



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112543768 A

(43) 申请公布日 2021. 03. 23

(21) 申请号 201980042886.7

(22) 申请日 2019.07.10

(30) 优先权数据

62/695988 2018.07.10 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.12.24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/041203 2019.07.10

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/014358 EN 2020.01.16

(71) 申请人 里珍纳龙药品有限公司

地址 美国纽约州,塔里敦,旧锯木厂河路
777号

(72) 发明人 G·萨姆纳 陈继华 M·帕特里奇

A·托里 M·拉加亚克沙

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 罗文锋 彭昶

(51) Int.Cl.

C07K 16/00 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

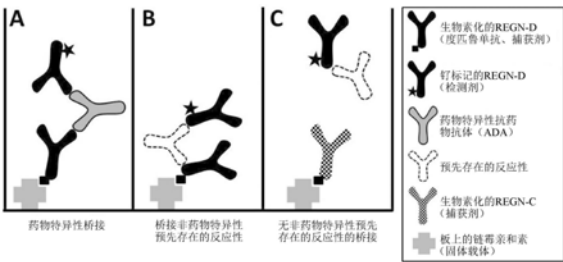
权利要求书3页 说明书23页
序列表23页 附图10页

(54) 发明名称

修饰结合分子以最小化预先存在的相互作用

(57) 摘要

本公开涉及修饰结合分子以最小化预先存在的结合相互作用,包含使结合分子工程化以最小化或缓解样品基质中的由药物非特异性结合相互作用引起的背景反应性。



1. 一种非天然存在的单克隆抗体或其抗原结合部分,所述非天然存在的单克隆抗体包括C端重链序列,所述C端重链序列包括选自SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:13组成的组的序列。

2. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述C端重链序列是C_H3结构域序列。

3. 根据权利要求1或权利要求2所述的抗体,其中所述C端重链序列包括SEQ ID NO:7。

4. 根据权利要求1或权利要求2所述的抗体,其中所述C端重链序列包括SEQ ID NO:13。

5. 根据权利要求3所述的抗体,其中所述C端重链序列包括C_H结构域序列,所述C_H结构域序列包括SEQ ID NO:8。

6. 根据权利要求4所述的抗体,其中所述C端重链序列包括C_H结构域序列,所述C_H结构域序列包括SEQ ID NO:22。

7. 根据权利要求1到6中任一项所述的抗体,其中所述抗体进一步包括以下:V_HCDR1区,所述V_H CDR1区包括氨基酸序列SEQ ID NO:9;V_H CDR2区,所述V_H CDR2区包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列;V_H CDR3区,所述V_H CDR3区包括SEQ ID NO:11的氨基酸序列;V_L CDR1区,所述V_L CDR1区包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列;V_L CDR2区,所述V_L CDR2区包括LGS的氨基酸序列;V_L CDR3区,所述V_L CDR3区包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列。

8. 一种非天然存在的单克隆抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包括以下:V_HCDR1区,所述V_H CDR1区包括氨基酸序列SEQ ID NO:9;V_H CDR2区,所述V_H CDR2区包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列;V_H CDR3区,所述V_H CDR3区包括SEQ ID NO:11的氨基酸序列;V_L CDR1区,所述V_L CDR1区包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列;V_L CDR2区,所述V_L CDR2区包括LGS的氨基酸序列;V_L CDR3区,所述V_L CDR3区包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及C_H3结构域,所述C_H3结构域包括选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:13组成的组的氨基酸序列。

9. 根据权利要求1到8中任一项所述的抗体,其中所述抗体包括重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包括SEQ ID NO:15的氨基酸序列,所述轻链可变区包括SEQ ID NO:16的氨基酸序列,或其抗原结合部分。

10. 根据权利要求1到9中任一项所述的抗体,其中所述抗体包括IgG4 C_H1区,所述IgG4 C_H1区包括SEQ ID NO:1的氨基酸序列。

11. 根据权利要求1到10中任一项所述的抗体,其中所述抗体包括IgG4 C_H2区,所述IgG4 C_H2区包括SEQ ID NO:2的氨基酸序列。

12. 根据权利要求11所述的抗体,其中所述IgG4 C_H2区包括铰链区。

13. 根据权利要求12所述的抗体,其中所述铰链区包括APEFLG (SEQ ID NO:17) 的序列。

14. 根据权利要求1到13中任一项所述的抗体,其中所述抗体在免疫原性分析期间缓解高背景信号。

15. 一种测定,其包括

(a) 固体载体,其中第一组分可操作地连接到所述固体载体;

(b) 至少一种捕获剂,

其中第二组分可操作地连接到所述至少一种捕获剂,

其中所述捕获剂包括根据权利要求1到14中任一项所述的第一非天然存在的单克隆抗体,以及

(c) 至少一种检测剂,

其中可检测标记可操作地连接到所述检测剂,其中所述检测剂包括根据权利要求1到11中任一项所述的第二非天然存在的单克隆抗体,并且

其中所述第一组分和所述第二组分选择性地彼此结合。

16. 根据权利要求15所述的测定,其中所述检测剂包括度匹鲁单抗(dupilumab)。

17. 根据权利要求15或权利要求16所述的测定,其中所述第二非天然存在的单克隆抗体包括度匹鲁单抗。

18. 根据权利要求15到17中任一项所述的测定,其中所述第一组分包括链霉亲和素。

19. 根据权利要求15到18中任一项所述的测定,其中所述第二组分包括生物素。

20. 一种测定,其包括

(a) 固体载体,其中第一组分可操作地连接到所述固体载体;

(b) 至少一种捕获剂,其中第二组分可操作地连接到所述至少一种捕获剂,并且其中所述捕获剂包括根据权利要求1到14中任一项所述的非天然存在的单克隆抗体;以及

(c) 至少一种检测剂,其中可检测标记可操作地连接到所述检测剂,并且其中所述检测剂包括度匹鲁单抗;

其中所述第一组分和所述第二组分选择性地彼此结合。

21. 根据权利要求20所述的测定,其中所述第一组分包括链霉亲和素。

22. 根据权利要求20或21所述的测定,其中所述第二组分包括生物素。

23. 根据权利要求20到22中任一项所述的测定,其中所述至少一种捕获剂不结合不与度匹鲁单抗的可变区的序列特异性地结合的抗体。

24. 根据权利要求20到22中任一项所述的测定,其中所述至少一种捕获剂和所述至少一种检测剂与特异性地结合度匹鲁单抗的可变区的序列的抗体结合。

25. 一种测定单克隆抗体疗法在受试者中的免疫原性水平的方法,所述方法包括:

(a) 使来自所述受试者的生物样品与根据权利要求15到24中任一项所述的测定在适合于允许所述生物样品中的至少一种抗体与所述至少一种捕获剂结合并且结合到所述至少一种检测剂的条件接触,其中在所述接触步骤之前,已经向所述受试者施用所述单克隆抗体疗法,

(b) 检测来自所述至少一种检测剂的信号,以及

(c) 当来自(b)的所述信号高于阈值时,将所述受试者的所述免疫原性水平鉴别为高,或

(d) 当来自(b)的所述信号低于所述阈值时,将所述受试者的所述免疫原性水平鉴别为低。

26. 根据权利要求25所述的方法,其中所述单克隆抗体疗法包括根据权利要求1到11中任一项所述的抗体。

27. 根据权利要求25所述的方法,其中所述单克隆抗体疗法包括度匹鲁单抗。

28. 根据权利要求25到27中任一项所述的方法,其中所述阈值是预定值。

29. 根据权利要求28所述的方法,其中所述阈值是安全阈值。

30. 根据权利要求25到29中任一项所述的方法,其中所述单克隆抗体疗法的量是治疗有效剂量。

31. 根据权利要求25到30中任一项所述的方法,其中所述免疫原性水平是基线水平。
32. 根据权利要求25到31中任一项所述的方法,其中所述免疫原性水平是后续水平。
33. 根据权利要求25到32中任一项所述的方法,其中所述受试者是临床试验的参与者。
34. 根据权利要求25到33中任一项所述的方法,其中所述受试者是经受医学治疗的患者。
35. 根据权利要求34所述的方法,其中所述医学治疗正在开始,并且所述免疫原性水平是基线水平。
36. 根据权利要求34所述的方法,其中所述医学治疗正在进行,并且所述免疫原性水平是后续水平。
37. 根据权利要求34所述的方法,其中所述医学治疗正在结束,并且所述免疫原性水平是最终水平。
38. 根据权利要求25到37中任一项所述的方法,其中所述受试者是健康个体。
39. 根据权利要求25到37中任一项所述的方法,其中所述受试者患有炎性疾病或病症、自身免疫性疾病或病症、过敏性疾病或病症、免疫性疾病或病症或良性增殖性疾病或病症。
40. 根据权利要求39所述的方法,其中所述受试者患有特应性皮炎、哮喘、过敏性鼻炎、过敏性结膜炎、嗜酸性食管炎、鼻息肉或其组合。

修饰结合分子以最小化预先存在的相互作用

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2018年7月10日提交的美国临时申请第62/695,988号的优先权和权益,所述美国临时申请的内容通过引用整体并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有已经以ASCII格式经由EFS-Web递交的序列表并且所述序列表据此通过引用整体并入。创建于2019年7月8日的所述ASCII副本被命名为“REGE-004_SeqList.txt”并且大小为32,813字节。

技术领域

[0005] 本公开涉及修饰结合分子以最小化预先存在的结合相互作用,包含使结合分子工程化以最小化或缓解样品基质中的由药物非特异性结合相互作用引起的背景反应性。

背景技术

[0006] 生物疗法是用于消除、补充或替代受试者的免疫系统元素以治疗疾病的宝贵工具。外来生物材料具有诱导正在治疗的受试者产生免疫应答的潜力。此免疫应答可以由生物治疗剂的施用引发。然而,受试者的血清蛋白的元素可能在引入生物制剂之前产生信号,从而会在抗药物抗体(ADA)测定中进行测试时创建高背景或噪声水平。

[0007] 在生物治疗剂的开发和监测期间采用的标准测定是抗药物抗体(ADA)测定。此测定用于检测受试者的免疫系统是否已经产生了针对所施用的生物制剂的抗体。为了进行有效的测定,信噪比必须使得可以获得和分析具有意义的的数据。在某些受试者中,即使不施用任何生物制剂,也已经存在高背景(噪声),使得由于背景信号而混淆了对真正因治疗而出现的ADA的检测,并且减弱了有效的ADA测定。

[0008] 本发明的组合物和方法提供了降低或消除在一些ADA测定中观察到的存在于一些人类血清或血浆样品中的药物非特异性、预先存在的背景反应性的途径。还应当理解,此药物非特异性结合可能会或可能不会干扰治疗剂的活性或保持在循环中的能力。

发明内容

[0009] 本公开涉及结合分子,所述结合分子被工程化以缓解受试者样品在同一施用之前或之后的药物非特异性预先存在的背景反应性。本发明涉及修饰结合分子以最小化预先存在的结合相互作用,包含使结合分子工程化以最小化或缓解样品基质中的由药物非特异性结合相互作用引起的背景反应性。

[0010] 本公开进一步提供了对一个或多个特定靶标具有特异性的结合分子。一方面,本公开涉及对IL4R α (白介素4 α)或IL13R(白介素13)具有特异性的结合分子。另一方面,本公开提供了针对IgG4抗体或其片段的结合分子。如本文所理解的结合分子是与特定靶标特异性相互作用的分子。此类结合分子的实例包含但不限于抗体(包含单克隆抗体)和其片段、工程化抗体、融合蛋白和本领域技术人员熟知的其它相似的抗原结合分子。一方面,所述靶

标是IL4R α 。另一方面,本发明公开了一种非天然存在的结合分子,所述结合分子包括C端重链序列LSPG(SEQ ID NO:21)或其抗原结合部分,所述结合分子被工程化以最小化或缓解样品基质中的由药物非特异性结合相互作用引起的背景反应性。

[0011] 本公开提供了一种非天然存在的结合分子,所述结合分子包括C端重链序列SEQ ID NO:21或其抗原结合部分,其中所述结合分子缓解了与预先存在的血清蛋白的相互作用,并且因此在ADA分析期间降低了高背景信号。

[0012] 在本发明的某些实施例中,所述结合分子包括选自由SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的CH结构域序列或其抗原结合部分。在某些实施例中,所述结合分子包括选自由SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的CH结构域序列或其抗原结合部分。在某些实施例中,所述结合分子包括CH结构域,所述CH结构域包括SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

[0013] 在本发明的某些实施例中,所述结合分子包括截短的CH结构域(REGN-E),其中所述序列是SEQ ID NO:22。

[0014] 在本公开的所述非天然存在的结合分子的某些实施例中,所述结合分子包括以下: V_H CDR1区,所述 V_H CDR1区包括氨基酸序列SEQ ID NO:9; V_H CDR2区,所述 V_H CDR2区包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列; V_H CDR3区,所述 V_H CDR3区包括SEQ ID NO:11的氨基酸序列; V_L CDR1区,所述 V_L CDR1区包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列; V_L CDR2区,所述 V_L CDR2区包括LGS的氨基酸序列; V_L CDR3区,所述 V_L CDR3区包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及 C_H3 结构域,所述 C_H3 结构域选自由以下组成的组:SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:7。

[0015] 在本发明的某些实施例中,所述结合分子包括以下: V_H CDR1区,所述 V_H CDR1区包括氨基酸序列SEQ ID NO:9; V_H CDR2区,所述 V_H CDR2区包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列; V_H CDR3区,所述 V_H CDR3区包括SEQ ID NO:11的氨基酸序列; V_L CDR1区,所述 V_L CDR1区包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列; V_L CDR2区,所述 V_L CDR2区包括LGS的氨基酸序列; V_L CDR3区,所述 V_L CDR3区包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及 C_H3 结构域,所述 C_H3 结构域包括SEQ ID NO:21的氨基酸序列。

[0016] 本公开提供了一种非天然存在的结合分子,其中所述结合分子包括以下: V_H CDR1区,所述 V_H CDR1区包括氨基酸序列SEQ ID NO:9; V_H CDR2区,所述 V_H CDR2区包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列; V_H CDR3区,所述 V_H CDR3区包括SEQ ID NO:11的氨基酸序列; V_L CDR1区,所述 V_L CDR1区包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列; V_L CDR2区,所述 V_L CDR2区包括LGS的氨基酸序列; V_L CDR3区,所述 V_L CDR3区包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及 C_H3 结构域,所述 C_H3 结构域包括SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

[0017] 在本发明的某些实施例中,所述结合分子包括重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包括SEQ ID NO:15的氨基酸序列,所述轻链可变区包括SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0018] 在本发明的某些实施例中,所述结合分子包括IgG4 C_H1 区,所述IgG4 C_H1 区包括SEQ ID NO:1的氨基酸序列。

[0019] 在本发明的某些实施例中,所述结合分子包括IgG4 C_H2 区,所述IgG4 C_H2 区包括

SEQ ID NO:2的氨基酸序列。

[0020] 在本公开的所述非天然存在的结合分子的某些实施例中,所述结合分子包括铰链区。在某些实施例中,所述铰链区包括APEFLG (SEQ ID NO:17) 的序列。

[0021] 在本公开的所述非天然存在的结合分子的某些实施例中,所述结合分子包括IgG4恒定区,所述IgG4恒定区包括SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

[0022] 本公开提供了一种测定,所述测定包括:(a) 固体载体,其中第一组分可操作地连接到所述固体载体;(b) 至少一种捕获剂,其中第二组分可操作地连接到所述至少一种捕获剂,其中所述捕获剂包括第一非天然存在的结合分子如单克隆抗体,其中所述第一非天然存在的结合分子如单克隆抗体包括编码 V_H CDR1区的序列、编码 V_H CDR2区的序列、编码 V_H CDR3区的序列、编码 V_L CDR1区的序列、编码 V_L CDR2区的序列、编码 V_L CDR3区的序列和编码重链恒定区的序列,其中所述重链恒定区包括序列SEQ ID NO:21;以及(c) 至少一种检测剂,其中可检测标记可操作地连接到所述检测剂,其中所述检测剂包括第二非天然存在的结合分子如单克隆抗体,其中所述编码所述检测剂的序列包括编码 V_H CDR1区的序列、编码 V_H CDR2区的序列、编码 V_H CDR3区的序列、编码 V_L CDR1区的序列、编码 V_L CDR2区的序列、编码(b)的所述第一非天然存在的结合分子的 V_L CDR3区的序列,并且其中所述第一组分和所述第二组分选择性地彼此结合。

[0023] 在所公开的所述测定的某些实施例中,所述第一非天然存在的结合分子包括编码重链可变区的序列和编码轻链可变区的序列,并且其中所述第二非天然存在的结合分子包括编码重链可变区的所述序列和编码所述第一非天然存在的结合分子的轻链可变区的所述序列。

[0024] 在所公开的所述测定的某些实施例中,所述第一非天然存在的结合分子包括编码重链恒定区的序列,所述重链恒定区包括SEQ ID NO:7。

[0025] 在所公开的所述测定的某些实施例中,所述第一非天然存在的结合分子包括以下: V_H CDR1区,所述 V_H CDR1区包括氨基酸序列SEQ ID NO:9; V_H CDR2区,所述 V_H CDR2区包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列; V_H CDR3区,所述 V_H CDR3区包括SEQ ID NO:11的氨基酸序列; V_L CDR1区,所述 V_L CDR1区包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列; V_L CDR2区,所述 V_L CDR2区包括LGS的氨基酸序列; V_L CDR3区,所述 V_L CDR3区包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列。

[0026] 在所公开的所述测定的某些实施例中,所述第一非天然存在的结合分子包括重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包括氨基酸序列SEQ ID NO:15,所述轻链可变区包括氨基酸序列SEQ ID NO:16。

[0027] 在本发明的一个实施例中,将IgG4抗体(如度匹鲁单抗(dupilumab))的 C_H3 结构域转换为IgG1 C_H3 结构域。在另一实施例中,将IgG4抗体(诸如度匹鲁单抗)的 C_H3 结构域截短。一方面,所述截短发生在丝氨酸444处。

[0028] 在所公开的所述测定的某些实施例中,所述检测剂包括度匹鲁单抗。在某些实施例中,所述第二非天然存在的结合分子包括度匹鲁单抗。

[0029] 在所公开的所述测定的某些实施例中,所述第一组分包括链霉亲和素。在某些实施例中,所述第二组分包括生物素。

[0030] 本公开提供了一种测定,所述测定包括:(a) 固体载体,其中第一组分可操作地连接到所述固体载体;(b) 至少一种捕获剂,其中第二组分可操作地连接到所述至少一种捕获

剂,并且其中所述捕获剂包括本公开的所述非天然存在的结合分子或本公开的组合物;以及(c)至少一种检测剂,其中可检测标记可操作地连接到所述检测剂,并且其中所述检测剂包括度匹鲁单抗;其中所述第一组分和所述第二组分选择性地彼此结合。在某些实施例中,所述第一组分包括链霉亲和素。在某些实施例中,所述第二组分包括生物素。在某些实施例中,不与度匹鲁单抗的可变区的序列特异性地结合的结合分子不结合所述至少一种捕获剂。在某些实施例中,与度匹鲁单抗的可变区的序列特异性地结合的结合分子与所述至少一种捕获剂和所述至少一种检测剂结合。

[0031] 本公开提供了一种测定生物疗法在受试者中的免疫原性水平的方法,所述方法包括(a)使来自所述受试者的生物样品与本公开的所述测定在适合于允许所述生物样品中的至少一种结合分子与所述至少一种捕获剂结合并且结合到所述至少一种检测剂的条件下接触,其中在所述接触步骤之前,已经向所述受试者施用所述结合分子疗法;(b)检测来自所述至少一种检测剂的信号;以及(c)当来自(b)的所述信号高于阈值时,将所述受试者的所述免疫原性水平鉴别为高或(d)当来自(b)的所述信号低于所述阈值时,将所述受试者的所述免疫原性水平鉴别为低。

[0032] 本发明的某些实施例涉及用于测定生物疗法的免疫原性水平的方法,其中所述生物疗法包括本文所描述的结合分子。一方面,所述生物制剂包括度匹鲁单抗。

[0033] 在本发明的特定实施例中,公开了用于测定生物疗法的免疫原性水平的方法,其中所述阈值是预定值。在某些方面中,所述阈值是安全阈值。

[0034] 在本发明的某些实施例中,所述生物疗法的量是治疗有效剂量,其中治疗有效剂量是当施用于受试者时其量足以实现预期目的的治疗剂(例如本发明的结合分子)的量。

[0035] 在本发明的一些实施例中,所述免疫原性水平是基线水平。在某些方面中,所述免疫原性水平是后续或治疗后水平。

[0036] 在本发明的其它实施例中,所述受试者是临床试验的参与者。一方面,所述受试者是经受医学治疗的患者。另一方面,所述医学治疗正在开始,并且所述免疫原性水平是基线水平。另一方面,所述医学治疗正在进行,并且所述免疫原性水平是后续水平。另一方面,所述医学治疗正在结束,并且所述免疫原性水平是最终水平。另一方面,所述受试者是健康个体。

[0037] 在本发明的仍其它实施例中,所述受试者患有炎症性疾病或病症、自身免疫性疾病或病症、过敏性疾病或病症、免疫性疾病或病症或良性增殖性疾病或病症。一方面,所述受试者患有特应性皮炎、哮喘、过敏性鼻炎、过敏性结膜炎、嗜酸性食管炎、鼻息肉、ABPA(过敏性支气管肺曲霉病)、大疱性类天疱疮、慢性阻塞性肺病(COPD)、HFE(手足湿疹)、结节性痒疹或任何2型炎症性应答或其组合。所述受试者可能患有任何疾病或医学病状。

[0038] 本公开提供了一种非天然存在的单克隆抗体或其抗原结合部分,所述非天然存在的单克隆抗体包括C端重链序列,所述C端重链序列包括选自SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:13组成的组的序列。C端重链序列可以是C_H3结构域序列。C端重链序列可以包括SEQ ID NO:7。C端重链序列可以包括SEQ ID NO:13。C端重链序列可以包括C_H结构域序列,所述C_H结构域序列包括SEQ ID NO:8。C端重链序列可以包括C_H结构域序列,所述C_H结构域序列包括SEQ ID NO:22。

[0039] 一种非天然存在的单克隆抗体或其抗原结合部分,所述非天然存在的单克隆抗体

包括C_H3结构域,所述C_H3结构域由选自由SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:13组成的组的序列组成。

[0040] 一种非天然存在的单克隆抗体或其抗原结合部分,所述非天然存在的单克隆抗体包括C端重链序列,所述C端重链序列由选自由SEQ ID NO:8和SEQ ID NO:22组成的组的序列组成。

[0041] 一种非天然存在的单克隆抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包括以下:V_H CDR1区,所述V_H CDR1区包括氨基酸序列SEQ ID NO:9;V_H CDR2区,所述V_H CDR2区包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列;V_H CDR3区,所述V_H CDR3区包括SEQ ID NO:11的氨基酸序列;V_L CDR1区,所述V_L CDR1区包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列;V_L CDR2区,所述V_L CDR2区包括LGS的氨基酸序列;V_L CDR3区,所述V_L CDR3区包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及C_H3结构域,所述C_H3结构域由选自由SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:13组成的组的氨基酸序列组成。

[0042] 前述抗体可以进一步包括以下:V_H CDR1区,所述V_H CDR1区包括氨基酸序列SEQ ID NO:9;V_H CDR2区,所述V_H CDR2区包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列;V_H CDR3区,所述V_H CDR3区包括SEQ ID NO:11的氨基酸序列;V_L CDR1区,所述V_L CDR1区包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列;V_L CDR2区,所述V_L CDR2区包括LGS的氨基酸序列;V_L CDR3区,所述V_L CDR3区包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列。

[0043] 本公开提供了一种非天然存在的单克隆抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包括以下:V_H CDR1区,所述V_H CDR1区包括氨基酸序列SEQ ID NO:9;V_H CDR2区,所述V_H CDR2区包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列;V_H CDR3区,所述V_H CDR3区包括SEQ ID NO:11的氨基酸序列;V_L CDR1区,所述V_L CDR1区包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列;V_L CDR2区,所述V_L CDR2区包括LGS的氨基酸序列;V_L CDR3区,所述V_L CDR3区包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及C_H3结构域,所述C_H3结构域包括选自由SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:13组成的组的氨基酸序列。

[0044] 前述抗体可以包括重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包括SEQ ID NO:15的氨基酸序列,所述轻链可变区包括SEQ ID NO:16的氨基酸序列,或其抗原结合部分。前述抗体可以包括IgG4 C_H1区,所述IgG4 C_H1区包括SEQ ID NO:1的氨基酸序列。前述抗体可以包括IgG4 C_H2区,所述IgG4 C_H2区包括SEQ ID NO:1的氨基酸序列。IgG4C_H2区可以包括铰链区。铰链区可以包括APEFLG (SEQ ID NO:17) 的序列。

[0045] 本公开的抗体可以在免疫原性分析期间缓解高背景信号。

[0046] 本公开提供了一种测定,所述测定包括:(a) 固体载体,其中第一组分可操作地连接到所述固体载体;(b) 至少一种捕获剂,其中第二组分可操作地连接到所述至少一种捕获剂,其中所述捕获剂包括本公开的第一非天然存在的单克隆抗体;以及(c) 至少一种检测剂,其中可检测标记可操作地连接到所述检测剂,其中所述检测剂包括本公开的第二非天然存在的单克隆抗体,并且其中所述第一组分和所述第二组分选择性地彼此结合。

[0047] 检测剂可以包括度匹鲁单抗。第二非天然存在的单克隆抗体可以包括度匹鲁单抗。第一组分可以包括链霉亲和素。第二组分可以包括生物素。

[0048] 本公开提供了一种测定,所述测定包括:(a) 固体载体,其中第一组分可操作地连接到所述固体载体;(b) 至少一种捕获剂,其中第二组分可操作地连接到所述至少一种捕获

剂,并且其中所述捕获剂包括本公开的所述非天然存在的单克隆抗体;以及(c)至少一种检测剂,其中可检测标记可操作地连接到所述检测剂,并且其中所述检测剂包括度匹鲁单抗;其中所述第一组分和所述第二组分选择性地彼此结合。第一组分可以包括链霉亲和素。

[0049] 第二组分可以包括生物素。

[0050] 在一些方面中,至少一种捕获剂不结合不与度匹鲁单抗的可变区的序列特异性地结合的抗体。在一些方面中,至少一种捕获剂和所述至少一种检测剂与特异性地结合度匹鲁单抗的可变区的序列的抗体结合。

[0051] 本公开提供了一种测定单克隆抗体疗法在受试者中的免疫原性水平的方法,所述方法包括:(a)使来自所述受试者的生物样品与本公开的任何测定在适合于允许所述生物样品中的至少一种抗体与所述至少一种捕获剂结合并结合到所述至少一种检测剂的条件接触,其中在所述接触步骤之前,已经向所述受试者施用所述单克隆抗体疗法;(b)检测来自所述至少一种检测剂的信号;以及(c)当来自(b)的所述信号高于阈值时,将所述受试者的所述免疫原性水平鉴别为高;或(d)当来自(b)的所述信号低于所述阈值时,将所述受试者的所述免疫原性水平鉴别为低。

[0052] 单克隆抗体疗法可以包括本公开的抗体。

[0053] 单克隆抗体疗法可以包括度匹鲁单抗。阈值可以是预定值。阈值可以是安全阈值。单克隆抗体疗法的量可以是治疗有效剂量。免疫原性水平可以是基线水平。免疫原性水平可以是后续水平。

[0054] 受试者可以是临床试验的参与者。受试者可以是经受医学治疗的患者。医学治疗可以正在开始,并且免疫原性水平可以是基线水平。医学治疗可以正在进行,并且免疫原性水平可以是后续水平。医学治疗可以正在结束,并且免疫原性水平可以是最终水平。受试者可以是健康个体。受试者可能患有炎性疾病或病症、自身免疫性疾病或病症、过敏性疾病或病症、免疫性疾病或病症或良性增殖性疾病或病症。受试者可能患有特应性皮炎、哮喘、过敏性鼻炎、过敏性结膜炎、嗜酸性食管炎、鼻息肉或其组合。

[0055] 上述方面中的任何方面可以与任何其它方面组合。

[0056] 除非另外定义,否则本文所使用的所有技术术语和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。在本说明书中,除非上下文另外明确规定,否则单数形式也包含复数形式;例如,术语“一个/一种(a/an)”和“所述(the)”被理解为单数或复数,并且术语“或(or)”被理解为包含。举例来说,“要素”意指一个或多个要素。贯穿本说明书,词语“包括(comprising)”或如“包括(comprises)”或“包括(comprising)”等变体应当被理解为暗示包含所陈述要素、整数或步骤或要素组、整数组或步骤组,但不排除任何其它要素、整数或步骤或要素组、整数组或步骤组。约可以被理解为在所陈述值的10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%或0.01%范围内。除非上下文另有明确说明,否则本文提供的所有数值均由术语“约”修饰。

附图说明

[0057] 图1是在抗药物抗体(ADA)测定中使用竞争性抗体构建体表征基线患者样品中预先存在的反应性的特异性的图。在y轴上,抑制百分比从0到100,以25为增量。在X轴上,从左到右列出了在桥接测定中使用的特异性竞争性抗体构建体:度匹鲁单抗、REGN-A、wt IgG4、

wt IgG1、wt IgG2、wt IgG3、REGN-B和REGN-C。六份患者样品(S1-S6)依次表示为圆形、正方形、三角形指向上、星号、菱形和三角形指向下。图中提及的抗体试剂以200 μ g/mL用作ADA确认测定格式中的竞争性抑制剂。测定中的高抑制百分比指示,给定竞争能够抑制这些样品中预先存在的信号,从而表明竞争分子含有与预先存在的反应性结合的区。较低的抑制百分比指示竞争分子不含有预先存在的反应性可以结合的区。

[0058] 图2是示出了三个关键构建体以及其与度匹鲁单抗相比的结构差异的图形表示的图。REGN-B、REGN-C和REGN-E是度匹鲁单抗的分子类似物。所有三个构建体均是针对抗IL4R与度匹鲁单抗具有相同特异性和类似亲和力的IgG4k构建体,并且还具有存在于度匹鲁单抗中的同一CPPC铰链区突变序列。

[0059] 图3是示出了野生型IgG4、IgG1和IgG2亚型的C_H3结构域的氨基酸序列比对和比较的图形表示的图。如箭头所指示的,位置445处的亮氨酸是C_H3结构域序列的C端的第三末端。

[0060] 图4是展示了药物特异性桥接(图A,ADA测定#1)、由于当前ADA测定中预先存在的反应性而引起的非药物特异性桥接(图B)以及由于使用REGN-C作为捕获剂而引起的无非药物特异性桥接(图C,ADA测定#2)的图形表示的一个实施例。板上的链霉亲和素示出为灰色十字,生物素部分示出为黑色方块,并且钉标记示出为星形。图A和B中示出了生物素化的REGN-D(度匹鲁单抗)捕获剂(黑色叉状结构),而图C中示出了生物素化的REGN-C(黑色和白色方格叉状结构)。预先存在的反应性在图B和C中表示为较小的虚线勾画的叉状结构。

[0061] 图5A是示出了使用原始ADA测定(测定#1)的来自患者基线样品的子集的测定信号的图,所述测定在图4的图A中用图解法表示并且使用生物素化的REGN-D作为捕获剂。在y轴上,对数标尺形式的信噪比从0到100。在x轴上,按信噪比对个体患者样品进行排序。切割点以虚线给出。

[0062] 图5B是示出了使用修正的ADA测定(测定#2)的相同患者基线样品的测定信号的图,所述测定在图4的图C中用图解法表示并且使用生物素化的REGN-C作为捕获剂。在y轴上,对数标尺形式的信噪比从0到100。在x轴上,按如图5A所描绘的同一次序对个体患者样品进行排序。切割点以虚线给出。

[0063] 图6A是示出了使用类似于图4中所描述的测定的药物特异性桥接抗药物抗体(ADA)测定的将完整的度匹鲁单抗用作捕获试剂和检测试剂的来自患者基线样品的子集的测定信号的图。

[0064] 图6B是示出了使用将REGN-B(图2,人IgG4 mAb,其中IgG4的整个C_H3都转换为IgG1 C_H3结构域)作为捕获试剂和检测试剂的修正的桥接ADA测定的来自图6A中所测试患者基线样品的同一子集的测定信号的图。

[0065] 图6C是示出了使用将REGN-E(图2,人IgG4 mAb,其中C_H3结构域在丝氨酸444之后被终止密码子截短)作为捕获试剂和检测试剂的修正的桥接ADA测定的来自图6A中所测试患者基线样品的同一子集的测定信号的图。

[0066] 图7是在抗药物抗体(ADA)测定中使用竞争性抗体构建体表征基线患者样品中预先存在的反应性的特异性的系列图。在y轴上,抑制百分比从0到100,以25为增量。在X轴上,从左到右列出了在桥接测定中使用的特异性竞争性抗体构建体:顶图中的度匹鲁单抗、REGN-F和REGN-F(L445P)或底图中的度匹鲁单抗、REGN-G和REGN-G(L445P)。六份患者样品

(S1-S6) 依次表示为圆形、正方形、三角形指向上、星号、菱形和三角形指向下。图中提及的抗体试剂以200 μ g/mL用作ADA确认测定格式中的竞争性抑制剂。测定中的高抑制百分比指示,给定竞争能够抑制这些样品中预先存在的信号,从而表明竞争分子含有与预先存在的反应性结合的区。较低的抑制百分比指示竞争分子不含有预先存在的反应性可以结合的区。

[0067] 图8是示出了使用类似于图4所描述的测定的将REGN-F用作捕获试剂和检测试剂两者(顶部)或将REGN-F(L445P)用作捕获试剂并且组合REGN-F用作检测试剂的药物特异性桥接抗药物抗体(ADA)测定的来自患者基线样品的子集的测定信号的系列图。

[0068] 图9是示出了使用类似于图4所描述的测定的将REGN-G用作捕获试剂和检测试剂两者(顶部)或将REGN-G用作捕获试剂并且组合REGN-G(L445P)用作检测试剂的药物特异性桥接抗药物抗体(ADA)测定的来自患者基线样品的子集的测定信号的系列图。

具体实施方式

[0069] 应当理解,本公开不限于本文所描述的组合物和方法以及所描述的实验条件,因为所述组合物和方法以及实验条件可以变化。还应理解,本文所使用的术语仅出于描述某些实施例的目的,而不旨在是限制性的,因为本公开的范围将仅由所附权利要求限制。

[0070] 除非另外定义,否则本文所使用的所有技术术语和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。然而与本文所描述的组合物、方法和材料类似或等效的任何组合物、方法和材料均可以用于实践或测试本发明。所提及的所有出版物均通过引用整体并入本文。

[0071] 如本文所使用的,术语“人IL4R”(hIL-4R)旨在指特异性地结合白介素-4(IL-4)、IL-4R α (SEQ ID NO:18)的人细胞因子受体。术语“人白介素-13”(hIL-13)是指特异性地结合IL-13受体的细胞因子,并且“hIL-13/hIL-13R1复合物”是指由hIL-13与hIL-13R1复合物结合形成的复合物,所述复合物结合hIL-4受体以启动生物活性。

[0072] 如本文所使用的,术语“结合分子”旨在指与特定靶标特异性相互作用并与之结合的分子。靶标可以包括生物或小(化学)分子。靶分子可以定义抗原或抗原部分。结合分子的实例包含但不限于抗体(包含单克隆抗体、双特异性抗体以及抗体片段)、融合蛋白和本领域技术人员已知的其它抗原结合分子。

[0073] 如本文所使用的,术语“抗体”是结合分子的实例,并且是指免疫球蛋白,所述免疫球蛋白通常包括由两条重(H)链和两条轻(L)链通过二硫键互连而成的四条多肽链。每条重链包括重链可变区(HCVR或V_H)和重链恒定区。重链恒定区包括三个结构域:C_H1、C_H2和C_H3。每条轻链包括轻链可变区(LCVR或V_L)和轻链恒定区。轻链恒定区包括一个结构域(CL1)。V_H区和V_L区可以进一步细分成被称作互补决定区(CDR)的超变区,所述超变区散布有更保守的被称作框架区(FR)的区。每条V_H和V_L由按照以下次序从氨基末端到羧基末端布置的三个CDR和四个FR构成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。抗体可以包含IgG1、IgG2、IgG3或IgG4亚类中的抗体。抗体还可以包括来自不同亚类的区的组合。IgG4抗体可以包含但不限于度匹鲁单抗和西米普利单抗(cemiplimab)。

[0074] “结合分子”的其它实例包含但不限于双特异性抗体、三特异性抗体、四特异性抗体和五特异性抗体。在一些方面中,双特异性抗体、三特异性抗体、四特异性抗体和五特异

性抗体可以包括抗体的Fc部分。在一些方面中,双特异性抗体、三特异性抗体、四特异性抗体、五特异性抗体可以包括IgG4主链。“结合分子”的另一个实例是抗体-药物缀合物(ADC)。在一些方面中,ADC可以包括IgG4主链。“结合分子”的另一个实例是双特异性T细胞衔接子(BiTE)。在一些方面中,BiTE可以包括IgG4主链。“结合分子”的另一个实例是TRAP融合蛋白。在一些方面中,TRAP融合蛋白具有IgG4主链。“结合分子”的另一个实例是fynomer。

[0075] 如本文所使用的,术语抗体的“抗原结合部分”(或简称为“抗体部分”或“抗体片段”)是指抗体的保留与抗原(例如hIL-4R α)特异性地结合的能力的一个或多个片段。已经证明,抗体的抗原结合功能可以由全长抗体的片段执行。术语抗体的“抗原结合部分”内涵盖的结合片段的实例包含:(i) Fab片段——包括V_L、V_H、C_L1和C_H1结构域的单价片段;(ii) F(ab')₂片段——包括在铰链区处通过二硫键连接的两个F(ab')₂片段的二价片段;(iii) Fc片段,其包括V_H和C_H1结构域;(iv) Fv片段,其包括抗体的单臂的V_L和V_H结构域;(v) dAb片段(Ward等人,(1989)《自然(Nature)》241:544-546),其包括V_H结构域;以及(vi) CDR。此外,虽然Fv片段的两个结构域V_L和V_H由单独的基因编码,但是这两个结构域可以使用重组方法通过使这两个结构域能够成为单条连续链的合成连接子来连接,在所述单个连续链中,V_L区和V_H区配对以形成单价分子(被称为单链Fv(scFv));例如,参见Bird等人(1988)《科学(Science)》242:423-426;以及Huston等人(1988)《美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA)》85:5879-5883。此类单链抗体还旨在涵盖于术语抗体的“抗原结合部分”内。单链抗体的其它形式(如双体)也涵盖在内(例如,参见Holliger等人(1993)《美国国家科学院院刊》90:6444-6448)。

[0076] 如本文所使用的,“中和”或“阻断”抗体旨在指其与hIL-4R α 的结合导致抑制hIL-4和/或hIL-13的生物活性的抗体。可以通过测量本领域已知的hIL-4和/或hIL-13生物活性的一种或多种指标(如hIL-4和/或IL-13诱导的细胞活化以及hIL-4与hIL-4R α 的结合)来评估hIL-4和/或IL-13的生物活性的这种抑制(参见以下实例)。

[0077] “CDR”或互补决定区是散布在更保守的被称为“框架区”(FR)的区内的超变区。在本公开的抗hIL-4R α 抗体或片段的不同实施例中,FR可以与人种系序列相同或可以是天然的或人工修饰的。

[0078] 术语“表位”是与被称为互补位的抗体分子的可变区中的特定抗原结合位点相互作用的抗原决定簇。单个抗原可以具有多于一个表位。表位可以是构象的或线性的。构象表位通过来自线性多肽链的不同区段的空间并列的氨基酸产生。线性表位是由多肽链中的邻近氨基酸残基产生的表位。在某些情况下,表位可以包含抗原上的糖、磷酸基或磺酰基的部分。

[0079] 术语“免疫原性”是指抗原或免疫原在人体或动物体内诱导免疫应答的能力。蛋白质疗法具有引起不良免疫应答的能力,所述不良免疫应答可能会干扰药物药代动力学和功效。此免疫应答可以采取产生抗药物抗体(ADA)的形式。

[0080] 当提及核酸或其片段时,术语“基本同一性”或“基本上相同”指示当通过适当的核苷酸插入或缺失与另一种核酸(或其互补链)进行最佳比对时,核苷酸序列同一性为核苷酸碱基的至少约95%,并且更优选地至少约96%、97%、98%或99%,如通过如FASTA、BLAST或Gap等任何熟知的序列同一性算法所测量,如以下所讨论的。

[0081] 当应用于多肽时,术语“基本类似性”或“基本上类似”意指当如通过程序GAP或

BESTFIT使用默认间隙权重进行最佳比对时,两个肽序列共享至少95%的序列同一性,甚至更优选地至少98%或99%的序列同一性。通常,不相同的残基位置因保守氨基酸取代而不同。“保守氨基酸取代”是一个氨基酸残基被具有类似化学性质(例如,电荷或疏水性)的侧链(R基团)的另一个氨基酸残基取代的氨基酸取代。总体而言,保守氨基酸取代将不会实质上改变蛋白质的功能性质。在两个或更多个氨基酸序列因保守取代而彼此不同的情况下,序列同一性百分比或类似性程度可以向上调整以针对取代的保守性质进行校正。用于作出此调整的方法是本领域技术人员所熟知的。参见例如,Pearson (1994)《分子生物学方法(Methods Mol.Biol.)》24:307-331,所述文献通过引用并入本文。侧链具有类似化学性质的氨基酸的组的实例包含(1)脂肪族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;(2)脂肪族羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;(3)含酰胺的侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;(4)芳香族侧链:苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;(5)碱性侧链:赖氨酸、精氨酸和组氨酸;(6)酸性侧链:天冬氨酸和谷氨酸;以及(7)含硫侧链是半胱氨酸和蛋氨酸。在某些实施例中,保守氨基酸取代组是:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸、谷氨酸-天冬氨酸和天冬酰胺-谷氨酰胺。可替代地,保守替代是公开于通过引用并入本文的以下文献中的PAM250对数似然矩阵中具有正值的任何变化:Gonnet等人(1992)《科学》256:144345。“适度保守”替代是PAM250对数似然矩阵中具有非负值的任何变化。

[0082] 通常使用序列分析软件测量也称为序列同一性的多肽的序列类似性。蛋白质分析软件使用分配给包含保守氨基酸取代在内的各种取代、缺失和其它修饰的类似性测量来匹配类的序列。例如,GCG软件含有如Gap和Bestfit等程序,所述程序可以在默认参数下使用以测定紧密相关的多肽(如来自不同生物体物种的同源多肽)之间或野生型蛋白质与其突变体之间的序列同源性或序列同一性。参见例如,6.1版GCG。还可以使用FASTA(使用默认或推荐参数)——6.1版GCG中的程序来比较多肽序列。FASTA(例如,FASTA2和FASTA3)提供了询问序列与搜索序列之间的最佳重叠区的比对和序列一致性百分比(Pearson (2000),同上)。当比较本公开的序列与含有大量来自不同生物体的序列的数据库时,另一个算法是使用默认参数的计算机程序BLAST,尤其是BLASTP或TBLASTN。参见例如,Altschul等人(1990)《分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)》215:403-410以及Altschul等人(1997)《核酸研究(Nucleic Acids Res.)》25:3389-402,所述文献中的每一个通过引用并入本文。

[0083] 用于产生人类抗体的方法包含例如描述于以下文献中的方法:美国专利第6,596,541号、Green等人(1994)《自然遗传学(Nature Genetics)》7:13-21、美国专利第5,545,807、第6,787,637号。

[0084] 啮齿动物可以通过本领域已知的任何方法进行免疫(参见例如,Harlow和Lane (1988)《抗体:实验室手册(Antibodies:A Laboratory Manual)》1988冷泉港实验室(Cold Spring Harbor Laboratory);Malik和Lillehoj (1994)《抗体技术(Antibody Techniques)》,加利福尼亚州的学术出版社(Academic Press,CA))。通常使用VELOCIMMUNE®技术(美国专利第6,596,541号)制备本公开的抗体。用感兴趣抗原攻击内源性免疫球蛋白重链和轻链可变区被对应人可变区替代的转基因小鼠,并且从表达抗体的小鼠中回收淋巴细胞(如B细胞)。淋巴细胞可以与骨髓瘤细胞系融合以制备永生的杂交瘤细胞系,并且对此类杂交瘤细胞系进行筛选和选择以鉴别产生对感兴趣抗原具有特异性的抗体的杂交瘤细胞系。编码重链和轻链可变区的DNA可以被分离并连接到重链和轻链的

期望同种型恒定区。这种抗体蛋白可以在如CHO细胞等细胞中产生。可替代地,可以直接从抗原特异性淋巴细胞中分离编码抗原特异性嵌合抗体或轻链和重链可变区的DNA。

[0085] 编码抗体的重链和轻链可变区的DNA可以被分离并可操作地连接到编码人重链和轻链恒定区的DNA。然后DNA可以在能够表达完全人抗体的细胞中表达。在一具体实施例中,所述细胞是CHO细胞。

[0086] 抗体可以治疗性地用于阻断配体-受体相互作用或抑制受体组分相互作用,而不是通过补体固定(补体依赖性细胞毒性)(CDC)和参与抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)杀死细胞。抗体的恒定区对于抗体固定补体和介导细胞依赖性细胞毒性的能力是重要的。因此,可以基于抗体是否需要介导细胞毒性来选择抗体的同种型。

[0087] 人免疫球蛋白可以以与铰链异质性相关的两种形式存在。在一种形式中,免疫球蛋白分子包括大约150-160kDa的稳定四链构建体,其中二聚体通过链间重链二硫键保持在一起。在第二种形式中,二聚体不通过链间二硫键连接,并且形成约75-80kDa的分子,其由共价偶联的轻链和重链(半抗体)构成。即使在亲和纯化之后,这些形式也极难分离。在各种完整IgG同种型中出现第二种形式的频率是由于但不限于与抗体的铰链区同种型相关的结构差异。实际上,人IgG4铰链的铰链区中的单个氨基酸取代可以将第二种形式(Angal等人(1993)《分子免疫学(Molecular Immunology)》30:105)的出现显著降低到通常使用人IgG1铰链所观察到的水平。本公开涵盖在铰链区、 C_H2 区或 C_H3 区中具有一个或多个突变的抗体,其可能是例如生产中所期望的,以提高期望抗体形式的产量。

[0088] 最初,分离具有人可变区和小鼠恒定区的高亲和力嵌合抗体。如下文所描述的,针对包含以下在内的期望特性对抗体进行表征和选择:与hIL-4R α 的结合亲和力、阻断hIL-4与hIL-4R α 结合的能力和/或对人蛋白质的选择性。用期望的人恒定区替代小鼠恒定区以产生本公开的完全人抗体,例如野生型或经修饰的IgG4或IgG1(例如,SEQ ID NO:4、19、20和23)。虽然所选择的恒定区可以根据具体用途而变化,但是高亲和力抗原结合和靶标特异性特性存在于可变区中。

[0089] 免疫原性测定

[0090] 本公开提供了非天然存在的结合分子如单克隆抗体或其抗原结合部分,所述结合分子包括C端重链序列LSPG(SEQ ID NO:21)。在某些实施例中,所述C端重链是人 C_H3 结构域。在某些实施例中,所述人抗体属于IgG4类。在某些实施例中,所述重链序列包括SEQ ID NO:7。在某些实施例中,所述重链序列包括SEQ ID NO:8。

[0091] 本公开提供了包括抗IL-4R α 结合分子(如本公开的抗体或其抗原结合片段)的免疫原性测定。本公开的免疫原性测定可以采取抗药物抗体(ADA)测定的形式。本公开的ADA测定可以是ADA桥接测定或直接酶联免疫吸附(ELISA)测定。在ADA桥接测定中,所讨论的结合分子的生物素化形式与板上的链霉亲和素结合。存在于样品中的诸如抗体等结合分子然后与生物素化结合分子和同一结合分子的标记形式结合,从而与来自标记的可检测信号形成桥接相互作用。适合的标记将是本领域普通技术人员已知的。示例性标记包括钆、辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶和荧光团。ADA桥接测定可以包含执行桥接反应的样品的滴定以生成标准曲线以及使用冷的、未标记的竞争抗体以抑制反应。

[0092] 图4展示了图A中的药物特异性桥接ADA测定;在图B中,由于当前的ADA测定中预先存在的反应性,因此是非药物特异性桥接测定;由于使用REGN-C作为图C中所见的捕获剂,

因此无非药物特异性桥接ADA测定。预先存在的反应性在图B和C中表示为较小的虚线勾画的叉状结构。应当理解,对于所公开实施例,测定试剂分子类似物REGN-A、B、C、D和E是可互换的,因此允许技术人员设计如所描述的测定的各种排列。一方面,为了降低背景,技术人员可以将REGN-D与以下试剂中的任一种试剂组合以形成新的组合:REGN-B、REGN-C或REGN-E (D+B、D+C、D+E或翻转使得B+D、C+D或E+D),使得比对次序为“捕获剂”+“检测剂”。另一方面,技术人员可以进行以下配对以降低背景信号:B+B、C+C或E+E。

[0093] 在本公开的某些实施例中,使用如抗体(或其抗原结合部分)等结合分子来测定免疫原性(或ADA)水平。在某些实施例中,使用IgG4抗体评估度匹鲁单抗的免疫原性水平。在这些免疫原性研究中通常需要解决的一个问题是通常与所使用的IgG4抗体相关的高背景信号。为了缓解此高背景,本公开提供了IgG4抗体,所述IgG4抗体包括SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8的重链序列,从而导致较低的背景信号。

[0094] 在本公开的某些实施例中,一种结合分子如抗体或其抗原结合部分,所述结合分子包括:(1)选自由SEQ ID NO:12、LGS、SEQ ID NO:14和其组合组成的组的一个或多个V_L链序列;(2)选自由SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和其组合组成的组的一个或多个V_H链序列;以及(3)选自由SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的C_H3或CH序列,其中与包括以下的结合分子相比,所述结合分子在免疫原性(ADA)测定中表现出降低的背景反应性:(1)选自由SEQ ID NO:12、LGS、SEQ ID NO:14和其组合组成的组的一个或多个V_L链序列;(2)选自由SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和其组合组成的组的一个或多个V_H链序列;以及(3)未选自由SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的C_H3或CH序列。在某些实施例中,(3)的CH结构域序列可以包含SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6。

[0095] 在本发明的一个实施例中,将IgG4抗体(如度匹鲁单抗)的C_H3结构域转换为IgG1C_H3结构域,从而导致较低的背景信号(图6B)。在仍另外一实施例中,将IgG4抗体(诸如度匹鲁单抗)的C_H3结构域截短。一方面,截短发生在丝氨酸444处,从而导致较低的背景信号(图6C)。

[0096] 在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括(1)选自由SEQ ID NO:12、LGS、SEQ ID NO:14和其组合组成的组的一个或多个V_L链序列;(2)选自由SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和其组合组成的组的一个或多个V_H链序列;以及(3)选自由SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的C_H3或CH序列。

[0097] 在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括(1)选自由SEQ ID NO:12、LGS、SEQ ID NO:14和其组合组成的组的一个或多个V_L链序列;(2)选自由SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和其组合组成的组的一个或多个V_H链序列;以及(3)C_H3或C_H序列,其中所述C_H3或C_H序列包括选自由SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的一个或多个序列。

[0098] 在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括(1)选自由SEQ ID NO:12、LGS、SEQ ID NO:14和其组合组成的组的一个或多个V_L链序列;(2)选自由SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和其组合组成的组的一个或多个V_H链序列;以及(3)C_H3序列,其中所述C_H3序列包括选自由SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:21组成的组

的一个或多个序列。

[0099] 在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括(1)选自由SEQ ID NO:12、LGS、SEQ ID NO:14和其组合组成的组的一个或多个 V_L 链序列;(2)选自由SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和其组合组成的组的一个或多个 V_H 链序列;以及(3) C_H 序列,其中所述 C_H 序列包括选自由SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22组成的组的一个或多个序列。

[0100] 在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括 C_H 序列,其中所述 C_H 序列包括选自由SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22组成的组的一个或多个序列。

[0101] 在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括 C_H3 序列,其中所述 C_H3 序列包括选自由SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:21组成的组的一个或多个序列。

[0102] 在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括IgG4 C_H 结构域,所述IgG4 C_H 结构域包括位置445处的脯氨酸到亮氨酸氨基酸取代。

[0103] 在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:5。

[0104] 在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:6。

[0105] 在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括(1)选自由SEQ ID NO:12、LGS、SEQ ID NO:14和其组合组成的组的一个或多个 V_L 链序列;(2)选自由SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和其组合组成的组的一个或多个 V_H 链序列;以及(3)包括SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:5的 C_H 序列。

[0106] 在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括(1)选自由SEQ ID NO:12、LGS、SEQ ID NO:14和其组合组成的组的一个或多个 V_L 链序列;(2)选自由SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和其组合组成的组的一个或多个 V_H 链序列;以及(3)包括SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:6的 C_H 序列。

[0107] 在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约99%的序列同一性的至少一个多肽序列。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约98%的序列同一性的至少一个多肽序列。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约97%的序列同一性的至少一个多肽序列。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约96%的序列同一性的至少一个多肽序列。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约95%的序列同一性的至少一个多肽序列。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约94%的序列同一性的至少一个多肽序列。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约93%的序列同一性的至少一个多肽序列。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约92%的序列同一性的至少一个多肽序列。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约91%的序列同

至少约96%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约95%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约94%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约93%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约92%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约91%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:7具有至少约90%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。

[0111] 在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:8具有至少约99%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:8具有至少约98%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:8具有至少约97%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:8具有至少约96%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:8具有至少约95%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:8具有至少约94%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:8具有至少约93%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:8具有至少约92%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:8具有至少约91%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。在一些方面中,本公开提供了一种结合分子,所述结合分子包括与SEQ ID NO:8具有至少约90%的序列同一性的至少一个多肽序列,其中所述至少一个多肽序列包括SEQ ID NO:21。

[0112] 在一些方面中,与包括C_H序列(包括SEQ ID NO:3)的结合分子相比,本公开的任何结合分子可以在免疫原性(ADA)测定中表现出降低的背景反应性。在一些方面中,与包括C_H序列(包括SEQ ID NO:4)的结合分子相比,本公开的任何结合分子可以在免疫原性(ADA)测定中表现出降低的背景反应性。

[0113] 治疗剂施用和调配物

[0114] 本公开提供了包括本公开的抗IL-4R α 结合分子的治疗剂组合物。根据本公开的治疗剂组合物的施用将与适合的载剂、赋形剂和并入到调配物中以提供改进的转移、递送、耐受性等其它试剂一起施用。在所有药物化学家已知的处方集中可以找到许多适当的调配物:《雷明顿氏药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)》,宾夕法尼亚州伊斯顿市的马克出版公司(Mack Publishing Company, Easton, Pa)。这些调配物包含例如,粉末、糊剂、软膏、凝胶剂、蜡、油、脂质、含有囊泡的(阳离子或阴离子)脂质(如LIPOFECTIN™)、DNA缀合物、无水吸收糊剂、水包油和油包水乳剂、乳剂碳蜡(各种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含有碳蜡的半固体混合物。还参见Powell等人“用于肠胃外调配物的赋形剂的汇编(Compendium of excipients for parenteral formulations)”PDA(1998)《药物科学与技术杂志(J Pharm Sci Technol)》52:238-311。

[0115] 剂量可以根据待施用的受试者的年龄和体型、目标疾病、病状、施用途径等而变化。当本公开的结合分子用于在成年患者中治疗与IL-4R α 相关的各种病状和疾病时,通常以约0.01到约20mg/kg体重,更通常地约0.02到约7mg/kg体重、约0.03到约5mg/kg体重或约0.05到约3mg/kg体重的单个剂量静脉内施用本公开的结合分子是有利的。在一些方面中,当本公开的结合分子用于治疗与IL-4R α 相关的各种病状和疾病时,给药方案可以是每两周一次300mg(Q2W),并且可以延长至多到每四周一次(Q4W)。取决于病状的严重程度,可以调整治疗的频率和持续时间。

[0116] 各种递送系统是已知的,并且可以用于施用本公开的药物组合物,例如,包封在脂质体、微颗粒、微胶囊、能够表达突变体病毒的重组细胞、受体介导的胞吞作用中(参见例如,Wu等人(1987)《生物化学杂志(J. Biol. Chem.)》262:4429-4432)。引入的方法包含但不限于皮内、肌肉内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外和口服途径。可以通过任何方便的途径(例如通过输注或快速浓注、通过上皮或皮肤粘膜内层(例如,口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)吸收)施用组合物并且可以与其它生物活性剂一起施用。施用可以是全身性的或局部的。

[0117] 药物组合物还可以在囊泡例如脂质体中递送(参见Langer(1990)《科学》249:1527-1533;Treat等人(1989)“脂质体在传染病和癌症疗法中的作用(Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer)”,Lopez Berestein和Fidler(编辑),Liss,纽约,第353-365页;Lopez-Berestein,同上,第317-327页。

[0118] 在某些实施例中,药物组合物可以在控释系统中递送。在一个实施例中,可以使用泵(参见Langer,同上;Sefton(1987)《CRC:生物医学工程评论(CRC Crit. Ref Biomed. Eng.)》14:201)。在另一个实施例中,可以使用聚合材料(参见《控释的医学应用(Medical Applications of Controlled Release)》,Langer和Wise(编辑),CRC出版社,波卡拉顿市,佛罗里达州。(1974)。在又一个实施例中,控释系统可以放置在组合物的靶标附近,因此仅需要一小部分全身剂量(参见例如,Goodson,控释的医学应用(Medical Applications of Controlled Release),同上,第2卷,第115-138页,1984)。其它控释系统在以下文献的评论中讨论:Langer(1990)《科学》249:1527-1533。

[0119] 可注射制剂可以包含用于静脉内、皮下、皮内和肌肉内注射、滴注等剂型。这些可注射制剂可以通过公知的方法制备。例如,可注射制剂可以通过例如将上述抗体或其盐溶

解、悬浮或乳化在无菌水性介质或常规用于注射的油性介质中来制备。作为用于注射的水性介质,存在例如生理盐水、含有葡萄糖的等渗溶液和其它助剂等,其可以与如以下等适当的增溶剂组合使用:醇(例如,乙醇);多元醇(例如,丙二醇、聚乙二醇);非离子表面活性剂[例如,聚山梨酯80、HCO-50(氢化蓖麻油的聚氧乙烯(50mol)加合物)]等。作为油性介质,可以采用例如芝麻油、大豆油等,其可以与如苯甲酸苄酯、苯甲醇等增溶剂组合使用。如此制备的注射剂优选地填充在适当的安瓿中。

[0120] 有利地是,将上述用于口服或肠胃外使用的药物组合物制备成适合于配合一定剂量的活性成分的单位剂量的剂型。单位剂量的此类剂型包含例如片剂、丸剂、胶囊剂、注射剂(安瓿剂)、栓剂等。上述结合分子的含量通常为每单位剂量剂型约5到500mg;尤其是在注射形式下,在某些实施例中,上述结合分子的含量为约5到100mg并且对于其它剂型为约10到250mg。

[0121] 单一疗法和组合疗法。本公开的结合分子可用于治疗通过降低IL-4活性而得到改进、抑制或改善的疾病和病症。这些病症包含以IL-4表达异常或过量或宿主对IL-4产生异常应答为特征的病症。

[0122] 本公开涵盖其中抗IL-4R α 结合分子(例如,抗体或抗体片段)与第二治疗剂组合施用的组合疗法。共同施用和组合疗法不限于同时施用,还包含其中在涉及向患者施用至少一种其它治疗剂的治疗过程期间至少施用一次抗IL-4R α 结合分子的治疗方案。第二治疗剂可以是另一种IL-4拮抗剂,如另一种结合分子或可溶性细胞因子受体、IgE拮抗剂、抗哮喘药物(皮质类固醇、非甾体类药物、 β -激动剂、白三烯拮抗剂、黄嘌呤、氟替卡松(fluticasone)、沙美特罗(salmeterol)、沙丁胺醇(albuterol)),所述药物可以通过吸入或其它适当的方式递送。在一具体实施例中,抗IL-4R α 结合分子(如本公开的结合分子)可以与IL-1拮抗剂(如利纳西普(rilonacept))或IL-13拮抗剂一起施用。在一些方面中,抗IL-4R α 结合分子(如本公开的结合分子)可以与靶向1型或2型炎症应答中的细胞因子和/或受体的结合分子组合施用。第二药剂可以包含一种或多种白三烯受体拮抗剂以治疗如过敏性炎症性疾病(例如,哮喘和过敏)等病症。白三烯受体拮抗剂的实例包含但不限于孟鲁司特(montelukast)、普仑司特(pranlukast)和扎鲁司特(zafirlukast)。第二药剂可以包含细胞因子抑制剂,如TNF(依那西普(etanercept, ENBRELTM))、IL-9、IL-5或IL-17拮抗剂中的一种或多种。

[0123] 治疗剂用途

[0124] 本公开提供了用于治疗有需要的受试者的疾病或病症的组合物和方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本公开的结合分子。

[0125] 本公开提供了用于治疗有需要的受试者的疾病或病症的组合物和方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本公开的组合物。

[0126] 在本公开的某些实施例中,所述疾病或病症是1型或2型炎症性疾病或病症。

[0127] 在本公开的某些实施例中,所述疾病或病症是自身免疫性疾病或病症。

[0128] 在本公开的某些实施例中,所述疾病或病症是过敏性疾病或病症。

[0129] 在本公开的某些实施例中,所述疾病或病症是免疫性疾病或病症。

[0130] 在本公开的某些实施例中,所述疾病或病症是良性增殖性疾病或病症。在本公开的某些实施例中,所述疾病或病症是恶性增殖性疾病或病症。

[0131] 在本公开的某些实施例中,所述疾病或病症是特应性皮炎、哮喘、过敏性鼻炎、过敏性结膜炎、嗜酸性食管炎、鼻息肉或其组合。

[0132] 在本公开的某些实施例中,本发明的结合分子是全身性施用的。一方面,所述结合分子是静脉内或皮下施用的。另一方面,所述结合分子通过注射或输注施用。仍另一方面,所述结合分子通过皮下注射施用。

[0133] 在本公开的某些实施例中,所述结合分子是全身性施用的。一方面,所述结合分子通过皮下注射施用。另一方面,治疗有效剂量包括约75mg、150mg、300mg或600mg的皮下注射。又另一方面,所述治疗有效剂量包括约75mg、150mg、300mg或600mg的至少一次皮下注射、至少两次皮下注射、至少三次皮下注射或至少四次皮下注射。仍另一方面,所述治疗有效剂量包括约75mg、150mg、300mg或600mg的每周一次、每两周一次、每四周一次或作为维持剂量长期施用以控制疾病症状的皮下注射。

[0134] 在本公开的某些实施例中,所述结合分子是全身性施用的。一方面,所述结合分子通过皮下注射施用。另一方面,所述治疗有效剂量包括约600mg的初始剂量。仍另一方面,所述初始剂量包括一对各自在两个不同注射部位施用的300mg注射剂。又另一方面,包含其中所述治疗有效剂量包括初始剂量的剂量,所述治疗有效剂量进一步包括约300mg的维持剂量。另一方面,维持剂量每隔一周施用一次。

[0135] 在本公开的方法的某些实施例中,所述结合分子是全身性施用的。一方面,所述结合分子以约1.0mg/kg、3.0mg/kg、8.0mg/kg或12.0mg/kg的剂量静脉内施用。

[0136] 在本公开的某些实施例中,所述结合分子与第二治疗剂组合施用。一方面,所述第二治疗剂包括免疫抑制剂。一方面,所述第二治疗剂包括激动性抗体。一方面,所述第二治疗剂包括免疫激活剂。另一方面,所述第二治疗剂包括IL-1 β 抑制剂、IL-5抑制剂、IL-9抑制剂、IL-3抑制剂、IL-13抑制剂、IL-17抑制剂、IL-25抑制剂、TNF α 抑制剂、eotixin-3抑制剂、IgE抑制剂、前列腺素D2抑制剂、免疫抑制剂、皮质类固醇、糖皮质激素、质子泵抑制剂、非甾体抗炎药(NSAID)或其组合。

[0137] 在本公开的某些实施例中,所述结合分子与第二治疗剂组合施用。一方面,所述第二治疗剂包括皮质类固醇。在一特定方面,所述皮质类固醇是局部皮质类固醇。

[0138] 应当理解,本公开的组合物、调配物、试剂盒、方法不限于任一种疾病和/或医学病状。本公开的组合物、调配物、试剂盒和方法可以应用于患者对治疗性抗体表现出预先存在的反应性的任何疾病和/或医学病状。

[0139] 表1:本公开的示例性序列。

[0140]

名称	序列	SEQ ID NO:
IgG4 C _H 1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV	1
IgG4 C _H 2	APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK	2
IgG4 C _H 3	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	3
IgG4 C _H	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	4
IgG1 C _H 3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	5
IgG2 C _H 3	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	6
IgG4 C _H 3 L>P	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	7
IgG4 C _H L>P	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	8
重链 CDR1	GFTFRDYA	9
重链 CDR2	ISGSGGNT	10
重链 CDR3	AKDRLSITIRPRYYGL	11

[0141]

轻链 CDR1	QSLLYSIGYNY	12
轻链 CDR2	LGS	NA
轻链 CDR3	MQALQTPYT	14
重链可 变区	EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAGSGFTFRDYAMTWVRQAPGKGLEW VSSISGSGGNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKDRLSITIRPRYYGLDVWGQGT TTVTS	15
轻链可 变区	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLYSIGYNYLDWYLQKSGQSPQ LLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGFYYCMQALQT PYTFGQG TKLEIK	16
IgG4 C _H 2 的铰 链区	APEFLG	17
IL4R α	MKVLQEPTCVSDYMSISTCEWKMN GPTNCSTELRLLYQLVFL LSEAHT CIPENNGGAGCVCHLLMDDVVSADNYTLDLWAGQQLLWKGSFKPSEH VKPRAPGNLTVHTNVSDTL LLTWSNPYPDPNYLYNHLTYAVNIWSEND PADFRIYNVTYLEPSLRIAASTLKSGISYRARVRAWAQCYN TTWSEWSP STKWHNSYREPFEQH	18
IgG1 C _H	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	19
IgG4 C _H	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKRV ESKYGP PCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	20
IgG4 C _H 3 的区	LSPG	21
截短的 IgG4 C _H	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKRV ESKYGP PCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS	22
IgG2 C _H	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPMLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	23
截短的 IgG4 C _H 3	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLS	13

[0142]

[0143] 实例

[0144] 实例1: IgG4 C_H3恒定区的替代降低了一些患者样品中预先存在的免疫反应性。

[0145] 进行竞争性抑制研究以表征在一些样品中观察到的高预先存在的反应信号。在这些研究中使用了商购获得的抗体试剂或出于此目的专门构建的单克隆抗体。表2提供了有助于阐明此预先存在的反应性的特异性的抗体构建体或试剂列表。

[0146] 表2

抗体/试剂名称	同种型	性质
Fc 铰链区构建体		
度匹鲁单抗	IgG4k	CPPC (Fc 铰链序列)
REGN-A	IgG4k	CPPC (Fc 铰链序列) 对 IL-4R 不具有特异性
REGN-B、C 和 E	IgG4k	CPPC (Fc 铰链序列)
商业 IgG4 野生型 (WT)	IgG4k	CPSC (Fc 铰链序列) wt IgG4 Fc
可商购获得的同种型抗体		
人 IgG1	IgG1κ	
人 IgG2	IgG2λ	
人 IgG3	IgG3κ	
度匹鲁单抗和生物工程化抗体		
REGN-D (度匹鲁单抗)	IgG4κ	CPPC (Fc 铰链序列)
REGN-B	IgG4κ	C _H 2-IgG4-C _H 3-IgG1
REGN-C	IgG4κ	C _H 2-IgG4-C _H 3 L445>P
REGN-E	IgG4κ	C _H 2-IgG4-C _H 3 截短的 @ 444

[0147]

[0148] 在抗药物抗体 (ADA) 确认测定格式中, 这些抗体构建体以 200 μg/mL 作为竞争性抑制剂使用。图4示出了测定的格式, 并且图1示出了测定的结果 (图1和图4)。测定中的高抑制百分比指示, 给定竞争能够抑制这些样品中预先存在的反应性信号, 从而表明竞争分子含有与预先存在的反应性结合的区。较低的抑制百分比指示竞争分子不含有预先存在的反应性可以结合的区。可以将上述表1列出的试剂大致分组成三类: IgG4主链/Fc铰链区构建体、可商购获得的同种型抗体和度匹鲁单抗生物工程化构建体。初始实验检查此高测定反应性是针对度匹鲁单抗的CDR还是针对其IgG4主链。REGN-A是人单克隆抗体, 其具有与度匹鲁单抗相同的IgG4主链, 但具有不同的CDR序列, 并且不与IL-4Rα结合。

[0149] 如图1所示, 使用度匹鲁单抗和REGN-A两者的竞争性抑制实验证明了对来自所检查的患者的六份基线样品中的高测定信号的显著抑制。由于这两种抗体的CDR区序列不同, 因此此抑制结果表明, 高信号反应性并不靶向度匹鲁单抗的CDR部分, 而是靶向一些常见的抗体主链序列。度匹鲁单抗和REGN-A两者均含有稳定这些IgG4分子中的抗体铰链区的IgG1 “CPPC” 铰链区序列。为了测定预先存在的免疫反应性是否靶向此CPPC突变, 在竞争性抑制实验中对铰链区处具有野生型 (wt) CPSC序列的商业IgG4κ抗体进行检查。如图1中可以看出, 野生型IgG4抗体也示出了类似于度匹鲁单抗和REGN-A的显著抑制。此结果表明, 高基线测定信号并不针对度匹鲁单抗中的CPPC铰链区突变, 而是最有可能针对IgG4分子的野生型恒定区。这些结果指示, 在基线处观察到的高信号对度匹鲁单抗不具有特异性。

[0150] 进行另外的实验以测定此高测定预先存在的反应性是否针对不同IgG亚型之间常

见的恒定区序列。使用同一竞争性抑制方法,检查三种商购获得的人IgG1 κ 、IgG2 κ 、IgG3 κ 抗体对此预先存在的应答的影响。这些抗体均不能抑制这些样品中的高基线信号(参见图1)。这表明,预先存在的反应性最有可能与IgG4恒定区序列所独有的区相关,并且所述区未与所测试的IgG亚型中的任何IgG亚型共享。

[0151] 构建类似于度匹鲁单抗的人单克隆抗体(REGN-B),除IgG4 C_H3结构域被IgG1 C_H3结构域替代以外(参见图2)。在竞争研究中检查此抗体以测定预先存在的反应性是否靶向度匹鲁单抗的C_H3结构域。REGN-B并未显著抑制样品中的高信号(参见图1),从而表明预先存在的反应性最有可能靶向IgG4分子的C_H3结构域内的某一区。

[0152] 为了在度匹鲁单抗的C_H3结构域内进一步鉴别可能与这些高信号相关的区域,进行IgG4、IgG1和IgG2抗体的C_H3结构域的氨基酸序列比对(参见图3)。注意到IgG4与IgG1 C_H3结构域序列之间的六个个别氨基酸位置以及IgG4与IgG2 C_H3结构域序列之间的五个个别氨基酸位置的差异(参见图3)。

[0153] 在位置445处具有亮氨酸(L)到脯氨酸(P)取代的IgG4构建体可用并且在竞争性抑制测定中进行检查。此构建体未示出对这些高测定信号的显著抑制。这指示预先存在的反应性可能对度匹鲁单抗的L445区具有特异性。使用在位置445处具有L到P取代的此构建体来在竞争性抑制测定中检查具有高测定信号的其它样品,并且观察到类似的低抑制水平。这似乎确认了预先存在的反应性专门靶向L445周围的区。因此,度匹鲁单抗中从亮氨酸(wt IgG4中)到脯氨酸(存在于wt IgG1、IgG2和IgG3中的同一位置处)的变化消除了导致ADA测定中的高信号的此预先存在的应答。

[0154] 在位置445处具有亮氨酸(L)到脯氨酸(P)取代的IgG4构建体可用并且在竞争性抑制测定中进行检查。此构建体未示出对这些高测定信号的显著抑制。这指示预先存在的反应性可能对度匹鲁单抗的L445区具有特异性。使用在位置445处具有L到P取代的此构建体来在竞争性抑制测定中检查具有高测定信号的其它样品,并且观察到类似的低抑制水平。这似乎确认了预先存在的反应性专门靶向L445周围的区。因此,度匹鲁单抗中从亮氨酸(wt IgG4中)到脯氨酸(存在于wt IgG1、IgG2和IgG3中的同一位置处)的变化消除了导致ADA测定中的高信号的此预先存在的应答。

[0155] 第二基于度匹鲁单抗的人单克隆抗体构建体(REGN-C)得以产生。此构建体与度匹鲁单抗相同,除在抗体序列中的445残基处插入了点突变以外,其中亮氨酸改变为脯氨酸(缩写为L>P)。REGN-C不能显著抑制所检测基线样品中的高信号(参见图1和图2)。这确认了预先存在的反应性专门靶向度匹鲁单抗中的L445周围的区,并且表明在ADA测定中使用此生物工程化度匹鲁单抗消除了当前ADA测定中观察到的大部分(即使不是全部)高水平背景信号。

[0156] 使用另外两种抗体REGN-F和REGN-G执行进一步的实验以证明从亮氨酸到脯氨酸的抗体序列中的445残基的修饰消除了预先存在的反应性。如图7所示,使用度匹鲁单抗、REGN-F和REGN-G进行的竞争性抑制实验证明了对六份基线样品中高测定信号的显著抑制,因此示出了度匹鲁单抗、REGN-F和REGN-G表现出高水平预先存在的反应性。然而,在REGN-F和REGN-G的位置445处用亮氨酸取代脯氨酸(在本文中分别被称为REGN-F(L445P)和REGN-G(L445P))消除了此预先存在的反应性,因为REGN-F和REGN-G不能抑制高测定信号。REGN-F、REGN-F(L445P)、REGN-G和REGN-G(L445P)也作为药物特异性桥接抗药物抗体测定中的试剂

进行测试,类似于图4所描述的。如图8和9所示,当REGN-F和REGN-G两者均用作捕获试剂和检测试剂时,显示出指示高预先存在的反应性的高测定信号。相反,当REGN-F (L445P) 用作捕获试剂并且组合REGN-F用作检测试剂时(图8),或当REGN-G用作捕获试剂并且组合REGN-G (L445P) 用作检测试剂时(图9),测定信号显著降低,从而证明L445P取代消除了预先存在的反应性。REGN-F和REGN-G包括不同的可变结构域,所述可变结构域也与图1所示结果中测试的抗体的可变结构域不同。因此,图7-9中所示的结果证明,预先存在的反应性独立于可变结构域和CDR,并且反而对L445周围的区具有特异性。此外,这证明L445P取代通常可以应用于IgG4抗体,而无论其CDR的同一性如何降低预先存在的反应性。

[0157] 已经鉴别了至少大部分预先存在的反应性所靶向的度匹鲁单抗序列中的区。ADA测定中的高信号似乎是由于这些血清样品中的某种基质成分而产生的,所述基质成分可以通过在C_H3结构域中的L445处或附近结合而在测定中标记的度匹鲁单抗分子之间桥接。这指示此预先存在的反应性不是度匹鲁单抗药物特异性的,但可以与任何IgG4分子结合。此外,结果表明在ADA测定中使用具有L445P突变的度匹鲁单抗的此修饰版本消除了大部分(即使不是全部)高水平背景信号。

[0158] 实例2:降低患者样品中背景免疫反应性的经改良的抗药物抗体(ADA)测定的开发

[0159] 开发了一种经改良的ADA测定,所述测定使用生物素化的REGN-C(具有L445P突变)作为捕获剂。图4展示了当前ADA测定与使用REGN-C的经改良的ADA测定之间的测定设计的差异。为了清楚起见,当前ADA测定将被视为“ADA测定#1”,并且经改良的ADA测定将被称为“ADA测定#2”。图5示出了使用当前ADA测定#1对ADA测定#2从所有患者基线样品获得的ADA筛选信号的对比分析。图5A示出了当前ADA筛选测定(测定#1)中由这些高ADA信号基线样品生成的信噪比图,而图5B则示出了ADA测定#2中由完全相同的样品生成的信噪比图。ADA测定#2的测定格式显著降低了当前ADA筛选测定中观察到的高信号。一些样品在ADA测定#2中仍然显示出反应性,但是筛选阳性的数目与筛选测定的预期假阳性率更相符,并且那些阳性样品的信号应答水平通常比使用当前ADA测定观察到的信号应答水平低得多。在ADA测定#2中的大多数情况下,观察到的这些高测定信号下降到接近基线值应当允许改善对患者群体中出现的治疗紧急情况 and 药物特异性ADA的检测。

[0160] 通过引用并入

[0161] 除非明确排除或以其它方式限制,否则本文引用的每篇文献,包含任何交叉引用的或相关的专利或申请均据此通过引用整体并入本文。任何文献的引用都不承认其是关于本文所公开或所要求的任何公开的现有技术,或其单独地或与任何其它一种或多种参考组合教导、表明或公开任何这种公开。进一步,在本文献中的术语的任何含义或定义与通过引用并入的文献中的同一术语的任何含义或定义相冲突的意义上,应当以在本文献中分配给所述术语的含义或定义为准。

[0162] 其它实施例

[0163] 虽然已经说明并描述了本公开的某些实施例,但是可以在不脱离本公开的精神和范围的情况下作出各种其它改变和修改。所附权利要求的范围包含本公开范围内的所有此类改变和修改。

序列表

<110> 里珍纳龙药品有限公司 (Regeneron Pharmaceuticals, Inc.)
Sumner, Giane
Chen, Jihua
Partridge, Michael
Torri, Albert
Rajadhyaksha, Manoj

<120> 修饰结合分子以最小化预先存在的相互作用

<130> REGE-004

<150> US 62/695,988

<151> 2018-07-10

<160> 26

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

[0001]

<400> 1

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr
65 70 75 80

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

Arg Val

<210> 2

<211> 110

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 2

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

[0002]

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

<210> 3

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 3

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

	20	25	30
	Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu	
	35	40	45
	Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val	Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe	
	50	55	60
	Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly		
	65	70	75 80
	Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr		
	85	90	95
	Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		
	100	105	
[0003]	<210> 4		
	<211> 327		
	<212> PRT		
	<213> 智人 (Homo sapiens)		
	<400> 4		
	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg		
	1	5	10 15
	Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr		
	65	70	75 80
	Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		

	85	90	95
	Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro		
	100	105	110
	Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys		
	115	120	125
	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
	130	135	140
	Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
	145	150	155
	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe		
	165	170	175
[0004]	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
	180	185	190
	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu		
	195	200	205
	Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
	210	215	220
	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys		
	225	230	235
	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
	245	250	255
	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
	260	265	270
	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
	275	280	285

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

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

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 5
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 5

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

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

[0005]

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 6
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 6

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

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

Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

[0006]

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 7

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 7

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

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

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 8

<211> 327

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 8

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

[0007]

Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr
65 70 75 80

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

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

	115	120	125
	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
	130	135	140
	Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
	145	150	155 160
	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe		
	165	170	175
	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
	180	185	190
	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu		
	195	200	205
[0008]	Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
	210	215	220
	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys		
	225	230	235 240
	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
	245	250	255
	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
	260	265	270
	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
	275	280	285
	Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser		
	290	295	300
	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
	305	310	315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 9
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
<223> 重链 CDR1

<400> 9

Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala
1 5

<210> 10
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
<223> 重链 CDR2

[0009]

<400> 10

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr
1 5

<210> 11
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
<223> 重链 CDR3

<400> 11

Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
1 5 10 15

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 轻链 CDR1

<400> 12

Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ile Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 13

<211> 104

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 13

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

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

[0010] Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
100

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 轻链 CDR3

<400> 14

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 15

<211> 124

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 15

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

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

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

[0011]

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

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

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

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

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

<210> 16

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 16

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30

Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ser Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Phe Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95

[0012]

Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 17

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 17

Ala Pro Glu Phe Leu Gly
 1 5

<210> 18

<211> 207

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 18

Met Lys Val Leu Gln Glu Pro Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile
 1 5 10 15

	Ser	Thr	Cys	Glu	Trp	Lys	Met	Asn	Gly	Pro	Thr	Asn	Cys	Ser	Thr	Glu	
				20					25					30			
	Leu	Arg	Leu	Leu	Tyr	Gln	Leu	Val	Phe	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	His	Thr	
		35					40					45					
	Cys	Ile	Pro	Glu	Asn	Asn	Gly	Gly	Ala	Gly	Cys	Val	Cys	His	Leu	Leu	
		50					55					60					
	Met	Asp	Asp	Val	Val	Ser	Ala	Asp	Asn	Tyr	Thr	Leu	Asp	Leu	Trp	Ala	
	65					70				75					80		
	Gly	Gln	Gln	Leu	Leu	Trp	Lys	Gly	Ser	Phe	Lys	Pro	Ser	Glu	His	Val	
				85					90					95			
	Lys	Pro	Arg	Ala	Pro	Gly	Asn	Leu	Thr	Val	His	Thr	Asn	Val	Ser	Asp	
			100				105							110			
[0013]	Thr	Leu	Leu	Leu	Thr	Trp	Ser	Asn	Pro	Tyr	Pro	Pro	Asp	Asn	Tyr	Leu	
		115					120						125				
	Tyr	Asn	His	Leu	Thr	Tyr	Ala	Val	Asn	Ile	Trp	Ser	Glu	Asn	Asp	Pro	
		130					135					140					
	Ala	Asp	Phe	Arg	Ile	Tyr	Asn	Val	Thr	Tyr	Leu	Glu	Pro	Ser	Leu	Arg	
	145				150						155					160	
	Ile	Ala	Ala	Ser	Thr	Leu	Lys	Ser	Gly	Ile	Ser	Tyr	Arg	Ala	Arg	Val	
				165					170					175			
	Arg	Ala	Trp	Ala	Gln	Cys	Tyr	Asn	Thr	Thr	Trp	Ser	Glu	Trp	Ser	Pro	
			180						185					190			
	Ser	Thr	Lys	Trp	His	Asn	Ser	Tyr	Arg	Glu	Pro	Phe	Glu	Gln	His		
		195					200						205				
	<210>	19															
	<211>	330															

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 19

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

[0014] Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

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

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

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

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 Asp Glu
 225 230 235 240

Leu 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

[0015] Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

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

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

<210> 20

<211> 327

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 20

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser 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	Lys	Thr	
	65					70					75					80	
	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	
				85						90					95		
	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	
				100					105						110		
	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	
			115					120						125			
[0016]	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	
	130						135					140					
	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	
	145					150					155					160	
	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	
				165						170					175		
	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	
			180						185					190			
	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	
		195						200					205				
	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	
	210						215						220				
	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	

225	230	235	240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp			
245	250	255	
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys			
260	265	270	
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser			
275	280	285	
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser			
290	295	300	
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser			
305	310	315	320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys			
	325		

[0017]

<210> 21
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 21

Leu Ser Pro Gly
1

<210> 22
 <211> 324
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 22

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser 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	Lys	Thr	
	65					70					75					80	
	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	
				85						90					95		
	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Ser	Cys	Pro	Ala	Pro	
				100					105						110		
	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	
			115					120					125				
[0018]	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	
	130						135					140					
	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	
	145					150					155					160	
	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	
				165						170					175		
	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	
			180						185					190			
	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	
		195						200					205				
	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	
	210						215					220					
	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	

225	230	235	240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp			
245	250	255	
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys			
260	265	270	
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser			
275	280	285	
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser			
290	295	300	
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser			
305	310	315	320
Leu Ser Leu Ser			

[0019]

<210> 23
 <211> 326
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 23

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65	70	75	80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys	85	90	95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro	100	105	110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp	115	120	125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp	130	135	140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly	145	150	155
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn	165	170	175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp	180	185	190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro	195	200	205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu	210	215	220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn	225	230	235
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile	245	250	255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr	260	265	270

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

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 24
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 24

[0021] Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
1 5 10 15

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
20 25 30

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
35 40 45

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
50 55 60

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
65 70 75 80

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
85 90 95

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
100 105 110

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
115 120

<210> 25
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 25

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
1 5 10 15

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
20 25 30

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
35 40 45

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
50 55 60

[0022]

Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
65 70 75 80

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
85 90 95

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
100 105 110

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
115 120

<210> 26
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 26

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

1	5	10	15
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr	20	25	30
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser	35	40	45
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr	50	55	60
[0023]			
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr	65	70	75
Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe	85	90	95
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys	100	105	110
Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys	115	120	

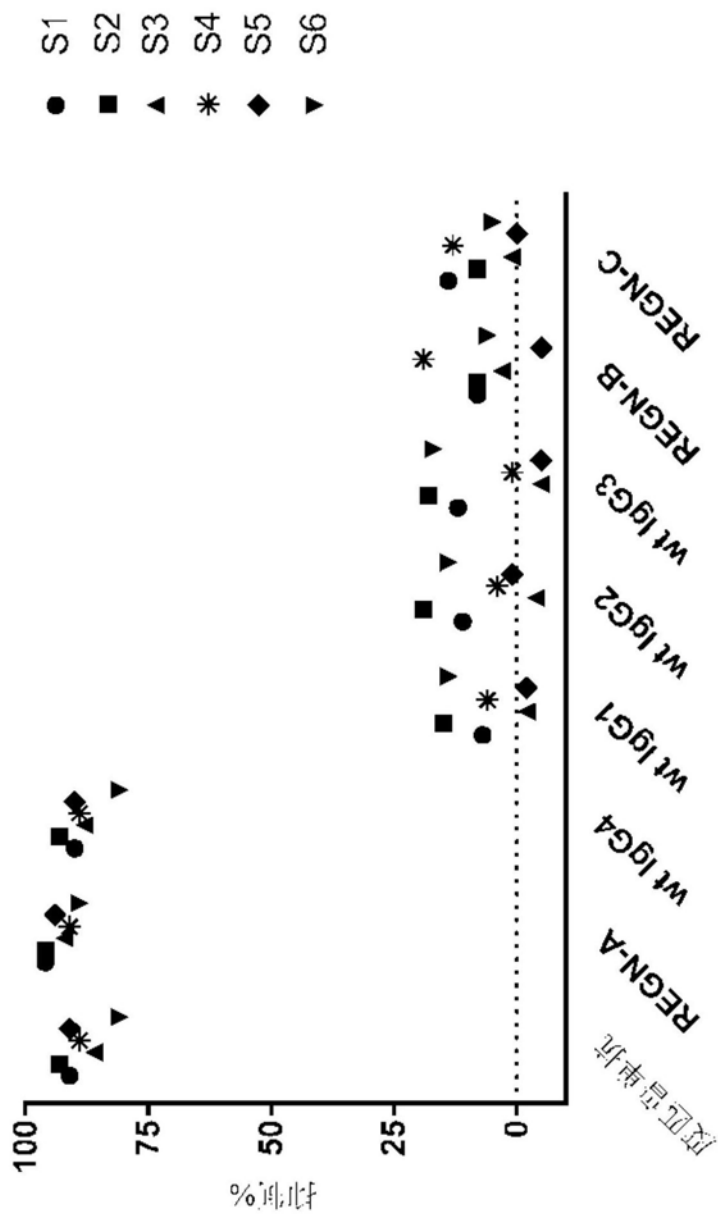


图1

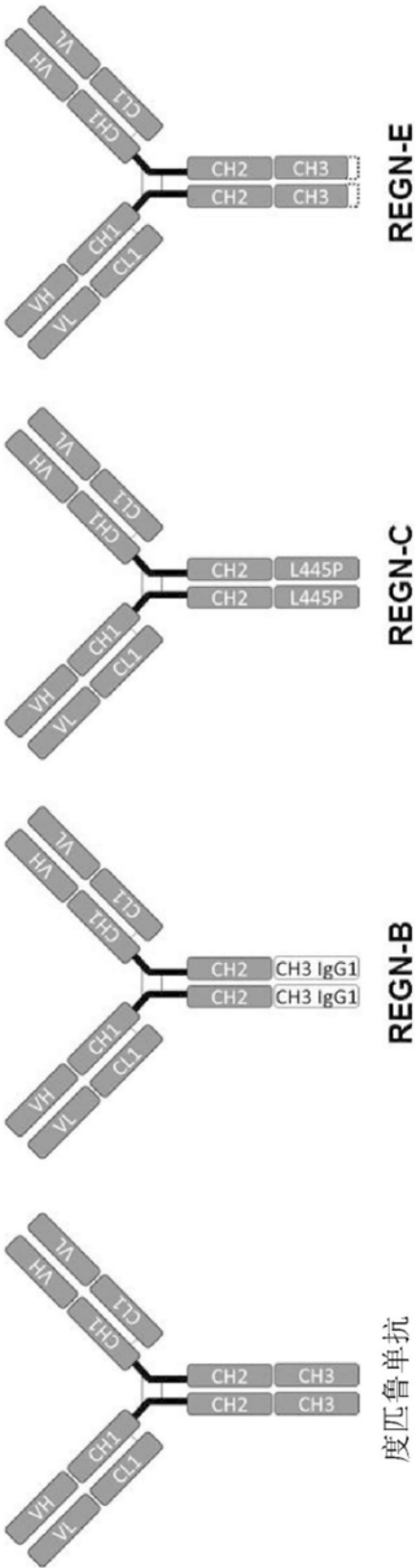


图2

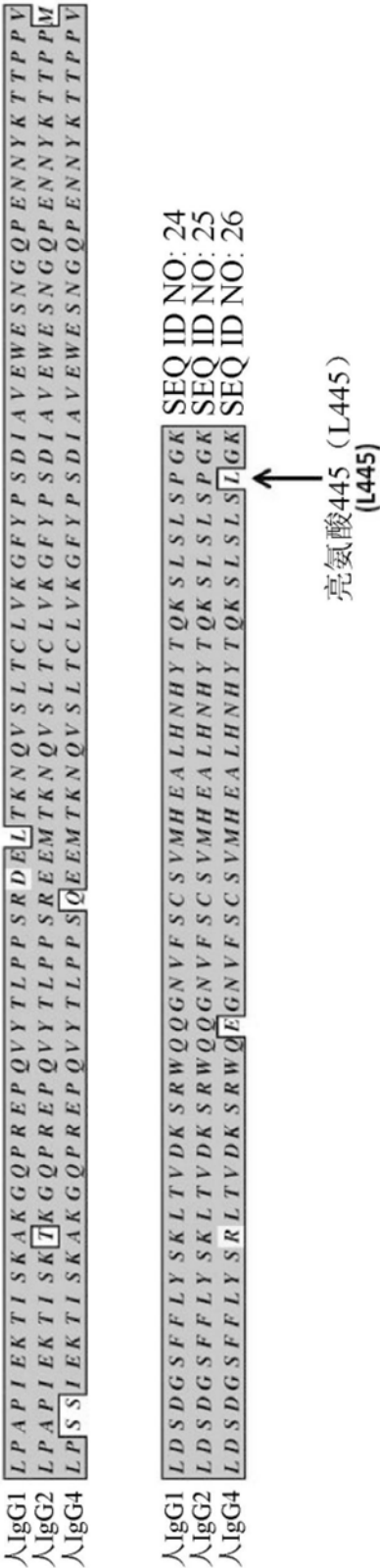


图3

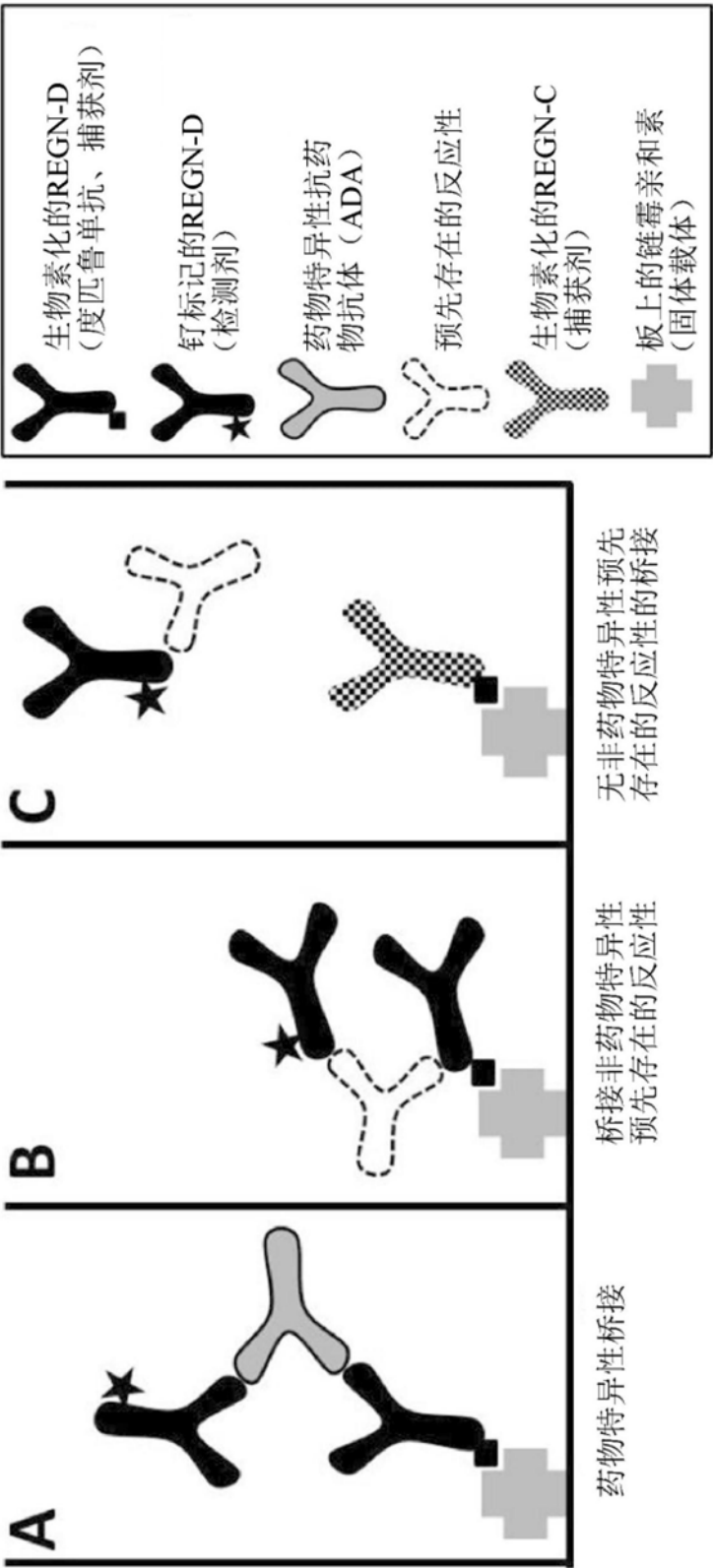


图4

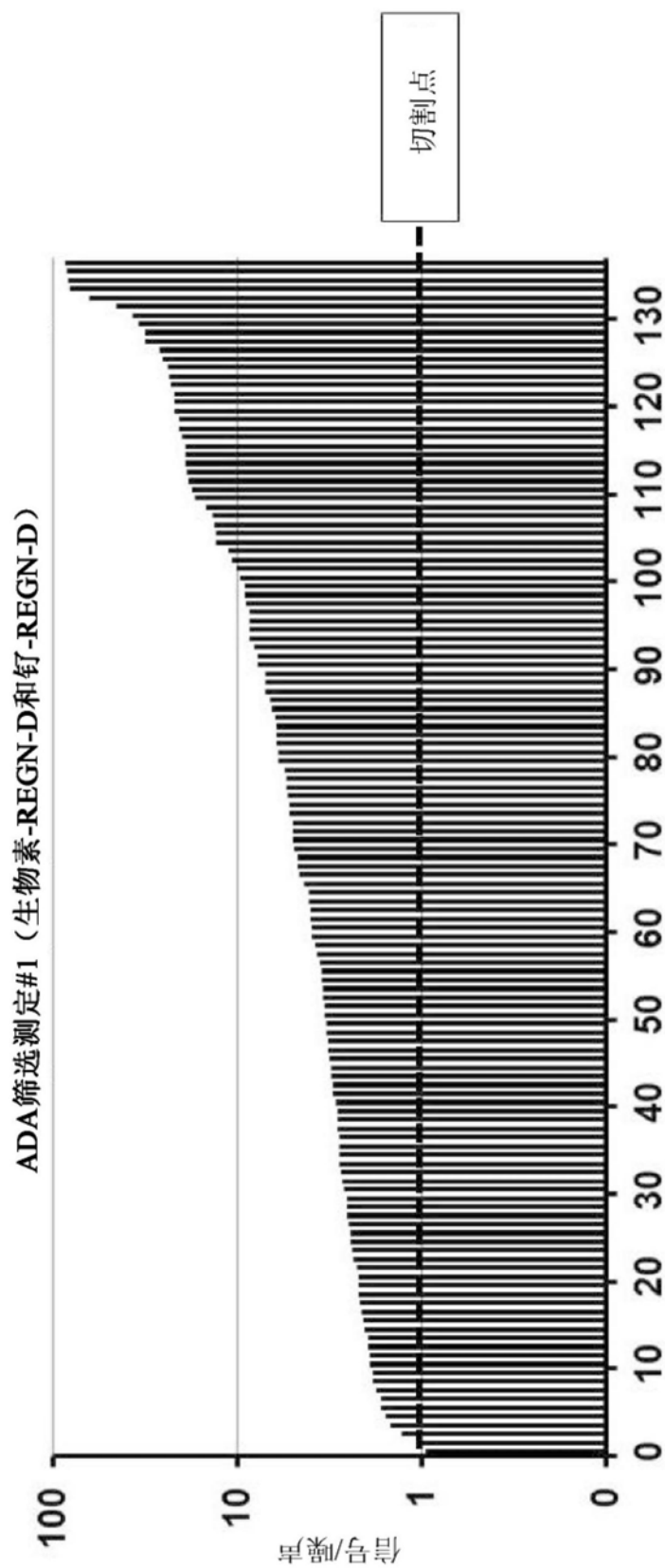


图5A

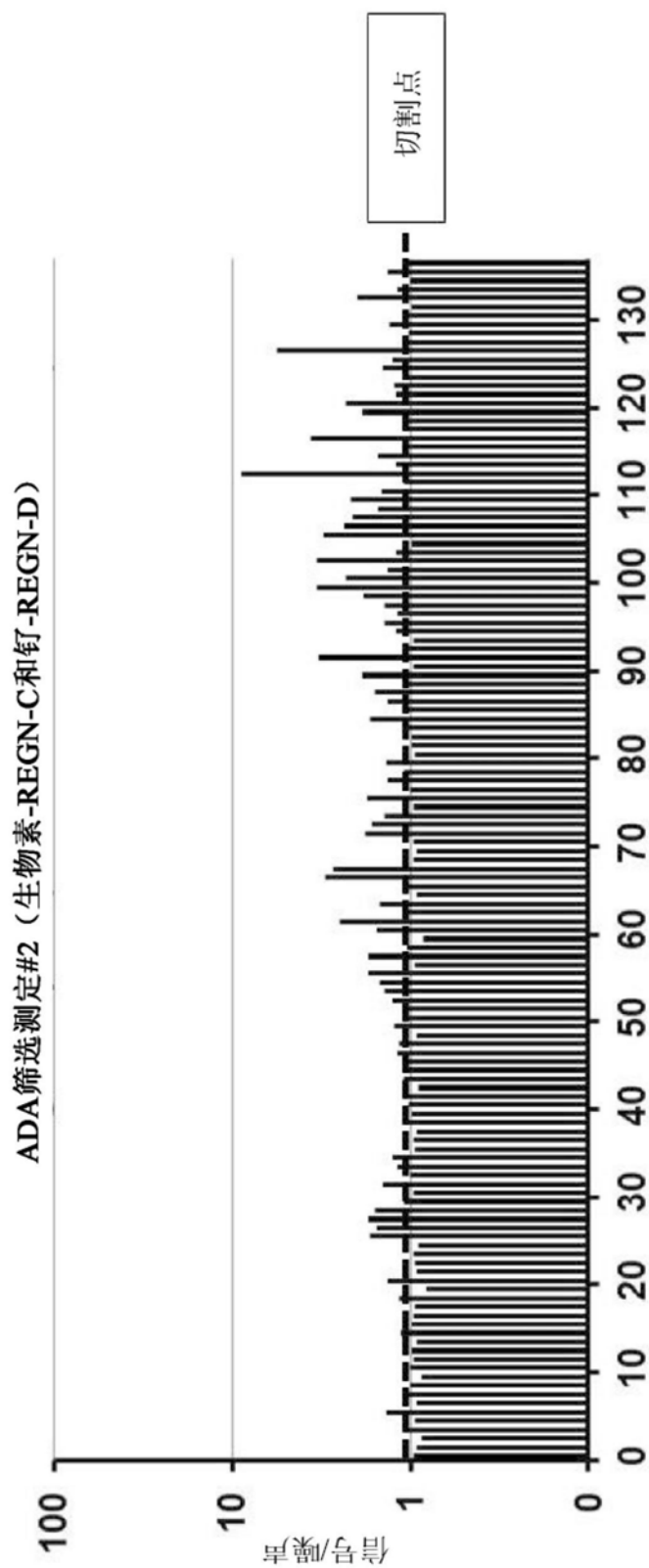


图5B

在桥接免疫原性测定中，使用替代形式的标记药物来最小化样品中的预先存在的反应性。

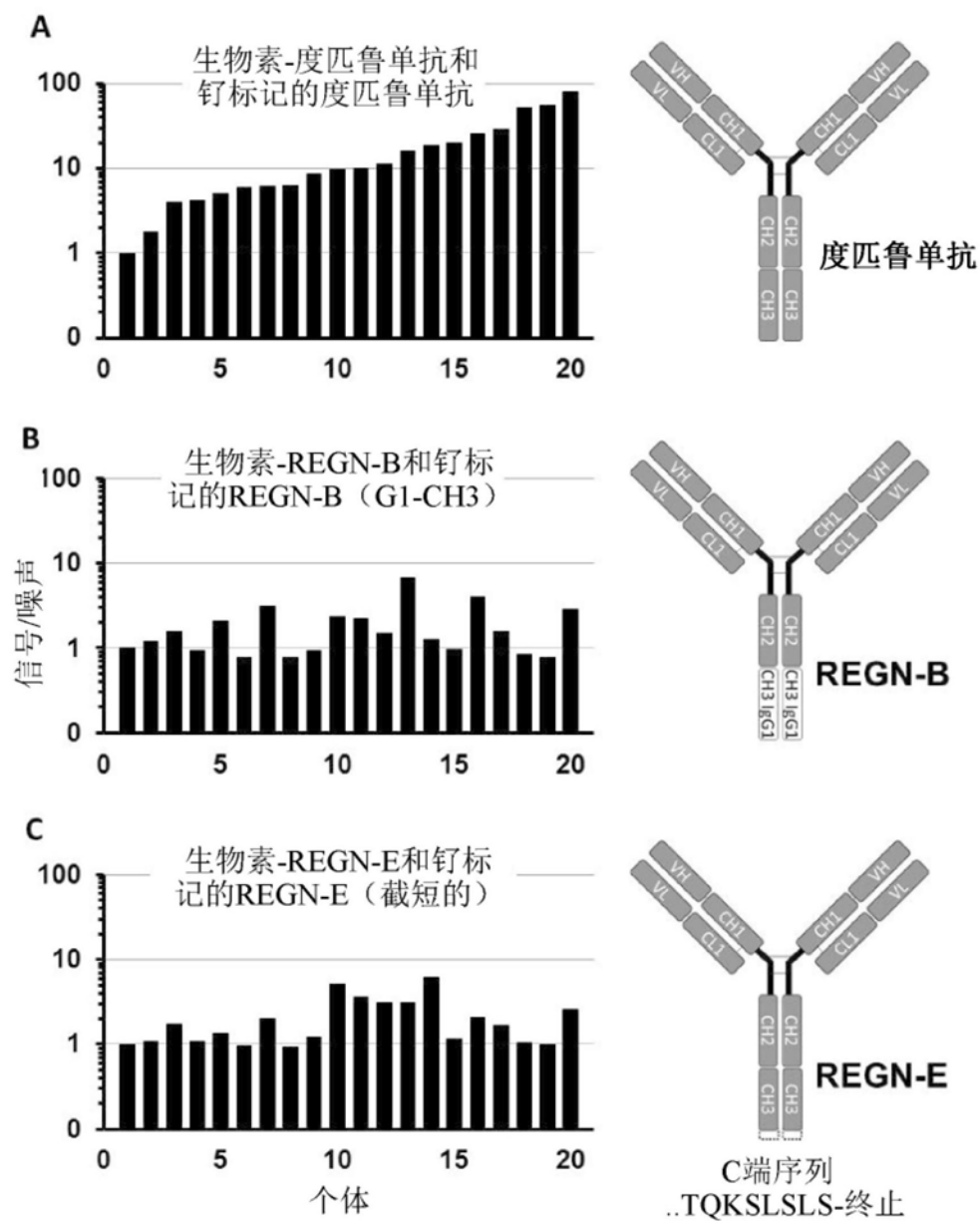


图6

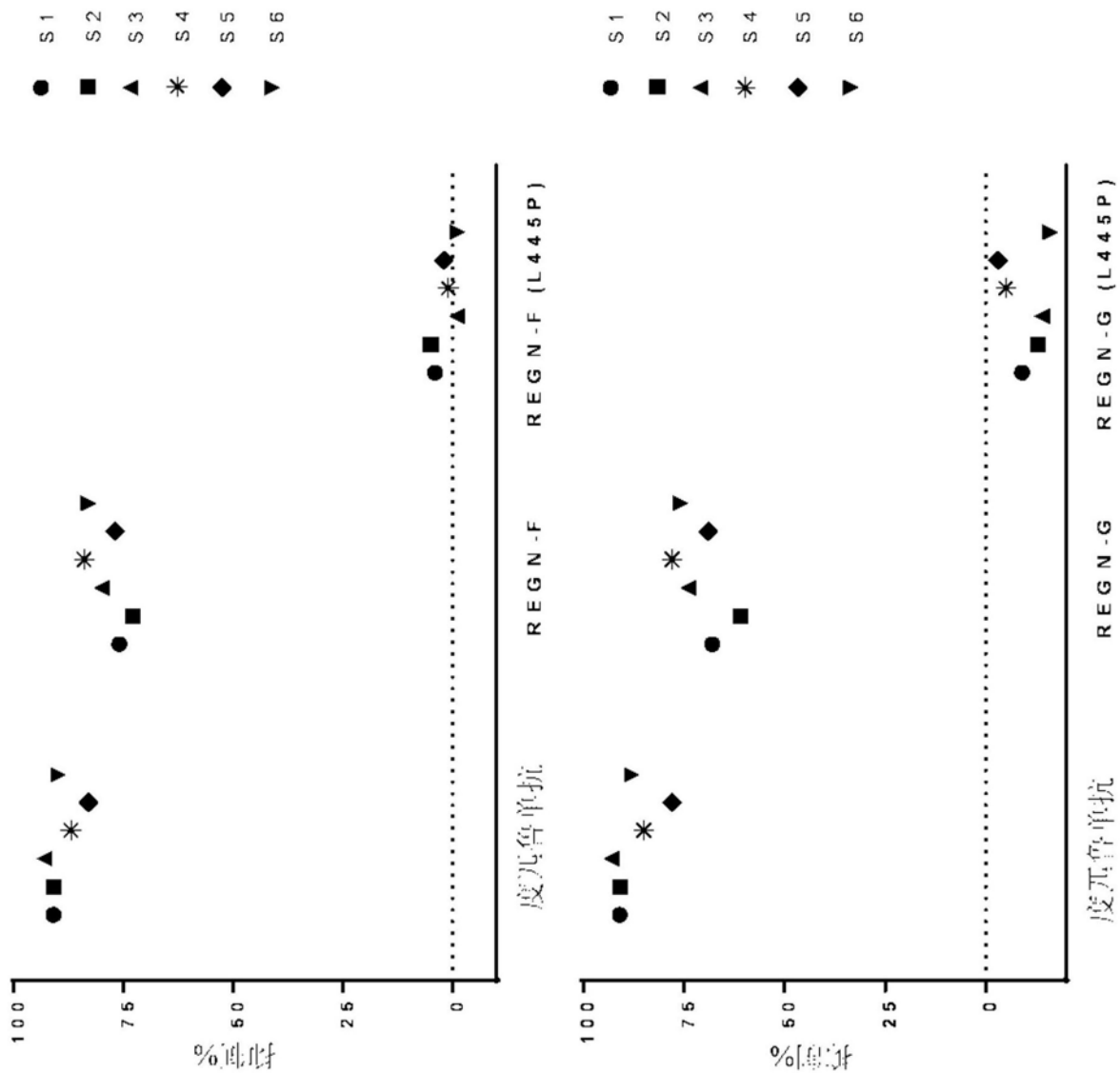


图7

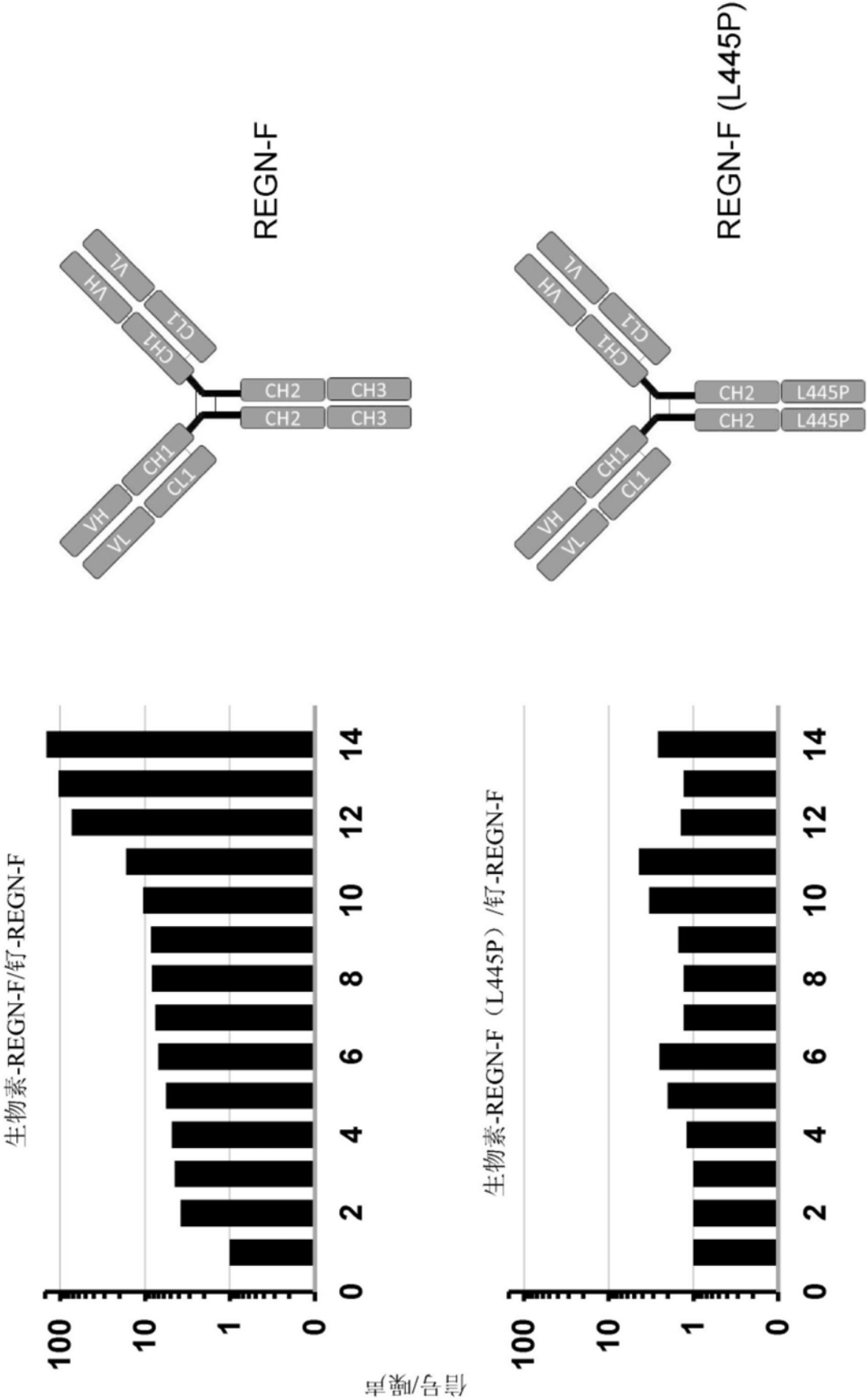


图8

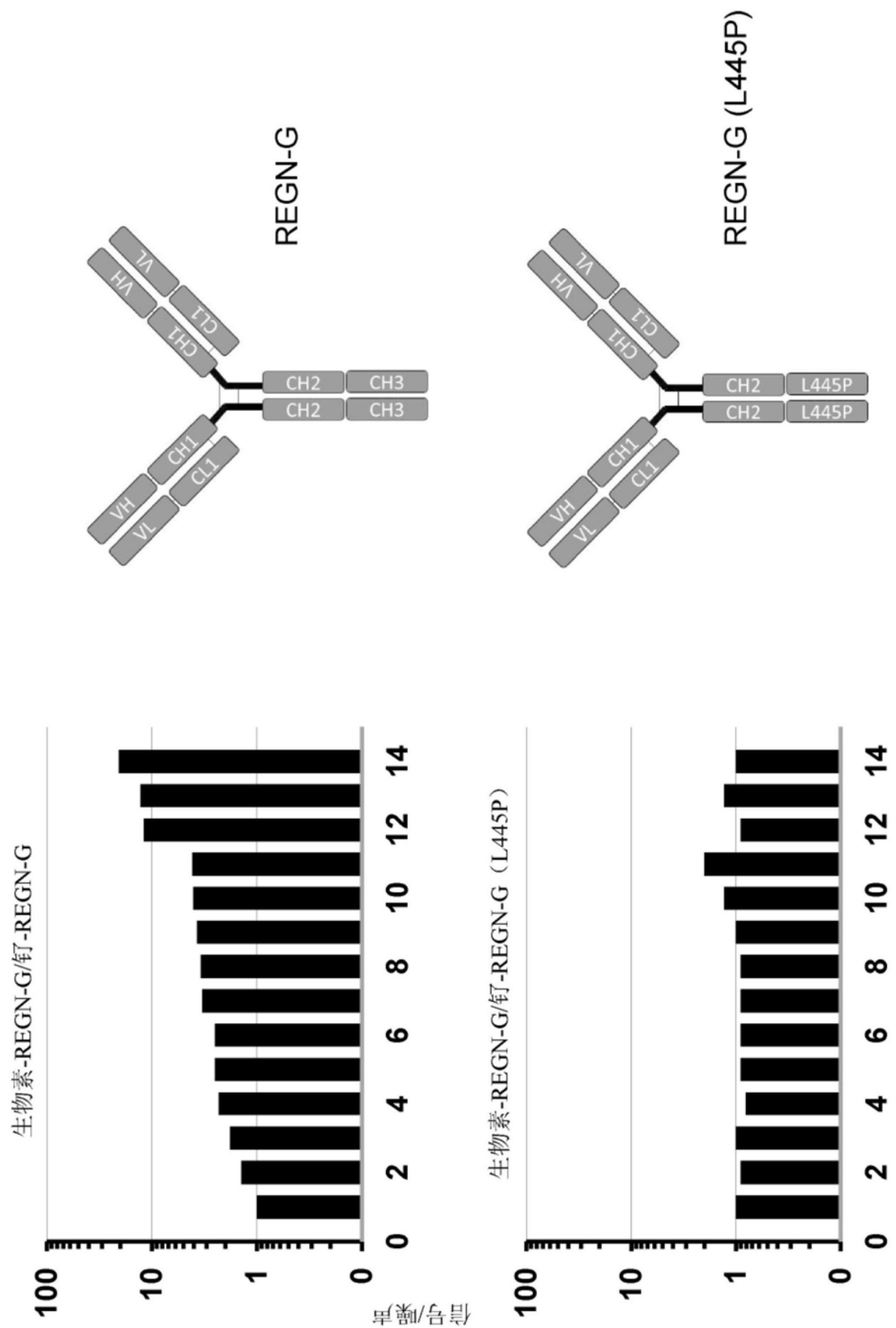


图9