

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】 抗-PRLR抗體及其用途

ANTI-PRLR ANTIBODIES AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明是有關於特異地結合泌乳素受體(PRLR)的抗體及其抗原結合片段，以及包含該等抗體的抗體-藥物結合物，及其使用方法。

【先前技術】

【0002】 泌乳素是一種多肽生長激素，藉由與泌乳素受體(PRLR)交互作用而展現其活性。PRLR是一個單跨膜受體，屬於第1類細胞激素受體超家族。泌乳素結合至PRLR致使受體二聚體化以及細胞內訊號傳遞。透過PRLR的信號傳遞與諸如乳腺發育、泌乳、生殖以及免疫調節的各種過程有關。再者，已在乳癌、前列腺癌以及其他腫瘤類型中偵測到高PRLR表現量。

【0003】 阻斷PRLR信號傳遞被提議作為一種用於治療乳癌以及前列腺癌的手段。(參見，例如Damiano and Wasserman, Apr. 2013, Clin. Cancer Res. 19(7):1644-1650)。在例如美國專利第7,867,493號與第7,422,899號中提到抗-PRLR抗體。但是，在技藝中對於用來治療癌症以及其他與PRLR表現及/或信號傳遞有關之病症的新穎PRLR拮抗劑(諸如抗-PRLR抗體)存在需求。

【發明內容】

【0004】 本發明提供結合人類泌乳素受體(PRLR)的抗體及其抗原結合片段。本發明抗體尤其可用於靶向表現PRLR的腫瘤細胞。本發明的抗-PRLR抗體及其抗原結合部分可呈未經修飾的形式單獨使用，或可被納作為抗體-藥物結合物或雙特異性抗體的一部分。

【0005】 本發明抗體可為全長(例如IgG1或IgG4抗體)或可包含僅僅抗原結合部分(例如Fab、F(ab')₂或scFv片段)，且可經修飾而影響功能性，例如消除殘餘效應子功能(Reddy et al., 2000, J. Immunol. 164:1925-1933)。

【0006】 本發明的例示性抗-PRLR抗體列示於本文表1及表2中。表1列出例示性抗-PRLR抗體之重鏈可變區(HCVR)、輕鏈可變區(LCVR)、重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2與HCDR3)，以及輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2與LCDR3)的胺基酸序列識別符號。表2列出例示性抗-PRLR抗體之HCVR、LCVR、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2以及LCDR3的核酸序列識別符號。

【0007】 本發明提供特異地結合PRLR的抗體或其抗原結合片段，其包含含有選自表1中所列HCVR胺基酸序列任一者之胺基酸序列的HCVR，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0008】 本發明亦提供特異地結合PRLR的抗體或其抗原結合片段，其包含含有選自表1中所列LCVR胺基酸序列任一者之胺基酸序列的LCVR，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0009】 本發明亦提供特異地結合PRLR的抗體或其抗原結合片段，其包含含有表1中所列HCVR胺基酸序列任一者與表1中所列LCVR胺基酸序列任一者配對的HCVR及LCVR胺基酸序列對(HCVR/LCVR)。依據某些具體例，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含含括在表1中所列例示性抗-PRLR抗體任一者的HCVR/LCVR胺基酸序列對。在某些具體例中，HCVR/LCVR胺基酸序列對是選自於下列組成之群：18/26；66/74；274/282；290/298；以及370/378。

【0010】 本發明亦提供特異地結合PRLR的抗體或其抗原結合片段，其包含含有選自表1中所列重鏈CDR1 (HCDR1)胺基酸序列任一者之胺基酸序列的HCDR1，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0011】 本發明亦提供特異地結合PRLR的抗體或其抗原結合片段，其包含含有選自表1中所列重鏈CDR2 (HCDR2)胺基酸序列任一者之胺基酸序列的HCDR2，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0012】 本發明亦提供特異地結合PRLR的抗體或其抗原結合片段，其包含含有選自表1中所列重鏈CDR3 (HCDR3)胺基酸序列任一者之胺基酸序列的HCDR3，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0013】 本發明亦提供特異地結合PRLR的抗體或其抗原結合片段，其包含含有選自表1中所列輕鏈CDR1 (LCDR1)胺基酸序列任一者之胺基酸序列的LCDR1，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0014】 本發明亦提供特異地結合PRLR的抗體或其抗原結合片段，其包含含有選自表1中所列輕鏈CDR2 (LCDR2)胺基酸序列任一者之胺基酸序列的LCDR2，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0015】 本發明亦提供特異地結合PRLR的抗體或其抗原結合片段，其包含含有選自表1中所列輕鏈CDR3 (LCDR3)胺基酸序列任一者之胺基酸序列的LCDR3，或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0016】 本發明亦提供特異地結合PRLR的抗體或其抗原結合片段，其包含含有表1中所列HCDR3胺基酸序列任一者與表1中所列LCDR3胺基酸序列任一者配對的HCDR3及LCDR3胺基酸序列對(HCDR3/LCDR3)。依據某些具體例，本發明提供抗體或其抗原結合片段，其包含含括在表1中所列例示性抗-PRLR抗體任一者的HCDR3/LCDR3胺基酸序列對。在某些具體例中，HCDR3/LCDR3胺基酸序列是選自於下列組成之群：24/32；72/80；280/288；296/304；以及376/384。

【0017】 本發明亦提供特異地結合PRLR的抗體或其抗原結合片段，其包含一組六個CDR（亦即HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3），含括在表1中所列例示性抗-PRLR抗體任一者中。在某些具體例中，該HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3胺基酸序列組是選自於下列組成之群：20-22-24-28-30-32；68-70-72-76-78-80；276-278-280-284-286-288；292-294-296-300-302-304；以及372-374-376-380-382-384。

【0018】 在一個相關具體例中，本發明提供特異地結合PRLR的抗體或其抗原結合片段，其包含一組六個CDR（亦即HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3），含括在表1中所列例示性抗-PRLR抗體任一者所界定之HCVR/LCVR胺基酸序列中。例如，本發明包括特異地結合PRLR的抗體或其抗原結合片段，其包含含括在選自於下列組成之群之HCVR/LCVR胺基酸序列對的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3胺基酸序列組：18/26；66/74；274/282；290/298；以及370/378。用於鑑定HCVR與LCVR胺基酸序列中的CDR的方法及技術為技藝中已知的，且可用於鑑定本文揭示之特定

HCVR及/或LCVR胺基酸序列中的CDR。可用於鑑定CDR邊界的例示性習知技術包括，例如Kabat界定法、Chothia界定法以及AbM界定法。在一般性術語中，Kabat界定法是以序列變異性為基礎，Chothia界定法是以結構環區的位置為基礎，而AbM界定法是一種介於Kabat法與Chothia法之間的折衷方法。參見，例如Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)；Al-Lazikani *et al.*, *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997)；以及Martin *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:9268-9272 (1989)。公開資料庫亦可用來鑑定抗體內的CDR序列。

【0019】 本發明亦提供編碼抗-PRLR抗體或其部分的核酸分子。例如，本發明提供編碼表1中所列HCVR胺基酸序列任一者的核酸分子；在某些具體例中，該核酸分子包含選自表2中所列HCVR核酸序列任一者的多核苷酸序列，或與其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0020】 本發明亦提供編碼表1中所列LCVR胺基酸序列任一者的核酸分子；在某些具體例中，該核酸分子包含選自表2中所列LCVR核酸序列任一者的多核苷酸序列，或與其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0021】 本發明亦提供編碼表1中所列HCDR1胺基酸序列任一者的核酸分子；在某些具體例中，該核酸分子包含選自表2中所列HCDR1核酸序列任一者的多核苷酸序列，或與其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0022】 本發明亦提供編碼表1中所列HCDR2胺基酸序列任一者的核酸分子；在某些具體例中，該核酸分子包含選自表2中所列HCDR2核酸序列任一者的多核苷酸序列，或與其具有至少90%、至少95%、至少98%或至

少99%序列一致性之實質相似序列。

【0023】 本發明亦提供編碼表1中所列HCDR3胺基酸序列任一者的核酸分子；在某些具體例中，該核酸分子包含選自表2中所列HCDR3核酸序列任一者的多核苷酸序列，或與其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0024】 本發明亦提供編碼表1中所列LCDR1胺基酸序列任一者的核酸分子；在某些具體例中，該核酸分子包含選自表2中所列LCDR1核酸序列任一者的多核苷酸序列，或與其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0025】 本發明亦提供編碼表1中所列LCDR2胺基酸序列任一者的核酸分子；在某些具體例中，該核酸分子包含選自表2中所列LCDR2核酸序列任一者的多核苷酸序列，或與其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0026】 本發明亦提供編碼表1中所列LCDR3胺基酸序列任一者的核酸分子；在某些具體例中，該核酸分子包含選自表2中所列LCDR3核酸序列任一者的多核苷酸序列，或與其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。

【0027】 本發明亦提供編碼HCVR的核酸分子，其中該HCVR包含一組三個CDR（亦即HCDR1-HCDR2-HCDR3），其中該HCDR1-HCDR2-HCDR3胺基酸序列組是由表1中所列例示性抗-PRLR抗體任一者所定義。

【0028】 本發明亦提供編碼LCVR的核酸分子，其中該LCVR包含一組三個CDR（亦即LCDR1-LCDR2-LCDR3），其中該LCDR1-LCDR2-LCDR3胺基酸序列組是由表1中所列例示性抗-PRLR抗體任一者所定義。

【0029】 本發明亦提供編碼HCVR以及LCVR兩者的核酸分子，其中HCVR包含表1中所列HCVR胺基酸序列任一者的胺基酸序列，而其中LCVR包含表1中所列LCVR胺基酸序列任一者的胺基酸序列。在某些具體例中，該核酸分子包含選自表2中所列HCVR核酸序列任一者的多核苷酸序列，或與其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列，以及選自表2中所列LCVR核酸序列任一者的多核苷酸序列，或與其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質相似序列。在依據本發明此態樣的某些具體例中，該核酸分子編碼HCVR以及LCVR，其中HCVR以及LCVR均衍生自表1中所列的同一抗-PRLR抗體。

【0030】 本發明亦提供能夠表現包含抗-PRLR抗體之重鏈或輕鏈可變區之多肽的重組表現載體。例如，本發明包括包含上述核酸分子任一者的重組表現載體，核酸分子亦即編碼如表1中所列HCVR、LCVR，及/或CDR序列任一者的核酸分子。已引入該等載體的宿主細胞，與藉由在容許生產抗體或抗體片段的條件下培養宿主細胞而生產抗體或其部分，以及回收所生產之抗體及抗體片段的方法亦包括在本發明範疇內。

【0031】 本發明包括抗-PRLR抗體，其具有經修飾的糖化型態。在一些具體例中，移除非所欲糖化位點的修飾可能是有用的，或例如缺乏存在於寡糖鏈上的岩藻糖部分以增加抗體依賴性細胞毒性(ADCC)功能的抗體(參見Shield et al. (2002) JBC 277:26733)。在其他應用中，可以進行半乳糖化修飾以修飾補體依賴性細胞毒性(CDC)。

【0032】 在另一個態樣中，本發明提供一種醫藥組合物，其包含特異地結合PRLR的重組人類抗體或其片段，以及醫藥學上可接受載劑。在一個相關的態樣中，本發明特徵為一種組合物，其為抗-PRLR抗體及第二治療劑的組合。在一個具體例中，該第二治療劑是可有與抗-PRLR抗體組合的任

一種藥劑。本發明亦提供抗體-藥物結合物(ADC)，其包含結合至細胞毒性劑的抗-PRLR抗體。涉及本發明抗-PRLR抗體的例示性組合療法、共調配物以及ADC揭示於本文他處。

【0033】 在又另一個態樣中，本發明提供使用本發明抗-PRLR抗體或抗體之抗原結合部分以供殺滅腫瘤細胞或供抑制或減弱腫瘤細胞生長的治療方法。依據本發明此態樣的治療方法包含向有需要的個體投與治療有效量之包含本發明抗體或抗體之抗原結合片段的醫藥組合物。所治療的病症為藉由靶向PRLR及/或藉由抑制經由PRLR之泌乳素媒介的細胞訊號傳遞而獲得增進、改善、抑制或預防的任一種疾病或病況。

【0034】 其他具體例將因為檢閱下面詳細說明而變得清楚。

【圖式簡單說明】

無

【實施方式】

詳細說明

【0035】 在說明本發明之前，應理解本發明不限於所述特定方法以及實驗條件，因為這些方法以及條件可能會改變。亦應理解本文中所用術語僅供說明特定具體例之用，而不是限制性的，因為本發明範疇將僅會受到隨附申請專利範圍所限制。

【0036】 除非另有定義，否則所有本文使用的技術以及科學術語具有與本發明所屬技藝中具有通常技藝者普遍理解的相同意思。如本文所用，術語“約”，當使用在有關特定引用的數值時，表示該數值可自所引用的數值起改變達不超過1%。舉例而言，如本文所用，詞句“約100”包括99與101以及其間的所有數值(例如，99.1、99.2、99.3、99.4等)。

【0037】 儘管任何類似或等同於本文所述的方法以及材料可用於實

施或測試本發明，現將說明較佳的方法以及材料。本說明書內提及的全部專利案、申請案與非專利案公開資料以其整體併入本文做為參考資料。

定義

【0038】 如本文所用，詞句泌乳素受體”PRLR”及類似用語意指人類泌乳素受體，包含如SEQ ID NO：404中所示胺基酸序列。詞句”PRLR”包括單體以及多聚體PRLR分子。如本文所用，詞句”單體人類PRLR”表示一種不含有或具有任一種多聚體化結構域並且在正常條件下表現為單一PRLR分子而與另一個PRLR分子沒有直接物理連結的PRLR蛋白質或其部分。例示性單體PRLR分子係在本文稱為”hPRLR.mmh”的分子，其含有SEQ ID NO：401的胺基酸序列(參見，例如本文實例3)。如本文所用，詞句”二聚體人類PRLR”表示包含兩個PRLR分子透過連結體、共價鍵、非共價鍵或透過多聚體化結構域(諸如抗體Fc結構域)彼此連結的建構物。例示性二聚體PRLR分子係在本文稱為”hPRLR.mFc”的分子，其含有SEQ ID NO：402的胺基酸序列(參見，例如本文實例3)。

【0039】 除非明確指明為來自非人類物種，否則在本文中所有提到蛋白質、多肽以蛋白質片段欲意指個別蛋白質、多肽或蛋白質片段的人類形式。因此，詞句”PRLR”表示人類PRLR，除非明確指明來自非人類物種，例如”小鼠PRLR”、“猴PRLR”等。

【0040】 如本文所用，詞句”細胞表面表現的PRLR”意指一或多個PRLR蛋白質，或其細胞外域，其在活體外或活體內被表現於細胞表面上，使得PRLR蛋白質的至少一部分暴露於細胞膜的細胞外側並且對於抗體之抗原結合部分來說是可觸及的。”細胞表面表現的PRLR”可包含或由下列組成：表現在細胞表面的PRLR蛋白質，該細胞通常表現PRLR蛋白質。或者，”細胞表面表現的PRLR”可包含或由下列組成：表現在細胞表面的PRLR蛋白

質，該細胞通常不在其表面上表現人類PRLR但經人工改造以在其表面上表現PRLR。

【0041】 如本文所用，詞句”抗-PRLR抗體”包括具有單一特異性的單價抗體，以及包含結合PRLR之第一臂與結合第二(目標)抗原之第二臂的雙特異性抗體，其中該抗-PRLR臂包含本文表1中所列HCVR/LCVR或CDR序列任一者。詞句”抗-PRLR抗體”亦包括抗體-藥物結合物(ADC)，其包含結合至藥物或毒素(亦即細胞毒性劑)的抗-PRLR抗體或其抗原結合部分。詞句”抗-PRLR-抗體”亦包括抗體-放射性核種結合物(ARC)，其包含結合至放射性核種的抗-PRLR抗體或其抗原結合部分。

【0042】 術語”抗體”，如本文所用，意指任何抗原結合分子或分子複合體，其含有至少一個特異地結合至特定抗原(例如PRLR)或與其交互作用的互補決定區(CDR)。術語”抗體”包括免疫球蛋白分子，其含有4個多肽鏈，藉由雙硫鍵交互連結的兩條重(H)鏈以及兩條輕(L)鏈，及其多聚體(例如IgM)。各個重鏈含有一個重鏈可變區(本文縮寫為HCVR或V_H)以及一個重鏈恆定區。重鏈恆定區含有三個結構域，C_H1、C_H2以及C_H3。各個輕鏈含有一個輕鏈可變區(本文縮寫為LCVR或V_L)以及一個輕鏈恆定區。輕鏈恆定區含有1個結構域(C_L1)。V_H與V_L區可進一步區分為具有超變異性的區域(命名為互補決定區(CDR))，散佈有較為守恆的區域(命名為骨架區(FR))。各個V_H與V_L由三個CDR以及四個FR所構成，以下列順序從胺基端往羧基端排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本發明的不同具體例中，抗-PRLR抗體(或其抗原結合部分)的FR可能與人類生殖系序列相同，或可能經天然或人工修飾。胺基酸連續序列可基於兩個或多個CDR的並列分析來定義。

【0043】 術語”抗體”，如本文所用，亦包括完整抗體分子的抗原結合

片段。術語抗體之”抗原結合部分”、抗體之”抗原結合片段”及類似用語，如本文所用，包括任一種天然存在、經酵素作用而得、合成或遺傳改造的多肽或醣蛋白，其特異地結合抗原而形成複合體。抗體之抗原結合片段可使用任一種適當標準技術(諸如蛋白分解或重組遺傳工程技術，涉及操作並表現DNA編碼抗體可變以及視需要恆定域)衍生自例如完整抗體分子。此DNA為已知的及/或可從例如商業來源、DNA庫(包括，例如噬菌體-抗體庫)容易獲得或可被合成。DNA可被定序並以化學方式或藉由使用分子生物學技術來操作，例如將一或多個可變及/或恆定域排列成適當構型，或引入密碼子、產生半胱胺酸殘基、修飾、添加或刪除胺基酸等。

【0044】 抗原結合片段的非限制性實例包括：(i) Fab片段；(ii) F(ab')₂片段；(iii) Fd片段；(iv) Fv片段；(v)單鏈Fv (scFv)分子；(vi) dAb片段；及(vii)最小辨識單位，由模擬抗體之超變區(例如經分離的互補決定區(CDR)，諸如CDR3肽)的胺基酸殘基所構成，或有序結構FR3-CDR3-FR4肽。其他經工程化的分子，諸如結構域特異性抗體、單結構域抗體、結構域刪除抗體、嵌合抗體、CDR移植抗體、雙抗體、三抗體、四抗體、微抗體、奈米抗體(例如單價奈米抗體、雙價奈米抗體等)、小模塊免疫藥物(SMIP)及鯊魚可變IgNAR結構域，亦包括在如本文所用詞句”抗原結合片段”中。

【0045】 抗體之抗原結合片段通常含有至少一個可變域。該可變域可為任何尺寸或胺基酸組成，且一般含有至少一個鄰接於一或多個骨架序列或在一或多個骨架序列的框架中的CDR。在具有與V_L域結合之V_H域的抗原結合片段中，V_H域與V_L域可相對於彼此以任何適當排列方式來定位。例如，可變區可以是二聚體且含有V_H-V_H、V_H-V_L或V_L-V_L二聚體。另外，抗體之抗原結合片段可含有單體V_H域或V_L域。

【0046】 在某些具體例中，抗體之抗原結合片段可含有至少一個共價

連結至少一個恆定域的可變域。在本發明抗體之抗原結合片段中可發現的可變域以及恆定域之非限制性例示構型包括：(i) V_H-C_H1 ；(ii) V_H-C_H2 ；(iii) V_H-C_H3 ；(iv) $V_H-C_H1-C_H2$ ；(v) $V_H-C_H1-C_H2-C_H3$ ；(vi) $V_H-C_H2-C_H3$ ；(vii) V_H-C_L ；(viii) V_L-C_H1 ；(ix) V_L-C_H2 ；(x) V_L-C_H3 ；(xi) $V_L-C_H1-C_H2$ ；(xii) $V_L-C_H1-C_H2-C_H3$ ；(xiii) $V_L-C_H2-C_H3$ ；及(xiv) V_L-C_L 。在可變域與恆定域的任一種構型(包括上面列示的任一種例示性構型)中，可變域及恆定域可彼此直接連結或可透過一個完全或部分樞紐或連接體區而連結。該樞紐區可由至少2個(例如5、10、15、20、40、60或更多個)胺基酸所構成，其在單一多肽分子的相鄰可變域及/或恆定域之間產生一個彈性或半彈性的連結。此外，本發明抗體之抗原結合片段可含有一個與另一者及/或與一或多個單體 V_H 域或 V_L 域非共價締合(例如藉由雙硫鍵)之具有上面列示可變域與恆定域構型任一者的均二聚體或異二聚體(或其他多聚體)。

【0047】 如同完全抗體分子，抗原結合片段可以是單特異性或多特異性(例如雙特異性)。抗體之多特異性抗原結合片段通常含有至少兩個不同的可變域，其中各可變域能夠特異地結合至分開的抗原或相同抗原上的不同表位。任何多特異性抗體形式，包括本文揭示的例示性雙特異性抗體形式，可使用技藝中使用的慣常技術予以調整供用於本發明抗體之抗原結合片段中。

【0048】 本發明抗體可透過補體依賴性細胞毒性(CDC)或抗體依賴性細胞媒介的細胞毒性(ADCC)作用。”補體依賴性細胞毒性”(CDC)意指在補體存在的情況下，表現抗原的細胞因為本發明抗體之故而溶解。”抗體依賴性細胞媒介的細胞毒性”(ADCC)意指細胞媒介的反應，其中表現Fc受體(FcR)的非特異性細胞毒性細胞(例如天然殺手(NK)細胞、嗜中性球與巨噬細胞)辨識在目標細胞上的結合抗體且從而造成目標細胞溶解。CDC與ADCC

可以使用技藝中熟知並可用的分析來測定(參見，例如美國專利第5,500,362號與第5,821,337號，以及Clynes *et al.* (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 95:652-656)。抗體恆定區對於抗體固定補體以及媒介細胞依賴性細胞毒性的能力來說至關重要。因此，可以依據對於抗體媒介細胞毒性來說是否為樂見來選定抗體的同型。

【0049】 在某些具體例中，本發明抗-PRLR抗體為人類抗體。術語“人類抗體”，如本文所用，欲包括具有衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區的抗體。本發明之人類抗體可包括不被人類生殖系免疫球蛋白序列所編碼的胺基酸殘基(例如藉由活體外隨機或定位突變或藉由活體內體突變所引入的突變)，例如在CDR以及尤其在CDR3中。但是，術語“人類抗體”，如本文所用，不意欲要包括已被移植至人類骨架序列上之衍生自另一哺乳動物物種(諸如小鼠)之生殖系的CDR序列的抗體。

【0050】 本發明抗體在一些具體例中可以是重組人類抗體。術語“重組人類抗體”，如本文所用，欲包括所有藉由重組方法所製備、表現、產生或分離的人類抗體，諸如使用被轉染至宿主細胞中之重組表現載體而被表現的抗體(進一步說明如下)、分離自重組組合型人類抗體庫的抗體(進一步說明如下)、分離自經轉殖人類免疫球蛋白基因的動物(例如小鼠)的抗體(參見，例如Taylor *et al.* (1992) *Nucl. Acids Res.* 20:6287-6295)，或藉由任何其他涉及將人類免疫球蛋白基因序列剪接至其他DNA序列之方法所製備、表現、產生或分離的抗體。此等重組人類抗體具有衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列的可變區及恆定區。但是，在某些具體例中，此等重組人類抗體經活體外致突變(或，當使用經轉殖人類Ig序列的動物時為活體內體細胞致突變)，而因此該等重組抗體之V_H區與V_L區的胺基酸序列為可能在活體內人類抗體生殖系本中非天然存在的序列，儘管它們是衍生自人類生殖系V_H與

V_L序列且與其相關。

【0051】 人類抗體以兩種與樞紐異質性相關的形式存在。在一種形式中，免疫球蛋白分子包含約150-160 kDa的穩定四鏈建構物，其中二聚體藉由鏈間重鏈雙硫鍵而被約束在一起。在第二種形式中，二聚體不是經由鏈間雙硫鍵連結，且形成一個由共價偶合輕鏈及重鏈組成的約75-80 kDa分子(半抗體)。此等形式即使是在親和力純化之後也相當難以分離。

【0052】 第二種形式在各種完整IgG同型中的出現頻率是因為(但不限於)與抗體之樞紐區同型有關的結構差異。在人類IgG4樞紐的樞紐區中，單個胺基酸置換可能將第二種形式的出現明顯降低至一般使用人類IgG1樞紐所觀察到的程度(Angal et al. (1993) *Molecular Immunology* 30:105)。本發明含括具有一或多個在樞紐C_H2或C_H3區中的突變的抗體，其可能是所要的，例如在製造時增進所欲抗體形式的產量。

【0053】 本發明抗體可以是經單離抗體。”經單離抗體”，如本文所用，表示一種已被鑑定且由其天然環境的至少一組分中被分離及/或回收而來的抗體。例如，已被分離或由生物的至少一組分中，或由其中天然存在或天然生產之抗體的組織或細胞來的抗體就本發明之目的來說是一種”經單離抗體”。經單離抗體亦包括在重組細胞內的原位抗體。經單離抗體是已進行至少一個純化或分離步驟的抗體。依據某些具體例，經單離的抗體基本上不含其他細胞物質及/或化學品。

【0054】 相較於抗體所衍生而來之對應生殖系序列，本文揭示的抗-PRLR抗體可在重鏈及輕鏈可變域之骨架及/或CDR區中含有一或多個胺基酸置換、插入及/或刪除。此等突變可透過將本文所揭示之胺基酸序列與可得自例如公用抗體序列資料庫的生殖系序列相比對而容易確認。本發明包括抗體及其抗原結合片段，其等是衍生自本文所揭示的任一胺基酸序列，

其中一或多個骨架及/或CDR區中的一或多個胺基酸突變成該抗體所源自的生殖系序列之對應殘基，或另一人類生殖系序列的對應殘基，或對應生殖系殘基的守恆性胺基酸置換(此等序列改變在本文中全意指為”生殖系突變”)。本技藝中具有通常技術者從本文揭示的重鏈與輕鏈可變區序列開始，可輕易製造出許多含有一或多個個別生殖系突變或其組合的抗體及抗原結合片段。在某些具體例中，V_H域及/或V_L域中的所有骨架及/或CDR殘基突變回復成在抗體衍生而來之原有生殖系序列中所發現的殘基。在其他具體例中，僅有某些殘基突變回復成原有生殖系序列，例如僅有在FR1的前8個胺基酸中或FR4的最後8個胺基酸中所發現的突變殘基，或僅有CDR1、CDR2或CDR3中所發現的突變殘基。在其他具體例中，骨架及/或CDR殘基的一或多者突變成不同生殖系序列的對應殘基(亦即，不同於抗體原有衍生而來之生殖系序列的生殖系序列)。此外，本發明抗體可含有兩個或更多個骨架及/或CDR區中之生殖系突變的組合，例如其中某些個別殘基突變成特定生殖系序列的對應殘基，而不同於原有生殖系序列的某些其他殘基維持原狀或突變成不同生殖系序列的對應殘基。在得到後，含有一或多個生殖系突變的抗體及抗原結合片段可針對一或多種所要特性(諸如結合特異性增進、結合親和力增加、拮抗或促效生物特性增進或提高(視情況而定)、免疫原性降低等)來進行簡易測試。以此一般方式所得到的抗體及抗原結合片段含括在本發明中。

【0055】 本發明亦包括抗-PRLR抗體，該抗體含有本文揭示之具有一或多個守恆性置換的HCVR、LCVR及/或CDR胺基酸序列任一者的變異體。例如，本發明包括具有HCVR、LCVR及/或CDR胺基酸序列的抗-PRLR抗體，該抗體相對於本文表1揭示之任一HCVR、LCVR及/或CDR胺基酸序列具有例如10個或更少、8個或更少、6個或更少、4個或更少等的守恆性胺基

酸置換。

【0056】 術語”表位(epitope)”意指一個與已知為抗原決定簇(paratope)之抗體分子的可變區中的特定抗原結合位點交互作用的抗原決定基。單獨一個抗原可能有超過一個表位。因此，不同抗體可結合至抗原的不同區域且可能具有不同的生物效用。表位可以是具有構像或線性的。構像表位可透過在空間上並列的胺基酸由不同線性多肽鏈的區段所產生。線性表位是由多肽鏈中的相鄰胺基酸殘基所產生。在某些情況下，表位可包括抗原上的醣類、磷氧基或磺醯基的部分。

【0057】 當意指核酸或其片段時，”實質同一性”或”實質同一”表示藉由任何序列同一性的已知演算法(諸如FASTA、BLAST或Gap，如上所述)來測定時，當在有適當核苷酸插入或刪除的情況下與另一核酸(或其互補股)最佳排列時，在至少約95%，及更佳至少約96%、97%、98%或99%核苷酸鹼基中有核苷酸序列同一性。在某些情況下，與參考核酸分子具有實質同一性的核酸分子可編碼具有與參考核酸分子所編碼之多肽相同或實質相似胺基酸序列的多肽。

【0058】 當應用於多肽時，術語”實質相似性”或”實質相似”表示當兩個肽序列最佳地排列時(諸如按照程式GAP或BESTFIT使用內定空位權重)，共有至少95%序列同一性，甚至更佳至少98%或99%序列同一性。較佳地，不相同的殘基位置因為守恆性胺基酸置換而有所差異。”守恆性胺基酸置換”是一種胺基酸殘基置換成另一種帶有類似化學性質(例如電荷或疏水性)之側鏈(R基團)的胺基酸殘基。一般來說，守恆性胺基酸置換大體上不會改變蛋白質的官能性質。在兩或多個胺基酸序列彼此因為守恆性置換而有所不同的情況下，序列同一性百分率或相似性程度可以向上調整而校正置換的守恆性質。用來進行這個調整的方法對於習於該技藝者來說是熟知

的。參見，例如Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24:307-331，併入本文做為參考資料。帶有具類似化學性質的側鏈之胺基酸群組的實例包括(1)脂肪族側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸與異白胺酸；(2)脂肪族-羥基側鏈：絲胺酸與蘇胺酸；(3)含醯胺的側鏈：天門冬醯胺酸與麩醯胺酸；(4)芳族側鏈：苯丙胺酸、酪胺酸與色胺酸；(5)鹼性側鏈：離胺酸、精胺酸與組胺酸；(6)酸性側鏈：天門冬胺酸與麩胺酸；以及(7)含硫側鏈為半胱胺酸與甲硫胺酸。較佳的守恆性胺基酸置換群為：纈胺酸-白胺酸-異白胺酸、苯丙胺酸-酪胺酸、離胺酸-精胺酸、丙胺酸-纈胺酸、天門冬胺酸-麩胺酸，以及天門冬醯胺酸-麩醯胺酸。或者，守恆性置換可以是任何在Gonnet *et al.* (1992) *Science* 256:1443-1445中揭示的PAM250對數-相似矩陣中具有正值的改變。”中度守恆”置換是任何在PAM250對數-相似矩陣中具有非負值的改變。

【0059】 有關多肽的序列相似性，其亦可意指為序列同一性，典型是使用序列分析軟體來測量。蛋白質分析軟體使用分派給各種置換、刪除以及其他修飾(包括守恆性胺基酸置換)的相似性的測量法來配對相似序列。例如，GCG軟體含有諸如Gap與Bestfit的程式，它們可以與內定參數一起用來決定關係相近之多肽(諸如來自於不同物種之生物的同源性多肽)或野生型蛋白質與其突變蛋白質之間的序列同源性或序列同一性。參見，例如GCG第6.1版。多肽序列也可以使用採內定或建議參數的FASTA (一種在GCG第6.1版中的程式)來比對。FASTA (例如FASTA2與FASTA3)提供查詢以及研究序列之間最佳重疊區域的排列以及百分率序列同一性(Pearson (2000)上文)。當要將本發明的序列與含有大量來自不同生物之序列的資料庫比對時，另一個較佳的演算法是電腦程式BLAST，特別是BLASTP或TBLASTN，使用內定參數。參見，例如Altschul *et al.* (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410以

及Altschul *et al.* (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402, 各自併入本文做為參考資料。

pH-依賴性結合

【0060】 本發明包括帶有pH依賴性結合特徵的抗-PRLR抗體。舉例而言,本發明抗-PRLR抗體在酸性pH下相較於在中性pH下可表現出對PRLR的結合降低。或者,本發明抗-PRLR抗體在酸性pH下相較於在中性pH下可表現出對PRLR的結合提高。詞句”酸性pH”包括低於約6.2的pH值,例如約6.0、5.95、5.9、5.85、5.8、5.75、5.7、5.65、5.6、5.55、5.5、5.45、5.4、5.35、5.3、5.25、5.2、5.15、5.1、5.05、5.0,或更低。如本文所用,詞句”中性pH”表示約7.0至約7.4的pH。詞句”中性pH”包括約7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35,與7.4的pH值。

【0061】 在某些情況下,”在酸性pH下相較於在中性pH下對PRLR的結合降低”以在酸性pH下抗體結合至PRLR的 K_D 值與在中性pH下抗體結合至PRLR的 K_D 值的比率(或反之亦然)來表示。例如,若抗體或其抗原結合片段表現酸性/中性 K_D 比率為約3.0或更高時,則抗體或其抗原結合片段可視為表現”在酸性pH下相較於在中性pH下對PRLR的結合降低”。在某些例示性具體例中,本發明抗體或抗原結合片段的酸性/中性 K_D 比率為約3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5、11.0、11.5、12.0、12.5、13.0、13.5、14.0、14.5、15.0、20.0、25.0、30.0、40.0、50.0、60.0、70.0、100.0或更高。

【0062】 具有pH依賴性結合特徵的抗體可以針對在酸性pH下相較於在中性pH下降低(或增高)對特定抗原的結合,例如藉由篩選抗體群而獲得。此外,在胺基酸層次修飾抗原結合域可能產生帶有pH依賴性特徵的抗體。例如,透過將抗原結合域(例如CDR內)的一或多個胺基酸置換成組胺酸殘

基，可獲得在酸性pH下相對於中性pH具有抗原結合降低的抗體。

包含Fc變異體的抗-PRLR抗體

【0063】 依據本發明的某些具體例，提供包含Fc域的抗-PRLR抗體，該Fc域包含一或多個例如在酸性pH下相較於中性pH提高或減少抗體對FcRn受體之結合的突變。例如，本發明包含含括在Fc域的C_H2或C_H3區中之突變的抗-PRLR抗體，其中該(等)突變增加Fc域在酸性環境中(例如在吞噬小體中，其中pH範圍約5.5至約6.0)對FcRn的親和力。此等突變可增加抗體當被投與給動物時的血清半衰期。此等Fc修飾的非限制性實例包括，例如在下列位置處的修飾：250 (例如E或Q)；250與428 (例如L或F)；252 (例如L/Y/F/W或T)，254 (例如S或T)，與256 (例如S/R/Q/E/D或T)；在位置428及/或433處(例如H/L/R/S/P/Q或K)及/或434 (例如H/F或Y)的修飾；在位置250及/或428處的修飾；或在位置307或308 (例如308F、V308F)，與434處的修飾。在一個具體例中，該修飾包含428L (例如M428L)與434S (例如N434S)修飾；428L、259I (例如V259I)，與308F (例如V308F)修飾；433K (例如H433K)與434 (例如434Y)修飾；252、254，與256 (例如252Y、254T，與256E)修飾；250Q與428L修飾(例如T250Q與M428L)；以及307及/或308修飾(例如308F或308P)。

【0064】 例如，本發明含括包含Fc域的抗-PRLR抗體，該Fc域包含一或多對或一或多群選自由下列組成之群的突變：250Q與248L (例如T250Q與M248L)；252Y、254T與256E (例如M252Y、S254T與T256E)；428L與434S (例如M428L與N434S)；以及433K與434F (例如H433K與N434F)。前述Fc域突變以及本文揭示之抗體可變域中其他突變的所有可能組合預想落在本發明範疇內。

抗體的生物特徵

【0065】 本發明包括抗體及其抗原結合片段，其以高親和力結合單體人類PRLR。例如，本發明包括在25°C或37°C下以少於約4.0 nM的 K_D 結合單體人類PRLR (例如hPRLR.mmh)的抗-PRLR抗體，如藉由表面電漿共振所測定，例如使用如本文實例3中定義的分析形式或實質相似的分析。依據某些具體例，提供在37°C下以少於約4 nM、少於約3 nM、少於約2 nM、少於約1 nM、少於約900 pM、少於約800 pM、少於約700 pM、少於約600 pM、少於約500 pM、少於約400 pM，或少於約300 pM的 K_D 結合單體人類PRLR的抗-PRLR抗體，如藉由表面電漿共振所測定，例如使用如本文實例3中定義的分析形式或實質相似的分析。

【0066】 本發明亦包括抗體及其抗原結合片段，其在25°C或37°C下以大於約5分鐘的解離半衰期($t_{1/2}$)結合單體人類PRLR (例如hPRLR.mmh)，如藉由表面電漿共振所測定，例如使用如本文實例3中定義的分析形式或實質相似的分析。依據某些具體例，提供抗-PRLR抗體，其在37°C下以大於約5分鐘、大於約6分鐘、大於約8分鐘、大於約10分鐘、大於約12分鐘、大於約14分鐘、大於約16分鐘、大於約18分鐘、大於約20分鐘、大於約30分鐘、大於約40分鐘，或更久的 $t_{1/2}$ 結合單體人類PRLR，如藉由表面電漿共振所測定，例如使用如本文實例3中定義的分析形式或實質相似的分析。

【0067】 本發明亦包括抗體及其抗原結合片段，其以高親和力結合二聚體人類PRLR (例如hPRLR.mFc)。例如，本發明包括在25°C或37°C下以少於約250 pM的 K_D 結合二聚體人類PRLR的抗-PRLR抗體，如藉由表面電漿共振所測定，例如使用如本文實例3中定義的分析形式或實質相似的分析。依據某些具體例，提供在37°C下以少於約250 pM、少於約200 pM、少於約180 pM、少於約160 pM、少於約140 pM、少於約120 pM、少於約100 pM、少於約80 pM、少於約70 pM，或少於約60 pM的 K_D 結合二聚體人類PRLR的抗

-PRLR抗體，如藉由表面電漿共振所測定，例如使用如本文實例3中定義的分析形式或實質相似的分析。

【0068】 本發明亦包括抗體及其抗原結合片段，其在25°C或37°C下以大於約55分鐘的解離半衰期($t_{1/2}$)結合二聚體人類PRLR (例如hPRLR.mFc)，如藉由表面電漿共振所測定，例如使用如本文實例3中定義的分析形式或實質相似的分析。依據某些具體例，提供抗-PRLR抗體，其在37°C下以大於約55分鐘、大於約60分鐘、大於約65分鐘、大於約70分鐘、大於約75分鐘、大於約80分鐘、大於約85分鐘、大於約90分鐘、大於約95分鐘、大於約100分鐘、大於約120分鐘、大於約140分鐘、大於約160分鐘，或更久的 $t_{1/2}$ 結合二聚體人類PRLR，如藉由表面電漿共振所測定，例如使用如本文實例3中定義的分析形式或實質相似的分析。

【0069】 本發明亦包括抗體及其抗原結合片段，其在表現人類PRLR的細胞中結合PRLR並阻斷泌乳素媒介的訊號傳遞。例如，本發明包括以少於約1.3 nM的 IC_{50} 在表現人類PRLR的細胞中阻斷泌乳素媒介之訊號傳遞的抗-PRLR抗體，如使用泌乳素訊號傳遞阻斷分析所測定，例如使用如本文實例5中定義的分析形式或實質相似的分析。依據某些具體例，提供以少於約1.3 nM、少於約1.2 nM、少於約1.0 nM、少於約900 pM、少於約800 pM、少於約600 pM、少於約400 pM、少於約200 pM、少於約100 pM、少於約80 pM、少於約60 pM、少於約40 pM、少於約20 pM的 IC_{50} 在表現人類PRLR的細胞中阻斷泌乳素媒介之訊號傳遞的抗-PRLR抗體，如使用泌乳素訊號傳遞阻斷分析所測定，例如使用如本文實例5中定義的分析形式或實質相似的分析。

【0070】 本發明亦包括抗體及其抗原結合片段，其在表現人類PRLR的細胞中結合PRLR但不阻斷泌乳素媒介的訊號傳遞。如本文所用，”不阻

斷”泌乳素媒介的訊號傳遞的抗體或其抗原結合片段若在泌乳素訊號傳遞阻斷分析(諸如本文實例5中定義的分析或實質相似分析)中測試時，該抗體表現無阻斷活性或僅有可忽略的阻斷活性。依據某些具體例，若抗體在泌乳素訊號傳遞阻斷分析(諸如本文實例5中定義的分析或實質相似分析)中測試時表現大於約10 nM或大於約100 nM的IC₅₀值，則抗體或抗原結合片段”不阻斷”泌乳素媒介的訊號傳遞。

【0071】 本發明抗體可具有前述生物特徵的一或多者，或其任何組合。本發明抗體的前述生物特徵列表預期不會是詳盡的。本發明抗體的其他生物特徵對於習於技藝者來說從檢視本揭示內容(包括本文的工作實例在內)將變得清楚。

抗體-藥物結合物(ADC)

【0072】 本發明提供抗體-藥物結合物(ADC)，其包含結合至一個治療部分的抗-PRLR抗體或其抗原結合片段，該治療部分為諸如細胞毒性劑、化學治療藥物或放射性同位素。

【0073】 細胞毒性劑包括任何對細胞生長、存活或繁殖有害的藥劑。可結合至本發明此態樣之抗-PRLR抗體的適宜細胞毒性劑以及化學治療劑的實例包括，例如1-(2氯乙基)-1,2-二甲烷磺醯基醯肼、1,8-二羥基-雙環[7.3.1]十三碳-4,9-二烯-2,6-二炔-13-酮、1-去氫睪固酮、5-氟尿嘧啶、6-巰基嘌呤、6-硫鳥嘌呤、9-胺基喜樹鹼、放線菌素D、蠅蕈素、胺蝶呤、蛇形菌素(anguidine)、蔥環類、安曲黴素(anthracycline, AMC)、奧瑞他丁(auristatins)、博來黴素(bleomycin)、白消安(busulfan)、丁酸、卡奇黴素(calicheamicins)、喜樹鹼、洋紅黴素(carminomycins)、卡莫司丁(carmustine)、西馬多丁(cemadotins)、順鉑、秋水仙素、康普瑞丁(combretastatins)、環磷醯胺、阿糖胞苷、細胞遲緩素B (cytochalasin B)、道諾黴素(dactinomycin)、道諾魯比

辛(daunorubicin)、達卡巴仁(decarbazine)、二乙醯氧基戊基阿黴素(diacetoxypentylodoxorubicin)、二溴甘露醇(dibromomannitol)、二羥基炭疽菌素二酮(dihydroxy anthracin dione)、雙薩拉唑(disorazoles)、多拉斯他丁(dolastatin) (例如多拉斯他丁10)、阿黴素、道諾黴素(duocarmycin)、棘黴素(echinomycins)、艾榴塞洛素(eleutherobins)、依米丁(emetine)、埃博黴素(epothilones)、埃斯培拉黴素(esperamicin)、雌氮芥(estrarnustines)、溴化乙菲錠(ethidium bromide)、依托泊苷(etoposide)、氟尿嘧啶、格爾德黴素(geldanamycins)、短桿菌素D (gramicidin D)、糖皮質固醇(glucocorticoids)、依立替康(irinotecans)、驅動蛋白紡錘體蛋白(kinesin spindle protein, KSP)抑制劑、來普黴素(leptomycins)、洛諾生(leurosines)、利多卡因(lidocaine)、洛莫司汀(lomustine) (CCNU)、類美登醇、二氯甲二乙胺(mechlorethamine)、美法侖(melphalan)、巯基嘌呤(mercaptopurines)、甲基葉酸(methopterin)、甲氨蝶呤(methotrexate)、米拉黴素(mithramycin)、絲裂黴素(mitomycin)、雙羥恩(mitoxantrone)、N8-乙醯基亞精胺、鬼臼毒素(podophyllotoxins)、普卡因(procaine)、普潘奈(propranolol)、喋啶(pteridines)、嘌呤黴素(puromycin)、吡咯苯偶氮吡(pyrrolobenzodiazepines, PBDs)、根瘤菌素(rhizoxins)、鏈尿佐菌素(streptozotocin)、太利蘇黴素(tallysomycins)、太平洋紫杉醇(taxol)、替尼泊苷(tenoposide)、四卡因(tetracaine)、塞替派(thioepa)、氯芥苯丁酸(chlorambucil)、富山黴素(tomaymycins)、拓撲替康(topotecans)、溶管蛋白(tubulysin)、長春花鹼(vinblastine)、長春新鹼(vincristine)、長春地辛(vindesine)、長春瑞濱(vinorelbines)，及前述任一者的衍生物。依據某些具體例，結合至抗-PRLR抗體的細胞毒性劑為類美登素(諸如DM1或DM4)、富山黴素衍生物，或多拉斯他丁衍生物。依據某些具體例，結合至抗-PRLR抗體的細胞毒性劑為奧瑞他丁，諸如MMAE、MMAF或其衍生物。技藝中

已知的其他細胞毒性劑為本發明範疇內可預想，包括例如蛋白質毒素，如蓖麻毒素、困難梭狀桿菌毒素、假單胞菌外毒素、蓖麻毒素、白喉毒素、肉毒桿菌毒素、欖香膠素(bryodin)、皂素(saporin)、商陸毒素(亦即商陸皂苷(phytolaccatoxin)與商陸皂苷元(phytolaccigenin))，以及其他在Sapra *et al.*, *Pharmacol. & Therapeutics*, 2013, 138:452-469中所列出者。

【0074】 本發明亦包括抗體-放射性核種結合物(ARC)，其包含結合至一或多個放射性核種的抗-PRLR抗體。可用於本發明此態樣中的例示性放射性核種包括，但不限於例如²²⁵Ac、²¹²Bi、²¹³Bi、¹³¹I、¹⁸⁶Re、²²⁷Th、²²²Rn、²²³Ra、²²⁴Ra，以及⁹⁰Y。

【0075】 在本發明的某些具體例中，提供包含經由連接體分子結合至細胞毒性劑(例如上文揭示細胞毒性劑任一者)之抗-PRLR的ADC。可使用技藝中已知的任一連接體分子或連接體技術來生成或建構本發明的ADC。在某些具體例中，連接體為可切割連接體。依據其他具體例，連接體為非可切割連接體。可用於本發明上下文的例示性連接體包含下列或由下列組成的連接體：MC (6-馬來醯亞胺基己醯基)、MP (馬來醯亞胺基丙醯基)、val-cit (纈胺酸-瓜胺酸)、val-ala (纈胺酸-丙胺酸)、蛋白酶可切割連接體的二肽位點、ala-phe (丙胺酸-苯丙胺酸)、蛋白酶可切割連接體的二肽位點、PAB (p-胺基苯甲基氧基羰基)、SPP (N-琥珀醯亞胺基4-(2-吡啶基硫基)戊酸酯)、SMCC (N-琥珀醯亞胺基4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1甲酸酯)、SIAB (N-琥珀醯亞胺基(4-碘基-乙醯基)胺基苯甲酸酯)，及其變化形式與組合。用於本發明上下文之連接體的其他實例揭示於例如US 7,754,681中以及Ducry, *Bioconjugate Chem.*, 2010, 21:5-13，與本文引用的參考文獻中，其內文以其整體併入本文做為參考資料。

【0076】 本發明包含ADC，其中連接體將抗-PRLR抗體或抗原結合分

子經由附接於抗體或抗原結合分子內特定胺基酸處而連接至藥物或細胞毒素。可用於本發明此態樣內文中的例示性胺基酸附接包括例如離胺酸(參見，例如US 5,208,020；US 2010/0129314；Hollander *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 2008, 19:358-361；WO 2005/089808；US 5,714,586；US 2013/0101546；以及US 2012/0585592)、半胱胺酸(參見，例如US 2007/0258987；WO 2013/055993；WO 2013/055990；WO 2013/053873；WO 2013/053872；WO 2011/130598；US 2013/0101546；和US 7,750,116)、硒半胱胺酸(參見，例如WO 2008/122039；和Hofer *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2008, 105:12451-12456)、甲醯基甘胺酸(參見，例如Carrico *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, 2007, 3:321-322；Agarwal *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2013, 110:46-51，和Rabuka *et al.*, *Nat. Protocols*, 2012, 10:1052-1067)、非天然胺基酸(參見，例如WO 2013/068874，和WO 2012/166559)，以及酸性胺基酸(參見，例如WO 2012/05982)。連接體也可以經由附接至醣類而連結至抗原結合蛋白(參見，例如US 2008/0305497、WO 2014/065661，和Ryan *et al.*, *Food & Agriculture Immunol.*, 2001, 13:127-130)以及雙硫連接體(參見，例如WO 2013/085925、WO 2010/010324、WO 2011/018611，和Shaunak *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, 2006, 2:312-313)。

【0077】 依據某些具體例，本發明提供ADC，其中本文所述抗-PRLR抗體連結至2014年3月14日提申之國際專利申請案第PCT/US14/29757號中所列連接體-藥物組合物(例如，化合物"7"，在本文亦稱為"M0026")，該國際專利申請案的揭示內容以其整體併入本文做為參考資料。

【0078】 技藝中已知用於將化學部分接合至肽、多肽或其他巨分子的任一方法可用於本發明內文中以生成本文所述抗-PRLR ADC。經由連接體用於抗體-藥物結合的例示性方法列示於本文實例6中。關於這個例示性方法

的變化形式為具有通常技藝者所能思及且為本發明範疇內所預期。

使ADC靶向表現低量PRLR的細胞

【0079】 發明人意外發現，包含結合至細胞毒性劑的抗-PRLR抗體的ADC能夠特異地靶向並殺滅表現相對低量細胞表面PRLR的細胞。例如，在本文實例7中顯示，包含結合至DM1之抗-PRLR抗體H1H6953N的ADC能夠以1.3 nM的IC₅₀抑制T47D細胞(以超過背景僅12X表現PRLR)的生長並顯示78%殺滅。相對地，ADC對其他腫瘤相關抗原(諸如ErbB2)通常在細胞上需要高得多的目標抗原表現量以供可相比擬的殺滅效力。例如，只有在表現ErbB2含量超過背景約200X至約400X的細胞的情況下，使用抗-ErbB2-DM1 ADC獲得呈亞奈米莫耳IC₅₀範圍的細胞殺滅(參見，例如本文表14-17)。殺滅表現相對低量腫瘤相關抗原(諸如PRLR)之腫瘤細胞的能力表示本發明抗-PRLR ADC可在比其靶定其他腫瘤抗原(諸如ErbB2)之ADC所需更低劑量及/或較低頻率給藥的情況下提供明顯治療益處。

【0080】 因此，本發明提供抗體-藥物結合物(ADC)，其包含結合至細胞毒性劑之特異地結合人類PRLR的抗體或其抗原結合片段，其中ADC有效地殺滅表現低量PRLR之細胞(例如腫瘤細胞)。在相關具體例中，本發明包括有效地殺滅表現低量PRLR之細胞的方法。依據本發明此態樣的方法包含使細胞與抗體-藥物結合物(ADC)接觸，該ADC包含結合至細胞毒性劑的抗-PRLR抗體。”接觸細胞”可以在活體外或活體內進行，例如藉由將抗-PRLR ADC投與給有需要的個體，其中投與使得ADC與表現PRLR的細胞接觸。

【0081】 依據本發明此態樣內所預見的某些內容，”低量PRLR”表示表現量比背景少於約30倍。依據某些具體例，提供抗-PRLR ADC，其有效地殺滅以比背景少於約30倍、25倍、20倍、18倍、16倍、14倍、12倍、10

倍、8倍或更少之表現位準表現PRLR的細胞。如本文所用，術語”背景”表示當以同型對照抗體(亦即對PRLR不具特異性)處理細胞時所產生的(非特異性)訊號。

【0082】 在某些其他內文中，”低量PRLR”可以每個細胞的PRLR分子數目來表示。例如，如本文所用，表現”低量”PRLR的細胞表現每個細胞少於約1百萬個副本的PRLR。在特定具體例中，”低量”PRLR表示每個細胞少於約900,000個副本、少於約800,000個副本、少於約700,000個副本、少於約600,000個副本、少於約500,000個副本、少於約400,000個副本、少於約300,000個副本、少於約200,000個副本、少於約100,000個副本、少於約90,000個副本、少於約80,000個副本、少於約70,000個副本、少於約60,000個副本、少於約50,000個副本、少於約40,000個副本、少於約30,000個副本、少於約20,000個副本，或少於約10,000個副本的PRLR。

【0083】 如本文所用，”有效殺滅”表示在腫瘤細胞殺滅分析(諸如本文實例7中定義的分析或實質相似的分析)中，ADC表現少於約20 nM或少於約1 nM的IC₅₀ (例如少於約0.9 nM、少於約0.8 nM、少於約0.7 nM、少於約0.6 nM、少於約0.5 nM、少於約0.4 nM，或少於約0.3 nM)。依據本發明此態樣，ADC的抗-PRLR抗體組分可以是任一種抗-PRLR抗體，包括包含本文表1中所列CDR或HCVR/LCVR胺基酸序列中任一者的抗-PRLR抗體。此外，ADC的細胞毒性劑組分可以是任一種細胞毒性劑，諸如DM1或本文提及的任何其他細胞毒性劑。

【0084】 本發明ADC能夠在帶有PRLR+腫瘤的動物中抑制腫瘤生長及/或縮小腫瘤尺寸。例如，如本文實例8中所示，抗-PRLR-DM1 ADC顯示在帶有PRLR+乳癌異種移植物的鼠體內將腫瘤縮小至偵測不到的程度。因此，本發明包括抗-PRLR抗體及包含此等抗體的ADC，其中該等抗體或

ADC當被投與至帶有PRLR+腫瘤的動物時(例如以約一週一次的頻率，以及約1至15 mg/kg的劑量)，於投與後第52天時或更快抑制腫瘤生長及/或縮小腫瘤尺寸(例如腫瘤生長抑制為100%或更高)。

第I類細胞激素受體靶定

【0085】 PRLR屬於第I類細胞激素受體家族。如上文所說明並且在本文工作例中所證實，出乎意料發現到包含抗-PRLR抗體的抗體-藥物結合物(ADC)可以有效地靶定並殺滅表現低量PRLR的細胞(參見本文實例7)。另外，對抗其他第I類細胞激素受體(IL-4R與IL-6R)的ADC證明也能夠有效殺滅表現相對低量目標抗原的細胞株(參見本文實例9)。這個特性與對抗其他細胞表面表現之蛋白質的ADC (諸如ErbB2)相反，其中有效的細胞殺滅需要高目標表現。此外，也出乎意料地發現到，抗-PRLR抗體在腫瘤細胞(例如T47D腫瘤細胞)上比抗-Her2抗體實質上更快地被內化，且相比於細胞表面Her2，這個特性與內化更快以及細胞表面PRLR分解有相關性。

【0086】 關於本文所列結果，發明人認為能夠靶定並殺滅表現低量細胞表面抗原的細胞可能是一般導向對抗第I類細胞激素受體的ADC所共有的一種共通特性，且具體而言是快速被內化的第I類細胞激素受體。因此，本發明包括用於靶定第I類細胞激素受體(例如快速內化第I類細胞激素受體)的方法，以及用於殺滅表現第I類細胞激素受體之細胞(諸如表現低量第I類細胞激素受體之細胞)的方法。

【0087】 依據本發明此態樣的方法包含使表現第I類細胞激素受體的細胞與包含特異地結合第I類細胞激素受體的抗體或其抗原結合片段的ADC接觸。依據某些具體例，所靶定的細胞表現低量(至於表現在本文他處另有定義)第I類細胞激素受體及/或第I類細胞激素受體，其快速地被內化並分解(例如比諸如Her2的參考細胞表面分子更快地被內化)。本發明亦含括包

含結合至細胞毒性劑之特異地結合第I類細胞激素受體的抗體或其抗原結合片段的ADC。本文他處所述的細胞毒性劑、連接體及/或ADC相關技術可用於本發明此態樣的內文中。

【0088】 如本文所用，”第I類細胞激素受體”(有時亦稱為”第I型細胞激素受體”)表示表現在細胞表面上的跨膜受體，其被帶有四個阿伐螺旋股的細胞激素所辨識並對其發生反應。如下文所說明，第I類細胞激素受體可以是異二聚體或均二聚體。如本文所用，術語”第I類細胞激素受體”包括異二聚體與均二聚體受體。

【0089】 異二聚體第I類細胞激素受體由細胞激素特異性鏈以及”共有鏈”所組成。因此，此等異二聚體第I類細胞激素受體可以根據受體訊號傳遞所使用的共有鏈類型來予以分類。異二聚體第I類細胞激素受體的例示性分類包括：(i)含有共同 γ 鏈的異二聚體受體，諸如IL-2R、IL-4R、IL-7R、IL-9R、IL-13R與IL-15R；(ii)含有共同 β 鏈的異二聚體受體，諸如GM-CSF受體、IL-3R與IL-5R；以及(iii) 含有gp130的異二聚體受體，諸如IL-6R、IL-11R、CNTF受體、白血病抑制因子(LIF)受體、抑瘤素M (OSM)受體，與IL-12受體。

【0090】 均二聚體第I類細胞激素受體包括生長激素(GH)受體、紅血球生成素(EPO)受體、G-CSF受體、瘦素受體，以及PRLR。

【0091】 在本發明此態樣的某些具體例中，ADC包含特異地結合異二聚體第I類細胞激素受體的抗體或其抗原結合片段。依據本發明此態樣的其他具體例，該ADC包含特異地結合均二聚體第I類細胞激素受體的抗體或其抗原結合片段。

【0092】 本發明包括用於殺滅表現低量異二聚體第I類細胞激素受體的細胞。依據本發明此態樣的方法包含使表現低量異二聚體第I類細胞激素

受體的細胞與包含特異地結合異二聚體第I類細胞激素受體的抗體或其抗原結合片段接觸。

【0093】 或者，本發明包括用於殺滅表現低量均二聚體第I類細胞激素受體的細胞。依據本發明此態樣的方法包含使表現低量均二聚體第I類細胞激素受體的細胞與包含特異地結合均二聚體第I類細胞激素受體的抗體或其抗原結合片段接觸。

表位拼圖以及相關技術

【0094】 本發明抗體結合的表位可由具有PRLR蛋白的3或更多個(例如3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多個)胺基酸單一連續序列組成。或者，表位可由PRLR的數個非連續胺基酸(或胺基酸序列)組成。在一些具體例中，表位坐落在PRLR的泌乳素結合域或鄰近PRLR的泌乳素結合域，例如在PRLR表面上的位置處，當抗體在該位置處結合至此一表位時，不會干擾PRLR結合至泌乳素。

【0095】 可使用技藝中具有通常技術者所熟知的各種技術來決定一個抗體是否會與多肽或蛋白質中的”一或多個胺基酸交互作用”。例示性技術包括，例如Harlow and Lane的”Antibodies”所述的慣用交叉-阻斷分析(Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY)、丙胺酸掃描突變分析、肽墨點分析(Reineke (2004) Methods Mol Biol 248:443-463)及肽切割分析。此外，可以採用諸如表位切除、表位抽出以及化學修飾抗原的方法(Tomer, 2000, Protein Science 9:487-496)。另一種可用於鑑別與抗體交互作用之多肽中的胺基酸的方法為透過質譜偵測氫/氬交換。在一般性術語中，氫/氬交換法涉及將感興趣的蛋白質標記氬，然後透過將抗體結合至經氬標記的蛋白質。接下來，蛋白質/抗體複合體被轉移至水中以容許氫-氬交換在受抗體保護之殘基(其維持經氬標記)以外的所有殘基發生。在抗體解離後，目標蛋白質進

行蛋白酶切割與質譜分析，從而揭開經氘標記的殘基，其對應於抗體交互作用的特定胺基酸。參見，例如Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259；Engen and Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A。

【0096】 本發明進一步包括結合至與本文所述特定例示性抗體任一者(例如包含本文表1中所列胺基酸序列任一者之抗體)相同表位的抗-PRLR抗體。同樣地，本發明亦包括與本文所述特定例示性抗體任一者(例如包含本文表1中所列胺基酸序列任一者之抗體)競爭結合至PRLR的抗-PRLR抗體。

【0097】 吾人可容易地藉由使用技藝中已知或本文例舉的慣常方法決定一個抗體是否會與參考抗-PRLR抗體結合至相同的表位，或與參考抗-PRLR抗體競爭結合。例如，為決定一測試抗體是否會結合至與本發明參考抗-PRLR抗體相同的表位，容許該參考抗體結合至PRLR蛋白。接著，評估測試抗體結合至PRLR分子的能力。若測試抗體能夠在參考抗-PRLR抗體飽合結合之後結合至PRLR，則可推論該測試抗體結合至與參考抗-PRLR抗體不同的表位。另一方面，若測試抗體無法在參考抗-PRLR抗體飽合結合後結合至PRLR分子，則該測試抗體可能結合至與本發明參考抗-PRLR抗體所結合之表位相同的表位。接而可進行其他慣常實驗(例如肽突變與結合分析)以確認觀察測試抗體沒有結合是因為結合至與參考抗體相同的表位，或若沒有觀察到結合是因為空間障礙(或另一現象)。這類實驗係使用ELISA、RIA、Biacore、流式細胞儀或技藝中可供使用的其他任何定量或定性抗體結合分析來進行。依據本發明的某些具體例，若在一个競爭性結合分析中測量一個過量1-、5-、10-、20-或100-倍的抗體抑制另一個抗體達至少50%，但較佳75%、90%或甚至99%，則兩個抗體結合至相同(或重疊)表位(參見，例如Junghans et al., *Cancer Res.* 1990:50:1495-1502)。或者，若基本上所有在

抗原中會減少或消除一個抗體結合的胺基酸突變也會減少或消除另一個抗體結合，則兩個抗體被視為是結合至相同表位。若減少或消除一個抗體結合之僅有一部份胺基酸突變也會減少或消除另一個抗體結合，則兩個抗體被視為具有”重疊的表位”。

【0098】 為測定一個抗體是否與參考抗-PRLR抗體競爭結合(或交叉競爭結合)，以兩個方面來進行上述結合方法學：在第一個方面，容許參考抗體在飽和條件下結合至PRLR蛋白，繼而評估測試抗體對PRLR分子的結合。在第二個方面，容許測試抗體在飽和條件下結合至PRLR分子，繼而評估參考抗體對PRLR分子的結合。若在兩個方面中，僅有第一(飽和)抗體能夠結合至PRLR分子，則推斷測試抗體與參考抗體競爭結合至PRLR。如技藝中具有通常技術者所了解，與參考抗體競爭結合之抗體不必然會結合至與參考抗體相同的表位，但可能會在空間上藉由結合重疊或相鄰表位來阻礙參考抗體的結合。

人類抗體的製備

【0099】 本發明抗-PRLR抗體可為完全人類抗體。用於生成單株抗體(包括完全人類單株抗體)的方法為技藝中已知的。任何此等已知方法可用於本發明中以製造特異地結合至人類PRLR的人類抗體。

【0100】 使用例如VELOCIMMUNE™技術或任何其他用於生成完全人類單株抗體的已知方法，首先分離出帶有人類可變區以及小鼠恆定區之對PRLR具高親和力的嵌合抗體。如同在下面實驗章節中，鑑定抗體的特徵並且篩選所欲的特徵，包括親和力、配體阻斷活性、選擇性、表位等。若需要的話，小鼠恆定區取代成所欲的人類恆定區(例如野生型或經修飾IgG1或IgG4)以生成完全人類抗-PRLR抗體。儘管篩選出的恆定區可能會依據特定用途、可變區中的高親和力抗原結合以及目標特異性特徵而改變。在某

些情況下，完全人類抗-PRLR抗體從抗原-陽性B細胞被直接分離出來。

生物等效性

【0101】 本發明的抗-PRLR抗體以及抗體片段含括帶有由那些所述抗體變化而來，但仍保有結合人類PRLR能力之胺基酸序列的蛋白質。當與親代序列相較之下，此等變異抗體以及抗體片段包含有一或多個胺基酸添加、刪除或置換，但仍展現出基本上與所述抗體相等的生物活性。同樣地，當與所揭示的序列相較之下，編碼抗-PRLR抗體之DNA序列含括具有一或多個核苷酸添加、刪除或置換，但仍編碼基本上與本發明之抗-PRLR抗體或抗體片段生物等效的抗-PRLR抗體或抗體片段的序列。上面詳述此等變異胺基酸以及DNA序列的實例。

【0102】 舉例而言，若兩個抗原結合蛋白或抗體是藥學等效物或藥學代用品，當它們以相同莫耳劑量在類似實驗條件下投與的吸收速率與程度未顯示出明顯差異(不論是單一劑量或多劑量)，它們被視為生物等效的。若一些抗體在它們的吸收程度上相等但在它們的吸收速率上沒有，它們將會被視為等效物或藥學代用品但不被視為生物等效，因為此等在吸收速率上的差異是有目的並且在歸類時被反映出來，對於在例如長期使用上維持有效生體藥物濃度來說不是必要的，並且就所研究的特定藥物產品來說被視為在醫學上沒有差異。

【0103】 在一個具體例中，若兩個抗原結合蛋白在臨床上就其安全性、純度以及效力而言並無有意義的差異，它們是生物等效的。

【0104】 在一個具體例中，若患者在參考產品與生物產品之間可以改變一或多次而沒有預期增高不良反應的風險(包括與持續治療而沒有這樣改變的情況下相比，在免疫原性上的臨床顯著變化，或減低有效性)時，它們是生物等效的。

【0105】 在一個具體例中，若兩個抗原結合蛋白就條件或使用條件來說均是藉由共同的機制或作用機制而作用達致此等機制已知的程度，它們是生物等效的。

【0106】 生物等效性可以藉由活體內和活體外方法證明。生物等效性測量法包括，例如(a)在人類或其他哺乳動物體內的活體內測試，其中隨著時間函數測量抗體或其代謝物在血液、血漿、血清或其他生物液中的濃度；(b)已使用人類活體內生物可利用性數據校正並且可合理預測的活體外測試；(c)在人類或其他哺乳動物體內的活體內測試，其中隨著時間函數測量抗體(或其目標)之適當急性藥理學效用；以及(d)在已證實抗體的安全性、效力或生物可利用性或生物等效性的充分控制臨床試驗中。

【0107】 本發明抗-PRLR抗體的生物等效變異體可以藉由例如，製造各種殘基或序列置換，或刪除不是生物活性所必需的末端或內部殘基或序列而建構。舉例而言，對於生物活性來說不是必要的半胱胺酸殘基可以被刪除或取代為其他會在復性之後防止不必要或不正確分子內雙硫橋形成的胺基酸。在其他上下文中，生物等效抗體可包括抗-PRLR抗體變異體，其含有會修飾抗體之糖化特徵的胺基酸變化(例如消除或移除糖化的突變)。

物種選擇性以及物種交叉反應性

【0108】 依據某些具體例，本發明提供結合至人類PRLR而不會結合至其他物種的PRLR的抗-PRLR抗體。本發明亦包括結合至人類PRLR以及一或多個非人類物種的PRLR的抗-PRLR抗體。舉例而言，本發明的抗-PRLR抗體可以結合至人類PRLR並且視情況可能結合或不結合至小鼠、大鼠、天竺鼠、倉鼠、沙鼠、豬、貓、狗、兔、山羊、綿羊、牛、馬、駱駝、食蟹獼猴、狨猴、恆河猴或黑猩猩PRLR的一或多者。依據本發明的某些例示性具體例，提供特異地結合人類PRLR或食蟹獼猴(例如食蟹獼猴) PRLR的抗

-PRLR抗體。本發明的其他抗-PRLR抗體結合人類PRLR但不結合或者是僅微弱地結合食蟹獼猴PRLR。

多特異性抗體

【0109】 本發明的抗體可以是單特異性或多特異性(例如雙特異性)。多特異性抗體可以是對一個目標多肽的不同表位具有特異性或者可能含有對超過一個目標多肽具有特異性的抗原結合域。參見例如Tutt et al., 1999, J. Immunol. 147:60-69 ; Kufer et al., 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244。本發明的抗-PRLR抗體可以連結至另一個功能性分子(例如另一個肽或蛋白質)或與該另一個功能性分子共表現。舉例而言，抗體或其片段在功能上可以連結(例如，藉由化學偶合、遺傳融合、非共價締合或其他方式)至一或多個其他分子實體，諸如另一個抗體或抗體片段，以產生帶有第二種結合特異性的雙特異性或多特異性抗體。

【0110】 本發明包括雙特異性抗體，其中免疫球蛋白的一臂結合人類PRLR，而免疫球蛋白的另一臂對第二抗原具有特異性。PRLR-結合臂可包含本文表1中所列HCVR/LCVR或CDR胺基酸序列任一者。在某些具體例中，PRLR-結合臂結合人類PRLR並阻斷泌乳素結合至PRLR。在其他具體例中，PRLR-結合臂結合人類PRLR但不會阻斷泌乳素結合至PRLR。

【0111】 可用於本發明上下文的例示性雙特異性抗體形式涉及使用第一免疫球蛋白(Ig) CH3域以及第二Ig CH3域，其中第一與第二Ig CH3域因為至少一個胺基酸而彼此有別，以及其中與缺乏該胺基酸差異的雙特異性抗體相較之下，至少一個胺基酸差異會減低該雙特異性抗體結合至蛋白質A。在一個具體例中，該第一Ig CH3域結合蛋白質A而該第二Ig CH3域含有一個會減低或消除蛋白質A結合的突變，諸如H95R修飾(按照IMGT外顯子編號；按照EU編號為H435R)。該第二CH3可進一步包含有Y96F修飾(按照

IMGT；按照EU為Y436F)。可以在第二CH3中發現到的更多修飾包括：在IgG1抗體的情況下，D16E、L18M、N44S、K52N、V57M以及V82I (按照IMGT；按照EU為D356E、L358M、N384S、K392N、V397M以及V422I)；在IgG2抗體的情況下，N44S、K52N以及V82I (IMGT；按照EU為N384S、K392N以及V422I)；以及在IgG4抗體的情況下，Q15R、N44S、K52N、V57M、R69K、E79Q以及V82I (按照IMGT；按照EU為Q355R、N384S、K392N、V397M、R409K、E419Q以及V422I)。上述雙特異性抗體形式方面的變異在本發明範圍中是可預想的。

【0112】 可用於本發明中的其他例示性雙特異性形式包括，但不限於以scFv為基礎或雙抗體雙特異性形式、IgG-scFv融合體、雙可變域(DVD)-Ig、四價體瘤、洞中紐、共用輕鏈(例如帶有洞中鈕的共有輕鏈等)、CrossMab、CrossFab、(SEED)體、白胺酸拉鍊、Duobody、IgG1/IgG2、雙重作用Fab (DAF)-IgG，以及Mab2雙特異性形式(關於前面形式的回顧參見，例如Klein et al. 2012, mAbs 4:6, 1-11與其中引用的參考文獻)。雙特異性抗體亦可以使用肽/核酸接合來建構，例如其中帶有直角化學反應性的非天然胺基酸被用來生成位點特異性抗體-寡核苷酸結合物，其之後自我組裝成具有限定組成、價數與幾何學的多聚體複合體(參見，例如Kazane et al., J. Am. Chem. Soc. [Epub: Dec. 4, 2012])。

治療調配物與投藥

【0113】 本發明提供包含本發明抗-PRLR抗體或其抗原結合片段的醫藥組合物。本發明的醫藥組合物可與適當載體、賦形劑以及其他提供改善輸送、遞送、耐受性以及類似性質的藥劑一起調配。可以在對於所有藥學化學家來說為熟悉的處方書中找到大量適當的調配物：Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA。這些調配物

包括，例如粉末、糊劑、軟膏、凝膠、蠟、油、脂質、含有囊泡(諸如 LIPOFECTIN™，Life Technologies, Carlsbad, CA)的脂質(陽離子或陰離子)、DNA結合物、無水吸收糊劑、水包油與油包水乳劑、乳化卡波蠟(各種分子量的聚乙二醇)、半固體凝膠以及含有卡波蠟的半固體混合物。亦參見 Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311。

【0114】 投與給患者的抗體劑量可以視患者的年齡與身材、目標疾病、病況、投藥途徑以及類似因素而改變。較佳劑量通常是依據體重或體表面積來計算。在成人患者體內，通常以約0.01至約20 mg/kg體重、更佳約0.02至約7、約0.03至約5、或約0.05至3 mg/kg體重的單一劑量靜脈內投與本發明抗體是有益的。可以視病況的嚴重性調整治療頻率以及持續時間。用於投與抗-PRLR抗體的有效劑量與時間表可按經驗來決定；例如，可透過定期評估來監測患者進展，並據此調整劑量。此外，劑量的物種間標度可使用技藝中已知的方法來進行(例如Mordenti et al., 1991, Pharmaceut. Res. 8:1351)。

【0115】 已知有各種不同的遞送系統並且可用於投與本發明的醫藥組合物，例如囊封在脂質體、微粒、微膠囊、能夠表現突變病毒的重組細胞、受體媒介的胞吞作用(參見，例如Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432)。引入的方法包括，但不限於皮內、肌肉內、腹膜內、靜脈內、皮下、鼻內、硬膜上以及口服途徑。組合物可以藉由任何習知途徑來投與，例如藉由輸注或團注、藉由透過上皮或黏膜內襯(例如口腔黏膜、直腸以及小腸黏膜等)吸收，並且可以與其他生物活性劑一起投與。投藥可以是全身性或局部的。

【0116】 本發明的醫藥組合物可以使用標準注射針與注射器來皮下

或靜脈內遞送。此外，關於皮下遞送，筆型遞送裝置很容易應用於遞送本發明的醫藥組合物。這樣的一種筆型遞送裝置可以是重複使用或拋棄式。可重複使用的筆型遞送裝置通常使用含有醫藥組合物的可換式藥匣。在藥匣內的所有醫藥組合物被投藥後且藥匣空了，空的藥匣可輕易丟棄並且置換成含有醫藥組合物的新藥匣。那麼就可以重複使用筆型遞送裝置。就拋棄式筆型遞送裝置來說，沒有可換式藥匣。更確切地來說，拋棄式筆型遞送裝置在裝置的貯器內預先填充醫藥組合物供選購。在貯器沒有醫藥組合物後，整個裝置就被丟棄。

【0117】 許多可重複使用的筆型以及自動注射遞送裝置在皮下遞送本發明之醫藥組合物方面有實用性。實例包括，但不限定於AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONIC™ pen (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25™ pen、HUMALOG™ pen、HUMALIN 70/30™ pen (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPEN™ I、II與III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD™ pen (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPEN™、OPTIPEN PRO™、OPTIPEN STARLET™ 以及 OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)，僅舉幾個為例。在皮下投遞本發明之醫藥組合物方面有實用性的拋棄式筆型遞送裝置的實例包括，但不限於SOLOSTAR™ pen (sanofi-aventis)、FLEXPEN™ (Novo Nordisk)以及KWIKPEN™ (Eli Lilly)、SURECLICK™ Autoinjector (Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN (Dey, L.P.)以及HUMIRA™ Pen (Abbott Labs, Abbott Park IL)，僅舉幾個為例。

【0118】 在某些情況下，醫藥組合物以控制釋放系統的方式被投遞。

在一個具體例中，可使用泵(參見Langer，上文； Sefton 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201)。在另一具體例中，可使用聚合材料；參見Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida。在又另一個具體例中，控制釋放系統被置放在組合物目標鄰近之處，因此僅需要全身性劑量的一部分(參見，例如Goodson, 1984，Medical Applications of Controlled Release,上文, vol. 2, pp. 115-138中)。其他控制釋放系統在Langer, 1990, Science 249:1527-1533的回顧中被討論。

【0119】 可注射製品可包括用於靜脈內、皮下、皮內及肌肉內注射、點滴輸注等的劑型。此等可注射製品可依照公知方法製備。例如，可注射製品可例如，藉由將上述抗體或其鹽溶解、懸浮或乳化於習知用於注射的無菌水性介質或油性介質中來製備。有關用於注射的水性介質，例如有生理食鹽水、含有葡萄糖與其他助劑的等張溶液等，其可與適當助溶劑(諸如醇(例如乙醇)、多元醇(例如丙二醇、聚乙二醇)、非離子性介面活性劑[例如聚山梨醇酯80、HCO-50 (氫化蓖麻油的聚氧乙烯(50 mol)加合物)]等組合使用。有關油性介質，採用例如芝麻油、大豆油等，其可與助溶劑(諸如安息酸苯甲酯、苯甲醇等)組合使用。由此製備的注射劑較佳地被填充於適當安瓿中。

【0120】 有利地，上述供口服或非經腸使用的醫藥組合物被製備為呈適於活性成分投藥之單位劑量的劑型。此等呈單位劑量之劑型包括，例如錠劑、丸劑、囊劑、注射劑(安瓿)、栓劑等。在一個單位劑量中，所含前述抗體的數量通常每劑型約5至約500 mg；尤其是呈注射型式，前述抗體就其他劑型而言較佳含有約5至約100 mg以及約10至約250 mg。

抗體的治療用途

【0121】 本發明包括方法，其包含向有需要的個體投與治療組合物，該治療組合物包含抗-PRLR抗體或抗體-藥物結合物(包含抗-PRLR抗體，含有例如本文表1中所列HCVR/LCVR或CDR序列任一者的抗-PRLR抗體或ADC)。治療組合物可包含本文揭示的抗-PRLR抗體、其抗原結合片段或ADC，以及醫藥上可接受的載劑或稀釋劑。

【0122】 本發明的抗體及ADC尤其可應用於治療、預防及/或改善任何與PRLR表現或活性相關或由PRLR表現或活性媒介，或可藉由阻斷PRLR與泌乳素交互作用，或以其他方式抑制PRLR活性及/或訊號傳遞，及/或促使受體內化及/或減少細胞表面受體數目的疾病或病症。例如，本發明抗體及ADC可用於治療表現PRLR及/或對泌乳素媒介之訊號傳遞有反應的腫瘤，例如乳房腫瘤。本發明抗體與抗原結合片段可用來治療源於下列的原發性及/或轉移性腫瘤：腦與腦膜、口咽、肺與支氣管樹、胃腸道、男性與女性生殖道、肌肉、骨、皮膚及附器、結締組織、胰臟、免疫系統、造血細胞與骨髓、肝臟與尿道，及專門感覺器官(諸如眼)。在某些具體例中，本發明抗體及ADC用來治療一或多種下列癌症：腎細胞癌、胰臟癌、頭頸癌、前列腺癌、惡性神經膠質瘤、骨肉瘤、結腸直腸癌、胃癌(例如帶有MET擴增的胃癌)、惡性間皮瘤、多發性骨髓瘤、卵巢癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、滑膜肉瘤、甲狀腺癌、乳癌或黑色素瘤。

【0123】 本發明抗-PRLR抗體亦可用於治療或預防一或多種選自於下列組成之群的疾病或病症：子宮內膜異位、子宮肌腺症、非激素性女性避孕、良性乳房疾病與乳腺痛、泌乳抑制、良性前列腺肥大、類纖維瘤、高泌乳素血症與正常泌乳素血症脫髮，以及作為抑制乳腺上皮細胞增生的一部分激素療法。

【0124】 在本文所述治療方法的上下文中，抗-PRLR抗體可以作為單

一療法(亦即作為唯一的治療劑)或與一或多種其他治療劑(本文他處所述的實例)組合投與。

【0125】 本發明包括藉由分析患者之一或多個組織(諸如腫瘤組織)中高量PRLR表現以供鑑別可使用本發明抗體或ADC治療之患者的方法。在一個相關具體例中，本發明包括用於治療特徵為高PRLR表現量之癌症的方法。例如，本發明包括治療方法，該等治療方法包含向帶有腫瘤的個體投與本發明抗-PRLR抗體或其ADC (例如本文他處所述抗-PRLR ADC任一者)，其中腫瘤經鑑別為表現高量PRLR。在某些具體例中，腫瘤經生檢樣品的免疫組織化學或其他成像技術(諸如，例如免疫-PET成像等)鑑別為表現高量PRLR。

組合療法以及調配物

【0126】 本發明包括組合物以及治療調配物，其包含本文所述抗-PRLR抗體的任一者與一或多種其他治療活性組分組合；以及包含向有需要的個體投與此組合的治療方法。

【0127】 本發明抗-PRLR抗體可與一或多種選自於下列組成之群的額外治療活性成分一起共調配及/或組合投與：EGFR拮抗劑(例如，抗-EGFR抗體[例如西妥昔單抗或帕尼單抗]或EGFR小分子抑制劑[例如吉非替尼或埃羅替尼])；另一種EGFR家族成員的抑制劑諸如Her2/ErbB2、ErbB3或ErbB4 (例如抗-ErbB2 [例如曲妥珠單抗或T-DM1 {KADCYLA®}]；抗-ErbB3或抗-ErbB4抗體或ErbB2、ErbB3或ErbB4活性的小分子抑制劑)；EGFRvIII拮抗劑 (例如特異地結合EGFRvIII的抗體)；cMET拮抗劑(例如抗-cMET抗體)；IGF1R拮抗劑(例如抗-IGF1R抗體)；B-raf抑制劑(例如威羅非尼、索拉非尼、GDC-0879、PLX-4720)；PDGFR- α 抑制劑(例如抗-PDGFR- α 抗體)、PDGFR- β 抑制劑(例如抗-PDGFR- β 抗體或小分子激酶抑制劑，諸如甲磺酸依馬替尼或

蘋果酸舒尼替尼)；PDGF配體抑制劑(例如抗-PDGF-A、-B、-C，或-D抗體、適體、siRNA等)；VEGF拮抗劑(例如VEGF-Trap，諸如阿柏西普，參見例如US 7,087,411 (在本文亦稱為”VEGF-抑制融合蛋白”)、抗-VEGF抗體(例如貝伐單抗)；VEGF受體的小分子激酶抑制劑(例如舒尼替尼、索拉非尼或帕唑帕尼))；DLL4拮抗劑(例如US 2009/0142354中揭示的抗-DLL4抗體，諸如REGN421)；Ang2拮抗劑(例如US 2011/0027286中揭示的抗-Ang2抗體，諸如H1H685P)；FOLH1拮抗劑(例如抗-FOLH1抗體)；STEAP1或STEAP2拮抗劑(例如抗-STEAP1抗體或抗-STEAP2抗體)；TMPRSS2拮抗劑(例如抗-TMPRSS2抗體)；MSLN拮抗劑(例如抗-MSLN抗體)；CA9拮抗劑(例如抗-CA9抗體)；尿溶蛋白拮抗劑(例如抗-尿溶蛋白[例如抗-UPK3A]抗體)；MUC16拮抗劑(例如抗-MUC16抗體)；Tn抗原拮抗劑(例如抗-Tn抗體)；CLEC12A 拮抗劑(例如抗-CLEC12A抗體)；TNFRSF17拮抗劑(例如抗-TNFRSF17抗體)；LGR5拮抗劑(例如抗-LGR5抗體)；單價CD20拮抗劑(例如單價抗-CD20抗體，諸如利妥昔單抗)等一起共調配及/或組合投與。可有利地與本發明抗體組合投與的其他藥劑包括例如他莫昔芬、芳香酶抑制劑及細胞激素抑制劑，細胞激素抑制劑包括結合至諸如IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12、IL-13、IL-17、IL-18的細胞激素或其個別受體的小分子細胞激素抑制劑與抗體。

【0128】 本發明包括包含本文所述抗-PRLR抗體任一者與一或多種化學治療劑組合的組合物及治療調配物。化學治療劑的實例包括烷化劑，諸如塞替派(thiotepa)以及環磷醯胺(cyclophosphamide)(CytosanTM)；烷基磺酸鹽，諸如白消安(busulphan)、英丙舒凡(improsulfan)與呱泊舒凡(piposulfan)；吡丙啉(aziridine)，諸如苯佐替呱(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、美妥替派(meturedopa)和烏瑞替派(uredopa)；二亞甲亞胺類

(ethylenimines)和甲基蜜胺類(methylamelamines)，包括六甲蜜胺、三亞乙基蜜胺、三亞乙基磷醯胺、三亞乙基硫代磷醯胺和三羥甲蜜胺；氮芥類，比如苯丁酸氮芥、蔡氮芥、氮環磷醯胺、雌氮芥、異環磷醯胺、甲基二氯乙基胺、甲基二氯乙基胺氧化物鹽酸鹽、美法侖(melphalan)、新恩比興(novembichin)、苯芥膽甾醇(phenesterine)、潑尼莫司汀、氯乙環磷醯胺、尿嘧啶氮芥；硝基脲類(nitrosureas)，諸如卡莫司汀(carmustine)、氯尿菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimustine)；抗生素，卡奇黴素(calicheamicin)、放線菌素、嗜癌菌素、色黴素、博來黴素、放線菌素C (cactinomycin)、卡奇黴素、卡柔比星、洋紅黴素、嗜癌菌素、色黴素、放線菌素D、道諾黴素、地托比星、6-二氮雜-5-側氧基-L-正亮胺酸、阿黴素、表阿黴素、依索比星、依達比星、麻西羅黴素、絲裂黴素、黴酚酸、諾加黴素、橄欖黴素、培洛黴素、泊非黴素、嘌呤黴素、三鐵阿黴素、羅多比星、鏈黑菌素、鏈脲黴素、殺結核菌素、烏苯美司、淨司他丁、佐柔比星；抗代謝物，諸如甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如二甲葉酸、甲氨蝶呤、蝶羅呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱、6-巰基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鳥嘌呤；嘧啶類似物，諸如安西他濱、阿紮胞苷、6-氮尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、雙去氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷、依諾他濱、氟尿苷；雄激素，比如卡魯甾酮、屈他雄酮丙酸鹽、環硫雄醇、美雄酮、甾內酯；抗腎上腺類(anti-adrenals)，諸如胺魯米特、米托坦、曲洛司坦；葉酸補充劑，諸如醛葉酸(folinic acid)；醋葡醛內酯；醛磷醯胺糖苷；胺基乙醯丙酸；安吡啶；貝塔布希(bestrabucil)；比生群；依達曲沙(edatraxate)；磷胺氮芥(defofamine)；地美可辛；地吡醌；依氟鳥胺酸；依利醋鉍；依托格魯；硝酸鎂；羥基脲；香菇多糖；氯尼達明；米托胍脲；

米托蒽醌；莫哌達醇；二胺硝吡啶；噴司他丁；苯丙氨酸；批柔比星；鬼臼酸；2-乙肼；丙卡巴肼；PSKTM；雷佐生；西佐糖；鍺螺胺；細交鏈孢菌酮酸；三亞胺醌；2,2',2''-三氯三乙胺；烏拉坦(urethan)；長春地辛(vindesine)；達卡巴仁(dacarbazine)；甘露醇氮芥(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；gacytosine；阿拉伯糖苷(arabinoside)("Ara-C")；環磷醯胺；塞替派(thiotepa)；紫杉醇，例如太平洋紫杉醇(TAXOLTM, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)與多西紫杉醇(TAXOTERETM; Aventis Antony, France)；氯芥苯丁酸(chlorambucil)；吉西他濱(gemcitabine)；6-硫鳥嘌呤(6-thioguanine)；巯基嘌呤(mercaptopurine)；甲氨蝶呤(methotrexate)；鉑類似物，諸如順鉑與卡鉑；長春花鹼(vinblastine)；鉑；依托泊苷(etoposide) (VP-16)；異環磷醯胺(ifosfamide)；絲裂黴素C (mitomycin C)；雙羥恩(mitoxantrone)；長春新鹼(vincristine)；長春瑞濱(vinorelbine)；維諾本(navelbine)；諾尚林(novantrone)；坦尼坡賽(teniposide)；道諾黴素(daunomycin)；胺蝶呤(aminopterin)；截瘤達(xeloda)；伊班膦酸(ibandronate)；CPT-11；拓樸異構酶抑制劑RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；維甲酸(retinoic acid)；埃斯培拉黴素(esperamicin)；卡培他濱(capecitabine)；及上述任一者的醫藥上可接受之鹽、酸或衍生物。調節或抑制激素對腫瘤作用的抗激素藥劑亦含括在這個定義中，諸如抗雌激素，包括例如他莫昔芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、抑制芳香酶的4(5)-咪唑、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、奇洛昔芬(keoxifene)、LY 117018、奧那司酮(onapristone)與托瑞米芬(toremifene)(Fareston)；以及抗雄激素，諸如氟他胺(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)、比魯卡胺(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)與戈舍瑞林(goserelin)；及上述任一者之醫藥上可接受之鹽、酸或衍生物。

【0129】 本發明抗-PRLR抗體亦可與抗病毒劑、抗生素、止痛劑、皮質類固醇、類固醇、氧氣、抗氧化劑、COX抑制劑、心臟保護劑、金屬螯合劑、IFN- γ ，及/或NSAID組合投與及/或共調配。

【0130】 其他治療有效成分(例如上文所列藥劑任一者或其衍生物)可正好在本發明抗-PRLR抗體投與之前、同時或之後不久被投與；(為本揭示內容之目的，此等投與方案被認為是與額外治療活性成分”組合”投與抗-PRLR抗體)。本發明包括醫藥組合物，其中本發明抗-PRLR抗體與本文他處所述一或多種其他治療活性成分共調配。

投與方案

【0131】 依據本發明的某些具體例，多劑量的抗-PRLR抗體(或包含抗-PRLR抗體與本文所提額外治療活性劑任一者組合的醫藥組合物)可在一段限定時間裡被投與給個體。依據本發明此態樣的方法包含依序將多劑量的本發明抗-PRLR抗體投與給個體。如本文所用，”依序投與”表示各劑量的抗-PRLR抗體在不同時間點被投與給個體，例如在由預定間隔(例如數小時、數天、數週或數月)所分開的不同天。本發明包括含有將單一起始劑量的抗-PRLR抗體，接而為一或多個第二劑量的抗-PRLR抗體，以及視情況一或多個第三劑量的抗-PRLR抗體依序投與給患者。

【0132】 術語”起始劑量”、”第二劑量”及”第三劑量”意指投與本發明抗-PRLR抗體的時間順序。因此，”起始劑量”是在治療方案開始時被投與的劑量(亦意指為”基線劑量”)；”第二劑量”為在起始劑量之後被投與的劑量；而”第三劑量”為在第二劑量之後被投與的劑量。起始劑量、第二劑量與第三劑量可全都含有相同數量的抗-PRLR抗體，但通常會在投與頻率有所不同。但是，在某些具體例中，起始劑量、第二劑量及/或第三劑量中所含有的抗-PRLR抗體數量將會在治療期間彼此改變(例如調高或調低，若需要的話)。

在某些具體例中，兩個或更多個(例如，2、3、4或5個)劑量在治療方案開始時作為”加載劑量”被投與，然後後續劑量以較不頻繁的方式被投與(例如”維持劑量”)。

【0133】 在本發明的某些例示性具體例中，各第二劑量及/或第三劑量在緊接先前劑量之後1至26週(例如1、1½、2、2½、3、3½、4、4½、5、5½、6、6½、7、7½、8、8½、9、9½、10、10½、11、11½、12、12½、13、13½、14、14½、15、15½、16、16½、17、17½、18、18½、19、19½、20、20½、21、21½、22、22½、23、23½、24、24½、25、25½、26、26½週或更久)被投與。用語”緊接先前劑量”，如本文所用，表示以多次投與的順序，抗-PRLR抗體的劑量就順序而言在下一個劑量投與之前沒有任何插入的劑量被投與給患者。

【0134】 依據本發明此態樣的方法可含有將任一數目的第二劑量及/或第三劑量抗-PRLR抗體投與給患者。例如，在某些具體例中，僅有單一第二劑量被投與給患者。在其他具體例中，兩個或更多個(例如，2、3、4、5、6、7、8個或更多)第二劑量被投與給患者。同樣地，在某些具體例中，僅有單一第三劑量被投與給患者。在其他具體例中，兩個或更多個(例如，2、3、4、5、6、7、8個或更多)第三劑量被投與給患者。投與方案可以在特定個體的壽命期間不固定地被投與，或直到此方案在治療上不再需要或不再有益。

【0135】 在涉及多個第二劑量的具體例中，各第二劑量可以與其他第二劑量相同的頻率被投與。例如，各第二劑量可在緊接先前劑量之後1至2週或1至2個月被投與給患者。同樣地，在涉及多個第三劑量的具體例中，各第三劑量可以與其他第三劑量相同的頻率被投與。例如，各第三劑量可在緊接先前劑量之後2至12週被投與給患者。在本發明的某些具體例中，第

二劑量及/或第三劑量投與給患者的頻率可能隨著治療方案過程而改變。投與頻率也可在治療過程期間由臨床醫師依據個別患者的需要遵循臨床檢驗來予以調整。

【0136】 本發明包括投藥方案，其中以第一頻率(例如一週一次、每兩週一次、每三週一次、一個月一次、每兩個月一次等)對患者投與2至6個加載劑量，接著以較低的頻率對患者投與兩個或更多個維持劑量。例如，依據本發明此態樣，若加載劑量以一個月一次的頻率投與，則每六週一次、每兩個月一次、每三個月一次等對患者投與維持劑量。

抗體的診斷用途

【0137】 本發明的抗-PRLR抗體也可以用來偵測及/或測量樣品中的PRLR或表現PRLR的細胞，例如供診斷之用。舉例而言，抗-PRLR抗體或其片段可以用來診斷特徵在於PRLR異常表現(例如表現過度、表現不足、表現缺乏等)的病況或疾病。有關PRLR的例示性診斷分析可包含，例如使得自於患者的樣品與本發明抗-PRLR抗體接觸，其中抗-PRLR抗體標定有可偵測標誌或報導分子。或者，未標定的抗-PRLR抗體可以組合本身可被偵測到之經標定二級抗體一起使用於診斷應用。可偵測到的標誌或報導分子可以是放射性同位素，諸如³H、¹⁴C、³²P、³⁵S或¹²⁵I；螢光或化學發光部分，諸如螢光素或玫瑰紅；或諸如鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、辣根過氧化酶，或螢光素酶的酵素。可用來偵測或測量樣品中的PRLR的特定例示性分析包括酵素連結免疫分析法(ELISA)、放射免疫測定法(RIA)、免疫-PET (例如⁸⁹Zr、⁶⁴Cu等)以及螢光-活化細胞分選(FACS)。

【0138】 依據本發明之PRLR診斷分析中可使用的樣品包括任何可得自於患者的組織或液體樣品，其在正常或病理狀態下含有可偵測數量的PRLR蛋白或其片段。一般而言，在得自於健康患者(例如未罹患與異常PRLR

含量或活性相關之疾病或病狀的患者)的特定樣品中，測量PRLR含量為初始建立基線，或標準含量的PRLR。繼而，這個基線含量的PRLR可與得自於懷疑患有PRLR相關疾病或病狀之個體的樣品中測量之PRLR含量相比較。

實例

【0139】 提出下列實例俾以將如何製造與使用本發明方法和組合物之完整揭示內容以及說明提供給技藝中具有通常技術者，且不欲限制發明人就其發明所視為的範疇。已盡力確保所用數字(例如數量、溫度等)的正確性，但可能產生某些實驗誤差與偏差。除非另有指明，否則份為重量份，分子量為平均分子量，溫度為攝氏度，而壓力為大氣壓或近乎大氣壓。

實例1. 製造抗-PRLR的人類抗體

【0140】 藉由使用包含人類PRLR之可溶性二聚體細胞外域的免疫原免疫VELOCIMMUNE®小鼠而得到抗-PRLR抗體，VELOCIMMUNE®小鼠為包含編碼人類免疫球蛋白重鏈與κ輕鏈可變區的DNA的經改造小鼠。藉由PRLR-特異性免疫分析監控抗體免疫反應。當達到所欲的免疫反應時，收取脾臟細胞並且與小鼠骨髓瘤細胞融合以維持其存活率並形成融合瘤細胞株。篩選並挑選融合瘤細胞株而鑑定出會生產PRLR特異性抗體的細胞株。使用此技術，獲得數種抗-PRLR嵌合抗體(亦即具有人類可變域及小鼠恆定域的抗體)。此外，如U.S. 2007/0280945A1中所述，在不融合至骨髓瘤細胞的情況下直接由抗原-陽性B細胞分離出數個完全人類抗-PRLR抗體。

【0141】 依據本實例方法所產生的例示性抗-PRLR抗體的某些生物特性詳細描述於下面實例中。

實例2. 重鏈與輕鏈可變區胺基酸序列及核酸序列

【0142】 表1列示本發明所選抗-PRLR抗體的重鏈與輕鏈可變區及CDR的胺基酸序列識別符號。表2中列示對應核酸序列識別符號。

表1：胺基酸序列識別符號

抗體命名	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H6762P	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H6765P	18	20	22	24	26	28	30	32
H1H6774P	34	36	38	40	42	44	46	48
H1H6781P	50	52	54	56	58	60	62	64
H1H6782P	66	68	70	72	74	76	78	80
H1H6783P	82	84	86	88	90	92	94	96
H1H6785P	98	100	102	104	106	108	110	112
H1H6790P	114	116	118	120	122	124	126	128
H1H6792P	130	132	134	136	138	140	142	144
H1H6793P	146	148	150	152	154	156	158	160
H1H6795P	162	164	166	168	170	172	174	176
H1H6797P	178	180	182	184	186	188	190	192
H1H6800P	194	196	198	200	202	204	206	208
H1H6801P	210	212	214	216	218	220	222	224
H1H6803P	226	228	230	232	234	236	238	240
H1H6804P	242	244	246	248	250	252	254	256
H1H6807P	258	260	262	264	266	268	270	272
H1M6953N	274	276	278	280	282	284	286	288
H2M6958N2	290	292	294	296	298	300	302	304
H2M6959N2	306	308	310	312	314	316	318	320
H2M6960N	322	324	326	328	330	332	334	336
H2M6966N	338	340	342	344	346	348	350	352
H2M6967N	354	356	358	360	362	364	366	368
H2M6975N	370	372	374	376	378	380	382	384
H2M6976N	386	388	390	392	394	396	398	400

表2：核酸序列識別符號

抗體命名	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H6762P	1	3	5	7	9	11	13	15
H1H6765P	17	19	21	23	25	27	29	31
H1H6774P	33	35	37	39	41	43	45	47
H1H6781P	49	51	53	55	57	59	61	63
H1H6782P	65	67	69	71	73	75	77	79
H1H6783P	81	83	85	87	89	91	93	95
H1H6785P	97	99	101	103	105	107	109	111
H1H6790P	113	115	117	119	121	123	125	127
H1H6792P	129	131	133	135	137	139	141	143
H1H6793P	145	147	149	151	153	155	157	159
H1H6795P	161	163	165	167	169	171	173	175
H1H6797P	177	179	181	183	185	187	189	191
H1H6800P	193	195	197	199	201	203	205	207
H1H6801P	209	211	213	215	217	219	221	223
H1H6803P	225	227	229	231	233	235	237	239
H1H6804P	241	243	245	247	249	251	253	255
H1H6807P	257	259	261	263	265	267	269	271
H1M6953N	273	275	277	279	281	283	285	287
H2M6958N2	289	291	293	295	297	299	301	303
H2M6959N2	305	307	309	311	313	315	317	319
H2M6960N	321	323	325	327	329	331	333	335
H2M6966N	337	339	341	343	345	347	349	351
H2M6967N	353	355	357	359	361	363	365	367
H2M6975N	369	371	373	375	377	379	381	383
H2M6976N	385	387	389	391	393	395	397	399

【0143】 如表1及表2中所示，抗體在本文中通常依據下列命名法來指稱：Fc前綴(例如”H1H”、”H1M”、”H2M”等)，接著是數字識別符號(例如”6762”、”6953”、”6958”等)，然後為”P”或”N”字尾。因此，依據這個命名法，抗體在本文可指稱為例如”H1H6762P”、”H1M6953N”、”H2M6958N”等。本文中所用抗體命名的H1H、H1M及H2M前綴表示抗體的特定Fc區同型。例如，”H1H”抗體具有人類IgG1 Fc，”H1M”抗體具有小鼠IgG1 Fc，而”H2M”抗體具有小鼠IgG2 Fc (所有可變區為完全人類，如抗體命名中第一個”H”所表示)。如同技藝中具有通常技術者所理解，具有特定Fc同型的抗體可轉換成帶有不同Fc同型的抗體(例如，帶有小鼠IgG1 Fc的抗體可轉換成

帶有人類IgG4的抗體等)，但在任何情況下，可變域(包括CDR)-由表1及表2中所示數字識別符號所指-維持相同，且預期結合特性相同或實質相似而不論Fc域的本質為何。

下列實例中使用的對照建構物

【0144】 對照建構物被納入下列實驗以供比對：對照I：具有重鏈及輕鏈可變域的人類抗-PRLR抗體，具有如WO2008/02295A2中所列”he.06.642-2”對應結構域的胺基酸序列；以及對照II：具有重鏈及輕鏈可變域的人類抗-ErbB2抗體，具有如Carter et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285-4289中所列”4D5v8”對應結構域的胺基酸序列。

實例3. 人類單株抗-PRLR抗體的表面電漿共振衍生的結合親和力與動力學常數

【0145】 在25°C與37°C下藉由表面電漿共振測定人類單株抗-PRLR抗體的結合親和力與動力學常數。表示為人類IgG1 Fc (亦即”H1H”命名)的抗體被捕獲在抗人類-Fc感測器表面(mab捕獲形式)上，而可溶性單體(hPRLR.mmh；SEQ ID NO：401或食蟹獼猴(mf) PRLR.mmh；SEQ ID NO：403)或二聚體(hPRLR.mFc；SEQ ID NO：402) PRLR蛋白被注射通過感測器表面。在T200 Biacore儀器上進行測量。動力學締合(k_a)與解離(k_d)速率常數是藉由使用Scrubber 2.0曲線擬合軟體處理並將數據擬合至1：1結合模型而被確定。如下由動力學速率常數計算結合解離平衡常數(K_D)與解離半衰期($t_{1/2}$)： $K_D (M) = k_d / k_a$ ；且 $t_{1/2} (min) = (\ln 2 / (60 * k_d))$ 。結果歸納於表3及表4中。

表3：人類Fc mAb在25°C下的Biacore結合親和力

在 25°C 下的結合/抗體-捕獲形式					
抗體	分析物	k_a ($M s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (莫耳濃度)	$T_{1/2}$ (min)
H1H6953N	hPRLR.mmh	7.92E+05	2.12E-04	2.68E-10	54.5
	hPRLR.mFc	7.11E+05	4.77E-05	6.70E-11	242.2
	mfPRLR.mmh	7.27E+05	3.19E-04	4.38E-10	36.3
H1H6958N2	hPRLR.mmh	2.33E+05	2.72E-04	1.17E-09	42.5
	hPRLR.mFc	4.22E+05	3.66E-05	8.67E-11	315.8
	mfPRLR.mmh	1.95E+05	2.80E-04	1.44E-09	41.3
H1H6959N2	hPRLR.mmh	1.79E+05	3.60E-02	2.02E-07	0.3
	hPRLR.mFc	3.59E+05	5.18E-04	1.45E-09	22.3
	mfPRLR.mmh	1.29E+05	1.67E-02	1.29E-07	0.7
H1H6960N	hPRLR.mmh	1.08E+05	7.29E-04	6.74E-09	15.8
	hPRLR.mFc	2.52E+05	3.56E-05	1.41E-10	324.4
	mfPRLR.mmh	9.40E+04	5.83E-04	6.20E-09	19.8
H1H6966N	hPRLR.mmh	8.52E+05	2.57E-04	3.02E-10	44.9
	hPRLR.mFc	9.31E+05	4.08E-05	4.39E-11	282.9
	mfPRLR.mmh	7.82E+05	3.25E-04	4.16E-10	35.6
H1H6967N	hPRLR.mmh	2.46E+05	3.32E-04	1.35E-09	34.8
	hPRLR.mFc	4.07E+05	4.45E-05	1.10E-10	259.3
	mfPRLR.mmh	1.90E+05	5.85E-04	3.08E-09	19.7
H1H6975N	hPRLR.mmh	1.50E+05	7.35E-05	4.90E-10	157.1
	hPRLR.mFc	2.87E+05	1.97E-05	6.84E-11	587.8
	mfPRLR.mmh	1.15E+05	1.31E-04	1.14E-09	88.2
H1H6976N	hPRLR.mmh	5.44E+05	8.64E-04	1.59E-09	13.4
	hPRLR.mFc	1.12E+06	1.01E-04	9.06E-11	114.4
	mfPRLR.mmh	4.66E+05	8.14E-04	1.75E-09	14.2
H1H6762P	hPRLR.mmh	6.92E+05	1.79E-04	2.59E-10	64
	hPRLR.mFc	6.51E+05	6.45E-05	9.92E-11	179
	mfPRLR.mmh	4.08E+05	2.08E-04	5.11E-10	55
H1H6765P	hPRLR.mmh	9.07E+05	1.13E-04	1.24E-10	102
	hPRLR.mFc	8.69E+05	3.41E-05	3.92E-11	339
	mfPRLR.mmh	5.27E+05	1.34E-04	2.54E-10	86
H1H6774P	hPRLR.mmh	7.15E+05	8.18E-04	1.14E-09	14
	hPRLR.mFc	7.98E+05	8.94E-05	1.12E-10	129
	mfPRLR.mmh	4.95E+05	8.75E-04	1.77E-09	13
H1H6781P	hPRLR.mmh	2.08E+05	1.27E-04	6.10E-10	91
	hPRLR.mFc	2.57E+05	6.05E-05	2.36E-10	191
	mfPRLR.mmh	1.43E+05	1.41E-04	9.86E-10	82
H1H6782P	hPRLR.mmh	3.60E+05	2.47E-04	6.85E-10	47

	hPRLR.mFc	3.17E+05	7.13E-05	2.25E-10	162
	mfPRLR.mmh	2.66E+05	2.79E-04	1.05E-09	41
H1H6783P	hPRLR.mmh	2.88E+05	4.13E-04	1.43E-09	28
	hPRLR.mFc	2.64E+05	8.77E-05	3.32E-10	132
	mfPRLR.mmh	1.89E+05	3.41E-04	1.81E-09	34
H1H6785P	hPRLR.mmh	3.01E+05	1.71E-04	5.67E-10	68
	hPRLR.mFc	2.63E+05	6.07E-05	2.31E-10	190
	mfPRLR.mmh	2.27E+05	1.67E-04	7.38E-10	69
H1H6790P	hPRLR.mmh	5.65E+05	7.99E-04	1.41E-09	14
	hPRLR.mFc	5.42E+05	1.04E-04	1.92E-10	111
	mfPRLR.mmh	3.89E+05	7.93E-04	2.04E-09	15
H1H6792P	hPRLR.mmh	3.24E+05	7.94E-04	2.45E-09	15
	hPRLR.mFc	3.03E+05	9.48E-05	3.13E-10	122
	mfPRLR.mmh	2.36E+05	9.83E-04	4.17E-09	12
H1H6793P	hPRLR.mmh	2.35E+05	3.32E-04	1.41E-09	35
	hPRLR.mFc	2.29E+05	7.57E-05	3.31E-10	153
	mfPRLR.mmh	1.77E+05	3.93E-04	2.22E-09	29
H1H6795P	hPRLR.mmh	1.17E+06	1.77E-03	1.52E-09	7
	hPRLR.mFc	1.54E+06	8.41E-05	5.45E-11	137
	mfPRLR.mmh	8.44E+05	1.97E-03	2.33E-09	6
H1H6797P	hPRLR.mmh	1.13E+06	1.96E-03	1.73E-09	6
	hPRLR.mFc	9.82E+05	1.19E-04	1.22E-10	97
	mfPRLR.mmh	6.70E+05	2.09E-03	3.12E-09	6
H1H6800P	hPRLR.mmh	4.21E+05	4.09E-04	9.72E-10	28
	hPRLR.mFc	4.73E+05	8.69E-05	1.84E-10	133
	mfPRLR.mmh	3.03E+05	3.80E-04	1.25E-09	30
H1H6801P	hPRLR.mmh	8.46E+05	7.56E-04	8.94E-10	15
	hPRLR.mFc	6.75E+05	1.09E-04	1.61E-10	106
	mfPRLR.mmh	6.57E+05	1.23E-03	1.88E-09	9
H1H6803P	hPRLR.mmh	8.24E+04	1.37E-04	1.67E-09	84
	hPRLR.mFc	1.04E+05	6.29E-05	6.07E-10	184
	mfPRLR.mmh	6.21E+04	2.09E-04	3.37E-09	55
H1H6804P	hPRLR.mmh	4.53E+05	6.34E-04	1.40E-09	18
	hPRLR.mFc	4.51E+05	8.69E-05	1.93E-10	133
	mfPRLR.mmh	3.31E+05	6.57E-04	1.99E-09	18
H1H6807P	hPRLR.mmh	7.61E+05	1.44E-04	1.89E-10	80
	hPRLR.mFc	6.80E+05	5.46E-05	8.03E-11	212
	mfPRLR.mmh	4.37E+05	1.51E-04	3.46E-10	76
對照 I	hPRLR.mmh	5.11E+05	7.44E-04	1.46E-09	15.5
	hPRLR.mFc	4.72E+05	7.53E-05	1.59E-10	153.5
	mfPRLR.mmh	2.38E+05	6.14E-03	2.59E-08	1.9

NB=在所用條件下觀察到無結合

表4：人類Fc mAb在37°C下的Biacore結合親和力

在 37°C 下的結合/抗體-捕獲形式					
抗體	分析物	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (莫耳濃度)	$T_{1/2}$ (min)
H1H6953N	hPRLR.mmh	1.10E+06	1.22E-03	1.11E-09	9.4
	hPRLR.mFc	1.47E+06	1.70E-04	1.16E-10	68.0
	mfPRLR.mmh	9.47E+05	2.56E-03	2.71E-09	4.5
H1H6958N2	hPRLR.mmh	4.13E+05	1.31E-03	3.16E-09	8.8
	hPRLR.mFc	8.29E+05	1.39E-04	1.67E-10	83.3
	mfPRLR.mmh	3.28E+05	1.34E-03	4.08E-09	8.6
H1H6959N2	hPRLR.mmh	4.06E+04	2.77E-02	6.81E-07	0.4
	hPRLR.mFc	5.09E+05	2.30E-03	4.51E-09	5.0
	mfPRLR.mmh	4.46E+04	1.65E-02	3.70E-07	0.7
H1H6960N	hPRLR.mmh	1.22E+05	1.98E-03	1.62E-08	5.8
	hPRLR.mFc	2.94E+05	1.47E-04	5.00E-10	78.7
	mfPRLR.mmh	8.64E+04	1.28E-03	1.49E-08	9.0
H1H6966N	hPRLR.mmh	1.58E+06	9.60E-04	6.07E-10	12.0
	hPRLR.mFc	1.88E+06	1.27E-04	6.72E-11	91.3
	mfPRLR.mmh	1.22E+06	1.20E-03	9.82E-10	9.6
H1H6967N	hPRLR.mmh	4.24E+05	9.33E-04	2.20E-09	12.4
	hPRLR.mFc	9.07E+05	9.73E-05	1.07E-10	118.8
	mfPRLR.mmh	3.56E+05	1.62E-03	4.54E-09	7.1
H1H6975N	hPRLR.mmh	2.11E+05	2.73E-04	1.29E-09	42.3
	hPRLR.mFc	3.86E+05	7.09E-05	1.84E-10	163.0
	mfPRLR.mmh	1.40E+05	3.17E-04	2.27E-09	36.4
H1H6976N	hPRLR.mmh	7.77E+05	3.14E-03	4.04E-09	3.7
	hPRLR.mFc	1.37E+06	1.40E-04	1.02E-10	82.6
	mfPRLR.mmh	6.03E+05	3.16E-03	5.24E-09	3.7
H1H6762P	hPRLR.mmh	9.48E+05	4.55E-04	4.80E-10	25
	hPRLR.mFc	8.01E+05	1.03E-04	1.28E-10	112
	mfPRLR.mmh	6.79E+05	5.58E-04	8.23E-10	21
H1H6765P	hPRLR.mmh	1.25E+06	3.66E-04	2.92E-10	32
	hPRLR.mFc	8.01E+05	1.03E-04	1.28E-10	112
	mfPRLR.mmh	1.06E+06	5.37E-05	5.04E-11	215
H1H6774P	hPRLR.mmh	1.07E+06	3.17E-03	2.95E-09	4
	hPRLR.mFc	1.41E+06	1.94E-04	1.38E-10	60
	mfPRLR.mmh	7.23E+05	3.61E-03	5.00E-09	3
H1H6781P	hPRLR.mmh	3.39E+05	3.09E-04	9.10E-10	37
	hPRLR.mFc	4.36E+05	9.84E-05	2.26E-10	117
	mfPRLR.mmh	2.47E+05	2.67E-04	1.08E-09	43
H1H6782P	hPRLR.mmh	5.57E+05	7.16E-04	1.28E-09	16

	hPRLR.mFc	5.98E+05	1.30E-04	2.17E-10	89
	mfPRLR.mmh	3.85E+05	7.67E-04	1.99E-09	15
H1H6783P	hPRLR.mmh	4.11E+05	1.61E-03	3.91E-09	7
	hPRLR.mFc	4.91E+05	1.38E-04	2.82E-10	83
	mfPRLR.mmh	2.73E+05	1.30E-03	4.74E-09	9
H1H6785P	hPRLR.mmh	4.26E+05	4.84E-04	1.14E-09	24
	hPRLR.mFc	4.56E+05	1.17E-04	2.56E-10	99
	mfPRLR.mmh	2.97E+05	4.50E-04	1.52E-09	26
H1H6790P	hPRLR.mmh	9.40E+05	3.29E-03	3.50E-09	4
	hPRLR.mFc	6.46E+05	1.98E-04	3.06E-10	58
	mfPRLR.mmh	6.15E+05	3.21E-03	5.22E-09	4
H1H6792P	hPRLR.mmh	4.35E+05	2.29E-03	5.27E-09	5
	hPRLR.mFc	4.99E+05	1.76E-04	3.52E-10	66
	mfPRLR.mmh	3.05E+05	2.86E-03	9.37E-09	4
H1H6793P	hPRLR.mmh	3.39E+05	1.02E-03	3.02E-09	11
	hPRLR.mFc	4.10E+05	1.42E-04	3.47E-10	81
	mfPRLR.mmh	2.33E+05	1.07E-03	4.59E-09	11
H1H6795P	hPRLR.mmh	1.36E+06	5.20E-03	3.81E-09	2
	hPRLR.mFc	1.94E+06	7.77E-05	4.02E-11	149
	mfPRLR.mmh	9.73E+05	5.99E-03	6.16E-09	2
H1H6797P	hPRLR.mmh	1.29E+06	8.22E-03	6.37E-09	1
	hPRLR.mFc	1.80E+06	1.25E-04	6.91E-11	93
	mfPRLR.mmh	9.14E+05	9.06E-03	9.90E-09	1
H1H6800P	hPRLR.mmh	8.08E+05	1.19E-03	1.47E-09	10
	hPRLR.mFc	6.44E+05	1.47E-04	2.29E-10	79
	mfPRLR.mmh	4.39E+05	1.09E-03	2.48E-09	11
H1H6801P	hPRLR.mmh	9.51E+05	4.41E-03	4.63E-09	3
	hPRLR.mFc	7.93E+05	2.21E-04	2.79E-10	52
	mfPRLR.mmh	7.11E+05	7.71E-03	1.08E-08	1
H1H6803P	hPRLR.mmh	1.29E+05	3.64E-04	2.83E-09	32
	hPRLR.mFc	1.34E+05	6.20E-05	4.61E-10	186
	mfPRLR.mmh	8.73E+04	6.36E-04	7.28E-09	18
H1H6804P	hPRLR.mmh	6.07E+05	3.85E-03	6.34E-09	3
	hPRLR.mFc	5.54E+05	2.05E-04	3.69E-10	56
	mfPRLR.mmh	4.55E+05	4.26E-03	9.35E-09	3
H1H6807P	hPRLR.mmh	1.08E+06	3.36E-04	3.10E-10	34
	hPRLR.mFc	1.22E+06	1.10E-04	9.00E-11	105
	mfPRLR.mmh	8.02E+05	3.59E-04	4.48E-10	32
對照 I	hPRLR.mmh	5.99E+05	2.42E-03	4.04E-09	4.8
	hPRLR.mFc	8.47E+05	2.14E-04	2.53E-10	54.0
	mfPRLR.mmh	1.53E+05	1.54E-02	1.01E-07	0.8

NB=在所用條件下觀察到無結合

【0146】 如表3及表4中所示，本發明數個抗體對人類與猴PRLR蛋白展現出低於奈米莫耳濃度的親和力並且表現較比較物抗-PRLR抗體(對照I)還高的親和力。例如，在37°C下，本發明抗-PRLR抗體中的許多個以少於4 nM的 K_D 值與大於5分鐘的 $T_{1/2}$ 時間結合至單體人類PRLR；並以少於250 pM的 K_D 值與大於60分鐘的 $T_{1/2}$ 時間結合至二聚體人類PRLR。這些結合特徵比在相同實驗條件下使用對照I抗體觀察到者實質上更好。

實例4A. 抗-PRLR抗體結合至內源性及過度表現的PRLR的細胞株

【0147】 接著測定抗-PRLR抗體選擇性結合PRLR表現細胞株的能力。經由Lipofectamine 2000媒介的轉染方法學，將帶有HA標記的人類、猴食蟹獼猴以及小鼠PRLR建構物穩定地引入HEK293細胞。在添加G418的完全生長培養基中篩選出轉染株(HEK293/hPRLR、HEK293/mfPRLR及HEK293/mPRLR)歷時至少2週。

【0148】 經由FACS分析評估在293/hPRLR細胞上的PRLR細胞表面表現。簡言之，在冰上於抗體稀釋緩衝液中將 1×10^5 個細胞與10 $\mu\text{g/ml}$ 對照抗體I或同型對照一起培育歷時30分鐘。在以抗體稀釋緩衝液洗滌兩次後，在冰上將細胞與10 $\mu\text{g/ml}$ 經PE接合之抗人類二級抗體一起培育歷時30分鐘。在又洗滌兩次後，在Hypercyt®細胞計數器上運行樣品並在ForeCyt™ (IntelliCyt, Albuquerque, NM)中分析。平均螢光強度(MFI)表示為超過同型對照位準(對照)的倍數變化。FACS結合證實，對照I選擇性地結合至293/hPRLR表現細胞，其中MFI超出背景(同型對照)位準30倍且比親代細胞少2倍結合。

【0149】 亦對過度表現T47D、MCF7及MCF7/hPRLR的細胞株定量測定PRLR的細胞表面副本數。簡言之，在冰上於抗體稀釋緩衝液中將 1×10^5 個細胞與100 nM抗-PRLR抗體H1H6953N-Alexa647一起培育歷時30分鐘。在以抗體稀釋緩衝液洗滌兩次後，在Hypercyt®細胞計數器(IntelliCyt,

Albuquerque, NM)上運行樣品並在ForeCyt™ (IntelliCyt, Albuquerque, NM)中測定平均螢光強度(MFI)。各個細胞株的MFI接著經由Quantum Alexa Fluor 647 MESF套組依據製造商說明書(Bangs Laboratories, Inc, Fishers, IN)被轉換成具有相等可溶性螢光的 Alexa647 分子 (MESF)。每個 H1H6953N-A647蛋白的螢光團平均數目(F/P比)是經由簡易細胞抗-人類IgG套組 (Simply Cellular anti-Human IgG kit) 依據製造商說明書 (Bangs Laboratories, Inc, Fishers, IN)來測定。將MESF值除以F/P比以測定PRLR細胞表面副本數或對各細胞株的H1H6953N抗原結合力。使用這個方法，測定PRLR在不同細胞株上的大略細胞表面副本數如下：T47D = 27,000；MCF7 = 3,000；以及MCF7/hPRLR = 190,000。

【0150】 然後，經由FACS測試本發明抗-PRLR抗體對經改造之過度表現PRLR的HEK293細胞株，以及對不表現的HEK293細胞以及天然PRLR表現細胞株(T47D)的選擇性結合。結果顯示於表5中。

表5：抗-PRLR抗體的FACS細胞表面結合

抗體	FACS 細胞結合(超過背景的倍數)				
	HEK293	HEK293/hPRLR	HEK293/mfPRLR	HEK293/mPRLR	T47D
未染色	1	1	1	1	1
僅二級	1	1	1	1	1
對照 I	1	31	13	7	30
*H1H6762P	1	36	26	2	38
*H1H6765P	2	38	27	1	40
H1H6774P	1	1	29	1	39
*H1H6781P	1	37	26	1	40
H1H6782P	3	41	32	4	43
*H1H6783P	1	37	27	1	38
*H1H6785P	1	37	26	2	40
*H1H6790P	1	37	24	1	34
*H1H6792P	1	37	28	3	37
H1H6793P	2	2	32	2	43
H1H6795P	1	1	22	1	34
H1H6797P	1	1	25	2	38

*H1H6800P	1	35	29	1	41
H1H6801P	7	47	88	56	45
*H1H6803P	1	39	28	1	39
H1H6804P	1	1	29	1	34
*H1H6807P	2	32	27	2	34
*H1H6953N	2	37	29	2	40
*H1H6958N2	1	35	30	1	37
H1H6959N2	1	6	11	2	9
*H1H6960N	1	29	23	1	33
*H1H6966N	1	29	18	1	31
*H1H6967N	1	38	28	2	41
*H1H6975N	1	38	29	1	46
H1H6976N	1	8	29	1	37
同型對照 I	1	1	1	1	NA
同型對照 II	1	1	NA	NA	1

*表示對HEK293/hPRLR、HEK293/mfPRLR以及T47D具有特異性結合且對HEK293親代細胞少於2倍結合的抗體。

【0151】 如表5中所示，大多數抗-人類PRLR抗體以超過背景>25倍且可忽略結合至親代細胞特異地結合至HEK293/PRLR細胞。結合至人類PRLR的抗體同樣顯示結合至HEK293/mfPRLR細胞上的猴(食蟹獼猴) PRLR。經鑑別為對HEK293/hPRLR細胞的強烈結合體的抗體同樣顯示對表現PRLR的天然T47D細胞是堅定結合體。未觀察對嚙齒動物PRLR的交叉反應性。

【0152】 歸納來說，本發明抗體對經改造細胞株上的人類與猴PRLR以及內源性表現的PRLR展現強烈結合。

實例4B. 在活體外抗-PRLR抗體被PRLR表現細胞內化

【0153】 在本實例中，評估抗-PRLR抗體被表現PRLR的細胞(T47D)內化的情況。簡言之，將20,000個T47D細胞種入經膠原蛋白塗覆的96孔盤。次日，於冰上將細胞與抗-人類PRLR抗體(10 µg/ml)一起培育歷時30分鐘，然後以PBS洗滌兩次。接著於冰上將細胞與經接合alexa488的抗-hFc Fab二級抗體一起培育歷時30分鐘，然後又以PBS洗滌兩次。容許抗體在37°C下於

內化緩衝液(PBS + 2% FBS)中或維持在4℃下被內化歷時1小時。以4%甲醛固定細胞，以DRAQ5 (Cell signaling)將細胞核染色，並且在ImageXpress micro XL (Molecular Devices)上取得影像。經由Columbus影像分析軟體 (PerkinElmer)測定在37℃下的全細胞alexa488強度(結合)以及在37℃下的細胞內囊泡中的alexa488強度(內化)。強度表示為最強內化抗體(H1H6975N)的百分率，並歸納於表6中。

表6

細胞株：T47D		
[mAb] 1µg/mL (0.67 nM)		
抗體	相對於對照 I 的內化%	相對於對照 I 的總結合%
抗-PRLR 對照 I	100.0	100.0
H1H6975N	214.2	225.9
H1H6800P	198.3	186.8
H1H6803P	190.5	205.5
H1H6762P	186.3	176.7
H1H6765P	186.3	191.3
H1H6793P	179.9	177.9
H1H6782P	179.3	209.9
H1H6976N	169.5	180.4
H1H6785P	169.1	168.0
H1H6958N2	169.0	161.5
H1H6967N	168.6	158.6
H1H6781P	165.1	166.2
H1H6774P	162.3	173.7
H1H6783P	160.7	165.8
H1H6792P	155.9	110.6
H1H6953N	153.9	164.2
H1H6795P	150.7	123.4
H1H6801P	148.9	155.7
H1H6807P	147.0	152.7
H1H6790P	146.9	122.8
H1H6797P	145.2	151.2
H1H6804P	138.9	149.6
H1H6966N	137.2	111.3
H1H6960N	120.0	89.7
H1H6959N2	15.3	2.0

【0154】 除了H1H6959N2以外，所有測試抗體結合T47D且近乎100%全部結合mAb在1小時內被內化。大多數抗體的總內化抗體強度大於抗-人類PRLR對照抗體(對照I)。

實例5. 抗-PRLR抗體在表現人類PRLR的細胞中抑制PRL媒介的受體活化

【0155】 在以螢光酶為主的報導子分析中檢驗抗-PRLR抗體阻斷泌乳素(PRL)媒介受體活化的能力。內分泌激素PRL結合至其同源受體PRLR的細胞外域，引起快速均二聚體化並且活化數個下游訊號傳遞級聯。

【0156】 在本實例中，經改造的細胞株被用來測定抗-PRLR抗體阻斷PRLR受體之配體活化的能力。簡言之，經由連續Lipofectamine® 2000-媒介轉染(Life Technologies, Carlsbad, CA)的循環產生帶有穩定併入人類PRLR表現匣與STAT5-依賴性螢光酶報導子的HEK293/hPRLR/STAT5-Luc細胞株。在500 $\mu\text{g/mL}$ G418 (hPRLR)以及100 $\mu\text{g/mL}$ 潮黴素B (STAT5-Luc)存在下篩選細胞歷時至少兩週。STAT5-Luc分析採用2x10⁵個被種入經PDL塗覆之96孔盤的完全生長培養基的HEK293/hPRLR/STAT5-Luc細胞，在37°C、5% CO₂下生長過夜。為產生抗體抑制曲線，於5 nM穩定PRL存在下於紀錄訊號之前，將細胞與經連續稀釋的抗-人類PRLR抗體(100 nM至24 pM)一起培育(在37°C下6小時)。藉由對細胞添加經連續稀釋PRL (100 nM至24 pM)並在抗體不存在下培育6小時(37°C)後記錄訊號而產生PRL劑量反應曲線。亦評估抗體在配體不存在下活化PRLR的能力。

【0157】 螢光酶活性是使用ONE-Glo™試劑(Promega, Madison, WI)來測定。在Victor光度計(Perkin Elmer, Shelton, CT)上測量相對光單位(RLU)。使用GraphPad Prism由四參數計算式依據8點反應曲線決定EC₅₀/IC₅₀值。阻斷百分率以及活化百分率是針對最高抗體劑量來報導。結果顯示於表7中。

表7：PRL-媒介之訊號傳遞因為抗-PRLR抗體的IC₅₀以及阻斷百分率

抗體	阻斷 5 nM PRL 的 IC ₅₀ [M]	在 100 nM 抗體下的阻斷百分率
H1H6762P	2.19E-11	100
H1H6765P	3.30E-11	100
H1H6774P	NB	0
H1H6781P	2.70E-11	100
H1H6782P	NB	0
H1H6783P	ND	59
H1H6785P	3.45E-10	100
H1H6790P	2.06E-10	100
H1H6792P	5.70E-10	100
H1H6793P	ND	65
H1H6795P	NB	0
H1H6797P	NB	0
H1H6800P	3.55E-10	100
H1H6801P	1.40E-10	100
H1H6803P	6.27E-10	100
H1H6804P	7.89E-09	100
H1H6807P	6.00E-10	100
H1H6953N	1.05E-10	100
H1H6958N2	1.98E-10	100
H1H6959N2	ND	52
H1H6960N	1.58E-09	100
H1H6966N	ND	54
H1H6967N	7.68E-10	100
H1H6975N	2.41E-10	100
H1H6976N	ND	23
對照 I	1.33E-09	100

NB：未阻斷；ND：因為不完全阻斷而未測定

【0158】 如表7中所歸納，大多數本發明抗體抑制STAT5受體活化，其中IC₅₀值範圍自22 pM至8 nM。所有抑制性抗體阻斷活化達基線位準(100百分率阻斷)。此外，本分析中所測試的抗體在PRL配體不存在下不會活化STAT5。

【0159】 歸納來說，本實例的數據顯示，大多數本發明抗-PRLR抗體阻斷PRL-媒介的受體活化。此外，大多數抗體比抗-PRLR對照抗體更有效地阻斷受體活化。例如，本發明的數個抗-PRLR抗體以少於約1.3 nM的IC₅₀

值阻斷泌乳素媒介的訊號傳遞。另一方面，某些本發明抗-PRLR抗體儘管能夠結合PRLR，卻不會展現泌乳素阻斷活性。這樣的非阻斷性抗-PRLR抗體可能在需要PRLR靶定但不會干擾正常泌乳素-媒介的訊號傳遞的各種治療情況下有用處。

實例6. 抗-PRLR抗體藥物結合物的製備及特徵鑑定

【0160】 使用類似於美國專利第5,208,020號以及美國專利申請公開案第2010/0129314號中所列方法，選定的抗-PRLR抗體透過SMCC連接體被結合至類美登醇DM1，該專利及專利公開案以其整體併入本文做為參考資料。結合物是藉由尺寸篩除層析予以純化並無菌過濾。除非另有指明，否則所有起始材料以及溶劑是自商業上購得並且在沒有純化的情況下使用。

【0161】 藉由UV光譜分析以及MALDI-TOF質譜測定蛋白質及連接體/可負載量濃度。尺寸篩除HPLC確定所有使用的結合物>95%為單體，而RP-HPLC確定有<0.5%未結合連接體可負載量。依據蛋白質的產量記述於表8以及表9中。所有經結合的抗體是藉由UV依據Hamblett *et al*, 2004, Clinical Cancer Research 10(20):7063-7070以及藉由質量差(天然對經接合)來分析連接體可負載量值。

表8：抗-PRLR未接合抗體的蛋白質濃度

化合物	$\epsilon_{252\text{ nm}}$ ($\text{cm}^{-1}\text{ M}^{-1}$)	$\epsilon_{280\text{ nm}}$ ($\text{cm}^{-1}\text{ M}^{-1}$)
SMCC-DM1	26790	5700
抗體(未經接合)	$\epsilon_{252\text{ nm}}$ ($\text{cm}^{-1}\text{ M}^{-1}$)	$\epsilon_{280\text{ nm}}$ ($\text{cm}^{-1}\text{ M}^{-1}$)
H1H6958N2	74462	195440
H1H6959N2	77485	209420
H1H6960N	84926	214460
H1H6953N	80673	220420
H1H6975P	81120	199804
同型對照	84723	218360



表9：抗-PRLR-SMCC-DM1結合物的抗體連接體/可負載量濃度

抗體結合物	可負載量：抗體 莫耳濃度比(UV)	可負載量：抗體 莫耳濃度比(MS)	產量%
H1H6958N2-DM1	4.0	3.4	64
H1H6959N2-DM1	3.8	3.3	64
H1H6960N-DM1	3.6	3.0	64
H1H6953N-DM1	3.2	2.7	52
H1H6803P-DM1	ND	3.1	55
H1H6762P-DM1	ND	2.9	70
H1H6765P-DM1	ND	2.3	55
H1H6782P-DM1	ND	2.8	65
H1H6793P-DM1	ND	3.8	55
H1H6975P-DM1	3.0	3.4	60
H1H6800P-DM1	3.0	3.2	50
同型對照-DM1	3.3	3.3	80

ND：未測定

【0162】 此實例說明，本發明抗-PRLR抗體與DM1透過SMCC連接體的結合。就本實例的經接合抗體而言，可負載量：抗體莫耳濃度比經計算為約2.3至約3.8。本發明抗體的產量百分率範圍為約50%至70%。

實例7. 抗-PRLR抗體-藥物結合物有效地殺滅帶有低至中等PRLR表現量的細胞以及帶有高PRLR表現量的細胞

【0163】 為測定本發明抗-PRLR ADC相比於類似抗-ErbB2 ADC的相對細胞殺滅效力，對表現PRLR、ErbB2或兩種受體之組合的多個細胞株進行細胞殺滅分析。

【0164】 生成過度表現PRLR的細胞(包括HEK293、PC3、MCF7及NCI-N87)以評估抗-PRLR結合抗體降低細胞存活率的能力。為供比對，也生成帶有過度表現ErbB2的PC3以及T47D細胞，以及過度表現hPRLR與hErbB2兩者的MCF7細胞株。簡言之，採用Lipofectamine® 2000-媒介的轉染方法學來生成表現人類 PRLR (HEK293/hPRLR) 或人類 ErbB2 (HEK293/hErbB2)的HEK293細胞。Lipofectamine LTX與Plus Reagent被用來

生成表現人類PRLR (PC3/hPRLR)或人類ErbB2 (PC3/hErbB2)的PC3細胞。慢病毒媒介的轉導被用來生成表現人類PRLR的MCF7細胞(MCF7/hPRLR)、表現人類PRLR的NCI-N87細胞(NCI-N87/hPRLR)、過度表現人類ErbB2的T47D細胞(T47D/hErbB2)，以及表現人類PRLR與人類ErbB2兩者的MCF7細胞(MCF7/hPRLR/hErbB2)。在添加適當篩選試劑的完全生長培養基中篩選所有細胞株歷時至少兩週。針對PRLR表現經由FACS使用抗PRLR抗體對照I來增富穩定表現的族群。

【0165】 PRLR以及ErbB2的細胞表面表現是經由FACS分別使用對照I抗-PRLR抗體或對照II抗-HER2抗體來進行分析。此外，亦測定T47D#11細胞株(一個針對活體內腫瘤生長更具侵略性而選出的T47D細胞株變體)上的內源性PRLR細胞表面表現。在冰上於抗體稀釋緩衝液中將約1x10⁶個細胞與10 µg/ml抗-PRLR對照抗體(對照I)、抗-ErbB2對照抗體(對照II)或同型對照一起培育歷時30分鐘。在以抗體稀釋緩衝液洗滌兩次後，在冰上將細胞與10 µg/ml經結合PE的抗-人類二級抗體一起培育歷時30分鐘。在又洗滌兩次後，在Accuri C6 (BD)細胞計數器上運行樣品並使用FlowJo軟體(Tree Star, Inc., Ashland, OR)分析。相對表現量結果顯示於表10中。

表10：人類PRLR細胞表面表現(經改造&內源性細胞株)

細胞株	FACS 結合(超過同型對照的 MFI 倍數)				
	未染色	僅二級	同型對照	抗-PRLR (對照 I)	抗-ErbB2 (對照 II)
293	1X	1X	1X	1X	28X
293/hErbB2	1X	1X	1X	1X	215X
293/hPRLR	1X	1X	1X	18X	18X
PC3	1X	1X	1X	1X	41X
PC3/hErbB2	1X	1X	1X	1X	238X
PC3/hPRLR	1X	1X	1X	13X	31X



T47D	1X	1X	1X	12X	87X
T47D#11	1X	1X	1X	10X	ND
T47D/hErbB2	1X	1X	1X	12X	437X
SK-BR-3	1X	1X	1X	1X	600X
MCF7	1X	1X	1X	3X	42X
MCF7/hPRLR	1X	1X	1X	55X	36X
MCF7/hPRLR/hErbB2	1X	1X	1X	55X	349X
NCI-N87	1X	1X	1X	1X	1,400X
NCI-N87/hPRLR	1X	1X	1X	6X	1,400X

【0166】 大體而言，外源性PRLR表面表現超過背景約6倍至55倍，其中大多數經改造細胞展現超過背景12倍至18倍PRLR表現。內源性PRLR表現在MCF7細胞中為超過背景3倍，但在親代HEK293、PC3及NCI-N87細胞株中未偵測到。內源性PRLR表現在T47D細胞株中為超過背景12倍而在T47D#11變體細胞株中為超過背景10倍。在所有PRLR-表現細胞株中偵測到ErbB2表現，且範圍為超過背景18倍至1400倍。

【0167】 接著，使用活體外以細胞為主的分析來測定抗-PRLR-DM1 抗體-藥物結合物(亦即經由非可切割連接體[SMCC]結合至DM1的抗-PRLR 抗體)降低細胞存活率的能力。將細胞以每孔1500至10000個細胞種入經PDL 塗覆96孔盤的完全生長培養基並容許生長過夜。關於細胞存活率曲線，ADC 或游離DM1 (如二硫二甲烷衍生物DM1-SMe)以範圍自500 nM至5 pM的最終濃度添加至細胞並培育歷時3天。293、PC3以及T47D細胞與CCK8 (Dojindo, Rockville, MD)一起培育歷時最後1-3小時並且在Flexstation3 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA)上測定於450 nm下的吸光度(OD450)。以赫士特(Hoechst) 33342細胞核染料處理MCF7細胞，同時以4%甲醛固定。在ImageXpress micro XL (Molecular Devices, Sunnyvale, CA)上取得影像並且經由Columbus影像分析軟體(Perkin Elmer, Shelton, CT)測定細胞核計數。所

有孔扣除經毛地黃皂苷(40 nM)處理細胞的背景OD450值(PC3、293及T47D)或細胞核計數(MCF7)且存活率表示為未經處理對照的百分率。由四參數計算式依據10點反應曲線決定IC₅₀值(GraphPad Prism)。IC₅₀值以及百分率細胞殺滅顯示於表11及表12中。

表11：抗-PRLR-DM1抗體-藥物結合物的細胞殺滅力

抗體-藥物結合物	293		293/PRLR		PC3		PC3/PRLR	
	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅
DM1 (游離藥物)	0.27	98	0.36	97	0.47	91	0.59	80
H1H6953N-DM1	100	88	0.28	95	110	78	0.86	67
H1H6958N2-DM1	75	98	0.10	95	150	83	0.43	83
H1H6959N2-DM1	75	100	4.82	95	150	79	11.6	82
H1H6960N-DM1	75	100	0.38	95	150	80	1.13	82
H1H6975N-DM1	100	87	ND	ND	200	71	2.70	68
H1H6762P-DM1	100	89	ND	ND	250	78	0.98	66
H1H6765P-DM1	100	86	ND	ND	200	70	0.57	70
H1H6782P-DM1	100	86	ND	ND	300	67	0.92	64
H1H6793P-DM1	100	84	ND	ND	200	72	3.65	65
H1H6800P-DM1	150	85	ND	ND	150	72	1.37	68
H1H6803P-DM1	300	7	ND	ND	150	72	2.32	70
對照 I-DM1	100	92	0.28	95	>100	79	7.28	80
同型對照-DM1	100	60	100	93	125	78	110	63

IC₅₀值呈nM；ND：未測定。

表12：抗-PRLR-DM1抗體-藥物結合物的細胞殺滅力(續)

抗體-藥物結合物	T47D		MCF7		MCF7/PRLR	
	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅
DM1 (游離藥物)	0.45	86	1.17	83	1.47	88
H1H6953N-DM1	1.64	79	100	55	0.29	76
H1H6958N2-DM1	1.34	71	100	77	0.19	77
H1H6959N2-DM1	48.90	71	100	82	0.47	80
H1H6960N-DM1	5.10	71	100	77	0.29	78
H1H6975N-DM1	6.90	80	150	73	0.49	87
H1H6762P-DM1	12.60	80	110	64	0.46	83
H1H6765P-DM1	1.63	78	150	68	0.18	84
H1H6782P-DM1	4.19	74	120	57	0.65	85
H1H6793P-DM1	11.10	53	125	67	0.54	87
H1H6800P-DM1	3.20	79	150	65	0.40	85
H1H6803P-DM1	8.61	77	150	60	0.44	84
對照 I-DM1	24.50	65	100	46	0.59	75



同型對照-DM1	150	61	120	66	100	84
----------	-----	----	-----	----	-----	----

IC₅₀值呈nM

【0168】 如表11及表12中所歸納，數個抗-PRLR-DM1抗體-藥物結合物在多個細胞背景中有效降低細胞存活續，其中IC₅₀值低至100 pM。某個例示性抗-PRLR結合抗體H1H6958N2-DM1以範圍自100 pM至460 pM的亞nM IC₅₀降低HEK293、PC3與MCF7-PRLR表現細胞的細胞存活率，並以1.3 nM的IC₅₀殺滅內源性表現T47D細胞。經相似結合的抗-PRLR對照I抗體(對照I-DM1)在所有細胞株中比H1H6958N2-DM1效力還低數倍。非結合同型對照與未結合抗體對細胞存活率沒有影響。

【0169】 另外，評估 PRLR 配體的 PRL 在 T47D 細胞中對於 PRLR-SMCC-DM1細胞殺滅的影響。T47D細胞同時與PRL (15 nM)以及非阻斷性抗PRLR抗體(H1H6782P)或受體阻斷抗體(H1H6958N2)一起培育。結果歸納於表13中。

表13：抗-PRLR-DM1抗體-藥物結合物在PRLR配體(PRL)存在下的細胞殺滅

處理	HEK293		T47D	
	IC ₅₀ (nM)	%殺滅	IC ₅₀ (nM)	%殺滅
Me-SS-May 游離 DM1	0.6	94	0.30	100
同型對照-SMCC-DM1	100	78	300	94
同型對照-SMCC-DM1 +15nM PRL	170	82	97	89
H1H6958N2-SMCC-DM1	90	88	1.0	100
H1H6958N2-SMCC-DM1 +15nM PRL	110	86	3.0	100
H1H6782P-SMCC-DM1	90	83	1.0	98

H1H6782P-SMCC-DM1 + 15nM PRL	70	78	2.0	97
---------------------------------	----	----	-----	----

【0170】 如表13中所示，PRL的存在僅對PRLR ADC媒介的細胞殺滅有中等程度的影響，觀察到測試mAb的細胞殺滅效力減少2-3倍。

【0171】 相比於經相似結合抗體對共表現的ErbB2細胞表面目標，亦評估抗-PRLR結合抗體的效力。PRLR以及ErbB2表現在大多數乳癌中，而抗-ErbB2抗體結合至DM1已顯示在靶定ErbB2(+)乳癌上具有臨床效力 (Hurvitz et al; 2013)。在活體外存活率分析中於上面生成的細胞株中測試結合至DM1的ErbB2對照抗體(對照II)(對照II-DM1)。經結合抗-PRLR抗體相比於抗-ErbB2結合抗體的細胞殺滅效力歸納於表14-17中。

表14：抗-PRLR-DM1以及抗-ErbB2-DM1抗體-藥物結合物的細胞殺滅效力

抗體-藥物結合物	293		293/ErbB2		293/PRLR	
	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅
DM1 (游離藥物)	0.5	95	0.26	100	0.82	95
H1H6953N-DM1 (抗 PRLR-DM1)	100	92	120	98	0.43	93
對照 II-DM1 (抗 ErbB2-DM1)	100	89	2.0	98	100	88
同型對照-DM1	150	86	110	98	150	86
PRLR 表現	1X		1X		18X	
ErbB2 表現	28X		215X		18X	

IC₅₀值呈nM

表15：抗-PRLR-DM1以及抗-ErbB2-DM1抗體-藥物結合物的細胞殺滅效力

(續)

抗體-藥物結合物	PC3		PC3/ErbB2		PC3/PRLR	
	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅
DM1 (游離藥物)	0.44	88	0.42	85	0.24	82
H1H6953N-DM1 (抗 PRLR-DM1)	100	80	80	73	0.68	76
對照 II-DM1 (抗 ErbB2-DM1)	90	80	1.1	80	100	62

同型對照-DM1	85	82	90	71	100	62
PRLR 表現	1X		1X		13X	
ErbB2 表現	41X		238X		31X	

IC₅₀值呈nM

表16：抗-PRLR-DM1以及抗-ErbB2-DM1抗體-藥物結合物的細胞殺滅效力

(續)

抗體-藥物結合物	T47D		T47D/ErbB2		SK-BR-3		MCF7	
	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅
DM1 (游離藥物)	0.21	80	0.18	71	0.39	74	0.54	78
H1H6953N-DM1 (抗 PRLR-DM1)	1.3	78	2.4	80	100	77	82	74
對照 II-DM1 (抗 ErbB2-DM1)	100	59	1.18	81	0.48	81	80	68
同型對照-DM1	100	62	120	75	110	76	100	65
PRLR 表現	12X		12X		1X		3X	
ErbB2 表現	87X		437X		600X		42X	

IC₅₀值呈nM

表17：抗-PRLR-DM1以及抗-ErbB2-DM1抗體-藥物結合物的細胞殺滅效力

(續)

抗體-藥物結合物	MCF7/PRLR		MCF/PRLR +ErbB2		NCI-N87		NCI-N87/PRL R	
	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅	IC ₅₀	%殺滅
DM1 (游離藥物)	1.85	79	0.82	77	0.84	95	1.45	98
H1H6953N-DM1 (抗 PRLR-DM1)	0.33	76	0.33	77	90	83	2.9	94
對照 II-DM1 (抗 ErbB2-DM1)	100	56	0.63	76	0.22	95	0.66	94
同型對照-DM1	150	61	100	70	90	85	85	88
PRLR 表現	55X		55X		1X		6X	
ErbB2 表現	36X		349X		1400X		1400X	

IC₅₀值呈nM

【0172】 即使在相對低PRLR表現量的情況下，抗-PRLR-DM1抗體有

效地殺滅細胞。例如，H1H6953N-DM1 (抗-PRLR-DM1)以1.3 nM的IC₅₀抑制T47D細胞(表現超出背景僅12X的PRLR)的生長並顯示78%殺滅。這個相同的抗體也以0.43 nM的IC₅₀抑制293/hPRLR細胞(表現超出背景18的PRLR)的生長並顯示93%殺滅。僅在以超過背景約200X至約400X的程度下表現目標抗原的細胞中觀察到抗-ErbB2-DM1抗體(“對照II”)有相同的殺滅(參見例如PC3/hErbB2，以超過背景238倍表現ErbB2，以及T47D/hErbB2，以超過背景437X表現ErbB2)。因此，這些數據暗示，抗-PRLR抗體-藥物結合物可以有效地靶定並殺滅帶有相對低PRLR表現量腫瘤細胞，而抗-ErbB2抗體藥物結合物僅能有效對抗帶有極高ErbB2表現量的腫瘤。

【0173】 最後，經由非可切割連接體SMCC結合至DM1之抗-PRLR抗體的效力與經由可切割連接體：mc-vc-PAB (得自Concortis, San Diego, CA) 結合至MMAE的抗-PRLR抗體的細胞殺滅效力相比較。本實驗中使用的細胞為PC3、PC3/hPRLR、MCF7/ATCC及MCF7/PRLR。結果顯示於表18中。

表18：抗-PRLR ADC細胞殺滅效力

	PC3		PC3/hPRLR		MCF7/ATCC		MCF7/PRLR	
	IC ₅₀ (nM)	% 殺滅	IC ₅₀ (nM)	% 殺滅	IC ₅₀ (nM)	% 殺滅	IC ₅₀ (nM)	% 殺滅
游離 DM1	0.5	90	1.0	70	3.0	80	1.9	86
游離 MMAE	1.4	90	1.0	77	2.4	83	1.5	95
同型對照 I-SMCC-DM1	95	79	100	79	100	71	100	76
同型對照 I-mc-VC-PAB-MMAE	200	33	145	55	143	23	143	21
H1H6953N-SMCC-DM1	90	81	0.4	83	80	70	0.1	80
H1H6953N-mc-VC-PAB-MMAE	130	49	0.2	80	150	42	0.1	85
H1H6958N2-SMCC-DM1	110	81	0.5	79	90	72	0.2	83
H1H6958N2-mc-VC-PAB-MMAE	100	39	0.5	82	150	53	0.2	88
H1H6765P-SMCC-DM1	80	80	0.3	83	90	71	0.1	81
H1H6765P-mc-VC-PAB-MMAE	150	29	0.40	85	150	38	0.2	86



【0174】 如表 18 中所示，就非可切割 DM1 ADC (H1H6953-SMCC-DM1、H1H6958N2-SMCC-DM1與H1H6765-SMCC-DM1) 以及就可切割 MMAE ADC (H1H6953-mc-vc-PAB-MMAE、H1H6958N2-mc-VC-PAB-MMAE與H1H6765-mc-VC-PAB-MMAE)而言，在 PC3/hPRLR以及MCF7/hPRLR細胞株中觀察到近乎相等的細胞殺滅。

【0175】 也在T47D與MCF7/hPRLR細胞株中測試結合至抗-PRLR抗體的其他毒素(DM4、MeNHC3-May與MMD)，而結果歸納於表19 (293和T47D細胞殺滅)與表20 (MCF7/ATCC和MCF7/PRLR細胞殺滅)中。(ND=未偵測到)。

表19：抗-PRLR抗體藥物結合物-細胞殺滅特性(293與T47D細胞株)

			細胞株			
			293		T47D	
抗體	連接體	藥物	IC ₅₀ nM	%殺滅	IC ₅₀ nM	%殺滅
游離		DM1 (Me-SS-May)	1.2	95	1.5	100
		MMAE	0.9	100	1	100
		DM4	0.6	100	0.5	100
		MMD	0.9	100	2	100
		MeNHC3-May	60	90	90	100
同型對照 I	SMCC	DM1	150	80	140	50
	mc-VC-PAB	MMAE	300	30	300	20
		MMD	300	70	140	70
		MeNHC3-May	300	30	300	30
	SPDB	DM4	50	90	30	100
H1H6953N	SMCC	DM1	100	90	1.5	100
	mc-VC-PAB	MMAE	ND	ND	1.0	80
		MMD	110	70	1.0	90
		MeNHC3-May	300	20	1.0	90
H1H6958N2	SMCC	DM1	100	90	2	100
	mc-VC-PAB	MMAE	ND	ND	1	90
	SPDB	DM4	ND	ND	1	100
H1H6975P	SMCC	DM1	80	90	2	100

	mc-VC-PAB	MMD	110	80	3	90
H1H6782P	SMCC	DM1	120	80	3	100
	mc-VC-PAB	MMD	230	70	2	90
	mc-VC-PAB	MeNHC3-May	60	90	2	90
H1H6765P	SMCC	DM1	85	100	1	90
	mc-VC-PAB	MMAE	ND	ND	1	90

表20：抗-PRLR抗體藥物結合物-細胞殺滅特性(MCF7/ATCC與MCF7/PRLR
細胞株)

			細胞株			
			MCF7/ATCC		MCF7/PRLR	
抗體	連接體	藥物	IC ₅₀ nM	%殺滅	IC ₅₀ nM	%殺滅
游離		DM1 (Me-SS-May)	1.3	80	0.8	80
		MMAE	2.4	80	1.5	95
		DM4	1.3	90	2	90
		MMD	2	90	0.4	90
		MeNHC3-May	100	70	50	80
同型對照 I	SMCC	DM1	300	60	150	70
	mc-VC-PAB	MMAE	140	20	140	20
		MMD	300	40	70	75
		MeNHC3-May	300	30	200	55
	SPDB	DM4	70	80	80	90
H1H6953N	SMCC	DM1	90	70	0.3	80
	mc-VC-PAB	MMAE	150	40	0.1	85
		MMD	300	50	0.2	90
		MeNHC3-May	150	60	0.2	80
H1H6958N2	SMCC	DM1	70	70	0.2	80
	mc-VC-PAB	MMAE	150	50	0.2	90
	SPDB	DM4	25	80	0.8	90
H1H6975P	SMCC	DM1	200	70	0.2	80
	mc-VC-PAB	MMD	150	50	0.2	90
H1H6782P	SMCC	DM1	250	70	0.3	80
	mc-VC-PAB	MMD	200	50	0.3	90
	mc-VC-PAB	MeNHC3-May	250	50	0.2	80
H1H6765P	SMCC	DM1	150	70	0.3	90



	mc-VC-PAB	MMAE	150	40	0.2	90
--	-----------	------	-----	----	-----	----

【0176】 不論使用的毒素與連接體為何，所有的測試抗PRLR ADC特異地殺滅測試細胞。T47D細胞存活率IC₅₀範圍自0.6 nM至3.4 nM而MCF7/hPRLR細胞存活率IC₅₀範圍自0.2 nM至0.8 nM。

實例8. 抗-PRLR抗體-藥物結合物在活體內有效地抑制腫瘤生長

【0177】 為測定抗-PRLR-DM1抗體-藥物結合物的活體內效力，在帶有PRLR+乳癌異種移植物的免疫不全小鼠體內進行研究。

【0178】 簡言之，將20 x 10⁶個MCF7/PRLR細胞(ATCC HTB-22，經如前述的全長hPRLR轉染)皮下植入雌性NCr裸鼠的左乳房脂肪墊中。在其他研究中，將10 x 10⁶個PC3/PRLR (ATCC CRL-1435，經如前述的全長hPRLR轉染)皮下植入雄性SCID小鼠的左腹脅。另外，將10 x 10⁶個親代T47D(ATCC HTB-133)或7.5 x 10¹⁰個T47D#11細胞(ATCC HTB-133，如下述在活體內連續繼代)皮下植入雌性CB17 SCID小鼠的左腹脅。所有小鼠是得自於Taconic (Hudson, NY)。每個細胞丸補充有90-天雌激素釋放丸粒(1.7 mg/丸粒；Innovative Research America, Sarasota FL)。在腫瘤達到平均體積為250mm³之後，將小鼠隨機分成七組並給予本發明抗-PRLR抗體-藥物結合物或對照試劑。對照試劑包括PBS媒劑、游離的二硫二甲烷DM1 (DM1-SMe)與同型對照1-DM1。

【0179】 在多劑量研究中，小鼠一週給藥一次，歷時總計三週，在整個研究過程中每週兩次監控腫瘤體積與體重。在多劑量研究中以5及/或15 mg/kg給予測試ADC。在單劑量研究中，小鼠接受單劑量的測試ADC，在整個研究過程中每週兩次監控腫瘤體積與體重。在單劑量研究中以1、2.5、5及15 mg/kg給予測試ADC。計算各組的平均腫瘤尺寸以及相對於經媒劑組處理的腫瘤生長抑制。每週兩次使用量尺測量腫瘤，直到媒劑組的平均尺

寸達到1000mm³。使用等式(長度x寬度²)/2計算腫瘤尺寸。依據下式計算腫瘤生長抑制： $(1-((T_{\text{最終}}-T_{\text{起始}})/(C_{\text{最終}}-C_{\text{起始}})))*100$ ，其中T (經處理組)與C (對照組)代表媒劑組達到1000mm³當天的平均腫瘤質量。在第52天時觀察動物。結果歸納於表21-25(多劑量)以及表26(單劑量)中。(NT=在所示特定實驗中未測試)。

表21：在多劑量投與抗-PRLR抗體-藥物結合物與對照之後的腫瘤尺寸及腫瘤生長抑制-MCF7/PRLR腫瘤(試驗#1)[NCr裸鼠-在第52天收集的數據]

處理組	劑量 (mg/kg)	最終腫瘤尺寸 mm ³ (平均值± SEM)	平均腫瘤生長抑制 (%)
媒劑	--	1068±384	-
游離 DM1	0.2	625±141	57
同型對照 Ab-DM1	5	NT	NT
	15	300±141	96
H1H6958N2	15	483±46	74
H1H6958N2-DM1	5	51±33	128
	15	0±0	133
H1H6953N	15	421±23	79
H1H6953N-DM1	5	107±45	120
	15	0±0	133
H1H6975N	15	659±144	51
H1H6975N-DM1	5	125±46	118
	15	0±0	135
H1H6782P	15	NT	NT
H1H6782P-DM1	5		
	15		
H1H6765P	15	NT	NT
H1H6765P-DM1	5		
	15		



表22：在多劑量投與抗-PRLR抗體-藥物結合物與對照之後的腫瘤尺寸及腫瘤生長抑制-MCF7/PRLR腫瘤(試驗#2)[NCr裸鼠-在第63天收集的數據]

處理組	劑量 (mg/kg)	最終腫瘤尺寸 mm ³ (平均值± SEM)	平均腫瘤生長抑制 (%)
媒劑	--	870 ± 211	-
游離 DM1	0.2	1080 ± 451	-33
同型對照 Ab-DM1	5	1106 ± 371	-39
	15	712 ± 214	24
H1H6958N2	15	766 ± 128	17
H1H6958N2-DM1	5	117 ± 10	116
	15	0 ± 0	137
H1H6953N	15	NT	NT
H1H6953N-DM1	5		
	15		
H1H6975N	15	NT	NT
H1H6975N-DM1	5		
	15		
H1H6782P	15	300 ± 83	88
H1H6782P-DM1	5	74 ± 34	123
	15	0 ± 0	137
H1H6765P	15	737 ± 182	19
H1H6765P-DM1	5	90 ± 56	122
	15	0 ± 0	136

表23：在多劑量投與抗-PRLR抗體-藥物結合物與對照之後的腫瘤尺寸及腫瘤生長抑制-PC3/PRLR腫瘤(試驗#1)[SCID裸鼠-在第63天收集的數據]

處理組	劑量 (mg/kg)	最終腫瘤體積 mm ³ (平均值± SEM)	平均腫瘤生長抑制 (%)
媒劑	--	1311 ± 257	-
游離 DM1	0.2	1361 ± 120	-5

同型對照 Ab-DM1	5	1379 ± 128	-7
	15	1091 ± 93	19
H1H6958N2	15	1507 ± 106	-19
H1H6958N2-DM1	5	1247 ± 171	5
	15	808 ± 83	46
H1H6953N	15	1306 ± 127	0
H1H6953N-DM1	5	1058 ± 138	23
	15	892 ± 53	39
H1H6975N	15	1185 ± 97	12
H1H6975N-DM1	5	973 ± 169	31
	15	895 ± 63	38
H1H6782P	15	NT	NT
H1H6782P-DM1	5		
	15		
H1H6765P	15	NT	NT
H1H6765P-DM1	5		
	15		

表24：在多劑量投與抗-PRLR抗體-藥物結合物與對照之後的腫瘤尺寸及腫瘤生長抑制-PC3/PRLR腫瘤(試驗#2)[SCID裸鼠-在第55天收集的數據]

處理組	劑量 (mg/kg)	最終腫瘤尺寸 mm ³ (平均值± SEM)	平均腫瘤生長抑制 (%)
媒劑	--	1222 ± 99	0
游離 DM1	0.2	1147 ± 59	7
同型對照 Ab-DM1	5	1052 ± 101	16
	15	1049 ± 127	16
H1H6958N2	15	917 ± 253	28
H1H6958N2-DM1	5	566 ± 63	61
	15	230 ± 22	94
H1H6953N	15	NT	NT
H1H6953N-DM1	5		



	15		
H1H6975N	15	NT	NT
H1H6975N-DM1	5		
	15		
H1H6782P	15	1154 ± 212	6
H1H6782P-DM1	5	490 ± 63	69
	15	321 ± 33	85
H1H6765P	15	1208 ± 72	1
H1H6765P-DM1	5	489 ± 70	70
	15	181 ± 42	98

表25：在多劑量投與抗-PRLR抗體-藥物結合物與對照之後的腫瘤尺寸及腫瘤生長抑制-T47D#11腫瘤[SCID小鼠-在第66天收集的數據]

處理組	劑量 (mg/kg)	最終腫瘤尺寸 mm ³ (平均值± SEM)	平均腫瘤生長抑制 (%)
媒劑	--	1234 ± 88	0
游離 DM1	0.2	1433 ± 23	-19
同型對照 Ab-DM1	5	1340 ± 176	-9
	15	1678 ± 67	-42
H1H6958N2	15	1259 ± 122	-3
H1H6958N2-DM1	5	168 ± 19	102
	15	44 ± 5	112
H1H6953N	15	NT	NT
H1H6953N-DM1	5		
	15		
H1H6975N	15	NT	NT
H1H6975N-DM1	5		
	15		
H1H6782P	15	1537 ± 111	-29
H1H6782P-DM1	5	293 ± 20	90
	15	124 ± 36	106

H1H6765P	15	1278 ± 164	-3
H1H6765P-DM1	5	183 ± 28	100
	15	69 ± 12	111

表26：在單一劑量投與抗-PRLR抗體-藥物結合物與對照之後的腫瘤尺寸及
腫瘤生長抑制-MCF7/PRLR腫瘤[在第55天收集的數據]

處理組	劑量 (mg/kg)	最終腫瘤尺寸 mm ³ (mean ± SEM)	平均腫瘤生長抑制 (%)
媒劑	--	710 ± 249	0
同型對照 Ab-DM1	15	514 ± 86	38
H1H6958N2	15	703 ± 160	1
H1H6958N2-1	1	274 ± 142	86
H1H6958N2-1	2.5	172 ± 53	109
H1H6958N2-1	5	107 ± 26	120
H1H6958N2-1	15	33 ± 23	136

討論

【0180】 在本實例中，最初評估結合至DM1的五個例示性抗-PRLR抗體在多劑量研究中降低MCF7/PRLR以及PC3/PRLR腫瘤體積的能力。在第一個多劑量試驗(表21)中，H1H6958N2-DM1、H1H6953N-DM1及H1H6975N-DM1抗體在5與15 mg/kg劑量下均有效地抑制MCF7/PRLR腫瘤生長。在最高劑量下，所有三種DM1結合抗體縮小腫瘤達無法測得的位準，腫瘤體積縮小百分率為約133-135%。當測試H1H6958N2-DM1與結合至DM1: H1H6782P和H1H6765P的兩個額外例示性抗-PRLR抗體時，在第二個多劑量試驗(表22)中複製這個研究結果。在這第二個試驗中，在最高劑量15 mg/kg下腫瘤生長亦縮小至無法測得的位準，腫瘤體積縮小百分率為136-137%。儘管以未經接合抗-PRLR抗體處理相比於媒劑組會產生中等程度的腫瘤體積縮小(17-79%)，在以抗體-藥物結合物處理的組別中觀察到腫



瘤尺寸抑制為最高。

【0181】 接著，在多劑量研究中，於帶有PRLR陽性PC3/PRLR異種移植的小鼠體內評估相同例示性抗-PRLR-DM1抗體的抗腫瘤活性(表23及24)。在腫瘤已生長歷時21天後處理小鼠。H1H6958N2-DM1、H1H6953N-DM1及H1H6975N-DM1全部都證實抑制腫瘤生長，尤其是在最高劑量15 mg/kg下(表23)。當於腫瘤生長15天後測試H1H6958N2-DM1與H1H6765P-DM1及H1H6782P-DM1時，同樣在第二個試驗中觀察到抗腫瘤效用。在所投與的最高劑量下，整個試驗的腫瘤抑制範圍自38-98% (表24)。相比之下，結合至DM的同型對照僅有16%腫瘤抑制，最終腫瘤體積相對於媒劑對照沒有明顯差異。

【0182】 在帶有T47D#11異種移植的小鼠(異源地表現PRLR)體內以5與15 mg/kg重複給與抗-PRLR ADC以進行進一步評估(表25)。如同在其他腫瘤模型中，給藥始於當腫瘤尺寸平均為200 mm³。在這個腫瘤模型中所得到的結果與先前結果一致且明確證實結合至DM1之抗-PRLR抗體的抗腫瘤活性。例如，H1H6958N2-DM1、H1H6765P-DM1與H1H6782P-DM1 ADC在5及15 mg/kg劑量下皆有效地抑制腫瘤生長。在5 mg/kg下抗-PRLR-DM1結合抗體展現89-100%腫瘤抑制，而在15 mg/kg下DM1-結合抗體產生106-112%腫瘤生長抑制。重要的是，未結合的抗-PRLR抗體在這個內源性腫瘤模型中沒有觀察到具有任何抗腫瘤效力，表示DM1結合物在產生抗腫瘤效力的角色。再者，抗-PRLR ADC的效力非常具有特異性，因為對照ADC對腫瘤生長不具有任何效用。

【0183】 在一個最終實例中，在單一劑量研究中於經MCF7/PRLR異種移植小鼠體內評估抗-PRLR DM1結合抗體H1H6958N2 (表26)。如同在多劑量研究中，在投與單一劑量前已長成的腫瘤容許生長至大約200 mm³。在

此，以1、2.5、5及15 mg/kg給予H1H6958N2-DM1。如表26中所歸納，在本研究中所使用的廣泛範圍可看到劑量依賴性抗腫瘤效用。在所有劑量下觀察到抗腫瘤效用，其中1 mg/kg致使腫瘤體積相對於媒劑對照腫瘤有顯著下降。此外，儘管15 mg/kg同型對照I-DM1具有一些抗腫瘤效用(~38%腫瘤生長抑制)，抗-PRLR-DM1在2.5 mg/kg與更高劑量下明顯縮小腫瘤體積(在所有超過1 mg/kg測試的劑量下>100%腫瘤生長抑制)。單一劑量的5與15 mg/kg證實抗腫瘤效力可與以相同位準重複給藥後所觀察者相比擬，說明了抗-PRLR ADC的效力。

【0184】 歸納來說，本實例說明本發明經結合的抗-PRLR抗體是腫瘤生長的有效抑制劑且能夠在各種測試的腫瘤模型中縮小腫瘤尺寸達偵測不到的位準。

實例9. 對抗第I類細胞激素受體的抗體-藥物結合物有效地殺滅表現低量目標抗原的細胞株

【0185】 如本文他處所論述，對抗PRLR的抗體-藥物結合物有效地殺滅PRLR-表現細胞株，即便是那些表現相對低量目標抗原的細胞株。如先前所提，PRLR屬於第I類細胞激素受體家族，其包括IL-4R以及IL-6R。類似於PRLR，IL-4R以及IL-6R是單回跨膜受體；IL-4R媒介IL-4與IL-13訊號傳遞，而IL-6R經由與gp130受體的共複合體媒介IL-6訊號傳遞。導向對抗第I類細胞激素受體的ADC可用來有效殺滅細胞(包括表現低量目標抗原的細胞)，在這個大體概念進一步支持下，評估指向對抗IL-4R與IL-6R的ADC的細胞殺滅能力。

【0186】 首先使用FACS確立內源性或以重組方式表現IL-4R或IL-6R的細胞上的細胞表面抗原位準。簡言之，在冰上將大約1百萬個KG-1 (IL-4R+)細胞、HEK293/IL-4R細胞與Ramos (IL-6R+)細胞與例示性抗-IL-4R

抗體 (H4H083P2，參見美國專利第 7,608,693 號) 以及抗 -IL-6R 抗體 (VV6A9-5，參見美國專利第 7,582,298 號) 一起培育歷時 30 分鐘。在洗滌之後，添加經 PE 接合的抗-人類二級抗體 (10 µg/ml) 歷時 30 分鐘，然後第二洗滌步驟並接著在 Accuri C6 細胞計數器上使用 FlowJo 軟體 (Tree Star, Inc., Ashland, OR) 分析。相對 IL-4R 及 IL-6R 細胞表面表現位準計算為超過同型對照位準的平均螢光強度 (MFI)。表現位準歸納於表 27 中。

表 27：內源性或以重組方式表現 IL-4R 及 IL-6R 之細胞株上的相對 IL-4R 及

IL-6R細胞表面表現				
細胞株表現位準；超過背景的倍數				
受體表現	HEK293	HEK293/ IL4R	KG-1	Ramos
IL-4R	2	50	1	4
IL-6R	1	1	7	1

【0187】 如表 27 中所示，HEK293 細胞及 Ramos 細胞分別以超過背景 2 倍及 4 倍的位準內源性地表現 IL-4R，而經改造的 HEK293/IL-4R 細胞株以超過背景 50 倍的位準表現 IL-4R。對 KG-1 細胞來說，無法測得 IL-4R 表現超過背景。測得 IL-6R 表現在 KG-1 細胞中超過背景 7 倍，且 HEK293 或 Ramos 細胞株則無。

【0188】 接著，將例示性抗-IL-4R 抗體 (H4H083P2) 以及抗-IL-6R 抗體 (VV6A9-5) 結合至細胞毒性藥物 DM1 並且在細胞毒性分析中評估它們的效力。簡言之，將 HEK293/IL-4R 細胞株、Ramos 細胞株或 KG-1 細胞株，與 HEK293 親代細胞以每孔 1500 至 10,000 個細胞種入經 PDL 塗覆 96 孔盤。將 ADC 或游離 DM1 (如二硫二甲烷衍生物 DM1-SMe) 以範圍自 300 nM 至 15 pM 的最終濃度添加至細胞並培育歷時 3 天。細胞與 CCK8 (Dojindo, Rockville, MD) 一起培育歷時最後 1-3 小時並且在 Flexstation3 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) 上測定在 450nm 下的吸光度 (OD450)。所有孔扣除經毛地黃皂

苷(40 nM)處理細胞的背景OD450值且存活率表示為未經處理對照的百分率。由四參數計算式依據10點反應曲線決定IC₅₀值(GraphPad Prism)。結果呈現於表28中。

表28：抗-IL4R及抗-IL6R抗體藥物結合物對IL4R及IL6R表現細胞株的細胞殺滅特性

抗體-藥物結合物	HEK293		HEK293/ hIL4R		KG-1		Ramos	
	IC ₅₀ (nM)	%殺滅	IC ₅₀ (nM)	%殺滅	IC ₅₀ (nM)	%殺滅	IC ₅₀ (nM)	%殺滅
DM1 (游離藥物)	0.27	100	0.33	98	1.26	89	0.34	100
同型對照-DM1	70	89	110	91	100	74	60	91
抗-IL-4R-DM1	80	91	0.22	95	90	83	18	91
抗-IL-6R-DM1	100	88	70	92	38	77	70	94
受體表現位準：超過同型對照的倍數								
IL-4R	2		50		1		4	
IL-6R	1		1		7		1	

【0189】 如表28中所示，抗-IL-4R-DM1抗體-藥物結合物減少Ramos細胞存活率，IC₅₀值為18 nM，儘管IL-4R表面表現超過背景位準僅4倍。IL-4R-DM1 ADC降低高IL-4R-表現HEK293/IL-4R存活率，IC₅₀為0.22 nM。抗-IL-6R-DM1抗體-藥物結合物對KG-1細胞(以超過背景7倍的位準表現IL-6R)的存活率有適度但可再現的影響，IC₅₀值為38 nM，相比於相同結合之同型對照ADC的IC₅₀值為100 nM。

【0190】 歸納來說，本實例證實，即使是對於表現中等受體含量的細胞株，抗-IL-4R及抗-IL-6R抗體藥物結合物展現有效且可再現細胞毒性。這個結果類似於使用抗-PRLR ADC所觀察到的結果，其中獲得有效細胞殺滅，即便細胞表現低量PRLR (參見例如本文實例7)。因此，本實例為下列本發明概念提供更多支持：抗第I類細胞激素受體ADC對表現第I類細胞激素受體(即便在低位準下)的細胞株與腫瘤大體上可以是有效治療劑。



【0191】 本發明就範圍來說並不受到此處所述的特定具體例囿限。更確切地說，除了此處所述者以外，本發明的各種修飾對於那些習於技藝者來說由前面發明說明以及隨附圖式來說是清楚的。此等修飾意欲落在隨附申請專利範圍的範疇內。

<110> 再生元醫藥公司

<120>抗-PRLR 抗體及其用途

<130> 9203A

<160> 404

<170>用於 Windows 的 FastSEQ 第 4.0 版

<210> 1

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 1

```
caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt cactatggca tggctctgggt ccgccagcct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atatcatttg atggaactac taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctatat 240
ctgcaaataa acagcctgag agctgaggac acggctgtgt atttctgtgt tggggctatt 300
gcagcagctg ccttcgatct ctggggccgt ggcaccctgg tcaactgtctc ctca 354
```

<210> 2

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 2

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

<210> 3
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 3
ggattcacct tcagtcacta tggc 24

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 4
Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr Gly
1 5

<210> 5
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 5
atatcatttg atggaactac taaa 24

<210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 6
Ile Ser Phe Asp Gly Thr Thr Lys
1 5

<210> 7
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列



<220>
<223> 合成

<400> 7
gttggggcta ttgcagcagc tgccttcgat ctc 33

<210> 8
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 8
Val Gly Ala Ile Ala Ala Ala Ala Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 9
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 9
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcgacttag cctggtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatagt gcatccgcca gggccactgg tatcccagcc 180
aggttcactg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggcccatgta cacttttggc 300
caggggacca agctggagat caaa 324

<210> 10
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

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

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Met

859095

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100105

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 11

cagagtgtta gcagcgac

18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 12

Gln Ser Val Ser Ser Asp

15

<210> 13

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 13

agtgcattcc

9

<210> 14

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 14

Ser Ala Ser

1



<210> 15
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 15
cagcagtata ataactggcc catgtacact 30

<210> 16
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 16
Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Met Tyr Thr
1 5 10

<210> 17
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 17
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggtggt gtggtccggc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgtag gttctggatt cagcttcgat gatcatggca tgaactgggt ccgccaaggt 120
ccagggaagg gactggagtg ggtctctggt tttaattgga atggtggtag tacaaattat 180
gcagaatctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaggaa ctccctgttt 240
ctgcaaataga acagtctgag agccgaggac acggccttat attactgtgt gagaggtcgc 300
agtggctggt tcaatgatgc ttttgatgtc tggggcccag gaacaatggt caccgtctct 360
tca 363

<210> 18
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 18
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly

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

<210> 19
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 19
ggattcagct tcgatgatca tggc 24

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 20
Gly Phe Ser Phe Asp Asp His Gly
1 5

<210> 21
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 21
tttaattgga atggtggtag taca 24

<210> 22



<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 22
Phe Asn Trp Asn Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 23
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 23
gtgagagggtc gcagtggctg gttcaatgat gcttttgatg tc 42

<210> 24
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 24
Val Arg Gly Arg Ser Gly Trp Phe Asn Asp Ala Phe Asp Val
1 5 10

<210> 25
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 25
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gactattaac agcaactact tagcctggta ccgacagaaa 120
cctggccaga ctcccaggct cctcatctat ggtacatcca gtagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttctctc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtggt ttactgtcag cagtatgctg gtttacccac tttcggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 26

<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

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

<210> 27
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 27
cagactatta acagcaacta c 21

<210> 28
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 28
Gln Thr Ile Asn Ser Asn Tyr
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 29
ggtacatcc 9

<210> 30
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 30
Gly Thr Ser
1

<210> 31
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 31
cagcagtatg ctgggtttacc cact 24

<210> 32
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 32
Gln Gln Tyr Ala Gly Leu Pro Thr
1 5

<210> 33
<211> 348
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 33
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggcccagc cggggggggct cctgagactc 60

tcctgtgtag cctctggatt cacctttagt acctattgga tgagttgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg gactggactg ggtgggcaac ataaagcaag atggaagtga acaaaactat 180
gtggactctg tgaggggccc attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctgctgtgtt 240
ctgcaaataga acagtctgag agccgaggac acgggtgtgt attactgtgc gactcttctg 300
actaagggtg actactgggg ccaggggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 34
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

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

<210> 35
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 35
ggattcacct ttagtaccta ttgg 24

<210> 36
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 36

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Trp
1 5

<210> 37
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 37
ataaagcaag atggaagtga acaa 24

<210> 38
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 38
Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Gln
1 5

<210> 39
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 39
gcgactcttc tgactaaggg tgactac 27

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 40
Ala Thr Leu Leu Thr Lys Gly Asp Tyr
1 5

<210> 41

<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 41
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtgggaga cagcgtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggacattagt aattatttag actggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcctt gatctatgct gcatccattt tgcaagggtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggata tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccgacag tataagactt acccattcac tttcggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 42
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 42
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asp Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ile Leu Gln Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Arg Gln Tyr Lys Thr Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 43
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 43
caggacatta gtaattat 18

<210> 44
<211> 6



<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 44
Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 45
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 45
gctgcatcc 9

<210> 46
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 46
Ala Ala Ser
1

<210> 47
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 47
cgacagtata agacttacct attcact 27

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 48
Arg Gln Tyr Lys Thr Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 49
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 49
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggagac ttggtacagc ctggagagtc cctgagactc 60
tcctgtacag cctctggatt caccttcaat agttatgaaa tgaactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg gactggagtg ggtctcatat attagtagta gtggtggtac caaatactac 180
gtagactctg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca acgccaagaa gtcactgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgatgac acggctcttt attactgtgc gagactcaat 300
ggggttgatg tttttgatat ctgggggcaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354

<210> 50
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

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

<210> 51
<211> 24
<212> DNA



<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 51
ggattcacct tcaatagtta tgaa 24

<210> 52
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 52
Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr Glu
1 5

<210> 53
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 53
attagtagta gtggtggtac caaa 24

<210> 54
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 54
Ile Ser Ser Ser Gly Gly Thr Lys
1 5

<210> 55
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 55
gcgagactca atgggggttga tgttttttgat atc 33

<210> 56
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 56
Ala Arg Leu Asn Gly Val Asp Val Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 57
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 57
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcgagtca ggacattttc aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120
gggaaagttc ctgagctcct gatctctgct gcgtcactt tgcaatcagg ggtcccatct 180
cgtttcagtg gcagtggatc tgggacatat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatattg ctacttatta ctgtcaaaga tataacagtg ccccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 58
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 58
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Phe Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Glu Leu Leu Ile
35 40 45
Ser Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Ser Ala Pro Leu



85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 59
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 59
caggacattt tcaattat 18

<210> 60
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 60
Gln Asp Ile Phe Asn Tyr
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 61
gctgcgtcc 9

<210> 62
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 62
Ala Ala Ser
1

<210> 63
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 63
caaagatata acagtgcccc gctcact

27

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 64
Gln Arg Tyr Asn Ser Ala Pro Leu Thr
1 5

<210> 65
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 65
gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgccca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attatttggga atagtgggtca cataggctat 180
ggggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa atccctatat 240
ctgcaaataga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attattgtgc aagagatagt 300
gggaggtacc agtcctactt tgactactgg ggccagggaa ccctgggtcac cgtctcctca 360

<210> 66
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 66
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

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

<210> 67
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 67
ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

<210> 68
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 68
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

<210> 69
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 69
attatttggga atagtgggtca cata 24

<210> 70
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 70

Ile Ile Trp Asn Ser Gly His Ile
1 5

<210> 71

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 71

gcaagagata gtgggaggta ccagtcctac tttgactac 39

<210> 72

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 72

Ala Arg Asp Ser Gly Arg Tyr Gln Ser Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 73

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 73

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtc cattattagt agctggttg cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaggctct gatctttaag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatacagcag cctgcagcct 240
gatgatattg caacttatta ctgccaacag tataatactt attctcggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 74

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

<210> 75

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 75

cacattatta gtagctgg

18

<210> 76

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 76

His	Ile	Ile	Ser	Ser	Trp
1				5	

<210> 77

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 77
aaggcgtct 9

<210> 78
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 78
Lys Ala Ser
1

<210> 79
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 79
caacagtata atacttattc tcggacg 27

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 80
Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Ser Arg Thr
1 5

<210> 81
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 81
caggtacagc tgcagcagtc aggtccagga ctggtgaagc cctcgcagac cctctcactc 60
acctgtgcc a tctccgggga cagtgtctct agtaatactt ttgcttggaa ctggatcagg 120
cagtcccat cgagaggcct tgagtggctg ggaaggacat actacaggtc caagtggat 180



attgattatg cagaatctgt gaaaagtcga ataaccatca ccccagacac atccaagaac 240
cagttctccc tgcagttgaa ctctgtgact cccgaggaca cggctctgta ttactgtgca 300
ggtggataca cctatgcccc ccgggggtgct tttgatatct ggggccaagg gacaatggtc 360
accgtctctt ca 372

<210> 82
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 82
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30
Thr Phe Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Ile Asp Tyr Ala
50 55 60
Glu Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Thr Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80
Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Thr Tyr Ala Pro Arg Gly Ala Phe Asp
100 105 110
Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 83
ggggacagtg tctctagtaa tacttttgct 30

<210> 84
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 84
Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Thr Phe Ala

1510

<210> 85<211> 27<212> DNA<213> 人工序列<220><223> 合成<400> 85acatactaca ggtccaagtg gtatatt27<210> 86<211> 9<212> PRT<213> 人工序列<220><223> 合成<400> 86Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Ile15<210> 87<211> 42<212> DNA<213> 人工序列<220><223> 合成<400> 87gcaggtggat acacctatgc cccccggggt gcttttgata tc42<210> 88<211> 14<212> PRT<213> 人工序列<220><223> 合成<400> 88Ala Gly Gly Tyr Thr Tyr Ala Pro Arg Gly Ala Phe Asp Ile1510<210> 89<211> 318

24

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 89
gacatccaga tgacccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag tatgttagtt atttcacttt tggccagggg 300
accaagctgg agatcaaa 318

<210> 90
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

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

<210> 91
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 91
cagagtatta gtagctgg 18

<210> 92
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 92

Gln Ser Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 93

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 93

aaggcgtct

9

<210> 94

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 94

Lys Ala Ser
1

<210> 95

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 95

caacagtatg ttagttattt cact

24

<210> 96

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 96
Gln Gln Tyr Val Ser Tyr Phe Thr
1 5

<210> 97
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 97
gagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtgcagc ctggaggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatgaaa tgaactgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg gatttcatac attagtagtc gtggtggtac catatactac 180
gcagactcta taaagggccg attcaccatc tacagagaca acgccaggaa ctcactgtat 240
ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggctatctt attactgtgc gagactgagt 300
gggggttgata tttttgatat ctgggggcca gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354

<210> 98
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 98
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Gly Gly Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Ile
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Tyr Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Ser Gly Val Asp Ile Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 99
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 99
ggattcacct tcagtagtta tgaa 24

<210> 100
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 100
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Glu
1 5

<210> 101
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 101
attagtagtc gtggtggtac cata 24

<210> 102
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 102
Ile Ser Ser Arg Gly Gly Thr Ile
1 5

<210> 103
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 103

gcgagactga gtgggggttga tatttttgat atc 33

<210> 104
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 104
Ala Arg Leu Ser Gly Val Asp Ile Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 105
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 105
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcgagtca gggcattagc aattatttag cctggatatca gcagaaacca 120
gggaaagtgc ctaaaactcct gatctatttt gcatccactt tgcaatcagg ggtcccttct 180
cgcttcagtg gcggtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaagg tataacagtg ccccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 106
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 106
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Phe Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Ser Ala Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

	100	105
<210> 107		
<211> 18		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成		
<400> 107		
cagggcatta gcaattat		18
<210> 108		
<211> 6		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成		
<400> 108		
Gln Gly Ile Ser Asn Tyr		
1 5		
<210> 109		
<211> 9		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成		
<400> 109		
tttgcattcc		9
<210> 110		
<211> 3		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成		
<400> 110		
Phe Ala Ser		
1		
<210> 111		
<211> 27		



<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 111
caaaggtata acagtgcccc gctcact 27

<210> 112
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 112
Gln Arg Tyr Asn Ser Ala Pro Leu Thr
1 5

<210> 113
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 113
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgccca tgacctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attactggta gtgttggttaa cacatactac 180
gcagactctg tgaagggtcg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctggg agccgaggat acggccgaat attactgtgc gaaaggggcg 300
ggaatgacta cgaactggta cctcgatctc tggggccgtg gcaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 114
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 114
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

32

<220>
<223> 合成

<400> 118
Ile Thr Gly Ser Val Gly Asn Thr
1 5

<210> 119
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 119
gcgaaagggg cggaatgac tacgaactgg tacctcgatc tc 42

<210> 120
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 120
Ala Lys Gly Ala Gly Met Thr Thr Asn Trp Tyr Leu Asp Leu
1 5 10

<210> 121
<211> 339
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 121
gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcgc gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaatcagaa ctacttaact 120
tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aaacttctca ttaagtgggc atctaccg 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattatt gtcagcaata tgctagtagt 300
ccgtatactt ttggccaggg gaccaagctg gagatcaaa 339

<210> 122
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 122
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Ala Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Asn Gln Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Lys Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Ala Ser Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 123
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 123
cagagtgttt tatacagctc caacaatcag aactac 36

<210> 124
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 124
Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Gln Asn Tyr
1 5 10

<210> 125
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成



<400> 125
tgggcatct 9

<210> 126
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 126
Trp Ala Ser
1

<210> 127
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 127
cagcaatatg ctagtagtcc gtatact 27

<210> 128
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 128
Gln Gln Tyr Ala Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 129
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 129
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacccttgat gatcatgccg tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtgttta catagactat 180

gcggactctg tgaagggccg attcaccatt ttcagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaataga acagtctgag agctgaggac acggccttct attactgtgc aagagatat 300
gagggagctc gggactactg gggccaggga accctgggtca ccgtctcctc a 351

<210> 130
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

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

<210> 131
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 131
ggattcaccc ttgatgatca tgcc 24

<210> 132
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 132
Gly Phe Thr Leu Asp Asp His Ala
1 5



<210> 133
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 133
attagttgga atagtgttta cata 24

<210> 134
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 134
Ile Ser Trp Asn Ser Val Tyr Ile
1 5

<210> 135
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 135
gcaagagata ttgagggagc tcgggactac 30

<210> 136
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 136
Ala Arg Asp Ile Glu Gly Ala Arg Asp Tyr
1 5 10

<210> 137
<211> 321
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 137

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggctagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcaaaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggata tgggacagaa ttactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caccttatta ctgtctacag cataatagtt acccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 138

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 138

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

<210> 139

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 139

cagggcatta gaaatgat 18

<210> 140

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列



<220>
<223> 合成

<400> 140
Gln Gly Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 141
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 141
gctgcatcc 9

<210> 142
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 142
Ala Ala Ser
1

<210> 143
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 143
ctacagcata atagttaccc gctcact 27

<210> 144
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 144

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 145
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 145
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggct cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cagtttttagc atctatgcca tgagctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attaattggc gtggtgatgg cacacactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagac cagctgttat 240
ctgcaaata ga gcagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaacccgct 300
atgagtacaa atggttttga tatctggggc caagggacaa tggtcaccgt ctcttca 357

<210> 146
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 146
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ile Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Asn Gly Arg Gly Asp Gly Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Pro Val Met Ser Thr Asn Gly Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 147
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>



<223> 合成

<400> 147
ggattcagtt ttagcatcta tgcc24

<210> 148
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 148
Gly Phe Ser Phe Ser Ile Tyr Ala
15

<210> 149
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 149
attaatggtc gtggtgatgg caca24

<210> 150
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 150
Ile Asn Gly Arg Gly Asp Gly Thr
15

<210> 151
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 151
gcgaaacccg tcatgagtac aaatggtttt gatatc36

<210> 152
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 152
Ala Lys Pro Val Met Ser Thr Asn Gly Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 153
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 153
gacatccaga tgacccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggatatca actgaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcct aatctataag gcgtctaatt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagag ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatattt attggacggt cggccaaggg 300
accaaggtgg aaatcaaa 318

<210> 154
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 154
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Leu Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Trp Thr
85 90 95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105



<210> 155
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 155
cagagtatta gtagctgg 18

<210> 156
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 156
Gln Ser Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 157
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 157
aaggcgtct 9

<210> 158
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 158
Lys Ala Ser
1

<210> 159
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 159
caacagtata atatttattg gacg 24

<210> 160
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 160
Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Trp Thr
1 5

<210> 161
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 161
caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtaaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctgggta cacctttggc acctctggta tcacctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg agcagcgctt acaatggtaa aacagactat 180
gcacaaaagt tccaggacag agtcaccatg accacagaca catccacgac cacaggctac 240
atggagatga ggagccttac atctgacgac acggccgtct attactgtac tactgtagta 300
cgtcgtccct ttgacttctg gggccaggga accctgggtca ccgtctcctc a 351

<210> 162
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 162
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Gly Thr Ser
20 25 30
Gly Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ser Ser Ala Tyr Asn Gly Lys Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60



Gln Asp Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Gly Tyr
65 70 75 80
Met Glu Met Arg Ser Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Thr Val Val Arg Arg Pro Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 163
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 163
ggttacacct ttggcacctc tggt 24

<210> 164
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 164
Gly Tyr Thr Phe Gly Thr Ser Gly
1 5

<210> 165
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 165
agcagcgctt acaatggtaa aaca 24

<210> 166
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 166
Ser Ser Ala Tyr Asn Gly Lys Thr
1 5

<210> 167
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 167
actactgtag tacgtcgtcc ctttgacttc 30

<210> 168
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 168
Thr Thr Val Val Arg Arg Pro Phe Asp Phe
1 5 10

<210> 169
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 169
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggacattaat aatttttttag cctggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcggtggatc tgggacagat ttcgctctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaggattttg caacttatta ctgccaacag tatagttctt accctatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 170
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成



<400> 170
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Asn Phe
20 25 30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60
Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Ile
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 171
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 171
caggacatta ataatttt 18

<210> 172
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 172
Gln Asp Ile Asn Asn Phe
1 5

<210> 173
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 173
gctgcatcc 9

<210> 174

<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 174
Ala Ala Ser
1

<210> 175
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 175
caacagtata gttctttaccc tatcacc 27

<210> 176
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 176
Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Ile Thr
1 5

<210> 177
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 177
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtccagc cggggggggtc cctcagactc 60
tcctgtatag tctctggatt caccttttagt ggctcttgga tgagttgggt ccgccagctt 120
ccaggaaagg ggctggagtg ggtggccaat attaaagaag atggaagtga ttcatactat 180
gtggactctg tggagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagag ttcactttat 240
ctgcaaatga acagtctgag agtcgacgac acggctgtat atttctgtgc gagagcgagg 300
acagtccctc tccactactg gggccagggc accctgggtca ccgtctcctc a 351

<210> 178

<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 178
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Leu Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Asn Ile Lys Glu Asp Gly Ser Asp Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Ala Arg Thr Val Pro Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 179
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 179
ggattcacct ttagtggctc ttgg 24

<210> 180
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 180
Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser Trp
1 5

<210> 181
<211> 24
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 181

attaaagaag atggaagtga ttca

24

<210> 182

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 182

Ile Lys Glu Asp Gly Ser Asp Ser
1 5

<210> 183

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 183

gcgagagcga ggacagtccc tctccactac

30

<210> 184

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 184

Ala Arg Ala Arg Thr Val Pro Leu His Tyr
1 5 10

<210> 185

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成



<400> 185
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gagtattaat atttggttgg cctgggtatca acagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatagg gcgtcttatt tagaaagtgg ggtcccatca 180
agtttcgccg gcggtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgactttg gaacttatta ttgtcaacac tataatagtt atccattcac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 186
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 186
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ile Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Arg Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Ser Phe Ala Gly
50 55 60
Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Asp Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Asn Ser Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 187
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 187
cagagtatta atatttgg 18

<210> 188
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 188
Gln Ser Ile Asn Ile Trp
1 5

<210> 189
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 189
agggcgtct 9

<210> 190
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 190
Arg Ala Ser
1

<210> 191
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 191
caacactata atagttatcc attcact 27

<210> 192
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 192
Gln His Tyr Asn Ser Tyr Pro Phe Thr
1 5



<210> 193
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 193
gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat ggttatgccca tgcactgggt ccggcaaggt 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagtgggt atagtgatac cttaggctat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaaaaa ctccctgtat 240
ctgcaaatga acagtctgag aactgaggac acggccttct attactgtgc aaaaatctct 300
agcagcggtc gggcctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctca 357

<210> 194
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 194
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Gly Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Gly Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Tyr Ser Asp Thr Leu Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Ile Ser Ser Gly Trp Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 195
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 195
ggattcacct ttgatggtta tgcc

<210> 196
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 196
Gly Phe Thr Phe Asp Gly Tyr Ala
1 5

<210> 197
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 197
attagttggt atagtgatac ctta 24

<210> 198
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 198
Ile Ser Trp Tyr Ser Asp Thr Leu
1 5

<210> 199
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 199
gcaaaaatct ctagcagcgg ctgggccttt gactac 36

<210> 200
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 200
Ala Lys Ile Ser Ser Ser Gly Trp Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 201
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 201
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggtacc ctgtctttgt ctccagggga gagagccacc 60
ctctcttgca gggccagtca cagtgttagc agcgctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccaga ctcccaggct cctcatctat ggtacatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gttcacctct attcactttc 300
ggccctggga ccaaagtgga tatcaaaa 327

<210> 202
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 202
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser His Ser Val Ser Ser Ala
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Thr Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Thr Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95
Leu Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 203
<211> 21
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 203
cacagtgtta gcagcgccta c 21

<210> 204
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 204
His Ser Val Ser Ser Ala Tyr
1 5

<210> 205
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 205
ggtacatcc 9

<210> 206
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 206
Gly Thr Ser
1

<210> 207
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成



<400> 207
cagcagtatg gtagttcacc tctattcact 30

<210> 208
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 208
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Phe Thr
1 5 10

<210> 209
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 209
caggtagcagc tgcagcagtc aggtccagga ctgggtgaagc cctcgcagac cctctcactc 60
acctgtgtca tctccgggga cagtgtctct agtaacactg cttggaactg ggtcaggcag 120
tccccatcga gaggccttga gtggctggga aggacatact acagggtccaa gtggtataat 180
gattatgcag tatctgtgaa aagtcgaata accatcaacc cagacacatc caagaaccag 240
ttctccctgc tgatgaactc tgtgactccc gaagacacgg ctgtatatta ttgcgcaaga 300
gtggttcggg gacttaacta ctttgactac tggggccagg gaaccctggg cactgtctcc 360
tca 363

<210> 210
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 210
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Val Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30
Thr Ala Trp Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val
50 55 60
Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn Gln
65 70 75 80

Phe Ser Leu Leu Met Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Arg Val Val Arg Gly Leu Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 211
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 211
ggggacagtg tctctagtaa cactgct 27

<210> 212
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 212
Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Thr Ala
1 5

<210> 213
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 213
acatactaca ggtccaagtg gtataat 27

<210> 214
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 214
Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn

1

5

<210> 215

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 215

gcaagagtgg ttcggggact taactacttt gactac

36

<210> 216

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 216

Ala Arg Val Val Arg Gly Leu Asn Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 217

<211> 339

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 217

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacaactcca acaataagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aaactactca ttactgggtc atcttcccgg 180

gaatccggggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcggcc tgcaggctga agatgtggca atttattact gtcagcaata ttctacaatt 300

ccttacactt ttggccaggg gaccaagctg gagatcaaa 339

<210> 218

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 218

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



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

Lys

<210> 219
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 219
cagagtgttt tatacaactc caacaataag aactac 36

<210> 220
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 220
Gln Ser Val Leu Tyr Asn Ser Asn Asn Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 221
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 221
tggtcatct 9

<210> 222



<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 222
Trp Ser Ser
1

<210> 223
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 223
cagcaatatt ctacaattcc ttacact 27

<210> 224
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 224
Gln Gln Tyr Ser Thr Ile Pro Tyr Thr
1 5

<210> 225
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 225
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggt gtggtacggc cggggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caagtttgat gattatggca tgacctgggt ccgccacgtt 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctctggt attaattgga atgggtggtag aacagggttat 180
acagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggccttgt atcactgtgc gggagctcgc 300
cgtgatgctt ttgatatctg gggccaaggg acaatggtca ccgtctcttc a 351

<210> 226

<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 226
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Lys Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Gly Met Thr Trp Val Arg His Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Asn Trp Asn Gly Gly Arg Thr Gly Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr His Cys
85 90 95
Ala Gly Ala Arg Arg Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 227
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 227
ggattcaagt ttgatgatta tggc 24

<210> 228
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 228
Gly Phe Lys Phe Asp Asp Tyr Gly
1 5

<210> 229
<211> 24
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 229

attaattgga atggtggtag aaca24

<210> 230

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 230

Ile Asn Trp Asn Gly Gly Arg Thr

15

<210> 231

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 231

gcgggagctc gccgtgatgc ttttgatatc30

<210> 232

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 232

Ala Gly Ala Arg Arg Asp Ala Phe Asp Ile

1510

<210> 233

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 233
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctataggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gaacattatc aaatatatttaa attggtatca gcagaatgca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatact gcacccagct tgcaaagtgg agtcccatca 180
cggttcagtg gcagcggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttccagtt ccccatcacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 234
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 234
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Ile Lys Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Asn Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Ser Ser Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 235
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 235
cagaacatta tcaaatat 18

<210> 236
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成



<400> 236
Gln Asn Ile Ile Lys Tyr
1 5

<210> 237
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 237
actgcatcc 9

<210> 238
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 238
Thr Ala Ser
1

<210> 239
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 239
caacagagtt ccagttcccc atacact 27

<210> 240
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 240
Gln Gln Ser Ser Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 241
 <211> 366
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 241
 cagggtcacct tgaaggagtc tggtcctgtg ctggtgaaac ccacacagac cctctcgtctg 60
 acctgcaccg tctcgggggtt ctcaactcagt gatgctggta tgggtgtgag ctggatccgt 120
 cagccccag ggaaggccct ggagtggctt gcacacattt ttctgaatga cgggaaatcc 180
 tacagcacat ctctgaagag cagactcacc atctccaagg acacctccaa aaggcaggtg 240
 gtccttacca tgaccaacat ggaccctgtg gacacagcca catattactg tgcacggata 300
 cggactggaa cttattcctt ataccttgac tactggggcc agggaaccct ggtcactgtc 360
 tcctca 366

<210> 242
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 242
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asp Ala
 20 25 30
 Gly Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Gly Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Arg Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Ile Arg Thr Gly Thr Tyr Ser Leu Tyr Leu Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 243
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 243

gggttctcac tcagtgatgc tggatatgggt 30

<210> 244
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 244
Gly Phe Ser Leu Ser Asp Ala Gly Met Gly
1 5 10

<210> 245
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 245
atttttttcga atgacgggaa a 21

<210> 246
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 246
Ile Phe Ser Asn Asp Gly Lys
1 5

<210> 247
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 247
gcacggatac ggactggaac ttattcctta taccttgact ac 42

<210> 248
<211> 14
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 248

Ala Arg Ile Arg Thr Gly Thr Tyr Ser Leu Tyr Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 249

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 249

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gctctatddd gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagatdddg caagttacta ctgtcaagag agttatagta ccccgtaggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 250

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 250

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

<210> 251

<211> 18



<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 251
cagagcatta acagctat

18

<210> 252
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 252
Gln Ser Ile Asn Ser Tyr
1 5

<210> 253
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 253
tttgcattcc

9

<210> 254
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 254
Phe Ala Ser
1

<210> 255
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 255
caagagagtt atagtacccc gtggacg 27

<210> 256
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 256
Gln Glu Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 257
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 257
caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt gactataaca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcggtt atatggtatg atggatctaa taaacactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcacaatc tccagagaca attccaagaa cacgctctat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatgga 300
tttacgattt ttggaatggt tcttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 258
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 258
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr



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

<210> 259
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 259
ggattcacct tcagtgacta taac 24

<210> 260
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 260
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Asn
1 5

<210> 261
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 261
atatggtatg atggatctaa taaa 24

<210> 262
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 262

Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 263
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 263
gcgagagatg gatttacgat ttttggaatg gttcttgact ac 42

<210> 264
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 264
Ala Arg Asp Gly Phe Thr Ile Phe Gly Met Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 265
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 265
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttata agcagctact tagcctggta ccagcagaag 120
cctggtcagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagact ttgcagtgtt ttactgtcag cagtatggta gttcacctcc cttcactttc 300
ggccctggga ccaaagtgga tatcaaa 327

<210> 266
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 266



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

<210> 267
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 267
cagagtgtta tcagcagcta c 21

<210> 268
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 268
Gln Ser Val Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 269
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 269
ggtgcatcc 9

<210> 270
<211> 3

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 270
Gly Ala Ser
1

<210> 271
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 271
cagcagtatg gtagttcacc tcccttcact 30

<210> 272
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 272
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Phe Thr
1 5 10

<210> 273
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 273
gaagtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggttcagc cggggggggac cctaagacta 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc gcctatgccca tgagttgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg gactggagtg ggtctcttct attaatgttc gtgctggtga cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg cttcaccatc tccagagaca attccaagaa tacgctgttt 240
ctgctgatga acagcctgag agccgaagac acggccgcat attactgtgc gaaagccagg 300
tatagcagca attggggctt tgacttcttg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 360

<210> 274



<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 274
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Thr Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Asn Val Arg Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Leu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Ala Arg Tyr Ser Ser Asn Trp Gly Phe Asp Phe Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 275
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 275
ggattcacct ttagegccta tgcc 24

<210> 276
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 276
Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr Ala
1 5

<210> 277
<211> 24
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 277
attaatgttc gtgctggtga caca 24

<210> 278
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 278
Ile Asn Val Arg Ala Gly Asp Thr
1 5

<210> 279
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 279
gcgaaagcca ggtatagcag caattggggc tttgacttc 39

<210> 280
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 280
Ala Lys Ala Arg Tyr Ser Ser Asn Trp Gly Phe Asp Phe
1 5 10

<210> 281
<211> 339
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成



<400> 281
gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctgactgtgt ctctggggcgc gaggaccacc 60
atcaactgcc agtccagcca gactatttta cacagctcca acaatcacaa ctacttagct 120
tggtatcagc agaaaccggg actgcctcct aaactactca tttactggtc atctacccgg 180
gaatccggag tccctgaccg attcagcggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca atttattact gtcaacaata ttctaatact 300
ccgtacactt ttggccaggg gaccaagctg gagatcaat 339

<210> 282
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 282
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Ala Arg Thr Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser Gln Thr Ile Leu His Ser
20 25 30
Ser Asn Asn His Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Leu
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ser Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Ser Asn Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Asn

<210> 283
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 283
cagactattt tacacagctc caacaatcac aactac 36

<210> 284
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 284
Gln Thr Ile Leu His Ser Ser Asn Asn His Asn Tyr
1 5 10

<210> 285
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 285
tggatcatct 9

<210> 286
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 286
Trp Ser Ser
1

<210> 287
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 287
caacaatatt ctaatactcc gtacact 27

<210> 288
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 288
Gln Gln Tyr Ser Asn Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 289
<211> 345
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 289
caggtgcagt tgggtggaatc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtggag cctctggatt caccttcaga aattatggca tgcagtgggt ccgccagggg 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacactt atatcatttg atggaaatga taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttc 240
ctgcaaatga acagcctgag aactgaggac acggctgttt attactgtgc gagagggggg 300
gattttgact actggggaca gggaaccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 290
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 290
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr
20 25 30
Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Gly Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Thr Leu Ile Ser Phe Asp Gly Asn Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 291
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 291
ggattcacct tcagaaatta tggc 24

<210> 292
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 292
Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr Gly
1 5

<210> 293
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 293
atatcatttg atggaaatga taaa 24

<210> 294
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 294
Ile Ser Phe Asp Gly Asn Asp Lys
1 5

<210> 295
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 295
gcgagagggg gggattttga ctac 24

<210> 296
<211> 8



<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 296
Ala Arg Gly Gly Asp Phe Asp Tyr
1 5

<210> 297
<211> 325
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 297
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aaagatttag gctggatatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgtct gatctatgct gcatccagtt tacatagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcaactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtctacaa cataatagtt accccatgta cacttttggt 300
caggggacca agctggagat caaaa 325

<210> 298
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 298
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Lys Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Met
85 90 95
Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 299

<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 299
caggacatta gaaaagat

18

<210> 300
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 300
Gln Asp Ile Arg Lys Asp
1 5

<210> 301
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 301
gctgcatcc

9

<210> 302
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 302
Ala Ala Ser
1

<210> 303
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>



<223> 合成

<400> 303
ctacaacata atagttaccc catgtacact 30

<210> 304
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 304
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Met Tyr Thr
1 5 10

<210> 305
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 305
gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgccca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt atctcttggc atagtggcat cataggctat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaataga acagtctgag aactgaggac gcggccttgt attattgtgc aaaaattggg 300
agctactttt actttgactc ctgggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 306
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 306
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp His Ser Gly Ile Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

<210> 307
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 307
ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

<210> 308
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 308
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

<210> 309
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 309
atctcttggc atagtggcat cata 24

<210> 310
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 310
Ile Ser Trp His Ser Gly Ile Ile



15

<210> 311<211> 33<212> DNA<213> 人工序列<220><223> 合成<400> 311gcaaaaaattg ggagctactt ttacttttgac tcc33<210> 312<211> 11<212> PRT<213> 人工序列<220><223> 合成<400> 312Ala Lys Ile Gly Ser Tyr Phe Tyr Phe Asp Ser1510<210> 313<211> 324<212> DNA<213> 人工序列<220><223> 合成<400> 313gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcaactact tagcctggta ccagcagaaa 120cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcgtcca gcagggccac tggcatccca 180gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240cctgaagatt ttgcagttta ttactgtcag cagtttggtgta gctcagggta cacttttggc 300caggggacca acctggagat caaa324<210> 314<211> 108<212> PRT<213> 人工序列<220><223> 合成<400> 314Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

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

<210> 315
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 315
cagagtgtta gcagcaacta c 21

<210> 316
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 316
Gln Ser Val Ser Ser Asn Tyr
1 5

<210> 317
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 317
ggtgcgtcc 9

<210> 318
<211> 3
<212> PRT



<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 318

Gly Ala Ser
1

<210> 319

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 319

cagcagtttg gtagctcagg gtacact 27

<210> 320

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 320

Gln Gln Phe Gly Ser Ser Gly Tyr Thr
1 5

<210> 321

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 321

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ctggtcaagc cggggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggaat taccttcagt agttatagca tgaactgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcatcc attagtacta ggagtagtct cattcactac 180
gcagactcag tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agacgaggac acggctgtgt attactgtgc gcgttgggat 300
gcggcagccg cctttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcatcgtctc ctca 354

<210> 322

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 322

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

<210> 323

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 323

ggaattacct tcagtagtta tagc 24

<210> 324

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 324

Gly Ile Thr Phe Ser Ser Tyr Ser
1 5

<210> 325

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列



<220>
<223> 合成

<400> 325
attagtacta ggagtagtct catt 24

<210> 326
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 326
Ile Ser Thr Arg Ser Ser Leu Ile
1 5

<210> 327
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 327
gcgcggttgagg atgcggcagc cgcctttgac tac 33

<210> 328
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 328
Ala Arg Trp Asp Ala Ala Ala Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 329
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 329
gacatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgct gggccagtca gggcattagc agttatttag cctgggtatca gcaaaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgtt gcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttattt ctgtcaacag cttaatagtt acccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 330
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 330
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Val Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 331
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 331
cagggcatta gcagttat 18

<210> 332
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 332
Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
1 5



<210> 333
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 333
gttgcaccc

9

<210> 334
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 334
Val Ala Ser
1

<210> 335
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 335
caacagctta atagttaccc gctcact

27

<210> 336
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 336
Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 337
<211> 342
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 337

```
caggtccagt tgggtacagtc tggggctgag gtgcagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg ttcccgata caccctcact gcattatcca tacactgggt gcgacaagct 120
cctggaaaag ggcttgagtg gatgggaaat ttgatcctg gagatgggtga aacaatccac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accggggaca catctacaga cacagcctac 240
atggaactga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attattgtgt aggggttact 300
tttgactact gggggccaggg aaccctggtc accgtctcct ca 342
```

<210> 338

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 338

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

<210> 339

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 339

ggatacaccc tcaactgcatt atcc

24

<210> 340

<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 340
Gly Tyr Thr Leu Thr Ala Leu Ser
1 5

<210> 341
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 341
tttgatcctg gagatggtga aaca 24

<210> 342
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 342
Phe Asp Pro Gly Asp Gly Glu Thr
1 5

<210> 343
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 343
gtaggggtta cttttgacta c 21

<210> 344
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 344
Val Gly Val Thr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 345
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 345
gaaattgtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttgcc agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct cctctatggt gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
gaggattttg cactttatta ctgtcagcac tataataact ggccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 346
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 346
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Ser Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Leu
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Asn Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 347
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列



<220>
<223> 合成

<400> 347
cagagtgttg ccagcaac

18

<210> 348
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 348
Gln Ser Val Ala Ser Asn
1 5

<210> 349
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 349
ggtgcatcc

9

<210> 350
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 350
Gly Ala Ser
1

<210> 351
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 351
cagcactata ataactggcc gctcact

27

<210> 352
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 352
Gln His Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 353
<211> 345
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 353
gaggtgcagc ttgtagagtc tgggggagac ttggtacatc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggttt cccctttgat gagtatgcca tgcactgggt ccggcaagtt 120
ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga gtaataataa cataggctat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaaaaa ctccctgtat 240
ctacaaatga acagtctgag acctgaggac acggcctttt attactgtgc aaaatctgga 300
atctttgact cctgggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 354
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 354
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val His Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Asp Glu Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Ser Asn Asn Asn Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Ser Gly Ile Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 355
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 355
ggtttcccct ttgatgagta tgcc 24

<210> 356
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 356
Gly Phe Pro Phe Asp Glu Tyr Ala
1 5

<210> 357
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 357
attagttgga gtaataataa cata 24

<210> 358
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 358
Ile Ser Trp Ser Asn Asn Asn Ile
1 5

<210> 359

<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 359
gcaaaatctg gaatctttga ctcc 24

<210> 360
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 360
Ala Lys Ser Gly Ile Phe Asp Ser
1 5

<210> 361
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 361
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgtagc agggacttag cctggtagca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catccatggg gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tggggcagag ttcactctca tcatcagcag cctgcagtct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataacaact ggcctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 362
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 362
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

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

<210> 363
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 363
cagagtgtta gcagggac 18

<210> 364
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 364
Gln Ser Val Ser Arg Asp
1 5

<210> 365
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 365
ggtgcatcc 9

<210> 366
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 366
Gly Ala Ser
1

<210> 367
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 367
cagcagtata acaactggcc tctcact 27

<210> 368
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 368
Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 369
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 369
gaggtgcact tgggtggagtc tggggggaggc ttggttcagc ctggaggggtc cctgagactc 60
tcctgcgcag cctctgggtt caccttcagt agttatgaaa tgaactgggt ccgccagact 120
ccaggggaagg ggctggagtg gatttcacac attagtagtc gtagtggttat aatatattat 180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctactgttt 240
ctgcaaataga acagtctgag agccgaagac acggctgtct atttctgtgc ggggattact 300
atttttggta tccctgaata ctgggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 370
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成



<400> 370
Glu Val His Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ser His Ile Ser Ser Arg Ser Val Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Gly Ile Thr Ile Phe Gly Ile Pro Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 371
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 371
gggttcacct tcagtagtta tgaa 24

<210> 372
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 372
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Glu
1 5

<210> 373
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 373

attagtagtc gtagtgttat aata 24

<210> 374
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 374
Ile Ser Ser Arg Ser Val Ile Ile
1 5

<210> 375
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 375
gcgggggatta ctatTTTTtg tatccctgaa tac 33

<210> 376
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 376
Ala Gly Ile Thr Ile Phe Gly Ile Pro Glu Tyr
1 5 10

<210> 377
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 377
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagt agttactttg cctgggtatca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctoct catctatgat gcgtccagca gggccacagg catcccaacc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcaactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcaa cgaagcagct ggcctatcac cttcggccag 300



gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 378
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 378
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Thr Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Trp Pro Ile
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 379
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 379
cagagtgtta gtagttac 18

<210> 380
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 380
Gln Ser Val Ser Ser Tyr
1 5

<210> 381
<211> 9

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 381
gatgcgtcc

9

<210> 382
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 382
Asp Ala Ser
1

<210> 383
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 383
cagcaacgaa gcagctggcc tatcacc

27

<210> 384
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 384
Gln Gln Arg Ser Ser Trp Pro Ile Thr
1 5

<210> 385
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 385
gaggtgcagc tgttggagtc tggggggaggc ttcgtacagc cggggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt tcctatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaatt attagtctta atggctcgta cacatactat 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctccaaatga acagcctgag agccgaagac acggccgtct attactgtgc cactgtaact 300
ggggactggt tcgaccctg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc a 351

<210> 386
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 386
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Phe Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ile Ile Ser Ser Asn Gly Arg Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Thr Val Thr Gly Asp Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 387
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 387
ggattcacct ttagttccta tgcc 24

<210> 388
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 388
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 389
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 389
attagttcta atggtcgtta caca 24

<210> 390
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 390
Ile Ser Ser Asn Gly Arg Tyr Thr
1 5

<210> 391
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 391
gccactgtaa ctgggggactg gttcgacccc 30

<210> 392
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 392
Ala Thr Val Thr Gly Asp Trp Phe Asp Pro



1 5 10

<210> 393
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 393
gacatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttggt gggccagtca ggacattgac atttctttag cctgggtatca gcaaaaacca 120
gggaaagccc ctaagctctt gatctatgct gcatccactt tgcaaagtgg ggtcccttca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagatTTTT caacttatta ctgtcaacaa cttaatagtt acccgatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggacattaa a 321

<210> 394
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 394
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Asp Ile Asp Ile Ser
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ser Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Ile
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Asp Ile Lys
100 105

<210> 395
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 395

caggacattg acatttct 18

<210> 396
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 396
Gln Asp Ile Asp Ile Ser
1 5

<210> 397
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 397
gctgcatcc 9

<210> 398
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 398
Ala Ala Ser
1

<210> 399
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 399
caacaactta atagttaccc gatcacc 27

<210> 400
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 400

Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Ile Thr
1 5

<210> 401

<211> 267

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類 PRLR 細胞外-mmH

<400> 401

```

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

```

<210> 402
 <211> 472
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人類 PRLR 細胞外-mFc

<400> 402
 Met His Arg Pro Arg Arg Arg Gly Thr Arg Pro Pro Pro Leu Ala Leu
 1 5 10 15
 Leu Ala Ala Leu Leu Ala Ala Arg Gly Ala Asp Ala Gln Leu Pro
 20 25 30
 Pro Gly Lys Pro Glu Ile Phe Lys Cys Arg Ser Pro Asn Lys Glu Thr
 35 40 45
 Phe Thr Cys Trp Trp Arg Pro Gly Thr Asp Gly Gly Leu Pro Thr Asn
 50 55 60
 Tyr Ser Leu Thr Tyr His Arg Glu Gly Glu Thr Leu Met His Glu Cys
 65 70 75 80
 Pro Asp Tyr Ile Thr Gly Gly Pro Asn Ser Cys His Phe Gly Lys Gln
 85 90 95
 Tyr Thr Ser Met Trp Arg Thr Tyr Ile Met Met Val Asn Ala Thr Asn
 100 105 110
 Gln Met Gly Ser Ser Phe Ser Asp Glu Leu Tyr Val Asp Val Thr Tyr
 115 120 125
 Ile Val Gln Pro Asp Pro Pro Leu Glu Leu Ala Val Glu Val Lys Gln
 130 135 140
 Pro Glu Asp Arg Lys Pro Tyr Leu Trp Ile Lys Trp Ser Pro Pro Thr
 145 150 155 160
 Leu Ile Asp Leu Lys Thr Gly Trp Phe Thr Leu Leu Tyr Glu Ile Arg
 165 170 175
 Leu Lys Pro Glu Lys Ala Ala Glu Trp Glu Ile His Phe Ala Gly Gln
 180 185 190
 Gln Thr Glu Phe Lys Ile Leu Ser Leu His Pro Gly Gln Lys Tyr Leu
 195 200 205
 Val Gln Val Arg Cys Lys Pro Asp His Gly Tyr Trp Ser Ala Trp Ser
 210 215 220
 Pro Ala Thr Phe Ile Gln Ile Pro Ser Asp Phe Thr Met Asn Asp Glu
 225 230 235 240
 Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala
 245 250 255
 Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile
 260 265 270
 Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val
 275 280 285
 Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val
 290 295 300
 Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp
 305 310 315 320
 Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln
 325 330 335
 Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp

```

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

```

<210> 403
 <211> 267
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 猴(mf) PRLR 細胞外-mmH

```

<400> 403
Met His Arg Pro Arg Arg Gly Thr Arg Pro Pro Pro Leu Ala Leu
1          5          10          15
Leu Ala Ala Leu Leu Ala Ala Arg Gly Ala Asp Ala Gln Leu Pro
          20          25          30
Pro Gly Lys Pro Glu Ile Phe Lys Cys Arg Ser Pro Asn Lys Glu Thr
          35          40          45
Phe Thr Cys Trp Trp Arg Pro Gly Thr Asp Gly Gly Leu Pro Thr Asn
          50          55          60
Tyr Ser Leu Thr Tyr His Arg Glu Gly Glu Thr Leu Met His Glu Cys
65          70          75          80
Pro Asp Tyr Ile Thr Gly Gly Pro Asn Ser Cys His Phe Gly Lys Gln
          85          90          95
Tyr Thr Ser Met Trp Arg Thr Tyr Val Met Met Val Asn Ala Thr Asn
          100          105          110
Gln Met Gly Ser Ser Phe Ser Asp Glu Leu Tyr Val Asp Val Thr Tyr
          115          120          125
Ile Val Gln Pro Asp Pro Pro Leu Glu Leu Thr Val Glu Val Lys Gln
          130          135          140
Pro Glu Asp Arg Lys Pro Tyr Leu Trp Met Lys Trp Ser Pro Pro Thr
145          150          155          160
Leu Ile Asp Leu Lys Thr Gly Trp Phe Thr Leu Leu Tyr Glu Ile Arg
          165          170          175
Leu Lys Pro Glu Lys Ala Ala Glu Trp Glu Thr His Phe Ala Gly Gln
          180          185          190
Gln Thr Glu Phe Lys Ile Leu Ser Leu His Pro Gly Gln Lys Tyr Leu
          195          200          205

```

Val	Gln	Val	Arg	Cys	Lys	Pro	Asp	His	Gly	Tyr	Trp	Ser	Ala	Trp	Ser
210						215					220				
Pro	Ala	Thr	Phe	Ile	Gln	Ile	Pro	Ser	Asp	Phe	Ile	Met	Asn	Asp	Glu
225					230					235					240
Gln	Lys	Leu	Ile	Ser	Glu	Glu	Asp	Leu	Gly	Gly	Glu	Gln	Lys	Leu	Ile
				245					250					255	
Ser	Glu	Glu	Asp	Leu	His	His	His	His	His	His					
			260					265							

<210> 404

<211> 622

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 全長人類 PRLR

<400> 404

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

113

I641620

發明摘要

※ 申請案號：103128378

※ 申請日：103/08/19

※IPC 分類：
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 47/50 (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01)

【發明名稱】 抗-PRLR抗體及其用途

ANTI-PRLR ANTIBODIES AND USES THEREOF

【中文】

本發明提供結合至泌乳素受體(PRLR)的抗體以及使用該等抗體的方法。依據某些具體例，本發明抗體以高親和力結合人類PRLR。在某些具體例中，本發明包括結合PRLR並且阻斷泌乳素媒介之細胞訊號傳遞的抗體。在其他具體例中，本發明包括結合PRLR但不阻斷泌乳素媒介之細胞訊號傳遞的抗體。本發明抗體可以是完全人類抗體。本發明包括結合至細胞毒性劑、放射性核種或對細胞生長或增生有害的其他部分的抗-PRLR抗體。本發明抗體可用於治療各種癌症以及其他與PRLR相關的病症。本發明亦包括抗體藥物結合物，其包含特異地結合第I類細胞激素受體的抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合至細胞毒性劑。

【英文】

The present invention provides antibodies that bind to prolactin receptor (PRLR) and methods of using the same. According to certain embodiments, the antibodies of the invention bind human PRLR with high affinity. In certain embodiments, the invention includes antibodies that bind PRLR and block prolactin-mediated cell signaling. In other embodiments, the invention includes antibodies that bind PRLR but do

not block prolactin-mediated cell signaling. The antibodies of the invention may be fully human antibodies. The invention includes anti-PRLR antibodies conjugated to a cytotoxic agent, radionuclide, or other moiety detrimental to cell growth or proliferation. The antibodies of the invention are useful for the treatment of various cancers as well as other PRLR-related disorders. The present invention also includes antibody drug conjugates comprising an antibody or antigen-binding fragment thereof that specifically binds a class I cytokine receptor, wherein the antibody or antigen-binding fragment thereof is conjugated to a cytotoxic agent.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（無）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

申請專利範圍

1. 一種結合細胞表面表現之人類泌乳素受體(PRLR)且阻斷表現人類PRLR之細胞中泌乳素媒介之訊號傳遞的經單離抗體或其抗原結合片段，其中
 - (i) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 292、SEQ ID NO: 294、SEQ ID NO: 296、SEQ ID NO: 300、SEQ ID NO: 302及SEQ ID NO: 304的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；
 - (ii) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 14及SEQ ID NO: 16的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；
 - (iii) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 30及SEQ ID NO: 32的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；
 - (iv) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 62及SEQ ID NO: 64的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；
 - (v) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 110及SEQ ID NO: 112的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；
 - (vi) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 118、SEQ ID NO: 120、SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 126及SEQ ID NO: 128的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；
 - (vii) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 132、SEQ ID NO: 134、SEQ ID NO: 136、SEQ ID NO: 140、SEQ ID NO: 142及SEQ ID NO: 144的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序

列；

(viii) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 196、SEQ ID NO: 198、SEQ ID NO: 200、SEQ ID NO: 204、SEQ ID NO: 206及SEQ ID NO: 208的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；

(ix) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 212、SEQ ID NO: 214、SEQ ID NO: 216、SEQ ID NO: 220、SEQ ID NO: 222及SEQ ID NO: 224的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；

(x) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 228、SEQ ID NO: 230、SEQ ID NO: 232、SEQ ID NO: 236、SEQ ID NO: 238及SEQ ID NO: 240的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；

(xi) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 260、SEQ ID NO: 262、SEQ ID NO: 264、SEQ ID NO: 268、SEQ ID NO: 270及SEQ ID NO: 272的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；

(xii) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 276、SEQ ID NO: 278、SEQ ID NO: 280、SEQ ID NO: 284、SEQ ID NO: 286及SEQ ID NO: 288的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；

(xiii) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 356、SEQ ID NO: 358、SEQ ID NO: 360、SEQ ID NO: 364、SEQ ID NO: 366及SEQ ID NO: 368的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；或

(xiv) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 372、SEQ ID NO: 374、SEQ ID NO: 376、SEQ ID NO: 380、SEQ ID NO: 382及SEQ

ID NO: 384 的 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 序列。

2. 如申請專利範圍第1項的經單離抗體或抗原結合片段，其中該經單離抗體或抗原結合片段在表現人類PRLR的細胞中以少於約 1.3 nM的 IC_{50} 阻斷泌乳素媒介之訊號傳遞。
3. 如申請專利範圍第1項的經單離抗體或抗原結合片段，其中該經單離抗體或抗原結合片段在表現人類PRLR的細胞中以少於約 400 pM的 IC_{50} 阻斷泌乳素媒介之訊號傳遞，且其中：
 - (i) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 292、SEQ ID NO: 294、SEQ ID NO: 296、SEQ ID NO: 300、SEQ ID NO: 302及SEQ ID NO: 304的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；
 - (ii) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 110及SEQ ID NO: 112的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；
 - (iii) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 116、SEQ ID NO: 118、SEQ ID NO: 120、SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 126及SEQ ID NO: 128的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；
 - (iv) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 196、SEQ ID NO: 198、SEQ ID NO: 200、SEQ ID NO: 204、SEQ ID NO: 206及SEQ ID NO: 208的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；
 - (v) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 212、SEQ ID NO: 214、SEQ ID NO: 216、SEQ ID NO: 220、SEQ ID NO: 222及SEQ ID NO: 224的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；
 - (vi) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 276、SEQ ID NO:

278、SEQ ID NO: 280、SEQ ID NO: 284、SEQ ID NO: 286及SEQ ID NO: 288的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列；或

(vii) 該抗體或抗原結合片段包含SEQ ID NO: 372、SEQ ID NO: 374、SEQ ID NO: 376、SEQ ID NO: 380、SEQ ID NO: 382及SEQ ID NO: 384的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3序列。

4. 如申請專利範圍第1項的經單離抗體或抗原結合片段，其中：

(i) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 290之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 298之序列的LCVR；

(ii) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 2之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 10之序列的LCVR；

(iii) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 18之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 26之序列的LCVR；

(iv) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 50之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 58之序列的LCVR；

(v) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 98之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 106之序列的LCVR；

(vi) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 114之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 122之序列的LCVR；

(vii) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 130之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 138之序列的LCVR；

(viii) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 194之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 202之序列的LCVR；

(ix) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 210之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 218之序列的LCVR；

- (x) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 226之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 234之序列的LCVR；
- (xi) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 258之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 266之序列的LCVR；
- (xii) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 274之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 282之序列的LCVR；
- (xiii) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 354之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 362之序列的LCVR；或
- (xiv) 該抗體或抗原結合片段包含具有SEQ ID NO: 370之序列的HCVR及具有SEQ ID NO: 378之序列的LCVR。
5. 一種抗體-藥物結合物(ADC)，其包含如申請專利範圍第1至4項中任一項之結合至細胞毒性劑的抗體或其抗原結合片段。
6. 如申請專利範圍第5項的ADC，其中該細胞毒性劑為類美登醇(maytansinoid)。
7. 如申請專利範圍第5項的ADC，其中該類美登醇為DM1、DM4或其衍生物。
8. 如申請專利範圍第7項的ADC，其中該類美登醇為DM1。
9. 如申請專利範圍第5至8項中任一項的ADC，其中該類美登醇經由一個可切割連接體而連結至該抗體。
10. 如申請專利範圍第5至8項中任一項的ADC，其中該類美登醇經由一個非可切割連接體而連結至該抗體。
11. 如申請專利範圍第5至8項中任一項的ADC，其中該類美登醇經由N-琥珀醯亞胺基4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(SMCC)連接體連結至抗體。
12. 如申請專利範圍第5至8項中任一項的ADC，其中該抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 292之重鏈互補決定區

- (HCDR)-1；含有SEQ ID NO: 294之HCDR2；含有SEQ ID NO: 296之HCDR3；含有SEQ ID NO: 300之輕鏈互補決定區(LCDR)-1；含有SEQ ID NO: 302之LCDR2；含有SEQ ID NO: 304之LCDR3。
13. 如申請專利範圍第12項的ADC，其中該抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 290之重鏈可變區(HCVR)及含有SEQ ID NO: 298之輕鏈可變區(LCVR)。
14. 如申請專利範圍第6項的ADC，其中：
- (i) 該類美登醇為DM1；
 - (ii) 該類美登醇經由N-琥珀醯亞胺基4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(SMCC)連接體連結至抗體；且
 - (iii) 該抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 292之重鏈互補決定區(HCDR)-1；含有SEQ ID NO: 294之HCDR2；含有SEQ ID NO: 296之HCDR3；含有SEQ ID NO: 300之輕鏈互補決定區(LCDR)-1；含有SEQ ID NO: 302之LCDR2；含有SEQ ID NO: 304之LCDR3。
15. 如申請專利範圍第14項的ADC，其中該抗體或其抗原結合片段包含含有SEQ ID NO: 290之重鏈可變區(HCVR)及含有SEQ ID NO: 298之輕鏈可變區(LCVR)。
16. 一種醫藥組合物，包含如申請專利範圍第1至4項中任一項之抗體或抗原結合片段以及醫藥上可接受之賦形劑。
17. 一種如申請專利範圍第1至4項中任一項之抗體或抗原結合片段之用途，其用於製造治療癌症之醫藥品。
18. 如申請專利範圍第17項之用途，其中該癌症為乳癌。
19. 一種醫藥組合物，其包含如申請專利範圍第5至8、14及15項中任一項之ADC以及醫藥上可接受之賦形劑。
20. 一種如申請專利範圍第5至8、14及15項中任一項之ADC之用

途，其用於製造殺害表現低含量之細胞表面表現之PRLR的細胞之醫藥品。

21. 如申請專利範圍第20項之用途，其中細胞為腫瘤細胞。
22. 如申請專利範圍第20項之用途，其中細胞表現少於每個細胞1百萬個副本之PRLR。
23. 一種如申請專利範圍第5至8、14及15項中任一項之ADC之用途，其用於製造殺害表現PRLR之腫瘤細胞的醫藥品。
24. 如申請專利範圍第23項之用途，其中該腫瘤細胞為房乳腫瘤細胞。
25. 一種如申請專利範圍第5至8、14及15項中任一項之ADC之用途，其用於製造抑制或減弱腫瘤生長之醫藥品。
26. 如申請專利範圍第25項之用途，其中該腫瘤是選自於由下列組成之群組：腎臟腫瘤、胰臟腫瘤、頭頸部腫瘤、乳房腫瘤、前列腺腫瘤、結腸腫瘤、胃部腫瘤，及卵巢腫瘤、肺部腫瘤與皮膚腫瘤。
27. 如申請專利範圍第26項之用途，其中腫瘤為乳房腫瘤。