可包含启动子、核糖体结合位点、增强子和其它调控基因的转录或 mRNA 的翻译的控制元件。表达盒的确切结构可根据物种或细胞类型而变化,但是通常包含 5' - 未转录序列以及 5' - 和 3' - 未翻译序列,其分别参与转录和翻译的起始,例如 TATA 盒、加帽序列、CAAT 序列等。更特别地,5' - 未转录表达控制序列包含启动子区域,其包括用于转录控制可操作地连接的核酸的启动子序列。表达盒还可包含增强子序列或上游激活子序列。

[0037] 根据本发明,术语“启动子”指位于待表达的核酸序列上游(5')并通过提供 RNA 聚合酶的识别和结合位点而控制所述序列的表达的核酸序列。“启动子”可包括用于参与调控基因转录的其它因子的其它识别和结合位点。启动子可控制原核或真核基因的转录。此外,启动子可以是“可诱导的”(即响应于诱导剂而起始转录),或者可以是“组成型的”(如果转录不是由诱导剂控制的)。如果不存在诱导剂,则在诱导性启动子控制之下的基因不表达或仅少量表达。存在诱导剂时,基因被开启或者转录的水平增加。通常,这是由特定转录因子的结合介导的。

[0038] 术语“载体”以其最通常的含义用于本文并且包括任何用于核酸的中介性媒介,其使得所述核酸能够例如被引入原核和/或真核细胞,且(合适的时候)被整合到基因组中。此类载体优选在细胞中被复制和/或表达。载体包括质粒、噬菌粒、噬菌体或病毒基因组。如本文中所使用的,术语“质粒”通常涉及染色体外遗传物质的构建体,通常为环形的 DNA 双链体,其可独立于染色体 DNA 而复制。

[0039] 根据本发明,术语“宿主细胞”指可以外源核酸被转化或转染的任何细胞。根据本发明的术语“宿主细胞”包括原核(例如大肠杆菌)或真核细胞(例如哺乳动物细胞,特别是人类细胞、酵母细胞和昆虫细胞)。特别优选的是哺乳动物细胞,例如来自人、小鼠、仓鼠、猪、山羊或灵长类动物的细胞。细胞可源自多个组织类型并且包括原代细胞和细胞系。核酸可以单一拷贝或者两个或更多个拷贝的形式存在于宿主细胞中,并且在一个实施方案中,其在宿主细胞中表达。

[0040] 根据本发明的术语“患者”是指人类、非人灵长类动物或另一种动物,特别是哺乳动物(例如母牛、马、猪、绵羊、山羊、狗、猫或啮齿类动物(例如小鼠和大鼠))。在特别优选的实施方案中,患者是人类。

[0041] 根据本发明的术语“癌症”特别包括白血病、精原细胞瘤、黑素瘤、畸胎瘤、淋巴瘤、神经母细胞瘤、神经胶质瘤、直肠癌、子宫内膜癌、肾癌、肾上腺癌、甲状腺癌、血癌、皮肤癌、脑癌、宫颈癌、肠癌、肝癌、结肠癌、胃癌、肠癌、头颈癌、胃肠癌、淋巴结癌、食道癌、结肠直肠癌、胰腺癌、耳鼻喉(ENT)癌、乳腺癌、前列腺癌、子宫癌、卵巢癌和肺癌以及它们的转移。其实例是肺癌、乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、肾细胞癌、宫颈癌、或上述癌症类型或肿瘤的转移。根据本发明的术语癌症也包括癌症转移。

[0042] “肿瘤”指通过失调的细胞增殖而形成的细胞组或组织。肿瘤可显示部分或完全缺乏结构组织和与正常组织的功能性协调,并且通常形成不同的组织团,其可以是良性的或恶性的。

[0043] “转移”是指癌细胞从其原始的位点到身体另一部分的散播。转移的形成是非常复

杂的过程并且通常涉及癌细胞从原发肿瘤脱离、进入身体的循环系统以及安顿下来以在身体其它地方的正常组织内生长。当肿瘤细胞转移时,新的肿瘤被称为继发性或转移性肿瘤,并且其细胞通常类似于原始肿瘤中的那些细胞。这表示,例如,如果乳腺癌转移到肺,继发性肿瘤是由异常的乳腺细胞、而非异常的肺细胞构成的。肺中的肿瘤就被称为转移的乳腺癌,而非肺癌。

[0044] 术语“药物组合物”特别是指适于向人或动物施用的组合物,即含有药学上可接受的组分的组合物。优选地,药物组合物包含活性化合物或者其盐或前药,以及载体、稀释剂或药物赋形剂,例如缓冲剂、防腐剂和张力修饰剂。

[0045] 本发明基于这样的发现,根据 Kabat 编号在重链可变区 (VH) 中第 28 位氨基酸处包含脯氨酸残基的抗 mucin 抗体显示出良好的抗原结合特性。重链可变区的第 28 位氨基酸位于互补决定区 1 (CDR1) 附近的第一框架区 (FR1) 中。通常,在人类抗体中,苏氨酸或丝氨酸残基位于此位置。例如,NCBI 数据库中所列出的抗体的 229 个人种系序列均在重链可变区的第 28 位包含苏氨酸或丝氨酸残基。特别地,在单克隆抗体的人源化中,本领域通常所教导的是在重链可变区的第 28 位使用苏氨酸或丝氨酸残基。

[0046] 基于所获得的数据,看来 VH 的第 28 位的脯氨酸有利地影响 CDR1 的结构特性。特别地,所述脯氨酸残基明显使得 CDR1 能够采取最匹配 MUC1 抗原的结构的三维结构。由此,可改进抗体的特性。

[0047] 鉴于这些发现,在第一个方面,本发明提供了抗体或其片段或衍生物,其能够结合 mucin 蛋白并且包含重链可变区的至少一部分,所述重链可变区的至少一部分根据 Kabat 编号在第 28 位氨基酸包含脯氨酸残基。

[0048] 在优选的实施方案中,根据本发明的抗体或其片段或衍生物所包含的重链可变区的一部分具有的长度为至少 50 个氨基酸、优选至少 70 个氨基酸、至少 90 个氨基酸、至少 100 个氨基酸或至少 110 个氨基酸。更优选地,所述重链可变区的一部分至少包含整个框架区 1 和至少一个、优选两个或全部三个 CDR。最优选地,根据本发明的抗体或其片段或衍生物包含完整的重链可变区,其根据 Kabat 编号在第 28 位氨基酸处包含脯氨酸残基。

[0049] 根据本发明的抗体或者其片段或衍生物可能能够特异性结合 mucin 家族的一个或多个蛋白,例如 MUC1, MUC2, MUC3A, MUC3B, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC6, MUC7, MUC8, MUC12, MUC13, MUC15, MUC16, MUC17, MUC19, 和 / 或 MUC20。优选地,根据本发明的抗体或者其片段或衍生物能够特异性结合一个或多个膜结合的 mucin MUC1, MUC3A (同种型 1), MUC3B 和 MUC4, 最优选 MUC1。在优选的实施方案中,其特异性结合肿瘤相关的 MUC1 但是不结合或以少得多的程度结合正常、非肿瘤细胞的 MUC1。特别地,根据本发明的抗体或者其片段或衍生物结合 MUC1 的细胞外结构域,优选其串联重复,最优选以依赖于构象和 / 或依赖于糖基化的方式结合,特别是如果所述串联重复在苏氨酸残基处以下列糖基化: N-乙酰半乳糖胺 (Tn), 唾液酸 α 2-6N-乙酰半乳糖胺 (sTn), 半乳糖 β 1-3N-乙酰半乳糖胺 (TF) 或半乳糖 β 1-3 (唾液酸 α 2-6) N-乙酰半乳糖胺 (sTF), 优选以 Tn 或 TF。优选地,糖部分通过 α -O-糖苷键结合于苏氨酸残基。

[0050] 特别优选的根据本发明的抗 mucin 抗体是能够特异性结合包含肽部分的表位的抗体。所述表位优选是糖基化的肽部分并且抗体的特异性结合优选依赖于表位的糖基化,特别依赖于表位的特定糖基化模式。即,在优选的实施方案中,与不携带糖部分的表位相

比,如果抗体所结合的特定表位携带糖部分,则抗体与其抗原的结合亲和力更高。在另一个优选实施方案中,与携带另一个糖部分或不携带糖部分的表位相比,如果 mucin 蛋白上的表位携带特定的糖部分,则亲和力更高。在这种情形中,与其中表位携带另一个糖部分的抗原的亲和力可能甚至低于与具有非糖基化表位的抗原的亲和力。在这些实施方案中,抗体所结合的表位可包含肽部分以及糖部分。即,抗体与肽部分及糖部分结合。

[0051] 然而,抗体可备选地仅结合肽部分。在这一实施方案中,抗体不结合与肽表位相连的糖部分。然而,糖部分仍可对抗体结合有影响,这在于其影响表位的肽部分的三维结构。此处,表位的灵活性和三维结构取决于是否与糖部分结合,以及优选地与哪个糖部分结合。然后,所述抗体优选结合具有当糖部分(特别是特定的糖部分)与表位结合时所采取的三维结构的表位。在上面的实施方案中,当与表位结合时引起抗体增强的结合的特定糖部分优选为 N-乙酰半乳糖胺(Tn),唾液酰 α 2-6N-乙酰半乳糖胺(sTn),半乳糖 β 1-3N-乙酰半乳糖胺(TF)或半乳糖 β 1-3(唾液酰 α 2-6)N-乙酰半乳糖胺(sTF),优选 Tn 或 TF。优选地,糖部分通过 α -O-糖苷键与肽部分结合。

[0052] 因此,在其它的实施方案中,抗体与其表位的特异性结合取决于表位的构象。如上文中所描述的,表位的构象可取决于表位的糖基化模式。然而,构象还可取决于表位被呈递的情境,例如包含所述表位的蛋白的总体三维结构。本质上,如果抗体与表位的结合是构象依赖性的,则表位能够采取不同的三维构象并且与对表位的其它构象相比,抗体对表位的一种或多种构象的结合亲和力更高。特别地,抗体仅在表位显示出特定构象时才能够结合所述表位。

[0053] 在特别优选的实施方案中,抗体能够特异性结合包含氨基酸序列 PDTR(SEQ ID NO : 49)或更优选 PDTRP(SEQ ID NO :50)的表位。与这种表位的结合优选是糖基化依赖性的,如上文所述,其中特别地,如果糖部分分别与序列 PDTR 或 PDTRP 的苏氨酸残基相连,则结合增加。优选地,如果表位在苏氨酸残基处以选自下列的糖部分糖基化,则结合增加:N-乙酰半乳糖胺(Tn),唾液酰 α 2-6N-乙酰半乳糖胺(sTn),半乳糖 β 1-3N-乙酰半乳糖胺(TF)和半乳糖 β 1-3(唾液酰 α 2-6)N-乙酰半乳糖胺(sTF),优选以 Tn 或 TF。优选地,糖部分通过 α -O-糖苷键与苏氨酸残基结合。在一些实施方案中,结合的糖基化依赖性是由于被糖基化时表位所采取的特定构象,特别是被上文所提及的特定糖部分糖基化时。在这种情形中,抗体不必结合糖部分而可仅与表位的肽部分结合,其中此结合的亲和力取决于表位的构象。优选地,所述表位被包含于 mucin 蛋白(特别是 MUC1)的细胞外串联重复中。特别地,根据本发明的抗体能够结合肿瘤相关的 mucin 表位,特别是肿瘤相关的 MUC1 表位,例如表位 TA-MUC1(见 Karsten,U. et al. (2004)Glycobiology 14,681-692and Danielczyk,A. et al. (2006)Cancer Immunol. Immunother. 55,1337-1347)。优选地,根据本发明的抗体与表达肿瘤相关 MUC1 表位的细胞的结合比与表达正常的非肿瘤 MUC1 的细胞的结合更强。优选地,所述结合是至少 1.5 倍更强、优选至少 2 倍更强、至少 5 倍更强、至少 10 倍更强或至少 100 倍更强。

[0054] 肿瘤相关的 mucin 表位,特别是 MUC1 肿瘤表位,优选是指这样的 mucin 蛋白(特别是 MUC1)表位:其存在于肿瘤细胞上但不存在于正常细胞上,和/或仅当其存在于肿瘤细胞上时才能被宿主循环系统中的抗体所接触,而当其存在于正常细胞上时不行。特别地,MUC1 肿瘤表位优选为包含至少一个 MUC1 串联重复的 PDTRP 序列的表位并且在 PDTRP 序

列的苏氨酸处以 N-乙酰半乳糖胺 (Tn) 或半乳糖 β 1-3N-乙酰半乳糖胺 (TF) (优选地通过 α -O-糖苷键) 被糖基化。对于肿瘤特异性 MUC1 结合, 抗体或其片段或衍生物优选特异性结合经糖基化的 MUC1 肿瘤表位, 从而与同相同长度和相同肽序列的非糖基化的肽的键相比, 键的强度增加为至少 2 倍, 优选 4 倍或 10 倍, 最优选 20 倍。可例如使用 ELISA 来测量结合强度, 其中靶表位被固定并且使用酶联的 (特别是过氧化物酶联的) 二抗和适合的检测剂来检测根据本发明的抗体或者其片段或衍生物的结合。示例性的结合测定在 WO 2004/065423 (例如实施例 5.1) 中描述。

[0055] 此外, 抗体可显示与参考抗体 PankoMab 相似的抗原结合特性, 所述参考抗体 PankoMab 包含具有氨基酸序列 SEQ ID NO:29 的重链可变区和具有氨基酸序列 SEQ ID NO:30 的轻链可变区。特别地, 根据本发明的抗体可与 PankoMab 特异性地结合相同的抗原 (优选相同的表位), 并且可优选以相当的亲和力分别结合所述抗原或表位。即, 所述抗体优选以下述亲和力结合抗原或表位: 其具有的解离常数是 PankoMab 的最多 100 倍, 更优选最多 10 倍, 最优选解离常数与 PankoMab 的解离常数相同或比其更低。此外, 抗体优选显示与参考抗体 PankoMab 的交叉反应活性。特别地, 如果以足够高的浓度存在, 则抗体能够阻碍 PankoMab 与 MUC1 的结合。当根据本发明的抗体已经与抗原 MUC1 相结合时, 如果 PankoMab 与 MUC1 的结合被阻碍, 则这可以是可能的。对 PankoMab 的结合的抑制可以是由于, 例如位阻 (即根据本发明的抗体占据 PankoMab 为了适当地结合 MUC1 将需要的空间的一部分), 或构象阻碍 (即由于根据本发明的抗体的结合, PankoMab 的表位采取了对于 PankoMab 的结合不利的构象)。

[0056] 根据优选的实施方案, 抗体具有下列特征:

[0057] (a) 其特异性地结合糖基化的 MUC1 肿瘤表位, 和

[0058] (b) 其包含含有氨基酸序列 SEQ ID NO:16 的重链可变区和含有氨基酸序列 SEQ ID NO:28 的轻链可变区;

[0059] 或者其为具有特征 (a) 和 (b) 的抗体的功能性片段或衍生物, 所述功能性片段或衍生物显示与包含氨基酸序列 SEQ ID NO:16 和 SEQ ID NO:28 的抗体的交叉特异性。

[0060] 上述关于根据本发明的抗体及其抗原和 / 或表位结合特性的实施方案可以根据本发明以相同的方式适用于其片段或衍生物。

[0061] 根据本发明的抗体优选是单克隆抗体。此外, 所述抗体优选是, 或衍生自, 人、鼠、山羊、灵长类动物或骆驼抗体。其可以是嵌合的或人源化的抗体。其可以是任何同种型或其亚类的抗体, 特别是 IgG, IgM, IgA, IgE 或 IgD 同种型或其亚类 (例如 IgG1) 的抗体。优选地, 根据本发明的抗体的片段或衍生物选自 Fab 片段、F(ab)₂ 片段、Fd 片段、Fv 片段、scFv 片段、(Fv)₂ 片段和多体。抗体或其片段或衍生物可以是仅包含一个氨基酸分子的单链构建体, 或者是包含多于一个氨基酸分子 (优选共价地彼此连接, 例如通过二硫键) 的多链构建体。

[0062] 在某些实施方案中, 根据本发明的抗体或者其片段或衍生物以这样的方式被工程化: 其中所包含的重链可变区 (VH) 含有至少一个衍生自与剩余的 VH 的至少一部分所不同的抗体的 CDR。例如, VH 包含至少一个 CDR, 优选两个或三个 CDR, 其衍生自一种抗体 (例如小鼠、骆驼、山羊或灵长类动物抗体); 和至少一个 FR, 优选两个、三个或四个 FR, 其衍生自另一种抗体或抗体组, 优选另一个物种的抗体, 特别是来自人抗体。在这一实施方案中, 抗

体或其片段或衍生物还可包含轻链可变区 (VL)。特别地, VL 可衍生自 VH 的一个或多个 CDR 所衍生自的抗体, 或者 VL 可以是这样的构建体: 其中一个、两个或三个 CDR 衍生自与 VH 的一个或多个 CDR 相同的抗体, 而一个、两个、三个或优选所有四个 FR 源自相同的物种, 特别是与 VH 的一个或多个 FR 相同的抗体或抗体组。此外, 抗体或其片段或衍生物还可包含一个、两个、三个或四个重链恒定区 (CH) 和 / 或一个轻链恒定区 (CL), 其优选源自相同的物种, 特别是与可变区的 FR 相同的抗体或抗体组。在优选的实施方案中, 可变区的 FR 和恒定区不是衍生自一个特定的抗体而是具有代表衍生自特定抗体组 (例如人抗体组) 的共有序列或另一种优选序列的氨基酸序列。

[0063] 在另一个实施方案中, 根据本发明的抗体或者其片段或衍生物是嵌合的并且包含衍生自一种抗体的一个或多个重链可变区和任选地轻链可变区, 以及衍生自另一种抗体的一个或多个重链恒定区和任选地轻链恒定区。优选地, 两种不同的抗体来自不同的物种, 例如可变区衍生自鼠抗体而恒定区衍生自人抗体。

[0064] 根据本发明的抗体或者其片段或衍生物优选是糖基化的。在优选的实施方案中, 其具有人糖基化模式, 即也在人体所产生的天然存在的抗体上发现的糖基化模式。此外, 抗体或其片段或衍生物可优选包括调节、特别是提高其一种或多种活性的糖基化模式。例如, 糖基化模式可提高抗体、其片段或衍生物对于其特定表位的亲和力, 和 / 或对于其下游受体 (例如 Fc 受体、特别是 Fc γ , Fc α 或 Fc ϵ 受体) 的亲和力。此外或备选地, 糖基化模式可提高其补体依赖性细胞毒性 (CDC) 和 / 或其抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC)。为此, 抗体或其片段或衍生物的糖基化模式可被工程化或优化, 例如通过使用能够产生所需糖基化模式的特定细胞系。此类细胞系为, 例如 K562, KG1, MUTZ-3, NM-F9 [DSM ACC2606], NM-D4 [DSM ACC2605], NM-H9D8 [DSM ACC 2806], NM-H9D8-E6 [DSM ACC2807], NM H9D8-E6Q12 [DSM ACC 2856] 和 GT-2X [DSM ACC 2858]。因此, 抗体或其片段或衍生物优选具有当在这些细胞系之一中表达时所提供的糖基化模式。

[0065] 根据本发明的抗体或者其片段或衍生物优选可用于医药, 特别是疾病的治疗、诊断、预后和 / 或监测, 所述疾病特别是如本申请中所描述的疾病, 优选癌症。

[0066] 根据本发明的抗体或者其片段或衍生物所包含的重链可变区优选包括至少一个选自下组的 CDR: 具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 1 或 2 的 CDR1, 具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 3 或 4 的 CDR2 和具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 5 或 6 的 CDR3, 优选至少包括具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 1 的 CDR1。特别地, 其可包括一组 CDR, 其中 CDR1 具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 1, CDR2 具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 3 且 CDR3 具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 5, 或者其中 CDR1 具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 2, CDR2 具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 4 且 CDR3 具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 6。

[0067] 根据一个实施方案, 根据本发明的抗体或者其片段或衍生物优选包括重链可变区, 其具有选自下组的至少一个框架区: 具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 7 (特别是 SEQ ID NO: 8) 的 FR1, 具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 9 (特别是 SEQ ID NO: 10) 的 FR2, 具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 11 (特别是 SEQ ID NO: 12) 的 FR3, 以及具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 13 (特别是 SEQ ID NO: 14) 的 FR4。特别优选的是存在具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 8 的 FR1。因此, 重链可变区优选包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 15, 特别是 SEQ ID NO: 16。

[0068] 在其它的实施方案中, 根据本发明的抗体或者其片段或衍生物衍生自包含一个或

多个上述区段或序列的抗体。

[0069] 根据本发明的抗体或者其片段或衍生物还可包括至少一个其它的选自下组的互补决定区：具有氨基酸序列 SEQ ID NO :17 或 18 的 CDR1，具有氨基酸序列 SEQ ID NO :19 或 20 的 CDR2 以及具有氨基酸序列 SEQ ID NO :21 或 22 的 CDR3，其中所述至少一个其它的互补决定区优选存在于轻链可变区内。特别地，抗体或其片段或衍生物优选包含一组 CDR，其中重链可变区的 CDR 具有氨基酸序列 SEQ ID NO :1, 3 和 5，且轻链可变区的 CDR 具有氨基酸序列 SEQ ID NO :17, 19 和 21；或者其中重链可变区的 CDR 具有氨基酸序列 SEQ ID NO :2, 4 和 6 且轻链可变区的 CDR 具有氨基酸序列 SEQ ID NO :18, 20 和 22。所述轻链可变区优选包括氨基酸序列 SEQ ID NO :27，特别是 SEQ ID NO :28。在特别优选的实施方案中，根据本发明的抗体包括包含氨基酸序列 SEQ ID NO :16 的 VH 和包含氨基酸序列 SEQ ID NO :28 的 VL，或者其功能性变体或衍生物。

[0070] 根据一个实施方案，抗体包含下列抗体框架区

[0071] (i) 重链可变区 VH 的 FRH1, FRH2, FRH3 和 FRH4 具有下列氨基酸序列，氨基酸位置相应于根据 Kabat 的编号：

[0072] 对于 FRH1 (SEQ ID NO :7)

[0073]

位置	氨基酸
1	E
2	V
3	Q 或 K
4	L
5	V
6	E
7	S
8	G
9	G
10	G
11	L
12	V
13	Q

14	P
15	G
16	G
17	S
18	L 或 M
19	R
20	L
21	S
22	C
23	A 或 V
24	A
25	S
26	G
27	F
28	P
29	F
30	S

[0074] 对于 FRH2 (SEQ ID NO :9)

[0075]

位置	氨基酸
36	W
37	V
38	R
39	Q

40	A 或 S
41	P
42	G 或 E
43	K
44	G
45	L
46	E
47	W
48	V
49	G 或 A

[0076] 对于 FRH3 (SEQ ID NO :11)

[0077]

位置	氨基酸
66	R
67	F
68	T
69	I
70	S
71	R
72	D
73	D
74	S
75	K
76	N 或 S

77	S
78	L 或 V
79	Y
80	L
81	Q
82	M
82a	N
82b	S
82c	L
83	K
84	T
85	E
86	D
87	T
88	A
89	V
90	Y
91	Y
92	C
93	T 或 A
94	R

[0078] 对于 FRH4 (SEQ ID NO :13)

[0079]

位置	氨基酸
103	W
104	G
105	Q
106	G
107	T
108	L
109	V 或 L
110	T
111	V
112	S
113	S

[0080] (ii) 任选地,轻链可变区 VL 的 FRL1,FRL2,FRL3 和 FRL4 具有下列氨基酸序列,氨基酸位置相应于根据 Kabat 的编号:

[0081] 对于 FRL1 (SEQ ID NO :23)

[0082]

位置	氨基酸
1	D
2	I
3	V
4	M
5	T
6	Q
7	S
8	P

9	L
10	S
11	L 或 N
12	P
13	V
14	T
15	P
16	G
17	E 或 D
18	P
19	A
20	S
21	I
22	S
23	C

[0083] 对于 FRL2 (SEQ ID NO :24)

[0084]

位置	氨基酸
35	W
36	Y
37	L
38	Q
39	K
40	P

41	G
42	Q
43	S
44	P
45	Q
46	L
47	L
48	I
49	Y

[0085] 对于 FRL3 (SEQ ID NO :25)

[0086]

位置	氨基酸
57	G
58	V
59	P
60	D
61	R
62	F
63	S
64	G
65	S
66	G
67	S
68	G

69	T
70	D
71	F
72	T
73	L
74	K 或 R
75	I
76	S
77	R
78	V
79	E
80	A
81	E
82	D
83	V
84	G
85	V
86	Y
87	Y
88	C

[0087] 对于 FRL4 (SEQ ID NO :26)

[0088]

位置	氨基酸
98	F

99	G
100	Q 或 G
101	G
102	T
103	K
104	V
105	E
106	I
107	K
108	R

[0089] 在某些实施方案中,根据本发明的抗体或者其片段或衍生物衍生自这样的抗体,其根据 Kabat 编号在重链可变区的第 28 位氨基酸处不天然地包含脯氨酸残基。特别地,根据本发明的抗体或者其片段或衍生物的重链可变区的 FR1 (其包含根据 Kabat 编号的第 28 位氨基酸) 衍生自在 VH 的第 28 位不包含脯氨酸残基的抗体。此外,VH 的一个或多个余下的 FR 和 / 或一个、两个或三个 CDR (特别是 CDR1) 也优选衍生自在 VH 的第 28 位氨基酸处不包含脯氨酸残基的抗体。然后,VH 的第 28 位的氨基酸被脯氨酸残基取代以获得根据本发明的抗体或其片段或衍生物。

[0090] 根据本发明的抗体或者其片段或衍生物与特定抗原的亲合力优选至少与其所衍生自的抗体或其片段或衍生物 (特别是除了根据 Kabat 编号在重链可变区的第 28 位氨基酸处不包含脯氨酸残基之外而与根据本发明的抗体或者其片段或衍生物相同的抗体或其片段或衍生物) 的亲合力一样高。即,根据本发明的抗体或者其片段或衍生物优选以这样的亲合力结合抗原或表位:其具有的解离常数等于或低于所述其它抗体或其片段或衍生物的解离常数,优选低至少 2 倍、至少 3 倍、至少 5 倍或更优选至少 10 倍。

[0091] 在一个具体实施方案中,根据本发明的抗体或者其片段或衍生物衍生自 PankoMab (重链可变区为 SEQ ID NO :29,轻链可变区为 SEQ ID NO :30)。PankoMab 是鼠单克隆抗体,其针对 MUC1 的串联重复中糖基化的细胞外表位 (Danielczyk,A. et al. (2006) Cancer Immunol. Immunother. 55,1337-1347)。

[0092] 此外,根据本发明的抗体可包含至少一个含有氨基酸序列 SEQ ID NO :31 的重链和任选地至少一个含有氨基酸序列 SEQ ID NO :32 的轻链,或者为它们的片段或衍生物。优选地,其包含一组重链和轻链,其分别含有氨基酸序列 SEQ ID NO :31 和 32。所述抗体或其片段或衍生物也可以是单链 Fv 片段。

[0093] 在某些实施方案中,经工程化的根据本发明的抗体或者其片段或衍生物与其它试剂偶联而形成缀合物。所述其它试剂优选可用于疾病 (特别是癌症) 的治疗、诊断、预后和

/ 或监测。例如,所述其它试剂可选自抗体或抗体片段,特别是不同物种和 / 或不同特异性的抗体或抗体片段,酶,相互作用结构域,稳定化结构域,信号传导序列,可检测的标记,荧光染料,毒素,催化抗体,细胞溶解组分,免疫调节剂,免疫效应子,MHCI 类或 II 类抗原,用于放射性标记的螯合剂,放射性同位素,脂质体,跨膜结构域,病毒和细胞。其可共价地(特别是通过融合或化学偶联)或非共价地与抗体或其片段或衍生物连接。特别优选的其它试剂是能够杀伤癌细胞的试剂。

[0094] 另一方面,本发明提供编码根据本发明的抗体或者其片段或衍生物的核酸。根据本发明的核酸的核酸序列可具有任何适于编码根据本发明的抗体或者其片段或衍生物的核苷酸序列。然而,优选所述核酸序列至少部分地适应于根据本发明的核酸待在其中表达的宿主细胞或生物体的特定密码子使用。根据本发明的核酸可以是双链或单链的 DNA 或 RNA,优选双链 DNA(例如 cDNA)或单链 RNA(例如 mRNA)。其可以是一个连续的核酸分子或者其可以由数个核酸分子构成,其中每一个编码根据本发明的抗体或者其片段或衍生物的不同部分。

[0095] 如果根据本发明的抗体或者其片段或衍生物是单链构建体,根据本发明的核酸优选是含有编码整个抗体或其片段或衍生物的编码区的单一核酸分子。如果根据本发明的抗体或者其片段或衍生物由多于一个氨基酸链构成,根据本发明的核酸可例如为含有数个编码区的单一核酸分子,其中每个编码区编码所述抗体或其片段或衍生物的氨基酸链之一,优选由调控元件(例如 IRES 元件)分隔以产生分离的氨基酸链,或者根据本发明的核酸可由数个核酸分子构成,其中每个核酸分子包含一个或多个编码区,每个编码区编码所述抗体或其片段或衍生物的氨基酸链之一。除了编码根据本发明的抗体或者其片段或衍生物的编码区之外,根据本发明的核酸还可包含其它的核酸序列或其它的修饰,其例如可编码其它的蛋白,可影响编码区的转录和 / 或翻译,可影响核酸的稳定性或其它物理或化学特性,或者可根本不具有功能。

[0096] 在其它方面,本发明提供包含根据本发明的核酸和与所述核酸可操作地连接的启动子的表达盒或载体。此外,所述表达盒或载体可包含其它元件,特别是能够影响和 / 或调节根据本发明的核酸的转录和 / 或翻译,所述表达盒或载体的扩增和 / 或复制,所述表达盒或载体向宿主细胞的基因组内的整合,和 / 或所述表达盒或载体在宿主细胞内的拷贝数的元件。包括用于表达抗体的相应表达盒的合适的表达盒和载体是本领域中熟知的并且因此无需在此进一步描述。

[0097] 此外,本发明提供了包含根据本发明的核酸或者根据本发明的表达盒或载体的宿主细胞。根据本发明的宿主细胞可以是任何宿主细胞。其可以是分离的细胞或包含在组织中的细胞。优选地,宿主细胞是经培养细胞,特别是原代细胞或已建立的细胞系的细胞,优选是源自肿瘤的细胞。优选地,其为细菌细胞(例如大肠杆菌)、酵母细胞(例如酵母属细胞,特别是酿酒酵母(*S. cerevisiae*)),昆虫细胞(例如 Sf9 细胞),或哺乳动物细胞,特别是人细胞(例如源自肿瘤的人细胞)、仓鼠细胞(例如 CHO)或灵长类动物细胞。在本发明的优选实施方案中,宿主细胞源自人髓系白血病细胞。优选地,其选自下列细胞或细胞系:K562, KG1, MUTZ-3, NM-F9[DSM ACC2606], NM-D4[DSM ACC2605]或源自它们的细胞或细胞系,或包含至少一种前述细胞的细胞或细胞系的混合物。宿主细胞优选选自 NM-F9[DSM ACC2606], NM-D4[DSM ACC2605], NM-H9D8[DSM ACC 2806], NM-H9D8-E6[DSM ACC

2807], NM H9D8-E6Q12[DSM ACC 2856], GT-2X[DSM ACC 2858] 和源自任一所述宿主细胞的细胞或细胞系,或包含至少一种前述细胞的细胞或细胞系的混合物。这些细胞系被保藏在 DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Mascheroder Weg 1b/Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig (DE)) 保藏编号如上文所示。在优选的实施方案中,宿主细胞被优化而用于具有特定糖基化模式的糖蛋白(特别是抗体)的表达。优选地,根据本发明的核酸的编码区中的密码子使用和 / 或启动子及表达盒或载体的其它元件与所使用的宿主细胞类型相容,更优选地对所使用的宿主细胞类型进行了优化。优选地,根据本发明的抗体或者其片段或衍生物由上述宿主细胞或细胞系产生。

[0098] 另一方面,本发明提供了包含根据本发明的抗体或者其片段或衍生物、根据本发明的核酸、根据本发明的表达盒或载体、或根据本发明的宿主细胞的组合物。所述组合物还可含有超过一种的这些组分。此外,所述组合物可包含一种或多种选自下列的其它组分:溶剂、稀释剂和赋形剂。优选地,所述组合物为药物组合物。在这一实施方案中,所述组合物的组分优选都是药学上可接受的。所述组合物可以是固体或液体组合物,特别地 - 优选水性 - 溶液、乳液或悬浮液或冻干的粉末。

[0099] 另一方面,本发明提供了根据本发明的抗体或者其片段或衍生物,根据本发明的核酸,根据本发明的表达盒或载体,根据本发明的宿主细胞,或根据本发明的组合物用于医药。优选地,所述用于医药是用于疾病的治疗、预后、诊断和 / 或监测,所述疾病为例如癌症、感染性疾病(例如病毒和细菌感染)、自身免疫疾病、心血管疾病、炎症性疾病、黄斑变性、移植排斥和多发性硬化。在优选的实施方案中,所述疾病为癌症。优选地,所述癌症选自结肠癌、胃癌、肝癌、胰腺癌、肾癌、血癌、肺癌和卵巢癌,以及源自它们的转移。

[0100] 为了用于治疗与异常细胞生长相关的疾病(例如癌症),根据本发明的抗体或者其片段或衍生物可如上文所述与其它试剂偶联,其中所述其它试剂优选是细胞毒性试剂,例如放射性核素或细胞毒素。此外,抗体或其片段或衍生物可以被工程化从而提高其激活患者的免疫应答的能力,特别是激活 ADCC(抗体依赖性细胞介导的细胞毒性)和 / 或 CDC(补体依赖性细胞毒性)的能力。例如,这可通过优化抗体(特别是其恒定区)的氨基酸序列和 / 或糖基化模式实现。

[0101] 为了在疾病的诊断、预后和 / 或监测中用作检测剂,根据本发明的抗体或者其片段或衍生物优选与能够产生可检测的信号标记试剂偶联。特别地,所述标记试剂可以是放射性核素,荧光团或酶。

[0102] 另一方面,本发明提供改进能够结合 mucin 蛋白并且包含重链可变区的抗体或其片段或衍生物的抗原结合和 / 或识别的方法,所述方法包括根据 Kabat 编号在重链可变区的第 28 位提供脯氨酸残基的步骤。

[0103] 在优选的实施方案中,通过改变编码抗体或其片段或衍生物的核酸的序列而获得第 28 位的脯氨酸残基。特别地,通过在编码所述氨基酸残基的密码子中引入突变而改变核酸序列。取决于待替换的氨基酸残基,替换所述密码子的仅一个核苷酸、两个核苷酸或所有三个核苷酸从而获得编码脯氨酸残基的密码子。根据通用遗传密码,密码子 CCA, CCG, CCC, CCU 和 CCT 编码氨基酸脯氨酸。因此,应当以这样的方式改变(特别是突变)编码抗体或其片段或衍生物的核酸而使得编码 VH 的第 28 位氨基酸的密码子具有选自下列的核酸序列: CCA, CCG, CCC, CCU 和 CCT。然后通过合适的表达系统中表达所述经改变的核酸来获得其

中 VH 的第 28 位氨基酸被脯氨酸残基替换的抗体或其片段或衍生物。

[0104] 可通过任何本领域中已知的方法来改变编码抗体或其片段或衍生物的核酸中 VH 的氨基酸残基 28 的密码子以获得编码脯氨酸的密码子。特别地,可通过特定的或随机突变以及定向突变(例如亲和成熟)来进行改变。例如,与编码抗体或其片段或衍生物的核酸的一部分互补并且携带所需突变的寡核苷酸引物可被用在扩增所述核酸的反应(特别是基于 PCR 的扩增反应)中。

[0105] 然而,也可使用用于在蛋白中提供脯氨酸残基的任何其它已知的方法。特别地,可使用化学合成具有经改变的氨基酸序列的蛋白或蛋白的化学修饰。

[0106] 通过在 VH 的第 28 位提供脯氨酸残基,改进了抗体或其片段或衍生物的抗原结合和/或抗原识别特性。改进抗体或其片段或衍生物的抗原结合和/或抗原识别特别包括提高对其抗原的亲合力和/或增加对其抗原的特异性。特别地,与在 VH 的第 28 位氨基酸处不具有脯氨酸残基的相同的抗体或其片段或衍生物相比,在 VH 的第 28 位处提供了脯氨酸残基之后,抗体或其片段或衍生物具有改进的抗原结合和/或抗原识别特性。

[0107] 在这方面,提高亲和力优选是指降低抗体与其特定抗原或表位结合的解离常数。优选地,解离常数降低至少 1.2 倍,更优选至少 1.3 倍,至少 1.5 倍,至少 1.7 倍,至少 2 倍,至少 3 倍,至少 5 倍,至少 10 倍,且最优选至少 50 倍或至少 100 倍。在这方面,增加特异性优选是指增加抗体对于其特定抗原或表位的亲和力与对于和所述特定抗原或表位经常一同存在的任何其它分子的亲和力的差异。优选地,这两种亲和力在解离常数方面的差异增加至少 1.2 倍,更优选至少 1.3 倍,至少 1.5 倍,至少 1.7 倍,至少 2 倍,至少 3 倍,至少 5 倍,至少 10 倍,最优选至少 50 倍或至少 100 倍。

[0108] 抗体或其片段或衍生物所识别的 mucin 抗原优选为肿瘤相关的抗原,即可被用于将肿瘤组织与正常组织相区别的试剂和/或作为标志物用于使治疗剂特异性地靶向肿瘤组织。通过在 VH 的第 28 位提供脯氨酸残基,优选可改进抗体或其片段或衍生物在医药中的用处,例如通过提高区分肿瘤组织与正常组织的能力和/或降低用于实现所期望的医药效果所需的抗体或含有抗体的缀合物的浓度。

[0109] 待通过根据本发明的方法改进其抗原结合和/或识别的抗体或其片段或衍生物根据 Kabat 编号在至少一个重链可变区的第 28 位不可包含脯氨酸残基。此外,上述关于根据本发明的抗体或者其片段或衍生物的实施方案或特征也适用(单独地或以各种可能的组合)于待通过根据本发明的方法改进其抗原结合和/或识别的抗体或其片段或衍生物。特别地,其抗原结合和/或识别待改进的抗体或其片段或衍生物可具有任何上述氨基酸序列或氨基酸序列的组合,然而,根据 Kabat 编号,其中至少一个重链可变区的第 28 位的氨基酸残基是脯氨酸以外的氨基酸残基。

[0110] 优选地,待通过根据本发明的方法改进其抗原结合和/或识别的抗体或其片段或衍生物能够特异性地结合 MUC1,特别是 MUC1 的细胞外串联重复上的表位,优选以构象依赖性和/或糖基化依赖性的方式结合。在上文中关于根据本发明的抗原或片段或衍生物描述了表位或抗原的具体实施方案。在特别优选的实施方案中,待通过根据本发明的方法改进其抗原结合和/或识别的抗体或其片段或衍生物的重链可变区包含

[0111] (i) 一个或多个、优选全部下组的 CDR:具有 SEQ ID NO:1 的 CDR1,具有 SEQ ID NO:3 的 CDR2 和具有 SEQ ID NO:5 的 CDR3;或者一个或多个、优选全部下组的 CDR:具有 SEQ ID

NO:2 的 CDR1,具有 SEQ ID NO:4 的 CDR2 和具有 SEQ ID NO:6 的 CDR3,特别地优选至少具有 SEQ ID NO:1 的 CDR1;和 / 或

[0112] (ii) 一个或多个,优选全部下组的 FR:具有 SEQ ID NO:33 或 34 的 FR1,具有 SEQ ID NO:9 或 35 的 FR2,具有 SEQ ID NO:11 或 36 的 FR3,具有 SEQ ID NO:13 或 37 的 FR4,特别优选至少包含具有 SEQ ID NO:33 的 FR1。

[0113] 优选地,重链可变区包含氨基酸序列 SEQ ID NO:38 或 29。此外,其抗原结合和 / 或识别待改进的抗体可包含一个或多个含有氨基酸序列 SEQ ID NO:39 的重链,和 / 或一个或多个含有氨基酸序列 SEQ ID NO:32 的轻链。优选地,其包含至少一对重链和轻链,分别含有氨基酸序列 SEQ ID NO:39 和 32,或为前述的功能性片段或衍生物。备选地,在根据本发明的方法中可使用单链 Fv 片段。在特别优选的实施方案中,在根据本发明的方法中使用的是 PankoMab 或衍生自其的抗体或片段,或者显示与 PankoMab 的交叉特异性的抗体或其片段。

[0114] 可通过根据本发明的用于改进抗体或其片段或衍生物的抗原结合和 / 或识别的方法来获得或制备根据本发明的抗体或者其片段或衍生物。

[0115] 此外,本发明提供了用于制备根据本发明的核酸的方法,其包括下列步骤

[0116] (a) 提供包含抗体或其片段或衍生物的核酸序列的核酸,所述抗体或其片段或衍生物根据 Kabat 编号在重链可变区的第 28 位氨基酸处不包含脯氨酸残基;和

[0117] (b) 根据 Kabat 编号,向编码重链可变区的第 28 位氨基酸的密码子中引入突变,从而使所述密码子编码脯氨酸残基。

[0118] 可通过任何适于此目的的方法引入突变。多种适合的方法是本领域中已知的。例如,可通过起始核酸的随机或定向突变而引入突变,例如在基于 PCR 的方法中使用携带突变的寡核苷酸引物。备选地,含有突变的核酸或其部分可被化学合成并在适当时连接至核酸的剩余部分。

[0119] 此外,用于制备经工程化的根据本发明的抗体或者其片段或衍生物的方法可基于上述用于制备根据本发明的核酸的方法。所述用于制备经工程化的根据本发明的抗体或者其片段或衍生物的方法包括用于制备根据本发明的核酸的方法的步骤 (a) 和 (b),并且还包括在表达系统中表达在步骤 (b) 中获得的核酸的步骤,从而产生由所述核酸编码的根据本发明的抗体或者其片段或衍生物。

[0120] 适当的表达系统可以是无细胞的表达系统或基于上文所述的宿主细胞的表达系统。特别地,优选使用哺乳动物宿主细胞,特别是使用人宿主细胞,优选上文所描述的宿主细胞。优选地,关于宿主细胞所表达的抗体的糖基化模式而对用于表达抗体或其片段或衍生物的宿主细胞进行优化。

[0121] 关于本发明的其它方面所公开的特征,特别是关于根据本发明的抗体,根据本发明的核酸,根据本发明的表达盒、载体或宿主细胞,或根据本发明用于改进抗体或其片段或衍生物的抗原结合和 / 或识别的方法所公开的特征,也可单独或组合地适用于制备根据本发明的核酸的方法。

附图说明

[0122] 图 1 显示了嵌合小鼠 / 人和数种人源化的衍生自 PankoMab 的抗体与包含 PankoMab 的 MUC1 表位的糖基化的 (256.1) 和非糖基化的 (258.1) 30-mer 多肽的结合,以及

与包含 2,4 或 5 个 MUC1 串联重复（分别为 TR2, TR4 和 TR5）的不同的糖基化多肽的结合。与 BSA 的结合用作对照。用调节了滴度之后的、含有抗体的细胞上清液的不同稀释液进行实验（在图的左侧显示）。

[0123] 图 2 显示嵌合小鼠 / 人和数种人源化的衍生自 PankoMab 的抗体与包含 PankoMab 的 MUC1 表位的 (A) 非糖基化的 (258.1) 和 (B) 糖基化的 (256.1) 30-mer 多肽的结合。作为对照（空白），不使用一抗。作为进一步的对照，还在用高碘酸盐（用 PO）处理 30-mer 多肽之后进行实验，所述高碘酸盐破坏糖环并且因此破坏多肽 256.1 的糖基化。

[0124] 图 3 显示 VH16m/VL6.1 抗体（在重链可变区的第 28 位具有脯氨酸残基）和 VH16/VL6.1 抗体（在重链可变区的第 28 位具有苏氨酸残基）与包含 PankoMab 的 MUC1 表位的糖基化的 30-mer 靶肽 256.1 的结合的直接比较。

实施例

[0125] 实施例 1：鼠 PankoMab 的重链和轻链可变区的人源化

[0126] PankoMab 是针对人 MUC1 的细胞外串联重复中糖基化的肿瘤相关表位的单克隆抗体。制备鼠抗体 PankoMab (Danielczyk, A. et al. (2006) Cancer Immunol. Immunother. 55, 1337-1347) 之后，将编码重链和轻链可变区 (VH 和 VL) 的核酸序列分别与人恒定 $\gamma 1$ 区 (CH) 和人恒定 κ 区 (CL) 的基因组序列连接。对于此克隆程序的详细描述，参考 WO2004/065423A2，特别是实施例 3。

[0127] 基于这些嵌合克隆（重链：SEQ ID NO:40，轻链：SEQ ID NO:41），构建了人源化的 PankoMab 抗体。为此，将点突变引入 VH 和 VL 的鼠框架区的核酸序列中，以产生相应的人框架区。从人种系抗体库中选择靶标人框架区。特别地，取决于它们的总体序列相似性和它们的 CDR 环分类而从库中选择最相关的框架区。然后，使用重链和轻链可变区的人共有序列来鉴别异常的氨基酸。考虑所有所获得的数据来设计一组人源化可变轻链（10 个变体）和可变重链（15 个变体）的不同的可变序列。变体在关键位置上含有至鼠序列的回复突变和 / 或稀有氨基酸（即在人框架区中其特定位置上相当罕见的氨基酸）至其常见的对应者的突变。表达不同的构建体之后，在 256.1- 特异性 ELISA 中筛选人源化的抗体变体并且选择最佳的结合者。

[0128] 通过上述方法，获得了下面的人源化抗体重链和轻链可变区并进一步进行表征。

[0129] 表 1

[0130]

重链可变区	SEQ ID	轻链可变区	SEQ ID
<i>mVH</i>	29	<i>mVL</i>	30
VH1	38	VL1.1	46
VH9	42	VL6.1	28
VH16	43	VL10.1	47
VH16m	16	VL10.2	48
VH31	44		
VH32	45		

[0131] mVH 和 mVL 分别代表鼠重链和轻链可变区，其用作人源化的基础。

[0132] 实施例 2 :人源化 PankoMab 变体与糖基化和非糖基化表位的亲和力

[0133] 在不同的组合中使用包含这些重链和轻链可变区的 IgG 抗体,用含有 PankoMab 的表位的 30-mer 多肽 (肽 258.1 :APPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSa, SEQ ID NO :51) 进行了两种结合测定,其中在一种测定中,所述肽在中央的苏氨酸处以 N-乙酰半乳糖胺糖基化 (肽 256.1 :APPAHGVTSAPDT[GalNAc α]RPAPGSTAPPAHGVTSa),而在另一种测定中所述肽是非糖基化的。此外,进行了用多个含有 2,4 或 5 个串联重复 (分别为 TR2, TR4 和 TR5 :SEQ ID NOs :52,53 和 54) 的 TN-糖基化的 MUC1 串联重复的结合测定。

[0134] 这些测定的结果显示在图 1 和 2 中。使用这些测定可以显示,与在重链可变区的第 28 位不具有脯氨酸残基的那些相比,含有在第 28 位具有不常见的脯氨酸残基的重链可变区 VH16m 的抗体对于含有糖基化表位的多肽有更高的亲和力。

[0135] 两种仅在重链可变区的第 28 位氨基酸残基处不同的人源化抗 MUC1 抗体 (一种是脯氨酸 (重链可变区 VH16m,轻链可变区 VL6.1);一种是苏氨酸 (重链可变区 VH16,轻链可变区 VL6.1)) 的直接比较显示出,这一氨基酸交换促成了对含有糖基化表位的靶肽 256.1 的改进的结合 (见图 3)。

[0136] 保藏的生物材料的鉴别

[0137] 细胞系 DSM ACC 2606 和 DSM ACC 2605 由 Nemod Biotherapeutics GmbH & Co. KG, **Robert-Rössle-Str.** 10,13125 Berlin(DE) 保藏于 DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b,38124 Braunschweig(DE)。Glycotope 有权引用这些生物学材料,因为它们同时由 Nemod Biotherapeutics GmbH & Co. KG 转让给了 Glycotope GmbH。

[0138] 细胞系 DSM ACC 2806, DSM ACC 2807, DSM ACC 2856 和 DSM ACC 2858 由 Glycotope GmbH, **Robert-Rössle-Str.** 10,13125 Berlin(DE) 保藏于 DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstraße 7B,38124 Braunschweig(DE)。

[0139]	保藏号	细胞系名称	保藏者	保藏日期
	DSM ACC 2606	NM-F9	Nemod Biotherapeutics	2003 年 8 月 14 日
	DSM ACC 2605	NM-D4	Nemod Biotherapeutics	2003 年 8 月 14 日
	DSM ACC 2806	NM-H9D8	Glycotope GmbH	2006 年 9 月 15 日
	DSM ACC 2807	NM-H9D8-E6	Glycotope GmbH	2006 年 10 月 5 日
	DSM ACC 2856	NM-H9D8-E6Q12	Glycotope GmbH	2007 年 8 月 8 日
	DSM ACC 2858	GT-2x	Glycotope GmbH	2007 年 9 月 7 日
申请人或代理机构的文件参考: 51 878 K 国际申请号				

[0140] 与所保藏的微生物或其它生物学材料相关的说明 (PCT Rule 13bis)

[0141]

A. 下面所作的说明是关于说明书第 15 页第 1 行中所涉及的经保藏的微生物或其它生物学材料	
B. 保藏物的鉴别	其它的保藏物在其它的页上鉴别 (x)
保藏机构名称 德意志微生物和细胞培养物保藏中心 (DSMZ)	
保藏机构地址 (包括邮编和国家) Mascheroder Weg 1b 38124 Braunschweig DE	
保藏日期 2003-08-14	保藏编号 DSM ACC2606
C. 其它说明(如果不适用则留白) 此信息在其它页上继续 (x)	
D. 作出说明的指定国 (如果不是对于所有的指定国作出说明的话)	
E. 另外提供说明 (如果不适用则留白)	
下列说明将随后递交给国际局 (描述说明的一般性质, 例如“保藏物的保藏编号”)	
仅用于接收局 此页与国际申请一同接收到()	仅用于国际局 此页由国际局在_____接受到()
经授权的官员	经授权的官员

[0142] 表 PCT/RO/134(1998 年 7 月;2004 年 1 月再版)

[0143] 根据表 PCT/RO/134 对于保藏号 DSM ACC2606 的其它说明:

[0144] 申请人在此对于有相应条款的国家提出请求:申请中所涉及的经保藏的材料样品仅可供给独立的、经提名的专家(适用时为“专家方案”请求,特别是在澳大利亚、加拿大、克罗地亚、丹麦、芬兰、德国、冰岛、挪威、新加坡、西班牙、瑞典、英国、欧洲)。

[0145] 对于欧洲,申请人因此请求所保藏的生物学材料的样品将如 Rule33(1)(2)EPC 所规定的而使得可获得,直至关于所述专利的授权被公开或者从申请递交日起 20 年(如果所述申请被拒绝或撤回或视为撤回),仅通过将样品发放给由要求所述样品的人所提名的专家(Rule 32 EPC)。

[0146] 国际承认用于专利程序的
微生物保藏布达佩斯条约

国际表格



[0147] Nemod Biotherapeutics GmbH&Co. KG 在原始保藏情况下的收条,

[0148] Robert-Rössle-Str. 10由本页下面所示的国际保藏单位根据实施

[0149] 13125 Berlin 细则第 7.1 款发给

[0150]

I. 微生物的鉴别	
由保藏人提供的鉴别参考号: NM-F9	由国际保藏单位给予的登录号: DSM ACC2606
II. 科学描述和/或建议的分类命名	
在上面 I 中鉴别的微生物附有下列信息: ☒ 科学描述 ☐ 建议的分类命名 (在合适的项目上打 x 号)	
III. 收到和受理	
本国际保藏单位受理在上面 I 中鉴别的微生物, 其于 2003 年 08 月 14 日 (原始保藏日期) ¹ 收到	
IV. 收到转换请求	
本国际保藏单位于 (原始保藏日期) 收到在上面 I 中鉴别的微生物, 并且本国际保藏单位于 (收到转换请求的日期) 收到将该原始保藏转换 成根据布达佩斯条约的保藏的请求。	
V. 国际保藏单位	
名称: 德意志微生物和细胞培养物 保藏中心 (DSMZ) 地址: Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig	有权代表本国际保藏单位的人员 或者经授权的官员的签字:  日期: 2003-10-16

[0151] ¹ 当适用实施细则第 6.4(d) 款时, 该日期是取得国际保藏单位资格的日期
DSMZ-BP/4 表格 (单页) 12/2001

[0152]

申请人或代理机构的文件参考: 51 878 K	国际申请号
-------------------------	-------

[0153] 与所保藏的微生物或其它生物学材料相关的说明 (PCT Rule 13bis)

[0154]

A. 下面所作的说明是关于说明书第 15 页第 2 行中所涉及的经保藏的微生物或其它生物学材料	
B. 保藏物的鉴别	其它的保藏物在其它的页上鉴别 (x)
保藏机构名称 德意志微生物和细胞培养物保藏中心 (DSMZ)	
保藏机构地址 (包括邮编和国家) Mascheroder Weg 1b 38124 Braunschweig DE	
保藏日期 2003-08-14	保藏编号 DSM ACC2605
C. 其它说明(如果不适用则留白) 此信息在其它页上继续 (x)	
D. 作出说明的指定国 (如果不是对于所有的指定国作出说明的话)	
E. 另外提供说明 (如果不适用则留白)	
下列说明将随后递交给国际局 (描述说明的一般性质, 例如“保藏物的保藏编号”)	
仅用于接收局 此页与国际申请一同接收到()	仅用于国际局 此页由国际局在_____接受到()
经授权的官员	经授权的官员

[0155] 表 PCT/RO/134 (1998 年 7 月 ;2004 年 1 月再版)

[0156] 根据表 PCT/RO/134 对于保藏号 DSM ACC2605 的其它说明:

[0157] 申请人在此对于有相应条款的国家提出请求: 申请中所涉及的经保藏的材料样品仅可供给独立的、经提名的专家 (适用时为“专家方案”请求, 特别是在澳大利亚、加拿大、克罗地亚、丹麦、芬兰、德国、冰岛、挪威、新加坡、西班牙、瑞典、英国、欧洲)。

[0158] 对于欧洲, 申请人因此请求所保藏的生物学材料的样品将如 Rule 33(1) (2) EPC 所规定的而使得可获得, 直至关于所述专利的授权被公开或者从申请递交日起 20 年 (如果所述申请被拒绝或撤回或视为撤回), 仅通过将样品发放给由要求所述样品的人所提名的专家 (Rule 32 EPC)。

[0159] 国际承认用于专利程序的
微生物保藏布达佩斯条约

国际表格



[0160] Nemod Biotherapeutics GmbH&Co. KG 在原始保藏情况下的收条,

[0161] Robert-Rössle-Str. 10由本页下面所示的国际保藏单位根据实施

[0162] 13125 Berlin 细则第 7.1 款发给

[0163]

I. 微生物的鉴别	
由保藏人提供的鉴别参考号: NM-D4	由国际保藏单位给予的登录号: DSM ACC2605
II. 科学描述和/或建议的分类命名	
在上面 I 中鉴别的微生物附有下列信息:	
(x) 科学描述 () 建议的分类命名 (在合适的项目上打 x 号)	
III. 收到和受理	
本国际保藏单位受理在上面 I 中鉴别的微生物, 其于 2003 年 08 月 14 日 (原始保藏日期) ¹ 收到	
IV. 收到转换请求	
本国际保藏单位于 (原始保藏日期) 收到在上面 I 中鉴别的微生物, 并且本国际保藏单位于 (收到转换请求的日期) 收到将该原始保藏转换成根据布达佩斯条约的保藏的请求。	
V. 国际保藏单位	
名称: 德意志微生物和细胞培养物 保藏中心 (DSMZ) 地址: Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig	有权代表本国际保藏单位的人员 或者经授权的官员的签字:  日期: 2003-10-16

[0164] ¹ 当适用实施细则第 6.4(d) 款时, 该日期是取得国际保藏单位资格的日期
DSMZ-BP/4 表格 (单页) 12/2001

[0165]

申请人或代理机构的文件参考: 51 878 K	国际申请号
-------------------------	-------

[0166] 与所保藏的微生物或其它生物学材料相关的说明 (PCT Rule 13bis)

[0167]

A. 下面所作的说明是关于说明书第 15 页第 2 行中所涉及的经保藏的微生物或其它生物学材料	
B. 保藏物的鉴别 其它的保藏物在其它的页上鉴别 (x)	
保藏机构名称 德意志微生物和细胞培养物保藏中心 (DSMZ)	
保藏机构地址 (包括邮编和国家) Inhoffenstr. 7 B 38124 Braunschweig DE	
保藏日期 2006-09-15	保藏编号 DSM ACC2806
C. 其它说明(如果不适用则留白) 此信息在其它页上继续 (x)	
D. 作出说明的指定国 (如果不是对于所有的指定国作出说明的话)	
E. 另外提供说明 (如果不适用则留白)	
下列说明将随后递交给国际局 (描述说明的一般性质, 例如 “保藏物的保藏编号”)	
仅用于接收局 此页与国际申请一同接收到()	仅用于国际局 此页由国际局在_____接受到()
经授权的官员	经授权的官员

[0168] 表 PCT/RO/134(1998 年 7 月;2004 年 1 月再版)

[0169] 根据表 PCT/RO/134 对于保藏号 DSM ACC2806 的其它说明:

[0170] 申请人在此对于有相应条款的国家提出请求:申请中所涉及的经保藏的材料样品仅可供给独立的、经提名的专家(适用时为“专家方案”请求,特别是在澳大利亚、加拿大、克罗地亚、丹麦、芬兰、德国、冰岛、挪威、新加坡、西班牙、瑞典、英国、欧洲)。

[0171] 对于欧洲,申请人因此请求所保藏的生物学材料的样品将如 Rule33(1)(2)EPC 所规定的而使得可获得,直至关于所述专利的授权被公开或者从申请递交日起 20 年(如果所述申请被拒绝或撤回或视为撤回),仅通过将样品发放给由要求所述样品的人所提名的专家(Rule 32 EPC)。

[0172] 国际承认用于专利程序的
微生物保藏布达佩斯条约

国际表格



[0173] Glycotope GmbH 在原始保藏情况下的收条,

[0174] Robert-Rössle-Str. 10由本页下面所示的国际保藏单位根据实施

[0175] 13125 Berlin 细则第 7.1 款发给

[0176]

I. 微生物的鉴别	
由保藏人提供的鉴别参考号: NM-H9D8	由国际保藏单位给予的登录号: DSM ACC2806
II. 科学描述和/或建议的分类命名	
在上面 I 中鉴别的微生物附有下列信息:	
() 科学描述 () 建议的分类命名 (在合适的项目上打 x 号)	
III. 收到和受理	
本国际保藏单位受理在上面 I 中鉴别的微生物, 其于 2006 年 09 月 15 日 (原始保藏日期) ¹ 收到	
IV. 收到转换请求	
本国际保藏单位于 (原始保藏日期) 收到在上面 I 中鉴别的微生物, 并且本国际保藏单位于 (收到转换请求的日期) 收到将该原始保藏转换成根据布达佩斯条约的保藏的请求。	
V. 国际保藏单位	
名称: 德意志微生物和细胞培养物 保藏中心 (DSMZ) 地址: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	有权代表本国际保藏单位的人员 或者经授权的官员的签字:  日期: 2006-10-09

[0177] ¹ 当适用实施细则第 6.4(d) 款时, 该日期是取得国际保藏单位资格的日期
DSMZ-BP/4 表格 (单页) 08/2006

[0178]

申请人或代理机构的文件参考: 51 878 K	国际申请号
-------------------------	-------

[0179] 与所保藏的微生物或其它生物学材料相关的说明 (PCT Rule 13bis)

[0180]

A. 下面所作的说明是关于说明书第 15 页第 2 行中所涉及的经保藏的微生物或其它生物学材料	
B. 保藏物的鉴别 其它的保藏物在其它的页上鉴别 (x)	
保藏机构名称 德意志微生物和细胞培养物保藏中心 (DSMZ)	
保藏机构地址 (包括邮编和国家) Inhoffenstr. 7 B 38124 Braunschweig DE	
保藏日期 2006-10-05	保藏编号 DSM ACC2807
C. 其它说明(如果不适用则留白) 此信息在其它页上继续 (x)	
D. 作出说明的指定国 (如果不是对于所有的指定国作出说明的话)	
E. 另外提供说明 (如果不适用则留白)	
下列说明将随后递交给国际局 (描述说明的一般性质, 例如“保藏物的保藏编号”)	
仅用于接收局 此页与国际申请一同接收到()	仅用于国际局 此页由国际局在_____接受到()
经授权的官员	经授权的官员

[0181] 表 PCT/RO/134(1998 年 7 月;2004 年 1 月再版)

[0182] 根据表 PCT/RO/134 对于保藏号 DSM ACC2807 的其它说明:

[0183] 申请人在此对于有相应条款的国家提出请求:申请中所涉及的经保藏的材料样品仅可供给独立的、经提名的专家(适用时为“专家方案”请求,特别是在澳大利亚、加拿大、克罗地亚、丹麦、芬兰、德国、冰岛、挪威、新加坡、西班牙、瑞典、英国、欧洲)。

[0184] 对于欧洲,申请人因此请求所保藏的生物学材料的样品将如 Rule 33(1)(2)EPC 所规定的而使得可获得,直至关于所述专利的授权被公开或者从申请递交日起 20 年(如果所述申请被拒绝或撤回或视为撤回),仅通过将样品发放给由要求所述样品的人所提名的专家(Rule 32 EPC)。

[0185] 国际承认用于专利程序的
微生物保藏布达佩斯条约

国际表格



[0186] Glycotope GmbH 在原始保藏情况下的收条,

[0187] Robert-Rössle-Str. 10由本页下面所示的国际保藏单位根据实施

[0188] 13125 Berlin 细则第 7.1 款发给

[0189]

I. 微生物的鉴别	
由保藏人提供的鉴别参考号: NM-H9D8-E6	由国际保藏单位给予的登录号: DSM ACC2807
II. 科学描述和/或建议的分类命名	
在上面 I 中鉴别的微生物附有下列信息:	
() 科学描述 () 建议的分类命名 (在合适的项目上打 x 号)	
III. 收到和受理	
本国际保藏单位受理在上面 I 中鉴别的微生物, 其于 2006 年 10 月 05 日 (原始保藏日期) ¹ 收到	
IV. 收到转换请求	
本国际保藏单位于 (原始保藏日期) 收到在上面 I 中鉴别的微生物, 并且本国际保藏单位于 (收到转换请求的日期) 收到将该原始保藏转换成根据布达佩斯条约的保藏的请求。	
V. 国际保藏单位	
名称: 德意志微生物和细胞培养物 保藏中心 (DSMZ) 地址: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	有权代表本国际保藏单位的人员 或者经授权的官员的签字:  日期: 2006-10-18

[0190] ¹ 当适用实施细则第 6.4(d) 款时, 该日期是取得国际保藏单位资格的日期
DSMZ-BP/4 表格 (单页) 08/2006

[0191]

申请人或代理机构的文件参考: 51 878 K	国际申请号
-------------------------	-------

[0192] 与所保藏的微生物或其它生物学材料相关的说明 (PCT Rule 13bis)

[0193]

A. 下面所作的说明是关于说明书第 15 页第 3 行中所涉及的经保藏的微生物或其它生物学材料	
B. 保藏物的鉴别	其它的保藏物在其它的页上鉴别 (x)
保藏机构名称 德意志微生物和细胞培养物保藏中心 (DSMZ)	
保藏机构地址 (包括邮编和国家) Inhoffenstr. 7 B 38124 Braunschweig DE	
保藏日期 2007-08-08	保藏编号 DSM ACC2856
C. 其它说明(如果不适用则留白) 此信息在其它页上继续 (x)	
D. 作出说明的指定国 (如果不是对于所有的指定国作出说明的话)	
E. 另外提供说明 (如果不适用则留白)	
下列说明将随后递交给国际局 (描述说明的一般性质, 例如“保藏物的保藏编号”)	
仅用于接收局 此页与国际申请一同接收到()	仅用于国际局 此页由国际局在_____接受到()
经授权的官员	经授权的官员

[0194] 表 PCT/RO/134 (1998 年 7 月; 2004 年 1 月再版)

[0195] 根据表 PCT/RO/134 对于保藏号 DSM ACC2856 的其它说明:

[0196] 申请人在此对于有相应条款的国家提出请求: 申请中所涉及的经保藏的材料样品仅可供给独立的、经提名的专家 (适用时为“专家方案”请求, 特别是在澳大利亚、加拿大、克罗地亚、丹麦、芬兰、德国、冰岛、挪威、新加坡、西班牙、瑞典、英国、欧洲)。

[0197] 对于欧洲, 申请人因此请求所保藏的生物学材料的样品将如 Rule 33(1) (2) EPC 所规定的而使得可获得, 直至关于所述专利的授权被公开或者从申请递交日起 20 年 (如果所述申请被拒绝或撤回或视为撤回), 仅通过将样品发放给由要求所述样品的人所提名的专家 (Rule 32 EPC)。

[0198] 国际承认用于专利程序的
微生物保藏布达佩斯条约

国际表格

[0199] Glycotope GmbH 在原始保藏情况下的收条,



[0200] Robert-Rössle-Str. 10由本页下面所示的国际保藏单位根据实施

[0201] 13125 Berlin 细则第 7.1 款发给

[0202]

I. 微生物的鉴别	
由保藏人提供的鉴别参考号: NM-H9D8-E6Q12	由国际保藏单位给予的登录号: DSM ACC2856
II. 科学描述和/或建议的分类命名	
在上面 I 中鉴别的微生物附有下列信息: ☐ 科学描述 ☐ 建议的分类命名 (在合适的项目上打 x 号)	
III. 收到和受理	
本国际保藏单位受理在上面 I 中鉴别的微生物, 其于 2007 年 08 月 08 日 (原始保藏日期) ¹ 收到	
IV. 收到转换请求	
本国际保藏单位于 (原始保藏日期) 收到在上面 I 中鉴别的微生物, 并且本国际保藏单位于 (收到转换请求的日期) 收到将该原始保藏转换 成根据布达佩斯条约的保藏的请求。	
V. 国际保藏单位	
名称: 德意志微生物和细胞培养物 保藏中心 (DSMZ) 地址: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	有权代表本国际保藏单位的人员 或者经授权的官员的签字:  日期: 2007-08-23

[0203] ¹ 当适用实施细则第 6.4(d) 款时, 该日期是取得国际保藏单位资格的日期
DSMZ-BP/4 表格 (单页) 12/2001

[0204]

申请人或代理机构的文件参考: 51 878 K	国际申请号
-------------------------	-------

[0205] 与所保藏的微生物或其它生物学材料相关的说明 (PCT Rule 13bis)

[0206]

A. 下面所作的说明是关于说明书第 15 页第 3 行中所涉及的经保藏的微生物或其它生物学材料	
B. 保藏物的鉴别 其它的保藏物在其它的页上鉴别 (x)	
保藏机构名称 德意志微生物和细胞培养物保藏中心 (DSMZ)	
保藏机构地址 (包括邮编和国家) Inhoffenstr. 7 B 38124 Braunschweig DE	
保藏日期 2007-09-07	保藏编号 DSM ACC2858
C. 其它说明(如果不适用则留白) 此信息在其它页上继续 (x)	
D. 作出说明的指定国 (如果不是对于所有的指定国作出说明的话)	
E. 另外提供说明 (如果不适用则留白)	
下列说明将随后递交给国际局 (描述说明的一般性质, 例如“保藏物的保藏编号”)	
仅用于接收局 此页与国际申请一同接收到()	仅用于国际局 此页由国际局在_____接受到()
经授权的官员	经授权的官员

[0207] 表 PCT/RO/134(1998 年 7 月;2004 年 1 月再版)

[0208] 根据表 PCT/RO/134 对于保藏号 DSM ACC2858 的其它说明:

[0209] 申请人在此对于有相应条款的国家提出请求:申请中所涉及的经保藏的材料样品仅可供给独立的、经提名的专家(适用时为“专家方案”请求,特别是在澳大利亚、加拿大、克罗地亚、丹麦、芬兰、德国、冰岛、挪威、新加坡、西班牙、瑞典、英国、欧洲)。

[0210] 对于欧洲,申请人因此请求所保藏的生物学材料的样品将如 Rule33(1)(2)EPC 所规定的而使得可获得,直至关于所述专利的授权被公开或者从申请递交日起 20 年(如果所述申请被拒绝或撤回或视为撤回),仅通过将样品发放给由要求所述样品的人所提名的专家(Rule 32 EPC)。

[0211] 国际承认用于专利程序的
微生物保藏布达佩斯条约

国际表格

[0212] Glycotope GmbH 在原始保藏情况下的收条,



[0213] Robert-Rössle-Str. 10由本页下面所示的国际保藏单位根据实施

[0214] 13125 Berlin 细则第 7.1 款发给

[0215]

I. 微生物的鉴别	
由保藏人提供的鉴别参考号: GT-2x	由国际保藏单位给予的登录号: DSM ACC2858
II. 科学描述和/或建议的分类命名	
在上面 I 中鉴别的微生物附有下列信息:	
(x) 科学描述 () 建议的分类命名 (在合适的项目上打 x 号)	
III. 收到和受理	
本国际保藏单位受理在上面 I 中鉴别的微生物, 其于 2007 年 09 月 07 日 (原始保藏日期) ¹ 收到	
IV. 收到转换请求	
本国际保藏单位于 (原始保藏日期) 收到在上面 I 中鉴别的微生物, 并且本国际保藏单位于 (收到转换请求的日期) 收到将该原始保藏转换 成根据布达佩斯条约的保藏的请求。	
V. 国际保藏单位	
名称: 德意志微生物和细胞培养物 保藏中心 (DSMZ) 地址: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	有权代表本国际保藏单位的人员 或者经授权的官员的签字:  日期: 2007-09-20

[0216] ¹ 当适用实施细则第 6.4(d) 款时, 该日期是取得国际保藏单位资格的日期
DSMZ-BP/4 表格 (单页) 08/2006

[0001]

序列表

<110> Glycotope GmbH

<120> MUC1 抗体

<130> 51 878 K

<150> EP 09 009 952.5

<151> 2009-07-31

<150> US 61/230,211

<151> 2009-07-31

<160> 54

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR H1

<400> 1

Asn Tyr Trp Met Asn
1 5

<210> 2

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR H1

<400> 2

Asp Ala Trp Met Asp
1 5

<210> 3

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR H2

<400> 3

Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Thr Thr His Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 4

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> CDR H2

<400> 4

Glu Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

[0002]

Val Lys Gly

<210> 5
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR H3

<400> 5

His Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 6
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR H3

<400> 6

Gly Gly Tyr Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 7
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FR H1

<220>
<221> MISC_特征
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 是 Gln 或 Lys

<220>
<221> MISC_特征
<222> (18)..(18)
<223> Xaa 是 Leu 或 Met

<220>
<221> MISC_特征
<222> (23)..(23)
<223> Xaa 是 Ala 或 Val

<400> 7

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

Ser Xaa Arg Leu Ser Cys Xaa Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser
20 25 30

<210> 8
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FR H1

<400> 8

[0003]

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

Ser Met Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser
20 25 30

<210> 9
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FR H2

<220>
<221> MISC_特征
<222> (5)..(5)
<223> Xaa 是 Ala 或 Ser

<220>
<221> MISC_特征
<222> (7)..(7)
<223> Xaa 是 Gly 或 Glu

<220>
<221> MISC_特征
<222> (14)..(14)
<223> Xaa 是 Gly 或 Ala

<400> 9

Trp Val Arg Gln Xaa Pro Xaa Lys Gly Leu Glu Trp Val Xaa
1 5 10

<210> 10
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FR H2

<400> 10

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
1 5 10

<210> 11
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FR H3

<220>
<221> MISC_特征
<222> (11)..(11)
<223> Xaa 是 Asn 或 Ser

<220>
<221> MISC_特征
<222> (13)..(13)
<223> Xaa 是 Leu 或 Val

<220>
<221> MISC_特征
<222> (31)..(31)
<223> Xaa 是 Thr 或 Ala

[0004]

<400> 11

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Xaa Ser Xaa Tyr Leu Gln
1 5 10 15

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

<210> 12

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> FR H3

<400> 12

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15

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

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> FR H4

<220>

<221> MISC 特征

<222> (7)..(7)

<223> Xaa 是 Val 或 Leu

<400> 13

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

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> FR H4

<400> 14

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

<210> 15

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 重链可变区

<220>

<221> MISC 特征

<222> (3)..(3)

<223> Xaa 是 Gln 或 Lys

[0005]

```

<220>
<221> MISC_特征
<222> (18).. (18)
<223> Xaa 是 Leu 或 Met

<220>
<221> MISC_特征
<222> (23).. (23)
<223> Xaa 是 Ala 或 Val

<220>
<221> MISC_特征
<222> (40).. (40)
<223> Xaa 是 Ala 或 Ser

<220>
<221> MISC_特征
<222> (42).. (42)
<223> Xaa 是 Gly 或 Glu

<220>
<221> MISC_特征
<222> (49).. (49)
<223> Xaa 是 Gly 或 Ala

<220>
<221> MISC_特征
<222> (79).. (79)
<223> Xaa 是 Asn 或 Ser

<220>
<221> MISC_特征
<222> (81).. (81)
<223> Xaa 是 Leu 或 Val

<220>
<221> MISC_特征
<222> (99).. (99)
<223> Xaa 是 Thr 或 Ala

<220>
<221> MISC_特征
<222> (113).. (113)
<223> Xaa 是 Val 或 Leu

<400> 15

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

Ser Xaa Arg Leu Ser Cys Xaa Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Asn Tyr
20          25          30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Xaa Pro Xaa Lys Gly Leu Glu Trp Val
35          40          45

Xaa Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Thr Thr His Tyr Ala Glu
50          55          60

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

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

Tyr Cys Xaa Arg His Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100         105         110

```

[0006]

Xaa Thr Val Ser Ser
115

<210> 16
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 重链可变区

<400> 16

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

Ser Met Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Thr Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 17
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR L1

<400> 17

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Phe Phe
1 5 10 15

<210> 18
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR L1

<400> 18

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

<210> 19
<211> 7

[0007]

<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR L2

<400> 19

Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR L2

<400> 20

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR L3

<400> 21

Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Pro Thr
1 5

<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CDR L3

<400> 22

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Leu Thr
1 5

<210> 23
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FR L1

<220>
<221> MISC_特征
<222> (11)..(11)
<223> Xaa 是 Leu 或 Asn

<220>
<221> MISC_特征
<222> (17)..(17)
<223> Xaa 是 Glu 或 Asp

<400> 23

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

[0008]

1	5	10	15
---	---	----	----

Xaa Pro Ala Ser Ile Ser Cys
20

<210> 24
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FR L2

<400> 24

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

<210> 25
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FR L3

<220>
<221> MISC_特征
<222> (18).. (18)
<223> Xaa 是 Lys 或 Arg

<400> 25

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

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

<210> 26
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FR L4

<220>
<221> MISC_特征
<222> (3).. (3)
<223> Xaa 是 Gln 或 Gly

<400> 26

Phe	Gly	Xaa	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Ala
1				5				10			

<210> 27
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 轻链可变区

<220>
<221> MISC_特征

[0009]

<222> (11).. (11)
<223> Xaa 是 Leu 或 Asn

<220>
<221> MISC_特征
<222> (17).. (17)
<223> Xaa 是 Glu 或 Asp

<220>
<221> MISC 特征
<222> (79).. (79)
<223> Xaa 是 Lys 或 Arg

<220>
<221> MISC 特征
<222> (105).. (105)
<223> Xaa 是 Gln 或 Gly

<400> 27

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

Xaa Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Phe Phe Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

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

Leu Glu Leu Pro Pro Thr Phe Gly Xaa Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Ala

<210> 28
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 轻链可变区

<400> 28

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Phe Phe Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

[0010]

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
 85 90 95
 Leu Glu Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Ala
 <210> 29
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 小鼠
 <400> 29
 Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Thr Thr His Tyr Ala Glu
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
 65 70 75 80
 Val Ser Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Val Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Arg His Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110
 Leu Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 30
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 小鼠
 <400> 30
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Ile Thr Tyr Phe Phe Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Leu Ser
 35 40 45

[0011]

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

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

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

Leu Glu Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Ala

<210> 31
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> 人源化抗体的重链

<400> 31

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

Ser Met Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30

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

Gly Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Thr Thr His Tyr Ala Glu
 50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

[0012]

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr	195	200	205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr	210	215	220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe	225	230	235
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro	245	250	255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val	260	265	270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr	275	280	285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val	290	295	300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Gly	305	310	315
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser	325	330	335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro	340	345	350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val	355	360	365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly	370	375	380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp	385	390	395
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp	405	410	415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His	420	425	430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	435	440	445
<210>	32		
<211>	219		
<212>	PRT		
<213>	人工		
<220>			
<223>	人源化抗体的轻链		
<400>	32		

[0013]

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

<210> 33
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> FR H1

<220>
 <221> MISC_特征
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa 是 Gln 或 Lys

<220>
 <221> MISC_特征
 <222> (18)..(18)
 <223> Xaa 是 Leu 或 Met

<220>

[0014]

<221> MISC_特征
<222> (23). (23)
<223> Xaa 是 Ala 或 Val

<400> 33

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

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

<210> 34
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FR H1

<400> 34

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

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
20 25 30

<210> 35
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FR H2

<400> 35

Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10

<210> 36
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FR H3

<400> 36

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser Val Ser Leu Gln
1 5 10 15

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

<210> 37
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FR H4

<400> 37

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

[0015]

<210> 38
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 重链可变区

<400> 38

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Thr Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 39
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 人源化抗体的重链

<400> 39

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Thr Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

[0016]

Tyr	Cys	Thr	Arg	His	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	100	105	110	
Val	Thr	Val	Ser	Gly	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	115	120	125	
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	130	135	140	
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Asn	Asn	Ser	Gly	145	150	155	160
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	165	170	175	
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	180	185	190	
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	195	200	205	
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	210	215	220	
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	225	230	235	240
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	245	250	255	
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	260	265	270	
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	275	280	285	
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	290	295	300	
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Gly	305	310	315	320
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	325	330	335	
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	340	345	350	
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	355	360	365	
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	370	375	380	
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	385	390	395	400

[0017]

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 40
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> 人工
 <220>
 <223> 嵌合抗体的重链
 <400> 40
 Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Thr Thr His Tyr Ala Glu
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
 65 70 75 80
 Val Ser Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Val Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Arg His Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110
 Leu Thr Val Ser Gly Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 115 120 125
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Asn Asn Ser Gly
 145 150 155 160
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 180 185 190
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205

[0018]

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Gly
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 41
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> 人工
 <220>
 <223> 嵌合抗体的轻链
 <400> 41
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

[0019]

Asn Gly Ile Thr Tyr Phe Phe Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Leu Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
 85 90 95
 Leu Glu Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 42
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工
 <220>
 <223> 重链可变区
 <400> 42
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Thr Thr His Tyr Ala Glu
 50 55 60

[0020]

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 43
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 重链可变区

<400> 43

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

Ser Met Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Thr Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 44
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 重链可变区

<400> 44

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

Ser Met Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

[0021]

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Thr Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 45
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 重链可变区

<400> 45

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

Ser Met Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Thr Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 46
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 轻链可变区

<400> 46

[0022]

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

<210> 47
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> 轻链可变区

<400> 47

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

<210> 48
 <211> 114

[0023]

<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 轻链可变区

<400> 48
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Asn Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Asp Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Phe Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

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

Leu Glu Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Ala

<210> 49
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 表位

<400> 49

Pro Asp Thr Arg
1

<210> 50
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 表位

<400> 50

Pro Asp Thr Arg Pro
1 5

<210> 51
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 靶肽

[0024]

<400> 51

Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala
1 5 10 15

Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala
20 25 30

<210> 52

<211> 41

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 靶肽

<220>

<221> CARBOHYD

<222> (10)..(10)

<223> GalNAc alpha

<220>

<221> CARBOHYD

<222> (30)..(30)

<223> GalNAc alpha

<400> 52

Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser
1 5 10 15

Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro
20 25 30

Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala
35 40

<210> 53

<211> 81

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 靶肽

<220>

<221> CARBOHYD

<222> (10)..(10)

<223> GalNAc alpha

<220>

<221> CARBOHYD

<222> (30)..(30)

<223> GalNAc alpha

<220>

<221> CARBOHYD

<222> (50)..(50)

<223> GalNAc alpha

<220>

<221> CARBOHYD

<222> (70)..(70)

<223> GalNAc alpha

<400> 53

Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser
1 5 10 15

[0025]

Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro
20 25 30

Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro
35 40 45

Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val
50 55 60

Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro
65 70 75 80

Ala

<210> 54
<211> 101
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 靶肽

<220>
<221> CARBOHYD
<222> (10).. (10)
<223> GalNAc alpha

<220>
<221> CARBOHYD
<222> (30).. (30)
<223> GalNAc alpha

<220>
<221> CARBOHYD
<222> (50).. (50)
<223> GalNAc alpha

<220>
<221> CARBOHYD
<222> (70).. (70)
<223> GalNAc alpha

<220>
<221> CARBOHYD
<222> (90).. (90)
<223> GalNAc alpha

<400> 51

Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser
1 5 10 15

Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro
20 25 30

Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro
35 40 45

Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val
50 55 60

Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro
65 70 75 80

[0026]

Ala	His	Gly	Val	Thr	Ser	Ala	Pro	Asp	Thr	Arg	Pro	Ala	Pro	Gly	Ser
				85					90					95	
Thr	Ala	Pro	Pro	Ala											
				100											

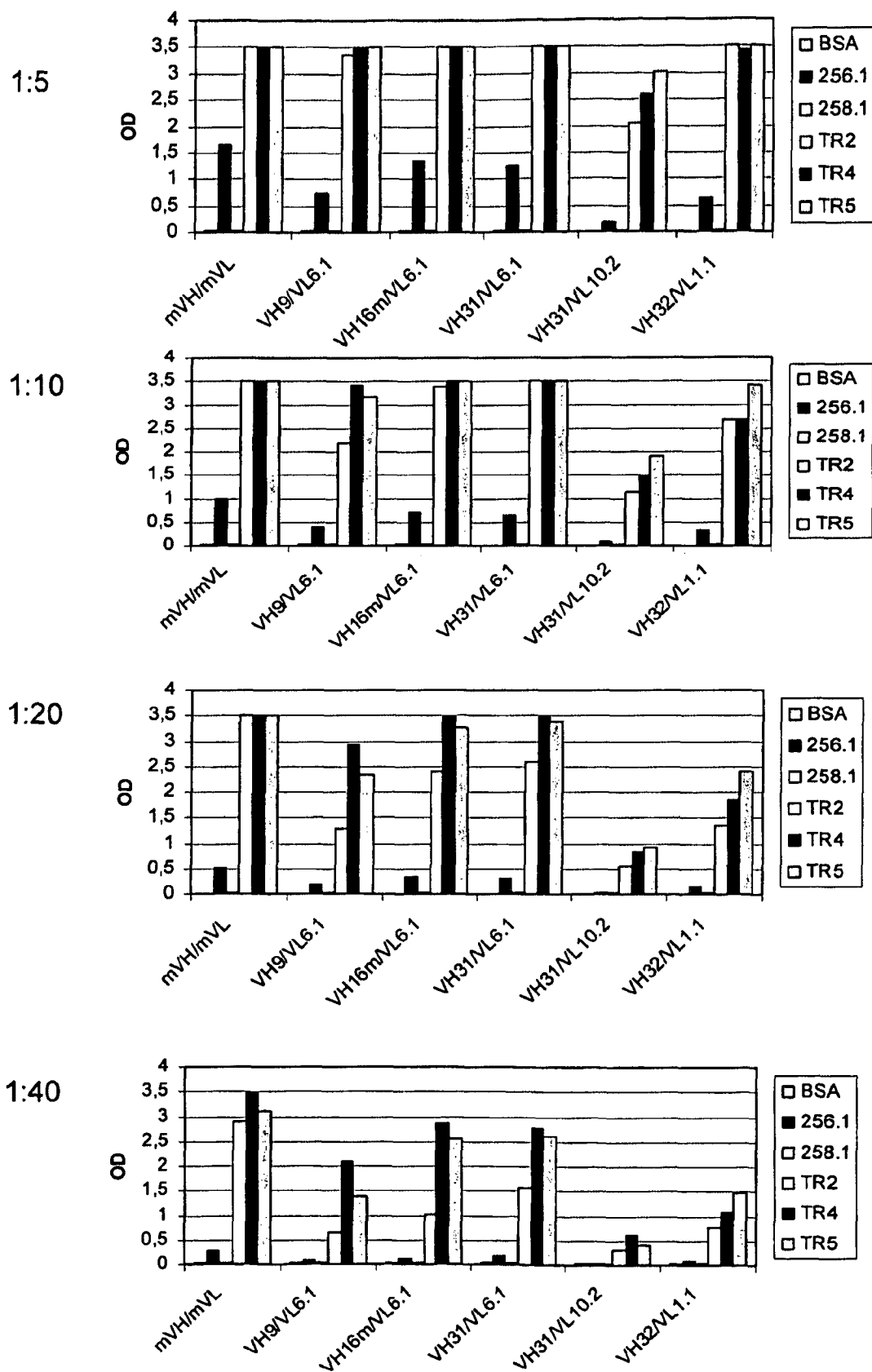


图 1

非糖基化的肽258.1

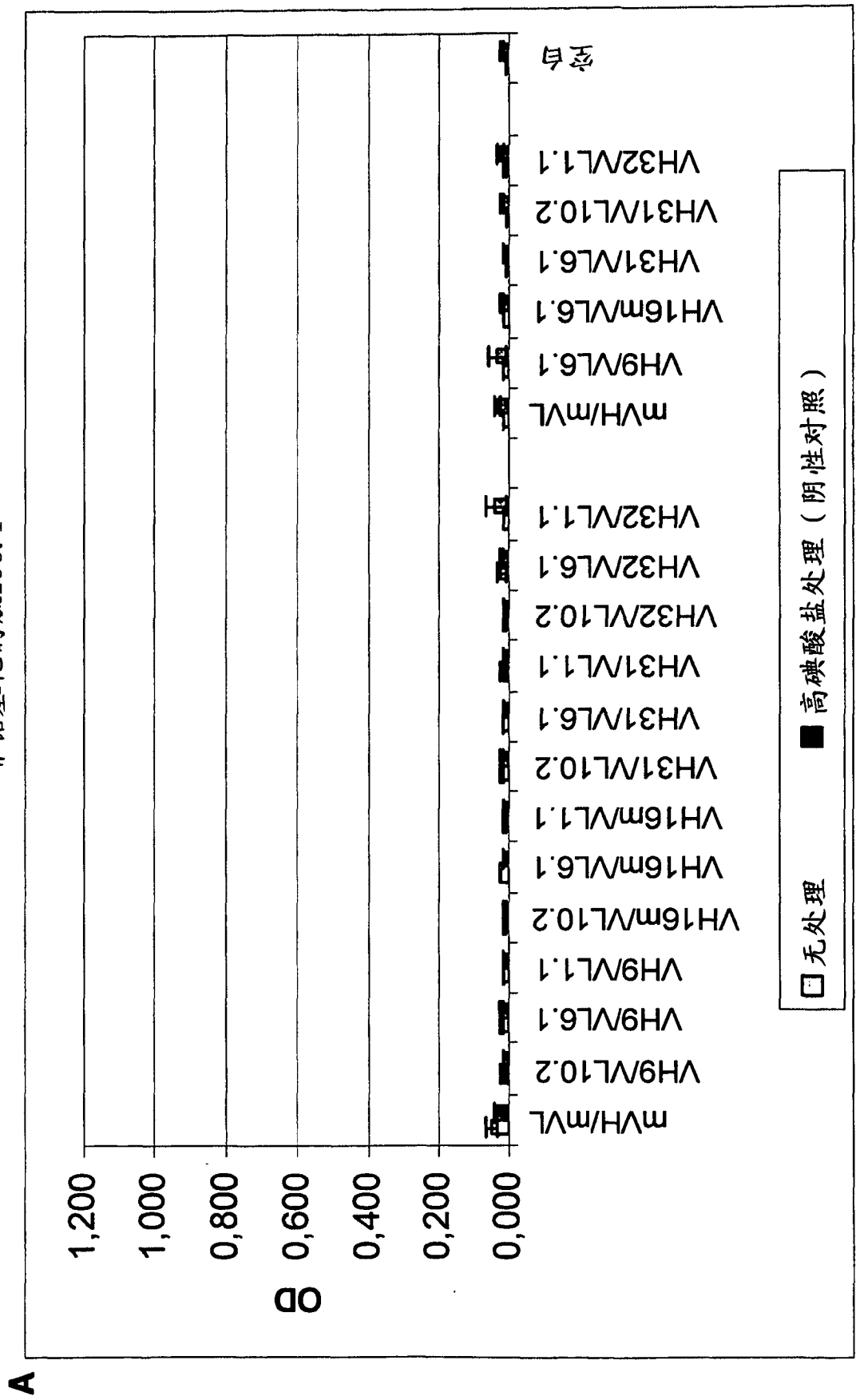


图 2

糖基化的肽 256.1

B

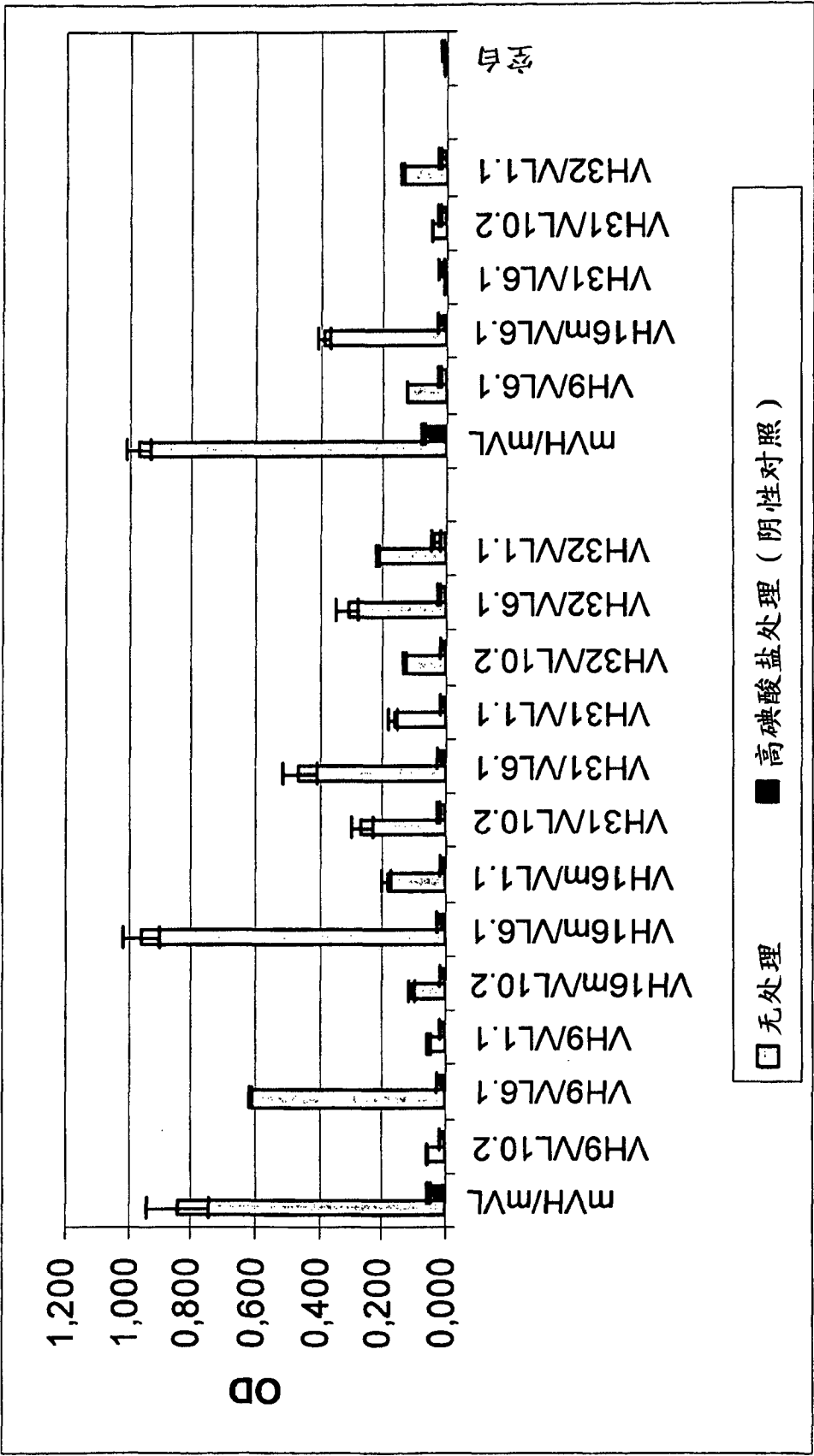


图 2(续)

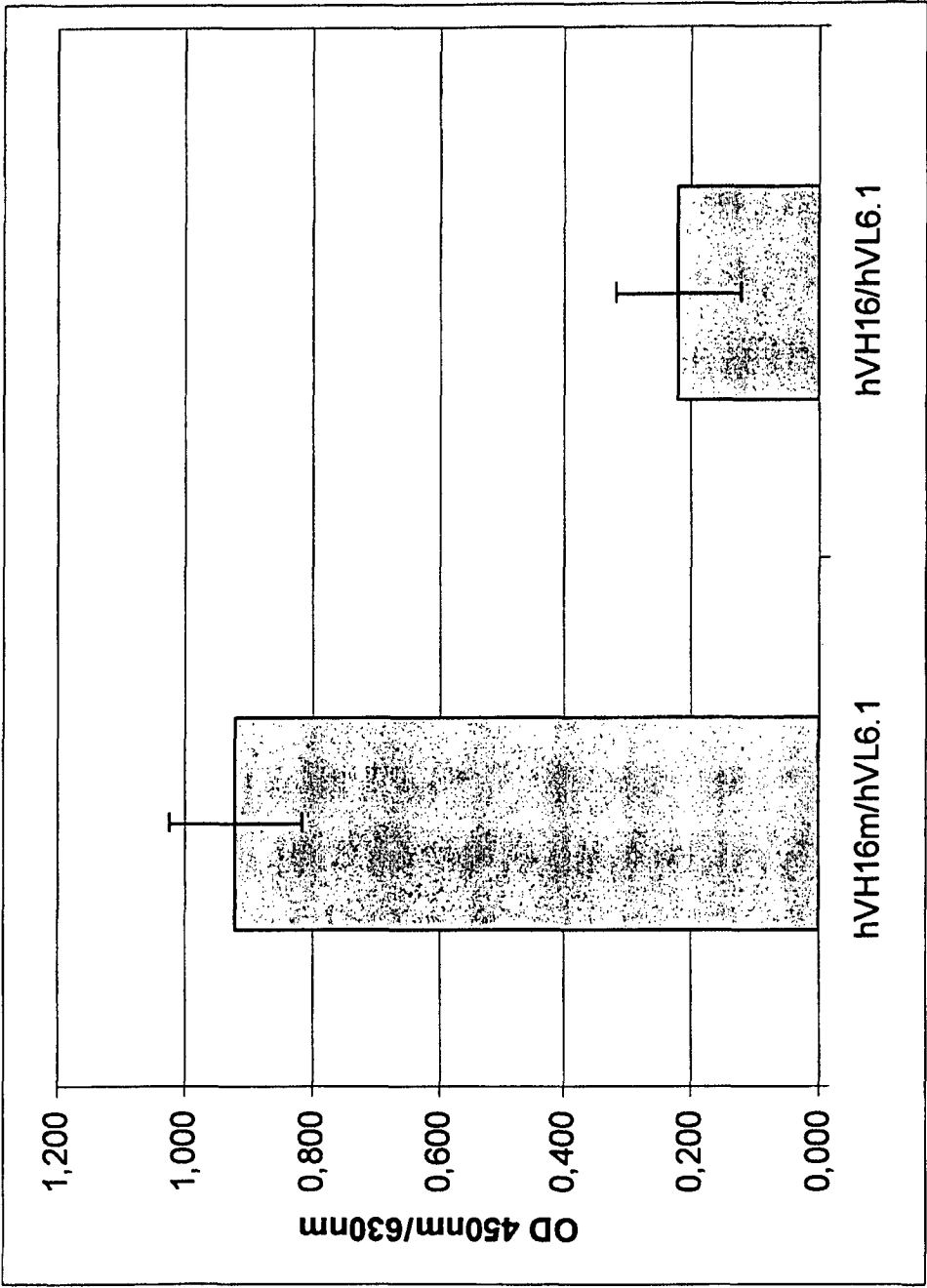


图 3