



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202035454 A

(43)公開日：中華民國 109 (2020) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：108132774

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 09 月 11 日

(51)Int. Cl.：

*C07K16/28 (2006.01)**A61K39/395 (2006.01)**A61P35/00 (2006.01)**A61P37/00 (2006.01)*

(30)優先權：2018/09/11

中國大陸

201811060341.2

(71)申請人：大陸商江蘇恆瑞醫藥股份有限公司 (中國大陸) JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. (CN)

中國大陸

大陸商上海恆瑞醫藥有限公司 (中國大陸) SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD. (CN)

中國大陸

(72)發明人：葉鑫 YE, XIN (CN)；孫樂 SUN, LE (CN)；宋明娟 SONG, MINGJUAN (CN)；傅蓓蓓 FU, BEIBEI (CN)；王小華 WANG, XIAOHUA (CN)；張蕾 ZHANG, LEI (CN)；陶維康 TAO, WEIKANG (CN)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：40 項 圖式數：2 共 159 頁

(54)名稱

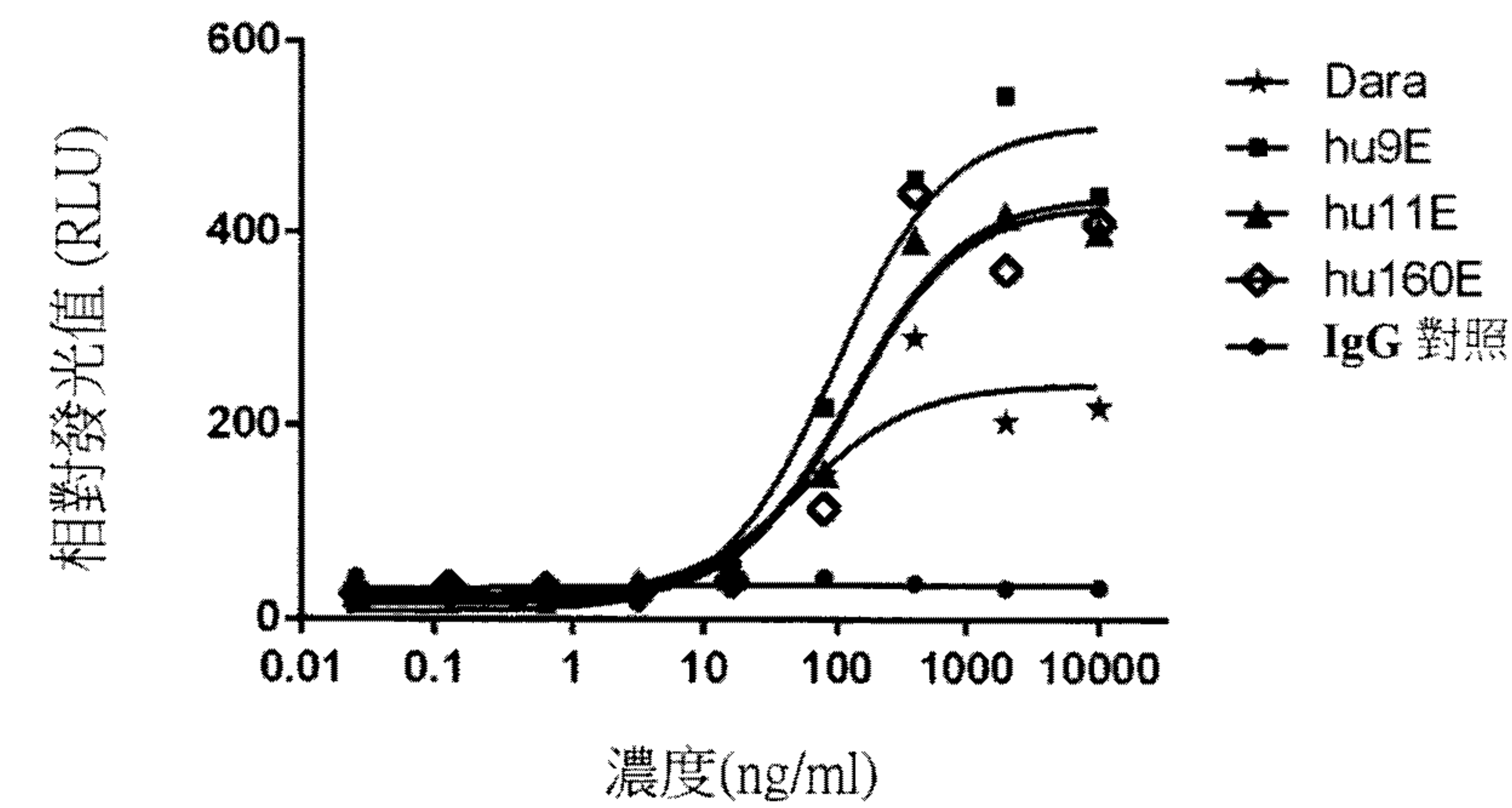
抗 CD 38 抗體、其抗原結合片段及醫藥用途

(57)摘要

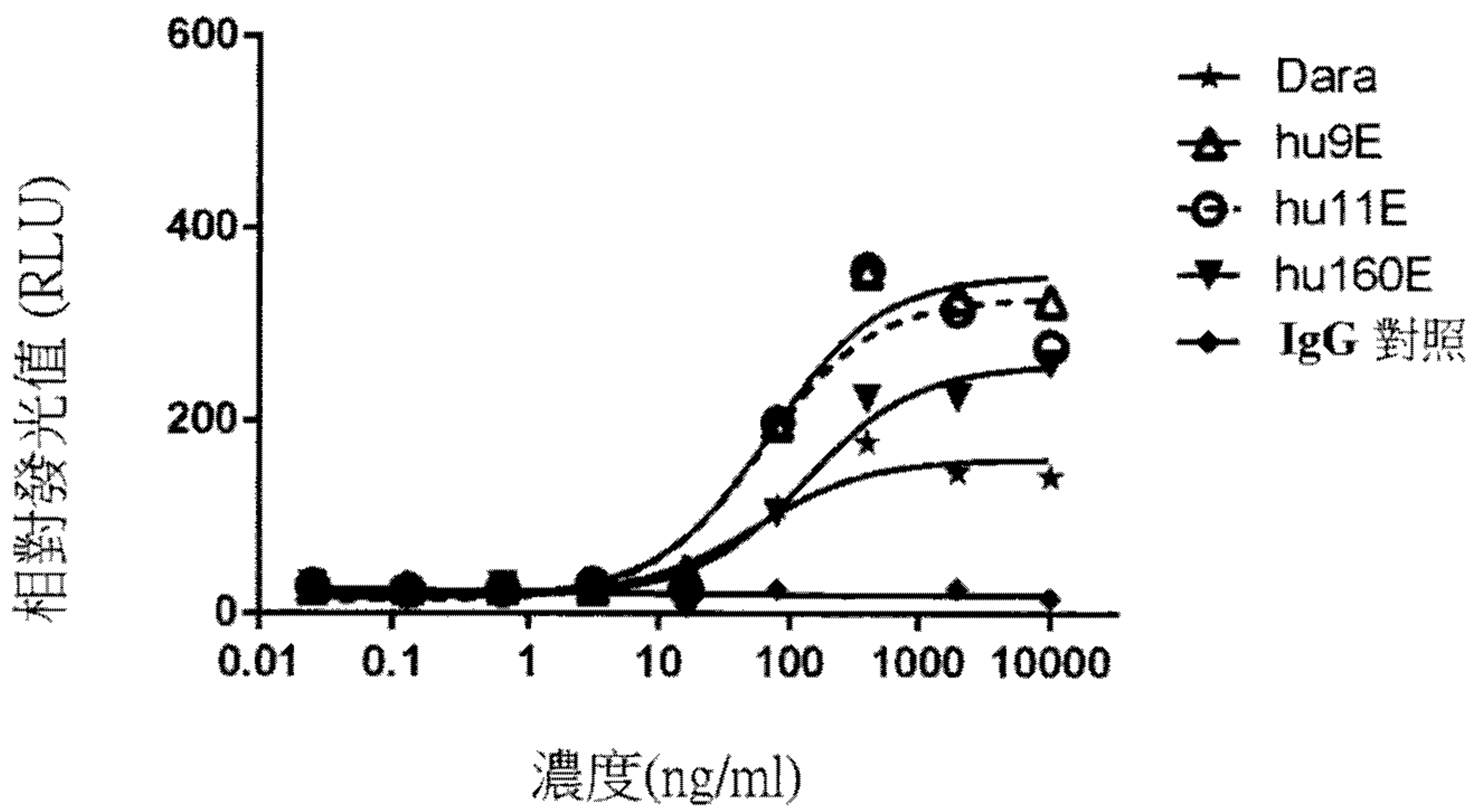
本公開涉及抗 CD38 抗體、其抗原結合片段及醫藥用途。具體的，本公開涉及包含上述抗 CD38 抗體 CDR 區的鼠源抗體、嵌合抗體或人源化抗體，以及包含抗 CD38 抗體或其抗原結合片段的醫藥組成物，以及其作為藥物的用途。特別地，本公開涉及一種人源化的抗 CD38 抗體在製備用於治療 CD38 陽性疾病或病症的藥物中的用途。

The present disclosure relates to an anti-CD38 antibody, antigen-binding fragments thereof, and the pharmaceutical use. In particular, the present disclosure relates to a murine antibody, chimeric antibody or humanized antibody comprising the CDR regions of the anti-CD38 antibody, and a pharmaceutical composition comprising an anti-CD38 antibody or antigen-binding fragment thereof, and the pharmaceutical use thereof. In particular, the present disclosure relates to the use of a humanized anti-CD38 antibody for the manufacture of a medicament for the treatment of CD38 positive disease or condition.

指定代表圖：



【第1A圖】



【第1B圖】

【發明摘要】

【中文發明名稱】 抗 CD38 抗體、其抗原結合片段及醫藥用途

【英文發明名稱】 AN ANTI-CD38 ANTIBODY, ANTIGEN-BINDING
FRAGMENTS THEREOF, AND THE
PHARMACEUTICAL USE

【中文】

本公開涉及抗 CD38 抗體、其抗原結合片段及醫藥用途。具體的，本公開涉及包含上述抗 CD38 抗體 CDR 區的鼠源抗體、嵌合抗體或人源化抗體，以及包含抗 CD38 抗體或其抗原結合片段的醫藥組成物，以及其作為藥物的用途。特別地，本公開涉及一種人源化的抗 CD38 抗體在製備用於治療 CD38 陽性疾病或病症的藥物中的用途。

【英文】

The present disclosure relates to an anti-CD38 antibody, antigen-binding fragments thereof, and the pharmaceutical use. In particular, the present disclosure relates to a murine antibody, chimeric antibody or humanized antibody comprising the CDR regions of the anti-CD38 antibody, and a pharmaceutical composition comprising an anti-CD38 antibody or antigen-binding fragment thereof, and the pharmaceutical use thereof. In particular, the present disclosure relates to the use of a humanized anti-CD38 antibody for the manufacture of a medicament for the treatment of CD38 positive disease or condition.

【指定代表圖】 第1圖

【代表圖之符號簡單說明】 無。

【特徵化學式】 無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】 抗 CD38 抗體、其抗原結合片段及醫藥用途

【英文發明名稱】 AN ANTI-CD38 ANTIBODY, ANTIGEN-BINDING
FRAGMENTS THEREOF, AND THE
PHARMACEUTICAL USE

【技術領域】

【0001】 本公開屬於生物技術領域，更具體地，本公開涉及抗 CD38 抗體及其組合物的治療性用途和用於生產該抗體分子的方法。

【先前技術】

【0002】 這裡的陳述僅提供與本公開有關的背景信息，而不必然地構成現有技術。

【0003】 多發性骨髓瘤（Multiple myeloma，MM）是一種惡性漿細胞病，其腫瘤細胞起源於骨髓中的漿細胞，而漿細胞是 B 淋巴細胞發育到最終功能階段的細胞。因此，多發性骨髓瘤也可以歸到 B 淋巴細胞淋巴瘤的範圍。

【0004】 多發性骨髓瘤特徵為骨髓漿細胞異常增生伴有單株免疫球蛋白或輕鏈（M 蛋白）的過度生成，極少數患者是不產生 M 蛋白的未分泌型 MM。多發性骨髓瘤常伴有多發性溶骨性損害、高鈣血症、貧血、腎臟損害。由於正常免疫球蛋白的生成受到抑制，因此容易出現各種細菌性感染。

【0005】 中國國內發病率估計為 2 至 3 人/10 萬，男女比例為 1.6：1，大多患者年齡>40 歲，多為>60 歲的老人。目前，中國國內預計有 7 萬左右的患者，全球大概每年新增 8 萬多患者。多發性骨髓瘤在各種血液瘤中占比約 10%左右。隨著老齡化趨勢的加重，患者的數量有進一步加劇的趨勢。

【0006】 目前，多發性骨髓瘤是一種無法治癒的血液系統惡性腫瘤，現有主要的治療手段包括：骨髓移植、多重小分子藥物化療，尤其是卡非佐米（carfilzomib）為代表的蛋白酶抑制劑，和來那度胺（lenalidomide）為代表的免疫調節劑，大大延長了 MM 患者的生存期。但是，該病最後幾乎都會復發，復發後平均生存週期僅 9 個月左右。在復發性或難治性 MM 患者（Refractory multiple myeloma，RRMM）身上，單用 Janssen 公司的達雷木單抗（Daratumumab，Dara）表現出良好效果，因而被 FDA 視為突破性藥物，並於 2015 年 11 月獲批上市，用於 RRMM 患者的治療。目前在開展多個 Dara 和小分子聯用的臨床試驗，Dara 和小分子藥物的聯用可以大大提高臨床療效。

【0007】 CD38 是具有 256 胺基酸胞外域的 II 型跨膜多功能蛋白。一方面，通過間接方式證明 CD38 藉由配體 CD31 發揮橫向信號傳遞的作用，可引起細胞黏附，在淋巴細胞活化和 B 細胞分化等方面起作用，但是該功能未有生化方面的直接證據。另一方面，CD38 具有環化酶及水解酶的功能，可以藉由環化酶的作用促進 NAD（煙醯胺腺嘌呤二核苷酸）轉化成 cADPR（環腺苷二磷酸核糖），也可以藉由 cADPR 水解酶作用，促進 cADPR 轉化成 ADPR（二磷酸腺苷核糖）。CD38 可以調節 Ca²⁺流，也可以促進

細胞產生腺苷從而抑制免疫， Ca^{2+} 流的變化可能會影響胰島素的分泌。剔除 CD38 基因的小鼠顯示能夠正常存活，但存在體液免疫應答下降、胰島素下降、心/肺肌肉缺陷等不同症狀。人體內 CD38 在造血細胞、免疫細胞及多種正常組織如腦、胰臟、腎臟、肌肉等中表達，RNA 水平檢測顯示在前列腺及胸腺中有較高表達，而在多種血液瘤細胞尤其是多發性骨髓瘤細胞中明顯高表達，達雷木單抗的臨床數據也驗證了 CD38 抗體在多發性骨髓瘤領域的藥效及安全性，提示 CD38 靶點開發的潛在價值。各類文獻研究顯示抗 CD38 的抗體在治療 MM 中的作用機制主要包括：

- 1) ADCC、CDC、ADCP，主要和表位及 IgG1-Fc 相關的作用機制；
- 2) 凋亡引起的直接殺傷作用；
- 3) 藉由抑制 CD38 酶活性對於腫瘤細胞的生存產生的影響；
- 4) 潛在的對於表達 CD38 的 Treg 細胞的清除作用。

【0008】 CD38 靶點成為多發性骨髓瘤治療的一大熱點。另一個重要的靶向 CD38 的抗體是 Sanofi 的伊沙妥昔單抗（Isatuximab），同樣開展了多個單用及與小分子藥物聯用的臨床實驗，從現有的數據來看伊沙妥昔單抗具有和達雷木單抗相當的療效及安全性。目前還有 MOR202（Morphasys）及 TAK-079（Takeda）等抗體已進入臨床，也有 CD38/CD3 雙特異性抗體及 CD38-CAR-T 等在臨床前研究階段。其他針對 CD38 靶點的抗體相關專利可參見如：WO2006099875、WO2007042309、WO2008047242、WO2012092612、WO2016164656、WO2017149122 等。

【0009】 繼續開發具有高選擇性、高親和力和良好藥效的抗體仍是目前急需的。

【發明內容】

【0010】 本公開提供一系列親和力 (affinity) 更高，體內抑瘤活性更好，且具有良好體內代謝活性的 CD38 抗體。具體地，本公開提供一種與人 CD38 特異性結合的單株抗體或抗原結合片段。

【0011】 在一些實施方案中，本公開提供一種抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，該抗體與人 CD38 特異性結合，該抗體或其抗原結合片段包含，如下所示的 CDR：

(i) 分別如 SEQ ID NO：9、10、11 所示的重鏈 HCDR1、HCDR2、HCDR3 或與 SEQ ID NO：9、10、11 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分別具有 3、2 或 1 個胺基酸差異的 HCDR 變體；和分別如 SEQ ID NO：12、13、14 胺基酸序列所示的輕鏈 LCDR1、LCDR2、LCDR3 或與 SEQ ID NO：12、13、14 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分別具有 3、2 或 1 個胺基酸差異的 LCDR 變體；或

(ii) 分別如 SEQ ID NO：15、16、17 所示的重鏈 HCDR1、HCDR2、HCDR3 或與 SEQ ID NO：15、16、17 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分別具有 3、2 或 1 個胺基酸差異的 HCDR 變體；和分別如 SEQ ID NO：18、19、20 所示的輕鏈 LCDR1、LCDR2、LCDR3 或與 SEQ ID NO：18、19、20 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分別具有 3、2 或 1 個胺基酸差異的 LCDR 變體；或

(iii) 分別如 SEQ ID NO：15、21、17 所示的重鏈 HCDR1、HCDR2、HCDR3 或與 SEQ ID NO：15、21、17 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分別具有 3、2 或 1 個胺基酸差異的 HCDR 變體；和分別如 SEQ ID NO：

22、19、23 所示的輕鏈 LCDR1、LCDR2、LCDR3 或與 SEQ ID NO：22、19、23 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分別具有 3、2 或 1 個胺基酸差異的 LCDR 變體。

【0012】 在一些實施方式中，該抗 CD38 抗體或抗原結合片段的 CDR（包括 3 個重鏈 CDR 和 3 個輕鏈 CDR）具有 3、2 或 1 個胺基酸差異的 CDR 變體是經親和力成熟方法篩選獲得的具有 3、2 或 1 個胺基酸差異的 CDR 變體。

【0013】 在一些實施方案中，該抗 CD38 抗體或抗原結合片段與人 CD38 的親和力（KD）小於 10^{-8}M 、小於 10^{-9}M 、小於 10^{-10}M 或小於 10^{-11}M 。

【0014】 在一些實施方案中，該抗 CD38 抗體為鼠源抗體、嵌合抗體或人源化抗體，較佳人源化抗體。

【0015】 在一些實施方案中，該抗體為鼠源抗體或嵌合抗體，該抗體的重鏈可變區，其胺基酸序列如 SEQ ID NO：3、5、7 所示或與 SEQ ID NO：3、5、7 具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性；和/或該的抗體的輕鏈可變區，其胺基酸序列如 SEQ ID NO：4、6、8 所示或與 SEQ ID NO：4、6、8 具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性。

【0016】 在一些實施方案中，該的抗 CD38 抗體或抗原結合片段包含如下所示的重鏈可變區和輕鏈可變區：

（a）：

重鏈可變區，其胺基酸序列如 SEQ ID NO：3 所示或與 SEQ ID NO：3 具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性，且

輕鏈可變區，其胺基酸序列如 SEQ ID NO：4 所示或與 SEQ ID NO：4 具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性；

(b)：

重鏈可變區，其胺基酸序列如 SEQ ID NO：5 所示或與 SEQ ID NO：5 具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性，且

輕鏈可變區，其胺基酸序列如 SEQ ID NO：6 所示或與 SEQ ID NO：6 具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性；

(c)：

重鏈可變區，其胺基酸序列如 SEQ ID NO：7 所示或與 SEQ ID NO：7 具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性，且

輕鏈可變區，其胺基酸序列如 SEQ ID NO：8 所示或與 SEQ ID NO：8 具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性。

【0017】 在一些實施方案中，該抗體為人源化抗體，該人源化抗體包含來源於人種系的框架 (FR) 區或框架區變體，該框架區變體為在人抗體的輕鏈框架區和/或重鏈框架區上分別具有至多 10 個 (例如 10 個、9 個、8 個、7 個、6 個、5 個、4 個、3 個、2 個或 1 個) 胺基酸的回復突變。在一些實施方案中，該人源化抗體包含選自以下 (d) 至 (f) 中的任一項：

(d) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含：重鏈 HCDR1、HCDR2、HCDR3 以及重鏈框架區，其中：

該 HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：9 所示或與 SEQ ID NO：9 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該 HCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：10 所示或與 SEQ ID NO：10 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該 HCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：11 所示或與 SEQ ID NO：11 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該重鏈框架區具有選自 2F、38K、44S、48I、67A、66K、69L、71V 和 73Q 中的一個或更多個回復突變；和/或

輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：輕鏈 LCDR1、LCDR2、LCDR3 以及輕鏈框架區，其中：

該 LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：12 所示或與 SEQ ID NO：12 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該 LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：13 所示或與 SEQ ID NO：13 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該 LCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：14 所示或與 SEQ ID NO：14 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該輕鏈框架區具有選自 2F、43S、49K 和 87F 中的一個或更多個回復突變；

(e)重鏈可變區，該重鏈可變區包含：重鏈 HCDR1、HCDR2、HCDR3 以及重鏈框架區，其中：

該 HCDR1 胺基酸的序列如 SEQ ID NO：15 所示或與 SEQ ID NO：15 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該 HCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：16 所示或與 SEQ ID NO：16 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該 HCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：17 所示或與 SEQ ID NO：17 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該重鏈框架區具有選自 79F、82A T、91S 和 76S 中的一個或更多個回復突變；和/或；

輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：輕鏈 LCDR1、LCDR2、LCDR3 以及輕鏈框架區，其中：

該 LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：18 所示或與 SEQ ID NO：18 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該 LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：19 所示或與 SEQ ID NO：19 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該 LCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：20 所示或與 SEQ ID NO：20 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該輕鏈框架區具有選自 58I、68R 和 85T 中的一個或更多個回復突變；和

(f)重鏈可變區，該重鏈可變區包含：重鏈 HCDR1、HCDR2、HCDR3 以及重鏈框架區，其中：

該 HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：15 所示或與 SEQ ID NO：15 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該 HCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：21 所示或與 SEQ ID NO：21 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該 HCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：17 所示或與 SEQ ID NO：17 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該重鏈框架區具有選自 48I、77T 和 82A T 中的一個或更多個回復突變；和/或

輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：輕鏈 LCDR1、LCDR2、LCDR3 以及輕鏈框架區，其中：

該 LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：22 所示或與 SEQ ID NO：22 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該 LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：19 所示或與 SEQ ID NO：19 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該 LCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：23 所示或與 SEQ ID NO：23 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

該輕鏈框架區具有選自 4L、9A、22S、58I、60A 和 68R 中的一個或更多個回復突變；

其中，前述回復突變的位點根據 Kabat 編號規則編號，前述突變例如“2F”是指將第 2 位（根據 Kabat 編號規則編號的第 2 位）胺基酸回復突變為苯丙胺酸（縮寫 Phe 或 F），“82A T”是指將第 82A 位（根據 Kabat 編號規則編號的第 82A 位）胺基酸回復突變為蘇胺酸（縮寫 Thr 或 T）。

【0018】 在一些實施方案中，該抗體重鏈 FR 區序列選自人種系 IGHV1-3*01 和 hJH4.1 的組合或與其具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性。

【0019】 在一些實施方案中，該輕鏈 FR 區選自人種系 IGKV3-11*01 和 hJK4.1 的組合與其具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性。

【0020】 在另一些實施方案中，該重鏈 FR 區序列選自人種系 IGHV3-7*01 和 hJH6.1 的 FR4 的組合或與其具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性。

【0021】 在另一些實施方案中，該輕鏈 FR 區序列選自人種系 IGKV4-1*01 和 hJK4.1 的組合或與其具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性。

【0022】 在一些實施方案中，該人源化抗體包含序列如 SEQ ID NO：24、32 或 37 所示的重鏈可變區或其變體；其中該變體是在上述重鏈可變

區中的框架區上具有 1-10 個（例如 10 個、9 個、8 個、7 個、6 個、5 個、4 個、3 個、2 個或 1 個）胺基酸突變。在一些實施方案中，其中該胺基酸突變選自以下任一項該：

（g）在序列如 SEQ ID NO：24 所示的重鏈可變區中的框架區上具有選自 2F、38K、44S、48I、67A、66K、69L、71V 和 73Q 中的一個或更多個胺基酸的回復突變；

（h）在序列如 SEQ ID NO：32 所示的重鏈可變區中的框架區上具有選自 79F 和 91S 中的一個或更多個胺基酸回復突變；

（i）在序列如 SEQ ID NO：37 所示的重鏈可變區中的框架區上具有 48I 胺基酸回復突變。

【0023】 在一些實施方案中，該人源化抗體包含：

序列如 SEQ ID NO：26、27、28、29、34 或 39 所示的重鏈可變區，或序列與 SEQ ID NO：26、27、28、29、34 或 39 具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性的重鏈可變區。

【0024】 在一些實施方案中，該人源化抗體包含序列如 SEQ ID NO：25、33 或 38 所示的輕鏈可變區或其變體；該變體是在序列 SEQ ID NO：25、33 或 38 任一項所示的輕鏈可變區中的框架區上具有 1-10 個（例如 10 個、9 個、8 個、7 個、6 個、5 個、4 個、3 個、2 個或 1 個）胺基酸突變。

【0025】 在一些實施方案中，其中該胺基酸突變選自以下（j）至（l）任一項：

（j）在序列如 SEQ ID NO：25 所示的輕鏈可變區中的框架區上具有選自 2F、43S、49K 和 87F 中的一個或更多個胺基酸回復突變；

（k）在序列如 SEQ ID NO：33 所示的輕鏈可變區中的框架區上具有選自 58I、68R 和 85T 中的一個或更多個回復突變；

(1) 在序列如 SEQ ID NO: 38 所示的輕鏈可變區中的框架區上具有選自 4L、9A、22S、58I、60A 和 68R 中的一個或更多個回復突變；

其中，該突變的位點根據 Kabat 編號規則編號。

【0026】 在一些實施方案中，該人源化抗體包含：序列如 SEQ ID NO: 30、31、35、36、40、41 或 42 所示的輕鏈可變區，或序列與 SEQ ID NO: 30、31、35、36、40、41 或 42 具有至少 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 序列同一性的胺基酸序列所示的輕鏈可變區。

【0027】 在一些實施方案中，該人源化抗體包含：

(m) 序列如 SEQ ID NO: 24、26、27、28 或 29 所示的重鏈可變區，和序列如 SEQ ID NO: 25、30 或 31 所示的輕鏈可變區；或

(n) 序列如 SEQ ID NO: 32 或 34 所示的重鏈可變區，和序列如 SEQ ID NO: 33、35 或 36 所示的輕鏈可變區；或

(o) 序列如 SEQ ID NO: 37 或 39 所示的重鏈可變區，和序列如 SEQ ID NO: 38、40、41 或 42 所示的輕鏈可變區；

在一些實施方案中，該人源化抗體包含：

(p) 序列如 SEQ ID NO: 26 所示的重鏈可變區，和序列如 SEQ ID NO: 30 所示的輕鏈可變區；或

(q) 序列如 SEQ ID NO: 32 所示的重鏈可變區，和序列如 SEQ ID NO: 33 所示的輕鏈可變區；或

(r) 序列如 SEQ ID NO: 37 所示的重鏈可變區，和序列如 SEQ ID NO: 38 序列所示的輕鏈可變區。

【0028】 在一些實施方案中，該抗體進一步包含恆定區；較佳地，其中該抗體為嵌合抗體或人源化抗體，其重鏈恆定區來源於人抗體 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4，或 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的常規變體；輕鏈恆

定區來源於人抗體 κ 、 λ 鏈或其常規變體。在一些具體的實施方案中，該重鏈恆定區的胺基酸序列如 SEQ ID NO:43 或 44 所示或與其具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性，該輕鏈恆定區的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 45 所示或與其具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性。

【0029】 在一些實施方案中，該重鏈如 SEQ ID NO: 46、48、49、51、52 或 54 所示，或與 SEQ ID NO: 46、48、49、51、52 或 54 具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性；和/或

【0030】 該輕鏈如 SEQ ID NO: 47、50 或 53 所示，或與 SEQ ID NO: 47、50 或 53 具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性。

【0031】 在一些實施方案中，該抗 CD38 抗體包含：

(i) 序列如 SEQ ID NO: 46 或 48 所示的重鏈，和序列如 SEQ ID NO: 47 所示的輕鏈；或

(ii) 序列如 SEQ ID NO: 49 或 51 所示的重鏈，和序列如 SEQ ID NO: 50 所示的輕鏈；或

(iii) 序列如 SEQ ID NO: 52 或 54 所示的重鏈，和序列如 SEQ ID NO: 53 所示的輕鏈。

在一些具體的實施方案中，該抗 CD38 抗體包含：

(iv) 序列如 SEQ ID NO: 48 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO: 47 所示的輕鏈；或

(v) 序列如 SEQ ID NO: 51 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO: 50 所示的輕鏈；或

(vi) 序列如 SEQ ID NO : 54 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO : 53 所示的輕鏈。

【0032】 在一些實施方案中，該抗 CD38 抗體或其抗原結合片段具有增強的 ADCC 活性，該活性的提高藉由在改變抗體或其抗原結合片段的 Fc 區與 FcγIIIa 的親和力實現，比如，可參照 MacroGenics 專利 WO2008140603 提到的 F243L、R292P、Y300L 突變及其組合，如 Xencor 專利 US20080260731 提到的在 IgG1Fc 區進行 S239D、I332E 突變或其組合，以及其他本領域中已經公開的其他可增強 ADCC 功能的突變。

【0033】 在一些實施方案中，該抗原結合片段選自 Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、雙抗體和 dsFv。

【0034】 本公開還提供一種抗 CD38 抗體，該抗體與前述任一項所述的抗體或其抗原結合片段競爭性結合人 CD38，或與前述任一項所述的抗體或其抗原結合片段結合相同的 CD38 抗原表位。

【0035】 本公開還提供一種醫藥組成物，其含有治療有效量的如上所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，以及一種或多種藥學上可接受的載體、稀釋劑、緩衝劑或賦形劑。較佳地，該醫藥組成物單位劑量中可含有 0.01 至 99 重量%的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段；或醫藥組成物單位劑量中含抗體或其抗原結合片段的量較佳為 0.1-2000mg，更佳為 1-1000mg。

【0036】 本公開還提供一種分離的核酸分子，其編碼如前面任一項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段。

【0037】 本公開還提供一種載體，其包含上述的核酸分子。

【0038】 本公開還提供一種用如上所述的載體轉化（或轉導、轉染）的宿主細胞。還公開了一種宿主細胞，其包含如上所述的載體。該宿主細

胞選自原核細胞和真核細胞，在一些實施方案中，該宿主細胞不包括任何能夠發育成完整個體的人細胞，如人胚胎乾細胞、受精卵、生殖細胞；較佳地，該宿主細胞為真核細胞，更佳哺乳動物細胞，其中該哺乳動物細胞包括但不限於 CHO、293、NSO，以及在哺乳動物細胞中進行基因編輯可改變抗體或其抗原結合片段的糖基化修飾，進而改變抗體或其抗原結合片段的 ADCC 功能的細胞，例如，敲除 FUT8 或 GnT-III 等基因；在一些實施方案中，該哺乳動物細胞不包括人細胞。

【0039】本公開還提供一種製備如上所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段的方法，該方法包括培養上述宿主細胞，然後回收抗 CD38 抗體或其抗原結合片段的步驟；視需要地包括對抗 CD38 抗體或其抗原結合片段進行純化步驟。

【0040】本公開還提供用於檢測或測定人 CD38 的方法，該方法包括使上述抗 CD38 抗體或其抗原結合片段接觸待測樣本。

【0041】本公開還提供用於檢測或測定人 CD38 的試劑，該試劑包含上述任一項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段。

【0042】本公開還提供用於與人 CD38 相關的疾病的診斷劑，該診斷劑包含根據上述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段。

【0043】本公開還提供用於診斷與人 CD38 相關的疾病的方法，該方法包括使用上述抗 CD38 抗體或其抗原結合片段檢測或測定人 CD38 或 CD38 陽性細胞。

【0044】本公開還提供上述抗 CD38 抗體或其抗原結合片段在製備與人 CD38 相關的疾病的診斷劑中的應用。

【0045】 本公開還提供治療或預防疾病的方法，該方法包括向受試者施用治療有效量或預防有效量的上述抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，或包含上述的醫藥組成物，或上述的核酸分子。

【0046】 在一些實施方案中，該疾病或病症為腫瘤或免疫性疾病。

【0047】 在一些實施方案中，該疾病或病症為 CD38 陽性疾病或病症。

【0048】 在一些實施方案中，前述疾病或病症為腫瘤。

【0049】 在一些實施方案中，前述腫瘤選自白血病、B 細胞淋巴瘤、漿細胞惡性瘤、T/NK 細胞淋巴瘤和骨髓瘤。在一些實施方案中，該白血病選自：急性淋巴細胞白血病、急性成淋巴細胞白血病、急性早幼粒細胞白血病、慢性淋巴細胞白血病、急性和慢性骨髓型白血病。在一些實施方案中，該骨髓瘤選自：多發性骨髓瘤、前髓細胞腫瘤和輕鏈類澱粉變性等。在一些實施方案中，該淋巴瘤為非何傑金淋巴瘤或何傑金淋巴瘤。在一些實施方案中，前述腫瘤為 B 細胞淋巴瘤/白血病，例如選自成熟 B 細胞腫瘤或前體 B 細胞成淋巴細胞白血病/淋巴瘤，或選自 B 細胞非霍奇金淋巴瘤或 B 細胞霍奇金淋巴瘤。在一些實施方案中，該腫瘤選自：B 細胞慢性淋巴細胞性白血病（CLL）或小淋巴細胞性白血病（SLL）、B 細胞急性淋巴細胞性白血病、B 細胞前淋巴細胞白血病、淋巴漿細胞樣淋巴瘤、套細胞淋巴瘤（MCL）、低級/中級/高級濾泡性淋巴瘤（FL）、皮膚濾泡中心淋巴瘤、邊緣區 B 細胞淋巴瘤（包括 MALT 型、淋巴結 MZBL 型、脾 MZBL 型）、毛細胞白血病、彌漫性大 B 細胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤（Burkitt 淋巴瘤）、漿細胞瘤/漿細胞骨髓瘤、漿細胞白血病、移植後淋巴增生性疾病、Waldenstrom 巨球蛋白血症、漿細胞白血病、間變性大細胞淋巴瘤（ALCL）、多毛細胞淋巴瘤。

【0050】 在一些實施方式實施方案中，該腫瘤為 B-細胞淋巴瘤或多發性骨髓瘤。

【0051】 在一些實施方案中，該腫瘤為多發性骨髓瘤。

【0052】 在一些實施方案中，前述疾病或病症為免疫性疾病，例如由表達 CD38 的 B 細胞、漿細胞、單核細胞和 T 細胞參與的免疫性疾病。

【0053】 在一些實施方案中，該免疫性疾病包括但不限於類風濕性關節炎、牛皮癬、僵強直性脊椎管柱炎、關節銀屑病、皮炎、系統性硬皮病及硬化症、炎症性腸病（IBD）、Crohn 病（克羅恩氏病）、潰瘍性結腸炎、呼吸窘迫綜合症、腦膜炎、腦炎、胃炎、葡萄膜炎、腎小球腎炎、濕疹、哮喘、動脈硬化、白細胞黏附缺陷病、雷諾氏(Raynaud)症候群、修格連氏(Sjogren)症候群、青少年糖尿病、萊特氏(Reiter)病、貝塞特氏(Behcet)病、免疫複合物性腎炎、IgA 腎病、IgM 多發性神經病、免疫介導的血小板減少症狀(如急性特發性血小板減少性紫癜、慢性特發性血小板減少性紫癜)、溶血性貧血、重症肌無力、狼瘡性腎炎、系統性紅斑狼瘡、風濕關節炎(RA)、異位性皮炎、天皰瘡、葛瑞夫氏(Graves)病、橋本氏甲狀腺炎、韋格納(Wegener)肉芽腫、歐文(Omenn)症候群、慢性腎功能衰竭、急性傳染性單核細胞增多症、多發性硬化症、HIV 和疱疹病毒相關的疾病、嚴重急性呼吸綜合症和脈絡視網膜炎(choreoretinitis)、移植物對抗宿主疾病、以及病毒感染引起的免疫性疾病（如伊波病毒(EBV)感染 B 細胞引起或介導的疾病）。

【0054】 在一些實施方式中，該免疫性疾病選自：類風濕性關節炎、系統性紅斑狼瘡、哮喘、炎症性腸道疾病、多發性硬化症、克羅恩氏病、胃炎、橋本氏甲狀腺炎、僵直性脊椎管柱炎和移植物對抗宿主疾病。在一些實施方案中，該疾病或病症為類風濕性關節炎。

【0055】 本公開進一步提供如上該的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段或如上該的醫藥組成物或核酸分子在製備用於治療或預防疾病或病症的藥物中的應用。

【0056】 在一些實施方案中，該疾病或病症為腫瘤或免疫性疾病。

【0057】 在一些實施方案中，該疾病或病症為 CD38 陽性疾病或病症。

【0058】 在一些實施方案中，前述疾病或病症可以是腫瘤，例如疾病的特徵在於存在表達 CD38 的腫瘤細胞。

【0059】 在一些實施方案中，前述腫瘤選自白血病、B 細胞淋巴瘤、漿細胞惡性瘤、T/NK 細胞淋巴瘤和骨髓瘤。

【0060】 在一些實施方案中，該白血病選自：急性淋巴細胞白血病、急性成淋巴細胞白血病、急性早幼粒細胞白血病、慢性淋巴細胞白血病、急性和慢性骨髓型白血病。

【0061】 在一些實施方案中，該骨髓瘤選自：多發性骨髓瘤、前髓細胞腫瘤和輕鏈類澱粉變性。

【0062】 在一些實施方案中，該淋巴瘤為非何傑金淋巴瘤或何傑金淋巴瘤。

【0063】 在一些實施方案中，前述腫瘤為 B 細胞淋巴瘤/白血病，例如選自成熟 B 細胞腫瘤或前體 B 細胞成淋巴細胞白血病/淋巴瘤，或選自 B 細胞非霍奇金淋巴瘤或 B 細胞霍奇金淋巴瘤。

【0064】 在一些實施方案中，前述腫瘤選自：B 細胞慢性淋巴細胞性白血病（CLL）、小淋巴細胞性白血病（SLL）、B 細胞急性淋巴細胞性白血病、B 細胞前淋巴細胞白血病、淋巴漿細胞樣淋巴瘤、套細胞淋巴瘤（MCL）、濾泡性淋巴瘤（包括低級、中級或高級 FL）、皮膚濾泡中心淋

巴瘤、邊緣區 B 細胞淋巴瘤（包括 MALT 型、淋巴結 MZBL 型、脾 MZBL 型）、毛細胞白血病、彌漫性大 B 細胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤（Burkitt 淋巴瘤）、漿細胞瘤、漿細胞骨髓瘤、漿細胞白血病、移植後淋巴增生性疾病、華德斯特隆(Waldenstrom)巨球蛋白血症、漿細胞白血病和間變性大細胞淋巴瘤（ALCL）、多毛細胞淋巴瘤。

【0065】 在一些實施方案中，該腫瘤為 B-細胞淋巴瘤或多發性骨髓瘤。

【0066】 在一些實施方案中，該腫瘤為多發性骨髓瘤。

【0067】 在一些實施方案中，該疾病或病症為免疫性疾病，例如是由表達 CD38 的 B 細胞、漿細胞、單核細胞和 T 細胞參與的免疫性疾病。

【0068】 在一些實施方案中，該免疫性疾病可選自：類風濕性關節炎、牛皮癬、僵直性脊管柱炎、關節銀屑病、皮炎、系統性硬皮病及硬化症、炎症性腸病（IBD）、Crohn 病（克羅恩氏病）、潰瘍性結腸炎、呼吸窘迫綜合症、腦膜炎、腦炎、胃炎、葡萄膜炎、腎小球腎炎、濕疹、哮喘、動脈硬化、白細胞黏附缺陷病、雷諾氏(Raynaud)症候群、修格連氏(Sjogren)症候群、青少年糖尿病、萊特氏(Reiter)病、貝塞特氏(Behcet)病、免疫複合物性腎炎、IgA 腎病、IgM 多發性神經病、免疫介導的血小板減少症狀（如急性特發性血小板減少性紫癜、慢性特發性血小板減少性紫癜）、溶血性貧血、重症肌無力、狼瘡性腎炎、系統性紅斑狼瘡、風濕關節炎(RA)、異位性皮炎、天皰瘡、Graves 病、橋本氏甲狀腺炎、韋格納(Wegener)肉芽腫、歐文(Omenn)症候群、慢性腎功能衰竭、急性傳染性單核細胞增多症、多發性硬化症、HIV 和疱疹病毒相關的疾病、嚴重急性呼吸綜合症、脈絡視網膜炎（choreoretinitis）、移植物對抗宿主疾病、以及病毒感染引起的免疫性疾病（如伊波病毒（EBV）感染 B 細胞引起或介導的疾病）。在一

些實施方式中，該免疫性疾病選自類風濕性關節炎、系統性紅斑狼瘡、哮喘、炎症性腸道疾病、多發性硬化、克羅恩氏病、胃炎、橋本氏甲狀腺炎、強直性脊管柱炎和移植物對抗宿主疾病。在一些實施方案中，其中該免疫疾病或病症是類風濕性關節炎。

【0069】 本公開進一步提供一種抗 CD38 抗體或其抗原結合片段、或醫藥組成物、或核酸分子，其用於治療或預防前述疾病或病症。

【0070】 在一些實施方案中，該疾病或病症為腫瘤或免疫性疾病；在一些實施方案中，該疾病或病症為 CD38 陽性疾病或病症。

【0071】 在一些實施方案中，前述疾病或病症是腫瘤，例如疾病的特徵在於存在表達 CD38 的腫瘤細胞，在一些實施方案中，該腫瘤選自白血病、B 細胞淋巴瘤、漿細胞惡性瘤、T/NK 細胞淋巴瘤和骨髓瘤。在一些實施方案中，該白血病選自：急性淋巴細胞白血病、急性成淋巴細胞白血病、急性早幼粒細胞白血病、慢性淋巴細胞白血病、急性和慢性骨髓型白血病。在一些實施方案中，該骨髓瘤選自：多發性骨髓瘤、前髓細胞腫瘤和輕鏈類澱粉變性。在一些實施方案中，該淋巴瘤為非何傑金淋巴瘤或何傑金淋巴瘤。在一些實施方案中，該腫瘤為 B 細胞淋巴瘤/白血病，例如選自成熟 B 細胞腫瘤或前體 B 細胞成淋巴細胞白血病/淋巴瘤，或選自 B 細胞非霍奇金淋巴瘤或 B 細胞霍奇金淋巴瘤。在一些實施方案中，該腫瘤選自：B 細胞慢性淋巴細胞性白血病（CLL）、小淋巴細胞性白血病（SLL）、B 細胞急性淋巴細胞性白血病、B 細胞前淋巴細胞白血病、淋巴漿細胞樣淋巴瘤、套細胞淋巴瘤（MCL）、濾泡性淋巴瘤（包括低級、中級或高級 FL）、皮膚濾泡中心淋巴瘤、邊緣區 B 細胞淋巴瘤（包括 MALT 型、淋巴結 MZBL 型、脾 MZBL 型）、毛細胞白血病、彌漫性大 B 細胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤（Burkitt 淋巴瘤）、漿細胞瘤、漿細胞骨髓瘤、漿細胞白血病、移植後

淋巴增生性疾病、Waldenstrom 巨球蛋白血症、漿細胞白血病和間變性大細胞淋巴瘤（ALCL）、多毛細胞淋巴瘤。在一些實施方案中，該腫瘤為 B-細胞淋巴瘤或多發性骨髓瘤。在一些實施方案中，該腫瘤為多發性骨髓瘤。

【0072】 在一些實施方案中，前述疾病或病症為免疫性疾病，例如是由表達 CD38 的 B 細胞、漿細胞、單核細胞和 T 細胞參與的免疫性疾病。

【0073】 在一些實施方案中，該免疫性疾病可選自：類風濕性關節炎、牛皮癬、關節銀屑病、皮炎、系統性硬皮病及硬化症、炎症性腸病（IBD）、克羅恩(Crohn)病、潰瘍性結腸炎、呼吸窘迫綜合症、腦膜炎、腦炎、葡萄膜炎、腎小球腎炎、濕疹、哮喘、動脈硬化、白細胞黏附缺陷病、多發性硬化症、雷諾氏(Raynaud)症候群、修格連氏(Sjogren)症候群、青少年糖尿病、萊特氏(Reiter)病、貝塞特氏(Behcet)病、免疫複合物性腎炎、IgA 腎病、IgM 多發性神經病、免疫介導的血小板減少症狀（如急性特發性血小板減少性紫癜、慢性特發性血小板減少性紫癜）、溶血性貧血、重症肌無力、狼瘡性腎炎、系統性紅斑狼瘡、風濕關節炎（RA）、異位性皮炎、天皰瘡、葛瑞夫氏(Graves)病、橋本甲狀腺炎、韋格納(Wegener)肉芽腫、歐文(Omenn)症候群、慢性腎功能衰竭、急性傳染性單核細胞增多症、HIV 和皰疹病毒相關的疾病、嚴重急性呼吸綜合症、脈絡視網膜炎（choreoretinitis）、以及病毒感染引起的免疫性疾病（如伊波病毒（EBV）感染 B 細胞引起或介導的疾病）。在一些實施方案中，該免疫性疾病選自類風濕性關節炎、系統性紅斑性狼瘡、哮喘、炎症性腸道疾病、多發性硬化、克羅恩氏病、胃炎、橋本氏甲狀腺炎、僵直性脊管柱炎和移植物對抗宿主疾病。在一些實施方案中，其中該免疫性疾病是類風濕性關節炎。

【0074】本公開的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段在生化測試或體內外藥效試驗中，均表現出良好的效果。其中，在抗體與抗原的親和力檢測中，本公開中的抗體 hu9E 與人 CD38 的 KD 值為 1.31nM，hu11E 與人 CD38 的 KD 值為 0.568nM，hu160E 與人 CD38 的 KD 值為 0.0585nM，而對照抗體的 KD 為 2.35nM，本公開中的抗體具有高親和力（表 18）。

【0075】在體內抑瘤活性的實驗中發現，本公開中的 hu11E 和 hu160E 抗體均能有效的抑制小鼠體內的腫瘤生長，其中在 1mpk/kg 的劑量時，hu11E 的抑瘤率高達 93.14%，hu160E 的抑瘤率高達 70.02%，均明顯高於對照抗體 Dara（抑瘤率為 56.83%）（表 20）。

【0076】此外，本公開 CD38 單株抗體或抗原結合片段在大鼠體內具有良好的代謝動力學特性，顯示出很長的半衰期和很高的生物利用度。

【圖式簡單說明】

【0077】第 1A 圖為 CD38 抗體對 Molp-8 細胞的體外 ADCP 測試結果。

【0078】第 1B 圖為 CD38 抗體對 Daudi 細胞的體外 ADCP 測試結果。

【0079】第 2 圖為 CD38 抗體在小鼠體內抑瘤效果。

【實施方式】

術語

【0080】 為了更容易理解本公開，以下具體定義了某些技術和科學術語。除非在本文中另有明確定義，本文使用的所有其它技術和科學術語都具有本公開所屬領域的一般技術人員通常理解的含義。

【0081】 本公開所用胺基酸三字母代碼和單字母代碼如 J.biol.chem, 243, p3558 (1968) 中該。

【0082】 本公開該的“抗體”指免疫球蛋白，是由兩條相同的重鏈和兩條相同的輕鏈藉由鏈間二硫鍵連接而成的四肽鏈結構。免疫球蛋白重鏈恆定區的胺基酸組成和排列順序不同，故其抗原性也不同。據此，可將免疫球蛋白分為五類，或稱為免疫球蛋白的同種型，即 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE，其相應的重鏈分別為 μ 鏈、 δ 鏈、 γ 鏈、 α 鏈、和 ϵ 鏈。同一類 Ig 根據其鉸鏈區胺基酸組成和重鏈二硫鍵的數目和位置的差別，又可分為不同的亞類，如 IgG 可分為 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4。輕鏈藉由恆定區的不同分為 κ 鏈或 λ 鏈。五類 Ig 中每類 Ig 都可以有 κ 鏈或 λ 鏈。

【0083】 抗體重鏈和輕鏈靠近 N 端的約 110 個胺基酸的序列變化很大，為可變區（Fv 區）；靠近 C 端的其餘胺基酸序列相對穩定，為恆定區。可變區包括 3 個高變區（HVR）和 4 個序列相對保守的骨架區（FR）。3 個高變區決定抗體的特異性，又稱為互補性決定區（CDR）。每條輕鏈可變區（VL 或 LCVR）和重鏈可變區（VH 或 HCVR）由 3 個 CDR 區和 4 個 FR 區組成，從胺基端到羧基端依次排列的順序為：FR1，CDR1，FR2，CDR2，FR3，CDR3，FR4。輕鏈的 3 個 CDR 區指 LCDR1、LCDR2、和 LCDR3；重鏈的 3 個 CDR 區指 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。

【0084】 本公開的抗體包括鼠源抗體、嵌合抗體、人源化抗體，較佳人源化抗體。

【0085】術語“鼠源抗體”在本公開中為根據本領域知識和技能製備的抗人 CD38 的單株抗體。製備時用 CD38 抗原注射試驗對象，然後分離表達具有所需序列或功能特性的抗體的融合瘤。在本公開一個較佳的實施方案中，該鼠源 CD38 抗體或其抗原結合片段，可進一步包含鼠源 κ 、 λ 鏈或其變體的輕鏈恆定區，或進一步包含鼠源 IgG1、IgG2、IgG3 或其變體的重鏈恆定區。

【0086】術語“嵌合抗體 (chimeric antibody)”，是將某物種（如鼠）的抗體的可變區與另一物種（如人）抗體的恆定區融合而成的抗體，可以減輕鼠源性抗體誘發的免疫應答反應。建立嵌合抗體，要先建立分泌鼠源性特異性單抗的融合瘤，然後從鼠融合瘤細胞中選殖可變區基因；再根據需要，選殖人抗體的恆定區基因；將鼠可變區基因與人恆定區基因連接成嵌合基因後插入表達載體中，最後在真核系統或原核系統中表達嵌合抗體分子。在本公開一個具體的實施方案中，該 CD38 嵌合抗體的抗體輕鏈進一步包含人源 κ 、 λ 鏈或其變體的輕鏈恆定區。該 CD38 嵌合抗體的抗體重鏈進一步包含人源 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 或其常規變體的重鏈恆定區，較佳包含人源 IgG1 重鏈恆定區，更佳包含增強 CDC 的功能胺基酸突變（如 E333A 突變）的 IgG1 重鏈恆定區。

【0087】術語“人源化抗體 (humanized antibody)”，是指將鼠的 CDR 序列移植到人的抗體可變區框架，即不同類型的人種系抗體框架序列中產生的抗體。可以克服由於嵌合抗體攜帶大量鼠蛋白成分，從而誘導的異源性反應。此類構架序列可以從包括種系抗體基因序列的公共 DNA 數據庫或公開的參考文獻獲得。如人重鏈和輕鏈可變區基因的種系 DNA 序列可以在“VBase”人種系序列數據庫（因特網 www.mrccpe.com.ac.uk/vbase）中獲得，以及在 Kabat, E.A.等人，1991 Sequences of Proteins of

Immunological Interest，第 5 版中找到。為避免免疫原性下降的同時，引起的活性下降，可對該人抗體可變區框架序列進行最少反向突變（或回復突變），以保持活性。本公開的人源化抗體也包括進一步由噬菌體展示或酵母菌展示對 CDR 進行親和力成熟後獲得的人源化抗體。

【0088】 CDR 的移植可由於與抗原接觸的構架殘基的變化而導致產生的抗體或其抗原結合片段對抗原的親和力減弱。此類相互作用可以是體細胞高度突變的結果。因此，可能仍然需要將此類供體構架胺基酸移植至人源化抗體的構架。來自非人抗體或其抗原結合片段的參與抗原結合的胺基酸殘基可藉由檢查動物單株抗體可變區序列和結構來鑒定。CDR 供體構架中與種系不同的各殘基可被認為是相關的。如果不能確定最接近的種系，那麼可將序列與亞型共有序列或具有高相似性百分數的鼠序列的共有序列相比較。稀有構架殘基被認為可能是體細胞高度突變的結果，從而在結合中發揮重要作用。

【0089】 在本公開一些具體的實施方案中，該的 CD38 人源化抗體的抗體輕鏈進一步包含人源 κ 、 λ 鏈或其常規變體的重鏈恆定區。該的 CD38 人源化抗體的抗體重鏈進一步包含人源 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 或其常規變體的重鏈恆定區，較佳包含人源 IgG1 重鏈恆定區，更佳包含增強 CDC 的功能胺基酸突變（如 E333A 突變）的 IgG1 重鏈恆定區。

【0090】 本公開中該人抗體重鏈恆定區和人抗體輕鏈恆定區的“常規變體”是指現有技術已公開的來源於人的不改變抗體可變區結構和功能的重鏈恆定區或輕鏈恆定區的變體，示例性變體包括對重鏈恆定區進行定點改造和胺基酸替換的 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 重鏈恆定區變體，具體替換如現有技術已知的 YTE 突變，L234A 和/或 L235A 突變、S228P 突變、E333A 突變、和/或獲得 knob-into-hole 結構的突變（使得抗體重鏈具有

knob-Fc 和 hole-Fc 組合) 等，這些突變已被證實使得抗體具有新的性能，但不改變抗體可變區的功能。

【0091】術語“回復突變”是指將人抗體來源的 FR 區胺基酸殘基突變成原始來源抗體對應位置的胺基酸殘基，通常是為了避人源化抗體引起的免疫原性下降和活性下降，對該的人源化抗體可變區可進行最少反向突變，以保持抗體的活性。

【0092】“人抗體 (HuMAb)”、“人源抗體”、“全人抗體”、“完全人抗體”可以互換使用，可以是源於人的抗體或者是從一種轉基因生物體中獲得的抗體，該轉基因生物體經“改造”以響應於抗原刺激而產生特異性人抗體，並且可以藉由本領域已知的任何方法產生。在某些技術中，將人重鏈和輕鏈基因座的元件引入到源於胚胎乾細胞系的生物體的細胞株中，這些細胞系中的內源性重鏈和輕鏈基因座被靶向破壞。轉基因生物可以合成對人抗原具有特異性的人抗體，並且該生物可以用於產生分泌人抗體的融合瘤。人抗體還可以是一種抗體，其中重鏈和輕鏈是由源於一個或更多個人 DNA 來源的核苷酸序列編碼的。完全人抗體還可以藉由基因或染色體轉染方法以及噬菌體展示技術來構建，或者由體外活化的 B 細胞構建，所有的這些都是本領域已知的。

【0093】術語“全長抗體”、“完整抗體”、“完全抗體”和“全抗體”在本文中可互換使用，指基本上完整形式的抗體，與下文定義的抗原結合片段相區分。該術語特別指在輕鏈和重鏈中包含恆定區的抗體。

【0094】在一些實施方案中，本公開的全長抗體包括由下表 1 所示的輕鏈可變區與輕鏈恆定區，重鏈可變區與重鏈恆定區連接後形成全長抗體。本領域技術人員可以根據實際需要選擇不同的抗體來源的輕鏈恆定區、重鏈恆定區，例如人抗體來源的輕鏈恆定區（或其常規變體）和重鏈恆定區

（或其常規變體）。同時，表 1 中輕鏈可變區和重鏈可變區的組合可以形成單鏈抗體（scFv）、Fab 或其他包含 scFv 或 Fab 的抗原結合片段形式。

表 1：抗 CD38 人源化抗體輕鏈可變區和重鏈可變區的組合

可變區的組合	重鏈可變區 VH	輕鏈可變區 VL
h009-01V	h009 VH1	h009 VL1
h009-02V	h009 VH2	h009 VL1
h009-03V	h009 VH3	h009 VL1
h009-04V	h009 VH4	h009 VL1
h009-05V	h009 VH5	h009 VL1
h009-06V	h009 VH1	h009 VL2
h009-07V	h009 VH2	h009 VL2
h009-08V	h009 VH3	h009 VL2
h009-09V	h009 VH4	h009 VL2
h009-10V	h009 VH5	h009 VL2
h009-11V	h009 VH1	h009 VL3
h009-12V	h009 VH2	h009 VL3
h009-13V	h009 VH3	h009 VL3
h009-14V	h009 VH4	h009 VL3
h009-15V	h009 VH5	h009 VL3
h011-01V	h011 VH1	h011VL1
h011-02V	h011 VH2	h011VL2
h011-03V	h011 VH1	h011VL3
h011-04V	h011 VH2	h011VL1
h011-05V	h011 VH1	h011VL2

h011-06V	h011 VH2	h011VL3
h160-01V	h160 VH1	h160 VL1
h160-02V	h160 VH1	h160 VL2
h160-03V	h160 VH1	h160 VL3
h160-04V	h160 VH1	h160 VL4
h160-05V	h160 VH2	h160 VL1
h160-06V	h160 VH2	h160 VL2
h160-07V	h160 VH2	h160 VL3
h160-08V	h160 VH2	h160 VL4

註：例如“h009-01V”，其表示編號為 h009-01V 的輕/重鏈可變區對，其重鏈可變區為 h009VH1（SEQ ID NO：24），輕鏈可變區為 h009VL1（SEQ ID NO：25），其它依此類推。

【0095】 術語“單株抗體”是指從基本上均質抗體的群體獲得的抗體，即除可能的變體抗體（例如含有天然存在的突變或在製造單株抗體製劑的期間產生的突變，這些變體通常以少量存在）之外，構成該群體的個別抗體相同和/或結合相同表位。與通常包含針對不同決定簇（表位）的不同抗體的多株抗體製備物不同，單株抗體製備物（製劑）的每個單株抗體是針對抗原上的單一決定簇的。因此，修飾語“單株”指示如從基本上均質抗體群體獲得的抗體的特性，且不應解釋為需要藉由任何特定方法來製造抗體。例如，根據本公開使用的單株抗體可藉由各種技術製備，該技術包括但不限於融合瘤方法、重組 DNA 方法、噬菌體展示方法以及利用含有全部或部

分人免疫球蛋白基因座的轉基因動物的方法，此類方法以及用於製備單株抗體的其他示例性方法在本文中進行描述。

【0096】 術語抗體的“抗原結合片段”或“功能片段”是指抗體的保持特異性結合抗原（例如，CD38）的能力的一個或多個片段。已顯示可利用全長抗體的片段來實現抗體的抗原結合功能。術語抗體的“抗原結合片段”中包含的結合片段的實例包括（i）Fab 片段，由 VL、VH、CL 和 CH1 結構域組成的單價片段；（ii）F(ab')₂ 片段，藉由鉸鏈區上的二硫橋所連接的兩個 Fab 片段形成的二價片段，（iii）由抗體的單臂的 VH 和 VL 結構域組成的 Fv 片段；（iv）dsFv，由 VH 和 VL 經鏈間二硫鍵形成的穩定的抗原結合片段；和（v）包含 scFv、dsFv、Fab 等片段的雙抗體、雙特異性抗體和多特異性抗體。此外，雖然 Fv 片段的兩個結構域 VL 和 VH 由分開的基因編碼，但可使用重組方法藉由合成接頭連接它們，從而產生單個蛋白質鏈，在其中 VL 和 VH 區配對形成單價分子（稱為單鏈 Fv(scFv)；參見，例如，Bird 等人（1988）Science 242:423-426；和 Huston 等人（1988）Proc. Natl. Acad. Sci USA85:5879-5883）。此類單鏈抗體也意欲包括在術語“抗原結合片段”中。使用本領域技術人員已知的常規技術獲得此類抗體片段，並且以與對於完整抗體的方式相同的方式就功用性能篩選片段。可藉由重組 DNA 技術或藉由酶促或化學斷裂完整免疫球蛋白來產生抗原結合部分。抗體可以是不同同種型的抗體，例如，IgG（例如，IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 亞型）、IgA1、IgA2、IgD、IgE 或 IgM 抗體。在一些實施方案中，本公開的抗原結合片段包括 Fab、F(ab')₂、Fab'、單鏈抗體(scFv)、二聚化的 V 區（雙抗體）、二硫鍵穩定化的 V 區（dsFv）等。

【0097】 “Fab”是藉由用蛋白酶木瓜蛋白酶（切割 H 鏈的 224 位的胺基酸殘基）處理 IgG 抗體分子，在所獲得的片段中具有約 50,000 的分子量

並具有抗原結合活性的抗體片段，其中 H 鏈 N 端側的約一半和整個 L 鏈藉由二硫鍵結合在一起。

【0098】本公開的 Fab 可以藉由用木瓜蛋白酶處理本公開的單株抗體來生產。此外，可以藉由將編碼該抗體的 Fab 的 DNA 插入到原核生物表達載體或真核生物表達載體中並將載體導入到原核生物或真核生物中以表達 Fab 來生產該 Fab。

【0099】“F(ab')₂”是指，藉由胃蛋白酶消化 IgG 鉸鏈區中兩個二硫鍵的下游部分，而獲得的分子量約 100,000 並具有抗原結合活性的抗體片段，其所包含的兩個 Fab 區在鉸鏈位置相連。

【0100】本公開的 F(ab')₂ 可以藉由用胃蛋白酶處理本公開的單株抗體來生產。此外，可以藉由用硫醚鍵或二硫鍵連接下面描述的 Fab' 來生產該 F(ab')₂。

【0101】“Fab'”是藉由切割上述 F(ab')₂ 的鉸鏈區的二硫鍵而獲得的分子量為約 50,000 並具有抗原結合活性的抗體片段。本公開的 Fab' 可以藉由用還原劑例如二硫蘇糖醇處理本公開的 F(ab')₂ 來生產。此外，可以藉由將編碼抗體的 Fab' 片段的 DNA 插入到原核生物表達載體或真核生物表達載體中並將載體導入到原核生物或真核生物中以表達 Fab' 來生產該 Fab'。

【0102】術語“單鏈抗體”、“單鏈 Fv”或“scFv”意指包含藉由接頭連接的抗體重鏈可變結構域（或區域；VH）和抗體輕鏈可變結構域（或區域；VL）的分子。此類 scFv 分子可具有一般結構：NH₂-VL-接頭-VH-COOH 或 NH₂-VH-接頭-VL-COOH。合適的現有技術接頭由重複的 GGGGS 胺基酸序列或其變體組成，例如使用 1-4 個重複的變體（Holliger 等人（1993），Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448）。可用於本公開的其他接頭由 Alfthan 等人（1995），Protein Eng. 8:725-731，Choi 等人（2001），

Eur.J.Immuno 1.31:94-106, Hu 等人 (1996), Cancer Res.56:3055-3061, Kipriyanov 等人 (1999), J.Mol.Biol.293:41-56 和 Roovers 等人 (2001), Cancer Immunol. 描述。

【0103】本公開的 scFv 可以藉由以下步驟來生產：獲得編碼本公開單株抗體的 VH 和 VL 的 cDNA，構建編碼 scFv 的 DNA，將該 DNA 插入到原核生物表達載體或真核生物表達載體中，然後將該表達載體導入到原核生物或真核生物中以表達 scFv。

【0104】“雙抗體”是其中 scFv 被二聚體化的抗體片段，是具有二價抗原結合活性的抗體片段。在二價抗原結合活性中，兩個抗原可以是相同或不同的。

【0105】雙特異性抗體和多特異性抗體是指能同時結合兩個或多個抗原或抗原決定簇的抗體，其中包含能結合 CD38 的 scFv 或 Fab 片段。

【0106】本公開的雙抗體可以藉由以下步驟來生產：獲得本公開的單株抗體的 VH 和 VL 的編碼 cDNA，構建編碼 scFv 的 DNA 以使肽接頭的胺基酸序列長度為 8 個殘基或更少，將該 DNA 插入到原核生物表達載體或真核生物表達載體中，然後將該表達載體導入到原核生物或真核生物中以表達雙抗體。

【0107】“dsFv”是藉由將其中每個 VH 和 VL 中的一個胺基酸殘基被半胱胺酸殘基取代的多肽經由半胱胺酸殘基之間的二硫鍵相連而獲得的。可以按照已知方法 (Protein Engineering, 7, 697 (1994)) 基於抗體的三維結構預測來選擇被半胱胺酸殘基取代的胺基酸殘基。

【0108】本公開的 dsFv 可以藉由以下步驟來生產：獲得本公開的單株抗體的 VH 和 VL 的編碼 cDNA，構建編碼 dsFv 的 DNA，將該 DNA 插

入到原核生物表達載體或真核生物表達載體中，然後將該表達載體導入到原核生物或真核生物中以表達 dsFv。

【0109】本文中使用的術語“框架（FR）”，是指抗體可變結構域 VL 或 VH 的一部分，其用作該可變結構域的抗原結合環（CDR）的支架。從本質上講，框架區是不具有 CDR 的可變結構域。

【0110】術語“胺基酸差異”或“胺基酸突變”是指多肽與其變體之間，指相較於原蛋白質或多肽，變體蛋白質或多肽存在胺基酸的改變或突變，包括在原蛋白質或多肽的基礎上發生 1 個、2 個、3 個或更多個胺基酸獲替換、插入或缺失。

【0111】術語“互補決定區”、“CDR”或“高變區”是指抗體的可變結構域內主要促成抗原結合的 6 個高變區之一。通常，每個重鏈可變區中存在三個 CDR（HCDR1、HCDR2、HCDR3），每個輕鏈可變區中存在三個 CDR（LCDR1、LCDR2、LCDR3）。可以使用各種公知方案中的任何一種來確定 CDR 的胺基酸序列邊界，包括“Kabat”編號規則（參見 Kabat 等（1991），“Sequences of Proteins of Immunological Interest”，第 5 版，Public Health Service，National Institutes of Health，Bethesda，MD）、“Chothia”編號規則（參見 Al-Lazikani 等人，（1997）JMB 273：927-948）和 ImMunoGenTics（IMGT）編號規則（Lefranc M.P.，Immunologist，7，132-136（1999）；Lefranc，M.P.等，Dev. Comp. Immunol.，27，55-77（2003）等。例如，對於經典格式，遵循 Kabat 規則，該重鏈可變域（VH）中的 CDR 胺基酸殘基編號為 31-35（HCDR1）、50-65（HCDR2）和 95-102（HCDR3）；輕鏈可變域（VL）中的 CDR 胺基酸殘基編號為 24-34（LCDR1）、50-56（LCDR2）和 89-97（LCDR3）。遵循 Chothia 規則，VH 中的 CDR 胺基酸編號為 26-32（HCDR1）、52-56（HCDR2）和 95-

102 (HCDR3)；並且 VL 中的胺基酸殘基編號為 26-32 (LCDR1)、50-52 (LCDR2) 和 91-96 (LCDR3)。藉由組合 Kabat 和 Chothia 兩者的 CDR 定義，CDR 由人 VH 中的胺基酸殘基 26-35 (HCDR1)、50-65 (HCDR2) 和 95-102 (HCDR3) 和人 VL 中的胺基酸殘基 24-34 (LCDR1)、50-56 (LCDR2) 和 89-97 (LCDR3) 構成。遵循 IMGT 規則，VH 中的 CDR 胺基酸殘基編號大致為 26-35 (CDR1)、51-57 (CDR2) 和 93-102 (CDR3)，VL 中的 CDR 胺基酸殘基編號大致為 27-32 (CDR1)、50-52 (CDR2) 和 89-97 (CDR3)。遵循 IMGT 規則，抗體的 CDR 區可以使用程序 IMGT/DomainGap Align 確定。

【0112】術語“表位”或“抗原決定簇”是指抗原上免疫球蛋白或抗體特異性結合的部位（例如，CD38 分子上的特定部位）。表位通常以獨特的空間構象包括至少 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 或 15 個連續或非連續的胺基酸。參見，例如，Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology，第 66 卷，G.E.Morris，Ed. (1996)。

【0113】術語“特異性結合”、“選擇性結合”、“選擇性地結合”和“特異性地結合”是指抗體對預先確定的抗原上的表位的結合。通常，抗體以大約小於 10^{-8}M ，例如大約小於 10^{-9}M 、 10^{-10}M 、 10^{-11}M 或更小的親和力 (KD) 結合。

【0114】術語“KD”是指特定抗體-抗原相互作用的解離平衡常數。通常，本公開的抗體以小於大約 10^{-7}M ，例如小於大約 10^{-8}M 、 10^{-9}M 或 10^{-10}M 或更小的解離平衡常數 (KD) 結合 CD38，例如，如使用表面等離子體共振 (SPR) 技術在 BIACORE 儀中測定的。

【0115】當術語“競爭”用於競爭相同表位的抗原結合蛋白（例如中和性抗原結合蛋白或中和性抗體）的情況中，意指在抗原結合蛋白之間的競

爭，其藉由以下測定法來測定：待檢測的抗原結合蛋白（例如抗體或其功能片段）防止或抑制（例如降低）參考抗原結合蛋白（例如配體或參考抗體）與共同抗原（例如 CD38 抗原或其片段）的特異性結合。眾多類型的競爭性結合測定可用於確定一種抗原結合蛋白是否與另一種競爭，這些測定例如：固相直接或間接放射免疫測定（RIA）、固相直接或間接酶免疫測定（EIA）、夾心競爭測定（參見例如 Stahli 等，1983，Methods in Enzymology 9：242-253）；固相直接生物素-親和素 EIA（參見例如 Kirkland 等，1986，J.Immunol.137：3614-3619；Cheung，等，1990，Virology176：546-552）、固相直接標記測定、固相直接標記夾心測定（參見例如 Harlow 和 Lane，1988，Antibodies，A Laboratory Manual（抗體，實驗室手冊），Cold Spring Harbor Press）；用 I-125 標記物的固相直接標記 RIA（參見例如 Morel 等，1988，Molec.Immunol.25：7-15）；和直接標記的 RIA（Moldenhauer 等，1990，Scand.J.Immunol.32：77-82）。通常該測定法涉及使用純化抗原，其能與帶有未標記的檢測抗原結合蛋白及標記的參考抗原結合蛋白結合（該抗原在固態表面或細胞表面上）。在待測抗原結合蛋白存在下，測量結合於固態表面或細胞表面的標記的量，來測量競爭性抑制。通常，待測抗原結合蛋白是過量存在的。由競爭性測定（競爭性抗原結合蛋白）鑒定的抗原結合蛋白包括：與參考抗原結合蛋白相同的表位發生結合的抗原結合蛋白；以及，與參考抗原結合蛋白結合的表位所充分接近的表位發生結合的抗原結合蛋白，該兩個表位在空間上互相妨礙結合的發生。在本公開實施例中提供關於用於測定競爭性結合的方法的其它詳細資料。通常當競爭性抗原結合蛋白過量存在時，其將抑制（例如降低）至少 40-45%、45-

50%、50-55%、55-60%、60-65%、65-70%、70-75%或更多參考抗原結合蛋白與共同抗原的特異性結合。在某些情況下，結合被抑制至少 80-85%、85-90%、90-95%、95-97%或更多。

【0116】本文中使用的術語“核酸分子”是指 DNA 分子和 RNA 分子。核酸分子可以是單鏈或雙鏈的，但較佳是雙鏈 DNA。當將核酸與另一個核酸序列置於功能關係中時，核酸是“有效連接的”。例如，如果啟動子或增強子影響編碼序列的轉錄，那麼啟動子或增強子有效地連接至該編碼序列。

【0117】術語“載體”或“表達載體”是指能夠運輸與其連接的另一個核酸的核酸分子。在一個實施方案中，載體是“質粒”，其是指可將另外的 DNA 區段連接至其中的環狀雙鏈 DNA 環。在另一個實施方案中，載體是病毒載體，其中可將另外的 DNA 區段連接至病毒基因組中。本文中公開的載體能夠在已引入它們的宿主細胞中自主複製（例如，具有細菌的複製起點的細菌載體和附加型哺乳動物載體）或可在引入宿主細胞後整合入宿主細胞的基因組，從而隨宿主基因組一起複製（例如，非附加型哺乳動物載體）。

【0118】現有技術中熟知生產和純化抗體和抗原結合片段的方法，如冷泉港的抗體實驗技術指南，5-8 章和 15 章。例如，鼠可以用人 CD38 或其片段免疫，所得到的抗體能被覆性、純化，並且可以用常規的方法進行胺基酸測序。同樣可以用常規方法製備抗原結合片段。發明所述的抗體或抗原結合片段用基因工程方法在非人源的 CDR 區加上一個或多個人源 FR 區。人 FR 種系序列可以藉由比對 IMGT 人類抗體可變區種系基因數據庫和 MOE 軟件，從 ImMunoGeneTics (IMGT) 的網站 <http://imgt.cines.fr> 得到，或者從免疫球蛋白雜誌，2001ISBN012441351 上獲得。

【0119】術語“宿主細胞”是指已向其中引入了表達載體的細胞。宿主細胞可包括微生物（例如細菌）、植物或動物細胞。易於轉化的細菌包括腸桿菌科（*enterobacteriaceae*）的成員，例如大腸桿菌（*Escherichia coli*）或沙門氏菌（*Salmonella*）的菌株；芽孢桿菌科（*Bacillaceae*）例如枯草芽孢桿菌（*Bacillus subtilis*）；肺炎球菌（*Pneumococcus*）；鏈球菌（*Streptococcus*）和流感嗜血菌（*Haemophilus influenzae*）。適當的微生物包括釀酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）和畢赤酵母（*Pichia pastoris*）。適當的動物宿主細胞系包括 CHO（中國倉鼠卵巢細胞系）和 NS0 細胞。

【0120】本公開工程化的抗體或抗原結合片段可用常規方法製備和純化。比如，將編碼重鏈和輕鏈的 cDNA 序列選殖並重組至 GS 表達載體。重組的免疫球蛋白表達載體可以穩定地轉染 CHO 細胞。作為一種更推薦的現有技術，哺乳動物類表達系統會導致抗體的糖基化，特別是在 Fc 區的高度保守 N 端位點。藉由表達與人 CD38 特異性結合的抗體得到穩定的純株。陽性的純株在生物反應器的無血清培養基中擴大培養以生產抗體。分泌了抗體的培養液可以用常規技術純化。比如，用含調整過的緩衝液的 A 或 G Sepharose FF 管柱進行純化。洗去非特異性結合的組分。再用 pH 梯度法沖提結合的抗體，用 SDS-PAGE 檢測抗體片段，收集。抗體可用常規方法進行過濾濃縮。可溶的混合物和多聚體，也可以用常規方法去除，比如分子篩、離子交換。得到的產物有時需立即冷凍，如 -70℃，或者凍乾。

【0121】“給予”、“施用”和“處理”當應用於動物、人、受試者、細胞、組織、器官或生物流體時，是指外源性藥物、治療劑、診斷劑或組合物與動物、人、受試者、細胞、組織、器官或生物流體的接觸。“給予”、“施用”和“處理”可以指例如治療、藥物代謝動力學、診斷、研究和實驗方法。細

胞的處理包括試劑與細胞的接觸，以及試劑與流體的接觸，其中該流體與細胞接觸。“給予”、“施用”和“處理”還意指藉由試劑、診斷、結合組合物或藉由另一種細胞體外和離體處理細胞。“處理”當應用於人、獸醫學或研究受試者時，是指治療處理、預防或預防性措施，研究和診斷應用。

【0122】“治療”意指給予患者內用或外用治療劑，例如包含本公開的任一種抗體或其抗原結合片段的組合物或編碼抗體或其抗原結合片段的核酸分子，該患者具有一種或多種疾病或症狀，而已知該治療劑對這些症狀具有治療作用。通常，在受治療患者或群體中以有效緩解一種或多種疾病或症狀的量給予治療劑，以誘導這類症狀退化或抑制這類症狀發展到任何臨床可測量的程度。有效緩解任何具體疾病或症狀的治療劑的量（也稱作“治療有效量”）可根據多種因素變化，例如患者的疾病狀態、年齡和體重，以及藥物在患者產生需要療效的能力。藉由醫生或其它專業衛生保健人士通常用於評價該症狀的嚴重性或進展狀況的任何臨床檢測方法，可評價疾病症狀是否已被減輕。儘管本公開的實施方案（例如治療方法或製品）在緩解每個目標疾病症狀方面可能無效，但是根據本領域已知的任何統計學檢驗方法如 Student t 檢驗、卡方檢驗、依據 Mann 和 Whitney 的 U 檢驗、Kruskal-Wallis 檢驗（H 檢驗）、Jonckheere-Terpstra 檢驗和 Wilcoxon 檢驗確定，其在統計學顯著數目的受試者中應當減輕目標疾病症狀。

【0123】“保守修飾”或“保守置換或取代”是指具有類似特徵（例如電荷、側鏈大小、疏水性/親水性、主鏈構象和剛性等）的其它胺基酸置換蛋白中的胺基酸，使得可頻繁進行改變而不改變蛋白的生物學活性。本領域技術人員知曉，一般而言，多肽的非必需區域中的單個胺基酸置換基本上不改變生物學活性（參見例如 Watson 等（1987）Molecular Biology of the Gene, The Benjamin/Cummings Pub.Co., 第 224 頁，（第 4 版））。另外，

結構或功能類似的胺基酸的置換不大可能破壞生物學活性。示例性保守取代於下表 2“示例性胺基酸保守取代”中陳述。

表 2. 示例性胺基酸保守取代

原始殘基	保守取代
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys; His
Asn (N)	Gln; His; Asp
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala; Val
Gln (Q)	Asn; Glu
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln
Ile (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; His
Met (M)	Leu; Ile; Tyr
Phe (F)	Tyr; Met; Leu
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe

Tyr (Y)	Trp; Phe
Val (V)	Ile; Leu

【0124】“有效量”或“有效劑量”是指得任一種或多種有益的或所需的結果所必需的藥物、化合物或醫藥組成物的量。對於預防用途，有益的或所需的結果包括消除或降低風險、減輕嚴重性或延遲病症的發作，包括病症、其併發症和在病症的發展過程中呈現的中間病理表型的生物化學、組織學和/或行為症狀。對於治療應用，有益的或所需的結果包括臨床結果，諸如減少各種本公開靶抗原相關病症的發病率或改善該病症的一個或更多個症狀，減少治療病症所需的其它藥劑的劑量，增強另一種藥劑的療效，和/或延緩患者的本公開靶抗原相關病症的進展。

【0125】“外源性”指根據情況在生物、細胞或人體外產生的物質。

【0126】“內源性”指根據情況在生物、細胞或人體內產生的物質。

【0127】本公開所述的“突變序列”是指對本公開的核苷酸序列和胺基酸序列進行適當的替換、插入或缺失等突變修飾情況下，得到的與本公開的核苷酸序列和胺基酸序列具有不同百分比序列同一性程度的核苷酸序列和胺基酸序列。本公開中所述的序列同一性可以至少為 85%、90%或 95%，非限制性實施例包括 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%。

【0128】本文中“同源性”、“同一性”是指兩個多核苷酸序列之間或兩個多肽之間的序列相似性。當兩個比較序列中的位置均被相同域基或胺基酸單體亞基佔據時，例如如果兩個 DNA 分子的每一個位置都被相同的域基佔據時，那麼該分子在該位置是同源的。兩個序列之間的同源性百分率

是兩個序列共有的匹配或同源位置數除以比較的全部位置數 $\times 100$ 的函數。例如，在序列最佳比對時，如果兩個序列中的 10 個位置有 6 個是匹配或同源的，那麼兩個序列為 60%同源；如果兩個序列中的 100 個位置有 95 個匹配或同源，那麼兩個序列為 95%同源。通常，當比對兩個序列時進行比較以給出最大百分比同源性。例如，可以藉由 BLAST 算法執行比較，其中選擇算法的參數以在各個參考序列的整個長度上給出各個序列之間的最大匹配。以下參考文獻涉及經常用於序列分析的 BLAST 算法：BLAST 算法 (BLAST ALGORITHMS) : Altschul, S.F.等人, (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Gish, W.等人, (1993) Nature Genet. 3:266-272; Madden, T.L.等人, (1996) Meth. Enzymol. 266:131-141; Altschul, S.F.等人, (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; Zhang, J.等人, (1997) Genome Res. 7:649-656。其他如 NCBI BLAST 提供的常規 BLAST 算法也為本領域技術人員所熟知。

【0129】 本文使用的表述“細胞”、“細胞系”和“細胞培養物”可互換使用，並且所有這類名稱都包括後代。因此，“轉化體”和“轉化細胞”包括原代受試細胞和由其衍生的培養物，而不考慮轉移數目。還應當理解的是，由於故意或非有意的突變，所有後代在 DNA 含量方面不可能精確相同。包括具有與最初轉化細胞中篩選的相同的功能或生物學活性的突變後代。在意指不同名稱的情況下，其由上下文清楚可見。

【0130】 本文使用的“聚合酶鏈式反應”或“PCR”是指其中微量的特定部分的核酸、RNA 和/或 DNA 如在例如美國專利號 4,683,195 中該擴增的程序或技術。一般來說，需要獲得來自目標區域末端或之外的序列信息，使得可以設計寡核苷酸引子；這些引子在序列方面與待擴增模板的對應鏈相同或相似。2 個引子的 5' 末端核苷酸可以與待擴增材料的末端一致。PCR

可用於擴增特定的 RNA 序列、來自總基因組的特定 DNA 序列和由總細胞 RNA 轉錄的 cDNA、噬菌體或質粒序列等。一般參見 Mullis 等 (1987) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 51:263; Erlich 編輯, (1989) PCR TECHNOLOGY (Stockton Press, N.Y.)。本文使用的 PCR 被視為用於擴增核酸測試樣品的核酸聚合酶反應法的一個實例，但不是唯一的實例，該方法包括使用作為引子的已知核酸和核酸聚合酶，以擴增或產生核酸的特定部分。

【0131】“分離的”指純化狀態，並且在這種情況下意味著在指定的分子基本上不含其他生物分子，例如核酸、蛋白質、脂質、碳水化合物或其他材料，例如細胞碎片和生長培養基。通常，術語“分離的”並不意圖指完全不存在這些材料或不存在水、緩衝液或鹽，除非它們以顯著干擾如本文該的化合物的實驗或治療用途的量存在。

【0132】“視需要”或“視需要地”意味著隨後所描述地事件或環境可以但不必發生，該說明包括該事件或環境發生或不發生的場合。例如，“視需要包含 1-3 個抗體重鏈可變區”意味著特定序列的抗體重鏈可變區可以但不必須存在。

【0133】“醫藥組成物”表示含有一種或多種本文所述抗體或其抗原結合片段與其他化學組分的混合物，該其他組分例如生理學/可藥用的載體或賦形劑。醫藥組成物的目的是促進對生物體的給藥，利於活性成分的吸收進而發揮生物活性。

【0134】術語“藥學上可接受的載體”指適合用於製劑中用於遞送抗體或抗原結合片段的任何無活性物質。載體可以是抗黏附劑、黏合劑、包衣、崩解劑、充填劑或稀釋劑、防腐劑（如抗氧化劑、抗菌劑或抗真菌劑）、增甜劑、吸收延遲劑、潤濕劑、乳化劑、緩衝劑等。合適的藥學上可接受

的載體的示例包括水、乙醇、多元醇（例如甘油、丙二醇、聚乙二醇等）右旋糖、植物油（例如橄欖油）、鹽水、緩衝液、緩衝的鹽水和等滲劑例如糖、多元醇、山梨糖醇和氯化鈉。

【0135】“CD38 陽性疾病或病症”是存在表達 CD38 的細胞的疾病或病症。非限制性地，例如由表達 CD38 的 B 細胞、漿細胞、單核細胞和 T 細胞參與的免疫性疾病，疾病的特徵之一為存在表達 CD38 的腫瘤細胞的腫瘤疾病，例如表達 CD38 的白血病、B 細胞淋巴瘤、漿細胞惡性瘤、T/NK 細胞淋巴瘤和骨髓瘤。本公開在一些實施方案中，該白血病選自：急性淋巴細胞白血病、急性成淋巴細胞白血病、急性早幼粒細胞白血病、慢性淋巴細胞白血病、急性和慢性骨髓型白血病。在一些實施方案中，該骨髓瘤選自：多發性骨髓瘤、前髓細胞腫瘤和輕鏈類澱粉變性。在一些實施方案中，該淋巴瘤為非何傑金淋巴瘤或何傑金淋巴瘤。在一些實施方案中，該腫瘤可選自 B 細胞淋巴瘤/白血病，包括但不限於：前體 B 細胞成淋巴細胞白血病/淋巴瘤、B 細胞非霍奇金淋巴瘤或 B 細胞霍奇金淋巴瘤、成熟 B 細胞腫瘤。在一些實施方案中，該腫瘤選自：B 細胞慢性淋巴細胞性白血病（CLL）、小淋巴細胞性白血病（SLL）、B 細胞急性淋巴細胞性白血病、B 細胞前淋巴細胞白血病、淋巴漿細胞樣淋巴瘤、套細胞淋巴瘤（MCL）、濾泡性淋巴瘤（包括低級、中級或高級 FL）、皮膚濾泡中心淋巴瘤、邊緣區 B 細胞淋巴瘤（包括 MALT 型、淋巴結 MZBL 型、脾 MZBL 型）、毛細胞白血病、彌漫性大 B 細胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤（Burkitt 淋巴瘤）、漿細胞瘤、漿細胞骨髓瘤、漿細胞白血病、移植後淋巴增生性疾病、Waldenstrom 巨球蛋白血症、漿細胞白血病和間變性大細胞淋巴瘤（ALCL）、多毛細胞淋巴瘤。在一些實施方案中，該腫瘤為多發性骨髓瘤。在一些實施方案中，該免疫性疾病選自：類風濕性關節炎、牛皮癬、僵直

性脊管柱炎、關節銀屑病、皮炎、系統性硬皮病及硬化症、炎症性腸病（IBD）、Crohn 病（克羅恩氏病）、潰瘍性結腸炎、呼吸窘迫綜合症、腦膜炎、胃炎、腦炎、葡萄膜炎、腎小球腎炎、濕疹、哮喘、動脈硬化、白細胞黏附缺陷病、雷諾氏(Raynaud)症候群、修格連氏(Sjogren)症候群、青少年糖尿病、萊特氏(Reiter)病、貝塞特氏(Behcet)病、免疫複合物性腎炎、IgA 腎病、IgM 多發性神經病、免疫介導的血小板減少症狀（如急性特發性血小板減少性紫癜、慢性特發性血小板減少性紫癜）、溶血性貧血、重症肌無力、狼瘡性腎炎、系統性紅斑狼瘡、風濕關節炎（RA）、異位性皮炎、天皰瘡、Graves 病、橋本氏甲狀腺炎、韋格納(Wegener)肉芽腫、歐文(Omenn)症候群、慢性腎功能衰竭、急性傳染性單核細胞增多症、多發性硬化症、HIV 和皰疹病毒相關的疾病、嚴重急性呼吸綜合症、脈絡視網膜炎（choreoretinitis）、移植物對抗宿主疾病、以及病毒感染引起的免疫性疾病（如伊波病毒（EBV）感染 B 細胞引起或介導的疾病）。在一些實施方案中，該免疫性疾病選自類風濕性關節炎、系統性紅斑性狼瘡、哮喘、炎症性腸道疾病、多發性硬化、克羅恩氏病、胃炎、橋本氏甲狀腺炎、強直性脊管柱炎和移植物對抗宿主疾病。在一些實施方案中，其中該免疫疾病是類風濕性關節炎。

【0136】此外，本公開提供用於治療或預防與目標抗原（例如 CD38）陽性細胞相關疾病的藥劑，該藥劑包含本公開的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段作為活性成分，可以對有需要的對象給予治療有效量或預防有效量的該藥劑，以治療或預防 CD38 陽性疾病。抗 CD38 抗體或其抗原結合片段可抑制 CD38 誘導的與疾病相關的活性或消除或降低 CD38 表達細胞的數目。該治療或預防有效量為單位劑量的組合物中含有 0.1-3000mg（較佳

為 0.1-2000mg，更較佳為 1-1000mg）的如前該的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段。

【0137】另外，本公開涉及用於免疫檢測或測定目標抗原（例如 CD38）的方法、用於免疫檢測或測定目標抗原（例如 CD38）的試劑、用於免疫檢測或測定表達目標抗原（例如 CD38）的細胞的方法和用於診斷與目標抗原（例如 CD38）陽性細胞相關的疾病的診斷劑，其包含本公開的特異性識別目標抗原（例如人 CD38）結合的抗體或抗體片段作為活性成分。

【0138】在本公開中，用於檢測或測定目標抗原（例如 CD38）的量的方法可以是任何已知方法。例如，它包括免疫檢測或測定方法。

【0139】免疫檢測或測定方法是使標記的抗原或抗體檢測或測定抗體量或抗原量的方法。免疫檢測或測定方法的實例包括放射性物質標記的免疫抗體方法（RIA）、酶免疫測定法（EIA 或 ELISA）、螢光免疫測定法（FIA）、發光免疫測定法、蛋白質免疫印跡法、物理化學方法等。

【0140】上述與 CD38 陽性細胞相關的疾病可以藉由用本公開的抗體或抗體片段檢測或測定表達 CD38 的細胞來診斷。

【0141】為了檢測表達多肽的細胞，可以使用已知的免疫檢測方法，並較佳使用免疫沉澱法、螢光細胞染色法、免疫組織染色法等。此外，可以使用利用 FMAT8100HTS 系統（Applied Biosystem）的螢光抗體染色法等。

【0142】在本公開中，對用於檢測或測定目標抗原（例如 CD38）的樣品沒有特別限制，只要它具有包含表達目標抗原（例如 CD38）的細胞的可能性即可，例如組織細胞、血液、血漿、血清、胰液、尿液、糞便、組織液或培養液。

【0143】 根據所需的診斷方法，含有本公開的單株抗體或其抗體片段的診斷劑還可以含有用於執行抗原-抗體反應的試劑或用於檢測反應的試劑。用於執行抗原-抗體反應的試劑包括緩衝劑、鹽等。用於檢測的試劑包括通常用於免疫檢測或測定方法的試劑，例如識別該單株抗體、其抗體片段或其結合物的標記的第二抗體和與該標記對應的受質等。

【0144】 在以上說明書中提出了本公開一種或多種實施方案的細節。雖然可使用與本文該類似或相同的任何方法和材料來實施或測試本公開，但是以下描述較佳的方法和材料。藉由說明書和申請專利範圍，本公開的其他特點、目的和優點將是顯而易見的。

【0145】 在說明書和申請專利範圍中，除非上下文中有清楚的另外指明，單數形式包括複數指代物的情況。除非另有定義，本文使用的所有技術和科學術語都具有本公開所屬領域普通技術人員所理解的一般含義。說明書中引用的所有專利和出版物都藉由引用納入。提出以下實施例是為了更全面地說明本公開的較佳實施方案。這些實施例不應以任何方式理解為限制本公開的範圍，本公開的範圍由申請專利範圍限定。

實施例與測試例

【0146】 以下結合實施例與測試例進一步描述本公開，但這些實施例並非限制著本公開的範圍。本公開實施例與測試例中未注明具體條件的實驗方法，通常按照常規條件，如冷泉港的抗體技術實驗手冊，分子選殖手冊；或按照原料或商品製造廠商所建議的條件。未注明具體來源的試劑，為市場購買的常規試劑。

實施例 1. CD38 抗原的製備

【0147】 以 UniProt ADP-核糖環化酶/環 ADP-核糖水解酶 1（人 CD38 蛋白，Uniprot 號：P28907）作為 CD38 的模板，設計本公開使用的

抗原及檢測用蛋白的胺基酸序列，可選地，在 CD38 蛋白基礎上融合不同的標籤如 His 標籤或 Fc 等。分別選殖到 pTT5 載體上（Biovector，Cat#: 102762）或 pTargeT 載體上（Promega, A1410），在 293 細胞瞬時表達或在 CHO-S 細胞中穩定表達，純化，獲得本公開抗原及檢測用蛋白。

【0148】 CD38 胞外域與小鼠 IgG2a-Fc 融合蛋白：CD38-ECD-mFc，作為免疫原；

VPRWRQQWSGPGTTKRFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWD
AFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCNKILLWSRIKDLAHQF
TQVQRDMFTLEDTLLGYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKDCS
NNPVSVFWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGSVEV
HNLQPEKVQTLEAWVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESIISKRNIIQFSCK
NIYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPS
VFIFPPKIKDVLMLISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHTA
QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIER
TISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEW
TNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSV
VHEGLHNHHTTKSFSRTPGK (SEQ ID NO : 1)

註釋：劃線部分為小鼠 IgG2a-Fc 部分；

【0149】 CD38 胞外域與人 IgG1Fc 融合蛋白：CD38-ECD-Fc，作為免疫原；

VPRWRQQWSGPGTTKRFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWD
AFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCNKILLWSRIKDLAHQF
TQVQRDMFTLEDTLLGYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKDCS

NNPVSVFWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGSVEV
 HNLQPEKVQTLEAWVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESIISKRNIIQFSCK
 NIYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEIEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO : 2)

註釋：劃線部分為人 IgG1-Fc 部分；

【0150】帶 His 標籤的 CD38 胞外域融合蛋白：CD38-ECD-His，作為免疫原或檢測試劑；

VPRWRQQWSGPGTTKRFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWD
 AFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCNKILLWSRIKDLAHQF
 TQVQRDMFTLEDTLGLYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKDCS
 NNPVSVFWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGSVEV
 HNLQPEKVQTLEAWVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESIISKRNIIQFSCK
 NIYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEIHHHHHHH (SEQ ID NO : 57)

註釋：劃線部分為 6×His 標籤；

實施例 2. CD38 相關重組蛋白的純化

1. 帶 His 標籤的重組蛋白的純化步驟：

【0151】將細胞表達上清樣品高速離心去除雜質，並將緩衝液置換為 PBS，加入咪唑至終濃度為 5mM。用含有 5mM 咪唑的 PBS 溶液平衡鎳管柱，沖洗 2-5 倍管柱體積。將置換後的細胞上清樣品上 Ni Sepharose excel

管柱(GE, 17-3712-02)。用含有 5mM 咪唑的 PBS 溶液沖洗管柱, 至 A280 讀數降至基線。後用 PBS+10mM 咪唑沖洗層析管柱, 除去非特異結合的雜蛋白, 並收集流出液。再用含有 300mM 咪唑的 PBS 溶液沖提目的蛋白, 並收集沖提峰。收集的沖提液濃縮後用凝膠層析 Superdex200 (GE, 28-9893-35) 進一步純化, 流動相為 PBS。去除聚體峰, 收集沖提峰。所得到的蛋白經電泳、肽圖、LC-MS 鑒定為正確後分裝備用。得到帶 His 標籤的 CD38-ECD-His (SEQ ID NO: 57), 用作製備本公開抗體的免疫原或檢測試劑。CD38-ECD-His 也可以藉由體外化學法與 KLH 進行偶聯反應後作為免疫原刺激小鼠免疫。

2. CD38-ECD-Fc 融合蛋白的純化步驟：

【0152】 將細胞表達上清樣品高速離心去除雜質, 上清進行 MabSelect Sure (GE, 17-5438-01) 親和層析。MabSelect Sure 層析管柱先用 0.1M NaOH 再生, 利用純水沖洗後用 PBS 平衡管柱, 將上清結合後, 利用 PBS 進行洗滌至 A280 讀數降至基線。用 0.1M 醋酸緩衝液在 pH3.5 條件下沖提目的蛋白, 用 1M Tris-HCl 中和。沖提樣品適當濃縮後利用 PBS 平衡好的凝膠層析 Superdex200 (GE, 28-9893-35) 進一步純化, 合併收集目的蛋白所在接收管濃縮至適當濃度。此方法用來純化 CD38-ECD-Fc (SEQ ID NO: 2) 融合蛋白, 該方法也可以用來純化本公開中涉及的人源化抗體蛋白。

實施例 3. 抗人 CD38 融合瘤單株抗體的獲得和製備

1. 免疫

【0153】 抗人 CD38 單株抗體藉由免疫小鼠產生。實驗用 SJL 白小鼠，雌性，4-6 週齡（北京維通利華實驗動物技術有限公司，動物生產許可證號：SCXK（京）2012-0001）。

【0154】 飼養環境：SPF 級。小鼠購進後，實驗室環境飼養 1 週，12/12 小時光/暗週期，溫度 20-25℃；濕度 40-60%。將已適應環境的小鼠按不同方案免疫，每組 3-5 只。

【0155】 免疫抗原可以是 CD38-ECD-His、CD38-ECD-Fc、CD38-FL-CHOS（轉染人 CD38 全長的 CHOS 細胞）等，可以使用單獨一種試劑配合不同的免疫佐劑或者不同類型免疫原交叉免疫。免疫部位可以是腹腔或者背部皮下，或者兩種位置交替免疫。示例性免疫方法如用 Titermax（sigma Lot Num：T2684）或明礬（Thremo Lot Num：77161）免疫。抗原與佐劑（titermax）比例為 1:1，抗原與佐劑（明礬）比例為 4:1，25-50μg 或 1×10^7 cells/隻（首次免疫），25-50μg 或 1×10^7 cells/隻（加強免疫）。第 0 天腹膜內（IP）注射或皮下（SC）注射抗原，首免後每兩週重複免疫一次。每三週取血，用 ELISA 方法確定小鼠血清中的抗體滴度。在第 8-12 次免疫以後，選擇血清中抗體滴度高並且滴度趨於平臺的小鼠進行脾細胞融合。在進行脾細胞融合前 3 天加強免疫，腹膜內（IP）注射 25-50μg 或 1×10^7 cells/隻的生理鹽水配製的抗原溶液。

2. 細胞融合

【0156】 選擇血清中的抗體滴度高（見測試例 1，結合 CD38 的 ELISA 方法）並且滴度趨於平臺的小鼠進行脾細胞融合，融合前 3 天衝刺免疫所選小鼠。採用優化的 PEG 介導的融合步驟將脾淋巴細胞與骨髓瘤細胞 Sp2/0 細胞（ATCC® CRL-8287™）進行融合得到融合瘤細胞。融合好的融合瘤細胞用 HAT 完全培養基（含 20%FBS、1×HAT 和 1×OPI 的 RPMI-

1640 培養基)重新懸浮，分裝於 96 孔細胞培養板中 (1×10^5 細胞/150 μ l/孔)，37°C，5%CO₂ 孵育。融合後的第 5 天加入 HAT 完全培養基，50 μ l/孔，37°C，5%CO₂ 孵育。融合後第 7 天至 8 天，根據細胞生長密度，全換液，培養基為 HT 完全培養基(含 20%FBS、1 $\times$ HT 和 1 $\times$ OPI 的 RPMI-1640 培養基)，200 μ l/孔，37°C，5%CO₂ 孵育。

3. 融合瘤細胞篩選

【0157】融合後第 10-11 天，根據細胞生長密度，進行結合 CD38 的 ELISA 方法檢測(見測試例 1)。並將 ELISA 檢測陽性孔的細胞上清進行結合 CD38-FL-CHO-S 的 FACS 方法檢測(見測試例 2)，陽性孔換液，並根據細胞密度及時擴大至 24 孔板中。移入 24 孔板的細胞株經過複測後進行保種和第一次亞選殖。第一次亞選殖篩選(見測試例 1、2)為陽性的進行保種，並進行第二次亞選殖。第二次亞選殖為陽性(見測試例 1、2)的進行保種和蛋白表達。多次融合獲得具有高 CD38 親和力的融合瘤細胞。

【0158】藉由阻斷實驗和結合實驗篩選得到融合瘤純株 m009、m011 和 m160，用無血清細胞培養法進一步製備抗體，按純化實例純化抗體，供在檢測例中使用。

【0159】其中測得融合瘤純株 009 的鼠源抗體可變區序列如下：

> m009 VH：m009 重鏈可變區序列

*EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDYNLNWVKQSNGKSLE
WIGVINPKYDAINYNQKFKDKATLTVDQSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC
AREGWGKALDYWGPGTSVIVSS*

SEQ ID NO：3

>m009 mVL：m009 輕鏈可變區序列

DFVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASQSIYTNLHWYQQKSHESPRLL
IKYASQSIGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVETEDSGMYFCQQSNSWPLTF
GAGTKLELK

SEQ ID NO : 4

註：上述序列中下劃線為根據 Kabat 編號規則確定的 CDR 序列，斜體為 FR 序列，順序依次為 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

【0160】 融合瘤純株 m011 的鼠源抗體可變區序列如下：

>m011 VH：m011 重鏈可變區序列

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGL
EWVAFISSGSSSIYYADTVKGRFTISRDNANKNTLFLQMTSLRSEDAMYS
CARNYVSSYGYFDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO : 5

>m011 VL：m011 輕鏈可變區序列

DIVMTQSPASLAVSLGQRATISCRASENVDNYGISFMHWYQQKPGQ
PPKLLIYRASNLSEGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVETDDVATYYCQQSNK
DPLTFGSGTKLEIK

SEQ ID NO : 6

註：上述序列中下劃線為根據 Kabat 編號規則確定的 CDR 序列，斜體為 FR 序列，順序依次為 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

【0161】 融合瘤純株 m160 的鼠源抗體可變區序列如下：

>m160 VH：m160 重鏈可變區序列

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCVASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGL
EWIAFISTGSSNIYYVDKVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYY
CARNYVSSYGYFDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO : 7

>m160 VL : m160 輕鏈可變區序列

DIVLTQSPASLAVSLGQRATVSCRASESVDNYGISFMHWYQQKPGQ
PPKLLIYRASNL~~ES~~GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVETDDVATYYCQQTNK
DPLTFGGGTKLELK

SEQ ID NO : 8

註：上述序列中下劃線為根據 Kabat 編號規則確定的 CDR 序列，斜體為 FR 序列，順序依次為 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

【0162】 各重鏈及輕鏈 CDR 區序列如表 3 所示：

表 3. 重鏈、輕鏈 CDR 區序列

抗體	重鏈		輕鏈	
m009	HCDR1	DYNLN SEQ ID NO : 9	LCDR1	RASQSIYTNLH SEQ ID NO : 12
	HCDR2	VINPKYDAINYNQKFKD SEQ ID NO : 10	LCDR2	YASQSIG SEQ ID NO : 13
	HCDR3	EGWKGALDY SEQ ID NO : 11	LCDR3	QQSNSWPLT SEQ ID NO : 14
m011	HCDR1	DYGMH SEQ ID NO : 15	LCDR1	RASENVDNYGISFMH SEQ ID NO : 18
	HCDR2	FISSGSSSIYYADTVKG SEQ ID NO : 16	LCDR2	RASNLES SEQ ID NO : 19
	HCDR3	NYVSSYGYFDY SEQ ID NO : 17	LCDR3	QQSNKDPLT SEQ ID NO : 20
m160	HCDR1	DYGMH SEQ ID NO : 15	LCDR1	RASESVDNYGISFMH SEQ ID NO : 22
	HCDR2	FISTGSSNIYYVDKVKG SEQ ID NO : 21	LCDR2	RASNLES SEQ ID NO : 19
	HCDR3	NYVSSYGYFDY SEQ ID NO : 17	LCDR3	QQTNKDPLT SEQ ID NO : 23

4. 人 IgG1 嵌合抗體製備

【0163】 融合瘤篩選所獲得的候選分子經過擴增測序可得到可變區編碼基因序列。以測序所得序列設計首尾引子，以測序基因為模板，經過 PCR 搭建各抗體的 VH/VK 基因片段，再與表達載體 pHr（帶信號肽及

hIgG1/hkappa 恆定區基因 (CH1-Fc/CL) 片段) 進行同源重組, 構建重組嵌合抗體全長表達質粒 VH-CH1-Fc-pHr/VL-CL-pHr, 形成融合瘤純株 m009、m011 和 m160 的嵌合抗體 ch-009、ch-011 和 ch-160。

實施例 4. 抗 CD38 融合瘤單株抗體的人源化

【0164】藉由比對 IMGT 人類抗體重和輕鏈可變區種系基因數據庫和 MOE 軟體分析, 分別挑選與 m009、m011 和 m160 同源性高的重/輕鏈可變區種系基因作為模板。將這三個鼠源抗體的 CDR 分別移植到相應的人源模板中, 形成次序為 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 的人源化抗體可變區序列。

【0165】人源 FR 區的選擇和 FR 區胺基酸的回復突變: 在所獲得的鼠源抗體 VH/VL CDR 典型結構的基礎上, 從人源種系數據庫中搜索輕鏈可變區 (VL) 和重鏈可變區 (VH) 的同源序列, 按 FR 的同源性由高到低排序, 選取 FR 同源性最高的種系作為主要模板; 將鼠源抗體的 CDR 區移植到人源模板上; 進一步地, 以鼠源抗體的三維結構為基礎, 藉由軟件對包埋殘基、與 CDR 區有直接相互作用的殘基, 以及對 VL 和 VH 的構象有重要影響的殘基進行回復突變; 並對化學不穩定胺基酸殘基優化, 得到最終的人源化分子。

1. 融合瘤純株 m009 人源化構架選擇

【0166】鼠源抗體 m009 的人源化輕鏈模板為 IGKV3-11*01 和 hJK4.1, 人源化重鏈模板為 IGHV1-3*01 和 hJH4.1, 將 m009 的 CDR 移植到人源模板上, 獲得人源化可變區序列如下:

> h009VH-CDR 移植

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLNWVRQAPGQRL
 EWMGVINPKYDAINYNQKFKDRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYY
 CAREGWGKALDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO : 24

> h009VL-CDR 移植

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIYTNLHWYQQKPGQAPRLLI
 YYASQSIGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNSWPLTFG
 GTKVEIK

SEQ ID NO : 25

註：序列中下劃線為根據 Kabat 編號規則確定的 CDR 序列，斜體為
 FR 序列，順序依次為 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

2. 融合瘤純株 m009 人源化回復突變設計，見表 4：

表 4. 融合瘤純株 m009 的人源化回復突變

VL		VH	
h009 VL1	移植	h009 VH1	移植
h009 VL2	A43S, Y49K	h009 VH2	V2F, R44S, R71V
h009 VL3	I2F, A43S, Y49K, Y87F	h009 VH3	V2F, R44S, M48I, V67A, R71V
		h009 VH4	V2F, R38K, R44S, R66K, I69L, R71V, T73Q
		h009 VH5	V2F, R38K, R44S, M48I, V67A, R66K, I69L, R71V, T73Q

註：移植代表鼠源抗體 CDR 植入人種系 FR 區；“A43S”表示在移植基礎上，將第 43 位（依照 Kabat 編號系統編號）的 A 回復突變為 S，其它以此類推。

【0167】 融合瘤純株 m009 的人源化抗體可變區序列如下：

> h009 VH1（SEQ ID NO：24）

• EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLNWVRQAPG
 · QRLEWMGVINPKYDAINYNQKFKDRVTITRDTSASTAYMELSSLRSE
 - DTAVYYCAREGWGKALDYWGQGTLVTVSS
 > h009 VH2 (SEQ ID NO : 26)

EFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLNWVRQAPGQ
 SLEWMGVINPKYDAINYNQKFKDRVTITVDTSASTAYMELSSLRSED
 TAVYYCAREGWGKALDYWGQGTLVTVSS
 > h009 VH3 (SEQ ID NO : 27)

EFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLNWVRQAPGQ
 SLEWIGVINPKYDAINYNQKFKDRATITVDTSASTAYMELSSLRSED
 AVYYCAREGWGKALDYWGQGTLVTVSS
 > h009 VH4 (SEQ ID NO : 28)

EFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLNWVKQAPGQ
 SLEWMGVINPKYDAINYNQKFKDKVTLTVDQSASTAYMELSSLRSED
 TAVYYCAREGWGKALDYWGQGTLVTVSS
 > h009 VH5 (SEQ ID NO : 29)

EFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLNWVKQAPGQ
 SLEWIGVINPKYDAINYNQKFKDKATLTVDQSASTAYMELSSLRSED
 AVYYCAREGWGKALDYWGQGTLVTVSS
 > h009 VL1 (SEQ ID NO : 25)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIYTNLHWYQQKPGQAPR
 LLIYYASQSIGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYCQQSNSWP
 LTFGGGTKVEIK

> h009 VL2 (SEQ ID NO : 30)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIYTNLHWYQQKPGQSPRL
 LIKYASQSIGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYCQQSNSWPL
 TFGGGTKVEIK

> h009 VL3 (SEQ ID NO : 31)

EEVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIYTNLHWYQQKPGQSPR
 LLIKYASQSIGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYECQQSNSWP
 LTFGGGTKVEIK

【0168】 將上述人源化輕鏈可變區和重鏈可變區分別與人種系輕鏈恆定區（例如人 κ 、 λ 鏈輕鏈恆定區）和重恆定區（例如人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 或其變體的重鏈恆定區）組合形成人源化抗體的重鏈和輕鏈，進而獲得完整的 m009 的人源化抗體（h009）。示例性的，上述 h009 抗體的重鏈可變區和輕鏈可變區分別與如 SEQ ID NO : 43 所示的人 IgG1 重鏈恆定區和序列如 SEQ ID NO : 45 所示的人 kappa 輕鏈恆定區組合，獲得全長人源化抗體（h009-01 至 h009-15），可變區序列如表 5 所示：

表 5. h009 人源化抗體的重鏈可變區和輕鏈可變序列

可變區	h009 VL1	h009 VL2	h009 VL3
h009 VH1	h009-01	h009-06	h009-11
h009 VH2	h009-02	h009-07	h009-12
h009 VH3	h009-03	h009-08	h009-13
h009 VH4	h009-04	h009-09	h009-14
h009 VH5	h009-05	h009-10	h009-15

注： 表中例如“h009-07”，其表示編號為 h009-07 的人源化抗體的重鏈可變區為的 h009 VH2、輕鏈可變區為的 h009VL2，其它抗體以此類推。

3. 融合瘤純株 m011 人源化構架選擇

【0169】 鼠源抗體 m011 的人源化輕鏈模板為 IGKV4-1*01 和 hJK4.1，人源化重鏈模板為 IGHV3-7*01 和 hJH6.1，為了消除潛在的熱點（hot spot），在人種系 IGHV3-7*01 和 hJH6.1 的 FR 區引入 N 82A T（依照 Kabat 編號系統，將第 82A 位胺基酸由天冬醯胺（縮寫：N 或 Asn）突變為蘇胺酸（縮寫：T 或 Thr））突變；和 N76S（依照 Kabat 編號系統編號，將第 76 位胺基酸由天冬醯胺（縮寫：N 或 Asn）突變為蘇胺酸（縮寫：S 或 Ser））突變，將 m011 的 CDR 移植到人源模板上，獲得人源化可變區序列如下：

> h011VH-CDR 移植

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGL
EWVAFISSGSSSIYYADTVKGRFTISRDNAKSSLYLQMTSLRAEDTAVYYC
ARNYVSSYGYFDYWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO : 32

> h011VL-CDR 移植

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASENVVDNYGISFMHWYQQKPG
QPPKLLIYRASNLSEGVPRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQS
NKDPLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO : 33

註：序列中下劃線為根據 Kabat 編號規則確定的 CDR 序列，斜體為 FR 序列，順序依次為 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

4. 融合瘤純株 m011 回復突變設計，見下表 6：

表 6. 融合瘤純株 m011 人源化回復突變

VL		VH	
h011 VL1	移植	h011 VH1	移植, N <u>82A</u> T, N76S
h011 VL2	G68R	h011 VH2	Y79F, N <u>82A</u> T, Y91S, N76S
h011 VL3	V58I, G68R, V85T		

註：移植代表鼠源抗體 CDR 植入人種系 FR 區序列，G68R 表示在移植基礎上將第 68 位（依照 Kabat 編號系統編號）的 G 回復突變為 R，其它以此類推。

【0170】 h011 人源化抗體可變區具體序列如下：

> h011 VH1 (SEQ ID NO : 32)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGK
GLEWVAFISSGSSSIYYADTVKGRFTISRDNKSSLYLQMTSLRAEDT
AVYYCARNYVSSYGYFDYWGQGTTVTVSS

> h011 VH2 (SEQ ID NO : 34)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGK
GLEWVAFISSGSSSIYYADTVKGRFTISRDNKSSLELQMTSLRAEDT
AVYSCARNYVSSYGYFDYWGQGTTVTVSS

> h011 VL1 (SEQ ID NO : 33)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASENVVDNYGISFMHWYQQKP
GQPPKLLIYRASNL ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC
QQSNKDPLTFGGGGTKVEIK

> h011 VL2 (SEQ ID NO : 35)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASENVVDNYGISFMHWYQQKP
GQPPKLLIYRASNL ESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVAVYYCQ
QSNKDPLTFGGGGTKVEIK

> h011VL3 (SEQ ID NO : 36)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASENVVDNYGISFMHWYQQKP
GQPPKLLIYRASNL ESIPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVATYYCQ
QSNKDPLTFGGGGTKVEIK

【0171】 將上述人源化輕鏈可變區和重鏈可變區分別與人種系輕鏈
恆定區（例如人 κ 、 λ 鏈輕鏈恆定區）和重恆定區（例如人 IgG1、IgG2、

、 IgG3 或 IgG4 或其變體的重鏈恆定區)組合形成人源化抗體的重鏈和輕鏈，
： 進而獲得完整的 m011 的人源化抗體 (h011)。示例性的，上述 h011 抗體
· 的重鏈可變區和輕鏈可變區分別與序列如 SEQ ID NO：43 所示的人 IgG1
重鏈恆定區和序列如 SEQ ID NO：45 所示的人 kappa 輕鏈恆定區組合，
獲得全長人源化抗體 (h011-01 至 h011-06)，其可變區序列如表 7 所示：

表 7. h0011 人源化抗體的重輕鏈可變區相互組合表

	h011VL1	h011VL2	h011 VL3
h011 VH1	h011-01	h011-03	h011-05
h011 VH2	h011-02	h011-04	h011-06

註： 表中例如“h011-04”，其表示編號為 h011-04 的人源化抗體的重
鏈可變區為的 h011 VH2、輕鏈可變區為的 h011VL2，其它抗體以此類推。

5. 融合瘤純株 m160 人源化構架選擇

【0172】 鼠源抗體 m160 的人源化輕鏈模板為 IGKV4-1*01 和
hJK4.1 人源化重鏈模板為 IGHV3-7*01 和 hJH6.1，為了消除人種系 FR 區
潛在的熱點 (hot spot)，在人種系 IGHV3-7*01 和 hJH6.1 的 FR 區引入
S77T 突變 (依照 Kabat 編號系統編號，將第 77 位胺基酸由蘇胺酸 (縮寫：
S 或 Ser) 突變為蘇胺酸 (縮寫：T 或 Thr))、N 82A T 突變 (依照 Kabat
編號系統編號，將第 82A 位胺基酸由天冬醯胺 (縮寫：N 或 Asn) 突變為
蘇胺酸 (縮寫：T 或 Thr))，將 m160 的 CDR 移植到人源模板上，獲得
的人源化可變區序列如下：

> h160VH-CDR 移植

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGL
*EWVAFISTGSSNIYYVDKVKGRFTISRDN**AKNTLYLQMTSLRAEDTAVYY*
*CARNYVSSYGYFDYWGQGTTVT**VSS*

SEQ ID NO : 37

> h160VL-CDR 移植

DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDNYGISFMHWYQQKPGQ
*PPKLLIYRASNL**ESGV**PD**RFSGSGSGTDFTLT**IS**SLQAEDVAVYYCQQTN*
KDPLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO : 38

註：序列中下劃線為根據 Kabat 編號規則確定的 CDR 序列，斜體為 FR 序列，順序依次為 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

6. 融合瘤純株 m160 的人源化回復突變設計，見下表 8：

表 8. 融合瘤純株 m160 人源化回復突變

VL		VH	
h160 VL1	移植, D9A	h160 VH1	移植, S77T, N <u>82A</u> T
h160 VL2	M4L, D9A	h160 VH2	V48I, S77T, N <u>82A</u> T
h160 VL3	M4L, D9A, D60A, G68R		
h160 VL4	M4L, D9A, N22S, V58I, D60A, G68R		

註：移植代表鼠抗體 CDR 植入人種系 FR 區序列，“M4L”表示在移植基礎上將第 4 位（依照 Kabat 編號系統編號）的 M 回復突變為 L，其它以此類推。

【0173】 h160 人源化抗體可變區具體序列如下：

> h160 VH1 (SEQ ID NO：37)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGK
GLEWVAFISTGSSNIYYVDKVKGRFTISRDNAKNTLYLQMTSLR
AEDTAVYYCARNYVSSYGYFDYWGQGTTVTVSS

> h160 VH2 (SEQ ID NO：39)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGK
GLEWIAFISTGSSNIYYVDKVKGRFTISRDNKNTLYLQMTSLRA
EDTAVYYCARNYVSSYGYFDYWGQGTTVTVSS
> h160 VL1 (SEQ ID NO : 38)

DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDNYGISFMHWYQQKP
GQPPKLLIYRASNL ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVY
YCQQTNKDPLTFGGGTKVEIK
> h160 VL2 (SEQ ID NO : 40)

DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDNYGISFMHWYQQKPG
QPPKLLIYRASNL ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYY
CQQTNKDPLTFGGGTKVEIK
> h160 VL3 (SEQ ID NO : 41)

DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDNYGISFMHWYQQKPG
QPPKLLIYRASNL ESGVPARFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVAVYY
CQQTNKDPLTFGGGTKVEIK
> h160 VL4 (SEQ ID NO : 42)

DIVLTQSPASLAVSLGERATISCRASESVDNYGISFMHWYQQKPG
QPPKLLIYRASNL ESGIPARFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVAVYY
CQQTNKDPLTFGGGTKVEIK

【0174】 將上述人源化輕鏈可變區和重鏈可變區分別與人種系輕鏈恆定區（例如人 κ 、 λ 鏈輕鏈恆定區）和重恆定區（例如人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 或其變體的重鏈恆定區）組合形成人源化抗體的重鏈和輕鏈，進而獲得完整的 m160 的人源化抗體（h160）。示例性的，上述 h160 抗體

的重鏈可變區和輕鏈可變區分別與序列如 SEQ ID NO：43 所示的人 IgG1 重鏈恆定區和序列如 SEQ ID NO：45 所示的人 kappa 輕鏈恆定區組合，獲得全長人源化抗體（h160-01 至 h160-08），其可變區序列如表 9 所示：

表 9. h016 人源化抗體的重鏈可變區和輕鏈可變區

	h160 VL1	h160 VL2	h160 VL3	h160 VL4
h160 VH1	h160-01	h160-02	h160-03	h160-04
h160 VH2	h160-05	h160-06	h160-07	h160-08

註：表中例如“h160-07”，其表示編號為 h160-07 的人源化抗體的重鏈可變區為的 h160 VH2、輕鏈可變區為的 h160 VL3，其它抗體以此類推。

實施例 5. 構建和表達抗人 CD38 人源化抗體 IgG1 或 IgG1-E333A 的形式

【0175】 設計引子 PCR 搭建各人源化抗體 VH/VK 基因片段，再與表達載體 pHr（帶信號肽及恆定區基因（CH1-FC/CL）片段，實驗室構建）進行同源重組，構建抗體全長表達載體 VH-CH1-FC-pHr/VK-CL-pHr。人源化抗體的輕鏈恆定區可選自人 κ 、 λ 鏈輕鏈恆定區，重鏈恆定區可選自人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 或其變體的重鏈恆定區，非限制性實施包括對人 IgG1、IgG2、IgG4 的恆定區進行優化設計，改善抗體功能，例如藉由 IgG1 進行 E333A 點突變獲得 IgG1-E333A 恆定區，該突變可以增強 IgG1-Fc 與 C1q 的結合能力，進一步增強抗體 CDC 的功能（參見 US6528624）。以下具體輕/重鏈恆定區並非作為本公開抗體恆定區的限制，也可選用本領域其它已知的抗體輕/重鏈恆定區及其突變體。

【0176】 示例性的重鏈恆定區如下所示：

IgG1 重鏈恆定區：

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO : 43

【0177】 IgG1-E333A 重鏈恆定區：

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIAKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO : 44

【0178】 kappa 輕鏈恆定區：

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL
QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGL
SSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 45

【0179】 示例性地，將前述融合瘤純株 m009、m011、m160 的人源化輕鏈可變區和重鏈可變區分別與序列如 SEQ ID NO : 43 所示的人 IgG1 重鏈恆定區和序列如 SEQ ID NO : 45 所示的人 kappa 輕鏈恆定區組合，獲得的全長人源化抗體參見表 5、表 7 和表 9 所示；另一示例性地，將前述融合瘤純株 m009、m011、m160 的人源化輕鏈可變區和重鏈可變區分別與序列如 SEQ ID NO : 44 所示的人 IgG1-E333A 重鏈恆定區和序列如 SEQ ID NO : 45 所示的人 kappa 輕鏈恆定區組合，獲得全長人源化抗體，所獲得的人源化抗體的輕重鏈可變區序列見表 10：

表 10. 人源化抗體（重鏈恆定區為人 IgG1-E333A，輕鏈恆定區 kappa）的可變區序列

抗體	重鏈可變區 VH	輕鏈可變區 VL
h009-01E	h009 VH1	h009 VL1
h009-02E	h009 VH2	h009 VL1
h009-03E	h009 VH3	h009 VL1
h009-04E	h009 VH4	h009 VL1
h009-05E	h009 VH5	h009 VL1
h009-06E	h009 VH1	h009 VL2
h009-07E (也標記為 hu9E)	h009 VH2	h009 VL2
h009-08E	h009 VH3	h009 VL2
h009-09E	h009 VH4	h009 VL2
h009-10E	h009 VH5	h009 VL2
h009-11E	h009 VH1	h009 VL3
h009-12E	h009 VH2	h009 VL3
h009-13E	h009 VH3	h009 VL3
h009-14E	h009 VH4	h009 VL3
h009-15E	h009 VH5	h009 VL3
h011-01E (也標記為 hu11E)	h011 VH1	h011VL1
h011-02E	h011 VH2	h011VL2

h011-03E	h011 VH1	h011VL3
h011-04E	h011 VH2	h011VL1
h011-05E	h011 VH1	h011VL2
h011-06E	h011 VH2	h011VL3
h160-01E (也標記為 hu160E)	h160 VH1	h160 VL1
h160-02E	h160 VH1	h160 VL2
h160-03E	h160 VH1	h160 VL3
h160-04E	h160 VH1	h160 VL4
h160-05E	h160 VH2	h160 VL1
h160-06E	h160 VH2	h160 VL2
h160-07E	h160 VH2	h160 VL3
h160-08E	h160 VH2	h160 VL4

【0180】 示例性的，人源化抗體 h009-07、hu9E、h011-01、hu11E、h160-01 和 hu160E 的全長胺基酸序列如下：

h009-07 抗體的重鏈序列：

EFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLNWVRQAPGQSLE
WMGVINPKYDAINYNQKFKDRVTITVDTSASTAYMELSSLRSED
TAVYYCAREGWGKALDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG

VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO : 46

【0181】 h009-07 抗體的輕鏈序列：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIYTNLHWYQQKPGQSPRLLIK
YASQSIGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNSWPLTFG
GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA
CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 47

【0182】 hu9E 抗體的重鏈序列：

EFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNLNWVRQAPGQSLE
WMGVINPKYDAINYNQKFKDRVITITVDTASTAYMELSSLRSEDNAV
YYCAREGWGKALDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIAKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO : 48

【0183】 hu9E 抗體的輕鏈序列：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIYTNLHWYQQKPGQSPRLLIK
YASQSIGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYCQQSNSWPLTFG
GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA
CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 47

【0184】 h011-01 抗體的重鏈序列：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLE
WVAFISSGSSSIYYADTVKGRFTISRDNALAKSSLYLQMTSLRAEDTAVY
YCARNYVSSYGYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO : 49

【0185】 h011-01 抗體的輕鏈序列：

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASENVDNYGISFMHWYQQKPGQP
PKLLIYRASNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLTSSLQAEDVAVYYCQQS

NKDPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 50

【0186】 hu11E 抗體的重鏈序列：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLE
WVAFISSGSSSIYYADTVKGRFTISRDNKSSLYLQMTSLRAEDTAVY
YCARNYVSSYGYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIAKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO : 51

【0187】 hu11E 抗體的輕鏈序列：

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASENVVDNYGISFMHWYQQKPGQP
PKLLIYRASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQS
NKDPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 50

【0188】 h160-01 抗體的重鏈序列：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLE
WVAFISTGSSNIYYVDKVKGRFTISRDNKNTLYLQMTSLRAEDTAV
YYCARNYVSSYGYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG
GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO : 52

【0189】 h160-01 抗體的輕鏈序列：

DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDNYGISFMHWYQQKPGQP
PKLLIYRASNL ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQT
NKDPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 53

【0190】 hu160E 抗體的重鏈序列：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLE
WVAFISTGSSNIYYVDKVKGRFTISRDNKNTLYLQMTSLRAEDTAV
YYCARNYVSSYGYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG

GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIAKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO : 54

【0191】 hu160E 抗體的輕鏈序列：

DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDNYGISFMHWYQQKPGQP
PKLLIYRASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQT
NKDPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 53

【0192】 本公開將抗 CD38 的抗體達雷木單抗（簡稱 Dara，序列來源參照 WHO Drug Information, Vol. 24, No. 1, 2010）作為對照抗體，其重鏈和輕鏈序列如下所示：

Dara 的重鏈序列：

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLE
WVSAISGSGGGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV
YFCAKDKILWFGE PVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS

VVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO : 55

【0193】 Dara 的輕鏈序列：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIY
DASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTF
GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 56

【0194】 用以下測試方法驗證本公開抗體性能及有益效果。

測試例 1. CD38 抗體結合 CD38 蛋白的 ELISA 實驗

【0195】 抗 CD38 抗體的親和力藉由抗體與固定在 ELISA 板上 CD38 的結合的量來檢測。包被 2 μg/ml 鏈黴親和素（Abcam，CAT#ab123480）於 96 孔 ELISA 板（Costar，CAT#3590）上，洗板封閉後，加入 2 μg/ml 生物素標記的 CD38-ECD-His。孵育後，加入不同濃度稀釋的抗 CD38 抗體樣品，再洗板後加入辣根過氧化物酶-羊抗人 F(ab')₂ 抗體（Jackson，CAT#109-036-097），再洗板加入四甲基聯苯胺溶液顯色，最後加入終止液，在酶標儀上測量 OD450 並計算其 EC50 值，結果如表 11 所示。

表 11. CD38 人源化抗體的親和力

抗體	EC50 (μg/ml)
hu9E	0.02594
hu11E	0.02762
hu160E	0.02801

【0196】 結果顯示本公開的人源化抗體可與 CD38 蛋白特異性結合，並且結合能力較強。

測試例 2. CD38 抗體結合 CD38-FL-CHO-S 細胞的實驗

【0197】 穩定轉染有全長人 CD38（Uniprot 號：P28907）的 CHO-S（FreeStyle™ CHO-S 細胞, Invitrogen, R80007）細胞（CD38-FL-CHOS）於 CD CHO 培養基(Gibco, REF#10743-029)中培養，1×10⁶細胞/ml CD38-FL-CHOS 細胞用 1%BSA 封閉後，加入不同濃度稀釋的抗 CD38 抗體樣品，洗兩次後，再加入 Alexa Fluor 488-羊抗人（H+L）抗體（Invitrogen，CAT#A11013），洗兩次後，使用流式細胞儀讀取螢光信號值，結果如表 12 所示。

表 12. CD38 人源化抗體的親和力

抗體	EC50 (μg/ml)
hu9E	0.4020
hu11E	0.4813
hu160E	0.4740

【0198】 FACS 檢測結果顯示本公開的人源化抗體對細胞表面的天然 CD38 具有很強的結合能力。

測試例 3. CD38 抗體對 CD38 酶活抑制的實驗

【0199】 將 CD38-ECD-His 用 20 mM Tris-HCl (pH 6.5) 緩衝液配成濃度為 4 μg/ml 的溶液。同樣，將抗 CD38 抗體樣品用緩衝液配成不同的濃度。各取 25μl CD38-ECD-His 及抗 CD38 抗體樣品加入底透黑壁 96 孔板 (Corning, CAT#3603)。在常溫孵育 15 分鐘後，加入 50μl 濃度為 200μM 的受質 NGD (Sigma, CAT#N5131-25MG)。常溫孵育 2 小時後，用 FlexStation 3 (Molecular Devices) 使用發射波長 410 nm (激發光 300 nm) 檢測環 GDP 核糖 (cGDPR) 的產生，結果如表 13 所示。

表 13. CD38 人源化抗體對 CD38 酶活抑制結果

抗體	IC50 ($\mu\text{g/ml}$)	Imax (最大抑制率，%)
Dara	3.147	44.54
hu9E	1.559	89.63
hu11E	1.827	44.31
hu160E	1.199	47.67

【0200】實驗結果顯示 hu9E 的最大酶活抑制率達 89.63%，明顯優於對照抗體 Dara，而 hu11E 和 hu160E 的最大酶活抑制率分別達 44.31% 和 47.67%，與對照抗體相當。

測試例 4. CD38 抗體對 Molp-8、Daudi 細胞體外 ADCC 的實驗

【0201】收集人多發性骨髓瘤細胞系 Molp-8(南京科佰，CBP60562) 或人 Burkitt's 淋巴瘤細胞系 Daudi 細胞 (ATCC，CCL-123)，1000 rpm 離心 5 分鐘，用含 10%超低 IgG 胎牛血清 (Gibco，CAT# 1921005PJ) 的無酚紅 RPMI 1640 培養基 (Gibco，CAT# 11835-030) 重新懸浮，用細胞計數儀 (Countstar，IC1000) 計數，稀釋細胞至 1×10^5 細胞/ml。

【0202】使用 Ficoll (GE，CAT# 17-5442-02) 從新鮮人血液中分離外周血單核細胞 (PBMC)，於無酚紅 RPMI 1640 培養基中重新懸浮，用細胞計數儀計數，稀釋細胞至 3×10^6 細胞/ml。

【0203】將 Molp-8 或 Daudi 與不同濃度的 CD38 抗體或陰性對照 IgG (C25-hIgG1 (WT)，實驗室製備) 按 1:1 的比例，在 96 孔板中各加

入 50 μl，孵育 30 分鐘（37℃，5% CO₂）後，加入 50 μl 效應細胞 PBMC，效應細胞比目標細胞比率為 30:1。孵育 4 小時（37℃，5% CO₂）後，使用 CytoTox 96 非放射細胞毒性測試試劑盒（Promega，CAT#G1780）檢測 LDH（乳糖脫氫酶，lactate dehydrogenase）釋放。取 50 μl 細胞上清，再加入 50 μl CytoTox 96® Reagent，室溫孵育 30 分鐘後加入終止液，用 FlexStation 3（Molecular Devices）檢測吸收光（490 nm），結果如表 14 所示。

表 14. CD38 人源化抗體對靶細胞 ADCC 結果

抗體	Molp-8		Daudi	
	IC50 (μg/ml)	E _{max} (最大效應率，%)	IC50 (μg/ml)	E _{max} (最大效應率，%)
hu9E	4.5	83.6	4.9	102.5
hu11E	3.8	72.0	2.6	92.5
hu160E	2.7	71.5	3.1	96.7

【0204】 實驗結果顯示本公開中的人源化抗體對 Molp-8、Daudi 細胞體外 ADCC 的作用較強，可顯著造成靶細胞裂解。

測試例 5. CD38 抗體對 Molp-8、Daudi 細胞體外 CDC 的實驗

【0205】 收集 Molp-8 或 Daudi 細胞後，1000 rpm 離心 5 分鐘，重新懸浮。用細胞計數儀（Countstar，IC1000）計數，將細胞以 1×10⁶ 細胞/ml 重新懸浮在含 10%超低 IgG 胎牛血清（Gibco，CAT# 1921005PJ）的無酚

- 紅 RPMI 1640 培養基(Gibco, CAT# 11835-030)中。隨後，將細胞以 5×10^4
- 細胞/孔 (50 μ l/孔) 鋪於 96 孔板 (Corning, CAT#3903) 中。然後，加入
- 50 μ l 不同濃度的抗 CD38 抗體和陰性對照。孵育 30 分鐘 (37°C, 5% CO₂) 後，向每個孔中加入 50 μ l 人血清 (實驗室製備)。孵育 2 小時 (37°C, 5% CO₂) 後，向每個孔中加入 16.6 μ l Alamar Blue 試劑 (Thermo, CAT#DAL1025)，孵育 20 小時 (37°C, 5% CO₂)。最後，用 FlexStation 3 (Molecular Devices) 檢測發射波長 585 nm (激發波長 570 nm)，結果如表 15 所示。

表 15. CD38 人源化抗體對靶細胞 CDC 結果

抗體	Molp-8		Daudi	
	IC50 (μ g/ml)	E _{max} (最大效應率, %)	IC50 (μ g/ml)	E _{max} (最大效應率, %)
hu9E	281.4	79.7	51.1	92.8
hu11E	289.9	67.4	70.1	91.4
hu160E	393.2	61.5	65.7	88.1

【0206】 實驗結果顯示本公開中的人源化抗體對 Molp-8、Daudi 細胞體外 CDC 的作用較強，可顯著造成靶細胞細胞裂解。

測試例 6. CD38 抗體對 Molp-8、Daudi 細胞的體外 ADCP 報告系統測試

【0207】 收集 Molp-8 或 Daudi 細胞後，1000 rpm 離心 5 分鐘，重新懸浮。用細胞計數儀（Countstar，IC1000）計數，將細胞以 1×10^6 細胞/ml 重新懸浮在含 10% 超低 IgG 胎牛血清（Gibco，CAT# 1921005PJ）的無酚紅 RPMI 1640 培養基（Gibco，CAT# 11835-030）中。隨後，將細胞以 2.5×10^4 細胞/孔（25 μ l/孔）鋪於 96 孔板（Corning，CAT#3903）中，加入 25 μ l 不同濃度的抗 CD38 抗體和陰性對照，孵育 30 分鐘（37℃，5% CO₂）。收集穩轉全長人 Fc γ IIa（Uniprot 號：P12318）的 Jurkat（Jurkat-Lucia™ NFAT Cells，Invivogene）細胞作為效應細胞，將效應細胞以 7.5×10^4 細胞/孔（50 μ l/孔）加入靶細胞和抗體孵育的 96 孔板中。孵育 6 小時（37℃，5% CO₂）後吸出 10 μ l 上清到新的 96 孔板（Corning，CAT#3903），加入 90 μ l/孔的 QUANTI-Luc（Invivogene，rep-qlc1），用 VITOR（VITOR3，PerkinElmer）檢測化學發光 Luminescence，結果如表 16 和第 1 圖所示。

表 16. CD38 人源化抗體對靶細胞的體外 ADCP 報告系統測試結果

抗體	Molp-8	Daudi
	相對於 Dara 的信號比（倍數）	
Dara	1.00	1.00
hu9E	2.00	2.30
hu11E	1.83	2.00
hu160E	1.87	1.80

- **【0208】** 實驗結果顯示本公開中的人源化抗體對 Molp-8、Daudi 細胞的體外 ADCP 報告系統測試效果均明顯優於對照抗體 Dara。

測試例 7. BIAcore 檢測 CD38 抗體親和力實驗

【0209】 用 Biacore 儀器測試本公開嵌合抗體（ch-009、-011、-160 參見實施例 3 的製備方法）、人源化抗體及 Dara 對人 CD38-ECD-His 抗原的親和力。

【0210】 按照人 Fc 捕獲試劑盒（CAT#BR-1008-39，GE）說明書中該的方法，將人 Fc 捕獲分子共價偶聯於 CM5 生物傳感芯片（CAT#BR-1005-30，GE）上，從而親和捕獲待測抗體。然後於芯片表面流經人 CD38-ECD-His 抗原，利用 Biacore 儀器實時檢測反應信號，從而獲得結合和解離曲線，藉由擬合得到親和力數值。在實驗中每個循環解離完成後，用人 Fc 捕獲試劑盒（GE）裡配置的再生溶液將生物芯片洗淨再生，結果見表 17 和表 18。

表 17. 抗 CD38 抗體與人 CD38 親和力的 BIAcore 檢測結果

抗體	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
ch-009	2.04E+06	4.77E-04	2.34E-10
h009-07	2.11E+06	2.10E-03	9.95E-10
h009-08	1.89E+06	2.23E-03	1.18E-09
h009-09	2.29E+06	4.89E-03	2.14E-09
h009-10	2.04E+06	4.33E-03	2.12E-09
h009-11	2.33E+06	1.21E-02	5.17E-09
h009-12	2.24E+06	9.17E-04	4.09E-10
h009-13	2.28E+06	1.06E-03	4.65E-10
h009-14	2.27E+06	1.85E-03	8.15E-10
h009-15	2.28E+06	1.70E-03	7.45E-10
ch-011	7.46E+06	1.48E-03	1.99E-10
h011-01	6.68E+06	2.08E-03	3.11E-10
h011-02	6.59E+06	1.95E-03	2.97E-10
h011-03	6.97E+06	2.13E-03	3.06E-10
h011-04	6.76E+06	2.02E-03	2.99E-10
h011-05	6.89E+06	2.13E-03	3.09E-10

h011-06	6.71E+06	2.01E-03	3.00E-10
ch-160	2.74E+06	1.70E-04	6.20E-11
h160-01	1.99E+06	1.36E-04	6.87E-11
h160-02	1.93E+06	1.63E-04	8.46E-11
h160-03	2.40E+06	1.87E-04	7.79E-11
h160-04	2.12E+06	1.84E-04	8.67E-11
h160-05	2.05E+06	1.41E-04	6.91E-11
h160-06	2.09E+06	1.64E-04	7.82E-11
h160-07	2.43E+06	1.82E-04	7.48E-11
h160-08	2.29E+06	1.79E-04	7.82E-11

【0211】 結果顯示，本公開所得的人源化抗體對人 CD38 均有很高的親和力。

表 18. 抗 CD38 抗體與人 CD38 親和力的 BIAcore 檢測結果

配體	分析物	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
Dara	人 CD38-His	6.45E+05	1.51E-03	2.35E-09
hu9E		1.05E+06	1.38E-03	1.31E-09
hu11E		2.07E+06	1.17E-03	5.68E-10
hu160E		1.96E+06	1.15E-04	5.85E-11

【0212】 結果顯示本公開所得的 hu9E、hu11E、hu160E 抗體對人 CD38 均有很高的親和力，其 KD 值小於對照抗體 Dara 的 KD 值，優於對照抗體。

體內活性生物學評價

測試例 8. CD38 抗體的體內藥物代謝動力學實驗

【0213】 SD 大鼠 18 隻，雄性，平均分成 6 組，動物由西普爾-必凱實驗動物有限公司提供；分別靜脈注射和皮下注射給藥，給藥劑量 3mg/kg，靜脈注射給藥組於給藥前及給藥後 5 min、8h、1 d、2 d、4 d、7 d、10d、14 d、21d、28 d 採集全血 0.2 ml，不加抗凝；取血後在 4℃ 放置 30min，1000g 離心 15 min；取上清（血清）置於 EP 管中，於-80℃ 保存；皮下注射給藥組於給藥前及給藥後 1h、8h、1 d、2 d、4 d、7d、10d、14 d、21、28 d 採集全血，分離血清置於 EP 管中，於-80℃ 保存。

【0214】 根據測試例 1 抗 CD38 抗體結合 CD38 蛋白的 ELISA 實驗中的方法作不同樣品的標準曲線，血清樣品 1：1000 代替抗 CD38 抗體加入反應體系後根據 OD450 換算不同時間點抗 CD38 抗體於血清中的濃度，所得數據由 Phoenix WinNonlin 軟體分析計算藥物代謝動力學相關參數。hu9E、hu11E 和 hu160E 抗體的體內藥物代謝動力學結果分別如表 19 所示。

表 19. 抗體大鼠藥物代謝動力學評價表

	hu9E		hu11E		hu160E	
劑量	IV 3mg/kg	SC 3mg/kg	IV 3mg/kg	SC 3mg/kg	IV 3mg/kg	SC 3mg/kg
生物利用度	-	81.4%	-	113.8%	-	113.9%
T1/2（天）	11.4	11.1	13.3	12.1	13.6	10.9

備註：表中 T1/2 表示半衰期，IV 表示靜脈注射，SC 表示皮下注射。

【0215】 在大鼠中測定了 hu9E、hu11E 和 hu160E 3mpk 劑量下靜脈注射和皮下注射的 PK（pharmacokinetics，藥物代謝動力學），結果顯示三者均具有良好的大鼠體內 PK 表現：皮下注射均具有較高的生物利用度，靜脈注射平均 T1/2 分別為 11.4 天、13.3 天和 13.6 天；皮下注射平均 T1/2 分別為 11.1 天、12.1 天和 10.9 天，提示大鼠體內抗體穩定性良好，具有開發皮下製劑的可能性。

測試例 9. CD38 抗體小鼠腫瘤體內藥效實驗

【0216】 Balb/c 裸鼠，SPF，14-16g，雌性，購自上海斯萊克實驗動物有限責任公司。Balb/c 裸鼠於實驗室環境適應性飼養 6d（天），在右肋部皮下接種 AMO-1 細胞（南京科佰，CBP60242， $5\times10^6+50\%$ matrigel 基質膠/隻，Matrigel 基底膜基質膠，BD 公司，貨號#356237），9 天後分組，8 隻/組，平均瘤體積約 $197.21\pm9.25\text{mm}^3$ （d0），共 7 組，分別為：

空白對照 IgG（3mg/kg）（C25-hIgG1（WT），實驗室製備）組、
Dara（1mg/kg）組、

Dara (3mg/kg) 組、
 hu11E (1mg/kg) 組、
 hu11E (3mg/kg) 組、
 hu160E (1mg/kg) 組、
 hu160E (3mg/kg) 組；

腹腔注射，一週二次，連續給藥 3 週。每週測量 2 次瘤體積和體重，記錄數據。給藥全部結束觀察至要求的時間，處死小鼠，取瘤。

【0217】 使用 Excel 2003 統計軟體：平均值以 avg 計算；SD 值以 STDEV 計算；SEM 值以 STDEV/SQRT 計算；組間差異 P 值以 TTEST 計算。

腫瘤體積 (V) 計算公式為： $V = 1/2 \times L_{\text{長}} \times L_{\text{短}}^2$

相對體積 (RTV) = V_T / V_0

抑瘤率 (%) = $(C_{\text{RTV}} - T_{\text{RTV}}) / C_{\text{RTV}} (\%)$

其中 V_0 、 V_T 分別為實驗開始時及實驗結束時的腫瘤體積。 C_{RTV} 、 T_{RTV} 分別為實驗結束時的對照組及實驗組的相對腫瘤體積，結果如表 20 和第 2 圖所示。

表 20. 抗 CD38 抗體體內抑瘤結果

抗體	劑量	抑瘤率（%）
Dara	1mpk	56.83
	3mpk	87.44
hu11E	1mpk	93.14
	3mpk	99.52
hu160E	1mpk	70.02
	3mpk	89.89

備註：mpk 表示 mg/kg

【0218】 小鼠腫瘤體內藥效實驗結果顯示，本公開的人源化抗體 hu11E 和 hu160E 均能夠明顯的抑制腫瘤生長。相比空白對照 IgG(3mg/kg) 組，hu11E (1mg/kg) 組和 hu160E (1mg/kg) 組抑瘤率分別達 93.14%和 70.02%；hu11E(3mg/kg) 組和 hu160E(3mg/kg) 組抑瘤率分別達 99.52%和 89.89%。給藥過程中各組動物體重正常，提示本公開的抗體無明顯毒副作用。

【符號說明】

無。

【序列表】

- <110> 江蘇恆瑞醫藥股份有限公司
上海恆瑞醫藥有限公司
- <120> 抗CD38抗體、其抗原结合片段及醫藥用途
- <150> 201811060341.2
- <151> 2018-09-11
- <160> 57
- <170> SIPOSequenceListing 1.0
- <210> 1
- <211> 491
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- <220>
- <221> 肽
- <223> CD38胞外域與小鼠IgG2a-Fc融合蛋白：CD38-ECD-mFc

<400> 1

Val Pro Arg Trp Arg Gln Gln Trp Ser Gly Pro Gly Thr Thr Lys Arg

1 5 10 15

Phe Pro Glu Thr Val Leu Ala Arg Cys Val Lys Tyr Thr Glu Ile His

20 25 30

Pro Glu Met Arg His Val Asp Cys Gln Ser Val Trp Asp Ala Phe Lys

35 40 45

Gly Ala Phe Ile Ser Lys His Pro Cys Asn Ile Thr Glu Glu Asp Tyr

50 55 60

Gln Pro Leu Met Lys Leu Gly Thr Gln Thr Val Pro Cys Asn Lys Ile

65 70 75 80

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

355 360 365
Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys
370 375 380
Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu
385 390 395 400
Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe
405 410 415
Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu
420 425 430
Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr
435 440 445
Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg
450 455 460
Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His
465 470 475 480
Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
485 490

- <210> 2
- <211> 490
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)

- <220>
- <221> 肽
- <223> CD38胞外域與人IgG1Fc融合蛋白

<400> 2
Val Pro Arg Trp Arg Gln Gln Trp Ser Gly Pro Gly Thr Thr Lys Arg
1 5 10 15
Phe Pro Glu Thr Val Leu Ala Arg Cys Val Lys Tyr Thr Glu Ile His
20 25 30
Pro Glu Met Arg His Val Asp Cys Gln Ser Val Trp Asp Ala Phe Lys
35 40 45

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

： 325 330 335
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
340 345 350
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
355 360 365
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
370 375 380
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
385 390 395 400
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
405 410 415
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
420 425 430
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
435 440 445
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
450 455 460
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
465 470 475 480
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 3
<211> 118
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m009重鏈可變區序列

<400> 3
Glu Phe Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

<210> 4
<211> 107
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m009輕鏈可變區序列

<400> 4
Asp Phe Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Asp Ser Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Tyr Thr Asn
20 25 30
Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Thr

65 70 75 80
Glu Asp Ser Gly Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

- <210> 5
- <211> 120
- <212> PRT
- <213> 小鼠(Mus musculus)

- <220>
- <221> 域
- <223> m011重鏈可變區序列

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

- <210> 6

<211> 111
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m011輕鏈可變區序列

<400> 6
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn Val Asp Asn Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn
65 70 75 80
Pro Val Glu Thr Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95
Lys Asp Pro Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 7
<211> 120
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m160重鏈可變區序列

<400> 7
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ala Phe Ile Ser Thr Gly Ser Ser Asn Ile Tyr Tyr Val Asp Lys Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asn Tyr Val Ser Ser Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 111
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m160輕鏈可變區序列

<400> 8
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Val Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

<210> 9
<211> 5
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m009 HCDR1

<400> 9
Asp Tyr Asn Leu Asn
1 5

<210> 10
<211> 17
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m009 HCDR2

<400> 10
Val Ile Asn Pro Lys Tyr Asp Ala Ile Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15
Asp

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m009 HCDR3

<400> 11
Glu Gly Trp Gly Lys Ala Leu Asp Tyr
1 5

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m009 LCDR1

<400> 12
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Tyr Thr Asn Leu His
1 5 10

<210> 13
<211> 7
<212> PRT

<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>

<221> 域

<223> m009 LCDR2

<400> 13

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser
1 5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>

<221> 域

<223> m009 LCDR3

<400> 14

Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 15

<211> 5

<212> PRT

<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>

<221> 域

<223> m011 HCDR1

<400> 15
Asp Tyr Gly Met His
1 5

<210> 16
<211> 17
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m011 HCDR2

<400> 16
Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 17
<211> 11
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m011 HCDR3

<400> 17
Asn Tyr Val Ser Ser Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 18

<211> 15
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m011 LCDR1

<400> 18
Arg Ala Ser Glu Asn Val Asp Asn Tyr Gly Ile Ser Phe Met His
1 5 10 15

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m011 LCDR2

<400> 19
Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m011 LCDR3

<400> 20
Gln Gln Ser Asn Lys Asp Pro Leu Thr
1 5

<210> 21
<211> 17
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m160 HCDR2

<400> 21
Phe Ile Ser Thr Gly Ser Ser Asn Ile Tyr Tyr Val Asp Lys Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 22
<211> 15
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m160 LCDR1

<400> 22
Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Ile Ser Phe Met His
1 5 10 15

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 域
<223> m160 LCDR3

<400> 23
Gln Gln Thr Asn Lys Asp Pro Leu Thr
1 5

<210> 24
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h009 VH1

<400> 24
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Asn Leu Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Asp Ala Ile Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

17

$\langle 220 \rangle$
 $\langle 221 \rangle$ 域
 $\langle 223 \rangle$ h009 VL1

<210> 26

<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h009 VH2

<400> 26
Glu Phe Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Asn Leu Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Asp Ala Ile Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Gly Trp Gly Lys Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 27
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h009 VH3

<400> 27
Glu Phe Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Asn Leu Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Asp Ala Ile Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Ala Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Gly Trp Gly Lys Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 28
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h009 VH4

<400> 28
Glu Phe Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

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

<210> 29
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h009 VH5

<400> 29
Glu Phe Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Asn Leu Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Asp Ala Ile Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Gln Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Glu Gly Trp Gly Lys Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 30
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h009 VL2

<400> 30
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 Ile Tyr Thr Asn
20 25 30
Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser 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 Asn Ser Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 31
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 域

<223> h009 VL3

<400> 31

Glu Phe 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 Ile Tyr Thr Asn
20 25 30
Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser 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 Phe Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 32

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 域

<223> h011 VH1

<400> 32

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

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

<210> 33
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h011 VL1

<400> 33
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Asn Val Asp Asn Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

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

<210>	34
<211>	120
<212>	PRT
<213>	人工序列(Artificial Sequence)

$\langle 220 \rangle$
 $\langle 221 \rangle$ 域
 $\langle 223 \rangle$ h011 VH2

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

<210> 35
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h011 VL2

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

<210> 36
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h011VL3

<400> 36
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Asn Val Asp Asn Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Asp
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95
Lys Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 37
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h160 VH1

<400> 37
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Phe Ile Ser Thr Gly Ser Ser Asn Ile Tyr Tyr Val Asp Lys Val

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

<210> 38
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h160 VL1

<400> 38
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn
85 90 95
Lys Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 39
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h160 VH2

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

<210> 40
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 域
<223> h160 VL2

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

<210> 41
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h160 VL3

<400> 41
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

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

<210> 42
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> h160 VL4

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

31

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

- <210> 44
- <211> 330
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)

- <220>
- <221> 域
- <223> IgG1-E333A重鏈恆定區

<400> 44
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

			20						25						30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser		
			35						40						45		
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser		
			50						55						60		
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr		
65						70						75			80		
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys		
			85						90						95		
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys		
			100						105						110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro		
			115						120						125		
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys		
130						135						140					
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp		
145						150						155			160		
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu		
			165						170						175		
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu		
			180						185						190		
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn		
195						200						205					
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Ala	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly		
210						215						220					
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu		
225						230						235			240		
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr		
			245						250						255		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn		
260						265						270					
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe		
275						280						285					
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn		
290						295						300					

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 45
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 域
<223> kappa輕鏈恆定區

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

<210> 46
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> h009-07抗體重鏈

<400> 46
Glu Phe Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Asn Leu Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Asp Ala Ile Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Gly Trp Gly Lys Ala Leu 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
145 150 155 160
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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

- <210> 47
- <211> 214
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 鏈
<223> h009-07/hu9E抗體輕鏈

<400> 47
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 Ile Tyr Thr Asn
20 25 30
Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser 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 Asn Ser Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 48

<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> hu9E抗體重鏈

<400> 48
Glu Phe Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Asn Leu Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Lys Tyr Asp Ala Ile Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Gly Trp Gly Lys Ala Leu 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
145 150 155 160
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	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	
210					215					220						
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	
225					230					235					240	
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	
245					250					255						
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	
260					265					270						
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	
275					280					285						
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	
290					295					300						
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
305					310					315					320	
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Ala	Lys	Thr	
325					330					335						
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	
340					345					350						
Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	
355					360					365						
Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	
370					375					380						
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	
385					390					395					400	
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	
405					410					415						
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	
420					425					430						
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	
435					440					445						

<210> 49
<211> 450
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 鏈

<223> h011-01抗體重鏈

<400> 49

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

	210		215		220														
-	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly			
-	225					230				235						240			
	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile			
				245					250						255				
	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu			
				260					265						270				
	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His			
		275						280				285							
	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg			
	290					295					300								
	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys			
	305				310					315					320				
	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu			
				325					330					335					
	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr			
			340					345						350					
	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu			
		355					360					365							
	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp			
	370				375					380									
	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val			
	385				390					395					400				
	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp			
				405					410					415					
	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His			
			420				425					430							
	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro			
		435					440					445							
	Gly	Lys																	
	450																		

<210> 50
<211> 218
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> 鏈

<223> h011-01/hu11E抗體輕鏈

<400> 50

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

210215

<210> 51<211> 450<212> PRT<213> 人工序列(Artificial Sequence)<220><221> 鏈<223> hu11E抗體重鏈<400> 51Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly15Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr202530Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val354045Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val505560Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr65707580Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys859095Ala Arg Asn Tyr Val Ser Ser Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln100105110Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val115120125Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala130135140Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser145150155160Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val165170175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Ala
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys

450

<210> 52
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> h160-01抗體重鏈

<400> 52
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Phe Ile Ser Thr Gly Ser Ser Asn Ile Tyr Tyr Val Asp Lys Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asn Tyr Val Ser Ser Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys

450

<210> 53
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> h160-01/hu160E抗體輕鏈

<400> 53
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn
85 90 95
Lys Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 54
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> hu160E抗體重鏈

<400> 54
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Phe Ile Ser Thr Gly Ser Ser Asn Ile Tyr Tyr Val Asp Lys Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asn Tyr Val Ser Ser Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130					135					140						
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	
145					150					155					160	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	
165					170					175						
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	
180					185					190						
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	
195					200					205						
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	
210					215					220						
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	
225					230					235					240	
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	
245					250					255						
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	
260					265					270						
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	
275					280					285						
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	
290					295					300						
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	
305					310					315					320	
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Ala	
325					330					335						
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	
340					345					350						
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	
355					360					365						
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	
370					375					380						
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	
385					390					395					400	
Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	
405					410					415						

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 55
<211> 452
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> Dara的重鏈序列

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

	130		135		140														
	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr			
145						150					155					160			
	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro			
				165						170					175				
	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr			
				180						185				190					
	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn			
		195						200					205						
	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser			
	210						215					220							
	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu			
225						230					235				240				
	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu			
				245						250				255					
	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser			
			260						265				270						
	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu			
		275						280				285							
	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr			
	290						295					300							
	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn			
305						310					315				320				
	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro			
				325						330				335					
	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln			
			340						345				350						
	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val			
		355						360				365							
	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val			
	370						375				380								
	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro			
385					390					395					400				
	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr			
				405						410				415					

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro Gly Lys
450

<210> 56
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> Dara的輕鏈序列

<400> 56
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 Arg Ser Asn Trp Pro Pro
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

<210> 57
<211> 264
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 肽
<223> 帶His標籤的CD38胞外域融合蛋白：CD38-ECD-His

<400> 57
Val Pro Arg Trp Arg Gln Gln Trp Ser Gly Pro Gly Thr Thr Lys Arg
1 5 10 15
Phe Pro Glu Thr Val Leu Ala Arg Cys Val Lys Tyr Thr Glu Ile His
20 25 30
Pro Glu Met Arg His Val Asp Cys Gln Ser Val Trp Asp Ala Phe Lys
35 40 45
Gly Ala Phe Ile Ser Lys His Pro Cys Asn Ile Thr Glu Glu Asp Tyr
50 55 60
Gln Pro Leu Met Lys Leu Gly Thr Gln Thr Val Pro Cys Asn Lys Ile
65 70 75 80
Leu Leu Trp Ser Arg Ile Lys Asp Leu Ala His Gln Phe Thr Gln Val
85 90 95
Gln Arg Asp Met Phe Thr Leu Glu Asp Thr Leu Leu Gly Tyr Leu Ala

				100					105					110			
Asp	Asp	Leu	Thr	Trp	Cys	Gly	Glu	Phe	Asn	Thr	Ser	Lys	Ile	Asn	Tyr		
		115					120					125					
Gln	Ser	Cys	Pro	Asp	Trp	Arg	Lys	Asp	Cys	Ser	Asn	Asn	Pro	Val	Ser		
		130				135					140						
Val	Phe	Trp	Lys	Thr	Val	Ser	Arg	Arg	Phe	Ala	Glu	Ala	Ala	Cys	Asp		
145					150				155						160		
Val	Val	His	Val	Met	Leu	Asn	Gly	Ser	Arg	Ser	Lys	Ile	Phe	Asp	Lys		
				165				170						175			
Asn	Ser	Thr	Phe	Gly	Ser	Val	Glu	Val	His	Asn	Leu	Gln	Pro	Glu	Lys		
			180					185					190				
Val	Gln	Thr	Leu	Glu	Ala	Trp	Val	Ile	His	Gly	Gly	Arg	Glu	Asp	Ser		
		195				200						205					
Arg	Asp	Leu	Cys	Gln	Asp	Pro	Thr	Ile	Lys	Glu	Leu	Glu	Ser	Ile	Ile		
		210				215						220					
Ser	Lys	Arg	Asn	Ile	Gln	Phe	Ser	Cys	Lys	Asn	Ile	Tyr	Arg	Pro	Asp		
225				230				235						240			
Lys	Phe	Leu	Gln	Cys	Val	Lys	Asn	Pro	Glu	Asp	Ser	Ser	Cys	Thr	Ser		
			245					250					255				
Glu	Ile	His	His	His	His	His	His										
			260														

【發明申請專利範圍】

- 【第1項】 一種抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，該抗 CD38 抗體或抗原結合片段與人 CD38 特異性結合，該抗體或其抗原結合片段包含：

(i) 重鏈 HCDR1，該 HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：9 所示或與 SEQ ID NO：9 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

重鏈 HCDR2，該 HCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：10 所示或與 SEQ ID NO：10 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

重鏈 HCDR3，該 HCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：11 所示或與 SEQ ID NO：11 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

輕鏈 LCDR1，該 LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：12 所示或與 SEQ ID NO：12 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

輕鏈 LCDR2，該 LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：13 所示或與 SEQ ID NO：13 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，和

輕鏈 LCDR3，該 LCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：14 所示或與 SEQ ID NO：14 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異；或者

(ii) 重鏈 HCDR1，該 HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：15 所示或與 SEQ ID NO：15 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

重鏈 HCDR2，該 HCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：16 所示或與 SEQ ID NO：16 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

重鏈 HCDR3，該 HCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：17 所示或與 SEQ ID NO：17 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

輕鏈 LCDR1，該 LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：18 所示或與 SEQ ID NO：18 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

輕鏈 LCDR2，該 LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：19 所示或與 SEQ ID NO：19 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，和

輕鏈 LCDR3，該 LCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：20 所示或與 SEQ ID NO：20 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異；或者

(iii) 重鏈 HCDR1，該 HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：15 所示或與 SEQ ID NO：15 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

重鏈 HCDR2，該 HCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：21 所示或與 SEQ ID NO：21 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

重鏈 HCDR3，該 HCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：17 所示或與 SEQ ID NO：17 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

輕鏈 LCDR1，該 LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：22 所示或與 SEQ ID NO：22 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，

輕鏈 LCDR2，該 LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：19 所示或與 SEQ ID NO：19 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，和

輕鏈 LCDR3，該 LCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：23 所示或與 SEQ ID NO：23 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異。

【第2項】如申請專利範圍第 1 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該抗體為鼠源抗體、嵌合抗體或人源化抗體。

【第3項】如申請專利範圍第 2 所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該鼠源抗體或嵌合抗體包含重鏈可變區和輕鏈可變區，其中：

(a) 該重鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO：3 所示或與 SEQ ID NO：3 具有至少 95% 序列同一性，且該輕鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO：4 所示或與 SEQ ID NO：4 具有至少 95% 序列同一性；

(b) 該重鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO：5 所示或與 SEQ ID NO：5 具有至少 95% 序列同一性，且該輕鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO：6 所示或與 SEQ ID NO：6 具有至少 95% 序列同一性；或

(c) 該重鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO：7 所示或與 SEQ ID NO：7 具有至少 95% 序列同一性，且該輕鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO：8 所示或與 SEQ ID NO：8 具有至少 95% 序列同一性。

【第4項】 如申請專利範圍第 2 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該抗體為人源化抗體，該人源化抗體包含來源於人抗體的框架區或框架區變體，該框架區變體在人抗體的輕鏈框架區和/或重鏈框架區上分別具有至多 10 個胺基酸的回復突變。

【第5項】 如申請專利範圍第 4 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，

該人源化抗體包含選自以下 (d) 至 (f) 中的任一項：

(d) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含：重鏈 HCDR1、HCDR2、HCDR3 以及重鏈框架區，其中，該 HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：9 所示或與 SEQ ID NO：9 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該 HCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：10 所示或與 SEQ ID NO：10 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該 HCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：11 所示或與 SEQ ID NO：11 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該重鏈框架區包含選自以下一個或更多個回復突變：2F、38K、44S、48I、67A、66K、69L、71V 和 73Q；和/或

輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：輕鏈 LCDR1、LCDR2、LCDR3 以及輕鏈框架區，其中，該 LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：12 所示或與 SEQ ID NO：12 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該 LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：13 所示或與 SEQ ID NO：13 具有 3、2 或 1 個胺基酸

差異，該 LCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：14 所示或與 SEQ ID NO：14 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該輕鏈框架區包含選自以下一個或更多個回復突變：2F、43S、49K 和 87F；

(e)重鏈可變區，該重鏈可變區包含：重鏈 HCDR1、HCDR2、HCDR3 以及重鏈框架區，其中，該 HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：15 所示或與 SEQ ID NO：15 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該 HCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：16 所示或與 SEQ ID NO：16 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該 HCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：17 所示或與 SEQ ID NO：17 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該重鏈框架區包含選自以下一個或更多個回復突變：79F、82A T、91S 和 76S；和/或；

輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：輕鏈 LCDR1、LCDR2、LCDR3 以及輕鏈框架區，其中，該 LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：18 所示或與 SEQ ID NO：18 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該 LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：19 所示或與 SEQ ID NO：19 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該 LCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：20 或與 SEQ ID NO：20 序列具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該輕鏈框架區包含選自以下一個或更多個回復突變：58I、68R 和 85T；和

(f)重鏈可變區，該重鏈可變區包含：重鏈 HCDR1、HCDR2、HCDR3 以及重鏈框架區，其中，該 HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：15 所示或與 SEQ ID NO：15 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該 HCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：21 所示或與 SEQ ID NO：21 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該 HCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：17 所示或與 SEQ ID NO：17 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該重鏈框架區包含選自以下一個或更多個回復突變：48I、77T 和 82A T；和/或

輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含：輕鏈 LCDR1、LCDR2、LCDR3 以及輕鏈框架區，其中，該 LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：22 所示或與 SEQ ID NO：22 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該 LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：19 所示或與 SEQ ID NO：19 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該 LCDR3 的胺基酸序列如 SEQ ID NO：23 所示或與 SEQ ID NO：23 具有 3、2 或 1 個胺基酸差異，該輕鏈框架區包含選自以下一個或更多個回復突變：4L、9A、22S、58I、60A 和 68R；

其中，該回復突變的位點根據 Kabat 編號規則編號。

【第6項】如申請專利範圍第 4 或 5 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該人源化抗體包含：序列如 SEQ ID NO：24、32 或 37 所示的重鏈可變區或其變體，該變體在序列如 SEQ ID NO：24、32 或 37 所示的重鏈可變區中的框架區上具有 1-10 個胺基酸突變。

【第7項】如申請專利範圍第 6 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該變體選自以下（g）至（i）中的任一項：

（g）在序列如 SEQ ID NO：24 所示的重鏈可變區中的框架區上具有選自以下一個或更多個回復突變：2F、38K、44S、48I、67A、66K、69L、71V 和 73Q；

（h）在序列如 SEQ ID NO：32 所示的重鏈可變區中的框架區上具有選自以下一個或更多個回復突變：79F 和 91S；和

（i）在序列如 SEQ ID NO：37 所示的重鏈可變區中的框架區上具有 48I 回復突變。

【第8項】如申請專利範圍第 7 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該人源化抗體包含：

序列如 SEQ ID NO：26、27、28、29、34 或 39 所示的重鏈可變區、
或

序列與 SEQ ID NO：26、27、28、29、34 或 39 具有至少 95% 序列同一性的重鏈可變區。

【第9項】 如申請專利範圍第 4 或 5 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該人源化抗體包含序列如 SEQ ID NO：25、33 或 38 所示的輕鏈可變區或其變體，該變體在序列如 SEQ ID NO：25、33 或 38 所示的輕鏈可變區中的框架區上具有 1-10 個胺基酸突變。

【第10項】 如申請專利範圍第 9 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該變體選自以下 (j) 至 (l) 任一項：

(j) 在序列如 SEQ ID NO：25 所示的輕鏈可變區中的框架區上具有選自以下一個或更多個回復突變：2F、43S、49K 和 87F；

(k) 在序列如 SEQ ID NO：33 所示的輕鏈可變區中的框架區上具有選自以下一個或更多個回復突變：58I、68R 和 85T；

(l) 在序列如 SEQ ID NO：38 所示的輕鏈可變區中的框架區上具有選自以下一個或更多個回復突變：4L、9A、22S、58I、60A 和 68R。

【第11項】 如申請專利範圍第 10 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該人源化抗體包含：

序列如 SEQ ID NO：30、31、35、36、40、41 或 42 所示的輕鏈可變區、或

序列與 SEQ ID NO：30、31、35、36、40、41 或 42 具有至少 95% 序列同一性的輕鏈可變區。

【第12項】 如申請專利範圍第 1 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其包含：

(m) 序列如 SEQ ID NO : 24、26、27、28 或 29 所示的重鏈可變區，
和

序列如 SEQ ID NO : 25、30 或 31 所示的輕鏈可變區；

(n) 序列如 SEQ ID NO : 32 或 34 所示的重鏈可變區，和序列如 SEQ ID NO : 33、35 或 36 所示的輕鏈可變區；或

(o) 序列如 SEQ ID NO : 37 或 39 所示的重鏈可變區，和序列如 SEQ ID NO : 38、40、41 或 42 所示的輕鏈可變區。

【第13項】 如申請專利範圍第 12 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該人源化抗體包含：

(p) 序列如 SEQ ID NO : 26 所示的重鏈可變區和序列如 SEQ ID NO : 30 所示的輕鏈可變區；或

(q) 序列如 SEQ ID NO : 32 所示的重鏈可變區和序列如 SEQ ID NO : 33 所示的輕鏈可變區；或

(r) 序列如 SEQ ID NO : 37 所示的重鏈可變區和序列如 SEQ ID NO : 38 所示的輕鏈可變區。

【第14項】 如申請專利範圍第 1 至 13 項中任一項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該抗體包含恆定區。

【第15項】 如申請專利範圍第 14 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該抗體為嵌合抗體或人源化抗體，其重鏈恆定區來源於人抗體 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4，或 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的常規變體，輕鏈恆定區來源於人抗體 κ 、 λ 鏈，或 κ 、 λ 鏈的常規變體。

【第16項】 如申請專利範圍第 15 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該重鏈恆定區的胺基酸序列如 SEQ ID NO : 43 或 44 所示或與 SEQ ID NO : 43 或 44 具有至少 95% 序列同一性。

【第17項】 如申請專利範圍第 15 或第 16 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該輕鏈恆定區的胺基酸序列如 SEQ ID NO：45 所示或與 SEQ ID NO：45 具有至少 95% 序列同一性。

【第18項】 如申請專利範圍第 14 至 17 項中任一項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其包含：

胺基酸序列如 SEQ ID NO：46、48、49、51、52 或 54 所示或與 SEQ ID NO：46、48、49、51、52 或 54 具有至少 85% 序列同一性的重鏈；和/或

胺基酸序列如 SEQ ID NO：47、50 或 53 所示或與 SEQ ID NO：47、50 或 53 具有至少 85% 序列同一性的輕鏈。

【第19項】 如申請專利範圍第 18 項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，其中，該抗體包含：

序列如 SEQ ID NO：46 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO：47 所示的輕鏈；

序列如 SEQ ID NO：48 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO：47 所示的輕鏈；

序列如 SEQ ID NO：49 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO：50 所示的輕鏈；

序列如 SEQ ID NO：51 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO：50 所示的輕鏈；

序列如 SEQ ID NO：52 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO：53 所示的輕鏈；或

序列如 SEQ ID NO：54 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO：53 所示的輕鏈。

【第20項】一種分離的單株抗體或其抗原結合片段，其與申請專利範圍第 1 至 19 項中任一項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段競爭性結合人 CD38。

【第21項】一種醫藥組成物，其含有：

治療有效量的申請專利範圍第 1 至 20 項中任一項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，以及

一種或多種藥學上可接受的載體、稀釋劑、緩衝劑或賦形劑。

【第22項】一種分離的核酸分子，其編碼申請專利範圍第 1 至 20 項中任一項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段。

【第23項】一種載體，其包含申請專利範圍第 22 項所述的核酸分子。

【第24項】一種宿主細胞，其包含申請專利範圍第 23 項所述的載體。

【第25項】如申請專利範圍第 24 項所述的宿主細胞，其中，該宿主細胞選自原核細胞和真核細胞。

【第26項】如申請專利範圍第 25 項所述的宿主細胞，其中，該宿主細胞為真核細胞。

【第27項】如申請專利範圍第 26 項所述的宿主細胞，其中，該宿主細胞為哺乳動物細胞。

【第28項】一種製備申請專利範圍第 1 至 20 項中任一項所述抗 CD38 抗體或其抗原結合片段的方法，該方法包括步驟：

培養申請專利範圍第 24 至 27 項中任一項所述的宿主細胞，

回收該抗 CD38 抗體或其抗原結合片段；

視需要地，對所述抗 CD38 抗體或其抗原結合片段進行純化。

【第29項】一種用於檢測或測定人 CD38 的方法，該方法包括：

使申請專利範圍第 1 至 20 項中任一項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段接觸待測樣本；

確定該待測樣本中人 CD38 的存在或水平。

【第30項】 一種用於檢測或測定人 CD38 的試劑，該試劑包含：

申請專利範圍第 1 至 20 項中任一項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段；或

申請專利範圍第 21 項所述的醫藥組成物。

【第31項】 一種選自以下 (m) 至 (o) 任一項的物質在製備治療或預防疾病或病症的藥物中的用途：

(m) 申請專利範圍第 1 至 20 項中任一項所述的抗 CD38 抗體或其抗原結合片段，

(n) 申請專利範圍第 21 項所述的醫藥組成物，和

(o) 申請專利範圍第 22 項所述的核酸分子；

該疾病或病症為腫瘤或免疫性疾病。

【第32項】 如申請專利範圍第 31 項所述的用途，其中，該疾病或病症為 CD38 陽性疾病或病症。

【第33項】 如申請專利範圍第 31 或 32 項所述的用途，其中，

該免疫性疾病選自：類風濕性關節炎、牛皮癬、僵直性脊椎管柱炎、關節銀屑病、皮炎、系統性硬皮病及硬化症、炎症性腸病、克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎、呼吸窘迫綜合症、腦膜炎、腦炎、胃炎、葡萄膜炎、腎小球腎炎、濕疹、哮喘、動脈硬化、白細胞粘附缺陷病、雷諾氏(Raynaud)症候群、修格連氏(Sjogren)症候群、青少年糖尿病、萊特氏(Reiter)病、貝塞特氏(Behcet)病、免疫複合物性腎炎、IgA 腎病、IgM 多發性神經病、免疫介

導的血小板減少症狀、溶血性貧血、重症肌無力、狼瘡性腎炎、系統性紅斑狼瘡、風濕關節炎、異位性皮炎、天皰瘡、葛瑞夫氏(Graves)病、橋本氏甲狀腺炎、韋格納(Wegener)肉芽腫、歐文(Omenn)症候群、慢性腎功能衰竭、急性傳染性單核細胞增多症、多發性硬化症、HIV 和疱疹病毒相關的疾病、嚴重急性呼吸綜合症和脈絡視網膜炎、移植物對抗宿主疾病、以及病毒感染引起的免疫性疾病。

【第34項】 申請專利範圍第 33 項所述的用途，其中，

該免疫性疾病選自：類風濕性關節炎、系統性紅斑狼瘡、哮喘、炎症性腸病、多發性硬化症、克羅恩氏病、胃炎、橋本氏甲狀腺炎、強直性脊柱炎、移植物對抗宿主疾病、免疫介導的血小板減少症狀。

【第35項】 申請專利範圍第 34 項所述的用途，其中，

該免疫介導的血小板減少症狀是急性特發性血小板減少性紫癜或慢性特發性血小板減少性紫癜。

【第36項】 申請專利範圍第 34 項所述的用途，其中，

該免疫性疾病為類風濕性關節炎。

【第37項】 如申請專利範圍第 31 或 32 項所述的用途，其中，

該腫瘤選自：白血病、B 細胞淋巴瘤、T 細胞淋巴瘤、NK 細胞淋巴瘤、漿細胞惡性瘤和骨髓瘤。

【第38項】 如申請專利範圍第 37 項所述的用途，其中，

該 B 細胞淋巴瘤選自：成熟 B 細胞腫瘤、前體 B 細胞成淋巴細胞白血病/淋巴瘤、B 細胞非霍奇金淋巴瘤、B 細胞霍奇金淋巴瘤。

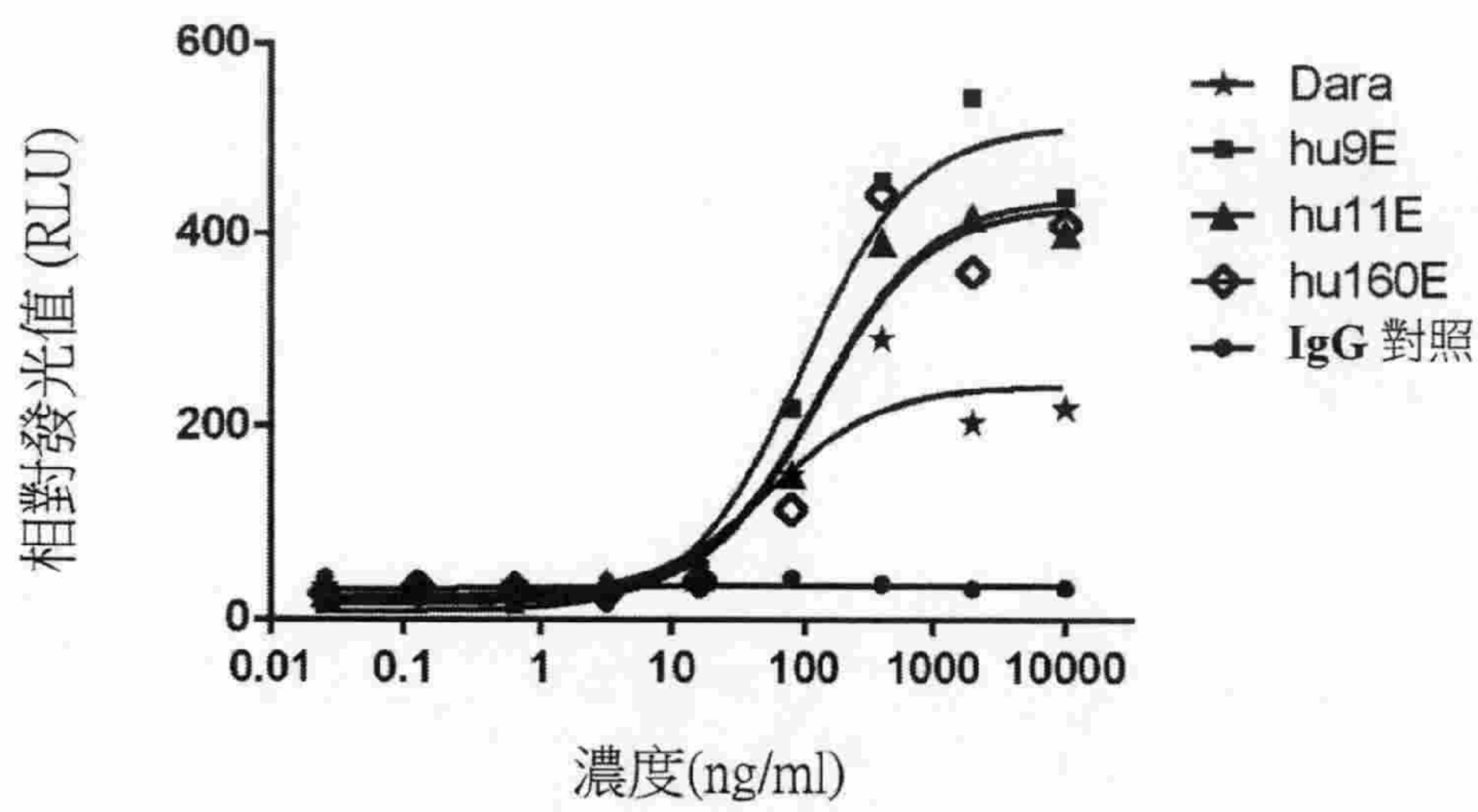
【第39項】 如申請專利範圍第 37 項所述的用途，其中，

該腫瘤選自：急性淋巴細胞白血病、急性成淋巴細胞白血病、急性早幼粒細胞白血病、慢性淋巴細胞白血病、急性或慢性骨髓型白血病、多發性骨髓瘤、前髓細胞腫瘤、輕鏈類澱粉變性、B 細胞慢性淋巴細胞性白血病、小淋巴細胞性白血病、B 細胞急性淋巴細胞性白血病、B 細胞前淋巴細胞白血病、淋巴漿細胞樣淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、皮膚濾泡中心淋巴瘤、邊緣區 B 細胞淋巴瘤、毛細胞白血病、彌漫性大 B 細胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、漿細胞瘤、漿細胞骨髓瘤、漿細胞白血病、移植後淋巴增生性疾病、華德斯特隆(Waldenstrom)巨球蛋白血症、漿細胞白血病和間變性大細胞淋巴瘤、多毛細胞淋巴瘤。

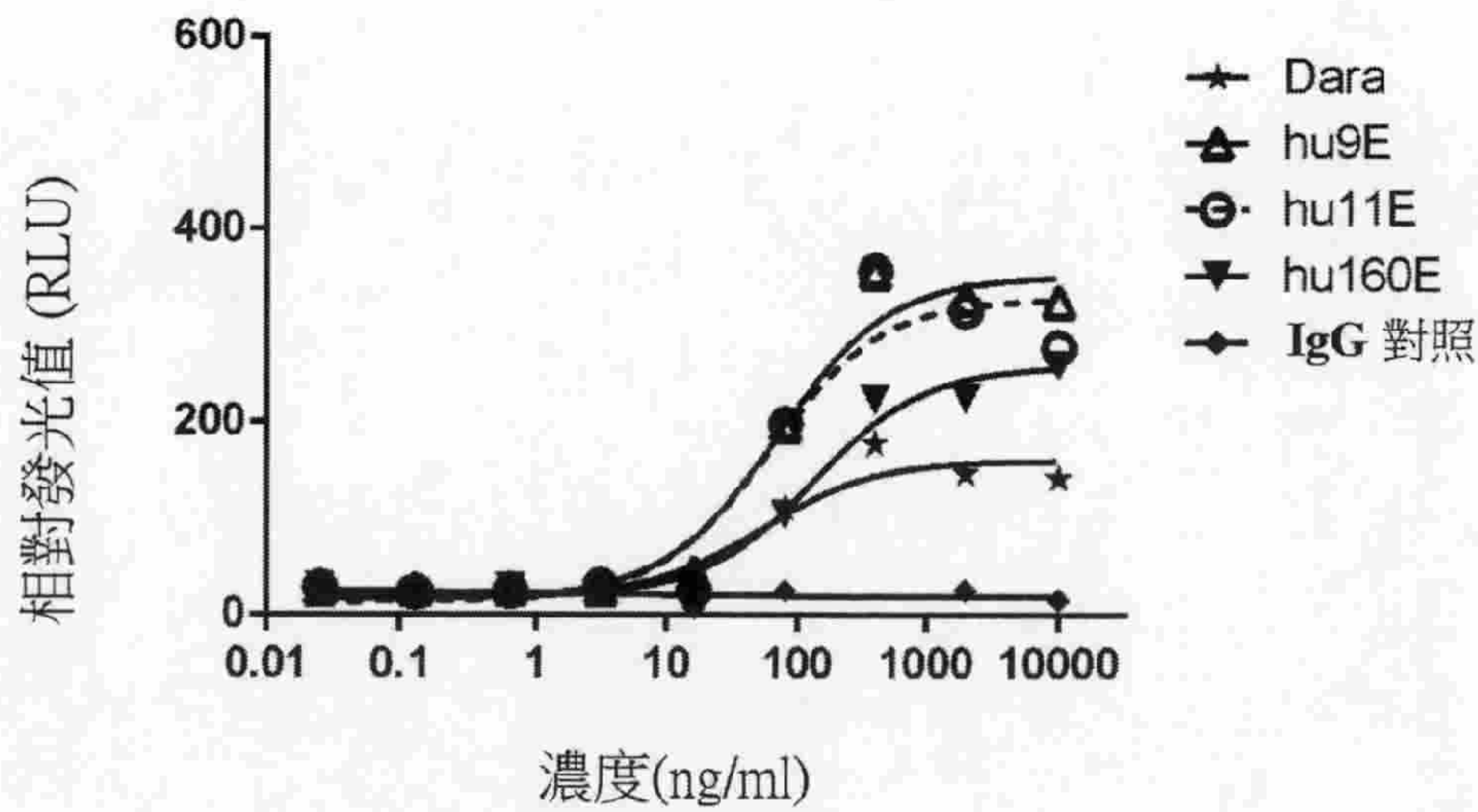
【第40項】 如申請專利範圍第 39 項所述的用途，其中，

該腫瘤是多發性骨髓瘤。

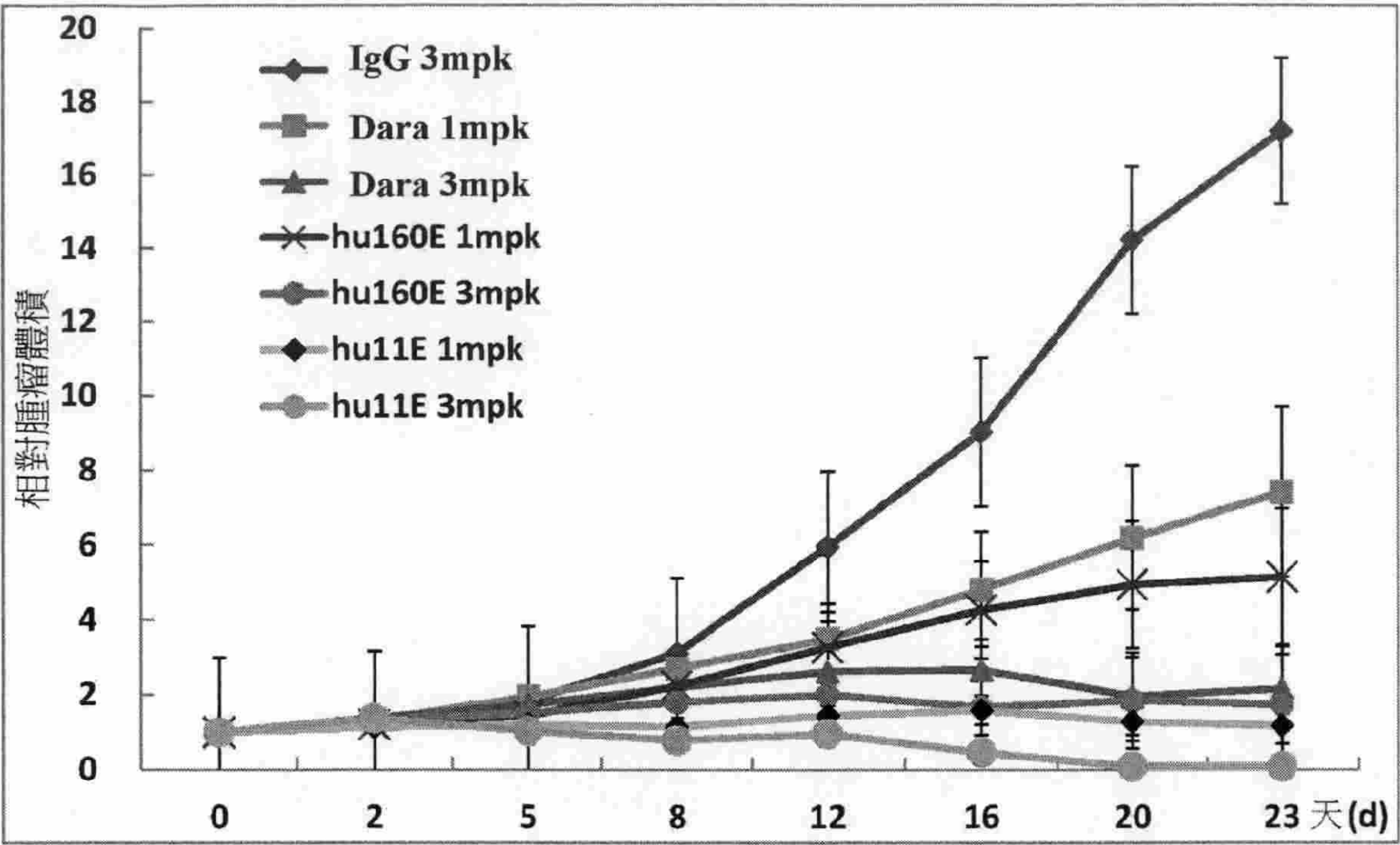
【發明圖式】



【第1A圖】



【第1B圖】



【第2圖】