



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202104269 A

(43) 公開日：中華民國 110 (2021) 年 02 月 01 日

(21) 申請案號：109113639 (22) 申請日：中華民國 109 (2020) 年 04 月 23 日

(51) Int. Cl. : *C07K16/28 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2019/04/23 美國 62/837,518
 2019/06/10 美國 62/859,699
 2020/02/17 歐洲專利局 20305145.3
 2020/02/17 歐洲專利局 20305146.1

(71) 申請人：法商賽諾菲公司 (法國) SANOFI (FR)
 法國
 美商健臻公司 (美國) GENZYME CORPORATION (US)
 美國

(72) 發明人：卡梅隆 貝堤翠西 CAMERON, BEATRICE (FR)；凱隆布隆戴爾 馬里耶勒
 CHIRON BLONDEL, MARIELLE (FR)；仲馬 傑奎斯 DUMAS, JACQUES (FR)；
 富尼耶 艾倫 FOURNIER, ALAIN (FR)；金斯伯里 喬納森 KINGSBURY,
 JONATHAN (US)；萊蒙 辛德琳 LEMOINE, CENDRINE (FR)；莫瑞 布萊恩
 MURRAY, BRIAN (US)；奧斯博格 奈森 OSTBERG, NATHAN (US)；帕特克
 薩凱 PATKE, SANKET (IN)；瓦伊倫 奧多 安琪拉 VIRONE-ODDOS, ANGELA
 (FR)；張子川 ZHANG, ZICHUAN (CN)

(74) 代理人：陳彥希；何愛文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：26 項 圖式數：2 共 81 頁

(54) 名稱

抗 CD 38 抗體和調配物

(57) 摘要

本文提供了特異性結合人類 CD38 的抗體、包含所述抗體的調配物和單位劑型、製備所述抗體的方法以及使用所述抗體的方法。

Provided herein are antibodies that specifically bind human CD38, formulations and unit dosage forms comprising the antibodies, methods of preparing the antibodies and methods of using the antibodies.



202104269

【發明摘要】

【中文發明名稱】 抗CD38抗體和調配物

【英文發明名稱】 ANTI-CD38 ANTIBODIES AND FORMULATIONS

【中文】

本文提供了特異性結合人類CD38的抗體、包含所述抗體的調配物和單位劑型、製備所述抗體的方法以及使用所述抗體的方法。

【英文】

Provided herein are antibodies that specifically bind human CD38, formulations and unit dosage forms comprising the antibodies, methods of preparing the antibodies and methods of using the antibodies.

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 抗CD38抗體和調配物

【英文發明名稱】 ANTI-CD38 ANTIBODIES AND FORMULATIONS

相關申請案

【0001】 本申請案要求2019年4月23日提交的美國臨時申請案62/837,518；2019年6月10日提交的美國臨時申請案62/859,699；2020年2月17日提交的歐洲專利申請案20305145.3；以及2020年2月17日提交的歐洲專利申請案20305146.6的權益，將所述申請案的全部內容通過引用併入本文。

序列表

【0002】 本申請案含有已經以ASCII格式電子提交並且通過引用而將其整體特此併入的序列表。於2020年4月17日創建的所述ASCII副本，被命名為為704023_SA9-289PC_ST25.txt，且大小為44,783個位元組。

【技術領域】

【0003】 本文提供了具有經改良之細胞毒活性的抗CD38抗體及其穩定調配物。

【先前技術】

【0004】 CD38是II型糖基化的45k道耳吞（kDa）膜蛋白，其被鑒別為淋巴細胞標記。CD38通過調節造血細胞存活和分化在白血球恆穩狀態中發揮作用（Richards JO,等人, Mol Cancer Ther. 2008; 7(8):2517-27）。CD38充當與CD31結合的受體，並且參與細胞黏附和信號轉導。CD38在信號轉導中的功能顯得多種多樣，這取決於細胞譜系、分化階段以及可能與不同共受體的締合（Richards JO, 等人, 2008）。CD38也是催化將環腺苷二磷酸核糖（cADPR）從菸鹼醯胺腺嘌呤

呤二核苷酸 (NAD⁺) 合成和水解為ADP-核糖的胞外酶 (DiLillo DJ, Ravetch JV., Cell. 2015; 161(5):1035-45)。這些反應產物涉及鈣動員和細胞內信號傳導 (Derer S,等人, MAbs. 2014; 6(2):409-21)。

【0005】 CD38在健康人類中的表現可以在NK細胞、單核細胞、樹突細胞、巨噬細胞、粒細胞、活化的T和B細胞、和漿細胞上檢測到。相比之下，在造血幹細胞、靜息T和B細胞或組織巨噬細胞中尚未檢測到表現。此外，若干種血液惡性腫瘤表現CD38，如惡性漿細胞病 (例如，多發性骨髓瘤 (MM)、澱粉樣變性) 和其他造血源性癌症 (包括、包括例如瓦爾登斯特倫氏病 (Waldenstrom's disease)、非霍奇金淋巴瘤 (NHL)、急性淋巴細胞白血病 (ALL) 和急性骨髓性白血病 (AML))。

【0006】 CD38的表現在MM中尤其明顯，因為> 98%的患者對這種蛋白質呈陽性 (Reinherz EL,等人, Proc Natl Acad Sci USA. 1980; 77(3):1588-92; Lin P,等人, Am J Clin Pathol. 2004; 121(4):482-8)。CD38在惡性選殖MM細胞上的強烈且一致的表現，與在正常細胞上有限的表現模式形成對比，這表明此抗原可用於特異性靶向腫瘤細胞。

【0007】 MM是惡性漿細胞疾病，其特徵在於細胞表面上的CD38表現、骨髓 (BM) 中漿細胞的選殖增生和過量單株免疫球蛋白 (通常為IgG或IgA型或遊離尿輕鏈 (也稱為副蛋白、M蛋白或M組分) 的產生。這是一種主要與年齡的增長有關的疾病，超過80%的患者年齡在60歲以上。

【0008】 MM的病程隨疾病的侵襲性和相關預後因素而變化。多發性骨髓瘤的某些染色體異常已被證明與不良的臨床結果有關。高風險細胞遺傳學改變包括 del (17p)、t (4;14) 和 t (14;16)、和1q增加等。在過去的二十年中，中位生存期從3年提高到6年;然而，一些患者可以活超過10年 (Ocio EM,等人, Expert Rev Hematol. 2014; 7(1):127-41)。治療選擇和生存期取決於患者的年齡、健康和疾病狀況。年齡低於約65歲、身體健康良好、表現為症狀性活動性疾病的患者將通常首先接受自體幹細胞移植 (ASCT) 療法。為了在收集幹細胞之前實現疾病

的細胞減少，投予誘導化療。誘導治療方案包括烷基化劑、單獨的地塞米松、沙利度胺加地塞米松，以及長春新鹼、Adriamycin®(阿黴素)和地塞米松(VAD；或對此方案的修改)；然而，後兩種方案伴隨較高的毒性(Richardson PG,等人, Blood. 2010; 116(5):679-86；Arnulf B,等人, Haematologica. 2012; 97:1925-8)。使用單獨的Velcade®(硼替佐米)、硼替佐米組合以及Revlimid®(來那度胺)加地塞米松的治療作為誘導療法已顯示出改善的結果，並且這些藥劑顯示出更高的反應率和更低的毒性(Richardson PG 2010, Kumar S,等人, Blood. 2012; 119(19):4375-82；Roussel M,等人, J Clin Oncol. 2014; 32:2712-7；Durie BGM,等人, Lancet. 2017; 389:519-27)。另外核准的藥物包括泊馬度胺(與來那度胺屬於同一類IMiD®)以及卡非佐米和伊沙佐米(與硼替佐米屬於同一類蛋白酶體抑制劑)。除了這些新治療，單株抗體(特別是抗CD38抗體)也已經開始在骨髓瘤患者的治療中發揮重要作用。達雷木單抗是抗CD38抗體，其已被批准作為單一藥劑或與其他MM治療組合用於治療MM(Touzeau C, Moreau P., Expert Opin Biol Ther. 2017; 17(7):887-93；Tzogani K.等人, Oncologist. 2018; 23:1-11)。據報導，抗CD38抗體伊沙妥昔單抗在復發性或難治性多發性骨髓瘤中作為單一藥劑誘發出25%至29%反應率，且以組合療法的形式誘發出60%反應率(Martin T,等人, Blood. 2017; 129(25):3294-303)；最近的3期研究結果指出，在復發性和難治性多發性骨髓瘤中，添加伊沙妥昔單抗能夠提高使用泊馬度胺-地塞米松治療的無進展生存期(J Clin Oncol 37, 2019 (增刊；摘要8004))。另外，抗Slam-F7抗體艾洛珠單抗已被批准與來那度胺和地塞米松組合用於治療接受過一至三種先前療法線(line)的成人MM患者，並且與泊馬度胺和地塞米松組合用於治療接受過至少兩種包括來那度胺和蛋白酶體抑制劑的先前療法的成人MM患者(Bristol-Myers Squibb Company. EMPLICITI®(艾洛珠單抗)[包裝說明書]。美國食品 and 藥物管理局網站：[www-accessdata-dot-fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/761035s0081b1.pdf](http://www.accessdata-dot-fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/761035s0081b1.pdf)，修訂於2018年11月。

【0009】 用於這些表現CD38的疾病的療法的當前目標，是盡可能有效地控制疾病、最大限度地提高生活品質和延長生存期。例如，MM患者在其一生中平均會接受4到8種不同的治療方案。因此，儘管更新療法改善了患者的預後，但MM仍然是致命的疾病。因此，對已經接受了包括抗體療法的當前療法並且進展的患者的治療仍然是未滿足醫療需求的重大挑戰。

【發明內容】

【0010】 與目前可用的表現CD38的疾病的治療（包括抗體治療）相比，設想到本文所提供的抗體、用途和治療方法可以提供所述疾病的優越的臨床反應或治療。本文提供了特異性結合人類CD38並介導對表現CD38的細胞的優越殺傷的抗體、包含所述抗體的調配物和單位劑型、製備所述抗體的方法以及使用所述抗體的方法。

【0011】 在一個態樣中，提供了特異性結合人類CD38的抗體。在一些實施例中，本文所提供的抗體包含具有選自SEQ ID NO: 7、8和9的胺基酸序列的輕鏈（LC）和具有選自SEQ ID NO: 2、3、4、5和6的胺基酸序列的重鏈（HC）。

【0012】 在一些實施例中，本文所提供的抗體包含具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC和具有選自SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3和SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的HC。在一些實施例中，本文所提供的抗體包含具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC和具有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的HC。在一些實施例中，本文所提供的抗體包含具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC和具有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的HC。在一些實施例中，本文所提供的抗體包含具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC和具有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的HC。

【0013】 在一些實施例中，本文所提供的抗體包含具有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的LC和具有選自SEQ ID NO: 5和SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的HC。在一些實施例中，本文所提供的抗體包含具有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的LC和具有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的HC。在一些實施例中，本文所提供的抗體包含

具有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的LC和具有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的HC。

【0014】 在一些實施例中，本文所提供的抗體包含具有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的LC和具有選自SEQ ID NO: 6和SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的HC。在一些實施例中，本文所提供的抗體包含具有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的LC和具有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的HC。在一些實施例中，本文所提供的抗體包含具有SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的LC和具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的HC。

【0015】 在另一個態樣中，本文提供了包含經調配抗體的醫藥組合物。在所述醫藥組合物的一些實施例中，所述抗體包含具有如上所述的胺基酸序列的HC和LC，與蔗糖、L-組胺酸和聚山梨酯80組合。在一些實施例中，所述抗體以50 mg/mL的濃度存在，所述蔗糖以8% (w/v) 的濃度存在，所述L-組胺酸以10 mM的濃度存在，所述聚山梨酯80 (PS80) 以0.05% (v/v) 的濃度存在，並且所述調配物具有6.2的pH。在一些實施例中，所述醫藥組合物是凍乾的。

【0016】 在另一個態樣中，本文提供了包含經調配抗體的單位劑型。在一些實施例中，所述抗體包含具有如上所述的胺基酸序列的HC和LC，並且所述單位劑型包含215 mg的所述抗體、6.21 mg的L-組胺酸、344 mg的蔗糖和2.15 mg的聚山梨酯80。在一些實施例中，所述抗體的單位劑型是凍乾的。

【0017】 在另一個態樣中，本文提供了用於製備醫藥組合物的方法，所述醫藥組合物包含特異性結合人類CD38的抗體。在一些實施例中，所述抗體包含具有如上所述的胺基酸序列的HC和LC，其中所述方法包括在細胞培養物中表現所述抗體，使所述抗體經受層析純化步驟和超過濾步驟中的至少一個以產生純化的抗體溶液；以及調節所述純化的抗體溶液以產生抗體調配物。在一些實施例中，所述抗體調配物包含所述純化的抗體、蔗糖、L-組胺酸和聚山梨酯80。在一些實施例中，抗體調配物包含濃度為50 mg/mL的抗體、濃度為8% w/v的蔗糖、濃度為10 mM的L-組胺酸和濃度為0.05% v/v的聚山梨酯80 (PS80)。在一些實施例中，所述抗體調配物經製備以使得其具有6.2的pH。在用於製備所述抗體調配物的方法的一些實施例中，所述抗體調配物是凍乾的。

【0018】 在另一個態樣中，提供了用於製備重構的抗體調配物的方法。在一些實施例中，所述凍乾抗體調配物包含蔗糖、L-組胺酸、PS80和特異性結合人類CD38的抗體。在一些實施例中，所述抗體包含具有如上所述的胺基酸序列的HC和LC。在一些實施例中，所述凍乾的抗體調配物係在稀釋劑中重構，藉此製備所述重構的抗體調配物。在一些實施例中，所述重構的抗體調配物包含濃度為50 mg/mL的抗體、濃度為8% w/v的蔗糖、濃度為10 mM的L-組胺酸和濃度為0.05% v/v的PS80。在一些實施例中，所述重構的抗體調配物具有6.2的pH。

【0019】 在另一個態樣中，提供了治療患有多發性骨髓瘤患者的方法。在一些實施例中，所述方法包括向所述患者投予一或多個劑量的特異性結合人類CD38的抗體，其中所述抗體包含具有如上所述的胺基酸序列的HC和LC。

【0020】 在另一個態樣中，提供了在治療多發性骨髓瘤的方法中使用的抗體。在一些實施例中，所述抗體特異性地結合人類CD38，其中所述抗體包含具有如上所述的胺基酸序列的HC和LC。

【圖式簡單說明】

【0021】 圖1是顯示mAb 1、2、3、5、6、7和8出現去折疊的圖。

【0022】 圖2是顯示mAb 1、3、5、6、7和8的等電點（PI）的圖。

【實施方式】

【0023】 本文提供了抗CD38抗體，其對在細胞表面上表現高、中等和低量的CD38的細胞，具有優越的抗體依賴性細胞毒性（ADCC）。在一些實施例中，本文所提供的抗CD38抗體還對在細胞表面上表現CD38的細胞，具有優越的抗體依賴性細胞吞噬作用（ADCP）活性。在一些實施例中，本文所提供的抗體具有低於預期的等電點（pI）。儘管pI低於預期並且蛋白質在較低溫度下發生去折疊，這可能對抗體的穩定性（特別是在商業生產過程中）產生負面影響，但本文所提供的抗體係以適於向人類患者投予的穩定形式來提供。

抗體

【0024】 本文提供了特異性結合人類CD38的抗CD38抗體。可使用重組方法產生本文所提供的抗CD38抗體。為了重組產生抗抗原抗體，編碼抗體的核酸係經分離，並插入可複製載體中，以用於進一步選殖（DNA擴增）或表現。可以使用一般程序（例如，通過使用能夠與編碼抗體重鏈和輕鏈的基因特異性結合的寡核苷酸探針），輕易地分離編碼抗體的DNA並加以定序。許多載體是可用的。載體組分通常包括但不限於以下各項中的一或多個：信號序列、複製起點、一或多個標記基因、增強子元件、啟動子和轉錄終止序列。載體典型地被轉形（transform）到適用於核酸表現的宿主細胞中。在一些實施例中，宿主細胞是真核細胞或原核細胞。在一些實施例中，真核宿主細胞是哺乳動物細胞。有用的哺乳動物宿主細胞株的例子是由SV40轉形的猴腎CV1細胞株（COS-7，ATCC CRL 1651）；人類胚腎細胞株（293或亞選殖用於在懸浮培養物中生長的293細胞，Graham等人，*J. Gen Virol.* 36:59 (1977)）；幼倉鼠腎細胞（BHK，ATCC CCL 10）；小鼠睪丸支援細胞（TM4，Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)）；猴腎細胞（CV1，ATCC CCL 70）；非洲綠猴腎細胞（VERO-76，ATCC CRL-1587）；人類宮頸癌細胞（HELA，ATCC CCL 2）；犬腎細胞（MDCK，ATCC CCL 34）；buffalo大鼠肝細胞（BRL 3A，ATCC CRL 1442）；人類肺細胞（W138，ATCC CCL 75）；人類肝細胞（Hep G2，HB 8065）；小鼠乳腺腫瘤（MMT 060562，ATCC CCL51）；TRI細胞（Mather等人，*Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)）；MRC 5細胞；FS4細胞；以及人類肝癌細胞株（Hep G2）。其他有用的哺乳動物宿主細胞株包括中國倉鼠卵巢（CHO）細胞，包括DHFR-CHO細胞（Urlaub等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)）；以及骨髓瘤細胞株，如NS0和Sp2/0。關於適用於抗體產生的某些哺乳動物宿主細胞株的綜述，參見例如Yazaki和Wu, *Methods in Molecular Biology*, 第248卷（B. K. C. Lo, 編輯, Humana Press, Totowa, N.J., 2003），第255-268頁。可使用例如羥基磷灰石層析、疏水相互作用層析、

凝膠電泳、透析和親和層析（其中親和層析是一種通常較佳的純化步驟）來純化由細胞所製備的抗CD38抗體。通常，用於製備供研究、測試和臨床應用使用的抗體的各種方法，是業內已完善建立的、與上文所述方法是一致的，和/或被熟習此項技術者認為是適當的。

【0025】 在一些實施例中，使用以饋料批次模式操作的500 L一次性生物反應器，由CHO 8D6宿主細胞株（DXB11衍生物）表現抗體。細胞培養過程是從解凍主細胞庫小瓶開始，接著是一系列種子培養（seed train）細胞擴增步驟。然後將細胞轉移到生物反應器中，並且使用無血清的化學成分確定的細胞培養基進行培養。10至14天後終止培養，以收取抗體。可以通過深層過濾從收穫的細胞培養物去除細胞和細胞培養物碎屑。

【0026】 接著通過層析和過濾步驟進一步加工收穫的材料以產生純化的抗體。在液體溶液中配製純化的抗體並將其於 $\leq -30^{\circ}\text{C}$ 下儲存。

【0027】 在將經調配抗體分配到合適的小瓶中之前，將液體溶液解凍，並使用 $0.2\ \mu\text{m}$ 過濾裝置進行無菌過濾。將經調配抗體分配到合適的容器（如USP 1型玻璃小瓶，4.3 mL/小瓶）中。在一些實施例中，填充的小瓶包含0.3 mL過量的經調配抗體。在一些實施例中，經調配抗體在小瓶中凍乾。

【0028】 術語「抗體」通常是指包含兩條重鏈（HC）和兩條輕鏈（LC）的四聚體蛋白。每個這種四聚體通常由兩對相同的多肽鏈構成，每對多肽鏈具有一條LC（通常具有約25 kDa的分子量）和一條HC（通常具有約50-70 kDa的分子量）。如本文所用，術語「HC」和「LC」是指具有足以賦予對靶抗原的特異性的可變結構域序列的任何免疫球蛋白多肽。每條輕鏈和重鏈的胺基末端部分包含約100至110個或更多個胺基酸的可變結構域，所述可變結構域通常負責抗原識別。每條鏈的羧基末端部分通常定義負責效應子功能的恒定結構域。因此，在典型抗體中，全長HC免疫球蛋白多肽包含一個可變結構域（VH）和三個恒定結構域（CH1、CH2和CH3），其中所述VH結構域位於多肽的胺基末端並且所述CH3結構域位於羧基末端，並且全長LC免疫球蛋白多肽包含一個可變結構域（VL）

和一個恒定結構域（CL），其中所述VL結構域位於多肽的胺基末端並且所述CL結構域位於羧基末端。

【0029】 術語「抗體」在本文中以最廣泛的意義使用並且具體地包括如上所述的典型抗體，其包括單株抗體和多特異性抗體（例如，二特異性和三特異性抗體，只要它們展現所需的生物活性（包括與CD38靶標的特異性結合以及觸發ADCC和ADCP的能力）即可）。

【0030】 如本文所用術語「Fc」是指包含由抗體消化得到或通過其他手段產生的非抗原結合片段的序列的分子，所述分子呈單體或多聚體形式，並且所述「Fc」可以含有鉸鏈區。Fc分子由可通過共價（即，雙硫鍵）和非共價結合連接成二聚體或多聚體形式的單體多肽組成。取決於類別（例如，IgG、IgA和IgE）或亞類（例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgA1、IgGA2和IgG4），典型Fc分子的單體亞基之間分子間雙硫鍵的數量在1至4範圍內。Fc的一個例子是由IgG的木瓜蛋白酶消化產生的雙硫鍵鍵結的二聚體。

【0031】 本文所述的抗體可以是分離的。術語「分離的蛋白質」、「分離的多肽」或「分離的抗體」是指如下蛋白質、多肽或抗體，所述蛋白質、多肽或抗體由於其起源或衍生來源而：(1) 與在其天然狀態下伴隨其的天然締合組分非締合，(2) 基本上不含來自相同物種的其他蛋白質，(3) 由來自不同物種的細胞表現，和/或 (4) 在自然界中不存在。因此，化學合成或在與其天然起源的細胞不同的細胞系統中合成的多肽將與其天然締合組分「分離」。也可以使用業內熟知的蛋白質純化技術，通過分離使蛋白質基本上不含天然締合組分。

【0032】 在一些實施例中，本文所提供的抗體包含如表1中提供的HC和LC胺基酸序列。

表1

mAb	HC SEQ ID NO:	LC SEQ ID NO:
2	2	7
3	3	7
4	4	7

5	5	8
6	5	9
7	6	8
8	6	9
9	10	7

結合特性

【0033】 術語「親和力」是指兩種多肽（例如像受體/配體或抗原/抗體）之間吸引的量度。兩種多肽之間的內在吸引力可以表示為特定相互作用的結合親和力平衡常數（KD）。當KD ≤ 1 μM、較佳 ≤ 100 nM時，抗體被稱為與抗原特異性地結合。KD結合親和力常數可以例如通過表面電漿共振（SPR）（BIAcore®）或生物膜層干涉技術（Bio-Layer Interferometry）來量測。

【0034】 術語「 k_{off} 」是指特定的抗體-抗原相互作用的解離速率常數。 k_{off} 解離速率常數可以例如通過生物膜層干涉技術來量測。

與CD38的結合

【0035】 在一些實施例中，本文所提供的抗體包含含有兩條HC和兩條LC的四聚體蛋白質，並且當通過如下所述的表面電漿共振(SPR)量測時，係以約 1.91×10^{-10} M至約 6.7×10^{-10} M的親和力或KD與人類CD38結合。在一些實施例中，HC和LC分別具有以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 2和7（mAb 2）、3和7（mAb 3）、4和7（mAb 4）、5和8（mAb 5）、5和9（mAb 6）、6和8（mAb 7）、或6和9（mAb 8）。

【0036】 在一些實施例中，抗體包含分別具有SEQ ID NO: 3和7的胺基酸序列的HC和LC，並且抗體可以以約 2×10^{-10} M的親和力或KD與人類CD38結合。在一些實施例中，抗體包含分別具有SEQ ID NO: 5和8的胺基酸序列的HC和LC，並且抗體可以以約 6.7×10^{-10} M的親和力或KD與人類CD38結合。在一些實施例中，抗體包含分別具有SEQ ID NO: 5和9的胺基酸序列的HC和LC，並且抗體可以以約 4.15×10^{-10} M的親和力或KD與人類CD38結合。在一些實施例中，抗體包

含分別具有SEQ ID NO: 6和8的胺基酸序列的HC和LC，並且抗體可以以約 3.85×10^{-10} M的親和力或KD與人類CD38結合。在一些實施例中，抗體包含分別具有SEQ ID NO: 6和9的胺基酸序列的HC和LC，並且抗體可以以約 1.91×10^{-10} M的親和力或KD與人類CD38結合。

與FcγRIIIa (CD16a) 和FcγRIIa (CD32a) 的結合

【0037】 本文所提供的抗體還能夠以分別少於一個數量級內的KD和以如通過SPR所量測小於100 nM的KD，與在胺基酸位置158處具有苯丙胺酸 (F) 的較低親和力FcγRIIIa (CD16a) 變異體 (158F) 結合，並且能夠與在胺基酸位置158處具有摺胺酸 (V) 的較高親和力FcγRIIIa (CD16a) 變異體 (158V) 結合。在一些實施例中，本文所提供的抗體以如通過SPR所量測的小於100 nM的KD與FcγRIIIa (CD16a) 的158F變異體和158V變異體結合，並且其中與158F和158V變異體的結合相差小於2倍。在一些實施例中，當通過例如SPR量測時，本文所提供的抗體以約59 nM或更小的KD與FcγRIIIa (CD16a) 變異體 (158F) 結合。

【0038】 在一些實施例中，抗體包含具有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的HC和具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC，並且能夠以約53 nM的KD與FcγRIIIa (158F) 結合並且以約47 nM的KD與FcγRIIIa (158V) 結合，如通過例如SPR所量測。在一些實施例中，抗體包含具有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的HC和具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC，並且能夠以約59 nM的KD與FcγRIIIa (158F) 結合並且以約75 nM的KD與FcγRIIIa (158V) 結合，如通過例如SPR所量測。在一些實施例中，抗體包含具有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的HC和具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC，並且能夠以約51 nM的KD與FcγRIIIa (158F) 結合並且以約47 nM的KD與FcγRIIIa (158V) 結合，如通過例如SPR所量測。

【0039】 本文所提供的抗體還能夠以 ≤ 690 nM的KD與在胺基酸位置131處具有精胺酸的較低親和力FcγRIIa (CD32a) 變異體 (131R) 結合，並且以小於約270 nM的KD與在位置131處具有組胺酸的較高親和力FcγRIIa (CD32a) 變異體

(131H) 結合，如通過例如SPR所量測。

【0040】 在一些實施例中，抗體包含具有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的HC和具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC，並且能夠以約690 nM的KD與FcγRIIa (CD32a) (131R) 結合，並且以約120 nM的KD與FcγRIIa (CD32a) (131H) 結合，如通過例如SPR所量測。在一些實施例中，抗體包含具有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的HC和具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC，並且能夠以≤約125 nM或≤100 nM的KD與FcγRIIa (CD32a) (131R) 結合，並且以約220 nM的KD與FcγRIIa (CD32a) (131H) 結合，如通過例如SPR所量測。在一些實施例中，抗體包含具有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的HC和具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC，並且能夠以約510 nM的KD與FcγRIIa (CD32a) (131R) 結合，並且以約60 nM的KD與FcγRIIa (CD32a) (131H) 結合，如通過例如SPR所量測。

【0041】 在一些實施例中，抗體還能夠以約70 nM或更小的表觀KD與FcγRIIIa (CD16a) 158F結合，並且以約32 nM或更小的表觀KD與FcγRIIIa (CD16a) 158V結合，如分別通過與表現FcγRIIIa (CD16a) 158F或158V的HEK細胞的結合所量測。在一些實施例中，包含具有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的HC和具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC的抗體還能夠以約70 nM的表觀KD與FcγRIIIa (CD16a) 158F結合，並且以約18 nM的表觀KD與FcγRIIIa (CD16a) 158V結合，如分別通過與表現FcγRIIIa (CD16a) 158F或158V的HEK細胞的結合所量測。在一些實施例中，包含具有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的HC和具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC的抗體還能夠以約60 nM的表觀KD與FcγRIIIa (CD16a) 158F結合，並且以約32 nM的表觀KD與FcγRIIIa (CD16a) 158V結合，如分別通過與表現FcγRIIIa (CD16a) 158F或158V的HEK細胞的結合所量測。在一些實施例中，包含具有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的HC和具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC的抗體還能夠以約44 nM的表觀KD與FcγRIIIa (CD16a) 158F結合，並且以約28 nM的表觀KD與FcγRIIIa (CD16a) 158V結合，如分別通過與表現FcγRIIIa (CD16a) 158F或158V的HEK細胞的結合所量測。

【0042】 在一些實施例中，抗體還能夠以約890 nM或更小的表觀KD與在胺基酸位置131處具有精胺酸的FcγRIIa (CD32a) 變異體 (131R) 結合，並且以約840 nM或更小的表觀KD與FcγRIIa (CD32a) 變異體131H結合，如分別通過與表現FcγRIIa (CD32a) 131R或131H的HEK細胞的結合所量測。在一些實施例中，包含具有SEQ ID NO: 2的胺基酸序列的HC和具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC的抗體還能夠以約890 nM的表觀KD與FcγRIIa (CD32a) 131R結合，並且以約840 nM的表觀KD與FcγRIIa (CD32a) 131H結合，如分別通過與表現FcγRIIa (CD32a) 131R或131H的HEK細胞的結合所量測。在一些實施例中，包含具有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的HC和具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC的抗體還能夠以約87 nM的表觀KD與FcγRIIa (CD32a) 131R結合，並且以約222 nM的表觀KD與FcγRIIa (CD32a) 131H結合，如分別通過與表現FcγRIIa (CD32a) 131R或131H的HEK細胞的結合所量測。在一些實施例中，包含具有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的HC和具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的LC的抗體還能夠以約467 nM的表觀KD與FcγRIIa (CD32a) 131R結合，並且以約544 nM的表觀KD與FcγRIIa (CD32a) 131H結合，如分別通過與表現FcγRIIa (CD32a) 131R或131H的HEK細胞的結合所量測。

作用機制

【0043】 本文所提供的抗體能夠通過在細胞表面上表現高量 (約400,000個/細胞)、中等 (約100,000個/細胞) 和低量 (約13,000個/細胞) 的CD38分子的細胞的抗體依賴性細胞毒性，來殺滅表現CD38的細胞。本文所提供的抗體在存在自然殺手 (NK) 細胞的情況下觸發這種ADCC，所述NK細胞表現較低親和力的FcγIIIa (CD16a) 受體變異體 (158F) 和/或表現較高親和力的FcγIIIa (CD16a) 受體變異體 (158V)。ADCC可以使用業內已知的方法量測，例如通過在基於細胞的效能分析中在存在抗體和效應細胞的情況下量測目標細胞溶解來量測。目標細胞可以是例如表現CD38的細胞，如KMS12-BM、RPMI-8226或MOLP-8。

另外，效應細胞可以是例如可被誘導以通過ADCC殺傷目標細胞的任何細胞。在一些實施例中，效應細胞是從人類血液分離的原代細胞，如周邊血液單核球細胞（PBMC）或從PBMC純化的人類NK細胞。在另一個實施例中，細胞是自然殺手細胞株（如NK-92細胞），其在細胞表面上表現FcγRIIIa（158V）或FcγRIIIa（158F）（參見WO 06/023148）。在仍其他實施例中，NK細胞株是諸如Jurkat細胞株的細胞株，其已被工程化以表現FcγRIIIa（CD16a）158F或158V（參見例如Promega, G701A）。

【0044】 本文所提供的抗體能夠通過抗體依賴性細胞吞噬作用（ADCP）殺滅在細胞表面上表現高量的CD38的細胞。本文所提供的抗體在存在人類PBMC的情況下觸發這種ADCP。在一個實施例中，本文所提供的抗體以212.6 pM的相對EC50通過表現FcγRIIIa（158V）的人類PBMC觸發對表現CD38的細胞的約41%吞噬作用。

醫藥組合物和經調配抗體

【0045】 術語「醫藥調配物」是指以下的製劑：其處於使得活性成分的生物活性有效的形式，並且不含對接受製劑的受試者具有不可接受的毒性的額外組分。此類調配物通常是無菌的。「醫藥上可接受的」賦形劑（媒劑、添加劑）是那些可以合理地投予受試哺乳動物以提供有效劑量之所用活性成分。

【0046】 本文所提供的抗體的醫藥組合物和調配物可以通過將具有所需純度的抗體與一種或多種任選的醫藥上可接受的載劑（Remington's Pharmaceutical Sciences 第16版, Osol, A.編輯（1980））混合來製備，並且可以以凍乾調配物或水溶液的形式提供。

【0047】 在一些實施例中，本文所提供的醫藥組合物包含經調配抗體，所述經調配抗體包含抗體和一種或多種下列賦形劑：蔗糖、L-組胺酸和聚山梨酯80（PS80）。在一些實施例中，抗體包含表1中提供的任一種單株抗體的HC和LC胺基酸序列。在一些實施例中，抗體以5 mg/mL至50 mg/mL的濃度存在於醫藥組

合物中。在一些實施例中，抗體以5 mg/mL的濃度存在於醫藥組合物中。在一些實施例中，抗體以10 mg/mL的濃度存在於醫藥組合物中。在一些實施例中，抗體以20 mg/mL的濃度存在於醫藥組合物中。在一些實施例中，抗體以50 mg/mL的濃度存在於醫藥組合物中。選擇每種賦形劑的濃度使得醫藥組合物可被稀釋用於通過輸注投予。例如，在一些實施例中，蔗糖以8% (w/v) 至10% (w/v) 的濃度存在。在一些實施例中，蔗糖以8% (w/v) 的濃度存在。在一些實施例中，蔗糖以10% (w/v) 的濃度存在。在一些實施例中，L-組胺酸以10 mM至20 mM的濃度存在。在一些實施例中，L-組胺酸以10 mM的濃度存在。在一些實施例中，L-組胺酸以20 mM的濃度存在。在一些實施例中，PS80以0.005% (v/v) 至0.05% (v/v) 的濃度存在。在一些實施例中，PS80以0.005% (v/v) 的濃度存在。在一些實施例中，PS80以0.02% (v/v) 的濃度存在。在一些實施例中，PS80以0.05% (v/v) 的濃度存在。在一些實施例中，將醫藥組合物的pH優化以維持例如在醫藥組合物呈液體形式時抗體的穩定性。在一些實施例中，經調配抗體的pH具有約6.0至約6.5的pH。在一些實施例中，經調配抗體具有約6.0的pH。在一些實施例中，經調配抗體具有約6.2的pH。在一些實施例中，經調配抗體具有約6.5的pH。在一些實施例中，經調配抗體具有6.0的pH。在一些實施例中，經調配抗體具有6.2的pH。在一些實施例中，經調配抗體具有6.5的pH。

【0048】 在一些實施例中，本文所提供的醫藥組合物的抗體和/或經調配抗體包含一種或多種帶電同種型。帶電同種型通常被描述為主要同種型、酸性同種型和鹼性同種型。主要同種型是指在給定批次的抗體中最普遍的同種型。一種或多種酸性同種型與主要同種型相比具有較低的等電點 (pI)，並且鹼性同種型與主要同種型相比具有較高的pH。帶電同種型可以通過對HC和/或LC的胺基酸序列的翻譯後修飾而產生。例如，去醯胺基、糖化和唾液酸化的增加可能導致抗體pI的降低。N末端麩胺酸向焦麩胺酸 (或pyroQ) 的轉化導致失去一個正電荷，這可能導致pI的降低。另外，C末端賴胺酸的存在可能導致抗體pI的增加。此外，C末端脯胺酸的醯胺化可能導致抗體pI的增加。

【0049】 在本文所提供的抗體（包括醫藥組合物中的抗體和經調配抗體）的一些實施例中，在HC胺基酸序列的位置1處的胺基酸是焦麩醯胺酸。在本文所提供的抗體的一些實施例中，HC具有由甘胺酸組成的C端胺基酸。

【0050】 本文所提供的抗體的帶電同種型可以使用業內已知的用於基於電荷分離多肽的方法來分離和量化。例如，在一些實施例中，可以在具有磷酸鹽/氯化鈉梯度緩衝液的高效液相層析（HPLC）系統中使用弱陽離子交換管柱。在此系統中，將抗體裝載到管柱上之後，抗體的酸性同種型會先沖提出來，接著是抗體的主要同種型，然後是鹼性同種型。在另一個實施例中，可以使用毛細管等電聚焦（cIEF）。毛細管等電聚焦是將蛋白質通過其等電點（pI）值來分離的方法。在cIEF中，抗體樣品在毛細管內的pH梯度上遷移到其等電點，從而沿毛細管長度解析不同的帶電同種型。為了鑒定和表徵cIEF變異體，可以通過強陽離子交換層析（SCX）分離帶電同種型，並通過cIEF對其進行分析。採用全管柱檢測和量測在280 nm處的吸光度，使用電荷耦合器件照相機來採集毛細管中解析出的帶電同種型的圖像。使用cIEF將測試樣品的帶電同種型分佈與參考標準相比較，以鑒定抗體的帶電同種型。在一些實施例中，cIEF被用作品質控制措施以便在商業生產期間確認抗體的身份，並通過與參考標準相比（例如，具有在預先定義的分佈型式內的帶電同種型分佈型式的測試抗體）或與參考標準的分佈型式相比確定抗體的帶電同種型分佈。

【0051】 在一些實施例中，抗體（包括醫藥組合物中的抗體和經調配抗體）包含表1中提供的任一種單株抗體的HC和LC胺基酸序列，以及選自至少約70%主要同種型、不多於約30%酸性同種型和小於4%鹼性同種型的一種或多種帶電同種型參數。在一些實施例中，抗體包含71%主要同種型、28%酸性同種型和小於4%鹼性同種型。在一些實施例中，抗體含有具有在約5.8至約9.0範圍內的等電點的帶電同種型。在一些實施例中，抗體含有具有在約5.85至約8.97範圍內的等電點的帶電同種型。

【0052】 在一些實施例中，抗體（包括醫藥組合物中的抗體和經調配抗體）

是凍乾的。抗體（包括醫藥組合物中的抗體和經調配抗體）可以在容器（例如小瓶）中使得可從容器移取處方劑量的抗體以用於向患者投予。

【0053】 本文提供了特異性結合CD38的經調配抗體的單位劑型。在一些實施例中，抗體包含表1中提供的任一種單株抗體的HC和LC胺基酸序列，並且單位劑型包含抗體和一或多種賦形劑，該賦形劑係選自蔗糖、L-組胺酸和聚山梨酯80。在一些實施例中，單位劑型包含約215 mg抗體、約6.21 mg的L-組胺酸、約344 mg的蔗糖和約2.15 mg的聚山梨酯80。在一些實施例中，單位劑型包含215 mg抗體、6.21 mg的L-組胺酸、344 mg的蔗糖和2.15 mg的聚山梨酯80。在一些實施例中，單位劑型是凍乾的。單位劑型可以在容器（例如小瓶）中使得可從容器移取處方劑量的抗體以用於向患者投予。在一些實施例中，抗體、醫藥調配物和/或經調配抗體是在裝有彈性封閉件（closure）的玻璃小瓶中。在一些實施例中，小瓶含有約215 mg抗體。在一些實施例中，小瓶含有215 mg抗體。在一些實施例中，已確定小瓶的填充體積，以使得能夠移取約4 mL。在一些實施例中，已確定小瓶的填充體積，以使得能夠移取4 mL。

製備方法

【0054】 本文提供了用於製備抗體、醫藥組合物和單位劑型的方法。在一些實施例中，抗體包含表1中提供的任一種單株抗體的HC和LC胺基酸序列。在一個實施例中，方法包括在合適的細胞培養物中表現抗體。使抗體經受至少一個層析步驟和至少一個超過濾步驟，從而產生純化的抗體溶液。對純化的抗體溶液進行調節以濃縮抗體並添加賦形劑和調節pH。在一個實施例中，抗體的濃度係調節至約50 mg/ml；添加蔗糖、L-組胺酸和聚山梨酯80，且pH係調節至至少約6.0。在一個實施例中，抗體的濃度係調節至50 mg/ml；添加蔗糖、L-組胺酸和聚山梨酯80，且pH係調節至至少6.0。在一些實施例中，pH為約6.2。在一些實施例中，pH為6.2。在一些實施例中，蔗糖的濃度為約8% w/v，L-組胺酸的濃度為約10 mM；並且聚山梨酯80的濃度為約0.05% v/v。在一些實施例中，蔗糖

的濃度為8% w/v，L-組胺酸的濃度為10 mM；並且聚山梨酯80的濃度為0.05% v/v。在一些實施例中，抗體、醫藥組合物和/或經調配抗體是凍乾的。

【0055】 在一些實施例中，提供了製備重構的經調配抗體的方法，其中經調配抗體是以凍乾形式提供，並且包含表1中所提供之任一個單株抗體的HC和LC胺基酸序列、濃度為約8% w/v的蔗糖、濃度為約10 mM的L-組胺酸，和濃度為約0.05% v/v的聚山梨酯80。在一些實施例中，提供了製備重構的經調配抗體的方法，其中經調配抗體是以凍乾形式提供，並且包含表1中所提供之任一個單株抗體的HC和LC胺基酸序列、濃度為8% w/v的蔗糖、濃度為10 mM的L-組胺酸，和濃度為0.05% v/v的聚山梨酯80。在一些實施例中，在使用之前，在合適體積的注射用水中重構經調配抗體以產生溶液，所述溶液包含濃度為約50 mg/mL的抗體、濃度為約8% w/v的蔗糖、濃度為約10 mM的L-組胺酸和濃度為約0.05% v/v的聚山梨酯80，其中重構的抗體的pH為約6.2。在一些實施例中，在使用之前，在合適體積的注射用水中重構經調配抗體以產生包含溶液，所述溶液包含濃度為50 mg/mL的抗體、濃度為8% w/v的蔗糖、濃度為10 mM的L-組胺酸和濃度為0.05% v/v的聚山梨酯80，其中重構的抗體的pH為6.2。

【0056】 如本文所用，術語「治療 (treatment)」或「治療 (treating)」是指被設計為改變臨床病理學過程中被治療的個體或細胞的自然進程的臨床幹預。希望的治療效果包括降低疾病進展速率、改善或緩和疾病狀態、以及消退或者預後改善。例如，如果與癌症相關的一種或多種症狀減輕或消除，則成功「治療」個體，包括但不限於減少癌細胞的增生、破壞癌細胞、減少由所述疾病產生的症狀、提高患所述疾病的那些個體的生活品質、減少治療所述疾病所需要的其他藥物的劑量和/或延長個體的生存期。

【0057】 本文提供了用於治療個體的多發性骨髓（如復發性多發性骨髓瘤或復發性和難治性多發性骨髓瘤）或延遲其進展的方法，所述方法包括向有需要的受試者投予有效量的本文所提供的抗CD38抗體。在一些實施例中，抗體包含表1中所提供之任一個單株抗體的HC和LC胺基酸序列。在一些實施例中，抗體

能夠提高鼠類MM模型中小鼠的生存期，其中模型中的小鼠表現出低親和力之人類CD16a變異體(158F)，並且其中已向小鼠注射500,000個表現人類CD38的EL4細胞。在一些實施例中，一或多個劑量的抗CD38抗體是以凍乾調配物的形式提供，其中在投予之前，凍乾調配物係經重構從而形成重構的抗體調配物，使得重構的抗體調配物具有6.2的pH，並且在液體中(該液體包含約10 mM L-組胺酸、約8% w/v蔗糖和約0.05% v/v聚山梨酯80)包含濃度為約50 mg/mL的抗體。在一些實施例中，一或多個劑量的抗CD38抗體是以凍乾調配物的形式提供，其中在投予之前，凍乾調配物係經重構從而形成重構的抗體調配物，使得重構的抗體調配物具有6.2的pH，並且在液體中(該液體包含10 mM L-組胺酸、8% w/v蔗糖和0.05% v/v聚山梨酯80)包含濃度為50 mg/mL的抗體。

【0058】 在一些實施例中，向患者投予一或多個劑量的抗體。在一些實施例中，劑量可以是約0.1、約0.2、約0.3、約0.5、約1.0、約2.5、約5、約10或約20 mg/kg的抗體。在一些實施例中，劑量可以是0.1、0.2、0.3、0.5、1.0、2.5、5、10和20 mg/kg的抗體。在一些實施例中，抗體是靜脈內投予的。在一些實施例中，抗體是皮下投予的。

定義

【0059】 除非上下文另有明確說明，否則如在本說明書和所附申請專利範圍中所使用的，單數形式「一種/一個(a)」、「一種/一個(an)」和「所述」包括複數指示物。因此，例如，提及「一種分子」任選地包括兩種或更多種這樣的分子的組合等。

【0060】 如本文所用的術語「約」是指熟習此項技術者容易知道的相應值的通常誤差範圍。本文對「約」某一值或參數的提及包括(並描述)涉及所述值或參數本身的實施例。在一些實施例中，術語「約」表示規定值加上或減去所述值的10%；例如，「約10 mg/kg」可以涵蓋9至11 mg/kg。在一些實施例中，術語「約」表示規定值加上或減去所述值的5%；例如，「約20 mg/kg」可以涵

蓋19至21 mg/kg。

【0061】 「受試者」或「個體」出於治療目的是指分類為哺乳動物的任何動物，包括人類、家禽和農場動物，以及動物園動物、運動項目用動物或寵物諸如狗、馬、貓、牛等。較佳地，哺乳動物是人類。

【0062】 為了說明和描述本發明的某些具體實施例，下面闡明瞭實例。然而，申請專利範圍的範疇不應以任何方式受到本文所闡明的實例的限制。

實例

1. 抗體設計：

【0063】 生成了Fc工程化抗CD38抗體，其在抗體的Fc部分中具有突變，以提高對於效應細胞上的活化FcγRIIIa和FcγRIIa受體的親和力。

【0064】 兩條人類化重鏈（HC）（SEQ ID NO: 5和SEQ ID NO: 6）在框架區攜帶14和10個突變（與SEQ ID NO: 1相比），這導致智人生殖（germinality）得分從74.49%分別增至88.78%和84.69%。兩條人類化輕鏈（LC）（SEQ ID NO: 8和SEQ ID NO: 9）在框架區攜帶17和15個突變（與SEQ ID NO: 7相比），這導致智人生殖得分從64.36%分別增至81.19%和79.21%。另外，在LC 2和3中，用白胺酸取代位置11處的甲硫胺酸，以避免潛在的有問題的甲硫胺酸氧化。HC和LC序列提供於表2中，並且mAb HC與LC對係提供於表3中。

表2

SEQ ID NO:	鏈	胺基酸序列
1	重鏈1	QVQLVQSGAE VAKPGTSVKL SCKASGYTFT DYWMQWVKQR PGQGLEWIGT IYPGDGDTGY AOKFQ GKATL TADKSSKTVY MHLSSLASED SAVYYCARGD YYGSNSLDYW GQGTSVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPPV LDS DGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

SEQ ID NO:	鏈	胺基酸序列
2	重鏈2	QVQLVQSGAE VAKPGTSVKL SCKASGYTFT DYWMQWVKQR PGQGLEWIGT IYPGDGDTGY AOKFQ GKATL TADKSSKTVY MHLSSLASED SAVYYCARGD YYGSNSLDYW GQGTSVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PDVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPEEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPPV LDS DGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
3	重鏈3	QVQLVQSGAE VAKPGTSVKL SCKASGYTFT DYWMQWVKQR PGQGLEWIGT IYPGDGDTGY AOKFQ GKATL TADKSSKTVY MHLSSLASED SAVYYCARGD YYGSNSLDYW GQGTSVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKEP KSCDKTHTCP PCPAPELLAG PDVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPEEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPPV LDS DGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
4	重鏈4	QVQLVQSGAE VAKPGTSVKL SCKASGYTFT DYWMQWVKQR PGQGLEWIGT IYPGDGDTGY AOKFQ GKATL TADKSSKTVY MHLSSLASED SAVYYCARGD YYGSNSLDYW GQGTSVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKEP KSCDKTHTCP PCPAPELLAG PDVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPLPEEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPPV LDS DGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
5	重鏈5	QVQLVQSGAE VAKPGASVKV SCKASGYTFT DYWMQWVRQA PGQGLEWIGT IYPGDGDTSY AOKFQGRVTM TADTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARGD YYGSNSLDYW GQGT LVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKEP KSCDKTHTCP PCPAPELLAG PDVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPEEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPPV LDS DGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
6	重鏈6	QVQLVQSGAE VAKPGASVKV SCKASGYTFT DYWMQWVKQR PGQGLEWIGT IYPGDGDTGY AOKFQGRVTM TADKSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARGD YYGSNSLDYW GQGT LVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKEP KSCDKTHTCP PCPAPELLAG PDVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPEEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPPV LDS DGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
7	輕鏈1	DIVMTQSHLS MSTSLGDPVS ITCKASQDVS TVVAWYQQKP GQSPRRLIYS ASYRYIGVPD RFTGSGAGTD FTFTISSVQA EDLAVYYCQQ HYSPPYTFGG GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEN
8	輕鏈2	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQDVS TVLAWYQQKP GQSPRRLIYS ASYRYIGVPD RFGSGSGTD FTFTISSLQA EDVAVYYCQQ HYSPPYTFGG GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEN
9	輕鏈3	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQDVS TVVAWYQQKP GQSPRRLIYS ASYRYIGVPD RFGSGSGTD FTFTISSLQA EDVAVYYCQQ HYSPPYTFGG GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEN

SEQ ID NO:	鏈	胺基酸序列
10	重鏈7	QVQLVQSGAE VAKPGTSVKL SCKASGYTFT DYWMQWVKQR PGQGLEWIGT IYPGDGDTGY AQKFQ GKATL TADKSSKTVY MHLSSLASED SAVYYCARGD YYGSNSLDYW GQGTSVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVN HKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDS DGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
11	huCD16a (FcγRIIIa) UniProtKB/Swiss-Prot P08637 「158V」變異 體加粗	MWQLLLPTAL LLLVSAGMRT EDLPKAVVFL EPQWYRVLEK DSVTLKCGA YSPEDNSTQW FHNESLISSQ ASSYFIDAAT VDDSGEYRCQ TNLSTLSDPV QLEVHIGWLL LQAPRWVFKE EDPIHLRCHS WKNTALHKVT YLQNGKGRKY FHHNSDFYIP KATLKDSGSY FCRGLVGSKN VSSETVNITI TQGLAVSTIS SFFPPGYQVS FCLVMVLLFA VDTGLYFSVK TNIRSSTRDW KDHKFKWRKD PQDK
12	huFcγRIIa UniProtKB/Swiss-Prot P12318-1 「131H」變異 體加粗	MTMETQMSQN VCPRNLLWLLQ PLTVLLLLLAS ADSQAAAPPK AVLKLEPPWI NVLQEDSVTL TCQGARSPES DSIQWFHNGN LIPHTHTQPSY RFKANNND SG EYTCQTGQTS LSDPVHLTVL SEWLVLQTPH LEFQEGETIM LRCHSWKDKP LVKVTFFQNG KSQKFSHLDP TFSIPQANHS HSGDYHCTGN IGYTLFSSKP VTITVQVPSM GSSSPMGIIV AVVIATAVAA IVAAVVALIY CRKKRISANS TDPVKAAQFE PPGRQMIAIR KRQLEETNND YETADGGYMT LNPRAPTDDD KNIYLTLPN DHVNSNN
13	重鏈8	EVQLLES GGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFN SFAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGGTY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYFCAKDK ILWFGPEPVD YWGQGLTVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPSSSLGT QTYICNVN HK PSNTKVDKRV EPKSCDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTTP PVLDS DGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKLSLSLSP GK
14	輕鏈4	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SYLAWYQQKP GQAPRLLIYD ASNRATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSELEP EDFAVYYCQQ RSNWPPTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVEIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSSTLT LSKADYEEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC

表3

mAb	重鏈 SEQ ID NO:	輕鏈 SEQ ID NO:
1	1	7
2	2	7
3	3	7
4	4	7
5	5	8
6	5	9
7	6	8
8	6	9
9	10	7
10	13	14

2. 生化表徵：

A: 與CD38的結合

【0065】 在一個實驗中，使用Biacore®儀器通過SPR量測mAb 1-8對於人類CD38的結合親和力和動力學常數。簡言之，將抗CD38抗體捕獲至已由抗Fc抗體共價結合的CM5晶片。在被測試的捕獲抗體上注射多種濃度的huCD38。使用Biacore評價軟體生成結合曲線（感測圖）並進行動力學分析。

【0066】 如表4所示，mAb 3和8對於人類CD38具有最高親和力（針對每種變異體的T檢定：p值 > 2）。

表4 對於人類CD38的親和力（n = 3）

mAb	ka (1/Ms)	CV ka (%)	kd (1/s)	CV kd (%)	KD (M)	CV Kd (%)
1	3.55E+06	11.6	6.55E-04	3.4	1.80E-10	5.0
3	3.89E+06	13.8	6.59E-04	2.2	1.71E-10	13.1
5	2.78E+06	11.0	1.88E-03	29.1	6.99E-10	22.1
6	3.10E+06	15.8	8.55E-03	76.2	3.85E-10	18.7
7	3.18E+06	15.4	1.30E-03	9.5	4.15E-10	14.5
8	3.51E+06	19.2	6.50E-04	4.7	1.91E-10	24.0

【0067】 在另一個實驗中，如上所述使用的Biacore®儀器通過SPR量測mAb 1和3對於人類CD38的結合親和力。mAb 1具有0.22 nM的Kd，並且mAb 3具有0.20 nM的Kd。

【0068】 熱應力對人類CD38的結合親和力的影響：使用Biacore®儀器通過SPR量測在mAb經受熱應力（在40°C下，在10 mM組胺酸pH 6、8%蔗糖、0.02% PS80中14天）之後mAb 1-8對於人類CD38的結合親和力和動力學常數。已使用以上段落中所述的相同方案。

【0069】 如表5所示，經受熱應力的樣品顯示與相應的非應力樣品CD38（表4）

(針對每種變異體的T檢定：p值 > 2) 非常相似的親和力和動力學常數。

表5 熱應力對針對人類CD38的親和力的影響 (n = 3)

mAb	ka (1/Ms)	CV ka (%)	kd (1/s)	CV kd (%)	KD (M)	CV KD (%)
1	4.00E+06	21.9	7.14E-04	5.5	1.83E-10	15.7
3	3.71E+06	8.2	6.71E-04	3.0	1.81E-10	5.3
5	2.95E+06	21.2	2.36E-03	4.4	8.28E-10	25.7
6	3.86E+06	27.9	1.28E-03	3.7	3.46E-10	24.0
7	3.39E+06	6.8	1.33E-03	5.9	3.94E-10	10.5
8	3.53E+06	25.2	6.63E-04	11.7	1.98E-10	31.5

B: 通過電腦 (in silico) 量測對於FcγRIIa、FcγRIIIa和FcγRIIb的親和力

【0070】 在一個實驗中，使用表面電漿共振 (SPR) 量測mAb對於FcγRIIIa 158V受體或FcγRIIIa 158F受體的親和力。根據供應商 (ThermoFisher Scientific) 通過暫態轉染在HEK293細胞中產生mAb，並且根據供應商 (GE Healthcare) 通過蛋白A親和層析將其純化。根據供應商 (Ni-Sepharose GE, Healthcare) 通過暫態表現在HEK293細胞中產生帶有C端histag的具有V158或F158的FcγRIIIa (CD16a) 胞外結構域，並通過固定金屬親和層析 (IMAC) 將其純化。使用在CM5晶片上固定的抗His IgG，通過捕獲分析在BIAcore 2000 (GE Healthcare) 上經由SPR量測親和力。然後將FcγRIIIa-histag添加至運行緩衝液中，接著是濃度在8至256 nM範圍內的抗CD38 mAb。使用BIAevaluation Software 4_1 (GE Healthcare)，利用兩態反應進行分析，其中可接受的 χ^2 值小於5 (意味最高測試濃度的2%) 並且最大理論共振單位的百分比大於25 (意味超過1/4生產性相互作用)。

【0071】 如表6所示，與mAb 1相比，mAb 2-4對於FcγRIIIa 158V具有高9倍的親和力，並且與mAb 1相比，mAb 2-4對於FcγRIIIa 158F受體具有高超過27倍的親和力。

表6

K _D (nM)

mAb	FcγRIIIa 158V	FcγRIIIa 158F
1	425	>1500
2	47	53
3	50	55
4	47	51

【0072】 在另一個實驗中，使用如上所述的SPR量測mAb 1和3對於FcγRIIIa 158V受體或FcγRIIIa 158F受體的親和力。mAb 3以75 nM的KD結合FcγRIIIa 158V，並且mAb 3以59 nM的KD結合FcγRIIIa 158F。

【0073】 使用AlphaScreen親近分析來量測mAb對於在胺基酸位置131處具有精胺酸（FcγRIIa 131R）或在胺基酸位置131處具有組胺酸（FcγRIIa 131H）的FcγRIIa受體的親和力。

【0074】 分別由R&D System（批次1330-CD）或Biorbyt（批次ORB138408）提供具有R131或H131的FcγRIIa胞外結構域。分析是由供應商（Perkin Elmer）所描述的基於珠的近接分析，其允許通過與具有天然IgG1的抗CD38競爭對抗CD38 Fc變異體進行排序。在供體珠（donor bead）上捕獲具有天然IgG1的生物素化抗CD38，並且在受體珠（acceptor bead）上捕獲FcγRIIa histag蛋白。當抗CD38與FcγRIIa相互作用時，珠會靠近。在680 nm處供體珠的激發引起單線態氧的釋放，當處於近接狀態時，所述單線態氧擴散並觸發來自受體珠的520至620 nm處的光放射。光的量與相互作用的程度成正比，並且用EnVision多模式讀板器（Perkin Elmer）來量測。在競爭分析期間，未標記的競爭性mAb抗CD38 Fc變異體DE（S239D/I332E，Eu編號）、ADE（G236A/S239D/I332E，Eu編號）或ADLE（G236A/S239D/F243L/I332E，Eu編號）用於競爭具有天然IgG1的生物素化抗CD38與FcγRIIa-histag蛋白之間的相互作用。生物素化抗CD38的濃度是由預先完成的校準曲線設定。未標記的競爭性mAb是在不同水準下使用，以使得遞增濃度的未標記的mAb可以取代生物素化抗CD38並且降低信號。關於最大信號將資

料進行歸一化。運行了兩個實驗並且通過BIOST@T-SPEED-LTS 2.1.0評估IC50。

【0075】 如表7所示，與mAb 1相比，mAb 3顯示分別對於FcγRIIa 131R和FcγRIIa 131H的高超過14倍和18倍的親和力。

表7 對於FcγRIIa R131和FcγRIIa H131的親和力

mAb	相對IC50 (nM)	
	FcγRIIa R131	FcγRIIa H131
1	1741	268
2	687	119
3	125	15
4	508	58

C：在活體外對於FcγRIIa、FcγRIIIa和FcγRIIb的親和力的量測

【0076】 將 HEK293T-FcγRIIIa-158F、HEK293T-FcγRIIIa-158V、HEK293T-FcγRIIa-131H、HEK293T-FcγRIIa-131R、HEK293T-FcγRI 或 HEK293T-FcγRIIb以 10^5 個細胞/孔接種在96孔微型盤中。將這些盤在800 g下離心1分鐘，並在4°C下重新懸浮於含有不同濃度的抗體的50 μL PBS中，持續30分鐘。然後添加200 μL PBS 1% FBS以洗滌細胞，接著在800 g下離心1分鐘。總共重複洗滌步驟三次，之後在4°C下將細胞用與FITC綴合的二抗（片段山羊抗人類IgG（H+L）FITC，編號109-546-088 Jackson ImmunoResearch，最終10 μg/mL）染色30分鐘。用200 μL PBS 1% FBS洗滌細胞三次，並將其重新懸浮於100 μL PBS中，之後在MACSVYB（B1通道）上獲取。如表8所示，與mAb 1相比，mAb 2、3和4對於在HEK細胞上表現的FcγRIIIa 158F分別具有高32倍、38倍和51倍的親和力，並且與mAb 1相比，mAb 2、3和4對於在HEK細胞上表現的FcγRIIIa 158V分別具有高9倍、5倍和6倍的親和力。

表8

	mAb	平均表觀 Kd (nM)	SEM	相對於mAb 1 的親和力倍 數差異
FcγRIIIa 158F	1	2269.1	771.4	1
	2	70.1	13.1	32.4
	3	60.4	10.4	37.6
	4	44.2	9.1	51.4
FcγRIIIa 158V	1	165.3	44.2	1
	2	17.6	3.3	9.4
	3	32.0	5.3	5.2
	4	28.1	7.8	5.9

【0077】 如表9所示，與mAb 1相比，mAb 3對於在HEK細胞上表現的FcγRIIIa 131H具有高約5倍的親和力，並且與mAb 1相比，mAb 3對於在HEK細胞上表現的FcγRIIIa 131R具有高約16倍的親和力。

表9

	mAb	平均Kd (nM)	SEM	相對於mAb 1 的親和力差異
FcγRIIIa 131H	1	1180.8	406.1	1
	2	839.8	438.7	1.4
	3	221.9	74.9	5.3
	4	543.8	277.7	2.2
FcγRIIIa 131R	1	1420.3	166.5	1
	2	891.1	131.1	1.6
	3	87.4	13.9	16.3
	4	467.3	153.6	3.0

【0078】 如表10所示，與mAb 1相比，mAb 2、3和4對於FcγRI具有相似的結合親和力水準，並且與mAb 1相比，mAb 2、3和4對於在HEK細胞上表現的FcγRIIb具有低1.8至3.9倍的親和力。

表10

	mAb	平均Kd (nM)	SEM	相對於mAb 1 的親和力差異
FcγRI	1	24.2	4.2	1
	2	13.5	1.7	1.8

	3	14.7	3.2	1.6
	4	15.9	2.7	1.5
FcγRIIb	1	1299.1	406.1	1
	2	839.8	438.7	3.9
	3	221.9	74.9	3.3
	4	543.8	277.7	1.8

D： 在活體外的細胞毒活性的量測

抗體依賴性細胞毒性（ADCC）：

【0079】 使用鈣黃綠素-乙醯氧基甲基（Calcein-AM；Invitrogen）釋放分析來檢查使用被工程化以過表現FcγRIIIa受體的NK92細胞株作為效應細胞的抗體依賴性細胞毒性（ADCC）分析。在活細胞中，將非螢光鈣黃綠素AM轉化成綠色螢光鈣黃綠素。將標記的目標細胞與SAR442085抗體和NK-92效應細胞一起孵育。通過ADCC對目標細胞的溶解導致螢光鈣黃綠素的釋放。螢光強度與所存在的ADCC活性程度成比例。

【0080】 將多發性骨髓瘤目標細胞（MOLP-8、RPMI 8226、MM1R或KMS12-BM）用鈣黃綠素-AM（50 μg稀釋於25 μL DMSO中，然後將10 μL鈣黃綠素稀釋於4 mL RPMI 1640 + 1% FBS + 1%丙磺舒中，用於 4×10^6 個細胞的染色）標記30 min，然後洗滌並以 2×10^4 個細胞/孔的密度鋪於96孔圓底盤上。添加從10 μg/mL至0.01 pg/mL的不同濃度的所示測試mAb或對照同型mAb持續30 min以允許調理作用，之後添加用所示FcγRIIIa變異體轉導的自然殺手（NK）細胞。以5:1的E:T比率（ 1×10^5 個NK細胞對於 2×10^4 個目標細胞）添加表現158F或158V的NK細胞作為效應細胞。然後將這些盤在37°C下在具有5% CO₂的濕潤培養箱中孵育1 h，並且收穫100 μL上清液，並將其轉移到不透明的96孔微型盤中，以供在Tecan Infinite M1000上使用螢光測定法進行分析以量測鈣黃綠素釋放（激勵濾光片：492 nm；放射：515 nm）。為了最大釋放，用2% Triton X-100溶解細胞。從實驗釋放（A）、目標細胞自發釋放（B）和目標細胞最大釋放（C）的螢光值中減去培養基背景的螢光值。使用下式計算每種盤（一式兩份）的細

胞毒性和ADCC百分比：

$$\text{細胞毒性 (\%)} = (A - B)/(C - B) \times 100\%$$

【0081】 每個實驗至少重複3次。通過使用GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, Inc., 聖地牙哥, 加利福尼亞州) 將資料點擬合至4參數方程來計算半最大有效濃度 (EC50) 值。

高CD38受體密度目標細胞

【0082】 如上所述在活體外評估多發性骨髓瘤細胞株MOLP-8的ADCC。MOLP-8細胞展現出在細胞表面上的高CD38受體密度 (約400,000個/細胞)。

【0083】 表11示出了在存在表現158V的NK細胞的情況下每種測試抗體針對MOLP-8細胞的EC50。如表11所示, 在存在表現高親和力FcγRIIIa變異體(158V)的NK細胞的情況下, mAb 2、3和4以比mAb 1低24至33倍的EC50觸發MOLP-8細胞的ADCC。

表11

mAb	EC50 (ng/ml)	SEM (ng/ml)
1	3.3	0.91
2	0.1	0.03
3	0.14	0.02
4	0.12	0.02

【0084】 表12示出了在存在表現158F的NK細胞的情況下每種測試抗體針對MOLP-8細胞的EC50。如表12所示, 在存在表現低親和力FcγRIIIa變異體(158F)的NK細胞的情況下, mAb 4顯示出針對MOLP-8細胞的最強ADCC活性, 其中EC50比mAb 1低約97倍。在存在表現低親和力FcγRIIIa變異體(158F)的NK細胞的情況下, mAb 2和3以比mAb 1低約59至69倍的EC50觸發MOLP-8細胞的ADCC。

表12

mAb	EC50 (ng/ml)	SEM (ng/ml)
1	16.5	8.77
2	0.24	0.11
3	0.28	0.09
4	0.17	0.05

中等CD38受體密度目標細胞

【0085】 如上所述在活體外評估多發性骨髓瘤細胞株RPMI-8226的ADCC。RPMI-8226細胞展現出在細胞表面上的中等CD38受體密度(約70,000個/細胞)。

【0086】 表13示出了在存在表現158V的NK細胞的情況下每種測試抗體針對RPMI-8226細胞的EC50。如表13所示，在存在表現較高親和力FcγRIIIa變異體(158V)的NK細胞的情況下，mAb 2至4顯示出相似提高的觸發針對表現中等CD38受體密度的MM細胞的ADCC的能力水準，其中與mAb 1相比，EC50低27倍。

表13

mAb	EC50 (ng/ml)	SEM (ng/ml)
1	2.45	0.73
2	0.09	0.02
3	0.09	0.003
4	0.09	0.003

【0087】 表14示出了在存在表現158F的NK細胞的情況下每種測試抗體針對RPMI-8226細胞的EC50。在存在表現低親和力FcγRIIIa變異體的NK細胞的情況下，與mAb 1相比，mAb 4顯示出約73倍提高的觸發針對表現中等CD38受體密度的MM細胞的ADCC的能力；而在存在表現低親和力FcγRIIIa變異體的NK細胞的情況下，與mAb 1相比，mAb 3顯示出約65倍提高的觸發針對表現中等CD38受體密度的MM細胞的ADCC的能力並且mAb 2顯示出約49倍提高的所述觸發的能力。

表14

mAb	EC50 (ng/ml)	SEM (ng/ml)
1	5.83	1.67
2	0.12	0.04
3	0.09	0.01
4	0.08	0.01

低CD38受體密度目標細胞

【0088】 如上所述在活體外評估多發性骨髓瘤細胞株KMS-12BM的ADCC。KMS-12BM細胞展現出在細胞表面上的低CD38受體密度（約13,000個/細胞）。

【0089】 表15示出了在存在表現較高親和力FcγRIIIa變異體（158V）的NK細胞的情況下每種測試抗體針對KMS-12BM細胞的EC50。有趣的是，如表15所示，在存在表現較高親和力FcγRIIIa變異體（158V）的NK細胞的情況下，與mAb 1相比，mAb 2、3和4顯示出提高的觸發針對表現低CD38受體密度的MM細胞的ADCC的能力。mAb 3具有比mAb 1低約69倍的EC50，並且mAb 4具有比mAb 1低約91倍的EC50。

表15

mAb	EC50 (ng/ml)	SEM (ng/ml)
1	41	12
2	0.65	0.05
3	0.6	0.1
4	0.45	0.35

【0090】 表16示出了在存在表現較低親和力FcγRIIIa變異體（158F）的NK細胞的情況下每種測試抗體針對KMS-12BM細胞的EC50。顯著地，如表16所示，在存在表現較低親和力FcγRIIIa變異體（158F）的NK細胞的情況下，與mAb 1相比，mAb 2、3和4顯示出提高的觸發針對表現低CD38受體密度的MM細胞的ADCC的能力。mAb 3具有比mAb 1低約145倍的EC50，並且mAb 4具有比mAb 1

低約269倍的EC50。

表16

mAb	EC50 (ng/ml)	SEM (ng/ml)
1	94	2.55
2	1.05	0.25
3	0.65	0.15
4	0.35	0.15

抗體依賴性細胞吞噬作用 (ADCP)：

【0091】 首先從來自法國血液研究機構 (Etablissement Français du Sang) 的七名健康供體的血沉棕黃層分離人類PBMC。所有這些供體都展現出相同的FCGR3A和FCGR2A基因型 (FcγRIIIa- 158V/V和FcγRIIa- 131H/H)。首先將血液收集在50 mL Falcon試管中。將15 mL Ficoll-Plaque™ PLUS 96%輕輕地添加到Sepmate試管的底部，然後將血液緩慢地添加到試管中，之後在1,300 g下離心10分鐘。然後收集PBMC環，並將其用50 mL PBS洗滌，並且在300 g下進行另一輪離心持續5分鐘。重複洗滌過程兩次，之後根據製造商說明書 (Miltenyi；編號130-050-201) 用抗CD14磁珠對PBMC染色：在4°C下孵育時間基本上為15分鐘，之後經由AutoMACS pro (Posseld選擇) 進行陽性選擇。收集單核細胞，然後將其用50 mL PBS洗滌。將單核細胞在T75燒瓶中的RPMI1640、10% FBS、2%滅活的人類血清、50 ng/ml GM-CSF中在37°C、5% CO₂下培養5天。5天培養之後，單核細胞分化為巨噬細胞。為了收集巨噬細胞，將細胞消化液 (ThermoFisher，編號：A1110501) 在37°C下置於燒瓶中持續15分鐘，以分離細胞，然後添加20 mL RPMI 10% FBS 1%麩醯胺酸，以終止細胞消化液活性。將所收集的細胞在350 g下離心10分鐘，接著在20 mL PBS中洗滌，並在300 g下進行另一輪離心持續10分鐘。對於兩個實驗，所用的巨噬細胞是來自在液氮中冷凍的巨噬細胞批次。

【0092】 將巨噬細胞以20 x 10⁶個細胞/mL重新懸浮於稀釋劑C中 (在來自Sigma Aldrich的製造商染色套組號PKH26GL-1KT中提供)。對於1體積的巨噬細

胞，將1體積的PKH26（20 μ L稀釋於1 mL稀釋劑C中）添加至細胞中，以在黑暗中孵育5分鐘。然後添加5 mL FBS以使染色過程失活，並持續1分鐘，之後用RPMI1640 10% FBS補充至50 mL。將表現CD38的MOLP-8細胞用PKH67螢光染料染色，並將由純化的單核細胞得到的巨噬細胞用PKH26染色，使得可通過流式細胞術對它們進行鑒別。然後將MOLP-8細胞和巨噬細胞在存在mAb 1或mAb 3的情況下置於培養物中過夜，之後通過流式細胞術進行雙陽性群體（吞噬MOLP-8細胞的巨噬細胞）分析。

【0093】 如通過在所有實驗中獲得的較高總吞噬作用百分比(%)和較低EC50（相對）值（EC50rel）所證明，與mAb 1相比，mAb 3展現出提高的針對MOLP-8細胞株的ADCP活性。總吞噬作用%的幾何平均值對於mAb 3是40.85%，而對於mAb 1是18.57%，並且EC50rel的幾何平均值對於mAb 3是31.87 ng/mL（或212.57 pM），而對於mAb 1，所述值超過64.86 ng/mL（或超過432.62 pM）。基於EC50rel值，mAb 3在ADCP活性方面比mAb 1要好至少2.035倍。

活體內功效

【0094】 評價mAb 3的活體內功效。在第0天向人類化Fc γ R C57BL/6小鼠（Smith P, DiLillo DJ, Bournazos S, Li F, Ravetch JV; Proc Natl Acad Sci USA. 2012; 109（16）:6181-6）靜脈內注射500,000個EL4-huCD38腫瘤細胞。使人類化Fc γ R C57BL/6小鼠的所有編碼Fc γ R的鼠基因缺失並將編碼為轉基因的人類Fc γ R插入小鼠基因組中。人類化Fc γ R C57BL/6小鼠概括了huFc γ R表現模式和表現水準並且在發炎、細胞毒性和腫瘤清除的多個huIgG介導的模型中是功能性的。關於活化的Fc γ RIIIa和Fc γ RIIa受體，插入小鼠模型中的人類變異體分別是huFc γ RIIIa 158F和huFc γ RIIa 131R（受體的低親和力變異體）。人類Fc γ R表現模式和表現水準的特徵概括在小鼠中。

【0095】 從注射腫瘤細胞後第1天開始，在第1、4、7和14天腹膜內投予測試或對照mAb。同型對照mAb是以10 mg/kg投予。mAb 1、3和10是以10和1.25 mg/kg

投予。在此生存期模型中，主要功效終點是中位生存時間（MST）、延長壽命百分比（ILS%）和長期存活者（定義為優於或等於對照組MST的2倍的生存持續時間）。用Cox模型評價各組之間的生存期差異。

【0096】 如表17所示，同型對照組具有39天的MST。百分之二十的同型對照組在此模型下展現出長期生存。用10 mg/kg的mAb 1治療的組具有超過82.5天的MST、大於112%的延長壽命。用10 mg/kg的mAb 1治療的組中有百分之五十是長期存活者。用1.25 mg/kg的mAb 1治療的小鼠具有大於46.5天的MST和大於19%的延長壽命。用1.25 mg/kg的mAb 1治療的組中有百分之三十是長期存活者。

【0097】 用10 mg/kg的mAb 10治療的組具有大於70天的MST、70%的延長壽命。用10 mg/kg的mAb 10治療的組中有百分之五十是長期存活者。用1.25 mg/kg的mAb 10治療的小鼠具有大於42天的MST和8%的延長壽命。用1.25 mg/kg的mAb 10治療的組中僅10%是長期存活者。

【0098】 用10 mg/kg的mAb 3治療的組具有超過90天的MST、大於131%的延長壽命。顯著地，用10 mg/kg的mAb 3治療的組中有90%是長期存活者。與同型對照組相比，10 mg/kg的mAb 3在統計上顯著地更有活性（ $p = 0.0351$ ）。甚至更驚人地，用1.25 mg/kg的mAb 3治療的小鼠也具有大於90天的MST和大於131%的延長壽命。此外，用1.25 mg/kg的mAb 3治療的組中有90%是長期存活者。與同型對照組相比，1.25 mg/kg的mAb 3在統計上顯著地更有活性（ $p = 0.0380$ ），並且在統計上顯著地優於相同劑量下的mAb 10（ $p = 0.0380$ ）。

【0099】 用10 mg/kg劑量下的mAb 1、mAb 3和mAb 10治療攜帶低親和力huFcγRIIIa（F158/F158）的小鼠中的該腫瘤模型導致壽命和長期存活者數量的統計上顯著的改善。然而，驚人的是，在1.25 mg/kg劑量下，mAb 3仍展現出壽命和長期存活者數量的統計上顯著的改善，而mAb 1和mAb 10則無活性。

表17

藥劑	劑量 (mg/kg)	長期存活者 (%)	MST (天)	ILS%
同型對照	10	20	39	-
mAb 3	10	90	> 90	131%
	1.25	90	> 90	131%
mAb 1	10	50	82.5	112%
	1.25	30	46.5	19%
mAb 10	10	50	70	79%
	1.25	10	42	8%

E. 穩定性研究

熱穩定性

【0100】 使用Malvern MicroCal VP熱量計，通過差示掃描量熱法 (DSC) 量測mAb 1、3、5、6、7和8的熱穩定性。在包含10 mM組胺酸HCl的緩衝液 (pH 6.0) 中測試樣品。將所製備的樣品連同作為參照的緩衝液一起載入到Wheaton 96孔圓底盤的各孔中，一式三份。使用1°C/min的溫度斜率和20°C至120°C的溫度範圍，收集熱掃描並使用origin軟體2.0進行處理。

【0101】 如表18所示，mAb 3、5、6、7和8在約40°C下顯示出現蛋白質構象變化，此溫度比mAb 1的出現溫度低約17°C，並且比mAb的典型的溫度低約15°C-20°C (圖1)。此外，在約50°C下相對於70°C下，mAb 3、5、6、7和8的CH2結構域的去折疊比mAb 1開始得要早得多。

表18 熱穩定性 (°C)

mAb	T _{出現}	T _{m1} (CH2)	T _{m2} (Fab1)	T _{m3} (Fab2)	T _{m4} (CH3)
1	56.8	70.0		75.7	83.1
3	39.9	50.4	71.0		83.3
5	37.8	49.9	79.4		81.9
6	40.7	49.8	81.7		84.1
7	37.2	50.0	78.1		84.3
8	38.8	50.5	80.2		84.8

等電點

【0102】 通過毛細管等電聚焦（cIEF）量測mAb 1、3、5、6、7和8中的每一個的等電點（pI）。理論pI是使用分析平臺SEDNTERP並假設以下胺基酸pKa值：Arg = 12，Asp = 4.5，Glu = 4.6，His = 6.2，Lys = 10.4且Tyr = 9.7，由組合物確定的。假設在Cys殘基中的所有巰基側鏈是雙硫鍵鍵結的，沒有貢獻pKa（Laue TM, Shah BD, Ridgeway TM和Pelletier SL.Computer-aided interpretation of analytical sedimentation data for protein.In Analytical Ultracentrifugation in Biochemistry and Polymer Science.Harding SE, Rowe AJ和Horton Jc編輯 第90-124頁. Royal Society of Chemistry, 1991）。

【0103】 驚人的是，如表19所示，基於序列，mAb 3的pI量測值低於pI計算值。

表19

mAb	pI計算值	pI量測值	「酸性」形式%	「鹼性」形式%
1	7.46	7.47	16.6	19.0
3	7.46	6.95	20.1	44.0
5	6.72	5.67	20.7	23.6
6	6.72	5.66	16.8	21.5
7	7.11	6.01	25.8	48.5
8	7.11	6.22	11.5	25.7

mAb 3調配物的開發

【0104】 基於熱穩定性結果，開發凍乾的調配物以確保mAb 3的足夠穩定性以適合於mAb在 $\leq -30^{\circ}\text{C}$ 下儲存和凍乾的mAb在 2°C - 8°C 下儲存。在穩定性研究中測試使用不同緩衝系統且在不同pH下的mAb 3調配物，所述穩定性研究包括凍融循環、攪動研究以及在 40°C 、 25°C 、 5°C 、 -30°C 和 -80°C 的應力、加速和預期儲存條件下的短期（12周）培育。在這些實驗中，除了粒子形成（目測檢查、基於光模糊的粒子計數和微流成像）之外，還評價了蛋白質的聚集和化學降解。

【0105】 基於來自調配物開發研究的結果，選擇含有10 mM L-組胺酸-HCl、8% w/v蔗糖和0.05% w/v 聚山梨酯80的調配物（pH 6.2）。

凍乾程序開發

【0106】 開發mAb 3的凍乾程序以確保經調配抗體在凍乾之後具有可接受的穩定性和餅屬性。使用實驗室規模的凍乾器(由SP Scientific製造的Genesis EL35)，基於多次開發運行確定凍乾循環的程序參數(乾燥溫度、腔室壓力等)。循環的穩健性是通過在冷凍速率、乾燥溫度和腔室真空壓力的受控偏移下進行一系列凍乾運行來建立。對凍乾的經調配抗體的穩定性研究包括在40°C、25°C和5°C的應力、加速和預期儲存條件下的短期(12周)孵育。在這些實驗中，除了聚集、化學降解和粒子形成之外，還評價了凍乾粉末屬性(餅外觀、重構時間、氧氣頂部空間、水分含量)。基於調配物和凍乾開發研究，mAb 3的組合物被選擇為50 mg/mL mAb 3、10 mM L-組胺酸-HCl、8% w/v蔗糖、0.05% w/v聚山梨酯80並且pH為6.2。將經調配抗體在 $\leq -30^{\circ}\text{C}$ 下儲存並將凍乾的經調配抗體在 2°C 至 8°C 下儲存。

【符號說明】

【0107】 無

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Lys Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260

265

270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly Lys
 450

<210> 2
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 2

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

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

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

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Lys Thr Val Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355

360

365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly

<210> 3
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 3

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

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

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

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Lys Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly
225 230 235 240

Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly

<210> 4
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 4

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

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

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

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Lys Thr Val Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly

<210> 5
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 5

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

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

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

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly
225 230 235 240

Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245

250

255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 6
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 6

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

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

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

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly
225 230 235 240

Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340

345

350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly

<210> 7
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 7

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

Asp Pro Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Val
 20 25 30

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

35

40

45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ile Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

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

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
85 90 95

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 8

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成多肽

<400> 8

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ile Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
85 90 95

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 9
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 9

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

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

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ile Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
 85 90 95

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 10
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 10

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

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

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

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Lys Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

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

245

250

255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 11
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 11

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala
 1 5 10 15

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
 20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
 35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
 50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
 65 70 75 80

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

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
 100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
 115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
 130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
 145 150 155 160

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val
 165 170 175

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
 180 185 190

Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe Pro Pro Gly Tyr Gln
 195 200 205

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly
 210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile Arg Ser Ser Thr Arg Asp Trp
 225 230 235 240

Lys Asp His Lys Phe Lys Trp Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys
 245 250

<210> 12
 <211> 317
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 12

Met Thr Met Glu Thr Gln Met Ser Gln Asn Val Cys Pro Arg Asn Leu
 1 5 10 15

Trp Leu Leu Gln Pro Leu Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp
 20 25 30

Ser Gln Ala Ala Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro
 35 40 45

Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly
 50 55 60

Ala Arg Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn
 65 70 75 80

Leu Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn
 85 90 95

Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser
 100 105 110

Asp Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr
 115 120 125

Pro His Leu Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His
 130 135 140

Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly
 145 150 155 160

Lys Ser Gln Lys Phe Ser His Leu Asp Pro Thr Phe Ser Ile Pro Gln
 165 170 175

Ala Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly
 180 185 190

Tyr Thr Leu Phe Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro
 195 200 205

Ser Met Gly Ser Ser Ser Pro Met Gly Ile Ile Val Ala Val Val Ile
 210 215 220

Ala Thr Ala Val Ala Ala Ile Val Ala Ala Val Val Ala Leu Ile Tyr
 225 230 235 240

Cys Arg Lys Lys Arg Ile Ser Ala Asn Ser Thr Asp Pro Val Lys Ala

245

250

255

Ala Gln Phe Glu Pro Pro Gly Arg Gln Met Ile Ala Ile Arg Lys Arg
 260 265 270

Gln Leu Glu Glu Thr Asn Asn Asp Tyr Glu Thr Ala Asp Gly Gly Tyr
 275 280 285

Met Thr Leu Asn Pro Arg Ala Pro Thr Asp Asp Asp Lys Asn Ile Tyr
 290 295 300

Leu Thr Leu Pro Pro Asn Asp His Val Asn Ser Asn Asn
 305 310 315

<210> 13
 <211> 452
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 13

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

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

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly 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 Phe Cys

85

90

95

Ala Lys Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445

Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 14
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成多肽

<400> 14

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
 85 90 95

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180

185

190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種特異性結合人類CD38的抗體，其中所述抗體包含

- a) 具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列的重鏈（HC）和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈（LC），或
- b) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的重鏈（HC）和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈（LC），或
- c) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的重鏈（HC）和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈（LC），或
- d) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈（HC）和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈（LC），或
- e) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈（HC）和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈（LC），或
- f) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈（HC）和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈（LC），或
- g) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈（HC）和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈（LC）。

【請求項2】 一種包含經調配抗體的醫藥組合物，其中所述經調配抗體包含抗體、蔗糖、L-組胺酸和聚山梨酯80（PS80），其中所述抗體特異性地結合人類CD38並且以50 mg/mL的濃度存在，所述蔗糖以8%（w/v）的濃度存在，所述L-組胺酸以10 mM的濃度存在，並且所述PS80以0.05%（v/v）的濃度存在，其中所述調配物具有6.2的pH，並且其中所述抗體包含

- a) 具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列的重鏈（HC）和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈（LC），或
- b) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的重鏈（HC）和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈（LC），或

c) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

d) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

e) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

f) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

g) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)。

【請求項3】 一種特異性結合人類CD38的經調配抗體的單位劑型，其中所述經調配抗體包含215 mg的所述抗體、6.21 mg的L-組胺酸、344 mg的蔗糖和2.15 mg的聚山梨酯80，其中所述經調配抗體是凍乾的，並且其中所述抗體包含

a) 具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

b) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

c) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

d) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

e) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

f) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

g) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)。

【請求項4】 如請求項2所述的醫藥組合物或如請求項3所述的單位劑型，其中所述經調配抗體是凍乾的。

【請求項5】 如請求項1至4中任一項所述的抗體、醫藥組合物或單位劑型，其中所述HC胺基酸序列的位置1處的胺基酸是焦麩醯胺酸。

【請求項6】 如請求項1至5中任一項所述的抗體、醫藥組合物或單位劑型，其中當通過毛細管等電聚焦 (cIEF) 量測時，所述抗體具有5.8至9.0的等電點 (pI)。

【請求項7】 如請求項1至6中任一項所述的抗體、醫藥組合物或單位劑型，其中所述抗體包含主要帶電變異體和至少一種酸性帶電變異體且其中所述抗體具有以下各項中的至少一項

a) 所述至少一種帶電變異體的 HC 包含至少一個去醯胺基的天冬醯胺，所述去醯胺基的天冬醯胺係選自如根據 SEQ ID NO: 1 編號的 N289、N318、N387 和 N392，或

b) 所述抗體包含主要帶電變異體和至少一種酸性帶電變異體，其中所述主要帶電變異體占所述抗體的至少 71%並且所述酸性帶電變異體占所述抗體的不多於 30%，或

c) 當通過毛細管等電聚焦 (cIEF) 量測時，所述主要帶電變異體具有 7.5 的等電點 (pI) 並且其中所述一種或多種酸性帶電變異體具有 5.8 的 pI。

【請求項8】 如請求項1至7中任一項所述的抗體、醫藥組合物或單位劑型，其中所述抗體包含至少一種鹼性帶電變異體，並且其中所述抗體具有以下各項中的至少一項

a) 所述鹼性帶電變異體占所述抗體的不多於 4%，或

b) 當通過毛細管等電聚焦 (cIEF) 量測時，所述一種或多種鹼性帶電變異體具有 9.0 的 pI。

【請求項9】 如請求項1至8中任一項所述的抗體、醫藥組合物或單位劑型，其中

所述抗體

a) 在存在表現 CD16a (FcγRIIIa) 的 158F、158V、或 158F 和 158V 變異體二者的自然殺手細胞的情況下能夠通過抗體依賴性細胞毒性 (ADCC) 殺滅表現 CD38 的細胞，其中所述細胞在所述細胞表面上具有 $\leq 13,000$ 個 CD38 位點的 CD38 受體密度，和/或

b) 以如通過表面電漿共振 (SPR) 所量測的 59 nM 的 K_D 結合在胺基酸位置 158 處具有苯丙胺酸 (158F) 的 CD16a (FcγRIIIa)，並且其中所述抗體以如通過 SPR 所量測的 75 nM 的 K_D 結合在胺基酸位置 158 處具有摺胺酸 (158V) 的 CD16a，和/或

c) 以如通過與表現 FcγRIIIa 158F 的 HEK 細胞的結合所量測的 96 nM 的 K_D 結合在胺基酸位置 158 處具有苯丙胺酸 (158F) 的 CD16a (FcγRIIIa)，並且其中所述抗體以如通過與表現 FcγRIIIa 158V 的 HEK 細胞的結合所量測的 40 nM 的 K_D 結合在胺基酸位置 158 處具有摺胺酸 (158V) 的 FcγRIIIa，和/或

d) 以如通過與表現 FcγRIIa 131R 的 HEK 細胞的結合所量測的 94 nM 的 K_D 結合在胺基酸位置 131 處具有精胺酸 (131R) 的 CD32a (FcγRIIa)，並且其中所述抗體以如通過與表現 FcγRIIa 131H 的 HEK 細胞的結合所量測的 222 nM 的 K_D 結合在胺基酸位置 131 處具有組胺酸 (131H) 的 FcγRIIa。

【請求項10】 如請求項1至8中任一項所述的抗體、醫藥組合物或單位劑型，其中

a) 在存在表現 CD16a (FcγRIIIa) 的 158F、158V、或 158F 和 158V 變異體二者的自然殺手細胞的情況下，所述抗體能夠通過 ADCC 殺滅表現 CD38 的細胞，其中所述細胞在所述細胞表面上具有 $> 400,000$ 個的 CD38 受體密度；並且能夠通過 ADCC 殺滅表現 CD38 的細胞，其中所述細胞在所述細胞表面上具有 $\geq 100,000$ 個的 CD38 受體密度；並且能夠通過 ADCC 殺滅表現 CD38 的細胞，其中所述細胞在所述細胞表面上具有 $\leq 13,000$ 個的 CD38 受體密度，和/或

b) 所述抗體能夠在存在人類周邊血液單核球細胞 (PMBC) 的情況下通過抗體依賴性細胞吞噬作用 (ADCP) 殺滅表現 CD38 的細胞，其中所述細胞在所述細胞表面上具有 > 400,000 個的 CD38 受體密度。

【請求項11】 如請求項9或10所述的抗體、醫藥組合物或單位劑型，其中

a) 在存在表現 CD16a (FcγRIIIa) 的較高親和力變異體 (158V) 的自然殺手細胞的情況下，所述抗體能夠通過 ADCC 以約 0.6 ng/mL 的 EC 50 殺滅 KMS-12BM 細胞，和/或

b) 在存在表現 CD16a (FcγRIIIa) 的較低親和力變異體 (158F) 的自然殺手細胞的情況下，所述抗體能夠通過 ADCC 以約 0.65 ng/mL 的 EC 50 殺滅 KMS-12BM 細胞，和/或

c) 在存在表現 CD16a (FcγRIIIa) 的較高親和力變異體 (158V) 的自然殺手細胞的情況下，所述抗體能夠通過 ADCC 以約 0.09 ng/mL 的 EC 50 殺滅 RPMI-8226 細胞，和/或

d) 在存在表現 CD16a (FcγRIIIa) 的較低親和力變異體 (158F) 的自然殺手細胞的情況下，所述抗體能夠通過 ADCC 以約 0.09 ng/mL 的 EC 50 殺滅 RPMI-8226 細胞，和/或

e) 在存在表現 CD16a (FcγRIIIa) 的較高親和力變異體 (158V) 的自然殺手細胞的情況下，所述抗體能夠通過 ADCC 以約 0.14 ng/mL 的 EC 50 殺滅 MOLP-8 細胞，和/或

f) 在存在表現 CD16a (FcγRIIIa) 的較低親和力變異體 (158F) 的自然殺手細胞的情況下，所述抗體能夠通過 ADCC 以約 0.28 ng/mL 的 EC 50 殺滅 MOLP-8 細胞。

【請求項12】 如請求項9至11中任一項所述的抗體、醫藥組合物或單位劑型，其中在存在表現 CD16a (FcγRIIIa) 的較高親和力變異體 (158V) 的人類 PMBC 的情況下，所述抗體能夠通過 ADCP 以約 31.87 ng/mL 的 EC 50 殺滅 MOLP-8 細胞。

【請求項13】 如請求項1至12中任一項所述的抗體、醫藥組合物或單位劑型，其

中所述抗體能夠提高鼠腫瘤模型中小鼠的生存期，其中在所述模型中的小鼠係表現人類CD16a(158F)，並且其中已向小鼠注射500,000個表現人類CD38的EL4細胞。

【請求項14】 一種製備醫藥組合物的方法，所述醫藥組合物包含特異性結合人類CD38的抗體，其中所述抗體包含

a) 具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

b) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

c) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

d) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

e) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

f) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

g) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，

所述方法包括以下步驟：

i) 在細胞培養物中表現所述抗體；

ii) 使所述抗體通過至少一個純化步驟以產生純化的抗體溶液，其中該純化步驟係選自層析和超過濾；和

iii) 調節所述純化的抗體溶液以產生經調配抗體，所述經調配抗體包含

- 濃度為 50 mg/mL 的所述純化的抗體，
- 濃度為 8% w/v 的蔗糖，

- 濃度為 10 mM 的 L-組胺酸，和
 - 濃度為 0.05% v/v 的聚山梨酯 80，
- 其中所述經調配抗體具有 6.2 的 pH；以及

iv) 凍乾所述經調配抗體；

由此製備所述醫藥組合物。

【請求項15】 一種製備重構的經調配抗體的方法，其包括

a) 提供凍乾的抗體調配物，其包含蔗糖、L-組胺酸、聚山梨酯 80 和特異性結合人類 CD38 的抗體；以及

b) 在稀釋劑中重構所述凍乾的抗體調配物，其中所述重構的抗體調配物包含

- 濃度為 50 mg/mL 的所述抗體，
- 濃度為 8% w/v 的蔗糖，
- 濃度為 10 mM 的 L-組胺酸，和
- 濃度為 0.05% v/v 的聚山梨酯 80，

其中所述重構的抗體調配物具有 6.2 的 pH；

其中所述抗體包含

i) 具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

ii) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

iii) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

iv) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

v) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

vi) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

vii) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)。

【請求項16】 一種治療有需要患者的方法，其包括向所述患者投予一或多個劑量的特異性結合人類CD38的抗體，其中所述患者患有包含表現CD38之細胞的疾病，其中所述抗體包含

a) 具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

b) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

c) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

d) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

e) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

f) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

g) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)。

【請求項17】 一種用於治療包含表現CD38之細胞的疾病的抗體，其中所述抗體特異性地結合人類CD38，其中所述抗體包含

a) 具有 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或

- b) 具有 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或
- c) 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或
- d) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或
- e) 具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或
- f) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)，或
- g) 具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的重鏈 (HC) 和具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的輕鏈 (LC)。

【請求項18】 如請求項16所述的方法或如請求項17所述的用於所述用途的抗體，其中所述疾病是血液起源的。

【請求項19】 如請求項18所述的方法或用於所述用途的抗體，其中所述血液起源的疾病選自：澱粉樣變性、非霍奇金淋巴瘤 (NHL)、瓦爾登斯特倫氏病 (Waldenstrom's disease)、多發性骨髓瘤 (MM)、急性淋巴細胞白血病 (ALL) 和急性骨髓性白血病 (AML)。

【請求項20】 如請求項16至19中任一項所述的方法或用於所述用途的抗體，其中所述一或多個劑量的抗體是以凍乾的抗體調配物的形式提供，並且其中在投予之前，所述凍乾的抗體調配物係經重構而形成重構的抗體調配物，使得所述重構的抗體調配物具有6.2的pH以及液體中之濃度為50 mg/mL的所述抗體，該液體包含10 mM的L-組胺酸、8% (w/v) 的蔗糖和0.05% (v/v) 的聚山梨酯80。

【請求項21】 如請求項16至20中任一項所述的方法或用於所述用途的抗體，其中所述抗體是以20 mg/kg、10 mg/kg、5 mg/kg、3 mg/kg或1.5 mg/kg的劑量投予。

【請求項22】 如請求項16至21中任一項所述的方法或用於所述用途的抗體，其

中所述醫藥組合物包含經調配抗體，其中所述經調配抗體包含以50 mg/mL的濃度存在的所述抗體、濃度為8% (w/v) 的蔗糖、濃度為10 mM的L-組胺酸和濃度為0.05% (v/v) 的聚山梨酯80 (PS80)，其中所述經調配抗體具有6.2的pH。

【請求項23】 如請求項16至22中任一項所述的方法或用於所述用途的抗體，其中當通過毛細管等電聚焦(cIEF)量測時，所述抗體具有5.8至9.0的等電點(pI)。

【請求項24】 如請求項16至23中任一項所述的方法或用於所述用途的抗體，其中所述HC胺基酸序列的位置1處的胺基酸是焦麩醯胺酸。

【請求項25】 如請求項16至25中任一項所述的方法或用於所述用途的抗體，其中所述抗體包含主要帶電變異體和至少一種酸性帶電變異體且其中所述抗體具有以下各項中的至少一項

a) 所述至少一種帶電變異體的 HC 包含至少一個去醯胺基的天冬醯胺，該去醯胺基的天冬醯胺係選自如根據 SEQ ID NO: 1 編號的 N289、N318、N387 和 N392，或

b) 所述抗體包含主要帶電變異體和至少一種酸性帶電變異體，其中所述主要帶電變異體占所述抗體的至少 71%並且所述酸性帶電變異體占所述抗體的不多於 30%，或

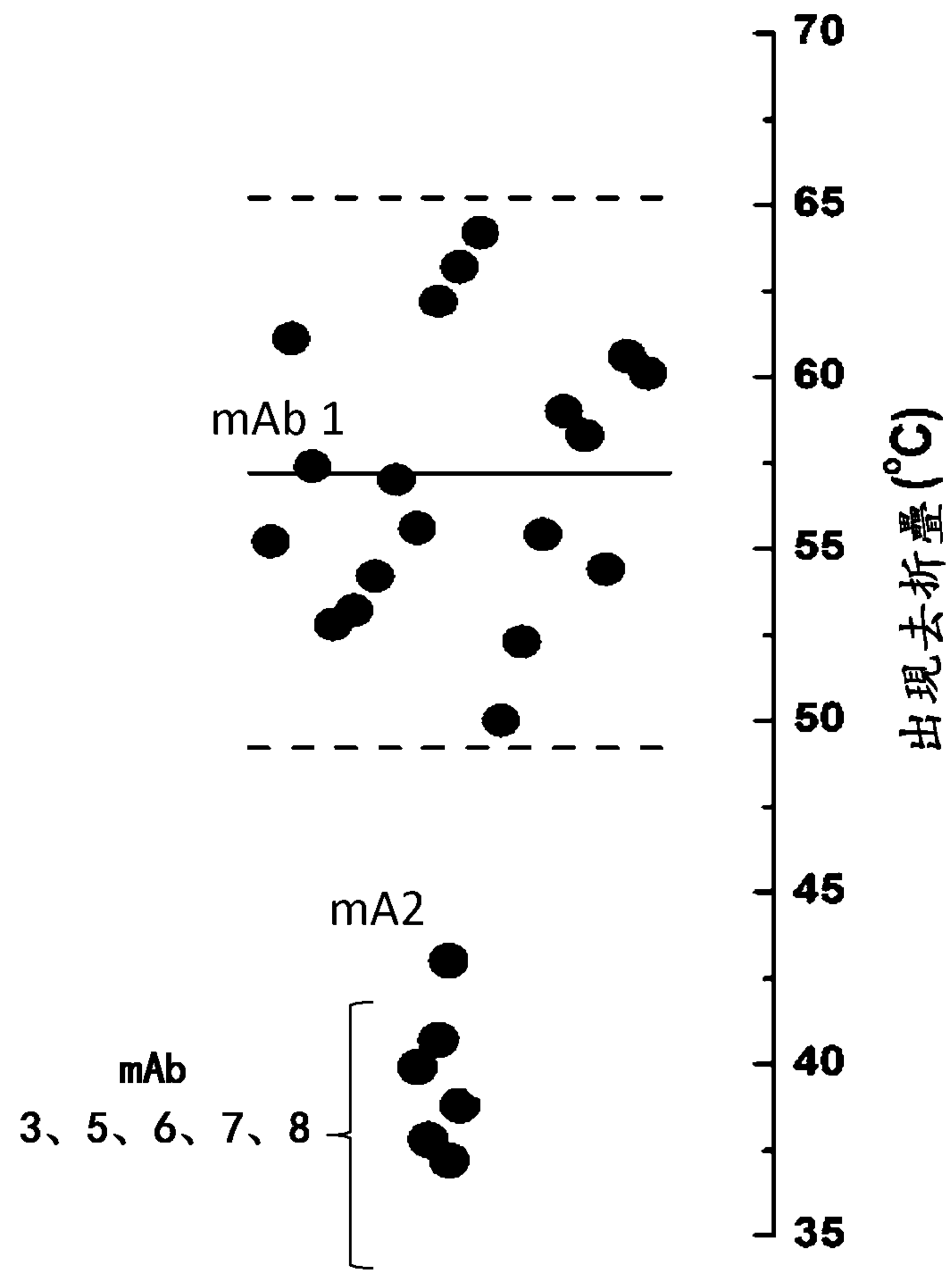
c) 當通過毛細管等電聚焦(cIEF)量測時，所述主要帶電變異體具有 7.5 的等電點(pI)並且其中所述一種或多種酸性帶電變異體具有 5.8 的 pI。

【請求項26】 如請求項 16 至 25 中任一項所述的方法或用於所述用途的抗體，其中所述抗體包含至少一種鹼性帶電變異體，並且其中所述抗體具有以下各項中的至少一項

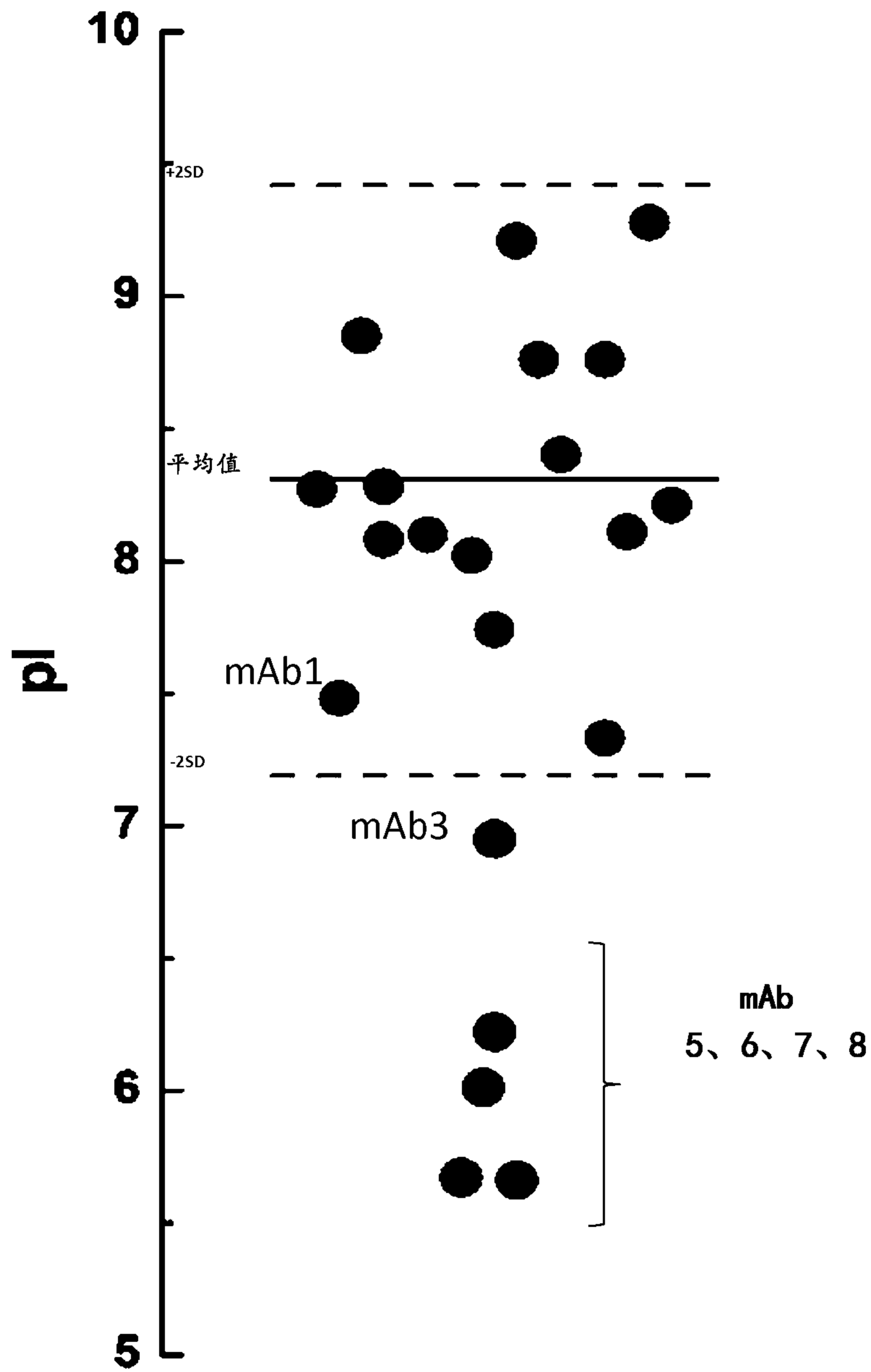
a) 所述鹼性帶電變異體占所述抗體的不多於 4%，或

b) 當通過毛細管等電聚焦(cIEF)量測時，所述一種或多種鹼性帶電變異體具有 9.0 的 pI。

【發明圖式】



【圖1】



【圖2】