



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 113015745 B

(45) 授权公告日 2025. 02. 11

(21) 申请号 201980074188.5

(22) 申请日 2019.10.08

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113015745 A

(43) 申请公布日 2021.06.22

(30) 优先权数据
62/743,501 2018.10.09 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2021.05.11

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/055144 2019.10.08

(87) PCT国际申请的公布数据
W02020/076790 EN 2020.04.16

(73) 专利权人 免疫医疗有限责任公司
地址 美国马里兰州
专利权人 胡默波斯生物医学公司

(72) 发明人 C·特卡奇克 B·塞尔曼 杜群
M·达姆斯沙罗德 D·科尔蒂
A·米诺拉

(74) 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限公司 11287
专利代理师 沈锦华

(51) Int.Cl.
C07K 16/12 (2006.01)
A61K 39/085 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(56) 对比文件
W0 2015055814 A1, 2015.04.23
审查员 田颖

权利要求书3页 说明书20页
序列表24页 附图3页

(54) 发明名称

针对金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体

(57) 摘要

本公开涉及白细胞毒素结合抗体和其抗原结合片段。所述抗体和片段可用于例如检测白细胞毒素和/或用于治疗 and 预防金黄色葡萄球菌感染的方法中。

1. 一种特异性结合到至少一种金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或抗原结合片段包含如SEQ ID NO:1所示的可变重链(VH)互补决定区CDR 1序列、如SEQ ID NO:2所示的VH CDR2序列、如SEQ ID NO:3所示的VH CDR3序列、如SEQ ID NO:12所示的可变轻链(VL)CDR1序列、如SEQ ID NO:5所示的VL CDR2序列和如SEQ ID NO:6所示的VL CDR3序列。

2. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含VH和VL, 其中所述VH包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列。

3. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含VH和VL, 其中所述VL包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列。

4. 根据权利要求1中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:15的序列的VH和含有SEQ ID NO:13的序列的VL。

5. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:16的序列的重链。

6. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:14的序列的轻链。

7. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:16的序列的重链和含有SEQ ID NO:14的序列的轻链。

8. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段, 其中(a)所述抗体或抗原结合片段结合到LukF、LukD或HlgB和/或(b)所述抗体或抗原结合片段中和LukF、LukD或HlgB。

9. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或抗原结合片段(a)结合到LukF、LukD和HlgB和/或(b)中和LukF、LukD和HlgB。

10. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或抗原结合片段进一步包含重链恒定区。

11. 根据权利要求10所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述重链恒定区选自由以下组成的群组: 人免疫球蛋白IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁和IgA₂重链恒定区。

12. 根据权利要求11所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述重链恒定区为人IgG₁恒定区。

13. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或抗原结合片段进一步包含轻链恒定区。

14. 根据权利要求13所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述轻链恒定区选自由以下组成的群组: 人免疫球蛋白IgGκ和IgGλ轻链恒定区。

15. 根据权利要求14所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述轻链恒定区为人IgGκ轻链恒定区。

16. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段为IgG抗体或其抗原结合片段。

17. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含已经工程改造以改进半衰期的Fc区。

18. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体

或其抗原结合片段包含具有YTE突变的Fc区。

19. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段为单克隆抗体或抗原结合片段。

20. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段为全长抗体。

21. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段为抗原结合片段。

22. 根据权利要求21所述的抗原结合片段,其中所述抗原结合片段包含Fab、Fab'、F(ab')₂、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv、胞内抗体、IgG ΔCH2、微型抗体、F(ab')₃、四功能抗体、三功能抗体、双功能抗体、DVD-Ig、Fcab、mAb²、(scFv)₂或scFv-Fc。

23. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段对金黄色葡萄球菌LukF、LukD和HlgB的亲和力小于75pM。

24. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段对LukF、LukD和HlgB具有类似结合亲和力。

25. 根据权利要求1至3中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段,其进一步包含可检测标记。

26. 一种组合物,其包含根据权利要求1至25中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段。

27. 根据权利要求26所述的组合物,其中所述组合物进一步包含药学上可接受的载剂。

28. 一种根据权利要求1至25中任一权利要求所述的抗体或抗原结合片段或根据权利要求26或27所述的组合物在制备用于治疗或预防个体的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*/*S. aureus*)感染的药物中的用途。

29. 根据权利要求28所述的用途,其中所述金黄色葡萄球菌感染为败血症。

30. 根据权利要求28所述的用途,其中所述金黄色葡萄球菌感染为菌血症。

31. 根据权利要求28所述的用途,其中所述金黄色葡萄球菌感染为肺炎。

32. 根据权利要求28所述的用途,其中所述金黄色葡萄球菌感染为ICU肺炎。

33. 根据权利要求28所述的用途,其中所述金黄色葡萄球菌感染为皮肤或软组织感染SSTI。

34. 根据权利要求28所述的用途,其中所述金黄色葡萄球菌感染为糖尿病下肢感染。

35. 根据权利要求28所述的用途,其中所述金黄色葡萄球菌感染为糖尿病性足溃疡DFU。

36. 根据权利要求35所述的用途,其中未感染所述DFU。

37. 根据权利要求35所述的用途,其中感染所述DFU。

38. 根据权利要求35所述的用途,其中所述DFU为1级、2级或3级DFU。

39. 根据权利要求28所述的用途,其中所述金黄色葡萄球菌感染为骨或关节感染。

40. 根据权利要求28所述的用途,其中所述金黄色葡萄球菌感染为关节感染、装置感染、伤口感染、手术部位感染或骨髓炎。

41. 根据权利要求28至40中任一权利要求所述的用途,其中所述个体为手术个体。

42. 根据权利要求28至40中任一权利要求所述的用途,其中所述金黄色葡萄球菌感染

包含耐抗生素金黄色葡萄球菌。

43. 根据权利要求28至40中任一权利要求所述的用途,其中所述个体患有糖尿病。

44. 根据权利要求28至40中任一权利要求所述的用途,其中所述个体为人。

45. 根据权利要求28至40中任一权利要求所述的用途,其中所述治疗或预防金黄色葡萄球菌感染包含毒素中和、抑制细胞溶解、抑制多器官功能失常、抑制金黄色葡萄球菌相关的败血症,或前述的任何组合。

46. 一种经分离的聚核苷酸,其包含编码根据权利要求1至24中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段的重链和轻链的核酸分子。

47. 一种经分离的聚核苷酸,其包含编码根据权利要求1至24中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段的VH和VL的核酸分子。

48. 一种经分离的载体,其包含根据权利要求46或47所述的聚核苷酸。

49. 一种宿主细胞,其包含根据权利要求46或47所述的聚核苷酸,或根据权利要求48所述的载体。

50. 根据权利要求49所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞选自由以下组成的群组:CHO、NS0、PER-C6、HEK-293和HeLa细胞。

51. 根据权利要求49或50所述的宿主细胞,其中分离所述宿主细胞。

52. 一种产生抗体或其抗原结合片段的方法,其包含培养根据权利要求49至51中任一权利要求所述的宿主细胞,以产生所述抗体或其抗原结合片段。

53. 一种用于检测样品中金黄色葡萄球菌或金黄色葡萄球菌白细胞毒素的方法,其包含使所述样品与根据权利要求1至25中任一权利要求所述的抗体或其抗原结合片段接触,所述方法不用于诊断目的。

针对金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体

背景技术

[0001] 耐抗菌剂 (AMR) 细菌病原体引起的感染对公众健康的威胁增加。经验性广谱抗生素疗法部分刺激了AMR持续流行。此已引起对包括单克隆抗体 (mAb) 的特定病原体方法的探索以预防或治疗严重细菌感染。一些单克隆抗体目前正在研发用于预防或治疗耐抗生素细菌感染 (参见例如A.迪吉安多梅尼科 (DiGiandomenico, A.) 和B.R.塞尔曼 (B.R.Sellman), 《微生物学最新观点 (Curr. Opin. Microbiol.)》, 27:78-85 (2015))。此类被动免疫策略提供针对靶病原体的即时且有效的免疫球蛋白反应。

[0002] 金黄色葡萄球菌为细菌病原体,其引起多种疾病,包括皮肤和软组织感染、心内膜炎、骨髓炎、肺炎和菌血症 (F.D.洛伊 (Lowy, F.D.), 《新英格兰医学杂志 (N. Engl. J. Med.)》, 339 (8):520-32 (1998))。临床前研究指示基于单克隆抗体的方法具有针对金黄色葡萄球菌感染的预防和辅助疗法的前景 (参见例如哈岑博斯 (Hazenbos) 等人,《公共科学图书馆:病原体 (PLoS Pathog.)》, 9 (10):e1003653.doi:10.1371/journal.ppat.1003653 (2013); H.鲁哈 (Rouha, H.), 《单抗 (MAbs)》, 7 (1):243-254 (2015); 福莱蒂 (Foletti) 等人,《分子生物学杂志 (J. Mol. Biol.)》, 425 (10):1641-1654 (2013); 卡拉祖姆 (Karauzum) 等人,《生物化学杂志 (J Biol Chem.)》, 287 (30):25203-15 (2012); 和华 (Hua) 等人,《抗菌剂与化疗 (Antimicrob Agents Chemother.)》, 58 (2):1108-17 (2014))。然而,仍需要适用于治疗金黄色葡萄球菌感染,尤其对目前市售抗生素具抗性的感染的抗体。本公开提供此类抗体。

发明内容

[0003] 本发明提供结合到金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*/S.aureus) 白细胞毒素的抗体和其抗原结合片段。

[0004] 在某些情况下,特异性结合到至少一种金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体或其抗原结合片段包含可变重链 (variable heavy chain, VH) 互补决定区 (complementarity determining region, CDR) 1、VH CDR2、VH CDR3、可变轻链 (variable light chain, VL) CDR1、VL CDR2和VL CDR3,其中所述VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3包含选自以下组成的群组的序列: (a) 分别为SEQ ID NO:1、2、3、12、5和6; (b) 分别为SEQ ID NO:1-6; (c) 分别为SEQ ID NO:1、2、17、4、5和6; (d) 分别为SEQ ID NO:1、2、17、12、5和6,以及 (e) 分别为SEQ ID NO:1、20、3、4、5和6。

[0005] 在某些情况下,特异性结合到至少一种金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体或其抗原结合片段包含SAN481-SYT-YTE的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3。在某些情况下,CDR为Kabat定义的CDRs、Chothia定义的CDRs或AbM定义的CDRs。

[0006] 在某些情况下,抗体或其抗原结合片段包含VH和VL,其中VH包含SEQ ID NO:7、15、18、21或23的氨基酸序列。在某些情况下,抗体或其抗原结合片段包含VH和VL,其中VL包含SEQ ID NO:8或13的氨基酸序列。在某些情况下,抗体或其抗原结合片段包含VH和VL,其中VH和VL包含选自以下组成的群组的序列: (a) 分别为SEQ ID NO:15和13; (b) 分别为SEQ ID NO:7和8; (c) 分别为SEQ ID NO:7和13; (d) 分别为SEQ ID NO:15和8; (e) 分别为SEQ ID

N0:18和8; (f) 分别为SEQ ID N0:18和13; (g) 分别为SEQ ID N0:21和8; (h) 分别为SEQ ID N0:23和13。在某些情况下, 抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID N0:15的序列的VH和含有SEQ ID N0:13的序列的VL。在某些情况下, 抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID N0:16、9、11、22或24的序列的重链。在某些情况下, 抗体或抗原结合片段包含含有SEQ ID N0:14或10的序列的轻链。在某些情况下, 抗体包含重链和轻链, 其中重链和轻链包含选自以下组成的群组的序列: (a) 分别为SEQ ID N0:16和14; (b) 分别为SEQ ID N0:9和10; (c) 分别为SEQ ID N0:11和10; (d) 分别为SEQ ID N0:11和14; (e) 分别为SEQ ID N0:16和10; (f) 分别为SEQ ID N0:19和10; (g) 分别为SEQ ID N0:19和14; (h) 分别为SEQ ID N0:22和10; 以及 (i) 分别为SEQ ID N0:24和14。在某些情况下, 抗体包含含有SEQ ID N0:16的序列的重链和含有SEQ ID N0:14的序列的轻链。

[0007] 在某些情况下, 本文所提供的抗体或其抗原结合片段与包含含有SEQ ID N0:15的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID N0:13的氨基酸序列的VL的抗体, 结合到相同的金黄色葡萄球菌白细胞毒素抗原决定基。

[0008] 在某些情况下, 本文所提供的抗体或其抗原结合片段竞争性地抑制包含含有SEQ ID N0:15的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID N0:13的氨基酸序列的VL的抗体与金黄色葡萄球菌白细胞毒素的结合。

[0009] 在某些情况下, 抗体或抗原结合片段结合到LukF、LukD或HlgB和/或抗体或抗原结合片段中和LukF、LukD或HlgB。在某些情况下, 抗体或抗原结合片段 (a) 结合到LukF、LukD和HlgB和/或 (b) 中和LukF、LukD和HlgB。

[0010] 在某些情况下, 抗体或抗原结合片段进一步包含重链恒定区。在某些情况下, 重链恒定区选自以下组成的群组: 人免疫球蛋白IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁和IgA₂重链恒定区。在某些情况下, 重链恒定区为人IgG₁恒定区。

[0011] 在某些情况下, 抗体或抗原结合片段进一步包含轻链恒定区。在某些情况下, 轻链恒定区选自以下组成的群组: 人免疫球蛋白IgGκ和IgGλ轻链恒定区。在某些情况下, 轻链恒定区为人IgGκ轻链恒定区。

[0012] 在某些情况下, 抗体或其抗原结合片段为IgG抗体或其抗原结合片段。

[0013] 在某些情况下, 抗体或抗原结合片段包含已经工程改造以改进半衰期的Fc区。在某些情况下, 抗体或其抗原结合片段包含具有YTE突变的Fc区。

[0014] 在某些情况下, 抗体或抗原结合片段为单克隆抗体或抗原结合片段。

[0015] 在某些情况下, 抗体或抗原结合片段为全长抗体。在某些情况下, 抗体或抗原结合片段为抗原结合片段。在某些情况下, 抗原结合片段包含Fab、Fab'、F(ab')₂、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv、胞内抗体(intrabody)、IgG ΔCH2、微型抗体(minibody)、F(ab')₃、四功能抗体(tetrabody)、三功能抗体(triabody)、双功能抗体(diabody)、DVD-Ig、Fcab、mAb²、(scFv)₂或scFv-Fc。

[0016] 在某些情况下, 抗体或其抗原结合片段对于金黄色葡萄球菌LukF、LukD和HlgB的亲合力小于75pM。在某些情况下, 抗体或其抗原结合片段对于LukF、LukD和HlgB具有类似结合亲合力。

[0017] 在某些情况下, 抗体或其抗原结合片段进一步包含可检测标记。

[0018] 本文还提供包含本文所提供的抗体或其抗原结合片段和任选的药学上可接受的

载剂的组合物。

[0019] 本文还提供使用本文所提供的抗体的方法。在某些情况下,治疗或预防个体的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*/S.aureus)感染的方法包含向个体投与本文所提供的抗体或抗原结合片段或本文所提供的组合物。在某些情况下,金黄色葡萄球菌感染为败血症。在某些情况下,金黄色葡萄球菌感染为菌血症。在某些情况下,金黄色葡萄球菌感染为肺炎。在某些情况下,金黄色葡萄球菌感染为ICU肺炎。在某些情况下,金黄色葡萄球菌感染为皮肤或软组织感染(SSTI)。在某些情况下,金黄色葡萄球菌感染为糖尿病下肢感染。在某些情况下,金黄色葡萄球菌感染为糖尿病性足溃疡(DFU)。在某些情况下,未感染DFU。在某些情况下,感染DFU。在某些情况下,DFU为1级、2级或3级DFU。在某些情况下,金黄色葡萄球菌感染为骨或关节感染。在某些情况下,金黄色葡萄球菌感染为关节感染、装置感染、伤口感染、手术部位感染或骨髓炎。

[0020] 在某些情况下,个体为手术个体。

[0021] 在某些情况下,金黄色葡萄球菌感染包含耐抗生素金黄色葡萄球菌。

[0022] 在某些情况下,个体患有糖尿病。

[0023] 在某些情况下,个体为人。

[0024] 在某些情况下,治疗或预防金黄色葡萄球菌感染包含毒素中和、抑制细胞溶解、抑制多器官功能失常、抑制金黄色葡萄球菌相关的败血症或前述的任何组合。

[0025] 本文还提供聚核苷酸。在某些情况下,经分离的聚核苷酸包含编码本文所提供的抗体或其抗原结合片段的VH或重链的核酸分子。在某些情况下,经分离的聚核苷酸包含编码本文所提供的抗体或其抗原结合片段的VL或轻链的核酸分子。

[0026] 本文还提供载体。在某些情况下,本文提供聚核苷酸。

[0027] 本文还提供宿主细胞。在某些情况下,宿主细胞包含本文所提供的聚核苷酸、本文所提供的载体或含本文所提供的聚核苷酸的第一载体和含本文所提供的聚核苷酸的第二载体。在某些情况下,宿主细胞选自以下组成的群组:CHO、NS0、PER-C6、HEK-293和HeLa细胞。在某些情况下,分离宿主细胞。

[0028] 本文还提供产生抗体或抗原结合片段的方法。在某些情况下,产生抗体或其抗原结合片段的方法包含培养本文所提供的宿主细胞以使得产生抗体或其抗原结合片段。

[0029] 本文还提供用于检测金黄色葡萄球菌或金黄色葡萄球菌白细胞毒素的方法。在某些情况下,检测样品中金黄色葡萄球菌或金黄色葡萄球菌白细胞毒素的方法包含使所述样品与本文所提供的抗体或其抗原结合片段接触。

附图说明

[0030] 图1提供展示多个SAN481变异体相较于SAN481的体外活性的图式。QD1=SAN481-YTE;QD2=SAN481VL26S32Y-YTE;QD3=SAN481VH28T-YTE;QD4=SAN481-VH28T100F-YTE;QD5=SAN481-SY-T-YTE;QD6=SAN481-SY-TF-YTE;QD11=SAN481-EG-YTE;和QD12=SAN481-SY-QFS-YTE。(参见实例2)

[0031] 图2提供证实SAN481-SYT-YTE具有与SAN481类似的体外白细胞毒素中和活性的图式。(参见实例3)

[0032] 图3提供HIgB(SEQ ID NO:27)、LukF(SEQ ID NO:25)和LukD(SEQ ID NO:26)的序

列比对。

具体实施方式

[0033] 本公开提供结合到金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体和其抗原结合片段(例如单克隆抗体和其抗原结合片段)。本公开还提供在例如检测金黄色葡萄球菌白细胞毒素中和治疗或预防金黄色葡萄球菌感染中使用此类抗体和抗原结合片段的方法。

[0034] I. 定义

[0035] 如本文所用,术语“白细胞毒素”是指细菌白细胞毒素多肽,包括(但不限于)天然白细胞毒素多肽和白细胞毒素多肽的同功异型物。“白细胞毒素”包涵未经处理的全长白细胞毒素多肽以及由细胞内处理产生的白细胞毒素多肽形式。白细胞毒素包括LukSF、白细胞毒素ED(LukED)、HlgAB、HlgCB和白细胞毒素AB(LukAB,也称为LukGH)。如本文所用,术语“金黄色葡萄球菌LukF”是指包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的多肽。如本文所用,术语“金黄色葡萄球菌LukD”是指包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的多肽。如本文所用,术语“金黄色葡萄球菌HlgB”是指包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的多肽。(参见图3)“白细胞毒素聚核苷酸”、“白细胞毒素核苷酸”或“白细胞毒素核酸”是指编码白细胞毒素的聚核苷酸。

[0036] 术语“抗体”意指通过免疫球蛋白分子的可变区内的至少一个抗原识别位点,识别且特异性结合到靶标,如蛋白质、多肽、肽、碳水化合物、聚核苷酸、脂质或上述每一种的组合的免疫球蛋白分子。如本文所用,只要抗体呈现所需生物活性,则术语“抗体”包涵完整多克隆抗体、完整单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、包含抗体的融合蛋白和任何其它经修饰的免疫球蛋白分子。抗体可基于其重链恒定域(分别称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ)的一致性而具有任何五个主要类别的免疫球蛋白:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,或其子类(同种型)(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)。免疫球蛋白的不同类别具有不同且熟知的亚基结构和三维构型。抗体可为裸抗体或与如毒素、放射性同位素等其它分子缀合。

[0037] 如本文所用的术语“单克隆抗体”是指由B细胞的单一克隆产生且结合到相同的抗原决定基的抗体。相比之下,术语“多克隆抗体”是指由不同B细胞产生且结合到相同的抗原的不同抗原决定基的抗体群。

[0038] 术语“抗体片段”是指完整抗体的一部分。“抗原结合片段”、“抗原结合域”或“抗原结合区”是指结合到抗原的完整抗体的部分。抗原结合片段可含有完整抗体的抗原决定区(例如互补决定区(CDR))。抗体的抗原结合片段的实例包括(但不限于)Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段、线性抗体和单链抗体。抗体的抗原结合片段可源于任何动物物种,如啮齿动物(例如小鼠、大鼠或仓鼠)和人或可人工产生。

[0039] 完整的抗体通常由四个多肽组成:重(H)链多肽的两个一致拷贝和轻(L)链多肽的两个一致拷贝。重链中的每一个含有一个N端可变(VH)区和三个C端恒定(CH1、CH2和CH3)区,且每一轻链含有一个N端可变(VL)区和一个C端恒定(CL)区。每对轻链和重链的可变区形成抗体的抗原结合位点。VH区和VL区具有相同通式结构,其中每一区包含四个框架区,其序列相对保守。如本文所用,术语“框架区”是指位于高变区或互补决定区(CDR)之间的可变区内相对保守的氨基酸序列。在每一可变域中存在四个框架区,称为FR1、FR2、FR3和FR4。框架区形成提供可变区的结构框架的 β 折叠结构(参见例如C.A.詹韦(C.A. Janeway)等人(编),《免疫生物学(Immunobiology)》,第5版,加兰出版社(Garland Publishing),纽约州

纽约(New York, NY) (2001))。已知为CDR1、CDR2和CDR3的三个CDR形成抗体的“高变区”,其负责抗原结合。

[0040] 术语“VL”和“VL域”可互换地用于指抗体的轻链可变区。

[0041] 术语“VH”和“VH域”可互换地用于指抗体的重链可变区。

[0042] 术语“Kabat编号”和类似术语在所属领域中得到认可,且是指编号抗体或其抗原结合片段的重链和轻链可变区中的氨基酸残基的系统。在某些方面中,CDR可根据Kabat编号系统确定(参见例如EA卡巴特(Kabat EA)和TT吴(Wu TT) (1971)《纽约科学院年报(Ann NY Acad Sci)》190:382-391和EA卡巴特等人,(1991)《具有免疫学意义的蛋白质序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)》,第五版,美国卫生和公共服务部(U.S.Department of Health and Human Services),NIH出版物(NIH Publication)第91-3242页)。使用Kabat编号系统,抗体重链分子内的CDR通常存在于氨基酸位置31到35处,其任选地在35之后可包括一或两个额外氨基酸(在Kabat编号方案中称为35A和35B)(CDR1);氨基酸位置50到65处(CDR2);和氨基酸位置95到102处(CDR3)。使用Kabat编号系统,抗体轻链分子内的CDR通常存在于氨基酸位置24到34处(CDR1)、氨基酸位置50到56处(CDR2)和氨基酸位置89到97处(CDR3)。在一特定实施例中,本文所述抗体的CDR根据Kabat编号方案确定。

[0043] 而Chothia提及结构环的位置(乔西亚(Chothia)和莱斯克(Lesk),《分子生物学杂志》196:901-917(1987))。在使用Kabat编号规约进行编号时,Chothia CDR-H1环末端在H32与H34之间变化,这视环的长度而定(这是因为Kabat编号方案将插入置于H35A和H35B处;如果既不存在35A,又不存在35B,那么环末端位于32处;如果仅存在35A,那么环末端位于33处;如果35A与35B皆存在,那么环末端位于34处)。AbM高变区代表Kabat CDR与Chothia结构环之间的折衷,且用于牛津分子(Oxford Molecular)的AbM抗体模型化软件中。

环	Kabat	AbM	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
[0044]	H1	H26-H35B (Kabat 编号)	H26-H32..34
	H1	H31-H35 (Chothia 编号)	H26-H32
	H2	H50-H65	H52-H56
	H3	H95-H102	H95-H102

[0045] 如本文所用,术语“恒定区”或“恒定域”为可互换的且具有其在所属领域中的常见含义。恒定区为抗体部分,例如不与抗体与抗原的结合直接有关但可展现各种效应功能(如与Fc受体的相互作用)的轻和/或重链的羧基端部分。免疫球蛋白分子的恒定区的氨基酸序列一般比免疫球蛋白可变域较保守。

[0046] 如本文所用,术语“重链”当在关于抗体使用时,基于恒定域的氨基酸序列,可指任何不同类型,例如阿尔法(alpha, α)、德耳塔(delta, δ)、伊普西隆(epsilon, ϵ)、伽玛(gamma, γ)和谬(mu, μ),其分别产生抗体的IgA、IgD、IgE、IgG和IgM类别,包括IgG的子类,例如IgG₁、IgG₂、IgG₃和IgG₄。重链氨基酸序列为所属领域中熟知的。在特定实施例中,重链

为人重链。

[0047] 如本文所用,术语“轻链”当在关于抗体使用时,基于恒定域的氨基酸序列,可指任何不同类型,例如卡帕(kappa,κ)或拉姆达(lambda,λ)。轻链氨基酸序列为所属领域中所熟知的。在特定实施例中,轻链为人轻链。

[0048] “嵌合”抗体是指包含人和非人域两者的抗体或其片段。“人源化”抗体为包含人抗体骨架和至少一个获自或源于非人抗体的CDR的抗体。非人抗体包括从任何非人动物、如啮齿动物(例如小鼠或大鼠)分离的抗体。人源化抗体可包含获自或源于非人抗体的一个、两个或三个CDR。完全人抗体不含有任何获自或源于非人动物的氨基酸残基。应了解,与小鼠或嵌合抗体相比,完全人和人源化抗体在人中诱导免疫反应的风险较低(参见例如哈定(Harding)等人,《单抗》,2(3):256-26(2010))。

[0049] 如本文所用,“抗原决定基”为所属领域中的术语且是指抗体或其抗原结合片段可特异性结合的抗原的局部区。抗原决定基可为例如多肽的相邻氨基酸(线性或相邻抗原决定基),或抗原决定基可例如由一或多个多肽的两个或更多个非相邻区域聚集在一起得到(构象、非线性、非连续或非相邻抗原决定基)。在某些实施例中,抗体或其抗原结合片段结合的抗原决定基可通过例如NMR光谱分析、X射线衍射晶体学研究、ELISA分析、氢/氘交换与质谱分析(例如液相色谱电喷雾质谱分析)耦合、基于阵列的寡肽扫描分析,和/或突变诱发定位(例如定点突变诱发定位)来确定。对于X射线晶体学,晶体可使用所属领域中已知的方法中任一种实现(例如R杰基(GiegéR)等人,(1994)《晶体学报D辑:生物晶体学(Acta Crystallogr D Biol Crystallogr)》50(第4部分):339-350;A麦克弗森(McPherson A)(1990)《欧洲生物化学杂志(Eur J Biochem)》189:1-23;NE查延(Chayen NE)(1997)《结构(Structure)》5:1269-1274;A麦克弗森(1976)《生物化学杂志》251:6300-6303)。抗体/其抗原结合片段:抗原晶体可使用熟知X射线衍射技术研究且可使用计算机软件,如X-PLOR(耶鲁大学(Yale University),1992,由分子模拟公司(Molecular Simulations,Inc.)发布;参见例如《酶学方法(Meth Enzymol)》(1985)第114和115卷,HW威科夫(Wyckoff HW)等人编;U.S.2004/0014194)和BUSTER(G布里科涅(Bricogne G)(1993)《晶体学报D辑:生物晶体学》49(第1部分):37-60;G布里科涅(1997)《酶学方法》276A:361-423,CW卡特(Carter CW)编;P罗维西(Roversi P)等人,(2000)《晶体学报D辑:生物晶体学》56(第10部分):1316-1323)精化。突变诱发定位研究可使用所属领域的技术人员已知的任何方法来实现。参见例如M钱普(Champe M)等人,(1995)《生物化学杂志》270:1388-1394以及BC坎宁安(Cunningham BC)和JA威尔斯(Wells JA)(1989)《科学(Science)》244:1081-1085关于突变诱发技术的描述,包括丙氨酸扫描突变诱发技术。

[0050] 作为参考抗体“结合到相同的抗原决定基”的抗体是指作为参考抗体结合到相同的氨基酸残基的抗体。抗体作为参考抗体结合到相同的抗原决定基的能力可通过氢/氘交换分析(见科尔斯(Coales)等人《质谱学快讯(Rapid Commun.Mass Spectrom.)》2009;23:639-647)或x射线晶体学来确定。

[0051] 如本文所用,术语“免疫特异性结合”、“免疫特异性识别”、“特异性结合”和“特异性识别”在抗体或其抗原结合片段的上下文中为类似术语。这些术语指示抗体或其抗原结合片段通过其抗原结合域结合到抗原决定基,且所述结合需要抗原结合域与抗原决定基之间的一些互补性。因此,举例来说,如通过例如放射免疫分析(radioimmunoassay,RIA)、酶

联免疫吸附分析 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、BiaCore或八位组结合分析所测量,“特异性结合”到第一金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体还可结合到其它金黄色葡萄球菌白细胞毒素,但与无关的非白细胞毒素蛋白质的结合程度小于抗体与第一金黄色葡萄球菌白细胞毒素的结合的约10%。

[0052] 如果抗体以一种致使抗体在某种程度上阻断参考抗体与抗原决定基的结合的程度优先结合到抗原决定基或重叠抗原决定基,那么所述抗体称为“竞争性地抑制”参考抗体与给定抗原决定基的结合。竞争性地抑制可通过所属领域中已知的任何方法,例如竞争ELISA分析来确定。抗体可称为竞争性地抑制参考抗体与给定抗原决定基的结合至少90%、至少80%、至少70%、至少60%或至少50%。

[0053] 术语“核酸序列”打算包涵DNA或RNA的聚合物,即聚核苷酸,其可为单链或双链的且可含有非天然或改变的核苷酸。如本文所用,术语“核酸”和“聚核苷酸”是指任何长度的核苷酸,核糖核苷酸(RNA)或脱氧核糖核苷酸(DNA)的聚合形式。这些术语是指分子的一级结构,且因此包括双链和单链DNA以及双链和单链RNA。所述术语包括由核苷酸类似物和经修饰的聚核苷酸(如但不限于甲基化和/或封端聚核苷酸)制得的RNA或DNA类似物作为等效物。尽管所属领域中已知许多其它键(例如硫代磷酸酯、硼烷磷酸酯和其类似物),但核酸通常通过磷酸酯键连接以形成核酸序列或聚核苷酸。

[0054] 金黄色葡萄球菌感染可例如以皮肤或软组织感染(SSTI)或菌血症发生。金黄色葡萄球菌细菌可穿过血流且感染体内部位,引起肺炎、ICU肺炎、糖尿病下肢感染、糖尿病性足溃疡(DFU)、骨或关节感染、装置感染、伤口感染、手术部位感染或骨髓炎。

[0055] 如本文所用,“转染”、“转化”或“转导”是指通过使用物理或化学方法将一或多种外源聚核苷酸引入宿主细胞中。许多转染技术为所属领域中已知且包括例如磷酸钙DNA共沉淀(参见例如E.J.穆雷(Murray E.J.) (编),《分子生物学方法(Methods in Molecular Biology)》,第7卷,《基因转移和表达方案(Gene Transfer and Expression Protocols)》,胡马纳出版社(Humana Press)(1991));DEAE-聚葡萄糖;电穿孔;阳离子脂质体介导的转染;钨粒子促进的微粒轰击(约翰斯顿(Johnston),《自然(Nature)》,346:776-777(1990));和磷酸锆DNA共沉淀(布拉什(Brash)等人,《分子与细胞生物学(Mol.Cell Biol.)》,7:2031-2034(1987))。在感染性颗粒在合适的包装细胞中生长之后,可将噬菌体或病毒载体引入宿主细胞中,其中许多为市售可得。

[0056] 如本文所用,术语“治疗(treatment/treating)”和其类似术语是指获得所需药理学和/或生理学作用。在一个实施例中,所述作用为治疗性,即所述作用部分或完全地治愈疾病和/或可归因于所述疾病的不良症状。

[0057] “治疗有效量”是指在需要剂量和时间段内有效实现所需治疗结果(例如治疗金黄色葡萄球菌感染)的量。治疗有效量可根据以下因素变化,如个体的疾病病况、年龄、性别和体重,以及抗体或抗原结合片段在个体中引发所需反应的能力。

[0058] “预防有效量”是指在需要剂量和时间段内有效实现所需预防结果(例如预防金黄色葡萄球菌感染或疾病发作)的量。

[0059] 如本文所用,术语“投与(administer/administering/administration)”和其类似术语是指可用于使药物(例如白细胞毒素结合抗体或其抗原结合片段)能够递送到所需生物作用部位(例如静脉内投与)的方法。可用本文所述的药剂和方法使用的投与技术见于

例如古德曼 (Goodman) 和吉尔曼 (Gilman), 《治疗学的药理基础 (The Pharmacological Basis of Therapeutics)》, 现行版, 培格曼出版社 (Pergamon); 和雷明顿 (Remington's), 《药物科学 (Pharmaceutical Sciences)》, 现行版, 马克出版公司 (Mack Publishing Co.), 宾夕法尼亚州伊斯顿 (Easton, Pa) 中。

[0060] 除非上下文另外清楚指出, 否则如本公开和权利要求书中所用, 单数形式“一 (a/an)”和“所述”包括复数形式。

[0061] 除非上下文有特别规定或显而易见, 否则如本文所用, 术语“或”应理解为包括性的。如本文“A和/或B”短语中所用的术语“和/或”打算包括“A和B”两者、“A或B”、“A”和“B”。同样, 如“A、B和/或C”短语中所用的术语“和/或”打算包涵以下实施例中的每一个: A、B和C; A、B或C; A或C; A或B; B或C; A和C; A和B; B和C; A (单独); B (单独); 以及C (单独)。

[0062] II. 抗白细胞毒素抗体

[0063] 本发明提供结合到至少一种金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体和其抗原结合片段。

[0064] 白细胞毒素为金黄色葡萄球菌毒性因子。白细胞毒素靶向大范围的免疫细胞进行破坏。白细胞毒素包括潘顿-华伦丁 (Panton-Valentine) 杀白细胞素 (LukSF-PV, 也称为 LukSF)、白细胞毒素ED (LukED)、 γ 溶血素 (其以两种毒素形式存在: HlgAB和HlgCB) 和白细胞毒素AB (LukAB, 也称为LukGH)。在某些情况下, 结合到至少一种白细胞毒素的抗体或其抗原结合片段结合到LukF、LukD和/或HlgB。在某些情况下, 结合到至少一种白细胞毒素的抗体或其抗原结合片段结合到LukF、LukD和HlgB。

[0065] 在一情况下, 特异性结合到至少一种金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体或抗原结合片段 (例如单克隆抗体或片段) 包含以下、基本上由以下组成或由以下组成: (i) 包含SEQ ID NO:1的CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:2的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:3的CDR3氨基酸序列的重链多肽, 和(ii) 包含SEQ ID NO:12的CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:5的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:6的CDR3氨基酸序列的轻链多肽。在另一情况下, 特异性结合到至少一种金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体或抗原结合片段 (例如单克隆抗体或片段) 的重链多肽包含SEQ ID NO:15的可变区氨基酸序列、基本上由所述可变区氨基酸序列组成或由所述可变区氨基酸序列组成。在另一情况下, 特异性结合到至少一种金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体或抗原结合片段 (例如单克隆抗体或片段) 的轻链多肽包含SEQ ID NO:13的可变区氨基酸序列、基本上由所述可变区氨基酸序列组成或由所述可变区氨基酸序列组成。在另一情况下, 特异性结合到至少一种金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体或抗原结合片段 (例如单克隆抗体或片段) 包含以下、基本上由以下组成或由以下组成: 包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列、基本上由所述氨基酸序列组成或由所述氨基酸序列组成的可变重链, 和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列、基本上由所述氨基酸序列组成或由所述氨基酸序列组成的可变轻链。在另一情况下, 特异性结合到至少一种金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体或抗原结合片段 (例如单克隆抗体或片段) 包含以下、基本上由以下组成或由以下组成: 包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列、基本上由所述氨基酸序列组成或由所述氨基酸序列组成的可变重链, 和/或包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列、基本上由所述氨基酸序列组成或由所述氨基酸序列组成的可变轻链。

[0066] 下文提供示范性抗白细胞毒素抗体的序列。在某些情况下, 本文所述的抗体或其

抗原结合片段结合到至少一种白细胞毒素且包含下表1和2的六个CDR (即VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3)。

[0067] SAN481-SYT-YTE抗体包含SEQ ID NO:1-3的VH CDR和SEQ ID NO:12、5和6的VL CDR。

[0068] 表1:VH CDR氨基酸序列

抗体名称	VH CDR1 (SEQ ID NO:)	VH CDR2 (SEQ ID NO:)	VH CDR3 (SEQ ID NO:)
SAN481	TYAMH (SEQ ID NO:1)	VTSFDGSNEYIDSVKG (SEQ ID NO:2)	DEYTGGSVYSGY (SEQ ID NO:3)
SAN481-TF	TYAMH (SEQ ID NO:1)	VTSFDGSNEYIDSVKG (SEQ ID NO:2)	DEYTGGSVYSGY (SEQ ID NO:17)
SAN481-EG	TYAMH (SEQ ID NO:1)	VTSFEGSNEYIDSVKG (SEQ ID NO:20)	DEYTGGSVYSGY (SEQ ID NO:3)

[0070] 表2:VL CDR氨基酸序列

抗体	VL CDR1 (SEQ ID NO:)	VL CDR2 (SEQ ID NO:)	VL CDR3 (SEQ ID NO:)
SAN481	SGNSYNIGSNSVY (SEQ ID NO:4)	RSIQRPS (SEQ ID NO:5)	AAWDDSLRAWV (SEQ ID NO:6)
SAN481-SY	SGSSYNIGSNVY (SEQ ID NO:12)	RSIQRPS (SEQ ID NO:5)	AAWDDSLRAWV (SEQ ID NO:6)

[0072] 在某些情况下,本文所述的抗体或其抗原结合片段结合到至少一种白细胞毒素且包含下表中列出的(例如)与VL组合的抗体VH。

[0073] 表3:可变重链(VH)氨基酸序列

抗体	VH 氨基酸序列(SEQ ID NO)
SAN481	QLQLVESGGGAVQPGRSLKLSCAASGFNFSTYAMHWVRQAPGRGLEWVA VTSFDGSNEYIDSVKGRFTISRDN TKNTLYLQMTGLRVEDTALYFCARD EYTGGSVYSGYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:7)
SAN481-T	QLQLVESGGGAVQPGRSLKLSCAASGFNFSTYAMHWVRQAPGRGLEWVA VTSFDGSNEYIDSVKGRFTISRDN TKNTLYLQMTGLRVEDTALYFCARD EYTGGSVYSGYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:15)
SAN481-TF	QLQLVESGGGAVQPGRSLKLSCAASGFNFSTYAMHWVRQAPGRGLEWVA VTSFDGSNEYIDSVKGRFTISRDN TKNTLYLQMTGLRVEDTALYFCARD EYTGGSVYSGYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:18)
SAN481-EG	QLQLVESGGGAVQPGRSLKLSCAASGFNFSTYAMHWVRQAPGRGLEWVA VTSFEGSNEYIDSVKGRFTISRDN TKNTLYLQMTGLRVEDTALYFCARD EYTGGSVYSGYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:21)
SAN481-QFS	QLQLVESGGGAVQPGRSLKLSCAASGFNFSTYAMHWVRQAPGRGLEWV AVTSFDGSNEYIDSVKGRFTISRDN TKNTLYLQMTGLRVEDTALYFCAR DEYTGGSVYSGYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:23)

[0075] 在某些情况下,本文所述的抗体或其抗原结合片段结合到至少一种白细胞毒素且包含下表列出的(例如)与VH,任选地与前述表中列出的VH组合的抗体VL。

[0076] 表4:可变轻链(VL)氨基酸序列

抗体	VL 氨基酸序列(SEQ ID NO)
[0077] SAN481	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGNSYNIGSNVYVYQQFPGTAPKLLIS RSIQRPSGVPDRFSGSKSVTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLRAW VFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:8)
SAN481-SY	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSYNIGSNVYVYQQFPGTAPKLLIS RSIQRPSGVPDRFSGSKSVTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLRAW VFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:13)

[0078] 在某些情况下,本文所述的抗体或其抗原结合片段结合到至少一种白细胞毒素且包含下表列出的(例如)与轻链组合的抗体重链。

[0079] 表5:全长重链氨基酸序列

抗体	全长重链氨基酸序列(SEQ ID NO)
[0080] SAN481	QLQLVESGGGAVQPGRSLKLSCAASGFNFSTYAMHWVRQAPGRGL EWVAVTSFDGSNEYIDSVKGRFTISRDN TKNTLYLQMTGLRVEDT ALYFCARDEYTG GWYSVGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:9)
SAN481-YTE	QLQLVESGGGAVQPGRSLKLSCAASGFNFSTYAMHWVRQAPGRGL EWVAVTSFDGSNEYIDSVKGRFTISRDN TKNTLYLQMTGLRVEDT ALYFCARDEYTG GWYSVGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS

[0081]

	KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:11)
SAN481-T-YTE	QLQLVESGGGAVQPGRSLKLSCAASGFTFSTYAMHWVRQAPGRGL EWVAVTSFDGSNEYYIDSVKGRFTISRDN TKNTLYLQMTGLRVEDT ALYFCARDEYTG GWYSVGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:16)
SAN481-TF-YTE	QLQLVESGGGAVQPGRSLKLSCAASGFTFSTYAMHWVRQAPGRGL EWVAVTSFDGSNEYYIDSVKGRFTISRDN TKNTLYLQMTGLRVEDT ALYFCARDEYTG GFYSVGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKF N WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:19)
SAN481-EG-YTE	QLQLVESGGGAVQPGRSLKLSCAASGFNFSTYAMHWVRQAPGRGL EWVAVTSFEGSNEYYIDSVKGRFTISRDN TKNTLYLQMTGLRVEDT ALYFCARDEYTG GWYSVGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:22)
SAN481-QFS-YTE	QLQLVESGGGAVQPGRSLKLSCAASGFQFSTYAMHWVRQAPGRGL EWVAVTSFDGSNEYYIDSVKGRFTISRDN TKNTLYLQMTGLRVEDT ALYFCARDEYTG GWYSVGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:24)

[0082]

SAN481-T	QLQLVESGGGAVQPGRSLKLSCAASGFTFSTYAMHWVRQAPGRGL EWVAVTSFDGSNEYIDSVKGRFTISRDNTKNTLYLQMTGLRVEDT ALYFCARDEYTGWYSGVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:28)
----------	--

[0083] 在某些情况下,本文所述的抗体或其抗原结合片段结合到至少一种白细胞毒素且包含下表列出的(例如)与重链、任选地与前述表中列出的重链组合的抗体轻链。

[0084] 表6:全长轻链氨基酸序列

[0085]

抗体	全长轻链氨基酸序列(SEQ ID NO)
SAN481	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGNSYNIGSNSVYWYQQFPGTAPKLLIS RSIQRPSGVPDRFSGSKSVTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLRAW VFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVT VAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:10)
SAN481-SY	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSYNIGSNVYWYQQFPGTAPKLLIS RSIQRPSGVPDRFSGSKSVTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLRAW VFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVT VAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:14)

[0086] 以下实例中所用抗体的序列概述于表7中。

[0087] 表7:抗体CDR、可变区和重链以及轻链的SEQ ID NO

[0088]

抗体	H CDRs	L CDRs	VH	VL	H	L
SAN481	1-3	4-6	7	8	9	10
SAN481-YTE	1-3	4-6	7	8	11	10
SAN481-SY-YTE	1-3	12,5,6	7	13	11	14
SAN481-T-YTE	1-3	4-6	15	8	16	10
SAN481-TF-YTE	1,2,17	4-6	18	8	19	10
SAN481-SYT-YTE	1-3	12,5,6	15	13	16	14
SAN481-SY-TF-YTE	1,2,17	12,5,6	18	13	19	14
SAN481-EG-YTE	1,20,3	4-6	21	8	22	10
SAN481-SY-QFS-YTE	1-3	12,5,6	23	13	24	14
SAN481-SYT*	1-3	12,5,6	15	13	28	14

[0089] 在某些方面中,抗体或其抗原结合片段的CDR可根据Chothia编号方案确定,其是指免疫球蛋白结构环的位置(参见例如C乔西亚和AM莱斯克,(1987),《分子生物学杂志》196:901-917;B拉齐卡尼(AI-Lazikani B)等人,(1997)《分子生物学杂志》273:927-948;C乔西亚等人,(1992)《分子生物学杂志》227:799-817;A特拉蒙塔诺(Tramontano A)等人,(1990)《分子生物学杂志》215(1):175-82;和美国专利第7,709,226号)。通常,当使用Kabat编号规约时,Chothia CDR-H1环存在于重链氨基酸26到32、33或34处,Chothia CDR-H2环存在于重链氨基酸52到56处,且Chothia CDR-H3环存在于重链氨基酸95到102处,而Chothia

CDR-L1环存在于轻链氨基酸24到34处,Chothia CDR-L2环存在于轻链氨基酸50到56处,且Chothia CDR-L3环存在于轻链氨基酸89到97处。在使用Kabat编号规约进行编号时,Chothia CDR-H1环末端在H32与H34之间变化,这视环的长度而定(这是因为Kabat编号方案将插入置于H35A和H35B处;如果既不存在35A,又不存在35B,那么环末端位于32处;如果仅存在35A,那么环末端位于33处;如果35A与35B皆存在,那么环末端位于34处)。

[0090] 在某些方面中,本文提供包含SAN481或SAN481-SYT抗体的Chothia VH和VL CDR的抗体和其抗原结合片段。在某些实施例中,抗体或其抗原结合片段包含一或多个CDR,其中Chothia和Kabat CDR具有相同氨基酸序列。在某些实施例中,本文提供包含Kabat CDR和Chothia CDR的組合的抗体和其抗原结合片段。

[0091] 在某些方面中,抗体或其抗原结合片段的CDR可根据IMGT编号系统确定,如以下文献中所述:M-P勒弗朗(LeFranc M-P), (1999)《免疫学家(The Immunologist)》7:132-136和M-P勒弗朗等人, (1999)《核酸研究(Nucleic Acids Res)》27:209-212。根据IMGT编号方案,VH-CDR1在位置26到35处,VH-CDR2在位置51到57处,VH-CDR3在位置93到102处,VL-CDR1在位置27到32处,VL-CDR2在位置50到52处,且VL-CDR3在位置89到97处。在一特定实施例中,本文提供抗体和其抗原结合片段,其包含SAN481或SAN481-SYT-YTE抗体的IMGT VH和VL CDR,例如如以下中所述:M-P勒弗朗(1999)同上和M-P勒弗朗等人, (1999)同上。

[0092] 在某些方面中,抗体或其抗原结合片段的CDR可根据RM麦卡勒姆(MacCallum RM)等人, (1996)《分子生物学杂志》262:732-745确定。还参见例如,A.马丁(Martin A.),“抗体可变域的蛋白质序列和结构分析(Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains)”,在《抗体工程改造(Antibody Engineering)》,孔特曼(Kontermann)和杜贝尔(Dübel)编,第31章,第422-439页,施普林格出版社(Springer-Verlag),柏林(Berlin) (2001)中。在一特定实施例中,本文提供抗体或其抗原结合片段,其包含通过RM麦卡勒姆等人中的方法所确定的SAN481或SAN481-SYT-YTE抗体的VH和VL CDR。

[0093] 在某些方面中,抗体或其抗原结合片段的CDR可根据AbM编号方案确定,所述AbM编号方案指代表Kabat CDR与Chothia结构环之间的折衷的AbM高变区,且由牛津分子AbM抗体建模软件(牛津分子集团公司(Oxford Molecular Group, Inc.))使用。在一特定实施例中,本文提供抗体或抗原结合片段,其包含如通过AbM编号方案所确定的SAN481或SAN481-SYT-YTE抗体的VH和VL CDR。

[0094] 在另一方面中,本文所述的抗体或其抗原结合片段(例如单克隆抗体或片段)可包含任何合适的类别(例如IgG、IgA、IgD、IgM和IgE)的恒定区(Fc),所述任何合适的类别经修饰以便改进抗体或抗原结合片段(例如单克隆抗体或片段)的半衰期。举例来说,本文所述的抗体或其抗原结合片段(例如单克隆抗体或片段)可包含Fc,所述Fc相对于无突变的相同抗体包含延长半衰期的突变。

[0095] Fc区工程改造广泛用于所属领域中以延长治疗性抗体的半衰期且保护其免受体内分解。在一些实施例中,IgG抗体或抗原结合片段的Fc区可经修饰以增加IgG分子对Fc新生受体(FcRn)的亲和力,Fc新生受体介导IgG代谢且保护IgG分子免于分解。合适的Fc区氨基酸取代或修饰为所属领域中已知的且包括例如三重取代M252Y/S254T/T256E(称为“YTE”) (参见例如美国专利7,658,921;美国专利申请公开2014/0302058;和余(Yu)等人,《抗菌剂与化疗》,61(1):e01020-16(2017))。在某些方面中,结合到至少一种金黄色葡萄球

菌白细胞毒素的抗体或抗原结合片段(例如单克隆抗体或片段)包含含有YTE突变的Fc区。

[0096] 本文所述的抗体或抗原结合片段(例如单克隆抗体或片段)可为或可获自人抗体、人源化抗体、非人抗体或嵌合抗体。在一个方面中,本文所述的抗体或其抗原结合片段为完全人抗体。

[0097] 人抗体、非人抗体、嵌合抗体或人源化抗体可通过任何方式获得,包括通过体外来源(例如重组产生抗体的杂交瘤或细胞系)和体内来源(例如啮齿动物、人扁桃体)。用于产生抗体的方法为所属领域中已知的且描述于例如科勒(Köhler)和米尔斯坦(Milstein),《欧洲免疫学杂志(Eur.J.Immunol.)》,5:511-519(1976);哈洛(Harlow)和莱恩(Lane)(编),《抗体:实验室手册(Antibodies:A Laboratory Manual)》,CSH出版社(CSH Press)(1988);和詹韦等人(编),《免疫生物学》,第5版.,加兰出版社,纽约州纽约(2001))。在某些实施例中,人抗体或嵌合抗体可使用转基因动物(例如小鼠)产生,其中一或多个内源免疫球蛋白基因经一或多个人免疫球蛋白基因置换。用人抗体基因有效置换内源抗体基因的转基因小鼠的实例包括(但不限于)美达瑞(Medarex)HUMAB-MOUSETM、麒麟(Kirin)TC MOUSETM和协和发酵麒麟(Kyowa Kirin)KM-MOUSETM(参见例如伦贝格(Lonberg),《自然-生物技术(Nat.Biotechnol.)》,23(9):1117-25(2005)和伦贝格,《实验药理学手册(Handb.Exp.Pharmacol.)》,181:69-97(2008))。人源化抗体可使用所属领域中已知的任何合适方法产生(参见例如Z.安(An,Z.)(编),《治疗性单克隆抗体:从实验台到临床(Therapeutic Monoclonal Antibodies:From Bench to Clinic)》,约翰威立父子公司(John Wiley&Sons,Inc.),新泽西州霍博肯(Hoboken,N.J.)(2009)),包括例如将非人CDR移植到人抗体骨架上(参见例如克什米尔(Kashmiri)等人,《方法(Methods)》,36(1):25-34(2005);和侯(Hou)等人,《生化学杂志(J.Biochem.)》,144(1):115-120(2008))。在一个实施例中,人源化抗体可使用例如美国专利申请公开2011/0287485A1中所述的方法产生。

[0098] 在某些方面中,本文所提供的抗体或抗原结合片段对LukF、LukD和HIgB具有类似结合亲和力。

[0099] III.核酸、载体和宿主细胞

[0100] 本文还提供一或多种经分离的核酸序列,其编码结合到至少一种白细胞毒素的抗体或其抗原结合片段(其中任选地抗体或其抗原结合片段为单克隆抗体或片段)。

[0101] 本公开进一步提供一或多种载体,其包含一或多种编码结合到至少一种白细胞毒素的抗体或其抗原结合片段的核酸序列(其中任选地抗体或其抗原结合片段中的一或多种为单克隆抗体或片段)。载体可为例如质粒、游离基因、粘质粒、病毒载体(例如反转录病毒或腺病毒)或噬菌体。合适的载体和载体制备方法为所属领域中熟知的(参见例如萨姆布鲁克(Sambrook)等人,《分子克隆实验指南(Molecular Cloning,a Laboratory Manual)》,第3版,冷泉港出版社(Cold Spring Harbor Press),纽约州冷泉港(Cold Spring Harbor,N.Y.)(2001)和奥苏贝尔(Ausubel)等人,《分子生物学最新方案(Current Protocols in Molecular Biology)》,格林出版协会和约翰威立父子公司(Greene Publishing Associates and John Wiley&Sons),纽约州纽约(1994))。

[0102] 除编码结合到至少一种白细胞毒素(其中任选地抗体或其抗原结合片段为单克隆抗体或片段)的抗体或其抗原结合片段的核酸序列以外,载体宜包含表达控制序列,如启动子、强化子、聚腺苷酸化信号、转录终止子、内部核糖体进入位点(internal ribosome

entry site,IRES) 和其类似物,所述表达控制序列提供宿主细胞中编码序列的表达。示范性表达控制序列为所属领域中已知的且描述于例如哥德尔 (Goeddel),《基因表达技术:酶学方法 (Gene Expression Technology:Methods in Enzymology)》,第185卷,学术出版社 (Academic Press),加利福尼亚州圣迭戈 (San Diego,Calif.) (1990)。

[0103] 包含编码结合到至少一种白细胞毒素的抗体或其抗原结合片段(任选地其中抗体或其抗原结合片段中的一或多种为单克隆抗体或片段)的核酸的载体可引入到宿主细胞中,所述宿主细胞包括任何合适的原核或真核细胞,能够表达由此编码的多肽。因此,本公开提供一种包含载体的经分离的细胞。可使用的宿主细胞包括可以容易且可靠地生长、具有合理的快速生长速率、具有良好特征的表达系统且可容易且有效地转化或转染的宿主细胞。合适的原核细胞的实例包括但不限于来从芽孢杆菌属 (*Bacillus*) (如枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 和短芽孢杆菌 (*Bacillus brevis*))、埃希氏菌属 (*Escherichia*) (如大肠杆菌)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、链霉菌属 (*Streptomyces*)、沙门氏菌属 (*Salmonella*) 和欧文氏菌属 (*Erwinia*) 的细胞。尤其有用的原核细胞包括各种大肠杆菌菌株 (例如 K12、HB101 (ATCC 第 33694 号)、DH5a、DH10、MC1061 (ATCC 第 53338 号) 和 CC102)。合适的真核细胞为所属领域中已知的且包括例如酵母细胞、昆虫细胞和哺乳动物细胞。在一实施例中,载体于哺乳动物细胞中表达。许多合适的哺乳动物宿主细胞为所属领域中已知的,且许多可从美国菌种保藏中心 (American Type Culture Collection; ATCC, 弗吉尼亚州马纳萨斯 (Manassas, VA)) 获得。合适哺乳动物细胞的实例包括 (但不限于) 中国仓鼠卵巢细胞 (Chinese hamster ovary cell, CHO) (ATCC 第 CCL61 号)、CHO DHFR 细胞 (乌尔劳布 (Urlaub) 等人,《美国国家科学院院刊 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA)》, 97:4216-4220 (1980))、人胚肾 (human embryonic kidney, HEK) 293 或 293T 细胞 (ATCC 第 CRL1573 号) 和 3T3 细胞 (ATCC 第 CCL92 号)。其它合适的哺乳动物细胞系为猴 COS-1 (ATCC 第 CRL1650 号) 和 COS-7 细胞系 (ATCC 第 CRL1651 号) 以及 CV-1 细胞系 (ATCC 第 CCL70 号)。哺乳动物细胞宜为人细胞。举例来说,哺乳动物细胞可为人淋巴或淋巴衍生细胞系,如前 B 淋巴细胞来源的细胞系、PER.C6® 细胞系 (克鲁塞尔荷兰私人有限公司 (Crucell Holland B.V.), 荷兰 (The Netherlands)) 或人胚肾 (HEK) 293 或 293T 细胞 (ATCC 第 CRL1573 号)。

[0104] 可通过转染、转化或转导将编码本文所述的抗体或抗原结合片段 (任选地为单克隆抗体或片段) 中任一种的氨基酸的核酸序列引入细胞中。

[0105] IV. 使用抗金黄色葡萄球菌白细胞毒素抗体的药物组合物和方法

[0106] 本公开提供包含本文所述的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载剂的组合物。

[0107] 本公开还提供包含一或多种编码本文所提供的抗体或其抗原结合片段的核酸序列或一或多种包含这些核酸序列的载体的组合物。

[0108] 本文所提供的组合物 (例如包含抗体或其抗原结合片段、一或多种核酸序列, 或一或多种载体) 可为药学上可接受 (例如生理学上可接受) 的组合物, 其包含载剂, 如药学上可接受 (例如生理学上可接受) 的载剂, 和抗体或抗原结合片段、核酸序列或载体。

[0109] 在本公开中可使用任何合适的载剂, 且这些载剂为所属领域中熟知。载剂的选择将部分由可投与所述组合物的特定部位和用于投与所述组合物的特定方法来决定。组合物任选地可为无菌的。组合物可冷冻或冻干存储且在使用之前在合适的无菌载剂中复原。可

根据以下中所述的常规技术产生组合物,例如《雷明顿:药学科学与实践(Remington:The Science and Practice of Pharmacy)》,第21版,利平科特·威廉斯·威尔金斯出版公司(Lippincott Williams&Wilkins),宾西法尼亚州费城(Philadelphia,PA)(2001)。

[0110] 组合物理想包含可有效治疗和/或预防金黄色葡萄球菌感染的量的抗体或抗原结合片段。为此目的,所公开的方法包含投与治疗有效量或预防有效量的白细胞毒素结合抗体或其抗原结合片段或包含前述抗体或其抗原结合片段(包括单克隆抗体或片段)的组合物。

[0111] 本公开提供一种治疗或预防个体(例如人)的金黄色葡萄球菌感染的方法,其包含向有需要其的个体投与本文所述的白细胞毒素结合抗体或抗原结合片段,接着对所述个体的金黄色葡萄球菌感染进行治疗或预防。本公开还提供本文所述的白细胞毒素结合抗体或抗原结合片段或含本文所述的抗体或其片段的组合物的用途,其用于制造供治疗或预防金黄色葡萄球菌感染用的药剂。

[0112] 如本文所论述,金黄色葡萄球菌为引起广泛临床感染的主要人病原体。金黄色葡萄球菌为菌血症和感染性心内膜炎以及骨关节、皮肤和软组织、胸膜肺和装置相关感染的主要原因。约30%的人群体受金黄色葡萄球菌定殖(韦尔特海姆(Wertheim)等人,《柳叶刀:感染性疾病(Lancet Infect.Dis.)》,5:751-762(2005))。金黄色葡萄球菌皮肤感染的症状包括例如疖子、蜂窝组织炎和脓疱。金黄色葡萄球菌还可引起食物中毒、血液中毒(也称为菌血症)、毒性休克综合征和败血性关节炎。金黄色葡萄球菌感染的流行病学、病理生理学和临床表现详述于例如佟(Tong)等人,《临床微生物学评论(Clin.Microbiol.Rev.)》,28(3):603-661(2015),且已对若干不同金黄色葡萄球菌菌株的基因组测序(参见例如GenBank/EMBL寄存编号BX571856、BX571857、BX571858、FN433596、FN433597、FN433598、HE681097、FR821777、FR821778、FR821779和FR821780)。如本文所论述,个体(例如,人个体)可患有糖尿病。

[0113] 在某些情况下,白细胞毒素结合抗体或抗原结合片段的治疗有效量为抑制(例如人中)金黄色葡萄球菌相关的败血症、中和毒素、抑制细胞溶解、抑制多器官功能失常或前述的任何组合的量。

[0114] 或者,药理学和/或生理学效应可为预防性的,即所述效应完全或部分预防疾病或其症状。就此来说,所公开的方法包含投与“预防有效量”的白细胞毒素结合抗体或抗原结合片段(包括单克隆抗体或片段)。

[0115] 可通过定期评估所治疗患者来监测治疗或预防功效。对于经数天或更长时间的重复投与,视病况而定,可重复治疗直到出现所期望的疾病症状抑制。然而,其它给药方案可为适用的且在本公开的范围内。所需剂量可通过单次快速投与组合物、通过多次快速投与组合物或通过连续输注投与组合物来递送。

[0116] 包含有效量的本文所述的抗体或其抗原结合片段、编码前述任一种的核酸序列或含核酸序列的载体的组合物可使用标准投与技术,包括静脉内、腹膜内、皮下和肌肉内投与途径向个体,如人投与。组合物可适于肠胃外投与。如本文所用,术语“肠胃外”包括静脉内、肌肉内、皮下和腹膜内投与。在一些实施例中,使用外周全身性递送,通过静脉内、腹膜内或皮下注射来向个体投与组合物。

[0117] 白细胞毒素结合抗体或抗原结合片段或包含其的组合物可单独或与常规用于治

疗金黄色葡萄球菌感染的其它药物(例如作为佐剂)组合投与。包含白细胞毒素结合抗体或抗原结合片段的组合物可与例如一或多种抗生素(如青霉素酶-抗 β -内酰胺抗生素(例如苯唑西林或氟氯西林))组合使用。庆大霉素可用于治疗严重感染,如心内膜炎。然而,大部分金黄色葡萄球菌菌株现在对青霉素具有抗性,且每100人中有两人携带耐甲氧西林金黄色葡萄球菌菌株(MRSA)。MRSA感染通常用万古霉素治疗,且轻微皮肤感染可用三重抗生素软膏治疗。

[0118] 除治疗性和预防性用途以外,本文所述的任何抗体或其抗原结合片段均可用于诊断性或研究应用中。就此来说,白细胞毒素结合抗体或抗原结合片段可用于分析中以监测个体的金黄色葡萄球菌感染。研究应用包括例如利用白细胞毒素结合抗体或抗原结合片段和标记检测样品中(例如人体液中或细胞或组织提取物中)的金黄色葡萄球菌的方法。白细胞毒素结合抗体或抗原结合片段可在存在或不存在修饰的情况下使用,如对可检测部分进行共价或非共价标记。举例来说,可检测部分可为放射性同位素(例如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 或 ^{125}I)、荧光或化学发光化合物(例如荧光异硫氰酸盐、罗丹明(rhodamine)或荧光素)、酶(例如碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或辣根过氧化物酶)或辅基。所属领域中已知的用于将抗体或其抗原结合片段分别缀合到可检测部分的任何方法均可用于本公开上下文中(参见例如亨特(Hunter)等人,《自然》,194:495-496(1962);大卫(David)等人,《生物化学(Biochemistry)》,13:1014-1021(1974);佩因(Pain)等人,《免疫方法杂志(J.Immunol.Meth.)》,40:219-230(1981);和J.尼格伦(Nygren,J.),《组织化学和细胞化学杂志(Histochem.And Cytochem.)》,30:407-412(1982))。

[0119] 本文所述的任何抗体或其抗原结合片段(例如单克隆抗体或片段)、编码前述任一种的核酸序列、包含核酸序列的载体或包含前述任一种的组合物可以预定量与用于进行诊断分析的说明书一起提供于试剂盒(即试剂的封装组合)中。如果白细胞毒素结合抗体或抗原结合片段用酶标记,那么试剂盒宜包括酶所需的底物和辅因子(例如提供可检测发色团或荧光团的底物前体)。另外,其它添加剂可包括于试剂盒中,如稳定剂、缓冲剂(例如封闭缓冲剂或溶解缓冲剂)和其类似物。可改变各种试剂的相对量以提供大体上使分析灵敏度优化的试剂溶液中的浓度。试剂可以干燥粉末(通常冻干)形式提供,包括在溶解时将提供具有适当浓度的试剂溶液的赋形剂。

[0120] 以下实施例进一步说明本发明,但当然不应解释为以任何方式限制其范围。

[0121] 实例1

[0122] 抗白细胞毒素抗体SAN481包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:10的轻链。在这些序列中鉴别若干序列不利因素。举例来说,观测到重链W100a(VH-CDR3)和M256(在Fc域中)的氧化。另外,可变重链中的糖基化位点(NFS)经70%糖基化。在VL-CDR1中鉴别出两个NS脱酰胺位点,且在VH-CDR2中鉴别出DG/DS异构化位点。此外,在1周CWL_a-2kLux时,光敏感性致使SAN481的聚集增加3.5%。

[0123] 为了实现经改进的SAN481抗体变异体,设计且测试一系列序列变异体。变异体经设计以去除这些不利因素且在不影响抗体的白细胞毒素中和活性的情况下增加半衰期。(去除序列不利因素的初步尝试引起LukSF结合和中和活性的损失。这些初步尝试包括使含有N28T突变的构建体中的W102突变为F、Y、A、L、I、G和V。)YTE突变用于半衰期延长,且此相同突变还去除Fc区中的甲硫氨酸氧化位点(残基M256)。

[0124] 接着测试这些变异体对LukSF的结合和中和性能、其光稳定性和其可显影性。结果概述于下表8中,且额外信息见于以下实例中。

[0125] 表8:SAN481和SAN481变异体

变异体	IC ₅₀ (LukSF) HL-60 μg/mL	IC ₅₀ (HIgAB) HL-60 μg/mL	Kd LukF M	效价 Mg/L	单体蛋 白质 A%	单体损失 (稳定 性)%	1 周光稳定 性聚集变化 %
SAN481	0.16	0.57	1.63E-10		99.1%	2.19	3.54%
[0126] SAN481-YTE	0.15	0.54	1.48E-11	475	99.8%	-0.05	0.48%
SAN481-SY -YTE	0.18	0.55	1.01E-10	834	99.7%	0.18	0.00%
SAN481-T -YTE	0.17	0.54	<1.0E-12	800	99.4%	-0.02	0.49%
SAN481-TF -YTE	0.81	0.44	1.21E-09	778	99.2%	3.92	未测试
SAN481-SYT -YTE	0.16	0.54	1.01E-10	694	99.5%	0.27	0.18%

[0127] “mon” = 单体

[0128] “agg.” = 聚集

[0129] 鉴于以下事实选择SAN481-SYT-YTE作为尤其有利的变异体:SAN481-YTE与LukSF、LukED和HIgAB具有类似IC₅₀,在曝光下最小聚集增加,不具有显著CDR脱酰胺且检测到异构化(1.1%),无稳定性问题,无自结合且无非特异性结合。

[0130] 实例2

[0131] 此实例证实,不同于其它SAN481变异体,SAN481-SYT-YTE抗体维持SAN481的体外活性。

[0132] 进行体外分析以便评估SAN481变异体的活性。如图1所指示,在这些分析中,在37℃下将分化HL60人单核细胞(2.5e4孔/25μl)与50μl LukSF(各自100ng/ml)或HIgAB(各自400ng/ml)的混合物和每种mAb突变体(25μl)的连续稀释液一起培育2小时。

[0133] 使用Cell Glo分析来测量细胞活力的百分比且如下计算:100*[(OD450细胞+毒素+mAb) / (OD450单独细胞)]。计算实现50%活力抑制(IC₅₀)所需的mAb浓度,且报道于表9上。

[0134] 表9:SAN481变异体的LukSF和HIgAB活性

变异体	LukSF 的 IC ₅₀ (μg/ml)	IC ₅₀ 倍数损 失 vs. WT	HIgAB 的 IC ₅₀ (μg/ml)	IC ₅₀ 倍数损 失 vs. WT
SAN481-YTE (QD1)	0.1499	0.9375	0.5399	0.9497
SAN481-SY-YTE (QD2)	0.1826	1.1420	0.5513	0.9697
SAN481-T-YTE (QD3)	0.1656	1.0356	0.5388	0.9478
[0135] SAN481-TF-YTE (QD4)	0.8109	5.0713	0.4406	0.7750
SAN481-SYT-YTE (QD5)	0.1617	1.0113	0.5404	0.9506
SAN481-SYTF-YTE (QD6)	1.369	8.5616	0.4929	0.8670
SAN481-EG-YTE (QD11)	0.2006	1.2545	0.503	0.8848
SAN481-SY-QFS-YTE (QD12)	0.1579	0.9875	0.5513	0.9698
SAN481	0.1599		0.5685	

[0136] 与SAN481相比,SAN481-TF-YTE和SAN481-SYTF-YTE抗体针对LukSF分别损失5.07和8.56倍的性能。然而,SAN481-SYT-YTE抗体未损失。

[0137] 实例3

[0138] 此实例证实,SAN481-SYT-YTE抗体具有与SAN481抗体类似的体外白细胞毒素中和。

[0139] 通过测量细胞活力的分析来测试体外白细胞毒素中和活性。更特定来说,如图2指示,在37°C下将分化HL60人单核细胞(2.5e4孔/25 μ l)与50 μ l LukSF(各自100ng/ml)、LukED(各自2000ng/ml)、HIgCB(各自200ng/ml)或HIgAB(各自400ng/ml)的混合物和SAN481或SAN481_SYT-YTE(25 μ l)的连续稀释液一起培育2小时。使用Cell Glo分析来测量细胞活力的百分比且如下计算:100*[(OD450细胞+毒素+mAb)/(OD450单独细胞)],且图示于图2上。

[0140] 结果展示于图2中,证实SAN481-SYT-YTE和SAN481针对所有LukSF、HIgAB、HIgCB和LukED具有类似体外中和活性。

[0141] 实例4

[0142] 此实例证实SAN481-SYT-YTE显示优良的光稳定性。

[0143] 测试SAN481变异体的光稳定性。在这些分析中,mAb变异体与重组抗原的结合亲和力在Octet384仪器(富迪(ForteBio),加利福尼亚州门洛帕克(Menlo Park,CA))上通过生物层干涉术来测量。为了确定固有结合亲和力,通过抗人IgG Fc生物传感器(富迪)捕捉在PBS pH 7.2、3mg/mL BSA、0.05% (v/v)吐温(tween) 20(1 $\times$ 动力学缓冲液,富迪)中的2 μ g/mL抗体。洗涤后,使用抗原蛋白质的连续稀释液进行缔合和解离测量。解离常数(dissociation constant,KD)使用Octet384软件v.7.2.推导为从数据的非线性拟合的两个速率常数(koff/kon)的比率。

[0144] 结果展示于下表10和11中。

[0145] 表10:SAN481变异体的一周光稳定性

变异体		聚集%	单体%	片段%	IC ₅₀	IC ₅₀ (HIgAB)
					(LukSF) HL-60 (μ g/mL)	HL-60 (μ g/mL)
SAN481	亮处	4.18	94.96	0.84		
SAN481	暗处	0.70	98.76	0.52	0.16	0.569
SAN481-YTE (QD1)	亮处	0.7	98.46	0.83	0.233	0.821
SAN481-YTE (QD1)	暗处	0.22	99.24	0.53	0.209	0.704
SAN481-SY-YTE (QD2)	亮处	0.46	99.2	0.32	0.241	0.736
SAN481-SY-YTE (QD2)	暗处	0.47	99.19	0.33	0.221	0.721
SAN481-T-YTE (QD3)	亮处	1.32	98.04	0.62	0.205	0.624
SAN481-T-YTE (QD3)	暗处	0.83	98.71	0.44	0.193	0.707
SAN481-SYT-YTE (QD5)	亮处	0.37	99.23	0.39	0.184	0.645
SAN481-SYT-YTE (QD5)	暗处	0.19	99.47	0.33	0.163	0.576

[0147] 表11:光胁迫SAN481、SAN481-YTE和SAN481-SYT-YTE的八位位组结合活性

抗原	抗体/条件	KD (M)	Kon (1/Ms)	koff (1/s)
LukD	SAN481	<1.0E-12	3.48E+05	<1.0E-07
	SAN481-YTE (QD1)/暗处	<1.0E-12	2.77E+05	<1.0E-07

[0149]

	SAN481-YTE (QD1)/亮处	<1.0E-12	294200	<1.0E-07
	SAN481-SYT-YTE (QD5)/暗处	<1.0E-12	2.79E+05	<1.0E-07
	SAN481-SYT-YTE (QD5)/亮处	<1.0E-12	2.63E+05	<1.0E-07
Luk F	SAN481	9.93E-11	4.02E+05	3.99E-05
	SAN481-YTE (QD1)/暗处	2.32E-10	2.83E+05	6.55E-05
	SAN481-YTE (QD1)/亮处	2.26E-10	2.87E+05	6.47E-06
	SAN481-SYT-YTE (QD5)/暗处	1.01E-10	3.65E+05	3.69E-05
	SAN481-SYT-YTE (QD5)/亮处	<1.0E-12	2.57E+05	<1.0E-07
HiG B	SAN481	1.51E-10	2.90E+05	4.38E-05
	SAN481-YTE (QD1)/暗处	<1.0E-12	2.40E+05	<1.0E-07
	SAN481-YTE (QD1)/亮处	<1.0E-12	2.65E+05	<1.0E-07
	SAN481-SYT-YTE (QD5)/暗处	1.91E-11	2.55E+05	4.88E-06
	SAN481-SYT-YTE (QD5)/亮处	<1.0E-12	2.44E+05	<1.0E-07

[0150] 结果证实SAN481-SYT-YTE的优良光稳定性且对SAN481-SYT-YTE的光胁迫样品不存在结合损失。

[0151] 本文所引用的所有参考文献(包括公开、专利申请和专利)均以引用的方式并入本文中,所述引用程度如同各参考文献单独地且特定地指示以引用的方式并入且全文阐述于本文中。

[0152] 除非本文中另外指示或与上下文明显矛盾,否则在描述本发明的上下文中(尤其在以下权利要求书的上下文中)使用术语“一(a/an)”和“所述”和“至少一个”以及类似参照物应解释为涵盖单数和复数两者。除非本文中另外指示或与上下文明显矛盾,否则应将后接一或多个项目的列表(例如“A和B中的至少一者”)的术语“至少一个”的使用理解为意指选自所列项目的一个项目(A或B)或所列项目中的两者或两者以上的任何组合(A和B)。除非另外指出,否则术语“包含”、“具有”、“包括”和“含有”应理解为开端式术语(即,意指“包括(但不限于)”)。除非另外指示,否则本文中值范围的列举仅打算充当单独提及属于所述范围内的每一独立值的简写方法,且每一独立值并入到本说明书中,如同在本文中单独列举一般。除非本文另外指示或另外与上下文明显矛盾,否则本文所述的所有方法均可以任何合适次序进行。除非另外要求,否则使用本文所提供的任何和所有实例或示范性语言(例如,“如”)仅打算较好地阐明本发明而不对本发明的范围造成限制。本说明书中的语言不应理解为指示实践本发明所必需的任何未要求保护的要素。

[0153] 本发明的优选实施例描述于本文中,包括本发明人已知用于实施本发明的最好模式。在阅读前文描述之后,那些优选实施例的变化对于所属领域的普通技术人员可变得显而易见。本发明人期望所属领域的技术人员适当时采用所述变化,且本发明人打算以不同于本文中特定描述的其它方式来实施本发明。因此,如果适用法律允许,那么本发明包括在随附于本文的权利要求书中所叙述的主题的所有修改和等效物。此外,除非本文另外指示或另外与上下文明显矛盾,否则本发明包涵上述要素在其所有可能变化中的任何组合。

[0001] 序列表
 [0002] <110> 免疫医疗有限责任公司 (MedImmune, LLC)
 [0003] 胡默波斯生物医学公司 (Humabs BioMed SA)
 [0004] <120> 针对金黄色葡萄球菌白细胞毒素的抗体
 [0005] <130> 2943.103PC02
 [0006] <150> US 62/743,501
 [0007] <151> 2018-10-09
 [0008] <160> 28
 [0009] <170> PatentIn version 3.5
 [0010] <210> 1
 [0011] <211> 5
 [0012] <212> PRT
 [0013] <213> 人工序列
 [0014] <220>
 [0015] <223> SAN481 VH CDR1
 [0016] <400> 1
 [0017] Thr Tyr Ala Met His
 [0018] 1 5
 [0019] <210> 2
 [0020] <211> 17
 [0021] <212> PRT
 [0022] <213> 人工序列
 [0023] <220>
 [0024] <223> SAN481 VH CDR2
 [0025] <400> 2
 [0026] Val Thr Ser Phe Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ile Asp Ser Val Lys
 [0027] 1 5 10 15
 [0028] Gly
 [0029] <210> 3
 [0030] <211> 12
 [0031] <212> PRT
 [0032] <213> 人工序列
 [0033] <220>
 [0034] <223> SAN481 VH CDR3
 [0035] <400> 3
 [0036] Asp Glu Tyr Thr Gly Gly Trp Tyr Ser Val Gly Tyr
 [0037] 1 5 10
 [0038] <210> 4

[0039]	<211>	13
[0040]	<212>	PRT
[0041]	<213>	人工序列
[0042]	<220>	
[0043]	<223>	SAN 481 VL CDR1
[0044]	<400>	4
[0045]		Ser Gly Asn Ser Tyr Asn Ile Gly Ser Asn Ser Val Tyr
[0046]	1	5 10
[0047]	<210>	5
[0048]	<211>	7
[0049]	<212>	PRT
[0050]	<213>	人工序列
[0051]	<220>	
[0052]	<223>	SAN481 VL CDR2
[0053]	<400>	5
[0054]		Arg Ser Ile Gln Arg Pro Ser
[0055]	1	5
[0056]	<210>	6
[0057]	<211>	11
[0058]	<212>	PRT
[0059]	<213>	人工序列
[0060]	<220>	
[0061]	<223>	SAN481 VL CDR3
[0062]	<400>	6
[0063]		Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Arg Ala Trp Val
[0064]	1	5 10
[0065]	<210>	7
[0066]	<211>	121
[0067]	<212>	PRT
[0068]	<213>	人工序列
[0069]	<220>	
[0070]	<223>	SAN481 VH
[0071]	<400>	7
[0072]		Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg
[0073]	1	5 10 15
[0074]		Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Phe Ser Thr Tyr
[0075]		20 25 30
[0076]		Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
[0077]		35 40 45

[0078]	Ala Val Thr Ser Phe Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ile Asp Ser Val
[0079]	50 55 60
[0080]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Leu Tyr
[0081]	65 70 75 80
[0082]	Leu Gln Met Thr Gly Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Phe Cys
[0083]	85 90 95
[0084]	Ala Arg Asp Glu Tyr Thr Gly Gly Trp Tyr Ser Val Gly Tyr Trp Gly
[0085]	100 105 110
[0086]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0087]	115 120
[0088]	<210> 8
[0089]	<211> 110
[0090]	<212> PRT
[0091]	<213> 人工序列
[0092]	<220>
[0093]	<223> SAN481 VL
[0094]	<400> 8
[0095]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[0096]	1 5 10 15
[0097]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Asn Ser Tyr Asn Ile Gly Ser Asn
[0098]	20 25 30
[0099]	Ser Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[0100]	35 40 45
[0101]	Ile Ser Arg Ser Ile Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[0102]	50 55 60
[0103]	Gly Ser Lys Ser Val Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[0104]	65 70 75 80
[0105]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[0106]	85 90 95
[0107]	Arg Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[0108]	100 105 110
[0109]	<210> 9
[0110]	<211> 451
[0111]	<212> PRT
[0112]	<213> 人工序列
[0113]	<220>
[0114]	<223> SAN481重链
[0115]	<400> 9
[0116]	Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg

[0117]	1	5	10	15
[0118]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Phe Ser Thr Tyr			
[0119]	20	25	30	
[0120]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val			
[0121]	35	40	45	
[0122]	Ala Val Thr Ser Phe Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ile Asp Ser Val			
[0123]	50	55	60	
[0124]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Leu Tyr			
[0125]	65	70	75	80
[0126]	Leu Gln Met Thr Gly Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Phe Cys			
[0127]	85	90	95	
[0128]	Ala Arg Asp Glu Tyr Thr Gly Gly Trp Tyr Ser Val Gly Tyr Trp Gly			
[0129]	100	105	110	
[0130]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser			
[0131]	115	120	125	
[0132]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala			
[0133]	130	135	140	
[0134]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val			
[0135]	145	150	155	160
[0136]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala			
[0137]	165	170	175	
[0138]	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val			
[0139]	180	185	190	
[0140]	Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His			
[0141]	195	200	205	
[0142]	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys			
[0143]	210	215	220	
[0144]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly			
[0145]	225	230	235	240
[0146]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met			
[0147]	245	250	255	
[0148]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His			
[0149]	260	265	270	
[0150]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val			
[0151]	275	280	285	
[0152]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr			
[0153]	290	295	300	
[0154]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly			
[0155]	305	310	315	320

[0156]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[0157]	325 330 335
[0158]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[0159]	340 345 350
[0160]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[0161]	355 360 365
[0162]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[0163]	370 375 380
[0164]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[0165]	385 390 395 400
[0166]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[0167]	405 410 415
[0168]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[0169]	420 425 430
[0170]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[0171]	435 440 445
[0172]	Pro Gly Lys
[0173]	450
[0174]	<210> 10
[0175]	<211> 216
[0176]	<212> PRT
[0177]	<213> 人工序列
[0178]	<220>
[0179]	<223> SAN481轻链
[0180]	<400> 10
[0181]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[0182]	1 5 10 15
[0183]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Asn Ser Tyr Asn Ile Gly Ser Asn
[0184]	20 25 30
[0185]	Ser Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[0186]	35 40 45
[0187]	Ile Ser Arg Ser Ile Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[0188]	50 55 60
[0189]	Gly Ser Lys Ser Val Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[0190]	65 70 75 80
[0191]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[0192]	85 90 95
[0193]	Arg Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
[0194]	100 105 110

[0195]	Pro	Lys	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu
[0196]			115					120					125			
[0197]	Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr
[0198]			130					135					140			
[0199]	Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro	Val	Lys
[0200]	145						150					155				160
[0201]	Ala	Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr
[0202]						165					170					175
[0203]	Ala	Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His
[0204]						180					185				190	
[0205]	Arg	Ser	Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys
[0206]						195							200		205	
[0207]	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser								
[0208]			210					215								
[0209]	<210> 11															
[0210]	<211> 451															
[0211]	<212> PRT															
[0212]	<213> 人工序列															
[0213]	<220>															
[0214]	<223> SAN481-YTE重链															
[0215]	<400> 11															
[0216]	Gln	Leu	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Ala	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
[0217]	1				5					10					15	
[0218]	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Phe	Ser	Thr	Tyr
[0219]						20				25					30	
[0220]	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Arg	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[0221]						35				40					45	
[0222]	Ala	Val	Thr	Ser	Phe	Asp	Gly	Ser	Asn	Glu	Tyr	Tyr	Ile	Asp	Ser	Val
[0223]			50					55					60			
[0224]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Thr	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
[0225]	65					70					75					80
[0226]	Leu	Gln	Met	Thr	Gly	Leu	Arg	Val	Glu	Asp	Thr	Ala	Leu	Tyr	Phe	Cys
[0227]						85					90					95
[0228]	Ala	Arg	Asp	Glu	Tyr	Thr	Gly	Gly	Trp	Tyr	Ser	Val	Gly	Tyr	Trp	Gly
[0229]						100					105				110	
[0230]	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
[0231]						115							120			125
[0232]	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala
[0233]						130							135			140

[0234]	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
[0235]	145						150				155					160
[0236]	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
[0237]					165					170					175	
[0238]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
[0239]				180					185					190		
[0240]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
[0241]			195					200					205			
[0242]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
[0243]		210					215					220				
[0244]	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
[0245]	225					230					235					240
[0246]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Tyr
[0247]				245						250					255	
[0248]	Ile	Thr	Arg	Glu	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
[0249]				260					265					270		
[0250]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
[0251]			275					280					285			
[0252]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
[0253]		290						295				300				
[0254]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
[0255]	305					310					315					320
[0256]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
[0257]				325					330						335	
[0258]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
[0259]			340						345					350		
[0260]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
[0261]			355					360					365			
[0262]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
[0263]		370					375					380				
[0264]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
[0265]	385					390					395					400
[0266]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
[0267]				405						410					415	
[0268]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
[0269]				420					425				430			
[0270]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
[0271]			435					440					445			
[0272]	Pro	Gly	Lys													

[0273]	450
[0274]	<210> 12
[0275]	<211> 13
[0276]	<212> PRT
[0277]	<213> 人工序列
[0278]	<220>
[0279]	<223> SAN481-SY VL CDR1
[0280]	<400> 12
[0281]	Ser Gly Ser Ser Tyr Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Tyr
[0282]	1 5 10
[0283]	<210> 13
[0284]	<211> 110
[0285]	<212> PRT
[0286]	<213> 人工序列
[0287]	<220>
[0288]	<223> SAN481-SY VL
[0289]	<400> 13
[0290]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[0291]	1 5 10 15
[0292]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Tyr Asn Ile Gly Ser Asn
[0293]	20 25 30
[0294]	Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[0295]	35 40 45
[0296]	Ile Ser Arg Ser Ile Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[0297]	50 55 60
[0298]	Gly Ser Lys Ser Val Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
[0299]	65 70 75 80
[0300]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
[0301]	85 90 95
[0302]	Arg Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[0303]	100 105 110
[0304]	<210> 14
[0305]	<211> 216
[0306]	<212> PRT
[0307]	<213> 人工序列
[0308]	<220>
[0309]	<223> SAN481-SY轻链
[0310]	<400> 14
[0311]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln

[0312]	1	5	10	15
[0313]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Tyr Asn Ile Gly Ser Asn			
[0314]	20	25	30	
[0315]	Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu			
[0316]	35	40	45	
[0317]	Ile Ser Arg Ser Ile Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser			
[0318]	50	55	60	
[0319]	Gly Ser Lys Ser Val Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg			
[0320]	65	70	75	80
[0321]	Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu			
[0322]	85	90	95	
[0323]	Arg Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln			
[0324]	100	105	110	
[0325]	Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu			
[0326]	115	120	125	
[0327]	Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr			
[0328]	130	135	140	
[0329]	Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys			
[0330]	145	150	155	160
[0331]	Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr			
[0332]	165	170	175	
[0333]	Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His			
[0334]	180	185	190	
[0335]	Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys			
[0336]	195	200	205	
[0337]	Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser			
[0338]	210	215		
[0339]	<210> 15			
[0340]	<211> 121			
[0341]	<212> PRT			
[0342]	<213> 人工序列			
[0343]	<220>			
[0344]	<223> SAN481-T VH			
[0345]	<400> 15			
[0346]	Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg			
[0347]	1	5	10	15
[0348]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr			
[0349]	20	25	30	
[0350]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val			

[0351]	35	40	45
[0352]	Ala Val Thr Ser Phe Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ile Asp Ser Val		
[0353]	50	55	60
[0354]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Leu Tyr		
[0355]	65	70	75
[0356]	Leu Gln Met Thr Gly Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Phe Cys		
[0357]	85	90	95
[0358]	Ala Arg Asp Glu Tyr Thr Gly Gly Trp Tyr Ser Val Gly Tyr Trp Gly		
[0359]	100	105	110
[0360]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[0361]	115	120	
[0362]	<210> 16		
[0363]	<211> 451		
[0364]	<212> PRT		
[0365]	<213> 人工序列		
[0366]	<220>		
[0367]	<223> SAN481-T-YTE重链		
[0368]	<400> 16		
[0369]	Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg		
[0370]	1	5	10
[0371]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr		
[0372]	20	25	30
[0373]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val		
[0374]	35	40	45
[0375]	Ala Val Thr Ser Phe Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ile Asp Ser Val		
[0376]	50	55	60
[0377]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Leu Tyr		
[0378]	65	70	75
[0379]	Leu Gln Met Thr Gly Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Phe Cys		
[0380]	85	90	95
[0381]	Ala Arg Asp Glu Tyr Thr Gly Gly Trp Tyr Ser Val Gly Tyr Trp Gly		
[0382]	100	105	110
[0383]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser		
[0384]	115	120	125
[0385]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala		
[0386]	130	135	140
[0387]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		
[0388]	145	150	155
[0389]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala		

[0390]	165												170				175							
[0391]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val								
[0392]	180												185				190							
[0393]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His								
[0394]	195												200				205							
[0395]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys								
[0396]	210												215				220							
[0397]	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly								
[0398]	225												230				235				240			
[0399]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Tyr								
[0400]	245												250				255							
[0401]	Ile	Thr	Arg	Glu	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His								
[0402]	260												265				270							
[0403]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val								
[0404]	275												280				285							
[0405]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr								
[0406]	290												295				300							
[0407]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly								
[0408]	305												310				315				320			
[0409]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile								
[0410]	325												330				335							
[0411]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val								
[0412]	340												345				350							
[0413]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser								
[0414]	355												360				365							
[0415]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu								
[0416]	370												375				380							
[0417]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro								
[0418]	385												390				395				400			
[0419]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val								
[0420]	405												410				415							
[0421]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met								
[0422]	420												425				430							
[0423]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser								
[0424]	435												440				445							
[0425]	Pro	Gly	Lys																					
[0426]	450																							
[0427]	<210> 17																							
[0428]	<211> 12																							

[0429]	<212>	PRT
[0430]	<213>	人工序列
[0431]	<220>	
[0432]	<223>	SAN481-TF VH CDR3
[0433]	<400>	17
[0434]	Asp Glu Tyr Thr Gly Gly Phe Tyr Ser Val Gly Tyr	
[0435]	1	5 10
[0436]	<210>	18
[0437]	<211>	121
[0438]	<212>	PRT
[0439]	<213>	人工序列
[0440]	<220>	
[0441]	<223>	SAN481-TF VH
[0442]	<400>	18
[0443]	Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg	
[0444]	1	5 10 15
[0445]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr	
[0446]		20 25 30
[0447]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val	
[0448]		35 40 45
[0449]	Ala Val Thr Ser Phe Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ile Asp Ser Val	
[0450]		50 55 60
[0451]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Leu Tyr	
[0452]		65 70 75 80
[0453]	Leu Gln Met Thr Gly Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Phe Cys	
[0454]		85 90 95
[0455]	Ala Arg Asp Glu Tyr Thr Gly Gly Phe Tyr Ser Val Gly Tyr Trp Gly	
[0456]		100 105 110
[0457]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[0458]		115 120
[0459]	<210>	19
[0460]	<211>	451
[0461]	<212>	PRT
[0462]	<213>	人工序列
[0463]	<220>	
[0464]	<223>	SAN481-TF-YTE重链
[0465]	<400>	19
[0466]	Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg	
[0467]	1	5 10 15

[0468]	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr
[0469]				20					25					30		
[0470]	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Arg	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[0471]			35					40					45			
[0472]	Ala	Val	Thr	Ser	Phe	Asp	Gly	Ser	Asn	Glu	Tyr	Tyr	Ile	Asp	Ser	Val
[0473]		50					55					60				
[0474]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Thr	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
[0475]	65					70					75				80	
[0476]	Leu	Gln	Met	Thr	Gly	Leu	Arg	Val	Glu	Asp	Thr	Ala	Leu	Tyr	Phe	Cys
[0477]				85						90					95	
[0478]	Ala	Arg	Asp	Glu	Tyr	Thr	Gly	Gly	Phe	Tyr	Ser	Val	Gly	Tyr	Trp	Gly
[0479]			100						105					110		
[0480]	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
[0481]			115					120					125			
[0482]	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala
[0483]		130						135					140			
[0484]	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
[0485]	145					150					155				160	
[0486]	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
[0487]				165					170					175		
[0488]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
[0489]			180						185					190		
[0490]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
[0491]		195						200					205			
[0492]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
[0493]		210						215				220				
[0494]	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
[0495]	225					230					235				240	
[0496]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Tyr
[0497]				245						250				255		
[0498]	Ile	Thr	Arg	Glu	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
[0499]				260					265					270		
[0500]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
[0501]			275					280					285			
[0502]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
[0503]		290						295					300			
[0504]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
[0505]	305					310					315				320	
[0506]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile

[0507]		325		330		335
[0508]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val					
[0509]		340		345		350
[0510]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser					
[0511]		355		360		365
[0512]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu					
[0513]		370		375		380
[0514]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro					
[0515]		385		390		395
[0516]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val					
[0517]		405		410		415
[0518]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met					
[0519]		420		425		430
[0520]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser					
[0521]		435		440		445
[0522]	Pro Gly Lys					
[0523]		450				
[0524]	<210> 20					
[0525]	<211> 17					
[0526]	<212> PRT					
[0527]	<213> 人工序列					
[0528]	<220>					
[0529]	<223> SAN481-EG VH CDR2					
[0530]	<400> 20					
[0531]	Val Thr Ser Phe Glu Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ile Asp Ser Val Lys					
[0532]	1	5		10		15
[0533]	Gly					
[0534]	<210> 21					
[0535]	<211> 121					
[0536]	<212> PRT					
[0537]	<213> 人工序列					
[0538]	<220>					
[0539]	<223> SAN481-EG VH					
[0540]	<400> 21					
[0541]	Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg					
[0542]	1	5		10		15
[0543]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Phe Ser Thr Tyr					
[0544]		20		25		30
[0545]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val					

[0546]	35	40	45
[0547]	Ala Val Thr Ser Phe Glu Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ile Asp Ser Val		
[0548]	50	55	60
[0549]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Leu Tyr		
[0550]	65	70	75
[0551]	Leu Gln Met Thr Gly Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Phe Cys		
[0552]	85	90	95
[0553]	Ala Arg Asp Glu Tyr Thr Gly Gly Trp Tyr Ser Val Gly Tyr Trp Gly		
[0554]	100	105	110
[0555]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[0556]	115	120	
[0557]	<210> 22		
[0558]	<211> 451		
[0559]	<212> PRT		
[0560]	<213> 人工序列		
[0561]	<220>		
[0562]	<223> SAN481-EG-YTE重链		
[0563]	<400> 22		
[0564]	Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg		
[0565]	1	5	10
[0566]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Phe Ser Thr Tyr		
[0567]	20	25	30
[0568]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val		
[0569]	35	40	45
[0570]	Ala Val Thr Ser Phe Glu Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ile Asp Ser Val		
[0571]	50	55	60
[0572]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Leu Tyr		
[0573]	65	70	75
[0574]	Leu Gln Met Thr Gly Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Phe Cys		
[0575]	85	90	95
[0576]	Ala Arg Asp Glu Tyr Thr Gly Gly Trp Tyr Ser Val Gly Tyr Trp Gly		
[0577]	100	105	110
[0578]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser		
[0579]	115	120	125
[0580]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala		
[0581]	130	135	140
[0582]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		
[0583]	145	150	155
[0584]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala		

[0585]	165												170				175							
[0586]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val								
[0587]	180												185				190							
[0588]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His								
[0589]	195												200				205							
[0590]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys								
[0591]	210												215				220							
[0592]	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly								
[0593]	225												230				235				240			
[0594]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Tyr								
[0595]	245												250				255							
[0596]	Ile	Thr	Arg	Glu	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His								
[0597]	260												265				270							
[0598]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val								
[0599]	275												280				285							
[0600]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr								
[0601]	290												295				300							
[0602]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly								
[0603]	305												310				315				320			
[0604]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile								
[0605]	325												330				335							
[0606]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val								
[0607]	340												345				350							
[0608]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser								
[0609]	355												360				365							
[0610]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu								
[0611]	370												375				380							
[0612]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro								
[0613]	385												390				395				400			
[0614]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val								
[0615]	405												410				415							
[0616]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met								
[0617]	420												425				430							
[0618]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser								
[0619]	435												440				445							
[0620]	Pro	Gly	Lys																					
[0621]	450																							
[0622]	<210>	23																						
[0623]	<211>	121																						

[0624]	<212>	PRT
[0625]	<213>	人工序列
[0626]	<220>	
[0627]	<223>	SAN481-QFS VH
[0628]	<400>	23
[0629]	Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg	
[0630]	1 5 10 15	
[0631]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Gln Phe Ser Thr Tyr	
[0632]	20 25 30	
[0633]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val	
[0634]	35 40 45	
[0635]	Ala Val Thr Ser Phe Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ile Asp Ser Val	
[0636]	50 55 60	
[0637]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Leu Tyr	
[0638]	65 70 75 80	
[0639]	Leu Gln Met Thr Gly Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Phe Cys	
[0640]	85 90 95	
[0641]	Ala Arg Asp Glu Tyr Thr Gly Gly Trp Tyr Ser Val Gly Tyr Trp Gly	
[0642]	100 105 110	
[0643]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[0644]	115 120	
[0645]	<210>	24
[0646]	<211>	451
[0647]	<212>	PRT
[0648]	<213>	人工序列
[0649]	<220>	
[0650]	<223>	SAN481-QFS-YTE重链
[0651]	<400>	24
[0652]	Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg	
[0653]	1 5 10 15	
[0654]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Gln Phe Ser Thr Tyr	
[0655]	20 25 30	
[0656]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val	
[0657]	35 40 45	
[0658]	Ala Val Thr Ser Phe Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ile Asp Ser Val	
[0659]	50 55 60	
[0660]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Leu Tyr	
[0661]	65 70 75 80	
[0662]	Leu Gln Met Thr Gly Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Phe Cys	

[0663]					85					90					95				
[0664]	Ala	Arg	Asp	Glu	Tyr	Thr	Gly	Gly	Trp	Tyr	Ser	Val	Gly	Tyr	Trp	Gly			
[0665]					100					105					110				
[0666]	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser			
[0667]					115					120					125				
[0668]	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala			
[0669]					130					135					140				
[0670]	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val			
[0671]	145						150				155					160			
[0672]	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala			
[0673]					165					170					175				
[0674]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val			
[0675]					180					185					190				
[0676]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His			
[0677]					195					200					205				
[0678]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys			
[0679]					210					215					220				
[0680]	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly			
[0681]	225						230				235					240			
[0682]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Tyr			
[0683]					245					250					255				
[0684]	Ile	Thr	Arg	Glu	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His			
[0685]					260					265					270				
[0686]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val			
[0687]					275					280					285				
[0688]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr			
[0689]					290					295					300				
[0690]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly			
[0691]	305						310				315					320			
[0692]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile			
[0693]					325					330					335				
[0694]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val			
[0695]					340					345					350				
[0696]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser			
[0697]					355					360					365				
[0698]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu			
[0699]					370					375					380				
[0700]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro			
[0701]	385						390				395					400			

[0702]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
[0703]					405					410					415	
[0704]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
[0705]					420					425					430	
[0706]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
[0707]					435					440					445	
[0708]	Pro	Gly	Lys													
[0709]					450											
[0710]	<210>	25														
[0711]	<211>	302														
[0712]	<212>	PRT														
[0713]	<213>	人工序列														
[0714]	<220>															
[0715]	<223>	LukF														
[0716]	<400>	25														
[0717]	Gly	Ala	Gln	His	Ile	Thr	Pro	Val	Ser	Glu	Lys	Lys	Val	Asp	Asp	Lys
[0718]	1				5					10					15	
[0719]	Ile	Thr	Leu	Tyr	Lys	Thr	Thr	Ala	Thr	Ser	Asp	Ser	Asp	Lys	Leu	Lys
[0720]					20					25					30	
[0721]	Ile	Ser	Gln	Ile	Leu	Thr	Phe	Asn	Phe	Ile	Lys	Asp	Lys	Ser	Tyr	Asp
[0722]					35					40					45	
[0723]	Lys	Asp	Thr	Leu	Ile	Leu	Lys	Ala	Ala	Gly	Asn	Ile	Tyr	Ser	Gly	Tyr
[0724]					50					55					60	
[0725]	Thr	Lys	Pro	Asn	Pro	Lys	Asp	Thr	Ile	Ser	Ser	Gln	Phe	Tyr	Trp	Gly
[0726]	65					70					75					80
[0727]	Ser	Lys	Tyr	Asn	Ile	Ser	Ile	Asn	Ser	Asp	Ser	Asn	Asp	Ser	Val	Asn
[0728]					85					90						95
[0729]	Val	Val	Asp	Tyr	Ala	Pro	Lys	Asn	Gln	Asn	Glu	Glu	Phe	Gln	Val	Gln
[0730]					100					105					110	
[0731]	Gln	Thr	Val	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Gly	Gly	Asp	Ile	Asn	Ile	Ser	Asn	Gly
[0732]					115					120					125	
[0733]	Leu	Ser	Gly	Gly	Gly	Asn	Gly	Ser	Lys	Ser	Phe	Ser	Glu	Thr	Ile	Asn
[0734]					130					135					140	
[0735]	Tyr	Lys	Gln	Glu	Ser	Tyr	Arg	Thr	Ser	Leu	Asp	Lys	Arg	Thr	Asn	Phe
[0736]	145					150					155					160
[0737]	Lys	Lys	Ile	Gly	Trp	Asp	Val	Glu	Ala	His	Lys	Ile	Met	Asn	Asn	Gly
[0738]					165					170					175	
[0739]	Trp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Arg	Asp	Ser	Tyr	His	Ser	Thr	Tyr	Gly	Asn	Glu
[0740]					180					185					190	

[0741]	Met	Phe	Leu	Gly	Ser	Arg	Gln	Ser	Asn	Leu	Asn	Ala	Gly	Gln	Asn	Phe
[0742]			195					200					205			
[0743]	Leu	Glu	Tyr	His	Lys	Met	Pro	Val	Leu	Ser	Arg	Gly	Asn	Phe	Asn	Pro
[0744]			210					215					220			
[0745]	Glu	Phe	Ile	Gly	Val	Leu	Ser	Arg	Lys	Gln	Asn	Ala	Ala	Lys	Lys	Ser
[0746]	225						230					235				240
[0747]	Lys	Ile	Thr	Val	Thr	Tyr	Gln	Arg	Glu	Met	Asp	Arg	Tyr	Thr	Asn	Phe
[0748]					245					250					255	
[0749]	Trp	Asn	Gln	Leu	His	Trp	Ile	Gly	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asp	Glu	Asn	Arg
[0750]				260					265					270		
[0751]	Ala	Thr	His	Thr	Ser	Ile	Tyr	Glu	Val	Asp	Trp	Glu	Asn	His	Thr	Val
[0752]				275					280					285		
[0753]	Lys	Leu	Ile	Asp	Thr	Gln	Ser	Lys	Glu	Lys	Asn	Pro	Met	Ser		
[0754]		290						295					300			
[0755]	<210> 26															
[0756]	<211> 302															
[0757]	<212> PRT															
[0758]	<213> 人工序列															
[0759]	<220>															
[0760]	<223> LukD															
[0761]	<400> 26															
[0762]	Gly	Ala	Gln	His	Ile	Thr	Pro	Val	Ser	Glu	Lys	Lys	Val	Asp	Asp	Lys
[0763]	1				5					10				15		
[0764]	Ile	Thr	Leu	Tyr	Lys	Thr	Thr	Ala	Thr	Ser	Asp	Asn	Asp	Lys	Leu	Asn
[0765]				20					25					30		
[0766]	Ile	Ser	Gln	Ile	Leu	Thr	Phe	Asn	Phe	Ile	Lys	Asp	Lys	Ser	Tyr	Asp
[0767]			35					40					45			
[0768]	Lys	Asp	Thr	Leu	Val	Leu	Lys	Ala	Ala	Gly	Asn	Ile	Asn	Ser	Gly	Tyr
[0769]		50					55					60				
[0770]	Lys	Lys	Pro	Asn	Pro	Lys	Asp	Tyr	Asn	Tyr	Ser	Gln	Phe	Tyr	Trp	Gly
[0771]	65					70					75					80
[0772]	Gly	Lys	Tyr	Asn	Val	Ser	Val	Ser	Ser	Glu	Ser	Asn	Asp	Ala	Val	Asn
[0773]					85					90					95	
[0774]	Val	Val	Asp	Tyr	Ala	Pro	Lys	Asn	Gln	Asn	Glu	Glu	Phe	Gln	Val	Gln
[0775]				100					105					110		
[0776]	Gln	Thr	Leu	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Gly	Gly	Asp	Ile	Asn	Ile	Ser	Asn	Gly
[0777]			115					120					125			
[0778]	Leu	Ser	Gly	Gly	Leu	Asn	Gly	Ser	Lys	Ser	Phe	Ser	Glu	Thr	Ile	Asn
[0779]		130					135						140			

[0780]	Tyr	Lys	Gln	Glu	Ser	Tyr	Arg	Thr	Thr	Ile	Asp	Arg	Lys	Thr	Asn	His
[0781]	145						150				155					160
[0782]	Lys	Ser	Ile	Gly	Trp	Gly	Val	Glu	Ala	His	Lys	Ile	Met	Asn	Asn	Gly
[0783]						165					170					175
[0784]	Trp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Arg	Asp	Ser	Tyr	Asp	Pro	Thr	Tyr	Gly	Asn	Glu
[0785]						180					185					190
[0786]	Leu	Phe	Leu	Gly	Gly	Arg	Gln	Ser	Ser	Ser	Asn	Ala	Gly	Gln	Asn	Phe
[0787]						195					200					205
[0788]	Leu	Pro	Thr	His	Gln	Met	Pro	Leu	Leu	Ala	Arg	Gly	Asn	Phe	Asn	Pro
[0789]						210					215					220
[0790]	Glu	Phe	Ile	Ser	Val	Leu	Ser	His	Lys	Gln	Asn	Asp	Thr	Lys	Lys	Ser
[0791]	225										230					240
[0792]	Lys	Ile	Lys	Val	Thr	Tyr	Gln	Arg	Glu	Met	Asp	Arg	Tyr	Thr	Asn	Gln
[0793]											245					255
[0794]	Trp	Asn	Arg	Leu	His	Trp	Val	Gly	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Gln	Asn	Thr
[0795]											260					270
[0796]	Val	Thr	Phe	Thr	Ser	Thr	Tyr	Glu	Val	Asp	Trp	Gln	Asn	His	Thr	Val
[0797]											275					285
[0798]	Lys	Leu	Ile	Gly	Thr	Asp	Ser	Lys	Glu	Thr	Asn	Pro	Gly	Val		
[0799]											290					300
[0800]	<210> 27															
[0801]	<211> 300															
[0802]	<212> PRT															
[0803]	<213> 人工序列															
[0804]	<220>															
[0805]	<223> HIgB															
[0806]	<400> 27															
[0807]	Gly	Glu	Gly	Lys	Ile	Thr	Pro	Val	Ser	Val	Lys	Lys	Val	Asp	Asp	Lys
[0808]	1				5						10				15	
[0809]	Val	Thr	Leu	Tyr	Lys	Thr	Thr	Ala	Thr	Ala	Asp	Ser	Asp	Lys	Phe	Lys
[0810]											20				25	30
[0811]	Ile	Ser	Gln	Ile	Leu	Thr	Phe	Asn	Phe	Ile	Lys	Asp	Lys	Ser	Tyr	Asp
[0812]											35				40	45
[0813]	Lys	Asp	Thr	Leu	Val	Leu	Lys	Ala	Thr	Gly	Asn	Ile	Asn	Ser	Gly	Phe
[0814]											50				55	60
[0815]	Val	Lys	Pro	Asn	Pro	Asn	Asp	Tyr	Asp	Phe	Ser	Lys	Leu	Tyr	Trp	Gly
[0816]	65										70				75	80
[0817]	Ala	Lys	Tyr	Asn	Val	Ser	Ile	Ser	Ser	Gln	Ser	Asn	Asp	Ser	Val	Asn
[0818]											85				90	95

[0819]	Val Val Asp Tyr Ala Pro Lys Asn Gln Asn Glu Glu Phe Gln Val Gln
[0820]	100 105 110
[0821]	Asn Thr Leu Gly Tyr Thr Phe Gly Gly Asp Ile Ser Ile Ser Asn Gly
[0822]	115 120 125
[0823]	Leu Ser Gly Gly Leu Asn Gly Asn Thr Ala Phe Ser Glu Thr Ile Asn
[0824]	130 135 140
[0825]	Tyr Lys Gln Glu Ser Tyr Arg Thr Thr Leu Ser Arg Asn Thr Asn Tyr
[0826]	145 150 155 160
[0827]	Lys Asn Val Gly Trp Gly Val Glu Ala His Lys Ile Met Asn Asn Gly
[0828]	165 170 175
[0829]	Trp Gly Pro Tyr Gly Arg Asp Ser Phe His Pro Thr Tyr Gly Asn Glu
[0830]	180 185 190
[0831]	Leu Phe Leu Ala Gly Arg Gln Ser Ser Ala Tyr Ala Gly Gln Asn Phe
[0832]	195 200 205
[0833]	Ile Ala Gln His Gln Met Pro Leu Leu Ser Arg Ser Asn Phe Asn Pro
[0834]	210 215 220
[0835]	Glu Phe Leu Ser Val Leu Ser His Arg Gln Asp Gly Ala Lys Lys Ser
[0836]	225 230 235 240
[0837]	Lys Ile Thr Val Thr Tyr Gln Arg Glu Met Asp Leu Tyr Gln Ile Arg
[0838]	245 250 255
[0839]	Trp Asn Gly Phe Tyr Trp Ala Gly Ala Asn Tyr Lys Asn Phe Lys Thr
[0840]	260 265 270
[0841]	Arg Thr Phe Lys Ser Thr Tyr Glu Ile Asp Trp Glu Asn His Lys Val
[0842]	275 280 285
[0843]	Lys Leu Leu Asp Thr Lys Glu Thr Glu Asn Asn Lys
[0844]	290 295 300
[0845]	<210> 28
[0846]	<211> 451
[0847]	<212> PRT
[0848]	<213> 人工序列
[0849]	<220>
[0850]	<223> SAN481-T重链
[0851]	<400> 28
[0852]	Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg
[0853]	1 5 10 15
[0854]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
[0855]	20 25 30
[0856]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
[0857]	35 40 45

[0858]	Ala Val Thr Ser Phe Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ile Asp Ser Val
[0859]	50 55 60
[0860]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Leu Tyr
[0861]	65 70 75 80
[0862]	Leu Gln Met Thr Gly Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Phe Cys
[0863]	85 90 95
[0864]	Ala Arg Asp Glu Tyr Thr Gly Gly Trp Tyr Ser Val Gly Tyr Trp Gly
[0865]	100 105 110
[0866]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
[0867]	115 120 125
[0868]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
[0869]	130 135 140
[0870]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
[0871]	145 150 155 160
[0872]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
[0873]	165 170 175
[0874]	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
[0875]	180 185 190
[0876]	Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
[0877]	195 200 205
[0878]	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
[0879]	210 215 220
[0880]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[0881]	225 230 235 240
[0882]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[0883]	245 250 255
[0884]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[0885]	260 265 270
[0886]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[0887]	275 280 285
[0888]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[0889]	290 295 300
[0890]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[0891]	305 310 315 320
[0892]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[0893]	325 330 335
[0894]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[0895]	340 345 350
[0896]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

[0897]		355		360		365											
[0898]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
[0899]		370					375					380					
[0900]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
[0901]	385					390					395					400	
[0902]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
[0903]					405					410					415		
[0904]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
[0905]				420				425				430					
[0906]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
[0907]			435				440					445					
[0908]	Pro	Gly	Lys														
[0909]		450															

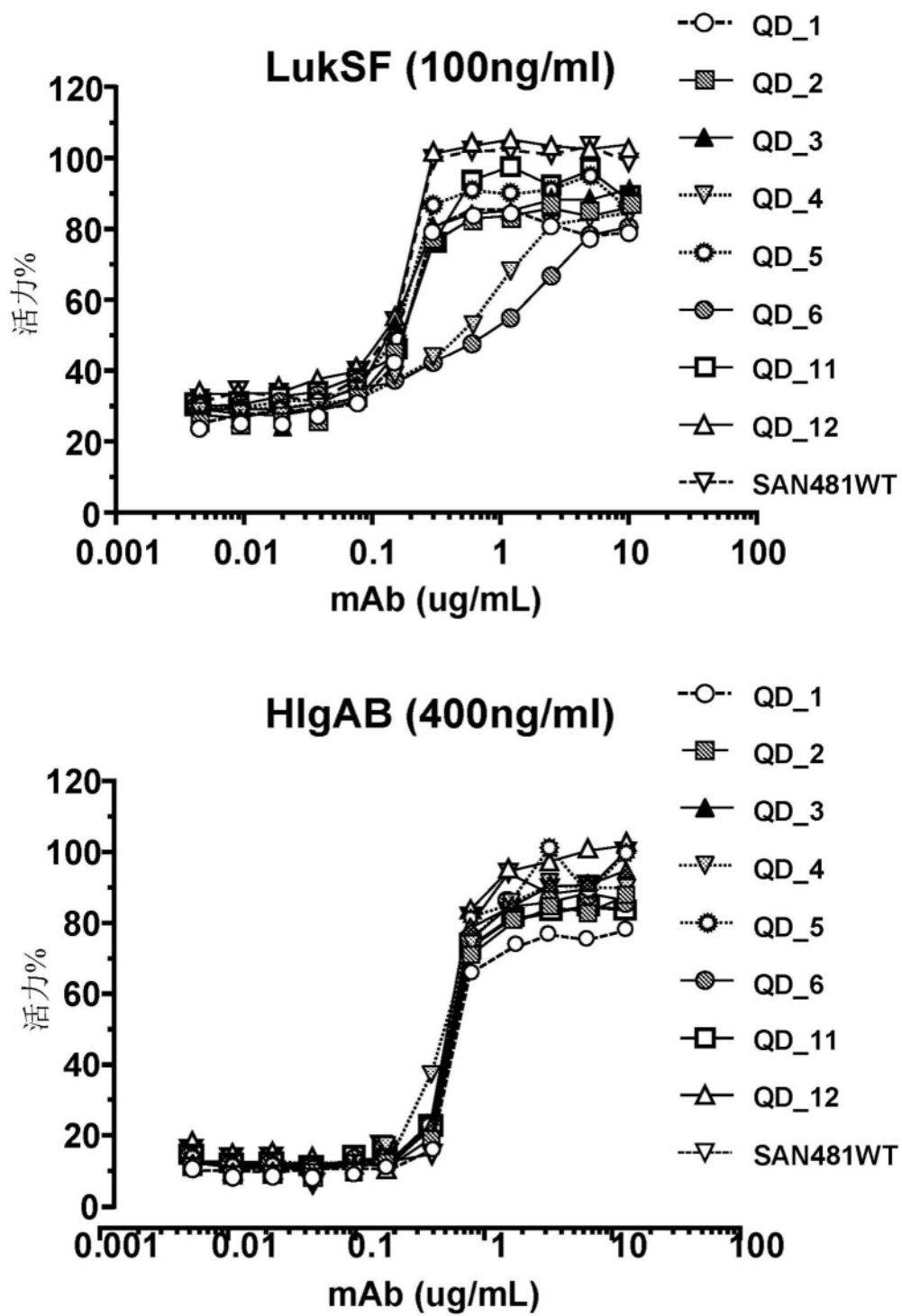


图1

体外

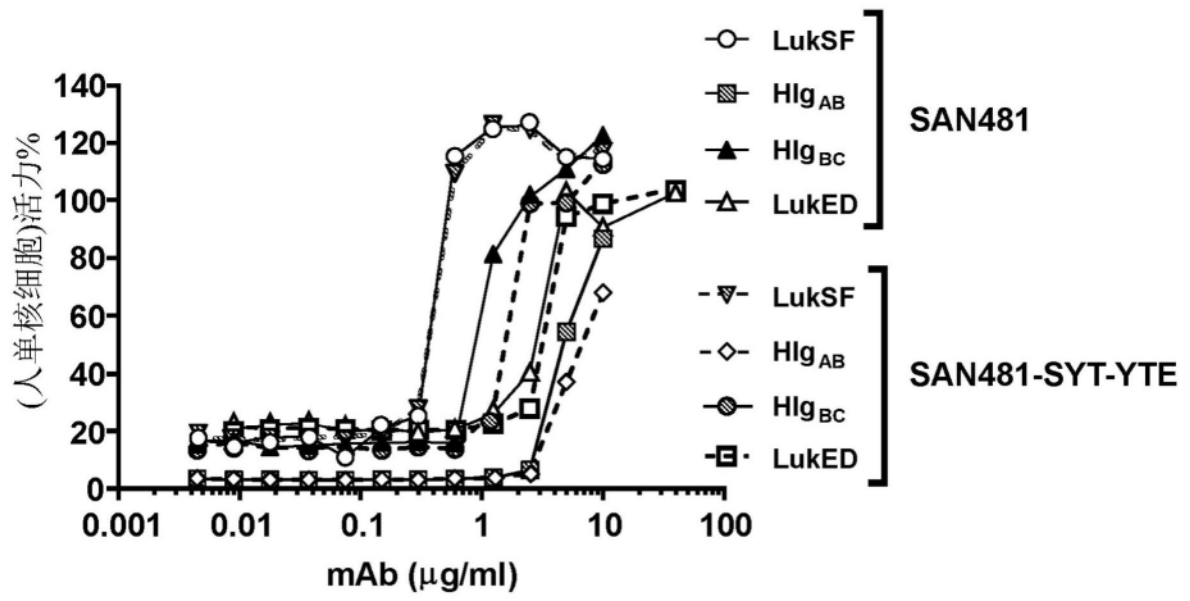


图2

H1gB	GEGKITPVSVKKVDDKVTLYKTTATADSKFKISQILTFNFIKDKSYDKDTLVLKATGNI	60
LukF	GAQHITPVSEKKVDDKITLYKTTATSDSKLKISQILTFNFIKDKSYDKDTLILKAAAGNI	60
LukD	GAQHITPVSEKKVDDKITLYKTTATSDNDKLNISQILTFNFIKDKSYDKDTLVLKAAAGNI	60
	* :*****:*****:*.***:*****:*****:*****:*****:*****	
H1gB	NSGFVKPNPNDDYDFSKLYWGAKEYNVSISSQNSDSNVVDYAPKNQNEEFQVQNTLGYTFG	120
LukF	YSGYTKPNPKDTISSQFYWGSKYINISINSDSNDSDNVVDYAPKNQNEEFQVQTVGYSYG	120
LukD	NSGYKKPNPKDYNYSQFYWGGKYNVSVSSESDANDAVNVVDYAPKNQNEEFQVQTLGYSYG	120
	** :*****:*.***:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*	
H1gB	GDISISNGLSGGLNGNTAFSETINYKQESYRTTLsrNTNYKNVGVEAHKIMNNGWGPY	180
LukF	G DINISNGLSGGNGSKSFSETINYKQESYRTSLDKRTNFKKIGWDVEAHKIMNNGWGPY	180
LukD	G DINISNGLSGGLNGSKSFSETINYKQESYRTTIDRKTNHKSIGWVEAHKIMNNGWGPY	180
	.** **..:*****:*****:***.***.*****:*****:*****	
H1gB	GRDSFHPTYGNELFLAGRQSSAYAGQNFIAQHQMPLLSRSNFNPEFLSVLSHRQDGAKKS	240
LukF	GRDSYHSTYGNEMFLGSRQSNLNAGQNFLEYHKMPVLSRGNFNPEFIGVLSRKQNAAKKS	240
LukD	GRDSYDPTYGNELFLGGRQSSSNAGQNFPTHQMPLLLARGNFNPEFISVLSHKQNDTKKS	240
	;. **:***..****. *****: *;***:***:***:***:***:***	
H1gB	KITVTYQREMDLYQIRWNGFYWAGANYKNFKTRTFKSTYEIDWENHKVKLLDTKETENNK	300
LukF	KITVTYQREMDRYTNFWNQLHWIGNNYK DENRATHTSIYEVDWENHTVKLIDTQSKEKNP	300
LukD	KIKVTYQREMDRYTNQWNRLLHWVGNNYKNQNTVTFSTYEVDWQNHHTVKLIGTDSKETNP	300
	..*** * ** :;* * * * * : * .. * * * * * : * .. * * * * *	
H1gB	-- 300	
LukF	MS 302	
LukD	GV 302	

图3