



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 117480184 A

(43) 申请公布日 2024. 01. 30

(21) 申请号 202280038600.X

(22) 申请日 2022.06.02

(30) 优先权数据

2021-094689 2021.06.04 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.11.28

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2022/022441 2022.06.02

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/255440 EN 2022.12.08

(71) 申请人 中外制药株式会社

地址 日本国东京都

(72) 发明人 高桥德行 金森正和 杨博

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任
公司 11021

专利代理师 周蕾 张莹

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

权利要求书2页 说明书73页

序列表72页 附图8页

(54) 发明名称

抗DDR2抗体及其用途

(57) 摘要

本发明提供了与DDR2结合的抗DDR2抗体及其使用方法。本发明进一步提供了编码抗DDR2抗体的分离的核酸、包含其的宿主细胞以及产生抗DDR2抗体的方法。本发明进一步提供了抗DDR2抗体在制备药物中的用途。

1. 与盘状蛋白结构域受体2 (DDR2) 结合的分离的抗体。
2. 根据权利要求1所述的分离的抗体,其中所述抗体与DDR2的胞外区结合,特别地其中所述抗体与DDR2的盘状蛋白结构域(DS结构域)、盘状蛋白样结构域(DSL结构域)或胞外近膜结构域(EJXM结构域)结合。
3. 根据权利要求1或2中任一项所述的抗体,其中所述抗体不与DDR1结合。
4. 根据权利要求1至3中任一项所述的抗体,其中所述抗体在包含由SEQ ID NO:77或78的氨基酸31至179限定的序列的全部或部分的表位处结合DDR2。
5. 根据权利要求4所述的抗体,其中所述抗体与不连续表位结合,所述不连续表位包含:SEQ ID NO:77的氨基酸R31、P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、A107、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、V150、F151、L152、D154和R179,或SEQ ID NO:78的R31、P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、A107、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、I150、F151、L152、D154和R179,特别地其中所述抗体与不连续表位结合,所述不连续表位包含:SEQ ID NO:77的氨基酸P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、V150、F151和L152,或SEQ ID NO:78的P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、I150、F151和L152。
6. 根据权利要求1至5中任一项所述的抗体,其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3。
7. 根据权利要求6所述的抗体,其包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的VL序列。
8. 抗体,其与权利要求6或7中任一项所述的抗体结合相同表位,或与权利要求6或7中任一项所述的抗体竞争结合DDR2。
9. 根据权利要求1至8中任一项所述的抗体,其是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。
10. 分离的核酸,其编码权利要求1至9中任一项所述的抗体。
11. 宿主细胞,其包含权利要求10所述的核酸。
12. 产生抗体的方法,其包括培养权利要求11所述的宿主细胞来产生所述抗体。
13. 权利要求1至9中任一项所述的抗体,其用作药物。
14. 根据权利要求1至9中任一项所述的抗体,其用于降低受试者中1型胶原蛋白 α 1 (Col1a1)mRNA水平和/或纤连蛋白1 (Fn1)mRNA水平。
15. 根据权利要求1至9中任一项所述的抗体,其用于治疗纤维化疾病。
16. 根据权利要求15所述的用途的抗体,其中所述纤维化疾病是特发性肺纤维化(IPF)、肾纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、肝硬化、肺纤维化/肺的纤维化、心肌纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、年龄相关性黄斑病变性(AMD)、糖尿病性视网膜病变、增殖性玻璃体视网膜病变(PVR)、青光眼、糖尿病性黄斑水肿(DME)、干眼病、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病(RA-ILD)、MI后心脏瘢痕、心肌病、充血性心力衰竭、酒精性肝硬化、乙型肝炎(HBV)、丙型肝炎(HCV)、血吸虫病、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性胆汁性胆管炎(PBC)、原发性硬化性胆管炎(PSC)、移植肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综

合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、慢性移植物抗宿主病、动脉粥样硬化、囊性纤维化、手术引起的纤维化、烧伤引起的瘢痕和收缩、放射引起的纤维化、肌营养不良症、炎症性肠病 (IBD)、纵隔纤维化或腹膜后纤维化,特别地其中所述纤维化疾病是肺纤维化疾病,更特别地是特发性肺纤维化 (IPF)。

抗DDR2抗体及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及抗DDR2抗体及其使用方法。

背景技术

[0002] 盘状蛋白结构域受体 (DDR) 是哺乳动物细胞中广泛表达的受体酪氨酸激酶 (RTK)。与其他RTK不同,DDR由胶原蛋白激活,胶原蛋白是组织中主要ECM组分中的一种,但不由扩散的细胞因子或生长因子激活 (NPL 1)。此外,DDR还是独特的RTK组,因为它们表现出缓慢且持续的活化/失活动力学 (NPL 1,NPL 2)。

[0003] DDR家族含有两个成员:DDR1和DDR2 (NPL 1)。DDR2的胞外区由N-末端盘状蛋白 (DS) 结构域、随后的DS样 (DSL) 结构域和胞外近膜 (EJXM) 结构域组成 (NPL 3,NPL 4)。已报道DDR2的DS结构域负责胶原蛋白结合 (NPL 5)。然而,其余胞外结构域的生物学功能仍未知。

[0004] DDR2涉及癌症、骨关节炎和各种纤维化疾病 (NPL 6,NPL 7)。纤维化是许多慢性疾病的并发症,进行性纤维化可能导致器官衰竭或死亡。纤维化的主要特征是活化的成纤维细胞的蓄积和胞外基质成分 (特别是胶原蛋白) 的不平衡沉积/降解 (NPL 8)。DDR2作为胶原蛋白受体,与其他类型相比,其在间充质原始细胞 (例如成纤维细胞等) 中高表达 (NPL 9)。此外,DDR2还在纤维化发展过程中的成纤维细胞增殖、迁移和活化中发挥重要作用 (NPL 10,NPL 11)。已获得用于癌症治疗的针对DDR2的抗体 (PTL 1)。然而,尚未评价DDR2是否是各种纤维化疾病的有效治疗靶点。

[0005] 引用列表

[0006] 专利文献

[0007] [PTL 1]W02008070090

[0008] 非专利文献

[0009] [NPL 1]W.Vogel,G.D.Gish,F.Alves,T.Pawson,The discoidin domain receptor tyrosine kinases are activated by collagen.Molecular cell 1,13-23 (1997) .

[0010] [NPL 2]A.Shrivastava et al.,An orphan receptor tyrosine kinase family whose members serve as nonintegrin collagen receptors.Molecular cell 1,25-34 (1997) .

[0011] [NPL 3]S.Baumgartner,K.Hofmann,R.Chiquet-Ehrismann,P.Bucher,The discoidin domain family revisited:new members from prokaryotes and a homology-based fold prediction.Protein science:a publication of the Protein Society 7,1626-1631(1998) .

[0012] [NPL 4]M.A.Lemmon,J.Schlessinger,Cell signaling by receptor tyrosine kinases.Cell 141,1117-1134(2010) .

[0013] [NPL 5]B.Leitinger,Molecular analysis of collagen binding by the

human discoidin domain receptors, DDR1 and DDR2. Identification of collagen binding sites in DDR2. *The Journal of biological chemistry* 278, 16761-16769 (2003).

[0014] [NPL 6] C.M. Borza, A. Pozzi, Discoidin domain receptors in disease. *Matrix biology: journal of the International Society for Matrix Biology* 34, 185-192 (2014).

[0015] [NPL 7] B. Leitinger, Discoidin domain receptor functions in physiological and pathological conditions. *Int Rev Cell Mol Biol* 310, 39-87 (2014).

[0016] [NPL 8] T.A. Wynn, T.R. Ramalingam, Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat Med* 18, 1028-1040 (2012).

[0017] [NPL 9] F. Alves et al., Distinct structural characteristics of discoidin I subfamily receptor tyrosine kinases and complementary expression in human cancer. *Oncogene* 10, 609-618 (1995).

[0018] [NPL 10] E. Olaso et al., Discoidin Domain Receptor 2 Regulates Fibroblast Proliferation and Migration through the Extracellular Matrix in Association with Transcriptional Activation of Matrix Metalloproteinase-2*. *Journal of Biological Chemistry* 277, 3606-3613 (2002).

[0019] [NPL 11] H. Zhao et al., Targeting of Discoidin Domain Receptor 2 (DDR2) Prevents Myofibroblast Activation and Neovessel Formation During Pulmonary Fibrosis. *Mol Ther* 24, 1734-1744 (2016).

[0020] [NPL 12] K. Roach et al., Evaluation of Pirfenidone and Nintedanib in a Human Lung Model of Fibrogenesis. *Front. Pharmacol.* 12, 679388 (2021).

[0021] [NPL 13] E. Conte et al., Molecular mechanisms of pirfenidone activity in human lung fibroblasts. *European Respiratory Journal* 44, P825 (2014).

[0022] [NPL 14] L. Wollin et al., Mode of action of nintedanib in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *European Respiratory Journal* 45, 1434-1445 (2015).

[0023] [NPL 15] L. Chen et al., Recent Advances in the Role of Discoidin Domain Receptor Tyrosine Kinase 1 and Discoidin Domain Receptor Tyrosine Kinase 2 in Breast and Ovarian Cancer. *Front. Cell Dev. Biol* 9, 747314 (2021).

[0024] [NPL 16] S. Jia et al., Discoidin Domain Receptor 2 Signaling Regulates Fibroblast Apoptosis through PDK1/Akt. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 59(3), 295-305 (2018).

[0025] [NPL 17] W.A. Denny et al., Inhibitors of Discoidin Domain Receptor (DDR) Kinases for Cancer and Inflammation. *Biomolecules* 11(11), 1671 (2021).

[0026] [NPL 18] J. Tashiro et al., Exploring Animal Models that Resemble Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Front Med* 4, 118 (2017).

[0027] [NPL 19] T. Liu et al., The Bleomycin Model of Pulmonary

Fibrosis.Methods Mol Biol 1627,27-42(2017).

[0028] [NPL 20]D Toren et al.,Systems biology analysis of lung fibrosis-related genes in the bleomycin mouse model.Sci Rep 11,19269(2021).

发明内容

[0029] 技术问题

[0030] 本发明提供了抗DDR2抗体及其使用方法。

[0031] 问题的解决方案

[0032] 本公开提供了以下内容：

[0033] [A1]与盘状蛋白结构域受体2(DDR2)结合的分离的抗体。

[0034] [A2]与DDR2的胞外区结合的分离的抗体。

[0035] [A3]分离的抗体,其与DDR2的盘状蛋白结构域(DS结构域)、盘状蛋白样结构域(DSL结构域)或胞外近膜结构域(EJXM结构域)结合。

[0036] [A4][A1]至[A3]中任一项的抗体,其中该抗体与人DDR2和/或小鼠DDR2结合。

[0037] [A5][A1]至[A3]中任一项的抗体,其中该抗体与包含SEQ ID NO:78所示氨基酸序列的人DDR2和/或包含SEQ ID NO:77所示氨基酸序列的小鼠DDR2结合。

[0038] [A6][A1]至[A5]中任一项的抗体,其中该抗体不与DDR1结合。

[0039] [A7][A1]至[A5]中任一项的抗体,其中该抗体不与人DDR1a、人DDR1b、人DDR1c、人DDR1d、人DDR1e和/或小鼠DDR1结合。

[0040] [A8][A6]或[A7]中任一项的抗体,其中该抗体不与以下结合:包含SEQ ID NO:81所示氨基酸序列的人DDR1a、包含SEQ ID NO:80所示氨基酸序列的人DDR1b、包含SEQ ID NO:82所示氨基酸序列的人DDR1c、包含SEQ ID NO:83所示氨基酸序列的人DDR1d、包含SEQ ID NO:84所示氨基酸序列的人DDR1e和/或包含SEQ ID NO:79所示氨基酸序列的小鼠DDR1。

[0041] [A9][A1]至[A8]中任一项的抗体,其中该抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸22至399的区域结合。

[0042] [A10][A1]至[A9]中任一项的抗体,其中该抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸22至191的区域、或氨基酸32至184的区域、或氨基酸30至185的区域、或氨基酸28-187的区域结合。

[0043] [A11][A1]至[A9]中任一项的抗体,其中该抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸200至367的区域、或氨基酸188至367的区域结合。

[0044] [A12][A1]至[A9]中任一项的抗体,其中该抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸368至399的区域结合。

[0045] [A13][A1]至[A12]中任一项的抗体,其中该抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸24至399的区域、或氨基酸22至399的区域结合。

[0046] [A14][A1]至[A13]中任一项的抗体,其中该抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸24至191的区域、或氨基酸32至184的区域、或氨基酸30至185的区域、或氨基酸28至187的区域结合。

[0047] [A15][A1]至[A13]中任一项的抗体,其中该抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸200至367的区域、或氨基酸188至367的区域结合。

[0048] [A16][A1]至[A13]中任一项的抗体,其中该抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸368至

399的区域结合。

[0049] [A17][A1]至[A13]中任一项的抗体,其中该抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸201至393的区域结合。

[0050] [A18][A1]至[A13]中任一项的抗体,其中该抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸24至200的区域结合。

[0051] [A19][A1]至[A18]中任一项的抗体,其中该抗体不与SEQ ID NO:79的氨基酸22至415的区域结合。

[0052] [A20][A1]至[A19]中任一项的抗体,其中该抗体不与SEQ ID NO:81的氨基酸21至417的区域结合。

[0053] [A21][A1]至[A20]中任一项的抗体,其中该抗体不与SEQ ID NO:80的氨基酸21至417的区域结合。

[0054] [A22][A1]至[A21]中任一项的抗体,其中该抗体不与SEQ ID NO:82的氨基酸21至417的区域结合。

[0055] [A23][A1]至[A22]中任一项的抗体,其中该抗体不与SEQ ID NO:83的氨基酸21至417的区域结合。

[0056] [A24][A1]至[A23]中任一项的抗体,其中该抗体不与SEQ ID NO:84的氨基酸21至417的区域结合。

[0057] [A25][A1]至[A24]中任一项的抗体,其中该抗体包含以下(a1)至(a9)中的任一项:

[0058] (a1)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3;

[0059] (a2)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3;

[0060] (a3)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3;

[0061] (a4)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3;

[0062] (a5)包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3;

[0063] (a6)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3;

[0064] (a7)包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3;

[0065] (a8)包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3;

[0066] (a9)包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3。

[0067] [A26][A25]的抗体,进一步包含以下(b1)至(b9)中的任一项:

[0068] (b1)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的

HVR-L2和包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3;

[0069] (b2) 包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3;

[0070] (b3) 包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3;

[0071] (b4) 包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3;

[0072] (b5) 包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3;

[0073] (b6) 包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3;

[0074] (b7) 包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3;

[0075] (b8) 包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3;

[0076] (b9) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3。

[0077] [A27][A1]至[A26]中任一项的抗体,其中该抗体是以下(c1)至(c11)中的任一项:

[0078] (c1) 包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3的抗体;

[0079] (c2) 包含含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3的抗体;

[0080] (c3) 包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3的抗体;

[0081] (c4) 包含含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3的抗体;

[0082] (c5) 包含含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3的抗体;

[0083] (c6) 包含含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:43的氨基酸

序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；

[0084] (c7) 包含含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；

[0085] (c8) 包含含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；

[0086] (c9) 包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；

[0087] (c10) 与(c1)至(c9)中任一项的相同表位结合的抗体；

[0088] (c11) 与(c1)至(c9)中任一项竞争结合DDR2的抗体。

[0089] [A28][A1]至[A27]中任一项的抗体,其中该抗体是以下(d1)至(d10)中的任一项；

[0090] (d1) 包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的VL序列的抗体；

[0091] (d2) 包含具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VL序列的抗体；

[0092] (d3) 包含具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VL序列的抗体；

[0093] (d4) 包含具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VL序列的抗体；

[0094] (d5) 包含具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL序列的抗体；

[0095] (d6) 包含具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL序列的抗体；

[0096] (d7) 包含具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VL序列的抗体；

[0097] (d8) 包含具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL序列的抗体；

[0098] (d9) 包含具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL序列的抗体；

[0099] (d10) 包含(i)与SEQ ID NO:1、9、17、25、33、41、49、57和65的氨基酸序列中的任一个具有至少95%序列同一性的VH序列；和(ii)与SEQ ID NO:5、13、21、29、37、45、53、61和69的氨基酸序列中的任一个具有至少95%序列同一性的VL序列；或(iii)如(i)中的VH序列和

如(ii)中的VL序列的抗体。

[0100] [A29][A1]至[A28]中任一项的抗体,其中该抗体是以下(e1)至(e10)中的任一项:

[0101] (e1)包含具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:86的氨基酸序列的轻链的抗体;

[0102] (e2)包含具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:88的氨基酸序列的轻链的抗体;

[0103] (e3)包含具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链的抗体;

[0104] (e4)包含具有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的轻链的抗体;

[0105] (e5)包含具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列的轻链的抗体;

[0106] (e6)包含具有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的轻链的抗体;

[0107] (e7)包含具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的轻链的抗体;

[0108] (e8)包含具有SEQ ID NO:99的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链的抗体;

[0109] (e9)包含具有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的轻链的抗体;

[0110] (e10)包含(i)与SEQ ID NO:85、87、89、91、93、95、97、99和101的氨基酸序列中的任一个具有至少95%序列同一性的重链;(ii)与SEQ ID NO:86、88、90、92、94、96、98、100和102的氨基酸序列中的任一个具有至少95%序列同一性的轻链;或(iii)如(i)中的重链序列和如(ii)中的轻链序列的抗体。

[0111] [A30][A1]至[A29]中任一项的抗体,其是单克隆抗体。

[0112] [A31][A1]至[A30]中任一项的抗体,其是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。

[0113] [A32][A1]至[A31]中任一项的抗体,其是与DDR2结合的抗体片段。

[0114] [A33]分离的抗体,其与盘状蛋白结构域受体2(DDR2)结合并与包含以下任一项的抗体结合相同表位:

[0115] (c1)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3,以及包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3;

[0116] (c2)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3;

[0117] (c3)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:22的氨基酸序

列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3;

[0118] (c4) 包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3;

[0119] (c5) 包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3;

[0120] (c6) 包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3;

[0121] (c7) 包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3;

[0122] (c8) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3;

[0123] (c9) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3。

[0124] [A34]分离的抗体,其与盘状蛋白结构域受体2(DDR2)结合并与(c1)至(c9)中任一项竞争结合DDR2:

[0125] (c1) 包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3,以及包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3;

[0126] (c2) 包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3;

[0127] (c3) 包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列

的HVR-L3;

[0128] (c4) 包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3;

[0129] (c5) 包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3;

[0130] (c6) 包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3;

[0131] (c7) 包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3;

[0132] (c8) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3;

[0133] (c9) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1、包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2和包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3;以及包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1、包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2和包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3。

[0134] [A35]分离的抗体,其与盘状蛋白结构域受体2(DDR2)结合并与以下抗体结合相同表位:

[0135] (d1) 包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的VL序列的抗体;

[0136] (d2) 包含具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VL序列的抗体;

[0137] (d3) 包含具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VL序列的抗体;

[0138] (d4) 包含具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VL序列的抗体;

[0139] (d5) 包含具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL序列的抗体;

[0140] (d6) 包含具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL序列的抗体;

- [0141] (d7) 包含具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VL序列的抗体；
- [0142] (d8) 包含具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL序列的抗体；
- [0143] (d9) 包含具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL序列的抗体。
- [0144] [A36]分离的抗体,其与盘状蛋白结构域受体2(DDR2)结合并与(d1)至(d9)中的任一项竞争结合DDR2:
- [0145] (d1) 包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的VL序列的抗体；
- [0146] (d2) 包含具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VL序列的抗体；
- [0147] (d3) 包含具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VL序列的抗体；
- [0148] (d4) 包含具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VL序列的抗体；
- [0149] (d5) 包含具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VL序列的抗体；
- [0150] (d6) 包含具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL序列的抗体；
- [0151] (d7) 包含具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VL序列的抗体；
- [0152] (d8) 包含具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VL序列的抗体；
- [0153] (d9) 包含具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL序列的抗体。
- [0154] [A37]分离的抗体,其与盘状蛋白结构域受体2(DDR2)结合并与以下抗体结合相同表位:
- [0155] (e1) 包含具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:86的氨基酸序列的轻链的抗体；
- [0156] (e2) 包含具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:88的氨基酸序列的轻链的抗体；
- [0157] (e3) 包含具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链的抗体；
- [0158] (e4) 包含具有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的轻链的抗体；
- [0159] (e5) 包含具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列的轻链的抗体；
- [0160] (e6) 包含具有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:96的氨基酸

序列的轻链的抗体；

[0161] (e7) 包含具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的轻链的抗体；

[0162] (e8) 包含具有SEQ ID NO:99的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链的抗体；

[0163] (e9) 包含具有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的轻链的抗体。

[0164] [A38]分离的抗体,其与盘状蛋白结构域受体2(DDR2)结合并与(e1)至(e9)中的任一项竞争结合DDR2:

[0165] (e1) 包含具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:86的氨基酸序列的轻链的抗体；

[0166] (e2) 包含具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:88的氨基酸序列的轻链的抗体；

[0167] (e3) 包含具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的轻链的抗体；

[0168] (e4) 包含具有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的轻链的抗体；

[0169] (e5) 包含具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列的轻链的抗体；

[0170] (e6) 包含具有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的轻链的抗体；

[0171] (e7) 包含具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的轻链的抗体；

[0172] (e8) 包含具有SEQ ID NO:99的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链的抗体；

[0173] (e9) 包含具有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的轻链的抗体。

[0174] [A39][A33]或[A35]或[A37]的抗体,其中表位通过X射线衍射分析确定。

[0175] [A40][A1]至[A39]中任一项的抗体,其中该抗体在包含由SEQ ID NO:77或78的氨基酸31至179限定的序列的全部或部分的表位处结合DDR2。

[0176] [A41][A40]的抗体,其中该抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸R31、P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、A107、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、V150、F151、L152、D154和R179中的至少一个或多个或全部结合。

[0177] [A42][A41]的抗体,其中该抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、V150、F151和L152中的至少一个或多个或全部结合。

[0178] [A43][A40]的抗体,其中该抗体与氨基酸SEQ ID NO:78的R31、P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、A107、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、I150、F151、L152、D154和R179中的至少一个或多个或全部结合。

[0179] [A44][A43]的抗体,其中该抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、I150、F151和L152中的至少一个或多个或全部结合。

[0180] 本发明还提供了以下内容:

[0181] [B1]编码[A1]至[A44]中任一项的抗体的分离的核酸。

[0182] [B2]宿主细胞,其包含[B1]的核酸。

[0183] [B3]产生抗体的方法,其包括培养[B2]的宿主细胞来产生抗体。

[0184] [B4][B3]的方法,进一步包括从宿主细胞回收抗体。

[0185] [B5]免疫缀合物,其包含[A1]至[A44]中任一项的抗体和细胞毒性剂。

[0186] 本发明还提供了以下内容:

[0187] [C1]药物制剂,其包含[A1]至[A44]中任一项的抗体和药学上可接受的载体。

[0188] [C2][A1]至[A44]中任一项的抗体,其用作药物。

[0189] [C3][A1]至[A44]中任一项的抗体,其用于降低受试者中1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1) mRNA水平和/或纤连蛋白1 (Fn1) mRNA水平。

[0190] [C4][A1]至[A44]中任一项的抗体,其用于治疗纤维化疾病。

[0191] [C5][A1]至[A44]中任一项的应用的抗体,其中该纤维化疾病是特发性肺纤维化 (IPF)、肾纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、肝硬化、肺纤维化 (lung fibrosis) / 肺的纤维化 (pulmonary fibrosis)、心肌纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、年龄相关性黄斑病变性 (AMD)、糖尿病性视网膜病变、增殖性玻璃体视网膜病变 (PVR)、青光眼、糖尿病性黄斑水肿 (DME)、干眼病、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病 (COPD)、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病 (RA-ILD)、MI后心脏瘢痕、心肌病、充血性心力衰竭、酒精性肝硬化、乙型肝炎 (HBV)、丙型肝炎 (HCV)、血吸虫病、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)、原发性胆汁性胆管炎 (PBC)、原发性硬化性胆管炎 (PSC)、移植肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、慢性移植抗宿主病、动脉粥样硬化、囊性纤维化、手术引起的纤维化、烧伤引起的瘢痕和收缩、放射引起的纤维化、肌营养不良症、炎症性肠病 (IBD)、纵隔纤维化或腹膜后纤维化。

[0192] [C6][A1]至[A44]中任一项的应用的抗体,其中该纤维化疾病是特发性肺纤维化 (IPF)、肺纤维化 (lung fibrosis) / 肺的纤维化 (pulmonary fibrosis)、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病 (COPD)、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病 (RA-ILD) 或囊性纤维化。

[0193] [C7][A1]至[A44]中任一项的应用的抗体,其中该纤维化疾病是肾纤维化、肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、囊性纤维化、炎症性肠病 (IBD) 或腹膜后纤维化。

[0194] [C8][A1]至[A44]中任一项的抗体在制备药物中的用途。

[0195] [C9][A1]至[A44]中任一项的抗体在制备用于降低受试者中1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1) mRNA水平和/或纤连蛋白1 (Fn1) mRNA水平的药物中的用途。

[0196] [C10][A1]至[A44]中任一项的抗体在生产用于治疗纤维化疾病的药物中的用途。

[0197] [C11][A1]至[A44]中任一项的用途,其中该纤维化疾病是特发性肺纤维化(IPF)、肾纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、肝硬化、肺纤维化(lung fibrosis)/肺的纤维化(pulmonary fibrosis)、心肌纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、年龄相关性黄斑病变性(AMD)、糖尿病性视网膜病变、增殖性玻璃体视网膜病变(PVR)、青光眼、糖尿病性黄斑水肿(DME)、干眼病、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病(RA-ILD)、MI后心脏瘢痕、心肌病、充血性心力衰竭、酒精性肝硬化、乙型肝炎(HBV)、丙型肝炎(HCV)、血吸虫病、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性胆汁性胆管炎(PBC)、原发性硬化性胆管炎(PSC)、移植肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、慢性移植物抗宿主病、动脉粥样硬化、囊性纤维化、手术引起的纤维化、烧伤引起的瘢痕和收缩、放射引起的纤维化、肌营养不良症、炎症性肠病(IBD)、纵隔纤维化或腹膜后纤维化。

[0198] [C12][A1]至[A44]中任一项的用途,其中该纤维化疾病是特发性肺纤维化(IPF)、肺纤维化(lung fibrosis)/肺的纤维化(pulmonary fibrosis)、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺病(RA-ILD)或囊性纤维化。

[0199] [C13][A1]至[A44]中任一项的用途,其中该纤维化疾病是肾纤维化、肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、囊性纤维化、炎症性肠病(IBD)或腹膜后纤维化。

[0200] [C14]用于降低个体中1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1)mRNA水平和/或纤连蛋白1(Fn1)mRNA水平的方法,其包括向该个体施用有效量的[A1]至[A44]中任一项的抗体。

[0201] [C15]治疗患有纤维化疾病的个体的方法,其包括向该个体施用有效量的[A1]至[A44]中任一项的抗体。

[0202] [C16][C15]的方法,其中该纤维化疾病是特发性肺纤维化(IPF)、肾纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、肝硬化、肺纤维化(lung fibrosis)/肺的纤维化(pulmonary fibrosis)、心肌纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、年龄相关性黄斑病变性(AMD)、糖尿病性视网膜病变、增殖性玻璃体视网膜病变(PVR)、青光眼、糖尿病性黄斑水肿(DME)、干眼病、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病(RA-ILD)、MI后心脏瘢痕、心肌病、充血性心力衰竭、酒精性肝硬化、乙型肝炎(HBV)、丙型肝炎(HCV)、血吸虫病、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性胆汁性胆管炎(PBC)、原发性硬化性胆管炎(PSC)、移植肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、慢性移植物抗宿主病、动脉粥样硬化、囊性纤维化、手术引起的纤维化、烧伤引起的瘢痕和收缩、放射引起的纤维化、肌营养不良症、炎症性肠病(IBD)、纵隔纤维化或腹膜后纤维化。

[0203] [C17][C15]的方法,其中该纤维化疾病是特发性肺纤维化(IPF)、肺纤维化(lung fibrosis)/肺的纤维化(pulmonary fibrosis)、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺病(RA-ILD)或囊性纤维化。

[0204] [C18] [C15]的方法,其中该纤维化疾病是肾纤维化、肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、囊性纤维化、炎症性肠病 (IBD) 或腹膜后纤维化。

[0205] 本发明还提供了以下内容:

[0206] [D1]分离的抗体,其与盘状蛋白结构域受体2 (DDR2) 结合。

[0207] [D2] [D1]的分离的抗体,其中该抗体与DDR2的胞外区结合,特别地其中该抗体与DDR2的盘状蛋白结构域 (DS结构域)、盘状蛋白样结构域 (DSL结构域) 或胞外近膜结构域 (EJXM结构域) 结合。

[0208] [D3] [D1]或[D2]中任一项的抗体,其中该抗体不与DDR1结合。

[0209] [D4] [D1]至[D3]中任一项的抗体,其中该抗体在包含由SEQ ID NO:77或78的氨基酸31至179限定的序列的全部或部分的表位处结合DDR2。

[0210] [D5] [D4]的抗体,其中该抗体与不连续表位结合,所述不连续表位包含:SEQ ID NO:77的氨基酸R31、P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、A107、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、V150、F151、L152、D154和R179,或SEQ ID NO:78的R31、P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、A107、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、I150、F151、L152、D154和R179,特别地其中该抗体与不连续表位结合,所述不连续表位包含:SEQ ID NO:77的氨基酸P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、V150、F151和L152,或SEQ ID NO:78的P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、I150、F151和L152。

[0211] [D6] [D1]至[D5]中任一项的抗体,其中该抗体包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3。

[0212] [D7] [D6]的抗体,其包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的VH序列和具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的VL序列。

[0213] [D8]抗体,其与[D6]或[D7]任一项的抗体结合相同表位,或其与[D6]或[D7]任一项的抗体竞争结合DDR2。

[0214] [D9]权利要求[D1]至[D8]中任一项的抗体,其是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。

[0215] [D10]分离的核酸,其编码权利要求[D1]至[D9]中任一项的抗体。

[0216] [D11]宿主细胞,其包含[D10]的核酸。

[0217] [D12]产生抗体的方法,其包括培养[D11]的宿主细胞来产生抗体。

[0218] [D13] [D1]至[D9]中任一项的抗体,其用作药物。

[0219] [D14] [D1]至[D9]中任一项的抗体,其用于降低受试者中1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1) mRNA水平和/或纤连蛋白1 (Fn1) mRNA水平。

[0220] [D15] [D1]至[D9]中任一项的抗体,其用于治疗纤维化疾病。

[0221] [D16] [D15]的应用的抗体,其中该纤维化疾病是特发性肺纤维化 (IPF)、肾纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、肝硬化、肺纤维化 (lung fibrosis) /肺的纤维化 (pulmonary fibrosis)、心肌纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、年龄相关性黄斑病变性 (AMD)、糖尿病性视网膜病变、增殖性玻璃体视网膜病变 (PVR)、青光眼、糖尿病性黄斑水肿 (DME)、干眼病、硬皮

病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病 (COPD)、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病 (RA-ILD)、MI后心脏瘢痕、心肌病、充血性心力衰竭、酒精性肝硬化、乙型肝炎 (HBV)、丙型肝炎 (HCV)、血吸虫病、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)、原发性胆汁性胆管炎 (PBC)、原发性硬化性胆管炎 (PSC)、移植肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、慢性移植物抗宿主病、动脉粥样硬化、囊性纤维化、手术引起的纤维化、烧伤引起的瘢痕和收缩、放射引起的纤维化、肌营养不良症、炎症性肠病 (IBD)、纵隔纤维化或腹膜后纤维化,特别地其中该纤维化疾病是肺纤维化疾病,更特别地是特发性肺纤维化 (IPF)。

附图说明

[0222] [图1]图1显示了抗体对小鼠DDR2的结合分析结果。使用稳定表达全长小鼠DDR2的Ba/F3细胞系,通过流式细胞术测量每种抗体的平均荧光强度 (MFI)。横坐标下的名称是测试抗体的名称。IC17dK是抗KLH抗体,用作阴性对照。

[0223] [图2]图2显示了抗体对小鼠DDR2 Δ DSL-EJXM的结合分析结果。使用稳定表达小鼠DDR2片段的Ba/F3细胞系,通过流式细胞术测量每种抗体的平均荧光强度 (MFI),其中从全长小鼠DDR2缺失盘状蛋白样 (DSL) 结构域和胞外近膜 (EJXM) 区 (小鼠DDR2 Δ DSL-EJXM)。横坐标下的名称是测试抗体的名称。IC17dK是抗KLH抗体,用作阴性对照。

[0224] [图3]图3显示了评价肾脏中1型胶原蛋白 α 1 (Col1a1) mRNA水平的结果。在单侧输尿管梗阻 (UUO) 诱导的小鼠肾纤维化模型 (UUO小鼠模型) 中评价单克隆抗体的功效。假手术组代表作为对照的非疾病诱导的小鼠。通过抗DDR2抗体处理抑制UUO小鼠模型中的Col1a1 mRNA。IC17dK是抗KLH抗体,用作阴性对照。GC1008是抗成熟TGF- β 抗体。抗DDR2抗体的名称以DAB开头。

[0225] [图4]图4显示了评价肺中1型胶原蛋白 α 1 (Col1a1) mRNA和纤连蛋白1 (Fn1) mRNA水平的结果。在博莱霉素 (BLM) 诱导的小鼠肺纤维化模型 (BLM小鼠模型) 中评价单克隆抗体的功效。盐水组代表作为对照的非疾病诱导的小鼠。通过抗DDR2抗体处理抑制BLM小鼠模型中的Col1a1和Fn1 mRNA。IC17是抗KLH抗体,用作阴性对照。GC1008是抗泛成熟TGF- β 抗体。抗DDR2抗体的名称以DAB开头。(A) 比较DAB0065与IC17dk和GC1008效果的实验。(B) 比较各种抗DDR2抗体效果的实验。

[0226] [图5]图5显示了与moDDR2 DS结构域结合的DAB0065 Fab的晶体结构。(A) 显示了不对称单元。moDDR2 DS结构域以表面表示形式显示,DAB0065 Fab以带状形式显示 (深灰色:重链,浅灰色:轻链)。(B) 显示了叠加的分子-1和分子-2 (深灰色:分子-1,浅灰色:分子-2)。

[0227] [图6]图6显示了moDDR2 DS结构域上DAB0065 Fab接触区的表位。(A) moDDR2氨基酸序列中的表位作图 (黑色:比4.2 Å更接近,斜条纹:比5.0 Å更接近)。(B) 晶体结构中的表位作图 (深灰色棒:比4.2 Å更接近,浅灰色细棒:比5.0 Å更接近DAB0065Fab,其以表面表示形式显示)

具体实施方式

[0228] I. 定义

[0229] 受体人框架

[0230] 用于本文目的的“受体人框架”是包含源自人免疫球蛋白框架或人共有框架的轻链可变结构域 (VL) 框架或重链可变结构域 (VH) 框架的氨基酸序列的框架,定义如下。“源自”人免疫球蛋白框架或人共有框架的受体人框架可以包含其相同的氨基酸序列,或其可以含有氨基酸序列改变。在一些实施方案中,氨基酸改变的数量为10个或更少、9个或更少、8个或更少、7个或更少、6个或更少、5个或更少、4个或更少、3个或更少、或2个或更少。在一些实施方案中,VL受体人框架在序列上与VL人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列相同。

[0231] 抗体依赖性细胞介导的细胞毒性

[0232] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是指细胞毒性形式,其中分泌的Ig结合至存在于某些细胞毒性细胞(例如NK细胞、中性粒细胞和巨噬细胞)上的Fc受体(FcR)上,使得这些细胞毒性效应细胞能够与携带抗原的靶细胞特异性结合,随后用细胞毒素杀死靶细胞。介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达Fc γ RIII,而单核细胞表达Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII。Ravetch和Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92(1991)的第464页表3总结了造血细胞上的FcR表达。为了评估目标分子的ADCC活性,可以进行体外ADCC测定,例如美国专利号5,500,362或5,821,337或美国专利号6,737,056(Presta)中描述的测定。用于此类测定的有效效应细胞包括PBMC和NK细胞。可选地或另外地,可以在体内(例如在动物模型中,例如Clynes等人PNAS(USA)95:652-656(1998)中公开的动物模型)评估目标分子的ADCC活性。

[0233] 亲和力

[0234] “亲和力”是指分子(例如,抗体)的单个结合位点与其结合配偶体(例如,抗原)之间的非共价相互作用的总强度。除非另有说明,否则如本文所用,“结合亲和力”是指反映结合对成员(例如,抗体和抗原)之间1:1相互作用的内在结合亲和力。分子X对其配偶体Y的亲和力通常可以用解离常数(Kd)表示。可以通过本领域已知的常用方法测量(包括本文描述的那些方法)亲和力。以下描述了用于测量结合亲和力的具体说明性和示例性实施方案。

[0235] 亲和力成熟的

[0236] “亲和力成熟的”抗体是指在一个或多个高变区(HVR)中具有一个或多个改变的抗体,与不具有此类改变的亲本抗体相比,此类改变导致抗体对抗原的亲和力提高。

[0237] 术语“抗DDR2抗体”和“与DDR2结合的抗体”是指能够以足够的亲和力结合DDR2的抗体,使得该抗体可用作靶向DDR2的诊断剂和/或治疗剂。在一个实施方案中,抗DDR2抗体与不相关的非DDR2蛋白的结合程度小于抗体与DDR2的结合的约10%,例如,通过放射免疫测定(RIA)进行测量。在某些实施方案中,与DDR2结合的抗体的解离常数(Kd)为1 μ M或更小、100nM或更小、10nM或更小、1nM或更小、0.1nM或更小、0.01nM或更小、或0.001nM或更小(例如10⁻⁸M或更小,例如10⁻⁸M至10⁻¹³M,例如10⁻⁹M至10⁻¹³M)。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与在来自不同物种的DDR2中保守的DDR2表位结合。

[0238] 抗体

[0239] 本文中的术语“抗体”以最广泛的含义使用并且涵盖各种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)和抗体片段,只要它们表现出期望的抗原结合活性。

[0240] 抗体片段

[0241] “抗体片段”是指除了完整抗体之外的分子,其包含完整抗体的一部分,该部分与完整抗体所结合的抗原结合。抗体片段的实例包括但不限于Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂;双抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如scFv);和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0242] 与相同表位结合的抗体

[0243] 与参考抗体“结合相同表位的抗体”是指在竞争测定中阻断参考抗体与其抗原的结合50%或更多的抗体,并且相反地,在竞争测定中参考抗体阻断抗体与其抗原的结合50%或更多。提供了示例性竞争测定

[0244] 抗原结合结构域

[0245] “抗原结合结构域”可以具有任何结构,只要其结合目标抗原即可。抗原结合结构域包括,例如,抗体重链和轻链可变区、“单链Fv(scFv)”、“单链抗体”、“Fv”、“单链Fv 2(scFv2)”、“Fab”、“F(ab')₂”和IgG。

[0246] 嵌合抗体

[0247] 术语“嵌合”抗体是指其中重链和/或轻链的一部分源自特定来源或物种,而重链和/或轻链的其余部分源自不同来源或物种的抗体。

[0248] 抗体类别

[0249] 抗体的“类别”是指其重链所具有的恒定结构域或恒定区的类型。抗体有五种主要类别:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且其中一些可以进一步分为亚类(同种型),例如,IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁和IgA₂。对应于不同类别的免疫球蛋白的重链恒定结构域分别称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 。

[0250] 补体依赖性细胞毒性

[0251] “补体依赖性细胞毒性”或“CDC”是指在补体存在下靶细胞的裂解。经典补体通路的激活由补体系统(C1q)的第一组分与(适当亚类的)抗体的结合启动,该抗体与其同源抗原结合。为了评估补体活化,可以进行CDC测定,例如,如Gazzano-Santoro等人,J.Immunol.Methods 202:163(1996)中所述。具有改变的Fc区氨基酸序列(具有变体Fc区的多肽)和增加或减少的C1q结合能力的多肽变体例如描述于美国专利号6,194,551B1和W0 1999/51642中。另见,例如,Idusogie等人J.Immunol.164:4178-4184(2000)。

[0252] 细胞毒性剂

[0253] 如本文所用,术语“细胞毒性剂”是指抑制或阻止细胞功能和/或引起细胞死亡或破坏的物质。细胞毒性剂包括但不限于放射性同位素(例如,²¹¹At、¹³¹I、¹²⁵I、⁹⁰Y、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁵³Sm、²¹²Bi、³²P、²¹²Pb和Lu的放射性同位素);化疗剂或药物(例如,甲氨蝶呤、阿霉素、长春花生物碱(长春新碱、长春碱、依托泊苷)、多柔比星、美法仑、丝裂霉素C、苯丁酸氮芥、柔红霉素或其他嵌入剂);生长抑制剂;酶及其片段,例如核酸分解酶;抗生素;毒素,例如细菌、真菌、植物或动物来源的小分子毒素或酶活性毒素,包括其片段和/或变体;以及以下公开的各种抗肿瘤剂或抗癌剂。

[0254] DDR1

[0255] 如本文所用,术语“DDR1”是指来自任何脊椎动物来源(包括哺乳动物,例如灵长类动物(例如人)和啮齿类动物(例如小鼠和大鼠))的任何天然DDR1,除非另有说明。该术语涵盖“全长”未加工的DDR1以及由细胞中加工产生的任何形式的DDR1。该术语还涵盖天然存在的DDR1变体,例如,剪接变体或等位基因变体。

[0256] 示例性人DDR1a的氨基酸序列(参考序列号NP_001945.3)如SEQ ID NO:81所示。示例性人DDR1b(参考序列号NP_054699.2)的氨基酸序列如SEQ ID NO:80所示。示例性人DDR1c(参考序列号NP_054700.2)的氨基酸序列如SEQ ID NO:82所示。示例性人DDR1d的氨基酸序列(参考序列号NP_001189450.1)如SEQ ID NO:83所示。示例性人DDR1e的氨基酸序列(参考序列号NP_001189451.1)如SEQ ID NO:84所示。示例性小鼠DDR1的氨基酸序列(参考序列号NP_031610.1)如SEQ ID NO:79所示。

[0257] 人DDR1a、人DDR1b、人DDR1c、人DDR1d和人DDR1e的胞外区分别是SEQ ID NO:81、80、82、83和84的氨基酸21至417的区域。人DDR1b的盘状蛋白(DS)结构域是SEQ ID NO:80的氨基酸22至191的区域、或氨基酸31至185的区域、或氨基酸29至187的区域。人DDR1b的DS样(DSL)结构域是SEQ ID NO:80的氨基酸192至367的区域、或氨基酸188至367的区域。人DDR1b的胞外近膜(EJXM)结构域是SEQ ID NO:80的氨基酸368至417的区域。

[0258] 小鼠DDR1的胞外区是SEQ ID NO:79的氨基酸22至415的区域。小鼠DDR1的盘状蛋白(DS)结构域是SEQ ID NO:79的氨基酸22至186的区域、或氨基酸31至186的区域、或氨基酸32至186的区域。小鼠DDR1的DS样(DSL)结构域是SEQ ID NO:79的氨基酸193至369的区域、或氨基酸188至367的区域。小鼠DDR1的胞外近膜(EJXM)结构域是SEQ ID NO:79的氨基酸370至415的区域、或368至417的区域。

[0259] DDR2

[0260] 如本文所用,术语“DDR2”是指来自任何脊椎动物来源(包括哺乳动物,例如灵长类动物(例如人)和啮齿类动物(例如小鼠和大鼠))的任何天然DDR2,除非另有说明。该术语涵盖“全长”未加工的DDR2以及由细胞中加工产生的任何形式的DDR2。该术语还涵盖天然存在的DDR2变体,例如,剪接变体或等位基因变体。

[0261] 示例性人DDR2的氨基酸序列(参考序列号NP_001014796.1)如SEQ ID NO:78所示。示例性小鼠DDR2的氨基酸序列(参考序列号NP_072075.2)如SEQ ID NO:77所示。

[0262] 人DDR2的胞外区是SEQ ID NO:78的氨基酸22至399的区域。人DDR2的盘状蛋白(DS)结构域是SEQ ID NO:78的氨基酸22至191的区域、或氨基酸32至184的区域、或氨基酸30至185的区域、或氨基酸28至187的区域。人DDR2的DS样(DSL)结构域是SEQ ID NO:78的氨基酸200至367的区域、或氨基酸188至367的区域。人DDR2的胞外近膜(EJXM)结构域是SEQ ID NO:78的氨基酸368至399的区域。

[0263] 小鼠DDR2的胞外区是SEQ ID NO:77的氨基酸24至399的区域、或氨基酸22至399的区域。小鼠DDR2的盘状蛋白(DS)结构域是SEQ ID NO:77的氨基酸24至191的区域、或氨基酸32至184的区域、或氨基酸30至185的区域、或氨基酸28至187的区域。小鼠DDR2的DS样(DSL)结构域是SEQ ID NO:77的氨基酸200至367的区域、或氨基酸188至367的区域。小鼠DDR2的胞外近膜(EJXM)结构域是SEQ ID NO:77的氨基酸368至399的区域。

[0264] 效应子功能

[0265] “效应子功能”是指归因于抗体Fc区的那些生物活性,其随抗体同种型而变化。抗体效应子功能的实例包括:C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如B细胞受体)的下调;和B细胞活化。

[0266] 有效量

[0267] 试剂(例如,药物制剂)的“有效量”是指在必要的剂量和时间段内有效实现期望的治疗或预防结果的量。

[0268] 表位

[0269] “表位”可以指定义抗体与其抗原之间相互作用的一个或多个位点。因此,在 Nilvebrant J,Rockberg J.An Introduction to Epitope Mapping.Methods Mol Biol.2018;1785:1-10中,“抗体表位在概念上可以分为线性表位和非线性表位。线性表位,也称为连续或顺序表位,其可以通过短肽序列进行模拟。序列中较远部分的氨基酸通过蛋白质折叠聚集在一起的表位称为非线性表位、构象表位或不连续表位。例如,不连续表位通常含有可以被抗体独立结合的短片段的连续残基”。如本文所用,术语“构象表位”或“非线性表位”或“不连续表位”可互换使用,是指由不是单条蛋白链或单条多肽链中的连续氨基酸的至少两个氨基酸组成的表位。

[0270] Fc区

[0271] 本文中的术语“Fc区”用于定义含有恒定区的至少一部分的免疫球蛋白重链的C-末端区。该术语包括天然序列Fc区和变体Fc区。在一个实施方案中,人IgG重链Fc区从Cys226或从Pro230延伸至重链的羧基末端。然而,Fc区的C-末端赖氨酸(Lys447)或甘氨酸-赖氨酸(残基446-447)可能存在,也可能不存在。除非本文另有说明,否则Fc区或恒定区中的氨基酸残基的编号根据EU编号系统,也称为EU索引,如Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD,1991中所述。

[0272] Fc受体

[0273] 术语“Fc受体”或“FcR”是指与抗体的Fc区结合的受体。在一些实施方案中,FcR是天然人FcR。在一些实施方案中,FcR是结合IgG抗体(γ 受体)并包括Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII亚类的受体(包括这些受体的等位变体和选择性剪接形式)的FcR。Fc γ RII受体包括Fc γ RIIA(“激活受体”)和Fc γ RIIB(“抑制受体”),它们具有相似的氨基酸序列,主要区别在于其细胞质结构域。活化受体Fc γ RIIA在其细胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的活化基序(ITAM)。抑制受体Fc γ RIIB在其细胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(ITIM)。(参见,例如,Daeron,Annu.Rev.Immunol.15:203-234(1997))。例如,Ravetch和Kinet,Annu.Rev.Immunol 9:457-92(1991);Capel等人,Immunomethods 4:25-34(1994);和de Haas等人,J.Lab.Clin.Med.126:330-41(1995)中综述了FcR。其他FcR,包括将来待鉴定的那些,均涵盖在本文术语“FcR”内。

[0274] 术语“Fc受体”或“FcR”还包括新生儿受体FcRn,其负责将母体IgG转移至胎儿(Guyer等人,J.Immunol.117:587(1976)和Kim等人,J.Immunol.24:249(1994))和免疫球蛋白稳态的调节。测量与FcRn的结合的方法是已知的(参见,例如,Ghetie和Ward.,Immunol.Today18(12):592-598(1997);Ghetie等人,Nature Biotechnology,15(7):637-640(1997);Hinton等人,J.Biol.Chem.279(8):6213-6216(2004);WO 2004/92219(Hinton等人))。

[0275] 可以例如在表达人FcRn的转基因小鼠或转染的人细胞系中,或在施用具有变体Fc区的多肽的灵长类动物中,测定人FcRn高亲和力结合多肽与人FcRn的体内结合和血浆半衰期。WO 2000/42072(Presta)描述了与FcR结合增加或减少的抗体变体。另见,例如,Shields

等人J.Biol.Chem.9(2):6591-6604(2001)。

[0276] 框架

[0277] “框架”或“FR”是指除高变区(HVR)残基之外的可变结构域残基。可变结构域的FR通常由四个FR结构域:FR1、FR2、FR3和FR4组成。因此,HVR和FR序列通常以以下序列在VH(或VL)中出现:FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

[0278] 全长抗体

[0279] 术语“全长抗体”、“完整抗体”和“整体抗体”在本文中可互换使用,是指具有与天然抗体结构基本上相似的结构或具有含有如本文定义的Fc区的重链的抗体。

[0280] 宿主细胞

[0281] 术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用,是指已引入外源核酸的细胞,包括此类细胞的子代。宿主细胞包括“转化体”和“转化细胞”,其包括原代转化细胞和源自其的子代,而不考虑传代次数。子代的核酸含量可能与亲代细胞不完全相同,但可能含有突变。本文包括具有与在最初转化的细胞中筛选或选择的相同功能或生物活性的突变体子代。

[0282] 人抗体

[0283] “人抗体”是具有与由人或人细胞产生的或源自利用人抗体库或其他人抗体编码序列的非人来源的抗体的氨基酸序列相对应的氨基酸序列的抗体。人抗体的该定义明确排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

[0284] 人共有框架

[0285] “人共有框架”是代表在选择的人免疫球蛋白VL或VH框架序列中最常出现的氨基酸残基的框架。通常,人免疫球蛋白VL或VH序列的选择来自可变结构域序列的亚组。通常,序列的亚组是如Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,NIH Publication 91-3242,Bethesda MD(1991),第1-3卷中的亚组。在一个实施方案中,对于VL,亚组是如上文Kabat等人中的亚组κI。在一个实施方案中,对于VH,亚组是如上文Kabat等人中的亚组III。

[0286] 人源化抗体

[0287] “人源化”抗体是指包含来自非人HVR的氨基酸残基和来自人FR的氨基酸残基的嵌合抗体。在某些实施方案中,人源化抗体将包含至少一个、通常两个可变结构域的基本上全部,其中全部或基本上全部HVR(例如,CDR)对应于非人抗体的那些,并且全部或基本上全部FR对应于人抗体的FR。人源化抗体任选地可以包含源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。抗体的“人源化形式”,例如非人抗体,是指已经经历人源化的抗体。

[0288] HVR

[0289] 如本文所用,术语“高变区”或“HVR”是指抗体可变结构域的每个区域,其在序列上是高变的(“互补决定区”或“CDR”)和/或形成结构上限定的环(“高变环”)和/或含有抗原接触残基(“抗原接触”)。通常,抗体包含六个HVR:三个在VH(H1、H2、H3)中,三个在VL(L1、L2、L3)中。本文中的示例性HVR包括:

[0290] (a) 出现在氨基酸残基26-32(L1)、50-52(L2)、91-96(L3)、26-32(H1)、53-55(H2)和96-101(H3)处的高变环(Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987));

[0291] (b) 出现在氨基酸残基24-34(L1)、50-56(L2)、89-97(L3)、31-35b(H1)、50-65(H2)

和95-102 (H3) 处的CDR (Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991));

[0292] (c) 出现在氨基酸残基27c-36 (L1)、46-55 (L2)、89-96 (L3)、30-35b (H1)、47-58 (H2) 和93-101 (H3) 处的抗原接触 (MacCallum等人J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)); 和

[0293] (d) (a)、(b) 和/或(c) 的组合, 包括HVR氨基酸残基46-56 (L2)、47-56 (L2)、48-56 (L2)、49-56 (L2)、26-35 (H1)、26-35b (H1)、49-65 (H2)、93-102 (H3) 和94-102 (H3)。

[0294] 除非另有说明, 否则HVR残基和可变结构域中的其他残基 (例如, FR残基) 在本文中根据上文Kabat等人进行编号。

[0295] 免疫缀合物

[0296] “免疫缀合物”是与一种或多种异源分子 (包括但不限于细胞毒性剂) 缀合的抗体。

[0297] 个体/受试者

[0298] “个体”或“受试者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于家养动物 (例如, 牛、羊、猫、犬和马)、灵长类动物 (例如, 人和非人灵长类动物, 例如猴)、兔和啮齿类动物 (例如, 小鼠和大鼠)。在某些实施方案中, 个体或受试者是人。

[0299] 分离的抗体

[0300] “分离的”抗体是与其天然环境的组分已分离的抗体。在一些实施方案中, 抗体被纯化至大于95%或99%的纯度, 通过例如电泳 (例如, SDS-PAGE、等电聚焦 (IEF)、毛细管电泳) 或色谱 (例如, 离子交换或反相HPLC) 测定。有关评估抗体纯度的方法的综述, 参见, 例如, Flatman等人, J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)。

[0301] 分离的核酸

[0302] “分离的”核酸是指与其天然环境的组分已分离的核酸分子。分离的核酸包括通常含有该核酸分子的细胞中含有的核酸分子, 但该核酸分子存在于染色体外或存在于与其天然染色体位置不同的染色体位置处。

[0303] “编码抗DDR2抗体的分离的核酸”是指编码抗体重链和轻链 (或其片段) 的一种或多种核酸分子, 包括在单个载体或单独的载体中的此类核酸分子, 以及存在于宿主细胞中的一个或多个位置处的此类核酸分子。

[0304] 单克隆抗体

[0305] 如本文所用, 术语“单克隆抗体”是指从基本上同质的抗体群体获得的抗体, 即, 组成该群体的个体抗体是相同的和/或结合相同表位, 除了可能的变异抗体, 例如, 含有天然存在的突变或在产生单克隆抗体制剂的过程中产生的突变的抗体, 此类变体通常以少量存在。与通常包括针对不同决定簇 (表位) 的不同抗体的多克隆抗体制剂相反, 单克隆抗体制剂中的每个单克隆抗体针对抗原上的单个决定簇。因此, 修饰语“单克隆”表明抗体的特征是从基本上同质的抗体群体获得, 并且不应解释为需要通过任何特定方法产生抗体。例如, 根据本发明使用的单克隆抗体可以通过多种技术进行制备, 包括但不限于杂交瘤方法、重组DNA方法、噬菌体展示方法以及利用含有人免疫球蛋白基因座的全部或一部分的转基因动物的方法, 本文描述了此类方法和用于制备单克隆抗体的其他示例性方法。

[0306] 裸抗体

[0307] “裸抗体”是指未与异源部分 (例如, 细胞毒性部分) 或放射性标记缀合的抗体。裸

抗体可以存在于药物制剂中。

[0308] 天然抗体

[0309] “天然抗体”是指具有不同结构的天然存在的免疫球蛋白分子。例如,天然IgG抗体是约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白,由两条相同的轻链和两条相同的二硫键重链组成。从N-末端到C-末端,每条重链均具有可变区(VH),也称为可变重链结构域或重链可变结构域,随后是三个恒定结构域(CH1、CH2和CH3)。类似地,从N-末端到C-末端,每条轻链均具有可变区(VL),也称为可变轻链结构域或轻链可变结构域,随后是恒定轻链(CL)结构域。基于其恒定结构域的氨基酸序列,抗体的轻链可以分为两种类型之一,称为kappa (κ) 和lambda (λ)。

[0310] 天然序列Fc区

[0311] “天然序列Fc区”包含与自然界中发现的Fc区的氨基酸序列相同的氨基酸序列。天然序列人Fc区包括天然序列人IgG1 Fc区(非A同种异型和A同种异型);天然序列人IgG2 Fc区;天然序列人IgG3 Fc区;和天然序列人IgG4 Fc区,以及它们的天然存在的变体。

[0312] 包装说明书

[0313] 术语“包装说明书”用于指通常包括在治疗产品的商业包装中的说明书,其含有关于此类治疗产品的使用的适应症、用法、剂量、施用、联合疗法、禁忌症和/或警告的信息。

[0314] 氨基酸序列同一性百分比(%)

[0315] 相对于参考多肽序列的“氨基酸序列同一性百分比(%)”被定义为在比对序列并引入空位(如有必要)以实现最大序列同一性百分比,并且不考虑任何保守置换作为序列同一性的一部分后,候选序列中与参考多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。出于确定氨基酸序列同一性百分比的目的的比对可以以本领域技术范围内的各种方式实现,例如,使用公开可获得的计算机软件,例如BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign (DNASTAR) 软件或GENETYX(注册商标)(Genetyx Co., Ltd.)。本领域技术人员可以确定用于比对序列的适当参数,包括在所比较的序列的全长上实现最大比对所需的任何算法。

[0316] ALIGN-2序列比较计算机程序由Genentech, Inc. 创作,源代码已与用户文档一起提交至美国版权局(华盛顿特区,20559),并在美国版权注册号TXU510087下注册。ALIGN-2程序可从Genentech, Inc. (加利福尼亚州南旧金山) 公开获得,或可以从源代码编译。ALIGN-2程序应经编译用于UNIX操作系统,包括数字UNIX V4.0D。所有序列比较参数均由ALIGN-2程序设置而未发生变化。在采用ALIGN-2进行氨基酸序列比较的情况下,给定氨基酸序列A与、和或针对给定氨基酸序列B的氨基酸序列同一性%(其可选地表述为具有或包含与、和或针对给定氨基酸序列B的特定氨基酸序列同一性%的给定氨基酸序列A) 计算如下:

[0317] 分数X/Y的100倍

[0318] 其中X是在A和B的比对中被序列比对程序ALIGN-2评分为相同匹配的氨基酸残基数,并且其中Y是B中氨基酸残基的总数。应当理解,当氨基酸序列A的长度不等于氨基酸序列B的长度时,A与B的氨基酸序列同一性%将不等于B与A的氨基酸序列同一性%。除非另外具体说明,否则本文使用的所有氨基酸序列同一性%值均如前一段所述使用ALIGN-2计算机程序获得。

[0319] 药物制剂

[0320] 术语“药物制剂”是指其形式使得其中所含的活性成分的生物活性有效的制剂,并且其不含有对施用该制剂的受试者具有不可接受的毒性的另外的组分。

[0321] 药学上可接受的载体

[0322] “药学上可接受的载体”是指药物制剂中除活性成分之外的成分,其对受试者无毒性。药学上可接受的载体包括但不限于缓冲剂、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

[0323] 基本上相似

[0324] 如本文所用,术语“基本上相似”或“基本上相同”是指两个数值之间具有足够高程度的相似性(例如,一个与本发明的抗体相关,并且另一个与参考/比较抗体相关),使得本领域技术人员将认为这两个值之间的差异在由所述值(例如,Kd值)测量的生物特征的背景下具有很小或没有生物学和/或统计学显著性。如本文所用,术语“基本上相似”或“基本上相同”还指当比较两个受试者时参数具有足够高程度的相似性(例如,与另一种抗体相比,本发明的抗体的抗原结合特性),使得当通过相同方法评估时,本领域技术人员将认为两者之间的差异在生物学特性的背景下具有很小或没有生物学意义。

[0325] 治疗

[0326] 如本文所用,“治疗(treatment)”(及其语法变体,例如“治疗(treat)”或“治疗(treating)”)是指尝试改变被治疗个体的自然病程的临床干预,并且可以在预防或临床病理过程中进行。治疗的预期效果包括但不限于预防疾病的发生或复发、减轻症状、减轻疾病的任何直接或间接病理后果、预防转移、降低疾病进展速度、改善或减轻疾病状态以及缓解或改善预后。在一些实施方案中,本发明的抗体用于延迟疾病的发展或减缓疾病的进展。

[0327] 可变区

[0328] 术语“可变区”或“可变结构域”是指参与抗体与抗原结合的抗体重链或轻链的结构域。天然抗体的重链和轻链(分别为VH和VL)的可变结构域通常具有相似结构,每个结构域包含四个保守框架区(FR)和三个高变区(HVR)。(参见,例如,Kindt等人Kuby Immunology,6th ed.,W.H.Freeman and Co.,page 91(2007).)单个VH或VL结构域可以足以赋予抗原结合特异性。此外,可以使用来自结合抗原的抗体的VH或VL结构域分离结合特定抗原的抗体,以分别筛选互补的VL或VH结构域的文库。参见,例如,Portolano等人,J.Immunol.150:880-887(1993);Clarkson等人,Nature 352:624-628(1991)。

[0329] 载体

[0330] 如本文所用,术语“载体”是指能够增殖与其连接的另一核酸的核酸分子。该术语包括作为自我复制核酸结构的载体以及掺入其所引入的宿主细胞基因组中的载体。某些载体能够指导它们可操作地连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。

[0331] II. 组合物和方法

[0332] 在一方面,本发明部分基于抗DDR2抗体及其用途。在某些实施方案中,提供了与DDR2结合的抗体。本发明的抗体可用于例如纤维化疾病的诊断或治疗。

[0333] A. 示例性抗DDR2抗体

[0334] 在一方面,本发明提供了与DDR2结合的分离的抗体。

[0335] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与DDR2的胞外区结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与DDR2的盘状蛋白结构域(DS结构域)结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与DDR2的盘状蛋白样结构域(DSL结构域)结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与DDR2的胞外近膜结

构域(EJXM结构域)结合。

[0336] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与人DDR2结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与小鼠DDR2结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与人DDR2和小鼠DDR2两者结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:78所示的人DDR2结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77所示的小鼠DDR2结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:78所示的人DDR2和SEQ ID NO:77所示的小鼠DDR2两者结合。

[0337] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与人DDR2的胞外区结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与小鼠DDR2的胞外区结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与人DDR2的胞外区和小鼠DDR2的胞外区两者结合。

[0338] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与人DDR2的盘状蛋白结构域(DS结构域)结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与小鼠DDR2的盘状蛋白结构域(DS结构域)结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与人DDR2的盘状蛋白结构域(DS结构域)和小鼠DDR2的盘状蛋白结构域(DS结构域)两者结合。

[0339] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与人DDR2的盘状蛋白样结构域(DSL结构域)结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与小鼠DDR2的盘状蛋白样结构域(DSL结构域)结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与人DDR2的盘状蛋白样结构域(DSL结构域)和小鼠DDR2的盘状蛋白样结构域(DSL结构域)两者结合。

[0340] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与人DDR2的胞外近膜结构域(EJXM结构域)结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与小鼠DDR2的胞外近膜结构域(EJXM结构域)结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与人DDR2的胞外近膜结构域(EJXM结构域)和小鼠DDR2的胞外近膜结构域(EJXM结构域)两者结合。

[0341] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与DDR1结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与人DDR1结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与人DDR1a结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与人DDR1b结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与人DDR1c结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与人DDR1d结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与人DDR1e结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与小鼠DDR1结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与人DDR1a、人DDR1b、人DDR1c、人DDR1d、人DDR1e和小鼠DDR1中的任何一种结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与SEQ ID NO:81所示的人DDR1a结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与SEQ ID NO:80所示的人DDR1b结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与SEQ ID NO:82所示的人DDR1c结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与SEQ ID NO:83所示的人DDR1d结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与SEQ ID NO:84所示的人DDR1e结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与SEQ ID NO:79所示的小鼠DDR1结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与SEQ IDNO:81所示的人DDR1a、SEQ ID NO:80所示的人DDR1b、SEQ ID NO:82所示的人DDR1c、SEQ ID NO:83所示的人DDR1d、SEQ ID NO:84所示的人DDR1e、SEQ ID NO:79所示的小鼠DDR1中的任何一种结合。

[0342] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸22至399的区域结合。

[0343] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸22至191的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸32至184的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸30至185的区域结合。在某些实施方案中,抗

DDR2抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸28-187的区域结合。

[0344] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸200至367的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸188至367的区域结合。

[0345] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸368至399的区域结合。

[0346] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸24至399的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸22至399的区域结合。

[0347] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸24至191的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸32至184的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸30至185的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸28至187的区域结合。

[0348] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸200至367的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸188至367的区域结合。

[0349] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸368至399的区域结合。

[0350] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸201至393的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸24至200的区域结合。

[0351] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与SEQ ID NO:79的氨基酸22至415的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与SEQ ID NO:81的氨基酸21至417的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与SEQ ID NO:80的氨基酸21至417的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与SEQ ID NO:82的氨基酸21至417的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与SEQ ID NO:83的氨基酸21至417的区域结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与SEQ ID NO:84的氨基酸21至417的区域结合。

[0352] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:78的氨基酸22至399的DDR2片段结合。

[0353] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:78的氨基酸22至191的DDR2片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:78的氨基酸32至184的DDR2片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:78的氨基酸30至185的DDR2片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:78的氨基酸28-187的DDR2片段结合。

[0354] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:78的氨基酸200至367的DDR2片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:78的氨基酸188至367的DDR2片段结合。

[0355] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:78的氨基酸368至399的DDR2片段结合。

[0356] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:77的氨基酸24至399的DDR2片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:77的氨基酸22至399的DDR2片段结合。

[0357] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:77的氨基酸24至191的DDR2片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:77的氨基酸32至184的DDR2片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:77的氨基酸30至185的DDR2片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:77的氨基酸28至187的DDR2片段结

合。

[0358] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:77的氨基酸200至367的DDR2片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:77的氨基酸188至367的DDR2片段结合。

[0359] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:77的氨基酸368至399的DDR2片段结合。

[0360] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:77的氨基酸201至393的DDR2片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与包含SEQ ID NO:77的氨基酸24至200的DDR2片段结合。

[0361] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与包含SEQ ID NO:79的氨基酸22至415的DDR1片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与包含SEQ ID NO:81的氨基酸21至417的DDR1片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与包含SEQ ID NO:80的氨基酸21至417的DDR1片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与包含SEQ ID NO:82的氨基酸21至417的DDR1片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与包含SEQ ID NO:83的氨基酸21至417的DDR1片段结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体不与包含SEQ ID NO:84的氨基酸21至417的DDR1片段结合。

[0362] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体在包含由SEQ ID NO:77或78的氨基酸31至179限定的序列的全部或部分的表位处结合DDR2。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸R31、P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、A107、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、V150、F151、L152、D154和R179中的至少一个或多个或全部结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:77的氨基酸P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、V150、F151和L152中的至少一个或多个或全部结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸R31、P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、A107、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、I150、F151、L152、D154和R179中的至少一个或多个或全部结合。在某些实施方案中,抗DDR2抗体与SEQ ID NO:78的氨基酸P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、I150、F151和L152中的至少一个或多个或全部结合。

[0363] 在某些实施方案中,抗DDR2抗体降低受试者中1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1)mRNA水平和/或纤连蛋白1 (Fn1)mRNA水平。在某些实施方案中,抗DDR2抗体降低患有纤维化的受试者中1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1)mRNA水平和/或纤连蛋白1 (Fn1)mRNA水平。

[0364] 在一方面,本发明提供了抗DDR2抗体,其包含选自以下的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个HVR: (a) 包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3。

[0365] 在一方面,本发明提供了抗DDR2抗体,其包含选自以下的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个HVR: (a) 包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2; 和 (f) 包含

SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。

[0366] 在一方面,本发明提供了抗DDR2抗体,其包含选自以下的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个HVR:(a)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3。

[0367] 在一方面,本发明提供了抗DDR2抗体,其包含选自以下的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个HVR:(a)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3。

[0368] 在一方面,本发明提供了抗DDR2抗体,其包含选自以下的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个HVR:(a)包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3。

[0369] 在一方面,本发明提供了抗DDR2抗体,其包含选自以下的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个HVR:(a)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3。

[0370] 在一方面,本发明提供了抗DDR2抗体,其包含选自以下的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个HVR:(a)包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3。

[0371] 在一方面,本发明提供了抗DDR2抗体,其包含选自以下的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个HVR:(a)包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3。

[0372] 在一方面,本发明提供了抗DDR2抗体,其包含选自以下的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个HVR:(a)包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3。

[0373] 在一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体

包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3和含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3。在还一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3和含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2。在还一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1;(b)含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3。

[0374] 在一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3和含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。在还一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3、包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3和含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2。在还一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1;(b)含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3。

[0375] 在一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3和含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3。在还一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3和含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2。在还一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1;(b)含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3。

[0376] 在一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3和含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3。在还一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3和含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2。在还一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1;(b)含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3。

[0377] 在一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3和含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3。在还一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:

40的氨基酸序列的HVR-L3和含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2。在另一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1;(b)含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3。

[0378] 在一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3和含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3。在另一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3和含有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2。在另一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1;(b)含有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3。

[0379] 在一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3和含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3。在另一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3和含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2。在另一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H1,(b)含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3。

[0380] 在一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3。在另一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3和含有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2。在另一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1,(b)含有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3。

[0381] 在一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3。在另一个实施方案中,该抗体包含含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3和含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2。在另一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1,(b)含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3。

[0382] 在另一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1;(b)含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3。

[0383] 在另一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1;(b)含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。

[0384] 在另一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1;(b)含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3。

[0385] 在另一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1;(b)含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3。

[0386] 在另一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1;(b)含有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3。

[0387] 在另一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1;(b)含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3。

[0388] 在另一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1;(b)含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3。

[0389] 在另一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1;(b)含有SEQ ID NO:63的氨基酸

序列的HVR-L2;和(c)含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3。

[0390] 在另一方面,本发明提供了包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的抗体:(a)包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3。

[0391] 在另一方面,本发明的抗体包含(a)包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的VH结构域:(i)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3;以及(b)包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的VL结构域:(i)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3。

[0392] 在另一方面,本发明的抗体包含(a)包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的VH结构域:(i)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3;以及(b)包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的VL结构域:(i)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。

[0393] 在另一方面,本发明的抗体包含(a)包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的VH结构域:(i)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3;以及(b)包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的VL结构域:(i)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3。

[0394] 在另一方面,本发明的抗体包含(a)包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的VH结构域:(i)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3;以及(b)包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的VL结构域:(i)包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3。

[0395] 在另一方面,本发明的抗体包含(a)包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的VH结构域:(i)包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3;以及(b)包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的VL结构域:(i)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(ii)包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3。

[0396] 在另一方面,本发明的抗体包含(a)包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的VH结构域:(i)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3;以及(b)

包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的VL结构域：(i) 包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1, (ii) 包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2, 和(c) 包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3。

[0397] 在另一方面,本发明的抗体包含(a) 包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的VH结构域：(i) 包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2, 和(iii) 包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3;以及(b) 包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的VL结构域：(i) 包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1, (ii) 包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2, 和(c) 包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3。

[0398] 在另一方面,本发明的抗体包含(a) 包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的VH结构域：(i) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2, 和(iii) 包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3;以及(b) 包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的VL结构域：(i) 包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1, (ii) 包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L2, 和(c) 包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3。

[0399] 在另一方面,本发明的抗体包含(a) 包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VH HVR序列的VH结构域：(i) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2, 和(iii) 包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3;以及(b) 包含选自以下的至少一个、至少两个或全部三个VL HVR序列的VL结构域：(i) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1, (ii) 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2, 和(c) 包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3。

[0400] 在另一方面,本发明提供了包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3的抗体。

[0401] 实施例中示例的抗体DAB0065包含这些高变区。已显示DAB0065在纤维化疾病的小鼠模型中特别有效(见实施例章节)。因此,在某些实施方案中,本发明涉及包含高变区的抗体、与相同表位结合的抗体以及这些抗体的医学用途,特别是在治疗纤维化疾病中的用途。

[0402] 在另一方面,本发明提供了包含含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3的抗体。

[0403] 在另一方面,本发明提供了包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3的抗体。

[0404] 在另一方面,本发明提供了包含含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID

NO:32的氨基酸序列的HVR-L3的抗体。

[0405] 在另一方面,本发明提供了包含含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3的抗体。

[0406] 在另一方面,本发明提供了包含含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3的抗体。

[0407] 在另一方面,本发明提供了包含含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3的抗体。

[0408] 在另一方面,本发明提供了包含含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3的抗体。

[0409] 在另一方面,本发明提供了包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3的抗体。

[0410] 在任何上述实施方案中,抗DDR2抗体是人源化的。在一个实施方案中,抗DDR2抗体包含如任何上述实施方案中的HVR,并且进一步包含受体人框架,例如,人免疫球蛋白框架或人共有框架。

[0411] 在另一方面,抗DDR2抗体包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:1中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:1中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VH包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3。

[0412] 在另一方面,抗DDR2抗体包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:9中总共1至

10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:9中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VH包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3。

[0413] 在另一方面,抗DDR2抗体包含与SEQ ID NO:17的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列含有置换(例如,保守置换)插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:17中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:17中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VH包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3。

[0414] 在另一方面,抗DDR2抗体包含与SEQ ID NO:25的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列含有置换(例如,保守置换)插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:25中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:25中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VH包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3。

[0415] 在另一方面,抗DDR2抗体包含与SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:33中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:33中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VH包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3。

[0416] 在另一方面,抗DDR2抗体包含与SEQ ID NO:41的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含

该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:41中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:41中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VH包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3。

[0417] 在另一方面,抗DDR2抗体包含与SEQ ID NO:49的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:49中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:49中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VH包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3。

[0418] 在另一方面,抗DDR2抗体包含与SEQ ID NO:57的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:57中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:57中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VH包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3。

[0419] 在另一方面,抗DDR2抗体包含与SEQ ID NO:65的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:65中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:65中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VH包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1,(b)包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2,和(c)包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3。

[0420] 翻译后修饰包括但不限于通过焦谷氨酰化将重链或轻链的N-末端的谷氨酰胺或谷氨酸修饰成焦谷氨酸。

[0421] 在另一方面,提供了抗DDR2抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:5的氨基酸序列具

有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:5中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:5中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VL包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3。

[0422] 在另一方面,提供了抗DDR2抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:13的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:13中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:13中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VL包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3。

[0423] 在另一方面,提供了抗DDR2抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:21中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:21中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VL包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3。

[0424] 在另一方面,提供了抗DDR2抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:29的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:29中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR之外的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:29中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VL包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3。

[0425] 在另一方面,提供了抗DDR2抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:37中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:37中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个具体实施方案中,VL包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3。

[0426] 在另一方面,提供了抗DDR2抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:45的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:45中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:45中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VL包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3。

[0427] 在另一方面,提供了抗DDR2抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:53的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:53中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:53中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VL包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3。

[0428] 在另一方面,提供了抗DDR2抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:61的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:61中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:61中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VL包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的

HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3。

[0429] 在另一方面,提供了抗DDR2抗体,其中该抗体包含与SEQ ID NO:69的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在某些实施方案中,相对于参考序列,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL序列含有置换(例如,保守置换)、插入或缺失,但是包含该序列的抗DDR2抗体保留与DDR2结合的能力。在某些实施方案中,SEQ ID NO:69中总共1至10个氨基酸已被置换、插入和/或缺失。在某些实施方案中,置换、插入或缺失发生在HVR外部的区域中(即,在FR中)。任选地,抗DDR2抗体包含SEQ ID NO:69中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在具体实施方案中,VL包含选自以下的一个、两个或三个HVR:(a)包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1,(b)包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2,和(c)包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3。

[0430] 翻译后修饰包括但不限于通过焦谷氨酰化将重链或轻链的N-末端的谷氨酰胺或谷氨酸修饰成焦谷氨酸。

[0431] 在另一方面,提供了抗DDR2抗体,其中该抗体包含如上文提供的任何实施方案中的VH和如上文提供的任何实施方案中的VL。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:5中的VH和VL序列,任选地包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:13中的VH和VL序列,任选地包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:21中的VH和VL序列,任选地包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:29中的VH和VL序列,任选地包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:37中的VH和VL序列,任选地包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:45中的VH和VL序列,任选地包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:49和SEQ ID NO:53中的VH和VL序列,任选地包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:61中的VH和VL序列,任选地包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:65和SEQ ID NO:69中的VH和VL序列,任选地包括那些序列的翻译后修饰。翻译后修饰包括但不限于通过焦谷氨酰化将重链或轻链的N-末端的谷氨酰胺或谷氨酸修饰成焦谷氨酸。

[0432] 在还一方面,本发明提供了与本文提供的抗DDR2抗体结合相同表位的抗体。

[0433] 例如,在某些实施方案中,提供了与相同表位结合的抗体,如(1)该抗体包含分别在SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:5中的VH和VL序列;(2)该抗体包含分别在SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:13中的VH和VL序列;(3)该抗体包含分别在SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:21中的VH和VL序列;(4)该抗体包含分别在SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:29中的VH和VL序列;(5)该抗体包含分别在SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:37中的VH和VL序列;(6)该抗体包含分别在SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:45中的VH和VL序列;(7)该抗体包含分别在SEQ ID NO:49和SEQ ID NO:53中的VH和VL序列;(8)该抗体包含分别在SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:61中的VH和VL序列;或(9)该抗体包含分别在SEQ ID NO:65和SEQ ID NO:69中的VH和VL序列。

[0434] 例如,在某些实施方案中,提供了与相同表位结合的抗体,如

[0435] (1)包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:3的氨基酸序

列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；

[0436] (2) 包含含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；

[0437] (3) 包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；

[0438] (4) 包含含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；

[0439] (5) 包含含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；

[0440] (6) 包含含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；

[0441] (7) 包含含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；

[0442] (8) 包含含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；或

[0443] (9) 包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2、和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3的抗体。

[0444] 在还一方面，本发明提供了与本文提供的抗DDR2抗体竞争结合DDR2的抗体。

[0445] 例如，在某些实施方案中，提供了与以下竞争结合DDR2的抗体：(1) 包含分别在SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:5中的VH和VL序列的抗体；(2) 包含分别在SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:13中的VH和VL序列的抗体；(3) 包含分别在SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:21中的VH和VL序列

的抗体；(4) 包含分别在SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:29中的VH和VL序列的抗体；(5) 包含分别在SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:37中的VH和VL序列的抗体；(6) 包含分别在SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:45中的VH和VL序列的抗体；(7) 包含分别在SEQ ID NO:49和SEQ ID NO:53中的VH和VL序列的抗体；(8) 包含分别在SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:61中的VH和VL序列的抗体；或(9) 包含分别在SEQ ID NO:65和SEQ ID NO:69中的VH和VL序列的抗体。

[0446] 例如,在某些实施方案中,提供了与以下竞争结合DDR2的抗体:

[0447] (1) 包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3的抗体;

[0448] (2) 包含含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3的抗体;

[0449] (3) 包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3的抗体;

[0450] (4) 包含含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3的抗体;

[0451] (5) 包含含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3的抗体;

[0452] (6) 包含含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3的抗体;

[0453] (7) 包含含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3的抗体;

[0454] (8) 包含含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3的抗体;或

[0455] (9) 包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸

序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3的抗体。

[0456] 在本发明的还一方面,根据任何上述实施方案的抗DDR2抗体是单克隆抗体,包括嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。在一个实施方案中,抗DDR2抗体是抗体片段,例如Fv、Fab、Fab'、scFv、双抗体或F(ab')₂片段。在另一个实施方案中,该抗体是全长抗体,例如完整IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗体,或如本文定义的其他抗体类别或同种型。

[0457] 在本发明的还一方面,根据任何上述实施方案的抗DDR2抗体包含人抗体恒定区,例如人重链恒定区SG181 (SEQ ID NO:73) 和人轻链恒定区k0MC (SEQ ID NO:74)。在另一个实施方案中,根据任何上述实施方案的抗DDR2抗体包含小鼠抗体恒定区,例如小鼠重链恒定区mF18 (SEQ ID NO:75) 和小鼠轻链恒定区mk1 (SEQ ID NO:76)。

[0458] 在还一方面,提供了抗DDR2抗体,其中该抗体的重链与SEQ ID NO:85的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性,并且该抗体的轻链与SEQ ID NO:86的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性。在优选的实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:85和SEQ ID NO:86中的重链和轻链序列,任选地包括这些序列的翻译后修饰。在优选的实施方案中,本发明提供了与抗DDR2抗体结合相同表位的抗体,该抗DDR2抗体包含分别在SEQ ID NO:85和SEQ ID NO:86中的重链和轻链序列。在优选的实施方案中,本发明提供了与抗DDR2抗体竞争的抗体,该抗DDR2抗体包含分别在SEQ ID NO:85和SEQ ID NO:86中的重链和轻链序列。

[0459] 在还一方面,根据任何上述实施方案的抗DDR2抗体可以单独地或组合地并入任何特征,如以下第1-7节中所述:

[0460] 1. 抗体亲和力

[0461] 在某些实施方案中,本文提供的抗体的解离常数(Kd)为1 μ M或更小、100nM或更小、10nM或更小、1nM或更小、0.1nM或更小、0.01nM或更小、或0.001nM或更小(例如10⁻⁸M或更小,例如10⁻⁸M至10⁻¹³M,例如10⁻⁹M至10⁻¹³M)。

[0462] 在一个实施方案中,通过放射性标记抗原结合测定(RIA)测量Kd。在一个实施方案中,用目标抗体及其抗原的Fab形式进行RIA。例如,通过未标记抗原的滴定系列存在下用极低浓度的(¹²⁵I)标记的抗原平衡Fab,然后用抗Fab抗体包被的板捕获结合的抗原来测量Fab对抗原的溶液结合亲和力(参见,例如,Chen等人,J.Mol.Biol.293:865-881(1999))。为了建立测定条件,将MICROTITER(注册商标)多孔板(Thermo Scientific)用在50mM碳酸钠(pH 9.6)中的5 μ g/ml捕获抗Fab抗体(Cappel Labs)包被过夜,然后用在PBS中的2% (w/v)牛血清白蛋白在室温(约23 $^{\circ}$ C)下封闭两小时至五小时。在非吸附板(Nunc#269620)中,将100pM或26pM [¹²⁵I]-抗原与目标Fab的连续稀释液混合(例如,与抗VEGF抗体Fab-12的评估一致,见Presta等人,Cancer Res.57:4593-4599(1997))。然后,将目标Fab孵育过夜;然而,孵育可以持续更长的时间(例如,约65小时)以确保达到平衡。此后,将混合物转移至捕获板以在室温下孵育(例如,一小时)。然后,除去溶液并用在PBS中的0.1%聚山梨酯20 (TWEEN-20(注册商标))洗涤板八次。当板干燥后,添加150 μ l/孔的闪烁剂(MICROSCINT-20TM; Packard),并且将板在TOPCOUNTTM γ 计数器(Packard)上计数十分钟。选择给出小于或等于

最大结合的20%的每个Fab的浓度用于竞争性结合测定。

[0463] 根据另一个实施方案,使用BIAcore(注册商标)表面等离子共振测定来测量Kd。例如,使用BIAcore(注册商标)-2000或BIAcore(注册商标)-3000(BIAcore, Inc., 皮斯卡塔韦, NJ)在25°C下用固定化抗原CM5芯片以~10个响应单位(RU)进行测定。在一个实施方案中,根据供应商的说明用N-乙基-N'-(3-二甲基氨基丙基)-碳二亚胺盐酸盐(EDC)和N-羰基琥珀酰亚胺(NHS)活化羧甲基化葡聚糖生物传感器芯片(CM5, BIAcore, Inc.)。在以5 μ l/分钟的流速进样之前,用10mM乙酸钠(pH 4.8)将抗原稀释至5 μ g/ml(~0.2 μ M),以获得约10个偶联蛋白响应单位(RU)。抗原进样后,进样1M乙醇胺以封闭未反应的基团。对于动力学测量,在25°C下,以约25 μ l/分钟的流速将Fab的两倍连续稀释液(0.78nM至500nM)进样至含0.05%聚山梨酯20(TWEEN-20TM)表面活性剂(PBST)的PBS中。使用简单的一对一Langmuir结合模型(BIAcore(注册商标)评价软件版本3.2)通过同时拟合缔合和解离传感图来计算缔合率(k_{on})和解离率(k_{off})。平衡解离常数(Kd)计算为 k_{off}/k_{on} 比率。参见,例如,Chen等人, *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999)。如果通过上述表面等离子共振测定,结合速率超过 $10^6 M^{-1} s^{-1}$,则可以通过以下来确定结合速率:使用荧光猝灭技术,该技术测量荧光发射强度的增加或减少(激发=295nm;发射=340nm, 16nm带通),在25°C下在PBS中的20nM抗抗原抗体(Fab形式), pH 7.2, 在存在如分光光度计(例如配备停流的分光光度计(Aviv Instruments)或带搅拌比色皿的8000系列SLM-AMINCOTM分光光度计(ThermoSpectronic))测量的抗原浓度不断增加的情况下。

[0464] 2. 抗体片段

[0465] 在某些实施方案中,本文提供的抗体是抗体片段。抗体片段包括但不限于Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv和scFv片段以及下文描述的其他片段。有关某些抗体片段的综述,参见Hudson等人 *Nat. Med.* 9:129-134(2003)。有关scFv片段的综述,参见,例如, Pluckthun, in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol.113, Rosenberg和Moore编著,(Springer-Verlag, New York), pp.269-315(1994);另见WO 93/16185;和美国专利号5,571,894和5,587,458。有关包含挽救受体结合表位残基并具有增加的体内半衰期的Fab和F(ab')₂片段的讨论,参见美国专利号5,869,046。

[0466] 双抗体是具有两个抗原结合位点的抗体片段,其可以是二价的或双特异性的。参见,例如,EP 404,097;WO 1993/01161;Hudson等人, *Nat. Med.* 9:129-134(2003);和Hollinger等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448(1993)。三抗体和四抗体还描述于Hudson等人, *Nat. Med.* 9:129-134(2003)。

[0467] 单结构域抗体是包含抗体的全部或部分重链可变结构域或全部或部分轻链可变结构域的抗体片段。在某些实施方案中,单结构域抗体是人单结构域抗体(Domantis, Inc., Waltham, MA;参见,例如,美国专利号6,248,516B1)。

[0468] 可以通过多种技术制备抗体片段,包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及通过重组宿主细胞(例如大肠杆菌或噬菌体)产生,如本文所述。

[0469] 3. 嵌合抗体和人源化抗体

[0470] 在某些实施方案中,本文提供的抗体是嵌合抗体。某些嵌合抗体描述于,例如,美国专利号4,816,567;和Morrison等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855(1984)。在一个实例中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,源自小鼠、大鼠、仓鼠、兔或非人灵长类动物

(例如猴)的可变区)和人恒定区。在另一个实例中,嵌合抗体是“类别转换的”抗体,其中类别或亚类已从亲本抗体的类别或亚类发生改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0471] 在某些实施方案中,嵌合抗体是人源化抗体。通常,非人抗体经人源化以降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。通常,人源化抗体包含一个或多个可变结构域,其中HVR(例如CDR(或其部分))源自非人抗体,并且FR(或其部分)源自人抗体序列。人源化抗体任选地还包含人恒定区的至少一部分。在一些实施方案中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,HVR残基来源的抗体)的相应残基置换,例如以恢复或提高抗体特异性或亲和力。

[0472] 人源化抗体及其制备方法综述于例如Almagro和Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008),并且在例如Riechmann等人, *Nature* 332:323-329 (1988); Queen等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); 美国专利号5,821,337、7,527,791、6,982,321和7,087,409; Kashmiri等人, *Methods* 36:25-34 (2005) (描述特异性决定区(SDR)移植); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (描述“重铺表面(resurfacing)”); Dall'Acqua等人, *Methods* 36:43-60 (2005) (描述“FR改组”); 以及Osborn等人, *Methods* 36:61-68 (2005) 和Klimka等人, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (描述FR改组的“引导选择”方法)。

[0473] 可用于人源化的人框架区包括但不限于:使用“最佳拟合”方法选择的框架区(参见,例如,Sims等人 *J. Immunol.* 151:2296 (1993)); 源自轻链或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列的框架区(参见,例如,Carter等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); 和Presta等人 *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)); 人成熟(体细胞突变)框架区或人种系框架区(参见,例如,Almagro和Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); 以及源自筛选FR文库的框架区(参见,例如,Baca等人, *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) 和Rosok等人, *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996))。

[0474] 4. 人抗体

[0475] 在某些实施方案中,本文提供的抗体是人抗体。可以使用本领域已知的各种技术产生人抗体。人抗体通常描述于van Dijk和van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-74 (2001) 和Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)。

[0476] 可以通过向转基因动物施用免疫原来制备人抗体,该转基因动物已经修饰以响应抗原攻击而产生完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。此类动物通常含有全部或部分人免疫球蛋白基因座,其替换内源免疫球蛋白基因座,或存在于染色体外或随机整合到动物染色体中。在此类转基因小鼠中,内源性免疫球蛋白基因座通常已失活。有关从转基因动物获得人抗体的方法的综述,参见Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)。另见,例如,美国专利号6,075,181和6,150,584描述了XENOMOUSE™技术;美国专利号5,770,429描述了HUMAB(注册商标)技术;美国专利号7,041,870描述了K-M MOUSE(注册商标)技术,以及美国专利申请公开号US 2007/0061900描述了VELOCIMOUSE(注册商标)技术。来自此类动物产生的完整抗体的人可变区可以经进一步修饰,例如通过与不同的人恒定区组合。

[0477] 还可以通过基于杂交瘤的方法制备人抗体。已描述用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人异源骨髓瘤细胞系。(参见,例如,Kozbor *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur等人, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp.51-

63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 和Boerner等人, *J. Immunol.*, 147:86 (1991) .) 通过人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体也描述于Li等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103: 3557-3562 (2006) 。另外的方法包括例如美国专利号7,189,826 (描述从杂交瘤细胞系产生单克隆人IgM抗体) 和Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26 (4) :265-268 (2006) (描述人-人杂交瘤) 中描述的那些方法。人杂交瘤技术 (Trioma技术) 也描述于Vollmers和Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20 (3) :927-937 (2005) 以及Vollmers和Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27 (3) :185-91 (2005) 。

[0478] 还可以通过分离选自人源噬菌体展示文库的Fv克隆可变结构域序列产生人抗体。然后, 可以将此类可变结构域序列与期望的人恒定结构域组合。以下描述了从抗体文库中选择人抗体的技术。

[0479] 5. 文库来源的抗体

[0480] 本发明的抗体可以通过筛选具有期望活性的抗体的组合文库进行分离。例如, 本领域已知多种方法用于产生噬菌体展示文库并筛选此类文库中具有期望结合特征的抗体。此类方法例如综述于Hoogenboom等人in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人, 编辑, Human Press, 托托瓦, NJ, 2001), 并且进一步描述于, 例如, McCafferty等人, *Nature* 348:552-554; Clackson等人, *Nature* 352:624-628 (1991); Marks等人, *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1992); Marks和Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, 托托瓦, NJ, 2003); Sidhu等人, *J. Mol. Biol.* 338(2) : 299-310 (2004); Lee等人, *J. Mol. Biol.* 340 (5) :1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 (34) :12467-12472 (2004); 和Lee等人, *J. Immunol. Methods* 284(1-2) :119-132 (2004) 。

[0481] 在某些噬菌体展示方法中, 通过聚合酶链反应 (PCR) 分别克隆VH和VL基因库, 并在噬菌体文库中随机重组, 然后可以筛选抗原结合噬菌体, 如Winter等人, *Ann. Rev. Immunol.*, 12:433-455 (1994) 所述。噬菌体通常展示抗体片段, 作为单链Fv (scFv) 片段或Fab片段。来自免疫来源的文库提供对免疫原具有高亲和力抗体, 而不需要构建杂交瘤。可选地, 可以 (例如, 从人) 克隆初始库以提供针对多种非自身和自身抗原的单一来源的抗体, 而无需任何免疫, 如Griffiths等人, *EMBO J*, 12:725-734 (1993) 所述。最后, 还可以通过克隆来自干细胞的未重排的V基因片段, 并使用含有随机序列的PCR引物来编码高可变的CDR3区并在体外完成重排来合成初始文库, 如Hoogenboom和Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992) 所述。描述人抗体噬菌体文库的专利出版物包括, 例如: 美国专利号5,750,373和美国专利公开号2005/0079574、2005/0119455、2005/0266000、2007/0117126、2007/0160598、2007/0237764、2007/0292936和2009/0002360。

[0482] 从人抗体文库分离的抗体或抗体片段在本文中被认为是人抗体或人抗体片段。

[0483] 6. 多特异性抗体

[0484] 在某些实施方案中, 本文提供的抗体是多特异性抗体, 例如双特异性抗体。多特异性抗体是对至少两个不同位点具有结合特异性的单克隆抗体。在某些实施方案中, 一种结合特异性针对DDR2, 并且另一种结合特异性针对任何其他抗原。在某些实施方案中, 双特异性抗体可以与DDR2的两个不同表位结合。双特异性抗体还可用于将细胞毒性剂定位于表达DDR2的细胞。双特异性抗体可以被制备为全长抗体或抗体片段。

[0485] 用于制备多特异性抗体的技术包括但不限于具有不同特异性的两个免疫球蛋白重链-轻链对的重组共表达(参见Milstein和Cuello, Nature 305:537(1983)), WO 93/08829和Traunecker等人, EMBO J. 10:3655(1991)), 以及“杆-臼”工程化(参见, 例如, 美国专利号5,731,168)。多特异性抗体还可以通过以下制备: 工程化静电操纵效应用于制备抗体Fc异二聚体分子(WO 2009/089004A1); 交联两个或更多个抗体或片段(参见, 例如, 美国专利号4,676,980和Brennan等人, Science, 229:81(1985)); 使用亮氨酸拉链产生双特异性抗体(参见, 例如, Kostelny等人, J. Immunol., 148(5):1547-1553(1992)); 使用“双抗体”技术用于制备双特异性抗体片段(参见, 例如, Hollinger等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448(1993)); 和使用单链Fv(scFv)二聚体(参见, 例如, Gruber等人, J. Immunol., 152:5368(1994)); 以及如例如Tutt等人J. Immunol. 147:60(1991)所述制备三特异性抗体。

[0486] 具有三个或更多个功能性抗原结合位点的工程化抗体(包括“章鱼抗体”)也包括在本文中(参见, 例如, US2006/0025576A1)。

[0487] 本文的抗体或片段还包括“双作用Fab”或“DAF”, 其包含与DDR2以及另一种不同抗原结合的抗原结合位点(参见, 例如, US2008/0069820)。

[0488] 7. 抗体变体

[0489] 在某些实施方案中, 设想了本文提供的抗体的氨基酸序列变体。例如, 可能期望改善抗体的结合亲和力和/或其他生物学特性。可以通过将适当的修饰引入编码抗体的核苷酸序列中或通过肽合成来制备抗体的氨基酸序列变体。此类修饰包括, 例如, 抗体氨基酸序列内残基的缺失和/或插入和/或置换。可以进行缺失、插入和置换的任何组合以获得最终构建体, 只要最终构建体具有期望的特性, 例如抗原结合。

[0490] a) 置换、插入和缺失变体

[0491] 在某些实施方案中, 提供了具有一个或多个氨基酸置换的抗体变体。置换诱变的目标位点包括HVR和FR。保守置换示于表A中“优选的置换”标题下。表A中“示例性置换”标题下提供了更实质性的改变, 并且如下文参考氨基酸侧链类别进一步描述。可以将氨基酸置换引入目标抗体中, 并筛选产物的期望活性, 例如保留/改善的抗原结合、降低的免疫原性或改善的ADCC或CDC。

[0492] [表A]

[0493]

原始残基	示例性置换	优选的置换
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile

Lys (K)	Arg;Gln;Asn	Arg
Met (M)	Leu;Phe;Ile	Leu
Phe (F)	Trp;Leu;Val;Ile;Ala;Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val;Ser	Ser
Trp (W)	Tyr;Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp;Phe;Thr;Ser	Phe
Val (V)	Ile;Leu;Met;Phe;Ala;正亮氨酸	Leu

[0494] 氨基酸可以根据常见的侧链特性进行分组:

[0495] (1) 疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0496] (2) 中性亲水性:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

[0497] (3) 酸性:Asp、Glu;

[0498] (4) 碱性:His、Lys、Arg;

[0499] (5) 影响链取向的残基:Gly、Pro;

[0500] (6) 芳香族:Trp、Tyr、Phe。

[0501] 非保守置换将需要将这些类别之一的成员交换为另一个类别的成员。

[0502] 一种类型的置换变体涉及置换亲本抗体(例如人源化抗体或人抗体)的一个或多个高变区残基。通常,选择用于进一步研究的所得变体相对于亲本抗体将在某些生物学特性(例如,增加的亲和力、降低的免疫原性)方面具有修饰(例如,改善)和/或将基本上保留亲本抗体的某些生物学特性。示例性置换变体是亲和力成熟的抗体,其可以方便地产生,例如,使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术,例如本文描述的那些技术。简言之,一个或多个HVR残基被突变,并且变体抗体展示在噬菌体上并筛选特定的生物活性(例如结合亲和力)。

[0503] 可以在HVR中进行改变(例如,置换),例如以改善抗体亲和力。此类改变可以在HVR“热点”(即由在体细胞成熟过程期间经历高频突变的密码子编码的残基)(参见,例如,Chowdhury,Methods Mol.Biol.207:179-196(2008),和/或接触抗原的残基中进行,并测试所得变体VH或VL的结合亲和力。例如,Hoogenboom等人in Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien等人,编辑,Human Press,托托瓦,NJ,(2001)描述了通过构建和从二级文库中重新选择来实现亲和力成熟。在亲和力成熟的一些实施方案中,通过多种方法(例如,易错PCR、链改组或寡核苷酸定向诱变)中的任一种将多样性引入选择用于成熟的可变基因中。然后创建辅助文库。然后筛选文库以鉴定具有期望亲和力的任何抗体变体。另一种引入多样性的方法涉及HVR定向的方法,其中几个HVR残基(例如一次4-6个残基)被随机化。可以例如使用丙氨酸扫描诱变或建模来特异性鉴定参与抗原结合的HVR残基。特别地经常靶向CDR-H3和CDR-L3。

[0504] 在某些实施方案中,置换、插入或缺失可以发生在一个或多个HVR内,只要此类改变不显著降低抗体结合抗原的能力。例如,可以在HVR中进行不显著降低结合亲和力的保守改变(例如,本文提供的保守取代)。例如,此类改变可以在HVR中的抗原接触残基之外。在上文提供的变体VH和VL序列的某些实施方案中,每个HVR是未改变的,或含有不超过一个、两

个或三个氨基酸置换。

[0505] 用于鉴定可以被诱变靶向的抗体残基或区域的有用方法称为“丙氨酸扫描诱变”，如Cunningham和Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085所述。在该方法中，鉴定一个残基或一组靶残基(例如，带电荷的残基，例如arg、asp、his、lys和glu)，并用中性或带负电荷的氨基酸(例如，丙氨酸或多聚丙氨酸)替换，以确定抗体与抗原的相互作用是否受影响。可以在氨基酸位置处引入进一步的置换，从而证明对初始置换的功能灵敏度。可选地，或另外地，可以分析抗原-抗体复合物的晶体结构以鉴定抗体与抗原之间的接触点。此类接触残基和邻近残基可以作为置换候选物被靶向或消除。可以筛选变体以确定它们是否含有期望特性。

[0506] 氨基酸序列插入包括长度从一个残基至含有一百个或更多个残基的多肽的氨基和/或羧基末端融合，以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实例包括具有N-末端甲硫氨酰残基的抗体。抗体分子的其他插入变体包括酶(例如用于ADEPT)或增加抗体血浆半衰期的多肽与抗体的N-末端或C-末端的融合。

[0507] b) 糖基化变体

[0508] 在某些实施方案中，本文提供的抗体被改变以增加或减少抗体糖基化的程度。向抗体添加或缺失糖基化位点可以方便地通过改变氨基酸序列从而产生或除去一个或多个糖基化位点来完成。

[0509] 在抗体包含Fc区的情况下，与其附接的碳水化合物可以被改变。由哺乳动物细胞产生的天然抗体通常包含分支的双触角寡糖，其通常通过N-键附接至Fc区的CH2结构域的Asn297。参见，例如，Wright等人TIBTECH 15:26-32(1997)。寡糖可以包括各种碳水化合物，例如，甘露糖、N-乙酰基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸，以及附接至双触角寡糖结构的“茎”中的GlcNAc的岩藻糖。在一些实施方案中，可以对本发明的抗体中的寡糖进行修饰以产生具有某些改善的特性的抗体变体。

[0510] 在一个实施方案中，提供的抗体变体具有缺乏(直接或间接)附接至Fc区的岩藻糖的碳水化合物结构。例如，此类抗体中岩藻糖的量可以为1%至80%、1%至65%、5%至65%、或20%至40%。相对于通过MALDI-TOF质谱测量的附接至Asn 297的所有糖结构(例如复合、杂合和高甘露糖结构)的总和，通过计算Asn297处糖链内岩藻糖的平均量来确定岩藻糖的量，例如，如WO 2008/077546中所述。Asn297是指位于Fc区中约第297位的天冬酰胺残基(Fc区残基的EU编号)；然而，由于抗体中的微小序列变异，Asn297还可能位于第297位的上游或下游约+/-3个氨基酸，即第294和300位之间。此类岩藻糖基化变体可能具有改善的ADCC功能。参见，例如，美国专利公开号US2003/0157108(Presta, L.)；US2004/0093621(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。与“去岩藻糖基化”或“岩藻糖缺陷”抗体变体相关的出版物的实例包括：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki等人J. Mol. Biol. 336:1239-1249(2004)；Yamane-Ohnuki等人Biotech. Bioeng. 87:614(2004)。能够产生去岩藻糖基化抗体的细胞系的实例包括蛋白岩藻糖基化缺陷的Lec13 CHO细胞(Ripka等人Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545(1986)；美国专利申请号US 2003/0157108 A1, Presta, L；和WO 2004/056312 A1, Adams

等人,尤其是实施例11),以及敲除细胞系,例如 α -1,6-岩藻糖基转移酶基因FUT8敲除CHO细胞(参见,例如,Yamane-Ohnuki等人Biotech.Bioeng.87:614(2004);Kanda,Y.等人,Biotechnol.Bioeng.,94(4):680-688(2006);和WO2003/085107)。

[0511] 进一步提供了具有二等分的寡糖的抗体变体,例如,其中附接至抗体Fc区的双触角寡糖被GlcNAc二等分。此类抗体变体可能具有减少的岩藻糖基化和/或改善的ADCC功能。此类抗体变体的实例描述于例如WO 2003/011878(Jean-Mairet等人)中;美国专利号6,602,684(Umana等人);和US2005/0123546(Umana等人)。还提供了在附接至Fc区的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的抗体变体。此类抗体变体可能具有改善的CDC功能。此类抗体变体描述于例如WO 1997/30087(Patel等人);WO 1998/58964(Raju,S.);和WO 1999/22764(Raju,S.)。

[0512] c)Fc区变体

[0513] 在某些实施方案中,可以将一个或多个氨基酸修饰引入本文提供的抗体的Fc区中,从而产生Fc区变体。Fc区变体可以包含人Fc区序列(例如,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc区),其包含在一个或多个氨基酸位置处的氨基酸修饰(例如置换)。

[0514] 在某些实施方案中,本发明设想了具有一些但不是全部效应子功能的抗体变体,这使其成为抗体体内半衰期很重要但某些效应子功能(例如补体和ADCC)是不必要的或有害的的应用的理想候选者。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定以确认CDC和/或ADCC活性的减少/耗竭。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合测定以确保抗体缺乏Fc γ R结合(因此可能缺乏ADCC活性),但保留FcRn结合能力。介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达Fc γ RIII,而单核细胞表达Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII。Ravetch和Kinet,Annu.Rev.Immunol.9:457-492(1991)的第464页表3总结了造血细胞上的FcR表达。评估目标分子的ADCC活性的体外测定的非限制性实例描述于美国专利号5,500,362(参见,例如,Hellstrom,I.等人Proc.Nat'l Acad.Sci.USA83:7059-7063(1986))和Hellstrom,I等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA82:1499-1502(1985);5,821,337(参见Bruggemann,M.等人,J.Exp.Med.166:1351-1361(1987))。可选地,可以采用非放射性测定方法(参见,例如,用于流式细胞术的ACT1™非放射性细胞毒性测定(CellTechnology,Inc.Mountain View,CA;和CytoTox 96(注册商标)非放射性细胞毒性测定(Promega,Madison,WI)。用于此类测定的有效效应细胞包括外周血单核细胞(PBMC)和自然杀伤(NK)细胞。可选地,或另外地,可以在体内(例如在动物模型中,例如Clynes et al.Proc.Nat'l Acad.Sci.USA95:652-656(1998)中公开的动物模型)评估目标分子的ADCC活性。还可以进行C1q结合测定,以确认抗体无法结合C1q,因此缺乏CDC活性。参见,例如,WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体活化,可以进行CDC测定(参见,例如,Gazzano-Santoro等人,J.Immunol.Methods 202:163(1996);Cragg,M.S.等人,Blood 101:1045-1052(2003);和Cragg,M.S.和M.J.Glennie,Blood103:2738-2743(2004))。FcRn结合和体内清除/半衰期测定还可以使用本领域已知的方法进行(参见,例如,etkova,S.B.等人,Int'l.Immunol.18(12):1759-1769(2006))。

[0515] 效应子功能降低的抗体包括Fc区残基238、265、269、270、297、327和329中的一个或多个被置换的抗体(美国专利号6,737,056)。此类Fc突变体包括在氨基酸位置265、269、270、297和327中的两个或更多个处具有置换的Fc突变体,包括将残基265和297置换为丙氨酸的所谓的“DANA”Fc突变体(美国专利号7,332,581)。

[0516] 描述了与FcR结合增加或减少的某些抗体变体。(参见,例如,美国专利号6,737,056;WO 2004/056312,和Shields等人,J.Biol.Chem.9(2):6591-6604(2001).)

[0517] 在某些实施方案中,抗体变体包含具有一个或多个改善ADCC的氨基酸置换的Fc区,例如在Fc区的第298、333和/或334位处的置换(残基的EU编号)。

[0518] 在一些实施方案中,在Fc区中进行改变,导致改变的(即增加的或减少的)C1q结合和/或补体依赖性细胞毒性(CDC),例如,如美国专利号6,194,551;WO 99/51642和Idusogie等人J.Immunol.164:4178-4184(2000)中所述。

[0519] 半衰期延长且与新生儿Fc受体(FcRn)结合增加的抗体负责将母体IgG转移至胎儿(Guyer等人,J.Immunol.117:587(1976)和Kim等人,J.Immunol.24:249(1994)),描述于US2005/0014934A1(Hinton等人)中。这些抗体包含其中具有一个或多个置换的Fc区,这增加Fc区与FcRn的结合。此类Fc变体包括在Fc区残基:238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434的一个或多个处具有置换的那些,例如,Fc区残基434的置换(美国专利号7,371,826)。

[0520] 另见Duncan&Winter,Nature 322:738-40(1988);美国专利号5,648,260;美国专利号5,624,821;和WO 94/29351涉及Fc区变体的其他实例。

[0521] d) 半胱氨酸工程化抗体变体

[0522] 在某些实施方案中,可能期望产生半胱氨酸工程化抗体,例如,“thioMAb”,其中抗体的一个或多个残基被半胱氨酸残基置换。在具体实施方案中,置换的残基出现在抗体的可及位点。通过用半胱氨酸置换这些残基,反应性硫醇基团由此定位在抗体的可及位点,并且可以用于将抗体缀合至其他部分,例如药物部分或接头-药物部分,以产生免疫缀合物,如本文进一步描述。在某些实施方案中,以下残基中的任何一个或多个可以被半胱氨酸置换:轻链的V205(Kabat编号);重链的A118(EU编号);和重链Fc区的S400(EU编号)。半胱氨酸工程化抗体可以如例如美国专利号7,521,541中所述产生。

[0523] e) 抗体衍生物

[0524] 在某些实施方案中,本文提供的抗体可以经进一步修饰以含有本领域已知的且容易获得的另外的非蛋白部分。适合于抗体衍生化的部分包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性实例包括但不限于:聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚1,3-二氧戊环、聚1,3,6-三噁烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或无规共聚物),以及葡聚糖或聚(正乙烯基吡咯烷酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛由于其在水中的稳定性而在生产中具有优势。聚合物可以具有任何分子量,并且可以是支化的或非支化的。附接至抗体的聚合物的数量可以变化,并且如果附接多于一种聚合物,它们可以是相同的或不同的分子。通常,用于衍生化的聚合物的数量和/或类型可以基于包括但不限于以下的考虑因素来确定:待改善的抗体的特定性质或功能、抗体衍生物是否将在规定条件下用于治疗等。

[0525] 在另一个实施方案中,提供了可以通过暴露于辐射而选择性加热的抗体和非蛋白部分的缀合物。在一个实施方案中,非蛋白部分是碳纳米管(Kam等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102:11600-11605(2005))。辐射可以是任何波长,并且包括但不限于不伤害普通细胞的波长,但其将非蛋白部分加热至靠近抗体非蛋白部分的细胞被杀死

的温度。

[0526] B. 重组方法和组合物

[0527] 抗体可以使用重组方法和组合物产生,例如,如美国专利号4,816,567中所述。在一个实施方案中,提供了编码本文所述的抗DDR2抗体的分离的核酸。此类核酸可以编码包含抗体的VL的氨基酸序列和/或包含抗体的VH的氨基酸序列(例如,抗体的轻链和/或重链)。在另一个实施方案中,提供了包含此类核酸的一种或多种载体(例如,表达载体)。在另一个实施方案中,提供了包含此类核酸的宿主细胞。在一个这种实施方案中,宿主细胞包含(例如,已被转化):(1)包含编码包含抗体的VL的氨基酸序列和包含抗体的VH的氨基酸序列的核酸的载体,或(2)包含编码包含抗体的VL的氨基酸序列的核酸的第一载体和含编码包含抗体的VH的氨基酸序列的核酸的第二载体。在一个实施方案中,宿主细胞是真核细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴样细胞(例如Y0、NS0、Sp2/0细胞)。在一个实施方案中,提供了制备抗DDR2抗体的方法,其中该方法包括在适合表达该抗体的条件下培养包含编码如上所述抗体的核酸的宿主细胞,并且任选地回收来自宿主细胞(或宿主细胞培养基)的抗体。

[0528] 对于抗DDR2抗体的重组产生,分离编码抗体的核酸,例如,如上所述的抗体,并将其插入一种或多种载体中,用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。此类核酸可以使用常规程序容易地分离和测序(例如,通过使用能够特异性结合编码抗体重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)。

[0529] 用于克隆或表达抗体编码载体的合适宿主细胞包括本文所述的原核或真核细胞。例如,抗体可以在细菌中产生,特别是当不需要糖基化和Fc效应子功能时。对于抗体片段和多肽在细菌中的表达,参见,例如,美国专利号5,648,237、5,789,199和5,840,523。(另见Charlton,Methods in Molecular Biology,Vol.248(B.K.C.Lo,ed.,Humana Press,托托瓦,NJ,2003),pp.245-254,描述了抗体片段在大肠杆菌中的表达。)表达后,抗体可以以可溶性分的形式从细菌细胞糊中分离并且可以进一步纯化。

[0530] 除了原核生物外,真核微生物(例如丝状真菌或酵母)也是抗体编码载体的合适克隆或表达宿主,包括糖基化途径已被“人源化”的真菌和酵母菌株,从而产生具有部分或完全人糖基化模式的抗体。参见Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004),和Li等人,Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0531] 用于表达糖基化抗体的合适宿主细胞还源自多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物和昆虫细胞。已鉴定出许多可以与昆虫细胞结合使用的杆状病毒株,特别是用于转染草地贪夜蛾细胞。

[0532] 植物细胞培养物也可以用作宿主。参见,例如,美国专利号5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978和6,417,429(描述了用于在转基因植物中产生抗体的PLANTIBODIES™技术)。

[0533] 脊椎动物细胞也可用作宿主。例如,适合在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系可能是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其他实例是由SV40(COS-7)转化的猴肾CV1系;人胚胎肾系(293或293细胞,如例如Graham等人,J.Gen Virol.36:59(1977)中所述);小仓鼠肾细胞(BHK);小鼠支持细胞(TM4细胞,如Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)中所述);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);

水牛大鼠肝细胞 (BRL 3A); 人肺细胞 (W138); 人肝细胞 (Hep G2); 小鼠乳腺肿瘤 (MMT 060562); TRI细胞, 例如, 如Mather等人, *Annals N.Y.Acad.Sci.* 383:44-68 (1982); MRC 5细胞; 和FS4细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞, 包括DHFR-CHO细胞 (Urlaub等人, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 77:4216 (1980)); 以及骨髓瘤细胞系, 例如Y0、NS0和Sp2/0。关于适合抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的综述, 参见, 例如, Yazaki和Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol.248 (B.K.C.Lo, ed., Humana Press, 托托瓦, NJ), pp.255-268 (2003)。

[0534] C. 测定

[0535] 本文提供的抗DDR2抗体可以通过本领域已知的各种测定来鉴定、筛选或表征其物理/化学性质和/或生物活性。

[0536] 1. 结合测定和其他测定

[0537] 在一方面, 例如通过已知方法 (例如ELISA、蛋白质印迹等) 测试本发明的抗体的抗原结合活性。

[0538] 在另一方面, 竞争测定可用于鉴定与以下竞争结合DDR2的抗体: (1) 包含分别在SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:5中的VH和VL序列的抗体; (2) 包含分别在SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:13中的VH和VL序列的抗体; (3) 包含分别在SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:21中的VH和VL序列的抗体; (4) 包含分别在SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:29中的VH和VL序列的抗体; (5) 包含分别在SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:37中的VH和VL序列的抗体; (6) 包含分别在SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:45中的VH和VL序列的抗体; (7) 包含分别在SEQ ID NO:49和SEQ ID NO:53中的VH和VL序列的抗体; (8) 包含分别在SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:61中的VH和VL序列的抗体; 或 (9) 包含分别在SEQ ID NO:65和SEQ ID NO:69中的VH和VL序列的抗体。在某些实施方案中, 此类竞争性抗体与以下所结合的不同表位 (例如, 线性或构象表位) 结合: (1) 包含分别在SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:5中的VH和VL序列的抗体; (2) 包含分别在SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:13中的VH和VL序列的抗体; (3) 包含分别在SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:21中的VH和VL序列的抗体; (4) 包含分别在SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:29中的VH和VL序列的抗体; (5) 包含分别在SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:37中的VH和VL序列的抗体; (6) 包含分别在SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:45中的VH和VL序列的抗体; (7) 包含分别在SEQ ID NO:49和SEQ ID NO:53中的VH和VL序列的抗体; (8) 包含分别在SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:61中的VH和VL序列的抗体; 或 (9) 包含分别在SEQ ID NO:65和SEQ ID NO:69中的VH和VL序列的抗体。

[0539] 在另一方面, 竞争测定可用于鉴定与以下竞争结合DDR2的抗体: (1) 包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3的抗体; (2) 包含含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3的抗体、含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3的抗体; (3) 包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3的抗体、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列

的HVR-L3的抗体；(4) 包含含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3的抗体、含有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；(5) 包含含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3的抗体、含有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；(6) 包含含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3的抗体、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；(7) 包含含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3的抗体、含有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；(8) 包含含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3的抗体、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；或(9) 包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3的抗体、含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3的抗体。在某些实施方案中,此类竞争性抗体与以下所结合的不同表位(例如,线性或构象表位)结合:(1) 包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；(2) 包含含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；(3) 包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；(4) 包含含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；(5) 包含含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；(6) 包含含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；(7) 包含含有SEQ ID

NO:50的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；(8) 包含含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L3的抗体；或(9) 包含含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3的抗体。

[0540] 用于绘制抗体结合的表位的详细示例性方法在Morris(1996) "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* vol.66 (Humana Press, 托托瓦, NJ) 中提供。

[0541] 在示例性竞争测定中,将固定的DDR2在包含与DDR2结合的第一标记抗体(例如,前段中列出的任何抗体)和第二未标记抗体的溶液中孵育,测试第二未标记抗体与第一抗体竞争结合DDR2的能力。第二抗体可以存在于杂交瘤上清液中。作为对照,将固定的DDR2在包含第一标记抗体但不包含第二未标记抗体的溶液中孵育。在允许第一抗体与DDR2结合的条件下孵育后,除去过量的未结合抗体,并测量与固定的DDR2相关的标记的量。如果测试样品中与固定的DDR2相关的标记量相对于对照样品显著减少,则表明第二抗体正在与第一抗体竞争结合DDR2。参见Harlow和Lane(1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, 冷泉港, NY)。

[0542] 2. 活性测定

[0543] 在一方面,提供了用于鉴定具有生物活性的抗DDR2抗体的测定。生物活性可以包括,例如,降低受试者中1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1) mRNA水平和/或纤连蛋白1 (Fn1) mRNA水平。还提供了具有这种体内生物活性的抗体。

[0544] 在某些实施方案中,测试本发明的抗体的这种生物活性。

[0545] 例如,在一个实施方案中,在发生进行性肾纤维化的UUO(单侧输尿管梗阻)小鼠模型中评价抗体降低1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1) mRNA水平的生物活性。小鼠(例如,6-7周龄的无特定病原体的C57BL/6NTac雄性小鼠)在开始处理前适应环境约1周。将动物维持在20-26°C下,12:12小时光照/黑暗循环,并喂食市售标准饲料(例如5P75; PMI Nutrition INT'L (LabDiet), 密苏里州, 美国) 并自由饮用自来水。

[0546] 在麻醉条件(例如,使用异氟烷)下进行UUO手术。腹部左侧被剃毛,并在皮肤上行垂直切口。在腹膜上行第二切口,皮肤也被拉开以露出肾脏。使用镊子将肾脏拉至表面,并用手术线将左侧输尿管在肾脏下方结扎两次。将结扎的肾脏轻轻放回其正确的解剖位置,然后缝合腹膜和皮肤。加入镇痛剂以减少动物痛苦。假手术组仅切开腹膜和皮肤并缝合。

[0547] 测试抗体或阴性对照抗体(例如IC17, 抗KLH抗体)通过腹腔注射施用两次,例如,手术后一天和收获前一天。对于假手术组,施用溶媒。对动物进行称重,然后在麻醉下放血处死。例如,从心腔或腔后静脉采集血液样品,并保持在-80°C下直至进行分析。快速取出肾脏。部分肾组织在液氮或干冰上速冻以进行分子分析。

[0548] 例如,使用RNeasy Mini Kit(Qiagen)从肾组织中提取总RNA。小鼠线粒体核糖体蛋白L19(Mrp119)或其他合适的基因用作每个样品的内源参考。通过测量肾脏中1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1)mRNA水平,将测试抗体施用动物中的水平与阴性对照抗体施用动物中的水平进行比较,评价抗体降低1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1)mRNA水平的生物活性。使用双 Δ Ct分析计算相对mRNA表达值。

[0549] 在另一个实施方案中,在博来霉素(BLM)诱导的小鼠肺纤维化模型(BLM小鼠模型)中评价抗体降低1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1)mRNA水平的生物活性和抗体降低纤连蛋白1(Fn1)mRNA水平的生物活性,该模型特征是肺组织内白细胞浸润、成纤维细胞增殖和胶原蛋白增加。

[0550] 小鼠(例如,6-7周龄的无特定病原体的C57BL/6NTac雄性小鼠)在开始处理前适应环境约1周。将动物维持在20-26°C下,12:12小时光照/黑暗循环,并喂食市售标准饲料(例如5P75;PMI Nutrition INT'L(LabDiet),密苏里州,美国)并自由饮用自来水。

[0551] 硫酸博来霉素(可购自Gold Bio,圣路易斯,US(货号B-910-50))或盐水例如通过渗透微型泵(Alzet,Cupertino,CA,USA,型号1007D)施用。第0天,微型泵装载溶解在适当体积的盐水(例如90 μ L)中的BLM(50mg/kg)。对未患病的对照组施用盐水。植入前,微型泵在37°C下孵育约3-4小时。在麻醉(例如异氟烷)下通过切口在背部皮下(s.c.)植入泵。经过适当的时间间隔后(例如,第10天),在麻醉下从小鼠取出微型泵。例如,从第14天起,每4至3天一次以25mg/kg通过静脉注射施用测试抗体或阴性对照抗体(例如抗KLH抗体IC17dK)。对动物进行称重,然后在异氟烷麻醉下放血处死。例如,从心腔或腔后静脉采集血液样品,并保存在-80°C下直至进行分析。快速取出肺并称重。部分肺组织在液氮或干冰上速冻以进行分子分析。

[0552] 例如,使用RNeasy Mini Kit(Qiagen)从肺组织中提取总RNA。小鼠线粒体核糖体蛋白L19(Mrp119)或其他合适的基因用作每个样品的内源参考。通过比较施用测试抗体的动物与施用阴性对照抗体的动物中的水平,测量肺中的1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1)mRNA水平,评价抗体降低1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1)mRNA水平的生物活性。通过测量肺中纤连蛋白1(Fn1)mRNA水平,通过比较施用测试抗体的动物中的水平与施用阴性对照抗体的动物中的水平来评价抗体降低纤连蛋白1(Fn1)mRNA水平的生物活性。使用双 Δ Ct分析计算相对mRNA表达值。

[0553] 3. 表位作图

[0554] 表位作图通常被描述为鉴定或表征抗体特异性识别和结合的抗原表位的过程。表位通常可以分为两类:线性表位(也称为连续表位)或非线性表位(也称为不连续表位)。Rockberg和Nilvebrant(2018)“Epitope Mapping Protocols,第三版”,in Part of the Methods in Molecular Biology vol.1785(Humana Press,托托瓦,NJ)中提供了用于绘制抗体结合表位的详细示例性方法。鉴定线性表位所涉及的氨基酸残基(即线性表位作图)的技术是公知的,例如通过进行基于阵列的寡肽扫描。

[0555] 在一个实施方案中,参与抗体和目标抗原的结合的氨基酸残基可以通过进行基于阵列的寡肽扫描来确定。进行重叠肽扫描以进行表位作图的技术是公知的(Yone K等人1995,Geyson,H等人1984,Gey H等人1987)。作为实例,但不限于此,为了进行寡肽扫描,可以制备包含来自目标抗原的重叠和非重叠片段的寡肽序列的文库。在一个实施方案中,可

以制备包含目标抗原的胞外结构域的一系列缺失片段的文库。在一个实施方案中,可以制备一系列不重叠但覆盖目标抗原的整个胞外结构域的线性肽,和/或可以制备一系列由一个或多个氨基酸重叠并覆盖目标抗原的整个胞外结构域的线性肽。在一个实施方案中,一系列肽可以被制备成蛋白融合肽,例如GST-融合物、免疫球蛋白-Fc融合物等。抗体与文库内每种肽的结合可以通过已知的方法使用流式细胞术、ELISA、Biacore等进行测量,并且可以相应地确定参与目标抗原和抗体的结合的氨基酸残基。

[0556] 鉴定涉及非线性表位的氨基酸残基(即非线性表位作图)的技术是公知的,例如但不限于此,通过对抗体和目标抗原形成的复合物进行晶体结构分析或冷冻电子显微镜,通过引入突变并进行高通量鸟枪诱变表位作图,或通过进行氢-氘交换质谱。

[0557] 在一个实施方案中,参与抗体和目标抗原的结合的氨基酸残基可以通过对抗体和目标抗原形成的复合物进行晶体结构分析来确定。进行晶体结构分析的技术是公知的(Padlan等人1989)。作为实例,但不限于此,为了进行晶体结构分析,在适当的缓冲液中制备并纯化用于结晶的抗体。使用各种方法进行结晶,例如坐滴蒸气扩散法,获得抗体和目标抗原的复合物。然后将复合物的单晶冷冻在液氮中或冷冻保存。然后进行X射线衍射分析以阐明抗体和目标抗原复合物的结构。可以适当地采用可选的方法,例如冷冻电子显微镜、纳秒显微镜或能够具有相同或基本上相同分辨率的其他方法。通过分析获得的抗体-抗原复合物来确定参与抗体与目标抗原结合的氨基酸。

[0558] 如本文所用,短语“参与抗体与目标抗原的结合”是指形成抗体H链或L链的氨基酸的主链或侧链的原子和可能对结合活性产生影响的距离处的抗原的原子之间发生分子间相互作用的情况;或某些氨基酸残基参与抗原结合的情况,包括稳定CDR环的三维结构等对与抗原结合时的构象的间接作用;以及满足这两个条件的条件。

[0559] 本说明书中的“发生分子间相互作用的条件”可以基于原子间距离来确定,例如,构成形成抗体H链或L链的氨基酸的主链或侧链的非氢原子和通过对由抗原和抗体形成的复合物的晶体结构分析获得的构成抗原的非氢原子之间的距离。例如,上述原子间距离优选为3.0 Å、3.2 Å、3.4 Å、3.6 Å、3.8 Å、4.0 Å、4.2 Å、4.4 Å、4.6 Å、4.8 Å或5.0 Å或更小,但不限于此。更优选地,原子间距离的实例为3.6 Å、3.8 Å、4.0 Å或4.2 Å或更小。

[0560] 在一个实施方案中,参与抗体和目标抗原的结合的氨基酸残基可以通过进行高通量鸟枪诱变来确定。进行高通量鸟枪诱变的技术是公知的(Davidson E.等人,2014)。作为实例,但不限于此,为了进行高通量鸟枪诱变,可以制备包含目标抗原和目标抗原的多个变体的文库。目标抗原的多个变体可以通过在目标抗原的每个氨基酸残基位置处引入单个氨基酸置换来获得。目标抗原的每个变体与抗体的结合可以通过使用Biacore、流式细胞术等的已知方法来测定,并且将目标抗原的变体与抗体的结合活性(亲和性)计算为KD值。将该KD值与目标抗原即,未修饰的抗原(模板)的KD值进行比较,其中单个氨基酸置换改变的结合大于某一标准的变体,被确定为参与抗体和目标抗原的结合的位点。可选地,不比较KD值,而是将单个氨基酸置换改变结合导致抗体和抗原之间结合丧失(例如完全丧失结合)的程度的变体确定为参与抗体和目标抗原的结合的位点。

[0561] 在本发明中,在确定参与抗体和目标抗原的结合的氨基酸残基时,“改变结合大于

某标准的氨基酸置换”具有以下含义。例如,作为使用已知方法(例如Biacore或流式细胞术)进行测量的结果,每个变体与抗体的结合活性(亲和力)被计算为KD值,并且其中与目标抗原(即未修饰的抗原(模板))与相同抗体的结合能力相比,改变使变体与抗体的结合能力变化了1/100、1/50、1/25、1/20、1/10、1/9、1/8、1/7、1/6、1/5、1/4、1/3或1/2,改变的位点被确定为参与与抗体结合的位点,但上述标准是非限制性的。可选地,不是将变体的KD值与目标抗原(即未修饰的抗原(模板))的KD值进行比较,而是将每个变体与抗体的结合活性(亲和力)计算为KD值,并且其中结合能力低于10mM、1mM、100 μ M、10 μ M、1 μ M、100nM、10nM、1nM、100pM、10pM或1pM,改变的位点被确定为参与与抗体的结合,但上述标准是非限制性的。

[0562] 目标抗原或目标抗原的多个变体与抗体的结合活性可以通过适当选择本领域技术人员已知的方法(Biacore、流式细胞术、ELISA、ECL等)进行测量。

[0563] 在另一个实施方案中,参与抗体和目标抗原结合的氨基酸位点可以被认为是选自不参与抗体与目标抗原的结合的氨基酸位点中的任何一个或多个氨基酸位点以外的氨基酸位点。然而,在一些情况下,确定的KD值低于某标准或观察到的结合丧失可能并不表明所询问的氨基酸(即已被置换的氨基酸)参与抗体和目标抗原的结合,但结合能力降低或结合丧失是由于结构维持等方面的损失。因此,认为本领域技术人员将容易且能够合理地通过例如以下的方法来确定氨基酸残基是否参与抗体和目标抗原的结合:例如,用抗体-抗原复合物的晶体结构分析进行补充分析。

[0564] 在一个实施方案中,参与抗体和目标抗原的结合的氨基酸残基可以通过进行氢-氘交换质谱来测定。进行氢-氘交换质谱分析的技术是公知的(Houde D.等人2011, Karpusas M.等人1997)。作为实例,但不限于此,为了进行氢-氘交换质谱,将目标抗原和抗原二聚体-Fc抗体复合物在溶液中孵育,使两种化合物均暴露于氢-氘交换。然后,猝灭氘标记过程,并将所得氘标记化合物进行胃蛋白酶/胰蛋白酶消化,随后进行质谱分析。获得未修饰的肽质量指纹,即非氘标记的(模板)和氘标记的抗原和抗原复合物。通过比较非氘标记(模板)和氘标记抗原和抗原复合物之间的肽质量指纹来确定参与抗体和目标抗原结合的氨基酸。

[0565] 在一个实施方案中,参与抗DDR2抗体和小鼠DDR2结合的氨基酸残基在实施例6中描述。用于确定参与抗DDR2抗体和小鼠DDR2结合的氨基酸残基的方法的具体详情可见于上述实例中,但上述实例是非限制性的。

[0566] 4. 用于获得或筛选抗原结合特性与目标抗体相同或基本上相似的抗体或抗原结合结构域的方法

[0567] 本公开包括用于获得或筛选抗原结合特性(例如,表位同一性、互补位同一性、抗原结合能力等)与目标抗体或不限于实施例6中描述的抗体相同或基本上相似的抗体或抗原结合结构域的方法。可以使用各种方法,例如通过竞争性免疫测定的表位分箱(binching),将其抗原结合特性相同或基本上相似的抗体或抗原结合结构域分选到相同分箱中,如第0153段所述。如本文所用,本领域技术人员应当理解,所描述的用于获得或筛选其抗原结合特性与目标抗体相同或基本上相似的抗体的方法同样适用于获得或筛选抗原结合特性与另一抗原结合结构域相同或基本上相同的抗原结合结构域的方法,并且这些术语可互换使用。

[0568] 在一个实施方案中,但不限于此,本公开提供了用于获得或筛选与目标抗体结合

相同表位的抗体的方法,其涉及首先鉴定参与抗原和目标抗体之间结合的氨基酸残基,然后生成包含抗原和抗原的多个变体的文库,最后针对抗原及其变体的文库筛选包含抗体和抗原结合结构域的文库,如下文进一步举例说明。

[0569] 在该方法中,首先制备包含目标抗原的多个变体的文库。但不限于此,将一种或多种氨基酸突变(插入、缺失和/或中)引入被鉴定为参与抗原与抗体结合的位点的一个或多个氨基酸残基。在一个实施方案中,将单个氨基酸置换引入被鉴定为参与抗原与抗体结合的位点的一个残基。

[0570] 在一个实施方案中,制备包含抗原DDR2的多个变体的文库,其包括在鉴定参与DDR2和抗DDR2抗体的结合的一个或多个氨基酸残基处引入一个或多个氨基酸置换。因此,如实施例6所述,经鉴定参与小鼠DDR2和抗DDR2抗体结合的氨基酸残基是自N-末端起,SEQ ID NO:77的31至179。经鉴定参与小鼠DDR2和抗体结合的氨基酸残基是自N-末端起,SEQ ID NO:77的R31、P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、A107、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、V150、F151、L152、D154和R179。SEQ ID NO:77对应于小鼠DDR2[参考序列号NP_072075.2]。通过在SEQ ID NO:77的氨基酸第31至179位中的一个或多个处和/或在SEQ ID NO:77的氨基酸R31、R31、P33、S37、D64、S65、E66、Q103、H106、A107、G108、H110、S145、N146、Y148、D149、V150、F151、L152、D154和R179中一个或多个处引入一个或多个氨基酸置换来制备包含多个DDR2变体的文库。

[0571] 在一个实施方案中,本公开提供了使用公知的方法获得或筛选抗原结合特性与目标抗体或如实施例6中描述的抗体相同或基本上相似的抗体的方法。在一个实施方案中,现有的抗体或抗原结合结构域或预先存在的文库(噬菌体文库等),或从通过免疫动物获得的杂交瘤或从免疫动物的B细胞制备的文库,例如,由免疫细胞(例如用缀合物免疫的动物的B细胞)制备的抗体或文库,其中目标抗原(例如小鼠或人DDR2的胞外结构域(ECD)),其可以适当地连接至佐剂,例如高免疫原性T细胞表位肽。

[0572] 在用于筛选抗原结合特性与本公开的目标抗体相同或基本上相似的抗体的方法的一个实施方案中,可以使用文库,例如噬菌体展示文库、核糖体展示文库、mRNA展示文库、cDNA展示文库、CIS展示文库、大肠杆菌展示文库、革兰氏阳性细菌展示文库、酵母展示文库、哺乳动物细胞展示文库、病毒展示文库和体外病毒展示文库。产生上述文库和筛选此类文库中具有期望结合特征的抗体的方法是熟知的,并且还在第0114段-第0116段中进行描述。

[0573] 在一个实施方案中,在淘选方法中,其中将目标抗原固定到载体(例如珠粒)上。可以通过例如使被合成为通过接头与生物素化学连接的目标抗原与其上具有固定有链霉抗生物素蛋白或NeutrAvidin的珠粒或板接触的方法,或通过疏水相互作用将与佐剂(例如牛血清白蛋白(BSA))共价连接的目标抗原附接至珠粒或板上产生目标抗原。这些方法已经是公知的(J.Immunol.Methods.2003Sep,280(1-2):139-55;BMC Biotechnol.2009Jan 29;9:6.doi:10.1186/1472-6750-9-6)。与目标抗原具有结合活性的抗体可以通过收集与固定的目标抗原具有结合活性的抗体进行制备。

[0574] 在可选的实施方案中,通过淘选筛选抗原结合特性与本公开的目标抗体相同或基本上相似的抗体的方法,可以使用荧光标记的目标抗原、生物素标记的目标抗原或荧光标记的链霉亲和素(或NeutrAvidin或亲和素)。可以通过使荧光标记的目标抗原、或生物素标

记的目标抗原和荧光标记的链霉亲和素(或NeutrAvidin或亲和素)与细胞表面上呈递的文库等接触来制备对目标抗原具有结合活性的抗体,然后使用荧光活化细胞分选(FACS)方法。这些方法已经是公知的(Proc Natl Acad Sci U S A.2000Sep26;97(20):10701-5)。

[0575] 上述抗原变体文库用于针对上述抗体文库进行淘选。抗体与抗原和/或抗原变体的结合可以通过已知方法使用Biacore、流式细胞术等进行测量,但不限于此,并且目标抗原的变体与抗体的结合活性(亲和力)被计算为KD值。为了避免疑问,还可以采用其他合适的测量方法,本文中讨论的KD值仅作为实例。

[0576] 确定每种抗体与每种抗原和/或抗原变体的结合能力(亲和力),例如其KD值。例如,KD值或结合能力(亲和力)的其他合适或等量的量度可以使用已知的方法(例如Biacore或流式细胞术)进行测量,并且其中KD值被确定为低于某标准,例如,低于或小于 $1\mu\text{M}$ 、 100nM 、 10nM 、 1nM 、 100pM 、 10pM 、或 1pM 、或 10^{-13}M 等的值,抗体与抗原和/或抗原变体的结合被确认并且可以用“o(圆)”表示,否则用“x(十字)”表示。当抗原变体由“o(圆)”表示时,该抗原变体中已被置换的氨基酸残基被认为是参与抗体和目标抗原结合的氨基酸,否则该抗原变体由“x(十字)”表示。

[0577] 因此,可以鉴定对相同抗原和/或抗原变体具有相同或基本上相同的结合能力(亲和力)的抗体,如下表B所示。在一个实例中,Ab#1和Ab#10与包含相同氨基酸修饰的抗原结合,并且被认为是具有相同抗原结合特性的抗体。在另一个实例中,Ab#1和Ab#7各自与抗原结合,其中该抗原包含基本上相同的氨基酸修饰并且被认为是具有基本上相同的抗原结合特性的抗体。抗体Ab#1、Ab#7和Ab#10被认为是具有相同或基本上相同的抗原结合特性的抗体,或结合相同表位的抗体,或识别相同表位的抗体,或竞争结合相同表位的抗体。如本文所用,“具有相同或基本上相同的抗原结合特性的抗体”、“结合相同表位的抗体”或“竞争结合相同表位的抗体”可互换使用。

[0578] [表B]

[0579]

Ab #	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
WT	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
11X	o	x	x	x	o	x	o	x	o	o
12X	x	o	x	x	x	x	x	o	o	x
13X	x	x	x	x	x	x	x	x	o	x
14X	o	x	o	x	o	o	o	x	o	o
15X	o	o	o	x	o	o	o	o	o	o
16X	x	x	o	o	o	o	x	o	o	x
17X	x	x	o	o	o	o	x	o	x	x
18X	o	x	o	x	o	o	o	o	x	o
19X	o	x	o	x	o	x	o	o	x	o
20X	x	x	x	x	o	x	o	o	o	x

[0580] 在一个实施方案中,上述方法可用于鉴定可选的抗体,本文中也称为“第二抗体”,其具有基本上相似的抗原结合特性,即识别并结合目标第一抗体的抗原上的相同表位。例如,第一抗体和第二抗体与一种或多种抗原或抗原变体结合,并且其中所述抗原或抗原变体的氨基酸序列彼此具有98.0%、98.1%、98.2%、98.3%、98.4%、98.5%、98.6%、98.7%、98.8%、98.9%、99.0%、99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%、99.6%、99.7%、99.8%、99.9%序列同一性。例如,表B中的Ab#1和Ab#7。

[0581] 本公开提供了与目标抗体的相同表位结合或竞争结合目标抗体的相同表位的抗体,其中此类抗体是与通过筛选抗原结合特性与本文所述的目标抗体关于结合目标抗原的抗原结合特性相同或基本上相似的抗体的方法获得的目标抗体具有相同或基本上相似的抗原结合特性的抗体。在一个实施方案中,本公开包括与实施例6中鉴定的用于结合小鼠DDR2的抗DDR2抗体结合相同表位或竞争结合相同表位的抗DDR2抗体。未进行限制,通过进行筛选抗原结合特性与本文描述的同或基本上相似的抗体的方法,技术人员能够鉴定与目标抗体结合相同表位或竞争结合相同表位的抗体。在优选的实施方案中,技术人员能够产生并筛选与实施例6中鉴定的用于结合小鼠DDR2的抗DDR2抗体结合相同表位或竞争结合相同表位的抗DDR2抗体。

[0582] 在一个实施方案中,本公开还包括结合人DDR2的抗DDR2抗体。遵循前述方法的技术人员将容易地获得可选的抗DDR2抗体,其与结合人DDR2的抗DDR2抗体具有相同或基本上相似的抗原结合特性。因此,考虑到小鼠和人DDR2的胞外区的序列相似性,如实施例6中例证的被鉴定为参与抗DDR2抗体与小鼠DDR2的结合的氨基酸残基被认为对应于通过相同表位与人DDR2结合的可选抗DDR2抗体的进一步鉴定并与其相关。

[0583] D. 免疫缀合物

[0584] 本发明还提供了包含与一种或多种细胞毒性剂缀合的本文的抗DDR2抗体的免疫缀合物,该细胞毒性剂例如化疗剂或药物、生长抑制剂、毒素(例如蛋白毒素、细菌、真菌、植物或动物来源的酶活性毒素或其片段)或放射性同位素。

[0585] 在一个实施方案中,免疫缀合物是抗体-药物缀合物(ADC),其中抗体与一种或多种药物缀合,该药物包括但不限于美登木素生物碱(参见美国专利号5,208,020、5,416,064和欧洲专利EP 0 425 235 B1);澳瑞他汀(auristatin),例如单甲基澳瑞他汀药物部分DE和DF(MMAE和MMAF)(参见美国专利号5,635,483和5,780,588以及7,498,298);多拉司他汀(dolastatin);加利车霉素(calicheamicin)或其衍生物(参见美国专利号5,712,374、5,714,586、5,739,116、5,767,285、5,770,701、5,770,710、5,773,001和5,877,296;Hinman等人,Cancer Res.53:3336-3342(1993);和Lode等人,Cancer Res.58:2925-2928(1998));葱环类药物,例如道诺霉素(daunomycin)或多柔比星(参见Kratz等人,Current Med.Chem.13:477-523(2006);Jeffrey等人,Bioorganic&Med.Chem.Letters 16:358-362(2006);Torgov等人,Bioconj.Chem.16:717-721(2005);Nagy等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA97:829-834(2000);Dubowchik等人,Bioorg.&Med.Chem.Letters12:1529-1532(2002);King等人,J.Med.Chem.45:4336-4343(2002);和美国专利号6,630,579);甲氨蝶呤;长春地辛;紫杉烷类,例如多西他赛、紫杉醇、拉洛他赛(larotaxel)、替司他赛(tesetaxel)和奥塔他赛(ortataxel);单端孢菌素(trichothecene);和CC1065。

[0586] 在另一个实施方案中,免疫缀合物包含与酶活性毒素或其片段缀合的本文所述的抗体,该酶活性毒素或其片段包括但不限于白喉A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链(来自铜绿假单胞菌)、蓖麻毒素A链、相思豆蛋白A链、蒴莲根毒素A链、 α -帚曲霉素、油桐蛋白、石竹素蛋白、美洲商陆蛋白(PAPI、PAPII和PAP-S)、苦瓜抑制剂、姜黄素、巴豆素、皂草抑制剂、白树素、丝裂蛋白、局限曲菌素、苯霉素、恩霉素和单端孢霉烯。

[0587] 在另一个实施方案中,免疫缀合物包含与放射性原子缀合以形成放射性缀合物的

本文所述的抗体。多种放射性同位素可用于产生放射性缀合物。实例包括²¹¹At、¹³¹I、¹²⁵I、⁹⁰Y、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁵³Sm、²¹²Bi、³²P、²¹²Pb和Lu的放射性同位素。当放射性缀合物用于检测时,其可以包含用于闪烁照相研究的放射性原子,例如Tc-99m或¹²³I,或用于核磁共振(NMR)成像(也称为磁共振成像,MRI)的自旋标记,例如碘-123、碘-131、铟-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、钆、锰或铁。

[0588] 抗体和细胞毒性剂的缀合物可以使用多种双官能蛋白偶联剂制备,该双官能蛋白偶联剂例如N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP)、4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯(SMCC)、亚氨基硫杂环戊烷(IT)、酰亚胺酯的双功能衍生物(例如己二酰亚胺酸二甲酯盐酸盐)、活性酯(例如二琥珀酰亚胺基辛二酸酯)、醛(例如戊二醛)、双叠氮化合物(例如双(对叠氮苯甲酰基)己二胺)、双重氮衍生物(例如双(对重氮苯甲酰基)乙二胺)、二异氰酸酯(例如甲苯2,6-二异氰酸酯)、双活性氟化合物(例如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。例如,蓖麻毒蛋白免疫毒素可以如Vitetta等人,Science 238:1098 (1987)中所述来制备。碳-14标记的1-异硫氰酸苄基-3-甲基二亚乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)是用于将放射性核素缀合至抗体的示例性螯合剂。参见W094/11026。接头可以是促进细胞毒性药物在细胞中释放的“可切割接头”。例如,可以使用酸不稳定接头、肽酶敏感接头、光不稳定接头、二甲基接头或含二硫键的接头(Chari等人,Cancer Res.52:127-131 (1992);美国专利号5,208,020)。

[0589] 本文明确设想但不限于用交联剂制备的此类缀合物,该交联剂包括但不限于BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基-EMCS、磺基-GMBS、磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SIAB、磺基-SMCC和磺基-SMPB,以及SVSB(琥珀酰亚胺基-(4-乙烯基苄)苯甲酸酯),它们可商购获得(例如,来自Pierce Biotechnology,Inc.,罗克福德,IL.,U.S.A)。

[0590] E.用于诊断和检测的方法和组合物

[0591] 在某些实施方案中,本文提供的任何抗DDR2抗体可用于检测生物样品中DDR2的存在。如本文所用,术语“检测”涵盖定量或定性检测。在某些实施方案中,生物样品包含细胞或组织,例如纤维化疾病,包括特发性肺纤维化(IPF)、肾纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、肝硬化、肺纤维化(lung fibrosis)/肺的纤维化(pulmonary fibrosis)、心肌纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、年龄相关性黄斑病变性(AMD)、糖尿病性视网膜病变、增殖性玻璃体视网膜病变(PVR)、青光眼、糖尿病性黄斑水肿(DME)、干眼病、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病(RA-ILD)、MI后心脏瘢痕、心肌病、充血性心力衰竭、酒精性肝硬化、乙型肝炎(HBV)、丙型肝炎(HCV)、血吸虫病、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性胆汁性胆管炎(PBC)、原发性硬化性胆管炎(PSC)、移植肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、慢性移植物抗宿主病、动脉粥样硬化、囊性纤维化、手术引起的纤维化、烧伤引起的瘢痕和收缩、放射引起的纤维化、肌营养不良症、炎症性肠病(IBD)、纵隔纤维化和腹膜后纤维化。

[0592] 在一个实施方案中,提供了用于诊断或检测方法的抗DDR2抗体。在还一方面,提供了检测生物样品中DDR2的存在的方法。在某些实施方案中,该方法包括在允许抗DDR2抗体与DDR2结合的条件下使生物样品与本文所述的抗DDR2抗体接触,并检测抗DDR2抗体与DDR2

之间是否形成复合物。这种方法可以是体外或体内方法。在一个实施方案中,抗DDR2抗体用于选择适合用抗DDR2抗体治疗的受试者,例如,其中DDR2是用于选择患者的生物标志物。

[0593] 可以使用本发明的抗体诊断的示例性病症包括特发性肺纤维化 (IPF)、肾纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、肝硬化、肺纤维化 (lung fibrosis) / 肺的纤维化 (pulmonary fibrosis)、心肌纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、年龄相关性黄斑病变性 (AMD)、糖尿病性视网膜病变、增殖性玻璃体视网膜病变 (PVR)、青光眼、糖尿病性黄斑水肿 (DME)、干眼病、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病 (COPD)、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病 (RA-ILD)、MI后心脏瘢痕、心肌病、充血性心力衰竭、酒精性肝硬化、乙型肝炎 (HBV)、丙型肝炎 (HCV)、血吸虫病、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)、原发性胆汁性胆管炎 (PBC)、原发性硬化性胆管炎 (PSC)、移植肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、慢性移植物抗宿主病、动脉粥样硬化、囊性纤维化、手术引起的纤维化、烧伤引起的瘢痕和收缩、放射引起的纤维化、肌营养不良症、炎症性肠病 (IBD)、纵隔纤维化和腹膜后纤维化。

[0594] 在优选的实施方案中,可以使用本发明的抗体诊断的示例性病症包括特发性肺纤维化 (IPF)、肾纤维化、肺纤维化 (lung fibrosis) / 肺的纤维化 (pulmonary fibrosis)、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病 (COPD)、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺病 (RA-ILD)、肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性疤痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、囊性纤维化、炎症性肠病 (IBD) 或腹膜后纤维化。

[0595] 在某些实施方案中,提供了标记的抗DDR2抗体。标记包括但不限于直接检测的标记或部分 (例如荧光标记、发色标记、电子致密标记、化学发光标记和放射性标记) 以及以下部分: 例如通过酶促反应或分子相互作用间接检测的酶或配体。示例性标记包括但不限于放射性同位素³²P、¹⁴C、¹²⁵I、³H和¹³¹I, 荧光团 (例如稀土螯合物或荧光素) 及其衍生物, 罗丹明及其衍生物, 丹磺酰, 伞形酮, 荧光素酶, 例如, 萤火虫荧光素酶和细菌荧光素酶 (美国专利号4,737,456), 荧光素, 2,3-二氢酞嗪二酮, 辣根过氧化物酶 (HRP), 碱性磷酸酶, β -半乳糖苷酶, 葡糖淀粉酶, 溶菌酶, 糖氧化酶, 例如, 葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶, 杂环氧化酶 (例如尿酸酶和黄嘌呤氧化酶), 与使用过氧化氢氧化染料前体的酶 (例如HRP、乳过氧化物酶或微过氧化物酶), 生物素/抗生物素蛋白, 自旋标记, 噬菌体标记, 稳定自由基等。

[0596] F. 药物制剂

[0597] 本文所述的抗DDR2抗体的药物制剂通过将具有期望纯度的抗体与一种或多种任选的药学上可接受的载体混合以冻干制剂或水溶液的形式进行制备 (Remington's Pharmaceutical Sciences第16版, Osol, A.Ed. (1980))。药学上可接受的载体在所采用的剂量和浓度下通常对接受者无毒性, 并且包括但不限于: 缓冲剂, 例如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸; 抗氧化剂, 包括抗坏血酸和蛋氨酸; 防腐剂 (例如十八烷基二甲基苄基氯化铵; 六甲氯铵; 苯扎氯铵; 苄索氯铵; 苯酚、丁醇或苯甲醇; 对羟基苯甲酸烷基酯, 例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯; 儿茶酚; 间苯二酚; 环己醇; 3-戊醇; 和间甲酚); 低分子量 (少于约10个残基) 多肽; 蛋白, 例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白; 亲水性聚合物, 例如聚

乙烯吡咯烷酮;氨基酸,例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,例如EDTA;糖类,例如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;成盐抗衡离子,例如钠;金属络合物(例如锌-蛋白质络合物);和/或非离子表面活性剂如聚乙二醇(PEG)。本文的示例性药学上可接受的载体进一步包括间质药物分散剂,例如可溶性中性活性透明质酸酶糖蛋白(sHASEGP),例如人可溶性PH-20透明质酸酶糖蛋白,例如rHuPH20(HYLENEX(注册商标),Baxter International, Inc.)。某些示例性sHASEGP和使用方法(包括rHuPH20)描述于美国专利公开号2005/0260186和2006/0104968中。在一方面,sHASEGP与一种或多种另外的糖胺聚糖酶(例如软骨素酶)组合。

[0598] 示例性冻干抗体制剂描述于美国专利号6,267,958中。水性抗体制剂包括美国专利号6,171,586和W02006/044908中描述的那些,后者制剂包含组氨酸-乙酸盐缓冲液。

[0599] 本文的制剂还可以根据所治疗的特定适应症的需要含有多于一种的活性成分,优选具有不相互产生不利影响的互补活性的活性成分。这些活性成分适当地以有效达到预期目的的量组合存在。

[0600] 活性成分可以被包封在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中,例如分别在胶体药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊)或粗乳液中的羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊。此类技术公开于Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol, A. Ed. (1980)中。

[0601] 可以制备缓释制剂。缓释制剂的合适实例包括含有抗体的固体疏水性聚合物的半透性基质,该基质是成形制品的形式,例如,薄膜或微胶囊。

[0602] 用于体内施用的制剂通常是无菌的。无菌可以容易地实现,例如通过无菌过滤膜过滤。

[0603] G. 治疗用途、方法和组合物

[0604] 本文提供的任何抗DDR2抗体可用于治疗方法中。

[0605] 在一方面,提供了抗DDR2抗体用作药物。在还一方面,提供了抗DDR2抗体用于治疗纤维化疾病。

[0606] 根据本发明,术语“纤维化疾病”涉及具有以下共同特征的疾病:受累器官中纤维化组织不受控且进行性蓄积,导致其功能障碍和最终衰竭。

[0607] 在还一方面,提供了抗DDR2抗体用于治疗特发性肺纤维化(IPF)、肾纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、肝硬化、肺纤维化(lung fibrosis)/肺的纤维化(pulmonary fibrosis)、心肌纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、年龄相关性黄斑病变性(AMD)、糖尿病性视网膜病变、增殖性玻璃体视网膜病变(PVR)、青光眼、糖尿病性黄斑水肿(DME)、干眼病、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病(RA-ILD)、MI后心脏瘢痕、心肌病、充血性心力衰竭、酒精性肝硬化、乙型肝炎(HBV)、丙型肝炎(HCV)、血吸虫病、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性胆汁性胆管炎(PBC)、原发性硬化性胆管炎(PSC)、移植肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、慢性移植物抗宿主病、动脉粥样硬化、囊性纤维化、手术引起的纤维化、烧伤引起的瘢痕和收缩、放射引起的纤维化、肌营养不良症、炎症性肠病(IBD)、纵隔纤维化或腹膜后纤维化。

[0608] 在优选的实施方案中,提供抗DDR2抗体用于治疗特发性肺纤维化(IPF)、肾纤维化、肺纤维化(lung fibrosis)/肺的纤维化(pulmonary fibrosis)、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺病(RA-ILD)、肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、囊性纤维化、炎症性肠病(IBD)或腹膜后纤维化。

[0609] 在某些实施方案中,提供了用于治疗方法的抗DDR2抗体。在某些实施方案中,本发明提供了用于治疗患有纤维化疾病的个体的方法的抗DDR2抗体,该方法包括向个体施用有效量的抗DDR2抗体。在某些实施方案中,本发明提供了用于治疗患有以下的个体的方法:特发性肺纤维化(IPF)、肾纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、肝硬化、肺纤维化(lung fibrosis)/肺的纤维化(pulmonary fibrosis)、心肌纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、年龄相关性黄斑病变性(AMD)、糖尿病性视网膜病变、增殖性玻璃体视网膜病变(PVR)、青光眼、糖尿病性黄斑水肿(DME)、干眼病、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病(RA-ILD)、MI后心脏瘢痕、心肌病、充血性心力衰竭、酒精性肝硬化、乙型肝炎(HBV)、丙型肝炎(HCV)、血吸虫病、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性胆汁性胆管炎(PBC)、原发性硬化性胆管炎(PSC)、移植肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、慢性移植物抗宿主病、动脉粥样硬化、囊性纤维化、手术引起的纤维化、烧伤引起的瘢痕和收缩、放射引起的纤维化、肌营养不良症、炎症性肠病(IBD)、纵隔纤维化或腹膜后纤维化,该方法包括向个体施用有效量的抗DDR2抗体。在一个这种实施方案中,该方法进一步包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂。

[0610] 在某些实施方案中,本发明提供了抗DDR2抗体用于降低个体中1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1)mRNA水平的方法,该方法包括向个体施用有效的抗DDR2抗体以降低1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1)mRNA水平。在某些实施方案中,本发明提供了抗DDR2抗体用于降低个体中纤连蛋白1(Fn1)mRNA水平的方法,该方法包括向个体施用有效的抗DDR2抗体以降低纤连蛋白1(Fn1)mRNA水平。

[0611] 根据任何上述实施方案的“个体”优选是人,并且本发明特别涉及人患者中纤维化疾病,并且特别是上文指定的纤维化疾病的治疗。

[0612] 在还一方面,本发明提供了抗DDR2抗体在生产或制备药物中的用途。在一个实施方案中,该药物用于治疗纤维化疾病。在还一个实施方案中,该药物用于治疗纤维化疾病的方法,该方法包括向患有纤维化疾病的个体施用有效量的药物。在一个实施方案中,该药物用于治疗特发性肺纤维化(IPF)、肾纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、肝硬化、肺纤维化(lung fibrosis)/肺的纤维化(pulmonary fibrosis)、心肌纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、年龄相关性黄斑病变性(AMD)、糖尿病性视网膜病变、增殖性玻璃体视网膜病变(PVR)、青光眼、糖尿病性黄斑水肿(DME)、干眼病、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病(RA-ILD)、MI后心脏瘢痕、心肌病、充血性心力衰竭、酒精性肝硬化、乙型肝炎(HBV)、丙型肝炎(HCV)、血吸虫病、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、原发性胆汁性胆管炎(PBC)、原发性硬化性胆管炎(PSC)、移植肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢

痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、慢性移植物抗宿主病、动脉粥样硬化、囊性纤维化、手术引起的纤维化、烧伤引起的瘢痕和收缩、放射引起的纤维化、肌营养不良症、炎症性肠病 (IBD)、纵隔纤维化或腹膜后纤维化。在一个优选的实施方案中,药物用于治疗特发性肺纤维化 (IPF)、肾纤维化、肺纤维化 (lung fibrosis) / 肺的纤维化 (pulmonary fibrosis)、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病 (COPD)、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺病 (RA-ILD)、肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、囊性纤维化、炎症性肠病 (IBD) 或腹膜后纤维化。在另一个实施方案中,该药物用于治疗特发性肺纤维化 (IPF)、肾纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、肝硬化、肺纤维化 (lung fibrosis) / 肺的纤维化 (pulmonary fibrosis)、心肌纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、年龄相关性黄斑病变性 (AMD)、糖尿病性视网膜病变、增殖性玻璃体视网膜病变 (PVR)、青光眼、糖尿病性黄斑水肿 (DME)、干眼病、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病 (COPD)、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病 (RA-ILD)、MI 后心脏瘢痕、心肌病、充血性心力衰竭、酒精性肝硬化、乙型肝炎 (HBV)、丙型肝炎 (HCV)、血吸虫病、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)、原发性胆汁性胆管炎 (PBC)、原发性硬化性胆管炎 (PSC)、移植肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、慢性移植物抗宿主病、动脉粥样硬化、囊性纤维化、手术引起的纤维化、烧伤引起的瘢痕和收缩、放射引起的纤维化、肌营养不良症、炎症性肠病 (IBD)、纵隔纤维化或腹膜后纤维化的方法,该方法包括向患有相应疾病的个体施用有效量的药物。

[0613] 在一个这种实施方案中,该方法进一步包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂。在另一个实施方案中,该药物用于降低1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1) mRNA水平。在另一个实施方案中,该药物用于降低个体中1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1) mRNA水平的方法,该方法包括向个体施用有效量的该药物以降低1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1) mRNA水平。在另一个实施方案中,药物用于降低纤连蛋白1 (Fn1) mRNA水平。在另一个实施方案中,该药物用于降低个体中纤连蛋白1 (Fn1) mRNA水平的方法,该方法包括向个体施用有效量的所述药物以降低纤连蛋白1 (Fn1) mRNA水平。根据任何上述实施方案的“个体”可以是人。

[0614] 在另一方面,本发明提供了用于治疗纤维化疾病的方法。在一个实施方案中,该方法包括向患有此类纤维化疾病的个体施用有效量的抗DDR2抗体。在一个这种实施方案中,该方法进一步包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂。在另一方面,本发明提供了用于治疗特发性肺纤维化 (IPF)、肾纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、肝硬化、肺纤维化 (lung fibrosis) / 肺的纤维化 (pulmonary fibrosis)、心肌纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、年龄相关性黄斑病变性 (AMD)、糖尿病性视网膜病变、增殖性玻璃体视网膜病变 (PVR)、青光眼、糖尿病性黄斑水肿 (DME)、干眼病、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病 (COPD)、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病 (RA-ILD)、MI 后心脏瘢痕、心肌病、充血性心力衰竭、酒精性肝硬化、乙型肝炎 (HBV)、丙型肝炎 (HCV)、血吸虫病、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)、原发性胆汁性胆管炎 (PBC)、原发性硬化性胆管炎 (PSC)、移植肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、慢性移植物抗宿主病、动脉粥样

硬化、囊性纤维化、手术引起的纤维化、烧伤引起的瘢痕和收缩、放射引起的纤维化、肌营养不良症、炎症性肠病 (IBD)、纵隔纤维化或腹膜后纤维化的方法。在一个实施方案中,该方法包括向患有特发性肺纤维化 (IPF)、肾纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化、肝硬化、肺纤维化 (lung fibrosis)/肺的纤维化 (pulmonary fibrosis)、心肌纤维化、眼纤维化、骨髓纤维化、年龄相关性黄斑病变 (AMD)、糖尿病性视网膜病变、增殖性玻璃体视网膜病变 (PVR)、青光眼、糖尿病性黄斑水肿 (DME)、干眼病、硬皮病肺病、中重度哮喘、慢性阻塞性肺病 (COPD)、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、类风湿性关节炎相关间质性肺疾病 (RA-ILD)、MI后心脏瘢痕、心肌病、充血性心力衰竭、酒精性肝硬化、乙型肝炎 (HBV)、丙型肝炎 (HCV)、血吸虫病、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)、原发性胆汁性胆管炎 (PBC)、原发性硬化性胆管炎 (PSC)、移植肾病、糖尿病肾病、狼疮性肾炎、局灶节段性肾小球硬化症、阿尔帕特综合征、间质纤维化、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、硬皮病、肾源性系统性纤维化、慢性移植物抗宿主病、动脉粥样硬化、囊性纤维化、手术引起的纤维化、烧伤引起的瘢痕和收缩、放射引起的纤维化、肌营养不良症、炎症性肠病 (IBD)、纵隔纤维化或腹膜后纤维化的个体施用有效量的抗DDR2抗体。在一个这种实施方案中,该方法进一步包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂。根据任何上述实施方案的“个体”可以是人。

[0615] 在还一方面,本发明提供了用于降低个体中1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1)mRNA水平的方法。在一个实施方案中,该方法包括向个体施用有效量的抗DDR2抗体以降低1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1)mRNA水平。在还一方面,本发明提供了用于降低个体中纤连蛋白1 (Fn1)mRNA水平的方法。在一个实施方案中,该方法包括向个体施用有效量的抗DDR2抗体以降低纤连蛋白1 (Fn1)mRNA水平。在一个实施方案中,“个体”是人。

[0616] 在还一方面,本发明提供了包含本文提供的任何抗DDR2抗体的药物制剂,例如用于任何上述治疗方法中。在一个实施方案中,药物制剂包含本文提供的任何抗DDR2抗体和药学上可接受的载体。在另一个实施方案中,药物制剂包含本文提供的任何抗DDR2抗体和至少一种另外的治疗剂,例如如下所述。

[0617] 本发明的抗体可以在治疗中单独使用或与其他试剂联合使用。例如,本发明的抗体可以与至少一种另外的治疗剂共同施用。

[0618] 上述此类联合治疗涵盖联合施用(其中两种或更多种治疗剂被包括在同一制剂或单独的制剂中)和单独施用,在这种情况下,本发明的抗体的施用可以发生在施用一种或多种另外的治疗剂之前、同时和/或随后。在一个实施方案中,抗DDR2抗体的施用和另外的治疗剂的施用在彼此约一个月内,或在约一、二或三周内,或在约一、二、三、四、五或六天内发生。

[0619] 本发明的抗体(和任何另外的治疗剂)可以通过任何合适的方式施用,包括肠胃外、肺内和鼻内,并且如果期望局部治疗,可以病灶内施用。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹腔或皮下施用。给药可以通过任何合适的途径,例如通过注射,例如静脉内或皮下注射,部分取决于施用是短暂的还是长期的。本文设想了各种给药方案,包括但不限于在不同时间点单次或多次施用、推注施用和脉冲输注。

[0620] 本发明的抗体将以符合良好医疗实践的方式配制、给药和施用。在本文中要考虑的因素包括所治疗的特定病症、所治疗的特定哺乳动物、个体患者的临床状况、病症的原因、试剂的递送部位、施用方法、施用时间安排以及医生已知的其他因素。抗体不需要但任

选地与目前用于预防或治疗所讨论的病症的一种或多种药剂一起配制。此类其他试剂的有效量取决于制剂中存在的抗体的量、病症或治疗的类型以及上述讨论的其他因素。这些通常以与本文所述相同的剂量和施用途径使用,或本文所述剂量的约1至99%,或以根据经验/临床确定合适的任何剂量和任何途径使用。

[0621] 为了预防或治疗疾病,本发明的抗体的适当剂量(当单独使用或与一种或多种其他另外的治疗剂联合使用时)将取决于待治疗的疾病的类型、抗体的类型、疾病的严重程度和病程、施用抗体是否用于预防或治疗目的、既往治疗、患者的临床病史和对抗体的反应以及主治医生的判断。抗体适合一次或在一系列治疗中施用于患者。根据疾病的类型和严重程度,约1 μ g/kg至15mg/kg(例如0.1mg/kg至10mg/kg)的抗体可以是施用于患者的初始候选剂量,无论例如通过一次或多次单独施用,或通过连续输注。典型的每日剂量范围可以为约1 μ g/kg至100mg/kg或更多,具体取决于上述因素。对于几天或更长时间的重复施用,根据病况,治疗通常持续至出现期望的疾病症状抑制为止。抗体的一种示例性剂量将在约0.05mg/kg至约10mg/kg的范围内。因此,可以向患者施用一剂或多剂约0.5mg/kg、2.0mg/kg、4.0mg/kg或10mg/kg(或其任何组)。此类剂量可以间歇地施用,例如,每周或每三周(例如,使得患者接受约两剂至约二十剂,或例如约六剂抗体)。可以施用初始较高的负荷剂量,随后施用一个或多个较低剂量。这种疗法的进展很容易通过常规技术和测定来监测。

[0622] 应当理解,可以使用本发明的免疫缀合物代替抗DDR2抗体或除了抗DDR2抗体之外进行任何上述制剂或治疗方法。

[0623] H. 制品

[0624] 在本发明的另一方面,提供了含有可用于治疗、预防和/或诊断上述病症的材料的制品(或试剂盒)。该制品包含容器和容器上的标签或与容器相关联的包装说明书。合适的容器包括,例如,瓶子、小瓶、注射器、IV溶液袋等。容器可以由多种材料形成,例如玻璃或塑料。该容器容纳组合物,该组合物单独或与另一种有效治疗、预防和/或诊断病况的组合物组合,并且可以具有无菌进入端口(例如容器可以是静脉内溶液袋或具有可被皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。组合物中的至少一种活性成分是本发明的抗体。标签或包装说明书表明该组合物用于治疗所选病况。此外,制品可以包含(a)其中含有组合物的第一容器,其中该组合物包含本发明的抗体;(b)其中含有组合物的第二容器,其中该组合物包含另外的细胞毒性剂或其他治疗剂。本发明的该实施方案中的制品可以进一步包含包装说明书,其指示组合物可以用于治疗特定病况。可选地,或另外地,制品可以进一步包含第二(或第三)容器,其包含药学上可接受的缓冲剂,例如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液和葡萄糖溶液。它可以进一步包括从商业和用户角度期望的其他材料,包括其他缓冲剂、稀释剂、过滤器、针头和注射器。

[0625] 应当理解,任何上述制品可以包括本发明的免疫缀合物来代替抗DDR2抗体或除了抗DDR2抗体之外。

[0626] 特发性肺纤维化(IPF)是慢性疾病,其特征是由于肺纤维化导致肺功能丧失,推测这是异常胞外基质(ECM)重塑和成纤维细胞增殖的结果。目前IPF尚无治愈方法,当前的护理标准通常包括使用仅有的2种批准药物——吡非尼酮(Esbriet(注册商标))或尼达尼布(Ofev(注册商标))中的任何一种来减缓IPF的进展。这些药物是抗纤维化药物,其减缓肺部纤维化或瘢痕形成的速度,并被批准用于轻度、中度和重度IPF患者(NPL 12)。吡非尼酮抑

制TGF β 刺激的胶原蛋白产生并减少成纤维细胞增殖(NPL 13),而尼达尼布结合PDGFR、FGFR和VEGFR,阻断这些受体的自身磷酸化,并阻止其下游信号传导级联,导致成纤维细胞增殖减少(NPL 14)。同时,盘状蛋白结构域受体(DDR)是受体酪氨酸激酶(RTK)的鲜为人知的家族,与其他响应可扩散细胞因子或生长因子(例如TGF β 、PDGF、FGF和VEGF)的RTK不同,它响应胶原蛋白的结合,该胶原蛋白是胞外基质的一部分。已知DDR参与生理(生长、繁殖、细胞微环境信号传导)和病理过程(肿瘤、骨恶性肿瘤、动脉粥样硬化和纤维化)(NPL 15)。已报道DDR2在纤维化疾病中发挥作用(NPL 16),包括一项使用针对DDR2的siRNA的研究,该研究显示出对肺纤维化的治疗功效(NPL 11),以及另一项研究,其中DDR2敲除导致胶原蛋白产生减少和成纤维细胞增殖减少,但DDR2信号传导的恢复逆转表型(NPL 10)。

[0627] 虽然迄今为止已批准一些DDR2靶向药物,但这些是与激酶结构域结合的小分子抑制剂,而不是与胞外结构域结合的单克隆抗体。此外,这些小分子抑制剂不是DDR2特异性的,并且由于DDR2和DDR1激酶结构域与其他激酶之间的高序列和结构同源性,它们也是DDR1和其他激酶的有效抑制剂(NPL 17)。此外,虽然有报道表明特异性结合DDR2的单克隆抗体在癌症的诊断和治疗中显示出功效(PTL1),但并没有表明该抗体也能有效治疗纤维化。发明人开发了与DDR2胞外结构域结合但不与DDR1结合的单克隆抗体,并且另外表明这些抗体显示出在单侧输尿管梗阻(UUO)模型和博莱霉素(BLM)诱导的小鼠肺纤维化模型中减少纤维化的功效如下所示。

[0628] 实施例

[0629] 以下是本发明的方法和组合物的实例。应当理解,考虑到以上提供的一般描述,可以实践各种其他实施方案。

[0630] 实施例1

[0631] 抗DDR2抗体生成

[0632] 抗DDR2抗体的制备、选择和测定如下:

[0633] 根据生产商的说明(Yuxin Chen等人*J.Virol.* (2013) 87(18):10232),使用Helios Gene Gun系统(Bio-Rad),用小鼠DDR1(NCBI参考序列:NP_031610.1,SEQ ID NO:79)质粒和小鼠DDR2(NCBI参考序列:NP_072075.2,SEQ ID NO:77)质粒包被的金颗粒(每次注射1微克(μ g) DNA,总共40次注射)的混合物免疫三只NZW兔。另外,联合皮内施用(每个部位200微克DNA,肩部共2个部位)和肌内施用(每个部位400微克DNA,两条腿共2个部位)小鼠DDR1质粒和小鼠DDR2质粒的混合物。每周重复免疫一次,共8次,随后收集血液和脾脏。对于B细胞选择,收集IgG阳性和小鼠DDR2结合B细胞。使用细胞分选仪对B细胞进行分选,然后根据W02016098356A1中描述的程序进行铺板和培养。培养后,收集B细胞培养物上清液用于进一步分析,并将B细胞沉淀物冷冻保存。

[0634] 使用选定的B细胞上清液以及稳定表达小鼠DDR1的Ba/F3细胞系和稳定表达小鼠DDR2的Ba/F3细胞系,通过流式细胞术检查与小鼠DDR2的特异性结合(与小鼠DDR2结合,但不与小鼠DDR1结合)。

[0635] 使用ZR-96Quick-RNA试剂盒(ZYMO RESEARCH,货号R1053)从冷冻保存的细胞沉淀物中纯化所选B细胞系的RNA。通过逆转录PCR扩增所选细胞系中编码抗体重链可变区的DNA,并与编码抗体重链恒定区SG181(SEQ ID NO:73)的DNA重组。还通过逆转录PCR扩增编码抗体轻链可变区的DNA,并与编码抗体轻链恒定区k0MC(SEQ ID NO:74)的DNA重组。克隆

的抗体在Expi293™表达系统(Thermo Fisher Scientific)中表达,并从培养物上清液中纯化。

[0636] 表1显示了用于进一步评价的所选鉴定抗体的可变区(包括VH、VL和HVR/CDR)的名称和SEQ ID NO。

[0637] [表1]

[0638]

抗体名称	SEQ ID NO							
	VH	HVR-H1	HVR-H2	HVR-H3	VL	HVR-L1	HVR-L2	HVR-L3
DAB0065	1	2	3	4	5	6	7	8
DAB0048	9	10	11	12	13	14	15	16
DAB0060	17	18	19	20	21	22	23	24
DAB0045	25	26	27	28	29	30	31	32
DAB0069	33	34	35	36	37	38	39	40
DAB0094	41	42	43	44	45	46	47	48
DAB0071	49	50	51	52	53	54	55	56
DAB0009	57	58	59	60	61	62	63	64
DAB0052	65	66	67	68	69	70	71	72

[0639] 实施例2

[0640] 抗DDR2单克隆抗体的结合分析

[0641] 为了确定抗体与小鼠DDR2的结合,使用稳定表达小鼠DDR2的Ba/F3细胞系进行流式细胞术分析。制备单臂形式的抗体,其在每个分子中含有一个抗体可变区,以通过亲和模式评价结合。测量抗DDR2抗体的平均荧光强度(MFI),结果如图1所示。

[0642] 为了绘制更详细的抗DDR2抗体结合表位,已制备小鼠DDR2片段,其中盘状蛋白样(DSL)结构域和胞外近膜(EJXM)区域(G1n201-Va1393)从全长小鼠DDR2中缺失(小鼠DDR2 Δ DSL-EJXM)。制备稳定表达小鼠DDR2 Δ DSL-EJXM Ba/F3细胞系。通过流式细胞术测量抗体与该细胞系的结合并获得MFI值。结果如图2所示。能够结合全长小鼠DDR2但不能结合小鼠DDR2 Δ DSL-EJXM的抗体的表位将是DSL-EJXM区域。可以结合全长小鼠DDR2和小鼠DDR2 Δ DSL-EJXM的抗体表位将是盘状蛋白(DS)结构域。本研究的结合结果和估计的表位位置总结于表2中。在表2中,“是”表示测试抗体可以与细胞系结合,“否”表示抗体不能与细胞系结合。

[0643] 在表2所示的抗体中,还评价了DAB0009、DAB0045、DAB0065、DAB0069和DAB0071与人DDR2的结合,并且所有这些抗体均显示与人DDR2的结合。尚未评价DAB0048、DAB0052、DAB0060和DAB0094与人DDR2的结合,但根据小鼠和人DDR2胞外区的序列相似性,它们很可能与人DDR2结合。此外,考虑到小鼠和人DDR2胞外区的序列相似性,表2所示抗体的结合区被认为在小鼠和人DDR2中是对应的。

[0644] [表2]

[0645]

抗体名称	与全长小鼠DDR2结合	与小鼠DDR2 Δ DSL-EJXM结合	结合区(表位)
DAB0009	是	否	DSL-EJXM
DAB0045	是	是	DS
DAB0048	是	是	DS

DAB0052	是	否	DSL-EJXM
DAB0060	是	是	DS
DAB0065	是	是	DS
DAB0069	是	是	DS
DAB0071	是	否	DSL-EJXM
DAB0094	是	是	DS

[0646] 实施例3

[0647] 抗DDR2单克隆抗体的竞争性结合分析

[0648] 使用Octet (Pall ForteBio) 通过实时结合测定进行竞争性表位分箱实验。将重组小鼠DDR2 ECD-Fc (R&D Systems, 货号7479-DR-050) 生物素化并捕获到链霉亲和素生物传感器吸头 (Pall ForteBio) 上作为抗原。将捕获抗原的吸头浸入15或40微克(μg)/mL的第一组抗体中300秒。然后, 将吸头与15或40 μg /mL的第二组抗体一起孵育300秒。为了消除抗体解离的影响, 第二组中的抗体浓度与第一组中的抗体浓度相同。结果通过DATA Analysis HT软件 (Pall ForteBio, 版本10.0.1.7) 进行分析。第二组抗体的阳性反应表明第二组抗体不与第一组抗体竞争, 换言之, 第二组中的抗体结合的表位与第一组中的抗体的表位不同; 而第二组抗体的阴性反应表明第一组和第二组中的抗体相互竞争, 换言之, 第一组和第二组中的抗体结合相同表位。

[0649] 测试与小鼠DDR2的DS结构域结合的抗体, 结果如表3所示。表3中, “Ab1”表示第一组中的抗体, “Ab2”表示第二组中的抗体。粗体字母表示相应细胞的Ab1和Ab2相互竞争并且不“串联”与抗原结合, 因此它们位于同一表位箱中。如表3所示, 测试抗体被分为3个不同的表位箱: 箱1包括DAB0048和DAB0093, 箱2包括DAB0060和DAB0094, 箱3包括DAB0045、DAB0065和DAB0069。

[0650] [表3]

		Ab2							
		DAB0048	DAB0093	DAB0060	DAB0094	DAB0045	DAB0065	DAB0069	
[0651]	Ab1	DAB0048	0	0.0114	0.82	1.4162	1.2047	1.648	1.5679
		DAB0093	-0.0129	0	0.8565	1.4787	1.1299	1.6621	1.4959
		DAB0060	1.3094	1.4529	0	0.0985	1.09	1.5112	1.3465
		DAB0094	1.4965	1.492	-0.054	0	1.0685	1.552	*1.3398
		DAB0045	1.3242	1.4332	0.5914	1.2221	0	0.0398	0.0335
		DAB0065	1.4924	1.4955	0.7657	1.3713	-0.0102	0	-0.0058
		DAB0069	1.4697	1.4606	0.6147	1.3047	-0.001	0.0322	0
		箱1	箱2		箱3				

[0652] 表3显示了抗DDR2抗体的竞争结合分析的结果。粗体字母表示Ab1和Ab2对应的细胞相互竞争。相互竞争的抗体被分类到相同表位箱中。带*的数据是在40微克(μg)/mL的第一组和第二组抗体下获得。

[0653] 实施例4

[0654] 抗DDR2抗体预防UUO小鼠模型中的肾纤维化

[0655] 在发生进行性肾纤维化的UUO(单侧输尿管梗阻)小鼠模型中评价单克隆抗DDR2抗体的体内功效。

[0656] 6-7周龄的无特定病原体的C57BL/6NTac雄性小鼠购自Pte Ltd(新加坡),并在开始处理前适应环境1周。将动物维持在20-26℃下,12:12小时光照/黑暗循环,喂食市售标准饲料(5P75;PMI Nutrition INT'L(LabDiet),密苏里州,美国)并自由饮用自来水。

[0657] UUO手术是在异氟烷麻醉条件下进行的。腹部左侧被剃毛,并在皮肤上行垂直切口。在腹膜上行第二切口,皮肤也被拉开以露出肾脏。使用镊子将肾脏拉至表面,并用手术线将左侧输尿管在肾脏下方结扎两次。将结扎的肾脏轻轻放回其正确的解剖位置,然后缝合腹膜和皮肤。加入镇痛剂以减少动物痛苦。假手术组仅切开腹膜和皮肤并缝合。

[0658] 所有单克隆抗体均通过腹腔注射施用两次,即手术后一天和收获前一天。对于假手术组,施用溶媒。第4天对动物进行称重,然后在异氟烷麻醉下放血处死。从心腔或腔后静脉采集血液样品,并保持在-80℃下直至进行分析。快速取出肾脏。部分肾组织在液氮或干冰上速冻以进行分子分析。

[0659] 使用RNeasy Mini Kit(Qiagen)从肾组织中提取总RNA。小鼠线粒体核糖体蛋白L19(Mrp119)用作每个样品的内源参考。通过测量肾脏中1型胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1)mRNA水平来评价抗体的功效。使用双 Δ Ct分析计算相对mRNA表达值。

[0660] 如图3所示,UUO小鼠的Col1a1 mRNA水平显著增加。DAB0048和DAB0065在减少UUO小鼠Col1a1 mRNA方面表现出显著功效。

[0661] 数据表示为平均值 \pm 平均值标准误差(SEM)。使用Student t检验和Dunnett多重比较检验进行统计分析。当P值 <0.05 时,差异被认为具有显著性。

[0662] 实施例5

[0663] 抗DDR2抗体预防BLM小鼠模型中的肺纤维化

[0664] 在博莱霉素(BLM)诱导的小鼠肺纤维化模型(BLM小鼠模型)中评价抗DDR2单克隆抗体(DAB)和抗成熟TGF- β 抗体(GC1008)的体内功效,其特征是肺组织内白细胞浸润、成纤维细胞增殖和胶原蛋白增加。该模型是特征最佳且使用最广泛的临床前模型,其重现特发性肺纤维化的许多方面(NPL 18、NPL 19、NPL 20)。

[0665] 6-7周龄的无特定病原体的C57BL/6NTac雄性小鼠购自Pte Ltd(新加坡),并在开始处理前适应环境1周。将动物维持在20-26℃下,12:12小时光照/黑暗循环,并喂食市售标准饲料(5P75;PMI Nutrition INT'L(LabDiet),密苏里州,美国)并自由饮用自来水。

[0666] 博莱霉素硫酸盐(Gold Bio,圣路易斯,US,货号B-910-50)或盐水通过渗透微型泵(Alzet,Cupertino,CA,USA,型号1007D)施用。第0天,微型泵装载溶解在90微升(μ L)盐水中的BLM(50mg/kg)。对未患病的对照组施用盐水。植入前,微型泵在37℃下孵育3-4小时。在异氟烷麻醉下通过切口在背部皮下(s.c.)植入泵。第10天,在异氟烷麻醉下从小鼠取出微型泵。从第14天起,每4至3天一次以25mg/kg通过静脉注射施用所有单克隆抗体。本研究使用抗KLH抗体IC17dK作为阴性对照。第28天对动物进行称重,然后在异氟烷麻醉下放血处死。从心腔或腔后静脉采集血液样品,并保存在-80℃下直至进行分析。快速取出肺并称重。部分肺组织在液氮或干冰上速冻以进行分子分析。

[0667] 使用RNeasy Mini Kit(Qiagen)从肺组织中提取总RNA。小鼠线粒体核糖体蛋白L19(Mrp119)或3-磷酸甘油醛脱氢酶(Gapdh)用作每个样品的内源参考。通过测量肺部1型

胶原蛋白 $\alpha 1$ (Col1a1) 和纤连蛋白1 (Fn1) mRNA水平来评价抗体的功效。使用双 Δ Ct分析计算相对mRNA表达值。

[0668] 如图4A所示, BLM小鼠的Col1a1和Fn1 mRNA水平显著增加。DAB0065在减少BLM小鼠中Col1a1和Fn1 mRNA方面表现出显著功效。在另一方面, 如图4B所示, 其余抗体DAB0045、DAB0069和DAB0048在减少BLM小鼠中的Col1a1和Fn1 mRNA方面没有表现出显著功效。

[0669] 数据表示为平均值 \pm 平均值标准误差 (SEM)。使用Student t检验进行统计分析。当P值 < 0.05 时, 差异被认为具有显著性。“ns”: 不具有显著性。

[0670] 实施例6

[0671] DAB0065抗体的表位分析

[0672] 6-1小鼠DDR2与DAB0065抗体复合物的X射线晶体结构分析

[0673] 通过X射线晶体学分析揭示了小鼠DDR2和单克隆抗体DAB0065复合物的三维结构。

[0674] 6-2. 小鼠DDR2盘状蛋白结构域 (22-190) (moDDR2 DS结构域) 的表达和纯化

[0675] 使用Expi293表达系统 (Thermo Fisher Scientific) 瞬时表达带有N-末端His标签和FLAG标签的小鼠DDR2 (22-190) 的胞外域 (His-FLAG-moDDR2)。通过亲和层析 (HisTrapTM excel, Cytiva) 随后通过尺寸排阻层析 (HiLoad 16/600 Superdex 200pg, Cytiva) 纯化来自培养基的His-FLAG-moDDR2。融合在N-末端的His标签和FLAG标签用肠激酶 (Roche) 切割, 所得的moDDR2 DS结构域用抗FLAG M2亲和凝胶 (Sigma-Aldrich) 进一步纯化, 以除去未切割的蛋白和凝胶过滤柱 (SuperdexTM 75 Increase 10/300GL, Cytiva)。合并含有moDDR2 DS结构域的级分并储存在 -80°C 下。

[0676] 6-3. DAB0065的Fab片段 (DAB0065 Fab) 的制备

[0677] 瞬时转染用于晶体结构分析的DAB0065并使用Expi293表达系统 (Thermo Fisher Scientific) 表达。收获培养物上清液, 并使用MabSelect SuRe亲和层析 (Cytiva) 随后使用凝胶过滤层析 (HiLoad 26/600 Superdex 200pg Cytiva) 从上清液纯化DAB0065。DAB0065的Fab片段通过常规方法使用FabULOUS (注册商标) (Genovis) 进行有限消化, 然后上样至蛋白A柱 (MabSlect SuRe, Cytiva) 上以除去Fc片段、阳离子交换柱 (HiTrap SP HP, Cytiva) 和凝胶过滤柱 (SuperdexTM 75 Increase 10/300 GL, Cytiva)。合并含有DAB0065 Fab的级分并储存在 -80°C 下。

[0678] 6-4. DAB0065 Fab和moDDR2 DS结构域复合物的结晶、数据收集和结构测定

[0679] 将纯化的moDDR2 DS结构域与DAB0065 Fab混合。通过凝胶过滤柱 (SuperdexTM 75 Increase 10/300GL, Cytiva) 用20mM HEPES pH 7.1、100mM NaCl纯化复合物。将纯化的复合物浓缩至约8.49mg/mL, 并通过坐滴蒸气扩散法在 4°C 下进行结晶。储备溶液由27.0%w/v EDO_P8K、90mM Morpheus缓冲液3 (pH 8.5)、81mM Morpheus卤素 (分子尺寸) 组成。

[0680] X射线衍射数据由SPring-8的BL45XU收集。测量过程中, 将晶体持续置于100K的氮气流中以其保持冷冻状态, 并使用连接到光束线的PILATUS3 6M (DECTRIS) 总共收集3600张X射线衍射图像, 同时每次旋转晶体 0.1° 。使用autoPROC程序 (Acta.Cryst.2011, D67: 293-302)、XDS Package (Acta.Cryst.2010, D66: 125-132) 和AIMLESS (Acta.Cryst.2013, D69: 1204-1214) 确定细胞参数、索引衍射点并处理从衍射图像获得的衍射数据, 最终获得分辨率至多 1.437 \AA 的衍射强度数据。晶体学数据统计如表4所示。

[0681] 使用MOE (化学计算组) 建立的DAB0065同源模型和来自UniProt (AF-Q62371-F1) 作

为搜索模型的AlphaFold建立的moDDR2 DS结构域的预测结构,通过程序Phaser (J. Appl. Cryst. 2007, 40: 658-674) 进行分子替换来确定结构。使用Coot程序 (Acta Cryst. 2010, D66: 486-501) 建立模型,并使用PHENIX程序 (Acta Cryst. 2010, D66: 213-221) 进行细化。结构细化统计数据如表4所示。

[0682] [表4]

X射线数据收集和细化统计	
数据收集和细化统计。	
数据收集	
X-射线源	SPring-8 / BL45XU
波长 (Å)	1.00000
空间组	$P2_1 2_1 2_1$
细胞尺寸 a, b, c (Å)	88.245, 112.178, 139.634
细胞尺寸 α, β, γ (°)	90.0, 90.0, 90.0
分辨率 (Å)	87.452 - 1.437 (1.602 - 1.437)*
R_{pim}	0.030 (0.401)*
CC (1/2)	0.999 (0.796)*
平均值 $I/\sigma(I)$	14.6 (1.8)*
观察总数	1057696 (53468)*
独特观察	155813 (7792)*
完整性, 球形 (%)	62.1 (11.3)*
完整性, 椭圆柱 (%)	96.1 (77.5)*
冗余	6.8 (6.9)*
细化	
分辨率 (Å)	69.82 - 1.44
反射次数	155759
$R_{工作}/R_{游离}^a$	20.36 / 23.71
r. m. s. d. 键长 (Å)	0.006
r. m. s. d. 键角 (°)	0.963
拉式图 ^b	
异常值 (%)	0.00
容许值 (%)	2.82
首选值 (%)	97.18
旋转异构体异常值 (%) ^b	0.20
* 括号中的值表示最高分辨率的壳。	
^a $R_{游离}$ 用随机留出的5%反射来计算。	
^b 使用MolProbity程序计算。	

[0683]

[0684] 6-5. DAB0065 Fab和moDDR2 DS结构域相互作用位点的鉴定

[0685] DAB0065 Fab和moDDR2 DS结构域复合物的晶体结构以1.44 Å分辨率测定。DAB0065的Fab片段以1:1的比例与DS结构域结合,晶体结构的不对称单元含有两个复合物分子-1和分子-2,如图5A所示。分子-1和分子-2可以在所有残基中与C α 原子位置以0.313 Å RMSD良好对齐,如图5B所示。此处讨论的图5和图6使用分子-1制备。

[0686] 在图6A和6B中,DAB0065 Fab接触区的表位分别映射在moDDR2 DS结构域氨基酸序列和晶体结构中。表位包括moDDR2 DS结构域的氨基酸残基,其含有位于晶体结构中距DAB0065 Fab任何部分5.0 Å距离内的一个或多个非氢原子。

[0687] 如图6B所示,晶体结构分析表明moDDR2 DS结构域的平坦表面主要是由DAB0065的HCDR3、LCDR1和LCDR2形成的平坦表面识别的。另外,还观察到DDR2的Y148和D149形成的小凸和HCDR1、2和3形成的浅凹之间的相互作用,并认为其是抗体和抗原识别所必需的。

[0688] 因此,考虑到小鼠和人DDR2的胞外区的DS结构域非常高的序列相似性(参见SEQ ID NO:77和78),如本实施例中所示例的,被鉴定为参与抗DDR2抗体与小鼠DDR2的结合的氨基酸残基被认为对应于抗DDR2抗体通过相同表位与人DDR2的结合。

[0689] 尽管为了清楚理解的目的已经通过说明和实例对前述发明进行了一些详细描述,但是这些描述和实例不应被解释为限制本发明的范围。本文引用的所有专利和科学文献的公开内容均通过引用以其全文明确地并入。

序列表

<110> 中外制药株式会社
 <120> 抗DDR2抗体及其用途
 <130> C1-A2112P
 <150> JP 2021-094689
 <151> 2021-06-04
 <160> 102
 <170> PatentIn 3.5版
 <210> 1
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 1
 Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
 1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Ala
 20 25 30
 Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
 35 40 45
 Met Ile Thr Tyr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Trp Tyr Ala Ser Trp Ala
 50 55 60
 Asn Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Thr Leu Lys
 65 70 75 80
 Met Thr Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Arg
 85 90 95
 Val Tyr Gly Thr Ile Gly Ser Asn Phe Tyr Ser Ile Tyr Ser Phe Asn
 100 105 110
 Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 2
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 2

Thr Ser Ala Met Ser

1 5

<210> 3

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 3

Met Ile Thr Tyr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Trp Tyr Ala Ser Trp Ala

1 5 10 15

Asn Gly

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 4

Val Tyr Gly Thr Ile Gly Ser Asn Phe Tyr Ser Ile Tyr Ser Phe Asn

1 5 10 15

Leu

<210> 5

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 5

Ala Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly

1 5 10 15

Gly Thr Val Ser Ile Ser Cys Gln Ser Ser Lys Ser Val Tyr Asn Ser

20 25 30

Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu

35 40 45

Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Ala Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe

50 55 60

Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Arg Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Val

65 70 75 80

Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Ser Ser
85 90 95

Ser Ser Asp Asn Gly Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 6
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工合成的序列
<400> 6

Gln Ser Ser Lys Ser Val Tyr Asn Ser Asn Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工合成的序列
<400> 7

Tyr Thr Ser Ala Leu Ala Ser
1 5

<210> 8
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工合成的序列
<400> 8

Ala Gly Gly Tyr Ser Ser Ser Ser Asp Asn Gly
1 5 10

<210> 9
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工合成的序列
<400> 9

Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Ile Thr Pro Gly Thr Pro

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

115

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 10

Ile Tyr Tyr Met Ile

1 5

<210> 11

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 11

Tyr Ile Trp Ser Gly Ser Thr Thr Asp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

1 5 10 15

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 12

Val Tyr Ala Gly Tyr Gly Tyr Gly Ser Asp Leu

1 5 10

<210> 13

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 13

Ala Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly

1 5 10 15

Gly Thr Val Ser Ile Ser Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn

20 25 30

Asn Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu

35 40 45

Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

50 55 60

Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Val

65 70 75 80

Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Ser Thr

85 90 95

Asn Ser Asp Lys Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 14

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 14

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 15
 Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 16
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 16
 Ala Gly Gly Tyr Ser Thr Asn Ser Asp Lys Asn Ala
 1 5 10
 <210> 17
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 17
 Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Ala
 1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Asp
 20 25 30
 Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile Gly
 35 40 45
 Thr Ile Phe Thr Glu Gly Ser Thr Ser Cys Ala Ser Trp Val Lys Gly
 50 55 60
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr
 65 70 75 80
 Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Val Arg Gly Thr
 85 90 95
 Thr Ser Asn Arg Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110
 <210> 18
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列

<400> 18
 Ser Tyr Asp Met Ser
 1 5
 <210> 19
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 19
 Thr Ile Phe Thr Glu Gly Ser Thr Ser Cys Ala Ser Trp Val Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 20
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 20
 Gly Thr Thr Ser Asn Arg Leu
 1 5
 <210> 21
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 21
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Ala Val Val Gly
 1 5 10 15
 Ala Thr Val Thr Ile Arg Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Val Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
 65 70 75 80
 Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Tyr Phe Ser Ser Ser

	85	90	95
Tyr Ser Tyr Gly Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
	100	105	110
<210>	22		
<211>	11		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	人工合成的序列		
<400>	22		
Gln Ala Ser Glu Ser Ile Thr Asn Tyr Leu Ser			
1	5	10	
<210>	23		
<211>	7		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	人工合成的序列		
<400>	23		
Tyr Ala Ser Thr Leu Glu Ser			
1	5		
<210>	24		
<211>	14		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	人工合成的序列		
<400>	24		
Gln Ser Asn Tyr Phe Ser Ser Ser Tyr Ser Tyr Gly Asn Thr			
1	5	10	
<210>	25		
<211>	121		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	人工合成的序列		
<400>	25		
Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro			
1	5	10	15

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

<210> 26

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 26

Ser Tyr Ser Met Gly

1 5

<210> 27

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 27

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

<210> 28

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 28

Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 32

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 32

Gln Ser Tyr Tyr Gly Thr Ser Thr Thr Gly Glu Tyr Asn Ala

1 5 10

<210> 33

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 33

Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr Tyr

20 25 30

Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly

35 40 45

Ile Val Tyr Pro Gly Ser Ser Ala Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly

50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Met Thr

65 70 75 80

Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Gly Ser Ser

85 90 95

Asn Ser Val Tyr Ser Phe Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 34

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列
 <400> 34
 Asn Tyr Tyr Met Gln
 1 5
 <210> 35
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 35
 Ile Val Tyr Pro Gly Ser Ser Ala Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 36
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 36
 Ser Ser Asn Ser Val Tyr Ser Phe Asn Leu
 1 5 10
 <210> 37
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 37
 Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
 1 5 10 15
 Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Ser
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Thr Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
 65 70 75 80

Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gly Ser Phe Ser Asn
85 90 95

Ile Val Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 38
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工合成的序列
<400> 38

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 39
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工合成的序列
<400> 39

Ser Ala Ser Thr Leu Thr Ser
1 5

<210> 40
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工合成的序列
<400> 40

Gln Gln Gly Gly Ser Phe Ser Asn Ile Val Asn Thr
1 5 10

<210> 41
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工合成的序列
<400> 41

Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro

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

Ser

<210> 42

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 42

Ser Tyr Ser Val Ala

1 5

<210> 43

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 43

Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Val Asn Gly
 1 5 10 15

<210> 44

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 44

Asp Pro Gly Tyr Ser Arg Asp Leu

1 5

<210> 45

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 45

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Ser Glu Pro Val Gly

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Tyr

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Asn Gly Leu Glu Cys

65 70 75 80

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

85 90 95

His Gly Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 46

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 46

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 47

Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 48

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 48

Gln Ser Ser Tyr Val Gly Val Ser His Gly Ser

1 5 10

<210> 49

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 49

Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Gly Ser

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ala Tyr Tyr

20 25 30

Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly

35 40 45

Trp Ile Asn Thr Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Pro Ser Trp Ala Arg Gly

50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr

65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Ser Asp

85 90 95

Ala Ser Val His Gln Phe Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 50

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 50

Ala Tyr Tyr Met Gln

1 5

<210> 51

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 51

Trp Ile Asn Thr Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Pro Ser Trp Ala Arg Gly

1 5 10 15

<210> 52

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 52

Ser Asp Ala Ser Val His Gln Phe Asn Leu

1 5 10

<210> 53

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 53

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Ala Ala Val Gly

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Gly Asn Ala

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Cys Thr Tyr Gly Ser Gly Ser
85 90 95

Ser Arg Gly Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 54
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工合成的序列
<400> 54

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Gly Asn Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 55
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工合成的序列
<400> 55

Tyr Ala Ser Thr Leu Glu Ser
1 5

<210> 56
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工合成的序列
<400> 56

Gln Cys Thr Tyr Gly Ser Gly Ser Ser Arg Gly Asn Ala
1 5 10

<210> 57
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工合成的序列
<400> 57

Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro

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

Ser Ser

<210> 58

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 58

Ser His Val Met Gly

1 5

<210> 59

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 59

Ile Ile Ala Val Ser Gly Asp Ile Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 60

Pro Thr Val Ile Asn Asn Asn Asn Leu
 1 5
 <210> 61
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 61
 Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Ala Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly
 1 5 10 15
 Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser Gln Asn Val Tyr Gly Asn
 20 25 30
 Asn Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe
 50 55 60
 Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu
 65 70 75 80
 Glu Cys Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Tyr Asp Cys
 85 90 95
 Asn Ile Val Asp Cys Arg Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110
 Lys
 <210> 62
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 62
 Gln Ser Ser Gln Asn Val Tyr Gly Asn Asn Tyr Leu Ser
 1 5 10
 <210> 63
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列

<400> 63
 Ser Thr Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 64
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 64
 Leu Gly Gly Tyr Asp Cys Asn Ile Val Asp Cys Arg Ala
 1 5 10
 <210> 65
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 65
 Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
 1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Arg Tyr Thr
 20 25 30
 Gly Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
 35 40 45
 Ile Ile Ser Ser Asp Asp Arg Thr Trp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
 50 55 60
 Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr
 65 70 75 80
 Ser Pro Thr Ile Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Val
 85 90 95
 Gly Gly Asp Ser Trp Phe Trp Gly Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 66
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 66
 Arg Tyr Thr Gly Ile
 1 5
 <210> 67
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 67
 Ile Ile Ser Ser Asp Asp Arg Thr Trp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15
 <210> 68
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 68
 Asp Val Gly Gly Asp Ser Trp Phe Trp Gly Leu
 1 5 10
 <210> 69
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 69
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Ala Ala Val Gly
 1 5 10 15
 Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65					70						75					80
Ala	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Ser	
						85					90					95
Asn	Ser	Asn	Tyr	Gly	His	Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	
						100					105					110

Lys

<210> 70

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 70

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 71

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 71

Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 72

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 72

Gln Ser Asn Tyr Tyr Ser Ser Ser Asn Ser Asn Tyr Gly His Ala

1 5 10 15

<210> 73

<211> 328

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 73

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 Leu Arg Arg 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
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
 325

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 74

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30

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

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Cys
 50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 75

<211> 324

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 75

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala
 1 5 10 15

Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 20 25 30

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu

50	55	60
Ser Ser Ser Val Thr	Val Pro Ser Ser Thr Trp	Pro Ser Glu Thr Val
65	70	75
Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys		80
	85	90
Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Lys		95
	100	105
Glu Val Ser Lys Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu		110
	115	120
Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser		125
	130	135
Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu		140
	145	150
Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		155
	165	170
Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn		175
	180	185
Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro		190
	195	200
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln		205
	210	215
Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val		220
	225	230
Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val		235
	245	250
Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln		255
	260	265
Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn		270
	275	280
Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val		285
	290	295
Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His		300
	305	310
Ser Pro Gly Lys		315
		320
<210>	76	
<211>	107	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		

<223> 人工合成的序列

<400> 76

```

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

```

<210> 77

<211> 854

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 77

```

Met Ile Pro Ile Pro Arg Met Pro Leu Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu
1           5           10           15
Ile Leu Gly Ser Ala Lys Ala Gln Val Asn Pro Ala Ile Cys Arg Tyr
           20           25           30
Pro Leu Gly Met Ser Gly Gly His Ile Pro Asp Glu Asp Ile Thr Ala
           35           40           45
Ser Ser Gln Trp Ser Glu Ser Thr Ala Ala Lys Tyr Gly Arg Leu Asp
           50           55           60
Ser Glu Glu Gly Asp Gly Ala Trp Cys Pro Glu Ile Pro Val Gln Pro
65           70           75           80
Asp Asp Leu Lys Glu Phe Leu Gln Ile Asp Leu Arg Thr Leu His Phe
           85           90           95
Ile Thr Leu Val Gly Thr Gln Gly Arg His Ala Gly Gly His Gly Ile
           100           105           110
Glu Phe Ala Pro Met Tyr Lys Ile Asn Tyr Ser Arg Asp Gly Ser Arg
           115           120           125
Trp Ile Ser Trp Arg Asn Arg His Gly Lys Gln Val Leu Asp Gly Asn
           130           135           140

```

Ser Asn Pro Tyr Asp Val Phe Leu Lys Asp Leu Glu Pro Pro Ile Val
 145 150 155 160
 Ala Arg Phe Val Arg Leu Ile Pro Val Thr Asp His Ser Met Asn Val
 165 170 175
 Cys Met Arg Val Glu Leu Tyr Gly Cys Val Trp Leu Asp Gly Leu Val
 180 185 190
 Ser Tyr Asn Ala Pro Ala Gly Gln Gln Phe Val Leu Pro Gly Gly Ser
 195 200 205
 Ile Ile Tyr Leu Asn Asp Ser Val Tyr Asp Gly Ala Val Gly Tyr Ser
 210 215 220
 Met Thr Glu Gly Leu Gly Gln Leu Thr Asp Gly Val Ser Gly Leu Asp
 225 230 235 240
 Asp Phe Thr Gln Thr His Glu Tyr His Val Trp Pro Gly Tyr Asp Tyr
 245 250 255
 Val Gly Trp Arg Asn Glu Ser Ala Thr Asn Gly Phe Ile Glu Ile Met
 260 265 270
 Phe Glu Phe Asp Arg Ile Arg Asn Phe Thr Thr Met Lys Val His Cys
 275 280 285
 Asn Asn Met Phe Ala Lys Gly Val Lys Ile Phe Lys Glu Val Gln Cys
 290 295 300
 Tyr Phe Arg Ser Glu Ala Ser Glu Trp Glu Pro Thr Ala Val Tyr Phe
 305 310 315 320
 Pro Leu Val Leu Asp Asp Val Asn Pro Ser Ala Arg Phe Val Thr Val
 325 330 335
 Pro Leu His His Arg Met Ala Ser Ala Ile Lys Cys Gln Tyr His Phe
 340 345 350
 Ala Asp Thr Trp Met Met Phe Ser Glu Ile Thr Phe Gln Ser Asp Ala
 355 360 365
 Ala Met Tyr Asn Asn Ser Gly Ala Leu Pro Thr Ser Pro Met Ala Pro
 370 375 380
 Thr Thr Tyr Asp Pro Met Leu Lys Val Asp Asp Ser Asn Thr Arg Ile
 385 390 395 400
 Leu Ile Gly Cys Leu Val Ala Ile Ile Phe Ile Leu Leu Ala Ile Ile
 405 410 415
 Val Ile Ile Leu Trp Arg Gln Phe Trp Gln Lys Met Leu Glu Lys Ala
 420 425 430
 Ser Arg Arg Met Leu Asp Asp Glu Met Thr Val Ser Leu Ser Leu Pro
 435 440 445
 Ser Glu Ser Ser Met Phe Asn Asn Asn Arg Ser Ser Ser Pro Ser Glu

450	455	460
Gln Glu Ser Asn Ser Thr Tyr Asp Arg Ile Phe Pro Leu Arg Pro Asp		
465	470	475
Tyr Gln Glu Pro Ser Arg Leu Ile Arg Lys Leu Pro Glu Phe Ala Pro		
485	490	495
Gly Glu Glu Glu Ser Gly Cys Ser Gly Val Val Lys Pro Ala Gln Pro		
500	505	510
Asn Gly Pro Glu Gly Val Pro His Tyr Ala Glu Ala Asp Ile Val Asn		
515	520	525
Leu Gln Gly Val Thr Gly Gly Asn Thr Tyr Cys Val Pro Ala Val Thr		
530	535	540
Met Asp Leu Leu Ser Gly Lys Asp Val Ala Val Glu Glu Phe Pro Arg		
545	550	555
Lys Leu Leu Ala Phe Lys Glu Lys Leu Gly Glu Gly Gln Phe Gly Glu		
565	570	575
Val His Leu Cys Glu Val Glu Gly Met Glu Lys Phe Lys Asp Lys Asp		
580	585	590
Phe Ala Leu Asp Val Ser Ala Asn Gln Pro Val Leu Val Ala Val Lys		
595	600	605
Met Leu Arg Ala Asp Ala Asn Lys Asn Ala Arg Asn Asp Phe Leu Lys		
610	615	620
Glu Ile Lys Ile Met Ser Arg Leu Lys Asp Pro Asn Ile Ile Arg Leu		
625	630	635
Leu Ala Val Cys Ile Thr Glu Asp Pro Leu Cys Met Ile Thr Glu Tyr		
645	650	655
Met Glu Asn Gly Asp Leu Asn Gln Phe Leu Ser Arg His Glu Pro Leu		
660	665	670
Ser Ser Cys Ser Ser Asp Ala Thr Val Ser Tyr Ala Asn Leu Lys Phe		
675	680	685
Met Ala Thr Gln Ile Ala Ser Gly Met Lys Tyr Leu Ser Ser Leu Asn		
690	695	700
Phe Val His Arg Asp Leu Ala Thr Arg Asn Cys Leu Val Gly Lys Asn		
705	710	715
Tyr Thr Ile Lys Ile Ala Asp Phe Gly Met Ser Arg Asn Leu Tyr Ser		
725	730	735
Gly Asp Tyr Tyr Arg Ile Gln Gly Arg Ala Val Leu Pro Ile Arg Trp		
740	745	750
Met Ser Trp Glu Ser Ile Leu Leu Gly Lys Phe Thr Thr Ala Ser Asp		
755	760	765

Val Trp Ala Phe Gly Val Thr Leu Trp Glu Thr Phe Thr Phe Cys Gln
 770 775 780
 Glu Gln Pro Tyr Ser Gln Leu Ser Asp Glu Gln Val Ile Glu Asn Thr
 785 790 795 800
 Gly Glu Phe Phe Arg Asp Gln Gly Arg Gln Ile Tyr Leu Pro Gln Pro
 805 810 815
 Ala Leu Cys Pro Asp Ser Val Tyr Lys Leu Met Leu Ser Cys Trp Arg
 820 825 830
 Arg Glu Thr Lys His Arg Pro Ser Phe Gln Glu Ile His Leu Leu Leu
 835 840 845
 Leu Gln Gln Gly Ala Glu
 850
 <210> 78
 <211> 855
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 78
 Met Ile Leu Ile Pro Arg Met Leu Leu Val Leu Phe Leu Leu Leu Pro
 1 5 10 15
 Ile Leu Ser Ser Ala Lys Ala Gln Val Asn Pro Ala Ile Cys Arg Tyr
 20 25 30
 Pro Leu Gly Met Ser Gly Gly Gln Ile Pro Asp Glu Asp Ile Thr Ala
 35 40 45
 Ser Ser Gln Trp Ser Glu Ser Thr Ala Ala Lys Tyr Gly Arg Leu Asp
 50 55 60
 Ser Glu Glu Gly Asp Gly Ala Trp Cys Pro Glu Ile Pro Val Glu Pro
 65 70 75 80
 Asp Asp Leu Lys Glu Phe Leu Gln Ile Asp Leu His Thr Leu His Phe
 85 90 95
 Ile Thr Leu Val Gly Thr Gln Gly Arg His Ala Gly Gly His Gly Ile
 100 105 110
 Glu Phe Ala Pro Met Tyr Lys Ile Asn Tyr Ser Arg Asp Gly Thr Arg
 115 120 125
 Trp Ile Ser Trp Arg Asn Arg His Gly Lys Gln Val Leu Asp Gly Asn
 130 135 140
 Ser Asn Pro Tyr Asp Ile Phe Leu Lys Asp Leu Glu Pro Pro Ile Val
 145 150 155 160
 Ala Arg Phe Val Arg Phe Ile Pro Val Thr Asp His Ser Met Asn Val
 165 170 175

Cys Met Arg Val Glu Leu Tyr Gly Cys Val Trp Leu Asp Gly Leu Val
 180 185 190
 Ser Tyr Asn Ala Pro Ala Gly Gln Gln Phe Val Leu Pro Gly Gly Ser
 195 200 205
 Ile Ile Tyr Leu Asn Asp Ser Val Tyr Asp Gly Ala Val Gly Tyr Ser
 210 215 220
 Met Thr Glu Gly Leu Gly Gln Leu Thr Asp Gly Val Ser Gly Leu Asp
 225 230 235 240
 Asp Phe Thr Gln Thr His Glu Tyr His Val Trp Pro Gly Tyr Asp Tyr
 245 250 255
 Val Gly Trp Arg Asn Glu Ser Ala Thr Asn Gly Tyr Ile Glu Ile Met
 260 265 270
 Phe Glu Phe Asp Arg Ile Arg Asn Phe Thr Thr Met Lys Val His Cys
 275 280 285
 Asn Asn Met Phe Ala Lys Gly Val Lys Ile Phe Lys Glu Val Gln Cys
 290 295 300
 Tyr Phe Arg Ser Glu Ala Ser Glu Trp Glu Pro Asn Ala Ile Ser Phe
 305 310 315 320
 Pro Leu Val Leu Asp Asp Val Asn Pro Ser Ala Arg Phe Val Thr Val
 325 330 335
 Pro Leu His His Arg Met Ala Ser Ala Ile Lys Cys Gln Tyr His Phe
 340 345 350
 Ala Asp Thr Trp Met Met Phe Ser Glu Ile Thr Phe Gln Ser Asp Ala
 355 360 365
 Ala Met Tyr Asn Asn Ser Glu Ala Leu Pro Thr Ser Pro Met Ala Pro
 370 375 380
 Thr Thr Tyr Asp Pro Met Leu Lys Val Asp Asp Ser Asn Thr Arg Ile
 385 390 395 400
 Leu Ile Gly Cys Leu Val Ala Ile Ile Phe Ile Leu Leu Ala Ile Ile
 405 410 415
 Val Ile Ile Leu Trp Arg Gln Phe Trp Gln Lys Met Leu Glu Lys Ala
 420 425 430
 Ser Arg Arg Met Leu Asp Asp Glu Met Thr Val Ser Leu Ser Leu Pro
 435 440 445
 Ser Asp Ser Ser Met Phe Asn Asn Asn Arg Ser Ser Ser Pro Ser Glu
 450 455 460
 Gln Gly Ser Asn Ser Thr Tyr Asp Arg Ile Phe Pro Leu Arg Pro Asp
 465 470 475 480
 Tyr Gln Glu Pro Ser Arg Leu Ile Arg Lys Leu Pro Glu Phe Ala Pro

	485		490		495										
Gly	Glu	Glu	Glu	Ser	Gly	Cys	Ser	Gly	Val	Val	Lys	Pro	Val	Gln	Pro
	500		505		510										
Ser	Gly	Pro	Glu	Gly	Val	Pro	His	Tyr	Ala	Glu	Ala	Asp	Ile	Val	Asn
	515		520		525										
Leu	Gln	Gly	Val	Thr	Gly	Gly	Asn	Thr	Tyr	Ser	Val	Pro	Ala	Val	Thr
	530		535		540										
Met	Asp	Leu	Leu	Ser	Gly	Lys	Asp	Val	Ala	Val	Glu	Glu	Phe	Pro	Arg
545			550		555		560								
Lys	Leu	Leu	Thr	Phe	Lys	Glu	Lys	Leu	Gly	Glu	Gly	Gln	Phe	Gly	Glu
	565		570		575										
Val	His	Leu	Cys	Glu	Val	Glu	Gly	Met	Glu	Lys	Phe	Lys	Asp	Lys	Asp
	580		585		590										
Phe	Ala	Leu	Asp	Val	Ser	Ala	Asn	Gln	Pro	Val	Leu	Val	Ala	Val	Lys
	595		600		605										
Met	Leu	Arg	Ala	Asp	Ala	Asn	Lys	Asn	Ala	Arg	Asn	Asp	Phe	Leu	Lys
	610		615		620										
Glu	Ile	Lys	Ile	Met	Ser	Arg	Leu	Lys	Asp	Pro	Asn	Ile	Ile	His	Leu
625			630		635		640								
Leu	Ala	Val	Cys	Ile	Thr	Asp	Asp	Pro	Leu	Cys	Met	Ile	Thr	Glu	Tyr
	645		650		655										
Met	Glu	Asn	Gly	Asp	Leu	Asn	Gln	Phe	Leu	Ser	Arg	His	Glu	Pro	Pro
	660		665		670										
Asn	Ser	Ser	Ser	Ser	Asp	Val	Arg	Thr	Val	Ser	Tyr	Thr	Asn	Leu	Lys
	675		680		685										
Phe	Met	Ala	Thr	Gln	Ile	Ala	Ser	Gly	Met	Lys	Tyr	Leu	Ser	Ser	Leu
	690		695		700										
Asn	Phe	Val	His	Arg	Asp	Leu	Ala	Thr	Arg	Asn	Cys	Leu	Val	Gly	Lys
705			710		715		720								
Asn	Tyr	Thr	Ile	Lys	Ile	Ala	Asp	Phe	Gly	Met	Ser	Arg	Asn	Leu	Tyr
	725		730		735										
Ser	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Arg	Ile	Gln	Gly	Arg	Ala	Val	Leu	Pro	Ile	Arg
	740		745		750										
Trp	Met	Ser	Trp	Glu	Ser	Ile	Leu	Leu	Gly	Lys	Phe	Thr	Thr	Ala	Ser
	755		760		765										
Asp	Val	Trp	Ala	Phe	Gly	Val	Thr	Leu	Trp	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	Cys
	770		775		780										
Gln	Glu	Gln	Pro	Tyr	Ser	Gln	Leu	Ser	Asp	Glu	Gln	Val	Ile	Glu	Asn
785			790		795		800								

Thr Gly Glu Phe Phe Arg Asp Gln Gly Arg Gln Thr Tyr Leu Pro Gln
 805 810 815
 Pro Ala Ile Cys Pro Asp Ser Val Tyr Lys Leu Met Leu Ser Cys Trp
 820 825 830
 Arg Arg Asp Thr Lys Asn Arg Pro Ser Phe Gln Glu Ile His Leu Leu
 835 840 845
 Leu Leu Gln Gln Gly Asp Glu
 850 855
 <210> 79
 <211> 911
 <212> PRT
 <213> 小鼠
 <400> 79
 Met Gly Thr Gly Thr Leu Ser Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Val
 1 5 10 15
 Thr Ile Gly Asp Ala Asp Met Lys Gly His Phe Asp Pro Ala Lys Cys
 20 25 30
 Arg Tyr Ala Leu Gly Met Gln Asp Arg Thr Ile Pro Asp Ser Asp Ile
 35 40 45
 Ser Val Ser Ser Ser Trp Ser Asp Ser Thr Ala Ala Arg His Ser Arg
 50 55 60
 Leu Glu Ser Ser Asp Gly Asp Gly Ala Trp Cys Pro Ala Gly Pro Val
 65 70 75 80
 Phe Pro Lys Glu Glu Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Arg Arg Leu His
 85 90 95
 Leu Val Ala Leu Val Gly Thr Gln Gly Arg His Ala Gly Gly Leu Gly
 100 105 110
 Lys Glu Phe Ser Arg Ser Tyr Arg Leu Arg Tyr Ser Arg Asp Gly Arg
 115 120 125
 Arg Trp Met Asp Trp Lys Asp Arg Trp Gly Gln Glu Val Ile Ser Gly
 130 135 140
 Asn Glu Asp Pro Gly Gly Val Val Leu Lys Asp Leu Gly Pro Pro Met
 145 150 155 160
 Val Ala Arg Leu Val Arg Phe Tyr Pro Arg Ala Asp Arg Val Met Ser
 165 170 175
 Val Cys Leu Arg Val Glu Leu Tyr Gly Cys Leu Trp Arg Asp Gly Leu
 180 185 190
 Leu Ser Tyr Thr Ala Pro Val Gly Gln Thr Met Gln Leu Ser Glu Val
 195 200 205

Met Val His Leu Asn Asp Ser Thr Tyr Asp Gly Tyr Thr Ala Gly Gly
 210 215 220
 Leu Gln Tyr Gly Gly Leu Gly Gln Leu Ala Asp Gly Val Val Gly Leu
 225 230 235 240
 Asp Asp Phe Arg Gln Ser Gln Glu Leu Arg Val Trp Pro Gly Tyr Asp
 245 250 255
 Tyr Val Gly Trp Ser Asn Gln Ser Phe Pro Thr Gly Tyr Val Glu Met
 260 265 270
 Glu Phe Glu Phe Asp Arg Leu Arg Thr Phe Gln Thr Met Gln Val His
 275 280 285
 Cys Asn Asn Met His Thr Leu Gly Ala Arg Leu Pro Gly Gly Val Glu
 290 295 300
 Cys Arg Phe Lys Arg Gly Pro Ala Met Ala Trp Glu Gly Glu Pro Val
 305 310 315 320
 Arg His Ala Leu Gly Gly Ser Leu Gly Asp Pro Arg Ala Arg Ala Ile
 325 330 335
 Ser Val Pro Leu Gly Gly His Val Gly Arg Phe Leu Gln Cys Arg Phe
 340 345 350
 Leu Phe Ala Gly Pro Trp Leu Leu Phe Ser Glu Ile Ser Phe Ile Ser
 355 360 365
 Asp Val Val Asn Asp Ser Ser Asp Thr Phe Pro Pro Ala Pro Trp Trp
 370 375 380
 Pro Pro Gly Pro Pro Pro Thr Asn Phe Ser Ser Leu Glu Leu Glu Pro
 385 390 395 400
 Arg Gly Gln Gln Pro Val Ala Lys Ala Glu Gly Ser Pro Thr Ala Ile
 405 410 415
 Leu Ile Gly Cys Leu Val Ala Ile Ile Leu Leu Leu Leu Leu Ile Ile
 420 425 430
 Ala Leu Met Leu Trp Arg Leu His Trp Arg Arg Leu Leu Ser Lys Ala
 435 440 445
 Glu Arg Arg Val Leu Glu Glu Glu Leu Thr Val His Leu Ser Val Pro
 450 455 460
 Gly Asp Thr Ile Leu Ile Asn Asn Arg Pro Gly Pro Arg Glu Pro Pro
 465 470 475 480
 Pro Tyr Gln Glu Pro Arg Pro Arg Gly Thr Pro Pro His Ser Ala Pro
 485 490 495
 Cys Val Pro Asn Gly Ser Ala Leu Leu Leu Ser Asn Pro Ala Tyr Arg
 500 505 510
 Leu Leu Leu Ala Thr Tyr Ala Arg Pro Pro Arg Gly Pro Gly Pro Pro

515	520	525
Thr Pro Ala Trp Ala Lys Pro	Thr Asn Thr Gln Ala Cys Ser Gly Asp	
530	535	540
Tyr Met Glu Pro Glu Lys Pro Gly Ala Pro Leu Leu Pro Pro Pro Pro		
545	550	555
Gln Asn Ser Val Pro His Tyr Ala Glu Ala Asp Ile Val Thr Leu Gln		
565	570	575
Gly Val Thr Gly Gly Asn Thr Tyr Ala Val Pro Ala Leu Pro Pro Gly		
580	585	590
Ala Val Gly Asp Gly Pro Pro Arg Val Asp Phe Pro Arg Ser Arg Leu		
595	600	605
Arg Phe Lys Glu Lys Leu Gly Glu Gly Gln Phe Gly Glu Val His Leu		
610	615	620
Cys Glu Val Glu Asp Pro Gln Asp Leu Val Ser Ser Asp Phe Pro Ile		
625	630	635
Ser Val His Lys Gly His Pro Leu Leu Val Ala Val Lys Ile Leu Arg		
645	650	655
Pro Asp Ala Thr Lys Asn Ala Arg Asn Asp Phe Leu Lys Glu Val Lys		
660	665	670
Ile Met Ser Arg Leu Lys Asp Pro Asn Ile Ile Arg Leu Leu Gly Val		
675	680	685
Cys Val Gln Asp Asp Pro Leu Cys Met Ile Thr Asp Tyr Met Glu Asn		
690	695	700
Gly Asp Leu Asn Gln Phe Leu Ser Ala Arg Gln Leu Glu Asn Lys Ala		
705	710	715
Thr Gln Gly Leu Ser Gly Asp Thr Glu Ser Asp Gln Gly Pro Thr Ile		
725	730	735
Ser Tyr Pro Met Leu Leu His Val Gly Ala Gln Ile Ala Ser Gly Met		
740	745	750
Arg Tyr Leu Ala Thr Leu Asn Phe Val His Arg Asp Leu Ala Thr Arg		
755	760	765
Asn Cys Leu Val Gly Glu Asn Phe Thr Ile Lys Ile Ala Asp Phe Gly		
770	775	780
Met Ser Arg Asn Leu Tyr Ala Gly Asp Tyr Tyr Arg Val Gln Gly Arg		
785	790	795
Ala Val Leu Pro Ile Arg Trp Met Ala Trp Glu Cys Ile Leu Met Gly		
805	810	815
Lys Phe Thr Thr Ala Ser Asp Val Trp Ala Phe Gly Val Thr Leu Trp		
820	825	830

Glu Val Leu Met Leu Cys Arg Ser Gln Pro Phe Gly Gln Leu Thr Asp
 835 840 845
 Glu Gln Val Ile Glu Asn Ala Gly Glu Phe Phe Arg Asp Gln Gly Arg
 850 855 860
 Gln Val Tyr Leu Ser Arg Pro Pro Ala Cys Pro Gln Thr Leu Tyr Glu
 865 870 875 880
 Leu Met Leu Arg Cys Trp Ser Arg Glu Pro Glu Gln Arg Pro Pro Phe
 885 890 895
 Ala Gln Leu His Arg Phe Leu Ala Asp Asp Ala Leu Asn Thr Val
 900 905 910
 <210> 80
 <211> 913
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 80
 Met Gly Pro Glu Ala Leu Ser Ser Leu Leu Leu Leu Leu Val Ala
 1 5 10 15
 Ser Gly Asp Ala Asp Met Lys Gly His Phe Asp Pro Ala Lys Cys Arg
 20 25 30
 Tyr Ala Leu Gly Met Gln Asp Arg Thr Ile Pro Asp Ser Asp Ile Ser
 35 40 45
 Ala Ser Ser Ser Trp Ser Asp Ser Thr Ala Ala Arg His Ser Arg Leu
 50 55 60
 Glu Ser Ser Asp Gly Asp Gly Ala Trp Cys Pro Ala Gly Ser Val Phe
 65 70 75 80
 Pro Lys Glu Glu Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Gln Arg Leu His Leu
 85 90 95
 Val Ala Leu Val Gly Thr Gln Gly Arg His Ala Gly Gly Leu Gly Lys
 100 105 110
 Glu Phe Ser Arg Ser Tyr Arg Leu Arg Tyr Ser Arg Asp Gly Arg Arg
 115 120 125
 Trp Met Gly Trp Lys Asp Arg Trp Gly Gln Glu Val Ile Ser Gly Asn
 130 135 140
 Glu Asp Pro Glu Gly Val Val Leu Lys Asp Leu Gly Pro Pro Met Val
 145 150 155 160
 Ala Arg Leu Val Arg Phe Tyr Pro Arg Ala Asp Arg Val Met Ser Val
 165 170 175
 Cys Leu Arg Val Glu Leu Tyr Gly Cys Leu Trp Arg Asp Gly Leu Leu
 180 185 190

Ser Tyr Thr Ala Pro Val Gly Gln Thr Met Tyr Leu Ser Glu Ala Val
 195 200 205
 Tyr Leu Asn Asp Ser Thr Tyr Asp Gly His Thr Val Gly Gly Leu Gln
 210 215 220
 Tyr Gly Gly Leu Gly Gln Leu Ala Asp Gly Val Val Gly Leu Asp Asp
 225 230 235 240
 Phe Arg Lys Ser Gln Glu Leu Arg Val Trp Pro Gly Tyr Asp Tyr Val
 245 250 255
 Gly Trp Ser Asn His Ser Phe Ser Ser Gly Tyr Val Glu Met Glu Phe
 260 265 270
 Glu Phe Asp Arg Leu Arg Ala Phe Gln Ala Met Gln Val His Cys Asn
 275 280 285
 Asn Met His Thr Leu Gly Ala Arg Leu Pro Gly Gly Val Glu Cys Arg
 290 295 300
 Phe Arg Arg Gly Pro Ala Met Ala Trp Glu Gly Glu Pro Met Arg His
 305 310 315 320
 Asn Leu Gly Gly Asn Leu Gly Asp Pro Arg Ala Arg Ala Val Ser Val
 325 330 335
 Pro Leu Gly Gly Arg Val Ala Arg Phe Leu Gln Cys Arg Phe Leu Phe
 340 345 350
 Ala Gly Pro Trp Leu Leu Phe Ser Glu Ile Ser Phe Ile Ser Asp Val
 355 360 365
 Val Asn Asn Ser Ser Pro Ala Leu Gly Gly Thr Phe Pro Pro Ala Pro
 370 375 380
 Trp Trp Pro Pro Gly Pro Pro Pro Thr Asn Phe Ser Ser Leu Glu Leu
 385 390 395 400
 Glu Pro Arg Gly Gln Gln Pro Val Ala Lys Ala Glu Gly Ser Pro Thr
 405 410 415
 Ala Ile Leu Ile Gly Cys Leu Val Ala Ile Ile Leu Leu Leu Leu Leu
 420 425 430
 Ile Ile Ala Leu Met Leu Trp Arg Leu His Trp Arg Arg Leu Leu Ser
 435 440 445
 Lys Ala Glu Arg Arg Val Leu Glu Glu Glu Leu Thr Val His Leu Ser
 450 455 460
 Val Pro Gly Asp Thr Ile Leu Ile Asn Asn Arg Pro Gly Pro Arg Glu
 465 470 475 480
 Pro Pro Pro Tyr Gln Glu Pro Arg Pro Arg Gly Asn Pro Pro His Ser
 485 490 495
 Ala Pro Cys Val Pro Asn Gly Ser Ala Leu Leu Leu Ser Asn Pro Ala

	500		505		510
Tyr Arg Leu Leu Leu Ala Thr Tyr Ala Arg Pro Pro Arg Gly Pro Gly					
	515		520		525
Pro Pro Thr Pro Ala Trp Ala Lys Pro Thr Asn Thr Gln Ala Tyr Ser					
	530		535		540
Gly Asp Tyr Met Glu Pro Glu Lys Pro Gly Ala Pro Leu Leu Pro Pro					
545		550		555	560
Pro Pro Gln Asn Ser Val Pro His Tyr Ala Glu Ala Asp Ile Val Thr					
	565		570		575
Leu Gln Gly Val Thr Gly Gly Asn Thr Tyr Ala Val Pro Ala Leu Pro					
	580		585		590
Pro Gly Ala Val Gly Asp Gly Pro Pro Arg Val Asp Phe Pro Arg Ser					
	595		600		605
Arg Leu Arg Phe Lys Glu Lys Leu Gly Glu Gly Gln Phe Gly Glu Val					
	610		615		620
His Leu Cys Glu Val Asp Ser Pro Gln Asp Leu Val Ser Leu Asp Phe					
625		630		635	640
Pro Leu Asn Val Arg Lys Gly His Pro Leu Leu Val Ala Val Lys Ile					
	645		650		655
Leu Arg Pro Asp Ala Thr Lys Asn Ala Arg Asn Asp Phe Leu Lys Glu					
	660		665		670
Val Lys Ile Met Ser Arg Leu Lys Asp Pro Asn Ile Ile Arg Leu Leu					
	675		680		685
Gly Val Cys Val Gln Asp Asp Pro Leu Cys Met Ile Thr Asp Tyr Met					
	690		695		700
Glu Asn Gly Asp Leu Asn Gln Phe Leu Ser Ala His Gln Leu Glu Asp					
705		710		715	720
Lys Ala Ala Glu Gly Ala Pro Gly Asp Gly Gln Ala Ala Gln Gly Pro					
	725		730		735
Thr Ile Ser Tyr Pro Met Leu Leu His Val Ala Ala Gln Ile Ala Ser					
	740		745		750
Gly Met Arg Tyr Leu Ala Thr Leu Asn Phe Val His Arg Asp Leu Ala					
	755		760		765
Thr Arg Asn Cys Leu Val Gly Glu Asn Phe Thr Ile Lys Ile Ala Asp					
	770		775		780
Phe Gly Met Ser Arg Asn Leu Tyr Ala Gly Asp Tyr Tyr Arg Val Gln					
785		790		795	800
Gly Arg Ala Val Leu Pro Ile Arg Trp Met Ala Trp Glu Cys Ile Leu					
	805		810		815

	165	170	175
Cys Leu Arg Val Glu Leu Tyr Gly Cys Leu Trp Arg Asp Gly Leu Leu			
	180	185	190
Ser Tyr Thr Ala Pro Val Gly Gln Thr Met Tyr Leu Ser Glu Ala Val			
	195	200	205
Tyr Leu Asn Asp Ser Thr Tyr Asp Gly His Thr Val Gly Gly Leu Gln			
	210	215	220
Tyr Gly Gly Leu Gly Gln Leu Ala Asp Gly Val Val Gly Leu Asp Asp			
225	230	235	240
Phe Arg Lys Ser Gln Glu Leu Arg Val Trp Pro Gly Tyr Asp Tyr Val			
	245	250	255
Gly Trp Ser Asn His Ser Phe Ser Ser Gly Tyr Val Glu Met Glu Phe			
	260	265	270
Glu Phe Asp Arg Leu Arg Ala Phe Gln Ala Met Gln Val His Cys Asn			
	275	280	285
Asn Met His Thr Leu Gly Ala Arg Leu Pro Gly Gly Val Glu Cys Arg			
	290	295	300
Phe Arg Arg Gly Pro Ala Met Ala Trp Glu Gly Glu Pro Met Arg His			
305	310	315	320
Asn Leu Gly Gly Asn Leu Gly Asp Pro Arg Ala Arg Ala Val Ser Val			
	325	330	335
Pro Leu Gly Gly Arg Val Ala Arg Phe Leu Gln Cys Arg Phe Leu Phe			
	340	345	350
Ala Gly Pro Trp Leu Leu Phe Ser Glu Ile Ser Phe Ile Ser Asp Val			
	355	360	365
Val Asn Asn Ser Ser Pro Ala Leu Gly Gly Thr Phe Pro Pro Ala Pro			
	370	375	380
Trp Trp Pro Pro Gly Pro Pro Pro Thr Asn Phe Ser Ser Leu Glu Leu			
385	390	395	400
Glu Pro Arg Gly Gln Gln Pro Val Ala Lys Ala Glu Gly Ser Pro Thr			
	405	410	415
Ala Ile Leu Ile Gly Cys Leu Val Ala Ile Ile Leu Leu Leu Leu Leu			
	420	425	430
Ile Ile Ala Leu Met Leu Trp Arg Leu His Trp Arg Arg Leu Leu Ser			
	435	440	445
Lys Ala Glu Arg Arg Val Leu Glu Glu Glu Leu Thr Val His Leu Ser			
	450	455	460
Val Pro Gly Asp Thr Ile Leu Ile Asn Asn Arg Pro Gly Pro Arg Glu			
465	470	475	480

Pro Pro Pro Tyr Gln Glu Pro Arg Pro Arg Gly Asn Pro Pro His Ser
 485 490 495
 Ala Pro Cys Val Pro Asn Gly Ser Ala Tyr Ser Gly Asp Tyr Met Glu
 500 505 510
 Pro Glu Lys Pro Gly Ala Pro Leu Leu Pro Pro Pro Pro Gln Asn Ser
 515 520 525
 Val Pro His Tyr Ala Glu Ala Asp Ile Val Thr Leu Gln Gly Val Thr
 530 535 540
 Gly Gly Asn Thr Tyr Ala Val Pro Ala Leu Pro Pro Gly Ala Val Gly
 545 550 555 560
 Asp Gly Pro Pro Arg Val Asp Phe Pro Arg Ser Arg Leu Arg Phe Lys
 565 570 575
 Glu Lys Leu Gly Glu Gly Gln Phe Gly Glu Val His Leu Cys Glu Val
 580 585 590
 Asp Ser Pro Gln Asp Leu Val Ser Leu Asp Phe Pro Leu Asn Val Arg
 595 600 605
 Lys Gly His Pro Leu Leu Val Ala Val Lys Ile Leu Arg Pro Asp Ala
 610 615 620
 Thr Lys Asn Ala Arg Asn Asp Phe Leu Lys Glu Val Lys Ile Met Ser
 625 630 635 640
 Arg Leu Lys Asp Pro Asn Ile Ile Arg Leu Leu Gly Val Cys Val Gln
 645 650 655
 Asp Asp Pro Leu Cys Met Ile Thr Asp Tyr Met Glu Asn Gly Asp Leu
 660 665 670
 Asn Gln Phe Leu Ser Ala His Gln Leu Glu Asp Lys Ala Ala Glu Gly
 675 680 685
 Ala Pro Gly Asp Gly Gln Ala Ala Gln Gly Pro Thr Ile Ser Tyr Pro
 690 695 700
 Met Leu Leu His Val Ala Ala Gln Ile Ala Ser Gly Met Arg Tyr Leu
 705 710 715 720
 Ala Thr Leu Asn Phe Val His Arg Asp Leu Ala Thr Arg Asn Cys Leu
 725 730 735
 Val Gly Glu Asn Phe Thr Ile Lys Ile Ala Asp Phe Gly Met Ser Arg
 740 745 750
 Asn Leu Tyr Ala Gly Asp Tyr Tyr Arg Val Gln Gly Arg Ala Val Leu
 755 760 765
 Pro Ile Arg Trp Met Ala Trp Glu Cys Ile Leu Met Gly Lys Phe Thr
 770 775 780
 Thr Ala Ser Asp Val Trp Ala Phe Gly Val Thr Leu Trp Glu Val Leu

785	790	795	800
Met Leu Cys Arg Ala Gln Pro Phe Gly Gln Leu Thr Asp Glu Gln Val			
	805	810	815
Ile Glu Asn Ala Gly Glu Phe Phe Arg Asp Gln Gly Arg Gln Val Tyr			
	820	825	830
Leu Ser Arg Pro Pro Ala Cys Pro Gln Gly Leu Tyr Glu Leu Met Leu			
	835	840	845
Arg Cys Trp Ser Arg Glu Ser Glu Gln Arg Pro Pro Phe Ser Gln Leu			
	850	855	860
His Arg Phe Leu Ala Glu Asp Ala Leu Asn Thr Val			
865	870	875	
<210> 82			
<211> 919			
<212> PRT			
<213> 智人			
<400> 82			
Met Gly Pro Glu Ala Leu Ser Ser Leu Leu Leu Leu Leu Val Ala			
1	5	10	15
Ser Gly Asp Ala Asp Met Lys Gly His Phe Asp Pro Ala Lys Cys Arg			
	20	25	30
Tyr Ala Leu Gly Met Gln Asp Arg Thr Ile Pro Asp Ser Asp Ile Ser			
	35	40	45
Ala Ser Ser Ser Trp Ser Asp Ser Thr Ala Ala Arg His Ser Arg Leu			
	50	55	60
Glu Ser Ser Asp Gly Asp Gly Ala Trp Cys Pro Ala Gly Ser Val Phe			
65	70	75	80
Pro Lys Glu Glu Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Gln Arg Leu His Leu			
	85	90	95
Val Ala Leu Val Gly Thr Gln Gly Arg His Ala Gly Gly Leu Gly Lys			
	100	105	110
Glu Phe Ser Arg Ser Tyr Arg Leu Arg Tyr Ser Arg Asp Gly Arg Arg			
	115	120	125
Trp Met Gly Trp Lys Asp Arg Trp Gly Gln Glu Val Ile Ser Gly Asn			
	130	135	140
Glu Asp Pro Glu Gly Val Val Leu Lys Asp Leu Gly Pro Pro Met Val			
145	150	155	160
Ala Arg Leu Val Arg Phe Tyr Pro Arg Ala Asp Arg Val Met Ser Val			
	165	170	175
Cys Leu Arg Val Glu Leu Tyr Gly Cys Leu Trp Arg Asp Gly Leu Leu			

	180		185		190
Ser Tyr Thr	Ala Pro Val Gly Gln Thr Met Tyr Leu Ser Glu Ala Val				
	195		200		205
Tyr Leu Asn Asp Ser Thr Tyr Asp Gly His Thr Val Gly Gly Leu Gln					
	210		215		220
Tyr Gly Gly Leu Gly Gln Leu Ala Asp Gly Val Val Gly Leu Asp Asp					
225		230		235	240
Phe Arg Lys Ser Gln Glu Leu Arg Val Trp Pro Gly Tyr Asp Tyr Val					
	245		250		255
Gly Trp Ser Asn His Ser Phe Ser Ser Gly Tyr Val Glu Met Glu Phe					
	260		265		270
Glu Phe Asp Arg Leu Arg Ala Phe Gln Ala Met Gln Val His Cys Asn					
	275		280		285
Asn Met His Thr Leu Gly Ala Arg Leu Pro Gly Gly Val Glu Cys Arg					
	290		295		300
Phe Arg Arg Gly Pro Ala Met Ala Trp Glu Gly Glu Pro Met Arg His					
305		310		315	320
Asn Leu Gly Gly Asn Leu Gly Asp Pro Arg Ala Arg Ala Val Ser Val					
	325		330		335
Pro Leu Gly Gly Arg Val Ala Arg Phe Leu Gln Cys Arg Phe Leu Phe					
	340		345		350
Ala Gly Pro Trp Leu Leu Phe Ser Glu Ile Ser Phe Ile Ser Asp Val					
	355		360		365
Val Asn Asn Ser Ser Pro Ala Leu Gly Gly Thr Phe Pro Pro Ala Pro					
	370		375		380
Trp Trp Pro Pro Gly Pro Pro Pro Thr Asn Phe Ser Ser Leu Glu Leu					
385		390		395	400
Glu Pro Arg Gly Gln Gln Pro Val Ala Lys Ala Glu Gly Ser Pro Thr					
	405		410		415
Ala Ile Leu Ile Gly Cys Leu Val Ala Ile Ile Leu Leu Leu Leu Leu					
	420		425		430
Ile Ile Ala Leu Met Leu Trp Arg Leu His Trp Arg Arg Leu Leu Ser					
	435		440		445
Lys Ala Glu Arg Arg Val Leu Glu Glu Glu Leu Thr Val His Leu Ser					
	450		455		460
Val Pro Gly Asp Thr Ile Leu Ile Asn Asn Arg Pro Gly Pro Arg Glu					
465		470		475	480
Pro Pro Pro Tyr Gln Glu Pro Arg Pro Arg Gly Asn Pro Pro His Ser					
	485		490		495

Ala Pro Cys Val Pro Asn Gly Ser Ala Leu Leu Leu Ser Asn Pro Ala
500 505 510

Tyr Arg Leu Leu Leu Ala Thr Tyr Ala Arg Pro Pro Arg Gly Pro Gly
515 520 525

Pro Pro Thr Pro Ala Trp Ala Lys Pro Thr Asn Thr Gln Ala Tyr Ser
530 535 540

Gly Asp Tyr Met Glu Pro Glu Lys Pro Gly Ala Pro Leu Leu Pro Pro
545 550 555 560

Pro Pro Gln Asn Ser Val Pro His Tyr Ala Glu Ala Asp Ile Val Thr
565 570 575

Leu Gln Gly Val Thr Gly Gly Asn Thr Tyr Ala Val Pro Ala Leu Pro
580 585 590

Pro Gly Ala Val Gly Asp Gly Pro Pro Arg Val Asp Phe Pro Arg Ser
595 600 605

Arg Leu Arg Phe Lys Glu Lys Leu Gly Glu Gly Gln Phe Gly Glu Val
610 615 620

His Leu Cys Glu Val Asp Ser Pro Gln Asp Leu Val Ser Leu Asp Phe
625 630 635 640

Pro Leu Asn Val Arg Lys Gly His Pro Leu Leu Val Ala Val Lys Ile
645 650 655

Leu Arg Pro Asp Ala Thr Lys Asn Ala Ser Phe Ser Leu Phe Ser Arg
660 665 670

Asn Asp Phe Leu Lys Glu Val Lys Ile Met Ser Arg Leu Lys Asp Pro
675 680 685

Asn Ile Ile Arg Leu Leu Gly Val Cys Val Gln Asp Asp Pro Leu Cys
690 695 700

Met Ile Thr Asp Tyr Met Glu Asn Gly Asp Leu Asn Gln Phe Leu Ser
705 710 715 720

Ala His Gln Leu Glu Asp Lys Ala Ala Glu Gly Ala Pro Gly Asp Gly
725 730 735

Gln Ala Ala Gln Gly Pro Thr Ile Ser Tyr Pro Met Leu Leu His Val
740 745 750

Ala Ala Gln Ile Ala Ser Gly Met Arg Tyr Leu Ala Thr Leu Asn Phe
755 760 765

Val His Arg Asp Leu Ala Thr Arg Asn Cys Leu Val Gly Glu Asn Phe
770 775 780

Thr Ile Lys Ile Ala Asp Phe Gly Met Ser Arg Asn Leu Tyr Ala Gly
785 790 795 800

Asp Tyr Tyr Arg Val Gln Gly Arg Ala Val Leu Pro Ile Arg Trp Met

	805		810		815
Ala Trp Glu Cys Ile Leu Met Gly Lys Phe Thr Thr Ala Ser Asp Val					
	820		825		830
Trp Ala Phe Gly Val Thr Leu Trp Glu Val Leu Met Leu Cys Arg Ala					
	835		840		845
Gln Pro Phe Gly Gln Leu Thr Asp Glu Gln Val Ile Glu Asn Ala Gly					
	850		855		860
Glu Phe Phe Arg Asp Gln Gly Arg Gln Val Tyr Leu Ser Arg Pro Pro					
865		870		875	880
Ala Cys Pro Gln Gly Leu Tyr Glu Leu Met Leu Arg Cys Trp Ser Arg					
	885		890		895
Glu Ser Glu Gln Arg Pro Pro Phe Ser Gln Leu His Arg Phe Leu Ala					
	900		905		910
Glu Asp Ala Leu Asn Thr Val					
	915				
<210>	83				
<211>	508				
<212>	PRT				
<213>	智人				
<400>	83				
Met Gly Pro Glu Ala Leu Ser Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Val Ala					
1	5		10		15
Ser Gly Asp Ala Asp Met Lys Gly His Phe Asp Pro Ala Lys Cys Arg					
	20		25		30
Tyr Ala Leu Gly Met Gln Asp Arg Thr Ile Pro Asp Ser Asp Ile Ser					
	35		40		45
Ala Ser Ser Ser Trp Ser Asp Ser Thr Ala Ala Arg His Ser Arg Leu					
	50		55		60
Glu Ser Ser Asp Gly Asp Gly Ala Trp Cys Pro Ala Gly Ser Val Phe					
65		70		75	80
Pro Lys Glu Glu Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Gln Arg Leu His Leu					
	85		90		95
Val Ala Leu Val Gly Thr Gln Gly Arg His Ala Gly Gly Leu Gly Lys					
	100		105		110
Glu Phe Ser Arg Ser Tyr Arg Leu Arg Tyr Ser Arg Asp Gly Arg Arg					
	115		120		125
Trp Met Gly Trp Lys Asp Arg Trp Gly Gln Glu Val Ile Ser Gly Asn					
	130		135		140
Glu Asp Pro Glu Gly Val Val Leu Lys Asp Leu Gly Pro Pro Met Val					

145	150	155	160
Ala Arg Leu Val Arg Phe Tyr Pro Arg Ala Asp Arg Val Met Ser Val			
	165	170	175
Cys Leu Arg Val Glu Leu Tyr Gly Cys Leu Trp Arg Asp Gly Leu Leu			
	180	185	190
Ser Tyr Thr Ala Pro Val Gly Gln Thr Met Tyr Leu Ser Glu Ala Val			
	195	200	205
Tyr Leu Asn Asp Ser Thr Tyr Asp Gly His Thr Val Gly Gly Leu Gln			
	210	215	220
Tyr Gly Gly Leu Gly Gln Leu Ala Asp Gly Val Val Gly Leu Asp Asp			
225	230	235	240
Phe Arg Lys Ser Gln Glu Leu Arg Val Trp Pro Gly Tyr Asp Tyr Val			
	245	250	255
Gly Trp Ser Asn His Ser Phe Ser Ser Gly Tyr Val Glu Met Glu Phe			
	260	265	270
Glu Phe Asp Arg Leu Arg Ala Phe Gln Ala Met Gln Val His Cys Asn			
	275	280	285
Asn Met His Thr Leu Gly Ala Arg Leu Pro Gly Gly Val Glu Cys Arg			
	290	295	300
Phe Arg Arg Gly Pro Ala Met Ala Trp Glu Gly Glu Pro Met Arg His			
305	310	315	320
Asn Leu Gly Gly Asn Leu Gly Asp Pro Arg Ala Arg Ala Val Ser Val			
	325	330	335
Pro Leu Gly Gly Arg Val Ala Arg Phe Leu Gln Cys Arg Phe Leu Phe			
	340	345	350
Ala Gly Pro Trp Leu Leu Phe Ser Glu Ile Ser Phe Ile Ser Asp Val			
	355	360	365
Val Asn Asn Ser Ser Pro Ala Leu Gly Gly Thr Phe Pro Pro Ala Pro			
	370	375	380
Trp Trp Pro Pro Gly Pro Pro Pro Thr Asn Phe Ser Ser Leu Glu Leu			
385	390	395	400
Glu Pro Arg Gly Gln Gln Pro Val Ala Lys Ala Glu Gly Ser Pro Thr			
	405	410	415
Ala Ile Leu Ile Gly Cys Leu Val Ala Ile Ile Leu Leu Leu Leu Leu			
	420	425	430
Ile Ile Ala Leu Met Leu Trp Arg Leu His Trp Arg Arg Leu Leu Ser			
	435	440	445
Lys Ala Glu Arg Arg Val Leu Glu Glu Glu Leu Thr Val His Leu Ser			
	450	455	460

Val Pro Gly Asp Thr Ile Leu Ile Asn Asn Arg Pro Gly Pro Arg Glu
 465 470 475 480
 Pro Pro Pro Tyr Gln Glu Pro Arg Pro Arg Gly Asn Pro Pro His Ser
 485 490 495
 Ala Pro Cys Val Pro Asn Gly Ser Gly Ala Pro Val
 500 505
 <210> 84
 <211> 767
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 84
 Met Gly Pro Glu Ala Leu Ser Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Val Ala
 1 5 10 15
 Ser Gly Asp Ala Asp Met Lys Gly His Phe Asp Pro Ala Lys Cys Arg
 20 25 30
 Tyr Ala Leu Gly Met Gln Asp Arg Thr Ile Pro Asp Ser Asp Ile Ser
 35 40 45
 Ala Ser Ser Ser Trp Ser Asp Ser Thr Ala Ala Arg His Ser Arg Leu
 50 55 60
 Glu Ser Ser Asp Gly Asp Gly Ala Trp Cys Pro Ala Gly Ser Val Phe
 65 70 75 80
 Pro Lys Glu Glu Glu Tyr Leu Gln Val Asp Leu Gln Arg Leu His Leu
 85 90 95
 Val Ala Leu Val Gly Thr Gln Gly Arg His Ala Gly Gly Leu Gly Lys
 100 105 110
 Glu Phe Ser Arg Ser Tyr Arg Leu Arg Tyr Ser Arg Asp Gly Arg Arg
 115 120 125
 Trp Met Gly Trp Lys Asp Arg Trp Gly Gln Glu Val Ile Ser Gly Asn
 130 135 140
 Glu Asp Pro Glu Gly Val Val Leu Lys Asp Leu Gly Pro Pro Met Val
 145 150 155 160
 Ala Arg Leu Val Arg Phe Tyr Pro Arg Ala Asp Arg Val Met Ser Val
 165 170 175
 Cys Leu Arg Val Glu Leu Tyr Gly Cys Leu Trp Arg Asp Gly Leu Leu
 180 185 190
 Ser Tyr Thr Ala Pro Val Gly Gln Thr Met Tyr Leu Ser Glu Ala Val
 195 200 205
 Tyr Leu Asn Asp Ser Thr Tyr Asp Gly His Thr Val Gly Gly Leu Gln
 210 215 220

Tyr Gly Gly Leu Gly Gln Leu Ala Asp Gly Val Val Gly Leu Asp Asp
 225 230 235 240
 Phe Arg Lys Ser Gln Glu Leu Arg Val Trp Pro Gly Tyr Asp Tyr Val
 245 250 255
 Gly Trp Ser Asn His Ser Phe Ser Ser Gly Tyr Val Glu Met Glu Phe
 260 265 270
 Glu Phe Asp Arg Leu Arg Ala Phe Gln Ala Met Gln Val His Cys Asn
 275 280 285
 Asn Met His Thr Leu Gly Ala Arg Leu Pro Gly Gly Val Glu Cys Arg
 290 295 300
 Phe Arg Arg Gly Pro Ala Met Ala Trp Glu Gly Glu Pro Met Arg His
 305 310 315 320
 Asn Leu Gly Gly Asn Leu Gly Asp Pro Arg Ala Arg Ala Val Ser Val
 325 330 335
 Pro Leu Gly Gly Arg Val Ala Arg Phe Leu Gln Cys Arg Phe Leu Phe
 340 345 350
 Ala Gly Pro Trp Leu Leu Phe Ser Glu Ile Ser Phe Ile Ser Asp Val
 355 360 365
 Val Asn Asn Ser Ser Pro Ala Leu Gly Gly Thr Phe Pro Pro Ala Pro
 370 375 380
 Trp Trp Pro Pro Gly Pro Pro Pro Thr Asn Phe Ser Ser Leu Glu Leu
 385 390 395 400
 Glu Pro Arg Gly Gln Gln Pro Val Ala Lys Ala Glu Gly Ser Pro Thr
 405 410 415
 Ala Ile Leu Ile Gly Cys Leu Val Ala Ile Ile Leu Leu Leu Leu Leu
 420 425 430
 Ile Ile Ala Leu Met Leu Trp Arg Leu His Trp Arg Arg Leu Leu Ser
 435 440 445
 Lys Val Leu Glu Ser His Pro Arg Thr Arg Ser Pro Gly Leu Val Gly
 450 455 460
 Ile Arg Pro Thr Pro Leu Pro Val Ser Pro Met Ala Leu Val His Leu
 465 470 475 480
 Cys Glu Val Asp Ser Pro Gln Asp Leu Val Ser Leu Asp Phe Pro Leu
 485 490 495
 Asn Val Arg Lys Gly His Pro Leu Leu Val Ala Val Lys Ile Leu Arg
 500 505 510
 Pro Asp Ala Thr Lys Asn Ala Arg Asn Asp Phe Leu Lys Glu Val Lys
 515 520 525
 Ile Met Ser Arg Leu Lys Asp Pro Asn Ile Ile Arg Leu Leu Gly Val

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 340 345 350
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 355 360 365
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 370 375 380
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 385 390 395 400
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 405 410 415
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 420 425 430
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 435 440 445
 Ser Leu Ser Pro
 450
 <210> 86
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 86
 Ala Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly
 1 5 10 15
 Gly Thr Val Ser Ile Ser Cys Gln Ser Ser Lys Ser Val Tyr Asn Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Ala Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe
 50 55 60
 Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Arg Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Val
 65 70 75 80
 Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Ser Ser
 85 90 95
 Ser Ser Asp Asn Gly Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Cys Thr
 165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 87
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 87
 Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Ile Thr Pro Gly Thr Pro
 1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ile Tyr Tyr
 20 25 30
 Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
 35 40 45
 Tyr Ile Trp Ser Gly Ser Thr Thr Asp Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
 50 55 60
 Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr
 65 70 75 80
 Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Val Tyr
 85 90 95
 Ala Gly Tyr Gly Tyr Gly Ser Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 115 120 125
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 180 185 190
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440
 <210> 88
 <211> 219
 <212> PRT

305		310		315		320									
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
				325						330					335
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
				340						345					350
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				355						360					365
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
				370						375					380
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
385															400
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
				405											415
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
				420											430
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro								
				435											440
<210>	90														
<211>	219														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	人工合成的序列														
<400>	90														
Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Ala	Ser	Val	Glu	Ala	Val	Val	Gly
1				5					10					15	
Ala	Thr	Val	Thr	Ile	Arg	Cys	Gln	Ala	Ser	Glu	Ser	Ile	Thr	Asn	Tyr
				20					25					30	
Leu	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Val	Leu	Ile
				35				40					45		
Tyr	Tyr	Ala	Ser	Thr	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Lys	Gly
				50				55				60			
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Gln	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Asp	Leu	Glu	Cys
65						70				75					80
Ala	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Phe	Ser	Ser	Ser
				85						90					95
Tyr	Ser	Tyr	Gly	Asn	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
				100						105					110
Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu

115	120	125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
130	135	140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
145	150	155
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Cys		
165	170	175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
180	185	190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
195	200	205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210	215	
<210> 91		
<211> 449		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工合成的序列		
<400> 91		
Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro		
1	5	10
Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Ser		
20	25	30
Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly		
35	40	45
Val Ile Asn Thr Ser Asp Ser Ala Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly		
50	55	60
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Met Thr		
65	70	75
Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Ala Ile		
85	90	95
Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Trp Gly Ala Cys Tyr Phe Asn Leu Trp Gly		
100	105	110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser		
115	120	125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala		
130	135	140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		

145	150	155	160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala			
	165	170	175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val			
	180	185	190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His			
	195	200	205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys			
	210	215	220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Arg Arg			
225	230	235	240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met			
	245	250	255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His			
	260	265	270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val			
	275	280	285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr			
	290	295	300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly			
305	310	315	320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile			
	325	330	335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val			
	340	345	350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser			
	355	360	365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu			
	370	375	380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro			
385	390	395	400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val			
	405	410	415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met			
	420	425	430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser			
	435	440	445

Pro

<210> 92

<211> 219
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 92
 Ala Ile Lys Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
 1 5 10 15
 Gly Thr Val Thr Val Asn Cys Gln Ala Ser Glu Asp Ile Lys Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
 65 70 75 80
 Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Tyr Gly Thr Ser Thr
 85 90 95
 Thr Gly Glu Tyr Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Cys
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 93
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

290	295	300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
305	310	315
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys		
	325	330
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser		
	340	345
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys		
	355	360
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln		
	370	380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly		
385	390	395
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
	405	410
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn		
	420	425
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
	435	440
<210> 94		
<211> 217		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工合成的序列		
<400> 94		
Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Ser Ala Ala Val Gly		
1	5	10
Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Ser		
	20	25
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile		
	35	40
Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Thr Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly		
	50	55
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys		
65	70	75
Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gly Ser Phe Ser Asn		
	85	90
Ile Val Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr		

	100		105		110										
Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu
	115		120		125										
Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro
	130		135		140										
Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly
145			150		155										
Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Cys	Thr	Tyr
			165		170										
Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His
			180		185										
Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val
	195		200		205										
Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys							
	210		215												
<210>	95														
<211>	441														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	人工合成的序列														
<400>	95														
Gln	Ser	Val	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Arg	Leu	Val	Thr	Pro	Gly	Thr	Pro
1			5		10										
Leu	Thr	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Tyr	Ser
			20		25										
Val	Ala	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly
	35		40		45										
Tyr	Ile	Ser	Tyr	Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Val	Asn	Gly
	50		55		60										
Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Ser	Thr	Thr	Val	Asp	Leu	Lys	Met	Thr
65			70		75										
Ser	Leu	Thr	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Asp	Pro
			85		90										
Gly	Tyr	Ser	Arg	Asp	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
			100		105										
Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser
	115		120		125										
Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp

130	135	140
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr		
145	150	155
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr		
	165	170
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln		
	180	185
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp		
	195	200
Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro		
210	215	220
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro		
225	230	235
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr		
	245	250
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn		
	260	265
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg		
	275	280
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val		
290	295	300
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser		
305	310	315
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys		
	325	330
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu		
	340	345
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe		
	355	360
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu		
370	375	380
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe		
385	390	395
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly		
	405	410
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr		
	420	425
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
	435	440

<210> 96
 <211> 216
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 96
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Ser Glu Pro Val Gly
 1 5 10 15
 Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Asn Gly Leu Glu Cys
 65 70 75 80
 Ala Asp Ala Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Val Gly Val Ser
 85 90 95
 His Gly Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110
 Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
 115 120 125
 Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
 130 135 140
 Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
 145 150 155 160
 Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Cys Thr Tyr Ser
 165 170 175
 Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
 180 185 190
 Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
 195 200 205
 Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 97
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> 人工序列

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440
 <210> 98
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 98
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Ala Ala Val Gly
 1 5 10 15
 Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Gly Asn Ala
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
 65 70 75 80
 Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Cys Thr Tyr Gly Ser Gly Ser
 85 90 95

Ser Arg Gly Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Cys Thr
 165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 99
 <211> 442
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工合成的序列
 <400> 99
 Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
 1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Ser His Val
 20 25 30
 Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Cys Ile Gly
 35 40 45
 Ile Ile Ala Val Ser Gly Asp Ile Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
 50 55 60
 Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Arg Ile Thr
 65 70 75 80
 Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Gly Ser Pro Thr
 85 90 95
 Val Ile Asn Asn Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 100 105 110
 Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
 115 120 125

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
 130 135 140
 Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
 145 150 155 160
 Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
 165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
 180 185 190
 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
 195 200 205
 Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 225 230 235 240
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 245 250 255
 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 260 265 270
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 275 280 285
 Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 290 295 300
 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 305 310 315 320
 Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 325 330 335
 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 340 345 350
 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 355 360 365
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 370 375 380
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 385 390 395 400
 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 405 410 415
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 420 425 430
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

	435	440
<210>	100	
<211>	220	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	人工合成的序列	
<400>	100	
Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Ala Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly		
1	5	10 15
Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser Gln Asn Val Tyr Gly Asn		
	20	25 30
Asn Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu		
	35	40 45
Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe		
	50	55 60
Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu		
65	70	75 80
Glu Cys Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Tyr Asp Cys		
	85	90 95
Asn Ile Val Asp Cys Arg Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile		
	100	105 110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp		
	115	120 125
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn		
	130	135 140
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu		
145	150	155 160
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp		
	165	170 175
Cys Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr		
	180	185 190
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser		
	195	200 205
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
	210	215 220
<210>	101	
<211>	444	
<212>	PRT	

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工合成的序列

<400> 101

Gln	Ser	Val	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Arg	Leu	Val	Thr	Pro	Gly	Thr	Pro
1				5				10						15	
Leu	Thr	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Asn	Arg	Tyr	Thr
				20				25						30	
Gly	Ile	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly
				35				40						45	
Ile	Ile	Ser	Ser	Asp	Asp	Arg	Thr	Trp	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly
				50				55						60	
Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Ser	Thr	Thr	Val	Asp	Leu	Lys	Ile	Thr
65						70					75				80
Ser	Pro	Thr	Ile	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Asp	Val
						85								90	
Gly	Gly	Asp	Ser	Trp	Phe	Trp	Gly	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
								100						105	
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
								115						120	
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
								130						135	
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
145								150						155	
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
								165						170	
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
								180						185	
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
								195						200	
Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
								210						215	
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Arg	Arg	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
225								230						235	
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
								245						250	
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
								260						265	
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr

275	280	285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val		
290	295	300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys		
305	310	315
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser		
325	330	335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro		
340	345	350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val		
355	360	365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly		
370	375	380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp		
385	390	395
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp		
405	410	415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His		
420	425	430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
435	440	
<210> 102		
<211> 220		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工合成的序列		
<400> 102		
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Ala Ala Val Gly		
1	5	10
Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp		
20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile		
35	40	45
Tyr Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys		
65	70	75
Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Tyr Tyr Ser Ser Ser		

				85					90					95			
Asn	Ser	Asn	Tyr	Gly	His	Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile		
				100					105					110			
Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp		
				115					120					125			
Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn		
				130					135					140			
Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu		
145									150					155			160
Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp		
									165					170			175
Cys	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr		
				180					185					190			
Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser		
				195					200					205			
Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys						
				210					215					220			

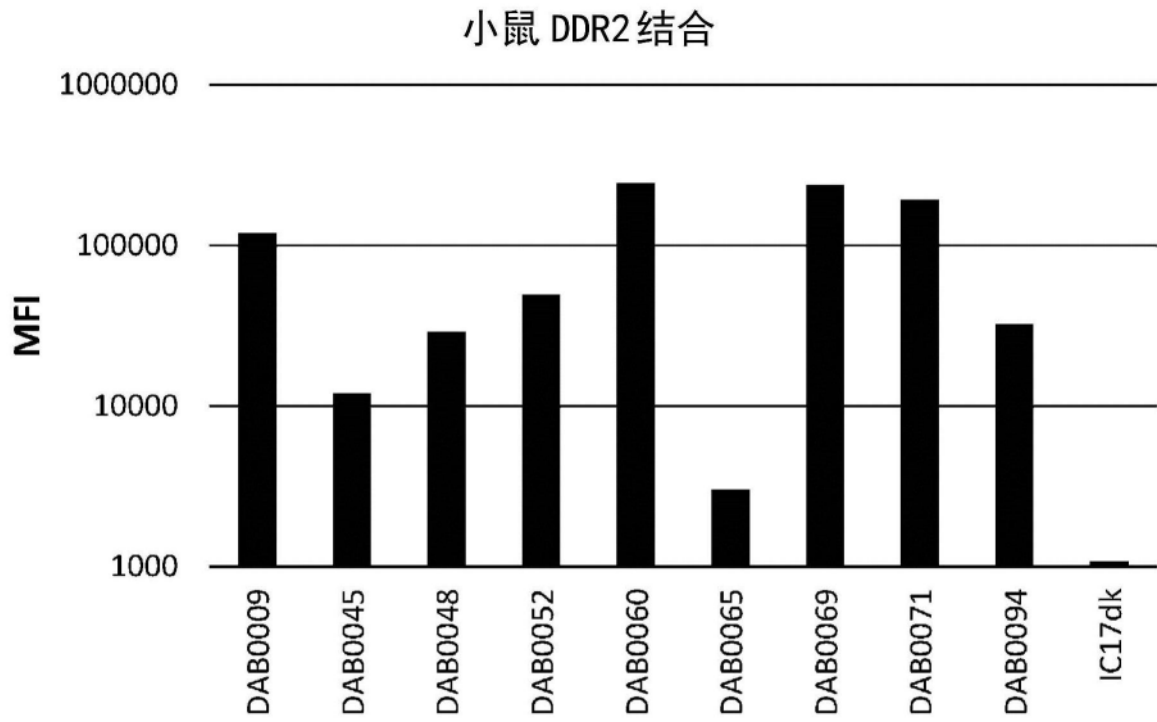


图1

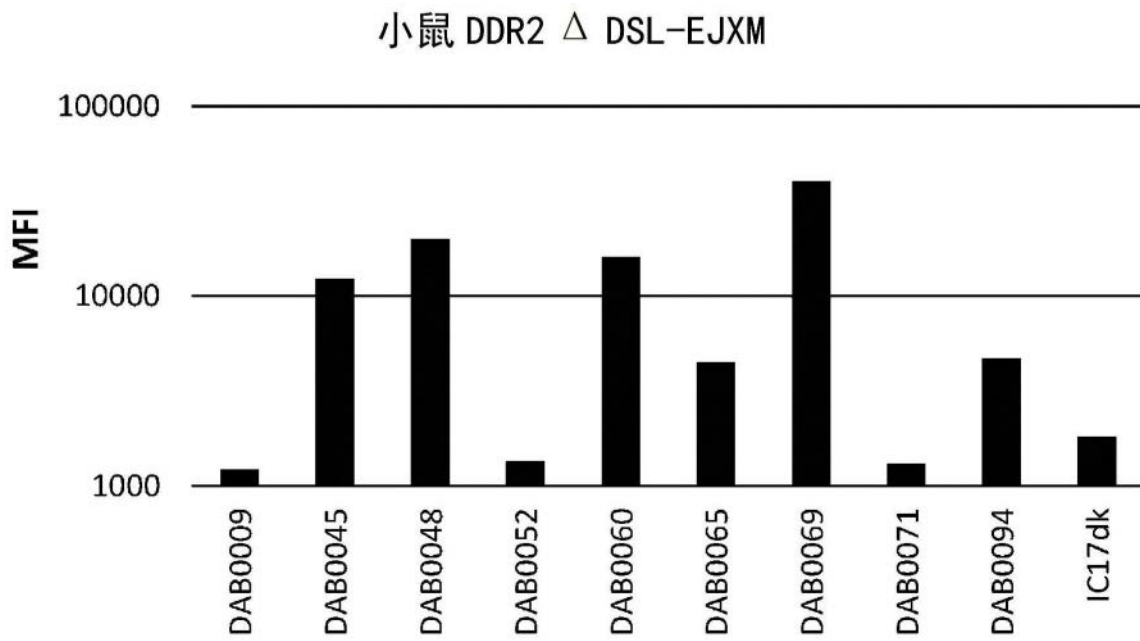
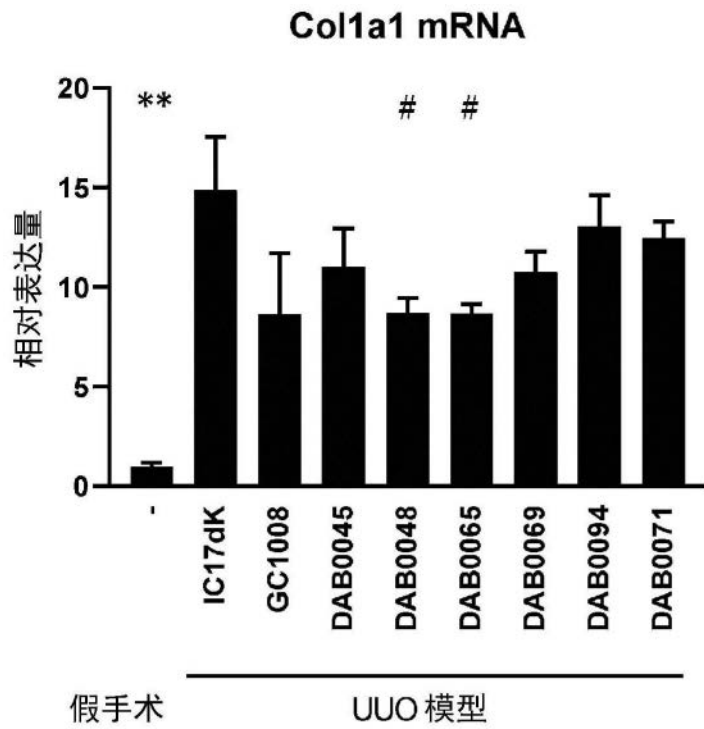
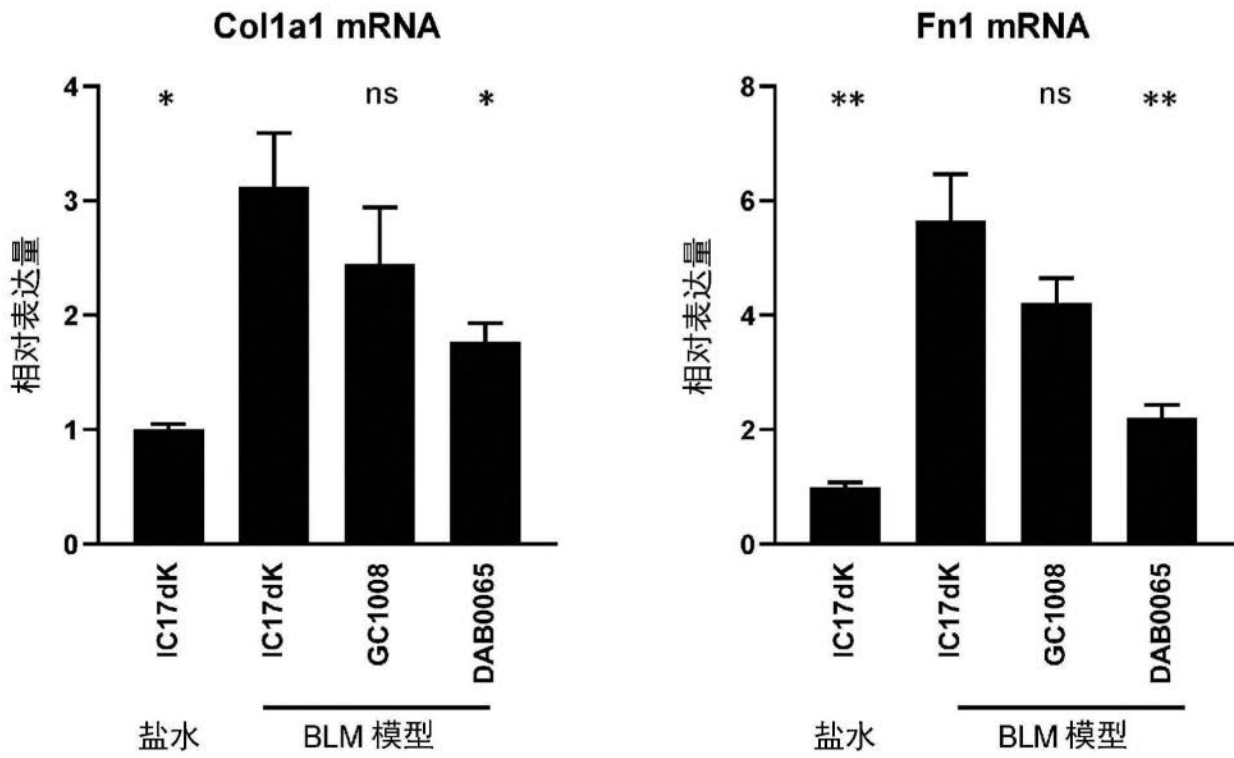


图2



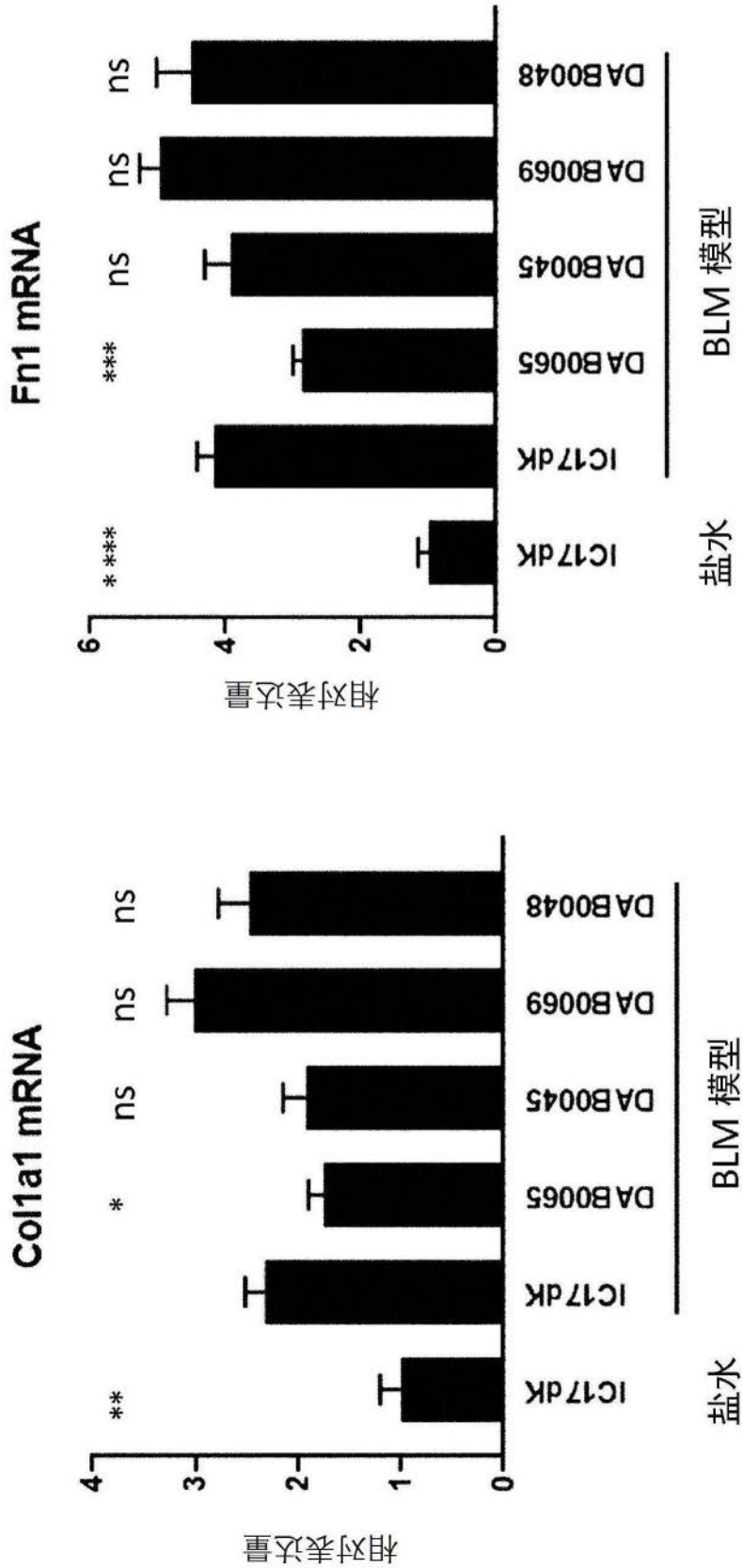
平均值 ± SEM * 斯氏 t 检验与 UUO IC17DK, **p<0.01
#DUNNETT 多重比较检验与 UUO IC17DK, #p<0.05

图3



平均值 ± SEM * 斯氏 t 检验与 BLM IC17dK, *p<0.05, **p<0.01

图4a



平均值 ± SEM * 斯氏 t 检验与 BLM IC17dK, * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$

图4b

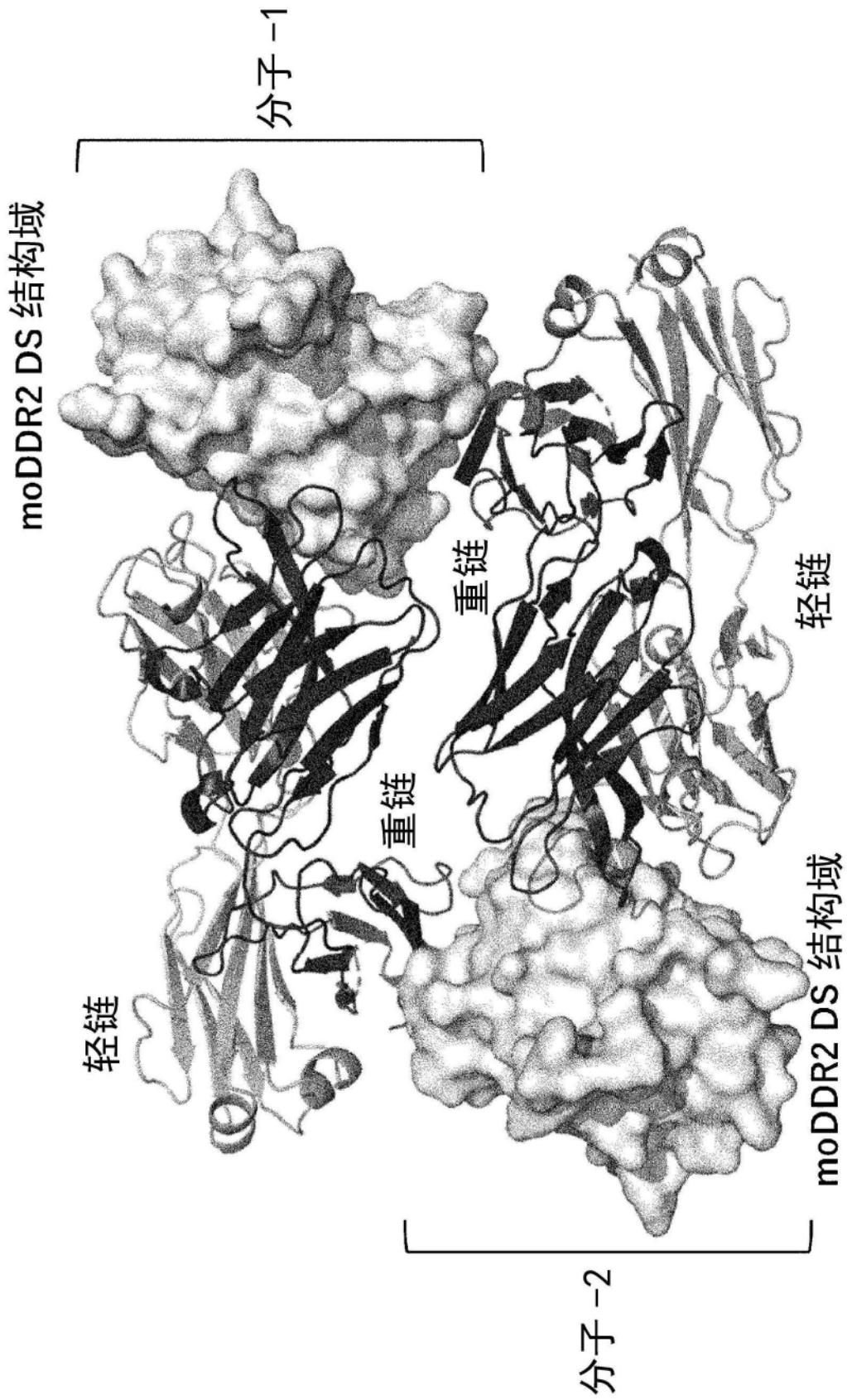


图5a

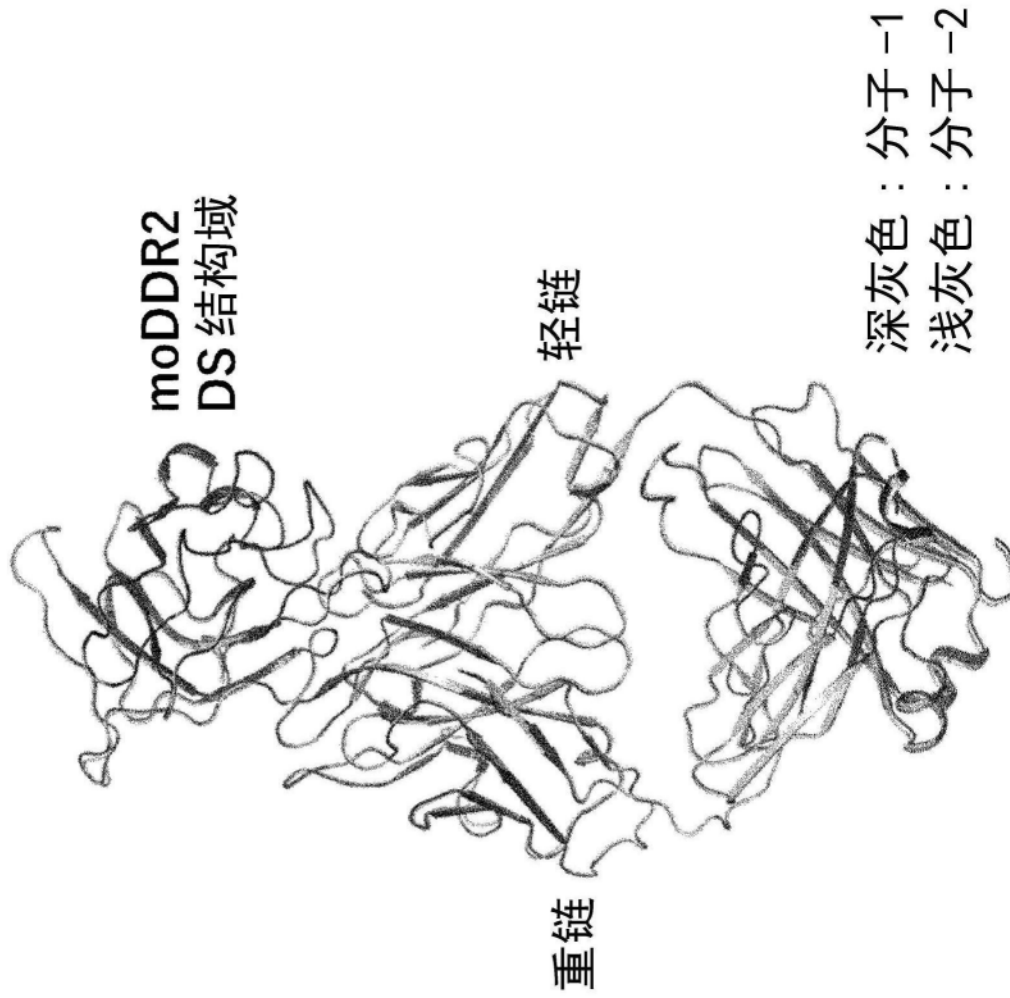


图5b

moDDR2 DS(22-190)

2		3			4			5											
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
-	K	A	Q	V	N	P	A	I	C	R	Y	P	L	G	M	S	G	G	
	x	x	x	x	x	x													

6		7			8			9											
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Y	G	R	L	D	S	E	E	G	D	G	A	W	C	P	E	I	P	V	Q

10		11			12			13											
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
V	G	T	Q	G	R	H	A	G	G	H	G	I	E	F	A	P	M	Y	K

14		15			16			17											
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
V	L	D	G	N	S	N	P	Y	D	V	F	L	K	D	L	E	P	P	I

18		19																	
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
V	E	L	Y	G	C	V	W	L	D	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-



x 无序
 距重链和轻链 < 4.2 Å
 距重链和轻链 < 5.0 Å

图6a

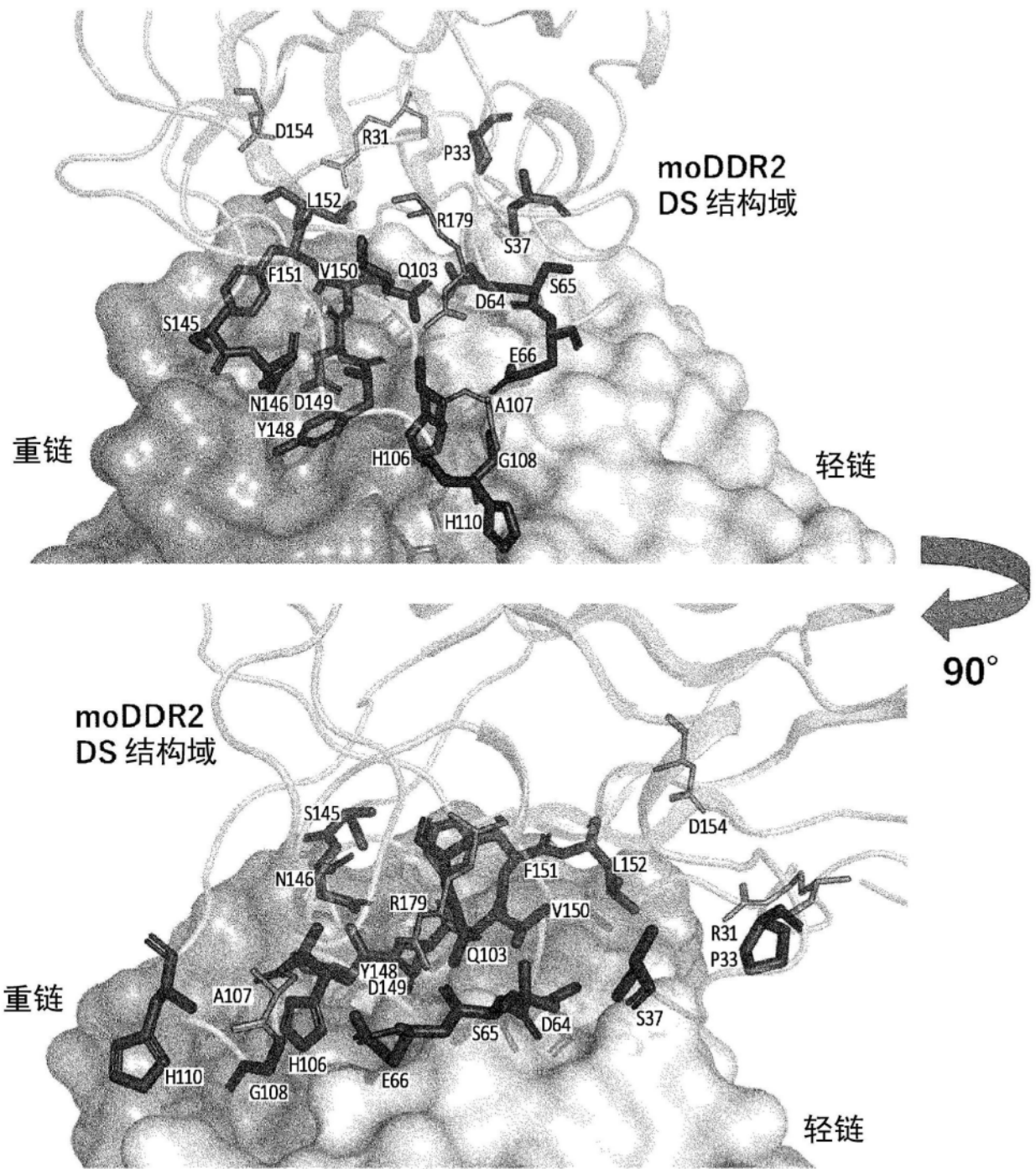


图6b