



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103917560 B

(45)授权公告日 2017.05.24

(21)申请号 201280026571.1

(22)申请日 2012.03.28

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 103917560 A

(43)申请公布日 2014.07.09

(30)优先权数据

61/468,250 2011.03.28 US

61/540,272 2011.09.28 US

61/600,263 2012.02.17 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2013.11.27

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2012/055499 2012.03.28

(87)PCT国际申请的公布数据

W02012/130874 EN 2012.10.04

(73)专利权人 埃博灵克斯股份有限公司

地址 比利时根特-茨维纳德

(72)发明人 弗朗西斯·德康

达维德·安德列·巴蒂斯特·莫

桑-德塔耶

马腾·范罗伊 雷格留斯·勒尔

玛丽亚·冈萨雷斯帕胡埃洛

帕斯卡尔·热拉尔·梅谢尔

马蒂娜·斯密特

卡特林恩·斯托特勒斯

菲利普·范龙帕伊

彼得·万兰德舒特

(74)专利代理机构 中科专利商标代理有限责任

公司 11021

代理人 吴小明

(51)Int.Cl.

C07K 16/28(2006.01)

(56)对比文件

W0 2008048519 A2, 2008.04.24,

Balabanian K et al..The chemokine

SDF-1/CXCL12 binds to and signals through the orphan receptor RDC1 in T

lymphocytes.《Journal of Biological

Chemistry》.2005,第280卷(第42期),第35760-35766页.

审查员 王奇

权利要求书2页 说明书91页

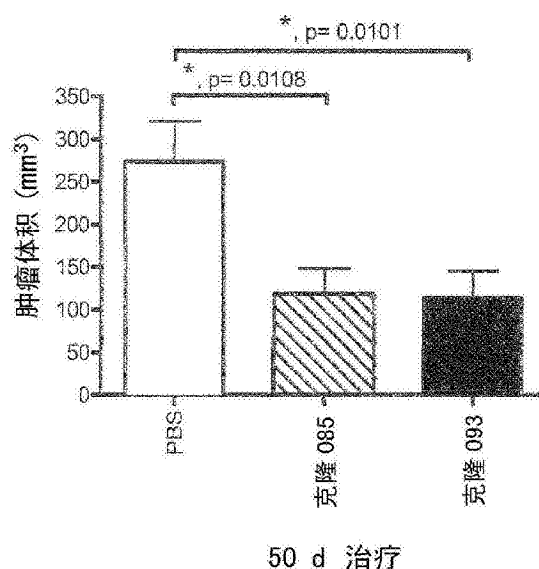
序列表21页 附图5页

(54)发明名称

双特异性抗-CXCR7免疫球蛋白单可变结构域

(57)摘要

本发明涉及:特定的多肽、编码这种多肽的核酸;制备这种多肽的方法;表达或能够表达这种多肽的宿主细胞;用于预防、治疗或诊断目的的包含这种多肽的组合物,特别是药物组合物。特别地,本发明提供了抑制CXCR7介导的肿瘤生长的免疫球蛋白单可变结构域。



1. 多肽,其由以下组成:

i) 至少两个选自以下的免疫球蛋白单可变结构域:

免疫球蛋白单可变结构域,其包含式(1)的氨基酸序列:

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区;并且

其中CDR1如SEQ ID NO:13所示,

并且其中CDR2如SEQ ID NO:23所示,

并且其中CDR3如SEQ ID NO:33所示;

免疫球蛋白单可变结构域,其包含式(1)的氨基酸序列:

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区;并且其中CDR1如SEQ ID NO:93所示,

并且其中CDR2如SEQ ID NO:95所示,

并且其中CDR3如SEQ ID NO:97所示;

免疫球蛋白单可变结构域,其包含式(1)的氨基酸序列:

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区;并且其中CDR1如SEQ ID NO:107所示,

并且其中CDR2如SEQ ID NO:115所示,

并且其中CDR3如SEQ ID NO:123所示;

免疫球蛋白单可变结构域,其包含式(1)的氨基酸序列:

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区;并且其中CDR1如SEQ ID NO:108所示,

并且其中CDR2如SEQ ID NO:116所示,

并且其中CDR3如SEQ ID NO:124所示;

免疫球蛋白单可变结构域,其包含式(1)的氨基酸序列:

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区;并且其中CDR1如SEQ ID NO:109所示,

并且其中CDR2如SEQ ID NO:117所示,

并且其中CDR3如SEQ ID NO:125所示;

免疫球蛋白单可变结构域,其包含式(1)的氨基酸序列:

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区;并且其中CDR1如SEQ ID NO:110所示,

并且其中CDR2如SEQ ID NO:118所示,

并且其中CDR3如SEQ ID NO:126所示;

ii) 至少一个结合人血清白蛋白的免疫球蛋白单可变结构域;以及任选地iii) 选自接

头SEQ ID NOs:49-58的接头。

2. 根据权利要求1的多肽,其包含氨基酸序列如SEQ ID NO:43、91、99、100、101或102所示的免疫球蛋白单可变结构域。

3. 根据权利要求1的多肽,其包含氨基酸序列如SEQ ID NO:2所示的ALB8并且任选地包含选自接头SEQ ID NOs:49-58的接头。

4. 根据权利要求1-3中任一项的多肽,其氨基酸序列如SEQ ID NO:133或134所示。

5. 核酸序列,其编码根据权利要求1-4中任一项的多肽。

6. 药物组合物,其包括根据权利要求1-4中任一项的多肽和任选地药学可接受的赋形剂。

7. 根据权利要求1-4中任一项的多肽,其用于治疗头颈癌,类风湿性关节炎和/或多发性硬化。

8. 生产根据权利要求1-4中任一项的多肽的方法,所述方法至少包括以下步骤:

a) 在适当的宿主细胞或宿主生物体中或在另一种适当的表达系统中,表达根据权利要求5的核酸序列;任选地接着:

b) 分离和/或纯化根据权利要求1-4中任一项的多肽。

双特异性抗-CXCR7免疫球蛋白单可变结构域

发明领域

[0001] 本发明涉及与CXCR7有关的生物材料和方法,包括多肽、编码这种多肽的核酸;制备这种多肽的方法;表达或能够表达这种多肽的宿主细胞;包含这种多肽的组合物,包括药物组合物,其例如用于预防、治疗或诊断目的。

[0002] 发明背景

[0003] 虽然现有技术中提出i) CXCR7的阻断配合CXCR4阻断的使用可用于治疗SDF-1依赖的肿瘤发展和转移(RB Maksym等,2009,The role of stromal-derived factor-1-CXCR7axis in development of cancer,European Journal of Pharmacology,625(1-3),第31-40页)以及ii)一些小分子抑制剂,例如CCX733或CCX266、siRNA和阻断抗体(克隆Mab 11G8,Mab 9C4参见例如US20070167443;克隆358426(R&D Systems);Mab 8F11(Biolegend)),可用于治疗性干扰CXCR4-介导的整联蛋白激活(TN Hartmann等,2008,A crosstalk between intracellular CXCR7and CXCR4involved in rapid CXCL12-triggered integrin activation but not in chemokine-triggered motility of human T lymphocytes and CD34+cells,Journal of Leukocyte Biology,84,第11301140页),由于CXCR7的作用机制是不清楚的,因此对CXCR7的生物学仍然知之甚少,因为i)它可能作为一种依赖于细胞类型的诱饵或信号传导受体-前述的RM Maksym等,并且因为ii)与CXCR7结合的I-TAC和SDF-1之间的相互作用是不清楚的。

[0004] 对选择性治疗有效的抗-CXCR7试剂的鉴别不仅仅因为对其生物学(例如以下的作用机制:例如相对于拮抗剂而言潜在的激动剂CCX733或CCX266,与CXCR4的相互作用,重要表位的识别,化合物CCX733或CCX266的交叉反应性和相关的毒性)所知甚少而具有挑战性,现有技术中还认为(参见例如Naunyn-Schmied Archives Pharmacology 379:385-388)抗-GPCR治疗剂如抗-CXCR7试剂的产生是困难的,因为i)癌细胞中活性CXCR7的天然构象尚不清楚,ii)预期CXCR7显示低的免疫原性(因为胞外表面暴露的并且另外非常保守的氨基酸残基的数量有限,例如小鼠-人的CXCR7是96%同源的)。

[0005] 而且,能选择性阻断CXCL11和CXCL12与CXCR7结合的化合物(CCX733,CCX754),其功能在同二聚体化方面与趋化因子配体一样,即它们使CXCR7的同二聚体化增加2.5-3.5倍,在10和100nM首次检测时即有显著的增加($P<0.05$)(KE Luker等,2009,Imaging chemokine receptor dimerization with firefly luciferase complementation,FASEB journal,23,第823-834页)。

[0006] 而且,CXCR7在肿瘤发展中具有潜在作用,因为其表达使细胞具有生长和存活优势。最近证明CXCR7促进乳腺和肺肿瘤的生长并增加肺转移(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 2007 104:15735-15740)。而且,在前列腺癌中CXCR7的表达与肿瘤的侵入性有关(J.Biol.Chem 2008 283:4283-4294)。在动物模型中施用CXCR7的小分子拮抗剂导致肿瘤生长的阻碍,证明CXCR7是开发新的癌症治疗剂的靶标(J.Exp.Med.2006 203:2201-2213)。

[0007] 头颈癌是世界上最普遍的肿瘤之一。尽管在头颈肿瘤的治疗上取得了进展,但是在过去几十年间患有这些癌症的患者的存活并没有显著提高,因为无法控制这种疾病的局

部和向远处扩散且对此所知甚少。头颈癌始终名列世界上六种最常诊断的癌症。单独的口腔和咽部的癌症每年在全世界有大约300,000个新病例以及快到200,000个死亡病例。超过90%的头颈癌是上呼吸消化道,包括口腔、咽部、喉部、和鼻窦的鳞状细胞癌。此外,上皮头颈肿瘤也可能出现在唾液腺和腮腺。尽管我们在头颈癌的认识和头颈癌的预防和治疗上取得了一些进展,但是在过去几十年间头颈癌患者的存活并没有显著提高。

[0008] 发明概述

[0009] W02006/116319和W02008/048519都指出针对G-蛋白偶联受体(GPCRs)的抗体的产生是众所周知地困难。实际上,常规抗-CXCR7抗体的产生仅在为数不多的个案中予以描述,例如在W02006/116319中描述了常规抗体11G8、6E10,在Zabel等中描述了常规抗体8F11(Zabel等,2009,Elucidation of CXCR7 mediated signalling events and inhibition of CXCR4 mediated tumor cell transendothelial migration by CXCR7 ligands.J Immunol.;183(5):3204-11)。但是,尽管有大量的研究,但是目前还不清楚这些或类似的抗体是否适合于医学应用。

[0010] Zheng等报道了肝细胞癌组织中CXCR7的表达增加。CXCR7表达的下调导致HCC异种移植模型中肿瘤生长的减少。但是,作者使用了SMC-7721细胞,其预先在体外用CXCR7 shRNA转染(Zheng等2010"Chemokine receptor CXCR7 regulates the invasion, angiogenesis and tumour growth of human hepatocellular carcinoma cells" J.Exp.Clin.Cancer Res.29:31)。

[0011] 已知小分子具有副作用和不良效果。小分子CCX771阻断CXCL12的结合(参考Carbajal等;2010"Migration of engrafted neural stem cells is mediated by CXCL12 signaling through CXCR4 in a viral model of multiple sclerosis Proc Natl Acad Sci USA.107:11068-11073),另一方面,它被描述为合成的CXCR7配体CCX771,其也有力地刺激针对CXCR7的 β -抑制蛋白2募集,比内源的趋化因子配体具有更高的效力和功效(Zabel等,2009"Elucidation of CXCR7-Mediated Signaling Events and Inhibition of CXCR4-Mediated Tumor Cell Transendothelial Migration by CXCR7 Ligands"J.Immun.183:0000-0000)。类似地,小化合物VUF11403(VU Amsterdam)在 β -抑制蛋白检测中表现为激动剂。

[0012] 目前在市场上或临床上没有抗-CXCR7药物。

[0013] 因此需要有效的抗-CXCR7试剂,其能够研究并建立该靶标的医疗潜力。进一步,需要在诊断、预防、和/或治疗上适合的抗-CXCR7试剂,例如本文所提供的那些。

[0014] CXCR7在许多肿瘤细胞上表达,但是在大多数健康细胞上不表达。在我们的肿瘤模型系统中,我们发现通过免疫球蛋白的单可变结构域减少或抑制CXCR7可以在体内减少或消除肿瘤的形成。

[0015] 免疫球蛋白序列,例如由此衍生的抗体和抗原结合片段(例如免疫球蛋白单可变结构域)在研究和治疗应用中特别用于靶向它们各自的抗原。免疫球蛋白单可变结构域例如VHHs的产生可以包括实验动物如美洲驼的免疫接种,从免疫组织建立噬菌体文库,噬菌体展示的结合抗原的免疫球蛋白单可变结构域的选择和具有所期望的特异性的所述结构域及其改造构建体的筛选(WO 94/04678)。或者,可以通过直接从天然或合成文库选择噬菌体展示的结合抗原的免疫球蛋白单可变结构域,并随后筛选具有所期望的特异性的所述结

构域及其改造构建体来产生免疫球蛋白单可变结构域例如dAbs (Ward等, Binding activities of a repertoire of single immunoglobulin variable domains secreted from *Escherichia coli*, Nature, 1989, Oct 12; 341 (6242) : 544-6); Holt等, Trends Biotechnol., 2003, 21 (11) : 484-490; 以及例如W0 06/030220、W0 06/003388及其它 Domantis Ltd.的公开专利申请)。

[0016] 在例如W02008/028977中已经描述了靶向血清白蛋白以延长生物分子例如免疫球蛋白单可变结构域的半衰期。

[0017] 在一方面, 本发明涉及包含以下或基本由以下组成的多肽: i) 第一结构单元, 其基本上由一个或多个免疫球蛋白单可变结构域组成, 其中所述免疫球蛋白单可变结构域是针对CXCR7, 特别是针对人CXCR7; ii) 第二结构单元, 其基本上由一个或多个(优选一个)免疫球蛋白单可变结构域组成, 其中所述免疫球蛋白单可变结构域是针对血清白蛋白, 特别是针对人血清白蛋白(更加优选其中所述免疫球蛋白单可变结构域是A1b8(如本文所定义的))。而且, 本发明还涉及编码这种多肽的核酸; 制备这种多肽的方法; 表达或能够表达这种多肽的宿主细胞; 包含这种多肽、核酸和/或宿主细胞的组合物, 特别是药物组合物; 以及这种多肽, 核酸, 宿主细胞和/或组合物用于预防、治疗或诊断目的用途。本发明的其它方面, 实施方案, 优点和应用通过本文的进一步描述将会变得清楚。

[0018] 附图简述

[0019] 图1显示了使用FACS进行的SDF-1竞争实验。

[0020] 图2显示了使用FACS进行的Mab 11G8竞争实验。

[0021] 图3显示了原发性肿瘤切片中CXCR7表达的免疫组化分析。

[0022] 图4显示了用qPCR进行的头颈癌细胞系11B、22A、22B、FaDu、OE和93-VU-147中的CXCR7 mRNA图谱分析。

[0023] 图5显示了在头颈癌细胞系11B、22A、22B、FaDu、OE和93-VU-147中用配体CXCL11、CXCL12、纳米抗体09A04和阴性对照: 无竞争剂(表示为“-”, 表示总结合(TB)); 和CXCL10(表示非-特异性(a-specific)竞争)进行的 $[^{125}\text{I}]$ -CXCL12竞争实验。

[0024] 图6显示了在裸鼠中用22A移植物进行体内CXCR7纳米抗体治疗: “-”阴性对照(PBS); 多肽构建体克隆060, 克隆083, 克隆085和克隆093。

[0025] 图7显示了在裸鼠中用22A移植物进行体内CXCR7纳米抗体治疗50天后的肿瘤体积: “-”阴性对照(PBS); 多肽构建体克隆085和克隆093。

[0026] 图8显示了在存在2mg/ml HSA的条件下对SDF-1与HEK293T hCXCR7的结合的抑制。

[0027] 发明详述

[0028] 定义:

[0029] a) 除非另有说明或定义, 使用的所有术语具有其在本领域中通常的含义, 其对于本领域技术人员来说是清楚的。例如参考W0 08/020079第46页段a)中提及的标准手册。

[0030] b) 除非另有说明, 术语“免疫球蛋白单可变结构域”(ISVD) 用作一般术语包括但不限于分别地抗原结合结构域或片段, 例如 V_{HH} 结构域或 V_{H} 或 V_{L} 结构域。术语抗原结合分子或抗原结合蛋白可以交换使用, 并且还包括术语纳米抗体。免疫球蛋白单可变结构域进一步是轻链可变结构域序列(例如 V_{L} -序列), 或重链可变结构域序列(例如 V_{H} -序列); 更特别地, 它们可以是常规四链抗体的重链可变结构域序列或衍生自重链抗体的重链可变结构域序

列。相应地,免疫球蛋白单可变结构域可以是结构域抗体,或者适合用作结构域抗体的免疫球蛋白序列,单结构域抗体,或者适合用作单结构域抗体的免疫球蛋白序列,“dAbs”或者适合用作dAbs的免疫球蛋白序列,或者纳米抗体,包括但不限于 V_{HH} 序列。本发明包括不同来源的免疫球蛋白序列,包括小鼠、大鼠、兔、驴、人和骆驼科动物的免疫球蛋白序列。免疫球蛋白单可变结构域包括完全是人的、人源化的,其它序列优化的或嵌合的免疫球蛋白序列。免疫球蛋白单可变结构域和免疫球蛋白单可变结构域的结构可视为-但不限于-由四个构架区或“FR’ s”组成,其在本领域中以及在本文中分别称为“构架区1”或“FR1”;“构架区2”或“FR2”;“构架区3”或“FR3”;“构架区4”或“FR4”;构架区被三个互补决定区或“CDR’ s”间隔开,所述三个互补决定区或“CDR’ s”在本领域中分别称为“互补决定区1”或“CDR1”;“互补决定区2”或“CDR2”;“互补决定区3”或“CDR3”。应当注意术语纳米抗体(Nanobody或Nanobodies)是Ablynx N.V.的注册商标,因此也被称为纳米抗体®(Nanobody®和/或Nanobodies®)。

[0031] c) 除非另有说明,术语“免疫球蛋白序列”、“序列”、“核苷酸序列”和“核酸”如WO 08/020079第46页段b)中所述。术语纳米抗体也如WO 08/020079中所定义,且如其所述通常指具有 V_{HH} 结构域的功能和结构特性的免疫球蛋白重链可变结构域(例如骆驼科动物中出现的“仅有重链的”抗体的 V_H 结构域),其特别可以是(天然的) V_{HH} ,人源化 V_{HH} 或骆驼源化 V_H ,例如骆驼源化的人 V_H 。

[0032] d) 除非另有说明,所有没有特别详细描述的方法、步骤、技术和操作可以以本身已知的方式进行或已经这样进行,这对于本领域技术人员来说是清楚的。例如再次参考本文提及的标准手册和一般背景技术以及其中所引用的其它参考文献;以及例如下述综述Presta,Adv.Drug Deliv.Rev.2006,58(5-6):640-56;Levin和Weiss,Mol.Biosyst.2006,2(1):49-57;Irving等,J.Immunol.Methods,2001,248(1-2),31-45;Schmitz等,Placenta,2000,21增刊A,S106-12,Gonzales等,Tumour Biol.,2005,26(1),31-43,其中描述了蛋白质工程技术,例如亲和力成熟及其它提高蛋白质如免疫球蛋白的特异性及其它所需性质的技术。

[0033] e) 氨基酸残基用标准的三字母或单字母氨基酸代码表示。参考发明名称为“Immunoglobulin single variable domains directed against IL-6R and polypeptides comprising the same for the treatment of diseases and disorders associated with Il-6 mediated signalling”的Ablynx N.V.的国际申请WO 08/020079第48页表A-2。

[0034] f) 为比较两个以上核苷酸序列的目的,第一核苷酸序列和第二核苷酸序列之间的“序列同一性”的百分比可以如WO 08/020079(通过引用的方式将其合并入本文中)第49页段e)所述进行计算或确定,例如用[第一核苷酸序列中与第二核苷酸序列中相应位置的核苷酸相同的核苷酸的数目]除以[第一核苷酸序列中核苷酸的总数目]并乘以[100%],其中第二核苷酸序列中每个核苷酸的缺失、插入、取代或添加-与第一核苷酸序列相比-视为是单核苷酸(位置)的差异;或者使用适合的计算机算法或技术,也如WO 08/020079(通过引用的方式合并入本文中)第49页段e)所述。

[0035] g) 为了比较两个以上免疫球蛋白单可变结构域或其它氨基酸序列例如本发明的多肽等的目的,第一氨基酸序列和第二氨基酸序列之间的“序列同一性”(本文中也称为“氨

氨基酸同一性”)的百分比可以如W0 08/020079(通过引用的方式合并入本文中)第49和50页的段f)所述进行计算或确定,例如用[第一氨基酸序列中与第二氨基酸序列中相应位置的氨基酸残基相同的氨基酸残基的数目]除以[第一氨基酸序列中氨基酸残基的总数目]并乘以[100%],其中第二氨基酸序列中每个氨基酸残基的缺失、插入、取代或添加-与第一氨基酸序列相比-视为是单个氨基酸残基(位置)的差异,即本文所定义的“氨基酸差异”;或者使用适合的计算机算法或技术,也如W0 08/020079(通过引用的方式将其合并入本文中)第49和50页段f)所述。

[0036] 而且,在确定两个免疫球蛋白单可变结构域之间的序列同一性程度时,本领域技术人员可以考虑所谓的“保守”氨基酸取代,如W0 08/020079第50页所述。

[0037] 还可以基于由Schulz等,Principles of Protein Structure, Springer-Verlag, 1978提出的不同物种的同源蛋白之间的氨基酸变异频度分析,由Chou和Fasman, Biochemistry 13:211,1974和Adv.Enzymol.,47:45-149,1978提出的结构形成潜能分析,由Eisenberg等,Proc.Natl.Acad Sci.USA 81:140-144,1984;Kyte&Doolittle;J Molec.Biol.157:105-132,1981,和Goldman等,Ann.Rev.Biophys.Chem.15:321-353,1986提出的蛋白质疏水模式分析对本文所述的多肽应用任何氨基酸取代,通过引用的方式将它们的全文合并入本文。本文说明书和上述引用的一般背景技术中给出纳米抗体的一级、二级和三级结构的信息。而且,为此目的,例如在Desmyter等,Nature Structural Biology, Vol.3,9,803(1996);Spinelli等,Nature Structural Biology(1996);3,752-757;和Decanniere等,Structure,Vol.7,4,361(1999)中给出了美洲驼(Llama)的V_H结构域的晶体结构。可以在上述引用的现有技术中找到关于在常规V_H结构域中在这些位置上形成V_H/V_L界面和可能的骆驼源化取代的一些氨基酸残基的进一步的信息。

[0038] h) 如果免疫球蛋白单可变结构域和核酸序列在其全长上具有100%的序列同一性(如文本所定义的),那么将它们称为“完全相同”。

[0039] i) 当比较两个免疫球蛋白单可变结构域时,术语“氨基酸差异”指与第二序列相比,第一序列的某个位置上单个氨基酸残基的插入、缺失或取代;应当理解两个免疫球蛋白单可变结构域可以包含一个、两个或更多个这种氨基酸差异。

[0040] j) 当核苷酸序列或氨基酸序列被称为分别“包含”另一个核苷酸序列或氨基酸序列,或者被称为“基本上由”另一个核苷酸或氨基酸序列“组成”时,其具有W0 08/020079第51-52页段i)所给出的含义。

[0041] k) 术语“以基本上分离的形式”具有W0 08/020079第52和53页段j)所给出的含义。

[0042] l) 术语“域”和“结合结构域”具有W0 08/020079第53页段k)所给出的含义。

[0043] m) 术语“抗原决定簇”和“表位”在本文中可互换使用,具有W0 08/020079第53页段l)所给出的含义。

[0044] n) 如W0 08/020079第53页段m)中进一步描述的,能与特定的抗原决定簇、表位、抗原或蛋白(或者它的至少一部分、片段或表位)(特异性)结合,与其具有亲和力和/或对其具有特异性的氨基酸序列(例如本发明的抗体、多肽,或通常的抗原结合蛋白或多肽或其片段)被称为“拮抗剂”或“针对”所述的抗原决定簇、表位、抗原或蛋白。

[0045] o) 术语“特异性”具有W0 08/020079第53-56页段n)所给出的含义;如其中所提到的,指特定的抗原结合分子或抗原结合蛋白(例如本发明的多肽)分子能结合的不同类型的

抗原或抗原决定簇的数目。可以基于亲和力和/或抗体亲抗原性确定抗原结合蛋白的特异性,如WO 08/020079第53-56页所述(通过引用合并入本文),其还描述了一些测定抗原结合分子(例如本发明的多肽)与相关抗原的结合的优选技术。典型地,抗原结合蛋白(例如本发明的免疫球蛋白单可变结构域,和/或多肽)以 10^{-5} - 10^{-12} 摩尔/升以下,优选 10^{-7} - 10^{-12} 摩尔/升以下,更优选 10^{-8} - 10^{-12} 摩尔/升的解离常数(K_D) (即以 10^5 - 10^{12} 升/摩尔或更大,优选地 10^7 - 10^{12} 升/摩尔或更大和更优选地 10^8 - 10^{12} 升/摩尔的缔合常数(K_A))与它们的抗原结合。通常认为大于 10^4 摩尔/升的任何 K_D 值(或小于 $10^4 M^{-1}$ 的任何 K_A 值)表示非特异性结合。优选本发明的单价免疫球蛋白单可变结构域以小于500nM,优选小于200nM,更优选小于10nM,例如小于500pM的亲和力与所希望的抗原结合。抗原-结合蛋白与抗原或抗原决定簇的特异性结合可以以本身已知的任何适合的方式确定,包括,例如,斯卡查德(Scatchard)分析和/或竞争结合检测,如放射免疫检测(RIA),酶联免疫检测(EIA)和夹心竞争检测,以及本领域中本身已知的其不同的变形方式;以及本文提到的其它技术。如本领域技术人员所清楚的,以及如WO 08/020079第53-56页所述的,解离常数可以是实际或表观解离常数。用于确定解离常数的方法对于本领域技术人员来说是清楚的,例如包括WO 08/020079第53-56页提及的技术。

[0046] p) 本发明的氨基酸序列、化合物或多肽的半衰期通常可以如WO 08/020079第57页段o)所描述的以及本文所提及的那样定义,指例如由于氨基酸序列或化合物的降解和/或天然机制造成的序列或化合物的清除或隔离,所述序列、化合物或多肽在体内的血清浓度减少50%所花费的时间。本发明的氨基酸序列、化合物或多肽的体内半衰期可以用其本身已知的任何方式确定,例如通过药代动力学分析确定。适合的技术对本领域技术人员来说是清楚的,通常可以是如WO 08/020079第57页段o)所描述的。如WO 08/020079第57页段o)中还提及的,半衰期可以用参数例如 $t_{1/2-\alpha}$, $t_{1/2-\beta}$ 和曲线下面积(AUC)表示。例如可以参考下面的实验部分,以及标准手册,例如Kenneth, A等: *Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists*和Peters等, *Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach* (1996)。还可以参考“Pharmacokinetics”, M Gibaldi & D Perron, Marcel Dekker出版,第2版修改版(1982)。术语“半衰期的增加”或“增加的半衰期”也如WO 08/020079第57页段o)所定义的,特别指 $t_{1/2-\beta}$ 的增加,伴随或不伴随着 $t_{1/2-\alpha}$ 和/或AUC或二者的增加。

[0047] q) 关于靶标或抗原,术语靶标或抗原上的“相互作用位点”指靶标或抗原上的位点、表位、抗原决定簇、部分、结构域或氨基酸残基序列段(stretch),其是靶标或抗原的与配体、受体或其它结合配偶体的结合位点、催化位点、切割位点、变构相互作用位点、多聚化(例如同聚化或异二聚化)中涉及的位点;或者靶标或抗原的生物学作用或机制中涉及的靶标或抗原上的任何其它位点、表位、抗原决定簇、部分、结构域或氨基酸残基序列段(stretch)。更通常地,“相互作用位点”可以是本发明的氨基酸序列或多肽能够结合并使得靶标或抗原(和/或涉及所述靶标或抗原的任何途径、相互作用、信号传导、生物学机制或生物学效应)被调节(如本文所定义的)的所述靶标或抗原上的任何位点、表位、抗原决定簇、部分、结构域或氨基酸残基序列段(stretch)。

[0048] r) 当免疫球蛋白单可变结构域或多肽与第一抗原以与所述氨基酸序列或多肽与第二靶标或多肽结合亲和力的至少10倍,例如至少100倍,优选至少1000倍,至多可达10,

000倍或更高的亲和力/抗体亲抗原性(如上所述的,适合地表达为 K_D 值, K_A 值, $K_{解离}$ 速率和/或 $K_{结合}$ 速率)结合,则将其称为相对于第二靶标或抗原而言对第一靶标或抗原是“特异的”。例如,第一抗原可以与靶标或抗原以比所述氨基酸序列或多肽与第二靶标或抗原结合的 K_D 小至少10倍,例如小至少100倍,优选小至少1000倍,例如10,000倍以下的 K_D 值结合。优选地,当与第二靶标或抗原相比,免疫球蛋白单可变结构域或多肽对第一靶标或抗原是“特异的”时,它针对(如本文所定义的)所述的第一靶标或抗原,而不针对所述第二靶标或抗原。

[0049] s) 术语“交叉阻断(cross-block)”、“被交叉阻断(cross-blocked)”和“交叉阻断的(cross-blocking)”在本文中可互换使用,指免疫球蛋白单可变结构域或多肽通过变构调节直接或间接干扰本发明的其它免疫球蛋白单可变结构域或多肽与给定的靶标结合的能力。本发明的免疫球蛋白单可变结构域或多肽能够干扰另一种与靶标的结合的程度,无论其是否可被称为根据本发明的交叉阻断,可以使用竞争性结合检测测定。一种特别适合的定量交叉阻断检测使用基于FACS-或基于ELISA的方法,根据标记的(例如带His标记的或放射性标记的)本发明的免疫球蛋白单可变结构域或多肽及其它结合试剂与靶标的结合测量它们之间的竞争。实验部分一般性地描述了用于测定结合分子是否交叉阻断或者能交叉阻断本发明的免疫球蛋白单可变结构域或多肽的适合的基于FACS-、基于ELISA-或基于放射性配体置换的检测。应当认识到所述检测可用于本文所描述的任何免疫球蛋白单可变结构域或其它结合试剂。因此,通常,根据本发明的交叉阻断氨基酸序列或其它结合剂是例如与上述交叉阻断检测中的靶标结合的,以使得在检测过程中以及在存在本发明的第二氨基酸序列或其它结合剂的条件下,所记录的根据本发明的免疫球蛋白单可变结构域或多肽被0.01mM或更少量的待测的可能的交叉阻断试剂(交叉阻断试剂可以是另一种常规单克隆抗体例如IgG,经典单价抗体片段(Fab, scFv))和改造的变体(双抗体、三抗体、微抗体、VHHs、dAbs、VHs、VLs)的置换为最大理论置换(例如被需要被交叉阻断的非标记的(例如未标记的)免疫球蛋白单可变结构域或多肽置换)的60%-100%之间(例如在基于ELISA/放射性配体的竞争检测中)或者80%-100%之间(例如在基于FACS的竞争检测中)。

[0050] t) 如果氨基酸序列例如根据本发明的免疫球蛋白单可变结构域或多肽对两个不同抗原或抗原决定簇(例如来自两个不同哺乳动物物种的血清白蛋白,例如人血清白蛋白和猕猴血清白蛋白)是特异的,那么将其称为对这些不同的抗原或抗原决定簇是“交叉反应的”。

[0051] u) 如W0 08/020079(通过引用合并入本文)第58和59页段q)所进一步描述的,根据Kabat等给出的 V_H 结构域的通用编号对免疫球蛋白单可变结构域的氨基酸残基进行编号。(“Sequence of proteins of immunological interest”,US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, 公布号91),如Riechmann和Muyldermans, J. Immunol. Methods 2000 Jun 23; 240(1-2):185-195的文章(参见例如该出版物的图2)中应用于骆驼科动物的 V_{HH} 结构域的那样,相应地,免疫球蛋白单可变结构域的FR1包含1-30位的氨基酸残基,免疫球蛋白单可变结构域的CDR1包含31-35位的氨基酸残基,免疫球蛋白单可变结构域的FR2包含36-49位的氨基酸,免疫球蛋白单可变结构域的CDR2包含50-65位的氨基酸残基,免疫球蛋白单可变结构域的FR3包含66-94位的氨基酸残基,免疫球蛋白单可变结构域的CDR3包含95-102位的氨基酸残基,免疫球蛋白单可变结构域的FR4包含103-113位的氨基酸残基。

[0052] v) 所给出的附图、序列表和实验部分/实施例仅仅是进一步举例说明本发明,不应

理解或解释为以任何方式限制本发明和/或所附权利要求的范围,除非本文另外明确指出。

[0053] 1. 本发明的多肽及其用途

[0054] 1.1. 抗-CXCR7结构单元

[0055] 本发明的多肽通常可用于调节,特别是抑制和/或防止CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 与CXCL12 (和/或CXCL11)、特别是人CXCL12 (NM_000609) 和/或特别是人CXCL11 (U66096) 的结合,从而调节,特别是抑制或防止由CXCR7且特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 和/或CXCL12 (和/或CXCL11) 特别是人CXCL12 (NM_000609) 和/或特别是人CXCL11 (U66096) 介导的信号传导,调节涉及CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 和/或CXCL12 (和/或CXCL11) 特别是CXCL12 (NM_000609) 和/或特别是人CXCL11 (U66096) 的生物学途径,和/或调节与这种信号传导或这些途径相关的生物学机制、反应和效应。

[0056] 同样,本发明的多肽和组合物可以用诊断、预防和治疗本发明的疾病和失调(本文中也称为“本发明的疾病和失调”),包括但不限于癌症,例如癌、神经胶质瘤、间皮瘤、黑色素瘤、淋巴瘤、白血病、腺癌、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、恶性胶质瘤、白血病、淋巴瘤、前列腺癌、和伯基特淋巴瘤、头颈癌、结肠癌、结肠直肠癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、食道癌、胃癌、胰腺癌、肝胆癌、胆囊癌、小肠癌、直肠癌、肾癌、膀胱癌、前列腺癌、阴茎癌、尿道癌、睾丸癌、宫颈癌、阴道癌、子宫癌、卵巢癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、肾上腺癌、胰腺内分泌癌、类癌、骨癌、皮肤癌、视网膜母细胞瘤、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、卡波氏肉瘤、多中心性Castleman病或AIDS相关的原发性渗出性淋巴瘤、神经外胚瘤、横纹肌肉瘤(关于更多癌症,参见,Cancer,Principles and practice (DeVita, V.T.等eds 1997));优选头颈癌,以及脑和神经元功能障碍,例如阿尔茨海默病和多发性硬化;肾功能障碍,肾移植排斥反应;鼻息肉病;类风湿性关节炎;心脏移植排斥反应;心脏功能障碍;动脉硬化;哮喘;肾小球肾炎;接触性皮炎;炎性肠病;结肠炎;银屑病;再灌注损伤;以及本文所述的其它失调和疾病。特别地,本发明的多肽和组合物可用于诊断、预防和治疗涉及CXCR7介导的转移、趋化作用、细胞粘附、跨内皮迁移、细胞增殖和/或存活。

[0057] 通常,所述的“本发明的疾病和失调”可以定义为能够通过给有需要的受试者(即具有疾病或失调或其至少一种症状和/或具有引起或发展疾病或失调的危险)适当地施用本发明的多肽或组合物(特别是以其药理学活性量)和/或有效针对CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 或者涉及CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的生物学途径或机制的已知有效成分(特别是以其药理学活性量)分别诊断、预防和/或治疗的疾病和失调。

[0058] 特别地,本发明的多肽可用于诊断、预防和治疗本发明的疾病和失调,其特征在于过量的和/或不需要的由CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 介导或涉及CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的途径(例如CXCL11/I-TAC-CXCR7轴)介导的CXCL12特别是人CXCL12信号传导。本发明的这种疾病和失调的实例在本文的公开的基础上对本领域技术人员来说也是清楚的。

[0059] 因此,不受其限制,本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽可以例如用于诊断、预防和/或治疗目前用能调节CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 介导的信号传导的有效成分诊断、预防或治疗的所有疾病和失调,例如本文所引用的现有技术中提及的那些。还预期本发明的多肽可用于诊断、预防和/或治疗目前正在开发、已经提出、或将来要提出或开发用这种有效成分治疗的所有疾病和失调。此外,预期由于本文进一步描述的它们的有利

特性,本发明的多肽可用于诊断、预防和治疗与正在使用或将要提出或开发使用这些已知的有效成分所治疗疾病和失调不同的其它疾病和失调;和/或本发明的多肽可以提供用于治疗本发明所述的疾病和失调的新的方法和方案。

[0060] 本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽的其它应用和用途通过本文的进一步公开,对技术人员来说将会变得清楚。

[0061] 通常,本发明的一个目的是提供药学活性剂以及包含它的组合物,其可用于诊断、预防和/或治疗本发明的疾病和/或失调;以及提供用于诊断、预防和/或治疗这种疾病和失调的方法,包括施用和/或使用这种药剂和组合物。

[0062] 特别地,本发明的一个目的是提供与本领域中目前使用和/或已知的药剂、组合物和/或方法相比具有特定优势的药学活性剂、组合物和/或方法。这些优势通过下面进一步的描述将会变得清楚。

[0063] 更特别地,本发明的一个目的是提供可用作药学活性剂的治疗剂蛋白,以及包含它的组合物,其可用于诊断、预防和/或治疗本发明的疾病和/或失调和本文所提及的其它疾病和失调;以及提供用于诊断、预防和/或治疗这种疾病和失调的方法,包括施用和/或使用这种治疗剂蛋白和组合物。

[0064] 相应地,本发明的特定目的是提供针对CXCR7,特别针对来自温血动物的CXCR7,更特别针对来自哺乳动物如小鼠的CXCR7以及特别针对人CXCR7 (SEQ ID NO:1)的免疫球蛋白单可变结构域;以及提供包含至少一个这种免疫球蛋白单可变结构域或者基本由其组成的蛋白和多肽。

[0065] 特别地,本发明的特定目的是提供适合于在温血动物中,特别是在哺乳动物中,更特别是在人中预防、治疗和/或诊断用途的这种免疫球蛋白单可变结构域和这种蛋白和/或多肽。

[0066] 更特别地,本发明的特定目的是提供可用于在温血动物中,特别是在哺乳动物中,更特别是在人中预防、治疗、减轻和/或诊断与CXCR7相关的和/或由CXCR7介导的一种或多种疾病、失调或病症(例如本文提及的疾病、失调或病症)的这种免疫球蛋白单可变结构域和这种蛋白和/或多肽。

[0067] 本发明的另一个特定目的是提供可用于制备用于在温血动物中,特别是在哺乳动物中,更特别是在人中预防和/或治疗与CXCR7相关的和/或由CXCR7介导的一种或多种疾病、失调或病症(例如本文提及的疾病、失调和病症)的药物组合物或兽药组合物的这种免疫球蛋白单可变结构域和这种蛋白和/或多肽。

[0068] 在本发明中,通常,这些目的通过使用本文所描述的免疫球蛋白单可变结构域、蛋白、多肽和组合物得以实现。

[0069] 通常,本发明提供针对(如本文所定义的)和/或能特异性结合(如本文所定义的)CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1)的免疫球蛋白单可变结构域;以及包含至少一个这种氨基酸序列的化合物和构建体,特别是蛋白和多肽。

[0070] 更特别地,本发明提供了能够以本文所定义的亲和力(适当地测定为和/或表达为 K_D 值(实际的或表观的), K_A 值(实际的或表观的), $k_{\text{结合}}$ 速率和/或 $k_{\text{解离}}$ 速率,或者 IC_{50} 值,如本文所进一步描述的)结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1)的免疫球蛋白单可变结构域和多肽,以及包含至少一个这种氨基酸序列的化合物和构建体,特别是蛋白和多肽。

[0071] 在特定的方面,本发明的免疫球蛋白单可变结构域和/或多肽是这样的,它们:

[0072] -在例如实验部分(例如实施例8)所描述的结合FACS检测中以100nM以下,更优选50nM以下,更加优选20nM以下,最优选10nM以下的EC50与人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合,其中所述多肽仅包含一个人CXCR7结合免疫球蛋白单可变结构域单元;

[0073] 和/或这样的,它们:

[0074] -在例如实验部分(例如实施例9和10)所描述的检测中以100nM以下的平均Ki值,更优选以20nM以下的平均Ki值,更加优选以10nM以下的平均Ki值,从人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 完全置换CXCL12 (SDF-1),其中所述多肽仅包含一个人CXCR7结合免疫球蛋白单可变结构域单元,其中完全置换指大约60%至80%以上的平均CXCL12置换(例如当根据实施例9的配体置换检测测定)或者其中完全置换指大约80%至100%以上的平均CXCL12置换(当根据实施例10的基于FACS的竞争检测测定);

[0075] 和/或这样的,它们:

[0076] -在例如实验部分(例如实施例9和10)所描述的检测中以1000nM以下的平均Ki值,更优选以500nM以下的平均Ki值,更加优选以100nM以下的平均Ki值,更加优选以20nM以下的平均Ki值,更加优选以10nM以下的平均Ki值,从人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 完全置换CXCL11 (I-TAC),其中所述多肽仅包含一个人CXCR7结合免疫球蛋白单可变结构域单元,其中完全置换指大约60%-80%以上的平均CXCL11置换(例如当根据实施例9的配体置换检测测定)或者其中完全置换指大约80%-100%以上的平均CXCL12置换(当根据实施例10的基于FACS的竞争检测测定);

[0077] 和/或这样的,它们:

[0078] -在例如实验部分(例如实施例9和10)所描述的检测中以100nM以下的平均Ki值,更优选以20nM以下的平均Ki值,更加优选以10nM以下的平均Ki值,从人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 部分置换CXCL12 (SDF-1),其中所述多肽仅包含一个人CXCR7结合免疫球蛋白单可变结构域单元,其中部分置换指大约40%-60%的平均CXCL12置换(例如当根据实施例9的配体置换检测测定)或者其中部分置换指大约50%-80%的平均CXCL12置换(当根据实施例10的基于FACS的竞争检测测定);

[0079] 和/或这样的,它们:

[0080] -在例如实验部分(例如实施例9和10)所描述的检测中以1000nM以下的平均Ki值,更优选以500nM以下的平均Ki值,更加优选以100nM以下的平均Ki值,更加优选以20nM以下的平均Ki值,更加优选以10nM以下的平均Ki值,从人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 部分置换CXCL11 (I-TAC),其中所述多肽仅包含一个人CXCR7结合免疫球蛋白单可变结构域单元,其中部分置换指大约40%-60%的平均CXCL11置换(例如当根据实施例9的配体置换检测测定)或者其中部分置换指大约50%-80%以上的平均CXCL12置换(当根据实施例10的基于FACS的竞争检测测定);

[0081] 和/或这样的,它们:

[0082] -以100nM以下的平均Kd值,更优选以50nM以下的平均Kd值,更加优选以40nM以下,例如小于30,25,20,15,10,9,8,7,6,5,4,3,3nM以下,例如小于1nM,或者最优选小于0.1nM的平均Kd值与人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合。

[0083] 应当认识到本发明的免疫球蛋白单可变结构域和/或多肽与(人) CXCR7的结合可

以导致从(人) CXCR7置换(人) CXCL11和/或CXCL12,如本文所述。还应当认识到本发明的免疫球蛋白单可变结构域和/或多肽与(人) CXCR7的结合可以导致抑制(人) CXCL11和/或CXCL12与其关联受体,例如(人) CXCR7的结合,如本文所述。

[0084] 正如已经提到的,在一些特定的但非限制性的方面(本文更详细描述),本发明提供了:

[0085] 针对(如本文所定义的) CXCR7并能抑制或阻断(完全地或部分地,如本文进一步描述的)配体结合,特别是抑制或阻断(完全地或部分地,如本文进一步描述的) SDF-1与CXCR7结合(如本文进一步描述的)的氨基酸序列。这些氨基酸序列在本文中也称为“结合CXCR-7的氨基酸序列”或“CXCR7结合单元”。优选地,这些结合CXCR7的氨基酸序列是ISVD's(如本文所描述的),在这种情况下,它们也被称为“结合CXCR7的ISVD's”。优选地,任何结合CXCR7的氨基酸序列、结合CXCR7的结构单元或结合CXCR7的ISVD's是这样的,它们具有阻断活性,即部分或完全阻断SDF-1与CXCR7结合,其可以通过本领域技术人员已知的任何适合的检测法,例如通过Alpha筛选检测或通过FACS竞争检测(例如本文所描述的)测定。优选地,通过实施例9所述的FACS竞争检测测定阻断活性。优选地,ISVD在NIH3T3-hCXCR7细胞中具有阻断或竞争SDF-1与CXCR7的结合的阻断活性或竞争能力,其平均 K_i 为小于600nM,但优选500nM,400nM,300nM,200nM,100nM或更小。

[0086] -例如,01C10-样ISVD在该检测中具有阻断活性或竞争能力,其平均 K_i 为小于100nM,更优选小于75nM,50nM以下,例如小于40nM或30nM,25nM或24nM或更加优选小于22nM。

[0087] -例如,14G03-样ISVD在该检测中具有阻断活性或竞争能力,其平均 K_i 为小于150nM,更优选小于100nM,90nM,80nM以下,例如小于70nM或60nM,50nM或40nM,30nM,20nM,15nM或10nM,5nM或更加优选小于4nM。

[0088] 在一个特定的但非限制性的方面,(一些)“结合CXCR-7的氨基酸序列”或“CXCR7结合单元”可以(且还优选)是这样的,它们能够抑制或阻断 β -抑制蛋白的募集(参见实施例15)。优选地,任何结合CXCR7的氨基酸序列、结合CXCR7的结构单元或结合CXCR7的ISVD's是这样的,它们具有阻断活性,即部分或完全阻断或抑制SDF-1介导的CXCR7信号传导,其可以通过本领域技术人员已知的任何适合的检测法,例如通过任何适合的 β -抑制蛋白募集检测测定,如本文所述的。

[0089] 优选地,通过实施例15所述的 β -抑制蛋白检测测定阻断活性或抑制能力。优选地,ISVD在PathHunter eXpress β -抑制蛋白检测(DiscoverX)中对配体(例如SDF-1)诱导的 β -抑制蛋白具有阻断活性或竞争能力,其对 β -抑制蛋白募集的抑制%为大于25%,大于30%,但优选40%,50%,60%,70%,80%或更大。

[0090] -例如,14G03-样ISVD在该检测中具有阻断活性或竞争能力,其%抑制为大于50%,更优选大于60%,70%或更大,例如大于75%或80%,85%,或更加优选大于90%。

[0091] 本发明的免疫球蛋白单可变结构域或多肽对CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO: 1)的结合、置换、迁移或其它体内和/或体外的效力的一些优选的技术值通过本文进一步的说明和实施例将会变得清楚。

[0092] 而且,在本说明书和权利要求中,下述术语如下定义:

[0093] A) 01C10-样序列: “01C10-样序列”, “01C10-样ISVD”, “01C10-样结构单元”或“第1

组ISVDs”定义为包含以下的ISVD(如本文所描述的):

[0094] a) CDR1,其包含(i)氨基酸序列NYAMG(SEQ ID NO:93)或(ii)与氨基酸序列NYAMG(SEQ ID NO:93)仅有3、2或1个氨基酸差异(如本文所定义的)的氨基酸序列,或基本上由其组成;和/或

[0095] b) CDR2,其包含(i)氨基酸序列AITPRAFTTYADSVKG(SEQ ID NO:95)或(ii)与氨基酸序列AITPRAFTTYADSVKG(SEQ ID NO:95)具有至少80%,例如至少85%,例如至少90%或大于95%的序列同一性的氨基酸序列;或(iii)与氨基酸序列AITPRAFTTYADSVKG(SEQ ID NO:95)仅有7、6、5、4、3、2或1个氨基酸差异(如本文所定义的)的氨基酸序列,或基本上由其组成;和/或

[0096] c) CDR3,其包含(i)氨基酸序列QLVGSGSNLGRQESYAY(SEQ ID NO:97)或(ii)与氨基酸序列QLVGSGSNLGRQESYAY(SEQ ID NO:97)具有至少80%,例如至少85%,例如至少90%或大于95%的序列同一性的氨基酸序列;或(iii)与氨基酸序列QLVGSGSNLGRQESYAY(SEQ ID NO:97)仅有7、6、5、4、3、2或1个氨基酸差异(如本文所定义的)的氨基酸序列,或基本上由其组成;

[0097] 其中在这样的ISVD中存在的构架序列如本文所进一步描述的那样,其中CDR1、CDR2和CDR3优选使得01C10-样ISVD具有阻断活性,例如如上所述的部分或完全阻断CXCL11和/或CXCL12与CXCR7结合,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或结合和/或识别CXCR7(SEQ ID NO:1)中的氨基酸残基W19以及任选地氨基酸残基S23和/或氨基酸残基D25,其均如本文所描述的。

[0098] 还如本文所提到的,(一些)01C10-样序列可以(而且也优选)是这样的,它们例如在实施例10中使用的置换检测中能够抑制、阻断或置换SDF-1的结合(参见实施例9和10)。优选地,在这样的01C10-样序列中,CDR1和CDR2分别如a)和b)所定义;或者CDR1和CDR3分别如a)和c)所定义;或者CDR2和CDR3分别如b)和c)所定义。更优选地,在这样的01C10-样序列中,CDR1、CDR2和CDR3均分别如a)、b)和c)所定义。而且,在这样的01C10-样序列中,CDR1、CDR2和CDR3优选使得01C10-样ISVD具有阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7的结合,如本文所述的,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或结合和/或识别CXCR7(SEQ ID NO:1)中的氨基酸残基W19以及任选地氨基酸残基S23和/或氨基酸残基D25,其均如本文所描述的。

[0099] 例如,在这样的01C10-样序列中:CDR1可以包含氨基酸序列NYAMG(SEQ ID NO:93)或基本上由其组成(CDR2和CDR3分别如b)和c)所定义);和/或CDR2可以包含氨基酸序列AITPRAFTTYADSVKG(SEQ ID NO:95)或基本上由其组成(CDR1和CDR3分别如a)和c)所定义);和/或CDR3可以包含氨基酸序列QLVGSGSNLGRQESYAY(SEQ ID NO:97)或基本上由其组成(CDR1和CDR2分别如a)和b)所定义)。特别地,当01C10-样序列是根据该方面时:CDR1可以包含氨基酸序列NYAMG(SEQ ID NO:93)或基本上由其组成,并且CDR2可以包含氨基酸序列AITPRAFTTYADSVKG(SEQ ID NO:95)或基本上由其组成(CDR3如上述c)所定义);和/或CDR1可以包含氨基酸序列NYAMG(SEQ ID NO:93)或基本上由其组成并且CDR3可以包含氨基酸序列QLVGSGSNLGRQESYAY(SEQ ID NO:97)或基本上由其组成(CDR2如上述b)所定义);和/或CDR2可以包含氨基酸序列AITPRAFTTYADSVKG(SEQ ID NO:95)或基本上由其组成并且CDR3可以包含氨基酸序列QLVGSGSNLGRQESYAY(SEQ ID NO:97)或基本上由其组成(CDR1如上述

a)所定义)。而且,在这样的01C10-样序列中,CDR1、CDR2和CDR3优选使得01C10-样ISVD具有阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7的结合,如本文所述的,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1)中的氨基酸残基W19以及任选地氨基酸残基S23和/或氨基酸残基D25,其均如本文所描述的。在特别优选的方面,“01C10-样序列”,“01C10-样ISVD”,“01C10-样结构单元”或“第1组ISVDs”是包含以下的ISVD:

[0100] d) CDR1,其是(i)氨基酸序列NYAMG (SEQ ID NO:93)或(ii)与氨基酸序列NYAMG (SEQ ID NO:93)仅有3、2或1个氨基酸差异(如本文所定义的)的氨基酸序列;和/或

[0101] e) CDR2,其是(i)氨基酸序列AITPRAFTTYYADSVKG (SEQ ID NO:95)或(ii)与氨基酸序列AITPRAFTTYYADSVKG (SEQ ID NO:95)具有至少80%,例如至少85%,例如至少90%或大于95%的序列同一性的氨基酸序列;或(iii)与氨基酸序列AITPRAFTTYYADSVKG (SEQ ID NO:95)仅有7、6、5、4、3、2或1个氨基酸差异(如本文所定义的)的氨基酸序列;和/或

[0102] f) CDR3,其是(i)氨基酸序列QLVGSGSNLGRQESYAY (SEQ ID NO:97)或(ii)与氨基酸序列QLVGSGSNLGRQESYAY (SEQ ID NO:97)具有至少80%,例如至少85%,例如至少90%或大于95%的序列同一性的氨基酸序列;或(iii)与氨基酸序列QLVGSGSNLGRQESYAY (SEQ ID NO:97)仅有7、6、5、4、3、2或1个氨基酸差异(如本文所定义的)的氨基酸序列;

[0103] 其中在这样的ISVD中存在的构架序列如本文所进一步描述的那样,其中CDR1、CDR2和CDR3优选使得01C10-样ISVD具有阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7结合,如本文所述的,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1)中的氨基酸残基W19以及任选地氨基酸残基S23和/或氨基酸残基D25,其均如本文所描述的。优选地,在根据该特别优选的方面的01C10-样序列中,CDR1和CDR2分别如d)和e)所定义;或者CDR1和CDR3分别如d)和f)所定义;或者CDR2和CDR3分别如e)和f)所定义。更优选地,在这样的01C10-样序列中,CDR1、CDR2和CDR3均分别如d)、e)和f)所定义。而且,在这样的01C10-样序列中,CDR1、CDR2和CDR3优选使得01C10-样ISVD具有阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7的结合,如本文所述的,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1)中的氨基酸残基W19以及任选地氨基酸残基S23和/或氨基酸残基D25,其均如本文所描述的。

[0104] 例如,在根据该特别优选的方面的01C10-样序列中:CDR1是氨基酸序列NYAMG (SEQ ID NO:93) (CDR2和CDR3分别如e)和f)所定义);和/或CDR2是氨基酸序列AITPRAFTTYYADSVKG (SEQ ID NO:95) (CDR1和CDR3分别如d)和f)所定义);和/或CDR3是氨基酸序列QLVGSGSNLGRQESYAY (SEQ ID NO:97) (CDR1和CDR2分别如d)和e)所定义)。特别地,当01C10-样序列是根据该方面时:CDR1是氨基酸序列NYAMG (SEQ ID NO:93)并且CDR2是氨基酸序列AITPRAFTTYYADSVKG (SEQ ID NO:95) (CDR3如上述f)所定义);和/或CDR1是氨基酸序列NYAMG (SEQ ID NO:93)并且CDR3是氨基酸序列QLVGSGSNLGRQESYAY (SEQ ID NO:97) (CDR2如上述e)所定义);和/或CDR2是氨基酸序列AITPRAFTTYYADSVKG (SEQ ID NO:95)并且CDR3是氨基酸序列QLVGSGSNLGRQESYAY (SEQ ID NO:97) (CDR1如上述d)所定义)。而且,在这样的01C10-样序列中,CDR1、CDR2和CDR3优选使得01C10-样ISVD具有阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7的结合,如本文所述的,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1)中的氨基酸残基W19以及任选地氨基酸残基

S23和/或氨基酸残基D25,其均如本文所描述的。

[0105] 在特别优选的01C10-样序列中:CDR1是氨基酸序列NYAMG (SEQ ID NO:93), CDR2是氨基酸序列AITPRAFTTTYADSVKG (SEQ ID NO:95);并且CDR3是氨基酸序列QLVGSGSNLGRQESYAY (SEQ ID NO:97)。

[0106] 在该段A)描述的所有的01C10-样序列中,构架序列可以如本文进一步描述的。优选地,构架序列是这样的,构架序列与01C10的构架序列具有至少80%,例如至少85%,例如至少90%,例如至少95%的序列同一性(其例如可以通过测定给定序列与01C10的序列的序列同一性的总体程度来测定,在计算时忽略CDR's)。而且,在给定序列中存在的CDR's与构架的组合优选使得获得的01C10-样ISVD具有本文所述的阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7的结合,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1)中的氨基酸残基W19以及任选地氨基酸残基S23和/或氨基酸残基D25,其均如本文所描述的。

[0107] 在一个特定的方面,01C10-样序列与氨基酸序列01C10 (SEQ ID NO:91)具有至少70%,例如至少80%,例如至少85%,例如至少90%或大于95%的序列同一性。例如,在根据该方面的01C10-样序列中,CDR's可以是根据上述特别优选的方面,可以特别是(但不限于)NYAMG (SEQ ID NO:93) (CDR1);AITPRAFTTTYADSVKG (SEQ ID NO:95) (CDR2);和QLVGSGSNLGRQESYAY (SEQ ID NO:97) (CDR3)。而且,优选地,在这样的01C10-样ISVD中存在的CDR's与构架的组合优选使得获得的01C10-样ISVD具有本文所述的阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7的结合,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1)中的氨基酸残基W19以及任选地氨基酸残基S23和/或氨基酸残基D25,其均如本文所描述的。在一个特定的方面,任何01C10-样序列可以是人源化的和/或序列优化的序列,如本文进一步描述的。

[0108] B) 14G03-样序列:“14G03-样序列”,“14G03-样ISVD”,“14G03-样结构单元”或“第2组ISVDs”定义为包含以下的ISVD(如本文所描述的):

[0109] a) CDR1,其包含(i)氨基酸序列INYMG (SEQ ID NO:13)或(ii)与氨基酸序列INYMG (SEQ ID NO:13)仅有3、2或1个氨基酸差异(如本文所定义的)的氨基酸序列,或基本上由其组成;和/或

[0110] b) CDR2,其包含(i)氨基酸序列TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23)或(ii)与氨基酸序列TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23)具有至少80%,例如至少85%,例如至少90%或大于95%的序列同一性的氨基酸序列;或(iii)与氨基酸序列TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23)仅有7、6、5、4、3、2或1个氨基酸差异(如本文所定义的)的氨基酸序列,或基本上由其组成;和/或

[0111] c) CDR3,其包含(i)氨基酸序列GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33)或(ii)与氨基酸序列GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33)具有至少80%,例如至少85%,例如至少90%或大于95%的序列同一性的氨基酸序列;或(iii)与氨基酸序列GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33)仅有7、6、5、4、3、2或1个氨基酸差异(如本文所定义的)的氨基酸序列,或基本上由其组成;

[0112] 其中在这样的ISVD中存在的构架序列如本文所进一步描述的那样,其中CDR1、CDR2和CDR3优选使得14G03-样ISVD具有阻断活性,例如部分或完全阻断CXCL11和/或CXCL12与CXCR7结合,如上所述,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或抑

制 β -抑制蛋白的募集,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基M33以及任选地氨基酸残基V32和/或氨基酸残基M37,其均如本文所描述的。

[0113] 还如本文所提到的,(一些)14G03-样序列可以(而且也优选)是这样的,它们例如在实施例10中使用的置换检测中能够抑制、阻断或置换SDF-1的结合(参见实施例9和10)。优选地,在这样的14G03-样序列中,CDR1和CDR2分别如a)和b)所定义;或者CDR1和CDR3分别如a)和c)所定义;或者CDR2和CDR3分别如b)和c)所定义。更优选地,在这样的14G03-样序列中,CDR1、CDR2和CDR3均分别如a)、b)和c)所定义。而且,在这样的14G03-样序列中,CDR1、CDR2和CDR3优选使得14G03-样ISVD具有阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7结合,如本文所述的,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或抑制 β -抑制蛋白的募集,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基M33以及任选地氨基酸残基V32和/或氨基酸残基M37,其均如本文所描述的。

[0114] 例如,在这样的14G03-样序列中:CDR1可以包含氨基酸序列INIMG (SEQ ID NO:13) 或基本上由其组成(CDR2和CDR3分别如b)和c)所定义);和/或CDR2可以包含氨基酸序列TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23) 或基本上由其组成(CDR1和CDR3分别如a)和c)所定义);和/或CDR3可以包含氨基酸序列GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33) 或基本上由其组成(CDR1和CDR2分别如a)和b)所定义)。特别地,当14G03-样序列是根据该方面时:CDR1可以包含氨基酸序列INIMG (SEQ ID NO:13) 或基本上由其组成并且CDR2可以包含氨基酸序列TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23) 或基本上由其组成(CDR3如上述c)所定义);和/或CDR1可以包含氨基酸序列INIMG (SEQ ID NO:13) 或基本上由其组成并且CDR3可以包含氨基酸序列GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33) 或基本上由其组成(CDR2如上述b)所定义);和/或CDR2可以包含氨基酸序列TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23) 或基本上由其组成并且CDR3可以包含氨基酸序列GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33) 或基本上由其组成(CDR1如上述a)所定义)。而且,在这样的14G03-样序列中,CDR1、CDR2和CDR3优选使得14G03-样ISVD具有阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7结合,如本文所述的,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或抑制 β -抑制蛋白的募集,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基M33以及任选地氨基酸残基V32和/或氨基酸残基M37,其均如本文所描述的。

[0115] 在特别优选的方面,“14G03-样序列”,“14G03-样ISVD”,“14G03-样结构单元”或“第2组ISVDs”是包含以下的ISVD:

[0116] d) CDR1,其是(i)氨基酸序列INIMG (SEQ ID NO:13) 或(ii)与氨基酸序列INIMG (SEQ ID NO:13) 仅有3、2或1个氨基酸差异(如本文所定义的)的氨基酸序列;和/或

[0117] e) CDR2,其是(i)氨基酸序列TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23) 或(ii)与氨基酸序列TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23) 具有至少80%,例如至少85%,例如至少90%或大于95%的序列同一性的氨基酸序列;或(iii)与氨基酸序列TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23) 仅有7、6、5、4、3、2或1个氨基酸差异(如本文所定义的)的氨基酸序列;和/或

[0118] f) CDR3,其是(i)氨基酸序列GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33) 或(ii)与氨基酸序列GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33) 具有至少80%,例如至少85%,例如至少90%或大于95%的序列同一性的氨基酸序列;或(iii)与氨基酸序列GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33) 仅有7、6、5、4、3、2或1个氨基酸差异(如本文所定义的)的氨基酸序列;

[0119] 其中在这样的ISVD中存在的构架序列如本文所进一步描述的那样,其中CDR1、

CDR2和CDR3优选使得14G03-样ISVD具有阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7结合,如本文所述的,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或抑制 β -抑制蛋白的募集,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基M33以及任选地氨基酸残基V32和/或氨基酸残基M37,其均如本文所描述的。优选地,在根据该特别优选的方面的14G03-样序列中,CDR1和CDR2分别如d) 和e) 所定义;或者CDR1和CDR3分别如d) 和f) 所定义;或者CDR2和CDR3分别如e) 和f) 所定义。更优选地,在这样的14G03-样序列中,CDR1、CDR2和CDR3均分别如d)、e) 和f) 所定义。而且,在这样的14G03-样序列中,CDR1、CDR2和CDR3优选使得14G03-样ISVD具有阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7结合,如本文所述的,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或抑制 β -抑制蛋白的募集,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基M33以及任选地氨基酸残基V32和/或氨基酸残基M37,其均如本文所描述的。

[0120] 例如,在根据该特别优选的方面的14G03-样序列中:CDR1是氨基酸序列INYM (SEQ ID NO:13) (CDR2和CDR3分别如e) 和f) 所定义);和/或CDR2是氨基酸序列TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23) (CDR1和CDR3分别如d) 和f) 所定义);和/或CDR3是氨基酸序列GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33) (CDR1和CDR2分别如d) 和e) 所定义)。特别地,当14G03-样序列是根据该方面时:CDR1是氨基酸序列INYM (SEQ ID NO:13) 并且CDR2是氨基酸序列TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23) (CDR3如上述f) 所定义);和/或CDR1是氨基酸序列INYM (SEQ ID NO:13) 并且CDR3是氨基酸序列GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33) (CDR2如上述e) 所定义);和/或CDR2是氨基酸序列TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23) 并且CDR3是氨基酸序列GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33) (CDR1如上述d) 所定义)。而且,在这样的14G03-样序列中,CDR1、CDR2和CDR3优选使得14G03-样ISVD具有阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7结合,如本文所述的,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或抑制 β -抑制蛋白的募集,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基M33以及任选地氨基酸残基V32和/或氨基酸残基M37,其均如本文所描述的。

[0121] 在特别优选的14G03-样序列中:CDR1是氨基酸序列INYM (SEQ ID NO:13),CDR2是氨基酸序列TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23);并且CDR3是氨基酸序列GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33)。

[0122] 在该段A) 描述的所有的14G03-样序列中,构架序列可以如本文进一步描述的。优选地,构架序列是这样的,构架序列与14G03的构架序列具有至少80%,例如至少85%,例如至少90%,例如至少95%的序列同一性(其例如可以通过测定给定序列与14G03的序列的序列同一性的总体程度来测定,在计算时忽略CDR's)。而且,在给定序列中存在的CDR's与构架的组合优选使得获得的14G03-样ISVD具有阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7结合,如本文所述的,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或抑制 β -抑制蛋白的募集,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基M33以及任选地氨基酸残基V32和/或氨基酸残基M37,其均如本文所描述的。

[0123] 在一个特定的方面,14G03-样序列是与氨基酸序列14G03 (SEQ ID NO:43) 具有至少70%,例如至少80%,例如至少85%,例如至少90%或大于95%的序列同一性的ISVD。例如,在根据该方面的14G03-样序列中,CDR's可以根据上述特别优选的方面,可以特别是(但不限于) INYM (SEQ ID NO:13) (CDR1);TLTSGGSTNYAGSVKG (SEQ ID NO:23) (CDR2);和

GGTLYDRRRFES (SEQ ID NO:33) (CDR3)。而且,优选地,在这样的14G03-样ISVD中存在的CDR's与构架的组合优选使得14G03-样ISVD具有阻断活性,例如部分或完全阻断SDF-1与CXCR7结合,如本文所述的,和/或减少和/或抑制异种移植模型中的肿瘤发生,和/或抑制 β -抑制蛋白的募集,和/或结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基M33以及任选地氨基酸残基V32和/或氨基酸残基M37,其均如本文所描述的。在一个特定的方面,任何14G03-样序列可以是人源化的和/或序列优化的序列,如本文进一步描述的。

[0124] 为了与CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合,本发明的氨基酸序列或多肽通常在其氨基酸序列内包含一个或多个氨基酸残基或者一个或多个氨基酸残基序列段(stretches) (即,每个“序列(stretch)”包含两个或更多在所述氨基酸序列的一级或三级结构中彼此相邻的或彼此非常接近的氨基酸残基),本发明的氨基酸序列通过它们能够与CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合,这些氨基酸残基或氨基酸残基序列段(stretches)因此形成了与CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合的“位点”(本文中也称为“抗原结合位点”)。

[0125] 本发明提供的免疫球蛋白单可变结构域优选是基本上分离的形式(如本文所定义的),或者形成本发明的蛋白或多肽的一部分(如本文所定义的),本发明的蛋白或多肽可以包含本发明的一个或多个免疫球蛋白单可变结构域或基本由其组成,且任选地可以进一步包含一个或多个其它免疫球蛋白单可变结构域(所有都任选地通过一个或多个合适的接头连接起来),和/或一个或多个其它结合结构域、结合单元、氨基酸序列或其它(官能)基团或分子,其优选还给构建体带来一种或多种所希望的特性(其一些非限制性的实例通过本文的进一步描述将会变得清楚)。

[0126] 本发明提供的多肽或免疫球蛋白单可变结构域优选在体内减少肿瘤发生。

[0127] 在更优选的实施方案中,本发明提供了包含至少两个针对CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域的构建体。更优选地,所述针对CXCR7的免疫球蛋白可变结构域选自以下1.5节表B-2中定义的针对CXCR7的多肽和免疫球蛋白单可变结构域(例如第2组免疫球蛋白单可变结构域)的变体,其中所述针对CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域可以是相同的或不同的。优选地,所述两个针对CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域选自14G03-样ISVDs,例如14G03,08A05,08A10,07C03和07B11。在另一个更优选的实施方案中,本发明提供了包含至少两个针对CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域的构建体,所述针对CXCR7的免疫球蛋白可变结构域选自以下1.5节表B-2中定义的针对CXCR7的多肽和免疫球蛋白单可变结构域(例如第1组免疫球蛋白单可变结构域)的变体,其中所述针对CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域可以是相同的或不同的。优选地,所述两个针对CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域选自01C10 (SEQ ID NO:91),01B12 (SEQ ID NO:100),01F11 (SEQ ID NO:101) 或01B10 (SEQ ID NO:102)。

[0128] 已经出人意料地证明了包含至少一个第1组免疫球蛋白单可变结构域和至少一个第2组ISVD的双特异性构建体特别适合于在体内减少肿瘤生长。特别地,已表明这些构建体抑制SDF-1与CXCR7结合,在体内抑制肿瘤生长,并且抑制 β -抑制蛋白的募集。而且,鉴于第2组ISVDs的结合功效,例如由SDF-1置换表征的,包含至少一个第1组ISVD和至少一个第2组ISVD的这些构建体更好地与靶标结合(参见例如实施例17)。这会导致用更低的剂量抑制肿瘤生长。此外,同时抑制 β -抑制蛋白的募集将会导致长期的抗肿瘤发生的效果。

[0129] 相应地,在更优选的实施方案中,本发明提供了包含至少两个针对CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域的构建体,其中至少一个针对CXCR7的所述免疫球蛋白单可变结构域(即针对CXCR7的“第一”免疫球蛋白单可变结构域)是01C10-样的,例如01C10 (SEQ ID NO:91), 01B12 (SEQ ID NO:100), 01F11 (SEQ ID NO:101) 或01B10 (SEQ ID NO:102),或其变体,如以下1.5节表B-2中定义的(例如第1组免疫球蛋白单可变结构域),其中至少一个针对CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域(即针对CXCR7的“第二”免疫球蛋白单可变结构域)选自以下1.5节表B-2中定义的不同于针对CXCR7的“第一”免疫球蛋白单可变结构域或其变体的针对CXCR7的多肽和免疫球蛋白单可变结构域的变体。优选地,所述针对CXCR7的“第一”免疫球蛋白单可变结构域是01C10,以及所述针对CXCR7的“第二”免疫球蛋白单可变结构域选自由14G03-样,例如14G03, 08A05, 08A10, 07C03和07B11组成的组。

[0130] 如实施例11所描述的,以01C10为代表的第1组免疫球蛋白单可变结构域与CXCR7的结合受到突变的W19的影响。相反,所有检测的免疫球蛋白单可变结构域的结合受到M33突变的影响,而第1组ISVDs不受其影响。还表明第1组ISVDs也优先识别和/或结合S23和D25(数据未显示)。

[0131] 第1组ISVDs或多肽可以表征为结合/或识别“第1组表位”。第1组ISVDs或多肽结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基W19以及任选地氨基酸残基S23和/或氨基酸残基D25。第1组表位包含CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基W19以及任选地氨基酸残基S23和/或氨基酸残基D25。第1组ISVDs尤其以01C10 (SEQ ID NO:91), 01B12 (SEQ ID NO:100), 01F11 (SEQ ID NO:101) 或01B10 (SEQ ID NO:102) 为代表,明显针对与第2组表位不同的表位;

[0132] 第2组ISVDs或多肽可以表征为结合/或识别“第2组表位”。第2组ISVDs或多肽不结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基W19,氨基酸残基S23和/或氨基酸残基D25。第2组ISVDs或多肽结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基M33以及任选地氨基酸残基V32和/或氨基酸残基M37。第2组表位包含CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基M33以及任选地氨基酸残基V32和/或氨基酸残基M37。第2组ISVDs以14G03-样ISVDs为代表,例如14G03 (09A04), 08A05, 08A10和07C03,明显针对与第1组表位不同的表位。优选地,第2组ISVDs抑制 β -抑制蛋白的募集,如本文所定义的;以及

[0133] 第3组ISVDs或多肽可以表征为结合/识别(部分的)“第1组”表位以及(部分的)“第2组”表位。第3组ISVDs或多肽尤其以07B11为代表,明显介于第1组和第2组中间。

[0134] 本领域技术人员熟悉本领域中测定表位的常用方法,例如本发明实施例11中提供的“表位作图”。

[0135] 相应地,本发明涉及多肽ISVDs,以及(常规的)抗体,或其部分,例如Fc、Fab、微抗体等,其识别和/或结合CXCR7中的W19以及任选地S23和/或D25。

[0136] 上述抗-CXCR7/CXCR7双特异性抗体可以适当地延长半衰期(例如通过聚乙二醇化,与血清白蛋白融合,或者与能够结合血清蛋白如血清白蛋白的多肽或结合单元融合,如本文进一步描述的),因此例如可以另外包含血清白蛋白结合多肽或结合结构域(例如本文所描述的那些),其任选地通过一个或多个适合的间隔子或接头连接。

[0137] 而且,这种另外的结合结构域、结合单元、氨基酸序列或其它(官能)基团或分子包括一个或多个其它免疫球蛋白单可变结构域,例如一个或多个(单)结构域抗体,dAb's或纳

米抗体(例如V_{HH}、人源化V_{HH}或骆驼源化V_H,例如骆驼源化的人V_H),以提供本发明的“双特异性”蛋白或多肽(即包含至少一个-例如一个或两个-针对CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域和至少一个-例如一个或两个-针对另一个靶标的免疫球蛋白单可变结构域的本发明的多肽)。

[0138] 例如,根据特定的但是非限制性的方面,本发明的构建体、蛋白或多肽可以具有增加的半衰期,例如通过官能化和/或通过构建体中包含增加构建体半衰期的分子或结合单元。这种官能化、分子或结合单元的实例对本领域技术人员来说是清楚的,例如可以包括聚乙二醇化,与血清白蛋白融合,或者与能够结合血清蛋白如血清白蛋白的多肽或结合单元融合。

[0139] 在后者的构建体(即包含至少一个-例如一个或两个-本发明的氨基酸序列以及至少一个-例如一个或两个-能结合血清蛋白如血清白蛋白的肽或结合单元的融合构建体)中,结合血清白蛋白的肽或结合血清白蛋白的结构域可以是任何适合的能增加构建体半衰期的(与没有结合血清白蛋白的肽或结合血清白蛋白的结构域的相同构建体相比)结合血清白蛋白的肽或结合血清白蛋白的结构域,特别可以是申请人的WO 2008/068280(以及特别是WO 2009/127691和WO 2011/095545,其均为申请人的)中所描述的结合血清白蛋白的肽,或者结合血清白蛋白的免疫球蛋白单可变结构域(例如结合血清白蛋白的纳米抗体;例如A1b-1或人源化形式的A1b-1如A1b-8,其可以参考例如WO 06/122787)。

[0140] 关于半衰期,应当注意在本发明中,通过使用本文所述的不同的半衰期延长技术(例如通过适当地选择根据WO 2008/068280、WO 2009/127691和/或WO 2011/095545的结合血清白蛋白的肽),本发明的构建体或多肽的半衰期可以(且优选)适当地根据预期的(治疗和/或诊断)应用“调整”和/或在所期望的治疗和/或药理效果和可能的不希望的副作用之间取得最佳平衡。

[0141] 因此,例如但不受其限制地,本发明的优选方面提供了“双特异性”多肽,其基本由一个针对人CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域(或者两个针对人CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域,其可以是相同的或不同的,以提供-当它们是相同或不同时-本发明的“二价”多肽,或者-当它们是不同时-本发明的“双互补位”多肽)和一个针对人血清白蛋白的免疫球蛋白单可变结构域通过肽接头(如本文所定义的)连接组成,以分别提供本发明的双特异性多肽,其均如本文所描述的。这种蛋白或多肽也可以是基本上分离的形式(如本文所定义的)。

[0142] 在另一个特定的,但是非限制性的方面,本发明的氨基酸序列(例如纳米抗体)或本发明的多肽(例如本发明的二价的、双互补位的或者双特异性的多肽)可以适当地与毒素或与(细胞)毒性残基、结构部分或有效载荷连接(也是以化学方式或通过一个或多个合适的接头或间隔子)。可以与本发明的氨基酸序列或多肽连接以提供-例如-细胞毒性化合物(即基于本发明的氨基酸序列或多肽的抗体药物缀合物或“ADC”)的合适的(细胞)毒性结构部分、化合物、有效载荷或残基的实例对本领域技术人员来说是清楚的。例如参考Ducry和Stump, *Bioconjugate Chem.*, 2010, 21 (1), pp. 5-13的综述。本发明的这种细胞毒性氨基酸序列或多肽特别可以用于/适合于那些要杀死表达本发明的氨基酸序列或多肽针对的靶标的细胞(例如在癌症的治疗中),或减少或减慢这种细胞的生长和/或增殖的应用。通常但不受其限制地,本发明的(细胞)毒性多肽或者不是半衰期延长的,或者仅仅具有限制的和/或严格控制的半衰期延长。

[0143] 在另一个方面,本发明的至少一个氨基酸序列(即针对CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域)可以适当地与至少一个针对CXCR4的免疫球蛋白单可变结构域连接,以提供直接针对CXCR7和CXCR4二者的双特异性多肽。

[0144] 例如,在该方面,本发明的至少一个-例如一个或两个-氨基酸序列可以适当地与至少一个-例如一个或两个-针对CXCR4的免疫球蛋白单可变结构域连接。

[0145] 可以用于这种构建体中的针对CXCR4的免疫球蛋白单可变结构域的一些优选地但非限制性的实例是(或者可以适当地选自):

[0146] -来自Ablynx N.V.的国际申请WO 09/138519的针对CXCR4的免疫球蛋白单可变结构域(特别是纳米抗体之一)(例如但不限于,WO 09/138519的表B-1.1中的238D2/SEQ ID NO:238和238D4/SEQ ID NO:239);和/或

[0147] -在2010年6月25日提交的Ablynx N.V.的未提前公开的美国专利申请61/358,495中描述的氨基酸序列238D2和238D4的序列优化/改进的变体;和/或

[0148] -在2010年10月4日提交的Ablynx N.V.的PCT申请PCT/EP2010/064766中描述的能与238D2和/或238D4的相同表位结合的免疫球蛋白单可变结构域;和/或

[0149] -在2011年1月7日提交的Ablynx N.V.的PCT申请PCT/EP2011/050156第7-13页中描述的10E9-类型的序列,281E10-类型的序列,10E12-类型的序列,10A10-类型的序列,10G10-类型的序列,14A2-类型的序列,15A1-类型的序列,15H3-类型的序列和/或283B6-类型的序列;和/或

[0150] -在2011年1月7日提交的Ablynx N.V.的PCT申请PCT/EP2011/050156第15-47页中描述的10E9-类型的序列,281E10-类型的序列,10E12-类型的序列,10A10-类型的序列,10G10-类型的序列,14A2-类型的序列,15A1-类型的序列,15H3-类型的序列和/或283B6-类型的序列。

[0151] 上述的抗CXCR7/CXCR4双特异性构建体(以及包含本发明的至少一个氨基酸序列的其它双特异性构建体)可以适当地延长半衰期(例如通过聚乙二醇化,与血清白蛋白融合,或者与能够结合血清蛋白如血清白蛋白的多肽或结合单元融合,如本文进一步描述的),因此例如可以另外包含结合血清白蛋白的多肽或结合血清白蛋白的结构域(例如本文所描述的那些),其任选地通过一个或多个适合的间隔子或接头连接。

[0152] 因此,本发明的一个特定的但非限制性的方面是一种多肽,其包含一个或两个(优选一个)针对CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域(如本文所定义的,且优选一个或两个纳米抗体),一个或两个(优选一个)针对CXCR4的免疫球蛋白单可变结构域(如文本所定义的,且优选一个或两个纳米抗体),以及针对(人)血清白蛋白的肽或免疫球蛋白单可变结构域,其任选通过一个或多个适合的间隔子或接头连接。

[0153] 上述的抗CXCR7/CXCR4双特异性构建体(以及包含本发明的至少一个氨基酸序列的其它双特异性构建体)还可以适当地与毒素或与(细胞)毒性残基、结构部分或有效载荷(如本文所进一步描述的)连接(也是以化学方式或通过一个或多个合适的接头或间隔子)。而且,本发明的这种(细胞)毒性双特异性多肽或者不是半衰期延长的,或者仅仅具有限制的和/或严格控制的半衰期延长。

[0154] 本发明在其最广泛的意义上还包含本发明的氨基酸序列(例如纳米抗体)和本发明的多肽的衍生物。这种衍生物通常可以通过对本发明的氨基酸序列(例如纳米抗体)和本

发明的多肽和/或形成本发明的纳米抗体的一个或多个氨基酸残基进行修饰,特别是通过化学和/或生物学(例如,酶学)修饰获得。

[0155] 这种修饰的实例,以及可以以这种方式修饰(即或者在蛋白质骨架上但优选在侧链上)的本发明的氨基酸序列(例如纳米抗体)和多肽中的氨基酸残基的实例,可用于引入这种修饰的方法和技术以及这种修饰的潜在用途和优点对本领域技术人员来说是清楚的。

[0156] 例如,这种修饰可以包括向本发明的氨基酸序列(例如纳米抗体)和本发明的多肽引入(例如通过共价结合或以另一种适合的方式)一个或多个官能基团、残基或结构部分,特别是能赋予本发明的纳米抗体一种或多种所希望的特性或功能性的一个或多个官能基团、残基或结构部分。这种官能基团的实例对于本领域技术人员来说是清楚的。

[0157] 例如,这种修饰可以包括引入(例如通过共价结合或以任何其它适合的方式)增加本发明的纳米抗体的半衰期、溶解性和/或吸收,减少本发明的纳米抗体的免疫原性和/或毒性,消除或减轻本发明的纳米抗体的不希望的副作用,和/或赋予本发明的纳米抗体和/或多肽其它有利的特性和/或减少不希望的特性的一个或多个官能基团;或者前述两个或更多的任何组合。这种官能基团和引入它们的技术的实例对于本领域技术人员来说是清楚的,通常可以包括本文上述引用的一般背景技术中提及的所有官能基团和技术以及其用于修饰药用蛋白,特别是用于修饰抗体或抗体片段(包括ScFv's和单结构域抗体)的本身已知的官能基团和技术,例如参考Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (1980)。这种官能基团例如可以直接与本发明的纳米抗体连接(例如共价地),或者任选地通过适合的接头或间隔子连接,这对于本领域技术人员来说也是清楚的。

[0158] 用于增加药用蛋白的半衰期和/或减少其免疫原性的一种最广泛使用的技术包括与适当的药学可接受的聚合物,例如聚(乙二醇)(PEG)或其衍生物(例如甲氧基聚(乙二醇)或mPEG)连接。通常,可以使用聚乙二醇化的任何适当的形式,例如用于抗体和抗体片段领域(包括但不限于(单)结构域抗体和ScFv's)的聚乙二醇化;例如参考Chapman, Nat. Biotechnol., 54, 531-545 (2002); Veronese和Harris, Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 453-456 (2003), Harris和Chess, Nat. Rev. Drug. Discov., 2, (2003) 和WO 04/060965。用于蛋白质的聚乙二醇化的不同试剂也是可商购的,例如从Nektar Therapeutics, USA获得。

[0159] 优选地,使用定点聚乙二醇化,特别是通过半胱氨酸残基(参见例如Yang等, Protein Engineering, 16, 10, 761-770 (2003))。例如,为此目的,可以将PEG与本发明的纳米抗体中天然存在的半胱氨酸残基连接,可以修饰本发明的纳米抗体以适当地引入用于连接PEG的一个或多个半胱氨酸残基,或者可以将包含一个或多个用于连接PEG的半胱氨酸残基的氨基酸序列与本发明的纳米抗体的N-和/或C-末端融合,所有使用的蛋白质工程技术对于本领域技术人员来说都是本身已知的。

[0160] 优选地,对于本发明的纳米抗体和蛋白,使用分子量大于5000,例如大于10,000且小于200,000,例如小于100,000;例如20,000-80,000范围内的PEG。

[0161] 另一个,通常次优选的修饰包括N-连接的或O-连接的糖基化,通常作为共翻译和/或翻译后修饰的一部分,这取决于用于表达本发明的纳米抗体或多肽的宿主细胞。

[0162] 另一种修饰可以包括引入一个或多个可检测的标记物或其它产生信号的基团或结构部分,这取决于所标记的纳米抗体的预期用途。适合的标记和连接、使用 and 检测它们的

技术对于本领域技术人员来说是清楚的,例如包括但不限于荧光标记、磷光标记、化学发光标记、生物发光标记、放射性同位素、金属、金属螯合物、金属离子、发色团和酶,例如WO 08/020079第109页提及的那些。其它适合的标记对于本领域技术人员来说是清楚的,例如包括可用NMR或ESR光谱检测的结构部分。

[0163] 本发明的这种标记的纳米抗体和多肽例如可以用于体外、体内或原位检测(包括本身已知的免疫检测例如ELISA,RIA,EIA及其它“夹心检测”等)以及体内诊断和成像目的,这取决于特定标记的选择。

[0164] 如本领域技术人员所清楚的,另一种修饰可以包括引入螯合基团,例如螯合上面提到的一种金属或金属离子。适合的螯合基团例如包括但不限于二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)或乙二胺四乙酸(EDTA)。

[0165] 另一种修饰可以包括引入作为特异结合对,例如生物素-(链霉)亲和素结合对的一部分的官能基团。这种官能基团可用于将本发明的纳米抗体与另一种连接所述结合对的另一半的蛋白、多肽或化学化合物,即通过形成结合对连接起来。例如,本发明的纳米抗体可以与生物素缀合,并与另一种缀合亲和素或链霉亲和素的蛋白、多肽、化合物或载体连接。例如,这种缀合的纳米抗体可以用做报道子,例如在其中产生可检测信号的试剂与亲和素或链霉亲和素缀合的诊断系统中。这种结合对还可以例如用于将本发明的纳米抗体与载体,包括适合于制药目的的载体相结合。一种非限制性实例是Cao和Suresh, *Journal of Drug Targetting*, 8, 4, 257 (2000) 描述的脂质体制剂。这种结合对还可以用于将治疗活性剂与本发明的纳米抗体连接。

[0166] 其它可能的化学和酶学修饰对于本领域技术人员来说是清楚的。还可以为研究目的引入这种修饰(例如研究功能-活性关系)。例如参考Lundblad和Bradshaw, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 26, 143-151 (1997)。

[0167] 本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽同样优选基本上由不通过二硫键与任何其它氨基酸序列或链连接的单氨基酸链组成(但是可以包含或不包含一个或多个分子内的二硫键)。例如,已知本发明的试剂-如本文所述的-有时可以包含CDR3和CDR1或FR2之间的二硫键)。但是,应当注意本发明的一个或多个免疫球蛋白单可变结构域可以彼此连接和/或与其它免疫球蛋白单可变结构域连接(例如通过二硫键)以提供也可用于本发明中的肽构建体(例如Fab'片段, F(ab')₂片段, ScFv构建体, “双抗体”及其它多特异性构建体。例如参见Holliger和Hudson, *Nat Biotechnol.* 2005 Sep; 23 (9): 1126-36的综述)。

[0168] 通常,当本发明的氨基酸序列(或包含它的化合物、构建体或多肽)是要给受试者施用(例如为了如本文所述的治疗和/或诊断目的),优选所述受试者中天然不存在氨基酸序列;或者,当所述受试者天然存在其时,其是基本上分离的形式(如本文所定义的)。

[0169] 本领域技术人员也清楚的是,对于制药用途,本发明的免疫球蛋白单可变结构域(以及包它的化合物、构建体和多肽)优选针对人CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1);然而为兽药的目的,本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽优选针对来自所治疗物种的CXCR7,或者至少与来自所治疗物种的CXCR7交叉反应。

[0170] 进一步,本发明的氨基酸序列可以任选地,除了至少一个针对CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合的结合位点之外,还包含一个或多个针对其它抗原、蛋白或靶标结合的其它结合位点。

[0171] 本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽,以及包含它的组合物的功效可以用任何适合的本身已知的体外检测、基于细胞的检测、体内检测和/或动物模型,或其任意组合进行检测,这取决于所涉及的特定疾病或失调。适合的检测和动物模型对于本领域技术人员来说是清楚的,例如包括配体置换检测 (Burns等, *J. Exp. Med.* 2006 4; 203 (9) : 2201-13), β 抑制蛋白募集检测 (Zabel等, *J. Immunol.* 2009 1; 183 (5) : 3204-11), 二聚化检测 (Luker等, *Faseb J.* 2009 23 (3) : 823-34), 信号传导检测 (Wang等, *J. Immunol.* 2009 Sep 1; 183 (5) : 3204-11), 增殖检测 (Wang等, *J. Immunol.* 2009 Sep 1; 183 (5) : 3204-11; Odemis等, *J. Cell. Sign.* 2010年4月1日; 123 (Pt 7) : 1081-8), 存活检测 (Burns等, *J. Exp. Med.* 2006 4; 203 (9) : 2201-13), 细胞粘附检测 (Burns等, *J. Exp. Med.* 2006 4; 203 (9) : 2201-13), 和跨内皮迁移检测 (Mazzeinghi等, *J. Exp. Med.* 2008 Feb 18; 205 (2) : 479-90), 内皮细胞萌芽检测 (Wang等, *J. Immunol.* 2009 Sep 1; 183 (5) : 3204-11), 成肌分化 (Melchionna等, *Muscle Nerve*, 2010 Feb 11) 和体内异种移植模型 (Burns等, *J. Exp. Med.* 2006 4; 203 (9) : 2201-13), 胶原诱导的关节炎模型 (Hegen等, *Ann Rheum Dis.* 2008 Nov; 67 (11) : 1505-15) 和实验性自身免疫脑脊髓炎模型 (Wekerle, *Ann Rheum Dis.* 2008 Dec; 67 Suppl 3: iii56-60) 以及以下的实验部分中和本文引用的现有技术中所使用的检测和动物模型。

[0172] 而且,根据本发明,针对来自第一物种的温血动物的CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域和多肽可以表现出或不表现出与来自于一种或多种其它物种的温血动物的CXCR7的交叉反应性。例如,针对人CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的免疫球蛋白单可变结构域和多肽可以表现出或不表现出与来自于一种或多种其它灵长类物种 (例如但不限于,猕猴属 (*Macaca*) 的猴 (例如以及特别是食蟹猴 (*Macaca fascicularis*) 和/或猕猴 (*Macaca mulatta*) 和狒狒 (*Papio ursinus*)) 的CXCR7和/或与来自于一种或多种经常用于疾病动物模型中的动物物种 (例如小鼠、大鼠、兔、猪或狗), 特别是与CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 相关的疾病和失调的动物模型中动物物种 (例如本文提及的物种和动物模型) 的CXCR7的交叉反应性。在这一方面,本领域技术人员清楚这种交叉反应性,当存在时,从药物开发的角度来说是有利的,因为它使得可以在这种疾病模型中检测针对人CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的免疫球蛋白单可变结构域和多肽 (参见例如实施例12)。

[0173] 更通常地,与来自多个哺乳动物物种的CXCR7交叉反应的本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽通常对于在兽药中的应用是有利的,因为它使得同样的氨基酸序列或多肽可以跨多个物种使用。因此,也包含在本发明范围内的是,直接针对来自一个动物物种的CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域和多肽 (例如针对人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的免疫球蛋白单可变结构域和多肽) 可以用于治疗另一个物种的动物,只要所述免疫球蛋白单可变结构域和/或多肽的使用在要治疗的物种中提供了所希望的效果。

[0174] 本发明在其最广泛的意义上也不特别受到本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽针对的CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的特定抗原决定簇、表位、部分、结构域、亚单位或构象 (confirmation) (在适用的情况下) 的限制或由其限定。例如,免疫球蛋白单可变结构域和多肽可以针对或不针对CXCL11/CXCL12相互作用位点和/或CXCR7/CXCR7同二聚体位点和/或CXCR4/CXCR7异二聚体位点 (或CXCR7与其它趋化因子受体如CXCR3的异二聚体), 如本文进一步定义的。

[0175] 如本文进一步所述的,本发明的多肽可以包含两个或更多个针对CXCR7、特别是人

CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的本发明的免疫球蛋白单可变结构域。通常,这种多肽与本发明的单氨基酸序列相比以增加的抗体亲抗原性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1)。这种多肽可以例如包含两个针对CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的相同抗原决定簇、表位、部分、结构域、亚单位或构象(在适用的情况下)(其可以是或不是相互作用位点)的本发明的免疫球蛋白单可变结构域;或者包含至少一个针对CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的第一相同抗原决定簇、表位、部分、结构域、亚单位或构象(在适用的情况下)(其可以是或不是相互作用位点)的本发明的“第一”氨基酸序列,例如第1组表位;以及至少一个针对与第一不同的第二抗原决定簇、表位、部分、结构域、亚单位或构象(在适用的情况下)(其也可以是或不是相互作用位点)的本发明的“第二”氨基酸序列,例如第2组表位。优选地,在本发明的这样的“双互补位”多肽中,本发明的至少一个氨基酸序列针对相互作用位点(如本文所定义的),尽管本发明在其最广泛的意义上不限于此。例如,本发明的多肽可以是例如双互补位的形式,以组合实验部分所表征的针对不同表位的单价结构单元(参见实施例9-17)。虽然“二价”多肽的单个免疫球蛋白单可变结构域的结合常数,例如缔合常数和解离常数,完全优于“双互补位”多肽的单个免疫球蛋白单可变结构域的结合常数,但是本发明完全出人意料地证明本发明的“双互补位”多肽在生物检测例如 β -抑制蛋白检测中比“二价”多肽更有效。

[0176] 而且,当靶标是结合对(例如受体-配体结合对)的一部分时,免疫球蛋白单可变结构域和多肽可以是这样的,它们与关联结合配偶体,例如CXCL11(也称为I-TAC)和/或CXCL12(也称为SDF-1)竞争结合CXCR7,和/或它们(完全或部分地)中和结合配偶体与靶标的结合。

[0177] 还预期本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽通常可以与CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的所有天然存在的或合成的类似物、变体、突变体、等位基因、部分和片段结合;或者至少与包含一个或多个与本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽与CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合的抗原决定簇或表位基本上相同的抗原决定簇或表位的CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的那些类似物、变体、突变体、等位基因、部分和片段结合。而且,在这种情况下,本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽可以与这些类似物、变体、突变体、等位基因、部分和片段以与本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽与(野生型)CXCR7结合的亲和力和特异性相同或不同(即高于或低于)的亲和力和/或特异性结合。

[0178] 由于CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 以单体形式以及以一种或多种多聚体形式,例如同二聚形式以及与CXCR4如人CXCR4的异二聚形式存在(RM Maksym等,上文;KE Luker等,上文),所以包含在本发明范围内的是,本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽 i) 仅与单体形式的CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合, ii) 仅与多聚体/二聚体(同-和/或异二聚体)形式的CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合,或 iii) 与单体和多聚体形式均结合。在本发明的优选的方面,本发明的多肽防止同二聚人CXCR7复合物和/或异二聚人CXCR4/CXCR7复合物的形成。在本发明的另一个优选的方面,本发明的多肽不诱导(即使在高浓度,例如10nM以下,50nM以下,100nM以下,或500nM以下的条件下)同二聚人CXCR7复合物和/或异二聚人CXCR4/CXCR7复合物的形成。而且,在这种情况下,本发明的多肽可以与单体形式以与本发明的免疫球蛋白单可变结构域与多聚体形式结合的亲和力和特异性

相同或不同(即高于或低于)的亲合力和/或特异性结合。

[0179] 而且,当CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)可与其它蛋白或多肽缔合以形成蛋白复合物(例如与CXCL12/SDF-1或CXCL11/I-TAC)时,包含在本发明范围内的是,本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽与CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)以其非缔合状态结合(例如防止配体结合),与CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)以其缔合状态结合,或者与二者结合(优选与非缔合状态结合)。在所有这些情况下,本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽可以与这样的缔合蛋白复合物以与本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽与非缔合状态的CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)结合的亲合力和/或特异性相同或不同(即高于或低于)的亲合力和/或特异性结合。

[0180] 而且,如本领域技术人员清楚的,包含两个或更多个针对CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)的免疫球蛋白单可变结构域的蛋白或多肽与相应的单体氨基酸序列相比可以以更高的抗体亲抗原性与CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)结合。例如但不受其限制地,包含两个或更多个针对CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)的不同表位的免疫球蛋白单可变结构域的蛋白或多肽与不同单体中的每一个相比可以(通常会)以更高的抗体亲抗原性结合,包含两个或更多个针对CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)的免疫球蛋白单可变结构域的蛋白或多肽也可以(通常会)以更高的抗体亲抗原性与CXCR7的多聚体(例如同二聚体,与CXCR4的异二聚体),特别是与人CXCR7(SEQ ID NO:1)的多聚体(例如同二聚体,与CXCR4的异二聚体)结合。

[0181] 通常,本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽至少与从生物的和/或治疗的角度考虑最相关的CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)的那些形式(包括单体,多聚体,缔合的和不同的构象形式)结合,其对于本领域技术人员来说是清楚的。

[0182] 也在本发明范围内的是使用本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽的部分、片段、类似物、突变体、变体、等位基因和/或衍生物,和/或使用包含一个或多个这些部分、片段、类似物、突变体、变体、等位基因和/或衍生物或基本上由其组成的蛋白或多肽,只要它们适合于本文所预期的用途。这些部分、片段、类似物、突变体、变体、等位基因和/或衍生物通常包含(至少部分)针对CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)结合的功能性抗原结合位点;更优选能够特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1),更加优选能够以与结合、迁移、置换和/或增殖阻断和/或其它功效的测量相关的本文定义的EC₅₀值、平均K_i, IC₅₀值,例如本文实验部分中进一步所描述的,结合CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1),而且这些部分、片段、类似物、突变体、变体、等位基因和/或衍生物可以更有效,更稳定,更可溶以及可以具有相同的表位。这些部分、片段、类似物、突变体、变体、等位基因、衍生物、蛋白和/或多肽的一些非限制性实例通过本文的进一步描述将会变得清楚。还可以通过适当地将一个或多个本文所述的(较小的)部分或片段组合(即通过连接或基因融合)提供本发明的其它的片段或多肽。

[0183] 对于免疫球蛋白单可变结构域的一般说明,参考以下的进一步描述,以及本文所引用的现有技术。然而在这方面,应当注意,本说明书和现有技术主要描述了所谓的“V_H3类”的免疫球蛋白单可变结构域(即与V_H3类的人生殖系序列,例如DP-47, DP-51或DP-29具有高度序列同源性的免疫球蛋白单可变结构域),其形成了本发明的优选方面。然而应当注意,本发明在其最广泛的意义上通常包括针对CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)的任何

类型的免疫球蛋白单可变结构域,以及例如还包括属于所谓的“V_H4类”的免疫球蛋白单可变结构域(即与V_H4类的人生殖系序列例如DP-78具有高度序列同源性的免疫球蛋白单可变结构域),例如WO07/118670中所描述的。

[0184] 通常,免疫球蛋白单可变结构域(特别是V_{HH}序列和序列优化的免疫球蛋白单可变结构域)可以特别表征为在一个或多个构架序列(也如本文进一步描述的)中存在一个或多个“标志(Hallmark)残基”(如本文所述的)。

[0185] 因此,通常,免疫球蛋白单可变结构域可以定义为具有(通用)结构的氨基酸序列

[0186] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4

[0187] 其中FR1-FR4分别指构架区1-4,其中CDR1-CDR3分别指互补决定区1-3。

[0188] 在优选的方面,本发明提供了包含至少一个免疫球蛋白单可变结构域的多肽,其是具有(通用)结构的氨基酸序列

[0189] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4

[0190] 其中FR1-FR4分别指构架区1-4,其中CDR1-CDR3分别指互补决定区1-3,且其中:

[0191] i) 根据Kabat编号的位置11,37,44,45,47,83,84,103,104和108的氨基酸残基的至少一个选自下表A-1中提及的标志残基;和/或其中:

[0192] ii) 所述氨基酸序列与WO 2009/138519中显示的免疫球蛋白单可变结构域的至少一个(参见WO 2009/138519中的SEQ ID NOs:1-125)具有至少80%,更优选90%,更加优选95%的氨基酸同一性,其中为了确定氨基酸同一性程度的目的,忽略形成CDR序列的氨基酸残基(在序列中用X表示);和/或其中:

[0193] iii) CDR序列通常如本文进一步定义的(例如表B-2提供的组合中的CDR1,CDR2和CDR3,应注意CDR的定义是根据Kabat编号系统计算的);和/或其中:

[0194] iv) FR序列通常如本文进一步定义的,例如表B-2提供的组合中的FR1,FR2,FR3和FR4,和/或分别与表B-2中提供的FRs的FR1,FR2,FR3和FR4(其中FR的定义是根据Kabat编号系统计算的)的至少一个有至少80%,更优选90%,更加优选95%的氨基酸同一性的FR1,FR2,FR3和FR4。

[0195] 表A-1:VHHs中的标志残基

[0196]

位置	人 V _H 3	标志残基
11	L, V; 主要是 L	L, S, V, M, W, F, T, Q, E, A, R, G, K, Y, N, P, I; 优选 L
37	V, I, F; 通常是 V	F ⁽¹⁾ , Y, V, L, A, H, S, I, W, C, N, G, D, T, P; 优选 F ⁽¹⁾ 或 Y
44 ⁽⁸⁾	G	E ⁽³⁾ , Q ⁽³⁾ , G ⁽²⁾ , D, A, K, R, L, P, S, V, H, T, N, W, M, I; 优选 G ⁽²⁾ , E ⁽³⁾ 或 Q ⁽³⁾ ; 最优选 G ⁽²⁾ 或 Q ⁽³⁾
45 ⁽⁸⁾	L	L ⁽²⁾ , R ⁽³⁾ , P, H, F, G, Q, S, E, T, Y, C, I, D, V; 优选 L ⁽²⁾ 或 R ⁽³⁾
47 ⁽⁸⁾	W, Y	F ⁽¹⁾ , L ⁽¹⁾ 或 W ⁽²⁾ G, I, S, A, V, M, R, Y, E, P, T, C, H, K, Q, N, D; 优选 W ⁽²⁾ , L ⁽¹⁾ 或 F ⁽¹⁾
83	R 或 K; 通常是 R	R, K ⁽⁵⁾ , T, E ⁽⁵⁾ , Q, N, S, I, V, G, M, L, A, D, Y, H; 优选 K 或 R; 最优选 K
84	A, T, D; 主要是 A	P ⁽⁵⁾ , S, H, L, A, V, I, T, F, D, R, Y, N, Q, G, E; 优选 P
103	W	W ⁽⁴⁾ , R ⁽⁶⁾ , G, S, K, A, M, Y, L, F, T, N, V, Q, P ⁽⁶⁾ , E, C; 优选 W
104	G	G, A, S, T, D, P, N, E, C, L; 优选 G
108	L, M 或 T; 主要是 L	Q, L ⁽⁷⁾ , R, P, E, K, S, T, M, A, H; 优选 Q 或 L ⁽⁷⁾

[0197]

- (1) 特别地, 但不仅限于, 与位置 43-46 的 KERE 或 KQRE 组合。
- (2) 通常在 44-47 位为 GLEW。
- (3) 通常在 43-46 位为 KERE 或 KQRE, 例如在 43-47 位为 KEREL, KEREF, KQREL, KQREF, KEREG, KQREW 或 KQREG。或者, 序列例如 TERE (例如 TEREL), TQRE (例如 TQREL), KECE (例如 KECER 或 KECER), KQCE (例如 KQCEL), RERE (例如 REREG), RQRE (例如 RQREL, RQREF 或 RQREW), QERE (例如 QEREG), QQRE, (例如 QQREW, QQREL 或 QQREF), KGRE (例如 KGREG), KDRE (例如 KDREV)也是可能的。一些其它的可能的, 但是次优选的序列包括例如 DECKL 和 NVCEL。
- (4) 在 44-47 位为 GLEW 以及在 43-46 位为 KERE 或 KQRE。
- (5) 通常在天然存在的 V_{HH} 结构域的 83-84 位为 KP 或 EP。
- (6) 特别地, 但不仅限于与位置 44-47 的 GLEW 组合。
- (7) 附加条件为在还包含 103 位的 W 的(非人源化的) V_{HH} 结构域中, 当位置 44-47 为 GLEW 时, 位置 108 总是 Q。
- (8) GLEW 组还包含位置 44-47 的 GLEW-样序列, 例如 GVEW, EPEW, GLER, DQEW, DLEW, GIEW, ELEW, GPEW, EWLP, GPER, GLER 和 ELEW。

[0198] 而且, 这样的免疫球蛋白单可变结构域可以以任何适当的方式来自于任何适当的来源, 例如可以是天然存在的 V_{HH} 序列(即来自于适合的骆驼科动物种属, 例如美洲驼)或者合成的或半合成的VHs或VLs(例如来自于人)。这种免疫球蛋白单可变结构域可以包括通过例如亲和力成熟(例如由合成的、随机的或天然存在的免疫球蛋白序列开始)、CDR移植、镶嵌、组合来源于不同免疫球蛋白序列的片段、使用重叠引物进行PCR装配、以及本领域技术人员熟知的改造的免疫球蛋白序列的类似技术改变的“人源化的”或者其它“序列优化的”VHHs, “骆驼源化的”免疫球蛋白序列(特别是骆驼源化的重链可变结构域序列, 即骆驼源化的VHs), 以及人VHs, 人VLs, 骆驼科动物的VHHs; 或者前述任一种的任何适当的组合, 如本文进一步描述的。

[0199] 在更优选的方面, 本发明提供了包含一个氨基酸序列选自SEQ ID NOs: 39-43和91以及99-102(参见表B-3)的氨基酸序列组成的组的免疫球蛋白单可变结构域和一个氨基酸序列选自提供增加的半衰期的结构部分(见下文)组成的组的免疫球蛋白单可变结构域的多肽。

[0200] 在更优选的方面, 本发明提供了包含至少一个氨基酸序列选自基本上由4个构架区(分别为FR1-FR4)和3个互补决定区(分别为CDR1-CDR3)组成的氨基酸序列组成的组的

免疫球蛋白单可变结构域的多肽,其中所述氨基酸序列的CDR序列与SEQ ID NOs:39-43和91以及99-102(参见表B-2和B-3)的免疫球蛋白单可变结构域的至少一个的CDR序列具有至少70%的氨基酸同一性,优选至少80%的氨基酸同一性,更优选至少90%的氨基酸同一性例如95%的氨基酸同一性或更高或甚至基本上100%的氨基酸同一性。该氨基酸同一性的程度可以例如通过测定所述氨基酸序列与SEQ ID NOs:39-43和91以及99-102(参见表B-2和B-3)的一个或多个序列之间的氨基酸同一性的程度(以本文描述的方式)来确定,其中忽略形成构架区的氨基酸残基。本发明的这些多肽和/或免疫球蛋白单可变结构域可以进一步提供以下各项:

[0201] 1. 多肽,其包含至少一个针对(如本文所定义的)CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)的且与SEQ ID NOs:39-43和91以及99-102(参见表B-3)的免疫球蛋白单可变结构域的至少一个具有至少80%,优选至少85%,例如90%或95%或更高序列同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0202] 2. 多肽,其包含至少一个针对(如本文所定义的)CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)的并且交叉阻断(如本文所定义的)SEQ ID NOs:39-43和91以及99-102(参见表B-3)的免疫球蛋白单可变结构域的至少一个与CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)的结合的和/或与SEQ ID NOs:39-43和91以及99-102(参见表B-3)的免疫球蛋白单可变结构域的至少一个竞争结合CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)的免疫球蛋白单可变结构域;以及

[0203] 3. 其免疫球蛋白单可变结构域可以是如本文进一步所述;以及包含一个或多个这种免疫球蛋白单可变结构域的多肽(其可以是如本文进一步描述的,且可以例如是本文所述的双特异性的(即还与血清白蛋白结合)和/或双互补位的多肽),和编码这种免疫球蛋白单可变结构域和多肽的核酸序列。这种免疫球蛋白单可变结构域和多肽不包括任何天然存在的配体。

[0204] 本发明的多肽包含至少一个本发明的免疫球蛋白单可变结构域或基本由其组成。本发明的免疫球蛋白单可变结构域的一些优选的但非限制性的实例在SEQ ID NOs:39-43和91以及99-102中给出(参见表B-3)。

[0205] 1.2. 增加半衰期的结合血清白蛋白的结构单元或其它结构单元

[0206] 在另一方面,本发明涉及一种化合物或构建体,特别是包含一个或多个(优选一个)针对人CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域(或其适合的片段)或基本上由其组成,以及任选地另外包含一个或多个其它基团、残基、结构部分或结合单元的蛋白或多肽(分别也称为“本发明的化合物”或“本发明的多肽”)。如通过本文的进一步公开对本领域技术人员来说变得清楚的那样,这种另外的基团、残基、结构部分、结合单元或免疫球蛋白单可变结构域可以为或不为本发明的氨基酸序列(和/或为它们存在其中的化合物或构建体)提供另外的功能,并且可以改变或不改变本发明的氨基酸序列的特性。

[0207] 如通过上述和本文的进一步描述变得清楚的那样,这意味着本发明的免疫球蛋白单可变结构域可以用做“结构单元”以形成本发明的多肽,即通过适当地将它们与其它基团、残基、结构部分或结合单元组合,以形成本文所述的化合物或构建体(例如但不限于本文所描述的本发明的双互补位的、二/多价的和双/多特异性的多肽),其在一个分子内组合了一种或多种所希望的特性或生物学功能。

[0208] 本发明的化合物或多肽通常可以通过下述方法制备:其包含至少一个将一个或多

个本发明的免疫球蛋白单可变结构域与一个或多个另外的基团、残基、结构部分或结合单元任选地通过一个或多个适合的接头适当地连接的步骤,以提供本发明的化合物或多肽。本发明的多肽还可以通过下述方法制备:其通常包括提供编码本发明的多肽的核酸,以适当的方式表达所述核酸,回收表达的本发明的多肽的步骤。这种方法可以以本身已知的方式实施,其对于本领域技术人员来说是清楚的,例如基于在本文进一步描述的方法和技术。

[0209] 由本发明的氨基酸序列开始,设计/选择和/或制备本发明的化合物或多肽的工艺在本文中也称为本发明的所述氨基酸序列的“格式化”;作为本发明的化合物或多肽的一部分的本发明的氨基酸被称为“格式化的”或“格式形式的”本发明的所述化合物或多肽。本发明的氨基酸序列格式化方式的实例以及这种格式的实例在本文公开的基础上对本领域技术人员来说是清楚的;这种格式化的免疫球蛋白单可变结构域形成本发明的另一个方面。

[0210] 例如,这种另外的基团、残基、结构部分或结合单元可以是一个或多个另外的免疫球蛋白单可变结构域,这样所述化合物或构建体是(融合)蛋白或(融合)多肽。在优选的但是非限制性的方面,所述一个或多个其它基团、残基、结构部分或结合单元是免疫球蛋白序列。更优选地,所述一个或多个其它基团、残基、结构部分或结合单元选自自由结构域抗体、适合用作结构域抗体的免疫球蛋白单可变结构域、单结构域抗体、适合用作单结构域抗体的免疫球蛋白单可变结构域、“dAb's”、适合用作dAb的免疫球蛋白单可变结构域、或纳米抗体组成的组。或者,这种基团、残基、结构部分或结合单元可以例如是化学基团、残基、结构部分,其本身可以具有或不具有生物学和/或药理学活性。例如但不受其限制地,这种基团可以与一个或多个本发明的免疫球蛋白单可变结构域连接以提供本发明的氨基酸序列或多肽的“衍生物”,如本文进一步描述的。

[0211] 包含一个或多个本文描述的衍生物或基本上由其组成,并且任选地进一步包含一个或多个任选地通过一个或多个接头连接的其它基团、残基、结构部分或结合单元的化合物或构建体也在本发明的范围内。优选地,所述一个或多个其它基团、残基、结构部分或结合单元是免疫球蛋白单可变结构域。在上述的化合物或构建体中,本发明的一个或多个免疫球蛋白单可变结构域和一个或多个基团、残基、结构部分或结合单元可以直接彼此连接和/或通过一个或多个适合的接头或间隔子连接。例如,当一个或多个基团、残基、结构部分或结合单元是免疫球蛋白单可变结构域时,接头也可以是免疫球蛋白单可变结构域,以使获得的化合物或构建体是融合(蛋白)或融合(多肽)。

[0212] 在本发明的一个特定的但非限制性的方面中,其将在本文中进一步描述,本发明的多肽与作为其来源的免疫球蛋白单可变结构域相比在血清中具有增加的半衰期(如本文进一步描述的)。例如,本发明的免疫球蛋白单可变结构域可以与一个或多个延长半衰期的基团或结构部分(例如PEG)连接(以化学方式或其它方式),以提供具有增加的半衰期的本发明的氨基酸序列的衍生物。

[0213] 在本发明的一个特定方面,本发明的化合物或本发明的多肽与本发明的相应氨基酸序列相比可以具有增加的半衰期。这种化合物和多肽的一些优选的但是非限制性的实例在本文进一步公开的基础上对本领域技术人员来说将会变得清楚,例如包括已经进行化学修饰以增加其半衰期(例如通过聚乙二醇化)的本发明的免疫球蛋白单可变结构域或多肽;包含至少一个用于结合血清蛋白(例如血清白蛋白)的额外的结合位点的本发明的免疫球

蛋白单可变结构域;或者包含至少一个与增加本发明氨基酸序列半衰期的结构部分(特别是至少一个氨基酸序列)连接的本发明的氨基酸序列的本发明的多肽。包含这种延长半衰期的结构部分或免疫球蛋白单可变结构域的本发明的多肽的实例在本文进一步公开的基础上对本领域技术人员来说将会变得清楚;例如包括但不限于其中本发明的一个或多个免疫球蛋白单可变结构域适当地与一个或多个血清蛋白或其片段(例如(人)血清白蛋白或其适合的片段)或与一个或多个能结合血清蛋白的结合单元(例如能结合血清蛋白例如血清白蛋白(例如人血清白蛋白)、血清免疫球蛋白例如IgG、或转铁蛋白的结构域抗体、适合用作结构域抗体的免疫球蛋白单可变结构域、单结构域抗体、适合用作单结构域抗体的免疫球蛋白单可变结构域、“dAb’s”、适合用作dAb的免疫球蛋白单可变结构域、或纳米抗体;参考本文的进一步描述和所提及的参考文献)连接的多肽;其中本发明的氨基酸序列与Fc部分(例如人Fc)或其适合的部分或片段连接的多肽;或其中本发明的一个或多个免疫球蛋白单可变结构域适当地与一个或多个能结合血清蛋白的小蛋白或肽(例如但不限于WO 91/01743,WO 01/45746,WO 02/076489,WO2008/068280,WO2009/127691中描述的蛋白和肽)连接的多肽。

[0214] 通常,具有增加的半衰期的本发明的化合物或多肽的半衰期优选是本发明的相应氨基酸序列本身的半衰期的至少1.5倍,优选至少2倍,例如至少5倍,例如至少10倍或大于20倍。例如,具有增加的半衰期的本发明的化合物或多肽例如在人中可以具有比本发明的相应氨基酸序列本身增加大于1小时,优选大于2小时,更优选大于6小时,例如大于12小时,或者甚至大于24,48或72小时的半衰期。

[0215] 在本发明的优选的但是非限制性的方面,本发明的这种化合物或多肽例如在人中具有比本发明的相应氨基酸序列本身增加大于1小时,优选大于2小时,更优选大于6小时,例如大于12小时,或者甚至大于24,48或72小时的血清半衰期。

[0216] 在本发明的另一个优选的但是非限制性的方面,本发明的这种化合物或多肽表现出在人中至少约12小时,优选至少24小时,更优选至少48小时,更优选至少72小时或更长的血清半衰期。例如,本发明的化合物或多肽可以具有至少5天(例如约5-10天),优选至少9天(例如约9-14天),更优选至少约10天(例如约10-15天),或者至少约11天(例如约11-16天),更优选至少约12天(例如约12-18天或更长),或者大于14天(例如约14-19天)的半衰期。

[0217] 在本发明的特别优选但是非限制性的方面,本发明提供了包含i)一个本文所述的结合CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域;以及ii)一个或多个(优选一个)本文所述的结合血清白蛋白的免疫球蛋白单可变结构域的本发明的多肽。

[0218] 在另一个优选的方面,本发明提供了包含i)一个或多个本文所述的结合CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域;和ii)一个或多个(优选一个)SEQ ID NO:2(表B-1)的结合血清白蛋白的免疫球蛋白单可变结构域的本发明的多肽。

[0219] 在另一个优选的方面,本发明提供了包含i)一个或多个本文所述的结合CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域;和ii)一个或多个(优选一个)具有SEQ ID NO:2的CDRs(根据Kabat编号定义)(表B-2,B-1)的结合血清白蛋白的免疫球蛋白单可变结构域的本发明的多肽。

[0220] 因此,例如,进一步参考WO2008/068280(因此以引用的方式被合并)的实验部分以及进一步描述,其中进一步描述了SEQ ID NO:2的细节以及例如公开了包含所述序列的免

疫球蛋白单可变结构域构建体在猕猴中的半衰期。

[0221] 通常,包含单个免疫球蛋白单可变结构域或基本由其组成的蛋白或多肽在本文中被称为“单价”蛋白或多肽或“单价构建体”。包含两个或更多个免疫球蛋白单可变结构域(例如至少两个本发明的免疫球蛋白单可变结构域或者至少一个本发明的免疫球蛋白单可变结构域和至少一个其它免疫球蛋白单可变结构域)或基本由其组成的蛋白和多肽在本文中被称为“多价”蛋白或多肽或“多价构建体”,并且这些与相应的本发明的单价免疫球蛋白单可变结构域相比能够提供特定的优点。这种多价构建体的一些非限制性的实例通过本文的进一步描述将会变得清楚。

[0222] 根据另一个特定的但是非限制性的方面,本发明的多肽包含至少一个本发明的免疫球蛋白单可变结构域和至少一个其它结合单元(即直接针对另一个表位、抗原、靶、蛋白或多肽),其优选也是免疫球蛋白单可变结构域,或基本上由它们组成。这种蛋白或多肽在本文中也称为“多特异性”蛋白或多肽或称为“多特异性构建体”,这些可以包含两个本发明的免疫球蛋白单可变结构域,例如一个针对CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域和一个针对血清白蛋白的免疫球蛋白单可变结构域。这种多特异性构建体在本文公开的基础上对本领域技术人员来说将会是清楚的;这种多特异性免疫球蛋白单可变结构域的一些优选的但非限制性的实例是SEQ ID NOs:44-48,80-81,83-85和88-89以及131-140(参见表B-4)的构建体,以及克隆009,013,018-029,031-038,044,046,048-053,055-058,060,061,063,065,068,069,072,081-086和093(表B-12至B-14)。

[0223] 根据另一个特定的但是非限制性的方面,本发明的多肽包含至少一个本发明的免疫球蛋白单可变结构域,任选地一个或多个另外的免疫球蛋白单可变结构域,以及至少一个给本发明的免疫球蛋白单可变结构域和/或获得的融合蛋白带来至少一种所希望的特性的其它氨基酸序列(例如蛋白或多肽),或基本由其组成。而且,这种融合蛋白与相应的本发明的单价免疫球蛋白单可变结构域相比能提供特定的优点,例如可以提供增加的半衰期。

[0224] 在上述构建体中,一个或多个免疫球蛋白单可变结构域和/或其它免疫球蛋白单可变结构域可以直接彼此连接和/或通过一个或多个接头序列适当地彼此连接。这种接头的一些适合的但是非限制性的实例通过本文的进一步描述将会变得清楚。

[0225] 在一个实施方案中,连接免疫球蛋白单可变结构域的接头序列是SEQ ID NOs:49-58-参见表B-5,或两者的组合,或如本领域所知道的。

[0226] 根据另一个特定的但是非限制性的方面,本发明的多肽可以例如选自由与SEQ ID NOs:39-43和91以及99-102(参见表B-3)的免疫球蛋白单可变结构域的一个或多个具有大于80%、优选大于90%、更优选大于95%、例如99%或以上的“序列同一性”(如本文所定义的)的免疫球蛋白单可变结构域组成的组,其中所述多肽优选如本文进一步定义的,即优选格式的一个针对CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域和一个针对血清白蛋白的免疫球蛋白单可变结构域。

[0227] 根据另一个特定的但是非限制性的方面,本发明的多肽可以例如选自由与SEQ ID NOs:44-48(参见表B-4)的多肽中的一个或多个具有大于80%、优选大于90%、更优选大于95%、例如99%或以上的“序列同一性”(如本文所定义的)的多肽组成的组。本发明的双互补位的和双特异性的多肽的一些举例性的非限制性的实例在SEQ ID NOs:78-89以及SEQ ID NOs:131-140,或克隆009,013,018-029,031-038,044,046,048-053,055-058,060,061,

063,065,068,069,072,081-086和093(表B-12至B-14)中给出。

[0228] 1.3. 本发明的组合物

[0229] 通常,为制药的目的,本发明的多肽可以配制成包含至少一个本发明的多肽和至少一种药学可接受的载体、稀释剂或赋形剂和/或辅药,以及任选的一种或多种其它的药学活性多肽和/或化合物的药物制剂或组合物。通过非限制性的实例,这种制剂可以是适合于口服给药,肠胃外给药(例如通过静脉、肌肉内或皮下注射或静脉输注),局部给药,通过吸入、皮肤贴、植入物、栓剂给药等的形式,其中优选肠胃外给药。这种合适的给药形式-其可以是固体、半固体或液体,取决于给药的方式-以及用于制备它的方法和载体,对本领域技术人员来说是清楚的,并且在本文中进一步描述。这种药物制剂或组合物通常在本文中被称为“药物组合物”。用于非人生物体中的药物制剂或组合物通常在本文中被称为“兽药组合物”。

[0230] 因此,在另一个方面,本发明涉及包含至少一个本发明的氨基酸,至少一个本发明的多肽或至少一个本发明的多肽和至少一种适合的载体、稀释剂或赋形剂(即适合于制药用途的),以及任选的一种或多种其它活性物质的药物组合物。

[0231] 通常,本发明的多肽可以以本身已知的任何适合的方式配制和给药。例如参考上述引用的一般背景技术(特别是WO 04/041862,WO 04/041863,WO 04/041865,WO 04/041867和WO 08/020079)以及标准手册,例如Remington's Pharmaceutical Sciences,18th Ed.,Mack Publishing Company,USA(1990),Remington,the Science and Practice of Pharmacy,21th Edition,Lippincott Williams和Wilkins(2005);或Handbook of Therapeutic Antibodies(S.Dubel,Ed.),Wiley,Weinheim,2007(例如参考252-255页)。

[0232] 本发明的多肽可以以用于常规抗体和抗体片段(包括ScFv's和双抗体)及其它药物活性蛋白的本身已知的任何适合的方式配制和给药。制备它的这些配方和方法对本领域技术人员来说是清楚的,例如包括适合于肠胃外给药(例如静脉内、腹膜内、皮下、肌肉内、腔内、动脉内或鞘内给药)或适合于局部(即透皮或皮内)给药的制剂。

[0233] 用于肠胃外给药的制剂可以是例如适合于输注或注射的无菌溶液剂、混悬剂、分散液或乳剂。用于这种制剂的适合的载体或稀释剂例如包括但不限于WO 08/020079第143页提及的那些。在一个实施方案中,所述制剂是水溶液或混悬剂。

[0234] 本发明的多肽可以用基因治疗递送方法给药,参见例如美国专利No.5,399,346,其基因治疗递送方法通过引用的方式被合并。通过使用基因治疗递送方法,用编码本发明的氨基酸序列、多肽的基因转染的原代细胞可以另外用组织特异性启动子转染以靶向特定器官、组织、移植物、肿瘤、或细胞,且可以另外用于亚细胞局部表达的信号和稳定化序列转染。

[0235] 因此,本发明的多肽可以与药学可接受的载体例如惰性稀释剂或可吸收的可食用载体组合进行系统性给药,例如口服。它们可以被包封在硬壳或软壳的明胶胶囊中,可以被压缩成片剂,或者可以直接掺入患者饮食的食物中。对于口服治疗剂给药,本发明的多肽可以与一种或多种赋形剂组合,以可摄取的片剂、口含片、锭剂、胶囊、酏剂、混悬剂、糖浆、薄片等的形式使用。这种组合物和制剂应当包含至少0.1%的本发明的多肽。它们在组合物和制剂中的百分比,当然,可以不同且可以方便地为给定单位剂型重量的约2至约60%之间。在这种有治疗作用的组合物中本发明的多肽的量使得能够获得有效的剂量水平。

[0236] 对于肿瘤切除位点的局部给药,本发明的多肽可以用在生物可降解的聚合物药物递送系统、缓慢释放的聚乳酸乙醇酸共聚物制剂等中(Hart等,Cochrane Database Syst Rev.2008Jul 16;(3):CD007294)。

[0237] 在本发明的另一个优选方面,本发明的多肽,例如基本上由一个单价抗人CXCR7免疫球蛋白单可变结构域和一个单价抗人血清白蛋白单可变结构域通过GS接头连接组成的多肽,与常规的抗体例如IgG相比可以在实体肿瘤中具有有利的分布和动力学特性。

[0238] 片剂、锭剂、丸剂、胶囊等还可以包含粘合剂、赋形剂、崩解剂、润滑剂和甜味剂或矫味剂,例如WO 08/020079第143-144页提及的那些。当单位剂型是胶囊时,除了上述类型的物质之外,其还可以包含液体载体,例如植物油或聚乙二醇。各种其它物质可以作为涂层存在或者以另外方式改变固体单位剂型的物理形式。例如,片剂、丸剂或胶囊可以用明胶、蜡、虫胶或糖等包衣。糖浆或酏剂可以包含本发明的多肽,作为甜味剂的蔗糖或果糖,作为防腐剂的羟苯甲酸甲酯或羟苯甲酸丙酯,染料和矫味剂例如樱桃或橙子香精。当然,用于制备任何单位剂型的任何物质应当是药学可接受的并且在其使用量上是基本上无毒的。此外,本发明的多肽可以结合到持续释放制剂和装置中。

[0239] 口服给药的制剂和剂型还可以具有肠溶包衣,其使得本发明的构建体能够抵抗胃部环境,进入肠道。更通常地,口服给药的制剂和剂型可以适当地配制为递送到胃肠道的任何希望的部分。此外,可以使用适合的栓剂递送至胃肠道。

[0240] 本发明的多肽还可以通过输注或注射进行静脉内或腹腔内给药。特定的实例在WO 08/020079第144和145页进一步描述。

[0241] 对于局部给药,本发明的多肽可以以纯的形式应用,即当其为液体时。但是,通常希望将它们与皮肤可接受的载体组合,以组合物或制剂的形式向皮肤施用,所述组合物或制剂可以是固体或液体。特定的实例在WO 08/020079第145页进一步描述。

[0242] 通常,本发明的多肽在液体组合物,例如洗液中的浓度为约0.1-25wt-%,优选约0.5-10wt-%。在半固体或固体组合物例如凝胶或粉末中的浓度为约0.1-5wt-%,优选约0.5-2.5wt-%。

[0243] 用于治疗所需要的本发明的多肽的量不仅随所选择的特定多肽有所不同,而且随给药途径,要治疗的病症的性质以及患者的年龄和状况有所不同,最终由监护医师或临床医生决定。而且本发明的多肽的剂量根据靶细胞、肿瘤、组织、移植物、或器官而不同。

[0244] 所希望的剂量可以方便地制成单剂量或以适当间隔给药,例如每天两次、三次、四次或更多次亚剂量的分剂量。这种亚剂量本身可以进一步分为例如多个不连续的松散间隔的给药。

[0245] 给药方案可以包括长期的、每天的治疗。“长期”指至少两周且优选持续数周、数月、或数年。在此剂量范围内必要的改变可以由本领域技术人员仅通过本文中的常规实验给出的教导确定。参见Remington's Pharmaceutical Sciences(Martin,E.W.,ed.4),Mack Publishing Co.,Easton,PA。剂量还可以由医生个人在发生任何并发症的时候调整。

[0246] 在另一方面,本发明涉及预防和/或治疗与CXCR7相关的至少一种疾病和失调的方法,所述方法包括给有需要的受试者施用药学活性量的本发明的多肽,和/或包含它的药物组合物。

[0247] 在本发明的上下文中,术语“预防和/或治疗”不仅包括预防和/或治疗疾病,通常

还包括预防疾病的发生,减慢或逆转疾病的发展,预防或减慢与疾病相关的一种或多种症状的发生,减少和/或减轻与疾病相关的一种或多种症状,减少疾病和/或与其相关的任何症状的严重程度和/或持续时间和/或预防疾病和/或与其相关的任何症状的严重程度的进一步增加,预防,减少或逆转由疾病引起的任何生理损伤,以及一般地对要治疗的患者有益的任何药理作用。

[0248] 要治疗的受试者可以是任何温血动物,但特别是哺乳动物,更特别是人。如本领域技术人员清楚的,要治疗的受试者特别是患有本文提及的疾病和失调或者具有其患病风险的人。

[0249] 本发明涉及预防和/或治疗至少一种与CXCR7相关、与其生物学活性或药学活性相关和/或其中涉及CXCR7的生物学途径或信号传导相关的疾病或失调的方法,所述方法包括给有需要的受试者施用药学活性量的本发明的氨基酸序列、本发明的多肽、本发明的多肽、和/或包含其的本发明的药物组合物。在一个实施方案中,本发明涉及预防和/或治疗可以通过调节CXCR7、其生物学活性或药学活性、和/或其中涉及CXCR7的生物学途径或信号传导来治疗的至少一种疾病或失调的方法,所述方法包括给需要其的受试者施用药学活性量的本发明的多肽、和/或包含其的本发明的药物组合物。在一个实施方案中,所述药学有效量可以是足以调节CXCR7、其生物学活性或药学活性、和/或其中涉及CXCR7的生物学途径或信号传导的量;和/或使得循环中的本发明的多肽的水平足以调节CXCR7、其生物学活性或药学活性和/或其中涉及CXCR7的生物学途径或信号传导的量。

[0250] 本发明的一个实施方案涉及预防和/或治疗能够通过将本发明的多肽,或编码它的本发明的核苷酸构建体,和/或包含它的药物组合物给患者施用从而预防和/或治疗的至少一种疾病或失调。在一个实施方案中,所述方法包括给有需要的受试者施用药学活性量的本发明的多肽,或编码它的本发明的核苷酸构建体,和/或包含它的药物组合物。

[0251] 本发明的一个实施方案涉及预防和/或治疗能够通过抑制CXCL12和/或CXCL11与CXCR7在要治疗的受试者的特定细胞内或特定组织内的结合(特别是通过抑制CXCL12和/或CXCL11与CXCR7在要治疗的患者中存在的癌细胞或肿瘤中结合)从而预防和/或治疗的至少一种疾病或失调的方法,所述方法包括给需要其的受试者施用药学活性量的本发明的多肽,或编码它的本发明的核苷酸构建体,和/或包含它的药物组合物。

[0252] 在一个实施方案中,本发明涉及预防和/或治疗选自由本文所列出的疾病和失调组成的组的至少一种疾病或失调的方法,所述方法包括给有需要的受试者施用本发明的多肽,或编码它的本发明的核苷酸构建体,和/或包含其的药物组合物。

[0253] 在一个实施方案中,本发明涉及用于免疫治疗,特别是用于被动免疫治疗的方法,该方法包括给患有本文提及的疾病和失调或具有其患病危险的受试者施用药学活性量的本发明的多肽,或编码它的本发明的核苷酸构建体,和/或包含它的药物组合物。

[0254] 在上述方法中,本发明的氨基酸序列、多肽和/或包含其的组合物可以以任何适当的方式给药,这取决于所使用的特定的药物制剂或组合物。因此,本发明的多肽和/或包含它的组合物例如可以口服,腹腔内(例如静脉内、皮下、肌肉内、或者通过任何其它避开胃肠道的给药途径),鼻内,透皮,局部,以栓剂的方式,通过吸入给药,这也依赖于所使用的特定药物制剂或组合物。临床医生能够选择适合的给药途径和这种给药中所使用的适合的药物制剂或组合物,这取决于要预防或治疗的疾病或失调以及临床医生熟知的其它因素。

[0255] 根据适合于预防和/或治疗要预防或治疗的疾病或失调的治疗方案,施用本发明的多肽和/或包含它的组合物。临床医生通常能够确定适合的治疗方案,这依赖于下述因素:例如要预防或治疗的疾病或失调,要治疗的疾病的严重程度和/或其症状的严重程度,要使用的本发明的多肽,要使用的特定的给药途径和药物制剂或组合物,患者的年龄、性别、体重、饮食、一般状况,以及临床医生熟知的类似因素。

[0256] 通常,治疗方案包括以一种或多种药学有效量或剂量施用一种或多种本发明的多肽,或一种或多种包含其的组合物。待施用的特定的量或剂量可以由临床医生确定,这也是基于上述举出的因素。

[0257] 通常,为了预防和/或治疗本发明提及的疾病和失调且依赖于要治疗的特定疾病或失调,要使用的本发明的特定多肽的功效,所使用的特定给药途径和特定药物制剂或组合物,本发明的多肽通常以每天每kg体重1克至0.01微克之间的量给药,优选每天每kg体重0.1克至0.1微克,例如每天每kg体重约1,10,100或1000微克,或者以每日单次剂量连续给药(例如通过输注),或者在一天之中以多个分剂量给药。临床医生通常能够确定适合的日剂量,这取决于本文提及的因素。还应当清楚认识到的是,在特定的情况下,临床医生会选择偏离这些量,例如基于上述举出的因素以及他的专业判断。通常,可以从以基本相同的途径给药的针对相同靶的可比较的常规抗体或抗体片段的通常给药量获得对于给药量的一些指导,但是应考虑亲和力/抗体亲抗原性、功效、生物分布、半衰期和本领域技术人员熟知的类似因素。

[0258] 在一个实施方案中,使用单个本发明的连续多肽。在一个实施方案中,组合使用两个以上本发明的多肽。

[0259] 本发明的多肽可以与一种或多种其它药学活性化合物或成分组合使用,即作为组合治疗方案,其可以导致或不导致协同效果。而且,临床医生能够根据上述举出的因素和他的专业判断选择这种其它的化合物或成分,以及适合的组合治疗方案。

[0260] 特别地,本发明的多肽可与其它用于或能够用于预防和/或治疗本文举出的疾病和失调的药学活性化合物或成分组合使用,其结果是获得或不获得协同效果。这种化合物和成分,以及施用它们的途径、方法和药物制剂或组合物的实例对临床医生来说是清楚的,通常包括通常用于治疗要治疗的肿瘤的抑制细胞生长的有效成分。

[0261] 特别考虑的为肿瘤学的目的与本发明的多肽一起使用的组合包括但不限于例如CXCR4拮抗剂例如AMD3100,其它趋化因子受体拮抗剂,紫杉醇;吉西他滨(gemcitabine);顺铂;cIAP抑制剂(例如cIAP1,cIAP2和/或XIAP的抑制剂);包括但不限于例如U0126,PD0325901的MEK抑制剂;包括但不限于例如RAF265的bRaf抑制剂;和包括但不限于例如RAD001的mTOR抑制剂;包括但不限于例如贝伐单抗、舒替尼(sutinib)和索拉非尼的VEGF抑制剂;包括但不限于曲妥珠单抗、拉帕替尼的Her2抑制剂;PDGFR,FGFR,src,JAK,STAT和/或GSK3抑制剂;包括但不限于他莫昔芬的选择性雌激素受体调节剂;包括但不限于氟维司群的雌激素受体下调剂。为炎症病症的目的与本发明的多肽一起使用的特别考虑的组合包括但不限于例如干扰素 $\beta 1\alpha$ 和 β ,那他珠单抗;包括但不限于例如英利昔单抗、阿达木单抗、片段塞妥珠单抗、依那西普的TNF α 拮抗剂;缓解病情的抗风湿药例如甲氨蝶呤(MTX);包括但不限于例如氢化可的松的糖皮质激素;包括但不限于布洛芬、舒林酸的非甾类抗炎药。

[0262] 可以与本发明的化合物/多肽组合(治疗)使用的其它特定的化合物/多肽是

Ablynx N.V.的国际申请WO 09/138519,2010年6月25日提交的Ablynx N.V.的未提前公开的美国申请61/358,495;2010年10月4日提交的Ablynx N.V.的PCT申请PCT/EP210/064766;和/或2011年1月7日提交的Ablynx N.V.的PCT申请PCT/EP2011/050156中描述的针对CXCR4的氨基酸序列和多肽。

[0263] 当使用两种以上物质或成分作为组合治疗方案的一部分时,它们可以通过相同的给药途径或通过不同的给药途径,在基本上相同的时间或在不同的时间(例如基本上同时地,连续地,或根据交替方案)给药。当要给药的物质或成分通过相同的给药途径同时给药时,它们可以作为不同的药物制剂或组合物或者作为组合药物制剂或组合物的一部分给药,如本领域技术人员清楚的。

[0264] 而且,当使用两种以上活性物质或成分作为组合治疗方案的一部分时,每种物质或成分都可以使用所述化合物或成分单独使用时所使用的相同的量并根据相同的方案给药,这种组合使用可以导致或不导致协同效果。但是,当组合使用两种以上活性物质或成分导致协同效果时,还可以减少一种、多种或所有要给药的物质或成分的量,同时仍能获得所期望的治疗作用。这例如对于避免、限制或减少与一种或多种物质或成分的通常使用量的使用相关的任何不希望的副作用是有用的,同时仍能获得所希望的药效或治疗效果。

[0265] 可以以用于所涉及的疾病或失调的任何本身已知的方式确定和/或跟踪根据本发明使用的治疗方案的效果,如临床医生所清楚的。临床医生还能够,在合适时且根据具体病例,改变或修改特定的治疗方案,以获得所希望的治疗效果,以避免、限制或减少不希望的副作用,和/或在一方面获得所希望的治疗效果和另一方面避免、限制或减少不希望的副作用之间获得适度的平衡。

[0266] 通常,跟踪治疗方案直至获得所希望的治疗效果和/或达到维持所希望的治疗效果之时。而且,这可以由临床医生确定。

[0267] 在另一方面,本发明涉及本发明的多肽在制备用于预防和/或治疗与CXCR7相关的至少一种疾病和失调;和/或用于在一种或多种本文提及的治疗方法中使用的药物组合物中的用途。

[0268] 要治疗的受试者可以是任何温血动物,但特别是哺乳动物,更特别是人。在兽药应用中,要治疗的受试者包括为商业目的饲养的或作为宠物的任何动物。如本领域技术人员清楚的,要治疗的受试者特别是患有本文提及的疾病和失调或者具有其患病风险的人。

[0269] 本发明涉及本发明的多肽,或编码它的核苷酸在制备用于预防和/或治疗至少一种能通过给患者施用本发明的多肽,或编码它的核苷酸,和/或它的药物组合物预防和/或治疗的疾病或失调的药物组合物中的用途。

[0270] 更特别地,本发明涉及本发明的多肽或编码它的核苷酸在制备用于预防和/或治疗与CXCR7相关的疾病和失调,特别是用于预防和/或治疗一种或多种本文列出的疾病和失调的药物组合物中的用途。

[0271] 而且,在这种药物组合物中,一种或多种本发明的多肽,或编码它的核苷酸,和/或它的药物组合物还可以适当地与一种或多种其它有效成分(例如本文提及的那些)组合。

[0272] 本发明还涉及用于体外(例如在体外或细胞检测中)或体内(例如在单细胞或多细胞生物中,特别是在哺乳动物中,更特别是在人中,例如在患有本发明的疾病或失调或具有其患病风险的人中)使用的组合物。

[0273] 在本发明的上下文中,“调节(modulating)”或“调节(to modulate)”通常指减少或抑制CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)的活性,如使用适合的体外、细胞或体内检测(例如本文提及的那些)所测定的。特别地,如使用适合的体外、细胞或体内检测(例如本文提及的那些)所测定的,与相同条件下但不存在本发明的多肽的相同检测中CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)的活性相比,使CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)的活性减少或抑制至少1%,优选至少5%,例如至少10%或至少25%,例如至少50%,至少60%,至少70%,至少80%,或90%以上。

[0274] 调节可以例如包括减少或抑制CXCR7与它们的底物或配体之一的结合和/或与天然配体(CXCL11和/或CXCL12)、底物竞争结合CXCR7。

[0275] 1.4. 本发明的多肽的产生

[0276] 本发明进一步涉及制备或产生本文所述的免疫球蛋白单可变结构域、多肽、核酸、宿主细胞、产品和组合物。这种方法的一些优选但非限制性的实例通过本文的进一步描述将会变得清楚。

[0277] 通常,这些方法可以包括以下步骤:

[0278] a) 提供免疫球蛋白单可变结构域的组、集合或文库;和

[0279] b) 筛选所述免疫球蛋白单可变结构域的组、集合或文库,获得能结合CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)和/或对其具有亲和力的免疫球蛋白单可变结构域;和

[0280] c) 分离能结合CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)和/或对其具有亲和力的免疫球蛋白单可变结构域。

[0281] 在这样的方法中,免疫球蛋白单可变结构域的组、集合或文库可以是任何适合的免疫球蛋白单可变结构域的组、集合或文库。例如,免疫球蛋白单可变结构域的组、集合或文库可以是免疫球蛋白序列(如本文所描述的)的组、集合或文库,例如免疫球蛋白序列的天然组、集合或文库;免疫球蛋白序列的合成或半合成组、集合或文库;和/或经过亲和力成熟的免疫球蛋白序列的组、集合或文库。

[0282] 而且,在这样的方法中,免疫球蛋白单可变结构域的组、集合或文库可以是重链或轻链可变结构域(例如VL-, VH-或VHH结构域)的组、集合或文库。例如免疫球蛋白单可变结构域的组、集合或文库可以是结构域抗体或单结构域抗体的组、集合或文库,或者可以是能够用作结构域抗体或单结构域抗体的免疫球蛋白单可变结构域的组、集合或文库。

[0283] 在该方法的优选方面,免疫球蛋白单可变结构域的组、集合或文库可以是免疫球蛋白序列的免疫组、集合或文库,例如来自于已经适当地用CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)或用基于它的或来源于它的适合的抗原决定簇,例如其抗原部分、片段、区域、结构域、环或其它表位免疫的哺乳动物。在一个特定的方面,所述抗原决定簇可以是胞外部分、区域、结构域、环或其它胞外表位。

[0284] 在上述方法中,免疫球蛋白单可变结构域的组、集合或文库可以展示在噬菌体、噬菌粒、核糖体或适合的微生物(例如酵母)上,以便于筛选。用于展示和筛选免疫球蛋白单可变结构域(的组、集合或文库)的适合的方法、技术和宿主生物例如在本文进一步公开的基础上对本领域技术人员来说是清楚的。还可以参考Hoogenboom的Nature Biotechnology, 23,9,1105-1116(2005)的综述。

[0285] 在另一个方面,用于产生免疫球蛋白单可变结构域的方法包括至少以下步骤:

[0286] a) 提供表达免疫球蛋白单可变结构域的细胞的集合或样品；

[0287] b) 筛选所述细胞集合或样品，以获得表达能结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 和/或与其具有亲和力的氨基酸序列的细胞；和

[0288] c) 或者 (i) 分离所述氨基酸序列；或者 (i i) 从所述细胞分离编码所述氨基酸序列的核酸序列，接着表达所述氨基酸序列。

[0289] 在另一个方面，用于产生针对CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸序列的方法可以包括至少以下步骤：

[0290] a) 提供编码免疫球蛋白单可变结构域的核酸序列的组、集合或文库；

[0291] b) 筛选所述核酸序列的组、集合或文库，以获得编码能结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 和/或与其具有亲和力的氨基酸序列的核酸序列；和

[0292] c) 分离所述核酸序列，接着表达所述氨基酸序列。

[0293] 在这种方法中编码免疫球蛋白单可变结构域的核酸序列的组、集合或文库可以例如是编码免疫球蛋白序列的天然组、集合或文库的核酸序列的组、集合或文库；编码免疫球蛋白序列的合成或半合成组、集合或文库的核酸序列的组、集合或文库；和/或编码经过亲和力成熟的免疫球蛋白序列的组、集合或文库的核酸序列的组、集合或文库。

[0294] 在另一个方面，用于产生针对CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的氨基酸序列的方法可以包括至少以下步骤：

[0295] a) 提供编码免疫球蛋白单可变结构域的核酸序列的组、集合或文库；

[0296] b) 筛选所述核酸序列的组、集合或文库，以获得编码能结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 和/或与其具有亲和力的，并且被交叉阻断或者交叉阻断本发明的免疫球蛋白单可变结构域或多肽，例如SEQ ID NOs:39-43,91或99-102 (表B-3) 的氨基酸序列的核酸序列；和

[0297] c) 分离所述核酸序列，接着表达所述氨基酸序列。

[0298] 本发明还涉及通过上述方法，或者通过包含上述方法之一并另外包含至少以下步骤的方法获得的免疫球蛋白单可变结构域：确定所述免疫球蛋白序列的核苷酸序列或氨基酸序列；以及以本身已知的方式表达或合成所述氨基酸序列，例如通过在适合的宿主细胞或宿主微生物中表达或者通过化学合成。

[0299] 而且，在上述步骤之后，一种或多种本发明的免疫球蛋白单可变结构域可以适当地人源化、骆驼源化或者进行其它序列优化（例如为可生产性、稳定性和/或溶解性进行序列优化）；和/或由此获得的氨基酸序列可以彼此连接或者与一种或多种其它的适合的免疫球蛋白单可变结构域连接（任选地通过一个或多个适合的接头）以提供本发明的多肽。而且，编码本发明的氨基酸序列的核酸序列可以适当地人源化、骆驼源化或者进行其它序列优化（例如为可生产性、稳定性和/或溶解性进行序列优化）并适当地表达；和/或编码本发明的氨基酸序列的一种或多种核酸序列可以彼此连接或者与一种或多种编码其它的适合的免疫球蛋白单可变结构域的核酸序列连接（任选地通过编码一个或多个适合的接头的核苷酸序列），然后可以适当地表达由此获得的核苷酸序列以提供本发明的多肽。

[0300] 本发明进一步涉及本文所述的免疫球蛋白单可变结构域、化合物、构建体、多肽、核酸、宿主细胞、产品和组合物在诊断、预防和/或治疗与CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 相关的疾病和失调中的应用和用途，以及方法。一些优选的但非限制性的应用和用途

通过本文的进一步描述将会变得清楚。

[0301] 本发明还涉及用于治疗的本文所述的免疫球蛋白单可变结构域、化合物、构建体、多肽、核酸、宿主细胞、产品和组合物。

[0302] 特别地,本发明还涉及用于治疗疾病或失调的本文所述的免疫球蛋白单可变结构域、化合物、构建体、多肽、核酸、宿主细胞、产品和组合物,所述疾病或失调能够通过给有需要的受试者施用(药学有效量的)本文描述的氨基酸序列、化合物、构建体或多肽来预防或治疗。

[0303] 更特别地,本发明涉及用于治疗癌症的本文所述的免疫球蛋白单可变结构域、化合物、构建体、多肽、核酸、宿主细胞、产品和组合物。

[0304] 1.5. 本发明的多肽和免疫球蛋白单可变结构域的变体

[0305] 本发明的多肽和免疫球蛋白单可变结构域(形成本发明的多肽的一部分)可以被改变以进一步提高其功效或其它希望的特性。

[0306] 通常,免疫球蛋白单可变结构域可以定义为具有式1的多肽:

[0307] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4

[0308] 其中FR1-FR4分别指构架区1-4,其中CDR1-CDR3分别指互补决定区1-3。

[0309] CDR序列的一些特别优选的但是非限制性的组合,以及CDR序列和构架序列的优选组合在表B-2中提及,其列出了存在于多个本发明的优选(但非限制性的)免疫球蛋白单可变结构域中的CDR序列和构架序列。如本领域技术人员清楚地,在同一个克隆中存在的CDR1,CDR2和CDR3序列的组合(即表B-2的同一行或排提及的CDR1,CDR2和CDR3序列)通常是优选的(虽然本发明在其最广泛的意义上不限于此,也包括表B-2中提及的CDR序列的其它适合的组合)。而且,在同一个克隆中存在的CDR序列和构架序列的组合(即表B-2的同一行或排提及的CDR序列和构架序列)通常是优选的(虽然本发明在其最广泛的意义上不限于此,也包括表B-2中提及的CDR序列和构架序列的其它适合的组合,以及这种CDR序列及其它适合的构架序列的组合,例如本文进一步描述的)。

[0310] 而且,在包含表B-2中提及的CDR's组合的本发明的免疫球蛋白单可变结构域中,每个CDR可以被选自由与提及的CDR's具有至少80%,优选至少90%,更优选至少95%,更优选至少99%的序列同一性(如本文所定义的)的免疫球蛋白单可变结构域组成的组的CDR替换;其中:

[0311] i) 与表B-2中提及的相应CDR序列相比,在这种CDR中的任何氨基酸取代优选地是保守氨基酸取代(如本文所定义的);和/或

[0312] ii) 与表B-2中提及的相应CDR序列相比,任何这种CDR序列优选仅包括氨基酸取代,不包括氨基酸缺失或插入;和/或

[0313] iii) 任何这种CDR序列是通过本身已知的亲和力成熟技术,且特别是由表B-2中提及的相应CDR序列开始获得的CDR。

[0314] 但是,如本领域技术人员清楚的,表B-2中提及的CDR序列(的组合)以及CDR序列和构架序列(的组合)通常是优选的。

[0315] 因此,在本发明的免疫球蛋白单可变结构域中,存在的CDR1,CDR2和CDR3序列中的至少一个适当地选自由表B-2中分别列出的CDR1,CDR2和CDR3序列组成的组;或者选自与表B-2中分别列出的CDR1,CDR2和CDR3序列中的至少一个分别具有至少80%,优选至少90%,

更优选至少95%，更加优选至少99%的“序列同一性”（如本文所定义的）的CDR1, CDR2和CDR3的组；和/或选自与表B-2中分别列出的CDR1, CDR2和CDR3序列中的至少一个分别具有3, 2或仅仅1个“氨基酸差异”（如本文所定义的）的CDR1, CDR2和CDR3序列组成的组。

[0316] 其中“适当地选自”是指，如果适用的话，分别地，CDR1序列选自适合的CDR1序列（即如本文所定义的），CDR2序列选自适合的CDR2序列（即如本文所定义的），并且CDR3序列选自适合的CDR3序列（即如本文所定义的）。更特别地，优选这样选择CDR序列以使本发明的纳米抗体以本文所定义的亲和力（适当地测定和/或表示为EC50值，或IC₅₀值，如本文在各种体外和/或体内功效或其它检测中进一步描述的）结合CXCR7、特别是人CXCR7（SEQ ID NO: 1）。

[0317] 特别地，在本发明的免疫球蛋白单可变结构域中，至少存在的CDR3序列适当地选自自由表B-2中列出的CDR3序列组成的组；或者选自与表B-2中列出的CDR3序列的至少一个具有至少80%，优选至少90%，更优选至少95%，更加优选至少99%的序列同一性（如本文所定义的）的CDR3序列的组；和/或选自与表B-2中列出的CDR3序列的至少一个具有3, 2或仅仅1个氨基酸差异（如本文所定义的）的CDR3序列组成的组。

[0318] 优选地，在本发明的免疫球蛋白单可变结构域中，存在的CDR1, CDR2和CDR3序列中的至少两个适当地选自自由表B-2中分别列出的CDR1, CDR2和CDR3序列组成的组或选自与表B-2中分别列出的CDR1, CDR2和CDR3序列中的至少一个分别具有至少80%，优选至少90%，更优选至少95%，更加优选至少99%的序列同一性的CDR1, CDR2和CDR3序列组成的组；和/或选自与表B-2中分别列出的CDR1, CDR2和CDR3序列中的至少一个分别具有3, 2或仅仅1个“氨基酸差异”的CDR1, CDR2和CDR3序列组成的组。

[0319] 特别地，在本发明的免疫球蛋白单可变结构域中，至少存在的CDR3序列适当地选自自由表B-2中列出的CDR3序列组成的组或选自与表B-2中列出的CDR3序列的至少一个具有至少80%，优选至少90%，更优选至少95%，更加优选至少99%的序列同一性的CDR3序列的组；并且存在的CDR1和CDR2序列的至少一个适当地选自自由表B-2中分别列出的CDR1和CDR2序列组成的组；或选自与表B-2中分别列出的CDR1和CDR2序列中的至少一个分别具有至少80%，优选至少90%，更优选至少95%，更加优选至少99%的序列同一性的CDR1和CDR2序列组成的组；和/或选自与表B-2中分别列出的CDR1和CDR2序列中的至少一个分别具有3, 2或仅仅1个氨基酸差异的CDR1和CDR2序列组成的组。

[0320] 最优选地，在本发明的免疫球蛋白单可变结构域中，存在的所有三个CDR1, CDR2和CDR3序列适当地选自自由表B-2中分别列出的CDR1, CDR2和CDR3序列组成的组或选自与表B-2中分别列出的CDR1, CDR2和CDR3序列中的至少一个分别具有至少80%，优选至少90%，更优选至少95%，更加优选至少99%的序列同一性的CDR1, CDR2和CDR3序列的组；和/或选自与表B-2中分别列出的CDR1, CDR2和CDR3序列中的至少一个分别具有3, 2或仅仅1个氨基酸差异（如本文所定义的）的CDR1, CDR2和CDR3序列组成的组。

[0321] 更加优选地，在本发明的免疫球蛋白单可变结构域中，存在的CDR1, CDR2和CDR3序列中的至少一个适当地选自自由表B-2中分别列出的CDR1, CDR2和CDR3序列组成的组。优选地，在这个方面，存在的至少一个或者优选另外两个CDR序列二者适当地选自与表B-2中分别列出的相应CDR序列的至少一个具有至少80%，优选至少90%，更优选至少95%，更加优选至少99%的序列同一性的CDR序列；和/或选自自由与表B-2中分别列出的相应序列的至少

一个具有3,2或仅仅1个氨基酸差异的CDR序列组成的组。

[0322] 特别地,在本发明的免疫球蛋白单可变结构域中,至少存在的CDR3序列适当地选自表B-2中列出的CDR3序列组成的组。优选地,在这个方面,存在的至少一个且优选CDR1和CDR2序列二者适当地选自与表B-2中分别列出的CDR1和CDR2序列具有至少80%,优选至少90%,更优选至少95%,更加优选至少99%的序列同一性的CDR1和CDR2序列的组;和/或选自自由与表B-2中分别列出的CDR1和CDR2序列的至少一个分别具有3,2或仅仅1个氨基酸差异的CDR1和CDR2序列组成的组。

[0323] 更加优选地,在本发明的免疫球蛋白单可变结构域中,存在的CDR1,CDR2和CDR3序列中的至少两个适当地选自表B-2中分别列出的CDR1,CDR2和CDR3序列组成的组。优选地,在这个方面,存在的其余的CDR序列适当地选自与表B-2中分别列出的相应CDR序列的至少一个具有至少80%,优选至少90%,更优选至少95%,更加优选至少99%的序列同一性的CDR序列的组;和/或选自自由与表B-2中列出的相应序列的至少一个具有3,2或仅仅1个氨基酸差异的CDR序列组成的组。

[0324] 特别地,在本发明的免疫球蛋白单可变结构域中,至少CDR3序列适当地选自表B-2中列出的CDR3序列组成的组,并且CDR1序列或者CDR2序列适当地选自表B-2中分别列出的CDR1和CDR2序列组成的组。优选地,在这个方面,存在的其余的CDR序列适当地选自与表B-2中分别列出的相应CDR序列的至少一个具有至少80%,优选至少90%,更优选至少95%,更加优选至少99%的序列同一性的CDR序列的组;和/或选自自由与表B-2中列出的相应CDR序列具有3,2或仅仅1个氨基酸差异的CDR序列组成的组。

[0325] 更加优选地,在本发明的免疫球蛋白单可变结构域中,存在的所有三个CDR1,CDR2和CDR3序列适当地选自表B-2中分别列出的CDR1,CDR2和CDR3序列组成的组。

[0326] 而且,通常,表B-2中列出的CDR's的组合(即表B-2的同一行或排提及的那些)是优选的。因此,通常优选当本发明的免疫球蛋白单可变结构域中的CDR是表B-2中提及的CDR序列或者适当地选自与表B-2中列出的CDR序列具有至少80%,优选至少90%,更优选至少95%,更加优选至少99%的序列同一性的CDR序列的组;和/或选自自由与表B-2中列出的CDR序列具有3,2或仅仅1个氨基酸差异的CDR序列组成的组时,至少一个且优选其它CDR's二者均适当地选自属于表B-2中的同一组合(即表B-2的同一行或排提及的)的CDR序列或者适当地选自与属于同一组合的CDR序列具有至少80%,优选至少90%,更优选至少95%,更加优选至少99%的序列同一性的CDR序列的组和/或选自自由与属于同一组合的CDR序列具有3,2或仅仅1个氨基酸差异的CDR序列组成的组。上述段落中指出的其它优选项也适用于表B-2中提及的CDR's的组合。

[0327] 因此,通过非限制性的实例,本发明的多肽例如可以包括与表B-2中提及的CDR1序列之一具有大于80%序列同一性的CDR1序列,与表B-2中提及的CDR2序列之一具有3,2或1个氨基酸差异的CDR2序列(但属于不同的组合),以及CDR3序列。

[0328] 本发明的一些优选的免疫球蛋白单可变结构域例如可以包括:(1)与表B-2中提及的CDR1序列之一具有大于80%序列同一性的CDR1序列;与表B-2中提及的CDR2序列之一具有3,2或1个氨基酸差异的CDR2序列(但属于不同的组合);以及与表B-2中提及的CDR3序列之一具有大于80%序列同一性的CDR3序列(但属于不同的组合);或(2)与表B-2中提及的CDR1序列之一具有大于80%序列同一性的CDR1序列;CDR2序列,以及表B-2中列出的CDR3序

列之一;或(3)CDR1序列;与表B-2中列出的CDR2序列之一具有大于80%序列同一性的CDR2序列;和与表B-2中提及的与所述CDR2序列属于同一组合的CDR3序列具有3、2或1个氨基酸差异的CDR3序列。

[0329] 本发明的一些特别优选的免疫球蛋白单可变结构域例如可以包括:(1)与表B-2中提及的CDR1序列之一具有大于80%序列同一性的CDR1序列;与表B-2中提及的属于同一组合的CDR2序列具有3、2或1个氨基酸差异的CDR2序列;和与表B-2中提及的属于同一组合的CDR3序列具有大于80%序列同一性的CDR3序列;(2)CDR1序列,表B-2中列出的CDR2序列和表B-2中列出的CDR3序列(其中CDR2序列和CDR3序列可以属于不同的组合)。

[0330] 本发明的一些更加优选的免疫球蛋白单可变结构域例如可以包括:(1)与表B-2中提及的CDR1序列之一具有大于80%序列同一性的CDR1序列;表B-2中列出的属于同一组合的CDR2序列;和表B-2中提及的属于不同组合的CDR3序列;或(2)表B-2中提及的CDR1序列;与表B-2中提及的属于同一组合的CDR2序列具有3、2或1个氨基酸差异的CDR2序列;和与表B-2中列出的属于相同或不同组合的CDR3序列具有大于80%序列同一性的CDR3序列。

[0331] 本发明的特别优选的免疫球蛋白单可变结构域例如可以包括表B-2中提及的CDR1序列,与表B-2中提及的属于同一组合的CDR2序列具有大于80%序列同一性的CDR2序列;以及表B-2中提及的属于同一组合的CDR3序列。

[0332] 在本发明的最优选的免疫球蛋白单可变结构域中,存在的CDR1,CDR2和CDR3序列适当地选自表B-2中分别列出的CDR1,CDR2和CDR3序列的组合之一。

[0333] 根据本发明的另一个优选的,但是非限制性的方面(a)CDR1具有1-12个氨基酸残基,通常为2-9个氨基酸残基,例如5,6或7个氨基酸残基的长度;和/或(b)CDR2具有13-24个氨基酸残基,通常为15-21个氨基酸残基,例如16和17个氨基酸残基的长度;和/或(c)CDR3具有2-35个氨基酸残基,通常为3-30个氨基酸残基,例如6-23个氨基酸残基的长度。

[0334] 在另一个优选的,但是非限制性的方面,本发明涉及其中CDR序列(如本文所定义的)与SEQ ID NOs:39-43或91以及99-102(参见表B-3)的免疫球蛋白单可变结构域的至少一个的CDR序列具有大于80%,优选大于90%,更优选大于95%,例如99%或更大的序列同一性(如本文所定义的)的免疫球蛋白单可变结构域。

[0335] 本发明的另一个优选的,但是非限制性的方面涉及SEQ ID NOs:39-43和91以及99-102(参见表B-3)的免疫球蛋白单可变结构域的人源化变体,其与相应的天然V_H序列相比,包含至少一个人源化取代(如本文所定义的),特别是至少一个其构架序列(如本文所定义的)上的至少一个人源化取代。

[0336] 本领域技术人员清楚本文提到的“优选的”(或“更优选的”、“更加优选的”等)免疫球蛋白单可变结构域也优选(或更优选、或更加优选等)用于本文所述的多肽中。因此,包含一个或多个本发明的“优选的”免疫球蛋白单可变结构域或基本上由其组成的多肽通常是优选的,包含一个或多个本发明的“更优选的”免疫球蛋白单可变结构域或基本上由其组成的多肽通常是更优选的,等等。

[0337] 1.6. 本发明的核苷酸、宿主细胞

[0338] 本发明的另一个方面涉及编码本发明的氨基酸序列(例如本发明的免疫球蛋白单可变结构域)或包含它的本发明的多肽的核酸序列。而且,如本文一般地对本发明的核酸的描述,这种核酸可以是基因构建体的形式,如本文所定义的。本发明的这一方面的特定实施

方案在表B-6, SEQ ID NOs:59-63和73-77中提供。

[0339] 在另一个优选的,但是非限制性的方面中,本发明涉及免疫球蛋白单可变结构域的核酸序列,其中所述序列(如本文所定义的)与SEQ ID NOs:59-63和73-77(参见表B-6)中的免疫球蛋白单可变结构域的核酸序列的至少一个序列具有大于80%,优选大于90%,更优选大于95%,例如99%或更大的序列同一性(如本文所定义的)。

[0340] 在另一个方面,本发明涉及包含免疫球蛋白单可变结构域的核酸序列的核酸序列,其中所述序列(如本文所定义的)与SEQ ID NOs:59-63和73-77(参见表B-6)中的免疫球蛋白单可变结构域的核酸序列的至少一个序列具有大于80%,优选大于90%,更优选大于95%,例如99%或更大的序列同一性(如本文所定义的)。

[0341] 在另一个方面,本发明涉及表达或能够表达本发明的氨基酸序列(例如免疫球蛋白单可变结构域)和/或包含它的本发明的多肽;和/或包含本发明的核酸的宿主或宿主细胞。这种宿主或宿主细胞的一些优选的但非限制性的实例通过本文的进一步描述将会变得清楚。

[0342] 如本领域技术人员清楚的,用于制备本发明的多肽的一个特别有用的方法通常包括以下步骤:

[0343] i) 在适合的宿主细胞或宿主生物体(在本文中也称为“本发明的宿主”)中或者在另一个适合的表达系统中表达编码本发明的所述氨基酸序列、多肽的核酸(在本文中也称为“本发明的核酸”),任选地接着:

[0344] ii) 分离和/或纯化由此获得的本发明的多肽。

[0345] 特别地,这种方法可以包括以下步骤:

[0346] i) 在使本发明的宿主表达和/或产生本发明的至少一种多肽的条件下培养和/或保持本发明的所述宿主;任选地接着:

[0347] ii) 分离和/或纯化由此获得的本发明的多肽。

[0348] 本发明的核酸可以是单链或双链DNA或RNA的形式,优选是双链DNA的形式。例如本发明的核苷酸序列可以是基因组DNA、cDNA或合成DNA(例如其密码子使用特别适合于在预期的宿主细胞或宿主生物体中表达的DNA)。

[0349] 根据本发明的一个方面,本发明的核酸是基本上分离的形式,如本文所定义的。

[0350] 本发明的核酸也可以是存在于载体,例如质粒、粘粒或YAC中和/或作为载体一部分的形式,其也可以是基本上分离的形式。

[0351] 本发明的核酸可以基于本文给出的用于本发明的多肽的免疫球蛋白单可变结构域的信息,以本身已知的方式制备或获得,和/或可以从适合的天然来源中分离。为了提供类似物,编码天然存在的V_H结构域的核苷酸序列可以例如进行定点诱变,以提供编码所述类似物的本发明的核酸。而且,如本领域技术人员清楚的,为了制备本发明的核酸,几种核苷酸序列,例如至少一种编码本发明的多肽的核苷酸序列和例如编码一个或多个接头的核酸也可以以适当的方式连接在一起。

[0352] 产生本发明的核酸的技术对本领域技术人员来说是清楚的,可以例如包括但不限于自动DNA合成;定点诱变;将两个以上天然存在的和/或合成的序列(或其两个以上部分)组合,引入导致表达截短的表达产物的突变;引入一个或多个限制性位点(例如建立可以容易地使用适合的限制酶消化和/或连接的盒和/或区域),和/或使用一个或多个“错配”引

物,使用例如CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1)的天然存在形式的序列作为模板,通过PCR反应引入突变。这些及其它技术对于本领域技术人员来说是清楚的,也可以参考标准手册,例如上面提到的Sambrook等和Ausubel等,以及下面的实施例。

[0353] 本发明的核酸还可以是存在于基因构建体中和/或作为基因构建体一部分的形式,如本领域技术人员清楚的以及如WO 08/020079 (通过引用合并入本文)第131-134页所描述的。这种基因构建体通常包括至少一个本发明的核酸,其任选地与一个或多个本身已知的基因构建体的元件(例如适合的启动子、增强子、终止子等)和本文提及的其它基因构建体的元件连接。包含至少一种本发明的核酸的这种基因构建体在本文中也称为“本发明的基因构建体”。

[0354] 本发明的基因构建体可以是DNA或RNA,优选是双链DNA。本发明的基因构建体也可以是适合于在预期的宿主细胞或宿主生物体中转化的形式,适合于整合到预期的宿主细胞的基因组DNA中的形式或者适合于在预期的宿主生物中独立复制、保持和/或遗传的形式。例如,本发明的基因构建体可以是载体的形式,所述载体例如是质粒、粘粒、YAC、病毒载体或转座子。特别地,载体可以是表达载体,即能够提供体外和/或体内表达的载体(例如在适合的宿主细胞、宿主生物体和/或表达系统中)。

[0355] 在优选的但是非限制性的方面,本发明的基因构建体包括

[0356] i) 至少一个本发明的核酸;可操作地连接

[0357] ii) 一个或多个调控元件,例如启动子和任选地适合的终止子;

[0358] 和,任选地

[0359] iii) 一个或多个本身已知的基因构建体的其它元件;

[0360] 其中术语“可操作地连接(operably connected)”和“可操作地连接(operably linked)”具有WO 08/020079第131-134页给出的含义;其中“调控元件”、“启动子”、“终止子”和“其它元件”如WO 08/020079第131-134页所述;其中基因构建体可以进一步如WO 08/020079第131-134页所述。

[0361] 本发明的核酸和/或本发明的构建体可以用于转化宿主细胞或宿主生物体,即表达和/或产生本发明的多肽。适合的宿主或宿主细胞对于本领域技术人员来说是清楚的,可以例如是任何适合的真菌、原核或真核细胞或细胞系或任何适合的真菌、原核或真核生物,例如WO 08/020079第134和135页所描述的;以及用于表达和产生抗体和抗体片段(包括但不限于(单)结构域抗体和ScFv片段)的本身已知的其它宿主或宿主细胞,其对于本领域技术人员来说是清楚的。还可以参考本文上述引用的一般背景技术,以及例如WO 94/29457; WO 96/34103; WO 99/42077。

[0362] 本发明的免疫球蛋白单可变结构域,和多肽还可以例如在转基因哺乳动物的乳汁中,例如兔、奶牛、山羊或绵羊的乳汁中(参见例如US-A-6,741,957,US-A-6,304,489和US-A-6,849,992中向哺乳动物引入转基因的一般技术),在植物或包括但不限于其叶、花、果实、种子、根或块茎的植物部分(例如烟草、玉米、大豆或苜蓿)中或在例如家蚕(*Bombix mori*)的蛹中产生。

[0363] 而且,本发明的免疫球蛋白单可变结构域,和多肽还可以在无细胞表达系统中表达和/或产生,这种系统的适合的实例对于本领域技术人员来说是清楚的。一些优选的但非限制性的实例包括在麦胚系统中;在兔网织红细胞裂解物中;或在大肠杆菌Zubay系统中表

达。

[0364] 如上述提到的,使用免疫球蛋白单可变结构域的一个优点是基于它的多肽可以通过在适合的细菌系统中表达来制备,适合的细菌表达系统、载体、宿主细胞、调控元件等对本领域技术人员来说是清楚的,例如参考上述引用的参考文献。但是应当注意本发明在其最广泛的意义上不限于在细菌系统中表达。

[0365] 优选地,在本发明中,使用(体内或体外)表达系统,例如细菌表达系统,提供适用于制药用途形式的本发明的多肽,这种表达系统对本领域技术人员来说也是清楚的。本领域技术人员也清楚适合于制药用途的本发明的多肽可以使用肽合成技术制备。

[0366] 为了以工业规模生产,用于(工业)生产免疫球蛋白单可变结构域或包含免疫球蛋白单可变结构域的蛋白治疗剂的优选的异源宿主包括适合于大规模表达/生产/发酵,特别是适合于大规模药物级(即GMP级)的表达/生产/发酵的大肠杆菌(*E. coli*)、毕赤酵母(*Pichia pastoris*)、酿酒酵母(*S. cerevisiae*)菌株。这种菌株的适合的实例对本领域技术人员来说是清楚的。这种菌株和生产/表达系统也可以从公司例如Richter Helm(Hamburg, 德国)或CMC Biologics(Soeborg, 丹麦)获得。

[0367] 或者,可以用哺乳动物细胞系,特别是中国仓鼠卵巢(CHO)细胞进行大规模表达/生产/发酵,特别是进行大规模药物级的表达/生产/发酵。而且,这种表达/生产系统也可以从上面提及的一些公司获得。

[0368] 特定表达系统的选择部分取决于特定翻译后修饰,更特别是糖基化的要求。生产希望或需要糖基化的包含免疫球蛋白单可变结构域的重组蛋白需要使用能使所表达的蛋白糖基化的哺乳动物表达宿主。在这个方面,本领域技术人员清楚获得的糖基化模式(即糖的性质、连接的残基的数量和位置)取决于用于表达的细胞或细胞系。优选地,使用人细胞或细胞系(即获得基本具有人糖基化模式的蛋白)或者使用另一个能够提供基本上和/或在功能上与人糖基化相同的或者至少模仿人糖基化的糖基化模式的哺乳动物细胞系。通常,原核宿主例如大肠杆菌没有使蛋白糖基化的能力,使用低等真核生物例如酵母通常导致与人糖基化不同的糖基化模式。尽管如此,应当理解本发明中可以使用所有前述的宿主细胞和表达系统,这取决于所希望获得的多肽。

[0369] 因此,根据本发明的一个非限制性的方面,本发明的多肽是糖基化的。根据本发明的另一个非限制性的方面,本发明的多肽是没有糖基化的。

[0370] 根据本发明的一个优选的,但非限制性的方面,本发明的多肽在细菌细胞,特别是适合于大规模药物生产的细菌细胞,例如上面提及的菌株细胞中产生。

[0371] 根据本发明的另一个优选的,但非限制性的方面,本发明的多肽在酵母细胞,特别是适合于大规模药物生产的酵母细胞,例如上面提及的物种的细胞中产生。

[0372] 根据本发明的另一个优选的,但非限制性的方面,本发明的多肽在哺乳动物细胞,特别是在人细胞或人细胞系的细胞,更特别是在适合于大规模药物生产的人细胞或人细胞系的细胞,例如本文上面提及的细胞系中产生。

[0373] 如WO 08/020079第138和139页进一步描述的,当通过在宿主细胞中表达产生本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽时,本发明的免疫球蛋白单可变结构域和多肽可以在细胞内(例如在胞质液中,在外周胞质中或在包涵体中)产生并随后从宿主细胞中分离以及任选地进一步纯化;或者可以在细胞外(例如在宿主细胞的培养基中)产生并随后从培养基

中分离并任选地进一步纯化。因此,根据本发明的一个非限制性的方面,本发明的多肽是在细胞内产生并从宿主细胞,特别是从细菌细胞分离或从细菌细胞中的包涵体分离的氨基酸序列,多肽。根据本发明的另一个非限制性的方面,本发明的氨基酸序列或多肽是在细胞外产生并从宿主细胞培养基中分离的氨基酸序列或多肽。

[0374] 用于这些宿主细胞的一些优选的,但非限制性的启动子包括WO 08/020079的第139和140页提及的那些。

[0375] 用于这些宿主细胞的一些优选的,但非限制性的分泌序列包括WO 08/020079的第140页提及的那些。

[0376] 用于转化本发明的宿主或宿主细胞的适合的技术对本领域技术人员来说是清楚的,可以取决于要使用的宿主细胞/宿主生物体和基因构建体。再次参考上述提及的手册和专利申请。

[0377] 转化之后,可以进行检测和选择那些用本发明的核苷酸序列/基因构建体可以成功转化的宿主细胞或宿主生物的步骤。这可以例如是在存在于本发明的基因构建体中的选择标记基础上的选择步骤或者例如使用特异性抗体检测本发明的氨基酸序列的步骤。

[0378] 转化的宿主细胞(其可以是稳定的细胞系的形式)或宿主生物体(其可以是稳定的突变系或突变株的形式)形成本发明的另外的方面。

[0379] 优选地,这些宿主细胞或宿主生物体是这样的,它们表达或(至少)能够表达(例如在合适的条件下)本发明的多肽(在宿主生物的情况下:在其至少一个细胞、部分、组织或器官中)。本发明还包括可以例如通过细胞分裂或通过有性或无性繁殖获得的本发明的宿主细胞或宿主生物体的下一代、后代和/或子代。

[0380] 为了产生/获得本发明的免疫球蛋白单可变结构域的表达,通常可以在表达/产生(所希望的)本发明的氨基酸序列或多肽的条件下保持、维持和/或培养转化的宿主细胞或转化的宿主生物。适合的条件对于本领域技术人员来说是清楚的,其通常取决于所使用的宿主细胞/宿主生物,以及控制本发明的(相关)核苷酸序列的表达的调控元件。还可以参考上述有关本发明的基因构建体的段落中提到的手册和专利申请。

[0381] 通常,适合的条件可以包括使用适合的培养基,存在适合的养料来源和/或适合的营养物质,使用适合的温度,以及任选地存在适合的诱导因子或化合物(例如当本发明的核苷酸序列处于诱导型启动子的控制之下的时候);所有这些都可以由本领域技术人员选择。而且,在这样的条件下,本发明的免疫球蛋白单可变结构域可以以组成型的方式,以瞬时的方式,或者仅在适当地诱导时表达。

[0382] 本领域技术人员还清楚本发明的氨基酸序列或多肽可以(首先)以不成熟的形式产生(如上述提及的),其然后可以进行翻译后修饰,这取决于所使用的宿主细胞/宿主生物。而且,本发明的氨基酸序列或多肽可以糖基化,这也取决于所使用的宿主细胞/宿主生物。

[0383] 本发明的氨基酸序列或多肽然后可以使用本身已知的蛋白质分离和/或纯化技术,例如(制备型)色谱和/或电泳技术,示差沉淀技术,亲和技术(利用与本发明的氨基酸序列或多肽融合的特定的、可切割的氨基酸序列)和/或制备免疫技术(即使用针对要分离的氨基酸序列的抗体),从宿主细胞/宿主生物中和/或从所述宿主细胞或宿主生物的培养基中分离。

[0384] 本申请通篇引用的所有参考文献(包括参考文献,授权的专利,公开的专利申请,以及共同未决的专利申请)的全部内容在此通过引用的方式明确合并进来,特别用于本文上面引用的教导。

[0385] 1.7 CXCR7的调节剂

[0386] 可以使用多种不同的筛选方法鉴别调节细胞中,具体地哺乳动物细胞中,特别是人细胞中CXCR7的活性水平或功能的试剂。一般地说,筛选方法包括通过与CXCR7或其片段结合并阻碍例如包含SEQ ID NOs:39-48,78-89,91,99-102或132-140任一个的本发明的多肽或ISVDs与CXCR7(SEQ ID NO:1)结合,筛选一种试剂或多种试剂以鉴别与例如(人)CXCR7(SEQ ID NO:1)相互作用的一种或多种试剂。在一些实施方案中,试剂以所述试剂与另一种蛋白的亲合力的至少约1.5,2,3,4,5,10,20,50,100,300,500,或1000倍与CXCR7结合。在一些实施方案中,包含本文所述的表位(以及任选地在N和/或C末端包含其它非CXCR7氨基酸)的CXCR7片段不超过例如300,250,200,150,100,50,40,30,20或更少的氨基酸。在一些实施方案中,CXCR7片段是具有少于全长CXCR7多肽的所有氨基酸的任何片段。

[0387] 在一些实施方案中,CXCR7调节剂通过筛选与本发明的多肽或ISVD竞争结合CXCR7多肽或其片段的分子来鉴别。本领域技术人员会认识到有多种方式进行竞争分析,例如本文公开的。在一些实施方案中,具有CXCR7的样品与标记的例如包含SEQ ID NOs:39-48,78-89,91,99-102或132-140任一个的本发明的多肽或ISVD预温育,然后与可能的竞争分子接触。在存在待测化合物的条件下与CXCR7结合的多肽或ISVD的量的改变(例如减少)表示待测化合物是可能的CXCR7调节剂。

[0388] 1.8用于诊断和/或预后应用的试剂盒

[0389] 为了用于上述提出的诊断、研究和治疗应用,本发明还提供试剂盒。在诊断和研究应用中,这种试剂盒可以包括下述任一或全部:检测试剂、缓冲液、本发明的抗CXCR7多肽或ISVDs。治疗剂产品可以包括无菌盐水或另一种药学可接受的乳剂或悬液基础液。

[0390] 此外,试剂盒可以包括包含用于实施本发明的方法的说明书(即操作规程)在内的指导材料。虽然指导材料典型地包括书面或印刷材料,但其不限于这种方式。本发明包括能储存这种说明并将它们传递给最终用户的任何介质。这种介质包括但不限于电子储存介质(例如磁盘、录音带、盒式磁带、芯片),光学介质(例如CD ROM)等。这种介质可以包含提供这种指导材料的互联网网站的地址。

[0391] 本发明现在将通过下述非限制性的优选方面、图和实施例进一步描述:

[0392] 优选的非限制性方面:

[0393] 方面A-1:免疫球蛋白单可变结构域,其针对和/或能特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)。

[0394] 方面A-2:根据方面A-1的免疫球蛋白单可变结构域,其是基本上分离的形式。

[0395] 方面A-3:根据方面A-1或A-2的免疫球蛋白单可变结构域,用于给受试者施用,其中所述免疫球蛋白单可变结构域在所述受试者中不是天然存在的。

[0396] 方面A-4:免疫球蛋白单可变结构域,其能够以 10^{-5} - 10^{-12} 摩尔/升以下、优选 10^{-7} - 10^{-12} 摩尔/升以下、更优选地 10^{-8} - 10^{-12} 摩尔/升的解离常数(K_d)特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7(SEQ ID NO:1)。这种免疫球蛋白单可变结构域可以特别是根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域。

[0397] 方面A-5:免疫球蛋白单可变结构域,其能够以 $10^2\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ -约 $10^7\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 之间,优选 $10^3\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ - $10^7\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 之间,更优选 $10^4\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ - $10^7\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 之间,例如 $10^5\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ - $10^7\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 之间的缔合速率($k_{\text{缔合}}$ -速率)特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1)。这种免疫球蛋白单可变结构域可以特别是根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域。

[0398] 方面A-6:免疫球蛋白单可变结构域,其能够以 1s^{-1} - 10^{-6}s^{-1} 之间,优选 10^{-2}s^{-1} - 10^{-6}s^{-1} 之间,更优选 10^{-3}s^{-1} - 10^{-6}s^{-1} 之间,例如 10^{-4}s^{-1} - 10^{-6}s^{-1} 之间的解离速率($K_{\text{解离}}$ -速率)特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1)。这种免疫球蛋白单可变结构域可以特别是根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域。

[0399] 方面A-7:免疫球蛋白单可变结构域,其能够以小于500nM,优选小于200nM,更优选小于10nM,诸如小于500pM的亲和力特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1)。这种免疫球蛋白单可变结构域可以特别是根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域。

[0400] 方面A-8:免疫球蛋白单可变结构域,其能够以小于500nM,优选小于200nM,更优选小于10nM,例如小于1nM的平均 K_i 以及50%以上,更优选75%以上,还更优选80%以上的平均SDF-1和/或I-TAC置换特异性置换CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 上的SDF-1和/或I-TAC (CXCL11和/或CXCL12)。这种平均 K_i 和/或平均置换值可以例如在实施例9或10所述的检测中测定。

[0401] 方面A-9:免疫球蛋白单可变结构域,其能够以小于20nM的平均 K_i 以及70%以上的平均SDF-1和/或I-TAC置换特异性置换CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 上的SDF-1和/或I-TAC (CXCL11和/或CXCL12)。这种平均 K_i 和/或平均置换值可以例如在实施例9或10所述的检测中测定。

[0402] 方面A-10:根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由4个构架区(分别为FR1-FR4)和3个互补决定区(分别为CDR1-CDR3)组成。

[0403] 方面A-11:根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其是免疫球蛋白序列。

[0404] 方面A-12:根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其是天然存在的免疫球蛋白序列(来源于任何适当的物种)或是合成的或半合成的免疫球蛋白序列。

[0405] 方面A-13:根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其是人源化的免疫球蛋白序列,骆驼源化的免疫球蛋白序列或已经通过例如亲和力成熟的技术获得的免疫球蛋白序列。

[0406] 方面A-14:根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由轻链可变结构域序列(例如VL-序列);或由重链可变结构域序列(例如VH-序列)组成。

[0407] 方面A-15:根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由来源于常规4-链抗体的重链可变结构域序列组成或基本上由来源于重链抗体的重链可变结构域序列组成。

[0408] 方面A-16:根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由结构域抗体(或适于用作结构域抗体的免疫球蛋白单可变结构域),由单结构域抗体(或适于用作单结构域抗体的免疫球蛋白单可变结构域),由“dAb”(或适于用作dAb的免疫球蛋白单可变结构域)或由纳米抗体(包括但不限于VHH序列)组成。

[0409] 方面A-17:根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由纳米

抗体组成。

[0410] 方面A-18:根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由纳米抗体组成,所述纳米抗体

[0411] i) 与WO 2009/138519的SEQ ID NOs:1-22的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性,其中为了确定氨基酸同一性程度的目的,忽略形成CDR序列的氨基酸残基;

[0412] 并且其中:

[0413] ii) 优选在根据Kabat编号的位置11,37,44,45,47,83,84,103,104和108的氨基酸残基的一个或多个选自表A-1中提及的标志残基。

[0414] 方面A-19:根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由免疫球蛋白单可变结构域组成,所述免疫球蛋白单可变结构域

[0415] i) 与SEQ ID NOs:39-43,91或99-102的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性,其中为了确定氨基酸同一性程度的目的,忽略形成CDR序列的氨基酸残基;

[0416] 并且其中:

[0417] ii) 优选在根据Kabat编号的位置11,37,44,45,47,83,84,103,104和108的氨基酸残基的一个或多个选自表A-1中提及的标志残基。

[0418] 方面A-20:根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由多肽组成,所述多肽包含

[0419] i) 第一免疫球蛋白单可变结构域,其与选自具有SEQ ID NOs:39-43,91或99-102的免疫球蛋白单可变结构域的组的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性,其中为了确定氨基酸同一性程度的目的,忽略形成CDR序列的氨基酸残基;以及包含

[0420] ii) 第二免疫球蛋白单可变结构域,其与具有SEQ ID NO:2的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性,其中为了确定氨基酸同一性程度的目的,忽略形成CDR序列的氨基酸残基;以及,任选地,包含

[0421] iii) 接头。

[0422] 方面A-21:根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由人源化的或者其它序列优化的免疫球蛋白单可变结构域组成。

[0423] 方面A-22:根据前述方面中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其除了针对CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合的至少一个结合位点外,还包含一个或多个结合其它抗原、蛋白或靶标的其它结合位点。

[0424] 基于CDR的方面

[0425] 方面B-1:免疫球蛋白单可变结构域,其针对和/或能特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1), 并包括选自由下列各项组成的组的一个或多个(优选一个)氨基酸残基序列段(stretches):

[0426] a) SEQ ID NOs:9-13,93或107-110的免疫球蛋白单可变结构域;

[0427] b) 与SEQ ID NOs:9-13,93或107-110的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0428] c) 与SEQ ID NOs:9-13,93或107-110的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有3、

2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0429] d) SEQ ID NOs:19-23,95或115-118的免疫球蛋白单可变结构域;

[0430] e) 与SEQ ID NOs:19-23,95或115-118的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0431] f) 与SEQ ID NOs:19-23,95或115-118的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0432] g) SEQ ID NOs:29-33,97或123-126的免疫球蛋白单可变结构域;

[0433] h) 与SEQ ID NOs:29-33,97或123-126的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0434] i) 与SEQ ID NOs:29-33,97或123-126的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0435] 或其任何适当的组合。

[0436] 这种免疫球蛋白单可变结构域可以特别是VHH或序列优化的VHH,例如人源化的、稳定化的和/或增溶的VHH。

[0437] 方面B-2:根据方面B-1的免疫球蛋白单可变结构域,其中至少一个所述氨基酸残基序列段形成针对CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合的抗原结合位点的一部分。

[0438] 方面B-3:免疫球蛋白单可变结构域序列,其针对和/或能特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1),并包括选自由下列各项组成的组的两个或更多个氨基酸残基序列段(stretches):

[0439] a) SEQ ID NOs:9-13,93或107-110的免疫球蛋白单可变结构域;

[0440] b) 与SEQ ID NOs:9-13,93或107-110的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0441] c) 与SEQ ID NOs:9-13,93或107-110的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0442] d) SEQ ID NOs:19-23,95或115-118的免疫球蛋白单可变结构域;

[0443] e) 与SEQ ID NOs:19-23,95或115-118的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0444] f) 与SEQ ID NOs:19-23,95或115-118的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0445] g) SEQ ID NOs:29-33,97或123-126的免疫球蛋白单可变结构域;

[0446] h) 与SEQ ID NOs:29-33,97或123-126的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0447] i) 与SEQ ID NOs:29-33,97或123-126的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0448] 由此使得(i)当第一氨基酸残基序列段(stretch)对应于根据a),b)或c)的一种免疫球蛋白单可变结构域时,第二氨基酸残基序列段(stretch)对应于根据d),e),f),g),h)或i)的一种免疫球蛋白单可变结构域;(ii)当第一氨基酸残基序列段(stretch)对应于根据d),e)或f)的一种免疫球蛋白单可变结构域时,第二氨基酸残基序列段(stretch)对应于根据a),b),c),g),h)或i)的一种免疫球蛋白单可变结构域;或(iii)当第一氨基酸残基序

列段 (stretch) 对应于根据g), h) 或i) 的一种免疫球蛋白单可变结构域时, 第二氨基酸残基序列段 (stretch) 对应于根据a), b), c), d), e) 或f) 的一种免疫球蛋白单可变结构域。

[0449] 这种免疫球蛋白单可变结构域可以特别是VHH或序列优化的VHH, 例如人源化的、稳定化的和/或增溶的VHH。

[0450] 方面B-4: 根据方面B-3的免疫球蛋白单可变结构域, 其中至少两个所述氨基酸残基序列段 (stretches) 形成针对CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合的抗原结合位点的一部分。

[0451] 方面B-5: 免疫球蛋白单可变结构域序列, 其针对和/或能特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1), 并包括三个或多个氨基酸残基序列段 (stretches), 其中第一氨基酸残基序列段 (stretch) 选自由下列各项组成的组:

[0452] a) SEQ ID NOs:9-13, 93或107-110的免疫球蛋白单可变结构域;

[0453] b) 与SEQ ID NOs:9-13, 93或107-110的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0454] c) 与SEQ ID NOs:9-13, 93或107-110的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0455] 第二氨基酸残基序列段 (stretch) 选自由下列各项组成的组:

[0456] d) SEQ ID NOs:19-23, 95或115-118的免疫球蛋白单可变结构域;

[0457] e) 与SEQ ID NOs:19-23, 95或115-118的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0458] f) 与SEQ ID NOs:19-23, 95或115-118的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0459] 并且第三氨基酸残基序列段 (stretch) 选自由下列各项组成的组:

[0460] g) SEQ ID NOs:29-33, 97或123-126的免疫球蛋白单可变结构域;

[0461] h) 与SEQ ID NOs:29-33, 97或123-126的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0462] i) 与SEQ ID NOs:29-33, 97或123-126的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0463] 这种免疫球蛋白单可变结构域可以特别是VHH或序列优化的VHH, 例如人源化的、稳定化的和/或增溶的VHH。

[0464] 方面B-6: 根据方面B-5的免疫球蛋白单可变结构域, 其中至少三个所述氨基酸残基序列段 (stretches) 形成针对CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合的抗原结合位点的一部分。

[0465] 方面B-7: 免疫球蛋白单可变结构域, 其针对和/或能特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1), 其中所述免疫球蛋白单可变结构域的CDR序列与SEQ ID NOs:39-43, 91或99-102的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少70%的氨基酸同一性, 优选至少80%的氨基酸同一性, 更优选至少90%的氨基酸同一性, 例如95%的氨基酸同一性以上或甚至基本上100%的氨基酸同一性。

[0466] CDR序列优选通过本文定义的Kabat确定。

[0467] 这种免疫球蛋白单可变结构域可以特别是VHH或序列优化的VHH, 例如人源化的、

稳定化的和/或增溶的VHH。

[0468] 方面C-1:免疫球蛋白单可变结构域,其针对CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 且交叉阻断SEQ ID NOs:39-43,91或99-102的免疫球蛋白可变结构域,或SEQ ID NOs:44-48,78-89或131-140的多肽的至少一种与CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的结合。这种免疫球蛋白单可变结构域可以特别是根据方面A-1至A-22和/或根据方面B-1至B-7中任一项的免疫球蛋白单可变结构域。而且,优选地,这种免疫球蛋白单可变结构域能特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1)。

[0469] 方面C-2:免疫球蛋白单可变结构域或多肽,例如抗体或其片段,其针对CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 且被SEQ ID NOs:39-43,91或99-102的免疫球蛋白可变结构域,或SEQ ID NOs:44-48,78-89或131-140的多肽的至少一种交叉阻断其与CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的结合。这种免疫球蛋白单可变结构域可以特别是根据方面A-1至A-22和/或根据方面B-1至B-7中任一项的免疫球蛋白单可变结构域。而且,优选地,这种免疫球蛋白单可变结构域能特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1)。

[0470] 方面C-3:根据方面C-1或C-2任一项的免疫球蛋白单可变结构域或多肽,其中在置换检测(例如下述实施例9和/或10所述的)中检测所述免疫球蛋白单可变结构域交叉阻断或被交叉阻断的能力。

[0471] 方面C-4:根据方面C-1至C-3中任一项的免疫球蛋白单可变结构域或多肽,其中在ELISA检测中检测所述免疫球蛋白单可变结构域交叉阻断或被交叉阻断的能力。

[0472] 方面D-1:根据方面B-1至B-7或C-1至C-7中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其是基本上分离的形式。

[0473] 方面D-2:根据B-1至B-7,C-1至C-7,和/或D1中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,用于给受试者施用,其中所述免疫球蛋白单可变结构域在所述受试者中不是天然存在的。

[0474] 方面D-3:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,和/或D1至D-2中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其能够以 10^{-5} - 10^{-12} 摩尔/升以下、优选 10^{-7} - 10^{-12} 摩尔/升以下、更优选地 10^{-8} - 10^{-12} 摩尔/升的解离常数(K_d)特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1)。

[0475] 方面D-4:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,和/或D-1至D-3中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其能够以 $10^2 M^{-1} s^{-1}$ -约 $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 之间,优选 $10^3 M^{-1} s^{-1}$ - $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 之间,更优选 $10^4 M^{-1} s^{-1}$ - $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 之间,例如 $10^5 M^{-1} s^{-1}$ - $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 之间的缔合速率($k_{\text{缔合}}$ -速率)特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1)。

[0476] 方面D-5:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,和/或D-1至D-4中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其能够以 $1 s^{-1}$ - $10^{-6} s^{-1}$ 之间,优选 $10^{-2} s^{-1}$ - $10^{-6} s^{-1}$ 之间,更优选 $10^{-3} s^{-1}$ - $10^{-6} s^{-1}$ 之间,例如 $10^{-4} s^{-1}$ - $10^{-6} s^{-1}$ 之间的解离速率($k_{\text{解离}}$ -速率)特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1)。

[0477] 方面D-6:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,和/或D-1至D-5中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其能够以小于500nM,优选小于200nM,更优选小于10nM,诸如小于500pM的亲和力特异性结合CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1)。

[0478] 根据方面D-1至D-6的免疫球蛋白单可变结构域可以特别是根据方面A-1至A-22中任一项的免疫球蛋白单可变结构域。

[0479] 方面E-1:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,和/或D1至D-6中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其是天然存在的免疫球蛋白单可变结构域(来源于任何适当的物种)或是合成的或半合成的免疫球蛋白单可变结构域。

[0480] 方面E-2:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,D1至D-6和/或E-1中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其是序列优化的。

[0481] 方面E-3:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,D1至D-6和/或D-1或D-2中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其是稳定化的。

[0482] 方面E-4:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,D1至D-6和/或E-1至E-3中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其是天然存在的免疫球蛋白序列(来源于任何适当的物种)或是合成的或半合成的免疫球蛋白序列。

[0483] 方面E-5:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,D1至D-6和/或E-1至E-4中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其是人源化的免疫球蛋白序列,骆驼源化的免疫球蛋白序列或通过例如亲和力成熟的技术获得的免疫球蛋白序列。

[0484] 方面E-6:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,D1至D-6和/或E-1至E-5中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由轻链可变结构域序列(例如V_L-序列);或由重链可变结构域序列(例如V_H-序列)组成。

[0485] 方面E-7:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,D1至D-6和/或E-1至E-6中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由来源于常规4-链抗体的重链可变结构域序列组成或基本上由来源于重链抗体的重链可变结构域序列组成。

[0486] 方面E-8:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,D1至D-6和/或E-1至E-7中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由结构域抗体(或适于用作结构域抗体的免疫球蛋白单可变结构域),由单结构域抗体(或适于用作单结构域抗体的免疫球蛋白单可变结构域),由“dAb”(或适于用作dAb的免疫球蛋白单可变结构域)或由纳米抗体(包括但不限于V_{HH}序列)组成。

[0487] 方面E-9:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,D1至D-6和/或E-1至E-8中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由纳米抗体组成。

[0488] 方面E-10:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,D1至D-6和/或E-1至E-9中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由免疫球蛋白单可变结构域组成,所述免疫球蛋白单可变结构域

[0489] i) 与本文描述的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性,其中为了确定氨基酸同一性程度的目的,忽略形成CDR序列的氨基酸残基;

[0490] 并且其中:

[0491] ii) 优选在根据Kabat编号的位置11,37,44,45,47,83,84,103,104和108的氨基酸残基的一个或多个选自表B-2中提及的标志残基。

[0492] 方面E-11:根据方面B-1至B-7,C-1至C-7,D1至D-6和/或E-1至E-10中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其基本上由免疫球蛋白单可变结构域组成,所述免疫球蛋白单可变结构域

[0493] i) 与SEQ ID NOs:39-43,91或99-102的至少一种免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性,其中为了确定氨基酸同一性程度的目的,忽略形成CDR序列的氨基

酸残基；

[0494] 并且其中：

[0495] ii) 优选在根据Kabat编号的位置11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104和108的氨基酸残基的一个或多个选自表B-2中提及的标志残基。

[0496] 方面E-12: 根据方面B-1至B-7, C-1至C-7, D1至D-6和/或E-1至E-11中任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 其基本上由人源化免疫球蛋白单可变结构域组成。

[0497] 方面E-13: 根据方面B-1至B-7, C-1至C-7, D1至D-6和/或E-1至E-11中任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 其中除了CDR序列形成的结合的至少一个结合位点外, 还包含一个或多个结合其它抗原、蛋白或靶标的其它结合位点。

[0498] 根据方面E-1至E-13的免疫球蛋白单可变结构域可以特别是按照方面A-1至A-22中任一项所述的免疫球蛋白单可变结构域。

[0499] 多肽

[0500] 方面K-1: 多肽, 其包括一个或多个根据方面A-1至A-22, B-1至B-7, C-1至C-4, D-1至D-6, 和/或E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 并且任选地还包括一个或多个肽接头。

[0501] 方面K-2: 根据方面K-1的多肽, 其另外包含一个或多个 (优选一个) 针对血清白蛋白的免疫球蛋白单可变结构域。

[0502] 方面K-3: 根据方面K-1或K-2任一项的多肽, 其中所述针对血清白蛋白的免疫球蛋白单可变结构域针对人血清白蛋白。

[0503] 方面K-4: 根据方面K-1至K-3任一项的多肽, 其中所述一个或多个针对血清白蛋白的免疫球蛋白单可变结构域是SEQ ID NO: 2的免疫球蛋白单可变结构域。

[0504] 方面K-5: 多肽, 其包括一个或多个根据方面A-1至A-22, B-1至B-7, C-1至C-4, D-1至D-6, 和/或E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 一个或多个细胞毒性有效载荷, 并且任选地还包括一个或多个肽接头。

[0505] 方面K-6: 多肽, 其包括一个或多个根据方面A-1至A-22, B-1至B-7, C-1至C-4, D-1至D-6, 和/或E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 一个或多个 (优选一个) 针对CXCR4的免疫球蛋白单可变结构域 (优选纳米抗体), 或基本上由其组成, 并且任选地还包括一个或多个肽接头。

[0506] 方面K-7: 多肽, 其包括至少一个 (优选一个) 针对 (人) CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域 (优选纳米抗体) 和至少一个 (细胞) 毒性基团、结构部分或有效载荷, 或基本上由其组成 (任选地通过化学方式或通过一个或多个适合的接头或间隔子连接)。

[0507] 方面K-8: 多肽, 其包括至少一个 (优选一个) 针对 (人) CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域 (优选纳米抗体), 至少一个 (优选一个) 针对 (人) CXCR4的免疫球蛋白单可变结构域 (优选纳米抗体) 和至少一个 (细胞) 毒性基团、结构部分或有效载荷, 或基本上由其组成 (任选地通过化学方式或通过一个或多个适合的接头或间隔子连接)。

[0508] 方面K-9: 多肽, 其包括至少一个 (优选一个) 针对 (人) CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域 (优选纳米抗体) 和至少一个 (优选一个) 针对 (人) CXCR4的免疫球蛋白单可变结构域 (优选纳米抗体), 或基本上由其组成 (任选地通过化学方式或通过一个或多个适合的接头或间隔子连接)。

[0509] 方面K-10:多肽,其包括至少一个(优选一个)针对(人) CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域(优选纳米抗体),至少一个(优选一个)针对(人) CXCR4的免疫球蛋白单可变结构域(优选纳米抗体),和针对(人) 血清白蛋白的肽或免疫球蛋白单可变结构域(优选纳米抗体),或基本上由其组成(任选地通过化学方式或通过一个或多个适合的接头或间隔子连接)。

[0510] 方面K-11:多肽,其包括相同的两个针对(人) CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域(优选纳米抗体),或基本上由其组成(任选地通过化学方式或通过一个或多个适合的接头或间隔子连接)。

[0511] 方面K-12:多肽,其包括彼此不同的两个针对(人) CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域(优选纳米抗体),或基本上由其组成(任选地通过化学方式或通过一个或多个适合的接头或间隔子连接)。

[0512] 方面K-13:多肽,其包括相同的两个针对(人) CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域(优选纳米抗体)和针对(人) 血清白蛋白的肽或免疫球蛋白单可变结构域(优选纳米抗体),或基本上由其组成(任选地通过化学方式或通过一个或多个适合的接头或间隔子连接)。

[0513] 方面K-14:多肽,其包括彼此不同的两个针对(人) CXCR7的免疫球蛋白单可变结构域(优选纳米抗体)和针对(人) 血清白蛋白的肽或免疫球蛋白单可变结构域(优选纳米抗体),或基本上由其组成(任选地通过化学方式或通过一个或多个适合的接头或间隔子连接)。

[0514] 核酸

[0515] 方面M-1:核酸或核苷酸序列,其编码根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,或根据方面K-1至K-4中任一项的多肽。

[0516] 方面M-2:SEQ ID NOs:59-63,73-77或99(表B-6)的核酸或核苷酸序列。

[0517] 宿主细胞

[0518] 方面N-1:宿主或宿主细胞,其表达或其在适当的环境中能够表达根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项所述的免疫球蛋白单可变结构域,根据方面K-1至K-4中任一项所述的多肽;和/或其包含根据方面M-1或M-2的核酸或核苷酸序列。

[0519] 组合物

[0520] 方面O-1:组合物,其包括至少一种根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项所述的免疫球蛋白单可变结构域,或至少一种根据方面K-1至K-4中任一项所述的多肽或根据方面M-1或M-2的核酸或核苷酸序列。

[0521] 方面O-2:根据方面O-1的组合物,其是药物组合物。

[0522] 方面O-3:根据方面O-2的组合物,其是药物组合物,其还包括至少一种药学可接受的载体、稀释剂或赋形剂和/或辅药,并且任选地包括一种或多种其它药物活性肽和/或化合物。

[0523] 本发明的试剂和组合物的制备

[0524] 方面P-1:用于生产根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域、根据方面K-1至K-4中任一项的多肽的方法,所述

方法至少包括下列步骤:

[0525] a) 在适当的宿主细胞或宿主生物体中或在另一种适当的表达系统中,表达根据方面M-1或根据方面M-2的核酸或核苷酸序列;

[0526] 任选地接着:

[0527] b) 分离和/或纯化根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,根据方面K-1至K-4中任一项的多肽。

[0528] 方面P-2:用于生产根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,根据方面K-1至K-4中任一项的多肽的方法,所述方法至少包括下列步骤:

[0529] a) 在使根据方面N-1的宿主或宿主细胞表达和/或生产根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项的至少一种免疫球蛋白单可变结构域、根据方面K-1至K-4中任一项的多肽的条件下,培养和/或维持所述宿主或宿主细胞;

[0530] 任选地接着:

[0531] b) 分离和/或纯化根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域、根据方面K-1至K-4中任一项的多肽。

[0532] 筛选方法

[0533] 方面Q-1:筛选针对CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的免疫球蛋白单可变结构域的方法,其包括至少以下步骤:

[0534] a) 提供编码免疫球蛋白单可变结构域的核酸序列的组、集合或文库;

[0535] b) 筛选核酸序列的组、集合或文库,以获得编码能与CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 结合和/或对其具有亲和力,并且被交叉阻断或交叉阻断本发明的纳米抗体,例如SEQ ID NO:39-43,91或99-102 (表B-3),或者本发明的多肽或构建体,例如SEQ ID NO:44-48,78-89或131-140 (参见表B-4) 的免疫球蛋白单可变结构域的核酸序列;和

[0536] c) 分离所述核酸序列,然后表达所述免疫球蛋白单可变结构域。

[0537] 本发明的试剂的用途

[0538] 方面R-1:预防和/治疗癌症和炎性疾病(例如本文提及的)的方法,所述方法包括给有需要的受试者施用药学活性量的至少一种根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,根据方面K-1至K-4中任一项的多肽;或根据方面O-2或O-3的组合物。

[0539] 方面R-2:预防和/治疗与CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 相关,与其生物学或药理学活性相关,和/或与涉及CXCR7、特别是人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 的生物学途径或信号传导相关的至少一种疾病或失调的方法,所述方法包括给有需要的受试者施用药学活性量的至少一种根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,根据方面K-1至K-4中任一项的多肽;或根据方面O-2或O-3的组合物。

[0540] 方面R-3:预防和/治疗能够通过给有需要的受试者施用药学活性量的至少一种根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,根据方面K-1至K-4中任一项的多肽;或根据方面O-2或O-3的组合物预防和/治疗的至少一种疾病或失调的方法,所述方法包括给有需要的受试者施用药学活性量的至少

一种根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,根据方面K-1至K-4中任一项的多肽;或根据方面0-2或0-3的组合物。

[0541] 方面R-4:免疫治疗的方法,所述方法包括给有需要的受试者施用药学活性量的至少一种根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,根据方面K-1至K-4中任一项的多肽;或根据方面0-2或0-3的组合物。

[0542] 方面R-5:根据方面A-1至A-22,B-1至B-7,C-1至C-4,D-1至D-6,E-1至E-13中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,根据方面K-1至K-4中任一项的多肽,根据方面0-2或0-3的药物组合物,其用于根据方面R-1至R-3的一种或多种方法中。

[0543] 方面R-6:根据方面K-1至K-4中任一项的多肽,其用于诊断、预防和/或治疗癌症。

[0544] 其它方面:

[0545] 1.构建体,其包含至少一个结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基M33,和任选地氨基酸残基V32和/或氨基酸残基M37的免疫球蛋白单可变结构域 (ISVD) 和至少一个结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基WF19和任选地S23和/或D25的ISVD。

[0546] 2.根据方面1的构建体,其用作药物减少肿瘤生长和/或治疗癌症,优选头颈癌或GBM。

[0547] 3.免疫球蛋白单可变结构域,其能够以小于100nM的平均 K_i 以及50%以上的平均SDF-1和I-TAC置换特异性置换人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 上的SDF-1和I-TAC。

[0548] 4.免疫球蛋白单可变结构域,其能够以小于100nM的平均 K_i 以及50%以上的平均SDF-1置换特异性置换人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 上的SDF-1。

[0549] 5.免疫球蛋白单可变结构域,其能够以小于100nM的平均 K_i 以及50%以上的平均I-TAC置换特异性置换人CXCR7 (SEQ ID NO:1) 上的I-TAC。

[0550] 6.方面3-5任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其中所述平均 K_i 为50nM以下。

[0551] 7.方面3-5任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其中所述平均 K_i 为10nM以下。

[0552] 8.方面3-7任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其中所述平均SDF-1或I-TAC置换为80%以上。

[0553] 9.免疫球蛋白单可变结构域,其能够以小于50nM的 K_d 结合人CXCR7 (SEQ ID NO:1)。

[0554] 10.免疫球蛋白单可变结构域,其结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基M33,和任选地氨基酸残基V32和/或氨基酸残基M37。

[0555] 11免疫球蛋白单可变结构域,其结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO:1) 中的氨基酸残基WF19和任选地S23和/或D25。

[0556] 12.根据方面10或11的免疫球蛋白单可变结构域,其用作药物减少肿瘤生长和/或治疗癌症,优选头颈癌或GBM。

[0557] 13.根据方面3-12任一项的免疫球蛋白单可变结构域,其中所述免疫球蛋白单可变结构域包含式1的氨基酸序列:

[0558] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

[0559] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区;并且

[0560] 其中CDR1选自由以下组成的组:

- [0561] a) SEQ ID NO:9的免疫球蛋白单可变结构域，
- [0562] b) 与SEQ ID NO:9的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域，
- [0563] c) 与SEQ ID NO:9的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域，
- [0564] 并且其中CDR2选自由以下组成的组：
- [0565] d) SEQ ID NO:19的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0566] e) 与SEQ ID NO:19的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0567] f) 与SEQ ID NO:19的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0568] 并且其中CDR3选自由以下组成的组：
- [0569] g) SEQ ID NO:29的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0570] h) 与SEQ ID NO:29的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0571] i) 与SEQ ID NO:29的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域。
- [0572] 14. 根据方面3-12任一项的免疫球蛋白单可变结构域，其中所述免疫球蛋白单可变结构域包含式1的氨基酸序列：
- [0573] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1) ；
- [0574] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区；并且
- [0575] 其中CDR1选自由以下组成的组：
- [0576] a) SEQ ID NO:10的免疫球蛋白单可变结构域，
- [0577] b) 与SEQ ID NO:10的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域，
- [0578] c) 与SEQ ID NO:10的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域，
- [0579] 并且其中CDR2选自由以下组成的组：
- [0580] d) SEQ ID NO:20的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0581] e) 与SEQ ID NO:20的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0582] f) 与SEQ ID NO:20的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0583] 并且其中CDR3选自由以下组成的组：
- [0584] g) SEQ ID NO:30的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0585] h) 与SEQ ID NO:30的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0586] i) 与SEQ ID NO:30的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域。

[0587] 15. 根据方面3-12任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 其中所述免疫球蛋白单可变结构域包含式1的氨基酸序列:

[0588] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

[0589] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区; 并且

[0590] 其中CDR1选自由以下组成的组:

[0591] a) SEQ ID NO:11的免疫球蛋白单可变结构域,

[0592] b) 与SEQ ID NO:11的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域,

[0593] c) 与SEQ ID NO:11的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域,

[0594] 并且其中CDR2选自由以下组成的组:

[0595] d) SEQ ID NO:21的免疫球蛋白单可变结构域;

[0596] e) 与SEQ ID NO:21的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0597] f) 与SEQ ID NO:21的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0598] 并且其中CDR3选自由以下组成的组:

[0599] g) SEQ ID NO:31的免疫球蛋白单可变结构域;

[0600] h) 与SEQ ID NO:31的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0601] i) 与SEQ ID NO:31的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域。

[0602] 16. 根据方面3-12任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 其中所述免疫球蛋白单可变结构域包含式1的氨基酸序列:

[0603] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

[0604] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区; 并且

[0605] 其中CDR1选自由以下组成的组:

[0606] a) SEQ ID NO:12的免疫球蛋白单可变结构域,

[0607] b) 与SEQ ID NO:12的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域,

[0608] c) 与SEQ ID NO:12的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域,

[0609] 并且其中CDR2选自由以下组成的组:

[0610] d) SEQ ID NO:22的免疫球蛋白单可变结构域;

[0611] e) 与SEQ ID NO:22的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0612] f) 与SEQ ID NO:22的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0613] 并且其中CDR3选自由以下组成的组:

[0614] g) SEQ ID NO:32的免疫球蛋白单可变结构域;

[0615] h) 与SEQ ID NO:32的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0616] i) 与SEQ ID NO:32的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域。

[0617] 17. 根据方面3-12任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 其中所述免疫球蛋白单可变结构域包含式1的氨基酸序列:

[0618] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

[0619] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区; 并且

[0620] 其中CDR1选自由以下组成的组:

[0621] a) SEQ ID NO:13的免疫球蛋白单可变结构域,

[0622] b) 与SEQ ID NO:13的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域,

[0623] c) 与SEQ ID NO:13的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域,

[0624] 并且其中CDR2选自由以下组成的组:

[0625] d) SEQ ID NO:23的免疫球蛋白单可变结构域;

[0626] e) 与SEQ ID NO:23的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0627] f) 与SEQ ID NO:23的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0628] 并且其中CDR3选自由以下组成的组:

[0629] g) SEQ ID NO:33的免疫球蛋白单可变结构域;

[0630] h) 与SEQ ID NO:33的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0631] i) 与SEQ ID NO:33的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域。

[0632] 18. 根据方面3-12任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 其中所述免疫球蛋白单可变结构域包含式1的氨基酸序列:

[0633] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

[0634] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区; 并且其中CDR1选自由以下组成的组:

[0635] a) SEQ ID NO:93的免疫球蛋白单可变结构域,

[0636] b) 与SEQ ID NO:93的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域,

[0637] c) 与SEQ ID NO:93的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0638] 并且其中CDR2选自由以下组成的组:

[0639] d) SEQ ID NO:95的免疫球蛋白单可变结构域;

[0640] e) 与SEQ ID NO:95的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0641] f) 与SEQ ID NO:95的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0642] 并且其中CDR3选自由以下组成的组:

[0643] g) SEQ ID NO:97的免疫球蛋白单可变结构域;

[0644] h) 与SEQ ID NO:97的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0645] i) 与SEQ ID NO:97的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域。

[0646] 19. 根据方面3-12任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 其中所述免疫球蛋白单可变结构域包含式1的氨基酸序列:

[0647] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

[0648] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区; 并且

[0649] 其中CDR1选自由以下组成的组:

[0650] a) SEQ ID NO:107的免疫球蛋白单可变结构域,

[0651] b) 与SEQ ID NO:107的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域,

[0652] c) 与SEQ ID NO:107的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域,

[0653] 并且其中CDR2选自由以下组成的组:

[0654] d) SEQ ID NO:115的免疫球蛋白单可变结构域;

[0655] e) 与SEQ ID NO:115的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0656] f) 与SEQ ID NO:115的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域;

[0657] 并且其中CDR3选自由以下组成的组:

[0658] g) SEQ ID NO:123的免疫球蛋白单可变结构域;

[0659] h) 与SEQ ID NO:123的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域;

[0660] i) 与SEQ ID NO:123的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域。

[0661] 20. 根据方面3-12任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 其中所述免疫球蛋白单可变结构域包含式1的氨基酸序列:

[0662] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

[0663] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区; 并且

[0664] 其中CDR1选自由以下组成的组:

[0665] a) SEQ ID NO:108的免疫球蛋白单可变结构域,

[0666] b) 与SEQ ID NO:108的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的

免疫球蛋白单可变结构域，

[0667] c) 与SEQ ID NO:108的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域，

[0668] 并且其中CDR2选自由以下组成的组：

[0669] d) SEQ ID NO:116的免疫球蛋白单可变结构域；

[0670] e) 与SEQ ID NO:116的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域；

[0671] f) 与SEQ ID NO:116的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域；

[0672] 并且其中CDR3选自由以下组成的组：

[0673] g) SEQ ID NO:124的免疫球蛋白单可变结构域；

[0674] h) 与SEQ ID NO:124的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域；

[0675] i) 与SEQ ID NO:124的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域。

[0676] 21. 根据方面3-12任一项的免疫球蛋白单可变结构域，其中所述免疫球蛋白单可变结构域包含式1的氨基酸序列：

[0677] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1) ；

[0678] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区；并且

[0679] 其中CDR1选自由以下组成的组：

[0680] a) SEQ ID NO:110的免疫球蛋白单可变结构域，

[0681] b) 与SEQ ID NO:110的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域，

[0682] c) 与SEQ ID NO:110的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域，

[0683] 并且其中CDR2选自由以下组成的组：

[0684] d) SEQ ID NO:118的免疫球蛋白单可变结构域；

[0685] e) 与SEQ ID NO:118的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域；

[0686] f) 与SEQ ID NO:118的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域；

[0687] 并且其中CDR3选自由以下组成的组：

[0688] g) SEQ ID NO:126的免疫球蛋白单可变结构域；

[0689] h) 与SEQ ID NO:126的免疫球蛋白单可变结构域具有至少80%的氨基酸同一性的免疫球蛋白单可变结构域；

[0690] i) 与SEQ ID NO:126的免疫球蛋白单可变结构域具有3、2或1个氨基酸差异的免疫球蛋白单可变结构域。

[0691] 22. 根据方面1-21任一项的免疫球蛋白单可变结构域，其中构架区 (FRs) 与SEQ ID NOs: 4-8, 92, 103, 104或106 (FR1) , 14-18, 94, 111, 112或114 (FR2) , 24-28, 96, 119, 120或122

(FR3), 和/或34-38, 98, 127, 128或130 (FR4) 的FRs具有大于80%的序列同一性。

[0692] 23. 多肽, 其包含方面3-22任一项的免疫球蛋白单可变结构域。

[0693] 24. 根据方面23的多肽, 其中所述免疫球蛋白单可变结构域选自由氨基酸序列与SEQ ID NOs: 39-43, 91或99-102的免疫球蛋白单可变结构域具有大于80%的序列同一性的免疫球蛋白单可变结构域组成的组。

[0694] 25. 根据方面23-24任一项的多肽, 其另外包含至少一个结合人血清白蛋白的免疫球蛋白单可变结构域并且任选地包含选自SEQ ID NOs: 49-58的接头。

[0695] 26. 根据方面23-25任一项的多肽, 其另外包含ALB8 (SEQ ID NO: 2), 并且任选地包含选自SEQ ID NOs: 49-58的接头。

[0696] 27. 根据方面23-26任一项的多肽, 其中所述多肽选自由氨基酸序列与SEQ ID NOs: 44-48, 78-89和131-140的多肽具有大于80%的序列同一性的多肽组成的组。

[0697] 28. 构建体, 其选自由以下组成的组:

[0698] -构建体, 其包含至少两个结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO: 1) 中的氨基酸残基WF19和任选地S23和/或D25的ISVDs, 其中所述至少两个ISVDs可以是相同的或不同的;

[0699] -构建体, 其包含至少两个结合和/或识别CXCR7 (SEQ ID NO: 1) 中的氨基酸残基M33, 和任选地氨基酸残基V32和/或氨基酸残基M37的ISVDs, 其中所述至少两个ISVDs可以是相同的或不同的;

[0700] -构建体, 其包含至少一个第1组ISVD和至少一个第2组ISVD;

[0701] -构建体, 其包含至少一个第1组ISVD和至少一个第3组ISVD;

[0702] -构建体, 其包含至少一个第2组ISVD和至少一个第3组ISVD; 和

[0703] -构建体, 其包含至少一个01C10-样序列和至少一个14G03-样序列。

[0704] 29. 根据方面28的构建体, 其用作药物减少肿瘤生长和/或治疗癌症, 优选头颈癌或GBM。

[0705] 30. 核酸序列, 其编码

[0706] i) 根据方面3-22中任一项的免疫球蛋白单可变结构域;

[0707] ii) 根据方面23-27中任一项的多肽, 或

[0708] iii) 根据方面1, 2, 28或29中任一项的构建体。

[0709] 31. 药物组合物, 其包括

[0710] i) 根据方面3-22中任一项的免疫球蛋白单可变结构域;

[0711] ii) 根据方面23-27中任一项的多肽; 或

[0712] iii) 根据方面1, 2, 28或29中任一项的构建体;

[0713] 和任选地药学可接受的赋形剂。

[0714] 32. 根据方面3-22中任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 根据方面23-27中任一项的多肽, 或根据方面1, 2, 28或29中任一项的构建体, 其用于癌症, 优选头颈癌、GBM和/或炎症性疾病中。

[0715] 33. 根据方面3-22中任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 根据方面23-27中任一项的多肽, 或根据方面1, 2, 28或29中任一项的构建体, 其用在类风湿性关节炎中。

[0716] 34. 根据方面3-22中任一项的免疫球蛋白单可变结构域, 根据方面23-27中任一项的多肽, 或根据方面1, 2, 28或29中任一项的构建体, 其用在多发性硬化中。

[0717] 35.生产根据方面3-22中任一项的免疫球蛋白单可变结构域、根据方面23-27中任一项的多肽或根据方面1,2,28或29中任一项的构建体的方法,所述方法至少包括以下步骤:

[0718] a) 在适当的宿主细胞或宿主生物体中或在另一种适当的表达系统中,表达根据方面30的核酸或核苷酸序列;任选地接着:

[0719] b) 分离和/或纯化根据方面3-22中任一项的免疫球蛋白单可变结构域,根据方面23-27中任一项的多肽,或根据方面1,2,28或29中任一项的构建体。

[0720] 36.免疫球蛋白单可变结构域,其包含式1的氨基酸序列:

[0721] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

[0722] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区;

[0723] 其中CDR1是SEQ ID NO:9的免疫球蛋白单可变结构域;

[0724] 其中CDR2是SEQ ID NO:19的免疫球蛋白单可变结构域;并且

[0725] 其中CDR3是SEQ ID NO:29的免疫球蛋白单可变结构域。

[0726] 37.免疫球蛋白单可变结构域,其包含式1的氨基酸序列:

[0727] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

[0728] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区;

[0729] 其中CDR1是SEQ ID NO:10的免疫球蛋白单可变结构域;

[0730] 其中CDR2是SEQ ID NO:20的免疫球蛋白单可变结构域;并且

[0731] 其中CDR3是SEQ ID NO:30的免疫球蛋白单可变结构域。

[0732] 38.免疫球蛋白单可变结构域,其包含式1的氨基酸序列:

[0733] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

[0734] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区;

[0735] 其中CDR1是SEQ ID NO:11的免疫球蛋白单可变结构域;

[0736] 其中CDR2是SEQ ID NO:21的免疫球蛋白单可变结构域;并且

[0737] 其中CDR3是SEQ ID NO:31的免疫球蛋白单可变结构域。

[0738] 39.免疫球蛋白单可变结构域,其包含式1的氨基酸序列:

[0739] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

[0740] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区;

[0741] 其中CDR1是SEQ ID NO:12的免疫球蛋白单可变结构域;

[0742] 其中CDR2是SEQ ID NO:22的免疫球蛋白单可变结构域;并且

[0743] 其中CDR3是SEQ ID NO:32的免疫球蛋白单可变结构域。

[0744] 40.免疫球蛋白单可变结构域,其包含式1的氨基酸序列:

[0745] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

[0746] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区;

[0747] 其中CDR1是SEQ ID NO:13的免疫球蛋白单可变结构域;

[0748] 其中CDR2是SEQ ID NO:23的免疫球蛋白单可变结构域;并且

[0749] 其中CDR3是SEQ ID NO:33的免疫球蛋白单可变结构域。

[0750] 41.免疫球蛋白单可变结构域,其包含式1的氨基酸序列:

[0751] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1);

- [0752] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区；
- [0753] 其中CDR1是SEQ ID NO:93的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0754] 其中CDR2是SEQ ID NO:95的免疫球蛋白单可变结构域；并且
- [0755] 其中CDR3是SEQ ID NO:97的免疫球蛋白单可变结构域。
- [0756] 42. 免疫球蛋白单可变结构域，其包含式1的氨基酸序列：
- [0757] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1) ；
- [0758] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区；
- [0759] 其中CDR1是SEQ ID NO:107的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0760] 其中CDR2是SEQ ID NO:115的免疫球蛋白单可变结构域；并且
- [0761] 其中CDR3是SEQ ID NO:123的免疫球蛋白单可变结构域。
- [0762] 43. 免疫球蛋白单可变结构域，其包含式1的氨基酸序列：
- [0763] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1) ；
- [0764] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区；
- [0765] 其中CDR1是SEQ ID NO:108的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0766] 其中CDR2是SEQ ID NO:116的免疫球蛋白单可变结构域；并且
- [0767] 其中CDR3是SEQ ID NO:124的免疫球蛋白单可变结构域。
- [0768] 44. 免疫球蛋白单可变结构域，其包含式1的氨基酸序列：
- [0769] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (1) ；
- [0770] 其中FR1至FR4指构架区1至4并且是免疫球蛋白单可变结构域的构架区；
- [0771] 其中CDR1是SEQ ID NO:110的免疫球蛋白单可变结构域；
- [0772] 其中CDR2是SEQ ID NO:118的免疫球蛋白单可变结构域；并且
- [0773] 其中CDR3是SEQ ID NO:126的免疫球蛋白单可变结构域。
- [0774] 实验部分
- [0775] 序列：
- [0776] 表B-1：现有技术序列

[0777]

名称	SEQ ID NO:	氨基酸序列
人 CXCR7 或 hCXCR7	1	MDLHLFDYSEPGNFSDISWPCNSSDCIVVDTVMCPNMPN KSVLLYTLSPFIYIFIFVIGMIANSVVVWVNIQAKTTGYD THCYILNLAIADLWVLTIPVWVSLVQHNQWPMGELTC KVTHLIFPSINLPGSIFFLTCMSVDRYLSITYFTINTPSSR KKMVRRVVCILVWLLAFCVSLPDTYYLKTVTSASNNETY CRSFYPEHSIKEWLGIMELVSVVLGFAVPFSIIAVFYFL LARASASSDQEKHSSRKIIFSYVVVFLVCWLPYHVAVL LDIFSILHYIPFTCELEHALFTALHVTQCLSLVHCCVNP VLYSFINRNYRYELMKAFIFKYSAKTGLTKLIDASRVSE TEYSALEQSTK
Alb8	2	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASGFTFSSFGMSWVRQ AFGKGLEWVSSISGSGSDTLVADSVKGRFTISRDNAKTT LYLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTFLTVSS
小鼠 CXCR7 或 mCXCR7	3	MDVHLFDYAEPGNYSIDINWPCNSSDCIVVDTVQCPTMPN KNVLLYTLSPFIYIFIFVIGMIANSVVVWVNIQAKTTGYD THCYILNLAIADLWVVTIPVWVSLVQHNQWPMGELTC KITHLIFPSINLPGSIFFLACMSVDRYLSITYFTGTSSYK KKMVRRVVCILVWLLAFVSLPDTYYLKTVTSASNNETY CRSFYPEHSIKEWLGIMELVSVVLGFAVPFTIIAIFYFL LARAMSASGDQEKHSSRKIIFSYVVVFLVCWLPYHVVVL LDIFSILHYIPFTCOLENVLFTALHVTQCLSLVHCCVNP VLYSFINRNYRYELMKAFIFKYSAKTGLTKLIDASRVSE TEYSALEQNTK
Tag-1	71	AAAHNHGHHGAAEQKLISEEDLNGAA
Tag-2	72	AAAEQKLISEEDLNGAAHHHHHH
Tag-3	105	GAAEQKLISEEDLNGAAHHHHHH
猕猴 CXCR7 或 cCXCR7	90	MDLHVFDYSEPGNFSDISWPCNSSDCIVVDTVMCPNMPN KSVLLYTLAFIYIFIFVIGMIANSVVVWVNIQAKTTGYD THCYILNLAIADLWVLTIPVWVSLVQHNQWPMGELTC KVTHLIFPSINLPGSIFFLTCMSVDRYLSITYFTINTSSSR KKMVRRVVCILVWLLAFCVSLPDTYYLKTVTSASNNETY CRSFYPEHSIKEWLGIMELVSVVLGFAVPFSVIAVFYFL LARASASGDQEKHSSRKIIFSYVVVFLVCWLPYHVAVL LDIFSILHYIPFTCRLEHALFTALHVTQCLSLVECCVNP VLYSFINRNYRYELMKAFIFKYSAKTGLTKLIDASRVSE TEYSALEQSTK

[0778] 表B-2:CDRs和构架的序列,加上提供给式I,即

[0779] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4的优选组合

[0780] (术语:“ID”指给定的SEQ ID NO。每个NB构建体的FR和CDR序列的优选的组合在本申请通篇可以互换使用)

[0781]

克隆	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2
07B11	4	EVQLVESGGNLVQAGGSLGLSC AASVSISS	9	IHIMG	14	WYRQAPGKQRDV A
07C03	5	EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCA ASGRTL	10	AYIMG	15	WFRQAPGKEREFVA
08A05	6	EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSC AASGLTFS	11	NYDMG	16	WFRQAPGKEREFV G
08A10	7	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSC AASGSIFS	12	IAAMG	17	WYRQATGKQRELV A
14G03 (09A04)	8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRISCA ASGSIYL	13	INIMG	18	WYRQAPGKQRELV A
Alb8	64	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCA ASGFTFS	65	SFGMS	66	WVRQAPGKGLEWV S
01C10	92	EVQLVESGGGLVQTGASLRLSCA ASGRTFS	93	NYAMG	94	WFRQAPGKERERVA
01C12	103	EVQLVESGGGLVQAGASLRLSC AASGRTFS	107	NYAMG	111	WFRQAPGKERERVA
01B12	104	EVQLVESGGGLVQAGASLRLSC AASGRTFS	108	NYAMG	112	WFRQAPGKEREPVA
01F11	105	EVQLVESGGGLVQAGASLRLSC AASGRTFS	109	NYAMG	113	WFRQAPGKEREPVA
01B10	106	EVQLVESGGGLVQAGASLRLSC AASGRTFG	110	NYAMG	114	WFRQAPGKEREPVA

[0782] 表B-2 (续)

[0783]

克隆	ID	CDR2	ID	FR3
07B11	19	TITSGGSTAYADSVKG	24	RFTVSKDNAKNTVYLQMDSLKPEDTSVYY CAA
07C03	20	GIWSSGGYTHLADSAKG	25	RFSISRDNKNTVYLQMNGLKPEDTAVYY CAA
08A05	21	ASWWSGGAPYYSDSVK G	26	RFTISRDNKNTVYLQANSLRPEDTAVYYC AA
08A10	22	TITDGGTTTYADSVKG	27	RVTISRDRSANTVYLLAMNNLKPDDTAVYY CYA
14G03 (09A04)	23	TLTSGGSTNYAGSVKG	28	RFAISRDNKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYY CNI

[0784]

Alb8	67	SISGSGSDTLYADSVKG	68	RFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYC TI
01C10	95	AITPRAFTTYYADSVKG	96	RFTISRDNAKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYC AA
01C12	115	AISPSAVTTTYADSVKG	119	RFTISRDNAKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYC AA
01B12	116	AISPAALTYYADSVKG	120	RFTISRDNAKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYC AA
01F11	117	AISPAALTYYADSVKG	121	RFTISRDNAKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYC AA
01B10	118	AISPAAVTYYADSVKG	122	RFTISRDNAKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYC AA

[0785] 表B-2 (续)

克隆	ID	CDR3	ID	FR4
07B11	29	EVRNGVFGKWNHY	34	WGQGTQVTVSS
07C03	30	GLRGRQYSN	35	WGQGTQVTVSS
08A05	31	KRLRSFASGGSYDY	36	WGQGTQVTVSS
08A10	32	YLRYSRVPGDNY	37	WGQGTQVTVSS
14G03 (09A04)	33	GGTLYDRRRFES	38	WGQGTQVTVSS
Alb8	69	GGSLSR	70	SSQGTLTVSS
01C10	97	QLVGSGSNLGRQESYAY	98	WGQGTQVTVSS
01C12	123	QLPGRGSNLGRQASYAY	127	WGQGTQVTVSS
01B12	124	QLVGSGSNLGRQQSYAY	128	WGQGTQVTVSS
01F11	125	QLVGSGSNLGRQQSYAY	129	WGQGTQVTVSS
01B10	126	QLVGSGSNLGRQQSYAY	130	WGQGTQVTVSS

[0787] 表B-3: 本发明的免疫球蛋白单可变结构域的氨基酸序列

[0788]

克隆名称	SEQ ID NO:	氨基酸序列
07B11	39	EVQLVESGGNLVQAGGSLGLSCAASVSISIIHMGWYRQ APGKQRDLVATITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTV YLQMDSLKPEDTSVYYCAAENVGVFGKWNHYWGQGTQV TVSS
07C03	40	EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRITLSAYIMGWFRQ APGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNKNTV YLQMNGLKPEDTAVYYCAAAGLEGROYSMWGQGTQVTVSS
08A05	41	EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQ APGKEREFVGAASWWSGGAPYYSDSVKGRFTISRDNKNT VYLOANSRLPEDTAVYYCAAKRLRSFASGGSYDYWGQGT QVTVSS
06A10	42	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIIFSTAMGWYRQ ATGKQRELVAITITDGGTTIYADSVKGRVTISRDRSANTV YLAMNNLKPDDTAVYYCYAYLRYTSRVPGDNYWGQGTQV TVSS
14G03 (09A04)*	43	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIYLYNMGWYRQ APGKQRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTV YLQMNLSLKPEDTAVYYCNIGGTLYDRRRFESWGQGTQV TVSS
01C10	91	EVQLVESGGGLVQPGASLRLSCAASGRITFSNYAMGWFRQ APGKERERVAAITPRAFTTYADSVKGRFTISRDNKNT AYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGSGSNLGRQESYAYWG QGTQVTVSS
01C12	99	EVQLVESGGGLVQAGASLRLSCAASGRITFSNYAMGWFRQ APGKERERVAATSPSAVTITYADSVKGRFTISRDNKNT AYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLPGRGNSNLGRQASAYWG QGTQVTVSS
01B12	100	EVQLVESGGGLVQAGASLRLSCAASGRITFSNYAMGWFRQ APGKEREPVAAISPAALTITYADSVKGRFTISRDNKNT AYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGSGSNLGRQQSYAYWG QGTQVTVSS
01F11	101	EVQLVESGGGLVQAGASLRLSCAASGRITFSNYAMGWFRQ APGKEREPVAAISPAALTITYADSVKGRFTISRDNKNT AYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGSGSNLGRQQSYAYWG QGTQVTVSS
01B10	102	EVQLVESGGGLVQAGASLRLSCAASGRITFCNYAMGWFRQ APGKEREPVAAISPAAVTITYADSVKGRFTISRDNKNT AYLQKVSLLKPEDTAVYYCAAQLVGSGSNLGRQQSYAYWG QGTQVTVSS

[0789] *14G03的序列与09A04的序列相同；14G03与09A04互换使用。

[0790] 表B-4: 本发明的多肽序列

[0791]

克隆名称	SEQ ID NO:	氨基酸序列
07B11-9GS- Alb8	44	EVQLVESGGNIVQAGGSLGLSCAASVSISSIHIMGWYRQ APGKQRDLVATITSCGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTV YLQMDSLKPEDTSVYYCAAQVRNGVFCKWNHYWGQGTQV TVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASG FTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVK GRFTISRDNAKITLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSR SSQGTLVTVSS
07C03-9GS- Alb8	45	EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRTLSAYIMGWFRQ APGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFISRDNKNTV YLQMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGQGTQVTVSS GGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASGFTFS SFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFT ISRDNAKITLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQG TLVTVSS
08A05-9GS- Alb8	46	EVQLVESGGGLVQAGESLRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQ APGKEREFVGAASWGGAPYYSDGVKGRFTISRDNKNT VYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLRSFASGGSYDYWGQGT QVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAA SGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADS VKGRFTISRDNAKITLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL SRSSQGTLVTVSS
08A10-9GS- Alb8	47	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIIFSIAAMGWYRQ ATGKQRELVAITIDGGFTTYADSVKGRVFTISRDSANTV YLAMNNLKPDDTAVYYCYAYLRYTSRVPGDNYWGQGTQV TVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASG FTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVK GRFTISRDNAKITLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSR SSQGTLVTVSS
14G03-9GS- Alb8	48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIYLINYMGWYRQ APGKQRELVAITLISGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTV YLQMNSLKPEDTAVYYCNIGGTLTYDERRFESWGQGTQV

[0792]

		VSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASGF TFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLVADSVKQ RFTISRDNAKTTLVQLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRS SQGTTLVTVSS
07B11-9GS- 07C03	78	EVQLVESGGNLVQAGGSLGLSCAASVSISSIHIMGWYRQ APGKQRDLVATITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTV YLQMDSLKPEDTSVYYCAAEVRNGVFGKWNHYWGQGTQV TVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASG RTL SAYIMGWFRQAPGKREFVAGIWSGGYTHLADSAKG RFSISRDNAKNTVYLQMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQY SNWGQGTQVTVSS
07C03-9GS- 07B11	79	EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRTL SAYIMGWFRQ APGKREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNAKNTV YLQMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYENWGQGTQVTVSS GGGGSGGGSEVQLVESGGNLVQAGGSLGLSCAASVSISS IHIMGWYRQAPGKQRDLVATITSGGSTAYADSVKGRFTV SKDNAKNTVYLQMDSLKPEDTSVYYCAAEVRNGVFGKWN HYWGQGTQVTVSS
07B11-9GS- A1b8-9GS- 07C03	80	EVQLVESGGNLVQAGGSLGLSCAASVSISSIHIMGWYRQ APGKQRDLVATITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTV YLQMDSLKPEDTSVYYCAAEVRNGVFGKWNHYWGQGTQV TVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASG FTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLVADSVK GRFTISRDNAKTTLVQLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLR SSQGTTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGESLT LSCAASGRTL SAYIMGWFRQAPGKREFVAGIWSGGYTH LADSAKGRFSISRDNAKNTVYLQMNGLKPEDTAVYYCAA GLRGRQYENWGQGTQVTVSS
07B11-9GS- 07C03-9GS- A1b8	81	EVQLVESGGNLVQAGGSLGLSCAASVSISSIHIMGWYRQ APGKQRDLVATITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTV YLQMDSLKPEDTSVYYCAAEVRNGVFGKWNHYWGQGTQV TVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASG RTL SAYIMGWFRQAPGKREFVAGIWSGGYTHLADSAKG RFSISRDNAKNTVYLQMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQY SNWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNS LRSLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGS DTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLVQLQMNSLRPEDTAVYY CTIGGSLRS SQGTTLVTVSS
08A05-9GS- 08A10	82	EVQLVESGGGLVQAGDSLRSLSCAASGLTFSSNYDMGWFRQ APGKREFVAGASWWSGGAPYYSDSVKGRFTISRDNAKNT VYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLRSFASGGSYDYWGQGT QVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAA SGSIFPSIAAMGWYRQATGKQREL VATITDGGTTTYADSV KGRVTISRDRSANTVY LAMNNLKPDDTAVYYCYAYLRYT SRVPGDNYWGQGTQVTVSS
08A10-9GS- A1b8-9GS-	83	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIFPSIAAMGWYRQ ATGKQREL VATITDGGTTTYADSVKGRVTISRDRSANTV Y LAMNNLKPDDTAVYYCYAYLRYT SRVPGDNYWGQGTQV

[0793]

08A10		TVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASG FTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVK GRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSR SSQGTLLTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLR LSCAASGSIFSLAAMGWYRQATGKQRELVAITTDGTTT YADSVKGRVTISRDRSANTVYLAMNNLKPDDTAVYYCYA YLRYTSRVPDNYWGQGTQVTVSS
08A10-9GS- 08A10-9GS- Alb8	84	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIFSLAAMGWYRQ ATGKQRELVAITTDGTTTYADSVKGRVTISRDRSANTV YLAMNNLKPDDTAVYYCYAYLRYTSRVPDNYWGQGTQV TVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASG SIFSLAAMGWYRQATGKQRELVAITTDGTTTYADSVKGR RVTISRDRSANTVYLAMNNLKPDDTAVYYCYAYLRYTSR VPGDNYWGQGTQVTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQ PGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSRSSQGTLLTVSS
08A05-9GS- 08A10-9GS- Alb8	85	EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFSSNYDMGWFRQ APGKEREFVQASWWSGAPYYSDSVKGRFTISRDNAKNT VYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLRSFASGGSYDYWGQGT QVTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAA SGSIFSLAAMGWYRQATGKQRELVAITTDGTTTYADSV KGRVTISRDRSANTVYLAMNNLKPDDTAVYYCYAYLRYT SRVPGDNYWGQGTQVTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGL VQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPE DTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLLTVSS
07B11-9GS- 238D2 (238D2 针对 CXCR4)	86	EVQLVESGGNLVQAGGSLGLSCAASVEISSIHMGWYRQ APGKQRDLVATITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNANTV YLQMDSLKPEDTSVYYCAAQVRNGVFGKWNHYWGQGTQV TVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASG FTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIKSSGDS TRYAGSVK GRFTISRDNAKNTLYLQMYSLKPEDTAVYYCAKSRVSR GLTYTDNRGQGTQVTVSS
07C03-9GS- 238D4 (238D4 针对 CXCR4)	87	EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRITLSAYIMGWFRQ APGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFISRDNAKNTV YLQMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYENWGQGTQVTVSS GGGGSCGGGSEVQLMESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITFN NYAMGWFRRAPGKEREFVAAITRSGVRSQVSAIYGDSVZ DRFTISRDNAKNTLYLQMNLSLKPEDTAVYTCAASAIGSG ALRRFEYDYSQGTQVTVSS
08A10-9GS- Alb8-9GS- 238D2 (238D2 针对	88	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIFSLAAMGWYRQ ATGKQRELVAITTDGTTTYADSVKGRVTISRDRSANTV YLAMNNLKPDDTAVYYCYAYLRYTSRVPDNYWGQGTQV TVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASG FTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVK GRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSR SSQGTLLTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLR

[0794]

CXCR4)		LSCAASGFTFFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIKSSGDSST RYAGSVKGRFTISRDNAMLYLQMYSLKPEDTAVYYCA KSRVSRGTGLTYDNRGQGTQVTVSS
03A05-9GS- 238D4-9GS- A1b9 (238D4 针对 CXCR4)	89	EVQLVESGGGLVQAGDSLRRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQ APGKEREFVVGASWWSGGAPYYSDSVKGRFTISRDNAMNT VYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLRSFASGGSYDYWGQGT QVTVSSGGGGSGGGSEVQLMESGGGLVQAGGSLRLSCAA SGRTFNMYAMGWFRAPGKEREFVAAITSGVRSVSAI YGDVSKDRFTISRDNAMNTLYLQMNLSLKPEDTAVYTCAA SAIGSGALRRFEYDYSGGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQL VESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGK GLEWVSSISGSGSDTLTYADSVKGRFTISRDNAMNTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSS
克隆 060	131	EVQLVESGGGLVQAGDSLRRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQ APGKEREFVVGASWWSGGAPYYSDSVKGRFTISRDNAMNT VYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLRSFASGGSYDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGG GSEVQLVESGGGLVQAGDSLRRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQ APGKEREFVVGASWWSGGAPYYSDSVKGRFTISRDNAM NTVYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLRSFASGGSYDYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSC AASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVESISGSGSDTLTYA DSVKGRFTISRDNAMNTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGG SLSRSSQGTTLVTVSS
克隆 083	132	EVQLVESGGGLVQAGDSLRRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQ APGKEREFVVGASWWSGGAPYYSDSVKGRFTISRDNAMNT VYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLRSFASGGSYDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGG LVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPG KGLEWVSSISGSGSDTLTYADSVKGRFTISRDNAMNTLYL QMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTVSS
克隆 085	133	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIYILINMGWYRQ APGKQRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNAMNTV YLQMNLSLKPEDTAVYYCNIGTLYDRRRFBWQCGILVT VSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGG VQLVESGGGLVQPGASLRRLSCAASGRTFSNYAMGWFRQA PGKERERVAAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDNAMNTA YLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGSGSNLGRQESYAYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGG GGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMS WVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLTYADSVKGRFTISRDN AMNTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLVTV SS
克隆 093	134	EVQLVESGGGLVQPGASLRRLSCAASGRTFSNYAMGWFRQ APGKERERVAAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDNAMNT AYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGSGSNLGRQESYAYWG QGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGG GGGGSEVQLVESGGGLVQPGASLRRLSCAASGRTFSNYAM GWFRQAPGKERERVAAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDN AMNTAYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGSGSNLGRQES YAYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGG GGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMS WVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLTYADSVKGRF

[0795]

		TISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQ GTLVTVSS
克隆 021	135	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIFSAAMGWYRQ ATGKQRELVAITITDGGITTYADSVKGRVITISRDRSANTV YLAMNNLKPDDTAVYYCYAYLRYTSRVPGDNWGGQTLV TVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG EVQLVESGGGLVQAGSLRLSCAASGRTFSPNYAMGWFRQ APGKERERVAAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDNANT AYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGSNSNLGRQESYAYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLR CAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLY ADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG GSLSSSQGTLVTVSS
克隆 023	136	EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQ APGKEREFVGCASWWSGGAPYYSDSVKGRFTISRDNANT VYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLSPASGGSYDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGG GSEVQLVESGGGLVQAGSLRLSCAASGRTFSPNYAMGW RQAPGKERERVAAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDN NTAYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGSNSNLGRQESYAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLR LSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCT IGGSLSRSSQGTLVTVSS
克隆 038	137	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSITLYINMGWYRQ APGKQRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNANTV YLQMNSLRPEDTAVYYCNIGGTLYDRRPFESWGQGT VSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG VQLVESGGGLVQAGSLRLSCAASGRTFSPNYAMGWFRQA PGKERERVAAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDNANT AYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGSNSNLGRQESYAYWG GTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLR AASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLY DSVKGEFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG SLSRSSQGTLVTVSS
克隆 049	138	EVQLVESGGGLVQAGSLRLSCAASGRTFSPNYAMGWFRQ APGKERERVAAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDNANT AYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGSNSNLGRQESYAYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG GGGGSEVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFSNYDM GWFRQAPGKEREFVGCASWWSGGAPYYSDSVKGRFTISR NANTVYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLSPASGGSYDY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLR LSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCT IGGSLSRSSQGTLVTVSS
克隆 052	139	EVQLVESGGGLVQAGSLRLSCAASGRTFSPNYAMGWFRQ APGKERERVAAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDNANT AYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGSNSNLGRQESYAYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSITLYINM GWYRQAPGKQRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDN AKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCNIGGTLYDRRPFESWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLR AASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLY

[0796]

		DSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGG SLSRSSQGT LVTVSS
克隆 086	140	EVQLVESGGGLVQPGSLRISCAASGSTYLINMGWYRQ APGKQRELVA TLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNAKNTV YLQMNSLKPEDTAVYYCNIGGTLYDEERFESWGQGT LVT VSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG VQLVESGGGLVQAGE SLTLECAASQRTLSAYINMGWFRQA PGKERE FVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSISRDNAKNTVY LQMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWCQGT LVTVSSG GGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLR LSCAASGFTFSS FGMSWVRQAPGKGLEWVSSI SGGSGSDTLYADSVKGRFTI SRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT LVTVSS

[0797] 表B-5:本发明的接头序列

[0798]

接头名称	SEQ ID NO:	氨基酸序列
5GS	49	GGGGS
6GS	50	SGSGGS
9GS	51	GGGSGGGS
10GS	52	GGGSGGGGS
15GS	53	GGGSGGGSGGGGS
18GS	54	GGGSGGGSGGGGGGS
20GS	55	GGGSGGGSGGGSGGGGS
25GS	56	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
30GS	57	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
35GS	58	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS

[0799] 表B-6:本发明的核酸序列

[0800]

克隆名称	SEQ ID NO:	核酸序列
07B11	59	GAGGTGCAATTGGTGGAGTCTGGGGGAAACTTGGTGCAG GCTGGGGGTCTCTGGGACTCTCTGTGCAGCCTCTGTA AGCATCTCCAGTATCCATATCATGGCTGTACCGGCAG GCTCCAGGCAAAACAGCGGACTTGGTCCCTACTATTACT AGTGGTGGTAGCACAGCATATGCAGACTCCCTGAAGGGA CGATTACCCGTCTCCAAAGACAACGCCAAGAACACGGTG TATCTGCAAAATGGACAGCCTGAAACCTGAGGACACATCC GTCTATTACTGTGCAGCCGAGGTGAGAAATGGGTTGTTT GGAAAATGGAATCACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTC ACCGTCTCCTCA
07C03	60	GAGGTGCAATTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAG GCTGGGGAGTCTCTGACTCTCTCTGTGCAGCCTCTGGA CGCACCTTAAGTGCTTATATCATGGGCTGGTTCGCCAG GCTCCAGGCAAGGAGCGGGAGTTTGTAGCCCGTATCTGG

[0801]

		AGTGGTGGTTACACACACCTTGCAGACTCCGCGAAGGGC CGATTTCAGCATCTCTAGAGACAACGCCAAGAACACTGTA TATCTGCAAATGAACCGGCCTGAAACCTGAGGACACGGCC GTCTATTACTGTGCAGCAGGTCTGAGAGGCCGCCAGTAT AGTAACTGGGCGCCAGGGGACCCAGGTCAACCGTCTCCTCA
08A05	61	GAGGTGCAATTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAG GCTGGGGACTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGA CTCATTTCAGTAACATATGACATGGGCTCGTTCCGCCAG GCTCCAGGGAAGCAGCGTGAATTTCTAGGGCTAGTTGG TGGAGTGGTGGTGGCCCATACTATTTCAGACTCCGTGAAG GGCCGATTTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACG GTGTATCTGCAAGCGAACAGCCTGAGACCTGAGGACACG GCCGTTTATTACTGTGCAGCCAAAAGSCTGCGTAGTTTC GCCTCCGSGTGGGTCTGTATGATTACTGGGGTTCAGSSGACC CAGGTCAACCGTCTCCTCA
08A10	62	GAGTCTGGGGCAGGCTTGGTGCAGGCTGCAGGCTCTCTG AGACTCTCCTGTGCAGCTTCTGGAAGCATCTTCAGTATC GCTGCCATGGGCTGGTACCGCCAGGCTACAGGGAAGCAG CGCGAGTTGGTCCCACTATCACTGATGGCGGTACGACA ACCTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGAGTCACCATCTCC AGGGACAGGTCTGCGAACACGGTGTATCTGGCAATGAAC AATTTGAAACCTGATGACACAGCCGTCTATTATTGTTAT GCGTATCTGCGCTATACAAGCAGAGTACCTGGCGATAAC TACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCAACCGTCTCCTCA
14G03	63	GAGGTGCAATTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAG CCTGGGGGGTCTCTGAGAAATTTCTGTGCAGCCTCTGGA AGCATCTACCTTATCAATTACATGGGCTGGTACCGGCAG GCTCCAGGGAAGCAGCGCGAGTTGGTCCCAACGCTTACT AGTGGTGGTACTACCACTATGCAGGCTCCGTGAAGGGC CGATTGCCCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACGGTT TATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACGGCC GTCTATTACTGTAATATAGGAGGAACGCTATACGACAGA AGGCGGTTTGAATCCTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCAAC GTCTCCTCAG
01C10	99	GAGGTGCAATTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAG ACTGGAGCCTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGA CGCACCTTCAGTAACATATGCCATGGGCTGGTTCCGCCAG GCTCCAGGGAAGCAGCGTGAGCGTGTAGCAGCTATTACA CCGAGAGCATTACACATATTATGCAGACTCCGTGAAG GGCCGATTTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACG GCGTATCTACAAATGGTCAGCCTGAAACCTGAGGACACG GCCGTTTATTACTGTGCAGCTCAACTGGTTGGCAGCGGT AGTAATTTAGGACCTCAGGAGTCTTATGCCCTACTGGGCC CAGGGGACCCAGGTCAACCGTCTCCTC
07B11-9GS- Alb8	73	GAGGTGCAATTGGTGGAGTCTGGGGGAAACTTGGTGCAG GCTGGGGGGTCTCTGGGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGTA AGCATCTCCAGTATCCATATCATGGGCTGGTACCGGCAG GCTCCAGGCAAACAGCGCGACTTGGTCCCTACTATTACT AGTGGTGGTAGCACAGCATATGCAGACTCCGTGAAGGGA CGATTCAACCGTCTCCAAAGACAACGCCAAGAACACGGTG TATCTGCAAATGACAGCCTGAAACCTGAGGACACATCC GTCTATTACTGTGCAGCCGAGGTCAAAATGGSGTGT GGAAATGGAATCACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGT ACGGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGCTCCGGAGGCGGATCC GAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGTGGCTTGGTSCAA

[0802]

		CCGGGTAAACAGTCTGCGCCTTAGCTGCGCAGCGTCTGGC TTTACCTTCAGCTCCTTTGGCATGAGCTGGGTTCCGCCAG GCTCCGGGAAAAGGACTGGAATGGGTTTCGTCTATTAGC GGCAGTGGTAGCGATAACGCTCTACGCGGACTCCGTGAAG GGCCGTTTCACCATCTCCCGGATAACGCCAAAACCTACA CTGTATCTGCAAAATGAATAGCTGCGTCTGAAGACAGG GCCGTTTATTACTGTACTATTGGTGGCTCGTTAAGCCGT TCTTCACAGGGTACCCTGGTCACCGTCTCTCTCA
07C03-9GS- Alb8	74	GAGGTGCAATTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCA GCTGGGGAGTCTCTGACTCTCTCCTGTGCAGCCTCTGGA CGCACCTTAAGTGCCTATATCATGGGCTGGTTCCGCCAG GCTCCAGGGAAGSAGCGGGAGTTTGTAGCCGGTATCTGG AGTGGTGGTTACACACACCTTGACAGCTCCGCGAAGGGC CGATTGAGCATCTCTAGAGACAACGCCAAGAACACTGTA TATCTGCAAAATGAACGGCCTGAAACCTGAGGACACGGCC GTCTATTACTGTGCAGCAGGCTCTGAGAGGCCGCCAGTAT AGTAACTGGGGCCAGGCGACCCAGGTCACGGTCTCTCTCA GGAGGTGGCGGCTCCGGAGGCGGATCCGAGGTACAGCTG GTGGAGTCTGGGGGTGGCTTGGTGCAACCGGGTAACAGT CTGCGCCTTAGCTCCGCAGCGTCTGGCTTTACCTTCAGC TCCTTTGGCATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCTCCGGGAAAA GGACTGGAATGGGTTTCTCTATTAGCGGCAGTGGTAGC GATACGCTCTACGCGGACTCCGTGAAGGGCCGTTTCACC ATCTCCCGGATAACGCCAAAACCTACACTGTATCTGCAA ATGAATAGCCTGCGTCTCTGAAGACACGGCCGTTTATTAC TGTACTATTGGTGGCTCGTTAAGCCGTTCTTCACAGGGT ACCTGGTTCACCGTCTCTCTCA
08A05-9GS- Alb8	75	GAGGTGCAATTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCA GCTGGGGAGTCTCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGA CTCACTTTTCACTAATATGACATGGGCTGGTTCCGCCAG GCTCCAGGGAAGGAGCGTGAATTTGTAGGGGCTAGTTGG TGGAGTGGTGGTGGCCCATACTATTGAGACTCCGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACAAG GTGTATCTGCAAGCGAACAGCCTGAGACCTGAGGACACG GCCGTTTATTACTGTGCAGCCAAAAGGCTGCGTAGTTTC GCCTCCGGTGGGTGGTATGATTACTGGGGTCAGGGGACC CAGGTCACGGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGTCCGGAGGC GGATCCGAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGTGGCTTG GTGCAACCGGTAAACAGTCTGCGCCTTAGCTGCGCAGCG TCTGGCTTTACCTTCAGCTCCTTTGGCATGAGCTGGGTT CGCCAGGCTCCGGGAAAAGGACTGGAATGGGTTTCGTCT ATTAGCGGCAGTGGTAGCGATACGCTCTACGCGGACTCC GTGAAGGGCCGTTTCACCATCTCCCGGATAACGCCAAA ACTACACTGTATCTGCAAAATGAATAGCCTGCGTCTGAA GACACGGCCGTTTATTACTGTACTATTGGTGGCTCGTTA AGCCGTTCTTCACAGGGTACCCTGGTCACCGTCTCTCTCA
08A10-9GS- Alb8	76	GAGGTGCAATTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCA GCTGGAGGCTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCTTCTGGA AGCATCTTCAGTATCGCTGCCATGGGCTGGTACCGCCAG GCTACAGGGAAGCAGCGCGAGTTGGTGGCAACTATCACT GATGGCGGTACGACAACCTATGCAGACTCCGTGAAGGGC CGAGTACCATCTCCAGGACAGGTCTGCGAACACGGTG TATCTGGCAATGAACAATTTGAAACCTGATGACACAGCC GTCTATTATTGTTATGCGTATCTGCGCTATACAAGCAGA GTACCTGGCGATAACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTC

[0803]

		ACGGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGGTCCGAGGCCGATCC GAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGTGGCTTGGTGCAA CCGGGTAACAGTCTGCGCCTTAGCTGCGCAGCGTCTGGC TTTACCTTCAGCTCCTTTGGCATGAGCTGGGTTGCGCCAG GCTCCGGGAAAAGGACTGGAATCGGTTTCGTCTATTAGC GGCASTGGTAGCGATAAGCTCTACCGGACTCCGTGAAG GGCCGTTTCACCATCTCCGCGGATAACGCCAAAACCTACA CTGTATCTGCAAATGAATAGCCTGCGTCTGAAGACACG GCCGTTTATTACTGTACTATTGGTGGCTCGTTAAGCCGT TCTTCACAGGGTACCCTGGTCAACCGTCTCCTCA
14G03-9GS- Alb8	77	GAGGTGCAATTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCA CCTGGGGGGTCTCTGAGAATTTCTGTGCAGCCTCTGGA AGCATCTACCTTATCAATTACATGGGCTGGTACCCGACG GCTCCAGCGAAGCAGCCCGAGTTGGTCCGAACGCTTACT AGTGGTGGTAGTACCAACTATGCAGGCTCCGTGAAGGGC CGATTCCGCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACGGTT TATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACGGCC GTCTATTACTGTAATATAGGAGGAACGCTATACGACAGA AGGCGGTTTGAATCCTGGGSCCAGGGCAGGTCACG GTCTCCTCAGGAGGTGGCGGTCCGGAGGCGGATCCGAG GTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGTGGCTTGGTGCAACCG GGTAACAGTCTGCGCCTTAGCTGCGCAGCGTCTGGCTTT ACCTTCAGCTCCTTTGGCATGAGCTGGGTTCCGCCAGGCT CCGGGAAAAGGACTGGAATGGGTTTCGTCTATTAGCGGC AGTGGTAGCGATACGCTCTACCGGACTCCGTGAAGGGC CGTTTCACCATCTCCCGCGATAACGCCAAAACCTACACTG TATCTGCAAATGAATAGCCTGCGTCTGAAGACACGGCC GTTTATTACTGTACTATTGGTGGCTCGTTAAGCCGTCT TCACAGGGTACCCTGGTCAACCGTCTCCTCA

[0804] 实施例1:克隆

[0805] 将人CXCR7 (hCXCR7), 小鼠CXCR7 (Open Biosystems) 和猕猴的编码cDNA (表B-1) 克隆到pVAX-1 (Invitrogen) 和/或pCDNA3.1 (Invitrogen) 中。在Hek293细胞中转染pVAX1-hCXCR7和pCDNA3.1-人(小鼠)(猕猴)CXCR7构建体, 获得CXCR7细胞表面表达, 如使用人CXCR7特异性单克隆抗体 (Mab) 11G8 (R&D Systems) 和PE-标记的山羊抗小鼠IgG检测抗体 (Jackson ImmunoResearch Inc.) 的FACS分析所示。

[0806] 实施例2:免疫接种

[0807] 为了进行基因免疫, 制备不含内毒素的pVAX1-CXCR7质粒并溶解于在0.9%的盐水中, 浓度为2mg/mL, 储存于-20℃。通过以两周的间隔皮内喷射注射 (Akra DermoJet France) 四次, 给四只美洲驼 (391, 395, 396和397) 用2mg pVAX1-hCXCR7免疫接种。最后一次DNA免疫接种之后三周, 这4只动物接受稳定表达hCXCR7的骆驼肾 (CAKI) 细胞 (Nguyen等2001. Adv. Immunol. 79:261-296) (2×10^7 个细胞) 进行加强。

[0808] 三只美洲驼 (385, 387和404) 通过以两周的间隔注射四次 2×10^7 个用pCDNA3.1-hCXCR7转染的HEK293细胞进行免疫接种。在最后一次DNA免疫接种之后4天和10天以及细胞加强后3天和9天从美洲驼391, 395, 396和397收集外周血淋巴细胞。在最后一次细胞注射后4天和8天从美洲驼385, 387和404收集外周血淋巴细胞。此外, 在最后一次细胞推注后3天通过局部手术从每只美洲驼收集可触及的弓淋巴结 (LN) 的活检组织。从所有包含淋巴细胞的免疫组织中提取总RNA并用作制备cDNA的模板。

[0809] 实施例3:文库构建

[0810] 利用从所有美洲驼收集的免疫组织构建文库。简言之,从提取的总RNA样品(实施例2)制备cDNA并用它通过先前所述的嵌套式PCR(WO 02/085945和WO 04/049794)扩增cDNA的所有组成成分。用Sfi I(通过嵌套式PCR在FR1引物区引入)和BstEII(FR4中天然存在的限制性位点)消化PCR产物并接着进行凝胶电泳,从凝胶中纯化大约400bps的DNA片段。将扩增的cDNA的所有组成成分连接到Sfi I-BstEII消化的噬菌体展示载体(pAX50)的相应限制性位点中,对大肠杆菌TG1进行电穿孔后获得文库。这种展示载体可以产生噬菌体颗粒,其以与C-末端的Myc-His6-标记(本文中也称为标记-1或SEQ ID NO:71)以及与基因III(geneIII)产物的融合蛋白的形式表达单个VHHs(本文中也称为纳米抗体)。

[0811] 通过将细菌培养至对数期($OD_{600}=0.5$),然后注射辅助噬菌体获得在噬菌体顶部表达pIII融合蛋白形式的克隆的纳米抗体的重组噬菌体来拯救文库。过滤灭菌后在4℃储存噬菌体以进一步使用。

[0812] 实施例4:噬菌体展示的结人CXCR7的纳米抗体的选择

[0813] 使用来自上述文库的噬菌体,对hCXCR7病毒样颗粒(VLP;Integral Molecular),完整的表达CXCR7的细胞,来自表达CXCR7的细胞的膜提取物和肽进行选择。

[0814] 在第一轮选择中,将来源于hCXCR7转染的HEK293细胞的10个单位的VLPs包被在96-孔Maxisorp板(Nunc)中,用低脂奶粉(Marvell 4%,在PBS中)封闭。与拯救的噬菌体温育2小时后,在20次PBS洗涤后用胰蛋白酶在室温洗脱(1mg/ml)15分钟。立即用16mM蛋白酶抑制剂ABSF中和蛋白酶活性。对第一轮产生的噬菌体进行拯救,对10或1个单位的固定于板上的hCXCR7 VLPs进行第2轮选择。用对10或1个单位的固定于板上的hCXCR7 VLPs进行第2轮选择产生的噬菌体感染TG1细胞并铺在琼脂平板(LB+Amp+2%葡萄糖)上。

[0815] 加入辅助噬菌体后,挑取被选择后获得的洗脱的噬菌体库感染的大肠杆菌TG1单个的菌落,在96-深孔板中培养以产生单克隆噬菌体。通过加入异丙基-b-D-硫代半乳糖苷(IPTG)诱导单克隆纳米抗体的产生。然后通过冻融PBS中的细菌团并随后离心除去细胞碎片来制备包含纳米抗体的周质级分。

[0816] 实施例5:用噬菌体ELISA鉴别CXCR7特异性纳米抗体。

[0817] 在噬菌体ELISA中从所有第二轮选择产生的克隆中对2个单位的固定化CXCR7 VLPs进行筛选,应用10倍稀释的噬菌体上清。与HRP-缀合的单克隆抗M13抗体(GE,Cat#363761)温育并洗涤几次后,使用TMB底物(Pierce)显示噬菌体结合。用H₂SO₄终止反应,在450nm用Sunrise TECAN分光光度计(TECAN)测量吸光度。相比未转染的对照VLPs显示出对hCXCR7 VLPs增加最小2倍的ELISA信号的纳米抗体被认为是CXCR7特异的。对CXCR7特异性纳米抗体进行测序,除去冗余的纳米抗体(完全相同的AA序列)。这导致鉴别出78个独特的序列,其属于45个不同的纳米抗体B细胞谱系。不同纳米抗体B细胞谱系的代表性克隆的噬菌体ELISA数据表示于表B-7中,其表明所述纳米抗体确实与VLP上的人CXCR7结合。尤其是,所有纳米抗体来源于细胞加强后的PBLs,除了纳米抗体01C10以外(参见实施例2)。与其它CXCR7特异性纳米抗体对比进行评估可知,纳米抗体01C10是明显较弱的结合剂,其在第一个例子中是出于比较的原因被使用(数据未显示)。

[0818] 表B-7: CXCR7筛选结果-ELISA.

[0819]

具有标记-1 的克隆	CXCR7-LP 2U/孔 [OD]	LP 空-LP [OD]	CXCR7-LP/空-LP 的倍数
08A05	0.019	0.008	2.4
08A10	0.104	0.006	17.3
14G03	0.316	0.043	7.3
07B11	0.041	0.010	4.1
07C03	0.053	0.012	4.4
01C10	0.145	0.034	4.2

[0820] 实施例6:通过FACS分析鉴别CXCR7特异性纳米抗体。

[0821] 检测代表不同纳米抗体B细胞谱系的克隆的周质提取物与细胞表面暴露的CXCR7的结合。在该项检测中,将5倍稀释的周质提取物与Hek293 hCXCR7和Hek293wt细胞温育。使用小鼠抗-myc (Serotec),然后用抗小鼠IgG-PE (Jackson Immununoresearch) 检测纳米抗体的结合。所选择的纳米抗体克隆的结合信号(mcf值和结合的比值)表示于表B-8中,其表明所述纳米抗体确实结合细胞的人CXCR7。

[0822] 表B-8: CXCR7筛选结果-FACS分析。

[0823]

具有标记-1 的克隆	家族	美洲驼	Hek-CXCR7 [MCF]	Hek wt [MCF]	Hek CXCR7/CXCR4 的倍数
08A05	14	396	18621	310	60.1
08A10	20	397	27411	322	85.1
14G03	23	385	45811	381	120.2
07B11	34	395	42877	389	110.2
07C03	37	391	23359	319	73.2
01C10	1	395	无数据		

[0824] 实施例7: CXCR7特异性纳米抗体的表达。

[0825] 将所选择的纳米抗体再克隆到大肠杆菌表达载体pAX100中并表达为C-末端连接myc,带His6-标记(也叫做标记-2或SEQ ID NO:72)的蛋白。还将不同的纳米抗体表达为包含Alb8的融合蛋白(纳米抗体-接头-Alb8-myc-His6)(参见序列SEQ ID NOs:44-48-表B-4)或无标记的纳米抗体。用IPTG诱导表达并在37℃继续4h。旋转离心细胞培养物后,通过冻融

沉淀制备周质提取物。使用固定化金属亲和层析 (IMAC) 和与D-PBS的缓冲液交换,从这些提取物中纯化纳米抗体。

[0826] 实施例8:CXCR7特异性纳米抗体的结合FACS分析。

[0827] 将一系列稀释的纯化蛋白(浓度范围:400nM-180pM)与稳定的HEK-CXCR7细胞在4℃保温30min,使用抗小鼠抗-myc (Serotec) 和抗小鼠IgG-PE (Jackson ImmunoResearch) 检测结合。所选择的克隆的半数最大有效浓度 (EC50) 值和上平台值显示于表B-9中。这些数据证实了筛选数据并且强调了所示的纳米抗体与细胞的人CXCR7的结合。

[0828] 表B-9:结合FACS分析

具有标记-2的 克隆	EC50	平台值 [mcf]
08A05	8.9	28474
08A10	11.9	34896
14G03	10.2	23807
07B11	30.5	24898
07C03	3.3	33113
01C10	无数据	无数据

[0830] 实施例9:纳米抗体与SDF-1竞争结合CXCR7 (置换检测)

[0831] 为了评价竞争能力,在SDF-1配体置换检测中使用稳定的NIH3T3-hCXCR7细胞对纳米抗体进行评价。接种细胞24h后,将细胞与纯化的单价纳米抗体以及相应的与结合人血清白蛋白的纳米抗体A1b8融合的带C-末端标记-2标记的融合蛋白(参见表B-4:SEQ ID NOs 44-48,其中多肽均是用标记-2在C-末端标记的)的系列稀释物在4℃预保温1h。参考分子Mab 8F11 (Biolegend), Mab 11G8 (R&D) 和未标记的SDF-1也包括在该检测中。稀释放射性标记的 [125 I]-CXCL12并加入到细胞中,终浓度为75pM,并且将细胞在4℃温育3h。温育后洗涤细胞两次,用RIPA缓冲液溶解细胞并测定 125 I信号。平均Ki值和相对于未标记的 (cold) SDF-1的置换的置换百分比表示于表B-10中。相对于与未标记的SDF-1的竞争,所检测的第1组的纳米抗体和Mab 8F11的竞争在73-83%之间。这个水平的置换相应于CXCR7蛋白的100%的阻断,因为认为其余的SDF-1结合不是CXCR7介导的,而是由于SDF-1与硫酸肝素蛋白多糖的相互作用造成的。与结合人血清白蛋白的纳米抗体A1b8的融合对于Ki值没有显著影响。

[0832] 表B-10:置换检测

[0833]

具有标记-2 的克隆	平均 Ki 整个 3T3 [nM]	平均 SDF-1 置换 (%)	n	SEM Ki	SEM SDF-1 置换 (%)
08A05	13.6	77	8	2.5	6.4
08A05-9GS-Alb8	17.9		1		
08A10	12.1	75	8	1.8	3.3
08A10-9GS-Alb8	14.1		1		
14G03	3.0	73	6	0.6	3.3
14G03-9GS-Alb8	3.5		1		
07B11	96.1	75	2	1.3	1.5
07B11-9GS-Alb8	82.4		1		
07C03	12.2	78	2	6.6	15.0
07C03-9GS-Alb8	10.2		1		
01C10	20.7	31	3	10.7	15.5
SDF-1	0.121	100	15	0.019	0.0
Mab 11G8	4.4	24	3	2.7	2.0
Mab 8F11	5.9	73	6	2.4	4.1

[0834] 实施例10:纳米抗体与SDF-1竞争结合CXCR7 (FACS检测)

[0835] 在使用HEK-hCXCR7细胞的竞争FACS中评价纳米抗体07C03和Mab 8F11 (Biolegend) 与SDF-1竞争的能力。将细胞同时与4nM生物素化的SDF-1 (R&D) 和稀释的检测分子在4℃温育2h。用链霉亲和素-PE检测生物素化的SDF-1的结合。竞争曲线显示于图1。在该检测中,与未标记的SDF-1的竞争相比,Mab 8F11和07C03的竞争是完全的(>95%),强调了SDF-1-CXCR7相互作用的完全抑制。

[0836] 实施例11:表位作图

[0837] 已知Mab 11G8的最小表位是F14SDISWP20,位于CXCR7的N-末端(参见例如,WO2008/048519)。将细胞同时与20nM Mab 11G8APC (R&D) 和稀释的检测分子在4℃温育2h。竞争曲线显示于图2。与Mab 11G8APC竞争的水平为~20至100%,表明其各个纳米抗体的表位与Mab 11G8的表位匹配程度高(竞争%高)或匹配程度低(竞争%低)或者诱导影响Mab 11G8结合的变构变化。这些数据表明所选择的纳米抗体与不同的,但是可能重叠的表位结合。

[0838] 在FACS分析中进一步检测纳米抗体08A05,08A10,07C03,07B11,01C10和14G03, Mab 8F11 (Biolegend), Mab 11G8 (R&D) 和Mab 9C4 (MBL) 与Alexa647-标记的14G03的竞争。纳米抗体08A05,08A10,07C03,07B11,Mab 8F11,Mab 11G8和Mab 9C4与14G03竞争结合CXCR7,而01C10则否,表明01C10针对的表位与其它所选择的纳米抗体针对的表位不同。

[0839] 在第三个方法中,检测纳米抗体与CXCR7的一组10个点突变体(S9A,F14Y,I17L,

S18N,W19A,S23G,D25A,V32A,M33Q,N36T)的结合,其产生了关于单个纳米抗体表位的信息。对于纳米抗体08A05,08A10,07C03,07B11和14G03,表位包括残基M33,而01C10的表位不包括。01C10(和07B11)的结合受到W19A突变的影响,但这个突变不影响08A05,08A10,07C03和14G03的结合。这些数据再次表明01C10针对独特的表位。

[0840] 实施例12:小鼠/猕猴的交叉反应性

[0841] 在FACS分析中使用分别用pCDNA3.1-hCXCR7和pCDNA3.1-mCXCR7转染的HEK293细胞来检测纳米抗体与小鼠CXCR7的交叉反应性结合。将细胞与32nM Mab 11G8 (R&D), Mab 9C4 (MBL), Mab 8F11 (Biolegend) 或与800nM纳米抗体在4℃温育2h。使用小鼠抗-myc (Serotec) 和抗小鼠IgG-PE (Jackson ImmunoResearch) 检测纳米抗体结合,并用山羊抗小鼠IgG-PE (Jackson ImmunoResearch) 检测Mab结合。纳米抗体08A10,14G03,07B11和Mab9C4与小鼠CXCR7不交叉反应,纳米抗体08A05和07C03与小鼠CXCR7和Mab 8F11部分交叉反应,Mab 11G8和01C10与小鼠CXCR7交叉反应(表B-11)。

[0842] 用相同的方法评价与猕猴CXCR7的交叉反应性结合。纳米抗体08A10,14G03,07B11,08A05,07C03,01C10和Mab 9C4,Mab 8F11和Mab 11G8均与猕猴CXCR7交叉反应(表B-11)。

[0843] 表B-11:与小鼠CXCR7的交叉反应性

[0844]

具有标记-2 的克隆	家族	美洲驼	小鼠交叉反应	猕猴交叉反应
01C10	1	395	是	是
08A05	14	396	部分	是
08A10	20	397	否	是
14G03	23	385	否	是
07B11	34	395	否	是
07C03	37	391	部分	是
Mab 8F11			是	是
Mab 11G8			是	是
Mab 9C4			否	是

[0845] 实施例13:二价和三价纳米抗体的构建

[0846] 构建具有一个N-末端CXCR7特异性结构单元(或者01C10,14G03,08A05,08A10或者07C03,还有效力较低的结构单元如08C02,01C07,01D04,其没有列在上述的实施例中)和C-末端人血清白蛋白(HSA)-特异性结构单元(ALB8)的二价纳米抗体,使得该纳米抗体在体内具有延长的半衰期。三价纳米抗体包括另一个CXCR7特异性结构单元以提高纳米抗体从受

体置换SDF-1的功效和效力。在毕赤酵母中表达具有标记-2延伸的二价和三价纳米抗体。

[0847] 实施例14: 二价和三价纳米抗体与SDF-1竞争结合CXCR7

[0848] 如实施例9所述, 在SDF-1置换检测中筛选二价和三价纳米抗体。在检测中在存在或不存在HSA的条件下温育样品以评价HSA结合纳米抗体的效果。在存在HSA的条件下二价纳米抗体的功效显著降低, 而三价纳米抗体则更好地保留其功效(表B-12)。

[0849] 表B-12: 二价和三价纳米抗体与SDF-1竞争结合CXCR7

[0850]

具有标记-3 的 克隆	构建体	在不存在 HSA 条件下的 SDF-1 置换 [Ki]	在存在 HSA 条 件下的 SDF-1 置换[Ki]
033	14G03-35GS-07C03-9GS-ALB8	0.82	1.74
035	14G03-35GS-14G03-9GS-ALB8	0.95	4.7
036	14G03-35GS-08C02-9GS-ALB8	1.34	6.19
032	14G03-35GS-08A05-9GS-ALB8	1.51	5.93
026	07C03-35GS-14G03-9GS-ALB8	1.75	33.03
034	14G03-35GS-07B11-9GS-ALB8	1.90	6.93
028	07C03-35GS-01C10-9GS-ALB8	2.2	ND
037	14G03-35GS-01C07-9GS-ALB8	2.28	4.48
013*	14G03-9GS-ALB8	3.1	311
055	01C10-35GS-01C10-9GS-ALB8	3.42	ND
038	14G03-35GS-01C10-9GS-ALB8	3.47	5.85
052	01C10-35GS-14G03-9GS-ALB8	3.65	6.32
049	01C10-35GS-08A05-9GS-ALB8	3.72	ND
018	08A10-35GS-14G03-9GS-ALB8	4.07	ND
053	01C10-35GS-08C02-9GS-ALB8	4.15	ND
048	01C10-35GS-08A10-9GS-ALB8	4.87	ND
050	01C10-35GS-07C03-9GS-ALB8	6.945	ND
025	07C03-35GS-07C03-9GS-ALB8	7.91	ND
009*	07C03-9GS-ALB8	9.50	66.59
056	01D04-35GS-14G03-9GS-ALB8	ND	182.29
Mab 8F11		10.8	

[0851] *具有标记-2

[0852] 实施例15: 二价和三价纳米抗体对 β -抑制蛋白募集的抑制

[0853] 使用PathHunter eXpress β -抑制蛋白检测(DiscoverX)评价三价纳米抗体对 β -抑制蛋白募集的拮抗作用。在该检测中在100nM的浓度下筛选一组37个三价纳米抗体(克隆)。结果在表B-13中基于抑制效率排序。最有效率的三价分子与01C10, 针对独特表位的纳米抗体(参考实施例11), 组成组合。这些纳米抗体(克隆)可以与一个CXCR7单体以双重模式结合。

[0854] 基于前述结果, 纳米抗体可以分为3组:

[0855] -第1组: 以01C10为代表, 明显针对与第2组截然不同的表位;

[0856] -第2组: 以14G03, 08A05, 08A10和07C03为代表, 明显针对与第1组截然不同的表

位;和

[0857] -第3组:以07B11为代表,明显介于第1组和第2组之间。

[0858] 虽然单价或二价的第2组(和第3组)的纳米抗体被证明比第1组的相应纳米抗体具有更优异的结合和竞争特性,但在 β -抑制蛋白募集检测中,第1组的纳米抗体与第2组的纳米抗体组合产生了完全预料不到的最好的结果。

[0859] 表B-13:二价和三价纳米抗体对 β -抑制蛋白募集的抑制

[0860]

具有标记-3 克隆	构建体	β -抑制蛋白募 集的抑制%
038	14G03-35GS-01C10-9GS-ALB8	94.1
052	01C10-35GS-14G03-9GS-ALB8	93.7
021	08A10-35GS-01C10-9GS-ALB8	89.5
023	08A05-35GS-01C10-9GS-ALB8	92.8
049	01C10-35GS-08A05-9GS-ALB8	89.3
022	08A05-35GS-07C03-9GS-ALB8	88.9
058	08A10-35GS-08A05-9GS-ALB8	87.8
060	08A05-35GS-08A05-9GS-ALB8	86.5
032	14G03-35GS-08A05-9GS-ALB8	76.9
048	01C10-35GS-08A10-9GS-ALB8	76.6
029	07B11-35GS-08A05-9GS-ALB8	73.8
018	08A10-35GS-14G03-9GS-ALB8	68.1
044	01C07-35GS-08A05-9GS-ALB8	66.1
020	08A10-35GS-02C08-9GS-ALB8	62.1
019	08A10-35GS-08C02-9GS-ALB8	61.6
028	07C03-35GS-01C10-9GS-ALB8	60.6
053	01C10-35GS-08C02-9GS-ALB8	58.8
061	08A05-35GS-02C08-9GS-ALB8	58.6
025	07C03-35GS-07C03-9GS-ALB8	54.5
027	07C03-35GS-02C08-9GS-ALB8	49.3
034	14G03-35GS-07B11-9GS-ALB8	43.5
050	01C10-35GS-07C03-9GS-ALB8	41.8
033	14G03-35GS-07C03-9GS-ALB8	41.2
026	07C03-35GS-14G03-9GS-ALB8	35.2
037	14G03-35GS-01C07-9GS-ALB8	34.0
065	02C08-35GS-08C02-9GS-ALB8	31.3
046	02C08-35GS-07B11-9GS-ALB8	29.6
051	01C10-35GS-07B11-9GS-ALB8	28.3

[0861]

057	07B11-35GS-14G03-9GS-ALB8	26.0
063	01C07-35GS-08C02-9GS-ALB8	25.8
035	14G03-35GS-14G03-9GS-ALB8	24.9
036	14G03-35GS-08C02-9GS-ALB8	22.0
031	07B11-35GS-01C10-9GS-ALB8	4.3
055	01C10-35GS-01C10-9GS-ALB8	-8.5
056	01D04-35GS-14G03-9GS-ALB8	-51.3

[0862] 实施例16:二价和三价纳米抗体的优化

[0863] 在 β -抑制蛋白募集检测中进一步表征所选择的二价和三价纳米抗体并评价其潜能。在存在和不存在HSA的条件下进行检测以评估检测中HSA与纳米抗体结合的效果。在ALB8结构单元之前的较长的接头使得与纳米抗体结合的HSA的空间干扰减至最小(表B-14)。

[0864] 表B-14:二价和三价纳米抗体的优化

[0865]

具有标记-3的克隆	构建体	在不存在HSA的条件下 β -抑制蛋白募集 [IC50]	在存在HSA的条件下 β -抑制蛋白募集 [IC50]
038	14G03-35GS-01C10-9GS-ALB8	3.28	19.38
052	01C10-35GS-14G03-9GS-ALB8	18.3	86.8
055	01C10-35GS-01C10-9GS-ALB8	无拮抗作用	无拮抗作用
056	01D04-35GS-14G03-9GS-ALB8	无拮抗作用	无拮抗作用
068	07C03-9GS-ALB8	279.6	无效的拮抗作用
069	08A05-9GS-ALB8	120.2	无效的拮抗作用
072	14G03-9GS-ALB8	无效的拮抗作用	无效的拮抗作用
081	07C03-30GS-ALB8	296.9	无效的拮抗作用
082	14G03-30GS-ALB8	578	无效的拮抗作用
083	08A05-30GS-ALB8	45.46	179.1
084	14G03-35GS-01C10-35GS-ALB8	6.3	10.0

[0866] 实施例17:无标记的纳米抗体的表征

[0867] 为了排除标记-3对纳米抗体功效的任何影响,表达没有标记-3的所选纳米抗体并在 β -抑制蛋白募集检测和SDF-1竞争FACS中,在存在2mg/mlHSA(基本上进一步如实施例10所述)的条件下进行表征,并且评价其功效(表B-15和图8)。包含“第2组ISVD”-“第2组ISVD”的构建体(以例如克隆086为代表)和包含“第2组ISVD”-“第1组ISVD”的构建体(以例如克隆085为代表)在SDF-1置换中比包含“第1组ISVD”-“第1组ISVD”的构建体(以例如克隆093为代表)更有效。与包含“第1组ISVD”-“第1组ISVD”的构建体(以例如克隆093为代表)的竞争不太有效。

[0868] 这些数据证实了放射性配体的竞争检测,其中检测了单价01C10(参考表B-10:01C10为31%)。

[0869] 因此,第2组ISVDs是极好的SDF-1置换剂。

[0870] 表B-15:无标记的纳米抗体的表征

[0871]

克隆	构建体	在不存在HSA的条件下的β-抑制蛋白募集 [IC50]	在存在HSA的条件下的β-抑制蛋白募集 [IC50]	置换SDF-1 FACS [IC50]
085	14G03-35GS-01C10-35GS-ALB8	4.36	22.31	7.83
086	14G03-35GS-07C03-9GS-ALB8	弱拮抗作用	无拮抗作用	5.02
093	01C10-35GS-01C10-35GS-ALB8	无拮抗作用	无拮抗作用	20.6
Mab 8F11		12.9	34.8	34.2

[0872] 实施例18:原发性肿瘤切片中CXCR7表达的免疫组化分析

[0873] 用于分析CXCR7表达的肿瘤切片来源于已在裸鼠中传代一次的不同癌症类型的人原发性肿瘤。将石蜡包埋的肿瘤切为5μm的切片(使用Leica RM 2135超薄切片机),干燥,脱蜡并用苏木精和曙红染色。然后,在这些肿瘤切片上标记出一个代表性区域以使得能够冲压出装配在组织微阵列(TMA)上的1mm直径的圆锥体。然后使用Beecher Instruments Micro Tissuearrayer (Mirlacher M.和Storz M.,2000,Gewebe-Chips für die molekulare Untersuchung von Tumoren,Labmed.,293-297)根据Mirlacher和Storz制备TMA。使用Instrumedics Sectioning Aid System切割阵列切片,特别用“Starfrost”玻片覆盖。

[0874] 如下进行表达CXCR7的组织的免疫组化染色:(1)从组织除去石蜡,将组织脱水并洗涤;(2)通过加入蒸馏水中的3%H2O2使内源过氧化物酶失活;(3)洗涤后干燥样品;(4)用PBS中的10%BSA封闭非特异性结合;(5)以25μg/mL的浓度温育抗人/小鼠CXCR7单克隆抗体(Biolegend,克隆Mab 8F11)或同种型对照抗体(Biolegend,IgG2b),然后洗涤组织;(6)以终浓度2.8μg/mL温育第二抗体山羊抗小鼠生物素化IgG(JacksonImmunoResearch),然后洗涤组织;(7)用Vectastain ABC试剂盒(Vector)的ABC溶液和过氧化物酶底物进行检测,每一步之后都有洗涤步骤;(8)用苏木精进行对比染色以及(9)使组织脱水。

[0875] 使用Zeiss Axiovert 35显微镜半定量评价TMA(170个肿瘤模型)。用Zeiss AxioCam MRc照相机拍摄照片。所有肿瘤样品一式两份进行评价。根据阳性染色细胞和信号强度来解释染色。样品进行下述分类:0,无染色(没有抗原);1,弱染色;2,中等染色;3,强染色。

[0876] 图3给出了不同肿瘤类型的评分总览。所检测的170个肿瘤中有55个中发现在两个组织片的至少一个中有高CXCR7表达(评分=3)(=32.4%)。9个肿瘤没有显示任何CXCR7表达(染色评分=0),其余的异种移植组织中发现弱表达或中等表达(评分为1和2)。明显地,大部分结肠癌肿瘤(23个中的19个或82.6%)和胃癌肿瘤(12个中的8个或66.7%)显示出没有或仅有弱染色,评分为≤1,而所有检测的头颈癌肿瘤(7个中的7个或100%)显示出相对高的CXCR7表达,评分为≥2。但是,在其它的组织型中,CXCR7染色在个体肿瘤模型之间是高度可变的。

[0877] 对于一些肿瘤模型,在整个肿瘤切片上验证染色强度。

[0878] 实施例19:CXCR7纳米抗体在体内减少头颈癌异种移植肿瘤

[0879] 19.1材料和方法

[0880] 19.1.1细胞系

[0881] 在患者接受化疗之后,从原发性喉癌的活检培养细胞系UM-SCC-11B (11B)。细胞系UM-SCC-22A (22A) 来源于口咽部的原发性鳞状细胞癌。细胞系UM-SCC-22B (22B) 来源于口咽部的转移性鳞状细胞癌。人头颈鳞状细胞癌 (HNSCC) 细胞系FaDu和HNX-OE先前已有描述 (Hermsen等, (1996) "Centromeric breakage as a major cause of cytogenetic abnormalities in oral squamous cell carcinoma" *Genes Chromosomes Cancer* 15:1-9; Ranger (1972) "A new human cell line (FaDu) from a hypopharyngeal carcinoma" *Cancer* 29:117-121)。HNX-OE和93-VU-147T细胞系是在Vrije Universiteit Amsterdam (Hermsen等,如上) 建立的,但FaDu细胞系得自Karl-Heinz Heider (Boehringer Ingelheim Austria)。

[0882] 19.1.2定量RT-PCR分析

[0883] 用Qiagen的RNeasy试剂盒根据制造商的说明从头颈癌细胞系提取总RNA。使用BioRad iScript cDNA合成试剂盒,将信使 (m) RNA转换为cDNA。然后用Origene的CXCR-7和 β -肌动蛋白特异性引物使用SyberGreen (BioRad) 检测mRNA表达水平。将CXCR7表达水平针对 β -肌动蛋白的水平进行归一化处理以允许比较不同的细胞系。

[0884] 19.1.3放射性配体结合

[0885] 将头颈癌细胞系接种到聚-L-赖氨酸包被的96孔板上,培养过夜。第二天,在不存在或存在趋化因子 (10^{-7} M) 或CXCR7特异性纳米抗体9A4 (10^{-6} M) 的条件下,向所述细胞中加入添加了0.5%BSA的结合缓冲液 (50mM Hepes pH 7.4, 1mM CaCl_2 , 5mM MgCl_2 , 0.1M NaCl)。然后,加入放射性标记的 [125 I]-CXCL12 (Perkin-Elmer) 使其终浓度达到75pM。将细胞在4℃温育3h,用包含0.5M NaCl的结合缓冲液洗涤两次。用裂解缓冲液收获样品后,对剩余的细胞结合的放射性进行计数。

[0886] 19.1.4动物实验

[0887] 根据由VU大学医学中心的动物实验委员会批准并按照操作手册FaCh 10-01实施的NIH实验动物护理手册和荷兰国家法["Wet op de Dierproeven" (Stb 1985, 336)] 进行所有动物实验。将头颈癌细胞22A皮下注射到8-10周龄的雌性供体裸鼠 (Hsd, 无胸腺的nu/nu, Harlan实验室) 的侧部。使异种移植肿瘤生长至大小为200-500mm³, 然后摘除, 切为较小的相同大小的块, 并皮下移植到受体裸鼠的侧部。当移植的肿瘤正确植入时, 用PBS, 或1mg二价纳米抗体或1.5mg三价纳米抗体每两周给小鼠腹腔内注射一次。

[0888] 19.2结果

[0889] 19.2.1CXCR7的mRNA表达

[0890] 首先检测头颈癌细胞系中CXCR7 mRNA的表达。在所检测的6个细胞系中, 4个细胞系显示出CXCR7的mRNA的表达, 其为22A, 22B, OE和93-VU-147细胞系 (图4)。

[0891] 19.2.2CXCR7的蛋白表达

[0892] CXCR7 mRNA在广泛的人组织中表达。但是mRNA表达不总是与细胞表面的蛋白表达相关。因此, 为了进一步评价CXCR7蛋白的存在, 在 [125 I]-CXCL12放射性配体结合检测中验

证CXCR7的蛋白表达。通过用未标记的趋化因子CXCL12和CXCL11但不是CXCL10来置换放射性配体,测定CXCR7-特异性表达。此外,单价纳米抗体09A04置换 $[^{125}\text{I}]$ -CXCL12的程度与CXCL11和CXCL12类似(图5)。

[0893] 这些数据证明mRNA和蛋白CXCR7在4个头颈癌细胞系中表达。

[0894] 19.2.3CXCR7纳米抗体能够抑制肿瘤生长

[0895] 在用于测定肿瘤生长的体内异种移植模型中使用表达CXCR7的细胞系。因为给裸鼠的每个侧面皮下注射 2×10^6 个细胞允许异种移植肿瘤形成,所以选择22A细胞系作为异种移植肿瘤模型。接下来,为了确保在治疗实验中来自不同组(处理vs. 未处理)的小鼠表现出类似的初始肿瘤大小,我们进行肿瘤移植。首先,供体裸鼠首先在其侧面皮下注射 2×10^6 个22A细胞。待肿瘤生长到大小为200-500mm³然后摘除,切为相等大小的块,并皮下移植到受体裸鼠中。当植入的肿瘤开始生长后,将小鼠随机分为五组,每两周注射一次400u1的包含或不包含纳米抗体的PBS。用于治疗的待测构建体是克隆060、克隆083、克隆085和克隆093。二价和三价纳米抗体每次注射的剂量分别为1和1.5mg。在50天的治疗期中,对照(PBS)和克隆060和克隆083组的肿瘤生长至类似的程度(大小没有显著差别)(图6)。用克隆085和克隆093治疗的小鼠与注射PBS的小鼠相比,在治疗实验结束时表现出更慢的肿瘤生长和明显更小的尺寸(肿瘤体积PBS=274±47mm³,克隆085=119±30mm³以及克隆093=114±32mm³)(图7)。

[0896] 因此,CXCR7纳米抗体在体内减少头颈癌细胞生长。

[0897] 该研究不仅支持了纳米抗体的抗肿瘤功效,而且支持了其优异的安全性,反映其高度的靶向性和特异性活性,这是与正在开发的或市场上出售的许多其它细胞毒性药物根本不同的。

[0898] 实施例20: CXCR7纳米抗体在体内减少异种移植肿瘤生长

[0899] 在实施例19中,证明了CXCR7纳米抗体能够抑制肿瘤,如头颈癌所例证。

[0900] 在第一个阶段中,为了证明在体内纳米抗体对除头颈癌之外的(过)表达CXCR7的其它肿瘤也有效,可以使用进一步的异种移植模型。

[0901] 神经胶质瘤是原发性人脑肿瘤最常见的形式,它们通常被分为四个临床分级。最有侵略性的肿瘤,4级肿瘤,也称为多形性胶质母细胞瘤(GBM),其伴随着高死亡率和发病率。患GBM的患者的存活在过去几十年间几乎保持不变(即诊断后6-12个月),即使在手术、放疗和化疗上取得了进展。基本上可以如例如Yi等(EGFR Gene Overexpression Retained in an Invasive Xenograft Model by Solid Orthotopic Transplantation of Human Glioblastoma Multiforme Into Nude Mice" Cancer Invest. 201129:229-239)所述使用GBM异种移植模型。

[0902] 基本上如实施例19所述建立异种移植,但是使用来源于原发性肿瘤(其获自进行外科手术治疗的患者)的异种移植物。将来源于这些肿瘤的细胞注射到4-6周龄、先天无胸腺的Balb/c nu/nu背景的雌性裸鼠中。在特定的无病原体的屏障环境中饲养小鼠。为了进行移植和成像,对小鼠以每g体重0.10mg盐酸氯胺酮的量腹腔内麻醉。如果需要的话,摘除肿瘤并再移植到其它裸鼠中,如实施例19所述。

[0903] 每两周一次注射1.5mg PBS、克隆060、克隆083、克隆085和克隆093,开始治疗。每隔4天测量肿瘤大小。用卡尺测量肿瘤大小,用公式(长度×宽度²)/2计算肿瘤体积。对小鼠

肿瘤体积发展跟踪30天。第30天处死小鼠。对肿瘤称重并用4%聚甲醛固定。切割肿瘤切片用于免疫组化分析。

[0904] 图3中列出的肿瘤通过已建立细胞系的或来源于原发性肿瘤的异种移植进行类似检测。优选对具有高百分比CXCR7的肿瘤进行初始检测。

[0905] 实施例21:第1组免疫球蛋白单可变结构域

[0906] 鉴于结合、竞争和/或 β -抑制蛋白的结果,在初始筛选后不再进一步评价各种ISVDs。但是,实施例19-20的体内结果促使我们进一步评价第1组ISVDs的其它家族成员的存在。

[0907] 在对序列进行再评价后,鉴别出至少以下4个第1组ISVDs:01C12 (SEQ ID NO:99), 01B12 (SEQ ID NO:100), 01F11 (SEQ ID NO:101) 和01B10 (SEQ ID NO:102) (表B-3)。

[0908] 实施例22: CXCR7纳米抗体在体内减少头颈癌异种移植肿瘤生长

[0909] 在实施例19中证明了CXCR7纳米抗体在体内减少头颈癌细胞生长。在实施例19中,小鼠接受1.5mg的克隆085 (第1组ISVD-第2组ISVD) 或克隆093 (第1组ISVD-第1组ISVD)。

[0910] 鉴于第2组ISVDs的结合功效,预期包含第1组ISVD-第2组ISVD的构建体 (例如克隆085) 应当比包含第1组ISVD-第1组ISVD的构建体 (例如克隆093) 更有效。

[0911] 相应地,使用实施例19的体内异种移植模型检验这个假说。小鼠再次被随机分为11组,每组5只小鼠,每两周一次注射400u1不含或含有所述构建体的PBS。用于治疗的待测构建体是克隆085和克隆093。

[0912] 用量是根据下述方案:

[0913]

构建体	剂量/两周一次/5 只小鼠				
克隆 085	1.5 mg	0.75 mg	0.375 mg	0.17 mg	0.085 mg
克隆 093	1.5 mg	0.75 mg	0.375 mg	0.17 mg	0.085 mg
PBS (阴性对照)	-	-	-	-	-

[0914] 每隔4天测量肿瘤大小。用卡尺测量肿瘤大小,用公式(长度 $\times$ 宽度²)/2计算肿瘤体积。对小鼠肿瘤体积的发展跟踪30天。第50天处死小鼠。对肿瘤称重并用4%聚甲醛固定。切割肿瘤切片用于免疫组化分析。

PA136681序列表

机构申请人

街道 : Technopark 21
 城市 : 根特
 州 :
 国家 : 比利时
 邮编 : 9052
 电话号码 : +3292620000
 传真号码 :
 Email地址 :

<110> 机构名称 : Ablynx NV

申请项目

<120> 名称 : 与CXCR7相关的生物材料
 <130> 申请文件参考号 : P11 007 PCT 1
 <140> 目前的申请号 :
 <141> 目前的申请日 : _ _ _ _ _

序列

<213> 生物体名称 : 智人

<400> 序列 :

MDLHLFDYSE PGNFSDISWP CNSSDCIVVD TVMCPNMPNK SVLLYTLSFI YIFIFVIGMI 60
 ANSVVVVWNI QAKTTGYDTH CYILNLAIAD LWVLTIPVW VVSLVQHNQW PMGELTCKVT 120
 HLIFSINLFG SIFFLTMSV DRYLSITYFT NTPSSRKKMV RRVVCILVWL LAFCVSLPDT 180
 YYLKTVTSAS NNETYCRSFY PEHSIKEWLI GMELVSVVLG FAVPFSTIAV FYFLARAIS 240
 ASSDQEKHSS RKIIFSYYVV FLVCWLPYHV AVLLDIFSIL HYIPFTCRLE HALFTALHVT 300
 QCLSLVHCCV NPVLYSFINR NYRYELMKAF IFKYSAKTGL TKLIDASRVS ETEYSALEQS 360

TK 362

[0001]

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 362

序列名称 : 人 CXCR7 , SEQ ID NO: 1

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGG LVQPGNSRL SCAASGFTFS SFGMSWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGSDTLY 60
 ADSVKGRFTI SRDIAKTLTY LQMNSLRPED TAVVYCTIGG SLRSSQGTI VTVSS 115

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 115

序列名称 : A1b8 , SEQ ID NO: 2

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 小鼠

<400> 序列 :

MDVHLFDYAE PGNYSIDINWP CNSSDCIVVD TVQCPTMPNK NVLLYTLSFI YIFIFVIGMI 60
 ANSVVVVWNI QAKTTGYDTH CYILNLAIAD LWVITIPVW VVSLVQHNQW PMGELTCKIT 120
 HLIFSINLFG SIFFLACMSV DRYLSITYFT GTSSYKKKMV RRVVCILVWL LAFFVSLPDT 180
 YYLKTVTSAS NNETYCRSFY PEHSIKEWLI GMELVSVILG FAVPFTIIAI FYFLARAMS 240
 ASGDQEKHSS RKIIFSYYVV FLVCWLPYHF VLLDIFSIL HYIPFTCQLE NVLFTALHVT 300
 QCLSLVHCCV NPVLYSFINR NYRYELMKAF IFKYSAKTGL TKLIDASRVS ETEYSALEQN 360

TK 362

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 362

序列名称 : 鼠CXCR7 , SEQ ID NO: 3

序列描述 :

[0002]	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	EVQLVESGGN LVQAGGSLGL SCAASVSIS	30
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 30	
	序列名称 : 07B11 FR1 , SEQ ID NO: 4	
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	EVQLVESGGG LVQAGESLTL SCAASGRTLS	30
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 30	
	序列名称 : 07C03 FR1 , SEQ ID NO: 5	
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	EVQLVESGGG LVQAGDSLRL SCAASGLTFS	30
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 30	
	序列名称 : 08A05 FR1 , SEQ ID NO: 6	
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGSIFS	30
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 30	
	序列名称 : 08A10 FR1 , SEQ ID NO: 7	
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	EVQLVESGGG LVQPGGSLRI SCAASGSIYL	30
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 30	
	序列名称 : 14G03 FR1 , SEQ ID NO: 8	
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	IHIMG	5
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 5	
	序列名称 : 07B11 CDR1 , SEQ ID NO: 9	
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	AYIMG	5
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 5	
	序列名称 : 07C03 CDR1 , SEQ ID NO: 10	
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	NYDMG	5

	<212> 类型 : PRT <211> 长度 : 5 序列名称 : 08A05 CDR1 , SEQ ID NO: 11 序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : IAAMG	5
	<212> 类型 : PRT <211> 长度 : 5 序列名称 : 08A10 CDR1 , SEQ ID NO: 12 序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : INYMG	5
	<212> 类型 : PRT <211> 长度 : 5 序列名称 : 14G03 CDR1 , SEQ ID NO: 13 序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : WYRQAPGKQR DLVA	14
	<212> 类型 : PRT <211> 长度 : 14 序列名称 : 07B11 FR2 , SEQ ID NO: 14 序列描述 :	
	序列	
[0003]	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : WFRQAPGKER EFVA	14
	<212> 类型 : PRT <211> 长度 : 14 序列名称 : 07C03 FR2 , SEQ ID NO: 15 序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : WFRQAPGKER EFVG	14
	<212> 类型 : PRT <211> 长度 : 14 序列名称 : 08A05 FR2 , SEQ ID NO: 16 序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : WYRQATGKQR ELVA	14
	<212> 类型 : PRT <211> 长度 : 14 序列名称 : 08A10 FR2 , SEQ ID NO: 17 序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : WYRQAPGKQR ELVA	14
	<212> 类型 : PRT <211> 长度 : 14 序列名称 : 14G03 FR2 , SEQ ID NO: 18 序列描述 :	
	序列	

[0004]

<213> 生物体名称 : 人工序列	
<400> 序列 :	
TTTSGGSTAY ADSVKG	16
<212> 类型 : PRT	
<211> 长度 : 16	
序列名称 : 07B11 CDR2 , SEQ ID NO: 19	
序列描述 :	
序列	
<213> 生物体名称 : 人工序列	
<400> 序列 :	
GIWSGGYTHL ADSAKG	16
<212> 类型 : PRT	
<211> 长度 : 16	
序列名称 : 07C03 CDR2 , SEQ ID NO: 20	
序列描述 :	
序列	
<213> 生物体名称 : 人工序列	
<400> 序列 :	
ASWWSGGAPY YSDSVKG	17
<212> 类型 : PRT	
<211> 长度 : 17	
序列名称 : 08A05 CDR2 , SEQ ID NO: 21	
序列描述 :	
序列	
<213> 生物体名称 : 人工序列	
<400> 序列 :	
TTTDGGTTY ADSVKG	16
<212> 类型 : PRT	
<211> 长度 : 16	
序列名称 : 08A10 CDR2 , SEQ ID NO: 22	
序列描述 :	
序列	
<213> 生物体名称 : 人工序列	
<400> 序列 :	
TLTSGGSTNY AGSVKG	16
<212> 类型 : PRT	
<211> 长度 : 16	
序列名称 : 14G03 CDR2 , SEQ ID NO: 23	
序列描述 :	
序列	
<213> 生物体名称 : 人工序列	
<400> 序列 :	
RFTVSKDNAK NTVYLQMDSL KPEDTSVYYC AA	32
<212> 类型 : PRT	
<211> 长度 : 32	
序列名称 : 07B11 FR3 , SEQ ID NO: 24	
序列描述 :	
序列	
<213> 生物体名称 : 人工序列	
<400> 序列 :	
RESISRDNAK NTVYLMNGL KPEDTAVYYC AA	32
<212> 类型 : PRT	
<211> 长度 : 32	
序列名称 : 07C03 FR3 , SEQ ID NO: 25	
序列描述 :	
序列	
<213> 生物体名称 : 人工序列	
<400> 序列 :	
RFTISRDNAK NTVYMQANSL RPEDTAVYYC AA	32
<212> 类型 : PRT	
<211> 长度 : 32	

	序列名称 : 08A05 FR3 , SEQ ID NO: 26 序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : RVTISRDRSA NTVYLAMNNL KPDDTAVYYC YA <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 32	32
	序列名称 : 08A10 FR3 , SEQ ID NO: 27 序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : RFAISRDNAL NTVYLMNNSL KPEDTAVYYC NI <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 32	32
	序列名称 : 14G03 FR3 , SEQ ID NO: 28 序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : EVRNGVFGKW NHY <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 13	13
	序列名称 : 07B11 CDR3 , SEQ ID NO: 29 序列描述 :	
	序列	
[0005]	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : GLRGRQYSN <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 9	9
	序列名称 : 07C03 CDR3 , SEQ ID NO: 30 序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : KRLRSEASGG SYDY <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 14	14
	序列名称 : 08A05 CDR3 , SEQ ID NO: 31 序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : YLRYTSRVPG DNY <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 13	13
	序列名称 : 08A10 CDR3 , SEQ ID NO: 32 序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : GGTLYDRRRF ES <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 12	12
	序列名称 : 14G03 CDR3 , SEQ ID NO: 33 序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	

[0006]

<400> 序列 :
WGQGTQVTVS S 11
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 11
序列名称 : 07B11 FR4 , SEQ ID NO: 34
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
WGQGTQVTVS S 11
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 11
序列名称 : 07C03 FR4 , SEQ ID NO: 35
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
WGQGTQVTVS S 11
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 11
序列名称 : 08A05 FR4 , SEQ ID NO: 36
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
WGQGTQVTVS S 11
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 11
序列名称 : 08A10 FR4 , SEQ ID NO: 37
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
WGQGTQVTVS S 11
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 11
序列名称 : 14G03 FR4 , SEQ ID NO: 38
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
EVQLVESGGNLVQAGGSLGLSCAASVSISIHMGWYRQAPGKQRDLVATITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTVYVYLMQDSLKPEDTSVYYCAAEEVRNGVFG
KWNHYWGQGTQVTYSS
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 121
序列名称 : 7CXCR7B11 (07B11) , SEQ ID NO: 39
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRITLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSTSRDNAKNTVYVYLMNGLKPEDTAVYYCAAAGLRGRQYS
NWGQGTQVTYSS
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 117
序列名称 : 7CXCR7C3 (07C03) , SEQ ID NO: 40
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQAPGKEREFVVGASWWSGGAPYYSDSVKGRFTISRDNKNTVYVYVYLMQNSLRPEDTAVYYCAAERLRSEFA
SGGSYDYWGQGTQVTYSS
<212> 类型 : PRT

[0007]

<211> 长度 : 123
序列名称 : 7CXCR8A5 (08A05) , SEQ ID NO: 41
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIIFSIAAMGWYRQATGKQRELVAITIDGGTITYADSVKGRVTISRDRSANTVYLAMNNLKPDDTAVYYCYAYLRYTSRV
PGDNYWGQGTQVTVSS
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 121
序列名称 : 7CXCR8A10 (08A10) , SEQ ID NO: 42
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIYLLNYMGWYRQAPGKQRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFATSRDNAKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCNIIGGTLYDRR
RFESWGQGTQVTVSS
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 120
序列名称 : 7CXCR14G3 (14G03) , SEQ ID NO: 43
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
EVQLVESGGGLVQAGGSLGLSCAASVSISIHIMGWYRQAPGKQRDVAITITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTVYLMQMSLKPEDTSVYYCAAEVRNGVFG
KWNHYWGQGTQVTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLV
LQMSLRLPDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 245
序列名称 : 7CXCR008 (07B11-9GS-A1b8) , SEQ ID NO: 44
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRTL SAYIMGWFRQAPGKEREFVAGTWGGYTHLADSAKGRFISRDNAKNTVYLMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYS
NWGGGTQVTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLVLMN
SLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 241
序列名称 : 7CXCR009 (07C03-9GS-A1b8) , SEQ ID NO: 45
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFESNYDMGWFRQAPGKEREFVAGSWWGGGAPYYSDSVKGRFTISRDNAKNTVYLMQNSLRLPDTAVYYCAAKRLRSFA
SGGSDYDYGQGTQVTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTT
LYLMNSLRLPDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 247
序列名称 : 7CXCR010 (08A05-9GS-A1b8) , SEQ ID NO: 46
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIIFSIAAMGWYRQATGKQRELVAITIDGGTITYADSVKGRVTISRDRSANTVYLAMNNLKPDDTAVYYCYAYLRYTSRV
PGDNYWGQGTQVTVSSGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLV
LQMSLRLPDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 245
序列名称 : 7CXCR011 (08A10-9GS-A1b8) , SEQ ID NO: 47
序列描述 :

序列

[0008]

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 EVQLVESGGGLVQPGGSLERISCAASGSIYLYINMGWYRQAPGKQRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNKNTVYLQMNLSKPEDTAVYYCNIGGTLYDRR
 RFESWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRISCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYL
 QMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 244
 序列名称 : 7CXCR013 (14G03-9GS-A1b8) , SEQ ID NO: 48
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 GGGGS
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 5
 序列名称 : 5GS , SEQ ID NO: 49
 序列描述 :

5

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 SGGSGGS
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 7
 序列名称 : 6GS , SEQ ID NO: 50
 序列描述 :

7

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 GGGSGGGGS
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 9
 序列名称 : 9GS , SEQ ID NO: 51
 序列描述 :

9

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 GGGSGGGGS
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 10
 序列名称 : 10GS , SEQ ID NO: 52
 序列描述 :

10

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 GGGSGGGGS GGGGS
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 15
 序列名称 : 15GS , SEQ ID NO: 53
 序列描述 :

15

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 GGGSGGGGS GGGGGGS
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 18
 序列名称 : 18GS , SEQ ID NO: 54
 序列描述 :

18

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 GGGSGGGGS GGGSGGGGS
 <212> 类型 : PRT

20

[0009]

<211> 长度 : 20
序列名称 : 20GS , SEQ ID NO: 55
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
GGGSGGGGS GGGSGGGGS GGGGS 25
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 25
序列名称 : 25GS , SEQ ID NO: 56
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
GGGSGGGGS GGGSGGGGS GGGSGGGGS 30
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 30
序列名称 : 30GS , SEQ ID NO: 57
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
GGGSGGGGS GGGSGGGGS GGGSGGGGS 35
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 35
序列名称 : 35GS , SEQ ID NO: 58
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
gaggtgcaattggtggagctcgggggaaacttgggtgcaggctggggggtctctgggactctctgtgcagccctctgtaagcatctccagtatccatatcatgggc
tggtaaccggcaggctccaggcaaacagcgagcttggctcgtactattactagttggtagcagcagcatalgcagactccgtgaagggaagaitcaccgtctcc
aaagacaacgcccaagaacacgggtgtatctgcaaatggacagcctgaaacctgaggacacatccgtctattactgtgcagccgaggtcagaatgggggtgfttggg
aaatggaatacactactggggccaggggacccaggtaaccgtctectca
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 363
序列名称 : 7CXCR7B11 (07B11) , SEQ ID NO: 59
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
gaggtgcaattggtggagctcgggggaggattgggtgcaggctgggggagctctgactctctctgtgcagccctctggaagcacccttaagtgcctatatacatgggc
tggttccgccaggctccagggaaggagcgggagttttagccggtatctggagtgggtggttaacacacaccttgcagactccgcgaaggcccgattcagcatctct
agagacaacgcccaagaacactgtatatactgcaaatgaacggcctgaaacctgaggacacggccgtctattactgtgcagcaggctctgagaggcccgagtatagt
aactggggccaggggaccaggtaaccgtctectca
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 351
序列名称 : 7CXCR7C3 (07C03) , SEQ ID NO: 60
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
gaggtgcaattggtggagctcgggggaggattgggtgcaggctgggggactctctgagactctctgtgcagccctctggactcactttcagtaacatgacatgggc
tggttccgccaggctccagggaaggagcgtgaattttaggggctagttgggtggagtgggtgggtgcccaatactattcagactccgtgaaggcccgattcaccatc
tccagagacaacgcccaagaacacgggtgtatctgcaagcgaacagcctgagacctgaggacacggccgtttattactgtgcagccaaaaggctgggtagtttggcc
tccgggtgggtcgtatgattactgggggtcaggggacccaggtaaccgtctectca
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 369
序列名称 : 7CXCR8A5 (08A05) , SEQ ID NO: 61
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

[0010]

<400> 序列 :

gagtcfggggaggcttgggtgcaggetggagggtctctgagactctctgtgcagcttcfggaagcatcttcagtaicgctgccaatgggctggtagccagggt.
acagggaagcagcgcgagttgggtcgcaactatcactgatggcggtacgacaacctatgcagactccgtgaagggecgagtcaccatctccaggacaggctcgcg
aacacgggtgtatctggcaatgaacaatttgaaacctgatgacacagccgtctattattgttatgcgtatctgcgtatatacagaagagtagctggcgataactac
tggggccaggggaccaggteacegtctctctea

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 348

序列名称 : 7CXCR8A10 (08A10) , SEQ ID NO: 62

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

gaggltgcaattgggtggagtcfgggggaggcttgggtgcagccctgggggggtctctgagaattctctgtgcagccctctggaagcatctacccttaacaattacatgggc
tggtagccggaggtccagggaagcagcgcgagttgggtcgcaaccttactagttgggtgtagtaccactatgcaggtctccgtgaagggecgattcgcctctcc
agagacacgcgccaagaacacgggtttatctgcaaatgaacagccctgaaacctgaggacacggccgtctattactgttaatataggaggaaagctatcacgacagaagg
cggtttgaatctctggggccaggggaccaggteacegtctctctcag

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 361

序列名称 : 7CXCR14G3 (14G03) , SEQ ID NO: 63

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGG LVQPGNSLRL SCAASGFTFS 30

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 30

序列名称 : A1b8 FR1 , SEQ ID NO: 64

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

SFGMS 5

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 5

序列名称 : A1b8 CDR1 , SEQ ID NO: 65

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

WVRQAPGKGL EWVS 14

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 14

序列名称 : A1b8 FR2 , SEQ ID NO: 66

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

SISGSGSDTL YADSVKG 17

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 17

序列名称 : A1b8 CDR2 , SEQ ID NO: 67

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

RFTISRDNAL TILYLQMNSL RPEDTAVYYC TI 32

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 32

序列名称 : A1b8 FR3 , SEQ ID NO: 68

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

[0011]

<400> 序列 :
GGSLSR 6
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 6
序列名称 : A1b8 CDR3 , SEQ ID NO: 69
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
SSQGLTVTS S 11
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 11
序列名称 : A1b8 FR4 , SEQ ID NO: 70
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
AAHHHHHHG AAEQKLISEE DLNGAA 26
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 26
序列名称 : 标记-1 , SEQ ID NO: 71
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
AAAEQKLISE EDLNGAAHHH HHH 23
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 23
序列名称 : 标记-2 , SEQ ID NO: 72
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
gagggtgcaattgggtggagtcigggggaaacttgggtgcaggctgggggggtctctgggactctctgtgcagecctgtgaagcatetccagtatccatatacatgggc
tggtaaccggcaggctccaggcaaacagegegaacttgggtcgtctactattactagttggtagcacagcattgcagactccgtgaaggacgattcacgcgtctcc
aaagacaaacgcccaagaacacgggtgtatctgcaaatggacagccgtgaacctgaggacacatccgtctattactgtgcagccgaggtcagaaatgggggtgtttgga
aaatggaatactactactggggccagggaacccagggtcagggtctctcaggagggtggcgggtccggaggcggatccagggtacagctgggtggagtciggggggtgga
ttgggtgcaaccgggttaacagttctgcgtctagctgcgcagcgtctgggtttaccttcagctctctttggcatgagctgggttcgccaggctccgggaaaaggactg
gaattgggttttctctattagcggcagttggtagcgatacgtctacgcggactccgtgaagggtccgtttaccatctcccgataaacgccaaaactacactgtat
ctgcaaatgaatagcctgcgtcttgaagacacggccgtttattactgtactattgggtggctcgttaagccgtttcttcacagggtacccctggtaaccgtctctctca
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 735
序列名称 : 07B11-9GS-A1b8 , SEQ ID NO: 73
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
gagggtgcaattgggtggagtcigggggaggattgggtgcaggctgggggagtccttgactctctctgtgcageccttggacgcaccttaagtgcctatatcatgggc
tggttccgcaggctccagggaaggagcgggagttttagccgggtatctggagttgggtttacacacaccttgcagactccgcgaaggccgattcagcatctct
agagacaaacgcccaagaacactgtatactgcaaatgaacggcctgaacctgaggacacggcgtctattactgtgcagcaggctcagaggccgccagtatagt
aactggggccagggaacccagggtcaggtctctcaggagggtggcgggtccggaggcggatccagggtacagctgggtggagtciggggggtggttgggtgcaaccg
ggtaacagctctgcgccttagctgcgcagcgtctggcctttaccttcagctctctttggcatgagctgggttcgccaggctccgggaaaaggactggaaatgggttctg
tctattagcggcagttggtagcgatacgtctacgcggactccgtgaagggtccgtttaccatctcccgataaacgccaaaactacactgtatctgcaaatgaat
agcctgcgtctcgaagacacggccgtttattactgtactattgggtggctcgttaagccgtttcttcacagggtaccctggtaaccgtctctctca
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 723
序列名称 : 07C03-9GS-A1b8 , SEQ ID NO: 74
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
<400> 序列 :
gagggtgcaattgggtggagtcigggggaggattgggtgcaggctgggggactcttgagactctctgtgcageccttggactcacttcagtaactatgacatgggc
tggttccgcaggctccagggaaggagcgtgaattttaggggctagttgggtggagttgggtggcccatatctattcagactccgtgaaggccgattcacccatc
tccagagacaaacgcccaagaacacgggtgtatctgcaagcgaacagcctgagacctgaggacacggcgtttattactgtgcagccaaaaggctgcgtagtttccgc

[0012]

tccgggtgggtcgatgattactggggtcaggggaccaggtcacgggtctctcaggagggtgggggtcggaggcggatccagggtacagctgggtggagctggg
gggtggcttgggtgaacgggtgaacagctctgcgccttagctgcgcagcgtctggcctttaccttcagctctcttggcatgagctgggttcggcaggctccgggaaaa
ggactggaatgggtttctgtctatttagcggcagtggttagcgatacgcctacgcggactccgtgaaggccggtttaccatctcccgagataacgccaaaactaca
ctgtatctgcaaatgaatgagctgcgtctcgaagacacggccggtttattactgtactattggtggctcgttaagccgtttcttcacagggtaccttggtcaccgtc
tctctca

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 741

序列名称 : 08A05-9GS-A1b8 , SEQ ID NO: 75

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

gaggtgcaattgggtggagctctgggggaggttgggtgcaggctggagggtctctgagactctctgtgcagcttctggaagcatcttcagtatcgctgcacatgggc
tggtaaccgccaggtacagggaagcagcgcgagttggctgcacactatcactgattggcggtaacgacaacctatgcagactccgtgaaggccgagtcaccatctcc
agggacaggtctgcgaacacgggtgtatctggcaatgaacaatttgaaccttgatgacacagcgcctctattattgttatgcgtatctgcgtatatacaagcagagta
ccttggcgataactacttggggccaggggaccaggtcacgggtctctcaggagggtgggggtcggaggcggatccagggtacagctgggtggagctctgggggtggc
ttgggtgaacccgggtaacagctctgcgccttagctgcgcagcgtctggctttaccttcagctctcttggcatgagctgggttcgccaggctccgggaaaaggactg
gaatgggtttctgtctatttagcggcagtggttagcgatacgcctacgcggactccgtgaaggccggtttaccatctcccgagataacgccaaaactacactgtat
ctgcaaatgaatgagctcgctctcgaagacacggccggtttattactgtactattggtggctcgttaagccgtttcttcacagggtaccttggtcaccgtctctca

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 735

序列名称 : 08A10-9GS-A1b8 , SEQ ID NO: 76

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

gaggtgcaattgggtggagctctgggggaggttgggtgcaggctggggggtctctgagaatttctgtgcagcctctggaagcatctacattataatfacatgggc
tggtaaccgccaggtccagggaagcagcgcgagttggctgcacacttacttagttgggtggtagtaccacactatgcaggtccgtgaaggccgattccgcacatctcc
agagacacgcccaagaacacaggtttatctgcaaatgaacagcctgaaacctgaggacacggccgctctattactgtaatataggaggaaagctatcacgacagaagg
cggtttgaaatcttggggccaggggaccaggtcacgggtctctcaggagggtgggggtcggaggcggatccagggtacagctgggtggagctctgggggtggc
gtgcaacccgggtaacagctctgcgccttagctgcgcagcgtctggctttaccttcagctctcttggcatgagctgggttcgccaggctccgggaaaaggactggaa
tgggtttctgtctatttagcggcagtggttagcgatacgcctacgcggactccgtgaaggccggtttaccatctcccgagataacgccaaaactacactgtatctg
caaatgaatgagctcgctctcgaagacacggccggtttattactgtactattggtggctcgttaagccgtttcttcacagggtaccttggtcaccgtctctca

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 732

序列名称 : 14G03-9GS-A1b8 , SEQ ID NO: 77

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGNLVQAGGSLGLSCAASVSISSIHMGWYRQAPGKQRDLVATITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTVYLLQMSLKPEDTSVYYCAAEVRNGVFG
KWNHYWGQGTQVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRITLSAYINGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAGKRFISIRDNAKNTVYL
QMNLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGTQVTVSS

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 247

序列名称 : 07B11-9GS-07C03 , SEQ ID NO: 78

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGNLVQAGGSLGLSCAASVSISSIHMGWYRQAPGKQRDLVATITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTVYLLQMSLKPEDTSVYYCAAEVRNGVFG
KWNHYWGQGTQVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGSLGLSCAASVSISSIHMGWYRQAPGKQRDLVATITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTVYLQMS
LKPEDTSVYYCAAEVRNGVFGKWNHYWGQGTQVTVSS

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 247

序列名称 : 07C03-9GS-07B11 , SEQ ID NO: 79

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGNLVQAGGSLGLSCAASVSISSIHMGWYRQAPGKQRDLVATITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTVYLLQMSLKPEDTSVYYCAAEVRNGVFG
KWNHYWGQGTQVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGSLGLSCAASVSISSIHMGWYRQAPGKQRDLVATITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTVYLQMS
LQMSLRLPEDIAYYYCTLGGSLSRSSQGTLYTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGSLGLSCAASGRITLSAYINGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLAD
SAGKRFISIRDNAKNTVYLLQMSLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGTQVTVSS

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 371

[0013]

序列名称 : 07B11-9GS-A1b8-9GS-07C03 , SEQ ID NO: 80
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGNLYQAGGSGLSCAASVSISIIHMGWYRQAPGKQRDVATITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTVYLQMDSLKPEDTSVYYCAAEEVRNGVFG
KWNHYWGQGTQVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRITLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAGKRFPSISRDNAKNTVYL
QMNGLKPEDTAVYYCAAAGLRGRQYSNWGGGTQVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTL
YADSVKGRFTISRDNKNTITLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 371

序列名称 : 07B11-9GS-07C03-9GS-A1b8 , SEQ ID NO: 81

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQAPGKEREFVGSWWSGGAPYYSDSVKGRFTISRDNKNTVYLQANSLRPEDTAVYYCAAARLRSFA
SGGSDYWGQGTQVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSRLSCAASGSIFSIAAMGWYRQATGKQREL VATITDGGTTTYADSVKGRVTISRDRSANTV
YLAAMNLPDDTAVYYCYAYLRYTSRVPDNYWGQGTQVTVSS

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 253

序列名称 : 08A05-9GS-08A10 , SEQ ID NO: 82

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGGLVQAGGSRLSCAASGSIFSIAAMGWYRQATGKQREL VATITDGGTTTYADSVKGRVTISRDRSANTVYLAMNLPDDTAVYYCYAYLRYTSRV
PGDNYWGQGTQVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTL YADSVKGRFTISRDNKNTLY
LQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSRLSCAASGSIFSIAAMGWYRQATGKQREL VATITDGGTTTYAD
SVKGRVTISRDRSANTVYLAMNLPDDTAVYYCYAYLRYTSRVPDNYWGQGTQVTVSS

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 375

序列名称 : 08A10-9GS-A1b8-9GS-08A10 , SEQ ID NO: 83

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGGLVQAGGSRLSCAASGSIFSIAAMGWYRQATGKQREL VATITDGGTTTYADSVKGRVTISRDRSANTVYLAMNLPDDTAVYYCYAYLRYTSRV
PGDNYWGQGTQVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSRLSCAASGSIFSIAAMGWYRQATGKQREL VATITDGGTTTYADSVKGRVTISRDRSANTVYL
AMNLPDDTAVYYCYAYLRYTSRVPDNYWGQGTQVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSG
SDTL YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 375

序列名称 : 08A10-9GS-08A10-9GS-A1b8 , SEQ ID NO: 84

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQAPGKEREFVGSWWSGGAPYYSDSVKGRFTISRDNKNTVYLQANSLRPEDTAVYYCAAARLRSFA
SGGSDYWGQGTQVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSRLSCAASGSIFSIAAMGWYRQATGKQREL VATITDGGTTTYADSVKGRVTISRDRSANTV
YLAAMNLPDDTAVYYCYAYLRYTSRVPDNYWGQGTQVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSG
SGSDTL YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 377

序列名称 : 08A05-9GS-08A10-9GS-A1b8 , SEQ ID NO: 85

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGNLYQAGGSGLSCAASVSISIIHMGWYRQAPGKQRDVATITSGGSTAYADSVKGRFTVSKDNAKNTVYLQMDSLKPEDTSVYYCAAEEVRNGVFG
KWNHYWGQGTQVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIKSGSDSTRYAGSVKGRFTISRDNKNTLY
LQMYSLKPEDTAVYYCAKSRVSRITGLTYDNRGQGTQVTVSS

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 252

[0014]

序列名称 : 07B11-9GS-238D2 , SEQ ID NO: 86
序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGGLVQAGESLTLSCAASGRTL SAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGGYTHLADSAKGRFSTSRDNAKNTVYLQMNGLKPEDTAVYYCAAGLRGRQYS
NWGGGTQVTVSSGGGGGGSEVQLMESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFNYYAMGWFRAPGKEREFVAAITRSGVRSQVSAIYGDVSKDRFTISRDNKNTLY
LQMNLSLKPEDTAVYTCAASAIGSGALRRFEYDYSGGGTQVTVSS

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 254

序列名称 : 07C03-9GS-238D4 , SEQ ID NO: 87

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIFSIAAMGWYRQATGKQRELVAITTDGGTTTYADSVKGRVTTISRDRSANTVYLAAMNLLKPDPTAVYYCYAYLRYTSRV
PGDNYWGGGTQVTVSSGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLADSVKGRFTISRDNKNTLY
LQMNLSLKPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSGGGGGGSEVQLVESGGGLVQIGGSLRLSCAASGFTTSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGTKSSGDS TRYA
GSVKGRFTISRDNKNTLYLQMYSLKPEDTAVYYCAKSRVSRITGLTYDNRGGGTQVTVSS

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 376

序列名称 : 08A10-9GS-A1b8-9GS-238D2 , SEQ ID NO: 88

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQAPGKEREFVGASWVSGGAPYYSDSVKGRFTISRDNKNTVYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLRSFA
SGGSDYDWGGGTQVTVSSGGGGGGSEVQLMESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFNYYAMGWFRAPGKEREFVAAITRSGVRSQVSAIYGDVSKDRFTISRDN
AKNTLYLQMNLSLKPEDTAVYTCAASAIGSGALRRFEYDYSGGGTQVTVSSGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLE
WVSSISGSGSDTLADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLKPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSS

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 384

序列名称 : 08A05-9GS-238D4-9GS-A1b8 , SEQ ID NO: 89

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : Macaca fascicularis

<400> 序列 :

MDLHVFDYSE PGNFSDISWP CNSSDCIVVD TYMCPNMPNK SVLLYTLAFT YIFIFVIGMI 60

ANSVVVVWNI QAKTTGYDTH CYILNLAIAD LWWVLTPVW VVSLVQHNQW PMGELTCKVT 120

HLIFSINLFG SIFFLTCMSV DRYLSITYFT NTSSSRKKMV RRVVCVLWL LAPCVSLPDT 180

YYLKTVTSAS NNETYCRSFY PEHSIKEWLI GMELYSVVLG FAVPFSYIATV FYELLARATS 240

ASGDQEKHSS RKIIFSYVVV FLVCWLPYHV AVLLDIFSIL HYIPFTCRLE HALFTALHVT 300

QCCLSLVHCCV NPVLYSFINR NYRYELMKAF IFKYSAKTGL TKLIDASRVS ETEYSALEQS 360

TK 362

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 362

序列名称 : 猕猴CXCR7或cCXCR7 , SEQ ID NO: 90

序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列

<400> 序列 :

EVQLVESGGGLVQTGASLRLSCAASGRTFSNYAMGWFRQAPGKERERVAAITPRAFTTYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVSGGS
NLGRQESYAYWGGGTQVTVSS

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 126

序列名称 : 01C10 , SEQ ID NO: 91

序列描述 :

序列

[0015]

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 EVQLVESGGG LVQTGASLRL SCAASGRITS 30
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 30
 序列名称 : 01C10 FR1 , SEQ ID NO: 92
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 NYAMG 5
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 5
 序列名称 : 01C10 CDR1 , SEQ ID NO: 93
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 WFRQAPGKER ERVA 14
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 14
 序列名称 : 01C10 FR2 , SEQ ID NO: 94
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 AITPRAFTY YADSVKG 17
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 17
 序列名称 : 01C10 CDR2 , SEQ ID NO: 95
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 RFTISRDNK NTAYLQMVSL KPEDTAVYYC AA 32
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 32
 序列名称 : 01C10 FR3 , SEQ ID NO: 96
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 QLVGSGSNLG RQESYAY 17
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 17
 序列名称 : 01C10 CDR3 , SEQ ID NO: 97
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 WGQGTQVIVS S 11
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 11
 序列名称 : 01C10 FR4 , SEQ ID NO: 98
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 EVQLVESGGGLVQAGASLRLSCAASGRITFSNYAMGWFRQAPGKERERVAISPSAVTTYADSVKGRFTISRDNKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLPGRGS
 NLGRQASYAYWGQGTQVIVSS
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 126

[0016]

序列名称 : 01C12 , SEQ ID NO: 99
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 EVQLVESGGGLVQAGASLR LSCAASGRITFSNYAMGWFRQAPGKEREPVAAISPAALTTYADFVKGRFTISRDNAKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGS GS
 NLGRQSYAYWGQGTQVTVSS
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 126
 序列名称 : 01B12 , SEQ ID NO: 100
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 EVQLVESGGGLVQAGASLR LSCAASGRITFSNYAMGWFRQAPGKEREPVAAISPAALTTYADFVKGRFTISRDNAKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGS GS
 NLGRQSYAYWGQGTQVTVSS
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 126
 序列名称 : 01F11 , SEQ ID NO: 101
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 EVQLVESGGGLVQAGASLR LSCAASGRITFGNYAMGWFRQAPGKEREPVAAISPAAVTTYADFVKGRFTISRDNAKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGS GS
 NLGRQSYAYWGQGTQVTVSS
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 126
 序列名称 : 01B10 , SEQ ID NO: 102
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 EVQLVESGGG LVQAGASLR L SCAASGRITFS 30
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 30
 序列名称 : 01C12 FR1 , SEQ ID NO: 103
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 EVQLVESGGG LVQAGASLR L SCAASGRITFS 30
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 30
 序列名称 : 01B12 FR1 , SEQ ID NO: 104
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 EVQLVESGGG LVQAGASLR L SCAASGRITFS 30
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 30
 序列名称 : 01F11 FR1 , SEQ ID NO: 105
 序列描述 :

序列

<213> 生物体名称 : 人工序列
 <400> 序列 :
 EVQLVESGGG LVQAGASLR L SCAASGRITFG 30
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 30
 序列名称 : 01B10 FR1 , SEQ ID NO: 106
 序列描述 :

[0017]	序列			
	<213> 生物体名称 : 人工序列			
	<400> 序列 :			
	NYAMG			5
	<212> 类型 : PRT			
	<211> 长度 : 5			
	序列名称 : 01C12 CDR1	, SEQ ID NO:	107	
	序列描述 :			
	序列			
	<213> 生物体名称 : 人工序列			
	<400> 序列 :			
	NYAMG			5
	<212> 类型 : PRT			
	<211> 长度 : 5			
	序列名称 : 01B12 CDR1	, SEQ ID NO:	108	
	序列描述 :			
	序列			
	<213> 生物体名称 : 人工序列			
	<400> 序列 :			
	NYAMG			5
	<212> 类型 : PRT			
	<211> 长度 : 5			
	序列名称 : 01F11 CDR1	, SEQ ID NO:	109	
	序列描述 :			
	序列			
	<213> 生物体名称 : 人工序列			
	<400> 序列 :			
	NYAMG			5
	<212> 类型 : PRT			
	<211> 长度 : 5			
	序列名称 : 01B10 CDR1	, SEQ ID NO:	110	
	序列描述 :			
	序列			
	<213> 生物体名称 : 人工序列			
	<400> 序列 :			
	WFRQAPGKER ERVA			14
	<212> 类型 : PRT			
	<211> 长度 : 14			
	序列名称 : 01C12 FR2	, SEQ ID NO:	111	
	序列描述 :			
	序列			
	<213> 生物体名称 : 人工序列			
	<400> 序列 :			
	WFRQAPGKER EPVA			14
	<212> 类型 : PRT			
	<211> 长度 : 14			
	序列名称 : 01B12 FR2	, SEQ ID NO:	112	
	序列描述 :			
	序列			
	<213> 生物体名称 : 人工序列			
	<400> 序列 :			
	WFRQAPGKER EPVA			14
	<212> 类型 : PRT			
	<211> 长度 : 14			
	序列名称 : 01F11 FR2	, SEQ ID NO:	113	
	序列描述 :			
	序列			
	<213> 生物体名称 : 人工序列			
	<400> 序列 :			
	WFRQAPGKER EPVA			14
	<212> 类型 : PRT			

	<211> 长度 : 14 序列名称 : 01B10 FR2 , SEQ ID NO: 114 序列描述 : 序列 <213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : AISPASAVTTY YADSVKG 17 <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 17 序列名称 : 01C12 CDR2 , SEQ ID NO: 115 序列描述 : 序列 <213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : AISPAAALTTY YADSVKG 17 <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 17 序列名称 : 01B12 CDR2 , SEQ ID NO: 116 序列描述 : 序列 <213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : AISPAAALTTY YADSVKG 17 <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 17 序列名称 : 01F11 CDR2 , SEQ ID NO: 117 序列描述 : 序列 <213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : AISPAAVTTY YADSVKG 17 <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 17 序列名称 : 01B10 CDR2 , SEQ ID NO: 118 序列描述 : 序列 <213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : RFTISRDNAL NTAYLQMVSL KPEDTAVYYC AA 32 <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 32 序列名称 : 01C12 FR3 , SEQ ID NO: 119 序列描述 : 序列 <213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : RFTISRDNAL NTAYLQMVSL KPEDTAVYYC AA 32 <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 32 序列名称 : 01B12 FR3 , SEQ ID NO: 120 序列描述 : 序列 <213> 生物体名称 : 人工序列 <400> 序列 : RFTISRDNAL NTAYLQMVSL KPEDTAVYYC AA 32 <212> 类型 : PRT <211> 长度 : 32 序列名称 : 01F11 FR3 , SEQ ID NO: 121 序列描述 : 序列
--	--

[0018]

[0019]	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	RFTISRDNAL NTAYLQMYSL KPEDTAVYYC AA	32
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 32	
	序列名称 : 01B10 FR3	, SEQ ID NO: 122
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	QLPGRGSNLG RQASYAY	17
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 17	
	序列名称 : 01C12 CDR3	, SEQ ID NO: 123
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	QLVGSNSNLG RQASYAY	17
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 17	
	序列名称 : 01B12 CDR3	, SEQ ID NO: 124
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	QLVGSNSNLG RQASYAY	17
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 17	
	序列名称 : 01F11 CDR3	, SEQ ID NO: 125
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	QLVGSNSNLG RQASYAY	17
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 17	
	序列名称 : 01B10 CDR3	, SEQ ID NO: 126
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	WGQGTQVTVS S	11
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 11	
	序列名称 : 01C12 FR4	, SEQ ID NO: 127
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	WGQGTQVTVS S	11
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 11	
	序列名称 : 01B12 FR4	, SEQ ID NO: 128
	序列描述 :	
	序列	
	<213> 生物体名称 : 人工序列	
	<400> 序列 :	
	WGQGTQVTVS S	11
	<212> 类型 : PRT	
	<211> 长度 : 11	
	序列名称 : 01F11 FR4	, SEQ ID NO: 129
	序列描述 :	

[0020]

序列描述：

序列

<213> 生物体名称：人工序列

<400> 序列：

WGQGTQVTVS S

11

<212> 类型：PRT

<211> 长度：11

序列名称：01B10 FR4

, SEQ ID NO: 130

序列描述：

序列

<213> 生物体名称：人工序列

<400> 序列：

EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQAPGKEREFV GASWWGGGAPYYSDSVKGRFTISRDN AKNTYYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLRSFA
SGGSYDYWGQGTILVTYSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQAPGKEREFV GASW
WGGGAPYYSDSVKGRFTISRDN AKNTYYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLRSFASGGSYDYWGQGTILVTYSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS
GFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTILVTYSS

<212> 类型：PRT

<211> 长度：405

序列名称：克隆060

, SEQ ID NO: 131

序列描述：

序列

<213> 生物体名称：人工序列

<400> 序列：

EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQAPGKEREFV GASWWGGGAPYYSDSVKGRFTISRDN AKNTYYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLRSFA
SGGSYDYWGQGTILVTYSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSD
TLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTILVTYSS

<212> 类型：PRT

<211> 长度：268

序列名称：克隆083

, SEQ ID NO: 132

序列描述：

序列

<213> 生物体名称：人工序列

<400> 序列：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIYLINYMGWYRQAPGKQRELVAITL TSGGSTNYAGSVKGRFAISRDN AKNTYYLQMNSLKPEDTAVYYCNI GGTL YDRR
RFESWGQGTILVTYSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGASLRLSCAASGRTF SNYAMGWFRQAPGKERERVAAITPRA
FTTYYADSVKGRFTISRDN AKNTAYLQMVS LKPEDTAVYYCAAQLVGS GSNLGRQESYAYWGQGTILVTYSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG
SEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSR
SSQGTILVTYSS

<212> 类型：PRT

<211> 长度：431

序列名称：克隆085

, SEQ ID NO: 133

序列描述：

序列

<213> 生物体名称：人工序列

<400> 序列：

EVQLVESGGGLVQTGASLRLSCAASGRTFSNYAMGWFRQAPGKERERVAAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDN AKNTAYLQMVS LKPEDTAVYYCAAQLVGS GS
NLGRQESYAYWGQGTILVTYSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGASLRLSCAASGRTF SNYAMGWFRQAPGKERERVA
AITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDN AKNTAYLQMVS LKPEDTAVYYCAAQLVGS GSNLGRQESYAYWGQGTILVTYSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG
GGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTI
GGSLSRSSQGTILVTYSS

<212> 类型：PRT

<211> 长度：437

序列名称：克隆093

, SEQ ID NO: 134

序列描述：

序列

<213> 生物体名称：人工序列

<400> 序列：

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSI FSI AAMGWYRQATGKQRELVAITDGGTTTYYADSVKGRV TISRDRSANTVYLA MN LKPD TAVYYCYA YLRYTSRV
PGDNYWGQGTILVTYSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGASLRLSCAASGRTF SNYAMGWFRQAPGKERERVAAITPRA
AFTTYYADSVKGRFTISRDN AKNTAYLQMVS LKPEDTAVYYCAAQLVGS GSNLGRQESYAYWGQGTILVTYSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCA
ASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTILVTYSS

<212> 类型：PRT

<211> 长度：406

序列名称：克隆021

, SEQ ID NO: 135

[0021]

序列描述：

序列

<213> 生物体名称：人工序列

<400> 序列：

EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQAPGKEREFVGSWWSGGAPYYSDSVKGRFTISRDNAKNTVYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLRSFA
SGGSYDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGSLRLSCAASGRFTFSNYAMGWFRQAPGKERERVAITPRA
FTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGSNLRQESYAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCA
AASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVTVSS

<212> 类型：PRT

<211> 长度：408

序列名称：克隆023，SEQ ID NO：136

序列描述：

序列

<213> 生物体名称：人工序列

<400> 序列：

EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGSIYLYINMGWYRQAPGKQRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNAKNTVYLQMNLSKPEDTAVYYCNIGGTLYDRR
RFESWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGSLRLSCAASGRFTFSNYAMGWFRQAPGKERERVAITPRA
FTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGSNLRQESYAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS
GFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVTVSS

<212> 类型：PRT

<211> 长度：405

序列名称：克隆038，SEQ ID NO：137

序列描述：

序列

<213> 生物体名称：人工序列

<400> 序列：

EVQLVESGGGLVQAGSLRLSCAASGRFTFSNYAMGWFRQAPGKERERVAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGS
NLGRQESYAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGLTFSNYDMGWFRQAPGKEREFV
ASWWSGGAPYYSDSVKGRFTISRDNAKNTVYLQANSLRPEDTAVYYCAAKRLRSFASGGSYDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCA
AASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVTVSS

<212> 类型：PRT

<211> 长度：408

序列名称：克隆049，SEQ ID NO：138

序列描述：

序列

<213> 生物体名称：人工序列

<400> 序列：

EVQLVESGGGLVQAGSLRLSCAASGRFTFSNYAMGWFRQAPGKERERVAITPRAFTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMVSLKPEDTAVYYCAAQLVGS
NLGRQESYAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGSIYLYINMGWYRQAPGKQRELVA
TITSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNAKNTVYLQMNLSKPEDTAVYYCNIGGTLYDRRFEESWGQGLTVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCA
GFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVTVSS

<212> 类型：PRT

<211> 长度：405

序列名称：克隆052，SEQ ID NO：139

序列描述：

序列

<213> 生物体名称：人工序列

<400> 序列：

EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGSIYLYINMGWYRQAPGKQRELVAITLTSGGSTNYAGSVKGRFAISRDNAKNTVYLQMNLSKPEDTAVYYCNIGGTLYDRR
RFESWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGSLRLSCAASGRFTLSAYIMGWFRQAPGKEREFVAGIWSGG
YTHLADSAKGRFSISRDNAKNTVYLQMNLSKPEDTAVYYCAAGLRGRQYSNWGGGLTVTVSSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFG
MSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVTVSS

<212> 类型：PRT

<211> 长度：396

序列名称：克隆086，SEQ ID NO：140

序列描述：

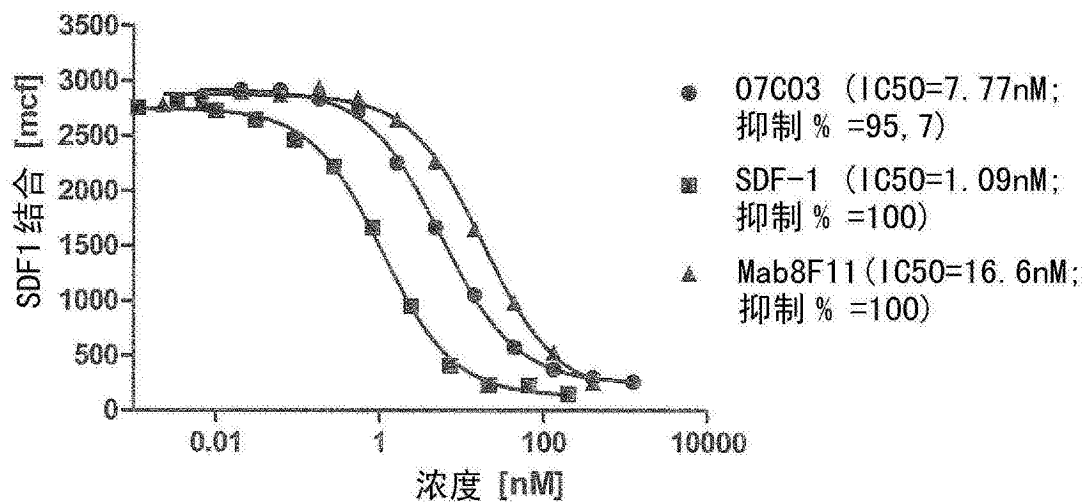


图1

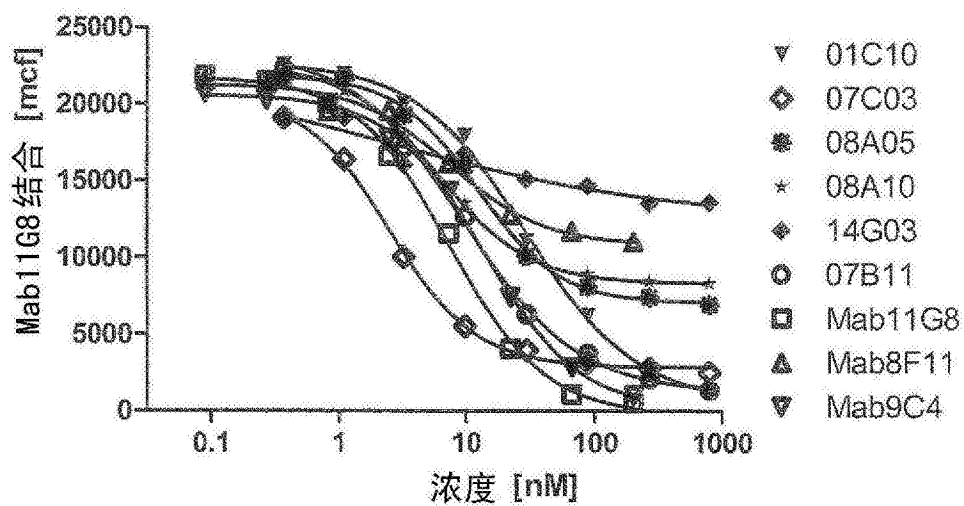


图2

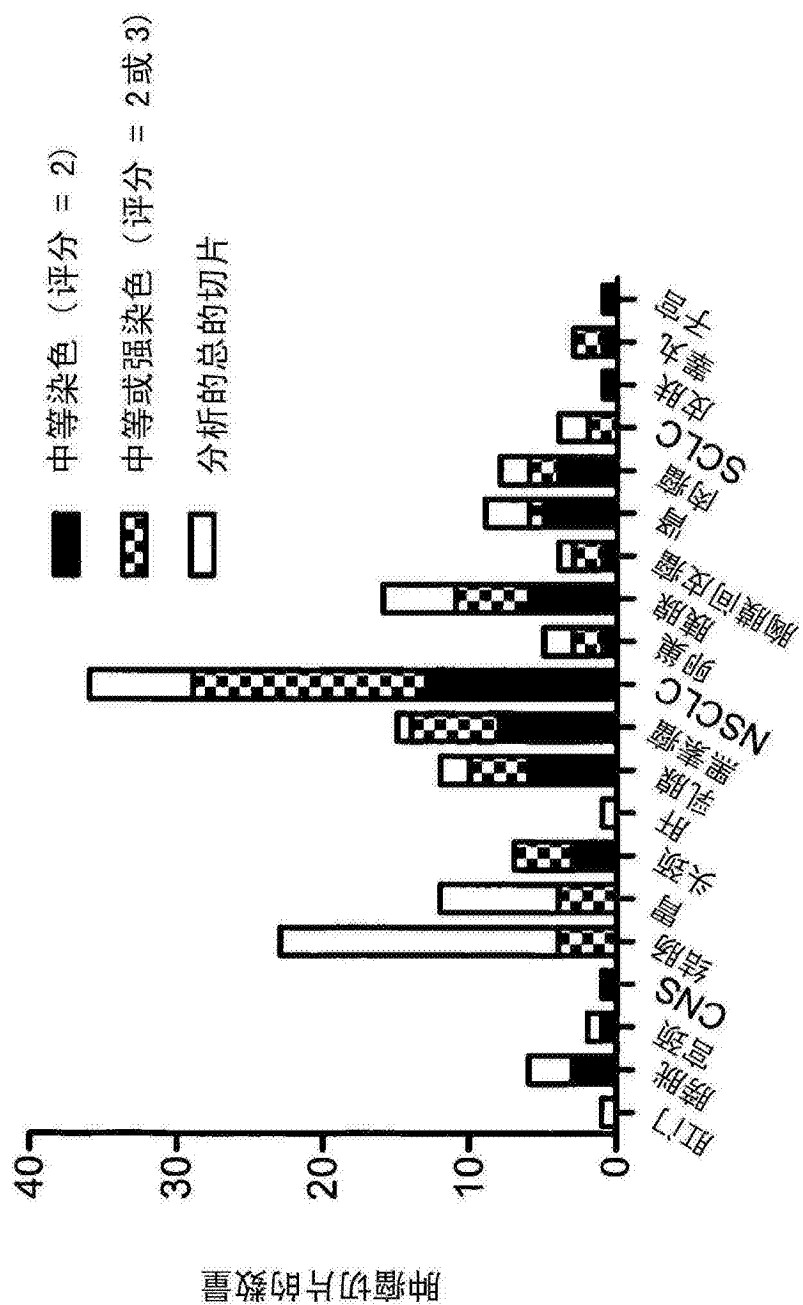


图3

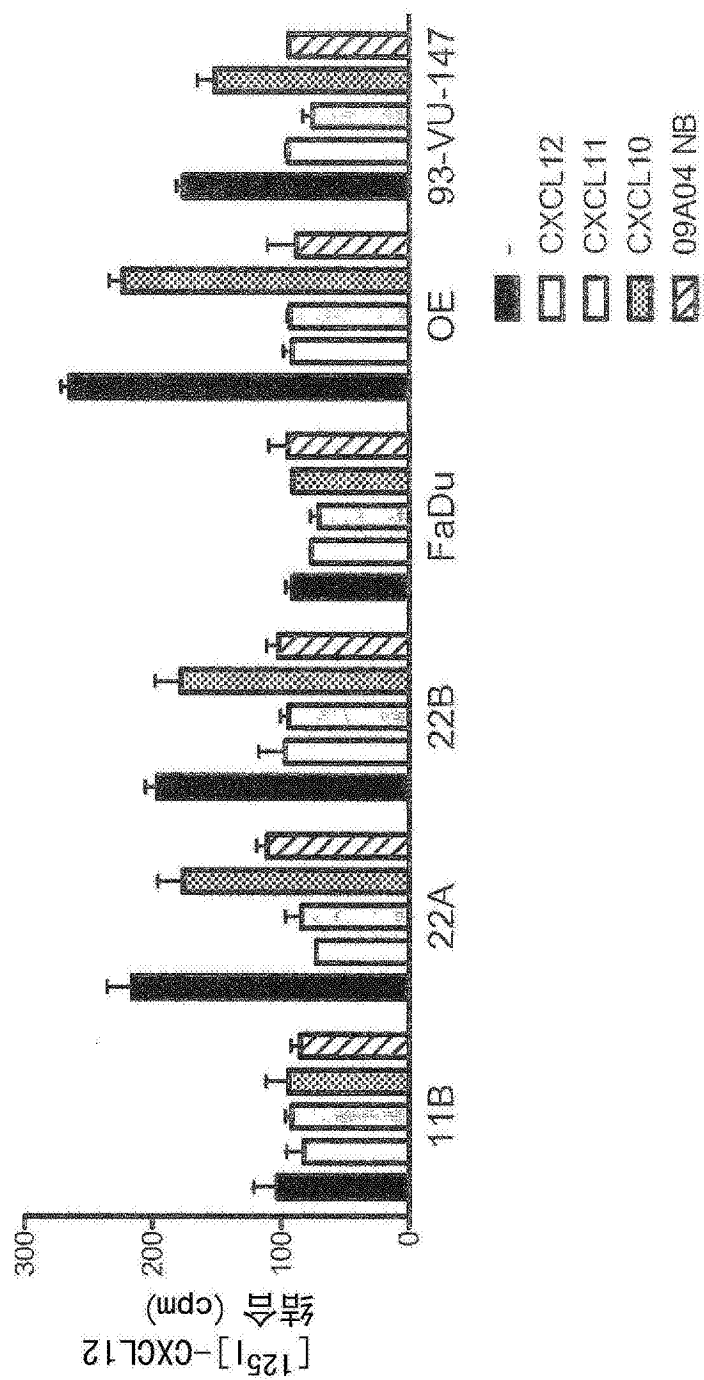


图5

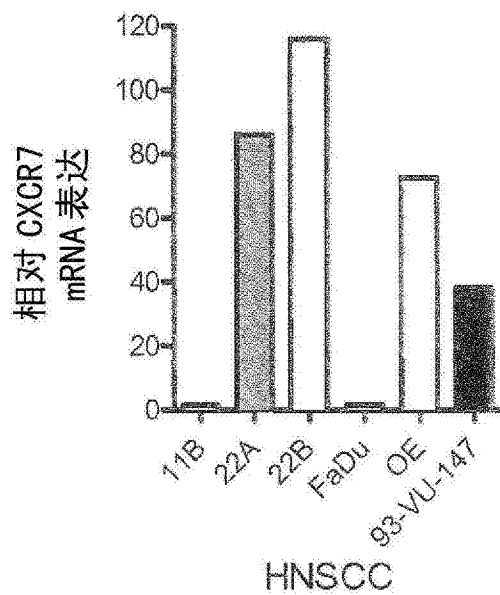


图4

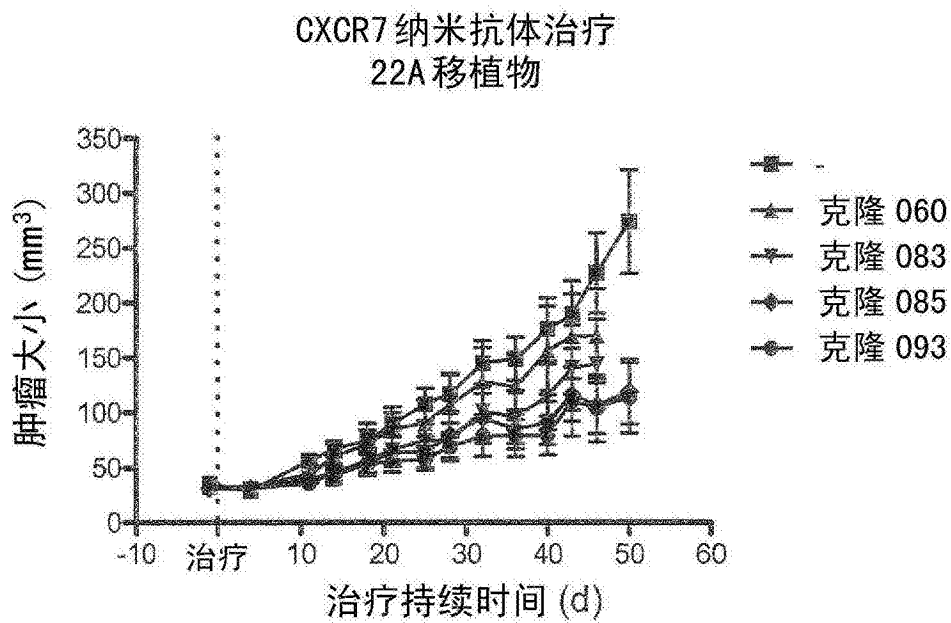
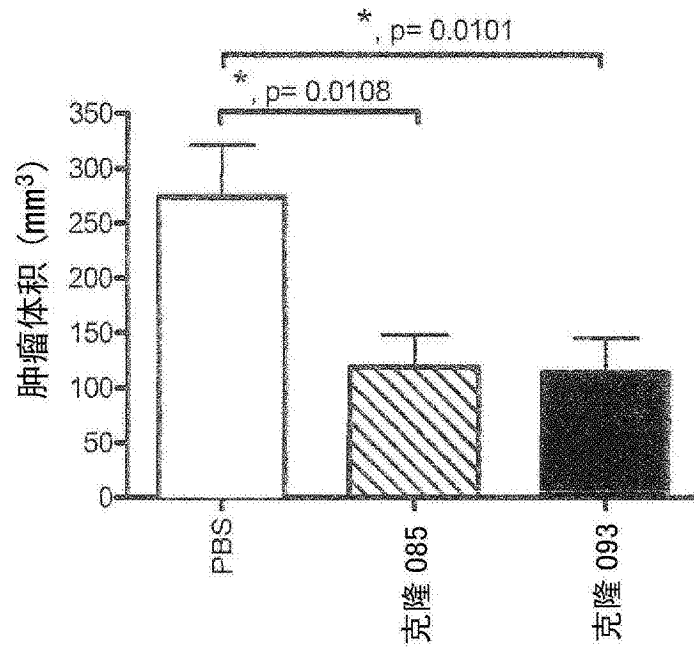


图6



50 d 治疗

图7

在存在 2mg/ml HSA 的条件下对 SDF-1 与
HEK293T hCXCR7 的结合的抑制

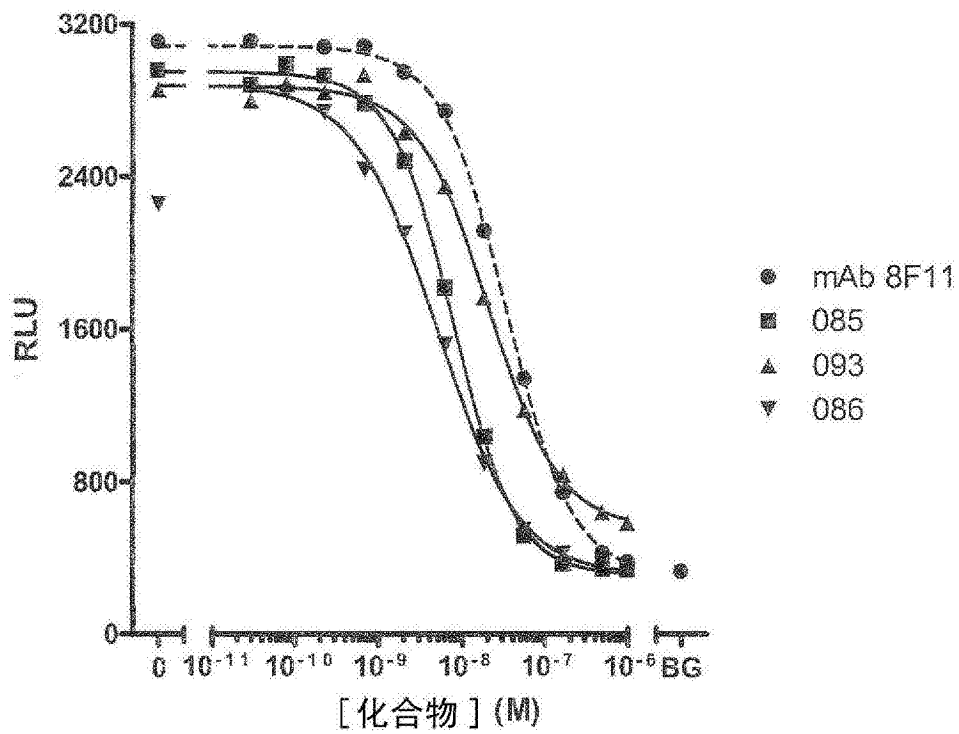


图8