202304963

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202304963 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：111114188 (22)申請日： 中華民國 111 (2022) 年 04 月 14 日

(51)Int. Cl.： *C07K14/705 (2006.01)* *C07K16/28 (2006.01)*
C07K16/46 (2006.01) *A61K39/395 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2021/04/15 中國大陸 202110405638.3

(71)申請人：大陸商正大天晴藥業集團股份有限公司 (中國大陸) CHIA TAI TIANQING PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD. (CN)
中國大陸

(72)發明人：張兵 (CN) ；趙偉 (CN) ；陸亞敏 (CN) ；杜敏 (CN) ；甄子朋 (CN) ；謝美娟 (CN) ；汪鑫 (CN) ；席俊曉 (CN) ；宋馨 (CN) ；杜秀貞 (CN)

(74)代理人：劉法正；尹重君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：16 項 圖式數：18 共 241 頁

(54)名稱

標靶 BCMA 的多特異性抗體

(57)摘要

提供了一種標靶 BCMA 的多特異性抗體。具體地提供了多特異性抗體、編碼它們的核酸、包含該核酸的載體、包含該載體的細胞、包含它們的藥物組成物，還提供了其治療患有 BCMA 表現相關疾病的受試者的用途。

指定代表圖：

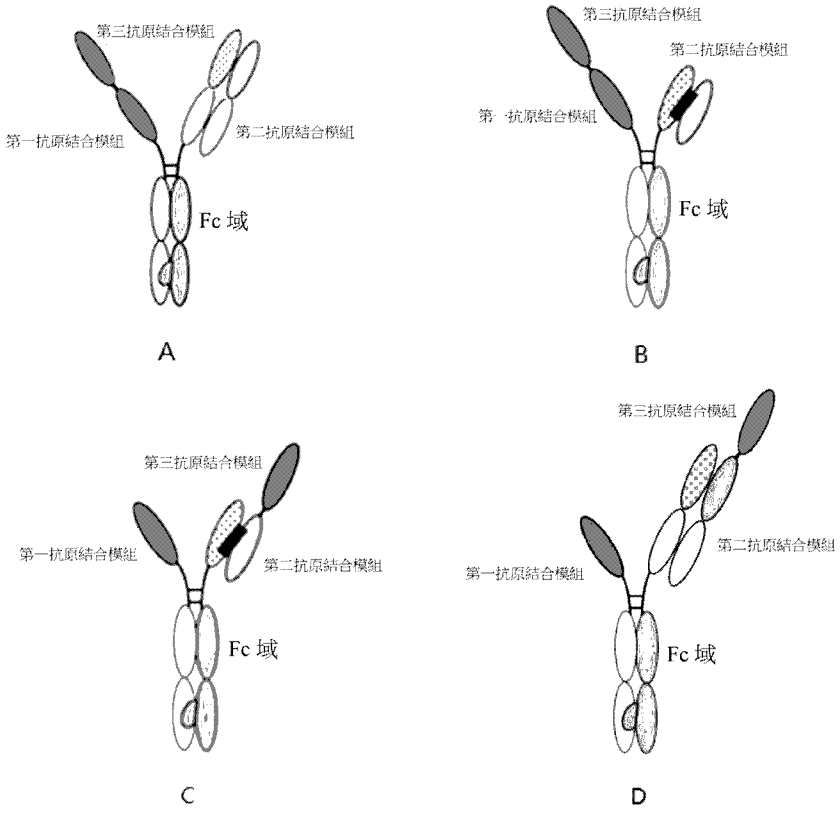

第三抗原結合模組
第一抗原結合模組
第二抗原結合模組
Fc 域
A
第三抗原結合模組
第二抗原結合模組
第一抗原結合模組
Fc 域
B
第三抗原結合模組
第一抗原結合模組
第二抗原結合模組
Fc 域
C
第三抗原結合模組
第二抗原結合模組
第一抗原結合模組
Fc 域
D

圖 5

202304963

【發明摘要】

【中文發明名稱】　標靶BCMA的多特異性抗體

【中文】

提供了一種標靶BCMA的多特異性抗體。具體地提供了多特異性抗體、編碼它們的核酸、包含該核酸的載體、包含該載體的細胞、包含它們的藥物組成物，還提供了其治療患有BCMA表現相關疾病的受試者的用途。

【指定代表圖】　圖5

【發明說明書】

【中文發明名稱】　標靶BCMA的多特異性抗體

【技術領域】

【0001】　本發明涉及多特異性抗體，尤其涉及標靶BCMA的多特異性抗體。

【先前技術】

【0002】　B細胞成熟抗原(BCMA)，也稱為腫瘤壞死因子受體超家族成員17(TNFRS17)，是一種在人體中由TNFRSF17基因編碼的蛋白質。

【0003】　BAFF、APRIL是BCMA的配體，其中BAFF(也稱為BLyS、TALL-1、THANK、zTNF4、TNFSF20、D8Ertd387e)是BCMA的高親和力配體，APRIL(增殖誘導配體，也稱為TNFSF13、TALL-2、TRDL-1)是BCMA的低親和力配體。此外，BAFF、APRIL還是腫瘤壞死因子受體(TNFR)超家族成員B細胞活化因子受體(B-cell activation factor receptor；BAFF-R)、跨膜活化劑及鈣調親環素配體相互作用分子(transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor；TACI)的配體。BCMA與BAFF-R、TACI一起調控B細胞的增殖、存活、成熟與分化。

【0004】 多發性骨髓瘤是一種惡性漿細胞病，在多發性骨髓瘤細胞中，BCMA的表現位準顯著增加。BCMA可以是針對多發性骨髓瘤的免疫治療劑的合適腫瘤抗原標的。免疫治療劑如與BCMA結合的抗體可阻斷BCMA和其天然配體BAFF或/和APRIL之間的結合。

【0005】 駱駝科動物體內的IgG抗體，除傳統包含輕鏈和重鏈的4鏈結構抗體IgG1外，還天然存在不含有輕鏈的僅重鏈抗體(HcAb)IgG2和IgG3。僅重鏈抗體中的單個可變區結構域(V_HH或單可變結構域)具備特異性結合抗原的特點，且對抗原具有較高的親和力。基於其獨特性，使用V_HH結構域-單獨或作為較大抗原結合分子的一部分，具有一些比常規scFv、抗體片段如Fab等更加顯著的優勢，例如僅需要單一結構域以高親和力特異結合抗原、可改造成多價及多特異性形式、V_HH結構域高度可溶且無聚集趨勢、分子小從而顯示較高的組織滲透性、單域抗體不需要與輕鏈配對，在組成多特異性抗體時不存在輕重鏈錯誤配對問題，等等。

【0006】 以B細胞成熟抗原(BCMA)和T細胞CD3受體為標的的多特異性抗體，可以將CD3 T細胞重新定向到表現BCMA的骨髓瘤細胞，以誘導針對標的細胞的細胞毒作用。

【0007】 作為潛在的治療標的，已有一些標靶BCMA的抗體被開發，但仍然是有限的，需要更多可用的選擇。

【發明內容】

【0008】 本發明提供了標靶BCMA的抗體，其中涉及標靶BCMA以及活化性T細胞抗原例如CD3的多特異性抗體。本發明還提供了能夠編碼所提供的抗體的相關核酸、載體、細胞、組成物、製備方法及用途。

【0009】 一方面，本發明提供了多特異性抗體，其包含

(i) 結合第一抗原的第一抗原結合模組；

(ii) 結合第二抗原的第二抗原結合模組；和，

(iii) 結合第一抗原的第三抗原結合模組；

其中所述第一抗原為BCMA且所述第二抗原為活化性T細胞抗原，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均為單可變結構域並且各自獨立的包含以下任一項：

(a) 包含SEQ ID NO: 7所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 8所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 9所示胺基酸序列的CDR3；

(b) 包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；

(c) 包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3；或

(d) 包含SEQ ID NO: 16所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 17所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 18所示胺基酸序列的CDR3。

【0010】 在一些實施方案中，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組各自獨立的包含以下任一項：

(b) 包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；或

(c) 包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。

【0011】 在一些實施方案中，所述第一抗原結合模組包含：包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；以及，所述第三抗原結合模組包含：包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。進一步

的，在一些實施方案中，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 41所示的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 42所示的胺基酸序列。在一些具體的實施方案中，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 37所示的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 39所示的胺基酸序列。

【0012】 在另一些實施方案中，所述第三抗原結合模組包含：包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；以及，所述第一抗原結合模組包含：包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。進一步的，在一些實施方案中，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 42所示的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 41所示的胺基酸序列。在一些具體的實施方案中，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 39所示的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 37所示的胺基酸序列。

【0013】 在一些實施方案中，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組結合BCMA不同表位。

【0014】 所述第二抗原結合模組提供與活化性T細胞抗原結合的能力，在一些實施方案中，所述第二抗原結合模組包含重鏈可變

區和輕鏈可變區，所述重鏈可變區包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 43所示胺基酸序列的HCDR1，包含SEQ ID NO: 44所示胺基酸序列的HCDR2，和包含SEQ ID NO: 45所示胺基酸序列的HCDR3；所述輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 46所示胺基酸序列的LCDR1，包含SEQ ID NO: 47所示胺基酸序列的LCDR2，和包含SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列的LCDR3。進一步具體的實施方案，所述第二抗原結合模組的重鏈可變區包含SEQ ID NO: 49所示的胺基酸序列，並且其輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 50所示的胺基酸序列。

【0015】 在一些實施方案中，所述的多特異性抗體，其還包含由兩個Fc多肽構成的Fc域。

【0016】 在一些具體的實施方案中，多特異性抗體中，所述第一抗原結合模組包含：包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；所述第三抗原結合模組包含：包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3；以及，所述第二抗原結合模組包含重鏈可變區和輕鏈可變區，所述重鏈可變區包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 43所示胺基酸序列的HCDR1，包含SEQ ID NO: 44所示胺基酸序列

的HCDR2，和包含SEQ ID NO: 45所示胺基酸序列的HCDR3；所述輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 46所示胺基酸序列的LCDR1，包含SEQ ID NO: 47所示胺基酸序列的LCDR2，和包含SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列的LCDR3。進一步具體的實施方案，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 41所示的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 42所示的胺基酸序列，並且所述第二抗原結合模組的重鏈可變區包含SEQ ID NO: 49所示的胺基酸序列，其輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 50所示的胺基酸序列。進一步具體的實施方案，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 37所示的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 39所示的胺基酸序列，並且所述第二抗原結合模組的重鏈可變區包含SEQ ID NO: 49所示的胺基酸序列，其輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 50所示的胺基酸序列。在這些具體的實施方案中，一種可選擇的構型方式，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均為單可變結構域，所述第二抗原結合模組為ScFv，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第二抗原結合模組的N端。進一步一種更具體的實施方案，多特異性抗體由兩條多肽鏈組成，其中第一條多肽鏈含有上述的第一抗原結合模組和Fc域的其中一個Fc多肽，第二條多肽

鏈含有上述的第二抗原結合模組、第三抗原結合模組和Fc域的另一個Fc多肽。

【0017】 在另一些具體的實施方案中，多特異性抗體中，所述第三抗原結合模組包含：包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；所述第一抗原結合模組包含：包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3；以及，所述第二抗原結合模組包含重鏈可變區和輕鏈可變區，所述重鏈可變區包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 43所示胺基酸序列的HCDR1，包含SEQ ID NO: 44所示胺基酸序列的HCDR2，和包含SEQ ID NO: 45所示胺基酸序列的HCDR3；所述輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 46所示胺基酸序列的LCDR1，包含SEQ ID NO: 47所示胺基酸序列的LCDR2，和包含SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列的LCDR3。進一步具體的實施方案，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 42所示的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 41所示的胺基酸序列，並且所述第二抗原結合模組的重鏈可變區包含SEQ ID NO: 49所示的胺基酸序列，其輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 50所示的胺基酸序列。進一步具體的實施方案，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 39所示的胺

基酸序列，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 37所示的胺基酸序列，並且所述第二抗原結合模組的重鏈可變區包含SEQ ID NO: 49所示的胺基酸序列，其輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 50所示的胺基酸序列。在這些實施方案中，一種可選擇的構型方式，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均為單可變結構域，所述第二抗原結合模組為Fab，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其Fab重鏈的C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第一抗原結合模組的N端。對於此實施方案，進一步更具體的方案，多特異性抗體由三條多肽鏈組成，其中第一條多肽鏈含有上述的第一抗原結合模組、第三抗原結合模組和Fc域的其中一個Fc多肽，第二條多肽鏈含有上述第二抗原結合模組的Fab重鏈和Fc域的另一個Fc多肽，第三條多肽鏈為上述第二抗原結合模組的Fab輕鏈。另一種可選擇的構型方式，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均為單可變結構域，所述第二抗原結合模組為ScFv，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第一抗原結合模組的N端。對於此實施方案，進一步更具體的方案，多特異性抗體由兩條多肽鏈組成，其中第一條多肽鏈含有上述

的第一抗原結合模組、第三抗原結合模組和Fc域的其中一個Fc多肽，第二條多肽鏈含有上述第二抗原結合模組和Fc域的另一個Fc多肽。另一種可選擇的構型方式，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均為單可變結構域，所述第二抗原結合模組為Fab，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其Fab重鏈的C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第二抗原結合模組的Fab輕鏈的N端。對於此實施方案，進一步更具體的，多特異性抗體由三條多肽鏈組成，其中第一條多肽鏈含有上述的第一抗原結合模組和Fc域的其中一個Fc多肽，第二條多肽鏈含有上述第二抗原結合模組的Fab重鏈和Fc域的另一個Fc多肽，第三條多肽鏈含有上述的第三抗原結合模組和第二抗原結合模組的Fab輕鏈。

【0018】 一方面，本發明提供了分離的核酸，其包含編碼所述的多特異性抗體的多核苷酸。

【0019】 一方面，本發明提供了載體，其包含本發明所述的核酸。

【0020】 一方面，本發明提供了宿主細胞，其包含本發明所述的核酸，或所述的載體。

【0021】 另一方面，本發明提供了製備本發明所述的多特異性抗體的方法，其包括培養所述的宿主細胞，使其表現所述的多特異性抗體，並且在系統中分離純化所述多特異性抗體。

【0022】 另一方面，本發明提供了藥物組成物，其包含所述的多特異性抗體和藥學上可接受的載劑。

【0023】 另一方面，本發明提供了所述的多特異性抗體或所述的藥物組成物在製備治療BCMA表現相關疾病的藥物中的用途。

【0024】 另一方面，本發明提供了在受試者中治療BCMA表現相關的疾病的方法，其包括對所述受試者施用治療有效量的所述的多特異性抗體或所述的藥物組成物。

【0025】 又一方面，本發明提供了一種結合BCMA的抗體，其包含單可變結構域，所述單可變結構域包含：

(1) 包含SEQ ID NO: 7所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 8所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 9所示胺基酸序列的CDR3；

(2) 包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；

(3) 包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3；或

(4) 包含SEQ ID NO: 16所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 17所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 18所示胺基酸序列的CDR3。

【0026】 在一些實施方案中，所述單可變結構域包含SEQ ID NO: 41或42所示的胺基酸序列，同時所述單可變結構域不包含SEQ ID NO: 21或23所示的胺基酸序列。

【0027】 本發明提供了標靶BCMA以及活化性T細胞抗原例如CD3的多特異性抗體。某些方案中，利用某些單可變結構域建構了多種形式的多特異性抗體，均展現了良好的抗腫瘤效果如腫瘤細胞裂解性能和安全性。

【圖式簡單說明】

【0028】 圖1A為流式細胞術檢測抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體與CHO-hBCMA細胞的結合曲線；

【0029】 圖1B為流式細胞術檢測抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體與U266細胞的結合曲線；

【0030】 圖1C為流式細胞術檢測抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體與RPMI8226細胞的結合曲線；

【0031】 圖1D為流式細胞術檢測抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體與HUVEC細胞的結合曲線；

【0032】 圖2為流式細胞術檢測1A10-Fc、1A11-Fc嵌合抗體與HEK293T-CynoBCMA或HEK293T的結合曲線；

【0033】 圖3顯示了抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體與配體APRIL的競爭ELISA檢測結果；

【0034】 圖4A為人、食蟹猴BCMA的胞外區胺基酸序列對比圖；

【0035】 圖4B為人BCMA的胞外區晶體結構；

【0036】 圖5為本發明例示性的多特異抗體的結構示意圖；

【0037】 圖6為例示性抗體BC24、PC1、PC2和PC3的結構示意圖；

【0038】 圖7為anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體與NCI-H929細胞的結合曲線；

【0039】 圖8為anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體與MM1S細胞的結合曲線；

【0040】 圖9為anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體與RPMI-8226細胞的結合曲線；

【0041】 圖10為anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體與$CD3^+$T細胞的結合曲線；

【0042】 圖11為不同濃度下anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體誘導的效應細胞對NCI-H929腫瘤細胞的裂解率；

【0043】 圖12為不同濃度下anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體誘導的效應細胞對MM1S腫瘤細胞的裂解率；

【0044】 圖13為不同濃度下anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體誘導的效應細胞對RPMI-8226腫瘤細胞的裂解率；

【0045】 圖14為標的細胞NCI-H929存在時，anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體對T細胞活化的影響；

【0046】 圖15為標的細胞MM1S存在時，anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體在對T細胞活化的影響；

【0047】 圖16為不同濃度anti-BCMA/anti-CD3抗體與NCI-H929細胞和效應細胞共培育24h，細胞激素IL-2、IL-6、TNF-α和IFN-γ的釋放量；

【0048】 圖17為anti-BCMA/anti-CD3抗體對NCI-H929皮下移植瘤生長的影響；

【0049】 圖18為anti-BCMA/anti-CD3抗體PC1的LC-MS分析結果。

【實施方式】

發明詳述

術語

【0050】 術語“抗體”指的是包含抗原結合位的蛋白，涵蓋各種結構的天然抗體和人工抗體，包括但不限於單株抗體、單特異性抗體、多特異性抗體(例如雙特異性抗體、三特異性抗體等)、單鏈抗體等。

【0051】 術語“多特異性”意指抗體能夠特異性結合多種不同的抗原決定位，例如能夠特異性結合兩種或兩種以上不同的抗原決定位。通常，雙特異性抗體包含兩種抗原結合位，其中每種特異於不同的抗原性決定位。不同的抗原決定位可以在相同或不同的細胞上表現。不同的抗原決定位可以因抗原種類不同而不同(例如結合抗原CD3和BCMA)，也可以存在同一種抗原上。抗原決定位是抗原物質分子表面或其他部位，具有一定組成和結構的特殊化學基團，能與其相應抗體或致敏淋巴細胞發生特異性結合的結構。抗原決定位一個例子是，抗原B細胞成熟抗原(BCMA)作為一種抗原物質，其具有多種結構已確定或結構未確定的抗原決定位，在本文中，只要能結合抗原上的兩種或兩種以上不同抗原決定位的抗體即被稱為多特異性抗體。

【0052】 術語“N價抗體”意在說明抗體中存在N個抗原結合位。例如“二價抗體”指抗體存在兩個抗原結合位，“三價抗體”指抗體存在三個抗原結合位。天然的人免疫球蛋白分子通常具有兩個抗

原結合位，Fab通常具有單個抗原結合位，單可變結構域、ScFv通常具有單個抗原結合位。

【0053】 術語“抗原結合模組”指特異性結合抗原決定位的多肽分子。具體的抗原結合模組可是Fab、ScFv或單可變結構域。本文中的抗原決定位與抗原表位同義。

【0054】 術語“活化性T細胞抗原”指在T淋巴細胞例如細胞毒性T淋巴細胞的表面上表現的抗原，其在與抗體相互作用後能誘導T細胞活化。例如，抗體與活化性T細胞抗原的相互作用可誘導T細胞活化，其透過觸發T細胞受體複合物的信號傳導級聯進行。在一個具體的實施方案中，所述活化性T細胞抗原是CD3，例如是CD3的ε亞基。

【0055】 術語“T細胞活化”指T淋巴細胞例如細胞毒性T淋巴細胞的一種或多種細胞反應，細胞反應選自增殖、分化、細胞激素分泌、細胞毒性效應分子釋放、細胞毒性活性、活化標誌物的表現等。本發明的多特異性抗體能夠誘導T細胞活化。合適的測量T細胞活化的方法是本領域已知的且在本文中有描述。

【0056】 本發明中關於抗原結合模組、抗原、Fc多肽、肽連接子、多肽鏈等所用的術語“第一”、“第二”或“第三”是為了在存在一個以上各類型的部分時方便區分而使用。除非明確說明，這些術語的使用並非旨在賦予多特異性抗體的具體順序或取向。

【0057】 術語“融合”意指組分(例如Fab、ScFv、Fc多肽等)直接或經一個或多個肽連接子透過肽鍵連接。

【0058】 術語“可變結構域”或“可變區”是指抗體的涉及該抗體與抗原結合的結構域。例如天然四鏈抗體(例如來源於人、鼠等)具有重鏈可變區(VH)和輕鏈可變區(VL),來源於駱駝科或鯊魚等動物的僅重鏈抗體具有單可變結構域。天然抗體的每個可變結構域基本上由四個“框架區”和三個“互補決定區”組成。四個框架區分別稱為框架區1(或FR1)、框架區2(或FR2)、框架區3(或FR3)、及框架區4(或FR4);所述框架區由本領域及下文中分別稱為互補決定區1(或CDR1)、互補決定區2(或CDR2)、及互補決定區3(或CDR3)的三個互補決定區(或CDR)間隔開。因此,可變結構域的一般結構可如下表示為:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。可變結構域因具有抗原結合位而賦予抗體對抗原的特異性。

【0059】 術語“單可變結構域”是指能夠在不與其他可變結構域配對的情況下特異性結合抗原表位的可變結構域。單可變結構域通常有三個CDR(CDR1、CDR2和CDR3),存在於單個結構域上。在一些情況下,單可變結構域可以是重鏈可變結構域(例如VH);只要它能夠形成單個抗原結合單元(即基本上由單可變結構域組成的功能性抗原結合單元,這樣單抗原結合結構域就不需要與另一個可變

結構域相互作用即可形成功能性抗原結合單元)。單可變結構域的另一個實例為駱駝科的“VHH結構域”(或簡稱為“VHH”或“V_HH”)。

【0060】 “CDR”(互補決定區),也稱為“高度變異區(HVR)”,通常是指在序列上高度可變和/或形成結構限定的環的抗體可變區的每個區域。天然四鏈抗體通常包含六個CDR,三個在重鏈可變區中(HCDR1、HCDR2和HCDR3),三個在輕鏈可變區中(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。僅重鏈抗體或單可變結構域通常具有三個CDR(CDR1、CDR2和CDR3)。

【0061】 當前有許多方法來劃分定義CDR。其中,Kabat定義基於序列可變性劃分CDR,並且是最常用的(Elvin A.Kabat, et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991));而Chothia定義則基於結構環的位置(Cyrus Chothia, et al, Canonical Structures for the Hypervariable Regions of Immunoglobulins, J. Mol. Biol. 196:901-917(1987))。AbM定義是Kabat定義和Chothia定義之間的折衷方案,並且被Oxford Molecular的AbM抗體建模軟體使用。“接觸(contact)”定義CDR的基礎是對可用的複合物晶體結構的分析。然而,應當注意的是,基於不同的方法劃分定義獲得的同一抗體可變區的CDR的邊界可能有所差異,即不同方法劃分定義的同

一抗體可變區的CDR序列可能有所不同。因此，在涉及用本發明劃分定義的具體CDR序列限定抗體時，所述抗體的範圍還涵蓋了轉換為其他任意定義(例如Chothia、AbM定義等)的CDR序列限定的抗體。

【0062】 本文中給出的CDR序列一般是依照Kabat定義(Elvin A.Kabat, et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))劃分的。

【0063】 術語“框架區”或“FR”是除了本文定義的CDR殘基之外的那些可變結構域的胺基酸殘基。

【0064】 術語“Fab”指由免疫球蛋白的重鏈的VH和CH1以及輕鏈的VL和CL域組成的蛋白。本文中Fab意指處於它的天然型式的Fab分子，即包含由重鏈可變區VH和恆定區CH1構成的Fab重鏈(VH-CH1，N至C端方向)，和由輕鏈可變區和恆定區CL構成的Fab輕鏈(VL-CL，N至C端方向)。

【0065】 術語“scFv”包括免疫球蛋白的VH和VL結構域，其中這些結構域存在於單一多肽鏈中。在一些實施方案中，scFv還包含介於VH和VL結構域之間的肽連接子，其使得scFv能夠形成抗原結合所需的結構。

【0066】 術語“Fc結構域”、“Fc”或“Fc域”在本文中用來定義免疫球蛋白重鏈的C端區域，其包含至少部分恆定區。該術語包括天然序列Fc和變體Fc。Fc的C末端離胺酸(Lys447)可存在或不存在。除非另有說明，Fc或恆定區中胺基酸殘基的編號是根據EU編號系統，也稱為EU索引，描述於Kabat，E.A等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版， Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD (1991), NIH Publication 91-3242。本文所用的Fc域的其中一個“Fc多肽”指形成二聚體Fc結構域的兩條多肽之一。例如，IgG Fc域的Fc多肽包含IgG CH2和IgG CH3恆定區。

【0067】 術語“效應物功能”指可歸因於抗體的Fc結構域的那些生物學活性，其隨抗體同種型而不同。抗體效應物功能的實例例如：C1q結合和依賴補體的細胞毒性(CDC)、Fc受體結合、依賴抗體的細胞毒性(ADCC)、依賴抗體的吞噬作用(ADCP)等等。

【0068】 術語“KD”在用於本文時指解離常數，以莫耳濃度(M)表示。抗體的KD值可以使用本領域公知的方法測定。例如，一種測定抗體KD的方法是使用表面等離子共振(surface plasmon resonance)，如使用生物感測器系統，例如Biacore系統。

【0069】 術語“治療”指試圖改變治療個體中疾病的自然進程，並且可以是為了預防或在臨床病理學的過程期間實施的臨床干預。

治療的期望效果包括但不限於預防疾病的發生或復發，緩解症狀，降低疾病的任何直接或間接病理學後果，預防轉移，減緩疾病進展率，改善或減輕疾病狀態，及消退或改善的預後。

【0070】 術語“受試者”包括任何人類或非人動物。術語“非人動物”包括所有的脊椎動物，例如哺乳動物和非哺乳動物，諸如非人靈長類、綿羊、犬、貓、馬、牛、雞、兩棲動物、爬行動物等。優選地，根據本發明的受試者是人。除非標明，術語“患者”或“受試者”可以互換使用。

【0071】 術語“分離的”是指目標化合物(例如，VHH、多特異性抗體、抗體或核酸等)已經從其天然環境中分離。

【0072】 胺基酸序列的“相同性百分數(%)”是指將待比對序列與本文中所示的具體胺基酸序列進行比對並且如有必要的話為達到最大序列相同性百分數而引入空位後，並且不以任何守恆置換作為序列相同性的一部分時，待比對序列中與本文中所示的具體胺基酸序列的胺基酸殘基相同的胺基酸殘基百分數。胺基酸序列的相同性比對可以採用本領域範圍內的多種方式進行，例如BLAST，BLAST-2，ALIGN或Megalign(DNASTAR)軟體。本領域技術人員可決定用於比對序列的適宜參數，包括在比較序列的全長裡獲得最大比對需要的任何算法。

【0073】 本發明的各個方面將在下述分部中進一步詳細描述。

I.單可變結構域

【0074】 本發明提供結合至BCMA(諸如人BCMA)的單可變結構域。單可變結構域為標靶BCMA藥物的開發或藥物建構提供了更多可用的選擇。所述單可變結構域對人BCMA具有良好的親和力，可提供標靶性。在某些情況下，所述單可變結構域能夠提供阻斷增殖誘導配體APRIL與BCMA的結合能力。特別的，在一些方案中，所述單可變結構域與人TACI和BAFF-R蛋白不結合，表現了特異性；在一些實施方案中，所述單可變結構域與猴BCMA有交叉反應，由於猴是藥物毒理實驗中的理想實驗動物，與猴的交叉反應將利於藥物毒理實驗的開展。

【0075】 本發明提供了結合BCMA的單可變結構域，其包含：

(1) 包含SEQ ID NO: 7所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 8所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 9所示胺基酸序列的CDR3；

(2) 包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；

(3) 包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3；或

(4) 包含SEQ ID NO: 16所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 17所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 18所示胺基酸序列的CDR3。

【0076】 在一些實施方案中，所述單可變結構域包含：如SEQ ID NO: 7所示胺基酸序列的CDR1，如SEQ ID NO: 8所示胺基酸序列的CDR2，和如SEQ ID NO: 9所示胺基酸序列的CDR3。在一些實施方案中，所述單可變結構域包含：如SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，如SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和如SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3。在一些實施方案中，所述單可變結構域包含：如SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，如SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和如SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。在一些實施方案中，所述單可變結構域包含：如SEQ ID NO: 16所示胺基酸序列的CDR1，如SEQ ID NO: 17所示胺基酸序列的CDR2，和如SEQ ID NO: 18所示胺基酸序列的CDR3。在一些實施方案中，所述單可變結構域是駱駝科動物的。在一些實施方案中，所述單可變結構域是人源化的。

【0077】 在一些實施方案中，所述單可變結構域包含與SEQ ID NO: 19、21、23、25、37、38、39、40、41或42所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。在一些更具體的實施方

案中，所述單可變結構域包含與SEQ ID NO: 19所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，並且包含：包含SEQ ID NO: 7所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 8所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 9所示胺基酸序列的CDR3。在一些更具體的實施方案中，所述單可變結構域包含與SEQ ID NO: 41所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，並且包含：包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3。在一些更具體的實施方案中，所述單可變結構域包含與SEQ ID NO: 37或38所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，並且包含：包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3。在一些更具體的實施方案中，所述單可變結構域包含與SEQ ID NO: 42所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，並且包含：包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的

CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。在一些更具體的實施方案中，所述單可變結構域包含與SEQ ID NO: 39或40所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，並且包含：包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。在一些更具體的實施方案中，所述單可變結構域包含與SEQ ID NO: 25所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，並且包含：包含SEQ ID NO: 16所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 17所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 18所示胺基酸序列的CDR3。在一些實施方案中，具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的相同性的胺基酸序列相對於參考序列含有取代(例如，守恆取代)、插入或缺失，但包含該序列的單可變結構域保留了結合至BCMA的能力。在一些實施方案中，在選自SEQ ID NO: 19、41、42和25的胺基酸序列中總共1-18、1-16、1-14、1-12、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、1-4、1-3或1-2個胺基酸被取代、插入和/或缺失。在一些實施方案中，取代、插入或缺失發生在CDR之外的區域中(即，FR中)。在一些實施方案中，取代、插入或缺失發生在

CDR區域，例如發生CDR1、CDR2、CDR3中的一個、兩個或三個。在一些實施方案中，取代、插入或缺失發生在CDR區域和非CDR區域。

【0078】 在一些實施方案中，所述單可變結構域的胺基酸序列包含SEQ ID NO: 19、21、23、25、37、38、39、40、41或42所示的胺基酸序列。

【0079】 在一些實施方案中，所述單可變結構域的胺基酸序列如SEQ ID NO: 19、21、23、25、37、38、39、40、41或42所示。

【0080】 在一些實施方案中，所述單可變結構域是V_HH。在一些實施方案中，V_HH是人源化的。源自非人的單可變結構域可透過以人抗體VH結構域中相應位置處存在的一個或多個胺基酸殘基置換原始單可變結構域序列的胺基酸序列中的一個或多個胺基酸殘基而經“人源化”。人源化可以期望的降低免疫原性。通常單可變結構域從N端至C端具有以下結構：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

【0081】 在一些實施方案中，本發明提供了與本發明所述的單可變結構域中的任一者結合相同表位的單可變結構域。在一些具體的實施方案中，提供與包含SEQ ID NO: 19、21、23、25、37、38、39或40的胺基酸序列的單可變結構域結合相同的表位的單可變

結構域。在一些實施方案中，所述結合相同表位的單可變結構域是駱駝科動物的、或人源化的。

【0082】 可使用本領域技術人員已知的常規技術，就與相同表位的結合競爭性篩選單可變結構域。因此，在一些實施方案中，本發明提供了與本發明所述的單可變結構域中的任一者競爭結合至BCMA的單可變結構域。在一些具體的實施方案中，提供與包含SEQ ID NO: 19、21、23、25、37、38、39或40的胺基酸序列的單可變結構域競爭結合至BCMA的單可變結構域。可以透過ELISA、流式細胞術、表面等離子體共振(SPR)測定或本領域已知的任何其他方法測量與BCMA的結合。在一些實施方案中，所述競爭結合至BCMA的單可變結構域是駱駝科動物的或人源化的。

【0083】 本發明提供了一些例示性的結合BCMA的單可變結構域。本發明提供的例示性的單可變結構域的CDR(CDR1、CDR2和CDR3)的胺基酸序列提供於下表S1中。例示性的單可變結構域的全長胺基酸序列提供於下表S2中。

表 S1：單可變結構域的 CDR 序列

名稱	CDR1	CDR2	CDR3
1A1單可變結構域	GWNKH (SEQ ID NO: 7)	SIFRDGKTAYTDS VKG (SEQ ID NO: 8)	DLPGSGLPAF (SEQ ID NO: 9)
1A10單可變結構域	VACMA (SEQ ID NO: 10)	TIVADFGTTNYAA SVKG (SEQ ID NO: 11)	TQRGGIDWCDEIN Y (SEQ ID NO: 12)
1A10-V1單可變結	VACMA (SEQ ID NO:	TIVADFGTTNYAA SVKG	TQRGGIDWCDEIN Y

構域	10)	(SEQ ID NO: 11)	(SEQ ID NO: 12)
1A10-V2單可變結構域	VACMA (SEQ ID NO: 10)	TIVADFGTTNYAA SVKG (SEQ ID NO: 11)	TQRGGIDWCDEIN Y (SEQ ID NO: 12)
1A11單可變結構域	SACMG (SEQ ID NO: 13)	RIETGYGGTVYAD SVKG (SEQ ID NO: 14)	KRSWCTPTWWHEL DYNY (SEQ ID NO: 15)
1A11-V1單可變結構域	SACMG (SEQ ID NO: 13)	RIETGYGGTVYAD SVKG (SEQ ID NO: 14)	KRSWCTPTWWHEL DYNY (SEQ ID NO: 15)
1A11-V2單可變結構域	SACMG (SEQ ID NO: 13)	RIETGYGGTVYAD SVKG (SEQ ID NO: 14)	KRSWCTPTWWHEL DYNY (SEQ ID NO: 15)
1B10單可變結構域	GWNKH (SEQ ID NO: 16)	SIFRDGKTAYTDS VKG (SEQ ID NO: 17)	DLPGSGLPEF (SEQ ID NO: 18)

表 S2：單可變結構域全長序列

名稱	胺基酸序列	SEQ ID NO:
1A1單可變結構域	QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCTASGYTFRGWNKHWYRQ APGKERELVSSIFRDGKTAYTDSVKGRFTISQDNADATVYL QMNSLKPEDTAMYYCKYDLPGSGLPAFWGQGTLVTVSS	19
1A10單可變結構域	QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYSSNVACMAWYRQ APGKEREWVATIVADFGTTNYAASVKGRFTISQDNAKNTV YLQMNSLKPEDSAMYYCAATQRGGIDWCDEINYWGQGTL VTVSS	21
1A11單可變結構域	QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGVTFNSACMGWFRQ APGKEREGVARIETGYGGTVYADSVKGRFTISRDNAKNTV YLQMNSLKPEDTAMYYCAAKRSWCTPTWWHELDYNYW GQGTQVTVSS	23
1B10單可變結構域	EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCTASGYTFRGWNKHWYRQ APGKERELVSSIFRDGKTAYTDSVKGRFTISQDSADATVYLQ MNSLKPEDTAMYYCKYDLPGSGLPEFWGQGTLVTVSS	25
1A10-V1單可變結構域	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSSNVACMAWYRQ APGKGLEWVATIVADFGTTNYAASVKGRFTISQDNSKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCAATQRGGIDWCDEINYWGQGTLV TVSS	37
1A10-V2單可變結構域	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSSNVACMAWYRQ APGKEREWVSTIVADFGTTNYAASVKGRFTISQDNSKNTVY LQMNSLRAEDTAVYYCAATQRGGIDWCDEINYWGQGTLV TVSS	38
1A11-V1單可變結構域	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSACMGWFRQA PGKGREGVSRIETGYGGTVYADSVKGRFTISRDNSKNTVYL QMNSLRAEDTAVYYCAAKRSWCTPTWWHELDYNYWGQG TQVTVSS	39
1A11-V2單可變結構域	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSACMGWFRQA PGKEREGVSRIETGYGGTVYADSVKGRFTISRDNSKNTVYL QMNSLKAEDTAVYYCAAKRSWCTPTWWHELDYNYWGQ	40

	GTQVTVSS	

【0084】 SEQ ID NO: 41序列：

QVQLVESGGGX$_1$VQX$_2$GGSLRLSCAASGYSSNVACMAWYRQAPGKX$_3$X$_4$EWVX$_5$TIVADFGTTNYAASVKGRFTISQDNX$_6$KNTVYLQMNSLX$_7$X$_8$EDX$_9$AX$_{10}$YYCAATQRGGIDWCDEINYWGQGTLVTVSS

其中，X$_1$為S或L，X$_2$為P或A，X$_3$為G或E，X$_4$為R或L，X$_5$為A或S，X$_6$為A或S，X$_7$為R或K，X$_8$為A或P，X$_9$為T或S，X$_{10}$為V或M。

【0085】 SEQ ID NO: 42序列：

QVQLVESGGGX$_{11}$VQX$_{12}$GGSLRLSCAASGX$_{13}$TFNSACMGWFRQAPGKX$_{14}$REGVX$_{15}$RIETGYGGTVYADSVKGRFTISRDNX$_{16}$KNTVYLQMNSLX$_{17}$X$_{18}$EDTAX$_{19}$YYCAAKRSWCTPTWWHELDYNYWGQGTQVTVSS

其中，X$_{11}$為S或L，X$_{12}$為P或A，X$_{13}$為F或V，X$_{14}$為E或G，X$_{15}$為A或S，X$_{16}$為A或S，X$_{17}$為R或K，X$_{18}$為A或P，X$_{19}$為V或M。

【0086】 本發明提供了結合BCMA的抗體，其包含所述的單可變結構域。

【0087】 在一些實施方案中，所述結合BCMA的抗體可以是單特異性抗體或多特異性抗體。

【0088】 在一個實施方案中，所述單特異性抗體包含Fc結構域，優選的，所述Fc為人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的Fc。

【0089】 在一些實施方案中，所述單特異性抗體包含與SEQ ID NO: 27、29、31、33、51、53、55或57所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【0090】 本發明提供了例示性的單特異性抗體(例如1A10-V1，1A10-V1，1A11-V1，1A11-V2等)，將單可變結構域與人IgG1的Fc融合，透過Fc形成同二聚體。

【0091】 本發明提供了分離的核酸，其包含編碼本發明所述的結合BCMA的抗體的多核苷酸。

【0092】 本發明提供了載體，其包含本發明所述的核酸。

【0093】 本發明提供了分離的宿主細胞，其包含本發明所述的核酸或本發明所述的載體。

【0094】 本發明提供了製備本發明所述的結合BCMA的抗體的方法，其包括培養本發明所述的宿主細胞，使其表現所述的結合BCMA的抗體，並且在系統中分離純化所述結合BCMA的抗體。

【0095】 本發明提供了藥物組成物，其包含本發明所述的結合BCMA的抗體和藥學上可接受的載劑。

【0096】 本發明提供了在受試者中治療BCMA表現相關的疾病的方法，其包括對所述受試者施用治療有效量的本發明所述的結合BCMA的抗體或所述的藥物組成物。

II.多特異性抗體

【0097】 本發明提供了包含單可變結構域的多特異性抗體，其可以標靶腫瘤細胞表面表現的BCMA，還可以與T細胞結合，活化T細胞的腫瘤毒殺活性。

【0098】 採用單可變結構域，相較於更多個(例如兩個)採用Fab的形式，可降低或避免輕鏈和重鏈的錯誤配對。

【0099】 本發明的多特異性抗體還展現了優異的抗腫瘤性能例如裂解腫瘤細胞。在一些實施方案中，本發明的多特異性抗體能夠誘導毒殺多種腫瘤細胞，並且，本發明的多特異性抗體對不同BCMA表現位準的腫瘤細胞展現了良好的腫瘤毒殺活性。特別的，對一些BCMA中低度表現的腫瘤細胞展現了更優異的毒殺性能。

【0100】 本發明的多特異性抗體在展現良好的抗腫瘤性能的同時，細胞激素釋放位準較低，可降低標靶CD3的抗體導致的細胞激素風暴的風險，提高安全性。

【0101】 可以採用第I節中描述的任一種單可變結構域建構多特異性抗體。因此，本發明提供了多特異性抗體，其包含

(i) 結合第一抗原的第一抗原結合模組；

(ii) 結合第二抗原的第二抗原結合模組；和，

(iii) 結合第一抗原的第三抗原結合模組；

其中所述第一抗原為BCMA且所述第二抗原為活化性T細胞抗原，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均為單可變結構域並且各自獨立的包含以下任一項：

(a) 包含SEQ ID NO: 7所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 8所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 9所示胺基酸序列的CDR3；

(b) 包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；

(c) 包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3；或

(d) 包含SEQ ID NO: 16所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 17所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 18所示胺基酸序列的CDR3。

【0102】 本發明中，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均為結合BCMA的單可變結構域。在一些實施方案中，所述第一抗原結合模組包含上文(a)、(b)、(c)或(d)所述的互補決定區。在一些實施方案中，所述第三抗原結合模組包含上文(a)、(b)、(c)或(d)所述的互補決定區。在所述多特異性抗體中，所述第一抗原結合模

組與第三抗原結合模組可以相同或不同，可以獨立的選擇任意本發明所述的單可變結構域進行組合；一個具體的方案，所述第一抗原結合模組與第三抗原結合模組是相同的；另一個具體的方案，所述第一抗原結合模組與第三抗原結合模組是不同的。

【0103】 表S3例示性的列舉了限定CDR特徵的第一抗原結合模組與第三抗原結合模組不同組合方式建構的多特異性抗體。一個具體的實施方案，所述第一抗原結合模組包含上文(b)所述的互補決定區，並且所述第三抗原結合模組包含上文(c)所述的互補決定區，即所述第一抗原結合模組包含：包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；並且所述第三抗原結合模組包含：包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。另一個具體的實施方案，所述第三抗原結合模組包含上文(b)所述的互補決定區，並且所述第一抗原結合模組包含上文(c)所述的互補決定區，即所述第三抗原結合模組包含：包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；並且所述第一抗原結合模組包含：包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的

CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。更具體的一個方案，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 10所示的CDR1，SEQ ID NO: 11所示的CDR2，和SEQ ID NO: 12所示的CDR3；並且所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 13所示的CDR1，SEQ ID NO: 14所示的CDR2，和SEQ ID NO: 15所示的CDR3。另一個更具體的方案，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 10所示的CDR1，SEQ ID NO: 11所示的CDR2，和SEQ ID NO: 12所示的CDR3；並且所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 13所示的CDR1，SEQ ID NO: 14所示的CDR2，和SEQ ID NO: 15所示的CDR3。

表 S3 例示性的限定第一抗原結合模組和第三抗原結合模組的 CDR 特徵的多特異性抗體

第一抗原結合模組 / 第三抗原結合模組	(a)	(b)	(c)	(d)
(a)	(a)+(a)	(a)+(b)	(a)+(c)	(a)+(d)
(b)	(b)+(a)	(b)+(b)	(b)+(c)	(b)+(d)
(c)	(c)+(a)	(c)+(b)	(c)+(c)	(c)+(d)
(d)	(d)+(a)	(d)+(b)	(d)+(c)	(d)+(d)

註：表中(X)+(Y)表示多特異性抗體中第三抗原結合模組和第一抗原結合模組的組合方式，例如(b)+(a)表示多特異性抗體中第三抗原結合模組包含(b)所述的互補決定區，同時第一抗原結合模組包含(a)所述的互補決定區。

【0104】 進一步的，在一些實施方案中，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組各自獨立的包含與SEQ ID NO: 19、41、42

或25所示序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【0105】 在一些實施方案中，所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 19、41、42或25所示序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。在一些實施方案中，所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 19、21、23、37、38、39、40或25所示序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。在一些具體的實施方案中，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 19、41、42或25所示的胺基酸序列。在一些更具體的實施方案中，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 19、21、23、37、38、39、40或25所示的胺基酸序列。

【0106】 在一些實施方案中，所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 19、41、42或25所示序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。在一些實施方案中，所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 19、21、23、37、38、39、40或25所示序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、

91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。在一些具體的實施方案中，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 19、41、42或25所示的胺基酸序列。在一些更具體的實施方案中，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 19、21、23、37、38、39、40或25所示的胺基酸序列。

【0107】 在一些具體的實施方案中，所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 41所示序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列；並且所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 42所示序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。一個具體的方案，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 41所示的胺基酸序列，並且所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 42所示的胺基酸序列。一些更具體的方案，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 21、37或38所示的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 23、39或40所示的胺基酸序列。

【0108】 在一些實施方案中，所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 42所示序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%

或100%的相同性的胺基酸序列，並且所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 41所示序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。一個具體的方案，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 42所示的胺基酸序列，並且所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 41所示的胺基酸序列。一些更具體的方案，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 23、39或40所示的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 21、37或38所示的胺基酸序列。

【0109】 一個實例，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 21所示的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含21、23、37、38、39或40所示的胺基酸序列。

【0110】 一個實例，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 21所示的胺基酸序列，所述第一抗原結合模組包含21、23、37、38、39或40所示的胺基酸序列。

【0111】 一個實例，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 37所示的胺基酸序列，並且所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 39所示的胺基酸序列。

【0112】 一個實例，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 37所示的胺基酸序列，並且所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列。

【0113】 一個實例，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 37所示的胺基酸序列，並且所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 40所示的胺基酸序列。

【0114】 一個實例，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列，並且所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 39所示的胺基酸序列。

【0115】 一個實例，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列，並且所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 40所示的胺基酸序列。

【0116】 一個實例，所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 39所示的胺基酸序列，並且所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 40所示的胺基酸序列。

【0117】 一個實例，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 37所示的胺基酸序列，並且所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 39所示的胺基酸序列。

【0118】 一個實例，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 37所示的胺基酸序列，並且所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列。

【0119】 一個實例，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 37所示的胺基酸序列，並且所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 40的胺基酸序列。

【0120】 一個實例，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列，並且所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 39的胺基酸序列。

【0121】 一個實例，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列，並且所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 40的胺基酸序列。

【0122】 一個實例，所述第三抗原結合模組包含SEQ ID NO: 39所示的胺基酸序列，並且所述第一抗原結合模組包含SEQ ID NO: 40的胺基酸序列。

【0123】 一個實例，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均包含SEQ ID NO: 21、23、37、38、39或40所示的胺基酸序列。

【0124】 表S4例示了全長胺基酸序列特徵的第一抗原結合模組與第三抗原結合模組不同組合方式建構的多特異性抗體。

表S4 例示性的限定第一抗原結合模組和第三抗原結合模組胺基酸序列的多特異性抗體

第一抗原結合模組 / 第三抗原結合模組	1A1 單可變結構域	1A10 單可變結構域	1A11 單可變結構域	1B10 單可變結構域	1A10-V1 單可變結構域	1A10-V2 單可變結構域	1A11-V1 單可變結構域	1A11-V2 單可變結構域
1A1 單可變結構域	1A1+1A1 單可變結構域	1A1+1A10 單可變結構域	1A1+1A11 單可變結構域	1A1+1B10 單可變結構域	1A1+1A10-V1 單可變結構域	1A1+1A10-V2 單可變結構域	1A1+1A11-V1 單可變結構域	1A1+1A11-V2 單可變結構域
1A10 單可變結構域	1A10+1A1 單可變結構域	1A10+1A10 單可變結構域	1A10+1A11 單可變結構域	1A10+1B10 單可變結構域	1A10+1A10-V1 單可變結構域	1A10+1A10-V2 單可變結構域	1A10+1A11-V1 單可變結構域	1A10+1A11-V2 單可變結構域
1A11 單可變結構域	1A11+1A1 單可變結構域	1A11+1A10 單可變結構域	1A11+1A11 單可變結構域	1A11+1B10 單可變結構域	1A11+1A10-V1 單可變結構域	1A11+1A10-V2 單可變結構域	1A11+1A11-V1 單可變結構域	1A11+1A11-V2 單可變結構域
1B10 單可變結構域	1B10+1A1 單可變結構域	1B10+1A10 單可變結構域	1B10+1A11 單可變結構域	1B10+1B10 單可變結構域	1B10+1A10-V1 單可變結構域	1B10+1A10-V2 單可變結構域	1B10+1A11-V1 單可變結構域	1B10+1A11-V2 單可變結構域
1A10-V1 單可變結構域	1A10-V1+1A1 單可變結構域	1A10-V1+1A10 單可變結構域	1A10-V1+1A11 單可變結構域	1A10-V1+1B10 單可變結構域	1A10-V1+1A10-V1 單可變結構域	1A10-V1+1A10-V2 單可變結構域	1A10-V1+1A11-V1 單可變結構域	1A10-V1+1A11-V2 單可變結構域
1A10-V2 單可變結構域	1A10-V2+1A1 單可變結構域	1A10-V2+1A10 單可變結構域	1A10-V2+1A11 單可變結構域	1A10-V2+1B10 單可變結構域	1A10-V2+1A10-V1 單可變結構域	1A10-V2+1A10-V2 單可變結構域	1A10-V2+1A11-V1 單可變結構域	1A10-V2+1A11-V2 單可變結構域
1A11-V1 單可變結構域	1A11-V1+1A1 單可變結構域	1A11-V1+1A10 單可變結構域	1A11-V1+1A11 單可變結構域	1A11-V1+1B10 單可變結構域	1A11-V1+1A10-V1 單可變結構域	1A11-V1+1A10-V2 單可變結構域	1A11-V1+1A11-V1 單可變結構域	1A11-V1+1A11-V2 單可變結構域
1A11-V2 單可變結構域	1A11-V2+1A1 單可變結構域	1A11-V2+1A10 單可變結構域	1A11-V2+1A11 單可變結構域	1A11-V2+1B10 單可變結構域	1A11-V2+1A10-V1 單可變結構域	1A11-V2+1A10-V2 單可變結構域	1A11-V2+1A11-V1 單可變結構域	1A11-V2+1A11-V2 單可變結構域

註：表中(X)+(Y)表示多特異性抗體中第三抗原結合模組和第一抗原結合模組的組合，例如“1A10+1A1單可變結構域”表示多特異性抗體中第三抗

原結合模組為1A10單可變結構域的胺基酸序列，同時第一抗原結合模組為1A1單可變結構域的胺基酸序列；該表中涉及的單可變結構域的胺基酸序列參見表S2。

【0125】 本發明中，所述的第一抗原結合模組可以是駱駝科動物的或人源化的。所述的第三抗原結合模組可以是駱駝科動物的、或人源化。人源化可降低免疫原性，在一些實施方案中，所示第一抗原結合模組和第三抗原結合模組都是人源化的。在一些實施方案中，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組都是駱駝科動物的。

【0126】 本發明的多特異性抗體中，所述第二抗原結合模組提供標靶活化性T細胞抗原的能力。所述第二抗原結合模組可以為Fab、ScFv或ScFab。一個實施方案中，所述活化性T細胞抗原為CD3。一個具體的方案，所述第二抗原結合模組為結合CD3的Fab。另一個具體的方案，所述二抗原結合模組為結合CD3的ScFv。

【0127】 在一些實施方案中，所述第二抗原結合模組是鼠源的、嵌合的或人源化的。

【0128】 在一些實施方案中，所述第二抗原結合模組包含重鏈可變區和輕鏈可變區，所述重鏈可變區包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 43所示胺基酸序列的HCDR1，包含SEQ ID NO: 44所示胺基酸序列的HCDR2，和包含SEQ ID NO: 45所示胺基酸序列的HCDR3；所述輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 46所示胺基酸序列的LCDR1，包含SEQ ID NO: 47所示胺基酸序列的LCDR2，和包含SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列的LCDR3。

【0129】 一個具體的方案，所述重鏈可變區包含SEQ ID NO: 49所示的可變區的HCDR1，HCDR2和HCDR3；所述輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 50所示的可變區的LCDR1，HCDR2和LCDR3。

【0130】 在一些實施方案中，所述第二抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 49所示序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列的重鏈可變區和包含與SEQ ID NO: 50所示序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列的輕鏈可變區。一個具體的方案，所述第二抗原結合模組的重鏈可變區包含SEQ ID NO: 49所示的胺基酸序列，並且其輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 50所示的胺基酸序列。一個更具體的方案，所述第二抗原結合模組的重鏈可變區和輕鏈可變區依次分別如SEQ ID NO: 49、50所示。

表S5 例示性的第二抗原結合模組的CDR和可變區序列

區	胺基酸序列	SEQ ID NO:
CD3-HCDR1	TYAMN	43
CD3-HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKD	44
CD3-HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY	45
CD3-LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN	46
CD3-LCDR2	GTNKRAP	47
CD3-LCDR3	ALWYSNLWV	48
CD3-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNT YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKT	49

	EDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	
CD3-VL	ELVVTQEPSLTTSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTITGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	50

【0131】 本發明的多特異性抗體可以是無Fc域的，第一抗原結合模組、第二抗原結合模組、第三抗原結合模組透過合適的連接子進行連接。

【0132】 本發明的多特異性抗體可以是有Fc域的，Fc域可以延長半衰期、提供Fc域相關的效應物等功能。

多特異性抗體構型

【0133】 本發明多特異性抗體的各組分可以以多種構造彼此融合。在一些實施方案中，所述的多特異性抗體，其還包含(iv)由兩個Fc多肽構成的Fc域。

【0134】 第三抗原結合模組可以與第一抗原結合模組或者第二抗原結合模組彼此融合。在第(1)種可選擇的實施方案中，所述第三抗原結合模組與所述第一抗原結合模組彼此融合，任選經由肽連接子彼此融合。在第(2)種可選擇的實施方案中，所述第三抗原結合模組和所述第二抗原結合模組彼此融合，任選經由肽連接子彼此融合。

【0135】 在第(1)種可選擇的實施方案中，所述第三抗原結合模組與所述第一抗原結合模組彼此融合，任選經由肽連接子彼此融合。一個更具體的方案，所述第三抗原結合模組在其C端融合至第

一抗原結合模組的N端。進一步的，在一些實施方案中，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組為ScFv且所述第二抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端。在另一些實施方案中，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組為Fab且所述第二抗原結合模組在其Fab重鏈的C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端。

【0136】 在一個具體的實施方案中，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均為單可變結構域，所述第二抗原結合模組為Fab，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其Fab重鏈的C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第一抗原結合模組的N端。此類構造示意性的描述於圖5A中。對於此實施方案，進一步更具體的方案，多特異性抗體具有三條多肽鏈，其中第一條多肽鏈含有上述的第一抗原結合模組、第三抗原結合模組和Fc域的其中一個Fc多肽，第二條多肽鏈含有上述第二抗原結合模組的Fab重鏈和Fc域的另一個Fc多肽，第三條多肽鏈為上述第二抗原結合模組的Fab輕鏈。

【0137】 在另一個具體的實施方案中，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均為單可變結構域，所述第二抗原結合模組為

ScFv，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第一抗原結合模組的N端。此類構造示意性的描述於圖5B中。對於此實施方案，進一步更具體的方案，多特異性抗體具有兩條多肽鏈，其中第一條多肽鏈含有上述的第一抗原結合模組、第三抗原結合模組和Fc域的其中一個Fc多肽，第二條多肽鏈含有上述第二抗原結合模組和Fc域的另一個Fc多肽。

【0138】 對於第三抗原結合模組的連接方式，在第(2)種可選擇的實施方案中，所述第三抗原結合模組和所述第二抗原結合模組彼此融合，任選經由肽連接子彼此融合。更具體的方案，所述第三抗原結合模組在其C端融合至第二抗原結合模組的N端。進一步的，在一些實施方案中，第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組為ScFv且所述第二抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端。在另一些實施方案中，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組為Fab且所述第二抗原結合模組在其Fab重鏈的C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端。其中，所述第三抗原結合模組融合至所述第二抗原結合模組的Fab輕鏈或Fab重鏈的N端。

【0139】 在一個具體的實施方案中，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均為單可變結構域，所述第二抗原結合模組為ScFv，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第二抗原結合模組的N端。此類構造示意性的描述於圖5C中。對於此實施方案，進一步更具體的，多特異性抗體具有兩條多肽鏈，其中第一條多肽鏈含有上述的第一抗原結合模組和Fc域的其中一個Fc多肽，第二條多肽鏈含有上述的第二抗原結合模組、第三抗原結合模組和Fc域的另一個Fc多肽。

【0140】 在另一個具體的實施方案中，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均為單可變結構域，所述第二抗原結合模組為Fab，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其Fab重鏈的C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第二抗原結合模組的Fab輕鏈的N端(此類構造示意性的描述於圖5D中)或所述第二抗原結合模組的Fab重鏈的N端。對於此實施方案，進一步更具體的，多特異性抗體具有三條多肽鏈，其中第一條多肽鏈含有上述的第一抗原結合模組和Fc域的其中一個Fc多肽，第二條多肽鏈含有上述第二抗原結合模組的Fab重鏈和Fc域的

另一個Fc多肽，第三條多肽鏈含有上述的第三抗原結合模組和第二抗原結合模組的Fab輕鏈。可選的，多特異性抗體具有三條多肽鏈，其中第一條多肽鏈含有上述的第一抗原結合模組和Fc域的其中一個Fc多肽，第二條多肽鏈含有上述第二抗原結合模組的Fab重鏈、第三抗原結合模組和Fc域的另一個Fc多肽，第三條多肽鏈含有上述的第二抗原結合模組的Fab輕鏈。

【0141】 上述所述第二抗原結合模組為ScFv時，其包含的重鏈可變區(VH)和輕鏈可變區(VL)的排列順序是任意的，例如，在一個實施方案中，所述第二抗原結合模組的VH和VL從N端到C端按照VL-VH的順序排列；在另一個實施方案中，所述第二抗原結合模組的VH和VL從N端到C端按照VH - VL的順序排列。在一些實施方案中，所述第二抗原結合模組的VH和VL經肽連接子融合形成ScFv。

【0142】 上述任一實施方案，多特異性抗體的各組分可操作性的連接，如直接地或經由本文中描述或本領域已知的各種肽連接子(例如是包含一個或多個胺基酸，通常約1-50個胺基酸的肽連接子)、樞紐融合，本領域技術人員可以合理選擇。

【0143】 所述第三抗原結合模組可以直接或經由肽連接子與第一抗原結合模組或第二抗原結合模組融合。一種實施方案，所述第三抗原結合模組經由肽連接子與第一抗原結合模組或第二抗原結合

模組融合。在一些實施方案中，所述第二抗原結合模組為ScFv結構時，其輕鏈可變區和重鏈可變區經由肽連接子連接。

【0144】 各肽連接子均可以各自獨立的採用任何適宜的，例如可以使用帶電的和/或柔性的連接子多肽。在具體的實施方案中，肽連接子由透過肽鍵連接的1到50個胺基酸組成，其中所述胺基酸可以選自20個天然存在的胺基酸；在更優選的實施方案中，1到50個胺基酸選自甘胺酸、丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、天門冬醯胺、麩醯胺酸和離胺酸。因此，例示性的肽連接子可以是聚甘胺酸(尤其是(Gly)4、(Gly)5)、聚(Gly-Ser)、(Gly)3AsnGlySer(Gly)2、(Gly)3Cys(Gly)4、GlyProAsnGlyGly，或者專利申請WO2019195535的表4所公開的那些，等等。

【0145】 在一些實施方案中，所述肽連接子可以是由甘胺酸和絲胺酸組成的肽連接子。在一些實施方案中，所述肽連接子包含的胺基酸數目可以是0個、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、或20個以上。在一些實施方案中，所述肽連接子為包含以GGGGS為單位的肽連接子、包含GGSGGSGGSGGSGG(SEQ ID NO: 2)的肽連接子或包含GGGPGKR的肽連接子。優選的，所述以GGGGS為單位的肽連接子為(GGGGS)n，其中n是1-10之間的任意數，即1、2、3、4、5、

6、7、8、9和10，或由前述數字中的任意兩個限定的任何範圍，例如1-5、2-5、3-6、2-4、1-4等等。在一些具體的實施方案中，所述的肽連接子為包含GGGGS、(GGGGS)2、(GGGGS)3或(GGGGS)4的連接子多肽。在一些具體的實施方案中，所述第三抗原結合模組經由肽連接子GGGGS(SEQ ID NO: 1)或(GGGGS)2或(GGGGS)3與第一抗原結合模組或第二抗原結合模組融合。在一些實施方案中，所述第二抗原結合模組為ScFv結構時，其輕鏈可變區和重鏈可變區經由肽連接子GGGGS或(GGGGS)2或(GGGGS)3連接。

【0146】 當與Fc融合時，典型的是透過樞紐區融合。一種實施方案，所述第一抗原結合模組經第一樞紐與Fc域的其中一個Fc多肽融合，所述第二抗原結合模組經第二樞紐與Fc域的其中一個Fc多肽融合。在一些實施方案中，所述第一樞紐和第二樞紐能夠相互形成共價鍵，例如二硫鍵。第一樞紐或/和第二樞紐可以包含人IgG的樞紐區的胺基酸，人IgG的樞紐區包含天然的樞紐區或其變體。在一些實施方案中，第一樞紐或/和第二樞紐包含人IgG1的樞紐區的胺基酸；在一些實施方案中，第一樞紐或/和第二樞紐包含人IgG4的樞紐區的胺基酸。在一些具體的實施方案中，第一樞紐包含GEPKSSDKTHTCPPCP(SEQ ID NO: 3)，第二樞紐包含EPKSCDKTHTCPPCP(SEQ ID NO: 4)；在另一些具體的實施方

案中，第一樞紐包含EPKSCDKTHTCPPCP，第二樞紐包含GEPKSSDKTHTCPPCP。在一些具體的實施方案中，第一樞紐和第二樞紐均包含GEPKSSDKTHTCPPCP或EPKSCDKTHTCPPCP。

Fc域

【0147】 多特異性抗體的Fc域由一對包含免疫球蛋白分子重鏈結構域的多肽鏈組成。例如，免疫球蛋白G(IgG)分子的Fc域是二聚體，其每個Fc多肽包含IgG重鏈恆定區的CH2和CH3。Fc域的兩個Fc多肽能夠彼此穩定締合。在一個實施方案中，本發明的多特異性抗體包含一個Fc域。

【0148】 在一個實施方案中，多特異性抗體的Fc域是IgG Fc域。在一個具體的實施方案中，Fc域是IgG1 Fc域。在另一個實施方案中，Fc域是IgG4 Fc域。在一個更具體的實施方案中，Fc域是包含位置S228處的胺基酸替代，特別是胺基酸替代S228P的IgG4 Fc域，此胺基酸替代降低IgG4抗體的體內Fab臂交換。在又一個具體的實施方案中，Fc域是人Fc域。在一個更具體的實施方案中，Fc域是人IgG 1Fc域。

【0149】 在一些實施方案中，所述Fc域包含修飾，例如胺基酸取代。所述修飾例如可以是促進異二聚化的修飾，改變效應物功能的修飾或改變與A蛋白結合能力的修飾等。

【0150】 在一些實施方案中，所述Fc包含促進異二聚化的修飾。

【0151】 本發明的多特異性抗體包含與Fc域中的兩個Fc多肽中的一個或另一個融合的不同抗原結合模組，因此，兩個Fc多肽通常包含在兩條不同的多肽鏈中。這些多肽的重組共表現和隨後的二聚化產生兩種多肽的幾種可能的組合。為了提高重組產生中多特異性抗體的產率和純度，在該多特異性抗體的Fc域中引入促進希望的多肽結合的修飾將是有利的。因此，在具體實施方案中，所述Fc域包含促進所述Fc域的兩個Fc多肽相締合的胺基酸取代。

【0152】 人IgG Fc域的兩條Fc多肽之間最廣泛的蛋白質-蛋白質相互作用的部位在Fc域的CH3結構域中。因此，在一個實施方案中，該修飾在Fc域的CH3結構域中。

【0153】 在具體實施方案中，該修飾是所謂的“杵入臼(knob-into-hole)”修飾，其包含Fc域的兩個Fc多肽之一中的“杵”修飾和Fc域的兩個Fc多肽的另一個中的“臼”修飾。通常，該方法涉及在一條Fc多肽的界面引入凸起(“杵”)，而在另一條Fc多肽的界面引入對應的凹陷(“臼”)，使得該凸起可以定位在該凹陷中，以促進異二聚體形成和妨礙同二聚體形成。透過用更大的側鏈(例如酪胺酸或色胺酸等)取代來自一條Fc多肽的界面的小的胺基酸側鏈來建構凸起。透過用更小的胺基酸側鏈(例如丙胺酸或蘇胺酸等)取代大的

胺基酸側鏈來在另一條Fc多肽的界面中產生具有與凸起相同或相似的大小的互補凹陷。

【0154】 因此，在具體實施方案中，在該多特異性抗體的一個Fc多肽的CH3結構域中，用具有更大側鏈體積的胺基酸殘基取代胺基酸殘基，從而在該Fc多肽的CH3結構域內產生可定位在另一個Fc多肽的CH3結構域內的凹陷中的凸起，在另一個Fc多肽的CH3結構域中，用具有更小側鏈體積的胺基酸殘基取代胺基酸殘基，從而在該Fc多肽的CH3結構域內產生凹陷。

【0155】 在一些具體實施方案中，Fc域的一個Fc多肽包含T366Y/W或/和S354C，且另一個Fc多肽包含Y407T/V、Y349C、T366S或/和L368A。一個更具體的實例，所述Fc域的其中一個Fc多肽包含胺基酸取代T366Y/W和S354C，另一個Fc多肽包含胺基酸取代Y407T/V、Y349C、T366S和L368A。在更具體的實例中，Fc可以是人IgG1的Fc。

【0156】 在一些實施方案中，所述Fc域包含改變效應物功能的修飾。在一些具體的實施方案中，將該多特異性抗體的Fc域進行修飾為與未進行所述修飾的Fc相比，降低Fc域對Fc受體的結合親和力和/或效應物功能。降低Fc域對Fc受體的結合親和力和/或效應物功能對改善細胞激素釋放和副作用是有利的。

【0157】 在一些實施方案中，降低該Fc域與Fc受體的結合親和力和/或減少效應物功能的修飾是胺基酸取代。在一些實施方案中，該Fc域在選自E233、L234、L235、N297、P331和P329的一個或多個位置上包含胺基酸取代。在一些實施方案中，該Fc域在選自L234、L235和P329的一個或多個位置上包含胺基酸取代。在一些實施方案中，該Fc域包含胺基酸取代L234A和L235A。在一個這種實施方案中，該Fc是IgG1 Fc，尤其是人IgG1 Fc。在一些實施方案中，該Fc域在P329位包含胺基酸取代。在更具體的實施方案中，該胺基酸取代是P329A、P329R或P329G。在一些實施方案中，該Fc域包含P329位的胺基酸取代及選自E233、L234、L235、N297和P331的位置上的另一胺基酸取代。在更具體的實施方案中，該另一胺基酸取代是E233P、L234A、L235A、L235E、N297A、N297D或P331S。在一些實施方案中，該Fc域在P329、L234和L235位包含胺基酸取代。在更具體的實施方案中，該Fc域包含胺基酸取代L234A、L235A和P329G(“P329G LALA”)。在更具體的另一個實施方案中，該Fc域包含胺基酸取代L234A、L235A和P329A(“P329A LALA”)。在一個這種實施方案中，該Fc是IgG1 Fc，尤其是人IgG1 Fc。

【0158】 在一些具體實施方案中，所述Fc域是包含胺基酸取代L234A、L235A和P329A/G/R的人IgG1 Fc結構域。

【0159】 以上所述降低該Fc域與Fc受體的結合親和力和/或效應物功能的胺基酸取代發生在Fc域的兩條多肽鏈上。

【0160】 在一些實施方案中，所述Fc域包含減少或消除Fc域中的一個Fc多肽的CH3區與A蛋白(Protein A from Staphylococcus aureus)的結合的修飾。在一些實施方案中，該修飾為胺基酸取代。在一些實施方案中，所述Fc域包含胺基酸取代H435R或/和Y436F，該胺基酸取代僅發生在一個Fc多肽上，而不發生在另一個Fc多肽上。在一個具體的實施方案中，所述Fc域包含僅發生在其中一個Fc多肽的胺基酸取代H435R或/和Y436F。在一個這種具體的實施方案中，該Fc是IgG1 Fc，尤其是人IgG1 Fc。

【0161】 本發明的多特異性抗體中，所述Fc域可以包含促進異二聚化的修飾、改變效應物功能的修飾、減少或消除Fc中的一條Fc多肽的CH3區與A蛋白的結合的修飾中的一種、兩種或三種。在一些實施方案中，所述Fc包含促進兩個Fc多肽締和的修飾、所述降低Fc域對Fc受體的結合親和力和/或減少的效應物功能的修飾、以及減少或消除Fc中的一個Fc多肽的CH3區與A蛋白的結合的修飾。對於上述不同種修飾類型的具體方案，可以進行組合。例如，一個具體的實施方案，所述Fc域包含下組的胺基酸取代：

i. Y407T/V、Y349C、T366S、L368A、T366Y/W和S354C；其中，胺基酸取代T366Y/W和S354C在同一個Fc多肽上，且與(i.)中的其他胺基酸取代均不在同一個Fc多肽上；

ii. L234A、L235A和P329A；以及，

iii. H435R和Y436F，僅發生在其中一個Fc多肽上。

【0162】 一個更具體的實施方案中，根據EU編號，所述Fc域的其中一個Fc多肽包含胺基酸取代：L234A、L235A、P329A、Y349C、T366S、L368A和Y407V，另一個Fc多肽包含胺基酸取代：L234A、L235A、P329A、S354C、T366W、H435R和Y436F。在這個這種具體的實施方案中，該Fc是IgG1 Fc，尤其是人IgG1Fc。

【0163】 本發明上下文中，胺基酸取代表示為：原胺基酸-位置-取代的胺基酸，使用三字母碼(Xaa)或單字母碼(X)來表示胺基酸殘基。因此，例如“H435R”意為將位置435處的胺基酸H取代為胺基酸R；對於取代的胺基酸可以包含多於1個，例如T366Y/W意為將位置366處的胺基酸T取代為胺基酸Y或W。

【0164】 在一些實施方案中，本發明所述的多特異性抗體是三價的，即第一抗原結合模組、第二抗原結合模組、第三抗原結合模組均各自提供與相應抗原的單價結合。

【0165】 本發明提供了例示性的三價多特異性抗體。

【0166】 一個實例，多特異性抗體由兩條多肽鏈組成，兩條多肽鏈的胺基酸序列分別如SEQ ID NO: 65和SEQ ID NO: 67所示。在一些實施方案中，編碼兩條多肽鏈的核苷酸序列分別如SEQ ID NO: 66和SEQ ID NO: 68所示。

【0167】 一個實例，多特異性抗體由兩條多肽鏈組成，兩條多肽鏈的胺基酸序列分別如SEQ ID NO: 69和SEQ ID NO: 71所示。在一些實施方案中，編碼兩條多肽鏈的核苷酸序列分別如SEQ ID NO: 70和SEQ ID NO: 72所示。

【0168】 一個實例，多特異性抗體由三條多肽鏈組成，三條多肽鏈的胺基酸序列分別如SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 61和SEQ ID NO: 63所示。在一些實施方案中，編碼兩條多肽鏈的核苷酸序列分別如SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 62和SEQ ID NO: 64所示。

【0169】 一個實例，多特異性抗體由三條多肽鏈組成，三條多肽鏈的胺基酸序列分別如SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 61和SEQ ID NO: 75所示。在一些實施方案中，編碼兩條多肽鏈的核苷酸序列分別如SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 62和SEQ ID NO: 76所示。

組成物

【0170】 本發明提供了藥物組成物，所述藥物組成物包含多特異性抗體，並且還包含一種或多種藥學上可接受的載劑。藥學上可接受的載劑包括，例如，賦形劑、稀釋劑、包覆材料、填充劑、緩衝劑或其他試劑。

分離的核酸

【0171】 本發明提供了分離的核酸，其包含編碼本發明所述的多特異性抗體的多核苷酸。序列表中例示性的列舉了一些多特異性抗體的核酸序列。

載體

【0172】 本發明提供了包含所述的核酸的載體。在一些實施方案中，所述的載體為選殖載體；在另一些實施方案中，所述的載體為表現載體，一個具體的例子，表現載體為pcDNA3.1(+)。所述表現載體可選的能夠表現本文所述多特異性抗體的任意表現載體。

宿主細胞

【0173】 在一些實施方案中，本發明提供包含所述本發明載體的宿主細胞，宿主細胞為用於選殖或表現多特異性抗體的適當宿主細胞。在一些實施方案中，宿主細胞為原核細胞。在另一些實施方案中，宿主細胞為真核細胞。在一些實施方案中，宿主細胞選自酵母細胞、哺乳動物細胞或適用於製備多特異性抗體的其他細胞。哺乳動物細胞例如為中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、CHO-S細胞。

製備多特異性抗體的方法

【0174】 在一些實施方案中，本發明提供了製備多特異性抗體的方法，所述方法包括：培養所述的宿主細胞，使其表現所述的多特異性抗體，並且在系統中分離純化所述多特異性抗體。為了產生所述的多特異性抗體，分離編碼所述多特異性抗體的核酸，並插入一個或多個載體，用於在宿主細胞中進一步選殖或/和表現。所述核酸可以採用基因剪接、化學合成等多種本領域所熟知的方法獲取。

用途

【0175】 本發明提供了多特異性抗體的用途。在一些具體的實施方案中，使用的多特異性抗體可以為BC24、PC1、PC2和/或PC3。

【0176】 本發明提供了所述的多特異性抗體或所述的藥物組成物在製備治療BCMA表現相關疾病的藥物中的用途。

【0177】 本發明提供了在受試者中治療BCMA表現相關的疾病的方法，其包括對所述受試者施用治療有效量所述的多特異性抗體或所述的藥物組成物。

【0178】 在一些實施方案中，所述疾病為腫瘤或自身免疫性疾病。

【0179】 在一些實施方案中，所述疾病為淋巴瘤、多發性骨髓瘤、白血病、系統性紅斑狼瘡或類風濕性關節炎。

【0180】 本發明還提供了例示性實施方案：

【0181】 實施方案1.一種多特異性抗體，其包含

(i) 結合第一抗原的第一抗原結合模組；

(ii) 結合第二抗原的第二抗原結合模組；和，

(iii) 結合第一抗原的第三抗原結合模組；

其中所述第一抗原為BCMA且所述第二抗原為活化性T細胞抗原，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均為單可變結構域並且各自獨立的包含以下任一項：

(a) 包含SEQ ID NO: 7所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 8所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 9所示胺基酸序列的CDR3；

(b) 包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；

(c) 包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3；或

(d) 包含SEQ ID NO: 16所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 17所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 18所示胺基酸序列的CDR3。

【0182】 實施方案2.根據實施方案1所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組各自獨立的包含以下任一項：

(b) 包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；或

(c) 包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。

【0183】 實施方案3.根據實施方案2所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3，並且所述第三抗原結合模組包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。

【0184】 實施方案4.根據實施方案2所述的多特異性抗體，其中所述第三抗原結合模組包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3，並且所

述第一抗原結合模組包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。

【0185】 實施方案5.根據實施方案1所述的多特異性抗體，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組各自獨立的包含胺基酸序列如SEQ ID NO: 19、21、23、25、37、38、39或40所示的單可變結構域的CDR1、CDR2和CDR3；優選的，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組各自獨立的包含胺基酸序列如SEQ ID NO: 37或39所示的單可變結構域的CDR1、CDR2和CDR3。

【0186】 實施方案6.根據實施方案1-5任一項所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組各自獨立的包含與SEQ ID NO: 19、41、42或25所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【0187】 實施方案7.根據實施方案1-6任一項所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 41所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【0188】 實施方案8.根據實施方案7所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 21、37或38所示序列

具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列；優選的，所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 37所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【0189】 實施方案9.根據實施方案1-8任一項所述的多特異性抗體，其中所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 42所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【0190】 實施方案10.根據實施方案9所述的多特異性抗體，其中所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 23、39或40所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列；優選的，所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 39所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【0191】 實施方案11.根據實施方案1-6任一項所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 42所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【0192】 實施方案12.根據實施方案11所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 23、39或40所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列；優選的，所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 39所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【0193】 實施方案13.根據實施方案1-6、11-12任一項所述的多特異性抗體，其中所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 41所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【0194】 實施方案14.根據實施方案13所述的多特異性抗體，其中所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 21、37或38所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列；優選的，所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 37所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【0195】 實施方案15.根據實施方案1-5任一項所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組選自以下任一項：

(1) 包含SEQ ID NO: 21所示胺基酸序列的第一抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 23、39或40所示胺基酸序列的第三抗原結合模組；

(2) 包含SEQ ID NO: 37所示胺基酸序列的第一抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 23、39或40所示胺基酸序列的第三抗原結合模組；

(3) 包含SEQ ID NO: 38所示胺基酸序列的第一抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 23、39或40所示胺基酸序列的第三抗原結合模組；

(4) 包含SEQ ID NO: 21所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 23、39或40所示胺基酸序列的第一抗原結合模組；

(5) 包含SEQ ID NO: 37所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 23、39或40所示胺基酸序列的第一抗原結合模組；

(6) 包含SEQ ID NO: 38所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 23、39或40所示胺基酸序列的第一抗原結合模組；

(7) 包含SEQ ID NO: 41所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 42所示胺基酸序列的第一抗原結合模組；

(8) 包含SEQ ID NO: 42所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 41所示胺基酸序列的第一抗原結合模組；

(9) 包含SEQ ID NO: 37所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 39所示胺基酸序列的第一抗原結合模組；或，

(10) 包含SEQ ID NO: 39所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 37所示胺基酸序列的第一抗原結合模組。

【0196】 實施方案16.根據實施方案1-15任一項所述的多特異性抗體，其中所述單可變結構域是駱駝科動物的或人源化的。

【0197】 實施方案17.根據實施方案1-16任一項所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組相同。

【0198】 實施方案18.根據實施方案1-16任一項所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組不同。

【0199】 實施方案19.根據實施方案1-18任一項所述的多特異性抗體，其中所述第二抗原結合模組為Fab、ScFv或ScFab。

【0200】 實施方案20.根據實施方案1-19任一項所述的多特異性抗體，其中所述活化性T細胞抗原為CD3。

【0201】 實施方案21.根據實施方案1-20任一項所述的多特異性抗體，其中所述第二抗原結合模組包含重鏈可變區和輕鏈可變區，所述重鏈可變區包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 43所示胺基酸序列的HCDR1，包含SEQ ID NO: 44所示胺基酸序列的HCDR2，和包含SEQ ID NO: 45所示胺基酸序列的HCDR3；所述輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 46所示胺基酸序列的LCDR1，包含SEQ ID NO: 47所示胺基酸序列的LCDR2，和包含SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列的LCDR3。

【0202】 實施方案22.根據實施方案1-20任一項所述的多特異性抗體，其中所述第二抗原結合模組包含重鏈可變區和輕鏈可變區，所述重鏈可變區包含SEQ ID NO: 49所示的可變區的HCDR1，HCDR2和HCDR3；所述輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 50所示的可變區的LCDR1，HCDR2和LCDR3。

【0203】 實施方案23.根據實施方案1-22任一項所述的多特異性抗體，其中所述第二抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 49所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列的重鏈可變區和與SEQ ID NO: 50所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、

94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列的輕鏈可變區；優選的，所述第二抗原結合模組的重鏈可變區包含SEQ ID NO: 49所示的胺基酸序列，並且其輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 50所示的胺基酸序列。

【0204】 實施方案24.根據實施方案1-23任一項所述的多特異性抗體，其中所述第二抗原結合模組是鼠源的、嵌合的或人源化的。

【0205】 實施方案25.根據實施方案1-24任一項所述的多特異性抗體，所述第三抗原結合模組和所述第一抗原結合模組彼此融合，任選經由肽連接子彼此融合。

【0206】 實施方案26.根據實施方案25所述的多特異性抗體，其中所述第三抗原結合模組在其C端融合至第一抗原結合模組的N端。

【0207】 實施方案27.根據實施方案1-24任一項所述的多特異性抗體，所述第三抗原結合模組和所述第二抗原結合模組彼此融合，任選經由肽連接子彼此融合。

【0208】 實施方案28.根據實施方案27所述的多特異性抗體，其中所述第三抗原結合模組在其C端融合至第二抗原結合模組的N端。

【0209】 實施方案29.根據實施方案1-28任一項所述的多特異性抗體，其還包含

(iv) 由兩個Fc多肽構成的Fc域。

【0210】 實施方案30.根據實施方案29所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組為ScFv且所述第二抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端。

【0211】 實施方案31.根據實施方案30所述的多特異性抗體，其中所述第二結合模組從N端到C端的結構為VL-VH或VH-VL。

【0212】 實施方案32.根據實施方案29所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組為Fab且所述第二抗原結合模組在其Fab重鏈的C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端。

【0213】 實施方案33.根據實施方案32所述的多特異性抗體，其中所述第三抗原結合模組融合至所述第二抗原結合模組的Fab輕鏈或Fab重鏈的N端。

【0214】 實施方案34.根據實施方案29所述的多特異性抗體，其中所述第二抗原結合模組為ScFv，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第一抗原結合模組的N端。

【0215】 實施方案35.根據實施方案29所述的多特異性抗體，其中所述第二抗原結合模組為ScFv，所述第一抗原結合模組在其C端

融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第二抗原結合模組的N端。

【0216】 實施方案36.根據實施方案29所述的多特異性抗體，其中所述第二抗原結合模組為Fab，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其Fab重鏈的C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第一抗原結合模組的N端。

【0217】 實施方案37.根據實施方案29所述的多特異性抗體，其中所述第二抗原結合模組為Fab，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其Fab重鏈的C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第二抗原結合模組的Fab輕鏈的N端或所述第二抗原結合模組的Fab重鏈的N端。

【0218】 實施方案38.根據實施方案29-37任一項所述的多特異性抗體，其中所述Fc域是IgG Fc域。

【0219】 實施方案39.根據實施方案38所述的多特異性抗體，其中所述IgG Fc域是人IgG Fc域，優選為人IgG1或人IgG4的Fc域。

【0220】 實施方案40.根據實施方案29-39任一項所述的多特異性抗體，其中所述Fc域包含促進所述Fc域的兩個Fc多肽相締合的胺基酸取代。

【0221】 實施方案41.根據實施方案29-40任一項所述的多特異性抗體，其中根據EU編號，所述Fc域的其中一個Fc多肽包含胺基酸取代T366Y/W和S354C，另一個Fc多肽包含胺基酸取代Y407T/V、Y349C、T366S和L368A。

【0222】 實施方案42.根據實施方案29-41任一項所述的多特異性抗體，所述Fc域包含降低Fc域對Fc受體的結合親和力和/或效應物功能的胺基酸取代。

【0223】 實施方案43.根據實施方案42所述的多特異性抗體，其中根據EU編號，降低Fc域對Fc受體的結合親和力和/或效應物功能的胺基酸取代在選自下組的一個或多個位置處：L234，L235和P329；優選的，所述Fc域的兩個Fc多肽均包含胺基酸取代L234A、L235A和P329G，或者均包含胺基酸取代L234A、L235A和P329A。

【0224】 實施方案44.根據實施方案29-41任一項所述的多特異性抗體，所述Fc域包含減少或消除Fc域中的一個Fc多肽的CH3區與A蛋白的結合的胺基酸取代。

【0225】 實施方案45.根據實施方案44所述的多特異性抗體，其中，根據EU編號，所述Fc域包含僅發生在其中一個Fc多肽的胺基酸取代H435R或/和Y436F。

【0226】 實施方案46.根據實施方案29-39任一項所述的多特異性抗體，其中，根據EU編號，所述Fc域的其中一個Fc多肽包含胺基酸取代：L234A、L235A、P329A、Y349C、T366S、L368A和Y407V，另一個Fc多肽包含胺基酸取代：L234A、L235A、P329A、S354C、T366W、H435R和Y436F。

【0227】 實施方案47.根據實施方案1-46任一項所述的多特異性抗體，其為三價的。

【0228】 實施方案48.根據實施方案1-46任一項所述的多特異性抗體，其中所述多特異性抗體組成為：

(1) 由兩條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 65所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 67所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列；

(2) 由兩條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 69所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、

96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 71所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列；

(3) 由三條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 59所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 61所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，還有一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 63所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列；或，

(4) 由三條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 73所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 61所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，還有一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 75所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【0229】 實施方式49.根據實施方案1所述的多特異性抗體，其組成為：

(1) 由兩條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 65所示的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 67所示的胺基酸序列；

(2) 由兩條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 69所示的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 71所示的胺基酸序列；

(3) 由三條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 59所示的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 61所示的胺基酸序列，還有一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 63所示的胺基酸序列；或，

(4) 由三條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 73所示的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 61所示的胺基酸序列，還有一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 75所示的胺基酸序列。

【0230】 實施方式50.一種分離的核酸，其包含編碼根據實施方案1-49任一項所述的多特異性抗體的多核苷酸。

【0231】 實施方式51.一種載體，其包含根據實施方案50所述的核酸。

【0232】 實施方式52.一種宿主細胞，其包含根據實施方案50所述的核酸，或根據實施方案51所述的載體。

【0233】 實施方式53.一種製備實施方案1-49中任一項所述的多特異性抗體的方法，其包括培養實施方案52所述的宿主細胞，使其表現所述的多特異性抗體，並且在系統中分離純化所述多特異性抗體。

【0234】 實施方式54.一種藥物組成物，其包含實施方案1-49中任一項所述的多特異性抗體和藥學上可接受的載劑。

【0235】 實施方式55.一種在受試者中治療BCMA表現相關的疾病的方法，其包括對所述受試者施用治療有效量的實施方案1-49中任一項所述的多特異性抗體或實施方案54所述的藥物組成物。

【0236】 實施方式56.根據實施方案55所述的方法，其中所述疾病為淋巴瘤、多發性骨髓瘤、白血病、系統性紅斑狼瘡或類風濕性關節炎。

【0237】 實施方式57.一種結合BCMA的抗體，其包含單可變結構域，所述單可變結構域包含：

(1) 包含SEQ ID NO: 7所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 8所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 9所示胺基酸序列的CDR3；

(2) 包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；

(3) 包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3；或

(4) 包含SEQ ID NO: 16所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 17所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 18所示胺基酸序列的CDR3。

【0238】 實施方式58.根據實施方案57所述的結合BCMA的抗體，其中所述單可變結構域包含與SEQ ID NO: 19、21、23、25、37、38、39、40、41或42所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【0239】 實施方式59.根據實施方案58所述的結合BCMA的抗體，其中所述單可變結構域包含SEQ ID NO: 37、38、39或40所示的胺基酸序列。

【0240】 實施方式60.根據實施方案57-59中任一項所述的結合BCMA的抗體，其中所述的單可變結構域是駱駝科動物的或人源化的。

【0241】 實施方式61.根據實施方案57-60中任一項所述的結合BCMA的抗體，其中所述抗體包含與SEQ ID NO: 27、29、31、33、51、53、55或57所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

具體實施方式

實施例1 抗BCMA單域抗體噬菌體展示序列庫建構

【0242】 將重組人BCMA-Fc融合蛋白(ACRO，產品目錄No.BC7-H5254)與完全弗氏佐劑按照體積比1:1混合乳化，對雙峰駝進行首次皮下多點注射免疫；之後每間隔2周，將重組人BCMA-Fc融合蛋白與不完全弗氏佐劑按照體積比1:1混合乳化後進行加強免疫。在第4或第5次免疫之後取血清檢測抗人BCMA抗體的效價。在多輪免疫後取雙峰駝周邊血液，分離周邊血液單核細胞(PBMC)。提取PBMC的RNA後反轉錄為cDNA，擴增駱駝抗體的V_HH編碼片段。

【0243】 將擴增得到的V_HH編碼片段經PstI/NotI內切酶切割後，插入噬質體載體pMECS(NTCC質體載體菌種細胞基因保藏中心，產品目錄No. pMECS)中，建構成重組載體，並電穿孔轉殖入大腸桿菌TG1(Lucigen，產品目錄No. 60502-1)中，建構得到序列庫原生種。將V_HH序列庫原生種擴增到對數生長期，加入M13KO7

輔助噬菌體(New England Biolabs，產品目錄No. N0315S)進行序列庫擴增，28℃、200轉/分鐘振搖過夜。將菌液離心取上清液，加入上清液1/4體積的PEG6000/NaCl溶液(20% PEG6000(w/v)，2.5 M NaCl)，冰上培育1-2小時沉澱噬菌體，離心收取噬菌體沉澱，用PBS重新懸浮後加20%甘油保存於-80℃作為單域抗體噬菌體展示序列庫。

實施例2 抗人BCMA單域抗體篩選

【0244】 採用固相淘選的方式對單域抗體噬菌體展示序列庫進行淘選。將淘選獲得的單株進行培養，異丙基-β-D-硫代半乳糖苷(IPTG)誘導表現製備上清液。

【0245】 透過針對人BCMA-His(ACRO，產品目錄No. BCA-H522y)的間接ELISA方法對挑選的選殖株進行陽性鑒定。挑選僅結合人BCMA-His且信號值比較高的陽性選殖株進行保種並定序。篩選獲得陽性選殖株1A1、1A10、1A11和1B10。經序列分析，1A1的V_HH核苷酸序列為SEQ ID NO: 20，胺基酸序列為SEQ ID NO: 19；1A10的V_HH核苷酸序列為SEQ ID NO: 22，胺基酸序列為SEQ ID NO: 21；1A11的V_HH核苷酸序列為SEQ ID NO: 24，胺基酸序列為SEQ ID NO: 23；1B10的V_HH核苷酸序列為SEQ ID NO: 26，胺基酸序列為SEQ ID NO: 25。

實施例3 製備抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體

3.1 V_HH-Fc嵌合抗體的製備

【0246】 將篩選的陽性選殖株的V_HH序列與人Fc區的連接，建構V_HH-Fc嵌合抗體。具體的，將獲得的V_HH序列或抗人BCMA V_HH對照抗體(BM)序列(胺基酸序列與CN109153731A中SEQ ID NO: 125相同)插入含有人IgG1恆定區(胺基酸序列為SEQ ID NO: 5)的pCDNA3.1真核表現載體中，使用Expifectamine™ CHO Transfection Kit暫態轉染表現系統(Thermo Fisher Scientific Inc.，產品目錄No.A29129)表現這些V_HH-Fc嵌合抗體(BM-Fc為對照)。使用蛋白A親和管柱純化後，採用表面等離子共振技術檢測抗體與人TACI、BAFF-R蛋白的結合情況(方法參見3.2)。經檢測1A1-Fc、1A10-Fc、1A11-Fc、和1B10-Fc均可特異性結合BCMA-His蛋白，而不結合人TACI、BAFF-R蛋白。經序列分析，1A1-Fc的全長胺基酸序列如SEQ ID NO: 27，核苷酸序列如SEQ ID NO: 28；1A10-Fc的全長胺基酸序列如SEQ ID NO: 29，核苷酸序列如SEQ ID NO: 30；1A11-Fc的全長胺基酸序列如SEQ ID NO: 31，核苷酸序列如SEQ ID NO: 32；1B10-Fc的全長胺基酸序列如SEQ ID NO: 33，核苷酸序列如SEQ ID NO: 34。

3.2 表面等離子共振技術檢測抗體與人TACI、BAFF-R蛋白的結合

【0247】 使用生物分子相互作用分析系統(GE，Biacore T200)檢測抗人BCMA VHH-Fc嵌合抗體的特異性。胺基偶聯

Anti-hIgG(Fc) Antibody(GE，產品目錄No. BR-1008-39)至CM5感測晶片，使用運行緩衝液(137 mM NaCl，2.7 mM KCl，10 mM Na_2HPO_4▪$12H_2O$，1.8 mM KH_2PO_4，0.05% surfactant P-20(w/v)，pH 7.4)稀釋抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體至2 μg/ml，30 μl/min流速透過實驗通道進行捕捉90 s。使用運行緩衝液稀釋人TACI或BAFF-R蛋白至100 nM，50 μl/min流速結合，觀察結合信號曲線。1A1-Fc、1A10-Fc、1A11-Fc和1B10-Fc均未觀察到結合曲線，與TACI、BAFF-R蛋白均不結合。

實施例4 抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體與人、食蟹猴BCMA的親和力

4.1 表面等離子共振技術測定抗體與人、食蟹猴BCMA的親和力

【0248】 使用生物分子相互作用分析系統(GE，Biacore T200)進行抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體的親和力檢測。檢測發現，1A1-Fc、1A10-Fc、1A11-Fc和1B10-Fc與人BCMA蛋白均有較高的親和力，其中1A10-Fc和1A11-Fc與食蟹猴BCMA蛋白有交叉反應，1A1-Fc、1B10-Fc和BM-Fc未顯示與食蟹猴BCMA蛋白有結合。

4.2 流式細胞術測定抗體與細胞的結合

【0249】 採用流式細胞術檢測抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體與BCMA不同表現位準的標的細胞的結合，其中CHO-hBCMA細胞

(愛康得生物醫學技術(蘇州)有限公司，產品目錄No.AKD001A)為BCMA高度表現的穩定表現細胞株，U266細胞(中國醫學科學院基礎醫學研究所基礎醫學細胞中心，產品目錄No.3111C0001CCC000684)為BCMA中等表現位準的天然人骨髓瘤細胞株，PRMI8226細胞(中國醫學科學院基礎醫學研究所基礎醫學細胞中心，產品目錄No.3111C0001CCC000083)為BCMA低度表現位準的天然人骨髓瘤細胞株，HUVEC細胞(ScienCell Research Laboratories，產品目錄No.AKD001A 8000)為不表現BCMA的人臍靜脈內皮細胞株。用梯度稀釋(初始濃度126 nM，5倍梯度稀釋，6個濃度)的抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體培育2×10^5標的細胞，冰上培育1小時後清洗細胞，加PE標記的抗人IgG Fc抗體(Jackson Immuno Research，產品目錄No. 109-116-170)，冰上培育0.5小時，清洗細胞後使用流式細胞儀(Thermo Fisher Scientific Inc.，Attune NXT)檢測。

【0250】 如圖1A-1C，表1所示，1A1-Fc、1A10-Fc、1A11-Fc和1B10-Fc均可有效標靶結合BCMA表現位準較高的CHO-hBCMA細胞以及BCMA中等表現位準的U266細胞，與BCMA表現位準偏低的RPMI8226細胞也有明顯的結合，1A10-Fc和1A11-Fc對U266細胞的結合優於BM-Fc。如圖1D所示，1A10-Fc

和1A11-Fc與不表現BCMA的HUVEC細胞無結合，但1A1-Fc和1B10-Fc與不表現BCMA的HUVEC細胞有結合。

表 1 抗人 BCMA VHH-Fc 嵌合抗體與標的細胞的親和力

V_HH-Fc嵌合抗體	CHO-hBCMA 細胞 EC50(nM)	U266 細胞 EC50(nM)
1A1-Fc	3.04	2.77
1A10-Fc	4.28	4.64
1A11-Fc	2.08	1.26
1B10-Fc	2.51	1.72
BM-Fc	4.06	6.02

4.3流式細胞術測定抗體與暫態轉染食蟹猴BCMA的HEK293T細胞的結合

【0251】 體外合成食蟹猴BCMA全長(SEQ ID NO: 6)基因並插入到pCDNA3.1真核表現載體中。根據製造商方案，使用Lipofectamine™ 3000(Thermo Fisher Scientific Inc.，產品目錄No. L3000015)將表現載體轉染到HEK293T細胞中。簡而言之，將HEK293T細胞按照5×10^5/孔平盤培養於6孔盤。約24小時後吸去含胎牛血清培養基並用PBS清洗細胞，之後按照每孔DNA：Lipo3000=5 μg:7.5 μl的比例加入轉染試劑。約6小時後更換為含10%胎牛血清(v/v)的培養基。轉染約24小時後取細胞進行流式細胞術檢測。

【0252】 將1A10-Fc、1A11-Fc及BM-Fc抗體進行梯度稀釋(初始濃度126 nM，5倍梯度稀釋，5個濃度，樣品稀釋液為陰性對照

組)，分別培育2×10^{5}個暫態轉染食蟹猴BCMA和未轉染的HEK293T細胞，冰上培育1小時後清洗細胞，加PE標記的抗人IgG Fc抗體(Jackson Immuno Research，產品目錄No. 109-116-170)，冰上培育0.5小時，清洗細胞後使用流式細胞儀(Thermo Fisher Scientific Inc.，Attune NXT)檢測。圖2中A採用暫態轉染食蟹猴BCMA的HEK293T細胞(HEK293T-CynoBCMA)，圖2中B採用未轉染食蟹猴BCMA的HEK293T細胞，表2為Fc嵌合抗體與暫態轉染食蟹猴BCMA的HEK293T細胞結合的EC50值和最大結合MFI值(Bmax)。結果表明，1A10-Fc、1A11-Fc結合細胞的食蟹猴BCMA，BM-Fc抗體不結合食蟹猴BCMA。

表2 抗人BCMA VHH-Fc嵌合抗體與暫態轉染食蟹猴BCMA的HEK293T細胞的結合

VHH-Fc嵌合抗體	EC50(nM)	Bmax(MFI)
1A10-Fc	2.02	2475.0
1A11-Fc	10.36	501.8
BM-Fc	/	217.0
陰性對照	/	157.0

實施例5 抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體阻斷APRIL與BCMA的結合

【0253】 將梯度稀釋(初始濃度252 nM，5倍梯度稀釋，7個濃度)的抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體1A10-Fc、1A11-Fc和BM-Fc分別與100 ng/ml生物素綴合的重組BCMA-His蛋白(ACRO，產品

目錄No.BCA-H522y)按照1:1的體積比混合並室溫培育1小時後，加入到固定有重組APRIL蛋白(ACRO，產品目錄No.APL-H5244)的ELISA培養盤中，同時設置對照組僅加入50 ng/ml生物素綴合的重組BCMA-His蛋白；37℃培育1小時，清洗掉未結合的生物素綴合的BCMA-His蛋白，加入HRP綴合的鏈黴親和素(eBioscience，產品目錄No. 18-4100-51)，洗滌培養盤5次後進行顯色。檢測450 nm波長及650 nm參比波長處光吸收信號值。按照公式阻斷率=(對照組信號值-樣品信號值)/對照組信號值×100%，計算各抗體的各濃度樣品對BCMA與APRIL結合信號值的阻斷率，並進行曲線擬合。結果如圖3和表3所示，1A1-Fc、1B10-Fc、1A10-Fc和1A11-Fc均可有效阻斷APRIL與BCMA的結合。

【0254】 如圖4A所示，人BCMA胞外區(SEQ ID NO: 35)與食蟹猴BCMA胞外區(SEQ ID NO: 36)胺基酸序列存在差異的位置為Gly6、Ala20、Ile22、Asn31、Val45和Thr52。選殖株1A10和1A11與食蟹猴BCMA蛋白有交叉反應，據此推測這兩個選殖株可能的表位位於Gln7~His19，和/或Pro23~Ser30，和/或Asn31~Ser44，和/或Thr46~Gly51。圖4B為PDB資料庫中人BCMA的胞外區結構(PDB編號：2kn1)。如圖4A、4B所示，人BCMA的胞外區含有3對二硫鍵，分別為Cys8-Cys21、Cys24-Cys37和Cys28-Cys41；人BCMA與APRIL主要結合在β-髮夾結構上

(Bossen, C. et al. Semin. Immunol. 2006, 18(5):263-275)，據此推測選殖株1A10-Fc和1A11-Fc的主要結合位在Gln7~His19之間，和/或Pro23~Ser30之間，和/或Asn31~Ser44之間。

表 3 抗人 BCMA VHH-Fc 阻斷 APRIL 與 BCMA 的結合

V_HH-Fc嵌合抗體	IC50(nM)
1A1-Fc	0.34
1A10-Fc	0.41
1A11-Fc	0.76
1B10-Fc	0.26

實施例6 抗人BCMA V_HH不同選殖株間的表位差異分析

6.1 ELISA(棋盤法)檢測抗人BCMA V_HH不同選殖株間的競爭關係

【0255】 將抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體稀釋至2 μg/ml，塗佈在高吸附ELISA培養盤中並洗滌培養盤後封阻；將20 μg/ml的抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體與生物素綴合的BCMA-His蛋白(ACRO，產品目錄No.BCA-H522y)室溫培育0.5小時得抗原抗體混合物，按照棋盤排布方法，按順序將培育的抗體抗原混合物或僅生物素綴合的BCMA-His蛋白(對照組)按100 μl/孔加入孔盤37℃培育1小時；清洗掉未結合的生物素綴合的BCMA-His蛋白，加入HRP綴合的鏈黴親和素(eBioscience，產品目錄No. 18-4100-51)，洗滌培養盤5次後進行顯色。檢測450 nm波長及650 nm參比波長處光吸收信號值。按照公式阻斷率=(對照組信號值-樣品組信號值)/對照組信號值×100%，計算一個抗體對另一抗體與

BCMA-Bio結合信號的阻斷率。結果如表4所示，棋盤中“\”對角線位置(灰色標記)為抗體自我競爭的陽性對照組，阻斷率均達到99%以上。1A10-Fc對1A11-Fc與人BCMA結合的阻斷率(32.6%)小於50%，且1A11-Fc對1A10-Fc與人BCMA結合的阻斷率(21.6%)亦小於50%，說明1A10-Fc與1A11-Fc之間不存在明顯競爭關係，表明1A10-Fc與1A11-Fc可同時結合BCMA蛋白的不同表位。同理，1A10-Fc與1A1-Fc，1A10-Fc與1B10-Fc之間也均不存在明顯競爭關係，表明1A10-Fc與1A1-Fc可同時結合BCMA蛋白的不同表位，1A10-Fc與1B10可同時結合BCMA蛋白的不同表位。1A1-Fc、1A11-Fc和1B10-Fc相互間的阻斷率均超過99%。

表 4 ELISA(棋盤法)表位競爭

棋盤法	1A1-Fc	1A10-Fc	1A11-Fc	1B10-Fc
1A1-Fc	100.1%	7.6%	99.4%	101.2%
1A10-Fc	36.9%	100.4%	32.6%	46.4%
1A11-Fc	100.6%	21.6%	99.7%	99.4%
1B10-Fc	100.3%	26.7%	99.5%	100.6%

6.2 表面等離子共振技術表位差異分析

【0256】 使用生物分子相互作用分析系統(GE，Biacore T200)進行表位競爭關係分析。胺基偶聯Anti-His Antibody(GE，產品目錄No. 28995056)至CM5感測晶片，使用運行緩衝液稀釋BCMA-His蛋白(ACRO，產品目錄No.BCA-H522y)至1 μg/ml左右，30 μl/min流速透過實驗通道進行捕捉，透過調整結合時間將捕

捉信號控制在180 RU-190 RU。使用運行緩衝液稀釋抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體V_HH-Fc 1至10 μg/ml(飽和濃度，濃度增加後結合信號值不變)進樣至信號到達平臺，進樣結束後立即進另一抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體V_HH-Fc2。觀察抗體結合曲線並分別記錄兩個抗體的結合信號值。信號值變化如表5所示，1A10-Fc抗體與BCMA結合達到飽和的信號值為472.5RU；此時再進樣1A11-Fc，飽和信號值為579.0RU，與單獨進樣1A11-Fc的飽和信號值653.1RU相當。反之亦然，且正反兩種進樣順序累積信號值相當，說明1A10-Fc和1A11-Fc可以同時結合BCMA蛋白上的不同表位。

表 5 VHH-Fc 抗體 SPR 信號值變化及分析

	BCMA 捕捉信號 (RU)	VHH-Fc1	VHH-Fc2	VHH-Fc1 結合信號 (RU)	VHH-Fc2 結合信號 (RU)	累積信號值(RU)
RUN1	184.0	1A10-Fc	A11-Fc	472.5	579.0	1051.5
RUN2	184.6	1A11-Fc	A10-Fc	653.1	405.5	1058.6

6.3 流式細胞術表位差異分析

【0257】 由於細胞膜上表現的BCMA蛋白可能與游離蛋白在表位的有效暴露方面存在差異，因此採用流式細胞術進一步確認1A10、1A11兩個選殖株是否可以同時結合細胞膜上的BCMA蛋白。標的細胞為U266細胞。將20 μg/ml或10 μg/ml的1A10-Fc、1A11-Fc抗體單獨培育2×10^5標的細胞，或將20 μg/ml的1A10-Fc抗體與20 μg/ml的1A11-Fc抗體按照1:1體積比混合後培育2×10^5標的細胞，冰上培育1小時後清洗細胞，加PE標記的抗人IgG Fc抗

體(Jackson Immuno Research，產品目錄No. 109-116-170)，冰上培育0.5小時，清洗細胞後使用流式細胞儀(Thermo Fisher Scientific Inc.，Attune NXT)檢測。結果如表6所示，當增加10 μg/ml相同抗體，1A10-Fc樣品的螢光平均值增加百分比為902.0/823.5-1=9.5%，1A11-Fc樣品的螢光平均值增加百分比為702.0/697.5-1=0.6%，說明兩個抗體10 μg/ml均接近飽和濃度。在此基礎上增加10 μg/ml不同抗體，即10 μg/ml的1A10-Fc增加10 μg/ml的1A11-Fc，螢光平均值增加百分比為1443.5/823.5-1=75.3%；10 μg/ml的1A11-Fc增加10 μg/ml的1A10-Fc，螢光平均值增加百分比為1443.5/697.5-1=107.0%，說明兩個抗體1A10-Fc、1A11-Fc可以同時結合細胞膜上BCMA蛋白的不同表位。

表6 抗人BCMA VHH嵌合抗體與U266細胞的結合

編號	VHH-Fc嵌合抗體	螢光平均值 (MFI)
a	1A10-Fc, 10 μg/ml+ 1A11-Fc, 10 μg/ml	1443.5
b	1A10-Fc, 20 μg/ml	902.0
c	1A11-Fc, 20 μg/ml	702.0
d	1A10-Fc, 10 μg/ml	823.5
e	1A11-Fc, 10 μg/ml	697.5

實施例7 抗人BCMA V_HH-Fc嵌合單抗及其人源化單抗的建構、表現、純化

【0258】 分別對V_HH-Fc嵌合抗體1A10-Fc和1A11-Fc進行人源化改造，其中對嵌合抗體1A10-Fc進行人源化改造後獲得兩種人源化抗體，分別為1A10-V1和1A10-V2；對嵌合抗體1A11-Fc進行人源化改造後獲得兩種人源化抗體，分別為1A11-V1和1A11-V2，上述抗體的核苷酸和胺基酸序列見表7。

【0259】 合成編碼抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體及其人源化抗體的DNA序列(SEQ ID NO: 30，52，54，32，56，58，對應名稱見表7)並且分別轉殖到pcDNA3.1(+)表現載體中。透過使用ExpiCHO表現套組(Thermo Fisher，目錄號A29133)對每種抗體進行表現，首先將建構好的包含抗體DNA序列的表現載體轉染到ExpiCHO細胞(CHO-S，Thermo公司)中，再使細胞在ExpiCHO表現培養基中於37℃、含有8% CO_2的濕潤氣氛的培養箱中並在以130 rpm旋轉的有軌震盪培養箱平臺上培養。收集培養上清液，使用蛋白A磁珠(Genscript，目錄號L00273)進行蛋白純化。透過UV-Vis分光光度計(NanoDrop lite, Thermo Scientific)測量蛋白濃度。

表7：抗人BCMA VHH-Fc嵌合單抗及其人源化單抗的序列信息

名稱	胺基酸序列(SEQ ID NO:)	編碼DNA序列(SEQ ID NO:)	備註
1A10-Fc	QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYSSNVACM AWYRQAPGKEREWVATIVADFGTTNYAASVKGRF TISQDNAKNTVYLQMNSLKPEDSAMYYCAATQRG GIDWCDEINYWGQGTLVTVSSEPKSCDKTHTCPPC	SEQ ID NO: 30	人駱駝嵌合抗體

	PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK SEQ ID NO: 29		
1A10-V1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSSNVACM AWYRQAPGKGLEWVATIVADFGTTNYAASVKGRF TISQDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAATQRG GIDWCDEINYWGQGTLVTVSSGEPKSSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 52	人源化抗體
1A10-V2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSSNVACM AWYRQAPGKEREWVSTIVADFGTTNYAASVKGRF TISQDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAATQRG GIDWCDEINYWGQGTLVTVSSGEPKSSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK SEQ ID NO: 53	SEQ ID NO: 54	人源化抗體
1A11-Fc	QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGVTFNSACM GWFRQAPGKEREGVARIETGYGGTVYADSVKGRF TISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAMYYCAAKRSW CTPTWWHELDYNYWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 32	人駱駝嵌合抗體
1A11-V1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSACMG WFRQAPGKGREGVSRIETGYGGTVYADSVKGRFTI SRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAKRSWC TPTWWHELDYNYWGQGTQVTVSSGEPKSSDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL	SEQ ID NO: 56	人源化抗體

	TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK SEQ ID NO: 55		
1A11-V2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSACMG WFRQAPGKEREGVSRIETGYGGTVYADSVKGRFTI SRDNSKNTVYLQMNSLKAEDTAVYYCAAKRSWC TPTWWHELDYNYWGQGTQVTVSSGEPKSSDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK SEQ ID NO: 57	SEQ ID NO: 58	人源化抗體

實施例8 抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體及其人源化抗體與抗原人源BCMA結合

【0260】 透過Biacore T200(GE)測定待測抗體與人源BCMA蛋白的親和力，實驗過程描述如下：

用偶聯Anti-hIgG(Cytiva, 產品目錄29234600)的CM5晶片(Cytiva, 產品目錄29149603)捕捉一定量的待測抗體(包括：1A10-Fc，1A11-Fc，1A10-V1, 1A10-V2, 1A11-V1, 1A11-V2)，然後於晶片表面流經人源BCMA，利用Biacore軟體實時檢測反應信號，從而獲得結合和解離曲線。實驗中用到的緩衝液為Biacore通用緩衝液(137 mM NaCl，2.7 mM KCl，10 mM $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$，1.8 mM KH_2PO_4，0.05% surfactant P-20(w/v)，pH 7.4)。Anti-hIgG偶聯至CM5晶片表面反應值達到9000RU左右，捕捉待測抗體(包括：1A10-Fc，1A11-Fc，1A10-V1, 1A10-V2, 1A11-V1, 1A11-V2)約200RU，然後檢測不同濃度的

人源BCMA(100 nM、50 nM、25 nM、12.5 nM、6.25 nM、3.125 nM)與待測抗體 (包括：1A10-Fc，1A11-Fc，1A10-V1, 1A10-V2, 1A11-V1, 1A11-V2)相互作用的信號值。流動池的流速為50μl/min，結合時間240s，解離時間1400s，用3 M $MgCl_2$(GE)再生60s，基線平穩。根據biacore evaluation software中affinity and kinetics 1：1結合模式運算獲得結果。抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體及其人源化抗體(包括：1A10-Fc，1A11-Fc，1A10-V1，1A10-V2，1A11-V1，1A11-V2)與人源BCMA 親和力見表8。

表 8 抗人 BCMA VHH-Fc 嵌合抗體及人源化抗體與人源 BCMA 的結合親和力

名稱	備註	抗原 BCMA (KD)
1A10-Fc	人駱駝嵌合抗體	0.94 nM
1A10-V1	人源化抗體	0.337 nM
1A10-V2	人源化抗體	1.31 nM
1A11-Fc	人駱駝嵌合抗體	3.96 nM
1A11-V1	人源化抗體	5.05 nM
1A11-V2	人源化抗體	4.37 nM

實施例9 抗BCMA/抗CD3多特異性抗體建構、表現、純化

【0261】 以Knobs-into-holes(Ridgway, et al., 1996) Fc基因工程改造產生作為人IgG1的anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體。Fc域的其中一條多肽序列設計有H435R、Y436F突變(Jendeberg et al.,1997)降低Fc對蛋白A的親和力，有利於在蛋白A親和純化中去除多特異性抗體組裝過程中形成的同源二聚體。

【0262】 本實施例中，建構本發明的四種anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體，分別命名為BC24、PC1、PC2和PC3，其中BC24的構型如圖6中A所示，PC1的構型如圖6中B所示，PC2的構型如圖6中C所示，PC3的構型如圖6中D所示。建構的多特異性抗體中，結合BCMA的抗原結合結構域來源於抗人BCMA V_HH-Fc嵌合抗體及其人源化抗體，結合CD3的抗原結合結構域由sp34抗體(Silvana Pessano, et al., The T3/T cell receptor complex: antigenic distinction between the two 20-kd T3 (T3-delta and T3-epsilon) subunits, EMBO J. 1985 Feb; 4(2): 337–344.)進行人源化改造獲得。

【0263】 anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體BC24具有三條多肽鏈，其中一條多肽鏈(命名為A10-linker-A11-Fc)包含兩個串聯的結合BCMA的抗原結合結構域，這兩個結合BCMA的抗原結合結構域分別來源於1A10-Fc和1A11-Fc的單可變結構域，該多肽鏈A10-linker-A11的胺基酸序列如SEQ ID NO: 59所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 60所示； anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體BC24的另外兩條多肽鏈形成包含結合CD3的Fab形式的抗原結合結構域，這兩條多肽鏈分別命名為anti-CD3-HC-Fc(胺基酸序列如SEQ ID NO: 61所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 62所示)和

anti-CD3-LC(胺基酸序列如SEQ ID NO: 63所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 64所示)。

【0264】 anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體PC1具有兩條多肽鏈，其中一條多肽鏈(命名為anti-BCMA-A10-v1-linker-A11-v1-Fc)包含兩個串聯的結合BCMA的抗原結合結構域，這兩個結合BCMA的抗原結合結構域分別來源於人源化抗體1A10-V1和1A11-V1的單可變結構域，Fc的其中一條多肽的N端與結合BCMA的抗原結合結構域(來源1A11-V1)融合，該多肽鏈anti-BCMA-A10-v1-linker-A11-v1-Fc的胺基酸序列如SEQ ID NO: 65所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 66所示；anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體PC1另一條多肽鏈(命名為anti-CD3-scFv-Fc)包含結合CD3的抗原結合結構域，該抗原結合結構域由結合CD3的重鏈可變區和輕鏈可變區串聯形成ScFv結構，Fc的另一條多肽的N端與結合CD3的抗原結合結構域融合，該多肽鏈anti-CD3-scFv-Fc的胺基酸序列如SEQ ID NO: 67所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 68所示。

【0265】 anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體PC2具有兩條多肽鏈，其中一條多肽鏈(命名為anti-BCMA-A10-v1-Fc)包含一個結合BCMA的抗原結合結構域，該結合BCMA的抗原結合結構域來源於人源化抗體1A10-v1的單可變結構域，Fc的其中一條多肽的N

端與結合BCMA的抗原結合結構域融合，該多肽鏈anti-BCMA-A10-v1-Fc的胺基酸序列如SEQ ID NO: 69所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 70所示；anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體PC2的另一條多肽鏈(命名為anti-BCMA-A11-v1-linker-anti-CD3-scFv-Fc)包含串聯的結合CD3的抗原結合結構域和結合BCMA的抗原結合結構域，其中結合CD3的抗原結合結構域由結合CD3的重鏈可變區和輕鏈可變區串聯形成ScFv結構，結合BCMA的抗原結合結構域來源於人源化抗體1A11-v1的單可變結構域，Fc的另一條多肽的N端與結合CD3的抗原結合結構域融合，該多肽鏈anti-BCMA-A11-v1-linker-anti-CD3-scFv-Fc的胺基酸序列如SEQ ID NO: 71所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 72所示。

【0266】 anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體PC3具有三條多肽鏈，其中一條多肽鏈(命名為anti-BCMA-A11-v1-Fc)包含一個結合BCMA的抗原結合結構域，該結合BCMA的抗原結合結構域來源於人源化抗體1A11-v1的單可變結構域，Fc的其中一條多肽的N端與結合BCMA的抗原結合結構域融合，該多肽鏈anti-BCMA-A11-v1-Fc的胺基酸序列如SEQ ID NO: 73所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 74所示；anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體PC3的另外兩條多肽鏈形成包含結合CD3的Fab形式的抗原結

合結構域，Fab輕鏈的N端與結合BCMA的抗原結合結構域融合，該結合BCMA的抗原結合結構域來源於人源化抗體1A10-v1的單可變結構域，Fc的另一條多肽的N端與結合CD3的抗原結合結構域的Fab重鏈融合，這兩條多肽鏈分別命名為anti-CD3-HC-Fc(胺基酸序列如SEQ ID NO: 61所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 62所示)和anti-BCMA-A10-v1-linker-anti-CD3-VL(胺基酸序列如SEQ ID NO: 75所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 76所示)。

【0267】 本實施例中以新基公司的anti-BCMA/anti-CD3雙特異性抗體為對照抗體，序列來源US20190263920A1。本實施例中anti-BCMA/anti-CD3雙特異性對照抗體Benchmark (簡稱新基BM或celgene BM)包含兩個結合BCMA的Fab形式的抗原結合結構域和一個結合CD3的Fab形式的抗原結合結構域，其中一條anti-BCMA臂為anti-BCMA-Fab-Fc結構形式，包括多肽鏈anti-BCMA-HC-Fc(胺基酸序列如SEQ ID NO: 77所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 78所示)和anti-BCMA-LC(胺基酸序列如SEQ ID NO: 79所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 80所示)，並在anti-BCMA-HC-Fc(SEQ ID NO: 77)中增加了H435R和Y436F點突變，提高純化工藝回收率；anti-BCMA/anti-CD3雙特異性對照抗體BM的另一條anti-BCMA/anti-CD3臂的結構為anti-BCMA-Fab-CD3-Fab-Fc結構形式，包括多肽鏈

anti-BCMA–VH-anti-CD3-VL-Fc(胺基酸序列如SEQ ID NO: 81，核苷酸序列如SEQ ID NO: 82所示)、anti-CD3-VH-CL(胺基酸序列如SEQ ID NO: 83，核苷酸序列如SEQ ID NO: 84所示)和anti-BCMA-LC(胺基酸序列如SEQ ID NO: 79所示，核苷酸序列如SEQ ID NO: 80所示)。

【0268】 對於每種anti-BCMA/anti-CD3抗體，將編碼組成抗體的各多肽鏈的DNA序列分別插入pCDNA3.1(+)載體中，獲得表現相應多肽鏈的表現載體。蛋白質表現受CMV啟動子驅動。聚腺苷酸化受到位於CDS的3'端的合成的polyA信號序列驅動。另外，每種載體含有用於自主複製的Ori序列。

【0269】 為了生成這些抗體分子，使用ExpiCHO表現套組(Thermo Fisher，目錄號A29133)對每種抗體組合進行表現。首先將相應的表現載體以特定比率(PC1中轉染比率為，載體(anti-BCMA-A10-v1-linker-A11-v1-Fc)：載體(anti-CD3-scFv-Fc)為1:1.5；PC2中轉染比率為，載體(anti-BCMA-A10-v1-Fc)：載體(anti-BCMA-A11-v1-linker-anti-CD3-scFv-Fc)為1:1.5；PC3中轉染比率為，載體(anti-BCMA-A11-v1-Fc)：載體(anti-CD3-HC-Fc)：載體(anti-BCMA-A10-v1-linker-anti-CD3-VL)為1:1.5:1.5；

celgene BM的轉染比率為，載體(anti-BCMA-HC-Fc)：載體(anti-BCMA-LC)：載體(anti-BCMA-VH-anti-CD3-VL-Fc)：載體(anti-CD3-VH-CL)為1:2:1:1.5；BC24中的轉染比率為，載體(A10-linker-A11-Fc)：載體(anti-CD3-HC-Fc)：載體(anti-CD3-LC)為1:1.5:2)轉染到ExpiCHO細胞(CHO-S，Thermo公司)中，再使細胞在ExpiCHO表現培養基中於37℃、含有8% CO_2的濕潤氣氛的培養箱中並在以130 rpm旋轉的有軌震盪培養箱平臺上培養。培養10-14天收取細胞培養上清液，透過離心去除細胞。上清液在AKTA purifier 100(GE)系統進行親和層析、離子交換層析和凝膠層析純化。

【0270】 透過測量280 nm處的光密度(OD)來測定經過純化的蛋白質樣品的蛋白質濃度，其使用基於胺基酸序列計算的莫耳消光係數進行。

【0271】 利用粒徑篩析層析(size exclusion chromatography；SEC)檢測收集的各級分管中樣品的純度。具體方法：使用ACQUITY UPLC Protein BEH SEC column分析性粒徑篩析層析管柱(WATERS)在16 mM NaH_2PO_4，34 mM Na_2HPO_4，200 mM NaCl，pH7.0運行緩衝液於25℃分析分子的聚集體含量。根據SEC結果將純度大於95%的樣品合併。

【0272】 採用Waters LC-MS系統(Waters,Singapore,USA,UK)進行完整分子量分析。採用MAbPac RP 4 μm 2.1×50 mm(Thermo,USA)層析管柱；以A相(0.1%甲酸水溶液)、B相(0.1%甲酸乙腈溶液)為流動相，檢測波長為280 nm。取1 μg蛋白注入液相層析質譜儀，梯度為：5.5分鐘內，5%B~100%B。質譜儀採用正離子模式，掃描範圍：200-4000 m/z。採用MassLynx 4.1採集數據，並透過UNIFI 1.8.2.169進行數據處理。經LC-MS分析顯示，以上各anti-BCMA/anti-CD3抗體樣品的檢測分子量與理論分子量相一致；其中圖18顯示了PC1的完整分子量檢測結果，樣品主峰分子量為108516 Da，與PC1理論分子量一致，未見同源雜質峰。

表9：anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體的序列信息

名稱	組成	胺基酸序列 (SEQ ID NO:)	核苷酸 (SEQ ID NO:)
BC24	A10-linker-A11-Fc	QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYSSNVACMAWYRQAPGKEREWVATIVADFGTTNYAASVKGRFTISQDNAKNTVYLQMNSLKPEDSAMYYCAATQRGGIDWCDEINYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGVTFNSACMGWFRQAPGKEREGVARIETGYGGTVYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAMYYCAAKRSWCTPTWWHELDYNYWGQGTQVTVSSGEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	SEQ ID NO: 60

		SEQ ID NO: 59	
	anti-CD3-HC-Fc	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF NTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAMYYCVRHGNFGNSYVSW FAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK SEQ ID NO: 61	SEQ ID NO: 62
	anti-CD3-LC	ELVVTQEPSLTTSPGGTVTLTCRSSTGAVT TSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAP GTPARFSGSLLGGKAALTITGVQPEDEAEY YCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKANP TVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS SEQ ID NO: 63	SEQ ID NO: 64
PC1	anti-BCMA-A10-v1-linker-A11-v1-Fc	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSS NVACMAWYRQAPGKGLEWVATIVADFG TTNYAASVKGRFTISQDNSKNTVYLQMNS LRAEDTAVYYCAATQRGGIDWCDEINYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSQVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSACMGWF RQAPGKGREGVSRIETGYGGTVYADSVK GRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVY YCAAKRSWCTPTWWHELDYNYWGQGTQ VTVSSGEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALAAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK SEQ ID NO: 65	SEQ ID NO: 66
	anti-CD3-scFv-Fc	ELVVTQEPSLTTSPGGTVTLTCRSSTGAVT TSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAP GTPARFSGSLLGGKAALTITGVQPEDEAEY YCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGGGGSG	SEQ ID NO: 68

		GGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEW VARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAMYYCVRHGN FGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGEPKSS DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK SEQ ID NO: 67	
PC2	anti-BCMA-A10-v1-Fc	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSS NVACMAWYRQAPGKGLEWVATIVADFG TTNYAASVKGRFTISQDNSKNTVYLQMNS LRAEDTAVYYCAATQRGGIDWCDEINYW GQGTLVTVSSGEPKSSDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVCT LPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK SEQ ID NO: 69	SEQ ID NO: 70
	anti-BCMA-A11-v1-linker-anti-CD3-scFv-Fc	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF NSACMGWFRQAPGKGREGVSRIETGYGG TVYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSL RAEDTAVYYCAAKRSWCTPTWWHELDY NYWGQGTQVTVSSGGGGSELVVTQEPSL TTSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQ QKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLL GGKAALTITGVQPEDEAEYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFN TYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQM NNLKTEDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSGEPKSSDKTHTCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNRFTQKSLSLSPGK SEQ ID NO: 71	SEQ ID NO: 72

PC3	anti-BCMA-A11-v1-Fc	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF NSACMGWFRQAPGKGREGVSRIETGYGG TVYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSL RAEDTAVYYCAAKRSWCTPTWWHELDY NYWGQGTQVTVSSGEPKSSDKTHTCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK SEQ ID NO: 73	SEQ ID NO: 74
	anti-CD3-HC-Fc	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF NTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAMYYCVRHGNFGNSYVSW FAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK SEQ ID NO: 61	SEQ ID NO: 62
	anti-BCMA-A10-v1-linker-anti-CD3-VL	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSS NVACMAWYRQAPGKGLEWVATIVADFG TTNYAASVKGRFTISQDNSKNTVYLQMNS LRAEDTAVYYCAATQRGGIDWCDEINYW GQGTLVTVSSGGGGSELVVTQEPSLTTSPG GTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPG QAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGK AALTITGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVF GGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQA NKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPV KAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS SEQ ID NO: 75	SEQ ID NO: 76
新基BM	anti-BCMA-HC-Fc	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKVLGWFDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE	SEQ ID NO: 78

		AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQV CTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLV SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNR FTQKSLSLSPGK SEQ ID NO: 77	
	anti-BCMA-LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSS SYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QYGYPPDFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC SEQ ID NO: 79	SEQ ID NO: 80
	anti-BCMA-VH-anti-CD3-VL-Fc	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKVLGWFDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSQ AVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTT SNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEY YCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK SEQ ID NO: 81	SEQ ID NO: 82
	anti-CD3-VH-CL	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS TYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNN YATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAY WGQGTLVTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C	SEQ ID NO: 84

		SEQ ID NO: 83	

實施例10：Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體與抗原結合SPR

【0273】 透過Biacore T200(GE)測定待測抗體與人源CD3e或人源BCMA蛋白的親和力，實驗過程描述如下：

用偶聯Anti-hIgG(Cytiva, 產品目錄29234600)的CM5晶片(Cytiva, 產品目錄29149603)捕捉一定量的anti-BCMA/anti-CD3抗體(包括: BC24、PC1、PC2、PC3、新基BM)，然後於晶片表面流經人源CD3e(Acro，貨號CDE-H5223)或人源BCMA，利用Biacore軟體實時檢測反應信號，從而獲得結合和解離曲線。實驗中用到的緩衝液為Biacore通用緩衝液(137 mM NaCl，2.7 mM KCl，10 mM Na_2HPO_4▪$12H_2O$，1.8 mM KH_2PO_4，0.05% surfactant P-20(w/v)，pH 7.4)。Anti-hIgG偶聯至CM5晶片表面反應值達到9000 RU左右，捕捉anti-BCMA/anti-CD3抗體(包括: BC24、PC1、PC2、PC3、新基BM)約200RU，然後檢測不同濃度的人源CD3e蛋白(100 nM、50 nM、25 nM、12.5 nM、6.25 nM、3.125 nM)或人源BCMA(100 nM、50 nM、25 nM、12.5 nM、6.25 nM、3.125 nM)與anti-BCMA/anti-CD3抗體(包括: BC24、PC1、PC2、PC3、新基BM)相互作用的信號值。流動池的流速為50 μl/min，結合時間240 s，解離時間1400 s，用3 M $MgCl_2$(GE)再生60 s，基線平穩。根

據biacore evaluation software中affinity and kinetics 1：1結合模式運算獲得結果。anti-BCMA/anti-CD3抗體(包括: BC24、PC1、PC2、PC3、新基BM)與人源CD3e蛋白或人源BCMA 親和力見表10。

表 10 anti-BCMA/anti-CD3 抗體與人源 CD3e 或人源 BCMA 蛋白的親和力

名稱	抗原 hBCMA (KD)	抗原 hCD3e (KD)
BC24	0.0627 nM	0.286 nM
PC1	0.0396 nM	1.43 nM
PC2	0.0185 nM	1.33 nM
PC3	0.0347 nM	1.17 nM
新基 BM	0.821 nM	1.60 nM

實施例11 Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體與多發性骨髓瘤細胞表面BCMA的結合

【0274】 透過流式細胞術分析Anti-BCMA/anti-CD3抗體(包括: BC24、PC1、PC2、PC3、Celgene BM)與表現BCMA的NCI-H929細胞(BCMA高度表現細胞株，來源：南京科佰生物)、MM1S細胞(BCMA中度表現細胞株，來源：北納生物)和RPMI-8226細胞(BCMA低度表現細胞株，來源：中國醫學科學院基礎醫學研究所細胞資源中心)上的BCMA的結合，陰性樣品為曲妥珠單抗。

【0275】 具體實驗過程如下：

取對數生長期的NCI-H929細胞(BCMA+++)、MM1S細胞(BCMA++)和RPMI-8226細胞(BCMA+)分別使用含2% FBS(胎牛血清)的RPMI培養基(Hyclon，目錄號SH30809.01)調整細胞密度至5×10^6–10×10^6 cells/ml，50 μl每孔接種於96孔U型細胞培養盤(Costar，目錄號：3799)。使用上述培養基配製不同濃度的待測抗體，對於BCMA高度表現和中度表現細胞，抗體濃度最高為440 nM，5倍倍比稀釋共9個濃度梯度，對於BCMA低度表現細胞，抗體濃度最高為2200 nM，5倍倍比稀釋共10個濃度梯度。將不同濃度的抗體加入上述96孔細胞培養盤中，每孔50 μl，混勻後4℃培育1小時。加入預冷的Running buffer(MACS，目錄號130-091-221)洗滌細胞後棄去上清液，加入預冷的螢光標記羊抗人IgG抗體(Jackson，目錄號109-116-170)，每孔100 μl重新懸浮，混勻後4℃培育30分鐘。洗滌後加入預冷的running buffer 100 μl重新懸浮細胞，混勻後在Attune TM NxT流式細胞儀器上進行流動採集，並使用Graphpad Prism5軟體進行數據分析。

【0276】 圖7-9、表11顯示Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體對NCI-H929細胞(BCMA+++)、MM1S細胞(BCMA++)和RPMI-8226細胞(BCMA+)的結合能力。結果顯示在BCMA高、中度表現的標的細胞中，PC1、PC2、PC3和BC24對於標的抗原的最

大結合量均優於Celgene BM。在BCMA低度表現的標的細胞中，PC3和BC24對於標的抗原的結合優於其他樣品。

表11：不同細胞中各待測樣品對標的細胞的結合EC50值和最大結合量

樣品名稱	NCI-H929		MM1S	
	EC_{50}(nM)	Top(MFI)	EC_{50}(nM)	Top(MFI)
Celgene BM	0.8207	165553	0.3808	71438
BC24	1.556	185797	0.535	106924
PC1	1.261	226017	0.3503	100056.5
PC2	1.035	233759	0.311	114684
PC3	0.8366	222679.5	0.3378	123519
陰性對照	67.32	4046	/	7405

實施例12 Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體與T細胞表面CD3的結合

【0277】 透過流式細胞術分析Anti-BCMA/anti-CD3抗體(包括: BC24、PC1、PC2、PC3、Celgene BM)與T細胞表面CD3的結合。陰性對照為曲妥珠單抗。

【0278】 具體實驗過程如下：

人PBMC細胞使用CD3磁珠(Miltenyi，目錄號130-097-043)進行$CD3^+$T細胞的分離篩選：將凍存的PBMC復甦，離心清洗兩遍進行計數。按照每10^7個細胞加入80 μl Running buffer(MACS，目錄號130-091-221)的比例加入緩衝液，並按照每10^7個細胞加入20 μl CD3磁珠，混勻後4℃培育15分鐘。按照每10^7個細胞加入1-2 ml緩衝液洗滌細胞，離心棄去上清液後，加入500 μl緩衝液重新懸

浮細胞沉澱。將LS分離篩選管柱(Miltenyi，目錄號130-042-401)放置MidiMACS Starting Kit (LS)磁力架(Miltenyi，目錄號130-091-051)上，經潤洗後加入細胞懸液，並洗滌三次。將LS分離篩選管柱從磁力架上取下，置於乾淨的離心管上，加入5 ml緩衝液收集分離篩選得到的$CD3^+$T細胞。計數後將$CD3^+$T細胞使用含2% FBS(胎牛血清)的RPMI培養基(Hyclone，目錄號SH30809.01)調整細胞密度至5×10^6-10×10^6 cells/ml，50 μl每孔接種於96孔U型細胞培養盤(Costar，目錄號：3799)。使用上述培養基配製不同濃度的待測抗體，抗體濃度最高為2200 nM，5倍倍比稀釋共10個濃度梯度。將不同濃度的抗體加入上述96孔細胞培養盤中，每孔50 μl，混勻後4℃培育1小時。加入預冷的Running buffer(MACS，目錄號130-091-221)洗滌細胞後棄去上清液，加入預冷的螢光標記羊抗人IgG抗體(Jackson，目錄號109-116-170)，每孔100 μl重新懸浮，混勻後4℃培育30分鐘。洗滌後加入預冷的running buffer 100 μl重新懸浮細胞，混勻後在Attune TM NxT流式細胞儀器上進行流動採集，並使用Graphpad Prism5軟體進行數據分析。

【0279】 圖10、表12顯示Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體對$CD3^+$T細胞的結合能力。結果表明，各Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體均可結合$CD3^+$T細胞。

表 12 待測抗體對 CD3+T 細胞的結合
EC50 和最大結合量

樣品名稱	EC_{50}(nM)	Top(MFI)
Celgene BM	18.12	93499
BC24	38.34	162535
PC1	485.4	92854
PC2	~461.6	37242
PC3	85.81	98353
陰性對照	NA	5980

實施例13 Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體對多發性骨髓瘤標的細胞NCI-H929的毒殺

【0280】 透過人PBMC(周邊血液單核細胞)提供T細胞來研究抗體(包括: BC24、PC1、PC2、PC3、Celgene BM)誘導的對標的細胞(NCI-H929 BCMA+++，來源：南京科佰生物)的毒殺作用。陰性對照為曲妥珠單抗。

【0281】 具體實驗過程如下：

標的細胞NCI-H929細胞使用含2% FBS(胎牛血清)的1640實驗培養基調整細胞密度至5×10^5 cells/ml，50 μl每孔接種於96孔細胞培養盤(eppendorf，目錄號：0030730199)。使用實驗培養基配製不同濃度的待測抗體，抗體濃度最高為8 nM，5倍倍比稀釋共10個濃度梯度。將不同濃度的抗體加入上述96孔細胞培養盤中，每孔50 μl。效應細胞人PBMC使用實驗培養基調整細胞密度至2.5×10^6 cells/ml，每孔100 μl。設置給藥組(標的細胞50 μl+效應細胞100 μl+抗體50 μl)，標的細胞組(標的細胞50 μl+培養基150 μl)，效應

細胞組(人PBMC 100 μl+培養基100 μl)，標的細胞+效應細胞組(標的細胞50 μl+效應細胞100 μl+培養基50 μl)，空白對照組(培養基200 μl)和裂解液對照組(培養基200 μl+20 μl裂解液)，標的細胞最大釋放組(標的細胞50 μl+培養基150 μl+20 μl裂解液)，效應細胞-標的細胞比為10:1，共培育24小時。在檢測前45 min，標的細胞最大釋放組和裂解液對照組加入20 μl/孔裂解液(Promega，目錄號G182A)。使用CytoTox96®非放射性細胞毒性檢測套組(cytotox 96 nonradioactive cytotoxicity assay，Promega, G1780)套組檢測細胞裂解率。

裂解率(%)=($OD_{給藥組}$-$OD_{標的細胞+效應細胞組}$)/($OD_{標的細胞最大釋放組}$-$OD_{標的細胞組}$)×100%

【0282】 圖11、表13顯示了Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體誘導的效應細胞對NCI-H929/BCMA+++腫瘤細胞的裂解率。anti-BCMA/anti-CD3抗體PC1所誘導的細胞毒殺效果優於PC2和PC3，其中PC1的EC50約為0.067 nM，PC2和PC3的EC50分別約為0.53 nM和0.19 nM。BC24和Celgene BM對NCI-H929的毒殺效果優於PC1、PC2和PC3，BC24的EC50約為0.022 nM，Celgene BM的EC50約為0.044 nM。

表 13：各待測樣品對 NCI-H929 細胞的裂解 EC50 值和最大裂解率

樣品名稱	EC_{50}(nM)	最大裂解率

PC1	0.06736	36%
PC2	0.5268	38%
PC3	0.1871	35%
BC24	0.02177	40%
Celgene BM	0.04435	41%

實施例14 Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體對多發性骨髓瘤標的細胞MM1S的毒殺

【0283】 透過人PBMC(周邊血液單核細胞)提供T細胞來研究抗體(包括: BC24、PC1、PC2、PC3、Celgene BM)誘導的對標的細胞(MM1S BCMA++，來源：北納生物)的毒殺作用。陰性對照為曲妥珠單抗。

【0284】 具體實驗過程如下：

標的細胞MM1S細胞使用含2% FBS(胎牛血清)的1640實驗培養基調整細胞密度至5×10^5 cells/ml，50 μl每孔接種於96孔細胞培養盤(eppendorf，目錄號：0030730199)。使用實驗培養基配製不同濃度的待測抗體，抗體濃度最高為8 nM，5倍倍比稀釋共10個濃度梯度。將不同濃度的抗體加入上述96孔細胞培養盤中，每孔50 μl。效應細胞人PBMC使用實驗培養基調整細胞密度至2.5×10^6 cells/ml，每孔100 μl。設置給藥組(標的細胞50 μl+效應細胞100 μl+抗體50 μl)，標的細胞組(標的細胞50 μl+培養基150 μl)，效應細胞組(人PBMC 100 μl+培養基100 μl)，標的細胞+效應細胞組(標的細胞50 μl+效應細胞100 μl+培養基50 μl)，空白對照組(培養基200 μl)和裂解液對照組(培養基200 μl+20 μl裂解液)，標的細胞最

大釋放組(標的細胞50 μl+培養基150 μl+20 μl裂解液)，效應細胞-標的細胞比為10:1，共培育24小時。在檢測前45 min，標的細胞最大釋放組和裂解液對照組加入20 μl/孔裂解液(Promega，目錄號G182A)。使用CytoTox96®非放射性細胞毒性檢測套組(cytotox 96 nonradioactive cytotoxicity assay，Promega, G1780)套組檢測細胞裂解率。

裂解率(%)=($OD_{給藥組}$-$OD_{標的細胞+效應細胞組}$)/($OD_{標的細胞最大釋放組}$-$OD_{標的細胞組}$)×100%

【0285】 圖12、表14顯示了Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體誘導的效應細胞對MM1S/BCMA++腫瘤細胞的裂解率。anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體PC1所誘導的細胞毒殺優於PC2和PC3，其中PC1的EC50約為0.0084 nM，PC2和PC3的EC50分別約為0.061 nM和0.041 nM。PC3具有更好的最大裂解率，Celgene BM對MM1S的毒殺效果最弱，EC50約為0.085 nM，最大裂解率為23%。

表14:各待測樣品對MM1S細胞的裂解EC50值和最大裂解率

樣品名稱	EC_{50}(nM)	最大裂解率
PC1	0.008398	26%
PC2	0.06052	28%
PC3	0.04069	36%
BC24	0.009373	21%
Celgene BM	0.08465	23%

實施例15 Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體對多發性骨髓瘤標的細胞RPMI-8226的毒殺

【0286】 透過人PBMC(周邊血液單核細胞)提供T細胞來研究抗體(包括: BC24、PC1、PC2、PC3、Celgene BM)誘導的對標的細胞(RPMI-8226 BCMA+，來源：中國醫學科學院基礎醫學研究所細胞資源中心)的毒殺作用。陰性對照為曲妥珠單抗。

【0287】 具體實驗過程如下：

標的細胞RPMI-8226細胞使用含2% FBS(胎牛血清)的1640實驗培養基調整細胞密度至5×10^5 cells/ml，50 μl每孔接種於96孔細胞培養盤(eppendorf，目錄號：0030730199)。使用實驗培養基配製不同濃度的待測抗體，抗體濃度最高為8 nM，5倍倍比稀釋共10個濃度梯度。將不同濃度的抗體加入上述96孔細胞培養盤中，每孔50 μl。效應細胞人PBMC使用實驗培養基調整細胞密度至2.5×10^6 cells/ml，每孔100 μl。設置給藥組(標的細胞50 μl+效應細胞100 μl+抗體50 μl)，標的細胞組(標的細胞50 μl+培養基150 μl)，效應細胞組(人PBMC 100 μl+培養基100 μl)，標的細胞+效應細胞組(標的細胞50 μl+效應細胞100 μl+培養基50 μl)，空白對照組(培養基200 μl)和裂解液對照組(培養基200 μl+20 μl裂解液)，標的細胞最大釋放組(標的細胞50 μl+培養基150 μl+20 μl裂解液)，效應細胞-標的細胞比為10:1，共培育24小時。在檢測前45 min，標的細胞

最大釋放組和裂解液對照組加入20 μl/孔裂解液(Promega，目錄號G182A)。使用CytoTox96® 非放射性細胞毒性檢測套組(cytotox 96 nonradioactive cytotoxicity assay, Promega，G1780)套組檢測細胞裂解率。

裂解率(%)=($OD_{給藥組}$-$OD_{標的細胞+效應細胞組}$)/($OD_{標的細胞最大釋放組}$-$OD_{標的細胞組}$)×100%

【0288】 圖13、表15顯示了Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體誘導的效應細胞對RPMI-8226/BCMA+腫瘤細胞的裂解率。Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體PC1對RPMI-8226的最大裂解率與BC24相當，但具有更低的EC50；PC2和PC3對RPMI-8226的毒殺效果相當，PC2和PC3的EC50分別為0.0185 nM和0.0142 nM，最大裂解率均為39%。Celgene BM的對RPMI-8226的毒殺效果最弱，EC50為0.27 nM，最大裂解率為29%。

表15：各待測樣品對RPMI-8226細胞的裂解EC50值和最大裂解率

樣品名稱	EC_{50}(nM)	最大裂解率
PC1	0.0070	29%
PC2	0.0185	39%
PC3	0.01419	39%
BC24	0.01129	29%
Celgene BM	0.2712	29%

實施例16 由Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體誘導的T細胞活化

【0289】 CD69和CD25是T細胞活化標誌物，本實施例涉及多特異性抗體(包括: BC24、PC1、PC2、PC3、Celgene BM)在骨髓瘤標的細胞存在時對T細胞的活化檢測。陰性對照（NC）為曲妥珠單抗。

【0290】 具體實驗過程如下：

標的細胞NCI-H929細胞和MM1S分別使用含2% FBS(胎牛血清)的1640實驗培養基調整細胞密度至5×10^5 cells/ml，50 μl每孔接種於96孔細胞培養盤(eppendorf，目錄號：0030730199)。使用實驗培養基配製不同濃度的待測抗體，抗體濃度最高為8 nM，5倍倍比稀釋共10個濃度梯度。將不同濃度的抗體加入上述96孔細胞培養盤中，每孔50 μl。效應細胞人PBMC使用實驗培養基調整細胞密度至2.5×10^6 cells/ml，每孔100 μl。設置給藥組(標的細胞50 μl+效應細胞100 μl+抗體50 μl)，不加藥組（培養基50 ul+效應細胞100 μl+抗體50 μl），標的細胞組(標的細胞50 μl+培養基150 μl)，效應細胞組(人PBMC 100 μl+培養基100 μl)，標的細胞+效應細胞組(標的細胞50 μl+效應細胞100 μl+培養基50 μl)，空白對照組(培養基200 μl)，陰性對照抗體NC為曲妥珠單抗，效應細胞-標的細胞比為10：1，共培育24小時。離心去除上清液，加入預冷的Running buffer(MACS，目錄號130-091-221)離心洗滌細胞，去除上清液後每孔加入100 μl Running buffer，混勻細胞，每孔加入

CD4-BV421(BD，目錄號564713)、CD8-PE-Cy7(BD，目錄號557746)、CD25-APC(BD，目錄號555434)、CD69-FITC(BD，目錄號555530)各2.5 μl，冰上培育30分鐘。使用預冷的Running buffer洗滌細胞，加入75 μl/孔Running buffer重新懸浮細胞，混勻後置於流式細胞儀進行檢測。

【0291】 圖14-15顯示了Anti-BCMA/anti-CD3抗體濃度為8 nM時，在NCI-H929或MM1S標的細胞存在與不存在的情況下，T細胞的活化程度，縱坐標顯示活化標誌物CD25或CD69呈陽性的CD8或CD4細胞的百分比，橫坐標代表不同組別，其中CD4+CD25+/CD4+表示某一組中CD4細胞中CD25呈陽性的CD4細胞所占百分比，CD4+CD69+/CD4+表示某一組中CD4細胞中CD69呈陽性的CD4細胞所占百分比，CD8+CD25+/CD8+表示某一組中CD8細胞中CD25呈陽性的CD8細胞所占百分比，CD8+CD69+/CD8+表示某一組中CD8細胞中CD69呈陽性的CD8細胞所占百分比。結果表明，在標的細胞不存在時，T細胞基本不被活化，而在標的細胞存在情況下，抗體BC24、PC1、PC2、PC3可活化T細胞。

實施例17 由Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體誘導的細胞激素釋放

【0292】 透過檢測IL-2、IL-6、TNF-α和IFN-γ的含量，研究多特異性抗體在標的細胞存在的情況下，誘導的細胞激素釋放。根據細胞激素釋放量，評估多特異性抗體的安全性。

【0293】 具體實驗過程如下：

標的細胞NCI-H929細胞使用含2% FBS(胎牛血清)的1640實驗培養基調整細胞密度至5×10^5 cells/ml，50 μl每孔接種於96孔細胞培養盤(eppendorf，目錄號：0030730199)。使用實驗培養基配製不同濃度的待測抗體，抗體濃度最高為8 nM，5倍倍比稀釋共10個濃度梯度。將不同濃度的抗體加入上述96孔細胞培養盤中，每孔50 μl。效應細胞人PBMC使用實驗培養基調整細胞密度至2.5×10^6 cells/ml，每孔100 μl。設置標準品組、給藥組(標的細胞50 μl+效應細胞100 μl+抗體50 μl)，標的細胞組(標的細胞50 μl+培養基150 μl)，效應細胞組(人PBMC 100 μl+培養基100 μl)，標的細胞+效應細胞組(標的細胞50 μl+效應細胞100 μl+培養基50 μl)，效應細胞+抗體組(效應細胞100 μl+抗體50 μl+培養基50 μl)，空白對照組(培養基200 μl)，效應細胞-標的細胞比為10:1，共培育24小時。離心取上清液，使用human-IL2 kit(Cisbio，目錄號62HIL02PEG)、human-IL6 kit(Cisbio，目錄號62HIL06PEG)、human-TNF-α kit(Cisbio，目錄號62HTNFAPEG)、human-IFN-γ kit(Cisbio，目錄號62HIFNGPEG)檢測套組，按照套組說明書進

行樣品處理，使用ELISA讀取儀(Molecular Devices，型號Paradigm)進行檢測分析。

【0294】 計算所有樣品Ratio值，以標準品Ratio(Net)為Y軸，Log(標準品濃度值)為X軸，用Graph Pad Prism進行四參數擬合，分別代入標準品和供試品Ratio(Net)值得到相應log(濃度測定值)，計算供試品各激素的濃度測定值。

【0295】 圖16、表16顯示不同濃度Anti-BCMA/anti-CD3抗體與NCI-H929細胞和效應細胞共培育24小時，IL-2、IL-6、TNF-α和IFN-γ激素的釋放量。各待檢測抗體的IL-2釋放均較低。本發明的BC24、PC1、PC2和PC3多特異性抗體相對於Celgene BM具有更低的IL-6、TNF-α和IFN-γ激素釋放位準，顯示更好的安全性。

表 16 各待測抗體細胞激素最大釋放量

樣品名稱	IL-2(pg/ml)	IL-6(pg/ml)	TNF-α(pg/ml)	IFN-γ(pg/ml)
PC1	112.06	964.63	302.56	5463.63
PC2	82.49	1	42.69	2841.61
PC3	97.51	3045.68	371.69	14391.37
BC24	88.07	260.3	200.25	4753.13
Celgene BM	117.37	3040.77	464.18	21552.72

實施例18 Anti-BCMA/anti-CD3雙抗對小鼠腫瘤模型中對多發性骨髓瘤標的細胞NCI-H929的生長抑制

【0296】 使用人骨髓瘤NCI-H929細胞小鼠模型檢測Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體的抗腫瘤活性。NCI-H929細

胞7.5×10^6/隻，hPBMC人外周淋巴細胞0.5×10^6/隻，兩者混合後，在無菌條件下，接種於8-10周齡雌性B-NDG小鼠(來源：百奧賽圖，合格證號：3207262001001790 34)右側腋窩下。皮下移植瘤接種後待腫瘤體積至100-300 mm^{3}將動物隨機分成2組：i. 模型組(空白對照組，生理鹽水)；ii. PC1組：PC1供試抗體。在第0天小鼠分組，每週兩次給藥，給藥一周，給藥劑量1.5 mpk，給藥體積是10 ml/kg，每三日測量一次體重和瘤徑，每日觀察動物表現，第17天停止觀察。實驗過程中，分別在第0、4、8、11、14、17天測量腫瘤體積。使用下面公式計算腫瘤體積和抑瘤率：

腫瘤體積(TV)=(長╳寬^2)/2；

相對腫瘤體積(RTV)=TV_t/TV_0，其中TV_0為分籠給藥時腫瘤體積，TV_t為每一次測量時的腫瘤體積；

相對腫瘤增值率T/C(%)=(T_{RTV}/C_{RTV})*100%，其中T_{RTV}為治療組RTV，C_{RTV}為空白對照組RTV；

抑瘤率(TGI)=(1-T/C)*100%。

【0297】 實驗結果見圖17，與模型組對比，PC1抗體藥物組可以明顯抑制人多發性骨髓瘤NCI-H929皮下移植瘤的生長。PC1抗體在第8、11、14、17天的抑瘤率分別為84.4%、90.9%、94.2%、95.5%。

實施例 19 食蟹猴單次靜脈注射Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體的藥代動力學

【0298】 食蟹猴(編號1M01-1M03，2M01-2M03，每個劑量組3隻，雄性，體重：2-3 kg)單次靜脈滴注PC1注射液，PC1多特異性抗體給藥劑量為1或9 mg/kg，靜脈滴注時間30 Min，在給藥前及給藥後各時間點採集血樣，血樣在1 h內以4000 rpm離心約10 min(2-8℃)分離血清，以ELISA法檢測各時間點血樣中藥物濃度。採樣時間：0 h(給藥前)，給藥結束0.5 h、4 h、24 h、48 h、96 h、168 h、240 h、336 h。

【0299】 各參數如下：

C_{max}：最大觀察藥物濃度

AUC：血漿濃度-時間曲線下的面積

$t_{1/2}$：半衰期

Cl：清除率

MRT：藥物滯留時間

【0300】 實驗結果顯示，以1、9 mg/kg經單次靜脈輸液給Anti-BCMA/anti-CD3多特異性抗體，藥物末端消除半衰期$t_{1/2}$分別為105、112 h，C_{max}為分別為19、200 μg/mL，AUC_{last}分別為700、7200 h*μg/mL，本品在血清中的暴露量與劑量基本成比例增加。

表 17 食蟹猴單次靜脈注射 1、9 mg/kg PC1 注射液後主要平均藥代動力學參數

組	C_{max} (μg/mL)	AUC_{last} (h*μg/mL)	$t_{1/2}$ (h)	Cl (mL/h/kg)	MRT_{last} (h)
1 mg/kg	19	700	105	1.417	70
9 mg/kg	200	7200	112	1.174	66

【序列表】

<110> 大陸商正大天晴藥業集團股份有限公司

<120> 標靶BCMA的多特異性抗體

<150> 202110405638.3

<151> 2021-04-15

<160> 84

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 1

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 2

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 2

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

1 5 10

<210> 3

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 3

Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10 15

<210> 4

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 4

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10 15

<210> 5

<211> 232

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

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

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 6

<211> 183

<212> PRT

<213> 食蟹獼猴(Macaca fascicularis)

<400> 6

Met Leu Gln Met Ala Arg Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser

1 5 10 15

Leu Leu His Asp Cys Lys Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Thr Pro

20 25 30

Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Met Thr Asn Ser Val

35 40 45

Lys Gly Met Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu Ile

50 55 60

Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Thr Phe Leu Leu Arg Lys Met Ser

65 70 75 80

Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly Ser Gly Leu Leu

85 90 95

Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Gly Arg Thr Gly Asp Glu Ile

100 105 110

Val Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys Glu

115 120 125

Asp Cys Ile Lys Asn Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe Pro

130 135 140

Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys Thr

145 150 155 160

Asn Asp Tyr Cys Asn Ser Leu Ser Ala Ala Leu Ser Val Thr Glu Ile

165 170 175

Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg

180

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 7

Gly Trp Asn Lys His

1 5

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 8

Ser Ile Phe Arg Asp Gly Lys Thr Ala Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 9

Asp Leu Pro Gly Ser Gly Leu Pro Ala Phe

1 5 10

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 10

Val Ala Cys Met Ala

1 5

<210> 11

<211> 17

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 11

Thr Ile Val Ala Asp Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 12

<211> 14

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 12

Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr

1 5 10

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 13

Ser Ala Cys Met Gly

1 5

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 14

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

1 5 10 15

Gly

<210> 15

<211> 17

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 15

Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp Tyr Asn

1 5 10 15

Tyr

<210> 16

<211> 5

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 16

Gly Trp Asn Lys His

1 5

<210> 17

<211> 16

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 17

Ser Ile Phe Arg Asp Gly Lys Thr Ala Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 18

<211> 10

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 18

Asp Leu Pro Gly Ser Gly Leu Pro Glu Phe

1 5 10

<210> 19

<211> 118

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 19

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Gly Trp

20 25 30

Asn Lys His Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val

35 40 45

Ser Ser Ile Phe Arg Asp Gly Lys Thr Ala Tyr Thr Asp Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Asp Ala Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Lys

85 90 95

Tyr Asp Leu Pro Gly Ser Gly Leu Pro Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 20

<211> 354

<212> DNA

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 20

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc tcggtgcagg ccggagggtc tctgagactc 60

tcctgtacag cctctggata caccttcagg ggctggaaca agcactggta ccgccaggct 120

ccagggaagg agcgcgagtt ggtctcgagc atctttcgtg atgggaagac agcctataca 180

gactccgtga agggccgatt caccatctct caagacaacg ccgacgcaac ggtgtatctg 240

caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacacg gccatgtatt actgtaaata cgatctgcct 300

ggatctggtc ttcctgcatt ctggggccag gggaccctgg tcactgtctc atca 354

<210> 21

<211> 123

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 21

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala
20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Trp Val
35 40 45

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr
100 105 110

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

<210> 22

<211> 369

<212> DNA

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 22

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc tcggtgcagg ctggagggtc gctgagactc 60

tcctgtgccg cctccggata cagcagtaat gtggcatgca tggcctggta ccgccaggct 120

ccagggaagg agcgcgagtg ggtcgcaact attgttgctg atttcggtac cacaaactat 180

gccgcctccg tgaagggccg attcaccatc tcccaagaca acgccaagaa cacggtgtat 240

ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggac tctgccatgt actactgtgc ggcaacccag 300

agggggggta ttgactggtg tgatgaaatt aattactggg gccaggggac cctggtcact 360

gtctcatca 369

<210> 23

<211> 126

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 23

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Asn Ser Ala

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ala Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp
100 105 110
Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 24

<211> 378

<212> DNA

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 24

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc tcggtgcagg ctggagggtc tctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggagt cacttttaat agcgcatgta tgggttggtt ccgccaggct 120

ccagggaagg agcgcgaggg ggtcgcacgt attgaaactg gttatggtgg cactgtctat 180

gccgactccg tgaagggacg attcaccatc tcccgagaca acgccaagaa cacggtgtat 240

ctgcaaatga acagcctaaa acctgaggac actgccatgt actactgtgc ggctaagaga 300

tcctggtgta ctcctacgtg gtggcacgaa cttgactata actactgggg acaggggacc 360

caggtcactg tctcatca 378

<210> 25

<211> 118

<212> PRT

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 25

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

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

Asn Lys His Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val
35 40 45

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

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

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Lys
85 90 95

Tyr Asp Leu Pro Gly Ser Gly Leu Pro Glu Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 26

<211> 354

<212> DNA

<213> 雙峰駝(Camelus bactrianus)

<400> 26

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc tcggtgcagg ccggagggtc tctgagactc 60

tcctgtacag cctctggata caccttcagg ggctggaaca agcactggta ccgccaggct 120

ccagggaagg agcgcgagtt ggtctcgagt atctttcgtg atgggaagac agcctataca 180

gactccgtga agggccgatt caccatctct caagacagcg ccgacgcaac ggtgtatctg 240

caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacacg gccatgtatt actgtaaata cgatctgcct 300

ggatctggtc ttcctgagtt ctggggccag gggaccctgg tcactgtctc atca 354

<210> 27

<211> 350

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 27

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Gly Trp

20 25 30

Asn Lys His Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val

35 40 45

Ser Ser Ile Phe Arg Asp Gly Lys Thr Ala Tyr Thr Asp Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Asp Ala Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Lys

85 90 95

Tyr Asp Leu Pro Gly Ser Gly Leu Pro Ala Phe Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

115 120 125

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

180 185 190

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

195 200 205

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

210 215 220

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

225 230 235 240

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

305 310 315 320

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

325 330 335

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

340 345 350

<210> 28

<211> 1050

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 28

caagtgcaac tggtggagtc tggaggcggt tccgtgcagg ccggcggctc cctgagactg 60

tcctgcaccg cttccggcta caccttcaga ggctggaaca agcactggta tcggcaggct 120

cctggcaaag aaagagagct ggtgtcctcc atcttccggg acggcaagac cgcctacacc 180

gactccgtga agggcagatt caccatctct caggacaacg ccgacgccac agtgtacctg 240

cagatgaact ctctgaagcc cgaggacacc gccatgtact actgcaagta cgacctgcct 300

ggatctggcc tgcccgcctt ctggggccaa ggcaccctgg taaccgtgtc gtccgagccc 360

aagtcttgcg acaagaccca cacctgtcct ccttgtcctg ctccggaact gctgggcggc 420

ccttccgtgt ttctgtttcc tccaaagcct aaggacacac tgatgatcag ccggacccct 480

gaggtgacct gcgtggtcgt ggatgtctct cacgaggatc ctgaggtgaa gttcaactgg 540

tacgtggatg gagtggaagt gcataacgct aaaaccaagc ctagagaaga gcagtacaac 600

tccacctaca gagtggtgtc cgtgctgacc gtgctgcacc aggattggct gaacggcaaa 660

gagtacaagt gcaaggtgtc caacaaggct ctgcctgccc ctatcgagaa gaccatctcc 720

aaggccaagg gccagcctcg ggagcctcaa gtgtacaccc tgcctccttc tcgcgacgag 780

ctgaccaaga accaggtgtc tctgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc ctccgacatc 840

gccgtggaat gggagtccaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac cccacctgtg 900

ctggactctg atggctcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtccagatgg 960

cagcagggca acgtgttctc ctgttctgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacaca 1020

cagaagtccc tgagcctgtc tcctggcaag 1050

<210> 29

<211> 355

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 29

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala

20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Trp Val

35 40 45

Ala Thr Ile Val Ala Asp Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys

115 120 125

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

180 185 190

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

195 200 205

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

210 215 220

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

290 295 300

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

305 310 315 320

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

325 330 335

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

340 345 350

Pro Gly Lys

355

<210> 30

<211> 1065

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 30

caggtgcaac tggtggagtc tggcggcgga tctgtgcaag ctggcggatc cctgagactg 60

tcttgtgccg cttccggcta ctcctctaac gtggcctgta tggcctggta cagacaggcc 120

cctggcaaag aaagagagtg ggtcgccacc atcgtggccg atttcggcac caccaattac 180

gccgcttccg tgaagggcag attcaccatc tctcaggaca acgccaagaa caccgtgtac 240

ctgcagatga actccctgaa gcctgaggac tccgccatgt actactgcgc cgctacacag 300

cgcggaggca ttgattggtg cgacgagatt aactactggg gccaaggcac cctggttacc 360

gtgtcctctg agcccaagtc ctgcgacaag acccacacct gtccaccttg tcctgcccca 420

gaactgctgg gcggtcccag cgtgttcctg ttcccccccca agcctaagga cacactgatg 480

atctctagaa cccctgaagt gacctgcgtg gtggtcgatg tatctcacga ggatcctgag 540

gtcaagttca actggtacgt ggacggagtg gaagtgcata atgctaagac caagcctaga 600

gaggaacagt acaactccac ctacagagtg gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggat 660

tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag gtgtccaaca aggctctgcc tgctcctatc 720

gagaagacca tcagcaaggc caagggccag cctcgggagc ctcaagtgta caccctgcct 780

ccttctcggg acgagctgac caagaaccag gtgtctctta catgcctggt gaaaggcttc 840

taccttccg acatcgccgt ggaatgggag tccaatggcc agcccgagaa caactacaag 900

accacacctc ctgtgctgga ctctgacggc tccttcttcc tgtactccaa gctgacagtg 960

gataagtcca gatggcagca gggcaacgtg ttctcctgct ccgtgatgca cgaggccctg 1020

cacaaccact acacccagaa gtctctgagc ctgtcccctg gaaaa 1065

<210> 31

<211> 358

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 31

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Asn Ser Ala

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp

100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu Pro

115 120 125

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

130 135 140

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

145 150 155 160

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

165 170 175

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

180 185 190

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

195 200 205

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

210 215 220

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

275 280 285

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

355

<210> 32

<211> 1074

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 32

caggtgcagt tggttgaatc tggcggcgga tctgtgcagg ctggcggatc tctgagactg 60

tcctgtgccg cttccggcgt caccttcaac tccgcttgca tgggatggtt cagacaggcc 120

cctggcaaag agagagaggg cgtcgctagg atcgagaccg gctatggcgg aaccgtctac 180

gccgactccg tcaagggcag gttcaccatc agcagagaca acgccaagaa caccgtgtac 240

ctgcagatga actccctgaa gcccgaggac accgccatgt actactgtgc tgccaagaga 300

agctggtgca cccctacctg gtggcacgag ctggactaca actactgggg ccagggcaca 360

caggtcaccg tgtcctctga gcctaagtcc tgcgacaaga cccacacctg tcctccatgt 420

cctgctccag aactgctcgg cggaccttcc gtgttcctgt ttcctccaaa gcctaaggat 480

accctgatga tctctcggac ccctgaagtg acctgcgtgg tggtggatgt gtctcacgag 540

gatcccgaag tgaagttcaa ttggtacgtg gacggcgtgg aagtgcacaa tgctaagacc 600

aagcctagag aggaacagta caactccacc tatagagtgg tgtccgtgct gaccgtgctg 660

caccaggatt ggctgaacgg caaagagtac aagtgcaagg tgtccaacaa ggccctgcct 720

gctcctatcg aaaagaccat ctccaaggcc aagggccagc ctagggaacc ccaggtttac 780

accttgcctc catctcggga cgagctgacc aagaaccagg tgtccctgac ctgtctggtc 840

aagggcttct acccctccga tatcgccgtg gaatgggagt ctaatggcca gccagagaac 900

aactacaaga caaccctcc tgtgctggac tccgacggct cattcttcct gtactccaag 960

ctgacagtgg acaagtccag atggcagcag ggcaacgtgt tctcctgctc cgtgatgcac 1020

gaggccctgc acaatcacta cacccagaag tccctgtctc tgagccccgg caaa 1074

<210> 33

<211> 350

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 33

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

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

Asn Lys His Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val
35 40 45

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

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

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Lys
85 90 95

Tyr Asp Leu Pro Gly Ser Gly Leu Pro Glu Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
115 120 125

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
130 135 140

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
145 150 155 160

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
165 170 175

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

180 185 190

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

195 200 205

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

210 215 220

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

225 230 235 240

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

305 310 315 320

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

325 330 335

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

340 345 350

<210> 34

<211> 1050

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 34

gaggtgcaac tggtggagtc tggaggcggt tccgtgcagg ccggcggctc cctgagactg 60

tcctgcaccg cttccggcta caccttcaga ggctggaaca agcactggta tcggcaggct 120

cctggcaaag aaagagagct ggtgtcctcc atcttccggg acggcaagac cgcctacacc 180

gactccgtga agggcagatt caccatctct caggactctg ccgacgccac agtgtacctg 240

cagatgaact ctctgaagcc cgaggacacc gccatgtact actgcaagta cgacctgcct 300

ggatctggcc tgcccgagtt ctggggccaa ggcaccctgg taaccgtgtc gtccgagccc 360

aagtcttgcg acaagaccca cacctgtcct ccttgtcctg ctccggaact gctgggcggc 420

ccttccgtgt ttctgtttcc tccaaagcct aaggacacac tgatgatcag ccggaccccc 480

gaggtgacct gcgtggtcgt ggatgtctct cacgaggatc ctgaggtgaa gttcaactgg 540

tacgtggatg gagtggaagt gcataacgct aaaaccaagc ctagagaaga gcagtacaac 600

tccacctaca gagtggtgtc cgtgctgacc gtgctgcacc aggattggct gaacggcaaa 660

gagtacaagt gcaaggtgtc caacaaggct ctgcctgccc ctatcgagaa gaccatctcc 720

aaggccaagg gccagcctcg ggagcctcaa gtgtacaccc tgcctccttc tcgcgacgag 780

ctgaccaaga accaggtgtc tctgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc ctccgacatc 840

gccgtggaat gggagtccaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac cccacctgtg 900

ctggactctg atggctcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtccagatgg 960

cagcagggca acgtgttctc ctgttctgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacaca 1020

cagaagtccc tgagcctgtc tcctggcaag 1050

<210> 35

<211> 54

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 35

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr
20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala
50

<210> 36

<211> 53

<212> PRT

<213> 食蟹獼猴(Macaca fascicularis)

<400> 36

Met Leu Gln Met Ala Arg Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
1 5 10 15

Leu Leu His Asp Cys Lys Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Thr Pro
20 25 30

Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Met Thr Asn Ser Val
35 40 45

Lys Gly Met Asn Ala

50

<210> 38

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 38

Gln 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 Tyr Ser Ser Asn Val Ala
20 25 30

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

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

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

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

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr
100 105 110

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

<210> 39

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 39

Gln 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 Tyr Ser Ser Asn Val Ala
20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr
100 105 110

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

<210> 39

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 39

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

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

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

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

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

Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp
100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 40

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 40

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

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

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

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

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

Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp
100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 41

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> UNSURE

<222> (11)

<223> Xaa是S或L

<220>

<221> UNSURE

<222> (14)

<223> Xaa是P或A

<220>

<221> UNSURE

<222> (44)

<223> Xaa是G或E

<220>

<221> UNSURE

<222> (45)

<223> Xaa是R或L

<220>

<221> UNSURE

<222> (49)

<223> Xaa是A或S

<220>

<221> UNSURE

<222> (75)

<223> Xaa是A或S

<220>

<221> UNSURE

<222> (87)

<223> Xaa是R或K

<220>

<221> UNSURE

<222> (88)

<223> Xaa是A或P

<220>

<221> UNSURE

<222> (91)

<223> Xaa是T或S

<220>

<221> UNSURE

<222> (93)

<223> Xaa是V或M

<400> 41

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala
20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Xaa Xaa Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Xaa Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Xaa Xaa Glu Asp Xaa Ala Xaa Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 42

<211> 126

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> UNSURE

<222> (11)

<223> Xaa是S或L

<220>

<221> UNSURE

<222> (14)

<223> Xaa是P或A

<220>

<221> UNSURE

<222> (27)

<223> Xaa是F或V

<220>

<221> UNSURE

<222> (44)

<223> Xaa是E或G

<220>

<221> UNSURE

<222> (49)

<223> Xaa是A或S

<220>

<221> UNSURE

<222> (75)

<223> Xaa是A或S

<220>

<221> UNSURE

<222> (87)

<223> Xaa是R或K

<220>

<221> UNSURE

<222> (88)

<223> Xaa是A或P

<220>

<221> UNSURE

<222> (93)

<223> Xaa是V或M

<400> 42

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

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

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Xaa Arg Glu Gly Val
35 40 45

Xaa Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp
100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 43

Thr Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 44

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 44

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 45

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 45

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 46

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 46

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

1 5 10

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 47

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

1 5

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 48

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val

1 5

<210> 49

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 49

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 50

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 50

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

1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser

20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Val

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 51

<211> 356

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 51

Gln 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 Tyr Ser Ser Asn Val Ala

20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Thr Ile Val Ala Asp Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Pro Lys Ser

115 120 125

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

165 170 175

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

180 185 190

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

195 200 205

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

210 215 220

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

290 295 300

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

305 310 315 320

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

325 330 335

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

340 345 350

Ser Pro Gly Lys

355

<210> 52

<211> 1068

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 52

caggtgcagc tggtggagtc cggcggcgga ctggtgcagc ctggaggatc tctgcggctg 60

tcctgcgccg ccagcggata ctccagcaac gtggcttgca tggcctggta tcggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtggctacc atcgtggctg acttcggcac caccaattat 180

gccgctagcg tgaagggccg gttcaccatc agccaggata actccaagaa taccgtgtat 240

ctgcagatga atagcctgcg ggccgaggat accgccgtgt attattgtgc cgctacccag 300

cggggcggca tcgactggtg tgatgagatc aactattggg gccagggcac cctggtgacc 360

gtgtcctccg gcgagcctaa gtcctccgac aagacccaca cctgccctcc ttgtcccgcc 420

cctgagctgc tgggcggacc atctgtgttc ctgttccctc ccaagcccaa ggacaccctg 480

atgatctcca ggacccctga ggtgacctgc gtggtggtgg atgtgtccca cgaggaccct 540

gaggtgaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc acaatgctaa gaccaagccc 600

cgggaggagc agtataacag cacctaccgg gtggtgagcg tgctgaccgt gctgcaccag 660

gattggctga atggcaagga gtacaagtgt aaggtgtcca acaaggctct gcctgccccc 720

atcgagaaga ccatctccaa ggccaagggc cagcctcggg agccccaggt gtataccctg 780

ccccccctcca gggacgagct gaccaagaac caggtgagcc tgacctgtct ggtgaagggc 840

ttctatcctt ccgacatcgc cgtggagtgg gagtccaacg gccagcctga gaataactac 900

aagaccaccc cccctgtgct ggatagcgac ggctccttct tcctgtattc caagctgacc 960

gtggataagt cccggtggca gcagggcaat gtgttcagct gttccgtgat gcacgaggct 1020

ctgcacaacc actataccca gaagtccctg tccctgagcc ccggcaag 1068

<210> 53

<211> 356

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 53

Gln 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 Tyr Ser Ser Asn Val Ala

20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Trp Val

35 40 45

Ser Thr Ile Val Ala Asp Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Pro Lys Ser

115 120 125

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

165 170 175

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

180 185 190

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

195 200 205

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

210 215 220

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

290 295 300

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

305 310 315 320

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

325 330 335

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

340 345 350

Ser Pro Gly Lys

355

<210> 54

<211> 1068

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 54

caggtgcagc tggtggagtc cggcggcgga ctggtgcagc ctggaggatc tctgcggctg 60

tcctgcgccg ccagcggata ctccagcaac gtggcttgca tggcctggta tcggcaggcc 120

cctggcaagg agcgggagtg ggtgagcacc atcgtggctg acttcggcac caccaattat 180

gccgctagcg tgaagggccg gttcaccatc agccaggata actccaagaa taccgtgtat 240

ctgcagatga atagcctgcg ggccgaggat accgccgtgt attattgtgc cgctacccag 300

cggggcggca tcgactggtg tgatgagatc aactattggg gccagggcac cctggtgacc 360

gtgtcctccg gcgagcctaa gtcctccgac aagacccaca cctgccctcc ttgtcccgcc 420

cctgagctgc tgggcggacc atctgtgttc ctgttccctc ccaagcccaa ggacaccctg 480

atgatctcca ggacccctga ggtgacctgc gtggtggtgg atgtgtccca cgaggaccct 540

gaggtgaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc acaatgctaa gaccaagccc 600

cgggaggagc agtataacag cacctaccgg gtggtgagcg tgctgaccgt gctgcaccag 660

gattggctga atggcaagga gtacaagtgt aaggtgtcca acaaggctct gcctgccccc 720

atcgagaaga ccatctccaa ggccaagggc cagcctcggg agccccaggt gtataccctg 780

ccccccctcca gggacgagct gaccaagaac caggtgagcc tgacctgtct ggtgaagggc 840

ttctatcctt ccgacatcgc cgtggagtgg gagtccaacg gccagcctga gaataactac 900

aagaccaccc cccctgtgct ggatagcgac ggctccttct tcctgtattc caagctgacc 960

gtggataagt cccggtggca gcagggcaat gtgttcagct gttccgtgat gcacgaggct 1020

ctgcacaacc actataccca gaagtccctg tccctgagcc ccggcaag 1068

<210> 55

<211> 359

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 55

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

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

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

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

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

Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp
100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Glu
115 120 125

Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
130 135 140

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
145 150 155 160

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

165 170 175

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

180 185 190

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

195 200 205

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

210 215 220

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

355

<210> 56

<211> 1077

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 56

caggtgcagc tggtggagtc cggcggcgga ctggtgcagc caggaggatc tctgcggctg 60

tcctgtgccg cttccggctt caccttcaat tccgcttgca tgggctggtt caggcaggcc 120

cctggcaagg gcagggaggg agtgtccagg atcgagaccg gctacggcgg caccgtgtac 180

gctgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggata actccaagaa caccgtgtat 240

ctgcagatga atagcctgag ggctgaggat accgccgtgt actattgtgc tgctaagcgg 300

tcctggtgta cccccacctg gtggcacgag ctggactaca attactgggg ccagggcacc 360

caggtgaccg tgagctccgg cgagcctaag tcctccgaca agacccacac ctgccctcct 420

tgtcccgccc ctgagctgct gggcggacca tctgtgttcc tgttccctcc caagcccaag 480

gacaccctga tgatctccag gacccctgag gtgacctgcg tggtggtgga tgtgtcccac 540

gaggaccctg aggtgaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca caatgctaag 600

accaagcccc gggaggagca gtataacagc acctaccggg tggtgagcgt gctgaccgtg 660

ctgcaccagg attggctgaa tggcaaggag tacaagtgta aggtgtccaa caaggctctg 720

cctgccccca tcgagaagac catctccaag gccaagggcc agcctcggga gccccaggtg 780

tataccctgc ccccctccag ggacgagctg accaagaacc aggtgagcct gacctgtctg 840

gtgaagggct tctatccttc cgacatcgcc gtggagtggg agtccaacgg ccagcctgag 900

aataactaca agaccacccc ccctgtgctg gatagcgacg gctccttctt cctgtattcc 960

aagctgaccg tggataagtc ccggtggcag cagggcaatg tgttcagctg ttccgtgatg 1020

cacgaggctc tgcacaacca ctatacccag aagtccctgt ccctgagccc cggcaag 1077

<210> 57

<211> 359

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 57

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

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

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

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

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

Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp
100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Glu
115 120 125

Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

165 170 175

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

180 185 190

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

195 200 205

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

210 215 220

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

355

<210> 58

<211> 1077

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 58

caggtgcagc tggtggagtc cggcggcgga ctggtgcagc caggaggatc tctgcggctg 60

tcctgtgccg cttccggctt caccttcaat tccgcttgca tgggctggtt caggcaggcc 120

cctggcaagg agagggaggg agtgtccagg atcgagaccg gctacggcgg caccgtgtac 180

gctgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggata actccaagaa caccgtgtat 240

ctgcagatga atagcctgaa ggctgaggat accgccgtgt actattgtgc tgctaagcgg 300

tcctggtgta cccccacctg gtggcacgag ctggactaca attactgggg ccagggcacc 360

caggtgaccg tgagctccgg cgagcctaag tcctccgaca agacccacac ctgccctcct 420

tgtcccgccc ctgagctgct gggcggacca tctgtgttcc tgttccctcc caagcccaag 480

gacaccctga tgatctccag gacccctgag gtgacctgcg tggtggtgga tgtgtcccac 540

gaggaccctg aggtgaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca caatgctaag 600

accaagcccc gggaggagca gtataacagc acctaccggg tggtgagcgt gctgaccgtg 660

ctgcaccagg attggctgaa tggcaaggag tacaagtgta aggtgtccaa caaggctctg 720

cctgccccca tcgagaagac catctccaag gccaagggcc agcctcggga gccccaggtg 780

tataccctgc ccccctccag ggacgagctg accaagaacc aggtgagcct gacctgtctg 840

gtgaagggct tctatccttc cgacatcgcc gtggagtggg agtccaacgg ccagcctgag 900

aataactaca agaccacccc ccctgtgctg gatagcgacg gctccttctt cctgtattcc 960

aagctgaccg tggataagtc ccggtggcag cagggcaatg tgttcagctg ttccgtgatg 1020

cacgaggctc tgcacaacca ctatacccag aagtccctgt ccctgagccc cggcaag 1077

<210> 59

<211> 492

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 59

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ser Asn Val Ala

20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Trp Val

35 40 45

Ala Thr Ile Val Ala Asp Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser

130 135 140

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val

145 150 155 160

Thr Phe Asn Ser Ala Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

165 170 175

Glu Arg Glu Gly Val Ala Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val

180 185 190

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala

195 200 205

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr

210 215 220

Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp

225 230 235 240

Trp His Glu Leu Asp Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr

245 250 255

Val Ser Ser Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro

260 265 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe

275 280 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

290 295 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

305 310 315 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

325 330 335

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr

340 345 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

355 360 365

Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

370 375 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg

385 390 395 400

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

405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

420 425 430

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

435 440 445

Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

485 490

<210> 60

<211> 1476

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 60

caggtgcagc tggtggagag cggcggcgga tccgtgcagg ctggaggaag cctgcggctg 60

tcctgtgccg cctccggata ctcctccaac gtggcctgta tggcttggta caggcaggct 120

cctggcaagg agcgggagtg ggtggctacc atcgtggccg acttcggcac caccaattac 180

gctgctagcg tgaagggcag gttcaccatc agccaggata acgctaagaa taccgtgtac 240

ctgcagatga atagcctgaa gcccgaggac tccgctatgt actattgtgc cgctacccag 300

aggggcggca tcgattggtg cgacgagatc aattattggg gccagggcac cctggtgacc 360

gtgagcagcg gcggaggcgg aagcggagga ggaggaagcc aggtgcagct cgtggagtcc 420

ggcggcggaa gcgtgcaggc tggtggaagc ctgaggctgt cctgtgctgc tagcggcgtg 480

accttcaact ccgcttgtat gggctggttc cggcaggctc ccggcaagga gagagagggc 540

gtggccagga tcgagaccgg ctatggcggc accgtgtacg ccgacagcgt gaagggacgg 600

ttcaccatct ccagggataa cgctaaaaac accgtgtatc tgcagatgaa cagcctgaag 660

ccagaggata ccgctatgta ttactgtgct gccaagcgga gctggtgtac ccctacctgg 720

tggcacgagc tggactacaa ctattggggc cagggaaccc aggtgaccgt gtccagcggc 780

gagcccaagt ccagcgacaa gacccacacc tgtcctcctt gccctgctcc agaggccgct 840

ggcggaccta gcgtgttcct gttccctcct aagcctaagg acaccctgat gatctccaga 900

acacctgaag tgacctgcgt ggtcgtggat gtttctcacg aggaccctga ggtgaagttc 960

aactggtacg tggacggcgt ggaagtgcac aacgccaaga ccaagcctcg ggaggaacag 1020

tacaactcca cctacagagt ggtgtccgtg ctgaccgtgc tgcaccagga ctggctgaac 1080

ggaaaagagt acaagtgcaa ggtgtccaac aaggccctgg ccgctcctat cgagaagact 1140

atctccaagg ctaagggcca gcctagagag cctcaagtgt gcaccctgcc tccatctcgg 1200

gaagagatga ccaagaacca ggtgtctctg tcttgcgccg tcaagggctt ctaccttcc 1260

gacatcgccg tggaatggga gtctaacggc cagcctgaga acaactacaa gaccaccct 1320

cctgtgctgg actctgacgg ctccttcttc ctcgtgtcca agctgaccgt ggacaagtct 1380

cggtggcagc agggcaacgt gttctcctgc tctgtgatgc acgaggctct gcacaaccac 1440

tacacccaga agtccctgtc cctgtcccct ggcaag 1476

<210> 61

<211> 455

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 61

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr

20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
130 135 140
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
195 200 205
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
210 215 220
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225 230 235 240
Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
245 250 255
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
260 265 270

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

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

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

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

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

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

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380

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

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

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

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 62

<211> 1365

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 62

gaggtgcagc tggtggaatc tggcggaggc ctcgtgcagc ccggcggctc tctgagactg 60

tcttgcgccg cttctggctt taccttcaat acctatgcca tgaattgggt gcggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggaatg ggtcgccaga atcagatcca agtacaacaa ctacgccacc 180

tactacgccg attctgtgaa agacagattc accatctctc gggacgactc taagaacacc 240

gcctacctgc agatgaacaa cctgaagacc gaggacaccg ctatgtacta ctgcgtgaga 300

cacggcaact tcggcaactc ctacgtgtcc tggttcgcct actggggcca gggcaccctg 360

gtcacagttt cttctgcctc taccaagggc ccttccgtgt tccctctggc ccctagcagc 420

aaaagcacct ccggcggaac cgccgccctg ggctgtctgg tgaaggacta cttccccgag 480

cctgtgacgg tgtcttggaa ctccggcgct ctgacctctg gcgtgcatac ctttcctgcc 540

gtgctgcagt ccagcggact gtactccctg tcctccgtcg tgacagttcc ctcctctagc 600

ctgggcacac agacctacat ctgcaacgtg aaccacaagc cttctaacac caaagtggac 660

aagaaggtgg aacccaaatc ctgcgacaag acacacacct gtcctccttg ccctgctcct 720

gaggccgctg gcggccctag cgtgtttctg tttcctccta agcccaagga cacactgatg 780

atctccagaa ccccagaagt gacctgcgta gtggtggacg tgtcccacga ggatcctgag 840

gtgaagttca actggtacgt ggatggcgtg gaagtgcaca acgccaagac caagcctaga 900

gaagagcagt acaactccac ctacagagtg gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggac 960

tggctgaacg gcaaagagta caagtgcaag gtgtccaaca aggccctggc tgctcctatc 1020

gagaagacca tctccaaggc taagggacag cctcgggaac ctcaagtgta caccctgcct 1080

ccttgtagag aggaaatgac caagaaccag gtgtctctgt ggtgcctggt caagggcttc 1140

taccttctg acatcgccgt ggagtgggag tccaacggcc agcctgagaa caactacaaa 1200

accacccctc cagtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tgtactccaa gctgacagtg 1260

gataagtcta gatggcagca gggcaatgtg ttctcctgct ccgtgatgca cgaggctctg 1320

cacaaccggt tcacccagaa gtccctgtcc ctgtcccctg gcaag 1365

<210> 63

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 63

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

1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser

20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Val

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro

100 105 110

Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu

115 120 125

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro

130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala

145 150 155 160

Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala

165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg

180 185 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr

195 200 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 64

<211> 645

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 64

gagctggtgg tgacccagga gccatccctg accacaagcc caggaggaac cgtgacactg 60

acctgtagat ccagcaccgg cgccgtgacc acaagcaact acgctaattg ggtgcagcag 120

aagcctggac aggctccaag gggactgatc ggaggaacca acaagagagc ccccggaaca 180

ccagctcggt tttccggcag cctgctggga ggcaaggccg ctctgacaat caccggcgtg 240

cagccagagg acgaggccga gtactattgc gctctgtggt attctaatct gtgggtgttt 300

ggaggaggaa caaagctgac cgtgctggga cagcccaagg ctaaccctac agtgaccctg 360

ttccccccctt cttccgagga gctgcaggcc aataaggcca ccctggtgtg cctgatctct 420

gacttttacc caggagctgt gacagtggct tggaaggctg atggctcccc tgtgaaggct 480

ggcgtggaga ccacaaagcc aagcaagcag tctaacaata agtacgccgc tagctcttat 540

ctgtctctga cccccgagca gtggaagtcc cacaggtctt attcctgcca ggtgacacat 600

gagggcagca cagtggagaa gaccgtggcc cctacagagt gttct 645

<210> 65

<211> 492

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 65

Gln 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 Tyr Ser Ser Asn Val Ala

20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Thr Ile Val Ala Asp Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
130 135 140
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
145 150 155 160
Thr Phe Asn Ser Ala Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
165 170 175
Gly Arg Glu Gly Val Ser Arg Ile Glu Thr Gly Tyr Gly Gly Thr Val
180 185 190
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
195 200 205
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
210 215 220
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp
225 230 235 240
Trp His Glu Leu Asp Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
245 250 255
Val Ser Ser Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
260 265 270

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
275 280 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
290 295 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
305 310 315 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
325 330 335

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
340 345 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
355 360 365

Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
370 375 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg
385 390 395 400

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly
405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
420 425 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

485 490

<210> 66

<211> 1476

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 66

caagtgcagc tggtcgagtc cggcggcgga ctggtgcagc caggcggctc cctccggctg 60

tcctgtgccg cctccggcta ctcctctaac gtggcctgca tggcctggta tagacaggct 120

cctggcaagg gcctggaatg ggtggccacc attgtggccg acttcggcac caccaactac 180

gccgcttccg tcaagggcag attcaccatc tcccaggata actccaagaa caccgtgtac 240

ctgcagatga actccctgag ggctgaagat accgctgtgt actactgtgc tgccacacag 300

agaggcggca tcgattggtg cgacgagatc aactattggg gacagggcac tttggtgacc 360

gtgtccagcg gaggcggcgg ctccggcggg ggcggctctc aggttcagct ggtcgagtcc 420

ggcggtggcc tggtgcagcc cggcggaagc ctgagactgt cctgcgccgc ctctggcttt 480

accttcaact ctgcctgtat gggctggttt cggcaagccc ctgggaaagg cagagagggc 540

gtgagccgga tcgagacagg ctacggcggc acagtttacg ctgactctgt gaagggaaga 600

ttcaccatca gccgggacaa ttccaaaaat accgtgtacc tgcagatgaa cagcctgcgg 660

gccgaggaca cagctgtcta ctactgcgcg gccaagcggt cttggtgtac ccctacctgg 720

tggcacgagc tggactacaa ctactggggc cagggaactc aggtgaccgt gtcctccggc 780

gagcccaagt cctctgacaa gacacacacc tgtcctccat gccctgctcc tgaggccgct 840

ggcggacctt ccgtgttcct gtttcctcct aagcccaagg acaccctgat gatctctcgg 900

acccctgagg tgacctgcgt ggtggtggac gtgtctcatg aggatcctga agtgaagttc 960

aactggtacg tggatggcgt ggaagtgcac aacgccaaga ccaagcctag agaagaacag 1020

tacaactcca cctacagagt ggtcagcgtg ctgaccgtgc tgcatcagga ctggctgaac 1080

ggaaaagagt acaagtgcaa ggtgtccaac aaggctctgg ctgcccctat cgagaagacc 1140

atctccaagg ccaagggcca gccccgcgag cctcaggtgt gcaccctgcc tccatctaga 1200

gaagagatga ccaagaacca ggtctccctc agctgcgccg tgaagggctt ctaccttct 1260

gacatcgctg tggaatggga aagcaatggc caacccgaga acaactacaa gaccacccc 1320

cctgtgctgg actccgacgg cagcttcttc ctggtgtcaa agctgacagt ggacaagtcc 1380

agatggcagc agggcaacgt gttcagctgc agtgtgatgc acgaggccct gcacaaccac 1440

tacacccaga aatctctgtc tctgtctcct ggcaaa 1476

<210> 67

<211> 482

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 67

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

1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser

20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Val

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu

115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu

130 135 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp

145 150 155 160

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg

165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp

180 185 190

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln

195 200 205

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg

210 215 220

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

305 310 315 320

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

325 330 335

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

340 345 350

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala Pro Ile Glu

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

465 470 475 480

Gly Lys

<210> 68

<211> 1446

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 68

gagctggtcg tcacccaaga gccctctctg accacaagcc ctggcggaac cgtgaccctg 60

acctgtaggt cctccaccgg cgctgtgacc acctcgaact atgccaactg ggtgcaacag 120

aagcccggcc aggcacccag aggcctgatc ggcggcacca acaagcgcgc ccccggcaca 180

cctgccagat tctctggctc tctgctgggc ggaaaggccg ccctgaccat caccggcgtc 240

cagcccgagg acgaggccga gtactactgc gctctgtggt actccaacct gtgggtgttt 300

ggcggcggca ccaagctgac cgtgctgggc ggcggtggct ctggaggagg cggatctggt 360

ggcggaggct ctgaagtgca gctcgttgag agcggcggcg gcctggtgca gcctggcggc 420

tccctgagac tgtcttgcgc cgcttccggc ttcaccttca acacctatgc catgaattgg 480

gtccggcagg cccccggcaa gggactggaa tgggtggcta gaatcagatc caagtacaac 540

aactacgcta cctactacgc cgactctgtg aaggaccggt tcaccatctc tcgggacgac 600

tccaagaaca ccgcctacct gcagatgaac aatctgaaga ccgaggatac cgctatgtac 660

tactgtgtgc ggcacggcaa cttcggcaac tcctacgtgt cctggttcgc ctactggggc 720

cagggcactc tcgtgaccgt gtccagcggc gagcccaagt cctctgacaa gacccacacc 780

tgccctccat gtcctgctcc tgaggctgct ggcggccctt ccgtgtttct gttccctcct 840

aagcctaaag atacactgat gatctcccgg acccctgaag ttacatgcgt ggtggtggac 900

gtgtctcacg aggaccccga agtgaagttc aactggtatg tggatggcgt ggaagtgcac 960

aatgccaaaa ccaagcctcg ggaggaacag tacaactcta cctacagagt ggtaagcgtg 1020

ctgaccgtgc tgcaccagga ctggctgaac ggcaaagagt acaagtgcaa ggtgtctaac 1080

aaggctctgg ccgcccctat cgagaagaca atttccaagg ccaagggcca gcctagagaa 1140

cctcaggtgt acaccctgcc tccttgcaga gaagagatga ccaagaacca ggttagccta 1200

tggtgcctgg tgaagggttt ctacccttct gacatcgccg tggagtggga gtccaatggc 1260

caaccagaga acaactacaa gacaacacca cctgtgctgg actccgatgg ctccttcttc 1320

ctgtactcta agctgacagt ggacaagtcc agatggcagc agggcaacgt gttctcctgc 1380

tccgtgatgc atgaagctct gcacaaccgg ttcacccaga aatccctgag cctgtctcct 1440

ggaaaa 1446

<210> 69

<211> 356

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 69

Gln 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 Tyr Ser Ser Asn Val Ala

20 25 30

Cys Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Thr Ile Val Ala Asp Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Pro Lys Ser
115 120 125
Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
130 135 140
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
145 150 155 160
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
165 170 175
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
180 185 190
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
195 200 205
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
210 215 220

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala Pro
225 230 235 240
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
245 250 255
Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
260 265 270
Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
275 280 285
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
290 295 300
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr
305 310 315 320
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
325 330 335
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
340 345 350
Ser Pro Gly Lys
355

<210> 70

<211> 1068

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 70

caagtccagc tggttgagtc cggcggaggc ctggtgcagc caggcggctc cctgagactg 60

tcttgtgctg cctctggcta ctcctctaat gtggcctgca tggcctggta ccggcaggcc 120

cctggcaagg gcctggaatg ggtggctact atcgtggccg acttcggcac caccaattat 180

gctgcctctg tgaagggacg gttcaccatc tcccaggaca actccaagaa caccgtgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac acagccgtgt actactgtgc cgctacacag 300

agaggcggca tcgactggtg cgacgagatc aactactggg gccaaggaac cctggtgaca 360

gtgtcttctg gcgagcccaa atcctccgat aaaacacaca cctgtcctcc ttgccctgct 420

cccgaggccg ccggcggccc tagcgtattc ctgtttcccc ctaagcctaa ggacacattg 480

atgatctctc ggacacccga agtgacctgc gtggtcgtgg acgtgtctca cgaagatcct 540

gaggtgaagt tcaactggta tgtggatggc gtggaagtgc ataacgccaa gaccaagccc 600

agagaggaac agtacaactc tacctacaga gtggtgtccg tcctgaccgt gctgcatcag 660

gattggctga acggcaaaga gtacaagtgc aaggtgtcta acaaggctct ggccgctccc 720

attgagaaga ccatctccaa ggctaagggt cagcctagag agcctcaagt gtgcaccctg 780

cctccatcta gagaagagat gaccaagaac caggtcagcc tgtcttgtgc agtgaaaggc 840

ttctacccaa gcgacatcgc cgtggaatgg gagtctaatg gccagcctga aaacaactac 900

aagaccaccc ctcctgtgct cgactccgac ggctccttct tcctggtgtc caagctgacc 960

gtggacaagt cccgctggca gcagggcaac gtgttctcct gctccgtgat gcacgaggct 1020

ctgcacaacc actacaccca gaagagcctg agcctgtccc ctggaaag 1068

<210> 71

<211> 613

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 71

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

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile
195 200 205

Thr Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp
210 215 220

Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
225 230 235 240

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
245 250 255

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
260 265 270

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala
275 280 285

Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
290 295 300

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
305 310 315 320

Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala
325 330 335

Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr
340 345 350

Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala
355 360 365

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Pro Lys
370 375 380

Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
385 390 395 400
Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
405 410 415
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
420 425 430
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
435 440 445
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
450 455 460
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
465 470 475 480
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Ala Ala
485 490 495
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
500 505 510
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
515 520 525
Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
530 535 540
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
545 550 555 560
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
565 570 575

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
580 585 590

Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser
595 600 605

Leu Ser Pro Gly Lys
610

<210> 72

<211> 1839

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 72

caggtgcagc tcgtggaatc cggcggcggc ctggtgcagc ctggcggctc tctgagactg 60

tcttgtgctg cctctggctt tactttcaac tccgcctgca tgggctggtt cagacaggcc 120

cccggaaagg gccgggaggg cgtgtctcgg atcgagacag gctacggcgg taccgtgtac 180

gccgactctg tgaaaggcag attcaccatc tccagagaca actccaagaa taccgtctac 240

ctgcagatga atagcctccg cgccgaggac accgctgtgt actactgcgc cgctaagaga 300

tcttggtgca cccccacctg gtggcacgag ctggactaca actactgggg ccagggaacc 360

caggtgaccg tgtccagcgg cggaggcggc tctgaactgg tggtgaccca agagccttcc 420

ctgaccacct cccctggcgg cacagtgaca ctgacctgta gatcctccac cggcgccgtg 480

accacctcta actatgctaa ctgggtgcag cagaaacctg gccaggcacc tcggggactg 540

atcggcggca ccaacaagcg ggctcctgga acacctgcta gattctccgg ctccttgctg 600

ggcggcaagg ccgccctgac catcaccggg gtgcaacctg aggacgaggc tgagtattac 660

tgcgctctgt ggtactccaa cctgtgggtc tttggcggcg gaaccaagct gaccgtgctg 720

ggcggcggcg gctccggcgg aggcggctcc ggaggaggcg gcagcgaggt gcagctggtc 780

gagtctggcg gcggcctggt gcagcccggc ggctcgctgc ggctgagctg tgccgcctcc 840

ggcttcacat tcaataccta cgccatgaac tgggtcaggc aggctcctgg caaaggcctg 900

gaatgggtgg ccagaatccg gagcaagtac aacaactatg ccacctacta cgccgattct 960

gtgaaggaca gattcacaat ctcccgggac gactctaaga acaccgctta cctgcagatg 1020

aacaacctga agaccgagga tacagctatg tactactgtg tgcggcacgg caacttcggc 1080

aattcctacg tgtcctggtt cgcctactgg ggacaaggca ccttggtgac agtttctagc 1140

ggcgagccca agtcttctga caagacacac acctgccctc cttgtcctgc ccctgaggcc 1200

gctggcggac cttctgtgtt tctgtttcca cctaagccta aggataccct gatgatctct 1260

agaaccccca aggtgacctg cgtggtcgtg gacgtgagcc atgaagatcc tgaagtgaag 1320

ttcaactggt atgtggacgg cgtggaagtg cacaatgcca agaccaagcc tagagaagag 1380

cagtacaact ctacctacag agtggtgtcc gtgctgaccg ttctgcatca ggactggctg 1440

aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtct aacaaggctc tggctgcccc tatcgagaag 1500

accatttcca aggccaaggg ccagccacgc gaacctcaag tgtacaccct gccaccttgc 1560

agagaggaga tgaccaagaa ccaggtgagc ctgtggtgcc tggtgaaagg cttctacccc 1620

agcgacatcg ccgtggaatg ggagtccaac ggccagcccg agaacaacta caaaaccacc 1680

cctcctgtgc tggattctga tggttccttc ttcctgtact ctaagctgac cgtggacaag 1740

tcccggtggc agcagggcaa cgtgttcagc tgctccgtga tgcacgaagc cctgcacaac 1800

cggttcaccc agaaatccct gtctctgtct ccaggcaag 1839

<210> 73

<211> 359

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 73

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

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

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

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

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

Ala Ala Lys Arg Ser Trp Cys Thr Pro Thr Trp Trp His Glu Leu Asp
100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Glu
115 120 125

Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
130 135 140

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
145 150 155 160

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
165 170 175

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

180 185 190

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

195 200 205

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

210 215 220

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

225 230 235 240

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

245 250 255

Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

260 265 270

Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

275 280 285

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

290 295 300

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

355

<210> 74

<211> 1077

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 74

caggtgcagc tggtggaatc cggcggaggc ctggtccagc ctggaggcag cctgcggctg 60

tcgtgcgctg cctccggatt caccttcaac tccgcctgta tgggctggtt cagacaggcc 120

cctggcaagg gtcgcgaggg cgttagccgg atcgaaacag gctacggcgg aaccgtctac 180

gccgactccg tgaaaggcag attcaccatc tctcgggaca attctaagaa taccgtgtac 240

ctgcagatga actctctgag ggccgaggac accgctgtgt actactgcgc cgctaaacgg 300

tcctggtgca ctcctacctg gtggcatgag ctggactaca attattgggg ccaaggaaca 360

caagtgacag tatcctctgg cgagcccaag tcctccgata aaacccacac ctgccctcct 420

tgtcctgctc cagaggccgc tggcggccct tccgtgtttc tgtttccacc taagcccaag 480

gacacactga tgatcagcag aacccctgaa gtcacctgtg tggtcgtgga cgtgagccat 540

gaagatcctg aggtgaagtt caactggtac gtggacggcg tggaagtgca caacgctaaa 600

accaagccta gagaggaaca gtacaactct acctacagag tggtgtccgt gctgacagtg 660

ctgcaccagg actggctgaa cggcaaagag tacaagtgca aggtgagtaa caaggccctg 720

gctgctccca tcgagaagac catctccaag gccaagggcc agcctcggga gcctcaggtg 780

tgcaccctgc ctccatctag agaagagatg accaagaacc aggtgtccct gtcttgtgcc 840

gtcaagggct tctacccttc tgacatcgcc gtggaatggg agtctaacgg ccagcccgag 900

aacaactata agaccacccc ccccgtgctg gattctgatg gctccttctt cctcgtgtcc 960

aagctgaccg tggacaagtc cagatggcag cagggcaacg tgttctcctg ctctgtgatg 1020

cacgaggcac tgcacaacca ctacacccag aagtccctta gcctgtctcc tggcaag 1077

<210> 75

<211> 343

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 75

Gln 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 Tyr Ser Ser Asn Val Ala
20 25 30

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

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

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

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

Ala Ala Thr Gln Arg Gly Gly Ile Asp Trp Cys Asp Glu Ile Asn Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Glu Leu Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Thr Ser Pro Gly Gly
130 135 140

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser

145 150 155 160

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly

165 170 175

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe

180 185 190

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Val

195 200 205

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

210 215 220

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro

225 230 235 240

Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu

245 250 255

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro

260 265 270

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala

275 280 285

Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala

290 295 300

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg

305 310 315 320

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr

325 330 335

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

340

<210> 76

<211> 1029

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 76

caagtgcagc tggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc caggcggctc cctgagactg 60

tcctgtgctg cttctggcta ctcgtccaac gtggcctgca tggcctggta tcgccaggct 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtggctacc atcgtggccg acttcggcac tacaaactac 180

gccgcctccg tgaagggcag attcaccatc tctcaggaca actccaagaa caccgtgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggctgaggac accgccgtgt actactgtgc cgctacccag 300

cggggaggca tcgactggtg cgacgagatc aactactggg gccagggaac cttggttaca 360

gtgtccagcg gcggaggcgg ctccgaactg gtggtgaccc aagagccttc tctgaccacc 420

tcccctggcg gcacagtgac cctgacctgt agatcctcta ccggtgccgt gacaacctct 480

aattacgcca actgggtcca gcagaagccc ggccaagccc ctagaggcct gatcggcggg 540

acgaacaagc gggctcctgg caccctgcc cggttcagcg gctctctgct gggcggcaag 600

gctgccctga caatcaccgg cgtgcagcct gaggatgagg ccgagtacta ctgcgctctg 660

tggtatagca acctgtgggt gttcggagga ggcacaaagc tgaccgtgct gggccagcct 720

aaggccaatc ctaccgtgac cctgtttcct ccatcttctg aagagctgca ggccaacaaa 780

gccaccctcg tgtgcctgat ctccgacttc taccccggcg ctgtgaccgt ggcatggaag 840

gccgatggct cccctgtgaa agctggcgtc gaaaccacca agcctagcaa gcagtccaac 900

aacaagtacg ctgcctcttc ctacctgtct ctgaccccg agcagtggaa gtcccataga 960

agctactctt gccaggtgac ccacgagggc tccaccgtcg agaagaccgt ggcccccacc 1020

gagtgctcc 1029

<210> 77

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 77

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

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

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala 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 His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

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

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 78

<211> 1338

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 78

gaggtgcagc tgctggaatc tggaggcggc ctggtgcaac ccggcggatc tctgagactg 60

tcttgtgccg cttctggctt cacctttttcc tcctacgcca tgtcctgggt cagacaggcc 120

cctggaaagg gactggaatg ggtgtctgcc atctccggct ctggcggctc tacatactac 180

gccgacagcg tgaagggcag attcaccatc agccgggaca actccaagaa caccctctac 240

ctgcagatga actctctgcg ggccgaggat accgccgtgt actactgcgc caaagtgctg 300

ggatggttcg actactgggg ccaaggcacg ctcgtgaccg tgtcctccgc ctccaccaaa 360

ggaccttccg tgtttcctct ggcccccttcc agcaagtcca cctccggcgg taccgctgcc 420

ctgggctgcc tggtcgagga ctacttccct gagcccgtga ccgtgtcttg gaactccggc 480

gctctgacct ctggcgtgca caccttcccc gctgttctgc agtccagcgg cctgtactcc 540

ctgtcctctg tggtgacagt gcctagctct tctctgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaaccaca agccctccaa caccaaggtg gatgagaaag tggaacccaa gtcttgcgac 660

aagacacata cctgtcctcc ttgccctgct cctgaggccg ctggcggccc ttctgtgttc 720

ctgttcccac ccaagcctaa ggacaccctg atgatctctc ggacccctga ggtcacctgc 780

gtggtcgtgg acgtgtccca tgaagatcct gaagtgaagt tcaactggta cgtggatggc 840

gtggaagtgc acaacgccaa gaccaagcct cgggaagagc agtacaactc cacatacaga 900

gtggtgagcg tgctgaccgt gctgcaccag gactggctga acggcaaaga gtacaagtgc 960

aaggtgtcca acaaggctct cggcgccccc atcgagaaga caatctccaa ggccaagggc 1020

cagcctagag agcctcaggt gtgcaccctg cctccatctc gcgacgagct gactaagaac 1080

caggtgtccc tgtcctgtgc tgtgaaaggc ttctaccctt ctgacatcgc cgtggagtgg 1140

gagtctaacg gccagcccga gaacaactac aagaccacac ctcctgttct ggactccgac 1200

ggctccttct tcctggtgtc taagctgacc gtggacaagt ccagatggca gcagggcaac 1260

gtgttctcct gctccgtgat gcacgaggct ctgcacaaca gattcaccca gaagtctctc 1320

agcctgtccc ctggcaag 1338

<210> 79

<211> 216

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 79

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 80

<211> 648

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 80

gagatcgtgc tgacccagtc tcctggaaca ctgtctctgt cccctggcga gagagctacc 60

ctgagctgca gagcctctca gtccgtgtcc tcctcctacc tggcctggta ccagcagaag 120

cctggccagg cccctcggct gctgatctac ggcgctagct ctcgggccac cggcatccct 180

gacagattct ccggctccgg ctctggcaca gattttaccc tgaccatctc cagactggaa 240

cctgaggact tcgccgtgta ctactgccag cagtacggct acccccccga cttcaccttc 300

ggccaaggca ccaaagtgga aatcaagcgg accgtggctg ctccttctgt gttcatcttc 360

cctccttccg accggaagct gaagtctgga accgcctccg tggtgtgcct gctgaacaac 420

ttctacccta gagaggccaa ggtgcagtgg aaggtggaca acgccctgca gagcggcaac 480

tcccaagagt ccgtcaccga gcaggactct aaggactcca cctactccct gtcctctacc 540

ctgacactgt ccaaggccga ctacgagaag cacaaggtgt acgcctgcga ggtgacccac 600

cagggcctgt cttctcctgt gaccaagtcc ttcaacagag gcgaatgt 648

<210> 81

<211> 671

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 81

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly Gly Gly Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr

245 250 255

Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro

260 265 270

Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

275 280 285

Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala

290 295 300

Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys

305 310 315 320

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu

325 330 335

Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

340 345 350

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

355 360 365

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

370 375 380

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

385 390 395 400

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

500 505 510

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

515 520 525

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

530 535 540

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

610 615 620

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

625 630 635 640

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

645 650 655

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

660 665 670

<210> 82

<211> 2013

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 82

gaggtgcagc tgctggaatc aggcggaggc ctcgtgcagc caggtggcag cctgcggctg 60

tcttgtgccg cctctggctt caccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt gcggcaggcc 120

cctggcaagg gactggagtg ggtctccgcc atctctgggt ccggaggctc cacctactac 180

gctgattctg tgaaaggcag attcaccatc tctcgggaca actccaagaa cacactgtac 240

ctgcagatga actccctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc caaggtgctg 300

ggatggttcg actactgggg ccagggcacc ttagtgaccg tgtcaagcgc cagcacaaag 360

ggacctagcg tatttcctct ggcccctagc tctaagtcca cctctggtgg caccgcagcc 420

ctgggctgtc tggtggaaga ctacttccct gaacccgtga cagtgtcttg gaactccggc 480

gctctgacat ctggcgtgca caccttccct gctgttcttc aatcttccgg cctgtacagc 540

ctgtcctctg ttgtcacagt gcccagttct tctctgggca cccagacata catctgtaac 600

gtgaaccaca agccttccaa caccaaagtg gacgagaaag tggaacctaa gtcctgcgat 660

ggcggcggcg ggtccggtgg agggggatct caggctgtgg tcacccaaga gccctccctg 720

accgtgtccc ctggcggcac cgtgacactg acctgcggct cttccacagg cgccgtgacc 780

acctccaact acgccaactg ggtgcaagag aagcctggcc aggccttcag aggcctgatc 840

ggcggaacca acaagcgggc tcctggcacc cctgccagat tctctggaag tctgctgggt 900

ggcaaggctg cactgaccct gtccggcgct caacctgagg atgaggccga gtactactgc 960

gccctgtggt attccaacct gtgggtcttc ggcggtggca ccaagctgac cgtgctgtct 1020

tctgcctcca ccaaaggccc ctcggtgttc cctctggctc ctagttccaa gtctacctcc 1080

ggcggtacag ctgctctggg ctgcctggtc aaggattact tcccagagcc tgtgaccgtg 1140

tcttggaact cgggcgccct gacttctgga gtgcacacat tccctgctgt gctgcagtcc 1200

tctggcctgt actctctgtc ttcggtcgtg acagtgcctt ccagcagcct cggcacacag 1260

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaggtggaa 1320

cccaaatctt gcgacaagac ccacacctgt cctccttgtc ctgcccctga ggccgctggc 1380

ggcccttctg tgttcctgtt cccgccaaag cctaaggaca cgctgatgat ctcccggacc 1440

cctgaggtga cctgcgtggt ggtggatgtg tctcatgagg accctgaagt gaagttcaac 1500

tggtacgtgg acggcgtcga ggtgcacaac gccaaaacca agcccagaga ggaacagtac 1560

aacagcacct acagagtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 1620

aaagagtaca agtgcaaggt gagcaataag gccctgggcg cccctatcga gaagaccatc 1680

tccaaggcca agggccagcc tagagaacct caggtgtaca ccctgcctcc ttgcagagac 1740

gagctgacca agaaccaggt ctctctgtgg tgcctggtga agggcttcta cccttctgac 1800

atcgccgtgg aatgggagtc caatggacag cccgagaaca actacaagac cacacctcca 1860

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctg tacagcaagc tgacagtgga caagtccaga 1920

tggcagcagg gcaacgtgtt ctcctgctcc gtgatgcacg aggctctgca caaccactac 1980

acccagaagt ccctgtccct gtctcctgga aag 2013

<210> 83

<211> 232

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 83

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val

115 120 125

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys

130 135 140

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser

180 185 190

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

195 200 205

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr

210 215 220

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230

<210> 84

<211> 696

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 84

gaggtgcagc tgctggaatc cggcggagga ctggtccagc ctggcggctc tctgcggctg 60

tcttgtgctg cttctggctt caccttctcc acatatgcca tgaactgggt cagacaggcc 120

cccggcaagg gcctggaatg ggtgtccaga atcagatcca agtacaacaa ctacgccacc 180

tactacgccg attccgtgaa gggacggttc accatctccc gggacgactc caagaacaca 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgagagcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgtgcgg 300

cacggcaact tcggcaattc ctacgtgtcc tggttcgcct actggggcca gggcaccctg 360

gtcaccgtgt cttccgcctc tgtggccgct ccttctgtgt tcatcttccc tccttccgac 420

gagcagctga agtctggcac agcttctgtg gtgtgcctgc tgaacaactt ctaccctaga 480

gaggccaagg tgcagtggaa ggtggacaac gccctgcagt ccggcaactc ccaagagtcc 540

gtgaccgagc aggactctaa ggactctacc tactccctgt cctccaccct gaccctgagc 600

aaggccgact acgagaagca caaagtgtac gcctgcgaag tgacccacca gggcctgtcc 660

tctcctgtga ccaagtcctt caacagaggc gagtgc 696

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種多特異性抗體，其包含

(i) 結合第一抗原的第一抗原結合模組；

(ii) 結合第二抗原的第二抗原結合模組；和，

(iii) 結合第一抗原的第三抗原結合模組；

其中所述第一抗原為BCMA且所述第二抗原為活化性T細胞抗原，所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組均為單可變結構域並且各自獨立的包含以下任一項：

(b) 包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；

(c) 包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3；

(a) 包含SEQ ID NO: 7所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 8所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 9所示胺基酸序列的CDR3；或

(d) 包含SEQ ID NO: 16所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 17所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 18所示胺基酸序列的CDR3。

【請求項2】 如請求項1所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組各自獨立的包含以下任一項：

(b) 包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；或

(c) 包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。

【請求項3】 如請求項2所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3，並且所述第三抗原結合模組包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。

【請求項4】 如請求項2所述的多特異性抗體，其中所述第三抗原結合模組包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3，並且所述第一抗原結合模組包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的

CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3。

【請求項5】 如請求項1-4任一項所述的多特異性抗體，其中

所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 21、37或38所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 23、39或40所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列；或，

所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 37所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 39所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【請求項6】 如請求項1-4任一項所述的多特異性抗體，其中

所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 23、39或40所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 21、37或38所示序列具有至少85%、

90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列；或，

所述第一抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 39所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，所述第三抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 37所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列。

【請求項7】 如請求項1-6任一項所述的多特異性抗體，其中所述第一抗原結合模組和第三抗原結合模組選自以下任一項：

(1) 包含SEQ ID NO: 21所示胺基酸序列的第一抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 23、39或40所示胺基酸序列的第三抗原結合模組；

(2) 包含SEQ ID NO: 37所示胺基酸序列的第一抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 23、39或40所示胺基酸序列的第三抗原結合模組；

(3) 包含SEQ ID NO: 38所示胺基酸序列的第一抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 23、39或40所示胺基酸序列的第三抗原結合模組；

(4) 包含SEQ ID NO: 21所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 23、39或40所示胺基酸序列的第一抗原結合模組；

(5) 包含SEQ ID NO: 37所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 23、39或40所示胺基酸序列的第一抗原結合模組；

(6) 包含SEQ ID NO: 38所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 23、39或40所示胺基酸序列的第一抗原結合模組；

(7) 包含SEQ ID NO: 41所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 42所示胺基酸序列的第一抗原結合模組；

(8) 包含SEQ ID NO: 42所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 41所示胺基酸序列的第一抗原結合模組；

(9) 包含SEQ ID NO: 37所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 39所示胺基酸序列的第一抗原結合模組；或，

(10) 包含SEQ ID NO: 39所示胺基酸序列的第三抗原結合模組和包含SEQ ID NO: 37所示胺基酸序列的第一抗原結合模組。

【請求項8】 如請求項1-7任一項所述的多特異性抗體，其中所述活化性T細胞抗原為CD3。

【請求項9】 如請求項1-8任一項所述的多特異性抗體，其中所述第二抗原結合模組包含重鏈可變區和輕鏈可變區，所述重鏈可變區包含以下互補決定區：包含SEQ ID NO: 43所示胺基酸序列的HCDR1，包含SEQ ID NO: 44

所示胺基酸序列的HCDR2，和包含SEQ ID NO: 45所示胺基酸序列的HCDR3；所述輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 46所示胺基酸序列的LCDR1，包含SEQ ID NO: 47所示胺基酸序列的LCDR2，和包含SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列的LCDR3；或，

所述重鏈可變區包含SEQ ID NO: 49所示的可變區的HCDR1，HCDR2和HCDR3，所述輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 50所示的可變區的LCDR1，HCDR2和LCDR3。

【請求項10】 如請求項1-9任一項所述的多特異性抗體，其中所述第二抗原結合模組包含與SEQ ID NO: 49所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列的重鏈可變區和與SEQ ID NO: 50所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列的輕鏈可變區；或，所述第二抗原結合模組的重鏈可變區包含SEQ ID NO: 49所示的胺基酸序列，並且其輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 50所示的胺基酸序列。

【請求項11】 如請求項1-10任一項所述的多特異性抗體，其還包含(iv)由兩個Fc多肽構成的Fc域。

【請求項12】 如請求項11所述的多特異性抗體，其中(1)所述第二抗原結合模組為ScFv，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二

抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第一抗原結合模組的N端；

(2) 所述第二抗原結合模組為ScFv，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第二抗原結合模組的N端；

(3) 所述第二抗原結合模組為Fab，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其Fab重鏈的C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第一抗原結合模組的N端；或，

(4) 所述第二抗原結合模組為Fab，所述第一抗原結合模組在其C端融合至所述Fc域的其中一個Fc多肽的N端，所述第二抗原結合模組在其Fab重鏈的C端融合至所述Fc域的另一個Fc多肽的N端，所述第三抗原結合模組在其C端融合至所述第二抗原結合模組的Fab輕鏈的N端或所述第二抗原結合模組的Fab重鏈的N端。

【請求項13】 如請求項11-12任一項所述的多特異性抗體，其中所述Fc域是IgG Fc域、人IgG Fc域、人IgG1或人IgG4的Fc域；

可選的，所述Fc域包含促進所述Fc域的兩個Fc多肽相締合的胺基酸取代；或/和，

所述Fc域包含降低Fc域對Fc受體的結合親和力和/或效應物功能的胺基酸取代；或/和，

所述Fc域包含減少或消除Fc域中的一個Fc多肽的CH3區與A蛋白的結合的胺基酸取代。

【請求項14】 如請求項1-13任一項所述的多特異性抗體，其中所述多特異性抗體組成為：

(1) 由兩條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 65所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 67所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的的胺基酸序列；

(2) 由兩條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 69所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 71所示序列具有至少

85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列；

(3) 由三條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 59所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 61所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，還有一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 63所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列；

(4) 由三條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 73所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 61所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列，還有一條多肽鏈包含與SEQ ID NO: 75所示序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、

94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的相同性的胺基酸序列；

(5) 由兩條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 65所示的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 67所示的胺基酸序列；

(6) 由兩條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 69所示的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 71所示的胺基酸序列；

(7) 由三條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 59所示的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 61所示的胺基酸序列，還有一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 63所示的胺基酸序列；或，

(8) 由三條多肽鏈組成，其中一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 73所示的胺基酸序列，另一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 61所示的胺基酸序列，還有一條多肽鏈包含SEQ ID NO: 75所示的胺基酸序列。

【請求項15】 一種藥物組成物，其包含請求項1-14中任一項所述的多特異性抗體和藥學上可接受的載劑。

【請求項16】 一種在受試者中治療BCMA表現相關的疾病的方法，其包括對所述受試者施用治療有效量的請求項1-14中任一項所述的多特異性抗體或請求項15所述的藥物組成物；所述疾病為淋巴瘤、多發性骨髓瘤、白血病、系統性紅斑狼瘡或類風濕性關節炎。

一種結合BCMA的抗體，其包含單可變結構域，所述單可變結構域包含：

(2) 包含SEQ ID NO: 10所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 11所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 12所示胺基酸序列的CDR3；

(3) 包含SEQ ID NO: 13所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 14所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 15所示胺基酸序列的CDR3；

(1) 包含SEQ ID NO: 7所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 8所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 9所示胺基酸序列的CDR3；或

(4) 包含SEQ ID NO: 16所示胺基酸序列的CDR1，包含SEQ ID NO: 17所示胺基酸序列的CDR2，和包含SEQ ID NO: 18所示胺基酸序列的CDR3。

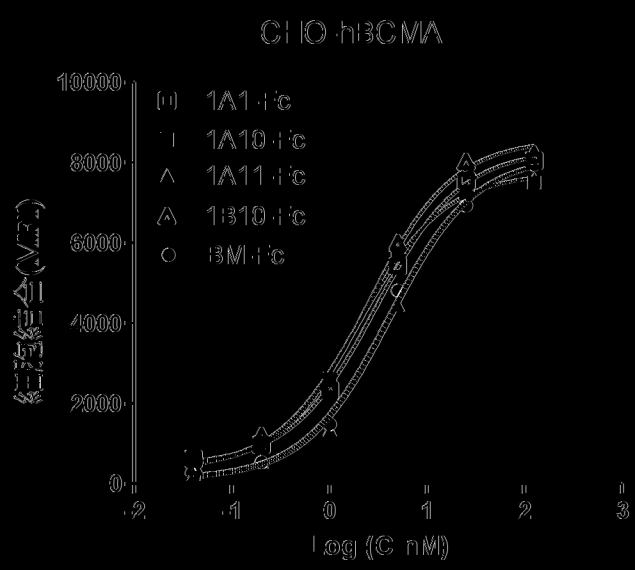

CHO-hBCMA
10000
8000
6000
4000
2000
0
-2
-1
0
1
2
3
log (C nM)
1A1-Fc
1A10-Fc
1A11-Fc
1B10-Fc
BM-Fc

圖 1A

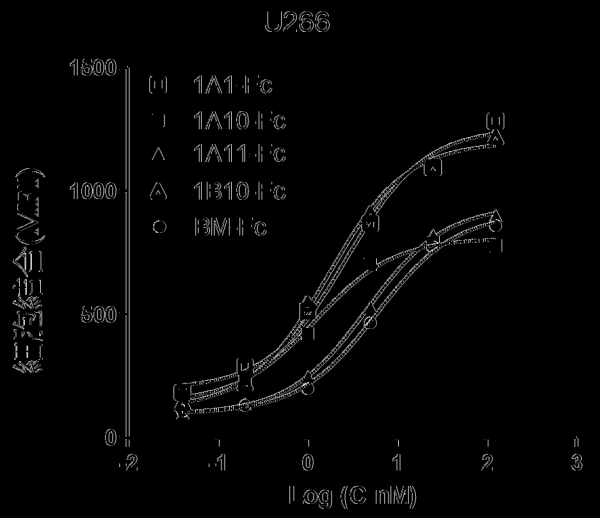

U266
1500
1000
500
0
-2
-1
0
1
2
3
log (C nM)
1A1-Fc
1A10-Fc
1A11-Fc
1B10-Fc
BM-Fc

圖 1B

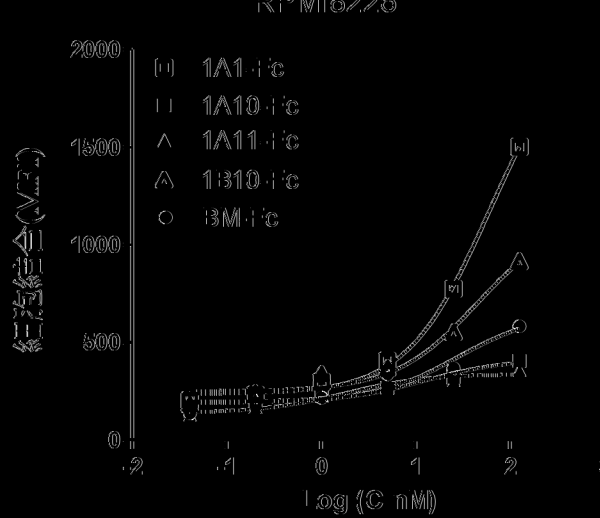

RPMI8226
2000
1500
1000
500
0
-2
-1
0
1
2
3
log (C nM)
1A1-Fc
1A10-Fc
1A11-Fc
1B10-Fc
BM-Fc

圖 1C

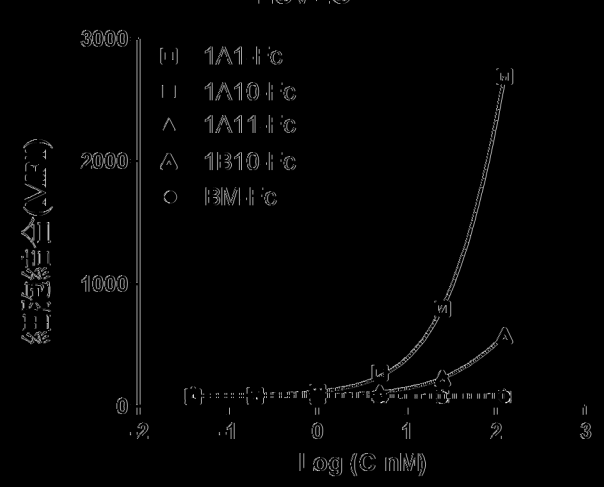

HUVEC
1A1-Fc
1A10-Fc
1A11-Fc
1B10-Fc
BM-Fc
3000
2000
1000
0
-2
-1
0
1
2
3
log (C nM)

圖 1D

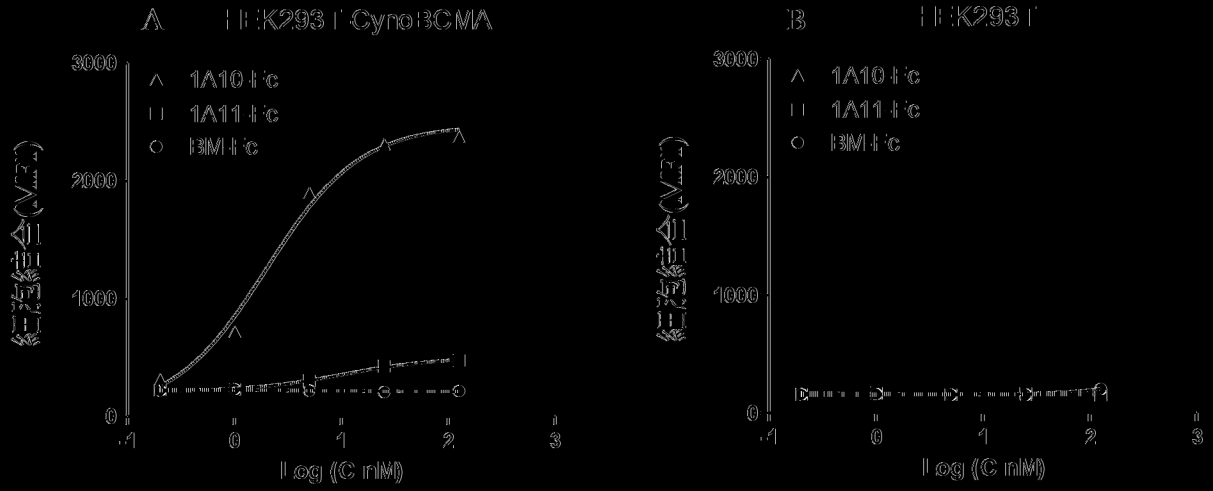

A
HEK293 CynoBCMA
B
HEK293
1A10-Fc
1A11-Fc
BM-Fc
3000
2000
1000
0
-1
0
1
2
3
log (C nM)

圖 2

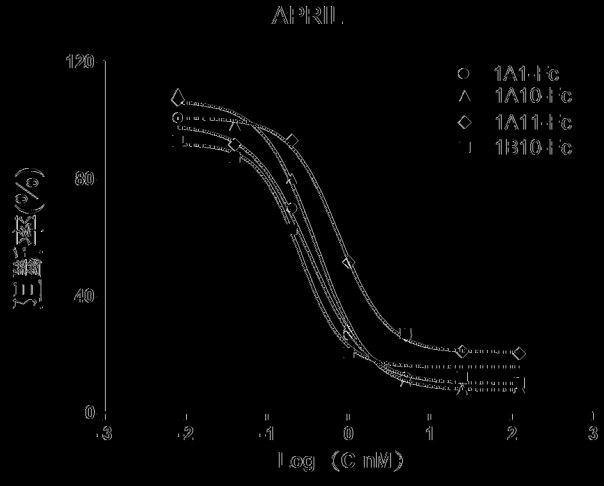

APRIL
1A1-Fc
1A10-Fc
1A11-Fc
1B10-Fc
120
80
40
0
-3
-2
-1
0
1
2
3
log (C nM)

圖 3



圖 4A

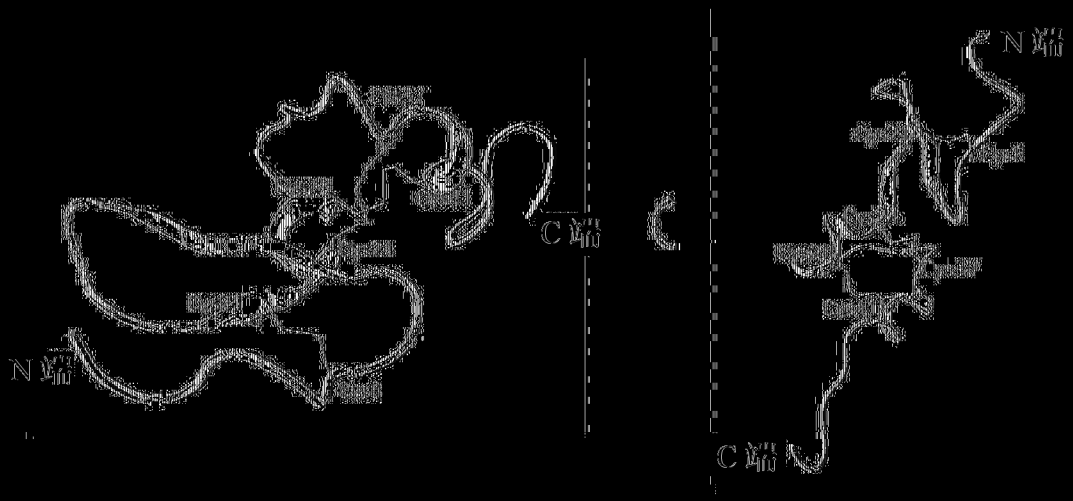


圖 4B

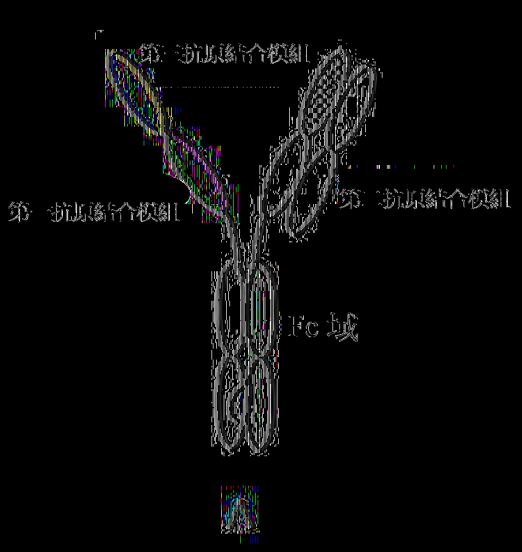


圖 5A

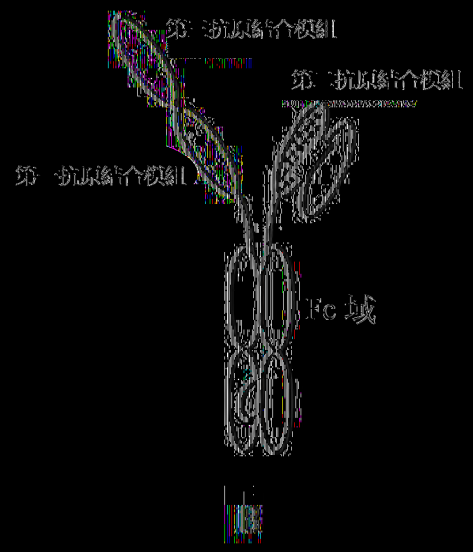


圖 5B

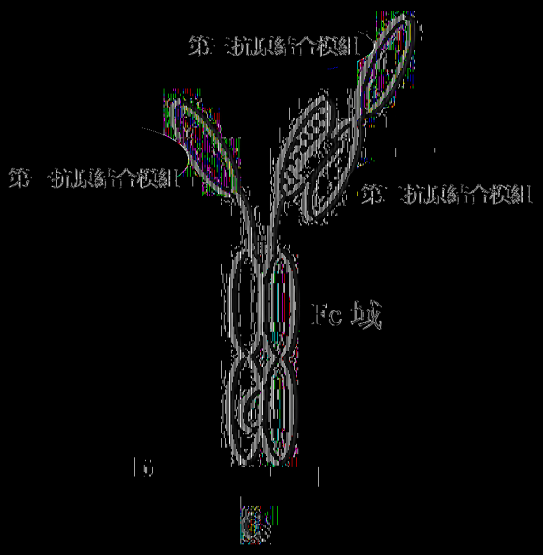


圖 5C

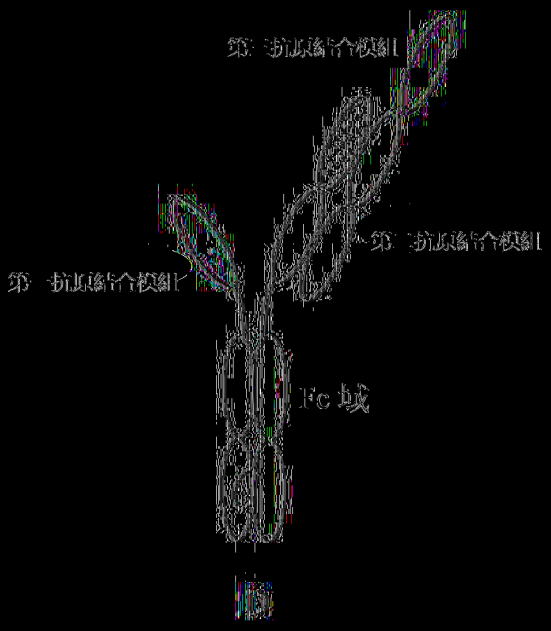


圖 5D

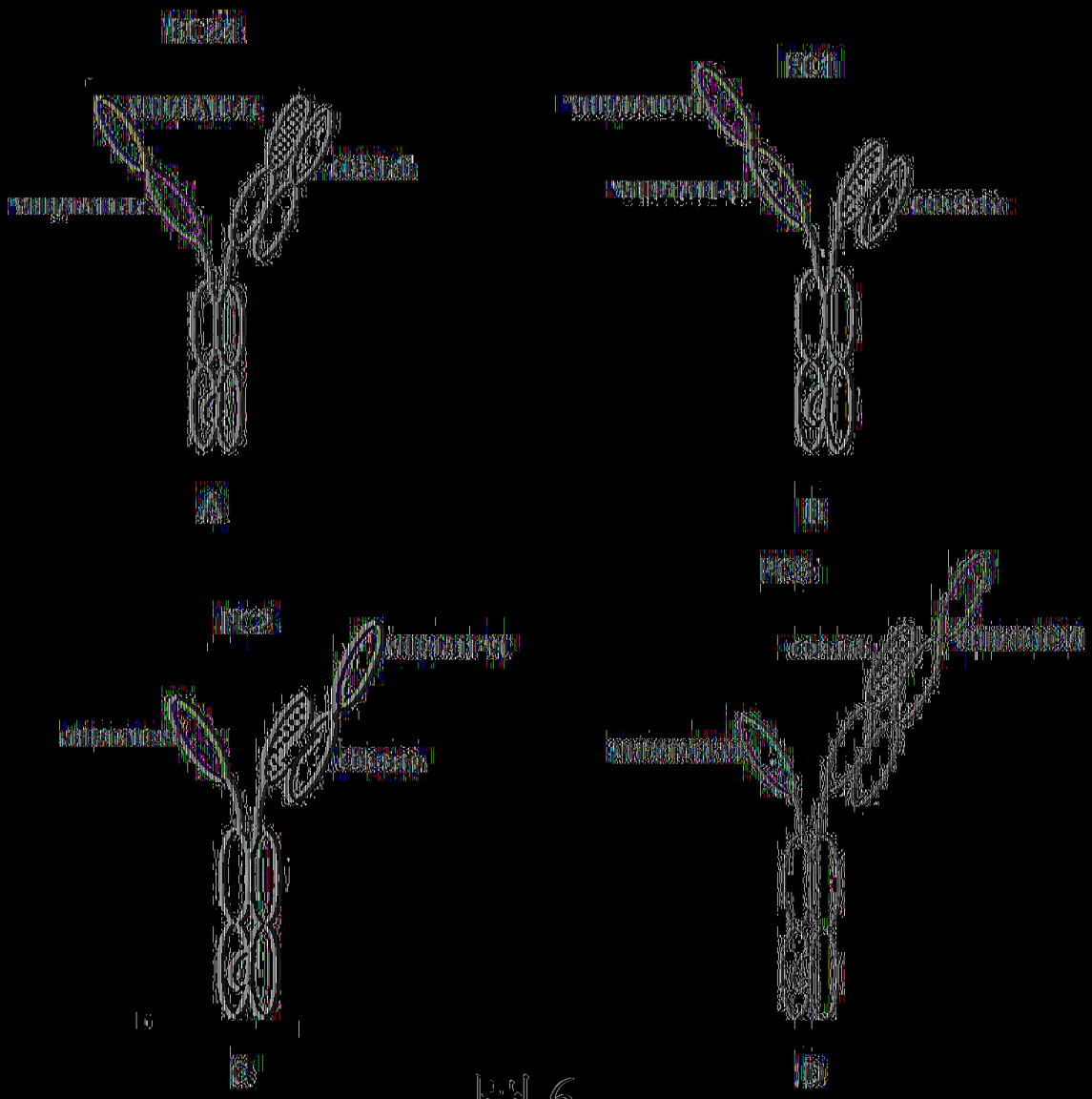


圖 6



圖 7


CD3 DC2A MMJS
螢光強度(MFI)
Log[(nM)
陰性對照

圖 8

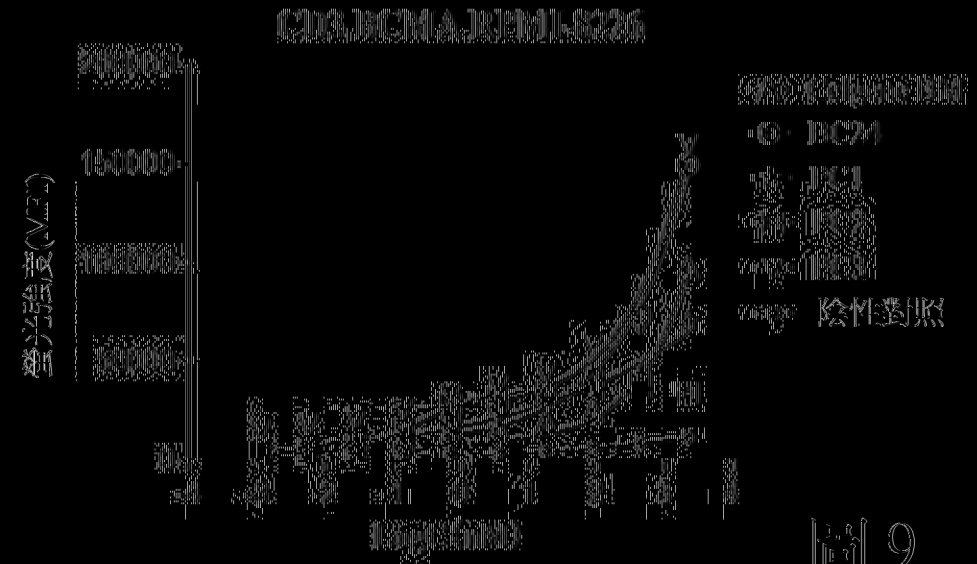

CD3DC2AJHM626
螢光強度(MFI)
150000
Log[(nM)
陰性對照

圖 9

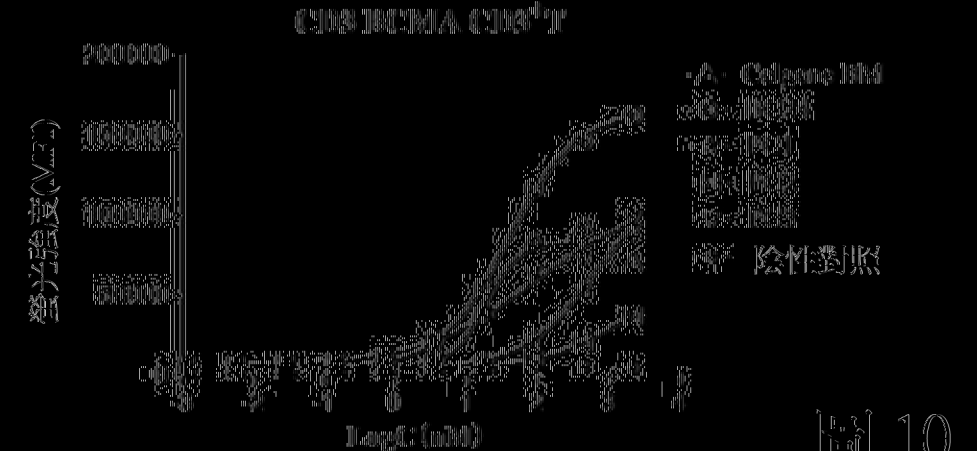

CD3 DC2A CD3"T
螢光強度(MFI)
200000
Log[(nM)
陰性對照

圖 10

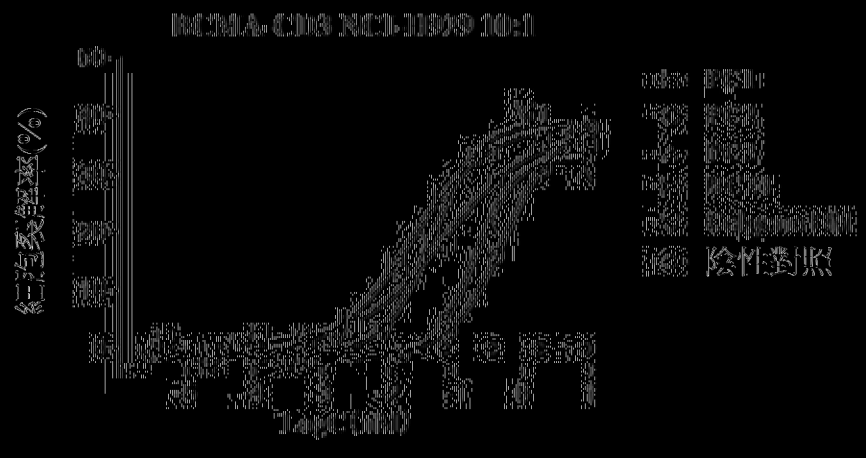

BCMA-CD3 NCI-H929 10:1
細胞毒殺率(%)
陰性對照

圖 11


細胞毒殺率(%)
陰性對照

圖 12

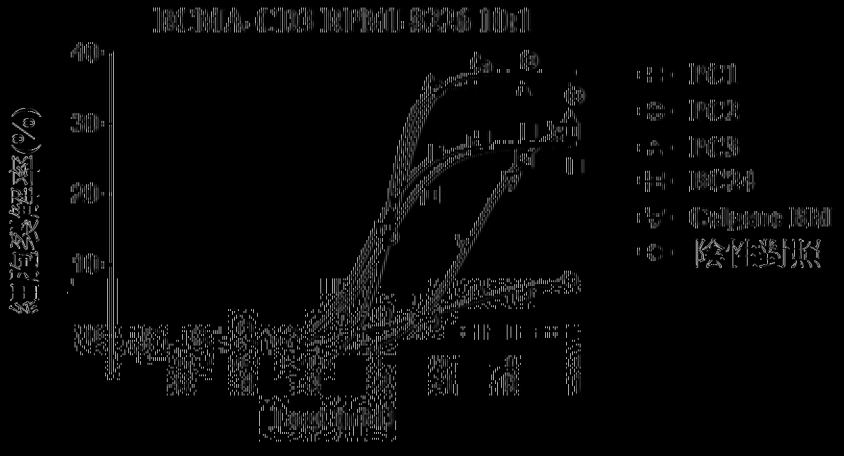

BCMA-CD3 NCI-H929 10:1
細胞毒殺率(%)
40
30
20
10
0
IC1
IC2
IC3
IC24
Celgene ISM
陰性對照

圖 13

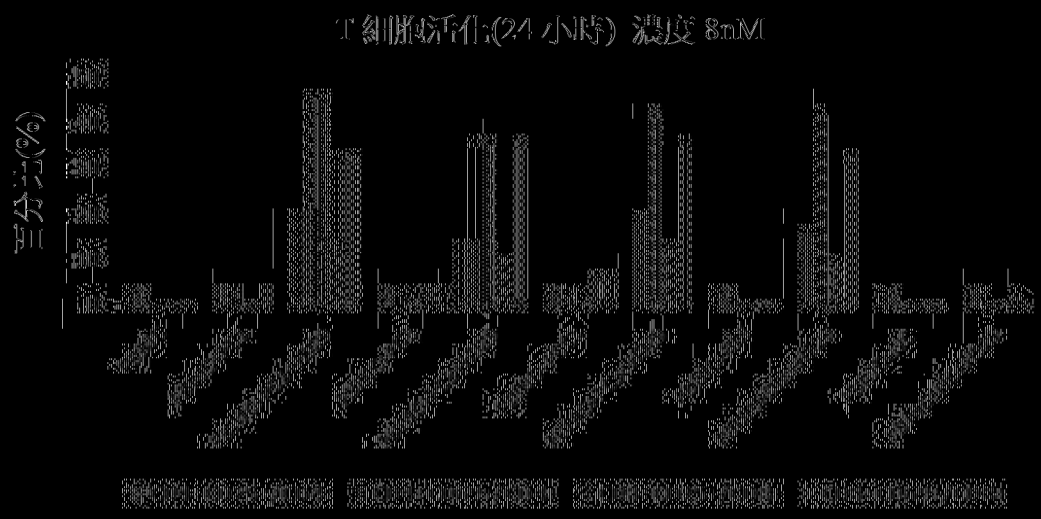


圖 14

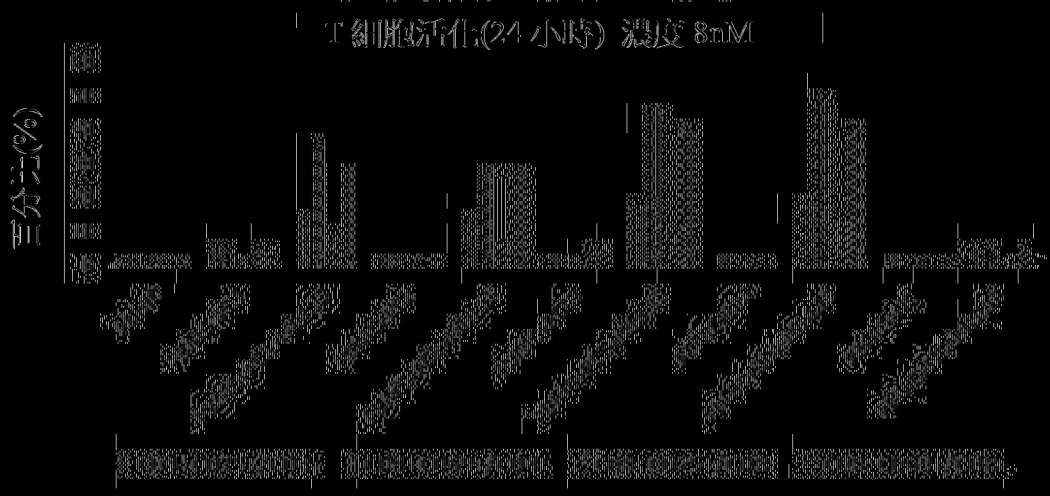


圖 15



圖 16

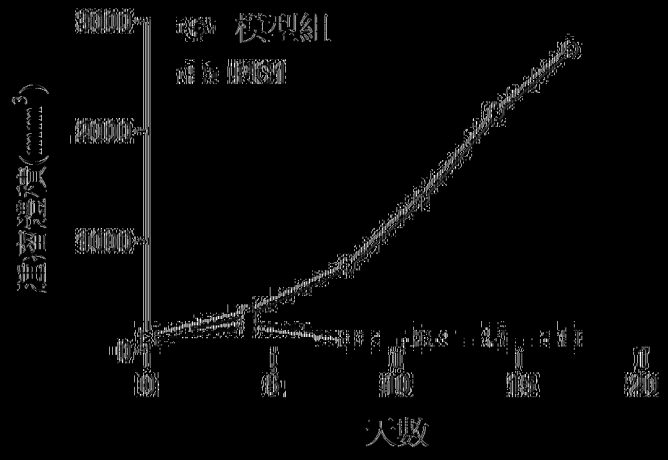


圖 17

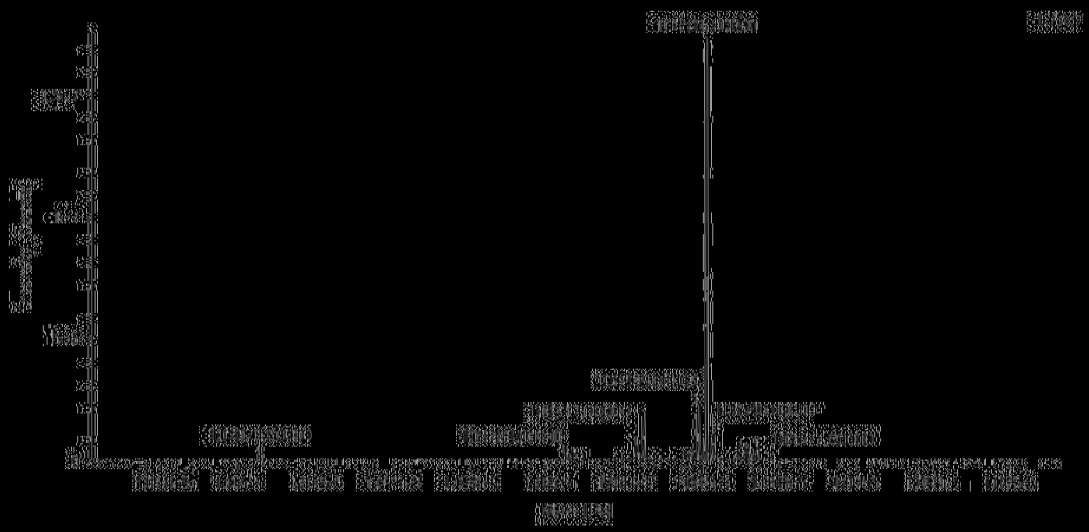


圖 18