



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107810011 A

(43)申请公布日 2018.03.16

(21)申请号 201680025583.0

(22)申请日 2016.06.07

(30)优先权数据

62/172,802 2015.06.08 US

62/173,339 2015.06.09 US

62/308,745 2016.03.15 US

62/321,686 2016.04.12 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.11.02

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/036257 2016.06.07

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/200836 EN 2016.12.15

(71)申请人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 I·P·里 J·金 M·侯赛尼

E·斯特法尼奇 S·苏库马兰

C·李

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 岑晓东

(51)Int.Cl.

A61K 39/395(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

C12Q 1/6886(2018.01)

权利要求书4页 说明书112页

序列表89页 附图6页

(54)发明名称

使用抗OX40抗体治疗癌症的方法

(57)摘要

本发明提供在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,其包括对该个体施用抗人OX40激动性抗体。在一些实施方案中,该抗体以选自约0.2mg,约0.8mg,约3.2mg,约12mg,约40mg,约80mg,约130mg,约160mg,约300mg,约320mg,约400mg,约600mg,和约1200mg的剂量施用。

1. 一种在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,其包括以选自下组的剂量对该个体施用抗人OX40激动性抗体:约0.2mg,约0.8mg,约3.2mg,约12mg,约40mg,约80mg,约130mg,约160mg,约300mg,约320mg,约400mg,约600mg,和约1200mg,其中该抗体包含(a)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含选自SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3,且其中该个体是人。

2. 权利要求1的方法,其中该剂量是约300mg。

3. 权利要求1或权利要求2的方法,其中静脉内施用该剂量。

4. 权利要求1-3任一项的方法,其进一步包括以一个或多个额外的剂量重复该抗人OX40激动性抗体的施用,其中该一个或多个额外的剂量中的每一个剂量选自下组:约0.2mg,约0.8mg,约3.2mg,约12mg,约40mg,约80mg,约130mg,约160mg,约300mg,约320mg,约400mg,约600mg,和约1200mg每次施用且是以每一次施用之间约2周或约14天的间隔施用的。

5. 权利要求1-3任一项的方法,其进一步包括以一个或多个额外的剂量重复该抗人OX40激动性抗体的施用,其中该一个或多个额外的剂量中的每一个剂量选自下组:约0.2mg,约0.8mg,约3.2mg,约12mg,约40mg,约80mg,约130mg,约160mg,约300mg,约320mg,约400mg,约600mg,和约1200mg每次施用且是以每一次施用之间约3周或约21天的间隔施用的。

6. 权利要求4或权利要求5的方法,其中施用1-10个额外的剂量的该抗人OX40激动性抗体。

7. 权利要求4-6任一项的方法,其中施用于该个体的该抗人OX40激动性抗体的每一个剂量是相同的。

8. 权利要求4-6任一项的方法,其中施用于该个体的该抗人OX40激动性抗体的每一个剂量不是相同的。

9. 权利要求1-8任一项的方法,其中静脉内施用该抗人OX40激动性抗体的每一个剂量。

10. 权利要求9的方法,其中以第一速率将第一个剂量的该抗人OX40激动性抗体施用于该个体的,其中,在该第一个剂量的施用之后,以一个或多个后续速率将一个或多个额外的剂量的该抗人OX40激动性抗体施用于该个体,且其中该第一速率比该一个或多个后续速率要慢。

11. 权利要求1-10任一项的方法,其中该抗人OX40激动性抗体是人源化抗体。

12. 权利要求1-11任一项的方法,其中其中该抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 183, 或184具有至少90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。

13. 权利要求12的方法,其中具有至少90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 或99%同一性的VH序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合人OX40的能力。

14. 权利要求12或权利要求13的方法,其中在SEQ ID NO:56中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。

15. 权利要求1-14任一项的方法,其中该抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:57,59,61,63,65,67,或69具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。

16. 权利要求15的方法,其中具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合人OX40的能力。

17. 权利要求15或权利要求16的方法,其中在SEQ ID NO:57中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。

18. 权利要求1-17任一项的方法,其中该抗体包含VH序列SEQ ID NO:56。

19. 权利要求1-18任一项的方法,其中该抗体包含VL序列SEQ ID NO:57。

20. 权利要求1-19任一项的方法,其中该抗体包含VH序列SEQ ID NO:56和VL序列SEQ ID NO:57。

21. 权利要求1-20任一项的方法,其中该抗体是全长人IgG1抗体。

22. 权利要求1-21任一项的方法,其中该抗体是MOXR0916。

23. 权利要求1-22任一项的方法,其中该抗体在包含下述各项的药物配制剂中配制:(a) 该抗体,处于介于约10mg/mL和约100mg/mL之间的浓度,(b) 聚山梨酯,其中该聚山梨酯的浓度为约0.02%至约0.06%;(c) 组氨酸缓冲液,处于pH 5.0至6.0;和(d) 糖,其中该糖的浓度为约120mM至约320mM。

24. 权利要求1-23任一项的方法,其中在该治疗停止之后该治疗在该个体中导致持久响应。

25. 权利要求1-24任一项的方法,其中该治疗在该个体中导致完全响应(CR)或部分响应(PR)。

26. 权利要求1-25任一项的方法,其中该个体未接受过免疫疗法。

27. 权利要求1-26任一项的方法,其中该个体具有选自下组的癌症:黑素瘤,三重阴性乳腺癌,卵巢癌,肾细胞癌,膀胱癌,非小细胞肺癌,胃癌,和结直肠癌。

28. 权利要求27的方法,其中该个体具有黑素瘤,其中该黑素瘤具有BRAFV600突变,且其中,在该抗人OX40激动性抗体的施用前,该个体已经用B-Raf和/或丝裂原活化的蛋白质激酶激酶(MEK) 激酶抑制剂治疗过且对该B-Raf和/或丝裂原活化的蛋白质激酶激酶(MEK) 激酶抑制剂治疗展现疾病进展或不耐受。

29. 权利要求27的方法,其中该个体具有非小细胞肺癌,其中该非小细胞肺癌具有敏化性表皮生长因子受体(EGFR) 突变,且其中,在该抗人OX40激动性抗体的施用前,该个体已经用EGFR酪氨酸激酶抑制剂治疗过且对该EGFR酪氨酸激酶抑制剂治疗展现疾病进展或不耐受。

30. 权利要求27的方法,其中该个体具有非小细胞肺癌,其中该非小细胞肺癌具有间变性淋巴瘤激酶(ALK) 重排,且其中,在该抗人OX40激动性抗体的施用前,该个体已经用ALK酪氨酸激酶抑制剂治疗过且对该ALK酪氨酸激酶抑制剂治疗展现疾病进展或不耐受。

31. 权利要求27的方法,其中该个体具有肾细胞癌,且其中该肾细胞癌对在先疗法不应。

32. 权利要求31的方法,其中该在先疗法包含用VEGF抑制剂,mTOR抑制剂,或二者治疗。

33. 权利要求1的方法,其中该抗人OX40激动性抗体是MOXR0916,其中MOXR0916的剂量是300mg,且其中该癌症选自下组:黑素瘤,三重阴性乳腺癌,卵巢癌,肾细胞癌,膀胱癌,非小细胞肺癌,胃癌,和结直肠癌。

34. 权利要求33的方法,其进一步包括以一个或多个额外的300mg每次施用的剂量重复MOXR0916的施用,以每一次施用之间约3周或约21天的间隔施用。

35. 权利要求33或权利要求34的方法,其中静脉内施用MOXR0916。

36. 权利要求1-35任一项的方法,其进一步包括在对该个体施用该抗人OX40激动性抗体之后,通过下述各项监测该个体对所述治疗的响应性:

(a) 测量自该个体的癌症获得的样品中一种或多种标志物基因的表达水平,其中该一种或多种标志物基因选自下组:CCR5,CD274,IL-7,TNFRSF14,TGFB1,CD40,CD4,PRF1,TNFSF4,CD86,CXCL9,CD3E,LAG3,PDCD1,CCL28,GZMB,IFNg,和IL-2RA;并

(b) 任选地,基于与参照相比该样品中该一种或多种标志物基因的表达水平将该个体归类为对该抗人OX40激动性抗体治疗响应性或非响应性的,其中该一种或多种标志物基因的表达水平与该参照相比升高指示响应性个体。

37. 权利要求1-35任一项的方法,其进一步包括在对该个体施用该抗人OX40激动性抗体之后,通过下述各项监测该个体对所述治疗的响应性:

(a) 测量自该个体的癌症获得的样品中一种或多种标志物基因的表达水平,其中该一种或多种标志物基因选自下组:CD8b,EOMES,GZMA,GZMB,IFNg,和PRF1;并

(b) 任选地,基于与参照相比该样品中该一种或多种标志物基因的表达水平将该个体归类为对该抗人OX40激动性抗体治疗响应性或非响应性的,其中该一种或多种标志物基因的表达水平与该参照相比升高指示响应性个体。

38. 权利要求1-35任一项的方法,其进一步包括在对该个体施用该抗人OX40激动性抗体之后,通过下述各项监测该个体对所述治疗的响应性:

(a) 测量自该个体的癌症获得的样品中一种或多种标志物基因的表达水平,其中该一种或多种标志物基因选自下组:CCL22,IL-2,RORC,IL-8,CTLA4,和FOXP3;并

(b) 任选地,基于与参照相比该样品中该一种或多种标志物基因的表达水平将该个体归类为对该抗人OX40激动性抗体治疗响应性或非响应性的,其中该一种或多种标志物基因的表达水平与该参照相比降低指示响应性个体。

39. 一种用于确定癌症患者是否响应抗人OX40激动性抗体治疗的方法,其包括测量自该个体的癌症获得的样品中一种或多种标志物基因的表达水平,其中该一种或多种标志物基因选自下组:CCR5,CD274,IL-7,TNFRSF14,TGFB1,CD40,CD4,PRF1,TNFSF4,CD86,CXCL9,CD3E,LAG3,PDCD1,CCL28,GZMB,IFNg,和IL-2RA,其中将该一种或多种标志物基因的表达水平与参照比较,且其中该一种或多种标志物基因的表达水平与该参照相比升高指示该癌症患者响应所述治疗。

40. 一种用于确定癌症患者是否响应抗人OX40激动性抗体治疗的方法,其包括测量自该个体的癌症获得的样品中一种或多种标志物基因的表达水平,其中该一种或多种标志物基因选自下组:CD8b,EOMES,GZMA,GZMB,IFNg,和PRF1,其中将该一种或多种标志物基因的表达水平与参照比较,且其中该一种或多种标志物基因的表达水平与该参照相比升高指示该癌症患者响应所述治疗。

41. 一种用于确定癌症患者是否响应抗人OX40激动性抗体治疗的方法,其包括测量自该个体的癌症获得的样品中一种或多种标志物基因的表达水平,其中该一种或多种标志物基因选自下组:CCL22, IL-2, RORC, IL-8, CTLA4, 和FOXP3,其中将该一种或多种标志物基因的表达水平与参照比较,且其中该一种或多种标志物基因的表达水平与该参照相比降低指示该癌症患者响应所述治疗。

42. 一种用于在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的试剂盒,其包含:

(a) 容器,其装有用于以选自下组的剂量施用的抗人OX40激动性抗体:约0.2mg,约0.8mg,约3.2mg,约12mg,约40mg,约80mg,约130mg,约160mg,约300mg,约320mg,约400mg,约600mg,和约1200mg,其中该抗体包含:包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1;包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2;包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3;包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和包含选自SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;和

(b) 包装插页,其印有关于在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的说明书,其中该个体是人。

使用抗OX40抗体治疗癌症的方法

[0001] 对相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2015年6月8日提交的流水号62/172,802的美国临时申请;2015年6月9日提交的流水号62/173,339的美国临时申请;2016年3月15日提交的流水号62/308,745的美国临时申请;和2016年4月12日提交的流水号62/321,686的美国临时申请的优先权,通过援引将其每一篇完整收入本文。

[0003] ASCII文本文件上的序列表的提交

[0004] 通过援引将ASCII文本文件上的下述提交的内容完整收入本文:计算机可读形式(CRF)的序列列表(文件名称:146392033740SEQLIST.txt,记录日期:2016年5月31日,大小:141KB)。

发明领域

[0005] 本发明涉及使用抗OX40抗体治疗癌症的方法。

[0006] 发明背景

[0007] OX40(也称作CD34,TNFRSF4和ACT35)是肿瘤坏死因子受体超家族的一个成员。OX40不在幼稚T细胞上组成性表达,但是在T细胞受体(TCR)卷入后诱导。OX40的配体OX40L主要在抗原呈递细胞上表达。OX40由活化后的CD4+T细胞,活化后的CD8+T细胞,记忆T细胞,和调节T细胞高表达。OX40信号传导能给CD4和CD8T细胞提供共刺激信号,引起增强的细胞增殖,存活,效应器功能和迁移。OX40信号传导还增强记忆T细胞发育和功能。

[0008] 调节T细胞(Treg)细胞在自多种癌症适应症(包括黑素瘤,NSCLC,肾癌,卵巢癌,结肠癌,胰腺癌,肝细胞癌,和乳腺癌)衍生的肿瘤和肿瘤引流淋巴结中高度富集。在这些适应症的子集中,升高的肿瘤内Treg细胞密度与较差的患者预后有关,提示这些细胞在遏制抗肿瘤免疫中发挥重要作用。OX40阳性肿瘤浸润性淋巴细胞已有记载。

[0009] 清楚的是仍然需要具有最适于开发成治疗剂的临床属性的药剂。本文所述发明满足了这些需求并提供了其它好处。

[0010] 通过援引将本文中引用的所有参考文献(包括专利申请和出版物)完整收入本文。

[0011] 发明概述

[0012] 一方面,本文中提供的是在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,其包括对该个体施用选自下组的剂量的抗人OX40激动性抗体:约0.2mg,约0.8mg,约3.2mg,约12mg,约40mg,约130mg,约400mg,和约1200mg,其中该抗体包含(a)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含选自SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3,且其中该个体是人。

[0013] 另一方面,本文中提供的是一种在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,其包括以选自下组的剂量对该个体施用抗人OX40激动性抗体:约0.2mg,约0.8mg,约3.2mg,约12mg,约40mg,约80mg,约130mg,约160mg,约300mg,约320mg,约400mg,约600mg,和约1200mg每次施用,其中该抗体包含(a)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID

NO:3的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含选自SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3, 且其中该个体是人。

[0014] 在一些实施方案中, 该方法进一步包括以一个或多个额外的剂量重复该抗人OX40激动性抗体的施用, 其中该一个或多个额外的剂量中的每一个剂量选自下组: 约0.2mg, 约0.8mg, 约3.2mg, 约12mg, 约40mg, 约80mg, 约130mg, 约160mg, 约300mg, 约320mg, 约400mg, 约600mg, 和约1200mg每次施用且是以每一次施用之间约2周或约14天的间隔施用的。在一些实施方案中, 该方法进一步包括以一个或多个额外的剂量重复该抗人OX40激动性抗体的施用, 其中该一个或多个额外的剂量中的每一个剂量选自下组: 约0.2mg, 约0.8mg, 约3.2mg, 约12mg, 约40mg, 约80mg, 约130mg, 约160mg, 约300mg, 约320mg, 约400mg, 约600mg, 和约1200mg每次施用且是以每一次施用之间约3周或约21天的间隔施用的。

[0015] 另一方面, 本文中提供的是一种用于在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的试剂盒, 其包含: (a) 容器, 其装有为了以选自下组的剂量施用而配制的抗人OX40激动性抗体: 约0.2mg, 约0.8mg, 约3.2mg, 约12mg, 约40mg, 约80mg, 约130mg, 约160mg, 约300mg, 约320mg, 约400mg, 约600mg, 和约1200mg, 其中该抗人OX40激动性抗体包含: 包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1; 包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2; 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3; 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2; 和包含选自SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3; 和(b) 包装插页, 其印有关于在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的说明书, 其中该个体是人。在一些实施方案中, 该说明书关于使用本文中描述的任何方法在个体中治疗癌症或延迟癌症进展。

[0016] 在一些实施方案中, 静脉内施用该剂量。在一些实施方案中, 该剂量是约300mg。

[0017] 在一些实施方案中, 该方法进一步包括: (a) 在施用该抗体之后, 对该个体监测不良事件和/或治疗功效; 并(b) 如果该个体不展现不良事件的话, 和/或如果该治疗展现功效的话, 对该个体施用第二个剂量的该抗人OX40激动性抗体, 其中该第二个剂量选自下组: 约0.2mg, 约0.8mg, 约3.2mg, 约12mg, 约40mg, 约130mg, 约400mg, 和约1200mg该抗人OX40激动性抗体。在一些实施方案中, 该方法进一步包括对该个体施用第二个剂量的该抗人OX40激动性抗体, 直至在该第一个剂量之后约2周至约4周才提供该第二个剂量, 其中该第二个剂量选自下组: 约0.2mg, 约0.8mg, 约3.2mg, 约12mg, 约40mg, 约130mg, 约400mg, 和约1200mg该抗人OX40激动性抗体。在一些实施方案中, 直至在该第一个剂量之后约3周才提供该第二个剂量。在一些实施方案中, 直至在该第一个剂量之后约21天才提供该第二个剂量。在一些实施方案中, 该抗人OX40激动性抗体的该第二个剂量比该抗人OX40激动性抗体的该第一个剂量要大。在一些实施方案中, 静脉内施用该第一个剂量和该第二个剂量。

[0018] 另一方面, 本文中提供的是一种在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法, 其包括以选自下组的剂量对该个体施用抗人OX40激动性抗体: 约0.2mg, 约0.8mg, 约3.2mg, 约12mg, 约40mg, 约80mg, 约130mg, 约160mg, 约300mg, 约320mg, 约400mg, 约600mg, 和约1200mg, 其中该抗人OX40激动性抗体包含(a) 包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1; (b) 包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2; (c) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3; (d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1; (e) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2; 和(f) 包含选自SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3; 其中该个体是人。在一些实施方案

中,该方法进一步包括以每一次施用之间约3周或约21天的间隔重复该抗人OX40激动性抗体的施用。

[0019] 另一方面,本文中提供的是一种用于在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的试剂盒,其包含:(a)容器,其装有为了以选自下组的剂量以每一次施用之间约3周或约21天的间隔施用而配制的抗人OX40激动性抗体:约0.8mg,约3.2mg,约12mg,约40mg,约80mg,约130mg,约160mg,约300mg,约320mg,约400mg,约600mg,和约1200mg每次施用,其中该抗人OX40激动性抗体包含:包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1;包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2;包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3;包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和包含选自SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;和(b)包装插页,其印有关于在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的说明书,其中该个体是人。

[0020] 另一方面,本文中提供的是一种在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,其包括以选自下组的剂量对该个体施用抗人OX40激动性抗体:约0.5mg,约2mg,约8mg,约27mg,约53mg,约87mg,约107mg,约200mg,约213mg,约267mg,约400mg,和约800mg,其中该抗人OX40激动性抗体包含(a)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含选自SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;其中该个体是人。在一些实施方案中,该方法进一步包括以每一次施用之间约2周或约14天的间隔重复该抗人OX40激动性抗体的施用。

[0021] 另一方面,本文中提供的是一种用于在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的试剂盒,其包含:(a)容器,其装有为了以选自下组的剂量以每一次施用之间约2周或约14天的间隔施用而配制的抗人OX40激动性抗体:约0.5mg,约2mg,约8mg,约27mg,约53mg,约87mg,约107mg,约200mg,约213mg,约267mg,约400mg,和约800mg每次施用,其中该抗人OX40激动性抗体包含:包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1;包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2;包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3;包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和包含选自SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3;和(b)包装插页,其印有关于在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的说明书,其中该个体是人。

[0022] 在一些实施方案中,施用1-10个额外的剂量的该抗人OX40激动性抗体。

[0023] 在一些实施方案中,施用于该个体的该抗人OX40激动性抗体的每一个剂量是相同的。在一些实施方案中,施用于该个体的该抗人OX40激动性抗体的每一个剂量不是相同的。在一些实施方案中,静脉内施用该抗人OX40激动性抗体的每一个剂量。在一些实施方案中,以第一速率第一个剂量的该抗人OX40激动性抗体施用于该个体,其中,在该第一个剂量的施用之后,以一个或多个后续速率将一个或多个额外的剂量的该抗人OX40激动性抗体施用于该个体,且其中该第一速率比该一个或多个后续速率要慢。

[0024] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体是人或人源化抗体。在一些实施方案中,该抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:56,58,60,62,64,66,68,183,或184具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在一些实施方案中,该具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,

97%，98%，或99%同一性的VH序列相对于参照序列含有替代（例如保守替代），插入，或删除，但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合人OX40的能力。在一些实施方案中，在SEQ ID NO:56中替代，插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在一些实施方案中，该抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:57,59,61,63,65,67,或69具有至少90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，99%，或100%序列同一性的轻链可变域（VL）。在一些实施方案中，该具有至少90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，或99%同一性的VL序列相对于参照序列含有替代（例如保守替代），插入，或删除，但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合人OX40的能力。在一些实施方案中，在SEQ ID NO:57中替代，插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在一些实施方案中，该抗体包含VH序列SEQ ID NO:56。在一些实施方案中，该抗体包含VL序列SEQ ID NO:57。在一些实施方案中，该抗体包含VH序列SEQ ID NO:56和VL序列SEQ ID NO:57。在一些实施方案中，该抗体是全长人IgG1抗体。在一些实施方案中，该抗体是MOXR0916。

[0025] 在一些实施方案中，该抗体在包含下述各项的药物配制剂中配制：(a) 该抗体，处于介于约10mg/mL和约100mg/mL之间的浓度，(b) 聚山梨酯，其中该聚山梨酯的浓度为约0.02%至约0.06%；(c) 组氨酸缓冲液，处于pH5.0至6.0；和(d) 糖，其中该糖的浓度为约120mM至约320mM。

[0026] 在一些实施方案中，在该治疗停止之后该治疗在该个体中导致持久响应。在一些实施方案中，该治疗在该个体中导致完全响应（CR）或部分响应（PR）。

[0027] 在一些实施方案中，该个体未接受过免疫疗法。在一些实施方案中，该个体具有选自下组的癌症：黑素瘤，三重阴性乳腺癌，卵巢癌，肾细胞癌，膀胱癌，非小细胞肺癌，胃癌，和结直肠癌。在一些实施方案中，该个体具有黑素瘤，该黑素瘤具有BRAF V600突变，而且，在该抗人OX40激动性抗体的施用前，该个体已经用B-Raf和/或丝裂原活化的蛋白质激酶激酶（MEK）激酶抑制剂治疗过且对该B-Raf和/或丝裂原活化的蛋白质激酶激酶（MEK）激酶抑制剂治疗展现疾病进展或不耐受。在一些实施方案中，该个体具有非小细胞肺癌，该非小细胞肺癌具有敏化性表皮生长因子受体（EGFR）突变，而且，在该抗人OX40激动性抗体的施用前，该个体已经用EGFR酪氨酸激酶抑制剂治疗过且对该EGFR酪氨酸激酶抑制剂治疗展现疾病进展或不耐受。在一些实施方案中，该个体具有非小细胞肺癌，该非小细胞肺癌具有间变性淋巴瘤激酶（ALK）重排，而且，在该抗人OX40激动性抗体的施用前，该个体已经用ALK酪氨酸激酶抑制剂治疗过且对该ALK酪氨酸激酶抑制剂治疗展现疾病进展或不耐受。在一些实施方案中，该个体具有肾细胞癌，且该肾细胞癌对在先疗法不应。在一些实施方案中，该在先疗法包含用VEGF抑制剂，mTOR抑制剂，或二者治疗。

[0028] 另一方面，本文中提供的是抗人OX40激动性抗体在制造用于在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的药物中的用途，其中该药物包含以选自下组的剂量配制的抗人OX40激动性抗体：约0.8mg，约3.2mg，约12mg，约40mg，约80mg，约130mg，约160mg，约300mg，约320mg，约400mg，约600mg，和约1200mg每次施用，其中该抗人OX40激动性抗体包含 (a) 包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1；(b) 包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2；(c) 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3；(d) 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1；(e) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2；和(f) 包含选自SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中，该个体是人。

[0029] 另一方面,本文中提供的是抗人OX40激动性抗体在制造用于在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的药物中的用途,其中第一药物包含为了以选自下组的剂量以每一次施用之间约3周或约21天的间隔施用而配制的抗人OX40激动性抗体:约0.8mg,约3.2mg,约12mg,约40mg,约80mg,约130mg,约160mg,约300mg,约320mg,约400mg,约600mg,和约1200mg每次施用,其中该抗人OX40激动性抗体包含(a)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含选自SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该个体是人。

[0030] 另一方面,本文中提供的是抗人OX40激动性抗体在制造用于与第二药物联合在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的药物中的用途,其中该药物包含为了以选自下组的剂量以每一次施用之间约2周或约14天的间隔施用而配制的抗人OX40激动性抗体:约0.5mg,约2mg,约8mg,约27mg,约53mg,约87mg,约107mg,约200mg,约213mg,约267mg,约400mg,和约800mg每次施用,其中该抗人OX40激动性抗体包含(a)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含选自SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,该个体是人。

[0031] 在一些实施方案中,本文中提供的是一种在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,其包括以约300mg的剂量对该个体施用MOXR0916,其中该癌症选自下组:黑素瘤,三重阴性乳腺癌,卵巢癌,肾细胞癌,膀胱癌,非小细胞肺癌,胃癌,和结直肠癌。在一些实施方案中,该方法进一步包括以约300mg每次施用的剂量重复MOXR0916的施用,且以各施用之间约3周或约21天的间隔重复该施用。在一些实施方案中,该癌症是RCC。在一些实施方案中,该癌症是RCC,且该癌症对包含VEGF抑制剂和/或mTOR抑制剂的治疗不应。在一些实施方案中,静脉内施用MOXR0916。

[0032] 在一些实施方案中,本文中提供的是一种在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,其包括以约160mg的剂量对该个体施用MOXR0916,其中该癌症选自下组:黑素瘤,三重阴性乳腺癌,卵巢癌,肾细胞癌,膀胱癌,非小细胞肺癌,胃癌,和结直肠癌。在一些实施方案中,该方法进一步包括以160mg每次施用的剂量重复MOXR0916的施用,且以各施用之间约3周或约21天的间隔重复该施用。在一些实施方案中,该癌症是RCC。在一些实施方案中,该癌症是RCC,且该癌症对包含VEGF抑制剂和/或mTOR抑制剂的治疗不应。在一些实施方案中,静脉内施用MOXR0916。

[0033] 在一些实施方案中,本文中提供的是一种在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,其包括以约320mg的剂量对该个体施用MOXR0916,其中该癌症选自下组:黑素瘤,三重阴性乳腺癌,卵巢癌,肾细胞癌,膀胱癌,非小细胞肺癌,胃癌,和结直肠癌。在一些实施方案中,该方法进一步包括以约320mg每次施用的剂量重复MOXR0916的施用,且以各施用之间约3周或约21天的间隔重复该施用。在一些实施方案中,该癌症是RCC。在一些实施方案中,该癌症是RCC,且该癌症对包含VEGF抑制剂和/或mTOR抑制剂的治疗不应。在一些实施方案中,静脉内施用MOXR0916。

[0034] 在一些实施方案中,本文中提供的是一种在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方

法,其包括以约400mg的剂量对该个体施用MOXR0916,其中该癌症选自下组:黑素瘤,三重阴性乳腺癌,卵巢癌,肾细胞癌,膀胱癌,非小细胞肺癌,胃癌,和结直肠癌。在一些实施方案中,该方法进一步包括以约400mg每次施用的剂量重复MOXR0916的施用,且以各施用之间约3周或约21天的间隔重复该施用。在一些实施方案中,该癌症是RCC。在一些实施方案中,该癌症是RCC,且该癌症对包含VEGF抑制剂和/或mTOR抑制剂的治疗不应。在一些实施方案中,静脉内施用MOXR0916。

[0035] 在任何上述实施方案的一些实施方案中,该方法可进一步包括在对该个体施用该抗人OX40激动性抗体之后,通过下述各项监测该个体对所述治疗的响应性:(a) 测量自该个体的癌症获得的样品中一种或多种标志物基因的表达水平,其中该一种或多种标志物基因选自下组:CCR5,CD274,IL-7,TNFRSF14,TGFB1,CD40,CD4,PRF1,TNFSF4,CD86,CXCL9,CD3E,LAG3,PDCD1,CCL28,GZMB,IFNg,和IL-2RA;并(b) 任选地,基于与参照相比该样品中该一种或多种标志物基因的表达水平将该个体归类为对该抗人OX40激动性抗体治疗响应性或非响应性的,其中该一种或多种标志物基因的表达水平与该参照相比升高指示响应性个体。在任何上述实施方案的一些实施方案中,该方法可进一步包括在对该个体施用该抗人OX40激动性抗体之后,通过下述各项监测该个体对所述治疗的响应性:(a) 测量自该个体的癌症获得的样品中一种或多种标志物基因的表达水平,其中该一种或多种标志物基因选自下组:CD8b,EOMES,GZMA,GZMB,IFNg,和PRF1;并(b) 任选地,基于与参照相比该样品中该一种或多种标志物基因的表达水平将该个体归类为对该抗人OX40激动性抗体治疗响应性或非响应性的,其中该一种或多种标志物基因的表达水平与该参照相比升高指示响应性个体。在任何上述实施方案的一些实施方案中,该方法可进一步包括在对该个体施用该抗人OX40激动性抗体之后,通过下述各项监测该个体对所述治疗的响应性:(a) 测量自该个体的癌症获得的样品中一种或多种标志物基因的表达水平,其中该一种或多种标志物基因选自下组:CCL22,IL-2,RORC,IL-8,CTLA4,和FOXP3;并(b) 任选地,基于与参照相比该样品中该一种或多种标志物基因的表达水平将该个体归类为对该抗人OX40激动性抗体治疗响应性或非响应性的,其中该一种或多种标志物基因的表达水平与该参照相比降低指示响应性个体。

[0036] 另一方面,本文中提供的是一种用于确定癌症患者是否响应抗人OX40激动性抗体治疗的方法,其包括测量自该个体的癌症获得的样品中一种或多种标志物基因的表达水平,其中该一种或多种标志物基因选自下组:CCR5,CD274,IL-7,TNFRSF14,TGFB1,CD40,CD4,PRF1,TNFSF4,CD86,CXCL9,CD3E,LAG3,PDCD1,CCL28,GZMB,IFNg,和IL-2RA,其中将该一种或多种标志物基因的表达水平与参照比较,且其中该一种或多种标志物基因的表达水平与该参照相比升高指示该癌症患者响应所述治疗。另一方面,本文中提供的是一种用于确定癌症患者是否响应抗人OX40激动性抗体治疗的方法,其包括测量自该个体的癌症获得的样品中一种或多种标志物基因的表达水平,其中该一种或多种标志物基因选自下组:CD8b,EOMES,GZMA,GZMB,IFNg,和PRF1,其中将该一种或多种标志物基因的表达水平与参照比较,且其中该一种或多种标志物基因的表达水平与该参照相比升高指示该癌症患者响应所述治疗。另一方面,本文中提供的是一种用于确定癌症患者是否响应抗人OX40激动性抗体治疗的方法,其包括测量自该个体的癌症获得的样品中一种或多种标志物基因的表达水平,其中该一种或多种标志物基因选自下组:CCL22,IL-2,RORC,IL-8,CTLA4,和FOXP3,其中

将该一种或多种标志物基因的表达水平与参照比较,且其中该一种或多种标志物基因的表达水平与该参照相比降低指示该癌症患者响应所述治疗。

[0037] 要理解,可以组合本文所述各个实施方案的一个,一些,或所有特性以形成本发明的其它实施方案。本发明的这些和其它方面对本领域技术人员会变得显而易见。通过下面的详述进一步描述本发明的这些和其它实施方案。

[0038] 附图简述

[0039] 图1提供研究设计和建议队列的图表。

[0040] 图2提供作为自第一个剂量起的时间的函数,不同剂量组的MOXR0916的均值血清浓度的药动学(PK)图。

[0041] 图3A-3G提供0.2mg(图3A),3.2mg(图3B),12mg(图3C),40mg(图3D),80mg(图3E),160mg(图3F),和300mg(图3G)的MOXR0916剂量时CD4⁺T-细胞上的OX40受体占据(%)的图。

[0042] 图4显示在用MOXR0916治疗之前(“给药前”)和之后(“给药后”)一些肿瘤活检中效应T细胞(Teff)基因签名的表达。标示了肿瘤的类型和施用的MOXR0916剂量。Teff基因签名代表活化的T效应器表型且包括CD8b, EOMES, 粒酶A, 粒酶B, 干扰素 γ , 和穿孔素的均值表达水平。

[0043] 图5显示来自以3.2mg的剂量用MOXR0916治疗的患者的RCC肿瘤的活检中的肿瘤免疫调控。作为相对于给药前水平的给药后倍数变化报告肿瘤基因表达。

[0044] 发明详述

[0045] I. 定义

[0046] 术语“功能障碍”在免疫功能障碍的背景中指降低的对抗原性刺激的免疫响应性的状态。

[0047] 如本文中使用的,术语“功能障碍”还包括对抗原识别的不感受或不响应,特别地,将抗原识别转化成下游T细胞效应器功能,诸如增殖,细胞因子生成(例如 γ 干扰素)和/或靶细胞杀伤的能力受损。

[0048] “增强T细胞功能”意指诱导,引起或刺激效应或记忆T细胞具有更新,持续或放大的生物学功能。增强T细胞功能的例子包括:相对于干预前的此类水平,升高的来自CD8⁺效应T细胞的 γ -干扰素分泌,升高的来自CD4⁺记忆和/或效应T细胞的 γ -干扰素分泌,升高的CD4⁺效应和/或记忆T细胞增殖,升高的CD8⁺效应T细胞增殖,升高的抗原响应性(例如清除)。在一个实施方案中,增强的水平是至少50%,或者60%,70%,80%,90%,100%,120%,150%,200%。测量此增强的方式是本领域普通技术人员已知的。

[0049] “肿瘤免疫”指肿瘤逃避免疫识别和清除的过程。如此,作为治疗概念,肿瘤免疫在此类逃避减弱时得到“治疗”,并且肿瘤被免疫系统识别并攻击。肿瘤识别的例子包括肿瘤结合,肿瘤收缩和肿瘤清除。

[0050] “持久响应”指在停止治疗后对降低肿瘤生长的持续影响。例如,与施用阶段开始时的大小相比,肿瘤大小可以保持为相同或更小。在一些实施方案中,持久响应具有与治疗持续时间至少相同的持续时间,治疗持续时间的至少1.5倍,2.0倍,2.5倍,或3.0倍长度。

[0051] “免疫原性”指特定物质引发免疫应答的能力。肿瘤是免疫原性的,并且增强肿瘤免疫原性有助于通过免疫应答清除肿瘤细胞。

[0052] 出于本文中的目的,“受体人框架”指包含自人免疫球蛋白框架或如下文定义的人

共有框架衍生的轻链可变域 (VL) 框架或重链可变域 (VH) 框架的氨基酸序列的框架。自人免疫球蛋白框架或人共有框架“衍生”的受体人框架可以包含其相同的氨基酸序列,或者它可以含有氨基酸序列变化。在一些实施方案中,氨基酸变化的数目是10或更少,9或更少,8或更少,7或更少,6或更少,5或更少,4或更少,3或更少,或2或更少。在一些实施方案中,VL受体人框架与VL人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列在序列上相同。

[0053] “亲和力”指分子(例如抗体)的单一结合位点与其结合配偶体(例如抗原)之间全部非共价相互作用总和的强度。除非另有指示,如本文中使用的,“结合亲和力”指反映结合对的成员(例如抗体和抗原)之间1:1相互作用的内在结合亲和力。分子X对其配偶体Y的亲和力通常可以用解离常数(Kd)来表述。亲和力可以通过本领域知道的常用方法来测量,包括本文中所描述的方法。下文描述了用于测量结合亲和力的具体的说明性和例示性的实施方案。

[0054] 如本文中使用的,“激动性抗体”指活化它所结合的抗原的生物学活性的抗体。

[0055] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”指其中结合到某些细胞毒性细胞(例如NK细胞,嗜中性粒细胞和巨噬细胞)上存在的Fc受体(FcR)上的分泌型免疫球蛋白使得这些细胞毒性效应细胞能够特异性结合携带抗原的靶细胞,随后用细胞毒素杀死靶细胞的细胞毒性形式。介导ADCC的主要细胞,NK细胞,只表达Fc γ RIII,而单核细胞表达Fc γ RI,Fc γ RII和Fc γ RIII。Ravetch and Kinet,Annu.Rev.Immunol.9:457-92(1991)第464页表3总结了造血细胞上的FcR表达。为了评估目的分子的ADCC活性,可进行体外ADCC测定法,诸如美国专利No.5,500,362或5,821,337或美国专利No.6,737,056(Presta)中所记载的。可用于此类测定法的效应细胞包括PBMC和NK细胞。或者/另外,可在体内评估目的分子的ADCC活性,例如在动物模型中,诸如Clynes et al.,PNAS(USA)95:652-656(1998)中所披露的。

[0056] 术语“抗OX40抗体”和“结合OX40的抗体”指能够以足够亲和力结合OX40,使得该抗体可作为诊断剂和/或治疗剂用于靶向OX40的抗体。在一个实施方案中,根据例如通过放射免疫测定法(RIA)的测量,抗OX40抗体结合无关的,非OX40的蛋白质的程度小于该抗体对OX40的结合的约10%。在某些实施方案中,结合OX40的抗体具有 $\leq 1\mu\text{M}$, $\leq 100\text{nM}$, $\leq 10\text{nM}$, $\leq 1\text{nM}$, $\leq 0.1\text{nM}$, $\leq 0.01\text{nM}$,或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如 10^{-8}M 或更少,例如 10^{-8}M 到 10^{-13}M ,例如 10^{-9}M 到 10^{-13}M)的解离常数(Kd)。在某些实施方案中,抗OX40抗体结合在来自不同物种的OX40中保守的OX40表位。

[0057] 如本文中使用的,术语“结合”,“特异性结合”或“对.....特异性的”指可测量且可再现的相互作用,诸如靶物和抗体之间的结合,其确定在存在分子(包括生物学分子)的异质群体的情况中靶物的存在。例如,结合或特异性结合靶物(其可以是表位)的抗体是比比其结合其它靶物更大的亲和力,亲合力,更容易,和/或以更大的持续时间结合此靶物的抗体。在一个实施方案中,抗体结合无关靶物的程度小于抗体结合靶物的约10%,如例如通过放射性免疫测定法(RIA)测量的。在某些实施方案中,特异性结合靶物的抗体具有 $\leq 1\mu\text{M}$, $\leq 100\text{nM}$, $\leq 10\text{nM}$, $\leq 1\text{nM}$,或 $\leq 0.1\text{nM}$ 的解离常数(Kd)。在某些实施方案中,抗体特异性结合蛋白质上在来自不同物种的蛋白质间保守的表位。在另一个实施方案中,特异性结合可以包括但不需要排他结合。

[0058] 本文中的术语“抗体”以最广义使用,并且涵盖各种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体,多克隆抗体,多特异性抗体(例如双特异性抗体),和抗体片段,只要它们展现出期

望的抗原结合活性。

[0059] “抗体片段”指与完整抗体不同的分子,其包含完整抗体的一部分且结合完整抗体结合的抗原。抗体片段的例子包括但不限于Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 双抗体; 线性抗体; 单链抗体分子(例如scFv); 和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0060] 与参照抗体“结合相同表位的抗体”指在竞争测定法中将参照抗体对其抗原的结合阻断50%或更多的抗体,且相反,参照抗体在竞争测定法中将该抗体对其抗原的结合阻断50%或更多。本文中提供了例示性的竞争测定法。

[0061] 术语“结合结构域”指多肽中能结合另一分子的区域。在FcR的情况中,结合结构域可以包含其多肽链(例如其α链)中负责Fc区结合的部分。一种有用的结合结构域是FcRα链的胞外结构域。

[0062] 具有FcR, ADCC或吞噬活性“改变”了的变异IgG Fc的多肽指与亲本多肽或者与包含天然序列Fc区的多肽相比FcR结合活性(例如FcγR)和/或ADCC活性和/或吞噬活性得到增强或减弱的多肽。

[0063] 如本文中使用的,术语“OX40”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物诸如灵长类(例如人)和啮齿类(例如小鼠和大鼠)的任何天然OX40,除非另有说明。该术语涵盖“全长”,未加工的OX40以及因细胞中的加工所致的任何形式的OX40。该术语还涵盖OX40的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性的人OX40的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:1。

[0064] “OX40活化”指OX40受体的活化。通常,OX40活化导致信号转导。

[0065] 术语“癌症”和“癌性”指向或描述哺乳动物中特征通常为细胞生长不受调节的生理疾患。癌症的例子包括但不限于癌,淋巴瘤,母细胞瘤,肉瘤和白血病或淋巴样恶性肿瘤。此类癌症的更具体例子包括但不限于鳞状细胞癌(例如上皮鳞状细胞癌),肺癌(包括小细胞肺癌,非小细胞肺癌,肺的腺癌,和肺的鳞癌),腹膜癌,肝细胞癌,胃癌(包括胃肠癌和胃肠基质癌),胰腺癌,成胶质细胞瘤,宫颈癌,卵巢癌,肝癌,膀胱癌,尿道癌,肝癌,乳腺癌,结肠癌,直肠癌,结肠直肠癌,子宫内膜癌或子宫癌,唾液腺癌,肾癌,前列腺癌,外阴癌,甲状腺癌,肝癌,肛门癌,阴茎癌,黑素瘤,浅表扩散性黑素瘤,恶性雀斑样痣黑素瘤,肢端黑素瘤,结节性黑素瘤,多发性骨髓瘤和B细胞淋巴瘤,慢性淋巴细胞性白血病(CLL),急性成淋巴细胞性白血病(ALL),毛细胞性白血病,慢性成髓细胞性白血病,和移植后淋巴增殖性疾病(PTLD),以及与癩痣病(phakomatoses),水肿(诸如与脑瘤有关的)和梅格斯氏(Meigs)综合征有关的异常血管增殖,脑,以及头和颈癌,及相关转移。在某些实施方案中,适合于通过本发明的抗体来治疗的癌症包括乳腺癌,结肠直肠癌,直肠癌,非小细胞肺癌,成胶质细胞瘤,非何杰金氏淋巴瘤(NHL),肾细胞癌,前列腺癌,肝癌,胰腺癌,软组织肉瘤,卡波西(Kaposi)氏肉瘤,类癌(carcinoid carcinoma),头颈癌,卵巢癌,间皮瘤,和多发性骨髓瘤。在一些实施方案中,癌症选自:非小细胞肺癌,成胶质细胞瘤,成神经细胞瘤,黑素瘤,乳腺癌(例如三重阴性乳腺癌),胃癌,结肠直肠癌(CRC),和肝细胞癌。还有,在一些实施方案中,癌症选自:非小细胞肺癌,结肠直肠癌,乳腺癌(例如三重阴性乳腺癌),黑素瘤,卵巢癌,肾细胞癌,和膀胱癌,包括那些癌症的转移性形式。在一些实施方案中,癌症是局部晚期或转移性实体瘤,例如上文描述的任何实体癌的。

[0066] 术语“细胞增殖性疾病”和“增殖性疾病”指与一定程度的异常细胞增殖有关的病

症。在一个实施方案中,细胞增殖性病征指癌症。

[0067] 术语“嵌合”抗体指其中的重和/或轻链的一部分自特定的来源或物种衍生,而重和/或轻链的剩余部分自不同来源或物种衍生的抗体。

[0068] 抗体的“类”指其重链拥有的恒定域或恒定区的类型。抗体有5大类:IgA,IgD,IgE,IgG,和IgM,并且这些中的几种可以进一步分成亚类(同种型),例如,IgG₁,IgG₂,IgG₃,IgG₄,IgA₁,和IgA₂。与不同类免疫球蛋白对应的重链恒定域分别称作 α , δ , ϵ , γ ,和 μ 。

[0069] “补体依赖性细胞毒性”或“CDC”指存在补体时对靶细胞的溶解。经典补体途径的激活是由补体系统第一组分(C1q)结合抗体(适宜亚类的)起始的,该抗体已结合至其关联抗原。为了评估补体激活,可进行CDC测定法,例如如Gazzano-Santoro et al., J.Immunol.Methods 202:163(1996)中所记载的。具有更改的Fc区氨基酸序列(具有变异Fc区的多肽)及提高或降低的C1q结合能力的多肽变体记载于例如美国专利No.6,194,551 B1和W01999/51642。还可参见例如Idusogie et al.,J.Immunol.164:4178-4184(2000)。

[0070] 术语“细胞抑制剂”指在体外或在体内阻滞细胞生长的化合物或组合物。如此,细胞抑制剂可以是显著降低处于S期的细胞百分比的药剂。细胞抑制剂的其它例子包括通过诱导G0/G1停滞或M期停滞来阻断细胞周期行进的药剂。人源化抗Her2抗体曲妥珠单抗(trastuzumab) (**HERCEPTIN®**)是诱导G0/G1阻滞的细胞抑制剂的一个例子。经典的M期阻断剂包括长春药类(vincas)(长春新碱(vincristine)和长春碱(vinblastine)),紫杉烷类(taxanes),和拓扑异构酶II抑制剂诸如多柔比星(doxorubicin),表柔比星(epirubicin),柔红霉素(daunorubicin),依托泊苷(etoposide)和博来霉素(bleomycin)。某些阻滞G1的药剂也溢出进入S期停滞,例如DNA烷化剂类诸如他莫昔芬(tamoxifen),泼尼松(prednisone),达卡巴嗪(dacarbazine),双氯乙基甲胺(mechlorethamine),顺铂(cisplatin),甲氨蝶呤(methotrexate),5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)和ara-C。更多信息可参见Mendelsohn和Israel编,《The Molecular Basis of Cancer》,第1章,题为“Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs”,Murakami等,W.B.Saunders, Philadelphia,1995,例如第13页。紫杉烷类(帕利他赛(paclitaxel)和多西他赛(docetaxel))是衍生自紫杉树的抗癌药。衍生自欧洲紫杉的多西他赛(**TAXOTERE®**, Rhone-Poulenc Rorer)是帕利他赛(**TAXOL®**, Bristol-Myers Squibb)的半合成类似物。帕利他赛和多西他赛促进由微管蛋白二聚体装配成微管并通过防止解聚使微管稳定,导致对细胞中有丝分裂的抑制。

[0071] 如本文中使用的,术语“细胞毒剂”指抑制或阻止细胞功能和/或引起细胞死亡或破坏的物质。细胞毒剂包括但不限于:放射性同位素(例如At²¹¹,I¹³¹,I¹²⁵,Y⁹⁰,Re¹⁸⁶,Re¹⁸⁸,Sm¹⁵³,Bi²¹²,P³²,Pb²¹²和Lu的放射性同位素);化学治疗剂或药物(例如甲氨蝶呤(methotrexate),阿霉素(adriamycin),长春花生物碱类(vinca alkaloids)(长春新碱(vincristine),长春碱(vinblastine),依托泊苷(etoposide)),多柔比星(doxorubicin),美法仑(melphalan),丝裂霉素(mitomycin)C,苯丁酸氮芥(chlorambucil),柔红霉素(daunorubicin)或其它嵌入剂);生长抑制剂;酶及其片段,诸如溶核酶;抗生素;毒素,诸如小分子毒素或者细菌,真菌,植物或动物起源的酶活性毒素,包括其片段和/或变体;及下文公开的各种抗肿瘤或抗癌剂。

[0072] “消减性抗OX40抗体”指杀死或消减表达OX40的细胞的抗OX40抗体。消减表达OX40

的细胞可以通过多种机制来实现,诸如抗体依赖性细胞介导的细胞毒性和/或吞噬作用。消减表达OX40的细胞可以在体外测定,而且本文中提供了体外ADCC和吞噬作用测定法的例示性方法。在一些实施方案中,表达OX40的细胞是人CD4+效应T细胞。在一些实施方案中,表达OX40的细胞是表达人OX40的转基因BT474细胞。

[0073] “效应器功能”指那些可归于抗体Fc区且随抗体同种型而变化的生物学活性。抗体效应器功能的例子包括:C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如B细胞受体)下调;和B细胞活化。

[0074] 药剂(例如药物配制剂)的“有效量”指在必需的剂量和时段上有效实现期望的治疗或预防结果的量。

[0075] “Fc受体”或“FcR”描述结合抗体Fc区的受体。在一些实施方案中,FcR是天然人FcR。在一些实施方案中,FcR是结合IgG抗体的FcR(γ 受体),包括Fc γ RI,Fc γ RII和Fc γ RIII亚类的受体,包括那些受体的等位变体和可变剪接形式。Fc γ RII受体包括Fc γ RIIA(“活化受体”)和Fc γ RIIB(“抑制受体”),它们具有相似的氨基酸序列,区别主要在于其胞质结构域。活化受体Fc γ RIIA在其胞质结构域中包含免疫受体基于酪氨酸的活化基序(ITAM)。抑制受体Fc γ RIIB在其胞质结构域中包含免疫受体基于酪氨酸的抑制基序(ITIM)(参见例如Daëron,Annu.Rev.Immunol.15:203-234(1997))。FcR的综述参见例如Ravetch and Kinet,Annu.Rev.Immunol.9:457-492(1991);Capel et al.,Immunomethods 4:25-34(1994);及de Haas et al.,J.Lab.Clin.Med.126:330-41(1995)。术语“FcR”在本文中涵盖其它FcR,包括那些未来将会鉴定的。术语“Fc受体”或“FcR”还包括新生儿受体,FcRn,其负责将母体IgG转移给胎儿(Guyer et al.,J.Immunol.117:587(1976)及Kim et al.,J.Immunol.24:249(1994))和调节免疫球蛋白的体内稳态。测量对FcRn的结合的方法是已知的(参见例如Ghetie and Ward.,Immunol.Today 18(12):592-598(1997);Ghetie et al.,Nature Biotechnology,15(7):637-640(1997);Hinton et al.,J.Biol.Chem.279(8):6213-6216(2004);WO 2004/92219(Hinton et al.))。可测定人FcRn高亲和力结合多肽与人FcRn的体内结合和血清半衰期,例如在表达人FcRn的转基因小鼠或经传染的人细胞系中,或者在施用了具有变异Fc区的多肽的灵长类动物中。WO 2000/42072(Presta)记载了对FcR的结合提高或降低的抗体变体。还可参见例如Shields et al.,J.Biol.Chem.9(2):6591-6604(2001)。

[0076] 本文中的术语“Fc区”用于定义免疫球蛋白重链中至少含有恒定区一部分的C端区。该术语包括天然序列Fc区和变体Fc区。在一个实施方案中,人IgG重链Fc区自Cys226,或自Pro230延伸至重链的羧基端。然而,Fc区的C端赖氨酸(Lys447)可以存在或不存在。除非本文中另有规定,Fc区或恒定区中的氨基酸残基的编号方式依照EU编号系统,又称作EU索引,如记载于Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD,1991。

[0077] “功能性Fc区”拥有天然序列Fc区的“效应器功能”。例示性的“效应器功能”包括C1q结合;CDC;Fc受体结合;ADCC;吞噬作用;细胞表面受体(例如B细胞受体;BCR)下调等。此类效应器功能一般要求Fc区与结合结构域(例如抗体可变域)联合,而且可以使用多种测定方法来评估,例如本文定义中所公开的。

[0078] “人效应细胞”指表达一种或多种FcR并行行使效应器功能的白细胞。在某些实施方

案中,该细胞至少表达Fc γ RIII并行使ADCC效应器功能。介导ADCC的人白细胞的例子包括外周血单个核细胞(PBMC),天然杀伤(NK)细胞,单核细胞,细胞毒性T细胞和嗜中性粒细胞。效应细胞可以从其天然来源分离,例如血液。

[0079] “框架”或“FR”指除高变区(HVR)残基外的可变域残基。一般地,可变域的FR由4个FR域组成:FR1,FR2,FR3,和FR4。因而,HVR和FR序列在VH(或VL)中一般以如下的顺序出现:FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

[0080] 术语“全长抗体”,“完整抗体”,和“全抗体”在本文中可互换使用,指与天然抗体结构具有基本上类似的结构或者具有含有如本文中所限定的Fc区的重链的抗体。

[0081] 术语“宿主细胞”,“宿主细胞系”,和“宿主细胞培养物”可互换使用,并且指已经导入外源核酸的细胞,包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“经转化的细胞”,其包括原代的经转化的细胞及自其衍生的后代而不考虑传代的次数。后代在核酸内容物上可以与亲本细胞不完全相同,而是可以含有突变。本文中包括具有与在初始转化细胞中筛选或选择的相同功能或生物学活性的突变体后代。

[0082] “人抗体”指拥有与由人或人细胞生成的或利用人抗体全集或其它人抗体编码序列自非人来源衍生的抗体的氨基酸序列对应的氨基酸序列的抗体。人抗体的此定义明确排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

[0083] “人共有框架”指代表人免疫球蛋白VL或VH框架序列选集中最常存在的氨基酸残基的框架。通常,人免疫球蛋白VL或VH序列选集来自可变域序列亚组。通常,序列亚组是如Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,NIH Publication 91-3242,Bethesda MD(1991),第1-3卷中的亚组。在一个实施方案中,对于VL,亚组是如Kabat等,见上文中的亚组 κ I。在一个实施方案中,对于VH,亚组是如Kabat等,见上文中的亚组III。

[0084] “人源化”抗体指包含来自非人HVR的氨基酸残基和来自人FR的氨基酸残基的嵌合抗体。在某些实施方案中,人源化抗体会包含至少一个,通常两个基本上整个可变域,其中所有或基本上所有HVR(例如,CDR)对应于非人抗体的那些,且所有或基本上所有FR对应于人抗体的那些。任选地,人源化抗体可以至少包含自人抗体衍生的抗体恒定区的一部分。抗体,例如非人抗体的“人源化形式”指已经经历人源化的抗体。

[0085] 如本文中使用的,术语“高变区”或“HVR”指抗体可变域中在序列上高变的(“互补决定区”或“CDR”)和/或形成结构上限定的环(“高变环”)和/或含有抗原接触残基(“抗原接触”)的每个区。一般地,抗体包含6个HVR:三个在VH中(H1,H2,H3),且三个在VL中(L1,L2,L3)。本文中的例示性HVR包括:

[0086] (a) 高变环,存在于氨基酸残基26-32(L1),50-52(L2),91-96(L3),26-32(H1),53-55(H2),和96-101(H3)(Chothia and Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987));

[0087] (b) CDR,存在于氨基酸残基24-34(L1),50-56(L2),89-97(L3),31-35b(H1),50-65(H2),和95-102(H3)(Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991));

[0088] (c) 抗原接触,存在于氨基酸残基27c-36(L1),46-55(L2),89-96(L3),30-35b(H1),47-58(H2),和93-101(H3)(MacCallum et al.J.Mol.Biol.262:732-745(1996));和

[0089] (d) (a), (b), 和/或 (c) 的组合, 包括HVR氨基酸残基46-56 (L2), 47-56 (L2), 48-56 (L2), 49-56 (L2), 26-35 (H1), 26-35b (H1), 49-65 (H2), 93-102 (H3), 和94-102 (H3)。

[0090] 除非另有说明, HVR残基及可变域中的其它残基 (例如FR残基) 在本文中是依照Kabat等, 见上文编号的。

[0091] “免疫缀合物”指与一种或多种异源分子, 包括但不限于细胞毒剂缀合的抗体。

[0092] “个体”或“受试者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于驯养的动物 (例如, 牛, 绵羊, 猫, 犬, 和马), 灵长类 (例如, 人和非人灵长类诸如猴), 家兔, 和啮齿类 (例如, 小鼠和大鼠)。在某些实施方案中, 个体或受试者是人。

[0093] “促进细胞生长或增殖”意指将细胞的生长或增殖提高至少10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 或100%。

[0094] “分离的”抗体指已经与其天然环境的组分分开的抗体。在一些实施方案中, 抗体纯化至大于95%或99%的纯度, 如通过例如电泳 (例如, SDS-PAGE, 等电聚焦 (IEF), 毛细管电泳) 或层析 (例如, 离子交换或反相HPLC) 测定的。关于用于评估抗体纯度的方法的综述, 见例如Flatman等, *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007)。

[0095] “分离的”核酸指已经与其天然环境的组分分开的核酸分子。分离的核酸包括通常含有核酸分子的细胞中含有的核酸分子, 但是核酸分子在染色体外或在与其天然染色体位置不同的染色体位置处存在。

[0096] “编码抗OX40抗体的分离的核酸”指编码抗体重和轻链 (或其片段) 的一种或多种核酸分子, 包括单一载体或不同载体中的此类核酸分子, 和存在于宿主细胞中的一个或多个位置的此类核酸分子。

[0097] 如本文中使用的, 术语“单克隆抗体”指从一群基本上同质的抗体获得的抗体, 即构成群体的各个抗体是相同的和/或结合相同表位, 除了例如含有天然存在的突变或在单克隆抗体制备物的生成期间发生的可能的变体抗体外, 此类变体一般以极少量存在。与通常包含针对不同决定簇 (表位) 的不同抗体的多克隆抗体制备物不同, 单克隆抗体制备物的每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。如此, 修饰语“单克隆”指示抗体自一群基本上同质的抗体获得的特性, 而不应解释为要求通过任何特定方法来生成抗体。例如, 可以通过多种技术来生成要依照本发明使用的单克隆抗体, 包括但不限于杂交瘤方法, 重组DNA方法, 噬菌体展示方法, 和利用含有所有或部分人免疫球蛋白基因座的转基因动物的方法, 本文中描述了用于生成单克隆抗体的此类方法和其它例示性方法。

[0098] “裸抗体”指未与异源模块 (例如细胞毒性模块) 或放射性标记物缀合的抗体。裸抗体可以存在于药物配制剂中。

[0099] “天然抗体”指具有不同结构的天然存在的免疫球蛋白分子。例如, 天然IgG抗体是约150,000道尔顿的异四聚糖蛋白, 由二硫化物键合的两条相同轻链和两条相同重链构成。从N至C端, 每条重链具有一个可变区 (VH), 又称作可变重域或重链可变域, 接着是三个恒定域 (CH1, CH2, 和CH3)。类似地, 从N至C端, 每条轻链具有一个可变区 (VL), 又称作可变轻域或轻链可变域, 接着是一个恒定轻 (CL) 域。根据其恒定域氨基酸序列, 抗体轻链可归入两种类型中的一种, 称作卡帕 (κ) 和拉姆达 (λ)。“天然序列Fc区”包含与在自然界中找到的Fc区的氨基酸序列相同的氨基酸序列。天然序列人Fc区包括天然序列人IgG1Fc区 (非A和A同种异型); 天然序列人IgG2Fc区; 天然序列人IgG3Fc区; 和天然序列人IgG4Fc区; 及其天然存在变

体。

[0100] 术语“包装插页”用于指治疗产品的商业包装中通常包含的用法说明书,其含有关于涉及此类治疗产品应用的适应症,用法,剂量,施用,联合疗法,禁忌症和/或警告的信息。

[0101] 关于参照多肽序列的“百分比(%)氨基酸序列同一性”定义为比对序列并在必要时引入缺口以获取最大百分比序列同一性后,且不将任何保守替代视为序列同一性的一部分时,候选序列中与参照多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分率。为测定百分比氨基酸序列同一性目的的对比可以以本领域技术范围内的多种方式进行,例如使用公众可得到的计算机软件,诸如BLAST,BLAST-2,ALIGN或Megalign (DNASTAR) 软件。本领域技术人员可以决定用于比对序列的合适参数,包括对所比较序列全长获得最大对比所需的任何算法。然而,为了本发明的目的,%氨基酸序列同一性值是使用序列比较计算机程序ALIGN-2产生的。ALIGN-2序列比较计算机程序由Genentech, Inc. 编写,并且源代码已经连同用户文档一起提交给美国版权局 (US Copyright Office, Washington D.C., 20559), 其中其以美国版权注册号TXU510087注册。公众自Genentech, Inc., South San Francisco, California可获得ALIGN-2程序,或者可以从源代码编译。ALIGN2程序应当编译成在UNIX操作系统,包括数码UNIX V4.0D上使用。所有序列比较参数由ALIGN-2程序设定且不变。

[0102] 在采用ALIGN-2来比较氨基酸序列的情况中,给定氨基酸序列A相对于 (to), 与 (with), 或针对 (against) 给定氨基酸序列B的%氨基酸序列同一性 (或者可表述为具有或包含相对于,与,或针对给定氨基酸序列B的某一%氨基酸序列同一性的给定氨基酸序列A) 如下计算:

[0103] 分数 X/Y 乘100

[0104] 其中X是由序列比对程序ALIGN-2在该程序的A和B比对中评分为相同匹配的氨基酸残基数,且其中Y是B中的氨基酸残基总数。应当领会,若氨基酸序列A的长度与氨基酸序列B的长度不相等,则A相对于B的%氨基酸序列同一性将不等于B相对于A的%氨基酸序列同一性。除非另有明确说明,本文中所使用的所有%氨基酸序列同一性值都是依照上一段所述,使用ALIGN-2计算机程序获得的。

[0105] 术语“药物配制剂”指处于如下的形式,使得容许其中含有的活性成分的生物学活性是有效的,且不含对会接受配制剂施用的受试者具有不可接受的毒性的别的组分的制剂。

[0106] “药学可接受载剂”指药物配制剂中与活性成分不同的,且对受试者无毒的成分。药学可接受载剂包括但不限于缓冲剂,赋形剂,稳定剂,或防腐剂。

[0107] 如本文中使用的,“治疗”(及其语法变化形式,诸如“处理”或“处置”)指试图改变所治疗个体的自然进程的临床干预,可以是为了预防或在临床病理学的进程中进行。治疗的期望效果包括但不限于预防疾病的发生或复发,缓解症状,削弱疾病的任何直接或间接病理学后果,预防转移,减缓疾病进展的速率,改善或减轻疾病状态,及免除或改善预后。在有些实施方案中,本发明的抗体用于延迟疾病的发生/发展,或用于减缓疾病的进展。

[0108] 术语“肿瘤”指所有赘生性(neoplastic)细胞生长和增殖,无论是恶性的还是良性的,及所有癌前(pre-cancerous)和癌性细胞和组织。术语“癌症”,“癌性”,“细胞增殖性病征”,“增殖性病征”和“肿瘤”在本文中提到时并不互相排斥。

[0109] 术语“可变区”或“可变域”指抗体重或轻链中牵涉抗体结合抗原的域。天然抗体的

重链和轻链可变域(分别为VH和VL)一般具有类似的结构,其中每个域包含4个保守的框架区(FR)和3个高变区(HVR)。(见例如Kindt等,Kuby Immunology,第6版,W.H.Freeman and Co.,第91页(2007))。单个VH或VL域可以足以赋予抗原结合特异性。此外,可以分别使用来自结合抗原的抗体的VH或VL域筛选互补VL或VH域的文库来分离结合特定抗原的抗体。见例如,Portolano等,J. Immunol. 150:880-887 (1993);Clarkson等,Nature 352:624-628 (1991)。

[0110] “变异Fc区”包含由于至少一处氨基酸修饰(优选一处或多处氨基酸替代)而与天然序列Fc区有所不同的氨基酸序列。优选的是,变异Fc区与天然序列Fc区相比或与亲本多肽的Fc区相比具有至少一处氨基酸替代,例如在天然序列Fc区中或在亲本多肽的Fc区中具有约1处至约10处氨基酸替代,优选约1处至约5处氨基酸替代。变异Fc区在本文中优选与天然序列Fc区和/或亲本多肽的Fc区拥有至少约80%的同源性,最优选与它们具有至少约90%的同源性,更优选与它们具有至少约95%的同源性。

[0111] 如本文中使用的,术语“载体”指能够增殖与其连接的另一种核酸的核酸分子。该术语包括作为自身复制型核酸结构的载体及整合入接受其导入的宿主细胞的基因组中的载体。某些载体能够指导与其可操作连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。

[0112] “VH亚组III共有框架”包含从Kabat等人的可变重链亚组III中的氨基酸序列获得的共有序列。在一个实施方案中,VH亚组III共有框架氨基酸序列包含下列各序列的至少一部分或整个:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:185)-H1-WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:186)-H2-RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:187)-H3-WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:188)。

[0113] “VL亚组I共有框架”包含从Kabat等人的可变轻链 κ 亚组I中的氨基酸序列获得的共有序列。在一个实施方案中,VL亚组I共有框架氨基酸序列包含下列各序列的至少一部分或整个:DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC (SEQ ID NO:189)-L1-WYQQKPKAPKLLIY (SEQ ID NO:190)-L2-GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:191)-L3-FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:192)。

[0114] 如本文中使用的,术语“细胞毒剂”指抑制或阻止细胞功能和/或引起细胞死亡或破坏的物质。细胞毒剂包括但不限于:放射性同位素(例如At²¹¹,I¹³¹,I¹²⁵,Y⁹⁰,Re¹⁸⁶,Re¹⁸⁸,Sm¹⁵³,Bi²¹²,P³²,Pb²¹²和Lu的放射性同位素);化疗剂;生长抑制剂;酶及其片段,诸如溶核酶;和毒素,诸如小分子毒素或者细菌,真菌,植物或动物起源的酶活性毒素,包括其片段和/或变体。例示性的细胞毒剂可选自抗微管剂,铂配位复合物,烷化剂,抗生素,拓扑异构酶II抑制剂,抗代谢物,拓扑异构酶I抑制剂,激素和激素类似物,信号转导途径抑制剂,非受体酪氨酸激酶血管发生抑制剂,免疫治疗剂,促凋亡剂,LDH-A的抑制剂,脂肪酸生物合成的抑制剂,细胞周期信号传导抑制剂,HDAC抑制剂,蛋白酶体抑制剂,和癌代谢的抑制剂。

[0115] 在一个实施方案中,细胞毒剂选自抗微管剂,铂配位复合物,烷化剂,抗生素,拓扑异构酶II抑制剂,抗代谢物,拓扑异构酶I抑制剂,激素和激素类似物,信号转导途径抑制剂,非受体酪氨酸激酶血管发生抑制剂,免疫治疗剂,促凋亡剂,LDH-A的抑制剂,脂肪酸生物合成的抑制剂,细胞周期信号传导抑制剂,HDAC抑制剂,蛋白酶体抑制剂,和癌代谢的抑制剂。在一个实施方案中,细胞毒剂是紫杉烷(taxane)。在一个实施方案中,紫杉烷是帕利

他赛 (paclitaxel) 或多西他赛 (docetaxel)。在一个实施方案中, 细胞毒剂是铂剂。在一个实施方案中, 细胞毒剂是EGFR的拮抗剂。在一个实施方案中, EGFR的拮抗剂是N-(3-乙炔基苯基)-6,7-二(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-胺 (例如厄洛替尼 (erlotinib))。在一个实施方案中, 细胞毒剂是RAF抑制剂。在一个实施方案中, RAF抑制剂是BRAF和/或CRAF抑制剂。在一个实施方案中, RAF抑制剂是维罗非尼 (vemurafenib)。在一个实施方案中, 细胞毒剂是PI3K抑制剂。

[0116] “化疗剂”包括在治疗癌症中有用的化学化合物。化疗剂的例子包括厄洛替尼 (erlotinib) (**TARCEVA®**, Genentech/OSI Pharm.), 硼替佐米 (bortezomib) (**VELCADE®**, Millennium Pharm.), 双硫仑 (disulfiram), 没食子酸表没食子儿茶精 (epigallocatechin gallate), salinosporamide A, carfilzomib, 17-AAG (格尔德霉素 (geldanamycin)), 根赤壳菌素 (radicicol), 乳酸脱氢酶A (LDH-A), 氟维司群 (fulvestrant) (**FASLODEX®**, AstraZeneca), 舒尼替尼 (sunitib) (**SUTENT®**, Pfizer/Sugen), 来曲唑 (letrozole) (**FEMARA®**, Novartis), 甲磺酸伊马替尼 (imatinib mesylate) (**GLEEVEC®**, Novartis), finasunate (**VATALANIB®**, Novartis), 奥沙利铂 (oxaliplatin) (**ELOXATIN®**, Sanofi), 5-FU (5-氟尿嘧啶), 甲酰四氢叶酸 (leucovorin), 雷帕霉素 (Rapamycin) (西罗莫司 (Sirolimus), **RAPAMUNE®**, Wyeth), 拉帕替尼 (Lapatinib) (**TYKERB®**, GSK572016, Glaxo Smith Kline), Lonafamib (SCH 66336), 索拉非尼 (sorafenib) (**NEXAVAR®**, Bayer Labs), 吉非替尼 (gefitinib) (**IRESSA®**, AstraZeneca), AG1478, 烷化剂类 (alkylating agents), 诸如塞替派 (thiotepa) 和 **CYTOXAN®** 环磷酰胺 (cyclophosphamide); 磺酸烷基酯类 (alkyl sulfonates), 诸如白消安 (busulfan), 英丙舒凡 (improsulfan) 和哌泊舒凡 (piposulfan); 氮丙啶类 (aziridines), 诸如苯佐替派 (benzodopa), 卡波醌 (carboquone), 美妥替派 (meturedopa), 和乌瑞替派 (uredopa); 乙撑亚胺类 (ethylenimines) 和甲基蜜胺类 (methylamelamines), 包括六甲蜜胺 (altretamine), 三乙撑蜜胺 (triethylenemelamine), 三乙撑磷酰胺 (triethylenephosphoramidate), 三乙撑硫代磷酰胺 (triethylenethiophosphoramidate) 和三羟甲蜜胺 (trimethylomelamine); 番荔枝内酯类 (acetogenins) (尤其是布拉他辛 (bullatacin) 和布拉他辛酮 (bullatacinone)); 喜树碱 (camptothecin) (包括托泊替康 (topotecan) 和伊立替康 (irinotecan)); 苔藓抑素 (bryostatin); calystatin; CC-1065 (包括其阿多来新 (adozelesin), 卡折来新 (carzelesin) 和比折来新 (bizelesin) 合成类似物); 隐藻素类 (cryptophycins) (特别是隐藻素1和隐藻素8); 肾上腺皮质类固醇类 (adrenocorticosteroids), 包括泼尼松 (prednisone) 和泼尼松龙 (prednisolone); 醋酸环丙孕酮 (cyproterone acetate); 5 α -还原酶, 包括非那雄胺 (finasteride) 和度他雄胺 (dutasteride); vorinostat, romidepsin, panobinostat, 丙戊酸 (valproic acid), mocetinostat 多拉司他汀 (dolastatin); 阿地白介素 (aldesleukin), 滑石 (talc) duocarmycin (包括合成类似物, KW-2189和CB1-TM1); 艾榴塞洛素 (eleutherobin); pancratistatin; sarcodictyin; 海绵抑素 (spongistatin); 氮芥类 (nitrogen mustards), 诸如苯丁酸氮芥 (chlorambucil), 萘氮芥 (chlomaphazine), 胆磷酰胺 (chlorophosphamide), 雌莫司汀 (estramustine), 异环磷酰胺 (ifosfamide), 双氯乙

基甲胺(mechlorethamine), 盐酸氧氮芥(mechlorethamine oxide hydrochloride), 美法仑(melphalan), 新氮芥(novembichin), 苯芥胆甾醇(phenesterine), 泼尼莫司汀(prednimustine), 曲磷胺(trofosfamide), 尿嘧啶氮芥(uracil mustard); 亚硝脲类(nitrosoureas), 诸如卡莫司汀(carmustine), 氯脲菌素(chlorozotocin), 福莫司汀(fotemustine), 洛莫司汀(lomustine), 尼莫司汀(nimustine), 和雷莫司汀(ranimustine); 抗生素类, 诸如烯二炔类抗生素(例如加利车霉素(calicheamicin), 尤其是加利车霉素 γ II和加利车霉素 ω II (Angew Chem.Intl.Ed.Engl.1994,33:183-186); 葱环类抗生素(dynemicin), 包括dynemicin A; 二膦酸盐类(bisphosphonates), 诸如氯膦酸盐(clodronate); 埃斯波霉素(esperamicin); 以及新制癌素(neocarzinostatin) 发色团和相关色蛋白烯二炔类抗生素发色团), 阿克拉霉素(aclacinomysins), 放线菌素(actinomycin), 氨茴霉素(authramycin), 偶氮丝氨酸(azaserine), 博来霉素(bleomycin), 放线菌素C(cactinomycin), carabycin, 洋红霉素(caminomycin), 嗜癌霉素(carzinophilin), 色霉素(chromomycinis), 放线菌素D(dactinomycin), 柔红霉素(daunorubicin), 地托比星(detorubicin), 6-二氮-5-氧-L-正亮氨酸, **ADRIAMYCIN®** (多柔比星(doxorubicin)), 吗啉代多柔比星, 氰基吗啉代多柔比星, 2-吡咯代多柔比星和脱氧多柔比星), 表柔比星(epirubicin), 依索比星(esorubicin), 伊达比星(idarubicin), 麻西罗霉素(marcellomycin), 丝裂霉素(mitomycin) 诸如丝裂霉素C, 霉酚酸(mycophenolic acid), 诺拉霉素(nogalamycin), 橄榄霉素(olivomycin), 培洛霉素(peplomycin), 泊非霉素(porfiromycin), 嘌呤霉素(puromycin), 三铁阿霉素(quelamycin), 罗多比星(rodorubicin), 链黑菌素(streptonigrin), 链佐星(streptozocin), 杀结核菌素(tubercidin), 乌苯美司(ubenimex), 净司他丁(zinostatin), 佐柔比星(zorubicin); 抗代谢物类, 诸如甲氨蝶呤(methotrexate) 和5-氟尿嘧啶(flourouracil) (5-FU); 叶酸类似物, 诸如二甲叶酸(denopterin), 甲氨蝶呤, 蝶酰三谷氨酸(pteropterin), 三甲曲沙(trimetrexate); 嘌呤类似物, 诸如氟达拉滨(fludarabine), 6-巯基嘌呤(mercaptapurine), 硫咪嘌呤(thiamiprine), 硫鸟嘌呤(thioguanine); 嘧啶类似物, 诸如安西他滨(ancitabine), 阿扎胞苷(azacitidine), 6-氮尿苷, 卡莫氟(carmofur), 阿糖胞苷(cytarabine), 双脱氧尿苷(dideoxyuridine), 去氧氟尿苷(doxifluridine), 依诺他滨(enocitabine), 氟尿苷(floxuridine); 雄激素类, 诸如卡鲁睾酮(calusterone), 丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate), 表硫雄醇(epitiostanol), 美雄烷(mepitiostane), 睾内酯(testolactone); 抗肾上腺类, 诸如氨鲁米特(aminoglutethimide), 米托坦(mitotane), 曲洛司坦(trilostane); 叶酸补充剂, 诸如亚叶酸(frolic acid); 醋葡萄糖内酯(aceglatone); 醛磷酰胺糖苷(aldophosphamide glycoside); 氨基乙酰丙酸(aminolevulinic acid); 恩尿嘧啶(eniluracil); 安吡啶(amsacrine); bestrabucil; 比生群(bisantrene); 依达曲沙(edatraxate); 地磷酰胺(defofamine); 地美可辛(demecolcine); 地吡醌(diaziquone); elfomithine; 依利醋铵(elliptinium acetate); epothilone; 依托格鲁(etoglucid); 硝酸镓; 羟脲(hydroxyurea); 香菇多糖(lentinan); 氯尼达明(lonidainine); 美登木素生物碱类(maytansinoids), 诸如美登素(maytansine) 和安丝菌素(ansamitocin); 米托胍脘(mitoguazone); 米托蒽醌(mitoxantrone); 莫哌达醇(mopidamnol); 二胺硝吡啶

(nitraerine); 喷司他丁 (pentostatin); 蛋氨酸芥 (phenamet); 吡柔比星 (pirarubicin); 洛索蒽醌 (losoxantrone); 鬼臼酸 (podophyllinic acid); 2-乙基酰肼 (ethylhydrazide); 丙卡巴肼 (procarbazine); **PSK®** 多糖复合物 (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); 雷佐生 (razoxane); 根霉素 (rhizoxin); 西索菲兰 (sizofuran); 螺旋锗 (spirogermanium); 细交链孢菌酮酸 (tenuazonic acid); 三亚胺醌 (triaziquone); 2,2',2''-三氯三乙胺; 单端孢菌素类 (trichothecenes) (尤其是T-2毒素, 疣孢菌素 (verrucarin) A, 杆孢菌素 (roridin) A 和蛇行菌素 (anguidine)); 乌拉坦 (urethan); 长春地辛 (vindesine); 达卡巴嗪 (dacarbazine); 甘露醇氮芥 (mannomustine); 二溴甘露醇 (mitobronitol); 二溴卫矛醇 (mitolactol); 哌泊溴烷 (pipobroman); gacytosine; 阿糖胞苷 (arabinoside) (“Ara-C”); 环磷酰胺 (cyclophosphamide); 塞替派 (thiotepa); 类紫杉醇 (taxoids), 例如泰素 (TAXOL) (帕利他赛 (paclitaxel); Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), **ABRAXANE®** (无克列莫佛 (Cremophor) 的), 帕利他赛的清蛋白改造的纳米颗粒剂型 (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.) 和泰索帝 (**TAXOTERE®**) (多西他赛 (docetaxel, doxetaxel); Sanofi-Aventis); 苯丁酸氮芥 (chlorambucil); **GEMZAR®** (吉西他滨 (gemcitabine)); 6-硫鸟嘌呤 (thioguanine); 巯基嘌呤 (mercaptapurine); 甲氨蝶呤 (methotrexate); 铂类似物, 诸如顺铂 (cisplatin) 和卡铂 (carboplatin); 长春碱 (vinblastine); 依托泊苷 (etoposide) (VP-16); 异环磷酰胺 (ifosfamide); 米托蒽醌 (mitoxantrone); 长春新碱 (vincristine); **NAVELBINE®** (长春瑞滨 (vinorelbine)); 能灭瘤 (novantrone); 替尼泊苷 (teniposide); 依达曲沙 (edatrexate); 道诺霉素 (daunomycin); 氨基蝶呤 (aminopterin); 卡培他滨 (capecitabine) (**XELODA®**); 伊本膦酸盐 (ibandronate); CPT-11; 拓扑异构酶抑制剂 RFS 2000; 二氟甲基鸟氨酸 (DMFO); 类视黄酸 (retinoids), 诸如视黄酸 (retinoic acid); 及任何上述各项的药学可接受盐, 酸或衍生物。

[0117] 化疗剂还包括 (i) 起调节或抑制激素对肿瘤作用的作用的抗激素剂, 诸如抗雌激素类和选择性雌激素受体调控物类 (SERM), 包括例如他莫昔芬 (tamoxifen) (包括 **NOLVADEX®**; 柠檬酸他莫昔芬), 雷洛昔芬 (raloxifene), 屈洛昔芬 (droloxifene), iodoxyfene, 4-羟基他莫昔芬, 曲沃昔芬 (trioxifene), 那洛昔芬 (keoxifene), LY117018, 奥那司酮 (onapristone), 和 **FARESTON®** (柠檬酸托瑞米芬 (toremifine citrate)); (ii) 抑制在肾上腺中调节雌激素生成的芳香酶的芳香酶抑制剂, 诸如例如4(5)-咪唑, 氨基鲁米特 (aminoglutethimide), **MEGASE®** (醋酸甲地孕酮 (megestrol acetate)), **AROMASIN®** (依西美坦 (exemestane); Pfizer), 福美坦 (formestane), 法偈唑 (fadrozole), **RIVISOR®** (伏罗唑 (vorozole)), **FEMARA®** (来曲唑 (letrozole); Novartis), 和 **ARIMIDEX®** (阿那曲唑 (anastrozole); AstraZeneca); (iii) 抗雄激素类, 诸如氟他米特 (flutamide), 尼鲁米特 (nilutamide), 比卡米特 (bicalutamide), 亮丙瑞林 (leuprolide) 和戈舍瑞林 (goserelin); 布舍瑞林 (buserelin), 曲普瑞林 (tripterelin), 醋酸甲羟孕酮 (medroxyprogesterone acetate), 己烯雌酚 (diethylstilbestrol), 倍美力 (premarin), 氟甲睾酮 (fluoxymesterone), 全反式视黄酸, 芬维A胺 (fenretinide), 以及曲沙他滨 (troxacitabine) (1,3-二氧戊环核苷胞嘧啶类似

物);(iv) 蛋白质激酶抑制剂;(v) 脂质激酶抑制剂;(vi) 反义寡核苷酸,特别是抑制牵涉异常细胞增殖的信号传导途经中的基因表达的反义寡核苷酸,诸如例如PKC- α ,Ralf和H-Ras;(vii) 核酶,诸如VEGF表达抑制剂(例如ANGIOZYME®)和HER2表达抑制剂;(viii) 疫苗,诸如基因疗法疫苗,例如ALLOVECTIN®,LEUVECTIN®,和VAXID®;PROLEUKIN®,rIL-2;拓扑异构酶I抑制剂,诸如LURTOTECAN®;ABARELIX®rmRH;和(ix) 及任何上述药剂的药学可接受盐,酸和衍生物。

[0118] 化疗剂还包括抗体,诸如阿仑珠单抗(alemtuzumab)(Campath),贝伐珠单抗(bevacizumab)(AVASTIN®,Genentech),西妥昔单抗(cetuximab)(ERBITUX®,Imclone);帕尼单抗(panitumumab)(VECTIBIX®,Amgen),利妥昔单抗(rituximab)(RITUXAN®,Genentech/Biogen Idec),帕妥珠单抗(pertuzumab)(OMNITARG®,2C4,Genentech),曲妥珠单抗(HERCEPTIN®,Genentech),托西莫单抗(tositumomab)(Bexxar,Corixia),和抗体药物缀合物,吉妥珠单抗奥佐米星(gemtuzumab ozogamicin)(MYLOTARG®,Wyeth)。具有作为与本发明化合物组合的药剂的治疗潜力的别的人源化单克隆抗体包括:阿泊珠单抗(apolizumab),阿塞珠单抗(aselizumab),atlizumab,巴匹珠单抗(bapineuzumab),bivatuzumab mertansine,莫坎妥珠单抗(cantuzumab mertansine),西利珠单抗(cedelizumab),培舍珠单抗(certolizumab pegol),cidfusituzumab,cidtuzumab,达克珠单抗(daclizumab),依库珠单抗(eculizumab),依法珠单抗(efalizumab),依帕珠单抗(epratuzumab),厄利珠单抗(erlizumab),非维珠单抗(felvizumab),芳妥珠单抗(fontolizumab),吉妥珠单抗奥佐米星(gemtuzumab ozogamicin),英妥珠单抗奥佐米星(inotuzumab ozogamicin),伊匹木单抗(ipilimumab),拉贝珠单抗(labetuzumab),林妥珠单抗(lintuzumab),马妥珠单抗(matuzumab),美泊利单抗(mepolizumab),莫维珠单抗(motavizumab),motovizumab,那他珠单抗(natalizumab),尼妥珠单抗(nimotuzumab),nolovizumab,numavizumab,ocrelizumab,奥马珠单抗(omalizumab),帕利珠单抗(palivizumab),帕考珠单抗(pascolizumab),pectuzumab,pectuzumab,培克珠单抗(pexelizumab),ralivizumab,雷珠单抗(ranibizumab),reslivizumab,瑞利珠单抗(reslizumab),resyvizumab,罗维珠单抗(rovelizumab),卢利珠单抗(ruplizumab),西罗珠单抗(sibrotuzumab),西利珠单抗(siplizumab),索土珠单抗(sontuzumab),tacatuzumab tetraxetan,tadocizumab,他利珠单抗(talizumab),特非珠单抗(tefibazumab),托珠单抗(tocilizumab),托利珠单抗(toralizumab),tucotuzumab西莫白介素(celmoleukin),tucusituzumab,umavizumab,乌珠单抗(urtoxazumab),优特克单抗(ustekinumab),维西珠单抗(visilizumab),和抗白介素-12(ABT-874/J695,Wyeth Research and Abbott Laboratories),其为经遗传修饰以识别白介素-12p40蛋白的重组专有人序列全长IgG1 λ 抗体。

[0119] 化疗剂还包括“EGFR抑制剂”,其指结合EGFR或以其它方式直接与EGFR相互作用并阻止或降低其信号传导活性的化合物,其另外还称作“EGFR拮抗剂”。此类药剂的例子包括结合EGFR的抗体和小分子。结合EGFR的抗体的例子包括MAB 579(ATCC CRL HB8506),MAB 455(ATCC CRL HB8507),MAB 225(ATCC CRL 8508),MAB 528(ATCC CRL 8509)(参见美国专利No.4,943,533,Mendelsohn等人)及其变体,诸如嵌合化的225(C225或西妥昔单抗;

ERBUTIX®和重构的人225 (H225) (参见W096/40210, Imclone Systems Inc.); IMC-11F8, 一种完全人的EGFR靶向抗体 (Imclone); 结合II型突变体EGFR的抗体 (美国专利No. 5, 212, 290); 结合EGFR的人源化和嵌合抗体, 如美国专利No. 5, 891, 996中所述; 和结合EGFR的人抗体, 诸如ABX-EGF或帕尼单抗 (Panitumumab) (参见W098/50433, Abgenix/Amgen); EMD 55900 (Stragliotto et al., Eur. J. Cancer 32A:636-640 (1996)); EMD7200 (matuzumab), 一种针对EGFR且与EGF和TGF- α 二者竞争EGFR结合的人源化EGFR抗体 (EMD/Merck); 人EGFR抗体, HuMax-EGFR (GenMab); 称作E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3和E7.6.3且描述在US 6, 235, 883中的完全人抗体; MDX-447 (Medarex Inc.); 和mAb 806或人源化mAb 806 (Johns et al., J. Biol. Chem. 279 (29):30375-30384 (2004))。抗EGFR抗体可与细胞毒剂缀合, 由此产生免疫缀合物 (参见例如EP 659, 439A2, Merck Patent GmbH)。EGFR拮抗剂包括小分子, 诸如美国专利No. 5, 616, 582, 5, 457, 105, 5, 475, 001, 5, 654, 307, 5, 679, 683, 6, 084, 095, 6, 265, 410, 6, 455, 534, 6, 521, 620, 6, 596, 726, 6, 713, 484, 5, 770, 599, 6, 140, 332, 5, 866, 572, 6, 399, 602, 6, 344, 459, 6, 602, 863, 6, 391, 874, 6, 344, 455, 5, 760, 041, 6, 002, 008, 和5, 747, 498, 以及PCT公开文本W098/14451, W098/50038, W099/09016, 和W099/24037中描述的化合物。具体的小分子EGFR拮抗剂包括OSI-774 (CP-358774, 厄洛替尼 (erlotinib), **TARCEVA®**, Genentech/OSI Pharmaceuticals); PD183805 (CI 1033, 2-丙烯酰胺, N-[4-[(3-氯-4-氟苯基) 氨基]-7-[3-(4-吗啉基) 丙氧基]-6-喹唑啉基]-, 二氯化物, Pfizer Inc.); ZD1839, 吉非替尼 (gefitinib) (**IRESSA®**) 4-(3'-氯-4'-氟苯胺基)-7-甲氧基-6-(3-吗啉代丙氧基) 喹唑啉, AstraZeneca); ZM 105180 ((6-氨基-4-(3-甲基苯基)-氨基)-喹唑啉, Zeneca); BIBX-1382 (N8-(3-氯-4-氟-苯基)-N2-(1-甲基-哌啶-4-基)-嘧啶并[5,4-d]嘧啶-2,8-二胺, Boehringer Ingelheim); PKI-166 ((R)-4-[4-(1-苯基乙基) 氨基]-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-基]-苯酚); (R)-6-(4-羟基苯基)-4-[(1-苯基乙基) 氨基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶); CL-387785 (N-[4-[(3-溴苯基) 氨基]-6-喹唑啉基]-2-丁炔酰胺); EKB-569 (N-[4-[(3-氯-4-氟苯基) 氨基]-3-氰基-7-乙氧基-6-喹唑啉基]-4-(二甲基氨基)-2-丁烯酰胺) (Wyeth); AG1478 (Pfizer); AG1571 (SU 5271; Pfizer); 双重EGFR/HER2酪氨酸激酶抑制剂, 诸如拉帕替尼 (lapatinib) (**TYKERB®**, GSK572016或N-[3-氯4-[(3-氟苯基) 甲氧基] 苯基]-6[[[2-甲基磺酰基] 乙基] 氨基] 甲基]-2-咪唑基]-4-喹唑啉胺)。

[0120] 化疗剂还包括“酪氨酸激酶抑制剂”, 包括前一段中提到的EGFR靶向药物; 小分子HER2酪氨酸激酶抑制剂, 诸如可从Takeda获得的TAK165; CP-724, 714, 一种口服ErbB2受体酪氨酸激酶选择性抑制剂 (Pfizer和OSI); 优先结合EGFR但抑制HER2和EGFR过表达细胞二者的双重HER抑制剂, 诸如EKB-569 (可从Wyeth获得); 拉帕替尼 (lapatinib) (GSK572016; 可从Glaxo-SmithKline获得), 一种口服HER2和EGFR酪氨酸激酶抑制剂; PKI-166 (可从Novartis获得); 泛HER抑制剂, 诸如卡奈替尼 (canertinib) (CI-1033; Pharmacia); Raf-1抑制剂, 诸如可从ISIS Pharmaceuticals获得的, 抑制Raf-1信号传导的反义药剂ISIS-5132; 非HER靶向TK抑制剂, 诸如甲磺酸伊马替尼 (**GLEEVEC®**, 可得自Glaxo SmithKline); 多靶向酪氨酸激酶抑制剂, 诸如舒尼替尼 (sunitinib) (**SUTENT®**, 可从Pfizer获得); VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂, 诸如瓦他拉尼 (vatalanib) (PTK787/ZK222584, 可从Novartis/

Schering AG获得);MAPK胞外调控激酶I抑制剂CI-1040(可从Pharmacia获得);喹唑啉类,诸如PD 153035,4-(3-氯苯胺基)喹唑啉;吡啶并嘧啶类;嘧啶并嘧啶类;吡咯并嘧啶类,诸如CGP 59326,CGP 60261和CGP 62706;吡啶并嘧啶类,4-(苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶类;姜黄素(二阿魏酰甲烷,4,5-双(4-氟苯胺基)-酞酰亚胺);含有硝基噻吩模块的tyrphostine;PD-0183805(Warner-Lambert);反义分子(例如那些与编码HER的核酸结合的反义分子);喹啉类(美国专利No.5,804,396);tryphostins(美国专利No.5,804,396);ZD6474(AstraZeneca);PTK-787(Novartis/Schering AG);泛HER抑制剂,诸如CI-1033(Pfizer);Affinitac(ISIS 3521;Isis/Lilly);甲磺酸伊马替尼(GLEEVEC®);PKI 166(Novartis);GW2016(Glaxo SmithKline);CI-1033(Pfizer);EKB-569(Wyeth);Semaxinib(Pfizer);ZD6474(AstraZeneca);PTK-787(Novartis/Schering AG);INC-1C11(Imclone),雷帕霉素(西罗莫司,RAPAMUNE®);或任何下列专利公开文本中描述的:美国专利No.5,804,396;W01999/09016(American Cyanamid);W01998/43960(American Cyanamid);W01997/38983(Warner Lambert);W01999/06378(Warner Lambert);W01999/06396(WarnerLambert);W01996/30347(Pfizer, Inc);W01996/33978(Zeneca);W01996/3397(Zeneca)和W01996/33980(Zeneca)。

[0121] 化疗剂还包括地塞米松(dexamethasone),干扰素,秋水仙素(colchicine),氯苯氨啉(metoprine),环孢霉素(cyclosporine),两性霉素(amphotericin),甲硝唑(metronidazole),阿仑单抗(alemtuzumab),阿利维A酸(alitretinoin),别嘌醇(allopurinol),氨磷汀(amifostine),三氧化二砷(arsenic trioxide),天冬酰胺酶(asparaginase),活的BCG,贝伐珠单抗(bevacuzimab),贝沙罗汀(bexarotene),克拉屈滨(cladribine),里本灵(clofarabine),darbepoetin alfa,地尼白介素(denileukin),右雷佐生(dexrazoxane),阿法依伯汀(epoetin alfa),厄洛替尼(elotinib),非格司亭(filgrastim),醋酸组氨瑞林(histrelin acetate),ibritumomab,干扰素 α -2a,干扰素 α -2b,lenalidomide,左旋咪唑(levamisole),美司钠(mesna),甲氧沙林(methoxsalen),诺龙(nandrolone),奈拉滨(nelarabine),诺非单抗(nofetumomab),奥普瑞白介素(oprelvekin),palifermin,帕米膦酸盐(pamidronate),培加酶(pegademase),培门冬酶(pegaspargase),PEG非格司亭(pegfilgrastim),培美曲塞二钠(pemetrexed disodium),普卡霉素(plicamycin),卟吩姆钠(porfimer sodium),喹纳克林(quinacrine),拉布立酶(rasburicase),沙格司亭(sargramostim),替莫唑胺(temozolomide),VM-26,6-TG,托瑞米芬(toremifene),tretinoin,ATRA,戊柔比星(valrubicin),唑来膦酸盐(zoledronate),和唑来膦酸(zoledronic acid),及其药学可接受盐。

[0122] 化疗剂还包括氢化可的松(hydrocortisone),醋酸氢化可的松(hydrocortisone acetate),醋酸可的松(cortisone acetate),替可的松匹伐酯(tixocortol pivalate),曲安奈德(triamcinolone acetonide),曲安西龙醇(triamcinolone alcohol),莫米松(mometasone),安西奈德(amcinonide),布地奈德(budesonide),地奈德(desonide),fluocinonide,fluocinolone acetonide,倍他米松(betamethasone),倍他米松磷酸钠(betamethasone sodium phosphate),地塞米松(dexamethasone),地塞米松磷酸钠(dexamethasone sodium phosphate),氟可龙(flucortolone),氢化可的松-17-丁酸盐(hydrocortisone-17-butyrate),氢化可的松-17-戊酸盐(hydrocortisone-17-

valerate), aclometasone dipropionate, 戊酸倍他米松 (betamethasone valerate), 二丙酸倍他米松 (betamethasone dipropionate), 泼尼卡酯 (prednicarbate), 氯倍他松-17-丁酸盐 (clobetasone-17-butyrate), 氯倍他松-17-丙酸盐 (clobetasol-17-propionate), 己酸氟考龙 (fluocortolone caproate), 特戊酸氟考龙 (fluocortolone pivalate) 和醋酸氟甲叉龙 (fluprednidene acetate); 免疫选择性抗炎肽 (ImSAID), 诸如苯丙氨酸-谷氨酰胺-甘氨酸 (FEG) 及其D-异构体形式 (feG) (IMULAN BioTherapeutics, LLC); 抗风湿药物, 诸如硫唑嘌呤 (azathioprine), 环孢素 (ciclosporin) (环孢霉素 (cyclosporine) A), D-青霉胺, 金盐, 羟氯喹, 来氟米特 (leflunomide) 米诺环素 (minocycline), 柳氮磺吡啶 (sulfasalazine), 肿瘤坏死因子 α (TNF α) 阻断剂, 诸如依那西普 (etanercept) (Enbrel), 英夫利昔单抗 (infliximab) (Remicade), 阿达木单抗 (adalimumab) (Humira), certolizumab pegol (Cimzia), golimumab (Simponi), 白介素-1 (IL-1) 阻断剂, 诸如阿那白滞素 (anakinra) (Kineret), T细胞共刺激阻断剂, 诸如abatacept (Orencia), 白介素-6 (IL-6) 阻断剂, 诸如tocilizumab (ACTEMERA®); 白介素-13 (IL-13) 阻断剂, 诸如lebrikizumab; 干扰素 α (IFN) 阻断剂, 诸如Rontalizumab; β 7-整联蛋白阻断剂, 诸如rhuMAb Beta7; IgE途径阻断剂, 诸如抗Mprime; 分泌型同三聚LTa3和膜结合型异三聚LTa1/ β 2阻断剂, 诸如抗淋巴毒素 α (LTa); 放射性同位素, 例如At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹²和Lu放射性同位素; 混杂调查性药剂, 诸如thioplantin, PS-341, 丁酸苯酯, ET-18-OCH₃, 或法尼基转移酶抑制剂 (L-739749, L-744832; 多酚, 诸如槲皮素 (quercetin), 白藜芦醇 (resveratrol), piceatannol, 没食子酸表没食子儿茶精 (epigallocatechine gallate), 茶黄素 (theaflavin), 黄烷醇 (flavanol), 原花青素 (procyanidins), 白桦脂酸 (betulinic acid) 及其衍生物; 自噬抑制剂, 诸如氯喹; δ -9-四氢大麻酚 (tetrahydrocannabinol) (屈大麻酚 (dronabinol), MARINOL®); β -拉帕醌 (lapachone); 拉帕醇 (lapachol); 秋水仙素类 (colchicines); 白桦脂酸 (betulinic acid); 乙酰喜树碱, 东莨菪亭 (scopolectin), 和9-氨基喜树碱; 鬼臼毒素 (podophyllotoxin); 替加氟 (tegafur) (UFTORAL®); 贝沙罗汀 (bexarotene) (TARGRETIN®); 二膦酸盐类 (bisphosphonates), 诸如氯膦酸盐 (clodronate) (例如 BONEFOS® 或 OSTAC®), 依替膦酸钠 (etidronate) (DIDROCAL®), NE-58095, 唑来膦酸/唑来膦酸盐 (zoledronic acid/zoledronate) (ZOMETA®), 阿伦膦酸盐 (alendronate) (FOSAMAX®), 帕米膦酸盐 (pamidronate) (AREDIA®), 替鲁膦酸盐 (tiludronate) (SKELID®), 或利塞膦酸盐 (risedronate) (ACTONEL®); 和表皮生长因子受体 (EGF-R); 疫苗, 诸如 THERATOPE® 疫苗; 哌立福辛 (perifosine), COX-2抑制剂 (例如塞来考昔 (celecoxib) 或艾托考昔 (etoricoxib)), 蛋白体抑制剂 (例如PS341); CCI-779; tipifarnib (R11577); orafenib, ABT510; Bcl-2抑制剂, 诸如oblimersen sodium (GENASENSE®); pixantrone; 法尼基转移酶抑制剂, 诸如lonafarnib (SCH 6636, SARASAR™); 及任何上述各项的药学可接受盐, 酸或衍生物; 以及两种或更多种上述各项的组合, 诸如CHOP (环磷酰胺, 多柔比星, 长春新碱, 和泼尼松龙联合疗法的缩写) 和FOLFOX (奥沙利铂 (ELOXATIN™) 联合5-FU和亚叶酸的治疗方案的缩写)。

[0123] 化疗剂还包括具有止痛, 退热和消炎效果的非类固醇消炎药。NSAID包括酶环氧合

酶的非选择性抑制剂。NSAID的具体例子包括阿司匹林 (aspirin), 丙酸衍生物诸如布洛芬 (ibuprofen), 非诺洛芬 (fenoprofen), 酮洛芬 (ketoprofen), 氟比洛芬 (flurbiprofen), 奥沙普秦 (oxaprozin) 和萘普生 (naproxen), 乙酸衍生物诸如吲哚美辛 (indomethacin), 舒林酸 (sulindac), 依托度酸 (etodolac), 双氯芬酸 (diclofenac), 烯醇酸衍生物诸如吡罗昔康 (piroxicam), 美洛昔康 (meloxicam), 替诺昔康 (tenoxicam), 屈恶昔康 (droxicam), 氯诺昔康 (lornoxicam) 和伊索昔康 (isoxicam), 灭酸衍生物诸如甲灭酸 (mefenamic acid), 甲氯芬那酸 (meclofenamic acid), 氟芬那酸 (flufenamic acid), 托芬那酸 (tolfenamic acid), 和COX-2抑制剂诸如塞来考昔 (celecoxib), 依托考昔 (etoricoxib), 罗美考昔 (lumiracoxib), 帕瑞考昔 (parecoxib), 罗非考昔 (rofecoxib), 罗非昔布 (rofecoxib), 和伐地考昔 (valdecoxib)。NSAID可被指示用于诸如类风湿性关节炎, 骨关节炎, 炎性关节病, 强直性脊柱炎, 银屑病关节炎, 莱特尔氏综合征, 急性痛风, 痛经, 骨转移疼痛, 头痛和偏头痛, 手术后疼痛, 由于炎症和组织损伤引起的轻至中度疼痛, 发热, 肠梗阻, 和肾绞痛等疾患的症状缓解。

[0124] 术语“细胞因子”是由一种细胞群释放, 作为细胞间介质作用于另一细胞的蛋白质的通称。此类细胞因子的例子有淋巴因子, 单核因子; 白介素 (IL), 诸如IL-1, IL-1 α , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, IL-15; 肿瘤坏死因子, 诸如TNF- α 或TNF- β ; 及其它多肽因子, 包括LIF和kit配体 (KL) 和 γ -干扰素。如本文中使用的, 术语细胞因子包括来自天然来源或来自重组细胞培养物的蛋白质及天然序列细胞因子的生物学活性等效物, 包括通过人工合成产生的小分子实体, 及其药剂学可接受的衍生物和盐。

[0125] 术语“吞噬”意指细胞对细胞或颗粒物质的内在化。在一些实施方案中, 吞噬性细胞或吞噬细胞为巨噬细胞或嗜中性粒细胞。在一些实施方案中, 该细胞是表达人OX40的细胞。用于测定吞噬的方法是本领域已知的, 而且包括使用显微镜检术来检测细胞内被内在化的另一细胞的存在。在其它实施方案中, 使用FACS来检测吞噬, 例如通过检测细胞 (其可以是可检测标记的, 例如用与下述细胞不同的标记物) 内可检测标记的另一细胞的存在。

[0126] 如本文中使用的, 短语“不拥有实质性活性”或“实质性无活性”就抗体而言意味着该抗体不展现超出背景水平的活性 (在一些实施方案中, 统计学显著的超出背景水平的)。如本文中使用的, 短语“很少至无活性”就抗体而言意味着该抗体不展示生物学有意义量的功能。可以依照本领域已知的任何测定法或技术来测量或检测功能, 包括例如本文中描述的那些。在一些实施方案中, 抗体功能是刺激效应T细胞增殖和/或细胞因子分泌。

[0127] 如本文中所使用的, 术语“生物标志物”或“标志物”一般指其在组织或细胞中或上的表达或分泌可以通过已知方法 (或本文中所公开的方法) 来检测且预示或可用于预测 (或帮助预测) 细胞, 组织或患者对治疗方案的响应性的分子, 包括基因, mRNA, 蛋白质, 碳水化合物结构, 或糖脂。

[0128] “患者样品”指从癌症患者得到的细胞或流体的集合。组织或细胞样品的来源可以是实体组织, 像来自新鲜的, 冷冻的和/或保存的器官或组织样品或活检样品或穿刺样品; 血液或任何血液组分; 体液, 诸如脑脊液, 羊膜液 (羊水), 腹膜液 (腹水), 或间隙液; 来自受试者的妊娠或发育任何时间的细胞。组织样品可能包含在自然界中天然不与组织混杂的化合物, 诸如防腐剂, 抗凝剂, 缓冲剂, 固定剂, 营养物, 抗生素, 等等。肿瘤样品的例子在本文中包括但不限于肿瘤活检, 细针吸出物, 支气管灌洗液, 胸膜液 (胸水), 痰液, 尿液, 手术标

本,循环中的肿瘤细胞,血清,血浆,循环中的血浆蛋白质,腹水,衍生自肿瘤或展现出肿瘤样特性的原代细胞培养物或细胞系,以及保存的肿瘤样品,诸如福尔马林固定的,石蜡包埋的肿瘤样品或冷冻的肿瘤样品。

[0129] 在本文中使用时,短语“基于……表达”意味着关于本文中的一种或多种生物标志物的表达水平或表达的存在或缺失(例如存在或缺失或流行度(例如展现细胞的百分比))(例如表达FcR的细胞的存在或缺失或量或流行度,或例如人效应细胞的存在或缺失或量或流行度)的信息用于告知治疗决定,包装插页上提供的信息,或营销/促销指导,等。

[0130] “具有人效应细胞”的癌症或生物学样品是在诊断测试中在样品中有人效应细胞(例如浸润性人效应细胞)存在的癌症或生物学样品。

[0131] “具有表达FcR的细胞”的癌症或生物学样品是在诊断测试中在样品中有表达FcR的细胞(例如浸润性表达FcR的细胞)存在的癌症或生物学样品。在一些实施方案中,FcR是Fc γ R。在一些实施方案中,FcR是活化性Fc γ R。

[0132] 如本文中使用的,短语“推荐治疗”指使用所生成的涉及患者的样品中c-met的水平或存在的信息或数据来鉴定患者为适合或不适合用某种疗法治疗。在一些实施方案中,所述疗法可包含c-met抗体(例如onartuzumab)在一些实施方案中,所述疗法可包含VEGF拮抗剂(例如贝伐珠单抗)。在一些实施方案中,所述疗法可包含抗人OX40激动性抗体。所述信息或数据可以是任何形式,书面的,口头的或电子的。在一些实施方案中,使用所生成的信息或数据包括传达,呈现,报告,存储,发送,转移,供应,传输,递送,分发,或其组合。在一些实施方案中,传达,呈现,报告,存储,发送,转移,供应,传输,递送,分发,或其组合是由计算装置,分析单元或其组合实施的。在一些进一步的实施方案中,传达,呈现,报告,存储,发送,转移,供应,传输,分发,或其组合是由个人(例如实验室或医学专业人员)实施的。在一些实施方案中,所述信息或数据包括表达FcR的细胞的量或流行度与参照水平的比较。在一些实施方案中,所述信息或数据包括人效应细胞的量或流行度与参照水平的比较。在一些实施方案中,所述信息或数据包括样品中存在或缺失人效应细胞或表达FcR的细胞的指示。在一些实施方案中,所述信息或数据包括特定百分比的细胞中(例如高流行度)存在表达FcR的细胞和/或人效应细胞的指示。在一些实施方案中,所述信息或数据包括患者适合或不适合用包含抗人OX40激动性抗体的疗法治疗的指示。

[0133] 在提到患者时,“未接受过免疫疗法”意味着患者未曾接受过使用免疫治疗剂的在先治疗。在一些实施方案中,免疫治疗剂可以指共刺激激动剂和/或免疫检查点阻断疗法。共刺激激动剂可以靶向例如但不限于OX40,CD40,CD226,CD28,OX40,GITR,CD137,CD27,HVEM,或CD127。在一些实施方案中,该共刺激激动剂可以是OX40,CD137,CD27,GITR,或CD40激动剂。免疫检查点阻断疗法可以包括例如但不限于针对抑制性共刺激分子的拮抗剂。抑制性共刺激分子可以包括但不限于CTLA-4,PD-1,PD-L1,PD-L2,TIM-3,BTLA,VISTA,LAG-3,B7-H3,B7-H4,IDO,TIGIT,MICA/B,或精氨酸酶。在一些实施方案中,该免疫检查点阻断疗法可以是CTLA4(也称作CD152)拮抗剂或PD-1轴结合拮抗剂。

[0134] 术语“PD-1轴结合拮抗剂”是如下的分子,其抑制PD-1轴结合配偶与一种或多种它的结合配偶相互作用,从而去除源自PD-1信号传导轴上的信号传导的T细胞功能障碍-一项结果是恢复或增强T细胞功能(例如增殖,细胞因子生成,靶细胞杀伤)。如本文中使用的,PD-1轴结合拮抗剂包括PD-1结合拮抗剂,PD-L1结合拮抗剂和PD-L2结合拮抗剂。

[0135] 术语“PD-1结合拮抗剂”是如下的分子,其降低,阻断,抑制,消除或干扰源自PD-1与一种或多种它的结合配偶(诸如PD-L1,PD-L2)相互作用的信号转导。在一些实施方案中,PD-1结合拮抗剂是抑制PD-1结合它的结合配偶的分子。在一个特定方面,PD-1结合拮抗剂抑制PD-1结合PD-L1和/或PD-L2。例如,PD-1结合拮抗剂包括降低,阻断,抑制,消除或干扰源自PD-1与PD-L1和/或PD-L2相互作用的信号转导的抗PD-1抗体,其抗原结合片段,免疫粘附素,融合蛋白,寡肽和其它分子。在一个实施方案中,PD-1结合拮抗剂降低由或经由T淋巴细胞上表达的细胞表面蛋白质介导的负面共刺激信号(经由PD-1介导信号传导),从而使得功能障碍性T细胞不太功能障碍性(例如增强对抗原识别的效应器应答)。在一些实施方案中,PD-1结合拮抗剂是抗PD-1抗体。在一个特定方面,PD-1结合拮抗剂是本文所述MDX-1106。在另一个特定方面,PD-1结合拮抗剂是本文所述Merck3475。在另一个特定方面,PD-1结合拮抗剂是本文所述CT-011。

[0136] 术语“PD-L1结合拮抗剂”是如下的分子,其降低,阻断,抑制,消除或干扰源自PD-L1与一种或多种它的结合配偶(诸如PD-1,B7-1)相互作用的信号转导。在一些实施方案中,PD-L1结合拮抗剂是抑制PD-L1结合它的结合配偶的分子。在一个特定方面,PD-L1结合拮抗剂抑制PD-L1结合PD-1和/或B7-1。在一些实施方案中,PD-L1结合拮抗剂包括降低,阻断,抑制,消除或干扰源自PD-L1与一种或多种它的结合配偶(诸如PD-1,B7-1)相互作用的信号转导的抗PD-L1抗体,其抗原结合片段,免疫粘附素,融合蛋白,寡肽和其它分子。在一个实施方案中,PD-L1结合拮抗剂降低由或经由T淋巴细胞上表达的细胞表面蛋白质介导的负面共刺激信号(经由PD-L1介导信号传导),从而使得功能障碍性T细胞不太功能障碍性(例如增强对抗原识别的效应器应答)。在一些实施方案中,PD-L1结合拮抗剂是抗PD-L1抗体。在一个具体方面,抗PD-L1抗体是本文所述YW243.55.S70。在另一个具体方面,抗PD-L1抗体是本文所述MDX-1105。在仍有另一个具体方面,抗PD-L1抗体是本文所述MPDL3280A。

[0137] 术语“PD-L2结合拮抗剂”是如下的分子,其降低,阻断,抑制,消除或干扰源自PD-L2与一种或多种它的结合配偶(诸如PD-1)相互作用的信号转导。在一些实施方案中,PD-L2结合拮抗剂是抑制PD-L2结合它的结合配偶的分子。在一个特定方面,PD-L2结合拮抗剂抑制PD-L2结合PD-1。在一些实施方案中,PD-L2拮抗剂包括降低,阻断,抑制,消除或干扰源自PD-L2与一种或多种它的结合配偶(诸如PD-1)相互作用的信号转导的抗PD-L2抗体,其抗原结合片段,免疫粘附素,融合蛋白,寡肽和其它分子。在一个实施方案中,PD-L2结合拮抗剂降低由或经由T淋巴细胞上表达的细胞表面蛋白质介导的负面共刺激信号(经由PD-L2介导信号传导),从而使得功能障碍性T细胞不太功能障碍性(例如增强对抗原识别的效应器应答)。在一些实施方案中,PD-L2结合拮抗剂是免疫粘附素。

[0138] II. 组合物和方法

[0139] 一方面,本发明部分基于多种OX40结合剂的鉴定。在某些实施方案中,提供了结合人OX40的抗体(例如激动性抗体)。本发明的抗体例如对于癌症和其它与OX40表达和/或活性有关的病症的诊断或治疗是有用的。

[0140] A. 例示性抗OX40抗体

[0141] 一方面,本发明提供分离的结合人OX40的抗体。

[0142] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体以小于或等于约0.45nM的亲合力结合人OX40。在一些实施方案中,该抗人OX40抗体以小于或等于约0.4nM的亲合力结合人OX40。

在一些实施方案中,该抗人OX40抗体以小于或等于约0.5nM的亲合力结合人OX40。在一些实施方案中,结合亲和力是使用放射免疫测定法测定的。

[0143] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体结合人OX40和食蟹猴OX40。在一些实施方案中,结合是使用FACS测定法测定的。在一些实施方案中,对人OX40的结合具有约0.2ug/ml的EC50。在一些实施方案中,对人OX40的结合具有约0.3ug/ml或更低的EC50。在一些实施方案中,对食蟹猴OX40的结合具有约1.5ug/ml的EC50。在一些实施方案中,对食蟹猴OX40的结合具有约1.4ug/ml的EC50。

[0144] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体不结合大鼠OX40或小鼠OX40。

[0145] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体是消减性抗人OX40抗体(例如消减表达人OX40的细胞)。在一些实施方案中,该表达人OX40的细胞是CD4+效应T细胞。在一些实施方案中,该表达人OX40的细胞是Treg细胞。在一些实施方案中,消减是通过ADCC和/或吞噬进行的。在一些实施方案中,该抗体通过结合由人效应细胞表达的Fc γ R和激活人效应细胞功能来介导ADCC。在一些实施方案中,该抗体通过结合由人效应细胞表达的Fc γ R和激活人效应细胞功能来介导吞噬。例示性人效应细胞包括例如巨噬细胞,天然杀伤(NK)细胞,单核细胞,嗜中性粒细胞。在一些实施方案中,该人效应细胞是巨噬细胞。在一些实施方案中,该人效应细胞是NK细胞。在一些实施方案中,消减不是通过凋亡进行的。

[0146] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体具有功能性Fc区。在一些实施方案中,功能性Fc区的效应器功能是ADCC。在一些实施方案中,功能性Fc区的效应器功能是吞噬。在一些实施方案中,功能性Fc区的效应器功能是ADCC和吞噬。在一些实施方案中,该Fc区是人IgG1。在一些实施方案中,该Fc区是人IgG4。

[0147] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体在表达OX40的细胞(例如Treg)中不诱导凋亡。在一些实施方案中,凋亡是使用抗体浓度30ug/ml测定的,例如通过使用膜联蛋白V和碘化丙啶染色的Treg测定是否发生凋亡。

[0148] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体增强CD4+效应T细胞功能,例如通过提高CD4+效应T细胞增殖和/或提高CD4+效应T细胞的 γ -干扰素生成(例如与抗人OX40激动性抗体处理之前的增殖和/或细胞因子生成相比)。在一些实施方案中,该细胞因子是 γ -干扰素。在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体提高肿瘤内(浸润性)CD4+效应T细胞的数目(例如CD4+效应T细胞的总数,或例如CD45+细胞中CD4+细胞的百分比),例如与抗人OX40激动性抗体处理之前肿瘤内(浸润性)CD4+T细胞的数目相比。在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体提高表达 γ -干扰素的肿瘤内(浸润性)CD4+效应T细胞的数目(例如表达 γ -干扰素的CD4+细胞的总数,或例如总CD4+细胞中表达 γ -干扰素的CD4+细胞的百分比),例如与抗人OX40激动性抗体处理之前表达 γ -干扰素的肿瘤内(浸润性)CD4+T细胞的数目相比。

[0149] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体提高肿瘤内(浸润性)CD8+效应T细胞的数目(例如CD8+效应T细胞的总数,或例如CD45+细胞中CD8+的百分比),例如与抗人OX40激动性抗体处理之前肿瘤内(浸润性)CD8+T效应细胞的数目相比。在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体提高表达 γ -干扰素的肿瘤内(浸润性)CD8+效应T细胞的数目(例如总CD8+细胞中表达 γ -干扰素的CD8+细胞的百分比),例如与抗人OX40激动性抗体处理之前表达 γ -干扰素的肿瘤内(浸润性)CD8+T细胞的数目相比。

[0150] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体增强记忆T细胞功能,例如通过提高记

忆T细胞增殖和/或提高记忆细胞的细胞因子生成。在一些实施方案中,该细胞因子是 γ -干扰素。

[0151] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体抑制Treg功能,例如通过降低效应T细胞功能(例如效应T细胞增殖和/或效应T细胞细胞因子分泌)的Treg遏制。在一些实施方案中,该效应T细胞是CD4⁺效应T细胞。在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体降低肿瘤内(浸润性)Treg的数目(例如Treg的总数或例如CD4⁺细胞中Fox3p⁺细胞的百分比)。

[0152] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体改造成提高效应器功能(例如与野生型IgG1中的效应器功能相比)。在一些实施方案中,该抗体具有升高的对Fc γ 受体的结合。在一些实施方案中,该抗体缺少附着(直接或间接)Fc区的岩藻糖。例如,此类抗体中岩藻糖的量可以是1%至80%,1%至65%,5%至65%或20%至40%。在一些实施方案中,该Fc区包含两分型寡糖,例如其中附着至抗体Fc区的双触角寡糖是通过G1cNAc两分的。在一些实施方案中,该抗体包含具有一处或多处提高ADCC的氨基酸替代的Fc区,例如Fc区位置298,333,和/或334(EU残基编号方式)处的替代。

[0153] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体提高表达OX40的靶细胞中的OX40信号转导。在一些实施方案中,OX40信号转导是通过监测NF κ B下游信号传导而检测的。

[0154] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体于40 $^{\circ}$ C处理2周后是稳定的。

[0155] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体结合人效应细胞,例如结合人效应细胞表达的Fc γ R(例如活化性Fc γ R)。在一些实施方案中,该人效应细胞实施(能够实施)ADCC效应器功能。在一些实施方案中,该人效应细胞实施(能够实施)吞噬效应器功能。

[0156] 在一些实施方案中,包含变异IgG1Fc多肽(其包含消除对人效应细胞的结合的突变,例如DANA突变)的抗人OX40激动性抗体相对于包含天然序列IgG1Fc部分的抗人OX40激动性抗体具有降低的活性(例如CD4⁺效应T细胞功能,例如增殖)。在一些实施方案中,包含变异IgG1Fc多肽(其包含消除对人效应细胞的结合的突变,例如DANA突变)的抗人OX40激动性抗体并不拥有实质性活性(例如CD4⁺效应T细胞功能,例如增殖)。

[0157] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体功能需要抗体交联。在一些实施方案中,功能是刺激CD4⁺效应T细胞增殖。在一些实施方案中,抗体交联是通过提供粘附至固体表面(例如细胞培养板)的抗人OX40激动性抗体而测定的。在一些实施方案中,抗体交联是通过在该抗体的IgG1Fc部分中引入突变(例如DANA突变)并测试突变体抗体的功能而测定的。

[0158] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体与OX40L竞争对人OX40的结合。在一些实施方案中,在体外测定法中添加OX40L并不增强抗人OX40抗体功能。

[0159] 依照另一个实施方案,该抗人OX40激动性抗体包括任何一项下述特性,下述特性的任何组合,或所有下述特性:(1)以小于或等于约0.45nM的亲合力结合人OX40,在一些实施方案中,以小于或等于约0.4nM的亲合力结合人OX40,在一些实施方案中,以小于或等于约0.5nM的亲合力结合人OX40,在一些实施方案中,结合亲合力是使用放射免疫测定法测定的;(2)结合人OX40和食蟹猴OX40,在一些实施方案中,结合是使用FACS测定法测定的,(3)以约0.2 μ g/ml的EC50结合人OX40,在一些实施方案中,以约0.3 μ g/ml或更低的EC50结合人OX40,在一些实施方案中,以约1.5 μ g/ml的EC50结合食蟹猴OX40,在一些实施方案中,以约1.4 μ g/ml的EC50结合食蟹猴OX40,(4)并不实质性结合大鼠OX40或小鼠OX40,(6)是消减性抗人OX40抗体(例如消减表达人OX40的细胞),在一些实施方案中,该细胞是CD4⁺效应T细胞

和/或Treg细胞, (7) 增强CD4+效应T细胞功能, 例如通过提高CD4+效应T细胞增殖和/或提高CD4+效应T细胞的 γ -干扰素生成(例如与抗人OX40激动性抗体处理之前的增殖和/或细胞因子生成相比), (8) 增强记忆T细胞功能, 例如通过提高记忆T细胞增殖和/或提高记忆细胞的细胞因子生成, (9) 抑制Treg功能, 例如通过降低效应T细胞功能(例如效应T细胞增殖和/或效应T细胞细胞因子分泌)的Treg遏制。在一些实施方案中, 该效应T细胞是CD4+效应T细胞, (10) 提高表达OX40的靶细胞中的OX40信号转导(在一些实施方案中, OX40信号转导是通过监测NFkB下游信号传导检测的), (11) 于40°C处理2周后是稳定的, (12) 结合人效应细胞, 例如结合由人效应细胞表达的Fc γ R, (13) 包含变异IgG1Fc多肽(其包含消除对人效应细胞的结合的突变, 例如N297G)的抗人OX40激动性抗体相对于包含天然序列IgG1Fc部分的抗人OX40激动性抗体具有降低的活性(例如CD4+效应T细胞功能, 例如增殖), 在一些实施方案中, 包含变异IgG1Fc多肽(其包含消除对人效应细胞的结合的突变, 例如N297G)的抗人OX40激动性抗体并不拥有实质性活性(例如CD4+效应T细胞功能, 例如增殖), (14) 抗人OX40激动性抗体功能需要抗体交联(例如通过Fc受体结合)。

[0160] 一方面, 本发明提供抗人OX40激动性抗体, 其包含至少一个, 两个, 三个, 四个, 五个, 或六个选自下述的HVR: (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2; (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3; (d) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1; (e) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2; 和(f) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3。

[0161] 一方面, 本发明提供抗人OX40激动性抗体, 其包含至少一个, 至少两个, 或所有三个选自下述的VH HVR序列: (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2; 和(c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3。在一个实施方案中, 该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3。在另一个实施方案中, 该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3和包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3。在又一个实施方案中, 该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3, 包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3, 和包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2。在又一个实施方案中, 该抗体包含(a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2; 和(c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3。

[0162] 另一方面, 本发明提供抗人OX40激动性抗体, 其包含至少一个, 至少两个, 或所有三个选自下述的VL HVR序列: (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2; 和(c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3。在一个实施方案中, 该抗体包含(a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2; 和(c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3。

[0163] 另一方面, 本发明的抗人OX40激动性抗体包含(a) VH域, 该VH域包含至少一个, 至少两个, 或所有三个选自下述的VH HVR序列: (i) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1, (ii) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2, 和(iii) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3; 和(b) VL域, 该VL域包含至少一个, 至少两个, 或所有三个选自下述的VL HVR序列: (i) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1, (ii) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2, 和(c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3。

[0164] 另一方面, 本发明提供抗人OX40激动性抗体, 其包含(a) 包含氨基酸序列SEQ ID

NO:2的HVR-H1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2; (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3; (d) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1; (e) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2; 和 (f) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3。

[0165] 一方面, 本发明提供抗人OX40激动性抗体, 其包含至少一个, 两个, 三个, 四个, 五个, 或六个选自下述的HVR: (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2; (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3; (d) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1; (e) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2; 和 (f) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:26的HVR-L3。

[0166] 在另一个实施方案中, 该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3和包含氨基酸序列SEQ ID NO:26的HVR-L3。在又一个实施方案中, 该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3, 包含氨基酸序列SEQ ID NO:26的HVR-L3, 和包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2。

[0167] 另一方面, 本发明的抗体包含 (a) VH域, 该VH域包含至少一个, 至少两个, 或所有三个选自下述的VH HVR序列: (i) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1, (ii) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2, 和 (iii) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3; 和 (b) VL域, 该VL域包含至少一个, 至少两个, 或所有三个选自下述的VL HVR序列: (i) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1, (ii) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2, 和 (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:26的HVR-L3。

[0168] 另一方面, 本发明提供一种抗体, 其包含 (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2; (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3; (d) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1; (e) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2; 和 (f) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:26的HVR-L3。

[0169] 一方面, 本发明提供抗人OX40激动性抗体, 其包含至少一个, 两个, 三个, 四个, 五个, 或六个选自下述的HVR: (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2; (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3; (d) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1; (e) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2; 和 (f) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:27的HVR-L3。

[0170] 在另一个实施方案中, 该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3和包含氨基酸序列SEQ ID NO:27的HVR-L3。在又一个实施方案中, 该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3, 包含氨基酸序列SEQ ID NO:27的HVR-L3, 和包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2。

[0171] 另一方面, 本发明的抗体包含 (a) VH域, 该VH域包含至少一个, 至少两个, 或所有三个选自下述的VH HVR序列: (i) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1, (ii) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2, 和 (iii) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3; 和 (b) VL域, 该VL域包含至少一个, 至少两个, 或所有三个选自下述的VL HVR序列: (i) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1, (ii) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2, 和 (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:27的HVR-L3。

[0172] 另一方面, 本发明提供一种抗体, 其包含 (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2; (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3;

(d) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1; (e) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2; 和 (f) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:27的HVR-L3。

[0173] 一方面, 本发明提供抗人OX40激动性抗体, 其包含至少一个, 两个, 三个, 四个, 五个, 或六个选自下述的HVR: (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2, 8或9的HVR-H1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3, 10, 11, 12, 13或14的HVR-H2; (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4, 15, 或19的HVR-H3; (d) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1; (e) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2; 和 (f) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:7, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 或28的HVR-L3。

[0174] 一方面, 本发明提供一种抗体, 其包含至少一个, 至少两个, 或所有三个选自下述的VH HVR序列: (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2, 8或9的HVR-H1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3, 10, 11, 12, 13或14的HVR-H2; 和 (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4, 15, 或19的HVR-H3。在一个实施方案中, 该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:4, 15, 或19的HVR-H3。在另一个实施方案中, 该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:4, 15, 或19的HVR-H3和包含氨基酸序列SEQ ID NO:7, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 或28的HVR-L3。在又一个实施方案中, 该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:4, 15, 或19的HVR-H3, 包含氨基酸序列SEQ ID NO:7, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 或28的HVR-L3, 和包含氨基酸序列SEQ ID NO:3, 10, 11, 12, 13或14的HVR-H2。在又一个实施方案中, 该抗体包含 (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2, 8或9的HVR-H1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3, 10, 11, 12, 13或14的HVR-H2; 和 (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4, 15, 或19的HVR-H3。

[0175] 另一方面, 本发明提供一种抗体, 其包含至少一个, 至少两个, 或所有三个选自下述的VL HVR序列: (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2; 和 (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:7, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 或28的HVR-L3。在一个实施方案中, 该抗体包含 (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2; 和 (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:7, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 或28的HVR-L3。

[0176] 另一方面, 本发明的抗体包含 (a) VH域, 该VH域包含至少一个, 至少两个, 或所有三个选自下述的VH HVR序列: (i) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2, 8或9的HVR-H1, (ii) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3, 10, 11, 12, 13或14的HVR-H2, 和 (iii) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4, 15, 或19的HVR-H3; 和 (b) VL域, 该VL域包含至少一个, 至少两个, 或所有三个选自下述的VL HVR序列: (i) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1, (ii) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2, 和 (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:7, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 或28的HVR-L3。

[0177] 另一方面, 本发明提供一种抗体, 其包含 (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2, 8或9的HVR-H1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3, 10, 11, 12, 13或14的HVR-H2; (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4, 15, 或19的HVR-H3; (d) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1; (e) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2; 和 (f) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:7, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 或28的HVR-L3。

[0178] 一方面, 本发明提供抗人OX40激动性抗体, 其包含至少一个, 两个, 三个, 四个, 五个, 或六个选自下述的HVR: (a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:172的HVR-H1; (b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:173的HVR-H2; (c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:174的HVR-H3; (d) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1; (e) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2; 和 (f) 包含氨基酸

序列SEQ ID NO:175的HVR-L3。在一些实施方案中,HVR-H2不是DMYPDAAAASYNQKFRE (SEQ ID NO:193)。在一些实施方案中,HVR-H3不是APRWAAAA (SEQ ID NO:194)。在一些实施方案中,HVR-L3不是QAAAAAAT (SEQ ID NO:195)。

[0179] 一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VH HVR序列:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:172的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:173的HVR-H2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:174的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:174的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:174的HVR-H3和包含氨基酸序列SEQ ID NO:175的HVR-L3。在又一个实施方案中,该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:174的HVR-H3,包含氨基酸序列SEQ ID NO:175的HVR-L3,和包含氨基酸序列SEQ ID NO:173的HVR-H2。在又一个实施方案中,该抗体包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:172的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:173的HVR-H2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:174的HVR-H3。在一些实施方案中,HVR-H2不是DMYPDAAAASYNQKFRE (SEQ ID NO:193)。在一些实施方案中,HVR-H3不是APRWAAAA (SEQ ID NO:194)。在一些实施方案中,HVR-L3不是QAAAAAAT (SEQ ID NO:195)。

[0180] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:175的HVR-L3。在一些实施方案中,HVR-L3不是QAAAAAAT (SEQ ID NO:195)。

[0181] 另一方面,本发明的抗体包含(a) VH域,该VH域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VH HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:172的HVR-H1,(ii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:173的HVR-H2,和(iii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:174的HVR-H3;和(b) VL域,该VL域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VL HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1,(ii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2,和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:175的HVR-L3。

[0182] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:172的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:173的HVR-H2;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:174的HVR-H3;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2;和(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:175的HVR-L3。在一些实施方案中,HVR-H2不是DMYPDAAAASYNQKFRE (SEQ ID NO:193)。在一些实施方案中,HVR-H3不是APRWAAAA (SEQ ID NO:194)。在一些实施方案中,HVR-L3不是QAAAAAAT (SEQ ID NO:195)。

[0183] 共有序列SEQ ID NO:172,173,174和175涵盖上述替代的所有可能组合。

[0184] 一方面,本发明提供抗人OX40激动性抗体,其包含至少一个,两个,三个,四个,五个,或六个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39的HVR-L2;和(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。

[0185] 一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VH HVR序列:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3。在一个实施方案中,该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含包含氨基

酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3和包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。在又一个实施方案中,该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3,包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3,和包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2。在又一个实施方案中,该抗体包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3。

[0186] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VL HVR序列:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。

[0187] 另一方面,本发明的抗体包含(a)VH域,该VH域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VH HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1,(ii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2,和(iii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3;和(b)VL域,该VL域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VL HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1,(ii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39的HVR-L2,和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。

[0188] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39的HVR-L2;和(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。

[0189] 一方面,本发明提供抗人OX40激动性抗体,其包含至少一个,两个,三个,四个,五个,或六个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:40的HVR-L2;和(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。

[0190] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VL HVR序列:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:40的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:40的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。

[0191] 另一方面,本发明的抗体包含(a)VH域,该VH域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VH HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1,(ii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2,和(iii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3;和(b)VL域,该VL域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VL HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1,(ii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:40的HVR-L2,和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。

[0192] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:40的HVR-

L2;和(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。

[0193] 一方面,本发明提供抗人OX40激动性抗体,其包含至少一个,两个,三个,四个,五个,或六个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30,31,或32的HVR-H2;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39,40或41的HVR-L2;和(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42,43,或44的HVR-L3。

[0194] 一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VH HVR序列:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30,31,或32的HVR-H2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3和包含氨基酸序列SEQ ID NO:42,43,或44的HVR-L3。在又一个实施方案中,该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3,包含氨基酸序列SEQ ID NO:42,43,或44的HVR-L3,和包含氨基酸序列SEQ ID NO:39,40或41的HVR-H2。在又一个实施方案中,该抗体包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30,31,或32的HVR-H2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3。

[0195] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VL HVR序列:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39,40或41的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42,43,或44的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39,40或41的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42,43,或44的HVR-L3。

[0196] 另一方面,本发明的抗体包含(a)VH域,该VH域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VH HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1,(ii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30,31,或32的HVR-H2,和(iii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3;和(b)VL域,该VL域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VL HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1,(ii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39,40或41的HVR-L2,和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42,43,或44的HVR-L3。

[0197] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30,31,或32的HVR-H2;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39,40或41的HVR-L2;和(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42,43,或44的HVR-L3。

[0198] 一方面,本发明提供抗人OX40激动性抗体,其包含至少一个,两个,三个,四个,五个,或六个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:175的HVR-H2;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:177的HVR-L2;和(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:178的HVR-L3。

[0199] 一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VH HVR序列:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:175的HVR-H2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3。在另一个实施方案中,该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3和包含氨基酸序列SEQ ID NO:177的HVR-

L3。在又一个实施方案中,该抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3,包含氨基酸序列SEQ ID NO:178的HVR-L3,和包含氨基酸序列SEQ ID NO:176的HVR-H2。在又一个实施方案中,该抗体包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:176的HVR-H2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3。

[0200] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VL HVR序列:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:177的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:177的HVR-L3。在一个实施方案中,该抗体包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:177的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:178的HVR-L3。

[0201] 另一方面,本发明的抗体包含(a) VH域,该VH域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VH HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1,(ii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:176的HVR-H2,和(iii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3;和(b) VL域,该VL域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VL HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1,(ii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:177的HVR-L2,和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:178的HVR-L3。

[0202] 另一方面,本发明提供一种抗体,其包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:176的HVR-H2;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:177的HVR-L2;和(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:178的HVR-L3。

[0203] 在任何上述实施方案中,抗OX40激动性抗体是人源化的。

[0204] 另一方面,抗人OX40激动性抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:56,58,60,62,64,66,68,70,72,74,76,78,80,82,84,86,88,90,92,94,96,98,100,108,114,116,183,或184具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VH序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:56,58,60,62,64,66,68,70,72,74,76,78,80,82,84,86,88,90,92,94,96,98,100,108,114,116,183,或184中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:SEQ ID NO:56,58,60,62,64,66,68,70,72,74,76,78,80,82,84,86,88,90,92,94,96,98,100,108,114,116,183,或184中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,该VH包含一个,两个或三个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1,(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2,和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3。

[0205] 另一方面,提供抗人OX40激动性抗体,其中该抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:57,59,61,63,65,67,69,71,73,75,77,79,81,83,85,87,89,91,93,95,97,99,101,109,115或117具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,

或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:57,59,61,63,65,67,69,71,73,75,77,79,81,83,85,87,89,91,93,95,97,99,101,109,115或117中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:57,59,61,63,65,67,69,71,73,75,77,79,81,83,85,87,89,91,93,95,97,99,101,109,115或117中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,该VL包含一个,两个或三个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3。

[0206] 另一方面,抗人OX40激动性抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:56具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VH序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:56中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:56中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,该VH包含一个,两个或三个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1,(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2,和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3。

[0207] 另一方面,提供抗人OX40激动性抗体,其中该抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:57具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:57中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:57中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,该VL包含一个,两个或三个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3。

[0208] 另一方面,抗人OX40激动性抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:180具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VH序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:180中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:180中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,该VH包含一个,两个或三个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1,(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2,和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3。

[0209] 另一方面,提供抗人OX40激动性抗体,其中该抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:

179具有至少90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，99%，或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中，具有至少90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，或99%同一性的VL序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代)，插入，或删除，但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:179中替代，插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中，替代，插入，或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地，该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:179中的VL序列，包括该序列的翻译后修饰。在特定实施方案中，该VL包含一个，两个或三个选自下述的HVR：(a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1；(b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2；和(c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3。

[0210] 另一方面，抗人OX40激动性抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:94具有至少90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，99%，或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中，具有至少90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，或99%同一性的VH序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代)，插入，或删除，但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:94中替代，插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中，替代，插入，或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地，该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:94中的VH序列，包括该序列的翻译后修饰。在特定实施方案中，该VH包含一个，两个或三个选自下述的HVR：(a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1，(b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2，和(c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3。

[0211] 另一方面，提供抗人OX40激动性抗体，其中该抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:95具有至少90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，99%，或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中，具有至少90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，或99%同一性的VL序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代)，插入，或删除，但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:95中替代，插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中，替代，插入，或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地，该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:95中的VL序列，包括该序列的翻译后修饰。在特定实施方案中，该VL包含一个，两个或三个选自下述的HVR：(a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1；(b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2；和(c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:26的HVR-L3。

[0212] 另一方面，抗人OX40激动性抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:96具有至少90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，99%，或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中，具有至少90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，或99%同一性的VH序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代)，插入，或删除，但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:96中替代，插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中，替代，插入，或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地，该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:96中的VH序列，包括该序列的翻译后修饰。在特定实施方案中，该VH包含一个，两个或三个选自下述的HVR：(a) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1，(b) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2，和(c) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3。

[0213] 另一方面,提供抗人OX40激动性抗体,其中该抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:97具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:97中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:97中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,该VL包含一个,两个或三个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:27的HVR-L3。

[0214] 另一方面,抗人OX40激动性抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:118,120,122,124,126,128,130,132,134,136,138,140,142,144,146,148具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VH序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:118,120,122,124,126,128,130,132,134,136,138,140,142,144,146,148中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:118,120,122,124,126,128,130,132,134,136,138,140,142,144,146,148中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,该VH包含一个,两个或三个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1,(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2,和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:33的HVR-H3。

[0215] 另一方面,提供抗人OX40激动性抗体,其中该抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:119,121,123,125,127,129,131,133,135,137,139,141,143,145,147,149具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:119,121,123,125,127,129,131,133,135,137,139,141,143,145,147,149中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:119,121,123,125,127,129,131,133,135,137,139,141,143,145,147,149中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,该VL包含一个,两个或三个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。

[0216] 在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:59中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包

序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:126和SEQ ID NO:127中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:129中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别SEQ ID NO:130和SEQ ID NO:131在中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:132和SEQ ID NO:133中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:134和SEQ ID NO:135中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:136和SEQ ID NO:137中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:138和SEQ ID NO:139中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:140和SEQ ID NO:141中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别SEQ ID NO:142和SEQ ID NO:143在中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:144和SEQ ID NO:145中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一个实施方案中,该抗体包含分别在SEQ ID NO:146和SEQ ID NO:147中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0218] 另一方面,提供抗人OX40激动性抗体,其中该抗体包含上文提供的任何实施方案中的VH和上文提供的任何实施方案中的VL。

[0219] 又一方面,本发明提供与本文中提供的抗人OX40抗体结合相同表位的抗体。在一些实施方案中,该抗体是抗人OX40激动性抗体。

[0220] 在本发明的又一方面,依照任何上述实施方案的抗OX40抗体是单克隆抗体,包括嵌合抗体,人源化抗体或人抗体。在一个实施方案中,抗OX40抗体是抗体片段,例如Fv, Fab, Fab', scFv, 双抗体,或F(ab')₂片段。在另一个实施方案中,该抗体是全长抗体,例如完整IgG1或其它抗体类或同种型,如本文中定义的。在一些实施方案中,该抗体是全长完整IgG4抗体。

[0221] 又一方面,依照任何上述实施方案的抗OX40抗体可单一地或组合地并入下文1-7节中描述的任何特征:

[0222] 1. 抗体亲和力

[0223] 在某些实施方案中,本文中提供的抗体具有 $\leq 1\mu\text{M}$, $\leq 100\text{nM}$, $\leq 10\text{nM}$, $\leq 1\text{nM}$, $\leq 0.1\text{nM}$, $\leq 0.01\text{nM}$, 或 $\leq 0.001\text{nM}$ 的解离常数(Kd)(例如 10^{-8}M 或更少,例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M , 例如, 10^{-9}M 至 10^{-13}M)。

[0224] 在一个实施方案中,Kd是通过放射性标记抗原结合测定法(RIA)来测量的。在一个实施方案中,用Fab型式的感兴趣抗体及其抗原实施RIA。例如,通过在存在未标记抗原的滴定系列的情况中用最小浓度的(¹²⁵I)标记抗原平衡Fab,然后用抗Fab抗体包被板捕捉结合的抗原来测量Fab对抗原的溶液结合亲和力(见例如Chen等, J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999))。为了建立测定法的条件,将MICROTITER®多孔板(Thermo Scientific)用50mM碳酸钠(pH 9.6)中的5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 捕捉用抗Fab抗体(Cappel Labs)包被过夜,随后用PBS中的2% (w/v)牛血清清蛋白于室温(约23 $^{\circ}\text{C}$)封闭2-5小时。在非吸附板(Nunc#269620)中,将100pM或26pM [¹²⁵I]-抗原与连续稀释的感兴趣Fab(例如与Presta等, Cancer Res. 57:4593-

4599 (1997) 中抗VEGF抗体, Fab-12的评估一致) 混合。然后将感兴趣的Fab温育过夜;然而, 温育可持续更长时间(例如约65小时)以确保达到平衡。此后, 将混合物转移至捕捉板, 于室温温育(例如1小时)。然后除去溶液, 并用PBS中的0.1%聚山梨酯20(TWEEN-20®)洗板8次。平板干燥后, 加入150 μ l/孔闪烁液(MICROSCINT-20™; Packard), 然后在TOPCOUNT™伽马计数器(Packard)上对平板计数10分钟。选择各Fab给出小于或等于最大结合之20%的浓度用于竞争性结合测定法。

[0225] 依照另一个实施方案, Kd是使用BIACORE®表面等离子共振测定法测量的。例如, 于25℃使用固定化抗原CM5芯片在约10个响应单位(RU)使用BIACORE®-2000或BIACORE®-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)实施测定法。在一个实施方案中, 依照供应商的用法说明书用盐酸N-乙基-N'-(3-二甲氨基丙基)-碳二亚胺(EDC)和N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)活化羧甲基化右旋糖苷生物传感器芯片(CM5, BIAcore, Inc.)。将抗原用10mM乙酸钠pH 4.8稀释至5 μ g/ml(约0.2 μ M), 然后以5 μ l/分钟的流速注射以获得约10个响应单位(RU)的偶联蛋白质。注入抗原后, 注入1M乙醇胺以封闭未反应基团。为了进行动力学测量, 于25℃以约25 μ l/分钟的流速注入在含0.05%聚山梨酯20(TWEEN-20™)表面活性剂的PBS(PBST)中两倍连续稀释的Fab(0.78nM至500nM)。使用简单一对朗格缪尔(Langmuir)结合模型(BIACORE® Evaluation Software version 3.2)通过同时拟合结合和解离传感图计算结合速率(k_{on})和解离速率(k_{off})。平衡解离常数(Kd)以比率 k_{off}/k_{on} 计算。见例如Chen等, J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)。如果根据上文表面等离子共振测定法, 结合速率超过 $10^6 M^{-1} S^{-1}$, 那么结合速率可使用荧光淬灭技术来测定, 即根据分光计诸如配备了断流装置的分光光度计(Aviv Instruments)或8000系列SLM-AMINCO™分光光度计(ThermoSpectronic)中用搅拌比色杯的测量, 在存在浓度渐增的抗原的情况下, 测量PBS pH 7.2中20nM抗抗原抗体(Fab形式)于25℃的荧光发射强度(激发=295nm; 发射=340nm, 16nm带通)的升高或降低。

[0226] 2. 抗体片段

[0227] 在某些实施方案中, 本文中提供的抗体是抗体片段。抗体片段包括但不限于Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, 和scFv片段, 及下文所描述的其它片段。关于某些抗体片段的综述, 见Hudson等, Nat. Med. 9:129-134(2003)。关于scFv片段的综述, 见例如Pluckthün, 于The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 第113卷, Rosenberg和Moore编, (Springer-Verlag, New York), 第269-315页(1994); 还可见WO 93/16185; 及美国专利No. 5,571,894和5,587,458。关于包含补救受体结合表位残基, 并且具有延长的体内半衰期的Fab和F(ab')₂片段的讨论, 见美国专利No. 5,869,046。

[0228] 双抗体是具有两个抗原结合位点的抗体片段, 其可以是二价的或双特异性的。见例如EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson等, Nat. Med. 9:129-134(2003); 及Hollinger等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448(1993)。三抗体和四抗体也记载于Hudson等, Nat. Med. 9:129-134(2003)。

[0229] 单域抗体是包含抗体的整个或部分重链可变域或整个或部分轻链可变域的抗体片段。在某些实施方案中, 单域抗体是人单域抗体(Domantis, Inc., Waltham, MA; 见例如美国专利No. 6,248,516B1)。

[0230] 可以通过多种技术,包括但不限于对完整抗体的蛋白水解消化及重组宿主细胞(例如大肠杆菌或噬菌体)的生成来生成抗体片段,如本文中所述的。

[0231] 3. 嵌合抗体和人源化抗体

[0232] 在某些实施方案中,本文中提供的抗体是嵌合抗体。某些嵌合抗体记载于例如美国专利No.4,816,567;及Morrison等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984)。在一个例子中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,自小鼠,大鼠,仓鼠,家兔,或非人灵长类,诸如猴衍生的可变区)和人恒定区。在又一个例子中,嵌合抗体是“类转换的”抗体,其中类或亚类已经自亲本抗体的类或亚类改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0233] 在某些实施方案中,嵌合抗体是人源化抗体。通常,将非人抗体人源化以降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。一般地,人源化抗体包含一个或多个可变域,其中HVR,例如CDR(或其部分)自非人抗体衍生,而FR(或其部分)自人抗体序列衍生。任选地,人源化抗体还会至少包含人恒定区的一部分。在一些实施方案中,将人源化抗体中的一些FR残基用来自非人抗体(例如衍生HVR残基的抗体)的相应残基替代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0234] 人源化抗体及其生成方法综述于例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008),并且进一步记载于例如Riechmann等,Nature332:323-329(1988);Queen等,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 86:10029-10033(1989);美国专利No.5,821,337,7,527,791,6,982,321和7,087,409;Kashmiri等,Methods 36:25-34(2005)(描述了特异性决定区(SDR)嫁接);Padlan,Mol.Immunol.28:489-498(1991)(描述了“重修表面”);Dall'Acqua等,Methods36:43-60(2005)(描述了“FR改组”);及Osbourn等,Methods 36:61-68(2005)和Klimka等,Br.J.Cancer,83:252-260(2000)(描述了FR改组的“引导选择”方法)。

[0235] 可以用于人源化的人框架区包括但不限于:使用“最佳拟合(best-fit)”方法选择的框架区(见例如Sims等,J.Immunol.151:2296(1993));自轻或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列衍生的框架区(见例如Carter等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);及Presta等,J.Immunol.,151:2623(1993));人成熟的(体细胞突变的)框架区或人种系框架区(见例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008));和通过筛选FR文库衍生的框架区(见例如Baca等,J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997)及Rosok等,J.Biol.Chem.271:22611-22618(1996))。

[0236] 4. 人抗体

[0237] 在某些实施方案中,本文中提供的抗体是人抗体。可以使用本领域中已知的多种技术来生成人抗体。一般地,人抗体记载于van Dijk和van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.5:368-74(2001)及Lonberg,Curr.Opin.Immunol.20:450-459(2008)。

[0238] 可以通过对转基因动物施用免疫原来制备人抗体,所述转基因动物已经修饰为响应抗原性攻击而生成完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。此类动物通常含有所有或部分人免疫球蛋白基因座,其替换内源免疫球蛋白基因座,或者其在染色体外存在或随机整合入动物的染色体中。在此类转基因小鼠中,一般已经将内源免疫球蛋白基因座灭活。关于自转基因动物获得人抗体的方法的综述,见Lonberg,Nat.Biotech.23:1117-1125(2005)。还可见例如美国专利No.6,075,181和6,150,584,其描述了XENOMOUSE™技术;美国专利

No. 5, 770, 429, 其描述了HUMAB®技术;美国专利No. 7, 041, 870, 其描述了K-MOUSE®技术, 和美国专利申请公开文本No. US 2007/0061900, 其描述了VELOCIMOUSE®技术)。可以例如通过与不同人恒定区组合进一步修饰来自此类动物生成的完整抗体的人可变区。

[0239] 也可以通过基于杂交瘤的方法生成抗体。已经描述了用于生成人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人异骨髓瘤细胞系(见例如Kozbor *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur等, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, 第51-63页 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 及Boerner等,

[0240] *J. Immunol.*, 147:86 (1991))。经由人B细胞杂交瘤技术生成的人抗体也记载于Li等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)。其它方法包括那些例如记载于美国专利No. 7, 189, 826 (其描述了自杂交瘤细胞系生成单克隆人IgM抗体) 和Ni, Xiandai Mianyixue, 26 (4):265-268 (2006) (其描述了人-人杂交瘤) 的。人杂交瘤技术(Trioma技术) 也记载于Vollmers和Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20 (3):927-937 (2005) 及Vollmers和Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27 (3):185-91 (2005)。

[0241] 也可以通过分离自人衍生的噬菌体展示文库选择的Fv克隆可变域序列生成抗体。然后, 可以将此类可变域序列与期望的人恒定域组合。下文描述了自抗体文库选择人抗体的技术。

[0242] 5. 文库衍生的抗体

[0243] 可以通过对组合文库筛选具有期望的一种或多种活性的抗体来分离本发明的抗体。例如, 用于生成噬菌体展示文库并对此类文库筛选拥有期望结合特征的抗体的多种方法是本领域中已知的。此类方法综述于例如Hoogenboom等, 于 *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等编, Human Press, Totowa, NJ, 2001), 并且进一步记载于例如McCafferty等, *Nature* 348:552-554; Clackson等, *Nature* 352:624-628 (1991); Marks等, *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1992); Marks和Bradbury, 于 *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo编, Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu等, *J. Mol. Biol.* 338 (2):299-310 (2004); Lee等, *J. Mol. Biol.* 340 (5):1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 (34):12467-12472 (2004); 及Lee等, *J. Immunol. Methods* 284 (1-2):119-132 (2004)。

[0244] 在某些噬菌体展示方法中, 将VH和VL基因的全集分别通过聚合酶链式反应(PCR)克隆, 并在噬菌体文库中随机重组, 然后可以对所述噬菌体文库筛选抗原结合噬菌体, 如记载于Winter等, *Ann. Rev. Immunol.*, 12:433-455 (1994) 的。噬菌体通常以单链Fv(scFv)片段或以Fab片段展示抗体片段。来自经免疫的来源的文库提供针对免疫原的高亲和力抗体, 而不需要构建杂交瘤。或者, 可以(例如自人)克隆天然全集以在没有任何免疫的情况下提供针对一大批非自身和还有自身抗原的抗体的单一来源, 如由Griffiths等, *EMBO J.*, 12:725-734 (1993) 描述的。最后, 也可以通过自干细胞克隆未重排的V基因区段, 并使用含有随机序列的PCR引物编码高度可变的CDR3区并在体外实现重排来合成生成未免疫文库, 如由Hoogenboom和Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381-388 (1992) 所描述的。描述人抗体噬菌体文库的专利公开文本包括例如: 美国专利No. 5, 750, 373, 和美国专利公开文本No. 2005/

0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936和2009/0002360。

[0245] 认为自人抗体文库分离的抗体或抗体片段是本文中的人抗体或人抗体片段。

[0246] 6. 多特异性抗体

[0247] 在某些实施方案中,本文中提供的抗体是多特异性抗体,例如双特异性抗体。多特异性抗体是对至少两个不同位点具有结合特异性的单克隆抗体。在某些实施方案中,结合特异性之一针对OX40,而另一种针对任何其它抗原。在某些实施方案中,双特异性抗体可以结合OX40的两个不同表位。也可以使用双特异性抗体来将细胞毒剂定位于表达OX40的细胞。双特异性抗体可以以全长抗体或抗体片段制备。

[0248] 用于生成多特异性抗体的技术包括但不限于具有不同特异性的两对免疫球蛋白重链-轻链对的重组共表达(见Milstein和Cuello, Nature 305:537(1983)), WO 93/08829, 和Traunecker等, EMBO J. 10:3655(1991), 和“节-入-穴”工程化(见例如美国专利No. 5, 731, 168)。也可以通过用于生成抗体Fc-异二聚体分子的工程化静电操纵效应(WO 2009/089004A1); 交联两个或更多个抗体或片段(见例如美国专利No. 4, 676, 980, 及Brennan等, Science, 229:81(1985)); 使用亮氨酸拉链来生成双特异性抗体(见例如Kostelny等, J. Immunol., 148(5):1547-1553(1992)); 使用用于生成双特异性抗体片段的“双抗体”技术(见例如Hollinger等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448(1993)); 及使用单链Fv (sFv) 二聚体(见例如Gruber等, J. Immunol., 152:5368(1994)); 及如例如Tutt等, J. Immunol. 147:60(1991)中所描述的, 制备三特异性抗体来生成多特异性抗体。

[0249] 本文中还包括具有三个或更多个功能性抗原结合位点的工程化改造抗体, 包括“章鱼抗体”(见例如US 2006/0025576A1)。

[0250] 本文中的抗体或片段还包括包含结合OX40及另一种不同抗原的抗原结合位点的“双重作用FAB”或“DAF”(见例如US 2008/0069820)。

[0251] 7. 抗体变体

[0252] 在某些实施方案中,涵盖本文中提供的抗体的氨基酸序列变体。例如,可以期望改善抗体的结合亲和力和/或其它生物学特性。可以通过将合适的修饰引入编码抗体的核苷酸序列中,或者通过肽合成来制备抗体的氨基酸序列变体。此类修饰包括例如对抗体的氨基酸序列内的残基的删除,和/或插入和/或替代。可以进行删除,插入,和替代的任何组合以得到最终的构建体,只要最终的构建体拥有期望的特征,例如,抗原结合。

[0253] a) 替代,插入,和删除变体

[0254] 在某些实施方案中,提供了具有一处或多处氨基酸替代的抗体变体。替代诱变感兴趣的位点包括HVR和FR。保守替代在表A中在“优选的替代”的标题下显示。更实质的变化在表A中在“例示性替代”的标题下提供,并且如下文参照氨基酸侧链类别进一步描述的。可以将氨基酸替代引入感兴趣的抗体中,并且对产物筛选期望的活性,例如保留/改善的抗原结合,降低的免疫原性,或改善的ADCC或CDC。

[0255] 表A

[0256]

初始残基	例示性替代	优选的替代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val

Arg (R)	Lys;Gln;Asn	Lys
Asn (N)	Gln;His;Asp;Lys;Arg	Gln
Asp (D)	Glu;Asn	Glu
Cys (C)	Ser;Ala	Ser
Gln (Q)	Asn;Glu	Asn
Glu (E)	Asp;Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn;Gln;Lys;Arg	Arg
Ile (I)	Leu;Val;Met;Ala;Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸;Ile;Val;Met;Ala;Phe	Ile
Lys (K)	Arg;Gln;Asn	Arg
Met (M)	Leu;Phe;Ile	Leu
Phe (F)	Trp;Leu;Val;Ile;Ala;Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val;Ser	Ser
Trp (W)	Tyr;Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp;Phe;Thr;Ser	Phe
Val (V)	Ile;Leu;Met;Phe;Ala; 正亮氨酸	Leu

[0257] 依照共同的侧链特性,氨基酸可以如下分组:

[0258] (1) 疏水性的: 正亮氨酸, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0259] (2) 中性, 亲水性的: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0260] (3) 酸性的: Asp, Glu;

[0261] (4) 碱性的: His, Lys, Arg;

[0262] (5) 影响链取向的残基: Gly, Pro;

[0263] (6) 芳香族的: Trp, Tyr, Phe。

[0264] 非保守替代会需要用这些类别之一的成员替换另一个类别的。

[0265] 一类替代变体牵涉替代亲本抗体(例如人源化或人抗体)的一个或多个高变区残基。一般地,为进一步研究选择的所得变体相对于亲本抗体会具有某些生物学特性的改变(例如改善)(例如升高的亲和力,降低的免疫原性)和/或会基本上保留亲本抗体的某些生物学特性。例示性的替代变体是亲和力成熟的抗体,其可以例如使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术诸如本文中所描述的那些技术来方便地生成。简言之,将一个或多个HVR残基突变,并将变体抗体在噬菌体上展示,并对其筛选特定的生物学活性(例如结合亲和力)。

[0266] 可以对HVR做出变化(例如,替代),例如以改善抗体亲和力。可以对HVR“热点”,即由在体细胞成熟过程期间以高频率经历突变的密码子编码的残基(见例如Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)),和/或接触抗原的残基做出此类变化,其中对所得的变体VH或VL测试结合亲和力。通过次级文库的构建和再选择进行的亲和力成熟已经记载于例如Hoogenboom等,于 *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O' Brien等编, Human Press, Totowa, NJ, (2001))。在亲和力成熟的一些实施方案中,通过多种方法(例如,

易错PCR,链改组,或寡核苷酸指导的诱变)将多样性引入为成熟选择的可变基因。然后,创建次级文库。然后,筛选文库以鉴定具有期望的亲合力的任何抗体变体。另一种引入多样性的方法牵涉HVR指导的方法,其中将几个HVR残基(例如,一次4-6个残基)随机化。可以例如使用丙氨酸扫描诱变或建模来特异性鉴定牵涉抗原结合的HVR残基。特别地,经常靶向CDR-H3和CDR-L3。

[0267] 在某些实施方案中,可以在一个或多个HVR内发生替代,插入,或删除,只要此类变化不实质性降低抗体结合抗原的能力。例如,可以对HVR做出保守变化(例如,保守替代,如本文中提供的),其不实质性降低结合亲和力。例如,此类变化可以在HVR中的抗原接触残基以外。在上文提供的变体VH和VL序列的某些实施方案中,每个HVR是未改变的,或者含有不超过1,2或3处氨基酸替代。

[0268] 一种可用于鉴定抗体中可以作为诱变靶位的残基或区域的方法称作“丙氨酸扫描诱变”,如由Cunningham和Wells(1989) *Science*, 244:1081-1085所描述的。在此方法中,将残基或靶残基的组(例如,带电荷的残基诸如arg, asp, his, lys, 和glu)鉴定,并用中性或带负电荷的氨基酸(例如,丙氨酸或多丙氨酸)替换以测定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可以在对初始替代表明功能敏感性的氨基酸位置引入进一步的替代。或者/另外,利用抗原-抗体复合物的晶体结构来鉴定抗体与抗原间的接触点。作为替代的候选,可以靶向或消除此类接触残基和邻近残基。可以筛选变体以确定它们是否含有期望的特性。

[0269] 氨基酸序列插入包括长度范围为1个残基至含有100或更多个残基的多肽的氨基和/或羧基端融合,及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的例子包括具有N端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的其它插入变体包括抗体的N或C端与酶(例如对于ADEPT)或延长抗体的血清半衰期的多肽的融合物。

[0270] b) 糖基化变体

[0271] 在某些实施方案中,改变本文中提供的抗体以提高或降低抗体糖基化的程度。可以通过改变氨基酸序列,使得创建或消除一个或多个糖基化位点来方便地实现对抗体的糖基化位点的添加或删除。

[0272] 在抗体包含Fc区的情况中,可以改变其附着的碳水化合物。由哺乳动物细胞生成的天然抗体通常包含分支的,双触角寡糖,其一般通过N连接附着于Fc区的CH2域的Asn297。见例如Wright等, *TIBTECH* 15:26-32(1997)。寡糖可以包括各种碳水化合物,例如,甘露糖, N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc), 半乳糖, 和唾液酸, 以及附着于双触角寡糖结构“主干”中的GlcNAc的岩藻糖。在一些实施方案中,可以对本发明抗体中的寡糖进行修饰以创建具有某些改善的特性的抗体变体。

[0273] 在一个实施方案中,提供了抗体变体,其具有缺乏附着(直接或间接)于Fc区的岩藻糖的碳水化合物结构。例如,此类抗体中的岩藻糖量可以是1%至80%, 1%至65%, 5%至65%或20%至40%。通过相对于附着于Asn297的所有糖结构(例如,复合的,杂合的和甘露糖的结构)的总和,计算Asn297处糖链内岩藻糖的平均量来测定岩藻糖量,如通过MALDI-TOF质谱术测量的,例如如记载于WO 2008/077546的。Asn297指位于Fc区中的约第297位(Fc区残基的Eu编号方式)的天冬酰胺残基;然而,Asn297也可以由于抗体中的微小序列变异而位于第297位上游或下游约±3个氨基酸,即在第294位和第300位之间。此类岩藻糖基化变体可以具有改善的ADCC功能。见例如美国专利公开文本No. US 2003/0157108 (Presta, L.);

US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。涉及“脱岩藻糖基化的”或“岩藻糖缺乏的”抗体变体的出版物的例子包括:US 2003/0157108;WO 2000/61739;WO2001/29246;US 2003/0115614;US 2002/0164328;US 2004/0093621;US2004/0132140;US 2004/0110704;US 2004/0110282;US 2004/0109865;WO2003/085119;WO 2003/084570;WO 2005/035586;WO 2005/035778;WO2005/053742;WO2002/031140;Okazaki等, J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki等, Biotech. Bioeng. 87:614 (2004)。能够生成脱岩藻糖基化抗体的细胞系的例子包括蛋白质岩藻糖基化缺陷的 Lec13 CHO 细胞 (Ripka等, Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); 美国专利申请 No US2003/0157108A1, Presta, L; 及 WO 2004/056312A1, Adams等, 尤其在实施例11), 和敲除细胞系, 诸如 α -1,6-岩藻糖基转移酶基因FUT8敲除CHO细胞 (见例如Yamane-Ohnuki等, Biotech. Bioeng. 87:614 (2004); Kanda, Y.等, Biotechnol. Bioeng., 94 (4):680-688 (2006); 及 WO2003/085107)。

[0274] 进一步提供了具有两分型寡糖的抗体变体, 例如其中附着于抗体Fc区的双触角寡糖是通过GlcNAc两分的。此类抗体变体可以具有降低的岩藻糖基化和/或改善的ADCC功能。此类抗体变体的例子记载于例如WO2003/011878 (Jean-Mairet等); 美国专利No. 6,602,684 (Umana等); 及US 2005/0123546 (Umana等)。还提供了在附着于Fc区的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的抗体变体。此类抗体变体可以具有改善的CDC功能。此类抗体变体记载于例如WO 1997/30087 (Patel等); WO 1998/58964 (Raju, S.); 及WO 1999/22764 (Raju, S.)。

[0275] c) Fc区变体

[0276] 在某些实施方案中, 可以将一处或多处氨基酸修饰引入本文中提供的抗体的Fc区中, 由此生成Fc区变体。Fc区变体可以包含在一个或多个氨基酸位置包含氨基酸修饰 (例如替代) 的人Fc区序列 (例如, 人IgG1, IgG2, IgG3或IgG4Fc区)。

[0277] 在某些实施方案中, 本发明涵盖拥有一些但不是所有效应器功能的抗体变体, 所述效应器功能使其成为如下应用的期望候选物, 其中抗体的体内半衰期是重要的, 而某些效应器功能 (诸如补体和ADCC) 是不必要的或有害的。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定法以确认CDC和/或ADCC活性的降低/消减。例如, 可以进行Fc受体 (FcR) 结合测定法以确保抗体缺乏Fc γ R结合 (因此有可能缺乏ADCC活性), 但是保留FcRn结合能力。介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达Fc γ R111, 而单核细胞表达Fc γ R1, Fc γ R11和Fc γ R1111。在Ravetch和Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991) 的第464页上的表3中汇总了造血细胞上的FcR表达。评估感兴趣分子的ADCC活性的体外测定法的非限制性例子记载于美国专利No. 5,500,362 (见例如Hellstrom, I.等, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)) 和 Hellstrom, I等, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985); 5,821,337 (见 Bruggemann, M.等, J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987))。或者, 可以采用非放射性测定方法 (见例如用于流式细胞术的ACT1™非放射性细胞毒性测定法 (Cell Technology, Inc. Mountain View, CA; 和CytoTox 96®非放射性细胞毒性测定法 (Promega, Madison, WI))。对于此类测定法有用的效应细胞包括外周血单个核细胞 (PBMC) 和天然杀伤 (NK) 细胞。或者/另外, 可以在体内评估感兴趣分子的ADCC活性, 例如在动物模型中, 诸如披露于 Clynes等, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998) 的。也可以实施C1q结合测定法以确认抗体不能结合C1q, 并且因此缺乏CDC活性。见例如WO 2006/029879和WO 2005/100402 中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体激活, 可以实施CDC测定法 (见例如Gazzano-

Santoro等, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M. S. 等, *Blood* 101:1045-1052 (2003); 及Cragg, M. S. 和M. J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)。也可以使用本领域中已知的方法来实施FcRn结合和体内清除/半衰期测定(见例如Petkova, S. B. 等, *Int' l. Immunol.* 18 (12):1759-1769 (2006))。

[0278] 具有降低的效应器功能的抗体包括那些具有Fc区残基238, 265, 269, 270, 297, 327和329中的一个或多个的替代的(美国专利No. 6, 737, 056)。此类Fc突变体包括在氨基酸位置265, 269, 270, 297和327中的两处或更多处具有替代的Fc突变体, 包括残基265和297替代成丙氨酸的所谓的“DANA”Fc突变体(美国专利No. 7, 332, 581)。

[0279] 描述了具有改善的或降低的对FcR的结合的某些抗体变体(见例如美国专利No. 6, 737, 056; WO 2004/056312, 及Shields等, *J. Biol. Chem.* 9 (2):6591-6604 (2001))。

[0280] 在某些实施方案中, 抗体变体包含具有改善ADCC的一处或多处氨基酸替代, 例如Fc区的位置298, 333, 和/或334(残基的EU编号方式)的替代的Fc区。

[0281] 在一些实施方案中, 对Fc区做出改变, 其导致改变的(即, 改善的或降低的)C1q结合和/或补体依赖性细胞毒性(CDC), 例如, 如记载于美国专利No. 6, 194, 551, WO 99/51642, 及Idusogie等, *J. Immunol.* 164:4178-4184 (2000)的。

[0282] 具有延长的半衰期和改善的对新生儿Fc受体(FcRn)的结合的抗体记载于US2005/0014934A1 (Hinton等), 新生儿Fc受体(FcRn)负责将母体IgG转移至胎儿(Guyer等, *J. Immunol.* 117:587 (1976) 及Kim等, *J. Immunol.* 24:249 (1994))。那些抗体包含其中具有改善Fc区对FcRn结合的一处或多处替代的Fc区。此类Fc变体包括那些在Fc区残基238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424或434中的一处或多处具有替代, 例如, Fc区残基434的替代的(美国专利No. 7, 371, 826)。

[0283] 还可见Duncan和Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); 美国专利No. 5, 648, 260; 美国专利No. 5, 624, 821; 及WO 94/29351, 其关注Fc区变体的其它例子。

[0284] d) 经半胱氨酸工程化改造的抗体变体

[0285] 在某些实施方案中, 可以期望创建经半胱氨酸工程化改造的抗体, 例如, “thioMAb”, 其中抗体的一个或多个残基用半胱氨酸残基替代。在具体的实施方案中, 替代的残基存在于抗体的可接近位点。通过用半胱氨酸替代那些残基, 反应性硫醇基团由此定位于抗体的可接近位点, 并且可以用于将抗体与其它模块, 诸如药物模块或接头-药物模块缀合, 以创建免疫缀合物, 如本文中进一步描述的。在某些实施方案中, 可以用半胱氨酸替代下列残基之任一个或多个: 轻链的V205 (Kabat编号方式); 重链的A118 (EU编号方式); 和重链Fc区的S400 (EU编号方式)。可以如例如美国专利No. 7, 521, 541所述生成经半胱氨酸工程化改造的抗体。

[0286] e) 抗体衍生物

[0287] 在某些实施方案中, 可以进一步修饰本文中提供的抗体以含有本领域知道的且易于获得的额外非蛋白质性质模块。适合于抗体衍生化的模块包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性例子包括但不限于聚乙二醇(PEG), 乙二醇/丙二醇共聚物, 羧甲基纤维素, 右旋糖苷, 聚乙烯醇, 聚乙烯吡咯烷酮, 聚-1, 3-二氧戊环, 聚-1, 3, 6-三口恶烷, 乙烯/马来酸酐共聚物, 聚氨基酸(均聚物或随机共聚物), 和右旋糖苷或聚(n-乙基吡咯烷酮)聚乙二醇, 丙二醇均聚物, 环氧丙烷/环氧乙烷共聚物, 聚氧乙烯化多元醇(例如甘油),

聚乙烯醇及其混合物。由于其在水中的稳定性,聚乙二醇丙醛在生产中可能具有优势。聚合物可以是任何分子量,而且可以是分支的或不分支的。附着到抗体上的聚合物数目可以变化,而且如果附着了超过一个聚合物,那么它们可以是相同或不同的分子。一般而言,可根据下列考虑来确定用于衍生化的聚合物的数目和/或类型,包括但不限于抗体要改进的具体特性或功能,抗体衍生物是否将用于指定条件下的治疗等。

[0288] 在另一个实施方案中,提供了抗体和可以通过暴露于辐射选择性加热的非蛋白质性质模块的缀合物。在一个实施方案中,非蛋白质性质模块是碳纳米管(Kam等, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102:11600-11605 (2005))。辐射可以是任何波长的,并且包括但不限于对普通细胞没有损害,但是将非蛋白质性质模块加热至抗体-非蛋白质性质模块附近的细胞被杀死的温度的波长。

[0289] B. 重组方法和组合物

[0290] 可以使用重组方法和组合物来生成抗体,例如,如记载于美国专利No.4,816,567的。在一个实施方案中,提供了编码本文中所描述的抗OX40抗体的分离的核酸。此类核酸可以编码包含抗体VL的氨基酸序列和/或包含抗体VH的氨基酸序列(例如,抗体的轻和/或重链)。在又一个实施方案中,提供了包含此类核酸的一种或多种载体(例如,表达载体)。在又一个实施方案中,提供了包含此类核酸的宿主细胞。在一个此类实施方案中,宿主细胞包含(例如,已经用下列载体转化):(1)包含核酸的载体,所述核酸编码包含抗体的VL的氨基酸序列和包含抗体的VH的氨基酸序列,或(2)第一载体和第二载体,所述第一载体包含编码包含抗体的VL的氨基酸序列的核酸,所述第二载体包含编码包含抗体的VH的氨基酸序列的核酸。在一个实施方案中,宿主细胞是真核的,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴样细胞(例如,Y0,NS0,Sp20细胞)。在一个实施方案中,提供了生成抗OX40抗体的方法,其中该方法包括在适合于表达抗体的条件下培养包含编码抗体的核酸的宿主细胞,如上文提供的,并且任选地,自宿主细胞(或宿主细胞培养液)回收抗体。

[0291] 对于抗OX40抗体的重组生成,将编码抗体的核酸(例如如上文所描述的)分离,并插入一种或多种载体中,以在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。可以使用常规规程将此类核酸容易地分离并测序(例如,通过使用寡核苷酸探针来进行,所述寡核苷酸探针能够特异性结合编码抗体的重和轻链的基因)。

[0292] 适合于克隆或表达抗体编码载体的宿主细胞包括本文中所描述的原核或真核细胞。例如,可以在细菌中生成抗体,特别是在不需要糖基化和Fc效应器功能时。对于抗体片段和多肽在细菌中的表达,见例如美国专利No.5,648,237,5,789,199和5,840,523(还可见Charlton,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo编,Humana Press,Totowa,NJ,2003),第245-254页,其描述了抗体片段在大肠杆菌(E.coli.)中的表达)。表达后,可以将抗体在可溶性级分中自细菌细胞团糊分离,并可以进一步纯化。

[0293] 在原核生物外,真核微生物诸如丝状真菌或酵母是适合于抗体编码载体的克隆或表达宿主,包括其糖基化途径已经“人源化”,导致生成具有部分或完全人的糖基化样式的抗体的真菌和酵母菌株。见Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004),及Li等,Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0294] 适合于表达糖基化抗体的宿主细胞也自多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)衍生。无脊椎动物细胞的例子包括植物和昆虫细胞。已经鉴定出许多杆状病毒株,其可以与

昆虫细胞一起使用,特别是用于转染草地夜蛾 (*Spodoptera frugiperda*) 细胞。

[0295] 也可以利用植物细胞培养物作为宿主。见例如美国专利No.5,959,177,6,040,498,6,420,548,7,125,978和6,417,429 (其描述了用于在转基因植物中生成抗体的 PLANTIBODIEST[™]技术)。

[0296] 也可以使用脊椎动物细胞作为宿主。例如,适合于在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系可以是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其它例子是经SV40转化的猴肾CV1系(COS-7);人胚肾系(293或293细胞,如记载于例如Graham等,J.Gen Virol.36:59(1977)的);幼年仓鼠肾细胞(BHK);小鼠塞托利(sertoli)细胞(TM4细胞,如记载于例如Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)的);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);牛鼠(buffalo rat)肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳房肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,如记载于例如Mather等,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)的);MRC 5细胞;和FS4细胞。其它有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR⁻CHO细胞(Urlaub等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));和骨髓瘤细胞系诸如Y0,NS0和Sp2/0。关于适合于抗体生成的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,见例如Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo编,Humana Press,Totowa,NJ),第255-268页(2003)。

[0297] C. 测定法

[0298] 可以通过本领域中已知的多种测定法对本文中提供的抗OX40抗体鉴定,筛选,或表征其物理/化学特性和/或生物学活性。

[0299] 1. 结合测定法和其它测定法

[0300] 一方面,对本发明的抗体测试其抗原结合活性,例如通过已知的方法诸如ELISA,Western印迹,等来进行。可使用本领域已知方法来测定OX40结合,本文中公开了例示性方法。在一个实施方案中,使用放射免疫测定法测量结合。在一种例示性放射免疫测定法中,将OX40抗体碘化,并制备含有固定浓度的碘化抗体和递减浓度的连续稀释的未标记OX40抗体的竞争反应混合物。将表达OX40的细胞(例如经人OX40稳定转染的BT474细胞)添加至反应混合物。温育后,清洗细胞将游离的碘化OX40抗体与结合至细胞的OX40抗体分开。测定结合的碘化OX40抗体的水平,例如通过对与细胞联合的放射性计数来进行,并使用标准方法测定结合亲和力。在另一个实施方案中,使用流式细胞术评估OX40抗体结合表面表达的OX40(例如在T细胞子集上)的能力。获得外周白血球(例如来自人,食蟹猴,大鼠或小鼠),并用血清封闭细胞。以连续稀释液添加经标记的OX40抗体,还对T细胞染色以鉴定T细胞子集(使用本领域已知方法)。样品温育和清洗后,使用流式细胞仪分选细胞,并使用本领域公知方法分析数据。在另一个实施方案中,可使用表面等离子共振来分析OX40结合。实施例中例示了一种例示性表面等离子共振方法。

[0301] 另一方面,可使用竞争测定法来鉴定与本文中公开的任何抗OX40抗体竞争对OX40的结合的抗体。在某些实施方案中,此类竞争性抗体结合与本文中公开的任何抗OX40抗体所结合表位相同的表位(例如线性或构象表位)。用于定位抗体所结合表位的详细例示性方法见Morris(1996)“Epitope Mapping Protocols”,Methods in Molecular Biology vol.66(Humana Press,Totowa,NJ)。实施例中例示了一种竞争测定法。

[0302] 在一种例示性竞争测定法中,在包含第一经标记抗体(其结合OX,例如mab

1A7.gr.1,mab 3C8.gr5) 和第二未标记抗体(其要测试与第一抗体竞争对OX40的结合的能力)的溶液中温育固定化OX40。第二抗体可存在于杂交瘤上清液中。作为对照,在包含第一标记抗体但不包含第二未标记抗体的溶液中温育固定化OX40。在允许第一抗体结合OX40的条件下温育后,除去过量的未结合抗体,并测量与固定化OX40联合的标记物的量。如果测试样品中与固定化OX40联合的标记物的量与对照样品相比实质性降低,那么这指示第二抗体与第一抗体竞争对OX40的结合。参见Harlow and Lane(1988)Antibodies:A Laboratory Manual ch.14(Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,NY)。

[0303] 2. 活性测定法

[0304] 一方面,提供用于鉴定具有生物学活性的抗OX40抗体的测定法。生物学活性可以包括例如结合OX40(例如结合人和/或食蟹猴OX40),提高OX40介导的信号转导(例如提高NFkB介导的转录),消减表达人OX40的细胞(例如T细胞),通过ADCC和/或吞噬消减表达人OX40的细胞,增强T效应细胞功能(例如CD4+效应T细胞)(例如通过提高效率T细胞增殖和/或提高效率T细胞的细胞因子生成(例如 γ 干扰素)),增强记忆T细胞功能(例如CD4+记忆T细胞)(例如通过提高记忆T细胞增殖和/或提高记忆T细胞的细胞因子生成(例如 γ 干扰素)),抑制调节T细胞功能(例如通过降低效应T细胞功能(例如CD4+效应T细胞功能))的Treg遏制),结合人效应细胞。还提供在体内和/或在体外具有此类生物学活性的抗体。

[0305] 在某些实施方案中,对本发明的抗体测试此类生物学活性。

[0306] 可以使用本领域已知的方法来测定T细胞共刺激,而且本文中公开了例示性方法。例如,可以自外周白血球获得T细胞(例如记忆或效应T细胞)(例如使用Ficoll梯度离心自人全血分离)。可以使用本领域已知的方法自PBMC分离记忆T细胞(例如CD4+记忆T细胞)或效应T细胞(例如CD4+Teff细胞)。例如,可以使用Miltenyi CD4+记忆T细胞分离试剂盒或Miltenyi幼稚CD4+T细胞分离试剂盒。在抗原呈递细胞(例如经过照射的表达CD32和CD80的L细胞)存在下培养分离的T细胞,并通过在OX40激动性抗体存在或缺失下添加抗CD3抗体来活化。可以使用本领域公知的方法来测量激动性OX40抗体对T细胞增殖的影响。例如,可以使用CellTiter Glo试剂盒(Promega),并在多标记物读数仪(Perkin Elmer)上读取结果。还可以通过分析由T细胞生成的细胞因子来测定激动性OX40抗体对T细胞功能的影响。在一个实施方案中,测定CD4+T细胞的干扰素 γ 生成,例如通过测量细胞培养物上清液中的干扰素 γ 。用于测量干扰素 γ 的方法是本领域公知的。

[0307] 可以使用本领域已知的方法来测定Treg细胞功能,而且本文中公开了例示性方法。在一个例子中,测定Treg遏制效应T细胞增殖的能力。使用本领域已知的方法自人全血分离T细胞(例如分离记忆T细胞或幼稚T细胞)。标记纯化后的CD4+幼稚T细胞(例如用CFSE),并用不同试剂标记纯化后的Treg细胞。将经过照射的抗原呈递细胞(例如表达CD32和CD80的L细胞)与经过标记的纯化后的幼稚CD4+T细胞和纯化后的Treg共培养。使用抗CD3抗体活化共培养物,并在激动性OX40抗体存在或缺失下测试。合适时间(例如共培养6天)后,使用FACS分析通过降低的标记物染色(例如降低的CFSE标记物染色)中的染料稀释来跟踪CD4+幼稚T细胞增殖的水平。

[0308] 可以使用本领域公知的方法来测定OX40信号传导,而且本文中公开了例示性方法。在一个实施方案中,生成表达人OX40和报告基因(包含融合至报告基因(例如 β 萤光素酶)的NFkB启动子)的转基因细胞。对细胞添加OX40激动性抗体导致NFkB转录升高,这使用

针对报告基因的测定法来检测。

[0309] 可以例如通过使用单核细胞衍生的巨噬细胞或U937细胞(一种具有成熟巨噬细胞的形态和特征的人组织细胞性淋巴瘤细胞系)来测定吞噬作用。在抗OX40激动性抗体存在或缺失下将表达OX40的细胞添加至单核细胞衍生的巨噬细胞或U937细胞。将细胞培养合适时间段后,通过检查针对1)巨噬细胞或U937细胞和2)表达OX40的细胞的标志物双重染色的细胞的百分比,并将此除以显示表达OX40的细胞的标志物(例如GFP)的细胞的总数来测定吞噬百分比。可以通过流式细胞术来进行分析。在另一个实施方案中,可以通过荧光显微术分析来进行分析。

[0310] 可以例如使用本领域公知的方法测定ADCC。定义部分中描述了例示性方法,而且实施例中公开了例示性测定法。在一些实施方案中,表征在ADCC测定法中用于测试的表达OX40的细胞上的OX40水平。将细胞用可检测标记的抗OX40抗体(例如PE标记的)染色,然后使用流式细胞术测定荧光水平,并以中值荧光强度(MFI)呈现结果。在另一个实施方案中,可以通过CellTiter Glo测定法试剂盒来分析ADCC,而且可以通过化学发光来测定细胞存活力/细胞毒性。

[0311] 可以使用相应重组Fc γ 受体在基于ELISA的配体结合测定法中测量各种抗体对Fc γ RIA, Fc γ RIIA, Fc γ RIIB, 和Fc γ RIIIA的两种同种异型(F158和V158)的结合亲和力。以含有连接至C端Gly/6xHis/谷胱甘肽S-转移酶(GST)多肽标签的受体 γ 链胞外域的融合蛋白表达纯化后的人Fc γ 受体。如下测定抗体对那些人的Fc γ 受体的结合亲和力。对于低亲和力受体,即Fc γ RIIA(CD32A), Fc γ RIIB(CD32B), 和Fc γ RIIIA(CD16)的两种同种异型, F-158和V-158,可以通过用山羊抗人卡帕链的F(ab')₂片段(ICN Biomedical; Irvine, CA)交联(以近似摩尔比1:3抗体:交联用F(ab')₂)作为多聚体测试抗体。将板用抗GST抗体(Genentech)包被,并用牛血清清蛋白(BSA)封闭。用含有0.05% Tween-20的磷酸盐缓冲盐水(PBS)及ELx405™洗板仪(Biotek Instruments; Winooski, VT)清洗后,以25ng/孔将Fc γ 受体添加至板,并于室温温育1小时。清洗板后,作为多聚体复合物添加测试抗体的系列稀释液,并将板于室温温育2小时。清洗板以去除未结合的抗体后,用辣根过氧化物酶(HRP)缀合的山羊抗人F(ab')₂的F(ab')₂片段(Jackson ImmunoResearch Laboratories; West Grove, PA)检测结合至Fc γ 受体的抗体,接着添加底物,四甲基联苯胺(TMB)(Kirkegaard and Perry Laboratories; Gaithersburg, MD)。取决于所测试的Fc γ 受体,将板于室温温育5-20分钟以容许显色。用1M H₃PO₄终止反应,并用微量板读数仪(SpectraMax® 190, Molecular Devices; Sunnyvale, CA)测量450nm处的吸光度。通过将来自一式两份抗体稀释液的均值吸光值针对抗体浓度绘图,生成剂量-响应结合曲线。使用SoftMax Pro (Molecular Devices)用四参数方程拟合结合曲线后确定检测到来自结合Fc γ 受体的最大响应50%时的有效抗体浓度的值(EC₅₀)。

[0312] 为了选择诱导细胞死亡的抗体,可相对于对照评估通过例如碘化丙啶(PI), 锥虫蓝或7AAD摄取显示的膜完整性丧失。PI摄取测定法可在补体和免疫效应细胞缺失下实施。在单独的培养基或含有浓度为例如约10 μ g/ml的适宜单克隆抗体的培养基中温育表达OX40的细胞。将细胞温育某个时段(例如1或3天)。每次处理后,将细胞清洗并等分。在一些实施方案中,将细胞等分到35mm盖有滤网(strainer-capped)的12x 75管中(每管1ml, 每个处理组3管)以除去细胞团块。然后向管中加入PI(10 μ g/ml)。可以使用FACSCAN™流式细胞仪和

FACSCONVERT™CellQuest软件 (Becton Dickinson) 分析样品。

[0313] 供任何上述体外测定法使用的细胞包括天然表达OX40或经改造而表达OX40的细胞或细胞系。此类细胞包括天然表达OX40的活化后的T细胞, Treg细胞和活化后的记忆T细胞。此类细胞还包括表达OX40的细胞系和并非正常情况下表达OX40但已经用编码OX40的核酸转染的细胞系。本文中提供的供任何上述体外测定法使用的例示性细胞系包括表达人OX40的转基因BT474细胞(一种人乳腺癌细胞系)。

[0314] 理解的是, 可以使用本发明的免疫缀合物替换或补充抗OX40抗体来进行任何上述测定法。

[0315] 理解的是, 可以使用抗OX40抗体和别的治疗剂来进行任何上述测定法。

[0316] D. 免疫缀合物

[0317] 本发明还提供了包含与一种或多种细胞毒剂, 诸如化疗剂或药物, 生长抑制剂, 毒素(例如蛋白质毒素, 细菌, 真菌, 植物或动物起源的酶活性毒素, 或其片段), 或放射性同位素缀合的本文中的抗OX40抗体的免疫缀合物。

[0318] 在一个实施方案中, 免疫缀合物是抗体-药物缀合物(ADC), 其中抗体与一种或多种药物缀合, 包括但不限于美登木素生物碱(见美国专利No. 5, 208, 020, 5, 416, 064和欧洲专利EP 0 425 235B1); auristatin诸如单甲基auristatin药物模块DE和DF(MMAE和MMAF)(见美国专利No. 5, 635, 483和5, 780, 588及7, 498, 298); 多拉司他汀(dolastatin); 加利车霉素(calicheamicin)或其衍生物(见美国专利No. 5, 712, 374, 5, 714, 586, 5, 739, 116, 5, 767, 285, 5, 770, 701, 5, 770, 710, 5, 773, 001和5, 877, 296; Hinman等, *Cancer Res.* 53:3336-3342(1993); 及Lode等, *Cancer Res.* 58:2925-2928(1998)); 蒽环类抗生素诸如道诺霉素(daunomycin)或多柔比星(doxorubicin)(见Kratz等, *Current Med. Chem.* 13:477-523(2006); Jeffrey等, *Bioorganic&Med. Chem. Letters* 16:358-362(2006); Torgov等, *Bioconj. Chem.* 16:717-721(2005); Nagy等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834(2000); Dubowchik等, *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532(2002); King等, *J. Med. Chem.* 45:4336-4343(2002); 及美国专利No. 6, 630, 579); 甲氨蝶呤; 长春地辛(vindesine); 紫杉烷(taxane)诸如多西他赛(docetaxel), 帕利他赛, larotaxel, tesetaxel, 和ortataxel; 单端孢霉素(trichothecene); 和CC1065。

[0319] 在另一个实施方案中, 免疫缀合物包含与酶活性毒素或其片段缀合的如本文中所描述的抗体, 所述酶活性毒素包括但不限于白喉A链, 白喉毒素的非结合活性片段, 外毒素A链(来自铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)), 蓖麻毒蛋白(ricin) A链, 相思豆毒蛋白(abrin) A链, 蒴莲根毒蛋白(modeccin) A链, α -帚曲霉素(sarcin), 油桐(*Aleurites fordii*)毒蛋白, 香石竹(dianthin)毒蛋白, 美洲商陆(*Phytolaca americana*)蛋白(PAPI, PAPII和PAP-S), 苦瓜(*Momordica charantia*)抑制物, 麻疯树毒蛋白(curcin), 巴豆毒蛋白(crotonin), 肥皂草(*sapaonaria officinalis*)抑制剂, 白树毒蛋白(gelonin), 丝林霉素(mitogellin), 局限曲菌素(restrictocin), 酚霉素(phenomycin), 依诺霉素(enomycin)和单端孢菌素(tricothecenes)。

[0320] 在另一个实施方案中, 免疫缀合物包含与放射性原子缀合以形成放射性缀合物的如本文中所描述的抗体。多种放射性同位素可用于生成放射性缀合物。例子包括At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹²和Lu的放射性同位素。在使用放射性缀合物进行

检测时,它可以包含供闪烁法研究用的放射性原子,例如^{99m}Tc或¹²³I,或供核磁共振(NMR)成像(又称为磁共振成像,mri)用的自旋标记物,诸如再一次的碘-123,碘-131,铟-111,氟-19,碳-13,氮-15,氧-17,钆,锰或铁。

[0321] 可以使用多种双功能蛋白质偶联剂来生成抗体和细胞毒剂的缀合物,诸如N-琥珀酰亚氨基3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP),琥珀酰亚氨基-4-(N-马来酰亚氨基甲基)环己烷-1-羧酸酯(SMCC),亚氨基硫烷(IT),亚氨酸酯(诸如盐酸己二酰亚氨酸二甲酯),活性酯类(诸如辛二酸二琥珀酰亚氨基酯),醛类(诸如戊二醛),双叠氮化合物(诸如双(对-叠氮苯甲酰基)己二胺),双重氮衍生物(诸如双(对-重氮苯甲酰基)-乙二胺),二异硫氰酸酯(诸如甲苯2,6-二异氰酸酯),和双活性氟化合物(诸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)的双功能衍生物。例如,可以如Vitetta等,Science 238:1098(1987)中所述制备蓖麻毒蛋白免疫毒素。碳-14标记的1-异硫氰酸苄基-3-甲基二亚乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)是用于将放射性核苷酸与抗体缀合的例示性螯合剂。参见W094/11026。接头可以是便于在细胞中释放细胞毒性药物的“可切割接头”。例如,可使用酸不稳定接头,肽酶敏感性接头,光不稳定接头,二甲基接头或含二硫化物接头(Chari等,Cancer Res 52:127-131(1992);美国专利No.5,208,020)。

[0322] 本文中的免疫缀合物或ADC明确涵盖,但不限于用交联试剂制备的此类缀合物,所述交联试剂包括但不限于BMPS,EMCS,GMBS,HBVS,LC-SMCC,MBS,MPBH,SBAP,SIA,SIAB,SMCC,SMPB,SMPH,sulfo-EMCS,sulfo-GMBS,sulfo-KMUS,sulfo-MBS,sulfo-SIAB,sulfo-SMCC,和sulfo-SMPB,及SVSB(琥珀酰亚氨基-(4-乙烯基砜)苯甲酸酯),它们是商品化的(例如,来自Pierce Biotechnology,Inc.,Rockford,IL.,U.S.A)。

[0323] E.用于诊断和检测的方法和组合物

[0324] 在某些实施方案中,本文中提供的任何抗OX40抗体可用于检测生物学样品中OX40的存在。如本文中使用的,术语“检测”涵盖定量或定性检测。在某些实施方案中,生物学样品包括细胞或组织,诸如肿瘤(例如NSCLC或乳腺肿瘤)样品。

[0325] 在一个实施方案中,提供了在诊断或检测方法中使用的抗OX40抗体。在又一方面,提供了检测生物学样品中OX40的存在的方法。在某些实施方案中,该方法包括在容许抗OX40抗体结合OX40的条件下使生物学样品与抗OX40抗体接触,如本文中所描述的,并检测是否在抗OX40抗体与OX40间形成复合物。此类方法可以是体外或体内方法。在一个实施方案中,使用抗OX40抗体来选择适合用抗OX40抗体治疗的受试者,例如其中OX40是一种用于选择患者的生物标志。

[0326] 在一些实施方案中,用于诊断或检测方法的抗OX40抗体是一种抗人OX40抗体,其包含至少一个,两个,三个,四个,五个,或六个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2;和(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3。在一些实施方案中,该抗OX40抗体包含(a) VH域,该VH域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VH HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1,(ii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2,和(iii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3;和(b) VL域,该VL域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VL HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1,(ii)包含氨基酸

序列SEQ ID NO:6的HVR-L2,和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3。在一些实施方案中,该OX40抗体包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2;和(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3。在一些实施方案中,该抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:180具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VH序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合人OX40的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:180中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:180中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,该VH包含一个,两个或三个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1,(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2,和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3。在一些实施方案中,该抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:179具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合人OX40的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:179中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:179中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,该VL包含一个,两个或三个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L3。

[0327] 在一些实施方案中,用于诊断或检测方法的抗OX40抗体是一种抗人OX40抗体,其包含至少一个,两个,三个,四个,五个,或六个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的HVR-H3;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39的HVR-L2;和(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。在一些实施方案中,该抗OX40抗体包含(a) VH域,该VH域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VH HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1,(ii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2,和(iii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的HVR-H3;和(b) VL域,该VL域包含至少一个,至少两个,或所有三个选自下述的VL HVR序列:(i)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1,(ii)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39的HVR-L2,和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。在一些实施方案中,该抗OX40抗体包含(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2;(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的HVR-H3;(d)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(e)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39的HVR-L2;和(f)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。在一些实施方案中,该抗OX40抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:182具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,

或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VH序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:182中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:182中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,该VH包含一个,两个或三个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1,(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:30的HVR-H2,和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的HVR-H3。在一些实施方案中,该抗OX40抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:181具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列含有替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗人OX40激动性抗体保留结合OX40的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:181中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,该抗人OX40激动性抗体包含SEQ ID NO:181中的VL序列,包括该序列的翻译后修饰。在一个特定实施方案中,该VL包含一个,两个或三个选自下述的HVR:(a)包含氨基酸序列SEQ ID NO:37的HVR-L1;(b)包含氨基酸序列SEQ ID NO:39的HVR-L2;和(c)包含氨基酸序列SEQ ID NO:42的HVR-L3。

[0328] 在一些实施方案中,该抗OX40抗体包含VH序列SEQ ID NO:180。在一些实施方案中,该抗OX40抗体包含VL序列SEQ ID NO:179。在一些实施方案中,该抗OX40抗体包含VH序列SEQ ID NO:180和VL序列SEQ ID NO:179。在一些实施方案中,该抗OX40抗体包含VH序列SEQ ID NO:182。在一些实施方案中,该抗OX40抗体包含VL序列SEQ ID NO:181。在一些实施方案中,该抗OX40抗体包含VH序列SEQ ID NO:182和VL序列SEQ ID NO:181。

[0329] 可以使用本发明抗体诊断的例示性病症包括癌症。

[0330] 在某些实施方案中,提供了经标记的抗OX40抗体。标记物包括但不限于直接检测的标记物或模块(诸如荧光,发色,电子致密,化学发光,和放射性标记物),及例如经由酶反应或分子相互作用间接检测的模块,诸如酶或配体。例示性的标记物包括但不限于放射性同位素³²P,¹⁴C,¹²⁵I,³H,和¹³¹I,荧光团诸如稀土螯合物或荧光素及其衍生物,罗丹明(rhodamine)及其衍生物,丹酰,伞形酮,萤光素酶,例如,萤火虫萤光素酶和细菌萤光素酶(美国专利No.4,737,456),萤光素,2,3-二氢酞嗪二酮,辣根过氧化物酶(HRP),碱性磷酸酶, β -半乳糖苷酶,葡糖淀粉酶,溶菌酶,糖类氧化酶,例如,葡萄糖氧化酶,半乳糖氧化酶,和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶,杂环氧化酶诸如尿酸酶和黄嘌呤氧化酶(其与采用过氧化氢氧化染料前体的酶诸如HRP偶联),乳过氧化物酶,或微过氧化物酶,生物素/亲合素,自旋标记物,噬菌体标记物,稳定的自由基,等等。

[0331] 在一个方面,本发明提供诊断方法,例如用于鉴定有可能响应抗人OX40激动性抗体治疗的癌症患者。

[0332] 在一些实施方案中,提供用于鉴定有可能响应抗人OX40激动性抗体治疗的患者的方法,该方法包括(i)测定来自该患者的癌症样品中表达FcR的细胞的存在或缺失或量(例如每个给定样品尺寸中的数目),并(ii)若该样品包含表达FcR的细胞(例如高数目的表达

FcR的细胞),则将该患者鉴定为有可能响应。用于检测表达FcR的细胞的方法是本领域公知的,包括例如通过IHC。在一些实施方案中,FcR是Fc γ R。在一些实施方案中,FcR是活化性Fc γ R。在一些实施方案中,该癌症是本文中描述的任何癌症。在一些实施方案中,该癌症是非小细胞肺癌(NSCLC),成胶质细胞瘤,成神经细胞瘤,黑素瘤,乳腺癌(例如三重阴性乳腺癌),胃癌,结直肠癌(CRC),或肝细胞癌。在一些实施方案中,该方法是体外方法。在一些实施方案中,该方法进一步包括(iii)推荐抗人OX40激动性抗体(例如本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体)治疗。在一些实施方案中,该方法进一步包括(iv)用该抗人OX40激动性抗体治疗该患者。

[0333] 在一些实施方案中,提供用于鉴定有可能响应抗人OX40激动性抗体治疗的患者的方法,该方法包括(i)测定来自该患者的癌症样品中人效应细胞(例如浸润性效应细胞)的存在或缺失或量(例如每个给定样品尺寸中的数目),并(ii)若该样品包含效应细胞(例如高数目的效应细胞),则将该患者鉴定为有可能响应。用于检测浸润性人效应细胞的方法是本领域公知的,包括例如通过IHC。在一些实施方案中,人效应细胞是NK细胞,巨噬细胞,单核细胞中的一项或多项。在一些实施方案中,该效应细胞表达活化性Fc γ R。在一些实施方案中,该方法是体外方法。在一些实施方案中,该癌症是本文中描述的任何癌症。在一些实施方案中,该癌症是非小细胞肺癌(NSCLC),成胶质细胞瘤,成神经细胞瘤,黑素瘤,乳腺癌(例如三重阴性乳腺癌),胃癌,结直肠癌(CRC),或肝细胞癌。在一些实施方案中,该方法进一步包括(iii)推荐抗人OX40激动性抗体(例如本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体)治疗。在一些实施方案中,该方法进一步包括(iv)用该抗人OX40激动性抗体治疗该患者。

[0334] 提供的是提供癌症诊断的方法,其包括:(i)在来自患者的样品中测量表达FcR的细胞(例如FcR的水平或存在或缺失或流行度(例如表达FcR的细胞的百分比,例如通过IHC));(ii)当该样品具有FcR生物标志物表达时,将该患者诊断为具有包含FcR生物标志物(例如高FcR生物标志物)的癌症。在一些实施方案中,该方法进一步包括(iii)为该患者(a)选择包含抗人OX40激动性抗体的疗法或(b)推荐包含抗人OX40激动性抗体的疗法。在一些实施方案中,该方法是体外方法。

[0335] 提供的是提供癌症诊断的方法,其包括:(i)在来自患者的样品中测量人效应细胞(例如人效应细胞的水平或存在或缺失或流行度(例如人效应细胞的百分比));(ii)当该样品具有人效应细胞生物标志物时,将该患者诊断为具有包含人效应细胞(例如高人效应细胞)的癌症。在一些实施方案中,该方法进一步包括(iii)为该患者(a)选择包含抗人OX40激动性抗体的疗法或(b)推荐包含抗人OX40激动性抗体的疗法。在一些实施方案中,该方法是体外方法。

[0336] 提供的是对癌症患者推荐治疗的方法,其包括:(i)在来自患者的样品中测量表达FcR的细胞(例如FcR的水平或存在或缺失或流行度(例如表达FcR的细胞的百分比));(ii)当该样品具有表达FcR的细胞(在一些实施方案中,高表达FcR的细胞)时,推荐抗人OX40激动性抗体治疗。在一些实施方案中,该方法进一步包括(iii)为该患者选择包含抗人OX40激动性抗体的疗法。在一些实施方案中,该方法是体外方法。

[0337] 提供的是对癌症患者推荐治疗的方法,其包括(i)在来自患者的样品中测量人效应细胞(例如人效应细胞的水平或存在或缺失或流行度(例如人效应细胞的百分比));(ii)当该样品具有人效应细胞(在一些实施方案中,高人效应细胞)时,推荐抗人OX40激动性抗

体治疗。在一些实施方案中,该方法进一步包括(iii)为该患者选择包含抗人OX40激动性抗体的疗法。在一些实施方案中,该方法是体外方法。

[0338] 在本文中提供的任何发明的一些实施方案中,样品是在用抗人OX40激动性抗体治疗之前获得的。在一些实施方案中,样品是在用癌症药物治疗之前获得的。在一些实施方案中,样品是在癌症已经转移之后获得的。在一些实施方案中,样品是福尔马林固定,石蜡包膜(FFPE)的。在一些实施方案中,样品是活检(例如芯活检),手术标本(例如来自手术切除的标本),或细针吸出物。

[0339] F. 药物配制剂

[0340] 通过混合具有期望纯度的此类抗体与一种或多种任选的药学可接受载剂(Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,0sol,A.编(1980))以冻干配制剂或水性溶液形式制备如本文中所描述的抗OX40抗体的药物配制剂。一般地,药学可接受载剂在所采用的剂量和浓度对接受者是无毒的,而且包括但不限于缓冲剂,诸如磷酸盐,柠檬酸盐,和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(诸如氯化十八烷基二甲苄基铵;氯化己烷双胺;苯扎氯铵,苄索氯铵;酚,丁醇或苯甲醇;对羟基苯甲酸烃基酯,诸如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,诸如血清清蛋白,明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,诸如甘氨酸,谷氨酰胺,天冬酰胺,组氨酸,精氨酸或赖氨酸;单糖,二糖和其它碳水化合物,包括葡萄糖,甘露糖或糊精;螯合剂,诸如EDTA;糖类,诸如蔗糖,甘露醇,海藻糖或山梨醇;成盐相反离子,诸如钠;金属复合物(例如Zn-蛋白质复合物);和/或非离子表面活性剂,诸如聚乙二醇(PEG)。本文中的例示性的药学可接受载剂进一步包含间质药物分散剂诸如可溶性中性活性透明质酸酶糖蛋白(sHASEGP),例如人可溶性PH-20透明质酸酶糖蛋白,诸如rHuPH20(HYLENEX[®],Baxter International, Inc.)。某些例示性的sHASEGP和使用方法,包括rHuPH20记载于美国专利公开文本No.2005/0260186和2006/0104968。在一方面,将sHASEGP与一种或多种别的糖胺聚糖酶诸如软骨素酶组合。

[0341] 在一些实施方案中,“组氨酸缓冲液”为包含组氨酸离子的缓冲液。组氨酸缓冲液的例子包括组氨酸氯化物,组氨酸乙酸盐,组氨酸磷酸盐,组氨酸硫酸盐。本文中实施例中鉴定的优选组氨酸缓冲液发现是组氨酸乙酸盐。在优选实施方案中,组氨酸乙酸盐缓冲液通过用乙酸(液体)滴定L-组氨酸(游离碱,固体)来制备。在一些实施方案中,组氨酸缓冲液或组氨酸-乙酸盐缓冲液处于pH 5.0至6.0,在一些实施方案中,pH 5.3至5.8。

[0342] 在一些实施方案中,本文中的“糖”包括(CH₂O)_n的一般组成及其衍生物,包括单糖,二糖,三糖,多糖,糖醇,还原糖,非还原糖,等。本文中的糖的例子包括葡萄糖,蔗糖,海藻糖,乳糖,果糖,麦芽糖,葡聚糖(dextran),丙三醇,右旋糖酐(dextran),赤藓醇,甘油,阿拉伯糖醇,木糖醇(sylitol),山梨糖醇,甘露糖醇,蜜二糖(melibiose),松三糖,棉子糖,甘露三糖,水苏糖,麦芽糖,乳果糖,麦芽酮糖(maltulose),葡萄糖醇,麦芽糖醇,乳糖醇,异麦芽酮糖,等。在一些实施方案中,糖是非还原性二糖,诸如海藻糖或蔗糖。

[0343] 在本文中的一些实施方案中,“表面活性剂”指表面活性物质,优选非离子型表面活性剂。本文中的表面活性剂的例子包括聚山梨酯(例如聚山梨酯20和聚山梨酯80);泊洛沙姆(例如泊洛沙姆188);Triton;十二烷基硫酸钠(SDS);月桂基硫酸钠;辛基糖苷钠;月桂基,肉豆蔻基,亚油基(linoleyl),或硬脂基磺基甜菜碱;月桂基,肉豆蔻基,亚油基或硬脂

基肌氨酸;亚油基,肉豆蔻基,或鲸蜡基甜菜碱;月桂酰胺基丙基,椰油酰胺基(cocamido)丙基,亚油酰胺基丙基,肉豆蔻酰胺基丙基,棕榈酰胺基(palmito)丙基,或异硬脂酰胺基丙基甜菜碱(例如月桂酰胺基丙基);肉豆蔻酰胺基丙基,棕榈酰胺基(palmito)丙基,或异硬脂酰胺基丙基二甲胺;甲基椰油酰基牛磺酸钠或甲基油酰基牛磺酸二钠;和MONAQUAT™系列(Mona Industries, Inc., Paterson, New Jersey);聚乙二醇,聚丙二醇,及乙二醇和丙二醇的共聚物(例如Pluronic, PF68等);等。在一些实施方案中,表面活性剂是聚山梨酯20。在一些实施方案中,表面活性剂是聚山梨酯80。

[0344] 例示性的冻干抗体配制剂记载于美国专利No. 6,267,958。水性抗体配制剂包括那些记载于美国专利No. 6,171,586和W02006/044908的,后一种配制剂包含组氨酸-乙酸盐缓冲液。

[0345] 本文中的配制剂还可含有超过一种所治疗具体适应症所必需的活性组分,优选那些活性互补且彼此没有不利影响的。例如,可能想要进一步提供别的药物(本文中提供了例子)。合适地,此类活性组分以对于意图的目的有效的量组合存在。

[0346] 活性成分可包载于例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中(例如分别是羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊),在胶状药物投递系统中(例如脂质体,清蛋白微球体,微乳剂,纳米颗粒和纳米胶囊),或在粗滴乳状液中。此类技术披露于Remington's Pharmaceutical Sciences,第16版,Osol, A. 编(1980)。

[0347] 可以制备持续释放制剂。持续释放制剂的合适的例子包括含有抗体的固体疏水性聚合物的半透性基质,该基质为成形商品形式,例如膜,或微胶囊。

[0348] 用于体内施用的配制剂一般是无菌的。无菌性可容易地实现,例如通过穿过无菌滤膜过滤。

[0349] 在一些实施方案中,本文中提供的是药物配制剂,其包含:(a)本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体;(b)组氨酸缓冲液,处于pH 5.0-6.0。

[0350] 在一些实施方案中,本文中提供的是药物配制剂,其包含:(a)本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体;(b)组氨酸缓冲液,处于pH 5.0-6.0;(c)糖;和(d)表面活性剂。

[0351] 在任何配制剂的一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体以介于约10mg/mL和约100mg/mL之间(例如约15mg/mL, 18mg/mL, 20mg/mL, 60mg/mL, 和75mg/mL)的浓度存在。在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体以约20mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体以约50mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体以约60mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体以约70mg/mL的浓度存在。

[0352] 在任何配制剂的一些实施方案中,该糖以约75mM至约360mM(例如约100mM, 约120mM, 约240mM, 约320mM至约360mM)的浓度存在。在一些实施方案中,该糖以约120mM的浓度存在。在一些实施方案中,该糖以约240mM的浓度存在。在一些实施方案中,该糖以约320mM的浓度存在。在一些实施方案中,该糖是二糖。在一些实施方案中,该二糖是海藻糖。在一些实施方案中,该二糖是蔗糖。

[0353] 在任何配制剂的一些实施方案中,该组氨酸缓冲液处于约1mM至约50mM(例如约1mM至约25mM)的浓度。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲液处于约10mM的浓度。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲液处于约20mM的浓度。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲液处于约

30mM的浓度。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲液是组氨酸乙酸酯。

[0354] 在任何配制剂的一些实施方案中,该表面活性剂是聚山梨酯(例如聚山梨酯20或聚山梨酯40),poloxamer(例如poloxamer 188);Triton;十二烷基硫酸钠(SDS);月桂基硫酸钠;或辛基糖苷钠。

[0355] 在任何配制剂的一些实施方案中,该表面活性剂是聚山梨酯。在一些实施方案中,该聚山梨酯以约0.005%至约0.1%的浓度存在。在一些实施方案中,该聚山梨酯以约0.005%的浓度存在。在一些实施方案中,该聚山梨酯以约0.02%的浓度存在。在一些实施方案中,该聚山梨酯以约0.04%的浓度存在。在一些实施方案中,该聚山梨酯以约0.06%的浓度存在。在一些实施方案中,该聚山梨酯是聚山梨酯20。在一些实施方案中,该聚山梨酯是聚山梨酯80。

[0356] 在任何配制剂的一些实施方案中,该配制剂是用稀释剂(例如0.9%NaCl)稀释的。在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体以约1mg/mL的浓度存在。

[0357] 特别地,本文中提供的是药物配制剂,其包含(a)本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体;(b)聚山梨酯,其中该聚山梨酯浓度是约0.005%至约0.1%;和(c)组氨酸缓冲液(例如处于pH 5.0至6.0的组氨酸缓冲液)。

[0358] 在一些实施方案中,该药物配制剂包含(a)本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体(例如处于介于约10mg/mL和约100mg/mL之间的浓度);(b)聚山梨酯,其中该聚山梨酯浓度是约0.02%至约0.06%;(c)组氨酸缓冲液(例如处于pH 5.0至6.0的组氨酸缓冲液);和糖,其中该糖浓度是约120mM至约320mM。在一些实施方案中,该糖是蔗糖。

[0359] 在一些实施方案中,该药物配制剂包含(a)本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体,处于介于约10mg/mL和约100mg/mL之间的浓度;(b)聚山梨酯,其中该聚山梨酯浓度是约0.02%至约0.06%,其中该聚山梨酯是聚山梨酯20或聚山梨酯40;(c)组氨酸乙酸酯缓冲液,处于pH 5.0至6.0;和糖(例如蔗糖),处于约120mM至约320mM的浓度。

[0360] 在一些实施方案中,该药物配制剂包含(a)本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体;(b)聚山梨酯20,其中该聚山梨酯浓度是约0.02%至约0.06%;(c)组氨酸乙酸酯缓冲液(例如处于pH 5.0至6.0的组氨酸乙酸酯缓冲液);和(d)蔗糖,其中该蔗糖浓度是约120mM至约320mM。

[0361] 在一些实施方案中,该药物配制剂包含(a)本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体;(b)聚山梨酯40,其中该聚山梨酯浓度是约0.02%至约0.06%;(c)组氨酸乙酸酯缓冲液(例如处于pH 5.0和6.0之间的组氨酸乙酸酯缓冲液);和蔗糖,其中该蔗糖浓度是约120mM至约320mM。

[0362] 在一些实施方案中,该药物配制剂包含(a)本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体;(b)聚山梨酯20,其中该聚山梨酯浓度是约0.02%;(c)组氨酸乙酸酯缓冲液,处于pH 6.0;和(d)蔗糖,其中该蔗糖浓度是约320mM。

[0363] 在一些实施方案中,该药物配制剂包含(a)本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体;(b)聚山梨酯20,其中该聚山梨酯浓度是约0.02%;(c)组氨酸乙酸酯缓冲液,处于pH 5.5;和(d)蔗糖,其中该蔗糖浓度是约240mM。

[0364] 在一些实施方案中,该药物配制剂包含(a)本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体;(b)聚山梨酯20,其中该聚山梨酯浓度是约0.04%;(c)组氨酸乙酸酯缓冲液,处于pH

6.0;和(d)蔗糖,其中该蔗糖浓度是约120mM。

[0365] 在一些实施方案中,该药物配制剂包含(a)本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体;(b)聚山梨酯40,其中该聚山梨酯浓度是约0.04%;(c)组氨酸乙酸酯缓冲液,处于pH 5.0;和(d)蔗糖,其中该蔗糖浓度是约240mM。

[0366] 在一些实施方案中,该药物配制剂包含(a)本文中描述的任何抗人OX40激动性抗体;(b)聚山梨酯40,其中该聚山梨酯浓度是约0.04%;(c)组氨酸乙酸酯缓冲液,处于pH 6.0;和(d)蔗糖,其中该蔗糖浓度是约120mM。

[0367] 在一些实施方案中,该药物配制剂是液体药物配制剂。在一些实施方案中,该药物配制剂是稳定的药物配制剂。在一些实施方案中,该药物配制剂是稳定的液体药物配制剂。

[0368] 在本文中描述的任何药物配制剂的一些实施方案中,该药物配制剂中的抗人OX40激动性抗体以介于约10mg/mL和约100mg/mL之间的浓度存在。在一些实施方案中,该人OX40激动性抗体的浓度介于约10mg/mL至50mg/mL,10mg/mL至75mg/mL,25mg/mL至75mg/mL,50mg/mL至100mg/mL,50mg/mL至75mg/mL,和/或75mg/mL至100mg/mL任一之间。在一些实施方案中,该人OX40激动性抗体的浓度大于约20mg/mL,30mg/mL,40mg/mL,50mg/mL,60mg/mL,70mg/mL,或100mg/mL任一。

[0369] 药物配制剂优选包含聚山梨酯。一般以降低聚集物形成(诸如摇动或运输时发生的)的量包括聚山梨酯。聚山梨酯的例子包括但不限于聚山梨酯20(聚氧乙烯(20)山梨聚糖单月桂酸酯),聚山梨酯40(聚氧乙烯(20)山梨聚糖单棕榈酸酯),聚山梨酯60(聚氧乙烯(20)山梨聚糖单硬脂酸酯),和/或聚山梨酯80(聚氧乙烯(20)山梨聚糖单油酸酯)。在一些实施方案中,聚山梨酯为聚山梨酯20(聚氧乙烯(20)山梨聚糖单月桂酸酯)。在本文所述任何药物配制剂的一些实施方案中,聚山梨酯浓度足以在长期储存时和/或在施用期间(例如在IV袋中稀释之后)最小化聚集和/或维持稳定性。在一些实施方案中,聚山梨酯浓度为约0.005%w/v,约0.02%w/v,约0.04%w/v且小于约0.1%w/v。在一些实施方案中,聚山梨酯浓度大于0.01%w/v且小于约0.1%w/v。在一些实施方案中,聚山梨酯浓度为约0.005%w/v,约0.02%w/v,0.03%w/v,0.04%w/v,或0.05%w/v任一。在一些实施方案中,聚山梨酯以约0.04%w/v的浓度存在。在一些实施方案中,聚山梨酯以约0.02%w/v的浓度存在。

[0370] 药物配制剂优选包含糖类。糖类包括单糖,二糖,三糖,多糖,糖醇,还原糖,非还原糖,等。糖类的别的例子包括但不限于葡萄糖,蔗糖,海藻糖,乳糖,果糖,麦芽糖,右旋糖酐,甘油(glycerin),右旋糖酐,赤藻糖醇,甘油(glycerol),阿糖醇,木糖醇(sylitol),山梨糖醇,甘露醇,蜜二糖,松三糖,棉子糖,甘露三糖,水苏糖,麦芽糖,乳果糖,麦芽酮糖,葡萄糖醇/山梨糖醇(glucitol),麦芽糖醇,乳糖醇,异麦芽酮糖,等。在一些实施方案中,该糖类为二糖。在一些实施方案中,该糖类为非还原二糖。在一些实施方案中,该糖类为海藻糖。

[0371] 一般以降低聚集物形成的量包括糖类。在本文所述任何药物配制剂的一些实施方案中,糖类以介于约50mM至250mM,75mM至200mM,75mM至150mM,100mM至150mM,110mM至130mM,100mM至320mM,240mM至320mM,或240mM至400mM任一之间的浓度存在。在一些实施方案中,糖类以大于约50mM,75mM,100mM,110mM,或115mM任一的浓度存在。在一些实施方案中,糖类以约100mM,110mM,120mM,130mM,或140mM任一的浓度存在。在一些实施方案中,糖类以约120mM的浓度存在。在任何配制剂的一些实施方案中,糖类以约75mM至约360mM(例如约100mM,约120mM,约240mM,约320mM至约360mM)的浓度存在。在一些实施方案中,糖类以约

240mM的浓度存在。在一些实施方案中,糖类以约320mM的浓度存在。

[0372] 药物配制剂优选包含组氨酸缓冲剂。组氨酸缓冲剂的例子包括但不限于组氨酸氯化物,组氨酸琥珀酸酯,组氨酸乙酸酯,组氨酸磷酸酯,组氨酸硫酸酯。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂为组氨酸乙酸酯。在本文所述任何药物配制剂的一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂浓度介于约1mM至50mM,1mM至35mM,1mM至25mM,1mM至20mM,7.5mM至12.5mM,5mM至15mM,20mM至30mM,或25mM至35mM任一之间。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂浓度为约5mM,7.5mM,10mM,12.5mM,15mM,20mM,25mM,30mM,35mM或40mM任一。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂浓度为约10mM。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂浓度为约20mM。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂浓度为约30mM。在一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂浓度为约40mM。在本文所述任何药物配制剂的一些实施方案中,该组氨酸缓冲剂处于介于pH 5.0和6.0之间的pH,例如约pH 5.0,pH 5.1,pH 5.2,pH 5.3,pH 5.4,pH 5.5,pH 5.6,pH 5.7,pH 5.8,pH 5.9或pH 6.0任一。在一些实施方案中,该pH介于pH 4.9至pH 6.3之间。

[0373] 本文中的药物配制剂还可含有超过一种所治疗具体适应症所必需的活性化合物,优选那些活性互补且彼此没有不利影响的。合适地,此类分子以对于意图的目的有效的量组合存在。

[0374] 而且,本文中提供装有本文所述药物配制剂的管形瓶和填充管形瓶的方法。在一些实施方案中,在具有注射器可刺穿的塞子的管形瓶中提供该药物配制剂,优选处于含水形式。期望将管形瓶于约2-8°C以及直至30°C储存24小时,直到将它施用于需要它的受试者。管形瓶可例如为15cc管形瓶(例如用于200mg剂量)。

[0375] 用于施用的药物配制剂优选为液体配制剂(未冻干)且尚未进行在先冻干。虽然该药物配制剂可以冻干,但是优选它是未冻干的。在任何药物配制剂的一些实施方案中,该药物配制剂为冻干药物配制剂。在一些实施方案中,该药物配制剂为液体配制剂。在一些实施方案中,该药物配制剂不含致张力变化(tonicifying)量的盐诸如氯化钠。在任何药物配制剂的一些实施方案中,该药物配制剂是稀释的。

[0376] G. 治疗性方法和组合物

[0377] 本文中提供的任何抗人OX40抗体可以在治疗方法中使用。例如,在某些方面,本发明提供在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,其通过对该个体施用一个剂量的本公开文本的抗人OX40激动性抗体。在一些实施方案中,该剂量的该抗体可以是药物配制剂的一部分。在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体包含(a)包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含选自SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-L3。在某些实施方案中,该抗体是MOXR0916(1A7.gr1IgG1)。

[0378] 在一些实施方案中,该剂量可以介于约0.1mg和约1500mg该抗体之间。例如,该抗体的该剂量可以介于约0.1mg和约1500mg之间,介于约0.1mg和约1400mg之间,介于约0.1mg和约1200mg之间,介于约0.1mg和约1000mg之间,介于约0.1mg和约800mg之间,介于约0.1mg和约600mg之间,介于约0.1mg和约500mg之间,介于约0.1mg和约400mg之间,介于约0.1mg和约200mg之间,介于约0.1mg和约150mg之间,介于约0.1mg和约100mg之间,介于约0.1mg和约50mg之间,介于约0.1mg和约25mg之间,介于约0.1mg和约15mg之间,介于约0.1mg和约10mg

之间,介于约0.1mg和约5mg之间,或介于约0.1mg和约1mg之间。在一些实施方案中,该剂量是小于任何下述剂量(以mg计):约1500,1400,1200,1000,800,600,500,400,200,150,100,50,25,15,10,5,1,或0.8。在一些实施方案中,该剂量大于任何下述剂量(以mg计):约0.2,0.5,0.8,1,5,10,15,25,50,100,150,200,400,500,600,800,1000,1200,或1400。就是说,该剂量可以是具有上限1500,1400,1200,1000,800,600,500,400,200,150,100,50,25,15,10,5,1,或0.8和独立选择的下限0.2,0.5,0.8,1,5,10,15,25,50,100,150,200,400,500,600,800,1000,1200,或1400的任何剂量范围(以mg计),其中该下限小于该上限。

[0379] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体剂量选自约0.2mg,0.8mg,约3.2mg,约12mg,约40mg,约80mg,约130mg,约160mg,约300mg,约320mg,约400mg,约600mg,和约1200mg,例如每次施用。在某些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体剂量是约300mg。在某些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体剂量选自0.2mg,0.8mg,3.2mg,12mg,40mg,80mg,130mg,160mg,300mg,320mg,400mg,600mg,和1200mg。在某些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体剂量是300mg。

[0380] 在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体剂量选自约0.1mg,0.5mg,约2mg,约8mg,约27mg,约53mg,约87mg,约107mg,约200mg,约213mg,约267mg,约400mg,和约800mg,例如每次施用。在某些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体剂量选自0.1mg,0.5mg,2mg,8mg,27mg,53mg,87mg,107mg,200mg,213mg,267mg,400mg,和800mg。

[0381] 在一些实施方案中,可以以一个或多个额外的剂量重复该抗人OX40激动性抗体的施用。在一些实施方案中,该一个或多个额外的剂量中的每一个剂量选自约0.2mg,约0.8mg,约3.2mg,约12mg,约40mg,约80mg,约130mg,约160mg,约300mg,约320mg,约400mg,约600mg,和约1200mg,例如每次施用。在一些实施方案中,该一个或多个额外的剂量中的每一个剂量是约300mg。

[0382] 可以调整该抗人OX40激动性抗体的施用,例如基于给药周期。在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体剂量选自约0.2mg,约0.8mg,约3.2mg,约12mg,约40mg,约80mg,约130mg,约160mg,约300mg,约320mg,约400mg,约600mg,和约1200mg,例如每次施用,且可以以每一次施用之间约3周或约21天的间隔施用该抗人OX40激动性抗体。在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体剂量选自约0.1mg,约0.5mg,约2mg,约8mg,约27mg,约53mg,约87mg,约107mg,约200mg,约213mg,约267mg,约400mg,和约800mg,例如每次施用,且可以以每一次施用之间约2周或约14天的间隔施用该抗人OX40激动性抗体。在一些实施方案中,可以调整该抗人OX40激动性抗体的给药间隔,例如来匹配伴行治疗剂或方案的给药间隔或方案(例如FOLFOX的2周给药间隔)。

[0383] 在一些实施方案中,施用1-10个额外的剂量的该抗人OX40激动性抗体,例如在上文描述的重复施用中。例如,在一些实施方案中,可以施用1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10个额外的剂量的该抗人OX40激动性抗体。

[0384] 在一些实施方案中,施用于该个体的该抗人OX40激动性抗体的每一个剂量可以是相同的。在其它实施方案中,施用于该个体的该抗人OX40激动性抗体的的每一个剂量不是相同的。可以如本文中描述的那样修改剂量给药,例如基于功效,毒性,不良事件,进展,PD,PK,第二治疗剂的效果,等等。

[0385] 在一些实施方案中,静脉内施用该抗人OX40激动性抗体。在一些实施方案中,在不

同施用之间以不同速率施用该抗人OX40激动性抗体。例如，如本文中描述的，可以以比后续施用要慢的速率（例如通过IV输注）来实施初始施用，例如为了预防或减轻输注相关反应。

[0386] 在一些实施方案中，在第一个剂量的该抗人OX40激动性抗体的施用之后，可以施用一个或多个额外的剂量的该抗人OX40激动性抗体。在一些实施方案中，在施用该抗体之后，对该个体监测不良事件（例如如下文例示的），进展和/或治疗功效。在一些实施方案中，如果该个体不展现不良事件（例如如本文中描述的）的话，可以施用第二个剂量的该抗体。在一些实施方案中，如果该治疗展现功效的话，可以施用第二个剂量的该抗体。在一些实施方案中，即使观察到进展，仍然可以施用第二个剂量的该抗体。如本文中描述的，且不希望受理论束缚，认为在一些情况中免疫治疗剂诸如抗人OX40激动性抗体可诱导初始进展，接着是响应。

[0387] 在一些实施方案中，该第二个剂量是与该第一个剂量相同的量。在其它实施方案中，该第二个剂量可以大于该第一个剂量。会领会的是，上文描述的特定剂量和剂量范围可以以任意组合或次序应用于第二个剂量就像第一个剂量。

[0388] 在一些实施方案中，直至在该第一个剂量之后约2周至约4周才提供该第二个剂量。在一些实施方案中，直至在该第一个剂量之后约14天，约21天，或约28天才提供该第二个剂量。在一些实施方案中，直至在该第一个剂量之后约21天才提供该第二个剂量。在某些实施方案中，在该第一个剂量之后约21天提供该第二个剂量。在一些实施方案中，直至在该第一个剂量之后约3周才提供该第二个剂量。在某些实施方案中，在该第一个剂量之后约3周提供该第二个剂量。

[0389] 在一些实施方案中，经相同路径施用该第一个剂量和该第二个剂量。在某些实施方案中，静脉内施用该第一个剂量和该第二个剂量。

[0390] 在一个方面，提供抗人OX40激动性抗体，其用作药物。在又一些方面，提供抗人OX40激动性抗体，其用于治疗癌症。在某些实施方案中，提供抗人OX40激动性抗体，其用于治疗具有癌症的个体的方法，包括对该个体施用有效量的该抗人OX40激动性抗体。在一个此类实施方案中，该方法进一步包括对该个体施用有效量的至少一种别的治疗剂，例如下文所述。

[0391] 在一个方面，提供的是抗人OX40激动性抗体，其用于在具有癌症的个体中增强免疫功能（例如通过上调细胞介导的免疫应答），包括对该个体施用有效量的该抗人OX40激动性抗体。在一个方面，提供的是抗人OX40激动性抗体，其用于在具有癌症的个体中增强T细胞功能，包括对该个体施用有效量的该抗人OX40激动性抗体。在一个方面，提供的是抗人OX40激动性抗体，其用于消减表达人OX40的细胞（例如表达OX40的T细胞，例如表达OX40的Treg），包括对该个体施用有效量的该抗人OX40激动性抗体。在一些实施方案中，消减是通过ADCC进行的。在一些实施方案中，消减是通过吞噬进行的。提供的是抗人OX40激动性抗体，其用于治疗具有肿瘤免疫的个体。

[0392] 在又一些方面，提供抗人OX40激动性抗体，其用于治疗感染（例如细菌或病毒或其它病原体感染）。在某些实施方案中，本发明提供抗人OX40激动性抗体，其用于治疗具有感染的个体的方法，包括对该个体施用有效量的该抗人OX40激动性抗体。在一些实施方案中，感染是病毒和/或细菌感染。在一些实施方案中，感染是病原体感染。

[0393] 在又一个方面，本发明提供抗OX40抗体制造或制备药物的用途。在一个实施方案

中,该药物用于治疗癌症。在又一个实施方案中,该药物用于治疗癌症的方法,其包括对具有癌症的个体施用有效量的该药物。在一个此类实施方案中,该方法进一步包括对该个体施用有效量的至少一种别的治疗剂,例如下文所述。

[0394] 在一个方面,该药物用于在具有癌症的个体中增强免疫功能(例如通过上调细胞介导的免疫应答),其包括对该个体施用有效量的该药物。在一个方面,该药物用于在具有癌症的个体中增强T细胞功能,其包括对该个体施用有效量的该药物。在一些实施方案中,该T细胞功能障碍性病症是癌症。在一个方面,该药物用于消减表达人OX40的细胞(例如表达高OX40的细胞,例如表达OX40的T细胞),其包括对该个体施用有效量的该药物。在一些实施方案中,消减是通过ADCC进行的。在一些实施方案中,消减是通过吞噬进行的。在一个方面,该药物用于治疗具有肿瘤免疫的个体。

[0395] 在又一些方面,提供药物,其用于治疗感染(例如细菌或病毒或其它病原体感染)。在某些实施方案中,该药物用于治疗具有感染的个体的方法,包括对该个体施用有效量的该药物。在一些实施方案中,感染是病毒和/或细菌感染。在一些实施方案中,感染是病原体感染。

[0396] 在又一个方面,本发明提供用于治疗癌症的方法。在一个实施方案中,该方法包括对具有此类癌症的个体施用有效量的抗OX40抗体。在一个此类实施方案中,该方法进一步包括对该个体施用有效量的至少一种别的治疗剂,例如下文所述。依照任何上述实施方案的“个体”可以是人。

[0397] 在一个方面,提供的是用于在具有癌症的个体中增强免疫功能(例如通过上调细胞介导的免疫应答)的方法,包括对该个体施用有效量的该抗人OX40激动性抗体。在一个方面,提供的是用于在具有癌症的个体中增强T细胞功能的方法,包括对该个体施用有效量的该抗人OX40激动性抗体。在一个方面,提供的是用于消减表达人OX40的细胞(例如表达高水平OX40的细胞,例如表达OX40的T细胞)的方法,包括对该个体施用有效量的该抗人OX40激动性抗体。在一些实施方案中,消减是通过ADCC进行的。在一些实施方案中,消减是通过吞噬进行的。提供的是抗人OX40激动性抗体,其用于治疗具有肿瘤免疫的个体。

[0398] 在一些实施方案中,癌症的例子进一步包括但不限于B细胞淋巴瘤(包括低级/滤泡性非霍奇金氏淋巴瘤(NHL),小淋巴细胞性(SL)NHL,中级/滤泡性NHL,中级弥漫性NHL,高级成免疫细胞性NHL,高级成淋巴细胞性NHL,高级小无核裂细胞性NHL,贮积病(bulky disease)NHL,套细胞淋巴瘤,AIDS相关淋巴瘤,和瓦尔登斯特伦氏(Waldenstrom)巨球蛋白血症),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),急性成淋巴细胞性白血病(ALL),毛细胞性白血病,慢性成髓细胞性白血病,和移植后淋巴增殖性病症(PTLD),以及与癍痣病(phakomatoses),水肿(诸如与脑瘤有关的),B细胞增殖性病症,和梅格斯氏(Meigs)综合征有关的异常血管增殖。更具体例子包括但不限于复发性或顽固性NHL,前线(front line)低级NHL,阶段III/IV NHL,化疗耐受性NHL,前体B成淋巴细胞性白血病和/或淋巴瘤,小淋巴细胞性淋巴瘤,B细胞慢性淋巴细胞性白血病和/或前淋巴细胞性白血病和/或小淋巴细胞性淋巴瘤,B细胞前淋巴细胞性淋巴瘤,免疫细胞瘤和/或淋巴浆细胞性(lymphoplasmacytic)淋巴瘤,淋巴浆细胞性淋巴瘤,边缘区B细胞淋巴瘤,脾边缘区淋巴瘤,节外边缘区(extranodal marginal zone)-MALT淋巴瘤,节边缘区(nodal marginal zone)淋巴瘤,毛细胞性白血病,浆细胞瘤和/或浆细胞骨髓瘤,低级/滤泡淋巴瘤,中级/滤泡NHL,套细胞淋巴瘤,滤泡中心淋巴瘤(滤

泡的), 中级弥漫性NHL, 弥漫性大B细胞淋巴瘤, 攻击性 (aggressive) NHL (包括攻击性前线NHL和攻击性复发性NHL), 自体干细胞移植后复发性或顽固性NHL, 原发性纵隔大B细胞淋巴瘤, 原发性渗出性淋巴瘤, 高级成免疫细胞NHL, 高级成淋巴细胞NHL, 高级小无核裂细胞NHL, 贮积病 (bulky disease) NHL, 伯基特氏 (Burkitt) 淋巴瘤, 前体 (外周) 大粒状淋巴细胞白血病, 蕈样肉芽肿病和/或塞扎里 (Sezary) 综合征, 皮肤淋巴瘤, 间变性大细胞淋巴瘤, 血管中心性淋巴瘤。

[0399] 在一些实施方案中, 癌症的例子进一步包括但不限于B细胞增殖性病征, 其进一步包括但不限于淋巴瘤 (例如B细胞非霍奇金氏淋巴瘤 (NHL)) 和淋巴细胞性白血病。此类淋巴瘤和淋巴细胞性白血病包括例如a) 滤泡性淋巴瘤, b) 小无核裂细胞淋巴瘤 (Small Non-Cleaved Cell Lymphoma) / 伯基特 (Burkitt) 氏淋巴瘤 (包括地方性伯基特氏淋巴瘤, 散发性伯基特氏淋巴瘤和非伯基特氏淋巴瘤), c) 边缘区淋巴瘤 (包括结外边缘区B细胞淋巴瘤 (粘膜相关淋巴组织淋巴瘤, MALT), 结边缘区B细胞淋巴瘤和脾边缘区淋巴瘤), d) 套细胞淋巴瘤 (MCL), e) 大细胞淋巴瘤 (包括B细胞弥漫性大细胞淋巴瘤 (DLCL), 弥漫性混合细胞淋巴瘤, 免疫母细胞性淋巴瘤, 原发性纵隔B细胞淋巴瘤, 血管中心性淋巴瘤-肺B细胞淋巴瘤), f) 毛细胞白血病, g) 淋巴细胞性淋巴瘤, 瓦尔登斯特伦 (waldenstrom) 氏巨球蛋白血症, h) 急性淋巴细胞性白血病 (ALL), 慢性淋巴细胞性白血病 (CLL) / 小淋巴细胞性淋巴瘤 (SLL), B细胞幼淋巴细胞白血病, i) 浆细胞赘生物, 浆细胞骨髓瘤, 多发性骨髓瘤, 浆细胞瘤, 和/或 j) 霍奇金氏病。

[0400] 在任何方法的一些实施方案中, 该癌症是黑素瘤, 三重阴性乳腺癌, 卵巢癌, 肾细胞癌, 膀胱癌, 非小细胞肺癌, 胃癌, 或结直肠癌 (包括原发性和转移性肿瘤二者)。在某些实施方案中, 该癌症是肾细胞癌 (例如透明细胞肾细胞癌)。

[0401] 在任何方法的一些实施方案中, 该癌症是B细胞增殖性病征。在一些实施方案中, 该B细胞增殖性病征是淋巴瘤, 非霍奇金 (Hodgkin) 氏淋巴瘤 (NHL), 攻击性NHL, 复发性攻击性NHL, 复发性无痛性NHL, 顽固性NHL, 顽固性无痛性NHL, 慢性淋巴细胞性白血病 (CLL), 小淋巴细胞淋巴瘤, 白血病, 毛细胞白血病 (HCL), 急性淋巴细胞性白血病 (ALL), 或套细胞淋巴瘤。在一些实施方案中, 该B细胞增殖性病征是NHL, 诸如无痛性NHL和/或攻击性NHL。在一些实施方案中, 该B细胞增殖性病征是无痛性滤泡性淋巴瘤或弥漫性大B细胞淋巴瘤。在某些实施方案中, 该癌症选自黑素瘤, 三重阴性乳腺癌, 卵巢癌, 肾细胞癌, 膀胱癌, 非小细胞肺癌, 胃癌, 和结直肠癌。在一些实施方案中, 该癌症是局部晚期或转移性实体瘤, 例如本文中描述的任何实体癌的。

[0402] 在一些实施方案中, 该癌症是黑素瘤。在某些实施方案中, 该黑素瘤是晚期或转移性黑素瘤。在一些实施方案中, 该黑素瘤展现BRAF V600突变 (例如V600E, V600K, 或V600D突变)。具有BRAF V600突变的黑素瘤已经用B-Raf和/或丝裂原活化的蛋白质激酶激酶 (MEK) 激酶抑制剂治疗。此类抑制剂的例子包括但不限于 sorafenib, vemurafenib, dabrafenib (GSK2118436), RAF265, LGX818, trametinib, selumetinib, binimetinib, cobimetinib, PD-325901, CI-1040 (PD184352), PD035901, 等等。在一些实施方案中, 该个体在用该抗人OX40激动性抗体治疗前已经用B-Raf和/或丝裂原活化的蛋白质激酶激酶 (MEK) 激酶抑制剂治疗过。在一些实施方案中, 该患者在用该抗人OX40激动性抗体治疗前对该B-Raf和/或丝裂原活化的蛋白质激酶激酶 (MEK) 激酶抑制剂治疗展现疾病进展或不耐受。

[0403] 在一些实施方案中,该癌症是肾细胞癌(RCC)。在某些实施方案中,该RCC是晚期或转移性RCC。在一些实施方案中,该RCC展现透明细胞组织学的要素和/或肉瘤样组织学的要素。

[0404] 在一些实施方案中,该癌症是三重阴性乳腺癌(TNBC)。在某些实施方案中,该TNBC是晚期或转移性TNBC。在一些实施方案中,TNBC可以指雌激素受体阴性,孕酮受体阴性,和人表皮生长因子受体2阴性的乳腺癌,例如如由美国临床肿瘤学学会-美国病理学家学会(American Society of Clinical Oncology-College of American Pathologists,ASCO-CAP)指导方针定义的。例如,<1%的肿瘤细胞核可以对于雌激素受体是免疫反应性的,且<1%的肿瘤细胞核可以是对孕酮受体免疫反应性的(Hammond,M.E.et al.(2010) J.Clin.Oncol.28:2784-2795)且HER2测试显示免疫组织化学(IHC)1+,IHC 0或原位杂交(ISH)阴性(Wolff,A.C.et al.(2013) J.Clin.Oncol.31:3997:4013)。

[0405] 在一些实施方案中,该癌症是非小细胞肺癌(NSCLC)。在某些实施方案中,该NSCLC是晚期或转移性NSCLC。在一些实施方案中,该NSCLC展现敏化性表皮生长因子(EGFR)突变。已知敏化性EGFR突变牵涉EGFR激酶域且可以包括但不限于外显子18-21中的突变,诸如外显子19删除和外显子21中的L858R点突变(进一步的描述和/或另外的突变参见例如Lynch,T.J.et al.(2004) N.Engl.J.Med.350:2129-2139;Pao,W.et al.(2004) Proc.Natl.Acad.Sci.101:13306-13311;及Paez,J.G.et al.(2004) Science 304:1497-1500)。在一些实施方案中,该个体在用该抗人OX40激动性抗体治疗前已经用EGFR酪氨酸激酶抑制剂治疗过。在一些实施方案中,该患者在用该抗人OX40激动性抗体治疗前对该EGFR酪氨酸激酶抑制剂治疗展现疾病进展或不耐受。在一些实施方案中,该NSCLC展现间变性淋巴瘤激酶(ALK)重排。已经将ALK重排与NSCLC联系起来,特别是EGFR酪氨酸激酶抑制剂抗性,而且本领域知道许多ALK重排,包括但不限于EML4-ALK,KIF5B-ALK,和TFG-ALK重排(进一步的描述和/或另外的突变参见例如Koivunen,J.P.et al.(2008) Clin.Cancer Res.14:4275-4283;及Soda,E.M.et al.(2007) Nature 448:561-566)。在一些实施方案中,该个体在用该抗人OX40激动性抗体治疗前已经用ALK酪氨酸激酶抑制剂治疗过。在一些实施方案中,该患者在用该抗人OX40激动性抗体治疗前对该ALK酪氨酸激酶抑制剂治疗展现疾病进展或不耐受。

[0406] 在一些实施方案中,该癌症是尿路上皮膀胱癌(UBC)。在某些实施方案中,该UBC是晚期或转移性UBC。在一些实施方案中,该UBC展现移行细胞样式且包括肾盂,输尿管,膀胱,和/或尿道的癌症。

[0407] 在一些实施方案中,该癌症是结直肠癌(CRC)。在某些实施方案中,该CRC是晚期或转移性CRC。在一些实施方案中,该CRC是结肠或直肠腺癌。

[0408] 在一些实施方案中,该癌症是卵巢癌(OC)。在某些实施方案中,该OC是晚期或转移性OC。在一些实施方案中,该OC是上皮卵巢,输卵管,或原发性腹膜癌。

[0409] 在一些实施方案中,该个体未接受过免疫疗法。例如,该患者可以先前未曾用免疫疗法治疗过。本领域知道且本文中描述了众多免疫疗法。免疫疗法的类型可以包括但不限于共刺激激动剂和/或免疫检查点阻断疗法。如本文中描述的,共刺激激动剂包括但不限于结合CD40,CD226,CD28,OX40,GITR,CD137,CD27,HVEM,或CD127的激动剂(例如激动性抗体);或针对抑制性共刺激分子(例如CTLA-4,PD-1,TIM-3,BTLA,VISTA,LAG-3,B7-H3,B7-

H4, IDO, TIGIT, MICA/B, 或精氨酸酶) 的拮抗剂。如本文中描述的, 免疫检查点阻断疗法可以包括但不限于PD-1轴结合拮抗剂(例如PD-1结合拮抗剂, PD-L1结合拮抗剂或PD-L2结合拮抗剂) 和针对CTLA-4(也称作CD152)的拮抗剂, 例如阻断性抗体。

[0410] 在任何方法的一些实施方案中, 该肿瘤或癌症是顽固性/不应性的。如本文中使用的, 术语“顽固性/不应性的”可以指在先疗法对其无效和/或不耐受的肿瘤/癌症, 或者用于描述具有所述肿瘤/癌症的患者。例如, 对于RCC, “顽固性/不应性的”患者可以是包含VEGF抑制剂和/或mTOR抑制剂的在先抗癌疗法证明对其无效和/或不耐受的患者。本领域技术人员会领会, 此类疗法仅仅是例示性的, 而且本公开文本的方法可用于治疗对一种或多种其它疗法是顽固性/不应性的癌症(诸如RCC或本文中描述的任何其它癌症)或延迟其进展, 而抗癌疗法的好处/风险概况的适宜性在一些情况中可在于开药方的肿瘤学家的临床判断。

[0411] 在一些实施方案中, 本文中提供的是一种在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法, 其包括以300mg的剂量对该个体施用MOXR0916, 其中该癌症选自下组: 黑素瘤, 三重阴性乳腺癌, 卵巢癌, 肾细胞癌, 膀胱癌, 非小细胞肺癌, 胃癌, 和结直肠癌。在一些实施方案中, 该方法进一步包括以300mg每次施用的剂量重复MOXR0916的施用, 且以各施用之间约3周或约21天的间隔重复该施用。在一些实施方案中, 该癌症是RCC。在一些实施方案中, 该癌症是RCC, 且该癌症对包含VEGF抑制剂和/或mTOR抑制剂的治疗不应。在一些实施方案中, 静脉内施用MOXR0916。

[0412] 在一些实施方案中, 本文中提供的是一种在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法, 其包括以160mg的剂量对该个体施用MOXR0916, 其中该癌症选自下组: 黑素瘤, 三重阴性乳腺癌, 卵巢癌, 肾细胞癌, 膀胱癌, 非小细胞肺癌, 胃癌, 和结直肠癌。在一些实施方案中, 该方法进一步包括以160mg每次施用的剂量重复MOXR0916的施用, 且以各施用之间约3周或约21天的间隔重复该施用。在一些实施方案中, 该癌症是RCC。在一些实施方案中, 该癌症是RCC, 且该癌症对包含VEGF抑制剂和/或mTOR抑制剂的治疗不应。在一些实施方案中, 静脉内施用MOXR0916。

[0413] 在一些实施方案中, 本文中提供的是一种在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法, 其包括以320mg的剂量对该个体施用MOXR0916, 其中该癌症选自下组: 黑素瘤, 三重阴性乳腺癌, 卵巢癌, 肾细胞癌, 膀胱癌, 非小细胞肺癌, 胃癌, 和结直肠癌。在一些实施方案中, 该方法进一步包括以320mg每次施用的剂量重复MOXR0916的施用, 且以各施用之间约3周或约21天的间隔重复该施用。在一些实施方案中, 该癌症是RCC。在一些实施方案中, 该癌症是RCC, 且该癌症对包含VEGF抑制剂和/或mTOR抑制剂的治疗不应。在一些实施方案中, 静脉内施用MOXR0916。

[0414] 在一些实施方案中, 本文中提供的是一种在个体中治疗癌症或延迟癌症进展的方法, 其包括以400mg的剂量对该个体施用MOXR0916, 其中该癌症选自下组: 黑素瘤, 三重阴性乳腺癌, 卵巢癌, 肾细胞癌, 膀胱癌, 非小细胞肺癌, 胃癌, 和结直肠癌。在一些实施方案中, 该方法进一步包括以400mg每次施用的剂量重复MOXR0916的施用, 且以各施用之间约3周或约21天的间隔重复该施用。在一些实施方案中, 该癌症是RCC。在一些实施方案中, 该癌症是RCC, 且该癌症对包含VEGF抑制剂和/或mTOR抑制剂的治疗不应。在一些实施方案中, 静脉内施用MOXR0916。

[0415] 在又一个方面, 本发明提供药物配制剂, 其包含本文中提供的任何抗OX40抗体, 例

如用于任何上述治疗方法。在一个实施方案中,药物配制剂包含本文中提供的任何抗OX40抗体和药学可接受载剂。在另一个实施方案中,药物配制剂包含本文中提供的任何抗OX40抗体和至少一种别的治疗剂,例如下文所述。

[0416] 在本发明的任何方法的一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体通过抑制Treg功能(例如抑制Treg的遏制性功能),杀死表达OX40的细胞(例如表达高水平OX40的细胞),提高效应T细胞功能和/或提高记忆T细胞功能来抑制肿瘤免疫。在本发明的任何方法的一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体通过抑制Treg功能(例如抑制Treg的遏制性功能),杀死表达OX40的细胞(例如表达高水平OX40的细胞),提高效应T细胞功能和/或提高记忆T细胞功能来治疗癌症。在本发明的任何方法的一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体通过抑制Treg功能(例如抑制Treg的遏制性功能),杀死表达OX40的细胞(例如表达高水平OX40的细胞),提高效应T细胞功能和/或提高记忆T细胞功能来增强免疫功能。在本发明的任何方法的一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体通过抑制Treg功能(例如抑制Treg的遏制性功能),杀死表达OX40的细胞(例如表达高水平OX40的细胞),提高效应T细胞功能和/或提高记忆T细胞功能来增强T细胞功能。

[0417] 在任何方法的一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体是消减性抗人OX40激动性抗体。在一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体处理导致细胞消减(例如消减表达OX40的细胞,例如消减表达高水平OX40的细胞)。在一些实施方案中,消减是通过ADCC进行的。在一些实施方案中,消减是通过吞噬进行的。

[0418] 在任何方法的一些实施方案中,相对于施用该OX40激动性抗体之前的Treg功能,该抗人OX40激动性抗体例如通过抑制效应和/或记忆T细胞功能(在一些实施方案中,效应T细胞和/或记忆T细胞增殖和/或细胞因子分泌)的Treg遏制来抑制Treg功能。在任何方法的一些实施方案中,相对于施用该OX40激动性抗体之前的效应T细胞增殖,该抗人OX40激动性抗体提高效应T细胞增殖。在任何方法的一些实施方案中,相对于施用该OX40激动性抗体之前的记忆T细胞增殖,该抗人OX40激动性抗体提高记忆T细胞增殖。在任何方法的一些实施方案中,相对于施用该OX40激动性抗体之前的效应T细胞细胞因子生成,该抗人OX40激动性抗体提高效应T细胞细胞因子生成(例如 γ -干扰素生成)。在任何方法的一些实施方案中,相对于施用该OX40激动性抗体之前的记忆T细胞细胞因子生成,该抗人OX40激动性抗体提高记忆T细胞细胞因子生成(例如 γ -干扰素生成)。在任何方法的一些实施方案中,相对于施用该OX40激动性抗体之前的CD4+效应T细胞增殖和/或CD8+效应T细胞增殖,该抗人OX40激动性抗体提高CD4+效应T细胞增殖和/或CD8+效应T细胞增殖。在任何方法的一些实施方案中,相对于施用该OX40激动性抗体之前的记忆T细胞增殖,该抗人OX40激动性抗体提高记忆T细胞增殖(例如CD4+记忆T细胞增殖)。在一些实施方案中,相对于施用该抗人OX40激动性抗体的之前的增殖,细胞因子分泌和/或溶胞活性,个体中的CD4+效应T细胞具有增强的增殖,细胞因子分泌和/或溶胞活性。

[0419] 在本发明的任何方法的一些实施方案中,CD4+效应T细胞的数目相对于施用该抗人OX40激动性抗体之前升高。在一些实施方案中,CD4+效应T细胞细胞因子分泌相对于施用该抗人OX40激动性抗体之前升高。在任何方法的一些实施方案中,个体中的CD8+效应T细胞具有相对于施用该抗人OX40激动性抗体之前增强的增殖,细胞因子分泌和/或溶胞活性。在一些实施方案中,CD8+效应T细胞的数目相对于施用该抗人OX40激动性抗体之前升高。在一

些实施方案中,CD8+效应T细胞细胞因子分泌相对于施用该抗人OX40激动性抗体之前升高。

[0420] 在本发明的任何方法的一些实施方案中,该抗人OX40激动性抗体结合人效应细胞,例如结合由人效应细胞表达的Fc γ R。在一些实施方案中,该人效应细胞实施ADCC效应器功能。在一些实施方案中,该人效应细胞实施吞噬效应器功能。

[0421] 在本发明的任何方法的一些实施方案中,包含变异IgG1Fc多肽(其包含消除对人效应细胞的结合的突变,例如DANA或N297G突变)的抗人OX40激动性抗体具有相对于包含天然序列IgG1Fc部分的抗人OX40激动性抗体降低的活性(例如CD4+效应T细胞功能,例如增殖)。在一些实施方案中,包含变异IgG1Fc多肽(其包含消除对人效应细胞的结合的突变,例如DANA或N297G突变)的抗人OX40激动性抗体并不拥有实质性活性(例如CD4+效应T细胞功能,例如增殖)。

[0422] 在本发明的任何方法的一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体功能需要抗体交联。在一些实施方案中,功能是刺激CD4+效应T细胞增殖。在一些实施方案中,抗体交联是通过提供粘附至固体表面(例如细胞培养板)的抗人OX40激动性抗体而测定的。在一些实施方案中,抗体交联是通过在该抗体的IgG1Fc部分中引入突变(例如DANA或N297S突变)并测试突变体抗体的功能而测定的。

[0423] 在任何方法的一些实施方案中,个体中的记忆T细胞具有相对于施用该抗人OX40激动性抗体之前增强的增殖和/或细胞因子分泌。在一些实施方案中,记忆T细胞的数目相对于施用该抗人OX40激动性抗体之前升高。在一些实施方案中,记忆T细胞细胞因子分泌(水平)相对于施用该抗人OX40激动性抗体之前升高。在任何方法的一些实施方案中,个体中的Treg具有相对于施用该抗人OX40激动性抗体之前降低的效应T细胞功能(例如增殖和/或细胞因子分泌)抑制。在一些实施方案中,效应T细胞的数目相对于施用该抗人OX40激动性抗体之前升高。在一些实施方案中,效应T细胞细胞因子分泌(水平)相对于施用该抗人OX40激动性抗体之前升高。

[0424] 在本发明的任何方法的一些实施方案中,肿瘤内(浸润性)CD4+效应T细胞的数目(例如CD4+效应T细胞的总数,或例如CD45+细胞中CD4+细胞的百分比)相对于施用该抗人OX40激动性抗体之前升高。在本发明的任何方法的一些实施方案中,表达 γ -干扰素的肿瘤内(浸润性)CD4+效应T细胞的数目(例如总的表达 γ -干扰素的CD4+细胞,或例如总的CD4+细胞中表达 γ -干扰素的CD4+细胞的百分比)相对于施用抗人OX40激动性抗体之前升高。

[0425] 在本发明的任何方法的一些实施方案中,肿瘤内(浸润性)CD8+效应T细胞的数目(例如CD8+效应T细胞的总数,或例如CD45+细胞中CD8+的百分比)相对于施用抗人OX40激动性抗体之前升高。在本发明的任何方法的一些实施方案中,表达 γ -干扰素的肿瘤内(浸润性)CD8+效应T细胞的数目(例如总的CD8+细胞中表达 γ -干扰素的CD8+细胞的百分比)相对于施用抗人OX40激动性抗体之前升高。

[0426] 在本发明的任何方法的一些实施方案中,肿瘤内(浸润性)Treg的数目(例如Treg的总数或例如CD4+细胞中Fox3p+细胞的百分比)相对于施用抗人OX40激动性抗体之前降低。

[0427] 在本发明的任何方法的一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体的施用与肿瘤抗原的施用组合。在一些实施方案中,该肿瘤抗原包含蛋白质。在一些实施方案中,该肿瘤抗原包含核酸。在一些实施方案中,该肿瘤抗原是肿瘤细胞。

[0428] 在本发明的任何方法的一些实施方案中,可以评估肿瘤对治疗的响应。在一些实施方案中,可以使用RECIST标准,诸如RECIST v1.1来评估肿瘤响应。这些标准是本领域已知的且可用于测量患者对治疗的响应;参见例如Eisenhauer, E.A. et al. (2009) Eur. J. Cancer 45:228-247。在一些实施方案中,RECIST响应标准可以包括:

[0429] (a) 完全响应(CR):所有靶损害消失。任何病理学淋巴结(无论靶或非靶)的短轴必须缩小至 $<10\text{mm}$;

[0430] (b) 部分响应(PR):靶损害直径和缩小至少30%,以基线直径和作为参照;(c) 进展性疾病(PD):靶损害直径和增大至少20%,以研究时的最小和(最低点),包括基线作为参照。在相对增大20%以外,和还必须展现绝对增大至少5mm。一处或多处新损害的出现也考虑进展;和

[0431] (d) 稳定的疾病(SD):既没有足够的收缩来满足PR又没有足够的增大来满足PD,以研究时的最小和作为参照。

[0432] 在其它实施方案中,可以使用改良RECIST标准来评估肿瘤响应。改良实体瘤响应评估标准(RECIST)派生自RECIST, 1.1版(v1.1)协议(参见例如Eisenhauer, E.A. et al. (2009) Eur. J. Cancer 45:228-247)和免疫相关响应标准(irRC;参见例如Wolchok et al. (2009) Clin. Can. Res. 15:7412-7420; Nishino et al. (2014) J. Immunother. Can. 2:17; 和 Nishino et al. (2013) Clin. Can. Res. 19:3936-3943)。不希望受理论束缚,认为常规响应标准可能不适合表征免疫治疗剂像抗人OX40激动性抗体的抗肿瘤活性,免疫治疗剂能产生延迟的响应,之前可以有初始明显放射学进展,包括出现新损害。因此,已经开发了改良的响应标准,其考虑了可能出现新损害且容许在后续评估时确认放射学进展。下文表B中提供了改良RECIST和RECIST v1.1之间的变化的汇总。

[0433] 表B

[0434]

RECIST v1.1		改良RECIST
基线之后 新的损害	定义进展	新的可测量损害添加入总肿瘤负荷并跟踪。
非靶损害	可对总体进展的指派做出贡献	只在完全响应的评估中做出贡献。
放射学进展	直径和的第一例 $\geq 20\%$ 增大或非靶疾病的不含糊的进展。	只在可测量疾病的基础上测定;可以通过自第一次记录日起 ≥ 4 周的连贯评估来确认。

[0435] 在一些实施方案中,改良RECIST响应标准可以包括:

[0436] (a) 完全响应(CR):所有靶和非靶损害消失。淋巴结收缩至 $<10\text{mm}$ 短轴认为正常;

[0437] (b) 部分响应(PR):在CR缺失下,所有靶和所有新的可测量损害的直径和缩小至少30%,以基线直径和作为参照。注意:新的可测量的损害的出现作为总体肿瘤负荷的因素,但是并不自动满足进展性疾病,直至与最低点时的直径和相比时直径和增大 $\geq 20\%$;

[0438] (c) 进展性疾病 (PD) :所有靶和选定的新的可测量损害的直径和增大至少20%,以研究时的最小和(最低点SLD;这包括基线和,如果那是研究时最小的话)作为参照。在相对增大20%以外,和还必须展现至少5mm的绝对增大;和

[0439] (d) 稳定的疾病 (SD) :既没有足够的收缩来满足PR又没有足够的增大来满足PD,以研究时的最小直径和作为参照。

[0440] 可以使用CR,非CR/非PD,和PD(不含糊的进展)的标准RECIST v1.1定义在每一个时间点CRF上捕捉非靶损害的评估。然而,在确定总体改良RECIST肿瘤响应时,非靶损害只对完全响应的评估做出贡献。非靶损害在遵照改良RECIST的PR,SC,或PD的总体定义中不考虑。

[0441] 在一些实施方案中,单独的新损害对于进展性疾病不合格。然而,它们对总肿瘤负荷的贡献可以包括在直径和中,它可用于确定总体改良RECIST肿瘤响应。

[0442] 在一些实施方案中,对治疗的响应性可以指下述任一项或多项:延长存活(包括总体存活和无进展存活);导致客观响应(包括完全响应或部分响应);或改善癌症的体征或症状。在一些实施方案中,响应性可以指依照RECIST指导方针用于测定癌症患者中的肿瘤的状态(即响应,稳定,或进展)的已发表套组的一项或多项因素的改善。关于这些指导方针的更加详细的讨论,参见Eisenhauer et al.,*Eur J Cancer* 2009;45:228-47;Topalian et al.,*N Engl J Med* 2012;366:2443-54;Wolchok et al.,*Clin Can Res* 2009;15:7412-20;和Therasse,P.,et al.*J.Natl.Cancer Inst.*92:205-16(2000)。响应性受试者可以指其癌症显示改善的受试者,例如依照一项或多项基于RECIST标准的因素。非响应性受试者可以指其癌症不显示改善的受试者,例如依照一项或多项基于RECIST标准的因素。

[0443] 常规响应标准可能不适合表征免疫治疗剂的抗肿瘤活性,免疫治疗剂能产生延迟的响应,之前可以有初始明显放射学进展,包括出现新损害。因此,已经开发了改良的响应标准,其考虑了可能出现新损害且容许在后续评估时确认放射学进展。因而,在一些实施方案中,响应性可以指依照免疫相关响应标准2(irRC)的一项或多项因素的改善。参见例如Wolchok et al.,*Clin Can Res* 2009,15:7412-20。在一些实施方案中,将新损害添加入限定的肿瘤负荷中,并且在后续评估时跟踪例如放射学进展。在一些实施方案中,非靶损害的存在包括在完全响应的评估中,而且不包括在放射学进展的评估中。在一些实施方案中,放射学进展可以只在可测量疾病的基础上测定,和/或可以通过自第一次记录日起 ≥ 4 周的连贯评估来确认。

[0444] 在一些实施方案中,响应性可以包括免疫激活。在一些实施方案中,响应性可以包括治疗功效。在一些实施方案中,响应性可以包括免疫激活和治疗功效。

[0445] 在本发明的任何方法的一些实施方案中,该癌症展示人效应细胞(例如受到人效应细胞浸润)。用于检测人效应细胞的方法是本领域公知的,包括例如通过IHC。在一些实施方案中,该癌症展示高水平的人效应细胞。在一些实施方案中,人效应细胞是NK细胞,巨噬细胞,单核细胞中的一项或多项。在一些实施方案中,该癌症是本文中描述的任何癌症。在一些实施方案中,该癌症是非小细胞肺癌(NSCLC),成胶质细胞瘤,成神经细胞瘤,黑素瘤,乳腺癌(例如三重阴性乳腺癌),胃癌,结直肠癌(CRC),或肝细胞癌。

[0446] 在本发明的任何方法的一些实施方案中,该癌症展示表达FcR的细胞(例如受到表达FcR的细胞浸润)。用于检测FcR的方法是本领域公知的,包括例如通过IHC。在一些实施方

案中,该癌症展示高水平的表达FcR的细胞。在一些实施方案中,FcR是Fc γ R。在一些实施方案中,FcR是活化性Fc γ R。在一些实施方案中,该癌症是非小细胞肺癌(NSCLC),成胶质细胞瘤,成神经细胞瘤,黑素瘤,乳腺癌(例如三重阴性乳腺癌),胃癌,结直肠癌(CRC),或肝细胞癌。

[0447] 在一些实施方案中,本发明的任何方法可进一步包括监测该个体对治疗(例如用如本文中描述的抗人OX40激动性抗体)的响应性。在一些实施方案中,监测个体对治疗的响应性可以包括测量在治疗之后自该个体获得的样品(例如肿瘤样品)中一种或多种标志物基因的表达水平。在一些实施方案中,可以基于自该个体获得的样品(例如肿瘤样品)中一种或多种标志物基因的表达水平(例如与参照相比)将该个体归类为对治疗响应性或非响应性的。在一些实施方案中,该一种或多种标志物基因可以选自CCR5,CD274(也称作PD-L1),IL-7,TNFRSF14,TGFB1,CD40,CD4,PRF1,TNFSF4,CD86,CXCL9,CD3E,LAG3,PDCD1,CCL28,GZMB,IFN γ ,和IL-2RA,且升高的表达水平(例如与参照相比)可指示对治疗的响应性。在某些实施方案中,升高的PD-L1表达(例如与参照相比)可指示对治疗的响应性。在一些实施方案中,该一种或多种标志物基因可以选自CD8b,EOMES,GZMA,GZMB,IFN γ ,和PRF1,且升高的表达水平(例如与参照相比)可指示对治疗的响应性。不希望受理论束缚,认为升高的CCR5,CD274(也称作PD-L1),IL-7,TNFRSF14,TGFB1,CD40,CD4,PRF1,TNFSF4,CD86,CXCL9,CD3E,LAG3,PDCD1,CCL28,GZMB,IFN γ ,IL-2RA,GZMA,CD8b,和/或EOMES表达可与升高的T_{eff}活性相关。在其它实施方案中,该一种或多种标志物基因可以选自CCL22,IL-2,RORC,IL-8,CTLA4,和FOXP3,且降低的表达水平(例如与参照相比)可指示对治疗的响应性。不希望受理论束缚,认为降低的CCL22,IL-2,RORC,IL-8,CTLA4,和/或FOXP3表达可与降低的T_{reg}活性相关。

[0448] 在一些实施方案中,本发明的任何方法可进一步包括监测治疗功效(例如用如本文中描述的抗人OX40激动性抗体治疗)。在一些实施方案中,监测个体中的治疗功效可以包括测量在治疗之后自该个体获得的样品(例如肿瘤样品)中一种或多种标志物基因的表达水平。在一些实施方案中,可以基于自该个体获得的样品(例如肿瘤样品)中一种或多种标志物基因的表达水平(例如与参照相比)将该治疗归类为有效的。在一些实施方案中,该一种或多种标志物基因可以选自CCR5,CD274(也称作PD-L1),IL-7,TNFRSF14,TGFB1,CD40,CD4,PRF1,TNFSF4,CD86,CXCL9,CD3E,LAG3,PDCD1,CCL28,GZMB,IFN γ ,和IL-2RA,且升高的表达水平(例如与参照相比)可指示治疗功效。在某些实施方案中,升高的PD-L1表达(例如与参照相比)可指示治疗功效。在一些实施方案中,该一种或多种标志物基因可以选自CD8b,EOMES,GZMA,GZMB,IFN γ ,和PRF1,且升高的表达水平(例如与参照相比)可指示治疗功效。不希望受理论束缚,认为升高的CCR5,CD274(也称作PD-L1),IL-7,TNFRSF14,TGFB1,CD40,CD4,PRF1,TNFSF4,CD86,CXCL9,CD3E,LAG3,PDCD1,CCL28,GZMB,IFN γ ,IL-2RA,GZMA,CD8b,和/或EOMES表达可与升高的T_{eff}活性相关。在其它实施方案中,该一种或多种标志物基因可以选自CCL22,IL-2,RORC,IL-8,CTLA4,和FOXP3,且降低的表达水平(例如与参照相比)可指示治疗功效。不希望受理论束缚,认为降低的CCL22,IL-2,RORC,IL-8,CTLA4,和/或FOXP3表达可与降低的T_{reg}活性相关。

[0449] 在一些实施方案中,将一种或多种本文中描述的标志物基因的表达水平与参照比较。在一些实施方案中,参照可以包括在治疗之前自该个体获得的活检,自未治疗个体获得

的活检,或参照或基线值。在一些实施方案中,该参照是自具有癌症(例如与接受治疗的个体相同类型的癌症)的个体获得的样品中对应标志物基因的表达的均值,或中值水平。在一些实施方案中,该参照是来自在接受治疗之后不响应OX40激动剂治疗的具有癌症的其他受试者的样品中对应标志物基因的表达的均值,或中值水平。例如,可以研究来自一个群体的自具有共同特征(例如相同的癌症类型和/或阶段,或暴露于共同治疗诸如OX40激动剂)的癌症获得的样品集合,诸如临床结局研究。可使用这个集合来派生受试者的样品可以与之比较的参照,例如参照数目。

[0450] 在一些实施方案中,mRNA或蛋白质的表达水平可以针对参照基因的表达水平标准化。通过把样品大小和/或mRNA/蛋白质提取中的差异考虑在内(factoring),认为将特定基因的表达水平针对参照标准化增强样品间的可再现性。在这些例子中,相对于参照测量表达水平。在一些实施方案中,可使用多种参照基因,或是单一的或是集合的(例如通过取平均)。在其它实施方案中,mRNA或蛋白质的表达水平可以指绝对表达水平。

[0451] 在一些实施方案中,参照基因可以是持家基因。认为持家基因在正常和/或病理状态的细胞中组成性表达,诸如编码基础细胞功能和/或维持所需要的蛋白质的基因。持家基因通常用作参照来确保它们会在多份样品间以可检测和/或可再现水平表达。例示性持家基因和此类基因作为参照的用途的进一步描述可以见例如de Kok,J.B.,et al.(2005) Lab Invest.85(1):154-9。

[0452] 本公开文本的某些方面涉及测量样品中一种或多种基因的表达水平。在一些实施方案中,样品可包括白细胞。在一些实施方案中,该样品可以是肿瘤样品。肿瘤样品可包括癌细胞,淋巴细胞,白细胞,基质,血管,结缔组织,基板(basal lamina),和与肿瘤有关的任何其它细胞类型。在一些实施方案中,该样品是含有肿瘤浸润性白细胞的肿瘤组织样品。如本文中使用的,任何与肿瘤有关的白细胞可以认为是肿瘤浸润性白细胞。肿瘤浸润性白细胞的例子包括但不限于T淋巴细胞(诸如CD8+T淋巴细胞和/或CD4+T淋巴细胞),B淋巴细胞,或其它骨髓谱系细胞包括粒细胞(嗜中性细胞,嗜酸性细胞,嗜碱性细胞),单核细胞,巨噬细胞,树突细胞(即交叉的树突细胞),组织细胞,和天然杀伤细胞。在一些实施方案中,肿瘤浸润性白细胞可以与肿瘤的癌细胞有关。在一些实施方案中,肿瘤浸润性白细胞可以与肿瘤基质有关。在一些实施方案中,通过宏观解剖(macrodissection)针对肿瘤区域富集肿瘤样品。

[0453] 在一些实施方案中,可以加工该样品以分出或分离一种或多种细胞类型(例如白细胞)。在一些实施方案中,可以在没有分出或分离细胞类型的情况下使用该样品。可以通过本领域已知的任何方法自受试者获得肿瘤样品,包括但不限于活检,内窥镜检查,或手术规程。在一些实施方案中,可以通过诸如冷冻,固定(例如通过使用福尔马林或类似固定剂),和/或在石蜡中包埋等方法制备肿瘤样品。在一些实施方案中,可以将肿瘤样品切片。在一些实施方案中,可使用新鲜肿瘤样品(即尚未通过上文描述的方法制备的)。在一些实施方案中,可以通过在溶液中温育以保持mRNA和/或蛋白质完整性来制备样品。可以通过本文中描述的用于测量标志物基因表达水平的任何技术测定含有白细胞的肿瘤样品。

[0454] 本公开文本的某些方面涉及测量一种或多种标志物基因的表达水平。可使用本领域已知的用于测量基因表达的任何合适的方法。在一些实施方案中,表达水平可以指mRNA表达水平。mRNA表达水平可以通过多种方法来测量。此类方法可通过测量对mRNA特异性探

针的杂交的量来量化样品中存在的特定mRNA的拷贝。其它方法可扩增mRNA,或自mRNA生成的cDNA,并量化所生成的扩增子的量以推断样品中存在多少mRNA。还有其它方法可涉及对部分或整个mRNA转录物,或自mRNA生成的cDNA的下一代测序,然后量化检测到的与特定基因对应的序列的数目。在一些实施方案中,mRNA表达水平通过定量PCR,半定量PCR,核苷酸微阵列,RNA-seq,原位杂交,和/或Northern印迹来测量。

[0455] 在一些实施方案中,表达水平可以指蛋白质表达水平。蛋白质表达水平可以通过多种方法来测量。此类方法可通过使用特异性结合特定蛋白质的探针,诸如抗体来量化样品中存在的蛋白质,然后检测样品中特异性结合的量。其它方法可将蛋白质片段化成短肽,然后检测这些肽并量化多少肽对应于特定蛋白质。在一些实施方案中,蛋白质表达水平通过Western印迹,肽微阵列,免疫组织化学,流式细胞术,和/或质谱术来测量。

[0456] 依照任何上述实施方案的“个体”优选是人。

[0457] 可以单独或与疗法中的其它药剂组合使用本发明的抗体。例如,可以与至少一种别的治疗剂共施用本发明的抗体。

[0458] 上文记录的此类组合疗法涵盖组合施用(其中两种或更多种治疗剂包含在同一配制剂或分开的配制剂中),和分开施用,在该情况中,可以在施用别的治疗剂和/或药剂之前,同时,和/或之后发生本发明的抗体的施用。在一个实施方案中,抗OX40抗体的施用和别的治疗剂的施用彼此在约一个月内,或约一,两或三周内,或约1,2,3,4,5,或6天内发生。也可以与放射疗法组合使用本发明的抗体。

[0459] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与化疗或化疗剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与放疗或放疗剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与靶向疗法或靶向治疗剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与免疫疗法或免疫治疗剂,例如单克隆抗体联合施用。

[0460] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与PARP抑制剂(例如Olaparab, Rucaparib, Niraparib, Cediranib, BMN673, Veliparib), Trabectedin, nab-paclitaxel(清蛋白结合的帕利他赛, ABRAXANE), Trebananib, Pazopanib, Cediranib, Palbociclib, everolimus, 氟尿嘧啶(例如FOLFOX, FOLFIRI), IFL, regorafenib, Reolysin, Alimta, Zykadia, Sutent, Torisel (temsirrolimus), Inlyta (axitinib, Pfizer), Afinitor (everolimus, Novartis), Nexavar (sorafenib, Onyx/Bayer), Votrient, Pazopanib, axitinib, IMA-901, AGS-003, cabozantinib, Vinflunine, Hsp90抑制剂(例如apatorsin), Ad-GM-CSF (CT-0070), Temazolomide, IL-2, IFNa, vinblastine, Thalomid, dacarbazine, cyclophosphamide, lenalidomide, azacytidine, lenalidomide, bortezomid (VELCADE), amrubicin, carfilzomib, pralatrexate, 和/或enzastaurin联合施用。

[0461] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与PD-1轴结合拮抗剂联合施用。PD-1轴结合拮抗剂包括但不限于PD-1结合拮抗剂, PD-L1结合拮抗剂和PD-L2结合拮抗剂。“PD-1”的备选名称包括CD279和SLEB2。“PD-L1”的备选名称包括B7-H1, B7-4, CD274, 和B7-H。“PD-L2”的备选名称包括B7-DC, Btde, 和CD273。在一些实施方案中, PD-1, PD-L1, 和PD-L2是人PD-1, PD-L1和PD-L2。在一些实施方案中, PD-1结合拮抗剂是抑制PD-1结合其配体结合配偶的分子。在一个具体方面, PD-1配体结合配偶是PD-L1和/或PD-L2。在另一个实施方案中, PD-L1结合拮抗剂是抑制PD-L1结合其结合配偶的分子。在一个具体方面, PD-L1结合配偶是

PD-1和/或B7-1。在另一个实施方案中,PD-L2结合拮抗剂是抑制PD-L2结合其结合配偶的分子。在一个具体方面,PD-L2结合配偶是PD-1。拮抗剂可以是抗体,其抗原结合片段,免疫粘附素,融合蛋白,或寡肽。在一些实施方案中,PD-1结合拮抗剂是抗PD-1抗体(例如人抗体,人源化抗体,或嵌合抗体)。在一些实施方案中,抗PD-1抗体选自下组:MDX-1106(nivolumab,OPDIVO),Merck 3475(MK-3475,pembrolizumab,KEYTRUDA),CT-011(Pidilizumab),MEDI-0680(AMP-514),PDR001,REGN2810,和BGB-108。在一些实施方案中,PD-1结合拮抗剂是免疫粘附素(例如包含融合至恒定区(例如免疫球蛋白序列的Fc区)的,PD-L1或PD-L2的胞外或PD-1结合部分的免疫粘附素)。在一些实施方案中,PD-1结合拮抗剂是AMP-224。在一些实施方案中,PD-L1结合拮抗剂是抗PD-L1抗体。在一些实施方案中,抗PD-L1结合拮抗剂选自下组:YW243.55.S70,MPDL3280A,MEDI4736(durvalumab),MDX-1105,和MSB0010718C(avelumab)。MDX-1105,也称作BMS-936559,是W02007/005874中记载的抗PD-L1抗体。抗体YW243.55.S70(重和轻链可变区序列分别显示于SEQ ID No.20和21)是W02010/077634A1中记载的抗PD-L1。MDX-1106,也称作MDX-1106-04,ONO-4538,BMS-936558或nivolumab,是W02006/121168中记载的抗PD-1抗体。Merck 3475,也称作MK-3475,SCH-900475或pembrolizumab,是W02009/114335中记载的抗PD-1抗体。CT-011,也称作hBAT,hBAT-1或pidilizumab,是W02009/101611中记载的抗PD-1抗体。AMP-224,也称作B7-DCIg,是W02010/027827和W02011/066342中记载的PD-L2-Fc融合可溶性受体。在一些实施方案中,抗PD-1抗体是MDX-1106。"MDX-1106"的备选名称包括MDX-1106-04,ONO-4538,BMS-936558或nivolumab。在一些实施方案中,抗PD-1抗体是nivolumab(CAS注册号:946414-94-4)。

[0462] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对活化性共刺激分子的激动剂联合施用。在一些实施方案中,活化性共刺激分子可包括CD40,CD226,CD28,GITR,CD137,CD27,HVEM,或CD127。在一些实施方案中,针对活化性共刺激分子的激动剂是结合CD40,CD226,CD28,OX40,GITR,CD137,CD27,HVEM,或CD127的激动性抗体。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对抑制性共刺激分子的拮抗剂联合施用。在一些实施方案中,抑制性共刺激分子可包括CTLA-4(也称作CD152),PD-1,TIM-3,BTLA,VISTA,LAG-3,B7-H3,B7-H4,ID0,TIGIT,MICA/B,或精氨酸酶。在一些实施方案中,针对抑制性共刺激分子的拮抗剂是结合CTLA-4,PD-1,TIM-3,BTLA,VISTA,LAG-3(例如LAG-3-IgG融合蛋白(IMP321)),B7-H3,B7-H4,ID0,TIGIT,MICA/B,或精氨酸酶的拮抗性抗体。

[0463] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对CTLA-4(也称作CD152)的拮抗剂,例如阻断性抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与ipilimumab(也称作MDX-010,MDX-101,或Yervoy®)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与tremelimumab(也称作ticilimumab或CP-675,206)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对B7-H3(也称作CD276)的拮抗剂,例如阻断性抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与MGA271联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对TGFβ的拮抗剂,例如metelimumab(也称作CAT-192),fresolimumab(也称作GC1008),或LY2157299联合施用。

[0464] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与包含过继转移表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞(例如细胞毒性T细胞或CTL)的治疗联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40

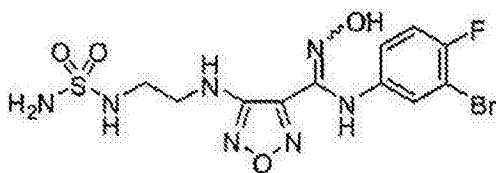
激动性抗体可以与UCART19联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与WT128z联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与KTE-C19 (Kite) 联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与CTL019 (Novartis) 联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与包含过继转移包含显性阴性TGF β 受体,例如,显性阴性TGF β II型受体的T细胞的治疗联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与包含HERCREEM方案的治疗(参见例如ClinicalTrials.gov Identifier NCT00889954) 联合施用。

[0465] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对CD19的拮抗剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与MOR00208联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对CD38的拮抗剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与daratumumab联合施用。

[0466] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对CD137 (也称作TNFRSF9, 4-1BB, 或ILA) 的激动剂,例如活化性抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与urelumab (也称作BMS-663513) 联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对CD40的激动剂,例如活化性抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与CP-870893联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对OX40 (也称作CD134) 的激动剂,例如活化性抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与不同的抗OX40抗体(例如AgonOX) 联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对CD27的激动剂,例如活化性抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与CDX-1127联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对吡啶胺-2,3-双加氧酶(IDO) 的拮抗剂联合施用。在一些实施方案中,该IDO拮抗剂是1-甲基-D-色氨酸(也称作1-D-MT)。

[0467] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对CD137 (也称作TNFRSF9, 4-1BB, 或ILA) 的激动剂,例如活化性抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与urelumab (也称作BMS-663513) 联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对CD40的激动剂,例如活化性抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与CP-870893或R07009789联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对OX40 (也称作CD134) 的激动剂,例如活化性抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对CD27的激动剂,例如活化性抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与CDX-1127 (也称作varlilumab) 联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对吡啶胺-2,3-双加氧酶(IDO) 的拮抗剂联合施用。在一些实施方案中,该IDO拮抗剂是1-甲基-D-色氨酸(也称作1-D-MT)。在一些实施方案中,该IDO拮抗剂是W02010/005958(通过此处记录明确收录其内容) 中所示IDO拮抗剂。在一些实施方案中,该IDO拮抗剂是4-({2-[(氨基磺酰基)氨基]乙基}氨基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羟基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒(例如如W02010/005958实施例23中记载的)。在一些实施方案中,该IDO拮抗剂是

[0468]



[0469] 在一些实施方案中,该IDO拮抗剂是INCB24360。在一些实施方案中,该IDO拮抗剂是Indoximod (1-甲基-色氨酸的D异构体)。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与抗体-药物缀合物联合施用。在一些实施方案中,该抗体-药物缀合物包含mertansine或单甲基奥瑞司他汀E (MMAE)。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与抗NaPi2b抗体-MMAE缀合物(也称作DNIB0600A, RG7599或lifastuzumab vedotin)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与trastuzumab emtansine(也称作T-DM1, ado-trastuzumab emtansine, 或KADCYLA[®], Genentech)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与抗MUC16抗体-MMAE缀合物, DMUC5754A联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与抗MUC16抗体-MMAE缀合物, DMUC4064A联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与靶向内皮缩血管肽B受体(EDNBR)的抗体-药物缀合物,例如缀合有MMAE的针对EDNBR的抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与靶向淋巴细胞抗原6复合物, 基因座E (Ly6E)的抗体-药物缀合物,例如缀合有MMAE的针对Ly6E的抗体(也称作DLYE5953A)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与polatuzumab vedotin联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与靶向CD30的抗体-药物缀合物联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与ADCETRIS(也称作brentuximab vedotin)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与polatuzumab vedotin联合施用。

[0470] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与血管发生抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对VEGF,例如VEGF-A的抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与贝伐珠单抗(也称作AVASTIN[®], Genentech)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对血管生成素2(也称作Ang2)的抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与MEDI3617联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对VEGFR2的抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与ramucirumab联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与VEGF受体融合蛋白联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与aflibercept联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与ziv-aflibercept(也称作VEGF陷阱或ZALTRAP[®])联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与针对VEGF和Ang2的双特异性抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与RG7221(也称作vanucizumab)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与血管发生抑制剂联合和与PD-1轴结合拮抗剂(例如PD-1结合拮抗剂诸如抗PD-1抗体, PD-L1结合拮抗剂诸如抗PD-L1抗体, 和PD-L2结合拮抗剂诸如抗PD-L2抗体)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与贝伐珠单抗和PD-1轴结合拮抗剂(例如PD-1结合拮抗剂诸如抗PD-1抗体, PD-L1结合拮抗剂诸如抗PD-L1抗体, 和PD-L2结合拮抗剂诸如抗PD-L2抗体)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与贝伐珠单抗和MDX-1106(nivolumab, OPDIVO)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与贝伐

珠单抗和Merck 3475 (MK-3475, pembrolizumab, KEYTRUDA) 联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与贝伐珠单抗和CT-011 (Pidilizumab) 联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与贝伐珠单抗和YW243.55.S70联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与贝伐珠单抗和MPDL3280A联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与贝伐珠单抗和MEDI4736联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与贝伐珠单抗和MDX-1105联合施用。

[0471] 在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与抗肿瘤剂联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与靶向CSF-1R (也称作M-CSFR或CD115) 的药剂联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与抗CSF-1R抗体 (也称作IMC-CS4或LY3022855) 联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与抗CSF-1R抗体, RG7155 (也称作R05509554或emactuzumab) 联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与干扰素, 例如干扰素- α 或干扰素- γ 联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与Roferon-A (也称作重组干扰素 α -2a) 联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与GM-CSF (也称作重组人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子, rhu GM-CSF, sargramostim, 或Leukine®) 联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与IL-2 (也称作aldesleukin或Proleukin®) 联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与IL-12联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与IL27联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与IL-15联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与ALT-803联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与靶向CD20的抗体联合施用。在一些实施方案中, 靶向CD20的抗体是奥奴珠单抗 (也称作GA101或Gazyva®) 或利妥昔单抗。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与靶向GITR的抗体联合施用。在一些实施方案中, 靶向GITR的抗体是TRX518。在一些实施方案中, 靶向GITR的抗体是MK04166 (Merck)。

[0472] 在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与Bruton氏酪氨酸激酶 (BTK) 的抑制剂联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与ibrutinib联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与疫苗脱氢酶1 (IDH1) 和/或疫苗脱氢酶2 (IDH2) 的抑制剂联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与AG-120 (Agiros) 联合施用。

[0473] 在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与奥奴珠单抗和PD-1轴结合拮抗剂 (例如PD-1结合拮抗剂诸如抗PD-1抗体, PD-L1结合拮抗剂诸如抗PD-L1抗体, 和PD-L2结合拮抗剂诸如抗PD-L2抗体) 联合施用。

[0474] 在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与癌症疫苗联合施用。在一些实施方案中, 该癌症疫苗是肽癌症疫苗, 其在一些实施方案中是个性化肽疫苗。在一些实施方案中, 该肽癌症疫苗是多价长肽, 多重肽, 肽混合物, 杂合肽, 或经肽脉冲的树突细胞疫苗 (参见例如Yamada et al., Cancer Sci, 104:14-21, 2013)。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与佐剂联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与包含TLR激动剂, 例如Poly-ICLC (也称作Hiltonol®), LPS, MPL, 或CpG ODN的治疗联合施用。在一些实施方案中, 抗人OX40激动性抗体可以与肿瘤坏死因子 (TNF) α 联合施用。在一些实施方案中, 抗

人OX40激动性抗体可以与IL-1联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与HMGB1联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与IL-10拮抗剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与IL-4拮抗剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与IL-13拮抗剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与IL-17拮抗剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与HVEM拮抗剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与ICOS激动剂(例如通过施用ICOS-L,或针对ICOS的激动性抗体)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与靶向CX3CL1的治疗联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与靶向CXCL9的治疗联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与靶向CXCL10的治疗联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与靶向CCL5的治疗联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与LFA-1或ICAM1激动剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与选择蛋白激动剂联合施用。

[0475] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与B-Raf的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与维罗非尼(也称作**Zelboraf®**)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与dabrafenib(也称作**Tafinlar®**)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与encorafenib(LGX818)联合施用。

[0476] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与EGFR抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与erlotinib(也称作**Tarceva®**)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与EGFR-T790M的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与gefitinib联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与afatinib联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与西妥昔单抗(也称作**Erbix®**)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与panitumumab(也称作**Vectibix®**)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与rociletinib联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与AZD9291联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与MEK,诸如MEK1(也称作MAP2K1)和/或MEK2(也称作MAP2K2)的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与cobimetinib(也称作GDC-0973或XL-518)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与trametinib(也称作**Mekinist®**)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与binimetinib联合施用。

[0477] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与B-Raf的抑制剂(例如维罗非尼或dabrafenib)和MEK(例如MEK1和/或MEK2)的抑制剂(例如cobimetinib或trametinib)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与ERK(例如ERK1/2)的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与GDC-0994联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与B-Raf的抑制剂,MEK的抑制剂,和ERK1/2的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与EGFR的抑制剂,MEK的抑制剂,和ERK1/2的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与一种或多种MAP激酶途径抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与CK127联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与K-Ras的抑制剂联合施用。

[0478] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与c-Met的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与onartuzumab(也称作MetMab)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与anaplastic淋巴瘤激酶(ALK)的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与AF802(也称作CH5424802或alectinib)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与crizotinib联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与ceritinib联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与buparlisib(BKM-120)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与pictilisib(也称作GDC-0941)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与buparlisib(也称作BKM-120)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与perifosine(也称作KRX-0401)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)的 δ 选择性抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与idelalisib(也称作GS-1101或CAL-101)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与taselisib(也称作GDC-0032)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与BYL-719联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与Akt的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与MK2206联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与GSK690693联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与ipatasertib(也称作GDC-0068)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与mTOR的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与sirolimus(也称作rapamycin)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与temsirolimus(也称作CCI-779或Torisel®)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与everolimus(也称作RAD001)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与ridaforolimus(也称作AP-23573, MK-8669, 或deforolimus)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与OSI-027联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与AZD8055联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与INK128联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与双重PI3K/mTOR抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与XL765联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与GDC-0980联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与BEZ235(也称作NVP-BEZ235)联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与BGT226联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与GSK2126458联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与PF-04691502联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与PF-05212384(也称作PKI-587)联合施用。

[0479] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与选择性降解雌激素受体的药剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与GDC-0927联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与HER3的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与duligotuzumab联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与LSD1的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与MDM2的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与BCL2的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与venetoclax联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40

激动性抗体可以与CHK1的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与GDC-0575联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与激活的hedgehog信号传导途径的抑制剂联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与ERIVEDGE联合施用。

[0480] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与放射疗法联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与吉西他滨联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与nab-paclitaxel (ABRAXANE) 联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与曲妥珠单抗联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与TVEC联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与IL27联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与环磷酰胺联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与募集T细胞至肿瘤的药物联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与lirilumab (IPH2102/BMS-986015) 联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与Idelalisib联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与靶向CD3和CD20的抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与REGN1979联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与靶向CD3和CD19的抗体联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与blinatumomab联合施用。

[0481] 在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与溶瘤病毒联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与卡铂和nab-paclitaxel联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与卡铂和帕利他赛联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与顺铂和培美曲塞联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与顺铂和吉西他滨联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与FOLFOX联合施用。在一些实施方案中,抗人OX40激动性抗体可以与FOLFIRI联合施用。

[0482] 上文记录的此类组合疗法涵盖组合施用(其中两种或更多种治疗剂包含在同一配制剂或分开的配制剂中),和分开施用,在该情况中,可以在施用别的治疗剂和/或佐剂之前,同时,和/或之后发生本发明抗体的施用。也可以与放射疗法组合使用本发明抗体。

[0483] 可以通过任何合适的手段(包括胃肠外,肺内,和鼻内,及若期望用于局部治疗的话,损伤内施用)来施用本发明抗体(和任何别的治疗剂)。胃肠外输注包括肌肉内,静脉内,动脉内,腹膜内,或皮下施用。部分根据施用是短暂的还是长期的,剂量给药可以通过任何合适的路径(例如通过注射,诸如静脉内或皮下注射)来进行。本文中涵盖各种剂量给药日程表,包括但不限于单次施用或在多个时间点里的多次施用,推注施用,和脉冲输注。

[0484] 在某些实施方案中,静脉内施用该抗体。在一些实施方案中,通过静脉内输注施用该抗体。例如,可以在大约90分钟,大约60分钟,或大约30分钟里经静脉内输注投递该抗体。在一些实施方案中,如果患者耐受特定持续时间里的输注(例如90分钟输注)的话,可以在更短的持续时间(例如30或60分钟)里施用后续输注。可以为了输注相关症状而减缓或中断输注。

[0485] 本发明抗体会以一种符合优秀的医学实践的方式配制,定剂量和施用。在此背景中考虑的因素包括所治疗的特定病症,所治疗的特定哺乳动物,患者个体的临床状况,病症的起因,药剂投递部位,施用方法,施用日程表及医学从业人员知道的其它因素。抗体无需但任选与一种或多种目前用于预防或治疗所讨论病症的药剂一起配制。此类其它药物的有

效量取决于配制剂中存在的抗体的量,病症或治疗的类型,及上文所述其它因素。这些通常以本文所述相同的剂量和施用途径使用,或以约1-99%的本文所述剂量使用,或以凭经验/临床上确定为适宜的任何剂量和任何途径使用。

[0486] 为了预防或治疗疾病,本发明抗体(当单独或与一种或多种其它别的治疗剂组合使用时)的适宜剂量会取决于要治疗的疾病的类型,抗体的类型,疾病的严重性和病程,施用抗体是预防还是治疗目的,之前的疗法,患者的临床史和对抗体的响应,及主治医师的斟酌。抗体适合于在一次或一系列的治疗中施用于患者。根据疾病的类型和严重性,约1 μ g/kg至40mg/kg的抗体可以作为初始候选剂量施用于患者,无论是例如通过一次或多次分开的施用或者是通过连续输注。根据上文所述因素,一种典型的日剂量可以在约1 μ g/kg至100mg/kg或更多的范围中。对于几天或更长时间上的重复施用,根据状况,治疗通常会持续直至疾病症状发生期望的阻抑。此类剂量可间歇施用,例如每周或每三周(例如使得患者接受约2至约20剂,或例如约6剂抗体)。可以施用较高的初始加载剂,接着是较低的一或多剂。然而,其它剂量方案可能是有用的。此疗法的进展易于通过常规技术和测定法来监测。

[0487] 应当理解,可以使用本发明的免疫缀合物代替或补充抗OX40抗体来实施任何上述配制剂或治疗性方法。

[0488] III. 制品和试剂盒

[0489] 在本发明的另一个方面,提供了一种制品或试剂盒,其含有可用于治疗,预防和/或诊断上文描述的病症的材料。制品包含容器和容器上或与容器联合的标签或包装插页。合适的容器包括例如瓶,管形瓶,注射器,IV溶液袋,等。容器可以自多种材料诸如玻璃或塑料形成。容器容纳单独或与另一种组合物组合有效治疗,预防和/或诊断状况的组合物,并且可以具有无菌存取口(例如,容器可以是具有由皮下注射针可刺穿的塞子的管形瓶或静脉内溶液袋)。组合物中的至少一种活性剂是本发明的抗体。标签或包装插页指示使用组合物来治疗选择的状况。此外,制品可以包含(a)其中装有组合物的第一容器,其中组合物包含本发明的抗体;和(b)其中装有组合物的第二容器,其中组合物包含别的细胞毒性或其它方面治疗性的药剂。本发明的此实施方案中的制品可以进一步包含包装插页,其指示可以使用组合物来治疗特定的状况。或者/另外,制品可以进一步包含第二(或第三)容器,其包含药学可接受缓冲液,诸如抑菌性注射用水(BWFI),磷酸盐缓冲盐水,Ringer氏溶液和右旋糖溶液。它可以进一步包含从商业和用户观点看期望的其它材料,包括其它缓冲剂,稀释剂,滤器,针,和注射器。

[0490] 在一些实施方案中,该制品或试剂盒含有容器,其包括用于施用本文中描述的剂量的本公开文本的抗人OX40激动性抗体,例如选自约0.2mg,约0.8mg,约3.2mg,约12mg,约40mg,约80mg,约130mg,约160mg,约300mg,约320mg,约400mg,约600mg,和约1200mg每次施用的剂量。例如,该容器可以含有比预定剂量要高的量的抗体,例如为了考虑施用期间抗体的不完全转移。

[0491] 在一些实施方案中,本文中提供的是一种试剂盒,其包含包含本文所述抗人OX40激动性抗体和任选的药学可接受载剂的药物。在一些实施方案中,该试剂盒进一步包含关于施用该药物来治疗癌症的说明书。

[0492] 应当理解,任何上述制品可包括本发明的免疫缀合物来代替或补充抗OX40抗体。

[0493] 序列

名称	序列	SEQ ID NO:
人OX40 (缺少信号肽)	LHCVGDITYPSNDRCCHECRPGNGMVSRCRSRQNTVCRPCGPGFY NDVVSSKPKPC ¹ WCNLRSGSERKQLC ² TAIQD ³ IVCRCRAGTQPL DSYKPGVDCAPCPPGHFSPGDNQACKPWTNCTLAGKHTLQPASNS SDAICEDRDPPATQPQETQGPPARPITVQPTEAWPRTSQGPSTRPVE VPGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKPP GGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI	1
HVR-H1- 1A7.gr.1 1A7.gr.2 1A7.gr.3 1A7.gr.4 1A7.gr.5 1A7.gr.5' 1A7.gr.6 1A7.gr.7 1A7.gr.7' 1A7.gr.NADS 1A7.gr.NADA 1A7.gr.NGDA 1A7.gr.SGDS 1A7.gr.NGSS 1A7.Ala.1 1A7.Ala.2 1A7.Ala.3 1A7.Ala.4 1A7.Ala.5 1A7.Ala.6 1A7.Ala.7 1A7.Ala.8 1A7.Ala.9 1A7.Ala.10 1A7.Ala.11 1A7.Ala.12 1A7.Ala.13 1A7.Ala.14 1A7.Ala.15 1A7.Ala.16		2
	DSYMS	
HVR-H2- 1A7.gr.1 1A7.gr.2 1A7.gr.3 1A7.gr.4 1A7.gr.5 1A7.gr.5' 1A7.gr.6 1A7.gr.7 1A7.gr.7' 1A7.gr.DA 1A7.gr.ES 1A7.Ala.1 1A7.Ala.2 1A7.Ala.3 1A7.Ala.4 1A7.Ala.5 1A7.Ala.6 1A7.Ala.7 1A7.Ala.8		3
	DMYPDNGDSSYNQKFRE	

[0494]

[0495]

1A7.Ala.9 1A7.Ala.10 1A7.Ala.11 1A7.Ala.12 1A7.Ala.13 1A7.Ala.14 1A7.Ala.15 1A7.Ala.16		
HVR-H3- 1A7.gr.1 1A7.gr.2 1A7.gr.3 1A7.gr.4 1A7.gr.5 1A7.gr.5' 1A7.gr.6 1A7.gr.7 1A7.gr.7' 1A7.gr.DA 1A7.gr.ES 1A7.gr.NADS 1A7.gr.NADA 1A7.gr.NGDA 1A7.gr.SGDS 1A7.gr.NGSS 1A7.gr.DANADA 1A7.Ala.1 1A7.Ala.2 1A7.Ala.3 1A7.Ala.4 1A7.Ala.5 1A7.Ala.6 1A7.Ala.7 1A7.Ala.15 1A7.Ala.16	APRWYFSV	4
HVR-L1- 1A7.gr.1 1A7.gr.2 1A7.gr.3 1A7.gr.4 1A7.gr.5 1A7.gr.5' 1A7.gr.6 1A7.gr.7 1A7.gr.7' 1A7.gr.DA 1A7.gr.ES 1A7.gr.NADS 1A7.gr.NADA 1A7.gr.NGDA 1A7.gr.SGDS 1A7.gr.NGSS 1A7.gr.DANADA 1A7.Ala.1 1A7.Ala.2 1A7.Ala.3 1A7.Ala.4 1A7.Ala.5 1A7.Ala.6 1A7.Ala.7 1A7.Ala.8 1A7.Ala.9	RASQDISNYLN	5

[0496]

<p>1A7.Ala.10 1A7.Ala.11 1A7.Ala.12 1A7.Ala.13 1A7.Ala.14 1A7.Ala.15 1A7.Ala.16</p>		
<p>HVR-L2- 1A7.gr.1 1A7.gr.2 1A7.gr.3 1A7.gr.4 1A7.gr.5 1A7.gr.5' 1A7.gr.6 1A7.gr.7 1A7.gr.7' 1A7.gr.DA 1A7.gr.ES 1A7.gr.NADS 1A7.gr.NADA 1A7.gr.NGDA 1A7.gr.SGDS 1A7.gr.NGSS 1A7.gr.DANADA 1A7.Ala.1 1A7.Ala.2 1A7.Ala.3 1A7.Ala.4 1A7.Ala.5 1A7.Ala.6 1A7.Ala.7 1A7.Ala.8 1A7.Ala.9 1A7.Ala.10 1A7.Ala.11 1A7.Ala.12 1A7.Ala.13 1A7.Ala.14 1A7.Ala.15 1A7.Ala.16</p>	<p>YTSRLRS</p>	<p>6</p>
<p>HVR-L3- 1A7.gr.1 1A7.gr.2 1A7.gr.3 1A7.gr.4 1A7.gr.5 1A7.gr.5' 1A7.gr.6 1A7.gr.7 1A7.gr.7' 1A7.gr.DA 1A7.gr.ES 1A7.gr.NADS 1A7.gr.NADA 1A7.gr.NGDA 1A7.gr.SGDS 1A7.gr.NGSS 1A7.gr.DANADA 1A7.Ala.8 1A7.Ala.9</p>	<p>QQGHTLPPT</p>	<p>7</p>

[0497]

1A7.Ala.10 1A7.Ala.11 1A7.Ala.12 1A7.Ala.13 1A7.Ala.14 1A7.Ala.15 1A7.Ala.16		
HVR-H1- 1A7.gr.DA	DAYMS	8
HVR-H1- 1A7.gr.ES 1A7.gr.DANADA	ESYMS	9
HVR-H2- 1A7.gr.NADS	DMYPDNADSSYNQKFRE	10
HVR-H2- 1A7.gr.NADA 1A7.gr.DANADA	DMYPDNADASYNQKFRE	11
HVR-H2- 1A7.gr.NGDA	DMYPDNGDASYNQKFRE	12
HVR-H2- 1A7.gr.SGDS	DMYPDSGDSSYNQKFRE	13
HVR-H2- 1A7.gr.NGSS	DMYPDNGSSSYNQKFRE	14
HVR-H3- 1A7.Ala.8	APRWYFSA	15
HVR-H3- 1A7.Ala.9	APRWYASV	16
HVR-H3- 1A7.Ala.10	APRWAFSV	17
HVR-H3- 1A7.Ala.11	APAWYFSV	18
HVR-H3- 1A7.Ala.12	APRWYFAV	19
HVR-H3- 1A7.Ala.13	APRAYFSV	20
HVR-H3- 1A7.Ala.14	AARWYFSV	21
HVR-L3- 1A7.Ala.1	QQGHTLPAT	22
HVR-L3- 1A7.Ala.2	QQGHTAPPT	23
HVR-L3-1A7.Ala .3	QQGATLPPT	24
HVR-L3-1A7.Ala .4	QQGHALPPT	25

[0498]

HVR-L3-1A7.Ala .5	QQAHTLPPT	26
HVR-L3-1A7.Ala .6	QQGHTLAPT	27
HVR-L3-1A7.Ala .7	QAGHTLPPT	28
HVR-H1- 3C8.gr.1 3C8.gr.2 3C8.gr.3 3C8.gr.4 3C8.gr.5 3C8.gr.5.SG 3C8.gr.5.EG 3C8.gr.5.QG 3C9.gr.5.DQ 3C8.gr.5.DA 3C8.gr.6 3C8.gr.7 3C8.gr.8 3C8.gr.9 3C8.gr.10 3C8.gr.11 3C8.A.1 3C8.A.2 3C8.A.3 3C8.A.4 3C8.A.5 3C8.A.6 3C8.A.7 3C8.A.8 3C8.A.9 3C8.A.10	NYLIE	29
HVR-H2- 3C8.gr.1 3C8.gr.2 3C8.gr.3 3C8.gr.4 3C8.gr.5 3C8.gr.5.SG 3C8.gr.5.EG 3C8.gr.5.QG 3C8.gr.6 3C8.gr.7 3C8.gr.8 3C8.gr.9 3C8.gr.10 3C8.gr.11 3C8.A.1 3C8.A.2 3C8.A.3 3C8.A.4 3C8.A.5 3C8.A.6 3C8.A.7 3C8.A.8 3C8.A.9	VINPGSGDTYYSEKFKG	30

[0499]

3C8.A.10		
HVR-H2- 3C8.gr.5.DA	VINPGSGDAYYSEKFKG	31
HVR-H2- 3C8.gr.5.DQ	VINPGSGDQYYSEKFKG	32
HVR-H3- 3C8.gr.1 3C8.gr.2 3C8.gr.3 3C8.gr.4 3C8.gr.5 3C8.gr.5.SG 3C8.gr.5.EG 3C8.gr.5.QG 3C8.gr.5.DA 3C8.gr.5.DQ 3C8.gr.6 3C8.gr.7 3C8.gr.8 3C8.gr.9 3C8.gr.10 3C8.gr.11 3C8.A.1 3C8.A.2 3C8.A.3 3C8.A.4 3C8.A.5 3C8.A.6 3C8.A.7	DRLDY	33
HVR-H3- 3C8.A.8	ARLDY	34
HVR-H3- 3C8.A.9	DALDY	35
HVR-H3- 3C8.A.10	DRADY	36
HVR-L1- 3C8.gr.1 3C8.gr.2 3C8.gr.3 3C8.gr.4 3C8.gr.5 3C8.gr.5.SG 3C8.gr.5.EG 3C8.gr.5.QG 3C8.gr.5.DA 3C8.gr.5.DQ 3C8.gr.6 3C8.gr.7 3C8.gr.8 3C8.gr.9 3C8.gr.10 3C8.gr.11 3C8.A.1 3C8.A.2 3C8.A.3 3C8.A.4 3C8.A.5 3C8.A.6 3C8.A.7	HASQDISSYIV	37

[0500]

3C8.A.8 3C8.A.9 3C8.A.10		
HVR-L2- 3C8.gr.1 3C8.gr.2 3C8.gr.3 3C8.gr.4 3C8.gr.5 3C8.gr.5.DA 3C8.gr.5.DQ 3C8.gr.6 3C8.gr.7 3C8.gr.8 3C8.gr.9 3C8.gr.10 3C8.gr.11 3C8.A.1 3C8.A.2 3C8.A.3 3C8.A.4 3C8.A.5 3C8.A.6 3C8.A.7 3C8.A.8 3C8.A.9 3C8.A.10	HGTNLED	38
HVR-L2-3C8.gr.5. SG	HGTNLES	39
HVR-L2-3C8.gr.5 .EG	HGTNLEE	40
HVR-L2-3C8.gr.5 .QG	HGTNLEQ	41
HVR-L3 3C8.gr.1 3C8.gr.2 3C8.gr.3 3C8.gr.4 3C8.gr.5 3C8.gr.5.SG 3C8.gr.5.EG 3C8.gr.5.QG 3C8.gr.5.DA 3C8.gr.5.DQ 3C8.gr.6 3C8.gr.7 3C8.gr.8 3C8.gr.9 3C8.gr.10 3C8.gr.11 3C8.A.8 3C8.A.9 3C8.A.10	VHYAQFPYT	42
HVR-L3- 3C8.A.1	AHYAQFPYT	43
HVR-L3-	VAYAQFPYT	44

[0501]

3C8.A.2		
HVR-L3-3C8.A.3	VHAAQFPYT	45
HVR-L3-3C8.A.4	VHYAAFPTY	46
HVR-L3-3C8.A.5	VHYAQAPYT	47
HVR-L3-3C8.A.6	VHYAQFAYT	48
HVR-L3-3C8.A.7	VHYAQFPAT	49
HVR-H1-1D2.gr.1 1D2.gr.2 1D2.gr.3	DYGVV	50
HVR-H2-1D2.gr.1 1D2.gr.2 1D2.gr.3	MIWSSGTTDYNAAFIS	51
HVR-H3-1D2.gr.1 1D2.gr.2 1D2.gr.3	EEMDY	52
HVR-L1-1D2.gr.1 1D2.gr.2 1D2.gr.3	RASQDISNFLN	53
HVR-L2-1D2.gr.1 1D2.gr.2 1D2.gr.3	YTSRLHS	54
HVR-L3-1D2.gr.1 1D2.gr.2 1D2.gr.3	QQGNTLPWT	55
1A7.gr.1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDTSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDITSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGTIVTVSS	56
1A7.gr.1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSDTDFITLTISSLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	57
1A7.gr.2 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDTSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITVDITSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGTIVTVSS	58
1A7.gr.2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSDTDFITLTISSLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	59
1A7.gr.3 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDTSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITVDITSTAYLELSSLRSE EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGTIVTVSS	60
1A7.gr.3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSDTDFITLTISSLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	61
1A7.gr.4 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDTSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITVDITSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGTIVTVSS	62

[0502]

1A7.gr.4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKTVK LLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGH TLPPTFGQGTKVEIK	63
1A7.gr.5 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITVDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	64
1A7.gr.5 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKTVK LLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGH TLPPTFGQGTKVEIK	65
1A7.gr.6 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITVDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	66
1A7.gr.6 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKTVK LLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGKDYTLTISLQPEDFATYFCQQGH TLPPTFGQGTKVEIK	67
1A7.gr.7 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITVDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	68
1A7.gr.7 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKTVK LLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGKDYTLTISLQPEDFATYFCQQGH TLPPTFGQGTKVEIK	69
1A7.gr.DA V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYTFTDAYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	70
1A7.gr.DA V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	71
1A7.gr.ES V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYTFTESYMSWVRQAPGQ LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	72
1A7.gr.ES V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	73
1A7.gr.NADS V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNADSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	74
1A7.gr.NADS V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	75
1A7.gr.NADA V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNADASYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	76
1A7.gr.NADA V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	77
1A7.gr.NGDA V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDASYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	78
1A7.gr.NGDA V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	79
1A7.gr.SGDS V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDSDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	80
1A7.gr.SGDS V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	81
1A7.gr.NGSS V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGSSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	82
1A7.gr.NGSS V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHT	83

[0503]

	LPPTFGQGTKVEIK	
1A7.gr.DANADA V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDAYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNADASYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	84
1A7.gr.DANADA V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPKGAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	85
1A7.Ala.1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	86
1A7.Ala.1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPKGAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHT LPATFGQGTKVEIK	87
1A7.Ala.2 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	88
1A7.Ala.2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPKGAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHT APPTFGQGTKVEIK	89
1A7.Ala.3 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	90
1A7.Ala.3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPKGAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGAT LPPTFGQGTKVEIK	91
1A7.Ala.4 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	92
1A7.Ala.4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPKGAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHA LPPTFGQGTKVEIK	93
1A7.Ala.5 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	94
1A7.Ala.5 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPKGAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAHT LPPTFGQGTKVEIK	95
1A7.Ala.6 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	96
1A7.Ala.6 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPKGAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHT LAPTFGQGTKVEIK	97
1A7.Ala.7 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	98
1A7.Ala.7 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPKGAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQAGHT LPPTFGQGTKVEIK	99
1A7.Ala.8 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGLTVTVSS	100
1A7.Ala.8 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPKGAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	101
1A7.Ala.9 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYASVWGQGLTVTVSS	102
1A7.Ala.9 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPKGAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	103
1A7.Ala.10	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ	104

[0504]

V _H	GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVITITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWAFSVWGQGLTVTVSS	
1A7.Ala.10 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	105
1A7.Ala.11 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVITITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPAWYFVWGQGLTVTVSS	106
1A7.Ala.11 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	107
1A7.Ala.12 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVITITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRWYFAVWGQGLTVTVSS	108
1A7.Ala.12 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	109
1A7.Ala.13 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVITITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAPRAYFSVWGQGLTVTVSS	110
1A7.Ala.13 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	111
1A7.Ala.14 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVITITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVLAARWYFVWGQGLTVTVSS	112
1A7.Ala.14 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	113
1A7.Ala.15 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVITITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCALAPRWYFVWGQGLTVTVSS	114
1A7.Ala.15 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	115
1A7.Ala.16 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQ GLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVITITRDTSTSTAYLELSSLRSE DTAVYYCVAAPRWYFVWGQGLTVTVSS	116
1A7.Ala.16 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHT LPPTFGQGTKVEIK	117
3C8.gr.1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTITITRDTSTSTAYLELSSLRSED AVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	118
3C8.gr.1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQDISNYLVWYQQKPGKAPKL LIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	119
3C8.gr.2 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTITADTSTSTAYLELSSLRSED AVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	120
3C8.gr.2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQDISNYLVWYQQKPGKAPKL LIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	121
3C8.gr.3 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTITADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	122
3C8.gr.3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQDISNYLVWYQQKPGKAPKL LIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	123
3C8.gr.4 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTITADTSTSTAYLELSSLRSED AVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	124

[0505]

3C8.gr.4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	125
3C8.gr.5 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	126
3C8.gr.5 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	127
3C8.gr.5.SG V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	128
3C8.gr.5.SG V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQ FPYTFGQGTKVEIK	129
3C8.gr.5.EG V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	130
3C8.gr.5.EG V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEEGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQ FPYTFGQGTKVEIK	131
3C8.gr.5.QG V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	132
3C8.gr.5.QG V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEQGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	133
3C8.gr.6 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED AVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	134
3C8.gr.6 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	135
3C8.gr.7 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	136
3C8.gr.7 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	137
3C8.gr.8 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTRDTSTSTAYLELSSLRSED AVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	138
3C8.gr.8 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	139
3C8.gr.9 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTRDTSTSTAYLELSSLRSED AVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	140
3C8.gr.9 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSPKL LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	141
3C8.gr.10 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTRDTSTSTAYLELSSLRSED AVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	142
3C8.gr.10 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKAFKL LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	143
3C8.gr.11 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTRDTSTSTAYLELSSLRSED AVYYCARDRLDYWGQGLTVTVSS	144
3C8.gr.11 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKAPKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA	145

[0506]

	QFPYTFGQGTKVEIK	
3C8.A.1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRLDYWGQGLVTVSS	146
3C8.A.1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAHYA QFPYTFGQGTKVEIK	147
3C8.A.2 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRLDYWGQGLVTVSS	148
3C8.A.2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVAYA QFPYTFGQGTKVEIK	149
3C8.A.3 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRLDYWGQGLVTVSS	150
3C8.A.3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHAA QFPYTFGQGTKVEIK	151
3C8.A.4 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRLDYWGQGLVTVSS	152
3C8.A.4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA AFPYTFGQGTKVEIK	153
3C8.A.5 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRLDYWGQGLVTVSS	154
3C8.A.5 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QAPYTFGQGTKVEIK	155
3C8.A.6 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRLDYWGQGLVTVSS	156
3C8.A.6 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFAYTFGQGTKVEIK	157
3C8.A.7 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRLDYWGQGLVTVSS	158
3C8.A.7 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPATFGQGTKVEIK	159
3C8.A.8 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARARLDYWGQGLVTVSS	160
3C8.A.8 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	161
3C8.A.9 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDALDYWGQGLVTVSS	162
3C8.A.9 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	163
3C8.A.10 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARDRADYWGQGLVTVSS	164
3C8.A.10 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCHASQDISSYIVWYQKPKGKSFKG LIYHGTNLEDGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYA QFPYTFGQGTKVEIK	165
1D2.gr.1	EVQLVESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLTDYGVLRQPPGKGLE	166

	V _H	WIGMIWSSGGTTDYNAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAV YYCVREEMDYWGQGTILVTSS	
	1D2.gr.1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISNFLNWFYQKPKGKAPKL LIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPQEDFATYYCQQGNT LPWTFGQGTKEIK	167
	1D2.gr.2 V _H	EVQLVESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLTDYGVLRWIRQPPGKGL WIGMIWSSGGTTDYNAAFISRVTISKDTSKNQVSLKLSVTAADTA VYYCVREEMDYWGQGTILVTSS	168
	1D2.gr.2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISNFLNWFYQKPKGKAPKL LIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPQEDFATYYCQQGNT LPWTFGQGTKEIK	169
	1D2.gr.3 V _H	EVQLVESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLTDYGVLRWVRQPPGKGL EWLGMWSSGGTTDYNAAFISRLTISKDTSKNQVSLKLSVTAADT AVYYCVREEMDYWGQGTILVTSS	170
	1D2.gr.3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISNFLNWFYQKPKGKAPKL LIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPQEDFATYYCQQGNT LPWTFGQGTKEIK	171
	CON1 (1A7)HVR-H1	X ₁ X ₂ YMS, 其中X ₁ 是D或E, 且X ₂ 是S或A.	172
	CON1 (1A7) HVR-H2	DMYPDX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ SYNQKFRE, 其中X ₁ 是N或S, X ₂ 是A或G, X ₃ 是D 或S, 且X ₄ 是A或S.	173
	CON1 (1A7) HVR-H3	APRWX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ , 其中X ₁ 是Y或A, X ₂ 是A或F, X ₃ 是S或A, 且X ₄ 是A 或V.	174
[0507]	CON1 (1A7) HVR-L3	QX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ T, 其中X ₁ 是A或Q, X ₂ 是A或G, X ₃ 是A或H, X ₄ 是A或T, X ₅ 是A或L, X ₆ 是A或P, 且X ₇ 是A或P.	175
	CON2 (3C8) HVR-H2	VINPGSGDX ₁ YYSEKFKG, 其中X ₁ 是T, A或Q.	176
	CON2 (3C8) HVR-L2	HGTNLEX ₁ , 其中X ₁ 是S, E或Q.	177
	CON2 (3C8) HVR-L3	X ₁ X ₂ YAQFPYX ₃ , 其中X ₁ 是V或A, X ₂ 是H或A, 且X ₃ 是Y或A.	178
	1A7 V _L	DIQMTQITSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWFYQKPDGTVKL LIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGKDYFLTISNLEQEDVAAYFCQQGH TLPPTFGGGTKLEIK	179
	1A7 V _H	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDSYMSWVKQSHGKTL EWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERKVTLTVDKSSSTAYMEFRSLTSED SAVYYCVLAPRWYFSVWGTGTTVTSS	180
	3C8 V _L	DILMTQSPSSMSVSLGDTVSIITCHASQDISSYIVWLQKPKGKSFRLGL IYHGTLNLEDGIPSRFSGSGSGADYSLTISSESEDFADYYCVHYAQF PYTFGGGTKEIK	181
	3C8 V _H	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVCKASGYAFTNYLIEWVKRPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGKVTLTADKSSSTAYMQLSSLTSED SAVYFCARDRLDYWGQGTILVTSS	182
	1A7.gr.5 ⁷ V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDSYMSWVRQ APGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTLTVDITSTSTA YLELSSLRSEDVAVYYCVLAPRWYFSVWGTGTTVTSS	183
	1A7.gr.7 ⁷ V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDSYMSWVRQ APGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTLTVDITSTSTA YLELSSLRSEDVAVYYCVLAPRWYFSVWGTGTTVTSS	184

实施例

[0508] 实施例1:具有局部晚期或转移性实体瘤的患者中MOXR0916的安全性和药动学的一项I期剂量放大研究

[0509] 研究设计

[0510] 这是首次在人中进行的, I期, 开放式标签, 多中心, 剂量放大研究, 设计用于评估MOXR0916 (1A7.gr1IgG1) 在具有已经在所有可得标准疗法之后进展或标准疗法已经证明无效或不可耐受, 或认为不适宜的局部晚期或转移性实体瘤的患者中的安全性, 耐受性, 和药动学。在全世界的多个中心在这项研究中可登记大约200-400名患者。

[0511] 这项研究包括筛选期,初始治疗期,适用于在展现延长的临床好处之后中断MOXR0916的患者子集的再治疗期,和治疗后随访期。在两个阶段中登记患者:剂量放大阶段和扩充阶段。

[0512] 如下文更为详细描述,在21天周期的第1天通过IV输注施用MOXR0916。在不可接受的毒性或疾病进展的强制证据缺失下,可以基于调查人员进行的有利的好处和风险评估继续治疗超出周期1。

[0513] 监测并记录所有不良事件(AE)至最后一剂研究治疗之后至少90天或直至启动另一种系统性抗癌疗法,以先发生者为准。在这个时期之后,发起人应当被通报调查人员是否变成知道任何研究后严重不良事件(SAE),不管因果关系。不良事件依照(美国)国家癌症研究所不良事件通用术语标准4.0版(NCI CTCAE v4.0)来分级。

[0514] 为了表征MOXR0916的药动学(PK)特性和对治疗的药效学(PD)响应,在给药之前和之后的多个时间点采集血液样品。患者在筛选时及在研究期间经历肿瘤评估。即使满足进展性疾病的标准RECIST v1.1标准,仍可允许患者继续研究治疗,前提是满足继续治疗的标准。出于除疾病进展以外的原因(例如实现经过确认的完全响应,不良事件)中断初始研究治疗的所有患者继续肿瘤评估。在展现延长的临床好处之后中断研究治疗的患者对于在放射学进展后再启动研究治疗可以是适格的。

[0515] 在适用时,中断研究治疗的患者分别在初始和再治疗期期间在最后一剂MOXR0916之后30天内返回诊所进行治疗中断拜访。大约每3个月关于存活和后续抗癌疗法信息随访所有患者直至死亡,失去随访,或研究终止,除非患者要求退出随访。

[0516] 研究目标

[0517] 这项研究的主要目标是评估MOXR0916在具有局部晚期或转移性实体瘤的患者中的安全性和耐受性。

[0518] 这项研究的次要目标如下:

[0519] (a) 评估MOXR0916的最大耐受剂量(MTD)及表征剂量限制性毒性(DLT);(b) 鉴定MOXR0916的推荐II期剂量;

[0520] (c) 表征MOXR0916的药动学;

[0521] (d) 通过测量抗MOXR0916抗体表征MOXR0916的免疫原性潜力及评估它们与其它结局测量的相关性;及

[0522] (e) 做出MOXR0916在具有局部晚期或转移性实体瘤的患者中的抗肿瘤活性的初步评估。

[0523] 这项研究的探索性目标如下:

[0524] (a) 做出生物标志物可能作为MOXR0916在具有局部晚期或转移性实体瘤的患者中的活性的PD指示器的初步评估;及

[0525] (b) 做出生物标志物可能作为MOXR0916在具有局部晚期或转移性实体瘤的患者中的抗肿瘤活性的预报器的初步评估。

[0526] 研究群体

[0527] 患者必须满足研究进入的下述标准,包括癌症特异性的(一般性的和剂量扩充阶段特异性的二者)和一般性的纳入标准。

[0528] 癌症特异性纳入标准包括下述:

[0529] (a) 已经在所有可得标准疗法之后进展或标准疗法已经证明无效或不可耐受,或认为不适宜的局部晚期,复发性或转移性不可治愈的实体恶性的组织学记录;

[0530] (b) 经过确认可得石蜡包埋块(优选的)或 ≥ 15 张未染色载片中的代表性肿瘤标本,带有相关病理学报告。只有来自手术切除或芯针,打孔,或切除/切开活检样品收集的组织可以接受。细针抽吸,刷,和灌洗样品是不可接受的。如果来自不同时间点(诸如初始诊断时和疾病复发时)和/或多个转移性肿瘤的适当组织可得,那么优先权应当给予最近收集的组织(理想的是在最近的系统性疗法之后)。基于可得性,可以对给定患者收集多份样品;然而,单一活检或切除标本应当满足包埋块或 ≥ 15 张未染色载片的要求。如果患者满足任何下述条件的话,在与医学监督员讨论后,存档组织不足或不可得的患者可以是适格的:能提供至少10张未染色连续载片;愿意同意并经历肿瘤的治疗前芯,打孔,或切除/切开活检样品收集;或登记剂量放大队列;

[0531] (c) 遵照RECIST v1.1(关于RECIST v1.1标准和另外的关于测量肿瘤和肿瘤响应的描述,参见例如Eisenhauer, E.A. et al. (2009) Eur. J. Cancer 45:228-247)的可测量疾病。

[0532] 在一些实施方案中,可以使用改良RECIST标准来评估肿瘤响应。改良实体瘤响应评估标准(RECIST)派生自RECIST, 1.1版(v1.1)协议(参见例如Eisenhauer, E.A. et al. (2009) Eur. J. Cancer 45:228-247)和免疫相关响应标准(irRC;参见例如Wolchok et al. (2009) Clin. Can. Res. 15:7412-7420; Nishino et al. (2014) J. Immunother. Can. 2:17; 和 Nishino et al. (2013) Clin. Can. Res. 19:3936-3943)。常规响应标准可能不适合表征免疫治疗剂像MOXR0916的抗肿瘤活性,免疫治疗剂能产生延迟的响应,之前可以有初始明显放射学进展,包括出现新损害。因此,已经开发了改良的响应标准,其考虑了可能出现新损害且容许在后续评估时确认放射学进展。关于改良RECIST和RECIST v1.1之间的变化的汇总,见上文表B。

[0533] 当没有另外规定时,应用RECIST v1.1协议。简言之,用于确定靶损害的客观肿瘤响应的RECIST v1.1标准包括:

[0534] (a) 完全响应(CR):所有靶损害消失。任何病理学淋巴结(无论靶或非靶)的短轴必须缩小至 $< 10\text{mm}$;

[0535] (b) 部分响应(PR):靶损害直径和缩小至少30%,以基线直径和作为参照;(c) 进展性疾病(PD):靶损害直径和增大至少20%,以研究时的最小和(最低点),包括基线作为参照。在相对增大20%以外,和还必须展现绝对增大至少5mm。一处或多处新损害的出现也考虑进展;和

[0536] (d) 稳定的疾病(SD):既没有足够的收缩来满足PR又没有足够的增大来满足PD,以研究时的最小和作为参照。

[0537] 剂量扩充阶段中的患者独特的癌症特异性纳入标准包括下述:

[0538] (a) 扩充部分I活检队列:可及的损害允许总共至少两次活检(治疗前和治疗时),没有不可接受的重大规程并发症的风险。可接受的样品包括深部肿瘤组织或淋巴结的芯针活检或皮肤,皮下,或粘膜损害的切除,切开,打孔,或钳活检。细针抽吸是不允许的。考虑芯针活检的靶损害应当认为适合获取至少三个芯;

[0539] (b) 扩充部分II活检队列:适合通过切除,切开或打孔活检进行的系列活检的直径

≥5mm的皮肤或皮下肿瘤,没有不可接受的重大规程并发症的风险。如果计划自一处损害采集多于一个活检,那么该损害必须大得足以允许相隔≥1cm的连续活检;

[0540] (c) 黑素瘤队列:经过组织学确认的不可治愈的晚期转移性黑素瘤(其肿瘤具有已知的BRAF V600突变的患者还必须已经在BRAF和/或丝裂原活化的蛋白质激酶激酶(MEK) 激酶抑制剂的治疗期间或之后经历疾病进展,或对该治疗不耐受);

[0541] (d) RCC队列:经过组织学确认的不可治愈的晚期RCC,具有透明细胞组织学的要素和/或肉瘤样组织学的要素;

[0542] (e) TNBC队列:经过组织学确认的不可治愈的晚期雌激素受体,孕酮受体,和人表皮生长因子受体2(HER2) 阴性(三重阴性) 乳腺腺癌,如由美国临床肿瘤学学会-美国病理学家学会(ASCO-CAP) 指导方针定义的;

[0543] (i) <1%的肿瘤细胞核对于雌激素受体是免疫反应性的且<1%的肿瘤细胞核对于孕酮受体是免疫反应性的(Hammond, M.E. et al. (2010) J.Clin.Oncol. 28:2784-2795) 和

[0544] (ii) HER2测试展现免疫组织化学(IHC) 1+, IHC 0或原位杂交(ISH) 阴性(Wolff, A.C. et al. (2013) J.Clin.Oncol. 31:3997:4013);

[0545] (f) NSCLC队列:经过组织学确认的不可治愈的晚期NSCLC:

[0546] (i) 其肿瘤具有已知的敏化性表皮生长因子受体(EGFR) 突变的患者还必须已经经历疾病进展(在治疗期间或之后) 或对EGFR酪氨酸激酶抑制剂的治疗不耐受;

[0547] (ii) 其肿瘤具有已知的间变性淋巴瘤激酶(ALK) 重排的患者还必须已经经历疾病进展(在治疗期间或之后) 或对ALK酪氨酸激酶抑制剂的治疗不耐受;

[0548] (g) UBC队列:经过组织学确认的不可治愈的晚期尿路上皮(包括肾盂,输尿管,膀胱,尿道) 移行细胞癌(具有混合组织学的患者要求具有优势移行细胞样式);

[0549] (h) CRC队列:经过组织学确认的不可治愈的晚期结肠或直肠腺癌(阑尾起源的肿瘤不合格); 和

[0550] (i) OC队列:经过组织学确认的不可治愈的晚期上皮卵巢,输卵管,或原发性腹膜癌。

[0551] 一般性纳入标准包括下述:

[0552] (a) 年龄≥18岁;

[0553] (b) 东部肿瘤学合作组(ECOG) 性能状态0或1(关于这种0-5点量表的描述,见下文表C);

[0554] (c) 寿命预期≥12周;

[0555] (d) 适当的血液学和末端器官功能,由在第一次研究治疗(周期1第1天) 前14天内获得的下述实验室结果定义:

[0556] (i) 绝对嗜中性细胞计数(ANC) ≥1500个细胞/μL;

[0557] (ii) 白血球(WBC) 计数≥2,500/μL;

[0558] (iii) 淋巴细胞计数≥500/μL;

[0559] (iv) 血小板计数≥100,000/μL(在周期1第1天前14天内没有输血);

[0560] (v) 血红蛋白≥9.0g/dL(患者可以输血或接受红细胞生成治疗来满足这条标准);

[0561] (vi) 总胆红素≤1.5倍正常上限(ULN);

[0562] (vii) 天冬氨酸氨基转移酶(AST) 和丙氨酸氨基转移酶(ALT) ≤3.0倍ULN;

[0563] (viii) 碱性磷酸酶 \leq 2.5倍ULN, 下述例外: 具有有记录的肝或骨转移的患者: 碱性磷酸酶 \leq 5倍ULN;

[0564] (ix) 血清清蛋白 \geq 2.5g/dL;

[0565] (x) 凝血酶原时间 (PT) 和活化的部分促凝血酶原激酶时间 (aPTT) \leq 1.5倍ULN (这只应用于没有接受治疗性抗凝的患者; 接受治疗性抗凝的患者应当处于稳定的剂量);

[0566] (xi) 测量或计算肌酐清除率 \geq 50mL/min, 基于Cockcroft-Gault肾小球滤过率估算式:

[0567] $\frac{(140-\text{年龄}) \times (\text{以kg计的体重}) \times (0.85, \text{如果是女性的话})}{72 \times (\text{以mg/dL计的血清肌酐})}$;

[0568] 72 \times (以mg/dL计的血清肌酐);

[0569] (e) 对于有生育可能的女性患者和具有有生育可能的配偶的男性患者, (患者和/或配偶) 同意使用高度有效形式的避孕 (即, 当一贯且正确使用导致低失效率 [$<1\%$ 每年] 的) 及在最后一剂MOXR0916之后继续其使用达6个月。

[0570] 表C. 东部肿瘤学合作组 (ECOG) 性能状态量表

[0571]

等级	说明
0	完全活跃的, 能够继续进行所有疾病前性能, 没有限制
1	身体使劲活动受限但走动且能够进行轻或久坐性质的工作; 例如, 轻的家务或办公室工作
2	走动且能够所有自我护理但不能进行任何工作活动; $>50\%$ 的觉醒时间起床走动

[0572]

3	只能够有限的自我护理, $>50\%$ 的觉醒时间限于床或椅
4	完全失能; 不能继续进行任何自我护理; 完全限于床或椅
5	死亡

[0573] 另外, 将满足任何下述排除标准的患者排除在研究进入之外。排除标准的类型包括癌症特异性, 治疗特异性, 和一般性排除标准。

[0574] 癌症特异性排除标准包括下述:

[0575] (a) 在启动研究治疗前3周内的任何抗癌疗法, 包括化学疗法, 激素疗法, 或放射疗法, 下述例外:

[0576] (i) 用于前列腺癌的促性腺素释放激素 (GnRH) 激动剂或拮抗剂激素疗法;

[0577] (ii) 激素代替疗法或口服避孕药;

[0578] (iii) 在周期1第1天之前 >1 周的草药疗法 (意图作为抗癌疗法的草药疗法必须在周期1第1天之前中断至少1周);

[0579] (iv) 在周期1第1天前 >2 周的用于疼痛的转移或潜在敏感位置 (例如硬膜外隙) 中的转移的姑息性放射疗法;

[0580] (b) 基于免疫调控剂的在先治疗的适格性取决于药物的机制类别和患者考虑的队列：

[0581] (i) 剂量放大队列和未接受过免疫疗法扩充队列：共刺激激动剂（诸如抗OX40，抗CD137，抗CD27，抗GITR，和抗CD40）或免疫检查点阻断疗法（包括抗CTLA4，抗PD-1，和抗PD-L1治疗性抗体或途径靶向剂）的在先治疗是不容许的；

[0582] (ii) 除未接受过免疫疗法以外的扩充队列：共刺激激动剂（诸如抗OX40，抗CD137，抗CD27，抗GITR，和抗CD40）或免疫检查点阻断疗法（包括抗CTLA4，抗PD-1，和抗PD-L1治疗性抗体或途径靶向剂）的在先治疗是容许的，前提是没有观察到治疗相关 ≥ 3 级不良事件（除用代替疗法控制的内分泌病以外）且最后一剂和建议的周期1第1天之间已经过去至少6周；

[0583] (iii) 所有队列：在周期1第1天前6周或5个药物半衰期（以更短者为准）内用上文没有描述的系统性免疫刺激剂（包括但不限于IFN α ，IL2）治疗是不容许的；

[0584] (c) 尚未解决至 ≤ 1 级的来自在先抗癌疗法的不良事件，脱发或用代替疗法控制的内分泌病除外；

[0585] (d) 原发性中枢神经系统（CNS）恶性，或未治疗的/活跃的CNS转移（正在进展或需要抗惊厥药或皮质类固醇进行症状控制）：

[0586] (i) 具有经过治疗的CNS转移的历史的患者是适格的，前提是满足所有下述标准：在CNS以外的可测量疾病；CNS定向疗法完成后改善的放射学证明和没有CNS定向疗法完成和筛选放射学研究之间期中进展的证据；筛选CNS放射学研究自放射疗法完成 ≥ 4 周；皮质类固醇和抗惊厥药在登记前中断 ≥ 2 周，没有正在发生的可归于CNS转移的症状；

[0587] (e) 柔脑脊膜疾病；

[0588] (f) 未控制的肿瘤相关疼痛；

[0589] (i) 需要疼痛药疗的患者必须在研究进入时处于稳定的方案；

[0590] (ii) 适合于姑息性放射疗法的有症状的损害（例如骨转移或引起神经冲击的转移）应答在登记前治疗；和

[0591] (iii) 其进一步生长会有可能引起功能缺陷或难治疼痛的无症状的转移性损害（例如并非当前与脊髓受压有关的硬膜外转移）应当在登记前考虑局部区域疗法（local-regional therapy），如果适宜的话；

[0592] (g) 需要重复引流规程（一个月一次或更加频繁）的未控制的胸腔积液，心包积液，或腹水（具有留置导管，例如PleurX的患者是容许的）；

[0593] (h) 在周期1第1天前5年内除正在研究的疾病以外的恶性，那些具有可忽略的转移或死亡风险的（诸如适当治疗的宫颈原位癌，基或鳞状细胞皮肤癌，局限性前列腺癌，或原位导管癌）除外。

[0594] 治疗特异性排除标准包括下述：

[0595] (a) 自身免疫病的历史，包括但不限于系统性红斑狼疮，类风湿性关节炎，炎性肠病，与抗磷脂综合征有关的血管血栓形成，韦格纳氏肉芽肿病，斯耶格伦氏综合征，贝尔氏麻痹，格巴二氏综合征，多发性硬化，血管炎，或肾小球肾炎，具有下述说明：

[0596] (i) 处于稳定剂量的甲状腺代替激素的具有自身免疫性甲状腺功能减退症历史的患者可以是适格的；

- [0597] (ii) 处于在先免疫疗法的具有可控制的可逆免疫相关不良事件(irAE)历史的患者在咨询医学监督员之后可以是适格的；
- [0598] (b) 在周期1第1天前2周内用系统性免疫遏制性药疗(包括但不限于泼尼松,环磷酰胺,硫唑嘌呤,甲氨蝶呤,沙利度胺,和TNF α 拮抗剂)治疗；
- [0599] (c) 已经接受急性,低剂量,系统性免疫遏制性药疗(例如用于恶心的一次剂量的地塞米松)的患者在与医学监督员讨论并批准之后可以在研究中登记；
- [0600] (i) 使用吸入式皮质类固醇是容许的；
- [0601] (ii) 使用盐皮质激素(例如氟氢可的松)对于具有直立性低血压的患者是容许的；
- 和
- [0602] (iii) 生理剂量的皮质类固醇对于肾上腺皮质功能减退症是容许的；
- [0603] (d) 特发性肺纤维化,肺炎(包括药物诱发的),机化肺炎(即,梗阻性细支气管炎,隐发性机化肺炎,等)的历史,或筛选胸部CT扫描时活跃的肺炎的证据(辐射场中的放射性肺炎(纤维化)的历史是允许的)；
- [0604] (e) HIV感染测试阳性；
- [0605] (f) 活跃的乙型肝炎(定义为在筛选时具有阳性乙型肝炎表面抗原[HBsAg]测试)。具有过往的或已解决的乙型肝炎感染(定义为具有阴性HbsAg测试和阳性的针对乙型肝炎核心抗原的IgG抗体[抗HBc])的患者是适格的；
- [0606] (g) 活跃的丙型肝炎(丙型肝炎病毒(HCV)抗体呈阳性的患者只有在针对HCV RNA的PCR呈阴性的情况中是适格的)；
- [0607] (h) 活跃的结核病；
- [0608] (i) 在周期1第1天前4周内的严重感染,包括但不限于为了感染,菌血症,或重度肺炎的并发症而入院；
- [0609] (j) 在周期1第1天前2周内感染的体征或症状；
- [0610] (k) 在周期1第1天前2周内接受口服或IV抗生素。接受预防性抗生素(例如为了预防尿路感染或慢性阻塞性肺病)的患者是适格的；
- [0611] (l) 在先同种异基因骨髓移植或先实体器官移植；
- [0612] (m) 在周期1第1天之前4周内施用活的减毒疫苗或预期在该研究期间可能需要此类活的减毒疫苗。只有在流感季节期间应当给予流感疫苗接种。患者不得在周期1第1天前4周内或该研究期间的任何时间接受活的减毒流感疫苗(例如FluMist®)；
- [0613] (n) 严重的针对嵌合或人源化抗体或融合蛋白的变应性,过敏性,或其它超敏感性反应的历史。
- [0614] 一般性排除标准包括下述：
- [0615] (a) 不能服从研究和随访规程；
- [0616] (b) 妊娠,哺乳,或母乳喂养。必须在周期1第1天前14天内实施血清妊娠测试(对于有生育可能的女性,包括已经接受输卵管结扎的女性)且记录为阴性；
- [0617] (c) 重大心血管疾病,诸如纽约心脏联合会心脏病(II类或更高),前3个月内的心肌梗死,不稳定的心律失常,或不稳定的心绞痛；
- [0618] (d) 已知的临床重大肝病,包括活跃的病毒性,酒精性,或其它肝炎,肝硬化,和遗传性肝病；

[0619] (e) 在周期1第1天前28天内的主要手术规程或预期在该研究过程期间需要主要手术规程；

[0620] (f) 给出禁忌使用调查药物的疾病或状况的合理怀疑或可能影响结果解读或使得患者处于处理并发症的高风险的任何其它疾病,代谢功能障碍,身体检查发现,或临床实验室发现。

[0621] 剂量放大阶段

[0622] 如上文列出的及图1中图示的,患者在剂量放大阶段和扩充阶段中登记。

[0623] 大约21至36名患者在剂量放大阶段中登记。至少3名患者的队列每个依照下文描述的剂量放大规则以放大剂量的MOXR0916处理以确定最大耐受剂量(MTD)或最大施用剂量(MAD)。每个剂量放大队列中的头两名患者的登记是交错的,使得他们各自的周期1第1天处理相隔 ≥ 72 小时施用。

[0624] 最初,剂量限制性毒性(DLT)评估窗口是21天(周期1的第1-21天)。如果观察到延迟的DLT(例如如本文中描述的)的话,该DLT评估窗口对于该队列和任何后续剂量放大队列中的所有患者会延长至在第一次施用MOXR0916之后42天。在24小时内对发起人报告鉴定为DLT或延迟的DLT的不良事件。

[0625] 出于除了DLT以外的原因没有完成DLT评估窗口(21或42天任一,取决于那时有效的DLT评估窗口)的任何剂量放大阶段患者认为对于剂量放大决策和MTD评估是不可评估的,而且可以用该相同剂量水平的另一名患者替换。在DLT评估窗口期间接受混淆DLT评估的支持性护理(不包括下文作为DLT定义的一部分描述的支持性护理)的患者可以根据医学监督员的判断而替换。为了控制非DLT毒性而在DLT评估窗口期间暂停MOXR0916,使得下一次计划给药的施用延迟超过7天的患者可以认为对于剂量放大决策和MTD评估是非可评估的,而且可以用该相同剂量水平的另一名患者替换。

[0626] 如果在DLT评估窗口期间在剂量放大队列中登记的患者中发生且由调查人员评估为与MOXR0916相关的话,任一下述不良事件认为是DLT:

[0627] (a) ≥ 3 级非血液学,非肝不良事件,下述例外:

[0628] (i) 在 ≤ 3 天中用标准护理疗法解决至 ≤ 2 级的3级恶心,呕吐,或腹泻;

[0629] (ii) 在 ≤ 3 天中解决至 ≤ 2 级的3级疲劳;

[0630] (iii) 3级发热($>40^{\circ}\text{C}$ 达 ≤ 24 小时);

[0631] (iv) 在 ≤ 7 天中解决至 ≤ 2 级的3级肿瘤闪烁不良事件(定义为局限于已知或怀疑肿瘤部位处的局部疼痛,刺激,或皮疹);

[0632] (v) 在 ≤ 7 天中解决至 ≤ 2 级的无症状且调查人员认为不是临床上重要的3级实验室异常;

[0633] (vi) 在 ≤ 7 天中用与10mg/天或更少泼尼松等同的疗法解决至 ≤ 2 级的3级皮疹;

[0634] (b) 持续 >7 天的 ≥ 4 级嗜中性粒细胞减少(绝对嗜中性粒细胞计数[ANC] $<500/\mu\text{L}$);

[0635] (c) ≥ 3 级热性嗜中性粒细胞减少;

[0636] (d) ≥ 4 级贫血;

[0637] (e) ≥ 4 级血小板减少,或与临床上重要的出血有关的3级血小板减少;

[0638] (f) 持续 >7 天的 ≥ 3 级血清肝转氨酶(丙氨酸氨基转移酶[ALT]或天冬氨酸氨基转移酶[AST])升高;

- [0639] (g) ≥ 3 级血清胆红素升高;和
- [0640] (h) ALT或AST >3 倍正常上限(ULN)和总胆红素 >2 倍ULN。
- [0641] 延迟的DLT定义为满足上述DLT标准之一但在在第一次施用研究治疗之后3和6周之间(研究第22-42天)发生的不良事件。
- [0642] MOXR0916的起始剂量是0.2mg,每21天通过IV输注施用于第一队列中的患者。连续剂量水平之间的放大增量不大于400%,而且对于评估建议的剂量是0.2mg,0.8mg,3.2mg,12mg,40mg,130mg,400mg,和1200mg。
- [0643] 在任何DLT以外,在所有剂量放大决策前审查其它可得相关人口统计学,不良事件,实验室,剂量施用,和PK/PD数据,由医学监督员咨询主要调查人员和由下述发起人代表构成的委员会进行:安全性科学家,统计学家,和PK科学家。基于这些紧急临床数据的审查,可以评估中间剂量水平。
- [0644] 剂量放大依照下文列出的规则而发生,不管DLT窗口的持续时间:
- [0645] (a) 每个队列中最初登记最少3名患者;
- [0646] (b) 如果头3名DLT可评估患者无一经历DLT,那么可以以下一个最高剂量水平进行下一个队列的登记;
- [0647] (c) 如果头3名DLT可评估患者中1人经历DLT,那么该队列扩大至6名患者。如果头6名DLT可评估患者中没有别的DLT,那么可以以下一个最高剂量水平进行下一个队列的登记;
- [0648] (d) 如果头6名DLT可评估患者中2或更多人经历DLT,那么MTD被超过,剂量放大停止。然后以之前的剂量水平对另外的3名患者评估DLT,除非6名患者早就以该水平进行评估。然而,如果MTD被超过时的剂量水平比之前的剂量水平要高 $\geq 200\%$,那么可以以中间剂量水平评估6名患者;
- [0649] (e) 如果MTD在任何剂量水平被超过,那么6名DLT可评估患者中少于2人(即 $<33\%$)经历DLT时的最高剂量宣布为MTD;
- [0650] (f) 如果MTD在任何剂量水平没有被超过,那么这项研究中施用的最高剂量宣布是MAD;
- [0651] (g) 如果基于非DLT不良事件(包括在周期1之后发生的事件和在扩充队列中观察到的事件)的发起人和调查人员评估得到保证的话,任何剂量水平可以在DLT缺失下扩大超出3名患者;和
- [0652] (h) 如果单一队列中的2名或更多患者经历归于MOXR0916的 ≥ 2 级不良事件或在研究治疗期间的任何时间观察到一例或多例满足DLT标准的AE,那么任何后续剂量放大的剂量水平之间的最大增量是200%。
- [0653] 另外,下述规则特异性应用于观察到延迟的DLT的第一例。观察到延迟的DLT时的剂量水平称作“索引”剂量水平或队列:
- [0654] (a) 暂时暂停处于或高于索引剂量水平的登记,除非索引队列登记少于3名患者,在这种情况下该队列中最初可以登记总共3名患者;
- [0655] (b) 延长DLT评估窗口至在第一次施用MOXR0916之后42天。这一延长的窗口对于早就处于或高于索引剂量水平登记的患者立即生效。任何后续登记和剂量放大可以依照上文一般性规则进行,具有42天评估窗口;和

[0656] (c) 已经以比索引剂量水平要高的剂量水平登记的患者可以根据调查人员的判断选择将他们的剂量降低至更低的剂量水平。在完成DLT评估窗口前经受剂量缩小且没有经历DLT的患者可以认为对于剂量放大决策和MTD评估是不可评估的。

[0657] 基于可得的初步安全性和PK数据, 发起人可以如认为适宜的那样暂停或修改剂量放大。

[0658] 扩充阶段

[0659] 扩充阶段中登记了大约166-370名患者, 其包括两个部分(图1)。

[0660] 部分I包括6-30名患者的一个队列。部分I的目标是探索PD活性的肿瘤生物标志物及在反映剂量放大方案的多个剂量水平获得另外的安全性, 耐受性, 和PK数据。只有在满足允许进一步放大的规则的放大队列中观察到外周OX40受体饱和, PD生物标志物调控, 或抗肿瘤活性的证据之后, 可以开始这个队列的登记。此后, 可以在剂量放大阶段早就认为可耐受的剂量水平进行登记。可以在每一个连续剂量水平登记对于系列活检(芯针, 打孔, 钳, 或切除/切开) 适格的患者。如果更高的剂量水平在剂量放大阶段满足放大标准, 那么扩充部分I活检队列中新登记的患者可以接受该剂量。

[0661] 部分II包括多个队列以更好地表征MOXR0916在不同癌症类型中的安全性, 耐受性, PK可变性, 抗肿瘤活性的生物标志物, 和初步功效。以要由发起人咨询研究调查人员基于累积安全性, 耐受性, 临床PK, PD, 和抗肿瘤活性数据的评估确定的初始剂量, 扩充队列中的登记可以与部分I的激活一起或稍后开始。部分II中计划的扩充队列包括大约:

[0662] (a) 20-40名具有黑素瘤的患者;

[0663] (b) 20-40名具有肾细胞癌(RCC)的患者;

[0664] (c) 20-40名具有三重阴性乳腺癌(TNBC)的患者;

[0665] (d) 20-40名具有非小细胞肺癌(NSCLC)的患者;

[0666] (e) 20-40名具有尿路上皮膀胱癌(UBC)的患者;

[0667] (f) 20-40名具有结直肠癌(CRC)的患者;

[0668] (g) 20-40名具有卵巢癌(OC)的患者;

[0669] (h) 20-40名没有接受在先免疫检查点阻断疗法或共刺激激动剂的合计具有黑素瘤, RCC, 或NSCLC任一的患者; 和

[0670] (i) 20名具有适合系列切除, 切开或打孔活检的肿瘤的患者。

[0671] 在患者满足扩充部分I和扩充部分II活检队列二者的标准且两个部分均开放登记的情况下, 该患者可以在部分II中登记。

[0672] 发起人在咨询调查人员的情况下在持续的基础上评估所有可得安全性数据以评估所研究的剂量水平的耐受性。如果在扩充阶段队列中观察到3或4级毒性的频率(包括延迟的不良事件和会在其它方面满足DLT的标准的事件) 或其它不可接受的毒性提示在该剂量水平已经超过MTD, 那么在扩充和放大队列中停止该剂量水平的增加, 而且, 如果适用的话, 可以停止进一步的剂量放大。然后考虑恢复扩充阶段中更低剂量水平的登记。另外, 如果累积耐受性, PK, 或PD数据提示扩充阶段队列中的剂量水平对于评估抗肿瘤活性是亚最佳的, 那么可以考虑在该队列中以不同的剂量水平登记新的患者。扩充阶段中研究的剂量水平绝不可以超出满足剂量放大阶段中的放大标准的最高剂量水平。

[0673] 可以要求在专门的扩充阶段活检队列任一中登记的患者经受系列肿瘤活检: 在基

线时在实现适格性标准(除可得存档组织的要求以外)之后,和在第一次施用MOXR0916之后大约2周(周期1第15-21天之时或之间)。可以根据调查人员的判断收集另外的活检,优选在放射学响应或进展时。在扩充部分I活检队列中,组织活检方法可以包括芯针,打孔,钳,或切除/切开活检。在扩充部分II活检队列中,要求打孔或切除/切开活检。发现其基线活检不可评估(即由于材料不足或样品中缺乏肿瘤细胞)的患者可以拒绝经受治疗时的活检但可以接受研究治疗。为了系列活检评估的目的可以替换此类患者。

[0674] 可以要求在除专门的活检队列以外的队列中登记的患者经受任选的活检(芯针,打孔,钳,或切除/切开)以探索与MOXR0916的活性相关的PD变化。可以自每一个恶性特异性扩充队列中的多至6名患者获得任选的活检。推荐的活检时间点与上文所述相同。如果基线样品不可评估的话,可以不追踪治疗时的活检。

[0675] 患者内剂量放大和剂量缩小

[0676] 如果满足所有下述条件的话,可以容许患者内剂量放大至早就满足进一步放大的标准的剂量水平:患者以他们的原始指派的剂量水平完成了至少4个周期或展现与紧急ATA有关的MOXR0916暴露损失;患者没有经历在DLT窗以外发生的会在其它方面满足DLT的定义的DLT或AE;患者在临床上稳定,性能状态没有衰减;而且医学监督员批准了剂量放大。

[0677] 疾病进展之后的治疗

[0678] 患者可以在满足进展性疾病的标准RECIST v1.1标准之后继续研究治疗,前提是满足所有下述标准:没有指示明确疾病进展的症状和体征(包括实验室值恶化,例如新的高钙血症);ECOG性能状态没有下降;和至关紧要的解剖学部位没有在重复给药前不能通过方案容许的医学干预容易控制和稳定的肿瘤进展。至关紧要的解剖学部位包括CNS,中央气道,大血管,和肿瘤进展继发的功能受损预期会急剧导致严重和/或不可逆的失能或死亡的其它器官或组织。

[0679] 如果放射学疾病进展在后续肿瘤评估时得到确认,那么患者可以在与医学监督员讨论之后根据调查人员的判断考虑继续研究治疗,如果他们继续满足上述标准且具有临床好处的证据,如通过下述至少一项证明的:一处或多处可评估损害的肿瘤收缩(直径自基线缩短至少30%);或可归于根本癌症的一种或多种症状或体征改善(例如用于疼痛的麻醉药品的需求降低,与胸腔积液有关的呼吸困难减轻,重量增加),如由调查人员评估的。

[0680] 剂量,施用,和遵从性

[0681] 在这项研究中建议要评估的MOXR0916的大致剂量水平包括通过静脉内(IV)输注每3周施用0.2,0.8,3.2,12,40,130,400,和1200mg。可以在咨询参与调查人员之后基于新的非临床功效,临床安全性,和临床PK数据评估MOXR0916的另外的中间剂量水平。该剂量是固定的且不依赖于体重。

[0682] MOXR0916在0.9%氯化钠中稀释并使用注射泵或输注袋通过静脉内(IV)输注来施用,取决于剂量水平。相容性测试显示当在注射器或输注袋中在0.9%氯化钠稀释液中稀释至 ≥ 0.06 mg/mL的浓度时MOXR0916是稳定的。MOXR0916可以使用注射泵和标准医学注射器(对于 < 10 mg的剂量水平)及通过输注袋(对于 ≥ 10 mg的剂量水平)来投递。

[0683] MOXR0916的初始剂量可以在 90 ± 10 分钟里投递(虽然对于经历输注相关症状的患者,该输注可以减缓或中断),接着是90分钟观察期。如果90分钟输注得到耐受,没有输注相关不良事件,那么第二输注可以在 60 ± 10 分钟里投递,接着是60分钟观察期。如果60分钟输

注得到较好耐受,那么所有后续输注可以在 30 ± 10 分钟里投递,接着是30分钟观察期。

[0684] 在患者经历轻度 (NCI CTCAE 1级) 输注相关事件的情况中,应当将输注速率降低至事件发生时给予的速率的一半。在该事件解决之后大约30分钟,可以以原始速率恢复输注。在患者经历中等输注相关事件 (NCI CTCAE 2级) 或脸红,发热,或喉咙疼痛的情况中,应当立即中断输注且患者应当接受积极的对症治疗。只有在该症状充分解决至基线级别之后才应当重新开始输注。重新开始时的输注速率应当至多是该输注相关事件发生时进行的输注速率的一半。对于严重或危及生命的输注相关事件 (NCI CTCAE 3或4级),应当立即停止输注,应当启动积极的复苏和支持性的措施,而且不再施用该周期的别的MOXR0916。经历3级事件的患者可以在得到医学监督员批准后接受后续周期及前驱药疗,前提是下一剂在90分钟里输注。经历4级事件的患者永久中断MOXR0916。

[0685] 第一剂MOXR0916可以不容许前驱药疗。经历输注相关不良事件的患者可以在咨询医学监督员之后根据主治医师的判断对于 ≥ 2 的周期接受前驱药疗,但是该输注的输注时间可以不缩短。如果下一次输注在前驱药疗的情况中得到较好耐受,那么后续输注时间可以缩短30分钟,只要该患者继续接受前驱药疗。

[0686] 如果尽管有前驱药疗,患者在60分钟输注的情况中经历输注相关不良事件,那么应当在 90 ± 10 分钟里投递所有后续剂量。类似地,如果尽管有前驱药疗,患者在30分钟输注的情况中经历输注相关不良事件,那么应当在 60 ± 10 分钟里投递所有后续剂量。

[0687] 伴行疗法

[0688] 伴行疗法包括患者自筛选前7天至治疗中断拜访(及自再筛选前7天至再治疗中断拜访)使用的任何药疗(例如处方药,非处方药,草药或瞬时疗法药物,营养补剂)。所有药疗应当报告调查人员并记录。

[0689] 经历输注相关症状的患者可以遵照标准实践在症状上用醋氨酚,布洛芬,苯海拉明,和/或西咪替丁或其它H₂受体拮抗剂治疗(对于美国以外的地点,可以遵照当地实践用等同的药疗替代)。当临床上指示时,应当用支持性疗法(例如补充供氧和 β_2 -肾上腺素激动剂)来控制表现为呼吸困难,低血压,哮喘,支气管痉挛,心动过速,氧饱和降低,或呼吸窘迫的严重输注相关事件。在咨询医学监督员之后根据主治医师的判断可以施用前驱药疗 ≥ 2 个周期。

[0690] 系统性皮质类固醇和TNF α 拮抗剂可削弱MOXR0916治疗的潜在有益免疫学效果,但是可以在紧急情况中或在咨询医学监督员之后根据主治医师的判断而施用。如果可行的话,应当考虑皮质类固醇的备选物。吸入式皮质类固醇和盐皮质激素(例如对于具有直立性低血压或肾上腺皮质功能减退症的患者氟氢可的松)的使用是容许的。生理剂量的皮质类固醇对于肾上腺机能不全是容许的。作为食欲刺激剂施用的甲地孕酮也是允许的。

[0691] 使用口服避孕药,激素代替疗法,预防性或治疗性抗凝疗法(诸如稳定剂量水平的低分子量肝素或华法林),或用于非恶性适应症的其它维持疗法的患者应当继续它们的使用。有生育可能的男性和女性应当使用高度有效的避孕手段。

[0692] 研究期间禁止下述疗法的使用:

[0693] (a) 旨在治疗癌症的任何伴行疗法,无论是卫生当局批准的或者是实验性的,包括(但不限于)下述:化学疗法,激素疗法,免疫疗法,放射疗法,调查性药剂,或草药疗法;

[0694] (i) 如果患者从其它方面得到好处的话,放射疗法可以考虑用于疼痛缓解(例如已

知骨转移的治疗)。对于剂量放大队列中的患者,应当推迟姑息性放射疗法直至DLT评估窗完成。在得到医学监督员同意时MOXR0916施用可以在放射疗法期间暂停;

[0695] (ii) 经历混合响应的患者可以在得到医学监督员批准后为了控制三处或更少损害而经受局部疗法(例如手术,离体定向放射手术,放射疗法,射频消融);

[0696] (iii) 经受靶损害的放射疗法或切除的患者可以随后变成对于依照RECIST v1.1或改良RECIST的响应测定而言不可评估;

[0697] (b) 免疫刺激剂,包括但不限于IFN α , IFN γ , 或IL2, 整个研究期间;

[0698] (c) 免疫遏制性药疗,包括但不限于环磷酰胺,硫唑嘌呤,甲氨蝶呤,和沙利度胺;和

[0699] (d) 粒细胞集落刺激因子(例如粒细胞集落刺激因子,粒细胞巨噬细胞集落刺激因子,和/或培非格司亭(pegfilgrastim))。

[0700] 另外,在研究期间强烈劝阻下述疗法的使用:传统的草药药物;和核因子 κ B的受体激活剂(RANK)抑制剂(即地诺塞麦(denosumab))。

[0701] 结局测量

[0702] 使用下述主要安全性结局测量来评估MOXR0916的安全性和耐受性:DLT的发生率和性质;和依照NCI CTCAE v4.0分级的不良事件的发生率,性质,和严重程度。

[0703] 另外,可以使用下述次要安全性结局测量来评估安全性:抗MOXR0916抗体的发生率和与PK,PD,和安全性参数的潜在关联;生命体征的变化;临床实验室结果的变化,包括ECG;和接受的周期数目和剂量强度。

[0704] 当数据容许而适宜时,可以自施用后MOXR0916的浓度-时间概况派生下述药动学(PK)参数:总暴露(浓度-时间曲线下面积[AUC]);最大血清浓度(C_{max});最小浓度(C_{min});清除率(CL);和稳态时的分配体积(V_{ss})。还可以计算其它参数,诸如积累率,半衰期,和剂量比例。

[0705] 可以评估下述活性结局测量:

[0706] (a) 使用RECIST v.1.1确定的客观响应,定义为在初始记录之后 ≥ 4 周确认的完全响应(CR)或部分响应(PR);

[0707] (b) 使用RECIST v.1.1确定的客观响应的持续时间,定义为自记录的客观响应的第一次发生直至复发或任何原因的死亡之时的时间;

[0708] (c) 使用RECIST v.1.1确定的无进展存活(PFS),定义为自第一次研究治疗(第1天)至进展的第一次发生或任何原因的死亡的时间,以第一个发生者为准;

[0709] (d) 使用改良RECIST确定的客观响应,客观响应的持续时间,和PFS;

[0710] (e) 总体存活(OS),定义为自第一次研究治疗至任何原因的死亡的时间。

[0711] 可以评估下述探索性PD结局测量:血液中TBNK数目(TBNK测定法)的变化;血液中各种免疫细胞亚群的流行度的变化(例如效应/记忆T细胞,调节T细胞,和MDSC);血液中T细胞子集的激活,增殖,和功能状态的变化;血浆中探索性生物标志物的鉴定和概况分析(即白介素-2[IL2], IFN γ , 和其它标志物);在MOXR0916治疗前和期间新鲜获得的肿瘤组织中肿瘤浸润性CD8+T细胞(和其它探索性标志物)的变化;和在MOXR0916治疗前和期间新鲜获得的肿瘤组织中肿瘤浸润性T细胞活性(通过粒酶B和其它标志物的表达来测量)的变化。

[0712] 在适宜时可以评估下述另外的探索性生物标志物结局测量:肿瘤组织中OX40(和

其它探索性标志物)的状态;肿瘤组织中免疫浸润物的状态,包括各种免疫细胞亚群的清点和表征;和基因中的单核苷酸多态性(SNP)的分析,包括但不限于那些编码Fc受体的。

[0713] 研究评估

[0714] 在筛选时实施的完全身体检查应当包括评估头,眼,耳,鼻,和喉,和心血管,皮肤病学,肌肉骨骼,呼吸,胃肠,生殖泌尿,和神经病学系统。应当记录在基线时鉴定的任何异常。

[0715] 在后续拜访时(或当临床上指示时),应当实施有限的,症状指导的身体检查。应当在患者的医学记录中记录自基线异常的变化。应当作为不良事件记录新的或恶化的临床上重要的异常。

[0716] 作为肿瘤评估的一部分,身体检查还应当包括评估淋巴结病,脾大,肝大,和皮肤赘生物或转移。应当对所有患者监测CNS转移的症状,而且应当通过完全神经病学检查来跟踪此类报告的症状。当临床上指示时应当进行脑部MRI或对比剂增强型头部CT来确认或否认新的或恶化的脑牵涉。

[0717] 所有已知的疾病部位必须在筛选时记录及在每一次后续肿瘤评估时重评估。筛选和后续肿瘤评估必须包括胸部,腹部,和骨盆的CT扫描(具有IV对比剂,除非有禁忌和口服对比剂,当遵照制度标准适宜时)或MRI。如果在正电子发射断层摄影术(PET)/CT扫描仪中实施肿瘤评估的CT扫描的话,CT获取必须与完全对比剂CT扫描的标准一致。具有经过治疗的脑转移的患者及基于提示新的或恶化的CNS转移的症状或体征当临床上指示时在筛选时要求脑部成像(或是MRI或是对比剂增强型CT)。在头部CT不明确的情况中,要求脑部MRI来澄清怀疑脑转移的存在或程度。如果有通过上文所列最小限度评估进度表可能没有证明的任何部位的疾病的任何临床怀疑的话,还应当实施进一步的调查诸如骨扫描和颈部CT扫描。根据调查人员的判断,可以使用评估遵照RECIST v1.1的可测量疾病的其它方法。

[0718] 贯穿该研究应当使用与在筛选时用于评估疾病部位相同的放射学规程(例如相同的CT扫描的对比剂方案)。会由调查人员使用RECIST v1.1和改良RECIST标准二者基于上文详述的身体检查和成像模态来评估响应。如果可能的话,应当由相同的评估员实施评估以确保拜访的内部一致性。

[0719] 可以以6(\pm 2)周中(即在下一次排定的肿瘤评估时,当扫描频率是每2个周期或作为非排定的肿瘤评估,当扫描频率是每4个周期时)或更早(如果临床上指示的话)的随访扫描监测超出遵照RECIST v1.1的放射学疾病进展继续治疗的患者。应当之后每2个周期继续肿瘤评估直至两次连续扫描就显示放射学疾病进展的第一次扫描而言展现稳定或改善,此时扫描频率应当恢复或转变成每4个周期,如果适用的话。

[0720] 在初始研究治疗中断之后,可以实施随访肿瘤评估直至死亡,疾病进展,启动另一种系统性抗癌疗法,失去随访,收回同意,或研究终止,以第一个发生者为准。在再治疗期间MOXR0916中断之后不要求随访肿瘤评估。

[0721] 可以在基线时及在第一次肿瘤评估时获取FDG-PET/CT成像扫描。另外,可以在放射学疾病进展的第一次证据时实施任选的FDG-PET/CT扫描以评估与MOXR0916的免疫调控活性相关的肿瘤体积的明显增大(即假进展)是否可以与赘生物增殖和疾病进展区分开。其它时间点的PET/CT扫描是任选的。所有FDG-PET/CT扫描要依照成像手册中提供的说明书来获取。所有获取应当使用组合PET和CT扫描仪。只有在满足所有其它纳入和排除标准之后,

应当在筛选期期间实施基线FDG-PET/CT扫描,除非它与履行筛选肿瘤评估要求的诊断性全对比剂CT扫描整合。应当在任何排定的侵入性规程诸如肿瘤活检之前获取所有FDG-PET/CT扫描,如果全然可能的话(可能需要记录活检位置以确保中心PET成像审查期间的精确评估)。

[0722] 该研究的计划持续时间是大约3年。这项研究的终点定义为在初始治疗期中接受MOXR0916的最后一名患者的初始治疗中断拜访(LPLV)之日。LPLV预期在最后一位患者登记之后大约12个月发生。

[0723] 实施例2:OX40激动剂MOXR0916在具有顽固性实体瘤的患者中的首次在人中进行的I期剂量放大研究

[0724] 背景

[0725] OX40是由T细胞在抗原识别后瞬时表达的共刺激受体。在鼠模型中,激动性抗OX40抗体所致OX40啮合能促进与效应T细胞的共刺激和调节T细胞的降低有关的持久肿瘤消退。MOXR0916是靶向OX40的人源化的有效应器能力的激动性IgG1单克隆抗体。这项研究的目的是检查激动性抗OX40抗体治疗的安全性和药动学(PK)。

[0726] 方法

[0727] 进行了一项I期,开放式标签,多中心研究来评估MOXR0916在已经在可得标准疗法之后进展的具有局部晚期或转移性顽固性实体瘤的患者(pt)中的安全性和药动学(PK)。每3周(q3w)以固定剂量施用MOXR0916,而且在临床恶化缺失下允许超出RECIST进展的治疗。在未接受过免疫疗法的患者中进行3+3剂量放大,具有21天窗口来评估剂量限制性毒性(DLT)。一个专门的扩充队列登记同意系列肿瘤活检的患者,从而能够通过免疫组织化学和基因表达方法进行免疫概况分析。在活检队列中,允许具有适当淘汰的在先免疫疗法,前提是没有 ≥ 3 级(G)免疫介导的不良事件(AE)的历史。

[0728] 结果

[0729] 完成了该试验的剂量发现期的登记,在10个剂量放大队列间治疗34名患者(剂量水平0.2-1200mg)及在系列活检队列中治疗36名患者(剂量水平3.2-600mg)。虽然NSCLC(n=8),透明细胞RCC(n=6),黑素瘤(n=2),和膀胱(n=2)有代表,但是免疫原性较低的肿瘤类型占优势。用于转移性疾病的在先方案的中位数为2(范围0-9);4名患者接受过在先检查点抑制剂。没有报告DLT,归于研究治疗的4/5级AE,或导致治疗中断的AE。绝大多数治疗相关AE在严重程度上是1级的;报告了4例相关3级事件(响应类固醇的自身免疫性肝炎,具有恶性胸腔积液的患者中恶化的呼吸困难,高血压,和疲劳)。在 ≥ 40 mg q3w的剂量,PK是线性的且与IgG1单抗一致(图2),而且实现了持久的外周血OX40受体饱和(图3A-3G)。观察到剂量依赖性外周受体占据,在 ≥ 40 mg的剂量实现了连续外周OX40饱和。计划 ≥ 200 mg的剂量在周期1中实现连续肿瘤OX40饱和(谷时95%占据,假设20:1的血液:肿瘤分配)。在一个患者子集中观察到支持该作用机制的肿瘤药效学(PD)生物标志物调控。

[0730] 早在 >0.2 mg剂量后3小时就观察到血浆IP-10和IFN γ 的瞬时升高并在给药后24小时时达到峰值。这种升高可以是剂量依赖性的,超出0.8mg,而且可以由FcR或MOXR0916共刺激活性介导。在RCC,NSCLC,黑素瘤,和宫颈肿瘤中PD-L1表达在MOXR0916治疗后升高。

[0731] 在低剂量观察到显著的ATA发生率,有ATA影响PK和受体占据的证据。ATA数据提示在 ≥ 40 mg的剂量时较低/可控制的ATA发生率。MOXR0916在剂量水平间得到较好耐受,没有

清楚的免疫介导的毒性信号。在300mg剂量,ATA发生率为1/18名患者。

[0732] 11/70名患者(16%)用MOXR0916治疗>6个月(≥ 9 个周期),最好的响应是遵照RECIST v1.1的稳定疾病。该70名患者是剂量放大和扩充部分I队列的一部分(见图1)。

[0733] 在扩充部分II研究群体的RCC扩充队列中观察到2名具有部分响应(PR)的RCC患者(图1),他们以300mg q3w剂量给药接受MOXR0916。患者1是一名RCC患者,在周期1第1天(C1D1)接受300mg MOXR0916。患者1是52岁男性,ECOG 1,有透明细胞RCC转移至肺,骨,和肾上腺,没有肝转移。患者1接受过包括辅助阿西替尼(axitinib)较之安慰剂(ATLAS试验),一线舒尼替尼(sunitinib)(最好的响应PR)和二线依维莫司(everolimus)(PD)的在先疗法。该患者未接受过免疫疗法,基线PD-L1 IHC 1%。在第6周和在第12周观察到未经确认的-42%的PR,肺和肾上腺靶损害中的最长直径和(SLD)从50降低至29mm。患者2接受过包括一线舒尼替尼,二线依维莫司,二线索拉非尼(sorafenib),和干扰素的在先疗法。观察到经过确认的第一次扫描时-48%和第二次扫描时-63%的部分响应。

[0734] 结论

[0735] 在一个异质的顽固性群体中,MOXR0916在所评估的所有剂量得到较好耐受。基于PK和OX40受体饱和的推荐剂量和进度表是300mg q3w。肿瘤PD调控和延长的稳定疾病的证据支持正在进行的评估选定适应症中的抗肿瘤活性的扩充期。

[0736] 没有观察到剂量限制性毒性,而且没有死亡或4级AE归于MOXR0916。没有治疗中断归于药物相关事件。在61例中断中,59例由于疾病进展,1例由于内科医师决定,和1例是受试者退出。

[0737] 实施例3:在OX40激动剂MOXR0916在具有顽固性实体瘤的患者中的首次在人中进行的I期剂量放大研究中观察到的肿瘤免疫调控

[0738] 自实施例1和2中描述的接受MOXR0916治疗的患者获得代表多种癌症类型的肿瘤活检。癌症类型包括肾细胞癌(RCC),非小细胞肺癌(NSCLC),黑素瘤,三重阴性乳腺癌(TNBC),尿路上皮膀胱癌(UBC),卵巢癌,和子宫内膜癌。该活检还代表3.2mg至300mg的MOXR0916剂量范围。

[0739] 图4显示在以标示剂量水平用MOXR0916治疗之前和之后测量的肿瘤活检中Teff基因签名的表达。这些数据展现多种癌症类型中和多种剂量水平时Teff签名在治疗时的升高,其代表效应T细胞激活。在7/23份肿瘤活检中观察到Teff基因表达的升高,在15/23份肿瘤活检中观察到Teff基因表达没有显著变化,而在1/23份肿瘤活检中观察到Teff签名的降低。这些数据指示至少一部分用MOXR0916治疗的患者中的肿瘤Teff响应。

[0740] 还使用免疫组织化学(IHC)对肿瘤活检分析CD8表达性细胞。在MOXR0916治疗后在9/23份肿瘤活检中观察到CD8浸润物的升高,包括在代表TNBC和NSCLC的活检中。

[0741] 在来自接受如上文所述施用的3.2mg剂量的MOXR0916的患者的RCC肿瘤活检中,观察到肿瘤免疫调控。图5显示多种免疫相关基因的基因表达的给药后倍数变化(与给药前水平比较)。上调的基因包括CCR5,CD274,IL-7,TNFRSF14,TGFB1,CD40,CD4,PRF1,TNFSF4,CD86,CXCL9,CD3E,LAG3,PDCD1,CCL28,GZMB,IFNg,和IL-2RA。这种基因表达样式指示Teff激活的升高。下调的基因包括CCL22,IL-2,RORC,IL-8,CTLA4,和FOXP3。重要的是,认为这些基因的表达与Treg细胞有关,因而提示Treg活性的降低。还使用IHC测定肿瘤活检中的PD-L1表达,其展现PD-L1阳性面积(相对于总体肿瘤面积)从给药前得分<1%升高至给药后得

分5%。还使用针对作为标志物的CD3和Foxp3的免疫荧光染色来清点肿瘤活检中的Treg细胞。这些数据指示给药前Treg频率(即CD3+FOXP3+细胞)为所有细胞的2.15%，较之给药后频率0.58%。总之，这些数据指示MOXR0916治疗后Treg的降低，Teff激活的升高，和PD-L1表达的升高。

[0742] 在代表多种癌症类型的24份肿瘤活检中使用IHC测定PD-L1表达。总的来说，MOXR0916治疗后在8/24份肿瘤活检中观察到PD-L1表达的升高，在RCC，NSCLC，和黑素瘤样品中观察到升高。在16/24份肿瘤活检中观察到PD-L1表达没有显著变化。观察到的PD-L1表达升高以更高的基线CD8流行度在肿瘤中富集。

[0743] 总之，这些数据显示配对肿瘤活检中治疗时的免疫激活，其证明T细胞共刺激。在PD-L1阴性和阳性肿瘤二者中观察到MOXR0916诱导的免疫调控。总的来说，这些数据提示抗OX40激动性抗体治疗能提高Teff激活，CD8浸润，和PD-L1表达及降低肿瘤Treg。

[0744] 尽管为了清楚理解的目的已经通过举例说明的方式较为详细地描述了上述发明，说明书和实施例不应解释为限制发明范围。通过述及明确收录本文中引用的所有专利和科学文献的完整公开内容。

序列表

<110> 基因泰克公司(GENENTECH, INC.)

<120> 使用抗OX40抗体治疗癌症的方法

<130> 146392033740

<140> 未指派

<141> 随本文

<150> US 62/172,802

<151> 2015-06-08

<150> US 62/173,339

<151> 2015-06-09

<150> US 62/308,745

<151> 2016-03-15

<150> US 62/321,686

<151> 2016-04-12

<160> 195

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 249

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 1

```

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

```

130	135	140																	
Ala Thr Gln Pro Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr																			
145	150	155	160																
Val Gln Pro Thr Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr																			
	165	170	175																
Arg Pro Val Glu Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly																			
	180	185	190																
Leu Gly Leu Val Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala																			
	195	200	205																
Leu Tyr Leu Leu Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys																			
210	215	220																	
Pro Pro Gly Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala																			
225	230	235	240																
Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys Ile																			
	245																		

<210> 2

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 2

Asp Ser Tyr Met Ser

1 5

<210> 3

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 3

Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg

1 5 10 15

Glu

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 4

Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val

1 5

<210> 5

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 5

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 6

Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser

1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 7

Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro Thr

1 5

<210> 8

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 8

Asp Ala Tyr Met Ser

1	5		
<210> 9			
<211> 5			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成构建物			
<400> 9			
Glu Ser Tyr Met Ser			
1	5		
<210> 10			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成构建物			
<400> 10			
Asp Met Tyr Pro Asp Asn Ala Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg			
1	5	10	15
Glu			
<210> 11			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成构建物			
<400> 11			
Asp Met Tyr Pro Asp Asn Ala Asp Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg			
1	5	10	15
Glu			
<210> 12			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成构建物			
<400> 12			
Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg			
1	5	10	15

Glu

<210> 13

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 13

Asp Met Tyr Pro Asp Ser Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg

1

5

10

15

Glu

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 14

Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Ser Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg

1

5

10

15

Glu

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 15

Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Ala

1

5

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 16

Ala Pro Arg Trp Tyr Ala Ser Val

1

5

<210> 17

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 17

Ala Pro Arg Trp Ala Phe Ser Val

1 5

<210> 18

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 18

Ala Pro Ala Trp Tyr Phe Ser Val

1 5

<210> 19

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 19

Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ala Val

1 5

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 20

Ala Pro Arg Ala Tyr Phe Ser Val

1 5

<210> 21

<211> 8

<212> PRT

<400> 25

Gln Gln Gly His Ala Leu Pro Pro Thr

1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 26

Gln Gln Ala His Thr Leu Pro Pro Thr

1 5

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 27

Gln Gln Gly His Thr Leu Ala Pro Thr

1 5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 28

Gln Ala Gly His Thr Leu Pro Pro Thr

1 5

<210> 29

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 29

Asn Tyr Leu Ile Glu

1 5

<210> 30

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 30

Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 31

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 31

Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Ala Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 32

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 32

Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Gln Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 33

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 33

Asp Arg Leu Asp Tyr

1 5

<210> 34
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建物
<400> 34
Ala Arg Leu Asp Tyr
1 5
<210> 35
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建物
<400> 35
Asp Ala Leu Asp Tyr
1 5
<210> 36
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建物
<400> 36
Asp Arg Ala Asp Tyr
1 5
<210> 37
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建物
<400> 37
His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr Ile Val
1 5 10
<210> 38
<211> 7
<212> PRT

<400> 42

Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 43

Ala His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 44

Val Ala Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 45

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 45

Val His Ala Ala Gln Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 46

Val His Tyr Ala Ala Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 47

Val His Tyr Ala Gln Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 48

Val His Tyr Ala Gln Phe Ala Tyr Thr

1 5

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 49

Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Ala Thr

1 5

<210> 50

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 50

Asp Tyr Gly Val Leu

1 5

<210> 51

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 51

Met Ile Trp Ser Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile Ser

1

5

10

15

<210> 52

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 52

Glu Glu Met Asp Tyr

1

5

<210> 53

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 53

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe Leu Asn

1

5

10

<210> 54

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 54

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1

5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 55

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr

1 5

<210> 56

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 56

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser

20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 57

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 57

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 58

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 58

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

<210> 59

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 59

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

<210> 60

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 60

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

<210> 61

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 61

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

<210> 62

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 62

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

65	70	75	80
Leu Glu Leu Ser Ser	Leu Arg Ser Glu Asp Thr	Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85	90	95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
	100	105	110
Val Thr Val Ser Ser			

115

<210> 65

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 65

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

<210> 66

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser			
	20	25	30

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

<210> 67

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 67

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

<210> 68

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 68

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

<210> 69

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 69

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

<210> 70

	35		40		45												
Tyr	Tyr	Thr	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly		
	50					55					60						
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro		
65					70					75				80			
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	His	Thr	Leu	Pro	Pro		
				85					90				95				
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys							
			100					105									

<210> 74

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 74

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

<210> 75

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 75

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

<210> 76

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 76

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

<210> 77

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 77

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

<210> 78

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 78

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

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

<210> 83

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 83

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

<210> 84

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<210> 86

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 86

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

<210> 87

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 87

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

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

<210> 88

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 88

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

<210> 89

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 89

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly															
1		5		10		15									
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr															
		20		25		30									

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

<210> 90

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 90

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

<210> 91

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 91

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

<210> 92

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 92

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

<210> 93

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 93

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

<210> 94

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 94

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

Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 95

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 95

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala His Thr Leu Pro Pro
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 96

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 96

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

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

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

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50	55	60
Arg Glu Arg Val Thr	Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr	
65	70	75
Leu Glu Leu Ser Ser	Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85	90
Val Leu Ala Pro Arg	Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu	
	100	105
Val Thr Val Ser Ser		110
	115	

<210> 97

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 97

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

<210> 98

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 98

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

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

<210> 99

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 99

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

<210> 100

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

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

<210> 106

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 106

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

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 107

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 107

```

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

```

<210> 108

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 108

```

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

```

<210> 109

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 109

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

<210> 110

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 110

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

85 90 95
 Val Leu Ala Pro Arg Ala Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 111

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 111

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 112

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 112

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

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

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

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

<210> 113

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 113

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

<210> 114

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 114

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

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

<210> 115

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 115

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

<210> 116

<211> 117

<212> PRT

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 118
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建物
 <400> 118
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 100 105 110
 Ser Ser
 <210> 119
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建物
 <400> 119
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

<210> 122

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 122

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

Ser Ser

<210> 123

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 123

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

<210> 124

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 124

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

Ser Ser

<210> 125

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 125

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

<210> 126

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 126

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

Ser Ser
 <210> 127
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建物
 <400> 127
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
 35 40 45
 Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 128
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建物
 <400> 128

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

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

Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 129

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 129

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 130

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 130

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

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

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

Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 100 105 110

Ser Ser

<210> 131

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 131

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

<210> 132

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 132

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

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

Ser Ser

<210> 133

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 133

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

<210> 134

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 134

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

Ser Ser

<210> 135

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 135

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

<210> 136

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 136

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

Ser Ser

<210> 137

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 137

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

	85		90		95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys					
	100		105		
<210> 138					
<211> 114					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成构建物					
<400> 138					
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala					
1	5		10		15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr					
	20		25		30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile					
	35		40		45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe					
	50		55		60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr					
65	70		75		80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys					
	85		90		95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val					
	100		105		110
Ser Ser					
<210> 139					
<211> 107					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 合成构建物					
<400> 139					
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly					
1	5		10		15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr					
	20		25		30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile					
	35		40		45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly					

50	55	60																		
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro					
65					70					75				80						
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Val	His	Tyr	Ala	Gln	Phe	Pro	Tyr					
				85					90				95							
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys										
			100					105												
<210>	140																			
<211>	114																			
<212>	PRT																			
<213>	人工序列																			
<220>																				
<223>	合成构建物																			
<400>	140																			
Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala					
1				5					10					15						
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ala	Phe	Thr	Asn	Tyr					
			20					25					30							
Leu	Ile	Glu	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile					
		35					40					45								
Gly	Val	Ile	Asn	Pro	Gly	Ser	Gly	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Ser	Glu	Lys	Phe					
		50				55						60								
Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr					
65					70					75				80						
Leu	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys					
				85					90				95							
Ala	Arg	Asp	Arg	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val					
				100				105					110							
Ser	Ser																			
<210>	141																			
<211>	107																			
<212>	PRT																			
<213>	人工序列																			
<220>																				
<223>	合成构建物																			
<400>	141																			
Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly					
1				5					10				15							
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	His	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Ser	Tyr					

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

<210> 142

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 142

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

Ser Ser

<210> 143

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 145

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

<210> 146

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 146

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

100	105	110
Ser Ser		
<210> 147		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成构建物		
<400> 147		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1 5 10 15		
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr		
20 25 30		
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile		
35 40 45		
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50 55 60		
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65 70 75 80		
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr		
85 90 95		
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100 105		
<210> 148		
<211> 114		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成构建物		
<400> 148		
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1 5 10 15		
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr		
20 25 30		
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
35 40 45		
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe		
50 55 60		
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		

65	70	75	80
Leu Glu Leu Ser Ser	Leu Arg Ser Glu Asp Thr	Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85	90	95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val		
	100	105	110
Ser Ser			
<210>	149		
<211>	107		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成构建物		
<400>	149		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr			
	20	25	30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile			
	35	40	45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val Ala Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr			
	85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
	100	105	
<210>	150		
<211>	114		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	合成构建物		
<400>	150		
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr			
	20	25	30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile			

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

Ser Ser

<210> 151

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 151

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

<210> 152

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 152

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

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

Ser Ser

<210> 153

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 153

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

<210> 154

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 154

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

Ser Ser

<210> 155

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 155

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Ala Tyr
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 158

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 158

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 100 105 110

Ser Ser

<210> 159

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 159

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Ala
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 160

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 160

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

Ser Ser

<210> 161

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 161

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

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

<210> 162

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 162

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

Ser Ser

<210> 163

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 163

```

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

```

<210> 164

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 164

```

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

```

Ser Ser

<210> 165

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 165

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

<210> 166

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 166

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

Arg Glu Glu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 100 105 110

Ser

<210> 167

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 167

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 168

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 168

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

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

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

Gly Met Ile Trp Ser Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile
 50 55 60

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

Ser

<210> 171

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 171

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

<210> 172

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<220>

- <213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建物
<220>
<221> 变体
<222> 5
<223> Xaa = Y 或 A
<220>
<221> 变体
<222> 6
<223> Xaa = A 或 F
<220>
<221> 变体
<222> 7
<223> Xaa = S 或 A
<220>
<221> 变体
<222> 8
<223> Xaa = A 或 V
<400> 174
Ala Pro Arg Trp Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5
<210> 175
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建物
<220>
<221> 变体
<222> 2
<223> Xaa = A 或 Q
<220>
<221> 变体
<222> 3
<223> Xaa = A 或 G
<220>
<221> 变体
<222> 4

<223> Xaa = A 或 H

<220>

<221> 变体

<222> 5

<223> Xaa = A 或 T

<220>

<221> 变体

<222> 6

<223> Xaa = A 或 L

<220>

<221> 变体

<222> 7

<223> Xaa = A 或 P

<220>

<221> 变体

<222> 8

<223> Xaa = A 或 P

<400> 175

Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr

1 5

<210> 176

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<220>

<221> 变体

<222> 9

<223> Xaa = T, A 或 Q

<400> 176

Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Xaa Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 177

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

	20		25		30														
	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Asp	Gly	Thr	Val	Lys	Leu	Leu	Ile			
	35							40					45						
	Tyr	Tyr	Thr	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly			
	50						55						60						
	Ser	Gly	Ser	Gly	Lys	Asp	Tyr	Phe	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Leu	Glu	Gln			
65					70					75					80				
	Glu	Asp	Val	Ala	Ala	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Gly	His	Thr	Leu	Pro	Pro			
				85					90					95					
	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys								
	100								105										
<210>	180																		
<211>	117																		
<212>	PRT																		
<213>	人工序列																		
<220>																			
<223>	合成构建物																		
<400>	180																		
	Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Ala			
1				5					10					15					
	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Ser			
			20					25					30						
	Tyr	Met	Ser	Trp	Val	Lys	Gln	Ser	His	Gly	Lys	Thr	Leu	Glu	Trp	Ile			
	35						40						45						
	Gly	Asp	Met	Tyr	Pro	Asp	Asn	Gly	Asp	Ser	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe			
	50						55					60							
	Arg	Glu	Lys	Val	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Thr	Thr	Ala	Tyr			
65					70					75					80				
	Met	Glu	Phe	Arg	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
				85					90				95						
	Val	Leu	Ala	Pro	Arg	Trp	Tyr	Phe	Ser	Val	Trp	Gly	Thr	Gly	Thr	Thr			
			100						105				110						
	Val	Thr	Val	Ser	Ser														
	115																		
<210>	181																		
<211>	107																		
<212>	PRT																		
<213>	人工序列																		
<220>																			

<223> 合成构建物

<400> 181

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

<210> 182

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 182

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

Ser Ser

<210> 183

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 183

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

<210> 184

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 184

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

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 185
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建物
 <400> 185
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 20 25
 <210> 186
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建物
 <400> 186
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 1 5 10
 <210> 187
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建物
 <400> 187
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30
 <210> 188
 <211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 188

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 189

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 189

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 190

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 190

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

1 5 10 15

<210> 191

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建物

<400> 191

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

20

25

30

<210> 192

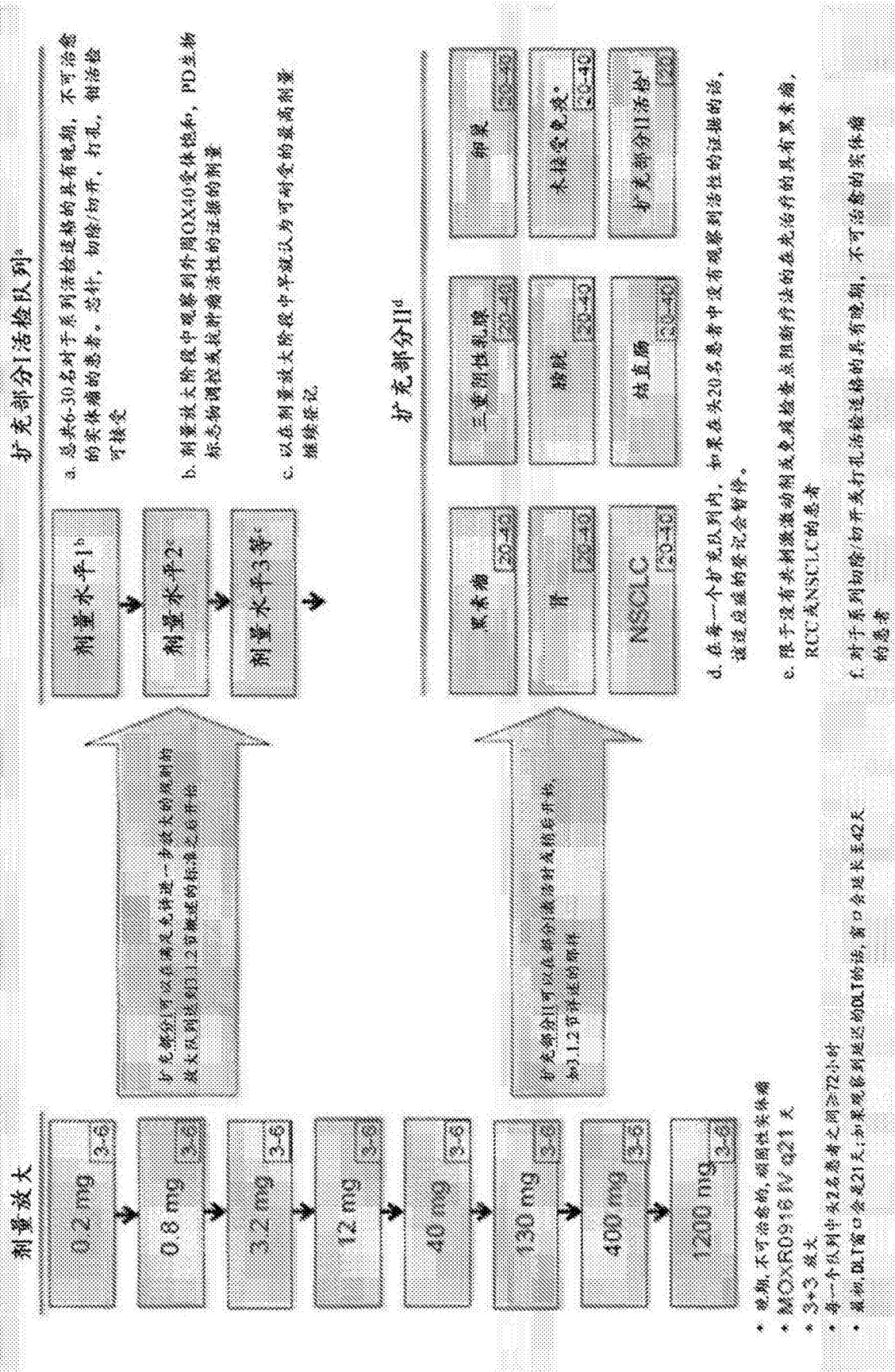


图1

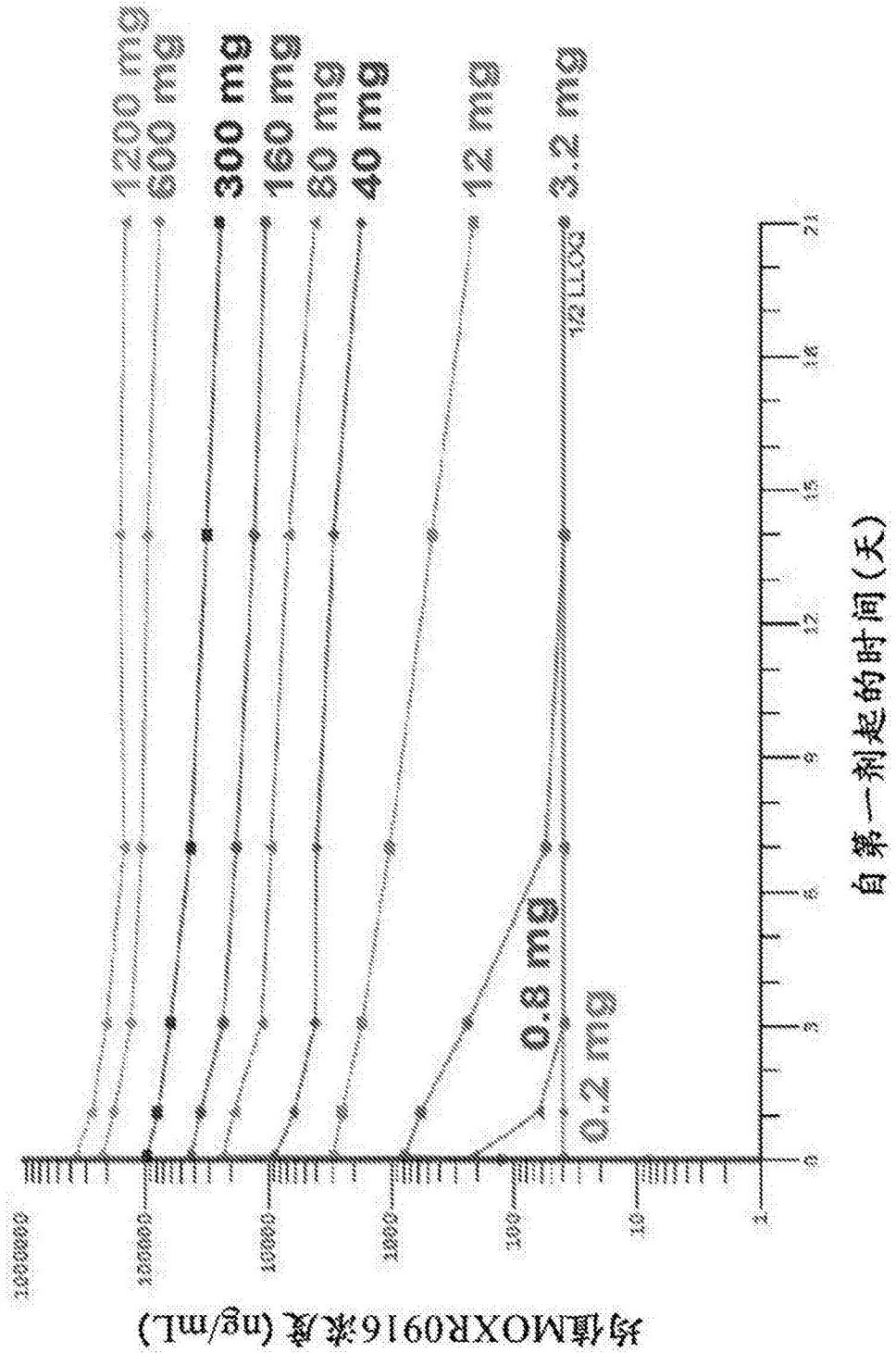


图2

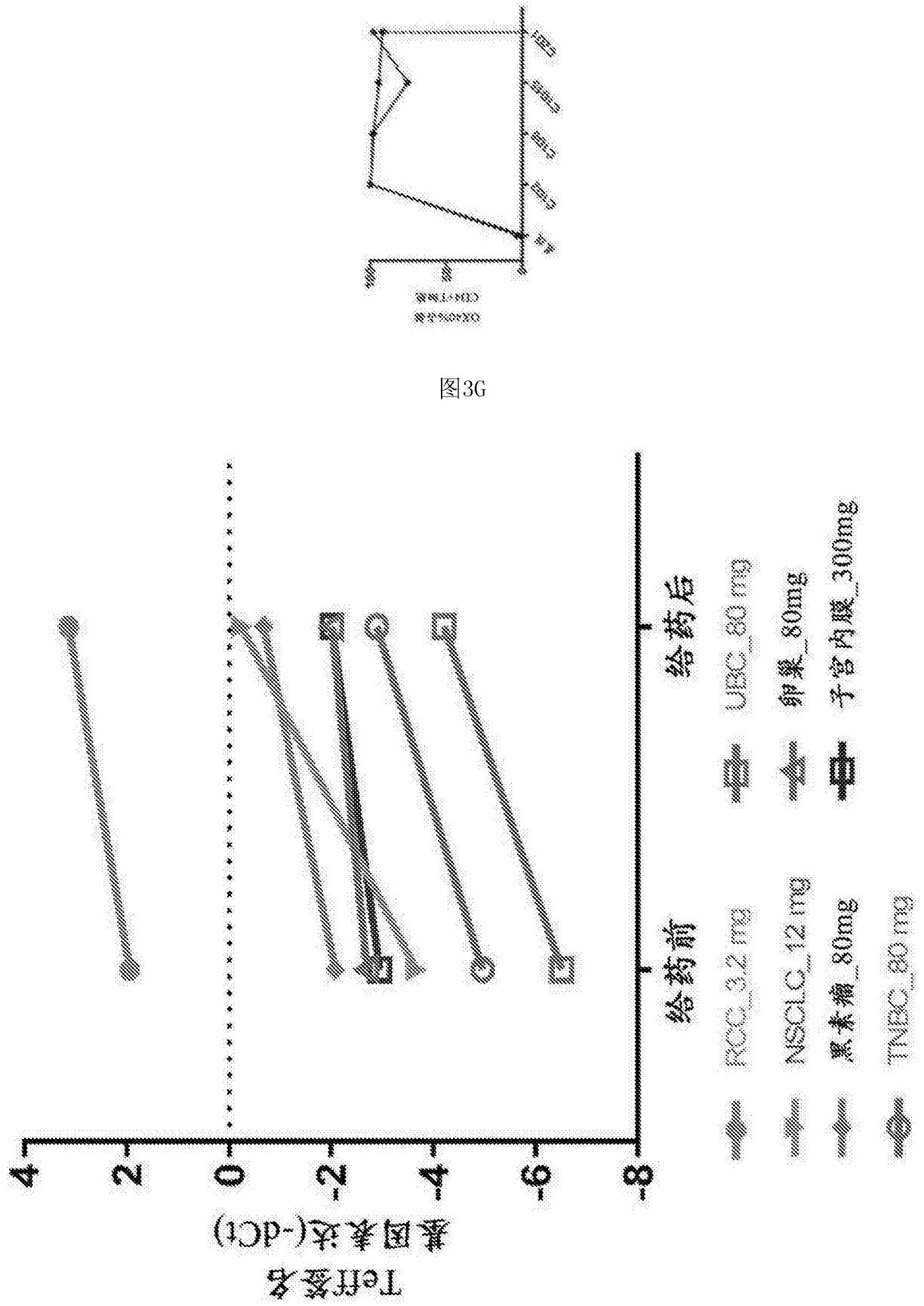


图3G

图4

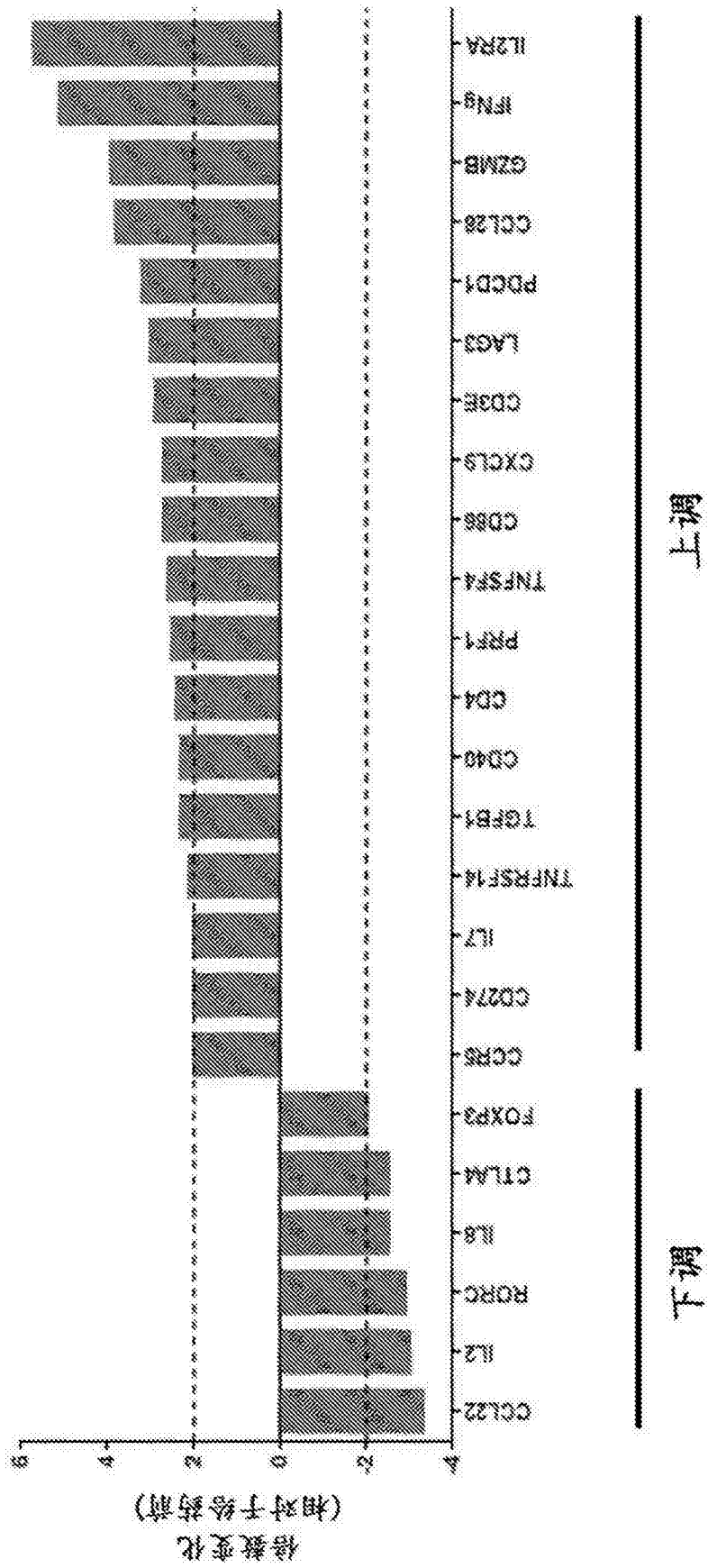


图5