



(21)申請案號：105131644

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 09 月 30 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

C12N15/13 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2015/10/02 美國

62/236,341

(71)申請人：賽門弗鎮公司 (丹麥) SYMPHOGEN A/S (DK)

丹麥

(72)發明人：科理兒 古特 GALLER, GUNTHER (DE)；歌德 莫泥卡 GAD, MONIKA (DK)；
 科佛德 克羅斯 KOEFOED, KLAUS (DK)；胡拉克 艾芬 D HORAK, IVAN D.
 (US)；布昆恩 湯姆士 BOUQUIN, THOMAS (FR)；葛雷 麥可 KRAGH,
 MICHAEL (DK)；彼得森 米克 PEDERSEN, MIKKEL (DK)

(74)代理人：閻啟泰；林景郁

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：54 項 圖式數：11 共 228 頁

(54)名稱

抗 P D - 1 抗體及組成物

ANTI-PD-1 ANTIBODIES AND COMPOSITIONS

(57)摘要

本發明係關於抗 PD-1 抗體與使用其等治療與 PD-1 活性相關的疾病與病況(例如癌症)的方法。

This invention relates to anti-PD-1 antibodies and methods of using them in treating diseases and conditions related to PD-1 activity, e.g., cancer.

指定代表圖：

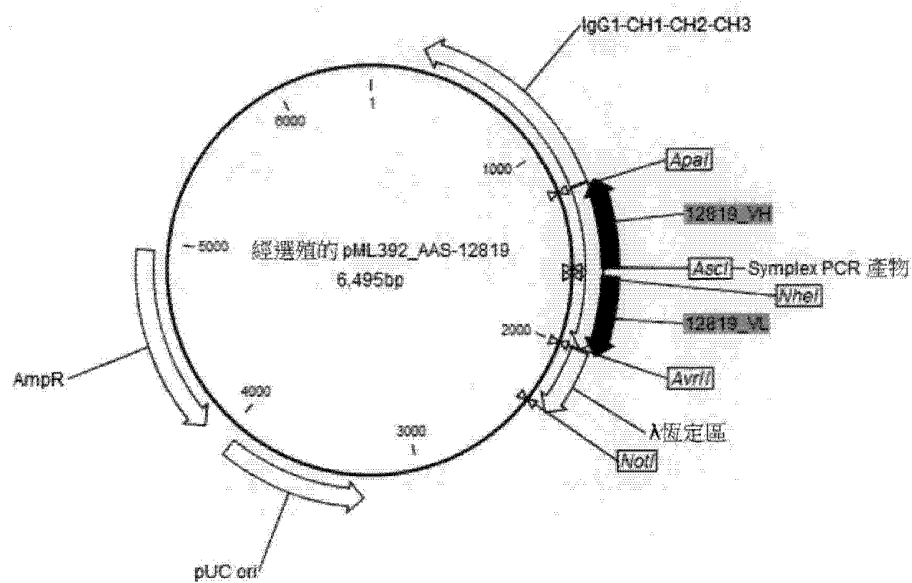


圖 1

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

抗 PD-1 抗體及組成物

ANTI-PD-1 ANTIBODIES AND COMPOSITIONS

相關申請案之交互參照

【0001】 本申請案根據 2015 年 10 月 2 日提申的美國專利申請案 62/236,341 主張優先權，該申請案之揭示內容係以完整內容以引用方式納入本文中。

序列表

【0002】 本申請案含有序列表，其已以 ASCII 格式電子提交且特此以完整內容納入。該 ASCII 複本（於 2016 年 9 月 28 日創造）名稱為 022675_WO052_SL.txt 且大小係 65,000 位元組。

【0003】

【發明背景】

【0004】 PD-1（亦以計畫性細胞死亡蛋白質 1 與 CD279 見知）為 268 個胺基酸的細胞表面受體，其屬於免疫球蛋白超家族。PD-1 係 T 細胞調節

子之 CD28 家族之成員且係於 T 細胞、B 細胞與巨噬細胞上表現。其與配體 PD-L1（亦以 B7 同源物見知）與 PD-L2（亦以 B7-DC 見知）結合。

【0005】 PD-1 係第 I 型膜蛋白質，其結構包含細胞外 IgV 功能域（domain）、跨膜區域與含有兩個磷酸化位置的細胞內尾部。以免疫查核點蛋白質見知，PD-1 起可誘導性免疫調節受體的作用，於（例如）針對抗原刺激的 T 細胞反應之負調節扮演某種角色。

【0006】 PD-L1 係 PD-1 之優勢配體。PD-L1 與 PD-1 之結合會抑制 T 細胞活性、減少細胞介素生產與抑制 T 細胞增殖。表現 PD-L1 的癌細胞能夠利用此機制來經由 PD-L1 與 PD-1 受體之結合使 T 細胞之抗腫瘤活性失活。

【0007】 考慮到其免疫反應調節特性，已在作為免疫治療（包含治療癌症與自體免疫疾病）之潛在標的方面研究 PD-1。美國與歐洲已核准 T 兩種抗 PD-1 抗體（派姆單抗（pembrolizumab）與納武單抗（nivolumab））用於治療某些癌症。

【0008】 考慮到 PD-1 作為免疫調節子的關鍵角色，存在有對於瞄準 PD-1 以治癌症與某些免疫系統之疾患的新的且改善的免疫治療之需求。

【發明概要】

【0009】 本發明係針對新穎的瞄準 PD-1 的重組抗體、以及包含此等抗體之一或多者的醫藥組成物、以及該等抗體與醫藥組成物用於在患者中增強免疫力的用途與用於治療源自諸如以下者的組織的癌症的用途：皮膚、肺臟、腸、卵巢、腦、前列腺、腎臟、軟組織、造血系統、頭與頸、肝臟、膀胱、乳房、胃、子宮與胰臟。相較於用於如此癌症的目前可得的

治療（包含抗體治療），思量到本發明之抗體無論單獨使用或與另一種癌症療法（諸如瞄準另一個免疫查核點蛋白質的抗體）組合皆可提供優秀的臨床反應。

【0010】 在一個具體態樣中，本發明提供一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其中該抗體和以下者之任一者競爭與人類 PD-1 的結合、或和以下者之任一者結合相同的人類 PD-1 之抗原決定基：抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375 與 13112.15380。

【0011】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體包含分別包含抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375、或 13112.15380 之 H-CDR1-3 序列的 H-CDR1-3。

【0012】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體具有胺基酸序列與抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375、或 13112.15380 之重鏈可變功能域（V_H）至少 90%（例如至少 92%、至少 95%、至少 98%、或至少 99%）相同的 V_H功能域。

【0013】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體具有包含抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375、或 13112.15380 之 V_H胺基酸序列的 V_H。

【0014】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體具有包含抗體

12819.15384 、 12748.15381 、 12748.16124 、 12865.15377 、 12892.15378 、 12796.15376 、 12777.15382 、 12760.15375 、 或 13112.15380 之 V_H 胺基酸序列與序列識別號：67 之重鏈恆定區域胺基酸序列的重鏈（HC）。

【0015】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體包含分別包含抗體 12819.15384 、 12748.15381 、 12748.16124 、 12865.15377 、 12892.15378 、 12796.15376 、 12777.15382 、 12760.15375 、 或 13112.15380 之 L-CDR1-3 序列的 L-CDR1-3 。

【0016】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體具有胺基酸序列與抗體 12819.15384 、 12748.15381 、 12748.16124 、 12865.15377 、 12892.15378 、 12796.15376 、 12777.15382 、 12760.15375 、 或 13112.15380 之輕鏈可變功能域（ V_L ）至少 90%（例如至少 92%、至少 95%、至少 98%、或至少 99%）相同的 V_L 功能域。

【0017】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體具有包含抗體 12819.15384 、 12748.15381 、 12748.16124 、 12865.15377 、 12892.15378 、 12796.15376 、 12777.15382 、 12760.15375 、 或 13112.15380 之 V_L 胺基酸序列的 V_L 。

【0018】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體具有包含抗體 12819.15384 、 12748.15381 、 12748.16124 、 12865.15377 、 12892.15378 、 12796.15376 、 12777.15382 、 12760.15375 、 或 13112.15380 之 V_L 胺基酸序列與序列識別號：68 之輕鏈恆定區域胺基酸序列的輕鏈（LC）。

【0019】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體包含以上描述的重鏈序列之任一者與以上輕鏈序列之任一者。

【0020】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體包含抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375、或 13112.15380 之 H-CDR3 與 L-CDR3 胺基酸序列。

【0021】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體包含抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375、或 13112.15380 之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 胺基酸序列。

【0022】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體具有胺基酸序列分別和抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375、或 13112.15380 之 V_H 與 V_L 至少 90%（例如至少 92%、至少 95%、至少 98%、或至少 99%）相同的 V_H 與 V_L 。

【0023】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375、或 13112.15380 之 V_H 與 V_L 胺基酸序列或分別由抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375、或 13112.15380 之 V_H 與 V_L 胺基酸序列所組成的 V_H 與 V_L ：

【0024】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體具有分別包含抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375、或 13112.15380 之 HC 與 LC 胺基酸序列或分別由抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、

12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375、或 13112.15380 之 HC 與 LC 胺基酸序列所組成的 HC 與 LC。

【0025】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體具有(1)包含選自由抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375、與 13112.15380 所組成的群組的抗體之 V_H胺基酸序列、與序列識別號：67 之重鏈恆定區域胺基酸序列的 HC；與(2)包含所選抗體之 V_L胺基酸序列與序列識別號：68 之輕鏈恆定區域胺基酸序列的 LC。

【0026】 在一些具體態樣中，本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分包含以下者之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 胺基酸序列：

- a)分別為序列識別號：18、19、20、21、22、與 23；
- b)分別為序列識別號：24、25、26、27、28、與 29；
- c)分別為序列識別號：30、31、32、33、34、與 35；
- d)分別為序列識別號：36、37、38、39、40、與 41；
- e)分別為序列識別號：42、43、44、45、46、與 47；
- f)分別為序列識別號：48、49、50、51、52、與 53；
- g)分別為序列識別號：54、55、56、57、58、與 59；或
- h)分別為序列識別號：60、61、62、63、64、與 65。

【0027】 在一些具體態樣中，本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分包含具有以下者之胺基酸序列的重鏈可變功能域與輕鏈可變功能域：

- a)分別為序列識別號：2 與 3；
- b)分別為序列識別號：4 與 5；

- c)分別為序列識別號：4 與 66；
- d)分別為序列識別號：6 與 7；
- e)分別為序列識別號：8 與 9；
- f)分別為序列識別號：10 與 11；
- g)分別為序列識別號：12 與 13；
- h)分別為序列識別號：14 與 15；或
- i)分別為序列識別號：16 與 17。

【0028】 在一些具體態樣中，本發明之抗 PD-1 抗體包含：

- a)包含序列識別號：2 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：3 與 68 之胺基酸序列的 LC；
- b)包含序列識別號：4 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：5 與 68 之胺基酸序列的 LC；
- c)包含序列識別號：4 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：66 與 68 之胺基酸序列的 LC；
- d)包含序列識別號：6 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：7 與 68 之胺基酸序列的 LC；
- e)包含序列識別號：8 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：9 與 68 之胺基酸序列的 LC；
- f)包含序列識別號：10 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：11 與 68 之胺基酸序列的 LC；
- g)包含序列識別號：12 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：13 與 68 之胺基酸序列的 LC；

h)包含序列識別號：14 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：15 與 68 之胺基酸序列的 LC；或

i)包含序列識別號：16 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：17 與 68 之胺基酸序列的 LC。

【0029】 在一些具體態樣中，本發明之抗體或抗原結合部分包含分別包含序列識別號：18-20 與序列識別號：21-23 之胺基酸序列的 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3。在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體包含含有序列識別號：2 之胺基酸序列的 V_H 與含有序列識別號：3 之胺基酸序列的 V_L 。於特殊的具體態樣中，該抗 PD-1 抗體包含含有序列識別號：2 與 67 之胺基酸序列的重鏈與含有序列識別號：3 與 68 之胺基酸序列的輕鏈。

【0030】 本發明亦提供與包含胺基酸殘基 K131 的 PD-1 之抗原決定基結合的抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分（例如 12819 與 12865 抗體，諸如該等於表 1、4-9、與 11-14 中列出者）。在一些具體態樣中，該抗原決定基進一步包含胺基酸殘基 P130 與 A132，且可另外包含胺基酸殘基 V64 與 L128（例如 12819 抗體）。在一些具體態樣中，該抗原決定基進一步包含胺基酸殘基 E136（例如 12865 抗體）。

【0031】 本發明亦提供與包含序列識別號：1 之胺基酸殘基 V44 與 T145 的 PD-1 之抗原決定基結合的抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分（例如 13112 抗體，諸如該等於 1、4-7、9、與 11-14 中列出者）。

【0032】 於特殊的具體態樣中，該抗體或部分與包含序列識別號：1 之胺基酸殘基 V64、L128、P130、K131、與 A132 的 PD-1 之抗原決定基結合（例如 12819 抗體）、與包含序列識別號：1 之胺基酸殘基 K131 與 E136

的 PD-1 之抗原決定基結合（例如 12865 抗體）、或與包含序列識別號：1 之胺基酸殘基 V44 與 T145 的 PD-1 之抗原決定基結合（例如 13112 抗體）。

【0033】 本發明亦提供與包含序列識別號：1 之胺基酸殘基 69-90 與 122-140 的 PD-1 之抗原決定基結合的單株抗體或其抗原結合部分（例如 12819 或 12865 抗體）。在一些具體態樣中，該單株抗體或抗原結合部分與包含序列識別號：1 之胺基酸殘基 56-64、69-90、與 122-140 的 PD-1 之抗原決定基結合（例如 12819 抗體）。在一些具體態樣中，該抗體或部分與序列識別號：1 之殘基 69-75（或其片段）結合（例如 12819 或 12865 抗體）。在一些具體態樣中，該抗體或部分與序列識別號：1 之殘基 136-140（或其片段）結合（例如 12819 或 12865 抗體）。在一些具體態樣中，該抗體或部分與序列識別號：1 之殘基 69-75（或其片段）及殘基 136-140（或其片段）結合（例如 12819 或 12865 抗體）。

【0034】 在一些具體態樣中，本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分具有以下特性之至少一者：

- a) 以 750 pM 或更低的 K_D 與人類 PD-1 結合；
- b) 以 7 nM 或更低的 K_D 與食蟹獼猴 PD-1 結合；
- c) 以 1 nM 或更低的 K_D 與小鼠 PD-1 結合；
- d) 不與大鼠 PD-1 結合；
- e) 於 SEB 全血分析中增加 IL-2 分泌；
- f) 於單向混合淋巴球反應分析中增加 IFN- γ 分泌；
- g) 於流式細胞測量競爭分析中於 10 $\mu\text{g/ml}$ 的濃度下抑制 PD-1 與 PD-L1 間的交互作用達至少 60%；

h)如由生物膜(Bio-Layer)干涉分析測定的,於 10 $\mu\text{g/ml}$ 的濃度下封阻 PD-L1 及 PD-L2 與 PD-1 的結合達至少 90%; 與

i)活體內抑制腫瘤生長。

如此抗體之實例包含(但不限於)12819 抗體(具有特性 a-i); 12748、12892、與 12777 抗體(具有至少特性 a、b、與 e-h); 12865 與 12796 抗體(具有至少特性 a、b、e、f、與 h)、與 12760 與 13112 抗體(具有至少特性 a、b、e、與 f)。在一些具體態樣中,本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分具有該等特性之每一者。在一些具體態樣中,該抗 PD-1 抗體或抗原結合部分具有至少特性 a、b、與 e-h。在一些具體態樣中,該抗 PD-1 抗體或抗原結合部分具有至少特性 a、b、e、f、與 h。在一些具體態樣中,該抗 PD-1 抗體或抗原結合部分具有至少特性 a、b、e、與 f。

【0035】 除非另加指出,12819、12748、12865、12892、12796、12777、12760 與 13112 各係關於具有相同的六個 CDR 且於其等之十個數字的編號命名中共有首五個數字的一組抗體。例如,12748 包含抗體變體 12748.15381 與 12748.16124,其等具有相同的六個 CDR(如表 2 所示)。各組抗體被預期會共有相同的或實質相同的生物特性。

【0036】 在一些具體態樣中,本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分不與派姆單抗或納武單抗競爭對 PD-1 的結合。在一些具體態樣中,本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分不與派姆單抗或納武單抗結合相同的抗原決定基;例如,本發明之抗體或部分與一或多個不與派姆單抗或納武單抗結合的 PD-1 上的殘基結合。

【0037】 在另一個方面,本發明提供包含至少一種如本文中描述的抗

PD-1 抗體或其抗原結合部分與醫藥上可接受的賦形劑的醫藥組成物。

【0038】 本發明進一步提供包含編碼如於本文中描述的抗 PD-1 抗體之重鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、編碼如於本文中描述的抗 PD-1 抗體之輕鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、或兩者的經分離的核酸分子。

【0039】 本發明亦提供包含如此經分離的核酸分子的載體，其中該載體進一步包含表現控制序列。

【0040】 本發明亦提供包含編碼如於本文中描述的抗 PD-1 抗體之重鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、編碼如於本文中描述的抗 PD-1 抗體之輕鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、或兩者的宿主細胞。

【0041】 本發明亦提供用於生產如於本文中所描述的抗體或其抗原結合部分的方法，其包含提供包含編碼如於本文中描述的抗 PD-1 抗體之重鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列與編碼如於本文中描述的抗 PD-1 抗體之輕鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列的宿主細胞、在適用於表現該抗體或部分的條件下培養該宿主細胞、與分離所得的抗體或部分。

【0042】 本發明亦提供具有於本文中所描述的抗 PD-1 抗體之結合專一性與另一個抗 PD-1 抗體（例如另一個於本文中描述的抗 PD-1 抗體）或瞄準不同的蛋白質（諸如另一個免疫查核點蛋白質、癌症抗原、或另一個其活性介導疾病病況（諸如癌症）的細胞表面分子）的抗體之結合專一性的雙專一性結合分子。

【0043】 本發明亦提供用於於有需要的患者（例如人類患者）中增強免疫力的方法，其包含將如於本文中所描述的抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分、醫藥組成物、或雙專一性結合分子投予至該患者。

【0044】 本發明進一步提供用於患者（例如人類患者）中治療癌症的方法，其包含將如於本文中所描述的抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分、醫藥組成物、或雙專一性結合分子投予至該患者。在一些具體態樣中，該癌症源自選自由以下者所組成的群組的組織中：皮膚、肺臟、腸、卵巢、腦、前列腺、腎臟、軟組織、造血系統、頭與頸、肝臟、膀胱、乳房、胃、子宮與胰臟。該癌症可為（例如）晚期或轉移性黑色素瘤、非小細胞肺癌、頭頸鱗狀細胞癌、腎細胞癌、或何杰金氏淋巴瘤。在一些具體態樣中，該方法進一步包含投予化學治療劑、抗贅瘤劑、抗血管生成劑、酪胺酸激酶抑制劑、或 PD-1 途徑抑制劑。

【0045】 本發明進一步提供用於上述治療的本發明之抗體或抗原結合部分、與本發明之抗體或抗原結合部分用於製造用於上述治療（即治療需要其以增強免疫系統的人類、與治療患有癌症（諸如上述癌症之一）的人類）的醫藥品的用途。

【圖式簡單說明】

【0046】 圖 1 顯示含有分別與相對應人類重鏈 IgG1-CH1-CH2-CH3 與人類輕鏈 λ 恆定片段符合讀框地選殖的抗 PD-1 抗體 AAS-12819 之 V_H 與 V_L 區域（以黑色顯示）的 PCR 產物。用於此選殖的限切位置係 ApaI 與 AvrII。限切位置 AscI 與 NheI 係於 V_H 與 V_L 5' 末端之間顯示。質體複製起點被描繪成 pUC ori 且賦予胺苄青黴素抗性的基因被描繪成 AmpR。

【0047】 圖 2 顯示具有於 V_H 與 V_L 之 5' 末端之間使用 AscI 與 NheI 限切位置插入的雙重 CMV 啟動子的表現構築體。 V_H 與 V_L 序列係以黑色描

繪，其他有註解的基因元件係以白色描繪。

【0048】 圖 3A-3C 顯示以下者之代表性的流式細胞測量術點圖：(A) 與經人類 PD-1 轉染的細胞專一性結合的抗體殖系、(B)與 CHO-S 細胞非專一性結合的殖系、與(C)不與於此篩選中使用的細胞族群之任一者結合的殖系。

【0049】 圖 4 顯示在以 SEB (葡萄球菌屬腸毒素 B) 刺激之前與之後於六個供體 (D1-D6) 中表現 PD-1 的淋巴球之頻率。

【0050】 圖 5A-I 顯示於 SEB 分析中候選抗 PD-1 抗體之滴定。

【0051】 圖 6A-H 顯示於單向 MLR 分析中候選抗 PD-1 抗體之滴定。

【0052】 圖 7A-B 顯示在抗 PD-1 抗體之存在下 PD-L1 與 PD-1 表現性細胞之結合。

【0053】 圖 8 顯示所測試的抗 PD-1 抗體 12866.13188、12807.13177、12819.17149、12865.17150、12892.13195、12777.15382、12760.13169、13112.15380、與納武單抗與派姆單抗類似物的所鑑認的抗原決定基群組 (抗原決定基倉 (epitope bin)) 之概要。以黑線連接的抗體指示有交叉封阻活性。抗體係根據與其他抗 PD-1 抗體的競爭模式分組。Nivo：納武單抗類似物；Pembro：派姆單抗類似物。

【0054】 圖 9(子圖 A-G)顯示抗體抗原決定基在人類 PD-1(PDB 4ZQK 與 2M2D)之結構上的位置。A)人類 PD-1 細胞外功能域(ECD)(殘基 33-150)之草圖。GFCC' 與 ABED β 褶板與 C' -D 環圈之位置被闡明。B)於與於(A)中相同的視角的人類 PD-1:人類 PD-L1 複合體之草圖。C)以密度圖顯示的派姆單抗抗原決定基之分子模型，顏色較深的區域代表介導較強的結合的區

域。黑色的區域代表藉由丙胺酸掃描找到的接觸殘基。D)如於(C)中表現的納武單抗抗原決定基之分子模型。E)如於(C)中表現的 12819 抗體抗原決定基之分子模型。F)如於(C)中表現的 12865 抗體抗原決定基之分子模型。G)如於(C)中表現的非配體封阻性 13112 抗體抗原決定基之分子模型。

【0055】 圖 10(子圖 A-D)顯示於四個同基因腫瘤模型中使用抗 PD-1 抗體 12819、17149 或媒劑處理對腫瘤生長的功效。A) CT26(結腸癌)。B) C38(結腸癌)。C) ASB-XIV(肺癌)。D) Sa1N(纖維肉瘤)。灰色的區域表示處理期間。數據係以平均值 $\pm$ SEM 呈現。 $* P<0.001$ 。

【0056】 圖 11 顯示以抗 PD-1 抗體 12819、17149、派姆單抗(Keytruda[®])、或媒劑處理對經半人類化的異種移植腫瘤模型(其中人類黑色素瘤細胞系 A375 在接種前係與經純化的人類 CD8⁺與 CD4⁺ T 細胞混合)之腫瘤生長的功效。灰色的區域表示處理期間。數據係以平均值 $\pm$ SEM 呈現。 $* P<0.001$ 。

【發明詳細說明】

【0057】 本發明提供新的抗人類 PD-1 抗體，其可用以增強人類患者中的免疫系統(諸如癌症患者)。除非另加陳述，用於本文中，「PD-1」係關於人類 PD-1。人類 PD-1 多肽序列可於 Uniprot 登錄號 Q15116(PDCD1_人類)下獲得，於本文以序列識別號：1 顯示。

【0058】 用於本文中，術語「抗體」(Ab)或「免疫球蛋白」(Ig)係關於由二硫鍵相互連接包含二個重(H)鏈(約 50-70 KDa)與兩個輕(L)鏈(約 25 KDa)的四聚體。各個重鏈包含重鏈可變功能域(V_H)與重鏈恆

定區域 (CH)。各個輕鏈由輕鏈可變功能域 (V_L) 與輕鏈恆定區域 (CL) 構成。V_H 與 V_L 功能域可被進一步細分成點綴著更保留的區域 (稱為「構架區」(FR)) 的高度易變性之區域 (稱為「互補決定區」(CDR))。各個 V_H 與 V_L 係由三個 CDR (H-CDR 於本文中表明來自重鏈的 CDR；且 L-CDR 本文中表明來自輕鏈的 CDR) 與四個 FR 構成，其等由胺基末端至羧基末端以以下順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈或輕鏈中的胺基酸編號之指派可根據 IMGT® 定義 (Lefranc 等人, Dev Comp Immunol 27(1):55-77 (2003))；或 Kabat 之定義，Sequences of Proteins of Immunological Interest (國立衛生研究所，貝什斯達，MD (1987 與 1991))；Chothia & Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)；或 Chothia 等人, Nature 342:878-883 (1989)。

【0059】 術語「重組抗體」係關於一種抗體，其係自包含編碼該抗體的核苷酸序列的細胞或細胞系表現，其中該（等）核苷酸序列不與該細胞天然聯結。

【0060】 術語「經分離的蛋白質」、「經分離的多肽」或「經分離的抗體」係關於一種蛋白質、多肽或抗體，其由於其衍生之起源或來源(1)不與在其天然狀態下伴隨其的天然聯結組份聯結，(2)不含來自相同物種的其他蛋白質，(3)係由來自不同物種的細胞表現，及/或(4)在自然中不存在。因此，化學合成的多肽或於與其天然所源自的細胞不同的細胞系統中合成的多肽會係自其天然聯結的組份「經分離的」。亦可藉由使用所屬技術領域中廣為人知的蛋白質純化技術來分離以使蛋白質實質上不含天然聯結的組份。

【0061】 用於本文中，術語「生殖系」係關於與其等經由生殖細胞自親代傳至後代時一樣的抗體基因與基因節段之核苷酸與胺基酸序列。生殖

系序列與編碼成熟 B 細胞中的抗體的核苷酸序列（其等已被在 B 細胞成熟之過程之期間的重組與超突變事件改變）有區別。「利用」特殊生殖系序列的抗體具有與該生殖系核苷酸序列排比或與其比起任何其他生殖系核苷酸或胺基酸序列更接近地具體指定的胺基酸序列排比的核苷酸或胺基酸序列。

【0062】 術語「親和力」係關於抗原與抗體間的吸引之度量。抗體對抗原的固有吸引力典型係以特殊抗體-抗原交互作用之結合親和力平衡常數（ K_D ）表現。當 K_D 係 ≤ 1 mM（較佳為 ≤ 100 nM）時，抗體被稱為與抗原專一性結合的。 K_D 結合親和力常數可藉由（例如）表面電漿子共振（BIAcore™）或生物膜干涉（Bio-Layer Interometry）（例如使用來自 Bio-Rad 的 ProteOn™ XPR36 SPR 系統或 Octet™ 系統）測量。

【0063】 術語「 k_{off} 」係關於特殊抗體-抗原交互作用之解離速率常數。 k_{off} 解離速率常數可藉由生物膜干涉（例如使用 Octet™ 系統）測量。

【0064】 用於本文中，術語「抗原決定基」係關於抗原之一個部分（決定區），其與抗體或相關的分子（諸如雙專一性結合分子）專一性結合。抗原決定基的決定區一般由諸如胺基酸或碳水化合物或糖側鏈的分子之化學上有活性的表面群集所組成且一般具有特殊的三維結構特徵以及特殊的電荷特徵。抗原決定基可為「線性」或「構形性」。於線性抗原決定基中，蛋白質（例如抗原）與交互作用分子（諸如抗體）間的所有交互作用之點沿著蛋白質之一級胺基酸序列線性地發生。於構形性抗原決定基中，交互作用之點於遍及蛋白質上於一級胺基酸序列中彼此分開的胺基酸殘基發生。一旦在抗原上的所欲抗原決定基被測定，就有可能去使用所屬技術領域中

廣為人知的技術產生針對該抗原決定基的抗體。例如，針對一線性抗原決定基的抗體可藉由（例如）以具有該線性抗原決定基之胺基酸殘基的胜肽致免疫動物來產生。針對構形性抗原決定基的抗體可藉由（例如）以含有構形性抗原決定基之有關胺基酸殘基的迷你功能域致免疫動物來產生。針對特殊抗原決定基的抗體亦可藉由（例如）以所關注的目標分子或其有關部分（例如 PD-1 之 ECD）致免疫動物然後針對對抗原決定基的結合作篩選來產生。

【0065】 可藉由使用所屬技術領域中已知的方法(其包含(但不限於)競爭分析、抗原決定基入倉(epitope binning)、與丙胺酸掃描)測定一抗體是否與本發明之抗 PD-1 抗體結合相同的抗原決定基或和本發明之抗 PD-1 抗體競爭結合。在一些具體態樣中，該測試抗體及本發明之抗 PD-1 抗體與至少一個在 PD-1 上的共同的殘基（例如至少兩個、三個、四個、或五個共同的殘基）結合。於進一步的具體態樣中，測試抗體與本發明之抗 PD-1 抗體間的 PD-1 上的接觸殘基係完全相同的。在一個具體態樣中，允許本發明之抗 PD-1 抗體在飽和條件下與 PD-1 結合並接著測量測試抗體與 PD-1 結合的能力。若該測試抗體能夠和參考抗 PD-1 抗體同時與 PD-1 結合，則該測試抗體與該參考抗 PD-1 抗體結合不同的抗原決定基。然而，若該測試抗體無法同時與 PD-1 結合，則該測試抗體和與本發明之抗 PD-1 抗體所結合的抗原決定基相同的抗原決定基、與本發明之抗 PD-1 抗體所結合的抗原決定基重疊的抗原決定基、或接近本發明之抗 PD-1 抗體所結合的抗原決定基的抗原決定基結合。此實驗可使用 ELISA、RIA、BIAcore™、生物膜干涉或流式細胞測量術執行。為測試一抗 PD-1 抗體是否與另一抗 PD-1 抗體交叉

競爭，可以兩個方向使用以上描述的競爭方法，即測定已知抗體是否封阻測試抗體與反之亦然。如此交叉競爭實驗可使用（例如）IBIS MX96 SPR 儀器或 Octet™ 系統執行。

【0066】 術語「嵌合抗體」係以其最寬廣的意義使用且係關於一種抗體，其含有來自一個抗體的一或多個區域與來自一或多個其他抗體的一或多個區域，其典型為部分人類來源且部分為非人類來源（即部分衍生自非人類動物（例如小鼠、大鼠或其他嚙齒類動物、或鳥類（諸如雞））的抗體。為了減少人類抗抗體反應（例如於鼠類抗體之例子中的人類抗小鼠抗體反應）之風險，相較於非人類抗體，嵌合抗體係較佳的。典型嵌合抗體之實例之一係其中可變功能域序列為鼠類而恆定區域序列為人類者。於嵌合抗體之例子中，非人類部分可經受進一步的改變以人類化該抗體。於本文中描述的嵌合抗體具有雞可變功能域序列與人類恆定區域序列。

【0067】 術語「人類化」係關於以下事實：在一抗體係完全或部分非人類來源（例如，藉由以所關注的抗原分別致免疫小鼠或雞來獲得的鼠類或雞抗體、或基於如此鼠類或雞抗體的嵌合抗體）的情況下，有可能去置換胺基酸（特別是於重鏈與輕鏈之構架區與恆定區域中）以避免或最小化人類中的免疫反應。雖然不可能準確地預期致免疫性與藉此準確地預期特定抗體之人類抗抗體反應，相較於人類抗體，非人類抗體更傾向會於人類中致免疫。已顯示相較於完全外來來源之抗體，其中外來（例如嚙齒類動物或鳥類）恆定區域已以人類來源之序列置換的嵌合抗體一般致免疫性較低，且於治療抗體中的趨勢係朝向人類化或完全人類抗體。嵌合抗體或其他非人類來源之抗體因此可被人類化以減少人類抗抗體反應之風險。

【0068】 對於嵌合抗體而言，人類化典型地涉及修改可變功能域序列之構架區。有關人類化，為互補決定區（CDR）之部分的胺基酸殘基最常不會被改變，雖然在一些例子中改變個別的 CDR 胺基酸殘基可能是所欲的以（例如）移除醣苷化位置、脫醣胺化位置、天門冬胺酸酯異構化位置或非所欲的朮胺酸或甲硫胺酸殘基。與 N 連接的醣苷化係藉由寡醣鏈接附至三胜肽序列 Asn-X-Ser 或 Asn-X-Thr（其中 X 可為除了 Pro 以外的任何胺基酸）中的天冬醣胺酸殘基而發生。移除 N-醣苷化位置可藉由將 Asn 或 Ser/Thr 殘基突變成不同的殘基（較佳是藉由保守性取代的方式）達成。天冬醣胺酸與麩醣胺酸殘基之脫醣胺化可依賴諸如 pH 與表面暴露的因子而發生。天冬醣胺酸殘基特別易受脫醣胺化影響（主要是當其存在於序列 Asn-Gly 中且在較小的程度上存在於諸如 Asn-Ala 的其他二胜肽序列時）。當如此脫醣胺化位置（特別是 Asn-Gly）存在於 CDR 序列中時，移除該位置（典型係藉由保守性取代以移除有牽連的殘基之一）可能係因此所欲的。

【0069】 許多用於人類化抗體序列的方法係所屬技術領域中已知的；參見（例如）Almagro & Fransson, Front Biosci. 13:1619-1633 (2008)之回顧。一個通常使用的方法為 CDR 移植法，其（例如）對於衍生自鼠類的嵌合抗體而言涉及鑑認對鼠類可變功能域基因的人類生殖系基因對應物與將鼠類 CDR 序列移植至此構架中。抗體與目標抗原間的交互作用之專一性主要存在於位於重鏈與輕鏈之六個 CDR 的胺基酸殘基。因此，相較於在 CDR 外面的序列，在 CDR 裡面的胺基酸序列在個別抗體間更多變。因為 CDR 序列負責大部分的抗體-抗原交互作用，以下者是可能的：藉由（例如）構築表現被移植至來自不同的抗體的構架序列中的來自特定抗體的 CDR 序列的表現

載體來表現模擬特殊的天然存在的抗體（或更一般地為任何具有給定胺基酸序列的特殊的抗體）之特性的重組抗體。因此，以下者是可能的：「人類化」非人類抗體且仍實質上維持本來的抗體之結合專一性與親和力。CDR 移植法可基於 Kabat CDR 定義，雖然更最近的文獻（Magdelaine-Beuzelin 等人, Crit Rev.Oncol Hematol. 64:210-225 (2007)）已建議 IMGT[®]定義（國際免疫遺傳學資訊系統[®]，www.imgt.org）可改善人類化之結果（參見 Lefranc 等人, Dev. Comp Immunol. 27:55-77 (2003)）。

【0070】 於一些例子中，相較於 CDR 自其獲得的親代抗體，CDR 移植可能減少經移植 CDR 的非人類抗體之結合專一性與親和力、與因此的生物活性。回復突變（有時被稱為「構架修復」）可於經移植 CDR 的抗體之所選位置（典型於構架區內）導入以重新建立親代抗體之結合專一性與親和力。對於可能的回復突變之位置之鑑認可使用於文獻中與抗體資料庫中可得的資訊執行。為回復突變之候選物的胺基酸殘基典型係該等位於抗體分子之表面者，而被包埋的或具有低表面暴露程度的殘基通常不會被改變。

【0071】 對於 CDR 移植與回復突變的供選擇的人類化技術為重回表面，其中非人類來源的非暴露至表面的殘基被保留，而表面殘基被改變成人類殘基。

【0072】 於某些實例中，以下者亦可能是所欲的：改變一或多個 CDR 胺基酸殘基以改善對目標抗原決定基的結合親和力。此以「親和力成熟」見知且視需要可聯結人類化來執行（例如於抗體之人類化導致結合專一性或親和力減少且無法單單藉由回復突變充分地改善結合專一性或親和力的情況下）。種種親和力成熟方法係所屬技術領域中已知的，例如由 Burks 等

人, Proc Natl Acad Sci USA、94:412 - 417 (1997)所描述的試管內掃描飽和突變誘發方法、與 Wu 等人, Proc Natl Acad Sci USA 95:6037 - 6042 (1998)之逐步試管內親和力成熟方法。

【0073】 用於本文中，術語抗體之「抗原結合部分」（或僅僅「抗體部分」）係關於抗體之一或多個部分或片段，其保留與抗原（例如人類 PD-1、或其部分）專一性結合的能力。已顯示全長抗體之某些片段可執行抗體之抗原結合功能。涵蓋在術語「抗原結合部分」內的結合片段之實例包含(i) Fab 片段：由 V_L 、 V_H 、 C_L 與 C_{H1} 功能域所組成的單價片段（例如以下所描述的 12819.17149 與 12865.17150 Fab 片段）；(ii) $F(ab')_2$ 片段：包含兩個於鉸鏈區域由二硫橋連接的 Fab 片段的二價片段；(iii)由 V_H 與 C_{H1} 功能域所組成的的 Fd 片段；(iv)由抗體之單臂之 V_L 與 V_H 功能域所組成的 Fv 片段、(v) dAb 片段，其由 V_H 功能域組成；與(vi)能夠專一性地與抗原結合的經分離的互補決定區（CDR）。此外，雖然 Fv 片段之兩個功能域（ V_L 與 V_H ）係由分開的基因編碼，其等可使用重組方法藉由使其等能夠以其中 V_L 與 V_H 功能域配對以形成單價分子的單一蛋白質鏈（以單鏈 Fv（scFv）見知）的形式製造的合成的連接子連結在一起。亦落入本發明內者係包含 V_H 及/或 V_L 的抗原結合性分子。於 V_H 之例子中，該分子亦可包含 $CH1$ 、鉸鏈、 $CH2$ 、或 $CH3$ 區域之一或多者。如此單鏈抗體亦欲被涵蓋在術語抗體之「抗原結合部分」內。單鏈抗體之其他形式（諸如雙體抗體（diabody））亦被涵蓋。雙體抗體為二價雙專一性抗體，其中 V_H 與 V_L 功能域係在單一多肽鏈上表現，但使用過短以至於相同的鏈上的兩個功能域無法配對的連接子，藉此使該等功能域與另一鏈之互補功能域配對且創造出兩個抗原結合性位置。

【0074】 抗體部分（諸如 Fab 與 F(ab')₂ 片段）可自完整的抗體使用習用技術（諸如完整抗體之木瓜酶或胃蛋白酶消化）製備。此外，抗體、抗體部分與免疫黏附分子可使用標準重組 DNA 技術（例如如於本文中所描述者）獲得。

【0075】 抗 PD-1 抗體之類型（同型）與子類型可藉由任何所屬技術領域中已知的方法測定。一般而言，抗體之類型與子類型可使用對特殊的抗體之類型與子類型有專一性的抗體測定。如此抗體係商業上可購得的。類型與子類型可藉由 ELISA、西方墨漬以及其他技術測定。供選擇地，類型與子類型可藉由定序抗體之重鏈及/或輕鏈之整個恆定區域或其部分、將其等之胺基酸序列與種種免疫球蛋白之類型與子類型之已知胺基酸序列作比較、與確定抗體之類型與子類型來測定。

【0076】 當提及於抗體序列之給定位置的特殊胺基酸殘基時，（例如）「35S」之指示係關於位置與殘基，即於此例子中指出絲胺酸殘基（S）存在於序列之位置 35。同樣地，（例如）「13Q+35S」之指示係關於在分別的位置的兩個殘基。

【0077】 除非另加指出，於本文之揭示內容中提及的所有抗體胺基酸殘基編號係在 IMGT[®] 編號格式下者。

抗 PD-1 抗體

【0078】 本發明提供針對 PD-1 的抗體、與其抗原結合部分。該抗體可為嵌合性，具有衍生自雞的可變功能域、與人類恆定區域，或可為經人類化的。於本文中揭示的抗體特別是經人類化抗體。

【0079】 八個本發明之所選人類化抗 PD-1 抗體之 V_H 與 V_L 胺基酸序列（序列識別號：2 至 17）係進一步於以下表 4（實施例 4）中顯示。用於參考，序列識別號係於以下表 1 中提供。

【0080】 於本文中揭示的抗 PD-1 抗體可以 5 個數字的編號（例如「12819」）或以 10 個數字的編號（例如「12819.15384」）提及。用於本文中，5 個數字的編號係關於所有具有於表 2 中針對該數字顯示的重鏈與輕鏈 CDR1-3 序列的抗體，而使用 10 個數字的編號係關於特殊的經人類化變體。例如，12819.15384 係具有如表 2 所示的 12819 抗體之 CDR 序列的特殊的經人類化變體。該 5 個數字的編號涵蓋（例如）除了於 FR 中的一些改變外（例如於成熟輕鏈之 N 末端缺少殘基 SY、或具有殘基 SS 替代 SY）與於以下表 1 中顯示的 10 個數字的變體相同的抗體。此等修改不會改變該抗體之功能（例如抗原結合性）特性。

表 1 經人類化抗 PD-1 抗體之重鏈與輕鏈可變功能域之胺基酸序列的序列識別號

抗體	V _H	V _L
12819.15384	2	3
12748.15381	4	5
12748.16124	4	66
12865.15377	6	7
12892.15378	8	9
12796.15376	10	11
12777.15382	12	13
12760.15375	14	15
13112.15380	16	17

【0081】 以下表 2 提供抗體之重鏈與輕鏈 CDR 胺基酸序列的序列識別號。

表2 抗 PD-1 抗體之 CDR 胺基酸序列的序列識別號

抗體	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
12819	18	19	20	21	22	23
12748	24	25	26	27	28	29
12865	30	31	32	33	34	35
12892	36	37	38	39	40	41
12796	42	43	44	45	46	47
12777	48	49	50	51	52	53
12760	54	55	56	57	58	59
13112	60	61	62	63	64	65

【0082】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)一種抗體，其之 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：18-20 之胺基酸序列；
- b)一種抗體，其之重鏈可變功能域（V_H）在序列上與序列識別號：2 之胺基酸序列至少 90%相同；
- c)一種抗體，其之 V_H包含序列識別號：2 之胺基酸序列；
- d)一種抗體，其之重鏈（HC）包含序列識別號：2 與 67 之胺基酸序列；
- e)一種抗體，其之 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：21-23 之胺基酸序列；
- f)一種抗體，其之輕鏈可變功能域（V_L）在序列上與序列識別號：3 之胺基酸序列至少 90%相同；

- g)一種抗體，其之 V_L 包含序列識別號：3 之胺基酸序列；
- h)一種抗體，其之輕鏈（LC）包含序列識別號：3 與 68 之胺基酸序列；
- i)一種抗體，其之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：18-23 之胺基酸序列；
- j)一種抗體，其之 V_H 在序列上與序列識別號：2 之胺基酸序列至少 90%相同且其之 V_L 在序列上與序列識別號：3 之胺基酸序列至少 90%相同；
- k)一種抗體，其之 V_H 包含序列識別號：2 之胺基酸序列且其之 V_L 包含序列識別號：3 之胺基酸序列；與
- l)一種抗體，其之 HC 包含序列識別號：2 與 67 之胺基酸序列且其之 LC 包含序列識別號：3 與 68 之胺基酸序列。

【0083】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)一種抗體，其之 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：24-26 之胺基酸序列；
- b)一種抗體，其之重鏈可變功能域（ V_H ）在序列上與序列識別號：4 之胺基酸序列至少 90%相同；
- c)一種抗體，其之 V_H 包含序列識別號：4 之胺基酸序列；
- d)一種抗體，其之重鏈（HC）包含序列識別號：4 與 67 之胺基酸序列；
- e)一種抗體，其之 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：27-29 之胺基酸序列；
- f)一種抗體，其之輕鏈可變功能域（ V_L ）在序列上與序列識別號：5 或 66 之胺基酸序列至少 90%相同；
- g)一種抗體，其之 V_L 包含序列識別號：5 或 66 之胺基酸序列；
- h)一種抗體，其之輕鏈（LC）包含序列識別號：5 或 66 之胺基酸序列與序

列識別號：68 之胺基酸序列；

i)一種抗體，其之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：24-29 之胺基酸序列；

j)一種抗體，其之 V_H在序列上與序列識別號：4 之胺基酸序列至少 90%相同且其之 V_L在序列上與序列識別號：5 或 66 之胺基酸序列至少 90%相同；

k)一種抗體，其之 V_H包含序列識別號：4 之胺基酸序列且其之 V_L包含序列識別號：5 或 66 之胺基酸序列；與

l)一種抗體，其之 HC 包含序列識別號：4 與 67 之胺基酸序列且其之 LC 包含序列識別號：5 或 66 與序列識別號：68 之胺基酸序列。

【0084】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

a)一種抗體，其之 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：30-32 之胺基酸序列；

b)一種抗體，其之重鏈可變功能域（V_H）在序列上與序列識別號：6 之胺基酸序列至少 90%相同；

c)一種抗體，其之 V_H包含序列識別號：6 之胺基酸序列；

d)一種抗體，其之重鏈（HC）包含序列識別號：6 與 67 之胺基酸序列；

e)一種抗體，其之 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：33-35 之胺基酸序列；

f)一種抗體，其之輕鏈可變功能域（V_L）在序列上與序列識別號：7 之胺基酸序列至少 90%相同；

g)一種抗體，其之 V_L包含序列識別號：7 之胺基酸序列；

h)一種抗體，其之輕鏈（LC）包含序列識別號：7 與 68 之胺基酸序列；

i)一種抗體，其之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：30-35 之胺

基酸序列；

j)一種抗體，其之 V_H 在序列上與序列識別號：6 之胺基酸序列至少 90%相同

且其之 V_L 在序列上與序列識別號：7 之胺基酸序列至少 90%相同；

k)一種抗體，其之 V_H 包含序列識別號：6 之胺基酸序列且其之 V_L 包含序列識別號：7 之胺基酸序列；與

l)一種抗體，其之 HC 包含序列識別號：6 與 67 之胺基酸序列且其之 LC 包含序列識別號：7 與 68 之胺基酸序列。

【0085】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

a)一種抗體，其之 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：36-38 之胺基酸序列；

b)一種抗體，其之重鏈可變功能域 (V_H) 在序列上與序列識別號：8 之胺基酸序列至少 90%相同；

c)一種抗體，其之 V_H 包含序列識別號：8 之胺基酸序列；

d)一種抗體，其之重鏈 (HC) 包含序列識別號：8 與 67 之胺基酸序列；

e)一種抗體，其之 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：39-41 之胺基酸序列；

f)一種抗體，其之輕鏈可變功能域 (V_L) 在序列上與序列識別號：9 之胺基酸序列至少 90%相同；

g)一種抗體，其之 V_L 包含序列識別號：9 之胺基酸序列；

h)一種抗體，其之輕鏈 (LC) 包含序列識別號：9 與 68 之胺基酸序列；

i)一種抗體，其之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：36-41 之胺基酸序列；

j)一種抗體，其之 V_H 在序列上與序列識別號：8 之胺基酸序列至少 90%相同

且其之 V_L 在序列上與序列識別號：9 之胺基酸序列至少 90%相同；

k)一種抗體，其之 V_H 包含序列識別號：8 之胺基酸序列且其之 V_L 包含序列識別號：9 之胺基酸序列；與

l)一種抗體，其之 HC 包含序列識別號：8 與 67 之胺基酸序列且其之 LC 包含序列識別號：9 與 68 之胺基酸序列。

【0086】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

a)一種抗體，其之 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：42-44 之胺基酸序列；

b)一種抗體，其之重鏈可變功能域 (V_H) 在序列上與序列識別號：10 之胺基酸序列至少 90%相同；

c)一種抗體，其之 V_H 包含序列識別號：10 之胺基酸序列；

d)一種抗體，其之重鏈 (HC) 包含序列識別號：10 與 67 之胺基酸序列；

e)一種抗體，其之 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：45-47 之胺基酸序列；

f)一種抗體，其之輕鏈可變功能域 (V_L) 在序列上與序列識別號：11 之胺基酸序列至少 90%相同；

g)一種抗體，其之 V_L 包含序列識別號：11 之胺基酸序列；

h)一種抗體，其之輕鏈 (LC) 包含序列識別號：11 與 68 之胺基酸序列；

i)一種抗體，其之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：42-47 之胺基酸序列；

j)一種抗體，其之 V_H 在序列上與序列識別號：10 之胺基酸序列至少 90%相同且其之 V_L 在序列上與序列識別號：11 之胺基酸序列至少 90%相同；

k)一種抗體，其之 V_H 包含序列識別號：10 之胺基酸序列且其之 V_L 包含序列

識別號：11 之胺基酸序列；與

l)一種抗體，其之 HC 包含序列識別號：10 與 67 之胺基酸序列且其之 LC 包含序列識別號：11 與 68 之胺基酸序列。

【0087】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

a)一種抗體，其之 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：48-50 之胺基酸序列；

b)一種抗體，其之重鏈可變功能域（V_H）在序列上與序列識別號：12 之胺基酸序列至少 90%相同；

c)一種抗體，其之 V_H包含序列識別號：12 之胺基酸序列；

d)一種抗體，其之重鏈（HC）包含序列識別號：12 與 67 之胺基酸序列；

e)一種抗體，其之 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：51-53 之胺基酸序列；

f)一種抗體，其之輕鏈可變功能域（V_L）在序列上與序列識別號：13 之胺基酸序列至少 90%相同；

g)一種抗體，其之 V_L包含序列識別號：13 之胺基酸序列；

h)一種抗體，其之輕鏈（LC）包含序列識別號：13 與 68 之胺基酸序列；

i)一種抗體，其之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：48-53 之胺基酸序列；

j)一種抗體，其之 V_H在序列上與序列識別號：12 之胺基酸序列至少 90%相同且其之 V_L在序列上與序列識別號：13 之胺基酸序列至少 90%相同；

k)一種抗體，其之 V_H包含序列識別號：12 之胺基酸序列且其之 V_L包含序列識別號：13 之胺基酸序列；與

l)一種抗體，其之 HC 包含序列識別號：12 與 67 之胺基酸序列且其之 LC 包

含序列識別號：13 與 68 之胺基酸序列。

【0088】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)一種抗體，其之 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：54-56 之胺基酸序列；
- b)一種抗體，其之重鏈可變功能域（V_H）在序列上與序列識別號：14 之胺基酸序列至少 90%相同；
- c)一種抗體，其之 V_H包含序列識別號：14 之胺基酸序列；
- d)一種抗體，其之重鏈（HC）包含序列識別號：14 與 67 之胺基酸序列；
- e)一種抗體，其之 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：57-59 之胺基酸序列；
- f)一種抗體，其之輕鏈可變功能域（V_L）在序列上與序列識別號：15 之胺基酸序列至少 90%相同；
- g)一種抗體，其之 V_L包含序列識別號：15 之胺基酸序列；
- h)一種抗體，其之輕鏈（LC）包含序列識別號：15 與 68 之胺基酸序列；
- i)一種抗體，其之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：54-59 之胺基酸序列；
- j)一種抗體，其之 V_H在序列上與序列識別號：14 之胺基酸序列至少 90%相同且其之 V_L在序列上與序列識別號：15 之胺基酸序列至少 90%相同；
- k)一種抗體，其之 V_H包含序列識別號：14 之胺基酸序列且其之 V_L包含序列識別號：15 之胺基酸序列；與
- l)一種抗體，其之 HC 包含序列識別號：14 與 67 之胺基酸序列且其之 LC 包含序列識別號：15 與 68 之胺基酸序列。

【0089】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成

的群組：

- a)一種抗體，其之 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：60-62 之胺基酸序列；
- b)一種抗體，其之重鏈可變功能域（V_H）在序列上與序列識別號：16 之胺基酸序列至少 90%相同；
- c)一種抗體，其之 V_H包含序列識別號：16 之胺基酸序列；
- d)一種抗體，其之重鏈（HC）包含序列識別號：16 與 67 之胺基酸序列；
- e)一種抗體，其之 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：63-65 之胺基酸序列；
- f)一種抗體，其之輕鏈可變功能域（V_L）在序列上與序列識別號：17 之胺基酸序列至少 90%相同；
- g)一種抗體，其之 V_L包含序列識別號：17 之胺基酸序列；
- h)一種抗體，其之輕鏈（LC）包含序列識別號：17 與 68 之胺基酸序列；
- i)一種抗體，其之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：60-65 之胺基酸序列；
- j)一種抗體，其之 V_H在序列上與序列識別號：16 之胺基酸序列至少 90%相同且其之 V_L在序列上與序列識別號：17 之胺基酸序列至少 90%相同；
- k)一種抗體，其之 V_H包含序列識別號：16 之胺基酸序列且其之 V_L包含序列識別號：17 之胺基酸序列；
- l)一種抗體，其之 HC 包含序列識別號：16 與 67 之胺基酸序列且其之 LC 包含序列識別號：17 與 68 之胺基酸序列。

【0090】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分包含 12819 抗體之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 胺基酸序列（例如抗體 12819.15384）。

【0091】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分包含

12748 抗體之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 胺基酸序列（例如抗體 12748.15381 或抗體 12748.16124）。

【0092】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分包含 12865 抗體之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 胺基酸序列（例如抗體 12865.15377）。

【0093】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分包含 12892 抗體之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 胺基酸序列（例如抗體 12892.15378）。

【0094】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分包含 12796 抗體之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 胺基酸序列（例如抗體 12796.15376）。

【0095】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分包含 12777 抗體之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 胺基酸序列（例如抗體 12777.15382）。

【0096】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分包含 12760 抗體之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 胺基酸序列（例如抗體 12760.15375）。

【0097】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分包含 13112 抗體之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 胺基酸序列（例如抗體 13112.15380）。

【0098】 在另一個具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分具有在胺基酸序列上分別與抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375、與 13112.15380 之任一者之 V_H 與 V_L 至少 90%（例如至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%）相同的 V_H 與 V_L 。

【0099】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分具有分別包含抗體 12819.15384、12748.15381、12748.16124、12865.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15382、12760.15375、與 13112.15380 之任

一者之 V_H 與 V_L 胺基酸序列的 V_H 與 V_L 。

【0100】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分包含以下者之 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 胺基酸序列：

- a)分別為序列識別號：18、19、20、21、22、與 23；
- b)分別為序列識別號：24、25、26、27、28、與 29；
- c)分別為序列識別號：30、31、32、33、34、與 35；
- d)分別為序列識別號：36、37、38、39、40、與 41；
- e)分別為序列識別號：42、43、44、45、46、與 47；
- f)分別為序列識別號：48、49、50、51、52、與 53；
- g)分別為序列識別號：54、55、56、57、58、與 59；或
- h)分別為序列識別號：60、61、62、63、64、與 65。

【0101】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分包含與以下者之胺基酸序列 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 相同的 V_H 、與以下者之胺基酸序列 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 相同的 V_L ：

- a)分別為序列識別號：2 與 3；
- b)分別為序列識別號：4 與 5；
- c)分別為序列識別號：4 與 66；
- d)分別為序列識別號：6 與 7；
- e)分別為序列識別號：8 與 9；
- f)分別為序列識別號：10 與 11；
- g)分別為序列識別號：12 與 13；

h)分別為序列識別號：14 與 15；或

i)分別為序列識別號：16 與 17。

【0102】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分包含為以下者之胺基酸序列的 V_H 與 V_L ：

a)分別為序列識別號：2 與 3；

b)分別為序列識別號：4 與 5；

c)分別為序列識別號：4 與 66；

d)分別為序列識別號：6 與 7；

e)分別為序列識別號：8 與 9；

f)分別為序列識別號：10 與 11；

g)分別為序列識別號：12 與 13；

h)分別為序列識別號：14 與 15；或

i)分別為序列識別號：16 與 17。

【0103】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體包含：

a)包含序列識別號：2 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：3 與 68 之胺基酸序列的 LC；

b)包含序列識別號：4 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：5 與 68 之胺基酸序列的 LC；

c)包含序列識別號：4 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：66 與 68 之胺基酸序列的 LC；

d)包含序列識別號：6 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：7 與 68 之胺基酸序列的 LC；

e)包含序列識別號：8 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：9 與 68 之胺基酸序列的 LC；

f)包含序列識別號：10 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：11 與 68 之胺基酸序列的 LC；

g)包含序列識別號：12 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：13 與 68 之胺基酸序列的 LC；

h)包含序列識別號：14 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：15 與 68 之胺基酸序列的 LC；或

i)包含序列識別號：16 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：17 與 68 之胺基酸序列的 LC。

【0104】 在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體包含：

a)由序列識別號：2 與 67 之胺基酸序列所組成的 HC 與由序列識別號：3 與 68 之胺基酸序列所組成的 LC；

b)由序列識別號：4 與 67 之胺基酸序列所組成的 HC 與由序列識別號：5 與 68 之胺基酸序列所組成的 LC；

c)由序列識別號：4 與 67 之胺基酸序列所組成的 HC 與由序列識別號：66 與 68 之胺基酸序列所組成的 LC；

d)由序列識別號：6 與 67 之胺基酸序列所組成的 HC 與由序列識別號：7 與 68 之胺基酸序列所組成的 LC；

e)由序列識別號：8 與 67 之胺基酸序列所組成的 HC 與由序列識別號：9 與 68 之胺基酸序列所組成的 LC；

f)由序列識別號：10 與 67 之胺基酸序列所組成的 HC 與由序列識別號：11

與 68 之胺基酸序列所組成的 LC；

g)由序列識別號：12 與 67 之胺基酸序列所組成的 HC 與由序列識別號：13 與 68 之胺基酸序列所組成的 LC；

h)由序列識別號：14 與 67 之胺基酸序列所組成的 HC 與由序列識別號：15 與 68 之胺基酸序列所組成的 LC；或

i)由序列識別號：16 與 67 之胺基酸序列所組成的 HC 與由序列識別號：17 與 68 之胺基酸序列所組成的 LC。

【0105】 在一些具體態樣中，於本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分之任一者可具有以下特性之至少一者：

a)以 750 pM 或更低的 K_D 與人類 PD-1 結合；

b)以 7 nM 或更低的 K_D 與食蟹獼猴 PD-1 結合；

c)以 1 nM 或更低的 K_D 與小鼠 PD-1 結合；

d)不與大鼠 PD-1 結合；

e)於 SEB 全血分析中增加 IL-2 分泌；

f)於單向混合淋巴球反應分析中增加 IFN- γ 分泌；

g)於流式細胞測量競爭分析中於 10 $\mu\text{g/ml}$ 的濃度下抑制 PD-1 與 PD-L1 間的交互作用達至少 60%；

h)如由生物膜干涉分析測定的，於 10 $\mu\text{g/ml}$ 的濃度下封阻 PD-L1 及 PD-L2 與 PD-1 的結合達至少 90%；與

i)活體內抑制腫瘤生長。

【0106】 在一些具體態樣中，於本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分之任一者可以至少 900、至少 850、至少 800、至少 750、至少 700、

至少 650、至少 600、至少 550、至少 500、至少 450、至少 400、至少 350、至少 300、至少 250、至少 200、至少 150、至少 100、至少 50、至少 40、至少 30、或至少 20 pM 的 K_D 與人類 PD-1 結合。在一些具體態樣中，該 K_D 係使用表面電漿子共振測定。於特殊的具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或抗原結合部分以比納武單抗、派姆單抗、或兩者高的親和力與人類 PD-1 結合。

【0107】 在一些具體態樣中，於本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分之任一者可以至少 9000、至少 8000、至少 7000、至少 6000、至少 5000、至少 4000、至少 3000、至少 2500、至少 2000、至少 1500、至少 1000、至少 900、至少 800、至少 700、至少 600、至少 500、至少 400、至少 300、至少 200、至少 100、至少 75、至少 50、至少 25、至少 20、至少 15、至少 10、或至少 5 pM 的 K_D 與食蟹獼猴 PD-1（序列識別號：89）結合。在一些具體態樣中，該 K_D 係使用表面電漿子共振測定。

【0108】 在一些具體態樣中，於本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分之任一者可以至少 1000、至少 950、至少 900、或至少 850 pM 的 K_D 與小鼠 PD-1（序列識別號：91）結合。在一些具體態樣中，該 K_D 係使用表面電漿子共振測定。

【0109】 在一些具體態樣中，於本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分之任一者於流式細胞測量競爭分析中於 10 $\mu\text{g/ml}$ 的濃度可抑制 PD-1 與 PD-L1 間的交互作用達至少 60%、至少 65%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 81%、至少 82%、至少 83%、至少 84%、至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、

或 100%。在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或抗原結合部分可抑制 PD-1 與 PD-L1 間的交互作用達至少 83%。

【0110】 在一些具體態樣中，於本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分之任一者於 10 µg/ml 的濃度可封阻 PD-L1 及 PD-L2 與 PD-1 的結合達至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100%，如由生物膜干涉分析測定的。在一些具體態樣中，該抗 PD-1 抗體或抗原結合部分封阻 PD-L1 及 PD-L2 與 PD-1 的結合達至少 90%。

【0111】 在一些具體態樣中，於本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分之任一者可與 12865、12892、與 12777 抗體（例如抗體 12865.15377、12892.15378、與 12777.15382）競爭或交叉競爭對 PD-1 的結合。在一些具體態樣中，於本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分之任一者可與 12819 抗體（例如抗體 12819.15384）競爭或交叉競爭對 PD-1 的結合。在一些具體態樣中，於本文中描述的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分之任一者可與 12760 與 13112 抗體（例如抗體 12760.15375 與 13112.15380）競爭或交叉競爭對 PD-1 的結合。

【0112】 在一些具體態樣中，本發明之抗 PD-1 抗體（或其抗原結合部分）與包含序列識別號：1 之以下殘基之至少一者（例如至少一者、至少二者、至少三者、至少四者、或至少五者）的 PD-1 之抗原決定基結合：V44、V64、L128、P130、K131、A132、E136、與 T145。在一些具體態樣中，該抗體或抗原結合部分與包含序列識別號：1 之殘基 V64、L128、P130、K131、

與 A132 的 PD-1 之抗原決定基結合（諸如 12819 抗體，例如抗體 12819.15384）。在一些具體態樣中，該抗體或抗原結合部分與包含序列識別號：1 之殘基 K131 與 E136 的 PD-1 之抗原決定基結合（諸如 12865 抗體，例如抗體 12865.15377）。在一些具體態樣中，該抗體或抗原結合部分與包含序列識別號：1 之殘基 V44 與 T145 的 PD-1 之抗原決定基結合（諸如 13112 抗體，例如抗體 13112.15380）。

【0113】 在一些具體態樣中，本發明之抗 PD-1 抗體（或其抗原結合部分）與包含序列識別號：1 之殘基 56-64、69-90、及/或 122-140 的 PD-1 之抗原決定基結合。在一些具體態樣中，該抗體或抗原結合部分與包含序列識別號：1 之殘基 69-90 與 122-140 的 PD-1 之抗原決定基結合（諸如 12819 與 12865 抗體，例如抗體 12819.15384 與 12865.15377）。在一些具體態樣中，該抗體或抗原結合部分與包含序列識別號：1 之殘基 56-64、69-90、與 122-140 的 PD-1 之抗原決定基結合（例如 12819 抗體）。在一些具體態樣中，該抗體或抗原結合部分與包含序列識別號：1 之殘基 69-90 與 122-140 的 PD-1 之抗原決定基結合（例如 12865 抗體）。在一些具體態樣中，該抗體或部分與序列識別號：1 之殘基 69-75（或其片段，諸如一個、二個、三個、四個、五個、或六個殘基的片段）結合（諸如 12819 與 12865 抗體，例如抗體 12819.15384 與 12865.15377）。在一些具體態樣中，該抗體或部分與序列識別號：1 之殘基 136-140（或其片段，諸如一個、二個、三個、或四個殘基的片段）結合（諸如 12819 與 12865 抗體，例如抗體 12819.15384 與 12865.15377）。在一些具體態樣中，該抗體或部分與序列識別號：1 之殘基 69-75（或其片段）以及殘基 136-140（或其片段）結合（諸如 12819 與 12865 抗體，例如抗體

12819.15384 與 12865.15377)。亦思量具有任何以上殘基之組合的抗原決定基。

【0114】 在一些具體態樣中，包含如於本文中所描述的 PD-1 抗原決定基的胺基酸序列可被用作為免疫原（例如被投予至動物或作為用於篩選抗體文庫的抗原）以產生或鑑認與該抗原決定基結合的抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分。

【0115】 藉由於本文中描述的方法獲得的抗 PD-1 抗體之類型可被改變或轉換成另一個類型或子類型。於本發明之一個方面，編碼 V_L 或 V_H 的核酸分子係使用所屬技術領域中廣為人知的方法分離以使其不包含編碼 C_L 或 C_H 的核酸序列。編碼 V_L 或 V_H 的核酸分子接著被可運作地連接至分別編碼來自不同的類型的免疫球蛋白分子的 C_L 或 C_H 的核酸序列。此可使用包含 C_L 或 C_H 鏈的載體或核酸分子（如以上描述的）達成。例如，本來為 IgM 的抗 PD-1 抗體之類型可被轉換成 IgG。進一步，類型轉換可被用以把一個 IgG 子類型轉變成另一個，例如將 IgG₁ 轉變成 IgG₂。 κ 輕鏈恆定區域可被改變成 λ 輕鏈恆定區域。用於生產具有所欲的 Ig 同型的本發明之抗體的較佳的方法包含以下步驟：分離編碼抗 PD-1 抗體之重鏈的核酸分子與編碼抗 PD-1 抗體之輕鏈的核酸分子、獲得重鏈之可變功能域、連接所欲的同型的重鏈之可變功能域與重鏈之恆定區域、於細胞中表現輕鏈與經連接的重鏈、與收集具有所欲的同型的抗 PD-1 抗體。

【0116】 本發明之抗 PD-1 抗體可為 IgG、IgM、IgE、IgA、或 IgD 分子，但典型係屬於 IgG 同型，例如屬於 IgG 子類型 IgG₁、IgG_{2a} 或 IgG_{2b}、IgG₃ 或 IgG₄。在一個具體態樣中，該抗體係 IgG₁。在另一個具體態樣中，該抗體

係 IgG₄。

【0117】 在一個具體態樣中，該抗 PD-1 抗體可於 Fc 區域中包含至少一個突變。一些不同的 Fc 突變係已知的，其中此等突變提供改變的效應功能。例如，於許多例子中，以下者會是所欲的：減少或排除效應功能，例如於配體/受體交互作用係非所欲的情況下或於抗體-藥物結合物之例子中。

【0118】 在一個具體態樣中，該抗 PD-1 抗體於 Fc 區域中包含至少一個會減少效應功能的突變。可能有助於突變以減少效應功能的 Fc 區域胺基酸位置包含位置 228、233、234 與 235 之一或多者，其中胺基酸位置係根據 IMGT[®]編號格式編號。

【0119】 在一個具體態樣中，位於位置 234 與 235 的胺基酸殘基之一或二者可（例如）被自 Leu 突變成 Ala（L234A/L235A）。此等突變會減少 IgG₁ 抗體之 Fc 區域之效應功能。此外或供選擇地，位於位置 228 的胺基酸殘基可（例如）被突變成 Pro。在另一個具體態樣中，位於位置 233 的胺基酸殘基可（例如）被突變成 Pro、位於位置 234 的胺基酸殘基可（例如）被突變成 Val、及/或位於位置 235 的胺基酸殘基可（例如）被突變成 Ala。胺基酸位置係根據 IMGT[®]編號格式編號。

【0120】 在另一個具體態樣中，於抗體係屬於 IgG₄ 子類型的情況下，其可包含突變 S228P，即於位置 228 具有脯胺酸，其中胺基酸位置係根據 IMGT[®]編號格式編號。已知此突變會減少非所欲的 Fab 臂交換。

【0121】 在一些具體態樣中，本發明之抗體或其抗原結合部分可為更大的免疫黏附分子（藉由抗體或抗體部分與一或多個其他蛋白質或胜肽之共價性或非共價性聯結形成）之部分。如此免疫黏附分子之實例包含使用

鏈黴抗生物素蛋白核心區域以製造四聚體 scFv 分子(Kipriyanov 等人, Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101 (1995)) 與使用胱胺酸殘基、記號胜肽與 C 末端聚組胺酸標籤以製造二價與經生物素化的 scFv 分子 (Kipriyanov 等人, Mol. Immunol. 31:1047-1058 (1994))。其他實例包含其中來自抗體的一或多個 CDR 被共價性或非共價性地併入至一分子中以使其變成與所關注的抗原專一性結合的免疫黏附素 (immunoadhesin)。於如此具體態樣中, CDR 可被併入作為更大的多肽鏈之部分, 可被共價性地連接至另一個多肽鏈、或可被非共價性地併入。

【0122】 在另一個具體態樣中, 可製造包含連接至另一個多肽的本發明之抗 PD-1 抗體之整體或部分的融合抗體或免疫黏附素。在一些具體態樣中, 僅抗 PD-1 抗體之可變功能域被連接至多肽。在一些具體態樣中, 抗 PD-1 抗體之 V_H 功能域被連接至第一多肽, 而抗 PD-1 抗體之 V_L 功能域被連接至一以使得該等 V_H 與 V_L 功能域可彼此交互作用以形成抗原結合性位置的方式與該第一多肽聯結的第二多肽。於另一個較佳的具體態樣中, 該 V_H 功能域與 V_L 功能域係藉由連接子分開, 使得 V_H 與 V_L 功能域可彼此交互作用 (例如單鏈抗體)。該 V_H -連接子- V_L 抗體接著被連接至所關注的多肽。此外, 其中二個 (或更多個) 單鏈抗體被彼此連接的融合抗體可被創造。若想要在單一多肽鏈上創造二價或多價抗體或若想要創造雙專一性抗體, 則此係有用的。

【0123】 為創造單鏈抗體 (scFv), 編碼 V_H 與 V_L 的 DNA 片段被可運作地連接至編碼彈性連接子 (例如編碼胺基酸序列(Gly4 -Ser)3) 的另一片段, 使得該等 V_H 與 V_L 序列可被表現成連續的單鏈蛋白質, 其 V_L 與 V_H 功能

域係藉由彈性連接子連結。參見（例如）Bird 等人, Science 242:423-426 (1988)；Huston 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988)；與 McCafferty 等人, Nature 348:552-554 (1990)。該單鏈抗體可為單價的（若僅使用單一 V_H 與 V_L ）；二價（若使用二個 V_H 與 V_L ）；或多價（若使用超過二個 V_H 與 V_L ）。例如，可產生專一性地與人類 PD-1 以及與另一個分子結合的雙專一性或多價抗體。

【0124】 於其他的具體態樣中，其他經修飾的抗體可使用編碼抗 PD-1 抗體的核酸分子製備。例如「 κ 體」（Ill 等人, Protein Eng. 10:949-57 (1997)）、「微型抗體（(minibody)」（Martin 等人, EMBO J. 13:5303-9 (1994)）、「雙體抗體」（Holliger 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)）或「Janusin」（Traunecker 等人, EMBO J. 10:3655-3659 (1991)與 Traunecker 等人, Int. J. Cancer (Suppl.) 7:51-52 (1992)）可使用標準分子生物技術依循說明書之教示製備。

【0125】 本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分可被衍生化或連接至另一個分子（例如另一個胜肽或蛋白質）。一般而言，該抗體或其部分被衍生化以使得 PD-1 結合不會被衍生化或加標記不利地影響。據此，本發明之抗體與抗體部分係意欲包含於本文中描述的人類抗 PD-1 抗體之完整的與經修飾形式兩者。例如，本發明之抗體或抗體部分可被功能性地連接（藉由化學偶合、基因融合、非共價聯結或其他者）至一或多個其他分子實體，諸如另一抗體（例如雙專一性抗體或雙體抗體）、偵測劑、醫藥劑、及/或可介導抗體或抗體部分與另一個分子（諸如鏈黴抗生物素蛋白核心區域或聚組胺酸標籤）之聯結的蛋白質或胜肽。

【0126】 一種經衍生化抗體之類型係藉由交叉連接二或更多個抗體（屬於相同類型的或屬於不同的類型的，例如以創造雙專一性抗體）生產。適合的交叉連接子包含該等為異雙功能性的、具有二個由適當的間隔子（例如鄰順丁烯二亞醯胺基苯甲醯基-N-羥基琥珀醯亞胺酯）分開的有區別的反應性基團或同雙功能性的（例如二琥珀醯亞胺基栓酸酯）。如此連接子可自（例如）Pierce Chemical Company，洛克福，IL 獲得。

【0127】 抗 PD-1 抗體亦可以化學基團（諸如聚乙二醇（PEG）、甲基或乙基基團、或碳水化合物基團）衍生化。此等基團可有用於改善抗體之生物特徵以（例如）增加血清半生期。

【0128】 根據本發明之抗體亦可被加標記。用於本文中，術語「標記」或「加標記」係關於將另一個分子併入抗體中。在一個具體態樣中，該標記係可偵測的記號，例如併入經放射性標記的胺基酸或接附至可藉由加記號的抗生物素蛋白偵測的生物素基部分之多肽（例如含有螢光記號或可藉由光學或比色學方法偵測的酵素活性的鏈黴抗生物素蛋白）。在另一個具體態樣中，該標記或記號可為治療性的，例如藥物結合物或毒素。加標記多肽與醣蛋白之種種方法係所屬技術領域中已知的且可被使用。用於多肽的標記之實例包含（但不限於）以下者：放射性同位素或放射性核種（例如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I ）、螢光標記（例如 FITC、玫瑰紅、鐳系元素磷光體）、酵素標記（例如辣根過氧化酶、 β -半乳糖苷酶、螢光素酶、鹼性磷酸酶）、化學發光記號、生物素基基團、預決定的被二級報導子辨認的多肽抗原決定基（例如白胺酸拉鍊對序列、二級抗體之結合位置、金屬結合功能域、抗原決定基標籤）、磁性劑，諸如釷螯合物、毒素，

諸如百日咳毒素、紫杉醇、細胞遲緩素 B、滅革蘭菌素 D、溴化乙錠、吐根鹼、絲裂黴素、依託泊苷 (etoposide)、替尼泊苷 (teniposide)、長春新鹼、長春花鹼、秋水仙鹼、阿黴素 (doxorubicin)、道諾黴素、二羥基炭疽菌素二酮、米托蒽醌 (mitoxantrone)、光輝黴素 (mithramycin)、放線菌黴素 D、1-去氫鞣固酮、葡萄糖皮質素、普魯卡因、四卡因、利多卡因、普萘洛爾 (propranolol)、與嘌呤黴素與其類似物或同源物。在一些具體態樣中，標記係藉由種種長度的間隔臂接附以減少潛在的立體阻礙。

【0129】 在一些具體態樣中，本發明之抗體可以中性的形式（包含兩性離子形式）或以帶正電或帶負電的物種之形式存在。在一些具體態樣中，該抗體與相對離子複合以形成醫藥上可接受的鹽。

【0130】 術語「醫藥上可接受的鹽」係關於一種複合體，其包含一或多個抗體與一或多個相對離子，其中該等相對離子係衍生自醫藥上可接受的無機與有機酸與鹼。

雙專一性結合分子

【0131】 於進一步的方面，本發明提供具有針對於本文中所描述的抗 PD-1 抗體的結合專一性與另一個抗 PD-1 抗體（例如另一個於本文中描述的抗 PD-1 抗體）或瞄準不同的蛋白質（諸如另一個免疫查核點蛋白質、癌症抗原、或其之活性介導一疾病病況（諸如癌症）的另一個細胞表面分子）的抗體之結合專一性的雙專一性結合分子。如此雙專一性結合分子係所屬技術領域中已知的，且雙專一性結合分子之不同類型之實例係於本文之其他處給出。

核酸分子與載體

【0132】 本發明亦提供編碼於本文中描述的抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分的核酸分子與序列。在一些具體態樣中，不同的核酸分子編碼該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之重鏈與輕鏈氨基酸序列。於其他的具體態樣中，相同的核酸分子編碼該抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之重鏈與輕鏈氨基酸序列。

【0133】 除非另加具體指明，提及核苷酸序列是涵蓋其互補物。因此，提及具有特殊序列的核酸時應被理解成涵蓋具有其互補序列的其互補股。於本文中提及時，術語「多核苷酸」意謂長度至少 10 個鹼基的核苷酸（核糖核苷酸或去氧核苷酸或此二類型的核苷酸之任一者之經修飾形式）之多聚形式。該術語包含單股與雙股形式。

【0134】 本發明亦提供與於本文中敘述的一或多種核苷酸序列（例如與選自由序列識別號：69-88 所組成的群組核苷酸序列）至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 相同的核苷酸序列。術語「百分比序列同一性」於核酸序列之前後文中係關於當以最大一致性排比時二序列中相同的殘基。序列同一性比較之長度可為延伸至少約九個核苷酸，通常為至少約 18 個核苷酸，更常為至少約 24 個核苷酸，典型為至少約 28 個核苷酸，更典型為至少約 32 個核苷酸，與較佳為至少約 36 個、48 個或更多個核苷酸。存在有一些可用於測量核苷酸序列同一性的所屬技術領域中已知的不同運算法。例如，多核苷酸序列可使用 FASTA、Gap 或 Bestfit 比較，而其等係於 Wisconsin Package 版本 10.0 (Genetics Computer Group (GCG))，

麥迪遜，威斯康辛）中的程式。FASTA（其包含（例如）程式 FASTA2 與 FASTA3）提供查詢與搜尋序列間最佳重疊的區域之排比與百分比序列同一性（參見（例如）Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990)；Pearson, Methods Mol. Biol. 132:185-219 (2000)；Pearson, Methods Enzymol. 266:227-258 (1996)；與 Pearson, J. Mol. Biol. 276:71-84 (1998)；以引用方式併入本文中）。除非另加具體指明，使用特殊程式或運算法之預設參數。例如，核酸序列間的百分比序列同一性可使用 FASTA 以如於 GCG 版本 6.1(以引用方式併入本文中)中提供的其預設參數（6 的字長與用於評分矩陣的 NOPAM 因數）或使用 Gap 以如於 GCG 版本 6.1 中提供的其預設參數測定。

【0135】 在一個方面，本發明提供包含選自由序列識別號：69-88 所組成的群組的核苷酸序列的核酸分子。

【0136】 在以上具體態樣之任一者中，該等核酸分子可係經分離的。

【0137】 於進一步的方面，本發明提供適用於表現如於本文中所描述的抗體或其抗原結合部分之鏈之一的載體。用於本文中，術語「載體」意謂一種核酸分子，其能夠運送其已連接的另一個核酸。在一些具體態樣中，該載體係質體，即額外的 DNA 節段可被連接至其中的 DNA 之環狀雙股片段。在一些具體態樣中，該載體係病毒載體，其中額外的 DNA 節段可被連接至病毒基因組中。在一些具體態樣中，該載體於其等被導入至的宿主細胞中能夠自我複製（例如具有細菌複製起點的細菌載體與附加型哺乳動物載體）。於其他的具體態樣中，該載體（例如非附加型哺乳動物載體）在導入至宿主細胞後可被合併入宿主細胞之基因組中，並藉此隨著宿主基因組一起複製。此外，某些載體能夠指揮其等被可運作地連接至的基因之表現。

如此載體於本文中被稱作「重組表現載體」(或單單「表現載體」)。

【0138】 本發明提供包含編碼本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之重鏈、本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之輕鏈、或本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之重鏈與輕鏈兩者的核酸分子的載體。本發明進一步提供包含編碼融合蛋白質、經修飾的抗體、抗體片段、與其探針的核酸分子的載體。

【0139】 編碼本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之重鏈及/或輕鏈的核酸分子可自任何生產如此抗體或部分的來源分離。於種種具體態樣中，該核酸分子係自表現自以人類 PD-1 抗原致免疫的動物分離的抗 PD-1 抗體的 B 細胞、或自從如此 B 細胞生產的經永生化細胞分離的。分離編碼抗體的核酸的方法係所屬技術領域中廣為人知的。mRNA 可被分離並用於生產 cDNA 以用於抗體基因之聚合酶連鎖反應 (PCR) 或 cDNA 選殖。在一些具體態樣中，本發明之核酸分子可為合成的而非經分離的。

【0140】 在一些具體態樣中，本發明之核酸分子可包含編碼來自本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分的 V_H 功能域的核苷酸序列，該核苷酸序列符合讀框地連結至編碼來自任何來源的重鏈恆定區域的核苷酸序列。同樣地，本發明之核酸分子可包含編碼來自本發明之抗 PD-1 抗體或抗原結合部分的 V_L 功能域的核苷酸序列，該核苷酸序列符合讀框地連結至編碼來自任何來源的輕鏈恆定區域的核苷酸序列。

【0141】 於本發明之進一步的方面，編碼重鏈 (V_H) 及/或輕鏈 (V_L) 之可變功能域的核酸分子可被「轉變」成全長抗體基因。在一個具體態樣中，編碼 V_H 或 V_L 功能域的核酸分子係藉由以下者轉變成全長抗體基因：插

入至已分別編碼重鏈恆定（CH）或輕鏈恆定（CL）功能域的表現載體中，使得該 V_H 節段被可運作地連接至該載體內的 CH 節段、及/或該 V_L 節段被可運作地連接至該載體內的 CL 節段。在另一個具體態樣中，編碼該 V_H 及/或 V_L 功能域的核酸分子係藉由以下者轉變成全長抗體基因：使用標準分子生物技術將編碼 V_H 及/或 V_L 功能域的核酸分子連結（例如連接）至編碼 CH 及/或 CL 功能域的核酸分子。編碼全長重鏈及/或輕鏈的核酸分子可接著由其等已被導入至其中的細胞表現且抗 PD-1 抗體可接著被分離。

【0142】 該等核酸分子可用於重組表現大量的抗 PD-1 抗體。如於本文中所描述的，該等核酸分子亦可用於生產嵌合抗體、雙專一性抗體、單鏈抗體、免疫黏附素、雙體抗體、經突變的抗體與抗體衍生物。

【0143】 在另一個具體態樣中，本發明之核酸分子係用作為特定抗體序列之探針或 PCR 引子。例如，該核酸可於診斷方法中被用作為探針或被用作為 PCR 引子以放大可被使用以（在其他事物外）分離編碼抗 PD-1 抗體之可變功能域的額外的核酸分子的 DNA 之區域。在一些具體態樣中，該核酸分子為寡核苷酸。在一些具體態樣中，該寡核苷酸係來自所關注的抗體之重鏈與輕鏈之高度可變功能域。在一些具體態樣中，該寡核苷酸編碼本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之 CDR 之一或多者之整體或部分，如於本文中所描述的。

【0144】 在另一個具體態樣中，該核酸分子與載體可用於製造突變的抗 PD-1 抗體。該抗體可於重鏈及/或輕鏈之可變功能域中突變以（例如）改變該抗體之結合特性。例如，突變可於 CDR 之一或多者中製造以增加或減少該抗 PD-1 抗體之 K_D 、以增加或減少 k_{off} 、或以改變該抗體之結合專一性。

在另一個具體態樣中，一或多個突變係於本發明之單株抗體中於已知相較於生殖系被改變的胺基酸殘基製造。突變可於可變功能域之 CDR 或構架區中或於恆定區域中製造。於較佳的具體態樣中，突變係於可變功能域中製造。在一些具體態樣中，一或多個突變係於本發明之抗體或其抗原結合部分之可變功能域之 CDR 或構架區中於已知相較於生殖系被改變的胺基酸殘基製造。

【0145】 在另一個具體態樣中，該構架區被突變以使得所得的構架區具有相對應生殖系基因之胺基酸序列。突變可於構架區或恆定區域中製造以增加抗 PD-1 抗體之半生期。參見（例如）PCT 公開案 WO 00/09560。亦可製造於構架區或恆定區域中的突變以改變抗體之致免疫性、及/或以提供共價性或非共價性結合至另一個分子的位置。根據本發明，單一抗體可於可變功能域之 CDR 或構架區之任一或多者中或於恆定區域中具有突變。

【0146】 在一些具體態樣中，本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分係藉由以下者表現：將編碼部分或全長輕鏈與重鏈的 DNA（如以上描述地獲得的）插入至表現載體中使得該基因被可運作地連接至必要的表現控制序列（諸如轉錄與轉譯控制序列）。表現載體包含質體、反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒（AAV）、植物病毒，諸如花椰菜嵌紋病毒、煙草嵌紋病毒、黏質體（cosmid）、YAC、EBV 衍生性游離基因體、與類似者。可將編碼抗體的序列連接至載體中使得該載體內的轉錄與轉譯控制序列發揮其調節該編碼抗體的序列之轉錄與轉譯的意欲的功能。可挑選表現載體與表現控制序列以與所使用的表現宿主細胞相容。可將編碼抗體輕鏈的序列與編碼抗體重鏈的序列插入至分開的載體中、且可將其等可運作地連接至相

同的或不同的表現控制序列（例如啟動子）。在一個具體態樣中，兩個編碼序列皆被插入至相同的表現載體中，且可被可運作地連接至相同的表現控制序列（例如共同的啟動子）、連接至分開的相同的表現控制序列（例如啟動子）、或連接至不同的表現控制序列（例如啟動子）。可藉由標準方法（例如連接抗體基因片段與載體上的互補限切位置、或不存在限切位置時的鈍端連接）將編碼抗體的序列插入至表現載體中。

【0147】 便利的載體為編碼功能上完整的人類 CH 或 CL 免疫球蛋白序列且具有經設計以使得可輕易插入與表現任何 V_H 或 V_L 序列的適當的限切位置（如以上描述的）者。於如此載體中編碼 HC 與 LC 的基因可含有會藉由穩定化相關 mRNA 而造成總體抗體蛋白質產量增強的內含子序列。內含子序列兩側為剪接供體與剪接受體位置，其決定 RNA 剪接會發生的位置。內含子序列之位置可於抗體鏈之可變區域或恆定區域中、或於可變區域與恆定區域兩者中（當使用多重內含子時）。多腺苷酸化與轉錄終止可於在編碼區域之下游的天然染色體位置發生。重組表現載體亦可編碼促進抗體鏈自宿主細胞分泌的訊息胜肽。抗體鏈基因可被選殖入載體中以使得訊息胜肽被符合讀框地連接至免疫球蛋白鏈之胺基末端。訊息胜肽可為免疫球蛋白訊息胜肽或異種的訊息胜肽（即來自不是免疫球蛋白的蛋白質的訊息胜肽）。

【0148】 除了抗體鏈基因外，本發明之重組表現載體可帶有控制抗體鏈基因於宿主細胞中的表現的調節性序列。所屬技術領域中具有通常知識者會領會到表現載體之設計（其包含調節性序列之挑選）可取決於諸如欲轉形的宿主細胞之選擇、所欲的蛋白質之表現之水平、等等因子。對哺乳

動物宿主細胞表現而言，較佳的調節性序列包含於哺乳動物細胞中指揮高水平的蛋白質表現的病毒元件，諸如衍生自逆轉錄病毒 LTR 的啟動子及/或增強子、衍生自細胞巨大病毒（CMV）的啟動子及/或增強子（諸如 CMV 啟動子/增強子）、衍生自猴病毒 40（SV40）的啟動子及/或增強子（諸如 SV40 啟動子/增強子）、衍生自腺病毒的啟動子及/或增強子（例如腺病毒主要晚期啟動子（AdMLP））、多瘤與強哺乳動物啟動子，諸如天然的免疫球蛋白與肌動蛋白啟動子。關於病毒調節性元件與其序列之進一步描述，參見例如美國專利 5,168,062、4,510,245 與 4,968,615。用於在植物中表現抗體的方法（其包含啟動子與載體之描述）以及植物之轉染係所屬技術領域中已知的。參見（例如）美國專利 6,517,529。於細菌細胞與真菌細胞（例如酵母菌細胞）中表現多肽的方法亦係所屬技術領域中廣為人知的。

【0149】 除了抗體鏈基因與調節性序列外，本發明之重組表現載體可帶有另外的序列，諸如調節載體於宿主細胞中的複製的序列（例如複製起點）與可篩選記號基因。可篩選記號基因促進載體被導入其中的宿主細胞之挑選（參見例如美國專利 4,399,216、4,634,665 與 5,179,017）。例如，典型地，可篩選記號基因將對藥物（諸如 G418、濕黴素或胺甲喋呤）的抗性賦予載體已被導入至其中的宿主細胞。例如，可篩選記號基因包含二氫葉酸還原酶（DHFR）基因（以與胺甲喋呤挑選/放大用於 dhfr-宿主細胞）、neo 基因（用於 G418 挑選）、與麩胺酸合成酶基因。

【0150】 用於本文中，術語「表現控制序列」意謂對實現其等所連接的編碼序列之表現與加工而言是必要的多核苷酸序列。表現控制序列包含適當的轉錄起始、終止、啟動子與增強子序列；高效 RNA 加工訊號，諸如

剪接與多腺苷酸化訊號；穩定化細胞質 mRNA 的序列；增強轉譯效率的序列（即 Kozak 共通序列）；增強蛋白質穩定性的序列；以及當所欲時，增強蛋白質分泌的序列。如此控制序列之性質依宿主有機體而不同；於原核生物中，如此控制序列一般包含啟動子、核糖體結合位置、與轉錄終止序列；於真核生物中，大體而言，如此控制序列包含啟動子與轉錄終止序列。術語「控制序列」意欲包含（至少）其之存在對於表現與加工而言係不可缺的所有組份，且亦可包含其之存在係有助於的其他組份（例如前導序列與融合伙伴序列）。

宿主細胞與抗體及抗體組成物生產之方法

【0151】 本發明之另外的方面係關於用於生產本發明之抗體組成物與抗體與其抗原結合部分的方法。本發明之此方面之一個具體態樣係關於用於生產如於本文中定義的抗體的方法，其包含提供能夠表現該抗體的重組宿主細胞、在適於該抗體之表現的條件下培養該宿主細胞、與分離所得的抗體。藉由如此重組宿主細胞中的如此表現來生產的抗體於本文中稱為「重組抗體」。本發明亦提供如此宿主細胞之子代細胞、與藉由其生產的抗體。

【0152】 用於本文中，術語「重組宿主細胞」（或單單「宿主細胞」）意指重組表現載體已被導入至其中的細胞。本發明提供可包含（例如）以上描述的根據本發明之載體的宿主細胞。本發明亦提供包含（例如）編碼本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之重鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、編碼本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分之輕鏈或其抗原結合部

分的核苷酸序列、或兩者的宿主細胞。應瞭解「重組宿主細胞」與「宿主細胞」不止意謂特定主題細胞且亦意謂如此細胞之子代。因為某些修改可能在後繼的世代中由於突變或環境影響而發生，如此子代可能（事實上）與親代細胞不完全相同，但仍包含在用於本文中的術語「宿主細胞」之範圍內。

【0153】 可將編碼抗 PD-1 抗體的核酸分子與包含此等核酸分子的載體用於轉染適合的哺乳動物、植物、細菌或酵母菌宿主細胞。轉染可藉由任何用於將多核苷酸導入至宿主細胞中的已知方法。用於將異種的多核苷酸導入至哺乳動物細胞中的方法係所屬技術領域中廣為人知的且包含由右旋糖聚糖介導的轉染、磷酸鈣沈澱、由聚凝胺（polybrene）介導的轉染、原生質體融合、電穿孔、將多核苷酸於脂質體中封膠囊、與將 DNA 直接微注射至細胞核中。此外，可藉由病毒載體將核酸分子導入至哺乳動物細胞中。轉形細胞之方法係所屬技術領域中廣為人知的。參見（例如）美國專利 4,399,216、4,912,040、4,740,461、與 4,959,455。轉形植物細胞之方法係所屬技術領域中廣為人知的，其包含（例如）由農桿菌介導的轉染、基因槍轉染（biolistic transformation）、直接注射、電穿孔與病毒轉染。轉形細菌與酵母菌細胞之方法亦係所屬技術領域中廣為人知的。

【0154】 可得的作為用於表現的宿主的哺乳動物細胞系係所屬技術領域中廣為人知的且包含許多可自美國菌種保存中心（ATCC）獲得的經永生化細胞系。此等包含（除其他者外）中國倉鼠卵巢（CHO）細胞、NS0 細胞、SP2 細胞、HEK-293T 細胞、293 Freestyle 細胞（Invitrogen）、NIH-3T3 細胞、HeLa 細胞、嬰兒倉鼠腎臟（BHK）細胞、非洲綠猴腎臟細胞（COS）、

人類肝細胞癌細胞（例如 Hep G2）、A549 細胞、與一些其他細胞系。特別偏好的細胞系係藉由確定那個細胞系具有高表現水平來挑選。可使用的其他細胞系為昆蟲細胞系，諸如 Sf9 或 Sf21 細胞。當編碼抗體基因的重組表現載體被導入至哺乳動物宿主細胞中時，該抗體係藉由以下者來來生產：將宿主細胞培養一段足以使該抗體可在宿主細胞中表現或（更佳地）該抗體可被分泌至該宿主細胞於其中生長的培養基中的時間期間。抗體可使用標準蛋白質純化方法自培養基回收。植物宿主細胞包含（例如）菸草（*Nicotiana*）、阿拉伯芥（*Arabidopsis*）、浮萍、玉米、小麥、馬鈴薯、等等。細菌宿主細胞包含大腸桿菌與鏈黴菌屬（*Streptomyces*）物種。酵母菌宿主細胞包含粟酒裂殖酵母菌（*Schizosaccharomyces pombe*）、啤酒酵母菌（*Saccharomyces cerevisiae*）與巴斯德畢赤酵母菌（*Pichia pastoris*）。

【0155】 進一步地，本發明之抗體或其抗原結合部分自生產細胞系的表現可使用一些已知技術來增強。例如，麩醯胺酸合成酶基因表現系統（GS 系統）係用於在某些條件下增強表現的常見方法。GS 系統係於歐洲專利案 0 216 846、0 256 055、0 323 997 與 0 338 841 中完整或部分討論。

【0156】 以下者是很可能的：由不同的細胞系或於基因轉殖動物表現的抗體彼此會具有不同的糖苷化模式。然而，無論抗體之糖苷化狀態為何，且更大體而言，無論轉譯後修改是否存在，所有由於本文中提供的核酸分子編碼的或包含於本文中提供的胺基酸序列的抗體皆為本發明之一部份。

醫藥組成物

【0157】 本發明另一方面係包含本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合

部分或抗 PD-1 抗體組成物作為活性成分之一（或作為唯一的活性成分）的醫藥組成物。該醫藥組成物可包含任何如於本文中所描述的抗 PD-1 抗體組成物或抗體或其抗原結合部分。在一些具體態樣中，該組成物係意欲用於改善、預防、及/或治療與 PD-1 相關的疾患（例如特徵在於 PD-1 之過度表現或過度活性的疾患）及/或癌症。在一些具體態樣中，該組成物係意欲用於活化免疫系統。在一些具體態樣中，該組成物係意欲用於改善、預防、及/或治療源於諸如皮膚、肺臟、腸、卵巢、腦、前列腺、腎臟、軟組織、造血系統、頭與頸、肝臟、膀胱、乳房、胃、子宮與胰臟的組織的癌症。

【0158】 大體而言，本發明之抗體或其抗原結合部分係適用於以與一或多種醫藥上可接受的賦形劑聯結的調配物的形式投予，例如如以下所描述者。

【0159】 本發明之醫藥組成物會包含一或多種本發明之抗 PD-1 抗體或結合部分，例如一或二種抗 PD-1 抗體或結合部分。在一個具體態樣中，該組成物包含單一種本發明之抗 PD-1 抗體或其結合部分。

【0160】 在另一個具體態樣中，該醫藥組成物可包含至少一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分（例如一種抗 PD-1 抗體或部分）與一或多種瞄準一或多種有關的細胞表面受體（例如一或多種與癌症有關的受體）的另外的抗體。

【0161】 術語「賦形劑」係描述除了本發明之化合物以外的任何成分。賦形劑之選擇在很大的程度上會取決於諸如以下者的因子：特別的投予之模式、賦形劑對溶解度與穩定性的功效、與劑型之性質。用於本文中，「醫藥上可接受的賦形劑」包含任何及所有溶劑、分散介質、塗層、抗細

菌劑與抗真菌劑、等張劑與吸收延緩劑、與類似者，其等為生理上相容的。醫藥上可接受的賦形劑之一些實例為水、食鹽水、經磷酸鹽緩衝的食鹽水、右旋糖、甘油、乙醇與類似者、以及其組合。於許多例子中，於組成物中包含等張劑（例如糖、多元醇，諸如甘露糖醇、山梨糖醇、或氯化鈉）會是較佳的。醫藥上可接受的物質之其他實例為潤濕劑或小量的輔助性物質，諸如濕潤劑或乳化劑、保存劑或緩衝液，其等會增強抗體之保存期限或有效性。

【0162】 本發明之醫藥組成物與用於製備其等的方法對所屬技術領域中具有通常知識者而言會是顯而易見的。如此組成物與用於製備其等的方法可於（例如）Remington's Pharmaceutical Sciences，第 19 版（Mack Publishing Company, 1995）中找到。醫藥組成物較佳係在 GMP（優良製造規範）條件下製造。

【0163】 本發明之醫藥組成物可以散裝、呈單一單位劑量的形式、或成複數個單一單位劑量的形式製備、包裝、或販售。用於本文中「單位劑量」係包含預決定量的活性成分的醫藥組成物之分離的量。活性成分之量一般係等於會被投予至受藥者的活性成分之劑量或如此劑量之便利的部份（諸如（例如）如此劑量之一半或三分之一）。

【0164】 所屬技術領域中被接受的任何用於投予胜肽、蛋白質或抗體的方法可適當地用於本發明之抗體與抗原結合部分。

【0165】 本發明之醫藥組成物典型係適用於非經腸投予。用於本文中，醫藥組成物之「非經腸投予」包含任何特徵在於以下者的投予之途徑：物理上破壞受藥者之組織並通過組織之破口投予醫藥組成物，因此一般造

成直接投予至血流中、至肌肉中、或至內部器官中。非經腸投予因此包含（但不限於）藉由注射組成物來投予醫藥組成物、藉由通過外科手術切口施用組成物、藉由穿透組織的非外科手術傷口施用組成物、與類似者。特別是，思量非經腸投予包含（但不限於）皮下、腹膜內、肌肉內、胸骨內、靜脈內、動脈內、包鞘內、室內、尿道內、顱內、與滑液膜內注射或灌注；與腎臟透析灌注技術。亦思量局部灌流。較佳的具體態樣包含靜脈內與皮下途徑。...

【0166】 適用於非經腸投予的醫藥組成物之調配物典型包含與醫藥上可接受的載劑（諸如無菌水或無菌等張食鹽水）組合的活性成分。如此調配物可以適用於團狀投予或適用於連續投予的形式製備、包裝、或販售。可注射的調配物可以單位劑型（諸如以安瓿或以含有保存劑的多劑容器）之形式製備、包裝、或販售。用於非經腸投予的調配物包含（但不限於）懸浮液、溶液、於油或水性媒劑中的乳液、糊劑、與類似者。如此調配物可進一步包含一或多另外的成分，包含（但不限於）懸浮劑、穩定劑、或分散劑。在用於非經腸投予的調配物之一個具體態樣中，活性成分係以用於在非經腸投予經復水組成物前以適合的媒劑（例如無菌的無熱原水）復水的乾燥（即粉末或粒狀）形式提供。非經腸的調配物亦包含水溶液，其可含有賦形劑，諸如鹽、碳水化合物與緩衝劑（較佳至 3 至 9 的 pH），但對於一些應用而言，其等可能更適於被調配成無菌非水溶液的形式或欲結合適合的媒劑（諸如無菌的無熱原水）使用的乾燥形式。例示性非經腸投予形式包含於無菌水溶液（例如丙二醇或右旋糖水溶液）中的溶液或懸浮液。若所欲，如此劑型可被適當地緩衝。其他有用的可非經腸地投予的調配物

包含該等包含呈微晶質形式者或於脂質體製劑中的活性成分者。用於非經腸投予的調配物可被調配成立即及/或經修飾釋放。經修飾釋放調配物包含延緩釋放、持續釋放、脈衝釋放、受控釋放、靶向釋放與程序化釋放。

【0167】 例如，在一個方面，無菌可注射溶液可藉由於適當的溶劑併入所需量的抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分或抗 PD-1 抗體組成物與以上列舉的成分之一者或組合（如所需的）然後過濾滅菌來製備。大體而言，分散液係藉由將活性化合物併入至含有基本分散介質與來自以上列所舉者的所需的其他成分的無菌媒劑中來製備。於用於製備無菌可注射溶液的無菌粉末之例子中，較佳的製備之方法係真空乾燥與冷凍乾燥，其自活性成分與任何另外的所欲成分之先前經無菌過濾的溶液產生活性成分與任何另外的所欲成分之粉末。溶液之適當的流動性可（例如）藉由使用塗層（諸如卵磷脂）、藉由維持所需的顆粒尺寸（於分散液之例子中）與藉由使用表面活性劑來維持。可注射組成物之延長的吸收可藉由將延緩吸收的劑（例如硬脂酸鹽與明膠）包含在組成物中及/或藉由使用經修飾的釋放塗層（例如緩慢釋放塗層）帶來。

【0168】 本發明之抗體亦可被鼻內投予或藉由吸入投予，該吸入典型係呈來自乾燥粉末吸入器的乾燥粉末的形式（單獨的、呈現混合物的形式、或呈（例如）與適合的醫藥上可接受的賦形劑混合的經混合組份顆粒的形式）、呈來自經加壓容器、泵、噴霧器、原子化器（較佳為使用電流體力學的原子化器以生產細霧）、或霧化器（有或無使用適合的推進劑）的氣溶膠噴霧劑的形式、或呈鼻滴劑的形式。

【0169】 經加壓容器、泵、噴霧器、原子化器、或霧化器一般含有本

發明之抗體之溶液或懸浮液，其包含（例如）用於分散活性物、溶解活性物、或延長活性物之釋放的適合的劑、推進劑作為溶劑。

【0170】 在於乾燥粉末或懸浮液調配物中使用前，藥物產品一般被微米化至適用於藉由吸入遞送的大小（典型為小於 5 微米）。此可藉由任何適當的粉碎方法（諸如螺旋噴射研磨、流體床噴射研磨、超臨界流體加工以形成奈米顆粒、高壓均質化、或噴霧乾燥）達成。

【0171】 可將用於吸入器或吹入器的膠囊、錫箔囊與筒匣調配成含有本發明之化合物、適合的粉末基底與性能修飾劑之粉末混合物。

【0172】 用於原子化器使用電流體力學以生產細霧的適合的溶液調配物可每次致動含有適合劑量的本發明之抗體且致動體積可例如於 1 μ L 至 100 μ L 改變。

【0173】 可將適合的調味劑（諸如薄荷腦與左薄荷腦）或甜味劑（諸如糖精或糖精鈉）添加至該等意欲用於吸入/鼻內投予的本發明之調配物。

【0174】 可將用於吸入/鼻內投予的調配物調配成立即及/或經修飾釋放。經修飾釋放調配物包含延緩釋放、持續釋放、脈衝釋放、受控釋放、靶向釋放與程序化釋放。

【0175】 於乾燥粉末吸入劑與氣溶膠之例子中，劑量單位係藉由遞送經計量供給的量的閥之方式決定。典型係將根據本發明的單位安排成投予經計量供給的劑量或一「噴」的本發明之抗體。總體每日劑量典型會在貫穿一日以單劑投予或更常呈分開的劑的形式投予。

【0176】 亦可將本發明之抗體與抗體部分調配成用於口服途徑投予。口服投予可涉及吞嚥，使得化合物進入胃腸道、及/或頰部投予、舌部

投予、或舌下投予，藉其化合物直接自口部進入血流。

【0177】 適用於口服投予的調配物包含固體、半固體與液體系統，諸如錠劑；含有多粒（multi-particulate）或奈米粒（nano-particulate）、液體、或粉末的軟或硬膠囊；菱形錠（包含充滿液體的）；咀嚼物；凝膠；快速分散劑型；薄膜；卵形劑；噴霧劑；與頰部/黏膜黏附性貼片。

【0178】 液體調配物包含懸浮液、溶液、糖漿與酏劑。如此調配物可被用作為軟或硬膠囊（例如自明膠或羥基丙基甲基纖維素製造）中的填充物且典型包含載劑，例如水、乙醇、聚乙二醇、丙二醇、甲基纖維素、或適合的油、與一或多種乳化劑及/或懸浮劑。液體調配物亦可藉由來自（例如）藥包的固體之復水來製備。

本發明之抗體與組成物之治療用途

【0179】 在一個方面，本發明之抗 PD-1 抗體與其抗原結合部分、抗 PD-1 組成物、與雙專一性結合分子係用於在有需要的人類中增強或活化免疫系統。在一些具體態樣中，該患者具有特徵在於 PD-1 之過度表現或過度活性的病況。在一些具體態樣中，該患者的免疫被抑制。在一些具體態樣中，該抗體或其抗原結合部分、組成物、或雙專一性結合分子醫藥組成物係用於治療癌症（例如源於諸如皮膚、肺臟、腸、卵巢、腦、前列腺、腎臟、軟組織、造血系統、頭與頸、肝臟、膀胱、乳房、胃、子宮與胰臟的組織的癌症）、與依賴 PD-1 活性或其中患者表現或過度表現 PD-L1、PD-L2、或兩者的任何癌症或其他病況。藉由本發明之抗 PD-1 抗體、其抗原結合部分、抗 PD-1 抗體組成物、及/或雙專一性結合分子治療的癌症可包含（例如）

黑色素瘤（諸如晚期黑色素瘤、或無法割除的黑色素瘤或轉移性黑色素瘤）、非小細胞肺癌、膀胱癌、頭頸鱗狀細胞癌、卵巢癌、結腸直腸癌、何杰金氏淋巴瘤、與腎細胞癌（RCC）。

【0180】 在一些具體態樣中，藉由本發明之抗 PD-1 抗體、抗原結合部分、抗 PD-1 組成物、及/或雙專一性結合分子治療的癌症可包含（例如）黑色素瘤（例如晚期或轉移性黑色素瘤）、非小細胞肺癌、頭頸鱗狀細胞癌、腎細胞癌、何杰金氏淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤、神經膠母細胞瘤、神經膠瘤、鱗狀細胞肺癌、小細胞肺癌、肝細胞癌、膀胱癌、上尿路癌、食道癌、胃食道連接部癌、胃癌、肝癌、結腸癌、結腸直腸上皮細胞癌、多發性骨髓瘤、肉瘤、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、骨髓發育異常症候群、鼻咽癌、慢性淋巴球性白血病、急性淋巴胚細胞性白血病、小淋巴球性淋巴瘤、卵巢癌、胃腸癌、原發性腹膜癌、輸卵管癌、泌尿上皮癌、與 HTLV 有關的 T 細胞白血病/淋巴瘤、前列腺癌、生殖泌尿道癌、腦脊髓膜瘤、腎上腺皮質癌、神經膠肉瘤、纖維肉瘤、腎臟癌、乳癌、胰臟癌、子宮內膜癌、皮膚基底細胞癌、闌尾之癌症、膽道癌、唾液腺癌、晚期 Merkel 氏細胞癌、瀰漫性大型 B 細胞淋巴瘤、濾泡淋巴瘤、中皮瘤、與固體腫瘤。

【0181】 「治療」係關於減輕或消除生物疾患及/或其伴隨徵候之至少一者的方法。用於本文中，去「減輕」疾病、疾患或病況意謂減少該疾病、疾患、或病況之徵候之嚴重性及/或發生頻率。進一步地，本文中提及「治療」時包含提及治癒性、緩和性與預防性治療。

【0182】 「治療有效量」係關於所投予的治療劑之量，其會將所治療的疾患之徵候之一或多者緩和至某種程度。抗癌治療劑之治療有效量可

造成腫瘤收縮、增加存活、排除癌細胞、減低疾病進展、逆轉轉移、或其他保健專家所欲的臨床終點。

【0183】 本發明之抗體組成物或抗體或其抗原結合部分可被單獨投予或組合一或多個其他藥物或抗體（或呈任何其組合）投予。本發明之醫藥組成物、方法與用途因此亦涵蓋與其他活性劑組合（共投予）的具體態樣，如以下詳細說明的。

【0184】 用於本文中，關於本發明之抗體組成物與抗體與其抗原結合部分和一或多種其他治療劑，術語「共投予」與「與 xx 組合」係意欲意謂且係關於與包含以下者：

- 將本發明之抗體組成物/抗體/抗原結合部分與治療劑之如此組合同時投予至需要治療的患者，當此等組份被一起調配成於實質相同的時間將該等組份釋放至該患者的單一劑型時，

- 將本發明之抗體組成物/抗體/抗原結合部分與治療劑之如此組合實質上同時投予至需要治療的患者，當此等組份被彼此分開地調配成於實質相同的時間被該患者攝取的分開的劑型且該等組份隨之於實質相同的時間被釋放至該患者時，

- 將本發明之抗體組成物/抗體/抗原結合部分與治療劑之如此組合相繼投予至需要治療的患者，當此等組份被彼此分開地調配成於連續的時間被該患者攝取且在各個投予間有明顯的時間間隔的分開的劑型且隨之該等組份於實質上不同的時間被釋放至該患者時；與

- 將本發明之抗體組成物/抗體/抗原結合部分與治療劑之如此組合相繼投予至需要治療的患者，當此等組份被一起調配成以受控的方式釋放該等組份

的單一劑型且其等隨之於相同的及/或不同的時間被同時地、連續地、及/或重疊地釋被放至該患者，

其中各個部分可藉由相同的或不同的途徑投予。

【0185】 本發明之抗體組成物與抗體與其抗原結合部分可在無其他的治療性治療下投予，即呈獨立的療法。供選擇地，利用本發明之抗體組成物與抗體與其抗原結合部分的治療可包含至少一種其他的治療性治療（組合療法）。在一些具體態樣中，該抗體組成物或抗體或其抗原結合部分可與另一種藥療/藥物共投予或調配以用於治療癌症。其他的治療性治療可包含（例如）化學治療劑、抗贅瘤劑、或抗血管生成劑、不同的抗癌症抗體、及/或放射性療法。

【0186】 藉由組合本發明之抗體組成物、抗體、或抗原結合部分與已知會誘發癌細胞之終端分化的藥劑，功效可被進一步改善。如此化合物可（例如）選自由以下者所組成的群組：視黃酸、反式視黃酸、順式視黃酸、丁酸苯酯、神經生長因子、二甲亞碲、活化型維生素 D3、過氧化體增植物活化受體 γ 、12-O-十四烷醯基佛波醇 13-醋酸酯、六亞甲基-雙-乙醯胺、轉形生長因子 β 、酪酸、環 AMP、與維司力農（vesnarinone）。在一些具體態樣中，該化合物係選自由視黃酸、丁酸苯酯、全反式視黃酸與活化型維生素 D 所組成的群組。

【0187】 包含本發明之抗 PD-1 抗體組成物或抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分與至少一種其他藥劑（例如化學治療劑、抗贅瘤劑、或抗血管生成劑）的醫藥物品可被用作為用於在癌症法治療中同時、分開或相繼地投予的組合治療。該其他藥劑可為適用於治療所關注的特定癌症的藥劑，例如

選自由以下者所組成的群組的藥劑：烷化劑，例如鉑衍生物，諸如順鉑、卡鉑及/或奧沙利鉑（oxaliplatin）；植物生物鹼，例如紫杉醇、多西紫杉醇（docetaxel）及/或愛萊諾迪肯（irinotecan）；抗腫瘤抗生素，例如阿黴素（阿德力黴素）、道諾黴素、泛艾黴素（epirubicin）、艾達黴素（idarubicin）米托蒽醌、放線菌黴素 D、博萊黴素、放線菌黴素、藤黃黴素（luteomycin）、及/或絲裂黴素；拓撲異構酶抑制劑，諸如托普樂肯（topotecan）；及/或抗代謝物，例如氟尿嘧啶及/或其他氟嘧啶。

【0188】 本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分或抗 PD-1 抗體組成物亦可組合諸如疫苗、細胞介素、酵素抑制劑與 T 細胞療法的其他抗癌症治來使用。於疫苗之例子中，其可（例如）為含有一或多種與欲治療的癌症有關的抗原的蛋白質、胜肽或 DNA 疫苗、或包含樹突細胞加上抗原的疫苗。適合的細胞介素包含（例如）IL-2、IFN- γ 與 GM-CSF。一種具有抗癌症活性的酵素抑制劑之實例為吡咯胺-2,3-二氧酶（IDO）抑制劑，例如 1-甲基-D-色胺酸（1-D-MT）。T 細胞輸入療法係關於種種涉及擴展或操縱患者自身的 T 細胞以辨認並攻擊其等之腫瘤的免疫治療技術。

【0189】 亦思量本發明之抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分或抗 PD-1 抗體組成物可用於有關於酪胺酸激酶抑制劑的輔助性療法。此等係與受體之細胞內酪胺酸激酶功能域交互作用並藉由競爭細胞內 Mg-ATP 結合位置來抑制配體誘發性受體磷酸化的合成的、主要衍生自喹啉的、低分子量分子。

【0190】 在一些具體態樣中，該抗體組成物或抗體或其抗原結合部分可組合另一種介導免疫系統活化的藥療/藥物使用，該藥療/藥物包含（但不

限於)介導 A2AR、BLTA、B7-H3、B7-H4、CTLA-4、CD27、CD28、CD40、CD55、CD73、CD122、CD137、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、CTLA-3、CEACAM(例如 CEACAM-1 及/或 CEACAM-5)、GAL9、GITR、HVEM、ICOS、IDO、KIR、LAIR1、LAG-3、OX40、TIGIT、TIM-3、TGFR- β 、VISTA 及/或 2B4 之表現或活性的藥劑。在一些具體態樣中，該藥劑係與以上分子之一結合的抗體或抗原結合性其片段。在一些具體態樣中，本發明之抗體組成物或抗體或其抗原結合部分可組合 CTLA-4 抑制劑(例如抗 CTLA-4 抗體，諸如曲美木單抗(tremelimumab)或易普利單抗(ipilimumab))投予。在一個具體態樣中，本發明之抗體組成物或抗體或其抗原結合部分可與組合易普利單抗投予。

【0191】 於某些方面，本發明之抗體與抗原結合部分可組合另一種 PD-1 途徑之抑制劑(其可瞄準 PD-1 或其配體之一或多者)投予。如此抑制劑之實例包含其他抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、與抗 PD-L2 抗體。在一些具體態樣中，本發明之抗體組成物、抗體、及/或抗原結合部分可組合派姆單抗及/或納武單抗投予。

【0192】 應瞭解本發明之抗體組成物與抗體與其抗原結合部分可被用於如於本文中所描述的治療之方法、可被用於如於本文中所描述的治療、及/或可被用於製造用於如於本文中所描述的治療的醫藥品。

投予之劑量與途徑

【0193】 本發明之抗體組成物會以有效量投予以治療所關注的病況，即以對於達成所欲的結果而言是必要的劑量與時間期間。治療有效量

可根據諸如以下者的因子變化：欲治療的特定病況、患者之年齡、性別與重量、與抗體是否以獨立治療的形式投予或組合一或多種另外的抗癌症治療來投予。

【0194】 可調整劑量攝生法以提供最理想的所欲反應。例如，可投予單一藥團、可隨著時間投予數個分開的劑或按治療情況之急迫性所表明的成比例地減少或增加劑量。對於投予之容易性與劑量之一致性而言，以劑量單位形式調配非經腸的組成物是特別有助的。用於本文中，劑量單位形式係關於物理上分離的單位，其適用作為用於欲治療的患者/受藥者的單位劑量；各個單位含有經計算以產生所欲的治療功效的預決定量的活性化合物加上所需的醫藥載劑。本發明之劑量單位形式之規格一般係由以下者支配且直接取決於以下者：(a)化學治療劑之獨特特徵與欲達成的特殊治療或預防性功效、與(b)化合如此活性化合物以用於在個體中治療敏感性之所屬技術領域中固有的限制。

【0195】 因此，基於於本文中提供的揭示內容，所屬技術領域中具有通常知識者會領會劑量與給藥攝生法是根據治療技術領域中廣為人知的方法來調整。即，可輕易建立最大可容忍劑量，且亦可決定提供患者可偵測的治療利益的有效量，且亦可決定投予各個劑以提供患者可偵測的治療利益的時間需要。據此，雖然某些劑量與投予攝生法係於本文中例示，此等實例決不限制在實現本發明時可提供給患者的劑量與投予攝生法。

【0196】 應注意劑量值可隨著欲減輕的病況之種類與嚴重性變化，且可包含單劑或多劑。應進一步瞭解對於特別的受藥者而言，特別的劑量攝生法應隨著時間根據個體之需要與投予組成物或監督組成物之投予的人之

專業判斷作調整，且本文中提出的劑量範圍僅係例示性的且非意欲限制具體實例組成物之範圍或實現。進一步地，使用本發明之組成物的劑量攝生法可基於種種因子，其包含疾病之種類、患者之年齡、重量、性別、醫療條件、病況之嚴重性、投予之途徑、與所利用的具體抗體。因此，劑量攝生法可廣泛地變化，但可使用標準方法例行地決定。例如，可基於藥動學或藥效學參數調整劑量，而該等參數可包含臨床功效，諸如毒性效果及/或實驗室值。因此，本發明涵蓋患者內劑量逐步上升，如由所屬技術領域中具有通常知識者所測定的。測定適當的劑量與攝生法於有關的技術領域中係廣為人知的且會被理解成一旦提供於本文中揭示的教示後就被所屬技術領域中具有通常知識者涵蓋。

【0197】 思量到本發明之抗體組成物之適合劑量會在 0.1-100 mg/kg，諸如約 0.5-50 mg/kg，例如約 1-20 mg/kg 的範圍。該抗體組成物可例如以至少 0.25 mg/kg，例如至少 0.5 mg/kg，諸如至少 1 mg/kg，例如至少 1.5 mg/kg，諸如至少 2 mg/kg，例如至少 3 mg/kg，諸如至少 4 mg/kg，例如至少 5 mg/kg；與例如至多達至多 50 mg/kg，諸如至多達至多 30 mg/kg，例如至多達至多 20 mg/kg，諸如至多達至多 15 mg/kg 的劑量投予。投予一般會以適合的間隔重複（例如每週一次、每二週一次、每三週一次、或每四週一次）達負責的醫生（其於必要時可視需要地增加或減少劑量）視為適當的時間長度。

【0198】 用於腫瘤療法的有效量可藉由其以下能力測量：於患者中穩定化疾病進展及/或減輕徵候，且較佳地逆轉疾病進展，例如藉由減少腫瘤大小。本發明之抗體或組成物抑制癌症的能力可藉由試管內分析（例如如

於實施例中描述的)以及於對於人類腫瘤中的效力有預期性的適合的動物模型中評估。會針對以下者挑選適合的劑量攝生法：於各個特殊情況提供最理想的治療反應，例如呈單一藥團的形式或呈連續灌注的形式投予，且有劑量之可能的調整，如各個例子之急迫性所表明的。

診斷用途與組成物

【0199】 本發明之抗體亦有用於診斷方法(例如試管內、活體外)。例如，該抗體可被用於偵測及/或測量來自患者的樣本(例如組織樣本、或體液樣本，諸如發炎滲出液、血液、血清、腸液、唾液、或尿液)中的PD-1之水平。適合的偵測與測量方法包含免疫學方法，諸如流式細胞測量術、酵素結合免疫吸附分析法(ELISA)、化學發光分析、放射性免疫分析、與免疫組織學。本發明進一步涵蓋包含於本文中描述的抗體的套組(例如診斷套組)。

【0200】 除非於本文中另加定義，關於本發明而使用的科學與技術術語應具有所屬技術領域中具有通常知識者所通常瞭解的意義。例示性方法與材料係於以下描述，雖然與本文中描述者類似或等同的方法和材料亦可被用於實現或測試本發明。在矛盾的例子下，應按照本說明書(包含定義)。

【0201】 大體而言，關於於本文中描述的細胞與組織培養、分子生物學、免疫學、微生物學、基因、分析化學、合成有機化學、藥物與製藥化學、與蛋白質和核酸化學及雜交而使用的命名法以及其等之技術於所屬技術領域中係廣為人知的且被一般地使用。酵素反應與純化技術係根據製造商之說明書執行，如所屬技術領域中通常完成的或如於本文中所描述的。

【0202】 進一步地，除非另為前後文需要，單數的術語應包含複數且複數的術語應包含安數。於此說明書與具體態樣通偏，字詞「具有」與「包含」或其變體應被理解成意謂包括所陳述的整體或整體之群組但不排除任何其他整體或整體之群組。

【0203】 所有本文中提及的出版品與其他文獻係以其等之完整內容以引用方式併入。雖然一些文件於本文中被引用，但是此引用並不構成承認任何此等文件形成所屬技術領域中的共同一般知識之一部份。

【0204】 為了使本發明被更佳地瞭解，提出以下實施例。此等實施例僅係用於闡明之目的且不應被以解成以任何方式限制本發明之範圍。

實施例

實施例 1：自雞 B 細胞選殖抗 PD-1 抗體

【0205】 自分泌抗體的 B 細胞 (ASC) 選殖衍生自雞的抗體基因係藉由 Symplex™ 抗體發現技術的方式執行。簡言之，自己經以 PD-1 抗原 (呈可溶蛋白質抗原的形式及/或呈其天然在真核細胞上展示的與細胞膜結合的形式) 致免疫的雞之淋巴器官分離 ASC。以經螢光標記的抗體染色 ASC 允許在分選至 PCR 容器前自其他細胞 (例如 T 細胞、初始 B 細胞、單核球、等等) 區別 ASC。藉由流式細胞測量術執行單一 ASC 分選。隨後，如以下所描述地對各個經分選的 B 細胞實施 Symplex™ 程序以產生含有同源 V_H 與 V_L 對的 PCR 產物。

【0206】 在經分選的 ASC 上執行 V_H 與 V_L 編碼序列之連接，以促進該等序列之同源配對。該方法利用基於一步驟多重重疊延伸 RT-PCR 的二步

驟 PCR 程序接著為巢式 PCR。使用 Symplex™技術連接同源 V_H與 V_L序列之原理係於 WO 2005/042774；WO 2008/104184；WO 2010/022738、與 Meijer 等人, J Mol Biol 358(3):764-72 (2006) 中詳細描述。簡言之，經擴增的同源 V_H與 V_L之片段係藉由重疊延伸 PCR 於所謂的巢式 PCR 步驟中連結。於其後的過程中，在將 PCR 產物選殖入質體載體中之前將其等倒在一起。完成此以使得所選殖的編碼雞抗體之可變功能域的 DNA 片段可於經轉染的哺乳動物細胞中從單一質體表現構築體表現成完整的嵌合抗體。結果，針對展現與 PD-1 抗原專一性結合的嵌合抗體篩選細胞上清液是可能的。

材料與方法

【0207】 修飾如於以上列舉的出版品中描述的 Symplex™技術以自經分選的雞 B 細胞放大 V_L與 V_H。如以下所描述的，以二步驟完成功能性表現構築體之選殖。

【0208】 步驟 1。於巢式 PCR 反應中擴增含有經配對的 V_H與 V_L片段的經擴增的 PCR 產物。此允許於各個末端加入圍繞兩側的 ApaI 與 AvrII 之限制酵素識別位置。由於同源 V_H與 V_L序列係於來自各個經分選的 ASC 的單一 PCR 產物中配對，在將所有的 PCR 片段倒在一起後執行 PCR 產物之選殖。構築質體 pML392 以藉由消化相對應限制位置 ApaI 與 AvrII 來接受 Symplex™ PCR 產物。所得的倒在一起的 PCR 產物與 pML392 之連接係於圖 1 中顯示。於此處，PCR 產物之插入分別將 V_H與 V_L序列置於人類 CH1-CH2-CH3 與 λ 恆定 cDNA 區域之前，以獲得全長重鏈與輕鏈讀框。

【0209】 步驟 2。於最初的構築體中，編碼重鏈與輕鏈序列的二個讀

框係頭對頭地放置並以含有 AscI 與 NheI 之限制酶識別位置的 DNA 序列分開。藉由插入在重鏈與輕鏈基因之二個 5' 末端之間包含 5'-UTR 與訊息勝肽的相對應的經 AscI/NheI 消化的雙重 CMV 啟動子 DNA 片段，獲得完整的表現構築體，如於圖 2 中描繪的。

實施例 2：抗 PD-1 參考抗體類似物之選殖

【0210】 此實施例簡短地解釋了抗 PD-1 抗體之參考類似物納武單抗與派姆單抗是如何產生的。

【0211】 編碼納武單抗與派姆單抗之抗體類似物之重鏈與輕鏈可變功能域的胺基酸序列係自 IMGT® 網站 imgt.org/mAb-DB/ 獲得；參見以下表 3。將蛋白質序列逆轉譯成使用人類密碼子的 DNA 序列。接著基因合成相對應的 DNA 序列並將其選殖入含有恆定人類 IgG₄ 重鏈或 κ 輕鏈功能域的表現載體中，造成全長抗體之表現。為預防 Fab 臂交換，以脯胺酸取代位於位置 228 的絲胺酸殘基（Angal 等人, Mol. Immunol. 30:105-108 (1993)）。使用標準蛋白質表現系統以相對應的表現質體轉染 CHO 細胞。使用標準蛋白質 A 純化管柱色層分離法純化相對應的抗體上清液。

表 3 經基因合成的抗體類似物

抗體	研究代號	抗體格式	參考網路位置
派姆單抗/ KEYTRUDA®	MK-3475	重組 IgG ₄ 、S228P	imgt.org/mAb-DB/mAb card?AbId=472
納武單抗/ OPDIVO®	BMS-936558, MDX-1106, ONO-4538	重組 IgG ₄ 、S228P	imgt.org/mAb-DB/mAb card?AbId=424

實施例 3：針對與在細胞表面表現的 PD-1 的結合來篩選抗體庫

【0212】 以 384 槽孔格式使用 293fectin™轉染試劑（Invitrogen，目錄編號 12347-019）於 HEK293 細胞中各別地轉染與表現經選殖的抗 PD-1 庫之抗體，並於轉染後第 6 日收集含有抗體的上清液。

【0213】 對於基於細胞的抗體篩選，以 384 槽孔格式使用 FreeStyle™ MAX 試劑（Invitrogen，目錄編號 16447-100）轉染 CHO-S 細胞以表現全長人類 PD-1，並將未經轉染的細胞用作為陰性對照組。為了允許多重篩選設置，使用 CFSE 標記未經轉染的細胞並以 1 對 1 的比率與各自每 ml 1E6 個細胞的密度混合其與未經標記的經 PD-1 轉染的細胞。於 384 槽孔盤中，混合 40 µl 的此細胞混合物與 10 µl 的含有抗體的上清液，並藉由以非洗滌設置加入山羊抗人類 IgG（H+L）AF647 二級抗體（Molecular Probes，目錄編號 A21445）來展現與細胞結合的抗體。使用高通量流式細胞測量術（iQue® Screener，Intellicyt）獲得樣本並使用 ForeCyt®軟體藉由繪製 CFSE vs. 人類 IgG 結合（AF647）來分析數據。PD-1 專一性主要命中係鑑認為僅與經人類 PD-1

轉染的細胞（CSFE 陰性）結合而不與對照組細胞（CFSE 陽性）結合的抗體殖系，且收集盤數與盤座標以用於命中挑出與其後的序列分析。

【0214】 圖 3A-3C 顯示以下者之代表性的流式細胞測量術點圖：(A) 與經人類 PD-1 轉染的細胞專一性結合的抗體殖系、(B)與 CHO-S 細胞非專一性結合的殖系、與(C)不與於此篩選中使用的細胞族群之任一者結合的殖系。

實施例 4：抗 PD-1 抗體之人類化

【0215】 執行雞抗 PD-1 抗體之構架區之人類化以生產當被投予至人類時具有最小的致免疫性同時實質上保留親本雞抗體之專一性與親和力的抗體分子。

材料與方法

【0216】 使用「CDR 移植法」方法執行衍生自雞的抗體之人類化，該方法係由 Jones 等人, Nature 321:522 – 525 (1986)獨創地描述。首先，抗體之可變重鏈（V_H）功能域與可變輕鏈（V_L）功能域係對人類 IgG 資料庫作 blast 以找尋最接近的人類生殖系基因。此鑑認出人類 IGHV3-23*01 (M99660) 與 IGLV3-19*01 (X56178)基因分別為最接近雞的 V_H與 V_L基因者。同樣地，分別為 V_H與 V_L從 IGHJ1*01 (J00256)與 IGLJ6*01 (M18338)衍生用於 J 基因區域人類化的所選人類胺基酸序列。此外，針對雞免疫球蛋白生殖系基因排比抗體 V_H與 V_L基因以鑑認可能於抗體功能及/或結構中扮演某種角的構架區中的體細胞突變。如此殘基可以所謂的「回復突變」殘基被包含在最終

經人類化抗體基因中。最後，有些已知會於抗體結構、穩定性與功能中扮演重要的角色的胺基酸位置（所謂的「Vernier 殘基」(Foote 與 Winter、J Mol Biol. 224(2):487-99 (1992)) 被認為會產生包含來自相對應生殖系的人類或雞殘基的供選擇的經人類化抗體變體。

【0217】 本文中的 CDR 序列係根據 CDR1 與 CDR2 之 IMGT®定義決定。對於重鏈與輕鏈 CDR3，本文中的定義於 IMGT-CDR3 之上游包含一個額外的胺基酸殘基（Cys）且於下游包含一個額外的胺基酸殘基（對於 VH CDR3 是 Trp，對於 VL CDR3 是 Phe）。

【0218】 藉由重疊延伸 PCR 執行雞 CDR 與人類構架區之裝配。將所得的經人類化 V_H與 V_L PCR 產物選殖入帶有人類重鏈與輕鏈恆定區域的表現載體（質體）中。為增加在 λ 鏈上游的訊息胜肽之正確剪切，將 λ 基因 IGLV3.19 之第二個胺基酸（Ser）以於其他人類生殖系（例如 IGLV3.25）中存在的另一種胺基酸（Tyr）置換。重鏈序列含有二個「LALA」突變（L234A/L235A），其已知會減少 IgG1 抗體之 Fc 區域之效應功能（Armour 等人, Eur J Immunol. 29(8):2613-24 (1999)；與 Armour 等人, Mol Immunol. 40(9):585-93 (2003))。表現載體亦含有必要的調節性序列以允許在哺乳動物細胞之轉染後會被裝配成全長抗體的輕鏈與重鏈之同時表現。

結果

【0219】 最終的經人類化抗體序列係於以下表 4 中顯示，且 CDR 序列係分開地於表 5 中顯示。於表中 CDR 序列係根據 IMGT®編號格式定義。

表4 經人類化抗PD-1抗體之VH與VL序列*

經人類化抗體	V _H 胺基酸序列	V _L 胺基酸序列
[12819.15384]]	EVQLLES GGGLVQP GGS LR LSCAAS <u>GFTFTRYD</u> MVWV RQAPGKGLEWVAG <u>IGDSN</u> <u>KM</u> TRYAPAVKGRATISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYY <u>CAKGSCIACWDEAG</u> <u>RIDAW</u> GQGTLVTVSS (序 列識別號：2)	SYELTQDPAVSVALGQTVRITC SGG <u>GSYDGSSY</u> GWYQQKPG QAPVTVIY <u>NM</u> NRPSDIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEAD YY <u>CGSYDRPETNSDYVGMFGS</u> GTKVTVL (序列識別號：3)
[12748.15381]]	EVQLLES GGGLVQP GGS LR LSCAAS <u>GFTFSDY</u> AMNWV RQAPGKGLEWVAG <u>IGNDG</u> <u>SYT</u> NYGAAVKGRATISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA VYY <u>CASDIRSRNDCSYFLG</u> <u>GCSSGFIDVW</u> GQGTLVTVS S (序列識別號：4)	SYELTQDPAVSVALGQTVRITC SGG <u>SSYSY</u> GWYQQKPGQAPVT VIY <u>ESM</u> NRPSDIPDRFSGSSSGN TASLTITGAQAEDEADYY <u>CGN</u> <u>ADSSSGIF</u> SGTKVTVL (序列識別號：5)

經人類化抗 體	V _H 胺基酸序列	V _L 胺基酸序列
[12865.15377]	EVQLLES GGGLVQP GGLSLR LSCAAS <u>GFD FSDHGM</u> QWV RQAPGK GLEYVGV <u>IDTTGR</u> <u>Y</u> TTYAPAVKGRATISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAV YY <u>CAK TTCVGGYLCNTVG</u> <u>SIDAW</u> GQGTLVTVSS (序列識別號：6)	SYELTQDPAVSVALGQTVRITC SGG <u>GSSSY</u> YGWYQQKPGQAP VTVIY <u>DDT</u> NRPSGIPDRFSGSSS GNTASLTITGAQAED EADYY <u>C</u> <u>GGYEGSSHAGIF</u> GSGTKVTVL (序列識別號：7)
[12892.15378]	EVQLLES GGGLVQP GGLSLR LSCAAS <u>GFD FSSYT</u> MWV RQAPGK GLEWVGV <u>ISSTGG</u> <u>ST</u> GYGPAVKGRATISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAV YY <u>CVKSISGDAWSVDGLD</u> <u>AW</u> GQGTLVTVSS (序列識別號：8)	SYELTQDPAVSVALGQTVRITC SGG <u>GSAY</u> YGWYQQKPGQAPVT VIY <u>YNN</u> QRPSGIPDRFSGSSSG NTASLTITGAQAED EADYY <u>CG</u> <u>SYDSSAVGIF</u> GSGTKVTVL (序列識別號：9)
[12796.15376]	EVQLLES GGGLVQP GGLSLR LSCAAS <u>GFD FSSYT</u> MWV RQAPGK GLEWVGV <u>ISSTGG</u>	SYELTQDPAVSVALGQTVRITC SGG <u>GSAY</u> YGWYQQKPGQAPVT VIY <u>YNN</u> QRPSDIPDRFSGSSSG

經人類化抗 體	V _H 胺基酸序列	V _L 胺基酸序列
	<u>ST</u> GYGPAVKGRATISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAV YY <u>CVKSVSGDAWSVDGLD</u> <u>AW</u> QGTLVTVSS (序列識別號：10)	NTASLTITGAQAED EADYY <u>CG</u> <u>SYDSSAVGIF</u> SGGTKVTVL (序列識別號：11)
[12777.15382]	EVQLLES GGGLVQP GGSLR LSCAAS <u>GFD FSSYGM</u> QWV RQAPGKGLEWVG <u>ISGSGI</u> <u>TTL</u> YAPAVKGRATISRDNS KNTVYLQMNSLRAEDTAV YY <u>CTRSPSITDGW TYGGA</u> <u>WIDA W</u> QGTLVTVSS (序列識別號：12)	SYELTQDPAVSVALGQTVRITC SGG <u>DGS</u> YGWFQQKPGQAPVT VIY <u>DND</u> NRPSDIPDRFSGSSSG NTASLTITGAQAED EADYY <u>CG</u> <u>NADLSGGIF</u> SGGTKVTVL (序列識別號：13)
[12760.15375]	EVQLLES GGGLVQP GGSLR LSCAAS <u>GFT FSTFM</u> MVWVR QAPGKGLEYYAE <u>ISSDGSF</u> <u>TW</u> YATAVKGRATISRDNS KNTVYLQMNSLRAEDTAV YY <u>CAKSDC SSSYGYSCIGI</u>	SYELTQDPAVSVALGQTVRITC SGG <u>ISDDGSYY</u> YGWFQQKPGQ APVTVIY <u>IND</u> RRPSNIPDRFSGS SSGNTASLTITGAQAED EADY Y <u>CGSYDSSAGVGIF</u> SGGTKVT VL

經人類化抗 體	V _H 胺基酸序列	V _L 胺基酸序列
	<u>IDAW</u> GQGTLVTVSS (序列識別號：14)	(序列識別號：15)
[13112.15380]	EVQLLES GGGLVQPGGSLR LSCAAS <u>GFTFSS</u> YMFVWR QAPGKGLEFVAE <u>ISGSNTG</u> <u>SRT</u> WYAPAVKGRATISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA VYY <u>CAKSIYGGYCAGGYS</u> <u>CGVGLIDAW</u> GQGTLVTVSS (序列識別號：16)	SYELTQDPAVSVALGQTVRITC SGG <u>SSDY</u> YGWFFQQKPGQAPV TVIY <u>YNN</u> KRPSDIPDRFSGSSS GNTASLTITGAQAED EADYY <u>C</u> <u>GNADSSVGVF</u> GSGTKVTVL (序列識別號：17)

*CDR 區域係以斜體、加底線、與粗體表示。

表 5 經人類化抗 PD-1 抗體之 H-CDR 序列與 L-CDR 序列

經人類化 抗體	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCD R2	LCDR3
[12819.153 84]	GFTFTR YD	IGDSNK MT	CAKGSCI ACWDEA GRIDAW	GSYDGS SY	NNN	CGSYDRPET NSDYVGMF
序列識別 號：	18	19	20	21	22	23
[12748.153 81]	GFTFSD YA	IGNDGS YT	CASDIRS RNDCSYF LGGCSSG FIDVW	SSYS	ESN	CGNADSSSG IF
序列識別 號：	24	25	26	27	28	29
[12865.153 77]	GFDFS DHG	IDTTGR YT	CAKTTCV GGYLCNT VGSIDAW	GSSSY	DDT	CGGYEGSSH AGIF
序列識別 號：	30	31	32	33	34	35

經人類化 抗體	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCD R2	LCDR3
[12892.153 78]	GFDFSS YT	ISSTGGS T	CVKSISG DAWSVD GLDAW	GSA	YNN	CGSYDSSAV GIF
序列識別 號：	36	37	38	39	40	41
[12796.153 76]	GFDFSS YT	ISSTGGS T	CVKSVSG DAWSVD GLDAW	GSA	YNN	CGSYDSSAV GIF
序列識別 號：	42	43	44	45	46	47
[12777.153 82]	GFDFSS YG	ISGSGIT T	CTRSPSIT DGWTYG GAWIDA W	DGS	DND	CGNADLSG GIF
序列識別 號：	48	49	50	51	52	53

經人類化 抗體	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCD R2	LCDR3
[12760.153 75]	GFTFST FN	ISSDGSF T	CAKSDCS SSYYGYS CIGIIDAW	ISDDGS YY	IND	CGSYDSSAG VGIF
序列識別 號：	54	55	56	57	58	59
[13112.153 80]	GFTFSS YN	ISGSNTG SRT	CAKSIYG GYCAGG YSCGVGL IDAW	SSDY	YNN	CGNADSSVG VF
序列識別 號：	60	61	62	63	64	65

【0220】 所有經人類化抗體皆包含以下顯示的 IgG1 「LALA」變體重鏈恆定區域與輕鏈恆定區域胺基酸序列。

重鏈恆定區域（序列識別號：67）：

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT

HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
 WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
 KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
 VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMH
 EALHNHYTQKSLSLSPGK

輕鏈恆定區域（序列識別號：68）：

GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAG
 VETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTE
 CS

實施例 5：抗 PD-1 抗體候選物之篩選

【0221】 PD-1 主要係表現在經活化的 T 淋巴球之表面上，於該處其負向地調節 T 細胞活性。為了挑選最有功能的抗 PD-1 抗體候選物，建立二個不同的試管內篩選系統：葡萄球菌屬腸毒素 B（SEB）全血分析與單向混合淋巴球反應分析。

材料與方法

【0222】 於 SEB 全血分析中針對功能活性初步掃描呈 IgG1-LALA 支架格式（即具有於實施例 4 中描述的「LALA」突變）且經如以上描述地選殖與人類化的 69 種獨特的經人類化 mAb 之庫。SEB 係與第 II 型 MHC 分子與 T 細胞受體（TCR）之特殊 $V\beta$ 區域結合並驅動 T 細胞之非專一性刺激

的超級抗原。此造成多株 T 細胞活化/增殖與包含 IL-2 與 IFN- γ 的細胞介素之釋放。

【0223】 為了為抗 PD-1 活性之篩選研究 SEB 分析之關連性，在 SEB 刺激之前與之後針對不同的供體研究 PD-1 之表現水平。於 SEB 刺激後第 0 日與第 3 日藉由流式細胞測量術測試來自六個不同的供體的 PBMC 之 PD-1 表現。設定相關淋巴球閘以用於進一步分析。

【0224】 基於於 SEB 全血分析中的篩選，使用來自至少三個不同的供體的血液，鑑認出最頂點的 10 個抗 PD-1 抗體先導候選物。接著進一步滴定抗 PD-1 抗體先導候選物以獲得各個抗體與陽性對照組（抗 PD-1 抗體派姆單抗（Merck）與納武單抗（Bristol-Myers Squibb）之參考類似物）比較的劑量反應曲線；參見實施例 2。

【0225】 頂點 10 個所挑選的抗 PD-1 抗體之機能係於替代的試管內分析，單向混合淋巴球反應（MLR）分析中證實。於此分析中，將來自一個供體的樹突細胞（DC）與來自另一個供體的 CD4⁺ T 細胞共培養以獲得同種抗原專一性刺激（於所有 T 細胞之 10-15% 中誘發），導致 T 細胞活化/增殖與細胞介素分泌。

【0226】 由於候選物之一（12748.15381）之蛋白質穩定性問題，對於此特殊抗體使用替代的生殖系序列。所得的抗體之一，12748.16124 於以下提及。此變體與 12748.15381 具有不同的 V_L 序列但相同的 V_H 序列（表 1，如上）。

結果

【0227】 圖 4 中的數據清楚地顯示表現 PD-1 的淋巴球之頻率在 SEB 刺激後於所有所測試的供體中皆增加。此等觀察結果確認了此分析對於抗 PD-1 抗體篩選的關連性。

【0228】 於 SEB 分析中的最有功能的抗 PD-1 抗體之滴定（於圖 5A-I 中顯示）鑑認出具有類似於陽性對照組抗體類似物派姆單抗與納武單抗或比其等優秀的機能的抗 PD-1 先導候選物。於此分析中，在所指出的抗體之存在下以 SEB 刺激全血共 48 h，並於 48 個小時後藉由 ELISA 測量 IL-2 分泌。各個數據點代表六個重複之平均，而橫槓指出 SEM。

【0229】 圖 5A-H 顯示使用經人類化的抗 PD-1 抗體獲得的結果。由於由於抗體之一[12748.15381]之聚集高於 5%，對此抗體測試替代的構架。圖 5I 中的數據顯示本來的經人類化抗體[12748.15381]與其生殖系（構架）變體[12748.16124]之類似的機能。

【0230】 於單向 MLR 分析中證實抗 PD-1 抗體之機能。於此分析中，共培養來自二個不同的供體的樹突細胞與 CD4⁺ T 細胞（比率 1:10），並於 5 日後藉由 MesoScale 測量 IFN- γ 分泌。各個數據點代表六個重複之平均，而橫槓指出 SEM。自單向 MLR 分析獲得的數據與於圖 6A-H 中闡明的數據顯示與自 SEB 分析獲得的數據相同的抗 PD-1 抗體之機能與排行。此於不同的分析間的數據之一致性提供所選抗體係有功能的進一步確認。

【0231】 所選抗體源自二個不同的主要抗原決定基倉，指出其等與二個不同的非重疊抗原決定基結合。所有所顯示的抗 PD-1 抗體皆屬於倉 1，除了 12760 與 13112 抗體以外，而其等屬於倉 2。發現到來自倉 1 的抗 PD-1 抗體於此等試管內分析中顯示最高的機能。

實施例 6：對於 PD-L1 配體封阻活性的抗 PD-1 抗體之流式細胞測量分析

【0232】 此實施例闡明如何藉由使用細胞表面表現的 PD-1 與經螢光染料標記的可溶的 PD-L1 來執行流式細胞測量競爭分析而對於配體封阻活性測試抗 PD-1 抗體之小組。

材料與方法

【0233】 於多重細胞的分析中研究 PD-L1 配體封阻活性，於該分析中人類與食蟹獼猴 PD-1 係於 CHO-S 細胞上重組地表現且經 R-PE（R-藻紅素）標記的人類 PD-L1-Fc 嵌合蛋白質之結合係藉由流式細胞測量術分析。使用 Lightning-Link® R-藻紅素結合套組（Innova Biosciences，英國）使商業上可購得的重組 PD-L1-Fc 嵌合蛋白質（R&D Systems，美國）與 R-PE 結合。將經暫時轉染以表現人類 PD-1 的 CHO-S 細胞與暫時表現食蟹獼猴 PD-1 的經 CFSE 染色的 CHO-S 細胞混合。接著在冰上以 20 µg/ml 的 50 µl 的抗 PD-1 抗體培養此細胞混合物，接著添加約 3.4 µg/ml 的 50 µl 經 R-PE 標記的 PD-L1-Fc（16.4 nM 最終濃度）並進一步培養另外 20 min（最終抗 PD-1 抗體濃度：10 µg/ml）。使用與 APC（別藻藍蛋白）結合的抗人類 IgG 輕鏈抗體偵測經結合的抗體。藉由分別偵測 R-PE 與 APC 螢光的流式細胞測量術定量 PD-L1 與抗 PD-1 抗體之結合。

結果

【0234】 競爭實驗之結果係於圖 7A-B 呈現並於以下表 6 總結。所有

的抗 PD-1 抗體皆以 10 µg/ml 的最終抗體濃度測試（參見以上）。三個所測試的抗體能夠抑制 PD-L1 結合達 83%或更多，其與抗 PD-1 參考抗體 lambrolizumab（Merck）類似，而 lambrolizumab 與派姆單抗相同且被包含作為陽性對照組。一種抗體（12777.13362P）僅部分地抑制結合達 69%。一種抗體（13112.13208）並不封阻 PD-1 結合。PD-L1 與 PD-1 表現性細胞在陰性對照組抗 VEGFR2 抗體雷莫蘆單抗（ramucirumab）（Genentech）之存在下的結合被設至 0%。

表 6 在抗 PD-1 抗體之存在下的 PD-L1 結合抑制

抗體	% PD-L1 結合抑制
12819.13367	87%
12748.13354	86%
12892.13195	88%
12777.13362	69%
13112.13208	5%
Lambrolizumab（陽性對照組）	88%
雷莫蘆單抗（陰性對照組）	設至 0%

【0235】 於表6中顯示的經人類化變體與該等在表1中於其等之名稱共有首5個數字者具有相同的胺基酸序列，除了表1中的變體於輕鏈之N末端具有胺基酸殘基「SY」以外。在一些具體態樣中，該SY二胜肽在該

抗體輕鏈之表現之期間改善訊息肽加工。於表 1 與 6 中的變體預期會具有完全相同的功能特性。

實施例 7：對於人類與食蟹獼猴 PD-1 ECD 抗原的 PD-1 抗體親和力之測量

【0236】 此實施例展示了大部分的抗 PD-1 抗體對人類 PD-1 之細胞外功能域（ECD）與食蟹獼猴 PD-1 之細胞外功能域（ECD）兩者顯示高的微微莫耳濃度（pM）親和力與良好的交互反應性。

材料與方法

【0237】 在 XPR-36 表面電漿子共振（SPR）生物感測器（Bio-Rad，美國）上執行經純化的抗 PD-1 抗體庫之動力學結合分析。經 His 標記的人類或食蟹獼猴 PD-1 ECD 抗原係自 Acro Biosystems，英國購買。在單價抗原條件下藉由固定抗 PD-1 抗體並將單價 PD-1 抗原維持在溶液中來測量結合動力學，如之前描述的（Canziani 等人, Anal Biochem 325(2):301-307 (2004)）。應用最低可能的抗 PD-1 抗體濃度以預防非專一性結合與質量運送限制。對於測量抗體動力學，將抗 PD-1 抗體調整至 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 的濃度並於藉由固定大約 1000 RU 的單株抗人類 Fc 抗體（Biacore，丹麥）產生的抗人類 IgG Fc 表面上捕捉。抗 PD-1 抗體係以 25 nM 至 0.31 nM 的 3 倍濃度範圍來針對與人類或食蟹獼猴 PD-1 ECD 的結合作測試，接著以 3 M MgCl_2 再生緩衝液（Biacore，丹麥）再生表面。使用 20 $\mu\text{l/min}$ 的高流率、3.33 min 的聯結時間與介於 1.5 個小時與 2.75 個小時的解離時間。所記錄的結合反應被擬合至簡單朗繆（Langmuir）1:1 結合模型以用於使用雙重參照計算結合速率常數（ k_{on} ）。

或 k_a)、解離速率常數 (k_{off} 或 k_d) 與親和力常數 (K_D)。

結果

【0238】 結合動力學係於以下表 7 製作成表，而表 7 闡明了抗 PD-1 抗體之小組以範圍在 pM 的非常高的親和力與 PD-1 結合。所有的抗體皆以比納武單抗與派姆單抗類似物高的親和力辨認人類 PD-1。有最高親和力的抗體[12819.15384]以 20 pM 的 K_D 與人類 PD-1 結合。

表 7 由表面電漿子共振 (SPR) 測量的抗 PD-1 抗體與人類或食蟹獼猴 PD-1 ECD 間的結合動力學

抗體	PD-1 ECD	k_{on} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{on} 誤 差	k_{off} (s ⁻¹)	k_{off} 誤 差	K_D (pM)
[12819.1538 4]	人類	1.1E+06	± 1.7E+0 3	2.3E-05	± 1.3E-0 7	20
[12819.1538 4]	食蟹獼猴	9.7E+05	± 1.6E+0 3	4.5E-06	± 1.5E-0 7	5
[12748.1538 1]	人類	3.2E+06	± 1.0E+0 4	1.7E-04	± 7.1E-0 7	54
[12748.1538 1]	食蟹獼猴	4.6E+06	± 1.6E+0 4	4.7E-04	± 9.1E-0 7	101
[12748.1612]	人類	3.4E+06	± 8.2E+0	1.6E-04	± 5.9E-0	47

抗體	PD-1 ECD	k_{on} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{on} 誤 差	k_{off} (s ⁻¹)	k_{off} 誤 差	K_D (pM)
4]			3		7	
[12748.1612 4]	食蟹獼猴	4.8E+06	± 1.8E+0 4	3.9E-04	± 9.8E-0 7	81
[12865.1537 7]	人類	4.2E+05	± 2.2E+0 3	2.3E-04	± 5.5E-0 7	558
[12865.1537 7]	食蟹獼猴	5.1E+05	± 2.2E+0 3	3.8E-04	± 7.3E-0 7	738
[12892.1537 8]	人類	4.6E+05	± 2.3E+0 3	3.4E-04	± 7.1E-0 7	737
[12892.1537 8]	食蟹獼猴	2.9E+05	± 1.0E+1 0	6.9E-04	± 8.5E-0 1	2340
[12796.1537 6]	人類	7.1E+05	± 3.9E+0 3	3.8E-04	± 1.1E-0 6	542
[12796.1537 6]	食蟹獼猴	3.2E+05	± 3.5E+0 3	7.0E-04	± 2.5E-0 6	2220
[12777.1538 2]	人類	2.4E+05	± 1.7E+0 3	8.0E-05	± 4.0E-0 6	337
[12777.1538 2]	食蟹獼猴	2.5E+05	± 7.3E+0 3	1.7E-04	± 3.5E-0 6	681

抗體	PD-1 ECD	k_{on} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{on} 誤 差	k_{off} (s ⁻¹)	k_{off} 誤 差	K_D (pM)
[12760.1537 5]	人類	1.2E+06	± 3.4E+0 3	1.4E-04	± 6.5E-0 7	112
[12760.1537 5]	食蟹獼猴	1.0E+06	± 1.7E+0 4	7.2E-03	± 5.8E-0 5	6940
[13112.1538 0]	人類	1.2E+06	± 4.8E+0 3	6.9E-05	± 7.4E-0 7	60
[13112.1538 0]	食蟹獼猴	2.5E+06	± 1.5E+0 4	1.1E-03	± 3.9E-0 6	452
納武單抗類 似物	人類	1.4E+06	± 9.2E+0 3	1.1E-03	± 4.1E-0 6	758
納武單抗類 似物	食蟹獼猴	1.4E+06	± 8.5E+0 3	7.7E-04	± 2.9E-0 6	542
派姆單抗類 似物	人類	2.4E+06	± 2.7E+0 4	2.1E-03	± 1.1E-0 5	852
派姆單抗類 似物	食蟹獼猴	1.7E+06	± 1.0E+0 4	3.3E-04	± 9.5E-0 7	190

實施例 8：抗 PD-1 抗體之抗原決定基入倉

【0239】 此實施例闡明 PD-1 抗體如何基於配對性競爭模式被分組成數個抗原決定基倉。屬於不同抗原決定基倉的抗體會辨認在 PD-1 ECD 上的

不同的抗原決定基。

方法

【0240】 藉由表面電漿子共振 (SPR) 分析使用連續流動微點樣器 (CFM) (Wasatch Microfluidics, 美國) 組合 IBIS MX96 SPR 儀器 (IBIS Technologies, 荷蘭) 執行配對性抗體競爭之研究。於 E2S SensEye® SPR 感應器 (Ssens BV, 荷蘭) 上執行表面電漿子共振成像分析。於 50 mM 醋酸鈉緩衝液 (pH 4.5) 中將總共十種抗 PD-1 抗體 (人類, IgG1) 稀釋至 10 µg/ml。使用連續流動微點樣器將抗體點樣至 E2S SensEye® 上並結合 15 分鐘。在點樣後, 將 SensEye® 置於 IBIS MX96 生物感測器中並以 1 M 乙醇胺 (pH 8.5) 失活化 10 分鐘。於感應器製備後, 使用典型的三明治分析執行抗體競爭分析。於 HBS-EP 運作緩衝液中稀釋單價 PD-1 ECD 抗原 (Sino Biological, 中國) 並將其以 50 nM 濃度注射並藉由抗 PD-1 抗體之結合陣列捕捉。接著, 執行於 HBS-EP 運作緩衝液中稀釋至 100 nM 的十個 PD-1 抗體之各者之各別注射以建立抗體競爭模式。於各個競爭循環後, 以 10 mM 甘胺酸 HCl 緩衝液 (pH 2.0) 再生感應器表面。

結果

【0241】 十種抗 PD-1 抗體之競爭模式係於圖 8 中呈現。12866 與 12807 於基於細胞的分析中並未被發現有功能活性, 但仍因為其等辨認有區別的抗原決定基而包含其等。所測試的功能性抗 PD-1 抗體被發現與二個非重疊的抗原決定基結合。屬於抗原決定基倉 1 的功能性抗體皆交叉封阻彼此

且包含納武單抗類似物(「Nivo」)、派姆單抗類似物(「Pembro」)、12819、12892、12865、與 12777。此等抗體被發現會明顯地封阻 PD-L1 與 PD-L2 結合。12760 與 13112 被發現會結合分開的抗原決定基倉 2，因為其等交叉封阻彼此，但不會封阻任何來自抗原決定基倉 1 的抗體之結合。結果，12760 與 13112 似乎與不和 PD-L1 與 PD-L2 配體結合位置重疊的 PD-1 上的不同位置結合。

【0242】 屬於抗原決定基倉 1 的交叉封阻性功能抗體 12819、12865、12892、12777、納武單抗與派姆單抗可基於與 12866 與 12807 的競爭被進一步細分成四個子倉(圖 8)。12819(倉 1C)係唯一封阻 12866 與 12807 兩者之結合的抗體，而納武單抗(倉 1D)僅封阻 12866 且派姆單抗(倉 1F)僅封阻 12807。屬於倉 1E 的抗體之群組(12865、12892 與 12777)是獨特的，因為其等不會封阻 12866 或 12807 之結合。

【0243】 最後，12866(倉 1A)與 12807(倉 1B)與獨特的抗原決定基倉結合。12866 被 12819 與納武單抗封阻但不被其他抗 PD-1 抗體封阻，而 12807 被 12819 與派姆單抗封阻但不被其他抗 PD-1 抗體封阻。

實施例 9：對小鼠與大鼠 PD-1 ECD 抗原的 PD-1 抗體交互反應性之測量

【0244】 此實施例展示抗 PD-1 抗體 12819.15384 強力地與小鼠 PD-1 交叉反應但不與大鼠 PD-1 結合。

材料與方法

【0245】 經 His 標記的小鼠與大鼠 PD-1 ECD 係自 Sino Biologicals 購

買。如於實施例 7 中描述地實施動力學結合分析。

結果

【0246】 結合動力學係於以下表 8 作成表格。抗 PD-1 抗體 12819.15384 與小鼠 PD-1 以 809 pM 的 K_D 結合但不會辨認大鼠 PD-1。對人類 PD-1 ECD 的親和力係與於實施例 7 中測量者類似。抗體 12865.17150 不會結合小鼠或大鼠 PD-1。納武單抗與派姆單抗參考類似物皆不會與小鼠或大鼠 PD-1 交叉反應（數據未顯示）。

表 8 由表面電漿子共振（SPR）測量的 PD-1 抗體 12819.15384 對人類、小鼠或大鼠 PD-1 ECD 的結合動力學

抗體	PD-1 ECD	k_{on} (M ⁻¹ s ⁻¹)		k_{on} 誤 差	k_{off} (s ⁻¹)		k_{off} 誤 差	K_D (pM)
[12819.1538 4]	人類	3.26E+05	±	3E+02	8.85E-0 6	±	5E-08	28
[12819.1538 4]	小鼠	3,71E+04	±	5E+01	3,04E-0 5	±	7E-09	809
[12819.1538 4]	大鼠	N.B.*	±		N.B.	±		N.B.

*N.B：不結合。

實施例 10：PD-1 mAb 之 PD-L1 與 PD-L2 配體封阻活性之分析

【0247】 此實施例闡明抗 PD-1 抗體之小組係藉由使用生物膜干涉分析來執行競爭分析而針對 PD-L1 或 PD-L2 配體封阻活性作分析。

材料與方法

【0248】 使用 Octet QK384 儀器(Fortebio, 美國)藉由生物膜干涉(BLI)分析執行 PD-L1 或 PD-L2 配體封阻活性之研究。在抗人類 Fc 感應晶片(Fortebio, 美國)上捕捉濃度為 5 $\mu\text{g/ml}$ 的商業上可購得的人類 PD-1 Fc 融合蛋白質(Sino Biological)並以 Herceptin[®]陰性對照組抗體封阻殘餘的抗 Fc 位置。接著,以濃度為 10 $\mu\text{g/ml}$ 的抗 PD-1 抗體飽和經塗覆抗原的表面。在以抗 PD-1 抗體飽和 PD-1 後,藉由以人類 PD-L1 或 PD-L2 Fc 融合蛋白質(Sino Biological)培養來評估 PD-L1 或 PD-L2 之配體封阻活性,於 5 $\mu\text{g/ml}$ 測試。

結果

【0249】 競爭分析之結果係於以下表 9 中呈現。所有的抗體皆完全封阻 PD-L1 或 PD-L2 配體結合兩者,除了抗體 12760.13169 (其顯示 PD-L1 或 PD-L2 之不明顯的封阻(分別為 26%與 36%))與 13112.13208(其未顯示 PD-L1 之封阻且顯示 PD-L2 之弱封阻(分別為 27%與 53%))以外。此等結果與抗原決定基入倉分析(實施例 8)及抗原決定基定位分析(實施例 11)非常相符(該等分析顯示除了 12760 與 13112 以外的所有抗體皆與被定位為位於 PD-1 上的 PD-L1 與 PD-L2 結合位置的重疊的抗原決定基結合,而 12760 與 13112 抗體與分開的 PD-1 位置結合且不與 PD-L1 與 PD-L2 明顯交叉競爭)。

表 9 在抗 PD-1 抗體飽和後的 PD-L1 與 PD-L2 抑制

mAb	配體	%封阻
12748.13354	PD-L1-Fc	97
12748.13354	PD-L2-Fc	96
12760.13169	PD-L1-Fc	44
12760.13169	PD-L2-Fc	26
12777.13362	PD-L1-Fc	93
12777.13362	PD-L2-Fc	90
12796.13173	PD-L1-Fc	99
12796.13173	PD-L2-Fc	92
12819.13367	PD-L1-Fc	91
12819.13367	PD-L2-Fc	91
12865.13185	PD-L1-Fc	98
12865.13185	PD-L2-Fc	94
12892.13195	PD-L1-Fc	88
12892.13195	PD-L2-Fc	77
13112.13208	PD-L1-Fc	53
13112.13208	PD-L2-Fc	27
納武單抗類似物	PD-L1-Fc	100
納武單抗類似物	PD-L2-Fc	98
派姆單抗類似物	PD-L1-Fc	100

派姆單抗類似物	PD-L2-Fc	99
	無明顯配體封阻	
0 - 30	中等的配體封阻	
70 - 90	中等的配體封阻	
90 - 100	完全配體封阻	

實施例 11：透過 PD-1 突變誘發的抗 PD-1 抗體之抗原決定基定位

【0250】 抗體之抗原決定基之特徵一般可藉由線性抗原決定基(亦稱為連續抗原決定基)或構形性抗原決定基(亦稱為不連續抗原決定基)界定。線性抗原決定基係基於單一的連續胺基酸序列界定，而構形性抗原決定基可由許多較小的不連續的線性序列或單一接觸殘基所組成。於在抗體與抗原間的分子間蛋白質介面群集的接觸殘基之聚集亦稱為熱點或核心抗原決定基 (Moreira 等人, Proteins 68(4):803-12 (2007))。以下一事目前是被廣泛承認的：大部分的 B 細胞抗原決定基於自然中係不連續的 (Sivalingam 與 Shepherd, Mol Immunol. 51(3-4):304-9 2012 (2012)、Kringelum 等人, Mol Immunol. 53(1-2):24-34 (2013))，而一般抗原決定基會橫跨 15-22 個胺基酸殘基，其中 2-5 個胺基酸貢獻了結合能量之大部分 (Sivalingam 與 Shepherd，如上)。

【0251】 藉由對 111 種不同的 PD-1 突變體排行結合親和力，此實施例闡明了 12819 與 12865 抗體之結合抗原決定基如何可被分成與被納武單抗和派姆單抗辨認的抗原決定基有區別的線性抗原決定基與熱點。

方法

【0252】 人類 PD-1 受體係由 268 個胺基酸（殘基 21-288）之細胞外功能域組成。該細胞外功能域橫跨胺基酸 21-170，接著為跨膜功能域（殘基 171-191）與細胞質的功能域（殘基 192-288）。PD-1 屬於免疫球蛋白超家族且係由被布置成 GFCC' β 股在一側上而 ABED β 股在相反側上的二個 β 褶板的 8 個反平行 β 股之交互作用造成的二層 β 三明治構成。該二個 β 褶板係藉由殘基 C54 - C123 間的二硫鍵穩定化。人類 PD-1：人類 PD-L1 複合體之結晶結構係可得的（PDB 4ZQK），但在 C' 與 D β 股間的 C' D 環圈以及在殘基 146 後的 C 末端序列之一些係非結構化的且缺少的（PDB 4ZQK，Zak 等人, Structure 23(12):2341-2348 (2015)）。最近，人類 PD-1：派姆單抗複合體之結晶結構被公開（PDB 5JXE，Na 等人, Cell Res. 2016 [Epub 尚未出版]，PMID: 27325296）。於此結構中，C' D 環圈係遠較整齊的且對派姆單抗結合而言為重要的接觸殘基被顯示在此環圈上群集成核心抗原決定基。目前沒有人類 PD-1：人類 PD-L2 複合體之結晶結構。人類 PD-1 於溶液中的 NMR 結構顯示與結晶結構 PDB 4ZQK 的高度結構類似性（PDB 2M2D，Cheng 等人, J Biol Chem 288(17):11771-85 (2013)）。人類 PD-1 以 1:1 的化學計量與人類 PD-L1 或 PD-L2 配體結合且結合主要是發生在重疊的結合位置且由 GFCC' β 褶板介導（Cheng 等人, J Biol Chem 288(17):11771-11785 (2013)）（圖 9，子圖 A 與 B）。人類 PD-L1 透過位於 C β 股中的接觸殘基 V64、N66、Y68 與位於 F 及 G β 股中的 G124、I126、L128、A132、I134 與 E136 與人類 PD-1 結合（Zak 等人, Structure 23(12):2341-8 (2015)）。人類 PD-L1 和 PD-L2 分別以 8 μ M 和 2 μ M 的 K_D 與人類 PD-1 結合（Cheng 等人，如上）。

【0253】 人類 PD-1 之蛋白質序列係自 Uniprot 下載（登錄號 Q15116；

該胺基酸序列係於序列識別號：1 呈現)。全長食蟹獼猴 (*Macaca fascicularis*) 蛋白質序列係自 Uniprot 下載 (登錄號 B0LAJ3_MACFA (序列識別號：89))。雞 (*Gallus gallus*)、小鼠 (*Mus musculus*) 與挪威大鼠 (*Rattus norvegicus*) PD-1 之全長蛋白質序列係自 NCBI 下載 (分別為 XP_422723. (序列識別號：90)、NP_032824.1 (序列識別號：91) 及 XP_006245633.1 (序列識別號：92))。不同 PD-1 細胞外胺基酸序列相較於人類 PD-1 的序列一致性係於以下表 10 中顯示。

表 10 物種間的 PD-1 ECD 序列比較

	胺基酸差異	%序列同一性
食蟹獼猴 PD-1 ECD	6	96.0
挪威大鼠 PD-1 ECD	50	66.7
小鼠 PD-1 ECD	57	62.0
雞 PD-1 ECD	73	51.3

【0254】 藉由組合來自於 2.45 Å 的解析度測定的人類 PD-1：人類 PD-L1 複合體之結晶結構(PDB 4ZQK)與 APO 人類 PD-1 之 NMR 結構(PDB 2M2D) 的結構資訊建立人類 PD-1 之分子模型。結構 PDB 4ZQK 被用作為模型之基礎，而缺失的 PD-1 之 C' D 環圈與 C 末端部分係由 NMR 結構提供。接著，強調在表面上暴露的胺基酸殘基並對在人類 PD-1 ECD 上的在表面上暴露的殘基設計 83 個個別的丙胺酸取代 (丙胺酸掃描) 並將 5 個在人類、小鼠與大鼠 PD-1 間不同的暴露的殘基位置回復突變成大鼠 PD-1 殘基。

【0255】 為於天然人類 PD-1 結構之背景中定位線性抗體抗原決定基，產生 23 個嵌合性蛋白質，其中 10 個於人類 PD-1 ECD 序列中的胺基酸接著以有 5 個胺基酸重疊的節段交換成雞序列。序列交換係於橫跨胺基酸 31-146 的人類 PD-1 之細胞外功能域中執行，由於在此節段外的雞蛋白質序列不與人類 PD-1 良好的排比且被刪去。

【0256】 合成編碼人類 PD-1 之細胞外功能域的 PD-1 cDNA 並將其選殖入含有 CMV 啟動子與人類 IgG₁ Fc 序列（殘基 P101-K330）的載體中，使的 IgG₁ Fc C 末端融合至所選殖的 PD-1 ECD。經突變的人類 PD-1 Fc 融合構築體係藉由標準 PCR 與設計技術產生且蛋白質係於 2 ml 培養物中使用 ExpiCHO™表現系統暫時地表現。於 9 日後收穫人類 PD-1 Fc 融合構築體並藉由表面電漿子共振（SPR）針對對抗 PD-1 Fab 的結合親和力測試上清液。使用連續流動微點樣器（CFM，Wasatch Microfluidics，鹽湖城，美國）將含有 PD-1 融合蛋白質的培養物上清液固定在 G-a-hu-IgG Fc SensEye®（Ssens BV，荷蘭）上 15 分鐘。在點樣後，將 SensEye®置於 IBIS MX96 生物感測器中並使用 FixIT 套組（Ssens BV，荷蘭）將被捕捉的蛋白質固定至該表面。動力學分析係藉由應用所謂的動力學滴定系列（Karlsson R. 2006）執行，其中本發明之抗體之單體 Fab 片段係以 1 nM 至 50 nM 的漸增濃度注射而在各個抗原注射後無施用表面再生步驟。執行 Fab 聯結 15 分鐘並執行抗原解離 30 分鐘。使用 Scrubber 2 軟體將所記錄的結合反應擬合至簡單朗繆 1:1 結合模型以用於計算結合速率常數（ k_{on} 或 k_a ）、解離速率常數（ k_{off} 或 k_d ）與親和力常數（ K_D ）。

結果

【0257】 評估抗 PD-1 Fab 12819.17149 與 12865.17150 與參考類似物納武單抗與派姆單抗之結合親和力。12819.17149 和 12865.17150 於 VH 與 VL 胺基酸序列分別與 12819.15384 和 12865.15377 完全相同，但係由不同的 10 個數字的編號識別，因為前二個變體之各者之重鏈與輕鏈序列係在宿主細胞中於相同的質體上而非在分開的質體上共表現。包含非 PD-L1 與 PD-L2 配體封阻性 Fab 13112.15380 與 Herceptin®以作為對照組。

【0258】 所有的 111 個所測試的 PD-1 突變體皆表現良好。僅僅三個嵌合構築體不與任何所測試的抗體結合，暗示導入至此三個構築體的突變可能造成影響所測試的 PD-1 抗體之所有者之結合的主要構形擾亂。於與經突變的 PD-1 構築體結合的 Fab 抗體之結合親和力的改變（相較於野生型）係以 K_D 突變體/ K_D 野生型之比率（經標準化結合親和力）的形式表現。藉由將 10 個胺基酸雞序列插入至人類 PD-1 ECD 來執行的線性抗原決定基掃描之概要係於以下表 11 中顯示。使用至少 5 倍親和力減少作為偵測到對經突變的 PD-1 構築體之結合親和力減少的截止標準。於一些實例中，對於特定抗體無法偵測到結合。此等構築體被列為 N.B.（不結合）。

【0259】 亦藉由執行 83 個丙胺酸取代或 5 個大鼠回復突變來定位單一接觸殘基（以下表 12）。

【0260】 針對所測試的抗體鑑認的線性抗原決定基或接觸殘基之概要係於表 13 中呈現。以在人類 PD-1 ECD 之結構上的密度圖的形式顯示的經定位的結合抗原決定基之圖解係於圖 9 中顯示。

【0261】 此分析顯示 12819 與 12865 抗 PD-1 抗體之結合抗原決定基

相較於參考抗體納武單抗與派姆單抗是明顯有區別的（表 11-13，圖 9）。派姆單抗之核心抗原決定基（圖 9，子圖 C）係位於 C' β 股上以及於 C' -D 環圈上。接觸殘基/線性抗原決定基亦在 C 與 F β 股上找到，於該處亦存在 PD-L1 之接觸殘基。納武單抗之核心抗原決定基（圖 9，子圖 D）係存在於 F β 股之末端上以及於整個 G β 股上，覆蓋了被報導的人類 PD-L1 所利用的 PD-1 接觸殘基之一些。12819 與 12865 之核心抗原決定基（圖 9，子圖 E 與 F）係位於 F 與 G β 股上，比納武單抗覆蓋了更多區域且在此區域中和人類 PD-L1 的所有被報導的接觸殘基重疊。12865 於殘基 69-75 亦對突變非常敏感。12819 亦在 C β 股上與派姆單抗共有一個接觸殘基（V64），其亦已被報導為人類 PD-L1 之接觸殘基。12819 與 12865 共有被定位至 C 與 C' β 股以及 C' -D 環圈之一些的線性抗原決定基。除了殘基 V64 外，所測試的抗體間不共有其他接觸殘基。藉由丙胺酸掃描顯示了非配體封阻性抗體 13112 是位於距離 PD-L1 與 PD-L2 配體封阻性位置很遠的區域（圖 9，子圖 G）。

【0262】 總結之，此實施例闡明雖然 12819、12865、納武單抗與派姆單抗與重疊的在人類 PD-1 上且可封阻 PD-L1 與 PD-L2 配體之結合的抗原決定基結合，各個抗體具有有區別的結合抗原決定基，此係如由競爭結合分析證明的（抗原決定基入倉，實施例 8）且係如於表 13 中總結的藉由使用一組 111 個 PD-1 突變體來定位個別的線性抗原決定基和接觸殘基以分子水平顯示。12819 亦係所研究的抗 PD-1 小組中唯一的抗體與小鼠 PD-1 ECD 交叉反應者（809 pM 的 KD，實施例 9），強調了此抗體之結合抗原決定基相較於其他所測試的 PD-1 抗體係獨特的。

表 11 對於具有插入的雞序列節段的 Fab 抗體結合嵌合 PD-1 ECD 構築體的結合親和力分析

嵌合構 築體#	所掃描的區 域 hu PD-1	突變的區域	所導入的雞突變	12819.171	12865.171	納武單 抗	派姆單抗	13112.153
1	31-40	AA 37-38	F37L ; S38F	1.2	0.6	0.4	0.9	0.4
2	36-45	AA 37-45	F37L ; S38F ; L41T ; V43T ; V44R ; T45P	2.3	0.7	0.9	0.5	1.0
3	41-50	AA 41-49	L41T ; V43T ; V44R ; T45P ; E46A ; D48S ; N49S	1.3	0.6	0.5	0.6	0.7
4	46-55	AA 46-55	E46A ; D48S ; N49S ; T53I ; S55N	0.3	0.6	0.5	0.6	0.6
5	51-60	AA 53-59	T53I ; S55N ; S56I ; T59S	1.2	0.9	0.8	0.9	2.5
6	56-65	AA 56-64	F56I ; T59S ; E61L ; S62E ; V64N	7.1	0.2	0.9		0.8

8	66-75	AA 69-75	R69Q ; M70K ; S71T ; P72N ; S73N ; N74S ; Q75N	6.4	N.B.	1.2	0.9	1.6
10	76-85	AA 76-85	T76P ; D77Q ; L79I ; A81G ; F82I ; P83IE84R ; D85N	33.7	13.8	0.8	N.B.	1.0
11	81-90	AA 81-90	A81G ; F82I ; P83IE84R ; D85N ; R86I ; S87P ; P89K ; G90K	17.7	5.4	2.0	N.B.	0.8
12	86-95	AA 86-95	R86I ; S87P ; P89K ; G90K ; Q91M ; D92E ; R94K ; F95Y	2.2	0.6	0.5	N.B.	0.6
15	101-110	AA 103-110	G103T ; R104P ; D105V ; H107K ; S109E ; V110I	1.3	0.8	0.9	0.6	0.9

16	106-115	AA 107-115	H107K ; S109E ; V110I ; V111L ; R112N ; A113L ; R114H R115Q	3.6	0.4	0.6	0.7	0.7
17	111-120	AA 111-120	V111L ; R112N ; A113L ; R114H R115Q ; T120F	0.2	0.5	0.4	0.7	0.7
18	116-125	AA 120-125	T120F ; L122Y ; A125L	3.8	4.6	2.7	8.8	1.5
19	121-130	AA 122-130	L122Y ; A125L ; S127T ; L128F ; A129S ; P130R	175.0	N.B.	0.8	2.3	0.8
20	126-135	AA 127-135	S127T ; L128F ; A129S ; P130R ; K131S ; A132D ; Q133K ; I134VK135V	N.B.	N.B.	N.B.	3.7	0.6
21	131-140	AA 131-140	K131S ; A132D ; Q133K ; I134VK135V ; L138S ;	N.B.	N.B.	1.0	3.1	0.5

[illegible]

50-1000 N.B.	50 - 1000 倍的 K _D 改變
	嵌合突變體
	無嵌合突變體之結合

*列出以 K_D 突變體 / K_D 野生型之形式表現的經標準化結合。

表 12 對於經丙胺酸掃描的人類 PD-1 ECD 殘基的 Fab 抗體結合親和力*

突變	12819. 17149	12865 .1715 0	納武單抗	派姆單抗	13112 .1538 0
P21A	2.1	1.0	0.5	0.6	1.1
G22A	1.0	0.9	0.6	0.8	1.0
D26A	1.1	0.8	1.7	0.7	1.2
S27A	0.8	0.8	2.7	0.8	1.1
D29A	1.0	0.9	1.7	0.7	1.0
R30A	1.2	1.2	1.9	1.3	1.0
P31A	1.1	1.0	2.6	1.0	1.1
N33A	1.0	1.1	0.8	0.8	1.0
T36A	1.0	1.0	0.9	0.9	0.9
L42A	1.3	0.5	0.3	0.2	2.2
V44A	1.4	0.8	0.5	0.3	9.9
G47A	1.6	0.5	0.2	0.2	0.6
D48A	1.0	0.6	0.6	0.4	2.4
N49A	1.1	0.7	0.5	0.5	1.0
A50G	1.4	0.6	0.5	0.4	1.7
F56A	1.5	0.5	1.7	0.6	0.8
S57A	1.2	1.0	0.9	0.9	1.1

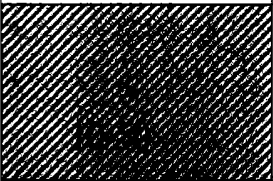
		12865			13112
	12819.	.1715			.1538
突變	17149	0	納武單抗	派姆單抗	0
N58A	1.3	0.7	1.9	0.7	1.0
T59A	0.9	1.0	1.3	0.3	0.9
S60A	1.8	0.6	1.5	0.7	1.0
E61A	1.2	1.1	0.5	0.3	1.0
N66A	2.2	2.1	0.8	201.3	1.0
Y68A	2.2	1.4	0.2	0.2	0.8
S71A	0.9	0.9	0.6	0.6	0.9
P72A	1.1	1.8	0.9	0.8	1.0
S73A	0.9	0.5	0.9	0.7	0.9
Q75A	1.0	0.5	1.0	0.8	0.9
T76A	1.4	0.3	1.2	0.9	1.2
D77A	2.8	0.3	1.0	134.2	1.0
K78A	2.6	0.7	1.0	268.5	1.1
A80G	1.2	0.4	1.1	0.8	1.0
P83A	1.5	0.8	0.9	N.B.	0.9
E84A	1.3	1.0	0.8	1.3	1.0
D85A	2.5	1.6	0.6	N.B.	0.9
R86A	1.1	0.7	0.4	0.3	0.9

		12865			13112
	12819.	.1715			.1538
突變	17149	0	納武單抗	派姆單抗	0
S87A	1.3	0.9	0.8	107.4	1.0
Q88A	1.4	1.4	0.8	0.2	0.9
P89A	1.1	0.9	1.1	N.B.	0.9
G90A	1.0	0.8	1.0	671.1	1.0
Q91A	0.8	1.0	1.0	0.7	1.0
D92A	1.2	0.8	1.0	335.6	0.9
C93A	1.2	0.9	1.1	1.2	1.1
R96A	1.0	0.8	0.9	0.5	1.0
T98A	1.1	0.9	0.8	0.6	1.0
P101A	1.1	1.0	0.6	0.5	0.9
N102A	1.5	0.6	0.2	0.3	0.7
G103A	1.1	0.8	0.5	0.5	0.9
R104A	1.0	0.8	0.6	0.4	0.7
R112A	0.7	0.9	0.8	0.6	0.9
R114A	0.8	0.8	0.7	0.6	0.9
N116A	1.4	0.8	0.6	0.6	0.9
G119A	1.0	0.4	0.5	0.5	1.0
G124A	0.5	4.0	0.3	0.6	1.0

		12865			13112
	12819.	.1715			.1538
突變	17149	0	納武單抗	派姆單抗	0
L128A		2.1	1.5	335.6	0.9
P130A	105.1	0.5	2.6	0.6	0.9
K131A	N.B.	N.B.	1.0	1.6	0.9
A132G	53.4	1.4	0.9	0.5	1.0
Q133A	0.7	1.4	1.2	0.6	0.9
K135A	4.2	1.1	0.7	1.4	1.2
E136A	0.8	N.B.	0.9	0.9	1.0
L138A	1.0	1.1	1.0	1.0	1.2
R143A	0.9	0.7	0.7	0.5	1.0
T145A	1.1	0.7	0.9	0.5	82.4
E146A	1.2	1.0	1.0	0.9	1.0
R147A	0.7	1.0	0.8	0.7	0.7
R148A	0.3	1.0	0.8	0.8	1.1
A149G	0.8	1.0	0.8	0.8	1.0
E150A	1.0	1.0	0.7	0.7	1.0
P152A	1.4	0.9	0.6	0.6	1.0
T153A	0.9	1.0	0.9	0.9	1.0
A154G	0.8	1.0	1.0	1.0	1.0

		12865			13112
	12819.	.1715			.1538
突變	17149	0	納武單抗	派姆單抗	0
H155A	1.1	1.0	1.3	1.2	1.0
P156A	1.0	1.1	2.2	1.2	1.5
S157A	0.9	1.0	2.2	1.8	1.0
P158A	1.2	0.9	0.9	0.9	1.0
S159A	1.1	0.8	0.7	0.7	0.9
P160A	1.0	0.8	0.9	0.7	1.0
R161A	0.9	1.1	1.0	1.1	1.1
P162A	1.3	1.1	1.0	1.0	1.1
A163G	1.0	1.1	0.8	0.8	1.1
G164A	1.1	0.9	0.5	0.6	1.0
Q165A	1.1	1.1	0.9	1.0	1.1
大鼠突變 Q167A	0.8	1.0	0.8	0.7	0.9
大鼠突變 P28L	1.9	0.5	0.8	0.7	0.7
大鼠突變 R30K	2.9	0.5	0.5	1.1	0.7
大鼠突變	2.0	1.0	0.8	0.8	0.6

		12865			13112
	12819.	.1715			.1538
突變	17149	0	納武單抗	派姆單抗	0
A40T					
大鼠突變 V64K		1.3	0.7	N.B.	1.0
大鼠突變 S157R	1.6	0.9	0.9	0.8	1.0
K _D hu PD-1	2.68E-	3.38E			1.24E
ECD (nM)	11	-09	5.67E-09	6.08E-09	-09

	< 5 倍的 K _D 改變 丙胺酸突變體
5-10	5-10 倍的 K _D 改變 丙胺酸突變體
	10 - 50 倍的 K _D 改變 丙胺酸突變體
50-1000	50 - 1000 倍的 K _D 改變 丙胺酸突變體
N.B.	無丙胺酸突變體之結合

*列出以 K_D 突變體 / K_D 野生型之形式表現的經標準化結合。

表 13 使用經突變的 PD-1 Fc 融合構築體來鑑認的抗 PD-1 抗體結合抗原決定基

抗體	明顯的 PD-L1/L2 封阻	抗原決定基倉	線性抗原決定基	接觸殘基
12819.17149	是	1C	56 - 64 、 69-90 、 122-140	V64 、 L128 、 P130 、 K131 、 A132
12865.17150	是	1E	69 - 90 、 122-140	K131 、 E136
納武單抗	是	1D	127-135	
派姆單抗	是	1F	56-64 、 76-95 、 120-125	V64 、 N66 、 D77 、 K78 、 P83 、 D85 、 S87 、 P89 、 G90 、 D92 、 L128
13112.15380	否	2		V44 、 T145

實施例 12：12819 抗體於四個同基因的鼠類腫瘤模型中的活體內效力

【0263】 此實施例展示 12819 抗體於四個同基因的鼠類腫瘤模型中的活體內效力。

方法

【0264】 將 2×10^5 個 Sa1N (纖維肉瘤)、 1×10^6 個 CT26 (結腸上皮細胞癌)、 5×10^6 個 ASB-XIV (肺臟上皮細胞癌)、或 8×10^6 個 MC38 (結腸上皮細胞癌) 細胞皮下地接種至 6-8 週齡雌性 A/J (Sa1N)、BALB/cAnNRj (CT26 與 ASB-XIV)、或 C57BL/6 (MC38) 小鼠之側腹。藉由卡尺每週二維地測量腫瘤三次且根據以下方程式以 mm^3 計算腫瘤體積： $(\text{寬度})^2 \times \text{長度} \times 0.5$ 。於 30-50 mm^3 的平均腫瘤大小，將小鼠隨機分成二組各十隻動物且起始治療。藉由腹膜內注射媒劑緩衝液或單株抗體 12819.17149 每週治療小鼠三次總共六次治療，接著為觀察期間。抗體治療係以 10 mg/kg 給藥。運用使用 Bonferroni 氏多重比較測試的二因子 ANOVA 以比較在治療組之間於各個時間點的腫瘤體積。使用 GraphPad Prism 第 5.0 版 (GraphPad Software, Inc.) 執行統計分析。

結果

【0265】 結果顯示於所有所測試的同基因腫瘤模型中抗體 12819.17149 皆有深刻的腫瘤抑制功效 ($P < 0.001$ vs. 媒劑) (圖 10)。抗體 12819.17149 於 Sa1N 腫瘤模型中誘發了腫瘤生長消退且於 CT26、MC38 與 ASB-XIV 腫瘤模型中造成了腫瘤生長延緩。

實施例 13：12819 抗體於使用 $\text{CD8}^+/\text{CD4}^+$ T 細胞與 A375 黑色素瘤細胞之混合物的經半人類化的異種移植腫瘤模型中的活體內效力

【0266】 此實施例展示 12819 抗體於其中人類黑色素瘤細胞系 A375 係與經純化的人類 CD8⁺和 CD4⁺ T 細胞混合的經半人類化的異種移植腫瘤模型中的活體內效力。

方法

【0267】 自人類 PBMC 供體分離 4.5×10^5 個 CD8⁺和 CD4⁺ T 細胞並將其與 2.05×10^6 個 A375（人類黑色素瘤）癌細胞混合，然後將其皮下接種至 6-8 週齡雌性 NODscid 小鼠之側腹。於腫瘤接種日起始治療並藉由腹膜內注射媒劑緩衝液、Keytruda[®]（派姆單抗）（10 mg/kg）、或單株抗體 12819.17149（10 mg/kg）每週治療小鼠三次共六次治療，接著為觀察期間。藉由卡尺每週二維地測量腫瘤三次且根據以下方程式以 mm³ 計算腫瘤體積：(寬度)² x 長度 x 0.5。運用使用 Bonferroni 氏多重比較測試的二因子 ANOVA 以比較在治療組之間於各個時間點的腫瘤體積。使用 GraphPad Prism 第 5.0 版（GraphPad Software, Inc.）執行統計分析。

結果

【0268】 於經半人類化的腫瘤模型中，以抗體 12819.17149 治療導致了明顯的腫瘤生長延緩（ $P < 0.001$ vs. 媒劑），而 Keytruda[®]相較於經媒劑治療組對腫瘤生長顯示了有限的功效（圖 11）。

表 14 序列識別號之列表

序列識別 號	序列
1	人類 PD-1 胺基酸序列
2	人類化[12819.15384] V _H 胺基酸序列
3	人類化[12819.15384] V _L 胺基酸序列
4	人類化[12748.15381] V _H 胺基酸序列
5	人類化[12748.15381] V _L 胺基酸序列
6	人類化[12865.15377] V _H 胺基酸序列
7	人類化[12865.15377] V _L 胺基酸序列
8	人類化[12892.15378] V _H 胺基酸序列
9	人類化[12892.15378] V _L 胺基酸序列
10	人類化[12796.15376] V _H 胺基酸序列
11	人類化[12796.15376] V _L 胺基酸序列
12	人類化[12777.15382] V _H 胺基酸序列
13	人類化[12777.15382] V _L 胺基酸序列
14	人類化[12760.15375] V _H 胺基酸序列
15	人類化[12760.15375] V _L 胺基酸序列
16	人類化[13112.15380] V _H 胺基酸序列
17	人類化[13112.15380] V _L 胺基酸序列
18-65	CDR 序列；參見表 2 中的序列識別號與表 5 中的序列、以及以

	下的序列之列表
66	人類化[12748.16124] V _L 胺基酸序列（替代的生殖系）
67	重鏈 IgG1 恆定區域胺基酸序列（LALA 變體）
68	輕鏈恆定區域胺基酸序列
69	人類化[12819.15384] V _H DNA 序列
70	人類化[12819.15384] V _L DNA 序列
71	人類化[12748.15381] V _H DNA 序列
72	人類化[12748.15381] V _L DNA 序列
73	人類化[12865.15377] V _H DNA 序列
74	人類化[12865.15377] V _L DNA 序列
75	人類化[12892.15378] V _H DNA 序列
76	人類化[12892.15378] V _L DNA 序列
77	人類化[12796.15376] V _H DNA 序列
78	人類化[12796.15376] V _L DNA 序列
79	人類化[12777.15382] V _H DNA 序列
80	人類化[12777.15382] V _L DNA 序列
81	人類化[12760.15375] V _H DNA 序列
82	人類化[12760.15375] V _L DNA 序列
83	人類化[13112.15380] V _H DNA 序列
84	人類化[13112.15380] V _L DNA 序列
85	人類化[12748.16124] V _L DNA 序列（替代的生殖系）

86	重鏈恆定區域基因組 DNA 序列，包含內含子
87	重鏈恆定區域 cDNA 序列
88	輕鏈 λ 恆定區域 DNA 序列
89	食蟹獼猴 PD-1 多肽，NCBI 登錄號 B0LAJ3_MACFA
90	雞 PD-1 多肽，NCBI 登錄號 XP_422723.3
91	小鼠 PD-1 多肽，NCBI 登錄號 NP_032824.1
92	挪威大鼠 PD-1 多肽，NCBI 登錄號 XP_006245633.1

序列清單

*於 DNA 序列中斜體字指示選殖位置

序列識別號：1（人類 PD-1 多肽，Uniprot 登錄號 Q15116 (PDCD1_HUMAN)）

MQIPQAPWPVWVAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPTFSPALLVVTEGDNAT
FTCSFSNTS

ESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAFPEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMSVV
RARRNDSGT

YLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLVVG
VGGLLGS

LVLLVWVLAVICSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWRE
KTPEPPVP

CVPEQTEYATIVFPSGMGTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL

序列識別號：2（經人類化的[12819.15384] V_H胺基酸序列）

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTRYDMVWVRQAPGKGLEWVAGI
GDSNKMTRYAPAVKGRATISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGSCI
ACWDEAGRIDAWGQGTLVTVSS

序列識別號：3（經人類化的[12819.15384] V_L胺基酸序列）

SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGGSYDGSSYYGWYQQKPGQAPVTVIYN
NNNRPSDIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED EADYYCGSYDRPETNSDYVG
MFGSGTKVTVL

序列識別號：4（經人類化的[12748.15381]與[12748.16124] V_H胺基酸序列）

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMNWVRQAPGKGLEWVAGI
GNDGSYTNYGAAVKGRATISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASDIRS
RNDCSYFLGGCSSGFIDVWGQGTLVTVSS

序列識別號：5（經人類化的[12748.15381] V_L胺基酸序列）

SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGSSYSYGWFFQQKPGQAPVTVIYESNNRP
SDIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED EADYYCGNADSSSGIFGSGTKVTVL

序列識別號：6（經人類化的[12865.15377] V_H胺基酸序列）

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSDHGMQWVRQAPGKGLEYYVGVI

DTTGRYTTYAPAVKGRATISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKTTCV
GGYLCNTVGSIDAWGQGTLVTVSS

序列識別號：7（經人類化的[12865.15377] V_L 胺基酸序列）

SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGGSSSYGWYQQKPGQAPVTVIYDDTNR
PSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCGGYEGSSHAGIFGSGTKVT
VL

序列識別號：8（經人類化的[12892.15378] V_H 胺基酸序列）

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFDSSYTMQWVRQAPGKGLEWVGVI
SSTGGSTGYGPAVKGRATISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKSISGD
AWSVDGLDAWGQGTLVTVSS

序列識別號：9（經人類化的[12892.15378] V_L 胺基酸序列）

SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGGSAYGWYQQKPGQAPVTVIYYNNQRP
SGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCGSYDSSAVGIFGSGTKVTVL

序列識別號：10（經人類化的[12796.15376] V_H 胺基酸序列）

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFDSSYTMQWVRQAPGKGLEWVGVI
SSTGGSTGYGPAVKGRATISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKSVSG
DAWSVDGLDAWGQGTLVTVSS

序列識別號：11（經人類化的[12796.15376] V_L 胺基酸序列）

SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGGSAYGWYQQKPGQAPVTVIYYNNQRP
SDIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCGSYDSSAVGIFGSGTKVTVL

序列識別號：12（經人類化的[12777.15382] V_H 胺基酸序列）

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFD FSSYGMQWVRQAPGKGLEWVGVI
SGSGITTL YAPAVKGRATISRDN SKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCTRSPSITD
GWTYGGAWIDAWGQGT LVTVSS

序列識別號：13（經人類化的[12777.15382] V_L 胺基酸序列）

SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGDGSYGW FQQKPGQAPVTVIYDNDNRPS
DIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCGNADLSGGIFGSGTKVTVL

序列識別號：14（經人類化的[12760.15375] V_H 胺基酸序列）

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTFN MVWVRQAPGKGLE YVAEIS
SDGSFTWYATAVKGRATISRDN SKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCAKSDCSS
SYYGYSCIGIIDAWGQGT LVTVSS

序列識別號：15（經人類化的[12760.15375] V_L 胺基酸序列）

SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGISDDGSYYYGW FQQKPGQAPVTVIYIN
DRRPSNIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCGSYDSSAGVGIFGSGT
KVTVL

序列識別號：16（經人類化的[13112.15380] V_H 胺基酸序列）

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYNMFWVRQAPGKGLEFVAEIS
GSNTGSRTWYAPAVKGRATISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSIY
GGYCAGGYSCGVGLIDAWGQGTLVTVSS

序列識別號：17（經人類化的[13112.15380] V_L 胺基酸序列）

SYELTQDPAVSVVALGQTVRITCSGGSSDYWGWFQQKPGQAPVTVIYYNNKRP
SDIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCGNADSSVGVFGSGTKVTVL

序列識別號：18（12819 HCDR1 胺基酸序列）

GFTFTRYD

序列識別號：19（12819 HCDR2 胺基酸序列）

IGDSNKMT

序列識別號：20（12819 HCDR3 胺基酸序列）

CAKGSCIACWDEAGRIDAW

序列識別號：21（12819 LCDR1 胺基酸序列）

GSYDGSSY

序列識別號：22（12819 LCDR2 胺基酸序列）

NNN

序列識別號：23（12819 LCDR3 胺基酸序列）

CGSYDRPETNSDYVGMF

序列識別號：24（12748 HCDR1 胺基酸序列）

GFTFSDYA

序列識別號：25（12748 HCDR2 胺基酸序列）

IGNDGSYT

序列識別號：26（12748 HCDR3 胺基酸序列）

CASDIRSRNDCSYFLGGCSSGFIDVW

序列識別號：27（12748 LCDR1 胺基酸序列）

SSYS

序列識別號：28（12748 LCDR2 胺基酸序列）

ESN

序列識別號：29（12748 LCDR3 胺基酸序列）

CGNADSSSGIF

序列識別號：30（12865 HCDR1 胺基酸序列）

GFDFSDHG

序列識別號：31（12865 HCDR2 胺基酸序列）

IDTTGRYT

序列識別號：32（12865 HCDR3 胺基酸序列）

CAKTTCVGGYLCNTVGSIDAW

序列識別號：33（12865 LCDR1 胺基酸序列）

GSSSY

序列識別號：34（12865 LCDR2 胺基酸序列）

DDT

序列識別號：35（12865 LCDR3 胺基酸序列）

CGGYEGSSHAGIF

序列識別號：36（12892 HCDR1 胺基酸序列）

GFDFSSYT

序列識別號：37（12892 HCDR2 胺基酸序列）

ISSTGGST

序列識別號：38（12892 HCDR3 胺基酸序列）

CVKSISGDAWSVDGLDAW

序列識別號：39（12892 LCDR1 胺基酸序列）

GSA

序列識別號：40（12892 LCDR2 胺基酸序列）

YNN

序列識別號：41（12892 LCDR3 胺基酸序列）

CGSYDSSAVGIF

序列識別號：42（12796 HCDR1 胺基酸序列）

GFDFSSYT

序列識別號：43（12796 HCDR2 胺基酸序列）

ISSTGGST

序列識別號：44（12796 HCDR3 胺基酸序列）

CVKSVSGDAWSVDGLDAW

序列識別號：45（12796 LCDR1 胺基酸序列）

GSA

序列識別號：46（12796 LCDR2 胺基酸序列）

YNN

序列識別號：47（12796 LCDR3 胺基酸序列）

CGSYDSSAVGIF

序列識別號：48（12777 HCDR1 胺基酸序列）

GFDFSSYG

序列識別號：49（12777 HCDR2 胺基酸序列）

ISGSGITT

序列識別號：50（12777 HCDR3 胺基酸序列）

CTRSPSITDGWTYGGAWIDAW

序列識別號：51（12777 LCDR1 胺基酸序列）

DGS

序列識別號：52（12777 LCDR2 胺基酸序列）

DND

序列識別號：53（12777 LCDR3 胺基酸序列）

CGNADLSGGIF

序列識別號：54（12760 HCDR1 胺基酸序列）

GFTFSTFN

序列識別號：55（12760 HCDR2 胺基酸序列）

ISSDGSFT

序列識別號：56（12760 HCDR3 胺基酸序列）

CAKSDCSSSYGYSCIGIIDAW

序列識別號：57（12760 LCDR1 胺基酸序列）

ISDDGSYY

序列識別號：58（12760 LCDR2 胺基酸序列）

IND

序列識別號：59（12760 LCDR3 胺基酸序列）

CGSYDSSAGVGIF

序列識別號：60（13112 HCDR1 胺基酸序列）

GFTFSSYN

序列識別號：61（13112 HCDR2 胺基酸序列）

ISGSNTGSRT

序列識別號：62（13112 HCDR3 胺基酸序列）

CAKSIYGGYCAGGYSCGVGLIDAW

序列識別號：63（13112 LCDR1 胺基酸序列）

SSDY

序列識別號：64（13112 LCDR2 胺基酸序列）

YNN

序列識別號：65（13112 LCDR3 胺基酸序列）

CGNADSSVGVF

序列識別號：66（經人類化的[12748.16124] V_L 胺基酸序列（替代的生殖系））

SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGGSSYSYGWFQQKPGQAPVTVIYESNNRPS
DIPERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYCGNADSSSGIFGSGTKVTVL

序列識別號：67（重鏈恆定區域胺基酸序列胺基酸序列）

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT
HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK

序列識別號：68（輕鏈 λ 恆定區域胺基酸序列）

GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAG
VETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTE
CS

序列識別號：69（經人類化的[12819.15384] V_H DNA 序列）

GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGAGGAGGACTGGTCCAGCC
AGGTGGATCCCTGCGACTGAGCTGCGCCGCTTCTGGATTACCTTTACAA
GATACGACATGGTGTGGGTCCGCCAGGCACCAGGAAAGGGACTGGAGTG

GGTGGCTGGTATCGGCGATAGTAACAAGATGACCCGCTACGCACCTGCCG
 TCAAAGGGAGGGCAACAATTAGTCGGGACAACTCAAAGAATACTCTGTA
 TCTGCAGATGAATTCCCTGCGAGCTGAGGATACAGCAGTGTACTATTGTG
 CCAAAGGTAGCTGCATCGCCTGTTGGGACGAAGCTGGCCGTATTGATGCA
 TGGGGACAGGGGACTCTGGTGACCGT*CTCGAG*

序列識別號：70（經人類化的[12819.15384] V_L DNA 序列）

GCTAGCCTCTTACGAGCTGACTCAGGACCCTGCAGTGAGTGTCGCCCTGG
 GCCAGACAGTGAGAATCACTTGCTCCGGCGGAGGGAGCTACGATGGTTCC
 AGCTACTATGGCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGACAGGCACCTGTGACCGT
 CATCTATAACAATAACAATAGGCCATCTGACATTCCCGATCGGTTCAGTG
 GATCTAGTTCAGGGAACACAGCTTCTCTGACCATTACAGGAGCCCAGGCT
 GAGGACGAAGCAGATTACTATTGTGGGTCATACGACAGGCCAGAAACAA
 ATTCCGATTATGTGGGAATGTTTGGTAGCGGCACTAAAGTCACCGT*CCTA*
GG

序列識別號：71（經人類化的[12748.15381]與[12748.16124] V_H DNA 序列）

GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTCCAGCC
 AGGTGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGGCTTCACATTTTCTGA
 CTACGCCATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCTGGCAAGGGACTGGAGTGG
 GTCGCAGGAATCGGGAACGATGGAAGTTACACTAATTATGGAGCAGCCG
 TGAAGGGGAGAGCTACTATTTCCCGCGACAACAGCAAAAATACCCTGTAC

CTGCAGATGAACTCACTGAGAGCTGAAGATACCGCAGTGTACTATTGTGC
 CTCTGACATCAGGAGTCGGAATGATTGCTCCTATTTTCCTGGGAGGGTGTTC
 CAGCGGCTTTATTGACGTGTGGGGTCAGGGCACCCCTGGTCACAGT*CTCGA*
G

序列識別號：72（經人類化的[12748.15381] V_L DNA 序列）

GCTAGCCTCTTACGAGCTGACCCAGGACCCAGCAGTGTCCGTCGCCCTGG
GCCAGACAGTGAGAATCACTTGCTCCGGCGGATCCAGCTACAGCTATGGG
TGGTTCCAGCAGAAGCCCGGTCAGGCCCTGTGACCGTCATCTATGAAAG
TAACAATAGGCCATCAGACATTCCCGATCGGTTTTCTGGCTCTAGTTCAGG
AAACACAGCTAGTCTGACCATCACAGGGGCCCAGGCTGAGGACGAAGCT
GATTACTATTGTGGCAATGCAGATTCCAGCTCTGGAATTTTCGGGTCCGGT
ACTAAAGTCACCGTCCTAGG

序列識別號：73（經人類化的[12865.15377] V_H DNA 序列）

GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCCGGAGGAGGACTGGTCCAGCC
AGGTGGATCCCTGCGACTGAGCTGCGCCGCTTCTGGATTTCGACTTTAGCG
ATCACGGGATGCAGTGGGTGAGACAGGCACCAGGCAAGGGACTGGAGTA
CGTGGGTGTCATCGACACCACAGGCCGCTATACATACTATGCACCTGCCG
TCAAGGGCAGGGCTACCATTAGTCGGGACAACCTCAAAAAATACACTGTAC
CTGCAGATGAACTCTCTGAGGGCTGAAGATACTGCAGTGTACTATTGCGC
CAAAACTACCTGCGTGGGAGGGTACCTGTGCAATACCGTCGGAAGTATCG

ATGCTTGGGGACAGGGGACACTGGTGACTGT*CTCGAG*

序列識別號：74（經人類化的[12865.15377] V_L DNA 序列）

GCTAGCCTCCTACGAGCTGACTCAGGACCCAGCAGTGAGCGTCGCCCTGG
GCCAGACAGTGAGAATCACTTGCTCTGGCGGAGGGTCCAGCTCTTACTAT
GGTTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCTCCTGTGACCGTCATCTATGA
CGATACAAACAGGCCAAGTGGAATTCCCGATCGGTTCTCAGGTAGTTTCAT
CCGGCAATACAGCTTCTCTGACCATCACAGGGGGCCCAGGCTGAGGACGAA
GCAGATTACTATTGTGGTGGCTATGAAGGAAGCTCTCACGCCGGGATTTT
TGGAAGTGGGACTAAAGTCACCGT*CCTAGG*

序列識別號：75（經人類化的[12892.15378] V_H DNA 序列）

GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAAAGTGGAGGAGGACTGGTCCAGCC
AGGTGGAAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTAGTGGCTTCGACTTTTCCA
GCTACACCATGCAGTGGGTGAGGCAGGCACCAGGCAAGGGACTGGAGTG
GGTGGGCGTCATCTCTAGTACTGGAGGGTCTACCGGATACGGGCCTGCTG
TGAAGGGAAGGGCAACAATTTACGGGATAACTCCAAAAATACTCTGTAT
CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCAGAAGACACAGCCGTGTACTATTGCGT
GAAATCAATCTCCGGAGATGCCTGGTCTGTGGACGGGCTGGATGCTTGGG
GTCAGGGCACCCCTGGTCACAGT*CTCGAG*

序列識別號：76（經人類化的[12892.15378] V_L DNA 序列）

*GCTAGCCTC*CATACGAGCTGACCCAGGACCCAGCAGTGTCCGTCGCCCTGG
 GACAGACAGTGAGAATCACTTGCTCCGGAGGAGGATCCGCCTACGGTTGG
 TATCAGCAGAAGCCCCGGCCAGGCACCTGTGACCGTCATCTACTATAACAA
 TCAGAGGCCATCTGGCATTCCCGACCGGTTCACTGGATCCAGCTCTGGGA
 ACACAGCAAGTCTGACCATCACAGGCGCCCAGGCTGAGGACGAAGCCGA
 TTACTATTGTGGAAGCTATGATAGTTCAGCTGTGGGGATTTTTGGTTCTGG
 CACTAAAGTCACCGT*CCTAGG*

序列識別號：77（經人類化的[12796.15376] V_H DNA 序列）

*GGCGCGCCG*AGGTGCAGCTGCTGGAAAGTGGAGGAGGACTGGTCCAGCC
 AGGTGGAAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTAGTGGCTTCGACTTTTCCA
 GCTACACCATGCAGTGGGTGAGGCAGGCACCAGGCAAGGGACTGGAGTG
 GGTGGGCGTCATCTCTAGTACTGGAGGGTCTACCGGATACGGGCCTGCTG
 TGAAGGGAAGGGCAACAATTTACGGGATAACTCCAAAAATACTCTGTAT
 CTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCAGAAGACACAGCCGTGTACTATTGCGT
 GAAATCAGTCTCCGGAGATGCCTGGTCTGTGGACGGGCTGGATGCTTGGG
 GTCAGGGCACCCCTGGTCACAGT*CTCGAG*

序列識別號：78（經人類化的[12796.15376] V_L DNA 序列）

*GCTAGCCTC*CATACGAGCTGACCCAGGACCCAGCAGTGTCCGTCGCCCTGG
 GCCAGACAGTGAGAATCACTTGCTCCGGAGGAGGATCCGCCTACGGTTGG
 TATCAGCAGAAGCCCCGGCCAGGCACCTGTGACCGTCATCTACTATAACAA

TCAGAGGCCATCTGACATTCCCGATCGGTTCAGTGGATCCAGCTCTGGGA
ACACAGCAAGTCTGACCATCACAGGCGCCCAGGCTGAGGACGAAGCCGA
TTACTATTGTGGAAGCTATGATAGTTCAGCTGTGGGGATTTTTGGTTCTGG
CACTAAAGTCACCGT *CCTAGG*

序列識別號：79（經人類化的[12777.15382] V_H DNA 序列）

*GGCGCGCCG*AGGTGCAGCTGCTGGAATCCGGAGGAGGACTGGTCCAGCC
AGGTGGAAGCCTGCGACTGTCTTGCGCCGCTAGTGGATTCTGACTTTTCCA
GCTACGGAATGCAGTGGGTGAGGCAGGCACCAGGCAAGGGACTGGAGTG
GGTGGGCGTCATCTCTGGAAGTGGGATTACCACACTGTACGCACCTGCCG
TCAAGGGAAGGGCTACTATCTCACGGGACAACCTCTAAAAATACAGTGTAT
CTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCTGAAGATACCGCAGTCTACTATTGTAC
ACGCTCACCTCCATCACAGACGGCTGGACTTATGGAGGGGGCCTGGATTG
ATGCTTGGGGTCAGGGCACTCTGGTGACCGT *CTCGAG*

序列識別號：80（經人類化的[12777.15382] V_L DNA 序列）

*GCTAGCC*AGCTACGAGCTGACCCAGGACCCAGCAGTGTCCGTCGCCCTGG
GCCAGACAGTGAGAATCACTTGCAGTGGCGGAGATGGGTCATACGGTTG
GTTCCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCCTGTGACCGTCATCTATGACAACG
ATAATAGGCCATCTGACATTCCCGATCGGTTTAGTGGCTCCAGCTCTGGA
AACACAGCTTCTCTGACCATCACAGGGGGCCCAGGCTGAGGACGAAGCTG
ATTACTATTGTGGCAATGCAGACCTGTCCGGGGGTATTTTCGGCAGCGGA

ACTAAAGTCACCGT*CCTAGG*

序列識別號：81（經人類化的[12760.15375] V_H DNA 序列）

GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGAGGAGGACTGGTCCAGCC
AGGTGGATCCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCTTCTGGATTACCTTTAGTA
CATTCAACATGGTGTGGGTCAGGCAGGCACCTGGAAAGGGACTGGAGTA
CGTGGCTGAAATCTCCAGCGACGGCTCTTTTACATGGTATGCAACTGCCG
TCAAGGGCAGGGCCACCATTAGTCGGGATAACTCAAAAAATACAGTGTA
CCTGCAGATGAATTCCCTGAGGGCTGAGGACACCGCAGTCTACTATTGCG
CAAAATCCGATTGTTCTAGTTCATACTATGGATATAGCTGTATCGGGATCA
TTGACGCTTGGGGTCAGGGCACTCTGGTGACCGTCTCGAG

序列識別號：82（經人類化的[12760.15375] V_L DNA 序列）

GCTAGCCTCCTATGAGCTGACCCAGGACCCAGCAGTGAGCGTCGCCCTGG
GCCAGACAGTGAGAATCACTTGCTCCGGCGGAATTAGCGACGATGGCTCT
TACTATTACGGATGGTTCCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCTGTGACCGT
CATCTATATTAACGACAGGCGGCCAAGTAATATCCCCGATAGGTTTTTCAG
GGTCCAGCTCTGGTAACACAGCTTCTCTGACCATTACAGGGGCCCAGGCT
GAGGACGAAGCTGATTATTACTGTGGCTCTTACGATAGTTCAGCAGGGGT
*GGGTATCTTCGGCAGTGGA*ACTAAAGTCACCGT*CCTAGG*

序列識別號：83（經人類化的[13112.15380] V_H DNA 序列）

GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAAAGTGGAGGAGGACTGGTCCAGCC
AGGTGGATCACTGAGACTGTCCTGCGCCGCCTCCGGCTTCACCTTTTCCAG
CTACAACATGTTCTGGGTGCGCCAGGCACCAGGAAAGGGACTGGAGTTTG
TCGCTGAAATCTCTGGTAGTAATACTGGAAGCCGAACCTGGTACGCACCT
GCCGTGAAGGGCAGGGCTACAATTTCTCGGGACAACAGTAAAAATACTCT
GTATCTGCAGATGAACTCTCTGAGGGCTGAGGATACAGCAGTGTACTATT
GTGCAAAATCAATCTACGGAGGGTATTGCGCCGGTGGCTATTCCTGTGGT
GTGGGCCTGATTGACGCATGGGGACAGGGGACCCTGGTCACAGTCTCGAG

序列識別號：84（經人類化的[13112.15380] V_L DNA 序列）

GCTAGCCTCATACGAGCTGACCCAGGACCCAGCAGTGTCCGTGCGCCCTGG
GCCAGACAGTGAGAATCACTTGCAGTGGCGGATCCAGCGATTACTATGGG
TGGTTCCAGCAGAAGCCCGGTCAGGCCCTGTGACCGTCATCTACTATAA
CAACAAGAGGCCATCTGACATTCCCGATCGGTTTAGTGGCTCTAGTTCAG
GAAACACAGCCTCCCTGACCATTACAGGGGGCCAGGCTGAGGACGAAGC
TGATTACTATTGTGGCAATGCAGACTCCAGCGTGGGAGTCTTCGGGTCTG
GTACTAAGGTGACCGTCCTAGG

序列識別號：85（經人類化的[12748.16124] V_L DNA 序列（替代的生殖系））

GCTAGCCTCTTACGAGCTGACTCAGCCACCTTCCGTGTCCGTGTCCCCAGG
ACAGACCGCAAGAATCACATGCAGTGGCGGATCCAGCTACTCATATGGGT
GGTTCCAGCAGAAGCCTGGTCAGGCCCCCGTGACAGTCATCTATGAGAGC

AACAATAGGCCTTCTGACATTCCAGAACGGTTTAGTGGCTCTAGTTCAGG
AACCACAGTGACTCTGACCATCAGCGGGGTCCAGGCCGAGGACGAAGCT
GATTACTATTGTGGCAACGCTGATTCCAGCTCTGGAATTTTCGGGTCCGGT
ACAAAAGTGACTGTCCTAGG

序列識別號：86（重鏈恆定區域胺基酸序列基因組 DNA 序列，內含子包含在內）

CTCGAGTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTC
CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT
ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGC
GGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC
AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT
CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
GGTGAGAGGCCAGCACAGGGAGGGAGGGTGTCTGCTGGAAGCCAGGCTC
AGCGCTCCTGCCTGGACGCATCCCGGCTATGCAGTCCCAGTCCAGGGCAG
CAAGGCAGGCCCCGTCTGCCTCTTCACCCGGAGGCCTCTGCCCCCCCCAC
TCATGCTCAGGGAGAGGGTCTTCTGGCTTTTCCCCAGGCTCTGGGCAGG
CACAGGCTAGGTGCCCCCTAACCCAGGCCCTGCACACAAAGGGGCAGGTG
CTGGGCTCAGACCTGCCAAGAGCCATATCCGGGAGGACCCTGCCCCCTGAC
CTAAGCCCACCCCAAAGGCCAAACTCTCCACTCCCTCAGCTCGGACACCT
TCTCTCCTCCCAGATTCCAGTAACTCCCAATCTTCTCTCTGCAGAGCCCAA
ATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAGGTAAGCCAGCCC

AGGCCTCGCCCTCCAGCTCAAGGCGGGACAGGTGCCCTAGAGTAGCCTGC
ATCCAGGGACAGGCCCCAGCCGGGTGCTGACACGTCCACCTCCATCTCTT
CCTCAGCACCTGAAgcccggggGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCC AAA
ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGG
TGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG
GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT
ACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC
TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC
AGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGTGGGACCCGTGGG
GTGCGAGGGCCACATGGACAGAGGCCGGCTCGGCCCACCCTCTGCCCTGA
GAGTGACCGCTGTACCAACCTCTGTCCCTACAGGGCAGCCCCGAGAACCA
CAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG
TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTG
GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTC
CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGG
ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT
GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGG
TAAATGA

序列識別號：87（重鏈恆定區域胺基酸序列 cDNA 序列）

CTCGAGTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTC
CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT

ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGC
GGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC
AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT
CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAA ACTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACC
TGAAgcccgccGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCC AAAACCCAAGGAC
ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGT
GAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG
GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCA
CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT
GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCAT
CGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTG
TACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCT
GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG
AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT
GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA
GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT
CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATG
A

序列識別號：88（輕鏈 λ 恆定區域 DNA 序列）

CCTAGGTCAGCCCAAGGCCAACCCCACTGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTC

TGAGGAGCTCCAAGCCAACAAGGCCACACTAGTGTGTCTGATCAGTGACT
TCTACCCGGGAGCTGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATGGCAGCCCCGTC
AAGGCGGGAGTGGAGACCACCAAACCCTCCAAACAGAGCAACAACAAGT
ACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCCAGCAGTGGAAGTCCCA
CAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAG
ACAGTGGCCCCTACAGAATGTTTCATAA

序列識別號：89（食蟹獼猴 PD-1 多肽，NCBI 登錄號 B0LAJ3_MACFA）

MQIPQAPWPV VWAVLQLGWR PGWFLESPDR PWNAPTFSPA
LLLVTEDDNA TFTCSFSNAS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG
QDCRFRVTRL PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAISLAP KAQIKESLRA
ELRVTERRAE VPTAHPSPSP RPAGQFQALV VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV
ICSRAAQGTI EARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPAP
CVPEQTEYAT IVFPSGLGTS SPARRGSADG PRSPRPLRPE DGHCSWPL

序列識別號：90（雞 PD-1 多肽，NCBI 登錄號 XP_422723.3）

MGKEAPSGTG HRHRAQQGTR RPAMALGTSR TMWDSTEAL
VVL CVLLLCC NPPLAGCHQV
TLFPATLTRP AGSSATFICN ISMENSSLEF NLNWFYQKTN SNPQKIAGII
RNIPQKKMEK
YRLFNNTPVF KMEILNLHQN DSGFYCYGLI TFSRSDKVVE SSHSQLVVTE
APEKTNTIDE

PSEEESSPPD HIKAVLLGTL LLAGVIVLLL FGYYIINNRR ADVQKPSSGN
 TLAEVKPPVV
 PVPTVDYGVV EFQRDPHSQV PLETCPAEQT EYATIVFPPE KPITPERGKR
 HKDERTWQLP
 SQPC

序列識別號：91（小鼠 PD-1 多肽，NCBI 登錄號 NP_032824.1）

MWVRQVPWSF TWAVLQLSWQ SGWLLEVPNG PWRSLTFYPA
 WLTVSEGANATFTCSLSNWS
 EDLMLNWNRL SPSNQTEKQA AFCNGLSQPV QDARFQIIQL PNRHDFHMNI
 LDTRRNDSGI
 YLCGAISLHP KAKIEESPGA ELVVTERILE TSTRYPSPSP KPEGRFQGMV
 IGIMSALVGI
 PVLLLLAWAL AVFCSTSMSE ARGAGSKDDT LKEEPSAAPV PSVAYEELDF
 QGREKTPELP
 TACVHTEYAT IVFTEGLGAS AMGRRGSADG LQGPRPPRHE DGHCSWPL

序列識別號：92（挪威大鼠 PD-1 多肽，NCBI 登錄號 XP_006245633.1）

MWVRQVPWSF TWAVLQLSWQ SGWLLEVPNG PWRSLTFYPA
 WLTVSEGANATFTCSLSNWS
 EDLMLNWNRL SPSNQTEKQA AFCNGLSQPV QDARFQIIQL PNRHDFHMNI

LDTRRNDSGI

YLCGAISLHP KAKIEESPGA ELVVTERILE TSTRYPSPSP KPEGRFQGMV

IGIMSALVGI

PVLLLLAWAL AVFCSTSMSE ARGAGSKDDT LKEEPSAAPV PSVAYEELDF

QGREKTPELP

TACVHTEYAT IVFTEGLGAS AMGRRGSADG LQGPRPPRHE DGHCSWPL

【符號說明】

無

55472.seq.txt
序列表

<110> 賽門弗鎮公司

<120> 抗PD-1抗體及組成物

<130> 022675.W0052

<140>

<141>

<150> 62/236,341

<151> 2015-10-02

<160> 92

<170> PatentIn第3.5版

<210> 1

<211> 288

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Met	Gln	Ile	Pro	Gln	Ala	Pro	Trp	Pro	Val	Val	Trp	Ala	Val	Leu	Gln
1				5					10					15	

Leu	Gly	Trp	Arg	Pro	Gly	Trp	Phe	Leu	Asp	Ser	Pro	Asp	Arg	Pro	Trp
			20					25					30		

Asn	Pro	Pro	Thr	Phe	Ser	Pro	Ala	Leu	Leu	Val	Val	Thr	Glu	Gly	Asp
		35					40					45			

Asn	Ala	Thr	Phe	Thr	Cys	Ser	Phe	Ser	Asn	Thr	Ser	Glu	Ser	Phe	Val
	50					55					60				

Leu	Asn	Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr	Asp	Lys	Leu	Ala
65					70					75					80

Ala	Phe	Pro	Glu	Asp	Arg	Ser	Gln	Pro	Gly	Gln	Asp	Cys	Arg	Phe	Arg
				85					90					95	

Val	Thr	Gln	Leu	Pro	Asn	Gly	Arg	Asp	Phe	His	Met	Ser	Val	Val	Arg
			100					105					110		

Ala	Arg	Arg	Asn	Asp	Ser	Gly	Thr	Tyr	Leu	Cys	Gly	Ala	Ile	Ser	Leu
		115					120					125			

55472.seq.txt

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
 130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
 145 150 155 160

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly
 165 170 175

Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys
 180 185 190

Ser Arg Ala Ala Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro
 195 200 205

Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly
 210 215 220

Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro
 225 230 235 240

Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly
 245 250 255

Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
 260 265 270

Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
 275 280 285

<210> 2

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 2

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

55472.seq.txt

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Arg Tyr
 20 25 30

Asp Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Gly Ile Gly Asp Ser Asn Lys Met Thr Arg Tyr Ala Pro Ala Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Gly Ser Cys Ile Ala Cys Trp Asp Glu Ala Gly Arg Ile Asp
 100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 3

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 3

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15

Thr Val Arg Ile Thr Cys Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Asp Gly Ser Ser
 20 25 30

Tyr Tyr Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Thr Val
 35 40 45

Ile Tyr Asn Asn Asn Asn Arg Pro Ser Asp Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln

55472.seq.txt

```

65              70              75              80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Asp Arg Pro Glu
      85              90              95

Thr Asn Ser Asp Tyr Val Gly Met Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr
      100             105             110

Val Leu

<210> 4
<211> 131
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 4
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1              5              10             15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
      20              25              30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35              40              45

Ala Gly Ile Gly Asn Asp Gly Ser Tyr Thr Asn Tyr Gly Ala Ala Val
      50              55              60

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65              70              75             80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85              90              95

Ala Ser Asp Ile Arg Ser Arg Asn Asp Cys Ser Tyr Phe Leu Gly Gly
      100             105             110

Cys Ser Ser Gly Phe Ile Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
      115             120             125

```

55472.seq.txt

Val Ser Ser
130

<210> 5
<211> 104
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

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

Thr Val Arg Ile Thr Cys Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Ser Tyr Gly Trp
20 25 30

Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Thr Val Ile Tyr Glu Ser
35 40 45

Asn Asn Arg Pro Ser Asp Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser
50 55 60

Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu
65 70 75 80

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Asn Ala Asp Ser Ser Ser Gly Ile Phe Gly
85 90 95

Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100

<210> 6
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 6
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

55472.seq.txt

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Asp His
 20 25 30
 Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
 35 40 45
 Gly Val Ile Asp Thr Thr Gly Arg Tyr Thr Tyr Tyr Ala Pro Ala Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Thr Thr Cys Val Gly Gly Tyr Leu Cys Asn Thr Val Gly Ser
 100 105 110
 Ile Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 7
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 7
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 Thr Val Arg Ile Thr Cys Ser Gly Gly Gly Ser Ser Ser Tyr Tyr Gly
 20 25 30
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Thr Val Ile Tyr Asp
 35 40 45
 Asp Thr Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser
 50 55 60

55472.seq.txt

Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp
65 70 75 80

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Gly Tyr Glu Gly Ser Ser His Ala Gly
85 90 95

Ile Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 8

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 8

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Thr Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Val Ile Ser Ser Thr Gly Gly Ser Thr Gly Tyr Gly Pro Ala Val
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Lys Ser Ile Ser Gly Asp Ala Trp Ser Val Asp Gly Leu Asp Ala
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

55472.seq.txt

<210> 9
 <211> 104
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 9
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15

Thr Val Arg Ile Thr Cys Ser Gly Gly Gly Ser Ala Tyr Gly Trp Tyr
 20 25 30

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Thr Val Ile Tyr Tyr Asn Asn
 35 40 45

Gln Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly
 50 55 60

Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala
 65 70 75 80

Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Asp Ser Ser Ala Val Gly Ile Phe Gly
 85 90 95

Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100

<210> 10
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 10
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

55472.seq.txt

Thr Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Val Ile Ser Ser Thr Gly Gly Ser Thr Gly Tyr Gly Pro Ala Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Val Lys Ser Val Ser Gly Asp Ala Trp Ser Val Asp Gly Leu Asp Ala
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

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

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 11
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15

Thr Val Arg Ile Thr Cys Ser Gly Gly Gly Ser Ala Tyr Gly Trp Tyr
 20 25 30

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Thr Val Ile Tyr Tyr Asn Asn
 35 40 45

Gln Arg Pro Ser Asp Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly
 50 55 60

Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala
 65 70 75 80

55472.seq.txt

Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Asp Ser Ser Ala Val Gly Ile Phe Gly
 85 90 95

Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100

<210> 12
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 12
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Val Ile Ser Gly Ser Gly Ile Thr Thr Leu Tyr Ala Pro Ala Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Thr Arg Ser Pro Ser Ile Thr Asp Gly Trp Thr Tyr Gly Gly Ala Trp
 100 105 110

Ile Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 13
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> 人工序列

55472.seq.txt

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 13

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15

Thr Val Arg Ile Thr Cys Ser Gly Gly Asp Gly Ser Tyr Gly Trp Phe
 20 25 30

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Thr Val Ile Tyr Asp Asn Asp
 35 40 45

Asn Arg Pro Ser Asp Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly
 50 55 60

Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala
 65 70 75 80

Asp Tyr Tyr Cys Gly Asn Ala Asp Leu Ser Gly Gly Ile Phe Gly Ser
 85 90 95

Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100

<210> 14

<211> 127

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 14

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
 20 25 30

Asn Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
 35 40 45

55472.seq.txt

Ala Glu Ile Ser Ser Asp Gly Ser Phe Thr Trp Tyr Ala Thr Ala Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Ser Asp Cys Ser Ser Ser Tyr Tyr Gly Tyr Ser Cys Ile Gly
 100 105 110

Ile Ile Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 15
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

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

Thr Val Arg Ile Thr Cys Ser Gly Gly Ile Ser Asp Asp Gly Ser Tyr
 20 25 30

Tyr Tyr Gly Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Thr Val
 35 40 45

Ile Tyr Ile Asn Asp Arg Arg Pro Ser Asn Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln
 65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Asp Ser Ser Ala
 85 90 95

55472.seq.txt

Gly Val Gly Ile Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 16
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 16
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Asn Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Phe Val
 35 40 45

Ala Glu Ile Ser Gly Ser Asn Thr Gly Ser Arg Thr Trp Tyr Ala Pro
 50 55 60

Ala Val Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Ala Lys Ser Ile Tyr Gly Gly Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Ser
 100 105 110

Cys Gly Val Gly Leu Ile Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 115 120 125

Val Ser Ser
 130

<210> 17
 <211> 104
 <212> PRT
 <213> 人工序列

55472.seq.txt

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 17

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15

Thr Val Arg Ile Thr Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asp Tyr Tyr Gly Trp
 20 25 30

Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Thr Val Ile Tyr Tyr Asn
 35 40 45

Asn Lys Arg Pro Ser Asp Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser
 50 55 60

Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu
 65 70 75 80

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Asn Ala Asp Ser Ser Val Gly Val Phe Gly
 85 90 95

Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100

<210> 18

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 18

Gly Phe Thr Phe Thr Arg Tyr Asp
 1 5

<210> 19

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

55472.seq.txt

<400> 19
Ile Gly Asp Ser Asn Lys Met Thr
1 5

<210> 20
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 20
Cys Ala Lys Gly Ser Cys Ile Ala Cys Trp Asp Glu Ala Gly Arg Ile
1 5 10 15

Asp Ala Trp

<210> 21
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 21
Gly Ser Tyr Asp Gly Ser Ser Tyr
1 5

<210> 22
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 22
Asn Asn Asn
1

<210> 23
<211> 17
<212> PRT

55472.seq.txt

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 23

Cys	Gly	Ser	Tyr	Asp	Arg	Pro	Glu	Thr	Asn	Ser	Asp	Tyr	Val	Gly	Met
1				5					10					15	

Phe

<210> 24

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 24

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr	Ala
1				5			

<210> 25

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 25

Ile	Gly	Asn	Asp	Gly	Ser	Tyr	Thr
1				5			

<210> 26

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 26

Cys	Ala	Ser	Asp	Ile	Arg	Ser	Arg	Asn	Asp	Cys	Ser	Tyr	Phe	Leu	Gly
1				5					10					15	

55472.seq.txt

Gly Cys Ser Ser Gly Phe Ile Asp Val Trp
20 25

<210> 27
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 27
Ser Ser Tyr Ser
1

<210> 28
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 28
Glu Ser Asn
1

<210> 29
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 29
Cys Gly Asn Ala Asp Ser Ser Ser Gly Ile Phe
1 5 10

<210> 30
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

55472.seq.txt

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 30

Gly Phe Asp Phe Ser Asp His Gly
1 5

<210> 31

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 31

Ile Asp Thr Thr Gly Arg Tyr Thr
1 5

<210> 32

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 32

Cys Ala Lys Thr Thr Cys Val Gly Gly Tyr Leu Cys Asn Thr Val Gly
1 5 10 15Ser Ile Asp Ala Trp
20

<210> 33

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 33

Gly Ser Ser Ser Tyr
1 5

<210> 34

<211> 3

55472.seq.txt

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 34
Asp Asp Thr
1

<210> 35
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 35
Cys Gly Gly Tyr Glu Gly Ser Ser His Ala Gly Ile Phe
1 5 10

<210> 36
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 36
Gly Phe Asp Phe Ser Ser Tyr Thr
1 5

<210> 37
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 37
Ile Ser Ser Thr Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 38

55472.seq.txt

<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 38
Cys Val Lys Ser Ile Ser Gly Asp Ala Trp Ser Val Asp Gly Leu Asp
1 5 10 15

Ala Trp

<210> 39
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 39
Gly Ser Ala
1

<210> 40
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 40
Tyr Asn Asn
1

<210> 41
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 41

55472.seq.txt

Cys Gly Ser Tyr Asp Ser Ser Ala Val Gly Ile Phe
1 5 10

<210> 42
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 42
Gly Phe Asp Phe Ser Ser Tyr Thr
1 5

<210> 43
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 43
Ile Ser Ser Thr Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 44
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 44
Cys Val Lys Ser Val Ser Gly Asp Ala Trp Ser Val Asp Gly Leu Asp
1 5 10 15

Ala Trp

<210> 45
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

55472.seq.txt

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 45

Gly Ser Ala

1

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 46

Tyr Asn Asn

1

<210> 47

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 47

Cys Gly Ser Tyr Asp Ser Ser Ala Val Gly Ile Phe

1

5

10

<210> 48

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 48

Gly Phe Asp Phe Ser Ser Tyr Gly

1

5

<210> 49

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

55472.seq.txt

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 49

Ile Ser Gly Ser Gly Ile Thr Thr
1 5

<210> 50

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 50

Cys Thr Arg Ser Pro Ser Ile Thr Asp Gly Trp Thr Tyr Gly Gly Ala
1 5 10 15Trp Ile Asp Ala Trp
20

<210> 51

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 51

Asp Gly Ser
1

<210> 52

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 52

Asp Asn Asp
1

55472.seq.txt

<210> 53
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 53
 Cys Gly Asn Ala Asp Leu Ser Gly Gly Ile Phe
 1 5 10

<210> 54
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 54
 Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe Asn
 1 5

<210> 55
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 55
 Ile Ser Ser Asp Gly Ser Phe Thr
 1 5

<210> 56
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 56
 Cys Ala Lys Ser Asp Cys Ser Ser Ser Tyr Tyr Gly Tyr Ser Cys Ile
 1 5 10 15

55472.seq.txt

Gly Ile Ile Asp Ala Trp
20

<210> 57
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 57
Ile Ser Asp Asp Gly Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 58
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 58
Ile Asn Asp
1

<210> 59
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 59
Cys Gly Ser Tyr Asp Ser Ser Ala Gly Val Gly Ile Phe
1 5 10

<210> 60
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

55472.seq.txt

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 60

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asn
1 5

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 61

Ile Ser Gly Ser Asn Thr Gly Ser Arg Thr
1 5 10

<210> 62

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 62

Cys Ala Lys Ser Ile Tyr Gly Gly Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Ser Cys
1 5 10 15Gly Val Gly Leu Ile Asp Ala Trp
20

<210> 63

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 63

Ser Ser Asp Tyr
1

<210> 64

<211> 3

55472.seq.txt

<212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 64
 Tyr Asn Asn
 1

<210> 65
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的肽」

<400> 65
 Cys Gly Asn Ala Asp Ser Ser Val Gly Val Phe
 1 5 10

<210> 66
 <211> 104
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 66
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Ser Tyr Gly Trp
 20 25 30

Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Thr Val Ile Tyr Glu Ser
 35 40 45

Asn Asn Arg Pro Ser Asp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser
 50 55 60

Gly Thr Thr Val Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu Asp Glu
 65 70 75 80

55472.seq.txt

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Asn Ala Asp Ser Ser Ser Gly Ile Phe Gly
 85 90 95

Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100

<210> 67
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 67
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

55472.seq.txt

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 68
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源

55472.seq.txt

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多肽」

<400> 68

Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
 1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
 20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
 35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
 50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
 65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
 85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 100 105

<210> 69

<211> 379

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 69

ggcgcgccga ggtgcagctg ctggaatctg gaggaggact ggtccagcca ggtggatccc 60
 tgcgactgag ctgcgccgct tctggattca cttttacaag atacgacatg gtgtgggtcc 120
 gccaggcacc aggaaaggga ctggagtggg tggctggtat cggcgatagt aacaagatga 180
 cccgctacgc acctgccgtc aaaggaggga caacaattag tcgggacaac tcaaagaata 240
 ctctgtatct gcagatgaat tccctgcgag ctgaggatac agcagtgtac tattgtgcca 300
 aaggtagctg catcgccctgt tgggacgaag ctggccgtat tgatgcatgg ggacagggga 360
 ctctggtgac cgtctcgag 379

55472.seq.txt

<210> 70
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 70
 gctagcctct tacgagctga ctcaggaccc tgcagtgagt gtcgccctgg gccagacagt 60
 gagaatcact tgctccggcg gagggagcta cgatggttcc agctactatg gctgggtatca 120
 gcagaagcca ggacaggcac ctgtgaccgt catctataac aataacaata ggccatctga 180
 cattcccgat cggttcagtg gatctagtgc agggaaacaca gcttctctga ccattacagg 240
 agcccaggct gaggacgaag cagattacta ttgtgggtca tacgacaggc cagaaacaaa 300
 ttccgattat gtgggaatgt ttggtagcgg cactaaagtc accgtcctag g 351

<210> 71
 <211> 400
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 71
 ggcgcgccga ggtgcagctg ctggaaagcg gaggaggact ggtccagcca ggtggatctc 60
 tgcgactgag ttgcgccgct tcaggcttca cattttctga ctacgccatg aactgggtga 120
 ggcaggctcc tggcaaggga ctggagtggg tcgcaggaat cgggaacgat ggaagttaca 180
 ctaattatgg agcagccgtg aaggggagag ctactatttc ccgcgacaac agcaaaaata 240
 ccctgtacct gcagatgaac tctctgagag ctgaagatac cgcagtgtac tattgtgcct 300
 ctgacatcag gagtccgaat gattgtcctt atttcctggg aggggtgttc agcggcttta 360
 ttgacgtgtg gggtcagggc accctgggtca cagtctcgag 400

<210> 72
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

55472.seq.txt

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 72

```

gctagcctct tacgagctga cccaggaccc agcagtgtcc gtcgccctgg gccagacagt      60
gagaatcact tgctccggcg gatccagcta cagctatggg tggttccagc agaagcccgg      120
tcaggcccct gtgaccgtca tctatgaaag taacaatagg ccatcagaca ttcccgatcg      180
gttttctggc tctagttcag gaaacacagc tagtctgacc atcacagggg cccaggctga      240
ggacgaagct gattactatt gtggcaatgc agattccagc tctggaattt tcgggtccgg      300
tactaaagtc accgtcctag g                                     321

```

<210> 73

<211> 385

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 73

```

ggcgcgccga ggtgcagctg ctggaatccg gaggaggact ggtccagcca ggtggatccc      60
tgcgactgag ctgcgccgct tctggattcg actttagcga tcacgggatg cagtgggtga      120
gacaggcacc aggcaaggga ctggagtacg tgggtgtcat cgacaccaca ggccgctata      180
catactatgc acctgccgtc aagggcaggg ctaccattag tcgggacaac tcaaaaaata      240
cactgtacct gcagatgaac tctctgaggg ctgaagatac tgcaagtgtac tattgcgcca      300
aaactacctg cgtgggaggg tacctgtgca ataccgtcgg aagtatcgat gcttggggac      360
aggggacact ggtgactgtc tcgag                                     385

```

<210> 74

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 74

```

gctagcctcc tacgagctga ctcaggaccc agcagtgagc gtcgccctgg gccagacagt      60
gagaatcact tgctctggcg gaggggtccag ctcttactat ggttgggtacc agcagaagcc      120

```

55472.seq.txt

cggccaggct cctgtgaccg tcatctatga cgatacaaac aggccaagtg gaattcccga 180
 tcggttctca ggtagttcat ccggcaatac agcttctctg accatcacag gggcccaggc 240
 tgaggacgaa gcagattact attgtggtgg ctatgaagga agctctcacg ccgggatttt 300
 tggaagtggg actaaagtca ccgtcctagg 330

<210> 75
 <211> 376
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 75
 ggcgcgccga ggtgcagctg ctggaaagtg gaggaggact ggtccagcca ggtggaagcc 60
 tgagactgtc ttgcgccgct agtggcttcg acttttccag ctacaccatg cagtgggtga 120
 ggcaggcacc aggcaaggga ctggagtggg tgggcgtcat ctctagtact ggagggctcta 180
 ccggatacgg gcctgctgtg aagggaaggg caacaatttc acgggataac tccaaaaata 240
 ctctgtatct gcagatgaac agcctgaggg cagaagacac agccgtgtac tattgcgtga 300
 aatcaatctc cggagatgcc tggctctgtg acgggctgga tgcttggggc cagggcaccc 360
 tggtcacagt ctcgag 376

<210> 76
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 76
 gctagcctca tacgagctga cccaggaccc agcagtgtcc gtcgccctgg gacagacagt 60
 gagaatcact tgctccggag gaggatccgc ctacggttgg tatcagcaga agcccggcca 120
 ggcacctgtg accgtcatct actataacaa tcagaggcca tctggcattc ccgaccggtt 180
 cagtggatcc agctctggga acacagcaag tctgaccatc acaggcgccc aggetgagga 240
 cgaagccgat tactattgtg gaagctatga tagttcagct gtggggattt ttggttctgg 300

55472.seq.txt

cactaaagtc accgtcctag g 321

<210> 77
 <211> 376
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 77
 ggcgcgccga ggtgcagctg ctggaaagtg gaggaggact ggtccagcca ggtggaagcc 60
 tgagactgtc ttgcgccgct agtggcttcg acttttccag ctacaccatg cagtgggtga 120
 ggcaggcacc aggcaaggga ctggagtggg tgggcgtcat ctctagtact ggagggtcta 180
 ccggatacgg gcctgctgtg aagggaaggg caacaatttc acgggataac tccaaaaata 240
 ctctgtatct gcagatgaac agcctgaggg cagaagacac agccgtgtac tattgcgtga 300
 aatcagtcctc cggagatgcc tggctctgtg acgggctgga tgcttggggt cagggcaccc 360
 tggtcacagt ctcgag 376

<210> 78
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 78
 gctagcctca tacgagctga cccaggaccc agcagtgtcc gtcgccctgg gccagacagt 60
 gagaatcact tgctccggag gaggatccgc ctacggttgg tatcagcaga agcccggcca 120
 ggcacctgtg accgtcatct actataacaa tcagaggcca tctgacattc ccgacggtt 180
 cagtggatcc agctctggga acacagcaag tctgaccatc acaggcgccc aggctgagga 240
 cgaagccgat tactattgtg gaagctatga tagttcagct gtggggattt ttggttctgg 300
 cactaaagtc accgtcctag g 321

<210> 79
 <211> 385
 <212> DNA
 <213> 人工序列

55472.seq.txt

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 79

```

ggcgcgccga ggtgcagctg ctggaatccg gaggaggact ggtccagcca ggtggaagcc      60
tgcgactgtc ttgcgccgct agtggattcg acttttccag ctacggaatg cagtgggtga      120
ggcaggcacc aggcaaggga ctggagtggg tgggcgtcat ctctggaagt gggattacca      180
cactgtacgc acctgccgtc aagggaaggg ctactatctc acgggacaac tctaaaaata      240
cagtgtatct gcagatgaac tccctgagag ctgaagatac cgcagtctac tattgtacac      300
gtcaccctc catcacagac ggctggactt atggaggggc ctggattgat gcttggggtc      360
agggcactct ggtgaccgtc tcgag                                           385

```

<210> 80

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 80

```

gctagccagc tacgagctga cccaggaccc agcagtgtcc gtcgccctgg gccagacagt      60
gagaatcact tgcagtggcg gagatgggtc atacggttgg ttccagcaga agcccggaca      120
ggccccctgtg accgtcatct atgacaacga taataggcca tctgacattc ccgatcggtt      180
tagtggctcc agctctggaa acacagcttc tctgaccatc acagggggccc aggctgagga      240
cgaagctgat tactattgtg gcaatgcaga cctgtccggg ggtattttcg gcagcggaac      300
taaagtcacc gtcctagg                                           318

```

<210> 81

<211> 388

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 81

```

ggcgcgccga ggtgcagctg ctggaatctg gaggaggact ggtccagcca ggtggatccc      60

```

55472.seq.txt

```

tgagactgag ctgcgccgct tctggattca cctttagtag attcaacatg gtgtgggtca      120
ggcaggcacc tggaaaggga ctggagtacg tggctgaaat ctccagcgac ggctctttta      180
catggtatgc aacigccgtc aagggcaggg ccaccattag tgggataac tcaaaaaata      240
cagtgtacct gcagatgaat tccctgaggg ctgaggacac cgcagtctac tattgcgcaa      300
aatccgattg ttctagttca tactatggat atagctgtat cgggatcatt gacgcttggg      360
gtcagggcac tctggtgacc gtctcgag                                     388

```

<210> 82
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

```

<400> 82
gctagcctcc tatgagctga cccaggaccc agcagtgagc gtcgccctgg gccagacagt      60
gagaatcact tgctccggcg gaattagcga cgatggctct tactattacg gatggttcca      120
gcagaagccc ggacaggccc ctgtgaccgt catctatatt aacgacaggc ggccaagtaa      180
tatccccgat aggtttttcag ggtccagctc tggtaacaca gcttctctga ccattacagg      240
ggcccaggct gaggacgaag ctgattatta ctgtggctct tacgatagtt cagcaggggt      300
gggtatcttc ggcatgggaa ctaaagtcac cgtcctagg                                     339

```

<210> 83
 <211> 400
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

```

<400> 83
ggcgcgccga ggtgcagctg ctggaaagtg gaggaggact ggtccagcca ggtggatcac      60
tgagactgtc ctgcgccgcc tccggcttca cttttccag ctacaacatg ttctgggtgc      120
gccaggcacc aggaaaggga ctggagtttg tcgctgaaat ctctggtagt aatactggaa      180
gccgaacctg gtacgcacct gccgtgaagg gcagggctac aatttctcgg gacaacagta      240

```

55472.seq.txt

aaaatactct gtatctgcag atgaactctc tgagggtga ggatacagca gtgtactatt 300
 gtgcaaaatc aatctacgga gggtattgcg ccggtggcta ttcctgtggt gtgggcctga 360
 ttgacgcatg gggacagggg accctgggtca cagtctcgag 400

<210> 84
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 84
 gctagcctca tacgagctga cccaggaccc agcagtgtcc gtcgccctgg gccagacagt 60
 gagaatcact tgcagtggcg gatccagcga ttactatggg tggttccagc agaagcccgg 120
 tcaggcccct gtgaccgtca tctactataa caacaagagg ccatctgaca ttcccgatcg 180
 gtttagtggc tctagttcag gaaacacagc ctccctgacc attacagggg cccaggctga 240
 ggacgaagct gattactatt gtggcaatgc agactccagc gtgggagtct tcgggtctgg 300
 tactaagggtg accgtcctag g 321

<210> 85
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 85
 gctagcctct tacgagctga ctacagccacc ttccgtgtcc gtgtccccag gacagaccgc 60
 aagaatcaca tgcagtggcg gatccagcta ctcatatggg tggttccagc agaagcctgg 120
 tcaggccccc gtgacagtca tctatgagag caacaatagg ctttctgaca ttccagaacg 180
 gtttagtggc tctagttcag gaaccacagt gactctgacc atcagcgggg tccaggccga 240
 ggacgaagct gattactatt gtggcaacgc tgattccagc tctggaattt tcgggtccgg 300
 tacaaaagtg actgtcctag g 321

<210> 86
 <211> 1606

55472.seq.txt

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 86

ctcgagtgcc tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac	60
ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac	120
ggigtctgtg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca	180
gtcctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac	240
ccagacctac atctgcaacg tgaatcaca gccagcaac accaagggtg acaagagagt	300
tgggtgagagg ccagcacagg gagggagggt gtctgctgga agccaggctc agcgctcctg	360
cctggacgca tcccggctat gcagtcccag tccagggcag caaggcaggc cccgtctgcc	420
tcttcacccg gaggcctctg cccgccccac tcatgctcag ggagagggtc ttctggcttt	480
ttccccaggc tctgggcagg cacaggctag gtgcccctaa cccaggccct gcacacaaag	540
gggcagggtgc tgggctcaga cctgccaaga gccatatccg ggaggaccct gcccctgacc	600
taagcccacc ccaaaggcca aactctccac tccctcagct cggacacctt ctctcctccc	660
agattccagt aactcccatt cttctctctg cagagcccaa atcttgtgac aaaactcaca	720
catgcccacc gtgcccagggt aagccagccc aggccctgcc ctccagctca aggcgggaca	780
ggtgccctag agtagcctgc atccagggac aggccccagc cgggtgctga cacgtccacc	840
tccatctctt cctcagcacc tgaagccgcc gggggaccgt cagtcttcct cttcccccca	900
aaacccaagg acacctcat gatctcccg acccctgagg tcacatgctg ggtggtggac	960
gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat	1020
aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc	1080
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac	1140
aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggtg gaccctggg	1200
gtgcgagggc cacatggaca gaggccggct cggccccacc tctgccctga gagtgaccgc	1260
tgtaccaacc tctgtcccta cagggcagcc ccgagaacca cagggtgata ccctgcccc	1320
atcccgaggag gagatgacca agaaccagggt cagcctgacc tgccctggta aaggcttcta	1380
tcccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac	1440

55472.seq.txt

cacgcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tatagcaagc tcaccgtgga 1500
 caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca 1560
 caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtccccgggt aaatga 1606

<210> 87
 <211> 1000
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 來源
 <223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 87
 ctcgagtgcc tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac 60
 ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac 120
 ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca 180
 gtctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac 240
 ccagacctac atctgcaacg tgaatcaca gccagcaac accaagggtg acaagagagt 300
 tgagcccaaa tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaagccgc 360
 cgggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg 420
 gaccctgag gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt 480
 caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa acaaagccgc gggaggagca 540
 gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa 600
 tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagcccca tcgagaaaac 660
 catctccaaa gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg 720
 ggaggagatg accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag 780
 cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag acaactaca agaccacgcc 840
 tcccgtgctg gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag 900
 caggtggcag caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca 960
 ctacacgcag aagagcctct ccctgtcccc gggtaaata 1000

<210> 88
 <211> 325

55472.seq.txt

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註=「人工序列之描述：合成的多核苷酸」

<400> 88
cctaggtcag cccaaggcca accccactgt cactctgttc ccgccctcct ctgaggagct 60
ccaagccaac aaggccacac tagtgtgtct gatcagtac ttctaccgg gagctgtgac 120
agtggcctgg aaggcagatg gcagccccgt caaggcgga gtggagacca ccaaaccctc 180
caaacagagc aacaacaagt acgcggccag cagctacctg agcctgacgc ccgagcagtg 240
gaagtccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa gggagcaccg tggagaagac 300
agtggcccct acagaatgtt cataa 325

<210> 89
<211> 288
<212> PRT
<213> 食蟹獼猴

<400> 89
Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
1 5 10 15
Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Glu Ser Pro Asp Arg Pro Trp
20 25 30
Asn Ala Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Leu Val Thr Glu Gly Asp
35 40 45
Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Ala Ser Glu Ser Phe Val
50 55 60
Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
65 70 75 80
Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
85 90 95
Val Thr Arg Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
100 105 110

55472.seq.txt

Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
 115 120 125

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
 130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
 145 150 155 160

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Ala Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly
 165 170 175

Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys
 180 185 190

Ser Arg Ala Ala Gln Gly Thr Ile Glu Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro
 195 200 205

Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly
 210 215 220

Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Ala Pro
 225 230 235 240

Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly
 245 250 255

Leu Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
 260 265 270

Ser Pro Arg Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
 275 280 285

<210> 90
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> 雞

<400> 90
 Met Gly Lys Glu Ala Pro Ser Gly Thr Gly His Arg His Arg Ala Gln
 1 5 10 15

Gln Gly Thr Arg Arg Pro Ala Met Ala Leu Gly Thr Ser Arg Thr Met

55472.seq.txt

20

25

30

Trp Asp Ser Thr Glu Ala Ala Leu Val Val Leu Cys Val Leu Leu Leu
 35 40 45

Cys Cys Asn Pro Pro Leu Ala Gly Cys His Gln Val Thr Leu Phe Pro
 50 55 60

Ala Thr Leu Thr Arg Pro Ala Gly Ser Ser Ala Thr Phe Ile Cys Asn
 65 70 75 80

Ile Ser Met Glu Asn Ser Ser Leu Glu Phe Asn Leu Asn Trp Tyr Gln
 85 90 95

Lys Thr Asn Asn Ser Asn Pro Gln Lys Ile Ala Gly Ile Ile Arg Asn
 100 105 110

Ile Pro Gln Lys Lys Met Glu Lys Tyr Arg Leu Phe Asn Asn Thr Pro
 115 120 125

Val Phe Lys Met Glu Ile Leu Asn Leu His Gln Asn Asp Ser Gly Phe
 130 135 140

Tyr Tyr Cys Gly Leu Ile Thr Phe Ser Arg Ser Asp Lys Val Val Glu
 145 150 155 160

Ser Ser His Ser Gln Leu Val Val Thr Glu Ala Pro Glu Lys Thr Asn
 165 170 175

Thr Ile Asp Glu Pro Ser Glu Glu Glu Ser Ser Pro Pro Asp His Ile
 180 185 190

Lys Ala Val Leu Leu Gly Thr Leu Leu Leu Ala Gly Val Ile Val Leu
 195 200 205

Leu Leu Phe Gly Tyr Ile Ile Ile Asn Asn Arg Arg Ala Asp Val Gln
 210 215 220

Lys Pro Ser Ser Gly Asn Thr Leu Ala Glu Val Lys Pro Pro Val Val
 225 230 235 240

55472.seq.txt

Pro Val Pro Thr Val Asp Tyr Gly Val Leu Glu Phe Gln Arg Asp Pro
245 250 255

His Ser Gln Val Pro Leu Glu Thr Cys Pro Ala Glu Gln Thr Glu Tyr
260 265 270

Ala Thr Ile Val Phe Pro Glu Glu Lys Pro Ile Thr Pro Glu Arg Gly
275 280 285

Lys Arg His Lys Asp Glu Arg Thr Trp Gln Leu Pro Ser Gln Pro Cys
290 295 300

<210> 91

<211> 288

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 91

Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln
1 5 10 15

Leu Ser Trp Gln Ser Gly Trp Leu Leu Glu Val Pro Asn Gly Pro Trp
20 25 30

Arg Ser Leu Thr Phe Tyr Pro Ala Trp Leu Thr Val Ser Glu Gly Ala
35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met
50 55 60

Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala
65 70 75 80

Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln
85 90 95

Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp
100 105 110

Thr Arg Arg Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
115 120 125

His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val

55472.seq.txt

130

135

140

Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro
 145 150 155 160

Lys Pro Glu Gly Arg Phe Gln Gly Met Val Ile Gly Ile Met Ser Ala
 165 170 175

Leu Val Gly Ile Pro Val Leu Leu Leu Ala Trp Ala Leu Ala Val
 180 185 190

Phe Cys Ser Thr Ser Met Ser Glu Ala Arg Gly Ala Gly Ser Lys Asp
 195 200 205

Asp Thr Leu Lys Glu Glu Pro Ser Ala Ala Pro Val Pro Ser Val Ala
 210 215 220

Tyr Glu Glu Leu Asp Phe Gln Gly Arg Glu Lys Thr Pro Glu Leu Pro
 225 230 235 240

Thr Ala Cys Val His Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Thr Glu Gly
 245 250 255

Leu Gly Ala Ser Ala Met Gly Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Leu Gln
 260 265 270

Gly Pro Arg Pro Pro Arg His Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
 275 280 285

<210> 92

<211> 288

<212> PRT

<213> 挪威大鼠

<400> 92

Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln
 1 5 10 15

Leu Ser Trp Gln Ser Gly Trp Leu Leu Glu Val Pro Asn Gly Pro Trp
 20 25 30

Arg Ser Leu Thr Phe Tyr Pro Ala Trp Leu Thr Val Ser Glu Gly Ala
 35 40 45

55472.seq.txt

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met
50 55 60

Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala
65 70 75 80

Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln
85 90 95

Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp
100 105 110

Thr Arg Arg Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
115 120 125

His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val
130 135 140

Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro
145 150 155 160

Lys Pro Glu Gly Arg Phe Gln Gly Met Val Ile Gly Ile Met Ser Ala
165 170 175

Leu Val Gly Ile Pro Val Leu Leu Leu Ala Trp Ala Leu Ala Val
180 185 190

Phe Cys Ser Thr Ser Met Ser Glu Ala Arg Gly Ala Gly Ser Lys Asp
195 200 205

Asp Thr Leu Lys Glu Glu Pro Ser Ala Ala Pro Val Pro Ser Val Ala
210 215 220

Tyr Glu Glu Leu Asp Phe Gln Gly Arg Glu Lys Thr Pro Glu Leu Pro
225 230 235 240

Thr Ala Cys Val His Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Thr Glu Gly
245 250 255

Leu Gly Ala Ser Ala Met Gly Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Leu Gln

										55472.seq.txt								
260										265					270			
Gly	Pro	Arg	Pro	Pro	Arg	His	Glu	Asp	Gly	His	Cys	Ser	Trp	Pro	Leu			
		275					280					285						

201726734

201726734

發明摘要

※ 申請案號：105131644

※ 申請日：105/09/30

※IPC 分類：**C07K 16/28** (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

抗 PD-1 抗體及組成物

ANTI-PD-1 ANTIBODIES AND COMPOSITIONS

【中文】

本發明係關於抗 PD-1 抗體與使用其等治療與 PD-1 活性相關的疾病與病況（例如癌症）的方法。

【英文】

This invention relates to anti-PD-1 antibodies and methods of using them in treating diseases and conditions related to PD-1 activity, e.g., cancer.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 1 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

申請專利範圍

1.一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其中該抗體和其重鏈與輕鏈可變功能域包含以下胺基酸序列的抗體競爭與人類 PD-1 的結合、或和其重鏈與輕鏈可變功能域包含以下胺基酸序列的抗體結合相同的人類 PD-1 之抗原決定基：

- a)分別為序列識別號：2 與 3；
- b)分別為序列識別號：4 與 5；
- c)分別為序列識別號：4 與 66；
- d)分別為序列識別號：6 與 7；
- e)分別為序列識別號：8 與 9；
- f)分別為序列識別號：10 與 11；
- g)分別為序列識別號：12 與 13；
- h)分別為序列識別號：14 與 15；或
- i)分別為序列識別號：16 與 17。

2.根據申請專利範圍第 1 項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分，其中該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)一種抗體，其 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：18-20 之胺基酸序列；
- b)一種抗體，其重鏈可變功能域（V_H）在序列上與序列識別號：2 之胺基酸序列至少 90%相同；
- c)一種抗體，其 V_H包含序列識別號：2 之胺基酸序列；
- d)一種抗體，其重鏈（HC）包含序列識別號：2 與 67 之胺基酸序列；
- e)一種抗體，其 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：21-23 之胺基酸序列；

- f)一種抗體，其輕鏈可變功能域（V_L）在序列上與序列識別號：3 之胺基酸序列至少 90%相同；
- g)一種抗體，其 V_L 包含序列識別號：3 之胺基酸序列；
- h)一種抗體，其輕鏈（LC）包含序列識別號：3 與 68 之胺基酸序列；
- i)一種抗體，其 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：18-23 之胺基酸序列；
- j)一種抗體，其 V_H在序列上與序列識別號：2 之胺基酸序列至少 90%相同且其 V_L在序列上與序列識別號：3 之胺基酸序列至少 90%相同；
- k)一種抗體，其 V_H包含序列識別號：2 之胺基酸序列且其 V_L包含序列識別號：3 之胺基酸序列；與
- l)一種抗體，其 HC 包含序列識別號：2 與 67 之胺基酸序列且其 LC 包含序列識別號：3 與 68 之胺基酸序列。

3.根據申請專利範圍第 1 項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分，其中該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)一種抗體，其 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：24-26 之胺基酸序列；
- b)一種抗體，其重鏈可變功能域（V_H）在序列上與序列識別號：4 之胺基酸序列至少 90%相同；
- c)一種抗體，其 V_H包含序列識別號：4 之胺基酸序列；
- d)一種抗體，其重鏈（HC）包含序列識別號：4 與 67 之胺基酸序列；
- e)一種抗體，其 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：27-29 之胺基酸序列；
- f)一種抗體，其輕鏈可變功能域（V_L）在序列上與序列識別號：5 或 66 之胺基酸序列至少 90%相同；

- g)一種抗體，其 V_L 包含序列識別號：5 或 66 之胺基酸序列；
- h)一種抗體，其輕鏈（LC）包含序列識別號：5 或 66 之胺基酸序列與序列識別號：68 之胺基酸序列；
- i)一種抗體，其 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：24-29 之胺基酸序列；
- j)一種抗體，其 V_H 在序列上與序列識別號：4 之胺基酸序列至少 90%相同且其 V_L 在序列上與序列識別號：5 或 66 之胺基酸序列至少 90%相同；
- k)一種抗體，其 V_H 包含序列識別號：4 之胺基酸序列且其 V_L 包含序列識別號：5 或 66 之胺基酸序列；與
- l)一種抗體，其 HC 包含序列識別號：4 與 67 之胺基酸序列且其 LC 包含序列識別號：5 或 66 與序列識別號：68 之胺基酸序列。

4.根據申請專利範圍第 1 項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分，其中該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)一種抗體，其 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：30-32 之胺基酸序列；
- b)一種抗體，其重鏈可變功能域（V_H）在序列上與序列識別號：6 之胺基酸序列至少 90%相同；
- c)一種抗體，其 V_H 包含序列識別號：6 之胺基酸序列；
- d)一種抗體，其重鏈（HC）包含序列識別號：6 與 67 之胺基酸序列；
- e)一種抗體，其 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：33-35 之胺基酸序列；
- f)一種抗體，其輕鏈可變功能域（V_L）在序列上與序列識別號：7 之胺基酸序列至少 90%相同；
- g)一種抗體，其 V_L 包含序列識別號：7 之胺基酸序列；

- h)一種抗體，其輕鏈（LC）包含序列識別號：7 與 68 之胺基酸序列；
- i)一種抗體，其 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：30-35 之胺基酸序列；
- j)一種抗體，其 V_H在序列上與序列識別號：6 之胺基酸序列至少 90%相同且其 V_L在序列上與序列識別號：7 之胺基酸序列至少 90%相同；
- k)一種抗體，其 V_H包含序列識別號：6 之胺基酸序列且其 V_L包含序列識別號：7 之胺基酸序列；與
- l)一種抗體，其 HC 包含序列識別號：6 與 67 之胺基酸序列且其 LC 包含序列識別號：7 與 68 之胺基酸序列。

5.根據申請專利範圍第 1 項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分，其中該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)一種抗體，其 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：36-38 之胺基酸序列；
- b)一種抗體，其重鏈可變功能域（V_H）在序列上與序列識別號：8 之胺基酸序列至少 90%相同；
- c)一種抗體，其 V_H包含序列識別號：8 之胺基酸序列；
- d)一種抗體，其重鏈（HC）包含序列識別號：8 與 67 之胺基酸序列；
- e)一種抗體，其 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：39-41 之胺基酸序列；
- f)一種抗體，其輕鏈可變功能域（V_L）在序列上與序列識別號：9 之胺基酸序列至少 90%相同；
- g)一種抗體，其 V_L包含序列識別號：9 之胺基酸序列；
- h)一種抗體，其輕鏈（LC）包含序列識別號：9 與 68 之胺基酸序列；
- i)一種抗體，其 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：36-41 之胺基

酸序列；

j)一種抗體，其 V_H 在序列上與序列識別號：8 之胺基酸序列至少 90%相同且其 V_L 在序列上與序列識別號：9 之胺基酸序列至少 90%相同；

k)一種抗體，其 V_H 包含序列識別號：8 之胺基酸序列且其 V_L 包含序列識別號：9 之胺基酸序列；與

l)一種抗體，其 HC 包含序列識別號：8 與 67 之胺基酸序列且其 LC 包含序列識別號：9 與 68 之胺基酸序列。

6.根據申請專利範圍第 1 項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分，其中該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

a)一種抗體，其 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：42-44 之胺基酸序列；

b)一種抗體，其重鏈可變功能域 (V_H) 在序列上與序列識別號：10 之胺基酸序列至少 90%相同；

c)一種抗體，其 V_H 包含序列識別號：10 之胺基酸序列；

d)一種抗體，其重鏈 (HC) 包含序列識別號：10 與 67 之胺基酸序列；

e)一種抗體，其 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：45-47 之胺基酸序列；

f)一種抗體，其輕鏈可變功能域 (V_L) 在序列上與序列識別號：11 之胺基酸序列至少 90%相同；

g)一種抗體，其 V_L 包含序列識別號：11 之胺基酸序列；

h)一種抗體，其輕鏈 (LC) 包含序列識別號：11 與 68 之胺基酸序列；

i)一種抗體，其 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：42-47 之胺基酸序列；

j)一種抗體，其 V_H 在序列上與序列識別號：10 之胺基酸序列至少 90%相同

且其 V_L 在序列上與序列識別號：11 之胺基酸序列至少 90%相同；

k)一種抗體，其 V_H 包含序列識別號：10 之胺基酸序列且其 V_L 包含序列識別號：11 之胺基酸序列；與

l)一種抗體，其 HC 包含序列識別號：10 與 67 之胺基酸序列且其 LC 包含序列識別號：11 與 68 之胺基酸序列。

7.根據申請專利範圍第 1 項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分，其中該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

a)一種抗體，其 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：48-50 之胺基酸序列；

b)一種抗體，其重鏈可變功能域（V_H）在序列上與序列識別號：12 之胺基酸序列至少 90%相同；

c)一種抗體，其 V_H 包含序列識別號：12 之胺基酸序列；

d)一種抗體，其重鏈（HC）包含序列識別號：12 與 67 之胺基酸序列；

e)一種抗體，其 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：51-53 之胺基酸序列；

f)一種抗體，其輕鏈可變功能域（V_L）在序列上與序列識別號：13 之胺基酸序列至少 90%相同；

g)一種抗體，其 V_L 包含序列識別號：13 之胺基酸序列；

h)一種抗體，其輕鏈（LC）包含序列識別號：13 與 68 之胺基酸序列；

i)一種抗體，其 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：48-53 之胺基酸序列；

j)一種抗體，其 V_H 在序列上與序列識別號：12 之胺基酸序列至少 90%相同且其 V_L 在序列上與序列識別號：13 之胺基酸序列至少 90%相同；

k)一種抗體，其 V_H 包含序列識別號：12 之胺基酸序列且其 V_L 包含序列識別

號：13 之胺基酸序列；與

l)一種抗體，其 HC 包含序列識別號：12 與 67 之胺基酸序列且其 LC 包含序列識別號：13 與 68 之胺基酸序列。

8.根據申請專利範圍第 1 項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分，其中該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

a)一種抗體，其 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：54-56 之胺基酸序列；

b)一種抗體，其重鏈可變功能域（V_H）在序列上與序列識別號：14 之胺基酸序列至少 90%相同；

c)一種抗體，其 V_H包含序列識別號：14 之胺基酸序列；

d)一種抗體，其重鏈（HC）包含序列識別號：14 與 67 之胺基酸序列；

e)一種抗體，其 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：57-59 之胺基酸序列；

f)一種抗體，其輕鏈可變功能域（V_L）在序列上與序列識別號：15 之胺基酸序列至少 90%相同；

g)一種抗體，其 V_L包含序列識別號：15 之胺基酸序列；

h)一種抗體，其輕鏈（LC）包含序列識別號：15 與 68 之胺基酸序列；

i)一種抗體，其 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：54-59 之胺基酸序列；

j)一種抗體，其 V_H在序列上與序列識別號：14 之胺基酸序列至少 90%相同且其 V_L在序列上與序列識別號：15 之胺基酸序列至少 90%相同；

k)一種抗體，其 V_H包含序列識別號：14 之胺基酸序列且其 V_L包含序列識別號：15 之胺基酸序列；與

l)一種抗體，其 HC 包含序列識別號：14 與 67 之胺基酸序列且其 LC 包含序

列識別號：15 與 68 之胺基酸序列。

9.根據申請專利範圍第 1 項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分，其中該抗 PD-1 抗體係選自由以下者所組成的群組：

- a)一種抗體，其 H-CDR1-3 分別包含序列識別號：60-62 之胺基酸序列；
- b)一種抗體，其重鏈可變功能域（V_H）在序列上與序列識別號：16 之胺基酸序列至少 90%相同；
- c)一種抗體，其 V_H包含序列識別號：16 之胺基酸序列；
- d)一種抗體，其重鏈（HC）包含序列識別號：16 與 67 之胺基酸序列；
- e)一種抗體，其 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：63-65 之胺基酸序列；
- f)一種抗體，其輕鏈可變功能域（V_L）在序列上與序列識別號：17 之胺基酸序列至少 90%相同；
- g)一種抗體，其 V_L包含序列識別號：17 之胺基酸序列；
- h)一種抗體，其輕鏈（LC）包含序列識別號：17 與 68 之胺基酸序列；
- i)一種抗體，其 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 分別包含序列識別號：60-65 之胺基酸序列；
- j)一種抗體，其 V_H在序列上與序列識別號：16 之胺基酸序列至少 90%相同且其 V_L在序列上與序列識別號：17 之胺基酸序列至少 90%相同；
- k)一種抗體，其 V_H包含序列識別號：16 之胺基酸序列且其 V_L包含序列識別號：17 之胺基酸序列；與
- l)一種抗體，其 HC 包含序列識別號：16 與 67 之胺基酸序列且其 LC 包含序列識別號：17 與 68 之胺基酸序列。

10.一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其中該抗體包含以下者之

H-CDR1-3 與 L-CDR1-3 胺基酸序列：

- a)分別為序列識別號：18、19、20、21、22、與 23；
- b)分別為序列識別號：24、25、26、27、28、與 29；
- c)分別為序列識別號：30、31、32、33、34、與 35；
- d)分別為序列識別號：36、37、38、39、40、與 41；
- e)分別為序列識別號：42、43、44、45、46、與 47；
- f)分別為序列識別號：48、49、50、51、52、與 53；
- g)分別為序列識別號：54、55、56、57、58、與 59；或
- h)分別為序列識別號：60、61、62、63、64、與 65。

11.一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其中該抗體包含具有與以下者之胺基酸序列至少 90%相同的胺基酸序列的重鏈可變功能域與輕鏈可變功能域：

- a)分別為序列識別號：2 與 3；
- b)分別為序列識別號：4 與 5；
- c)分別為序列識別號：4 與 66；
- d)分別為序列識別號：6 與 7；
- e)分別為序列識別號：8 與 9；
- f)分別為序列識別號：10 與 11；
- g)分別為序列識別號：12 與 13；
- h)分別為序列識別號：14 與 15；或
- i)分別為序列識別號：16 與 17。

12.一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其中該抗體包含具有以下者之

胺基酸序列的重鏈可變功能域與輕鏈可變功能域：

- a)分別為序列識別號：2 與 3；
- b)分別為序列識別號：4 與 5；
- c)分別為序列識別號：4 與 66；
- d)分別為序列識別號：6 與 7；
- e)分別為序列識別號：8 與 9；
- f)分別為序列識別號：10 與 11；
- g)分別為序列識別號：12 與 13；
- h)分別為序列識別號：14 與 15；或
- i)分別為序列識別號：16 與 17。

13.一種抗 PD-1 抗體，其包含：

- a)包含序列識別號：2 與 67 之胺基酸序列的重鏈（HC）與包含序列識別號：3 與 68 之胺基酸序列的輕鏈（LC）；
- b)包含序列識別號：4 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：5 與 68 之胺基酸序列的 LC；
- c)包含序列識別號：4 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：66 與 68 之胺基酸序列的 LC；
- d)包含序列識別號：6 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：7 與 68 之胺基酸序列的 LC；
- e)包含序列識別號：8 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：9 與 68 之胺基酸序列的 LC；
- f)包含序列識別號：10 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：11 與

68 之胺基酸序列的 LC；

g)包含序列識別號：12 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：13 與 68 之胺基酸序列的 LC；

h)包含序列識別號：14 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：15 與 68 之胺基酸序列的 LC；或

i)包含序列識別號：16 與 67 之胺基酸序列的 HC 與包含序列識別號：17 與 68 之胺基酸序列的 LC。

14.一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其中該抗體包含分別包含序列識別號：18-20 與序列識別號：21-23 之胺基酸序列的 H-CDR1-3 與 L-CDR1-3。

15.一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其中該抗體包含含有序列識別號：2 之胺基酸序列的 V_H 與含有序列識別號：3 之胺基酸序列的 V_L 。

16.一種抗 PD-1 抗體，其包含含有序列識別號：2 與 67 之胺基酸序列的重鏈與含有序列識別號：3 與 68 之胺基酸序列的輕鏈。

17.一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其與在 PD-1 上包含胺基酸殘基 K131 的抗原決定基結合。

18.根據申請專利範圍第 17 項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分，其中該抗原決定基進一步包含 PD-1 胺基酸殘基 P130 與 A132。

19.根據申請專利範圍第 18 項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分，其中該抗原決定基進一步包含 PD-1 胺基酸殘基 V64 與 L128。

20.根據申請專利範圍第 17 項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分，其中該抗原決定基進一步包含 PD-1 胺基酸殘基 E136。

21.一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其與在 PD-1 上包含胺基酸殘

基 V44 與 T145 的抗原決定基結合。

22.一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其與在 PD-1 上包含序列識別號：1 之胺基酸殘基 69-90 與 122-140 的抗原決定基結合。

23.根據申請專利範圍第 22 項的抗體或抗原結合部分，其中該抗原決定基進一步包含序列識別號：1 之胺基酸殘基 56-64。

24.一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其與在 PD-1 上包含序列識別號：1 之殘基 69-75 或其片段的抗原決定基結合。

25.一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其與在 PD-1 上包含序列識別號：1 之殘基 136-140 或其片段的抗原決定基結合。

26.一種抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分，其與在 PD-1 上包含序列識別號：1 之殘基 69-75 或其片段與殘基 136-140 或其片段的抗原決定基結合。

27.根據申請專利範圍第 1-12、14、15、與 17-26 項中任一項的抗 PD-1 抗體，其中該抗體係 IgG。

28.根據申請專利範圍第 27 項的抗 PD-1 抗體，其中該抗體係 IgG₁。

29.根據申請專利範圍第 28 項的抗 PD-1 抗體，其中該抗體於 Fc 區域中包含至少一個突變。

30.根據申請專利範圍第 29 項的抗 PD-1 抗體，其中該抗體包含於根據 IMGT 編號格式編號的重鏈胺基酸位置 228、234 與 235 之一或多者的突變。

31.根據申請專利範圍第 30 項的抗 PD-1 抗體，其中位於位置 234 與 235 之一或二者的胺基酸殘基被突變成 Ala，及/或其中位於位置 228 的胺基酸殘基被突變成 Pro。

32.根據申請專利範圍第 1-31 項中之任一項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部

分，其中該抗體或部分具有以下特性之至少一者：

- a)以 750 pM 或更低的 K_D 與人類 PD-1 結合；
- b)以 7 nM 或更低的 K_D 與食蟹獼猴 PD-1 結合；
- c)以 1 nM 或更低的 K_D 與小鼠 PD-1 結合；
- d)不與大鼠 PD-1 結合；
- e)於 SEB 全血分析中增加 IL-2 分泌；
- f)於單向混合淋巴球反應分析中增加 IFN- γ 分泌；
- g)於流式細胞測量競爭分析中於 10 $\mu\text{g/ml}$ 的濃度下抑制 PD-1 與 PD-L1 間的交互作用達至少 60%；
- h)如由生物膜干涉 (Bio-Layer Interferometry) 分析測定的，於 10 $\mu\text{g/ml}$ 的濃度下封阻 PD-L1 及 PD-L2 與 PD-1 的結合達至少 90%；與
- i)活體內抑制腫瘤生長。

33.一種醫藥組成物，其包含根據申請專利範圍第 1-32 項中任一項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分與醫藥上可接受的賦形劑。

34.根據申請專利範圍第 33 項的醫藥組成物，其進一步包含化學治療劑、抗贅瘤劑、抗血管生成劑、酪胺酸激酶抑制劑、或 PD-1 途徑抑制劑。

35.一種經分離的核酸分子，其包含編碼根據申請專利範圍第 1-32 項中任一項的抗 PD-1 抗體之重鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、或編碼根據申請專利範圍第 1-32 項中任一項的抗 PD-1 抗體之輕鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、或兩者。

36.一種載體，其包含根據申請專利範圍第 35 項的經分離的核酸分子，其中該載體進一步包含表現控制序列。

37.一種宿主細胞，其包含編碼根據申請專利範圍第 1-32 項中任一項的抗 PD-1 抗體之重鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列、與編碼根據申請專利範圍第 1-32 項中任一項的抗 PD-1 抗體之輕鏈或其抗原結合部分的核苷酸序列。

38.一種用於生產抗 PD-1 抗體或其抗原結合部分的方法，其包含提供根據申請專利範圍第 37 項的宿主細胞、在適用於表現該抗體或部分的條件下培養該宿主細胞、與分離所得的抗體或部分。

39.一種雙專一性結合分子，其具有根據申請專利範圍第 1-32 項中任一項的抗 PD-1 抗體之結合專一性與另一不同的抗體之結合專一性。

40.一種於有需要的患者中增強免疫力的方法，其包含將根據申請專利範圍第 1-32 項中任一項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分、根據申請專利範圍第 33 或 34 項的醫藥組成物、或根據申請專利範圍第 39 項的雙專一性結合分子投予至該患者。

41.一種用於在患者中治療癌症的方法，其包含將根據申請專利範圍第 1-32 項中任一項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分、根據申請專利範圍第 33 或 34 項的醫藥組成物、或根據申請專利範圍第 39 項的雙專一性結合分子投予至該患者。

42.根據申請專利範圍第 41 項的方法，其中該癌症係源於選自由皮膚、肺臟、腸、卵巢、腦、前列腺、腎臟、軟組織、造血系統、頭與頸、肝臟、膀胱、乳房、胃、子宮與胰臟所組成的群組的組織。

43.根據申請專利範圍第 41 項的方法，其中該癌症係選自由晚期或轉移性黑色素瘤、非小細胞肺癌、頭頸鱗狀細胞癌、腎細胞癌、或何杰金氏淋

巴瘤(Hodgkin's lymphoma)所組成的群組。

44.根據申請專利範圍第 40-43 項中之任一項的方法,其進一步包含投予化學治療劑、抗贅瘤劑、抗血管生成劑、酪胺酸激酶抑制劑、或 PD-1 途徑抑制劑。

45.一種根據申請專利範圍第 1-32 項中任一項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分、根據申請專利範圍第 33 或 34 項的醫藥組成物、或根據申請專利範圍第 39 項的雙專一性結合分子的用途,其係用於製備用於在患者中增強免疫力的醫藥品。

46.一種根據申請專利範圍第 1-32 項中任一項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分、根據申請專利範圍第 33 或 34 項的醫藥組成物、或根據申請專利範圍第 39 項的雙專一性結合分子的用途,其係用於製備用於在患者中治療癌症的醫藥品。

47.根據申請專利範圍第 46 項的用途,其中該癌症係源於選自由皮膚、肺臟、腸、卵巢、腦、前列腺、腎臟、軟組織、造血系統、頭與頸、肝臟、膀胱、乳房、胃、子宮與胰臟所組成的群組的組織。

48.根據申請專利範圍第 46 項的用途,其中該癌症係選自由晚期或轉移性黑色素瘤、非小細胞肺癌、頭頸鱗狀細胞癌、腎細胞癌、或何杰金氏淋巴瘤所組成的群組。

49.根據申請專利範圍第 45-48 項中任一項的用途,其中該醫藥品進一步包含化學治療劑、抗贅瘤劑、抗血管生成劑、酪胺酸激酶抑制劑、或 PD-1 途徑抑制劑。

50.一種用於在有需要的患者中增強免疫力的根據申請專利範圍第 1-32

項中任一項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分、根據申請專利範圍第 33 或 34 項的醫藥組成物、或根據申請專利範圍第 39 項的雙專一性結合分子。

51.一種用於在患者中治療癌症的根據申請專利範圍第 1-32 項中任一項的抗 PD-1 抗體或抗原結合部分、根據申請專利範圍第 33 或 34 項的醫藥組成物、或根據申請專利範圍第 39 項的雙專一性結合分子。

52.根據申請專利範圍第 51 項所使用的抗體或抗原結合部分、醫藥組成物、或雙專一性結合分子，其中該癌症係源於選自由皮膚、肺臟、腸、卵巢、腦、前列腺、腎臟、軟組織、造血系統、頭與頸、肝臟、膀胱、乳房、胃、子宮與胰臟所組成的群組的組織。

53.根據申請專利範圍第 51 項所使用的抗體或抗原結合部分、醫藥組成物、或雙專一性結合分子，其中該癌症係選自由晚期或轉移性黑色素瘤、非小細胞肺癌、頭頸鱗狀細胞癌、腎細胞癌、或何杰金氏淋巴瘤所組成的群組。

54.根據申請專利範圍第 50-53 項中任一項所使用的抗體或抗原結合部分、醫藥組成物、或雙專一性結合分子，其中該抗體或抗原結合部分、醫藥組成物、或雙專一性結合分子係與化學治療劑、抗贅瘤劑、抗血管生成劑、酪胺酸激酶抑制劑、或 PD-1 途徑抑制劑一起投予。

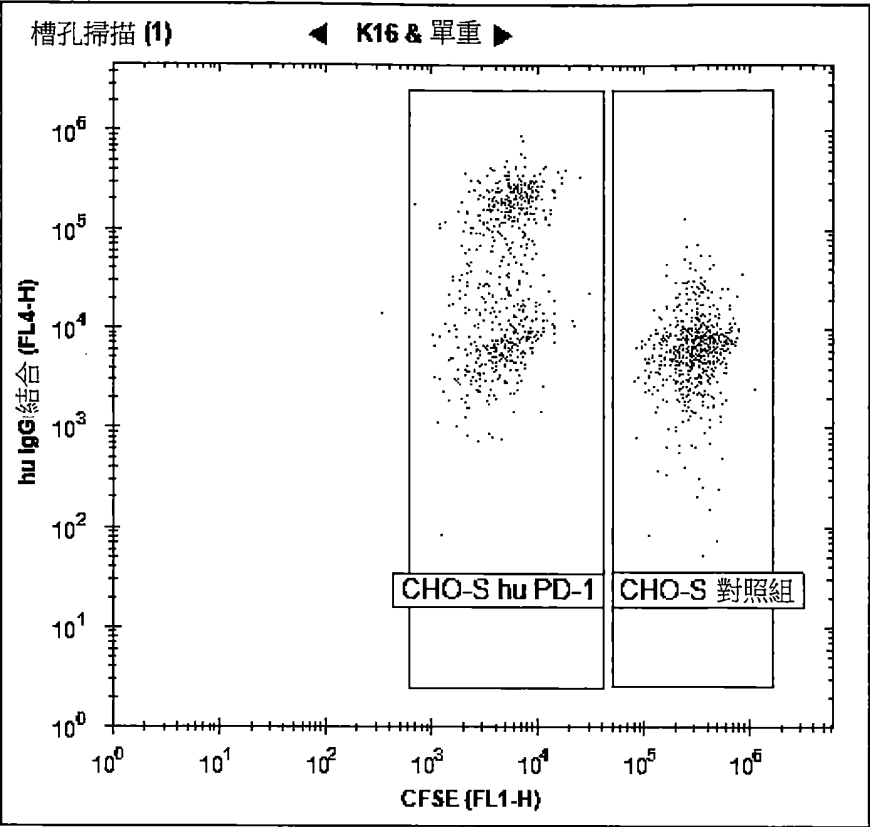


圖 3A

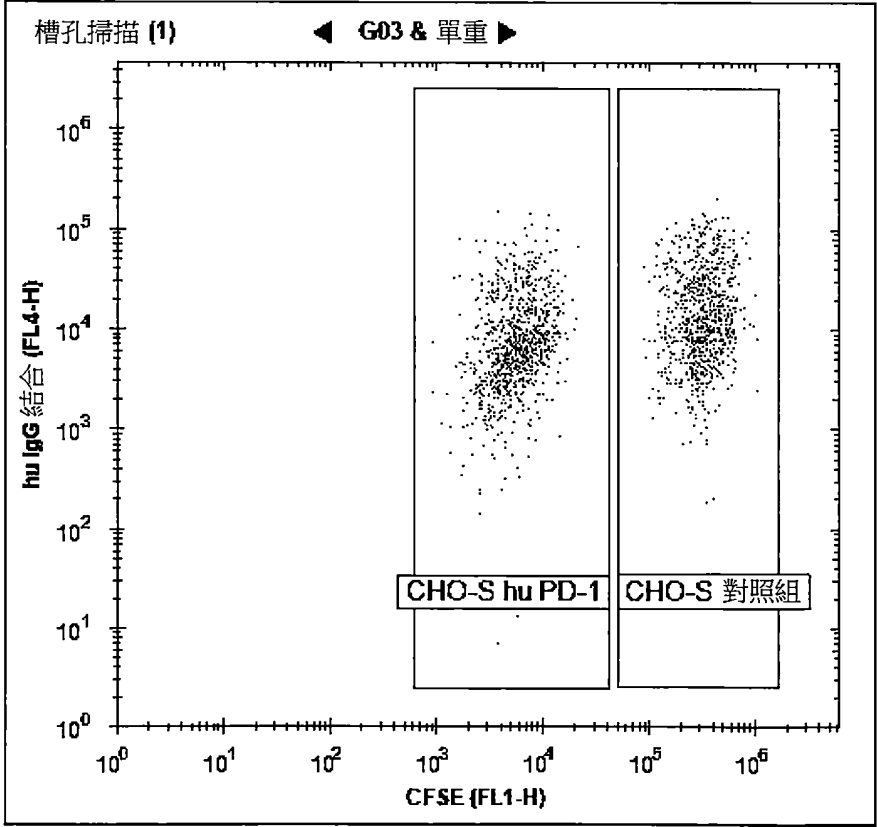


圖 3B

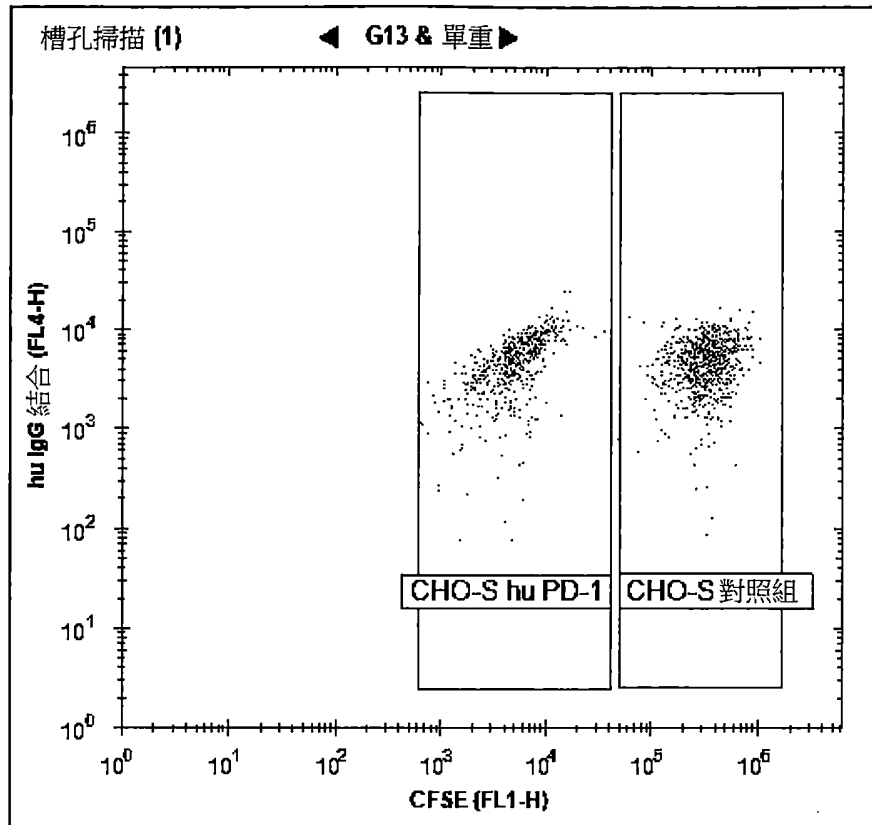


圖 3C

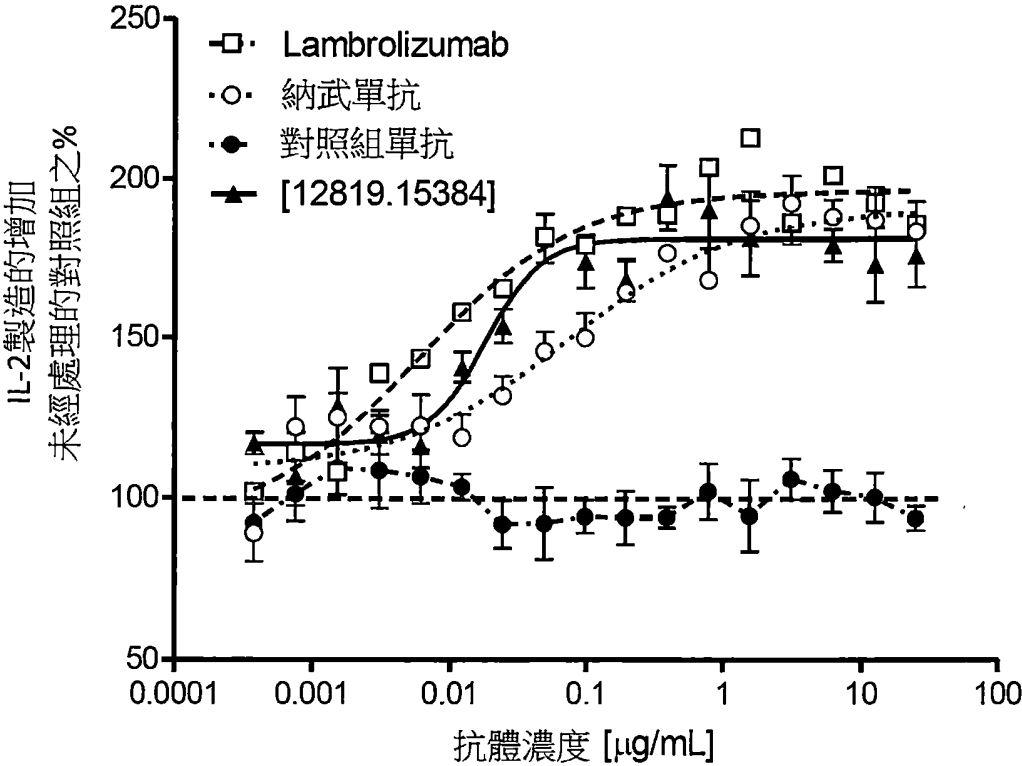


圖 5A

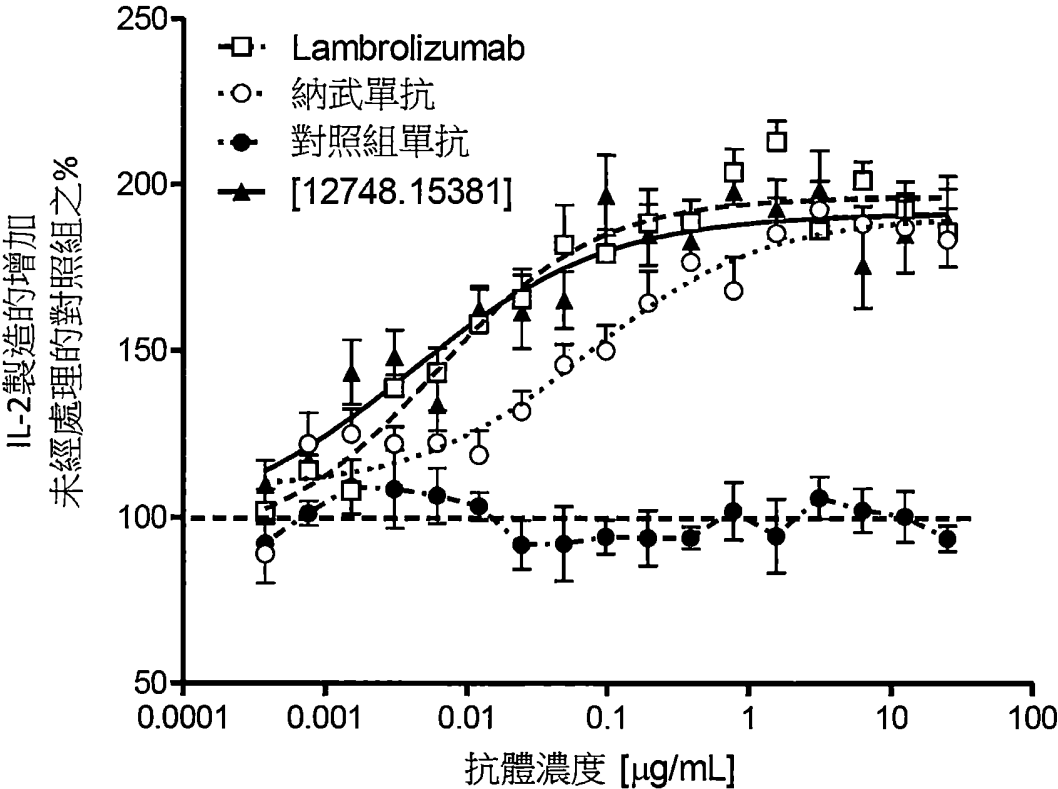


圖 5B

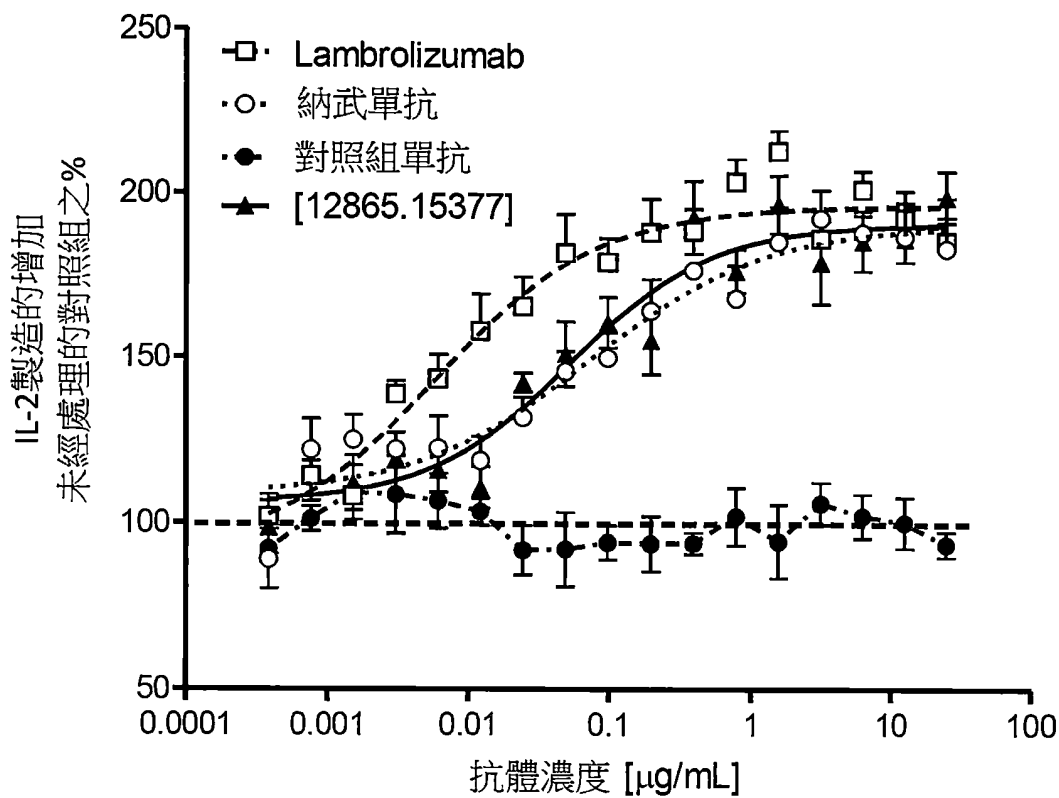


圖 5C

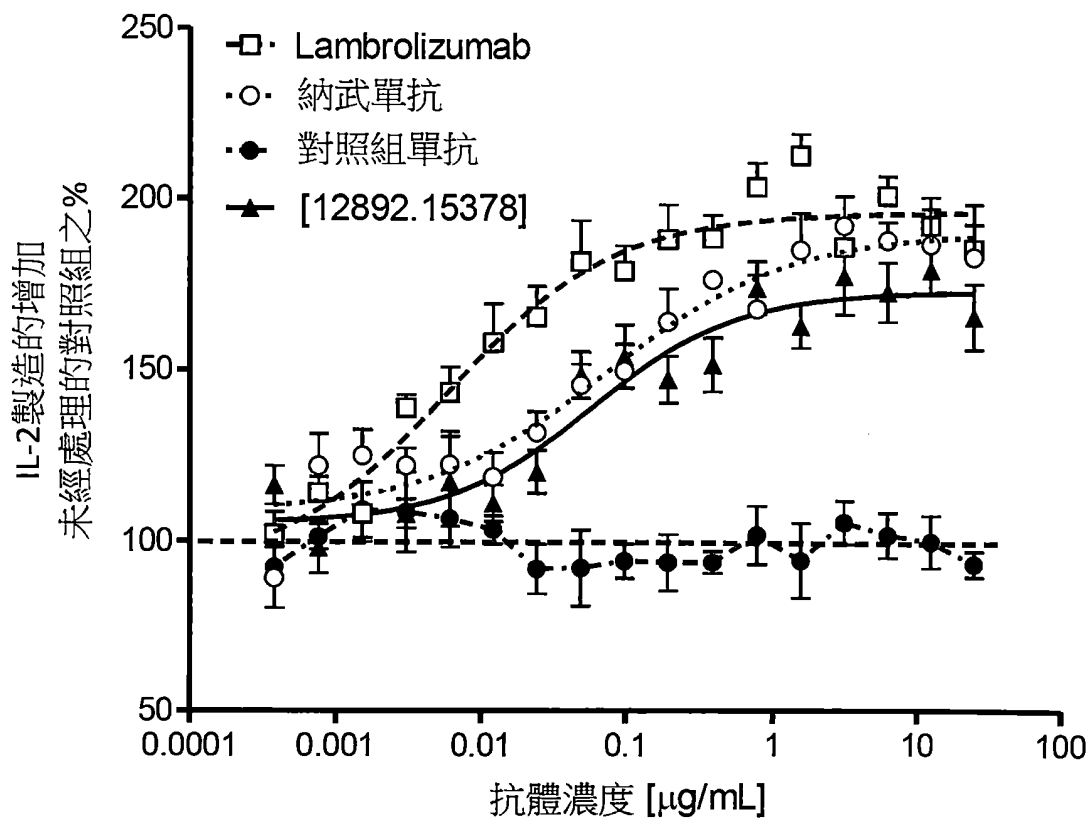


圖 5D

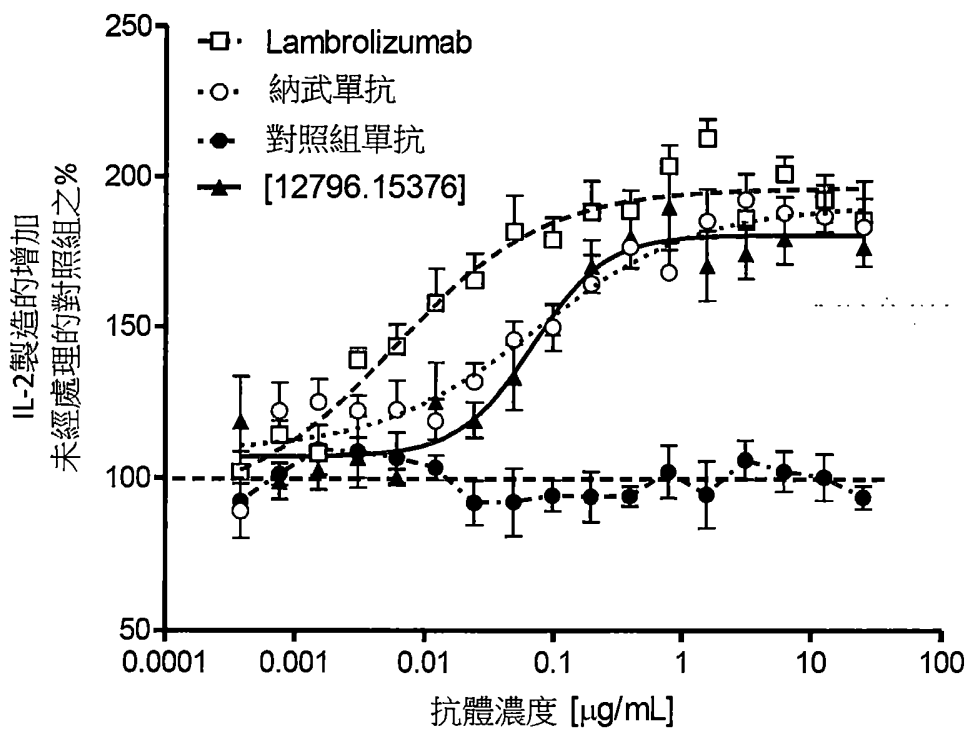


圖 5E

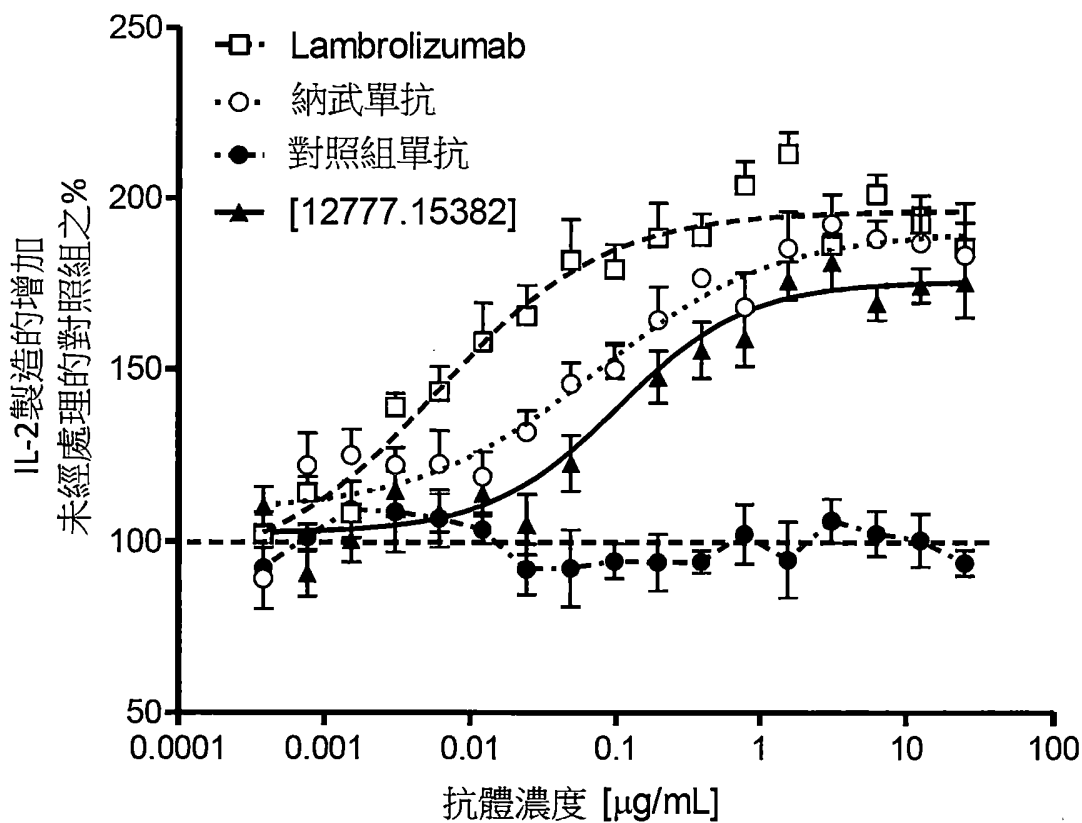


圖 5F

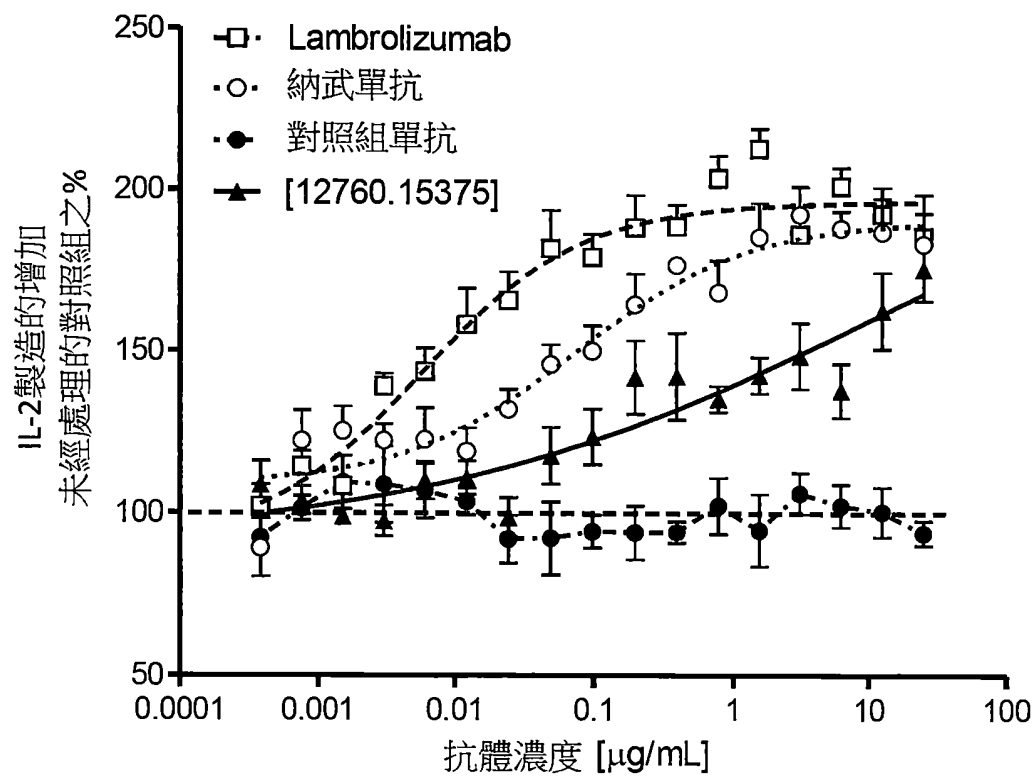


圖 5G

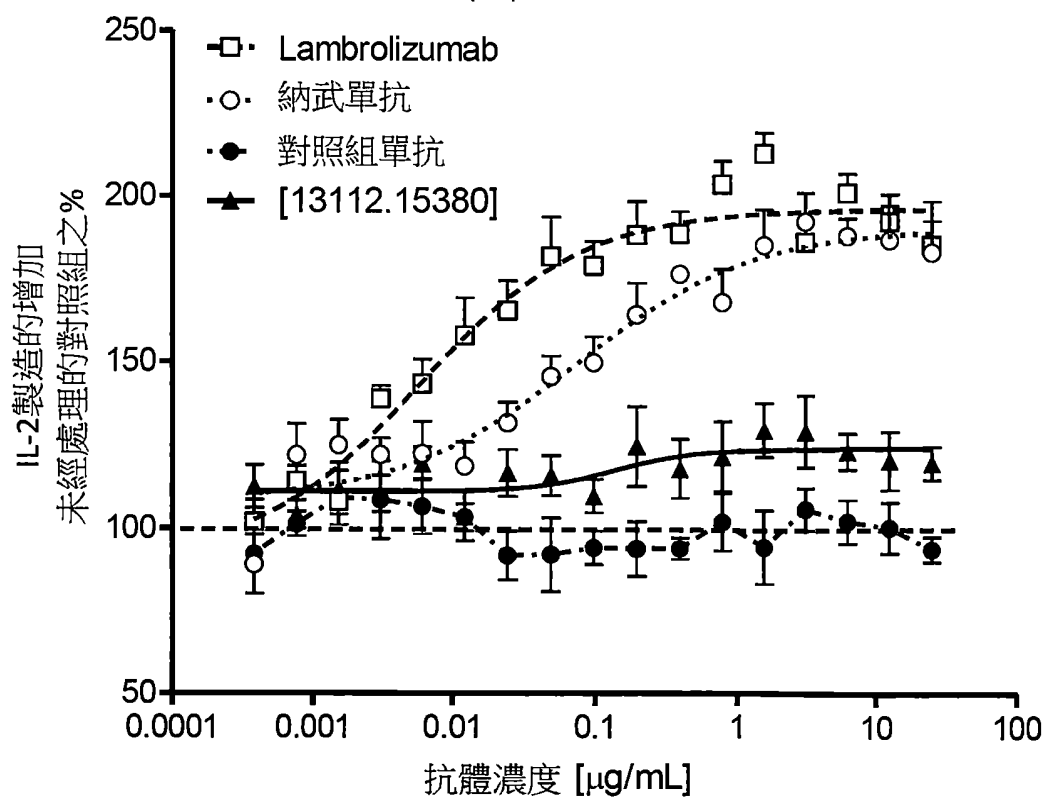


圖 5H

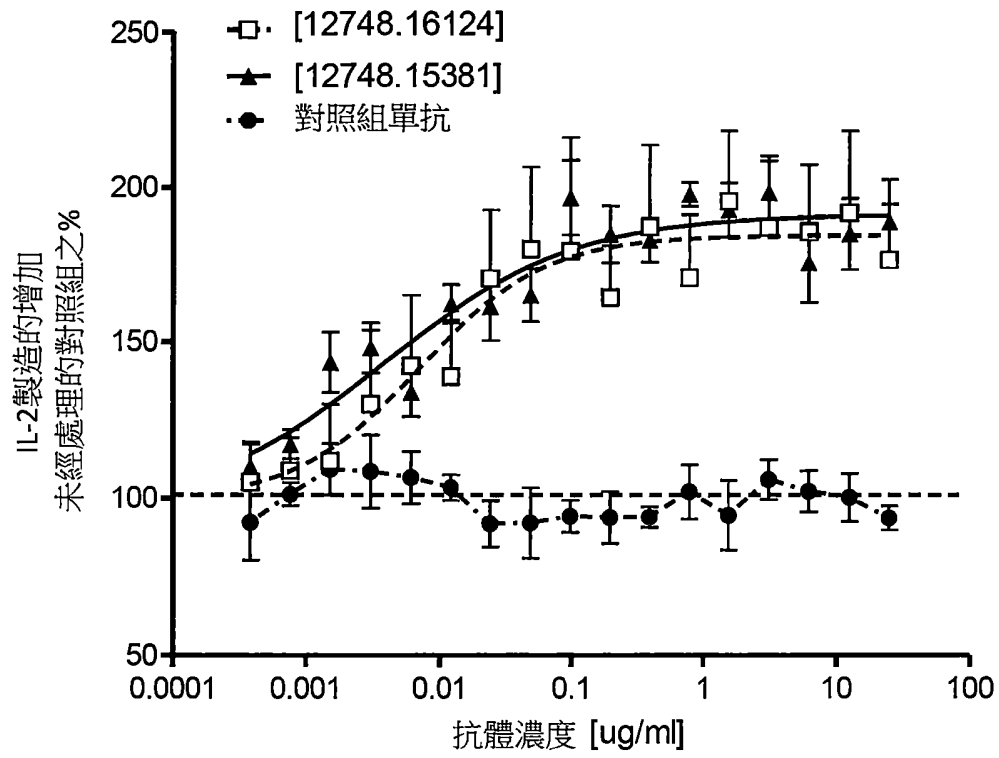


圖 5I

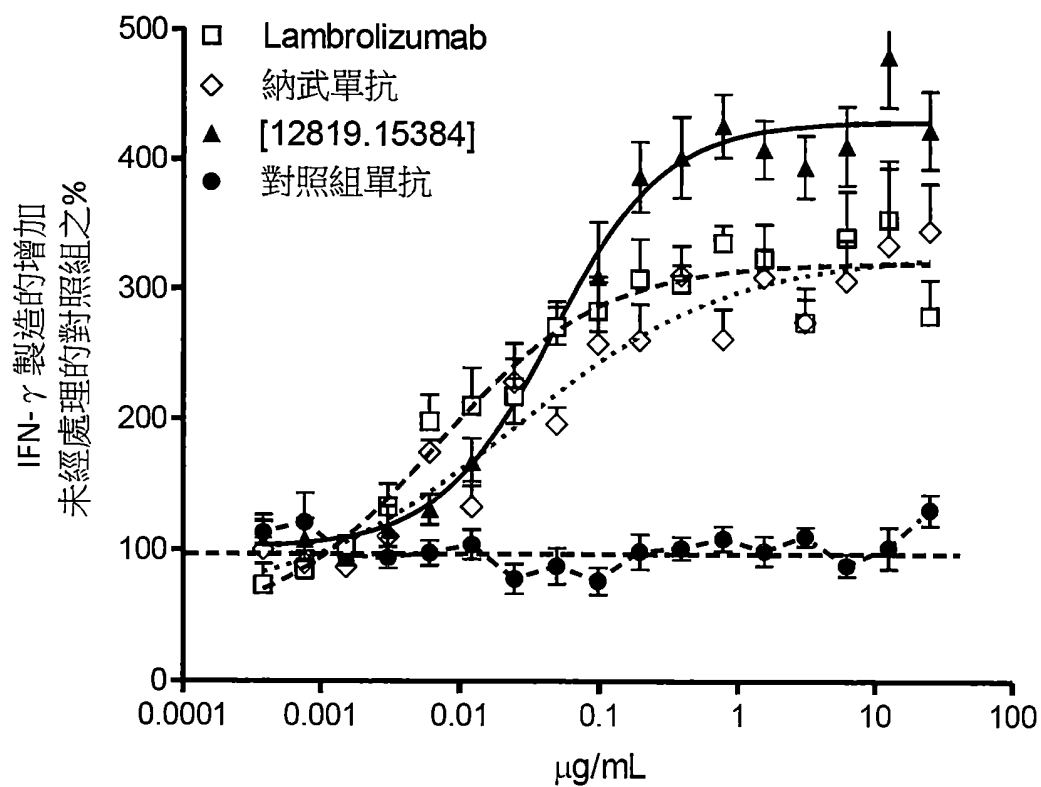


圖 6A

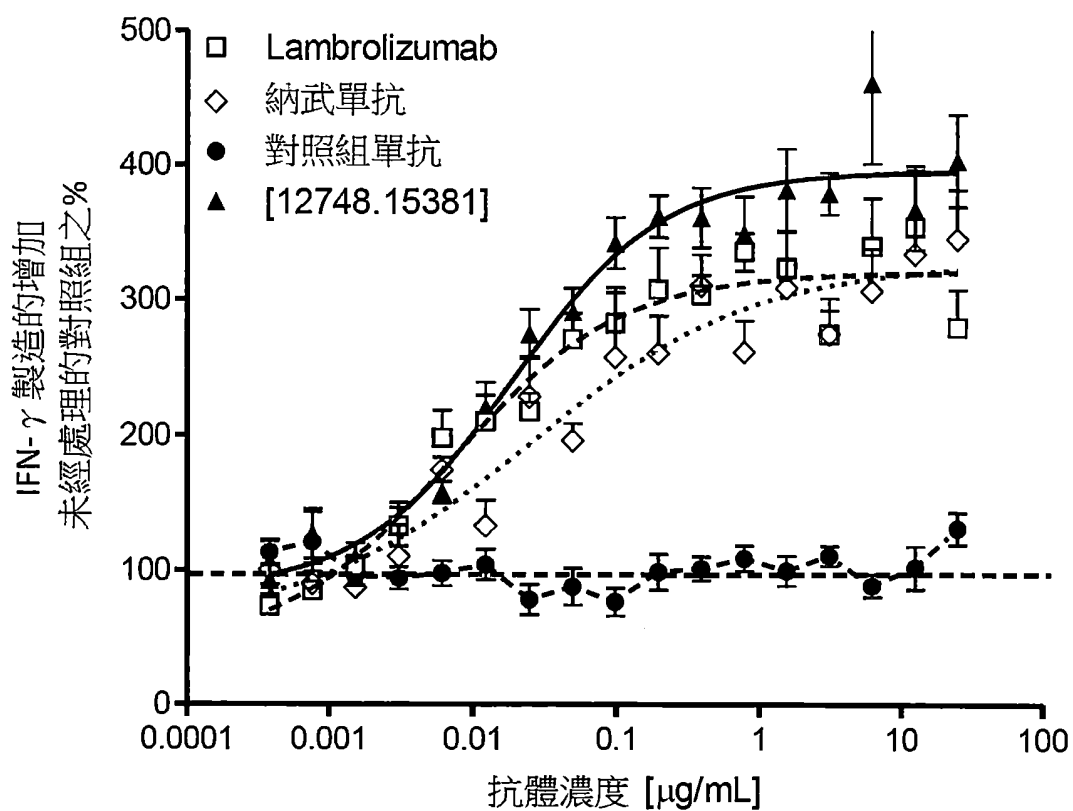


圖 6B

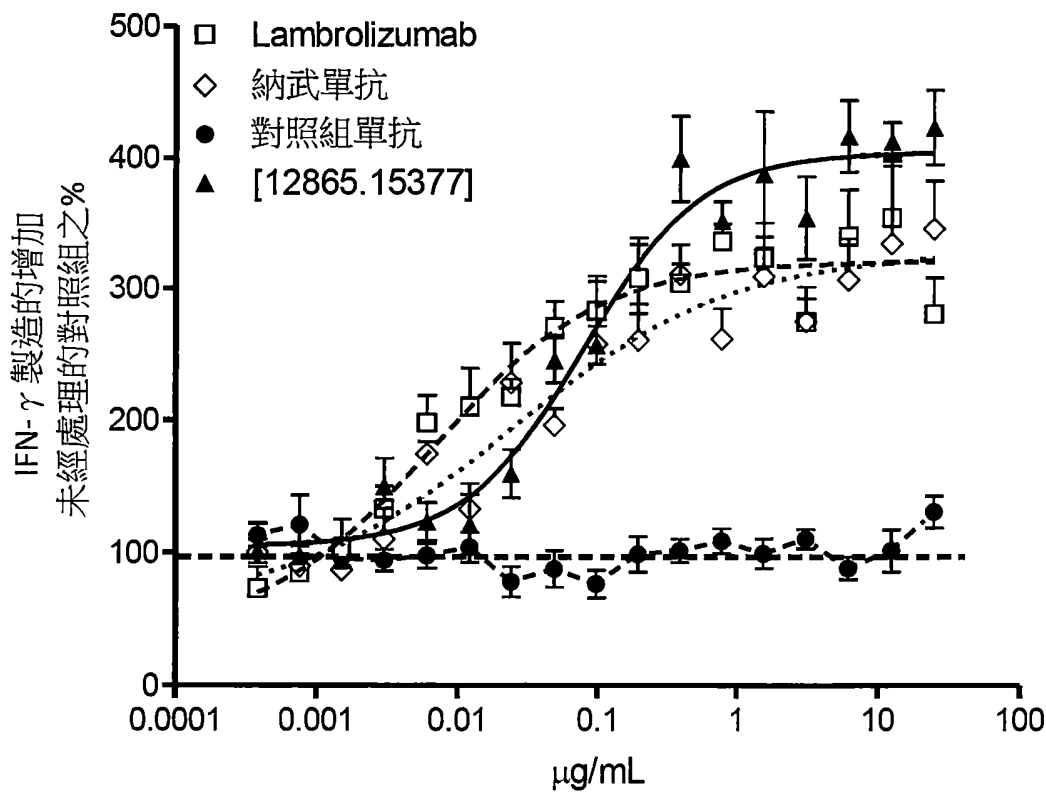


圖 6C

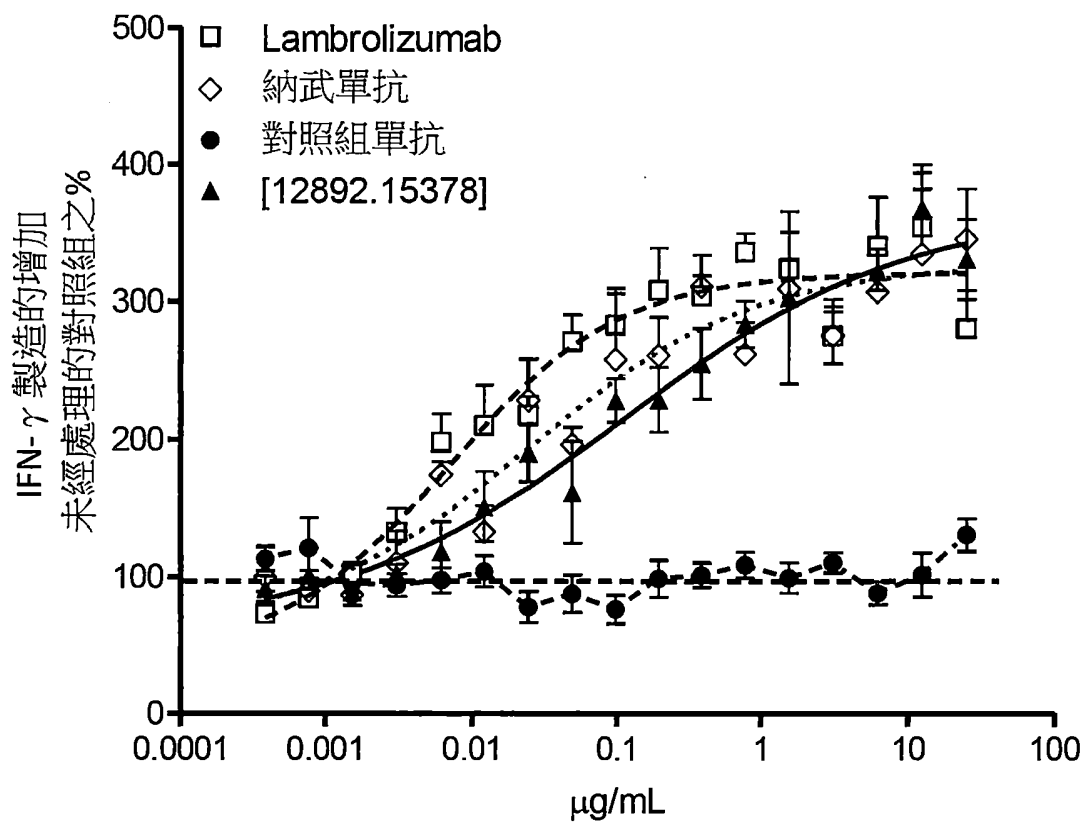


圖 6D

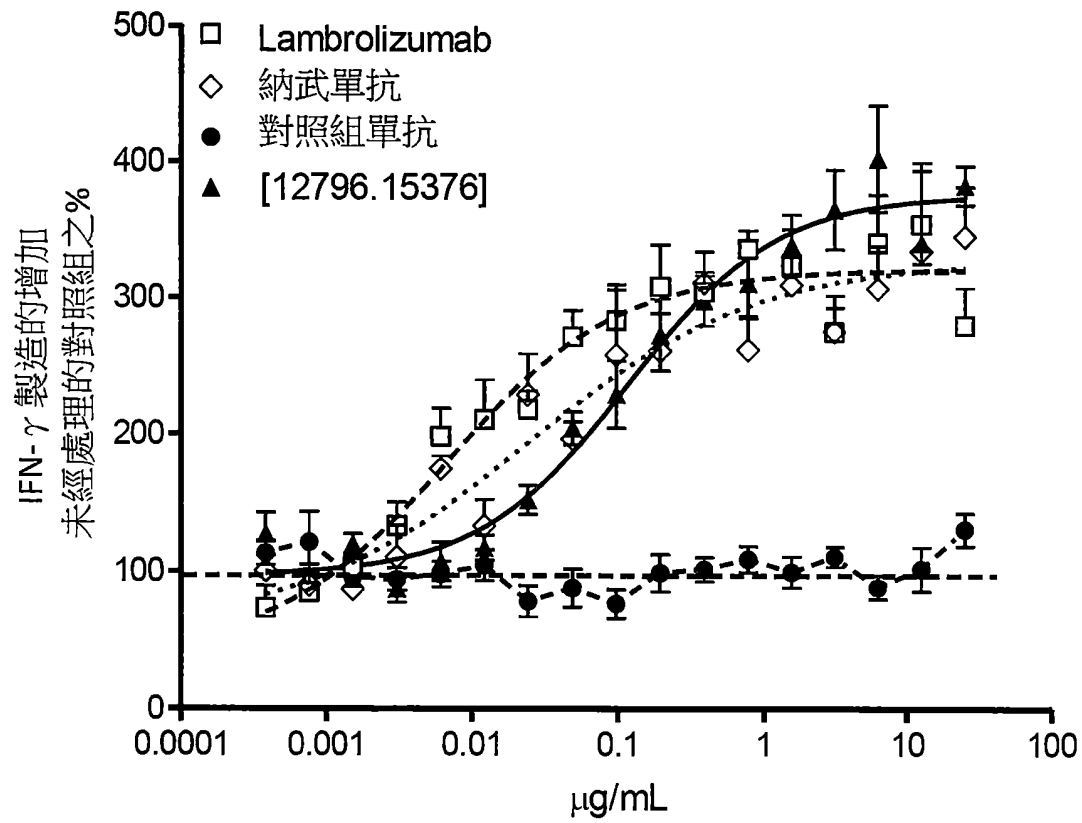


圖 6E

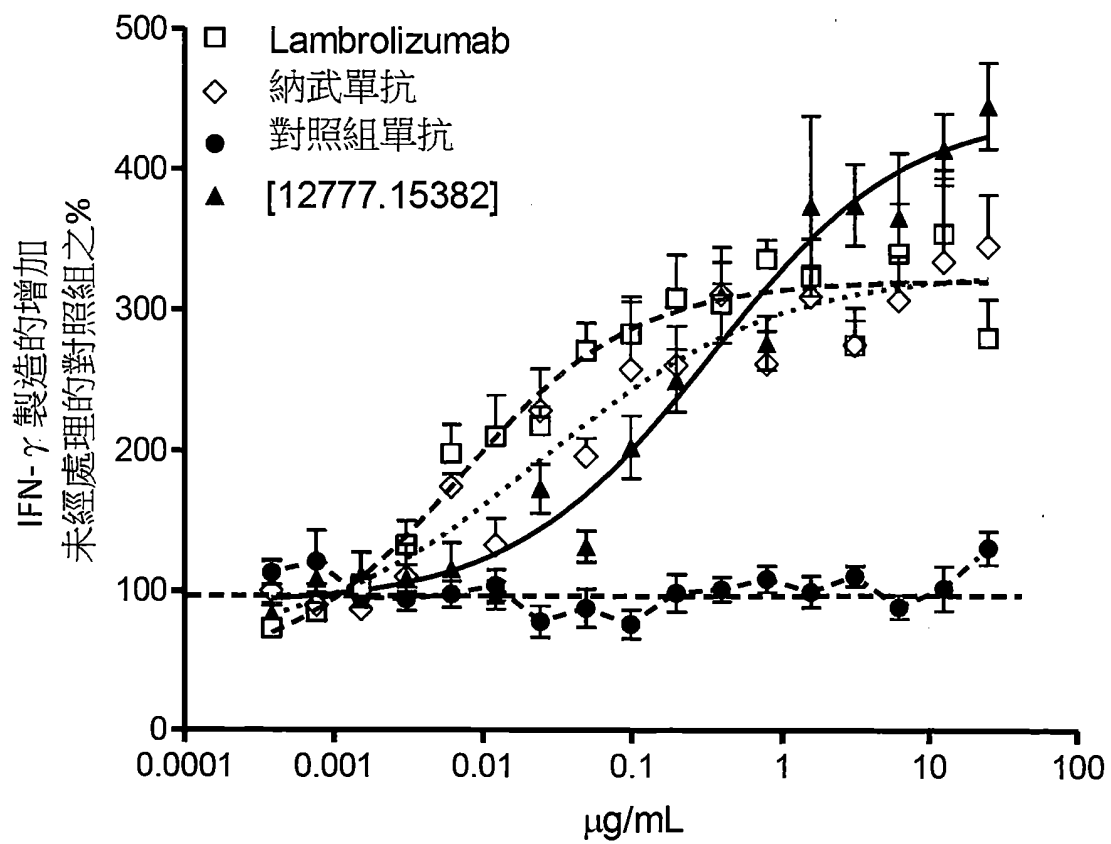


圖 6F

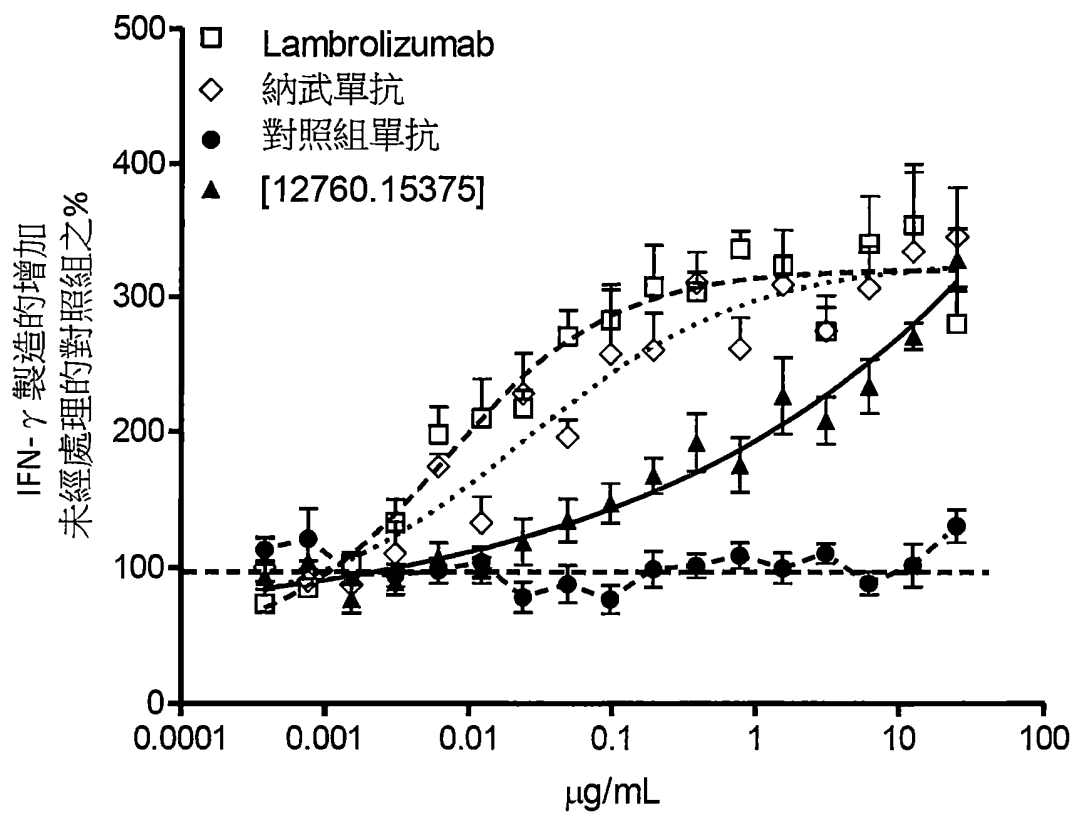


圖 6G

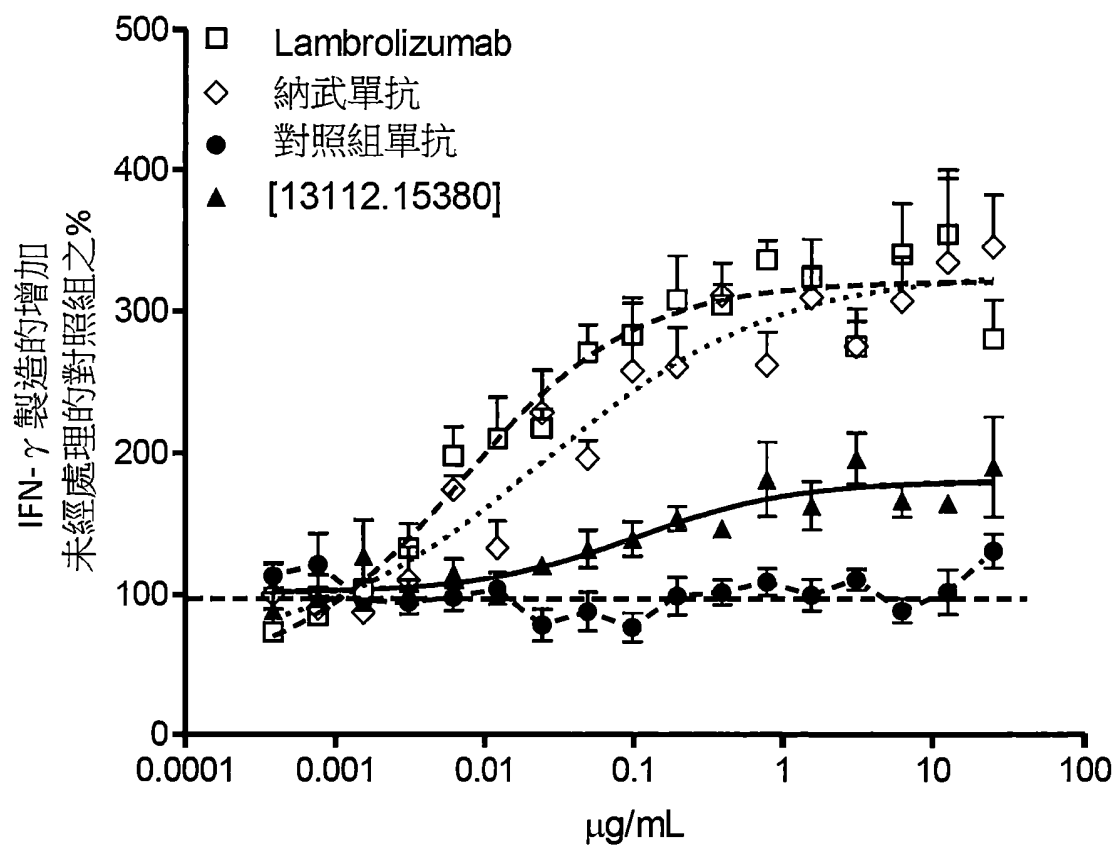


圖 6H

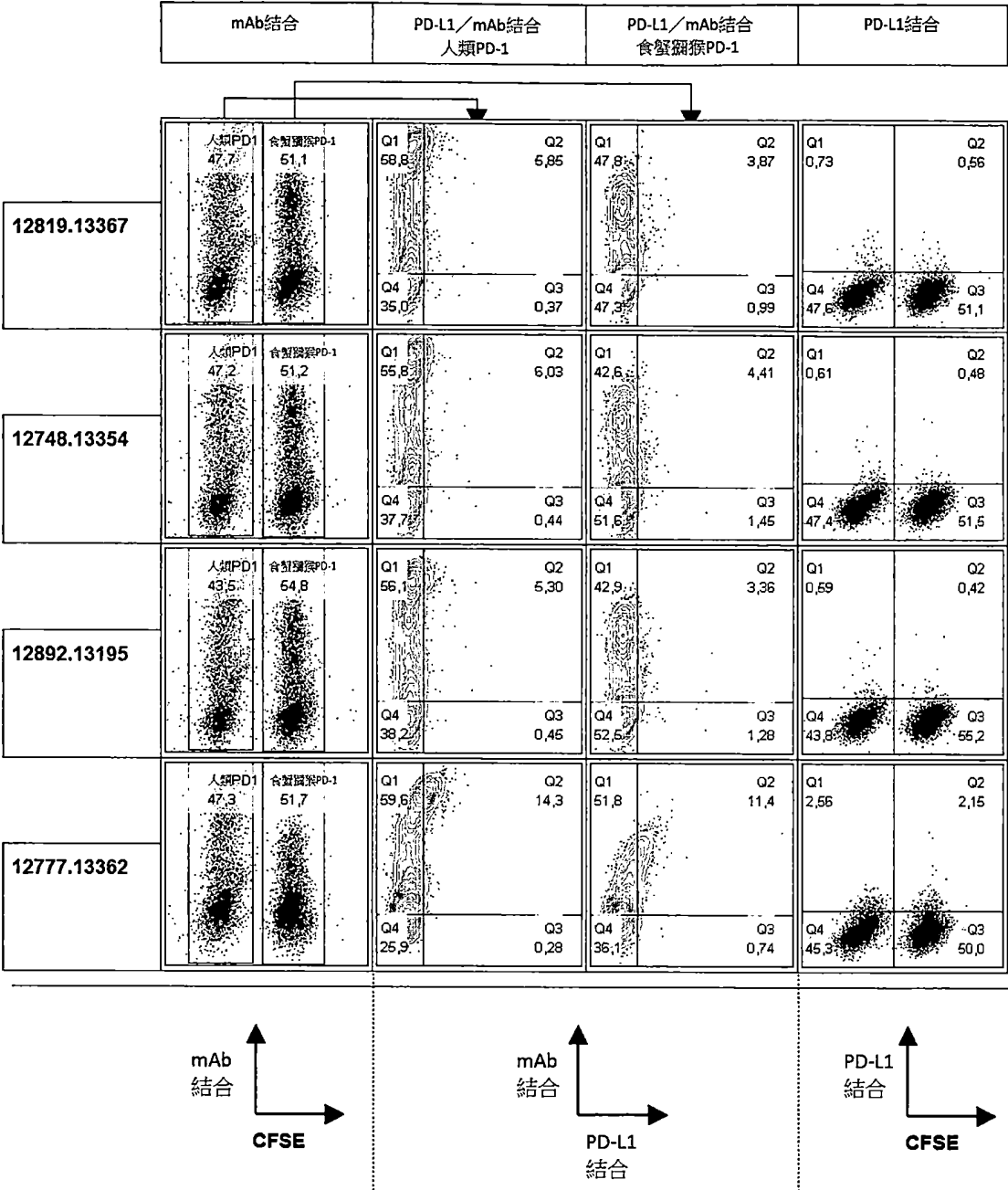


圖 7A

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

抗 PD-1 抗體及組成物

ANTI-PD-1 ANTIBODIES AND COMPOSITIONS

相關申請案之交互參照

【0001】 本申請案根據 2015 年 10 月 2 日提申的美國專利申請案 62/236,341 主張優先權，該申請案之揭示內容係以完整內容以引用方式納入本文中。

序列表

【0002】 本申請案含有序列表，其已以 ASCII 格式電子提交且特此以完整內容納入。該 ASCII 複本（於 2016 年 9 月 28 日創造）名稱為 022675_WO052_SL.txt 且大小係 65,000 位元組。

【技術領域】

【0003】 本發明係關於抗 PD-1 抗體與使用其等治療與 PD-1 活性相關的疾病與病況的方法。

【先前技術】

【0004】 PD-1（亦以計畫性細胞死亡蛋白質 1 與 CD279 見知）為 268 個胺基酸的細胞表面受體，其屬於免疫球蛋白超家族。PD-1 係 T 細胞調節

子之 CD28 家族之成員且係於 T 細胞、B 細胞與巨噬細胞上表現。其與配體 PD-L1（亦以 B7 同源物見知）與 PD-L2（亦以 B7-DC 見知）結合。

【0005】 PD-1 係第 I 型膜蛋白質，其結構包含細胞外 IgV 功能域（domain）、跨膜區域與含有兩個磷酸化位置的細胞內尾部。以免疫查核點蛋白質見知，PD-1 起可誘導性免疫調節受體的作用，於（例如）針對抗原刺激的 T 細胞反應之負調節扮演某種角色。

【0006】 PD-L1 係 PD-1 之優勢配體。PD-L1 與 PD-1 之結合會抑制 T 細胞活性、減少細胞介素生產與抑制 T 細胞增殖。表現 PD-L1 的癌細胞能夠利用此機制來經由 PD-L1 與 PD-1 受體之結合使 T 細胞之抗腫瘤活性失活。

【0007】 考慮到其免疫反應調節特性，已在作為免疫治療（包含治療癌症與自體免疫疾病）之潛在標的方面研究 PD-1。美國與歐洲已核准 T 兩種抗 PD-1 抗體（派姆單抗（pembrolizumab）與納武單抗（nivolumab））用於治療某些癌症。

【0008】 考慮到 PD-1 作為免疫調節子的關鍵角色，存在有對於瞄準 PD-1 以治癌症與某些免疫系統之疾患的新的且改善的免疫治療之需求。

【發明內容】

【0009】 本發明係針對新穎的瞄準 PD-1 的重組抗體、以及包含此等抗體之一或多者的醫藥組成物、以及該等抗體與醫藥組成物用於在患者中增強免疫力的用途與用於治療源自諸如以下者的組織的癌症的用途：皮膚、肺臟、腸、卵巢、腦、前列腺、腎臟、軟組織、造血系統、頭與頸、肝臟、膀胱、乳房、胃、子宮與胰臟。相較於用於如此癌症的目前可得的

繪，其他有註解的基因元件係以白色描繪。

【0048】 圖 3A-3C 顯示以下者之代表性的流式細胞測量術點圖：(A) 與經人類 PD-1 轉染的細胞專一性結合的抗體殖系、(B)與 CHO-S 細胞非專一性結合的殖系、與(C)不與於此篩選中使用的細胞族群之任一者結合的殖系。

【0049】 圖 4 顯示在以 SEB (葡萄球菌屬腸毒素 B) 刺激之前與之後於六個供體 (D1-D6) 中表現 PD-1 的淋巴球之頻率。

【0050】 圖 5A-I 顯示於 SEB 分析中候選抗 PD-1 抗體之滴定。

【0051】 圖 6A-H 顯示於單向 MLR 分析中候選抗 PD-1 抗體之滴定。

【0052】 圖 7A-B 顯示在抗 PD-1 抗體之存在下 PD-L1 與 PD-1 表現性細胞之結合。

【0053】 圖 8 顯示所測試的抗 PD-1 抗體 12866.13188、12807.13177、12819.17149、12865.17150、12892.13195、12777.15382、12760.13169、13112.15380、與納武單抗與派姆單抗類似物的所鑑認的抗原決定基群組 (抗原決定基倉 (epitope bin)) 之概要。以黑線連接的抗體指示有交叉封阻活性。抗體係根據與其他抗 PD-1 抗體的競爭模式分組。Nivo：納武單抗類似物；Pembro：派姆單抗類似物。

【0054】 圖 9(子圖 A-G)顯示抗體抗原決定基在人類 PD-1(PDB 4ZQK 與 2M2D)之結構上的位置。A)人類 PD-1 細胞外功能域(ECD)(殘基 33-150)之草圖。GFCC' 與 ABED β 褶板與 C' -D 環圈之位置被闡明。B)於與於(A)中相同的視角的人類 PD-1:人類 PD-L1 複合體之草圖。C)以密度圖顯示的派姆單抗抗原決定基之分子模型，顏色較深的區域代表介導較強的結合的區

域。黑色的區域代表藉由丙胺酸掃描找到的接觸殘基。D)如於(C)中表現的納武單抗抗原決定基之分子模型。E)如於(C)中表現的 12819 抗體抗原決定基之分子模型。F)如於(C)中表現的 12865 抗體抗原決定基之分子模型。G)如於(C)中表現的非配體封阻性 13112 抗體抗原決定基之分子模型。

【0055】 圖 10(子圖 A-D)顯示於四個同基因腫瘤模型中使用抗 PD-1 抗體 12819、17149 或媒劑處理對腫瘤生長的功效。A) CT26(結腸癌)。B) C38(結腸癌)。C) ASB-XIV(肺癌)。D) Sa1N(纖維肉瘤)。灰色的區域表示處理期間。數據係以平均值 $\pm$ SEM 呈現。* $P < 0.001$ 。

【0056】 圖 11 顯示以抗 PD-1 抗體 12819、17149、派姆單抗(Keytruda[®])、或媒劑處理對經半人類化的異種移植腫瘤模型(其中人類黑色素瘤細胞系 A375 在接種前係與經純化的人類 CD8⁺與 CD4⁺ T 細胞混合)之腫瘤生長的功效。灰色的區域表示處理期間。數據係以平均值 $\pm$ SEM 呈現。* $P < 0.001$ 。

【實施方式】

【0057】 本發明提供新的抗人類 PD-1 抗體，其可用以增強人類患者中的免疫系統(諸如癌症患者)。除非另加陳述，用於本文中，「PD-1」係關於人類 PD-1。人類 PD-1 多肽序列可於 Uniprot 登錄號 Q15116(PDCD1_人類)下獲得，於本文以序列識別號：1 顯示。

【0058】 用於本文中，術語「抗體」(Ab)或「免疫球蛋白」(Ig)係關於由二硫鍵相互連接包含二個重(H)鏈(約 50-70 KDa)與兩個輕(L)鏈(約 25 KDa)的四聚體。各個重鏈包含重鏈可變功能域(V_H)與重鏈恆