



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112839962 A

(43) 申请公布日 2021.05.25

(21) 申请号 201980067679.7

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所
11247

(22) 申请日 2019.10.08

代理人 黄革生 林柏楠

(30) 优先权数据

62/743,507 2018.10.09 US

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61P 35/00 (2006.01)

2021.04.09

A61K 39/395 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/055155 2019.10.08

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/076799 EN 2020.04.16

(71) 申请人 百时美施贵宝公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 T·E·小斯皮尔斯 M·奎格利

V·拉方特 G·C·拉凯斯特拉

L·梁 K·A·奥古斯丁-劳赫

权利要求书6页 说明书62页

序列表131页 附图10页

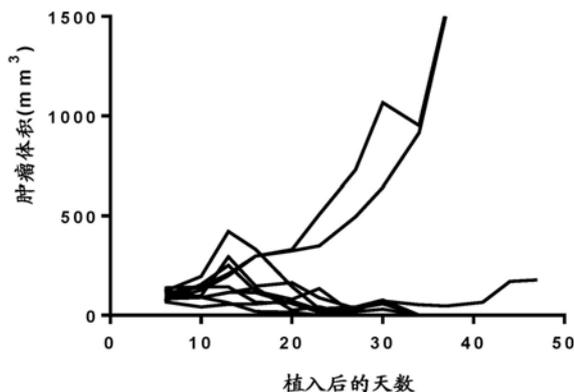
(54) 发明名称

用于治疗癌症的抗MERTK抗体

(57) 摘要

本公开提供特异性结合细胞表面上表达的MerTK并抑制由表达MerTK的细胞的胞葬作用的分离的抗体。本公开提供了用于治疗罹患癌症的受试者的方法,包括将治疗有效量的抗MerTK抗体作为单一疗法或联合检查点抑制剂(如抗PD-1或抗PD-L1抗体)施用于受试者。

α PD1 + α MerTK (4E9)



1. 一种特异性结合细胞表面上表达的原癌基因酪氨酸-蛋白激酶MER (MerTK) 并抑制由表达MerTK的细胞的胞葬作用的单克隆抗体,或其抗原结合部分。

2. 根据权利要求1所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其以以下的 IC_{50} 抑制表达人MerTK (hMerTK) 的细胞的胞葬作用:

- (a) 约5nM或更低;
- (b) 约1nM或更低;
- (c) 约0.1nM或更低;
- (d) 约0.01nM至约1nM之间;
- (e) 约0.01nM至约0.7nM之间;
- (f) 约0.04nM至约0.7nM之间;或
- (g) 约0.04nM至约0.1nM之间。

3. 根据权利要求1所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其抑制生长停滞特异性蛋白6 (Gas6) 与hMerTK的结合并抑制MerTK/Gas6信号转导。

4. 根据权利要求3所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其以以下的 IC_{50} 抑制MerTK/Gas6信号转导:

- (a) 约50nM或更低;
- (b) 约10nM或更低;
- (c) 约5nM或更低;
- (d) 约1nM或更低;
- (e) 约0.5nM或更低;
- (f) 约0.1nM或更低;
- (g) 约0.01nM至约10nM之间;
- (h) 约0.05nM至约6nM之间;
- (i) 约0.08nM至约2nM之间;或
- (j) 约0.2nM至约2nM之间。

5. 根据权利要求1-4任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其特异性结合人MerTK,所述人MerTK的序列如SEQ ID NO:259所示。

6. 根据权利要求5所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其以以下 K_D 结合人MerTK:

- (a) 约100nM或更低;
- (b) 约50nM或更低;
- (c) 约10nM或更低;
- (d) 约5nM或更低;
- (e) 约1nM或更低;
- (f) 约0.5nM或更低;
- (g) 约0.1nM或更低;
- (h) 约0.05nM或更低;
- (i) 约0.01nM或更低;
- (j) 约100nM至约0.1nM之间;
- (k) 约50nM至约0.5nM之间;

- (l) 约10nM至约1nM之间;或
- (m) 约6nM至约2nM之间。

7. 根据权利要求1-4任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其特异性结合食蟹猴MerTK,所述食蟹猴MerTK的序列如SEQ ID NO:260所示。

8. 根据权利要求7所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其以以下 K_D 结合食蟹猴MerTK:
- (a) 约100nM或更低;
 - (b) 约50nM或更低;
 - (c) 约10nM或更低;
 - (d) 约5nM或更低;
 - (e) 约1nM或更低;
 - (f) 约0.5nM或更低;
 - (g) 约0.1nM或更低;
 - (h) 约100nM至约0.1nM之间;
 - (i) 约50nM至约0.5nM之间;
 - (j) 约10nM至约1nM之间;或
 - (k) 约5nM至约1nM之间。

9. 根据权利要求1-4任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其特异性结合小鼠MerTK,所述小鼠MerTK序列如SEQ ID NO:261所示。

10. 根据权利要求9所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其以以下 K_D 结合小鼠MerTK:
- (a) 约100nM或更低;
 - (b) 约50nM或更低;
 - (c) 约10nM或更低;
 - (d) 约5nM或更低;
 - (e) 约1nM或更低;
 - (f) 约0.5nM或更低;
 - (g) 约0.1nM或更低;
 - (h) 约100nM至约0.1nM之间;
 - (i) 约50nM至约0.5nM之间;
 - (j) 约10nM至约1nM之间;或
 - (k) 约5nM至约1nM之间。

11. 根据权利要求1-10任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其与以下的交叉反应:

- (a) 至少人和食蟹猴MerTK;
- (b) 至少人和小鼠MerTK;或
- (c) 人、食蟹猴和小鼠MerTK。

12. 一种单克隆抗体,或其抗原结合部分,其特异性结合人原癌基因酪氨酸-蛋白激酶MER (hMerTK) 上的箱1表位,所述hMerTK序列如SEQ ID NO:259所示,其中该表位位于跨越大约氨基酸残基105至165的区域内的hMerTK的第一Ig结构域中,如通过酵母展示和/或氢-氘交换质谱(HDX-MS)表位作图确定的。

13. 根据权利要求12所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其中箱1表位:

(a) 位于hMerTK的跨越大约氨基酸残基126至155的区域内,如通过HDX-MS表位作图确定的;或

(b) 包含氨基酸残基126至155中的至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、十个、二十个或全部,如通过HDX-MS表位作图确定的。

14. 一种单克隆抗体,或其抗原结合部分,其特异性结合人原癌基因酪氨酸-蛋白激酶MER (hMerTK) 上的箱2表位,所述hMerTK序列如SEQ ID NO:259所示,其中该表位位于跨越大约氨基酸残基195至270的区域内hMerTK的第二Ig结构域中,如通过酵母展示和/或氢-氘交换质谱 (HDX-MS) 表位作图确定的。

15. 根据权利要求14所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其中箱2表位:

(a) 位于hMerTK的跨越大约氨基酸残基231至249的区域内,如通过HDX-MS表位作图确定的;

(b) 包含氨基酸残基N234、S236、R237、E240、Q241、P242和G269中的一个、两个、三个、四个、五个、六个或全部,如通过酵母展示表位作图确定的;

(c) 包含氨基酸残基N234、S236、R237、E240、Q241、P242和G269,如通过酵母展示表位作图确定的;或

(d) 包含氨基酸残基231至249中的至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、十个或全部,如通过HDX-MS和酵母展示表位作图确定的。

16. 一种单克隆抗体,或其抗原结合部分,其特异性结合人原癌基因酪氨酸-蛋白激酶MER (hMerTK) 上的箱3表位,所述hMerTK序列如SEQ ID NO:259所示,其中该表位位于跨越大约氨基酸残基420至490的区域内hMerTK的纤连蛋白 (Fn) 结构域中,如通过酵母展示和/或氢-氘交换质谱 (HDX-MS) 表位作图确定的。

17. 一种单克隆抗体,或其抗原结合部分,其特异性结合细胞表面上表达的人原癌基因酪氨酸-蛋白激酶MER (hMerTK),并在以下每个中包含CDR1、CDR2和CDR3结构域:

(a) 包含具有SEQ ID NO:217所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:218所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(b) 包含具有SEQ ID NO:221所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:222所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(c) 包含具有SEQ ID NO:225所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:226所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(d) 包含具有SEQ ID NO:229所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:230所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(e) 包含具有SEQ ID NO:233所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:234所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(f) 包含具有SEQ ID NO:237所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:238所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(g) 包含具有SEQ ID NO:241所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:242所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(h) 包含具有SEQ ID NO:245所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:

246所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(i) 包含具有SEQ ID NO:249所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:250所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(j) 包含具有SEQ ID NO:253所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:254所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(k) 包含具有SEQ ID NO:255所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:256所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;或

(l) 包含具有SEQ ID NO:257所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:258所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L 。

18. 根据权利要求17所述的单克隆抗体,其包含以下通过Kabat方法定义的CDR结构域:

(a) 包含具有SEQ ID NO:1所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:4所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:7所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:10所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:13所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:16所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR3;或

(b) 包含具有SEQ ID NO:73所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:76所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:79所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:82所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:85所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:88所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR3。

19. 根据权利要求17所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其包含:

(a) 包含具有SEQ ID NO:217所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:218所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(b) 包含具有SEQ ID NO:221所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:222所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(c) 包含具有SEQ ID NO:225所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:226所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(d) 包含具有SEQ ID NO:229所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:230所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(e) 包含具有SEQ ID NO:233所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:234所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(f) 包含具有SEQ ID NO:237所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:238所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(g) 包含具有SEQ ID NO:241所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:242所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(h) 包含具有SEQ ID NO:245所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:246所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(i) 包含具有SEQ ID NO:249所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:250所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(j) 包含具有SEQ ID NO:253所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:254所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

(k) 包含具有SEQ ID NO:255所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:256所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;或

(l) 包含具有SEQ ID NO:257所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:258所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L 。

20. 根据权利要求17所述的单克隆抗体或其抗原结合部分,其包含

(a) 包含具有SEQ ID NO:219所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:220所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;

(b) 包含具有SEQ ID NO:223所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:224所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;

(c) 包含具有SEQ ID NO:227所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:228所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;

(d) 包含具有SEQ ID NO:231所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:232所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;

(e) 包含具有SEQ ID NO:235所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:236所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;

(f) 包含具有SEQ ID NO:239所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:240所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;

(g) 包含具有SEQ ID NO:243所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:244所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;

(h) 包含具有SEQ ID NO:247所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:248所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;或

(i) 包含具有SEQ ID NO:251所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:252所示序列的连续连接的氨基酸的轻链。

21. 一种包含连接到治疗剂的根据权利要求1-20任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分的免疫缀合物,任选地其中治疗剂是细胞毒素或放射性同位素。

22. 一种包含根据权利要求1-20任一项所述的单克隆抗体或其抗原结合部分且其连接到具有不同于该单克隆抗体或其抗原结合部分的结合特异性的结合结构域的双特异性分子,。

23. 一种组合物,其包含:

(a) 权利要求1-20任一项的单克隆抗体或其抗原结合部分;

(b) 权利要求21的免疫缀合物;或

(c) 权利要求22的双特异性分子,

和药学上可接受的载体。

24. 一种用于治疗罹患癌症的受试者的方法,包括将治疗有效量的权利要求1-20任一项的单克隆抗体或其抗原结合部分、权利要求21的免疫缀合物、权利要求22的双特异性分

子或权利要求23的药物组合物,以及任选地联合用于治疗癌症的其他治疗剂,施用于受试者,使得受试者得到治疗。

25. 权利要求24的方法,其中其他治疗剂是:

(a) 特异性结合程序性死亡-1 (PD-1)、程序性死亡配体-1 (PD-L1)、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4 (CTLA-4)、淋巴细胞激活基因3 (LAG-3)、B和T淋巴细胞衰减剂 (BTLA)、T细胞免疫球蛋白和粘蛋白结构域3 (TIM-3)、杀伤免疫球蛋白样受体 (KIR)、杀伤细胞凝集素样受体G1 (KLRG-1)、腺苷A2a受体 (A2aR)、自然杀伤细胞受体2B4 (CD244) 或CD160的拮抗性抗体;或

(b) 特异性结合诱导性T细胞共刺激物 (ICOS)、CD137 (4-1BB)、CD134 (OX40)、CD27、糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白 (GITR) 和疱疹病毒进入介体 (HVEM) 的激动性抗体。

26. 一种用于治疗罹患癌症的受试者的药盒,所述药盒包含:

(a) 范围为约0.1至约20mg/kg体重的一个或多个剂量的特异性结合MerTK的单克隆抗体或其抗原结合部分;

(b) 任选地范围为200至约1600mg的一个或多个剂量的特异性结合PD-1或PD-L1的单克隆抗体或其抗原结合部分;和

(c) 在权利要求24或25的方法中使用特异性结合MerTK的单克隆抗体或其部分和任选地特异性结合PD-1或PD-L1的抗体或其部分的说明。

用于治疗癌症的抗MERTK抗体

[0001] 在整个本申请中,在括号中通过作者姓名和日期或专利号或专利公开号引用了各种出版物。就在权利要求前的说明书末尾处可以找到这些出版物的完整引用信息。这些出版物的公开内容通过引用以其整体并入本文中,以便更全面地描述截至本文所述和要求保护的发明的日期时本领域技术人员已知的现有技术水平。然而,仅在并入的信息与本文明确的公开内容所提供的信息之间不存在冲突的程度上,将这些公开内容通过引用并入本申请中。此外,本文对参考文献的引用不应被理解为承认该参考文献是本发明的现有技术。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2018年10月9日提交的美国临时申请No.62/743,507的权益,将其完整内容通过引用结合到本文中。

[0004] 序列表

[0005] 本申请含有已经以ASCII格式电子提交的序列表并通过引用以其整体结合到本申请中。ASCII副本生成于2019年10月4日,名称为12970WOPCT_Seq_List_ST25.txt,并且大小为135,398字节。

发明领域

[0006] 本公开涉及特异性结合原癌基因酪氨酸-蛋白激酶MER (MerTK) 的单克隆抗体(mAb),以及用于治疗受试者癌症的方法,所述方法包括将抗MerTK抗体(Ab)作为单一疗法或联合抗癌剂(如免疫检查点抑制剂)、化疗剂和/或放疗施用于受试者。

[0007] 发明背景

[0008] 人类癌症含有许多遗传学和表观遗传学改变,产生了可能被免疫系统识别的新抗原(Chakravarthi等,2016)。由T和B淋巴细胞组成的适应性免疫系统具有强大的抗癌潜力,具有应答多种肿瘤抗原的广谱能力和极度灵敏的特异性。此外,免疫系统证明了相当大的可塑性和记忆成分。成功利用适应性免疫系统的所有这些特性使免疫疗法在所有癌症治疗方式中独树一帜。

[0009] 过去的十年已经见证了用于治疗癌症的特异性免疫检查点通路抑制剂的发展(Chen和Mellman,2013;Lesokhin等,2015),包括用于治疗晚期黑色素瘤患者的结合并抑制细胞毒性T淋巴细胞抗原-4的Ab,伊匹单抗(ipilimumab (**YERVOY®**)),以及如特异性结合PD-1受体并阻断抑制性PD-1/PD-1配体(PD-L1)信号转导途径的纳武单抗(nivolumab) (**OPDIVO®**)和派姆单抗(pembrolizumab) (**KEYTRUDA®**)这样的Ab的发展(Iwai等,2017)。该途径还可以被特异结合PD-L1的Ab破坏,所述Ab包括阿妥珠单抗(atezolizumab) (**TECENTRIQ®**)、德瓦鲁单抗(durvalumab) (**IMFINZI®**)和阿维单抗(avelumab) (**BAVENCIO®**)。

[0010] 纳武单抗是一种完全人免疫球蛋白(Ig)G4(S228P)单克隆抗体mAb,其选择性地防止与PD-1配体PD-L1和PD-L2的相互作用(美国专利No.8,008,449;Wang等,2014),由此阻断

针对外来抗原(包括肿瘤)和自身抗原两者的抗原特异性T细胞应答的下调,并增强对抗这些抗原的免疫应答。纳武单抗最近已获批准用于几种癌症,包括黑色素瘤、肺癌、肾细胞癌、经典霍奇金淋巴瘤、头颈癌、尿路上皮癌、MSI-H或dMMR转移性结直肠癌和肝细胞癌,并且目前正作为其他癌症类型中的单一疗法或结合其他抗癌剂进行临床评估。但是,只有一小部分患者(通常少于约25%)会得益于检查点抑制剂的治疗,并且现在大量的精力集中于使用检查点抑制剂和其他抗癌剂或疗法的组合来提高免疫疗法的疗效。由于PD-1/PD-L1抑制剂已被证明在治疗广谱癌症中都是非常成功的,因此它们被认为很可能是免疫肿瘤学中各种未来药物联合的主力,并且正在竞赛研发最有效的组合(参见,例如,Mahoney等,2015;Ott等,2017)。

[0011] MerTK(c-Mer酪氨酸激酶;原癌基因酪氨酸-蛋白激酶MER)是蛋白受体酪氨酸激酶(RTK)的TMA(Tyro3/Axl/Mer)家族的成员,其呈现出相似的整体结构,所述结构从N-末端包括两个Ig样C2型结构域、两个III型纤连蛋白(Fn)结构域,接着是疏水性跨膜结构域和胞内酪氨酸激酶结构域。两个Ig样结构域作为TAM的配体结合区。

[0012] TAM RTK在多种人类癌症中,尤其是在血液学和上皮性恶性肿瘤中异位表达或过表达,并且人们越来越有兴趣了解TAM受体在调节抗肿瘤免疫反应中的作用。在肿瘤微环境中,MerTK主要在与肿瘤相关的巨噬细胞上表达,在单核细胞和树突细胞(DC)上的表达较低。TAM RTK在肿瘤细胞中的诱导主要促进存活、化学抗性和运动性,而不是起致癌作用(Linger等,2008;Graham等,2014)。尽管MerTK敲低仅轻度促进细胞培养中的细胞凋亡并减慢增殖,但在应激条件下(如与血清饥饿或在软琼脂或异种移植物中生长相结合时),这种作用更为明显(Lee-Sherick等,2013年;Linger等,2013)。这表明TAM存活信号在肿瘤微环境中可能尤其重要,在该环境中,有限的氧和营养供应加剧了蛋白毒性和遗传毒性。

[0013] 生长停滞特异性蛋白6(Gas6)和蛋白S1(PROSP1)是研究最深入的该受体家族的配体,并作为桥接分子,通过其N末端GLA结构域结合凋亡细胞外膜上的磷脂酰丝氨酸并通过其C末端结构域直接结合MerTK(Graham等,2014)。这些配体结合并激活TAM受体(Stitt等,1995)。另外报道的两种配体Tubby和Tubby-Like蛋白1(Tulp1)也通过啮合凋亡细胞的高度保守的C末端PPBD(吞噬作用的猎物结合结构域)结构域和N末端MPD(最小吞噬决定簇)结构域类似地作为MerTK的桥连配体(Caberoy等,2010)。也有报道说半凝乳素-3(Gal-3)也可以直接结合MerTK,但这种假定的相互作用还是少有了解(Caberoy等,2012)。

[0014] 除了一些血液学和上皮癌,MerTK主要在肿瘤相关的巨噬细胞、耐受性树突细胞和自然杀伤(NK)细胞上表达(Graham等,2014)。它也在其是免疫系统的专业吞噬细胞的组织驻留巨噬细胞群以及正常上皮细胞(如骨髓巨噬细胞)和视网膜上皮上表达。配体由许多细胞表达,包括髓样细胞、激活的T细胞和许多癌细胞/类型(Graham等,2014)。通常,表达MerTK或其他TAM家族受体的细胞是表达一种或多种配体的相同细胞,从而带来潜在的自分泌介导的激活。各种配体与TAM受体家族的表达和结合调节多种生理过程,包括细胞存活、迁移、分化和胞葬作用(efferocytosis)(特异性靶向和吞噬凋亡细胞的过程)。

[0015] 巨噬细胞上MerTK的表达对于它们在健康和受伤组织中的吞噬功能至关重要。MerTK是胞葬作用的关键介质,并且被认为有助于肿瘤微环境中的免疫抑制和耐受。已经显示MerTK的过表达足以向细胞系灌输功能能力的增强,并使它们能够有效地吞噬凋亡细胞,并且,通过敲除MerTK表达会实现功能丧失(Nguyen等,2014)。

[0016] 使用MerTK^{-/-}小鼠的公开报道已证明了在免疫原性环境(如PyVMT乳腺癌模型)中具有免疫介导的增强的抗肿瘤活性,并且甚至在难以治疗的环境(如B16F10黑色素瘤模型)中,肿瘤生长延迟也增加了(Cook等,2013年)。与拟议的与MerTK阻断机制有关的机制一致,还显示出CD8Teff细胞功能是这些抗肿瘤益处所必需的(Cook等,2013)。巨噬细胞摄取凋亡细胞的重要特征是其随后倾向于下调促炎细胞因子的产生并上调与免疫抑制有关的因子。各种研究都支持如下想法:凋亡肿瘤细胞的MerTK依赖性吞噬作用会导致有利于巨噬细胞促进肿瘤的极化的信号转导级联,并且这些促进肿瘤发生的程序增强了帮助肿瘤生长的免疫抑制细胞因子的产生(参见Akalu等,2017)。另外,已经显示在体外和体内用磷脂酰丝氨酸阻断剂(例如,膜联蛋白V)阻断胞葬作用导致免疫抑制因子(例如,TGF- β)减少、促炎因子(例如TNF- α)增加和增强的巨噬细胞介导的T细胞增殖(Barker等,2002;Bondanza等,2004)。这些数据以及其他数据表明了使用特异性针对MerTK的拮抗性配体阻断Ab阻断胞葬作用可能作为抗癌治疗剂而有效的可能性。因此,进行了本研究以鉴定以高亲和力结合MerTK并抑制胞葬作用的Ab用于治疗癌症。此类Abs与重振T细胞反应的药剂(如检查点抑制剂)和/或在肿瘤微环境中诱导凋亡反应的治疗(如某些化疗化合物和放疗)联合使用可能尤其有效(Jinushi等,2013)。

[0017] 最近的PCT公开(WO 2016/106221)描述了以高亲和力特异性结合人MerTK(或人和小鼠MerTK)、抑制Gas6与MerTK结合并激动内皮细胞上MerTK信号转导的mAb的分离。WO 2016/106221还提供了通过向受试者施用特异性结合MerTK并激动内皮细胞上的MerTK信号转导(即激活内皮细胞上的MerTK磷酸化)的Ab来治疗癌症的方法。两种mAb在人类乳腺癌的小鼠模型中显示出抑制肿瘤进展。MerTK激动剂治疗癌症的能力被合理化,其基础是内皮细胞上的MerTK的Gas-6激活导致癌细胞抑制内皮细胞募集,这是癌细胞的一个关键特征,其允许肿瘤血管生成、肿瘤生长和转移。因此,激活内皮细胞而不是癌细胞上的MerTK信号转导的化合物可有效减少肿瘤血管生成和转移。第二个PCT公开(WO 2019/005756)描述了M6和M19的Ab-药物缀合物的生产及其在治疗癌症中的用途。

[0018] 本公开涉及抗MerTK Ab的生产及其在治疗癌症中的效力和适用性的评估。本公开还涉及通过抗MerTK Ab联合检查点阻断(例如,PD-1/PD-L1信号转导途径的抑制)来治疗癌症的功效的评估。抗-MerTK和抗-PD-1/抗-PD-L1的作用机制的结合提供了增加肿瘤细胞杀灭的独特机会。

[0019] 发明概述

[0020] 本发明提供了分离的Ab,优选mAb,其结合细胞表面上表达的MerTK并呈现出各种功能特性(包括治疗性Ab所需的特性)。这些特性包括,与MerTK的高亲和力结合、抑制由表达MerTK的细胞(主要是巨噬细胞)的胞葬作用、抑制生长停滞特异性蛋白6(Gas6)与hMerTK的结合、破坏MerTK和Gas6之间的相互作用、抑制MerTK/Gas6信号转导、作为单一疗法或结合另一种抗癌剂施用于受试者时抑制受试者中肿瘤细胞的生长,以及作为单一疗法或结合另一种抗癌剂施用于受试者时治疗罹患癌症的受试者。在某些实施方案中,公开的抗-MerTK mAb结合MerTK,后者是人MerTK(hMerTK)、食蟹猴MerTK(cMerTK)、鼠MerTK(mMerTK)或这些MerTK靶的组合。在优选的实施方案中,受试者是人类受试者。

[0021] 在某些实施方案中,抗MerTK Ab以约1nM或更低,优选约0.04nM至约0.7nM之间的IC₅₀抑制由表达hMerTK的细胞的胞葬作用。在某些其他实施方案中,抗MerTK Ab以约10nM或

更低,优选约0.1nM至约5nM之间的 IC_{50} 抑制hMerTK/Gas6信号转导。在更多实施方案中,抗MerTK Ab以约70nM或更低,优选约2nM至约25nM之间的 K_D 特异性结合hMerTK。在再另外的实施方案中,抗MerTK Ab以高亲和力特异性结合hMerTK、cMerTK和mMerTK。

[0022] 本文提供的抗MerTK Ab已经分配给三个表位箱(bin)。在某些实施方案中,Ab属于箱1。箱1 Ab结合跨越大约氨基酸105至165的区域内的MerTK的第一Ig结构域。在优选实施方案中,Ab属于箱2。箱2Ab结合跨越大约氨基酸195至270的区域内的MerTK的第二Ig结构域。在更多实施方案中,Ab属于箱3。箱3Ab结合跨越大约氨基酸420至490的区域内的纤连蛋白(Fn)结构域。

[0023] 本公开提供了分离的Ab,优选mAb,或其抗原结合部分,其特异性结合细胞表面上表达的hMerTK,并在以下每个重链和轻链可变区对中包含CDR1、CDR2和CDR3结构域:

[0024] (a) 包含具有SEQ ID NO:217所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:218所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0025] (b) 包含具有SEQ ID NO:221所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:222所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0026] (c) 包含具有SEQ ID NO:225所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:226所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0027] (d) 包含具有SEQ ID NO:229所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:230所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0028] (e) 包含具有SEQ ID NO:233所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:234所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0029] (f) 包含具有SEQ ID NO:237所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:238所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0030] (g) 包含具有SEQ ID NO:241所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:242所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0031] (h) 包含具有SEQ ID NO:245所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:246所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0032] (i) 包含具有SEQ ID NO:249所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:250所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0033] (j) 包含具有SEQ ID NO:253所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:254所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0034] (k) 包含具有SEQ ID NO:255所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:256所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;或

[0035] (l) 包含具有SEQ ID NO:257所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:258所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L 。

[0036] 可变区的序列可以通过各种方法来定义,包括Kabat、Chothia、AbM、contact和IMGT定义。

[0037] 本公开还提供了编码本文所述的任何Ab或其抗原结合部分的分离的核酸。本公开提供了包含所述分离核酸的表达载体和包含所述表达载体的宿主细胞。这个宿主细胞可以用于制备抗MerTK mAb或其抗原结合部分的方法中,所述方法包括在所述宿主细胞中表达

mAb或其抗原结合部分并从宿主细胞分离mAb或其抗原结合部分。

[0038] 在某些实施方案中,本公开提供了用于治疗罹患癌症的受试者的方法,所述方法包括将治疗有效量的本文所述的任何抗MerTK mAb或抗原结合部分施用于受试者,从而受试者得到治疗。在其他实施方案中,本公开提供了一种用于抑制受试者中的肿瘤细胞生长的方法,所述方法包括将治疗有效量的本文所述的任何抗MerTK mAb或抗原结合部分施用于受试者,从而受试者中的肿瘤细胞的生长得到抑制。在这些方法的某些实施方案中,抗MerTK mAb抑制表达MerTK的细胞的胞葬作用。在某些其他实施方案中,抗MerTK mAb抑制MerTK与其配体的结合并抑制MerTK/配体信号转导。

[0039] 本公开进一步提供了一种用于治疗罹患癌症的受试者的方法,所述方法包括将治疗有效量的以下组合施用于受试者:(a) 本文所述的任何抗MerTK mAb或抗原结合部分。和(b) 用于治疗癌症的其他治疗剂。在某些优选实施方案中,其他治疗剂是特异性结合PD-1或PD-L1的拮抗性Ab或其抗原结合部分。

[0040] 通过以下不应解释为限制的详述和实施例,本发明的其他特征和优点将变得显而易见。在本申请全文中引用的所有引用的参考文献的内容,包括科学文章、GenBank条目、专利和专利申请,均明确通过引用并入本文中。

[0041] 附图简述

[0042] 图1A-1C显示了与单独的抗PD-1 Ab治疗相比,小鼠抗mPD-1 Ab(4H2)和小鼠抗mMerTK Ab的组合对肿瘤生长的作用,如通过MC38小鼠结肠腺癌肿瘤模型中用Ab治疗的10只个体小鼠中肿瘤体积的变化测量:图1A,对照小鼠IgG1 Ab;图1B,抗小鼠PD-1 Ab(克隆4H2);图1C,抗PD-1 Ab和抗小鼠MerTK(克隆4E9) Ab的联合。在联合组中,10只小鼠中的七只被治愈了,即,显示出100%的肿瘤收缩,而使用单独的抗PD-1治疗的小鼠中没有一只被治愈。

[0043] 图2显示了通过用抗MerTK联合抗PD1治疗治愈的MC38小鼠对肿瘤再激发的抵抗力。所有七只再激发的小鼠对MC38肿瘤生长均有抵抗力。

[0044] 图3A-3H显示了与单独的抗PD-1 Ab治疗相比,抗小鼠PD-1 Ab(4H2)联合具有不同FcR效应子功能的不同小鼠抗mMerTK Ab(4E9和2D9)对肿瘤生长的作用,如通过MC38肿瘤模型中用Ab治疗的个体小鼠中的肿瘤体积变化所测量的:图1A,对照小鼠IgG1 Ab;图1B,抗mMerTK Ab(2D9-IgG1);图1C,抗mMerTK Ab(2D9-D265A);图1D,抗mMerTK Ab(4E9-D265A);图1E,抗mPD-1 Ab;图1F,抗mPD-1 Ab和抗mMerTK Ab(2D9-IgG1)的组合;图1G,抗mPD-1 Ab和抗mMerTK Ab(2D9-D265A)的组合;图1H,抗mPD-1 Ab和抗mMerTK Ab(4E9-D265A)的组合。不论FcR效应子功能是IgG1或是IgG1-D265A,使用两种不同的抗MerTK Ab观察到相似的功效。

[0045] 图4A-4D显示了在CT26小鼠结肠癌肿瘤模型中单独或联合使用的抗mPD-1 Ab(4H2)和抗mMerTK Ab对肿瘤生长的作用:图1A,对照小鼠IgG1 Ab;图1B,抗mPD-1 Ab;图1C,抗mMerTK Ab(4E9-IgG1);图1D,抗mPD-1 Ab和抗mMerTK Ab(4E9-IgG1)的组合。在接受联合治疗的小鼠中,10只中有四只小鼠被治愈,而用抗-MerTK和抗-PD-1 Ab单一疗法治疗的小鼠则分别没有被治愈和有一只被治愈。

[0046] 图5A-5D显示了在MC38肿瘤模型中单独或组合使用的抗mPD-1 Ab(4H2)和抗mMerTK Ab对肿瘤生长的作用:图1A,对照小鼠IgG1 Ab;图1B,抗mPD-1 Ab;图1C,抗mMerTK

抗体(16B9-D265A);图1D,抗mPD-1 Ab和抗mMerTK Ab(16B9-D265A)的组合。在接受联合治疗的小鼠中,10只小鼠中有七只被治愈,而分别使用抗MerTK和抗PD-1 Ab单一疗法治疗的小鼠则没有被治愈和一只被治愈。

[0047] 发明详述

[0048] 本发明涉及特异性结合MerTK的mAb,并涉及用于治疗患者癌症的方法,所述方法包括将抗MerTK Ab单独或结合抗癌剂(如免疫检查点抑制剂)施用于患者。

[0049] 术语

[0050] 为了可以更容易地理解本发明的公开内容,首先定义某些术语。如在本申请中使用的,除非本文另有明确规定,否则以下每个术语应具有以下阐述的含义。在整个申请中阐述了其他定义。

[0051] “施用”是指使用本领域技术人员已知的各种方法和递送系统中的任何一种,将治疗剂或包含治疗剂的组合物物理引入受试者中。治疗性Ab(如抗PD-1和抗MerTK Ab)的优选施用途径是静脉内施用。其他施用途径包括肌内、皮下、腹膜内或其他胃肠外施用途径,例如,通过注射或输注。如本文使用的短语“胃肠外施用”表示肠和局部施用以外的其他施用方式。施用也可以例如进行一次、多次和/或在一个或多个延长的时间段内进行。

[0052] “抗体”(Ab)应当包括,不限于,特异性结合抗原并包含由二硫键相互连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链的糖蛋白免疫球蛋白(Ig),或其抗原结合部分。每条H链包含重链可变区(在本文缩写为 V_H)和重链恒定区。IgG Ab的重链恒定区包括三个恒定结构域, C_{H1} 、 C_{H2} 和 C_{H3} 。每条轻链包含轻链可变区(在本文缩写为 V_L)和轻链恒定区。IgG Ab的轻链恒定区包括一个恒定结构域, C_L 。 V_H 和 V_L 区可以进一步细分成高变区,称为互补决定区(CDR),间插着更保守的称为框架区(FR)的区域。每个 V_H 和 V_L 包括三个CDR和四个FR,以以下顺序从氨基末端排列至羧基末端:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。已经使用多种方法来描绘Ab内的CDR结构域,包括Kabat、Chothia、AbM、contact和IMGT定义。Ab的恒定区可以介导Ig与宿主组织或因子的结合,包括免疫系统的各种细胞(例如,效应细胞)和经典补体系统的第一组分(C1q)。

[0053] Ig可以源自任何通常已知的同种型,包括但不限于IgA、分泌型IgA、IgG和IgM。IgG亚类也是本领域技术人员公知的并且包括但不限于人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。“同种型”是指由重链恒定区基因编码的Ab类别或亚类(例如,IgM、IgG1或IgG4)。术语“抗体”包括例如天然产生的和非天然产生的Ab、单克隆和多克隆Ab、嵌合和人源化Ab、人或非人Ab、完全合成的Ab和单链Ab。非人Ab可以通过重组方法部分或完全人源化,以降低其在人类中的免疫原性。在没有明确陈述的情况中,并且除非文中另外表示,术语“抗体”还包括上述任一种Ig的抗原结合片段或抗原结合部分,并且包括单价和二价片段或部分,和单链Ab。

[0054] “分离的”Ab是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他Ab的Ab(例如,分离的特异性结合MerTK的Ab基本上不含特异性结合MerTK以外的其他抗原的Ab,诸如结合Ax1或Tyro3的Ab)。然而,分离的特异性结合hMerTK的Ab可以与其他抗原具有交叉反应性,所述其他抗原如来自不同物种(如小鼠和食蟹猴)的MerTK多肽。此外,分离的Ab还表示纯化的以致基本上不含其他细胞材料和/或化学物质的Ab。

[0055] 术语“单克隆”Ab(mAb)是指单分子组成的Ab分子的非天然产生的制备物,即,一级序列基本相同的并且呈现出对特定表位的单一结合特异性和亲和性的Ab分子。mAb是分离

的Ab的实例。mAb可以通过本领域技术人员已知的杂交瘤、重组、转基因或其他技术来生产。

[0056] “嵌合”Ab是指其中可变区源自一个物种而恒定区源自另一个物种的Ab,如其中可变区源自小鼠Ab而恒定区源自人Ab的Ab。

[0057] “人”mAb (HuMAb) 是指具有其中框架和CDR区都源自人种系免疫球蛋白序列的可变区的mAb。此外,如果Ab含有恒定区,则恒定区也源自人种系免疫球蛋白序列。发明的人Ab可以包括不是由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。然而,如本文使用的,术语“人”Ab不意图包括其中源自另一个哺乳动物物种(如小鼠)种系的CDR序列已经嫁接到人框架序列上的Ab。术语“人”Ab和“完全人”Ab同义使用。

[0058] “人源化”mAb是指其中非人mAb的CDR结构域外的一些、大部分或全部氨基酸被相应的源自人免疫球蛋白的氨基酸替代的mAb。在人源化形式的Ab的一个实施方案中,CDR结构域外的一些、大部分或全部氨基酸已经被来自人免疫球蛋白的氨基酸替代,而一个或多个CDR区内的一些、大部分或全部氨基酸是未改变的。小的氨基酸添加、缺失、插入、取代或修饰是允许的,只要它们没有消除Ab结合特定抗原的能力。“人源化”Ab保留与原始Ab相似的抗原特异性。

[0059] “抗-抗原”Ab是指特异性结合抗原的Ab。例如,抗PD-1 Ab是特异性结合PD-1的Ab,而抗MerTK Ab是特异性结合MerTK的Ab。如本文使用的,“抗PD-1/抗PD-L1”Ab是用于破坏PD-1/PD-L1信号转导途径的Ab,其可以是抗PD-1Ab或抗PD-L1 Ab。

[0060] Ab的“抗原结合部分”(也称为“抗原结合片段”)是指保留了特异性结合由完整Ab结合的抗原的能力的一个或多个Ab片段。

[0061] Ab的“分箱(Binning)”是指确定抗原特异性Ab文库的表位结合特征的方法。分箱方法通常是基于使用诸如表面等离子共振(SPR)、酶联免疫测定(ELISA)或流式细胞术这样的技术测量Ab文库中每个Ab与其共同抗原的竞争性结合。为每个Ab创建相对于文库中其他Ab的竞争性阻断谱。使用参考Ab来定义Ab的分箱。如果第二Ab不能与参考抗体同时结合到抗原,则称第二Ab与参考抗体属于同一箱。相反,如果第二Ab能够与参考抗体同时结合抗原,则称第二Ab属于分开的箱。属于相同分箱的Ab通常结合抗原的相同表位区域,即它们可以结合相同或重叠的表位。但是,在某些情况下,同一分箱中的Ab可能结合分开的表位,但结合其表位的一个Ab在空间上阻碍了另一个Ab在其不同表位上的结合。属于不同箱的Ab通常结合分开的表位。

[0062] “癌症”指表征为异常细胞在身体中的不受控生长的多种疾病的一个大组。失调的细胞分裂和生长导致恶性肿瘤的形成,其可侵入邻近组织,也可以通过淋巴系统或血流转移至身体的远端部分。

[0063] “酪氨酸蛋白激酶Mer”(MerTK;在本领域中也称为例如原癌基因c-Mer、受体酪氨酸激酶MerTK或Mer跨膜受体酪氨酸激酶糖型)是Tyro3/Axl/Mer(TAM)受体酪氨酸激酶(RTK)家族中的跨膜蛋白。它在巨噬细胞、自然杀伤(NK)细胞、自然杀伤T(NKT)细胞和树突细胞(DC)上表达,并且在多种癌症中常常也过表达或被激活,所述癌症包括白血病、非小细胞肺癌、胶质母细胞瘤、黑色素瘤、前列腺癌、乳腺癌、结肠癌、胃癌、垂体腺瘤和横纹肌肉瘤。MerTK结合几种不同的配体、生长停滞特异性6(Gas6)蛋白、蛋白S、tubby、tubby-样蛋白1(Tulp1)和galectin-3,它们均诱导MerTK自磷酸化。如本文所用的术语“MerTK”包括人

MerTK (hMerTK), hMerTK的变体,同工型,物种同源物,如食蟹猴MerTK (cMerTK) 和小鼠MerTK (mMerTK), 以及具有至少一个与hMerTK的共同表位的类似物。完整的hMerTK、cMerTK和mMerTK氨基酸序列可分别在 **GENBANK®** 登录号NP_006334.2、XP_005575320.1和NP_032613.1下找到。

[0064] 术语“免疫疗法”是指通过包括诱导、增强、抑制或另外改变免疫应答的方法治疗患有疾病或处于感染疾病或遭受疾病复发的风险中的受试者。受试者的“治疗 (treatment)”或“疗法 (therapy)”是指是对受试者进行的任何类型的干预或过程,包括将活性剂施用于受试者,目的在于逆转、减轻、缓解、抑制、减缓或防止与疾病相关的症状、并发症或病症,或生物化学指标的发作、进展、发展、严重程度或复发。

[0065] “程序性死亡-1” (PD-1) 是指主要在体内之前激活的T细胞上表达的属于CD28家族的免疫抑制受体,并结合两种配体,PD-L1和PD-L2。如本文使用的,术语“PD-1”包括人PD-1 (hPD-1), hPD-1的变体、同工型和物种同系物,以及与hPD-1具有至少一个共同表位的类似物。完整的hPD-1序列可以在 **GENBANK®** 登录号No.U64863下找到。

[0066] “程序性死亡配体-1” (PD-L1) 是指结合PD-1时下调T细胞激活和细胞因子分泌的PD-1的两种细胞表面糖蛋白配体之一(另一种配体是PD-L2)。如本文使用的,术语“PD-L1”包括人PD-L1 (hPD-L1), hPD-L1的变体、同工型和物种同系物,以及与hPD-L1具有至少一个共同表位的类似物。完整的hPD-L1序列可以在 **GENBANK®** 登录号No.Q9NZQ7下找到。

[0067] “受试者”包括任何人类或非人动物。术语“非人动物”包括但不限于脊椎动物,如非人灵长类、绵羊、狗和啮齿动物,如小鼠、大鼠和豚鼠。在优选实施方案中,受试者是人类。术语“受试者”和“患者”在本文可互换使用。

[0068] 药物或治疗剂的“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是单独或联合另一种治疗剂使用时保护受试者对抗疾病发作或促进疾病消退的药物或活性剂的任何含量,所述疾病消退通过疾病症状严重程度降低、无疾病症状阶段的频率或持续时间的增加或对由于疾病折磨引起的损伤或残疾的预防或减少来证明。此外,关于治疗的术语“有效的”和“有效性”包括药理有效性和生理安全性。药理有效性是指药物促进患者疾病消退(例如,癌症消退)的能力。生理安全性是指可接受的毒性或由药物施用引起的在细胞、器官和/或生物体层面的其他不良生理作用(不良作用)的水平。可以使用熟练的从业人员已知的各种方法来评价治疗剂的效力,如在临床试验阶段中在人受试者中、在预测在人类中的效力的动物模型系统中,或通过在体外测定中测定活性剂的活性。

[0069] 作为肿瘤治疗的实例,治疗有效量的抗癌剂优选相对于未治疗的受试者将细胞生长或肿瘤生长抑制至少约20%,优选至少约40%,更优选至少约60%,甚至更优选至少约80%,并且再更优选约100%。在本发明的优选实施方案中,可以观察到肿瘤消退并且持续至少约30天,更优选至少约60天,或甚至更优选至少约6个月。尽管对治疗有效性进行了这些最终测量,但对免疫治疗药物的评估还必须允许“免疫相关”的反应模式。

[0070] “免疫相关”反应模式是指经常在接受免疫治疗剂治疗的癌症患者中观察到的临床反应模式,这些免疫治疗剂通过诱导癌症特异性免疫反应或通过改变天然免疫过程产生抗肿瘤作用。该反应模式的特征在于肿瘤负荷的最初增加或新病变的出现之后的有益的治疗效果,这在评估传统化学治疗剂中将被分类为疾病进展,并与药物治疗失败同义。因此,

对免疫治疗剂的正确评估可能需要长期监测这些活性剂对目标疾病的影响。

[0071] 药物的治疗有效量包括“预防有效量”，其是单独或联合另一种治疗剂施用于处于患病风险的（例如患有恶性前病变的受试者，其处于发展为癌症的风险中）或遭受疾病复发的受试者时，抑制了疾病（例如癌症）的发展或复发的任何药物含量。在优选实施方案中，预防有效量完全防止疾病的发展或复发。“抑制”疾病的发展或复发是指降低疾病的发展或复发的可能性，或完全防止疾病的发展或复发。

[0072] 选择性词（例如，“或”）的使用应当理解为表示选择对象中的任一个、两个或其任意组合。如本文使用的，不定冠词“一 (a)”或“一个 (an)”应当理解是指“一个或多个”任何所述的或列举的成分。

[0073] 术语“约”是指对于特定值、组成或特征在可接受误差范围内的数值、组成或特征，如通过本领域普通技术人员所确定的，其将部分取决于怎样测量或测定数值、组成或特征，即，测量系统的限制。例如，“约”可以表示表示正负20%的范围，更通常是正负10%的范围。在本申请和权利要求中提供特定的值、组成或特性时，除非另有说明，否则应将“约”的含义假定为在对于该特定的值、组成或特征的可接受误差范围内。

[0074] 术语“基本上相同的”或“实质上相同的”是指两个或更多个数值、组成或特征之间足够高的相似度，使得本领域技术人员认为这些值、组成或特征之间的差异在所测量的属性背景范围内具有很小的或没有生物学和/或统计学显著性。被测量的数值之间的差异可以例如小于约50%，优选地小于约30%，并且更优选地小于约10%。

[0075] 如本文所述的，任何浓度范围、百分比范围、比率范围或整数范围理解为包括所述范围内的任何整数值，并且合适时，包括其分数（如整数的十分之一和百分之一），除非另外指出。

[0076] 在以下分段中进一步详细地描述本发明的各个方面。

[0077] 抗MerTK mAb

[0078] 在某些实施方案中，本公开涉及分离的Ab，特别是mAb或其抗原结合部分，其特异性结合细胞表面上表达的MerTK。mAb与其结合的MerTK包括hMerTK，其序列如SEQ ID NO: 259所示；cMerTK，其序列如SEQ ID NO: 260所示；和/或mMerTK，其序列如SEQ ID NO: 261所示。

[0079] 通过抗MerTK mAb抑制胞葬作用

[0080] 巨噬细胞的胞葬作用有助于肿瘤微环境的免疫抑制和耐受 (Nguyen等, 2014; Akalu等人, 2017)，并且凋亡细胞清除中涉及的通路的抑制可能会增强抗肿瘤发生的反应。确实，已经证实了胞葬作用的阻断导致体内和体外免疫抑制因子的减少，以及增强的巨噬细胞介导的T细胞增殖 (Barker等, 2002; Bondanza等, 2004)。鉴于MerTK在介导胞葬作用中的关键作用，分离了抑制胞葬作用的拮抗性配体阻断性抗MerTK Ab (参见实施例2)，以评估此类Ab是否可增强上调T细胞反应的药剂 (如抗PD-1 Ab) 的抗肿瘤功效。胞葬作用的抑制剂还可以与在肿瘤微环境中诱导凋亡反应的疗法 (如某些化疗化合物和放射疗法) 协同作用 (Jinushi等, 2013)。

[0081] 所公开的发明的某些方面包括抑制由表达MerTK的细胞的胞葬作用的抗MerTK Ab或其抗原结合部分。在某些实施方案中，本发明的抗MerTK Ab或其抗原结合部分抑制由表达hMerTK的细胞的胞葬作用， IC_{50} 为约5nM或更低；优选约1nM或更低；或更优选约0.1nM或更

低。在某些实施方案中,抗MerTK Ab以约0.01nM至约1nM的 IC_{50} 抑制胞葬作用。在某些其他实施方案中,抗MerTK Ab以约0.01nM至约0.7nM的 IC_{50} 抑制胞葬作用。在某些优选的实施方案中,抗MerTK Ab以约0.04nM至约0.7nM的 IC_{50} 抑制胞葬作用。在更优选的实施方案中,抗MerTK Ab以约0.04nM至约0.1nM的 IC_{50} 抑制胞葬作用。这些 IC_{50} 值是基于实施例2中所述的测定方法。

[0082] 通过抗MerTK mAb抑制MerTK/配体信号转导

[0083] 在某些实施方案中,本发明的mAb或其抗原结合部分抑制Gas6与MerTK(例如,hMerTK)的结合,并抑制MerTK/Gas6信号转导。在某些实施方案中,抗MerTK Ab或其抗原结合部分抑制MerTK/Gas6信号转导, IC_{50} 为约50nM或更低;约10nM或更低;约5nM或更低;优选约1nM或更低;更优选约0.5nM或更低;甚至更优选约0.1nM或更低。在某些实施方案中,抗MerTK Ab以约0.01nM至约10nM的 IC_{50} 抑制MerTK/Gas6信号转导。在某些其他实施方案中,抗MerTK Ab以约0.05nM至约6nM的 IC_{50} 抑制MerTK/Gas6信号转导。在某些优选实施方案中,抗MerTK Ab以约0.08nM至约2nM的 IC_{50} 抑制MerTK/Gas6信号转导。在更优选的实施方案中,抗MerTK Ab以约0.2nM至约2nM的 IC_{50} 抑制MerTK/Gas6信号转导。这些 IC_{50} 值是基于实施例2中所述的测定方法。

[0084] 以高亲和力结合MerTK的抗MerTK mAb

[0085] 本发明的某些抗MerTK mAb以高亲和力结合MerTK。Ab通常以高亲和力特异性结合其同源抗原,通过 $1\mu\text{M}$ 至 10pM 或更低的解离常数(K_D)来反应。通常认为任何高于约 $100\mu\text{M}$ 的 K_D 表示是非特异性结合。如本文使用的,“特异性结合”抗原的IgG Ab是指以高亲和力与抗原和基本上相同的抗原结合的Ab,这表示具有约100nM或更低的 K_D ,优选约10nM或更低,更优选约5nM或更低,并且甚至更优选约50nM至0.1nM或更低,但不以高亲和力结合不相关的抗原。如果呈现出与给定抗原高度的序列同一性,例如,如果呈现出与给定抗原的序列至少80%,至少90%,优选至少95%,更优选至少97%,或甚至更优选至少99%的序列同一性,则抗原与给定抗原“基本上相同”。例如,特异性结合hMerTK的Ab还与来自某些灵长类物种的MerTK抗原具有交叉反应性,但与来自某些啮齿动物物种的MerTK抗原或除了MerTK以外的其他抗原(例如,Ax1或PD-1抗原)不交叉反应。

[0086] 如本文使用的,术语“ K_D ”旨在是指针对特定Ab-抗原相互作用的解离常数,其获自 k_{off} 与 k_{on} 的比例(即, $k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$),并且表示为摩尔浓度(例如,nM)。术语“ k_{on} ”是指Ab与其抗原相互作用结合的结合速率或“on速率”,而术语“ k_{off} ”是指Ab-抗原复合物的解离速率。可以使用本领域非常完善的方法如表面等离子体共振(SPR)或生物层干涉仪(BLI;ForteBio,Fremont,CA),来测定Ab的 K_D 值。通过不同方法确定的单个Ab的 K_D 值可能会发生很大的变化,例如,高达1000倍。因此,在比较不同Ab的 K_D 值时,重要的是使用相同的方法确定这些 K_D 值。在没有明确说明的地方,并且除非上下文另有说明,否则本文公开的Ab结合的 K_D 值是使用**BIACORE®**生物传感器系统(GE Healthcare,Chicago,IL)通过SPR测定的。

[0087] 在本发明公开的某些实施方案中,抗MerTK mAb或其抗原结合部分以以下KD结合人MerTK:约100nM,或约50nM,或更低;优选约10nM,或约5nM,或更低;更优选约1nM,或约0.5nM,或更低;并且甚至更优选约0.1nM,或约0.05nM,或更低。在某些实施方案中,抗MerTK mAb或其抗原结合部分以约100nM至约0.1nM的KD结合人MerTK。在某些优选实施方案中,KD为约50nM至约0.5nM。在更优选的实施方案中,抗MerTK mAb或其抗原结合部分以约10nM至

约1nM的KD结合人MerTK。在其他更优选的实施方案中，mAb或其抗原结合部分以约6nM至约2nM的KD结合人MerTK。

[0088] 在选择抗MerTK HuMAb中，针对与cMerTK的交叉反应性筛选结合hMerTK的杂交瘤。因此，本公开提供了以高亲和力特异性结合cMerTK的抗MerTK mAb或其抗原结合部分。在某些实施方案中，抗MerTK mAb或其抗原结合部分以以下 K_D 结合cMerTK：约100nM，或约50nM，或更低；优选约10nM，或约5nM，或更低；更优选约1nM，或约0.5nM，或更低；并且甚至更优选约0.1nM或更低。在某些实施方案中，抗MerTK mAb或其抗原结合部分以约100nM至约0.1nM的 K_D 结合cMerTK。在某些优选实施方案中，抗MerTK mAb或其抗原结合部分以约50nM至约0.5nM的 K_D 结合cMerTK。在更优选的实施方案中，抗MerTK mAb或其抗原结合部分以约10nM至约1nM的 K_D 结合cMerTK。在其他更优选的实施方案中，mAb或其抗原结合部分以约5nM至约1nM的 K_D 结合cMerTK。

[0089] 还产生了特异性结合mMerTK的MAb。因此，本公开提供了以以下 K_D 特异性结合mMerTK的mAb或其抗原结合部分：约100nM，或约50nM，或更低；优选约10nM，或约5nM，或更低；更优选约1nM，或约0.5nM，或更低；并且甚至更优选约0.1nM或更低。在某些实施方案中，抗MerTK mAb或其抗原结合部分以约100nM至约0.1nM的 K_D 结合mMerTK。在某些优选实施方案中，抗MerTK mAb或其抗原结合部分以约50nM至约0.5nM的 K_D 结合mMerTK。在更优选的实施方案中，抗MerTK mAb或其抗原结合部分以约10nM至约1nM的 K_D 结合mMerTK。在其他更优选的实施方案中，mAb或其抗原结合部分以约5nM至约1nM的 K_D 结合mMerTK。

[0090] 本文公开的某些抗MerTK mAb，例如，moMAb 2D9和4E9，及其人源化形式，2L105和4M60，以高亲和力与所有m-、h-和cMerTK交叉反应，即，特异性结合。其他mAb，例如，HuMAb 1B4、10K11、22I16、25J60、25J80、8N42和4K10与h-和cMerTK交叉反应，但不结合mMerTK。还有其他mAb，例如，moMAb 16B9，特异性结合mMerTK，但不结合h-和cMerTK。因此，本公开提供了与h-和cMerTK两者交叉反应的抗MerTK mAb或其抗原结合部分；与h-和mMerTK两者交叉反应的抗MerTK mAb或其抗原结合部分；以及与h-、c-和mMerTK交叉反应的抗MerTK mAb或其抗原结合部分。在某些实施方案中，抗MerTK或其抗原结合部分以以下 K_D 特异性结合h-、c-和mMerTK中的每一种：约70nM或更低，优选约50nM至约1nM；并且更优选约25nM至约3nM。在某些其他实施方案中，抗MerTK mAb或其抗原结合部分以以下 K_D 特异性结合至少h-和cMerTK两者：约70nM或更低；优选约50nM至约1nM；并且更优选约25nM至约2nM。

[0091] 抗MerTK mAb的分箱以及这些Ab与特异性表位的结合

[0092] 使用hMerTK的分箱实验鉴定了3个已经分配了MerTK Ab的表位箱。将经分箱的大部分抗MerTK HuMAb (13个中11个) 分配给了箱1。通过氢-氘交换质谱 (HDX-MS) 和/或酵母展示进行的表位作图将箱1的表位映射到hMerTK的第一个Ig结构域，根据特定的克隆，在跨越大约氨基酸105至165的线性区域内。本公开了提供了特异性结合hMerTK上的箱1表位的mAb，或其抗原结合部分。在某些实施方案中，箱1表位位于跨越大约氨基酸残基105至165的区域内的hMerTK的第一个Ig结构域中，如通过酵母展示和/或氢-氘交换质谱 (HDX-MS) 表位作图确定的。在某些其他实施方案中，箱1表位位于跨越大约氨基酸126至155的hMerTK的区域内，如通过HDX-MS表位作图测定的。在更多实施方案中，如通过HDX-MS表位作图测定的，箱1表位包括氨基酸残基126至155中的至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、十个、二十个或全部。

[0093] 将分箱的抗MerTK HuMab之一,25B10,分配给箱2。将抗-hMerTK HuMab优化以减轻序列负担(liabilities)、增强结合亲和力并还原为种系氨基酸(实施例2)后,由mAb 25B10衍生了多个mAb,其中mAb 25J60和25J80包括在表1和表2中。MoMAbs 2D9和4E9及其人源化变体2L105和4M60也分别分配给箱2。通过HDX-MS和/或酵母展示进行的表位作图将箱2表位作图于hMerTK的第二个Ig结构域,根据特定的克隆,在跨越大约氨基酸195至270的线性区域内。

[0094] 所公开的发明包括分离的Ab,优选mAb,或其抗原结合部分,其特异性结合hMerTK上的箱2表位。在某些实施方案中,箱2表位位于跨越大约氨基酸残基195至270的区域内的hMerTK的第二个Ig结构域中,如通过酵母展示和/或HDX-MS表位作图确定的。在某些其他实施方案中,箱2表位位于跨越大约氨基酸残基231至249(²³¹WVQNSSRVNEQPEKSPSVL²⁴⁹)的hMerTK的区域内,如通过HDX-MS表位作图确定的。在更多实施方案中,箱2表位包括氨基酸残基N234、S236、R237、E240、Q241、P242和G269中的一个、两个、三个、四个、五个、六个或全部,如通过酵母展示表位作图确定的。在某些优选实施方案中,箱2表位包括氨基酸残基N234、S236、R237、E240、Q241、P242和G269。在其他实施方案中,箱2表位包括氨基酸残基231至249中的至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、十个或全部和氨基酸残基G269,如通过HDX-MS和酵母展示表位作图确定的。

[0095] 箱1和箱2表位区域与基于Gas6/Ax1晶体结构的同源性建模的配体阻断相一致。但是,使用与箱1或箱2表位结合的代表性mAb对食蟹猴进行初步毒理学研究的结果表明结合箱1表位的两种不同mAb会对猴子造成严重的不良反应,特别是周围神经病变,而结合箱2表位的mAb耐受性良好。因此,结合箱2表位的抗MerTK mAb似乎对于治疗用途是优选的。在优选实施方案中,抗MerTK mAb结合箱2表位。

[0096] 将分箱的单个抗MerTK HuMab分配给箱3。本公开提供了特异性结合hMerTK上的箱3表位的Ab,优选mAb,或其抗原结合部分。在某些实施方案中,箱3表位位于跨越大约氨基酸残基420至490的区域内的hMerTK的Fn结构域中,如通过酵母展示和/或HDX-MS表位作图确定的。

[0097] 与参照Ab交叉竞争结合MerTK的抗MerTK mAb

[0098] 所公开发明的范围内还包括分离的Ab,优选mAb,或其抗原结合部分,其特异性结合细胞表面上表达的hMerTK并与参照Ab或其参照抗原结合部分交叉竞争结合hMerTK。一对Ab“交叉竞争”结合抗原(例如,MerTK)的能力表明第一Ab与第二Ab结合基本上相同的抗原表位区并在空间上阻碍第二Ab与特定表位区的结合,并且反之,第二Ab与第一Ab结合基本上相同的抗原表位区并在空间上阻碍第一Ab结合该表位区。因此,测试Ab竞争性地抑制例如mAb 2L105与hMerTK的结合证明了测试Ab与mAb 2L105结合基本上相同的人PD-1的表位区。

[0099] 如果第一Ab将第二Ab与抗原的结合降低了至少约40%,则认为第一Ab与第二Ab结合“基本上相同的表位”。优选地,第一Ab将第二Ab与抗原的结合降低超过约50%(例如,至少约60%或至少约70%)。在更优选的实施方案中,第一Ab将第二Ab与抗原的结合降低超过约70%(例如,至少约80%,至少约90%,或约100%)。第一和第二Ab的顺序可以颠倒,即,“第二”Ab可以是首先结合到表面,而此后将“第一”在“第二”Ab存在下接触表面。如果观察到与抗原结合的竞争性降低,与其中将Ab添加至固定化抗原的顺序无关,则认为Ab“交叉竞

争”。

[0100] 由于结合基本上相同的抗原表位区(如MerTK受体),预期交叉竞争Ab具有与参照Ab特性非常相似的功能特性。交叉竞争的程度越高,功能特性就越相似。例如,如果两个交叉竞争的Ab各自抑制彼此与表位的结合至少约80%,则预期它们具有实质上相同的功能特性。如果按竞争解离常数(K_D)测量,交叉竞争的Ab对于结合表位呈现出相似的亲和力,则预期这种功能的相似性甚至更接近。

[0101] 可以使用重组抗原分子或细胞表面表达的抗原分子,在标准抗原结合测定(包括**BIACORE®**分析、ELISA测定或流式细胞术)中基于其可检测地竞争的能力来容易地鉴定交叉竞争抗抗原Ab。例如,一种简单的用来确定测试Ab是否与HuMAb 25J80竞争结合人MerTK的竞争测定可以涉及:(1)测量以饱和浓度施加的25J80与其上固定了人MerTK的**BIACORE®**芯片(或其他适用于SPR分析的合适介质)的结合,和(2)测量25J80与人MerTK包被的之前已经结合了测试Ab的**BIACORE®**芯片(或其他合适的介质)的结合。比较了测试Ab存在和不存在的条件下,25J80与MerTK-1包被的表面的结合。在测试Ab存在的情况下,25J80的结合显著(例如,超过约40%)降低,表明两种Ab识别基本上相同的表位,使得它们竞争结合MerTK靶标。第一Ab与抗原的结合被第二Ab抑制的百分比可以计算为: $[1 - (\text{检测到的第二Ab存在时第一Ab的结合}) / (\text{检测到的第二Ab不存在时第一Ab的结合})] \times 100$ 。为了确定Ab是否交叉竞争,重复竞争性结合测定,除了在25J80存在的情况下,测量测试Ab与MerTK包被的芯片的结合。

[0102] 本文公开的任何抗MerTK Ab可以作为交叉竞争测定中的参照Ab。在某些实施方案中,参照Ab包括:

[0103] (a) 包含具有SEQ ID NO:217、221、225、229、233、237、241、245、249、253、255或257所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H ;和

[0104] (b) 包含具有SEQ ID NO:218、222、226、230、234、238、242、246、250、254、256或258所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0105] 在更多实施方案中,参照Ab或其参照抗原结合部分包括:

[0106] (a) 包含具有SEQ ID NO:217所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:218所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0107] (b) 包含具有SEQ ID NO:221所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:222所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0108] (c) 包含具有SEQ ID NO:225所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:226所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0109] (d) 包含具有SEQ ID NO:229所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:230所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0110] (e) 包含具有SEQ ID NO:233所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:234所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0111] (f) 包含具有SEQ ID NO:237所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:238所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0112] (g) 包含具有SEQ ID NO:241所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ

ID NO:242所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0113] (h) 包含具有SEQ ID NO:245所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:246所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0114] (i) 包含具有SEQ ID NO:249所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:250所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0115] (j) 包含具有SEQ ID NO:253所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:254所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0116] (k) 包含具有SEQ ID NO:255所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:256所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;或

[0117] (l) 包含具有SEQ ID NO:257所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:258所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L 。

[0118] 结构限定的抗MerTK mAb

[0119] 本公开还提供了分离的Ab, 优选mAb, 或其抗原结合部分, 其特异性结合细胞表面上表达的hMerTK, 并包含CDR1、CDR2和CDR3结构域, 在以下每个中:

[0120] (a) 包含具有SEQ ID NO:217所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:218所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0121] (b) 包含具有SEQ ID NO:221所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:222所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0122] (c) 包含具有SEQ ID NO:225所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:226所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0123] (d) 包含具有SEQ ID NO:229所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:230所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0124] (e) 包含具有SEQ ID NO:233所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:234所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0125] (f) 包含具有SEQ ID NO:237所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:238所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0126] (g) 包含具有SEQ ID NO:241所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:242所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0127] (h) 包含具有SEQ ID NO:245所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:246所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0128] (i) 包含具有SEQ ID NO:249所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:250所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0129] (j) 包含具有SEQ ID NO:253所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:254所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

[0130] (k) 包含具有SEQ ID NO:255所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:256所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;或

[0131] (l) 包含具有SEQ ID NO:257所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:258所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L 。

[0132] 已经开发了不同的方法来描绘Ab内的CDR结构域。除了广泛使用的Kabat定义, 已

经使用其他定义以寻求解决Kabat定义的缺陷,包括Chothia、AbNum、AbM、contact和IMGT定义。

[0133] Kabat和同事(Wu和Kabat,1970;Kabat等,1983)的方法是基于这样的假设:CDR包括Ab中变化最大的位置,并且因此可以通过比对当时可用的相当有限数量的Ab序列进行鉴定。基于这种比对,Kabat等介绍了一种针对高变区中的残基的编号方案,并确定了哪个位置标记每个CDR的开始和结尾(<http://bioinf.org.uk/abs/simkab.html>)。

[0134] Chothia定义是基于对少量Ab结构的分析,以确定Ab序列与其CDR的结构环区域之间的关系(Chothia等,1987;1989;Al-Lazikani等,1997;<http://bioinf.org.uk/abs/chothia.html>)。确定了FR和CDR的边界,并且后者已经显示出基于CDR和侧翼FR中关键位置上某些残基的存在而采用受限的构象集。所得到的Chothia编号方案几乎与Kabat方案相同,但是基于结构的考虑,将插入放置在 V_L CDR1和 V_H CDR1中的不同位置。随着更多实验数据的获得,CDR的边界一直在进行重新分析和重新定义。Abhinandan和Martin(2008)在结构范围中分析了Ab序列比对,并发现了手动注释的Kabat数据库中大约10%的序列包含错误或不一致。他们提出了Chothia方案的校正版本,其在结构上校正了整个CDR和框架,并开发了以自动且可靠的方式适用于Kabat、Chothia和改进的Chothia编号的软件工具(AbNum;可从<http://www.bioinf.org.uk/abs/abnum/>获得)。另一种方法,即AbM定义,代表了Kabat和Chothia定义之间的折衷,并通过Oxford Molecular Group's AbM Ab建模软件来使用([http://www.bioinf.org.uk/abs](http://www.bioinf.org.uk/abs;);Martin等,1989)。

[0135] contact定义是基于对Protein Data Bank(<http://bioinf.org.uk/abs/>;MacCallum等,1996)中可用的复杂晶体结构中Ab和抗原之间的接触的分析。

[0136] 定义CDR的最新尝试是IMGT数据库的(Lefranc等(2003;<http://www.imgt.org>)),其收集有关Ig、T细胞受体(TcR)和主要组织相容性复合体(MHC)分子的核苷酸序列信息。它基于比对5000多个Ig和TcR可变区序列,提出了一个统一的用于Ig和TcR序列的编号系统。

[0137] 已经使用Kabat、Chothia和IMGT定义(参见表3-14)描绘了本文公开的抗MerTK mAb的CDR。对于任何给定的mAb,可以使用表3-14中所示的Kabat、Chothia和IMGT定义及其任何组合来鉴定CDR。因此,本公开提供了分离的Ab,优选mAb,其包含与表3-14中所示的CDR序列相对应的六个CDR组。

[0138] 例如,基于mAb 1B4,本公开提供了分离的Ab,优选mAb,或其抗原结合部分,其包含以下如Kabat、Chothia和/或IMGT方法定义的CDR结构域:

[0139] (a) 包含具有SEQ ID NO:1-3任一所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR1;

[0140] (b) 包含具有SEQ ID NO:4-6任一所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR2;

[0141] (c) 包含具有SEQ ID NO:7-9任一所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR3;

[0142] (d) 包含具有SEQ ID NO:10-12任一所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR1;

[0143] (e) 包含具有SEQ ID NO:13-15任一所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR2;和

[0144] (f) 包含具有SEQ ID NO:16-18任一所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0145] 本公开还提供了分离的Ab, 优选mAb, 或其抗原结合部分, 其包含以下通过IMGT方法定义的CDR结构域:

[0146] (a) 包含具有SEQ ID NO:3所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR1;

[0147] (b) 包含具有SEQ ID NO:6所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR2;

[0148] (c) 包含具有SEQ ID NO:9所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR3;

[0149] (d) 包含具有SEQ ID NO:12所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR1;

[0150] (e) 包含具有SEQ ID NO:15所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR2; 和

[0151] (f) 包含具有SEQ ID NO:18所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0152] 作为另一个实例, 基于mAb 25J80, 本公开提供了分离的Ab, 优选mAb, 或其抗原结合部分, 其包含以下通过Kabat、Chothia和/或IMGT方法定义的CDR结构域:

[0153] (a) 包含具有SEQ ID NO:73-75任一所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR1;

[0154] (b) 包含具有SEQ ID NO:76-78任一所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR2;

[0155] (c) 包含具有SEQ ID NO:79-81任一所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR3;

[0156] (d) 包含具有SEQ ID NO:82-84任一所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR1;

[0157] (e) 包含具有SEQ ID NO:85-87任一所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR2; 和

[0158] (f) 包含具有SEQ ID NO:88-90任一所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0159] 本公开还提供了分离的Ab, 优选mAb, 或其抗原结合部分, 其包含以下通过IMGT方法定义的CDR结构域:

[0160] (a) 包含具有SEQ ID NO:73所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR1;

[0161] (b) 包含具有SEQ ID NO:76所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR2;

[0162] (c) 包含具有SEQ ID NO:79所示序列的连续连接的氨基酸的重链可变区CDR3;

[0163] (d) 包含具有SEQ ID NO:82所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR1;

[0164] (e) 包含具有SEQ ID NO:85所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR2; 和

[0165] (f) 包含具有SEQ ID NO:88所示序列的连续连接的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0166] 尽管是在没有可用的关于Ab的结构信息时开发出来的, 但Kabat定义是最常用的预测CDR结构域的方法。在没有明确说明的情况下, 并且除非上下文另有说明, 否则本文公开的CDR已经使用Kabat定义进行了定义。

[0167] 所公开的发明还包括分离的Ab, 优选mAb, 或其抗原结合部分, 其特异性结合细胞表面上表达的hMerTK, 其中分离的Ab或其抗原结合部分包含:

[0168] (a) 包含具有SEQ ID NO:217所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:218所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;

- [0169] (b) 包含具有SEQ ID NO:221所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:222所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;
- [0170] (c) 包含具有SEQ ID NO:225所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:226所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;
- [0171] (d) 包含具有SEQ ID NO:229所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:230所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;
- [0172] (e) 包含具有SEQ ID NO:233所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:234所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;
- [0173] (f) 包含具有SEQ ID NO:237所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:238所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;
- [0174] (g) 包含具有SEQ ID NO:241所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:242所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;
- [0175] (h) 包含具有SEQ ID NO:245所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:246所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;
- [0176] (i) 包含具有SEQ ID NO:249所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:250所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;
- [0177] (j) 包含具有SEQ ID NO:253所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:254所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;
- [0178] (k) 包含具有SEQ ID NO:255所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:256所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L ;或
- [0179] (l) 包含具有SEQ ID NO:257所示序列的连续连接的氨基酸的 V_H 和包含具有SEQ ID NO:258所示序列的连续连接的氨基酸的 V_L 。
- [0180] 本发明进一步包括分离的Ab, 优选mAb, 或其抗原结合部分, 其特异性结合细胞表面上表达的hMerTK, 其中分离的Ab或其抗原结合部分包含:
- [0181] (a) 包含具有SEQ ID NO:219所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:220所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;
- [0182] (b) 包含具有SEQ ID NO:223所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:224所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;
- [0183] (c) 包含具有SEQ ID NO:227所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:228所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;
- [0184] (d) 包含具有SEQ ID NO:231所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:232所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;
- [0185] (e) 包含具有SEQ ID NO:235所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:236所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;
- [0186] (f) 包含具有SEQ ID NO:239所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:240所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;
- [0187] (g) 包含具有SEQ ID NO:243所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:244所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;
- [0188] (h) 包含具有SEQ ID NO:247所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ

ID NO:248所示序列的连续连接的氨基酸的轻链;或

[0189] (i) 包含具有SEQ ID NO:251所示序列的连续连接的氨基酸的重链和包含具有SEQ ID NO:252所示序列的连续连接的氨基酸的轻链。

[0190] 包含具有与上述任何抗MerTK Ab的氨基酸序列高度相似或同源的氨基酸序列的 V_H 和 V_L 区的并且保留这些Ab的功能特性的抗MerTK抗体也适用于本发明的方法。例如,合适的Ab包括包含 V_H 和 V_L 区的mAb,每个 V_H 和 V_L 区包含具有分别与SEQ ID No.245和/或246所示氨基酸序列至少80%相同的序列的连续连接的氨基酸。在更多实施方案中,例如, V_H 和/或 V_L 氨基酸序列分别呈现出与SEQ ID No.245和/或246所示序列的至少85%,90%,95%或99%的同一性。如本文所用的,两个氨基酸序列之间的序列同一性百分比是该序列相对于所比较的序列的长度共有的相同位置数的函数(即,%同一性=相同位置数/总位置数 \times 100),考虑了任何缺口的数目以及每个这样的缺口的长度,引入以最大化两个序列之间的序列同一性的程度。可以使用本领域普通技术人员公知的数学算法来完成序列的比较和确定两个序列之间的同一性百分比。

[0191] 在某些实施方案中,分离的抗MerTK Ab或其抗原结合部分包含其是人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型的重链恒定区。在某些优选实施方案中,重链恒定区是人IgG4同种型的。在其他优选实施方案中,分离的抗MerTK Ab或其抗原结合部分是人IgG1同种型的。在某些实施方案中,分离的抗MerTK Ab是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型的全长Ab。在更多实施方案中,全长Ab是IgG1或IgG4同种型的。

[0192] 抗MerTK Ab的功能性抗原结合部分

[0193] 本公开提供的抗MerTK Ab除了全长Ab以外还包括抗原结合片段。已经充分证明了Ab的抗原结合功能可以通过全长Ab的片段来执行。术语Ab的“抗原结合部分”内涵盖的结合片段的实例包括:(i) Fab片段,由 V_L , V_H , C_L 和 C_{H1} 结构域组成的单价片段;(ii) $F(ab')_2$ 片段,在铰链区通过二硫键连接的两个Fab片段组成的二价片段;(iii) 由 V_H 和 C_{H1} 结构域组成的Fd片段;(iv) 由Ab单臂的 V_L 和 V_H 结构域组成的Fv片段;(v) 单结构域Ab(sdAb)或纳米抗体,由Ab的单个单体可变结构域组成。除常规Ab外,骆驼科动物(如骆驼、羊驼和美洲驼)和软骨鱼类(如鲨鱼和鳐)还包含由重链同型二聚体组成的重链Ab(hcAb)的子集,所述重链同型二聚体包含三个CDR,但缺乏轻链。第一种sdAb最初是从骆驼科动物(这些被称为 V_HH 片段)或软骨鱼(V_{NAR} 片段)中发现的hcAb工程化而成的,但也可以通过分裂来自常规Ab的二聚可变结构域来产生。除衍生自重链可变结构域的sdAb外,衍生自轻链的纳米抗体也已显示出选择性地结合特定的抗原。

[0194] Ab片段,最初通过用酶(如木瓜蛋白酶和胃蛋白酶)的蛋白水解获得,随后工程化成单价和多价抗原结合片段。例如,尽管Fv片段的两个结构域, V_L 和 V_H ,通过分开的基因编码,但它们可以使用重组方法通过合成的接头肽连接在一起,所述合成的接头肽能够使它们制成单个蛋白链,其中 V_L 和 V_H 区配对形成称为单链可变片段(scFv)的单价分子。可以通过连接单个肽链内的两个scFv来工程化二价或双价scFv(二-scFv或双-scFv),称为串联scFv,其含有两个 V_H 和两个 V_L 区。可以使用少于10个氨基酸的接头肽来形成scFv二聚体和高阶多聚体,少于10个氨基酸的肽接头对于两个可变区折叠在一起太短,这迫使scFv二聚化并产生双体抗体(diabody)或形成其他多聚体。双体抗体已经显示出以高于相应scFv高得多的亲和力结合其同源抗原,解离常数比scFv的 K_D 值低40倍。非常短的接头(\leq 3氨基酸)导

致三价三链抗体 (triabody) 或四价四链抗体 (tetrabody) 的形成, 其呈现出比双体抗体更高的针对其抗原的亲合力。其他变体包括迷你抗体 (minibodies), 其是 scFv-C_{H3} 二聚体, 和较大的 scFv-Fc 片段 (scFv-C_{H2}-C_{H3} 二聚体), 并且甚至分离的 CDR 可以呈现出抗原结合功能。使用本领域技术人员已知的常规重组技术对这些 Ab 片段工程化, 并针对实用性以与完整 Ab 相同的方式来筛选片段。Ab 及相关变体的所有上述蛋白水解和工程化片段 (对于更多详细内容, 参见 Hollinger 和 Hudson, 2005; Olafsen 和 Wu, 2010) 均包含在术语 Ab 的“抗原结合部分”内。

[0195] 在所公开发明的某些方面中, 分离的抗 MerTK Ab 的抗原结合部分是 Ab 片段或单链 Ab。在某些实施方案中, Ab 片段选自 Fab、F(ab')₂、Fd 和 Fv 片段、sdAb、单链可变片段 (scFv)、二价 scFv (二-scFv) 和双价 scFv (双-scFv)、双抗、迷你抗体和 CDR。在某些优选实施方案中, Ab 片段选自 Fab、F(ab')₂、Fd 和 Fv 片段, 以及单链可变片段 (scFv)。

[0196] 在某些实施方案中, 分离的抗 MERTK Ab 或其抗原结合部分是人 Ab 或其片段。在其他实施方案中, 是人源化 Ab 或其片段。在更多实施方案中, 是嵌合 Ab 或其片段。在其他实施方案中, 分离的抗 MERTK Ab 或其抗原结合部分是小鼠 Ab 或其片段。对于施用于人受试者, Ab 优选是嵌合 Ab, 或更优选, 人源化或人 Ab。这样的嵌合、人源化、人或小鼠 mAb 可以通过本领域公知的方法来制备和分离。

[0197] 抗 MerTK 免疫缀合物

[0198] 在另一个方面中, 本发明涉及连接治疗剂 (如细胞毒素或放射性同位素) 的本文公开的任一种分离的抗 MerTK Ab, 或其抗原结合部分。这样的缀合物在本文中称为“免疫缀合物”。可以使用本领域可利用的接头技术, 将细胞毒素与本发明的 Ab 缀合。用于制备放射性免疫缀合物的方法在本领域中也已建立。

[0199] 双特异性分子

[0200] 在另一个方面中, 本发明涉及包含连接具有不同于抗 MerTK mAb 或其抗原结合部分的结合特异性的结合结构域的本文公开的任一种分离的抗 MerTK Ab 或其抗原结合部分的双特异性分子。所述结合结构域可以是功能性分子, 例如, 另一种 Ab, 或 Ab 的抗原结合部分, 或受体的配体, 使得所产生的双特异性分子结合至少两个不同的结合位点或靶分子。

[0201] 编码抗 MerTK Ab 的核酸和表达 Ab 的用途

[0202] 本公开的另一个方面涉及编码本发明的分离的抗 MerTK Ab 的核酸。本公开提供了分离的编码本文所述的任何抗 MerTK Ab 或其抗原结合部分的核酸。“分离的”核酸是指显著不同的核酸物质组成, 即, 具有与存在于自然界的核酸截然不同的化学身份、性质和效用。例如, 分离的 DNA, 与天然 DNA 不同, 是天然 DNA 的独立部分, 而不是自然界中发现的较大结构复合物染色体的组成部分。此外, 与天然 DNA 不同, 分离的 DNA 可以用作 PCR 引物或杂交探针, 特别是用于测量基因表达和检测生物标志物基因或突变以诊断疾病或预测治疗剂的功效。使用本领域公知的标准技术, 也可以纯化分离的核酸以使其基本上不含其他细胞组分或其他污染物, 例如其他细胞核酸或蛋白质。

[0203] 可以使用标准分子生物学技术获得本发明的核酸。对于由杂交瘤表达的 Ab (例如, 如实施例 1 中所述的, 从携带人 Ig 基因的转基因小鼠制备的杂交瘤), 可以通过标准 PCR 扩增技术获得编码由杂交瘤产生的 Ab 的轻链和重链或可变区的 cDNA。一旦获得了编码 V_H 和 V_L 片段的 DNA 片段, 就可以使用标准重组 DNA 技术进一步操纵这些 DNA 片段, 例如, 将可变区 DNA 转

换成全长Ab链基因、Fab片段基因或scFv基因。对于从Ig基因库获得的Ab(例如,使用噬菌体展示技术),可以从该库中回收编码Ab的核酸。

[0204] 本发明的核酸可以是例如RNA或DNA,如cDNA或基因组DNA。在优选的实施方案中,核酸是cDNA。

[0205] 本公开还提供了表达载体,其包含编码抗MerTK Ab或其抗原结合部分的分离核酸。本公开进一步提供了包含所述表达载体的宿主细胞。真核细胞,且最优选哺乳动物宿主细胞,优选作为用于表达Ab的宿主细胞,因为这种真核细胞,且特别是哺乳动物细胞,比原核细胞更可能装配和分泌正确折叠且具有免疫活性的Ab。用于表达本发明的重组Ab的优选哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞(Kaufman和Sharp,1982)、NS0骨髓瘤细胞、COS细胞和SP2细胞。

[0206] 宿主细胞可以用于制备抗MerTK mAb或其抗原结合部分的方法中,所述方法包括在宿主细胞中表达mAb或其抗原结合部分并从宿主细胞分离mAb或其抗原结合部分。宿主细胞可以离体或在体内使用。可以将编码Ab重链和轻链的DNA插入分开的表达载体,或更常见地,将两者都插入同一载体中。通过将编码这些可变区的DNA插入已经编码所需同种型的重链和轻链恒定区的表达载体中,Ab的 V_H 和 V_L 区段可用于形成任何同种型的全长Ab,使得 V_H 区段可操作地连接载体内的一个或多个 C_H 区段,并且 V_K 区段与载体内的 C_L 区段可操作地连接。

[0207] 本发明的另一个方面涉及包括人Ig重链和轻链转基因的转基因小鼠,其中小鼠表达本文公开的任何抗MerTK HuMAb。本发明还包括从所述小鼠制得的杂交瘤,其中所述杂交瘤产生HuMAb。

[0208] 适用于所公开的治疗方法中的抗MerTK Ab

[0209] 适用于本文公开的方法中的抗MerTK Ab是以高特异性和亲和力特异地结合细胞表面上表达的MerTK的分离的Ab,优选mAb或其抗原结合部分。在某些优选实施方案中,抗MerTK Ab与hMerTK和cMerTK两者交叉反应,这促进了Ab在食蟹猴中的毒理学研究。在某些实施方案中,抗MerTK Ab与hMerTK、cMerTK和mMerTK交叉反应。在某些实施方案中,抗MerTK Ab或其抗原结合部分抑制Gas6与MerTK的结合并抑制MerTK/Gas6信号转导。在某些优选实施方案中,抗MerTK Ab或其抗原结合部分抑制由表达MerTK的细胞的胞葬作用。在某些实施方案中,抗MerTK Ab或其抗原结合部分结合位于跨越大约氨基酸105至165的区域内的hMerTK的表位、位于跨越氨基酸195至270的区域内的表位或位于跨越大约氨基酸420至490的区域内的表位。在某些优选实施方案中,抗MerTK Ab或其抗原结合部分结合位于跨越大约氨基酸195至270的区域内的hMerTK的表位,或更具体地位于跨越大约氨基酸231至249的区域内的表位。在其他优选实施方案中,抗MerTK Ab或其抗原结合部分结合包含残基N234、S236、R237、E240、Q241、P242和G269中的至少一个、两个、三个、四个、五个、六个或全部的hMerTK的表位。再在其他优选实施方案中,抗MerTK Ab或其抗原结合部分在降低体内癌细胞生长中与检查点抑制剂(如抗-PD-1/抗-PD-L1 Ab)协同相互作用。如果这些Ab组合的抗肿瘤功效大于每个Ab单独显示的抗肿瘤功效之和,则在本文中认为Ab是协同相互作用的。

[0210] 尽管本文主要使用抗PD-1 Ab证明了抗MerTK Ab和检查点抑制剂联合治疗的功效,但已鉴定出几种其他调节T细胞应答的共刺激性和抑制性受体和配体。刺激性受体的实例包括诱导性T细胞共刺激物(ICOS)、CD137(4-1BB)、CD134(OX40)、CD27、糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白(GITR)和疱疹病毒进入介体(HVEM),而抑制性受体除PD-1/PD-L1以外,包

括细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4 (CTLA-4)、B和T淋巴细胞衰减剂 (BTLA)、T细胞免疫球蛋白和粘蛋白结构域3 (TIM-3)、淋巴细胞激活基因3 (LAG-3)、杀伤免疫球蛋白样受体 (KIR)、腺苷A2a受体 (A2aR)、杀伤细胞凝集素样受体G1 (KLRG-1)、自然杀伤细胞受体2B4 (CD244)、CD160、具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体 (TIGIT) 以及T细胞激活的V结构域Ig抑制剂的受体 (VISTA) (Mellman等, 2011; Pardoll, 2012; Baitsch等, 2012)。这些受体及其配体为设计用于刺激免疫反应或预防免疫反应的抑制从而攻击肿瘤细胞的治疗剂提供了靶标 (Weber, 2010; Mellman等, 2011; Pardoll, 2012)。刺激性受体或受体配体被激动剂靶向, 而抑制性受体或受体配体被阻断剂靶向。因为许多免疫检查点是由配体-受体相互作用引发的, 所以它们很容易被Ab阻断或受重组形式的配体或受体调节。除PD-1/PD-L1以外, 一种或多种调节T细胞反应的共刺激性和抑制性受体和配体可提供与本文公开的抗MerTK Ab协同作用以抑制肿瘤生长的靶标。确实, 在抗免疫治疗的小鼠4T1乳腺癌模型中使用抗MerTK Ab, 4E9和CTLA4阻断剂的组合以及在CT26和MC38小鼠同源肿瘤模型中使用抗OX40和抗GITR激动剂Ab已证明具有协同的抗肿瘤功效 (数据未显示)。

[0211] 本公开提供了某些抗-MerTK-1 mAb, 它们可有效增强检查点抑制剂 (例如抗-PD-1) 的抗肿瘤功效, 并呈现出至少一种、几种或所有以下所需的特征: (a) 通过SPR (**BIACORE®**) 分析测定的, 以约100nM或更低的 K_D , 优选以约50nM或更低的 K_D 结合hMerTK和cMerTK; (b) 基本上不与人Ax1或Tyro3结合; (c) 以约1nM或更低 IC_{50} 抑制由表达MerTK的细胞的胞葬作用; (d) 以约10nM或更低, 优选约1nM或更低的 IC_{50} 抑制Gas6与MerTK的结合并抑制hMerTK/Gas6信号转导; (e) 抑制体内肿瘤细胞生长; 和 (f) 在降低体内癌细胞生长中, 与检查点抑制剂 (如抗PD-1/抗PD-L1 Ab) 协同相互作用。可用于本文所述的治疗方法、组合物或药盒中的某些抗MerTK抗体包括以高亲和力特异性结合hMerTK并呈现出至少三个, 并且优选全部前述特征的mAb。

[0212] 适用于所公开的治疗方法中的抗PD-1/抗PD-L1 Ab

[0213] 适用于本文公开的癌症治疗方法、组合物或药盒中的抗PD-1 Ab包括分离的Ab, 优选mAb或其抗原结合部分, 其以高特异性和亲和力结合PD-1, 阻断PD-L1和/或PD-L2与PD-1的结合, 并抑制PD-1信号转导途径的免疫遏制作用。相似地, 适用于这些方法中的抗PD-L1 Ab是分离的Ab, 优选mAb或其抗原结合部分, 其以高特异性和亲和力结合PD-L1, 阻断PD-L1与PD-1和CD80 (B7-1) 的结合, 并抑制PD-1信号转导途径的免疫遏制作用。在本文公开的任何疗法方法中, 抗PD-1或抗PD-L1 Ab包括分别结合PD-1受体或PD-L1配体的抗原结合部分或片段, 并且在抑制受体-配体结合和逆转T细胞活性抑制由此上调免疫应答中呈现出与完整Ab的那些相似的功能特性。

[0214] 抗PD-1 Ab

[0215] 以高亲和力特异性结合PD-1的mAb已公开于美国专利No. 8, 008, 449中。其他抗PD-1 mAb已描述于例如美国专利No. 7, 488, 802、8, 168, 757、8, 354, 509和9, 205, 148。美国专利No. 8, 008, 449中公开的抗PD-1 mAb已证明了呈现以下的几个或全部特征: (a) 以约50nM或更低的 K_D 结合人PD-1, 如通过SPR (**BIACORE®**) 生物传感器系统测定的; (b) 基本上不结合人CD28、CTLA-4或ICOS; (c) 在混合淋巴细胞反应 (MLR) 测定中提高T-细胞增殖、干扰素- γ 产生和IL-2分泌; (d) 结合人PD-1和食蟹猴PD-1; (e) 抑制PD-L1和PD-L2与PD-1的结

合；(f) 释放Treg细胞对CD4⁺CD25⁻T细胞的增殖和干扰素- γ 产生强加的抑制；(g) 刺激抗原特异性记忆应答；(h) 刺激Ab应答；和(i) 抑制体内肿瘤细胞生长。在所公开的治疗方法、组合物或药盒中有用的抗PD-1 Ab包括以高亲和力特异性结合人PD-1并呈现至少五个和优选全部前述特征的mAb。例如，适用于本文公开的治疗方法中的抗PD-1 Ab (a) 以约10nM至0.1nM的K_D结合人PD-1，如通过SPR (**BIACORE®**) 生物传感器系统测定的；(b) 在MLR测定中提高T细胞增殖、干扰素- γ 产生和IL-2分泌；(c) 抑制PD-L1和PD-L2与PD-1的结合；(d) 逆转Treg对CD4⁺CD25⁻T细胞的增殖和干扰素- γ 产生强加的抑制；(e) 刺激抗原特异性记忆应答；和(f) 抑制体内肿瘤细胞生长。

[0216] 其他抗PD-1 mAb已经描述于例如美国专利No.6,808,710、7,488,802、8,168,757、8,354,509和9,987,500,美国公开No.2016/0272708和PCT公开No.WO 2008/156712、WO 2012/145493、WO 2014/179664、WO 2014/194302、WO 2014/206107、WO 2015/035606、WO 2015/085847、WO 2015/112900、WO 2016/106159、WO 2016/197367、WO 2017/020291、WO 2017/020858、WO 2017/024465、WO 2017/024515、WO 2017/025016、WO 2017/025051、WO 2017/040790、WO 2017/106061、WO 2017/123557、WO 2017/132827、WO 2017/133540,将每篇全部按引用并入本文中。

[0217] 在某些实施方案中,抗PD-1 mAb选自纳武单抗 (**OPDIVO®**; 之前称为5C4、BMS-936558、MDX-1106或ONO-4538)、派姆单抗 (**KEYTRUDA®**; 之前称为lambrolizumab和MK-3475; 参见WO 2008/156712A1)、PDR001 (参见WO 2015/112900)、MEDI-0680 (之前称为AMP-514; 参见WO 2012/145493)、REGN-2810 (参见WO 2015/112800)、JS001 (参见Liu和Wu, 2017)、BGB-A317 (参见WO 2015/035606和US 2015/0079109)、INCSHR1210 (SHR-1210; 参见WO 2015/085847; Liu和Wu, 2017)、TSR-042 (ANB011; 参见WO 2014/179664)、GLS-010 (WBP3055; 参见Liu和Wu, 2017)、AM-0001 (参见WO 2017/123557)、STI-1110 (参见WO 2014/194302)、AGEN2034 (参见WO 2017/040790) 和MGD013 (参见WO 2017/106061)。

[0218] 在本文所述的包括施用抗PD-1 Ab的任何治疗方法的某些优选实施方案中,所述抗PD-1 Ab是已被美国食品和药物管理局(FDA)批准的用于治疗多种不同癌症的纳武单抗 (**OPDIVO®**)。纳武单抗是选择性地防止与PD-1配体(PD-L1和PD-L2)相互作用的完全人IgG4 (S228P) PD-1免疫检查点抑制剂Ab,从而阻断抗肿瘤T细胞功能的下调(在美国专利NO.8,008,449中描述为mAb C5; Wang等, 2014)。在其他优选实施方案中,抗PD-1 Ab是派姆单抗 (**KEYTRUDA®**; 针对PD-1的人源化单克隆IgG4 Ab,并在美国专利No.8,354,509中描述为h409A11),其也已被批准用于多种癌症适应症。

[0219] 可用于所公开的方法、组合物或药盒中的抗PD-1 Ab还包括特异性结合人PD-1 (hPD-1) 并与本文所述的任一抗PD-1 Ab (例如: 纳武单抗(5C4; 参见, 例如, 美国专利No.8,008,449; WO 2013/173223) 和派姆单抗) 交叉竞争结合人PD-1的分离抗体, 优选mAb。可以在标准PD-1结合测定(如**BIACORE®**分析、ELISA测定或流式细胞术)中容易地鉴定出与参照Ab(如纳武单抗或派姆单抗)交叉竞争结合抗原(在这种情况下为人PD-1)的Ab(参见, 例如, WO 2013/173223)。在某些实施方案中,抗PD-1 Ab结合与本文所述的任何抗PD-1抗体(例如纳武单抗或派姆单抗)相同的表位。

[0220] 可用于所公开的发明的方法中的抗PD-1抗体还包括抗原结合部分,包括Fab、F(ab')₂、Fd或Fv片段、sdAb、scFv、di-scFv或bi-scFv、双体抗体、迷你抗体和分离的CDR(对于更多详细信息,参见Hollinger和Hudson,2005年;Olafsen和Wu,2010年)。

[0221] 在某些实施方案中,分离的抗PD-1 Ab或其抗原结合部分包含其是人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型的重链恒定区。在某些优选实施方案中,抗PD-1 Ab或其抗原结合部分包含其是人IgG4同种型的重链恒定区。在其他实施方案中,抗PD-1 Ab或其抗原结合部分是人IgG1同种型的。在某些其他实施方案中,抗PD-1 Ab或其抗原结合部分的IgG4重链恒定区含有S228P突变(使用Kabat系统编号;Kabat等,1983),其用通常在IgG1同种型Ab的相应位置上发现的脯氨酸残基代替铰链区中的丝氨酸残基。该突变存在于纳武单抗中,防止Fab臂与内源性IgG4 Ab交换,同时保留了激活与野生型IgG4 Ab相关的Fc受体的亲和力(Wang等,2014)。再在其他实施方案中,Ab包含其是人κ或λ恒定区的轻链恒定区。

[0222] 在本方法的其他实施方案中,抗PD-1 Ab或其抗原结合部分是mAb或其抗原结合部分。为了施用于人受试者,抗PD-1 Ab优选是嵌合Ab,或更优选是人源化或人Ab。这样的嵌合、人源化或人mAb可以通过本领域众所周知的方法来制备和分离,例如,如美国专利No.8,008,449中所述的。

[0223] 抗PD-L1 Ab

[0224] 因为抗PD-1和抗PD-L1靶向相同的信号转导途径,并且已在临床试验中显示出在各种癌症中呈现出相当水平的功效(参见,例如Brahmer等,2012;WO 2013/173223),在本文公开的联合疗法方法中,抗PD-L1 Ab可以代替抗PD-1 Ab。

[0225] 适用于所公开的方法、组合物或药盒中的抗PD-L1 Ab是分离的Ab,其以高特异性和亲和力结合PD-L1,阻断PD-L1与PD-1和CD80的结合,并抑制PD-1信号转导途径的免疫遏制作用。在美国专利No.7,943,743中已经公开了以高亲和力特异性结合PD-L1的mAb。其他抗PD-L1 mAb已经描述于例如美国专利No.8,217,149、8,779,108、9,175,082、9,624,298和9,938,345以及PCT公开号WO 2012/145493中。已证明美国专利No.7,943,743中公开的抗PD-1 HuMAb呈现出以下的一个或多个特征:(a)以约50mM或更低的K_D结合人PD-1,如通过SPR测定的(**BIACORE®**);(b)在MLR测定中增加T细胞增殖、干扰素-γ产生和IL-2分泌;(c)刺激Ab应答;(d)抑制PD-L1与PD-1的结合;和(e)逆转Treg对T细胞效应细胞和/或树突细胞的遏制作用。用于本文公开的治疗方法中的抗PD-L1 Ab包括分离的Ab,优选mAb,其以高亲和力特异性结合人PD-L1并表现出至少一个,在一些实施方案中,至少三个,优选全部,前述特征。例如,适用于这些方法中的抗PD-L1 Ab(a)以约50mM至0.1mM的K_D结合人PD-1,如通过表面等离子体共振(**BIACORE®**)测定的;(b)在MLR测定中增加T细胞增殖、γ干扰素产生和IL-2分泌;(c)抑制PD-L1与PD-1和CD80的结合;和(d)逆转Treg对T细胞效应细胞和/或树突细胞的遏制作用。

[0226] 用于本发明方法中的合适的抗PD-L1 Ab是BMS-936559(之前为MDX-1105;在美国专利No.7,943,743中指定为12A4)。其他合适的抗PD-L1抗体包括阿妥珠单抗(**TECENTRIQ®**;之前称为RG7446和MPDL3280A;在美国专利No.8,217,149中指定为YW243.55S70;也请参见Herbst等,2014)、德瓦鲁单抗(**IMFINZI®**;之前称为MEDI-

4736;在美国专利No.8,779,108中指定为2.14H90PT)、阿维单抗 (**BAVENCIO®**;以前称为MSB-0010718C;在美国专利No.9,624,298中指定为A09-246-2)、STI-A1014(在美国专利No.9,175,082中指定为H6)、CX-072(参见WO 2016/149201)、KN035(参见Zhang等,2017)、LY3300054(参见,例如,WO 2017/034916)和CK-301(参见Gorelik等,2017)。

[0227] 适用于所公开的方法、组合物或药盒中的抗PD-L1 Ab还包括特异性结合人PD-L1的以及参照Ab交叉竞争结合人PD-L1的分离Ab,所述参照Ab可以是本文公开的任一抗PD-L1 Ab,例如BMS-936559(12A4;参见,例如,美国专利No.7,943,743;WO 2013/173223)、阿妥珠单抗、德瓦鲁单抗、阿维单抗或STI-A1014。Ab与参照Ab交叉竞争结合人PD-L1的能力证明了这样的Ab与参照Ab结合相同的PD-L1表位区域,并通过其结合基本上相同的PD-L1的表位区,预期与参照Ab具有极为相似的功能特性。在一些实施方案中,抗PD-L1Ab结合与本文所述的任何抗PD-L1 Ab相同的表位,例如阿妥珠单抗、德瓦鲁单抗、阿维单抗或STI-A1014。可以在本领域技术人员众所周知的标准PD-L1结合测定(如**BIACORE®**分析、ELISA测定或流式细胞术)中基于与参照Ab(如阿妥珠单抗或阿维单抗)交叉竞争的能力,容易地鉴定出交叉竞争的Ab(参见例如WO 2013/173223)。

[0228] 在某些优选的实施方案中,用于本发明方法中的分离抗PD-L1 Ab是mAb。在其他实施方案中,尤其是对于施用于人受试者,这些Ab优选是嵌合Ab,或更优选是人源化或人Ab。嵌合、人源化或人mAb可以通过本领域众所周知的方法来制备和分离,例如,如美国专利No.7,943,743中所述的。

[0229] 在某些实施方案中,抗PD-L1 Ab或其抗原结合部分包括其是人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型的重链恒定区。在某些其他实施方案中,抗PD-L1 Ab或其抗原结合部分是人IgG1或IgG4同种型的。在更多实施方案中,抗PD-L1 Ab或其抗原结合部分的IgG4重链恒定区的序列含有S228P突变。在其他实施方案中,Ab包含其是人 κ 或 λ 恒定区的轻链恒定区。

[0230] 本发明的抗PD-L1 Ab还包括以上Ab的抗原结合部分,包括Fab、F(ab')₂、Fd、Fv和scFv、二-scFv或双-scFv、以及scFv-Fc片段、纳米抗体、双体抗体、三链抗体、四链抗体和分离的CDR,其结合PD-L1并在受体结合和上调免疫系统中呈现出与完整Ab的那些相似的功能性质。

[0231] 治疗方法

[0232] 用抗MerTK Ab作为单一疗法的癌症治疗

[0233] 本公开提供了一种用于治疗罹患癌症的受试者的方法,包括将治疗有效量的本文公开的任一种抗MerTK Ab、免疫缀合物或双特异性分子,或包含任一种所述的抗MerTK Ab、免疫缀合物或双特异性分子的药物组合物施用于受试者,使得受试者得到治疗。

[0234] 本公开还提供了一种用于抑制受试者中的肿瘤细胞生长的方法,包括将治疗有效量的本文公开的任一种抗MerTK Ab、免疫缀合物或双特异性分子,或包含所述任一种所述的抗MerTK Ab、免疫缀合物或双特异性分子的药物组合物施用于受试者,使得受试者中的肿瘤细胞的生长得到抑制。

[0235] 如实施例6-8中所述的,三种不同的抗MerTK moMAb,2D9、4E9和16B9,在MC38和CT26结肠腺癌肿瘤模型中只显示出轻微的肿瘤生长抑制,但在这些模型中与抗PD-1 Ab联合时显示出非常强有力的抗肿瘤活性(参见实施例4-8)。因此,在某些生理环境中,与检查

点抑制剂(如抗PD-1 Ab)联合时,抗MerTK Ab在抑制肿瘤生长中显示出比使用抗MerTK Ab的单一疗法有效得多。

[0236] 用抗MerTK Ab结合另一种抗癌剂治疗癌症

[0237] 本公开提供了一种用于治疗罹患癌症的受试者的方法,包括向受试者施用治疗有效量的:(a)本文公开的任一种抗MerTK Ab、免疫缀合物或双特异性分子,或包含任一种所述的抗MerTK Ab、免疫缀合物或双特异性分子的药物组合物;(b)用于治疗癌症的其他治疗剂,使得受试者得到治疗。

[0238] 本公开还提供了用于一种用于抑制受试者中的肿瘤细胞生长的方法,包括向受试者施用治疗有效量的:(a)本文公开的任一种抗MerTK Ab、免疫缀合物或双特异性分子,或包含任一种所述的抗MerTK抗体、免疫缀合物或双特异性分子的药物组合物;(b)用于治疗癌症的其他治疗剂,使得受试者中的肿瘤细胞的生长得到抑制。

[0239] 在本发明任何方法的某些优选实施方案中,受试者是人患者。在其他优选实施方案中,抗MerTK Ab抑制由表达MerTK的巨噬细胞的胞葬作用。在进一步的实施方案中,MerTK Ab结合hMerTK的箱2表位。

[0240] 在某些实施方案中,其他治疗剂是降低免疫系统抑制的化合物。例如,其他治疗剂可以是小分子化合物、大环肽、融合蛋白或Ab。在更多实施方案中,所述的其他治疗剂是特异性结合PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG-3、BTLA、TIM-3、KIR、KLRG-1、A2aR、TIGIT、VISTA受体、CD244或CD160的拮抗性Ab。在其他实施方案中,其他治疗剂是特异性结合ICOS、CD137、CD134、CD27、GITR或HVEM的激动性Ab。实施例4-8中呈现的数据证实了MerTK介导的胞葬作用的抑制带来了肿瘤微环境中提高的抗原呈递、共刺激和促炎性细胞因子产生,由此使肿瘤对T细胞相关的免疫治疗敏感的假设。在某些优选的实施方案中,其他治疗剂是特异性结合PD-1的拮抗性Ab或其抗原结合部分。在其他优选实施方案中,其他治疗剂是特异性结合PD-L1的拮抗性Ab或其抗原结合部分。在更多实施方案中,其他治疗剂是特异性结合CTLA-4的拮抗性Ab或其抗原结合部分。

[0241] 通过所公开的方法可治疗的癌症

[0242] 依赖于利用免疫系统的几乎无限的灵活性来攻击和破坏癌细胞的免疫肿瘤学可用于治疗非常广泛的癌症(参见,例如,Yao等,2013;Callahan等,2016;Pianko等,2017;Farkona等,2016;Kamta等,2017)。抗PD-1 Ab,纳武单抗,已经在许多不同类型的癌症治疗中显示出有效性(参见,例如,Brahmer等,2015;Guo等,2017;Pianko等,2017;WO 2013/173223),并且目前在多种实体和血液学癌症中进行临床试验。因此,所公开的使用MerTK受体的阻断或PD-1和MerTK受体的双重阻断的方法适用于治疗多种实体和液体肿瘤。

[0243] 可治疗的多种癌症

[0244] 因为本文公开的癌症治疗方法中使用的Ab不直接靶向癌细胞,而是通过PD-1信号转导途径和MerTK介导的胞葬作用的双重阻断来靶向并增强免疫系统,促进增强的免疫系统攻击和破坏癌细胞,因此这些Ab适用于治疗多种癌症。纳武单抗在治疗多种癌症中的有效性已经得到了证明,证据是这种药批准用于治疗晚期黑素瘤、晚期非小细胞肺癌、转移性肾细胞癌、经典霍奇金淋巴瘤、晚期头颈鳞状细胞癌、转移性尿路上皮癌、MSI-H或dMMR转移性结直肠癌、肝细胞癌和小细胞肺癌(Drugs.com-Opdivo Approval History:<https://www.drugs.com/history/opdivo.html>),并有许多其他癌症正在进行临床试验。类似的,抗

PD-L1药物,如阿妥珠单抗(**TECENTRIQ®**)、德瓦鲁单抗(**IMFINZI®**)和阿维单抗(**BAVENCIO®**)已在各种适应症中获得批准。因此,使用本文公开的抗MerTK Ab,并且尤其是抗MerTK和抗PD-1/PD-L1 Ab的组合可以治疗多种不同的癌症。所证明的这种联合治疗剂的高效力使得可以专注于因未满足的医疗需求困扰的癌症。

[0245] 在某些实施方案中,所公开的联合治疗方法可以用于治疗其是实体肿瘤的癌症。在罹患快速进展的疾病的患者中或在使用检查点抑制剂治疗时快速进展的患者中,其需要立即消除肿瘤并且免疫原性增强可以证明是有效的,本发明组合特别有效。因此,在某些实施方案中,实体瘤是选自小细胞肺癌(SCLC)、鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)、非鳞状NSCLC和三阴性乳腺癌(TNBC)的癌症。

[0246] 本发明的抗MerTK Ab和检查点抑制剂(如抗PD-1/PD-L1 Ab)的组合在其中化疗和/或放疗是关键治疗方式并且其中需要促进持续的抗肿瘤免疫的疾病的早期阶段中也是有效的。在某些实施方案中,实体肿瘤是选自食道癌、胃癌、直肠癌、非小细胞肺癌(NSCLC)和头颈鳞状细胞癌(SCCHN)的癌症。

[0247] 在某些其他实施方案中,将包括抗MerTK Ab的联合治疗用于治疗巨噬细胞含量高的不发炎的肿瘤,以增强肿瘤免疫原性并促进炎症反应。例如,所述组合可用于治疗选自胰腺导管腺癌(PDAC)、转移性去势抗性前列腺癌(mCRPC)和多形胶质母细胞瘤(GBM)的实体瘤。

[0248] 在某些其他实施方案中,实体肿瘤选自黑素瘤、肾癌、NSCLC、结直肠癌、胃癌、膀胱癌和胶质母细胞瘤。

[0249] 在某些其他实施方案中,实体肿瘤是选自SCLC、NSCLC、鳞状NSCLC、非鳞状NSCLC、鳞状细胞癌、胰腺癌(PAC)、胰腺导管腺癌(PDAC)、卵巢癌、宫颈癌、输卵管癌,子宫(内膜)癌、子宫内膜癌、子宫肉瘤、子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、尿道癌、输尿管癌、前列腺癌、转移性去势抗性前列腺癌(mCRPC)、睾丸癌、阴茎癌、膀胱癌、乳腺癌、三阴性乳腺癌(TNBC)、男性乳腺癌、生殖细胞瘤、肉瘤、皮肤癌、基底细胞癌、鳞状细胞癌、默克尔细胞癌、骨癌、黑素瘤、头颈癌、头颈鳞状细胞癌(SCCHN)、甲状腺癌、口腔癌、嘴癌、唾液腺癌、喉癌、食道癌、胃肠道癌、胃癌、小肠癌、胆囊和胆管癌、结直肠癌、结肠癌,直肠癌、肛门癌、肝癌,肝细胞癌、肾癌、肾细胞癌、内分泌系统癌、胸腺肿瘤、胸腺瘤、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、间皮瘤、肾盂癌、中枢神经系统肿瘤(CNS)、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊髓轴肿瘤、脑癌、神经胶质瘤、脑干神经胶质瘤、胶质母细胞瘤、多形胶质母细胞瘤(GBM)、神经母细胞瘤、垂体腺瘤、表皮样癌、儿童期实体瘤、小儿肉瘤、横纹肌肉瘤、转移性癌,原发性未知的癌、环境诱发的癌、病毒相关的癌症、艾滋病相关的癌症、卡波济肉瘤、病毒起源的癌症,晚期、难治性和/或复发性实体瘤,以及前述实体瘤的任何组合。在某些实施方案中,癌症是晚期、不可切除、转移性、难治性癌症和/或复发性癌症。

[0250] 在某些实施方案中,本发明的联合治疗方法可以用于治疗是血液系统恶性肿瘤的癌症。血液系统恶性肿瘤包括源自两个主要血细胞系的液体肿瘤,即,骨髓细胞系(其产生粒细胞、红细胞、血小板、巨噬细胞和肥大细胞)或淋巴样细胞系(其产生B、T、NK和浆细胞),包括所有类型的白血病、淋巴瘤和骨髓瘤。可以使用本发明的联合治疗方法的血液系统恶性肿瘤包括,例如,选自急性淋巴母细胞白血病(ALL)、急性粒细胞性白血病(AML)、慢性淋

巴细胞性白血病 (CLL)、慢性髓性白血病 (CML)、霍奇金淋巴瘤 (HL)、非霍奇金淋巴瘤 (NHL)、多发性骨髓瘤、阴燃骨髓瘤、意义未定的单克隆丙种球蛋白病 (MGUS)、晚期、转移性、难治性和/或复发性血液学恶性疾病,以及所述血液学恶性疾病的任何组合的癌症。

[0251] 在其他实施方案中,血液学恶性肿瘤是选自急性、慢性、淋巴细胞性(淋巴母细胞性)和/或骨髓性白血病,如ALL、AML、CLL和CML;淋巴瘤,如HL、NHL,其中约85%是B细胞淋巴瘤,包括弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL)、滤泡性淋巴瘤 (FL)、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)/小淋巴细胞性淋巴瘤 (SLL)、套细胞淋巴瘤、边缘区B细胞淋巴瘤(黏膜相关淋巴样组织 (MALT) 淋巴瘤、结节边缘区B细胞淋巴瘤和脾边缘区B细胞淋巴瘤)、伯基特淋巴瘤、淋巴浆细胞样淋巴瘤 (LPL;也称为 **Waldenström** 巨球蛋白血症 (WM))、毛细胞淋巴瘤和原发性中枢神经系统 (CNS) 淋巴瘤,是T细胞淋巴瘤的NHL,包括前体T淋巴母细胞淋巴瘤/白血病,T淋巴母细胞淋巴瘤/白血病 (T-Lbly/T-ALL),外周T细胞淋巴瘤,如皮肤T细胞淋巴瘤 (CTLC,即蕈样真菌病,Sezary综合征等),成人T细胞淋巴瘤/白血病,血管免疫母细胞T细胞淋巴瘤,结节外天然杀伤/T细胞淋巴瘤鼻型,与肠病相关的肠T细胞淋巴瘤 (EATL),间变性大细胞淋巴瘤 (ALCL) 和未明确的外周T细胞淋巴瘤,急性髓细胞样淋巴瘤,淋巴浆细胞样淋巴瘤,单核细胞样B细胞淋巴瘤,血管中心性淋巴瘤,肠T细胞淋巴瘤,原发性纵隔B细胞淋巴瘤,移植后淋巴增生性疾病,真性组织细胞淋巴瘤,原发性渗出性淋巴瘤,弥漫性组织细胞淋巴瘤 (DHL),免疫母细胞性大细胞淋巴瘤和前体B淋巴母细胞淋巴瘤;骨髓瘤,如多发性骨髓瘤,阴燃骨髓瘤(也称为无痛性骨髓瘤),意义未定的单克隆丙种球蛋白病 (MGUS),孤立性浆细胞瘤,IgG骨髓瘤,轻链骨髓瘤,非分泌性骨髓瘤和淀粉样变性;以及所述血液学恶性疾病的任何组合。本发明的方法还适用于治疗晚期、转移性、难治性和/或复发性血液学恶性肿瘤。

[0252] 抗MerTK和抗PD-1/抗PD-L1 Ab的医学用途

[0253] 如上所述,本公开提供了分离的抗MerTK Ab,优选mAb或其抗原结合部分,用于治疗罹患癌症的受试者的方法中。本公开进一步提供了分离的抗MerTK Ab,优选mAb或其抗原结合部分,和检查点抑制剂,如分离的抗PD-1/抗PD-L1 Ab,优选mAb或其抗原结合部分,联合用于治疗罹患癌症的受试者的方法中,所述方法包括胞葬作用和检查点通路(例如,PD-1/PD-L1信号转导通路)的双重阻断。抗MerTK Ab可以用作单一疗法或联合检查点抑制剂(如抗PD-1/抗PD-L1 Ab),用于治疗本文公开的所有范围的癌症。

[0254] 所公开的发明的一个方面需要本发明的分离的抗MerTK Ab或其抗原结合部分在制备用于治疗罹患癌症的受试者的药物中的用途。抗MerTK Ab可单独使用或联合检查点抑制剂(如分离的抗PD-1/抗PD-L1 Ab或其抗原结合部分),用于制备治疗癌症患者的药物。任何这样的抗MerTK Ab和抗PD-1/抗PD-L1 Ab在制备药物中的用途广泛适用于本文公开的所有癌症。

[0255] 本公开还提供了抗MerTK Ab或其抗原结合部分联合检查点抑制剂(如分离的抗PD-1/抗PD-L1 Ab或其抗原结合部分),用于治疗癌症的方法中,所述方法对应于使用本文描述的这种治疗剂组合的治疗方法的所有实施方案。

[0256] 药物组合物和剂量方案

[0257] 本文公开的任何疗法方法中使用的Ab可以构成组合物,例如,药物组合物,其含有Ab和药学上可接受的载体。如本文使用的,“药学上可接受的载体”包括生理上相容的任何

和全部溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂等。优选,用于含有Ab的组合物的载体适用于静脉内(IV)、肌内、皮下(SC)、胃肠外、脊髓或表皮施用(例如,通过注射或输注)。

[0258] SC注射的选择基于Halozyme Therapeutics的**ENHANZE®**药物递送技术,其涉及将Ab与重组人透明质酸酶(rHuPH20)共同配制,从而消除了由于胞外基质传统上对可皮下递送的生物制剂和药物体积的限制(美国专利No.7,767,429)。还可以将联合疗法中使用的两种Ab共同配制成用于SC施用的单一组合物。

[0259] 本发明的药物组合物可以包括一种或多种药学上可接受的盐、抗氧化剂、水性和非水性载体和/或佐剂,如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。

[0260] 剂量方案可以调节,以提供最佳的所需应答,例如,最大的治疗应答和/或最小的副作用。对于抗MerTK、抗PD-1或抗PD-L1 Ab或其抗原结合部分的施用,包括联合使用,剂量范围可以为约0.01至约20mg/kg受试者体重,优选约0.1至约10mg/kg受试者体重。例如,剂量可以为约0.1,0.3,1,2,3,5或10mg/kg体重,并且更优选,约0.3,1,3或10mg/kg体重。或者,可以施用固定剂量或平剂量,例如,约50-2000mg Ab或其抗原结合部分,替代基于体重的剂量。给药时间表通常设计成基于Ab的典型药代动力学特性获得导致持续的受体占用(RO)的暴露。示例性治疗方案需要每周一次,每2周一次,每3周一次,每4周一次,每月一次,每3-6月或更长时间一次。在某些优选实施方案中,约每2周一次,将抗MerTK、抗PD-1或抗PD-L1 Ab或其抗原结合部分施用于受试者。在其他优选实施方案中,每3周一次施用Ab或其抗原结合部分。剂量和时间表在治疗过程期间可以改变。

[0261] 联合使用时,可以使用一种或两种Ab的亚治疗剂量,例如抗MerTK、抗PD-1和/或抗PD-L1 Ab或其抗原结合部分的剂量低于典型或批准的单一疗法剂量。例如,将低于批准剂量每2周3mg/kg的纳武单抗的剂量,例如,每2、3或4周1.0mg/kg或更少,视为亚治疗剂量。15名给药0.3mg/kg至10mg/kg纳武单抗的受试者的RO数据表明了在这个剂量范围内,PD-1的占用似乎非剂量依赖的。在所有剂量下,平均占用率为85%(范围为70%至97%),平均平台占用率为72%(范围为59%至81%)(Brahmer等,2010)。因此,0.3mg/kg的剂量可以允许足够的暴露以导致显著的生物活性。

[0262] 在小鼠肿瘤模型中观察到的抗MerTK和抗PD-1/抗PD-L1 Ab或其抗原结合部分之间的协同相互作用可以允许以亚治疗剂量给癌症患者施用这些治疗剂中的一种或两种。在所公开的联合疗法方法的某些实施方案中,将抗MerTK Ab或其抗原结合部分以亚治疗剂量施用于癌症患者。在其他实施方案中,将抗PD-1/抗PD-L1 Ab或其抗原结合部分以亚治疗剂量施用于患者。在进一步的实施方案中,抗PD-1/抗PD-L1和抗MerTK Ab或其抗原结合部分各自以亚治疗剂量施用于患者。

[0263] 与在单一疗法中使用更高剂量的单个Ab相比,这种亚治疗剂量的一种或两种Ab的施用可以减少不良事件。因此,所公开的联合疗法方法的成功不仅可以通过Ab组合相对于使用这些Ab的单一疗法的疗效提高来衡量,而且可以通过使用相对于单一疗法剂量的联合药物的较低剂量而提高的安全性(即,降低的不良事件的发生率)来衡量。

[0264] 在本文公开的任何方法的某些实施方案中,抗MerTK、抗PD-1和/或抗PD-L1 Ab配制用于静脉内(IV)施用或皮下(SC)注射。在某些实施方案中,将抗MerTK Ab或其抗原结合部分和抗PD-1/抗PD-L1 Ab或其抗原结合部分按序施用于受试者。“按序”施用表示抗MerTK

和抗PD-1/抗PD-L1 Ab中的一种在另一种之前施用。任一种Ab可以先施用；即，在某些实施方案中，抗PD-1/抗PD-L1 Ab可以在抗MerTK Ab前施用，而在其他实施方案中，抗MerTK Ab在抗PD-1/抗PD-L1 Ab之前施用。在某些实施方案中，每种Ab通过IV输注施用，例如，通过在约60分钟的时间段中输注。在其他实施方案中，至少一种Ab通过SC注射来施用。

[0265] 在按序IV施用的某些实施方案中，为了患者的方便，抗MerTK和抗PD-1/抗PD-L1 Ab或其部分彼此在30分钟内施用。通常，抗MerTK和抗PD-1/抗PD-L1 Ab两者在同一天通过IV施用递送时，对于每次输注，使用分开的输注袋和过滤器。在开始输注第二种Ab前，第一种Ab输注后及时用盐水冲洗以清洗Ab线。在其他实施方案中，两种Ab彼此在1、2、4、8、24或48h内施用。

[0266] 至少一种Ab通过SC施用的递送缩短了施用所需的健康护理操作者的时间并缩短了药物施用的时间。例如，使用SC注射可以缩短IV施用所需的时间，通常为约30-60min，缩短至约5min。在按序SC施用的某些实施方案中，抗MerTK和抗PD-1/抗PD-L1 Ab或其部分彼此在10min内施用。

[0267] 因为检查点抑制剂Ab已经显示出产生非常持久的应答，这部分是由于免疫系统的记忆成分引起的（参见，例如，WO2013/173223；Lipson等，2013；Wolchok等，2013），施用的抗PD-1/抗PD-L1 Ab的活性可以持续数周、数月或甚至数年。在某些实施方案中，本发明涉及按序施用的联合疗法方法需要将抗MerTK Ab施用于之前已经用抗PD-1/抗PD-L1 Ab治疗的患者。在更多实施方案中，将抗MerTK Ab施用于之前已经用抗PD-1/抗PD-L1 Ab治疗的并且进展的患者。在其他实施方案中，本发明涉及按序施用的联合疗法方法需要将抗PD-1/抗PD-L1 Ab施用于之前已经用抗MerTK Ab治疗的患者，任选其癌症在用抗MerTK Ab治疗后已经进展的患者。

[0268] 在某些其他实施方案中，抗PD-1/抗PD-L1和抗MerTK Ab同时施用，在药学上可接受的制剂中混合成用于同时施用的单一组合物，或作为分开的组合物同时施用，每种Ab配制于药学上可接受的组合物中。

[0269] 药盒

[0270] 本发明的范围内还包括包含用于治疗用途的抗MerTK Ab和抗PD-1/抗PD-L1 Ab的药盒。药盒通常包括表明药盒内容物的预期用途和使用说明的标签。术语标签包括药盒上提供的或随药盒提供的或另外随药盒附带的任何文字或记录材料。因此，本公开提供用于治疗罹患癌症的受试者的药盒，所述药盒包括：(a) 一个或多个剂量范围为约0.1至约20mg/kg体重的特异性结合MerTK的mAb或其抗原结合部分；和(b) 在本文公开的任何方法中使用mAb或其部分的说明。本公开进一步提供一种用于治疗罹患癌症的受试者的药盒，所述药盒包括：(a) 一个或多个剂量范围为约0.1至约20mg/kg体重的特异性结合MerTK的mAb或其抗原结合部分；(b) 一个或多个剂量的检查点抑制剂，如约3mg/kg体重或200至约1600mg的抗PD-1/抗PD-L1 mAb或其抗原结合部分；和(c) 在本文公开的任何联合治疗方法中使用抗MerTK mAb和检查点抑制剂（例如，抗PD-1/抗PD-L1）的说明。

[0271] 在某些实施方案中，Ab可以以单位剂型共同包装。在用于治疗人类患者的某些优选实施方案中，药盒包括本文公开的抗人PD-1 Ab，例如，纳武单抗或派姆单抗。

[0272] 通过以下实施例来进一步说明本发明，其不应当解释为进一步的限制。将整个申请中引用的所有参考文献的内容明确按引用并入本文中。

[0273] 实施例1

[0274] 抗MERTK Mab的产生

[0275] 通过用人MerTK (hMerTK) 抗原免疫表达人Ab基因的转基因小鼠,以在小鼠中引起MerTK特异性的人Ig库,以及通过用小鼠MerTK (mMerTK) 抗原或mMerTK和hMerTK抗原的混合物免疫MerTK敲除小鼠,从而产生人和小鼠抗MerTK mAb。

[0276] 人免疫球蛋白转基因小鼠的免疫

[0277] 通过用包含在其C-末端连接小鼠IgG2a Fc的hMerTK的胞外部分的重组hMerTK-mFc融合蛋白 (R&D Systems, Minneapolis, MN) 对人Ig转基因小鼠株系Hco42:01 [J/K] (HCo42 (289729p)⁺; JHD++; JKD++; KCo5 (9272)⁺;) (Lonberg, 1994; Lonberg等, 1994) 进行免疫来产生针对hMerTK的HuMAb。抗原与Ribi佐剂1:1混合,并且每周一次通过腹膜内和皮下免疫小鼠。在四次和六次注射后监测血清滴度。在最终收获前2天和3天,通过静脉内 (IV) 和腹膜内 (IP) 注射,小鼠接受了hMerTK-mFc蛋白的两次最终增强。收集淋巴结和脾脏进行后续融合。

[0278] MerTK敲除小鼠的免疫

[0279] 通过用混合了hMerTK-hFc融合蛋白 (R&D Systems) 的重组mMerTK-hFc融合蛋白 (R&D Systems) 或单独使用mMerTK-hFc免疫MerTK敲除 (KO) 小鼠来产生小鼠抗MerTK mAb。将抗原与Ribi佐剂1:1混合,并使用足垫免疫每周注射一次。在4次注射后监测血清滴度,然后在最终收获前2天和3天对小鼠进行两次最终脚垫增强。收集淋巴结用于后续融合。

[0280] 产生针对MerTK的MAb的杂交瘤的产生

[0281] 从如上所述的免疫小鼠分离小鼠淋巴细胞,并使用Cyto Pulse Hybrimmune大室细胞融合电穿孔仪 (BTX/Harvard Apparatus, Holliston, MA) 通过基于电场的电融合,通过与小鼠骨髓瘤融合伴侣的融合产生杂交瘤。将来自免疫小鼠的淋巴细胞的单细胞悬浮液与等数量P3X63 Ag8.6.53 (ATCC) 非分泌型小鼠骨髓瘤细胞融合 (对于人Ig转基因小鼠,融合号为5760-5763,对于MerTK KO小鼠,融合号为5712和5775)。将所得到的细胞接种在平底微量滴定板中的补充有氨蝶呤 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) 的培养基E (StemCell Technologies, Seattle, WA) 中以选择杂交瘤。

[0282] 实施例2

[0283] 人抗人MERTK MAb的筛选和选择

[0284] 筛选选择性地结合人和食蟹猴MerTK的MAb

[0285] 为了产生结合hMerTK的HuMAb,如实施例1所述用hMerTK抗原免疫人Ig转基因小鼠。

[0286] 对于源自这些人Ig转基因动物的杂交瘤,在10至12天后使用均相时间分辨荧光 (HTRF) 测定 (Cisbio, Bedford, MA) 筛选单个孔中人IgG/人 κ 轻链 (hIgG/h κ) Ab的存在。通过荧光激活细胞分选 (FACS) 测试来自hIgG/h κ 阳性的孔的杂交瘤上清液对于用全长hMerTK的激酶突变形式转染的中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞的结合。简而言之,用冷的FACS缓冲液 (含1% 胎牛血清 (FBS) 磷酸盐缓冲盐水 (PBS)) 洗涤用hMerTK转染的CHO细胞,并将 $\sim 1 \times 10^5$ 细胞在50 μ l中等分至96孔U底平板的每个孔,接着添加50 μ l杂交瘤上清液。样品与细胞在冰上孵育30min。用FACS缓冲液洗涤细胞2次。每样品按100 μ l添加1:200稀释的PE偶联的山羊抗人IgG Fc特异性Ab (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA)。将细胞洗涤两次并转移到

FACSCalibur细胞仪 (BD Biosciences, San Jose, CA) 并读取。还使用上述的染色方案, 通过FACS, 使用用食蟹猴MerTK转染的CHO细胞, 筛选了人MerTK-阳性杂交瘤与食蟹猴MerTK的交叉反应性。通过FACS针对选择性进一步对杂交瘤进行反筛选, 通过不存在与Ax1和/或Tyro3以及非特异性蛋白(如匙孔血蓝蛋白(KLH))的结合来证明。筛选了大约3,300个HuMAb克隆, 发现约300个对MerTK具有选择性, 并与人和食蟹猴MerTK两者都结合。

[0287] 功能性筛选拮抗性抗MerTK mAb

[0288] 将使用基于细胞的测定(Zizzo等, 2012)功能筛选选定的HuMAb克隆用于鉴定抑制胞葬作用的Ab。还使用了信号转导测定来测量靶标啮合以及在抑制配体(Gas6)诱导的信号转导中的效力(Tsou等, 2014), 并且针对激动剂潜能对克隆进行了反筛选。基于以下内容选择克隆用于进一步的表征: 以亚纳摩尔的 EC_{50} 结合人细胞(肿瘤细胞系和原代细胞)上的MerTK; 以低至亚nM的 EC_{50} 结合食蟹猴细胞(转染的细胞系和原代细胞)上的MerTK; 以亚纳摩尔的 IC_{50} 将胞葬作用抑制超过最大信号的80%; 和以亚纳摩尔的 IC_{50} 将Gas6介导的信号转导抑制超过对照的80%并且没有激动能力。通过下一代测序将这些Ab中的可变区DNA进行测序, 并且对于多样性, 基于序列同源性和有限的潜在序列负担(例如天冬酰胺脱酰胺、甲硫氨酸氧化和糖基化位点)选择了约35个HuMAb。基于编码可变区的核苷酸序列, 在选择的HuMAb中鉴定了六个序列家族。还使用计算机方法基于序列对于免疫原性潜力分析了选择的35个HuMAb, 并使用标准的高内涵方法测试了它们诱导受体内化的潜力。任何表现出免疫原性或诱导受体内化潜力的克隆都被降低优先级。

[0289] 抗hMerTK HuMAb的结合亲和力和结合动力学的表征

[0290] 选定的HuMAb的亲和力和结合动力学通过用 **BIACORE®** 仪器 (GE Healthcare, Chicago, IL) 在37°C下的表面等离子体共振 (SPR) 分析来表征, 该仪器使用具有固定化抗人Fc捕获试剂 (GE Healthcare) 的CM4传感器芯片 (GE Healthcare) 和运行缓冲液, 所述缓冲液由10mM HEPES pH 7.4、150mM NaCl, 0.05% (v/v) 表面活性剂P20和1g/1 BSA组成。MerTK Ab被捕获在芯片上。分别注入以多种浓度作为分析物的人、食蟹猴和小鼠MerTK多肽胞外域的重组可溶形式。将得到的传感图进行双重参考, 并通过传质 (mass transport) 拟合到1:1 Langmuir结合模型。

[0291] 抗hMerTK HuMAb的表位分箱 (Binning)

[0292] 在显示出强拮抗功能作用的HuMAb中, 将包含6个序列家族的13个代表性HuMAb接受了SPR结合竞争研究, 以鉴定与hMerTK抗原上相同或重叠表位竞争的mAb, 并因此可以将其分配给相同的表位箱 (bin)。鉴定了三个表位箱, 其中绝大多数分配给箱1: 将11个mAb分配给了箱1, 1个mAb分配给了箱2, 和1个mAb分配给了箱3。

[0293] 通过酵母展示和氢氘交换 (HDX) 进行表位作图

[0294] 基于表位binning数据选择选定的Ab, 以通过酵母展示和/或氢-氘交换质谱法 (HDX-MS) 进行表位作图分析, 以进一步阐明Ab结合区。制备了mAb的Fab片段, 并用于HDX-MS表位作图, 因为Fab片段给出的结果比整个Ab更清楚。发现箱1Ab与跨越大约105至165氨基酸的线性区域内的hMerTK的第一个Ig结构域结合, 具体区域取决于特定克隆。例如, 将8N42 Fab片段的表位作图定位于人MerTK (SEQ ID NO: 259) 的氨基酸126至155 (¹²⁶TTISWKKDGKEL LGAHHAITQFYDPDDEVTA¹⁵⁵) 的区域。

[0295] 发现箱2Ab (HuMAb和moMAb) 与跨越大约195至270氨基酸的区域内的MerTK的第二

个Ig结构域结合,具体区域取决于特定克隆。例如,将HuMAb 25B10(从其衍生出mAb 25J60和25J80)的Fab片段的表位作图定位到跨越hMerTK (SEQ ID NO:259)的氨基酸231至249 (²³¹WVQNSSRVNEQPEKSPSVL²⁴⁹)的线性区域。这些数据与酵母展示作图的表位一致,对于mAb 25B10,其鉴定到氨基酸残基N234、S236、R237、E240、Q241、P242和G269构成了表位。箱1和箱2结合区均与基于Gas6/Axl晶体结构的同源性建模的配体阻断相一致。

[0296] 单个箱3HuMAb结合跨越氨基酸420至490的区域内的Fn结构域。

[0297] 抗hMerTK HuMAb的优化

[0298] 基于抑制胞葬作用的效力和持续时间、结合动力学、分箱多样性和序列家族多样性,选择了某些mAb用于PROmAb优化,以减轻序列负担,优化结合亲和力并恢复成种系氨基酸。还通过各种手段(如分析性尺寸排阻色谱、毛细管等电聚焦、疏水性评估、热稳定性和聚集潜力)分析了选定mAb的生物物理特性,以鉴定适于开发的克隆。在PROmAb优化过程中丢失了一种唯一被选为代表序列家族之一的mAb;因此,在优化过程中产生的13个Abs中,代表了5个序列家族和3个箱。

[0299] 表1中显示了13个选定的HuMAb中的7个代表性样品(HuMAbs 1B4、10K11、22I16、25J60、25J80、8N42和4K10)的分箱数据以及胞葬作用和信号转导测定结果。表中包括了一个分配给箱3的HuMAb以及源自一个分配给箱2的单个HuMAb的两个紧密相关的Ab,其余是四个分配给箱1的HuMAb。表1中呈现了所有5个序列家族。

[0300] 表1中7个代表性HuMAb的结合动力学数据,即解离常数(K_D),结合反应的速率常数(k_{on}),解离反应的速率常数(k_{off})值和寿命($t_{1/2}$),显示于表2中。

[0301] 表3-9分别显示了使用Kabat、Chothia和IMGT方法对HuMAb 1B4、10K11、22I16、25J60、25J80、8N42和4K10定义的6个CDR结构域的氨基酸序列。

[0302] 表15-21分别显示了HuMAbs 1B4、10K11、22I16、25J60、25J80、8N42和4K10的 V_H 、 V_L 、重链和轻链的氨基酸序列。

[0303] 表1.代表性的抗MerTK Ab的分箱和功能表征

mAb	mAb 的类型	hMer TK 阻断 分箱	功能细胞 测定	信号转导测定		
			胞葬作用的抑制 IC ₅₀ (nM)	使用 Gas6 的 hMerTK pSTAT1 IC ₅₀ (nM)	未用 Gas6 的 hMerTK pSTAT1 IC ₅₀ (nM)	使用 Gas6 的 mMerTK pSTAT1 IC ₅₀ (nM)
1B4	人	1	0.072	0.330	> 100	> 100
10K11	人	1	0.169	1.13	> 100	nd
22I16	人	1	0.352	3.41	> 100	nd
25J60	人	2	0.051	0.093	> 100	nd
25J80	人	2	0.093	0.227	> 100	nd

[0304]

mAb	mAb 的类型	hMerTK 阻断分箱	功能细胞测定	信号转导测定		
			胞葬作用的抑制 IC ₅₀ (nM)	使用 Gas6 的 hMerTK pSTAT1 IC ₅₀ (nM)	未用 Gas6 的 hMerTK pSTAT1 IC ₅₀ (nM)	使用 Gas6 的 mMerTK pSTAT1 IC ₅₀ (nM)
[0305] 8N42	人	1	0.047	0.572	> 100	nd
4K10	人	3	> 10	5.42	nd	nd
2L105	人源化的	2	未定	1.37	nd	nd
4M60	人源化的	2	未定	8.88	nd	nd
2D9	小鼠	2	0.528	1.44	> 100	2.07
4E9	小鼠	2	0.632	1.52	> 100	1.86
16B9	小鼠	dnb	dnb	> 100	> 100	0.9

[0306] dnb: 不结合表达hMerTK的细胞

[0307] nd: 无数据

[0308] 实施例3

[0309] 小鼠抗MERTK MAb的筛选和选择

[0310] 筛选特异性结合人和食蟹猴MerTK的MAb

[0311] 用mMerTK和hMerTK抗原免疫MerTK KO小鼠,以产生结合mMerTK和/或hMerTK的小鼠Ab,如实施例1中所述的。

[0312] 使用荧光微量体积测定技术 (FMAT) 直接测试了源自这些MerTK KO小鼠的杂交瘤的上清液与小鼠和人MerTK CHO转染子的结合。使用与AlexaFluor647偶联的山羊抗小鼠IgG (Fc) (Jackson ImmunoResearch) 作为次级试剂,通过FMAT筛选杂交瘤。简而言之,用hMERTK或mMERTK转染的CHO细胞经洗涤并以 2×10^5 细胞/ml的终浓度重悬浮于FMAT缓冲液中。将1:15稀释的杂交瘤细胞上清液以及与终浓度为250ng/ml的山羊抗小鼠IgG FcAb的混合物添加到细胞中,并在室温下孵育2小时。然后在FMAT 8200细胞检测系统仪器 (Applied Biosystems, Foster City, CA) 上读取平板,并使用Tibco Spotfire软件 (Palo Alto, CA) 分析数据。使用PE偶联的山羊抗小鼠IgG Fc特异性Ab (Jackson ImmunoResearch), 如实施例2所述的,通过FACS证实通过FMAT鉴定的阳性克隆。通过FACS对杂交瘤进行反筛选,以排除与Ax1和/或Tyro3以及非特异性蛋白质 (如KLH) 结合的克隆。获得了约2,000个与人和/或小鼠MerTK选择性结合的moMAb克隆。

[0313]

表 2. 抗 MerTK Ab 的结合动力学数据

mAb	人 MerTK 结合动力学			食蟹猴 MerTK 结合动力学			小鼠 MerTK 结合动力学					
	K _D (nM)	On 速率 k _a x 10 ⁵ (1/Ms)	Off 速率 k _{off} x 10 ⁻⁴ (1/s)	t _{1/2} (min)	K _D (nM)	On 速率 k _a x 10 ⁵ (1/Ms)	Off 速率 k _{off} x 10 ⁻⁴ (1/s)	t _{1/2} (min)	K _D (nM)	On 速率 k _a x 10 ⁵ (1/Ms)	Off 速率 k _{off} x 10 ⁻⁴ (1/s)	t _{1/2} (min)
1B4	34.4	2.5	84.4	1.4	54.9	1.45	79.6	1.5	dnb	dnb	dnb	dnb
10K11	9	1.32	11.7	9.9	22.5	1.08	23.5	4.9	dnb	dnb	dnb	dnb
22I16	10.6	0.735	7.75	14.9	24.7	0.509	12.6	10.2	dnb	dnb	dnb	dnb
25J60	2.3	4.21	9.75	11.9	2.5	4.00	9.9	11.7	dnb	dnb	dnb	dnb
25J80	4.1	2.97	12.3	9.6	4.5	2.74	12.4	4.5	dnb	dnb	dnb	dnb
8N42	5.7	2.99	16.8	6.9	14	1.00	14.0	8.3	dnb	dnb	dnb	dnb
4K10	27.8	1.21	33.6	3.4	31.3	1.21	37.9	3	dnb	dnb	dnb	dnb
2L105	24.8	0.589	14.6	7.9	27	0.559	15.1	7.7	13.7	0.895	12.3	9.4
4M60	50.8	0.264	13.4	8.6	42.5	0.322	13.7	8.4	47.1	0.529	24.9	4.6
2D9	23	0.731	6.4	18.2	12	0.533	6.4	18	3.2	1.26	4.03	28.7
4E9	65.1	0.394	11.4	10.1	40	0.284	11.2	10.3	9.7	1.37	13.3	8.7
16B9	> 250	-	-	-	> 100	-	-	-	35.1	0.727	25.6	4.5

Dnb: 不结合表达 mMerTK 的细胞并且没有测试

[0314]

表 3. 使用 Kabat、Chothia 和 IMGT 方法定义的 HuMAb 1B4 中的 6 个 CDR 结构域的氨基酸序列

IB4 CDR 定义	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.					
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
Kabat	SGNYWVG (SEQ ID NO:1)	SVDHSGSTYSPSLKS (SEQ ID NO:4)	NTMIRGVMDWFDP (SEQ ID NO:7)	RASQGISSALA (SEQ ID NO:10)	DASSLES (SEQ ID NO:13)	QQFRSYPT (SEQ ID NO:16)
Chothia	GYSISSGN (SEQ ID NO:2)	DHSGS (SEQ ID NO:5)	NTMIRGVMDWFDP (SEQ ID NO:8)	RASQGISSALA (SEQ ID NO:11)	DASSLES (SEQ ID NO:14)	QQFRSYPT (SEQ ID NO:17)
IMGT	GYSISSGNY (SEQ ID NO:3)	VDHSGST (SEQ ID NO:6)	ARNTMIRGVMDWFDP (SEQ ID NO:9)	QGISSA (SEQ ID NO:12)	DAS (SEQ ID NO:15)	QQFRSYPT (SEQ ID NO:18)

表 4. 使用 Kabat、Chothia 和 IMGT 方法定义的 HuMAb 10K11 中的 6 个 CDR 结构域的氨基酸序列

10K11 CDR 定义	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.					
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
Kabat	SDYSWG (SEQ ID NO:19)	SIYHSGNTYFNPSLKS (SEQ ID NO:22)	DKSYFFGPGSMDV (SEQ ID NO:25)	RASQGISSALA (SEQ ID NO:28)	DASSLES (SEQ ID NO:31)	QQFKSYLT (SEQ ID NO:34)
Chothia	GYSISSDY	YHSGN	DKSYFFGPGSMDV	RASQGISSALA	DASSLES	QQFKSYLT

[0315]

10K11 CDR 定义	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.					
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
	(SEQ ID NO:20) ID	(SEQ ID NO:23) IYHSGNT	(SEQ ID NO:26) ARDKSYFPGSGMDV	(SEQ ID NO:29) QGISSA	(SEQ ID NO:32) DAS	(SEQ ID NO:35) QQFKSYLT
IMGT	(SEQ NO:21) ID	(SEQ ID NO:24) IYHSGNT	(SEQ ID NO:27) ARDKSYFPGSGMDV	(SEQ ID NO:30) QGISSA	(SEQ ID NO:33) DAS	(SEQ ID NO:36) QQFKSYLT

表 5. 使用 Kabat、Chothia 和 IMGT 方法定义的 HuMAb 22I16 中的 6 个 CDR 结构域的氨基酸序列

22I16 CDR 定义	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.					
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
Kabat	(SEQ NO:37) ID	(SEQ ID NO:40) YIISGSDTIFYADSVKGG	(SEQ ID NO:43) DETVVRGVINYFDY	(SEQ ID NO:46) RSSQGISSALA	(SEQ ID NO:49) DASSLES	(SEQ ID NO:52) QQFISYPT
Chothia	(SEQ NO:38) ID	(SEQ ID NO:41) ISGSDT	(SEQ ID NO:44) DETVVRGVINYFDY	(SEQ ID NO:47) RSSQGISSALA	(SEQ ID NO:50) DASSLES	(SEQ ID NO:53) QQFISYPT
IMGT	(SEQ NO:39) ID	(SEQ ID NO:42) IISGSDTI	(SEQ ID NO:45) ARDETVVRGVINYFDY	(SEQ ID NO:48) QGISSA	(SEQ ID NO:51) DASSLES	(SEQ ID NO:54) QQFISYPT

[0316]

表 6. 使用 Kabat、Chothia 和 IMGT 方法定义的 HuMAb 25J60 中的 6 个 CDR 结构域的氨基酸序列

25J60 CDR 定义		氨基酸序列和 SEQ ID Nos.					
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	
Kabat	RYYMY (SEQ ID NO:55)	ILNPNQDQTTYAQKFQG (SEQ ID NO:58)	TYRYYMDV (SEQ ID NO:61)	RASQSVRSNYLA (SEQ ID NO:64)	GASSRAT (SEQ ID NO:67)	QQYGSSPRT (SEQ ID NO:70)	
Chothia	GNTQIRY (SEQ ID NO:56)	NPNQDQ	TYRYYMDV (SEQ ID NO:62)	RASQSVRSNYLA (SEQ ID NO:65)	GASSRAT (SEQ ID NO:68)	QQYGSSPRT (SEQ ID NO:71)	
IMGT	GNTQIRYY (SEQ ID NO:57)	LNPNDQQT	ATTYRYYMDV (SEQ ID NO:63)	QSVRSNY (SEQ ID NO:66)	GAS (SEQ ID NO:69)	QQYGSSPRT (SEQ ID NO:72)	

表 7. 使用 Kabat、Chothia 和 IMGT 方法定义的 HuMAb 25J80 中的 6 个 CDR 结构域的氨基酸序列

25J80 CDR 定义		氨基酸序列和 SEQ ID Nos.					
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	
Kabat	RYYMH (SEQ ID NO:73)	IWPNGDQTTYAQKFQG (SEQ ID NO:76)	TYKYAMDV (SEQ ID NO:79)	RASQSVRSNYLA (SEQ ID NO:82)	GASSRAT (SEQ ID NO:85)	QQYESPRT (SEQ ID NO:88)	
Chothia	GRTFIRY (SEQ ID NO:74)	WPNGDQ (SEQ ID NO:77)	TYKYAMDV (SEQ ID NO:80)	RASQSVRSNYLA (SEQ ID NO:83)	GASSRAT (SEQ ID NO:86)	QQYESPRT (SEQ ID NO:89)	

[0317]

25180 CDR 定义	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.					
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
IMGT	GRTFIRYY (SEQ ID NO:75)	IWPNGDQT (SEQ ID NO:78)	AITYKYAMDV (SEQ ID NO:81)	QSVRSNY (SEQ ID NO:84)	GAS (SEQ ID NO:87)	QQYESPPRT (SEQ ID NO:90)

表 8. 使用 Kabat、Chothia 和 IMGT 方法定义的 HuMAb 8N42 中的 6 个 CDR 结构域的氨基酸序列

8N42 CDR 定义	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.					
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
Kabat	IYYWS (SEQ NO:91)	EINDEGNTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:94)	GGTGDIIHAFDI (SEQ ID NO:97)	RASQGISKWLA (SEQ ID NO:100)	AASSLQS (SEQ NO:103)	QQYNSYPWT (SEQ ID NO:106)
Chothia	GGFSIY (SEQ NO:92)	NDEGN (SEQ ID NO:95)	GGTGDIIHAFDI (SEQ ID NO:98)	RASQGISKWLA (SEQ ID NO:101)	AASSLQS (SEQ NO:104)	QQYNSYPWT (SEQ ID NO:107)
IMGT	GGFSIYY (SEQ NO:93)	INDEGNT (SEQ ID NO:96)	ARGGTGDIIHAFDI (SEQ ID NO:99)	QGISKW (SEQ ID NO:102)	AAS (SEQ NO:105)	QQYNSYPWT (SEQ ID NO:108)

[0318]

表 9. 使用 Kabat、Chothia 和 IMGT 方法定义的 HuMab 4K10 中的 6 个 CDR 结构域的氨基酸序列

4K10 CDR 定义		氨基酸序列和 SEQ ID Nos.					
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	
Kabat	GYYSW (SEQ ID NO:109)	EISHSGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO:112)	ALSRYYFDL (SEQ ID NO:115)	RASQSASNYLA (SEQ ID NO:118)	DASNRAT (SEQ ID NO:121)	YQRSQWPIS (SEQ ID NO:124)	
Chothia	GGFSGY (SEQ ID NO:110)	SHSGS (SEQ ID NO:113)	ALSRYYFDL (SEQ ID NO:116)	RASQSASNYLA (SEQ ID NO:119)	DASNRAT (SEQ ID NO:122)	YQRSQWPIS (SEQ ID NO:125)	
IMGT	GGFSGY (SEQ ID NO:111)	ISHSGST (SEQ ID NO:114)	ARALSRYYFDL (SEQ ID NO:117)	RASQSASNYLA (SEQ ID NO:120)	DAS (SEQ ID NO:123)	YQRSQWPIS (SEQ ID NO:126)	

表 10. 使用 Kabat、Chothia 和 IMGT 方法定义的人源化 MAb 2L105 中的 6 个 CDR 结构域的氨基酸序列

2L105 CDR 定义		氨基酸序列和 SEQ ID Nos.					
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	
Kabat	SFAIS (SEQ NO:127)	VIWTGGGTDYNSALKS (SEQ ID NO:130)	HWYLDV (SEQ ID NO:133)	RSSTGAVSTSNYAN (SEQ ID NO:136)	GANSRAP (SEQ NO:139)	ALWFSNHVV (SEQ ID NO:142)	
Chothia	GISLSSF (SEQ NO:128)	WTGGG (SEQ ID NO:131)	HWYLDV (SEQ ID NO:134)	RSSTGAVSTSNYAN (SEQ ID NO:137)	GANSRAP (SEQ NO:140)	ALWFSNHVV (SEQ ID NO:143)	

[0319]

氨基酸序列和 SEQ ID Nos.						
2L105 CDR 定义	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
IMGT	GISLSSFA (SEQ ID NO:129)	IWTGGGT (SEQ ID NO:132)	ASHWYLDV (SEQ ID NO:135)	TGAVSTSNY (SEQ ID NO:138)	GAN (SEQ ID NO:141)	ALWFSNHWV (SEQ ID NO:144)

表 11. 使用 Kabat, Chothia 和 IMGT 方法定义的人源化 MAb 4M60 中的 6 个 CDR 结构域的氨基酸序列

氨基酸序列和 SEQ ID Nos.						
4M60 CDR 定义	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
Kabat	TYGMS (SEQ ID NO:145)	WINNYSGVSTYADDFKG (SEQ ID NO:148)	DYYGSGGWVFDY (SEQ ID NO:151)	KSSQSLLDSEGKTYLN (SEQ ID NO:154)	LVSKLDS (SEQ ID NO:157)	WQGTTFPRT (SEQ ID NO:160)
Chothia	GNTFTTY (SEQ ID NO:146)	NNYSGV (SEQ ID NO:149)	DYYGSGGWVFDY (SEQ ID NO:152)	KSSQSLLDSEGKTYLN (SEQ ID NO:155)	LVSKLDS (SEQ ID NO:158)	WQGTTFPRT (SEQ ID NO:161)
IMGT	GNTFTTYG (SEQ ID NO:147)	INNYSGVS (SEQ ID NO:150)	ARDYYGSGGWVFDY (SEQ ID NO:153)	QSLLDSEGKTY (SEQ ID NO:156)	LVS (SEQ ID NO:159)	WQGTTFPRT (SEQ ID NO:162)

表 12. 使用 Kabat, Chothia 和 IMGT 方法定义的 MoMAb 2D9 中的 6 个 CDR 结构域的氨基酸序列

[0320]

氨基酸序列和 SEQ ID Nos.						
2D9 CDR 定义	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
Kabat	SFAIS (SEQ ID NO:163)	VIWTGGGTDYNSALKS (SEQ ID NO:166)	HWYLDV (SEQ ID NO:169)	RSSTGAVSTSNYAN (SEQ ID NO:172)	GANSRAP (SEQ ID NO:175)	ALWFSNHWV (SEQ ID NO:178)
Chothia	GISLSSF (SEQ ID NO:164)	WTGGG (SEQ ID NO:167)	HWYLDV (SEQ ID NO:170)	RSSTGAVSTSNYAN (SEQ ID NO:173)	GANSRAP (SEQ ID NO:176)	ALWFSNHWV (SEQ ID NO:179)
IMGT	GISLSSFA (SEQ ID NO:165)	IWTGGGT (SEQ ID NO:168)	ASHWYLDV (SEQ ID NO:171)	TGAVSTSNY (SEQ ID NO:174)	GAN (SEQ ID NO:177)	ALWFSNHWV (SEQ ID NO:180)

表 13. 使用 Kabat、Chothia 和 IMGT 方法定义的 MoMAb 4E9 中的 6 个 CDR 结构域的氨基酸序列

氨基酸序列和 SEQ ID Nos.						
4E9 CDR 定义	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
Kabat	TYGMS (SEQ ID NO:181)	WINNYSGVSTYADDFKG (SEQ ID NO:184)	DYYGSGGWVFDY (SEQ ID NO:187)	KSSQSLDSDGKTYLN (SEQ ID NO:190)	LVSKLDS (SEQ ID NO:193)	WQGTFFPRT (SEQ ID NO:196)
Chothia	GNTFTTY (SEQ ID NO:182)	NNYSGV (SEQ ID NO:185)	DYYGSGGWVFDY (SEQ ID NO:188)	KSSQSLDSDGKTYLN (SEQ ID NO:191)	LVSKLDS (SEQ ID NO:194)	WQGTFFPRT (SEQ ID NO:197)
IMGT	GNTFTTYG (SEQ ID NO:186)	INNYSVGS (SEQ ID NO:186)	ARDYYGSGGWVFDY (SEQ ID NO:189)	QSLDSDGKTY (SEQ ID NO:192)	LVS (SEQ ID NO:194)	WQGTFFPRT (SEQ ID NO:197)

[0321]

	NO:183)			NO:195)	NO:198)
--	---------	--	--	---------	---------

表 14. 使用 Kabat、Chothia 和 IMGT 方法定义的 MoMAb 16B9 中的 6 个 CDR 结构域的氨基酸序列

16B9 CDR 定义	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.					
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
Kabat	DYNMH (SEQ ID NO:199)	YIHPNNGGTSYNQKFKD (SEQ ID NO:202)	SGIYYDYDSFFDY (SEQ ID NO:205)	RASENIYSHLA (SEQ ID NO:208)	AATNLAD (SEQ ID NO:211)	QHFWGSPWT (SEQ ID NO:214)
Chothia	GYTFIDY (SEQ NO:200)	HPNNGG (SEQ ID NO:203)	SGIYYDYDSFFDY (SEQ ID NO:206)	RASENIYSHLA (SEQ ID NO:209)	AATNLAD (SEQ NO:212)	QHFWGSPWT (SEQ ID NO:215)
IMGT	GYTFIDYN (SEQ NO:201)	IHPNNGGT (SEQ ID NO:204)	SRSGIYYDYDSFFDY (SEQ ID NO:207)	ENIYSH (SEQ ID NO:210)	AAT (SEQ NO:213)	QHFWGSPWT (SEQ ID NO:216)

表 15. HuMAb 1B4 中的 VH、VL、重链和轻链的氨基酸序列

mAb	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
-----	--------------------

[0322]

IB4	
V _H	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGNYWGWIRQSPGKGLEWIGSVDHSGSTYYSPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLNNSVTAA DTADYYCARNMIRGVMDWFDPWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:217)
V _L	AIQLTQSPSSLSASVGDRLVTTICRASQGISSALAWYQQKPGKAPKVLIIYDASSLESGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQF RSYPTFGQGTKEIK (SEQ ID NO:218)
重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGNYWGWIRQSPGKGLEWIGSVDHSGSTYYSPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLNNSVTAA DTADYYCARNMIRGVMDWFDPWGQGTLLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:219)
轻链	AIQLTQSPSSLSASVGDRLVTTICRASQGISSALAWYQQKPGKAPKVLIIYDASSLESGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQF RSYPTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:220)

表 16. HuMab 10K11 中的 V_H、V_L、重链和轻链的氨基酸序列

mAb 10K11	氨基酸和 SEQ ID Nos.
V _H	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSDYSWGWIROPKGGKLEWIGSIYHSGNTYFNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLNSSVTAAD TAVYYCARDKSYFPGGMDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:221)
V _L	AIQLTQSPSSLSASVGDRLVTTICRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQF KSYLTFGQGTKEIK (SEQ ID NO:222)
重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSDYSWGWIROPKGGKLEWIGSIYHSGNTYFNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLNSSVTAAD TAVYYCARDKSYFPGGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPA

[0323]

mAb 10K11	氨基酸和 SEQ ID Nos.
	VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:223)
轻链	AIQLTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFKSYLTFGGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSSITLTKADYEKHKIYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:224)

表 17. HuMab 22H16 中的 VH、VL、重链和轻链的氨基酸序列

mAb 22H16	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
V _H	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSYIISGSDTIFYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDDETVRGVINFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:225)
V _L	AIQLTQSPSSLSASVGDRTVITCRSSQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFISYPTFGGQGRLEIK (SEQ ID NO:226)
重链	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSYIISGSDTIFYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDDETVRGVINFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVTSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:227)
轻链	AIQLTQSPSSLSASVGDRTVITCRSSQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQF

[0324]

	ISYPTFGQGRLEIKRIVAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSSITLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:228)
--	---

表 18. HuMab 25J60 中的 VH、VL、重链和轻链的氨基酸序列

mAb 25J60	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
V _H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGNTQIRYIMYWVRQAPGQGLEWMGILNPNQDQTTYAQKFQGRVTMTRDTSSTVYMELS SLRSEDTAVYYCATTYRYMDVWGQGTTVVSS (SEQ ID NO:229)
V _L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQ QYGSSPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:230)
重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGNTQIRYIMYWVRQAPGQGLEWMGILNPNQDQTTYAQKFQGRVTMTRDTSSTVYMELS SLRSEDTAVYYCATTYRYMDVWGQGTTVVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPP AVLQSSGGLYSLSSVTVPSSSLGTQYICNVNHPKSTKVDKRVPEKSCDKTHCPPCPAPEAEGAPSVFLPPKPKDITLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREP QVYVTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSAFLYSLKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:231)
轻链	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQ QYGSSPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSS TLTSLKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:232)

表 19. HuMab 25J80 中的 VH、VL、重链和轻链的氨基酸序列

mAb 25J80	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
V _H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGRTFIRYIMHWVRQAPGQGLEWMGIHPNGDQTTYAQKFQGRVTMTRDTSSTVYMELS

[0325]

V _L	LRSEDTAVYYCATTYKYAMDVWVGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:233) EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQ QYESPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:234)
重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGRTRFIRYYMHWRQAPGQGLEWMGIHPNGDQTTYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCATTYKYAMDVWVGQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:235)
轻链	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQ QYESPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPDEQLKSGTASVCLLNINNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSS TLTISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:236)

表 20. HuMab 8N42 中的 VH、VL、重链和轻链的氨基酸序列

mAb 8N42	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
V _H	QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFYIYWSWIRQPPGKGLLELIGEINDEGNTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSTAA DTAVYYCARGGTGDIHAFDIWGGQTMVTVSS (SEQ ID NO:237)
V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITTCRASQGISKWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDFLTISLQPEDFAVYYCQ YNSYPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:238)
重链	QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFYIYWSWIRQPPGKGLLELIGEINDEGNTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSTAA DTAVYYCARGGTGDIHAFDIWGGQTMVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP

[0326]

mAb 8N42	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
	VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:239)
轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDGRVTITCRASQGISKWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQQ YNSYPWTFGGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:240)

表 21. HuMab 4K10 中的 VH、VL、重链和轻链的氨基酸序列

mAb 4K10	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
V _H	QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWLRQPPGKGLEWIGEISHSGSTNYPNLSKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTA ADTAVYYCARALSRYYWYFDLWGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:241)
V _L	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQASNYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAIGIPARFSGSGGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCYQR SQWPIFGGQTRLEIK (SEQ ID NO:242)
重链	QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWLRQPPGKGLEWIGEISHSGSTNYPNLSKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTA ADTAVYYCARALSRYYWYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:243)
轻链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQASNYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAIGIPARFSGSGGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCYQR SQWPIFGGQTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:244)

[0327]

表 22. 人源化 MAb 2L105 中的 VH、VL、重链和轻链的氨基酸序列

mAb 2L105	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
V _H	QVTLKESGPVLVKPTEILTLTCTVSGISLSSEFAISWIRPPGKALEWLAWIWTGGGTDYNSALKRSLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVD TATYYCASHWYLDVWGQGTITVSS (SEQ ID NO:245)
V _L	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLICRSSTGAVSTSNYANWVQQTPGQAPRGLIGGANRAPGIPDRFSGSILGNKAAALTTTGAQADDES YCALWFSNHWVFGGKLTVL (SEQ ID NO:246)
重链	QVTLKESGPVLVKPTEILTLTCTVSGISLSSEFAISWIRPPGKALEWLAWIWTGGGTDYNSALKRSLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVD TATYYCASHWYLDVWGQGTITVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGL YLSVVTVPSSSLGTQYICNVNHHKPSNTKVDKRVKPKCDLTHCPPEAPEAGAPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHHEALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO:247)
轻链	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLICRSSTGAVSTSNYANWVQQTPGQAPRGLIGGANRAPGIPDRFSGSILGNKAAALTTTGAQADDES YCALWFSNHWVFGGKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKY AASSYLSTLTPQWKSQRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:248)

表 23. 人源化 mAb 4M60 中的 VH、VL、重链和轻链的氨基酸序列

mAb 4M60	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
V _H	QVQLVQSGSELKPKGASVKVSKKASGNTFTTYGMSWVRQAPGQGLEWMGWINNYSGVSTYADDFKGRFVFLSDTSVSTAYLQISSL KAEDTAVYYCARDYYGSGGWVFDYWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:249)

[0328]

V _L	DVVMTQSPLSLPTLGGQASISCKSSQSLDSEGGKTYLNWLQQRPGQSPRRMLYLVSKLDSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDV GVYYCWCWGTHFPRFTGGGKVEIK (SEQ ID NO:250)
重链	QVQLVQSGSELKPKGASVKVCKKASGNTFTTYGMSWVRQAPGQGLEWMGWNNYSGVSTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSL KAEDTAVYYCARDYYGSGGWVFDYWGQGT'TVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLPPKPKDITLMISRTP EVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTQLHQQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSSFFLYSKLTVDKSRWQQQGNVVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:251)
轻链	DVVMTQSPLSLPTLGGQASISCKSSQSLDSEGGKTYLNWLQQRPGQSPRRMLYLVSKLDSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDV GVYYCWCWGTHFPRFTGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:252)

表 24. MoMAb 2D9 中的 VH 和 VL 区的氨基酸序列

mAb 2D9	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
V _H	QVQLKESGPGLVAPSQSLTCTVSGISLSSFAISWVRQPPGKGLEWLVGVIWTGGGTDYNSALKSRLTISKDTSKNQVFLKMNSLQTD DTARYYCASHWYLDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:253)
V _L	QAVVTQESALTTSPGETVLTICRSSTGAVSTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGGANSRAPGIPARFSGSLIGDKAALTTGAQTEDEAIYFC ALWFSNHWWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:254)

表 25. MoMAb 4E9 中的 VH 和 VL 区的氨基酸序列

mAb 4E9	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
V _H	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGNTFTTYGMSWVKQAPGKNLKWGMWINNYSVSTYADDFKGRFAFSLETSATTAYLQINNL T

[0329]

氨基酸序列和 SEQ ID Nos.	
mAb 4E9	NEDSATYFCARDYYGSGGWVFDYWGGQTTLTVSS (SEQ ID NO:255)
V _L	DVVMTQTPLTSLVITIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQSPKRLMYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDL GVYYCWQGTGTHFPRTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:256)

表 26. MoMAb 16B9 中的 VH 和 VL 区的氨基酸序列

氨基酸序列和 SEQ ID Nos.	
mAb 16B9	EVQLQQSRPDLVKPGASVKMSCKASGYTFIDYNNMHWVKQRHGKSLWIGYIHPNNGGTSYNQKFKDKATLTMNKSSSTAYMELRS LTSEDSAVYYCSRSGIYYDYDSFFDYWGQGTTLIVSS (SEQ ID NO:257)
V _H	DIQMTQSPASLYVSVGETVTTTCRASENIYSHLAWYQQKLGKSPHLLVYAATNLADGVPSRFSGSGGTQYSLKINSLOQSEDFGSYYC QHFVWGSPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:258)

表 27. 人 MerTK 多肽的氨基酸序列

氨基酸序列和 SEQ ID Nos.	
MerTK	
人	1 MGPAPLPLLL GLFLPALWRR AITEAREEAK PYPLFPGPPF GSLQTDHTPL LSLPHASGYQ 61 PALMFSPTQP GRPHTGNVAI PQVTSVESKP LPPLAFKHTV GHILSEHKG VKFNCSISVP 121 NIYQDTTISW WKDGKELGA HHAITQFYPD DEVTAIASF SITSVQRSDN GSYICKMKIN 181 NEEIVSDPIY IEVQGLPHFT KPESMNVTR NTAFLNLCQA VGPPEPVNIF WVQNSSRVNE 241 QPEKSPSVLT VPGLTEMAVF SCEAHNDKGL TVSKGVQINI KAIPSPTEV SIRNSTAHSI 301 LISWVPGFDG YSPFRNCSIQ VKEADPLSNG SVMIFNTSAL PHLYQIKQLQ ALANYSIGVS 361 CMNEIGWSAV SPWILASTTE GAPSVAPLNV TVFLNESSDN VDIRWMKPPT KQDGGELVGY

[0330]

MerTK	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
	421 RISHVWQSAG ISKELLEEVG QNGSRARISV QVHNATCTVR IAAVTRGGVG PFSDPVKIFI 481 PAHGWDYAP SSTPAPGNAD PVLIFGFCFC GFILIGLILY ISLAIRKRVQ ETKFGNAFTE 541 EDSELVVNYI AKKFCRRAI ELTLHSLGVS EELQNKLEDV VIDRNLLILG KILGEGEFGS 601 VMEGNLKQED GTSLKVAVKT MKLDNSSQRE IEEFLSEAAC MKDFSHPNVI RLLGVCIEMS 661 SQGIPKPMVI LPFMKYGDLH TYLLYSRLET GPKHIPQLTL LKFMVDIALG MEYLSNRNFL 721 HRDLAARNCM LRDDMTVCVA DFGLSKKIYS GDYYRQGRJA KMPVKWIAIE SLADRVYTSK 781 SDVWAFGVTM WEIATRGMT PYPGVQNH EMY DYLLHGHRLK QPEDCLDELY EIMYSCWRTD 841 PLDRPTFSVL RLQLEKLLS LPDVRNQADV IYVNTQLLES SEGLAQGSTL APLDLNIDPD 901 SIIASCTPRA AISVVTAEVH DSKPHEGRIY LINGGSEEWED LTSAPSAAVT AEKNSVLPGE 961 RLVRNGVSW S HSSMLPLGSS LPDELLFADD SSEGSEVLM (SEQ ID NO:259)

完整的 hMerTK、cMerTK 和 mMerTK 氨基酸序列可以分别在 GENBANK® 登录号 No. NP_006334.2, XP_005575320.1 和 NP_032613.1 下找到。

表 28. 食蟹猴 MerTK 多肽的氨基酸序列

MerTK	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
食蟹猴	1 MGLAPLPLPL LGLFLPALW SRAITEAREE AKPYPLFPGP LPGSLQTDHT SLLSLPHTSG 61 YQPALMFSPT QPGRPYTGNV AIRPVTSAGS KLLPPLAFKH TVGHIIHSEH KDVKFNCSIS 121 VPNIYQDITI SWWKDGKELL GAHHAITQFY PDDEVTIIA SFSITSVQRS DNGSYICKMK

[0331]

MerTK	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
	181 INNEEIVSDP IYIEVQGLPH FTKQPESMNV TRNTAFNLTC QAVGPEPEPVN IFWVQNSSRV 241 NEQPEKSPSV LTVPGLEMA VFSCEAHNDK GLTVSKGVQI NIKAIKPSPT EVSIHNSTAH 301 SILISWVPGF DGYSFPRNCS VQVKEVDPLS NGSVMIFNTS ASPHMYQIKQ LQALANYSIG 361 VSCMNEIGWS AVSPWILAST TEGAPSVAPL NVTVFLNESR DNVDIRWMKP LTKRQAGELV 421 GYRISHVWQS AGISKELLEEE VGQNNNSRAQI SVQVHNATCT VRIA AVTKGG VGFSDPVKI 481 FIPAHGWVDH APSSTPAPGN ADPVLIFGC FCGFILGLV LYISLAVRKR VQETKFGNAF 541 TEEDSELVNV YIAKKSFCRR AIELTLHSLG VSEELQNKLE DVVIDRNLII LGKILGEGEF 601 GSVMEGNLKQ EDGTSQKVAV KTMKLDNFSQ REIEEFLSEA ACMKDFSHPN VIRLLGVCI 661 MSSQGPKPM VILPFMKYGD LHTYLLYSRL ETGPKHIPLQ TLLKFMMDIA LGMEYLSNRN 721 FLHRDLAARN CMLRDDMTVC VADFGLSKKI YSGDYRQGR IAKMPVKWIA IESLADRVYT 781 SKSDVWAFGV TMWEIATRGM TPYPGVQNH MYDYLLHGR LKQPEDCLDE LYEIMYSCWR 841 TDPLDRPTFS VLRLQLEKLL ESLPNVRNQA DVYINTQLL ESSEGLAEGS TLAPLDLND 901 PDSIIASCSP HAAISVVTA EIHDSKPHEGR YILNGGSEEW EDVTSAAASA VTAEKNSVLP 961 GERLVRNGVP WSHSSTLPLG SSLPDELLFA DDSSESSEVL M (SEQ ID NO:260)

表 29. 小鼠 MerTK 多肽的氨基酸序列

MerTK	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
小鼠	1 MVLAPLLLGL LLLPALWSGG TAEKWEETEL DQLFSGPLPG RLPVNHHPFS APHSSRDQLP

[0332]

MerTK	氨基酸序列和 SEQ ID Nos.
	<p>61 PPQTRGHPA HTAAPQVST ASKLLPPVAF NHTIGHIVLS EHKNVKFNCS INIPNTYQET 121 AGISWVKDGK ELLGAHSIT QFYDDEEVS IIALFSIASV QRSDDNGSYFC KMKVNNREIV 181 SDPIYVEVQG LPYFIKQPEV VNVTRNTAFN LTCQAVGPPE PVNIFWVQNS SRVNEKPEPS 241 PSVLTVPGLT ETAVFSCFAH NDKGLTVSKG VHINIKVIPS PPTVEVHILNS TAHSILVSWV 301 PGFDGYSPLQ NCSIQVKEAD RLSNGSVMVF NTSASPHLYE IQQLQALANY SIAVSCRNEI 361 GWSAVSPWIL ASTTEGAPSV APLNITVFLN ESNNILDIRW TKPPIKRQDG ELVGYRISHV 421 WESAGTYKEL SEEVSONGSW AQIPVQIHNA TCTVRIAAT KGGIGPFSEP VNIIPHSK 481 VDYAPSSTPA PGNTDSMFII LGCFCGFILI GLILCISLAL RRRVQETKFG GAFSEEDSQL 541 VVNYRAKKSF CRRRAIELTLQ SLGVSEELQN KLEDVVIDRN LVLGKVLGE GEFSGVMEGN 601 LKQEDGTSQK VAVKTMKLDN FSQREIEEFL SEAAKMKDFN HPNVIRLLGV CIELSSQGIP 661 KPMVILPFMK YGDLHTFLLY SRLNTGPKYI HLQTLKFMMDIAQGMAYLS NRNFLHRDLA 721 ARNCMLRDDM TVCVADFGLS KKIYSGDYR QGRIAKMPVK WIAIESLADR VYTSKSDVWA 781 FGVTMWEITT RGMTPYPGVQ NHEMYDYLLH GHRLKQPEDC LDELYDIMYS CWSADPLDRP 841 TFSVLRQLQLE KLSLPLDAQ DKESIIYINT QLLECEGIA NGPSLTGLDM NIDPDSIIAS 901 CTPGAAVSVV TAEVHNNLR EERYILNGGN EEWEDVSSSTP FAAVTPEKDG VLPEDRLTKN 961 GVSWSHHSTL PLGSPSPDEL LFDVDDSEDS EVLM (SEQ ID NO:261)</p>

[0333] 拮抗性抗MerTK moMAb的功能筛选

[0334] 如实施例2中所述的,使用测定来测量胞葬作用的抑制和Gas6介导的信号转导的抑制,从而对这些moMAb克隆进行筛选,并针对激动剂潜力进行反筛选。基于以下内容选择克隆用于进一步表征:以亚纳摩尔的 EC_{50} 结合人和/或小鼠细胞(肿瘤细胞系和原代细胞)上的MerTK;以及以亚纳摩尔的 IC_{50} 将胞葬作用抑制到最大信号的80%以上;以及以亚纳摩尔

的 IC_{50} 将Gas6介导的信号转导抑制到对照的80%以上,且无激动能力。通过下一代测序对这些克隆中编码Ab可变区的DNA进行测序,并基于抑制胞葬作用和MerTK介导的信号转导的潜力、序列多样性和有限的潜在序列负担,选择了约200个克隆。三个moMAb表现出强大的拮抗活性,即在信号测定中的 IC_{50} 值小于10nM,并被选择用于进一步分析。

[0335] 抗MerTK moMAb的结合亲和力、结合动力学和分箱的表征

[0336] 通过SPR分析表征了三个选择的moMAb对抗小鼠、人和食蟹猴MerTK的亲和力和结合动力学。这些Ab中的两个2D9和4E9显示出强大的拮抗活性,并以高亲和力结合小鼠、人和食蟹猴,而第三个选择的moMAb 16B9结合mMerTK,但不结合人或食蟹猴MerTK,表明mAb 16B9结合与2D9或4E9所结合的不同的表位。SPR结合竞争研究可鉴定hMerTK抗原上相同或重叠表位竞争的mAb,其将2D9和4E9都分配给箱2。

[0337] 产生了2D9和4E9的人源化变体。针对2D9、4E9和16B9,以及针对人源化Ab 2L105和4M60(分别由moMAb 2D9和4E9产生)的分箱数据以及胞葬作用和信号转导测定的结果包括在表1中。

[0338] 针对选定的moMAb及其人源化形式获得的结合动力学数据包括在表2中。

[0339] 人源化mAb 2L105和4M60的6个CDR的序列分别显示于表10和11中,而moMAb 2D9、4E9和16B9的6个CDR的序列分别显示于表12-14中。

[0340] 人源化mAb 2L107和4M60的 V_H 、 V_L 、重链和轻链的氨基酸序列分别显示于表22和23中,而moMAb 2D9、4E9和16B9的 V_H 和 V_L 区的序列分别显示于表24-26中。

[0341] 人、食蟹猴和小鼠MerTK多肽的氨基酸序列分别显示于表27-29中。

[0342] 实施例4

[0343] 抗MERTK增强了抗PD-1在MC38肿瘤模型中的抗肿瘤活性

[0344] 在MC38结肠腺癌小鼠肿瘤模型中,与抗小鼠PD-1 Ab,4H2结合评估了小鼠抗MerTK mAb 4E9(小鼠IgG1同种型)的抗肿瘤活性。4H2是从大鼠IgG2a抗小鼠PD-1 Ab构建的嵌合大鼠-小鼠抗mPD-1 Ab,其中Fc部分被来自小鼠IgG1同种型的Fc部分替代(WO 2006/121168)。其阻断mPD-L1和mPD-L2与mPD-1的结合,刺激T细胞反应,并在多种小鼠肿瘤模型中表现出抗肿瘤活性。

[0345] 给每只C57BL/6小鼠SC注射 10^6 个MC38肿瘤细胞。肿瘤达到大约 100mm^3 的中值大小后6天,将小鼠随机分配给治疗组(10只小鼠/组)。在PBS中配制的所有测试药剂(单一Ab或组合),在第6天、第10天和第14天以 $200\mu\text{l}$ 体积中 $200\mu\text{g}$ /剂进行IP给药。记录肿瘤体积、体重和临床观察结果以建立测试药剂的功效和耐受性。使用以下公式将肿瘤卡尺的测量值转换为肿瘤体积:体积=1/2(长×宽×高)。植入后监测肿瘤生长和体重长达85天。从首次肿瘤测量为零起至少有45天没有残留肿瘤的小鼠被视为已正式“治愈”。

[0346] 在研究中,小鼠接受了无菌的啮齿动物食物和水随意摄取,并被饲养在无菌的滤顶笼中,使用12小时的明/暗循环。所有实验均按照国际实验动物评估和认可协会的指导进行。

[0347] 图1B显示了与使用对照小鼠IgG1 mAb(具有小鼠IgG1同种型的人抗白喉毒素(DT) mAb;简称“IgG1”)对照治疗的肿瘤生长速率相比,用抗PD-1 Ab治疗小鼠显著降低了肿瘤生长的速率,但到第47天也没有完全缩小任何小鼠中的肿瘤(图1A)。用抗PD-1和抗MerTK 4E9-IgG1mAb组合治疗小鼠进一步显著降低了肿瘤生长速率,在植入后第34天,10只小鼠中

的7只得到了有效的肿瘤治愈(图1C)。因此,抗PD-1和抗MerTK的组合在抑制MC38结肠腺癌的生长中显示出强烈的协同作用。如果组合的抗肿瘤作用大于每种Ab单独呈现的抑制水平的总和,则认为Ab的组合是协同作用的。

[0348] 实施例5

[0349] 来自抗MERTK和抗PD-1组合治疗的小鼠的治愈小鼠在再次挑战时能抵抗肿瘤生长

[0350] 在这个实验中,将7只用抗PD-1和抗MerTK Ab联合治疗治愈的MC38肿瘤C57BL/6小鼠(实施例4)通过SC注射 10^6 个MC38肿瘤细胞进行再挑战。10只C57BL/6小鼠的对照组各自SC注射 10^6 个MC38肿瘤细胞,并且在植入后监测两组小鼠中的肿瘤生长至少23天。

[0351] 对照组中的肿瘤快速生长,在植入后15-23天达到了 $1,500\text{mm}^3$ 的体积。相反,所有7只治愈的小鼠完全能抵抗MC38肿瘤生长(图2)。

[0352] 实施例6

[0353] 包含不同Fc区的两种不同抗MERTK Ab呈现出相似的抗肿瘤活性和相似的抗PD-1效力增强

[0354] 在MC38肿瘤模型中,作为单一疗法或结合抗PD-1 Ab,4H2,评估了小鼠抗MerTK Ab,2D9和4E9的抗肿瘤活性。使用了MerTK Ab的两种同种型,IgG1同种型和IgG1-D265A同种型,后者是非Fc γ R结合突变体(Clynes等,2000)。这个IgG1-D265A同种型已经显示出,与小鼠IgG2a和IgG1同种型相比,降低了MC38肿瘤模型中的抗CTLA4和抗GITRAb的抗肿瘤活性,相反,抗PD-1 IgG2a同种型呈现出低于抗IgG1或IgG1-D265A同种型的抗肿瘤活性(WO 2014/089113)。

[0355] 按照之前所述的(实施例4),给每只C57BL/6小鼠SC注射 10^6 个MC38肿瘤细胞,并随机分配给治疗组(10只小鼠/组)。如图3中所示,测试药剂包括小鼠IgG1对照、抗MerTK mAb 2D9的IgG1和IgG1-D265A同种型、抗MerTK mAb 4E9的IgG1-D265A同种型、抗PD-1 mAb 4H2,以及抗MerTK和抗PD-1 Ab的组合。

[0356] 2D9-IgG1 Ab(图3B)与IgG1对照(图3A)相比,引起了肿瘤生长的轻微抑制。2D9-D265A同种型(图3C)引起了与IgG1同种型大体相似或略高的肿瘤生长抑制水平。由2D9-D265A和4E9-D265A Ab诱导的肿瘤生长抑制水平相似。

[0357] 抗PD-1产生了显著的肿瘤生长抑制,治疗的10只小鼠中有2只肿瘤完全抑制(图3E)。

[0358] 抗PD-1和抗MerTK 2D9-IgG1 Ab的联合引起了甚至更强的肿瘤生长抑制,9只治疗的小鼠中有5只肿瘤完全抑制(图3F)。抗PD-1和抗MerTK 2D9-D265A或4E9-D265A Ab的组合产生了相似的肿瘤生长抑制的协同水平,治疗的小鼠中分别在9只中有7只以及10只中有5只肿瘤完全排斥(图3G和H)。因此,用给药的两种不同的小鼠抗MerTK Ab(4E9和2D9)观察到了相似的肿瘤生长抑制效力的协同水平,并且观察到了与Fc受体(FcR)效应子功能无关的相似效力,即IgG1同种型与IgG1-D265A相比。

[0359] 与抗PD-1单一疗法相比,抗PD-1和抗MerTK抗体的组合在MC38模型中抑制肿瘤生长的增强功效在一系列抗MerTK Ab剂量下均可重现。作为单一疗法给药时,以 $1\text{mg}/\text{kg}$ 体重的剂量给药的抗MerTK 4E9几乎没有呈现出抑制肿瘤生长的作用,但以 $1\text{mg}/\text{kg}$ 的剂量显示出对肿瘤生长的中度抑制作用,尽管远低于用抗PD-1观察到的肿瘤生长抑制作用(数据未显示)。以1或 $3\text{mg}/\text{kg}$ 的抗MerTK 4E9-IgG1与抗PD-1的组合均能显著抑制肿瘤生长,分别

有11只小鼠中的7只和11只小鼠中的9只显示出完全的肿瘤排斥(数据未显示)。抗PD-1与10mg/kg抗MerTK4E9-IgG1的组合几乎在所有小鼠中显著抑制肿瘤生长,但治愈率保持不变,其中11只小鼠中有8只显示出完全肿瘤抑制(数据未所示)。

[0360] 实施例7

[0361] 抗MERTK在CT26肿瘤模型中增强了抗PD-1的抗肿瘤活性还在CT26结肠腺癌小鼠肿瘤模型中作为单一疗法以及结合抗PD-1 Ab评估了mAb 4E9的抗肿瘤活性。

[0362] 给每只BALB/c小鼠SC注射 10^6 个CT26肿瘤细胞。肿瘤达到大约 100mm^3 的中值大小后6天,将小鼠随机分配给治疗组,10只小鼠/组,并在第6天、第10天和第14天以 $200\mu\text{l}$ 体积中 $200\mu\text{g}$ /剂进行IP给药Ab(单个Ab或组合)。植入后每周测量肿瘤体积两次长达85天,以建立正式治愈。

[0363] 如图4B中所示的,与用小鼠IgG1对照治疗的肿瘤的生长速率相比(图4A),抗PD-1 Ab的治疗在降低大多数小鼠的肿瘤生长速率方面具有中等效果,但是一只小鼠的肿瘤生长被显著抑制,另一只小鼠显示出完全肿瘤排斥。与IgG1对照相比,4E9-IgG1 Ab在抑制肿瘤生长方面显示出轻微的活性(图4C),而抗PD-1和抗MerTK 4E9-IgG1 Ab的联合治疗强有力地降低了肿瘤的生长速度,在植入后第38天,其中10只小鼠中有4只的肿瘤已治愈(图4D)。因此,抗PD-1和抗MerTK抗体也协同相互作用抑制了CT26结肠腺癌的生长。总体而言,CT26肿瘤对抗PD-1、抗MerTK或两种Ab联合治疗的反应模式(图4)与MC38肿瘤模型中看到的(图1和3)相似,但在MC38模型中,生长抑制作用大体上更为明显一些。

[0364] 实施例8

[0365] 抗MERTK MAB 16B9在MC38肿瘤模型中增强了抗PD-1的抗肿瘤活性

[0366] 如实施例4和6中所示的,抗MerTK单克隆抗体2D9和4E9与抗PD-1联合协同作用,强有力地抑制了MC38结肠腺癌的生长。如实施例3中所述的,mAb 2D9和4E9在其都以高亲和力结合小鼠、人和食蟹猴MerTK,并被分配给hMerTK上的箱2的程度上是类似的。第三种抗-MerTK mAb 16B9与2D9和4E9的不同之处在于,以高亲和力结合mMerTK,但不结合人或食蟹猴MerTK。由于它不结合hMerTK,因此无法分配给任何hMerTK分箱,但是这种与hMerTK结合的缺乏表明mAb16B9结合到与2D9或4E9所结合表位不同的表位。

[0367] 在MC38肿瘤模型中,单独或与抗PD-1 mAb 4H2联合评估了抗MerTK mAb 16B9-D265A的抗肿瘤活性。如实施例4中所述的,将Ab施用于10只植入了MC38肿瘤的小鼠组中。如先前在实施例4和6中所证明的,与抗DT IgG1对照(“同种型”;图5A)相比,抗PD1治疗显著抑制了MC38肿瘤生长(图5B),10只抗PD-1治疗的小鼠中有1只显示出完全肿瘤排斥。相反,用16B9-D265A抗MerTK抗体没有发现抑制肿瘤生长的单一药物活性,其产生的结果与IgG1对照相当。尽管不存在16B9-D265A对肿瘤生长的抑制,但该Ab和抗PD-1的组合仍产生了强大的协同相互作用,这可以通过与抗PD-1观察到的抗肿瘤活性的大幅增强来证明,包括10只小鼠中有7只完全肿瘤抑制(图5D)。

[0368] 参考文献

[0369] Abhinandan KR, Martin AC (2008) Analysis and improvements to Kabat and structurally correct numbering of antibody variable domains. *Mol Immunol* 45: 3832-3839.

[0370] Akalu YT, Rothlin CV, Ghosh S (2017) TAM receptor tyrosine kinases as

emerging targets of innate immune checkpoint blockade for cancer therapy. *Immunol Rev* 276(1):165-77.

[0371] Al-Lazikani, Lesk AM, Chothia C (1997) Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins. *J Mol Biol* 273(4):927-48.

[0372] Baitsch L, Legat A, Barba L, Fuertes Marraco SA, Rivals JP 等 (2012) Extended co-expression of inhibitory receptors by human CD8 T-cells depending on differentiation, antigen-specificity and anatomical localization. *PloS One* 7(2):e30852.

[0373] Barker RN, Erwig LP, Hiu KS, Devine A, Pearce WP 等 (2002) Antigen presentation by macrophages is enhanced by the uptake of necrotic, but not apoptotic, cells. *Clin Exp Immunol* 127(2):220-5.

[0374] Bondanza A, Zimmermann VS, Rovere-Querini P, Turnay J, Dumitriu IE 等 (2004) Inhibition of phosphatidylserine recognition heightens the immunogenicity of irradiated lymphoma cells in vivo. *J Exp Med* 200(9):1157-1165.

[0375] Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, Powderly JD, Picus J 等 (2010) Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol* 28:3167-75.

[0376] Brahmer JR, Hammers H, Lipson EJ (2015) Nivolumab: targeting PD-1 to bolster antitumor immunity. *Future Oncol* 11(9):1307-26.

[0377] Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, Hwu WJ, Topalian SL 等 (2012) Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med* 366:2455-65.

[0378] Callahan M, Postow MA, Wolchok JD (2016) Targeting T cell co-receptors for cancer therapy. *Immunity* 44(5):1069-78.

[0379] Caberoy NB, Alvarado G, Bigcas JL and Li W (2012) Galectin-3 is a new MerTK-specific eat-me signal. *J Cell Physiol* 227(2):401-7.

[0380] Caberoy NB, Zhou Y, Li W (2010) Tubby and tubby-like protein 1 are new MerTK ligands for phagocytosis. *EMBO J* 29(23):3898-910.

[0381] Callahan MK, Postow MA, Wolchok JD (2016) Targeting T Cell Co-receptors for Cancer Therapy. *Immunity* 44(5):1069-78.

[0382] Chakravarthi BVSK, Nepal S, Varambally S (2016) Genomic and epigenomic alterations in cancer. *Am J Pathol* 186(7):1724-35.

[0383] Chen DS, Mellman I (2013) Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity* 39(1), 1-10.

[0384] Chothia C, Lesk AM (1987) Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. *J Mol Biol* 196:901-17.

[0385] Chothia C, Lesk AM, Tramontano A, Levitt M, Smith-Gill JS 等 (1989)

Conformations of immunoglobulin hypervariable regions. *Nature* 342:877-83.

[0386] Clynes RA, Towers TL, Presta LG, Ravetch JV等(2000) Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets. *Nat Med* 6:443-46.

[0387] Cook RS, Jacobsen KM, Wofford AM, DeRyckere D, Stanford J等(2013) MerTK inhibition in tumor leukocytes decreases tumor growth and metastasis. *J Clin Invest* 123(8):3231-42.

[0388] Drugs.com-Opdivo Approval History: <https://www.drugs.com/history/opdivo.html>, last accessed October 8, 2018.

[0389] Farkona等(2016) Cancer immunotherapy: the beginning of the end of cancer? *BMC Medicine* 14:73.

[0390] Gorelik L, Avgerinos G, Kunes Y, Marasco WA(2017) Preclinical characterization of a novel fully human IgG1 anti-PD-L1 mAb CK-301. In: Proceedings of the American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting, Apr 1-5, 2017, *Cancer Res* 77(13 Suppl): Abstract No.4606.

[0391] Graham DK, DeRyckere D, Davies KD, Earp HS(2014) The TAM family: phosphatidylserine sensing receptor tyrosine kinases gone awry in cancer. *Nature Rev Cancer* 14:769-85.

[0392] Guo L, Zhang H, Chen B(2017) Nivolumab as Programmed Death-1 (PD-1) inhibitor for targeted immunotherapy in tumor. *J Cancer* 8(3):410-416.

[0393] Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, Fine GD, Hamid O等(2014) Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 515:563-7.

[0394] Hollinger和Hudson(2005) Engineered antibody fragments and the rise of single domains. *Nature Biotech* 23(9):1126-36.

[0395] Iwai Y, Hamanishi J, Chamoto K, Honjo T(2017) Cancer immunotherapies targeting the PD-1 signaling pathway. *J Biomed Sci* 24(1):26.

[0396] Jinushi M, Yagita H, Yoshiyama H, Tahara H(2013) Putting the brakes on anticancer therapies: suppression of innate immune pathways by tumor-associated myeloid cells. *Trends Mol Med* 19(9):536-45.

[0397] Kabat EA, Wu TT, Bilofsky H, Reid-Miller M, Perry H(1983) Sequence of proteins of immunological interest. Bethesda: National Institute of Health; 1983. 323

[0398] Kamta J, Char M, Ande A, Altomare DA, Ait-Oudhia S(2017) Advancing cancer therapy with present and emerging immuno-oncology approaches. *Front Oncol* 18(7):64.

[0399] Kaufman RJ, Sharp PA(1982) Amplification and expression of sequences cotransfected with a modular dihydrofolate reductase complementary DNA gene. *Mol Biol* 159:601-21.

- [0400] Lee-Sherick AB,Eisenman KM,Sather S,McGranahan A等(2013) Aberrant MER receptor tyrosine kinase expression contributes to leukemogenesis in acute myeloid leukemia.Oncogene 32:5359-68.
- [0401] Lefranc MP,Pommie C,Ruiz M,Giudicelli V,Foulquier E等(2003) IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains.Dev Comp Immunol 27:55-77.
- [0402] Lesokhin AM,Callahan MK,Postow MA,Wolchok JD(2015) On being less tolerant:enhanced cancer immunosurveillance enabled by targeting checkpoints and agonists of T cell activation.Sci Transl Med 7(280):280sr1.
- [0403] Linger RM,Cohen RA,Cummings CT,Sather S等(2013) MER or AXL receptor tyrosine kinase inhibition promotes apoptosis,blocks growth and enhances chemosensitivity of human non-small cell lung cancer.Oncogene 32:3420-3431.
- [0404] Linger RM,Keating AK,Earp HS,Graham DK(2008) TAM receptor tyrosine kinases:biologic functions,signaling,and potential therapeutic targeting in human cancer.Adv Cancer Res 100:35-83.
- [0405] Lipson EJ,Sharfman WH,Drake CG,Wollner I,Taube JM等(2013) Durable cancer regression off-treatment and effective reinduction therapy with an anti-PD-1 antibody.Clin Cancer Res 19:462-8.
- [0406] Liu SY,Wu YL(2017) Ongoing clinical trials of PD-1 and PD-L1 inhibitors for lung cancer in China.J Hematol Oncol 10(1):136.
- [0407] Lonberg,N(1994) Transgenic approaches to human monoclonal antibodies.Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101.
- [0408] Lonberg N,Taylor LD,Harding FA,Trounstein M,Higgins KM等(1994) Antigen-specific human antibodies from mice comprising four distinct genetic modifications.Nature 368(6474):856-9.
- [0409] Mahoney KM,Rennert PD,Freeman GJ(2015) Combination cancer immunotherapy and new immunomodulatory targets.Nat Rev Drug Discov 14(8):561-84.
- [0410] Martin A,Cheetham JC,Rees AR(1989) Modeling antibody hypervariable loops:a combined algorithm.Proc Natl Acad Sci USA 86(23):9268-72.
- [0411] MacCallum RM.,Martin ACR,Thornton JT(1996) Antibody-antigen interactions:contact analysis and binding site topography.J Mol Biol 262:732-745.
- [0412] Mellman I,Coukos G,Dranoff(2011) Cancer immunotherapy comes of age.Nature 480:480-9.
- [0413] Nguyen KQ,Tsou WI,Calarese DA,Kimani SG,Singh S等(2014) .Overexpression of MERTK receptor tyrosine kinase in epithelial cancer cells drives efferocytosis in a gain-of-function capacity.J Biol Chem 289(37):25737-49.

- [0414] Olafsen和Wu(2010) Antibody vectors for imaging.Semin Nucl Med 40(3): 167-81.
- [0415] Ott PA,Hodi FS,Kaufman HL,Wigginton JM,Wolchok JD(2017) Combination immunotherapy:a road map.J Immunother Cancer 5:16.
- [0416] Pardoll DM(2012) The blockage of immune checkpoints in cancer immunotherapy.Nat Rev Cancer 12:252-64.
- [0417] PCT公开No.WO 2006/121168,公开于2006年11月16日,ONO Pharmaceutical Co., Ltd.和Medarex, Inc.
- [0418] PCT公开No.WO 2008/156712,公开于2008年12月24日,Organon NV.
- [0419] PCT公开No.WO 2012/145493,公开于2012年10月26日,Amplimmune, Inc.
- [0420] PCT公开No.WO 2013/173223,公开于2013年11月21日,Bristol-Myers Squibb Co.
- [0421] PCT公开No.WO 2014/089113,公开于2014年6月12日,Bristol-Myers Squibb Co.
- [0422] PCT公开No.WO 2014/179664,公开于2014年11月6日,AnaptysBio, Inc.
- [0423] PCT公开No.WO 2014/194302,公开于2014年12月4日,Sorrento Therapeutics, Inc.
- [0424] PCT公开No.WO 2014/206107,公开于2014年12月31日,Shanghai Junshi Biosciences Inc.
- [0425] PCT公开No.WO 2015/035606,公开于2015年3月19日,Beigene, Ltd.
- [0426] PCT公开No.WO 2015/085847,公开于2015年6月18日,Shanghai Hengrui Pharmaceutical Co., Ltd.
- [0427] PCT公开No.WO 2015/112800,公开于2015年7月30日,Regeneron Pharmaceuticals, Inc.
- [0428] PCT公开No.WO 2015/112900,公开于2015年7月30日, Dana-Farber Cancer Institute, Inc. and Novartis AG
- [0429] PCT公开No.WO 2016/106159,公开于2016年6月30日, Enumeral Biomedical Holdings, Inc.
- [0430] PCT公开No.WO 2016/106221,公开于2016年6月30日, The Rockefeller University.
- [0431] PCT公开No.WO 2016/149201,公开于2016年9月22日, Cytomx Therapeutics, Inc.
- [0432] PCT公开No.WO 2016/197367,公开于2016年12月15日, Wuxi Biologics (Shanghai) Co. Ltd.
- [0433] PCT公开No.WO 2017/020291,公开于2017年2月9日, Wuxi Biologics (Shanghai) Co. Ltd.
- [0434] PCT公开No.WO 2017/020858,公开于2017年2月9日, Wuxi Biologics (Shanghai) Co. Ltd.
- [0435] PCT公开No.WO 2017/024465,公开于2017年2月16日, Innovent Biologics (Suzhou) Co., Ltd.
- [0436] PCT公开No.WO 2017/024515,公开于2017年2月16日, Wuxi Biologics (Cayman)

Inc.

[0437] PCT公开No.WO 2017/025016,公开于2017年2月16日,Innovent Biologics (Suzhou) Co.,Ltd.

[0438] PCT公开No.WO 2017/025051,公开于2017年2月16日,Wuxi Biologics (Cayman) Inc.

[0439] PCT公开No.WO 2017/034916,公开于2017年3月2日,Eli Lilly and Co.

[0440] PCT公开No.WO 2017/040790,公开于2017年3月9日,Agenus Inc.

[0441] PCT公开No.WO 2017/106061,公开于2017年6月22日,Macrogenics,Inc.

[0442] PCT公开No.WO 2017/123557,公开于2017年7月20日,Armo Biosciences,Inc.

[0443] PCT公开No.WO 2017/132827,公开于2017年8月10日,Innovent Biologics (Suzhou) Co.,Ltd.

[0444] PCT公开No.WO 2017/133540,公开于2017年8月10日,Innovent Biologics (Suzhou) Co.,Ltd.

[0445] PCT公开No.WO 2019/005756,公开于2019年1月3日,The Rockefeller University and Rgenix,Inc.

[0446] Pianko MJ,Liu Y,Bagchi S,Lesokhin AM(2017) Immune checkpoint blockade for hematologic malignancies:a review.Stem Cell Investig 4:32.

[0447] Stitt TN,Conn G,Gore M,Lai C,Bruno J等(1995) The anticoagulation factor protein-S and its relative,Gas6,are ligands for the Tyro 3/Axl family of receptor tyrosine kinases.Cell 80:661-70.

[0448] Tsou WI,Nguyen KQ,Calarese DA,Garforth SJ,Antes AL等(2014) Receptor tyrosine kinases,TYRO3,AXL,and MER,demonstrate distinct patterns and complex regulation of ligand-induced activation.J Biol Chem 289(37):25750-63.

[0449] U.S.专利No.6,808,710,于2004年10月26日授权于Wood等。

[0450] U.S.专利No.7,488,802,于2009年2月10日授权于Collins等。

[0451] U.S.专利No.7,943,743,于2011年3月17日授权于Korman等。

[0452] U.S.专利No.7,767,429,于2010年8月3日授权于Bookbinder等。

[0453] U.S.专利No.8,008,449,于2011年8月30日授权于Korman等。

[0454] U.S.专利No.8,168,757,于2012年5月1日授权于Finnefrock等。

[0455] U.S.专利No.8,217,149,于2012年7月10日授权于Irving等。

[0456] U.S.专利No.8,354,509,于2013年1月15日授权于Carven等。

[0457] U.S.专利No.8,779,108,于2014年7月15日授权于Queva等。

[0458] U.S.专利No.9,175,082,于2015年11月3日授权于Zhou等。

[0459] U.S.专利No.9,205,148,于2015年12月3日授权于Langermann等。

[0460] U.S.专利No.9,624,298,于2017年4月18日授权于Nastri等。

[0461] U.S.公开No.2015/0079109,由Li等公开于2015年3月19日、

[0462] U.S.公开No.2016/0272708,由Chen等公开于2016年9月22日。

[0463] Wang C,Thudium KB,Han M,Wang XT等(2014) In vitro characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab,BMS-936558,and in vivo toxicology in non-

human primates. *Cancer Imm Res* 2 (9) :846-56.

[0464] Weber J (2010) Immune checkpoint proteins: a new therapeutic paradigm for cancer-preclinical background: CTLA-4 and PD-1 blockade. *Semin Oncol* 37 (5) : 430-9.

[0465] Wolchok JD, Weber JS, Maio M, Neyns B, Harmankaya K 等 (2013) Four-year survival rates for patients with metastatic melanoma who received ipilimumab in phase II clinical trials. *Ann Oncol* 24 (8) :2174-80.

[0466] Wu TT, Kabat EA (1970) An analysis of the sequences of the variable regions of Bence Jones proteins and myeloma light chains and their implications for antibody complementarity. *J Exp Med* 132:211-250.

[0467] Yao S, Zhu Y, Chen L (2013) Advances in targeting cell surface signalling molecules for immune modulation. *Nature Rev Drug Discov* 12:130-46.

[0468] Zhang F, Wei H, Wang X, Bai Y, Wang P 等 (2017) Structural basis of a novel PD-L1 nanobody for immune checkpoint blockade. *Cell Discov* 3:17004.

[0469] Zizzo G, Hilliard BA, Monestier M, Cohen PL (2012) Efficient clearance of early apoptotic cells by human macrophages requires M2c polarization and MerTK induction. *J Immunol* 189 (7) :3508-20.

序列表

<110> 百时美施贵宝公司
 <120> 用于治疗癌症的抗 MERTK 抗体
 <130> 12970-WO-PCT
 <150> 62/743507
 <151> 2018-10-09
 <160> 261
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人
 <400> 1

[0001]

Ser Gly Asn Tyr Trp Gly
 1 5

<210> 2
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 2

Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Asn
 1 5

<210> 3
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 3

Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Asn Tyr
1 5

<210> 4
<211> 16
<212> PRT
<213> 人

<400> 4

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

<210> 5
<211> 5
<212> PRT
<213> 人

<400> 5

[0002]

Asp His Ser Gly Ser
1 5

<210> 6
<211> 7
<212> PRT
<213> 人

<400> 6

Val Asp His Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 7
<211> 13
<212> PRT
<213> 人

<400> 7

Asn Thr Met Ile Arg Gly Val Met Asp Trp Phe Asp Pro
 1 5 10

<210> 8
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 8

Asn Thr Met Ile Arg Gly Val Met Asp Trp Phe Asp Pro
 1 5 10

<210> 9
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 9

[0003]

Ala Arg Asn Thr Met Ile Arg Gly Val Met Asp Trp Phe Asp Pro
 1 5 10 15

<210> 10
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 10

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

<210> 11
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 11

Asp Ala Ser
1

<210> 16
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 16

Gln Gln Phe Arg Ser Tyr Pro Thr
1 5

<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 17

[0005]

Gln Gln Phe Arg Ser Tyr Pro Thr
1 5

<210> 18
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 18

Gln Gln Phe Arg Ser Tyr Pro Thr
1 5

<210> 19
<211> 6
<212> PRT
<213> 人

<400> 19

Ser Asp Tyr Ser Trp Gly
1 5

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> 人

<400> 20

Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asp Tyr
1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> 人

<400> 21

[0006]

Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asp Tyr Ser
1 5

<210> 22

<211> 16

<212> PRT

<213> 人

<400> 22

Ser Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Phe Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213> 人

<400> 23

Tyr His Ser Gly Asn
1 5

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 24

Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr
1 5

<210> 25

<211> 13

<212> PRT

<213> 人

<400> 25

[0007]

Asp Lys Ser Tyr Tyr Phe Gly Pro Gly Ser Met Asp Val
1 5 10

<210> 26

<211> 13

<212> PRT

<213> 人

<400> 26

Asp Lys Ser Tyr Tyr Phe Gly Pro Gly Ser Met Asp Val
1 5 10

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> 人

<400> 27

Ala Arg Asp Lys Ser Tyr Tyr Phe Gly Pro Gly Ser Met Asp Val
 1 5 10 15

<210> 28

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 28

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 29

[0008]

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

<210> 30

<211> 6

<212> PRT

<213> 人

<400> 30

Gln Gly Ile Ser Ser Ala
 1 5

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 31

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 32
<211> 7
<212> PRT
<213> 人

<400> 32

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 33
<211> 3
<212> PRT
<213> 人

<400> 33

[0009]

Asp Ala Ser
1

<210> 34
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 34

Gln Gln Phe Lys Ser Tyr Leu Thr
1 5

<210> 35
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 35

Gln Gln Phe Lys Ser Tyr Leu Thr
1 5

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> 人

<400> 36

Gln Gln Phe Lys Ser Tyr Leu Thr
1 5

<210> 37

<211> 5

<212> PRT

<213> 人

<400> 37

[0010]

Ser Tyr Ser Met Asn
1 5

<210> 38

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 38

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 39

<211> 8

<212> PRT

<213> 人

<400> 39

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser
1 5

<210> 40

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 40

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

Gly

<210> 41

<211> 6

<212> PRT

<213> 人

[0011]

<400> 41

Ile Ser Gly Ser Asp Thr
1 5

<210> 42

<211> 8

<212> PRT

<213> 人

<400> 42

Ile Ile Ser Gly Ser Asp Thr Ile
1 5

<210> 43

<211> 14

<212> PRT

<213> 人

<400> 43

Asp Glu Thr Val Val Arg Gly Val Ile Asn Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 44

<211> 14

<212> PRT

<213> 人

<400> 44

Asp Glu Thr Val Val Arg Gly Val Ile Asn Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 45

<211> 16

<212> PRT

<213> 人

[0012]

<400> 45

Ala Arg Asp Glu Thr Val Val Arg Gly Val Ile Asn Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 46

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 46

Arg Ser Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 47

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 47

Arg Ser Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 48

<211> 6

<212> PRT

<213> 人

<400> 48

Gln Gly Ile Ser Ser Ala
1 5

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

[0013]

<213> 人

<400> 49

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 50

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 50

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 51

<211> 3

<212> PRT

<213> 人

<400> 51

Asp Ala Ser
1

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> 人

<400> 52

Gln Gln Phe Ile Ser Tyr Pro Thr
1 5

<210> 53

<211> 8

<212> PRT

<213> 人

[0014]

<400> 53

Gln Gln Phe Ile Ser Tyr Pro Thr
1 5

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> 人

<400> 54

Gln Gln Phe Ile Ser Tyr Pro Thr
1 5

<210> 55

<211> 5

<212> PRT

<213> 人

<400> 55

Arg Tyr Tyr Met Tyr
1 5

<210> 56

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 56

Gly Asn Thr Gln Ile Arg Tyr
1 5

[0015]

<210> 57

<211> 8

<212> PRT

<213> 人

<400> 57

Gly Asn Thr Gln Ile Arg Tyr Tyr
1 5

<210> 58

<211> 17

<212> PRT

<213> 人

<400> 58

Ile Leu Asn Pro Asn Gln Asp Gln Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 59
<211> 6
<212> PRT
<213> 人

<400> 59

Asn Pro Asn Gln Asp Gln
1 5

<210> 60
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 60

Leu Asn Pro Asn Gln Asp Gln Thr
1 5

[0016]

<210> 61
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 61

Thr Tyr Arg Tyr Tyr Met Asp Val
1 5

<210> 62
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 62

Thr Tyr Arg Tyr Tyr Met Asp Val
1 5

<210> 63
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 63

Ala Thr Thr Tyr Arg Tyr Tyr Met Asp Val
 1 5 10

<210> 64
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 64

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn Tyr Leu Ala
 1 5 10

[0017]

<210> 65
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 65

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 66
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 66

Gln Ser Val Arg Ser Asn Tyr
 1 5

<210> 67
<211> 7
<212> PRT
<213> 人

<400> 67

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 68
<211> 7
<212> PRT
<213> 人

<400> 68

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

[0018]

<210> 69
<211> 3
<212> PRT
<213> 人

<400> 69

Gly Ala Ser
1

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 70

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Arg Thr
1 5

<210> 71
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 71

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Arg Thr
1 5

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 72

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Arg Thr
1 5

[0019]

<210> 73
<211> 5
<212> PRT
<213> 人

<400> 73

Arg Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 74
<211> 7
<212> PRT
<213> 人

<400> 74

Gly Arg Thr Phe Ile Arg Tyr
1 5

<210> 75
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 75

Gly Arg Thr Phe Ile Arg Tyr Tyr
1 5

<210> 76
<211> 17
<212> PRT
<213> 人

<400> 76

Ile Ile Trp Pro Asn Gly Asp Gln Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

[0020]

Gly

<210> 77
<211> 6
<212> PRT
<213> 人

<400> 77

Trp Pro Asn Gly Asp Gln
1 5

<210> 78
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 78

Ile Trp Pro Asn Gly Asp Gln Thr
1 5

<210> 79
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 79

Thr Tyr Lys Tyr Ala Met Asp Val
1 5

<210> 80
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 80

[0021]

Thr Tyr Lys Tyr Ala Met Asp Val
1 5

<210> 81
<211> 10
<212> PRT
<213> 人

<400> 81

Ala Thr Thr Tyr Lys Tyr Ala Met Asp Val
1 5 10

<210> 82
<211> 12
<212> PRT
<213> 人

<400> 82

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 83

<211> 12

<212> PRT

<213> 人

<400> 83

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 84

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 84

[0022]

Gln Ser Val Arg Ser Asn Tyr
 1 5

<210> 85

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 85

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
 1 5

<210> 86

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 86

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 87
<211> 3
<212> PRT
<213> 人

<400> 87

Gly Ala Ser
1

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 88

[0023]

Gln Gln Tyr Glu Ser Pro Pro Arg Thr
1 5

<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 89

Gln Gln Tyr Glu Ser Pro Pro Arg Thr
1 5

<210> 90
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 90

Gln Gln Tyr Glu Ser Pro Pro Arg Thr
1 5

<210> 91
<211> 5
<212> PRT
<213> 人

<400> 91

Ile Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 92
<211> 7
<212> PRT
<213> 人

<400> 92

[0024]

Gly Gly Ser Phe Ser Ile Tyr
1 5

<210> 93
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 93

Gly Gly Ser Phe Ser Ile Tyr Tyr
1 5

<210> 94
<211> 16
<212> PRT
<213> 人

<400> 94

Gln Gly Ile Ser Lys Trp
1 5

<210> 103
<211> 7
<212> PRT
<213> 人

<400> 103

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 104
<211> 7
<212> PRT
<213> 人

<400> 104

[0027]

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 105
<211> 3
<212> PRT
<213> 人

<400> 105

Ala Ala Ser
1

<210> 106
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 106

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> 人

<400> 107

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> 人

<400> 108

[0028]

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 109

<211> 5

<212> PRT

<213> 人

<400> 109

Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 110

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 110

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
1 5

<210> 111
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 111

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr
1 5

<210> 112
<211> 16
<212> PRT
<213> 人

<400> 112

[0029]

Glu Ile Ser His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 113
<211> 5
<212> PRT
<213> 人

<400> 113

Ser His Ser Gly Ser
1 5

<210> 114
<211> 7
<212> PRT
<213> 人

<400> 114

Ile Ser His Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 115
<211> 10
<212> PRT
<213> 人

<400> 115

Ala Leu Ser Arg Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 116
<211> 10
<212> PRT
<213> 人

<400> 116

[0030]

Ala Leu Ser Arg Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 117
<211> 12
<212> PRT
<213> 人

<400> 117

Ala Arg Ala Leu Ser Arg Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 118
<211> 11
<212> PRT
<213> 人

<400> 118

Arg Ala Ser Gln Ser Ala Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 119

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 119

Arg Ala Ser Gln Ser Ala Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 120

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 120

[0031]

Arg Ala Ser Gln Ser Ala Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 121

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 121

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 122

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 122

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 123
<211> 3
<212> PRT
<213> 人

<400> 123

Asp Ala Ser
1

<210> 124
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 124

[0032]

Tyr Gln Arg Ser Gln Trp Pro Ile Ser
1 5

<210> 125
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 125

Tyr Gln Arg Ser Gln Trp Pro Ile Ser
1 5

<210> 126
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 126

Tyr Gln Arg Ser Gln Trp Pro Ile Ser
1 5

<210> 127

<211> 5

<212> PRT

<213> 人

<400> 127

Ser Phe Ala Ile Ser
1 5

<210> 128

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 128

[0033]

Gly Ile Ser Leu Ser Ser Phe
1 5

<210> 129

<211> 8

<212> PRT

<213> 人

<400> 129

Gly Ile Ser Leu Ser Ser Phe Ala
1 5

<210> 130

<211> 16

<212> PRT

<213> 人

<400> 130

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

<210> 131

<211> 5

<212> PRT

<213> 人

<400> 131

Trp Thr Gly Gly Gly
 1 5

<210> 132

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 132

[0034]

Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr
 1 5

<210> 133

<211> 6

<212> PRT

<213> 人

<400> 133

His Trp Tyr Leu Asp Val
 1 5

<210> 134

<211> 6

<212> PRT

<213> 人

<400> 134

His Trp Tyr Leu Asp Val
1 5

<210> 135
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 135

Ala Ser His Trp Tyr Leu Asp Val
1 5

<210> 136
<211> 14
<212> PRT
<213> 人

<400> 136

[0035]

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Ser Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 137
<211> 14
<212> PRT
<213> 人

<400> 137

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Ser Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 138
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 138

Thr Gly Ala Val Ser Thr Ser Asn Tyr
1 5

<210> 139
<211> 7
<212> PRT
<213> 人

<400> 139

Gly Ala Asn Ser Arg Ala Pro
1 5

<210> 140
<211> 7
<212> PRT
<213> 人

<400> 140

[0036]

Gly Ala Asn Ser Arg Ala Pro
1 5

<210> 141
<211> 3
<212> PRT
<213> 人

<400> 141

Gly Ala Asn
1

<210> 142
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 142

Ala Leu Trp Phe Ser Asn His Trp Val
1 5

<210> 143
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 143

Ala Leu Trp Phe Ser Asn His Trp Val
1 5

<210> 144
<211> 9
<212> PRT
<213> 人

<400> 144

[0037]

Ala Leu Trp Phe Ser Asn His Trp Val
1 5

<210> 145
<211> 5
<212> PRT
<213> 人

<400> 145

Thr Tyr Gly Met Ser
1 5

<210> 146
<211> 7
<212> PRT
<213> 人

<400> 146

Gly Asn Thr Phe Thr Thr Tyr
1 5

<210> 147
<211> 8
<212> PRT
<213> 人

<400> 147

Gly Asn Thr Phe Thr Thr Tyr Gly
1 5

<210> 148
<211> 17
<212> PRT
<213> 人

<400> 148

[0038]

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

Gly

<210> 149
<211> 6
<212> PRT
<213> 人

<400> 149

Asn Asn Tyr Ser Gly Val
1 5

<210> 150
<211> 8

<212> PRT

<213> 人

<400> 150

Ile Asn Asn Tyr Ser Gly Val Ser
1 5

<210> 151

<211> 12

<212> PRT

<213> 人

<400> 151

Asp Tyr Tyr Gly Ser Gly Gly Trp Val Phe Asp Tyr
1 5 10

[0039]

<210> 152

<211> 12

<212> PRT

<213> 人

<400> 152

Asp Tyr Tyr Gly Ser Gly Gly Trp Val Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 153

<211> 14

<212> PRT

<213> 人

<400> 153

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Gly Gly Trp Val Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 154

<211> 16

<212> PRT

<213> 人

<400> 154

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Glu Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 155

<211> 16

<212> PRT

<213> 人

<400> 155

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Glu Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

[0040]

<210> 156

<211> 11

<212> PRT

<213> 人

<400> 156

Gln Ser Leu Leu Asp Ser Glu Gly Lys Thr Tyr
1 5 10

<210> 157

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 157

Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5

<210> 158

<211> 7

<212> PRT

<213> 人

<400> 158

Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser

1 5

<210> 159

<211> 3

<212> PRT

<213> 人

<400> 159

Leu Val Ser

1

[0041]

<210> 160

<211> 9

<212> PRT

<213> 人

<400> 160

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr

1 5

<210> 161

<211> 9

<212> PRT

<213> 人

<400> 161

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr

1 5

<210> 162

<211> 9

<212> PRT

<213> 人

<400> 162

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr

1 5

<210> 163

<211> 5

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 163

Ser Phe Ala Ile Ser

1 5

[0042]

<210> 164

<211> 7

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 164

Gly Ile Ser Leu Ser Ser Phe

1 5

<210> 165

<211> 8

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 165

Gly Ile Ser Leu Ser Ser Phe Ala

1 5

<210> 166

<211> 16

<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 166

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

<210> 167
<211> 5
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 167

Trp Thr Gly Gly Gly
1 5

[0043]

<210> 168
<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 168

Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr
1 5

<210> 169
<211> 6
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 169

His Trp Tyr Leu Asp Val
1 5

<210> 170
<211> 6

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 170

His Trp Tyr Leu Asp Val

1 5

<210> 171

<211> 8

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 171

Ala Ser His Trp Tyr Leu Asp Val

1 5

[0044]

<210> 172

<211> 14

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 172

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Ser Thr Ser Asn Tyr Ala Asn

1 5 10

<210> 173

<211> 14

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 173

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Ser Thr Ser Asn Tyr Ala Asn

1 5 10

<210> 174

<211> 9

<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 174

Thr Gly Ala Val Ser Thr Ser Asn Tyr
1 5

<210> 175
<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 175

Gly Ala Asn Ser Arg Ala Pro
1 5

[0045]

<210> 176
<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 176

Gly Ala Asn Ser Arg Ala Pro
1 5

<210> 177
<211> 3
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 177

Gly Ala Asn
1

<210> 178
<211> 9

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 178

Ala Leu Trp Phe Ser Asn His Trp Val

1 5

<210> 179

<211> 9

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 179

Ala Leu Trp Phe Ser Asn His Trp Val

1 5

[0046]

<210> 180

<211> 9

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 180

Ala Leu Trp Phe Ser Asn His Trp Val

1 5

<210> 181

<211> 5

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 181

Thr Tyr Gly Met Ser

1 5

<210> 182

<211> 7

<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 182

Gly Asn Thr Phe Thr Thr Tyr
1 5

<210> 183
<211> 8
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 183

Gly Asn Thr Phe Thr Thr Tyr Gly
1 5

[0047]

<210> 184
<211> 17
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 184

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

Gly

<210> 185
<211> 6
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 185

Asn Asn Tyr Ser Gly Val
1 5

<210> 190
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 190

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10 15

<210> 191
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 191

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10 15

[0049]

<210> 192
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 192

Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr
 1 5 10

<210> 193
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 193

Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
 1 5

<210> 194
<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 194

Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5

<210> 195
<211> 3
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 195

Leu Val Ser
1

[0050]

<210> 196
<211> 9
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 196

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr
1 5

<210> 197
<211> 9
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 197

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr
1 5

<210> 198
<211> 9
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 198

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr
1 5

<210> 199
<211> 5
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 199

Asp Tyr Asn Met His
1 5

[0051]

<210> 200
<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 200

Gly Tyr Thr Phe Ile Asp Tyr
1 5

<210> 201
<211> 8
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 201

Gly Tyr Thr Phe Ile Asp Tyr Asn
1 5

<210> 202
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 202

Tyr Ile His Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Asp

<210> 203
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 小鼠

[0052] <400> 203

His Pro Asn Asn Gly Gly
 1 5

<210> 204
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 204

Ile His Pro Asn Asn Gly Gly Thr
 1 5

<210> 205
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 205

Ser Gly Ile Tyr Tyr Asp Tyr Asp Ser Phe Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 206

<211> 13

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 206

Ser Gly Ile Tyr Tyr Asp Tyr Asp Ser Phe Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 207

<211> 15

<212> PRT

<213> 小鼠

[0053]

<400> 207

Ser Arg Ser Gly Ile Tyr Tyr Asp Tyr Asp Ser Phe Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 208

<211> 11

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 208

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser His Leu Ala
1 5 10

<210> 209

<211> 11

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 209

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser His Leu Ala
1 5 10

<210> 210

<211> 6

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 210

Glu Asn Ile Tyr Ser His
1 5

<210> 211

<211> 7

<212> PRT

<213> 小鼠

[0054]

<400> 211

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp
1 5

<210> 212

<211> 7

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 212

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp
1 5

<210> 213

<211> 3

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 213

Ala Ala Thr
1

<210> 214

<211> 9

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 214

Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 215

<211> 9

<212> PRT

<213> 小鼠

[0055]

<400> 215

Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 216

<211> 9

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 216

Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 217

<211> 122

<212> PRT

<213> 人

<400> 217

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

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

Ile Gly Ser Val Asp His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

[0056]

Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Thr Met Ile Arg Gly Val Met Asp Trp Phe Asp Pro Trp
100 105 110

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

<210> 218

<211> 106

<212> PRT

<213> 人

<400> 218

Ala Ile Gln Leu 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 Gly Ile Ser Ser Ala
 20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Ser 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 Gln Gln Phe Arg Ser Tyr Pro Thr
 85 90 95

[0057] Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 219

<211> 452

<212> PRT

<213> 人

<400> 219

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
 20 25 30

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

	Ile	Gly	Ser	Val	Asp	His	Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ser	Pro	Ser	Leu
	50						55					60				
	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser
	65					70					75					80
	Leu	Lys	Leu	Asn	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys
				85						90						95
	Ala	Arg	Asn	Thr	Met	Ile	Arg	Gly	Val	Met	Asp	Trp	Phe	Asp	Pro	Trp
				100						105					110	
	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
			115						120						125	
[0058]	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr
	130						135							140		
	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
	145					150					155					160
	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
				165						170						175
	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
				180						185						190
	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn
			195					200						205		
	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser
	210							215						220		

	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Glu	
	225					230					235					240	
	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	
					245					250						255	
	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	
				260						265					270		
	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	
			275					280						285			
	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	
			290				295							300			
[0059]	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	
	305						310					315				320	
	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	
						325					330					335	
	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	
				340						345						350	
	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	
				355						360						365	
	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	
		370						375								380	
	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	
	385					390							395			400	

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

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

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

Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 220

<211> 213

<212> PRT

<213> 人

[0060] <400> 220

Ala Ile Gln Leu 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 Gly Ile Ser Ser Ala
 20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Ser 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 Gln Gln Phe Arg Ser Tyr Pro Thr

85

90

95

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

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

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

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

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

[0061]

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 221

<211> 122

<212> PRT

<213> 人

<400> 221

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Phe Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

[0062] Ala Arg Asp Lys Ser Tyr Tyr Phe Gly Pro Gly Ser Met Asp Val Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 222

<211> 106

<212> PRT

<213> 人

<400> 222

Ala Ile Gln Leu 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 Gly Ile Ser Ser Ala
 20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Ser 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 Gln Gln Phe Lys Ser Tyr Leu Thr
 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

[0063] <210> 223
 <211> 452
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 223

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

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

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

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Phe Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Lys Ser Tyr Tyr Phe Gly Pro Gly Ser Met Asp Val Trp
100 105 110

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

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

[0064]

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

[0065]

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 224

<211> 213

<212> PRT

<213> 人

<400> 224

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

[0066]

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

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

Tyr Asp Ala Ser Ser 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 Gln Gln Phe Lys Ser Tyr Leu Thr
 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro

100

105

110

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

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

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

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

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

[0067]

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

Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 225

<211> 123

<212> PRT

<213> 人

<400> 225

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 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Asp Glu Thr Val Val Arg Gly Val Ile Asn Tyr Phe Asp Tyr
 100 105 110

[0068] Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 226

<211> 106

<212> PRT

<213> 人

<400> 226

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

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

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

Tyr Asp Ala Ser Ser 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 Gln Gln Phe Ile Ser Tyr Pro Thr
 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 227

<211> 453

<212> PRT

<213> 人

[0069]

<400> 227

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 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

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

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

	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Asp	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85				90					95		
	Ala	Arg	Asp	Glu	Thr	Val	Val	Arg	Gly	Val	Ile	Asn	Tyr	Phe	Asp	Tyr
			100						105					110		
	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
			115					120						125		
	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly
			130				135						140			
	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
	145					150					155					160
[0070]	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
					165						170					175
	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
				180						185					190	
	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
			195					200						205		
	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys
	210						215					220				
	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala
	225					230					235					240
	Glu	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
					245						250				255	

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

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

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

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

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

[0071] Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 340 345 350

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 228

<211> 213

<212> PRT

<213> 人

<400> 228

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

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

[0072]

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

Tyr Asp Ala Ser Ser 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 Gln Gln Phe Ile Ser Tyr Pro Thr
 85 90 95

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

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

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

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

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

Ala Thr Thr Tyr Arg Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

[0074] <210> 230
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 230

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

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

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

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

Ala Thr Thr Tyr Arg Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

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

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

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

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

[0076] Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190

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

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

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

[0077] Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

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

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

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

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

<210> 232
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 232

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

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

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

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

[0078]

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

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

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

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

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

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

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

Ala Thr Thr Tyr Lys Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 234

<211> 108

<212> PRT

<213> 人

<400> 234

[0080] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 235

<211> 447

<212> PRT

<213> 人

<400> 235

Gln 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 Thr Ser Gly Arg Thr Phe Ile Arg Tyr
 20 25 30

[0081] Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

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

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

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

Ala Thr Thr Tyr Lys Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110

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

	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys	
	130	135 140
	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser	
	145	150 155 160
	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser	
		165 170 175
	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser	
		180 185 190
	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn	
		195 200 205
[0082]	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His	
	210	215 220
	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val	
	225	230 235 240
	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr	
		245 250 255
	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu	
		260 265 270
	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys	
		275 280 285
	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser	
	290	295 300

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

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

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

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

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

[0083]

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

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

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

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

<210> 236

<211> 215

<212> PRT

<213> 人

<400> 236

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

1	5	10	15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn	20	25	30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu	35	40	45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser	50	55	60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu	65	70	75
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu Ser Pro Pro	85	90	95
[0084]			
Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala	100	105	110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser	115	120	125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu	130	135	140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser	145	150	155
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu	165	170	175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val			

180 185 190

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 237

<211> 119

<212> PRT

<213> 人

<400> 237

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

[0085]

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

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

Gly Glu Ile Asn Asp Glu Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
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 Ala
85 90 95

Arg Gly Gly Thr Gly Asp Ile His Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 238

<211> 107

<212> PRT

<213> 人

<400> 238

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 Gly Ile Ser Lys Trp
20 25 30

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

[0086]

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln 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 Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp
85 90 95

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

<210> 239

<211> 449

<212> PRT

<213> 人

<400> 239

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Asp Glu Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

[0087]

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 Ala
85 90 95

Arg Gly Gly Thr Gly Asp Ile His Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

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

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

	Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
		165	170
			175
	Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
		180	185
			190
	Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
		195	200
			205
	Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
		210	215
			220
	Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro		
		225	230
			235
			240
[0088]	Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
		245	250
			255
	Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
		260	265
			270
	Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
		275	280
			285
	Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
		290	295
			300
	Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
		305	310
			315
			320
	Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
		325	330
			335

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

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

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

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

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

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

[0089]

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

Lys

<210> 240

<211> 214

<212> PRT

<213> 人

<400> 240

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 Gly Ile Ser Lys Trp

20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile 35	40	45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln 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 Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp 85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala 100	105	110
[0090]		
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly 115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala 130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln 145	150	155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser 165	170	175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr 180	185	190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser		

195

200

205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 241

<211> 118

<212> PRT

<213> 人

<400> 241

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

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

[0091]

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

Gly Glu Ile Ser His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
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 Ala
 85 90 95

Arg Ala Leu Ser Arg Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 242
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 242

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

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

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

[0092] Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

Ser Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 243
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 243

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

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

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

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser
 225 230 235 240

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

[0094]

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

[0095]

<210> 244

<211> 214

<212> PRT

<213> 人

<400> 244

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

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

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

<211> 114
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 245

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Ser Leu Ser Ser Phe
 20 25 30

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

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

[0097]

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
 65 70 75 80

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Ser His Trp Tyr Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
 100 105 110

Ser Ser

<210> 246
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 246

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

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
 65 70 75 80

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Ser His Trp Tyr Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
 100 105 110

[0099] Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
 115 120 125

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
 130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
 145 150 155 160

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

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

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

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

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe
 225 230 235 240

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

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 260 265 270

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

[0100] Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 325 330 335

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

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 370 375 380

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 248

<211> 215

<212> PRT

<213> 人

[0101] <400> 248

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

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

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

Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Phe Ser Asn

85

90

95

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
 100 105 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
 115 120 125

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
 130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
 165 170 175

[0102]

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
 180 185 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
 195 200 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215

<210> 249

<211> 121

<212> PRT

<213> 人

<400> 249

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

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

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

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

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

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

[0103] Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Gly Gly Trp Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 250

<211> 112

<212> PRT

<213> 人

<400> 250

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Glu Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Arg Arg Leu Met Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

[0104] <210> 251
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> 人

<400> 251

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

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

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

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

	Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr																		
	65				70					75									80
	Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys																		
					85					90									95
	Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Gly Gly Trp Val Phe Asp Tyr Trp Gly																		
					100					105									110
	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser																		
					115					120									125
	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala																		
					130					135									140
[0105]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val																		
	145				150					155									160
	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala																		
					165					170									175
	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val																		
					180					185									190
	Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His																		
					195					200									205
	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys																		
					210					215									220
	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly																		
	225				230					235									240

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

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

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

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

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

[0106] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys
 450

<210> 252

<211> 219

<212> PRT

<213> 人

<400> 252

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

[0107]

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Glu Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Arg Arg Leu Met Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

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

[0108]

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 253

<211> 114

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 253

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Ser Leu Ser Ser Phe
 20 25 30

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

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu
 65 70 75 80

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

Ser His Trp Tyr Leu Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val
 100 105 110

[0109] Ser Ser

<210> 254

<211> 109

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 254

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

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

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Ala Asn Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Ala Arg Phe
50 55 60

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

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Phe Ser Asn
85 90 95

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 255

<211> 121

<212> PRT

<213> 小鼠

[0110]

<400> 255

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

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

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

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

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Thr Asn Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Gly Gly Trp Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 256

<211> 112

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 256

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

[0111]

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Lys Arg Leu Met Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95

Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

110

<210> 257

<211> 122

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 257

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

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

Asn Met His Trp Val Lys Gln Arg His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

[0112]

Gly Tyr Ile His Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Met Asn Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ser Arg Ser Gly Ile Tyr Tyr Asp Tyr Asp Ser Phe Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 258

<211> 107

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 258

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

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser His
 20 25 30

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

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

[0113]

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 259

<211> 999

<212> PRT

<213> 人

<400> 259

Met Gly Pro Ala Pro Leu Pro Leu Leu Leu Gly Leu Phe Leu Pro Ala
1 5 10 15

Leu Trp Arg Arg Ala Ile Thr Glu Ala Arg Glu Glu Ala Lys Pro Tyr
 20 25 30

Pro Leu Phe Pro Gly Pro Phe Pro Gly Ser Leu Gln Thr Asp His Thr
 35 40 45

Pro Leu Leu Ser Leu Pro His Ala Ser Gly Tyr Gln Pro Ala Leu Met
 50 55 60

Phe Ser Pro Thr Gln Pro Gly Arg Pro His Thr Gly Asn Val Ala Ile
 65 70 75 80

Pro Gln Val Thr Ser Val Glu Ser Lys Pro Leu Pro Pro Leu Ala Phe
 85 90 95

[0114] Lys His Thr Val Gly His Ile Ile Leu Ser Glu His Lys Gly Val Lys
 100 105 110

Phe Asn Cys Ser Ile Ser Val Pro Asn Ile Tyr Gln Asp Thr Thr Ile
 115 120 125

Ser Trp Trp Lys Asp Gly Lys Glu Leu Leu Gly Ala His His Ala Ile
 130 135 140

Thr Gln Phe Tyr Pro Asp Asp Glu Val Thr Ala Ile Ile Ala Ser Phe
 145 150 155 160

Ser Ile Thr Ser Val Gln Arg Ser Asp Asn Gly Ser Tyr Ile Cys Lys
 165 170 175

Met Lys Ile Asn Asn Glu Glu Ile Val Ser Asp Pro Ile Tyr Ile Glu
 180 185 190

	Val	Gln	Gly	Leu	Pro	His	Phe	Thr	Lys	Gln	Pro	Glu	Ser	Met	Asn	Val	
			195					200					205				
	Thr	Arg	Asn	Thr	Ala	Phe	Asn	Leu	Thr	Cys	Gln	Ala	Val	Gly	Pro	Pro	
	210						215					220					
	Glu	Pro	Val	Asn	Ile	Phe	Trp	Val	Gln	Asn	Ser	Ser	Arg	Val	Asn	Glu	
	225					230					235					240	
	Gln	Pro	Glu	Lys	Ser	Pro	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Pro	Gly	Leu	Thr	Glu	
					245					250						255	
	Met	Ala	Val	Phe	Ser	Cys	Glu	Ala	His	Asn	Asp	Lys	Gly	Leu	Thr	Val	
				260						265						270	
[0115]	Ser	Lys	Gly	Val	Gln	Ile	Asn	Ile	Lys	Ala	Ile	Pro	Ser	Pro	Pro	Thr	
			275					280								285	
	Glu	Val	Ser	Ile	Arg	Asn	Ser	Thr	Ala	His	Ser	Ile	Leu	Ile	Ser	Trp	
	290							295					300				
	Val	Pro	Gly	Phe	Asp	Gly	Tyr	Ser	Pro	Phe	Arg	Asn	Cys	Ser	Ile	Gln	
	305					310					315					320	
	Val	Lys	Glu	Ala	Asp	Pro	Leu	Ser	Asn	Gly	Ser	Val	Met	Ile	Phe	Asn	
					325					330						335	
	Thr	Ser	Ala	Leu	Pro	His	Leu	Tyr	Gln	Ile	Lys	Gln	Leu	Gln	Ala	Leu	
				340						345						350	
	Ala	Asn	Tyr	Ser	Ile	Gly	Val	Ser	Cys	Met	Asn	Glu	Ile	Gly	Trp	Ser	
			355						360							365	

Ala Val Ser Pro Trp Ile Leu Ala Ser Thr Thr Glu Gly Ala Pro Ser
370 375 380

Val Ala Pro Leu Asn Val Thr Val Phe Leu Asn Glu Ser Ser Asp Asn
385 390 395 400

Val Asp Ile Arg Trp Met Lys Pro Pro Thr Lys Gln Gln Asp Gly Glu
405 410 415

Leu Val Gly Tyr Arg Ile Ser His Val Trp Gln Ser Ala Gly Ile Ser
420 425 430

Lys Glu Leu Leu Glu Glu Val Gly Gln Asn Gly Ser Arg Ala Arg Ile
435 440 445

[0116] Ser Val Gln Val His Asn Ala Thr Cys Thr Val Arg Ile Ala Ala Val
450 455 460

Thr Arg Gly Gly Val Gly Pro Phe Ser Asp Pro Val Lys Ile Phe Ile
465 470 475 480

Pro Ala His Gly Trp Val Asp Tyr Ala Pro Ser Ser Thr Pro Ala Pro
485 490 495

Gly Asn Ala Asp Pro Val Leu Ile Ile Phe Gly Cys Phe Cys Gly Phe
500 505 510

Ile Leu Ile Gly Leu Ile Leu Tyr Ile Ser Leu Ala Ile Arg Lys Arg
515 520 525

Val Gln Glu Thr Lys Phe Gly Asn Ala Phe Thr Glu Glu Asp Ser Glu
530 535 540

	Leu	Val	Val	Asn	Tyr	Ile	Ala	Lys	Lys	Ser	Phe	Cys	Arg	Arg	Ala	Ile
	545					550					555					560
	Glu	Leu	Thr	Leu	His	Ser	Leu	Gly	Val	Ser	Glu	Glu	Leu	Gln	Asn	Lys
				565					570						575	
	Leu	Glu	Asp	Val	Val	Ile	Asp	Arg	Asn	Leu	Leu	Ile	Leu	Gly	Lys	Ile
			580						585					590		
	Leu	Gly	Glu	Gly	Glu	Phe	Gly	Ser	Val	Met	Glu	Gly	Asn	Leu	Lys	Gln
		595						600					605			
	Glu	Asp	Gly	Thr	Ser	Leu	Lys	Val	Ala	Val	Lys	Thr	Met	Lys	Leu	Asp
	610						615					620				
[0117]	Asn	Ser	Ser	Gln	Arg	Glu	Ile	Glu	Glu	Phe	Leu	Ser	Glu	Ala	Ala	Cys
	625					630					635					640
	Met	Lys	Asp	Phe	Ser	His	Pro	Asn	Val	Ile	Arg	Leu	Leu	Gly	Val	Cys
				645						650					655	
	Ile	Glu	Met	Ser	Ser	Gln	Gly	Ile	Pro	Lys	Pro	Met	Val	Ile	Leu	Pro
			660						665					670		
	Phe	Met	Lys	Tyr	Gly	Asp	Leu	His	Thr	Tyr	Leu	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu
		675						680					685			
	Glu	Thr	Gly	Pro	Lys	His	Ile	Pro	Leu	Gln	Thr	Leu	Leu	Lys	Phe	Met
	690						695					700				
	Val	Asp	Ile	Ala	Leu	Gly	Met	Glu	Tyr	Leu	Ser	Asn	Arg	Asn	Phe	Leu
	705					710					715					720

His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met Leu Arg Asp Asp Met Thr
 725 730 735

Val Cys Val Ala Asp Phe Gly Leu Ser Lys Lys Ile Tyr Ser Gly Asp
 740 745 750

Tyr Tyr Arg Gln Gly Arg Ile Ala Lys Met Pro Val Lys Trp Ile Ala
 755 760 765

Ile Glu Ser Leu Ala Asp Arg Val Tyr Thr Ser Lys Ser Asp Val Trp
 770 775 780

Ala Phe Gly Val Thr Met Trp Glu Ile Ala Thr Arg Gly Met Thr Pro
 785 790 795 800

[0118]

Tyr Pro Gly Val Gln Asn His Glu Met Tyr Asp Tyr Leu Leu His Gly
 805 810 815

His Arg Leu Lys Gln Pro Glu Asp Cys Leu Asp Glu Leu Tyr Glu Ile
 820 825 830

Met Tyr Ser Cys Trp Arg Thr Asp Pro Leu Asp Arg Pro Thr Phe Ser
 835 840 845

Val Leu Arg Leu Gln Leu Glu Lys Leu Leu Glu Ser Leu Pro Asp Val
 850 855 860

Arg Asn Gln Ala Asp Val Ile Tyr Val Asn Thr Gln Leu Leu Glu Ser
 865 870 875 880

Ser Glu Gly Leu Ala Gln Gly Ser Thr Leu Ala Pro Leu Asp Leu Asn
 885 890 895

Ile Asp Pro Asp Ser Ile Ile Ala Ser Cys Thr Pro Arg Ala Ala Ile
 900 905 910

Ser Val Val Thr Ala Glu Val His Asp Ser Lys Pro His Glu Gly Arg
 915 920 925

Tyr Ile Leu Asn Gly Gly Ser Glu Glu Trp Glu Asp Leu Thr Ser Ala
 930 935 940

Pro Ser Ala Ala Val Thr Ala Glu Lys Asn Ser Val Leu Pro Gly Glu
 945 950 955 960

Arg Leu Val Arg Asn Gly Val Ser Trp Ser His Ser Ser Met Leu Pro
 965 970 975

Leu Gly Ser Ser Leu Pro Asp Glu Leu Leu Phe Ala Asp Asp Ser Ser
 980 985 990

[0119]

Glu Gly Ser Glu Val Leu Met
 995

<210> 260

<211> 1001

<212> PRT

<213> 人

<400> 260

Met Gly Leu Ala Pro Leu Pro Leu Pro Leu Leu Leu Gly Leu Phe Leu
 1 5 10 15

Pro Ala Leu Trp Ser Arg Ala Ile Thr Glu Ala Arg Glu Glu Ala Lys
 20 25 30

Pro Tyr Pro Leu Phe Pro Gly Pro Leu Pro Gly Ser Leu Gln Thr Asp

210 215 220

Pro Pro Glu Pro Val Asn Ile Phe Trp Val Gln Asn Ser Ser Arg Val
225 230 235 240

Asn Glu Gln Pro Glu Lys Ser Pro Ser Val Leu Thr Val Pro Gly Leu
245 250 255

Thr Glu Met Ala Val Phe Ser Cys Glu Ala His Asn Asp Lys Gly Leu
260 265 270

Thr Val Ser Lys Gly Val Gln Ile Asn Ile Lys Ala Ile Pro Ser Pro
275 280 285

Pro Thr Glu Val Ser Ile His Asn Ser Thr Ala His Ser Ile Leu Ile
290 295 300

[0121]

Ser Trp Val Pro Gly Phe Asp Gly Tyr Ser Pro Phe Arg Asn Cys Ser
305 310 315 320

Val Gln Val Lys Glu Val Asp Pro Leu Ser Asn Gly Ser Val Met Ile
325 330 335

Phe Asn Thr Ser Ala Ser Pro His Met Tyr Gln Ile Lys Gln Leu Gln
340 345 350

Ala Leu Ala Asn Tyr Ser Ile Gly Val Ser Cys Met Asn Glu Ile Gly
355 360 365

Trp Ser Ala Val Ser Pro Trp Ile Leu Ala Ser Thr Thr Glu Gly Ala
370 375 380

Pro Ser Val Ala Pro Leu Asn Val Thr Val Phe Leu Asn Glu Ser Arg

385	390	395	400
Asp Asn Val Asp Ile Arg Trp Met Lys Pro Leu Thr Lys Arg Gln Ala	405	410	415
Gly Glu Leu Val Gly Tyr Arg Ile Ser His Val Trp Gln Ser Ala Gly	420	425	430
Ile Ser Lys Glu Leu Leu Glu Glu Val Gly Gln Asn Asn Ser Arg Ala	435	440	445
Gln Ile Ser Val Gln Val His Asn Ala Thr Cys Thr Val Arg Ile Ala	450	455	460
Ala Val Thr Lys Gly Gly Val Gly Pro Phe Ser Asp Pro Val Lys Ile	465	470	475
[0122]			
Phe Ile Pro Ala His Gly Trp Val Asp His Ala Pro Ser Ser Thr Pro	485	490	495
Ala Pro Gly Asn Ala Asp Pro Val Leu Ile Ile Phe Gly Cys Phe Cys	500	505	510
Gly Phe Ile Leu Ile Gly Leu Val Leu Tyr Ile Ser Leu Ala Val Arg	515	520	525
Lys Arg Val Gln Glu Thr Lys Phe Gly Asn Ala Phe Thr Glu Glu Asp	530	535	540
Ser Glu Leu Val Val Asn Tyr Ile Ala Lys Lys Ser Phe Cys Arg Arg	545	550	555
Ala Ile Glu Leu Thr Leu His Ser Leu Gly Val Ser Glu Glu Leu Gln			

565

570

575

Asn Lys Leu Glu Asp Val Val Ile Asp Arg Asn Leu Leu Ile Leu Gly
 580 585 590

Lys Ile Leu Gly Glu Gly Glu Phe Gly Ser Val Met Glu Gly Asn Leu
 595 600 605

Lys Gln Glu Asp Gly Thr Ser Gln Lys Val Ala Val Lys Thr Met Lys
 610 615 620

Leu Asp Asn Phe Ser Gln Arg Glu Ile Glu Glu Phe Leu Ser Glu Ala
 625 630 635 640

Ala Cys Met Lys Asp Phe Ser His Pro Asn Val Ile Arg Leu Leu Gly
 645 650 655

[0123]

Val Cys Ile Glu Met Ser Ser Gln Gly Ile Pro Lys Pro Met Val Ile
 660 665 670

Leu Pro Phe Met Lys Tyr Gly Asp Leu His Thr Tyr Leu Leu Tyr Ser
 675 680 685

Arg Leu Glu Thr Gly Pro Lys His Ile Pro Leu Gln Thr Leu Leu Lys
 690 695 700

Phe Met Met Asp Ile Ala Leu Gly Met Glu Tyr Leu Ser Asn Arg Asn
 705 710 715 720

Phe Leu His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met Leu Arg Asp Asp
 725 730 735

Met Thr Val Cys Val Ala Asp Phe Gly Leu Ser Lys Lys Ile Tyr Ser

915

920

925

Gly Arg Tyr Ile Leu Asn Gly Gly Ser Glu Glu Trp Glu Asp Val Thr
 930 935 940

Ser Ala Ala Ser Ala Ala Val Thr Ala Glu Lys Asn Ser Val Leu Pro
 945 950 955 960

Gly Glu Arg Leu Val Arg Asn Gly Val Pro Trp Ser His Ser Ser Thr
 965 970 975

Leu Pro Leu Gly Ser Ser Leu Pro Asp Glu Leu Leu Phe Ala Asp Asp
 980 985 990

Ser Ser Glu Ser Ser Glu Val Leu Met
 995 1000

[0125]

<210> 261
 <211> 994
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 261

Met Val Leu Ala Pro Leu Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Pro Ala Leu
 1 5 10 15

Trp Ser Gly Gly Thr Ala Glu Lys Trp Glu Glu Thr Glu Leu Asp Gln
 20 25 30

Leu Phe Ser Gly Pro Leu Pro Gly Arg Leu Pro Val Asn His Arg Pro
 35 40 45

Phe Ser Ala Pro His Ser Ser Arg Asp Gln Leu Pro Pro Pro Gln Thr
 50 55 60

	Gly	Arg	Ser	His	Pro	Ala	His	Thr	Ala	Ala	Pro	Gln	Val	Thr	Ser	Thr	
	65					70					75					80	
	Ala	Ser	Lys	Leu	Leu	Pro	Pro	Val	Ala	Phe	Asn	His	Thr	Ile	Gly	His	
				85					90						95		
	Ile	Val	Leu	Ser	Glu	His	Lys	Asn	Val	Lys	Phe	Asn	Cys	Ser	Ile	Asn	
			100					105							110		
	Ile	Pro	Asn	Thr	Tyr	Gln	Glu	Thr	Ala	Gly	Ile	Ser	Trp	Trp	Lys	Asp	
			115					120							125		
	Gly	Lys	Glu	Leu	Leu	Gly	Ala	His	His	Ser	Ile	Thr	Gln	Phe	Tyr	Pro	
		130					135						140				
[0126]	Asp	Glu	Glu	Gly	Val	Ser	Ile	Ile	Ala	Leu	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Val	
	145					150					155					160	
	Gln	Arg	Ser	Asp	Asn	Gly	Ser	Tyr	Phe	Cys	Lys	Met	Lys	Val	Asn	Asn	
				165						170						175	
	Arg	Glu	Ile	Val	Ser	Asp	Pro	Ile	Tyr	Val	Glu	Val	Gln	Gly	Leu	Pro	
				180					185						190		
	Tyr	Phe	Ile	Lys	Gln	Pro	Glu	Ser	Val	Asn	Val	Thr	Arg	Asn	Thr	Ala	
			195					200							205		
	Phe	Asn	Leu	Thr	Cys	Gln	Ala	Val	Gly	Pro	Pro	Glu	Pro	Val	Asn	Ile	
		210					215						220				
	Phe	Trp	Val	Gln	Asn	Ser	Ser	Arg	Val	Asn	Glu	Lys	Pro	Glu	Arg	Ser	
	225				230						235					240	

Pro Ser Val Leu Thr Val Pro Gly Leu Thr Glu Thr Ala Val Phe Ser
 245 250 255

Cys Glu Ala His Asn Asp Lys Gly Leu Thr Val Ser Lys Gly Val His
 260 265 270

Ile Asn Ile Lys Val Ile Pro Ser Pro Pro Thr Glu Val His Ile Leu
 275 280 285

Asn Ser Thr Ala His Ser Ile Leu Val Ser Trp Val Pro Gly Phe Asp
 290 295 300

Gly Tyr Ser Pro Leu Gln Asn Cys Ser Ile Gln Val Lys Glu Ala Asp
 305 310 315 320

[0127] Arg Leu Ser Asn Gly Ser Val Met Val Phe Asn Thr Ser Ala Ser Pro
 325 330 335

His Leu Tyr Glu Ile Gln Gln Leu Gln Ala Leu Ala Asn Tyr Ser Ile
 340 345 350

Ala Val Ser Cys Arg Asn Glu Ile Gly Trp Ser Ala Val Ser Pro Trp
 355 360 365

Ile Leu Ala Ser Thr Thr Glu Gly Ala Pro Ser Val Ala Pro Leu Asn
 370 375 380

Ile Thr Val Phe Leu Asn Glu Ser Asn Asn Ile Leu Asp Ile Arg Trp
 385 390 395 400

Thr Lys Pro Pro Ile Lys Arg Gln Asp Gly Glu Leu Val Gly Tyr Arg
 405 410 415

Ile Ser His Val Trp Glu Ser Ala Gly Thr Tyr Lys Glu Leu Ser Glu
 420 425 430

Glu Val Ser Gln Asn Gly Ser Trp Ala Gln Ile Pro Val Gln Ile His
 435 440 445

Asn Ala Thr Cys Thr Val Arg Ile Ala Ala Ile Thr Lys Gly Gly Ile
 450 455 460

Gly Pro Phe Ser Glu Pro Val Asn Ile Ile Ile Pro Glu His Ser Lys
 465 470 475 480

Val Asp Tyr Ala Pro Ser Ser Thr Pro Ala Pro Gly Asn Thr Asp Ser
 485 490 495

[0128]

Met Phe Ile Ile Leu Gly Cys Phe Cys Gly Phe Ile Leu Ile Gly Leu
 500 505 510

Ile Leu Cys Ile Ser Leu Ala Leu Arg Arg Arg Val Gln Glu Thr Lys
 515 520 525

Phe Gly Gly Ala Phe Ser Glu Glu Asp Ser Gln Leu Val Val Asn Tyr
 530 535 540

Arg Ala Lys Lys Ser Phe Cys Arg Arg Ala Ile Glu Leu Thr Leu Gln
 545 550 555 560

Ser Leu Gly Val Ser Glu Glu Leu Gln Asn Lys Leu Glu Asp Val Val
 565 570 575

Ile Asp Arg Asn Leu Leu Val Leu Gly Lys Val Leu Gly Glu Gly Glu
 580 585 590

	Phe	Gly	Ser	Val	Met	Glu	Gly	Asn	Leu	Lys	Gln	Glu	Asp	Gly	Thr	Ser	
								600					605				
	Gln	Lys	Val	Ala	Val	Lys	Thr	Met	Lys	Leu	Asp	Asn	Phe	Ser	Gln	Arg	
	610						615					620					
	Glu	Ile	Glu	Glu	Phe	Leu	Ser	Glu	Ala	Ala	Cys	Met	Lys	Asp	Phe	Asn	
	625					630					635					640	
	His	Pro	Asn	Val	Ile	Arg	Leu	Leu	Gly	Val	Cys	Ile	Glu	Leu	Ser	Ser	
					645					650						655	
	Gln	Gly	Ile	Pro	Lys	Pro	Met	Val	Ile	Leu	Pro	Phe	Met	Lys	Tyr	Gly	
				660						665						670	
[0129]	Asp	Leu	His	Thr	Phe	Leu	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Asn	Thr	Gly	Pro	Lys	
								680								685	
	Tyr	Ile	His	Leu	Gln	Thr	Leu	Leu	Lys	Phe	Met	Met	Asp	Ile	Ala	Gln	
	690						695						700				
	Gly	Met	Glu	Tyr	Leu	Ser	Asn	Arg	Asn	Phe	Leu	His	Arg	Asp	Leu	Ala	
	705					710					715					720	
	Ala	Arg	Asn	Cys	Met	Leu	Arg	Asp	Asp	Met	Thr	Val	Cys	Val	Ala	Asp	
					725					730						735	
	Phe	Gly	Leu	Ser	Lys	Lys	Ile	Tyr	Ser	Gly	Asp	Tyr	Tyr	Arg	Gln	Gly	
					740					745						750	
	Arg	Ile	Ala	Lys	Met	Pro	Val	Lys	Trp	Ile	Ala	Ile	Glu	Ser	Leu	Ala	
					755					760						765	

	Asp	Arg	Val	Tyr	Thr	Ser	Lys	Ser	Asp	Val	Trp	Ala	Phe	Gly	Val	Thr
	770						775					780				
	Met	Trp	Glu	Ile	Thr	Thr	Arg	Gly	Met	Thr	Pro	Tyr	Pro	Gly	Val	Gln
	785					790					795					800
	Asn	His	Glu	Met	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Leu	His	Gly	His	Arg	Leu	Lys	Gln
					805					810					815	
	Pro	Glu	Asp	Cys	Leu	Asp	Glu	Leu	Tyr	Asp	Ile	Met	Tyr	Ser	Cys	Trp
				820					825					830		
	Ser	Ala	Asp	Pro	Leu	Asp	Arg	Pro	Thr	Phe	Ser	Val	Leu	Arg	Leu	Gln
			835					840					845			
[0130]	Leu	Glu	Lys	Leu	Ser	Glu	Ser	Leu	Pro	Asp	Ala	Gln	Asp	Lys	Glu	Ser
	850					855						860				
	Ile	Ile	Tyr	Ile	Asn	Thr	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Cys	Glu	Gly	Ile	Ala
	865					870					875					880
	Asn	Gly	Pro	Ser	Leu	Thr	Gly	Leu	Asp	Met	Asn	Ile	Asp	Pro	Asp	Ser
					885					890					895	
	Ile	Ile	Ala	Ser	Cys	Thr	Pro	Gly	Ala	Ala	Val	Ser	Val	Val	Thr	Ala
				900					905					910		
	Glu	Val	His	Glu	Asn	Asn	Leu	Arg	Glu	Glu	Arg	Tyr	Ile	Leu	Asn	Gly
			915					920					925			
	Gly	Asn	Glu	Glu	Trp	Glu	Asp	Val	Ser	Ser	Thr	Pro	Phe	Ala	Ala	Val
	930						935					940				

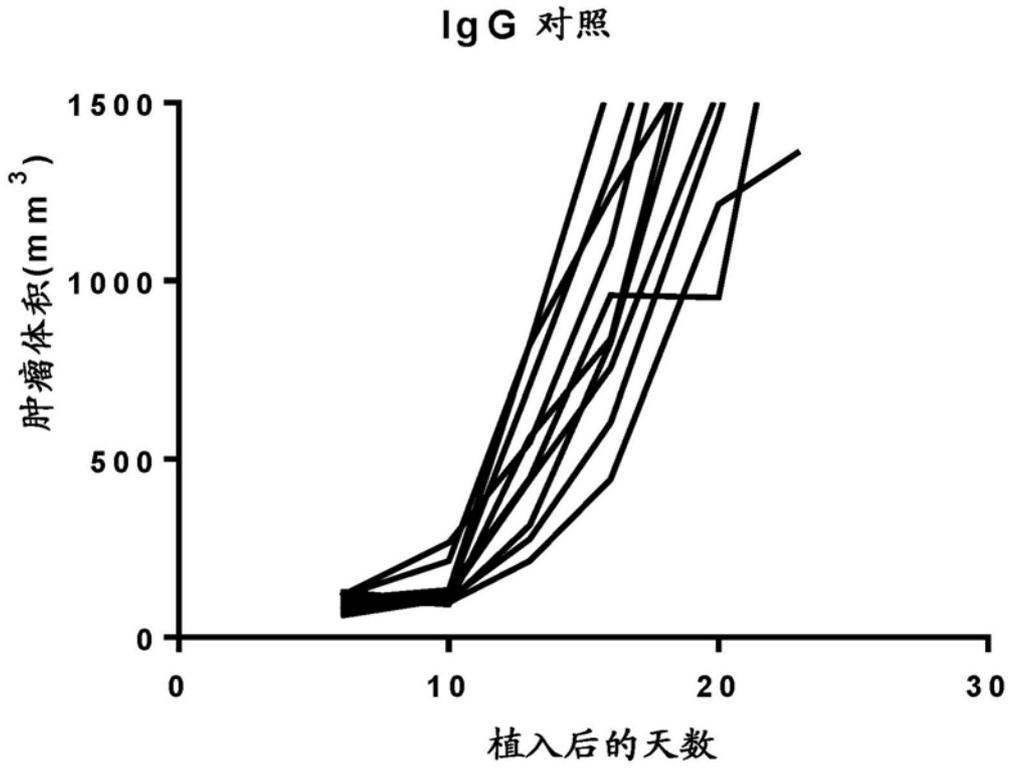


图1A

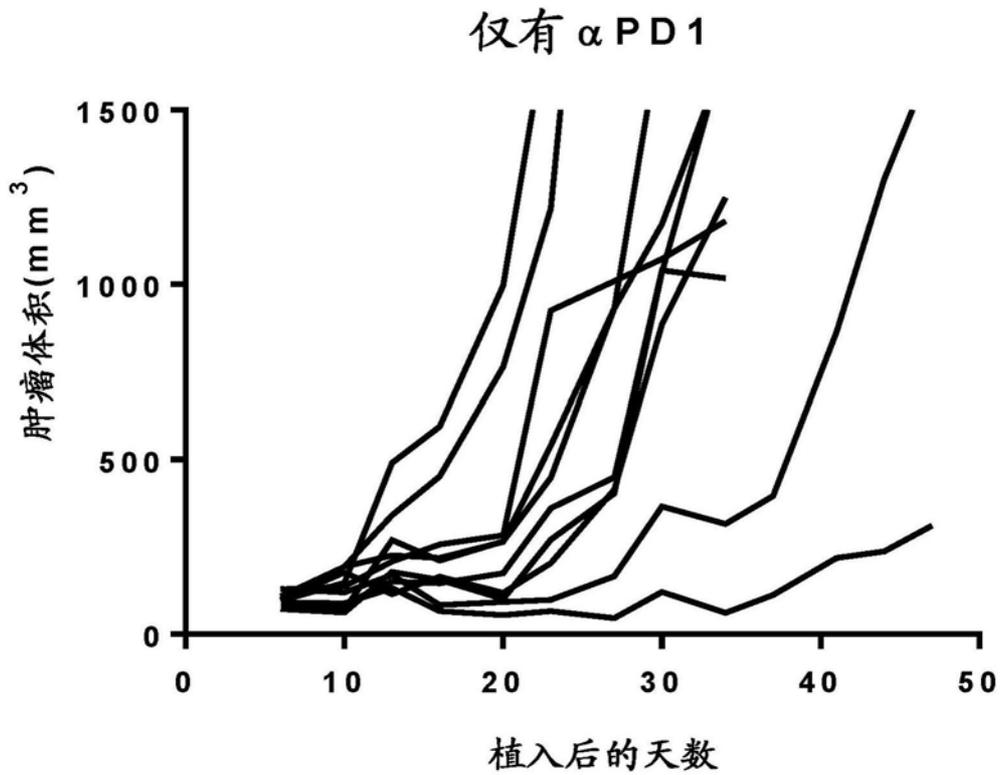


图1B

α PD1 + α MerTK (4E9)

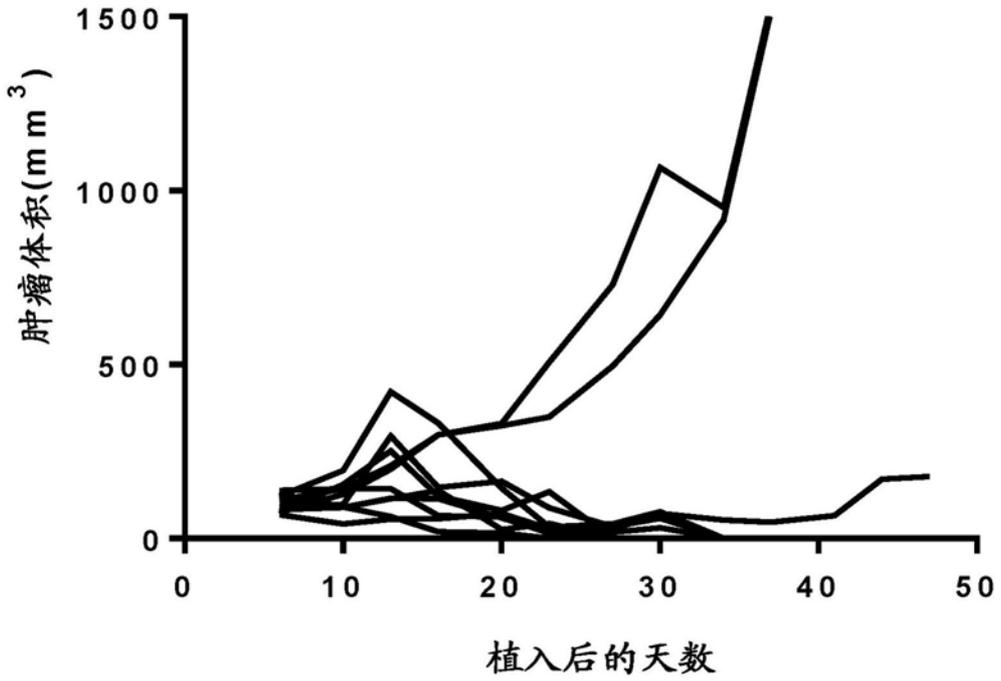


图1C

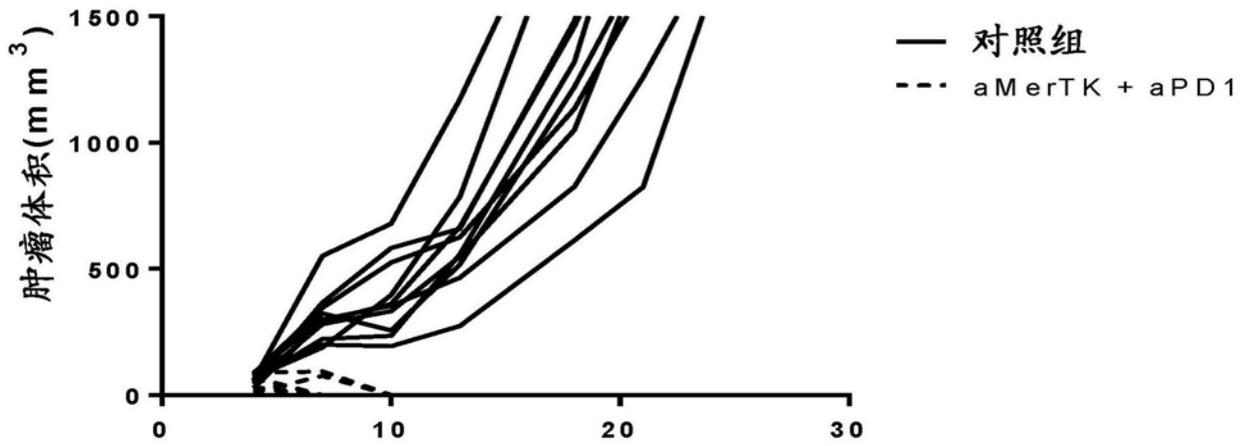


图2

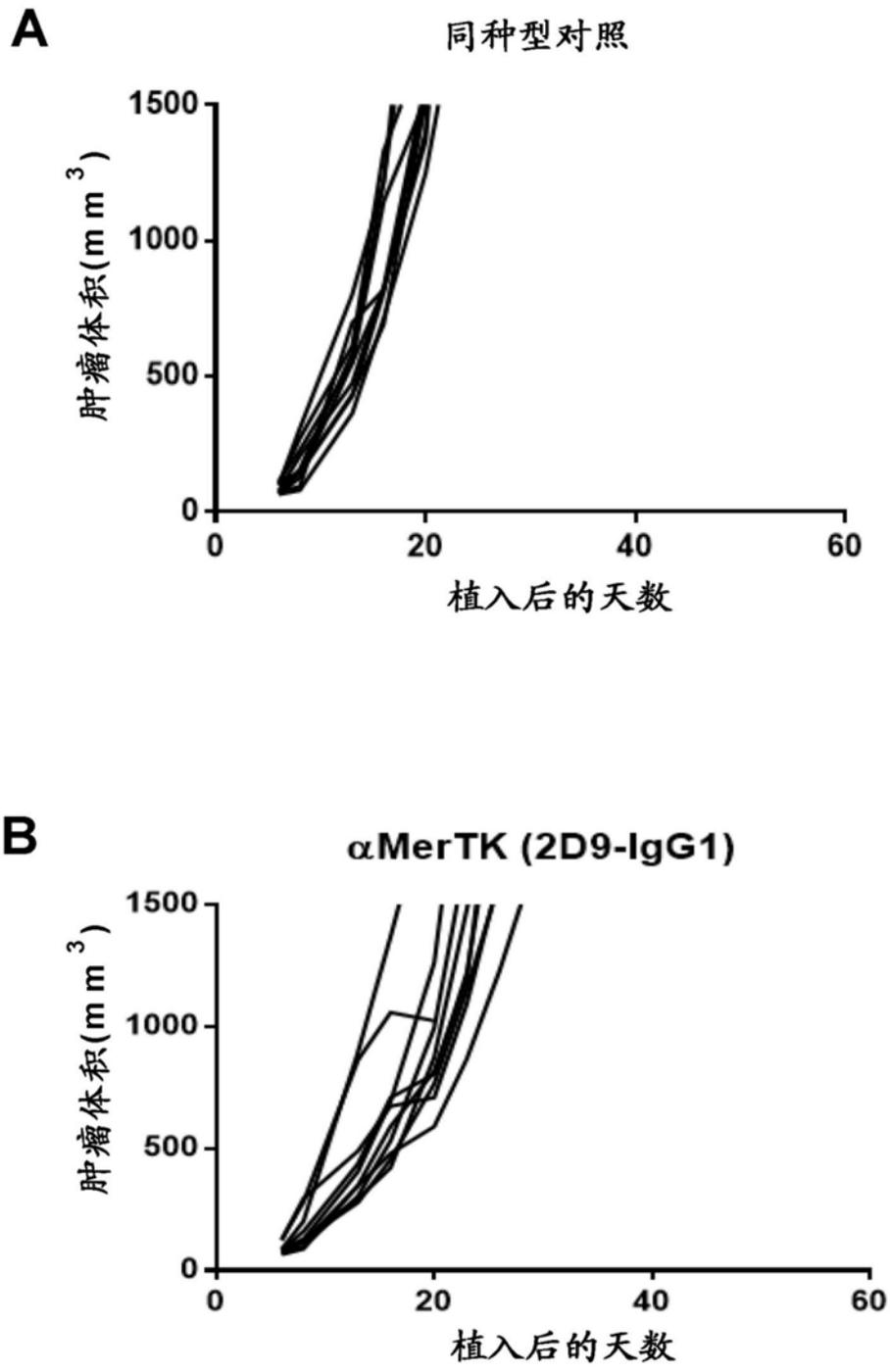


图3A-B

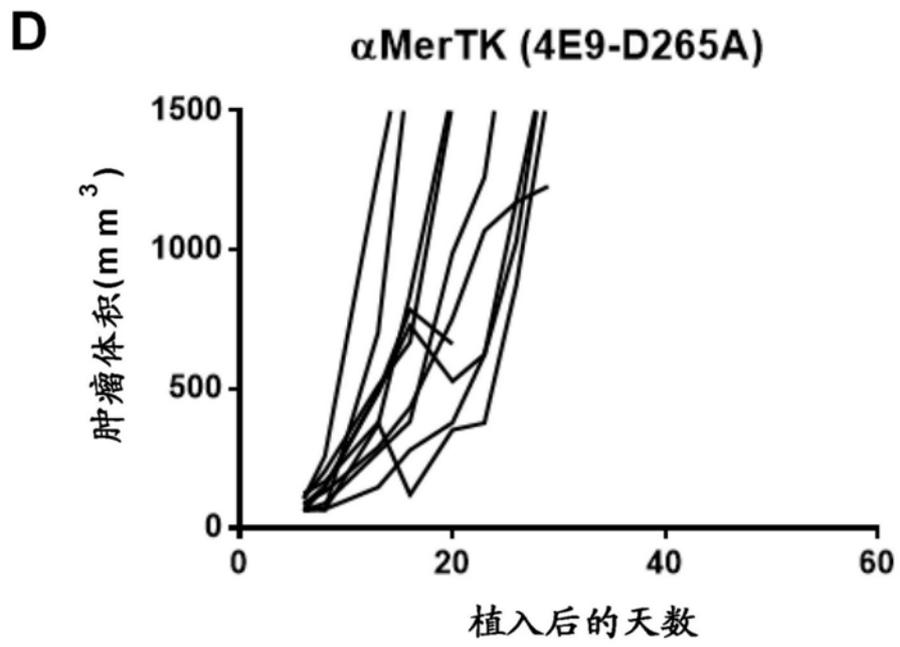
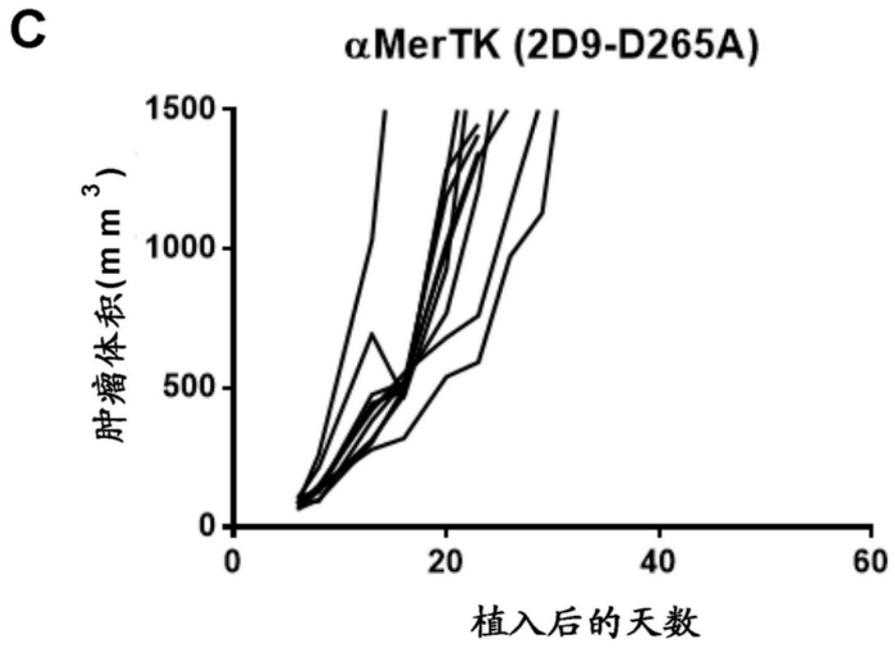


图3C-D

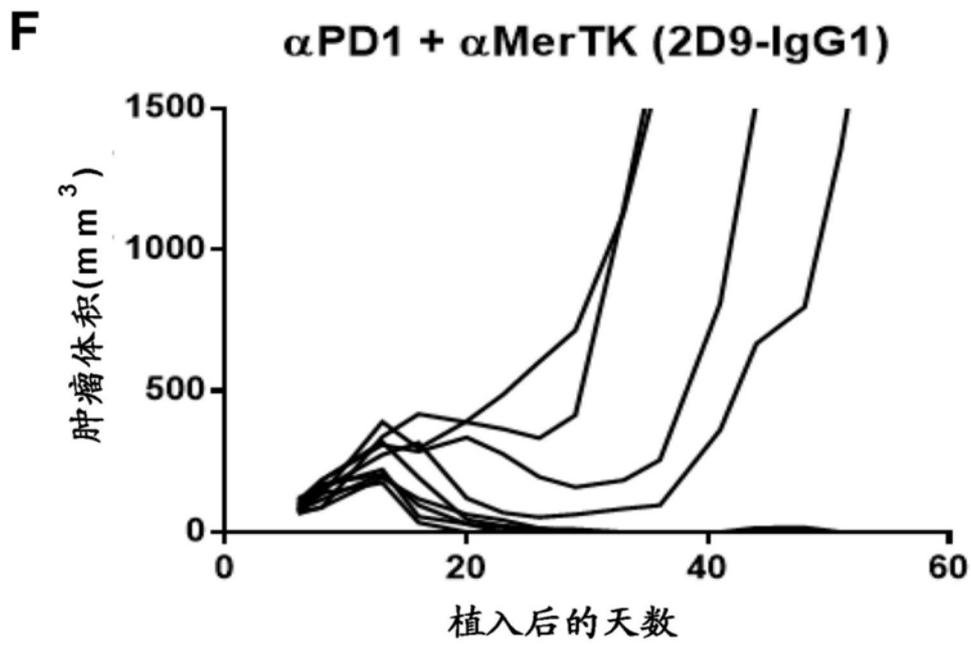
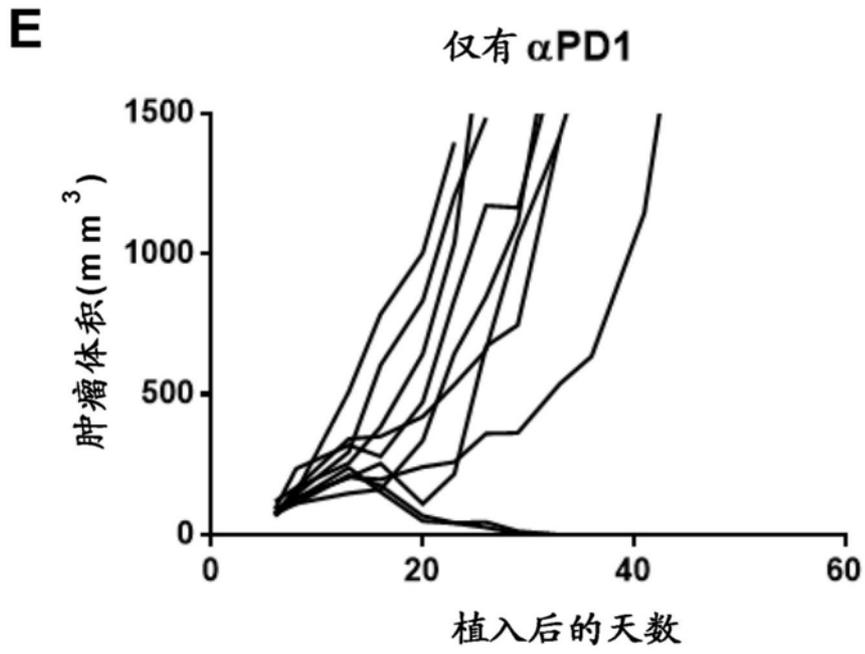


图3E-F

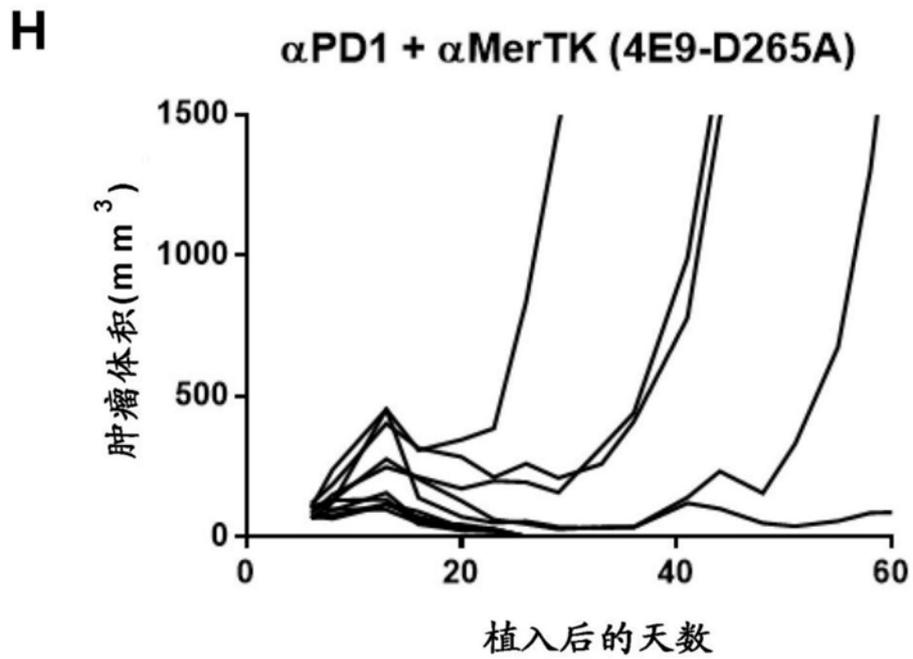
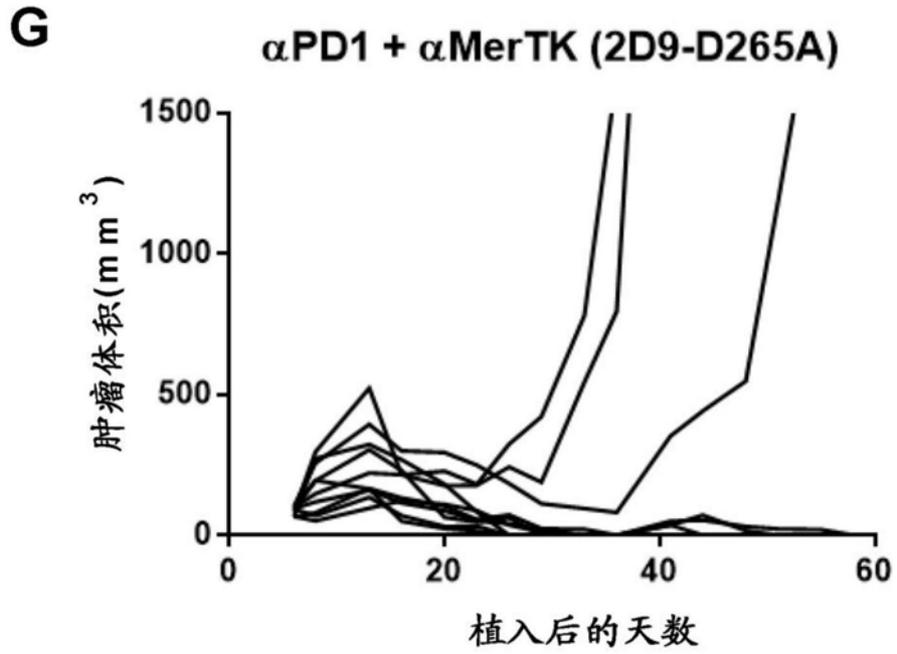


图3G-H

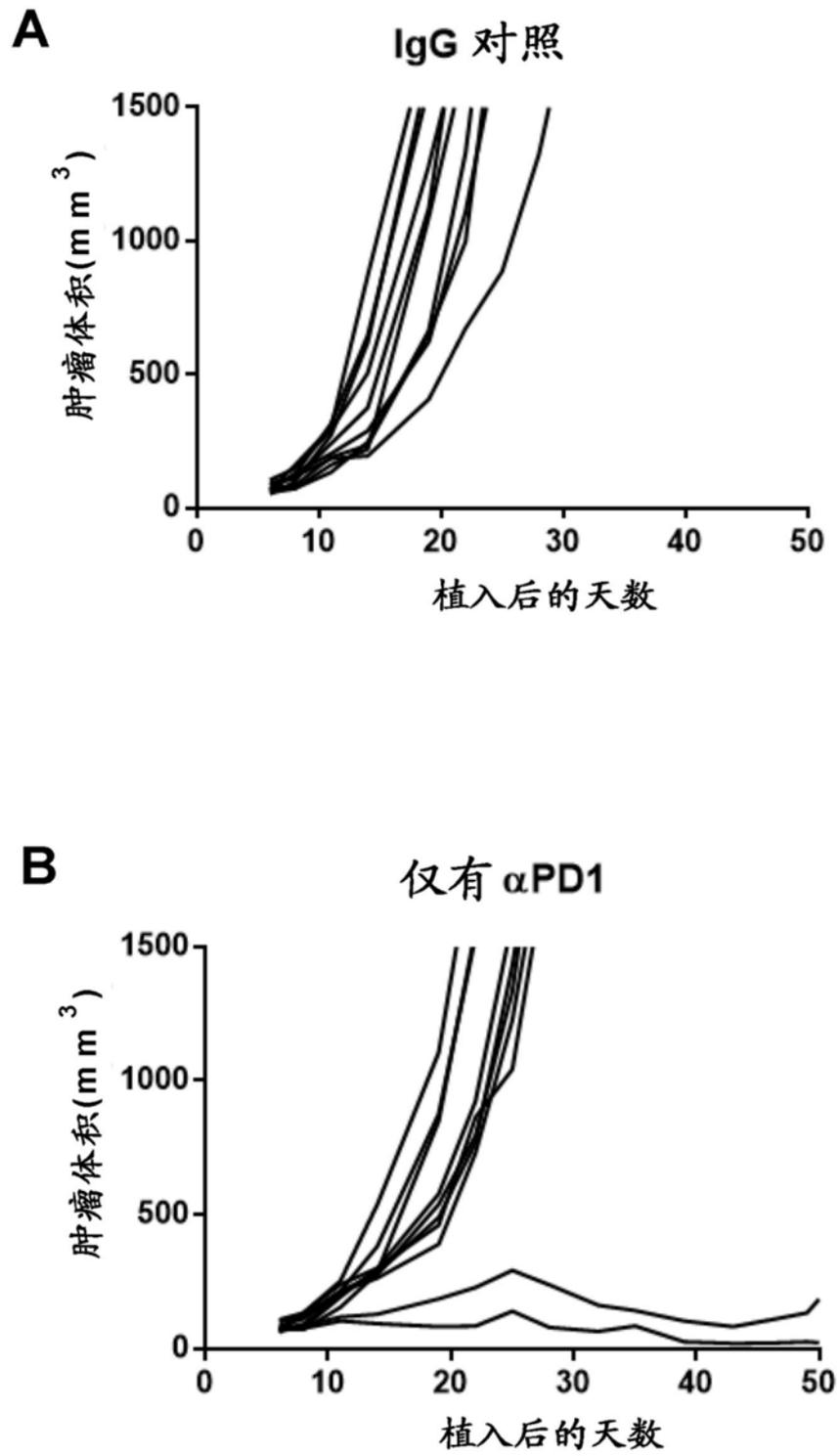


图4A-B

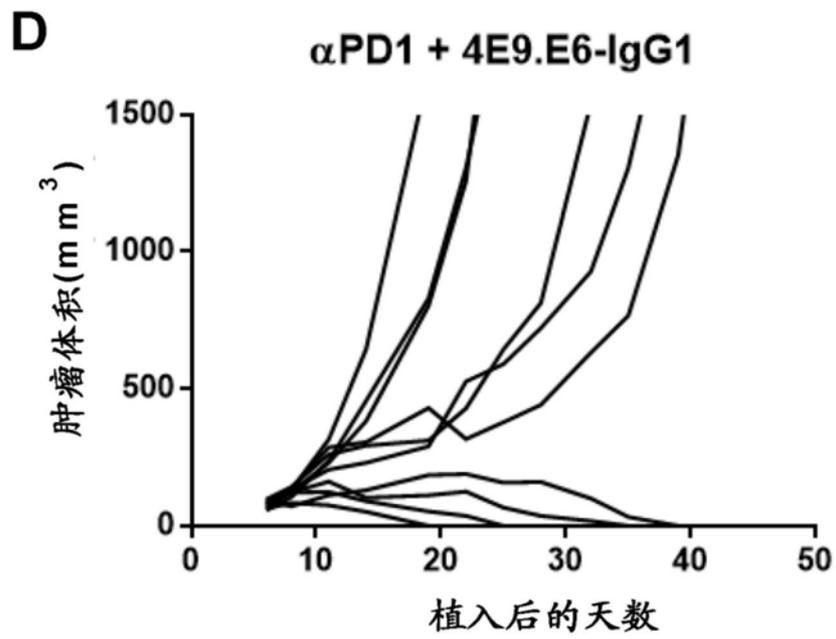
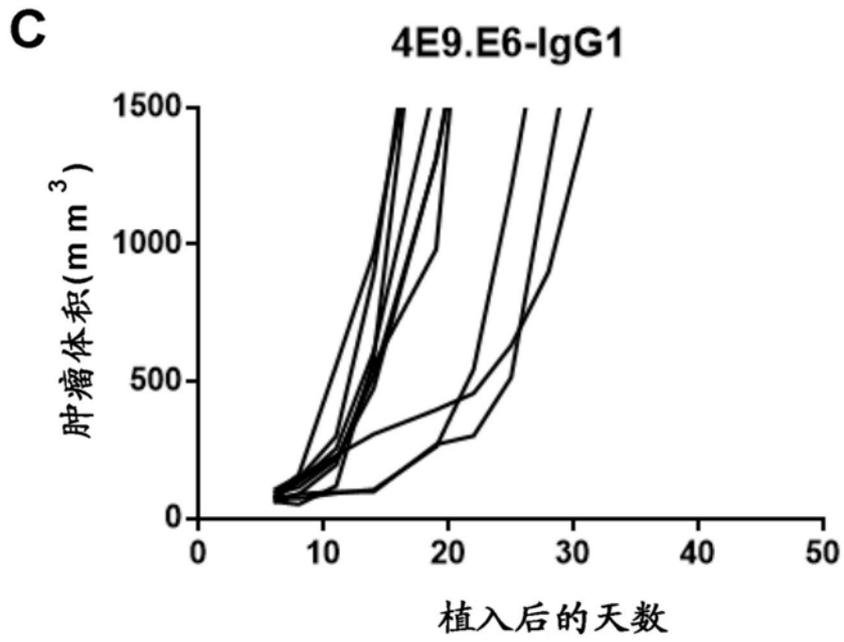


图4C-D

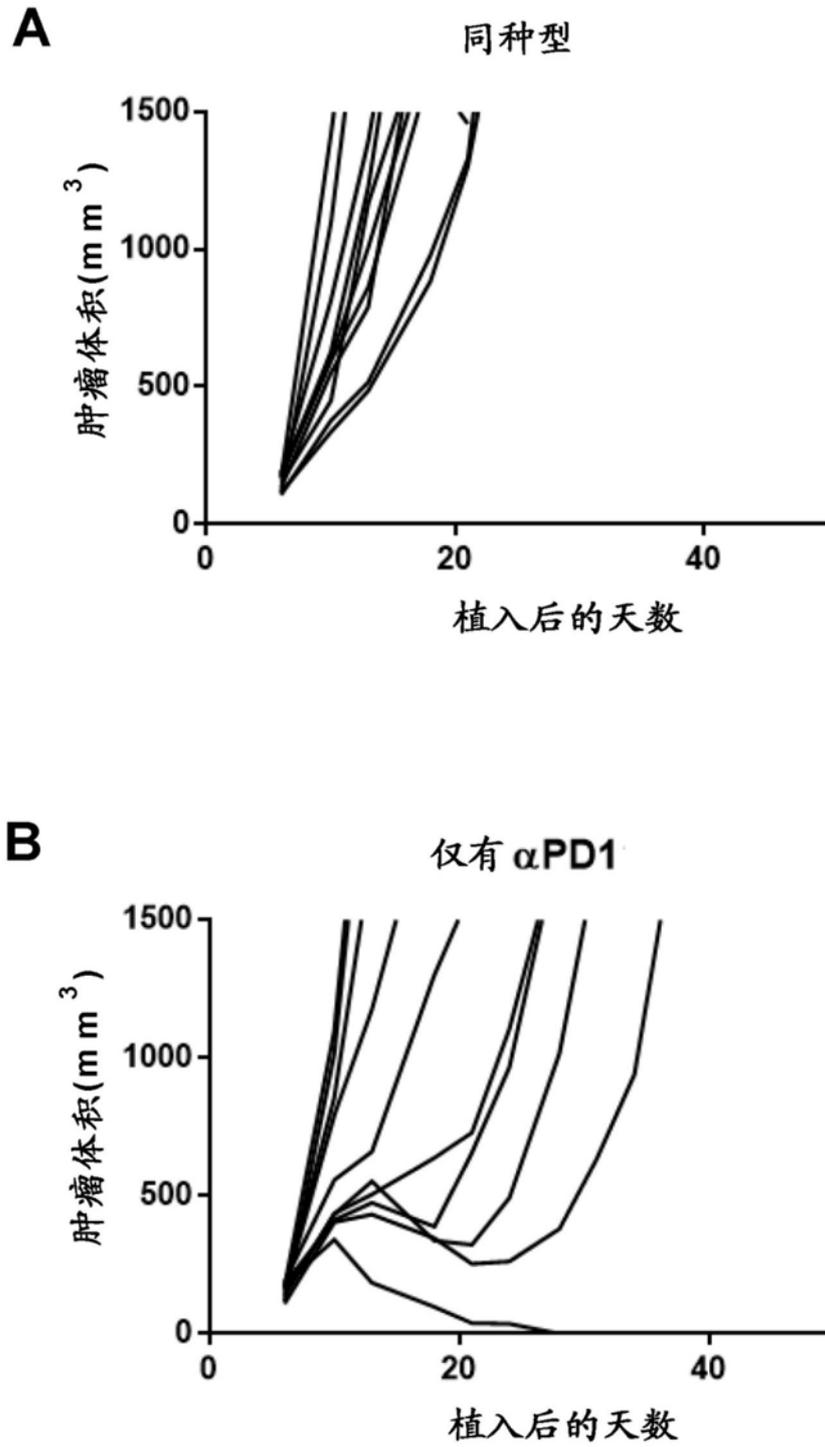


图5A-B

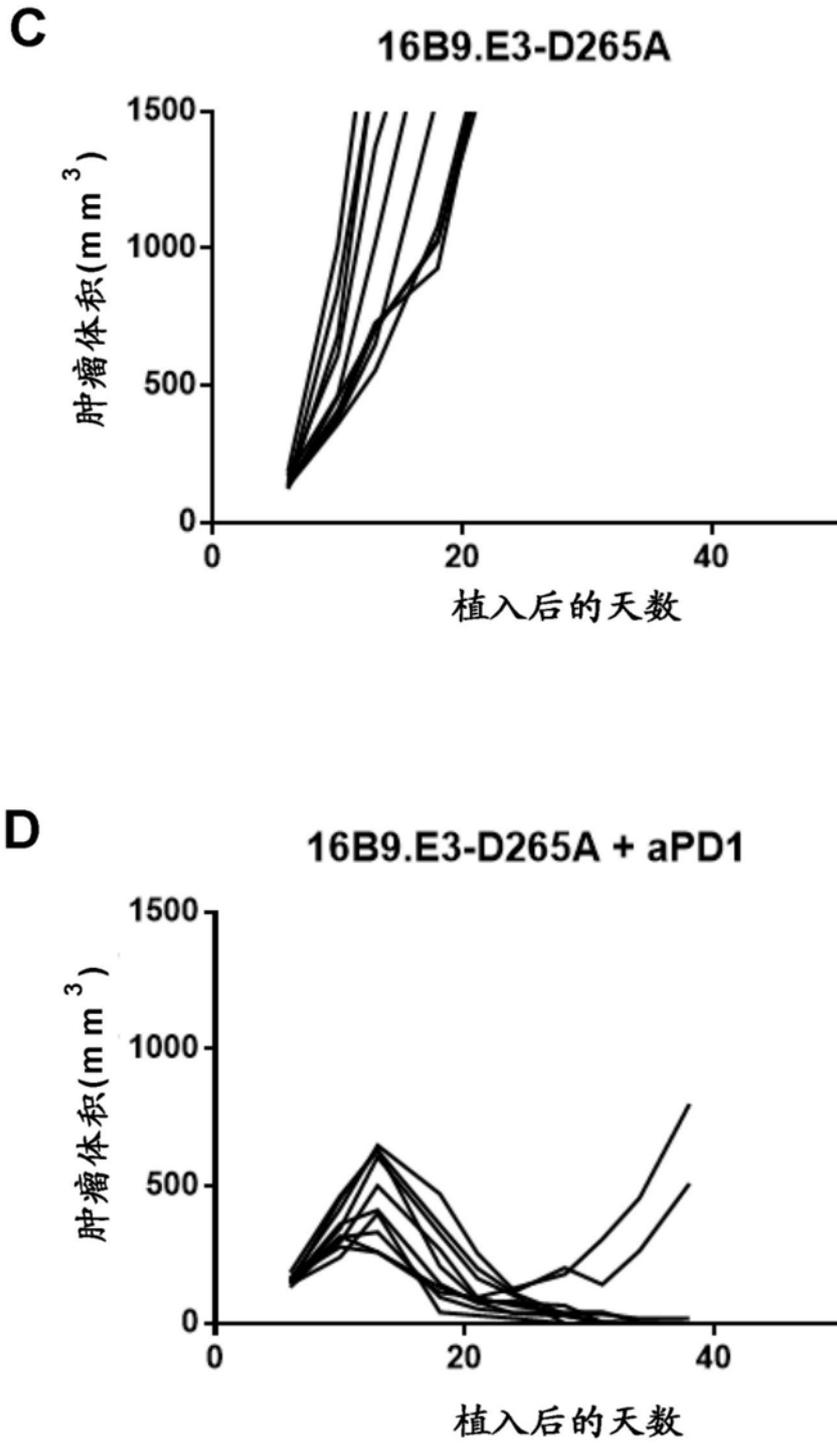


图5C-D