



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119256014 A

(43) 申请公布日 2025. 01. 03

(21) 申请号 202380042580.8	(74) 专利代理机构 北京品源专利代理有限公司 11332 专利代理师 刘明海 胡彬
(22) 申请日 2023.03.24	
(30) 优先权数据 63/323,257 2022.03.24 US 63/405,237 2022.09.09 US 63/407,979 2022.09.19 US	(51) Int.Cl. C07K 16/30 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2024.11.25	
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/US2023/064941 2023.03.24	
(87) PCT国际申请的公布数据 W02023/183927 EN 2023.09.28	
(71) 申请人 铜医药有限责任公司 地址 美国	权利要求书7页 说明书14页 序列表(电子公布) 附图10页
(72) 发明人 赵乐群 海伦·科塔尼德斯	
(54) 发明名称 人源化抗CD45抗体	
(57) 摘要 提供了人源化抗人CD45抗体和包括该抗体的药物组合物。	

1. 一种抗huCD45抗体或huCD45结合抗体片段, 包含:
 - (i) 包含SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:2的免疫球蛋白重链可变区; 和
 - (ii) 包含SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:28的免疫球蛋白轻链可变区,前提是当所述重链可变区包含SEQ ID NO:2时, 所述轻链可变区不是SEQ ID NO:28。
2. 根据权利要求1所述的抗huCD45抗体或huCD45结合抗体片段, 包含:
 - (i) 包含SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:6的免疫球蛋白重链序列; 和
 - (ii) 包含SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:42或SEQ ID NO:32的免疫球蛋白轻链序列。
3. 一种抗huCD45抗体或huCD45结合抗体片段, 包含:
 - (a) 包含选自下列组的重链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的一组免疫球蛋白重链互补决定区(CDR):
 - (i) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:55,
 - (ii) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:55, 和
 - (iii) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:55; 和
 - (b) 包含选自下列组的轻链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的一组免疫球蛋白轻链互补决定区(CDR):
 - (i) 分别为SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:63和SEQ ID NO:61, 和
 - (ii) 分别为SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:64和SEQ ID NO:61, 和
 - (iii) 分别为SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:60和SEQ ID NO:61。
4. 一种药物组合物, 包含前述权利要求中任一项所述的抗体或抗体片段以及至少一种药学上可接受的赋形剂。
5. 一种放射性药物组合物, 包含:
根据权利要求1-3中任一项所述的抗体或抗体片段;
与所述抗体或抗体片段连接的放射性核素, 和
至少一种药学上可接受的赋形剂。
6. 根据权利要求5所述的放射性药物组合物, 其中所述放射性核素是 α 粒子发射器或 β 粒子发射器。
7. 根据权利要求5所述的放射性药物组合物, 其中所述放射性核素包含 ^{131}I 。
8. 根据权利要求5所述的放射性药物组合物, 其中所述放射性核素包含 ^{225}Ac 、 ^{177}Lu 或 ^{90}Y 。
9. 一种组合物, 包含与螯合剂化学缀合的根据权利要求1-3中任一项所述的抗体或抗体片段。
10. 根据权利要求9所述的组合物, 其中所述螯合剂包含DOTA或DOTA衍生物。
11. 根据权利要求9或10所述的组合物, 进一步包含被所述螯合剂螯合的放射性核素。
12. 一种蛋白质, 如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab片段、Fab₂片段或scFv分子)或免疫球蛋白轻链, 包含抗体轻链可变区, 所述抗体轻链可变区包含以下轻链CDR:

包含氨基酸序列RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59)、KSSKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:62)、RASKSVSTSGYSYLA (SEQ ID NO:65)、RASKSVSTSGYSYLS (SEQ ID NO:66) 或 RASKSVSTSGYSYLN (SEQ ID NO:67) 的CDR-L1;

包含氨基酸序列LASNLES (SEQ ID NO:60)、LASNLA (SEQ ID NO:68)、LASNLAT (SEQ ID NO:63)、LASNLQ (SEQ ID NO:69)、LASNLQS (SEQ ID NO:64)、LASTRES (SEQ ID NO:70)、LASTRAT (SEQ ID NO:71)、LASNRAT (SEQ ID NO:72) 或 LASSQLS (SEQ ID NO:73) 的CDR-L2;

包含氨基酸序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61) 的CDR-L3,

前提是排除包含氨基酸序列RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59) 的CDR-L1和包含氨基酸序列LASNLES (SEQ ID NO:60) 的CDR-L2的组合。

13. 根据权利要求12所述的蛋白质, 其中所述蛋白质中CDR-L3序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61) 之后的下一个氨基酸残基是FGQ。

14. 一种蛋白质, 如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段 (如Fab片段、Fab₂片段或scFv分子) 或免疫球蛋白重链, 包含抗体重链可变区, 所述抗体重链可变区包含以下轻链CDR:

包含氨基酸序列GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53) 或GFDFSRYWMN (SEQ ID NO:85) 的CDR-H1;

包含氨基酸序列EINPTSSTINFTPSLKD (SEQ ID NO:54)、EINPTSSTINFADSVKG (SEQ ID NO:56)、EINPTSSTINYADSVKG (SEQ ID NO:57)、EINPTSSTINFVDSVKG (SEQ ID NO:58)、YINPTSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:74)、AINPTSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:75)、NINPTSSTIYYVDSVKG (SEQ ID NO:76) 或 SINPTSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:77) 的CDR-H2;

包含氨基酸序列GNYYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55) 的CDR-H3,

前提是排除包含氨基酸序列GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53) 的CDR-H1和包含氨基酸序列EINPTSSTINFTPSLKD (SEQ ID NO:54) 的CDR-H2的组合。

15. 一种蛋白质, 如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段 (如Fab片段、Fab₂片段或scFv分子), 包含:

(a) 包含下列轻链CDR的抗体轻链可变区:

包含氨基酸序列RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59)、KSSKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:62)、RASKSVSTSGYSYLA (SEQ ID NO:65)、RASKSVSTSGYSYLS (SEQ ID NO:66) 或 RASKSVSTSGYSYLN (SEQ ID NO:67) 的CDR-L1;

包含氨基酸序列LASNLES (SEQ ID NO:60)、LASNLA (SEQ ID NO:68)、LASNLAT (SEQ ID NO:63)、LASNLQ (SEQ ID NO:69)、LASNLQS (SEQ ID NO:64)、LASTRES (SEQ ID NO:70)、LASTRAT (SEQ ID NO:71)、LASNRAT (SEQ ID NO:72) 或 LASSQLS (SEQ ID NO:73) 的CDR-L2; 和

包含氨基酸序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61) 的CDR-L3; 和

(b) 包含下列重链CDR的抗体重链可变区:

包含氨基酸序列GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53) 或GFDFSRYWMN (SEQ ID NO:85) 的CDR-H1;

包含氨基酸序列EINPTSSTINFTPSLKD (SEQ ID NO:54)、EINPTSSTINFADSVKG (SEQ ID NO:56)、EINPTSSTINYADSVKG (SEQ ID NO:57)、EINPTSSTINFVDSVKG (SEQ ID NO:58)、YINPTSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:74)、AINPTSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:75)、NINPTSSTIYYVDSVKG (SEQ ID NO:76) 或 SINPTSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:77) 的CDR-H2; 和

包含氨基酸序列GNYYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55) 的CDR-H3,

前提是排除包含氨基酸序列RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59) 的CDR-L1、包含氨基酸

序列LASNLES (SEQ ID NO:60)的CDR-L2、包含氨基酸序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)的CDR-L3、包含氨基酸序列GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53)的CDR-H1、包含氨基酸序列EINPTSSTINFTPSLKD (SEQ ID NO:54)的CDR-H2和包含氨基酸序列GNYYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55)的CDR-H3的组合。

16.根据权利要求15所述的蛋白质,其中所述蛋白质中CDR-L3序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)之后的下一个氨基酸残基是FGQ。

17.一种蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab片段、Fab₂片段或scFv分子)或免疫球蛋白轻链,包含抗体轻链可变区,所述抗体轻链可变区包含以下轻链CDR:

包含氨基酸序列RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59)或KSSKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:62)的CDR-L1;

包含氨基酸序列LASNLA (SEQ ID NO:68)、LASNLAT (SEQ ID NO:63)、LASNLQ (SEQ ID NO:69)或LASNLQS (SEQ ID NO:64)的CDR-L2;

包含氨基酸序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)的CDR-L3。

18.根据权利要求17所述的蛋白质,其中所述蛋白质中CDR-L3序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)之后的下一个氨基酸残基是FGQ。

19.一种蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab片段、Fab₂片段或scFv分子)或免疫球蛋白重链,包含抗体重链可变区,所述抗体重链可变区包含以下重链CDR:

包含氨基酸序列GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53)的CDR-H1;

包含氨基酸序列EINPTSSTINFADSVKG (SEQ ID NO:56)、EINPTSSTINYADSVKG (SEQ ID NO:57)或EINPTSSTINFVDSVKG (SEQ ID NO:58)的CDR-H2;和

包含氨基酸序列GNYYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55)的CDR-H3。

20.一种蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab片段、Fab₂片段或scFv分子),包含:

(a)包含下列轻链CDR的抗体轻链可变区:

包含氨基酸序列RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59)或KSSKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:62)的CDR-L1;

包含氨基酸序列LASNLES (SEQ ID NO:60)、LASNLA (SEQ ID NO:68)、LASNLAT (SEQ ID NO:63)、LASNLQ (SEQ ID NO:69)、LASNLQS (SEQ ID NO:64)的CDR-L2;和

包含氨基酸序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)的CDR-L3;和

(b)包含下列重链CDR的抗体重链可变区:

包含氨基酸序列GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53)的CDR-H1;

包含氨基酸序列EINPTSSTINFTPSLKD (SEQ ID NO:54)、EINPTSSTINFADSVKG (SEQ ID NO:56)、EINPTSSTINYADSVKG (SEQ ID NO:57)或EINPTSSTINFVDSVKG (SEQ ID NO:58)的CDR-H2;和

包含氨基酸序列GNYYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55)的CDR-H3,

前提是排除包含氨基酸序列RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59)的CDR-L1、包含氨基酸序列LASNLES (SEQ ID NO:60)的CDR-L2、包含氨基酸序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)的CDR-L3、包含氨基酸序列GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53)的CDR-H1、包含氨基酸序列EINPTSSTINFTPSLKD (SEQ ID NO:54)的CDR-H2和包含氨基酸序列GNYYRYGDAMDY (SEQ ID

NO:55)的CDR-H3的组合。

21.根据权利要求20所述的蛋白质,其中所述蛋白质中CDR-L3序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)之后的下一个氨基酸残基是FGQ。

22.根据权利要求20或21所述的蛋白质,其中所述CDR-H2包含氨基酸序列EINPTSSTINFADSVKG (SEQ ID NO:56)、EINPTSSTINYADSVKG (SEQ ID NO:57)或EINPTSSTINFVDSVKG (SEQ ID NO:58)。

23.一种免疫球蛋白重链可变区或蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段,如Fab、Fab₂或scFv分子,其包含免疫球蛋白重链可变区序列,所述免疫球蛋白重链可变区序列包含以任何组合的,相对于本文公开的亲本免疫球蛋白重链可变区,本文公开的任何非亲本免疫球蛋白重链可变区中公开的一个或多个氨基酸取代,但其他方面包含与所述亲本免疫球蛋白重链可变区序列相同的氨基酸序列。

24.一种免疫球蛋白轻链可变区或蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段,如Fab、Fab₂或scFv分子,其包含免疫球蛋白轻链可变区,所述免疫球蛋白轻链可变区包含以任何组合的,相对于本文公开的亲本免疫球蛋白轻链可变区,本文公开的任何非亲本免疫球蛋白轻链可变区中公开的一个或多个氨基酸取代,但其他方面包含与所述亲本免疫球蛋白轻链可变区序列相同的氨基酸序列。

25.一种蛋白质,如CD45抗体或CD45结合抗体片段,如Fab、Fab₂或scFv分子,包含:

(i) 免疫球蛋白重链可变区,包含以任何组合的,相对于本文公开的亲本免疫球蛋白重链可变区,本文公开的任何非亲本免疫球蛋白重链可变区中公开的一个或多个氨基酸取代,但其他方面包含与所述亲本免疫球蛋白重链可变区序列相同的氨基酸序列;和

(ii) 免疫球蛋白轻链可变区,包含以任何组合的,相对于本文公开的亲本免疫球蛋白轻链可变区,本文公开的任何非亲本免疫球蛋白轻链可变区中公开的一个或多个氨基酸取代,但其他方面包含与所述亲本免疫球蛋白轻链可变区序列相同的氨基酸序列。

26.一种蛋白质,如CD45抗体或CD45结合抗体片段,如Fab、Fab₂或scFv分子,包含:

(i) 本文公开的亲本免疫球蛋白重链可变区,或

免疫球蛋白重链可变区,包含以任何组合的,相对于本文公开的亲本免疫球蛋白重链可变区,本文公开的任何非亲本免疫球蛋白重链可变区中公开的一个或多个氨基酸取代,但其他方面包含与所述亲本免疫球蛋白重链可变区序列相同的氨基酸序列;和

(ii) 本文公开的亲本免疫球蛋白轻链可变区,或

免疫球蛋白轻链可变区,包含以任何组合的,相对于本文公开的亲本免疫球蛋白轻链可变区,本文公开的任何非亲本免疫球蛋白轻链可变区中公开的一个或多个氨基酸取代,但其他方面包含与所述亲本免疫球蛋白重链可变区序列相同的氨基酸序列,

前提是所述蛋白质不同时包含本文公开的亲本免疫球蛋白重链可变区和本文公开的亲本免疫球蛋白轻链可变区两者。

27.一种免疫球蛋白重链可变区或蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段,如Fab、Fab₂或scFv分子,其包含免疫球蛋白重链可变区序列,所述免疫球蛋白重链可变区序列包含以下氨基酸序列:

EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFDFSRWYMX₁WVRQAPGKGLEWX₂X₃X₄INPTSSTIX₅X₆X₇X₈SLKX₉X₁₀X₁₁X₁₂ISRDNX₁₃KNX₁₄LYLQMSX₁₅X₁₆RX₁₇EDTAX₁₈YYCARGNYRYGDAMDYWGQGT₁₉VTVSS (SEQ ID

NO:78)

其中

X₁是S或N,

X₂是I或V,

X₃是G、S或A,

X₄是E、Y、A、N或S,

X₅是N或Y,

X₆是F或Y,

X₇是T、A或V,

X₈是P或D,

X₉是D或G,

X₁₀是K或R,

X₁₁是V或F,

X₁₂是F或T,

X₁₃是A或S,

X₁₄是T或S,

X₁₅是K或S,

X₁₆是V或L,

X₁₇是S或A

X₁₈是L或V,和

X₁₉是S或M,

前提是所述氨基酸序列不包含序列EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSRYWMSWVRQAPG
KGLEWIGEINPTSSTINFTPSLKD~~KVFISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCARGNYYRYGDAMDYWGQ~~TSVT
VSS (SEQ ID NO:2)。

28. 一种免疫球蛋白轻链可变区或蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段,如Fab、
Fab₂或scFv分子,其包含免疫球蛋白轻链可变区序列,所述免疫球蛋白轻链可变区序列包
含以下氨基酸序列:

DIX_{L1}X_{L2}TQSPX_{L3}X_{L4}LX_{L5}X_{L6}SX_{L7}GX_{L8}RX_{L9}TX_{L10}X_{L11}~~CX_{L12}X_{L13}~~SKSVSTSGYSYLX_{L14}WYQQKPGQX_{L15}
PX_{L16}LLIYLASX_{L17}X_{L18}X_{L19}X_{L20}GX_{L21}PX_{L22}RFSGSGSGTDFTLX_{L23}IX_{L24}X_{L25}X_{L26}X_{L27}X_{L28}EDX_{L29}AX_{L30}YYCQ_{L31}
HSRELPTFGX_{L31}GTKLEIK (SEQ ID NO:79)

其中

X_{L1}是D或E,

X_{L2}是A或V或Q,

X_{L3}是L或M,

X_{L4}是A或D或S,

X_{L5}是S或T,

X_{L6}是A或S,

X_{L7}是V或L或A,

X_{L8}是L或P或V,

X_{L9}是Q或E或D,
X_{L10}是A或V,
X_{L11}是I或L,
X_{L12}是S或N或T,
X_{L13}是A或S,
X_{L14}是H、A、S或N,
X_{L15}是P或A,
X_{L16}是K或R,
X_{L17}是N或T或S,
X_{L18}是L或R,
X_{L19}是E或A或Q,
X_{L20}是S或T,
X_{L21}是V或I,
X_{L22}是A或D或S,
X_{L23}是N或T,
X_{L24}是H或S,
X_{L25}是P或S,
X_{L26}是V或L,
X_{L27}是E或Q,
X_{L28}是E或A或P,
X_{L29}是A或V或F,
X_{L30}是T或V,
X_{L31}是S或Q,和
X_{L32}是R或K

前提是所述氨基酸序列不包含序列

DIALTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYLHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSG
TDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:28)。

29. 一种蛋白质, 如CD45抗体或CD45结合抗体片段, 如Fab、Fab₂或scFv分子, 包含:

(i) 包含本文公开的M.H.C.V.R.序列或亲本重链可变区氨基酸序列的重链可变区;和

(ii) 包含本文公开的M.L.C.V.R.序列或亲本轻链可变区氨基酸序列的轻链可变区,

前提是所述蛋白质不同时包含本文公开的亲本重链可变区氨基酸序列和本文公开的亲本轻链可变区氨基酸序列两者。

30. 根据权利要求29所述的蛋白质, 包含:

(i) 包含M.H.C.V.R.序列的重链可变区;和

(ii) 包含M.L.C.V.R.序列的轻链可变区。

31. 一种蛋白质, 如CD45结合scFv分子或包括至少一个scFv区段的蛋白质, 其包括连续的(氨基到羧基末端顺序)氨基酸序列, 所述氨基酸序列包括本文公开的重链可变区的氨基酸1-120(直至并包括序列VTVS或相应的氨基酸位置的氨基酸)或氨基酸1-121, 其后是接头氨基酸序列, 随后是本文公开的轻链可变区的氨基酸序列, 前提是所述蛋白质不同时包括

本文公开的亲本重链可变区序列的氨基酸1-120和本文公开的亲本轻链可变区序列两者。

32. 根据权利要求31所述的蛋白质,其中所述蛋白质包括本文公开的重链可变区的氨基酸1-120(直至并包括序列VTVS或相应的氨基酸位置的氨基酸),并且不包括本文公开的重链可变区的氨基酸1-121。

33. 根据权利要求31或32所述的蛋白质,其中所述蛋白质不包括本文公开的亲本重链可变区序列的氨基酸1-120和本文公开的亲本轻链可变区序列中的任何一个。

34. 根据权利要求31-33中任一项所述的蛋白质,其中所述接头氨基酸序列包括:

KISGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSS (SEQ ID NO:80);

SPNSASHSGSAPQTSSAPGSQ (SEQ ID NO:81);

(G3S)_n,其中n是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10;或

(G4S)_n,其中n是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。

35. 一种药物组合物,包含根据权利要求12-34中任一项所述的蛋白质。

36. 根据权利要求35所述的药物组合物,进一步包含至少一种药学上可接受的赋形剂。

37. 根据权利要求35或36所述的药物组合物,其中所述组合物中的蛋白质的至少一部分被放射性标记或与细胞毒性药物缀合。

38. 根据权利要求35-37中任一项所述的药物组合物,其用于治疗哺乳动物受试者中的血液癌症或实体瘤癌症。

39. 根据权利要求4-8和35-38中任一项所述的组合物,其用于在哺乳动物受试者的骨髓移植(BMT)、造血干细胞移植(HSCT)的准备中或在遗传修饰细胞疗法如CAR-T细胞疗法的施用中用作调理剂。

40. 根据权利要求38或39所述的药物组合物,其中所述哺乳动物受试者为人类患者。

人源化抗CD45抗体

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2022年9月19日提交的美国临时申请序列号63/407,979、2022年9月9日提交的美国临时申请序列号63/405,237和2022年3月24日提交的美国临时申请序列号63/323,257的优先权,每个申请都在此通过引用整体并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含以XML格式电子提交的序列表,并且在此通过引用整体并入本文。所述XML副本创建于2023年3月20日,命名为ATNM-016PCT_SL_ST26.xml,大小为853,669字节。

技术领域

[0005] 本发明涉及基于抗体的治疗药物领域。

背景技术

[0006] CD45抗原是蛋白质酪氨酸磷酸酶 (PTP) 家族的成员,并且是180-240kD的跨膜糖蛋白。它也被称为白细胞共同抗原 (LCA)、T200或Ly-5。CD45在T细胞和B细胞受体信号转导中起关键作用。由于其外显子的可变剪接,CD45存在不同的同工型。这些同工型对于细胞的活化和成熟状态以及细胞类型具有强特异性。各种同工型具有相同的跨膜和胞质区段,但具有不同的细胞外结构域,并且在B细胞和T细胞淋巴细胞亚群上差异表达。针对CD45描述的主要配体包括galectin-1、CD1、CD2、CD3、CD4、TCR、CD22和Thy-1。

[0007] 已经鉴定出特异性受到CD45的一种或另一种同工型限制的单克隆抗体 (mAb),以及识别所有CD45同工型共有的表位的mAb。命名为CD45RA的mAb识别外显子-A的产物。命名为CD45RB的mAb识别外显子-B的产物。命名为CD45RO的mAb (以UCHL1为例) 选择性结合180kD的同工型 (不含任何可变外显子A、B或C),该同工型仅限于皮质胸腺细胞、活化T细胞和记忆细胞的亚群,并且在B细胞上不存在。BC8,也称为艾妥单抗 (apamistamab),是一种可以识别人CD45的所有同工型的鼠IgG1单克隆抗体。

[0008] 除成熟红细胞和血小板外,造血来源的细胞通常表达CD45。CD45的高表达见于大多数急性淋巴性和髓性白血病。由于在非造血来源的组织上未发现CD45,因此其在白血病中的特异性表达使其成为开发治疗药物 (包括放射免疫治疗药物) 的良好靶点。例如,CD45在循环白细胞和恶性B细胞上以每个细胞约200,000至300,000个位点的密度表达。

[0009] 所需要的以及本发明的各个方面所提供的是新型抗人CD45的人源化抗体。

发明内容

[0010] 本发明的一个方面提供了一种抗huCD45抗体,包含:

[0011] (i) 重链,其是mCD45-HC亲本、huCD45.HC1、huCD45.HC2、huCD45.HC3、huCD45.HC4或huCD45.HC4,或任何没有信号序列的所述重链,或包含任何所述重链的重链可变区的重链;和

[0012] (ii) 轻链,其是mCD45-LC亲本、huCD45.LC1、huCD45.LC2、huCD45.LC3或

huCD45.LC4,或任何没有信号序列的所述轻链,或包含任何所述轻链的轻链可变区的轻链,
[0013] 前提是当所述重链是有或没有信号序列的mCD45-HC亲本时,所述轻链不是有或没有信号序列的mCD45-LC亲本,

[0014] 或抗体的人CD45结合片段,如Fab片段或Fab₂片段或相应的scFv分子。

[0015] 本发明的相关方面提供了一种抗huCD45抗体或人CD45结合抗体片段,包括:

[0016] (i) 包括SEQ ID NO:2(来自mCD45-HC亲本)、SEQ ID NO:7(来自huCD45.HC1)、SEQ ID NO:12(来自huCD45.HC2)、SEQ ID NO:17(来自huCD45.HC3)或SEQ ID NO:22(来自huCD45.HC4)的免疫球蛋白重链可变区;和

[0017] (ii) 包括SEQ ID NO:28(来自mCD45-LC亲本)、SEQ ID NO:33(来自huCD45.LC1)、SEQ ID NO:38(来自huCD45.LC2)、SEQ ID NO:43(来自huCD45.LC3)或SEQ ID NO:48(来自huCD45.LC4)的免疫球蛋白轻链可变区,

[0018] 前提是当所述重链可变区包括SEQ ID NO:2时,所述轻链可变区不是SEQ ID NO:28。

[0019] 在本发明前述方面的变体中,所述抗huCD45抗体或人CD45结合抗体片段包括:

[0020] (i) 免疫球蛋白重链序列,包括SEQ ID NO:6(来自mCD45-HC亲本)、SEQ ID NO:11(来自huCD45.HC1)、SEQ ID NO:16(来自huCD45.HC2)、SEQ ID NO:21(来自huCD45.HC3)或SEQ ID NO:26(来自huCD45.HC4);和

[0021] (ii) 免疫球蛋白轻链序列,包括SEQ ID NO:32(来自mCD45-LC亲本)、SEQ ID NO:37(来自huCD45.LC1)、SEQ ID NO:42(来自huCD45.LC2)、SEQ ID NO:47(来自huCD45.LC3)或SEQ ID NO:52(来自huCD45.LC4)。

[0022] 本发明的另一方面提供了一种抗huCD45抗体或huCD45结合抗体片段,包括:

[0023] (a) 包括选自下列组的重链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的一组免疫球蛋白重链互补决定区(CDR):

[0024] (i) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:55,

[0025] (ii) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:55,

[0026] (iii) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:55,和

[0027] (iv) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54和SEQ ID NO:55;和

[0028] (b) 包括选自下列组的轻链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的一组免疫球蛋白轻链互补决定区(CDR):

[0029] (i) 分别为SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:60和SEQ ID NO:61,

[0030] (ii) 分别为SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:63和SEQ ID NO:61,

[0031] (iii) 分别为SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:64和SEQ ID NO:61,和

[0032] (iv) SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60和SEQ ID NO:61,

[0033] 前提是当所述重链CDR组是(a) (iv)时,所述轻链CDR组不是(b) (iv)。

[0034] 本发明的相关方面提供了一种抗huCD45抗体或huCD45结合抗体片段,包括:

[0035] (a) 包括选自下列组的重链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的一组免疫球蛋白重链互补决定区(CDR):

[0036] (i) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:55,

[0037] (ii) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:55,和

- [0038] (iii)分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:55;和
- [0039] (b)包括选自下列组的轻链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的一组免疫球蛋白轻链互补决定区(CDR):
- [0040] (i)分别为SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:60和SEQ ID NO:61,
- [0041] (ii)分别为SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:63和SEQ ID NO:61,和
- [0042] (iii)分别为SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:64和SEQ ID NO:61。
- [0043] 考虑到下文的详细描述、附图和权利要求,可以阐述本发明的附加特征、优点和方面,或使其变得显而易见。此外,应当理解,本发明的前述概述和下文的详细描述都是示例性的,并且旨在提供进一步的解释,而不限所要求保护的发明的范围。

附图说明

- [0044] 各种抗体重链和轻链的氨基酸序列如图1-10所示。
- [0045] 图1显示了小鼠抗huCD45抗体(“m CD45-HC亲本”)重链的氨基酸序列,该抗体结合人CD45(huCD45)的所有同工型及其部分,被用作产生人源化抗huCD45抗体的基础。
- [0046] 图2显示了人源化抗huCD45抗体重链(“hu CD45.HC1”)的氨基酸序列及其部分。
- [0047] 图3显示了人源化抗huCD45抗体重链(“hu CD45.HC2”)的氨基酸序列及其部分。
- [0048] 图4显示了人源化抗huCD45抗体重链(“hu CD45.HC3”)的氨基酸序列及其部分。
- [0049] 图5显示了人源化抗huCD45抗体重链(“hu CD45.HC4”)的氨基酸序列及其部分。
- [0050] 图6显示了小鼠抗huCD45抗体(“m CD45-LC亲本”)轻链的氨基酸序列及其部分,被用作产生人源化抗huCD45抗体的基础。
- [0051] 图7显示了人源化抗huCD45抗体轻链(“hu CD45.LC1”)的氨基酸序列及其部分。
- [0052] 图8显示了人源化抗huCD45抗体轻链(“hu CD45.LC2”)的氨基酸序列及其部分。
- [0053] 图9显示了人源化抗huCD45抗体轻链(“hu CD45.LC3”)的氨基酸序列及其部分。
- [0054] 图10显示了人源化抗huCD45抗体轻链(“hu CD45.LC4”)的氨基酸序列及其部分。
- [0055] 在图中可变区序列的展示中,互补决定区(CDR)氨基酸序列用下划线标出。

具体实施方式

- [0056] 本发明的一个方面提供了一种抗(人CD45)[“抗huCD45”]抗体,包含:
- [0057] (i)重链,其是mCD45-HC亲本、huCD45.HC1、huCD45.HC2、huCD45.HC3、huCD45.HC4,或任何没有信号序列的所述重链,或包含任何所述重链的重链可变区的重链;和
- [0058] (ii)轻链,其是mCD45-LC亲本、huCD45.LC1、huCD45.LC2、huCD45.LC3或huCD45.LC4,或任何没有信号序列的所述轻链,或包含任何所述轻链的轻链可变区的轻链,
- [0059] 前提是当所述重链是有或没有信号序列的mCD45-HC亲本时,所述轻链不是有或没有信号序列的mCD45-LC亲本,
- [0060] 或抗体的人CD45结合片段,如Fab片段或Fab₂片段或相应的scFv分子。
- [0061] 亲本鼠单克隆抗体包括图1所示的亲本重链和图6所示的亲本轻链,该抗体结合人CD45的所有同工型,被用作设计人源化抗huCD45抗体的基础。由人源化的免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链的各种组合组成的抗体在CHO细胞中表达,并分离用于分析和与亲本抗

体的比较。使用Octet HTX (Sartorius, Bohemia, New York, USA) 在25°C进行结合实验,以确定抗体的KD。抗体被装载到抗人Fc捕获 (AHC) 传感器上。将装载的传感器浸入rhCD45 His标签的系列稀释液 (900nM起始, 1:3稀释, 3个点; R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) 中。参考样品孔 (缓冲液) 用于数据分析。使用单价 (1:1) 结合模型计算动力学常数。结果如下表1所示。

[0062] 表1

样品 ID	KD (M)
m CD45 亲本	3.75E-08
hu CD45 HC2+LC1	2.44E-07
hu CD45 HC2+LC3	1.96E-07
hu CD45 HC2+LC4	2.47E-07
hu CD45 HC3+LC1	1.63E-07
hu CD45 HC3+LC3	5.02E-08
hu CD45 HC3+LC4	1.09E-07
hu CD45 HC4+LC1	2.32E-07
hu CD45 HC4+LC3	1.51E-07
hu CD45 HC4+LC4	1.23E-07

[0065] hu CD45 HC3+LC3保留了与亲本抗体相似的结合亲和力,而所有其他人源化样品显示出相对于亲本抗体小于10倍的KD值变化。

[0066] 本发明的另一方面提供了一种抗huCD45抗体或人CD45结合抗体片段,包括:

[0067] (i) 包括SEQ ID NO:2 (来自mCD45-HC亲本)、SEQ ID NO:7 (来自huCD45.HC1)、SEQ ID NO:12 (来自huCD45.HC2)、SEQ ID NO:17 (来自huCD45.HC3) 或SEQ ID NO:22 (来自huCD45.HC4) 的免疫球蛋白重链可变区;和

[0068] (ii) 包括SEQ ID NO:28 (来自mCD45-LC亲本)、SEQ ID NO:33 (来自huCD45.LC1)、SEQ ID NO:38 (来自huCD45.LC2)、SEQ ID NO:43 (来自huCD45.LC3) 或SEQ ID NO:48 (来自huCD45.LC4) 的免疫球蛋白轻链可变区,

[0069] 前提是当所述重链可变区包括SEQ ID NO:2时,所述轻链可变区不是SEQ ID NO:28。

[0070] 在本发明前述方面的变体中,所述抗huCD45抗体或人CD45结合抗体片段包括:

[0071] (i) 包括SEQ ID NO:6 (来自mCD45-HC亲本)、SEQ ID NO:11 (来自huCD45.HC1)、SEQ ID NO:16 (来自huCD45.HC2)、SEQ ID NO:21 (来自huCD45.HC3) 或SEQ ID NO:26 (来自huCD45.HC4) 的免疫球蛋白重链序列;和

[0072] (ii) 包括SEQ ID NO:32 (来自mCD45-LC亲本)、SEQ ID NO:37 (来自huCD45.LC1)、

SEQ ID NO:42(来自huCD45.LC2)、SEQ ID NO:47(来自huCD45.LC3)或SEQ ID NO:52(来自huCD45.LC4)的免疫球蛋白轻链序列。

[0073] 本发明的另一方面提供了一种抗huCD45抗体或huCD45结合抗体片段,包括:

[0074] (a) 包括选自下列组的重链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的一组免疫球蛋白重链互补决定区(CDR):

[0075] (i) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:55,

[0076] (ii) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:55,

[0077] (iii) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:55,和

[0078] (iv) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54和SEQ ID NO:55;和

[0079] (b) 包括选自下列组的轻链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的一组免疫球蛋白轻链互补决定区(CDR):

[0080] (i) 分别为SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:60和SEQ ID NO:61,

[0081] (ii) 分别为SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:63和SEQ ID NO:61,

[0082] (iii) 分别为SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:64和SEQ ID NO:61,和

[0083] (iv) SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60和SEQ ID NO:61,

[0084] 前提是当所述重链CDR组是(a) (iv)时,所述轻链CDR组不是(b) (iv)。应当理解,所述抗体或抗体片段包括重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包括重链CDR,所述轻链可变区包括轻链CDR。

[0085] 本发明的相关方面提供了一种抗huCD45抗体或huCD45结合抗体片段,包括:

[0086] (a) 包括选自下列组的重链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的一组免疫球蛋白重链互补决定区(CDR):

[0087] (i) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:55,

[0088] (ii) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:55,和

[0089] (iii) 分别为SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:55;和

[0090] (b) 包括选自下列组的轻链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的一组免疫球蛋白轻链互补决定区(CDR):

[0091] (i) 分别为SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:60和SEQ ID NO:61,

[0092] (ii) 分别为SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:63和SEQ ID NO:61,和

[0093] (iii) 分别为SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:64和SEQ ID NO:61。

[0094] 应当再次理解,所述抗体或抗体片段包括重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包括重链CDR,所述轻链可变区包括轻链CDR。

[0095] 在记载了CDR序列的本发明前述两个方面或本发明其他方面的变体中,所述抗体或抗体片段或蛋白质相对于一个或多个所记载的CDR,进一步包括以任何和所有组合的,额外的N-末端和/或C-末端氨基酸序列,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸残基与所述一个或多个CDR直接相邻(在CDR的N-末端和C-末端的任一侧或两侧),如图1-10所示的任一相应可变区氨基酸序列所示。

[0096] 本发明的另一方面提供了一种蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab片段、Fab₂片段或scFv分子)或免疫球蛋白轻链,包括抗体轻链可变区,所述抗体轻链可变区包括以下轻链CDR:

[0097] 包括氨基酸序列RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59)、KSSKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:62)、RASKSVSTSGYSYLA (SEQ ID NO:65)、RASKSVSTSGYSYLS (SEQ ID NO:66) 或 RASKSVSTSGYSYLN (SEQ ID NO:67) 的CDR-L1;

[0098] 包括氨基酸序列LASNLES (SEQ ID NO:60)、LASNLA (SEQ ID NO:68)、LASNLAT (SEQ ID NO:63)、LASNLQ (SEQ ID NO:69)、LASNLQS (SEQ ID NO:64)、LASTRES (SEQ ID NO:70)、LASTRAT (SEQ ID NO:71)、LASNRAT (SEQ ID NO:72) 或LASSQLS (SEQ ID NO:73) 的CDR-L2;

[0099] 包括氨基酸序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61) 的CDR-L3,

[0100] 前提是排除包括氨基酸序列RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59) 的CDR-L1和包括氨基酸序列LASNLES (SEQ ID NO:60) 的CDR-L2的组合。

[0101] 所述蛋白质中CDR-L3序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61) 之后的下一个氨基酸残基可以是例如FGQ。

[0102] 本发明的另一方面提供了一种蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab片段、Fab₂片段或scFv分子)或免疫球蛋白重链,包括抗体重链可变区,所述抗体重链可变区包括以下轻链CDR:

[0103] 包括氨基酸序列GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53) 或GFDFSRYWMN (SEQ ID NO:85) 的CDR-H1;

[0104] 包括氨基酸序列EINPTSSTINFTPSLKD (SEQ ID NO:54)、EINPTSSTINFADSVKG (SEQ ID NO:56)、EINPTSSTINYADSVKG (SEQ ID NO:57)、EINPTSSTINFVDSVKG (SEQ ID NO:58)、YINPTSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:74)、AINPTSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:75)、NINPTSSTIYYVDSVKG (SEQ ID NO:76) 或SINPTSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:77) 的CDR-H2;

[0105] 包括氨基酸序列GNYYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55) 的CDR-H3,

[0106] 前提是排除包括氨基酸序列GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53) 的CDR-H1和包括氨基酸序列EINPTSSTINFTPSLKD (SEQ ID NO:54) 的CDR-H2的组合。

[0107] 本发明的另一方面提供了一种蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab片段、Fab₂片段或scFv分子),包括:

[0108] (a) 包括下列轻链CDR的抗体轻链可变区:

[0109] 包括氨基酸序列RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59)、KSSKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:62)、RASKSVSTSGYSYLA (SEQ ID NO:65)、RASKSVSTSGYSYLS (SEQ ID NO:66) 或 RASKSVSTSGYSYLN (SEQ ID NO:67) 的CDR-L1;

[0110] 包括氨基酸序列LASNLES (SEQ ID NO:60)、LASNLA (SEQ ID NO:68)、LASNLAT (SEQ ID NO:63)、LASNLQ (SEQ ID NO:69)、LASNLQS (SEQ ID NO:64)、LASTRES (SEQ ID NO:70)、LASTRAT (SEQ ID NO:71)、LASNRAT (SEQ ID NO:72) 或LASSQLS (SEQ ID NO:73) 的CDR-L2;和

[0111] 包括氨基酸序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61) 的CDR-L3;和

[0112] (b) 包括下列重链CDR的抗体重链可变区:

[0113] 包括氨基酸序列GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53) 或GFDFSRYWMN (SEQ ID NO:85) 的CDR-H1;

[0114] 包括氨基酸序列EINPTSSTINFTPSLKD (SEQ ID NO:54)、EINPTSSTINFADSVKG (SEQ ID NO:56)、EINPTSSTINYADSVKG (SEQ ID NO:57)、EINPTSSTINFVDSVKG (SEQ ID NO:58)、YINPTSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:74)、AINPTSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:75)、

NINPTSSTIYYVDSVKG (SEQ ID NO:76) 或 SINPTSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:77) 的 CDR-H2; 和

[0115] 包括氨基酸序列 GNYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55) 的 CDR-H3,

[0116] 前提是排除包括氨基酸序列 RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59) 的 CDR-L1、包括氨基酸序列 LASNLES (SEQ ID NO:60) 的 CDR-L2、包括氨基酸序列 QHSRELPFT (SEQ ID NO:61) 的 CDR-L3、包括氨基酸序列 GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53) 的 CDR-H1、包括氨基酸序列 EINPTSSTINFTPSLKD (SEQ ID NO:54) 的 CDR-H2 和包括氨基酸序列 GNYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55) 的 CDR-H3 的组合。

[0117] 所述蛋白质中 CDR-L3 序列 QHSRELPFT (SEQ ID NO:61) 之后的下一个氨基酸残基可以是例如 FGQ。

[0118] 本发明的另一方面提供了一种蛋白质, 如抗 CD45 抗体或 CD45 结合抗体片段 (如 Fab 片段、Fab₂ 片段或 scFv 分子) 或免疫球蛋白轻链, 包括抗体轻链可变区, 所述抗体轻链可变区包括以下轻链 CDR:

[0119] 包括氨基酸序列 RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59) 或 KSSKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:62) 的 CDR-L1;

[0120] 包括氨基酸序列 LASNLA (SEQ ID NO:68)、LASNLAT (SEQ ID NO:63)、LASNLQ (SEQ ID NO:69) 或 LASNLQS (SEQ ID NO:64) 的 CDR-L2; 和

[0121] 包括氨基酸序列 QHSRELPFT (SEQ ID NO:61) 的 CDR-L3。

[0122] 所述蛋白质中 CDR-L3 序列 QHSRELPFT (SEQ ID NO:61) 之后的下一个氨基酸残基可以是例如 FGQ。

[0123] 本发明的另一方面提供了一种蛋白质, 如抗 CD45 抗体或 CD45 结合抗体片段 (如 Fab 片段、Fab₂ 片段或 scFv 分子) 或免疫球蛋白重链, 包括抗体重链可变区, 所述抗体重链可变区包括以下重链 CDR:

[0124] 包括氨基酸序列 GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53) 的 CDR-H1;

[0125] 包括氨基酸序列 EINPTSSTINFADSVKG (SEQ ID NO:56)、EINPTSSTINYADSVKG (SEQ ID NO:57) 或 EINPTSSTINFVDSVKG (SEQ ID NO:58) 的 CDR-H2; 和

[0126] 包括氨基酸序列 GNYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55) 的 CDR-H3。

[0127] 本发明的另一方面提供了一种蛋白质, 如抗 CD45 抗体或 CD45 结合抗体片段 (如 Fab 片段、Fab₂ 片段或 scFv 分子), 包括:

[0128] (a) 包括下列轻链 CDR 的抗体轻链可变区:

[0129] 包括氨基酸序列 RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59) 或 KSSKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:62) 的 CDR-L1;

[0130] 包括氨基酸序列 LASNLES (SEQ ID NO:60)、LASNLA (SEQ ID NO:68)、LASNLAT (SEQ ID NO:63)、LASNLQ (SEQ ID NO:69)、LASNLQS (SEQ ID NO:64) 的 CDR-L2; 和

[0131] 包括氨基酸序列 QHSRELPFT (SEQ ID NO:61) 的 CDR-L3; 和

[0132] (b) 包括下列重链 CDR 的抗体重链可变区:

[0133] 包括氨基酸序列 GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53) 的 CDR-H1;

[0134] 包括氨基酸序列 EINPTSSTINFTPSLKD (SEQ ID NO:54)、EINPTSSTINFADSVKG (SEQ ID NO:56)、EINPTSSTINYADSVKG (SEQ ID NO:57) 或 EINPTSSTINFVDSVKG (SEQ ID NO:58) 的 CDR-H2; 和

[0135] 包括氨基酸序列GNYYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55)的CDR-H3,

[0136] 前提是排除包括氨基酸序列RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59)的CDR-L1、包括氨基酸序列LASNLES (SEQ ID NO:60)的CDR-L2、包括氨基酸序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)的CDR-L3、包括氨基酸序列GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53)的CDR-H1、包括氨基酸序列EINPTSSTINFTPSLKD (SEQ ID NO:54)的CDR-H2和包括氨基酸序列GNYYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55)的CDR-H3的组合。

[0137] 所述蛋白质中CDR-L3序列QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)之后的下一个氨基酸残基可以是例如FGQ。例如,CDR-H2可以包括氨基酸序列EINPTSSTINFADSVKG (SEQ ID NO:56)、EINPTSSTINYADSVKG (SEQ ID NO:57)或EINPTSSTINFVDSVKG (SEQ ID NO:58)。

[0138] 本发明的一个方面提供了一种免疫球蛋白重链可变区或蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab、Fab₂或scFv分子),其包括免疫球蛋白重链可变区序列,该序列包括以任何组合的,相对于本文公开的亲本免疫球蛋白重链可变区,本文公开的任何非亲本免疫球蛋白重链可变区中公开的一个或多个氨基酸取代,但其他方面包括与亲本免疫球蛋白重链可变区序列相同的氨基酸序列。

[0139] 本发明的一个方面提供了一种免疫球蛋白轻链可变区或蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab、Fab₂或scFv分子),其包括免疫球蛋白轻链可变区,该可变区包括以任何组合的,相对于本文公开的亲本免疫球蛋白轻链可变区,本文公开的任何非亲本免疫球蛋白轻链可变区中公开的一个或多个氨基酸取代,但其他方面包括与亲本免疫球蛋白轻链可变区序列相同的氨基酸序列。

[0140] 本发明的一个方面提供了一种蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab、Fab₂或scFv分子),包括:

[0141] (i) 免疫球蛋白重链可变区,其包括以任何组合的,相对于本文公开的亲本免疫球蛋白重链可变区,本文公开的任何非亲本免疫球蛋白重链可变区中公开的一个或多个氨基酸取代,但其他方面包括与亲本免疫球蛋白重链可变区序列相同的氨基酸序列;和

[0142] (ii) 免疫球蛋白轻链可变区,其包括以任何组合的,相对于本文公开的亲本免疫球蛋白轻链可变区,本文公开的任何非亲本免疫球蛋白轻链可变区中公开的一个或多个氨基酸取代,但其他方面包括与亲本免疫球蛋白轻链可变区序列相同的氨基酸序列。

[0143] 本发明的一个方面提供了一种蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab、Fab₂或scFv分子),包括:

[0144] (i) 本文公开的亲本免疫球蛋白重链可变区,或

[0145] 免疫球蛋白重链可变区,其包括以任何组合的,相对于本文公开的亲本免疫球蛋白重链可变区,本文公开的任何非亲本免疫球蛋白重链可变区中公开的一个或多个氨基酸取代,但其他方面包括与亲本免疫球蛋白重链可变区序列相同的氨基酸序列;和

[0146] (ii) 本文公开的亲本免疫球蛋白轻链可变区,或

[0147] 免疫球蛋白轻链可变区,其包括以任何组合的,相对于本文公开的亲本免疫球蛋白轻链可变区,本文公开的任何非亲本免疫球蛋白轻链可变区中公开的一个或多个氨基酸取代,但其他方面包括与亲本免疫球蛋白重链可变区序列相同的氨基酸序列。

[0148] 前提是所述蛋白质不同时包括本文公开的亲本免疫球蛋白重链可变区和本文公开的任何非亲本免疫球蛋白轻链可变区两者。

[0149] 在这方面的一个变体中,所述蛋白质不包括本文公开的亲本免疫球蛋白重链可变区,并且不包括本文公开的亲本免疫球蛋白轻链可变区。

[0150] 本发明的一个方面提供了一种免疫球蛋白重链可变区或蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab、Fab₂或scFv分子),包括免疫球蛋白重链可变区序列,所述免疫球蛋白重链可变区序列包括以下氨基酸序列:EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSRYWMX₁WVRQAPGKGLEWX₂X₃X₄INPTSSTIX₅X₆X₇X₈SLKX₉X₁₀X₁₁X₁₂ISRDNX₁₃KNX₁₄LYLQMSX₁₅X₁₆RX₁₇EDTAX₁₈YYCARGNYRYGDAMDYWGQGTX₁₉VTVSS(SEQ ID NO:78),

[0151] 其中

[0152] X₁是S或N,

[0153] X₂是I或V,

[0154] X₃是G、S或A,

[0155] X₄是E、Y、A、N或S,

[0156] X₅是N或Y,

[0157] X₆是F或Y,

[0158] X₇是T、A或V,

[0159] X₈是P或D,

[0160] X₉是D或G,

[0161] X₁₀是K或R,

[0162] X₁₁是V或F,

[0163] X₁₂是F或T,

[0164] X₁₃是A或S,

[0165] X₁₄是T或S,

[0166] X₁₅是K或S,

[0167] X₁₆是V或L,

[0168] X₁₇是S或A

[0169] X₁₈是L或V,和

[0170] X₁₉是S或M,

[0171] 前提是所述氨基酸序列不包括序列EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSRYWMSWVRQAPGKGLEWIGEINPTSSTINFTPSLKDKVFISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCARGNYRYGDAMDYWGQGTTSVTVSS(SEQ ID NO:2)。

[0172] 这方面的重链可变区氨基酸序列在本文中可被称为“修饰的重链可变区序列”或“M.H.C.V.R.序列”。

[0173] 本发明的一个方面提供了一种免疫球蛋白轻链可变区或蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab、Fab₂或scFv分子),包括免疫球蛋白轻链可变区序列,所述免疫球蛋白轻链可变区序列包括以下氨基酸序列:DIX_{L1}X_{L2}TQSPX_{L3}X_{L4}LX_{L5}X_{L6}SX_{L7}GX_{L8}RX_{L9}TX_{L10}X_{L11}CX_{L12}X_{L13}SKSVSTSGYSYLX_{L14}WYQQKPGQX_{L15}PX_{L16}LLIYLASX_{L17}X_{L18}X_{L19}X_{L20}GX_{L21}PX_{L22}RFSGSGSGTDFTLX_{L23}IX_{L24}X_{L25}X_{L26}X_{L27}X_{L28}EDX_{L29}AX_{L30}YYCQHSRELPFTFGX_{L31}GTKLEIK(SEQ ID NO:79),

[0174] 其中

[0175] X_{L1}是D或E,

- [0176] X_{L2} 是A或V或Q,
[0177] X_{L3} 是L或M,
[0178] X_{L4} 是A或D或S,
[0179] X_{L5} 是S或T,
[0180] X_{L6} 是A或S,
[0181] X_{L7} 是V或L或A,
[0182] X_{L8} 是L或P或V,
[0183] X_{L9} 是Q或E或D,
[0184] X_{L10} 是A或V,
[0185] X_{L11} 是I或L,
[0186] X_{L12} 是S或N或T,
[0187] X_{L13} 是A或S,
[0188] X_{L14} 是H、A、S或N,
[0189] X_{L15} 是P或A,
[0190] X_{L16} 是K或R,
[0191] X_{L17} 是N或T或S,
[0192] X_{L18} 是L或R,
[0193] X_{L19} 是E或A或Q,
[0194] X_{L20} 是S或T,
[0195] X_{L21} 是V或I,
[0196] X_{L22} 是A或D或S,
[0197] X_{L23} 是N或T,
[0198] X_{L24} 是H或S,
[0199] X_{L25} 是P或S,
[0200] X_{L26} 是V或L,
[0201] X_{L27} 是E或Q,
[0202] X_{L28} 是E或A或P,
[0203] X_{L29} 是A或V或F,
[0204] X_{L30} 是T或V,
[0205] X_{L31} 是S或Q,和
[0206] X_{L32} 是R或K
[0207] 前提是所述氨基酸序列不包括序列
[0208] DIALTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYLHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSG
SGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPFTFGSGTKLEIK(SEQ ID NO:28)。
[0209] 这方面的轻链可变区氨基酸序列在本文中可被称为“修饰的轻链可变区序列”或
“M.L.C.V.R.序列”。
[0210] 本发明的一个方面提供了一种蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如
Fab、Fab₂或scFv分子),包括:
[0211] (i) 包括本文公开的M.H.C.V.R.序列或亲本重链可变区氨基酸序列的重链可变

区;和

[0212] (ii) 包括本文公开的M.L.C.V.R.序列或亲本轻链可变区氨基酸序列的轻链可变区,

[0213] 前提是所述蛋白质不同时包括本文公开的亲本重链可变区氨基酸序列和本文公开的亲本轻链可变区氨基酸序列两者。

[0214] 本发明的一个方面提供了一种蛋白质,如抗CD45抗体或CD45结合抗体片段(如Fab、Fab₂或scFv分子),包括:

[0215] (i) 包括M.H.C.V.R.序列的重链可变区;和

[0216] (ii) 包括M.L.C.V.R.序列的轻链可变区。

[0217] 本发明的一个方面提供了一种蛋白质,如CD45结合scFv分子或包括至少一个scFv区段的蛋白质,其包含连续的(氨基到羧基末端顺序)氨基酸序列,所述氨基酸序列包括本文公开的重链可变区的氨基酸1-120(直至并包括序列VTVS或相应的氨基酸位置的氨基酸)或氨基酸1-121,其后是接头氨基酸序列,随后是本文公开的轻链可变区的氨基酸序列,前提是所述蛋白质不同时包括本文公开的亲本重链可变区序列的氨基酸1-120和本文公开的亲本轻链可变区序列两者。在一个变体中,所述蛋白质不包括本文公开的亲本重链可变区序列的氨基酸1-120和本文公开的亲本轻链可变区序列中的任何一个。

[0218] 所述接头氨基酸序列可以例如包括以下任何氨基酸序列:

[0219] KISGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSS (SEQ ID NO:80);

[0220] SPNSASHSGSAPQTSSAPGSQ (SEQ ID NO:81);

[0221] (G3S)_n,其中,例如n是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,如(G3S)₄,即GGGSGGGSGGGSGGGG (SEQ ID NO:82);或

[0222] (G4S)_n,即(GGGGS[SEQ ID NO:83])_n,其中,例如n是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,如(G4S)₅,即GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO:84)。

[0223] 本文公开的重链可变区和轻链可变区各自包括三(3)个互补决定区(CDR)。所述CDR以下列方式被免疫球蛋白框架区(FR)包围:FR1是(N-末端至)CDR1之前的氨基酸序列,FR2是CDR1和CDR2之间的氨基酸序列,FR3是CDR2和CDR3之间的氨基酸序列,并且FR4是(C-末端至)CDR3之后至可变区序列末端的氨基酸序列。

[0224] 如本文所用,术语“抗体片段”包括但不限于抗体的蛋白水解片段,如Fab或Fab₂(F(ab')₂)片段、具有共价结合或非共价结合链的重组抗体片段、scFv分子和rIgG片段(“rIgG”指减少的IgG(~75,000道尔顿))(也称为半IgG(half-IgG))。

[0225] 所述蛋白质(如抗体和抗体片段)可以例如通过化学缀合的螯合剂直接或间接与放射性核素连接,例如将细胞毒性辐射靶向哺乳动物受试者(如人类患者)中表达CD45的细胞,或者对哺乳动物受试者(如人类患者)中的CD45表达进行非细胞毒性成像。例如,根据美国专利号10,420,851中公开的方法,抗体可以直接用¹³¹I标记,或者根据美国专利号9,603,954中描述的程序,抗体可以被化学缀合到螯合剂(如p-SCN-DOTA)并用放射性核素²²⁵Ac标记。

[0226] 例如,所述放射性核素可以选自¹³¹I、¹²⁵I、¹²³I、³²P、²¹³Po、¹³⁴Ce、⁴³Sc、⁴⁴Sc、⁴⁷Sc、⁵⁵Co、⁶⁰Cu、⁶¹Cu、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁶⁶Ga、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁸²Rb、⁸⁶Y、⁸⁷Y、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、⁹⁷Ru、¹⁰⁵Rh、¹⁰⁹Pd、¹¹¹In、^{117m}Sn、¹⁴⁹Pm、¹⁴⁹Tb、¹⁶¹Tb、¹⁵³Sm、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁹⁹Au、²⁰¹Tl、¹³⁷Cs、²²³Ra、²⁰³Pb、²¹²Pb、²¹¹At

、²¹²Bi、²¹³Bi、²²⁵Ac和²²⁷Th。

[0227] 本发明各个方面的螯合剂基团可以包括,例如:1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三乙酸(D03A)或其衍生物;1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4-二乙酸(NODA)或其衍生物;1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)或其衍生物;1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)或其衍生物;1,4,7-三氮杂环壬烷-1-戊二酸-4,7-二乙酸(NODAGA)或其衍生物;1,4,7,10-四氮杂环癸烷-1-戊二酸-4,7,10-三乙酸(DOTAGA)或其衍生物;1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸(TETA)或其衍生物;1,4,8,11-四氮杂双环[6.6.2]十六烷-4,11-二乙酸(CB-TE2A)或其衍生物;二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、其二酯或其衍生物;2-环己基二亚乙基三胺五乙酸(CHX-A''-DTPA)或其衍生物;去铁胺(deferoxamine,DFO)或其衍生物;1,2-[[6-羧基吡啶-2-基]甲氨基]乙烷(H₂dedpa)或其衍生物;DADA或其衍生物;1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四(亚甲基膦酸)(DOTP)或其衍生物;4-氨基-6-[[16-[(6-羧基吡啶-2-基)甲基]-1,4,10,13-四氧杂-7,16-二氮杂环十八烷-7-基]甲基]吡啶-2-羧酸(MACROPA-NH₂)或其衍生物;MACROPA或其衍生物;1,4,7,10-四(氨基甲酰甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷(TCMC)或其衍生物;{4-[2-(双羧甲基氨基)-乙基]-7-羧甲基-[1,4,7]三氮杂环壬烷-1-基}-乙酸(NETA)或其衍生物;Diamsar或其衍生物;1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三[甲基(2-羧乙基)次膦酸(TRAP、PRP9、TRAP-Pr)或其衍生物;N,N'-双(6-羧基-2-吡啶基甲基)乙二胺-N,N'-二乙酸(H₄octapa)或其衍生物;N,N'-[1-苄基-1,2,3-三唑-4-基]甲基-N,N'-[6-(羧基)吡啶-2-基]-1,2-二氨基乙烷(H₂azapa)或其衍生物;N,N''-[[6-(羧基)吡啶-2-基]甲基]二亚乙基三胺-N,N',N''-三乙酸(H₅decapa)或其衍生物;N,N'-双(2-羟基-5-磺苄基)乙二胺-N,N'-二乙酸(SHBED)或其衍生物;N,N'-双(2-羟基苄基)乙二胺-N,N'-二乙酸(HBED)或其衍生物;3,6,9,15-四氮杂双环[9.3.1]十五烷-1(15),11,13-三烯-3,6,9-三乙酸(PCTA)或其衍生物;去铁胺(desferrioxamine)B(DFO)或其衍生物;N,N'-(亚甲基膦酸酯)-N,N'-[6-(甲氧羰基)吡啶-2-基]甲基-1,2-二氨基乙烷(H₆phospa)或其衍生物;1,4,7,10,13,16-六氮杂环十六烷-N,N',N'',N''',N''''-六乙酸(HEHA)或其衍生物;1,4,7,10,13-五氮杂环十五烷-N,N',N'',N''',N''''-五乙酸(PEPA)或其衍生物;或3,4,3-LI(1,2-HOPO)或其衍生物。

[0228] 所述蛋白质(如抗体和抗体片段)可以例如与一种或多种细胞毒性药物连接,以靶向和耗尽哺乳动物受试者如人类患者中表达CD45的细胞。因此,本发明的一个方面提供了一种抗体-药物-缀合物(ADC),其包括根据本发明的抗体或抗原结合抗体片段作为组分。例如,所述ADC可以是与含有苯并二氮杂卓部分的细胞毒素缀合的缀合物,例如吡咯并苯并二氮杂卓(PBD)或吲哚并苯并二氮杂卓(IGN)部分,如美国公开号20220175951中所公开的。

[0229] 在本说明书和权利要求书中使用的词语“包含”和词语“包含”的各种形式以及词语“包括”和词语“包括”的各种形式并不限制所包含的元素超出所提及的内容。此外,尽管在整个本公开中,以“包括”或“包含”来描述其各个方面或元素,但是以“基本由……组成”或“由……组成”来描述的其相应方面或元素被类似地公开。例如,尽管本发明的某些方面已经根据蛋白质“包括”或“包含”一种或多种特定氨基酸序列进行了描述,但是替代地记载蛋白质“基本由一种或多种特定氨基酸序列组成”或“由一种或多种特定氨基酸序列组成”的相应方面也在所述方面的范围内,并且由本公开内容公开。

[0230] 此外,包括放射性标记抗体的组合物可以包括一种或多种药学上可接受的载体或

药学上可接受的赋形剂。这种载体为本领域技术人员所熟知。例如,可注射的药物递送系统包括溶液、悬浮液、凝胶、微球和聚合物注射剂,并且可以包括赋形剂如溶解度调节剂(例如乙醇、丙二醇和蔗糖)和聚合物(例如聚己内酯和PLGA)。一种示例性制剂可以基本上如美国专利10,420,851或国际公开号W0 2017/155937所描述,通过引用并入本文。例如,根据某些方面,所述制剂可以包括0.5%至5.0% (w/v) 的赋形剂,该赋形剂选自抗坏血酸、聚乙烯吡咯酮(PVP)、人血清白蛋白(HSA)、HSA的水溶性盐及其混合物组成的组。某些制剂可以包括0.5-5%的抗坏血酸;0.5-4%聚乙烯吡咯酮(PVP);和在50mM PBS缓冲液(pH 7)中的单克隆抗体。

[0231] 本文公开的人源化和各种抗huCD45抗体可以例如用放射性核素如¹³¹I、¹⁷⁷Lu、²¹¹At、²²⁷Th或²²⁵Ac标记,或与细胞毒性药物缀合,在骨髓移植(BMT)或造血干细胞移植(HSCT)的准备中用作调理剂,例如用于血液癌症的治疗,或者在施用基因工程细胞疗法的准备中用作调理剂,例如用于癌症治疗的CAR-T疗法,或者用作血液癌症的直接治疗,例如髓性或淋巴性血液癌症,如白血病,例如急性髓性白血病(AML),或淋巴瘤,例如非霍奇金淋巴瘤(NHL),或者用于治疗自身免疫性疾病如多发性硬化症的免疫重置剂。所治疗的血液癌症或病症可以是例如白血病(如急性髓性白血病(AML)、急性早幼粒细胞白血病、急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性混合细胞白血病、慢性髓性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、毛细胞白血病或大颗粒淋巴细胞白血病)、骨髓增生异常综合征(MDS)、骨髓增生性病症(如真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、原发性骨髓纤维化或慢性髓性白血病)、多发性骨髓瘤、MGUS和类似病症、淋巴瘤(如霍奇金淋巴瘤(HL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、原发性纵隔大B细胞淋巴瘤、弥漫大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、转化滤泡性淋巴瘤、脾边缘区淋巴瘤、淋巴细胞性淋巴瘤或T细胞淋巴瘤)或另一种B细胞恶性肿瘤。在一个方面,将所述放射性标记的或药物缀合的抗huCD45抗体作为维持疗法施用于在血液癌症(如AML或本文所述的其他类型)治疗中先前接受过BMT或HSCT的受试者,例如以治疗或预防癌症的复发或再发。在本文描述的每种情况下,受试者可以是哺乳动物,如人类患者。

[0232] 实施例1:放射性标记的螯合剂缀合的抗huCD45抗体的产生

[0233] 与螯合剂的缀合:用无金属水将一小瓶冻干的p-SCN-Bn-DOTA复溶至浓度为10mg/ml。向铜反应瓶中加入0.02ml抗坏血酸溶液(150mg/ml)和0.05ml复溶的p-SCN-Bn-DOTA,并用2M乙酸四甲基铵(TMAA)将pH调节至5至5.5之间。然后将混合物在55±4°C下加热30分钟。

[0234] 为了测定²²⁵Ac-p-SCN-Bn-DOTA的标记效率,取出反应混合物的等分试样并施加到1ml Sephadex C25阳离子交换树脂柱上。用0.9%的盐水溶液将产物洗脱在2-4ml的级分中。洗脱出的²²⁵Ac活性级分是²²⁵Ac-p-SCN-Bn-DOTA,并且保留在柱上的级分是未螯合、未反应的²²⁵Ac。通常,标记效率大于95%。

[0235] 向反应混合物中加入0.22ml预先制备的存在于DTPA(1mg)中的抗CD45mAb和0.02ml抗坏血酸。加入DTPA是为了结合任何可能与抗体标记竞争的痕量金属。加入抗坏血酸作为放射保护剂。用碳酸盐缓冲液将pH调节至8.5-9。将混合物在37±3°C下加热30分钟。

[0236] 最终产物可以使用10DG树脂通过尺寸排阻色谱纯化,并用2ml 1% HSA洗脱。

[0237] 放射性标记:抗体可以与接头缀合,如上述专利申请中描述的任何接头。示例性的接头至少包括十二烷四乙酸(DOTA),其中缀合反应的目标是实现3:1至5:1的DOTA-抗体比率。然后可以进行与放射性核素如¹⁷⁷Lu、⁹⁰Y或²²⁵Ac的螯合,并且可以通过HPLC和iTLC确定所

得放射性标记抗体(如抗CD45抗体)的效率和纯度。

[0238] ^{225}Ac 的示例性标记反应如下:可以在Eppendorf反应管中混合包括15 μl 0.15M NH_4OAc 缓冲液($\text{pH}=6.5$)和2 μL (10 μg)DOTA-抗CD45(5mg/ml)的反应,并且随后加入4 μL 存在于0.05M HCl 中的 ^{225}Ac (10 μCi)。管中的内容物可以用移液管尖端混合,并将反应混合物在37 $^{\circ}\text{C}$ 下以100rpm摇动孵育90min。在孵育期结束时,可将3 μL 1mM DTPA溶液加入反应混合物中,并在室温下孵育20min,以将未反应的 ^{225}Ac 结合到 ^{225}Ac -DTPA复合物中。通过将 ^{225}Ac -标记的抗CD45(^{225}Ac -DOTA-抗CD45)与游离的 ^{225}Ac (^{225}Ac -DTPA)分离,可以使用具有10cm硅胶条带和10mM EDTA/生理盐水流动相的瞬时薄层色谱来确定 ^{225}Ac -DOTA-抗CD45的放射化学纯度。在该系统中,放射性标记的抗体停留在施加点,并且 ^{225}Ac -DTPA随溶剂前沿移动。可以将条带切成两半,并在配备有多通道分析仪的伽马计数器中使用通道72-110对 ^{225}Ac 进行计数,以排除其子代。

[0239] 纯化:示例性的放射性标记的靶向剂(如 ^{225}Ac -DOTA-抗体)可以在用1% HSA预先封闭的PD10柱上纯化;或者在截留MW为50kDa的Vivaspin离心浓缩器上纯化,洗涤2 $\times$ 1.5mL,每次离心3min。纯化后的 ^{225}Ac -DOTA-抗体的HPLC分析可以使用配备有流通型Waters UV和Bioscan辐射检测器的Waters HPLC系统进行,使用TSK3000SW XL柱,用PBS($\text{pH}=7.4$)洗脱,并且流速为1ml/min。

[0240] 实施例2:抗huCD45抗体的放射性碘化和在抗坏血酸存在下的纯化

[0241] 抗CD45抗体可以根据以下方法进行放射性碘化。

[0242] 在氯胺-T(23微克)存在下,在PBS缓冲液($\text{pH} 7.2$)中用20至30mCi的 ^{131}I -Na(30mCi)标记1mg抗CD45抗体。加入硫代硫酸钠水溶液(69微克)淬灭反应,并用冷NaI(1mg)稀释。紧接着,加入在50mM PBS($\text{pH} 7$)中制备的浓缩抗坏血酸溶液,以在淬灭的反应混合物中达到2.5% (w/v)的抗坏血酸浓度。例如,使用这种方法可以成功地进行每批高达3,000mCi的标记反应。

[0243] 放射性标记的抗体(如放射性标记的免疫球蛋白)可以通过凝胶过滤在无菌的、预包装的市售Sephadex G25柱(GE HiPrep 26/10柱,柱床体积53mL)上纯化,使用补充有2.5% (w/v)抗坏血酸的PBS(50mM, $\text{pH} 7$)流动相来稳定放射性标记的产物。在单个柱上可以纯化高达1,000mCi的反应体积。可以从柱中收集5至35mL洗脱体积的产物。

[0244] <200mCi的放射性碘化反应批次可以在较小的脱盐柱(GE PD10柱,柱床体积8.6mL)上以类似的方式纯化。

[0245] 实施例3:抗CD45免疫球蛋白的放射性碘化和在抗坏血酸与HSA存在下的纯化

[0246] 放射性碘化和纯化可以基本上如实施例2中所述进行,除了在纯化过程中还将2%或4% (w/v) HSA与2.5% (w/v) 抗坏血酸一起加入到淬灭的反应以及洗脱缓冲液中。

[0247] 虽然本文已经示出和描述了各种具体实施方式,但是应该理解,在不脱离本发明的实质和范围的情况下,可以进行各种改变。此外,结合本发明的一个方面描述的特征可以与本发明的其他方面组合使用,即使没有在其中明确地组合举例说明。

mAb 链 ID: m CD45-HC 亲本

(hHeavy-m CD45-HC 亲本; 人 IgG1 (G1m17))

信号肽: MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYG (SEQ ID NO:1)

重链可变区:

EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSRYWMSWVRQAPGKGLEWIGEINPTSSTINFT
PSLKDKVFISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCARGNYRYGDAMDYWGQGTSVT
SS (SEQ ID NO:2)

CDR_{H1}: GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53), CDR_{H2}: EINPTSSTINFTPSLKD (SEQ ID NO:54),
CDR_{H3}: GNYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55)

1st 残基: A 具有 1st 残基的重链恒定区: SEQ ID NO:4

重链恒定区:

STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YLSVSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:3)

包括信号肽的全长重链:

MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGEVKLLES GGGLVQPGGSLKLSCAASGFD FSRYWMSW
VRQAPGKGLEWIGEINPTSSTINFTPSLKDKVFISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCAR
GNYRYRGDAMDYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYLSVSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:5)

不含信号肽的全长重链: (SEQ ID NO:6)

图1

mAb 链 ID: hu CD45.HC1

(hHeavy-hu CD45.HC1; 人 IgG1 (G1m17))

信号肽: MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYG (SEQ ID NO:1)

重链可变区:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD^UFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVSEINPTSSTINF
ADSVKGRFFISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNYRYGDAMDYWGQGTMTV
VSS (SEQ ID NO:7)

CDR_{H1}: GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53), CDR_{H2}: EINPTSSTINFADSVKG (SEQ ID NO:56),
CDR_{H3}: GNYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55)

1st 残基: A 具有 1st 残基的重链恒定区: SEQ ID NO:9

重链恒定区:

STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS^UDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:8)

包括信号肽的全长重链:

MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFD^UFSRYWMSW
VRQAPGKGLEWVSEINPTSSTINFADSVKGRFFISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
RGNYRYGDAMDYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDS^UDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID
NO:10)

不含信号肽的全长重链: SEQ ID NO:11

图2

mAb 链 ID: hu CD45.HC2

(hHeavy-hu CD45.HC2; 人 IgG1 (G1m17))

信号肽: MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYG (SEQ ID NO:1)

重链可变区:

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFD FSRYWMSWVRQAPGKGLEWVSEINPTSSTINY
ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNYRYGDAMDYWGQGMVT
VSS (SEQ ID NO:12)

CDR_{H1}: GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53), CDR_{H2}: EINPTSSTINYADSVKG (SEQ ID NO:57),
CDR_{H3}: GNYRYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55)

1st 残基: A 具有 1ST 残基的重链恒定区: (SEQ ID NO:14)

重链恒定区:

STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YLSVSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:13)

包括信号肽的全长重链:

MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFD FSRYWMSW
VRQAPGKGLEWVSEINPTSSTINYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
RGNYRYRYGDAMDYWGQGMVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYLSVSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKK
KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID
NO:15)

不含信号肽的全长重链: SEQ ID NO:16

图3

mAb 链 ID: hu CD45.HC3

(hHeavy-hu CD45.HC3; 人 IgG1 (G1m17))

信号肽: MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYG (SEQ ID NO:1)

重链可变区:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVAEINPTSSTINF
VDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNYRYGDAMDYWGQGMV
TVSS (SEQ ID NO:17)

CDR_{H1}: GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53), CDR_{H2}: EINPTSSTINFVDSVKG (SEQ ID NO:58),
CDR_{H3}: GNYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55)

1st 残基: A 具有 1st 残基的重链恒定区: SEQ ID NO:19

重链恒定区:

STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YLSVSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:18)

包括信号肽的全长重链:

MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSRYWMSW
VRQAPGKGLEWVAEINPTSSTINFVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
RGNYRYGDAMDYWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYLSVSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID
NO:20)

不含信号肽的全长重链: SEQ ID NO:21

图4

mAb 链 ID: hu CD45.HC4

(hHeavy-hu CD45.HC4; 人 IgG1 (G1m17))

信号肽: MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYG (SEQ ID NO:1)

重链可变区:

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFD^UFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVSEINPTSSTINY
ADSVKGRFTISRDN^{AK}NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNYYRYGDAMDYWGQGTMTV
TVSS (SEQ ID NO:22)

CDR_{H1}: GFDFSRYWMS (SEQ ID NO:53), CDR_{H2}: EINPTSSTINYADSVKG (SEQ ID NO:57),
CDR_{H3}: GNYRYGDAMDY (SEQ ID NO:55)

1st 残基: A 具有 1st 残基的重链恒定区: SEQ ID NO:24

重链恒定区:

STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVS^{SV}LT^{VL}HLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:23)

包括信号肽的全长重链:

MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYGEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFD^UFSRYWMSW
VRQAPGKGLEWVSEINPTSSTINYADSVKGRFTISRDN^{AK}NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
RGNYYRYGDAMDYWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS^{SV}LT^{VL}HLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID
NO:25)

不含信号肽的全长重链: SEQ ID NO:26

图5

mAb 链 ID: m CD45-LC 亲本

(hKappa-m CD45-LC 亲本; 人 Kappa)

信号肽:

METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO:27)

轻链可变区:

DIALTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYLHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGV
PARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQHSRELPFTFGSGTKLEIK
(SEQ ID NO:28)

CDR_{L1}: RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59)

CDR_{L2}: LASNLES (SEQ ID NO:60)

CDR_{L3}: QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)

1st 残基: R 具有 1st 残基的轻链恒定区: SEQ ID NO:30

轻链恒定区:

TVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:29)

包括信号肽的全长轻链:

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIALTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYLHWYQ
QKPGQPPKLLIYLASNLESGV PARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQHSRELPFTFGS
GTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO:31)

不含信号肽的全长轻链: SEQ ID NO:32

图6

mAb 链 ID: hu CD45.LC1

(hKappa-hu CD45.LC1; 人 Kappa)

信号肽:

METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO:27)

轻链可变区:

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSKSVSTSGYSYLHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGV
PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQHSRELPFTFGQGTKLEIK
(SEQ ID NO:33)

CDR_{L1}: KSSKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:62)

CDR_{L2}: LASNLES (SEQ ID NO:60)

CDR_{L3}: QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)

1st 残基: R 具有 1st 残基的轻链恒定区: SEQ ID NO:35

轻链恒定区:

TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:34)

包括信号肽的全长轻链:

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSKSVSTSGYSYLHWY
QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQHSRELPFTF
GQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ
ID NO:36)

不含信号肽的全长轻链: SEQ ID NO:37

图7

mAb 链 ID: hu CD45.LC2

(hKappa-hu CD45.LC2; 人 Kappa)

信号肽:

METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO:27)

轻链可变区:

EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASNLATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQHSRELPFTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:38)

CDR_{L1}: RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59)

CDR_{L2}: LASNLAT (SEQ ID NO:63)

CDR_{L3}: QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)

1st 残基: R 具有 1st 残基的轻链恒定区: SEQ ID NO:40

轻链恒定区:

TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:39)

包括信号肽的全长轻链:

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASNLATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQHSRELPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:41)

不含信号肽的全长轻链: SEQ ID NO:42

图8

mAb 链 ID: hu CD45.LC3

(hKappa-hu CD45.LC3; 人 Kappa)

信号肽:

METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO:27)

轻链可变区:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASNLATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYCQHSRELPFTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:43)

CDR_{L1}: RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59)

CDR_{L2}: LASNLAT (SEQ ID NO:63)

CDR_{L3}: QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)

1st 残基: R 具有 1st 残基的轻链恒定区: SEQ ID NO:45

轻链恒定区:

TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:44)

包括信号肽的全长轻链:

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSVSTSGYSYLHWYQ
QKPGQAPRLLIYLASNLATGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYCQHSRELPFTFGQ
GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO:46)

不含信号肽的全长轻链: SEQ ID NO:47

图9

mAb 链 ID: hu CD45.LC4

(hKappa-hu CD45.LC4; 人 Kappa)

信号肽:

METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO:27)

轻链可变区:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASKSVSTSGYSYLHWYQQKPGKAPKLLIYLASNLSQGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHSRELPFTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:48)

CDR_{L1}: RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:59)

CDR_{L2}: LASNLQS (SEQ ID NO:64)

CDR_{L3}: QHSRELPFT (SEQ ID NO:61)

1st 残基: R 具有 1st 残基的轻链恒定区: SEQ ID NO:50

轻链恒定区:

TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:49)

包括信号肽的全长轻链:

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASKSVSTSGYSYLHWYQQKPGKAPKLLIYLASNLSQGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHSRELPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:51)

不含信号肽的全长轻链: SEQ ID NO:52

图10