



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 115151573 A

(43) 申请公布日 2022. 10. 04

(21) 申请号 202180015562.1

(22) 申请日 2021.02.26

(66) 本国优先权数据

PCT/CN2020/077146 2020.02.28 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.08.18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2021/078055 2021.02.26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/170071 EN 2021.09.02

(71) 申请人 上海复宏汉霖生物技术股份有限公司

地址 上海市浦东新区自由贸易区试验区康
南路222号综合楼330室

(72) 发明人 薛杰 姜伟东 许文峰 冯伟军

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

专利代理师 李波 梅黎

(51) Int.Cl.

C07K 16/46 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C12P 21/08 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

权利要求书16页 说明书114页
序列表96页 附图16页

(54) 发明名称

抗CD137构建体、多特异性抗体及其用途

(57) 摘要

本发明涉及与CD137结合的抗CD137构建体，包括对CD137和一种或多种另外的抗原具有结合特异性的多特异性抗CD137抗体，以及使用它们的方法。在某些实施例中，一种或多种另外的抗原包括人表皮生长因子受体2 (HER2)。

1. 一种与CD137和HER2结合的多特异性抗体,其包含与CD137结合的第一抗体部分和与HER2结合的第二抗体部分。

2. 如权利要求1所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中:

a) 所述 V_H 包含:

i) HC-CDR1,其包含GFX₁X₂X₃DTYIX₄(SEQ ID NO:177)的氨基酸序列,其中X₁=N或C;X₂=I、P、L或M;X₃=K、N、R、C或Q;X₄=H或Q,

ii) HC-CDR2,其包含X₁IDPANGX₂X₃X₄(SEQ ID NO:178)的氨基酸序列,其中X₁=K或R;X₂=N、G、F、Y、A、D、L、M或Q;X₃=S或T;X₄=E或M,以及

iii) HC-CDR3,其包含GNLHYX₁LMD(SEQ ID NO:179)的氨基酸序列,其中X₁=Y、A或G;并且

b) 所述 V_L 包含:

i) LC-CDR1,其包含KASQX₁X₂X₃TYX₄S(SEQ ID NO:180)的氨基酸序列,其中X₁=A、P或T;X₂=I、T、或P;X₃=N或A;X₄=L、G或H,

ii) LC-CDR2,其包含RX₁NRX₂X₃X₄(SEQ ID NO:181)的氨基酸序列,其中X₁=A、Y、V或D;X₂=M、K、V、或A;X₃=V、P、Y或G;X₄=D或G,以及

iii) LC-CDR3,其包含LQX₁X₂DFPYX₃(SEQ ID NO:182)的氨基酸序列,其中X₁=Y、S或F;X₂=D、V、L、R、E或Q;X₃=T或K。

3. 如权利要求2所述的多特异性抗体,其中:

a) 所述HC-CDR1包含SEQ ID NO:1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、231和241中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;

b) 所述HC-CDR2包含SEQ ID NO:2、12、22、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、232和242中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;

c) 所述HC-CDR3包含SEQ ID NO:3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123、133、143、233和243中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;

d) 所述LC-CDR1包含SEQ ID NO:4、14、24、34、44、54、64、74、84、94、104、114、124、134、144、234和244中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;

e) 所述LC-CDR2包含SEQ ID NO:5、15、25、35、45、55、65、75、85、95、105、115、125、135、145、235和245中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;并且

f) 所述LC-CDR3包含SEQ ID NO:6、16、26、36、46、56、66、76、86、96、106、116、126、136、146、236和246中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分与参考抗CD137构建体交叉竞争结合CD137,所述参考抗CD137抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,所述重链可变区和所述轻链可变区选自由以下组成的组:

a) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID

NO:6的氨基酸序列的LC-CDR3;

b) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的LC-CDR3;

c) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的LC-CDR3;

d) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的LC-CDR3;

e) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的LC-CDR3;

f) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的LC-CDR3;

g) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的LC-CDR3;

h) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的LC-CDR3;

i) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列的LC-CDR3;

j) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的LC-CDR3;

k) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含

SEQ ID NO:104的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列的LC-CDR3;

l) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的LC-CDR3;

m) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的LC-CDR3;

n) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的LC-CDR3;

o) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:231的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:232的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:234的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的LC-CDR3;以及

p) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:241的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:242的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:243的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:244的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:245的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:246的氨基酸序列的LC-CDR3。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2、和HC-CDR3结构域,所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2、和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 和所述 V_L 选自自由以下组成的组:

a) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的 V_H -CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LC-CDR3;

b) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的LC-CDR3;

c) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的LC-CDR3;

d) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:32的氨基

酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的LC-CDR3;

e) 所述V_H包含:包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的LC-CDR3;

f) 所述V_H包含:包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的LC-CDR3;

g) 所述V_H包含:包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的LC-CDR3;

h) 所述V_H包含:包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的LC-CDR3;

i) 所述V_H包含:包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列的LC-CDR3;

j) 所述V_H包含:包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的LC-CDR3;

k) 所述V_H包含:包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列的LC-CDR3;

l) 所述V_H包含:包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的LC-CDR3;

m) 所述V_H包含:包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的LC-CDR3;

n) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的LC-CDR3;

o) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:231的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:232的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:234的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的LC-CDR3;以及

p) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:241的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:242的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:243的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:244的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:245的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:246的氨基酸序列的LC-CDR3。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,且其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LC-CDR3。

7. 如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的LC-CDR3。

8. 如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的LC-CDR3。

9. 如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的

LC-CDR3。

10. 权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的LC-CDR3。

11. 权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的LC-CDR3。

12. 如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的LC-CDR3。

13. 如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的LC-CDR3。

14. 如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列的LC-CDR3。

15. 如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含

SEQ ID NO:91的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的LC-CDR3。

16.如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列的LC-CDR3。

17.如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的LC-CDR3。

18.如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的LC-CDR3。

19.如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的LC-CDR3。

20.如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的LC-CDR3。

21. 如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:231的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:232的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:234的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的LC-CDR3。

22. 如权利要求1-5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H);和轻链可变区(V_L),所述重链可变区(V_H)包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域,且所述轻链可变区(V_L)包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域,其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:241的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:242的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:243的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:244的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:245的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:246的氨基酸序列的LC-CDR3。

23. 如权利要求1-22中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含:

a) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:7中所示的序列的 V_H 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:8中所示的序列的 V_L 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

b) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:17中所示的序列的 V_H 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:18中所示的序列的 V_L 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

c) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:27中所示的序列的 V_H 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:28中所示的序列的 V_L 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

d) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:37中所示的序列的 V_H 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:38中所示的序列的 V_L 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

e) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:47中所示的序列的 V_H 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:48中所示的序列的 V_L 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

f) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:57中所示的序列的 V_H 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:58中所示的序列的 V_L 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

g) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:67中所示的序列的 V_H 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:68中所示的序列的 V_L 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

h) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:77中所示的序列的 V_H 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:78中所示的序列的 V_L 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

i) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:87中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:88中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

j) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:97中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:98中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

k) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:107中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:108中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

l) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:117中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:118中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

m) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:127中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:128中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

n) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:137中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:138中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

o) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:237中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:238中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;或

p) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:247中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:248中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。

24. 如权利要求1-23中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含:

(a) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:7中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:8中所示的序列的氨基酸;

(b) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:17中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:18中所示的序列的氨基酸;

(c) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:27中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:28中所示的序列的氨基酸;

(d) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:37中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:38中所示的序列的氨基酸;

(e) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:47中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:48中所示的序列的氨基酸;

(f) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:57中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:58中所示的序列的氨基酸;

(g) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:67中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:68中所示的序列的氨基酸;

(h) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:77中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:78中所示的序列的氨基酸;

(i) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:87中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:88中所示的序列的氨基酸;

(j) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:97中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:98中所示的序列的氨基酸;

(k) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:107中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:108中所示的序列的氨基酸;

(l) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:117中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:118中所示的序列的氨基酸;

(m) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:127中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:128中所示的序列的氨基酸;

(n) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:137中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:138中所示的序列的氨基酸;

(o) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:237中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:238中所示的序列的氨基酸;或

(p) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:247中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:248中所示的序列的氨基酸。

25. 如权利要求1-24中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中:

a) 所述 V_H 包含:

i) HC-CDR1,所述HC-CDR1包含SEQ ID NO:151-153中任一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;

ii) HC-CDR2,所述HC-CDR2包含SEQ ID NO:154-156中任一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;

iii) HC-CDR3,所述HC-CDR3包含SEQ ID NO:157-159中任一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;以及

b) 所述 V_L 包含:

i) LC-CDR1,所述LC-CDR1包含SEQ ID NO:160-163中任一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;

ii) LC-CDR2,所述LC-CDR2包含SEQ ID NO:164-166中任一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;

iii) LC-CDR3,所述LC-CDR3包含SEQ ID NO:167-169中任一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体。

26. 如权利要求1-25中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中:

a) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的LC-CDR2和包

含SEQ ID NO:167的氨基酸序列的LC-CDR3;

b) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列的LC-CDR3;

c) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列的LC-CDR3;

d) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列的LC-CDR3;或

e) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列的LC-CDR3。

27. 如权利要求1-26中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含选自以下组的抗体或其抗原结合片段,该组由以下组成:全长抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)、单链Fv(scFv)、Fab片段、Fab'片段、F(ab')₂、Fv片段、二硫键稳定的Fv片段(dsFv)、(dsFv)₂、 V_H H、Fv-Fc融合体、scFv-Fc融合体、scFv-Fv融合体、双抗体、三抗体、和四抗体。

28. 如权利要求1-27中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含人源化的抗CD137全长抗体。

29. 如权利要求1-28中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含人源化的抗CD137单链Fv片段(scFv)。

30. 如权利要求1-29中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分是CD137激动剂抗体。

31. 如权利要求1-30中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分包含抗CD137抗体部分,所述抗CD137抗体部分包含人免疫球蛋白的Fc区。

32. 如权利要求31所述的多特异性抗体,其中所述Fc区选自由以下组成的组: IgG、IgA、IgD、IgE和IgM的Fc区。

33. 如权利要求32所述的多特异性抗体,其中所述Fc区选自由以下组成的组: IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的Fc区。

34. 如权利要求1-33中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分结合人CD137和猿猴CD137。

35. 如权利要求1-34中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一抗体部分不结合鼠CD137。

36. 如权利要求1-35中任一项所述的多特异性抗体,其中:

所述第一抗体部分含有包含重链可变区 (V_H) 和轻链可变区 (V_L) 的抗CD137单链Fv片段, 且

所述第二抗体部分包含与HER2结合并且包含两条抗体重链和两条抗体轻链的全长抗体, 且其中所述重链各自包含第二重链可变区 (V_{H-2}) 并且所述轻链各自包含第二轻链可变区 (V_{L-2}),

且其中所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的重链或轻链中的至少一条融合。

37. 如权利要求36所述的多特异性抗体, 其中所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的每条重链的C端融合。

38. 如权利要求36所述的多特异性抗体, 其中所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的每条重链的N端融合。

39. 如权利要求36所述的多特异性抗体, 其中所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的每条轻链的C端融合。

40. 如权利要求36所述的多特异性抗体, 其中所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的每条轻链的N端融合。

41. 如权利要求1-40中任一项所述的多特异性抗体, 其中所述抗CD137单链Fv片段的 V_H 和 V_L 通过第一肽接头融合。

42. 如权利要求41所述的多特异性抗体, 其中所述第一肽接头包含约四个至约十五个氨基酸。

43. 如权利要求41或42所述的多特异性抗体, 其中所述第一肽接头包含接头, 所述接头包含SEQ ID NO:206-230中任一个的序列。

44. 如权利要求1-43中任一项所述的多特异性抗体, 其中所述抗CD137单链Fv片段通过第二肽接头与全长抗体融合。

45. 如权利要求44所述的多特异性抗体, 其中所述第二肽接头包含约四个至约十五个氨基酸。

46. 如权利要求44或45所述的多特异性抗体, 其中所述第二肽接头包含接头, 所述接头包含SEQ ID NO:206-230中任一个的序列。

47. 如权利要求1-46中任一项所述的多特异性抗体, 其中所述第二抗体部分包含选自以下的Fc区: 来自IgG、IgA、IgD、IgE、IgM的Fc区及其任何组合和杂合体。

48. 如权利要求47所述的多特异性抗体, 其中所述Fc区包含人Fc区。

49. 如权利要求47或48所述的多特异性抗体, 其中所述Fc区选自来自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4的Fc区及其任何组合和杂合体。

50. 如权利要求49所述的多特异性抗体, 其中所述Fc区包含IgG1Fc区。

51. 如权利要求50所述的多特异性抗体, 其中所述IgG1Fc区包含L234A突变和L235A突变。

52. 如权利要求49所述的多特异性抗体, 其中所述Fc区包含IgG4Fc区。

53. 如权利要求52所述的多特异性抗体, 其中所述IgG4Fc区包含F234A突变和L235A突变。

54. 如权利要求52或53所述的多特异性抗体, 其中所述IgG4Fc区包含S228P突变。

55. 如权利要求1-54中任一项所述的多特异性抗体, 其中所述HER2是人HER2。

56. 如权利要求1-55中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第二抗体部分包含与HER2结合并且与包含第三重链可变区(V_{H-3})和第三轻链可变区(V_{L-3})的抗体或抗体片段竞争HER2的结合表位的全长抗体,其中:

a) 所述 V_{H-3} 包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的HC-CDR3;且

b) 所述 V_{L-3} 包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的LC-CDR3。

57. 如权利要求1-56中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第二抗体部分包含与HER2结合的全长抗体,并且包含第二重链可变区(V_{H-2})和第二轻链可变区(V_{L-2}),其中:

a) 所述 V_{H-2} 包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的HC-CDR3;且

b) 所述 V_{L-2} 包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的LC-CDR3。

58. 如权利要求1-57中任一项所述的多特异性抗体,其中所述 V_{H-2} 包含与SEQ ID NO:202具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列;和/或所述 V_{L-2} 包含与SEQ ID NO:203具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列。

59. 如权利要求1-58中任一项所述的多特异性抗体,其中所述 V_{H-2} 包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列;且所述 V_{L-2} 包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列。

60. 如权利要求1-59中任一项所述的多特异性抗体,其包含:

a) 所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HC-CDR3;且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的LC-CDR3;且

b) 所述第二抗体部分包含第二重链可变区(V_{H-2})和第二轻链可变区(V_{L-2}),其中所述 V_{H-2} 包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的第二HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的第二HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的第二HC-CDR3;且所述 V_{L-2} 包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的第二LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的第二LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的第二LC-CDR3。

61. 如权利要求1-59中任一项所述的多特异性抗体,其包含:

a) 所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:231的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:232的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列的HC-CDR3;且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:234的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的LC-CDR3;且

b) 所述第二抗体部分包含第二重链可变区(V_{H-2})和第二轻链可变区(V_{L-2}),其中所述 V_{H-2} 包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的第二HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的第二HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的第二HC-CDR3;且所述 V_{L-2} 包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的第二LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的第

二LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的第二LC-CDR3。

62. 如权利要求1-59中任一项所述的多特异性抗体,其包含:

a) 所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:241的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:242的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:243的氨基酸序列的HC-CDR3;且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:244的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:245的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:246的氨基酸序列的LC-CDR3;且

b) 所述第二抗体部分包含第二重链可变区(V_{H-2})和第二轻链可变区(V_{L-2}),其中所述 V_{H-2} 包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的第二HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的第二HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的第二HC-CDR3;且所述 V_{L-2} 包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的第二LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的第二LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的第二LC-CDR3。

63. 如权利要求1-62中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含与SEQ ID NO:183、184、204、205、251、252、253或254的氨基酸序列具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列。

64. 如权利要求1-63中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:183、184、204、205、251、252、253或254中任一个的氨基酸序列。

65. 如权利要求1-64中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列。

66. 如权利要求1-64中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列。

67. 如权利要求1-64中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:204的氨基酸序列。

68. 如权利要求1-64中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:205的氨基酸序列。

69. 如权利要求1-64中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:251的氨基酸序列。

70. 如权利要求1-64中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:252的氨基酸序列。

71. 如权利要求1-64中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重

链包含SEQ ID NO:253的氨基酸序列。

72. 如权利要求1-64中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:254的氨基酸序列。

73. 如权利要求1-72中任一项所述的多特异性抗体,其中包含的抗HER2全长抗体含有包含与SEQ ID NO:185的氨基酸序列具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列的轻链。

74. 如权利要求1-73中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗HER2全长抗体含有包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列的轻链。

75. 一种免疫缀合物,所述免疫缀合物包含与治疗剂或标记连接的如权利要求1-74中任一项所述的多特异性抗体。

76. 如权利要求75所述的免疫缀合物,其中所述标记选自由以下组成的组:放射性同位素、荧光染料和酶。

77. 一种药物组合物,所述药物组合物包含如权利要求1-74中任一项所述的多特异性抗体或如权利要求75或76所述的免疫缀合物和药学上可接受的载剂。

78. 一种分离的核酸,所述分离的核酸编码如权利要求1-74中任一项所述的多特异性抗体。

79. 一种载体,所述载体包含如权利要求78所述的分离的核酸。

80. 一种分离的宿主细胞,所述分离的宿主细胞包含如权利要求78所述的分离的核酸或如权利要求79所述的载体。

81. 一种产生多特异性抗体的方法,所述方法包括:

82. a) 在有效表达所述多特异性抗体的条件下培养如权利要求80所述的分离的宿主细胞;并且

83. b) 从所述宿主细胞获得所表达的多特异性抗体。

82. 一种治疗或预防个体疾病的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的如权利要求1-74中任一项所述的多特异性抗体,如权利要求75或76所述的免疫缀合物,或如权利要求77所述的药物组合物。

83. 如权利要求82所述的方法,其中所述疾病是癌症或肿瘤。

84. 如权利要求83所述的方法,其中所述癌症选自以下组,该组由以下组成:乳腺癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、间皮瘤、子宫内膜癌、宫颈癌、食道癌、膀胱癌、唾液腺癌、睾丸癌、肾癌、肝癌、胰腺癌、结直肠癌、皮肤癌、胸腺癌、肾上腺癌、头颈癌、脑癌、甲状腺癌、肉瘤、骨髓瘤和白血病。

85. 如权利要求82或83所述的方法,其中所述癌症或肿瘤是HER2阳性的。

86. 如权利要求85所述的方法,其中所述癌症或肿瘤上的HER2表达高于SK-Hep1上的HER2表达水平。

87. 如权利要求83-86中任一项所述的方法,其中所述癌症是乳腺癌或胃癌。

88. 如权利要求82-87中任一项所述的方法,其中所述多特异性抗体、免疫缀合物或药物组合物肠胃外施用于所述个体。

89. 如权利要求88所述的方法,其中所述多特异性抗体、免疫缀合物或药物组合物静脉内施用于所述个体。

90. 如权利要求82-89中任一项所述的方法,其中所述个体是人。

91. 如权利要求1-74中任一项所述的多特异性抗体,其用作药物。

92. 如权利要求1-74中任一项所述的多特异性抗体,其用于治疗癌症。

93. 如权利要求92所述的多特异性抗体,其中所述癌症选自以下组,该组由以下组成:乳腺癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、间皮瘤、子宫内膜癌、宫颈癌、食道癌、膀胱癌、唾液腺癌、睾丸癌、肾癌、肝癌、胰腺癌、结直肠癌、皮肤癌、胸腺癌、肾上腺癌、头颈癌、脑癌、甲状腺癌、肉瘤、骨髓瘤和白血病。

94. 一种试剂盒,所述试剂盒包含如权利要求1-74中任一项所述的多特异性抗体、如权利要求75或76所述的免疫缀合物、如权利要求77所述的药物组合物、如权利要求78所述的核酸、如权利要求79所述的载体或如权利要求80所述的宿主细胞。

95. 如权利要求94所述的试剂盒,所述试剂盒还包含用于治疗和/或预防癌症或肿瘤的书面说明书。

抗CD137构建体、多特异性抗体及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2020年2月28日提交的国际专利申请号PCT/CN2020/077146的优先权，其中的全部内容引入本文以供参考，并要求其优先权。

技术领域

[0003] 本申请涉及与CD137结合的抗体(包括抗CD137单特异性抗体和多特异性抗体)、制备方法及其用途，所述用途包括治疗疾病或病症。

背景技术

[0004] CD137(也称为4-1BB和TNFRSF9)是肿瘤坏死因子受体超家族(TNFRS)的跨膜蛋白。目前对CD137的了解表明，表达通常是激活依赖性的并存在于免疫细胞的广泛亚群中，所述免疫细胞包括活化的NK和NKT细胞、调节性T细胞、树突状细胞(DC)、经刺激的肥大细胞、分化中的骨髓细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞、和嗜酸性粒细胞(Wang, 2009, Immunological Reviews 229:192-215)。还已经在肿瘤脉管系统上(Broll, 2001, Amer. J. Clin. Pathol. 115(4):543-549; Seaman, 2007, Cancer Cell 11:539-554)以及发炎或动脉粥样硬化的内皮细胞位点处(Drenkard, 2007FASEB J. 21:456-463; Olofsson, 2008, Circulation 117:1292-1301)证实了CD137的表达。刺激CD137的配体即CD137配体(4-1BBL)在活化的抗原呈递细胞(APC)、髓样祖细胞和造血干细胞上表达。

[0005] 人CD137是255个氨基酸的蛋白。该受体以单体和二聚体形式在细胞表面表达，并可能与CD137配体三聚以活化下游信号。对小鼠和人T细胞的研究表明，CD137促进增强的细胞增殖、存活和细胞因子产生(Croft, 2009, Nat Rev Immunol 9:271-285)。研究表明，某些CD137激动剂mAb可增加共刺激分子的表达并显著增强细胞溶解性T淋巴细胞应答，从而在各种模型中产生抗肿瘤功效。已证实CD137激动剂mAb在预防性和治疗性的环境中具有功效。另外，CD137单药疗法和联合疗法的肿瘤模型已经建立了持久的抗肿瘤保护性T细胞记忆应答(Lynch, 2008, Immunol Rev. 22:277-286)。在各种本领域公认的自身免疫模型(Vinay, 2006, J Mol Med 84:726-736)中，CD137激动剂也显示出抑制自身免疫应答。CD137的这种双重活性可提供潜在的抗肿瘤活性，同时抑制自身免疫副作用，所述副作用可能与破坏免疫耐受的免疫疗法有关。

[0006] 本申请中引用的所有出版物、专利、专利申请和公开的专利申请的内容均通过引用其全文并入本文。

发明内容

[0007] 本公开提供了抗CD137构建体(例如，抗CD137单克隆抗体和抗CD137多特异性抗体)、编码抗CD137构建体的多核苷酸、试剂盒、调节细胞组合物的方法以及使用所述抗CD137构建体治疗个体的方法。本发明部分地基于抗CD137单特异性抗体和多特异性抗体的发现，所述抗CD137单特异性抗体和多特异性抗体与临床试验中的现有抗CD137抗体相比显

示出改善的安全性和增强的抗肿瘤功效。

[0008] 本公开提供了与CD137和HER2结合的多特异性抗体。在一些实施例中,本文公开的多特异性抗体包含与CD137结合的第一抗体部分和与HER2结合的第二抗体部分。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中:a)所述 V_H 包含:i) HC-CDR1,其包含 $GFX_1X_2X_3DTYIX_4$ (SEQ ID NO:177)的氨基酸序列,其中 $X_1=N$ 或 C ; $X_2=I$ 、 P 、 L 或 M ; $X_3=K$ 、 N 、 R 、 C 或 Q ; $X_4=H$ 或 Q , ii) HC-CDR2,其包含 $X_1IDPANGX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:178)的氨基酸序列,其中 $X_1=K$ 或 R ; $X_2=N$ 、 G 、 F 、 Y 、 A 、 D 、 L 、 M 或 Q ; $X_3=S$ 或 T ; $X_4=E$ 或 M ,以及iii) HC-CDR3,其包含 $GNLHYX_1LMD$ (SEQ ID NO:179)的氨基酸序列,其中 $X_1=Y$ 、 A 或 G ;并且b)所述 V_L 包含:i) LC-CDR1,其包含 $KASQX_1X_2X_3TYX_4S$ (SEQ ID NO:180)的氨基酸序列,其中 $X_1=A$ 、 P 或 T ; $X_2=I$ 、 T 或 P ; $X_3=N$ 或 A ; $X_4=L$ 、 G 或 H , ii) LC-CDR2,其包含 $RX_1NRX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:181)的氨基酸序列,其中 $X_1=A$ 、 Y 、 V 或 D ; $X_2=M$ 、 K 、 V 或 A ; $X_3=V$ 、 P 、 Y 或 G ; $X_4=D$ 或 G ,以及iii) LC-CDR3,其包含 $LQX_1X_2DFPYX_3$ (SEQ ID NO:182)的氨基酸序列,其中 $X_1=Y$ 、 S 或 F ; $X_2=D$ 、 V 、 L 、 R 、 E 或 Q ; $X_3=T$ 或 K 。在一些实施例中,HC-CDR1包含SEQ ID NO:1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、231和241中的任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;HC-CDR2包含SEQ ID NO:2、12、22、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、232和242中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;HC-CDR3包含SEQ ID NO:3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123、133、143、233和243中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;LC-CDR1包含SEQ ID NO:4、14、24、34、44、54、64、74、84、94、104、114、124、134、144、234和244中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;LC-CDR2包含SEQ ID NO:5、15、25、35、45、55、65、75、85、95、105、115、125、135、145、235和245中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;并且LC-CDR3包含SEQ ID NO:6、16、26、36、46、56、66、76、86、96、106、116、126、136、146、236和246中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体。

[0009] 在一些实施例中,所述第一抗体部分与参考抗CD137构建体交叉竞争结合CD137,所述参考抗CD137构建体包含重链可变区(V_H) (所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域)和轻链可变区(V_L) (所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),其选自:

[0010] a) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0011] b) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0012] c) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0013] d) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0014] e) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0015] f) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0016] g) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0017] h) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0018] i) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0019] j) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0020] k) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0021] l) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0022] m) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的LC-CDR2

和包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0023] n) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0024] o) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:231的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:232的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:234的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的LC-CDR3; 且

[0025] p) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:241的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:242的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:243的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:244的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:245的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:246的氨基酸序列的LC-CDR3。

[0026] 在一些实施例中, 所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H) (所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域); 和轻链可变区(V_L) (所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域), 其中所述 V_H 和所述 V_L 选自:

[0027] a) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0028] b) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0029] c) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0030] d) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0031] e) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0032] f) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LC-CDR2和包

含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0033] g) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0034] h) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0035] i) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0036] j) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0037] k) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0038] l) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0039] m) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0040] n) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0041] o) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:231的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:232的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:234的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的LC-CDR3;且

[0042] p) 所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:241的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:242的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:243的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:

包含SEQ ID NO:244的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:245的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:246的氨基酸序列的LC-CDR3。

[0043] 在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:63的氨基

酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ

ID NO:133的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:231的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:232的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:234的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(VH)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域);和轻链可变区(VL)(所述轻链可变区包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3结构域),且所述V_H包含:包含SEQ ID NO:241的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:242的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:243的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述V_L包含:包含SEQ ID NO:244的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:245的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:246的氨基酸序列的LC-CDR3。

[0044] 在一些实施例中,所述第一抗体部分包含:

[0045] a) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:7中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:8中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0046] b) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:17中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:18中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0047] c) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:27中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:28中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0048] d) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:37中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:38中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0049] e) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:47中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:48中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0050] f) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:57中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:58中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0051] g) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:67中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:68中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0052] h) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:77中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:78中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0053] i) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:87中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:88中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0054] j) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:97中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:98中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0055] k) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:107中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:108中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0056] l) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:117中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:118中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0057] m) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:127中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:128中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0058] n) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:137中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:138中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;

[0059] o) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:237中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:238中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;或

[0060] p) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:247中所示的序列的V_H链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID NO:248中所示的序列的V_L链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。

[0061] 在一些实施例中,所述第一抗体部分包含:

[0062] (a) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:7中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:8中所示的序列的氨基酸;

[0063] (b) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:17中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:18中所示的序列的氨基酸;

[0064] (c) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:27中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:28中所示的序列的氨基酸;

[0065] (d) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:37中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:38中所示的序列的氨基酸;

[0066] (e) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:47中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:48中所示的序列的氨基酸;

[0067] (f) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:57中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:58中所示的序列的氨基酸;

[0068] (g) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:67中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:68中所示的序列的氨基酸;

[0069] (h) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:77中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:78中所示的序列的氨基酸;

[0070] (i) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:87中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:88中所示的序列的氨基酸;

[0071] (j) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:97中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:98中所示的序列的氨基酸;

[0072] (k) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:107中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:108中所示的序列的氨基酸;

[0073] (l) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:117中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:118中所示的序列的氨基酸;

[0074] (m) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:127中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:128中所示的序列的氨基酸;

[0075] (n) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:137中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:138中所示的序列的氨基酸;

[0076] (o) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:237中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:238中所示的序列的氨基酸;或

[0077] (p) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:247中所示的序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:248中所示的序列的氨基酸。

[0078] 在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中:a)所述 V_H 包含:i)HC-CDR1,所述HC-CDR1包含SEQ ID NO:151-153中任一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;ii)HC-CDR2,所述HC-CDR2包含SEQ ID NO:154-156中任一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;iii)HC-CDR3,所述HC-CDR3包含SEQ ID NO:157-159中任一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;以及b)所述 V_L 包含:i)LC-CDR1,所述LC-CDR1包含SEQ ID NO:160-163中任一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;ii)LC-CDR2,所述LC-CDR2包含SEQ ID NO:164-166中任一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;iii)LC-CDR3,所述LC-CDR3包含SEQ ID NO:167-169中任一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体。

[0079] 在一些实施例中,所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中:

[0080] a)所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的HC-CDR3,并且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的LC-CDR2

和包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0081] b) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0082] c) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:158的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:169的氨基酸序列的LC-CDR3;

[0083] d) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列的LC-CDR3; 或

[0084] e) 所述 V_H 包含: 包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的HC-CDR1, 包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:159的氨基酸序列的HC-CDR3, 并且所述 V_L 包含: 包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列的LC-CDR1, 包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:168的氨基酸序列的LC-CDR3。

[0085] 在一些实施例中, 所述第一抗体部分包含选自以下组的抗体或其抗原结合片段, 该组由以下组成: 全长抗体、多特异性抗体 (例如双特异性抗体)、单链Fv (scFv)、Fab片段、Fab' 片段、F(ab')₂、Fv片段、二硫键稳定的Fv片段 (dsFv)、(dsFv)₂、 V_H H、Fv-Fc融合体、scFv-Fc融合体、scFv-Fv融合体、双抗体、三抗体、和四抗体。在一些实施例中, 所述第一抗体部分包含人源化的抗CD137全长抗体。在一些实施例中, 所述第一抗体部分包含人源化的抗CD137单链Fv片段 (scFv)。在一些实施例中, 所述第一抗体部分是CD137激动剂抗体。

[0086] 在一些实施例中, 所述第一抗体部分包含抗CD137抗体部分, 所述抗CD137抗体部分包含人免疫球蛋白的Fc区。在一些实施例中, 所述Fc区选自由以下组成的组: IgG、IgA、IgD、IgE和IgM的Fc区。在一些实施例中, 所述Fc区选自由以下组成的组: IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的Fc区。

[0087] 在一些实施例中, 所述第一抗体部分结合人CD137和猿猴CD137。在一些实施例中, 所述第一抗体部分不结合鼠CD137。

[0088] 在一些实施例中, 所述第一抗体部分含有包含重链可变区 (V_H) 和轻链可变区 (V_L) 的抗CD137单链Fv片段, 且所述第二抗体部分包含与HER2结合并且包含两条抗体重链和两条抗体轻链的全长抗体, 且其中所述重链各自包含第二重链可变区 (V_{H-2}) 并且所述轻链各自包含第二轻链可变区 (V_{L-2}), 且其中所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的重链或轻链中的至少一条融合。在一些实施例中, 所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的每条重链的C端融合。在一些实施例中, 所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的每条重链的N端融合。在一些实施例中, 所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的每条轻链的C端融合。在一些实施例中, 所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的每条轻链的N端融合。

[0089] 在一些实施例中, 所述抗CD137单链Fv片段的 V_H 和 V_L 通过第一肽接头融合。在一些实施例中, 所述第一肽接头包含约四个至约十五个氨基酸。在一些实施例中, 所述第一肽接

头包含接头,所述接头包含SEQ ID NO:206-230中任一个的序列。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段通过第二肽接头与全长抗体融合。在一些实施例中,所述第二肽接头包含约四个至约十五个氨基酸。在一些实施例中,所述第二肽接头包含接头,所述接头包含SEQ ID NO:206-230中任一个的序列。

[0090] 在一些实施例中,所述第二抗体部分包含选自以下的Fc区:来自IgG、IgA、IgD、IgE、IgM的Fc区及其任何组合和杂合体。在一些实施例中,所述Fc区包含人Fc区。在一些实施例中,所述Fc区选自来自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4的Fc区及其任何组合和杂合体。在一些实施例中,所述Fc区包含IgG1Fc区。在一些实施例中,所述IgG1Fc区包含L234A突变和L235A突变。在一些实施例中,所述Fc区包含IgG4 Fc区。在一些实施例中,所述IgG4 Fc区包含F234A突变和L235A突变。在一些实施例中,所述IgG4 Fc区包含S228P突变。

[0091] 在一些实施例中,所述HER2是人HER2。

[0092] 在一些实施例中,所述第二抗体部分包含与HER2结合并且与包含第三重链可变区(V_{H-3})和第三轻链可变区(V_{L-3})的抗体或抗体片段竞争HER2的结合表位的全长抗体,其中:
a) 所述 V_{H-3} 包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的HC-CDR3;并且b) 所述 V_{L-3} 包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的LC-CDR3。

[0093] 在一些实施例中,所述第二抗体部分包含与HER2结合的全长抗体,并且包含第二重链可变区(V_{H-2})和第二轻链可变区(V_{L-2}),其中:a) 所述 V_{H-2} 包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的HC-CDR1,包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的HC-CDR3;并且b) 所述 V_{L-2} 包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的LC-CDR1,包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的LC-CDR3。

[0094] 在一些实施例中,所述 V_{H-2} 包含与SEQ ID NO:202具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列;和/或所述 V_{L-2} 包含与SEQ ID NO:203具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,所述 V_{H-2} 包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列;且所述 V_{L-2} 包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列。

[0095] 在一些实施例中,所述多特异性抗体包含:a) 所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HC-CDR3;且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的LC-CDR3;且b) 所述第二抗体部分包含第二重链可变区(V_{H-2})和第二轻链可变区(V_{L-2}),其中所述 V_{H-2} 包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的第二HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的第二HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的第二HC-CDR3;且所述 V_{L-2} 包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的第二LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的第二LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的第二LC-CDR3。

[0096] 在一些实施例中,所述多特异性抗体包含:a) 所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:231的氨基酸序列的HC-CDR1、包

含SEQ ID NO:232的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列的HC-CDR3;且所述VL包含:包含SEQ ID NO:234的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的LC-CDR3;且b)所述第二抗体部分包含第二重链可变区(VH-2)和第二轻链可变区(VL-2),其中所述VH-2包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的第二HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的第二HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的第二HC-CDR3;且所述VL-2包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的第二LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的第二LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的第二LC-CDR3。

[0097] 在一些实施例中,所述多特异性抗体包含:a)所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中所述VH包含:包含SEQ ID NO:241的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:242的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:243的氨基酸序列的HC-CDR3;且所述VL包含:包含SEQ ID NO:244的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:245的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:246的氨基酸序列的LC-CDR3;且b)所述第二抗体部分包含第二重链可变区(VH-2)和第二轻链可变区(VL-2),其中所述VH-2包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的第二HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的第二HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的第二HC-CDR3;且所述VL-2包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的第二LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的第二LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的第二LC-CDR3。

[0098] 在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含与SEQ ID NO:183、184、204、205、251、252、253或254的氨基酸序列具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:183、184、204、205、251、252、253或254中任一个的氨基酸序列。

[0099] 在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:204的氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:205的氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:251的氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:252的氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:253的氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗

HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:254的氨基酸序列。在一些实施例中,包含的抗HER2全长抗体含有包含与SEQ ID NO:185的氨基酸序列具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列的轻链。在一些实施例中,所述抗HER2全长抗体含有包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列的轻链。

[0100] 本公开还提供了免疫缀合物,其包含与治疗剂或标记连接的本文公开的任何多特异性抗体。在一些实施例中,所述标记选自由以下组成的组:放射性同位素、荧光染料和酶。

[0101] 本公开还提供了包含本文公开的任何多特异性抗体或任何免疫缀合物和药学上可接受的载剂的药物组合物。

[0102] 本公开还提供了编码本文公开的任何多特异性抗体的分离的核酸、包含本文公开的任何分离的核酸的载体、以及包含本文公开的任何分离的核酸或任何载体的分离的宿主细胞。

[0103] 本公开还提供了产生多特异性抗体的方法。在一些实施例中,所述方法包括:a)在有效表达所述多特异性抗体的条件下培养本文公开的任何宿主细胞;并且b)从所述宿主细胞获得所表达的多特异性抗体。

[0104] 本公开还提供了治疗或预防个体疾病的方法。在一些实施例中,所述方法包括:向所述个体施用有效量的本文公开的任何多特异性抗体、任何免疫缀合物或任何药物组合物。在一些实施例中,所述疾病是癌症或肿瘤。在一些实施例中,所述癌症选自以下组,该组由以下组成:乳腺癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、间皮瘤、子宫内膜癌、宫颈癌、食道癌、膀胱癌、唾液腺癌、睾丸癌、肾癌、肝癌、胰腺癌、结直肠癌、皮肤癌、胸腺癌、肾上腺癌、头颈癌、脑癌、甲状腺癌、肉瘤、骨髓瘤和白血病。在一些实施例中,所述癌症或肿瘤是HER2阳性的。在一些实施例中,所述癌症或肿瘤上的HER2表达高于SK-Hep1上的HER2表达水平。在一些实施例中,所述癌症是乳腺癌或胃癌。

[0105] 在一些实施例中,所述多特异性抗体、免疫缀合物或药物组合物肠胃外施用于所述个体。在一些实施例中,所述多特异性抗体、免疫缀合物或药物组合物静脉内施用于所述个体。在一些实施例中,所述受试者是人。

[0106] 本公开提供了本文公开的任何多特异性抗体,其用作药物。本公开还提供了本文公开的任何多特异性抗体,其用于治疗癌症。在一些实施例中,所述癌症选自以下组,该组由以下组成:乳腺癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、间皮瘤、子宫内膜癌、宫颈癌、食道癌、膀胱癌、唾液腺癌、睾丸癌、肾癌、肝癌、胰腺癌、结直肠癌、皮肤癌、胸腺癌、肾上腺癌、头颈癌、脑癌、甲状腺癌、肉瘤、骨髓瘤和白血病。

[0107] 本公开还提供了试剂盒,其包含本文公开的任何多特异性抗体、任何免疫缀合物、任何药物组合物、任何核酸、任何载体或任何宿主细胞。在一些实施例中,所述试剂盒还包含用于治疗 and/或预防癌症或肿瘤的书面的说明书。

附图说明

[0108] 图1A-1F显示示例性抗CD137抗体克隆2-9变体对人CD137和食蟹猴CD137的结合亲和力和。图1A显示克隆2-9 IgG2 wt对人CD137的结合。图1B显示克隆2-9 IgG2 wt对食蟹猴CD137的结合。图1C显示克隆2-9 IgG2 wt对人CD137的结合。图1D显示克隆2-9-1 IgG1 SELF对人CD137的结合。图1E显示克隆2-9-1 IgG1 SELF对人CD137的结合。图1F显示克隆2-

9-2 IgG4 wt对人CD137的结合。

[0109] 图2A和2B显示在不存在表达Fc γ RIIB的293F细胞的情况下(2A)或在存在表达Fc γ RIIB的293F细胞的情况(2B)下,NF- κ B报告基因测定中的萤光素酶活性。参考Ab 1和参考Ab 2是实例2中所述的参考抗CD137抗体。 α CD137 Ab克隆表示不同的抗CD137单克隆抗体。

[0110] 图3A-3C显示在不存在表达Fc γ RIIB的293F细胞的情况下(3A)或在存在表达Fc γ RIIB的293F细胞的情况(3B和3C)下,NF- κ B报告基因测定中的萤光素酶活性。参考Ab 1和参考Ab 2是实例2中所述的参考抗CD137抗体。2-9-1 IgG1 SELF包含IgG1 Fc和突变S267E/L328F。2-9-1 IgG2 SELF包含IgG2 Fc和突变S267E/L328F。2-9 IgG2 wt包含野生型人IgG2 Fc。2-9-2 IgG4包含野生型人IgG4 Fc。

[0111] 图4A和4B显示在不同浓度的不同抗CD137抗体存在下,从供体获得的PBMC的IFN- γ (4A)和IL2 (4B)产量。参考Ab 1和参考Ab 2是实例2中所述的参考抗CD137抗体。2-9-1 IgG1 SELF包含IgG1 Fc和突变S267E/L328F。2-9-1 IgG2 SELF包含IgG2 Fc和突变S267E/L328F。2-9 IgG2 wt包含野生型人IgG2 Fc。2-9-2 IgG4包含野生型人IgG4 Fc。

[0112] 图5A和5B显示2-9变体在MC38鼠结肠癌模型中的体内研究结果。图5A显示载体对照组和治疗组的肿瘤生长曲线。图5B显示小鼠在治疗中的体重变化。

[0113] 图6A和6B显示乌托鲁单抗类似药在MC38鼠结肠癌模型中的体内研究结果。图6A显示IgG对照组和治疗组的肿瘤生长曲线。图6B显示小鼠在治疗中的体重变化。

[0114] 图7A和7B显示示例性双特异性抗体的设计,其中抗CD137 scFv与一般结合肿瘤相关抗原(7A)和特异性结合HER2 (7B)的全长抗体融合。 α TAA代表针对肿瘤相关抗原的抗体。 α CD137代表抗CD137 scFv。

[0115] 图8A-8B显示示例性抗CD137 x HER2双特异性抗体对CD137 (8A)和HER2 (8B)的结合亲和力,如通过Octet双重结合测定法所测量。 α HER2代表衍生自曲妥珠单抗的氨基酸序列的全长抗HER2单克隆抗体。2-9scFv- α HER2-HC-C代表双特异性抗体,其中衍生自克隆2-9的抗CD137scFv与全长抗HER2抗体的重链的C端融合。

[0116] 图9A-9B显示示例性抗CD137 x HER2双特异性抗体和抗CD137单克隆抗体对CD137 (9A)和HER2 (9B)的结合亲和力,如通过全细胞结合测定法所测量。 α HER2代表衍生自曲妥珠单抗的氨基酸序列的抗HER2单克隆抗体。 α EGFR代表抗EGFR单克隆抗体。“ α CD137scFv- α HER2-IgG1”和“ α CD137scFv- α HER2-IgG4-FALA”代表双特异性抗体,其具有的衍生自克隆2-9的抗CD137 scFv分别与具有IgG1同种型或IgG4同种型(具有Fc FALA突变)的全长抗HER2抗体融合。

[0117] 图10A-10C显示结合CD137和HER2两者的示例性双特异性抗体的交联效果。图10A显示实验步骤,且交联效果在抗CD137 x HER2双特异性抗体存在时触发(左小图,底部),但在抗CD137单克隆抗体存在时不触发(左小图,顶部)。图10B-10C显示在具有各种形式(HC-C、HC-N、LC-C、LC-N)的抗CD137 x Her2双特异性抗体存在的条件下与HER2高NCI-N87细胞或HER2低SK-Hep1细胞接触后293T细胞中的CD137活化水平。 α CD137- α HER2-HC-C代表双特异性抗体,其中衍生自克隆2-9的抗CD137 scFv与全长抗HER2抗体的重链的C端融合。 α CD137- α HER2-HC-N代表双特异性抗体,其中衍生自克隆2-9的抗CD137 scFv与全长抗HER2抗体的重链的N端融合。 α CD137- α HER2-LC-C代表双特异性抗体,其中衍生自克隆2-9的抗CD137 scFv与全长抗HER2抗体的轻链的C端融合。 α CD137- α HER2-LC-N代表双特异性抗体,其中衍

生自克隆2-9的抗CD137 scFv与全长抗HER2抗体的轻链的N端融合。

[0118] 图11A-11B显示具有或不具有Fc突变的示例性抗CD137 x HER2双特异性抗体的交联效果。图11A显示在与HER2高SKBR3细胞接触后293T细胞中的CD137活化水平。图11B显示在与HER2低SK-Hep1细胞接触后293T细胞中的CD137活化水平。本实施例中使用的抗CD137 x HER2双特异性抗体具有HC-C形式。“αCD137scFv-αHER2-IgG1”和“αCD137scFv-αHER2-IgG4-FALA”代表双特异性抗体,其具有的衍生自克隆2-9的抗CD137 scFv与衍生自曲妥珠单抗的具有IgG1同种型或IgG4同种型(具有Fc FALA突变)的全长抗HER2抗体融合。“αCD137 mAb-IgG2”代表衍生自克隆2-9的单克隆抗CD137抗体,其具有IgG2同种型。

[0119] 图12显示在各种浓度的抗CD137 x HER2双特异性抗体或CD137单克隆抗体存在的情况下,在与HER2高SKBR3细胞或HER2低MDA-MB-231细胞接触后效应细胞的IFN γ 和IL-2产生。本实施例中使用的抗CD137 x HER2双特异性抗体具有HC-C形式。“αCD137scFv-αHER2-IgG1”和“αCD137scFv-αHER2-IgG4-FALA”代表双特异性抗体,其具有的衍生自克隆2-9的抗CD137 scFv与具有IgG1同种型或IgG4同种型(具有Fc FALA突变)的全长抗HER2抗体融合。

[0120] 图13显示在施用a)抗CD137 x HER2双特异性抗体(αCD137scFv-αHER2-IgG4-FALA HCC-L7, 10mg/kg)和b)抗CD137单克隆抗体(2-9mAb, 7.5mg/kg)和抗HER2单克隆抗体(αHER2, 7.5mg/kg)的组合后LoVo/hPBMC异种移植NOD-SCID小鼠与媒介物对照相比的肿瘤体积变化。“αCD137scFv-αHER2-IgG4-FALA”代表一种双特异性抗体,其具有的衍生自克隆2-9的抗CD137 scFv与具有IgG4同种型(具有Fc FALA突变)的全长抗HER2抗体融合。

[0121] 图14A和14B显示在施用a)抗CD137 x HER2双特异性抗体(αCD137scFv-αHER2-IgG4-FALA HCC-L7, 0.4mg/kg)、b)抗CD137单克隆抗体(2-9mAb, 0.3mg/kg)和抗HER2单克隆抗体(αHER2, 0.3mg/kg)的组合以及c)抗HER2单克隆抗体(αHER2, 0.3mg/kg)后OE19/hPBMC异种移植NOD-SCID小鼠与媒介物对照相比的肿瘤体积变化。“αCD137scFv-αHER2-IgG4-FALA”代表一种双特异性抗体,其具有的衍生自克隆2-9的抗CD137 scFv与具有IgG4同种型(具有Fc FALA突变)的全长抗HER2抗体融合。图14A显示各组的肿瘤生长曲线。图14B显示在第21天的各个治疗组的个体肿瘤体积。

具体实施方式

[0122] 本申请提供了与CD137特异性结合的新型抗CD137构建体(例如与肿瘤相关抗原(TAA)结合的抗CD137 scFv、单克隆抗体和多特异性抗体),制备所述抗CD137构建体的方法,使用所述构建体的方法(例如,治疗疾病或病症的方法,调节免疫应答的方法或调节细胞组合物的方法)。本发明部分地基于抗CD137单特异性抗体和多特异性抗体的发现,所述抗CD137单特异性抗体和多特异性抗体与临床试验中的现有抗CD137抗体相比显示出改善的安全性和增强的抗肿瘤功效。

[0123] I. 定义

[0124] 术语“抗体”以其最广泛的含义使用,并且涵盖多种抗体结构,这些抗体结构包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)、全长抗体及其抗原结合片段,只要它们表现出所需的抗原结合活性即可。术语“抗体部分”是指全长抗体或其抗原结合片段。

[0125] 全长抗体包含两条重链和两条轻链。轻链和重链的可变区对抗原结合负责。重链

和轻链的可变结构域可以分别称为“V_H”和“V_L”。两条链中的可变区通常包含三个高度可变的环,称为互补决定区(CDR)(包括LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3的轻链(LC)CDR,包括HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3的重链(HC)CDR)。本文公开的抗体和抗原结合片段的CDR边界可以通过以下惯例来定义或鉴定:Kabat、Chothia或Al-Lazikani(Al-Lazikani 1997;Chothia 1985;Chothia 1987;Chothia 1989;Kabat 1987;Kabat 1991)。重链或轻链的三个CDR被插入称为框架区(FR)的侧翼区段之间,它们比CDR更为高度保守,并形成了支持高变环的支架。重链和轻链的恒定区不参与抗原结合,但是表现出多种效应子功能。根据抗体重链恒定区的氨基酸序列将抗体分类。抗体的五种主要类别或同种型是IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,分别以存在 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 重链为特征。几种主要抗体类别分为亚类,例如IgG1(γ 1重链)、IgG2(γ 2重链)、IgG3(γ 3重链)、IgG4(γ 4重链)、IgA1(α 1重链)或IgA2(α 2重链)。

[0126] 本文所用的术语“抗原结合片段”是指抗体片段,其包括例如双特异抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段、二硫键稳定的Fv片段(dsFv)、(dsFv)₂、双特异性dsFv(dsFv-dsFv')、二硫键稳定的双特异抗体(ds双特异抗体)、单链Fv(scFv)、scFv二聚体(二价双抗体)、由抗体的包含一个或多个CDR的部分形成的多特异性抗体、骆驼化的单结构域抗体、纳米抗体、结构域抗体、二价结构域抗体或与抗原结合但不包含完整的抗体结构的任何其他抗体片段。抗原结合片段能够与亲本抗体或亲本抗体片段(例如,亲本scFv)结合的相同抗原结合。在一些实施例中,抗原结合片段可包含来自特定人抗体的一个或多个CDR,所述CDR嫁接到来自一个或多个不同人抗体的框架区。

[0127] “Fv”是最小抗体片段,其含有完整抗原识别位点和抗原结合位点。该片段由紧密非共价缔合的一个重链可变区结构域和一个轻链可变区结构域的二聚体组成。从这两个结构域的折叠中发出六个高变环(各自来自重链和轻链的3个环),该高变环贡献用于抗原结合的氨基酸残基并赋予抗体与抗原结合特异性。然而,甚至单个可变结构域(或仅包含三个对抗原有特异性的CDR的半个Fv)具有识别并结合抗原的能力,虽然通常以比完整结合位点更低的亲和力进行。

[0128] “单链Fv”(也缩写为“sFv”或“scFv”)是包含连接成单个多肽链的V_H和V_L抗体结构域的抗体片段。在一些实施例中,scFv多肽进一步包含在V_H和V_L结构域之间的一种多肽接头,该多肽接头使得scFv形成所希望的用于抗原结合的结构。关于scFv的综述,参见Plückthun的The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg和Moore编辑Springer-Verlag,纽约,第269-315页(1994)。

[0129] 如本文使用的,术语“CDR”或“互补决定区”旨在意指在重链和轻链多肽的可变区内发现的非连续抗原结合位点。这些特定区已经描述于:Kabat等人,J.Biol.Chem.,252:6609-6616(1977);Kabat等人,美国卫生与公共服务部,“Sequences of proteins of immunological interest”(1991);Chothia等人,J.Mol.Biol.196:901-917(1987);Al-Lazikani B.等人,J.Mol.Biol.,273:927-948(1997);MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996);Abhinandan和Martin,Mol.Immunol.,45:3832-3839(2008);Lefranc M.P.等人,Dev.Comp.Immunol.,27:55-77(2003);以及Honegger和Plückthun,J.Mol.Biol.,309:657-670(2001),其中定义包括当彼此比较时氨基酸残基的重叠或子集。然而,应用任一定义来指代抗体或移植的抗体或其变体的CDR旨在落入如本文定义和使用的术语的范围内。涵盖如上述每篇参考文献定义的CDR的氨基酸残基列于下表1中作为比较。CDR预测算法

和接口是本领域已知的,包括例如Abhinandan和Martin,Mol.Immunol.,45:3832-3839 (2008);Ehrenmann F.等人,Nucleic Acids Res.,38:D301-D307 (2010);和Adolf-Bryfogle J.等人,Nucleic Acids Res.,43:D432-D438 (2015)。在本段中引用的参考文献的内容通过引用以其整体并入本文,以用于本申请中并且可能包含在本文的一项或多项权利要求中。

[0130] 表1:CDR定义

[0131]		Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³	IMGT ⁴	AHo ⁵
	V _H CDR1	31-35	26-32	30-35	27-38	25-40
	V _H CDR2	50-65	53-55	47-58	56-65	58-77
	V _H CDR3	95-102	96-101	93-101	105-117	109-137
	V _L CDR1	24-34	26-32	30-36	27-38	25-40
	V _L CDR2	50-56	50-52	46-55	56-65	58-77
	V _L CDR3	89-97	91-96	89-96	105-117	109-137

[0132] ¹残基编号遵循Kabat等人的命名法(同上)。

[0133] ²残基编号遵循Chothia等人的命名法(同上)。

[0134] ³残基编号遵循MacCallum等人的命名法(同上)。

[0135] ⁴残基编号遵循Lefranc等人的命名法(同上)。

[0136] ⁵残基编号遵循Honegger和Plückthun的命名法(同上)。

[0137] 表述“如Kabat中的可变结构域残基编号”或“如Kabat中的氨基酸位置编号”及其变体是指用于上文Kabat等人的抗体汇编的重链可变结构域或轻链可变结构域的编号系统。使用这个编号系统,实际直链氨基酸序列可以含有对应于可变结构域的FR或高变区(HVR)的缩短或插入的更少的或另外的氨基酸。例如,重链可变结构域可以包含在H2的残基52之后的单个氨基酸插入(根据Kabat的残基52a)以及在重链FR残基82之后的插入残基(例如,根据Kabat的残基82a、82b和82c等)。可以通过在抗体序列与“标准”Kabat编号序列的同源性区域进行比对来确定给定抗体的残基的Kabat编号。

[0138] 除非本文另有说明,否则涵盖全长抗体(例如,本文公开的抗CD137抗体)的CDR的氨基酸残基是根据上文Kabat等人的Kabat命名法定义的,并且免疫球蛋白重链例如Fc区中的残基编号是如上文Kabat等人所述的EU索引的编号,除了涵盖任何共有序列的CDR的氨基酸残基是根据Kabat命名法定义的,其中修饰基于实验条件。“如Kabat所述的EU索引”是指人IgG1 EU抗体的残基编号。

[0139] “框架”或“FR”残基是除了本文定义的CDR残基以外的那些可变结构域残基。

[0140] “人源化”形式的非人(例如啮齿动物)抗体是嵌合抗体,其含有衍生自非人抗体的最小序列。大多数情况下,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体高变区(HVR)的残基被来自非人物种(例如小鼠、大鼠、兔或非人灵长类)的具有所希望的抗原特异性、亲和力和容量的高变区(供体抗体)的残基替换。在一些实例中,人免疫球蛋白的框架区(FR)残基被相应的非人残基替换。另外,人源化抗体可以包括未在受体抗体或供体抗体中发现的残基。进行这些修饰以进一步改善抗体性能。通常,人源化抗体将包括至少一个、并且典型地两个可变结构域中的基本上全部,其中全部或基本上全部的高变环对应于非人类免疫球蛋白的那些,并且全部或基本上全部的FR是人类免疫球蛋白序列的那些。人源化抗

体还将任选地包括免疫球蛋白恒定区 (Fc) 的至少一部分,典型地是人免疫球蛋白的至少一部分。有关进一步的细节,参见Jones等人,Nature,321:522-525,(1986);Riechmann等人,Nature,332:323-329(1988);和Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。

[0141] “人抗体”是具有氨基酸序列的抗体,该氨基酸序列对应于由人产生的抗体的氨基酸序列和/或已经使用本文公开的任何用于制备人抗体的技术制备。人抗体的此定义特别排除了包含非人抗原结合残基的人源化抗体。可以使用本领域已知的各种技术(包括噬菌体展示文库)产生人抗体。Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.,227:381(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.,222:581(1991)。也可用于制备人单克隆抗体的是在Cole等人,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,第77页(1985);Boerner等人,J.Immunol.,147(1):86-95(1991)中描述的方法。另请参见van Dijk和van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.,5:368-74(2001)。人抗体可以通过将抗原施用至已被修饰以响应抗原攻击而产生这种抗体但其内源基因座已失效的转基因动物(例如已免疫的xenomice)来制备(参见,例如,有关XENOMOUSE™技术的美国专利号6,075,181和6,150,584)。关于通过人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体,还参见例如Li等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 103:3557-3562(2006)。

[0142] 将“关于本文鉴定的多肽和抗体序列的氨基酸序列同一性百分比(%)”或“同源性”定义为在对齐序列(考虑任何保守取代作为序列同一性的一部分)后,候选序列中与所比较多肽中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。出于确定氨基酸序列同一性百分比的目的,可以用本领域技术中的多种方式来实现比对,例如使用公众可得的计算机软件,例如BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign(DNASTAR)或MUSCLE软件。本领域技术人员可以确定用于测量比对的适当参数,包括需要在被比较序列的全长范围实现最大比对的任何算法。然而,出于本文的目的,使用序列比较计算机程序MUSCLE生成氨基酸序列同一性%值(Edgar,R.C.,Nucleic Acids Research 32(5):1792-1797,2004;Edgar,R.C.,BMC Bioinformatics 5(1):113,2004)。

[0143] “同源的”是指两个多肽之间或两个核酸分子之间的序列相似性或序列同一性。当两个比较序列中两个的一个位置被相同的碱基或氨基酸单体亚基占据时,例如,如果两个DNA分子中的每一个的一个位置被腺嘌呤占据,则该分子在该位置是同源的。两个序列之间的同源性百分比是两个序列共享的匹配或同源位置数除以比较的位置数乘以100的函数。例如,如果两个序列中10个位置中的6个是匹配或同源的,那么两个序列是60%同源的。举例来说,DNA序列ATTGCC和TATGGC具有50%的同源性。通常,当两个序列比对以给出最大同源性时进行比较。

[0144] 术语“恒定结构域”是指免疫球蛋白分子的一部分,其相对于免疫球蛋白的另一部分,即可变结构域,具有更保守的氨基酸序列,其包含抗原结合位点。恒定结构域包含重链的C_H1、C_H2和C_H3结构域(统称为C_H)和轻链的C_L1(或C_L)结构域。

[0145] 任何哺乳动物物种的抗体(免疫球蛋白)的“轻链”都可以根据其恒定结构域的氨基酸序列指定为两种明显不同的类型之一,分别称为kappa(“κ”)和lambda(“λ”)。

[0146] “CH1结构域”(也称为“H1”结构域的“C1”)通常从约氨基酸118至约氨基酸215(EU编号系统)。

[0147] “铰链区”通常定义为IgG中对应于人IgG1的Glu216至Pro230的区域(Burton,

Molec. Immunol., 22:161-206 (1985))。其他IgG同种型的铰链区可以通过将第一个和最后一个形成重链间S-S键的半胱氨酸残基置于相同位置而与IgG1序列比对。

[0148] 人IgG Fc区(也称为“C2”结构域)的“CH2结构域”通常从约氨基酸231至约氨基酸340。CH2结构域是独特的,因为其不与另一个结构域紧密配对。而是,两个N连接的支链碳水化合物链插入完整天然IgG分子的两个CH2结构域之间。据推测,碳水化合物可以提供结构域-结构域配对的替代物并有助于稳定CH2结构域。Burton, Molec Immunol., 22:161-206 (1985)。

[0149] “CH3结构域”(也称为“C2”结构域)包含Fc区中靠CH2结构域C末端的残基区域(即从约氨基酸残基341至抗体序列的C末端(典型地在IgG的氨基酸残基446或447处))。

[0150] 本文中的术语“Fc区”或“片段可结晶区”用于定义免疫球蛋白重链的C末端区域,包括天然序列Fc区和变体Fc区。尽管免疫球蛋白重链的Fc区的边界可以变化,但是通常将人IgG重链的Fc区定义为从Cys226位置处的氨基酸残基或从Pro230延伸至其羧基末端。可以例如抗体的生产或纯化期间或通过编码抗体重链的核酸进行重组工程化来去除Fc区的C末端赖氨酸(根据EU编号系统的残基447)。因此,完整抗体的组合物可以包括去除了所有K447残基的抗体群体,没有去除K447残基的抗体群体以及具有带有和不带有K447残基的抗体混合物的抗体群体。用于本文所述抗体的合适天然序列Fc区包括人IgG1、IgG2 (IgG2A、IgG2B)、IgG3和IgG4。

[0151] “Fc受体”或“FcR”描述结合抗体的Fc区的受体。优选的FcR是天然人FcR。此外,优选的FcR是结合IgG抗体(γ 受体)并包括Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII亚类的受体的FcR,包括等位基因变体和这些受体的剪接形式,Fc γ RII受体包括Fc γ RIIA(“活化受体”)和Fc γ RIIB(“抑制受体”),它们具有相似的氨基酸序列,主要区别在于其胞质结构域。活化受体Fc γ RIIA在其胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的活化基序(ITAM)。抑制性受体Fc γ RIIB在其胞质结构域中包含基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(ITIM)。(参见M. Daëron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)。FcR综述于Ravetch和Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92 (1991); Capel等人, Immunomethods 4:25-34 (1994); 和de Haas等人, J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)。本文的术语“FcR”涵盖其他FcR,包括将来鉴定的FcR。

[0152] 如本文所用,术语“表位”是指抗体或抗体部分所结合的抗原上的特定原子或氨基酸基团。如果两个抗体或抗体部分对抗原具有竞争性结合,则它们可以结合抗原内的相同表位。

[0153] 如本文所用,当在等摩尔浓度的第一抗体或其片段存在下,第一抗体或其片段将第二抗体或其片段的靶抗原结合抑制至少约50% (例如至少约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%中的任何一个)时,所述第一抗体或其片段与所述第二抗体或其片段“竞争”结合所述靶抗原,或者反之亦然。在PCT公开号W003/48731中描述了基于抗体的交叉竞争将这些抗体“分箱”的高通量方法。

[0154] 如本文所用,术语“特异性结合”、“特异性识别”和“对.....有特异性”是指可测量和可再现的相互作用,例如靶标与抗体或抗体部分之间的结合,其决定了在异质分子(包括生物分子)群体存在时靶标的存在。例如,特异性识别靶标(可以是表位)的抗体或抗体部分是与所述靶标结合的抗体或抗体部分,其亲和力、亲合力、就绪性和/或持续时间长于与其他靶标的结合。在一些实施例中,抗体与不相关靶标的结合程度小于例如通过放射免疫

测定法 (RIA) 测量的抗体与靶标的结合程度的约10%。在一些实施例中,特异性结合靶标的抗体的解离常数 (K_D) $\leq 10^{-5}M$ 、 $\leq 10^{-6}M$ 、 $\leq 10^{-7}M$ 、 $\leq 10^{-8}M$ 、 $\leq 10^{-9}M$ 、 $\leq 10^{-10}M$ 、 $\leq 10^{-11}M$ 、或 $\leq 10^{-12}M$ 。在一些实施例中,抗体特异性结合对从不同物种的蛋白中为保守的蛋白的表位。在一些实施例中,特异性结合可以包括但不要求排他结合。抗体或抗原结合结构域的结合特异性可以通过本领域已知的方法通过实验确定。这类方法包括但不限于蛋白质印迹、ELISA-、RIA-、ECL-、IRMA-、EIA-、BIAcore™-检验和肽扫描。

[0155] “分离的”抗体(或构建体)是已经从其生产环境的组分(例如天然或重组)中鉴定、分离和/或回收的抗体。优选地,分离的多肽不与其产生环境中的所有其他组分缔合。

[0156] 编码本文所述的构建体、抗体或其抗原结合片段的“分离的”核酸分子是与在其生产环境中从通常与其相关联的至少一种污染物核酸分子中鉴定并分离的核酸分子。优选地,分离的核酸不与产生环境有关的所有组分缔合。编码本文所述的多肽和抗体的分离的核酸分子的形式不同于天然存在的形式或背景。因此,分离的核酸分子不同于编码天然存在于细胞中的本文所述的多肽和抗体的核酸。分离的核酸包括通常包含核酸分子的细胞中所含的该核酸分子,但是该核酸分子存在于染色体外或与其天然染色体位置不同的染色体位置。

[0157] 术语“控制序列”是指在特定宿主生物体中表达可操作地连接的编码序列所必需的DNA序列。例如,适用于原核生物的控制序列包括启动子、任选的操纵子序列和核糖体结合位点。已知真核细胞利用启动子、聚腺苷酸化信号和增强子。

[0158] 当核酸与另一核酸序列处于功能关系时,该核酸是“可操作地连接的”。例如,如果将前序列或分泌性前导序列的DNA表达为参与多肽分泌的前蛋白,则该前序列或分泌性前导序列的DNA可操作地连接至该多肽的DNA;如果启动子或增强子影响编码序列的转录,则该启动子或增强子可操作地连接至该序列;或者如果核糖体结合位点被定位成使得有助于翻译,则该核糖体结合侧可操作地连接至编码序列。通常,“可操作地连接”意指所连接的DNA序列是连续的,并且在分泌性前导序列的情形下是连续的并处于阅读框中。然而,增强子不必是连续的。通过在方便的限制位点处连接来实现连接。如果不存在此类位点,则根据常规实践使用合成的寡核苷酸衔接子或连接子。

[0159] 如本文所用,术语“载体”是指能够繁殖与其连接的另一核酸的核酸分子。该术语包括作为自我复制核酸结构的载体,以及掺入已引入其的宿主细胞基因组中的载体。某些载体能够指导与其可操作连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。

[0160] 如本文所用,术语“转染的”或“转化的”或“转导的”是指将外源核酸转移或引到宿主细胞中的过程。“转染的”或“转化的”或“转导的”细胞是使用外源核酸转染、转化或转导的细胞。该细胞包括原代目标细胞及其子代。

[0161] 术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用,是指已引入外源核酸的细胞,包括此类细胞的子代。宿主细胞包括“转化体”和“转化细胞”,其包括原代转化细胞和从其衍生的后代,而与传代次数无关。后代的核酸含量可能与亲本细胞不完全相同,并且可能含有突变。具有与在原始转化细胞中筛选或选择的功能或生物学活性相同的功能或生物学活性的突变后代包括在本文中。

[0162] 如本文所用,“治疗(treatment或treating)”是用于获得有益的或所希望的结果(包括临床结果)的方法。出于本申请的目的,有益的或所希望的临床结果包括但不限于以

下中的一种或多种:缓解由疾病引起的一种或多种症状、减少疾病的程度、稳定疾病(例如,预防或延迟疾病的恶化)、预防或延迟疾病的传播(例如,转移)、预防或延迟疾病的重现、延迟或减缓疾病的进展、改善疾病状态、提供疾病的缓解(部分或全部)、减少治疗疾病所需的一种或多种其他药物的剂量、延迟疾病的进展、增加或改善生活质量、增加体重增长和/或延长存活。“治疗”还涵盖减少癌症的病理后果(像例如,肿瘤体积)。本申请的方法考虑了这些治疗方面中的任何一个或多个。

[0163] 在癌症的语境中,术语“治疗”包括以下任何一项或全部:抑制癌细胞的生长、抑制癌细胞的复制、减轻全面肿瘤负担并改善与疾病相关的一种或多种症状。

[0164] 术语“抑制(“inhibition”或“inhibit”)”是指任何表型特征的减少或停止,或指该特征的发生率、程度或可能性的减少或停止。与参考相比,“降低”或“抑制”是指减少、降低或阻止活性、功能和/或量。在某些实施例中,“降低”或“抑制”是指引起全面减少20%或更大的能力。在另一实施例中,“降低”或“抑制”是指引起全面减少50%或更大的能力。在又一实施例中,“降低”或“抑制”是指引起全面减少75%、85%、90%、95%或更大的能力。

[0165] 如本文所用,“参考”是指用于比较目的的任何样品、标准或水平。参考可以从健康和/或未患病的样品中获得。在某些实施例中,参考可以从未治疗的样品获得。在某些实施例中,参考从个体的未患病或未治疗的样品获得。在一些实例中,参考是从不是所述个人或患者的一个或多个健康个体获得的。

[0166] 如本文所用,“延迟疾病的发展”是指推迟、阻碍、减缓、减慢、稳定、抑制和/或延迟缓疾病(例如癌症)的发展。该延迟可以具有不同的时间长度,其取决于疾病的历史和/或被治疗的个体。对本领域技术人员显而易见的是,足够的或显著的延迟实际上可以包括预防,因为所述个体没有患上所述疾病。例如,可能延迟晚期癌症(例如转移的发展)。

[0167] 如本文所用,“预防”包括针对可能易患疾病但尚未被诊断出患有所述疾病的个体中所述疾病的发生或复发提供预防。

[0168] 如本文所用,“抑制”功能或活性是与除感兴趣的条件或参数以外的其他相同条件相比,或者可替代地与另一条件相比,降低功能或活性。例如,与不存在抗体的情况下的肿瘤生长速度相比,抑制肿瘤生长的抗体降低了肿瘤的生长速度。

[0169] 术语“受试者”、“个体”和“患者”在本文可互换使用,是指哺乳动物,包括但不限于人、牛、马、猫、犬、啮齿动物或灵长类动物。在一些实施例中,个体是人。

[0170] 药剂的“有效量”是指在必要的剂量和时间段内有效达到所需治疗或预防结果的量。具体的剂量可取决于以下中的一个或多个而变化:选择的特定药剂、要遵循的给药方案、是否与其他化合物组合施用、施用时间、要成像的组织以及携带其的物理传递系统。

[0171] 本申请的物质/分子、激动剂或拮抗剂的“治疗有效量”可以根据例如疾病状态、年龄、性别和个体体重以及该物质/分子、激动剂或拮抗剂在个体中引发希望的应答的能力等因素而变化。治疗有效量也是该物质/分子、激动剂或拮抗剂的任何毒性或有害作用均被治疗有益作用所抵消的量。治疗有效量可以一次或多次施用来递送。

[0172] “预防有效量”是指以剂量计并且持续所需的时间段以实现所希望的预防结果的有效量。典型地,但非必需的,因为预防的剂量是在疾病之前或早期在受试者体内使用的,所以这种预防有效量将小于治疗有效量。

[0173] 术语“药物配制品”和“药物组合物”是指制剂,其处于的形式允许一种或多种活性

成分的生物活性有效,并且其不包含对将被施用所述配制品的个体具有不可接受的毒性的其他组分。此类配制品可以是无菌的。

[0174] “药学上可接受的载剂”是指与治疗剂一起使用的本领域常规的无毒固体、半固体、或液体填充剂、稀释剂、包封材料、配制品助剂或载剂,二者共同组成用于向个体施用的“药物组合物”。药学上可接受的载剂在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒,并且与配制品的其他成分兼容。药学上可接受的载剂适用于所采用的配制品。

[0175] “无菌”配制品是无菌的或基本不含活的微生物及其孢子。

[0176] 与一种或多种其他治疗剂“组合”施用包括同时(并行)的和连续的施用或以任何顺序循序的施用。

[0177] 术语“并行”在本文中用于指施用两种或更多种治疗剂,其中施用的至少一部分在时间上重叠或一种治疗剂的施用落在相对于另一种治疗剂的施用的一小段时间内。例如,两种或更多种治疗剂以不超过约60分钟(例如不超过约30、15、10、5或1分钟中的任何一个)的任何时间间隔施用。

[0178] 术语“循序地”在本文中用于指施用两种或更多种治疗剂,其中在中止施用一种或多种试剂之后再继续施用一种或多种其他药剂。例如,两种或更多种治疗剂的施用以大于约15分钟(例如约20分钟、30分钟、40分钟、50分钟、或60分钟、1天、2天、3天、1周、2周或1个月或更长时间中的任何一个)的时间间隔施用。

[0179] 如本文所用,“与……结合”是指施用除一种治疗方式之外的另一种治疗方式。同样地,“与……结合”是指在向个体施用一种治疗方式之前、之中或之后,施用另一种治疗方式。

[0180] 术语“包装插入物”是指通常包括在治疗产品的商业包装中的说明书,这些说明书含有关于使用此类治疗产品的适应症、用法、剂量、施用、组合疗法、禁忌症和/或警告的信息。

[0181] “制造物品”是包含至少一种试剂的任何制品(例如,包装或容器)或试剂盒,所述试剂例如是用于治疗疾病或障碍(例如,癌症)的药物或用于特异性检测本文描述的生物标志物的探针。在某些实施例中,制品或试剂盒作为用于执行本文描述的方法的单元被推广、分销或出售。

[0182] 应当理解,本文所述的申请的实施例包括“由……组成”和/或“基本上由……组成”。

[0183] 本文对“约”值或参数的引用包括(并描述)针对该值或参数本身的变化。例如,涉及“约X”的描述包括“X”的描述。

[0184] 如本文所使用的,对“不是”值或参数的提及通常意指并描述“不同于”值或参数。例如,方法不是用于治疗X型癌症,意味着所述方法用于治疗不同于X型的癌症。

[0185] 本文使用的术语“约X-Y”具有与“约X至约Y”相同的含义。

[0186] 当在本文和附带的权利要求中使用,单数形式“一个/种(a)”、“或(or)”和“这些/该(the)”包括复数指代物,除非上下文明确地指示其他的情况。

[0187] II. CD137 (4-1BB)

[0188] CD137 (4-1BB) 是肿瘤坏死受体(TNF-R)基因家族的成员,所述家族包括涉及调节细胞增殖、分化和程序性细胞死亡的蛋白质。CD137是30kDa的I型膜糖蛋白,其表达为55kDa

的同二聚体。所述受体最初描述于小鼠中(B.Kwon等人,P.N.A.S.USA,86:1963-7(1989)),随后在人中被鉴定(M.Alderson等人,Eur.J.Immunol.,24:2219-27(1994);Z.Zhou等人,Immunol.Lett.,45:67(1995))(也参见公开的PCT申请W095/07984和W096/29348,以及美国专利号6,569,997,其通过引用并入本文(参见,SEQ ID NO:2.))。CD137的人和小鼠形式在氨基酸水平上有60%是相同的。保守序列出现在胞质结构域以及分子的其他5个区域中,表明这些残基可能对CD137分子的功能很重要(Z.Zhou等人,Immunol.Lett.,45:67(1995))。已显示CD137的表达主要在淋巴谱系的细胞(例如活化的T细胞、活化的自然杀伤(NK)细胞、NKT细胞、CD4+CD25+调节性T细胞)上,并且也表达在活化的胸腺细胞和上皮内淋巴细胞上。另外,还已经显示CD137在骨髓来源的细胞如树突状细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞和嗜酸性粒细胞上表达。尽管CD137的表达主要限于免疫/炎症细胞,但已有报道描述了CD137在与炎症部位和肿瘤的少量组织相关的内皮细胞上的表达。

[0189] CD137在T细胞上的功能活性已经被充分表征。已经证明在存在次优剂量的抗CD3时通过CD137进行信号传导可诱导T细胞增殖和细胞因子合成(主要是IFN- γ),并抑制活化的细胞死亡。在鼠和人T细胞中均观察到了这些作用(W.Shuford等人,J.Exp.Med.,186(1):47-55(1997);D.Vinay等人,Semin.Immunol,10(6):481-9(1998);D.Laderach等人,Int.Immunol.,14(10):1155-67(2002))。在人和小鼠中,共刺激均通过增加抗原特异性和效应CD8+T细胞的数量来增强效应功能,例如IFN- γ 的产生和细胞毒性。在没有抗CD3信号传导的情况下,通过CD137进行的刺激不改变T细胞功能,这表明CD137是共刺激分子。

[0190] 在小鼠中利用激动性抗鼠CD137单克隆抗体通过体内功效研究暗示了CD137靶向疗法在癌症治疗中的作用。在Melero等人的论文中,激动性抗小鼠CD137抗体在P815肥大细胞瘤肿瘤中产生治愈,并在低免疫原性肿瘤模型Ag104中产生治愈(I.Melero等人,Nat.Med.,3(6):682-5(1997))。抗肿瘤作用需要CD4+和CD 8+ T细胞和NK细胞二者,因为每个亚群的选择性体内耗减都会导致抗肿瘤作用的降低或完全丧失。还证明了最小的免疫应答诱导对于抗CD137疗法有效是必须的。若干位研究者已经使用抗CD137抗体来证明这种方法在癌症疗法中的可行性(J.Kim等人,Cancer Res.,61(5):2031-7(2001);O.Martinet等人,Gene Ther.,9(12):786-92(2002);R.Miller等人,J.Immunol,169(4):1792-800(2002);R.Wilcox等人,Cancer Res.,62(15):4413-8(2002))。

[0191] 除了在针对癌症的免疫发展中的作用外,实验数据还支持CD137激动抗体用于治疗自身免疫和病毒性疾病的用途(B.Kwon等人,Exp.Mol.Med.,35(1):8-16(2003);H.Salih等人,J.Immunol,167(7):4059-66(2001);E.Kwon等人,P.N.A.S.USA,96:15074-79(1999);J.Foell等人,N.Y.Acad.Sci.,987:230-5(2003);Y.Sun等人,Nat.Med.,8(12):1405-13(2002)S.K.Seo等人,Nat.Med.10:1099-94(2004))。

[0192] III. 抗CD137构建体

[0193] 在一方面,本发明提供新的CD137特异性构建体(例如分离的抗CD137构建体),其包含与CD137特异性结合的抗体部分。抗CD137构建体的特异性源自与CD137特异性结合的抗CD137抗体部分,例如全长抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中,提及与CD137特异性结合的部分(例如抗体部分)是指所述部分以至少约10倍(包括例如至少约 10 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 或 10^7 倍中的任何一个)于其对非靶标的结合亲和力的亲和力与CD137特异性结合。在一些实施例中,非靶标为不是CD137的抗原。结合亲和力可以通过本领域已知的方法来确定。

定,所述方法例如ELISA、荧光激活细胞分选(FACS)分析或放射免疫沉淀测定(RIA)。K_d可以通过本领域已知的方法来确定,所述方法例如利用例如Biacore仪器的表面等离子共振(SPR)测定或利用例如Sapidyne仪器的动力学排斥测定(KinExA)。

[0194] 预期的抗CD137构建体包括但不限于:抗CD137 scFv、包含抗CD137抗体部分和半衰期延长结构域(例如Fc区、白蛋白结合结构域)的融合蛋白、抗CD137单克隆抗体、多特异性抗CD137分子(例如双特异性抗体)。上面的示例性抗CD137构建体并不相互扩展,并且在下面的各个部分中对其进行进一步讨论。

[0195] 在一些实施例中,提供抗CD137构建体(例如,抗CD137 scFv),其包含特异性识别CD137(例如,人CD137)的抗CD137抗体部分,其中所述抗CD137抗体部分可以是本文描述的抗CD137抗体部分中的任何一个。

[0196] 在一些实施例中,提供抗CD137构建体(例如,抗CD137 scFv),其包含与CD137结合的抗CD137抗体部分,所述抗CD137抗体部分包含重可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中:a)所述V_H包含:i)HC-CDR1,其包含GFX₁X₂X₃DTYIX₄(SEQ ID NO:177)的氨基酸序列,其中X₁=N或C;X₂=I、P、L或M;X₃=K、N、R、C或Q;X₄=H或Q,ii)HC-CDR2,其包含氨基酸序列X₁IDPANGX₂X₃X₄(SEQ ID NO:178),其中X₁=K或R;X₂=N、G、F、Y、A、D、L、M或Q;X₃=S或T;X₄=E或M,并且iii)HC-CDR3,其包含GNLHYX₁LMD(SEQ ID NO:179)的氨基酸序列,其中X₁=Y、A或G;并且b)所述V_L包含:i)LC-CDR1,其包含KASQX₁X₂X₃TYX₄S(SEQ ID NO:180)的氨基酸序列,其中X₁=A、P或T;X₂=I、T或P;X₃=N或A;X₄=L、G或H,ii)包含RX₁NRX₂X₃X₄(SEQ ID NO:181)的氨基酸序列的LC-CDR2,其中X₁=A、Y、V或D;X₂=M、K、V或A;X₃=V、P、Y或G;X₄=D或G,并且iii)包含LQX₁X₂DFPYX₃(SEQ ID NO:182)的氨基酸序列的LC-CDR3,其中X₁=Y、S或F;X₂=D、V、L、R、E或Q;X₃=T或K。

[0197] 在一些实施例中,结合CD137的抗CD137抗体部分包含:a)HC-CDR1包含SEQ ID NO:1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、231和241中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体;b)HC-CDR2包含SEQ ID NO:2、12、22、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、232和242中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体;c)HC-CDR3包含SEQ ID NO:3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123、133、143、233和243中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体;d)LC-CDR1包含SEQ ID NO:4、14、24、34、44、54、64、74、84、94、104、114、124、134、144、234和244中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体;e)LC-CDR2包含SEQ ID NO:5、15、25、35、45、55、65、75、85、95、105、115、125、135、145、235和245中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体;f)LC-CDR3包含SEQ ID NO:6、16、26、36、46、56、66、76、86、96、106、116、126、136、146、236和246中任何一个的氨基酸序列,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体。在一些实施例中,氨基酸取代限于本申请的表2中所示的“示例性取代”。在一些实施例中,氨基酸取代限于本申请的表2中所示的“优选的取代”。

[0198] 在一些实施例中,提供了包含抗CD137抗体部分的抗CD137构建体,所述抗CD137抗体部分与参考抗CD137构建体交叉竞争结合CD137,所述抗CD137抗体部分包含重链可变区(V_H)(所述重链可变区包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3结构域)和轻链可变区(V_L)(所述轻

[illegible]

[illegible]

以及包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列的LC-CDR3,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体;l) V_H 包含:包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的HC-CDR1,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的HC-CDR2,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,以及包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的HC-CDR3,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,并且 V_L 包含:包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的LC-CDR1,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的LC-CDR2,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,以及包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的LC-CDR3,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体;m) V_H 包含:包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的HC-CDR1,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HC-CDR2,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,以及包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HC-CDR3,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,并且 V_L 包含:包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的LC-CDR1,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列的LC-CDR2,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,以及包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的LC-CDR3,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体;n) V_H 包含:包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的HC-CDR1,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的HC-CDR2,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,以及包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的HC-CDR3,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,并且 V_L 包含:包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的LC-CDR1,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的LC-CDR2,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,以及包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的LC-CDR3,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体;o) V_H 包含:包含SEQ ID NO:231的氨基酸序列的HC-CDR1,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,包含SEQ ID NO:232的氨基酸序列的HC-CDR2,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,以及包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列的HC-CDR3,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,并且 V_L 包含:包含SEQ ID NO:234的氨基酸序列的LC-CDR1,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的LC-CDR2,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,以及包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的LC-CDR3,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体;以及p) V_H 包含:包含SEQ ID NO:241的氨基酸序列的HC-CDR1,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,包含SEQ ID NO:242的氨基酸序列的HC-CDR2,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,以及包含SEQ ID NO:243的氨基酸序列的HC-CDR3,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,并且 V_L 包含:包含SEQ ID NO:244的氨基酸序列的LC-CDR1,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,包含SEQ ID NO:245的氨基酸序列的LC-CDR2,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体,以及包含SEQ ID NO:246的氨基酸序列的LC-CDR3,或其包含多达约3个(例如3、2或1个)氨基酸取代的变体。

[0199] 在一些实施例中,提供抗CD137构建体(例如,抗CD137 scFv),其包含与CD137结合

的抗CD137抗体部分,所述抗CD137抗体部分包含重可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中:a)所述 V_H 包含:i)包含DTYIH或GFNIQDT的氨基酸序列的HC-CDR1,ii)包含DPANGN的氨基酸序列的HC-CDR2,和iii)包含GNLHYALMD的氨基酸序列的HC-CDR3;并且b)所述 V_L 包含:i)包含NTYLS的氨基酸序列的LC-CDR1,ii)包含RVNRKV的氨基酸序列的LC-CDR2,和iii)包含LQYLDFPY的氨基酸序列的LC-CDR3。

[0200] 在一些实施例中,提供抗CD137构建体(例如,抗CD137 scFv),其包含与CD137结合的抗CD137抗体部分,所述抗CD137抗体部分包含:a) HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID No:7、17、27、37、47、57、67、77、87、97、107、117、127、137、237或247所示序列的 V_H 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列;以及b) LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,其分别包含具有SEQ ID No:8、18、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、238或248所示序列的 V_L 链区内的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。

[0201] 在一些实施例中,提供抗CD137构建体(例如,抗CD137 scFv),其包含与CD137结合的抗CD137抗体部分,所述抗CD137抗体部分包含:a) 具有SEQ ID No:7、17、27、37、47、57、67、77、87、97、107、117、127、137、237或247所示序列的 V_H 链区或其变体,或与SEQ ID NO:7、17、27、37、47、57、67、77、87、97、107、117、127、137、237或247具有至少约80% (例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任何一个)的序列同一性的变体,以及b) 具有SEQ ID No:8、18、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、238或248所示序列的 V_L 链区或其变体,或与SEQ ID No:8、18、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、238或248具有至少约80% (例如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中的任何一个)的序列同一性的变体。在一些实施例中, V_H 链区和 V_L 链区通过接头(例如,肽接头)连接。

[0202] 在一些实施例中,提供抗CD137构建体(例如,抗CD137 scFv),其包含与CD137结合的抗CD137抗体部分,所述抗CD137抗体部分包含具有SEQ ID No:7、17、27、37、47、57、67、77、87、97、107、117、127、137、237或247所示序列的 V_H 区;以及具有SEQ ID No:8、18、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、238或248所示序列的 V_L 区。

[0203] 在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含(a) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:7所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:8所示序列的氨基酸;(b) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:17所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:18所示序列的氨基酸;(c) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:27所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:28所示序列的氨基酸;(d) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:37所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:38所示序列的氨基酸;(e) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:47所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:48所示序列的氨基酸;(f) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸;(g) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:67所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:68所示序列的氨基酸;(h) 重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:77所示序列的氨基酸;以及轻链

可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:78所示序列的氨基酸;(i)重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:87所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:88所示序列的氨基酸;(j)重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:97所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸;(k)重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:107所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:108所示序列的氨基酸;(l)重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:117所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:118所示序列的氨基酸;(m)重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:127所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:128所示序列的氨基酸;(n)重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:137所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:138所示序列的氨基酸;(o)重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:237所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:238所示序列的氨基酸;或(p)重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:247所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:248所示序列的氨基酸。

[0204] 在一些实施例中,提供抗CD137构建体(例如,抗CD137 scFv),其包含与CD137结合的抗CD137抗体部分,所述抗CD137抗体部分包含具有SEQ ID No:9、19、29、39、49、59、69、79、89、99、109、119、129、139、149、239或249所示序列的重链(HC);以及具有SEQ ID No:10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、240或250所示序列的轻链(LC)。

[0205] 在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:9所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:10所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:19所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:20所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:29所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:30所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:39所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:40所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:49所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:50所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:59所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:60所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:79所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:80所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包

含具有SEQ ID NO:89所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:90所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:99所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:100所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:109所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:110所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:119所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:120所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:129所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:130所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:139所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:140所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:149所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:150所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:239所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:240所示序列的氨基酸。在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含重链,所述重链包含具有SEQ ID NO:249所示序列的氨基酸;以及轻链,所述轻链包含具有SEQ ID NO:250所示序列的氨基酸。

[0206] 本申请的另一方面提供分离的抗CD137构建体,其包含与CD137结合的抗体部分,所述抗体部分包含重可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中:a)所述 V_H 包含:i) HC-CDR1,所述HC-CDR1包含SEQ ID NO:151-153中任一项的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;ii) HC-CDR2,所述HC-CDR2包含SEQ ID NO:154-156中任一项的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;iii) HC-CDR3,所述HC-CDR3包含SEQ ID NO:157-159中任一项的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;并且b)所述 V_L 包含:i) LC-CDR1,所述LC-CDR1包含SEQ ID NO:160-163中任一项的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;ii) LC-CDR2,所述LC-CDR2包含SEQ ID NO:164-166中任一项的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体;iii) LC-CDR3,所述LC-CDR3包含SEQ ID NO:167-169中任一项的氨基酸序列,或其包含多达约3个氨基酸取代的变体。

[0207] 在一些实施例中, V_H 包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,所述HC-CDR1包含氨基酸序列SEQ ID NO:151、所述HC-CDR2包含氨基酸序列SEQ ID NO:154并且所述HC-CDR3包含氨基酸序列SEQ ID NO:157,并且 V_L 包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,所述LC-CDR1包含氨基酸序列SEQ ID NO:160,所述LC-CDR2包含氨基酸序列SEQ ID NO:164并且所述LC-CDR3包含氨基酸序列SEQ ID NO:167。

[0208] 在一些实施例中, V_H 包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,所述HC-CDR1包含氨基酸序列SEQ ID NO:151、所述HC-CDR2包含氨基酸序列SEQ ID NO:154并且所述HC-CDR3包含氨基酸序列SEQ ID NO:157,并且 V_L 包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,所述LC-CDR1包含氨基酸

序列SEQ ID NO:162,所述LC-CDR2包含氨基酸序列SEQ ID NO:166并且所述LC-CDR3包含氨基酸序列SEQ ID NO:169。

[0209] 在一些实施例中, V_H 包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,所述HC-CDR1包含氨基酸序列SEQ ID NO:152、所述HC-CDR2包含氨基酸序列SEQ ID NO:155并且所述HC-CDR3包含氨基酸序列SEQ ID NO:158,并且 V_L 包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,所述LC-CDR1包含氨基酸序列SEQ ID NO:163,所述LC-CDR2包含氨基酸序列SEQ ID NO:166并且所述LC-CDR3包含氨基酸序列SEQ ID NO:169。

[0210] 在一些实施例中, V_H 包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,所述HC-CDR1包含氨基酸序列SEQ ID NO:153、所述HC-CDR2包含氨基酸序列SEQ ID NO:156并且所述HC-CDR3包含氨基酸序列SEQ ID NO:159,并且 V_L 包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,所述LC-CDR1包含氨基酸序列SEQ ID NO:160,所述LC-CDR2包含氨基酸序列SEQ ID NO:164并且所述LC-CDR3包含氨基酸序列SEQ ID NO:167。

[0211] 在一些实施例中, V_H 包含HC-CDR1、HC-CDR2和HC-CDR3,所述HC-CDR1包含氨基酸序列SEQ ID NO:153、所述HC-CDR2包含氨基酸序列SEQ ID NO:156并且所述HC-CDR3包含氨基酸序列SEQ ID NO:159,并且 V_L 包含LC-CDR1、LC-CDR2和LC-CDR3,所述LC-CDR1包含氨基酸序列SEQ ID NO:161,所述LC-CDR2包含氨基酸序列SEQ ID NO:165并且所述LC-CDR3包含氨基酸序列SEQ ID NO:168。

[0212] 在根据本文描述的抗CD137构建体中的任何一个的一些实施例中,抗CD137抗体部分包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:170所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:173所示序列的氨基酸;(b)重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:170所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:176所示序列的氨基酸;(c)重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:171所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:173所示序列的氨基酸;(d)重链可变区,所述重链可变区包含具有SEQ ID NO:171所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:174所示序列的氨基酸;或(e)重链可变区,其包含具有SEQ ID NO:172所示序列的氨基酸;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含具有SEQ ID NO:175所示序列的氨基酸。

[0213] 在一些实施例中,抗CD137构建体包含选自以下组的抗体或其抗原结合片段或是选自以下组的抗体或其抗原结合片段,该组由以下组成:全长抗体、双特异性抗体、单链Fv(scFv)、Fab片段、Fab'片段、F(ab')₂、Fv片段、二硫键稳定的Fv片段(dsFv)、(dsFv)₂、 V_H H、Fv-Fc融合体、scFv-Fc融合体、scFv-Fv融合体、双抗体、三抗体、和四抗体。在一些实施例中,抗体或抗原结合片段是嵌合的、人的、部分人源化的、完全人源化的或半合成的。在一些实施例中,抗体或其抗原结合片段包含选自由IgG、IgM、IgA、IgD和IgE组成的组的免疫球蛋白同种型。在一些实施例中,抗体或其抗原结合片段具有选自由IgG1、IgG2、IgG3或IgG4组成的组的同种型。

[0214] 在一些实施例中,构建体包含人源化的抗CD137全长抗体。

[0215] 在一些实施例中,构建体包含人源化抗CD137单链Fv片段。

[0216] 在一些实施例中,所述构建体结合人CD137。在一些实施例中,所述构建体结合哺乳动物CD137(例如猴CD137)。在一些实施例中,所述构建体与人CD137和猴CD137都结合。在

一些实施例中,所述构建体不结合小鼠CD137。

[0217] 如上所述,本文公开的抗CD137构建体包含与CD137结合的抗CD137抗体部分。在一些实施例中,抗CD137抗体部分结合人和猿猴CD137。

[0218] 在一些实施例中,本文公开的抗CD137构建体中包含的抗CD137抗体部分是CD137激动剂,其中所述抗体部分与CD137的结合可以增强由CD137介导的免疫信号传导途径。在一些实施例中,所述抗体部分与CD137的结合在没有所述抗体部分/CD137复合物的交联和/或聚簇的情况下不能增强由CD137介导的免疫信号传导途径。在一些实施例中,所述抗体部分与CD137的结合可以激活免疫细胞,例如T细胞和/或NK细胞。在一些实施例中,所述抗体部分与CD137的结合在没有所述抗体部分/CD137复合物的交联和/或聚簇的情况下不能激活免疫细胞,例如T细胞和/或NK细胞。在一些实施例中,所述抗体部分/CD137复合物的交联和/或聚簇可以由本文公开的抗CD137构建体的第二部分介导。在一些实施例中,所述抗体部分/CD137复合物的交联和/或聚簇可以通过Fc受体与抗CD137构建体的Fc区的结合来介导。在一些实施例中,所述抗体部分/CD137复合物的交联和/或聚簇可以通过抗CD137构建体的第二抗体部分与肿瘤相关抗原(TAA)的结合来介导。

[0219] 在一些实施例中,所述抗体部分包含选自下组的Fc区,该组由以下组成:来自IgG、IgA、IgD、IgE、IgM的Fc区及其任何组合和杂合物。在一些实施例中,Fc区衍生自人IgG。在一些实施例中,Fc区包含人IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或组合或杂合IgG的Fc区。在某些实施例中,Fc区是IgG1 Fc区。在一些实施例中,Fc区包含IgG1的CH2和CH3结构域。在某些实施例中,Fc区是IgG2 Fc区。在一些实施例中,Fc区包含IgG2的CH2和CH3结构域。在某些实施例中,Fc区是IgG4 Fc区。在一些实施例中,Fc区包含IgG4的CH2和CH3结构域。已知IgG4 Fc的效应子活性低于IgG1或IgG2 Fc,因此对于某些应用可能是理想的。在一些实施例中,Fc区衍生自小鼠免疫球蛋白。

[0220] 在一些实施例中,抗体部分包含Fc区。在一些实施例中,抗体部分是与Fc区融合的scFv。在一些实施例中,抗体部分包含经由肽接头与Fc区融合的scFv。在某些实施例中,Fc区是人IgG1 Fc区。在一些实施例中,Fc区包含一个或多个突变以增加清除率或减少半衰期。

[0221] 在一些实施例中,Fc区包含免疫球蛋白IgG重链恒定区,其包含铰链区(从Cys226开始)、IgG CH2结构域和CH3结构域。如本文所用,术语“铰链区”或“铰链序列”是指位于接头和CH2结构域之间的氨基酸序列。在一些实施例中,融合蛋白包含Fc区,所述Fc区包含铰链区。在一些实施例中,融合蛋白的Fc区始于铰链区并延伸至IgG重链的C末端。在一些实施例中,融合蛋白包含不包含铰链区的Fc区。

[0222] 在一些实施例中,IgG CH2结构域始于Ala231。在一些实施例中,CH3结构域始于Gly341。可以理解,人IgG的C末端Lys残基可以任选地不存在。还应理解的是,在不影响Fc的所需结构和/或稳定性的情况下,Fc区的保守氨基酸取代被认为在本发明的范围内。

[0223] 在一些实施例中,Fc区的每条链与相同的抗体部分融合。在一些实施例中,scFv-Fc包含本文所述的两个相同的scFv,每个与Fc区的一条链融合。在一些实施例中,scFv-Fc是同二聚体。

[0224] 在一些实施例中,scFv-Fc包含两个不同的scFv,每个与Fc区的一条链融合。在一些实施例中,scFv-Fc是异二聚体。可通过本领域已知的方法促进scFv-Fc中不同多肽的异

源二聚化,其包括但不限于通过旋钮入孔技术进行异源二聚化。旋钮入孔技术的结构和组装方法可以在例如US5,821,333、US7,642,228、US 201 1/0287009和PCT/US2012/059810中找到,其全部内容通过引用并入本文。这项技术通过以下步骤开展:在一个Fc的CH3结构域中通过用大的氨基酸残基替代小的氨基酸残基从而引入“旋钮”(或突起),以及在另一个Fc的CH3结构域中通过用较小的氨基酸残基替代一个或多个大的氨基酸残基从而引入“孔”(或空腔)。在一些实施例中,融合蛋白中Fc区的一条链包含旋钮,并且Fc区的第二条链包含孔。

[0225] 用于形成旋钮的优选残基通常是天然存在的氨基酸残基,并且优选地选自精氨酸(R)、苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)和色氨酸(W)。最优选的是色氨酸和酪氨酸。在一个实施例中,用于形成旋钮的原始残基具有小的侧链体积,例如丙氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸或缬氨酸。用于形成旋钮的CH3结构域中的示例性氨基酸取代包括但不限于T366W、T366Y或F405W取代。

[0226] 用于形成孔的优选残基通常是天然存在的氨基酸残基,并且优选地选自丙氨酸(A)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T)和缬氨酸(V)。在一个实施例中,用于形成孔的原始残基具有大的侧链体积,例如酪氨酸、精氨酸、苯丙氨酸或色氨酸。用于产生孔的CH3结构域中的示例性氨基酸取代包括但不限于T366S、L368A、F405A、Y407A、Y407T和Y407V取代。在某些实施例中,旋钮包含T366W取代,并且孔包含T366S/L368A/Y407V取代。应当理解,有助于异源二聚化的本领域已知的对Fc区的其他修饰也被本申请考虑并包括在内。

[0227] 包含本文描述的变体中的任何一种(例如,Fc变体、效应功能变体、糖基化变体、半胱氨酸改造的变体)或其组合的其他scFv-Fc变体(包括分离的抗CD137 scFv-Fc的变体,例如全长抗CD137抗体变体)也在考虑范围之内。

[0228] a) 抗体亲和力

[0229] 抗体部分的结合特异性可以由本领域已知的方法通过实验确定。这类方法包括但不限于蛋白质印迹、ELISA-、RIA-、ECL-、IRMA-、EIA-、BIAcore™-检验和肽扫描。

[0230] 在一些实施例中,所述抗体部分和CD137之间的结合的 K_D 为约 10^{-7} M至约 10^{-12} M、约 10^{-7} M至约 10^{-8} M、约 10^{-8} M至约 10^{-9} M、约 10^{-9} M至约 10^{-10} M、约 10^{-10} M至约 10^{-11} M、约 10^{-11} M至约 10^{-12} M、约 10^{-7} M至约 10^{-12} M、约 10^{-8} M至约 10^{-12} M、约 10^{-9} M至约 10^{-12} M、约 10^{-10} M至约 10^{-12} M、约 10^{-7} M至约 10^{-11} M、约 10^{-8} M至约 10^{-11} M、约 10^{-9} M至约 10^{-11} M、约 10^{-7} M至约 10^{-10} M、约 10^{-8} M至约 10^{-10} M或约 10^{-7} M至约 10^{-9} M。在一些实施例中,所述抗体部分与CD137之间的结合的 K_D 比约以下中的任何一个更强: 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M或 10^{-12} M。在一些实施例中,CD137是人CD137。

[0231] 在一些实施例中,所述抗体部分和CD137之间的结合的 K_{on} 为约 $10^3 M^{-1} s^{-1}$ 至约 $10^8 M^{-1} s^{-1}$ 、约 $10^3 M^{-1} s^{-1}$ 至约 $10^4 M^{-1} s^{-1}$ 、约 $10^4 M^{-1} s^{-1}$ 至约 $10^5 M^{-1} s^{-1}$ 、约 $10^5 M^{-1} s^{-1}$ 至约 $10^6 M^{-1} s^{-1}$ 、约 $10^6 M^{-1} s^{-1}$ 至约 $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 或约 $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 至约 $10^8 M^{-1} s^{-1}$ 。在一些实施例中,所述抗体部分和CD137之间的结合的 K_{on} 为约 $10^3 M^{-1} s^{-1}$ 至约 $10^5 M^{-1} s^{-1}$ 、约 $10^4 M^{-1} s^{-1}$ 至约 $10^6 M^{-1} s^{-1}$ 、约 $10^5 M^{-1} s^{-1}$ 至约 $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 、约 $10^6 M^{-1} s^{-1}$ 至约 $10^8 M^{-1} s^{-1}$ 、约 $10^4 M^{-1} s^{-1}$ 至约 $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 或约 $10^5 M^{-1} s^{-1}$ 至约 $10^8 M^{-1} s^{-1}$ 。在一些实施例中,所述抗体部分和CD137之间的结合的 K_{on} 不超过约以下中的任何一个: $10^3 M^{-1} s^{-1}$ 、 $10^4 M^{-1} s^{-1}$ 、 $10^5 M^{-1} s^{-1}$ 、 $10^6 M^{-1} s^{-1}$ 、 $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 或 $10^8 M^{-1} s^{-1}$ 。在一些实施例中,CD137是人CD137。

[0232] 在一些实施例中,所述抗体部分和CD137之间的结合的 K_{off} 为约 $1 s^{-1}$ 至约 $10^{-6} s^{-1}$ 、约 $1 s^{-1}$ 至约 $10^{-2} s^{-1}$ 、约 $10^{-2} s^{-1}$ 至约 $10^{-3} s^{-1}$ 、约 $10^{-3} s^{-1}$ 至约 $10^{-4} s^{-1}$ 、约 $10^{-4} s^{-1}$ 至约 $10^{-5} s^{-1}$ 、约 $10^{-5} s^{-1}$

至约 10^{-6}s^{-1} 、约 1s^{-1} 至约 10^{-5}s^{-1} 、约 10^{-2}s^{-1} 至约 10^{-6}s^{-1} 、约 10^{-3}s^{-1} 至约 10^{-6}s^{-1} 、约 10^{-4}s^{-1} 至约 10^{-6}s^{-1} 、约 10^{-2}s^{-1} 至约 10^{-5}s^{-1} 或约 10^{-3}s^{-1} 至约 10^{-5}s^{-1} 。在一些实施例中,所述抗体部分和CD137之间的结合的 K_{off} 为至少约以下之一: 1s^{-1} 、 10^{-2}s^{-1} 、 10^{-3}s^{-1} 、 10^{-4}s^{-1} 、 10^{-5}s^{-1} 或 10^{-6}s^{-1} 。在一些实施例中,CD137是人CD137。

[0233] 在一些实施例中,抗CD137抗体部分或抗CD137构建体的结合亲和力比现有的抗CD137抗体(例如,抗人CD137抗体例如BMS-663513(乌瑞鲁单抗)或PF-05082566(乌托鲁单抗))更高(例如,具有更小的Kd值)。

[0234] b) 嵌合抗体或人源化抗体

[0235] 在一些实施例中,抗体部分是嵌合抗体。某些嵌合抗体描述于,例如,美国专利号4,816,567;和Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984))中。在一些实施例中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,源自小鼠的可变区)和人恒定区。在一些实施例中,嵌合抗体是其中类别或亚类已经从亲本抗体的类别或亚类改变的“类别转换”抗体。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0236] 在一些实施例中,嵌合抗体是人源化抗体通常,将非人抗体进行人源化以减少对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。通常,人源化抗体包含一个或多个可变结构域,其中HVR,例如CDR,(或其部分)衍生自非人抗体,而FR(或其部分)源自人抗体序列。人源化抗体还将可以任选地包含人恒定区的至少一部分。在一些实施例中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,源自HVR残基的抗体)的相应残基取代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0237] 人源化抗体及其制备方法综述于例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008)中,并在例如以下中进一步描述Riechmann等人,Nature 332:323-329(1988);Queen等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 86:10029-10033(1989);美国专利号5,821,337、7,527,791、6,982,321和7,087,409;Kashmiri等人,Methods 36:25-34(2005)(描述了SDR(a-CDR)移植);Padlan,Mol.Immunol.28:489-498(1991)(描述“重修表面”);Dall'Acqua等人,Methods 36:43-60(2005)(描述了“FR改组”);和Osborn等人,Methods 36:61-68(2005)和Klimka等人,Br.J.Cancer,83:252-260(2000)(描述了FR改组的“指导选择”方法)。

[0238] 可用于人源化的人类框架区包括但不限于:使用“最佳拟合”方法选择的框架区(参见,例如,Sims等人J.Immunol.151:2296(1993));源自轻链或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列的框架区(参见,例如,Carter等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);和Presta等人J.Immunol.151:2623(1993));人类成熟的(体细胞突变的)框架区或人种系框架区(参见,例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008));以及筛选FR文库得到的框架区(参见,例如Baca等人,J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997)和Rosok等人,J.Biol.Chem.271:22611-22618(1996))。

[0239] c) 人抗体

[0240] 在一些实施例中,抗体部分是人抗体(称为人结构域抗体或人DAb)。人抗体可以使用本领域中已知的不同技术产生。人抗体一般在van Dijk和van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.5:368-74(2001),Lonberg,Curr.Opin.Immunol.20:450-459(2008),和Chen,Mol.Immunol.47(4):912-21(2010)中描述。能够产生完全人单结构域抗体

(或DAb)的转基因小鼠或大鼠是本领域已知的。参见例如US 20090307787 A1、美国专利号8,754,287、US 20150289489 A1、US 20100122358 A1、和WO 2004049794。

[0241] 可以通过向转基因动物施用免疫原来制备人抗体(例如人DAb),该转基因动物已被修饰以响应抗原攻击而产生完整的人抗体或具有人可变区的完整抗体。这样的动物通常含有全部或部分的人免疫球蛋白基因座,它们取代了内源性免疫球蛋白基因座,或者存在于染色体外或随机整合到动物的染色体中。在这种转基因小鼠中,内源性免疫球蛋白基因座通常已被灭活。对于从转基因动物中获得人抗体的方法的综述,参见Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005)。还参见例如描述XENOMOUSE™技术的美国专利号6,075,181和6,150,584;描述HuMab®技术的美国专利号5,770,429;描述K-MMOUSE®技术的美国专利号7041870,和描述VelociMouse®技术的美国专利申请公开号US 2007/0061900)。来自这类动物产生的完整抗体的人可变区可以(例如通过与不同的人恒定区结合)被进一步修饰。

[0242] 人抗体(例如人DAb)也可以通过基于杂交瘤的方法来制备。已经描述了用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠人异源骨髓瘤细胞系(参见,例如,Kozbor J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur等人, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 和Boerner等人, J. Immunol., 147:86 (1991))。Li等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)中还描述了通过人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体。另外的方法包括例如在美国专利号7,189,826 (描述从杂交瘤细胞系生产单克隆人IgM抗体)和Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4): 265-268 (2006) (描述人-人杂交瘤)中描述的那些方法。人杂交瘤技术(Trioma技术)也描述于Vollmers和Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005)和Vollmers和Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005)中。

[0243] 人抗体(例如人DAb)也可以通过分离选自人源噬菌体展示文库的Fv克隆可变结构域序列来产生。然后将此类可变结构域序列与所需的人恒定域结合。从抗体库中选择人抗体的技术描述如下。

[0244] d) 文库衍生的抗体

[0245] 可以通过在组合文库中筛选具有所需活性或多种活性的抗体来分离抗体部分。例如,本领域已知多种方法用于产生噬菌体展示文库和筛选此类文库以获得具有所希望的结合特征的抗体。这类方法在例如Hoogenboom等人Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien等人编辑, Human Press, Totowa, NJ, 2001)中综述,并且在以下文献中进一步描述:McCafferty等人, Nature 348:552-554; Clackson等人, Nature 352:624-628 (1991); Marks等人, J. Mol. Biol. 222:581-597 (1992); Marks和Bradbury, Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, 编辑, Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu等人, J. Mol. Biol. 338(2):299-310 (2004); Lee等人, J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34):12467-12472 (2004); 和Lee等人, J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132 (2004)。已经描述了用于构建单结构域抗体文库的方法,例如,参见美国专利号7371849。

[0246] 在某些噬菌体展示方法中,通过聚合酶链反应(PCR)分别克隆V_H和V_L基因库,并在

噬菌体文库中随机重组,然后可以按照Winter等人,Ann.Rev.Immunol.,12:433-455 (1994) 中的描述筛选抗原结合噬菌体。噬菌体通常将抗体片段展示为scFv片段或Fab片段。来自免疫源的文库无需构建杂交瘤即可提供针对免疫原的高亲和力抗体。可替代地,可以如Griffiths等人,EMBO J,12:725-734 (1993) 所述在无需任何免疫的情况下克隆天然文库(例如从人中获得)以提供针对广泛范围的非自身以及自身抗原的抗体的单一来源。最后,如Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.,227:381-388 (1992) 所述,还可以通过从干细胞克隆未重排的v基因片段,并使用包含随机序列的PCR引物来编码高度可变的CDR3区并在体外完成重排,来合成天然文库。描述人抗体噬菌体文库的专利出版物包括:美国专利号5,750,373和美国专利公开号2005/0079574、2005/0119455、2005/0266000、2007/0117126、2007/0160598、2007/0237764、2007/0292936和2009/0002360。

[0247] 从人抗体文库分离的抗体或抗体片段在本文中被认为是人抗体或人抗体片段。

[0248] e) 取代、插入、缺失和变异

[0249] 在一些实施例中,提供了具有一个或多个氨基酸取代的抗体变体。取代诱变的目标位点包括HVR(或CDR)和FR。保守取代示于表2中“优选取代”标题之下。表2中在“示例性取代”的标题下提供了更实质的变化,并且如下文参考氨基酸侧链类别进一步描述的。氨基酸取代可以引入目的抗体中,并针对所希望的活性(例如保留/改善的抗原结合、降低的免疫原性、或改善的ADCC或CDC)筛选产物。

[0250] 表2. 氨基酸取代

[0251]

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

[0252] 氨基酸可以根据常见的侧链特性进行分组：(1) 疏水性：正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；(2) 中性亲水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；(3) 酸性：Asp、Glu；(4) 碱性：His、Lys、Arg；(5) 影响链取向的残基：Gly、Pro；和(6) 芳香族的：Trp、Tyr、Phe。

[0253] 非保守取代将需要将这些类别中的一个的成员交换为另一个类别。

[0254] 取代变体的一种类型涉及取代亲本抗体(例如，人源化或人抗体)的一个或多个高变区残基。通常，选择用于进一步研究的所得变体将相对于亲本抗体在某些生物学特性(例如，增加的亲和力、降低的免疫原性)上具有修饰(例如，改善)和/或将基本上保留了亲本抗体的某些生物学特性。示例性取代变体是亲和力成熟的抗体，该抗体可以方便地生成，例如使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术(例如本文披露的那些)。简而言之，对一个或多个HVR(或CDR)残基进行突变，并且将变体抗体在噬菌体上展示并针对特定生物学活性(例如结合亲和力)进行筛选。

[0255] 可以在HVR(或CDR)中进行改变(例如，取代)，例如以改善抗体亲和力。此类改变可以在HVR(或CDR)“热点”(即由在体细胞成熟过程期间以高频率经历突变的密码子编码的残基)中进行(参见例如，Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008))和/或SDR(a-CDR)中进行，测试所得变体VH或VL的结合亲和力。通过构建和从二级文库中重新选择而进行的亲和力成熟已经描述于例如，Hoogenboom等人Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien等人编辑, Human Press, Totowa, 新泽西州(NJ), (2001))中。在亲和力成熟的一些实施例中，通过多种方法(例如，易错PCR，链改组，或寡核苷酸定向诱变)中的任一种，将多样性引入选择用于成熟的可变基因中。然后产生二级文库。然后筛选文库以鉴别具有所希望的亲和力的任何抗体变体。引入多样性的另一种方法涉及HVR定向方法，其中使若干HVR(或CDR)残基(例如一次4-6个残基)随机化。可例如使用丙氨酸扫描诱变或模型化来特异性地鉴别抗原结合中涉及的HVR(或CDR)残基。特别是CDR-H3和CDR-L3经常成为靶标。

[0256] 在一些实施例中，取代、插入或缺失可在一个或多个HVR(或CDR)内发生，只要这样的改变基本上不降低抗体结合抗原的能力。例如，可以在HVR(或CDR)中进行基本上不降低结合亲和力的保守改变(例如，如本文提供的保守取代)。此类改变可能在HVR“热点”或CDR之外。在以上提供的变体V_HH序列的一些实施例中，每个HVR(或CDR)是未改变的，或包含不超过一个、两个或三个氨基酸取代。

[0257] 如Cunningham和Wells (1989) Science, 244:1081-1085所述，用于鉴定可以靶向诱变的抗体的残基或区域的有用方法称为“丙氨酸扫描诱变”。在这种方法中，鉴定目标残基的残基或残基组(例如，带电荷的残基，例如Arg、Asp、His、Lys和Glu)，并用中性或带负电荷的氨基酸(例如，丙氨酸或聚丙氨酸)取代，以确定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可以在氨基酸位置引入另外的取代，证明对初始取代的功能敏感性。可替代地或另外地，抗原-抗体复合物的晶体结构用于鉴定抗体和抗原之间的接触点。这样的接触残基和邻近残基可以被靶向或消除作为取代候选。可以筛选变体以确定它们是否包含所需的属性。

[0258] 氨基酸序列插入包括氨基末端和/或羧基末端融合，长度在一个残基至含有一百个或更多残基的多肽的范围内，以及单一或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实例包括具有N末端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的其他插入变体包括与抗体的N-或C-末端与增加抗体的血清半衰期的酶(例如，对于ADEPT)或多肽融合。

[0259] f) 糖基化变体

[0260] 在一些实施例中,改变抗体部分以增加或减少构建体糖基化的程度。向抗体中添加或缺失糖基化位点可通过改变氨基酸序列以产生或去除一个或多个糖基化位点而方便地实现。

[0261] 当抗体部分包含Fc区(例如,scFv-Fc)时,与其相连的碳水化合物可以发生改变。由哺乳动物细胞产生的天然抗体通常包含分支的双触角寡糖,其通常通过N-键连接至Fc区C_H2结构域的Asn297。参见,例如Wright等人TIBTECH 15:26-32 (1997)。寡糖可以包括多种碳水化合物,例如,甘露糖、N-乙酰基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸,以及在双触角寡糖结构的“茎”中附着于GlcNAc的岩藻糖。在一些实施例中,可以对抗体部分中的寡糖进行修饰,以产生具有某些改善的特性的抗体变体。

[0262] 在一些实施例中,抗体部分具有碳水化合物结构,该碳水化合物结构缺少(直接或间接)衔接至Fc区的岩藻糖。例如,此类抗体中的岩藻糖含量可以为1%至80%、1%至65%、5%至65%或20%至40%。岩藻糖的量是通过计算Asn297糖链中岩藻糖的平均量来确定的,相对于通过MALDI-TOF质谱测量的与Asn 297衔接的所有糖结构(例如,复合、杂合和高甘露糖结构)的总和,如WO 2008/077546中所述。Asn297是指位于Fc区中约297位的天冬酰胺残基(Fc区残基的EU编号);然而,由于抗体中的微小序列变化,Asn297也可位于位置297上游或下游约±3个氨基酸,即在位置294和300之间。这类岩藻糖基化变体可以具有改善的ADCC功能。参见例如,美国专利公开号US 2003/0157108 (Presta,L.);US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co.,Ltd)。与“去岩藻糖基化”或“岩藻糖缺陷型”抗体变体有关的出版物实例包括:US 2003/0157108;WO 2000/61739;WO 2001/29246;US 2003/0115614;US 2002/0164328;US 2004/0093621;US 2004/0132140;US 2004/0110704;US 2004/0110282;US 2004/0109865;WO 2003/085119;WO 2003/084570;WO 2005/035586;WO 2005/035778;WO2005/053742;WO2002/031140;Okazaki等人J.Mol.Biol.336:1239-1249 (2004);Yamane-Ohnuki等人Biotech.Bioeng.87:614 (2004)。能够产生去岩藻糖基化抗体的细胞系的实例包括蛋白质岩藻糖基化作用缺陷型的Lec13 CHO细胞(Ripka等人Arch.Biochem.Biophys.249:533-545 (1986);美国专利申请号US 2003/0157108 A1, Presta,L;和WO 2004/056312 A1,Adams等人,尤其是实例11),以及敲除细胞系,例如α-1,6-岩藻糖基转移酶基因FUT8,敲除CHO细胞(参见例如,Yamane-Ohnuki等人Biotech.Bioeng.87:614 (2004);Kanda,Y.等人,Biotechnol.Bioeng.,94 (4):680-688 (2006);和WO 2003/085107)。

[0263] 在一些实施例中,抗体部分具有二等分的寡糖,例如其中附着于抗体的Fc区的双触角寡糖被GlcNAc二等分。此类抗体变体可以具有减少的岩藻糖基化和/或改善的ADCC功能。此类抗体变体的实例描述于例如WO 2003/011878 (Jean-Mairet等人);美国专利号6,602,684 (Umana等人);和US 2005/0123546 (Umana等人)中。还提供了在寡糖上具有至少一个连接至Fc区的半乳糖残基的抗体变体。此类抗体变体可以具有改善的CDC功能。此类抗体变体描述于例如WO 1997/30087 (Patel等人);WO 1998/58964 (Raju,S.);和WO 1999/22764 (Raju,S.)中。

[0264] g) Fc区变体

[0265] 在一些实施例中,可将一个或多个氨基酸修饰引入抗体部分的Fc区(例如scFv-Fc)内,从而生成Fc区变体。Fc区变体可包含一个人Fc区序列(例如,人IgG1、IgG2、IgG3或

IgG4 Fc区),该序列包含在一个或多个氨基酸位置处的氨基酸修饰(例如,取代)。

[0266] 在一些实施例中,具有一些(但非全部)效应子功能的Fc区,此类功能使该片段成为适合应用的理想候选物,在所述应用中,抗体部分在体内的半衰期很重要,但某些效应子功能(例如,补体和ADCC)是非必要或有害的。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定确认CDC和/或ADCC活性的降低/消耗。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合测定确保抗体没有Fc γ R结合能力(因此可能缺乏ADCC活性),但可以保留FcRn结合能力。用于介导ADCC的原代细胞NK细胞仅表达Fc γ RIII,而单核细胞表达Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII。造血细胞上的FcR表达总结在Ravetch和Kinet,在Annu.Rev.Immunol.9:457-492(1991)的第464页的表2中。在美国专利号5,500,362中描述了用于评估感兴趣的分子的ADCC活性的体外测定的非限制性实例(例如,参见Hellstrom,I.等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA,83:7059-7063(1986))以及Hellstrom,I等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA,82:1499-1502(1985);5,821,337(参见Bruggemann,M.等人,J.Exp.Med.,166:1351-1361(1987))。可替代地,可以采用非放射性测定方法(例如,参见用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定(细胞技术公司(CellTechnology,Inc.)山景城(Mountain View),加利福尼亚州;以及CytoTox 96®非放射性细胞毒性测定(普洛麦格公司(Promega),麦迪逊,威斯康星州)。用于此类测定的有用的效应细胞包括外周血单核细胞(PBMC)和自然杀伤(NK)细胞。可替代地或另外地,可以在体内评估目的分子的ADCC活性,例如在动物模型中,如Clynes等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 95:652-656(1998)中披露的。还可以进行C1q结合测定确认抗体不能结合C1q,并且因此缺乏CDC活性。例如,参见在WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体活化,可以进行CDC测定(参见例如,Gazzano-Santoro等人,J.Immunol.Methods 202:163(1996);Cragg,M.S.等人,Blood 101:1045-1052(2003);以及Cragg,M.S.和M.J.Glennie,Blood 103:2738-2743(2004))。也可以使用本领域已知的方法进行FcRn结合和体内清除/半衰期测定(例如,参见:Petkova,S.B.等人,Int'l Immunol.18(12):1759-1769(2006))。

[0267] 具有降低的效应子功能的抗体包括(美国专利号6,737,056),具有Fc区残基238、265、269、270、297、327和329中的一个或多个的取代的抗体。此类Fc突变体包括具有氨基酸位置265、269、270、297和327中的两个或更多个的取代的Fc突变体,包括具有残基265和297被丙氨酸取代的所谓“DANA”Fc突变体(美国专利号7,332,581)。

[0268] 本文描述了与FcR结合提高或降低的某些抗体变体。(参见,例如美国专利号6,737,056;WO 2004/056312,以及Shields等人,J.Biol.Chem.9(2):6591-6604(2001)。)

[0269] 在某些实施例中,Fc区是IgG1 Fc区。在一些实施例中,IgG1 Fc区包含L234A突变和/或L235A突变。在一些实施例中,Fc区是IgG2或IgG4 Fc区。在一些实施例中,Fc区是包含S228P、F234A和/或L235A突变的IgG4 Fc区。

[0270] 在一些实施例中,抗体部分包含具有一个或多个氨基酸取代的Fc区,这些取代(例如,Fc区内的位置298、333和/或334处的取代(残基的EU编号))改善ADCC。

[0271] 在一些实施例中,Fc区内发生改变,导致C1q结合和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)发生改变(即,提高或降低),例如,如美国专利号6,194,551、WO 99/51642和Idusogie等人,J.Immunol.,164:4178-4184(2000)中所描述。

[0272] 在一些实施例中,抗体部分(例如,scFv-Fc)变体包含变体Fc区,该变体Fc区包含

一个或多个改变半衰期和/或改变与新生儿Fc受体 (FcRn) 的结合的氨基酸取代。具有延长的半衰期和与新生儿Fc受体 (FcRn) 的改善的结合的抗体,其负责将母体IgG转移至胎儿 (Guyer等人, J. Immunol. 117:587 (1976) 和Kim等人, J. Immunol. 24:249 (1994)), 如US2005/0014934A1中所描述 (Hinton等人)。那些抗体包含具有一个或多个氨基酸取代的Fc区, 其中这些取代改变了Fc区与FcRn的结合。此类Fc变体包括在一个或多个Fc区残基上具有取代 (例如Fc区残基434的取代) 的那些变体 (美国专利号7,371,826)。

[0273] 还参见Duncan和Winter, Nature 322:738-40 (1988); 美国专利号5,648,260; 美国专利号5,624,821; 以及关于Fc区变体的其他实例的WO 94/29351。

[0274] h) 半胱氨酸工程化的抗体变体

[0275] 在一些实施例中,可能需要产生半胱氨酸工程化抗体部分,例如“thioMAb”,其中抗体的一个或多个残基被半胱氨酸残基取代。在具体实施例中,取代的残基出现在抗体的可及位点处。通过用半胱氨酸取代那些残基,反应性硫醇基团由此位于抗体的可及位点,并可用于将抗体与其他部分,例如药物部分或接头-药物部分偶联,以产生免疫偶联物,如本文进一步所述。在一些实施例中,以下任何一个或多个残基可以被半胱氨酸取代:重链的A118 (EU编号); 以及重链Fc区的S400 (EU编号)。半胱氨酸工程化抗体部分可以如例如美国专利号7,521,541中所述产生。

[0276] i) 抗体衍生物

[0277] 在一些实施例中,本文所述的抗体部分可以被进一步修饰以包含本领域已知且容易获得的其他非蛋白质部分。适用于抗体衍生的部分包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性实例包括但不限于聚乙二醇 (PEG), 乙二醇/丙二醇, 羧甲基纤维素, 葡聚糖, 聚乙烯醇, 聚乙烯吡咯烷酮, 聚-1,3-二氧戊环, 聚-1,3,6-三氧杂环己烷, 乙烯/马来酸酐共聚物, 聚氨基酸 (均聚物或无规共聚物) 和右旋糖酐或聚 (正乙烯基吡咯烷酮) 聚乙二醇, 丙二醇均聚物, 环氧丙烷/环氧乙烷共聚物, 聚氧乙烯化多元醇 (例如甘油), 聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛由于在水中的稳定性而在制造中可能具有优势。聚合物可以具有任何分子量,并且可以是支链或非支链的。连接至抗体的聚合物的数量可以变化,并且如果连接的聚合物多于一种,则它们可以是相同或不同的分子。一般而言,用于衍生化的聚合物的数量和/或类型可以基于以下考虑因素来确定,这些因素包括但不限于待改善抗体的特定性质或功能,是否将抗体衍生物用于确定的诊断条件等。

[0278] 在一些实施例中,抗体部分可以被进一步修饰以包含一种或多种生物活性蛋白、多肽或其片段。如本文可互换使用的,“生物活性的”或“具有生物学活性的”是指在体内显示出执行特定功能的生物学活性。例如,它可能意味着与特定生物分子 (例如蛋白质、DNA等) 结合,然后促进或抑制这种生物分子的活性。在一些实施例中,生物活性蛋白或其片段包括:作为活性药物物质施用给患者的蛋白和多肽;用于预防或治疗疾病或病症、以及用于诊断目的的蛋白和多肽 (例如诊断测试或体外测定中使用的酶); 以及为预防疾病而施用给患者的蛋白质和多肽 (例如疫苗)。

[0279] j) 抗CD137 scFv

[0280] 一些实施例中的抗CD137构建体是包含本文描述的抗CD137抗体部分的scFv (以下称为“抗CD137 scFv”)。抗CD137-scFv可包含本文描述的抗CD137抗体部分 (参见“抗CD137抗体部分”部分) 中的任何一个。在一些实施例中,抗CD137 scFv具有如下构型 (从N-末端到

C-末端): V_L (CD137)-L- V_H (CD137)。在某些实施例中,抗CD137 scFv具有以下构型(从N-末端到C-末端): V_H (CD137)-L- V_L (CD137),L是接头(例如肽接头)。

[0281] 在一些实施例中,抗CD137 scFv是嵌合的、人的、部分人源化的、完全人源化的或半合成的。

[0282] 在一些实施例中,scFv中的抗CD137 VL和抗CD137 VH通过接头(例如,肽接头)连接。在一些实施例中,接头包含约四至约十五个氨基酸。在一些实施例中,接头是GS接头。在一些实施例中,接头包含SEQ ID No:206-230中的任何一个序列。

[0283] k) 抗CD137融合蛋白

[0284] 在一些实施例中,抗CD137构建体包含抗CD137抗体部分和半衰期延长部分。在一些实施例中,半衰期延长部分是Fc区。在一些实施例中,半衰期延长部分是白蛋白结合部分(例如,白蛋白结合抗体部分)。

[0285] 在一些实施例中,半衰期延长部分是Fc区(例如本文描述的Fc区中的任何一个或其变体)。术语“Fc区”、“Fc结构域”或“Fc”是指免疫球蛋白重链的C-末端非抗原结合区,其包含恒定区的至少一部分。所述术语包括天然Fc区和变体Fc区。在一些实施例中,人IgG重链Fc区从Cys226延伸至重链的羧基末端。但是,在不影响Fc区域的结构或稳定性的情况下,Fc区域的C-末端赖氨酸(Lys447)可以存在或可以不存在。除非本文另外指明,否则IgG或Fc区中的氨基酸残基编号是根据针对抗体的EU编号系统(也称为EU索引),如描述于Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,贝塞斯达,马里兰州,1991中。

[0286] 在一些实施例中,Fc区选自以下组,该组由以下组成:IgG、IgA、IgD、IgE、IgM的Fc区、及其任意组合和杂合物。在一些实施例中,Fc区选自以下组,该组由以下组成:IgG1、IgG2、IgG3、IgG4的Fc区、及其任意组合和杂合物。

[0287] 在一些实施例中,与对应的野生型Fc区相比,所述Fc区具有降低的效应功能(例如通过测定抗体依赖性细胞毒性(ADCC)水平,效应功能降低至少约30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%或95%)。

[0288] 在某些实施例中,Fc区是IgG1 Fc区。在一些实施例中,IgG1 Fc区包含L234A突变和/或L235A突变。在一些实施例中,Fc区是IgG2或IgG4 Fc区。在一些实施例中,Fc区是包含S228P、F234A和/或L235A突变的IgG4 Fc区。

[0289] 在一些实施例中,抗CD137抗体部分和半衰期延长部分通过接头(例如“接头”部分中描述的接头中的任何一个)连接。

[0290] 在一些实施例中,抗CD137融合蛋白进一步包含第二抗体。在一些实施例中,所述第二抗体与肿瘤抗原结合(例如本文描述的肿瘤抗原中的任何一个)。

[0291] 1) 多特异性抗体

[0292] 本文还提供了结合CD137和第二抗原两者的多特异性抗体(例如,双特异性抗体)。在一些实施例中,第二抗原也是CD137,但包含不同于本文所述的抗CD137抗体部分的表位。在一些实施例中,第二抗原不是CD137。在一些实施例中,第二抗原是肿瘤相关抗原。

[0293] 在一些实施例中,所述多特异性抗体包含:a) 包含本文描述的任何抗CD137构建体的第一抗体部分;以及b) 与非CD137的第二抗原结合的第二抗体部分。在一些实施例中,所述第二抗原包含肿瘤相关抗原。

[0294] 在一些实施例中,所述第一抗体部分包含与CD137结合的单链Fv片段。在一些实施例中,所述第二抗体部分包含与肿瘤相关抗原结合并且包含两条抗体重链和两条抗体轻链的全长抗体,且其中所述重链各自包含第二重链可变区(V_{H-2})并且所述轻链各自包含第二轻链可变区(V_{L-2}),且其中所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的重链或轻链中的至少一条融合。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的轻链的C端融合。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的轻链的N端融合。

[0295] 在一些实施例中,所述多特异性抗体包含:a)第一抗体部分,其包含与CD137结合的单链Fv片段,其中所述单链Fv片段包含第一重链可变区(V_{H-1})和第一轻链可变区(V_{L-1}),和b)第二抗体部分,其包含与第二抗原(例如,肿瘤相关抗原)结合并且包含两条抗体重链和两条抗体轻链的全长抗体,且其中所述重链各自包含第二重链可变区(V_{H-2})并且所述轻链各自包含第二轻链可变区(V_{L-2})。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的一条或两条重链的C端融合。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的一条或两条重链的N端融合。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的一条或两条轻链的C端融合。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的一条或两条轻链的N端融合。在一些实施例中,抗CD137单链Fv片段的 V_{H-1} 和 V_{L-1} 通过第一接头(例如,第一肽接头)与全长抗体融合。在一些实施例中,所述第一接头包含约1至约30(诸如约4至20、约3至20、约6至18或约10至15)个氨基酸。在一些实施例中,所述第一接头是GS接头。在一些实施例中,所述接头具有SEQ ID NO:206-230中任一个的氨基酸序列。在一些实施例中,全长抗体包含选自以下的Fc区:来自IgG、IgA、IgD、IgE、IgM的Fc区及其任何组合和杂合体。在一些实施例中,所述Fc区选自来自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4的Fc区及其任何组合和杂合体。在一些实施例中,所述Fc区是IgG1 Fc区。在一些实施例中,所述IgG1 Fc区包含L234A突变和/或L235A突变。在一些实施例中,所述Fc区是IgG4 Fc区。在一些实施例中,所述Fc区是IgG2 Fc区。在一些实施例中,所述IgG4 Fc区包含F234A突变和L235A突变。在一些实施例中,所述IgG4 Fc区进一步包含S228P突变。

[0296] 在一些实施例中,所述多特异性抗体包含:a)包含全长抗体的第一抗体部分,所述全长抗体包含本文所述的任何抗CD137构建体和b)包含识别第二抗原(例如,肿瘤相关抗原)的单链Fv片段的第二抗体部分。在一些实施例中,所述单链Fv片段与抗CD137全长抗体的一条或两条重链融合。在一些实施例中,所述单链Fv片段与抗CD137全长抗体的一条或两条重链的C端融合。在一些实施例中,所述单链Fv片段与抗CD137全长抗体的重链的一个或两个N端融合。在一些实施例中,所述单链Fv片段与抗CD137全长抗体的一条或两条轻链融合。在一些实施例中,所述单链Fv片段与抗CD137全长抗体的一条或两条轻链的C端融合。在一些实施例中,所述单链Fv片段与全长抗体的一条或两条抗CD137轻链的N端融合。

[0297] 如本文描述,“肿瘤相关抗原”是指例如肿瘤细胞(例如癌症细胞)的表达显著高于(例如至少约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%或70%高于)非肿瘤细胞(例如非癌症细胞)的表达的任何抗原。

[0298] 可以被本文描述的第二抗体部分识别的示例性肿瘤相关抗原包括但不限于: α 胎蛋白(AFP)、CA15-3、CA27-29、CA19-9、CA-125、钙网膜蛋白、癌胚抗原、CD34、CD99、CD117、嗜铬粒蛋白、细胞角蛋白、肌间线蛋白、上皮膜蛋白(EMA)、因子VIII、CD31 FL1、胶质原纤维酸性蛋白(GFAP)、囊泡病液体蛋白(GCDFP-15)、HMB-45、人绒毛膜促性腺激素(hCG)、抑制

素、角蛋白、CD45、淋巴细胞标志物、MART-1 (Melan-A)、Myo D1、肌肉特异性肌动蛋白 (MSA)、神经丝、神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、胎盘碱性磷酸酶 (PLAP)、前列腺特异性抗原、S100蛋白、平滑肌肌动蛋白 (SMA)、突触素、甲状腺球蛋白、甲状腺转录因子-1、肿瘤M2-PK、和波形蛋白。

[0299] 在一些实施例中,所述肿瘤相关抗原选自由以下组成的组:HER-2,EGFR,PD-L1,c-Met,B细胞成熟抗原 (BCMA),碳酸酐酶IX (CA1X),癌胚抗原 (CEA),CD5,CD7,CD10,CD19,CD20,CD22,CD30,CD33,CD34,CD38,CD41,CD44,CD49f,CD56,CD74,CD123,CD133,CD138,CD276 (B7H3),上皮糖蛋白 (EGP2),滋养层细胞表面抗原2 (TROP-2),上皮糖蛋白-40 (EGP-40),上皮细胞粘附分子 (EpCAM),受体酪氨酸蛋白激酶erb-B2、3、4,叶酸结合蛋白 (FBP),胎儿乙酰胆碱受体 (AChR),叶酸受体-a,神经节苷脂G2 (GD2),神经节苷脂G3 (GD3),人端粒酶逆转录酶 (hTERT),激酶插入结构域受体 (KDR),Lewis A (CA 1.9.9),Lewis Y (LeY),磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 (GPC3),L1细胞粘附分子 (L1CAM),粘蛋白16 (Muc-16),粘蛋白1 (Muc-1),NG2D配体,瘤胎抗原 (h5T4),前列腺干细胞抗原 (PSCA),前列腺特异性膜抗原 (PSMA),肿瘤相关糖蛋白72 (TAG-72),密封蛋白18.2 (CLDN18.2),血管内皮生长因子R2 (VEGF-R2),肾母细胞瘤蛋白 (WT-1),1型酪氨酸蛋白激酶跨膜受体 (ROR1) 及其任何组合。在一些实施例中,肿瘤相关抗原是HER-2、EGFR、B7H3、c-Met或PD-L1。在一些实施例中,肿瘤相关抗原选自以下组,该组由以下组成:HER-2、EGFR、B7H3、c-Met或PD-L1。

[0300] m) 抗CD137 x HER2多特异性抗体

[0301] 在一些实施例中,本文公开的多特异性抗体包含:a) 构成本文公开的任何抗CD137构建体的第一抗体部分,其为单链Fv片段,和b) 第二抗体部分,其包含与HER2结合并且包含两条抗体重链和两条抗体轻链的全长抗体,且其中所述重链各自包含第二重链可变区 (V_{H-2}) 并且所述轻链各自包含第二轻链可变区 (V_{L-2}),且其中所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体融合。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的重链的C端融合。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的重链的N端融合。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的轻链的C端融合。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的轻链的N端融合。在一些实施例中,所述HER2是人HER2。在一些实施例中,与HER2结合的全长抗体或抗HER2抗体部分与包含第三重链可变区 (V_{H-3}) 和第三轻链可变区 (V_{L-3}) 的抗体或抗体片段竞争HER2的结合表位,其中:a) 所述 V_{H-3} 包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的HC-CDR3;且b) 所述 V_{L-3} 包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述 V_{H-2} 包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的HC-CDR3;且所述 V_{L-2} 包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的LC-CDR3。

[0302] 在一些实施例中,所述多特异性抗体包含:a) 所述第一抗体部分包含重链可变区 (V_H) 和轻链可变区 (V_L),其中所述 V_H 包含:包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的HC-CDR3;且所述 V_L 包含:包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:125的氨基酸

序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的LC-CDR3;且b)所述第二抗体部分包含第二重链可变区(VH-2)和第二轻链可变区(VL-2),其中所述VH-2包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的第二HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的第二HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的第二HC-CDR3;且所述VL-2包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的第二LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的第二LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的第二LC-CDR3。

[0303] 在一些实施例中,所述多特异性抗体包含:a)所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中所述VH包含:包含SEQ ID NO:231的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:232的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列的HC-CDR3;且所述VL包含:包含SEQ ID NO:234的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列的LC-CDR3;且b)所述第二抗体部分包含第二重链可变区(VH-2)和第二轻链可变区(VL-2),其中所述VH-2包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的第二HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的第二HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的第二HC-CDR3;且所述VL-2包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的第二LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的第二LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的第二LC-CDR3。

[0304] 在一些实施例中,所述多特异性抗体包含:a)所述第一抗体部分包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中所述VH包含:包含SEQ ID NO:241的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:242的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:243的氨基酸序列的HC-CDR3;且所述VL包含:包含SEQ ID NO:244的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:245的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:246的氨基酸序列的LC-CDR3;且b)所述第二抗体部分包含第二重链可变区(VH-2)和第二轻链可变区(VL-2),其中所述VH-2包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的第二HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的第二HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的第二HC-CDR3;且所述VL-2包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的第二LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的第二LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的第二LC-CDR3。

[0305] 在一些实施例中,所述 V_{H-2} 包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:202具有至少约80%(诸如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中任一个)序列同一性的变体;和/或所述 V_{L-2} 包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:203具有至少约80%序列同一性的变体。在一些实施例中,所述 V_{H-2} 包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列;且所述 V_{L-3} 包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列。

[0306] 在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:183、184、204、205、251、252、253或254中任一个的氨基酸序列或包含与SEQ ID NO:183、184、204、205、251、252、253或254中任一个的氨基酸序列具有至少约80%(诸如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中任一个)序列同一性的氨基酸序列的变体。在一些实施例中,所述第二抗体部分中包含的全长抗体包含轻链,所述轻链包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列或包含与SEQ ID NO:185的氨基酸序列具有至少约80%(诸如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中任一个)序列同一性的氨基酸序列的变体。

[0307] 在一些实施例中,提供了多特异性抗体,其包含:a)本文公开的与CD137结合的抗CD137单链Fv片段,其中所述单链Fv片段包含第一重链可变区(V_{H-1})和第一轻链可变区(V_{L-1}),其中所述 V_{H-1} 包含:i)包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的HC-CDR1,ii)包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的HC-CDR2,和iii)包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列的HC-CDR3,且所述 V_{L-1} 包含:i)包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列的LC-CDR1,ii)包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列的LC-CDR2,和iii)包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列的LC-CDR3;和b)与HER2结合并且包含两条抗体重链和两条抗体轻链的全长抗体,其中所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的重链融合,且其中与HER2结合的全长抗体包含第二重链可变区(V_{H-2})和第二轻链可变区(V_{L-2}),其中:a)所述 V_{H-2} 包含:包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列的HC-CDR1、包含SEQ ID NO:190的氨基酸序列的HC-CDR2和包含SEQ ID NO:194的氨基酸序列的HC-CDR3;且b)所述 V_{L-2} 包含:包含SEQ ID NO:196的氨基酸序列的LC-CDR1、包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的LC-CDR2和包含SEQ ID NO:200的氨基酸序列的LC-CDR3。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的重链的C端融合。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与全长抗体的重链的N端融合。

[0308] 在一些实施例中,所述 V_{H-1} 包含SEQ ID NO:7、17、27、37、47、57、67、77、87、97、107、117、127、137、237或247的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:7、17、27、37、47、57、67、77、87、97、107、117、127、137、237或247具有至少约80%(诸如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中任一个)序列同一性的变体;和/或所述 V_{L-1} 包含SEQ ID NO:8、18、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、238或248的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:8、18、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、238或248具有至少约80%(诸如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中任一个)序列同一性的变体。

[0309] 在一些实施例中,所述 V_{H-2} 包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:202具有至少约80%(诸如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中任一个)序列同一性的变体;和/或所述 V_{L-2} 包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:203具有至少约80%(诸如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中任一个)序列同一性的变体。

[0310] 在一些实施例中,所述 V_{H-3} 包含SEQ ID NO:202的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:202具有至少约80%(诸如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中任一个)序列同一性的变体;和/或所述 V_{L-3} 包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:203具有至少约80%(诸如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中任一个)序列同一性的变体。

[0311] 在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段与所述抗HER2全长抗体的重链融合,且其中与抗CD137单链Fv片段融合的抗HER2全长抗体的重链包含SEQ ID NO:183、184、204、205、251、252、253和254中任一个的氨基酸序列或包含与SEQ ID NO:183、184、204、205、251、252、253和254中任一个的氨基酸序列具有至少约80%(诸如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中任一个)序列同一性的氨基酸序列的变体。在一些实施例中,所述第二抗体部分中包含的全长抗体包含轻链,所述轻链包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列或包含与SEQ ID NO:185的氨基酸序列具有至少约80%(诸如至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%中任一个)序列同一性的氨基酸序列的变体。

[0312] 在一些实施例中,所述多特异性抗体包含与包含SEQ ID NO:183中所示的氨基酸序列的抗CD137 scFv融合的抗HER2重链和包含SEQ ID NO:185中所示的氨基酸序列的抗HER2轻链。在一些实施例中,所述多特异性抗体包含与包含SEQ ID NO:184中所示的氨基酸序列的抗CD137 scFv融合的抗HER2重链和包含SEQ ID NO:185中所示的氨基酸序列的抗HER2轻链。在一些实施例中,所述多特异性抗体包含与包含SEQ ID NO:204中所示的氨基酸序列的抗CD137 scFv融合的抗HER2重链和包含SEQ ID NO:185中所示的氨基酸序列的抗HER2轻链。在一些实施例中,所述多特异性抗体包含与包含SEQ ID NO:205中所示的氨基酸序列的抗CD137 scFv融合的抗HER2重链和包含SEQ ID NO:185中所示的氨基酸序列的抗HER2轻链。在一些实施例中,所述多特异性抗体包含与包含SEQ ID NO:251中所示的氨基酸序列的抗CD137 scFv融合的抗HER2重链和包含SEQ ID NO:185中所示的氨基酸序列的抗HER2轻链。在一些实施例中,所述多特异性抗体包含与包含SEQ ID NO:252中所示的氨基酸序列的抗CD137 scFv融合的抗HER2重链和包含SEQ ID NO:185中所示的氨基酸序列的抗HER2轻链。在一些实施例中,所述多特异性抗体包含与包含SEQ ID NO:253中所示的氨基酸序列的抗CD137 scFv融合的抗HER2重链和包含SEQ ID NO:185中所示的氨基酸序列的抗HER2轻链。在一些实施例中,所述多特异性抗体包含与包含SEQ ID NO:254中所示的氨基酸序列的抗CD137 scFv融合的抗HER2重链和包含SEQ ID NO:185中所示的氨基酸序列的抗HER2轻链。

[0313] 在一些实施例中,抗CD137单链Fv片段的 V_{H-1} 和 V_{L-1} 通过第一接头(例如,第一肽接头)融合。在一些实施例中,所述第一接头包含约1至约30(诸如约4至20、约3至20、约6至18或约10至15)个氨基酸。在一些实施例中,所述第一接头是GS接头。在一些实施例中,所述接头具有SEQ ID NO:260-230中任一个的氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗CD137单链Fv片段通过第二接头(例如,第二肽接头)与全长抗体的重链融合。在一些实施例中,所述第二肽接头包含约1至约30(诸如约4至20、约3至20、约6至18或约10至15)个氨基酸。在一些实施例中,所述第二肽接头是包含SEQ ID NO:206-230中任一个的序列的接头。

[0314] 在一些实施例中,全长抗体具有选自以下的Fc区:来自IgG、IgA、IgD、IgE、IgM的Fc区及其任何组合和杂合体。在一些实施例中,所述Fc区选自来自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4的Fc区及其任何组合和杂合体。在一些实施例中,所述Fc区是IgG1 Fc区。在一些实施例中,所述IgG1 Fc区包含L234A突变和/或L235A突变。在一些实施例中,所述Fc区是IgG4 Fc区。在一些实施例中,所述Fc区是IgG2Fc区。在一些实施例中,所述IgG4 Fc区包含S228P、F234A和L235A突变。

[0315] o) 多特异性抗体特性

[0316] 在一些实施例中,本文所述的多特异性抗体相对于结合CD137和第二抗原(例如HER2、EGFR、PD-L1)的参考多特异性抗体具有改进的临床特性。在一些实施例中,所述多特异性抗体表现出与参考多特异性抗体的ADCC活性相比改进的ADCC活性(诸如ADCC依赖性细胞毒性高至少约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%或70%)。在一些实施例中,所述多特异性抗体表现出与参考多特异性抗体的ADCC活性相比更高的抗肿瘤作用(诸如使肿瘤负荷减少或将存活率提高至少约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%或70%更多)。在一些实施例中,所述多特异性抗体表现出与参考多特异性抗体的毒性相比更小的毒性。

[0317] 在一些实施例中,所述多特异性抗体结合CD137和肿瘤相关抗原两者,并且表现出

的针对肿瘤相关抗原阳性或表达高水平的肿瘤相关抗原的肿瘤细胞的ADCC活性与参考多特异性抗体的ADCC活性相比提高(诸如比非肿瘤细胞上的TAA表达高至少约25%、50%、75%、100%、150%、200%、250%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、10-倍、15-倍、20-倍)。在一些实施例中,对于细胞特异性的多特异性抗体的EC50不超过参考多特异性抗体的约50%、40%、30%、20%、10%。

[0318] 在一些实施例中,所述多特异性抗体没有在不具有癌症或肿瘤的个体中诱导显著的细胞因子(诸如IL-2、IFN- γ 、TNF- α)释放。在一些实施例中,所述多特异性抗体没有在有癌症或肿瘤的个体中的非癌性组织中诱导显著的细胞因子(诸如IL-2、IFN- γ 、TNF- α)释放。在一些实施例中,显著的细胞因子释放是细胞因子的释放水平为结合CD137和相同第二抗原的参考多特异性抗体诱导的水平的至少约70%、60%、50%、40%、30%或20%。在一些实施例中,所述多特异性抗体在不具有癌症或肿瘤的个体中诱导更少的细胞因子(诸如IL-2、IFN- γ 、TNF- α)释放(例如少至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的细胞因子释放)。在一些实施例中,所述多特异性抗体在有癌症或肿瘤的个体中的非癌组织中诱导更少的细胞因子(诸如IL-2、IFN- γ 、TNF- α)释放(诸如少至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的细胞因子释放)。

[0319] n) 串联scFv

[0320] 一些实施例中的多特异性抗CD137分子是串联scFv(在本文中也称为“串联scFv多特异性抗CD137抗体”),其包含第一scFv和第二scFv,所述第一scFv包含特异性识别CD137的抗CD137抗体部分(在本文中称为“抗CD137 scFv”),所述第二scFv特异性识别第二抗原。在一些实施例中,串联scFv多特异性抗CD137抗体进一步包含至少一个(例如至少约2、3、4、5或更多个中的任何一者)另外的scFv。

[0321] 在一些实施例中,提供串联scFv多特异性(例如,双特异性)抗CD137抗体,其包含a) 特异性识别CD137的第一scFv,以及b) 特异性识别第二抗原(例如,肿瘤相关抗原)的第二scFv,其中串联scFv多特异性抗CD137抗体是串联二-scFv或串联三-scFv。在一些实施例中,串联scFv多特异性抗CD137抗体是串联二-scFv。在一些实施例中,串联scFv多特异性抗CD137抗体是双特异性T细胞衔接子。在一些实施例中,第二scFv与不同的CD137表位结合。在一些实施例中,第二scFv特异性识别非CD137的第二抗原。在一些实施例中,第二scFv特异性识别第二抗原例如肿瘤相关抗原。在一些实施例中,第一抗CD137 scFv是嵌合的、人的、部分人源化的、完全人源化的或半合成的。在一些实施例中,第二scFv是嵌合的、人的、部分人源化的、完全人源化的或半合成的。在一些实施例中,第一和第二scFv均为嵌合的、人的、部分人源化的、完全人源化的或半合成的。在一些实施例中,串联scFv多特异性抗CD137抗体进一步包含至少一个(例如至少约2、3、4、5或更多个中的任何一者)另外的scFv。在一些实施例中,第一抗CD137 scFv和第二scFv通过接头(例如,肽接头)连接。在一些实施例中,接头包含(GGGGS)_n的氨基酸序列,其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更大。在一些实施例中,接头包含TSGGGS的氨基酸序列。在一些实施例中,第一抗CD137 scFv连接至第二scFv的N-末端。在一些实施例中,第一抗CD137 scFv连接至第二scFv的C-末端。在一些实施例中,串联scFv多特异性(例如双特异性)抗CD137抗体进一步包含标签(例如,出于纯化目的的肽标签)。在一些实施例中,标签连接至串联scFv多特异性(例如,双特异性)抗CD137抗体的N-末端。在一些实施例中,标签连接至串联scFv多特异性(例如,双特异性)抗CD137

抗体的C-末端。在一些实施例中,标签包含HHHHHH的氨基酸序列。

[0322] 在一些实施例中,串联scFv多特异性抗CD137抗体是包含两个scFv的串联二-scFv(在本文中称为“串联二-scFv双特异性抗CD137抗体”)。串联二-scFv双特异性抗CD137抗体可以具有以任何构型组装的 V_H 和 V_L ,例如以下列出的构型(从N-末端到C-末端),其中X是由第二scFv结合的第二抗原,L1、L2、和L3是任选的接头(例如肽接头)。关于所有适用的接头,参见“接头”部分。在一些实施例中,接头(L1、L2或L3)包含SRGGGSGGGSGGGGSLEMA的氨基酸序列。在一些实施例中,接头(L1、L2或L3)是(GGGGS) $_n$ 序列或包含(GGGGS) $_n$ 序列,其中n等于1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更大。在一些实施例中,接头(L1、L2或L3)包含TSGGGGS的氨基酸序列。在一些实施例中,接头(L1、L2或L3)包含GEGTSTGSGGSGGSGGAD的氨基酸序列。

[0323] $V_L(\text{CD137})\text{-L1-}V_H(\text{CD137})\text{-L2-}V_L(X)\text{-L3-}V_H(X)$;

[0324] $V_L(\text{CD137})\text{-L1-}V_H(\text{CD137})\text{-L2-}V_H(X)\text{-L3-}V_L(X)$;

[0325] $V_H(\text{CD137})\text{-L1-}V_L(\text{CD137})\text{-L2-}V_L(X)\text{-L3-}V_H(X)$;

[0326] $V_H(\text{CD137})\text{-L1-}V_L(\text{CD137})\text{-L2-}V_H(X)\text{-L3-}V_L(X)$;

[0327] $V_L(X)\text{-L1-}V_H(X)\text{-L2-}V_L(\text{CD137})\text{-L3-}V_H(\text{CD137})$;

[0328] $V_L(X)\text{-L1-}V_H(X)\text{-L2-}V_H(\text{CD137})\text{-L3-}V_L(\text{CD137})$;

[0329] $V_H(X)\text{-L1-}V_L(X)\text{-L2-}V_L(\text{CD137})\text{-L3-}V_H(\text{CD137})$;

[0330] $V_H(X)\text{-L1-}V_L(X)\text{-L2-}V_H(\text{CD137})\text{-L3-}V_L(\text{CD137})$;

[0331] $V_L(\text{CD137})\text{-L1-}V_H(X)\text{-L2-}V_L(X)\text{-L3-}V_H(\text{CD137})$;

[0332] $V_L(\text{CD137})\text{-L1-}V_L(X)\text{-L2-}V_H(X)\text{-L3-}V_H(\text{CD137})$;

[0333] $V_H(\text{CD137})\text{-L1-}V_H(X)\text{-L2-}V_L(X)\text{-L3-}V_L(\text{CD137})$;

[0334] $V_H(\text{CD137})\text{-L1-}V_L(X)\text{-L2-}V_H(X)\text{-L3-}V_L(\text{CD137})$;

[0335] $V_L(X)\text{-L1-}V_H(\text{CD137})\text{-L2-}V_L(\text{CD137})\text{-L3-}V_H(X)$;

[0336] $V_L(X)\text{-L1-}V_L(\text{CD137})\text{-L2-}V_H(\text{CD137})\text{-L3-}V_H(X)$;

[0337] $V_H(X)\text{-L1-}V_H(\text{CD137})\text{-L2-}V_L(\text{CD137})\text{-L3-}V_L(X)$;或

[0338] $V_H(X)\text{-L1-}V_L(\text{CD137})\text{-L2-}V_H(\text{CD137})\text{-L3-}V_L(X)$ 。

[0339] o) 接头

[0340] 在一些实施例中,本文描述的抗CD137构建体在两个部分(例如,本文描述的双特异性抗体中的抗CD137抗体部分和半衰期延长部分、抗CD137 scFv和全长抗体)之间包含一个或多个接头。双特异性抗体中使用的一个或多个接头的长度、灵活性和/或其他特性可能对特性有一些影响,所述特性包括但不限于对一种或多种特定抗原或表位的亲和力、特异性或亲合力。例如,可以选择更长的接头以确保两个相邻的结构域在空间上不会彼此干扰。在某些实施例中,接头(例如肽接头)包含柔性残基(例如甘氨酸和丝氨酸),使得相邻的结构域相对于彼此自由移动。例如,甘氨酸-丝氨酸双联体可以是合适的肽接头。在一些实施例中,接头是非肽接头。在一些实施例中,接头是肽接头。在一些实施例中,接头是不可裂解的接头。在一些实施例中,接头是可裂解的接头。

[0341] 其他接头考虑因素包括对所得化合物的物理或药代动力学特性的影响,例如溶解度、亲脂性、亲水性、疏水性,稳定性(更稳定或更不稳定以及计划的降解)、刚性、柔性、免疫原性,抗体结合的调节、掺入胶束或脂质体的能力等。

[0342] 两个部分的偶联可以通过以下任何化学反应来完成:所述化学反应将两个分子结

合在双特异性抗体中,只要这两个组分均保持各自的活性,例如,分别结合至CD137和第二种抗原。该联接可以包括许多化学机制,例如共价结合、亲和力结合、插入、配位结合和络合。在一些实施例中,结合是共价结合。共价结合可以通过现有侧链的直接缩合或通过外部桥接分子的并入来实现。在这种情况下,许多二价或多价连接剂可用于偶联蛋白质分子。例如,代表性的偶联剂可包括有机化合物,例如硫酯、碳二亚胺、琥珀酰亚胺酯、二异氰酸酯、戊二醛、重氮苯和六亚甲基二胺。该清单并非旨在穷尽本领域中已知的各种偶联剂,而是更常见的偶联剂的示例(参见Killen和Lindstrom, *Jour. Immun.* 133:1335-2549 (1984); Jansen等人, *Immunological Reviews* 62:185-216 (1982); 和Vitetta等人, *Science* 238:1098 (1987))。

[0343] 可以在本申请中应用的接头在文献中有所描述(参见,例如,Ramakrishnan, S. 等人, *Cancer Res.* 44:201-208 (1984), 其描述MBS (M-马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯) 的用途。在一些实施例中,本文使用的非肽接头包括:(i) EDC (1-乙基-3-(3-二甲氨基-丙基) 碳二亚胺盐酸盐); (ii) SMPT (4-琥珀酰亚胺基氧基羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基-二硫代)-甲苯 (Pierce Chem. Co., 目录号 (21558G)); (iii) SPDP (琥珀酰亚胺基-6[3-(2-吡啶基二硫代) 丙酰胺基] 己酸酯 (皮尔斯化学公司, 目录号#21651G)); (iv) 磺基-LC-SPDP (磺基琥珀酰亚胺基6[3-(2-吡啶基二硫代) 丙酰胺] 己酸酯 (皮尔斯化学公司, 目录号#2165-G)); 以及 (v) 磺基-NHS (N-羟基磺基-琥珀酰亚胺: 皮尔斯化学公司, 目录号#24510) 缀合至EDC。

[0344] 本文描述的接头包含具有不同属性的组分,因此可能导致具有不同理化特性的双特异性抗体。例如,烷基羧酸盐的磺基-NHS酯比芳香族羧酸盐的磺基-NHS酯更稳定。含NHS酯的接头的可溶性不如磺基-NHS酯。此外,接头SMPT含有空间受阻的二硫键,并且可以形成具有增强的稳定性的抗体融合蛋白。二硫键通常比其他键不稳定,因为二硫键在体外被切割,导致可用的抗体融合蛋白更少。特别地,磺基-NHS可以增强碳二亚胺偶联的稳定性。当与磺基-NHS配合使用时,碳二亚胺偶联(例如EDC) 形成比单独的碳二亚胺偶联反应对水解的抵抗力更大的酯。

[0345] 肽接头可具有天然存在的序列或非天然存在的序列。例如,衍生自仅有重链的抗体的铰链区的序列可以用作接头。参见,例如,WO 1996/34103。

[0346] 肽接头可以具有任何合适的长度。在一些实施例中,肽接头的长度为至少约以下中的任何一者:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、50、75、100个或更多个氨基酸。在一些实施例中,肽接头的长度为不超过约以下中的任何一者:100、75、50、40、35、30、25、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5个或更少个氨基酸。在一些实施例中,肽接头的长度为以下中的任何一者:约1个氨基酸至约10个氨基酸、约1个氨基酸至约20个氨基酸、约1个氨基酸至约30个氨基酸、约5个氨基酸至约15个氨基酸、约10个氨基酸至约25个氨基酸、约5个氨基酸至约30个氨基酸、约10个氨基酸至约30个氨基酸长、约30个氨基酸至约50个氨基酸、约50个氨基酸至约100个氨基酸、或约1个氨基酸至约100个氨基酸。

[0347] 这种肽接头的基本技术特征是所述肽接头不包含任何聚合活性。肽接头的特征(其包含二级结构促进作用的缺失)在本领域中已知,并且在例如Dall'Acqua等人 (*Biochem.* (1998) 37,9266-9273)、Cheadle等人 (*Mol Immunol* (1992) 29,21-30) 以及Raag和Whitlow (*FASEB* (1995) 9 (1), 73-80) 中有描述。就“肽接头”而言,特别优选的氨基酸是Gly。

此外,也不促进任何二级结构的肽接头是优选的。结构域彼此之间的联接可以通过例如基因工程来提供。用于制备融合的且可操作地连接的双特异性单链构建体并将其在哺乳动物细胞或细菌中表达的方法是本领域众所周知的(例如,WO 99/54440,Ausubel,Current Protocols in Molecular Biology,Green Publishing Associates and Wiley Interscience],纽约1989年和1994年或Sambrook等人,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,冷泉港,纽约,2001年)。

[0348] 肽接头可以是稳定的接头,其不能被蛋白酶尤其是被基质金属蛋白酶(MMP)切割。

[0349] 所述接头也可以是柔性接头。示例性柔性接头包括甘氨酸聚合物(G_n)、甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括,例如, $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ 、 $(GGGGS)_n$ 和 $(GGGS)_n$,其中n是至少为1的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物和本领域已知的其他柔性接头。甘氨酸和甘氨酸-丝氨酸聚合物是相对非结构化的,且因此可以充当组分之间的中性系链。甘氨酸甚至与丙氨酸相比进入明显更多的phi-psi空间,并且比具有较长侧链的残基受到的限制要小得多(参见Scheraga,Rev.Computational Chem.11173-142(1992))。普通技术人员将认识到抗体融合蛋白的设计可以包括全部或部分柔性的接头,使得接头可以包括柔性接头部分以及赋予较低柔性结构以提供期望的抗体融合蛋白结构的一个或多个部分。

[0350] p) 免疫缀合物

[0351] 本文提供的还包括免疫缀合物,所述免疫缀合物包含与治疗剂或标记物连接的本文所述的任何抗CD137构建体(例如多特异性抗体)。在一些实施例中,所述标记物选自以下组,该组由以下组成:放射性同位素、荧光染料和酶。

[0352] q) 核酸

[0353] 还考虑了编码本文所述的抗CD137构建体或抗CD137抗体部分的核酸分子。在一些实施例中,提供了编码全长抗CD137抗体的核酸(或一组核酸)。在一些实施例中,提供了编码抗CD137 scFv的核酸(或一组核酸)。在一些实施例中,提供了编码抗CD137 Fc融合蛋白的核酸(或一组核酸)。在一些实施例中,提供了编码多特异性抗CD137分子(例如,多重特异性抗CD137抗体或双特异性抗CD137抗体)或其多肽部分的核酸(或一组核酸)。在一些实施例中,编码本文所述的抗CD137构建体的核酸(或一组核酸)可以进一步包括编码肽标签(例如蛋白质纯化标签,例如,His标签、HA标签)的核酸序列。

[0354] 本文还考虑了包含抗CD137构建体的分离的宿主细胞、编码抗CD137构建体多肽组分的分离的核酸,或包含编码本文所述的抗CD137构建体多肽组分的核酸的载体。

[0355] 本申请还包括这些核酸序列的变体。例如,所述变体包括在至少中等严格的杂交条件下与编码本申请的抗CD137构建体或抗CD137抗体部分的核酸序列杂交的核苷酸序列。

[0356] 本发明还提供了插入本发明的核酸的载体。

[0357] 使用标准基因递送方案,本发明的核酸也可用于核酸免疫和基因疗法。用于基因递送的方法在本领域中是已知的。参见例如,美国专利号5,399,346、5,580,859、5,589,466,通过引用以其整体并入本文。在一些实施例中,本发明提供了一种基因疗法载体。

[0358] 可以将核酸克隆至许多类型的载体中。例如,可以将核酸克隆到载体中,该载体包括但不限于质粒、噬菌粒、噬菌体衍生物、动物病毒和粘粒。特别感兴趣的载体包括表达载体、复制载体、探针生成载体和测序载体。

[0359] 此外,可以将表达载体以病毒载体的形式提供至细胞。病毒载体技术是本领域熟

知的并且描述于例如Sambrook等人(2001,Molecular Cloning:A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory,New York),以及其他病毒学和分子生物学手册中。可用作载体的病毒包括但不限于逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒、和慢病毒。通常,合适的载体含有在至少一种生物体中起作用的复制起点、启动子序列、方便的限制性内切核酸酶位点、和一种或多种选择标记(参见例如,WO 01/96584;WO 01/29058;和美国专利号6,326,193)。

[0360] III. 制备方法

[0361] 在一些实施例中,提供了制备与CD137结合的抗CD137构建体或抗体部分的方法,以及在制备所述抗CD137构建体或抗体部分的过程中产生的组合物,例如多核苷酸、核酸构建体、载体、宿主细胞或培养基。本文所述的抗CD137构建体或抗体部分或组合物可以通过如下一般所述的多种方法来制备,并且在实例中更具体地描述。

[0362] 抗体表达与产生

[0363] 本文所述的抗体(包括抗CD137单克隆抗体、抗CD137双特异性抗体和抗CD137抗体部分)可以使用本领域中任何已知的方法来制备,包括以下和实例中所述的方法。

[0364] 单克隆抗体

[0365] 单克隆抗体是从基本上同质的抗体群体中获得的,即组成所述群体的各个抗体是相同的,除了可能少量存在的可能自然发生的突变和/或翻译后修饰(例如,异构化、酰胺化)。因此,所述修饰语“单克隆”表示所述抗体的特征不是离散抗体的混合物。例如,所述单克隆抗体可以使用首先由Kohler等人(Nature,256:495(1975))描述的杂交瘤方法来制备,或者可以通过重组DNA方法来制备(美国专利号4,816,567)。在所述杂交瘤方法中,小鼠或其它合适的宿主动物,例如仓鼠或美洲驼,如上文所述进行免疫,以诱导产生或能够产生抗体的淋巴细胞,所述抗体将特异性地结合用于免疫的蛋白质。可替代地,可以在体外免疫淋巴细胞。然后使用合适的融合剂(例如聚乙二醇)将淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合,以形成杂交瘤细胞(Goding,Monoclonal Antibodies:Principles and Practice,第59-103页(Academic Press,1986))。也参见实例1中的骆驼免疫。

[0366] 所述免疫剂将典型地包括抗原蛋白或其融合变体。通常,如果希望是人源细胞,则使用外周血淋巴细胞(“PBL”),或者如果希望是非人哺乳动物来源,则使用脾细胞或淋巴结细胞。然后使用合适的融合剂(例如聚乙二醇)将淋巴细胞与永生细胞系融合,以形成杂交瘤细胞。Goding,Monoclonal Antibodies:Principles and Practice,(Academic Press,1986),第59-103页)。

[0367] 永生化细胞系通常是转化的哺乳动物细胞,特别是啮齿动物、牛和人来源的骨髓瘤细胞。通常,采用大鼠或小鼠骨髓瘤细胞系。将由此制备的杂交瘤细胞在合适的培养基中播种并生长,所述培养基优选包含一种或多种抑制未融合的亲本骨髓瘤细胞的生长或存活物质。例如,如果亲本骨髓瘤细胞缺少酶次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(HGPRT或HPRT),杂交瘤的培养基典型地包含次黄嘌呤、氨蝶呤和胸苷(HAT培养基),这些是阻止HGPRT缺陷型细胞的生长的物质。

[0368] 优选的永生化骨髓瘤细胞系是有效融合、支持选择的产生抗体的细胞稳定高水平产生抗体、并且对培养基(如HAT培养基)敏感的那些。其中,优选的是鼠类骨髓瘤细胞系,例如源自以下的那些细胞系:从美国加利福尼亚州圣地亚哥的索尔克研究所细胞分布中心

(Salk Institute Cell Distribution Center) 获得的MOPC-21和MPC-11小鼠肿瘤,以及从美国弗吉尼亚州马纳萨斯的美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection)获得的SP-2细胞(及其衍生物,例如X63-Ag8-653)。人骨髓瘤和小鼠-人异源骨髓瘤细胞系也被描述用于人单克隆抗体的产生(Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur等人, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp.51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987))。

[0369] 测定杂交瘤细胞在其中生长的培养基中的针对抗原的单克隆抗体的产生。优选地,由杂交瘤细胞产生的单克隆抗体的结合特异性通过免疫沉淀或通过体外结合测定来确定,例如放射免疫测定(RIA)或酶联免疫吸附测定(ELISA)。

[0370] 可以测定培养杂交瘤细胞的培养基中是否存在针对所需抗原的单克隆抗体。优选地,单克隆抗体的结合亲和力和特异性可以通过免疫沉淀或通过体外结合测定法,例如放射免疫测定法(RIA)或酶联测定法(ELISA)来确定。此类技术和测定在本领域中是已知的。例如,结合亲和力可以通过Munson等人, Anal. Biochem., 107:220 (1980) 的Scatchard分析来确定。

[0371] 鉴定出可产生所需特异性、亲和力和/或活性的抗体的杂交瘤细胞后,克隆可通过有限稀释程序进行亚克隆,并通过标准方法培养(Goding, 同上)。用于该目的的合适的培养基包括例如D-MEM或RPMI-1640培养基。另外,杂交瘤细胞可以在哺乳动物中在体内作为肿瘤生长。

[0372] 通过常规免疫球蛋白纯化程序(例如蛋白A-琼脂糖、羟基磷灰石色谱法、凝胶电泳、透析或亲和色谱法),将亚克隆分泌的单克隆抗体从培养基、腹水或血清中适当分离出来。

[0373] 单克隆抗体也可以通过重组DNA方法来制备,例如美国专利号4,816,567中描述的并且如本文所述的那些。使用常规的程序(例如,通过使用能够与编码鼠类抗体的重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针),容易地对编码单克隆抗体的DNA进行分离和测序。杂交瘤细胞用作这种DNA的优选来源。一旦被分离,DNA可以被置于表达载体中,然后将这些载体转染到不另外产生免疫球蛋白的宿主细胞(例如大肠杆菌细胞、猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或骨髓瘤细胞)中,以便在这种重组宿主细胞中合成单克隆抗体。有关在细菌中编码抗体的DNA的重组表达的评论文章包括Skerra等人., Curr. Opinion in Immunol., 5:256-262 (1993) 和Plückthun, Immunol. Revs. 130:151-188 (1992)。

[0374] 在另一个实施例中,可以使用McCafferty等人, Nature, 348:552-554 (1990) 中所述技术从生成的抗体噬菌体文库中分离抗体。Clackson等人., Nature, 352:624-628 (1991) 和Marks等人., J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991) 分别描述了使用噬菌体文库分离鼠和人抗体。随后的出版物描述了通过链改组(Marks等人, Bio/Technology, 10:779-783 (1992)), 以及组合感染和体内重组作为构建超大型噬菌体文库的策略(Waterhouse等人., Nucl. Acids Res., 21:2265-2266 (1993)) 来产生高亲和力(nM范围)人抗体。因此,这些技术是用于分离单克隆抗体的传统单克隆抗体杂交瘤技术的可行替代方案。

[0375] 还可以如下来修饰DNA:例如通过用人重链和轻链恒定结构域的编码序列代替同源鼠序列(美国专利号4,816,567; Morrison, 等人, Proc. Natl Acad. Sci. USA, 81:6851 (1984)), 或通过共价结合非免疫球蛋白多肽的全部或部分编码序列到免疫球蛋白编码序

列。通常,此类非免疫球蛋白多肽取代抗体的恒定结构域,或它们取代抗体的一个抗原结合位点的可变结构域,以产生嵌合二价抗体,所述嵌合二价抗体包含对抗原具有特异性的一个抗原结合位点和对不同的抗原具有特异性的另一个抗原结合位点。

[0376] 本文所述的单克隆抗体可以是单价的,其制备是本领域众所周知的。例如,一种方法涉及免疫球蛋白轻链和修饰的重链的重组表达。通常在Fc区中的任何点截短重链以防止重链交联。可替代地,相关的半胱氨酸残基可以被另一个氨基酸残基取代或被删除以防止交联。体外方法也适于制备单价抗体。可以使用本领域已知的常规技术来完成消化抗体以产生其片段(特别是Fab片段)。

[0377] 也可以使用合成蛋白化学中的已知方法(包括涉及交联剂的那些方法)在体外制备嵌合或杂合抗体。例如,可以使用二硫键交换反应或通过形成硫醚键来构建免疫毒素。用于该目的的合适的试剂的实例包括亚氨基硫醇酯(iminothiolate)和4-巯基丁亚氨酸甲酯(methyl-4-mercaptobutyrimidate)。

[0378] 另外,对于单克隆抗体产生请参见实例。

[0379] 多特异性抗体

[0380] 本文还提供了制备本文所述的多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的方法。可以使用本领域已知的或如本文所述的任何方法(例如实例1和3)来制备多特异性抗体。

[0381] 制备本申请的多特异性抗体的方法包括在WO 2008119353 (Genmab公司)、WO 2011131746 (Genmab公司)和由van der Neut-Kolfschoten等人(Science.2007年9月14日; 317 (5844):1554-7)的报道中描述的那些。用于制备双特异性抗体的其它平台的实施例包括但不限于BiTE (Micromet公司)、DART (MacroGenics公司)、Fcab和Mab2 (F-star公司)、Fc工程化的IgG1 (Xencor公司)或DuoBody。

[0382] 传统方法,例如所述杂交杂交瘤和化学缀合方法(Marvin和Zhu (2005) Acta Pharmacol Sin 26:649)也可以使用。在宿主细胞中两种组分的共表达(例如与抗CD137 scFv融合的抗肿瘤相关抗原全长抗体的重链和抗肿瘤相关抗原抗体的轻链)导致除了所需的双特异性抗体外还可能存在抗体产物的混合物,所述多特异性抗体然后通过例如亲和色谱法或类似方法分离。

[0383] 编码抗体部分的核酸分子

[0384] 在一些实施例中,提供了编码本文所述的抗CD137构建体或抗体部分中的任何一种多核苷酸。在一些实施例中,提供了使用本文所述的任何一种方法制备的多核苷酸。在一些实施例中,核酸分子包括编码抗体部分(例如,抗CD137抗体部分)的重链或轻链的多核苷酸。在一些实施例中,核酸分子包括编码抗体部分(例如,抗CD137抗体部分)的重链和轻链的多核苷酸。在一些实施例中,第一核酸分子包括编码重链的第一多核苷酸,并且第二核酸分子包括编码轻链的第二多核苷酸。在一些实施例中,提供了编码scFv(例如,抗CD137 scFv)的核酸分子。

[0385] 在一些此类实施例中,所述重链和轻链从一个核酸分子表达或从两个分离的核酸分子表达为两个分离的多肽。在一些实施例中,例如当抗体是scFv时,单个多核苷酸编码包含连接在一起的重链和轻链的单个多肽。

[0386] 在一些实施例中,编码抗体部分(例如,抗CD137抗体部分)的重链或轻链的多核苷酸包括编码前导序列的核苷酸序列,所述前导序列在翻译时位于所述重链或轻链的N末端。

如上所述,所述前导序列可以是天然的重链或轻链前导序列,或者可以是另一种异源的前导序列。

[0387] 在一些实施例中,所述多核苷酸是DNA。在一些实施例中,所述多核苷酸是RNA。在一些实施例中,所述RNA是mRNA。

[0388] 核酸分子可以使用本领域常规的重组DNA技术构建。在一些实施例中,核酸分子是适合在所选宿主细胞中表达的表达载体。

[0389] 核酸构建体

[0390] 在一些实施例中,提供了包含本文所述的任何一种多核苷酸的核酸构建体。在一些实施例中,提供了使用本文所述的任何方法制备的核酸构建体。

[0391] 在一些实施例中,所述核酸构建体进一步包括可操作地连接至多核苷酸的启动子。在一些实施例中,多核苷酸对应于基因,其中启动子是基因的野生型启动子。

[0392] 载体

[0393] 在一些实施例中,提供了一种载体,其包含任何编码本文所述的任何抗体部分(例如,抗CD137抗体部分)的重链和/或轻链的多核苷酸或本文所述的核酸构建体。在一些实施例中,提供了使用本文所述的任何方法制备的载体。还提供了包含编码任何抗CD137构建体(例如抗体、scFv、融合蛋白或本文所述的其它形式的构建体(例如,抗CD137 scFv))的多核苷酸的载体。此类载体包括但不限于DNA载体、噬菌体载体、病毒载体、逆转录病毒载体等。在一些实施例中,载体包括编码重链的第一多核苷酸序列和编码轻链的第二多核苷酸序列。在一些实施例中,所述重链和轻链从载体表达为两个分离的多肽。在一些实施例中,所述重链和轻链表达为单个多肽的一部分,例如比如当抗体是scFv时。

[0394] 在一些实施例中,第一载体包括编码重链的多核苷酸,并且第二载体包括编码轻链的多核苷酸。在一些实施例中,将第一载体和第二载体以相似的量(例如相似的摩尔量或相似的质量)转染到宿主细胞内。在一些实施例中,将第一载体和第二载体以在5:1和1:5之间的摩尔比或质量比转染到宿主细胞中。在一些实施例中,对于编码重链的载体和编码轻链的载体,使用在1:1和1:5之间的质量比。在一些实施例中,对于编码重链的载体和编码轻链的载体,使用1:2的质量比。

[0395] 在一些实施例中,选择针对CHO或CHO来源的细胞或NS0细胞中的多肽表达进行优化的载体。示例性的此类载体描述于例如Running Deer等人,Biotechnol.Prog.20:880-889 (2004)。

[0396] 宿主细胞

[0397] 在一些实施例中,提供了宿主细胞,其包含本文所述的任何多肽、核酸构建体和/或载体。在一些实施例中,提供了使用本文所述的任何方法制备的宿主细胞。在一些实施例中,所述宿主细胞在发酵条件下能够产生本文所述的任何抗体部分。

[0398] 在一些实施例中,本文所述的抗体部分(例如,抗CD137抗体部分)可以在原核细胞(例如细菌细胞);或在真核细胞(例如真菌细胞(例如酵母)、植物细胞、昆虫细胞和哺乳动物细胞)中表达。这种表达可以例如根据本领域已知的程序进行。可用于表达多肽的示例性真核细胞包括但不限于COS细胞(括COS 7细胞);293细胞(包括293-6E细胞);CHO细胞(包括CHO-S、DG44、Lec13 CHO细胞和FUT8 CHO细胞);**PER.C6®**细胞(Cruce11);和NS0细胞。在一些实施例中,本文所述的抗体部分(例如,抗CD137抗体部分)可以在酵母中表达。参见,例

如,美国公开号US 2006/0270045 A1。在一些实施例中,基于对抗体部分的重链和/或轻链进行所需的翻译后修饰的能力来选择特定的真核宿主细胞。例如,在一些实施例中,CHO细胞产生的多肽具有比293细胞中产生的相同多肽更高的唾液酸化水平。

[0399] 可以通过任何方法完成将一种或多种核酸引入所需宿主细胞,包括但不限于磷酸钙转染、DEAE-葡聚糖介导的转染、阳离子脂质介导的转染、电穿孔、转导、感染等。非限制性示例性方法描述于例如Sambrook等人,Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 第3版. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001)。核酸可以根据任何合适的方法在所需的宿主细胞中进行瞬时或稳定地转染。

[0400] 本发明还提供了包含本文所述的任何多核苷酸或载体的宿主细胞。在一些实施例中,本发明提供了包含抗CD137抗体的宿主细胞。能够过度表达异源DNA的任何宿主细胞都可以用于分离编码目的抗体、多肽或蛋白质的基因的目的。哺乳动物宿主细胞的非限制性实施例包括但不限于COS、HeLa和CHO细胞。也参见PCT公开号WO 87/04462。合适的非哺乳动物宿主细胞包括原核生物(例如大肠杆菌或枯草芽孢杆菌)和酵母(例如酿酒酵母、粟酒裂殖酵母;或乳酸克鲁维酵母)。

[0401] 在一些实施例中,所述抗体部分在无细胞系统中产生。非限制性示例性无细胞系统描述于例如Sitaraman等人,Methods Mol. Biol. 498:229-44 (2009); Spirin, Trends Biotechnol. 22:538-45 (2004); Endo等人, Biotechnol. Adv. 21:695-713 (2003)。

[0402] 培养基

[0403] 在一些实施例中,提供了包含本文所述的任何抗体部分、多核苷酸、核酸构建体、载体和/或宿主细胞的培养基。在一些实施例中,提供了使用本文所述的任何方法制备的培养基。

[0404] 在一些实施例中,所述培养基包括次黄嘌呤、氨基蝶呤和/或胸苷(例如,HAT培养基)。在一些实施例中,所述培养基不包括血清。在一些实施例中,所述培养基包含血清。在一些实施例中,所述培养基是D-MEM或RPMI-1640培养基。

[0405] 抗体部分的纯化

[0406] 可以通过任何合适的方法纯化抗CD137构建体(例如,抗CD137单克隆抗体或双特异性抗体)。此类方法包括但不限于使用亲和基质或疏水相互作用色谱。合适的亲和配体包括ROR1ECD和结合抗体恒定区的配体。例如,蛋白A、蛋白G、蛋白A/G或抗体亲和柱可用于结合所述恒定区并纯化包含Fc区的抗CD137构建体。疏水相互作用色谱,例如丁基或苯基柱,也可以适用于纯化某些多肽,例如抗体。离子交换色谱(例如阴离子交换色谱和/或阳离子交换色谱)也可以适用于纯化某些多肽,例如抗体。混合模式色谱(例如反相/阴离子交换、反相/阳离子交换、亲水相互作用/阴离子交换、亲水相互作用/阳离子交换等)也可以适用于纯化某些多肽,例如抗体。纯化多肽的许多方法是本领域已知的。

[0407] IV. 调节细胞组合物的方法

[0408] 如本文所述的任何抗CD137构建体(包括任何多特异性抗体)可以用于调节细胞组合物(例如,T细胞组合物)的方法中。所述方法包括使细胞组合物与抗CD137构建体接触。在一些实施例中,接触或至少部分接触是离体进行的。在一些实施例中,接触或至少部分接触在体内进行。

[0409] 接触

[0410] 在一些实施例中,所述接触在药剂的存在下进行。在一些实施例中,所述药剂结合CD3(例如,抗CD3抗体)。在一些实施例中,所述药剂结合CD28(例如,抗CD28抗体)。在一些实施例中,所述药剂包括结合CD3的药剂并且包括结合CD28的药剂。在一些实施例中,所述药剂是细胞因子(例如,IL-2、IFN γ)。在一些实施例中,所述药剂包括一种或多种(例如一种、两种、三种、四种或五种药剂)选自下组的药剂,该组由以下组成:与CD3结合的药剂,与CD28、IL-2、TNF- α 和IFN γ 结合的药剂。在一些实施例中,所述药剂包括与CD3结合的药剂(例如,抗CD3抗体)、IL-2和IFN γ 。

[0411] 在一些实施例中,所述药剂(例如,抗CD3抗体)的浓度为至少约0.01 μ g/ml、0.02 μ g/ml、0.03 μ g/ml、0.05 μ g/ml、0.075 μ g/ml、0.1 μ g/ml、0.125 μ g/ml、0.25 μ g/ml、0.5 μ g/ml、或1 μ g/ml。

[0412] 在一些实施例中,所述接触进行至少约1小时、2小时、4小时、8小时或过夜。在一些实施例中,所述接触进行至少约1天、2天或3天。在一些实施例中,所述接触进行少于约24小时、12小时或8小时。在一些实施例中,所述接触进行少于约14天、10天、7天、5天或3天。在一些实施例中,所述接触进行约0-48小时、1-24小时、2-20小时、4-16小时或8-12小时。

[0413] 在一些实施例中,所述接触在约0-20 $^{\circ}$ C的温度下进行。在一些实施例中,所述接触在约2 $^{\circ}$ C-8 $^{\circ}$ C的温度下进行。

[0414] 细胞组合物

[0415] 在一些实施例中,所述细胞组合物包括免疫细胞(例如,人免疫细胞)。在一些实施例中,所述免疫细胞包括T细胞(例如,富集的T细胞,例如,所述组合物中的细胞具有至少50%、60%、70%、80%、90%或95%的T细胞)。在一些实施例中,所述T细胞是富集的CD4+T细胞(例如,所述组合物中的T细胞具有至少50%、60%、70%、80%、90%或95%的CD4+T细胞)。在一些实施例中,所述T细胞是富集的CD8+T细胞(例如,所述组合物中的T细胞具有至少50%、60%、70%、80%、90%或95%的CD8+T细胞)。在一些实施例中,所述T细胞包括调节性T细胞(Treg细胞)。例如,所述T细胞包括至少2.5%、5%、7.5%、10%、15%或20%的调节性T细胞。在一些实施例中,所述T细胞是工程化的T细胞,其包括重组受体(例如嵌合抗原受体)。在一些实施例中,所述免疫细胞包括NK细胞(例如,富集的NK细胞,例如,所述组合物中的细胞具有至少50%、60%、70%、80%、90%或95%的NK细胞)。在一些实施例中,所述组合物中的细胞包括细胞因子诱导的杀伤(CIK)细胞。在一些实施例中,所述细胞包括任何一种或多种类型的免疫细胞,例如B细胞、树突状细胞或巨噬细胞。

[0416] 在一些实施例中,所述细胞经预处理或用药剂同时处理。在一些实施例中,所述药剂结合CD3(例如,抗CD3抗体)。在一些实施例中,所述药剂结合CD28(例如,抗CD28抗体)。在一些实施例中,所述药剂包括结合CD3的药剂并且包括结合CD28的药剂。在一些实施例中,所述药剂是细胞因子(例如,IL-2、IFN γ)。在一些实施例中,所述药剂包括一种或多种(例如一种、两种、三种、四种或五种药剂)选自下组的药剂,该组由以下组成:与CD3结合的药剂,与CD28、IL-2、TNF- α 和IFN γ 结合的药剂。

[0417] 在一些实施例中,所述药剂(例如,抗CD3抗体)的浓度为至少约0.01 μ g/ml、0.02 μ g/ml、0.03 μ g/ml、0.05 μ g/ml、0.075 μ g/ml、0.1 μ g/ml、0.125 μ g/ml、0.25 μ g/ml、0.5 μ g/ml、或1 μ g/ml。

[0418] 在一些实施例中,所述接触后将所述组合物中的细胞施用于个体。

[0419] V. 治疗或调节个体免疫应答的方法

[0420] 本文还提供了治疗个体疾病或病症或调节个体免疫应答的方法。所述方法包括将本文所述的任何抗CD137构建体施用于个体(例如,哺乳动物,例如人)。

[0421] 在一些实施例中,提供了一种治疗个体的疾病或病症或调节免疫应答的方法,其包括向所述个体施用有效量的本文公开的抗CD137构建体。在一些实施例中,所述构建体是本文所述的任何多特异性抗体。

[0422] 在一些实施例中,所述疾病或病症是癌症。在一些实施例中,所述癌症选自下组,该组由以下组成:黑素瘤、胶质母细胞瘤、卵巢癌、肺癌(例如,NSCLC)、口咽癌、结直肠癌、乳腺癌、头颈癌或白血病(例如,AML)。在一些实施例中,个体是人。在一些实施例中,所述抗体部分是嵌合的或人源化的。在一些实施例中,所述抗体部分是全长抗体。在一些实施例中,所述抗体部分具有选自下组的同种型,该组由以下组成:IgG(例如,IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)、IgM、IgA、IgD和IgE。在一些实施例中,所述抗CD137构建体的有效量为个体总体重的约0.005 μ g/kg至约5 μ g/kg。在一些实施例中,所述抗体药剂通过静脉内、腹腔内、肌肉内、皮下或口服施用。

[0423] 在一些实施例中,所述个体是哺乳动物(例如,人、非人灵长类、大鼠、小鼠、牛、马、猪、羊、山羊、狗、猫等)。在一些实施例中,个体是人。在一些实施例中,所述个体是临床患者、临床试验志愿者、实验动物等。在一些实施例中,所述个体小于约60岁(包括例如小于约50、40、30、25、20、15或10岁中的任何一者)。在一些实施例中,所述个体年龄大于约60岁(包括例如大于70、80、90或100岁中的任何一者)。在一些实施例中,所述个体被诊断患有或遗传上倾向于本文所述的一种或多种疾病或障碍(例如癌症、自身免疫性疾病或移植)。在一些实施例中,所述个体具有与本文所述的一种或多种疾病或障碍相关的一种或多种危险因素。

[0424] 调节免疫应答

[0425] 在一些实施例中,免疫应答的调节包括调节个体中的细胞群。在一些实施例中,所述细胞群是T细胞群。在一些实施例中,所述细胞群是树突细胞。在一些实施例中,所述细胞群是巨噬细胞。在一些实施例中,所述细胞群是B细胞。在一些实施例中,所述细胞群是NK细胞。在一些群中,所述细胞群是效应T细胞和/或记忆T细胞。在一些实施例中,所述细胞群是由CD44高CD62L低的表型定义的效应/记忆T细胞。

[0426] 在一些实施例中,所述调节包括促进细胞群的增殖。在一些实施例中,与施用对照构建体(例如,不结合抗CD137的抗体)后的参考细胞的增殖相比,在施用所述抗CD137构建体之后,所述细胞群的增殖增加了至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些实施例中,与施用对照构建体(例如,不结合CD137的抗体)后的参考细胞的增殖相比,在施用所述抗CD137构建体之后,所述细胞群的增殖增加了至少约1倍、1.2倍、1.5倍、1.7倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、5.5倍、或6倍。

[0427] 抗CD137多特异性抗体的用途

[0428] 在一些实施例中,提供了一种治疗个体的疾病或病症(例如癌症)的方法,其包括向所述个体施用有效量的本文公开的多特异性抗体。

[0429] 在一些实施例中,提供了一种治疗肿瘤或癌症的方法,其包括向个体施用有效量的本文公开的多特异性抗体。

[0430] CD137 x HER2多特异性抗体的用途

[0431] 在一些实施例中,提供了治疗个体中的HER2+癌症的方法,其包括向所述个体施用CD137 x HER2多特异性抗体(诸如本文所述的任何CD137 x HER2双特异性抗体)。

[0432] 在一些实施例中,所述癌症是HER2阳性的。在一些实施例中,所述癌症是HER2^高。在一些实施例中,所述HER2阳性癌症或HER2^高癌症选自乳腺癌、胃癌、卵巢癌、黑色素瘤、头颈癌、尤文肉瘤、骨肉瘤、横纹肌肉瘤和宫颈癌。

[0433] 在一些实施例中,所述HER2阳性癌症或HER2^高癌症是乳腺癌或胃癌。在一些实施例中,所述HER2^高癌症具有与NCI-N87细胞或SKBR3细胞相当或更高的平均HER2表达。

[0434] 在一些实施例中,所述HER2^高癌症具有比SK-Hep1细胞或MDA-MB-231细胞的平均HER2表达高至少50%、75%、1-倍、2-倍、3-倍、4-倍、5-倍、6-倍、7-倍、8-倍、9-倍、10-倍、12-倍、15-倍、20-倍、25-倍或30-倍的平均HER2表达。在一些实施例中,所述癌症具有至少约100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、1300、1400、1500、1600、1700、1800、1900、2000、2100、2200、2300、2400或2500的平均HER2表达(MFI)。在一些实施例中,所述HER2^高细胞具有与NCI-N87细胞或SKBR3细胞相当(诸如在其约50%至约200%、约67%至约150%、约75%至约125%的表达水平内)的HER2表达水平。

[0435] 疾病或病症

[0436] 本文所述的抗CD137构建体可用于治疗任何疾病或病症。在一些实施例中,所述疾病或病症是感染(例如细菌感染或病毒感染)。在一些实施例中,所述疾病或病症是自体免疫障碍。在一些实施例中,所述疾病或病症是癌症。在一些实施例中,所述疾病或病症是移植。

[0437] 在一些实施例中,所述抗CD137构建体用于治疗癌症的方法中。可以使用本文所述的任何方法治疗的癌症包括未血管化或尚未充分血管化的肿瘤以及血管化的肿瘤。如本申请中所述,用抗CD137构建体治疗的癌症类型包括但不限于上皮癌、母细胞瘤、肉瘤、良性和恶性肿瘤以及恶性瘤(例如肉瘤、上皮癌和黑素瘤)。成人肿瘤/癌症和儿科肿瘤/癌症也包括在内。在一些实施例中,所述癌症是实体瘤。

[0438] 在各个实施例中,所述癌症是早期癌症、非转移性癌症、原发性癌症、晚期癌症、局部晚期癌症、转移性癌症、缓解期癌症、复发性癌症、辅助治疗中的癌症、新辅助治疗中的癌症或基本上难以治疗的癌症。

[0439] 可以通过本申请的方法治疗的癌症的实例包括但不限于肛门癌、星形细胞瘤(例如小脑和脑)、基底细胞癌、膀胱癌、骨癌、(骨肉瘤和恶性纤维状组织细胞瘤)、脑瘤(例如神经胶质瘤、脑干神经胶质瘤、小脑或脑星形细胞瘤(例如星形细胞瘤、恶性神经胶质瘤、髓母细胞瘤、和胶质母细胞瘤))、乳腺癌、中枢神经系统淋巴瘤、宫颈癌、结肠癌、结直肠癌、子宫内膜癌(例如子宫癌)、食道癌、眼癌(例如眼内黑素瘤和成视网膜细胞瘤)、胃(胃部)癌、胃肠道间质瘤(GIST)、头颈癌、肝细胞癌(肝)癌(例如肝上皮癌和肝细胞瘤)、白血病、肝癌、肺癌(例如小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌、和肺鳞癌)、淋巴样肿瘤(例如淋巴瘤)、髓母细胞瘤、黑素瘤、间皮瘤、骨髓增生异常综合征、鼻咽癌、神经母细胞瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲状旁腺癌、腹膜癌、垂体瘤、淋巴瘤、直肠癌、肾癌、肾盂癌和输尿管癌(移行细胞瘤)、横纹肌肉瘤、皮肤癌(例如非黑素瘤(例如鳞状细胞上皮癌)、黑素瘤、和默克尔细胞癌)、小肠癌、鳞状细胞癌、睾丸癌、甲状腺癌、结节性硬化症和移植后淋巴细胞增生障碍(PTLD)。

[0440] 在一些实施例中,所述癌症选自下组,该组由以下组成:黑素瘤、胶质母细胞瘤、卵巢癌、肺癌(例如,NSCLC)、口咽癌、结直肠癌、乳腺癌、头颈癌或白血病(例如,AML)。

[0441] 施用所述抗CD137构建体的方法

[0442] 施用于个体的用于治疗本文所述疾病或障碍的抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的剂量可以随特定的抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)、施用方式以及正在治疗的疾病或障碍的类型而变化。在一些实施例中,所述疾病或病症的类型是癌症。在一些实施例中,所述抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的有效量是有效导致客观应答(例如部分应答或完全应答)的量。在一些实施例中,所述抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的有效量是足以导致个体中完全应答的量。在一些实施例中,所述抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的有效量是足以导致个体中部分应答的量。在一些实施例中,所述抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的有效量是足以在用抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)治疗的个体人群中产生大于约20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、64%、65%、70%、75%、80%、85%或90%中任何一个的总应答率的量。可以例如基于RECIST水平来确定个体对本文所述方法的治疗的应答。

[0443] 在一些实施例中,所述抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的有效量是足以延长个体无进展存活期的量。在一些实施例中,所述抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的有效量是足以延长个体总存活期的量。在一些实施例中,所述抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的有效量是足以在用抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)治疗的个体人群的大于约50%、60%、70%或77%的任何一个中产生临床益处的量。

[0444] 在一些实施例中,单独或与第二、第三和/或第四药剂组合的所述抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的有效量是与治疗前相同受试者的相应肿瘤大小、癌细胞数量或肿瘤生长速率相比,或与未接受治疗的其他受试者(例如接受安慰剂治疗)的相应活性相比,足以减小肿瘤大小、减少癌细胞数量、或降低肿瘤生长速率至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或100%中任何一个的量。可以使用标准方法来测量所述效应的幅度,例如使用纯化酶的体外测定、基于细胞的测定、动物模型或人体测试。

[0445] 在一些实施例中,所述抗CD137构建体的有效量(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)是低于诱导毒理学效应(即,高于临床上可接受的毒性水平的效应)的水平的量,或在将组合物施用于个体时处于可以控制或耐受潜在副作用的水平的量。

[0446] 在一些实施例中,所述抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的有效量是接近按照相同剂量方案的所述组合物的最大耐受剂量(MTD)的量。在一些实施例中,所述抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的有效量大于所述MTD的约80%、90%、95%或98%中的任何一个。

[0447] 在一些实施例中,所述抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的有效量是与未接受治疗的个体相比,减缓或抑制所述疾病或病症进展(例如,减缓或抑制至少约5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%)的量。在一些实施例中,所述疾病或病症是自身免疫性疾病。在一些实施例中,所述疾病或病症是感染。

[0448] 在一些实施例中,所述抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的有效量是与未接受治疗的个体相比,减少病症(例如移植)的副作用(自身免疫应答)(例如,减少至少约5%、10%、15%、20%、30%、40%或50%)的量。

[0449] 在以上任一方面的一些实施例中,所述抗CD137构建体(例如抗CD137单克隆或双特异性抗体)的有效量在总体重的约0.001 μ g/kg至约100mg/kg的范围内,例如,约0.005 μ g/kg至约50mg/kg、约0.01 μ g/kg至约10mg/kg或约0.01 μ g/kg至约1mg/kg。

[0450] 在一些实施例中,所述治疗包括多于一次施用所述抗CD137构建体(例如约两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或十次施用抗CD137构建体)。在一些实施例中,在约一周内进行两次施用。在一些实施例中,在第一次施用完成后至少约1、2、3、4、5、6或7天进行第二次施用。在一些实施例中,在第一次施用完成后约1-14天、1-10天、1-7天、2-6天或3-5天进行第二次施用。在一些实施例中,所述抗CD137构建体每周施用约1-3次(例如约一周一次、约一周两次或约一周三次)。

[0451] 可以通过各种途径(包括例如静脉内、动脉内、腹膜内、肺内、口服、吸入、囊内、肌肉内、气管内、皮下、眼内、鞘内、经粘膜和透皮)将所述抗CD137构建体施用于个体(例如人)。在一些实施例中,抗CD137构建体在施用于个体时被包含在药物组合物中。在一些实施例中,可以使用组合物的持续连续释放制剂。在一些实施例中,组合物静脉内施用。在一些实施例中,组合物腹膜内施用。在一些实施例中,组合物静脉内施用。在一些实施例中,组合物腹膜内施用。在一些实施例中,组合物肌肉内施用。在一些实施例中,组合物皮下施用。在一些实施例中,组合物静脉内施用。在一些实施例中,组合物口服施用。

[0452] 组合法

[0453] 本申请还提供了向个体施用抗CD137构建体以治疗疾病或病症(例如癌症)的方法,其中所述方法进一步包括施用第二种药剂或疗法。在一些实施例中,第二药剂或疗法是治疗疾病或病症的标准的或常用的药剂或疗法。在一些实施例中,第二药剂或疗法包含化学治疗剂。在一些实施例中,第二药剂或疗法包含手术。在一些实施例中,第二药剂或疗法包含放射疗法。在一些实施例中,第二药剂或疗法包含免疫疗法。在一些实施例中,第二药剂或疗法包含激素疗法。在一些实施例中,第二药剂或疗法包含血管生成抑制剂。在一些实施例中,第二药剂或疗法包含酪氨酸激酶抑制剂。在一些实施例中,第二药剂或疗法包含传染剂。

[0454] 在一些实施例中,抗CD137构建体与第二药剂或疗法同时施用。在一些实施例中,抗CD137构建体与第二药剂或疗法并行施用。在一些实施例中,抗CD137构建体与第二药剂或疗法相继施用。在一些实施例中,抗CD137构建体以与第二药剂或疗法相同的单位剂型施用。在一些实施例中,抗CD137构建体以与第二药剂或疗法不同的单位剂型施用。

[0455] 在一些实施例中,第二药剂或疗法是与HER2结合的药剂(例如,曲妥珠单抗或恩美曲妥珠单抗(trastuzumab emtansine))。在一些实施例中,第二药剂或疗法是与EGFR结合的药剂。在一些实施例中,第二药剂或疗法靶向PD-L1或PD-1(例如,抗PD-1抗体)。在一些实施例中,第二药剂是靶向CTLA-4的药剂(例如,抗CTLA-4抗体)。在一些实施例中,第二药剂包含T细胞(例如,CAR T细胞)。在一些实施例中,第二药剂包含细胞因子。在一些实施例中,第二药剂或疗法包含卡铂、紫杉醇和/或放射疗法。在一些实施例中,第二药剂或疗法包含疫苗,例如HPV疫苗。在一些实施例中,第二药剂或疗法包含EGFR抑制剂(例如,西妥昔单

抗)。在一些实施例中,第二药剂或疗法包含抗肿瘤酶抑制剂(例如,伊立替康)。参见下表3中的示例性组合疗法。

[0456] 表3.示例性组合疗法

[0457]	第二药剂/疗法	适应症
	靶向 PD-L1 或 PD-1 的药剂 (例如, 抗 PD-L1 或 PD-1 抗体)	NSCLC、胶质母细胞瘤(例如, 复发性胶质母细胞瘤)、AML
	靶向 HER2 的药剂 (例如, 抗 HER2 抗体)	乳腺癌 (例如, HER2 乳腺癌)
	靶向 CTLA-4 的药剂 (例如, 抗 CTLA-4 抗体)	黑素瘤
	免疫疗法 (例如, T 细胞或细胞因子)	卵巢癌
	放射疗法	NSCLC
	卡铂 + 紫杉醇 + 放射疗法	NSCLC
	HPV 疫苗	HPV 阳性口咽癌
	EGFR 抑制剂 (例如, 抗 EGFR 抗体) + 抗肿瘤酶抑制剂 (例如, 依立替康)	结直肠癌 (例如, 晚期结直肠癌)

[0458] VI. 组合物、试剂盒和制品

[0459] 本文还提供了包含本文所述的抗CD137构建体或抗CD137抗体部分中的任何一种的组合物(例如制剂)、编码所述抗体部分的核酸、包含编码所述抗体部分的核酸的载体或包含所述核酸或载体的宿主细胞。

[0460] 合适的本文所述的抗CD137构建体制剂可以通过将具有所需纯度的所述抗CD137构建体或抗CD137抗体部分与任选的药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂混合,以冻干制剂或水溶液的形式来获得(Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol,A.Ed.(1980))。可接受的载剂、赋形剂或稳定剂在所采用的剂量和浓度下对受体无毒,并且包括缓冲液(如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和蛋氨酸);防腐剂(例如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六甲铵;苯扎氯铵、苄索氯铵;苯酚、丁醇或苯甲醇;对羟基苯甲酸烷基酯,例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基的)多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸、或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖、或糊精;螯合剂,如EDTA;糖类,如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇;成盐反离子,如钠;金属络合物(例如锌蛋白络合物);和/或非离子表面活性剂,如TWEENTM、PLURONICSTM或聚乙二醇(PEG)。适用于皮下施用的冻干制剂描述于WO 97/04801。可以用合适的稀释剂将此类冻干制剂重构为高蛋白浓度,并且可以将所述重构的制剂皮下施用给要在此处成像、诊断或治疗的个体。

[0461] 用于体内给予的配制品必须是无菌的。这可以通过例如穿过无菌过滤膜过滤而容易地实现。

[0462] 还提供了包括本文所述的抗CD137构建体或抗CD137抗体部分中的任何一种的试

剂盒。所述试剂盒可用于本文所述的任何用于调节细胞组合物或治疗的方法。

[0463] 在一些实施例中,提供了一种试剂盒,其包括与CD137结合的抗CD137构建体。

[0464] 在一些实施例中,所述试剂盒还包括能够将所述抗CD137构建体递送至个体的装置。用于例如肠胃外递送应用的一种类型的装置是注射器,其用于将所述组合物注射到受试者体内。吸入装置也可用于某些应用。

[0465] 在一些实施例中,所述试剂盒还包括用于治疗疾病或病症(例如癌症、传染病、自身免疫疾病或移植)的治疗剂。

[0466] 本申请的试剂盒在合适的包装中。合适的包装包括但不限于小瓶、瓶子、罐子、柔性包装(例如,密封的聚酯薄膜或塑料袋)等等。试剂盒可以任选地提供其它组分,例如缓冲液和解释信息。

[0467] 因此,本申请还提供了制品。所述制品可以包括容器和所述容器上或与所述容器相关的标记或包装插入物。合适的容器包括小瓶(例如密封的小瓶)、瓶子、罐子、柔性包装等等。通常,所述容器容纳组合物,并且可以具有无菌入口(例如,所述容器可以是静脉内溶液袋或具有可被皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。所述标记或包装插入物指示所述组合物用于成像、诊断或治疗个体中的特定病症。所述标记或包装插入物将进一步包括用于将所述组合物施用于个体和使个体成像的说明。所述标记可以指示重组和/或使用的指导。容纳所述组合物的容器可以是多次使用的小瓶,其允许重复施用(例如2-6次施用)所述重构制剂。包装插入物是指通常包括在诊断产品的商业包装中的说明书,这些说明书含有关于使用此类诊断产品的适应症、用法、剂量、给予、禁忌症和/或警告的信息。另外地,所述制品可以进一步包含第二容器,所述容器包含药学上可接受的缓冲液,如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液和右旋糖溶液。其可以进一步包括从商业和用户角度所希望的其他材料,包括其他缓冲液、稀释剂、过滤器、针头和注射器。

[0468] 所述试剂盒或制品可以包括多个单位剂量的所述组合物和使用说明书,其包装的数量足以在药房(例如,医院药房和配药药房)中存储和使用。

[0469] 本领域技术人员将会认识到,在本发明的范围和精神内,多个实施例是可能的。现在将参考以下非限制性实例更详细地描述本发明。以下实例进一步说明本发明,但当然不应解释为以任何方式限制其范围。

[0470]

SEQ ID NO	基因名称	氨基酸序列
1.	克隆 3 VH CDR1	DTYIH
2.	克隆 3 VH CDR2	RIDPANGFTEYAQKFQG
3.	克隆 3 VH CDR3	GNLHYALMDY
4.	克隆 3 VL CDR1	KASQAIN TYLS
5.	克隆 3 VL CDR2	RANRMVD
6.	克隆 3 VL CDR3	LQSDDFPYT
7.	克隆 3 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNPKDTYIHWVRQAPGQGLEW MGRIDPANGFTEYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYME LSSLRSED TAVYY CTTG NLHYALMDYWGQGTSVTVS S
8.	克隆 3 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKA SQAIN TYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRMVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI

[0471]

		SSLQHEDFATYYCLQSDDFPYTFGG GTKLEIKRTV
9.	克隆 3 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNPKDTYIHWRQAPGQGLEW MGRIDPANGFTEYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPAPVAGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
10.	克隆 3 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAINITYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRMVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQHEDFATYYCLQSDDFPYTFGG GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
11.	克隆 9 VH CDR1	DTYIH
12.	克隆 9 VH CDR2	KIDPANGNTEYAQKFQG

[0472]

13.	克隆 9 VH CDR3	GNLHYALMDY
14.	克隆 9 VL CDR1	KASQAIATYLS
15.	克隆 9 VL CDR2	RANRMYD
16.	克隆 9 VL CDR3	LQFDDFPYT
17.	克隆 9 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNLKDTYIHWVRQAPGQGLE WMGKIDPANGNTEYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTTGNLHYALMDYWGQGT SVTVSS
18.	克隆 9 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRV TITCKASQAIATYLSWYQQK PGKAPKLLIYRANRMYDGV PSRFSGSGSGTDFTLTIS SSLQPEDFATYYCLQFDD FPYTFGGGTKLEIKRTV
19.	克隆 9 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNLKDTYIHWVRQAPGQGLE WMGKIDPANGNTEYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTTGNLHYALMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSVVTVPSSNFGTQ TYTCNV DHKPSNTKVDKTVERKCCVECP PCAPPVAGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTFRVVS VLTVVHQLDNLNGKEYKCKV SNKGLPAPIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPMLDSDG SFFLYSKLT

[0473]

		DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
20.	克隆 9 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAIATYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRMYDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQFDDFPYTFGG GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTESLNRGEC
21.	克隆 23 VH CDR1	DTYIH
22.	克隆 23 VH CDR2	KIDPANGQTEYAQKFQG
23.	克隆 23 VH CDR3	GNLHYALMDY
24.	克隆 23 VL CDR1	KASQAINITYLS
25.	克隆 23 VL CDR2	RANRMVG
26.	克隆 23 VL CDR3	LQYRDFPYT
27.	克隆 23 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNIKDTYIHWVRQAPGQGLEW MGKIDPANGQTEYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS S
28.	克隆 23 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAINITYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRMVGGVPSRFSGSGSGTDFTLTI

[0474]

		SSLQPEDFATYYCLQYRDFPYTFGG GTKLEIKRTV
29.	克隆 23 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNIKDTYIHWVRQAPGQGLEW MGKIDPANGQTEYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYY CTTGNLHYALMDYWGGQTSVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTV ERKCCVECPPEPPVAGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
30.	克隆 23 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRMVGGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYRDFPYTFGG GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNFPREAKVQWVKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
31.	克隆 25 VH CDR1	DTYIH

[0475]

32.	克 隆 25 VH CDR2	RIDPANGNSEYAQKFQG
33.	克 隆 25 VH CDR3	GNLHYGLMDY
34.	克 隆 25 VL CDR1	KASQAIN TYLS
35.	克 隆 25 VL CDR2	RDNRKVD
36.	克 隆 25 VL CDR3	LQYQDFPYK
37.	克隆 25 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNIQDTYIHWVRQAPGQGLEW MGRIDPANGNSEYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYY CTTGNLHYGLMDYWGQGTSVTVS S
38.	克隆 25 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRV TITCKA SQAIN TYLSWYQQKPGKAPKLLIYR DNRKVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYQDFPYKFG GGTKLEIKRTV
39.	克隆 25 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNIQDTYIHWVRQAPGQGLEW MGRIDPANGNSEYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYY CTTGNLHYGLMDYWGQGTSVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE

[0476]

		DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
40.	克隆 25 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR DNRKVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYQDFPYKFG GGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
41.	克隆 33 VH CDR1	DTYIQ
42.	克隆 33 VH CDR2	KIDPANGNTMYAQKFQG
43.	克隆 33 VH CDR3	GNLHYALMDY
44.	克隆 33 VL CDR1	KASQTINTYLS
45.	克隆 33 VL CDR2	RANRMPD
46.	克隆 33 VL CDR3	LQYDDFPYT
47.	克隆 33 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNIKDTYIQQWVRQAPGQGLEW MGKIDPANGNTMYAQKFQGRVTM

[0477]

		TRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYY CTTGNLHYALMDYWGQGSTVTVS S
48.	克隆 33 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICKA SQTINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRMPDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYDDFPYTFGG GTKLEIKRTV
49.	克隆 33 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNIKDTYIQLWVRQAPGQGLEW MGKIDPANGNTMYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYY CTTGNLHYALMDYWGQGSTVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
50.	克隆 33 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICKA SQTINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRMPDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYDDFPYTFGG GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK

[0478]

		SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNREGC
51.	克 隆 35 VH CDR1	DTYIH
52.	克 隆 35 VH CDR2	RIDPANGYTEYAQKFQG
53.	克 隆 35 VH CDR3	GNLHYALMDY
54.	克 隆 35 VL CDR1	KASQAIATYLS
55.	克 隆 35 VL CDR2	RANRMVD
56.	克 隆 35 VL CDR3	LQFQDFPYT
57.	克隆 35 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNINDTYIHWVRQAPGQGLEW MGRIDPANGYTEYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS S
58.	克隆 35 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCKA SQAIATYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRMVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQFQDFPYTFGG GTKLEIKRTV
59.	克隆 35 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNINDTYIHWVRQAPGQGLEW MGRIDPANGYTEYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS

[0479]

		SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
60.	克隆 35 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAIATYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRMVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQFQDFPYTFGG GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
61.	克隆 5 VH CDR1	DTYIH
62.	克隆 5 VH CDR2	KIDPANGNTEYAQKFQG
63.	克隆 5 VH CDR3	GNLHYGLMDY
64.	克隆 5 VL CDR1	KASQAINITYHS
65.	克隆 5 VL CDR2	RVNRMVD
66.	克隆 5 VL CDR3	LQYLDFPYT
67.	克隆 5 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNIRDYIHWVRQAPGQGLEW MGKIDPANGNTEYAQKFQGRVTM

[0480]

		TRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYY CTTGNLHYGLMDYWGQGSTVTVS S
68.	克隆 5 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAINTYHSWYQQKPGKAPKLLIY RVNRMVDGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCLQYLDFPYTF GGGTKLEIKRTV
69.	克隆 5 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNIRDYIHWVRQAPGQGLEW MGKIDPANGNTEYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYY CTTGNLHYGLMDYWGQGSTVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
70.	克隆 5 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAINTYHSWYQQKPGKAPKLLIY RVNRMVDGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCLQYLDFPYTF GGGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQ

		LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
71.	克隆 6 VH CDR1	DTYIH
72.	克隆 6 VH CDR2	KIDPANGLTEYAQKFQG
73.	克隆 6 VH CDR3	GNLHYALMDY
74.	克隆 6 VL CDR1	KASQAIATYLS
75.	克隆 6 VL CDR2	RANRMGD
76.	克隆 6 VL CDR3	LQYLDFPYT
77.	克隆 6 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNICDTYIHWVRQAPGQGLEW MGKIDPANGLTEYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS S
78.	克隆 6 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCKA SQAIATYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRMGDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLLPEDFATYYCLQYLDFPYTFGG GTKLEIKRTV
79.	克隆 6 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNICDTYIHWVRQAPGQGLEW MGKIDPANGLTEYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPVCPAPPVAGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE

[0481]

[0482]

		DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
80.	克隆 6 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAIATYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRMGDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLLPEDFATYYCLQYLDFFPYTFGG GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
81.	克隆 17 VH CDR1	DTYIH
82.	克隆 17 VH CDR2	KIDPANGQTEYAQKFQG
83.	克隆 17 VH CDR3	GNLHYALMDY
84.	克隆 17 VL CDR1	KASQATNTYLS
85.	克隆 17 VL CDR2	RVNRVVD
86.	克隆 17 VL CDR3	LQYRDFPYT
87.	克隆 17 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFCIKDTYIHWVRQAPGQGLEW MGKIDPANGQTEYAQKFQGRVTM

[0483]

		TRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYY CTTGNLHYALMDYWGGQTSVTVS S
88.	克隆 17 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCKA SQATNTYLSWYQQKPGKAPKLLIY RVNRVVDGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYCLQYRDFPYTFG GGTKLEIKRTV
89.	克隆 17 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFCIKDTYIHWVRQAPGQGLEW MGKIDPANGQTEYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYY CTTGNLHYALMDYWGGQTSVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
90.	克隆 17 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCKA SQATNTYLSWYQQKPGKAPKLLIY RVNRVVDGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYCLQYRDFPYTFG GGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL

[0484]

		KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
91.	克隆 18 VH CDR1	DTYIH
92.	克隆 18 VH CDR2	KIDPANGMTEYAQKFQG
93.	克隆 18 VH CDR3	GNLHYALMDY
94.	克隆 18 VL CDR1	KASQAPNTYLS
95.	克隆 18 VL CDR2	RANRMVD
96.	克隆 18 VL CDR3	LQYEDFPYT
97.	克隆 18 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQ ASGFNIKDTYIHWVRQAPGQGLGW MGKIDPANGMTEYAQKFQGRVT TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS S
98.	克隆 18 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAPNTYLSWYQQKPGKAPKLLIY RANRMVDGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCLQYEDFPYTF GGGTKLEIKRTV
99.	克隆 18 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQ ASGFNIKDTYIHWVRQAPGQGLGW MGKIDPANGMTEYAQKFQGRVT TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS

[0485]

		SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
100.	克隆 18 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAPNTYLSWYQQKPGKAPKLLIY RANRMVDGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCLQYEDFPYTF GGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
101.	克隆 19 VH CDR1	DTYIH
102.	克隆 19 VH CDR2	KIDPANGATEYAQKFQG
103.	克隆 19 VH CDR3	GNLHYGLMDY
104.	克隆 19 VL CDR1	KASQAIN TYLS
105.	克隆 19 VL	RANRMGD

	CDR2	
106.	克 隆 19 VL CDR3	LQSDDFPYT
107.	克隆 19 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNMKDTYIHWVRQAPGQGLE WMGKIDPANGATEYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAV YYCTTGNLHYGLMDYWGQGTSVT VSS
108.	克隆 19 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRMGDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQSDDFPYTFGG GTKLEIKRTV
109.	克隆 19 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNMKDTYIHWVRQAPGQGLE WMGKIDPANGATEYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAV YYCTTGNLHYGLMDYWGQGTSVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDK TVERKCCVECPAPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISK KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH

[0486]

[0487]

		YTQKSLSLSPGK
110.	克隆 19 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRMGDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQSDDFPYTFGG GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
111.	克隆 20 VH CDR1	DTYIH
112.	克隆 20 VH CDR2	KIDPANGDTEYAQKFQG
113.	克隆 20 VH CDR3	GNLHYALMDY
114.	克隆 20 VL CDR1	KASQAINTYLS
115.	克隆 20 VL CDR2	RANRAVD
116.	克隆 20 VL CDR3	LQYLDFPYT
117.	克隆 20 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNMKDTYIHWVRQAPGQGLE WMGKIDPANGDTEYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAV YYCTTGNLHYALMDYWGQGTSVT VSS
118.	克隆 20 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRAVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYLDFPYTFGG

[0488]

		GTKLEIKRTV
119.	克隆 20 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNMKDTYIHWVRQAPGQGLE WMGKIDPANGDTEYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAV YYCTTGNLHYALMDYWGQGTSTV VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDK TVERKCCVECPPCAPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISK KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLT VKSRWQQGNVFSQSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK
120.	克隆 20 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQAINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR ANRAVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYLDFPYTFGG GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
121.	克隆 2-9 VH CDR1	DTYIH
122.	克隆 2-9 VH	RIDPANGNSEYAQKFQG

[0489]

	CDR2	
123.	克隆 2-9 VH CDR3	GNLHYALMDY
124.	克隆 2-9 VL CDR1	KASQPINTYLS
125.	克隆 2-9 VL CDR2	RVNRKVD
126.	克隆 2-9 VL CDR3	LQYLDFPYT
127.	克隆 2-9 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKASCK ASGFNIQDTYIHWVRQAPGQGLEW MGRIDPANGNSEYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS S
128.	克隆 2-9 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQPINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR VNRKVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYLDFPYTFGG GTKLEIKRTV
129.	克隆 2-9 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKASCK ASGFNIQDTYIHWVRQAPGQGLEW MGRIDPANGNSEYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPVCPAPPVAGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR

[0490]

		EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
130.	克隆 2-9 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQPINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR VNRKVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYLDFPYTFGG GTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYS LSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
131.	克隆 2-11 VH CDR1	DTYIH
132.	克隆 2-11 VH CDR2	KIDPANGGTEYAQKFQG
133.	克隆 2-11 VH CDR3	GNLHYALMDY
134.	克隆 2-11 VL CDR1	KASQPINTYLS
135.	克隆 2-11 VL CDR2	RVNRKVD
136.	克隆 2-11 VL CDR3	LQYVDFPYT
137.	克隆 2-11 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNIKDTYIHWVRQAPGQGLEW MGKIDPANGGTEYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY

[0491]

		CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS S
138.	克隆 2-11 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQPINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR VNRKVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYVDFPYTFGG GTKLEIKRTV
139.	克隆 2-11 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNIKDTYIHWVRQAPGQGLEW MGKIDPANGGTEYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
140.	克隆 2-11 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQPINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR VNRKVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYVDFPYTFGG GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV

[0492]

		DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
141.	共有 VH CDR1	DTYIH
142.	共有 VH CDR2	XIDPANGXTEYAQKFQG
143.	共有 VH CDR3	GNLHYXLMDY
144.	共有 VL CDR1	KASQXXXTYXS
145.	共有 VL CDR2	RXNRXXD
146.	共有 VL CDR3	LQYXDFPYT
147.	共有 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFXXXDTYIHWVRQAPGQGLE WMGXIDPANGXTEYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTTGNLHYXLMDYWGQGT SVTVSS
148.	共有 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQXXXTYXSWYQQKPGKAPKLLIY RXNRXXDGVPSRFSGSGSGTDFLT LTISSLQPEDFATYYCLQYXDFPYT FTGGGTKLEIKRTV
149.	共有 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFXXXDTYIHWVRQAPGQGLE WMGKIDPANGXTEYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTTGNLHYXLMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTPVSSNFGTQTYTCNV DVKPSNTKVDKTVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTK

[0493]

		PREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISK KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
150.	共有 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQXXXTYXSWYQQKPGKAPKLLIY RXNRXXDGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYCLQYXDFPYTFG GGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
151.	29.39/44.21 VH CDR1	DTYIH
152.	3.10 VH CDR1	TYDVS
153.	30.19/6.62 VH CDR1	DYSIH
154.	29.39/44.21 VH CDR2	KIDPANGNTEYDLNFQG
155.	3.10 VH CDR2	VIWTGGGTNYNSTFMS
156.	30.19/6.62 VH CDR2	WMNTETGEPAYADDFKG
157.	29.39/44.21 VH CDR3	GNLHYLMDY
158.	3.10 VH CDR3	VDY
159.	30.19/6.62 VH CDR3	SSYGYFDY

[0494]

160.	29.39/30.19 VL CDR1	KASQAIN TYLS
161.	6.62 VL CDR1	RSSQTLEHINGNTYLE
162.	44.21 VL CDR1	RSSQSLVHSNGNTYLH
163.	3.10 VL CDR1	RSSQSLVHNNGNTYLH
164.	29.39/30.19 VL CDR2	RANRMVD
165.	6.62 VL CDR2	KVSDRFS
166.	44.21/3.10 VL CDR2	KVSNRFS
167.	29.39/30.19 VL CDR3	LQYDDFPYT
168.	6.62 VL CDR3	FQGS HFPLT
169.	44.21/3.10 VL CDR3	SQNAHVPWT
170.	29.39/44.21 VH	EVKLMESGAELVKPGASVKLSCTA SGFNIKDTYIHWVKQRPEQGLEWIG KIDPANGNTEYDLNFQGRATITADT SSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCTTG NLHY YLMDYWGQGTSVTSLE
171.	30.19/6.62 VH	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKAS GYSFTDYSIHWVKQAPGKGLKWM GWMNTETGEPAYADDFKGRFAFSL ETAASTAYLQINHLRDEDTATYFCT RSSYGYFDYWGQGTTTLTVSS
172.	3.10 VH	EVQLVESGPGLVAPSQSLSITCTVS GFSLT TYDVS WIRQPPGKGLEWLG VIWTGGGTNYNSTFMSRLTISKDNS KNQVFLKMNSLQTDDTATYYCVR VDYWGQGTTTLTVSR
173.	29.39/30.19 VL	DIVMTQSPSSMYASLGERVTITCKA SQAIN TYLSWFQQKPGKSPKTLIYR

[0495]

		ANRMVDGVPSRFSGSGSGQDYSLT ISSLDYEDMGIYYCLQYDDFPYTFG GGTKLEIKR
174.	6.62 VL	DVVMQTQTPLSLPVSLGDQAAISCRS SQTLEHINGNTYLEWYLQKPGQSP KLLIYKVSDRFSGV PDRFSGSGSGT GFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHF PLTFGGGKLELK
175.	3.10 VL	DVVMQTQTPLSLPVSLGGHASISCRS SQSLVHNNGNTYLHWFLQKPGQSP KLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDLGVYFCSQNAHV PWTFGGGKLEIKR
176.	44.21 VL	DIVMTQTPLSLPVSLGDHASISCRSS QSLVHSNGNTYLHWFLQKPGQSPK LLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTD FTLKISRVEAEDLGVYFCSQNAHVP WTFGGGKTKRSNE
177.	共有人源化 29.39 VH CDR1	GFX ₁ X ₂ X ₃ DTYI X ₄ 其中 X ₁ =N 或 C; X ₂ =I、P、L 或 M; X ₃ =K、N、R、C 或 Q; X ₄ =H 或 Q。
178.	共有人源化 29.39 VH CDR2	X ₁ IDPANGX ₂ X ₃ X ₄ 其中 X ₁ =K 或 R; X ₂ =N、G、F、Y、 A、D、L、M 或 Q; X ₃ =S 或 T; X ₄ =E 或 M。
179.	共有人源化 29.39 VH CDR3	GNLHYX ₁ LMD 其中 X ₁ =Y、A 或 G。
180.	共有人源化 29.39 VL CDR1	KASQX ₁ X ₂ X ₃ TYX ₄ S 其中 X ₁ =A、P 或 T; X ₂ =I、T 或 P; X ₃ =N 或 A; X ₄ =L、G 或 H。
181.	共有人源化 29.39 VL CDR2	RX ₁ NRX ₂ X ₃ X ₄ 其中 X ₁ =A、Y、V 或 D; X ₂ =M、K、

		V 或 A; X ₃ =V、P、Y 或 G; X ₄ =D 或 G。
182.	共 有 人 源 化 29.39 VL CDR3	LQX ₁ X ₂ DFPYX ₃ 其中 X ₁ =Y、S 或 F; X ₂ =D、V、L、R、 E 或 Q; X ₃ =T 或 K。
183.	抗 HER2 HC-抗 CD137 scFv-IgG4-PAA (HCC)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGKSGSGSGSGSGSGDIQ MTQSPSSVSASVGDRVTITCKASQP INTYLSWYQQKPGKAPKLLIYRVN RKVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCLQYLDFPYTFGGGT KLEIKRGGGGSGGGGSGGGGSGGG QEQLVQSGAEVKKPGASVKASCKA SGFNIQDTYIHWVRQAPGQGLEWM GRIDPANGNSEYAQKFQGRVTMTR

[0496]

[0497]

		DTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCT TGNLHYALMDYWGQGTSVTVSS
184.	抗 HER2 HC-抗 CD137 scFv-IgG1 (HCC)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDТАVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGTЛTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGТАAL GCLVKDYFPEPVTVSWSNGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDDKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGKSGGSGGSGG SGDIQMTQSPSSVSASVGDRVITC KASQPINTYLSWYQQKPKGAPKLLI YRVNRKVDGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCLQYLDFPYTF GGGTKLEIKRGGGGSGGGGSGGGG SGGGQEQLVQSGAEVKKPGASVKA SCKASGFNIQDTYIHWVRQAPGQG LEWMGRIDPANGNSEYAQKFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТ AVYYCTTGNLHYALMDYWGQGTS VTVSS

[0498]

185.	抗 HER2 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA SQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
186.	抗 HER2 CDR-H1 (Kabat)	DTYIH
187.	抗 HER2 CDR-H1 (Chothia)	GFNIKDT
188.	抗 HER2 CDR-H1 (AbM)	GFNIKDTYIH
189.	抗 HER2 CDR-H1 (Contact)	KDTYIH
190.	抗 HER2 CDR-H2 (Kabat)	RIYPTNGYTRYADSVKG
191.	抗 HER2 CDR-H2 (Chothia)	PTNGY
192.	抗 HER2 CDR-H2 (AbM)	RIYPTNGYTR
193.	抗 HER2 CDR-H2 (Contact)	WVARIYPTNGYTR
194.	抗 HER2 CDR-H3	WGGDGFYAMDY

[0499]

	(Kabat/Abm/Chothia)	
195.	抗 HER2 CDR-H3 (Contact)	SRWGGDGFYAMD
196.	抗 HER2 CDR-L1 (Kabat/Abm/Chothia)	RASQDVNTAVA
197.	抗 HER2 CDR-L1 (Contact)	NTAVAWY
198.	抗 HER2 CDR-L2 (Kabat/Abm/Chothia)	SASFLYS
199.	抗 HER2 CDR-L2 (Contact)	LLIYSASFLY
200.	抗 HER2 CDR-L3 (Kabat/Abm/Chothia)	QQHYTTPPT
201.	抗 HER2 CDR-L3 (Contact)	QQHYTTPP
202.	抗 HER2 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSS
203.	抗 HER2 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA

[0500]

		SQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQ GTKVEIKR
204.	抗 HER2 HC-(GRPGS)4- 抗 CD137 scFv-IgG4 (HCC)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLGKGRPGSGRPGSGRPGSG RPGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTI TCKASQPINTYLSWYQQKPGKAPK LLIYRVNRKVDGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCLQYLDFPY TFGGGTKLEIKRGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKASCKASGFNI QDTYIHWVRQAPGQGLEWMGRID PANGNSEYAQKFQGRVTMTRDTST

[0501]

		STVYMELSSLRSEDNAVYYCTTGN LHYALMDYWGQGTSVTVSS
205.	抗 HER2 HC-(GRPGS)4- 抗 CD137 scFv-IgG4-PAA (HCC)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDNAVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGKGRPGSGRPGSGRPGS GRPGSDIQMTQSPSSVSASVGDRV ITCKASQPINTYLSWYQQKPKGAPK LLIYRVNRKVDGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCLQYLD FTY TFGGGTKLEIKRGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKASCKASGFNI QDTYIHWVRQAPGQGLEWMGRID PANGNSEYAQKFQGRVTMTRDTST STVYMELSSLRSEDNAVYYCTTGN LHYALMDYWGQGTSVTVSS

[0502]

206.	示例性接头(接头 7)	GGGGS GGGGS GGGGS
207.	示例性接头	GGGSG
208.	示例性接头	GSGGS GGS GGS G
209.	示例性接头	GGSGGGSG
210.	示例性接头	GGSGGGSGGGSG
211.	示例性接头	GSGGS G
212.	示例性接头	GSGGS GGS G
213.	示例性接头	GSGSGSG
214.	示例性接头	GGGGS GGGGS GGGGS GGG
215.	示例性接头	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS
216.	示例性接头(接头 10)	PAPAP
217.	示例性接头	IKRTVAA
218.	示例性接头	VSSASTK
219.	示例性接头	AEAAAKA
220.	示例性接头	AEAAAKEAAKA
221.	示例性接头	GRPGS GRPGS
222.	示例性接头	GRPGS GRPGS GRPGS GRPGS
223.	示例性接头	GRGGS GRGGS
224.	示例性接头	GRGGS GRGGS GRGGS GRGGS
225.	示例性接头	GKPGS GKPGS
226.	示例性接头	GKPGS GKPGS GKPGS GKPGS
227.	示例性接头	GEPGS GEPGS
228.	示例性接头	GEGGS GEGGS GEGGS GEGGS
229.	示例性接头	GDPGS GDPGS
230.	示例性接头	GDPGS GDPGS GDPGS GDPGS
231.	克隆 2-9-1 VH CDR1	DTYIH
232.	克隆 2-9-1 VH	RIDPASGNSEYAQKFQG

[0503]

	CDR2	
233.	克隆 2-9-1 VH CDR3	GNLHYALMDY
234.	克隆 2-9-1 VL CDR1	KASQPINTYLS
235.	克隆 2-9-1 VL CDR2	RVNRKVD
236.	克隆 2-9-1 VL CDR3	LQYLDFPYT
237.	克隆 2-9-1 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKASCK ASGFNIQDTYIHWVRQAPGQGLEW MGRIDPASGNSEYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS S
238.	克隆 2-9-1 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQPINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR VNRKVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYLDFPYTFGG GTKLEIKRTV
239.	克隆 2-9-1 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKASCK ASGFNIQDTYIHWVRQAPGQGLEW MGRIDPASGNSEYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTGPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

[0504]

		KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKAFPAIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
240.	克隆 2-9-1 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQPINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR VNRKVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYLDFPYTFGG GTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYS LSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
241.	克隆 2-9-2 VH CDR1	DTYIH
242.	克隆 2-9-2 VH CDR2	RIDPASGNSEYAQKFQG
243.	克隆 2-9-2 VH CDR3	GNLHYALMDY
244.	克隆 2-9-2 VL CDR1	KASQPINTYLS
245.	克隆 2-9-2 VL CDR2	RVNRKVD
246.	克隆 2-9-2 VL CDR3	LQYLDFPYT
247.	克隆 2-9-2 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNIQDITYIHWVRQAPGQGLEW MGRIDPASGNSEYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYY

[0505]

		CTTGNLHYALMDYWGQGTSTVTS S
248.	克隆 2-9-2 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQPINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR VNRKVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYLDFPYTFGG GTKLEIKRTV
249.	克隆 2-9-2 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGFNIQDTYIHWVRQAPGQGLEW MGRIDPASGNSEYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAIVYY CTTGNLHYALMDYWGQGTSTVTS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLGK
250.	克隆 2-9-2 LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKA SQPINTYLSWYQQKPGKAPKLLIYR VNRKVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQYLDFPYTFGG GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV

[0506]

		DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
251.	抗 HER2 HC-抗 CD137-1 scFv-IgG4 (HCC)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLGKSGSGSGSGSGSGDIQ MTQSPSSVSASVGDRVTITCKASQP INTYLSWYQQKPGKAPKLLIYRVN RKVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCLQYLDFPYTFGGGT KLEIKRGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEV KKPGASVKASCKASGFNIQDTYIH WVRQAPGQGLEWMGRIDPASGNS EYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDVAVYYCTTGNLHYALM

[0507]

		DYWGQGTSVTVSS
252.	抗 HER2 HC-抗 CD137-1 scFv-IgG4-PAA (HCC)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGKSGSGSGSGSGSGDIQ MTQSPSSVSASVGDRVITITCKASQP INTYLSWYQQKPGKAPKLLIYRVN RKVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCLQYLDYFPYTFGGGT KLEIKRGGGSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEV KKPGASVKASCKASGFNIQDTYIH WVRQAPGQGLEWMGRIDPASGNS EYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDVAVYYCTTGNLHYALM DYWGQGTSVTVSS
253.	抗 HER2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA

[0508]

	HC-(GRPGS)4- 抗 CD137-2 scFv-IgG4 (HCC)	SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLGKGRPGSGRPGSGRPGSG RPGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTI TCKASQPINTYLSWYQQKPGKAPK LLIYRVNRKVDGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCLQYLDFPY TFGGGTKEIKRGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNI QDTYIHWVRQAPGQGLEWMGRID PASGNSEYAQKFQGRVTMTRDTST STVYMELSSLRSED TAVYYCTTGN LHYALMDYWGQGTSTVTVSS
254.	抗 HER2 HC-(GRPGS)4- 抗 CD137-2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD

[0509]

	scFv-IgG4-PAA (HCC)	TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGKGRPGSGRPGSGRPGS GRPGSDIQMTQSPSSVSASVGDRV ITCKASQPINTYLSWYQQKPGKAPK LLIYRVNRKVDGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCLQYLD FTFYTFGGGTGLEIKRGGGGSGGGGSGG GGSGGGGGSGGGGGSGGGGSGVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNI QDTYIHWVRQAPGQGLEWMGRID PASGNSEYAQKFQGRVTMTRDTST STVYMELSSLRSEDTAVYYCTTGN LHYALMDYWGQGTSTVTVSS
--	------------------------	--

[0510] 实例

[0511] 以下实例仅是本申请的示例,因此不应视为以任何方式限制本申请。以下实例和详细描述是作为说明而并不是作为限制而提供的。

[0512] 实例1:抗CD137抗体的产生

[0513] A.从小鼠杂交瘤中产生抗CD137抗体

[0514] 在BALB/c小鼠中产生了针对人类CD137 (4-1BB) 受体的完全人单克隆抗体。在RIBI佐剂(Ribi Immunochemical)中,人CD137的胞外结构域被用于免疫BALB/c小鼠。在融合之前,相同量的抗原被用于静脉内(i.v.)对小鼠进行加强免疫。按照标准程序,来自具有足够huCD137抗体滴度的免疫小鼠的淋巴结被与小鼠骨髓瘤细胞融合。

[0515] 杂交瘤筛选。通过ELISA检测与huCD137的结合：为了鉴定分泌抗人CD137抗体的杂交瘤，将ELISA板 (Corning) 用在PBS中的1 μ g/ml人CD137-Fc融合蛋白在4℃过夜包被。然后将板用含0.5% Tween-20的PBS (PBS-T) 洗涤3次，接着在室温下用PBS-T加5% 奶封闭60分钟。将在PBS中以1:3稀释的30微升上清液加入所述板中，并在环境温度下孵育1-2小时。之后，如前所述洗涤板，并通过与辣根过氧化物酶 (HRP) 缀合的山羊F(ab')₂抗人IgG来检测抗体的结合。板用TMB显影并在450nm下读数。从所述筛选中鉴定出的最佳的抗CD137杂交瘤抗体 (克隆号29.39、44.21、3.10、30.19和6.62) 的氨基酸序列显示在序列表 (SEQ ID NO:151-176) 和表4中。

[0516] 表4. 杂交瘤抗CD137抗体序列表

克隆名称	HC-CDR1 (SEQ ID NO)	HC-CDR2 (SEQ ID NO)	HC-CDR3 (SEQ ID NO)	LC-CDR1 (SEQ ID NO)	LC-CDR2 (SEQ ID NO)	LC-CDR3 (SEQ ID NO)
[0517] 29.39	151	154	157	160	164	167
44.21	151	154	157	162	166	169
3.10	152	155	158	163	166	169
30.19	153	156	159	160	164	167
6.62	153	156	159	161	165	168

[0518] B. 抗CD137抗体的人源化

[0519] 一个代表性克隆29.39被选用于框架的人源化。简而言之，克隆的序列被用于进行Igbblast来搜索人种系基因的数据库。选择理想的种系序列，并对框架序列进行突变以将框架序列从小鼠序列改变为人序列。对于重链，使用了人种系IGHV1-46*01，并在框架上进行了以下突变：E1Q、K3Q、M5V、E6Q、L11V、20V、T23K、K38R、R40A、E42G、I48M、D60A、L61Q、N62K、A67V、I69M、A71R、S75T、N76S、A78V、L80M、Q81E、T83R、S111V、L112S、和E113S。对于轻链，使用了人种系IGKV1-12*01，并在框架上进行了以下突变：V3Q、M11V、Y12S、L15V、E17D、F36Y、S43A、T46L、Q69T、Y71F、S72T、D79Q、Y80P、M83F、G84A、和I85T。构建体被克隆到表达载体中，并由SS320细胞产生抗体蛋白。

[0520] C. 亲和力成熟、选择和修饰

[0521] 对人源化的29.39克隆进行亲和力成熟。设计用于使每个CDR区的氨基酸单突变的引物。使用组装PCR制备突变文库，并将其克隆到噬菌粒载体中。通过转化TG1细胞和克隆的DNA测序来测量文库质量。使用辅助噬菌体进行噬菌体生产，并使用涂有生物素化的人CD137ECD或食蟹猴CD137 ECD的链霉亲和素偶联的免疫磁珠 (Dynabeads) 进行噬菌体淘选。经过三轮淘选后，洗脱淘选产物用于感染SS320细胞，挑取菌落并在具有IPTG的2YT培养基中培养。通过ELISA测定法检查上清液中Fab的结合亲和力。选择了针对人和食蟹猴CD137的阳性克隆。最佳14个结合物 (克隆号3、9、23、25、33、35、5、6、17、18、19、20、2-9和2-11) 及其CDR (Kabat)、VH、VL、重链 (HC) 和轻链 (LC) 显示在序列表 (SEQ ID NO:1-140) 中。这些CDR (略有改变的Kabat)、VH、VL、重链 (HC) 和轻链 (LC) 的共有序列显示在序列表 (SEQ ID NO:141-150) 中。此外，合成了2-9的亚克隆，其包含不同的IgG亚型。它们的CDR区 (Kabat)，VH，VL，重链 (HC) 和轻链 (LC) 列于序列表 (SEQ ID NOS:231-250)。

[0522] 实例2: 示例性抗CD137抗体的表征

[0523] A. 亲和力评估

[0524] 使用生物层干涉测量术来测量抗CD137抗体结合动力学的缔合和解离常数。在30℃下在FortieBio Octet Red 96上测量结合动力学,并用FortieBio数据分析(FortieBio Data Analysis)9.0软件进行分析。抗人IgG Fc (AHC) 传感器用于捕获抗CD137抗体或对照抗体。在数据处理期间,只有动力学缓冲液的孔被设置为用于减去背景的参考孔。针对每种抗体-抗原结合,数据用1:1 Langmuir模型针对缔合和解离使用Rmax连接的整体拟合进行拟合。人CD137-his是具有与人CD137抗原C末端融合的聚组氨酸标签的重组CD137抗原(北京义翘神州生物技术有限公司(Sino Biological),10041-H08H)。食蟹猴CD137-his是具有与食蟹猴CD137抗原C末端融合的聚组氨酸标签的重组CD137抗原(北京义翘神州生物技术有限公司,90847-K02H-100)。

[0525] 如图1A-1B和表5所示,抗CD137克隆2-9 IgG2有效地结合人CD137和食蟹猴CD137,其KD分别为0.933nM和2.76nM。使用小鼠CD137的测定未显示有效结合(数据未显示)。

[0526] 表5. 示例性抗CD137单克隆抗体的结合亲和力

[0527]

样本	抗原	Kd (M)	Kon (1/Ms)	Koff (1/s)
抗CD137 2-9 IgG2	人CD137-his	9.33E-10	9.31E+04	8.69E-04
抗CD137 2-9 IgG2	食蟹猴CD137-His	2.76E-09	2.58E+05	7.12E-04

[0528] 图1C-1D和表6显示另一轮Octect结合试验中抗CD137克隆的结合结果,其中2-9 IgG2和2-9-1 IgG1 SELF有效地结合人CD137,其KD分别为5.50nM和6.55nM。此结果证明克隆2-9 IgG2和2-9-1 IgG1 SELF对人CD137有相似的结合亲和力。

[0529] 表6. 示例性抗CD137单克隆抗体的结合亲和力

[0530]

样本	抗原	Kd (M)	Kon (1/Ms)	Koff (1/s)
2-9 IgG2	人CD137-his	5.50E-09	5.71E+04	3.14E-04
2-9-1 IgG1 SELF	人CD137-His	6.55E-09	5.20E+04	3.40E-04

[0531] Octect结合试验又被用于比较克隆2-9-1 IgG1 SELF和2-9-2 IgG4的结合亲和力如图1E-1F和表7显示,2-9-1 IgG1 SELF和2-9-2 IgG4有效地结合人CD137,其KD分别为11.1nM和12.9nM。此结果证明克隆2-9-1 IgG1 SELF和2-9-2 IgG4对人CD137有相似的结合亲和力。

[0532] 表7. 示例性抗CD137单克隆抗体的结合亲和力

[0533]

样本	抗原	Kd (M)	Kon (1/Ms)	Koff (1/s)
2-9-1 IgG1 SELF	人CD137-his	1.11E-08	5.41E+04	6.00E-04
2-9-2 IgG4	人CD137-His	1.29E-08	6.22E+04	8.01E-04

[0534] B. CD137报道基因测定

[0535] 当前,若干种现有抗CD137抗体正在临床进行中。但是,这些抗体要么有安全性隐患要么缺乏功效。例如,一种在II期临床试验中针对CD137的强激动剂抗体乌瑞鲁单抗在激活CD137方面非常有效,但由于其在不交联或聚集抗体/抗原复合物的情况下激活CD137信号传导的能力,在低剂量($\geq 1\text{mg/kg}$)下会引起严重的肝毒性。(Segal NH, 等人. Clin Cancer Res. 2017年4月15日;23(8):1929-1936)。另一种现有的抗CD137抗体,同样在II期

临床试验中针对CD137的弱激动剂抗体乌托鲁单抗(PF-05082566),在高达10mg/kg的剂量下显示是安全的,但在临床试验中显示出有限的功效。(Tolcher AW等人.Clin Cancer Res.2017年9月15日;23(18):5349-5357.)。基于这些发现,所述下一代抗CD137单克隆抗体应仅在肿瘤部位特异性地实现高CD137信号激活。为了选择表现出低毒性和高功效的抗CD137抗体,两种参考抗体被用于进行比较。参考抗体Ab 1是基于美国专利号7,288,638中公开的乌瑞鲁单抗的序列在内部合成的。参考抗体Ab 1是基于国际公开号W0 2012/032433中公开的乌托鲁单抗的序列在内部合成的。

[0536] 首先在报道基因测定中评估实例1中描述的抗CD137单特异性抗体的CD137激动剂活性。NF- κ B报道基因细胞系是通过在293T细胞中稳定转染了CD137和NF- κ B萤光素酶报道基因建立的。Fc γ RIIB 293F细胞是通过在293F细胞中稳定转染了Fc γ RIIB建立的。在该测定中,转染了Fc γ RIIB的293F细胞用于模拟所述单核细胞和巨噬细胞,它们表达高水平的Fc γ RIIB,一种抑制性Fc γ 受体,而且它们集中在肿瘤微环境而不是外周组织中。所述NF- κ B报道基因和CD137双重转染的报道基因细胞系293T用于模拟在其表面表达CD137并表达用于下游信号传导的NF- κ B的T细胞。因此,所述CD137/NF- κ B报道基因细胞系与所述Fc γ RIIB 293F细胞的共培养模拟肿瘤微环境中的T细胞,而单独培养的CD137/NF- κ B报道基因细胞系则模拟外周组织中的T细胞。

[0537] 此报道基因系统中使用的两种参考抗体,参考抗体1代表乌瑞鲁单抗,其显示出强活性,但也具有肝毒性。参考抗体2代表乌托鲁单抗,其显示出弱活性,但没有肝毒性。本文使用所述两种参考抗体来评估抗CD137克隆的活性以及潜在的安全性特征。

[0538] 培养条件按照ATCC推荐的培养基和条件。将Fc γ RIIB 293F细胞接种到96孔板中过夜。60,000个细胞/孔/100 μ l培养基用于接种。在某些实验中,将模拟的293F细胞接种于96孔板中,以观察没有Fc γ RIIB交联情况下的抗体效应。第二天,在37 $^{\circ}$ C下加入一系列浓度的抗体并持续20分钟。然后将120,000个Fc γ RIIB 293T报道基因细胞添加到DMEM培养基(HyClone,目录号16777-200)中的293T细胞中。阴性对照以没有抗体处理和/或没有交联或效应细胞的样品形式提供。五小时后,按照制造商的方案,使用Bright-GloTM萤光素酶测定系统(Promega,目录号E2610)测量萤光素酶活性。

[0539] 结果显示在抗CD137单克隆抗体存在下,萤光素酶活性具有剂量依赖性。图2A显示用所述抗体处理的单独的CD137/NF- κ B报道基因细胞,其模拟外周组织(其中抑制性受体Fc γ RIIB未高度表达并且不能结合所述抗体的Fc区促进交联/CD137聚簇)中的CD137激活。

[0540] 图2B显示与Fc γ RIIB 293F细胞培养并用所述抗体处理的CD137/NF- κ B报道基因细胞,其模拟在肿瘤位点(其中抑制性受体Fc γ RIIB高表达)的CD137激活。

[0541] 参考Ab 1(一种强CD137激动剂),在有或没有Fc γ RIIB介导的交联/CD137聚簇下显示出NF- κ B激活,表明该参考抗体可以激活在外周组织中的CD137信号传导并引起外周毒性。参考抗体2(一种弱CD137激动剂),仅在Fc γ RIIB介导的交联/CD137聚簇下显示出NF- κ B激活,这与该参考抗体在临床试验中更好的安全性特征相一致。在图2A中,本文公开的抗CD137 mAb的行为与参考抗体2类似,表明与参考抗体1相比具有相对安全的临床谱。在图2B中,所述抗CD137 mAb与参考抗体Ab 2相比显示出更强的免疫激活,表明与参考抗体Ab 2相比具有更好的治疗功效。特别地,克隆2-9在没有Fc γ RIIB介导的交联/CD137聚簇下几乎没有活性,而在Fc γ RIIB介导的交联/CD137聚簇下表现出优异的活性。

[0542] C.在具有Fc修改的抗CD137抗体情况下的CD137报道基因测定

[0543] 最近的公开表明,人IgG铰链和Fc能影响治疗性抗体功能,尤其对于激动性抗体。例如,通过Fc突变增强的Fc γ RIIB结合能增强激动性抗体功能。似乎通过Fc区的体内Fc γ RIIB结合可以介导CD137聚簇,从而在靶细胞中诱导强的下游信号传导。(White AL等人 Cancer Immunol Immunother.2013年5月;62(5):941-8)。文献还强调了IgG2 Fc铰链区的构象和柔性可能会影响免疫共刺激抗体(例如抗CD40抗体和抗CD137抗体)的激动活性(White AL等人.Curr Top Microbiol Immunol.2014;382:355-72)。基于这些发现,猜测与其它种型(例如IgG2野生型)相比,具有Fc突变以增强Fc γ RIIB结合的抗CD137 mAb IgG1和IgG2可以提高功效。另外,由于Fc γ RIIB在肿瘤部位的更高表达,所述Fc改造的CD137单克隆抗体可以保持较低的外周毒性,同时在肿瘤部位诱导更高的功效。

[0544] 因此,对具有Fc突变(S267E/L328F)以增强Fc γ RIIB结合的抗CD137单克隆抗体的CD137激动剂活性(Chu SY等人.Mol Immunol.2008年9月;45(15):3926-33)在报道基因测定中进行评估,并与亲本IgG2野生型抗体进行了比较。

[0545] 另外,已知IgG4亚型有较弱的效应子结合,其可能在减弱外周毒性的同时在肿瘤位点引发抗肿瘤疗效。因此,抗CD137单克隆抗体也以IgG4的亚型被测试。

[0546] 结果显示在抗CD137单克隆抗体存在下,萤光素酶活性具有剂量依赖性。如图3A所示,在没有Fc γ RIIB介导的交联/CD137聚簇下,所有来自2-9的克隆(有或没有Fc突变)都显示没有活性,表明安全的临床谱。图3B显示在Fc γ RIIB介导的交联/CD137聚簇情况下的NF- κ B报道基因信号,其模拟肿瘤部位(其中抑制性受体Fc γ RIIB高表达)的CD137激活。与IgG2野生型亲本抗体相比,克隆2-9-1 IgG1 SELF和IgG2 SELF显示出更高的CD137激活,表明通过增强的Fc γ RIIB结合增强了CD137激活。图3C显示在Fc γ RIIB介导的交联/CD137聚簇情况下,2-9-1 IgG1 SELF和2-9-2 IgG4的NF- κ B报道基因信号的比较。这两个克隆都显示出高的CD137激活,而且2-9-1 IgG1 SELF显示出比2-9-2 IgG4更高的激活量。

[0547] D.细胞因子释放测定

[0548] 然后使用人外周血单核细胞(PBMC)测试抗CD137单抗对细胞因子释放的影响。PBMC包含CD137阳性T细胞和NK细胞,它们是抗CD137单克隆抗体的靶细胞,并且表达Fc γ RIIB的单核细胞和巨噬细胞也存在于所述PBMC中。一旦T细胞被抗CD137抗体激活,就会分泌抗肿瘤细胞因子(例如IFN- γ 或IL-2)作为抗肿瘤功效的指标。此报道基因系统中使用了如前所述的两种参考抗体来评估所述抗CD137克隆的活性。

[0549] 使用Ficoll-Paque® PLUS(目录号17-1440-02,GE Healthcare)分离人PBMC。将1ug/ml的抗CD3抗体(OKT3)和抗CD137 mAb的系列稀释液添加到Gibco RPMI培养基1640(目录号A1049101,Thermo Fischer)中的PBMC中。48小时后,收集培养基,并使用ELISA方法(人IFN- γ ELISA MAX™ Deluxe,目录号430106,BioLegend公司;人IL2 ELISA MAX™ Deluxe,目录号421601,BioLegend公司)确定IFN γ 和IL2水平。

[0550] 如图4A所示,在抗CD137抗体存在下,观察到效应细胞(即PBMC)对IFN γ 的剂量依赖性分泌。如预期的,与弱激动剂参考抗体2相比,强激动剂参考抗体1诱导更高的IFN- γ 。此外,与所述两种参考抗体相比,具有不同Fc区(例如2-9-1 IgG1 SELF、2-9-1 IgG2野生型和2-9-1 IgG2 SELF)的克隆2-9均显示出显著更高的IFN- γ 最大释放。用不同的供体重重复实验三次,观察到相似的结果。

[0551] 如图4B所示,在抗CD137抗体存在下,观察到效应细胞(即PBMC)对IL2的剂量依赖性分泌。如预期的,强激动剂参考抗体1诱导了IL2分泌。此外,与参考抗体1相比,具有不同Fc区的克隆2-9,即2-9-1 IgG1 SELF和2-9-2 IgG4,均显示出显著更高的IL2最大释放。

[0552] 总之,抗CD137抗体以剂量依赖的方式诱导细胞因子产生,并且与两种参考抗体相比IFN- γ 和IL2水平更高。由于IFN- γ 和IL2是重要的抗肿瘤细胞因子,数据表明与两种参考抗体相比克隆2-9抗体(包括Fc突变和野生型)具有更强的抗肿瘤功效。

[0553] E. 体内抗肿瘤疗效研究

[0554] 2-9变体在百奥赛图的设施中被进一步在体内测试以评估它们的抗肿瘤疗效。利用人CD137(又名4-1BB)敲入C57BL/6小鼠和MC38鼠结肠癌模型,2-9 IgG2 wt,2-9-1 IgG2 SELF和2-9-1 IgG1 SELF的疗效与载体对照组做了比较。MC38肿瘤细胞在治疗前一周被植入。治疗在肿瘤体积达到大约100mm³时开始,药物以腹腔注射形式给药,一周两次共四周。2-9-1 IgG1 SELF抗体每次给药剂量为10,1和0.3mg/kg。2-9-1-IgG2 SELF和2-9-IgG2抗体每次给药剂量为1mg/kg。在治疗后24天,对照组中多个小鼠的肿瘤体积达到上限(2000mm³)而终止试验。其它组继续试验和肿瘤测量至28天。治疗后28天是数据分析的终点。如图5A和表8所示,与载体对照组相比,2-9 IgG2 wt,2-9-1 IgG1 SELF和2-9-1 IgG2 SELF的治疗显著减小了肿瘤生长。比较2-9 IgG2 wt,2-9-1 IgG1 SELF和2-9-1 IgG2 SELF在相同剂量(1mg/kg)下的治疗组,每组肿瘤减小至100mm³一下的动物数在每组总数中分别为2/8,5/8和5/8。不同组动物体重在研究中没有显著变化(图5B),显示治疗被较好地耐受。

[0555] 表8. 示例性抗CD137抗体的体内抗肿瘤疗效

组	测试药物	肿瘤体积 (mm ³) ^a		肿瘤抑制 (%)	P ^b
		治疗前	治疗后24天		
G1	载体	117±4	2006±240	-	-
G2	2-9-1 IgG1 SELF (10 mg/kg)	117±5	46±16	103.8	***<0.001
[0556] G3	2-9-1 IgG1 SELF (1 mg/kg)	118±5	155±72	98.0	***<0.001
G4	2-9-1 IgG1 SELF (0.3 mg/kg)	118±5	340±125	88.2	***<0.001
G5	2-9-1 IgG2 SELF (1 mg/kg)	118±4	94±42	101.3	***<0.001
G6	2-9 IgG2 WT (1 mg/kg)	118±6	371±109	86.6	***<0.001

[0557] ^a: 平均值±标准误差;

[0558] ^b: 每个治疗组的肿瘤体积与载体对照组在治疗后24天的T检验

[0559] 另外,百奥赛图之前利用人CD137(又名4-1BB)敲入C57BL/6小鼠在MC38鼠结肠癌模型中以和前述2-9变体研究近似的条件测试了乌托鲁单抗类似药。如图6A所示,乌托鲁单

抗类似药被以1mg/kg和10mg/kg两种给药剂量测试。与IgG对照抗体比较,1mg/kg治疗组的肿瘤抑制为60.0%,而10mg/kg治疗组的肿瘤抑制为85.4%(该数据亦可见于www.biocytogen.com)。乌托鲁单抗已知有较安全的毒性数据资料,图6B显示小鼠体重在乌托鲁单抗治疗下没有显著变化。

[0560] 因为此研究与对2-9变体的研究条件相似,2-9变体的数据与乌托鲁单抗类似药的数据具有可比性。具体上,与乌托鲁单抗类似药比较,不论在任何给药剂量条件下,2-9变体都引起了更高的肿瘤抑制(图5A,6A和表8)。在10mg/kg的相同给药剂量下比较,2-9-1 IgG1 SELF的肿瘤抑制(103.8%)显著高于乌托鲁单抗类似药的肿瘤抑制(85.4%)。这些数据示每一种2-9变体在体内的疗效都高于乌托鲁单抗类似药。

[0561] 实例3:抗CD137 x TAA(即,肿瘤相关抗原)双特异性抗体的构建

[0562] CD137(4-1BB)是一种在T和NK细胞上表达以支持细胞活化、增殖和存活的共刺激分子。然而,目前临床研究中的基准抗体或者与安全问题有关,或者缺乏效力。例如,在II期临床试验中针对CD137的强效激动剂抗体Urelumab非常有效,但在剂量 ≥ 1 mg/kg时受到肝毒性的限制。(Segal NH,等人Clin Cancer Res.2017 Apr 15;23(8):1929-1936)。也在II期临床试验中的另一种参考抗体乌托鲁单抗(PF-05082566)是一种针对CD137的弱激动剂抗体被显示在高达10mg/kg时是安全的,但在临床中的效力有限。(Tolcher AW等人Clin Cancer Res.2017 Sep 15;23(18):5349-5357.)。基于这些发现,下一代抗CD137治疗性抗体应当仅在肿瘤部位处特异性地实现高CD137活化。为了解决这些问题,设计了双特异性抗体,其中一个臂靶向CD137,而另一臂靶向肿瘤相关抗原。

[0563] 选择实例1和2中描述的抗CD137单克隆抗体克隆2-9来构建单链Fv(scFv)。抗TAA抗体保持为IgG形式。为了构建双特异性抗体,抗CD137 scFv在重链N端(HC-N)、重链C端(HC-C)、轻链N端(LC-N)或轻链C端(LC-C)通过接头(例如,(GSG)4)与抗TAA抗体融合。参见图7。

[0564] 具体地,将衍生自克隆2-9的抗CD137 scFv在抗HER2抗体的重链的N端或C端(HC-N,HC-C,诸如2-9scFv- α HER2-HC-C)或轻链的N端或C端(LC-N,LC-C)通过接头与示例性抗HER2全长抗体(其衍生自曲妥珠单抗的氨基酸序列)融合。

[0565] 在一些工作实例中,使用了具有降低的效应功能的Fc骨架,诸如IgG1(LALA突变)和IgG4(FALA突变),或具有S228P突变的IgG4。IgG1 LALA突变是IgG1 Fc区上的Leu234Ala以及Leu235Ala突变以减少效应功能(Lund,J.,等人(1992)Mol.Immunol.,29,53-59)。IgG4 FALA突变是IgG4 Fc上的Ser228Pro突变以及PHE234Ala和Leu235Ala突变,其效应功能减弱(Vafa O,等人Methods.(2014)65:114-26.10.1016)。

[0566] 使用pAS puro质粒,根据制造商方案在ExpiCHO-S细胞(Thermo Fischer)中表达重组免疫球蛋白变体。以1:2的比率转染重链和轻链。ExpiCHO-S细胞培养物通常在转染后约10-12天收获。将ExpiCHO-S细胞培养物澄清和过滤。在AKTA Avant(GE Healthcare)上通过蛋白A纯化(MabSelect SuRe™ LX,GE Healthcare)来纯化培养上清液。首先,该柱用PBS平衡5个柱体积(CV)。然后将培养物上清液在停留时间至5分钟时上样至柱上。之后,用5CV高盐缓冲液(100mM乙酸钠,500mM氯化钠,pH 5.5)和5CV低盐缓冲液(50mM乙酸钠,pH 5.5)洗涤柱。用3CV洗脱缓冲液(100mM乙酸钠,pH 3.5)洗脱抗体,且随后用1M Tris-HCl,pH8.5中和。蛋白A纯化的蛋白用于体外功能测定。

[0567] 通过阳离子交换纯化 (Capto S ImpAct, GE Healthcare) 进一步纯化蛋白A纯化的蛋白样品。缓冲液A为20mM醋酸钠, pH5.5。缓冲液B为20mM醋酸钠、500mM氯化钠, pH5.5。上样前将蛋白A纯化的样品调节至与缓冲液A相似的pH和电导率。上样停留时间为4分钟。洗脱梯度为30%-80%的缓冲液B, 持续15CV。合并具有最小聚集的级分。两步纯化蛋白用于稳定性研究和体内效力模型。

[0568] 实例4: 抗CD137 x Her-2双特异性抗体的表征

[0569] 如实例3中所述, 将衍生自克隆2-9的抗CD137 scFv在抗HER2抗体的重链的N端和C端 (HC-N、HC-C) 和轻链的N端和C端 (LC-N、LC-C) 与衍生自曲妥珠单抗的氨基酸序列的抗-HER2全长抗体融合。

[0570] A. 亲和力测量

[0571] 生物层干涉测量法用于测量双特异性抗体的结合动力学的缔合和解离常数。结合动力学在FortieBio Octet Red 96上在30℃下测量, 并用FortieBio Data Analysis 9.0软件进行分析。抗人IgG Fc (AHC) 传感器用于捕获双特异性抗体或对照抗体。双重结合通过如下进行: 与第一抗原缔合, 然后解离, 并与第二抗原缔合, 然后解离。在不同的抗体循环之间用20mM甘氨酸、pH 1.5进行再生循环。对于基线, 使用1x动力学缓冲液 (Fortie Bio)。将人HER2-His (Sino Biologicals目录号: 10001-H08B) 和人CD137-His蛋白 (Sino Biologicals目录号: 10041-H08H) 以一系列浓度稀释至动力学缓冲液中。将仅动力学缓冲孔设置为参考孔, 用于在数据处理期间的减法。对于每种抗体-抗原结合, 使用Rmax连接的全局拟合法, 数据用缔合和解离的1:1 Langmuir模型进行拟合。以两个依次结合顺序重复实验: 1) 第一CD137-His, 第二HER2-His, 和2) 第一HER2-His, 第二CD137-His。参见下面的图8A-8B和表9。人CD137-his是一种重组CD137蛋白, 其中多聚组氨酸标签融合至人CD137抗原的C端 (Sino Biological, 10041-H08H)。人HER2-his是一种重组HER2蛋白, 其中多聚组氨酸标签融合至人HER2抗原的C端 (Acro Biosystem, HE2-H5225-100ug)。

[0572] 表9.

样品	抗原	Kd (M)	Kon (1/Ms)	Koff (1/s)	Rmax
抗 CD137 scFv - 抗 HER2 IgG1 HC-C	CD137-his	3.41E-09	2.10E+04	7.16E-05	0.1799
[0573] 抗 CD137 scFv - 抗 HER2 IgG1 HC-C	Her-2-his	1.25E-09	2.40E+05	2.99E-04	0.3989
抗 CD137 2-9 IgG2	CD137-his	4.52E-09	6.62E+04	2.99E-04	0.2638
抗 HER2 IgG1	Her-2-his	1.45E-09	2.05E+05	2.98E-04	0.4037

[0574] 总之, 示例性CD137 x HER2双特异性抗体 (即, 2-9scFv_αHER2-HC-C) 的每个抗原结合部分保持期望的靶标结合亲和力, 其中结合动力学类似于单克隆抗体。

[0575] 还在全细胞结合测定中定量双特异性抗体对细胞表面受体的结合亲和力。为了测量HER2结合亲和力, 将10,000个HER2阳性细胞SKBR3 (ATCC) 或CD137稳定转染的293T细胞 (定制建立) 的细胞与一系列浓度的双特异性抗体在FACS缓冲液 (1 x PBS, 2%FBS) 中在4℃下孵育1小时。之后, 将细胞用PBS洗涤两次, 然后与二级Alexa Fluor® 488 AffiniPure山

羊抗人IgG,F(ab')₂片段特异性抗体(Jackson ImmunoResearch,代码109-545-006)在FACS缓冲液中在4℃下孵育30分钟。然后将细胞用PBS洗涤两次并重悬浮于FACS缓冲液中。流式细胞术(Beckman Coulter,CytoFlex)用于定量结合的抗体,并使用CytExpert分析结果。使用具有GraphPad8.0的非线性模型拟合中值荧光强度。

[0576] 如图9A中所示,示例性抗CD137 x HER2双特异性抗体(即,具有IgG1或IgG4 FALA突变的2-9scFv_αHER2-HC-C)显示全细胞以剂量依赖性方式与CD137阳性细胞(CD137/NFκB转染的293T细胞)结合。如图9B中所示,示例性抗CD137 x HER2双特异性抗体(即,2-9scFv_αHER2-HC-C)显示与亲本抗HER2单克隆抗体(αHER2 mAb,衍生自曲妥珠单抗)相似的对HER2阳性细胞(SKBR3)的结合亲和力。抗EGFR mAb用作阴性对照。该测定表明IgGFc突变不影响双特异性抗体的结合。

[0577] B. 报告子测定

[0578] 首先在NF-κB报告子测定中评估抗CD137 x HER2双特异性抗体的CD137激动剂活性。据推测,肿瘤细胞上高水平的HER2可以将双特异性抗体定位至肿瘤部位中并在附近的T细胞上超交联CD137,且因此诱导强烈的T细胞活化。为了验证该假设,在该测定中使用CD137和NFκB荧光素酶报告基因稳定转染的报告子细胞系、高HER2表达细胞系N87(ATCC)和低HER2表达细胞系SKHep1(ATCC)。HER2高细胞系N87用于模拟靶肿瘤细胞,HER2低细胞系SKHep1用于模拟外周或非靶细胞,且CD137/NFκB报告子293T细胞用于模拟T细胞。N87细胞与CD137/NFκB报告子293T细胞的共孵育模拟肿瘤微环境,其中表达高水平的HER2的肿瘤细胞和T细胞共存。据推测,N87细胞上高水平的HER2可以将双特异性抗体定位至肿瘤部位中并在报告细胞系上超交联CD137,因此诱导强NFκB信号传导和激活。SKHep1细胞与293T报告细胞的共孵育模拟外周或非靶位点,其用于测试双特异性抗体的安全性概况。

[0579] ATCC推荐的培养基和条件用于细胞培养。将每个细胞系单独接种至96-孔板中过夜。每孔每100μl培养基使用15,000个N87或SK-Hep1细胞用于接种。第二天,将细胞洗涤并用一系列浓度的抗体在37℃下处理20分钟。然后将抗体洗掉。该步骤是为了消除过量的抗体,并避免钩子效应。然后将120,000个293T CD137/NFκB报告细胞添加至DMEM培养基(HyClone,目录号16777-200)中的N87或SK-Hep1细胞中。单特异性亲本克隆2-9抗体与抗HER2抗体的组合用作对照。在该测定中使用20ng/ml TNFα作为阳性对照,因为TNFα是直接NF-κB激活剂。PBS用作阴性对照。5小时后,遵循制造商方案使用Bright-Glo™荧光素酶测定系统(Promega,目录号E2610)测量荧光素酶活性。

[0580] 结果显示,在HER2高NCI-N87细胞存在的情况下,所有形式(HC-C、HC-N、LC-C和LC-N)的示例性CD137 x HER2双特异性抗体的剂量依赖性CD137活化(图10B),但在HER2低SK-Hep1细胞存在的情况下不是如此(图10C),而单特异性亲本克隆2-9抗体和抗HER2抗体的组合不诱导任何CD137活化(图10B和图10C)。结果表明双特异性抗体在肿瘤部位的效力优势以及双特异性抗体在外周或非靶部位的安全性概况。在双特异性抗体的四种形式中,与其他三种形式相比,HC-C形式在NCI-N87细胞存在的情况下显示优异的活性。

[0581] 还在类似的报告子测定中评估具有Fc突变的抗CD137 x HER2双特异性抗体的CD137激动剂活性。本实验中使用高HER2表达细胞系SKBR3(ATCC)和低HER2表达细胞系SKHep1(ATCC)。ATCC推荐的培养基和条件用于细胞培养。将每个细胞系单独接种至96-孔板中过夜。每孔每100μl培养基使用15,000个SKBR3或SK-Hep1细胞用于接种。第二天,将细胞

洗涤并用一系列浓度的抗体在37℃下处理20分钟。然后将抗体洗掉。该步骤是为了消除过量的抗体,并避免钩子效应。然后将120,000个293T CD137/NFκB报告细胞添加至DMEM培养基(HyClone,目录号16777-200)中的癌细胞中。单特异性亲本克隆2-9抗体和参考抗体Ab 1用作对照。在该测定中使用20ng/ml TNFα作为阳性对照,因为TNFα是直接NF-κB激活剂。5小时后,遵循制造商方案使用Bright-Glo™荧光素酶测定系统(Promega,目录号E2610)测量荧光素酶活性。

[0582] 结果显示,在HER2高SKBR3细胞存在的情况下,具有不同Fc区的示例性抗CD137 x HER2双特异性抗体的剂量依赖性的CD137活性(图11A),但在HER2低SK-Hep1细胞存在的情况下则不是(图11A)。在HER2高细胞(SKBR3)存在的情况下,Fc效应功能不影响报告子活性。在HER2低细胞(SK-Hep1)存在的情况下,所述双特异性抗体不诱导显著的CD137活化,表明在外周或非靶位点的安全性概况。

[0583] C. 细胞因子释放测定

[0584] 通过细胞因子释放进一步测量双特异性抗体对HER2依赖性T细胞活化的功效。本实验中使用高HER2表达细胞系SKBR3(ATCC)和低HER2表达细胞系MDA-MB-231(ATCC)。ATCC推荐的培养基和条件用于细胞培养。将每个细胞系单独接种至96-孔板中过夜。每孔每100ul培养基使用15,000个SKBR3或MDA-MB-231细胞用于接种。使用Ficoll-Paque®PLUS(目录号17-1440-02,GE Healthcare)分离人PBMC。通过在培养皿中培养分离的PBMC至少3小时以使单核细胞附着来耗竭单核细胞。第二天,将SKBR3或MDA-MB-231细胞洗涤,并在37℃下用一系列浓度的抗体处理20分钟。然后将抗体洗掉。该步骤是为了消除过量的双特异性抗体,并避免钩子效应。然后将PBMC添加至Gibco RPMI培养基1640(目录号A1049101, Thermo Fischer)中的SKBR3或MDA-MB-231细胞中。单特异性亲本克隆2-9抗体用作对照。在所有测定中使用10:1的效应细胞(PBMC)与靶细胞(SKBR3或MDA-MB-231细胞)的比率。24小时后,收集培养基,并使用ELISA方法(人IFN-γ ELISA MAX™ Deluxe,目录号430106, BioLegend;人IL-2ELISA MAX™ Deluxe,目录号431804, BioLegend)测定IFNγ和IL-2水平。

[0585] 如图12中所示,在HER2高细胞存在的情况下观察到效应细胞(即PBMC)对IFNγ和IL-2的剂量依赖性分泌,但在HER2低细胞存在的情况下没有观察到。与抗CD137单克隆抗体相比,在HER2高细胞(SKBR3)存在的情况下,双特异性抗体显示更高的细胞因子释放,表明双特异性抗体在肿瘤部位的效力优势。在HER2低细胞(MDA-MB-231)存在的情况下,双特异性抗体没有诱导显著的细胞因子释放,表明双特异性抗体在外周或非靶部位的安全性概况。该测定用不同的供体重复多次,并观察到相似的结果。总之,抗CD137 x HER2双特异性抗体治疗以HER2依赖性方式诱导细胞因子产生。

[0586] E. 体内LoVo异种移植模型

[0587] 在LoVo/PBMC异种移植模型中研究双特异性抗体的体内效力。在LoVo模型中,500万个LoVo人结肠癌细胞以3:1比率与新鲜分离的人PBMC混合,且随后皮下注射到免疫缺陷(NOD/SCID)小鼠中。在移植后的第3天,通过每周两次腹膜内注射用双特异性抗体治疗动物,持续4周。第一次治疗后二十天,观察到抗肿瘤作用。用卡尺进行肿瘤大小的测量,并使用以下公式估算肿瘤体积(TV,以mm³计): $TV = a \times b^2 / 2$,其中“a”和“b”分别是肿瘤的长径和短径。TV用于使用以下公式计算肿瘤生长抑制(TGI,抗肿瘤有效性的指标): $TGI(\%) = [1 - (T_t - T_0) / (C_t - C_0)] \times 100\%$,其中 T_t = 治疗受试者在时间t的平均TV, T_0 = 治疗受试者在时间0

的平均TV (基线), C_t = 对照在时间t的平均TV, 且 C_0 = 对照在时间0的平均TV (基线)。

[0588] 如图13和表10中所示, 用具有IgG4 FALA突变的抗CD137 x HER2双特异性抗体 (HCC) 治疗的小鼠显示52.5%肿瘤生长抑制 (TGI), 而用亲本抗HER2抗体和亲本抗CD137抗体的组合治疗的小鼠显示19.4% TGI。对于没有PBMC的治疗组, 在每组中没有观察到肿瘤抑制的显著差异 (数据未显示)。结果表明, 与单特异性抗CD137抗体和抗HER2抗体的组合相比, 抗CD137 x HER2双特异性抗体的治疗效力优异。

[0589] 表10.

[0590]	第 28 天	α CD137ScFv- α HER2-IgG4 FALA HCC-L7 10 mg/kg LoVo/hPBMC	α HER2+ α CD137 7.5mg/kg LoVo/hPBMC	媒介物对照 LoVo/hPBMC
	肿瘤大小			
	平均值 $\pm$ SEM (mm ³)	421.4 $\pm$ 76.16	671.7 $\pm$ 162.8	821.4 $\pm$ 163.8
	TGI	52.5%	19.4%	
	P 值 (用媒介物对照 的 T 检验)	0.020(*)	0.263	

[0591] F. 体内OE-19异种移植模型

[0592] 还在OE19/PBMC异种移植模型中研究双特异性抗体的体内效力。OE-19是一种人胃癌细胞系。在OE-19模型中, 500万个OE-19细胞以3:1比率与新鲜分离的人PBMC混合, 且随后皮下注射到免疫缺陷 (NOD/SCID) 小鼠中。在移植后的第1天, 通过每周两次腹膜内注射用双特异性抗体治疗动物, 持续3周。第一次治疗后二十一天, 观察到抗肿瘤效果。用卡尺进行肿瘤大小的测量, 并使用以下公式估算肿瘤体积 (mm³): $TV = a \times b^2 / 2$, 其中“a”和“b”分别是肿瘤的长径和短径。TV用于使用以下公式计算肿瘤生长抑制 (TGI, 抗肿瘤有效性的指标): $TGI (\%) = [1 - (T_t - T_0) / (C_t - C_0)] \times 100\%$ 。其中 T_t = 治疗者在时间t的平均TV, T_0 = 治疗者在时间0的平均TV (基线), C_t = 对照在时间t的平均TV, 且 C_0 = 对照在时间0的平均TV (基线)。

[0593] 如图14A和表11中所示, 与用亲本抗HER2抗体和亲本抗CD137抗体的组合治疗的小鼠所显示相比, 用具有IgG4 FALA突变的抗CD137 x HER2双特异性抗体 (HCC) 治疗的小鼠显示显著的肿瘤生长抑制 (TGI) ($p < 0.05$)。图14B显示在第21天不同治疗组的个体肿瘤体积。结果表明, 与单特异性抗CD137抗体和抗HER2抗体的组合相比, 抗CD137 x HER2双特异性抗体的治疗效力优异。

[0594] 表11

[0595]

第 21 天	α CD137ScFv- α HER2-IgG4 FALA HCC-L7 0.4mg/kg	α HER2+ 0.3mg/kg + 2-9 mAb 0.3mg/kg	α HER2 0.3mg/kg	媒介物对照
肿瘤大小 平均值 $\pm$ SEM	660 $\pm$ 126	1143 $\pm$ 256	1493 $\pm$ 304	1712 $\pm$ 309
TGI%	61	22	13	

[0596] 对于本领域技术人员将显而易见的是,在不脱离所公开主题的精神或范围的情况下,可以对所公开主题的组成和方法进行多种修改和变化。因此,预期的是所公开主题包括在所附权利要求书及其等同物范围之内的修改和变化。

[0597] 本文引用了多种出版物、专利和专利申请,其内容通过引用以其整体并入本文。

序列表

<110> SHANGHAI HENLIUS BIOTECH, INC
 <120> 抗 CD137 构建体、多特异性抗体及其用途
 <141> 2021-02-26
 <150> PCT/CN2020/077146
 <151> 2020-02-28
 <160> 254
 <170> SIPOSequenceListing 1.0
 <210> 1
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(5)
 <223> 克隆 3 VH CDR1
 <400> 1
 Asp Thr Tyr Ile His
 1 5
 <210> 2
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 [0001] <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(17)
 <223> 克隆 3 VH CDR2
 <400> 2
 Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Phe Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 3
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(10)
 <223> 克隆 3 VH CDR3
 <400> 3
 Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 4
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(11)
 <223> 克隆 3 VL CDR1

<400> 4
 Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr Leu Ser
 1 5 10

<210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(7)
 <223> 克隆 3 VL CDR2

<400> 5
 Arg Ala Asn Arg Met Val Asp
 1 5

<210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(9)
 <223> 克隆 3 VL CDR3

<400> 6
 Leu Gln Ser Asp Asp Phe Pro Tyr Thr
 1 5

[0002] <210> 7
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(119)
 <223> 克隆 3 VH

<400> 7
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Pro Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Phe Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 8
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(110)
 <223> 克隆 3 VL

```

<400> 8
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1      5      10      15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr
20     25     30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35     40     45
Tyr Arg Ala Asn Arg Met Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50     55     60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln His
65     70     75     80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Asp Asp Phe Pro Tyr
85     90     95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
100    105    110

```

```

<210> 9
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

```

```

<220>
<221> 链
<222> (1)..(445)
<223> 克隆 3 HC

```

```

[0003] <400> 9
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 Ala Ser Gly Phe Asn Pro Lys Asp Thr
20     25     30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35     40     45
Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Phe Thr Glu 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
Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100    105    110
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115    120    125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195    200    205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
210    215    220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
225    230    235    240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245    250    255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
260    265    270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275    280    285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
290    295    300
Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305    310    315    320
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

```

```

          325          330          335
Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
          340          345          350
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
          355          360          365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
          370          375          380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
          385          390          395
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
          405          410          415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
          420          425          430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
          435          440          445

```

<210> 10
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(214)
 <223> 克隆 3 LC

[0004]

```

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

```

<210> 11
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(5)
 <223> 克隆 9 VH CDR1

<400> 11
 Asp Thr Tyr Ile His
 1 5

<210> 12
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(17)
 <223> 克隆 9 VH CDR2

<400> 12
 Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 13
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(10)
 <223> 克隆 9 VH CDR3

<400> 13
 Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr
 1 5 10

[0005] <210> 14
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(11)
 <223> 克隆 9 VL CDR1

<400> 14
 Lys Ala Ser Gln Ala Ile Ala Thr Tyr Leu Ser
 1 5 10

<210> 15
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(7)
 <223> 克隆 9 VL CDR2

<400> 15
 Arg Ala Asn Arg Met Tyr Asp
 1 5

<210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(9)
 <223> 克隆 9 VL CDR3

<400> 16
Leu Gln Phe Asp Asp Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 17
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(119)
<223> 克隆 9 VH

<400> 17
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 Ala Ser Gly Phe Asn Leu Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Glu 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
Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

[0006] <210> 18
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(110)
<223> 克隆 9 VL

<400> 18
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Ile Ala Thr Tyr
20 25 30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Arg Ala Asn Arg Met Tyr Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Phe Asp Asp Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
100 105 110

<210> 19
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 链
<222> (1)..(445)
<223> 克隆 9 HC

<400> 19

	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	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Leu	Lys	Asp	Thr	
			20					25						30			
	Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
			35					40					45				
	Gly	Lys	Ile	Asp	Pro	Ala	Asn	Gly	Asn	Thr	Glu	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		
	Thr	Thr	Gly	Asn	Leu	His	Tyr	Ala	Leu	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	
				100					105					110			
	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
			115					120					125				
	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	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	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	
			195					200					205				
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	
		210					215					220					
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	
	225					230				235						240	
	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	
				245						250					255		
	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	
				260					265					270			
[0007]	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	
			275					280					285				
	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	
		290					295					300					
	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	
	305					310					315					320	
	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	
				325						330					335		
	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	
			340						345					350			
	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	
			355					360					365				
	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	
		370					375					380					
	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	
	385					390					395					400	
	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	
				405						410					415		
	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	
			420						425					430			
	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys				
			435					440					445				
<210>	20																
<211>	214																
<212>	PRT																
<213>	人工序列																
<220>																	
<221>	链																
<222>	(1)..(214)																
<223>	克隆 9 LC																
<400>	20																
	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	

```

1      5      10      15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Ile Ala Thr Tyr
20      25      30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35      40      45
Tyr Arg Ala Asn Arg Met Tyr Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50      55      60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65      70      75      80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Phe Asp Asp Phe Pro Tyr
85      90      95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100     105     110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115     120     125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130     135     140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145     150     155     160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165     170     175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180     185     190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Glu Ser
195     200     205
Leu Asn Arg Gly Glu Cys
210

```

```

<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

```

[0008]

```

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(5)
<223> 克隆 23 VH CDR1

```

```

<400> 21
Asp Thr Tyr Ile His
1      5

```

```

<210> 22
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

```

```

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(17)
<223> 克隆 23 VH CDR2

```

```

<400> 22
Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Gln Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1      5      10      15
Gly

```

```

<210> 23
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

```

```

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 克隆 23 VH CDR3

```

```

<400> 23

```

Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 24
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(11)
 <223> 克隆 23 VL CDR1
 <400> 24
 Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr Leu Ser
 1 5 10
 <210> 25
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(7)
 <223> 克隆 23 VL CDR2
 <400> 25
 Arg Ala Asn Arg Met Val Gly
 1 5
 <210> 26
 <211> 9
 <212> PRT
 [0009] <213> 人工序列
 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(9)
 <223> 克隆 23 VL CDR3
 <400> 26
 Leu Gln Tyr Arg Asp Phe Pro Tyr Thr
 1 5
 <210> 27
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(119)
 <223> 克隆 23 VH
 <400> 27
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Gln Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 28
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(110)
 <223> 克隆 23 VL
 <400> 28
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Ala Asn Arg Met Val Gly 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 Leu Gln Tyr Arg Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110
 <210> 29
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 链
 <222> (1)..(445)
 <223> 克隆 23 HC
 <400> 29
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Gln Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 210 215 220

[0010]

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

<210> 30
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0011]

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(214)
 <223> 克隆 23 LC

<400> 30
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Ala Asn Arg Met Val Gly 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 Leu Gln Tyr Arg Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

[0012]

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(5)
<223> 克隆 25 VH CDR1

<400> 31
Asp Thr Tyr Ile His
1 5

<210> 32
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(17)
<223> 克隆 25 VH CDR2

<400> 32
Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 33
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 克隆 25 VH CDR3

<400> 33
Gly Asn Leu His Tyr Gly Leu Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 34
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(11)
<223> 克隆 25 VL CDR1

<400> 34
Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 35
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(7)
<223> 克隆 25 VL CDR2

<400> 35

```

Arg Asp Asn Arg Lys Val Asp
1          5

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(9)
<223> 克隆 25 VL CDR3

<400> 36
Leu Gln Tyr Gln Asp Phe Pro Tyr Lys
1          5

<210> 37
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(119)
<223> 克隆 25 VH

<400> 37
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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Gln Asp Thr
20          25          30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35          40          45
[0013] Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Glu 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
Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Gly Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100          105          110
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 38
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(110)
<223> 克隆 25 VL

<400> 38
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1          5          10          15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr
20          25          30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35          40          45
Tyr Arg Asp Asn Arg Lys Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50          55          60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65          70          75          80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Gln Asp Phe Pro Tyr
85          90          95
Lys Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val

```

	100	105	110
<210>	39		
<211>	445		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<221>	链		
<222>	(1)..(445)		
<223>	克隆 25 HC		
<400>	39		
	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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Gln Asp Thr		
	20 25 30		
	Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
	35 40 45		
	Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Glu 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		
	Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Gly Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly		
	100 105 110		
	Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe		
	115 120 125		
	Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro		
	195 200 205		
	Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu		
	210 215 220		
	Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu		
	225 230 235 240		
	Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu		
	245 250 255		
	Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln		
	260 265 270		
	Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys		
	275 280 285		
	Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu		
	290 295 300		
	Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
	305 310 315 320		
	Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys		
	325 330 335		
	Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser		
	340 345 350		
	Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys		
	355 360 365		
	Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln		
	370 375 380		
	Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly		
	385 390 395 400		
	Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
	405 410 415		
	Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn		
	420 425 430		
	His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
	435 440 445		

[0014]

<210> 40
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(214)
 <223> 克隆 25 LC

<400> 40
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Asp Asn Arg Lys Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Gln Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Lys Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 [0015] 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> 41
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(5)
 <223> 克隆 33 VH CDR1

<400> 41
 Asp Thr Tyr Ile Gln
 1 5

<210> 42
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(17)
 <223> 克隆 33 VH CDR2

<400> 42
 Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Met Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 43
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 克隆 33 VH CDR3

<400> 43
Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 44
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(11)
<223> 克隆 33 VL CDR1

<400> 44
Lys Ala Ser Gln Thr Ile Asn Thr Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 45
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

[0016] <220>
<221> 结构域
<222> (1)..(7)
<223> 克隆 33 VL CDR2

<400> 45
Arg Ala Asn Arg Met Pro Asp
1 5

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(9)
<223> 克隆 33 VL CDR3

<400> 46
Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 47
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(119)
<223> 克隆 33 VH

<400> 47

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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Met 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 48
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(110)
 <223> 克隆 33 VL

[0017] <400> 48
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Thr Ile Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Ala Asn Arg Met Pro Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110

<210> 49
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(445)
 <223> 克隆 33 HC

<400> 49
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Met 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

[0018]

<220>	
<221>	链
<222>	(1)..(214)
<223>	克隆 33 LC

<400>	50														
Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Thr	Ile	Asn	Thr	Tyr
			20					25					30		
Leu	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Arg	Ala	Asn	Arg	Met	Pro	Asp	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65				70						75				80	
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Tyr	Asp	Asp	Phe	Pro	Tyr
			85						90					95	
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
			100					105					110		
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
		115					120					125			

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 51
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(5)
 <223> 克隆 35 VH CDR1

<400> 51
 Asp Thr Tyr Ile His
 1 5

<210> 52
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0019] <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(17)
 <223> 克隆 35 VH CDR2

<400> 52
 Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Tyr Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 53
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(10)
 <223> 克隆 35 VH CDR3

<400> 53
 Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 54
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(11)
 <223> 克隆 35 VL CDR1

<400> 54
 Lys Ala Ser Gln Ala Ile Ala Thr Tyr Leu Ser

	1	5	10
	<210>	55	
	<211>	7	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	结构域	
	<222>	(1)..(7)	
	<223>	克隆 35 VL CDR2	
	<400>	55	
	Arg Ala Asn Arg Met Val Asp		
	1	5	
	<210>	56	
	<211>	9	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	结构域	
	<222>	(1)..(9)	
	<223>	克隆 35 VL CDR3	
	<400>	56	
	Leu Gln Phe Gln Asp Phe Pro Tyr Thr		
	1	5	
	<210>	57	
	<211>	119	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
[0020]	<220>		
	<221>	结构域	
	<222>	(1)..(119)	
	<223>	克隆 35 VH	
	<400>	57	
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
	1	5	10
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Asn Asp Thr		15
		20	25
	Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		30
		35	40
	Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Tyr Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe		45
		50	55
	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr		60
		65	70
	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		75
		85	90
	Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly		95
		100	105
	Thr Ser Val Thr Val Ser Ser		110
		115	
	<210>	58	
	<211>	110	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<221>	结构域	
	<222>	(1)..(110)	
	<223>	克隆 35 VL	
	<400>	58	

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

<210> 59
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(445)
 <223> 克隆 35 HC

<400> 59
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Asn Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Tyr Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 [0021] 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

```

          340          345          350
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
          355          360          365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
          370          375          380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
385          390          395          400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
          405          410          415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
          420          425          430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
          435          440          445

```

<210> 60
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(214)
 <223> 克隆 35 LC

[0022]

```

<400> 60
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1          5          10          15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Ile Ala Thr Tyr
          20          25          30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
          35          40          45
Tyr Arg Ala Asn Arg Met Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50          55          60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65          70          75          80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Phe Gln Asp Phe Pro Tyr
          85          90          95
Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
          100          105          110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
          115          120          125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu 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> 61
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(5)
 <223> 克隆 5 VH CDR1

<400> 61
 Asp Thr Tyr Ile His
 1 5

<210> 62

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(17)
<223> 克隆 5 VH CDR2

<400> 62
Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 克隆 5 VH CDR3

<400> 63
Gly Asn Leu His Tyr Gly Leu Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 64
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

[0023] <220>
<221> 结构域
<222> (1)..(11)
<223> 克隆 5 VL CDR1

<400> 64
Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr His Ser
1 5 10

<210> 65
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(7)
<223> 克隆 5 VL CDR2

<400> 65
Arg Val Asn Arg Met Val Asp
1 5

<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(9)
<223> 克隆 5 VL CDR3

<400> 66
Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr Thr

1 5
 <210> 67
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(119)
 <223> 克隆 5 VH

<400> 67
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Arg Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Gly Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 68
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0024]

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(110)
 <223> 克隆 5 VL

<400> 68
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr
 20 25 30
 His Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Val Asn Arg Met Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110

<210> 69
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(445)
 <223> 克隆 5 HC

<400> 69
 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	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	Arg	Asp	Thr
			20						25					30		
	Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35						40					45			
	Gly	Lys	Ile	Asp	Pro	Ala	Asn	Gly	Asn	Thr	Glu	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		
	Thr	Thr	Gly	Asn	Leu	His	Tyr	Gly	Leu	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
			100						105					110		
	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
		115						120					125			
	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	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	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro
		195						200					205			
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu
		210				215						220				
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
	225					230					235				240	
	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
				245					250					255		
	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln
			260						265					270		
	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
		275						280					285			
[0025]	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
		290					295					300				
	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
		305				310					315				320	
	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
				325					330					335		
	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
			340						345					350		
	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
			355					360					365			
	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
		370					375					380				
	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
		385				390					395				400	
	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
				405					410					415		
	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
			420						425					430		
	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
		435						440					445			
	<210> 70															
	<211> 214															
	<212> PRT															
	<213> 人工序列															
	<220>															
	<221> 链															
	<222> (1)..(214)															
	<223> 克隆 5 LC															
	<400> 70															
	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
	1				5					10				15		
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Ala	Ile	Asn	Thr	Tyr

```

                20                25                30
His Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
                35                40                45
Tyr Arg Val Asn Arg Met Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
                50                55                60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                70                75                80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr
                85                90                95
Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
                100                105                110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
                115                120                125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu 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> 71
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

```

```

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(5)
[0026] <223> 克隆 6 VH CDR1

```

```

<400> 71
Asp Thr Tyr Ile His
1                5

```

```

<210> 72
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

```

```

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(17)
<223> 克隆 6 VH CDR2

```

```

<400> 72
Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Leu Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1                5                10                15
Gly

```

```

<210> 73
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

```

```

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 克隆 6 VH CDR3

```

```

<400> 73
Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr
1                5                10

```

<210> 74
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(11)
 <223> 克隆 6 VL CDR1

 <400> 74
 Lys Ala Ser Gln Ala Ile Ala Thr Tyr Leu Ser
 1 5 10

 <210> 75
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(7)
 <223> 克隆 6 VL CDR2

 <400> 75
 Arg Ala Asn Arg Met Gly Asp
 1 5

 <210> 76
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 [0027] <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(9)
 <223> 克隆 6 VL CDR3

 <400> 76
 Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr Thr
 1 5

 <210> 77
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(119)
 <223> 克隆 6 VH

 <400> 77
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Cys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Leu Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 78
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(110)
 <223> 克隆 6 VL

<400> 78
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Ile Ala Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Ala Asn Arg Met Gly Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Leu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110

<210> 79
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0028] <220>
 <221> 链
 <222> (1)..(445)
 <223> 克隆 6 HC

<400> 79
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Cys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Leu Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 80
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0029] <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(214)
 <223> 克隆 6 LC

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

<210> 81
 <211> 5

<212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(5)
 <223> 克隆 17 VH CDR1

<400> 81
 Asp Thr Tyr Ile His
 1 5

<210> 82
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(17)
 <223> 克隆 17 VH CDR2

<400> 82
 Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Gln Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 83
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0030] <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(10)
 <223> 克隆 17 VH CDR3

<400> 83
 Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 84
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(11)
 <223> 克隆 17 VL CDR1

<400> 84
 Lys Ala Ser Gln Ala Thr Asn Thr Tyr Leu Ser
 1 5 10

<210> 85
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(7)
 <223> 克隆 17 VL CDR2

<400> 85
 Arg Val Asn Arg Val Val Asp
 1 5

<210> 86
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(9)
 <223> 克隆 17 VL CDR3

<400> 86
 Leu Gln Tyr Arg Asp Phe Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 87
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(119)
 <223> 克隆 17 VH

[0031] <400> 87
 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 Ala Ser Gly Phe Cys Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Gln Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 88
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(110)
 <223> 克隆 17 VL

<400> 88
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Thr Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Val Asn Arg Val Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Arg Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110

<210> 89
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(445)
 <223> 克隆 17 HC

<400> 89
 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 Ala Ser Gly Phe Cys Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Gln Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 90

<211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(214)
 <223> 克隆 17 LC

<400> 90
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Thr Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Val Asn Arg Val Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Arg Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu 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

[0033]

<210> 91
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(5)
 <223> 克隆 18 VH CDR1

<400> 91
 Asp Thr Tyr Ile His
 1 5

<210> 92
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(17)
 <223> 克隆 18 VH CDR2

<400> 92
 Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Met Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 93
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 克隆 18 VH CDR3

<400> 93
Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 94
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(11)
<223> 克隆 18 VL CDR1

<400> 94
Lys Ala Ser Gln Ala Pro Asn Thr Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 95
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

[0034] <220>
<221> 结构域
<222> (1)..(7)
<223> 克隆 18 VL CDR2

<400> 95
Arg Ala Asn Arg Met Val Asp
1 5

<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(9)
<223> 克隆 18 VL CDR3

<400> 96
Leu Gln Tyr Glu Asp Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 97
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(119)
<223> 克隆 18 VH

<400> 97
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 Gln Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Gly Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Met Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Val 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 98
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(110)
 <223> 克隆 18 VL

[0035] <400> 98
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Pro Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Ala Asn Arg Met Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Glu Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110

<210> 99
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(445)
 <223> 克隆 18 HC

<400> 99
 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 Gln Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Gly Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Met Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Val 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu

[0036]

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

<210> 100
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(214)
 <223> 克隆 18 LC

<400> 100
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Pro Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Ala Asn Arg Met Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Glu Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 101
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(5)
 <223> 克隆 19 VH CDR1

<400> 101
 Asp Thr Tyr Ile His
 1 5

<210> 102
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(17)
 <223> 克隆 19 VH CDR2

[0037]

<400> 102
 Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Ala Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 103
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(10)
 <223> 克隆 19 VH CDR3

<400> 103
 Gly Asn Leu His Tyr Gly Leu Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 104
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(11)
 <223> 克隆 19 VL CDR1

<400> 104
 Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr Leu Ser
 1 5 10

<210> 105
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(7)
 <223> 克隆 19 VL CDR2

 <400> 105
 Arg Ala Asn Arg Met Gly Asp
 1 5

 <210> 106
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(9)
 <223> 克隆 19 VL CDR3

 <400> 106
 Leu Gln Ser Asp Asp Phe Pro Tyr Thr
 1 5

 <210> 107
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 [0038] <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(119)
 <223> 克隆 19 VH

 <400> 107
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Met Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Ala Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Gly Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

 <210> 108
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(110)
 <223> 克隆 19 VL

 <400> 108
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

```

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

```

<210> 109
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(445)
 <223> 克隆 19 HC

[0039]

```

<400> 109
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 Ala Ser Gly Phe Asn Met Lys Asp Thr
      20      25      30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
      35      40      45
Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Ala Thr Glu 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
Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Gly Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
      100      105      110
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
      115      120      125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
      195      200      205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
      210      215      220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
      225      230      235      240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
      245      250      255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
      260      265      270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
      275      280      285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
      290      295      300
Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
      305      310      315      320
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
      325      330      335
Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
      340      345      350
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

```

Gly	Phe	³⁵⁵ Tyr	Pro	Ser	Asp	³⁶⁰ Ile	Ala	Val	Glu	Trp	³⁶⁵ Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
Pro	³⁷⁰ Glu	Asn	Asn	Tyr	³⁷⁵ Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	³⁸⁰ Met	Leu	Asp	Ser	Asp	⁴⁰⁰ Gly
³⁸⁵ Ser	Phe	Phe	Leu	³⁹⁰ Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	³⁹⁵ Val	Asp	Lys	Ser	Arg	⁴¹⁵ Trp	⁴⁰⁰ Gln
Gln	Gly	Asn	⁴⁰⁵ Val	Phe	Ser	Cys	Ser	⁴¹⁰ Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	⁴¹⁵ His	Asn
His	⁴²⁰ Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	⁴²⁵ Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	⁴³⁰ Lys			
	⁴³⁵						⁴⁴⁰					⁴⁴⁵			

<210>	110
<211>	214
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>	
<221>	链
<222>	(1)..(214)
<223>	克隆 19 LC

[illegible]

<210>	111
<211>	5
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(5)
<223> 克隆 20 VH CDR1

<400> 111
Asp Thr Tyr Ile His
1 5

$\langle 210 \rangle$	112
$\langle 211 \rangle$	17
$\langle 212 \rangle$	PRT

<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(17)
<223> 克隆 20 VH CDR2

<400> 112
Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 113
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 克隆 20 VH CDR3

<400> 113
Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 114
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

[0041] <220>
<221> 结构域
<222> (1)..(11)
<223> 克隆 20 VL CDR1

<400> 114
Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 115
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(7)
<223> 克隆 20 VL CDR2

<400> 115
Arg Ala Asn Arg Ala Val Asp
1 5

<210> 116
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(9)
<223> 克隆 20 VL CDR3

<400> 116
Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 117
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(119)
 <223> 克隆 20 VH

<400> 117
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Met Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asp Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 118
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0042] <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(110)
 <223> 克隆 20 VL

<400> 118
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Ala Asn Arg Ala Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110

<210> 119
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(445)
 <223> 克隆 20 HC

<400> 119
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Met Lys Asp Thr
 20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asp Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 120

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 链

<222> (1)..(214)

<223> 克隆 20 LC

<400> 120

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

```

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

```

<210> 121
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(5)
 <223> 克隆 2-9 VH CDR1

[0044] <400> 121
 Asp Thr Tyr Ile His
 1 5

<210> 122
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(17)
 <223> 克隆 2-9 VH CDR2

<400> 122
 Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 123
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(10)
 <223> 克隆 2-9 VH CDR3

<400> 123
 Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 124

<211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(11)
 <223> 克隆 2-9 VL CDR1

 <400> 124
 Lys Ala Ser Gln Pro Ile Asn Thr Tyr Leu Ser
 1 5 10

 <210> 125
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(7)
 <223> 克隆 2-9 VL CDR2

 <400> 125
 Arg Val Asn Arg Lys Val Asp
 1 5

 <210> 126
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 [0045] <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(9)
 <223> 克隆 2-9 VL CDR3

 <400> 126
 Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr Thr
 1 5

 <210> 127
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(119)
 <223> 克隆 2-9 VH

 <400> 127
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ala Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Gln Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 128
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(110)
 <223> 克隆 2-9 VL

<400> 128
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Pro Ile Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Val Asn Arg Lys Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110

<210> 129
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(445)
 <223> 克隆 2-9 HC

[0046]

<400> 129
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ala Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Gln Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln
			245						250						255
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Ser	265	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
		275							280				285		Lys
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
	290					295					300				
Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
305					310					315					320
Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
				325					330						335
Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser
			340					345					350		
Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys
		355						360					365		
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
	370					375					380				
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
385					390					395					400
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
			405						410					415	
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
			420					425					430		
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
		435					440					445			

<210> 130
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(214)
 <223> 克隆 2-9 LC

[0047]

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Pro	Ile	Asn	Thr	Tyr
		20						25					30		
Leu	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Arg	Val	Asn	Arg	Lys	Val	Asp	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50				55					60					
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75				80	
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Tyr	Leu	Asp	Phe	Pro	Tyr
			85						90					95	
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
		100						105					110		
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
		115					120					125			
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
		130				135					140				
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
145					150					155					160
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
			165						170					175	
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
		180						185					190		
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
		195					200					205			
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										
		210													

<210> 131
 <211> 5
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(5)
<223> 克隆 2-11 VH CDR1

<400> 131
Asp Thr Tyr Ile His
1 5

<210> 132
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(17)
<223> 克隆 2-11 VH CDR2

<400> 132
Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Gly Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 133
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

[0048] <220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 克隆 2-11 VH CDR3

<400> 133
Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 134
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(11)
<223> 克隆 2-11 VL CDR1

<400> 134
Lys Ala Ser Gln Pro Ile Asn Thr Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 135
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(7)
<223> 克隆 2-11 VL CDR2

<400> 135
Arg Val Asn Arg Lys Val Asp
1 5

<210> 136
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(9)
 <223> 克隆 2-11 VL CDR3

<400> 136
 Leu Gln Tyr Val Asp Phe Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 137
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(119)
 <223> 克隆 2-11 VH

<400> 137
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Gly Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

[0049]

<210> 138
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(110)
 <223> 克隆 2-11 VL

<400> 138
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Pro Ile Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Val Asn Arg Lys Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Val Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110

<210> 139

<211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(445)
 <223> 克隆 2-11 HC

<400> 139
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Gly Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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
 [0050] Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 140
 <211> 214

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 链
<222> (1)..(214)
<223> 克隆 2-11 LC

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

[0051]

<210> 141
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(5)
<223> 共有 VH CDR1

<400> 141
Asp Thr Tyr Ile His
1 5

<210> 142
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(17)
<223> 共有 VH CDR2

<220>
<221> 不确定
<222> (1)..(1)
<223> 位置 1 的'Xaa'代表任何氨基酸

<220>
<221> 不确定

<222> (8)..(8)
 <223> 位置 8 的'Xaa'代表任何氨基酸

 <400> 142
 Xaa Ile Asp Pro Ala Asn Gly Xaa Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

 <210> 143
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(10)
 <223> 共有 VH CDR3

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (6)..(6)
 <223> 位置 6 的'Xaa'代表任何氨基酸

 <400> 143
 Gly Asn Leu His Tyr Xaa Leu Met Asp Tyr
 1 5 10

 <210> 144
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 [0052] <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(11)
 <223> 共有 VL CDR1

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (5)..(5)
 <223> 位置 5 的'Xaa'代表任何氨基酸

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (6)..(6)
 <223> 位置 6 的'Xaa'代表任何氨基酸

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (7)..(7)
 <223> 位置 7 的'Xaa'代表任何氨基酸

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (10)..(10)
 <223> 位置 10 的'Xaa'代表任何氨基酸

 <400> 144
 Lys Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Thr Tyr Xaa Ser
 1 5 10

 <210> 145
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域

<222> (1)..(7)
<223> 共有 VL CDR2

<220>
<221> 不确定
<222> (2)..(2)
<223> 位置 2 的'Xaa'代表任何氨基酸

<220>
<221> 不确定
<222> (5)..(5)
<223> 位置 5 的'Xaa'代表任何氨基酸

<220>
<221> 不确定
<222> (6)..(6)
<223> 位置 6 的'Xaa'代表任何氨基酸

<400> 145
Arg Xaa Asn Arg Xaa Xaa Asp
1 5

<210> 146
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(9)
<223> 共有 VL CDR3

[0053] <220>
<221> 不确定
<222> (4)..(4)
<223> 位置 4 的'Xaa'代表任何氨基酸

<400> 146
Leu Gln Tyr Xaa Asp Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 147
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(119)
<223> 共有 VH

<220>
<221> 不确定
<222> (28)..(28)
<223> 位置 28 的'Xaa'代表任何氨基酸

<220>
<221> 不确定
<222> (29)..(29)
<223> 位置 29 的'Xaa'代表任何氨基酸

<220>
<221> 不确定
<222> (30)..(30)
<223> 位置 30 的'Xaa'代表任何氨基酸

<220>
<221> 不确定
<222> (50)..(50)

<223> 位置 50 的 'Xaa' 代表任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (57)..(57)

<223> 位置 57 的 'Xaa' 代表任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (104)..(104)

<223> 位置 104 的 'Xaa' 代表任何氨基酸

<400> 147

```

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 Ala Ser Gly Phe Xaa Xaa Xaa Asp Thr
          20          25          30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
          35          40          45
Gly Xaa Ile Asp Pro Ala Asn Gly Xaa Thr Glu 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
Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Xaa Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
          100          105          110
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
          115

```

<210> 148

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

[0054]

<220>

<221> 结构域

<222> (1)..(110)

<223> 共有 VL

<220>

<221> 不确定

<222> (28)..(28)

<223> 位置 28 的 'Xaa' 代表任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (29)..(29)

<223> 位置 29 的 'Xaa' 代表任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (30)..(30)

<223> 位置 30 的 'Xaa' 代表任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (33)..(33)

<223> 位置 33 的 'Xaa' 代表任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (51)..(51)

<223> 位置 51 的 'Xaa' 代表任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (54)..(54)

<223> 位置 54 的 'Xaa' 代表任何氨基酸

<220>
 <221> 不确定
 <222> (55)..(55)
 <223> 位置 55 的'Xaa'代表任何氨基酸

<220>
 <221> 不确定
 <222> (92)..(92)
 <223> 位置 92 的'Xaa'代表任何氨基酸

<400> 148
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Thr Tyr
 20 25 30
 Xaa Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Xaa Asn Arg Xaa Xaa Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Xaa Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110

<210> 149
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0055] <220>
 <221> 链
 <222> (1)..(445)
 <223> 共有 HC

<220>
 <221> 不确定
 <222> (28)..(28)
 <223> 位置 28 的'Xaa'代表任何氨基酸

<220>
 <221> 不确定
 <222> (29)..(29)
 <223> 位置 29 的'Xaa'代表任何氨基酸

<220>
 <221> 不确定
 <222> (30)..(30)
 <223> 位置 30 的'Xaa'代表任何氨基酸

<220>
 <221> 不确定
 <222> (57)..(57)
 <223> 位置 57 的'Xaa'代表任何氨基酸

<220>
 <221> 不确定
 <222> (104)..(104)
 <223> 位置 104 的'Xaa'代表任何氨基酸

<400> 149
 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 Ala Ser Gly Phe Xaa Xaa Xaa Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Xaa Thr Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Xaa Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 [0056] Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 150
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(214)
 <223> 共有 LC

<220>
 <221> 不确定
 <222> (28)..(28)
 <223> 位置 28 的 'Xaa' 代表任何氨基酸

<220>
 <221> 不确定
 <222> (29)..(29)

<223> 位置 29 的 'Xaa' 代表任何氨基酸
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (30)..(30)
 <223> 位置 30 的 'Xaa' 代表任何氨基酸
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (33)..(33)
 <223> 位置 33 的 'Xaa' 代表任何氨基酸
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (51)..(51)
 <223> 位置 51 的 'Xaa' 代表任何氨基酸
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (54)..(54)
 <223> 位置 54 的 'Xaa' 代表任何氨基酸
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (55)..(55)
 <223> 位置 55 的 'Xaa' 代表任何氨基酸
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (92)..(92)
 <223> 位置 92 的 'Xaa' 代表任何氨基酸
 <400> 150
 [0057] Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Thr Tyr
 20 25 30
 Xaa Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Xaa Asn Arg Xaa Xaa Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Xaa Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 151
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 结构域

<222> (1)..(5)
<223> 29.39/44.21 VH CDR1

<400> 151
Asp Thr Tyr Ile His
1 5

<210> 152
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(5)
<223> 3.10 VH CDR1

<400> 152
Thr Tyr Asp Val Ser
1 5

<210> 153
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(5)
<223> 30.19/6.62 VH CDR1

<400> 153
Asp Tyr Ser Ile His
1 5

[0058]

<210> 154
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(17)
<223> 29.39/44.21 VH CDR2

<400> 154
Lys Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Glu Tyr Asp Leu Asn Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 155
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(16)
<223> 3.10 VH CDR2

<400> 155
Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Thr Phe Met Ser
1 5 10 15

<210> 156
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(17)
<223> 30.19/6.62 VH CDR2

<400> 156
Trp Met Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Ala Tyr Ala Asp Asp Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 157
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 29.39/44.21 VH CDR3

<400> 157
Gly Asn Leu His Tyr Tyr Leu Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 158
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

[0059] <220>
<221> 结构域
<222> (1)..(3)
<223> 3.10 VH CDR3

<400> 158
Val Asp Tyr
1

<210> 159
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(8)
<223> 30.19/6.62 VH CDR3

<400> 159
Ser Ser Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 160
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(11)
<223> 29.39/30.19 VL CDR1

<400> 160
Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 161

<211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(16)
 <223> 6.62 VL CDR1

 <400> 161
 Arg Ser Ser Gln Thr Leu Glu His Ile Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
 1 5 10 15

 <210> 162
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(16)
 <223> 44.21 VL CDR1

 <400> 162
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
 1 5 10 15

 <210> 163
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 [0060] <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(16)
 <223> 3.10 VL CDR1

 <400> 163
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Asn Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
 1 5 10 15

 <210> 164
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(7)
 <223> 29.39/30.19 VL CDR2

 <400> 164
 Arg Ala Asn Arg Met Val Asp
 1 5

 <210> 165
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(7)
 <223> 6.62 VL CDR2

 <400> 165
 Lys Val Ser Asp Arg Phe Ser
 1 5

<210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(7)
<223> 44.21/3.10 VL CDR2

<400> 166
Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 167
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(9)
<223> 29.39/30.19 VL CDR3

<400> 167
Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 168
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0061] <220>
<221> 结构域
<222> (1)..(9)
<223> 6.62 VL CDR3

<400> 168
Phe Gln Gly Ser His Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 169
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(9)
<223> 44.21/3.10 VL CDR3

<400> 169
Ser Gln Asn Ala His Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 170
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(119)
<223> 29.39/44.21 VH

<400> 170
Glu Val Lys Leu Met Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

<210> 171
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(117)
 <223> 30.19/6.62 VH

[0062] <400> 171
 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 Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Ser Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Met Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Ala Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ala Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Asn His Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Thr Arg Ser Ser Tyr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110
 Leu Thr Val Ser Ser
 115

<210> 172
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(111)
 <223> 3.10 VH

<400> 172
 Glu Val Gln Leu Val 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 Phe Ser Leu Thr Thr Tyr
 20 25 30
 Asp Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Thr Phe Met
 50 55 60
 Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu
 65 70 75 80
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Val
 85 90 95
 Arg Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Arg
 100 105 110

<210> 173
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(108)
 <223> 29.39/30.19 VL

<400> 173
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Ile Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Ala Asn Arg Met Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Asp Tyr
 65 70 75 80
 Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 174
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(112)
 <223> 6.62 VL

[0063]

<400> 174
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Gln Ala Ala Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Thr Leu Glu His Ile
 20 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 85 90 95
 Ser His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105 110

<210> 175
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(113)
 <223> 3.10 VL

<400> 175
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly His Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Asn
 20 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe 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 Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Asn
 85 90 95
 Ala His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg

<210> 176
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(113)
 <223> 44.21 VL

<400> 176
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp His Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe 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 Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Asn
 85 90 95
 [0064] Ala His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Arg Lys Ser Asn
 100 105 110
 Glu

<210> 177
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(10)
 <223> 共有人源化 29.39 VH CDR1

<220>
 <223> GFX1X2X3DTYI X4

<220>
 <223> 其中 X1=N 或 C; X2=I、P、L 或 M; X3=K、N、R、C 或 Q; X4=H 或 Q

<220>
 <221> 不确定
 <222> (3)..(3)
 <223> 位置 3 的 'Xaa' 代表 Asn 或 Cys

<220>
 <221> 不确定
 <222> (4)..(4)
 <223> 位置 4 的 'Xaa' 代表 Ile、Pro、Leu 或 Met

<220>
 <221> 不确定
 <222> (5)..(5)
 <223> 位置 5 的 'Xaa' 代表 Lys、Asn、Arg、Cys 或 Gln

- <220>
 <221> 不确定
 <222> (10)..(10)
 <223> 位置 10 的'Xaa'代表 His 或 Gln

 <400> 177
 Gly Phe Xaa Xaa Xaa Asp Thr Tyr Ile Xaa
 1 5 10

 <210> 178
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(10)
 <223> 共有人源化 29.39 VH CDR2

 <220>
 <223> X1IDPANGX2X3X4

 <220>
 <223> 其中 X1=K 或 R; X2=N、G、F、Y、A、D、L、M 或 Q; X3=S 或 T; X4=E 或 M

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (1)..(1)
 <223> 位置 1 的'Xaa'代表 Lys 或 Arg

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (8)..(8)
 <223> 位置 8 的'Xaa'代表 Asn、Gly、Phe、Tyr、Ala、Asp、Leu、Met 或 Gln

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (9)..(9)
 <223> 位置 9 的'Xaa'代表 Ser 或 Thr

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (10)..(10)
 <223> 位置 10 的'Xaa'代表 Glu 或 Met

 <400> 178
 Xaa Ile Asp Pro Ala Asn Gly Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

 <210> 179
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(9)
 <223> 共有人源化 29.39 VH CDR3

 <220>
 <223> GNLHYX1LMD

 <220>
 <223> 其中 X1=Y、A 或 G

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (6)..(6)

- <223> 位置 6 的' Xaa' 代表 Tyr、Ala 或 Gly
 <400> 179
 Gly Asn Leu His Tyr Xaa Leu Met Asp
 1 5
 <210> 180
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(11)
 <223> 共有人源化 29.39 VL CDR1
 <220>
 <223> KASQX1X2X3TYX4S
 <220>
 <223> 其中 X1=A、P 或 T; X2=I、T 或 P; X3=N 或 A; X4=L、G 或 H
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (5)..(5)
 <223> 位置 5 的' Xaa' 代表 Ala、Pro 或 Thr
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (6)..(6)
 <223> 位置 6 的' Xaa' 代表 Ile、Thr 或 Pro
 [0066] <220>
 <221> 不确定
 <222> (7)..(7)
 <223> 位置 7 的' Xaa' 代表 Asn 或 Ala
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (10)..(10)
 <223> 位置 10 的' Xaa' 代表 Leu、Gly 或 His
 <400> 180
 Lys Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Thr Tyr Xaa Ser
 1 5 10
 <210> 181
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(7)
 <223> 共有人源化 29.39 VL CDR2
 <220>
 <223> RX1NRX2X3X4
 <220>
 <223> 其中 X1=A、Y、V 或 D; X2=M、K、V 或 A; X3=V、P、Y 或 G; X4=D 或 G
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (2)..(2)
 <223> 位置 2 的' Xaa' 代表 Ala, Tyr, Val or Asp
 <220>
 <221> 不确定

<222> (5)..(5)
 <223> 位置 5 的'Xaa'代表 Met、Lys、Val 或 Ala

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (6)..(6)
 <223> 位置 6 的'Xaa'代表 Val、Pro、Tyr 或 Gly

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (7)..(7)
 <223> 位置 7 的'Xaa'代表 Asp 或 Gly

 <400> 181
 Arg Xaa Asn Arg Xaa Xaa Xaa
 1 5

 <210> 182
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(9)
 <223> 共有人源化 29.39 VL CDR3

 <220>
 <223> LQX1X2DFPYX3

 <220>
 <223> 其中 X1=Y、S 或 F; X2=D、V、L、R、E 或 Q; X3=T 或 K

 [0067] <220>
 <221> 不确定
 <222> (3)..(3)
 <223> 位置 3 的'Xaa'代表 Tyr、Ser 或 Phe

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (4)..(4)
 <223> 位置 4 的'Xaa'代表 Asp、Val、Leu、Arg、Glu 或 Gln

 <220>
 <221> 不确定
 <222> (9)..(9)
 <223> 位置 9 的'Xaa'代表 Thr 或 Lys

 <400> 182
 Leu Gln Xaa Xaa Asp Phe Pro Tyr Xaa
 1 5

 <210> 183
 <211> 704
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 链
 <222> (1)..(704)
 <223> 抗 HER2 HC-抗 CD137 scFv-IgG4-PAA (HCC)

 <400> 183
 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 Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly 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 Gln Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe 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
 [0068] Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser 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 Gln 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 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu 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 Leu Gly Lys Gly
 435 440 445
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Asp Ile Gln Met Thr
 450 455 460
 Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
 465 470 475 480
 Thr Cys Lys Ala Ser Gln Pro Ile Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln
 485 490 495
 Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Asn Arg
 500 505 510
 Lys Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
 515 520 525
 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
 530 535 540
 Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly
 545 550 555 560
 Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 565 570 575
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gln Glu Gln Leu Val Gln Ser
 580 585 590
 Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ala Ser Cys Lys

	595		600		605										
Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	Gln	Asp	Thr	Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln
	610					615					620				
Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Arg	Ile	Asp	Pro	Ala	Asn
625					630					635					640
Gly	Asn	Ser	Glu	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr
			645						650					655	
Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg
			660					665					670		
Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Thr	Gly	Asn	Leu	His	Tyr
		675					680					685			
Ala	Leu	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser
690						695						700			

<210> 184

<211> 707

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 链

<222> (1)..(707)

<223> 抗HER2 HC-抗CD137 scFv-IgG1 (HCC)

<400> 184

[0069]

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	Asn	Ile	Lys	Asp	Thr
			20					25					30		
Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Arg	Ile	Tyr	Pro	Thr	Asn	Gly	Tyr	Thr	Arg	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr
65					70				75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90				95		
Ser	Arg	Trp	Gly	Asp	Gly	Phe	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	
		100					105					110			
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
		115					120					125			
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Thr	Ala	Ala	
	130					135					140				
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145					150					155				160	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
			165						170				175		
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
		180						185					190		
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
		195					200					205			
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
	210					215					220				
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly
225					230				235					240	
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
			245						250				255		
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
		260						265					270		
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
	275						280					285			
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
	290					295						300			
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
305					310				315					320	
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu
			325						330					335	
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr
		340					345						350		

	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
			355					360					365			
	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp
		370					375					380				
	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val
		385				390					395					400
	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp
					405					410					415	
	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His
					420				425					430		
	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro
			435					440					445			
	Gly	Lys	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Asp	Ile
		450					455					460				
	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg
		465				470					475					480
	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Pro	Ile	Asn	Thr	Tyr	Leu	Ser
					485					490					495	
	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg
					500				505					510		
	Val	Asn	Arg	Lys	Val	Asp	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly
			515					520					525			
	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp
		530					535					540				
	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Tyr	Leu	Asp	Phe	Pro	Tyr	Thr	Phe
		545				550					555					560
	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
					565					570					575	
	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gln	Glu	Gln	Leu
					580				585					590		
	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Ala
			595					600					605			
	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	Gln	Asp	Thr	Tyr	Ile	His	Trp
		610					615						620			
[0070]	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Arg	Ile	Asp
						630					635					640
	Pro	Ala	Asn	Gly	Asn	Ser	Glu	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val
					645					650					655	
	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser
				660				665						670		
	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Thr	Gly	Asn
			675					680					685			
	Leu	His	Tyr	Ala	Leu	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr
		690					695					700				
	Val	Ser	Ser													
																705
	<210>	185														
	<211>	214														
	<212>	PRT														
	<213>	人工序列														
	<220>															
	<221>	链														
	<222>	(1)..(214)														
	<223>	抗HER2 LC														
	<400>	185														
	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
	1				5					10					15	
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Asn	Thr	Ala
				20					25					30		
	Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
				35				40					45			
	Tyr	Ser	Ala	Ser	Phe	Leu	Tyr	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
		50					55					60				
	Ser	Arg	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	His	Tyr	Thr	Thr	Pro	Pro

<400> 189
Lys Asp Thr Tyr Ile His
1 5

<210> 190
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(17)
<223> 抗 HER2 CDR-H2 (Kabat)

<400> 190
Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 191
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(5)
<223> 抗 HER2 CDR-H2 (Chothia)

<400> 191
Pro Thr Asn Gly Tyr
1 5

[0072] <210> 192
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 抗 HER2 CDR-H2 (AbM)

<400> 192
Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg
1 5 10

<210> 193
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(13)
<223> 抗 HER2 CDR-H2 (Contact)

<400> 193
Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg
1 5 10

<210> 194
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> 结构域
 <222> (1)..(11)
 <223> 抗 HER2 CDR-H3 (Kabat/Abm/Chothia)

 <400> 194
 Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5 10

 <210> 195
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(12)
 <223> 抗 HER2 CDR-H3 (Contact)

 <400> 195
 Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp
 1 5 10

 <210> 196
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(11)
 <223> 抗 HER2 CDR-L1 (Kabat/Abm/Chothia)

 [0073] <400> 196
 Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala
 1 5 10

 <210> 197
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(7)
 <223> 抗 HER2 CDR-L1 (Contact)

 <400> 197
 Asn Thr Ala Val Ala Trp Tyr
 1 5

 <210> 198
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(7)
 <223> 抗 HER2 CDR-L2 (Kabat/Abm/Chothia)

 <400> 198
 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
 1 5

 <210> 199
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

```

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 抗 HER2 CDR-L2 (Contact)

<400> 199
Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr
1          5          10

<210> 200
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(9)
<223> 抗 HER2 CDR-L3 (Kabat/Abm/Chothia)

<400> 200
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1          5

<210> 201
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(8)
<223> 抗 HER2 CDR-L3 (Contact)

[0074] <400> 201
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
1          5

<210> 202
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(120)
<223> 抗 HER2 VH

<400> 202
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 Asn Ile Lys Asp Thr
20          25          30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35          40          45
Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50          55          60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65          70          75          80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85          90          95
Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100         105         110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115         120

<210> 203
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

```

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(108)
 <223> 抗 HER2 VL

<400> 203
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Arg 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 His Tyr Thr Thr Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 204
 <211> 724
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(724)
 <223> 抗 HER2 HC-(GRPGS)4-抗 CD137 scFv-IgG4 (HCC)

[0075] <400> 204
 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 Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Arg Trp Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly 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 Gln Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe 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 Gly Leu Pro Ser Ser 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 Gln 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 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu 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 Leu Gly Lys Gly
 435 440 445
 Arg Pro Gly Ser Gly Arg Pro Gly Ser Gly Arg Pro Gly Ser Gly Arg
 450 455 460
 Pro Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala
 465 470 475 480
 Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Pro Ile
 485 490 495 500
 Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
 500 505 510
 Leu Leu Ile Tyr Arg Val Asn Arg Lys Val Asp Gly Val Pro Ser Arg
 515 520 525
 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
 530 535 540
 Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Leu Asp
 545 550 555 560
 [0076] Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Gly
 565 570 575
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
 595 600 605
 Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys
 610 615 620
 Ala Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Gln Asp Thr Tyr Ile His
 625 630 635 640
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile
 645 650 655
 Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg
 660 665 670
 Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu
 675 680 685
 Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly
 690 695 700
 Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
 705 710 715 720
 Thr Val Ser Ser

<210> 205

<211> 724

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 链

<222> (1).. (714)

<223> 抗 HER2 HC-(GRPGS)4-抗 CD137 scFv-IgG4-PAA (HCC)

<400> 205

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1	Ser	Leu	Arg	Leu	5	Ser	Cys	Ala	Ala	10	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	15	Lys	Asp	Thr
				20						25						30			
	Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val			
			35					40						45					
	Ala	Arg	Ile	Tyr	Pro	Thr	Asn	Gly	Tyr	Thr	Arg	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val			
		50					55				60								
	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr			
	65					70				75						80			
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
				85					90					95					
	Ser	Arg	Trp	Gly	Gly	Asp	Gly	Phe	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln			
			100					105						110					
	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val			
			115					120					125						
	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala			
		130				135					140								
	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser			
	145					150					155					160			
	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val			
				165					170						175				
	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro			
			180						185					190					
	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys			
			195					200					205						
	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro			
		210				215					220								
	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	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	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu			
			260						265					270					
	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys			
			275					280					285						
	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	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	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	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	Gln	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	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg			
				405					410						415				
	Trp	Gln	Glu	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	Leu	Gly	Lys	Gly			
			435					440					445						
	Arg	Pro	Gly	Ser	Gly	Arg	Pro	Gly	Ser	Gly	Arg	Pro	Gly	Ser	Gly	Arg			
		450				455					460								
	Pro	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala			
	465					470					475					480			
	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Pro	Ile			
				485					490					495					
	Asn	Thr	Tyr	Leu	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys			
			500					505						510					
	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Val	Asn	Arg	Lys	Val	Asp	Gly	Val	Pro	Ser	Arg			
			515					520					525						
	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser			
		530				535						540							
	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Tyr	Leu	Asp			
	545					550					555					560			

[0077]

Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Gly
 565 570 575
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
 595 600 605
 Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys
 610 615 620
 Ala Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Gln Asp Thr Tyr Ile His
 625 630 635 640
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile
 645 650 655
 Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg
 660 665 670
 Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu
 675 680 685
 Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly
 690 695 700
 Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
 705 710 715 720
 Thr Val Ser Ser

<210> 206
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(15)
 <223> 示例性接头(接头 7)

[0078] <400> 206
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 207
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(5)
 <223> 示例性接头 207

<400> 207
 Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5

<210> 209
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(12)
 <223> 示例性接头 208

<400> 209
 Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
 1 5 10

<210> 210
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

- <220>
<221> 结构域
<222> (1)..(8)
<223> 示例性接头 209
- <400> 210
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
1 5
- <210> 211
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
- <220>
<221> 结构域
<222> (1)..(12)
<223> 示例性接头 210
- <400> 211
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10
- <210> 212
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
- <220>
<221> 结构域
<222> (1)..(6)
<223> 示例性接头 211
- [0079] <400> 212
Gly Ser Gly Gly Ser Gly
1 5
- <210> 213
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
- <220>
<221> 结构域
<222> (1)..(9)
<223> 示例性接头 212
- <400> 213
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
1 5
- <210> 214
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
- <220>
<221> 结构域
<222> (1)..(7)
<223> 示例性接头 213
- <400> 214
Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5
- <210> 215
<211> 18
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 结构域

<222> (1)..(18)

<223> 示例性接头 214

<400> 215

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly

<210> 216

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 结构域

<222> (1)..(30)

<223> 示例性接头 215

<400> 216

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 217

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

[0080]

<220>

<221> 结构域

<222> (1)..(5)

<223> 示例性接头(接头 10)

<400> 217

Pro Ala Pro Ala Pro
1 5

<210> 219

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 结构域

<222> (1)..(7)

<223> 示例性接头 217

<400> 219

Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
1 5

<210> 220

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 结构域

<222> (1)..(7)

<223> 示例性接头 218

<400> 220

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

	1	5
	<210>	221
	<211>	7
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<221>	结构域
	<222>	(1)..(7)
	<223>	示例性接头 219
	<400>	221
	Ala Glu Ala Ala Ala Lys Ala	
	1	5
	<210>	222
	<211>	12
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<221>	结构域
	<222>	(1)..(12)
	<223>	示例性接头 220
	<400>	222
	Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala	
	1	5 10
	<210>	223
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
[0081]	<220>	
	<221>	结构域
	<222>	(1)..(10)
	<223>	示例性接头 221
	<400>	223
	Gly Arg Pro Gly Ser Gly Arg Pro Gly Ser	
	1	5 10
	<210>	224
	<211>	20
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<221>	结构域
	<222>	(1)..(20)
	<223>	示例性接头 222
	<400>	224
	Gly Arg Pro Gly Ser Gly Arg Pro Gly Ser Gly Arg Pro Gly Ser Gly	
	1	5 10 15
	Arg Pro Gly Ser	
	20	
	<210>	225
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	人工序列
	<220>	
	<221>	结构域
	<222>	(1)..(10)
	<223>	示例性接头 223

<400> 225
Gly Arg Gly Gly Ser Gly Arg Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 226
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(20)
<223> 示例性接头 224

<400> 226
Gly Arg Gly Gly Ser Gly Arg Gly Gly Ser Gly Arg Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Arg Gly Gly Ser
20

<210> 227
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 示例性接头 225

<400> 227
Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser
1 5 10

[0082] <210> 228
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(20)
<223> 示例性接头 226

<400> 228
Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly
1 5 10 15
Lys Pro Gly Ser
20

<210> 229
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 示例性接头 227

<400> 229
Gly Glu Pro Gly Ser Gly Glu Pro Gly Ser
1 5 10

<210> 230
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(20)
 <223> 示例性接头 228

 <400> 230
 Gly Glu Gly Gly Ser Gly Glu Gly Gly Ser Gly Glu Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Glu Gly Gly Ser
 20

 <210> 231
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(10)
 <223> 示例性接头 229

 <400> 231
 Gly Asp Pro Gly Ser Gly Asp Pro Gly Ser
 1 5 10

 <210> 232
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(20)
 <223> 示例性接头 230

 <400> 232
 Gly Asp Pro Gly Ser Gly Asp Pro Gly Ser Gly Asp Pro Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Asp Pro Gly Ser
 20

 <210> 231
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(5)
 <223> 克隆 2-9-1 VH CDR1

 <400> 231
 Asp Thr Tyr Ile His
 1 5

 <210> 232
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(17)
 <223> 克隆 2-9-1 VH CDR2

 <400> 232
 Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asn Ser Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 233
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 克隆 2-9-1 VH CDR3

<400> 233
Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 234
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(11)
<223> 克隆 2-9-1 VL CDR1

<400> 234
Lys Ala Ser Gln Pro Ile Asn Thr Tyr Leu Ser
1 5 10

[0084] <210> 235
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(7)
<223> 克隆 2-9-1 VL CDR2

<400> 235
Arg Val Asn Arg Lys Val Asp
1 5

<210> 236
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(9)
<223> 克隆 2-9-1 VL CDR3

<400> 236
Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 237
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(119)
<223> 克隆 2-9-1 VH

<400> 237
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ala Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Gln Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asn Ser Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 238
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(110)
 <223> 克隆 2-9-1 VL

[0085] <400> 238
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Pro Ile Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Val Asn Arg Lys Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 100 105 110

<210> 239
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(449)
 <223> 克隆 2-9-1 HC

<400> 239
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ala Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Gln Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asn Ser Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Ser 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 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 Glu 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 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 Phe 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
 [0086] 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
 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> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(214)
 <223> 克隆 2-9-1 LC

<400> 240
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Pro Ile Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Val Asn Arg Lys Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

```

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

```

```

<210> 241
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

```

```

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(5)
<223> 克隆 2-9-2 VH CDR1

```

```

<400> 241
Asp Thr Tyr Ile His
1          5

```

```

<210> 242
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

```

[0087]

```

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(17)
<223> 克隆 2-9-2 VH CDR2

```

```

<400> 242
Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asn Ser Glu Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1          5          10          15
Gly

```

```

<210> 243
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

```

```

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(10)
<223> 克隆 2-9-2 VH CDR3

```

```

<400> 243
Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr
1          5          10

```

```

<210> 244
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

```

```

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(11)
<223> 克隆 2-9-2 VL CDR1

```

<400> 244
 Lys Ala Ser Gln Pro Ile Asn Thr Tyr Leu Ser
 1 5 10

<210> 245
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(7)
 <223> 克隆 2-9-2 VL CDR2

<400> 245
 Arg Val Asn Arg Lys Val Asp
 1 5

<210> 246
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(9)
 <223> 克隆 2-9-2 VL CDR3

<400> 246
 Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr Thr
 1 5

[0088] <210> 247
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(119)
 <223> 克隆 2-9-2 VH

<400> 247
 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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Gln Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asn Ser Glu 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
 Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 248
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 结构域
 <222> (1)..(110)

<223> 克隆 2-9-2 VL

<400> 248

```

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

```

<210> 249

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 链

<222> (1)..(446)

<223> 克隆 2-9-2 HC

<400> 249

[0089]

```

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 Ala Ser Gly Phe Asn Ile Gln Asp Thr
20     25     30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35     40     45
Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asn Ser Glu 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
Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100    105    110
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115    120    125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195    200    205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210    215    220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225    230    235    240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245    250    255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260    265    270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275    280    285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290    295    300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305    310    315    320

```

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 250
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1).. (214)
 <223> 克隆 2-9-2 LC

<400> 250
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Pro Ile Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 [0090] Tyr Arg Val Asn Arg Lys Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 251
 <211> 716
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1).. (716)
 <223> 抗 HER2 HC-抗 CD137-1 scFv-IgG4 (HCC)

<400> 251
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	Lys	Asp	Thr
				20					25					30		
Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
		35					40					45				
Ala	Arg	Ile	Tyr	Pro	Thr	Asn	Gly	Tyr	Thr	Arg	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	
	50					55				60						
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	
65					70				75					80		
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
			85					90				95				
Ser	Arg	Trp	Gly	Gly	Asp	Gly	Phe	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	
		100					105					110				
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	
		115					120				125					
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	
	130				135				140							
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	
145					150				155					160		
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	
			165					170					175			
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	
		180					185				190					
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys		
		195				200				205						
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	
	210				215					220						
Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	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	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	
		260					265					270				
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
		275					280					285				
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	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	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	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	Gln	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	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
			405					410					415			
Trp	Gln	Glu	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	Leu	Gly	Lys	Gly	
		435				440					445					
Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	
	450				455					460						
Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	
465					470				475						480	
Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Pro	Ile	Asn	Thr	Tyr	Leu	Ser	Trp	Tyr	Gln	
			485					490					495			
Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Val	Asn	Arg	
		500					505					510				
Lys	Val	Asp	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	
		515				520					525					
Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	
	530				535						540					
Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Tyr	Leu	Asp	Phe	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	
545					550				555						560	

[0091]

Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 565 570 575
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 580 585 590
 Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
 595 600 605
 Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ala Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe
 610 615 620
 Asn Ile Gln Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
 625 630 635 640
 Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asn Ser Glu
 645 650 655
 Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser
 660 665 670
 Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
 675 680 685
 Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp
 690 695 700
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 705 710 715

<210> 252
 <211> 716
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 链
 <222> (1)..(716)
 <223> 抗HER2 HC-抗CD137-1 scFv-IgG4-PAA (HCC)

<400> 252
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 [0092] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly 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 Gln Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

[0093]

```

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 Gly Leu Pro Ser Ser 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 Gln 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 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
          405          410          415
Trp Gln Glu 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 Leu Gly Lys Gly
          435          440          445
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Asp Ile Gln Met Thr
          450          455          460
Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
465          470          475          480
Thr Cys Lys Ala Ser Gln Pro Ile Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln
          485          490          495
Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Asn Arg
          500          505          510
Lys Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
          515          520          525
Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
          530          535          540
Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Leu Asp Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly
545          550          555          560
Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
          565          570          575
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
          580          585          590
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
          595          600          605
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ala Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe
          610          615          620
Asn Ile Gln Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
625          630          635          640
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asn Ser Glu
          645          650          655
Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser
          660          665          670
Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
          675          680          685
Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly Asn Leu His Tyr Ala Leu Met Asp
          690          695          700
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
705          710          715

```

<210> 253

<211> 724

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 链

<222> (1)..(724)

<223> 抗HER2 HC-(GRPGS)4-抗CD137-2 scFv-IgG4 (HCC)

<400> 253

```

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 Asn Ile Lys Asp Thr
          20          25          30

```

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly 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 Gln Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe 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 Gly Leu Pro Ser Ser 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 Gln 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 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu 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 Leu Gly Lys Gly
 435 440 445
 Arg Pro Gly Ser Gly Arg Pro Gly Ser Gly Arg Pro Gly Ser Gly Arg
 450 455 460
 Pro Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala
 465 470 475 480
 Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Pro Ile
 485 490 495
 Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
 500 505 510
 Leu Leu Ile Tyr Arg Val Asn Arg Lys Val Asp Gly Val Pro Ser Arg
 515 520 525
 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
 530 535 540
 Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Leu Asp
 545 550 555 560
 Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Gly
 565 570 575
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

				580						585						590			
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln			
		595						600					605						
Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys				
	610						615						620						
Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	Gln	Asp	Thr	Tyr	Ile	His				
625					630					635					640				
Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Arg	Ile				
				645					650					655					
Asp	Pro	Ala	Ser	Gly	Asn	Ser	Glu	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg				
		660						665					670						
Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr	Met	Glu	Leu				
		675					680						685						
Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Thr	Gly				
	690					695						700							
Asn	Leu	His	Tyr	Ala	Leu	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val				
705					710					715					720				
Thr	Val	Ser	Ser																

<210> 254

<211> 724

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 结构域

<222> (1)..(724)

<223> 抗 HER2 HC-(GRPGS)4-抗 CD137-2 scFv-IgG4-PAA (HCC)

<400> 254

[0095]

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	Asn	Ile	Lys	Asp	Thr				
		20					25					30							
Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val				
	35					40						45							
Ala	Arg	Ile	Tyr	Pro	Thr	Asn	Gly	Tyr	Thr	Arg	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val				
	50				55					60									
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr				
65				70				75					80						
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
		85						90					95						
Ser	Arg	Trp	Gly	Gly	Asp	Gly	Phe	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln				
	100						105					110							
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val				
	115					120						125							
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala				
	130				135						140								
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser				
145				150				155					160						
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val				
			165					170					175						
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro				
	180						185						190						
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys				
	195					200					205								
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro				
	210				215						220								
Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val				
225				230				235											
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	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu				
	260						265						270						
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys				
	275					280						285							
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	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	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	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	Gln	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	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
					405					410						415
	Trp	Gln	Glu	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	Leu	Gly	Lys	Gly
					435					440						445
	Arg	Pro	Gly	Ser	Gly	Arg	Pro	Gly	Ser	Gly	Arg	Pro	Gly	Ser	Gly	Arg
					450					455						460
	Pro	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala
	465					470					475					480
	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Pro	Ile
					485					490						495
	Asn	Thr	Tyr	Leu	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys
					500					505						510
[0096]	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Val	Asn	Arg	Lys	Val	Asp	Gly	Val	Pro	Ser	Arg
					515					520						525
	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser
					530					535						540
	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Tyr	Leu	Asp
	545					550					555					560
	Phe	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Gly
					565					570						575
	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
					580					585						590
	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln
					595					600						605
	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys
					610					615						620
	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	Gln	Asp	Thr	Tyr	Ile	His
	625					630					635					640
	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Arg	Ile
					645					650						655
	Asp	Pro	Ala	Ser	Gly	Asn	Ser	Glu	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg
					660					665						670
	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr	Met	Glu	Leu
					675					680						685
	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Thr	Gly
					690					695						700
	Asn	Leu	His	Tyr	Ala	Leu	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val
	705					710					715					720
	Thr	Val	Ser	Ser												

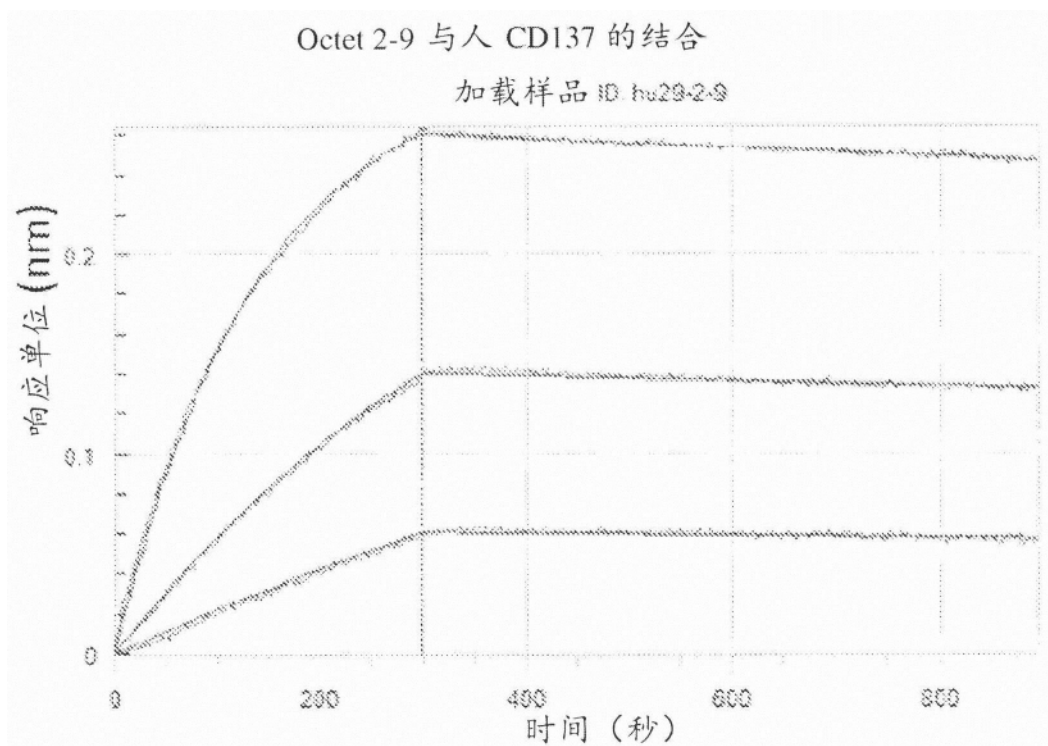


图1A

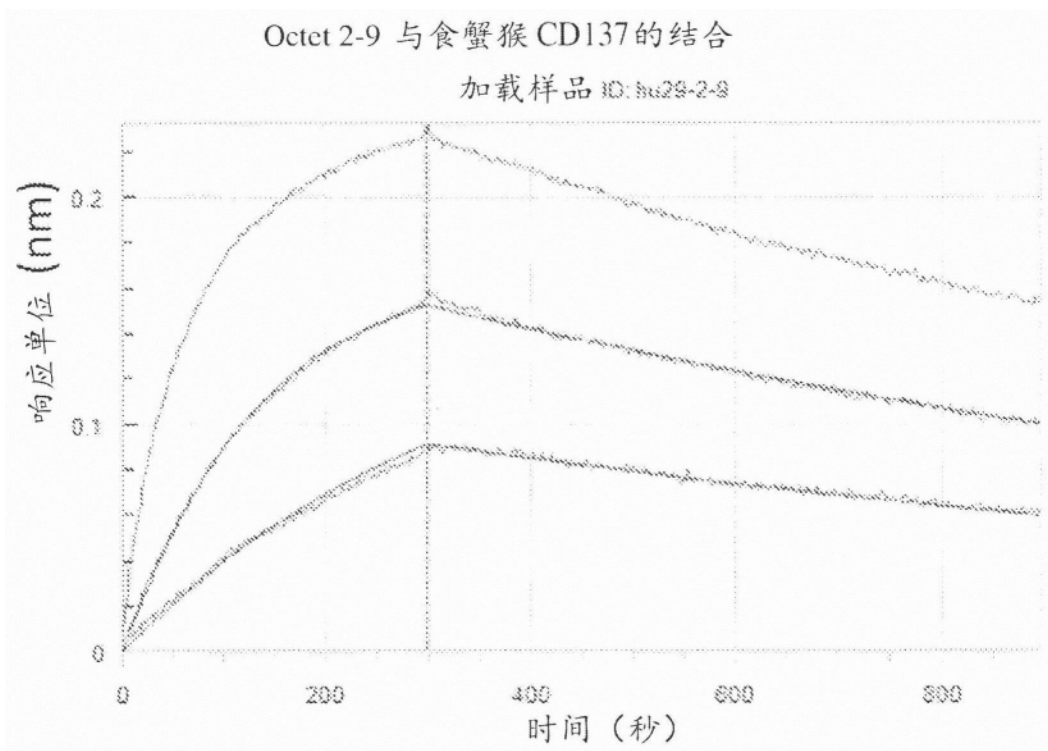


图1B

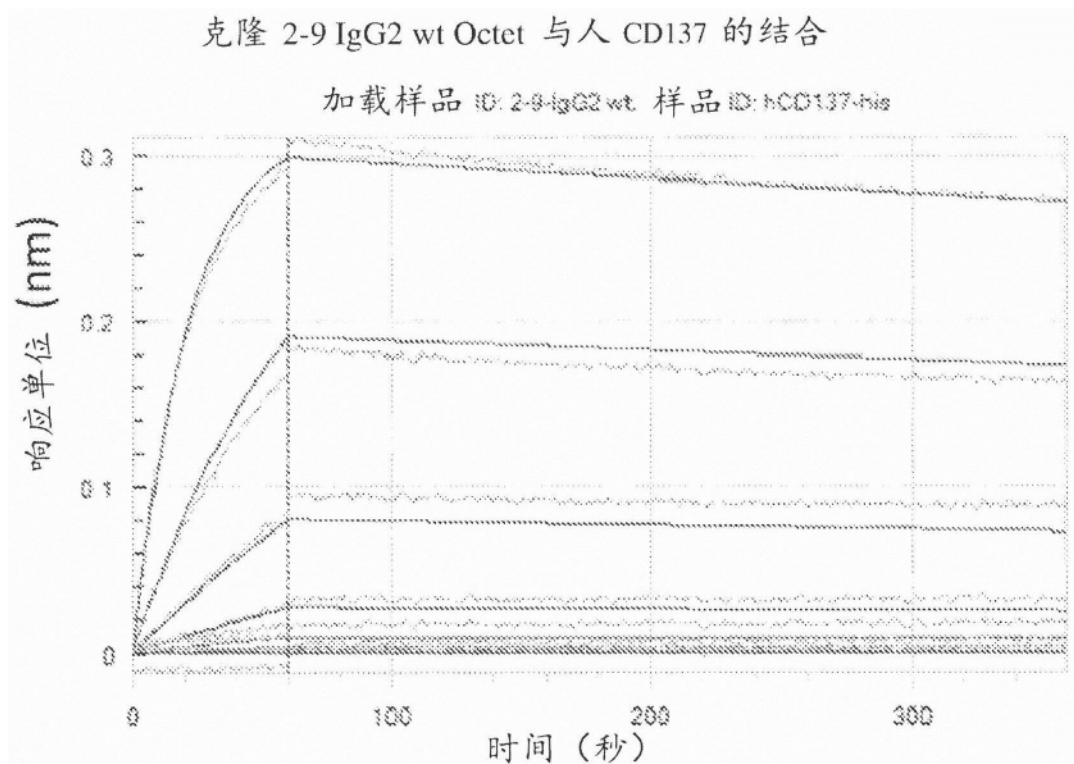


图1C

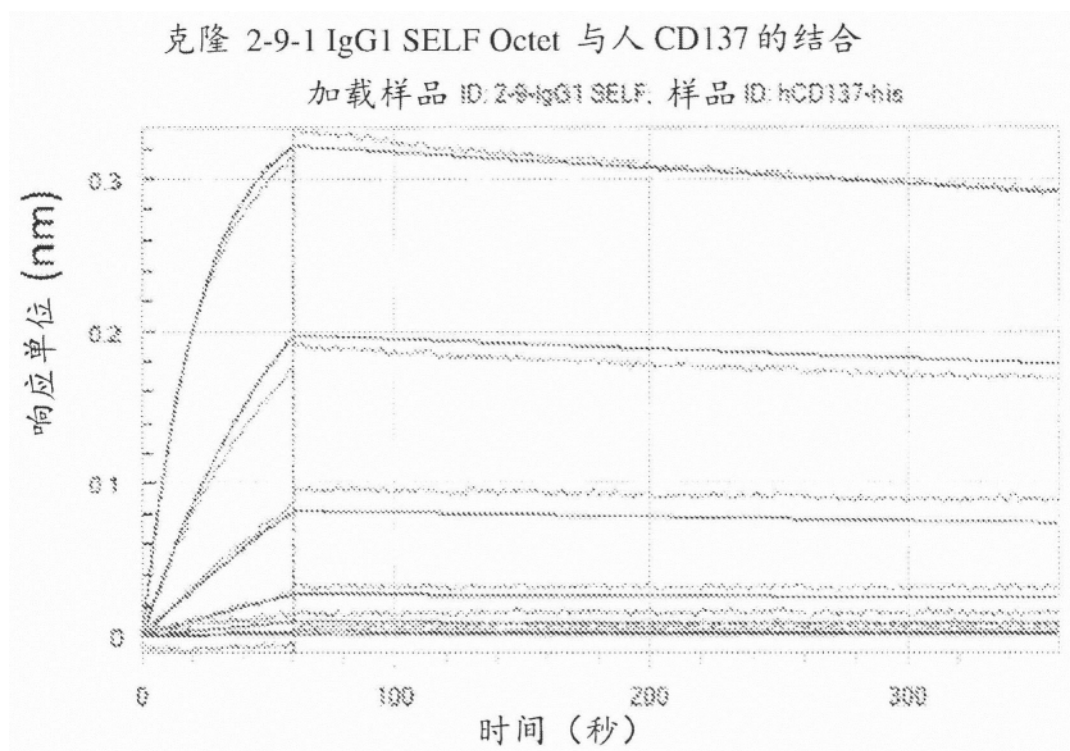


图1D

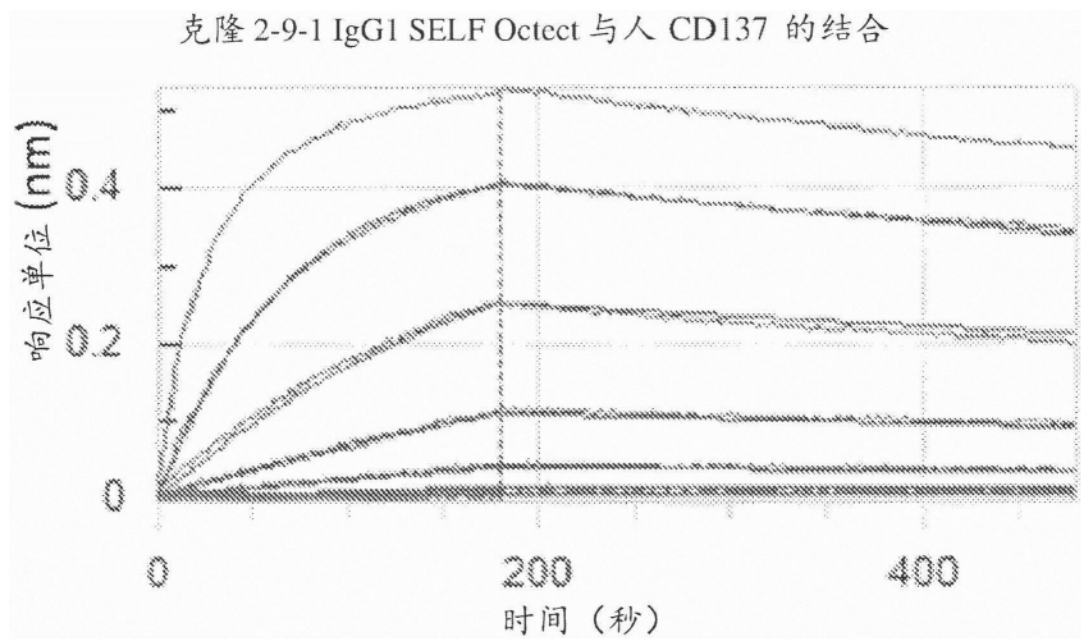


图1E

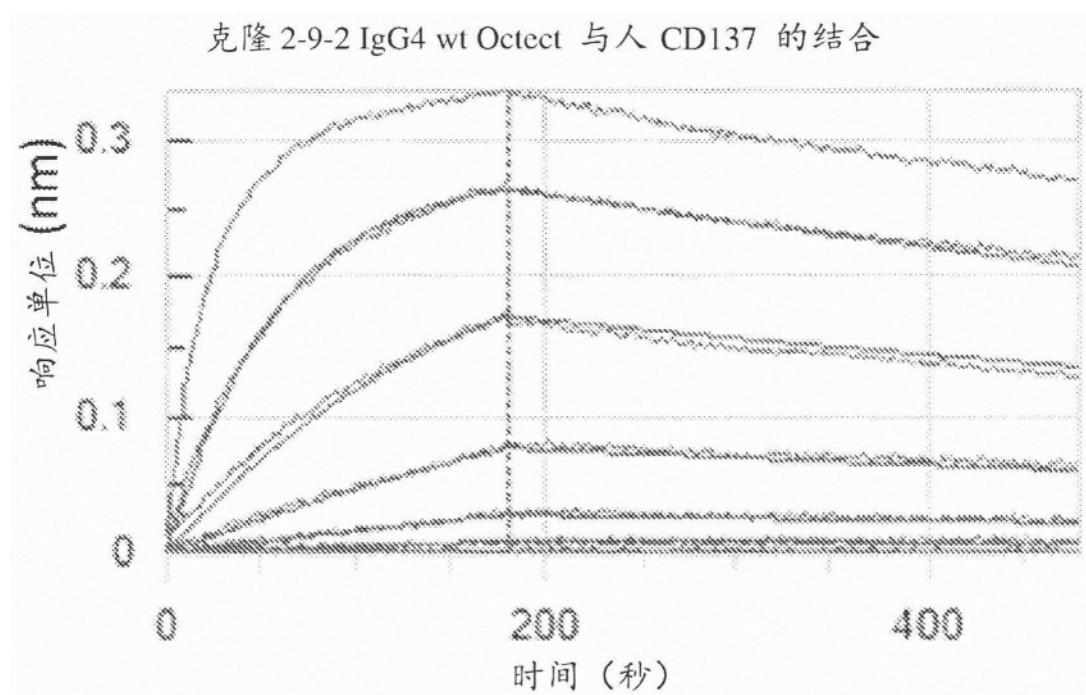


图1F

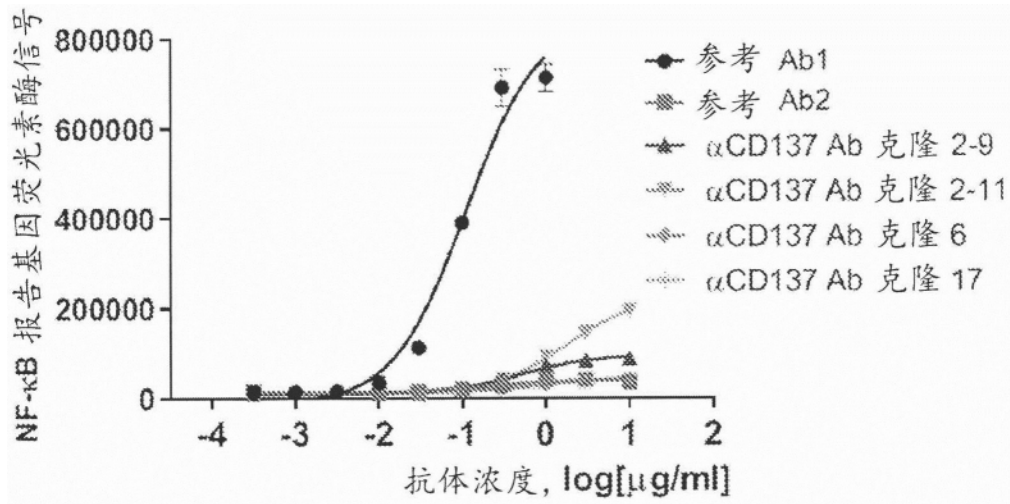


图2A

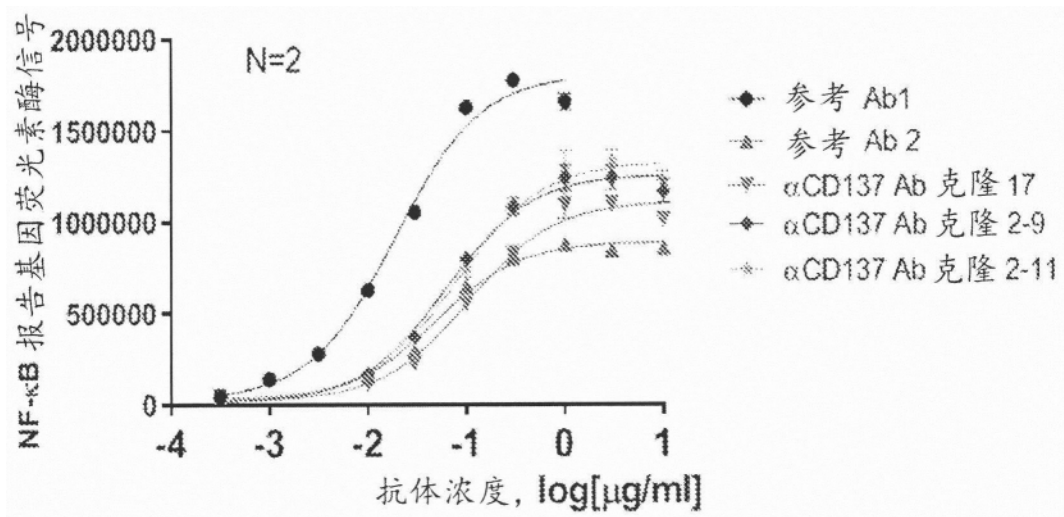


图2B

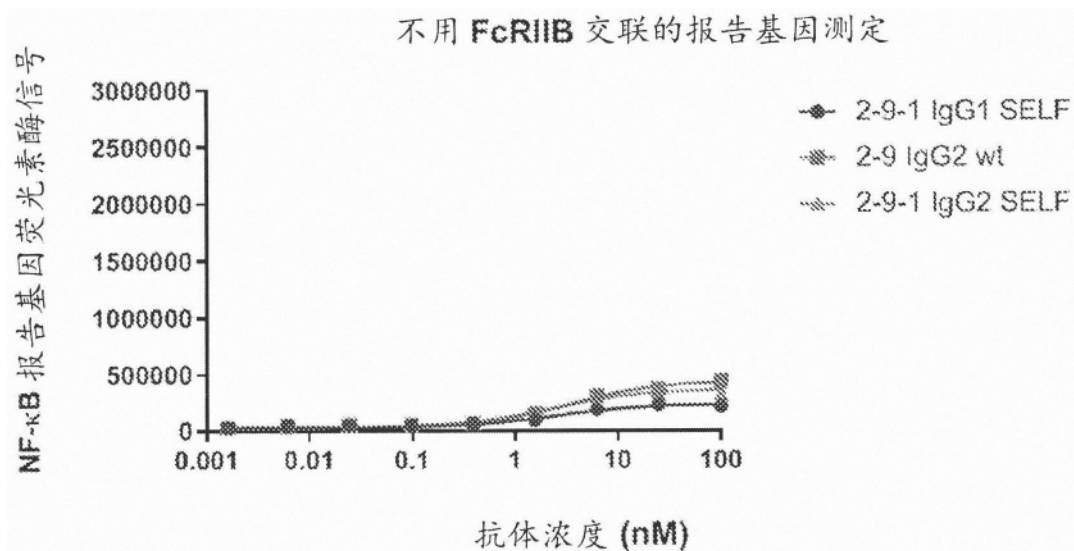


图3A

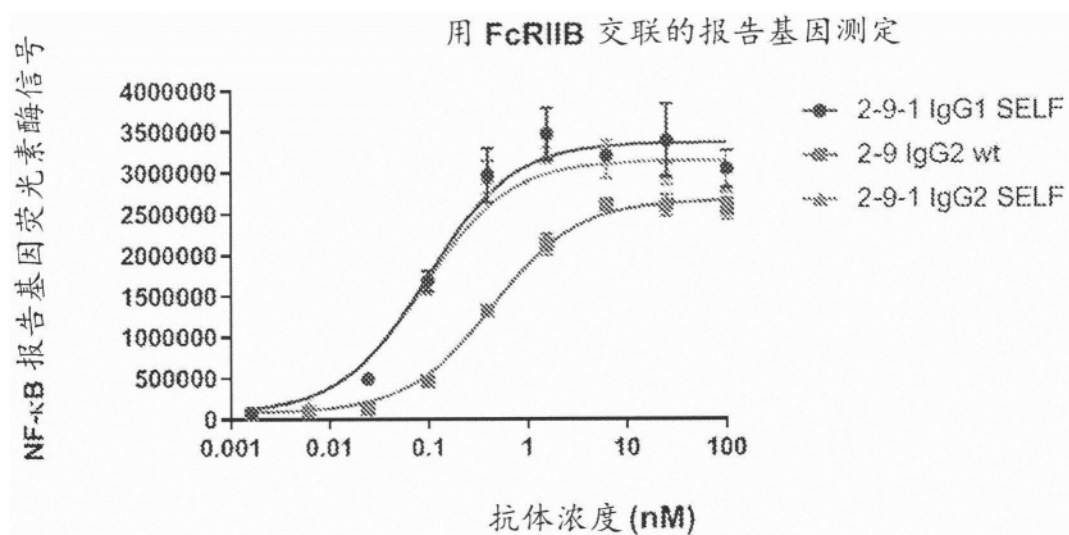


图3B

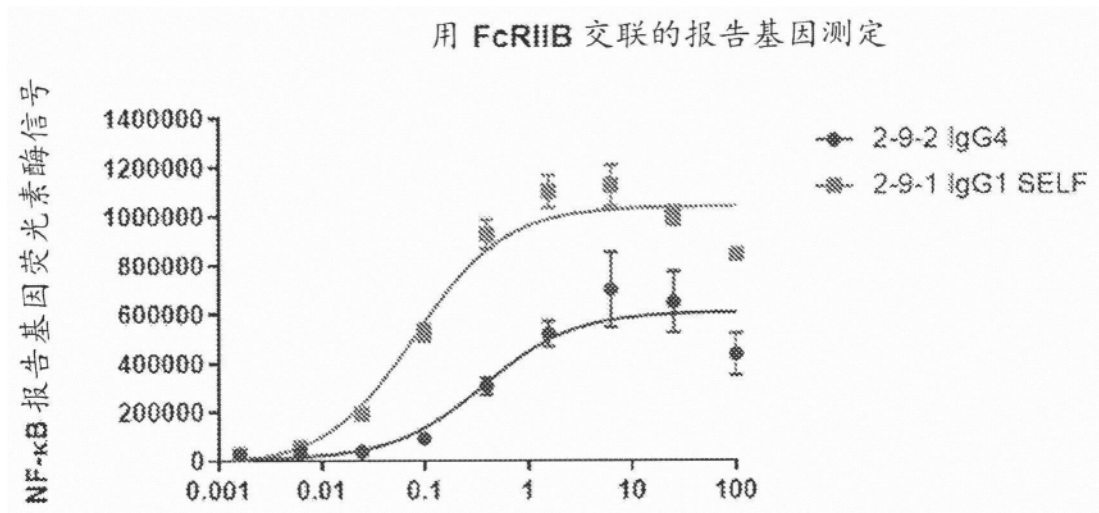


图3C

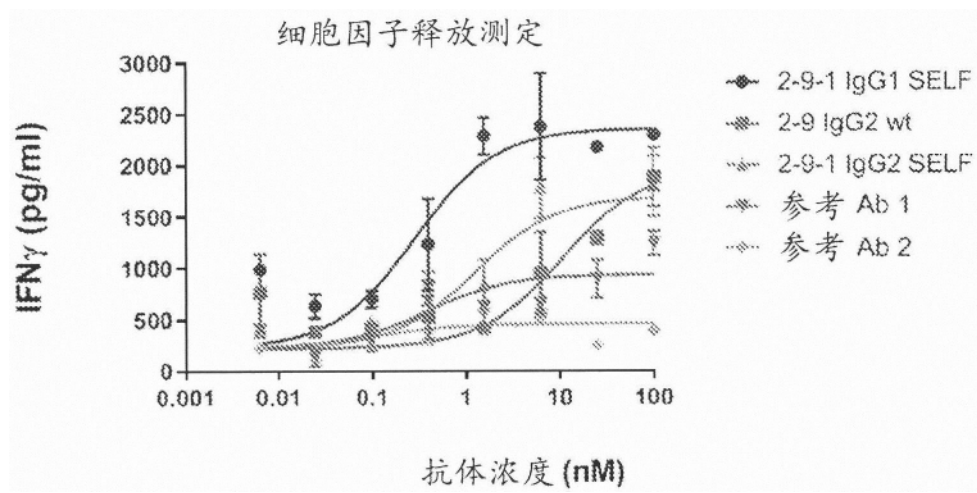


图4A

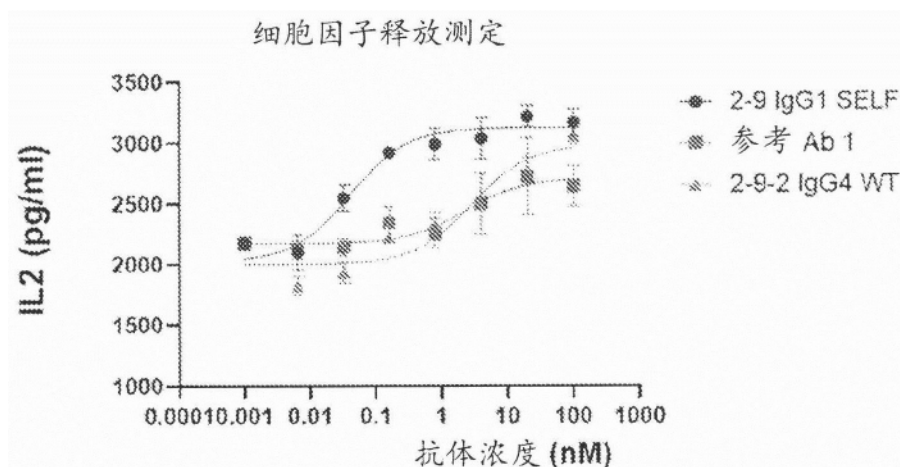


图4B

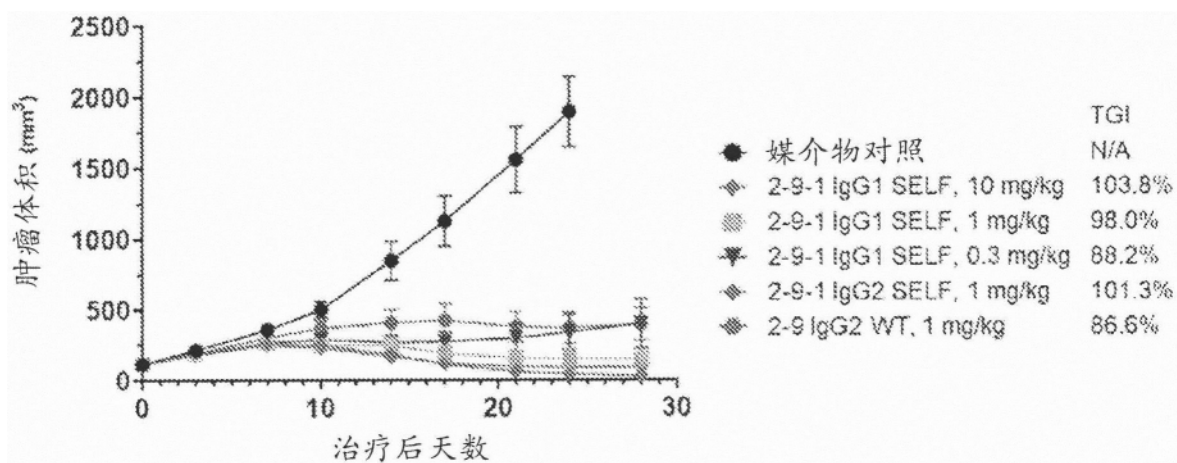


图5A

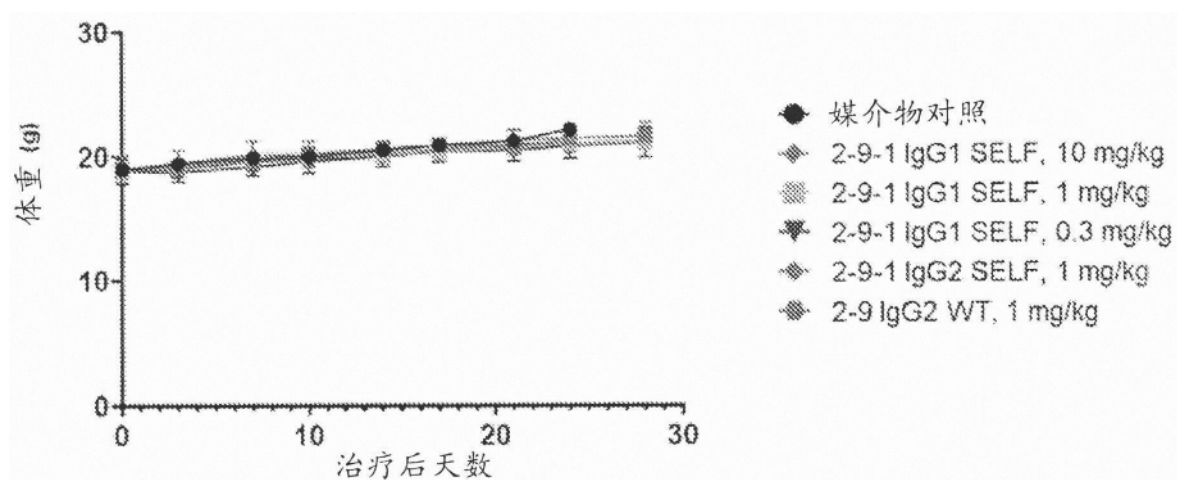


图5B

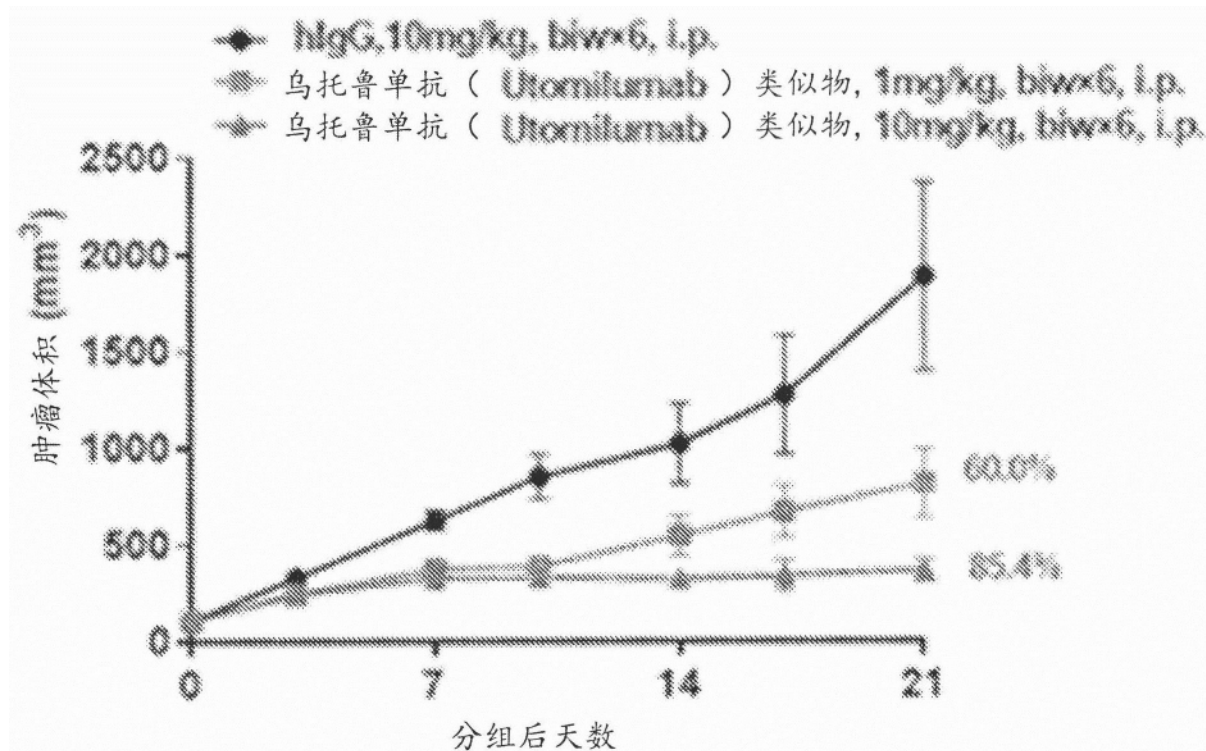


图6A

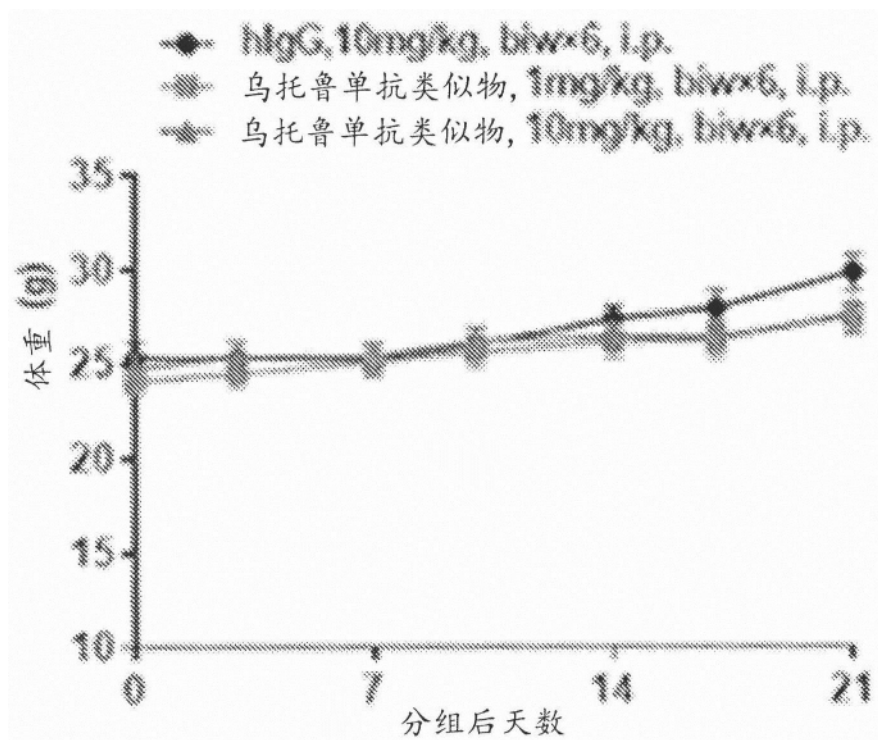


图6B

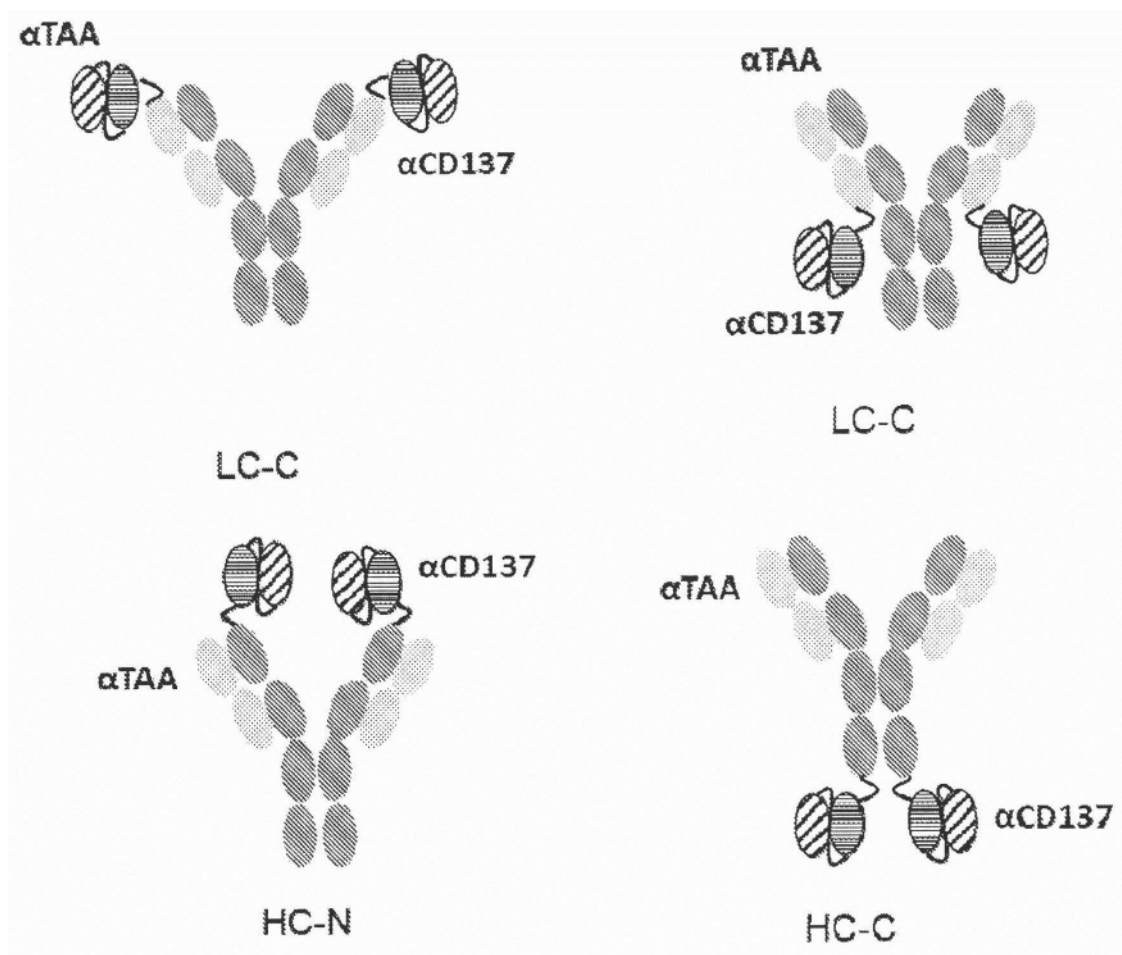


图7A

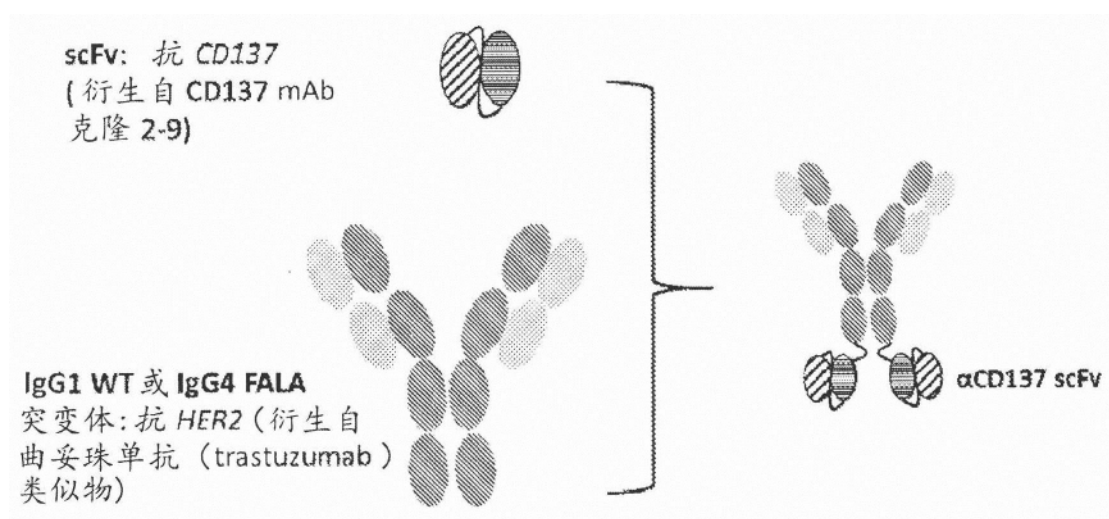


图7B

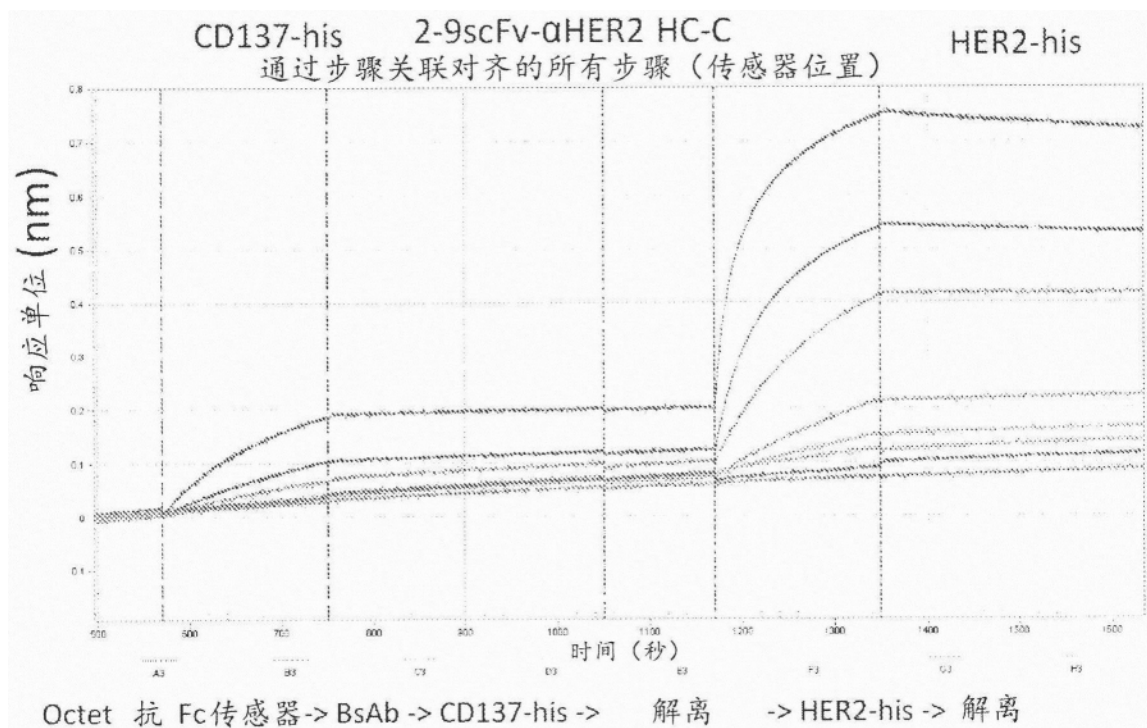


图8A

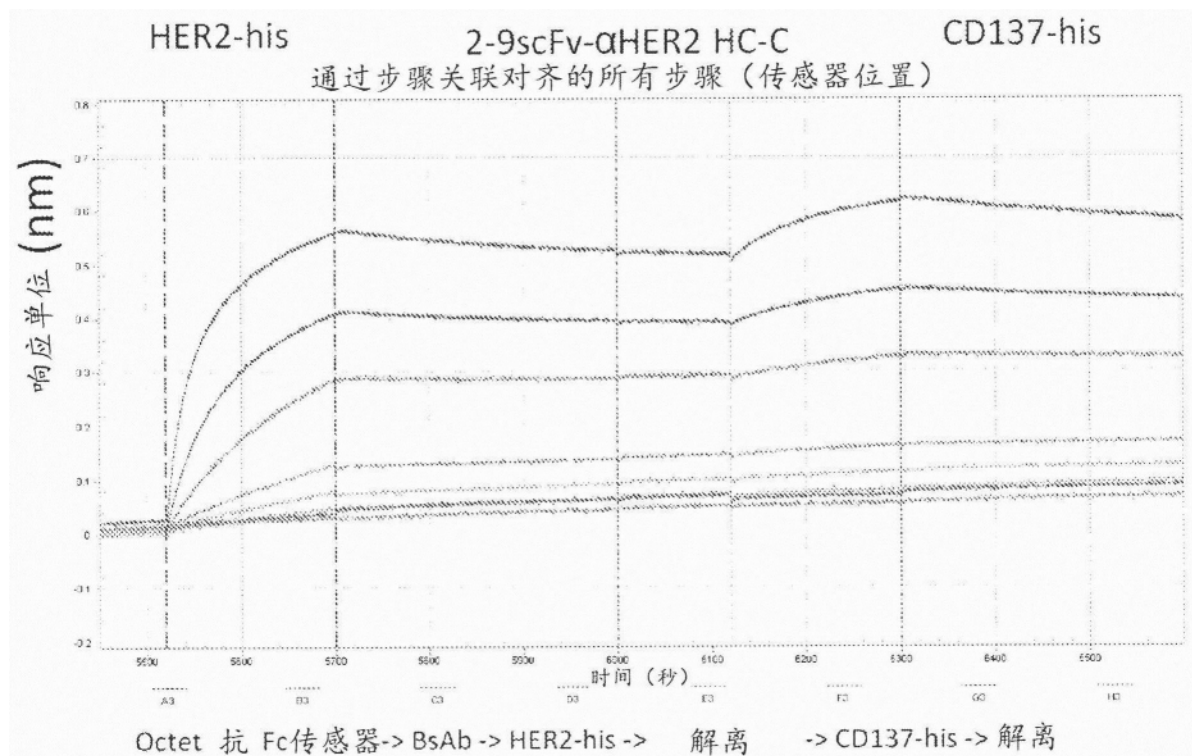


图8B

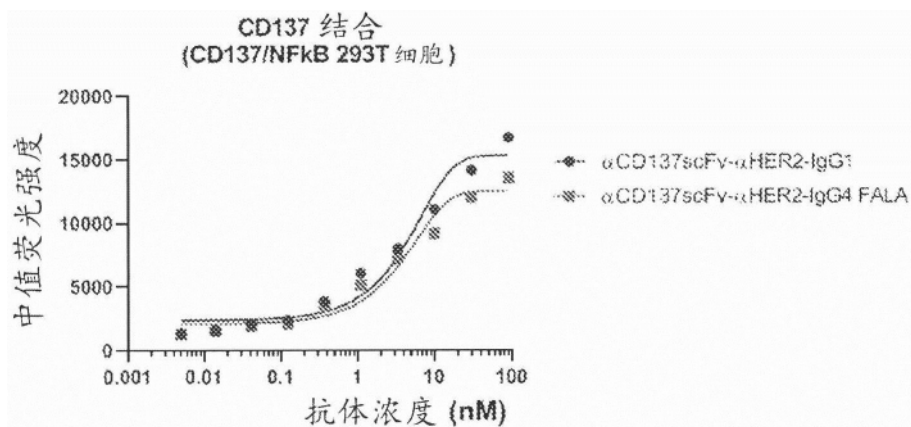


图9A

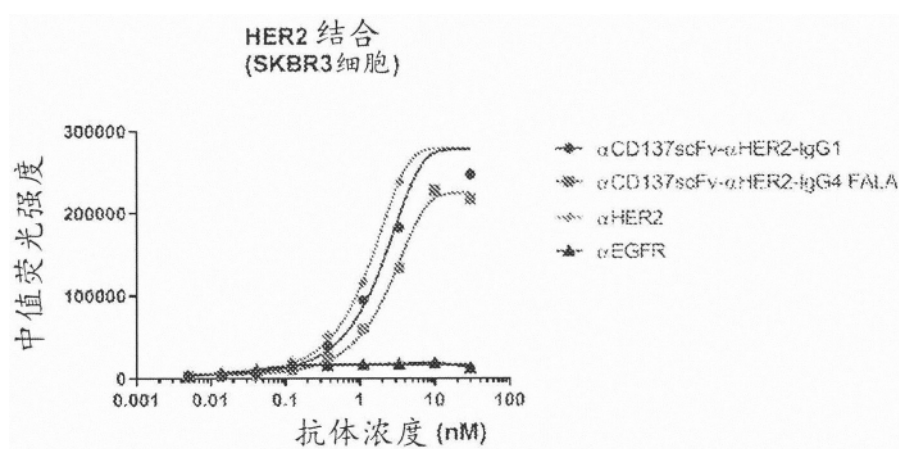


图9B

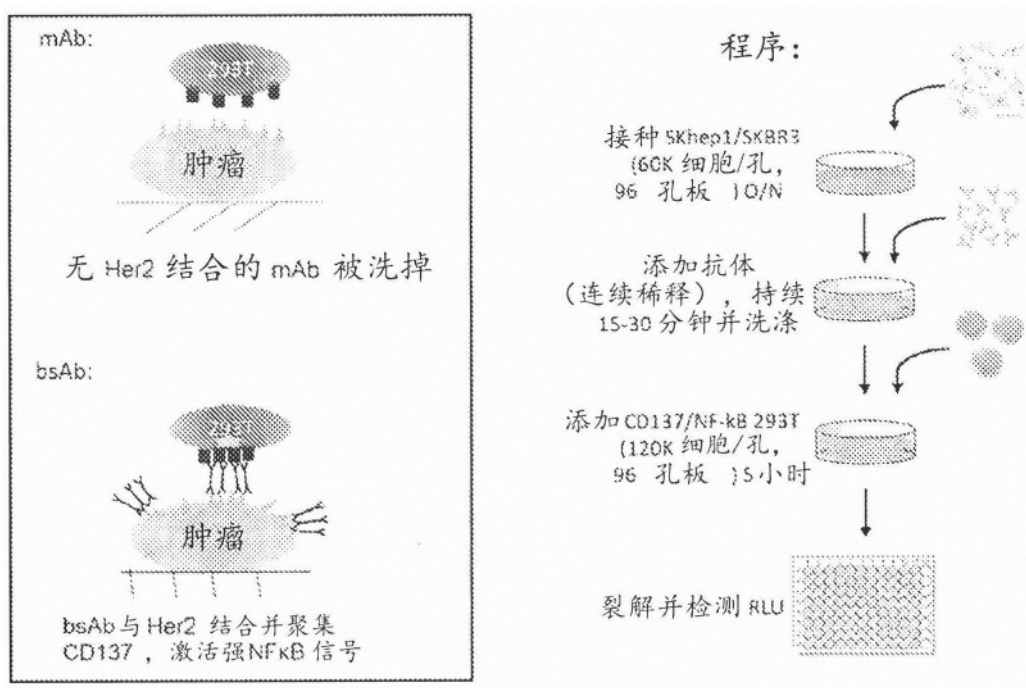


图10A

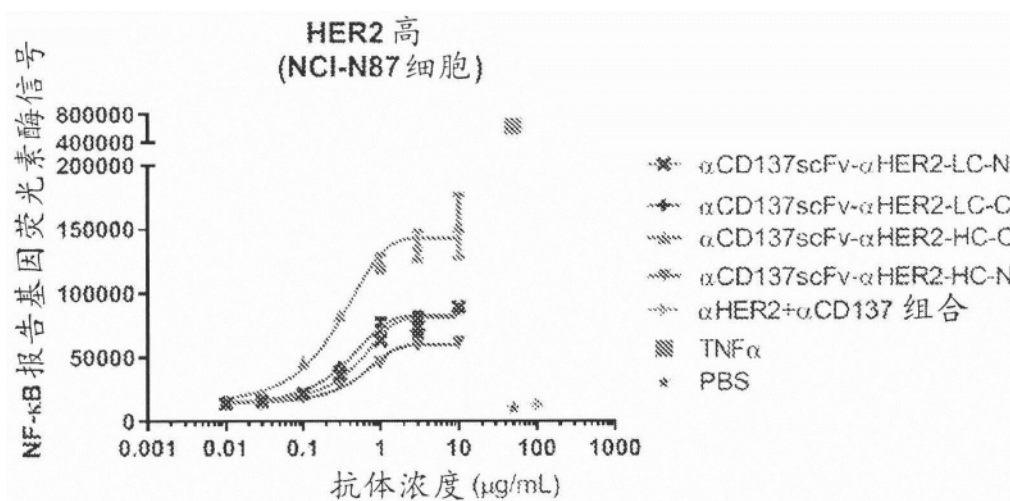


图10B

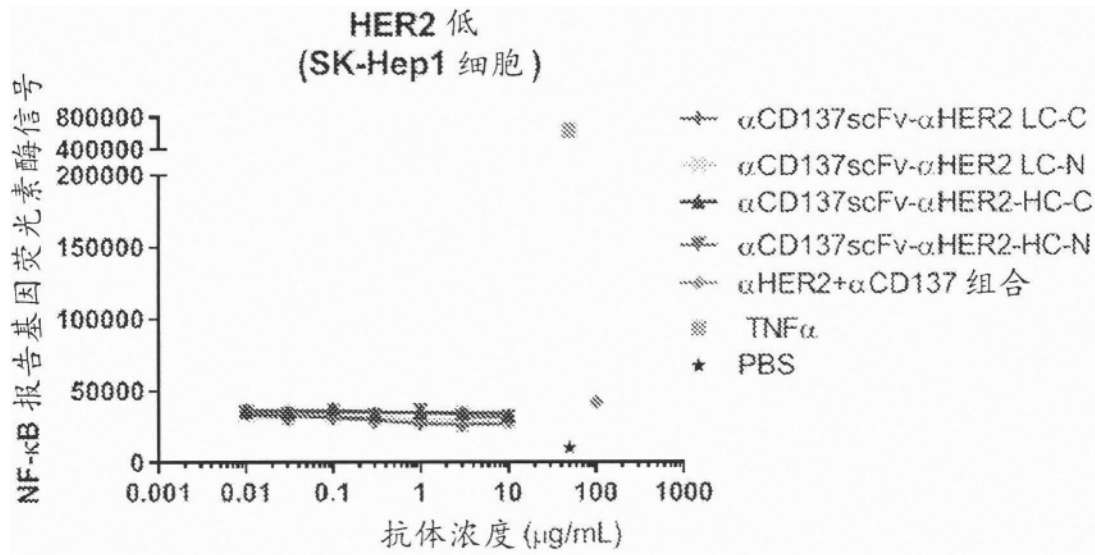


图10C

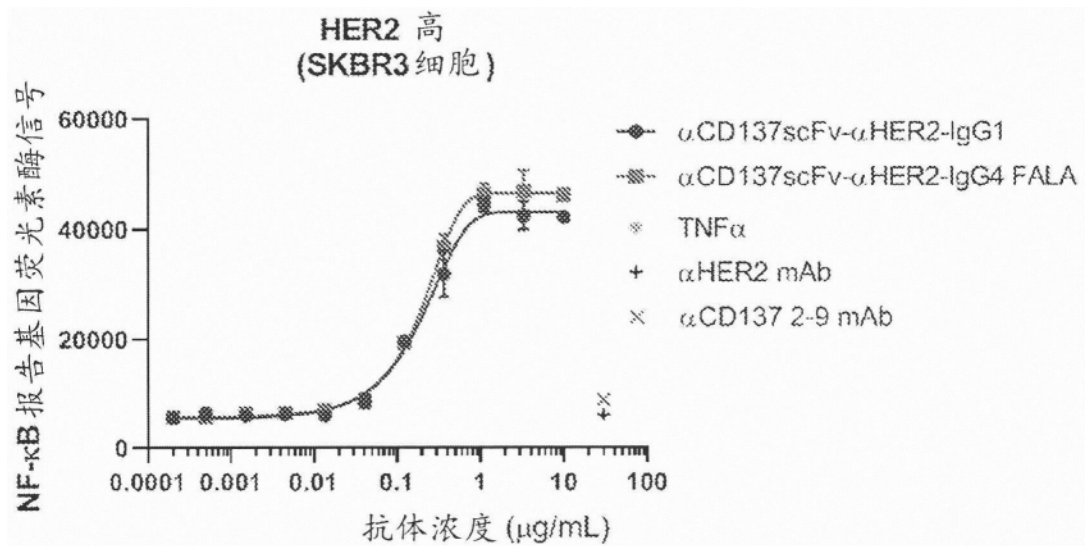


图11A

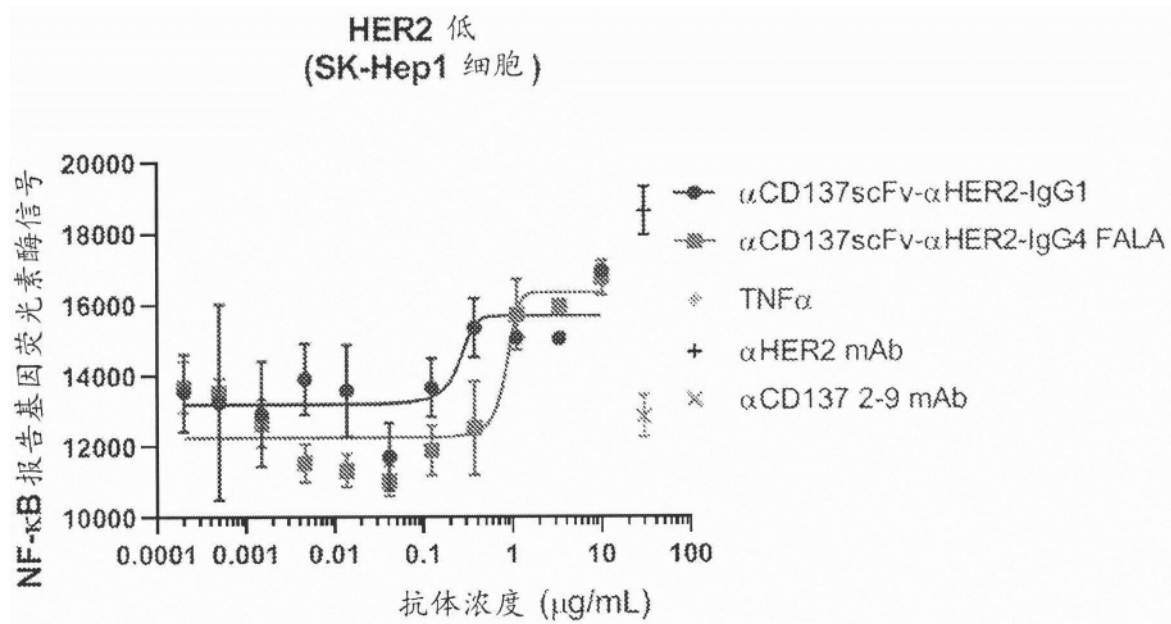


图11B

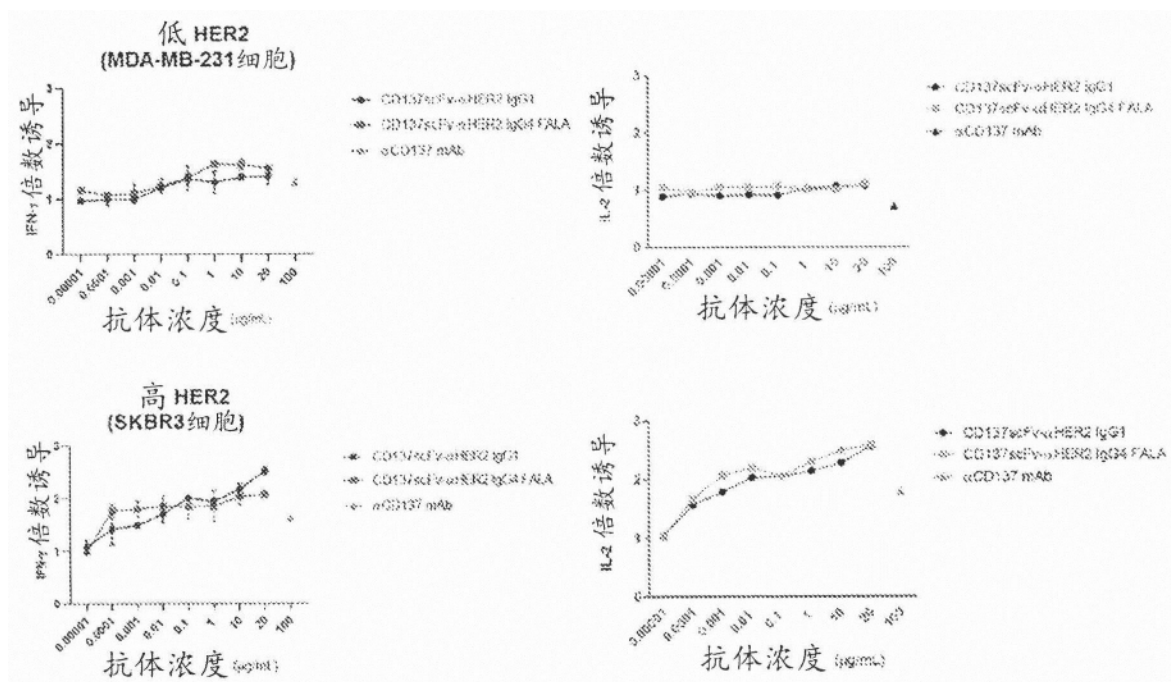


图12

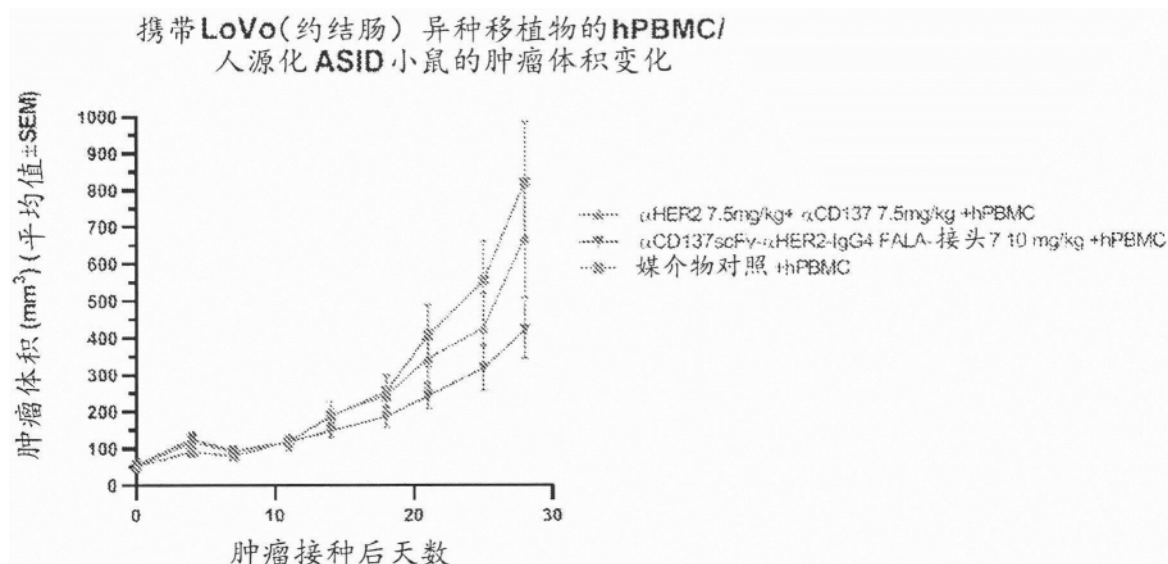


图13

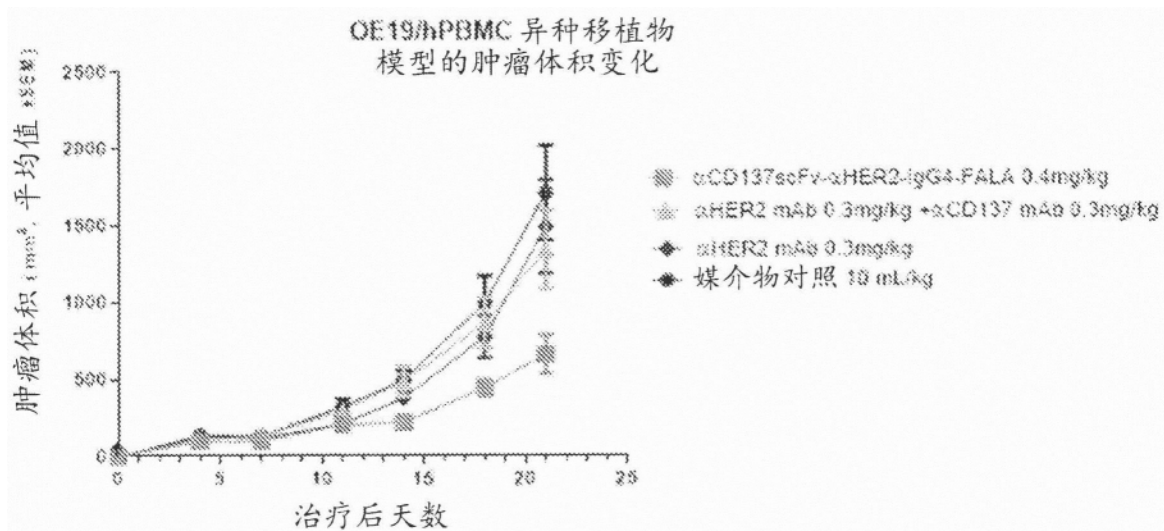


图14A

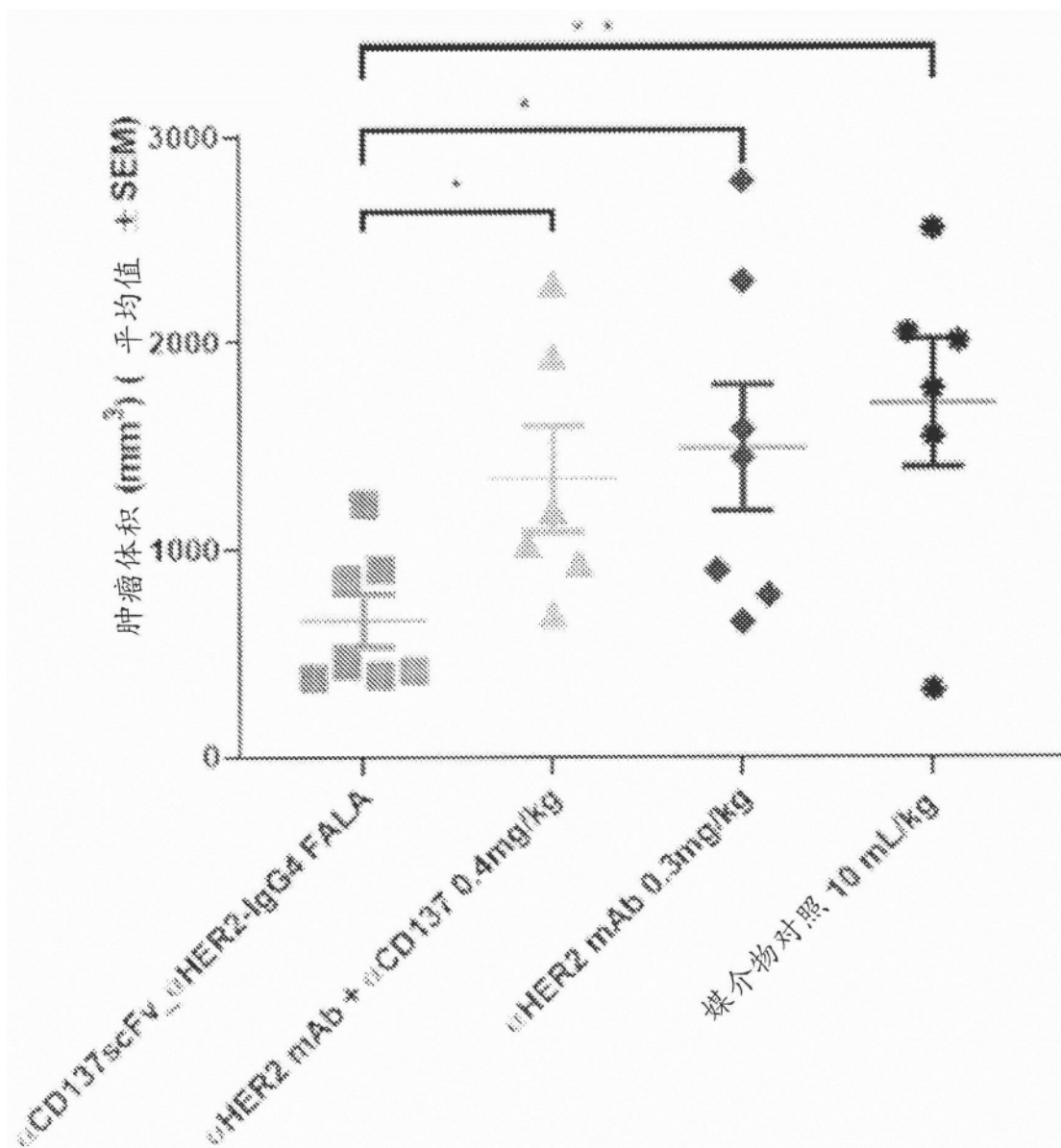


图14B