



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113454113 A

(43) 申请公布日 2021.09.28

(21) 申请号 201980091644.7

(22) 申请日 2019.12.19

(30) 优先权数据

62/784,316 2018.12.21 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.08.09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/067435 2019.12.19

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/132220 EN 2020.06.25

(71) 申请人 23与我公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 C·V·李 G·傅-凯利 L·沙夫

T·泰 A·帕特尔 S·巴瑞尔

E·E·卡勒

(74) 专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285

代理人 孙占华 张广育

(51) Int.Cl.

C07K 16/24 (2006.01)

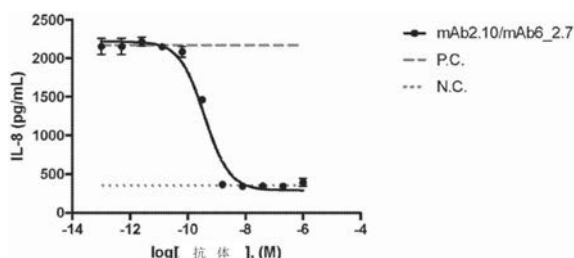
权利要求书5页 说明书100页  
序列表(电子公布) 附图6页

(54) 发明名称

抗IL-36的抗体及其使用方法

(57) 摘要

本发明提供结合蛋白,例如抗体和抗原结合片段,其特异性结合人IL-36细胞因子IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ ,并阻断IL-36刺激的信号传导通路。还提供包含这类结合蛋白的组合物以及制备和使用这类结合蛋白的方法。



1. 一种抗IL-36的抗体,其包含:(i) 第一轻链高变区(HVR-L1)、第二轻链高变区(HVR-L2)和第三轻链高变区(HVR-L3),和/或(ii) 第一重链高变区(HVR-H1)、第二重链高变区(HVR-H2)和第三重链高变区(HVR-H3);其中:

(a) HVR-L1包含选自以下的氨基酸序列: TGSSSNIGAHYDVH (SEQ ID NO:18)、TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO:22)、RASQSVSSNY LA (SEQ ID NO:38) 或RASQTIYKYLN (SEQ ID NO:42);

(b) HVR-L2包含选自以下的氨基酸序列: SNNNRPS (SEQ ID NO:15)、GNDNRPS (SEQ ID NO:19)、GNTNRPS (SEQ ID NO:23)、GNNRPS (SEQ ID NO:27)、SASSLQS (SEQ ID NO:39) 或AASSLQS (SEQ ID NO:43);

(c) HVR-L3包含选自以下的氨基酸序列: QSYDYSLRGYV (SEQ ID NO:16)、QSYDYSLSGYV (SEQ ID NO:20)、QSYDYSLRVYV (SEQ ID NO:28)、QSYDYSLKAYV (SEQ ID NO:32)、QSYDISLSGWV (SEQ ID NO:36)、QQTYSYPPT (SEQ ID NO:40) 或QQSSIPYT (SEQ ID NO:44);

(d) HVR-H1包含选自以下的氨基酸序列: SAYAMHW (SEQ ID NO:46)、STSSYYW (SEQ ID NO:50)、SSTSYYW (SEQ ID NO:54)、GSRSYW (SEQ ID NO:58)、STYAMSW (SEQ ID NO:62)、TSSNYYW (SEQ ID NO:66)、SSYGMH (SEQ ID NO:70)、SNYAIS (SEQ ID NO:74)、TSTNYYW (SEQ ID NO:82)、TSSNAYW (SEQ ID NO:86)、TASNYYW (SEQ ID NO:90)、TASNYYW (SEQ ID NO:106)、SDSSYYW (SEQ ID NO:122)、SESSYYW (SEQ ID NO:126)、STSSDYW (SEQ ID NO:130)、SNSSYYW (SEQ ID NO:134)、STSSYHW (SEQ ID NO:142)、SRSSYYW (SEQ ID NO:146)、XXXNXYX (SEQ ID NO:251) 或XXXXXXW (SEQ ID NO:336), 其中在XXXNXYX (SEQ ID NO:251) 中在第1位的X为T、D、E或N; 在第2位的X为S、A、E、G、K、Q、R或T; 在第3位的X为S、A、D、E、G、N、P、Q或T; 在第5位的X为Y、A、E、G、H、M、N、Q、S、T或V; 在第7位的X为W、F、I、V或Y, 其中在XXXXXXW (SEQ ID NO:336) 中在第1位的X为S或D; 在第2位的X为T、A、D、E、G、H、K、N、P、Q、R或S; 在第3位的X为S、D、E、G、K、N、P或R; 在第4位的X为S、G、K、N或P; 在第5位的X为Y、A、D、E、G、H、M、N、Q、S、T、V或W; 在第6位的X为Y、A、F、G、H、M、N或Q;

(e) HVR-H2包含选自以下的氨基酸序列: VISYDGTNEYAD (SEQ ID NO:47)、SIYYTGNTYYNP (SEQ ID NO:51)、SIHYSGNTYYNP (SEQ ID NO:55)、SIHYSGTYYNP (SEQ ID NO:59)、GISGGSGYTYAD (SEQ ID NO:63)、SIDYTGSTYYNP (SEQ ID NO:67)、VISYGGSERYYAD (SEQ ID NO:71)、GILPILGTVDYAQ (SEQ ID NO:75)、NIDYTGSTYYNA (SEQ ID NO:83)、SIDYTGSTAYNP (SEQ ID NO:87)、SIDYTGSTYYNT (SEQ ID NO:91)、SIDYTGSTYYEP (SEQ ID NO:99)、SIDYTGSTYYEP (SEQ ID NO:103)、SIDYTGSTYYQP (SEQ ID NO:119)、SIYYTGNTYYNS (SEQ ID NO:123)、SIYYTGNTYYLP (SEQ ID NO:131)、SIYYTGNTYYMP (SEQ ID NO:143)、SIYYTGNTYYWP (SEQ ID NO:147)、SIYYTGTYAP (SEQ ID NO:151)、XXDXXXXXXXXXX (SEQ ID NO:284) 或XXXXXXXXXXYP (SEQ ID NO:379), 其中在XXDXXXXXXXXXX (SEQ ID NO:284) 中在第1位的X为S、N或T; 在第2位的X为I、M或V; 在第4位的X为Y或H; 在第5位的X为T、H、L或N; 在第6位的X为G、A、D、E、H、K、N、Q、R、S或T; 在第7位的X为S、A、D、Q或T; 在第8位的X为T、A、D或E; 在第9位的X为Y、A、F、Q、S或W; 在第11位的X为N、D、E、H、P或Q; 在第12位的X为P、A或E, 其中在XXXXXXXXXXYP (SEQ ID NO:379) 中在第1位的X为S、F、I、M或Q; 在第2位的X为I、A、G、L、R、S、T或V; 在第3位的X为Y、A、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T或W; 在第4位的X为Y、A、D、E、F、G、H、K、N、P、Q、R、S、T或W; 在第5位的X为T、D、E、K、N、P或Q; 在第6位的X为G或Q; 在第7位的X为N、D、E、G、H、I、K、

M、P、R或S；在第8位的X为T、A、E、F、G、H、K、P、Q、R、S、V、W或Y；在第9位的X为Y或W；在第11位的X为N、A、D、E、K、L、M、P、Q、S或T；

(f) HVR-H3包含选自以下的氨基酸序列：ARGIRIFTSYFDS (SEQ ID NO:48)、ARVRYGVGVPYFDP (SEQ ID NO:52)、ARVHYGGYIPRRFDH (SEQ ID NO:56)、ARVAPSYPRVFDY (SEQ ID NO:60)、ARVVTYRDPPASFDY (SEQ ID NO:64)、ARGKYYETYLGFVD (SEQ ID NO:68)、AREPWYSSRGWTGYGFVD (SEQ ID NO:72)、AREPWYRLGAFDV (SEQ ID NO:76)、ATGKYYETYLGFVD (SEQ ID NO:84)、AHGKYYETYLGFVD (SEQ ID NO:88)、ATGSYYETYLGFVD (SEQ ID NO:100)、ATGNYYETYLGFVD (SEQ ID NO:104)、ASGKYYETYLGFVD (SEQ ID NO:112)、ARGNYYETYLGFVD (SEQ ID NO:120)、AGVRYGVGVPYFDP (SEQ ID NO:128)、SRVRYGVGVPYFDP (SEQ ID NO:132)、VRVRYGVGVPYFDP (SEQ ID NO:144)、TRVRYGVGVPYFDP (SEQ ID NO:148)、ARLRYGVGVPYFDP (SEQ ID NO:152)、ARVKYGVGVPYFDP (SEQ ID NO:156)、ARVRYGVGVPYFDP (SEQ ID NO:160)、AXGXYYXTYLGFVD (SEQ ID NO:322) 或XXXXXGXXVPRXFDP (SEQ ID NO:462)，其中在AXGXYYXTYLGFVD (SEQ ID NO:322) 中在第2位的X为R、A、E、G、H、M、N、Q、S、T或Y；在第4位的X为K、A或S；在第7位的X为E或T，其中在XXXXXGXXVPRXFDP (SEQ ID NO:462) 中在第1位的X为A或V；在第2位的X为R、A、G、N、Q或T；在第3位的X为V、A、F、I、K、L、M、Q或S；在第4位的X为R、A、I、K、L、M、P、Q、S、T或V；在第5位的X为Y、H、I、L或V；在第7位的X为V、A、F、G、K、M、N、Q、R、S、T、W或Y；在第8位的X为G、N、R、S或T；在第12位的X为Y、F、H、I、L、M、Q或R。

2. 根据权利要求1所述的抗体，其中：

(a) HVR-L1包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列；

(b) HVR-L2包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列；和

(c) HVR-L3包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

3. 根据权利要求1-2中任一项所述的抗体，其中：

(a) HVR-H1包含选自SEQ ID NO:66、82、86、90或252-283的氨基酸序列；

(b) HVR-H2包含选自SEQ ID NO:67、83、87、91、99、103、119或285-321的氨基酸序列；且

(c) HVR-H3包含选自SEQ ID NO:68、84、88、100、104、112、120或323-335的氨基酸序列。

4. 根据权利要求1-2中任一项所述的抗体，其中：

(a) HVR-H1包含选自SEQ ID NO:50、122、126、130、134、138、142、146或337-378的氨基酸序列；

(b) HVR-H2包含选自SEQ ID NO:51、123、131、143、147、151或380-461的氨基酸序列；和

(c) HVR-H3包含选自SEQ ID NO:52、128、132、144、148、152、156、160或463-513的氨基酸序列。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的抗体，其中所述抗体包含与选自SEQ ID NO:13、17、21、25、29、33、37、41、77或78的序列具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列；和/或与选自SEQ ID NO:45、49、53、57、61、65、69、73、79、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的抗体，其中所述抗体包含与SEQ ID NO:17或77具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列；和/或

与选自SEQ ID NO:49、65、79、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、121、125、

129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列;

与选自SEQ ID NO:65、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113或117的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列;或

与选自SEQ ID NO:49、79、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含:

与SEQ ID NO:169或242具有至少90%同一性的轻链(LC)氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:170-202、248-250、518-616和743-751的序列具有至少90%同一性的重链(HC)氨基酸序列;或

与SEQ ID NO:169或242具有至少90%同一性的轻链(LC)氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:203-241和617-733的序列具有至少90%同一性的重链(HC)氨基酸序列。

8. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述抗体为多特异性抗体,其包含:

(a) 一对轻链,各自包含:SEQ ID NO:18的HVR-L1序列;SEQ ID NO:19的HVR-L2序列;和SEQ ID NO:20的HVR-L3序列;

(b) 一条重链,其包含:选自SEQ ID NO:66、82、86、90或106的HVR-H1序列;选自SEQ ID NO:67、83、87、91、99、103或119的HVR-H2序列;和选自SEQ ID NO:68、84、88、100、104、112或120的HVR-H3序列;和

(c) 一条重链,其包含:选自SEQ ID NO:50、122、126、130、134、142或146的HVR-H1序列;选自SEQ ID NO:51、123、127、131、135、139、143、147或151的HVR-H2序列;和包含选自SEQ ID NO:52、128、132、144、148、152、156或160的氨基酸序列的HVR-H3;任选地,其中:

一条重链包含氨基酸置换T366W,而另一条重链包含氨基酸置换T366S、L368A和Y407V;和/或

所述抗体包含:

(a) 一对轻链,各自包含SEQ ID NO:17或77的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;

(b) 一条重链,其包含选自SEQ ID NO:65、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113或117的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列;和

(c) 一条重链,其包含选自SEQ ID NO:49、79、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的抗体,其中所述抗体以 $1 \times 10^{-8}$ M或更小、 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小、或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\alpha$ 、hu-IL-36- $\beta$ 和/或hu-IL-36- $\gamma$ ;

所述抗体以 $1 \times 10^{-8}$ M或更小、 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小、或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36- $\gamma$ ;

所述抗体以 $1 \times 10^{-8}$ M或更小、 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小、或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36- $\beta$ ;

所述抗体将由IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的细胞内信号降低至少90%、至少95%、至少99%或100%;任选地,其中在IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 浓度为约 $EC_{50}$ 下,所述抗体的 $IC_{50}$ 为10nM或更小,5nM或更小,或1nM或更小;

所述抗体抑制由IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的原代人角质形成细胞(PHK)的IL-8的释放,任选地,其中在IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 浓度为约EC<sub>50</sub>下,所述抗体的IC<sub>50</sub>为10nM或更小,5nM或更小,或1nM或更小;和/或

所述抗体与SEQ ID NO:5、6或7的食蟹猴的IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 或IL-36 $\gamma$ 交叉反应。

10. 一种多特异性抗体,其结合人IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的每一种;任选地,其中所述抗体以3nM或更小的结合亲和力结合人IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的每一种;任选地,其中所述结合亲和力是通过SEQ ID NO:1的hu-IL-36 $\alpha$ 、SEQ ID NO:2的hu-IL-36 $\beta$ 和SEQ ID NO:3的hu-IL-36 $\gamma$ 的平衡解离常数(K<sub>D</sub>)来测量;任选地,其中所述抗体:

(a) 在一个臂中包含对IL-36 $\alpha$ 和/或IL-36 $\gamma$ 的特异性,在另一个臂中包含对IL-36 $\beta$ 的特异性;任选地,其中一个臂以 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小、或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ ,并且另一个臂以 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小、或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\beta$ ;

(b) 将由IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的细胞内信号降低至少90%、至少95%、至少99%或100%;任选地,其中在IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 浓度为约EC<sub>50</sub>下,所述抗体的IC<sub>50</sub>为10nM或更小,5nM或更小,或1nM或更小;

(c) 抑制由IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的原代人角质形成细胞(PHK)的IL-8的释放,任选地,其中在IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 浓度为约EC<sub>50</sub>下,所述抗体的IC<sub>50</sub>为10nM或更小,5nM或更小,或1nM或更小;

(d) 与食蟹猴的IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 交叉反应;和/或

(e) 所述抗体以3nM或更小的结合亲和力结合食蟹猴IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的每一种;任选地,其中所述结合亲和力是通过SEQ ID NO:5的cy-IL-36 $\alpha$ 、SEQ ID NO:6的cy-IL-36 $\beta$ 和SEQ ID NO:7的cy-IL-36 $\gamma$ 的平衡解离常数(K<sub>D</sub>)来测量。

11. 编码权利要求1-10中任一项的抗体的分离的多核苷酸或载体;或包含所述多核苷酸或载体的分离的宿主细胞;任选地,其中所述宿主细胞选自中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、骨髓瘤细胞(例如Y0、NS0、Sp2/0)、猴肾细胞(COS-7)、人胚肾系(293)、幼仓鼠肾细胞(BHK)、小鼠支持细胞(例如TM4)、非洲绿猴肾细胞(VERO-76)、人宫颈癌细胞(HELA)、犬肾细胞、人肺细胞(W138)、人肝细胞(Hep G2)、小鼠乳腺肿瘤细胞、TR1细胞、医学研究委员会5(MRC 5)细胞和包皮4(FS4)细胞。

12. 一种产生抗体的方法,其包括培养权利要求11的宿主细胞,使得产生抗体。

13. 一种药物组合物,其包含权利要求1-10中任一项的抗体和药学上可接受的载体。

14. 一种治疗受试者的方法,所述方法包括向受试者给予治疗有效量的权利要求1-10中任一项的抗体,或治疗有效量的权利要求13的药物组合物;任选地,其中所述疾病选自:由于表皮生长因子受体抑制剂引起的痤疮、痤疮和化脓性汗腺炎(PASH)、急性泛发性发疹性脓疱病(AGEP)、褶皱部位无菌性脓疱病、头皮/腿的无菌性脓疱病、无菌性角膜下脓疱病、无菌性脓肿综合征、贝切特氏病、肠旁路综合征、慢性阻塞性肺病(COPD)、儿童脓疱性皮炎、克罗恩病、白细胞介素-1受体拮抗剂缺乏症(DIRA)、白细胞介素-36受体拮抗剂缺乏症(DITRA)、湿疹、泛发性脓疱性银屑病(GPP)、持久性隆起性红斑、化脓性汗腺炎、IgA天疱疮、炎性肠病(IBD)、嗜中性脂膜炎、掌跖脓疱性银屑病(PPP)、银屑病、银屑病关节炎、脓疱性银屑病(DIRA、DITRA)、坏疽性脓皮病、化脓性关节炎坏疽性脓皮病和痤疮(PAPA)、化脓性关节

炎坏疽性脓皮病瘰疬和化脓性汗腺炎 (PAPASH)、类风湿性嗜中性皮炎、滑膜炎瘰疬脓疱病骨质增生和骨炎 (SAPHO)、克罗恩病患者中TNF诱导的银屑病形式皮肤病变、舍格伦综合征、斯威特氏综合征、系统性红斑狼疮 (SLE)、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎和癌症;任选地,所述癌症选自乳腺癌、结肠直肠癌、非小细胞肺癌、胰腺癌。

15. 权利要求1-10中任一项的抗体用作药物;任选地,用于治疗炎性病症。

## 抗IL-36的抗体及其使用方法

### 技术领域

[0001] 本公开内容总体上涉及与IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$  结合的结合蛋白,例如抗体和抗原结合片段,以及使用所述结合蛋白的方法。

[0002] 参考序列列表

[0003] 序列列表的正式副本是通过EFS-Web以ASCII格式的文本文件与说明书同时提交,文件名为“09402-004W01\_SeqList\_ST25.txt”,创建日期为2019年12月9日,并且大小为1,386,645字节。通过EFS-Web提交的序列列表是本说明书的一部分,并通过引用的方式全文纳入本文中。

### 背景技术

[0004] 细胞因子配体和受体的白细胞介素-1 (IL-1) 家族与炎症、自身免疫、免疫调节、细胞增殖和宿主防御有关,并对炎性、自身免疫性、免疫调节性、退行性 (degenerative) 和细胞增殖性 (例如癌症) 疾病和障碍的病理学有贡献,并且其细胞因子和受体充当这类疾病和障碍的致病介体 (mediator)。参见,例如Cecilia Garlanda et al., *Immunity* 39:1003-1018 (2013)。细胞因子的IL-1家族包括促炎性细胞因子、白细胞介素-36 $\alpha$  (IL-36 $\alpha$ 或IL-36 $\alpha$ )、白细胞介素-36 $\beta$  (IL-36 $\beta$ 或IL-36 $\beta$ ) 和白细胞介素-36 $\gamma$  (IL-36 $\gamma$ 或IL-36 $\gamma$ )。这些IL-36细胞因子中的每一种均充当能够与在某些细胞的表面上表达的同源受体IL-36R (也称为“IL1RL2”) 结合的配体,所述某些细胞包括皮肤、食道、扁桃体、肺、肠道、脑的细胞和包括T细胞在内的免疫细胞。IL-36细胞因子与IL-36R结合后,辅助蛋白共受体IL1RAP被募集形成包含IL-36细胞因子、IL-36R和IL1RAP的三元复合物。这种三元复合物促进一组转录因子 (包括NF- $\kappa$ B和AP-1) 和丝裂原活化蛋白激酶的细胞内信号转导以及激活,其会触发炎性和免疫应答的级联,包括下游许多细胞因子、趋化因子、酶和粘附分子的产生,包括IFN- $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、IL-12、IL-23、CXCL1、CXCL8和CCL20。

[0005] 已知IL-36细胞因子IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 在几种组织中高度表达,包括已暴露于病原体的皮肤和内部上皮组织。例如,IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 在TNF- $\alpha$ 刺激的人角质形成细胞中的表达显著上调 (Carrier et al., (2011) *Journal of Investigative Dermatology*), 而IL-36 $\gamma$  mRNA在银屑病皮肤病变中过表达 (D'Erme et al., (2015) *Journal of Investigative Dermatology*)。在慢性肾脏疾病中也已观察到提高的IL-36 $\alpha$  mRNA和蛋白质表达 (Ichii et al., *Lab Invest.*, 90 (3):459-475 (2010))。此外,鼠骨髓来源的树突状细胞 (BMDC) 和CD4<sup>+</sup>T细胞通过产生促炎性细胞因子 (例如,IL-12、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 和IL-23) 来响应IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ ,从而比其他IL-1细胞因子更有效地诱导促炎性作用 (Vigne et al., *Blood*, 118 (22):5813-5823 (2011))。

[0006] 在角质形成细胞中过表达IL-36 $\alpha$ 的转基因小鼠在出生时表现出瞬时炎性皮肤病症,这使得小鼠高度易感于类似人银屑病的12-O-十四烷酰佛波醇13-乙酸酯 (12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate) 诱导的皮肤病状 (Blumberg et al., *J. Exp. Med.*, 204 (1 1):2603-2614 (2007); 和Blumberg et al., *J. Immunol.*, 175 (7):4354-4362 (2010))。此

外,保护IL-36R缺陷型小鼠免患咪喹莫特(imiquimod)诱导的牛皮癣状皮炎(Tortola et al., J.Clin.Invest., 122 (11):3965-3976 (2012))。这些结果有力地表明IL-36在某些皮肤的炎性病症中的作用。

[0007] IL-36细胞因子与某些严重形式的银屑病有关,包括脓疱性银屑病、泛发性脓疱性银屑病(generalized pustular psoriasis) (GPP) 和掌跖脓疱病(palmo-plantar pustulosis) (PPP) (参见,例如Town, IE.和Sims, IE., Curr.Opin.Pharmacol, 12 (4):486-90 (2012);以及Naik, H.B.和Cowen, E.W., Dermatol Clin., 31 (3):405-425 (2013))。脓疱性银屑病是一种罕见的银屑病形式,其特征在于白色脓疱被红色皮肤包围。泛发性脓疱性银屑病是一种严重的系统性的脓疱性银屑病形式,具有高致死风险,而掌跖脓疱病是一种慢性的脓疱性银屑病形式,其影响手掌和脚跖。目前用于脓疱性银屑病、GPP和PPP的治疗包括口服类维生素A(retinoid)和局部类固醇,但这些治疗显示出较差功效和严重的副作用。

## 发明内容

[0008] 本公开内容提供以高亲和力特异性结合IL-36细胞因子的抗体。所述抗体能够降低、抑制和/或完全阻断通过IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 或IL-36 $\gamma$ 与其同源受体IL-36R结合而刺激的信号传导(signaling)。本公开内容还提供抗IL-36的抗体在治疗IL-36介导的疾病的方法中的用途,所述疾病例如为炎性疾病、自身免疫性疾病和癌症,包括但不限于急性泛发性发疹性脓疱病(AGEP)、慢性阻塞性肺病(COPD)、儿童脓疱性皮炎、湿疹、泛发性脓疱性银屑病(GPP)、炎性肠病(IBD)、掌跖脓疱性银屑病(PPP)、银屑病、克罗恩病患者(Crohn's patient)中TNF诱导的银屑病形式皮肤病变、舍格伦综合征(Sjogren's syndrome)和葡萄膜炎。

[0009] 在一些实施方案中,本公开内容提供一种抗IL-36的抗体,其包含(i)第一轻链高变区(HVR-L1)、第二轻链高变区(HVR-L2)和第三轻链高变区(HVR-L3),和/或(ii)第一重链高变区(HVR-H1)、第二重链高变区(HVR-H2)和第三重链高变区(HVR-H3),其中:

[0010] (a) HVR-L1包含选自以下的氨基酸序列: TGSSSNIGAHYDVH (SEQ ID NO:18)、TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO:22)、RASQSVSSNYLA (SEQ ID NO:38) 或RASQTIYKYLN (SEQ ID NO:42);

[0011] (b) HVR-L2包含选自以下的氨基酸序列: SNNNRPS (SEQ ID NO:15)、GNDNRPS (SEQ ID NO:19)、GNTNRPS (SEQ ID NO:23)、GNRNRPS (SEQ ID NO:27)、SASSLQS (SEQ ID NO:39) 或AASSLQS (SEQ ID NO:43);

[0012] (c) HVR-L3包含选自以下的氨基酸序列: QSYDYSLRGYV (SEQ ID NO:16)、QSYDYSLSGYV (SEQ ID NO:20)、QSYDYSLRVYV (SEQ ID NO:28)、QSYDYSLKAYV (SEQ ID NO:32)、QSYDISLSGWV (SEQ ID NO:36)、QQTYSYPPT (SEQ ID NO:40) 或QQSSIPYT (SEQ ID NO:44);

[0013] (d) HVR-H1包含选自以下的氨基酸序列: SAYAMHW (SEQ ID NO:46)、STSSYYW (SEQ ID NO:50)、SSTSYYW (SEQ ID NO:54)、GSRSYW (SEQ ID NO:58)、STYAMSW (SEQ ID NO:62)、TSSNYYW (SEQ ID NO:66)、SSYGMH (SEQ ID NO:70)、SNYAIS (SEQ ID NO:74)、TSTNYYW (SEQ ID NO:82)、TSSNAYW (SEQ ID NO:86)、TASNYYW (SEQ ID NO:90)、TASNYYW (SEQ ID NO:106)、SDSSYYW (SEQ ID NO:122)、SESSYYW (SEQ ID NO:126)、STSSDYW (SEQ ID NO:130)、SNSSYYW

(SEQ ID NO:134)、STSSYHW (SEQ ID NO:142)、SRSSYYW (SEQ ID NO:146)、XXXNXYX (SEQ ID NO:251) 或XXXXXXW (SEQ ID NO:336), 其中在XXXNXYX (SEQ ID NO:251) 中在第1位的X为T、D、E或N; 在第2位的X为S、A、E、G、K、Q、R或T; 在第3位的X为S、A、D、E、G、N、P、Q或T; 在第5位的X为Y、A、E、G、H、M、N、Q、S、T或V; 在第7位的X为W、F、I、V或Y, 其中在XXXXXXW (SEQ ID NO:336) 中在第1位的X为S或D; 在第2位的X为T、A、D、E、G、H、K、N、P、Q、R或S; 在第3位的X为S、D、E、G、K、N、P或R; 在第4位的X为S、G、K、N或P; 在第5位的X为Y、A、D、E、G、H、M、N、Q、S、T、V或W; 在第6位的X为Y、A、F、G、H、M、N或Q;

[0014] (e) HVR-H2包含选自以下的氨基酸序列: VISYDGTNEYAD (SEQ ID NO:47)、SIYYTGNTYYNP (SEQ ID NO:51)、SIHYSGNTYYNP (SEQ ID NO:55)、SIHYSGTYYNP (SEQ ID NO:59)、GISGGSGYTYAD (SEQ ID NO:63)、SIDYTGSTYYNP (SEQ ID NO:67)、VISYGGSERYYAD (SEQ ID NO:71)、GILPILGTVDYAQ (SEQ ID NO:75)、NIDYTGSTYYNA (SEQ ID NO:83)、SIDYTGSTAYNP (SEQ ID NO:87)、SIDYTGSTYYNT (SEQ ID NO:91)、SIDYTGSTYYEP (SEQ ID NO:99)、SIDYTGSTYYEP (SEQ ID NO:103)、SIDYTGSTYYQP (SEQ ID NO:119)、SIYYTGNTYYNS (SEQ ID NO:123)、SIYYTGNTYYLP (SEQ ID NO:131)、SIYYTGNTYYMP (SEQ ID NO:143)、SIYYTGNTYYWP (SEQ ID NO:147)、SIYYTGETYYAP (SEQ ID NO:151)、XXDXXXXXXXXXX (SEQ ID NO:284) 或XXXXXXXXXXYP (SEQ ID NO:379), 其中在XXDXXXXXXXXXX (SEQ ID NO:284) 中在第1位的X为S、N或T; 在第2位的X为I、M或V; 在第4位的X为Y或H; 在第5位的X为T、H、L或N; 在第6位的X为G、A、D、E、H、K、N、Q、R、S或T; 在第7位的X为S、A、D、Q或T; 在第8位的X为T、A、D或E; 在第9位的X为Y、A、F、Q、S或W; 在第11位的X为N、D、E、H、P或Q; 在第12位的X为P、A或E, 其中在XXXXXXXXXXYP (SEQ ID NO:379) 中在第1位的X为S、F、I、M或Q; 在第2位的X为I、A、G、L、R、S、T或V; 在第3位的X为Y、A、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T或W; 在第4位的X为Y、A、D、E、F、G、H、K、N、P、Q、R、S、T或W; 在第5位的X为T、D、E、K、N、P或Q; 在第6位的X为G或Q; 在第7位的X为N、D、E、G、H、I、K、M、P、R或S; 在第8位的X为T、A、E、F、G、H、K、P、Q、R、S、V、W或Y; 在第9位的X为Y或W; 在第11位的X为N、A、D、E、K、L、M、P、Q、S或T;

[0015] (f) HVR-H3包含选自以下的氨基酸序列: ARGIRIFTSYFDS (SEQ ID NO:48)、ARVRYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:52)、ARVHYGGYIPRRFDH (SEQ ID NO:56)、ARVAPSYPRVFDY (SEQ ID NO:60)、ARVVTYRDPPASFDY (SEQ ID NO:64)、ARGKYETYLGFVD (SEQ ID NO:68)、AREPWYSSRGWTGYGFDV (SEQ ID NO:72)、AREPWYRLGAFDV (SEQ ID NO:76)、ATGKYETYLGFVD (SEQ ID NO:84)、AHGKYETYLGFVD (SEQ ID NO:88)、ATGSYYETYLGFVD (SEQ ID NO:100)、ATGNYYETYLGFVD (SEQ ID NO:104)、ASGKYETYLGFVD (SEQ ID NO:112)、ARGNYYETYLGFVD (SEQ ID NO:120)、AGVRYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:128)、SRVRYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:132)、VRVRYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:144)、TRVRYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:148)、ARLRYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:152)、ARVKYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:156)、ARVRYGVGVPRHFD (SEQ ID NO:160)、AXGXYYXTYLGFVD (SEQ ID NO:322) 或XXXXXGXVPRXFDP (SEQ ID NO:462), 其中在AXGXYYXTYLGFVD (SEQ ID NO:322) 中在第2位的X为R、A、E、G、H、M、N、Q、S、T或Y; 在第4位的X为K、A或S; 在第7位的X为E或T, 其中在XXXXXGXVPRXFDP (SEQ ID NO:462) 中在第1位的X为A或V; 在第2位的X为R、A、G、N、Q或T; 在第3位的X为V、A、F、I、K、L、M、Q或S; 在第4位的X为R、A、I、K、L、M、P、Q、S、T或V; 在第5位的X为Y、H、I、L或V; 在第7位的X为V、A、F、G、K、M、N、Q、R、S、T、W或Y; 在第8位的X为G、N、R、S或T; 在第12位的X为Y、F、H、I、L、M、Q或R。

- [0016] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含:
- [0017] (a) HVR-L1,其包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;
- [0018] (b) HVR-L2,其包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列;和
- [0019] (c) HVR-L3,其包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列。
- [0020] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含:
- [0021] (d) HVR-H1,其包含选自SEQ ID NO:66、82、86、90或252-283的氨基酸序列;
- [0022] (e) HVR-H2,其包含选自SEQ ID NO:67、83、87、91、99、103、119或285-321的氨基酸序列;和
- [0023] (f) HVR-H3,其包含选自SEQ ID NO:68、84、88、100、104、112、120或323-335的氨基酸序列。
- [0024] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含:
- [0025] (d) HVR-H1,其包含选自SEQ ID NO:50、122、126、130、134、138、142、146或337-378的氨基酸序列;
- [0026] (e) HVR-H2,其包含选自SEQ ID NO:51、123、131、143、147、151或380-461的氨基酸序列;和
- [0027] (f) HVR-H3,其包含选自SEQ ID NO:52、128、132、144、148、152、156、160或463-513的氨基酸序列。
- [0028] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含:
- [0029] (a) HVR-L1,其包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;
- [0030] (b) HVR-L2,其包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列;
- [0031] (c) HVR-L3,其包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;
- [0032] (d) HVR-H1,其包含选自SEQ ID NO:66、82、86、90或252-283的氨基酸序列;
- [0033] (e) HVR-H2,其包含选自SEQ ID NO:67、83、87、91、99、103、119或285-321的氨基酸序列;和
- [0034] (f) HVR-H3,其包含选自SEQ ID NO:68、84、88、100、104、112、120或323-335的氨基酸序列。
- [0035] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含:
- [0036] (a) HVR-L1,其包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;
- [0037] (b) HVR-L2,其包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列;
- [0038] (c) HVR-L3,其包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;
- [0039] (d) HVR-H1,其包含选自SEQ ID NO:50、122、126、130、134、138、142、146或337-378的氨基酸序列;
- [0040] (e) HVR-H2,其包含选自SEQ ID NO:51、123、131、143、147、151或380-461的氨基酸序列;和
- [0041] (f) HVR-H3,其包含选自SEQ ID NO:52、128、132、144、148、152、156、160或463-513的氨基酸序列。
- [0042] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含与选自SEQ ID NO:13、17、21、25、29、33、37、41、77或78的序列具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:45、49、53、57、61、65、69、73、79、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、

121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含选自SEQ ID NO:13、17、21、25、29、33、37、41、77或78的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或选自SEQ ID NO:45、49、53、57、61、65、69、73、79、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0043] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含与SEQ ID NO:17或77具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:49、65、79、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含SEQ ID NO:17或77的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或选自SEQ ID NO:49、65、79、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0044] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含与SEQ ID NO:17或77具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:65、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113或117的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含SEQ ID NO:17或77的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或选自SEQ ID NO:65、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113或117的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0045] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含与SEQ ID NO:17或77具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:49、79、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含SEQ ID NO:17或77的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或选自SEQ ID NO:49、79、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0046] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含与SEQ ID NO:169或242具有至少90%同一性的轻链(LC)氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:170-202、248、249或250的序列具有至少90%同一性的重链(HC)氨基酸序列。在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含SEQ ID NO:169或242的轻链(LC)氨基酸序列;和/或选自SEQ ID NO:170-202、248、249或250的重链(HC)氨基酸序列。

[0047] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含与SEQ ID NO:169或242具有至少90%同一性的轻链(LC)氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:518-616和743-751的序列具有至少90%同一性的重链(HC)氨基酸序列。在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含SEQ ID NO:169或242的轻链(LC)氨基酸序列;和/或SEQ ID NO:518-616和743-751的重链(HC)氨基酸序列。

[0048] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含与SEQ ID NO:169或242具有至少90%同一性的轻链(LC)氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:203-241的序列具有至少90%同一性的重链(HC)氨基酸序列。在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含具有SEQ ID NO:169或242的轻链(LC)氨基酸序列;和/或选自SEQ ID NO:203-241的重链(HC)氨基酸序列。

[0049] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含与SEQ ID NO:169或242具有至少90%同

一性的轻链(LC)氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:617-733的序列具有至少90%同一性的重链(HC)氨基酸序列。在一些实施方案中,抗IL-36的抗体包含具有SEQ ID NO:169或242的轻链(LC)氨基酸序列;和/或选自SEQ ID NO:617-733的重链(HC)氨基酸序列。

[0050] 在一些实施方案中,本公开内容提供一种抗IL-36的抗体,其中所述抗体为多特异性抗体,其包含:

[0051] (a) 一对轻链,各自包含:SEQ ID NO:18的HVR-L1序列;SEQ ID NO:19的HVR-L2序列;和SEQ ID NO:20的HVR-L3序列;

[0052] (b) 一条重链,其包含:选自SEQ ID NO:66、82、86、90或106的HVR-H1序列;选自SEQ ID NO:67、83、87、91、99、103或119的HVR-H2序列;和选自SEQ ID NO:68、84、88、100、104、112或120的HVR-H3序列;和

[0053] (c) 一条重链,其包含:选自SEQ ID NO:50、122、126、130、134、142或146的HVR-H1序列;选自SEQ ID NO:51、123、127、131、135、139、143、147或151的HVR-H2序列;和包含选自SEQ ID NO:52、128、132、144、148、152、156或160的氨基酸序列的HVR-H3。

[0054] 在一些实施方案中,多特异性抗体包含:

[0055] 一条包含氨基酸置换T366W的重链,和另一条包含氨基酸置换T366S、L368A和Y407V的重链。

[0056] 在一些实施方案中,多特异性抗体包含:

[0057] (a) 一对轻链,各自包含SEQ ID NO:17或77的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;

[0058] (b) 一条重链,其包含选自SEQ ID NO:65、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113或117的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列;和

[0059] (c) 一条重链,其包含选自SEQ ID NO:49、79、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0060] 在一些实施方案中,多特异性抗体包含:

[0061] (a) 一对SEQ ID NO:169和242的轻链(LC)氨基酸序列;

[0062] (b) 重链(HC)氨基酸序列,其选自SEQ ID NO:171、174、177、180、183、186、189、192、195、198、201、249、521、522、523、530、531、532、539、540、541、548、549、550、557、558、559、566、567、568、575、576、577、584、585、586、593、594、595、602、603、604、611、612和613;和

[0063] (c) 重链(HC)氨基酸序列,其选自SEQ ID NO:208、211、214、217、220、223、226、229、232、235、238、241、632、633、634、641、642、643、650、651、652、659、660、661、668、669、670、677、678、679、686、687、688、695、696、697、704、705、706、713、714、715、722、723、724、731、732和733。

[0064] 在一些实施方案中,多特异性抗体包含:

[0065] (a) 一对SEQ ID NO:169和242的轻链(LC)氨基酸序列;

[0066] (b) 重链(HC)氨基酸序列,其选自SEQ ID NO:172、175、178、181、184、187、190、193、196、199、202、250、524、525、526、533、534、535、542、543、544、551、552、553、560、561、562、569、570、571、578、579、580、587、588、589、596、597、598、605、606、607、614、615、616、749、750和751;和

[0067] (c) 重链(HC)氨基酸序列,其选自SEQ ID NO:207、210、213、216、219、222、225、

228、231、234、237、240、629、630、631、638、639、640、647、648、649、656、657、658、665、666、667、674、675、676、683、684、685、692、693、694、701、702、703、710、711、712、719、720、721、728、729和730。

[0068] 在一些实施方案中,本公开内容提供一种多特异性抗IL-36的抗体,其中所述抗体包含一对SEQ ID NO:169的轻链(LC)氨基酸序列;选自SEQ ID NO:192、584、585和586的重链(HC)氨基酸序列;和选自SEQ ID NO:235、713、714和715的重链(HC)氨基酸序列。

[0069] 在本公开内容提供的抗IL-36的抗体的各种实施方案中,所述抗体的特征在于一个或多个以下特性:

[0070] (a) 以 $1 \times 10^{-8}$ M或更小、 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\alpha$ 、hu-IL-36- $\beta$ 和/或hu-IL-36- $\gamma$ ;任选地,其中所述抗体是多特异性的;

[0071] (b) 以 $1 \times 10^{-8}$ M或更小、 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36- $\gamma$ ;

[0072] (c) 以 $1 \times 10^{-8}$ M或更小、 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36- $\beta$ ;

[0073] (d) 是多特异性的,并且在一个臂中包含对IL-36 $\alpha$ 和/或IL-36 $\gamma$ 的特异性,和在另一个臂中包含对IL-36 $\beta$ 的特异性;任选地,其中一个臂以 $1 \times 10^{-8}$ M或更小、 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36- $\gamma$ ,并且另一个臂以 $1 \times 10^{-8}$ M或更小、 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36- $\beta$ ;

[0074] (e) 将由IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的细胞内信号降低至少90%、至少95%、至少99%或100%;任选地,其中在IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 浓度为约EC<sub>50</sub>下,所述抗体的IC<sub>50</sub>为10nM或更小,5nM或更小,或1nM或更小;任选地,其中所述抗体是多特异性的;

[0075] (f) 抑制由IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的原代人角质形成细胞(PHK)中IL-8的释放,任选地,其中在IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 浓度为约EC<sub>50</sub>下,所述抗体的IC<sub>50</sub>为10nM或更小,5nM或更小,或1nM或更小;任选地,其中所述抗体是多特异性的;和/或

[0076] (g) 与SEQ ID NO:5、6或7的食蟹猴(cynomolgus monkey)的IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 或IL-36 $\gamma$ 交叉反应;任选地,其中所述抗体是多特异性的。

[0077] 本公开内容还提供抗IL-36的抗体的实施方案,其中:(i)所述抗体为单克隆抗体;(ii)所述抗体为人抗体、人源化抗体或嵌合抗体;(iii)所述抗体为IgG类的全长抗体,任选地,其中所述IgG类抗体具有选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的同种型;(iv)所述抗体为Fc区变体,任选地改变效应子功能的Fc区变体(例如,产生无效应子抗体(effectorless antibody)的变体),或改变抗体半衰期的Fc区变体;(v)所述抗体为抗体片段,任选地选自F(ab')<sub>2</sub>、Fab'、Fab、Fv、单域抗体(VHH)和scFv;(vi)所述抗体为免疫缀合物,任选地,其中所述免疫缀合物包含用于治疗IL-36介导的疾病的的治疗剂;(vii)所述抗体为多特异性抗体,任选地多特异性抗体;和(viii)所述抗体为合成抗体,其中将HVR嫁接(graft)到除免疫球蛋白支架或骨架以外的支架或骨架上;任选地,选自替代性蛋白质支架和人工聚合物支架的支架上。

[0078] 在其他实施方案中,本公开内容提供编码本文中所公开的抗IL-36的抗体的分离

的核酸。在一些实施方案中,本公开内容还提供包含编码本文中所公开的抗IL-36的抗体的核酸的宿主细胞。本公开内容还提供一种产生抗IL-36的抗体的方法,其中所述方法包括培养包含编码抗IL-36的抗体的核酸(或载体)的宿主细胞,使得产生抗体。

[0079] 在一些实施方案中,本公开内容提供一种包含本文中所公开的抗IL-36的抗体和药学上可接受的载体的药物组合物。在一些实施方案中,所述药物组合物包含抗IL-36的抗体作为唯一活性剂;任选地,其中所述抗IL-36的抗体为多特异性抗体,其在一个臂中包含对IL-36 $\alpha$ 和/或IL-36 $\gamma$ 的特异性,且在另一个臂中包含对IL-36 $\beta$ 的特异性。在一些实施方案中,所述药物组合物还包含用于治疗IL-36介导的疾病或病症的治疗剂。

[0080] 在一些实施方案中,本公开内容提供一种治疗受试者的IL-36介导的疾病或病症的方法,所述方法包括向受试者给予治疗有效量的本文中所公开的抗IL-36的抗体,或治疗有效量的本文中所公开的抗IL-36的抗体的药物组合物。在一些实施方案中,治疗的用途和方法包括给予包含抗IL-36的抗体作为唯一活性剂的药物组合物;任选地,其中所述抗IL-36的抗体为多特异性抗体,其在一个臂中包含对IL-36 $\alpha$ 和/或IL-36 $\gamma$ 的特异性,在另一个臂中包含对IL-36 $\beta$ 的特异性。

[0081] 在本文中所公开的治疗的用途和方法的一些实施方案中,IL-36介导的疾病选自炎症性疾病、自身免疫性疾病和癌症。在一些实施方案中,IL-36介导的疾病选自:由于表皮生长因子受体抑制剂引起的痤疮、痤疮和化脓性汗腺炎(PASH)、急性泛发性发疹性脓疱病(AGEP)、褶皱部位无菌性脓疱病、头皮/腿的无菌性脓疱病、无菌性角膜下脓疱病、无菌性脓肿综合征、贝切特氏病(**Behçet's disease**)、肠旁路综合征、慢性阻塞性肺病(COPD)、儿童脓疱性皮炎、克罗恩病、白细胞介素-1受体拮抗剂缺乏症(DIRA)、白细胞介素-36受体拮抗剂缺乏症(DITRA)、湿疹、泛发性脓疱性银屑病(GPP)、持久性隆起性红斑(erythema elevatum diutinum)、化脓性汗腺炎、IgA天疱疮、炎性肠病(IBD)、嗜中性脂膜炎(neutrophilic panniculitis)、掌跖脓疱性银屑病(PPP)、银屑病、银屑病关节炎、脓疱性银屑病(DIRA、DITRA)、坏疽性脓皮病、化脓性关节炎坏疽性脓皮病和痤疮(PAPA)、化脓性关节炎坏疽性脓皮病痤疮和化脓性汗腺炎(PAPASH)、类风湿性嗜中性皮炎、滑膜炎痤疮脓疱病骨质增生和骨炎(SAPHO)、克罗恩病患者中TNF诱导的银屑病形式皮肤病变、舍格伦综合征、斯威特氏综合征(Sweet's syndrome)、系统性红斑狼疮(SLE)、溃疡性结肠炎和葡萄膜炎。在一些实施方案中,IL-36介导的疾病选自泛发性脓疱性银屑病(GPP)、掌跖脓疱性银屑病(PPP)和银屑病。在一些实施方案中,IL-36介导的疾病为癌症;任选地,选自乳腺癌、结肠直肠癌、非小细胞肺癌和胰腺癌的癌症。

## 附图说明

[0082] 图1A、图1B和图1C描绘了在HaCat人角质形成细胞细胞系中IL-36刺激的细胞内信号传导的抑制测定中酵母展示衍生的抗hu-IL-36抗体mAb2.0和mAb6.0的结果的曲线图。图1A:HaCat细胞的IL-36 $\alpha$ 刺激([IL-36 $\alpha$ ]=1.2nM)的mAb2.0抑制;IC<sub>50</sub>=0.28nM。图1B:HaCat细胞的IL-36 $\beta$ 刺激([IL-36 $\beta$ ]=0.175nM)的mAb6.0抑制;IC<sub>50</sub>=0.082nM。图1C:HaCat细胞的IL-36 $\gamma$ 刺激([IL-36 $\gamma$ ]=4nM)的mAb2.0抑制;IC<sub>50</sub>=1.23nM。所有测定均在激动剂浓度为约EC<sub>50</sub>下进行;显示的误差线代表重复样品的标准偏差。阴性对照(NC,显示为灰色点线)代表仅暴露于生长培养基的细胞,而阳性对照(PC,显示为灰色短划线)代表仅暴露于激动剂

的细胞(不存在拮抗抗体或对照抗体)。

[0083] 图2A、图2B和图2C描绘了在原代人新生儿混合角质形成细胞(HEKn)中IL-36刺激的细胞内信号传导的抑制测定中酵母展示衍生的抗hu-IL-36抗体mAb2.0和mAb6.0的结果的曲线图。图2A:HEKn细胞的IL-36 $\alpha$ 刺激([IL-36 $\alpha$ ]=1.2nM)的mAb2.0抑制;IC<sub>50</sub>=0.33nM。图2B:HEKn细胞的IL-36 $\beta$ 刺激([IL-36 $\beta$ ]=0.3nM)的mAb6.0抑制;IC<sub>50</sub>=1.75nM。图2C:HEKn细胞的IL-36 $\gamma$ 刺激([IL-36 $\gamma$ ]=7nM)的mAb2.0抑制;IC<sub>50</sub>=2.27nM。所有测定均在激动剂浓度为约EC<sub>50</sub>下进行;显示的误差线代表重复样品的标准偏差。阴性对照(NC,显示为灰色点线)代表仅暴露于生长培养基的细胞,而阳性对照(PC,显示为灰色短划线)代表仅暴露于激动剂的细胞(不存在拮抗抗体或对照抗体)。

[0084] 图3A、图3B和图3C描绘了在海猫人角质形成细胞细胞系中IL-36刺激的细胞内信号传导的抑制测定中抗hu-IL-36多特异性抗体mAb2.10/mAb6\_2.7的结果的曲线图。图3A:HaCat细胞的IL-36 $\alpha$ 刺激([IL-36 $\alpha$ ]=0.8nM)的mAb2.10/mAb6\_2.7抑制;IC<sub>50</sub>=0.38nM。图3B:HaCat细胞的IL-36 $\beta$ 刺激([IL-36 $\beta$ ]=0.15nM)的mAb2.10/mAb6\_2.7抑制;IC<sub>50</sub>=0.13nM。图3C:HaCat细胞的IL-36 $\gamma$ 刺激([IL-36 $\gamma$ ]=2nM)的mAb2.10/mAb6\_2.7抑制;IC<sub>50</sub>=1.1nM。所有测定均在激动剂浓度为约EC<sub>50</sub>下进行;显示的误差线代表重复样品的标准偏差。阴性对照(NC,显示为灰色点线)代表仅暴露于生长培养基的细胞,而阳性对照(PC,显示为灰色短划线)代表仅暴露于激动剂的细胞(不存在拮抗抗体或对照抗体)。

[0085] 图4A、图4B和图4C描绘了在原代人成人角质形成细胞(HEKa)中IL-36刺激的细胞内信号传导的抑制测定中抗hu-IL-36多特异性抗体mAb2.10/mAb6\_2.7的结果的曲线图。图4A:HEKa细胞的IL-36 $\alpha$ 刺激([IL-36 $\alpha$ ]=1.1nM)的mAb2.10/mAb6\_2.7抑制;IC<sub>50</sub>=0.56nM。图4B:HEKa细胞的IL-36 $\beta$ 刺激([IL-36 $\beta$ ]=0.15nM)的mAb2.10/mAb6\_2.7抑制;IC<sub>50</sub>=0.11nM。图4C:HEKa细胞的IL-36 $\gamma$ 刺激([IL-36 $\gamma$ ]=3.6nM)的mAb2.10/mAb6\_2.7抑制;IC<sub>50</sub>=2.7nM。所有测定均在激动剂浓度为约EC<sub>50</sub>下进行;显示的误差线代表重复样品的标准偏差。阴性对照(NC,显示为灰色点线)代表仅暴露于生长培养基的细胞,而阳性对照(PC,显示为灰色短划线)代表仅暴露于激动剂的细胞(不存在拮抗抗体或对照抗体)。

## 具体实施方式

[0086] 本公开内容提供抗体,包括多特异性抗体,其以高亲和力特异性结合人hu-IL-36细胞因子IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 。所公开的抗IL-36的抗体能够降低、抑制和/或完全阻断IL-36介导的通路中的细胞内信号传导,包括通过IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 或IL-36 $\gamma$ 与其同源受体IL-36R结合而刺激的信号传导。本公开内容还提供抗IL-36的抗体在治疗IL-36介导的疾病的方法中的用途,所述疾病例如为炎症性疾病、自身免疫性疾病和癌症,具体包括但不限于急性泛发性发疹性脓疱病(AGEP)、慢性阻塞性肺病(COPD)、儿童脓疱性皮炎、湿疹、泛发性脓疱性银屑病(GPP)、炎症肠病(IBD)、掌跖脓疱性银屑病(PPP)、银屑病、克罗恩病患者中TNF诱导的银屑病形式皮肤病变、舍格伦综合征、葡萄膜炎。

### [0087] 术语和技术概述

[0088] 对于本文中的说明书和所附权利要求书,除非上下文另有明确说明,否则单数形式“一(a或an)”包括复数指代物。因此,例如,提及“一种蛋白质”包括多于一种蛋白质,以及提及“化合物”是指多于一种化合物。还应当注意,权利要求书可以被撰写为排除任何可选

要素。因此,本声明旨在作为诸如“唯一”、“仅”等排他性术语用于记载权利要求要素时或使用“否定”限制的先行基础。“包含(comprise)”、“包含(comprises)”、“包含(comprising)”、“包括(include)”、“包括(includes)”和“包括(including)”的使用可互换,而无意于进行限制。还应当理解,在各种实施方案的描述使用术语“包含”的情况下,本领域技术人员将理解,在一些特定情况下,实施方案可以使用语言“基本上由.....组成(consisting essentially of)”或“由.....组成(consisting of)”替代地进行描述。

[0089] 在提供了数值范围的情况下,除非上下文另有明确规定,否则应当理解,介于该范围的上限和下限之间的数值的每个中间整数和数值的每个中间整数的每十分之一(除非上下文另有明确规定),以及该规定范围内的任何其他规定数值或中间数值,均包括在本发明内。这些较小范围的上限和下限可以独立地包括在较小范围内,并且也包括在本发明内,但受到该规定范围内的任何明确排除的限值。在该规定范围包括这些限值中的一个或两个的情况下,排除这些所包括的限值中的(i)任一或(ii)两个的范围也包括在本发明中。例如,“1至50”包括“2至25”、“5至20”、“25至50”、“1至10”等。

[0090] 通常,本文中所使用的命名法和本文中所述的技术和步骤包括本领域普通技术人员充分理解和通常使用的那些,例如记载于以下文献中的常规技术和方法:Sambrook et al.,Molecular Cloning-A Laboratory Manual(第2版),第1-3卷,Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,N.Y.,1989(在下文中称“Sambrook”);Current Protocols in Molecular Biology,F.M.Ausubel et al.,编辑,Current Protocols,a joint venture between Greene Publishing Associates,Inc.and John Wiley&Sons, Inc.(于2011年增补)(下文“Ausubel”);Antibody Engineering,第1卷和第2卷,R.Kontermann和S.Dubel,编辑,Springer-Verlag,Berlin and Heidelberg(2010);Monoclonal Antibodies:Methods and Protocols,V.Ossipow和N.Fischer,编辑,第2版,Humana Press(2014);Therapeutic Antibodies:From Bench to Clinic,Z.An,编辑,J.Wiley&Sons,Hoboken,N.J.(2009);和Phage Display,Tim Clackson和Henry B.Lowman,编辑,Oxford University Press,United Kingdom(2004)。

[0091] 本公开内容中引用的所有出版物、专利、专利申请和其他文件均在此通过引用的方式全文纳入本文中以用于所有目的,达到的程度如同每个单独的出版物、专利、专利申请或其他文件单独地被指出通过引用的方式纳入本文中以用于所有目的。

[0092] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语均具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。应当理解,本文中所使用的术语仅用于描述特定的实施方案,而无意于进行限制。为了解释本公开内容,以下术语说明将适用,并且在适当的情况下,以单数形式使用的术语还将包括复数形式,反之亦然。

[0093] 如本文中所用,“IL-36”统指白细胞介素-36细胞因子IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 。

[0094] 如本文中所用,“IL-36 $\alpha$ ”或“IL-36a”是指来自出现白细胞介素-36 $\alpha$ 细胞因子的任何物种的白细胞介素-36 $\alpha$ 细胞因子。“hu-IL-36 $\alpha$ ”和“cy-IL-36 $\alpha$ ”分别是指人和食蟹猴的IL-36 $\alpha$ 细胞因子。

[0095] 如本文中所用,“IL-36 $\beta$ ”或“IL-36b”是指来自出现白细胞介素-36 $\beta$ 细胞因子的任何物种的白细胞介素-36 $\beta$ 细胞因子。“hu-IL-36 $\beta$ ”和“cy-IL-36 $\beta$ ”分别是指人和食蟹猴的IL-36 $\beta$ 细胞因子。

[0096] 如本文中所示，“IL-36 $\gamma$ ”或“IL-36g”是指来自出现白细胞介素-36 $\gamma$ 细胞因子的任何物种的白细胞介素-36 $\gamma$ 细胞因子。“hu-IL-36 $\gamma$ ”和“cy-IL-36 $\gamma$ ”分别是指人和食蟹猴的IL-36 $\gamma$ 细胞因子。

[0097] 如本文中所示，“IL-36介导的病症”或“IL-36介导的疾病”包括与通过任何IL-36细胞因子(IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ )与其同源受体IL-36R的结合而介导的信号传导通路的异常功能相关的任何医学病症，所述通路包括但不限于已知由IL-36细胞因子刺激的下游通路，其导致产生细胞因子、趋化因子、酶和粘附分子，包括但不限于IFN- $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、IL-12、IL-23、CXCL1、CXCL8和CCL20。例如，IL-36介导的疾病可以包括但不限于由IL-36信号传导通路的拮抗剂或抑制剂介导和/或对其做出响应的疾病，包括炎症性疾病、自身免疫性疾病和癌症。更具体而言，IL-36介导的疾病可以包括但不限于由于表皮生长因子受体抑制剂引起的痤疮、痤疮和化脓性汗腺炎(PASH)、急性泛发性发疹性脓疱病(AGEP)、褶皱部位无菌性脓疱病、头皮/腿的无菌性脓疱病、无菌性角膜下脓疱病、无菌性脓肿综合征、贝切特氏病、肠旁路综合征、慢性阻塞性肺病(COPD)、儿童脓疱性皮炎、克罗恩病、白细胞介素-1受体拮抗剂缺乏症(DIRA)、白细胞介素-36受体拮抗剂缺乏症(DITRA)、湿疹、泛发性脓疱性银屑病(GPP)、持久性隆起性红斑、化脓性汗腺炎、IgA天疱疮、炎性肠病(IBD)、嗜中性脂膜炎、掌跖脓疱性银屑病(PPP)、银屑病、银屑病关节炎、脓疱性银屑病(DIRA、DITRA)、坏疽性脓皮病、化脓性关节炎坏疽性脓皮病和痤疮(PAPA)、化脓性关节炎坏疽性脓皮病痤疮和化脓性汗腺炎(PAPASH)、类风湿性嗜中性皮炎、滑膜炎痤疮脓疱病骨质增生和骨炎(SAPHO)、克罗恩病患者中TNF诱导的银屑病形式皮肤病变、舍格伦综合征、斯威特氏综合征、系统性红斑狼疮(SLE)、溃疡性结肠炎和葡萄膜炎。

[0098] 如本文中所示，“IL-36刺激的信号”是指通过任何IL-36细胞因子(IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 或IL-36 $\gamma$ )与其同源受体IL-36R结合而引发的细胞内信号。示例性IL-36刺激的信号包括HaCat细胞和/或原代人成人或新生儿角质形成细胞(HEKn或HEKa)细胞中IL-8的释放，以及使用基于替代细胞(surrogate cell)的阻断测定(例如本文实施例中公开的基于HEK-BLUE™ IL-36响应性细胞的测定)测量的信号。

[0099] “基于细胞的阻断测定”是指其中可以测量抗体抑制或降低其结合的抗原的生物学活性的能力的测定。例如，基于细胞的阻断测定可用于测量抑制特定生物功能或生化功能(例如IL-36细胞因子介导的细胞内信号传导)所需的抗体的浓度。在一些实施方案中，使用基于细胞的阻断测定测量抗体(例如，本公开内容的抗IL-36的抗体)的半最大抑制浓度(IC<sub>50</sub>)和/或90%抑制浓度(IC<sub>90</sub>)。在一些实施方案中，基于细胞的阻断测定用于确定抗体是否阻断激动剂(例如，IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 、IL-36 $\gamma$ )与其同源受体之间的相互作用。用于本公开内容抗体的基于细胞的阻断测定可包括基于细胞系的测定(例如HaCat细胞)或原代细胞测定(例如原代人角质形成细胞)以及报告(reporter)或感觉细胞(sensor cell)测定(例如HEK-BLUE™报告细胞测定)。在本文所提供的实施例中描述了IL-36信号传导通路的示例性基于细胞的阻断测定。

[0100] 如本文中所示，“抗体”是指包含与特定抗原特异性结合或免疫反应的一条或多条多肽链的分子。本公开内容的示例性抗体包括单克隆抗体、多克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、多特异性(或异源缀合物(heteroconjugate))抗体(例如三特异性抗体、双特异性抗体等)、单价抗体(例如单臂抗体)、多价抗体、抗原结合片段(例如Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、

Fab、Fv、rIgG和scFv片段)、抗体融合物(fusion)和合成抗体(或抗体模拟物(mimetics))。

[0101] “抗IL-36的抗体”或“结合IL-36的抗体”是指以足够的亲和力结合IL-36(包括IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的一种或多种)的抗体,使得所述抗体可用作靶向IL-36(即IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的一种或多种)中的诊断剂和/或治疗剂。在一些实施方案中,抗IL-36的抗体与不相关的非IL-36抗原的结合程度小于该抗体与IL-36的结合的约10%,如例如通过放射免疫测定(RIA)、通过表面等离子体共振(SPR)等测量的。在一些实施方案中,结合IL-36的抗体的解离常数( $K_D$ )为 $<1\mu\text{M}$ 、 $<100\text{nM}$ 、 $<10\text{nM}$ 、 $<1\text{nM}$ 、 $<0.1\text{nM}$ 、 $<0.01\text{nM}$ 或 $<1\text{pM}$ (例如 $10^{-8}\text{M}$ 或更小,例如 $10^{-8}\text{M}$ 至 $10^{-13}\text{M}$ ,例如 $10^{-9}\text{M}$ 至 $10^{-13}\text{M}$ )。

[0102] “全长抗体”、“完整抗体(intact antibody)”或“全抗体(whole antibody)”在本文中可互换使用,是指具有与天然抗体结构基本相似的结构或具有包含本文中所定义的Fc区的重链的抗体。

[0103] “抗体片段”是指全长抗体的一部分,其能够结合与全长抗体相同的抗原。抗体片段的实例包括但不限于Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>;双特异抗体(diabody);线性抗体;单价抗体或单臂抗体;单链抗体分子(例如scFv);和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0104] 抗体的“类别”是指其重链所具有的恒定结构域或恒定区的类型。抗体有五种主要类别:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且其中几种进一步分为亚类(同种型),例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。对应于不同类别的免疫球蛋白的重链恒定结构域分别称为 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 和 $\mu$ 。

[0105] “可变区”或“可变结构域”是指抗体与抗原的结合中涉及的抗体重链或轻链的结构域。天然抗体的重链和轻链的可变结构域(分别为 $V_H$ 和 $V_L$ )通常具有相似的结构,其中每个结构域包含四个保守的骨架区(FR)和三个高变区(HVR)(参见,例如Kindt et al., Kuby Immunology, 第6版, W.H. Freeman and Co., 第91页)。单个 $V_H$ 或 $V_L$ 结构域可能足以赋予抗原结合特异性。此外,使用 $V_H$ 或 $V_L$ 结构域可将结合特定抗原的抗体从结合抗原的抗体中分离出,以分别筛选互补 $V_L$ 或 $V_H$ 结构域的库(参见,例如Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991))。

[0106] 如本文中所用,“高变区”或“HVR”是指在序列中高变的和/或形成结构上定义的环(“高变环”)的抗体可变结构域的区域中的每一个。通常,天然抗体包含具有六个HVR的四条链;重链可变结构域( $V_H$ )中三个(HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3)和轻链可变结构域( $V_L$ )中三个(HVR-L1、HVR-L2、HVR-L3)。HVR通常包含来自高变环和/或来自“互补决定区”(CDR)的氨基酸残基。许多高变区描述正在使用中,并涵盖在本文中。Kabat互补决定区(CDR)是基于序列变异性且是最常用的(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))。相反,Chothia是指结构环的位置(Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))。AbM高变区代表了Kabat CDR和Chothia结构环之间的折衷,并被Oxford Molecular的AbM抗体建模软件使用。“接触”高变区是基于对可获得的复杂晶体结构的分析。下表记录了来自这些高变区中每一个的残基。

环	Kabat	AbM	Chothia	接触
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35 <sup>1</sup> H31-H35 <sup>2</sup>	H26-H35B <sup>1</sup> H26-H35 <sup>2</sup>	H26-H32 <sup>1</sup> H26-H32 <sup>2</sup>	H30-H35B <sup>1</sup> H30-H35 <sup>2</sup>
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101
<sup>1</sup> Kabat 编号				
<sup>2</sup> Chothia 编号				

[0107] 除非另有说明,否则可变结构域中的HVR残基和其他残基(例如FR残基)在本文中是根据上述Kabat et al.,进行编号。

[0109] 如本文中所示,高变区可包括如下扩展或替代的高变区: $V_L$ 结构域中的24-36或24-34(L1),46-56或50-56(L2)和89-97或89-96(L3);以及 $V_H$ 结构域中的26-35、30-35、30-35A、30-35B或31-35B(H1),50-61、50-65或49-65(H2)和93-102、94-102或95-102(H3)。对于这些定义中的每一个,可变结构域残基均是根据上述Kabat et al.,进行编号。

[0110] 如本文中所示,“互补决定区”或“CDR”是指可变结构域(HVR)内具有最高序列变异性和/或抗原识别中涉及的区域。通常,天然抗体包含具有六个CDR的四条链;重链可变结构域( $V_H$ )中三个(H1、H2、H3)和轻链可变结构域( $V_L$ )中三个(L1、L2、L3)。本公开内容的示例性抗IL-36的抗体的CDR(CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3)出现在以下氨基酸残基处:L1的24-34、L2的50-56、L3的89-97、H1的30-35A、H2的50-61和H3的93-102。(根据上述Kabat et al.,进行编号)。

[0111] “骨架”或“FR”是指除高变区(HVR)残基以外的可变结构域残基。可变结构域的FR通常由四个FR结构域组成:FR1、FR2、FR3和FR4。因此,HVR和FR序列通常以下列顺序出现在 $V_H$ (或 $V_L$ )中:FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

[0112] “天然抗体”是指天然存在的免疫球蛋白分子。例如,天然IgG抗体为约150,000道尔顿(Dalton)的异四聚体糖蛋白,其由二硫键结合的两条相同的轻链和两条相同的重链组成。从N端到C端,每条重链均具有可变区( $V_H$ ),也称为可变重结构域或重链可变结构域,然后是三个恒定结构域(CH1、CH2和CH3)。类似地,从N端到C端,每条轻链均具有可变区( $V_L$ ),也称为可变轻结构域或轻链可变结构域,然后是恒定轻(CL)结构域。基于其恒定结构域的氨基酸序列,抗体的轻链可指定为两种类型(称为kappa( $\kappa$ )和lambda( $\lambda$ ))之一。

[0113] 如本文中所示,“单克隆抗体”是指从基本上均质性的抗体群体获得的抗体,即,除了可能的变体抗体(例如变体抗体包含天然存在或在单克隆抗体产生期间产生的突变,并且通常少量存在)以外,包含该群体的各抗体是相同的和/或结合相同表位。与通常包括针对不同决定子(determinant)(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相比,单克隆抗体制剂的每种单克隆抗体是针对抗原上的单个决定子。因此,术语“单克隆”表示从基本上均质性的抗体群体获得的抗体的特征,而不应解释为要求通过任何特定方法产生该抗体。例如,待使用的单克隆抗体可通过各种技术制备,包括但不限于杂交瘤方法、重组DNA方法、噬菌体展示方法以及利用含有全部或部分人免疫球蛋白基因座(loci)的转基因动物的方法,本文中描述了用于制备单克隆抗体的这些方法和其他示例性方法。

[0114] “嵌合抗体”是指这样的抗体,其中重链和/或轻链的一部分源自特定来源或物种,

而重链和/或轻链的其余部分源自不同来源或物种。

[0115] “人源化抗体”是指包含非人HVR中的氨基酸序列和人FR中的氨基酸序列的嵌合抗体。在某些实施方案中,人源化抗体将包含基本上所有的至少一个且通常两个可变结构域,其中所有或基本上所有的HVR(例如CDR)与非人抗体的那些HVR相对应,并且所有或基本上所有的FR与人抗体的那些FR相对应。人源化抗体任选地可包含源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。抗体(例如非人抗体)的“人源化形式”是指已进行人源化的抗体。

[0116] “人抗体”是指这样的抗体,其具有与以下抗体的氨基酸序列相对应的氨基酸序列:由人或人细胞产生或源自利用人抗体谱(antibody repertoire)或其他人抗体编码序列的非人来源的抗体。人抗体的该定义具体排除了包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

[0117] “人共有骨架(Human consensus framework)”是代表在人免疫球蛋白 $V_L$ 或 $V_H$ 骨架序列的选择中最常见的氨基酸残基的骨架。通常,人免疫球蛋白 $V_L$ 或 $V_H$ 序列的选择是来自可变结构域序列的亚组。通常,序列的亚组是如Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD(1991), 第1-3卷中的亚组。在一个实施方案中,对于 $V_L$ ,亚组是如上述Kabat et al., 中的亚组kappa I。在一个实施方案中,对于 $V_H$ ,亚组是如上述Kabat et al., 中的亚组III。

[0118] 如本文中所示,“受体人骨架”是这样的骨架,其包含源自人免疫球蛋白骨架或人共有骨架的轻链可变结构域( $V_L$ )骨架或重链可变结构域( $V_H$ )骨架的氨基酸序列。“源自”人免疫球蛋白骨架或人共有骨架的受体人骨架可包含其相同的氨基酸序列,或其可包含氨基酸序列改变。在一些实施方案中,氨基酸改变的数目为10或更小,9或更小,8或更小,7或更小,6或更小,5或更小,4或更小,3或更小,或2或更小。在一些实施方案中, $V_L$ 受体人骨架的序列与 $V_L$ 人免疫球蛋白骨架序列或人共有骨架序列相同。

[0119] “Fc区”是指包含免疫球蛋白重链的C端多肽序列的二聚体复合物,其中C端多肽序列是可通过木瓜蛋白酶消化完整抗体而获得的多肽序列。Fc区可包含天然或变体Fc序列。尽管免疫球蛋白重链的Fc序列的边界可以变化,但人IgG重链Fc序列通常定义为从约Cys226位的氨基酸残基或从约Pro230位延伸到Fc序列的羧基端。然而,Fc序列的C端赖氨酸(Lys447)可以存在或可以不存在。免疫球蛋白的Fc序列通常包含两个恒定结构域(CH2结构域和CH3结构域),并且任选地包含CH4结构域。

[0120] “Fc受体”或“FcR”是指结合抗体的Fc区的受体。在一些实施方案中,FcR为天然人FcR。在一些实施方案中,FcR为结合IgG抗体( $\gamma$ 受体)的FcR,并且包括Fc $\gamma$ RI、Fc $\gamma$ RII和Fc $\gamma$ RIII亚类的受体,其包括等位变体和这些受体的替代地剪接形式。Fc $\gamma$ RIII受体包括Fc $\gamma$ RIIIA(“激活受体”)和Fc $\gamma$ RIIIB(“抑制受体”),它们具有相似的氨基酸序列,其主要区别在于其细胞质结构域。激活受体Fc $\gamma$ RIIIA在其细胞质结构域中包含基于免疫受体酪氨酸的激活基序(motif)(ITAM)。抑制受体Fc $\gamma$ RIIIB在其细胞质结构域中包含基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(ITIM), (参见,例如Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234(1997))。如本文中所示,FcR还包括新生儿受体(FcRn),其负责将母体IgG转移给胎儿(Guyer et al., J. Immunol. 17:587(1976)和Kim et al., J. Immunol. 24:249(1994))以及免疫球蛋白体内稳态(homeostasis)的调节。FcR综述于例如Ravetch和Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92(1991); Capel et al., Immunomethods 4:25-34(1994); 和de Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41(1995)中。

[0121] 如本文中所示，“多价抗体”为包含三个或更多个抗原结合位点的抗体。优选将多价抗体工程化，以具有三个或更多个抗原结合位点，并且通常不是天然序列IgM或IgA抗体。

[0122] “多特异性抗体”为具有至少两个不同结合位点的抗体，每个位点具有不同的结合特异性。多特异性抗体可以为全长抗体或抗体片段，并且不同的结合位点可各自结合不同的抗原，或不同的结合位点可结合相同抗原的两个不同表位。

[0123] “Fv片段”是指包含完整抗原识别和结合位点的抗体片段。该区域由紧密缔合（其可天然是共价的，例如在scFv中）的一个重链可变结构域和一个轻链可变结构域的二聚体组成。在该构型中，每个可变域的三个HVR相互作用以在 $V_H$ - $V_L$ 二聚体的表面上限定抗原结合位点。六个HVR或其子集共同赋予抗体以抗原结合特异性。然而，即使单个可变结构域（或仅包含三个对抗原具有特异性的HVR的Fv的一半）也具有识别和结合抗原的能力，尽管通常以低于整个结合位点的亲和力识别和结合。

[0124] “Fab片段”是指包含轻链的可变结构域和恒定结构域以及重链的可变结构域和第一恒定结构域(CH1)的抗体片段。“F(ab')<sub>2</sub>片段”包含一对Fab片段，其通常在它们的羧基端附近通过它们之间的铰链半胱氨酸共价连接。抗体片段的其他化学偶联在本领域中也是已知的。

[0125] 如本文中所示，“抗原结合臂”是指具有特异性结合目的靶分子的能力的抗体的组分。通常，抗原结合臂为免疫球蛋白多肽序列（例如HVR）和/或免疫球蛋白轻链和重链的可变结构域序列的复合物。

[0126] “单链Fv”或“scFv”是指包含抗体的 $V_H$ 和 $V_L$ 结构域的抗体片段，其中这些结构域存在于单个多肽链中。通常，Fv多肽还包含在 $V_H$ 和 $V_L$ 结构域之间的多肽接头，其使scFv能够形成所需的抗原结合结构。

[0127] “双特异抗体”是指具有两个抗原结合位点的小抗体片段，该片段包含与同一多肽链( $V_H$ 和 $V_L$ )中的轻链可变结构域( $V_L$ )连接的重链可变结构域( $V_H$ )。通过使用太短而不允许同一链上的两个结构域之间配对的接头，迫使所述结构域与另一条链的互补结构域配对并产生两个抗原结合位点。

[0128] “线性抗体”是指记载于Zapata et al., Protein Eng., 8(10):1057-1062(1995)中的抗体。简言之，这些抗体包含一对串联的Fd区(VH-CH1-VH-CH1)，其与互补的轻链多肽一起形成一对抗原结合区。线性抗体可以是多特异性的（例如三特异性或双特异性）或单特异性的。

[0129] “裸抗体”是指未与异源部分（例如细胞毒性部分）或放射性标记物缀合的抗体。

[0130] “亲和力”是指分子（例如抗体）的单个结合位点与其结合配偶体(partner)（例如抗原）之间总非共价相互作用的强度。“结合亲和力”是指反映结合对的成员（例如抗体和抗原）之间1:1相互作用的内在结合亲和力。分子X对其配体Y的亲和力通常可用平衡解离常数( $K_D$ )表示。亲和力可以通过本领域已知的常见方法（包括本文中所述的那些）来测量。下文描述了用于测量结合亲和力的具体说明性和示例性实施方案。

[0131] “特异性结合(Binds specifically或specific binding)”是指抗体与抗原以不超过约 $1 \times 10^{-7}$ M的亲和力值结合。

[0132] “亲和力成熟的”抗体是指在一个或多个HVR中具有一个或多个改变的抗体，与不具有这种改变的亲本抗体相比，这种改变引起抗体对抗原的亲和力的改善。

[0133] 抗体的“功能性抗原结合位点”是能够结合靶抗原的位点。抗原结合位点的抗原结合亲和力并不必然与衍生出抗原结合位点的亲本抗体一样强,但结合抗原的能力必须可使用已知用于评估抗体与抗原结合的各种方法中的任一种来测量。

[0134] “分离的抗体”是指已经与其天然环境的组分分离的抗体。在一些实施方案中,将抗体纯化至大于95%或99%的纯度,所述纯度是通过例如电泳法(例如SDS-PAGE、等电聚焦(IEF)、毛细管电泳)或色谱法(例如离子交换或反相HPLC)测定。关于评估抗体纯度的方法的综述,参见,例如Flatman et al., J.Chromatogr.B 848:79-87。

[0135] 如本文中所示,“基本上相似”或“基本上相同”是指两个数值(例如,一个与测试抗体相关,而另一个与参考抗体相关)之间具有足够高的相似度,使得本领域技术人员会认为在通过所述值(例如 $K_D$ 值)测量的生物学特征的上下文中,两个值之间的差异很小有或没有生物学和/或统计学显著性。

[0136] 如本文中所示,“基本上不同”是指两个数值(通常一个与分子相关而另一个与参考分子相关)之间具有足够高的差异度,使得本领域技术人员会认为在通过所述值(例如 $K_D$ 值)测量的生物学特征的上下文中,两个值之间的差异具有统计学显著性。

[0137] “效应子功能”是指可归因于抗体的Fc区的那些生物活性,其随抗体同种型而变化。抗体效应子功能的实例包括:Clq结合和补体(complement)依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如,B细胞受体)的下调;和B细胞激活。

[0138] “免疫缀合物”是指与一个或多个异源分子缀合的抗体,所述异源分子包括但不限于细胞毒性剂。

[0139] “治疗(treatment、treat或treating)”是指试图改变受所治疗个体中障碍的自然病程的临床干预,并且可被实施用于预防或在临床病理学过程中被实施。所需的治疗结果可包括但不限于预防障碍的发生或复发、减轻症状、减少障碍的任何直接或间接病理性结果、防止转移、降低进展速度、改善或缓解疾病状态,以及缓解或改善预后。例如,治疗可包括向受试者给予治疗有效量的包含抗IL-36的抗体的药物制剂,以延迟由IL-36介导的疾病或病症的发展或减缓其进展,在所述疾病或病症中IL-36或由IL-36细胞因子刺激的下游通路可在发病机理和/或进展中起作用。

[0140] “药物制剂”是指这样一种形式的制剂,其使活性成分的生物活性有效,并且不包含对被给予该制剂的受试者有毒的其他组分。药物制剂可包括一种或多种活性剂。例如,药物制剂可包括抗IL-36的抗体作为制剂的唯一活性剂,或可包括抗IL-36的抗体和一种或多种其他活性剂。

[0141] 如本文中所示,“唯一活性剂”意指所提及的试剂为存在于制剂中或用于疗法中的唯一试剂,其提供或预期提供相关的药理作用以治疗受试者的病症,与本文中所提供的“治疗”的描述相一致。包含唯一活性剂的药物制剂不排除在制剂中存在一种或多种非活性剂,例如药学上可接受的载体。“非活性剂”是预期不会提供或以其他方式显著促进旨在治疗受试者的病症的相关药理作用的试剂。

[0142] “药学上可接受的载体”是指药物制剂中除活性成分以外的成分,其对被给予其的受试者无毒。药学上可接受的载体包括但不限于缓冲剂、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

[0143] “治疗有效量”是指达到预期治疗或预防结果(例如在受试者中治疗或预防疾病、

障碍或病症)的活性成分或剂(例如药物制剂)的量。在IL-36介导的疾病或病症的情况下,治疗剂的治疗有效量是在一定程度上减轻、预防、抑制和/或缓解与疾病、障碍或病症相关的一种或多种症状的量。对于炎性病症的治疗,例如皮肤炎性病症(例如湿疹、银屑病、酒渣鼻、脂溢性皮炎),可以例如通过评估症状的持续时间、严重程度和/或复发,响应率(RR),响应的持续时间和/或生活质量来测量体内功效。

[0144] 如本文中所示,“同时”是指给予两种或更多种治疗剂,其中至少部分给药在时间上重叠。因此,同时给药包括当停止一种或多种药剂的给药后继续一种或多种其他药剂的给药时的给药方案(dosing regimen)。

[0145] “个体”或“受试者”是指哺乳动物,包括但不限于驯养的动物(例如牛、羊、猫、狗和马)、灵长类动物(例如人和非人灵长类动物,例如猴)、家兔和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)。

[0146] 各种实施方案的详细说明

[0147] I. IL-36细胞因子

[0148] 激动剂细胞因子IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的每一种均通过与同源受体IL-36R(或IL1RL2)结合而诱导细胞内信号传导。这些IL-36细胞因子中的任一种与IL-36R受体的结合引起共同受体IL1RAP的募集和结合(engagement),导致形成包含IL-36R、IL1RAP和引发信号传导事件的相应IL-36细胞因子的三元信号传导复合物。通过IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 或IL-36 $\gamma$ 刺激的信号转导引起靶细胞中NK- $\kappa$ B转录因子和AP-1通路的激活,并诱导各种炎性、增殖性和致病性免疫应答。参见,例如Jennifer Towne et al., *J. Biol. Chem.* 279(14): 13677-13688 (2004); Sebastian Gunther et al., *J. Immunol.* 193(2): 921-930 (2014)。

[0149] IL-36细胞因子(IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ )是相对较短的蛋白质,其与受体IL-36R结合并充当其激动剂。在体内,IL-36细胞因子经历蛋白水解加工,导致N端截短(truncation)。这种截短对于IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 通过IL-36R实现其完整激动剂活性是必需的。同样地,IL-36R拮抗剂(IL-36Ra)需要N端截短以实现其完整拮抗剂活性。人版本(version)的IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 、IL-36 $\gamma$ (本文中也称为“hu-IL-36 $\alpha$ ”、“hu-IL-36 $\beta$ ”和“hu-IL-36 $\gamma$ ”)和IL-36Ra的氨基酸和核苷酸序列以及注释可公开获得。参见例如,分别在UniProt条目号(entry number) Q9UHA7、Q9NZH7-2、Q9NZH8和Q9UBH0下的完整氨基酸序列。同样地,来自食蟹猴的三种IL-36细胞因子的版本(本文中称为“cy-IL-36 $\alpha$ ”、“cy-IL-36 $\beta$ ”和“cy-IL-36 $\gamma$ ”)的氨基酸和核苷酸序列也可在UniProt条目号A0A2K5UTG0、A0A2K5UV63-1和A0A2K5VYV6下公开获得。

[0150] 对应于hu-IL-36和cy-IL-36细胞因子蛋白的部分的多肽构建体可用作抗原,以诱发对人和/或食蟹猴版本的特异性IL-36细胞因子(IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ )具有结合亲和力的抗IL-36的抗体。如本文中其他地方所公开的,这些抗IL-36的抗体能够部分或完全阻断特异性细胞因子IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的一种或多种与其同源受体结合,从而降低由这种结合引发的细胞内信号。例如,如本文中所述,可以修饰通过用IL-36抗原免疫产生的抗体,以调节(增强或降低)抗体的某些特性,包括但不限于例如增强对IL-36抗原的亲合力、增强对另一种IL-36抗原的亲合力、增强交叉反应性、降低交叉反应性等。

[0151] 下表1提供了用于产生本公开内容的抗IL-36的抗体的人和食蟹猴IL-36多肽构建体的序列及其序列标识符的概述。还包括蛋白质的UniProt数据库条目标识符,以及构建体序列相对于全长蛋白质的结构域边界。IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 、IL-36 $\gamma$ 或IL-36Ra多肽构建体的每

一个的序列对应于具有最高激动剂活性或(在IL-36Ra的情况下)拮抗剂活性的N端截短版本。例如,表1中提供的N端截短的IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 氨基酸序列分别始于N端位置K6、R5和S18。此外,如本文中其他地方所述,使用纯化标签序列制备容易纯化版本的IL-36蛋白质。这些序列也包括在随附的序列列表中。

[0152] 表1:IL-36序列和纯化标签

描述	结构域边界	序列	SEQ ID NO:
hu-IL-36 $\alpha$ (UniProt Q9UHA7)	K6-F158	KIDTPQQGSIQDINHRVWVLQDQTLIAVPRKDRMSPVTIALISCRHVETLEKDRGNPIYLGNGLNLCMLCAKVGDPQTLQLKEKDIMDLYNQPEPVKSFLFYHSQSGRNSTFESVAFPGWFIASVSEGGCPLILTQELGKANTTDFGLTMLF	1
hu-IL-36 $\beta$ (UniProt Q9NZH7-2)	R5-E157	REAAPKSYAIRDSRQMVWVLSGNSLIAAPLSRSIKPVTLHLIACRDTEFSDKEKGNMVLGIKGDLCCLFCAEIQQKPTLQLKEKNIMDLYVEKKAQKPFLLFFHNKEGSTSVFQSVSYPGWFIATSTTSGQPIFLTKERGITNNTNFYLDSE	2
hu-IL-36 $\gamma$ (UniProt Q9NZH8)	S18-D169	SMCKPITGTINDLNQQVWTLQGQNLVAVPRSDSVTPVTVAVITCKYPEALEQGRGDPYILGIQNPEMCLYCEKVGEQPTLQLKEQKIMDLYGQPEPVKPFLLFYRAKTGRSTLESVAFPDWFIASSKRDQPIILTSELGKSYNTAFELNIND	3
hu-IL-36Ra (UniProt Q9UBH0)	V2-D155	VLSGALCFRMKDSALKVLYLHNNQLLAGGLHAGKVIKGEESVVPNRWLDASLSPVILGVQGSQCLSCGVGQEP TLTLEPVNIMELYLGAKESKSFTFYRRDMGLTSSFESAAYPGWFLCTVPEADQPVRLTQLPENGWNAPIITDFYFQQCD	4
cy-IL-36 $\alpha$ (UniProt A0A2K5UTG0)	K6-F158	KSEMPQPVS IQDINHRVWVLQDQILIAVPRKDRVSPVTISLISCRHVETLEKDRGNPIYLGNGLNLCMLCAKAGDQPTLQLKEKDIMDLYNQPEPVKSFLFYHSQSGRNSTFESVAFPGWFIASVSEGGCPLILTQELGKANTTDFGLTMLF	5
cy-IL-36 $\beta$ (UniProt A0A2K5UV63-1)	W5-E157	WQAAPKSYAIRDSRQMVWVLSGNSLIAAPLSNRVKPVTLHLITCRDTEFSDKKNLVLGIRGKDLCLFCEEIQKPTLQLKEKNIMDLYMEKKAQKPFLLFFHNKEGSSSVFQSVSYPGWFIATSTTSGQPIFLTQERGITNNTNFYLDSE	6
cy-IL-36 $\gamma$ (UniProt A0A2K5VYV6)	S18-K168	SMRTPITGTINDLNQQVWTLQGQILVAVPRSDSVTPVTVAVITCKYPEALDQSRGDPYILGIRNPEMCLCCEEVGGQPTLQLKEQKIMDLYGQPEPVKPFLLFYRVKTRGTSTLESVAFPNWFIASSTRDQPIILTSELGKSYNTAFELNIK	7
12xHis-SUMO	n/a	MHHHHHHHHHHMSDSEVNQEAKPEVKPEVKPETHINLKVSDGSSEIFFKIKKTTPLRRLMEAFAKRQKEMDSLRFYLDGIRIQADQTPEDLDMEDNDIIEAHREQIGG	8
12xHis-TEV	n/a	MHHHHHHHHHHHENLYFQS	9
GS-AviTag	n/a	GGGGGSLNDIFEAQKIEWHE	10
信号序列 (小鼠Ig重链V区102)	n/a	MGWSCIIILFLVATATGVHS	11
GS-TEV-GS-hulgG1Fc-FLAG	n/a	SGGGGSENLYFQGGGGSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKDYKDDDDK	12

[0154] II. 抗IL-36的抗体

[0155] 在一些实施方案中,在具有各种公知的免疫球蛋白特征(例如,CDR、HVR、FR、V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>结构域)的氨基酸和编码核苷酸序列方面,本公开内容提供了抗IL-36的抗体的结构。下表2提供了本公开内容的示例性抗IL-36的抗体序列及其序列标识符的概述。这些序列及其他

序列包括在随附的序列表中。

[0156] 表2: 抗IL-36的抗体序列

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb1.0 - VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAHYDVHWYQQLPGTAPKLLIY SNNNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYQCQSYDYSLRGYVF GGGTKLTVL	13
mAb1.0 - HVR-L1	TGSSSNIGAHYDVH	14
mAb1.0 - HVR-L2	SNNNRPS	15
mAb1.0 - HVR-L3	QSYDYSLRGYV	16
mAb2.0 - VL 和 mAb6.0_2.0 - VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAHYDVHWYQQLPGTAPKLLIY GNDNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYQCQSYDYSLSGYVF GGGTKLTVL	17
mAb2, mAb6_2, mAb6_2.7, 和 mAb2.10 - VL	ESVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAHYDVHWYQQLPGTAPKLLIY GNDNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYQCQSYDYSLSGYVF GGGTKLTVL	77
mAb2.0, mAb2, mAb6_2, mAb6_2.7, 和 mAb2.10 - HVR- L1	TGSSSNIGAHYDVH	18
[0157] mAb2.0, mAb2, mAb6_2, mAb6_2.7, 和 mAb2.10 - HVR- L2	GNDNRPS	19
mAb2.0, mAb2, mAb6_2, mAb6_2.7, 和 mAb2.10 - HVR- L3	QSYDYSLSGYV	20
mAb3.0 - VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIY GNTNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYQCQSYDYSLRGYVF GGGTKLTVL	21
mAb3.0 - HVR-L1	TGSSSNIGAGYDVH	22
mAb3.0 - HVR-L2	GNTNRPS	23
mAb3.0 - HVR-L3	QSYDYSLRGYV	24
mAb4.0 - VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIY GNNNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYQCQSYDYSLRVYVF GGGTKLTVL	25
mAb4.0 - HVR-L1	TGSSSNIGAGYDVH	26
mAb4.0 - HVR-L2	GNNNRPS	27
mAb4.0 - HVR-L3	QSYDYSLRVYV	28

[0158]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb5.0 - VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAHYDVHWYQQLPGTAPKLLIY GNDNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDYSLKAYVF GGGTKLTVL	29
mAb5.0 - HVR-L1	TGSSSNIGAGYDVH	30
mAb5.0 - HVR-L2	GNDNRPS	31
mAb5.0 - HVR-L3	QSYDYSLKAYV	32
mAb6.0 - VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIY GNTNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDISLSGWVF GGGTKLTVL	33
mAb6 - VL	ESVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIY GNTNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDISLSGWVF GGGTKLTVL	78
mAb6.0 和 mAb6 - HVR-L1	TGSSSNIGAGYDVH	34
mAb6.0 和 mAb6 - HVR-L2	GNTNRPS	35
mAb6.0 和 mAb6 - HVR-L3	QSYDISLSGWV	36
mAb7.0 - VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQAPKLLIYS ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYTSYPPTFGQG TKVEIK	37
mAb7.0 - HVR-L1	RASQSVSSNYLA	38
mAb7.0 - HVR-L2	SASSLQS	39
mAb7.0 - HVR-L3	QQYTSYPPT	40
mAb8.0 - VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQTIYKYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSIPYTFGQGT KVEIK	41
mAb8.0 - HVR-L1	RASQTIYKYLN	42
mAb8.0 - HVR-L2	AASSLQS	43
mAb8.0 - HVR-L3	QQYSSIPYT	44
mAb1.0 - VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF <sup>SP</sup> SAYAMHWVRQAPGKGLEWVAVI SYDGTNEY <sup>YAD</sup> SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGIRI FTSYFDSWGQGITLVTVSS	45
mAb1.0 - HVR-H1	SAYAMHW	46
mAb1.0 - HVR-H2	VISYDGTNEY <sup>YAD</sup>	47
mAb1.0 - HVR-H3	ARGIRIFTSYFDS	48
mAb2.0 - VH	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <sup>TSSYY</sup> WGWRQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVP <sup>RYFDP</sup> WGQGITLVTVSS	49
mAb2 - VH	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <sup>TSSYY</sup> WGWRQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVP <sup>RYFDP</sup> WGQGITLVTVSS	79

[0159]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb2.0 和 mAb2 – HVR-H1	STSSYYW	50
mAb2.0 和 mAb2 – HVR-H2	SIYYTGNTYYNP	51
mAb2.0 和 mAb2 – HVR-H3	ARVRYGVGVPRYFDP	52
mAb3.0 – VH	QLQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSISSTSYYWGWIRQPPGKGLEWIG SIHYSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVHY GGYIPRRFDHWGQGLTVTVSS	53
mAb3.0 – HVR-H1	SSTSYYW	54
mAb3.0 – HVR-H2	SIHYSGNTYYNP	55
mAb3.0 – HVR-H3	ARVHYGGYIPRRFDH	56
mAb4.0 – VH	QLQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSIGSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIG SIHYSGTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVAP SYPRVFDYWGQGLTVTVSS	57
mAb4.0 – HVR-H1	GSRYYW	58
mAb4.0 – HVR-H2	SIHYSGTYYNP	59
mAb4.0 – HVR-H3	ARVAPSYPRVFDY	60
mAb5.0 – VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVSGI SGGSGYTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVTY RDPPASFDYWGQGLTVTVSS	61
mAb5.0 – HVR-H1	STYAMS	62
mAb5.0 – HVR-H2	GISGGSGYTYAD	63
mAb5.0 – HVR-H3	ARVVTYRDPPASFDY	64
mAb6.0 和 mAb6.0_2.0 – VH	QLQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSITSSNYYWGWIRQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGKY YETYLGFVWVGQGLTVTVSS	65
mAb6 和 mAb6_2 – VH	ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSITSSNYYWGWIRQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGKY YETYLGFVWVGQGLTVTVSS	80
mAb6.0 和 mAb6 和 mAb6.0_2.0 和 mAb6_2 – HVR-H1	TSSNYYW	66
mAb6.0 和 mAb6 和 mAb6.0_2.0 和 mAb6_2 – HVR-H2	SIDYTGSTYYNP	67
mAb6.0 和 mAb6 和 mAb6.0_2.0 和 mAb6_2 – HVR-H3	ARGKY YETYLGFV	68
mAb7.0 – VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVI SYGGSERYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREPWY SSRCWTGYGFVWVGQGLTVTVSS	69
mAb7.0 – HVR-H1	SSYGMH	70
mAb7.0 – HVR-H2	VISYGGSERYYAD	71

[0160]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb7.0 – HVR-H3	AREPWYSSRGWIGYGFVDV	72
mAb8.0 - VH	<u>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSCKASGGTF</u> <u>SNYAISWVRQAPGQGLEWMGGI</u> <u>LPILGTVDYIAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED</u> <u>TAVYYCAREPWY</u> <u>RLGAFDVGQGTILVTVSS</u>	73
mAb8.0 – HVR-H1	SNYAIS	74
mAb8.0 – HVR-H2	GILPILGTVDYIAQ	75
mAb8.0 – HVR-H3	AREPWYRLGAFDV	76
mAb6_2.1 - VH	<u>ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>TSTNYYWGWI</u> <u>RQPPGKGLEWIG</u> <u>NIDYTGSTYYNASLKSRVTISVDTSKNQF</u> <u>SLKLSSVTAADTAVYYC</u> <u>CATGKY</u> <u>YETYLGF</u> <u>DVWGQGTILVTVSS</u>	81
mAb6_2.1 – HVR-H1	TSTNYYW	82
mAb6_2.1 – HVR-H2	NIDYTGSTYYNA	83
mAb6_2.1 – HVR-H3	ATGKYYETYLGFVDV	84
mAb6_2.2 - VH	<u>ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>TSSNAYWGWI</u> <u>RQPPGKGLEWIG</u> <u>SIDYTGSTAYNP</u> <u>SLKSRVTISVDTSKNQF</u> <u>SLKLSSVTAADTAVYYC</u> <u>CAHGKY</u> <u>YETYLGF</u> <u>DVWGQGTILVTVSS</u>	85
mAb6_2.2 – HVR-H1	TSSNAYW	86
mAb6_2.2 – HVR-H2	SIDYTGSTAYNP	87
mAb6_2.2 – HVR-H3	AHGKYYETYLGFVDV	88
mAb6_2.3 - VH	<u>ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>TASNYYWGWI</u> <u>RQPPGKGLEWIG</u> <u>SIDYTGSTYYNISLKSRVTISVDTSKNQF</u> <u>SLKLSSVTAADTAVYYC</u> <u>CATGKY</u> <u>YETYLGF</u> <u>DVWGQGTILVTVSS</u>	89
mAb6_2.3 – HVR-H1	TASNYYW	90
mAb6_2.3 – HVR-H2	SIDYTGSTYYNT	91
mAb6_2.3 – HVR-H3	ATGKYYETYLGFVDV	92
mAb6_2.4 - VH	<u>ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>TASNYYWGWI</u> <u>RQPPGKGLEWIG</u> <u>SIDYTGSTYYNP</u> <u>SLKSRVTISVDTSKNQF</u> <u>SLKLSSVTAADTAVYYC</u> <u>CATGKY</u> <u>YETYLGF</u> <u>DVWGQGTILVTVSS</u>	93
mAb6_2.4 – HVR-H1	TASNYYW	94
mAb6_2.4 – HVR-H2	SIDYTGSTYYNP	95
mAb6_2.4 – HVR-H3	ATGKYYETYLGFVDV	96
mAb6_2.5 - VH	<u>ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>TASNYYWGWI</u> <u>RQPPGKGLEWIG</u> <u>SIDYTGSTYYE</u> <u>PSLKSRVTISVDTSKNQF</u> <u>SLKLSSVTAADTAVYYC</u> <u>CATGSY</u> <u>YETYLGF</u> <u>DVWGQGTILVTVSS</u>	97
mAb6_2.5 – HVR-H1	TASNYYW	98

[0161]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb6_2.5 – HVR-H2	SIDYTGSTYYEP	99
mAb6_2.5 – HVR-H3	ATGSYYETYLGFDV	100
mAb6_2.6 - VH	<u>ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>TASNYYWG</u> <u>WIRQPPGKGLEWIG</u> <u>SIDYTGSTYYE</u> <u>PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC</u> <u>ATGNY</u> <u>YETYLGFDVWGQGLTVTVSS</u>	101
mAb6_2.6 – HVR-H1	TASNYYW	102
mAb6_2.6 – HVR-H2	SIDYTGSTYYEP	103
mAb6_2.6 – HVR-H3	ATGNYYETYLGFDV	104
mAb6_2.7 - VH	<u>ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>TASNYYWG</u> <u>WIRQPPGKGLEWIG</u> <u>SIDYTGSTYYN</u> <u>PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC</u> <u>ATGKY</u> <u>YETYLGFDVWGQGLTVTVSS</u>	105
mAb6_2.7 – HVR-H1	TASNYYW	106
mAb6_2.7 – HVR-H2	SIDYTGSTYYNP	107
mAb6_2.7 – HVR-H3	ATGKYYETYLGFDV	108
mAb6_2.8 - VH	<u>ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>TASNYYWG</u> <u>WIRQPPGKGLEWIG</u> <u>SIDYTGSTYYN</u> <u>PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC</u> <u>ASGKY</u> <u>YETYLGFDVWGQGLTVTVSS</u>	109
mAb6_2.8 – HVR-H1	TASNYYW	110
mAb6_2.8 – HVR-H2	SIDYTGSTYYNP	111
mAb6_2.8 – HVR-H3	ASGKYYETYLGFDV	112
mAb6_2.9 - VH	<u>ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>TSSNYYWG</u> <u>WIRQPPGKGLEWIG</u> <u>SIDYTGSTYYN</u> <u>PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC</u> <u>ATGKY</u> <u>YETYLGFDVWGQGLTVTVSS</u>	113
mAb6_2.9 – HVR-H1	TSSNYYW	114
mAb6_2.9 – HVR-H2	SIDYTGSTYYNP	115
mAb6_2.9 – HVR-H3	ATGKYYETYLGFDV	116
mAb6_2.10 - VH	<u>ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>TSSNYYWG</u> <u>WIRQPPGKGLEWIG</u> <u>SIDYTGSTYYQ</u> <u>PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC</u> <u>ARGNY</u> <u>YETYLGFDVWGQGLTVTVSS</u>	117
mAb6_2.10 – HVR-H1	TSSNYYW	118
mAb6_2.10 – HVR-H2	SIDYTGSTYYQP	119

[0162]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb6_2.10 – HVR-H3	ARGNYYETYLGFDV	120
mAb2.1 - VH	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SDSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIYYTGNTYYNSSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <u>ARVRY</u> GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSS	121
mAb2.1 – HVR-H1	SDSSYYW	122
mAb2.1 – HVR-H2	SIYYTGNTYYNS	123
mAb2.1 – HVR-H3	ARVRYGVGVPRYFDP	124
mAb2.2 - VH	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SESSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <u>AGVRY</u> GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSS	125
mAb2.2 – HVR-H1	SESSYYW	126
mAb2.2 – HVR-H2	SIYYTGNTYYNP	127
mAb2.2 – HVR-H3	AGVRYGVGVPRYFDP	128
mAb2.3 - VH	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>STSSDYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIYYTGNTYYLPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <u>SRVRY</u> GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSS	129
mAb2.3 – HVR-H1	STSSDYW	130
mAb2.3 – HVR-H2	SIYYTGNTYYLP	131
mAb2.3 – HVR-H3	SRVRYGVGVPRYFDP	132
mAb2.4 - VH	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SNSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIYYTGNTYYLPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <u>ARVRY</u> GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSS	133
mAb2.4 – HVR-H1	SNSSYYW	134
mAb2.4 – HVR-H2	SIYYTGNTYYLP	135
mAb2.4 – HVR-H3	ARVRYGVGVPRYFDP	136
mAb2.5 - VH	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SESSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIYYTGNTYYLPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <u>ARVRY</u> GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSS	137
mAb2.5 – HVR-H1	SESSYYW	138
mAb2.5 – HVR-H2	SIYYTGNTYYLP	139
mAb2.5 – HVR-H3	ARVRYGVGVPRYFDP	140
mAb2.6 - VH	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>STSSYHWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIYYTGNTYYMPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <u>VRVRY</u> GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSS	141
mAb2.6 – HVR-H1	STSSYHW	142
mAb2.6 – HVR-H2	SIYYTGNTYYMP	143
mAb2.6 – HVR-H3	VRVRYGVGVPRYFDP	144
mAb2.7 - VH	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SRSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIYYTGNTYYWPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <u>TRVRY</u> GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSS	145
mAb2.7 – HVR-H1	SRSSYYW	146
mAb2.7 – HVR-H2	SIYYTGNTYYWP	147
mAb2.7 – HVR-H3	TRVRYGVGVPRYFDP	148

[0163]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb2.8 - VH	<u>ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>SDSSYYWGWIRQPPGKGLEWIG</u> <u>SIYYTGETYYAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLRY</u> <u>GVGVPRYFDPWGQGLTIVTSS</u>	149
mAb2.8 - HVR-H1	SDSSYYW	150
mAb2.8 - HVR-H2	SIYYTGETYYAP	151
mAb2.8 - HVR-H3	ARLRYGVGVPRYFDP	152
mAb2.9 - VH	<u>ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>SDSSYYWGWIRQPPGKGLEWIG</u> <u>SIYYTGETYYAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVKY</u> <u>GVGVPRYFDPWGQGLTIVTSS</u>	153
mAb2.9 - HVR-H1	SDSSYYW	154
mAb2.9 - HVR-H2	SIYYTGETYYAP	155
mAb2.9 - HVR-H3	ARVKYGVGVPRYFDP	156
mAb2.10 - VH	<u>ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>SDSSYYWGWIRQPPGKGLEWIG</u> <u>SIYYTGETYYAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY</u> <u>GVGVPRHFDPWGQGLTIVTSS</u>	157
mAb2.10 - HVR-H1	SDSSYYW	158
mAb2.10 - HVR-H2	SIYYTGETYYAP	159
mAb2.10 - HVR-H3	ARVRYGVGVPRHFDP	160
mAb2.11 - VH	<u>ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>SESSYYWGWIRQPPGKGLEWIG</u> <u>SIYYTGETYYAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLRY</u> <u>GVGVPRYFDPWGQGLTIVTSS</u>	161
mAb2.11 - HVR-H1	SESSYYW	162
mAb2.11 - HVR-H2	SIYYTGETYYAP	163
mAb2.11 - HVR-H3	ARLRYGVGVPRYFDP	164
mAb2.12 - VH	<u>ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI</u> <u>SESSYYWGWIRQPPGKGLEWIG</u> <u>SIYYTGETYYAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVKY</u> <u>GVGVPRYFDPWGQGLTIVTSS</u>	165
mAb2.12 - HVR-H1	SESSYYW	166
mAb2.12 - HVR-H2	SIYYTGETYYAP	167
mAb2.12 - HVR-H3	ARVKYGVGVPRYFDP	168
mAb2, mAb6_2, and mAb6_2.7 和 mAb2.10 - LC	<u>ESVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAHYDVHWYQQLPGTAPKLLIY</u> <u>GNDNRPSGVPDRFSGSKSGTASLAITGLQAEDEADYYCQSYDYSLSGVVF</u> <u>GGGKLTIVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW</u> <u>KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEG</u> <u>STVEKTVAPTECS</u>	169
mAb6 - LC	<u>ESVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIY</u> <u>GNTNRPSGVPDRFSGSKSGTASLAITGLQAEDEADYYCQSYDISLSGWVF</u> <u>GGGKLTIVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW</u>	242

描述	序列	SEQ ID NO:
	KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	
mAb6.0 - LC	QESVLTQPPSVSGAPGQRVTIISCTGSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNTNRPSPGVPDRFSGSKSGTSASLAIITGLQAEDEADYYCQSYDISLSGWVFGGGTKLTVLQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	247
mAb6.0 和 mAb6.0_2.0 - HC	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSNYWGWIRQPPGKLEWIGSIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGKY YETYLGFQDVGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKKCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSHEALTHNHYTQKSLSLSPG	248
mAb6.0 和 mAb6.0_2.0 - HC ( 杆 )	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSNYWGWIRQPPGKLEWIGSIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGKY YETYLGFQDVGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKKCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSHEALTHNHYTQKSLSLSPG	249
mAb6.0 和 mAb6.0_2.0 - HC ( 白 )	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSNYWGWIRQPPGKLEWIGSIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGKY YETYLGFQDVGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKKCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSHEALTHNHYTQKSLSLSPG	250
mAb6 和 mAb6_2 - HC	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSNYWGWIRQPPGKLEWIGSIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGKY YETYLGFQDVGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKKCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSHEALTHNHYTQKSLSLSPG	170
mAb6 和 mAb6_2 - HC ( 杆 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSNYWGWIRQPPGKLEWIGSIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGKY YETYLGFQDVGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKKCDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSHEALTHNHYTQKSLSLSPG	171

[0164]

[0165]

描述	序列	SEQ ID NO:
	VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	
mAb6 和 mAb6_2 - HC (白)	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSNYWGWIRQPPGKLEWIG SIDYTGSTYYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGKY YETYLGF <del>DVWG</del> QGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	172
mAb6_2.1 - HC	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSTNYWGWIRQPPGKLEWIG NIDYTGSTYYNASLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGF <del>DVWG</del> QGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	173
mAb6_2.1 - HC (杆)	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSTNYWGWIRQPPGKLEWIG NIDYTGSTYYNASLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGF <del>DVWG</del> QGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	174
mAb6_2.1 - HC (白)	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSTNYWGWIRQPPGKLEWIG NIDYTGSTYYNASLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGF <del>DVWG</del> QGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	175
mAb6_2.2 - HC	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSNAYWGWIRQPPGKLEWIG SIDYTGSTAYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAHGKY YETYLGF <del>DVWG</del> QGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	176
mAb6_2.2 - HC (杆)	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSNAYWGWIRQPPGKLEWIG SIDYTGSTAYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAHGKY YETYLGF <del>DVWG</del> QGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD	177

[0166]

描述	序列	SEQ ID NO:
	YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI</del> CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
mAb6_2.2 – HC (白)	ELQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI <u>TSSNAYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIDYTGSTAYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAHGKY YETYLGF <del>DVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</del> YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI</del> CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVSCFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	178
mAb6_2.3 - HC	ELQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI <u>TASNYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIDYTGSTYYNISLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGF <del>DVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</del> YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI</del> CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	179
mAb6_2.3 – HC (棕)	ELQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI <u>TASNYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIDYTGSTYYNISLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGF <del>DVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</del> YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI</del> CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	180
mAb6_2.3 – HC (白)	ELQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI <u>TASNYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIDYTGSTYYNISLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGF <del>DVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</del> YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI</del> CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVSCFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	181
mAb6_2.4 - HC	ELQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI <u>TASNYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIDYTGSTYYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGF <del>DVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</del> YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI</del> CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	182

[0167]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb6_2.4 – HC ( 杵 )	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSI <u>TASNYWGWIRQPPGKGLEWIG</u> SIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY <u>YETYLGFVDVWGQGLT</u> LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTLP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	183
mAb6_2.4 – HC ( 白 )	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSI <u>TASNYWGWIRQPPGKGLEWIG</u> SIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY <u>YETYLGFVDVWGQGLT</u> LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	184
mAb6_2.5 - HC	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSI <u>TASNYWGWIRQPPGKGLEWIG</u> SIDYTGSTYYEP <u>SLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGSY</u> <u>YETYLGFVDVWGQGLT</u> LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	185
mAb6_2.5 – HC ( 杵 )	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSI <u>TASNYWGWIRQPPGKGLEWIG</u> SIDYTGSTYYEP <u>SLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGSY</u> <u>YETYLGFVDVWGQGLT</u> LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTLP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	186
mAb6_2.5 – HC ( 白 )	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSI <u>TASNYWGWIRQPPGKGLEWIG</u> SIDYTGSTYYEP <u>SLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGSY</u> <u>YETYLGFVDVWGQGLT</u> LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	187
mAb6_2.6 - HC	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSI <u>TASNYWGWIRQPPGKGLEWIG</u> SIDYTGSTYYEP <u>SLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGNY</u> <u>YETYLGFVDVWGQGLT</u> LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR	188

[0168]

描述	序列	SEQ ID NO:
	VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	
mAb6_2.6 – HC ( 杵 )	ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNYWGWIRQPPGKGLEWIGSIDYTGSTYYEPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGNY YETYLGF <del>FDVWG</del> QGT <del>LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</del> YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI</del> CNVNHKPSNTKVDK <del>KVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGP</del> SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	189
mAb6_2.6 – HC ( 白 )	ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNYWGWIRQPPGKGLEWIGSIDYTGSTYYEPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGNY YETYLGF <del>FDVWG</del> QGT <del>LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</del> YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI</del> CNVNHKPSNTKVDK <del>KVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGP</del> SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	190
mAb6_2.7 - HC	ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNTYWG <del>WIRQPPGKGLEWIG</del> SIDYTGSTYYNPSL <del>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY</del> YETYLGF <del>FDVWG</del> QGT <del>LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</del> YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI</del> CNVNHKPSNTKVDK <del>KVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGP</del> SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	191
mAb6_2.7 – HC ( 杵 )	ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNTYWG <del>WIRQPPGKGLEWIG</del> SIDYTGSTYYNPSL <del>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY</del> YETYLGF <del>FDVWG</del> QGT <del>LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</del> YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI</del> CNVNHKPSNTKVDK <del>KVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGP</del> SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	192
mAb6_2.7 – HC ( 白 )	ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNTYWG <del>WIRQPPGKGLEWIG</del> SIDYTGSTYYNPSL <del>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY</del> YETYLGF <del>FDVWG</del> QGT <del>LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</del> YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI</del> CNVNHKPSNTKVDK <del>KVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGP</del> SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	193
mAb6_2.8 - HC	ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNYWGWIRQPPGKGLEWIGSIDYTGSTYYNPSL <del>KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASGKY</del> YETYLGF <del>FDVWG</del> QGT <del>LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD</del>	194

描述	序列	SEQ ID NO:
	YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHT</del> FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC <del>SC</del> VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
mAb6_2.8 – HC ( 杵 )	ELQLQESGPGLVKPS <del>ETLS</del> LTCTVSGGSI <del>TAS</del> NYYWGWI <del>RQPP</del> GKLEWIG SIDYTGSTYYNPSL <del>KSRVT</del> ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <del>CASGKY</del> YETYLGF <del>DVWGQ</del> GLTVTVSSASTKGPSVFP <del>LAP</del> SSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHT</del> FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC <del>SC</del> VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	195
mAb6_2.8 – HC ( 白 )	ELQLQESGPGLVKPS <del>ETLS</del> LTCTVSGGSI <del>TAS</del> NYYWGWI <del>RQPP</del> GKLEWIG SIDYTGSTYYNPSL <del>KSRVT</del> ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <del>CASGKY</del> YETYLGF <del>DVWGQ</del> GLTVTVSSASTKGPSVFP <del>LAP</del> SSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHT</del> FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFC <del>SC</del> VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	196
mAb6_2.9 - HC	ELQLQESGPGLVKPS <del>ETLS</del> LTCTVSGGSI <del>TSS</del> NYYWGWI <del>RQPP</del> GKLEWIG SIDYTGSTYYNPSL <del>KSRVT</del> ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <del>CATGKY</del> YETYLGF <del>DVWGQ</del> GLTVTVSSASTKGPSVFP <del>LAP</del> SSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHT</del> FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC <del>SC</del> VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	197
mAb6_2.9 – HC ( 杵 )	ELQLQESGPGLVKPS <del>ETLS</del> LTCTVSGGSI <del>TSS</del> NYYWGWI <del>RQPP</del> GKLEWIG SIDYTGSTYYNPSL <del>KSRVT</del> ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <del>CATGKY</del> YETYLGF <del>DVWGQ</del> GLTVTVSSASTKGPSVFP <del>LAP</del> SSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHT</del> FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC <del>SC</del> VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	198
mAb6_2.9 – HC ( 白 )	ELQLQESGPGLVKPS <del>ETLS</del> LTCTVSGGSI <del>TSS</del> NYYWGWI <del>RQPP</del> GKLEWIG SIDYTGSTYYNPSL <del>KSRVT</del> ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <del>CATGKY</del> YETYLGF <del>DVWGQ</del> GLTVTVSSASTKGPSVFP <del>LAP</del> SSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHT</del> FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFC <del>SC</del> VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	199

[0169]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb6_2.10 - HC	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSNYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGNY YETYLGF <del>FDVWG</del> QGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSV</del> VTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVS <del>VLTVLHQD</del> WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNV <del>FSCSVMHEALHNHYTQKSL</del> SLSPG	200
mAb6_2.10 - HC ( 杵 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSNYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGNY YETYLGF <del>FDVWG</del> QGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSV</del> VTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVS <del>VLTVLHQD</del> WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTLP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNV <del>FSCSVMHEALHNHYTQKSL</del> SLSPG	201
mAb6_2.10 - HC ( 白 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSNYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGNY YETYLGF <del>FDVWG</del> QGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSV</del> VTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVS <del>VLTVLHQD</del> WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNV <del>FSCSVMHEALHNHYTQKSL</del> SLSPG	202
mAb2.0 - HC	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRYFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSV</del> VTPSSSLGTQTYI ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVS <del>VLTVLHQD</del> WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV <del>FSCSVMHEALHNHYTQKSL</del> SLSPG	243
mAb2.0 - HC ( 杵 )	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRYFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSV</del> VTPSSSLGTQTYI ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVS <del>VLTVLHQD</del> WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV <del>FSCSVMHEALHNHYTQKSL</del> SLSPG	244
mAb2.0 - HC ( 白 )	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRYFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSV</del> VTPSSSLGTQTYI ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY	245

[0170]

描述	序列	SEQ ID NO:
	RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
mAb2.0 and mAb6.0_2.0 - LC	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAHYDVHWYQQLPGTAPKLLIY GNDNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDYSLSGYVF GGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYFGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEG STVEKTVAPTECS	246
mAb2 - HC	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>STSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG <u>SIYYTGNTYYNPSL</u> KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY <u>GVGVP</u> RYFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	203
mAb2 - HC ( 杵 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>STSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG <u>SIYYTGNTYYNPSL</u> KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY <u>GVGVP</u> RYFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	204
mAb2 - HC ( 白 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>STSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG <u>SIYYTGNTYYNPSL</u> KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY <u>GVGVP</u> RYFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	205
mAb2.1 - HC	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SDSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG <u>SIYYTGNTYYNSSL</u> KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY <u>GVGVP</u> RYFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	206
mAb2.1 - HC ( 杵 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SDSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG <u>SIYYTGNTYYNSSL</u> KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY <u>GVGVP</u> RYFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD	207

[0171]

描述	序列	SEQ ID NO:
	<p>TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY  RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIISKAKGQPREPQVYTL  PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG  SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	
mAb2.1 – HC (白)	<p>ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI<u>SDSSYYWG</u>WIRQPPGKLEWIG  SIYYTGNTYYNSSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY  GVGVPRIYFDPPWGQGLTIVTSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK  DYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY  ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD  TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY  RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIISKAKGQPREPQVYTL  PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG  SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	208
mAb2.2 - HC	<p>ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI<u>SESSYYWG</u>WIRQPPGKLEWIG  SIYYTGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGVRY  GVGVPRIYFDPPWGQGLTIVTSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK  DYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY  ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD  TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY  RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIISKAKGQPREPQVYTL  PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG  SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	209
mAb2.2 – HC (杵)	<p>ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI<u>SESSYYWG</u>WIRQPPGKLEWIG  SIYYTGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGVRY  GVGVPRIYFDPPWGQGLTIVTSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK  DYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY  ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD  TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY  RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIISKAKGQPREPQVYTL  PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG  SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	210
mAb2.2 – HC (白)	<p>ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI<u>SESSYYWG</u>WIRQPPGKLEWIG  SIYYTGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGVRY  GVGVPRIYFDPPWGQGLTIVTSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK  DYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY  ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD  TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY  RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIISKAKGQPREPQVYTL  PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG  SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	211
mAb2.3 - HC	<p>ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI<u>STSSDYWG</u>WIRQPPGKLEWIG  SIYYTGNTYYLPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCSRVRVY  GVGVPRIYFDPPWGQGLTIVTSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK  DYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY  ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD  TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY  RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTIISKAKGQPREPQVYTL  PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG  SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	212
mAb2.3 – HC (杵)	<p>ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI<u>STSSDYWG</u>WIRQPPGKLEWIG  SIYYTGNTYYLPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCSRVRVY</p>	213

[0172]

描述	序列	SEQ ID NO:
	<p>GVGVPRIYFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK                      DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY                      ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD                      TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY                      RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL                      PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG                      SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	
<p>mAb2.3 – HC (白)</p>	<p>ELQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI <u>STSSDYWG</u>WIRQPPGKGLEWIG                      SIYYTGNTYYLPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCSRVRVY                      GVGVPRIYFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK                      DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY                      ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD                      TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY                      RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL                      PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG                      SFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	214
<p>mAb2.4 - HC</p>	<p>ELQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI <u>SNSSYYWG</u>WIRQPPGKGLEWIG                      SIYYTGNTYYLPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRVY                      GVGVPRIYFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK                      DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY                      ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD                      TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY                      RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL                      PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG                      SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	215
<p>mAb2.4 – HC (杵)</p>	<p>ELQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI <u>SNSSYYWG</u>WIRQPPGKGLEWIG                      SIYYTGNTYYLPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRVY                      GVGVPRIYFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK                      DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY                      ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD                      TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY                      RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL                      PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG                      SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	216
<p>mAb2.4 – HC (白)</p>	<p>ELQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI <u>SNSSYYWG</u>WIRQPPGKGLEWIG                      SIYYTGNTYYLPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRVY                      GVGVPRIYFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK                      DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY                      ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD                      TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY                      RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL                      PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG                      SFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	217
<p>mAb2.5 - HC</p>	<p>ELQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI <u>SESSYYWG</u>WIRQPPGKGLEWIG                      SIYYTGNTYYLPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRVY                      GVGVPRIYFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK                      DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY                      ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD                      TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY                      RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL</p>	218

[0173]

[0174]

描述	序列	SEQ ID NO:
	PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
mAb2.5 – HC ( 杵 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SESSYYWG</u> WIRQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYLPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	219
mAb2.5 – HC ( 白 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SESSYYWG</u> WIRQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYLPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	220
mAb2.6 - HC	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>STSSYHWG</u> WIRQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYMPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRVRY GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	221
mAb2.6 – HC ( 杵 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>STSSYHWG</u> WIRQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYMPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRVRY GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	222
mAb2.6 – HC ( 白 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>STSSYHWG</u> WIRQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYMPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVRVRY GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	223
mAb2.7 - HC	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SRSSYYWG</u> WIRQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYWPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTRVRVRY GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY	224

描述	序列	SEQ ID NO:
	ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
mAb2.7 – HC ( 杵 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI SRSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYWPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTRVRVY GVGVPRIYFDPPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	225
mAb2.7 – HC ( 白 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI SRSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYWPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTRVRVY GVGVPRIYFDPPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	226
mAb2.8 - HC	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI SDSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETY YAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLRY GVGVPRIYFDPPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	227
mAb2.8 – HC ( 杵 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI SDSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETY YAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLRY GVGVPRIYFDPPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	228
mAb2.8 – HC ( 白 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI SDSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETY YAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLRY GVGVPRIYFDPPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	229

[0175]

[0176]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb2.9 - HC	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SDSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIYYTGETYYAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVKY GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	230
mAb2.9 - HC ( 杵 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SDSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIYYTGETYYAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVKY GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	231
mAb2.9 - HC ( 白 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SDSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIYYTGETYYAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVKY GVGVPRYFDPWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	232
mAb2.10 - HC	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SDSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIYYTGETYYAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRHFDPWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	233
mAb2.10 - HC ( 杵 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SDSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIYYTGETYYAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRHFDPWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	234
mAb2.10 - HC ( 白 )	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI <u>SDSSYYWG</u> WIRQPPGKLEWIG SIYYTGETYYAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRHFDPWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY	235

描述	序列	SEQ ID NO:
	RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG	
mAb2.11 – HC	ELQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SESSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLRY GVGVPRIYFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG	236
mAb2.11 – HC ( 杵 )	ELQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SESSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLRY GVGVPRIYFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG	237
mAb2.11 – HC ( 白 )	ELQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SESSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLRY GVGVPRIYFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG	238
mAb2.12 - HC	ELQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SESSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVKY GVGVPRIYFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG	239
mAb2.12 – HC ( 杵 )	ELQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SESSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVKY GVGVPRIYFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG	240
mAb2.12 – HC ( 白 )	ELQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SESSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVKY GVGVPRIYFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK	241

[0177]

描述	序列	SEQ ID NO:
	DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYLSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
mAb6_2 – HVR-H1 - 通用	<b>XXXNXYX</b> 在第 1 位的 X 为 T、D、E 或 N；在第 2 位的 X 为 S、A、E、G、 K、Q、R 或 T；在第 3 位的 X 为 S、A、D、E、G、N、P、Q 或 T；在第 5 位的 X 为 Y、A、E、G、H、M、N、Q、S、T 或 V；在 第 7 位的 X 为 W、F、I、V 或 Y。	251
mAb6_2 – HVR-H1 - T30D	DSSNYYW	252
mAb6_2 – HVR-H1 - T30E	ESSNYYW	253
mAb6_2 – HVR-H1 - T30N	NSSNYYW	254
mAb6_2 – HVR-H1 - S31A	TASNYYW	255
mAb6_2 – HVR-H1 - S31E	TESNYYW	256
mAb6_2 – HVR-H1 - S31G	TGSNYYW	257
mAb6_2 – HVR-H1 - S31K	TKSNYYW	258
mAb6_2 – HVR-H1 - S31Q	TQSNYYW	259
mAb6_2 – HVR-H1 - S31R	TRSNYYW	260
mAb6_2 – HVR-H1 - S31T	TTSNYYW	261
mAb6_2 – HVR-H1 - S32A	TSANYYW	262
mAb6_2 – HVR-H1 - S32D	TSDNYYW	263
mAb6_2 – HVR-H1 - S32E	TSENYYW	264
mAb6_2 – HVR-H1 - S32G	TSGNYYW	265
mAb6_2 – HVR-H1 - S32N	TSNNYYW	266
mAb6_2 – HVR-H1 - S32P	TSPNYYW	267
mAb6_2 – HVR-H1 - S32Q	TSQNYYW	268
mAb6_2 – HVR-H1 - S32T	TSTNYYW	269

[0178]

[0179]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb6_2 – HVR-H1 – Y34A	TSSNAYW	270
mAb6_2 – HVR-H1 – Y34E	TSSNEYW	271
mAb6_2 – HVR-H1 – Y34G	TSSNGYW	272
mAb6_2 – HVR-H1 – Y34H	TSSNHYW	273
mAb6_2 – HVR-H1 – Y34M	TSSNMYW	274
mAb6_2 – HVR-H1 – Y34N	TSSNNYW	275
mAb6_2 – HVR-H1 – Y34Q	TSSNQYW	276
mAb6_2 – HVR-H1 – Y34S	TSSNSYW	277
mAb6_2 – HVR-H1 – Y34T	TSSNTYW	278
mAb6_2 – HVR-H1 – Y34V	TSSNVYW	279
mAb6_2 – HVR-H1 – W35aF	TSSNYFF	280
mAb6_2 – HVR-H1 – W35aI	TSSNYFI	281
mAb6_2 – HVR-H1 – W35aV	TSSNYFV	282
mAb6_2 – HVR-H1 – W35aY	TSSNYFY	283
mAb6_2 – HVR-H2 - 通用	<b>XXDXXXXXXXXXX</b> 在第1位的X为S、N或T；在第2位的X为I、M或V；在第4位的X为Y或H；在第5位的X为T、H、L或N；在第6位的X为G、A、D、E、H、K、N、Q、R、S或T；在第7位的X为S、A、D、Q或T；在第8位的X为T、A、D或E；在第9位的X为Y、A、F、Q、S或W；在第11位的X为N、D、E、H、P或Q；在第12位的X为P、A或E。	284
mAb6_2 – HVR-H2 – S50N	NIDYTGSTYYNP	285
mAb6_2 – HVR-H2 – S50T	TIDYTGSTYYNP	286
mAb6_2 – HVR-H2 – I51M	SMDYTGSTYYNP	287
mAb6_2 – HVR-H2 – I51V	SVDYTGSTYYNP	288
mAb6_2 – HVR-H2 – Y53H	SIDHTGSTYYNP	289

[0180]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb6_2 – HVR-H2 – T54H	SIDYHGSTYYNP	290
mAb6_2 – HVR-H2 – T54L	SIDYLGSTYYNP	291
mAb6_2 – HVR-H2 – T54N	SIDYNGSTYYNP	292
mAb6_2 – HVR-H2 – G55A	SIDYTASTYYNP	293
mAb6_2 – HVR-H2 – G55D	SIDYTDSTYYNP	294
mAb6_2 – HVR-H2 – G55E	SIDYTESTYYNP	295
mAb6_2 – HVR-H2 – G55H	SIDYTHSTYYNP	296
mAb6_2 – HVR-H2 – G55K	SIDYTKSTYYNP	297
mAb6_2 – HVR-H2 – G55N	SIDYTNSTYYNP	298
mAb6_2 – HVR-H2 – G55Q	SIDYTQSTYYNP	299
mAb6_2 – HVR-H2 – G55R	SIDYTRSTYYNP	300
mAb6_2 – HVR-H2 – G55S	SIDYTSSTYYNP	301
mAb6_2 – HVR-H2 – G55T	SIDYTTSTYYNP	302
mAb6_2 – HVR-H2 – S56A	SIDYTGATYYNP	303
mAb6_2 – HVR-H2 – S56D	SIDYTGDTYYNP	304
mAb6_2 – HVR-H2 – S56Q	SIDYTGQTYYPN	305
mAb6_2 – HVR-H2 – S56T	SIDYTGTTYYPN	306
mAb6_2 – HVR-H2 – T57A	SIDYTGSAYYNP	307
mAb6_2 – HVR-H2 – T57D	SIDYTGSDYYNP	308
mAb6_2 – HVR-H2 – T57E	SIDYTGSEYYNP	309
mAb6_2 – HVR-H2 – Y58A	SIDYTGSTAYNP	310
mAb6_2 – HVR-H2 – Y58F	SIDYTGSTFYNP	311
mAb6_2 – HVR-H2 – Y58Q	SIDYTGSTQYNP	312
mAb6_2 – HVR-H2 – Y58S	SIDYTGSTSYNP	313

[0181]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb6_2 – HVR-H2 – Y58W	SIDYTGSTWYNP	314
mAb6_2 – HVR-H2 – N60D	SIDYTGSTYYDP	315
mAb6_2 – HVR-H2 – N60E	SIDYTGSTYYEP	316
mAb6_2 – HVR-H2 – N60H	SIDYTGSTYYHP	317
mAb6_2 – HVR-H2 – N60P	SIDYTGSTYYPP	318
mAb6_2 – HVR-H2 – N60Q	SIDYTGSTYYQP	319
mAb6_2 – HVR-H2 – P61A	SIDYTGSTYYNA	320
mAb6_2 – HVR-H2 – P61E	SIDYTGSTYYNE	321
mAb6_2 – HVR-H3 - 通用	<b>AXGXYYXYTLGFDV</b> 在第 2 位的 X 为 R、A、E、G、H、M、N、Q、S、T 或 Y；在第 4 位的 X 为 K、A 或 S；在第 7 位的 X 为 E 或 T。	322
mAb6_2 – HVR-H3 – R94A	AAGKYYETYLGFDV	323
mAb6_2 – HVR-H3 – R94E	AEGKYYETYLGFDV	324
mAb6_2 – HVR-H3 – R94G	AGGKYYETYLGFDV	325
mAb6_2 – HVR-H3 – R94H	AHGKYYETYLGFDV	326
mAb6_2 – HVR-H3 – R94M	AMGKYYETYLGFDV	327
mAb6_2 – HVR-H3 – R94N	ANGKYYETYLGFDV	328
mAb6_2 – HVR-H3 – R94Q	AQGKYYETYLGFDV	329
mAb6_2 – HVR-H3 – R94S	ASGKYYETYLGFDV	330
mAb6_2 – HVR-H3 – R94T	ATGKYYETYLGFDV	331
mAb6_2 – HVR-H3 – R94Y	AYGKYYETYLGFDV	332
mAb6_2 – HVR-H3 – K96A	ARGAYYETYLGFDV	333
mAb6_2 – HVR-H3 – K96S	ARGSY YETYLGFDV	334
mAb6_2 – HVR-H3 – E99T	ARGKY YTTYLGFDV	335
mAb2 – HVR-H1 - 通用	<b>XXXXXXXXW</b> 在第 1 位的 X 为 S 或 D；在第 2 位的 X 为 T、A、D、E、G、H、K	336

[0182]

描述	序列	SEQ ID NO:
	N、P、Q、R 或 S; 在第 3 位的 X 为 S、D、E、G、K、N、P 或 R; 在第 4 位的 X 为 S、G、K、N 或 P; 在第 5 位的 X 为 Y、A、D、E、G、H、M、N、Q、S、T、V 或 W; 在第 6 位的 X 为 Y、A、F、G、H、M、N 或 Q。	
mAb2 – HVR-H1 – S30D	DTSSYYW	337
mAb2 – HVR-H1 – T31A	SASSYYW	338
mAb2 – HVR-H1 – T31D	SDSSYYW	339
mAb2 – HVR-H1 – T31E	SESSYYW	340
mAb2 – HVR-H1 – T31G	SGSSYYW	341
mAb2 – HVR-H1 – T31H	SHSSYYW	342
mAb2 – HVR-H1 – T31K	SKSSYYW	343
mAb2 – HVR-H1 – T31N	SNSSYYW	344
mAb2 – HVR-H1 – T31P	SPSSYYW	345
mAb2 – HVR-H1 – T31Q	SQSSYYW	346
mAb2 – HVR-H1 – T31R	SRSSYYW	347
mAb2 – HVR-H1 – T31S	SSSSYYW	348
mAb2 – HVR-H1 – S32D	STDSYYW	349
mAb2 – HVR-H1 – S32E	STESYYW	350
mAb2 – HVR-H1 – S32G	STGSYYW	351
mAb2 – HVR-H1 – S32K	STKSYYW	352
mAb2 – HVR-H1 – S32N	STNSYYW	353
mAb2 – HVR-H1 – S32P	STPSYYW	354
mAb2 – HVR-H1 – S32R	STRSYYW	355
mAb2 – HVR-H1 – S33G	STSGYYW	356
mAb2 – HVR-H1 – S33K	STSKYYW	357

[0183]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb2 – HVR-H1 – S33N	STSNYYW	358
mAb2 – HVR-H1 – S33P	STSPYYW	359
mAb2 – HVR-H1 – Y34A	STSSAYW	360
mAb2 – HVR-H1 – Y34D	STSSDYW	361
mAb2 – HVR-H1 – Y34E	STSSSEYW	362
mAb2 – HVR-H1 – Y34G	STSSGYW	363
mAb2 – HVR-H1 – Y34H	STSSHYW	364
mAb2 – HVR-H1 – Y34M	STSSMYW	365
mAb2 – HVR-H1 – Y34N	STSSNYW	366
mAb2 – HVR-H1 – Y34Q	STSSQYW	367
mAb2 – HVR-H1 – Y34S	STSSSYW	368
mAb2 – HVR-H1 – Y34T	STSSTYW	369
mAb2 – HVR-H1 – Y34V	STSSVYW	370
mAb2 – HVR-H1 – Y34W	STSSWYW	371
mAb2 – HVR-H1 – Y35A	STSSYAW	372
mAb2 – HVR-H1 – Y35F	STSSYFW	373
mAb2 – HVR-H1 – Y35G	STSSYGW	374
mAb2 – HVR-H1 – Y35H	STSSYHW	375
mAb2 – HVR-H1 – Y35M	STSSYMW	376
mAb2 – HVR-H1 – Y35N	STSSYNW	377
mAb2 – HVR-H1 – Y35Q	STSSYQW	378
mAb2 – HVR-H2 - 通用	XXXXXXXXXXYP 在第 1 位的 X 为 S、F、I、M 或 Q; 在第 2 位的 X 为 I、A、G、L、R、S、T 或 V; 在第 3 位的 X 为 Y、A、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T 或 W; 在第 4 位的 X 为 Y、A、D、E、F、G、H、K、N、P、Q、R、S、T 或 W; 在第 5 位的 X	379

[0184]

描述	序列	SEQ ID NO:
	为 T、D、E、K、N、P 或 Q; 在第 6 位的 X 为 G 或 Q; 在第 7 位的 X 为 N、D、E、G、H、I、K、M、P、R 或 S; 在第 8 位的 X 为 T、A、E、F、G、H、K、P、Q、R、S、V、W 或 Y; 在第 9 位的 X 为 Y 或 W; 在第 11 位的 X 为 N、A、D、E、K、L、M、P、Q、S 或 T。	
mAb2 – HVR-H2 – S50F	FIYYTGNTYYNP	380
mAb2 – HVR-H2 – S50I	IIYYTGNTYYNP	381
mAb2 – HVR-H2 – S50M	MIYYTGNTYYNP	382
mAb2 – HVR-H2 – S50Q	QIYYTGNTYYNP	383
mAb2 – HVR-H2 – I51A	SAYYTGNTYYNP	384
mAb2 – HVR-H2 – I51G	SGYYTGNTYYNP	385
mAb2 – HVR-H2 – I51L	SLYYTGNTYYNP	386
mAb2 – HVR-H2 – I51R	SRYYTGNTYYNP	387
mAb2 – HVR-H2 – I51S	SSYYTGNTYYNP	388
mAb2 – HVR-H2 – I51T	STYYTGNTYYNP	389
mAb2 – HVR-H2 – I51V	SVYYTGNTYYNP	390
mAb2 – HVR-H2 – Y52A	SIAYTGNTYYNP	391
mAb2 – HVR-H2 – Y52D	SIDYTGNTYYNP	392
mAb2 – HVR-H2 – Y52E	SIEYTGNTYYNP	393
mAb2 – HVR-H2 – Y52F	SIFYTGNTYYNP	394
mAb2 – HVR-H2 – Y52G	SIGYTGNTYYNP	395
mAb2 – HVR-H2 – Y52H	SIHYTGNTYYNP	396
mAb2 – HVR-H2 – Y52K	SIKYTGNTYYNP	397
mAb2 – HVR-H2 – Y52L	SILYTGNTYYNP	398
mAb2 – HVR-H2 – Y52M	SIMYTGNTYYNP	399
mAb2 – HVR-H2 – Y52N	SINYTGNTYYNP	400

[0185]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb2 – HVR-H2 – Y52P	SIPYTGNTYYNP	401
mAb2 – HVR-H2 – Y52Q	SIQYTGNTYYNP	402
mAb2 – HVR-H2 – Y52R	SIRYTGNTYYNP	403
mAb2 – HVR-H2 – Y52S	SISYTGNTYYNP	404
mAb2 – HVR-H2 – Y52T	SITYTGNTYYNP	405
mAb2 – HVR-H2 – Y52W	SIWYTGNTYYNP	406
mAb2 – HVR-H2 – Y53A	SIYATGNTYYNP	407
mAb2 – HVR-H2 – Y53D	SIYDTGNTYYNP	408
mAb2 – HVR-H2 – Y53E	SIYETGNTYYNP	409
mAb2 – HVR-H2 – Y53F	SIYFTGNTYYNP	410
mAb2 – HVR-H2 – Y53G	SIYGTGNTYYNP	411
mAb2 – HVR-H2 – Y53H	SIYHTGNTYYNP	412
mAb2 – HVR-H2 – Y53K	SIYKTGNTYYNP	413
mAb2 – HVR-H2 – Y53N	SIYNTGNTYYNP	414
mAb2 – HVR-H2 – Y53P	SIYPTGNTYYNP	415
mAb2 – HVR-H2 – Y53Q	SIYQTGNTYYNP	416
mAb2 – HVR-H2 – Y53R	SIYRTGNTYYNP	417
mAb2 – HVR-H2 – Y53S	SIYSTGNTYYNP	418
mAb2 – HVR-H2 – Y53T	SIYTTGNTYYNP	419
mAb2 – HVR-H2 – Y53W	SIYWTGNTYYNP	420
mAb2 – HVR-H2 – T54D	SIYYDGNTYYNP	421
mAb2 – HVR-H2 – T54E	SIYYEGNTYYNP	422
mAb2 – HVR-H2 – T54K	SIYYKGNTYYNP	423
mAb2 – HVR-H2 – T54N	SIYYNGNTYYNP	424

[0186]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb2 – HVR-H2 – T54P	SIYYPGNTYYNP	425
mAb2 – HVR-H2 – T54Q	SIYYQGNTYYNP	426
mAb2 – HVR-H2 – G55Q	SIYYTQNTYYNP	427
mAb2 – HVR-H2 – N56D	SIYYTGDTYYNP	428
mAb2 – HVR-H2 – N56E	SIYYTGETYYNP	429
mAb2 – HVR-H2 – N56G	SIYYTGGTYYP	430
mAb2 – HVR-H2 – N56H	SIYYTGHTYYNP	431
mAb2 – HVR-H2 – N56I	SIYYTGITYYP	432
mAb2 – HVR-H2 – N56K	SIYYTGKTYYP	433
mAb2 – HVR-H2 – N56M	SIYYTGMTYYNP	434
mAb2 – HVR-H2 – N56P	SIYYTGPTYYP	435
mAb2 – HVR-H2 – N56R	SIYYTGRTYYP	436
mAb2 – HVR-H2 – N56S	SIYYTGSTYYNP	437
mAb2 – HVR-H2 – T57A	SIYYTGNAYNP	438
mAb2 – HVR-H2 – T57E	SIYYTGNEYNP	439
mAb2 – HVR-H2 – T57F	SIYYTGNFYNP	440
mAb2 – HVR-H2 – T57G	SIYYTGNGYNP	441
mAb2 – HVR-H2 – T57H	SIYYTGNHYNP	442
mAb2 – HVR-H2 – T57K	SIYYTGNKYNP	443
mAb2 – HVR-H2 – T57P	SIYYTGNPYNP	444
mAb2 – HVR-H2 – T57Q	SIYYTGNQYNP	445
mAb2 – HVR-H2 – T57R	SIYYTGNRYNP	446
mAb2 – HVR-H2 – T57S	SIYYTGN SYNP	447
mAb2 – HVR-H2 – T57V	SIYYTGNVYNP	448

[0187]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb2 – HVR-H2 – T57W	SIYYTGNWYYNP	449
mAb2 – HVR-H2 – T57Y	SIYYTGNYYYYNP	450
mAb2 – HVR-H2 – Y58W	SIYYTGNTWYNP	451
mAb2 – HVR-H2 – N60A	SIYYTGNTYYAP	452
mAb2 – HVR-H2 – N60D	SIYYTGNTYYDP	453
mAb2 – HVR-H2 – N60E	SIYYTGNTYYEP	454
mAb2 – HVR-H2 – N60K	SIYYTGNTYYKP	455
mAb2 – HVR-H2 – N60L	SIYYTGNTYYLP	456
mAb2 – HVR-H2 – N60M	SIYYTGNTYYMP	457
mAb2 – HVR-H2 – N60P	SIYYTGNTYYPP	458
mAb2 – HVR-H2 – N60Q	SIYYTGNTYYQP	459
mAb2 – HVR-H2 – N60S	SIYYTGNTYYSP	460
mAb2 – HVR-H2 – N60T	SIYYTGNTYYTP	461
mAb2 – HVR-H3 – 通用	XXXXXGXXVPRXFDP 在第 1 位的 X 为 A 或 V; 在第 2 位的 X 为 R、A、G、N、Q 或 T; 在第 3 位的 X 为 V、A、F、I、K、L、M、Q 或 S; 在第 4 位的 X 为 R、A、I、K、L、M、P、Q、S、T 或 V; 在第 5 位的 X 为 Y、H、I、L 或 V; 在第 7 位的 X 为 V、A、F、G、K、M、N、Q、R、S、T、W 或 Y; 在第 8 位的 X 为 G、N、R、S 或 T; 在第 12 位的 X 为 Y、F、H、I、L、M、Q 或 R.	462
mAb2 – HVR-H3 – A93V	VRVRYGVGVPARYFDP	463
mAb2 – HVR-H3 – R94A	AAVRYGVGVPARYFDP	464
mAb2 – HVR-H3 – R94G	AGVRYGVGVPARYFDP	465
mAb2 – HVR-H3 – R94N	ANVRYGVGVPARYFDP	466
mAb2 – HVR-H3 – R94Q	AQVRYGVGVPARYFDP	467
mAb2 – HVR-H3 – R94T	ATVRYGVGVPARYFDP	468
mAb2 – HVR-H3 – V95A	ARARYGVGVPARYFDP	469

[0188]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb2 – HVR-H3 – V95F	ARFRYGVGVPRYFDP	470
mAb2 – HVR-H3 – V95I	ARIRYGVGVPRYFDP	471
mAb2 – HVR-H3 – V95K	ARKRYGVGVPRYFDP	472
mAb2 – HVR-H3 – V95L	ARLRYGVGVPRYFDP	473
mAb2 – HVR-H3 – V95M	ARMRYGVGVPRYFDP	474
mAb2 – HVR-H3 – V95Q	ARQRYGVGVPRYFDP	475
mAb2 – HVR-H3 – V95S	ARSRYGVGVPRYFDP	476
mAb2 – HVR-H3 – R96A	ARVAYGVGVPRYFDP	477
mAb2 – HVR-H3 – R96I	ARVIYGVGVPRYFDP	478
mAb2 – HVR-H3 – R96K	ARVKYGVGVPRYFDP	479
mAb2 – HVR-H3 – R96L	ARVLYGVGVPRYFDP	480
mAb2 – HVR-H3 – R96M	ARVMYGVGVPRYFDP	481
mAb2 – HVR-H3 – R96P	ARVPYGVGVPRYFDP	482
mAb2 – HVR-H3 – R96Q	ARVQYGVGVPRYFDP	483
mAb2 – HVR-H3 – R96S	ARVSYGVGVPRYFDP	484
mAb2 – HVR-H3 – R96T	ARVTYGVGVPRYFDP	485
mAb2 – HVR-H3 – R96V	ARVVYGVGVPRYFDP	486
mAb2 – HVR-H3 – Y97H	ARVRHGVGVPRYFDP	487
mAb2 – HVR-H3 – Y97I	ARVRIGGVGVPRYFDP	488
mAb2 – HVR-H3 – Y97L	ARVRLGVGVPRYFDP	489
mAb2 – HVR-H3 – Y97V	ARVRVGVGVPRYFDP	490
mAb2 – HVR-H3 – V99A	ARVRYGAGVPRYFDP	491
mAb2 – HVR-H3 – V99F	ARVRYGFGVPRYFDP	492
mAb2 – HVR-H3 – V99G	ARVRYGGGVPRYFDP	493

[0189]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb2 – HVR-H3 – V99K	ARVRYGKGVPRYFDP	494
mAb2 – HVR-H3 – V99M	ARVRYGMGVPRYFDP	495
mAb2 – HVR-H3 – V99N	ARVRYGNGVPRYFDP	496
mAb2 – HVR-H3 – V99Q	ARVRYGQGVPRYFDP	497
mAb2 – HVR-H3 – V99R	ARVRYGRGVPRYFDP	498
mAb2 – HVR-H3 – V99S	ARVRYGSGVPRYFDP	499
mAb2 – HVR-H3 – V99T	ARVRYGTGVPRYFDP	500
mAb2 – HVR-H3 – V99W	ARVRYGWGVPRYFDP	501
mAb2 – HVR-H3 – V99Y	ARVRYGYGVPRYFDP	502
mAb2 – HVR-H3 – G100N	ARVRYGVNVPRYFDP	503
mAb2 – HVR-H3 – G100R	ARVRYGVRVPRYFDP	504
mAb2 – HVR-H3 – G100S	ARVRYGVSVPYFDP	505
mAb2 – HVR-H3 – G100T	ARVRYGVTVPYFDP	506
mAb2 – HVR-H3 – Y100dF	ARVRYGVGVPRFFDP	507
mAb2 – HVR-H3 – Y100dH	ARVRYGVGVPRHFD	508
mAb2 – HVR-H3 – Y100dl	ARVRYGVGVPRIFDP	509
mAb2 – HVR-H3 – Y100dL	ARVRYGVGVPRLFD	510
mAb2 – HVR-H3 – Y100dM	ARVRYGVGVPRMFD	511
mAb2 – HVR-H3 – Y100dQ	ARVRYGVGVPRQFD	512
mAb2 – HVR-H3 – Y100dR	ARVRYGVGVPRRFD	513
mAb6_2.7 - HC (SEQ ID NO:191) + c-端 K	ELQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI TASNTYWGWI RQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGFDFVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKD YFPEPVTISWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGP SVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLF	581

[0190]

描述	序列	SEQ ID NO:
	PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
mAb6_2.7 - HC (SEQ ID NO:191) + YTE	ELQLQESGPGGLVVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNTYWGWI RQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGFDFVWGQGLTQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPVSFLFPPKPKDT LYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	582
mAb6_2.7 - HC (SEQ ID NO:191) + YTE + c-端 K	ELQLQESGPGGLVVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNTYWGWI RQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGFDFVWGQGLTQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPVSFLFPPKPKDT LYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	583
mAb6_2.7 - HC ( 杵 ) (SEQ ID NO:192) + c-端 K	ELQLQESGPGGLVVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNTYWGWI RQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGFDFVWGQGLTQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPVSFLFPPKPKDT LMSRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	584
mAb6_2.7 - HC ( 杵 ) (SEQ ID NO:192) + YTE	ELQLQESGPGGLVVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNTYWGWI RQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGFDFVWGQGLTQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPVSFLFPPKPKDT LYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	585
mAb6_2.7 - HC ( 杵 ) (SEQ ID NO:192) + YTE + c-端 K	ELQLQESGPGGLVVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNTYWGWI RQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGFDFVWGQGLTQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPVSFLFPPKPKDT LYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	586
mAb6_2.7 - HC ( 白 ) (SEQ ID NO:193) + c-端 K	ELQLQESGPGGLVVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNTYWGWI RQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGFDFVWGQGLTQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI	587

描述	序列	SEQ ID NO:
	CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
mAb6_2.7 – HC (白) (SEQ ID NO:193) + YTE	ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNTYWGWI RQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGFDFVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	588
mAb6_2.7 – HC (白) (SEQ ID NO:193) + YTE + c-端 K	ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI TASNTYWGWI RQPPGKGLEWIG SIDYTGSTYYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGKY YETYLGFDFVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	589
mAb2 - HC (SEQ ID NO:203) + c-端 K	ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI STSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRIYFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	617
mAb2 - HC (SEQ ID NO:203) + YTE	ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI STSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRIYFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TYITRETPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	618
mAb2 - HC (SEQ ID NO:203) + YTE + c-端 K	ELQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSI STSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRIYFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TYITRETPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	619

[0191]

描述	序列	SEQ ID NO:
mAb2 – HC ( 杵 ) (SEQ ID NO:204) + c-端 K	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISTSSYYWGWIROPKGLLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRYFDPWGQGLTQVTVSSASTKGPSVFPVLPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	620
mAb2 – HC ( 杵 ) (SEQ ID NO:204) + YTE	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISTSSYYWGWIROPKGLLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRYFDPWGQGLTQVTVSSASTKGPSVFPVLPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TYITRETPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	621
mAb2 – HC ( 杵 ) (SEQ ID NO:204) + YTE + c-端 K	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISTSSYYWGWIROPKGLLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRYFDPWGQGLTQVTVSSASTKGPSVFPVLPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TYITRETPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	622
mAb2 – HC ( 白 ) (SEQ ID NO:205) + c-端 K	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISTSSYYWGWIROPKGLLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRYFDPWGQGLTQVTVSSASTKGPSVFPVLPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	623
mAb2 – HC ( 白 ) (SEQ ID NO:205) + YTE	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISTSSYYWGWIROPKGLLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRYFDPWGQGLTQVTVSSASTKGPSVFPVLPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TYITRETPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	624
mAb2 – HC ( 白 ) (SEQ ID NO:205) + YTE + c-端 K	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISTSSYYWGWIROPKGLLEWIG SIYYTGNTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRYFDPWGQGLTQVTVSSASTKGPSVFPVLPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TYITRETPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY	625

[0192]

[0193]

描述	序列	SEQ ID NO:
	RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
mAb2.10 - HC (SEQ ID NO:233) + c-端 K	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SDSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVP RHFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	707
mAb2.10 - HC (SEQ ID NO:233) + YTE	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SDSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVP RHFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TYITRETPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	708
mAb2.10 - HC (SEQ ID NO:233) + YTE + c-端 K	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SDSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVP RHFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TYITRETPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	709
mAb2.10 - HC ( 杵 ) (SEQ ID NO:234) + c-端 K	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SDSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVP RHFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	710
mAb2.10 - HC ( 杵 ) (SEQ ID NO:234) + YTE	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SDSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVP RHFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TYITRETPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	711
mAb2.10 - HC ( 杵 ) (SEQ ID NO:234) + YTE	ELQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SDSSYYWGWI RQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRY GVGVP RHFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVK	712

描述	序列	SEQ ID NO:
NO:234) + YTE + c-端 K	DYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TYITRETPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
mAb2.10 – HC (杆) (SEQ ID NO:235) + c-端 K	ELQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SDSSYYWGWIRQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRHFDPPWGQGLTQVTSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	713
mAb2.10 – HC (杆) (SEQ ID NO:235) + YTE	ELQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SDSSYYWGWIRQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRHFDPPWGQGLTQVTSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TYITRETPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	714
mAb2.10 – HC (杆) (SEQ ID NO:235) + YTE + c-端 K	ELQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SDSSYYWGWIRQPPGKGLEWIG SIYYTGETYYPAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARVRY GVGVPRHFDPPWGQGLTQVTSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	715

[0195] 1. 抗IL-36的抗体的结合亲和力和细胞信号传导抑制

[0196] 在一些实施方案中,本文中提供的抗IL-36的抗体具有的结合人细胞因子(hu-IL-36 $\alpha$ 、hu-IL-36 $\beta$ 和/或hu-IL-36 $\gamma$ )的平衡解离常数( $K_D$ )为<100nM、<10nM、<1nM、<0.1nM、<0.01nM或<0.001nM(例如,10<sup>-8</sup>M或更小,10<sup>-8</sup>M至10<sup>-13</sup>M,例如10<sup>-9</sup>M至10<sup>-13</sup>M)。更具体而言,在一些实施方案中,本公开内容的抗IL-36的抗体以1×10<sup>-8</sup>M或更小、1×10<sup>-9</sup>M或更小、1×10<sup>-10</sup>M或更小、或1×10<sup>-11</sup>M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\alpha$ 、hu-IL-36 $\beta$ 和/或hu-IL-36 $\gamma$ 。在一些实施方案中,结合亲和力测量为分别结合SEQ ID NO:1、2和3的hu-IL-36 $\alpha$ 、hu-IL-36 $\beta$ 或hu-IL-36 $\gamma$ 多肽构建体的平衡解离常数( $K_D$ )。

[0197] 通常,配体与其受体的结合亲和力可使用各种测定中的任一种测定并以各种定量值表示。在本文的实施例中公开了可用于测定抗体亲和力的特异性IL-36结合测定。此外,抗原结合测定是本领域已知的并且可在本文中使用,包括但不限于任何直接或竞争性结合测定,所述测定使用技术例如蛋白质免疫印迹、放射免疫测定、酶联免疫吸附测定(ELISA)、“夹层”免疫测定、基于表面等离子体共振的测定(例如,如W02005/012359中所记载的BIAcore测定)、免疫沉淀测定、荧光免疫测定和蛋白A免疫测定。

[0198] 在一些实施方案中,结合亲和力表示为 $K_D$ 值并反映内在结合亲和力(例如,具有最小化的亲合力效应)。本公开内容的抗IL-36的抗体分别对SEQ ID NO:1、2和3的hu-IL-36 $\alpha$ 、

hu-IL-36 $\beta$ 和/或hu-IL-36 $\gamma$ 多肽构建体表现出强结合亲和力,例如,表现出 $K_D$ 值为10nM至1pM。

[0199] 在一些实施方案中,本文中所提供的抗IL-36的抗体降低、抑制和/或完全阻断通过IL-36介导的通路(具体而言,通过结合IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 的IL-36R而刺激的信号传导通路)进行的细胞内信号传导。抗体抑制这些IL-36介导的信号传导通路的能力可使用已知的基于细胞的阻断测定进行体外测定,所述基于细胞的阻断测定包括本公开内容的实施例中所述的HEK-BLUE™报告细胞测定和基于原代细胞的阻断测定。在一些情况下,IL-8表达可用作通过IL-36介导的通路进行信号传导的指标,包括例如其中降低的IL-8水平表明一个或多个IL-36介导的通路被阻断。

[0200] 在一些实施方案中,使用基于报告细胞的阻断测定在激动剂细胞因子IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 的浓度为约 $EC_{50}$ 的情况下将抗体降低、抑制和/或完全阻断IL-36刺激的信号传导的能力测定为抗体的 $IC_{50}$ 。激动剂 $EC_{50}$ 往往只能在测定前评估,并在测定完成后使用数据的非线性回归分析确定。在这些测定中,约 $EC_{50}$ 的值通常在 $EC_{40-45}$ 至 $EC_{55-60}$ 的范围内。

[0201] 因此,在一些实施方案中,本公开内容的IL-36抗体的特征在于基于降低、抑制和/或完全阻断通过IL-36介导的通路的能力的一个或多个以下功能特性。

[0202] 在抗IL-36的抗体的一些实施方案中,所述抗体将由IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 或IL-36 $\gamma$ 中的任一种刺激(或引发)的信号降低至少90%、至少95%、至少99%或100%。在一些实施方案中,可以使用基于细胞的测定来测量信号的降低。普通技术人员可选择已知用于测定IL-36刺激通路的细胞信号传导的抑制的任何已知的基于细胞的测定。通常,本公开内容的抗IL-36的抗体降低通过结合浓度为约 $EC_{50}$ (例如 $EC_{40}$ 至 $EC_{60}$ )的激动剂细胞因子IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 或IL-36 $\gamma$ 而引发的IL-36介导的细胞内信号,所述抗体的 $IC_{50}$ 值为10nM或更小,5nM或更小,或1nM。

[0203] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体将IL-36刺激的信号降低至少95%,或至少99%;任选地,其中IL-36刺激的信号通过选自IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 的激动剂细胞因子进行刺激;任选地,其中在激动剂细胞因子浓度为约 $EC_{50}$ 下,所述抗体的 $IC_{50}$ 为10nM或更小,5nM或更小,或1nM或更小。

[0204] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体将通过结合其同源受体的IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 激动剂中的一种或多种引发的细胞内信号降低至少90%、至少95%、至少99%或100%。

[0205] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体抑制原代人角质形成细胞和/或HaCAT细胞中IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的IL-8的释放;任选地,其中在IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 浓度为约 $EC_{50}$ 下,所述抗体的 $IC_{50}$ 为10nM或更小,5nM或更小,或1nM或更小。

## [0206] 2. 抗体片段

[0207] 在一些实施方案中,本公开内容的抗IL-36的抗体可为抗体片段。可用于本公开内容的结合决定子的抗体片段包括但不限于Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、单价一个臂(或单臂)抗体、scFv片段以及本文中所述的和本领域已知的其他片段。关于各种抗体片段的综述,参见,例如Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003)。关于scFv片段的综述,参见,例如Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 第113卷, Rosenberg和Moore编辑, (Springer-Verlag, New York), 第269-315页 (1994); 还参见W093/16185; 和美

国专利第5,571,894号和第5,587,458号。关于包含补救受体结合表位残基并具有增加的体内半衰期的Fab和F(ab')<sub>2</sub>片段的说明,参见美国专利第5,869,046号。其他单价抗体形式记载于例如W02007/048037、W02008/145137、W02008/145138和W02007/059782中。单价单臂抗体记载于例如W02005/063816中。双特异抗体为具有两个抗原结合位点的抗体片段,其可以是二价或双特异性的(参见,例如EP0404097;W093/01161;Hudson et al.,*Nat.Med.*9:129-134(2003);和Hollinger et al.,*Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 90:6444-6448(1993))。

[0208] 在一些实施方案中,抗体片段为单域抗体,其包含抗体的全部或部分重链可变结构域,或全部或部分轻链可变结构域。在一些实施方案中,单域抗体为人单域抗体(Domantis, Inc., Waltham, MA; 参见,例如美国专利第6,248,516号)。

[0209] 如本文中所述,抗体片段可以通过各种技术制备,包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及通过重组宿主细胞(例如大肠杆菌(*E. coli*)或噬菌体)产生。

[0210] 已考虑到本公开内容的任何抗IL-36的抗体皆可使用本领域已知的和/或本文中所述的方法和技术制备为抗体片段。例如,本公开内容的各种抗IL-36的抗体的Fab版本的制备和分析在下面的实施例中进行描述。

### [0211] 3. 嵌合抗体和人源化抗体

[0212] 在一些实施方案中,本公开内容的抗IL-36的抗体可为嵌合抗体。(参见例如,如美国专利第4,816,567号;和Morrison et al.,*Proc.Natl.Acad.Sci.USA*,81:6851-6855(1984)中所记载的嵌合抗体)。在一个实施方案中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,源自小鼠、大鼠、仓鼠、兔或非人灵长类动物例如猴的可变区)和人恒定区。在一些实施方案中,嵌合抗体为“类别转换”抗体,其中所述类别或亚类已从亲本抗体的类别或亚类改变。已考虑到嵌合抗体可包括其抗原结合片段。

[0213] 在一些实施方案中,本公开内容的抗IL-36的抗体为人源化抗体。通常,将非人抗体人源化以降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。通常,人源化抗体包含一个或多个可变结构域,其中HVR(例如CDR)(或其部分)源自非人抗体,并且FR(或其部分)源自人抗体序列。人源化抗体任选地还将包含人恒定区的至少一部分。在一些实施方案中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,衍生出CDR残基的抗体)的相应残基置换以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0214] 人源化抗体及其制备方法综述于例如Almagro and Fransson,*Front.Biosci.*13:1619-1633(2008)中,并进一步记载于以下文献中:例如Riechmann et al.,*Nature* 332:323-329(1988);Queen et al.,*Proc.Natl. Acad.Sci.USA* 86:10029-10033(1989);美国专利第5,821,337号、第7,527,791号、第6,982,321号和第7,087,409号;Kashmiri et al.,*Methods* 36:25-34(2005)(描述SDR(a-HVR)嫁接);Padlan,*Mol.Immunol.*28:489-498(1991)(描述“重塑(resurfacing)”);Dall'Acqua et al.,*Methods* 36:43-60(2005)(描述“FR改组(shuffling)”) ;以及Osborn et al.,*Methods*36:61-68(2005)和Klimka et al.,*Br.J.Cancer*,83:252-260(2000)(描述FR改组的“引导选择”方法)。

[0215] 可用于人源化的人骨架区包括但不限于:使用“最佳拟合”方法选择的骨架区(参见,例如Sims et al.*J.Immunol.*151:2296(1993));源自轻链可变区或重链可变区的特定亚组的人抗体共有序列的骨架区(参见,例如Carter et al.*Proc.Natl.Acad.Sci.USA*,89:4285(1992);和Presta et al.*J.Immunol.*151:2623(1993));人成熟(体细胞突变的)骨架

区或人种系骨架区(参见,例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008));和源自筛选FR文库的骨架区(参见,例如Baca et al.,J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997)和Rosok et al.,J.Biol.Chem.271:22611-22618(1996))。

[0216] 已考虑到本公开内容的任何抗IL-36的抗体皆可使用本领域已知的和/或本文中所述的方法和技术制备为人源化抗体。

#### [0217] 4. 人抗体

[0218] 在一些实施方案中,本公开内容的抗IL-36的抗体可为人抗体。人抗体可使用本领域已知的各种技术产生。人抗体通常记载于van Dijk and van de Winkel, Curr.Opin.Pharmacol.5:368-74(2001)以及Lonberg,Curr.Opin.Immunol.20:450-459(2008)中。人抗体可通过向转基因动物施用免疫原而制备,所述转基因动物已被修饰以响应于抗原性攻击而产生完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。这类动物通常包含全部或部分人免疫球蛋白基因座,其替代内源性免疫球蛋白基因座,或其存在于染色体外或被随机整合到动物的染色体中。在这类转基因小鼠中,内源性免疫球蛋白基因座通常已失活。关于从转基因动物中获得人抗体的方法的综述,参见Lonberg,Nat.Biotech.23:1117-1125(2005)。还参见例如美国专利第6,075,181号和第6,150,584号中的XENOMOUSE™技术;美国专利第5,770,429号中的HUMAB®技术;美国专利第7,041,870号中的K-MOUSE®技术;和美国专利申请公开号US 2007/0061900中的VELOCIMOUSE®技术。来自由所述动物产生的完整抗体的人可变区可进一步修饰,例如通过与不同的人恒定区结合。

[0219] 人抗体还可通过基于杂交瘤的方法制备。已经记载了用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人异源骨髓瘤细胞系。参见,例如Kozbor J.Immunol,133:3001(1984); Brodeur et al.,Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications,第51-63页(Marcel Dekker,Inc.,New York,1987);和Boerner et al.,J.Immunol.,147:86(1991)。通过人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体还记载于Li et al., Proc.Natl.Acad.Sci.USA,103:3557-3562(2006)中。描述从杂交瘤细胞系产生单克隆人IgM抗体的其他方法包括记载于例如美国专利第7,189,826号中的那些方法。人杂交瘤技术(即三源杂交瘤(trioma)技术)记载于例如Vollmers et al.,Histology and Histopathology,20(3):927-937(2005)以及Vollmers et al.,and Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology,27(3):185-91(2005)中。

[0220] 人抗体还可通过分离选自人衍生的噬菌体展示文库的Fv克隆可变结构域序列而产生。然后可将所述可变结构域序列与所需的人恒定结构域结合。从抗体文库中选择人抗体的技术在下文描述。

[0221] 已考虑到本公开内容的任何抗IL-36的抗体皆可使用本领域已知的和/或本文中(包括实施例中)描述的方法和技术制备为人抗体。

#### [0222] 5. 文库-衍生抗体

[0223] 在一些实施方案中,本公开内容的抗IL-36的抗体可通过筛选组合文库中具有所需活性的抗体而进行分离。例如,可以使用一种方法来产生噬菌体展示文库,并且可以针对具有所需结合特性的抗体筛选该文库。在本文所公开的实施例中描述了噬菌体展示用于制备本公开内容的人源化版本的抗IL-36的抗体的亲和力成熟变体的用途。用于产生所述文库-衍生抗体的其他方法可见于以下文献中:例如Hoogenboom et al.,Methods in

Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., 编辑, Human Press, Totowa, NJ, 2001); McCafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352:624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1992); Marks 和 Bradbury, m Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, 编辑, Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338 (2):299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340 (5):1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101 (34):12467-12472 (2004); 和 Lee et al., J. Immunol. Methods 284 (1-2):119-132 (2004)。

[0224] 已考虑到组合文库筛选可用于产生本公开内容的抗IL-36的抗体的变体,使用本领域已知的方法和技术和/或采用本文中所述的那些改造本领域已知的方法和技术。例如,在实施例中描述了噬菌体展示文库产生和筛选用于制备大范围的本公开内容的抗IL-36的抗体的亲和力成熟变体的用途。

#### [0225] 6. 多特异性抗体

[0226] 在一些实施方案中,本公开内容的抗IL-36的抗体为多特异性抗体,例如三特异性抗体或双特异性抗体。在一些实施方案中,多特异性抗体为具有至少两个不同结合位点的单克隆抗体,每个结合位点对不同抗原具有结合特异性,其中至少一个特异性结合IL-36。通常,已考虑到本文中所公开的任何抗IL-36的抗体的结合特异性可纳入用于治疗IL-36介导的疾病的多特异性抗体中。例如,在一些实施方案中,多特异性抗体的至少一个结合位点特异性结合IL-36(例如IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ ),并且多特异性抗体的另一个结合位点结合与治疗IL-36介导的疾病相关的不同抗原。

[0227] 在一些实施方案中,如本文中其他地方所述,已考虑到多特异性抗体以高结合亲和力(例如3nM或更小)结合人IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的每一种。所述结合亲和力可测量为对SEQ ID NO:1的hu-IL-36 $\alpha$ 、SEQ ID NO:2的hu-IL-36 $\beta$ 和SEQ ID NO:3的hu-IL-36 $\gamma$ 的平衡解离常数( $K_D$ )。还已考虑到,在一些实施方案中,多特异性抗体可在一个臂中包含对IL-36 $\alpha$ 和/或IL-36 $\gamma$ 的特异性,和在另一个臂中包含对IL-36 $\beta$ 的特异性。

[0228] 用于制备多特异性抗体的技术包括但不限于具有不同特异性的两个免疫球蛋白重链-轻链对的重组共表达(参见例如Milstein and Cuello, Nature 305:537 (1983)、WO 93/08829以及Trauneker et al., EMBO J. 10:3655 (1991))。还可以使用“杵臼结构(knob-in-hole)”工程化(参见,例如美国专利第5,731,168号)。

[0229] 多特异性抗体还可通过有利于Fc-异源二聚体抗体分子而非同源二聚体的形成的工程化“静电转向”作用而制备(WO 2009/089004A1);交联两个或更多个抗体或片段(参见,例如美国专利第4,676,980号和Brennan et al., Science, 229:81 (1985));使用亮氨酸拉链产生双特异性抗体(参见,例如Kostelny et al., J. Immunol, 148 (5):1547-1553 (1992));使用用于制备双特异性抗体片段的“双特异抗体(diabody)”技术(参见,例如Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993));使用单链Fv(scFv)二聚体(参见,例如Gruber et al., J. Immunol, 152:5368 (1994));或三特异性抗体(参见,例如Tutt et al., J. Immunol. 147:60 (1991))。

[0230] 已考虑到本公开内容的任何抗IL-36的抗体可以使用本领域已知的和/或本文中所述的方法和技术制备为多特异性抗体。

[0231] 在本公开内容的一些实施方案中,已考虑到多特异性IL-36抗体包含针对一种或

多种不同IL-36细胞因子(IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ )的单独结合特异性。例如,多特异性抗体可以3nM或更小的亲和力结合IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ ,和/或将通过IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 刺激的细胞内信号降低至少90%,和/或在IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 的浓度为约EC<sub>50</sub>下,IC<sub>50</sub>为10nM或更小。如本文中其他地方所述,分离的人IL-36抗体对IL-36 $\alpha$ 和IL-36 $\gamma$ 具有高亲和力,但对IL-36 $\beta$ 具有较低亲和力,而分离的其他抗体对IL-36 $\beta$ 具有高亲和力,但对IL-36 $\alpha$ 和IL-36 $\gamma$ 具有较低亲和力。针对这些不同人IL-36细胞因子的这些特异性是亲和力成熟的并组合在单一多特异性IL-36抗体中。因此,在一些实施方案中,本公开内容提供一种多特异性抗IL-36的抗体,其在一个臂中具有对IL-36 $\alpha$ /IL-36 $\gamma$ 的靶特异性和高亲和力(例如1nM或更小),并在另一个臂中具有对IL-36 $\beta$ 的靶特异性和高亲和力(例如1nM或更小)。实施例详述了这种多特异性抗IL-36的抗体的制备和用途。

#### [0232] 7. 抗体变体

[0233] 在一些实施方案中,还已考虑到本公开内容的抗IL-36的抗体的变体。例如,具有改善的结合亲和力和/或抗体的其他生物学特性的抗体可通过向编码抗体的核苷酸序列中引入适当的修饰或通过肽合成而制备。这类修饰包括,例如,从抗体的氨基酸序列缺失,和/或插入抗体的氨基酸序列内,和/或抗体的氨基酸序列内残基的置换。可以产生缺失、插入和置换的任何组合以得到最终构建体,条件是最终构建体具有所需的IL-36抗原结合特征。已考虑到可以使用本领域已知的和/或本文中所述的方法和技术制备大范围的本公开内容的抗IL-36的抗体的变体,包括但不限于:(i)氨基酸置换、插入和/或缺失变体;(ii)糖基化变体;(iii)Fc区变体;(iv)半胱氨酸工程化变体;和(v)衍生化变体。

[0234] 本公开内容的实施例、表2和序列列表提供了大量两种特异性抗IL-36的抗体(“mAb2”和“mAb6\_2”)的示例性变体。示例性变体包含以下一种或多种:HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中的一系列单、双、三氨基酸置换,其提高了对IL-36 $\alpha$ / $\gamma$ 或IL-36 $\beta$ 的特异性亲和力和/或与IL-36介导的信号传导相关的基于细胞的阻断活性;赋予无效应子功能的Fc区变体(例如N297G);和产生允许多特异性抗体形成的“杵”和“臼”结构的重链置换。例如,表2中所公开的重链抗体序列还可包括羧基端赖氨酸(即“C端Lys”或“C端K”),在252、254和256位的YTE突变(即M252Y/S254T/T256E),或C端K和YTE突变两者。SEQ ID NO:170-241、243-245、248-250的重链序列的这些变体在表2(和随附的序列列表)中以SEQ ID NO:518-751提供。

#### [0235] A. 置换、插入和缺失变体

[0236] 在一些实施方案中,提供了除本文中所述的那些以外还具有一个或多个氨基酸置换的抗IL-36的抗体变体。突变的位点可包括HVR和FR。典型的“保守性”氨基酸置换和/或基于共有侧链类别或特性的置换是本领域公知的并且可用于本公开内容的实施方案中。本公开内容还已考虑到基于非保守性氨基酸置换的变体,其中氨基酸侧链类别之一的成员被交换为另一类别中的氨基酸。

[0237] 氨基酸侧链通常根据以下类别或共有特性分组:(1)疏水性:Met、Ala、Val、Leu、Ile、正亮氨酸;(2)中性亲水性:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;(3)酸性:Asp、Glu;(4)碱性:His、Lys、Arg;(5)链取向影响:Gly、Pro;和(6)芳香性:Trp、Tyr、Phe。

[0238] 用于将氨基酸置换到抗体中并随后筛选所需功能(例如,保留/改善的抗原结合、降低的免疫原性或改善的ADCC或CDC)的技术是本领域公知的。

[0239] 氨基酸置换变体可包括置换亲本抗体(例如人源化抗体或人抗体)的一个或多个

高变区残基。通常,选择用于进一步研究的所得的变体相对于亲本抗体在某些生物学特性上将具有修饰(例如,增加的亲和力、降低的免疫原性)和/或基本上保留亲本抗体的某些生物学特性。示例性置换的变体为亲和力成熟抗体,其可以例如使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术(例如本文实施例中所述的那些)方便地产生。简言之,一个或多个HVR残基被突变,并且变体抗体展示在噬菌体上并被筛选特定的生物活性(例如,结合亲和力)。

[0240] 用于识别可以被靶向突变的抗体的残基或区域的有用方法为“丙氨酸扫描突变”(参见例如,Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085)。在该方法中,靶残基的一个残基或组(例如荷电残基,例如Arg、Asp、His、Lys和Glu)被识别并被中性或荷负电的氨基酸(例如Ala或聚丙氨酸)替代,以确定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可以在对初始置换显示出功能敏感性的氨基酸位置处引入其他置换。替代地或另外地,可以确定抗原-抗体复合物的晶体结构以识别抗体和抗原之间的接触点。这些接触残基和相邻残基可以作为置换的候选物被靶向或消除。可以筛选变体以确定它们是否包含所需特性。

[0241] 氨基酸序列插入包括长度范围为一个残基到含有一百个或更多个残基的多肽的氨基端和/或羧基端融合物,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实例包括具有N端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的其他插入变体包括抗体的N端或C端与增加抗体的血清半衰期的酶或多肽的融合物。

[0242] 置换可以在HVR中进行以提高抗体亲和力。这种改变可以在“热点”(即通过在体细胞成熟过程中经历高频突变的密码子编码的残基)中进行(参见,例如Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)),并测试所得变体 $V_H$ 或 $V_L$ 的结合亲和力。在一个实施方案中,亲和力成熟可以通过构建二级文库并从二级文库中重新选择而进行(参见例如, Hoogenboom et al., *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., 编辑, Human Press, Totowa, NJ, (2001)))。另一种引入多样性的方法涉及HVR定向的方法,其中几个HVR残基(例如,一次4-6个残基)被随机化。例如使用丙氨酸扫描突变或建模,可特异性识别涉及抗原结合的HVR残基。特别是CDR-H3和CDR-L3通常被靶向。

[0243] 在一些实施方案中,置换、插入或缺失可发生在一个或多个HVR内,只要这种改变基本上不降低抗体结合抗原的能力。例如,基本上不降低结合亲和力的保守性改变(例如,本文中所提供的保守性置换)可以在HVR中产生。这种改变可位于HVR“热点”之外。在上文提供的变体 $V_H$ 和 $V_L$ 序列的一些实施方案中,每个HVR未改变,或包含不超过一个、两个或三个氨基酸置换。

#### [0244] B. 糖基化变体

[0245] 在一些实施方案中,改变本公开内容的抗IL-36的抗体以提高或降低抗体被糖基化的程度。向抗体添加或缺失糖基化位点可通过改变氨基酸序列以便产生或去除一个或多个糖基化位点而进行。

[0246] 在抗体包含Fc区的实施方案中,可以改变连接至Fc区的碳水化合物。通常,由哺乳动物细胞产生的天然抗体包含通过N-键连接到Fc区的CH2结构域的Asn297的支化双触角寡糖(参见,例如Wright et al. *TIBTECH* 15:26-32 (1997))。寡糖可包括各种碳水化合物,例如甘露糖、N-乙酰基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸,以及连接至双触角寡糖结构的“茎”中GlcNAc的岩藻糖。在一些实施方案中,抗体的Fc区寡糖的修饰可产生具有某些改进特性的变体。

[0247] 在一些实施方案中,本公开内容的抗IL-36的抗体可为亲本抗体的变体,其中所述变体包含缺乏(直接或间接)连接至Fc区的岩藻糖的碳水化合物结构。例如,在这类抗体中岩藻糖的量可为约1%至约80%,约1%至约65%,约5%至约65%,或约20%至约40%。岩藻糖的量可通过计算在Asn297处糖链内的岩藻糖的平均量确定,相对于通过MALDI-TOF质谱法测量的连接至Asn297的所有糖结构(例如,复合结构、杂交结构和高甘露糖结构)的总和计(参见例如W0 2008/077546)。Asn297是指位于Fc区中约第297位的天冬酰胺残基(Fc区残基的Eu编号);然而,由于抗体中的微小序列变异,Asn297还可位于第297位的上游或下游约±3个氨基酸处,即,294位和300位之间。

[0248] 在一些实施方案中,岩藻糖基化变体可具有改善的ADCC功能。参见,例如美国专利公开号US 2003/0157108或US 2004/0093621。“去岩藻糖基化”或“岩藻糖缺乏”抗体的实例及相关的制备其的方法公开于以下文献中:例如,US2003/0157108;US2003/0115614;US2002/0164328;US2004/0093621;US2004/0132140;US2004/0110704;US2004/0110282;US2004/0109865;W02000/61739;W02001/29246;W02003/085119;W02003/084570;W02005/035586;W02005/035778;W02005/053742;W02002/031140;Okazaki et al., J.Mol.Biol.336:1239-1249(2004);Yamane-Ohnuki et al.Biotech.Bioeng.87:614(2004)。

[0249] 用于产生去岩藻糖基化抗体的细胞系包括缺乏蛋白质岩藻糖基化的Led 3CHO细胞(参见例如,Ripka et al.Arch.Biochem.Biophys.249:533-545(1986);US2003/0157108和W02004/056312)和敲除细胞系,例如 $\alpha$ -1,6-岩藻糖基转移酶基因、FUT8、敲除CHO细胞(参见,例如Yamane-Ohnuki et al.Biotech.Bioeng.87:614(2004);Kanda,Y.et al., Biotechnol.Bioeng.,94(4):680-688(2006);和W02003/085107)。

#### [0250] C.Fc区变体

[0251] 在一些实施方案中,本公开内容的抗IL-36的抗体可包含Fc区中的一个或多个氨基酸修饰(即,Fc区变体)。Fc区变体可包含在一个或多个氨基酸残基位置包含氨基酸置换的人Fc区序列(例如,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc区)。下文描述了本领域已知的对本公开内容的抗IL-36的抗体有用的多种Fc区变体。

[0252] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体为具有改变的效应子功能的Fc区变体。在一些实施方案中,具有改变的效应子功能的抗体具有亲本抗体的一些(但非全部)效应子功能、降低的效应子功能或没有效应子功能(例如,无效应子)。对于其中效应子功能(例如ADCC)是不必要的或有害的和/或抗体的体内半衰期很重要的某些应用,更需要无效应子Fc区变体。

[0253] 具有降低的效应子功能或无效应子的Fc区变体抗体可包括在一个或多个以下Fc区位置的氨基酸置换:238、265、269、270、297、327和329。(参见例如美国专利第6,737,056号)。所述Fc区变体可包括在第265、269、270、297和327位中的两个或更多个处的氨基酸置换。这类Fc区变体还可包括将残基265和297二者置换为丙氨酸(参见例如美国专利第7,332,581号)。如本文实施例中和其他地方所公开的,在一些实施方案中,本公开内容的抗IL-36的抗体为无效应子Fc区变体。在一些实施方案中,抗IL-36的抗体的无效应子Fc区变体包含氨基酸置换N297G。

[0254] 具有改善的或减弱的与FcR的结合的Fc区变体公开于例如美国专利第6,737,056

号;WO 2004/056312;和Shields et al., J. Biol. Chem. 9 (2) :6591-6604 (2001) 中。具有改善的ADCC的Fc区变体可包含在例如Fc区的第298、333和/或334位(基于EU编号)处的一个或多个氨基酸置换。具有改变的(即改善或减弱的)C1q结合和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)的Fc区变体,如例如美国专利第6,194,551号、W099/51642和Idusogie et al., J. Immunol. 164:4178-4184 (2000) 中所记载。具有增加的半衰期和改善的与新生儿Fc受体(FcRn)结合的Fc区变体公开于例如US2005/0014934A1 (Hinton et al.) 中。这类Fc区变体包含在以下一个或多个位置处的氨基酸置换:238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424和434。具有增加的半衰期的其他Fc区变体包括记载于例如US 7658921B2 (Dall'Acqua et al.) 中的第252、254和256位处的一组YTE突变(即M252Y/S254T/T256E)。Fc区变体的其他实例可见于例如美国专利第5,648,260号和第5,624,821号;和W094/29351中。

[0255] 通常,可以进行体外和/或体内细胞毒性测定以确认Fc区变体中CDC和/或ADCC活性的降低/耗尽。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合测定以确保抗体缺乏Fc $\gamma$ R结合(因此可能缺乏ADCC活性)但保留FcRn结合的能力。介导ADCC的原代细胞、NK细胞仅表达Fc $\gamma$ RIII,而单核细胞表达Fc $\gamma$ RI、Fc $\gamma$ RII和Fc $\gamma$ RIII。评估目的分子的ADCC活性的体外测定的非限制性实例记载于美国专利第5,500,362号(参见,例如Hellstrom et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986) 和Hellstrom et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985); 5,821,337(参见Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)) 中。替代地,可以使用非放射性测定方法(参见,例如,流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定(Cell Technology, Inc. Mountain View, CA); 和 **CytoTox96**®非放射性细胞毒性测定(Promega, Madison, WI))。用于这类测定的有用的效应子细胞包括外周血单核细胞(PBMC)和自然杀伤(NK)细胞。替代地或另外地,可在体内(例如,在动物模型,例如公开于Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998) 中的模型)中评估目的分子的ADCC活性。还可进行C1q结合测定以确认抗体不能结合C1q并因此缺乏CDC活性。参见,例如W02006/029879和W02005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体激活,可以进行CDC测定(参见,例如Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M. S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003); 以及Cragg, M. S. and M. J. Glennie, SW 103:2738-2743 (2004))。FcRn结合和体内清除率/半衰期测定可以使用本领域已知的方法进行(参见,例如Petkova et al., Intl. Immunol. 18 (12) :1759-1769 (2006))。

[0256] 已考虑到本公开内容的抗IL-36的抗体的多种Fc区变体可以使用本领域已知的方法和/或本文中所述的方法和技术制备。例如,如实施例2、3和8中所述,用N297G氨基酸置换制备的Fc区变体赋予抗IL-36的抗体以无效效应子功能,并保留了基于细胞的阻断活性。

#### [0257] D. 半胱氨酸工程化变体

[0258] 在一些实施方案中,已考虑到本文中所述的抗IL-36的抗体可以在特定的非CDR位置处被半胱氨酸残基置换以产生反应性巯基基团。如本文中其他地方所述,这种工程化“硫代MAb”可用于将抗体与例如药物部分或接头-药物部分缀合,从而产生免疫缀合物。可以如例如美国专利第7,521,541号中所记载的产生半胱氨酸工程化抗体。在一些实施方案中,任何一个或多个以下抗体残基可被半胱氨酸置换:轻链的V205 (Kabat编号);重链的A118 (EU编号);和重链Fc区的S400 (EU编号)。

### [0259] E. 衍生化变体

[0260] 在一些实施方案中,本公开内容的抗IL-36的抗体可以用非蛋白质部分进一步修饰(即衍生化)。适用于抗体衍生化的非蛋白质部分包括但不限于水溶性聚合物,例如:聚乙二醇(PEG)、乙二醇和丙二醇的共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧戊环、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸均聚物或无规共聚物、和葡聚糖或聚(n-乙基吡咯烷酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如丙三醇)、聚乙烯醇及其混合物。在一些实施方案中,可以使用甲氧基-聚乙二醇丙醛进行抗体的修饰。聚合物可以具有任意分子量并且可以是支化或未支化的。连接至抗体的聚合物的数量可以变化,并且如果连接多于一种聚合物,它们可以是相同或不同的分子。通常,用于衍生化的聚合物的数量和/或类型可以基于以下考虑因素确定:包括但不限于抗体的特定特性或功能,例如抗体衍生物是否将用于规定条件下的治疗。

### [0261] 8. 免疫缀合物

[0262] 在一些实施方案中,本公开内容的抗IL-36的抗体还可为免疫缀合物,其中所述免疫缀合物包含与一种或多种细胞毒性剂缀合的抗IL-36的抗体。本公开内容考虑到的合适的细胞毒性剂包括化学治疗剂、药物、生长抑制剂、毒素(例如,蛋白质毒素,细菌、真菌、植物或动物来源的酶促活性毒素,或其片段)或放射性同位素。

[0263] 在一些实施方案中,免疫缀合物为抗体-药物缀合物(ADC),其中本文中所述的抗IL-36的抗体与一种或多种药物缀合。

[0264] 在一些实施方案中,本公开内容的免疫缀合物包含与用于治疗IL-36介导的疾病或病症的药物或治疗剂缀合的本文中所述的抗IL-36的抗体。

[0265] 在一些实施方案中,本文中所述的抗IL-36的抗体可与酶促活性毒素或其片段缀合,所述酶促活性毒素或其片段包括但不限于白喉A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链(来自铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒素A链、相思豆毒素A链、蒴莲根毒素(modeccin)A链、 $\alpha$ -帚曲霉素(sarcin)、三年桐(*Aleurites fordii*)蛋白、石竹素蛋白、美洲商陆(*Phytolaca americana*)蛋白、苦瓜(*Momordica charantia*)抑制剂、麻风树毒蛋白(curcin)、巴豆毒蛋白(crotin)、肥皂草(*Saponaire officinalis*)抑制剂、白树毒素、迈托毒素(mitogellin)、局限曲菌素(restrictocin)、酚霉素、依诺霉素和单端孢霉烯族毒素类(tricothecenes)。

[0266] 在一些实施方案中,本公开内容的免疫缀合物包含与放射性同位素缀合的本文中所述的抗IL-36的抗体(即放射性缀合物)。各种放射性同位素可用于产生所述放射性缀合物。实例包括 $^{211}\text{At}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 和Lu的放射性同位素。在一些实施方案中,免疫缀合物可包含用于闪烁显像检测(scintigraphic detection)的放射性同位素,或用于NMR检测或MRI的自旋标记物。合适的放射性同位素或自旋标记物可包括,如 $^{123}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{19}\text{F}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{17}\text{O}$ 、Gd、Mn和Fe的各种同位素。

[0267] 抗IL-36的抗体和细胞毒性剂的免疫缀合物可以使用各种公知的适合与蛋白质缀合的双功能试剂和化学物质制备。所述试剂包括但不限于:N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(N-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio)propionate)(SPDP)、琥珀酰亚胺基-4-(N-马来酰亚胺甲基)环己烷-1-羧酸酯(succinimidyl-4-(N-maleimidomethyl)

cyclohexane-1-carboxylate) (SMCC)、亚氨基硫杂环戊烷(iminothiolane) (IT)、亚胺酯的双功能衍生物(例如己二酰亚胺二甲酯(dimethyl adipimidate)HQ)、活性酯(例如辛二酸二琥珀酰亚胺酯)、醛(例如戊二醛)、双叠氮化合物(例如双-(对叠氮苯甲酰基)-己二胺)、双重氮鎓衍生物(例如双-(对重氮鎓苯甲酰基)-乙二胺)、二异氰酸酯(例如甲苯-2,6-二异氰酸酯)和双活性氟化合物(例如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。

[0268] 用于制备本公开内容的免疫缀合物的试剂还可包括可商购获得的“交联”试剂,例如:BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基-EMCS、磺基-GMBS、磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SIAB、磺基-SMCC和磺基-SMPB以及SVSB(琥珀酰亚胺-(4-乙烯基砜)苯甲酸酯)(参见例如,Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A)。

#### [0269] 9. 合成抗体

[0270] 在一些实施方案中,本公开内容的抗IL-36的抗体可为合成抗体,其包含一组来自嫁接到除免疫球蛋白支架或骨架以外的支架或骨架(例如替代性蛋白质支架或人工聚合物支架)上的抗IL-36免疫球蛋白的CDR(例如,CDR-L1等)。

[0271] 所考虑到的用于制备本公开内容的合成抗体的示例性替代性蛋白质支架可包括但不限于:纤连蛋白、新制癌菌素CBM4-2、脂质运载蛋白(lipocalin)、T细胞受体、蛋白-A结构域(蛋白Z)、Im9、TPR蛋白、锌指结构域、pVIII、禽胰多肽、GCN4、WW结构域Src同源结构域3、PDZ结构域、TEM-1 $\beta$ -内酰胺酶、硫氧还蛋白、葡萄球菌核酸酶、PHD-指结构域、CL-2、BPTI、APPI、HPSTI、大肠杆菌素(ecotin)、LACI-D1、LDTI、MTI-II、蝎毒素、昆虫防御素-A肽、EETI-II、Min-23、CBD、PBP、细胞色素b-562、Ldl受体结构域、 $\gamma$ -晶状体蛋白、泛素、转铁蛋白和/或C型类凝集素(lectin-like)结构域。

[0272] 可用于合成抗体的示例性人工聚合物(非蛋白质)支架记载于以下文献中:例如Fiedler et al., (2014) “Non-Antibody Scaffolds as Alternative Therapeutic Agents,” in Handbook of Therapeutic Antibodies (编辑S.Dübel and J.M.Reichert), Wiley-VCH Verlag GmbH&Co.; Gebauer et al., Curr. Opin. Chem. Biol., 13:245-255 (2009); Binz et al., Nat. Biotech., 23 (10):1257-1268 (2005)。

#### [0273] IV. 重组方法和组合物

[0274] 本公开内容的抗IL-36的抗体可以使用抗体产生领域中公知的重组方法和材料来产生。在一些实施方案中,本公开内容提供编码抗IL-36的抗体的分离的核酸。核酸可以编码包含抗体的V<sub>L</sub>的氨基酸序列和/或包含抗体的V<sub>H</sub>的氨基酸序列(例如,抗体的轻链和/或重链)。在一些实施方案中,提供了一种或多种包含编码本公开内容的抗IL-36的抗体的核酸序列的载体(例如,表达载体)。在一些实施方案中,提供了包含编码本公开内容的抗IL-36的抗体的核酸序列的宿主细胞。在一个实施方案中,所述宿主细胞已用包含核酸的载体转化,所述核酸编码包含抗体的V<sub>L</sub>的氨基酸序列和包含抗体的V<sub>H</sub>的氨基酸序列。在另一个实施方案中,所述宿主细胞已用包含核酸(其编码包含抗体的V<sub>L</sub>的氨基酸序列)的第一载体和包含核酸(其编码包含抗体的V<sub>H</sub>的氨基酸序列)的第二载体转化。

[0275] 在重组方法的一些实施方案中,所使用的宿主细胞为真核细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,或淋巴样细胞(例如,Y0、NS0、Sp20)。在一个实施方案中,提供了一种制备抗IL-36的抗体的方法,其中所述方法包括在适合表达抗体的条件下培养如上所提供的包含

编码所述抗体的核酸的宿主细胞,并任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)中回收抗体。

[0276] 简言之,抗IL-36的抗体的重组产生是通过分离编码抗体的核酸(例如,如本文中所述)并将该核酸插入一个或多个载体用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达而进行。使用本领域公知的常规步骤(例如,通过使用能够特异性结合编码所需抗体的重链和轻链的基因的寡核苷酸探针),将所述核酸容易地分离并测序。用于克隆或表达抗体-编码载体的合适的宿主细胞和培养方法是本领域公知的并且包括原核细胞或真核细胞。通常,在表达后,可将抗体在可溶性级分中从细胞糊状物(cell paste)中分离出并进一步纯化。除原核生物以外,真核微生物(例如丝状真菌或酵母)为用于抗体-编码载体的合适的克隆或表达宿主,其包括真菌和酵母菌株,它们的糖基化途径已被“人源化”,从而产生具有部分或完全人糖基化模式的抗体(参见例如,Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004),和Li et al.,Nat.Biotech.24:210-215(2006))。

[0277] 用于表达本公开内容的糖基化抗IL-36的抗体的合适的宿主细胞还可源自多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物和昆虫细胞。已经识别了许多杆状病毒菌株,其可与昆虫细胞结合使用,特别是用于草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)细胞的转染。植物细胞培养物也可用作宿主(参见,例如美国专利第5,959,177号、第6,040,498号、第6,420,548号和第7,125,978号)。

[0278] 可用于产生本公开内容的抗IL-36的抗体的哺乳动物宿主细胞系的实例包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,其包括DHFR-CHO细胞(参见例如,Urlaub et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));骨髓瘤细胞系,例如Y0、NS0和Sp2/0;以SV40转化的猴肾CV1系(COS-7);人胚肾系(293或293细胞,如例如Graham et al.,J.Gen.Virol.36:59(1977)中所记载);幼仓鼠肾细胞(BHK);小鼠支持细胞(Sertoli cell)(TM4细胞,如例如Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)中所记载);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);水牛大鼠肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TR1细胞(参见例如,Mather et al.,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)和US6,235,498);医学研究委员会5(MRC 5)细胞(例如,可从ATCC获得的那些,也称为CCL-171);和包皮4(FS4)细胞(参见例如,Vilcek et al.Ann.N.Y.Acad.Sci.284:703-710(1977),Gardner & Vilcek.J.Gen.Virol.44:161-168(1979),和Pang et al.Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.77:5341-5345(1980))。关于适用于抗体产生的有用的哺乳动物宿主细胞系的一般性综述,参见,例如Yazaki and Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo,ed.,Humana Press,Totowa,NJ),第255-268页(2003)。

[0279] V. 抗IL-36的抗体的药物组合物和制剂

[0280] 本公开内容还提供包含抗IL-36的抗体的药物组合物和药物制剂。在一些实施方案中,本公开内容提供包含如本文中所述的抗IL-36的抗体和药学上可接受的载体的药物制剂。在一些实施方案中,所述抗IL-36的抗体为药物组合物的唯一活性剂。这类药物制剂可通过将具有所需纯度的抗IL-36的抗体与一种或多种药学上可接受的载体混合而制备。通常,这类抗体制剂可制备为水溶液(参见例如,美国专利第6,171,586号和W02006/044908)或冻干制剂(参见例如,美国专利第6,267,958号)。

[0281] 还已考虑到包含本文中所公开的抗IL-36的抗体的组合物和制剂,除抗IL-36以

外,还可包含用于被给予所述制剂的受试者中待治疗的特定适应症的其他活性成分(即治疗剂)。优选地,任何其他治疗剂具有与抗IL-36的抗体活性互补的活性并且这些活性不会对彼此产生不利影响。因此,在一些实施方案中,本公开内容提供一种药物组合物,其包含本文中所公开的抗IL-36的抗体和药学上可接受的载体,且还包含用于治疗IL-36介导的疾病或病症的治疗剂。在一些实施方案中,例如在疾病适应症为癌症的情况下,所述治疗剂为适用于特定癌症的化学治疗剂。在一些实施方案中,组合物中的其他治疗剂为IL-1、IL-33、IL-36信号传导通路的拮抗剂。

[0282] 在一些实施方案中,本公开内容的组合物或制剂包含抗IL-36的抗体作为唯一活性剂,其中所述抗IL-36的抗体为以3nM或更小的结合亲和力结合人IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的每一种的多特异性抗体,任选地,其中所述结合亲和力是通过SEQ ID NO:1的hu-IL-36 $\alpha$ 、SEQ ID NO:2的hu-IL-36 $\beta$ 和SEQ ID NO:3的hu-IL-36 $\gamma$ 的平衡解离常数( $K_D$ )来测量。在一些实施方案中,所述多特异性抗体在一个臂中包含对IL-36 $\alpha$ 和/或IL-36 $\gamma$ 的特异性,和在另一个臂中包含对IL-36 $\beta$ 的特异性;任选地,其中一个臂以 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小、或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ ,并且另一个臂以 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小、或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\beta$ 。

[0283] 在一些实施方案中,本公开内容的组合物或制剂包含以3nM或更小的结合亲和力结合人IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的每一种的单一多特异性抗体,并且不包括任何其他抗IL-36的抗体,或任何其他能够结合IL-36的抗体。

[0284] 在所使用的剂量和浓度下,药学上可接受的载体通常对受体无毒。多种所述药学上可接受的载体是本领域公知的(参见例如,Remington的Pharmaceutical Sciences第16版,Osol, A.Ed. (1980))。可用于本公开内容的制剂的示例性药学上可接受的载体可包括但不限于:缓冲剂,例如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(例如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六甲双铵(hexamethonium chloride);氯化苯甲烃铵(benzalkonium chloride);氯化苄乙氧铵(benzethonium chloride);苯酚、丁醇或苯甲醇;对羟基苯甲酸烷基酯(alkyl paraben),例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,例如EDTA;糖,例如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇;形成盐的反离子,例如钠;金属络合物(例如,锌-蛋白质络合物);和/或非离子表面活性剂,例如聚乙二醇(PEG)。

[0285] 可用于本公开内容的制剂的药学上可接受的载体还可包括间质药物分散剂,例如可溶性中性活性透明质酸酶糖蛋白(sHASEGP)(参见例如,美国专利公开号2005/0260186和2006/0104968),例如人可溶性PH-20透明质酸酶糖蛋白(例如,rHuPH20或**HYLENEX**<sup>®</sup>, Baxter International, Inc.)。

[0286] 其他治疗剂和活性成分可以被包裹在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中,例如分别在胶体药物输送系统(例如,脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊)中或在粗乳液中的羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊。这类技术公开于Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol, A.Ed. (1980)中。

[0287] 在一些实施方案中,制剂可为抗体和/或其他活性成分的缓释制品。缓释制品的合适实例包括含有抗体的固体疏水性聚合物的半渗透性基质,所述基质为成型制品(例如薄膜)或微胶囊的形式。

[0288] 通常,待给予受试者的本公开内容的制剂是无菌的。无菌制剂可以使用公知的技术容易地制备,例如通过无菌过滤膜的过滤。

[0289] IV. 治疗的用途和方法

[0290] 已考虑到包含本公开内容的抗IL-36的抗体的任何组合物或制剂可用于任何方法或用途,例如在治疗方法中,其利用它们特异性结合IL-36和/或阻断IL-36活性的能力,特别是阻断IL-36通过细胞因子IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 介导细胞内信号传导的能力。由IL-36介导的细胞内信号传导通路至少包括通过细胞因子激动剂IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的信号传导通路。IL-36介导的信号传导通路的抑制可使用已知的基于细胞的阻断测定在体外测定,所述基于细胞的阻断测定包括本公开内容的实施例中所述的HEK-BLUE™报告细胞测定和基于原代细胞的阻断测定。

[0291] IL-36介导的疾病可包括与细胞因子的IL-1家族的异常功能相关的任何疾病或病症,其中IL-36R充当受体,其包括IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 。在某些情况下,所述异常功能与体液或组织中IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 水平升高相关,并且可包括,例如,超过特定细胞或组织中常见水平的水平,或可为通常不表达这些细胞因子的细胞或组织中的任何可检测的水平。通常,IL-36介导的病症或疾病表现出以下特征:(1)与病症或疾病相关的病状(pathology)可通过给予IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ ,和/或通过上调IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 的表达在动物中以实验方法诱导;和(2)与实验动物模型中产生的与病症或疾病相关的病状可通过已知抑制IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 作用的药剂抑制。

[0292] 已知IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 为促炎性细胞因子,然而,已知通过由IL-36R介导的这些细胞因子刺激的IL-36信号传导通路的异常功能与多种疾病和病症相关,所述疾病和病症通常包括但不限于炎性疾病、自身免疫性疾病、呼吸系统疾病、代谢紊乱、感染和癌症。例如,与IL-36信号传导的异常功能相关的病症和疾病范围包括但不限于:急性泛发性发疹性脓疱病(AGEP)、慢性阻塞性肺病(COPD)、儿童脓疱性皮炎、克罗恩病、湿疹、泛发性脓疱性银屑病(GPP)、炎性肠病(IBM)、掌跖脓疱性银屑病(PPP)、银屑病、银屑病关节炎、克罗恩病患者中TNF诱导的银屑病形式皮肤病变、舍格伦综合征、系统性红斑狼疮(SLE)、溃疡性结肠炎和葡萄膜炎。

[0293] 通过阻断IL-36R而靶向IL-36信号传导通路的药剂正处于临床开发阶段,用于治疗一系列疾病和病症,包括但不限于以下:GPP、PPP和溃疡性结肠炎。

[0294] 已考虑到包含本公开内容的抗IL-36的抗体的任何组合物或制剂可用在治疗与IL-36信号传导通路的异常功能相关的任何上文列出的疾病或病症的方法或用途中。通常,这些病症和疾病包括但不限于炎性疾病、自身免疫性疾病、呼吸系统疾病、代谢紊乱、感染和癌症。

[0295] 因此,在一些实施方案中,包含本公开内容的抗IL-36的抗体的组合物或制剂可用于用于治疗病症或疾病的方法、疗法、药物、诊断或用途中,所述病症或疾病选自由于表皮生长因子受体抑制剂引起的痤疮、痤疮和化脓性汗腺炎(PASH)、急性泛发性发疹性脓疱病(AGEP)、褶皱部位无菌性脓疱病、头皮/腿的无菌性脓疱病、无菌性角膜下脓疱病、无菌性脓

肿综合征、贝切特氏病、肠旁路综合征、慢性阻塞性肺病 (COPD)、儿童脓疱性皮炎、克罗恩病、白细胞介素-1受体拮抗剂缺乏症 (DIRA)、白细胞介素-36受体拮抗剂缺乏症 (DITRA)、湿疹、泛发性脓疱性银屑病 (GPP)、持久性隆起性红斑、化脓性汗腺炎、IgA天疱疮、炎性肠病 (IBD)、嗜中性脂膜炎、掌跖脓疱性银屑病 (PPP)、银屑病、银屑病关节炎、脓疱性银屑病 (DIRA、DITRA)、坏疽性脓皮病、化脓性关节炎坏疽性脓皮病和痤疮 (PAPA)、化脓性关节炎坏疽性脓皮病痤疮和化脓性汗腺炎 (PAPASH)、类风湿性嗜中性皮炎、滑膜炎痤疮脓疱病骨质增生和骨炎 (SAPHO)、克罗恩病患者中TNF诱导的银屑病形式皮肤病变、舍格伦综合征、斯威特氏综合征、系统性红斑狼疮 (SLE)、溃疡性结肠炎和葡萄膜炎。

[0296] 如本文中公开的(包括在下面的实施例中),本公开内容的抗IL-36的抗体具有降低、抑制和/或阻断由IL-36介导的细胞内信号传导的能力。因此,在一些实施方案中,本公开内容提供一种治疗受试者中IL-36介导的疾病或病症的方法,所述方法包括向受试者给予治疗有效量的本公开内容的抗IL-36的抗体或向有需要的受试者给予治疗有效量的包含本公开内容的抗IL-36的抗体和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0297] 如本文中其他地方所公开的,本公开内容的抗IL-36的抗体具有降低、抑制和/或阻断IL-36信号传导通路的能力。因此,本公开内容还提供治疗对IL-36信号传导通路的降低、抑制和/或阻断有反应的疾病和病症的方法。

[0298] 此外,本公开内容的抗IL-36的抗体具有降低、抑制和/或阻断由激动剂IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的细胞内信号传导的能力。因此,本公开内容还提供治疗对由激动剂IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的细胞内信号传导的降低、抑制和/或阻断有反应的疾病和病症的方法。

[0299] IL-1家族细胞因子,包括IL-36细胞因子(IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ ),参与影响肿瘤形成和多种形式癌症发展的炎性免疫应答。因此,在一些实施方案中,本公开内容提供一种治疗受试者中癌症的方法,所述方法包括向有需要的受试者给予治疗有效量的本公开内容的抗IL-36的抗体或向受试者给予治疗有效量的包含本公开内容的抗IL-36的抗体和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0300] IL-36信号传导通路与银屑病相关。因此,在一些实施方案中,本公开内容提供一种治疗受试者中银屑病的方法,所述方法包括向有需要的受试者给予治疗有效量的本公开内容的抗IL-36的抗体或向受试者给予治疗有效量的包含本公开内容的抗IL-36的抗体和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0301] 在一些实施方案中,本公开内容提供一种治疗和/或预防IL-36介导的疾病、IL-36信号传导通路介导的疾病和/或通过由激动剂IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的细胞内信号传导介导的疾病的方法。在这类治疗方法实施方案中,所述方法包括向有需要的受试者给予治疗有效量的抗IL-36的抗体,或包含本文中所述的抗IL-36的抗体的组合物或药物制剂。根据所述治疗方法的抗体、组合物或药物制剂的给药提供了抗体诱导的治疗效果,其保护受试者免于和/或治疗受试者的IL-36介导的疾病的进展。

[0302] 在一些实施方案中,抗IL-36的抗体是给予受试者的唯一活性剂。在其中抗IL-36的抗体是唯一活性剂的一些实施方案中,抗IL-36的抗体为以3nM或更小的结合亲和力结合人IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的每一种的多特异性抗体。相对于需要使用多种抗IL-36的抗体(例如,包含两种或更多种结合IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 的不同抗体的混合物的

组合)和/或结合其他抗原的其他抗体的方法,这种使用单一抗IL-36的抗体作为唯一活性剂的方法提供了优势。用单一抗体结合所有三种IL-36抗原的能力允许向受试者给予单一组合物或制剂,包括单剂量或多剂量的单一组合物或制剂。此外,已考虑到使用多特异性抗体给予的剂量数少于给予多种不同抗IL-36的抗体或抗IL-36和/或其他抗体的混合物时的剂量数。

[0303] 在一些实施方案中,治疗方法还可包括给予一种或多种本领域技术人员已知的其他治疗剂或治疗以预防和/或治疗IL-36介导的疾病或病症。包括给予一种或多种其他药剂的这类方法可包括组合给药(其中两种或更多种治疗剂包括在相同或单独的制剂中)和单独给药,在这种情况下,抗体组合物或制剂的给药可发生在其他治疗剂的给药之前、同时和/或之后。

[0304] 在本公开内容的治疗方法的一些实施方案中,将抗IL-36的抗体或包含抗IL-36的抗体的药物制剂是通过系统性地递送所述试剂的任何给药方式给予受试者,或给予至所需靶组织。系统性给药通常是指在除直接给予至所需靶位点、组织或器官中以外的位点将抗体给予受试者的任何方式,使得抗体或其制剂进入受试者的循环系统并因此受到代谢和其他相似过程的处理。

[0305] 因此,可用于本公开内容的治疗方法的给药方式可包括但不限于注射、输注、滴注和吸入。注射给药可包括静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、心室内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下(subcutaneous)、表皮下(subcuticular)、关节内、囊下(subcapsular)、蛛网膜下、脊柱内(intraspinal)、脑脊髓内(intracerebro spinal)和胸骨内注射和输注。

[0306] 在一些实施方案中,配制抗IL-36的抗体的药物制剂,使得保护抗体免于在肠中失活。因此,所述治疗方法可包括制剂的口服给药。

[0307] 在一些实施方案中,还提供了包含本公开内容的抗IL-36的抗体的组合物或制剂作为药物的用途。此外,在一些实施方案中,本公开内容还提供包含抗IL-36的抗体的组合物或制剂在制造或制备药物、特别是用于治疗、预防或抑制IL-36介导的疾病的药物中的用途。在另一个实施方案中,所述药物用治疗、预防或抑制IL-36介导的疾病的方法中,所述方法包括向患有IL-36介导的疾病的个体给予有效量的药物。

[0308] 在一些实施方案中,用作药物或用于药物制备中的组合物和制剂包含抗IL-36的抗体作为唯一活性剂。在一些实施方案中,用作药物或用于药物制备中的抗IL-36的抗体为以3nM或更小的结合亲和力结合人IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的每一种的多特异性抗体。在这类实施方案中,相对于需要多种抗IL-36或其他抗体的用途,单一多特异性抗IL-36的抗体在药物中或药物制备中作为唯一活性剂的用途提供了明显优势。包含对IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 的结合特异性的单一多特异性抗IL-36的抗体的使用允许简化的使用,因为在所使用的组合物或制剂中仅包括单一活性剂。

[0309] 在某些实施方案中,所述药物还包含有效量的至少一种其他治疗剂或治疗。

[0310] 在另一个实施方案中,所述药物用于治疗、抑制或预防受试者中的IL-36介导的疾病,包括向受试者给予有效量的药物以治疗、抑制或预防IL-36介导的疾病。

[0311] 为了预防或治疗IL-36介导的疾病或病症,包含在本公开内容的组合物和制剂中的抗IL-36的抗体的合适剂量(当单独使用或与一种或多种其他另外的治疗剂组合使用时)将取决于所治疗的具体疾病或病症、疾病的严重程度和病程、给予抗体是出于预防还是治

疗目的、给予患者的先前治疗、患者的临床病史和对抗体的反应以及主治医师的判定 (discretion)。包括在本文所述的组合物和制剂中的抗IL-36的抗体可以一次或在一系列治疗中被适当地给予患者。本文中已考虑到各种给药时间表,包括但不限于在不同时间点单次或多次给药、推注给药 (bolus administration) 和脉冲输注 (pulse infusion)。

[0312] 根据疾病的类型和严重程度,本公开内容的制剂中约1 $\mu$ g/kg至15mg/kg的抗IL-36的抗体为用于给予人受试者的初始候选剂量,无论是例如通过一次或多次单独给药,还是通过连续输注。通常,抗体的给药剂量范围为约0.05mg/kg至约10mg/kg。在一些实施方案中,可以向患者给予约0.5mg/kg、2.0mg/kg、4.0mg/kg或10mg/kg (或其任意组合) 的一种或多种剂量。

[0313] 剂量给药 (dosage administration) 可以维持数天或更长时间,这取决于受试者的情况 (condition), 例如,可以持续给药直至IL-36介导的疾病得到充分治疗,如通过本领域已知的方法确定。在一些实施方案中,可以给予初始较高负荷剂量,然后给予一种或多种较低剂量。然而,其他给药方案可能是有用的。剂量给药的治疗效果的进展可通过常规技术和测定来监测。

[0314] 因此,在本公开内容的方法的一些实施方案中,抗IL-36的抗体的给药包含约1mg/kg至约100mg/kg的每日剂量。在一些实施方案中,抗IL-36的抗体的剂量包含至少约1mg/kg、至少约5mg/kg、至少约10mg/kg、至少约20mg/kg或至少约30mg/kg的每日剂量。

[0315] 此外,本公开内容的抗IL-36的抗体可用于检测IL-36的测定方法。由于它们以高亲和力结合人IL-36的能力,本文中所公开的抗IL-36的抗体适用于多种测定方法和形式。已考虑到抗IL-36的抗体可用于任何已知的测定方法,例如竞争性结合测定、直接和间接夹层测定、免疫沉淀测定和酶联免疫吸附测定 (ELISA) (参见, Sola, 1987, *Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques*, 第147-158页, CRC Press, Inc.), 用于IL-36的检测和定量。因此,在一些实施方案中,本公开内容提供一种用于检测生物样品中IL-36水平的方法,所述方法包括将样品与本文所公开的抗IL-36的抗体接触的步骤。此外,在一些实施方案中,已考虑到检测生物样品中IL-36水平的方法可用于检测和/或诊断生物样品 (例如来自人受试者) 中IL-36介导的病症或疾病。

[0316] 实施例

[0317] 在以下代表性实施例中举例说明本公开内容的各种特征和实施方案,这些实施例旨在是说明性而非限制性的。本领域技术人员将容易理解,具体实施例仅用于说明在随后的权利要求书中更充分描述的本发明。本申请中所述的每个实施方案和特征均应理解为可与其中所包含的每个实施方案互换和组合。

[0318] 实施例1: IL-36多肽的产生

[0319] 该实施例举例说明在诱发和筛选本公开内容的抗IL-36的抗体中用作抗原的各种IL-36多肽构建体的制备。

[0320] 基于Towne等人 (2011) 中的信息以重组方法产生活性N端截短形式的人IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 、IL-36 $\gamma$ 、IL-36Ra (hu-IL-36 $\alpha$ 、hu-IL-36 $\beta$ 、hu-IL-36 $\gamma$ 、hu-IL-36Ra) 和食蟹猴IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 、IL-36 $\gamma$  (cy-IL-36 $\alpha$ 、cy-IL-36 $\beta$ 、cy-IL-36 $\gamma$ )。上文在表1和随附的序列表中提供了表达构建体的氨基酸序列边界。所有重组IL-36 $\alpha$ 和IL-36 $\beta$ 多肽构建体均具有用于纯化目的的N端“12xHis-SUMO”标签 (SEQ ID NO:8)。IL-36 $\gamma$ 的构建体具有以下用于纯化目的

的“12xHis-TEV”N端标签:HHHHHHHHHHHENLYFQS (SEQ ID NO:9)。IL-36Ra的构建体具有以下用于纯化目的的C端“GS-TEV-GS-huIgG1Fc-FLAG”标签 (SEQ ID NO:12) 以及用于哺乳动物细胞表达的N端分泌信号序列:MGWSCIIILFLVATATGVHS (SEQ ID NO:11)。如本文中其他地方所述,对于一些应用,IL-36构建体包括以下用于检测或捕获目的的C端“GS-AviTag” (IL-36-Avi):GGGGSLNDIFEAQKIEWHE (SEQ ID NO:10)。

[0321] 根据制造商的方案,IL-36构建体蛋白质在One Shot BL21 (DE3) 化学感受态大肠杆菌 (E.coli) (Thermo Fisher,Waltham,MA,USA) 中表达。标准IPTG9 (1mM) 诱导方案在卡那霉素 (Kanamycin) (25ug/mL) 选择的情况下在LB培养液 (broth) 中进行。诱导后,细胞在25摄氏度下生长20-24小时,并以沉淀形式收集。在溶菌酶 (100ug/mL) 和蛋白酶抑制剂中进行标准超声处理步骤以从大肠杆菌沉淀中提取可溶性蛋白质。向澄清的上清液中补充20mM咪唑 pH 7.5,并将其施加至在20mM Tris-HCl、150mM NaCl (TBS)、20mM咪唑 pH 7.5中平衡的HisTrap FF粗柱 (GE Healthcare,Chicago,IL,USA) 上。蛋白质用10CV梯度洗脱至100% TBS、500mM咪唑 pH 7.5。在根据制造商的方案用His-SUMO蛋白酶 (Thermo Fisher,Waltham,MA,USA) 或His-TEV蛋白酶 (ATUM,Newark,CA,USA) 切割N端融合标签后产生成熟形式的IL-36蛋白质构建体,所述方案具有以下变化:SUMO蛋白酶用10mM DTT预处理5分钟,然后用于含有TBS pH 7.5和10mM DTT反应 (每 $\mu\text{g}$ 底物约0.02个单位),在25摄氏度下进行18-24小时;TEV蛋白酶用于在25摄氏度下进行2小时的反应 (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )。蛋白酶处理后,使用HisTrap FF柱进行亲和纯化以除去切割的标签,并保留流过级分,然后上样至Superdex75增加柱 (increase column,GE Healthcare,Chicago,IL,USA) 上。将含有单体蛋白质的峰级分合并,并储存在25mM HEPES、150mM NaCl (HBS), pH 7.5、0.02% $\text{NaN}_3$ 中。

[0322] 根据制造商的方案,在Expi293F细胞 (Thermo Fisher Scientific,Waltham,MA,USA) 中表达C端Fc融合的IL-36Ra蛋白质。6天后收获细胞,并将澄清的上清液施加至在TBS中平衡的MabSelect SuRe柱 (GE Healthcare,Chicago,IL,USA) 上。将蛋白质在20mM柠檬酸盐 pH 2.95、150mM NaCl (CBS) 中洗脱,并立即用1/25体积1.5M Tris-HCl pH 8.8中和。如前所述,使用His-TEV蛋白酶除去C端Fc标签,然后使用HisTrap FF和MabSelect SuRe柱的组合进行亲和纯化以除去纯化标签和His-TEV蛋白酶。流过级分的后续纯化如先前针对IL-36蛋白质所描述的进行。

[0323] 对于一些应用,将IL-36蛋白质随机或位点特异性地生物素化。对于IL-36蛋白质的随机生物素化,根据制造商的说明使用NHS-PEG4-生物素 (Thermo Fisher,Waltham,MA,USA)。对于IL-36-Avi蛋白质的位点特异性生物素化,用表达IL-36-Avi和BirA生物素连接酶的质粒 (来自Avidity,Aurora,CO,USA的pBirAcm质粒) 共转化大肠杆菌。如前所述进行IPTG诱导,其中在起子培养步骤中添加氯霉素 (10ug/mL) 用于使用BirA基因的双重选择,并在诱导步骤中添加50 $\mu\text{M}$  d-生物素用于体内生物素化。

[0324] 实施例2:使用酵母展示方法产生抗人IL-36抗体、筛选和选择用于进一步表征

[0325] A. 通过酵母展示选择抗hu-IL-36的抗体

[0326] 人IL-36 $\alpha$  (BioLegend)、人IL-36 $\beta$  (Novus) 和人IL-36 $\gamma$  (Novus) 以N端截短的 (活性) 形式商购获得。为了酵母选择和筛选目的,根据制造商的方案,将这些IL-36蛋白质使用NHS-PEG4-生物素 (Pierce) 进行生物素化或使用NHS-4xPEG-DyLight-650 (Thermo Scientific) 用DyLight-650标记,目标是标签:蛋白质的比例为1-3:1。

[0327] 识别hu-IL-36的抗体是使用在酵母表面上展示的人抗体文库产生(美国专利第10,011,829号)。根据美国专利第10,011,829号中所述的方法(其在此通过引用的方式全文纳入本文中),产生酵母展示文库以展示基于5个VH、4个Vk和一个Vλ基因片段的Fab片段。合理设计了25个子文库,以提高CDR中的氨基酸多样性,同时保留抗体骨架区中的种系序列。经工程化的CDR中的氨基酸使用与观察到的人抗体数据库中那些可变区亚族(subfamilies)的氨基酸使用相匹配,所述数据库由具有超过350,000个天然存在的人抗体克隆的深度测序数据集产生。使用文库识别能够结合hu-IL-36的抗体的方法,包括扩增文库或由富集或分选过程中收获的酵母细胞的方法,以及在酵母的表面上诱导抗体表达以用抗原进行FACS分选的方法,如美国专利第10,011,829号中所述进行。

[0328] 由基于不同VH-Vk或VH-Vλ组合的单个文库组成的总抗体文库被分成两个池(pool)(文库1-13和文库14-25),以能够实现通过磁性激活的细胞分选(MACS)对识别hu-IL-36的克隆的高效初始富集。文库生长至原始文库滴度的最高3倍,并通过在20°C下用含有2%半乳糖的诱导培养基培养酵母来诱导抗体表达。进行三轮MACS,并扩增从每一轮中收获的细胞,使得10倍数量的所收获的酵母细胞用于下一轮MACS。

[0329] 对于MACS选择,将生物素化hu-IL-36α、hu-IL-36β和hu-IL-36γ蛋白质合并在一起。在连续三轮MACS富集中,每个文库酵母细胞池均用300nM的生物素化hu-IL-36α、hu-IL-36β和hu-IL-36γ中的每一种孵育。在4°C下在旋转下孵育2小时后,洗涤细胞并将3mL链霉亲和素包被的磁珠(Miltenyi Biotec, Auburn, CA)加入到每个池中。在4°C下在旋转下孵育1小时后,使用LS柱(Miltenyi Biotec, Auburn, CA)通过磁性激活珠分选对抗原结合细胞进行分选。将两个文库池中收获的细胞收集、合并、扩增10倍过夜,然后进行第二次MACS选择,其包括用杆状病毒和链霉亲和素包被的珠进行预清除耗尽,然后将剩余的酵母细胞用300nM的3种生物素化hu-IL-36细胞因子中的每一种孵育。第三轮MACS中收获的输入池的百分比为9.7%。

[0330] 在进行FACS分选实验以识别hu-IL-36蛋白质的高亲和力酵母克隆之前,测试不同的结合缓冲液以使非特异性结合最小化。用于hu-IL-36α和hu-IL-36β的最佳结合缓冲液为含有0.5%牛血清白蛋白(VWR Life Science, Radnor, PA, USA)的PBS,而使用hu-IL-36γ的实验需要含有过滤、溶解的5%奶粉(LabScientific, Highlands, NJ, USA)的PBS以使背景结合最小化。

[0331] 使用150nM的每种PEG4-生物素-IL-36细胞因子在含有所选结合缓冲液的单独等分试样中,并使用链霉亲和素-PE作为二级检测试剂,实施FACS1。收集抗原阳性细胞,将其扩增10倍,并用于另外两轮使用以PEG-DyLight-650标记的hu-IL-36蛋白质和与FACS1中相同的缓冲液条件进行的FACS(FACS2和FACS3)。在FACS3中收获的抗原阳性细胞百分比对于hu-IL-36α为2.3%,对于hu-IL-36β为1.0%,且对于hu-IL-36γ为11.4%。将0.2%的具有最高平均荧光强度的抗原阳性细胞铺板,并将单个克隆挑入深孔板中,并用诱导培养基培养48小时,以诱导Fab片段分泌到培养物上清液中。收获酵母培养物,通过离心除去细胞,然后通过ELISA测试含有Fab的上清液与其各自抗原的结合活性。

[0332] 对于使用酵母培养物上清液的ELISA,用250ng/孔中性亲和素(neutravidin)包被96孔ELISA板,用含有0.5%BSA的PBS(“封闭缓冲液”)封闭,然后每孔加入250ng的生物素化hu-IL-36α、hu-IL-36β或hu-IL-36γ。洗涤后,加入20μL培养基和30μL封闭缓冲液,将板在

室温下在摇动 (rocking) 下孵育1小时,洗涤并用抗人Fab HRP检测结合的Fab。来自这些单一细胞因子种类的大多数克隆表现出对在该初级ELISA中选择的hu-IL-36细胞因子的结合活性。在测试对所有三种hu-IL-36细胞因子的结合活性的二级ELISA中,观察到与hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ 两者(但不与hu-IL-36 $\beta$ )结合的克隆。因此,采用两种FACS分选策略来识别hu-IL-36 $\alpha/\gamma$ 交叉反应性克隆。

[0333] hu-IL-36 $\alpha$ /hu-IL-36 $\gamma$ 交叉反应性抗体的鉴定和选择

[0334] 在用于选择能够识别hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ 两者的克隆的第一种分选策略中,将用150nM PEG-Dylight-650-huIL-36 $\alpha$ 在FACS3中获得的细胞(2.3%抗原阳性)扩增10倍并用100nM PEG4-生物素-IL-36 $\alpha$ 分选,产生15.5%抗原阳性细胞(FACS4)。将这些细胞扩增并用100nM PEG-Dylight-650-huIL-36 $\gamma$ 染色,产生29.1%抗原阳性细胞(FACS5AG)。将在FACS5AG中收集的细胞扩增10倍并用10nM PEG-Dylight-650-huIL-36 $\gamma$ 和10nM PEG4-生物素-IL-36 $\alpha$ 染色(用链霉亲和素-PE检测),产生7.3%IL-36 $\alpha/\gamma$ 双阳性细胞(FACS6AG)。将在FACS6AG中收集的细胞扩增10倍并用10nM PEG-Dylight-650-huIL-36 $\alpha$ 和10nM PEG4-生物素-IL-36 $\gamma$ 染色(用链霉亲和素-PE检测),产生1.0%IL-36 $\alpha/\gamma$ 双阳性细胞(FACS7AG)。

[0335] 在用于选择能够识别hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ 两者的克隆的第二种分选策略中,将用150nM PEG-Dylight-650-huIL-36 $\gamma$ 在FACS3中获得的细胞(11.4%抗原阳性)扩增10倍并用100nM PEG4-生物素-IL-36 $\alpha$ 分选,选择抗原阳性细胞(FACS4GA)。将这些细胞扩增并用100nM PEG-Dylight-650-huIL-36 $\alpha$ 和100nM PEG4-生物素-IL-36 $\gamma$ 染色(用链霉亲和素-PE检测),产生1.0%IL-36 $\alpha/\gamma$ 双阳性细胞(FACS5GA)。将在FACS5GA中收集的细胞扩增10倍并用100nM PEG4-生物素-huIL-36 $\alpha$ (用链霉亲和素-PE检测)和100nM PEG-Dylight-650-huIL-36 $\gamma$ 染色,产生8.0%IL-36 $\alpha/\gamma$ 双阳性细胞(RFACS6GA)。将在RFACS6GA中收集的细胞扩增10倍并用100nM PEG-Dylight-650-huIL-36 $\alpha$ 和100nM PEG4-生物素-IL-36 $\gamma$ 染色(用链霉亲和素-PE检测),产生1.3%IL-36 $\alpha/\gamma$ 双阳性细胞(RFACS7GA)。

[0336] 将来自FACS7AG和RFACS7GA的具有最高平均荧光强度的0.2%的IL-36 $\alpha/\gamma$ 双阳性细胞铺板,挑选并培养单个克隆,然后如上所述通过ELISA测试含有Fab的上清液对hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ 的结合活性。选择结合hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ 两者的87个克隆用于测序。

[0337] 为了获得所选酵母克隆的抗体序列,将质粒DNA从酵母克隆中提取并用于使用正向引物和反向引物的PCR,所述正向引物结合酵母启动子区,所述反向引物结合重链的人IgG1-CH1区的恒定区和轻链的 $\kappa$ 或 $\lambda$ 链的恒定区。然后使用用于PCR反应的相同引物通过Sanger测序对PCR产物进行测序。

[0338] 87个hu-IL-36 $\alpha/\gamma$ 交叉反应性克隆按序列代表30个独特的克隆。

[0339] hu-IL-36 $\beta$ 反应性抗体的鉴定和选择

[0340] 在用于选择能够识别hu-IL-36 $\beta$ 的克隆的分选策略中,将用150nM PEG-Dylight-650-huIL-36 $\beta$ 在FACS3中获得的细胞(1.0%抗原阳性)扩增10倍,并用100nM PEG4-生物素-IL-36 $\beta$ 分选和用链霉亲和素-PE检测,产生13.1%抗原阳性细胞(FACS4B)。将这些细胞扩增并用20nM PEG-Dylight-650-huIL-36 $\beta$ 染色,产生5.8%IL-36 $\beta$ 阳性细胞(FACS5B)。

[0341] 将0.2%的具有最高平均荧光强度的来自FACS5B的IL-36 $\beta$ 阳性细胞铺板,挑选并培养单个克隆,然后如上所述通过ELISA测试含有Fab的上清液对其各自抗原的结合活性。

来自该分类的大多数克隆表现出对IL-36 $\beta$ 的结合活性。

[0342] 如上所述对总共83个IL36S7克隆进行测序,产生8个独特的克隆。

[0343] B. 含有抗hu-IL-36抗体的酵母细胞上清液的体外筛选

[0344] 如上所述通过ELISA测试来自目的酵母克隆的细胞上清液对人IL-36的结合。为了比较这些上清液与人和食蟹猴IL-36的结合,将IL-36蛋白质以2.5 $\mu$ g/mL涂覆于96孔Nunc MaxiSorp板(Thermo Fisher)上,并用溶于PBS中的5%山羊血清将板封闭。酵母上清液用含有1%w/v BSA的PBST 1:1稀释,并在搅拌下加入ELISA板中1-1.5小时。结合的Fab是通过用F(ab')<sub>2</sub>-HRP (Jackson ImmunoResearch) 孵育板来检测。通过添加50 $\mu$ L/孔的四甲基联苯胺(TMB)微孔过氧化酶底物(Scytek Laboratories, Inc., Logan, UT, USA)使ELISA显影3-10分钟,并通过用50 $\mu$ L/孔的2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, MO, USA)酸化而终止酶促显色。使用SpectraMax i3X酶标仪(Molecular Devices LLC, San Jose, CA, USA)分析样品在450nm波长下的光密度(OD<sub>450</sub>)。为了评估该测定中每个克隆对食蟹猴IL-36和人IL-36的相对亲和力,计算每个克隆和IL-36细胞因子的OD<sub>450</sub>比率(OD<sub>450</sub><sub>cyIL-36</sub>/OD<sub>450</sub><sub>huIL-36</sub>)。选择八个抗IL-36Fab克隆(mAb1.0-mAb8.0)用于进一步表征,并且结果示于表3中。

[0345] 表3:通过ELISA的所选抗IL-36Fab与hu-IL-36和cy-IL-36的结合。

抗体	ELISA OD <sub>450</sub>			ELISA OD <sub>450</sub> cyIL-36/OD <sub>450</sub> hu-IL-36		
	hu-IL-36 $\alpha$	hu-IL-36 $\beta$	hu-IL-36 $\gamma$	IL-36 $\alpha$	IL-36 $\beta$	IL-36 $\gamma$
mAb1.0	0.9398	0.0523	2.4295	0.6	N.T.	1.3
mAb2.0	2.5315	0.0604	2.5023	0.7	N.T.	1.2
mAb3.0	1.6265	0.1097	2.1116	0.5	N.T.	1.0
mAb4.0	2.1644	0.0513	2.2984	0.5	N.T.	1.2
mAb5.0	2.0511	0.1285	2.077	0.5	N.T.	1.0
mAb6.0	0.0638	2.3414	0.0656	N.T.	4.0	N.T.
mAb7.0	0.0604	2.5818	0.0724	N.T.	3.9	N.T.
mAb8.0	0.0698	2.6319	0.073	N.T.	0.1	N.T.
N.T.=未测试						

[0347] C. 基于细胞的测定以确定Fab上清液的阻断效力

[0348] 本实施例和以下实施例中所述的HEK-Blue细胞系使用HEK-293细胞系(人胚肾上皮细胞)作为原始亲本谱系。HEK-Blue IL-1/IL-33感觉细胞从InvivoGen(InvivoGen, San Diego, CA, USA; 目录#hkb-il33)获得。这些IL-1/IL-33感觉细胞(sensor cell)是通过用表达IL-33受体ST2的人ST2基因稳定转染HEK-Blue IL-1 $\beta$ 感觉细胞(InvivoGen; 目录#hkb-il1b)而产生。HEK-Blue IL-1 $\beta$ 细胞表达NF- $\kappa$ B/AP-1SEAP(分泌型胚胎碱性磷酸酶)报告基因,并包含灭活的TNF- $\alpha$ 响应,以确保SEAP产生代表IL-1或IL-33通路激活。根据制造商指南维持HEK-Blue IL-1/IL-33响应细胞。简言之,将细胞维持在标准生长培养基中,所述生长培养基由DMEM(Corning, Inc., Corning, NY, USA)组成,补充有10%胎牛血清(FBS)(Atlanta Biologicals, Inc., Flowery Branch, GA, USA)、100IU/mL青霉素和100 $\mu$ g/mL链霉素。所述生长培养基还补充有100 $\mu$ g/mL博莱霉素(zeocin)以维持编码SEAP的质粒、200 $\mu$ g/mL潮霉素B

以维持IL-1特异性和100 $\mu$ g/mL杀稻瘟菌素 (blasticidin) 以维持编码ST2的质粒。包含编码IL-36受体的人IL1RL2基因的质粒是通过AvantGen (定制订单) 产生。根据制造商指南使用LyoVec (InvivoGen) 瞬时转染HEK-Blue IL-1/IL-33感觉细胞。简言之,以转染后24小时会产生最少80%汇合度 (confluency) 的浓度,将LyoVec-DNA复合物直接加入到悬浮于标准生长培养基中的细胞中,并立即铺板于96孔平底板上。转染后24小时,将细胞用于标准HEK-Blue SEAP测定中。

[0349] 产生由连续稀释系列组成的激动剂剂量-反应曲线,以提供待用于测定中的激动剂的半最大有效浓度 ( $EC_{50}$ ) 的估算值。在一些HEK-Blue测定中,使用以下可商购获得的人细胞因子作为激动剂:IL-36 $\alpha$  (BioLegend)、IL-36 $\beta$  (Novus Biologicals) 和IL-36 $\gamma$  (Novus Biologicals)。在实验使用前24小时,将瞬时转染的细胞以在使用时产生最小80%汇合度的浓度铺板于96孔平底板上。将所需的激动剂加入细胞中至最终体积为200 $\mu$ L,并将细胞在37 $^{\circ}$ C和5%CO<sub>2</sub>下孵育24小时。使用SEAP检测测定对SEAP产生进行定量。在指定的各种条件下并根据通用制造商指南,使用SEAP检测培养基QUANTI-Blue (InvivoGen) 来测定SEAP水平。具体而言,将20 $\mu$ L细胞培养物上清液 (在激动剂添加后24小时收集) 加入到130 $\mu$ L QUANTI-Blue检测培养基中。允许反应在37 $^{\circ}$ C下进行一小时,此时使用SpectraMax (Molecular Devices) 分光光度计结合SoftMax Pro软件 (Molecular Devices) 测量650nm波长处吸光度。使用GraphPad Prism7软件分析原始测定数据以进行对测定中的激动剂 $EC_{50}$ 值的非线性回归测定。

[0350] 酵母细胞培养物上清液 (SN) 中未纯化的抗hu-IL-36Fab片段的HEK-Blue SEAP测定如上所述进行,但作出以下修改。将含有抗hu-IL-36Fab片段的未纯化的酵母细胞培养物SN浓缩20倍并缓冲液交换到PBS (1:20) 中以降低HEK-Blue SEAP测定中的背景噪声。将40 $\mu$ L PBS和10 $\mu$ L含有抗hu-IL-36Fab片段的经浓缩且缓冲液交换的酵母细胞培养物SN加入到用IL-36R转染的HEK-Blue IL-1/IL-33细胞中。将细胞和含有抗体的杂交瘤细胞培养物SN在37 $^{\circ}$ C和5%CO<sub>2</sub>下孵育一小时。在一小时抗体孵育后,以4X所需浓度,并以在200 $\mu$ L总体积内产生1X最终所需浓度的方式,将激动剂加入到含有细胞和抗体的孔中。通过测定从样品 (在这种情况下,含有抗hu-IL-36抗体的酵母细胞培养物SN) 中获得的吸光度值相对于阳性对照 (仅在含有不相关的Fab的酵母细胞培养物SN的存在下暴露于激动剂的细胞) 的比率并将该比率乘以100来计算抑制百分比。

[0351] 选择用于进一步表征的8个抗IL-36Fab克隆 (mAb1.0-mAb8.0) 的结果示于下表4中。所选克隆的序列还公开于表2和随附的序列表中。

[0352] 表4. 所选抗IL-36酵母克隆Fab上清液在基于HEK Blue细胞的测定中的阻断活性

酵母 Fab 上清液	抑制%		
	hu-IL-36a	hu-IL-36b	hu-IL-36g
mAb1.0	70	N.D.	31
mAb2.0	91	N.D.	89
mAb3.0	40	N.D.	64
mAb4.0	91	N.D.	57
mAb5.0	75	N.D.	75
mAb6.0	N.D.	86	N.D.
mAb7.0	N.D.	84	N.D.
mAb8.0	N.D.	85	N.D.

[0354] 基于表3和表4中总结的观察到的结合和阻断活性,五种IL-36 $\alpha$ /IL-36 $\gamma$ 交叉反应性抗体(mAb1.0-mAb5.0)和三种IL-36 $\beta$ 反应性抗体(mAb6.0-mAb8.0)以重组人IgG1和裂解的Fab片段的形式产生以用于进一步表征。根据制造商的说明,通过在Expi293或ExpiCHO细胞(Thermo Fisher Scientific)中瞬时共转染编码其重链和轻链的哺乳动物表达质粒来产生IgG。5-7天后收获细胞,并将澄清的上清液施加至在TBS中平衡的MabSelect SuRe柱(GE Healthcare,Chicago,IL,USA)上。将蛋白质在20mM柠檬酸盐pH 2.95、150mM NaCl(CBS)中洗脱,并立即用1/25体积1.5M Tris-HCl pH 8.8中和。Fab片段是通过赖氨酰-C(Lysyl-C)(Wako Chemicals)裂解产生。简言之,赖氨酰-C裂解是在含有100mM Tris pH 8.0的PBS中在37 $^{\circ}$ C和轻微搅拌下进行1小时,并通过将反应在50mM乙酸钠pH 5.2中稀释10倍而终止。通过将样品施加至在10mM乙酸钠pH 5.2中平衡的SP-HP阳离子交换柱(GE Healthcare,Chicago,IL,USA)上,并用30个柱体积梯度洗脱至100%10mM乙酸钠pH 5.2、1M NaCl来纯化Fab级分。将含有Fab的级分合并、浓缩并缓冲液交换到PBS中。

[0355] D. 所选抗IL-36的抗体的结合动力学分析

[0356] 使用BIAcore™ 8K仪器(GE Healthcare,Chicago,IL,USA)将表面等离子体共振(SPR)分析用于测定纯化的mAb2.0 Fab对hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ 的结合亲和力;和对纯化的mAb6.0 Fab的hu-IL-36 $\beta$ 的结合亲和力。简言之,将Biotin CAPture Reagent(GE Healthcare,Chicago,IL,USA)在HBS-EP缓冲液(GE Healthcare,Chicago,IL,USA;0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA、0.005%表面活性剂P20)中的1:4稀释液以2 $\mu$ L/min的流速施加至CAP传感器芯片。对于动力学测量,12.5nM生物素化hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ ;6nM生物素化hu-IL-36 $\beta$ 以10 $\mu$ L/min被捕获,以在第二个流动池(FC2)中获得25-40个响应单元。保持FC1作为参考。然后,在25 $^{\circ}$ C或37 $^{\circ}$ C下注射(流速:30 $\mu$ L/min)Fab蛋白在HBS-P缓冲液(GE Healthcare,Chicago,IL,USA;0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、0.005%表面活性剂P20)中从低(0.78nM的mAb2.0 Fab、1.56nM的mAb6.0 Fab)到高(100nM的mAb2.0 Fab、200nM的mAb6.0 Fab)的2倍连续稀释液。在使用BIAcore® 8K评估软件(GE Healthcare,Chicago,IL,USA;版本1.1.1.7442)进行数据分析之前,记录传感图并进行参考和缓冲液扣除。使用简单的一对一Langmuir结合模型计算结合速率( $k_{on}$ )和解离速率( $k_{off}$ )。平衡解离常数( $K_D$ )计算为 $k_{off}/k_{on}$ 的比率。

[0357] mAb2.0 Fab和mAb6.0 Fab的Biacore亲和力结果总结于下表5中。

[0358] 表5:所选抗IL-36的抗体在25°C和37°C下的结合亲和力( $K_D$ 、 $k_{on}$ 、 $k_{off}$ )

1:1 结合拟合		$K_D$ (nM)		$k_{on}$ (1/Ms)		$k_{off}$ (1/s)	
Fab	生物素化 hu-IL-36	25°C	37°C	25°C	37°C	25°C	37°C
[0360] mAb2.0	hu-IL-36 $\alpha$	1.2	0.3	$3.45 \times 10^5$	$1.69 \times 10^6$	$4.13 \times 10^{-4}$	$5.02 \times 10^{-4}$
mAb6.0	hu-IL-36 $\beta$	1.79	1.93	$4.04 \times 10^4$	$6.11 \times 10^4$	$7.23 \times 10^{-5}$	$1.18 \times 10^{-4}$
mAb2.0	hu-IL-36 $\gamma$	0.98	1.61	$3.66 \times 10^5$	$6.71 \times 10^5$	$3.58 \times 10^{-4}$	$1.08 \times 10^{-3}$

[0361] E. 重组抗IL-36的抗体在基于细胞的测定中的功能活性

[0362] 抗体在HEK Blue报告物测定中的hu-IL-36阻断活性

[0363] 使用以IL-36受体(IL1RL2)瞬时转染的HEK-Blue IL-1/IL-33感觉细胞,测试源自八个亲本酵母克隆(mAb1.0-mAb8.0)的重组抗hu-IL-36抗体,以确定它们阻断hu-IL-36 $\alpha$ 、hu-IL-36 $\beta$ 和hu-IL-36 $\gamma$ 介导的IL1RL2/IL1RAP通路的激活的能力。

[0364] 使用重组抗hu-IL-36抗体的HEK-Blue SEAP测定是以于上述使用酵母细胞培养物SN的测定相似的方式进行。简言之,在标准生长培养基中不存在激动剂的情况下,将抗体与细胞在37°C和5%CO<sub>2</sub>下孵育一小时。一小时孵育后,添加估算的EC<sub>50</sub>浓度的所需激动剂至最终体积为200 $\mu$ L,并允许实验再进行24小时。阴性对照(NC)代表仅暴露于生长培养基的细胞,而阳性对照(PC)代表仅暴露于激动剂的细胞(不存在拮抗抗体或对照抗体)。

[0365] 为了测定抗体(包括以下实施例中所述的Fab)的半最大抑制浓度(IC<sub>50</sub>),使用七点连续稀释系列(起始于所指定的浓度)。与本文中所述的激动剂剂量反应曲线一样,使用GraphPad Prism 7软件进行非线性回归分析以从测定结果中确定IC<sub>50</sub>值。

[0366] 在以下HEK-Blue测定中使用Hu-IL-36 $\alpha$ (SEQ ID NO:1)、hu-IL-36 $\beta$ (SEQ ID NO:2)和hu-IL-36 $\gamma$ (SEQ ID NO:3)作为激动剂。对所有mAb进行剂量反应。这些HEK Blue测定的结果示于下表6中。

[0367] 表6:重组抗hu-IL-36抗体的HEK Blue测定中的IL-36抑制

抗体	IC <sub>50</sub> (nM)		
	hu-IL-36 $\alpha$	hu-IL-36 $\beta$	hu-IL-36 $\gamma$
mAb1.0	43	N.D.	5.3
mAb2.0	5.7	N.D.	7.5
[0368] mAb3.0	90	N.D.	30
mAb4.0	16	N.D.	52
mAb5.0	95	N.D.	142
mAb6.0	N.D.	0.64	N.D.
mAb7.0	N.D.	1.4	N.D.
[0369] mAb8.0	N.D.	0.34	N.D.
N.D.=未检测到阻断活性			

[0370] 如测试的所有抗体的表6的HEK Blue测定结果所示,mAb2.0表现出对hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ 两者的最强效阻断活性,而mAb6.0表现出对hu-IL-36 $\beta$ 的强效阻断活性。

[0371] 抗体在HEK Blue报告物测定中的Cy-IL-36阻断活性

[0372] 使用用人IL-36受体IL1RL2瞬时转染的HEK-Blue IL-1/IL-33感觉细胞,测试重组抗hu-IL-36抗体mAb2.0和mAb6.0,以确定它们阻断食蟹猴IL-36 (cy-IL-36 $\alpha$ 、cy-IL-36 $\beta$ 和cy-IL-36 $\gamma$ ) 介导的IL1RL2/IL1RAP通路的激活的能力。使用食蟹猴IL-36进行的HEK-Blue SEAP测定以与上述使用人IL-36细胞因子的测定相似的方式进行。在该HEK-Blue测定中使用cy-IL-36 $\alpha$ 、cy-IL-36 $\beta$ 和cy-IL-36 $\gamma$  作为激动剂。生成由十二点连续稀释系列组成的激动剂剂量-反应曲线以证明cy-IL-36细胞因子通过人IL1RL2/IL1RAP通路的强效信号传导,并提供待用于测定中的激动剂的半最大有效浓度(EC<sub>50</sub>) 的估算值。为了测定抗体的半最大抑制浓度(IC<sub>50</sub>),使用11点连续稀释系列。与前述激动剂剂量反应曲线一样,使用GraphPad Prism 7软件进行非线性回归分析以从测定结果中确定IC<sub>50</sub>值。对所有mAb进行剂量反应。mAb2.0表现出对cy-IL-36 $\alpha$ 和cy-IL-36 $\gamma$  的强效阻断活性(IC<sub>50</sub>分别为0.56nM和1.71nM),而mAb6.0表现出对cy-IL-36 $\beta$ 的强效阻断活性(IC<sub>50</sub>为1.96nM)。

#### [0373] 抗hu-IL-36抗体在HaCat细胞的IL-36刺激的IL-8分泌中的阻断活性

[0374] 人角质形成细胞细胞系HaCat源自于组织学上正常皮肤的体外自发转化的角质形成细胞。HaCat细胞系可商购获得,并且从AddexBio(目录#T002000)获得。使用制造商所推荐的通用指南解冻和维持冷冻保存的(cryopreserved)细胞。将HaCat细胞维持在由DMEM与L-谷氨酰胺、4.5g/L葡萄糖和丙酮酸钠(Corning)组成的生长培养基中,补充有10%胎牛血清(Atlanta Biologicals)(其在使用前进行热灭活(56°C下持续30分钟))、100IU/mL青霉素和100 $\mu$ g/mL链霉素、1mM丙酮酸钠(Corning)。在实验使用前一天,将HaCat细胞以10,000个细胞/孔接种于平底96孔板上,以在使用当天达到约80-85%汇合度。

[0375] 在用于抗体阻断测定之前,激动剂EC<sub>50</sub>是通过以与实施例2中针对HEK Blue细胞所述的相似方式进行激动剂剂量-反应曲线而测定,但作出下述修改。在仅含有HaCat细胞生长培养基的孔中向HaCat细胞中添加激动剂后(最终体积为200 $\mu$ L),将细胞放回组织培养箱中(37°C和5%CO<sub>2</sub>) 24小时。然后收集组织培养物上清液并在-20°C下储存。

[0376] 如上对HEK Blue细胞进行抗体阻断测定,但以有助于获得IC<sub>50</sub>值的方式进行,并作出修改以特别说明HaCat细胞使用。简言之,将抗hu-IL-36IgG抗体、天然IL-36拮抗剂IL-36Ra或适当的抗体对照(例如Hu IgG1 Ctrl)与HaCat细胞在37°C下孵育1小时,然后添加激动剂(IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 或IL-36 $\gamma$ )。允许实验再进行24小时(37°C和5%CO<sub>2</sub>),收集细胞培养物上清液并如下所述进行IL-8的定量。

[0377] 根据制造商指南,使用人IL-8ELISA试剂盒(Thermo Fisher Scientific)对上清液中的IL-8水平进行定量。使用GraphPad Prism软件分析获得的原始数据,并使用线性回归分析进行插值。然后使用非线性回归3参数分析对插值数据进行分析以推导出激动剂EC<sub>50</sub>值和抗体IC<sub>50</sub>值。

[0378] 如图1A和图1C中的结果所示,mAb2.0表现出对hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$  的强效阻断活性(IC<sub>50</sub>分别为0.28nM和1.23nM),而如图1B所示,mAb6.0在HaCat人角质形成细胞细胞系中表现出对hu-IL-36 $\beta$ 的强效阻断活性(IC<sub>50</sub>为0.082nM)。mAb2.0对hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$  的阻断效力优于天然拮抗剂IL-36Ra的阻断效力(分别为100倍和12倍),并且mAb6.0对hu-IL-36 $\beta$ 的阻断效力优于IL-36Ra的阻断效力(1000倍)。

#### [0379] 抗IL-36的抗体在阻断原代人角质形成细胞的IL-36刺激的IL-8分泌中的活性

[0380] 原代人新生儿混合角质形成细胞(HEKn)可商购获得,并且从ThermoFisher(目录#

A13401) 获得。将细胞从正常(无疾病)捐赠的人体组织中分离出并由制造商冷冻保存。使用制造商所推荐的通用指南解冻和维持细胞。将HEK293T细胞维持在由EpiLife培养基(ThermoFisher)与人角质形成细胞生长补充剂(ThermoFisher)、100IU/mL青霉素和100 $\mu$ g/mL链霉素组成的生长培养基中。在实验使用前一天,将HEK293T细胞以10,000个细胞/孔接种于平底96孔板上,以在使用当天达到约80-85%汇合度。

[0381] 在用于抗体阻断测定之前,激动剂EC<sub>50</sub>是通过以与实施例2中针对HaCat细胞所述的相似方式进行激动剂剂量-反应曲线而测定,但作出以下修改。在仅含有细胞生长培养基的孔中向HEK293T细胞中添加激动剂后(最终体积为200 $\mu$ L),将细胞放回组织培养箱中(37 $^{\circ}$ C和5%CO<sub>2</sub>) 24小时。然后收集组织培养物上清液并在-20 $^{\circ}$ C下储存。

[0382] 如上对HaCat细胞进行抗体阻断测定。简言之,将 $\alpha$ -IL-36IgG或适当的抗体对照(例如Hu IgG1 Ctrl)与所指定的HEK293T细胞在37 $^{\circ}$ C下孵育1小时,然后添加激动剂(IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 或IL-36 $\gamma$ )。允许实验再进行24小时(37 $^{\circ}$ C和5%CO<sub>2</sub>),收集细胞培养物上清液并如下所述进行IL-8的定量。

[0383] 根据制造商指南,使用人IL-8ELISA试剂盒(Thermo Fisher Scientific)对上清液中的IL-8水平进行定量。使用GraphPad Prism软件分析获得的原始数据,并使用线性回归分析进行插值。然后使用标准非线性回归3参数分析对插值数据进行分析以推导出激动剂EC<sub>50</sub>值和抗体IC<sub>50</sub>值。

[0384] 如图2A和图2C中HEK293T测定结果所示,mAb2.0表现出对hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ 的强效阻断活性(IC<sub>50</sub>分别为0.33nM和2.27nM),而如图2B所示,mAb6.0在原代人成人角质形成细胞中表现出对hu-IL-36 $\beta$ 的强效阻断活性(IC<sub>50</sub>为1.75nM)。

[0385] 实施例3:mAb6.0 HC/mAb2.0 LC嵌合体mAb6.0\_2.0在结合和阻断hu-IL-36 $\beta$ 中的活性

[0386] 类似于上文实施例2中所述的其他IgG产生mAb6.0\_2.0,区别在于共转染mAb6.0的重链和mAb2.0的轻链。

[0387] 使用BIAcore™ 8K仪器(GE Healthcare,Chicago,IL,USA)将表面等离子体共振(SPR)分析用于测定mAb6.0\_2.0IgG对hu-IL-36 $\beta$ 的结合亲和力。简言之,在HBS-P缓冲液(GE Healthcare,Chicago,IL,USA;0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、0.005%表面活性剂P20)中的6nM mAb6.0\_2.0IgG或mAb6.0 IgG以10 $\mu$ L/min被捕获在蛋白A传感器芯片(GE Healthcare,Chicago,IL,USA)上,以在第二个流动池(FC2)中达到50-60个响应单元。保持FC1作为参考。然后,在37 $^{\circ}$ C下注射(流速:30 $\mu$ L/min) hu-IL-36 $\beta$ 在HBS-P缓冲液中从低(0.046nM的hu-IL-36 $\beta$ )到高(100nM的hu-IL-36 $\beta$ )的3倍连续稀释液。在使用BIAcore® 8K评估软件(GE Healthcare,Chicago,IL,USA;版本1.1.1.7442)进行数据分析之前,记录传感图并进行参考和缓冲液扣除。使用简单的一对一Langmuir结合模型计算结合速率(k<sub>on</sub>)和解离速率(k<sub>off</sub>)。平衡解离常数(K<sub>D</sub>)计算为k<sub>off</sub>/k<sub>on</sub>的比率。

[0388] mAb6.0\_2.0IgG结合hu-IL-36 $\beta$ 的K<sub>D</sub>为6.7nM(k<sub>on</sub>=3.20 $\times$ 10<sup>5</sup>1/Ms,k<sub>off</sub>=2.14 $\times$ 10<sup>-3</sup>1/s),而mAb6.0IgG结合hu-IL-36 $\beta$ 的K<sub>D</sub>为0.42nM(k<sub>on</sub>=3.62 $\times$ 10<sup>5</sup>1/Ms,k<sub>off</sub>=1.15 $\times$ 10<sup>-4</sup>1/s)。因此,mAb6.0\_2.0比mAb6.0低16倍的亲和力结合hu-IL-36 $\beta$ 。

[0389] 为了测定mAb6.0\_2.0IgG的体外阻断效力和功效,本发明人评估了其抑制HaCat细胞的hu-IL-36 $\beta$ 刺激的IL-8分泌的能力。如实施例2中所述进行HaCat细胞测定。简言之,将

mAb6.0\_2.0IgG、mAb6.0 IgG或适当的抗体对照(例如Hu IgG1 Ctrl)与HaCat细胞在37°C下孵育1小时,然后添加hu-IL-36 $\beta$ 激动剂。允许实验再进行24小时(37°C和5%CO<sub>2</sub>),收集细胞培养物上清液并如实施例2中所述进行IL-8的定量。然后使用GraphPad Prism软件中的标准非线性回归分析对插值数据进行分析以推导出抗体IC<sub>50</sub>值。

[0390] 发现mAb6.0\_2.0IgG抑制HaCat角质形成细胞细胞系的hu-IL-36 $\beta$ 刺激的IL-8分泌,其效力比mAb6.0 IgG的效力低16倍(mAb6.0\_2.0 IC<sub>50</sub>=12.7nM;mAb6.0 IC<sub>50</sub>=0.8nM)。

[0391] 实施例4:使用噬菌体文库淘选(panning)的抗IL-36的抗体的亲和力成熟

[0392] 本实施例举例说明对IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\alpha/\gamma$ 具有改善的亲力的mAb6.0\_2.0和mAb2.0抗体的亲和力成熟形式的制备。

[0393] A.防止焦谷氨酸(pyroglutamate)转化的突变

[0394] 为了防止形成焦谷氨酸变体,谷氨酰胺(Q或Gln)可突变为谷氨酸(E或Glu)(Amphlett,G.et al.,Pharm.Biotechnol.,9:1-140(1996))。mAb2.0和mAb6.0的重链可变结构域和轻链可变结构域中的位置1(根据Kabat编号)是通过基因合成从谷氨酰胺(Q)突变为谷氨酸(E),以产生抗体mAb2、mAb6和mAb6\_2。将可变结构域克隆到含有8xHis标签的哺乳动物Fab表达构建体中以产生Fab蛋白。还可以在mAb1.0、mAb3.0、mAb4.0、mAb5.0、mAb7.0和mAb8.0中在位置1作相似突变。

[0395] B.mAb6\_2亲和力成熟NNK文库构建和淘选

[0396] 为了提高与mAb2轻链配对的mAb6重链(mAb6\_2,共同轻链双特异性分子的一个臂)对人IL-36 $\beta$ 的亲和力,由mAb6\_2以Fab-amber形式构建噬菌体文库,用于单价Fab噬菌体展示,其中使用用32个密码子编码所有20个氨基酸的NNK简并密码子使重链HVR残基(即HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3)随机化(Brenner et al.,1992)(其中mAb2轻链残基保持不变)。设计文库以在三个重链HVR的每一个中允许一个NNK突变。然后使用Kunkel诱变(Kunkel et al.,1987)使用合成的突变寡核苷酸构建重链文库。将所得的文库DNA电穿孔到大肠杆菌XL1细胞中,产生约4X10<sup>9</sup>个转化体。噬菌体文库在SUPERBLOCK<sup>TM</sup> PBS缓冲液(Pierce)和0.05%**TWEEN**<sup>®</sup>20中孵育30分钟,然后施加至人IL-36 $\beta$ 涂覆的板上用于第一轮淘选。在随后的两到三轮中,将噬菌体文库与浓度降低的生物素化人IL-36 $\beta$ 孵育,其中1000x非生物素化人IL-36 $\beta$ 作为溶液中的竞争物,以增加选择严格性。

[0397] C.来自亲和力成熟NNK文库的mAb6\_2噬菌体变体的表征

[0398] 纯化所选的具有最高结合信号的噬菌体以进行噬菌体竞争ELISA。最佳噬菌体浓度是在NUNC F板中与在ELISA缓冲液(PBS中的0.5%BSA和0.05%**TWEEN**<sup>®</sup>20)中连续稀释的人IL-36 $\beta$ 孵育两小时。将80 $\mu$ l混合物转移至人IL-36 $\beta$ 涂覆的孔中15分钟以捕获未结合的噬菌体。用洗涤缓冲液(PBS中的0.05%**TWEEN**<sup>®</sup>20)洗涤板,并将HRP缀合的抗M13抗体(Sino biological,目录#11973-MM05-H-50)加入到ELISA缓冲液中30分钟。将板在室温下在搅拌下孵育一小时,用洗涤缓冲液洗涤六次并通过添加100 $\mu$ l/孔的1Step Turbo TMB底物(ThermoFisher,目录#34022)显影15分钟。使用50 $\mu$ l/孔的2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>终止酶促反应。使用Perkin Elmer酶标仪(Envision 2103多标签读数仪)在450nm处对板进行分析。将450nm处的吸光度绘制为溶液中抗原浓度的函数以确定噬菌体IC<sub>50</sub>。使用其作为对展示在噬菌体表面上的Fab克隆的亲和力评估。还使用Biacore测量纯化的Fab分子对噬菌体变体的真实亲

和力(方法详细记载于下文E部分)。变体HVR序列、噬菌体IC<sub>50</sub>汇总和K<sub>D</sub>值示于下表7中。

[0399] 表7.mAb6\_2变体HVR序列、针对hu-IL-36β的IC<sub>50</sub>和K<sub>D</sub>值

变体	HVR-H1 (30-35A)	HVR-H2 (50-61)	HVR-H3 (93-102)	IC <sub>50</sub> (nM)	Biacore K <sub>D</sub> (nM)
mAb6_2	TSSNYYW	SIDYTGSTYYNP	ARGKYYETYLGFDV	8.57	40.1
mAb6_2.1	TSTNYYW	NIDYTGSTYYNA	ATGKYYETYLGFDV	0.77	3.50
mAb6_2.2	TSSNAYW	SIDYTGSTAYNP	AHGKYYETYLGFDV	1.04	2.55
mAb6_2.3	TASNYYW	SIDYTGSTYYNT	ATGKYYETYLGFDV	0.49	1.62
mAb6_2.4	TASNYYW	SIDYTGSTYYNP	ATGKYYETYLGFDV	ND	1.05

[0401] D.mAb6\_2亲和力成熟文库的下一代测序

[0402] 为了进一步提高mAb6\_2的亲和力,进行了对mAb6\_2亲和力成熟文库的下一代测序(NGS)。从携带来自初始噬菌体文库(未分选文库)和来自第二轮和第三轮溶液选择(分选文库)的噬菌粒的大肠杆菌XL-1细胞中分离出噬菌粒双链DNA。纯化的DNA用作模板,以使用Illumina16s文库制备方案产生VH区的扩增子。使用Illumina Nextera XT Index Kit添加测序接头(adapter)和双索引条码。在准备用于在Illumina MiSeq仪器(Illumina, San Diego, USA)上测序时,使用MiSeq Reagent Kit v3对接头连接的扩增子进行标准Illumina文库变性和样品上样方案(600次循环)。进行双端(paired-end)测序以覆盖插入尺寸为200bp至300bp的扩增子的全长。

[0403] 首先使用双端汇编器(assembler)PANDAseq(Masella et al., 2012)汇编双端测序数据以获得完整扩增子。然后对鉴定的扩增子进行质量控制(QC),其中检查每个扩增子中序列插入或缺失和终止密码子的缺失情况,并且每个CDR序列仅允许携带至多一个NNK突变,且没有非NNK突变。通过计算每个随机位置的所有突变的频率产生位置权重矩阵。如前所述(Koenig et al., 2015),通过将分选样品中给定位置的给定突变的频率除以未分选样品中完全相同突变的频率来计算每个突变的富集比。在支持mAb6\_2与hu-IL-36β结合改善的HVR中的预测突变总结于下表8中。

[0404] 表8.支持hu-IL-36β结合的mAb6\_2中的预测突变

结构域	位置	具有改善的结合的置换
HVR-H1 <sup>1</sup>	T30	D, E, N
	S31	A, E, G, K, Q, R, T
	S32	A, D, E, G, N, P, Q, T
	Y34	A, E, G, H, M, N, Q, S, T, V
	W35A	F, I, V, Y
HVR-H2 <sup>2</sup>	S50	N, T

	I51	M, V
	Y53	H
	T54	H, L, N
	G55	A, D, E, H, K, N, Q, R, S, T
	S56	A, D, Q, T
	T57	A, D, E
	Y58	A, F, Q, S, W
[0406]	N60	D, E, H, P, Q
	P61	A, E
	HVR-H3 <sup>3</sup> R94	A, E, G, H, M, N, Q, S, T, Y
	K96	A, S
	E99	T
<sup>1</sup> 来自位置 30-35A 的 HVR-H1 <sup>2</sup> 来自位置 50-61 的 HVR-H2 <sup>3</sup> 来自位置 93-102 的 HVR-H3		

[0407] E.mAb6\_2亲和力改善的NGS变体的表征

[0408] mAb6\_2亲和力改善的NGS Fab变体的产生

[0409] 根据来自NGS分析的预测突变(上表8中所示),合成了具有变体HVR序列(下表9中所示)的所选mAb6\_2 NGS Fab,用于克隆到含有8xHis标签的哺乳动物Fab表达构建体中以产生Fab蛋白。根据制造商的方案,使用1:1的HC:LC比将编码重链或轻链的质粒瞬时转染到Expi293F细胞(Thermo Fisher)中。通过以下方式使用HisPur Ni-NTA柱纯化Fab:用1x磷酸盐缓冲液pH 7.2 (PBS) 将上清液稀释1.5x,加入10mM咪唑,并以分批方式与树脂结合2小时。树脂流满整个柱并用20CV PBS+20mM咪唑洗涤并用5CV PBS+250mM咪唑洗脱。使用PD10柱(GE)将样品缓冲液交换到PBS中。

[0410] 使用SPR对mAb6\_2亲和力改善的NGS Fab变体的亲和力测定

[0411] 为了测定重组mAb6\_2 NGS Fab变体在37°C下对人IL-36β的结合亲和力,使用BIAcore™ 8K仪器进行SPR测量。简言之,将Biotin CAPture Reagent (GE) 在HBS-EP缓冲液(0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA、0.005%表面活性剂P20)中的1:4稀释液以2uL/min的流速施加至CAP传感器芯片。对于动力学测量,以10uL/min捕获6nM生物素化人IL-36β,以在第二个流动池(FC2)中获得约50个响应单元。保持FC1作为参考。然后,在37°C下注射(流速:10uL/min)Fab在HBS-P缓冲液(0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、0.005%表面活性剂P20)中从低(3.125nM)到高(200nM)的3倍连续稀释液。在通过BIAcore® 8K评估软件(版本1.1.1.7442)评估之前,记录传感图并进行参考和缓冲液扣除。使用简单的一对一Langmuir结合模型计算结合速率( $k_{on}$ )和解离速率( $k_{off}$ )。平衡解离常数( $K_D$ )计算为 $k_{off}/k_{on}$ 的比率。总结于表9中。

[0412] 表9.mAb6\_2变体HVR序列、其针对hu-IL-36β的 $k_{on}$ 、 $k_{off}$ 和 $K_D$ 值

Fab 标识符	HVR-H1 (30-35A)	HVR-H2 (50-61)	HVR-H3 (93-102)	$k_{on}$ (1/Ms)	$k_{off}$ (1/s)	$K_D$ (nM)
mAb6_2	TSSNYYW	SIDYTGSTYYNP	ARGKYYETYLGFDV	$8.72 \times 10^4$	$1.28 \times 10^{-3}$	14.7
mAb6_2.5	TASNYYW	SIDYTGSTYYEP	ATGSYYETYLGFDV	$7.17 \times 10^5$	$4.76 \times 10^{-4}$	0.66
mAb6_2.6	TASNYYW	SIDYTGSTYYEP	ATGNYYETYLGFDV	$8.56 \times 10^5$	$7.05 \times 10^{-4}$	0.82
mAb6_2.7	TASNTYW	SIDYTGSTYYNP	ATGKYYETYLGFDV	$2.97 \times 10^5$	$1.80 \times 10^{-4}$	0.61
mAb6_2.8	TASNYYW	SIDYTGSTYYNP	ASGKYYETYLGFDV	$3.17 \times 10^5$	$3.43 \times 10^{-4}$	1.08
mAb6_2.9	TSSNYYW	SIDYTGSTYYNP	ATGKYYETYLGFDV	$2.99 \times 10^5$	$4.11 \times 10^{-4}$	1.37
mAb6_2.10	TSSNYYW	SIDYTGSTYYQP	ARGNYYETYLGFDV	$4.15 \times 10^5$	$1.03 \times 10^{-3}$	2.47

[0414] F.mAb2亲和力和成熟NNK文库构建和淘选

[0415] 为了进一步提高抗IL-36mAb2的人IL-36 $\alpha$ 和人IL-36 $\gamma$ 亲和力,由mAb2以Fab-amber形式构建噬菌体文库,用于单价Fab噬菌体展示,其中使用用32个密码子编码所有20个氨基酸的NNK简并密码子使重链HVR残基(即HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3)随机化(Brenner et al.,1992)(其中mAb2轻链残基保持不变)。设计文库以在三个重链HVR的每一个中允许一个NNK突变。然后使用Kunkel诱变(Kunkel et al.,1987)合成的突变寡核苷酸构建重链文库。将所得的文库DNA电穿孔到大肠杆菌XL1细胞中,产生约 $4 \times 10^9$ 个转化体。噬菌体文库在SUPERBLOCK™ PBS缓冲液(Pierce)和0.05% **TWEEN®** 20中孵育30分钟,然后施加至人IL-36 $\alpha$ 或人IL-36 $\gamma$ 涂覆的板上用于第一轮淘选。在随后的两到三轮中,将噬菌体文库与浓度降低的生物素化人IL-36 $\alpha$ 或人IL-36 $\gamma$ 孵育,其中1000x非生物素化人IL-36 $\alpha$ 或人IL-36 $\gamma$ 作为溶液中的竞争物,以增加选择严格性。

[0416] G. 来自亲和力和成熟NNK文库的mAb2噬菌体变体的表征

[0417] 纯化所选的具有最高结合信号的噬菌体以进行噬菌体竞争ELISA。最佳噬菌体浓度是在NUNC F板中与在ELISA缓冲液中连续稀释的人IL-36 $\alpha$ 或人IL-36 $\gamma$ 孵育两小时。将80 $\mu$ l混合物转移至人IL-36 $\alpha$ 或人IL-36 $\gamma$ 涂覆的孔中15分钟以捕获未结合的噬菌体。用洗涤缓冲液(0.05% **TWEEN®** 20于PBS中)洗涤板,并将HRP缀合的抗M13抗体(Sino biological,目录#11973-MM05-H-50)加入到ELISA缓冲液中30分钟。如上所述将板洗涤并显影。将450nm处的吸光度绘制为溶液中抗原浓度的函数以确定噬菌体IC<sub>50</sub>。使用其作为对展示在噬菌体表面上的Fab克隆的亲和力评估。关于变体HVR序列和噬菌体IC<sub>50</sub>的总结参见下表10。

[0418] 表10:mAb2 HVR序列及其针对hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ 的IC<sub>50</sub>值。

变体	HVR-H1 (30-35A)	HVR-H2 (50-61)	HVR-H3 (93-102)	噬菌体 IC <sub>50</sub> (nM) hu-IL-36 $\alpha$	噬菌体 IC <sub>50</sub> (nM) hu-IL-36 $\gamma$
mAb2	STSSYYW	SIYYTGNTYYNP	ARVRYGVGVPRYFDP	1.20	3.20
mAb2.1	SDSSYYW	SIYYTGNTYYNS	ARVRYGVGVPRYFDP	1.03	4.86
mAb2.2	SESSYYW	SIYYTGNTYYNP	AGVRYGVGVPRYFDP	0.75	3.79
mAb2.3	STSSDYW	SIYYTGNTYYLP	SRVRYGVGVPRYFDP	0.82	2.39
mAb2.4	SNSSYYW	SIYYTGNTYYLP	ARVRYGVGVPRYFDP	0.68	1.52
mAb2.5	SESSYYW	SIYYTGNTYYLP	ARVRYGVGVPRYFDP	0.77	1.88
mAb2.6	STSSYHW	SIYYTGNTYYMP	VRVRYGVGVPRYFDP	1.62	1.99
mAb2.7	SRSSYYW	SIYYTGNTYYWP	TRVRYGVGVPRYFDP	1.20	1.53

[0420] H.mAb2亲和力和成熟文库的下一代测序

[0421] 为了进一步提高mAb2的亲和力,进行了mAb2亲和力和成熟文库的下一代测序(NGS)。

从携带来自初始噬菌体文库(未分选文库)和第二轮和第三轮溶液选择(分选文库)的噬菌粒的大肠杆菌XL-1细胞中分离出噬菌粒双链DNA。纯化的DNA用作模板,以使用Illumina 16s文库制备方案产生VH区的扩增子。使用Illumina Nextera XT Index Kit添加测序接头和双索引条码。在准备在Illumina MiSeq上测序时,使用MiSeq Reagent Kit v3对接头连接的扩增子进行标准Illumina文库变性和样品上样方案(600次循环)。进行双端测序以覆盖插入尺寸为200bp至300bp的扩增子的全长。

[0422] 首先使用双端编译器PANDAseq (Masella et al., 2012) 汇编双端测序数据以获得完整扩增子。然后对鉴定的扩增子进行质量控制(QC),其中检查每个扩增子中没有序列插入或缺失及没有终止密码子的情况,每个CDR序列仅允许携带至多一个NNK突变,且没有非NNK突变。通过计算每个随机位置的所有突变的频率产生位置权重矩阵。如前所述(Koenig et al., 2015),通过将分选样品中给定位置的给定突变的频率除以未分选样品中完全相同突变的频率来计算每个突变的富集比。在支持mAb2与hu-IL-36 $\alpha$ 或hu-IL-36 $\gamma$ 结合改善的HVR中的预测突变总结于表11中。

[0423] 表11. 支持人hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ 结合的mAb2中的预测突变

结构域	位置	具有改善的结合的置换	
HVR-H1 <sup>1</sup>	S30	D	
	T31	A, D, E, G, H, K, N, P, Q, R, S	
	S32	D, E, G, K, N, P, R	
	S33	G, K, N, P	
	Y34	A, D, E, G, H, M, N, Q, S, T, V, W	
	Y35	A, F, G, H, M, N, Q	
HVR-H2 <sup>2</sup>	S50	F, I, M, Q	
	I51	A, G, L, R, S, T, V	
	Y52	A, D, E, F, G, H, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, W	
	Y53	A, D, E, F, G, H, K, N, P, Q, R, S, T, W	
	T54	D, E, K, N, P, Q	
	G55	Q	
[0424]	N56	D, E, G, H, I, K, M, P, R, S	
	T57	A, E, F, G, H, K, P, Q, R, S, V, W, Y	
	Y58	W	
	N60	A, D, E, K, L, M, P, Q, S, T	
	HVR-H3 <sup>3</sup>	A93	V
		R94	A, G, N, Q, T
V95		A, F, I, K, L, M, Q, S	
R96		A, I, K, L, M, P, Q, S, T, V	
Y97		H, I, L, V	
V99		A, F, G, K, M, N, Q, R, S, T, W, Y	
G100	N, R, S, T		
	Y100D	F, H, I, L, M, Q, R	
<sup>1</sup> 来自位置 30-35A 的 HVR-H1 <sup>2</sup> 来自位置 50-61 的 HVR-H2 <sup>3</sup> 来自位置 93-102 的 HVR-H3			

[0425] I. mAb2亲和力改善的NGS变体的表征

[0426] mAb2亲和力改善的NGS Fab变体的产生

[0427] 根据来自NGS分析的预测突变(上表11),合成了所选mAb2 NGS Fab HVR变体序列(下表12中所示),用于克隆到含有8xHis标签的哺乳动物Fab表达构建体中以产生Fab蛋白。使用1:1的HC:LC比将编码重链或轻链的质粒转染到Expi293F细胞(Thermo Fisher)中。通过以下方式使用HisPur Ni-NTA柱纯化Fab:用1x磷酸盐缓冲液pH 7.2(“PBS”)将上清液稀释1.5x,加入10mM咪唑,并以分批方式与树脂结合2小时。树脂流满整个柱并用20CV PBS+20mM咪唑洗涤并用5CV PBS+250mM咪唑洗脱。使用PD10柱(GE)将样品缓冲液交换到PBS中。

[0428] 表12:mAb2 NGS Fab变体HVR序列

Fab 标识符	HVR-H1 (30-35A)	HVR-H2 (50-61)	HVR-H3 (93-102)
mAb2	STSSYYW	SIYYTGNTYYNP	ARVRYGVGVPRYFDP
mAb2.8	SDSSYYW	SIYYTGETYYAP	ARLRYGVGVPRYFDP
mAb2.9	SDSSYYW	SIYYTGETYYAP	ARVKYGVGVPRYFDP
mAb2.10	SDSSYYW	SIYYTGETYYAP	ARVRYGVGVPRHFDP
mAb2.11	SESSYYW	SIYYTGETYYAP	ARLRYGVGVPRYFDP
mAb2.12	SESSYYW	SIYYTGETYYAP	ARVKYGVGVPRYFDP

[0430] 使用SPR对mAb2亲和力改善的NGS Fab变体的亲和力测定

[0431] 为了测定重组mAb2 NGS Fab变体在37°C下对人IL-36 $\alpha$ 和人IL-36 $\gamma$ 的结合亲和力,使用BIAcore™ 8K仪器进行SPR测量。简言之,将Biotin CAPture Reagent(GE)在HBS-EP缓冲液(0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA、0.005%表面活性剂P20)中的1:4稀释液以2 $\mu$ L/min的流速施加至CAP传感器芯片。对于动力学测量,以10 $\mu$ L/min捕获3nM生物素化人IL-36 $\alpha$ 和人IL-36 $\gamma$ ,以在第二个流动池(FC2)中获得约50个响应单元。保持FC1作为参考。然后,在37°C下注射(流速:10 $\mu$ L/min)Fab在HBS-P缓冲液(0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、0.005%表面活性剂P20)中从低(3.125nM)到高(200nM)的3倍连续稀释液。在通过BIAcore® 8K评估软件(版本1.1.1.7442)评估之前,记录传感图并进行参考和缓冲液扣除。使用简单的一对一Langmuir结合模型计算结合速率( $k_{on}$ )和解离速率( $k_{off}$ )。平衡解离常数( $K_D$ )计算为 $k_{off}/k_{on}$ 的比率,总结于下表13中。

[0432] 表13:mAb2 NGS Fab变体针对hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ 的 $k_{on}$ 、 $k_{off}$ 和 $K_D$

Fab 标识符	hu-IL-36 $\alpha$			hu-IL-36 $\gamma$		
	$k_{on}$ (1/Ms)	$k_{off}$ (1/s)	$K_D$ (nM)	$k_{on}$ (1/Ms)	$k_{off}$ (1/s)	$K_D$ (nM)
mAb2	1.16E+06	2.64E-04	0.23	1.39E+06	5.74E-04	0.41
mAb2.8	1.83E+06	2.54E-04	0.14	1.80E+06	3.01E-04	0.17
mAb2.9	2.19E+06	2.60E-04	0.12	2.40E+06	5.65E-04	0.24
mAb2.10	1.49E+06	2.22E-04	0.15	1.37E+06	1.80E-04	0.13
mAb2.11	1.91E+06	2.44E-04	0.13	1.92E+06	2.14E-04	0.11
mAb2.12	1.70E+06	2.77E-04	0.16	1.81E+06	5.03E-04	0.28

[0434] 实施例5:抗IL-36的抗体变体在HaCat细胞的hu-IL-36刺激的IL-8分泌中的阻断活性的体外评估

[0435] 为了测定亲和力成熟的mAb2和mAb6\_2变体的体外阻断效力和功效,本发明人评估了重组方法产生的其Fab片段抑制HaCat细胞的hu-IL-36刺激的IL-8分泌的能力。如实施例2中所述进行HaCat细胞测定,不同之处在于使用重组方法表达的抗IL-36或对照抗体Fab片

段替代IgG作为拮抗剂。简言之,将抗IL-36Fab或适当的抗体Fab对照(例如Hu IgG1 Ctrl)与HaCat细胞在37°C下孵育1小时,然后添加激动剂(hu-IL-36 $\alpha$ 、hu-IL-36 $\beta$ 或hu-IL-36 $\gamma$ )。允许实验再进行24小时(37°C和5%CO<sub>2</sub>),收集细胞培养物上清液并如实施例2中所述进行IL-8的定量。然后使用GraphPad Prism软件中的标准非线性回归分析对插值数据进行分析以推导出抗体IC<sub>50</sub>值。

[0436] 表14:亲和力成熟的抗IL-36的抗体变体在HaCat细胞的IL-36刺激的IL-8分泌中的阻断活性

重组 mAb	IC <sub>50</sub> (nM)		
	IL-36 $\alpha$	IL-36 $\beta$	IL-36 $\gamma$
mAb2 Fab	0.3	N.T	0.96
mAb2.10 Fab	0.38	N.T	1.09
mAb2.11 Fab	0.42	N.T	1.05
mAb6 Fab	N.T	0.15	N.T
mAb6_2 Fab	N.T	3.19	N.T
mAb6_2.1 Fab	N.T	1.64	N.T
mAb6_2.2 Fab	N.T	2.22	N.T
mAb6_2.3 Fab	N.T	1.31	N.T
mAb6_2.4 Fab	N.T	0.13	N.T
mAb6_2.5 Fab	N.T	0.2	N.T
mAb6_2.7 Fab	N.T	0.2	N.T
mAb6_2.8 Fab	N.T	0.33	N.T

[0437] 如表14所示,mAb2.10 Fab在HaCat细胞中表现出对hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ 介导的IL-8产生的最强效阻断活性,其中IC<sub>50</sub>分别为约0.38nM和1.09nM。如表14中进一步所示,mAb6\_2.7Fab在HaCat细胞中表现出对IL-36 $\beta$ 介导的IL-8产生的改善的阻断活性,其中IC<sub>50</sub>为约0.2nM。

[0439] 实施例6:抗IL-36多特异性抗体mAb2.10/mAb6\_2.7的产生

[0440] 在两步克隆法中将mAb2.10和mAb6\_2.7重链以杵臼结构形式(Ridgway et al., 1996)克隆到pRK表达载体中。在步骤1中,mAb2.10被合成并克隆到已含有臼突变(hole mutation)(T366S、L368A和Y407V)和8X His标签的pRK载体(使用AgeI和BstEII)中。mAb6\_2.7被合成并克隆到已含有杵突变(knob mutation)(T366W)和Flag标签的pRK载体(使用AgeI和BstEII)中。mAb2轻链也被克隆到没有额外突变的pRK表达载体中。在对带有标签的构建体的多特异性抗体的表达和纯化进行成功初始测试后,在克隆法的步骤2中,从mAb2.10和mAb6\_2.7重链中除去标签。使用一组引物(正向引物:5' Phos-TAAGCTTGGCCGCATGGCC-3'(SEQ ID NO:514)和反向引物:5' Phos-ACCCGGAGACAGGGAGAGGC-3'(SEQ ID NO:515))完全除去mAb2.10中的8Xhis标签,而使用一组引物(正向引物:5'-CTGTCTCCGGGTTAAGATTACAAGG-3'(SEQ ID NO:516)和反向引物:5'-CCTTGTAATCTTAACCCGGAGACAG-3'(SEQ ID NO:517))在mAb6\_2.7重链和Flag标签之间插入终止密码子TAA。

[0441] 根据制造商的方案,通过以1:1:2的质量比共转染编码含有臼突变和N297G的mAb2.10的重链(SEQ ID NO:235)、含有杵突变和N297G的mAb6\_2.7的重链(SEQ ID NO:192)和mAb2的轻链(SEQ ID NO:169)的质粒,在Expi293F细胞(Thermo Fisher Scientific,

Waltham, MA, USA) 中表达多特异性共同轻链抗体mAb2.10/mAb6\_2.7。4天后收获细胞,并将澄清的上清液施加至在PBS pH 7.5中平衡的MABSelect Sure柱(GE Healthcare, Chicago, IL, USA)上。用100mM柠檬酸钠pH 3洗脱蛋白质,并通过添加1.5M Tris-HCl pH 8.8中和pH。将含有蛋白质的级分合并并缓冲液交换到50mM Tris pH 8、10mM NaCl中。然后将蛋白质上样至在50mM Tris pH 8、10mM NaCl中平衡的Capto S Impact柱(GE Healthcare, Chicago, IL, USA)上,并用30CV的50mM Bis-Tris pH 6.5、10mM NaCl的梯度洗脱。

[0442] 使用Q Exactive (Thermo Scientific) 质谱仪结合Ultimate-3000 (Thermo Scientific) 液相色谱系统确认纯化的多特异性抗体分子的完整质量。将纯化的抗体注射到与液相色谱系统相连的PLRP-S柱(Agilent)上。完整的质谱分析证实所观察到的质量与异二聚体的预测质量相匹配。通过使用产生F(ab')<sub>2</sub>和Fc/2片段的同源池的Fabricator酶(Genovis)也证实了不存在同源二聚体种类。每个片段均与预测质量相匹配。

[0443] 将通过完整质谱鉴定的含有mAb2.10/mAb6\_2.7的Capto S洗脱级分合并,并上样至Superdex 200pg柱(GE Healthcare, Chicago, IL, USA)上。将含有单分散蛋白质的峰级分合并,并储存在1X PBS, pH 7.5中。

[0444] 实施例7:抗IL-36多特异性抗体mAb2.10/mAb6\_2.7的非特异性结合评估

[0445] 使用杆状病毒ELISA评估多特异性分子mAb2.10/mAb6\_2.7 IgG的非特异性结合(Hotzel et al., 2012)。简言之,将杆状病毒颗粒以3%的悬浮液在4℃下涂覆于96孔Maxisorp板上过夜。然后将板在室温下在含有1%BSA和0.05%Tween-20的PBS中封闭一小时。将在含有0.5%BSA和0.05%Tween 20的1x PBS (ELISA缓冲液)中的300nM、100nM和33nM的mAb2.10/mAb6\_2.7 IgG加入到板中1小时,并用含有0.05%Tween 20的1x PBS (洗涤缓冲液)洗涤所述板。结合的抗体是用缀合辣根过氧化物酶(Jackson ImmunoResearch)的山羊抗人IgG在ELISA缓冲液中检测。将板在室温下在搅拌下孵育一小时,用洗涤缓冲液洗涤六次并通过添加100μL/孔的1Step Turbo TMB底物(ThermoFisher, 目录#34022)显影15分钟。使用50μL/孔的2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>终止酶促反应。使用Perkin Elmer酶标仪(Envision 2103多标签读数仪)在450nm处对板进行分析,并与参考抗体进行比较。与阳性对照相比,多特异性分子mAb2.10/mAb6\_2.7 IgG未显示出可检测的杆状病毒ELISA信号,表明不存在与杆状病毒颗粒的非特异性结合(表15)。

[0446] 表15:杆状病毒ELISA评估多特异性抗IL-36的抗体mAb2.10/mAb6\_2.7 IgG的非特异性结合

[0447]

样品	300nM	100nM	33nM	0nM
阴性对照	0.047	0.048	0.056	0.041
培养基阳性对照	0.386	0.164	0.081	0.039
mAb2.10/mAb6_2.7	0.073	0.053	0.045	0.040

[0448] 实施例8:抗hu-IL-36多特异性抗体mAb2.10/mAb6\_2.7 IgG活性的体外评估

[0449] 抗IL-36多特异性抗体mAb2.10/mAb6\_2.7的结合动力学

[0450] 如实施例2中所述使用BIACORE™ 8K仪器将表面等离子体共振(SPR)分析用于测定对人和食蟹猴IL-36(分别为“hu-IL-36”和“cy-IL-36”)的结合亲和力。分别分析了体内生物素化hu-IL-36α-Avi、hu-IL-36β-Avi、hu-IL-36γ-Avi、cy-IL-36α-Avi、cy-IL-36β-Avi或cy-IL-36γ-Avi与mAb2.10/mAb6\_2.7的结合。简言之,将Biotin CAPture Reagent(GE

Healthcare) 在HBS-EP缓冲液 (0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA、0.005%表面活性剂P20) 中的1:4稀释液以2 $\mu$ L/min的流速施加至CAP传感器芯片。对于动力学测量,1nM生物素化人和食蟹猴IL-36 $\alpha$ -Avi、IL-36 $\gamma$ -Avi;0.8nM生物素化人和食蟹猴IL-36 $\beta$ -Avi以10 $\mu$ L/min被捕获,以在第二个流动池 (FC2) 中获得15-25个响应单元。保持FC1作为参考。然后,在25 $^{\circ}$ C或37 $^{\circ}$ C下注射 (流速:30 $\mu$ L/min) mAb2.10/mAb6\_2.7蛋白在HBS-P缓冲液 (0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、0.005%表面活性剂P20) 中从低 (1.56nM) 到高 (200nM) 的2倍连续稀释液。在使用 **BIACORE**<sup>®</sup> 8K评估软件 (版本1.1.1.7442) 进行数据分析之前,记录传感图并进行参考和缓冲液扣除。由于每个多特异性IgG抗体仅包含一个能够与一种被测定的IL-36蛋白结合的Fab臂,因此结合相互作用为单价。使用简单的一对一Langmuir结合模型计算结合速率 ( $k_{on}$ ) 和解离速率 ( $k_{off}$ )。平衡解离常数 ( $K_D$ ) 计算为 $k_{off}/k_{on}$  的比率。

[0451] mAb2.10/mAb6\_2.7的Biacore亲和力结果总结于下表16中。mAb2.10/mAb6\_2.7以高的和相当的亲和力结合所有人和食蟹猴IL-36细胞因子。

[0452] 表16:mAb2.10/mAb6\_2.7多特异性抗体对hu-IL-36和cy-IL-36的亲和力

配体	25 $^{\circ}$ C			37 $^{\circ}$ C		
	$k_{on}$ (1/Ms)	$k_{off}$ (1/s)	$K_D$ (nM)	$k_{on}$ (1/Ms)	$k_{off}$ (1/s)	$K_D$ (nM)
hu-IL-36 $\alpha$	1.34*10 <sup>5</sup>	1.57*10 <sup>-4</sup>	1.17	2.23*10 <sup>5</sup>	4.34*10 <sup>-4</sup>	1.95
hu-IL-36 $\beta$	7.6*10 <sup>4</sup>	4.77*10 <sup>-5</sup>	0.63	9.14*10 <sup>4</sup>	1.68*10 <sup>-4</sup>	1.84
hu-IL-36 $\gamma$	1.71*10 <sup>5</sup>	1.22*10 <sup>-4</sup>	0.72	2.1*10 <sup>5</sup>	3.41*10 <sup>-4</sup>	1.63
cy-IL-36 $\alpha$	1.74*10 <sup>5</sup>	3.35*10 <sup>-4</sup>	1.93	2.43*10 <sup>5</sup>	6.25*10 <sup>-4</sup>	2.57
cy-IL-36 $\beta$	6.52*10 <sup>4</sup>	6.32*10 <sup>-5</sup>	0.97	8.69*10 <sup>4</sup>	2.18*10 <sup>-4</sup>	2.51
cy-IL-36 $\gamma$	1.65*10 <sup>5</sup>	1.3*10 <sup>-4</sup>	0.79	1.58*10 <sup>5</sup>	1.48*10 <sup>-4</sup>	0.94

[0454] 多特异性抗体mAb2.10/mAb6\_2.7在HaCat细胞的IL-36刺激的IL-8分泌中的阻断活性

[0455] 为了测定多特异性抗体mAb2.10/mAb6\_2.7的阻断效力和功效,本发明人评估了其抑制HaCat细胞的hu-IL-36刺激的IL-8分泌的能力。还测定了人IgG同种型对照 (“Hu IgG1 Ctrl”) 作为阴性对照。如实施例2中所述进行HaCat细胞测定,不同之处在于使用重组方法表达的mAb2.10/mAb6\_2.7或Hu IgG1 Ctrl作为拮抗剂。简言之,将mAb2.10/mAb6\_2.7或适当的抗体对照 (例如Hu IgG1 Ctrl) 与HaCat细胞在37 $^{\circ}$ C下孵育1小时,然后添加激动剂 (hu-IL-36 $\alpha$ 、hu-IL-36 $\beta$ 或hu-IL-36 $\gamma$ )。允许实验再进行24小时 (37 $^{\circ}$ C和5%CO<sub>2</sub>), 并收集细胞培养物上清液。

[0456] 使用基于人IL-8测定的Cisbio Bioassay的HTRF技术对上清液中的IL-8进行定量。该测定根据制造商指南进行。HTRF兼容的Spectramax (Molecular Devices) 用于获得原始数据,并结合SoftMax Pro软件 (Molecular Devices) 分别计算在665nm和620nm处的受体与供体发射信号的比率。使用GraphPad Prism软件分析获得的数据,并使用线性回归分析和“以1/Y<sup>2</sup>加权 (Weight by 1/Y<sup>2</sup>)”定义的加权进行插值。然后使用标准非线性回归3参数分析对插值数据进行分析以推导出激动剂EC<sub>50</sub>值和抗体IC<sub>50</sub>值。

[0457] 如图3A、图3B和图3C中所示,mAb2.10/mAb6\_2.7在HaCat细胞中表现出对IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 介导的IL-8产生的强效阻断活性,其中IC<sub>50</sub>值分别为约0.38nM、0.13nM和

1.1nM。在8nM mAb2.10/mAb6\_2.7下,抑制了HaCat细胞中100%的IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 介导的IL-8产生。

[0458] 多特异性抗体mAb2.10/mAb6\_2.7在原代人角质形成细胞的IL-36刺激的IL-8分泌中的阻断活性

[0459] 为了测定多特异性抗体mAb2.10/mAb6\_2.7对原代人细胞的阻断效力和功效,本发明人评估了其抑制原代成人角质形成细胞的hu-IL-36刺激的IL-8分泌的能力。还测定了人IgG同种型对照("Hu IgG1 Ctrl")作为阴性对照。成人正常人表皮角质形成细胞从Lonza获得。从正常(无疾病)捐赠的人体组织中分离出细胞并由制造商冷冻保存。使用制造商所推荐的通用指南解冻和维持细胞。将HEKa细胞维持在由Gold BulletKit(Lonza)的补充角质形成细胞生长培养基组成的生长培养基中。在实验使用前一天,将HEKa以10,000个细胞/孔接种于平底96孔板上,以在使用当天达到约80-85%汇合度。如实施例2中所述用成人角质形成细胞(HEKa)进行原代角质形成细胞测定,不同之处在于使用重组方法表达的mAb2.10/mAb6\_2.7或Hu IgG1 Ctrl作为拮抗剂。简言之,将mAb2.10/mAb6\_2.7或适当的抗体对照(例如Hu IgG1 Ctrl)与HEKa细胞在37°C下孵育1小时,然后添加激动剂(hu-IL-36 $\alpha$ 、hu-IL-36 $\beta$ 或hu-IL-36 $\gamma$ )。允许实验再进行24小时(37°C和5%CO<sub>2</sub>),收集细胞培养物上清液,并如上所述使用基于人IL-8测定的Cisbio Bioassay的HTRF技术进行IL-8的定量。然后使用GraphPad Prism软件中的标准非线性回归分析对插值数据进行分析以推导出抗体IC<sub>50</sub>值。

[0460] 如图4A、图4B和图4C中所示,mAb2.10/mAb6\_2.7在原代人成人角质形成细胞中表现出对IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 介导的IL-8产生的强效阻断活性,并且IC<sub>50</sub>值分别为约0.56nM、0.11nM和2.7nM。在8nM mAb2.10/mAb6\_2.7下,抑制了原代人成人角质形成细胞中100%的IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 介导的IL-8产生。本实施例证明mAb2.10/mAb6\_2.7在原代人细胞上的效力与在人角质形成细胞细胞系HaCat上观察到的效力相似。

[0461] 为了证明多特异性抗体mAb2.10/mAb6\_2.7中Fab臂的独立阻断活性,本发明人评估了其抑制通过hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\beta$ 的混合物刺激的原代成人角质形成细胞的IL-8分泌,使用与上述方法相似的方法,但作出以下修改。将mAb2.10/mAb6\_2.7或适当的抗体对照(例如Hu IgG1Ctrl)与HEKa细胞在37°C下孵育1小时,然后添加激动剂(单独地hu-IL-36 $\alpha$ 、单独地hu-IL-36 $\beta$ ,或约每种细胞因子的EC<sub>50</sub>的hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\beta$ 的混合物)。mAb2.10/mAb6\_2.7表现出对IL-36 $\alpha$ 和IL-36 $\beta$ 的混合物的强效阻断活性,其中IC<sub>50</sub>值为约0.44nM。mAb2.10/mAb6\_2.7针对单独的IL-36 $\alpha$ 和IL-36 $\beta$ 的IC<sub>50</sub>值与本实施例中上述针对原代人成人角质形成细胞所报道的阻断IC<sub>50</sub>值一致,表明mAb2.10/mAb6\_2.7的靶向IL-36 $\alpha$ /IL-36 $\gamma$ 和IL-36 $\beta$ 的Fab臂强效且独立地中和IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 。

[0462] 为了测定多特异性抗体mAb2.10/mAb6\_2.7针对IL-36激动剂细胞因子混合物的效力和功效,本发明人评估了抗体在原代细胞上阻断IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 的混合物信号传导的能力。mAb2.10/mAb6\_2.7抑制通过hu-IL-36 $\alpha$ 、hu-IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 的混合物刺激的原代成人角质形成细胞的IL-8分泌的能力,是使用与上述那些方法相似的方法进行评估,但作出以下修改。mAb2.10/mAb6\_2.7或适当的抗体对照(例如Hu IgG1 Ctrl)与HEKa细胞在37°C下孵育1小时,然后添加激动剂的混合物(每种细胞因子的约EC<sub>50</sub>-EC<sub>65</sub>的hu-IL-36 $\alpha$ 、hu-IL-36 $\beta$ 和hu-IL-36 $\gamma$ )。mAb2.10/mAb6\_2.7的IC<sub>50</sub>值是通过在所述细胞因子混合物的

存在下滴定其而测定为1.16nM,表明在含有IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 的混合物中的强效阻断活性。

[0463] 尽管有所附权利要求书,本文中阐述的公开内容也由以下条款限定,这些条款单独或与一个或多个其他条款或实施方案组合可能是有益的。在不限制前述说明的情况下,提供如下编号的本公开内容的某些非限制性条款,其中可以使用每个单独编号的条款或将其与任何在前或在后的条款组合。因此,这旨在为所有这些组合提供支持,并必然限于以下明确提供的具体组合:

[0464] 1. 一种抗IL-36的抗体,其包含:(i) 第一轻链高变区(HVR-L1)、第二轻链高变区(HVR-L2)和第三轻链高变区(HVR-L3),和/或(ii) 第一重链高变区(HVR-H1)、第二重链高变区(HVR-H2)和第三重链高变区(HVR-H3),其中:

[0465] (a) HVR-L1包含选自以下的氨基酸序列: TGSSSNIGAHYDVH (SEQ ID NO:18)、TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO:22)、RASQSVSSNYLA (SEQ ID NO:38) 或RASQTIYKYLN (SEQ ID NO:42);

[0466] (b) HVR-L2包含选自以下的氨基酸序列: SNNRPS (SEQ ID NO:15)、GNDNRPS (SEQ ID NO:19)、GNTNRPS (SEQ ID NO:23)、GNRNRPS (SEQ ID NO:27)、SASSLQS (SEQ ID NO:39) 或AASSLQS (SEQ ID NO:43);

[0467] (c) HVR-L3包含选自以下的氨基酸序列: QSYDYSLRGYV (SEQ ID NO:16)、QSYDYSLSGYV (SEQ ID NO:20)、QSYDYSLRVYV (SEQ ID NO:28)、QSYDYSLKAYV (SEQ ID NO:32)、QSYDISLSGWV (SEQ ID NO:36)、QQTYSYPPT (SEQ ID NO:40) 或QQSSIPYT (SEQ ID NO:44);

[0468] (d) HVR-H1包含选自以下的氨基酸序列: SAYAMHW (SEQ ID NO:46)、STSSYYW (SEQ ID NO:50)、SSTSYYW (SEQ ID NO:54)、GSRSYW (SEQ ID NO:58)、STYAMSW (SEQ ID NO:62)、TSSNYYW (SEQ ID NO:66)、SSYGMH (SEQ ID NO:70)、SNYAIS (SEQ ID NO:74)、TSTNYYW (SEQ ID NO:82)、TSSNAYW (SEQ ID NO:86)、TASNYYW (SEQ ID NO:90)、TASNYYW (SEQ ID NO:106)、SDSSYYW (SEQ ID NO:122)、SESSYYW (SEQ ID NO:126)、STSSDYW (SEQ ID NO:130)、SNSSYYW (SEQ ID NO:134)、STSSYHW (SEQ ID NO:142)、SRSSYYW (SEQ ID NO:146)、XXXNXYX (SEQ ID NO:251) 或XXXXXXW (SEQ ID NO:336),其中在XXXNXYX (SEQ ID NO:251) 中在第1位的X为T、D、E或N;在第2位的X为S、A、E、G、K、Q、R或T;在第3位的X为S、A、D、E、G、N、P、Q或T;在第5位的X为Y、A、E、G、H、M、N、Q、S、T或V;在第7位的X为W、F、I、V或Y,其中在XXXXXXW (SEQ ID NO:336) 中在第1位的X为S或D;在第2位的X为T、A、D、E、G、H、K、N、P、Q、R或S;在第3位的X为S、D、E、G、K、N、P或R;在第4位的X为S、G、K、N或P;在第5位的X为Y、A、D、E、G、H、M、N、Q、S、T、V或W;在第6位的X为Y、A、F、G、H、M、N或Q;

[0469] (e) HVR-H2包含选自以下的氨基酸序列: VISYDGTNEYAD (SEQ ID NO:47)、SIYYTGNTYYNP (SEQ ID NO:51)、SIHYSGNTYYNP (SEQ ID NO:55)、SIHYSGTYYNP (SEQ ID NO:59)、GISGGSGYTYAD (SEQ ID NO:63)、SIDYTGSTYYNP (SEQ ID NO:67)、VISYGGSERYYAD (SEQ ID NO:71)、GILPILGTVDYAQ (SEQ ID NO:75)、NIDYTGSTYYNA (SEQ ID NO:83)、SIDYTGSTAYNP (SEQ ID NO:87)、SIDYTGSTYYNT (SEQ ID NO:91)、SIDYTGSTYYEP (SEQ ID NO:99)、SIDYTGSTYYEP (SEQ ID NO:103)、SIDYTGSTYYQP (SEQ ID NO:119)、SIYYTGNTYYNS (SEQ ID NO:123)、SIYYTGNTYYLP (SEQ ID NO:131)、SIYYTGNTYYMP (SEQ ID NO:143)、SIYYTGNTYYWP

(SEQ ID NO:147)、SIYYTGETYYAP (SEQ ID NO:151)、XXDXXXXXXXXYXX (SEQ ID NO:284) 或XXXXXXXXXXYP (SEQ ID NO:379), 其中在XXDXXXXXXXXYXX (SEQ ID NO:284) 中在第1位的X为S、N或T; 在第2位的X为I、M或V; 在第4位的X为Y或H; 在第5位的X为T、H、L或N; 在第6位的X为G、A、D、E、H、K、N、Q、R、S或T; 在第7位的X为S、A、D、Q或T; 在第8位的X为T、A、D或E; 在第9位的X为Y、A、F、Q、S或W; 在第11位的X为N、D、E、H、P或Q; 在第12位的X为P、A或E, 其中在XXXXXXXXXXYP (SEQ ID NO:379) 中在第1位的X为S、F、I、M或Q; 在第2位的X为I、A、G、L、R、S、T或V; 在第3位的X为Y、A、D、E、F、G、H、K、L、M、N、P、Q、R、S、T或W; 在第4位的X为Y、A、D、E、F、G、H、K、N、P、Q、R、S、T或W; 在第5位的X为T、D、E、K、N、P或Q; 在第6位的X为G或Q; 在第7位的X为N、D、E、G、H、I、K、M、P、R或S; 在第8位的X为T、A、E、F、G、H、K、P、Q、R、S、V、W或Y; 在第9位的X为Y或W; 在第11位的X为N、A、D、E、K、L、M、P、Q、S或T;

[0470] (f) HVR-H3包含选自以下的氨基酸序列: ARGIRIFTSYFDS (SEQ ID NO:48)、ARVRYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:52)、ARVHYGGYIPRRFDH (SEQ ID NO:56)、ARVAPSYPRVFDY (SEQ ID NO:60)、ARVVTYRDPASFDY (SEQ ID NO:64)、ARGKYYETYLGFVDV (SEQ ID NO:68)、AREPWYSSRGWTGYGFDV (SEQ ID NO:72)、AREPWYRLGAFDV (SEQ ID NO:76)、ATGKYYETYLGFVDV (SEQ ID NO:84)、AHGKYYETYLGFVDV (SEQ ID NO:88)、ATGSYYETYLGFVDV (SEQ ID NO:100)、ATGNYYETYLGFVDV (SEQ ID NO:104)、ASGKYYETYLGFVDV (SEQ ID NO:112)、ARGNYYETYLGFVDV (SEQ ID NO:120)、AGVRYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:128)、SRVRYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:132)、VRVRYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:144)、TRVRYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:148)、ARLRYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:152)、ARVKYGVGVPRYFDP (SEQ ID NO:156)、ARVRYGVGVPRHFDP (SEQ ID NO:160)、AXGXYYXTYLGFVDV (SEQ ID NO:322) 或XXXXXGXXXVPRXFDP (SEQ ID NO:462), 其中在AXGXYYXTYLGFVDV (SEQ ID NO:322) 中在第2位的X为R、A、E、G、H、M、N、Q、S、T或Y; 在第4位的X为K、A或S; 在第7位的X为E或T, 其中在XXXXXGXXXVPRXFDP (SEQ ID NO:462) 中在第1位的X为A或V; 在第2位的X为R、A、G、N、Q或T; 在第3位的X为V、A、F、I、K、L、M、Q或S; 在第4位的X为R、A、I、K、L、M、P、Q、S、T或V; 在第5位的X为Y、H、I、L或V; 在第7位的X为V、A、F、G、K、M、N、Q、R、S、T、W或Y; 在第8位的X为G、N、R、S或T; 在第12位的X为Y、F、H、I、L、M、Q或R。

[0471] 2. 条款1的抗体, 其中:

[0472] (a) HVR-L1包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;

[0473] (b) HVR-L2包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列; 和

[0474] (c) HVR-L3包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0475] 3. 条款1-2中任一项的抗体, 其中:

[0476] (a) HVR-H1包含选自SEQ ID NO:66、82、86、90或252-283的氨基酸序列;

[0477] (b) HVR-H2包含选自SEQ ID NO:67、83、87、91、99、103、119或285-321的氨基酸序列; 和

[0478] (c) HVR-H3包含选自SEQ ID NO:68、84、88、100、104、112、120或323-335的氨基酸序列。

[0479] 4. 条款1-2中任一项的抗体, 其中:

[0480] (a) HVR-H1包含选自SEQ ID NO:50、122、126、130、134、138、142、146或337-378的氨基酸序列;

[0481] (b) HVR-H2包含选自SEQ ID NO:51、123、131、143、147、151或380-461的氨基酸序

列;和

[0482] (c) HVR-H3包含选自SEQ ID NO:52、128、132、144、148、152、156、160或463-513的氨基酸序列。

[0483] 5. 条款1的抗体,其中:

[0484] (a) HVR-L1包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;

[0485] (b) HVR-L2包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列;

[0486] (c) HVR-L3包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;

[0487] (d) HVR-H1包含选自SEQ ID NO:66、82、86、90或252-283的氨基酸序列;

[0488] (e) HVR-H2包含选自SEQ ID NO:67、83、87、91、99、103、119或285-321的氨基酸序列;和

[0489] (f) HVR-H3包含选自SEQ ID NO:68、84、88、100、104、112、120或323-335的氨基酸序列。

[0490] 6. 条款1的抗体,其中:

[0491] (a) HVR-L1包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;

[0492] (b) HVR-L2包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列;

[0493] (c) HVR-L3包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;

[0494] (d) HVR-H1包含选自SEQ ID NO:50、122、126、130、134、138、142、146或337-378的氨基酸序列;

[0495] (e) HVR-H2包含选自SEQ ID NO:51、123、131、143、147、151或380-461的氨基酸序列;和

[0496] (f) HVR-H3包含选自SEQ ID NO:52、128、132、144、148、152、156、160或463-513的氨基酸序列。

[0497] 7. 条款1-6中任一项的抗体,其中所述抗体包含与选自SEQ ID NO:13、17、21、25、29、33、37、41、77或78的序列具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:45、49、53、57、61、65、69、73、79、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0498] 8. 条款1-6中任一项的抗体,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:17或77具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:49、65、79、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0499] 9. 条款1-6中任一项的抗体,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:17或77具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:65、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113或117的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0500] 10. 条款1-6中任一项的抗体,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:17或77具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:49、79、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0501] 11. 条款1-10中任一项的抗体,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:169或242具有至少90%同一性的轻链(LC)氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:170-202、248-250、518-616和743-751的序列具有至少90%同一性的重链(HC)氨基酸序列。

[0502] 12. 条款1-10中任一项的抗体,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:169或242具有至少90%同一性的轻链(LC)氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:203-241和617-733的序列具有至少90%同一性的重链(HC)氨基酸序列。

[0503] 13. 一种抗IL-36的抗体,其包含与选自SEQ ID NO:13、17、21、25、29、33、37、41、77或78的序列具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:45、49、53、57、61、65、69、73、79、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0504] 14. 一种抗IL-36的抗体,其包含选自SEQ ID NO:13、17、21、25、29、33、37、41、77或78的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或选自SEQ ID NO:45、49、53、57、61、65、69、73、79、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0505] 15. 一种抗IL-36的抗体,其包含与SEQ ID NO:17或77具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:49、65、79、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0506] 16. 一种抗IL-36的抗体,其包含SEQ ID NO:17或77的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或选自SEQ ID NO:49、65、79、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0507] 17. 一种抗IL-36的抗体,其包含与SEQ ID NO:17或77具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:65、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113或117的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0508] 18. 一种抗IL-36的抗体,其包含SEQ ID NO:17或77的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或选自SEQ ID NO:65、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113或117的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0509] 19. 一种抗IL-36的抗体,其包含与SEQ ID NO:17或77具有至少90%同一性的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:49、79、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的序列具有至少90%同一性的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0510] 20. 一种抗IL-36的抗体,其包含SEQ ID NO:17或77的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;和/或选自SEQ ID NO:49、79、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0511] 21. 一种抗IL-36的抗体,其包含与SEQ ID NO:169或242具有至少90%同一性的轻链(LC)氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:170-202、248、249-250、518-616和743-751的序列具有至少90%同一性的重链(HC)氨基酸序列。

[0512] 22. 一种抗IL-36的抗体,其包含SEQ ID NO:169或242的轻链(LC)氨基酸序列;和/

或选自SEQ ID NO:170-202、248-250、518-616和743-751的重链(HC)氨基酸序列。

[0513] 23.一种抗IL-36的抗体,其包含与SEQ ID NO:169或242具有至少90%同一性的轻链(LC)氨基酸序列;和/或与选自SEQ ID NO:203-241和617-733的序列具有至少90%同一性的重链(HC)氨基酸序列。

[0514] 24.一种抗IL-36的抗体,其包含SEQ ID NO:169或242的轻链(LC)氨基酸序列;和/或选自SEQ ID NO:206-241的重链(HC)氨基酸序列。

[0515] 25.一种抗IL-36的抗体,其中所述抗体为多特异性抗体,其包含:

[0516] (a)一对轻链,各自包含:SEQ ID NO:18的HVR-L1序列;SEQ ID NO:19的HVR-L2序列;和SEQ ID NO:20的HVR-L3序列;

[0517] (b)一条重链,其包含:选自SEQ ID NO:66、82、86、90或106的HVR-H1序列;选自SEQ ID NO:67、83、87、91、99、103或119的HVR-H2序列;和选自SEQ ID NO:68、84、88、100、104、112或120的HVR-H3序列;和

[0518] (c)一条重链,其包含:选自SEQ ID NO:50、122、126、130、134、142或146的HVR-H1序列;选自SEQ ID NO:51、123、127、131、135、139、143、147或151的HVR-H2序列;和包含选自SEQ ID NO:52、128、132、144、148、152、156或160的氨基酸序列的HVR-H3。

[0519] 26.条款25的抗体,其中一条重链包含氨基酸置换T366W,而另一条重链包含氨基酸置换T366S、L368A和Y407V。

[0520] 27.一种抗IL-36的抗体,其中所述抗体为多特异性抗体,其包含:

[0521] (a)一对轻链,各自包含SEQ ID NO:17或77的轻链可变结构域( $V_L$ )氨基酸序列;

[0522] (b)一条重链,其包含选自SEQ ID NO:65、80、81、85、89、93、97、101、105、109、113或117的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列;和

[0523] (c)一条重链,其包含选自SEQ ID NO:49、79、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161或165的重链可变结构域( $V_H$ )氨基酸序列。

[0524] 28.一种抗IL-36的抗体,其中所述抗体为多特异性抗体,其包含:

[0525] (a)一对SEQ ID NO:169和242的轻链(LC)氨基酸序列;

[0526] (b)一条重链(HC)氨基酸序列,其选自SEQ ID NO:171、174、177、180、183、186、189、192、195、198、201和249;和

[0527] (c)一条重链(HC)氨基酸序列,其选自SEQ ID NO:208、211、214、217、220、223、226、229、232、235、238和241。

[0528] 29.一种抗IL-36的抗体,其中所述抗体为多特异性抗体,其包含:

[0529] (a)一对SEQ ID NO:169和242的轻链(LC)氨基酸序列;

[0530] (b)一条重链(HC)氨基酸序列,其选自SEQ ID NO:172、175、178、181、184、187、190、193、196、199、202、250;和

[0531] (c)一条重链(HC)氨基酸序列,其选自SEQ ID NO:207、210、213、216、219、222、225、228、231、234、237和240。

[0532] 30.一种多特异性抗IL-36的抗体,其中所述抗体包含一对SEQ ID NO:169的轻链(LC)氨基酸序列;一条SEQ ID NO:192的重链(HC)氨基酸序列;和一条SEQ ID NO:235的重链(HC)氨基酸序列。

[0533] 31.条款1-30中任一项的抗体,其中所述抗体为多特异性抗体,其在一个臂中包含

对IL-36 $\alpha$ 和IL-36 $\gamma$ 的特异性,和在另一个臂中包含对IL-36 $\beta$ 的特异性。

[0534] 32. 条款1-31中任一项的抗体,其中所述抗体以 $1 \times 10^{-8}$ M或更小、 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\alpha$ 、hu-IL-36- $\beta$ 和/或hu-IL-36- $\gamma$ 。

[0535] 33. 条款1-32中任一项的抗体,其中所述抗体以 $1 \times 10^{-8}$ M或更小、 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36- $\gamma$ 。

[0536] 34. 条款1-33中任一项的抗体,其中所述抗体以 $1 \times 10^{-8}$ M或更小、 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36- $\beta$ 。

[0537] 35. 条款1-34中任一项的抗体,其中所述抗体将由IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的细胞内信号降低至少90%、至少95%、至少99%或100%;任选地,其中在IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 浓度为约EC<sub>50</sub>下,所述抗体的IC<sub>50</sub>为10nM或更小,5nM或更小,或1nM或更小。

[0538] 36. 条款1-35中任一项的抗体,其中所述抗体抑制由IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的原代人角质形成细胞(PHK)中IL-8的释放,任选地,其中在IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 浓度为约EC<sub>50</sub>下,所述抗体的IC<sub>50</sub>为10nM或更小,5nM或更小,或1nM或更小。

[0539] 37. 条款1-36中任一项的抗体,其中所述抗体与SEQ ID NO:5、6或7的食蟹猴的IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 或IL-36 $\gamma$ 交叉反应。

[0540] 38. 条款1-37中任一项的抗体,其中所述抗体为单克隆抗体。

[0541] 39. 条款1-38中任一项的抗体,其中所述抗体为重组抗体。

[0542] 40. 条款1-39中任一项的抗体,其中所述抗体为嵌合抗体。

[0543] 41. 条款1-39中任一项的抗体,其中所述抗体为人源化抗体或人抗体。

[0544] 42. 条款1-41中任一项的抗体,其中所述抗体为抗体片段,任选地选自F(ab')<sub>2</sub>、Fab'、Fab、Fv、单域抗体(VHH)、单臂抗体和scFv。

[0545] 43. 条款1-42中任一项的抗体,其中所述抗体为IgG类的全长抗体;任选地,其中所述IgG类抗体具有选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的同种型。

[0546] 44. 条款43的抗体,其中所述抗体为Fc区变体;任选地,其中所述Fc区变体改变效应子功能或改变半衰期。

[0547] 45. 条款44的抗体,其中所述Fc区变体降低效应子功能和/或产生无效效应子抗体;任选地,其中所述Fc区变体在297位包含氨基酸置换,从而产生无效效应子功能。

[0548] 46. 条款1-45中任一项的抗体,其中所述抗体为免疫缀合物;任选地,其中所述免疫缀合物包含用于治疗IL-36介导的病症或疾病的治疗剂;任选地,其中所述治疗剂为用于治疗癌症的化学治疗剂或细胞毒性剂。

[0549] 47. 条款1-47中任一项的抗体,其中所述抗体为合成抗体,其包含嫁接到除免疫球蛋白支架或免疫球蛋白骨架以外的支架上,任选地选自替代性蛋白质支架和人工聚合物支架的支架上的CDR。

[0550] 48. 一种抗IL-36的抗体,其特异性结合与条款1-48中任一项的抗体相同的表位。

[0551] 49. 一种多特异性抗体,其结合人IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的每一种;任选地,其中所述抗体以3nM或更小的结合亲和力结合人IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的每一种;任选地,其中所述结合亲和力是通过SEQ ID NO:1的hu-IL-36 $\alpha$ 、SEQ ID NO:2的hu-IL-36 $\beta$ 和SEQ ID NO:3的hu-IL-36 $\gamma$ 的平衡解离常数(K<sub>D</sub>)来测量;任选地,其中:

[0552] (a) 在一个臂中包含对IL-36 $\alpha$ 和/或IL-36 $\gamma$ 的特异性,和在另一个臂中包含对IL-36 $\beta$ 的特异性;任选地,其中一个臂以 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\alpha$ 和hu-IL-36 $\gamma$ ,并且另一个臂以 $1 \times 10^{-9}$ M或更小、 $1 \times 10^{-10}$ M或更小或 $1 \times 10^{-11}$ M或更小的结合亲和力结合hu-IL-36 $\beta$ ;

[0553] (b) 将由IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的细胞内信号降低至少90%、至少95%、至少99%或100%;任选地,其中在IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 浓度为约EC<sub>50</sub>下,所述抗体的IC<sub>50</sub>为10nM或更小,5nM或更小,或1nM或更小;

[0554] (c) 抑制由IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的原代人角质形成细胞(PHK)中IL-8的释放,任选地,其中在IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 浓度为约EC<sub>50</sub>下,所述抗体的IC<sub>50</sub>为10nM或更小,5nM或更小,或1nM或更小;

[0555] (d) 所述抗体与食蟹猴的IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 交叉反应;和/或

[0556] (e) 所述抗体以3nM或更小的结合亲和力结合食蟹猴IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和IL-36 $\gamma$ 中的每一种;任选地,其中所述结合亲和力是通过SEQ ID NO:5的cy-IL-36 $\alpha$ 、SEQ ID NO:6的cy-IL-36 $\beta$ 和SEQ ID NO:7的cy-IL-36 $\gamma$ 的平衡解离常数(K<sub>D</sub>)来测量。

[0557] 50. 一种分离的多核苷酸,其编码条款1-49中任一项的抗体。

[0558] 51. 条款50的多核苷酸,其还包含编码信号肽(SP)的核苷酸序列。

[0559] 52. 条款50的多核苷酸,其中所述多核苷酸编码轻链和重链。

[0560] 53. 条款50的多核苷酸,其中所述多核苷酸包含多核苷酸序列,所述多核苷酸序列包含一个或多个选择用于抗体在哺乳动物细胞中最佳表达的密码子。

[0561] 54. 条款50的多核苷酸,其中所述多核苷酸序列包含一个或多个选择用于抗体在中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中最佳表达的密码子。

[0562] 55. 一种载体,其包含条款50-54中任一项的多核苷酸。

[0563] 56. 一种分离的宿主细胞,其包含条款55的载体。

[0564] 57. 一种宿主细胞,其包含条款50-54中任一项的多核苷酸。

[0565] 58. 一种分离的宿主细胞,其表达条款1-49中任一项的抗体。

[0566] 59. 条款56的宿主细胞,其中所述宿主细胞选自中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、骨髓瘤细胞(例如Y0、NS0、Sp2/0)、猴肾细胞(COS-7)、人胚肾系(293)、幼仓鼠肾细胞(BHK)、小鼠支持细胞(例如TM4)、非洲绿猴肾细胞(VERO-76)、人宫颈癌细胞(HELA)、犬肾细胞、人肺细胞(W138)、人肝细胞(Hep G2)、小鼠乳腺肿瘤细胞、TR1细胞、医学研究委员会5(MRC 5)细胞和包皮4(FS4)细胞。

[0567] 60. 一种产生抗体的方法,其包括培养条款56-59中任一项的宿主细胞,以产生抗体。

[0568] 61. 一种杂交瘤,其产生条款1-49中任一项的抗体。

[0569] 62. 一种药物组合物,其包含条款1-49中任一项的抗体和药学上可接受的载体。

[0570] 63. 条款62的药物组合物,其中所述组合物还包含用于治疗IL-36介导的疾病或病症的治疗剂;任选地,其中所述治疗剂为化学治疗剂。

[0571] 64. 一种治疗受试者中IL-36介导的疾病的方法,其包括向受试者给予治疗有效量的条款1-49中任一项的抗体,或治疗有效量的条款62的药物组合物。

[0572] 65. 一种治疗受试者中通过由IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 和/或IL-36 $\gamma$ 刺激的信号传导介导

的疾病的方法,所述方法包括向受试者给予治疗有效量的条款1-49中任一项的抗体,或治疗有效量的条款62的药物组合物。

[0573] 66. 条款64-65中任一项的方法,其中所述疾病选自:由于表皮生长因子受体抑制剂引起的痤疮、痤疮和化脓性汗腺炎(PASH)、急性泛发性发疹性脓疱病(AGEP)、褶皱部位无菌性脓疱病、头皮/腿的无菌性脓疱病、无菌性角膜下脓疱病、无菌性脓肿综合征、贝切特氏病、肠旁路综合征、慢性阻塞性肺病(COPD)、儿童脓疱性皮炎、克罗恩病、白细胞介素-1受体拮抗剂缺乏症(DIRA)、白细胞介素-36受体拮抗剂缺乏症(DITRA)、湿疹、泛发性脓疱性银屑病(GPP)、持久性隆起性红斑、化脓性汗腺炎、IgA天疱疮、炎性肠病(IBD)、嗜中性脂膜炎、掌跖脓疱性银屑病(PPP)、银屑病、银屑病关节炎、脓疱性银屑病(DIRA、DITRA)、坏疽性脓皮病、化脓性关节炎坏疽性脓皮病和痤疮(PAPA)、化脓性关节炎坏疽性脓皮病痤疮和化脓性汗腺炎(PAPASH)、类风湿性嗜中性皮炎、滑膜炎痤疮脓疱病骨质增生和骨炎(SAPHO)、克罗恩病患者中TNF诱导的银屑病形式皮肤病变、舍格伦综合征、斯威特氏综合征、系统性红斑狼疮(SLE)、溃疡性结肠炎和葡萄膜炎。

[0574] 67. 条款66的方法,其中所述疾病选自:泛发性脓疱性银屑病(GPP)、掌跖脓疱性银屑病(PPP)和银屑病。

[0575] 68. 一种治疗受试者的银屑病的方法,所述方法包括向受试者给予治疗有效量的条款1-49中任一项的抗体,或治疗有效量的条款62的药物组合物。

[0576] 69. 一种治疗受试者的癌症的方法,所述方法包括向受试者给予治疗有效量的条款1-49中任一项的抗体,或治疗有效量的条款62的药物组合物;任选地,其中所述癌症选自乳腺癌、结肠直肠癌、非小细胞肺癌、胰腺癌。

[0577] 虽然为了清楚和理解的目的已通过实例和举例说明的方式对本发明的前述公开内容进行了一些详细描述,但是包括本文中所述的实施例、说明和实施方案在内的本公开内容是出于说明性目的,旨在为示例性的,而不应被解释为限制本公开内容。本领域技术人员将清楚,可以对本文中所述的实施例、说明和实施方案作出各种修改或改变,并且这些修改或改变包括在本公开内容和所附权利要求书的精神和范围内。此外,本领域技术人员将认可与本文中所述的那些方法和步骤等同的许多方法和步骤。所有这些等同物均应理解为落入本公开内容的范围内并为所附权利要求书涵盖。

[0578] 在下述权利要求书中阐述了本发明的其他实施方案。

[0579] 本文中所提及的所有出版物、专利申请、专利或其他文件的公开内容通过引用的方式全文明确纳入以用于所有目的,达到的程度如同每个所述单独出版物、专利、专利申请或其他文件被单独地且具体地被指出通过引用的方式全文纳入本文中用于所有目的并全部在本文中阐述。如有冲突,以本说明书(包括特定术语)为准。

[0580] 文献目录

[0581] Towne et al., (2011) "Interleukin-36 (IL-36) ligands require processing for full agonist (IL-36 $\alpha$ , IL-36 $\beta$ , and IL-36 $\gamma$ ) or antagonist (IL-36Ra) activity." J. Biol. Chem. 284:42594-42602

[0582] Foote et al., (1992) "Antibody framework residues affecting the conformation of the hypervariable loops" J. Mol. Biol. 224:487-499

[0583] Hotzel et al., (2012) "A strategy for risk mitigation of antibodies

with fast clearance”mAbs 4(6):753-760

[0584] Brenner et al.,(1992) “Encoded combinatorial chemistry”  
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89(12):5381-5383

[0585] Kunkel et al.,(1987) “Rapid and efficient site-specific mutagenesis  
without phenotypic selection”Methods Enzymol.154:367-382

[0586] Masella et al.,(2012) “PANDAseq:paired-end assembler for illumina  
sequences”BMC Bioinformatics 13:31

[0587] Koenig et al.,(2015) “Mutational landscape of antibody variable  
domains reveals a switch modulating the interdomain conformational dynamics  
and antigen binding”J.Biol.Chem.290(36):21773-21786

[0588] John B.B.Ridgway et al.,(1996) “‘Knobs-info-holes’engineering of  
antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization”Protein Engineering  
vol.9 no.7 pp.617-621

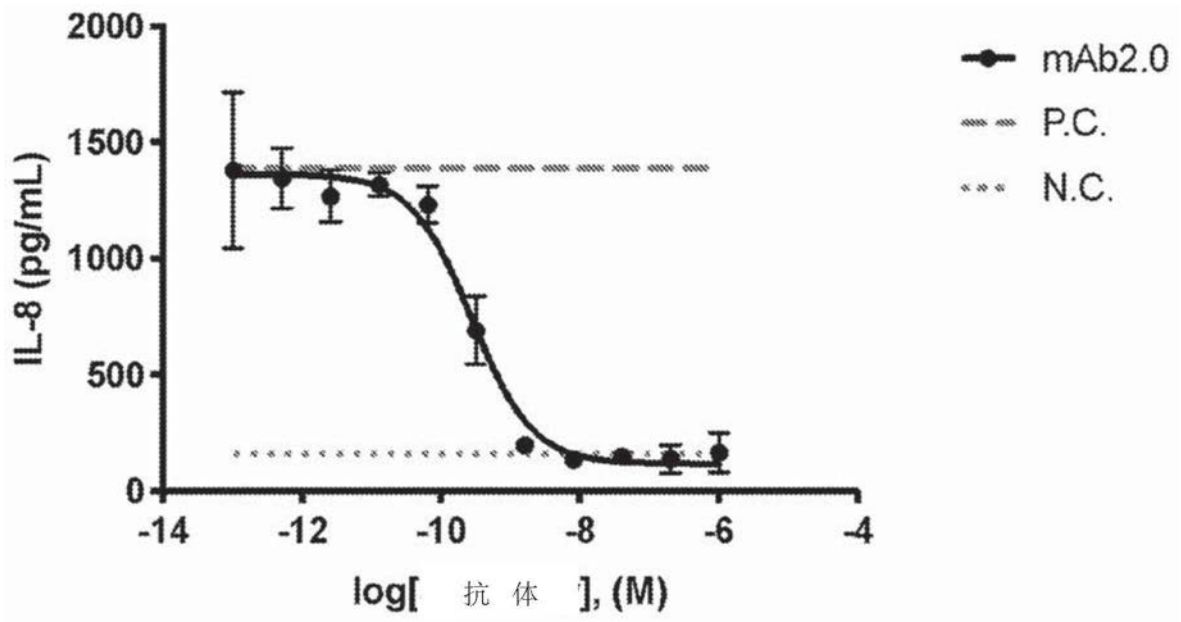


图1A

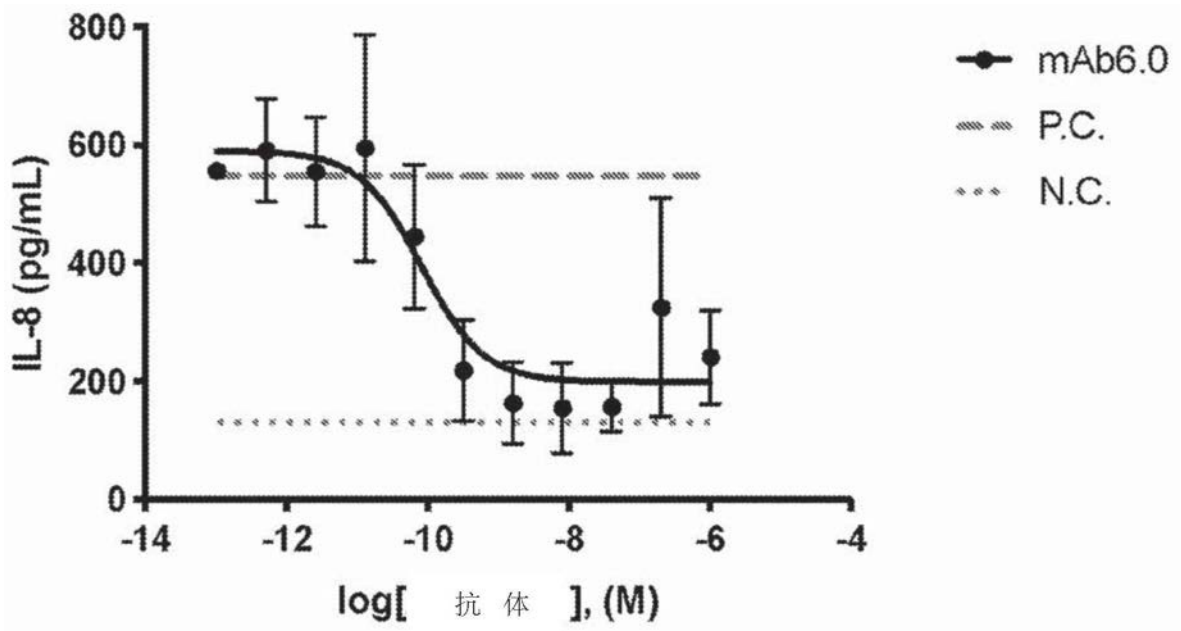


图1B

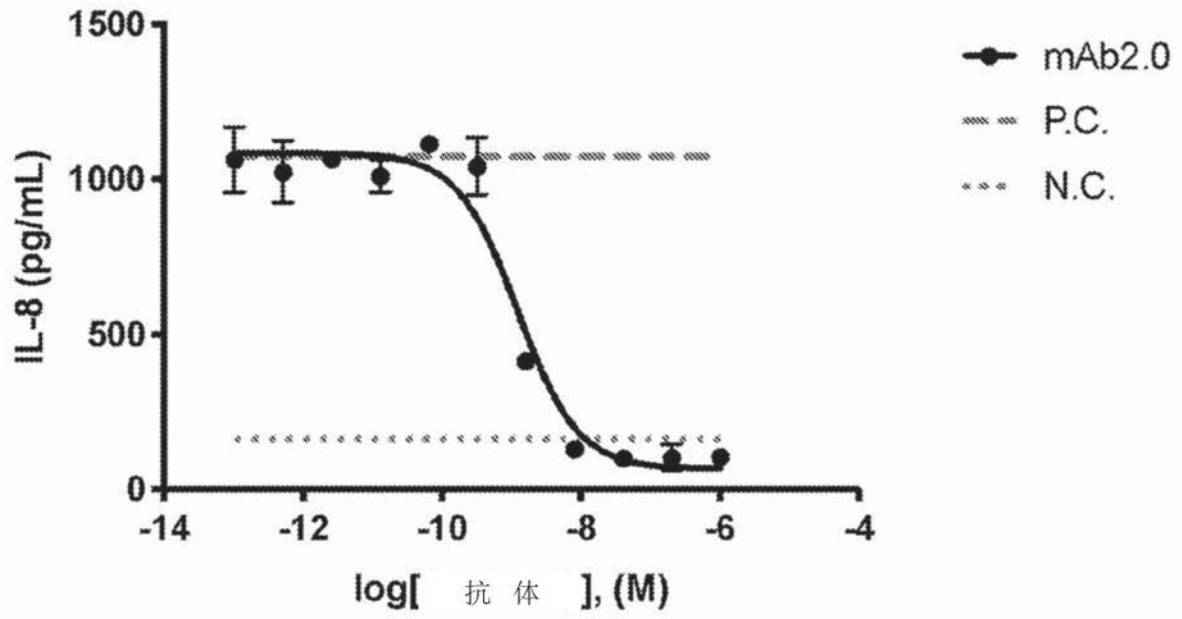


图1C

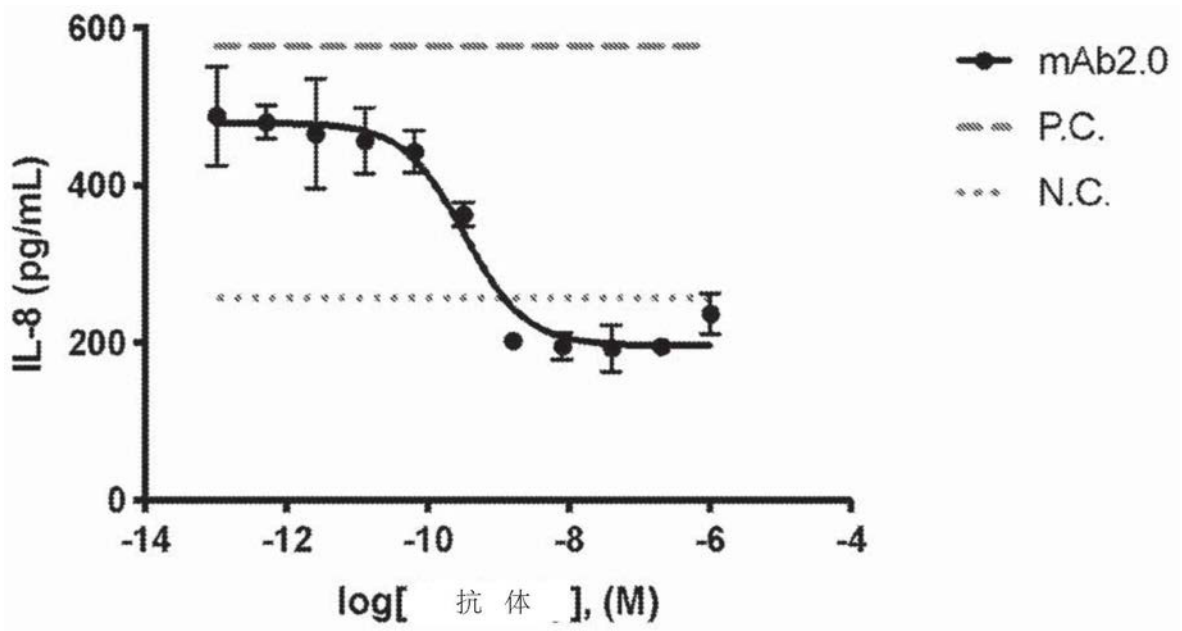


图2A

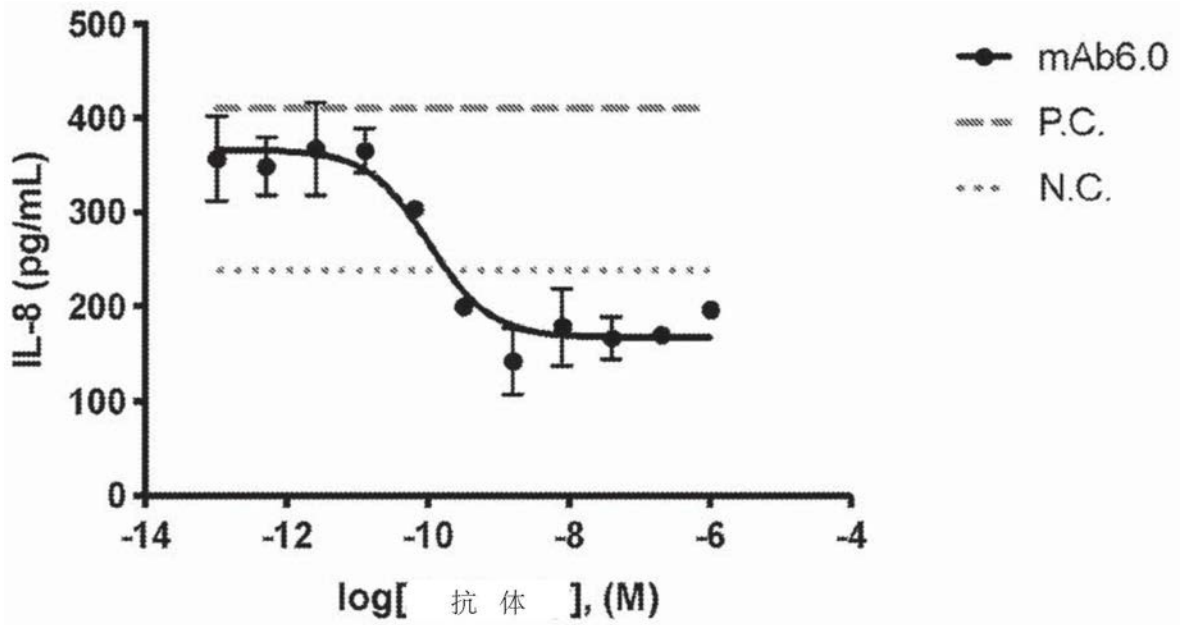


图2B

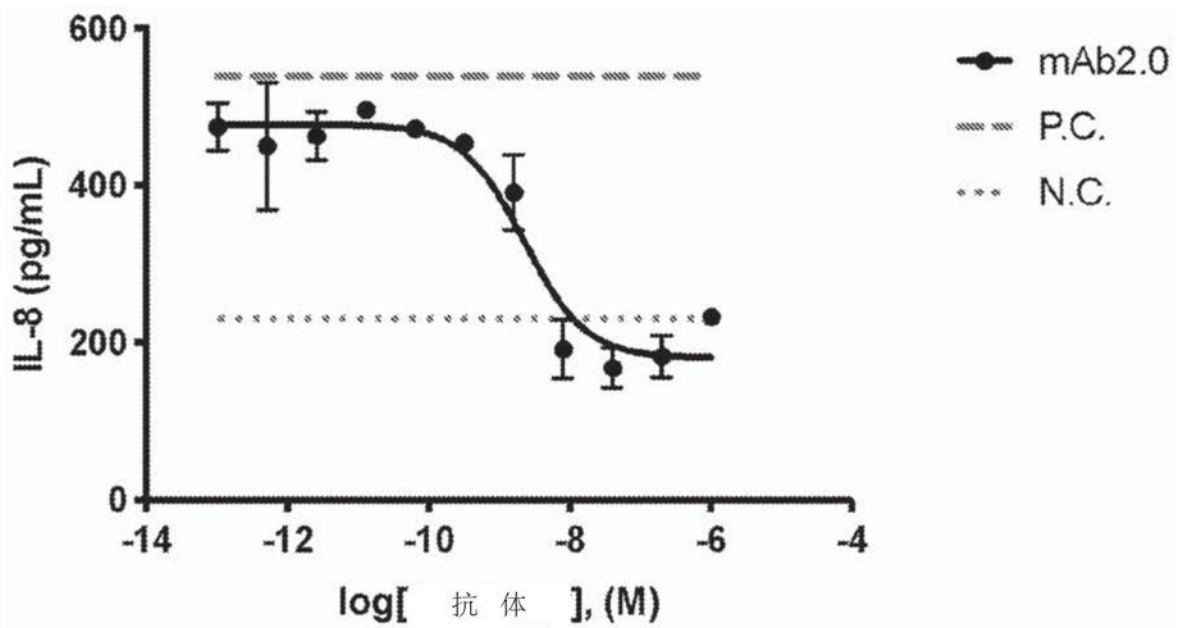


图2C

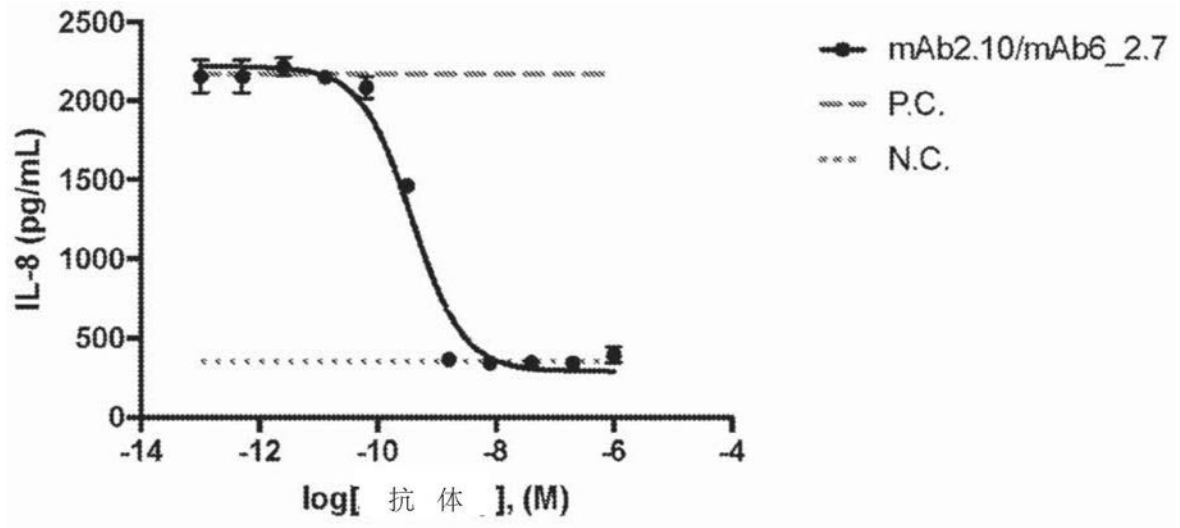


图3A

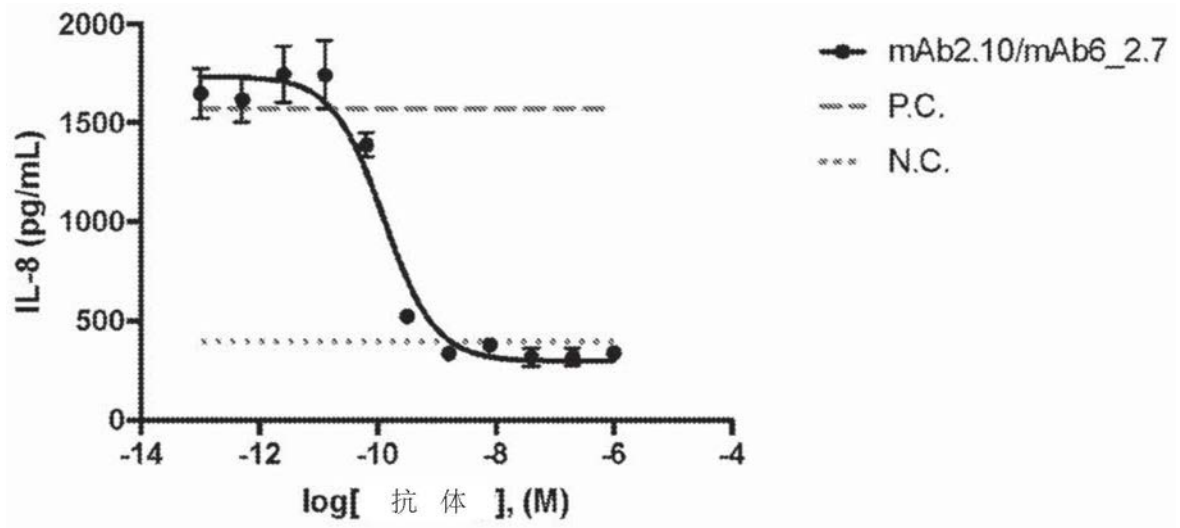


图3B

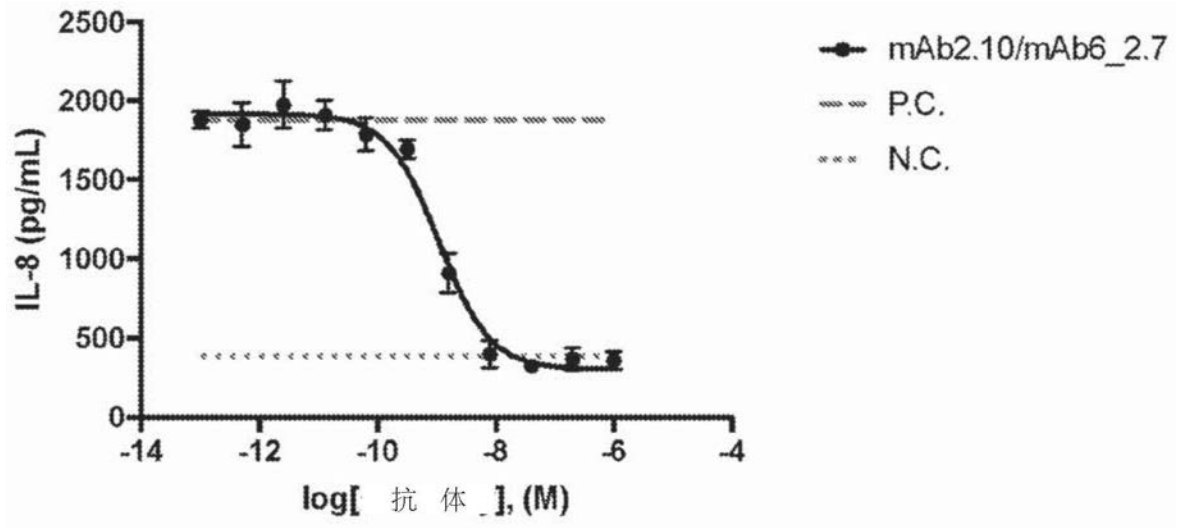


图3C

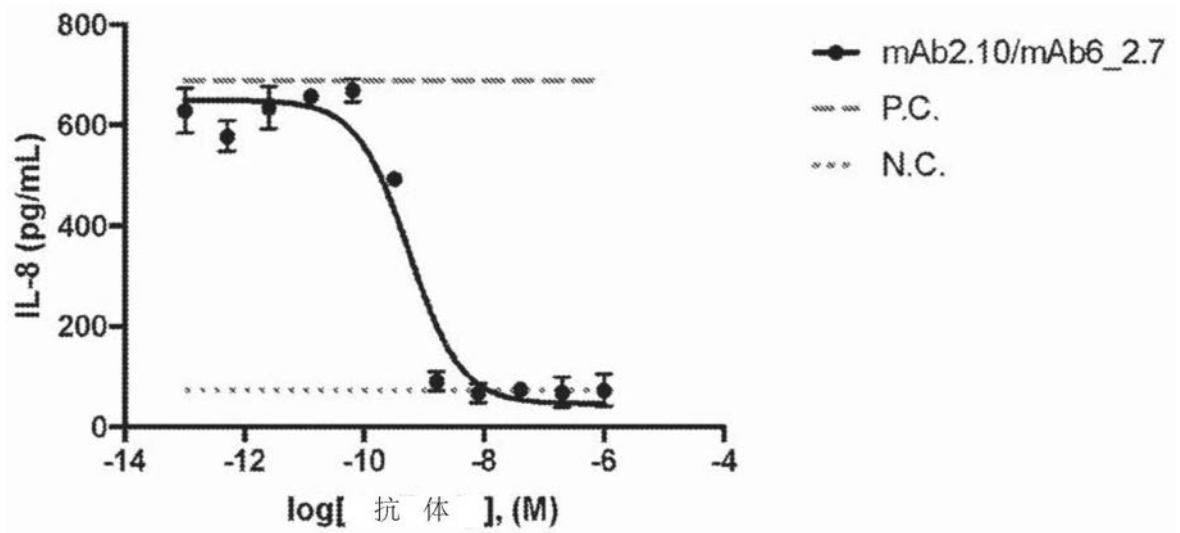


图4A

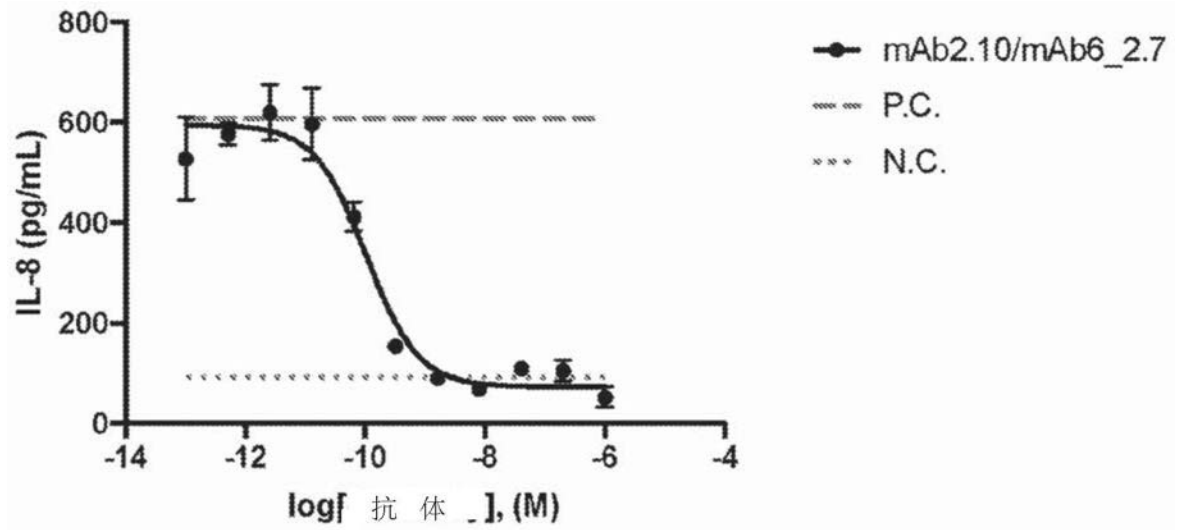


图4B

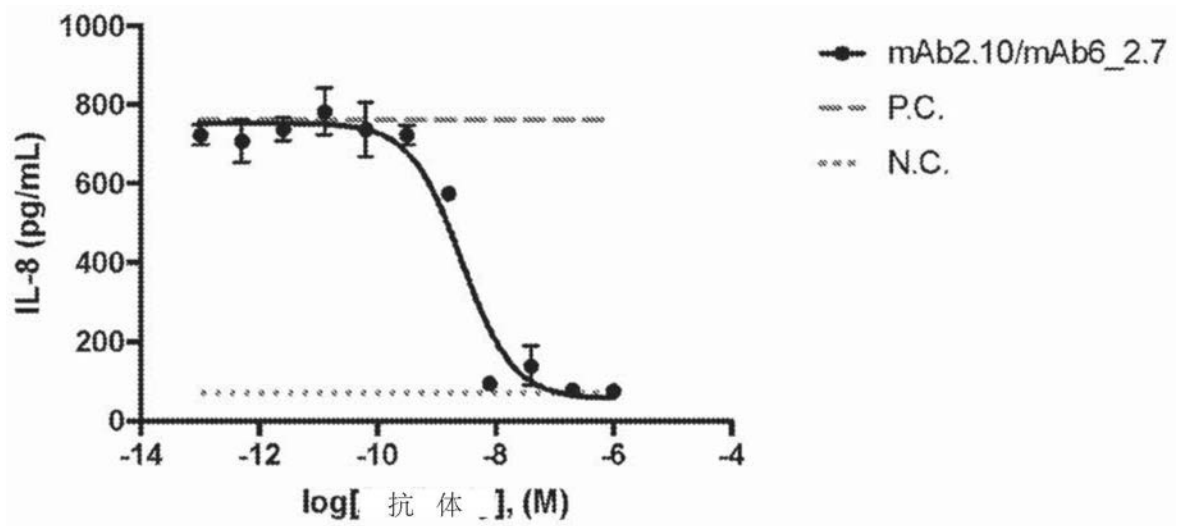


图4C