202216787

(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 202216787 A

(43)公開日： 中華民國 111 (2022) 年 05 月 01 日

(21)申請案號：111102788 (22)申請日： 中華民國 105 (2016) 年 11 月 17 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/28 (2006.01)* *C12N15/13 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)* *A61P35/00 (2006.01)* *A61P31/00 (2006.01)*

(30)優先權：2015/11/18 美國 62/257,009

(71)申請人：美商默沙東藥廠 (美國) MERCK SHARP & DOHME CORP. (US)
美國

(72)發明人：柏曼 艾德華 BOWMAN, EDWARD (US)；畢蒙特 瑪力柏 BEAUMONT, MARIBEL (FR)；拜司 瑪麗－安己 BUYSE, MARIE-ANGE (BE)；巴頓 卡羅 BOUTTON, CARLO (BE)；東布奇 布魯諾 DOMBRECHT, BRUNO (BE)；維樂客 大衛 VLERICK, DAVID (BE)；凱斯特林 羅伯 A KASTELEIN, ROBERT A. (NL)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：20 項 圖式數：19 共 390 頁

(54)名稱

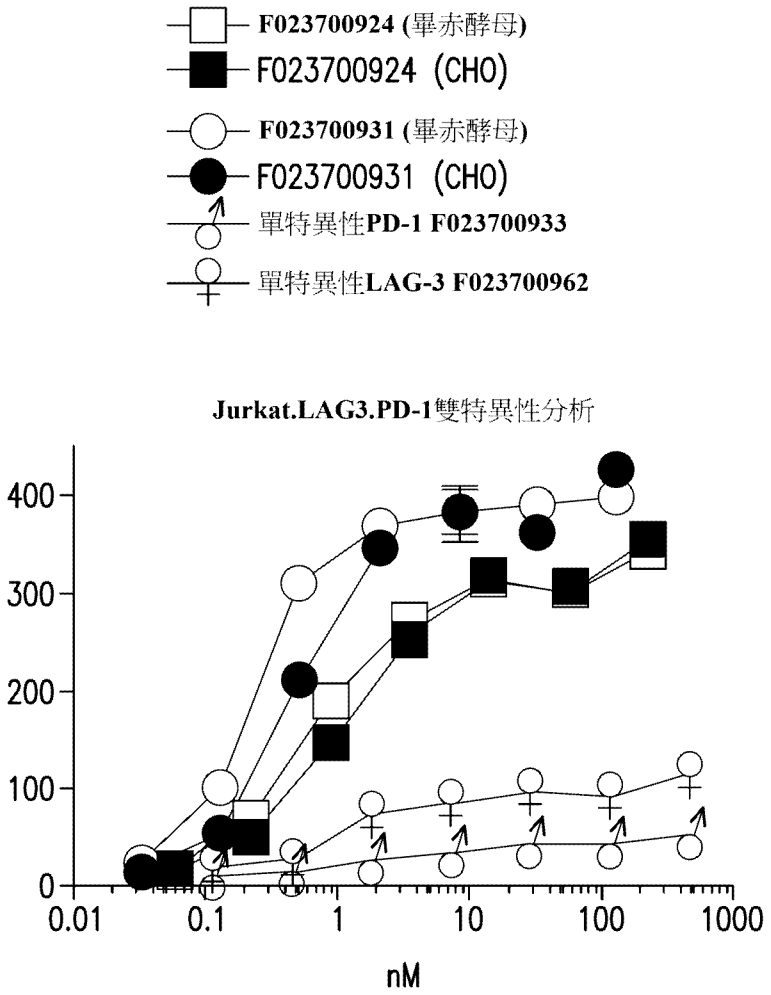
PD1 及／或 LAG3 結合劑

(57)摘要

本發明提供結合至 PD1 及 LAG3，且視情況結合至人類血清白蛋白之分子，諸如 ISVDs 及奈米抗體。此等分子已經工程改造以減少投與此分子之個體身體中預先存在抗體之結合發生。提供用此分子增加免疫反應、治療癌症及/或治療感染性疾病之方法。

The present invention provides molecules, such as ISVDs and Nanobodies, that bind to PD1 and LAG3 and, optionally to human serum albumin. These molecules have been engineered so as to reduce the incidence of binding by pre-existing antibodies in the bodies of a subject administered such a molecule. Methods for increasing immune response, treating cancer and/or treating an infectious disease with such molecules are provided.

指定代表圖：


F023700924 (畢赤酵母)
F023700924 (CHO)
F023700931 (畢赤酵母)
F023700931 (CHO)
單特異性PD-1 F023700933
單特異性LAG-3 F023700962
Jurkat.LAG3.PD-1雙特異性分析
400
300
200
100
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM

【圖16A】

【發明摘要】

【中文發明名稱】

PD1及／或 LAG3結合劑

【英文發明名稱】

PD1 AND/OR LAG3 BINDERS

【中文】

本發明提供結合至PD1及LAG3，且視情況結合至人類血清白蛋白之分子，諸如ISVDs及奈米抗體。此等分子已經工程改造以減少投與此分子之個體身體中預先存在抗體之結合發生。提供用此分子增加免疫反應、治療癌症及/或治療感染性疾病之方法。

【英文】

The present invention provides molecules, such as ISVDs and Nanobodies, that bind to PD1 and LAG3 and, optionally to human serum albumin. These molecules have been engineered so as to reduce the incidence of binding by pre-existing antibodies in the bodies of a subject administered such a molecule. Methods for increasing immune response, treating cancer and/or treating an infectious disease with such molecules are provided.

【指定代表圖】

圖16A

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

PD1及／或 LAG3結合劑

【英文發明名稱】

PD1 AND/OR LAG3 BINDERS

【技術領域】

本發明部分係關於結合至漸進式細胞死亡蛋白質1 (「*PD1*」) (例如人類PD1)及淋巴細胞活化基因3 (LAG3)之胺基酸序列。特定言之，本發明部分係關於結合至PD1及LAG3之改良之重鏈免疫球蛋白單一可變域(在本文中亦稱為「*ISV*」或「*ISVD*」，以及包含此類ISVD之多肽及其他化合物。本發明之其他態樣、實施例、特徵、使用及優勢將為熟習此項技術者基於本文中之揭示內容所瞭解。

【先前技術】

漸進式死亡受體1 (PD-1)為主要在活化T及B細胞上表現之免疫抑制性受體。與其配位體之相互作用已顯示活體外及活體內減弱T細胞反應。阻斷PD-1與其配位體中之一者PD-L1之間的相互作用已顯示增強腫瘤特異性$CD8^+$ T細胞免疫性且可因此有助於藉由免疫系統清除腫瘤細胞。

PD-1 (由基因Pdcd1編碼)為與CD28及CTLA-4相關之免疫球蛋白超家族成員。已顯示PD-1在接合其配位體(PD-L1及/或PD-L2)後不利地調節抗原受體信號傳導。鼠PD-1之結構以及小鼠PD-1與人類PD-L1之共晶體結構已經解析(Zhang, X.等人, Immunity 20: 337-347 (2004)；Lin等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105: 3011-6 (2008))。PD-1及類似家族成員為I型跨膜糖蛋白，其含有負責配位體結合之Ig可變型(V型)域及負責信號

傳導分子之結合的胞質尾區。PD-1之胞質尾區含有兩個基於酪胺酸之信號傳導基元，ITIM (基於酪胺酸之免疫受體抑制基元)及ITSM (基於酪胺酸之免疫受體轉換基元)。

在T細胞刺激之後，PD-1將酪胺酸磷酸酶SHP-2募集至其胞質尾區內之ITSM基元，引起參與CD3 T細胞信號級聯之效應分子(諸如CD3 ξ、PKC θ及ZAP70)之去磷酸化。PD-1下調T細胞反應之機制與CTLA-4類似但不同，因為兩種分子均調節一組重疊信號傳導蛋白質(Parry等人, Mol. Cell. Biol. 25: 9543-9553 (2005))。Bennett及同事顯示PD-1介導之T細胞信號傳導抑制僅在活化及抑制信號兩者在同一表面上時有效，指示PD-1信號傳導機制在時空上確定(Bennett F.等人, J Immunol. 170:711-8 (2003))。顯示PD-1在活化淋巴細胞(周邊$CD4^+$及$CD8^+$ T細胞、B細胞及單核細胞)上表現且亦已顯示在胸腺發育期間在$CD4^-$ $CD8^-$ (雙陰性) T細胞以及NK-T細胞上表現。

PD-1之配位體(PD-L1及PD-L2)組成性表現或可在多種細胞類型，包括非造血組織，以及各種腫瘤類型中誘導。PD-L1在B、T、骨髓及樹突狀細胞(DC)上表現，而且在周邊細胞(如微血管內皮細胞)及非淋巴器官(如心臟、肺等)上表現。相比之下，僅在巨噬細胞及DC上發現PD-L2。PD-1配位體之表現模式暗示PD-1在維持周邊耐受性中之作用且可用以調節在周邊中之自反應性T及B細胞反應。兩種配位體均為在胞外區中含有IgV及IgC樣域兩者之I型跨膜受體。兩種配位體均含有無已知信號傳導基元之短細胞質區。

PD-1與其配位體之相互作用引起活體外及活體內淋巴細胞增殖之抑制。破壞PD-1/PD-L1相互作用已顯示增加T細胞增殖及細胞因子產生且阻

斷細胞週期之進程。對Pdcd1$^{-/-}$小鼠之初始分析未鑑定任何強有力的免疫表型。然而老齡小鼠罹患自發性自體免疫疾病，其根據Pdcd1缺乏所回交之品系而不同。此等包括狼瘡樣增生性關節炎(C57BL/6) (Nishimura H.等人, Int. Immunol. 10: 1563-1572 (1998))、致命心肌病(BALB/c) (Nishimura H.等人, Science 291: 319-322 (2001))及I型糖尿病(NOD) (Wang J.等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11823-11828 (2005))。總體而言，對基因剔除動物之分析產生PD-1主要在誘導及調節周邊耐受性中起作用之理解。因此，PD-1路徑之治療阻斷可有助於克服免疫耐受性。此類選擇性阻斷可用於治療癌症或感染以及在疫苗接種(預防性或治療性)期間增強免疫性。

PD-1在癌症中之作用在文獻中已確定。已知腫瘤微環境可保護腫瘤細胞免於高效免疫破壞。最近已顯示PD-L1在許多小鼠及人類腫瘤上表現(且可在大部分PD-L1陰性腫瘤細胞株上由IFN γ誘導)且假設介導免疫逃避(Iwai Y.等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99: 12293-12297 (2002)；Strome S. E.等人, Cancer Res., 63: 6501-6505 (2003)。

在人類中，PD-1 (在腫瘤浸潤性淋巴細胞上)及/或PD-L1 (在腫瘤細胞上)之表現已經在許多藉由免疫組織化學評定之原發腫瘤活檢體中發現。此類組織包括肺、肝臟、卵巢、子宮頸、皮膚、結腸、神經膠質瘤、膀胱、乳房、腎臟、食道、胃、口腔鱗狀細胞、尿道上皮細胞及胰臟之癌症以及頭頸腫瘤(Brown J. A. 等人, J. Immunol. 170: 1257-1266 (2003)；Dong H.等人, Nat. Med. 8: 793-800 (2002)；Wintterle等人, Cancer Res. 63: 7462-7467 (2003)；Strome S. E.等人, Cancer Res., 63: 6501-6505 (2003)；Thompson R. H.等人, Cancer Res. 66: 3381-5 (2006)；

Thompson等人, Clin. Cancer Res. 13: 1757-61 (2007)；Nomi T.等人, Clin. Cancer Res. 13: 2151-7. (2007))。更驚人地，腫瘤細胞上之PD配位體表現已跨越多種腫瘤類型與癌症患者之不佳預後相關(綜述在Okazaki及Honjo, Int. Immunol. 19: 813-824 (2007)中)。

阻斷PD-1/PD-L1相互作用可引起腫瘤特異性T細胞免疫性增強且因此有助於藉由免疫系統清除腫瘤細胞。為了解決此問題，進行了許多研究。在鼠侵襲性胰臟癌模型中，T. Nomi等人 (Clin.Cancer Res. 13: 2151-2157 (2007))展現PD-1/PD-L1阻斷之治療功效。投與針對PD-1或PD-L1任一者之抗體顯著抑制腫瘤生長。抗體阻斷有效促進腫瘤反應性$CD8^+$ T細胞浸潤至腫瘤中，引起包括IFN γ、顆粒酶B及穿孔蛋白之抗腫瘤效應子上調。另外，作者顯示PD-1阻斷可有效地與化學療法組合產生協同效應。在另一研究中，使用小鼠中之鱗狀細胞癌模型，PD-1或PD-L1之抗體阻斷顯著抑制腫瘤生長(Tsushima F.等人, Oral Oncol. 42: 268-274 (2006))。

在其他研究中，用PD-L1轉染鼠肥胖細胞瘤株引起當與腫瘤特異性CTL純系共培養時腫瘤細胞溶解減少。當添加抗PD-L1 mAb時溶解恢復(Iwai Y.等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99: 12293-12297 (2002))。活體內，在小鼠腫瘤模型中阻斷PD1/PD-L1相互作用顯示增加授受性T細胞轉移療法之功效(Strome S. E.等人, Cancer Res. 63: 6501-6505 (2003))。PD-1在癌症治療中之作用之其他證據來自用PD-1基因剔除小鼠進行之實驗。表現PD-L1之骨髓瘤細胞僅在野生型動物中生長(引起腫瘤生長及相關動物死亡)，但不在缺乏PD-1之小鼠中生長(Iwai Y.等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99: 12293-12297 (2002))。

在人類研究中，R. M. Wong等人(Int. Immunol. 19: 1223-1234 (2007))顯示使用全人類抗PD-1抗體進行PD-1阻斷在使用疫苗抗原及來自經疫苗接種個體之細胞的離體刺激分析中強化腫瘤特異性CD8+ T細胞(CTL)之絕對數目。在類似研究中，PD-L1之抗體阻斷引起腫瘤相關抗原特異性細胞毒性T細胞之細胞溶解活性增強及腫瘤特異性T_H細胞之細胞因子產生增加(Blank C.等人, Int. J. Cancer 119: 317-327 (2006))。該等作者顯示當與抗CTLA-4阻斷組合使用時PD-L1阻斷活體外加強腫瘤特異性T細胞反應。

總體而言，PD-1/PD-L1路徑為研發用於癌症治療之抗體療法的非常有效的標靶。抗PD-1抗體亦可適用於慢性病毒感染。在急性病毒感染之後產生之記憶$CD8^+$ T細胞為高度功能性且構成保護性免疫之重要組分。相比之下，慢性感染之特徵通常在於病毒特異性T細胞反應之不同程度之功能減損(耗盡)，且此缺陷為宿主不能消除持久病原體之主要原因。儘管最初在早期感染階段期間產生功能性效應T細胞，其在慢性感染過程期間逐漸失去功能。Barber等人(Barber等人, Nature 439: 682-687 (2006))顯示感染有LCMV之實驗室病毒株之小鼠罹患慢性感染，引起血液及其他組織中之較高病毒含量。此等小鼠最初產生穩定T細胞反應，但最終在T細胞耗盡後受到感染。作者發現慢性感染小鼠中效應T細胞之數目及功能之減小可藉由注射阻斷PD-1與PD-L1之間的相互作用的抗體逆轉。

最近，已顯示PD-1在來自HIV感染個體之T細胞上高度表現且受體表現與T細胞功能減弱及疾病進程相關(Day等人, Nature 443:350-4 (2006).；Trautmann L.等人, Nat. Med. 12: 1198-202 (2006))。在兩個研究中，配位體PD-L1之阻斷顯著增加活體外HIV特異性、產生IFN-γ之細

胞之擴增。

其他研究亦暗示PD-1路徑在控制病毒感染中之重要性。與野生型小鼠相比，PD-1基因剔除小鼠展示腺病毒感染之較好的控制(Iwai等人, J. Exp. Med. 198:39-50 (2003))。此外，HBV特異性T細胞授受性轉移至HBV轉殖基因動物中引發肝炎(Isogawa M.等人, Immunity 23:53-63 (2005))。此等動物之疾病病況由於肝臟中之抗原識別及藉由肝臟細胞之PD-1上調而波動。

此外，LAG3 (CD223)為在經活化T細胞(Huard等人, Immunogenetics 39:213-217, 1994)、NK細胞(Triebel等人, J Exp Med 171:1393-1405, 1990)、B細胞(Kisielow等人, Eur J Immunol 35:2081-2088, 2005)及漿細胞樣樹突狀細胞(Workman等人, J Immunol 182:1885-1891, 2009)上表現之細胞表面分子，其在此等淋巴細胞子組之功能中起重要作用。此外，認為LAG3與其主要配位體II類MHC之間的相互相用在調節樹突狀細胞功能中起作用(Andreae等人, J Immunol 168:3874-3880, 2002)。當前臨床研究證明LAG-3在CD8 T細胞耗盡中之作用(Blackburn等人, Nat Immunol 10:29-37, 2009)。

與慢性病毒感染相同，腫瘤抗原特異性$CD4^+$及$CD8^+$ T細胞展示減弱的效應功能及耗盡的表現型，其特徵在於降低之促炎性細胞因子之產生及對抗原再刺激之低反應性。此係由細胞外源性機制(諸如調節T細胞(Treg))及細胞內源性機制(諸如在耗盡的腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)上上調的抑制性分子)介導。此等抑制性機制表示針對有效抗腫瘤免疫性之難以克服的障礙。

LAG在耐受型TIL上表現，表明其促進腫瘤介導之免疫抑制。抑制

LAG3可引起抗原特異性T細胞之活化增強，由此可獲得治療效益。

【發明內容】

本發明涵蓋結合至PD1 (例如人類PD1)之PD1結合劑(例如免疫球蛋白單一可變域(ISVD)或奈米抗體)，其包含SEQ ID NO: 1或2中所述之胺基酸序列；但其在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及112中之一或多者處包含突變，其中該等位置根據Kabat編號(例如L11V、A14P、A74S、K83R、I89L及視情況，E1D；或L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100a及視情況，E1D)，其包含：包含以下胺基酸序列之CDR1：IHAMG (SEQ ID NO: 3)或GSIASIHAMG (SEQ ID NO: 6)；包含以下胺基酸序列之CDR2：VITXSGGITYYADSVKG (SEQ ID NO: 4；其中X為W或V)或VITXSGGITY (SEQ ID NO: 7；其中X為W或V)；及包含以下胺基酸序列之CDR3：DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F)或DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 8，其中X為W或F)。在本發明之一實施例中，PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)包含在位置11處之選自L或V之胺基酸殘基；在位置89處之選自T、V或L之胺基酸殘基；在位置110處之選自T、K或Q之胺基酸殘基；及/或在位置112處之選自S、K或Q之胺基酸殘基。在本發明之一實施例中，PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)包含一或多種所描述之突變，其為選自由以下組成之群的成員：89T；89L與11V之組合；89L與110K或110Q之組合；89L與112K或112Q之組合；89L與11V及110K或110Q之組合；89L與11V及112K或112Q之組合；11V與110K或110Q之組合；11V與112K或112Q之組合。在本發明之一實施例中，位置11、89、110及112處之胺基酸如本文在表B中闡述之彼

等胺基酸中之任一者。在本發明之一實施例中，PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)包含一或多種在選自由1、14、41、74、83、87及108組成之群的位置處之突變及/或一或多種本身已知的人類化取代(關於其，參考本文中引用之先前技術，諸如WO 08/020079或WO 09/138519)。在本發明之一實施例中，PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個胺基酸之C端延長部分。舉例而言，在本發明之一實施例中，PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)包含根據式-X(n)之C端延長部分，其中X及n如下：(a) n = 1且X = Ala；(b) n = 2且各X = Ala；(c) n = 3且各X = Ala；(d) n = 2且至少一個X = Ala，且其中其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸；(e) n = 3且至少一個X = Ala，且其中其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸；(f) n = 3且至少兩個X = Ala，且其中其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸；(g) n = 1且X = Gly；(h) n = 2且各X = Gly；(i) n = 3且各X = Gly；(j) n = 2且至少一個X = Gly，其中其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸；(k) n = 3且至少一個X = Gly，其中其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸；(l) n = 3且至少兩個X = Gly，其中其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸；(m) n = 2且各X = Ala或Gly；(n) n = 3且各X = Ala或Gly；(o) n = 3且至少一個X = Ala或Gly，其中其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸；或(p) n = 3且至少兩個X = Ala或Gly，其中其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸，例如A、AA、AAA、G、GG、GGG、AG、GA、AAG、AGG、AGA、GGA、GAA或GAG。本發明亦提供包含一或多種在位置11、89、110及112處之突變及與選自由SEQ ID NO: 9-40組成

之群的成員中所述之胺基酸序列具有至少85% (例如85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%或100%)序列一致性(其中對於測定序列一致性程度，不考慮任何可能存在之C端延長部分以及任何CDR)之胺基酸序列的PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)。本發明亦提供多特異性免疫球蛋白，其包含結合至PD1之連接至一或多個分子的PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)，該一或多個分子結合至不為PD1結合劑所結合之抗原決定基的抗原決定基(例如PD1、CTLA4、LAG3、BTLA及/或CD27)，例如包含PD1結合部分及CTLA4結合部分；PD1結合部分及BTLA結合部分；PD1結合部分及LAG3結合部分；或PD1結合部分、LAG3結合部分及BTLA結合部分，其視情況經由一或多個連接子(例如肽連接子)連接。在本發明之一個實施例中，多特異性免疫球蛋白包含第一抗PD1奈米抗體，其連接至一或多個選自由抗CTLA4奈米抗體、抗LAG3奈米抗體、抗BTLA奈米抗體、抗CD27奈米抗體及抗PD1奈米抗體組成之群的結合至與第一抗PD1奈米抗體相同或不同之抗原決定基的分子；例如包含PD1結合部分及CTLA4結合部分；PD1結合部分及BTLA結合部分；PD1結合部分及LAG3結合部分；或PD1結合部分、LAG3結合部分及BTLA結合部分。

本發明包括包含本文中描述，例如選自SEQ ID NO: 9-40之胺基酸序列的多肽、ISVD或奈米抗體。

本發明亦提供本發明之PD1結合劑(例如免疫球蛋白單一可變域(ISVD)或多特異性ISVD，諸如奈米抗體)與另一治療劑之組合。

本發明提供包含PD1結合劑(例如免疫球蛋白單一可變域(ISVD)或多特異性ISVD，諸如奈米抗體)視情況與另一治療劑之組合的注射裝置容

器。

本發明提供編碼PD1結合劑(例如免疫球蛋白單一可變域(ISVD)或多特異性ISVD，諸如奈米抗體)之聚核苷酸；或包含該聚核苷酸之載體或包含該聚核苷酸或載體之宿主細胞。

本發明提供製備PD1結合劑(例如免疫球蛋白單一可變域(ISVD)或多特異性ISVD，諸如奈米抗體)之方法，其包含將編碼免疫球蛋白之聚核苷酸引入至宿主細胞中且在培養基中在有利於自該聚核苷酸表現該免疫球蛋白之條件下培養宿主細胞，且視情況自該宿主細胞及/或該培養基純化免疫球蛋白。藉由此類方法產生之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)為本發明之一部分。

本發明亦提供防止PD1結合至PD-L1及/或PD-L2之方法，其包含使該PD1與PD1結合劑(例如免疫球蛋白單一可變域(ISVD)或多特異性ISVD，諸如奈米抗體)視情況與另一治療劑之組合接觸。

本發明亦提供增強個體體內之免疫反應之方法，其包含向個體投與有效量之本發明PD1結合劑(例如免疫球蛋白單一可變域(ISVD)或多特異性ISVD，諸如奈米抗體)，視情況與另一治療劑之組合。此外，本發明亦提供治療或預防個體體內之癌症(例如轉移性癌症、實體腫瘤、血液癌、白血病、淋巴瘤、骨肉瘤、橫紋肌肉瘤、神經母細胞瘤、腎癌、白血病、腎移行細胞癌、膀胱癌、威爾姆氏癌症(Wilm's cancer)、卵巢癌、胰臟癌、乳癌、前列腺癌、骨癌、肺癌、非小細胞肺癌、胃癌、結腸直腸癌、子宮頸癌、滑膜肉瘤、頭頸癌、鱗狀細胞癌、多發性骨髓瘤、腎細胞癌、視網膜母細胞瘤、肝母細胞瘤、肝細胞癌、黑素瘤、腎臟之桿狀腫瘤、尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、軟骨肉瘤、腦癌、神經膠母細胞瘤、腦膜

瘤、垂體腺瘤、前庭神經鞘瘤、原始神經外胚層瘤、神經管胚細胞瘤、星形細胞瘤、退行性星形細胞瘤、少突神經膠質瘤、室管膜瘤、脈絡叢乳頭狀瘤、真性紅血球增多症、血小板增多症、特發性骨髓纖維化、軟組織肉瘤、甲狀腺癌、子宮內膜癌、類癌或肝癌、乳癌或胃癌)或感染性疾病(細菌感染、病毒感染或真菌感染)之方法，其包含向個體投與有效量之PD1結合劑(例如免疫球蛋白單一可變域(ISVD)或多特異性ISVD，諸如奈米抗體)視情況與另一治療劑之組合。在本發明之一實施例中，亦向個體投與另一治療劑或治療程序與PD1結合劑之組合。

本發明提供結合至PD1之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)，其包含：包含胺基酸序列IHAMG (SEQ ID NO: 3)或GSIASIHAMG (SEQ ID NO: 6)之CDR1；包含胺基酸序列VITXSGGITYYADSVKG (SEQ ID NO: 4；其中X為W或V)或VITXSGGITY (SEQ ID NO: 7；其中X為W或V)之CDR2；及包含胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F)之CDR3，相對於SEQ ID NO: 1或2其包含一或多種選自E1D、L11V、A14P、W52aV、N73(Q、P或S)、A74S、K83R、I89L、W100aF之突變。在本發明之一實施例中，突變為E1D、L11V、A14P、K83R及I89L；或L11V、A14P、K83R及I89L。在本發明之一實施例中，突變為E1D、L11V、A14P、W52aV、N73(Q、P或S)、A74S、K83R、I89L、W100aF或L11V、A14P、W52aV、N73(Q、P或S)、A74S、K83R、I89L、W100aF。在本發明之一實施例中，PD1結合劑包含以下胺基酸序列：DVQLVESGGG VVQPGGSLRL SCAASGSIAS IHAMGWFRQA PGKEREFVAV ITWSGGITYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVY LQMNSLRPED TALYYCAGDK HQSSWYDYWG QGTLVTVSS (SEQ

ID NO: 57)。

本發明亦提供結合至LAG3之LAG3結合劑，其包含：包含胺基酸序列GRTFSDYVMG (SEQ ID NO: 65)之CDR1；包含胺基酸序列AISESGGRTH (SEQ ID NO: 66)之CDR2；及包含胺基酸序列TLLWWTSEYAPIKANDYDY (SEQ ID NO: 67)之CDR3，例如包含以下胺基酸序列：EVQLVE SGGGVVQPGG SLRLSCAASG RTFSDYVMGW FRQAPGKERE FVAAISESGG RTHYADSVKG RFTISRDNSK NTLYLQMNSL RPEDTALYYC ATTLLWWTSE YAPIKANDYD YWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO: 64)。

PD1及LAG3結合劑可在結合至PD1及LAG3之單個分子(諸如PD1/LAG3結合劑，其為本發明之一部分)中，其包含：包含以下之PD1結合劑：包含胺基酸序列IHAMG (SEQ ID NO: 3)或GSIASIHAMG (SEQ ID NO: 6)之CDR1；包含胺基酸序列VITXSGGITYYADSVKG (SEQ ID NO: 4；其中X為W或V)或VITXSGGITY (SEQ ID NO: 7；其中X為W或V)之CDR2；及包含胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F)之CDR3；及包含以下之LAG3結合劑：包含胺基酸序列GRTFSDYVMG (SEQ ID NO: 65)之CDR1；包含胺基酸序列AISESGGRTH (SEQ ID NO: 66)之CDR2；及包含胺基酸序列TLLWWTSEYAPIKANDYDY (SEQ ID NO: 67)之CDR3；及視情況，半衰期延長劑，例如其中PD1結合劑包含以下胺基酸序列：

DVQLVESGGG VVQPGGSLRL SCAASGSIAS IHAMGWFRQA PGKEREFVAV ITWSGGITYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTVY LQMNSLRPED TALYYCAGDK HQSSWYDYWG QGTLVTVSS；及

(SEQ ID NO: 57)；及LAG3結合劑包含以下胺基酸序列：

EVQLVE SGGGVVQPGG SLRLSCAASG RTFSDYVMGW FRQAPGKERE FVAAISESGG RTHYADSVKG RFTISRDNSK NTLYLQMNSL RPEDTALYYC ATTLLWWTSE YAPIKANDYD YWGQGTLVTV SS

(SEQ ID NO: 64)；及視情況，半衰期延長劑。舉例而言，在本發明之一實施例中，PD1/LAG3結合劑例如以所顯示之順序包含以下部分：

- PD1結合劑102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)或1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P或N73Q或N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)；
- 肽連接子，諸如9GS、20GS或35 GS (例如GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 70))；
- LAG3結合劑11B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)；
- 肽連接子，諸如9GS、20GS或35 GS (例如GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 70))；
- 半衰期延長劑，諸如ALB11002；及視情況
- C端延長部分，諸如丙胺酸；

或

- PD1結合劑102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)或1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P或N73Q或N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)；
- 肽連接子，諸如9GS、20GS或35 GS (例如GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 70))；
- PD1結合劑102C12 (L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)或1PD102C12 (L11V、A14P、W52aV、N73P或N73Q或N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)；
- 肽連接子，諸如9GS、20GS或35 GS (例如

GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 70))；

● LAG3結合劑11B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)；

● 肽連接子，諸如9GS、20GS或35 GS (例如GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 70))；

● LAG3結合劑11B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)；

● 肽連接子，諸如9GS、20GS或35 GS (例如GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 70))；

● 半衰期延長劑，諸如ALB11002；及視情況

● C端延長部分，諸如丙胺酸。

在本發明之一實施例中，半衰期延長劑為人類血清白蛋白(HSA)結合劑，諸如ALB11002。在本發明之一實施例中，HSA結合劑包含：包含胺基酸序列GFTFSSFGMS (SEQ ID NO: 60)之CDR1；包含胺基酸序列SISGSGSDTL (SEQ ID NO: 61)之CDR2；及包含胺基酸序列GGSLSR (SEQ ID NO: 62)之CDR3，例如包含胺基酸序列EVQLVESGGG VVQPGNSLRL SCAASGFTFS SFGMSWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTI SRDNAKTTLY LQMNSLRPED TALYYCTIGG SLSRSSQGTL VTVSSA (SEQ ID NO: 59)。此類半衰期延長劑自身為本發明之一部分。

在本發明之一實施例中，PD1結合劑、LAG3結合劑、HSA結合劑及/或PD1/LAG3結合劑在注射裝置或容器中，視情況與另一治療劑組合。此類裝置或容器為本發明之一部分。

本發明亦提供編碼本文所述之結合劑中之任一者的聚核苷酸以及任何包含該聚核苷酸之載體(例如質體)以及任何包含該聚核苷酸或載體(例如異位或整合至一或多個宿主細胞染色體中)之宿主細胞(例如CHO或真菌細胞，諸如畢赤酵母(*Pichia*)，例如甲醇酵母(*P. pastoris*))。

本發明亦提供製備本文所述之結合劑中之任一者的方法，其包含將編碼結合劑之聚核苷酸引入至宿主細胞(例如CHO或真菌細胞，諸如畢赤酵母，例如甲醇酵母)中且在培養基中在有利於自該聚核苷酸表現該結合劑之條件下培養宿主細胞，及視情況自該宿主細胞及/或該培養基純化結合劑。視情況，將載體或聚核苷酸整合至一或多個宿主細胞染色體中。任何藉由此類方法產生之結合劑亦為本發明之一部分。

本發明亦提供防止PD1結合至PD-L1及/或PD-L2或抑制任何PD1活性(例如如本文所論述)之方法，其包含使該PD1與本發明之PD1結合劑(例如PD1/LAG3結合劑)視情況與另一治療劑之組合接觸。本發明亦提供防止LAG3結合至II類MHC或抑制任何PD1活性(例如如本文所論述)之方法，其包含使該LAG3與本發明之LAG3結合劑(例如PD1/LAG3結合劑)視情況與另一治療劑之組合接觸。本發明亦提供增強個體(例如人類)體內之免疫反應之方法，其包含向個體投與有效量之本發明結合劑(例如PD1/LAG3結合劑)視情況與另一治療劑之組合。本發明亦提供治療或預防個體(例如人類)體內之癌症(例如轉移性癌症、實體腫瘤或血液癌)或感染性疾病(例如細菌感染、病毒感染或真菌感染)之方法，其包含向個體投與有效量之本發明結合劑(例如PD1/LAG3結合劑)視情況與另一治療劑之組合。當向個體投與時，本發明之PD1及/或LAG3結合劑(例如PD1/LAG3結合劑)視情況與另一治療劑或治療程序(例如外科腫瘤切除術)組合投與。

【圖式簡單說明】

圖1.列舉一些將在本文中特定提及之胺基酸位置及其根據一些替代編號系統(諸如Aho及IMGT)之編號的表。

圖2 (1-5). PD1結合劑序列。

圖3(A -B). 102C12序列與SEQ ID NO: 9-40之序列之比對(參見WO 2008/071447，SEQ ID NO: 348)。

圖4.中國倉鼠卵巢細胞(CHO N-連接聚糖)及經工程改造之酵母細胞(經工程改造之酵母N-連接聚糖)中產生之單株抗體之主要N-連接聚糖：正方形：N-乙醯基葡糖胺(GlcNac)；圓形：甘露糖(Man)；菱形：半乳糖(Gal)；三角形：海藻糖(Fuc)。

圖5. F023700275 (1PD102C12 (A14P、A74S、K83R)-FLAG3-HIS6)或F023700706 (1PD102C12 (L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-FLAG3-HIS6)對表現人類PD1之CHO-K1之單價結合。

圖6. F0237611B09-FLAG-His6或F023700842 (F0237611B09(L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-FLAG3-HIS6對 表現人類LAG3之3A9.hLAG-3細胞之單價LAG-3結合。

圖7 (A-B). (A) F023700931、F023700924、F023700933或F023700962對表現人類PD-1之CHO之結合或(B) F023700931 (畢赤酵母或CHO表 現)、F023700924 (畢 赤 酵 母 或CHO表 現)、F023700933或F023700962對表現恆河猴PD-1之3A9之結合。

圖8 (A-B). (A) F023700931、F023700924或F023700962對表現人類LAG3之CHO之 結 合 或(B) F023700931 (畢 赤 酵 母 或CHO表 現)、F023700924 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700933或F023700962對表現

恆河猴LAG3之3A9之結合。

圖9 (A-H).(A)藉由F023700275或F023700706阻斷人類PD-L1-Fc與表現人類PD1之CHO-K1之間的結合；(B)藉由F023700275或F023700706阻斷人類PD-L2-Fc與表現人類PD1之CHO-K1之間的結合；(C)藉由F023700931 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700924 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700933或F023700962阻斷人類PD-L1-Fc與表現人類PD1之CHO-K1之間的結合；(D)藉由F023700931 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700924 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700933或F023700962阻斷人類PD-L2-Fc與表現人類PD1之CHO-K1之間的結合；(E)藉由F023700931、F023700924、F023700933或F023700962阻斷人類PD-L1-Fc與表現人類PD1之CHO-K1之間的結合；(F)藉由F023700931、F023700924、F023700933或F023700962阻斷人類PD-L2-Fc與表現人類PD1之CHO-K1之間的結合；(G)藉由F023700929 (1PD102C12 (L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-HIS6)、F023701190 (1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、A74S、K83R、I89L、W100aF)-HIS6)、F023701192 (1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-HIS6或F023701193 (1PD102C12(E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-HIS6)阻斷人類PD-L1-Fc與表現人類PD1之CHO-K1之間的結合；(H)藉由F023700929 (1PD102C12 (L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-HIS6)、F023701190 (1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、A74S、K83R、I89L、W100aF)-HIS6)、F023701192 (1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-HIS6

或F023701193 (1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-HIS6)阻斷人類PD-L2-Fc與表現人類PD1之CHO-K1之間的結合。

圖10 (A-C).藉由(A) F0237611B09-FLAG3-HIS6、F023700842：F0237611B09(L11V, A14P, R41P, N43K, A62S, A74S, K83R, V89L)-FLAG3-HIS6或人類LAG3-Fc；(B) F023700931 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700924 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700933或F023700962、人類LAG3-Fc； 或(C)F023700924、F023700931或F023700962或人類LAG3-Fc阻斷人類LAG3-Fc與Daudi細胞之結合。

圖11 (A-B).用(A) F023700931、F023701016、F023701017、對照奈米抗體、F023700933或F023700962； 或(B)F023700924、F023700969、F023700970、對照奈米抗體、F023700933或F023700962進行之近接分析(β-半乳糖苷酶片段互補分析系統)。

圖12 (A-E).在30 μM HSA存在下藉由(A) F023700706：1PD102C12 (L11V, A14P, A74S, K83R, I89L)-FLAG3-HIS6或對照奈米抗體；(B) F023700931 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700924 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700933、F023700962或對照奈米抗體；(C) F023700924、F023700969、F023700970或對照奈米抗體；(D) F023700931、F023701016、F023701017或對照奈米抗體；或(E) F023700706：1PD102C12 (L11V, A14P, A74S, K83R, I89L)-FLAG3-HIS6、F023701192 (1PD102C12(E1D、L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-HIS6或F023701193(1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-HIS6活化Jurkat T.hPD-1.IL2luc細胞(可操作地連接於IL2啟動子之螢光素酶之表現)。

圖13 (A-R).來自供體(A) 91、(B) 985、(C) 907、(D) 91、(E) 985、(F) 907、(G) 91 (有10 nM SEB)、(H) 985 (有10 nM SEB)、(I)

907 (有10 nM SEB)、(J) 91 (有25 nM SEB)、(K) 985 (有25 nM SEB)、(L) 907 (有25 nM SEB)之人類周邊血液單核細胞用F023700931 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700924 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700933、F023700962或對照奈米抗體之活化(IL2產生)；或來自(M) 91、(N)985、(O) 907之人類周邊血液單核細胞用F023700931、F023700924或對照奈米抗體之活化；或來自(P) 91、(Q) 985或(R) 907之人類周邊血液單核細胞用F023700924、F023700969、F023700970之活化。

圖14 (A-F).對來自不同供體之CD4 T細胞及樹突狀細胞之混合淋巴細胞分析，其測定(A-C)在不同濃度之奈米抗體F023700931 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700924 (畢赤酵母或CHO表現)或F023700933或對照抗體下之干擾素-γ產生；(D-F)在不同濃度之奈米抗體F023700924、F023700969、F023700970、F023700931、F023701016、或F023701017或對照奈米抗體下之干擾素-γ產生。

圖15 (A-D).在HSA存在下及在(A) F023700656 (11B09 (E1D))、F023700842或對照IgG4；(B) F023700931 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700924 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700933或F023700962或對照奈米抗體；(C) F023700924、F023700969、F023700970或對照奈米抗體；(D) F023700931、F023701016或F023701017或對照奈米抗體存在下對表現人類LAG3之3A9 T細胞之活化分析。

圖16 (A-B).在(A) F023700931 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700924 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700933或F023700862 [若此為F023700892]或對照奈米抗體或(B) F023700924、F023700969、F023700970、F023700931、F023701016、F023701017、F023700933或

F023700962或對照奈米抗體存在下對表現人類LAG3及人類PD1之Jurkat T細胞及Raji抗原呈遞細胞之活化

圖17 (A-C).在表現人類PDL1之JY細胞存在下在不同濃度之(A) F023700931 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700924 (畢赤酵母或CHO表現)、F023700933或F023700962或對照奈米抗體；(B) F023700924、F023700969、F023700970、F023700933或F023700962或對照奈米抗體；或(C) F023700931、F023701016、F023701017、F023700933或F023700962或對照奈米抗體存在下之人類T細胞純系活化(干擾素-γ產生)。

圖18 (A-P).本發明之序列。

圖19 (A-I).在(A) 125秒及(B) 360秒時，健康人類個體血清之血清預抗體對F023700924及F023700931及對照奈米抗體T013700112之反應性；在(C) 125秒或(D) 360秒時癌症患者血清之反應性；或罹患(E)黑素瘤、(F)非小細胞肺癌(NSCLC)、(G)頭頸癌、(H)胃癌或(I)結腸直腸癌之患者血清之反應性。

【實施方式】

本發明提供包含突變之ISVD，該等突變阻斷ISVD內預先存在之抗體(預抗體)對新抗原決定基之反應性。新抗原決定基為蛋白質內當蛋白質經突變(例如截斷)或其摺疊改變時顯露之抗原決定基。預先存在之抗體為在接受ISVD之前患者體內存在之抗體。本發明之ISVD部分基於駱馬抗體，其C端恆定域已經移除；因此，將所得VHH之C端中之新抗原決定基曝露於預抗體結合。已發現殘基11及89之突變(例如L11V及I89L或V89L)之組合引起預抗體結合之出人意料的缺乏。殘基112中之突變亦已顯示顯

著減少預抗體結合。Buyse及Boutton (WO2015/173325)包括顯示L11V及V89L突變之組合與僅L11V突變或僅V89L突變相比在減少預抗體結合中提供顯著改良之資料。舉例而言，Buyse及Boutton第97頁之表H顯示僅具有V89L突變之ISVD (有或無C端延長部分)及具有V89L突變與L11V突變之組合的相同ISVD (同樣，有或無C端延長部分)之比較資料。此外，儘管在兩個單獨實驗中產生，與僅L11V突變(在相同ISVD中)之在表B中給出之資料相比，L11V/V89L組合之在表H中顯示之資料顯示藉由L11V/V89L組合獲得之預抗體結合減少大於僅L11V突變。因為駱馬抗體骨架結構已知為極高度保守，對於任何ISVD，位置11及89處之突變之效果極可能存在。實際上，在圖19中，在顯示為展示健康個體及罹患癌症之個體中極低水準之預抗體結合的本發明結合劑F023700924及F023700931之情況下展現效果。

在本申請案中，免疫球蛋白重鏈可變域中之胺基酸殘基/位置將用根據Kabat之編號指示。為方便起見，圖1給出表，其列舉一些將在本文中特定提及之胺基酸位置及其根據一些替代編號系統(諸如Aho及IMGT)之編號。

關於CDR，如此項技術中熟知，存在多種定義及描述VH或VHH片段之CDR的慣例，諸如Kabat定義(其係基於序列變異性且最常用)及Chothia定義(其係基於結構環區之位置)。參考例如網站www.bioinf.org.uk/abs/。出於本說明書及申請專利範圍的目的，即使亦可提及根據Kabat之CDR，CDR最佳基於Abm定義(其係基於Oxford Molecular之AbM抗體建模軟體)來定義，因為此視為Kabat與Chotia定義之間的最佳折衷。同樣參考網站www.bioinf.org.uk/abs/。

術語「免疫球蛋白單一可變域」(亦稱為「ISV」或「ISVD」)大體上用以指可在不與另一可變域相互作用的情況下(例如在無如習知4-鏈單株抗體之VH及VL域之間所需要的VH/VL相互作用的情況下)形成功能性抗原結合位點之免疫球蛋白可變域(其可為重鏈或輕鏈域，包括VH、VHH或VL域)。ISVD之實例將為熟習此項技術者所瞭解且例如包括奈米抗體(包括VHH、人類化VHH及/或駱駝化VH，諸如駱駝化人類VH)、IgNAR、域、作為VH域或衍生自VH域之(單一域)抗體(諸如dAbs™)及作為VL域或衍生自VL域之(單一域)抗體(諸如dAbs™)。基於及/或衍生自重鏈可變域(諸如VH或VHH域)之ISVD大體上較佳。最佳，ISVD將為奈米抗體。

術語「奈米抗體」一般如WO 08/020079或WO 09/138519中所定義，且因此在一特定態樣中，一般表示VHH、人類化VHH或駱駝化VH(諸如駱駝化人類VH)或一般經序列優化之VHH (諸如針對化學穩定性及/或溶解性、與已知人類構架區之最大重疊及最大表現經優化)。應注意術語奈米抗體(Nanobody/Nanobodies)為Ablynx N.V.之註冊商標且因此亦可稱為Nanobody®及/或Nanobodies®。

多特異性結合劑(例如多特異性ISVD)為包含例如以下之分子：第一PD1或LAG3結合部分(例如ISVD或奈米抗體)及一或多個(例如1、2、3、4、5個)結合至除第一PD1或LAG3結合部分之抗原決定基外之抗原決定基(例如CTLA4、CD27及/或BTLA)之其他結合部分(例如ISVD或奈米抗體)；例如包含PD1或LAG3結合部分及CTLA4結合部分；PD1或LAG3結合部分及BTLA結合部分；一個或兩個PD1結合部分及一個或兩個LAG3結合部分及人類血清白蛋白結合部分；或PD1結合部分、LAG3結合部分

及BTLA結合部分。

結合部分或結合域或結合單元為結合至抗原之分子，諸如ISVD或奈米抗體。結合部分或結合域或結合單元可為包括多於一個部分、域或單元及/或包含另一功能元件(諸如半衰期延長劑(HLE)、靶向單元及/或小分子(諸如聚乙二醇(PEG))之較大分子(諸如多價或多特異性免疫球蛋白)之一部分。

單價PD1或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)為包含單一抗原結合域之分子。二價PD1或LAG3結合劑包含兩個抗原結合域(例如包括雙特異性抗體之習知抗體)。多價PD1或LAG3結合劑包含多於一個抗原結合域。

單特異性PD1或LAG3結合劑結合單一抗原；雙特異性PD1或LAG3結合劑結合至兩種不同抗原且多特異性PD1或LAG3結合劑結合至多於一種抗原。

雙互補位PD1或LAG3結合劑為單特異性但結合至同一抗原之兩個不同抗原決定基。多互補位PD1或LAG3結合劑結合同一抗原但結合至抗原中之多於一個抗原決定基。

如本文關於PD1及/或LAG3結合劑或ISVD、奈米抗體、基於ISVD之生物製劑、基於奈米抗體之生物製劑或本文中所提及之任何其他多肽所用之術語「半衰期」可一般如WO 08/020079之第57頁之段落o)中所描述及如其中所提及來定義，係指多肽之血清濃度活體內例如由於藉由天然機制，多肽之降解及/或多肽之清除或螯合作用而減小50%所花費的時間。本發明之多肽之活體內半衰期可以本身已知之任何方式，諸如藉由藥物動力學分析測定。適合之技術將為熟習此項技術者所瞭解，且可例如大體上

如WO 08/020079之第57頁之段落o)中所描述。如亦在WO 08/020079之第57頁之段落o)中提及，半衰期可使用諸如t1/2-α、t1/2-β及曲線下面積(AUC)之參數表示。就此而言，應注意如本文所用之術語「半衰期」尤其係指t1/2-β或終半衰期(其中t1/2-α及/或AUC或兩者可不考慮)。參考例如以下實驗部分，以及標準手冊，諸如Kenneth, A等人: Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists及Peters等人, Pharmacokinete analysis: A Practical Approach (1996)。亦參考「Pharmacokinetics」, M Gibaldi及D Perron, 由Marcel Dekker出版, 第2修訂版(1982)。類似地，術語「半衰期增加」或「增加之半衰期」亦如WO 08/020079之第57頁之段落o)中所定義且尤其係指t1/2-β增加，伴隨或不伴隨t1/2-α及/或AUC或兩者增加。

當術語在本文中未特定定義時，其具有其在此項技術中之常用含義，其將為熟習此項技術者所瞭解。參考例如標準手冊，諸如Sambrook等人, 「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」 (第2版), 第1-3卷, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)；F. Ausubel等人, 編, 「Current protocols in molecular biology」, Green Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)；Lewin, 「Genes II」, John Wiley & Sons, New York, N.Y., (1985)；Old等人, 「Principles of Gene Manipulation: An Introduction to Genetic Engineering」, 第2版, University of California Press, Berkeley, CA (1981)；Roitt等人, 「Immunology」 (第6版), Mosby/Elsevier, Edinburgh (2001)；Roitt等人, Roitt's Essential Immunology, 第10版 Blackwell Publishing, UK (2001)；及Janeway等人, 「Immunobiology」 (第6版), Garland Science

Publishing/Churchill Livingstone, New York (2005)，以及本文中引用之通用先前技術。

關於含有一或多種奈米抗體之多價及多特異性多肽及其製備之通用描述，亦參考Conrath等人, J. Biol. Chem., 第276卷, 10. 7346-7350, 2001；Muyldermans, Reviews in Molecular Biotechnology 74 (2001), 277-302；以及例如WO 96/34103、WO 99/23221、WO 04/041862、WO 2006/122786、WO 2008/020079、WO 2008/142164或WO 2009/068627。

「經分離」PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)、多肽、聚核苷酸及載體至少部分不含來自產生其之細胞或細胞培養物的其他生物分子。此類生物分子包括核酸、蛋白質、脂質、碳水化合物或其他物質，諸如細胞碎片及生長培養基。「經分離」PD1及/或LAG3結合劑可進一步至少部分不含表現系統組分，諸如來自宿主細胞或其生長培養基之生物分子。一般而言，術語「經分離」不意欲指此類生物分子完全不存在或水、緩衝液或鹽不存在，或包括抗體或片段之醫藥調配物之組分。

片語「控制序列」係指在特定宿主生物體中表現可操作地連接之編碼序列所需之聚核苷酸。適合於原核生物之控制序列例如包括啟動子、視情況選用之操縱序列及核糖體結合位點。已知真核細胞使用啟動子、聚腺苷酸化信號及強化子。

當核酸或聚核苷酸置於與另一聚核苷酸之功能關係中時，其為「可操作地連接」。舉例而言，若前序列或分泌性前導序列之DNA表現為參與多肽分泌之前蛋白，則其與該多肽之DNA可操作地連接；若啟動子或強化子影響編碼序列之轉錄，則其與該序列可操作地連接；或若核糖體結

合位點經定位以便有助於轉譯，則其與編碼序列可操作地連接。一般而言，但未必總是，「可操作地連接」意謂連接之DNA序列相鄰，且在分泌前導序列之情況下，相鄰且在閱讀相中。然而，強化子不必為相鄰的。連接係藉由在適宜限制性位點處接合來實現。若此類位點不存在，則根據慣例使用合成寡核苷酸接附子或連接子。本發明包括編碼PD1及/或LAG3結合劑之聚核苷酸，其視情況可操作地連接於一或多個控制序列(諸如啟動子)。

「PD1及/或LAG3」結合劑係指結合至以下之結合劑

- PD1；或

- LAG3；或

- PD1及LAG3兩者(亦即「PD1/LAG3結合劑」)

及視情況，另一抗原決定基，諸如人類血清白蛋白。在本發明之一實施例中，PD1/LAG結合劑為

● 102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-35GS-11B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-35GS-ALB11002-A；或

● 102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-35GS-102C12 (L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-35GS-11B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-35GS-11B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-35GS-ALB11002-A；

如本文所述。

參見本文中之F023700924或F023700931。PD1/LAG3結合劑結合至

PD1及LAG3。

本發明之範疇包括圖18中闡述之任何PD1結合劑(或任何包含此類PD1結合劑之CDR1、CDR2及CDR3的PD1結合劑)、圖18中闡述之任何LAG3結合劑(或任何包含此類LAG3結合劑之CDR1、CDR2及CDR3的LAG3結合劑)或圖18中闡述之任何PD1/LAG3結合劑或任何包含其PD1結合部分及/或LAG3結合部分之CDR1、CDR2及CDR3的PD1/LAG3結合劑。在本發明之一實施例中，圖18中闡述之結合劑不包括其中之C端延長劑(例如A)、FLAG及/或HIS標籤(例如HHHHHH (胺基酸29-34或SEQ ID NO: 68)；AAAHHHHHH (SEQ ID NO: 69)； 或AAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH (SEQ ID NO: 68))。在一實施例中，任何此類結合劑或CDR可為圖18中闡述者之變異體，例如包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10種點突變(例如保守性取代或缺失)。

一般而言，基本抗體結構單元包含四聚體。各四聚體包括兩對相同之多肽鏈，各對具有一個「輕」鏈(約25 kDa)及一個「重」鏈(約50-70 kDa)。各鏈之胺基端部分包括主要負責抗原識別之具有約100至110個或更多個胺基酸之可變區。重鏈之羧基端部分可界定主要負責效應功能之恆定區。通常，人類輕鏈分類為κ及λ輕鏈。此外，人類重鏈通常分類為μ、δ、γ、α或ε，且將抗體之同型分別定義為IgM、IgD、IgG、IgA及IgE。在輕鏈及重鏈內，可變區及恆定區由具有約12個或更多個胺基酸之「J」區接合，其中重鏈亦包括具有多於約10個胺基酸之「D」區。通常參見**Fundamental Immunology** 第7章 (Paul, W.編, 第2版 Raven Press, N.Y. (1989)。

抗原結合片段之實例包括(但不限於) Fab、Fab'、$F(ab')_2$及Fv片段，

及單鏈Fv分子。

出於以下目的進行抗PD1結合劑102C12之變異體中之突變：

E1D：防止在構築體E1之第一胺基酸中形成焦麩胺酸

L11V：減少預抗體結合

A14P：人類化

W52aV：防止W52a氧化

N73P：防止N73去醯胺

N73Q：防止N73去醯胺

N73S：防止N73去醯胺

A74S：人類化

K83R：人類化

I89L：減少預抗體結合

W100aF：防止W100a氧化

出於以下目的進行抗LAG3結合劑11B09之變異體中之突變：

L11V：減少預抗體結合

A14P：人類化

R41P：人類化

N43K：人類化

A62S：人類化

A74S：人類化

K83R：人類化

V89L：減少預抗體結合

在本發明之一實施例中，PD1為人類PD1。在本發明之一實施例中，

人類PD1包含如下胺基酸序列：

MQIPQAPWPV VWAVLQLGWR PGWFLDSPDR PWNPPTFSPA LLVVTEGDNA
TFTCSFSNTS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCRFRVTQL
PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAISLAP KAQIKESLRA ELRVTERRAE
VPTAHPSPSP RPAGQFQTLV VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI
GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT
IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL
(SEQ ID NO: 137)

在本發明之一實施例中，LAG3為人類LAG3。在本發明之一實施例中，人類LAG3包含如下胺基酸序列：

MWEAQFLGLL FLQPLWVAPV KPLQPGAEVP VVWAQEGAPA QLPCSPTIPL QDLSLLRRAG
VTWQHQPDSG PPAAAPGHPL APGPHPAAPS SWGPRPRRYT VLSVGPGGLR SGRLPLQPRV
QLDERGRQRG DFSLWLRPAR RADAGEYRAA VHLRDRALSC RLRLRLGQAS MTASPPGSLR
ASDWVILNCS FSRPDRPASV HWFRNRGQGR VPVRESPHHH LAESFLFLPQ VSPMDSGPWG
CILTYRDGFN VSIMYNLTVL GLEPPTPLTV YAGAGSRVGL PCRLPAGVGT RSFLTAKWTP
PGGGPDLLVT GDNGDFTLRL EDVSQAQAGT YTCHIHLQEQ QLNATVTLAI ITVTPKSFGS
PGSLGKLLCE VTPVSGQERF VWSSLDTPSQ RSFSGPWLEA QEAQLLSQPW QCQLYQGERL
LGAAVYFTEL SSPGAQRSGR APGALPAGHL LLFLILGVLS LLLLVTGAFG FHLWRRQWRP
RRFSALEQGI HPPQAQSKIE ELEQEPEPEP EPEPEPEPEP EPEQL
(SEQ ID NO: 138)

PD1結合劑

本發明提供改良之PD1結合劑，例如，改良之抗PD1 ISVD且更特定言之改良之抗PD1奈米抗體。由本發明提供之改良之PD1結合劑在本文中亦稱為「本發明之PD1結合劑」或「PD1結合劑」。

當在本文論述時，本發明之單價PD1結合劑將包括SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列，但在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110或112處(或在本文關於本發明之PD1結合劑所述之突變位置中之任一者處)包括一或多種突變。

當在本文論述時，例如包括LAG3之多特異性PD1結合劑將包括PD1結合部分，其包括以下在表A-1及A-2中(例如在102C12或參考A中)闡述

之PD1結合劑中的CDR1、CDR2及CDR3。視情況，多特異性結合劑之PD1結合部分包含SEQ ID NO: 1或3之胺基酸但在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110或112處包括一或多種突變。

如所論述，本發明之「PD1結合劑」為本文中描述之結合至PD1 (例如ISVD，諸如奈米抗體)之分子以及包括此類分子之融合至另一結合劑的任何多價或多特異性結合劑(例如PD1/LAG3結合劑)。舉例而言，PD1結合劑可對於PD1具有選擇性或其可另外包括結合至以下之結合劑：LAG3、CD27、CTLA4、HSA、BTLA、TIM3、ICOS、B7-H3、B7-H4、CD137、GITR、PD-L1、PD-L2、ILT1、ILT2 CEACAM1、CEACAM5、TIM3、TIGIT、VISTA、ILT3、ILT4、ILT5、ILT6、ILT7、ILT8、CD40、OX40、CD137、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、NKG2A、NKG2C、NKG2E、IL-10、IL-17、TSLP。若個別PD1結合劑為較大分子(例如多價分子)之一部分，其中PD1結合部分融合至另一結合部分(諸如F023700924或F023700931)，則其可稱為PD1結合部分。

更特定言之，本發明旨在提供作為102C12及參考A之變異體且具有與可存在於一些健康人類個體以及患者之血清中之干擾因子(一般稱為「預先存在抗體」)之減小之結合的改良之PD1結合劑。參見WO 12/175741、WO 2013/024059以及例如Holland等人 (J. Clin. Immunol. 2013, 33(7):1192-203)以及PCT申請案PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)。

如本文中所進一步描述，本發明之PD1結合劑較佳具有與102C12或

參考A中存在之組合相同的CDR組合(亦即CDR1、CDR2及CDR3)。WO 2008/071447描述可結合至PD1之奈米抗體及其用途。WO 2008/071447之SEQ ID NO: 348揭示PD-1特異性奈米抗體，稱作102C12，其序列在本文中以SEQ ID NO: 1給出。此外，102C12之具有人類化Q108L取代之變異體(在本文中亦稱為「*參考A*」)在本文中用作參考化合物且其序列在本文中以SEQ ID NO: 2給出。此等序列及其CDR亦在下表A-1或A-2中給出。本發明包括在位置108處包括突變(例如Q108L)之PD1結合劑。

表A-1.抗PD1結合劑102C12.

SEQ ID NO	**描述**	**序列**
1	WO 2008/071447，SEQ ID NO: 348 (102C12) (可在本文中稱為「1PD102C12」)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**V ITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAIYYCAG**DK HQSSWYDY**WGQGTQVTVSS
2	參考A	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**V ITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAIYYCAG**DK HQSSWYDY**WGQGTLVTVSS

可單獨或作為較大分子(例如PD1/LAG3結合劑)中之部分採用之本發明之抗PD1結合劑(例如102C12、其變異體及融合物)以下在表A-2中概述。

表A-2序列優化之102C12抗PD1結合劑(視情況融合至HSA結合劑)

SO 1PD102C12單體 102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L) 標靶：hPD-1 SEQ ID NO: 57	DVQLVESGGG VVQPGGSLRL SCAAS**GSIAS IHAMG**WFRQA PGKEREFVA**V ITWSGGITY**Y ADSVKGRFTI SRDNSKNTVY LQMNSLRPED TALYYCAG**DK HQSSWYDY**WG QGTLVTVSS	
SEQ ID NO: 3	PD1結合劑CDR1 (Kabat)	IHAMG
SEQ ID NO: 4	PD1結合劑CDR2 (Kabat)	VITXSGGITYYADSVKG 其中X為W或V (例如VITwSGGITYYADSVKG或VITvSGGITYYADSVKG)
SEQ ID NO: 5	PD1結合劑CDR3 (Kabat/Abm)	DKHQSSXYDY 其中X為W或F

		(例如 DKHQSSwYDY 或 DKHQSSfYDY)
SEQ ID NO: 6	PD1結合劑CDR1 (Abm)	**GSIASIHAMG**
SEQ ID NO: 7	PD1結合劑CDR2 (Abm)	**VITXSGGITY** 其中X為W或V (例如 VITwSGGITY 或 VITvSGGITY)
SEQ ID NO: 8	PD1結合劑CDR3 (Kabat/Abm)	**DKHQSSXYDY** 其中X為W或F (例如 DKHQSSwYDY 或 DKHQSSfYDY)
名稱：F023700275 描述：1PD102C12 (A14P、A74S、K83R) 標靶：hPD-1 SEQ ID NO: 98	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAIYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTVSS	
SO 1PD102C12單體 名稱：F023700706或F023700929 描述：1PD102C12 (L11V、A14P、A74S、K83R、I89L) 標靶：hPD-1 SEQ ID NO: 99	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTVSS	
單價SO 1PD102C12 + ALB11002 名稱：F023701127 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-35GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1 SEQ ID NO: 101	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA	
二價SO 1PD102C12 + ALB11002	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSS**	

名稱：F023700933 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-35GS-1PD102C12(L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-35GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1 SEQ ID NO: 102	**WYDY**WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
強化之SO 1PD102C12單體 名稱：F023701190 描述：1PD102C12(E1D、L11V、A14P、W52aV、A74S、K83R、I89L、W100aF) 標靶：hPD-1 SEQ ID NO: 103 *視情況，F023701190包含N73X突變，諸如N73S	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTVSS
強化之SO 1PD102C12單體 名稱：F023701192 描述：1PD102C12(E1D、L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF) 標靶：hPD-1 SEQ ID NO: 104	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDQSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTVSS
強化之SO 1PD102C12單體 名稱：F023701193	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDPSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTVSS

描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L,W100aF) 標靶：hPD-1 SEQ ID NO: 105	
F023700641 描述： 1PD102C12(A14P、A74S、K83R)-35GS-1PD102C12(A14P、A74S、K83R)-35GS-ALB11002 標靶：hPD-1 SEQ ID NO: 126	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAIYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAIYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF) SEQ ID NO: 113之胺基酸1-19	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDPSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTVSS
1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF) SEQ ID NO: 117之胺基酸1-19	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDQSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTVSS
1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF) SEQ ID NO: 121之胺基酸1-19	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDSSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTVSS

*CDR加底線及/或粗體

本發明包括如下實施例：其中PD1結合劑包含在PD1結合劑中之上文在表A-1或A-2 (例如SEQ ID NO: 57、98、99、103、104或105)中所述

之CDR中之一個、兩個或三個，相對於表A-1或A-2中闡述之CDR序列其包含0、1、2、3、4或5種胺基酸取代(例如保守性取代)，及/或包含100%、99%、98%、97%、96%或95%序列一致性，其中具有此類CDR之PD1結合劑保留結合至PD1之能力。在本發明之一實施例中，本發明之PD1結合劑之第一胺基酸為E。在本發明之一實施例中，本發明之PD1結合劑之第一胺基酸為D。

本發明包括任何包含SEQ ID NO: 57、98、99、103、104或105之胺基酸序列或包含80%或更多(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)胺基酸序列一致性(亦即比較完全胺基酸序列)之胺基酸序列的PD1結合劑，其中PD1結合劑保留結合至PD1，及視情況HSA之能力。

描述為「102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)」之PD1結合劑係指具有102C12 (SEQ ID NO: 1)或參考A (SEQ ID NO: 2)之序列，但其中序列包含突變E1D、L11V、A14P、A74S、K83R及I89L之結合劑。在本說明書通篇關於數種不同結合劑使用此註解。舉例而言，「11B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)」係指包含11B09 (SEQ ID NO: 64)之胺基酸序列，但其中序列包含突變L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R及V89L之LAG3結合劑。

表A中闡述之PD1結合劑之某些殘基的Kabat殘基編號顯示在以下序列中：

$E_1VQLVESGGGL_{11}V_{12}Q_{13}A_{14}GGSLRLSCAASG_{23}S_{24}I_{25}A_{26}S_{27}HAMGW_{30}F_{31}R_{32}Q_{33}AP_{41}$
$GKERE_{45}F_{47}V_{48}A_{49}VITW_{52a}SGGITYYADSVKGR_{60}F_{62}T_{63}I_{64}S_{65}RDN_{67}A_{68}KNTVYLQM_{73}$
$N_{74}S_{75}L_{76}K_{77}P_{78}EDT_{79}A_{80}I_{81}Y_{82}Y_{83}CAGDKHQSSW_{100a}YDYW_{105}G_{106}Q_{107}G_{108}T_{109}L_{110}V$
$_{111}T_{112}V_{113}S_{114}S_{115}$ (SEQ ID NO: 2)。

102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)之某些殘基之

Kabat殘基編號顯示在以下序列中：

D_1VQLVESGGG **V_{11}**VQ**P_{14}**GGSLRL SCAASGSIAS IHAMGWFRQA PGKEREFVAV ITWSGGITYY ADSVKGRFTI SRDN**S_{74}**KNTVY LQMNSL**R_{83}**PED TA**L_{89}**YYCAGDK HQSSWYDYWG QGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 57)。視情況，殘基1為E。

突變可在本文中提及且由如上所示之其Kabat編號指定。

本發明之一些較佳但非限制性PD1結合劑為102C12 (E1D (視情況)、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)，包含SEQ ID NO: 9-40、57、98、99或101-105中所述之胺基酸序列或列於圖2、圖3或圖18中。SEQ ID NO: 24至40、101或102之PD1結合劑為本發明之與常見C端序列VTVSS (SEQ ID NO: 52，如存在於參考A中)相比，具有C端丙胺酸延長部分，即在ISVD-序列之C端(有時亦稱作「位置114」)處之丙胺酸殘基的PD1結合劑之實例。此C端丙胺酸延長部分可防止所謂的「預先存在抗體」(假設為IgG)與位於ISV之C端區之推定抗原決定基之結合。假設此抗原決定基尤其包括C端序列VTVSS (SEQ ID NO: 52)之表面曝露胺基酸殘基以及位置14處之胺基酸殘基(及在胺基酸序列中緊接著/接近其之胺基酸殘基，諸如位置11、13及15)且亦可包含位置83處之胺基酸殘基(及在胺基酸序列中緊接著/接近其之胺基酸殘基，諸如位置82、82a、82b及84)及/或位置108處之胺基酸殘基(及在胺基酸序列中緊接著/接近其之胺基酸殘基，諸如位置107)。

然而，儘管此類C端丙胺酸(或一般而言C端延長部分)之存在可極大地減少(或在一些情況下，基本上完全防止)可在來自一系列個體(健康個體及患有醫學病狀或疾病之個體)之血清中發現之「預先存在的抗體」之結合，已發現即使當ISV含有此類C端丙胺酸(或更一般而言，此類C端延

長部分)時，來自一些個體之血清(諸如來自患有一些免疫疾病(諸如SLE)之患者的血清)可含有可結合至ISV之C端區(當此類區曝露時)的預先存在的抗體。

因此，本發明之一個特定目標為提供PD1結合劑，該等結合劑為在本文中稱為「參考A」之抗PD1奈米抗體之改良之變異體且具有與所謂「預先存在抗體」，且詳言之PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)中所描述之種類之抗體(亦即甚至在C端延長部分存在下可結合至ISV之曝露C端區的彼等預先存在抗體)之減小之結合。

本發明提供包含作為SEQ ID NO: 1或2之序列之變異體的胺基酸序列的PD1結合劑，與SEQ ID NO: 1或2之序列相比該等胺基酸序列包含以下突變中之一或多者：

- 1D或1E；
- 11V；
- 14P；
- 52aV
- 73Q、73P或73S
- 74S；
- 83R；
- 89T或89L；
- 100aF
- 1D或1E與11V、14P、74S、83R及89L之組合；
- 1D與11V、14P、52aV、73Q、73S或73P、74S、83R、89L及100aF之組合；

- 1E與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L及100aF之組合；

- 89L與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R及100aF及視情況，1D之組合；

- 89L與11V之組合；

- 89L與110K或110Q之組合；

- 89L與112K或112Q之組合；

- 89L與11V、14P、74S、83R及視情況，1D之組合；

- 110K或110Q與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L及100aF及視情況，1D之組合；

- 112K或112Q與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L及100aF及視情況，1D之組合；

- 89L與11V及110K或110Q之組合；

- 89L與11V及112K或112Q之組合；

- 11V與110K或110Q之組合；或

- 11V與112K或112Q之組合。

特定言之，由本發明提供之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)包含SEQ ID NO: 1或2之變異體，其中在本發明之一實施例中：

-位置1處之胺基酸殘基選自E及D；

-位置11處之胺基酸殘基選自L及V；

-位置14處之胺基酸殘基選自A及P；

-位置52a處之胺基酸殘基選自W及V；

-位置73處之胺基酸殘基選自N、S、P及Q；

-位置74處之胺基酸殘基選自A或S；

-位置83處之胺基酸殘基選自K或R；

-位置89處之胺基酸殘基選自T、V、I或L；

-位置100a處之胺基酸殘基選自W及F；

-位置110處之胺基酸殘基選自T、K或Q；及/或

-位置112處之胺基酸殘基選自S、K或Q；

例如，其中PD1結合劑包含以下突變中之一或多者：

(i)位置1為D或E；

(ii)位置11為V；

(iii)位置14為P；

(iv)位置52a為V；

(v)位置73為P、S或Q；

(vi)位置74為S；

(vii)位置83為R；

(viii)位置89為T或L；

(ix)位置100a為F；

例如，包含一組如下突變：

a.位置1為D或E，位置11為V，位置14為P，位置74為S，位置83為R；且位置89為L；

b.位置1為D或E，位置11為V，位置14為P，位置52a為V；位置73為S、P或Q；位置74為S，位置83為R；位置89為L；且位置100a為F；

c.位置89為L且位置11為V；

d.位置89為L且位置110為K或Q；

e.位置89為L且位置112為K或Q；

f.位置1為D或E，位置11為V，位置14為P，位置52a為V；位置73為S、P或Q；位置74為S，位置83為R；位置89為L；位置100a為F且位置110為K或Q；

g.位置1為D或E，位置11為V，位置14為P，位置52a為V；位置73為S、P或Q；位置74為S，位置83為R；位置89為L；位置100a為F且位置112為K或Q；

h.位置89為L且位置11為V且位置110為K或Q；

i.位置89為L且位置11為V且位置112為K或Q；

j.位置11為V且位置110為K或Q；及/或

k.位置11為V且位置112為K或Q；

此係相對於SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列。

在特定實施例中，包含作為SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO:2之變異體的胺基酸序列的本發明PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)亦為本發明之一部分，其中位置89為T或L，或其中1為D或E，11為V，14為P，74為S，83為R且89為L或其中位置11為V且位置89為L (視情況與110K或110Q突變及/或112K或112Q突變適合的組合，且詳言之與110K或110Q突變組合)。本發明包括位置11為V且位置89為L，視情況具有110K或110Q突變之胺基酸序列。

如所提及，本文中描述之由本發明提供之PD1結合劑可結合(且詳言之，可特異性結合)至PD-1。在本發明之一實施例中，其可結合至PD1且抑制PD1與PD-L1及/或PD-L2之間的結合。舉例而言，在本發明之一實施例中，本發明之PD1結合劑結合至PD-1且自PD-1路徑介導之對T細胞介導

免疫反應之抑制釋放T細胞(例如藉由自PD1介導之對增殖及細胞因子產生之抑制釋放T細胞)。

表B列舉可存在於本發明之PD1結合劑中位置11、89、110及112處之胺基酸殘基之一些非限制性的可能組合。

表B. SEQ ID NO: 1或2之PD1結合劑變異體中胺基酸位置11、89、110及112處之突變之可能組合.

	位置					位置			
	11	**89**	**110**	**112**		**11**	**89**	**110**	**112**
組合	L	T	T	S	組合	V	T	T	S
	L	T	T	K		V	T	T	K
	L	T	T	Q		V	T	T	Q
	L	T	K	S		V	T	K	S
	L	T	Q	S		V	T	Q	S
	L	V	T	K		V	V	T	K
	L	V	T	Q		V	V	T	Q
	L	V	K	S		V	V	K	S
	L	V	Q	S		V	V	Q	S
	L	I	T	K		V	I	T	K
	L	I	T	Q		V	I	T	Q
	L	I	K	S		V	I	K	S
	L	I	Q	S		V	I	Q	S
						V	L	T	S
	L	L	T	K		V	L	T	K
	L	L	T	Q		V	L	T	Q
	L	L	K	S		V	L	K	S
	L	L	Q	S		V	L	Q	S

此等位置可與突變(諸如E1D、A14P、A74S及/或K83R (及/或其他者))組合。

由本發明提供之PD1結合劑進一步如本說明書、本文中之實例及圖式中所描述，即其具有如本文所描述之CDR且具有如本文中所揭示之與SEQ ID NO: 1或2之序列的整體序列一致性程度(如本文所定義)及/或可具有與此等參考序列(中之一者)的有限數目之「胺基酸差異」(如本文所描述)。

本發明之包含SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列及一或多種在位置1、

11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變的PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)較佳包括以下CDR (根據Kabat慣例)：

- CDR1 (根據Kabat)，其為胺基酸序列IHAMG (SEQ ID NO: 3)；及

- CDR2 (根據Kabat)，其為胺基酸序列VITXSGGITYYADSVKG (SEQ ID NO: 4；其中X為W或V)；及

- CDR3 (根據Kabat)，其為胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F)；視情況其中CDR1、CDR2及/或CDR3具有1、2、3、4、5、6、7、8、9或10種取代，例如保守性取代。

替代地，當根據Abm慣例給出CDR時，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)較佳包含以下CDR：

- CDR1 (根據Abm)，其為胺基酸序列GSIASIHAMG (SEQ ID NO: 6)；及

- CDR2 (根據Abm)，其為胺基酸序列VITXSGGITY (SEQ ID NO: 7，其中X為W或V)；及

- CDR3 (根據Abm)，其為胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 8，其與SEQ ID NO: 5相同；其中X為W或F)；視情況，其中CDR1、CDR2及/或CDR3具有1、2、3、4、5、6、7、8、9或10種取代，例如保守性取代。

除上文所述之CDR1、CDR2及CDR3以外，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)較佳亦具有：

-當藉由BLAST演算法進行比較時，至少85%，較佳至少90%，更佳至少95% (例如100%)之與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的序列一致性程度(其中對於測定序列一致性程度，不考慮CDR、任何可能存在之C端

延長部分，以及涉及之特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變)，其中演算法之參數經選擇以跨越各別參考序列之整個長度給出各別序列之間的最大匹配(例如預期臨限值：10；字長：3；查詢範圍內之最大匹配：0；BLOSUM 62矩陣；空位罰分：存在11，延長1；條件性組成分數矩陣調節)；及/或

-不超過7種，諸如不超過5種，較佳不超過3種，諸如僅3、2或1種與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的「胺基酸差異」(其中該等胺基酸差異若存在，可存在於構架及/或CDR中但較佳僅存在於構架中且不存在於CDR中；不考慮任何可能存在之C端延長部分且不考慮涉及之特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變)。

以下參考文獻係關於通常用於序列分析之BLAST演算法：BLAST演算法：Altschul等人 (2005) FEBS J. 272(20): 5101-5109；Altschul, S.F.,等人, (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410；Gish, W.,等人, (1993) Nature Genet. 3:266-272；Madden, T.L.,等人, (1996) Meth. Enzymol. 266:131-141；Altschul, S.F.,等人, (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402；Zhang, J.,等人, (1997) Genome Res. 7:649-656；Wootton, J.C.,等人, (1993) Comput. Chem. 17:149-163；Hancock, J.M.等人, (1994) Comput. Appl. Biosci. 10:67-70；比對計分系統：Dayhoff, M.O.,等人,「A model of evolutionary change in proteins.」 Atlas of Protein Sequence and Structure中, (1978) 第5卷, 增刊3. M.O. Dayhoff (編), 第345-352頁中, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC；Schwartz, R.M.,等人,「Matrices for detecting distant relationships.」 Atlas of Protein

Sequence and Structure中, (1978) 第5卷, 增刊3. M.O. Dayhoff (編), 第353-358頁中, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC；Altschul, S.F., (1991) J. Mol. Biol. 219:555-565；States, D.J.,等人, (1991) Methods 3:66-70；Henikoff, S.,等人, (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915-10919；Altschul, S.F., 等人, (1993) J. Mol. Evol. 36:290-300；比對統計學：Karlin, S.,等人, (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268；Karlin, S.,等人, (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877；Dembo, A.,等人, (1994) Ann. Prob. 22:2022-2039；及Altschul, S.F. 「Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments.」 Theoretical and Computational Methods in Genome Research (S. Suhai,編)中, (1997) 第1-14中頁, Plenum, New York。

關於由本發明提供之本發明PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)之各種態樣及較佳態樣，就相對於SEQ ID NO: 1或2之整體序列一致性程度及/或可存在於本發明之此類結合劑中之「胺基酸差異」(亦即與SEQ ID NO: 1或2之序列相比)之數目及種類而論，應注意除非另外說明，否則，當據稱

(i)本發明之胺基酸序列與SEQ ID NO: 1或2之序列之序列一致性程度為至少85%，較佳至少90%，更佳至少95% (其中對於測定序列一致性程度，不考慮CDR、任何可能存在之C端延長部分以及涉及之特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變)時；及/或當據稱

(ii)本發明之胺基酸序列與SEQ ID NO: 1或2之序列之「胺基酸差

異」不超過7種，較佳不超過5種，諸如僅3、2或1種(同樣，不考慮任何可能存在之C端延長部分且不考慮涉及之特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變)時，

則此亦包括除在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變(如涉及之特定態樣所需要)及任何可能存在之C端延長部分外，與SEQ ID NO: 1或2之序列不具有胺基酸差異的序列。

因此，在本發明之一個特定態樣中，本發明之包含SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列，但在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處具有至少一種胺基酸突變的PD1結合劑可具有與SEQ ID NO: 1或2之100%序列一致性(包括其CDR1、CDR2及CDR3，視情況包含W52aV及/或W100aF突變，但不考慮本文所揭示之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變或突變之組合及/或任何可能存在之C端延長部分)及/或可不具有與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸差異(亦即除本文所揭示之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變或突變之組合及任何可能存在之C端延長部分外)。

當存在任何胺基酸差異(亦即除任何C端延長部分及涉及之本發明特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變以外)時，此等胺基酸差異可存在於CDR及/或構架區中，但其較佳僅存在於構架區中(如Abm慣例所定義，即不在如根據Abm慣例所定義之CDR中)，即使得本發明之PD1結合劑具有與SEQ ID NO: 1、2、9-40、57、98、99、101、102、103、104或105中存在之CDR相同的CDR (根據Abm慣例定義)。

此外，當根據本發明之任何態樣之本發明PD1結合劑與SEQ ID NO: 1或2之序列具有一或多種胺基酸差異(除涉及之特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112之突變以外)時，則可能存在之此突變/胺基酸差異(亦即與SEQ ID NO: 1或2之序列相比)之一些特定但非限制性實例為例如「人類化」取代；參考例如WO 09/138519 (或WO 09/138519中引用之先前技術中)及WO 08/020079 (或WO 08/020079中引用之先前技術中)，以及WO 08/020079之表A-3至A-8 (其為顯示可能人類化取代之清單)。

此外，當本發明之PD-1結合劑存在於其所存在之多肽之N端部分及/或形成N端部分時，則其較佳在位置1含有D (亦即與參考A相比之E1D突變)。此類N端PD-1結合劑之較佳但非限制性實例以SEQ ID NO: 24或57給出。因此，在另一態樣中，本發明係關於在N端具有PD-1結合劑(其如本文中進一步描述)之多肽(其如本文中進一步描述)，其中該PD-1結合劑在位置1具有D，且例如為SEQ ID NO: 24、25、57或101-105。

類似地，當本發明之PD-1結合劑以單價形式使用時，其較佳具有如本文所描述之C端延長部分X(n)及D在位置1。此類單價PD-1結合劑之較佳但非限制性實例以SEQ ID NO: 40給出。因此，在另一態樣中，本發明係關於本發明之具有D在位置1及C端延長部分X(n) (其較佳為單一Ala殘基)的單價PD-1結合劑(其如本文中進一步描述)。在一個特定態樣中，該單價PD-1結合劑為SEQ ID NO: 40、101或102。

藉由較佳但非限制性實例，SEQ ID NO: 23、24、39、40及57為本發明之與SEQ ID NO: 1或2具有胺基酸差異(諸如A14P、A74S及/或K83R) (此外，如先前段落中所指示，SEQ ID NO: 24及40及57亦具有

E1D突變)的PD-1結合劑之實例。因此，在一特定態樣中，本發明係關於本發明之PD-1結合劑(亦即具有如本文所描述在位置11、89、110及/或112之突變且亦進一步如本文所描述)，其至少具有視情況E1D突變、A14P突變、A74S突變、K83R突變及/或I89L突變之適合組合，且較佳此等突變中之任兩者之適合組合，諸如所有此等突變。

當本發明之PD1結合劑以單價形式使用時及/或當其存在於其所存在之多肽之C端及/或形成C端時(或當其在此類多肽中另外具有「曝露」C端時，此一般意謂ISVD之C端不與恆定域(諸如CH1域)結合或連接)；(參見WO 12/175741及PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325))，其較佳亦具有式$(X)_n$之C端延長部分，其中n為1至10，較佳1至5，諸如1、2、3、4或5 (且較佳1或2，諸如1)；且各X為(較佳天然存在之)胺基酸殘基，其獨立地選自天然存在之胺基酸殘基(但根據一個較佳態樣，其不包含任何半胱胺酸殘基)，且較佳獨立地選自由丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)或異白胺酸(I)組成之群。

根據此類C端延長部分$X_{(n)}$之一些較佳但非限制性實例，X及n可為如下：

(a) n = 1且X = Ala；

(b) n = 2且各X = Ala；

(c) n = 3且各X = Ala；

(d) n = 2且至少一個X = Ala (其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸，但較佳獨立地選自Val、Leu及/或Ile)；

(e) n = 3且至少一個X = Ala (其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸但較佳獨立地選自Val、Leu及/或Ile)；

(f) n = 3且至少兩個X = Ala (其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸，但較佳獨立地選自Val、Leu及/或Ile)；

(g) n = 1且X = Gly；

(h) n = 2且各X = Gly；

(i) n = 3且各X = Gly；

(j) n = 2且至少一個X = Gly (其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸，但較佳獨立地選自Val、Leu及/或Ile)；

(k) n = 3且至少一個X = Gly (其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸但較佳獨立地選自Val、Leu及/或Ile)；

(l) n = 3且至少兩個X = Gly (其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸，但較佳獨立地選自Val、Leu及/或Ile)；

(m) n = 2且各X = Ala或Gly；

(n) n = 3且各X = Ala或Gly；

(o) n = 3且至少一個X = Ala或Gly (其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸，但較佳獨立地選自Val、Leu及/或Ile)；或

(p) n = 3且至少兩個X = Ala或Gly (其餘胺基酸殘基X獨立地選自任何天然存在之胺基酸，但較佳獨立地選自Val、Leu及/或Ile)；

其中態樣(a)、(b)、(c)、(g)、(h)、(i)、(m)及(n)尤其較佳，其中n = 1或2之態樣較佳且n = 1之態樣尤其較佳。

亦應注意，較佳地，任何存在於本發明之PD1結合劑中之C端延長部分不含有(游離)半胱胺酸殘基(除非該半胱胺酸殘基用於或意欲用於進一步功能化，例如用於聚乙二醇化)。

適用之C端延長部分之一些特定但非限制性實例為以下胺基酸序列：

A、AA、AAA、G、GG、GGG、AG、GA、AAG、AGG、AGA、GGA、GAA或GAG。

當本發明之PD1結合劑含有位置110或112處之突變(視情況與如本文所描述之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89及/或100a處之突變組合)時，在本發明之一實施例中，構架4之C端胺基酸殘基(自位置109開始)可如SEQ ID NO: 1、2、9-40、57、100、101、103、104、105、106或107中所述但其中5個C端殘基可如下經取代：

(i)若不存在C端延長部分：VTVKS (SEQ ID NO: 42)、VTVQS (SEQ ID NO: 43)、VKVSS (SEQ ID NO: 44)或VQVSS (SEQ ID NO: 45)；或

(ii)若存在C端延長部分：VTVKSX$_{(n)}$ (SEQ ID NO: 46)、VTVQSX(n) (SEQ ID NO: 47)、VKVSSX(n) (SEQ ID NO: 48)或VQVSSX$_{(n)}$ (SEQ ID NO: 49)，諸如VTVKSA (SEQ ID NO: 50)、VTVQSA (SEQ ID NO: 51)、VKVSSA (SEQ ID NO: 52)或VQVSSA (SEQ ID NO: 53)。

當本發明之PD1結合劑含有或替代地不含有位置110或112處之突變(但僅含有如本文所描述之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89及/或100a處之突變)時，在本發明之一實施例中，構架4之C端胺基酸殘基(自位置109開始)可如SEQ ID NO: 1、2、9-40、57、98、99、101、102、103、104或105中所述但其中5個C端殘基可如下經取代：

(i)當不存在C端延長部分時：VTVSS (SEQ ID NO: 54) (如在SEQ ID NO: 1或2之序列中)；或

(ii)當存在C端延長部分時：VTVSSX$_{(n)}$ (SEQ ID NO: 55)，諸如

VTVSSA (SEQ ID NO: 56)。在此等C端序列中，X及n如本文關於C端延長部分所定義。

本發明之PD1結合劑之一些較佳但非限制性實例以SEQ ID NO: 9-40、57、98、99、101、102、103、104或105給出且此等序列中之每一者形成本發明之另一態樣。在此等中，SEQ ID NO: 9-24、57、98、99、103、104及105之PD1結合劑不具有C端延長部分，且SEQ ID NO: 25-40、101及102之PD1結合劑含有C端丙胺酸(其為如本文所描述之C端延長部分之較佳但非限制性實例)。

本發明之PD1結合劑之實例包含SEQ ID NO: 23、24、39、40、57、98、99、101、102、103、104或105中所述之胺基酸序列。

因此，在本發明之一實施例中，PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)包含：

- CDR1 (根據Kabat)，其為胺基酸序列IHAMG (SEQ ID NO: 3)；及

- CDR2 (根據Kabat)，其為胺基酸序列VITXSGGITYYADSVKG (SEQ ID NO: 4；其中X為W或V)；及

- CDR3 (根據Kabat)，其為胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F)；

以及具有：

-至少85%，較佳至少90%，更佳至少95% (例如100%)之與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的序列一致性程度(其中對於測定序列一致性程度，不考慮視情況包含W52aV及/或W100aF突變之其CDR、任何可能存在之C端延長部分以及涉及之特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變)；

及/或

-不超過7種，諸如不超過5種，較佳不超過3種，諸如僅3、2或1種與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的「胺基酸差異」(如本文所定義，且不考慮本文所述之可能存在之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變中之任一者且不考慮任何可能存在之C端延長部分) (其中該等胺基酸差異若存在，可存在於構架及/或CDR中但較佳僅存在於構架中且不存在於CDR中)；

且視情況具有：

- C端延長部分$(X)_n$，其中n為1至10，較佳1至5，諸如1、2、3、4或5 (且較佳1或2，諸如1)；且各X為(較佳天然存在之)胺基酸殘基，其獨立地選自，且較佳獨立地選自由丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)或異白胺酸(I)組成之群；

其中，在本發明之一實施例中：

-位置1處之胺基酸殘基為E或D；

-位置11處之胺基酸殘基為L或V；

-位置14處之胺基酸殘基為A或P；

-位置52a處之胺基酸殘基為W或V；

-位置73處之胺基酸殘基為N、S、P或Q；

-位置74處之胺基酸殘基為A或S；

-位置83處之胺基酸殘基為K或R；

-位置89處之胺基酸殘基為T、V、I或L；

-位置100a處之胺基酸殘基為W或F；

-位置110處之胺基酸殘基為T、K或Q；及

-位置112處之胺基酸殘基為S、K或Q；

例如，其中PD1結合劑包含以下突變中之一或多者：

(i)位置1為E或D；

(ii)位置11為V；

(iii)位置14為P；

(iv)位置52a為V；

(v)位置73為S、P或Q；

(vi)位置74為S；

(vii)位置83為R；

(viii)位置89為L；

(ix)位置100a為F；

例如，包含一組如下突變：

a.位置1為D或E，位置11為V，位置14為P，位置74為S，位置83為R且位置89為L；

b.位置1為D或E，位置11為V，位置14為P，位置52a為V；位置73為S、P或Q；位置74為S，位置83為R，位置89為L且位置100a為F；

c.位置1為D或E，位置11為V，位置14為P，位置74為S，位置83為R且位置89為L；

d.位置89為L且位置11為V；

e.位置89為L且位置110為K或Q；

f.位置89為L且位置112為K或Q；

g.位置89為L且位置11為V且位置110為K或Q；

h.位置89為L且位置11為V且位置112為K或Q；

i. 110K或110Q與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L及100aF，及視情況，1D或1E之組合；或與11V、14P、74S、83R、89L及視情況，1D或1E之組合；

j. 112K或112Q與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L及100a F及視情況，1D或1E之組合；或與11V、14P、74S、83R、89L及視情況，1D或1E之組合；

k.位置11為V且位置110為K或Q；或

l.位置11為V且位置112為K或Q。

在另一態樣中，本發明係關於具有以下之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)：

- CDR1 (根據Kabat)，其為胺基酸序列IHAMG (SEQ ID NO: 3)；及

- CDR2 (根據Kabat)，其為胺基酸序列VITXSGGITYYADSVKG (SEQ ID NO: 4；其中X為W或V)；及

- CDR3 (根據Kabat)，其為胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F)；

以及具有：

-至少85%，較佳至少90%，更佳至少95% (例如100%) (其中對於測定序列一致性程度，不考慮CDR、任何可能存在之C端延長部分以及涉及之特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變)之與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的序列一致性程度(其中對於測定序列一致性程度，不考慮任何可能存在之C端延長部分以及視情況包含W52aV及/或W100aF突變之其CDR)；

及/或

-不超過7種，諸如不超過5種，較佳不超過3種，諸如僅3、2或1種與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的「胺基酸差異」(如本文所定義，且不考慮本文所述之可能存在之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變中之任一者且不考慮任何可能存在之C端延長部分) (其中該等胺基酸差異若存在，可存在於構架及/或CDR中但較佳僅存在於構架中且不存在於CDR中)；

及視情況具有：

- C端延長部分$(X)_n$，其中n為1至10，較佳1至5，諸如1、2、3、4或5 (且較佳1或2，諸如1)；且各X為(較佳天然存在之)胺基酸殘基，其獨立地選自，且較佳獨立地選自由丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)或異白胺酸(I)組成之群；

在本發明之一實施例中，該PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)在所提及之位置(根據Kabat之編號)處包含以下胺基酸殘基中之一或多者(亦即與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列相比之突變)：

- 1D或1E；
- 11V；
- 14P；
- 52aV；
- 73Q、73P或73S；
- 74S；
- 83R；
- 89T或89L；或
- 100aF；

例如，包含一組如下突變：

- 1D或1E與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L及/或100aF之組合；

- 1D或1E與11V、14P、74S、83R及/或89L之組合；

- 89L與11V之組合；

- 89L與110K或110Q之組合；

- 89L與112K或112Q之組合；

- 89L與11V、14P、74S、83R及1D及1E之組合；

- 110K或110Q與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L及/或100aF及1D或1E之組合；

- 112K或112Q與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L及/或100aF及1D或1E之組合；

- 110K或110Q與11V、14P、74S、83R、89L及/或1D或1E之組合；

- 112K或112Q與11V、14P、74S、83R、89L及/或1D或1E之組合；

- 89L與11V及110K或110Q之組合；

- 89L與11V及112K或112Q之組合；

- 11V與110K或110Q之組合；或

- 11V與112K或112Q之組合。

如所提及，當本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)以單價形式使用及/或存在於多肽(如本文所定義)之C端時，PD1結合劑較佳具有C端延長部分X(n)，該C端延長部分可如本文關於本發明之PD1結合劑所描述及/或如WO 12/175741或PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)中所描述。

本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)之一些較佳但非限制性實例以SEQ ID NO: 9-40、57、98、99、101、102、103、104及105給出且此等胺基酸序列中之每一者單獨地形成本發明之另一態樣。

如所提及，本發明包括如下PD1結合劑：其包含SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列但其中位置89為T；或其中位置1為E或D，位置11為V，位置14為P，位置52a為V，位置73為P、S或Q，位置74為S，位置83為R，位置89為L及/或位置100a為F；或其中位置11為V且位置89為L (視情況與110K或110Q突變及/或112K或112Q突變適合的組合，且詳言之與110K或110Q突變組合)。在本發明之一實施例中，位置11為V且位置89為L，視情況具有110K或110Q突變之胺基酸序列。

因此，在一個較佳態樣中，本發明係關於具有以下之PD1結合劑(例如免疫球蛋白單一可變域(ISVD)，諸如奈米抗體)：

- CDR1 (根據Kabat)，其為胺基酸序列IHAMG (SEQ ID NO: 3)；及

- CDR2 (根據Kabat)，其為胺基酸序列VITXSGGITYYADSVKG (SEQ ID NO: 4；其中X為W或V)；及

- CDR3 (根據Kabat)，其為胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F)；

以及具有：

-至少85%，較佳至少90%，更佳至少95% (例如100%) (其中對於測定序列一致性程度，不考慮CDR、任何可能存在之C端延長部分以及涉及之特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變)之與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的序列一致性程度(其中對於測定序列一致性程度，不考慮任何可能存在之C端延長部分以及

視情況包含W52aV及/或W100aF突變之其CDR)；

及/或

-不超過7種，諸如不超過5種，較佳不超過3種，諸如僅3、2或1種與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的「胺基酸差異」(如本文所定義，且不考慮本文所述之可能存在之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變中之任一者且不考慮任何可能存在之C端延長部分) (其中該等胺基酸差異若存在，可存在於構架及/或CDR中但較佳僅存在於構架中且不存在於CDR中)；

及視情況具有：

- C端延長部分$(X)_n$，其中n為1至10，較佳1至5，諸如1、2、3、4或5 (且較佳1或2，諸如1)；且各X為(較佳天然存在之)胺基酸殘基，其獨立地選自，且較佳獨立地選自由丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)或異白胺酸(I)組成之群；

其中，在本發明之一實施例中：

-位置1處之胺基酸為E或D；

-位置11處之胺基酸為L或V；

-位置14處之胺基酸為A或P；

-位置52a處之胺基酸為W或V；

-位置73處之胺基酸為N、S、P或Q；

-位置74處之胺基酸為A或S；

-位置83處之胺基酸為K或R；

-位置89處之胺基酸為I、T或L；

-位置100a處之胺基酸為W或F；

-位置110處之胺基酸殘基為T、K或Q (且較佳為T)；及

-位置112處之胺基酸殘基為S、K或Q (且較佳為S)。

在另一較佳態樣中，本發明係關於具有以下之PD1結合劑(例如免疫球蛋白單一可變域(ISVD)，諸如奈米抗體)：

- CDR1 (根據Kabat)，其為胺基酸序列IHAMG (SEQ ID NO: 3)；及

- CDR2 (根據Kabat)，其為胺基酸序列VITXSGGITYYADSVKG (SEQ ID NO: 4；其中X為W或V)；及

- CDR3 (根據Kabat)，其為胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F)；

且具有：

-至少85%，較佳至少90%，更佳至少95% (例如100%) (其中對於測定序列一致性程度，不考慮CDR、任何可能存在之C端延長部分以及涉及之特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變)之與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的序列一致性程度(其中對於測定序列一致性程度，不考慮任何可能存在之C端延長部分以及視情況包含W52aV及/或W100aF突變之其CDR)；

及/或

-不超過7種，諸如不超過5種，較佳不超過3種，諸如僅3、2或1種與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的「胺基酸差異」(如本文所定義，且不考慮本文所述之可能存在之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變中之任一者且不考慮任何可能存在之C端延長部分) (其中該等胺基酸差異若存在，可存在於構架及/或CDR中但較佳僅存在於構架中且不存在於CDR中)；

及視情況具有：

- C端延長部分$(X)_n$，其中n為1至10，較佳1至5，諸如1、2、3、4或5 (且較佳1或2，諸如1)；且各X為(較佳天然存在之)胺基酸殘基，其獨立地選自，且較佳獨立地選自由丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)或異白胺酸(I)組成之群；

其中以下中之一或多者為真：

-位置1處之胺基酸為E或D；

-位置11處之胺基酸為L或V；

-位置14處之胺基酸為A或P；

-位置52a處之胺基酸為W或V；

-位置73處之胺基酸為S、P、N或Q；

-位置74處之胺基酸為A或S；

-位置83處之胺基酸為K或R；

-位置89處之胺基酸為I、T或L；

-位置100a處之胺基酸為W或F；

-位置110處之胺基酸殘基為T、K或Q (且較佳為T)；或

-位置112處之胺基酸殘基為S、K或Q (且較佳為S)。

在一個特定但非限制性態樣中，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)在所提及之位置(根據Kabat之編號)處包含以下胺基酸殘基中之一或多者(亦即與SEQ ID NO: 1或2之序列相比之突變)：

- 11V與89L之組合；

- 11V與14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L及/或100aF及視情況，1D之組合；

- 11V與14P、74S、83R、89L及1D或1E之組合；

- 11V與110K或110Q之組合；

- 11V與112K或112Q之組合；

- 11V與14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L、100aF、110K或110Q及/或1D或1E之組合；

- 11V與14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L、100aF、112K或112Q及/或1D或1E之組合；

- 11V與89L及110K或110Q之組合；

- 11V與89L及112K或112Q之組合；或

- 11V與1D或1E、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L及/或100aF之組合；

且具有與SEQ ID NO: 9-40、57、98、99、101、102、103、104或105之序列中存在之CDR相同的CDR (例如根據Kabat)且具有與如本文所描述之SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的整體序列一致性程度。

在另一特定但非限制性態樣中，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)在所提及之位置(根據Kabat之編號)處包含以下胺基酸殘基中之一或多者(亦即與SEQ ID NO: 1或2之序列相比之突變)：

- 89L與11V之組合；

- 89L與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、100aF及/或1D或1E之組合；

- 89L與11V、14P、74S、83R及/或1D或1E之組合；

- 89L與110K或110Q之組合；

- 89L與112K或112Q之組合；

- 89L與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、100aF、110K或110Q及/或1D或1E之組合；

- 89L與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、100aF、112K或112Q及/或1D或1E之組合；

- 89L與11V、14P、74S、83R、110K或110Q及/或1D或1E之組合；

- 89L與11V、14P、74S、83R、112K或112Q及/或1D或1E之組合；

- 89L與11V及110K或110Q之組合；或

- 89L與11V及112K或112Q之組合；

且具有與SEQ ID NO: 9-40、57、98、99、101、102、103、104或105之序列中存在之CDR相同的CDR (例如根據Kabat)且具有與如本文所描述之SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的整體序列一致性程度。

在另一特定但非限制性態樣中，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)在所提及之位置(根據Kabat之編號)處包含以下胺基酸殘基中之一或多者(亦即與SEQ ID NO: 1或2之序列相比之突變)：

- 110K或110Q與1D之組合；

- 110K或110Q與1E之組合；

- 110K或110Q與11V之組合；

- 110K或110Q與14P之組合；

- 110K或110Q與52aV之組合；

- 110K或110Q與73S或73Q或73P之組合；

- 110K或110Q與74S之組合；

- 110K或110Q與83R之組合；

- 110K或110Q與89L之組合；

- 110K或110Q與100aF之組合；

- 110K或110Q與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L、100aF及/或1D或1E之組合；

- 110K或110Q與11V、14P、74S、83R、89L及/或1D或1E之組合；

- 110K或110Q與89L之組合；或

- 110K或110Q與11V及89L之組合；

且具有與SEQ ID NO: 9-40、57、98、99、101、102、103、104或105之序列中存在之CDR相同的CDR (例如根據Kabat)且具有與如本文所描述之SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的整體序列一致性程度。

在另一特定但非限制性態樣中，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)在所提及之位置(根據Kabat之編號)處包含以下胺基酸殘基中之一或多者(亦即與SEQ ID NO: 1或2之序列相比之突變)：

- 112K或112Q與1D或1E之組合；

- 112K或112Q與11V之組合；

- 112K或112Q與14P之組合；

- 112K或112Q與52aV之組合；

- 112K或112Q與73S或73Q或73P之組合；

- 112K或112Q與74S之組合；

- 112K或112Q與83R之組合；

- 112K或112Q與89L之組合；

- 112K或112Q與100aF之組合；

- 112K或112Q與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L、100aF及/或1D或1E之組合；

- 112K或112Q與11V、14P、74S、83R、89L及/或1D或1E之組合；或

- 112K或112Q與11V及89L之組合；

且具有與SEQ ID NO: 9-40、57、98、99、101、102、103、104或105之序列中存在之CDR相同的CDR (例如根據Kabat)且具有與如本文所描述之SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的整體序列一致性程度。

在另一態樣中，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)在位置89處包含T且具有與SEQ ID NO: 9-40、57、98、99、101、102、103、104或105之序列中存在之CDR相同的CDR (例如根據Kabat)且具有與如本文所描述之SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的整體序列一致性程度。

在另一態樣中，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)在位置11處包含V且在位置89處包含L且具有與SEQ ID NO: 9-40、57、100、101、102、103、104或105之序列中存在之CDR相同的CDR (例如根據Kabat)且具有與如本文所描述之SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的整體序列一致性程度。

如所提及，根據以上態樣之本發明PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)較佳為進一步使得其含有A14P突變、A74S突變及/或K83R突變之適合的組合，且較佳此等突變中之任兩者之適合的組合，諸如此等突變中之所有三者(例如E1D (視情況)、L11V、A14P、W52aV、N73S或N73Q或N73P、A74S、K83R、I89L及W100aF)。當LAG3或HSA結合劑存在於本發明之PD1結合劑之N端時，N端結合部分較佳具有E1D突變。

在另一態樣中，本發明係關於具有以下之PD1結合劑(例如免疫球蛋

白單一可變域(ISVD)，諸如奈米抗體)：

- CDR1 (根據Abm)，其為胺基酸序列GSIASIHAMG (SEQ ID NO: 6)；及

- CDR2 (根據Abm)，其為胺基酸序列VITXSGGITY (SEQ ID NO: 7，其中X為W或V)；及

- CDR3 (根據Abm)，其為胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F)；

以及具有：

-至少85%，較佳至少90%，更佳至少95% (例如100%) (其中對於測定序列一致性程度，不考慮CDR、任何可能存在之C端延長部分以及涉及之特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變)之與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的序列一致性程度(其中對於測定序列一致性程度，不考慮任何可能存在之C端延長部分以及視情況包含W52aV及/或W100aF突變之CDR)；

及/或

-不超過7種，諸如不超過5種，較佳不超過3種，諸如僅3、2或1種與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的「胺基酸差異」(如本文所定義，且不考慮本文所述之可能存在之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變中之任一者且不考慮任何可能存在之C端延長部分) (其中該等胺基酸差異若存在，可存在於構架及/或CDR中但較佳僅存在於構架中且不存在於CDR中)；

及視情況具有：

- C端延長部分$(X)_n$，其中n為1至10，較佳1至5，諸如1、2、3、4或

5 (且較佳1或2，諸如1)；且各X為(較佳天然存在之)胺基酸殘基，其獨立地選自，且較佳獨立地選自由丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)或異白胺酸(I)組成之群；

其中，在本發明之一實施例中：

-位置1處之胺基酸為E或D；

-位置11處之胺基酸為L或V；

-位置14處之胺基酸為A或P；

-位置52a處之胺基酸為W或V；

-位置73處之胺基酸為N、S、P或Q；

-位置74處之胺基酸為A或S；

-位置83處之胺基酸為K或R；

-位置89處之胺基酸為V、I、T或L；

-位置89處之胺基酸殘基為T；

-位置100a處之胺基酸為W及F；

-位置110處之胺基酸殘基為T、K或Q (且較佳為T)；及

-位置112處之胺基酸殘基為S、K或Q (且較佳為S)

例如，在本發明之一實施例中，PD1結合劑包含以下突變中之一或多者：

(i)位置1為D或E；

(ii)位置11為V；

(iii)位置14為P；

(iv)位置52a為V；

(v)位置73為Q、P或S；

(vi)位置74為S；

(vii)位置83為R；

(viii)位置89為L或T；

(ix)位置100a為F；

例如，包含一組如下突變：

a.位置11為V；位置14為P；位置52a為V；位置73為P、S或Q；位置74為S；位置83為R；位置89為L；位置100a為F；且視情況位置1為E或D；

b.位置11為V；位置14為P；位置74為S；位置83為R；位置89為L；且視情況，位置1為E或D；

c.位置89為L且位置11為V；

d.位置89為L且位置110為K或Q；

e.位置89為L且位置112為K或Q；

f.位置11為V；位置14為P；位置52a為V；位置73為P、S或Q；位置74為S；位置83為R；位置89為L；位置100a為F；位置110為K或Q，且視情況位置1為E或D；

g.位置11為V；位置14為P；位置52a為V；位置73為S、P或Q；位置74為S；位置83為R；位置89為L；位置100a為F；位置112為K或Q，且視情況位置1為E或D；

h.位置11為V；位置14為P；位置74為S；位置83為R；位置89為L；位置110為K或Q，且視情況位置1為E或D；

i.位置11為V；位置14為P；位置74為S；位置83為R；位置89為L；位置112為K或Q，且視情況位置1為E或D；

j.位置89為L且位置11為V且位置110為K或Q；

k.位置89為L且位置11為V且位置112為K或Q；

l.位置11為V且位置110為K或Q；或

m.位置11為V且位置112為K或Q。

在另一態樣中，本發明係關於具有以下之PD1結合劑(例如免疫球蛋白單一可變域(ISVD)，諸如奈米抗體)：

- CDR1 (根據Abm)，其為胺基酸序列GSIASIHAMG (SEQ ID NO: 6)；及

- CDR2 (根據Abm)，其為胺基酸序列VITXSGGITY (SEQ ID NO: 7，其中X為W或V)；及

- CDR3 (根據Abm)，其為胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F)；

以及具有：

-至少85%，較佳至少90%，更佳至少95% (例如100%) (其中對於測定序列一致性程度，不考慮CDR、任何可能存在之C端延長部分以及涉及之特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變)之與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的序列一致性程度(其中對於測定序列一致性程度，不考慮任何可能存在之C端延長部分以及視情況包含W52aV及/或W100aF突變之CDR)；

及/或

-不超過7種，諸如不超過5種，較佳不超過3種，諸如僅3、2或1種與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的「胺基酸差異」(如本文所定義，且不考慮本文所述之可能存在之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、

100a、110及/或112處之突變中之任一者且不考慮任何可能存在之C端延長部分) (其中該等胺基酸差異若存在，可存在於構架及/或CDR中但較佳僅存在於構架中且不存在於CDR中)；

及視情況具有：

- C端延長部分$(X)_n$，其中n為1至10，較佳1至5，諸如1、2、3、4或5 (且較佳1或2，諸如1)；且各X為(較佳天然存在之)胺基酸殘基，其獨立地選自，且較佳獨立地選自由丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)或異白胺酸(I)組成之群；

該免疫球蛋白單一可變域在所提及之位置(根據Kabat之編號)處包含以下胺基酸殘基中之一或多者(亦即與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列相比之突變)：

- 1D或1E；
- 11V；
- 14P；
- 52aV；
- 73Q、73S或73P；
- 74S；
- 83R；
- 89L或89T；或
- 100aF；

例如，包含一組如下突變：

- 89T或89L與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、100aF或1E或1D之組合；

- 89T或89L與11V、14P、74S、83R或1E或1D之組合；

- 89L與11V之組合；

- 89L與110K或110Q之組合；

- 89L與112K或112Q之組合；

- 89L與11V、14P、74S、83R、110K或110Q或1E或1D之組合；

- 89L與11V、14P、74S、83R、112K或112Q或1E或1D之組合；

- 89L與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、100aF、110K或110Q或1E或1D之組合；

- 89L與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、100aF、112K或112Q或1E或1D之組合；

- 89L與11V及110K或110Q之組合；

- 89L與11V及112K或112Q之組合；

- 11V與110K或110Q之組合；或

- 11V與112K或112Q之組合。

如所提及，當本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)以單價形式使用及/或其中結合至PD1之部分存在於多肽(如本文所定義)之C端時，PD1結合部分較佳具有C端延長部分X(n)，該C端延長部分可如本文關於本發明之PD1結合劑所描述及/或如WO 12/175741或PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)中所描述。

本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)之一些較佳但非限制性實例以SEQ ID NO: 9至40、57、98、99、101、102、103、104或105給出且此等胺基酸序列中之每一者單獨地形成本發明之另一態樣。

如所提及，在本發明中，如下胺基酸序列為本發明之一部分：其中

位置89為T；或其中位置1為E或D，位置11為V，位置14為P，位置52a為V，位置73為P、S或Q，位置74為S，位置83為R，位置89為L及/或位置100a為F；或其中位置11為V且位置89為L (視情況與110K或110Q突變及/或112K或112Q突變適合的組合，且詳言之與110K或110Q突變組合)。在本發明之一實施例中，位置11處之胺基酸序列為V且位置89為L，視情況具有110K或110Q突變。

因此，在一個較佳態樣中，本發明係關於具有以下之PD1結合劑(例如免疫球蛋白單一可變域(ISVD)，諸如奈米抗體)：

- CDR1 (根據Abm)，其為胺基酸序列GSIASIHAMG (SEQ ID NO: 6)；及

- CDR2 (根據Abm)，其為胺基酸序列VITXSGGITY (SEQ ID NO: 7，其中X為W或V)；及

- CDR3 (根據Abm)，其為胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F)；

以及具有：

-至少85%，較佳至少90%，更佳至少95% (例如100%) (其中對於測定序列一致性程度，不考慮CDR、任何可能存在之C端延長部分以及涉及之特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變)之與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的序列一致性程度(其中對於測定序列一致性程度，不考慮任何可能存在之C端延長部分以及視情況包含W52aV及/或W100aF突變之CDR)；

及/或

-不超過7種，諸如不超過5種，較佳不超過3種，諸如僅3、2或1種與

SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的「胺基酸差異」(如本文所定義，且不考慮本文所述之可能存在之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變中之任一者且不考慮任何可能存在之C端延長部分) (其中該等胺基酸差異若存在，可存在於構架及/或CDR中但較佳僅存在於構架中且不存在於CDR中)；

及視情況具有：

- C端延長部分$(X)_n$，其中n為1至10，較佳1至5，諸如1、2、3、4或5 (且較佳1或2，諸如1)；且各X為(較佳天然存在之)胺基酸殘基，其獨立地選自，且較佳獨立地選自由丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)或異白胺酸(I)組成之群；

其中，在本發明之一實施例中：

-位置1處之胺基酸殘基為E或D；

-位置11處之胺基酸殘基為L或V；

-位置14處之胺基酸殘基為A或P；

-位置52a處之胺基酸殘基為W或V；

-位置73處之胺基酸殘基為S、P、N或Q；

-位置74處之胺基酸殘基為A或S；

-位置83處之胺基酸殘基為K或R；

-位置89處之胺基酸殘基為T、L或I；

-位置100a處之胺基酸殘基為W或F；

-位置110處之胺基酸殘基為T、K或Q (且較佳為T)；及

- 位置112處之胺基酸殘基為S、K或Q (且較佳為S)。

在另一較佳態樣中，本發明係關於具有以下之PD1結合劑(例如免疫

球蛋白單一可變域(ISVD)，諸如奈米抗體)：

- CDR1 (根據Abm)，其為胺基酸序列GSIASIHAMG (SEQ ID NO: 6)；及

- CDR2 (根據Abm)，其為胺基酸序列VITXSGGITY (SEQ ID NO: 7，其中X為W或V)；及

- CDR3 (根據Abm)，其為胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F)；

以及具有：

-至少85%，較佳至少90%，更佳至少95% (例如100%) (其中對於測定序列一致性程度，不考慮CDR、任何可能存在之C端延長部分以及涉及之特定態樣所需之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變)之與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的序列一致性程度(其中對於測定序列一致性程度，不考慮任何可能存在之C端延長部分以及視情況包含W52aV及/或W100aF突變之CDR)；

及/或

-不超過7種，諸如不超過5種，較佳不超過3種，諸如僅3、2或1種與SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的「胺基酸差異」(如本文所定義，且不考慮本文所述之可能存在之在位置1、11、14、52a、73、74、83、89、100a、110及/或112處之突變中之任一者且不考慮任何可能存在之C端延長部分) (其中該等胺基酸差異若存在，可存在於構架及/或CDR中但較佳僅存在於構架中且不存在於CDR中)；

及視情況具有：

- C端延長部分$(X)_n$，其中n為1至10，較佳1至5，諸如1、2、3、4或

5 (且較佳1或2，諸如1)；且各X為(較佳天然存在之)胺基酸殘基，其獨立地選自，且較佳獨立地選自由丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)或異白胺酸(I)組成之群；

其中，例如以下中之一或多者為真：

-位置1處之胺基酸殘基為E或D；

-位置11處之胺基酸殘基為V；

-位置14處之胺基酸殘基為P；

-位置52a處之胺基酸殘基為V；

-位置73處之胺基酸殘基為S、P或Q；

-位置74處之胺基酸殘基為S；

-位置83處之胺基酸殘基為R；

-位置89處之胺基酸殘基為L；

-位置100a處之胺基酸殘基為F；

-位置110處之胺基酸殘基為T、K或Q；或

-位置112處之胺基酸殘基為S、K或Q。

在一個特定但非限制性態樣中，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)在所提及之位置(根據Kabat之編號)處包含以下突變組(亦即與SEQ ID NO: 1或2之序列相比之突變)中之一者：

- 11V與89L之組合；

- 11V與14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L、100aF及1E或1D之組合；

- 11V與14P、74S、83R、89L及1E或1D之組合；

- 11V與110K或110Q之組合；

- 11V與112K或112Q之組合；

- 11V與14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L、100aF、110K或110Q及1E或1D之組合；

- 11V與14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L、100aF、112K或112Q及1E或1D之組合；

- 11V與14P、74S、83R、89L、110K或110Q及1E或1D之組合；

- 11V與14P、74S、83R、89L、112K或112Q及1E或1D之組合；

- 11V與89L及110K或110Q之組合；或

- 11V與89L及112K或112Q之組合；

且具有與SEQ ID NO: 1、2、9-40、57、98、99、101、102、103、104或105之序列中存在之CDR相同的CDR (例如根據Abm)且具有與如本文所描述之SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的整體序列一致性程度。

在另一特定但非限制性態樣中，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)在所提及之位置(根據Kabat之編號)處包含以下突變組(亦即與SEQ ID NO: 1或2之序列相比之突變)中之一者：

- 89L與11V之組合；

- 89L與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、100aF及1E或1D之組合；

- 89L與11V、14P、74S、83R及1E或1D之組合；

- 89L與110K或110Q之組合；

- 89L與112K或112Q之組合；

- 89L與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、100aF、110K或110Q及1E或1D之組合；

- 89L與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、100aF、112K或112Q及1E或1D之組合；

- 89L與11V、14P、74S、83R、110K或110Q及1E或1D之組合；

- 89L與11V、14P、74S、83R、112K或112Q及1E或1D之組合；

- 89L與11V及110K或110Q之組合；或

- 89L與11V及112K或112Q之組合；

且具有與SEQ ID NO: 1、2、9-40、57、98、99、101、102、103、104或105之序列中存在之CDR相同的CDR (例如根據Abm)且具有與如本文所描述之SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的整體序列一致性程度。

在另一特定但非限制性態樣中，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)在所提及之位置(根據Kabat之編號)處包含以下突變組(亦即與SEQ ID NO: 1或2之序列相比之突變)中之一者：

- 110K或110Q與11V之組合；

- 110K或110Q與89L之組合；

- 110K或110Q與11V及89L之組合；

- 110K或110Q與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L及100aF及1E或1D之組合；

- 110K或110Q與11V、14P、74S、83R、89L及1D之組合；或

- 110K或110Q與11V、14P、74S、83R、89L及1E之組合，

且具有與SEQ ID NO: 1、2、9-40、57、98、99、101、102、103、104或105之序列中存在之CDR相同的CDR (例如根據Abm)且具有與如本文所描述之SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的整體序列一致性程度。

在另一特定但非限制性態樣中，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸

如奈米抗體)在所提及之位置(根據Kabat之編號)處包含以下突變組(亦即與SEQ ID NO: 1或2之序列相比之突變)中之一或多者：

- 112K或112Q與11V之組合；

- 112K或112Q與89L之組合；

- 112K或112Q與11V及89L之組合；

- 112K或112Q與11V、14P、52aV、73S或73Q或73P、74S、83R、89L及100aF及1E或1D之組合；或

- 112K或112Q與11V、14P、74S、83R、89L及1E或1D之組合；

且具有與SEQ ID NO: 1、2、9-40、57、98、99、101、102、103、104或105之序列中存在之CDR相同的CDR (例如根據Abm)且具有與如本文所描述之SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的整體序列一致性程度。

在另一態樣中，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)在位置89處包含T或L且具有與SEQ ID NO: 1、2、9-40、57、98、99、101、102、103、104或105之序列中存在之CDR相同的CDR (例如根據Abm)且具有與如本文所描述之SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的整體序列一致性程度。

在另一態樣中，本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)在位置11處包含V且在位置89處包含L且具有與SEQ ID NO: 1、2、9-40、57、98、99、101、102、103、104或105之序列中存在之CDR相同的CDR (例如根據Abm)且具有與如本文所描述之SEQ ID NO: 1或2之胺基酸序列的整體序列一致性程度。

如所提及，根據以上態樣之本發明PD-1結合劑較佳為進一步使得其含有E1D突變、L11V突變、A14P突變、W52aV突變、N73S或N73Q或

N73P突變、A74S突變、K83R突變、I89L突變及/或W100aF突變之適合的組合，且較佳此等突變中之任兩者之適合的組合，諸如所有此等突變。當PD-1結合劑為單價或其中其PD1結合部分存在於多肽之N端時，其較佳亦具有E1D突變。

在另一特定但非限制性態樣中，本發明係關於包含選自以下胺基酸序列中之一者的胺基酸序列或基本上由該胺基酸序列組成的免疫球蛋白單一可變域：SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 37 或SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103、SEQ ID NO: 104或SEQ ID NO: 105。

在另一特定但非限制性態樣中，本發明係關於如下免疫球蛋白單一可變域，其為選自以下胺基酸序列中之一者的胺基酸序列或基本上由該胺基酸序列組成：SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO:103、SEQ ID NO: 104及SEQ ID NO: 105。

此外，如本文中已指示，PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)之胺基酸殘基根據Kabat等人(「Sequence of proteins of immunological interest」, US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, 出版號91)給出之用於VH之通用編號來編號，如適用於Riechmann及Muyldermans, J. Immunol. Methods 2000 Jun 23; 240 (1-2): 185-195之文章中之駱駝的VHH域；或在本文中提及。應注意如此項技術中對於VH域及VHH域所熟知，CDR中之每一者中之胺基酸殘基之總數可變化且可不對應於由Kabat編號指示之胺基酸殘基之總數(亦即，在實際序列中可不佔據一或多個根據Kabat編號之位置，或實際序列可含有比Kabat編號所允許之數目多的胺基酸殘基)。此意謂一般而言，根據Kabat之編號可或可不對應於實際序列中之胺基酸殘基之實際編號。然而一般而言，根據Kabat編號且與CDR中之胺基酸殘基之數目無關，根據Kabat編號之位置1對應於FR1之起點且反之亦然，根據Kabat編號之位置36對應於FR2之起點且反之亦然，根據Kabat編號之位置66對應於FR3之起點且反之亦然，且根據Kabat編號之位置103對應於FR4之起點且反之亦然。]。

將VH域之胺基酸殘基編號之替代方法(該等方法亦可以類似方式應用於來自駱駝之VHH域及奈米抗體)為Chothia等人(Nature 342, 877-883 (1989))描述之方法，所謂的「AbM定義」及所謂的「接觸定義」。然而，在本說明書、態樣及圖式中，除非另外指示，否則將遵循根據Kabat之如適用於Riechmann及Muyldermans之VHH域的編號。

本發明之此等及其他態樣、實施例、優勢、應用及用途將自本文中之進一步描述變得明顯。

因此，在另一態樣中，本發明係關於包含至少一個(諸如一個、兩個

或三個)在本文中描述之PD1結合部分或基本上由其組成的多肽或其他化學實體。

本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)可融合至一或多個其他胺基酸序列、化學實體或部分。此等其他胺基酸序列、化學實體或部分可向本發明之所得PD1結合劑賦予一或多種所需特性及/或可以所需方式改變本發明之所得PD1結合劑之特性，例如以向本發明之所得PD1結合劑提供所需生物及/或治療活性(例如以向本發明之所得PD1結合劑提供針對另一治療相關標靶之親和力且較佳效能，使得就PD1及該另一治療相關標靶(諸如CTLA4、LAG3、BTLA或CD27)而言，所得多肽變為「雙特異性」)，以提供所需半衰期及/或另外改變或改良藥物動力學及/或藥效學特性，以將PD1結合劑靶向至特定細胞、組織或器官(包括癌細胞及癌組織)、以提供細胞毒性效果及/或充當可偵測標籤或標記。此類其他胺基酸序列、化學實體或部分之一些非限制性實例為：

-一或多個適合的連接子(諸如9GS、15GS或35GS連接子(9、15、20或35個G及S胺基酸之任何組合，諸如GGGGSGGGS (9GS連接子；SEQ ID NO: 125)、GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (20GS連接子；SEQ ID NO: 100)或GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (35GS連接子；SEQ ID NO: 58))或(GGGS)n，其中n為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)；及/或

-一或多個針對除PD1外之治療相關靶向之結合部分、結合域或結合單元(亦即以便提供本發明之對PD1及另一治療相關靶向具有雙特異性之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)，例如針對PD1之不同抗原決定基 、CD27、LAG3、CTLA4、BTLA、TIM3、ICOS、B7-H3、B7-H4、

CD137、GITR、PD-L1、PD-L2、ILT1、ILT2 CEACAM1、CEACAM5、TIM3、TIGIT、VISTA、ILT3、ILT4、ILT5、ILT6、ILT7、ILT8、CD40、OX40、CD137、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、NKG2A、NKG2C、NKG2E、IL-10、IL-17、TSLP)；及/或

-一或多個提供半衰期增加之結合域或結合單元(例如，可針對血清蛋白質(諸如血清白蛋白，例如人類血清白蛋白)結合之結合域或結合單元)，例如ALB11002；及/或

-一或多個將PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)靶向至所需細胞、組織或器官(諸如癌細胞)之結合域或結合單元；及/或

-一或多個提供針對PD1之增加之特異性的結合域或結合單元(通常，此等將能夠結合至PD1但將一般而言自身基本上不對PD1具有功能性)；及/或

-允許PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)內化至所需要細胞中之結合域、結合單元或其他化學實體(例如，如WO 05/044858中所描述之內化抗EGFR奈米抗體)；及/或

-改良半衰期之部分，諸如適合的聚乙二醇基團(亦即聚乙二醇化)，或提供增加之半衰期的胺基酸序列，諸如人類血清白蛋白或其適合的片段(亦即白蛋白融合體)或例如如WO 2008/068280中所描述之血清白蛋白結合肽；及/或

-有效負載物，諸如細胞毒性有效負載物；及/或

-可偵測標記或標籤，諸如放射性標記或螢光標記；及/或

-可幫助PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)之固定、偵測及/或純化的標籤，諸如HIS (例如HHHHHH；SEQ ID NO: 93或HHHHHHHHHHHHHHHHHH；SEQ ID NO: 94)或FLAG標籤(DYKDDDK (SEQ ID NO: 95)) (例如$FLAG_3$)；及/或

-可功能化之標籤，諸如C端GGC或GGGC標籤；及/或

- C端延長部分X(n) (例如-Ala)，其可如本文關於本發明之PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)進一步描述及/或如WO 12/175741或PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)中所描述。

本發明之範疇包括如下PD1結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)，其包括(較佳人類)抗體之一或多個部分或片段(諸如Fc部分或其功能片段或一或多個恆定域)及/或來自駱駝僅重鏈抗體之一或多個部分或片段(諸如一或多個恆定域)。

LAG3結合劑

本發明提供改良之LAG3結合劑，例如，改良之抗LAG3 ISVD且更特定言之，改良之抗LAG3奈米抗體，例如11B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)、F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)、F0237611B09 (E1D、L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-35GS-ALB11002-A或F0237611B09 (E1D、L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-35GS-F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-35GS-ALB11002-A。

如所論述，本發明之「LAG3結合劑」為本文中描述之結合至LAG3

(例如ISVD，諸如奈米抗體)之分子中之任一者以及包括此類分子之融合至另一結合劑的任何多價或多特異性結合劑(例如PD1/LAG3結合劑)。舉例而言，LAG3結合劑可包括融合至與以下結合之部分的LAG3結合部分 ：PD1、CD27、CTLA4、HSA、BTLA、TIM3、ICOS、B7-H3、B7-H4、CD137、GITR、PD-L1、PD-L2、ILT1、ILT2 CEACAM1、CEACAM5、TIM3、TIGIT、VISTA、ILT3、ILT4、ILT5、ILT6、ILT7、ILT8、CD40、OX40、CD137、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、NKG2A、NKG2C、NKG2E、IL-10、IL-17、TSLP。若個別LAG3結合劑為較大分子(例如多價分子)之一部分，其中LAG3結合部分融合至另一結合部分(諸如F023700924或F023700931)，則其可稱為LAG3結合部分。

本發明之LAG3結合劑包括作為包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列之多肽之變異體但在位置1、11、14、41、43、62、74、83及/或89處突變之多肽。

可單獨或作為較大分子(例如PD1/LAG3結合劑)中之部分採用之本發明抗LAG3結合劑(例如11B09、其變異體及融合物)以下概述在表B-2中。

表B-1.抗LAG3結合劑11B09.

描述	序列
11B09 (可在本文中稱為「F0237611B09」或「611B09」) SEQ ID NO: 63	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQARGNEREFVAAISESGGRTHYADAVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSS

表B-2.經序列優化之11B09抗LAG3結合劑.

描述	序列
11B09 (L11V、A14P、R41P、	EVQLVE SGGGVVQPGG SLRLSCAASG RTFSDYVMGW FRQAPGKERE FVAAISESGG RTHYADSVKG RFTISRDNSK

N43K、A62S、A74S、K83R、V89L) 名稱：F023700842 SEQ ID NO: 64	NTLYLQMNSL RPEDTALYYC ATTLLWWTSE YAPIKANDYD YWGQGTLVTV SS
CDR1 (SEQ ID NO: 65)	GRTFSDYVMG
CDR2 (SEQ ID NO: 66)	AISESGGRTH
CDR3 (SEQ ID NO: 67)	TLLWWTSEYAPIKANDYDY
單價SO (經序列優化) 611B09 + ALB11002 名稱：F023701128 描述：F0237611B09(E1D、L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-35GS-ALB11002-A 標靶：hLAG-3 SEQ ID NO: 96	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREF VAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALY YCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAAS GFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISR DNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
二價SO (經序列優化) 611B09 + ALB11002 名稱：F023700962 描述：F0237611B09 (E1D、L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-35GS-F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-35GS-ALB11002-A 標靶：hLAG-3 SEQ ID NO: 97	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREF VAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALY YCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS GRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ LVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCT IGGSLSRSSQGTLVTVSSA
名稱：F023700594 描述：F0237611B09-35GS-F0237611B09-35GS-ALB11002 標靶：hLAG-3 SEQ ID NO: 127	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQARGNEREF VAAISESGGRTHYADAVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVY YCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAAS GRTFSDYVMGWFRQARGNEREFVAAISESGGRTHYADAVKGRFTISR DNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCT IGGSLSRSSQGTLVTVSS

本發明包括如下實施例：其中LAG3結合劑之CDR中之一者、兩者或

三者上文在表B-1或B-2 (例如SEQ ID NO: 63、64、95、96或97)中闡述，其中相對於表B-1或B-2中闡述之CDR序列，各包含0、1、2、3、4或5種胺基酸取代，例如保守性取代，及/或包含100%、99%、98%、97%、96%或95%序列一致性，其中具有此類CDR之LAG3結合劑保留結合至LAG3之能力。在本發明之一實施例中，本發明之LAG3結合劑之第一胺基酸為E。在本發明之一實施例中，本發明之LAG3結合劑之第一胺基酸為E或D。

本發明包括F023700656 (11B09 (E1D)；SEQ ID NO: 63 (E1D))

表B-1或B-2中闡述之LAG3結合劑之某些殘基的Kabat殘基編號顯示於以下序列中：

EVQLVE SGGG**V_{11}**VQ**P_{14}**GG SLRLSCAASG RTFSDYVMGW FRQA**P_{41}**G**K_{43}**ERE
FVAAISESGG RTHYAD**S_{62}**VKG RFTISRDN**S_{74}**K NTLYLQMNSL
R_{83}PEDTA**L_{89}**YYC ATTLLWWTSE YAPIKANDYD YWGQGTLVTV SS

(SEQ ID NO: 64)。視情況，殘基1為D。

本發明包括任何包含SEQ ID NO: 63或64之胺基酸序列或包含80%或更多(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)胺基酸序列一致性(亦即比較完全胺基酸序列)之胺基酸序列的LAG3結合劑，其中LAG3結合劑保留結合至LAG3及視情況，HSA之能力。

本發明包括抗LAG3結合劑，諸如抗LAG3 ISVD (例如奈米抗體)，其具有包含SEQ ID NO: 63、64、95、96或97中所述之胺基酸序列的結合劑(或如本文所描述之其變異體)之CDR1、CDR2及CDR3，例如包含以下CDR：

-包含胺基酸序列GRTFSDYVMG (SEQ ID NO: 65)之CDR1；及

-包含胺基酸序列AISESGGRTH (SEQ ID NO: 66)之CDR2；及

-包含胺基酸序列TLLWWTSEYAPIKANDYDY (SEQ ID NO: 67)之CDR3；

及視情況具有：

-至少85%，較佳至少90%，更佳至少95% (其中對於測定序列一致性程度，不考慮CDR、任何可能存在之C端延長部分以及位置1、11、14、41、43、62、74、76、83、89、100及/或105處之突變)之與SEQ ID NO: 63、64、95、96或97之胺基酸序列的序列一致性程度(其中對於測定序列一致性程度，不考慮任何可能存在之C端延長部分以及CDR)；

及/或

-不超過7種，諸如不超過5種，較佳不超過3種，諸如僅3、2或1種與SEQ ID NO: 63、64、95、96或97之胺基酸序列的「胺基酸差異」(如本文所定義，且不考慮本文所述之可能存在之在位置1、11、14、41、43、62、74、76、83、89、100及/或105處之突變中之任一者且不考慮任何可能存在之C端延長部分) (其中該等胺基酸差異若存在，可存在於構架及/或CDR中但較佳僅存在於構架中且不存在於CDR中)；

及視情況具有：

-如本文所論述之C端延長部分，例如$(X)_n$，其中n為1至10，較佳1至5，諸如1、2、3、4或5 (且較佳1或2，諸如1)；且各X為(較佳天然存在之)胺基酸殘基，其獨立地選自，且較佳獨立地選自由丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)或異白胺酸(I)組成之群。

本發明亦包括融合至一或多種半衰期延長劑之LAG3結合劑，諸如結合人類血清白蛋白之ISVD，例如ALB11002。

多特異性結合劑

本發明包括可以結合至PD1及LAG3之單個多價多特異性分子(PD1/LAG3結合劑)稠合之PD1結合劑及LAG3結合劑，且在本發明之一實施例中，此類結合劑連接至一或多種增加結合劑在個體體內之半衰期的半衰期延長劑。在本發明之一實施例中，半衰期延長劑為特異性結合至人類血清白蛋白(HSA)之ISVD (例如奈米抗體)，例如ALB11002。在本發明之一實施例中，多特異性結合劑為如本文所描述之F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177。

在本發明之一實施例中，PD1/LAG3結合劑包含

(1) PD1結合劑，其包含表A-1或A-2中闡述之PD1結合劑中之任一者的CDR1、CDR2及CDR3，視情況各自獨立地包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10種胺基酸取代(例如保守性突變)，或：

包含胺基酸序列IHAMG (SEQ ID NO: 3)或GSIASIHAMG (SEQ ID NO: 6)之CDR1；

包含胺基酸序列VITXSGGITYYADSVKG (SEQ ID NO: 4；其中X為W或V，例如W)或VITXSGGITY (SEQ ID NO: 7；其中X為W或V，例如W)之CDR2；及

包含胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F，例如W)之CDR3；

及

LAG3結合劑，其包含表B-1或B-2中闡述之LAG3結合劑中之任一者

的CDR1、CDR2及CDR3，視情況各自獨立地包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10種胺基酸取代(例如保守性突變)，或：

包含胺基酸序列GRTFSDYVMG (SEQ ID NO: 65)之CDR1；

包含胺基酸序列AISESGGRTH (SEQ ID NO: 66)之CDR2；及

包含胺基酸序列TLLWWTSEYAPIKANDYDY (SEQ ID NO: 67)之CDR3，

及視情況，半衰期延長劑及/或C端延長劑，例如，如本文所述之HSA結合劑及視情況，C端延長劑(諸如丙胺酸)。

在本發明之一實施例中，PD1結合劑如上文在「*PD1結合劑*」所述，例如包含SEQ ID NO: 57、98、99、103、104或105之胺基酸序列(視情況其中殘基1為E或D)。在本發明之一實施例中，LAG3結合劑如上文在「*LAG3結合劑*」所述，例如包含SEQ ID NO: 63、64或95之胺基酸序列(視情況其中殘基1為E或D)。

多特異性結合劑可包括PD1、LAG3及/或HSA結合劑以及一或多種結合至另一抗原之結合劑，另一抗原諸如CD27、CTLA4、BTLA、TIM3、ICOS、B7-H3、B7-H4、CD137、GITR、PD-L1、PD-L2、ILT1、ILT2 CEACAM1、CEACAM5、TIM3、TIGIT、VISTA、ILT3、ILT4、ILT5、ILT6、ILT7、ILT8、CD40、OX40、CD137、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、NKG2A、NKG2C、NKG2E、IL-10、IL-17或TSLP。

當PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)含有一或多個其他結合域或結合單元(例如另一針對PD1及/或LAG3提供針對PD1及/或

LAG3之增加特異性的基本上非功能性結合域或結合單元；針對除PD1及/或LAG3外之治療標靶(例如CTLA4、BTLA或CD27)之結合域或結合單元；針對諸如人類血清白蛋白之標靶提供增加半衰期的結合域或結合單元；及/或將PD1及/或LAG3結合劑靶向特定細胞、組織或器官及/或允許PD1及/或LAG3結合劑內化至細胞中之結合域或結合單元)時，此等其他結合域或結合單元較佳包含一或多種ISVD (例如奈米抗體)，且更佳為所有ISVD。舉例而言且非限制性地，此一或多個其他結合域或結合單元可為一或多種奈米抗體(包括VHH、人類化VHH及/或駱駝化VHs，諸如駱駝化人類VHs)、為VH域或衍生自VH域之(單域)抗體、為VH域或基本上由VH域組成或衍生自VH域之dAb，或甚至為VL域或基本上由VL域組成之(單)域抗體或dAb。特別地，當存在時，此一或多個結合域或結合單元可包含一或多種奈米抗體，且更特別為所有奈米抗體。在本發明之一個實施例中，結合除PD1及/或LAG3以外標靶的ISVD (例如奈米抗體)結合至另一標靶，諸如HSA、CTLA-4、BTLA或CD27。

當本發明之PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)在其C端具有ISVD (例如奈米抗體) (例如該C端ISVD結合至PD1及/或LAG3或(若存在於多肽中)可例如為另一針對PD1及/或LAG3提供針對PD1及/或LAG3之增加特異性的基本上非功能性ISVD、針對除PD1及/或LAG3外之治療標靶的ISVD、針對諸如人類血清白蛋白之標靶提供增加半衰期的ISVD，或將PD1及/或LAG3結合劑靶向特定細胞、組織或器官及/或允許PD1及/或LAG3結合劑內化至細胞中之ISVD)時，則PD1及/或LAG3結合劑(亦即包含該C端ISVD)較佳具有C端延長部分X(n) (例如-Ala)，該C端延長部分可如本文關於本發明之PD1及/或LAG3結合劑所描述及/或如WO

12/ 175741或PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)中所描述。

當除一或多個結合至PD1及/或LAG3之部分以外，PD1及/或LAG3結合劑含有任何其他ISVD (例如奈米抗體) (該一或多種其他ISVD可如所提及為另一針對PD1及/或LAG3之提供針對PD1及/或LAG3之增加之特異性的基本上非功能性ISVD、針對除PD1及/或LAG3外之治療標靶的ISVD、針對諸如人類血清白蛋白之標靶之提供增加之半衰期的ISVD及/或將本發明之多肽靶向至特定細胞、組織或器官及/或允許本發明之多肽內化至細胞中之ISVD)時，且當此類其他ISVD為奈米抗體或為作為VH序列或基本上由VH序列組成及/或衍生自VH序列的ISVD時，則根據本發明之一較佳態樣，該一或多種(且較佳所有)存在於PD1及/或LAG3結合劑中之此類ISVD將在其序列內含有一或多種減少預先存在抗體之結合的構架突變。特定言之，根據本發明之此態樣，此類其他ISVD可含有如PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)中所描述及/或基本上如本文關於本發明之PD1及/或LAG3結合劑所描述之在位置1、11、14、74、83、89、110及/或112處之胺基酸殘基/突變之適合的組合。在一個特定態樣中，當PD1及/或LAG3結合劑在其C端具有此類ISVD時，則存在於C端及/或形成C端之該ISVD具有減少預先存在抗體之結合的構架突變；且該C端ISVD將較佳亦具有如本文所描述之C端延長部分X(n) (例如-Ala)。

當PD1及/或LAG3結合劑將具有增加之半衰期(亦即與本發明之缺乏半衰期延長劑(諸如ALB11002)之單價結合劑相比)時，PD1及/或LAG3結合劑較佳含有至少一種(例如一種)提供此類增加之半衰期的ISVD (例如奈米抗體) (例如ALB11002)。在本發明之一實施例中，此類ISVD針對適合之血清蛋白質(諸如轉鐵蛋白)或針對(人類)血清白蛋白。特定言之，此類

ISVD或奈米抗體可為如例如EP 2 139 918、WO 2011/006915、WO 2012/175400、WO 2014/111550中所描述之針對人類血清白蛋白之(單一)域抗體或dAb，且可特定言之為如WO 2004/041865、WO 2006/122787、WO 2012/175400或PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)中所描述之血清白蛋白結合奈米抗體。尤其較佳之血清白蛋白結合ISVD為奈米抗體Alb-1 (參見WO 2006/122787)、或其人類化變異體(諸如Alb-8 (WO 2006/122787，SEQ ID NO: 62)、Alb-23 (WO 2012/175400，SEQ ID NO: 1))及Alb-1之其他人類化(且較佳亦經序列優化)變異體及/或Alb-8或Alb-23之變異體(或更一般而言，具有基本上與Alb-1、Alb-8及Alb-23相同之CDR的ISVD)。

如所論述，本發明之「HSA結合劑」為本文中描述之結合至HSA之分子中之任一者(例如ISVD，諸如奈米抗體)以及包括此類分子之融合至另一結合劑之任何多價或多特異性結合劑。若個別HSA結合劑為較大分子(例如多價分子)之一部分，其中HSA結合部分融合至另一結合部分，則其可稱為HSA結合部分。

在本發明之一實施例中，半衰期延長劑為結合至人類血清白蛋白之ISVD (例如奈米抗體)，例如如以下在表C中概述之ALB11002。

表C.抗人類血清白蛋白(HSA)奈米抗體ALB11002

SEQ ID NO	描述	序列
59	ALB11002 (可在本文中稱為「ALB201」)	EVQLVESGGG XVQPGNSLRL SCAASGFTFS SFGMSWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGSDTLY ADSVKGRFTI SRDNAKTTLY LQMNSLRPED TAXYYCTIGG SLSRSSQGTL VTVSSA；其中殘基11及93處之X為L或V
60	CDR1	GFTFSSFGMS
61	CDR2	SISGSGSDTL
62	CDR3	GGSLSR

*視情況，ALB11002缺乏C端丙胺酸。視情況HSA結合劑包含SEQ ID NO: 59中所述之胺基酸序列但其包含E1D、V11L及/或L93V突變，例如包含如下胺基酸序列：

EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNA
KTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 59)

在本發明之一實施例中，本發明之HSA結合劑之第一胺基酸為E。在本發明之一實施例中，本發明之HSA結合劑之第一胺基酸為D。

本發明包括如下實施例：其中HSA結合劑之CDR中之一個、兩個或三個相對於表C中闡述之CDR序列，各包含0、1、2、3、4或5種胺基酸取代，例如保守性取代，及/或包含99%、98%、97%、96%或95%序列一致性，其中具有此類CDR之HSA結合劑保留結合至HSA之能力。

在本發明之一實施例中，半衰期延長劑為包含以下之抗HSA ISVD (例如奈米抗體)：

-包含胺基酸序列GFTFSSFGMS (SEQ ID NO: 60)之CDR1；及

-包含胺基酸序列SISGSGSDTL (SEQ ID NO: 61)之CDR2；及

-包含胺基酸序列GGSLSR (SEQ ID NO: 62)之CDR3；

及視情況具有：

-至少85%，較佳至少90%，更佳至少95% (其中對於測定序列一致性程度，不考慮任何可能存在之C端延長部分以及CDR)之與SEQ ID NO: 59之胺基酸序列的序列一致性程度(其中對於測定序列一致性程度，不考慮CDR、任何可能存在之C端延長部分)；

及/或

-不超過7種，諸如不超過5種，較佳不超過3種，諸如僅3、2或1種與

SEQ ID NO: 59之胺基酸序列的「胺基酸差異」(不考慮任何可能存在之C端延長部分) (其中該等胺基酸差異若存在，可存在於構架及/或CDR中但較佳僅存在於構架中且不存在於CDR中)；

及視情況具有：

- C端延長部分$(X)_n$，其中n為1至10，較佳1至5，諸如1、2、3、4或5 (且較佳1或2，諸如1)；且各X為(較佳天然存在之)胺基酸殘基，其獨立地選自，且較佳獨立地選自由丙胺酸(A)、甘胺酸(G)、纈胺酸(V)、白胺酸(L)或異白胺酸(I)組成之群。

當存在時，此類人類血清白蛋白結合ISVD (例如奈米抗體)可在其序列內含有一或多種減少預先存在抗體之結合的構架突變。特定言之，當此類血清白蛋白結合ISVD為奈米抗體或作為VH域、基本上由VH域組成及/或衍生自VH域之(單一)域抗體時，血清白蛋白結合ISVD可含有如PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)中所描述及/或基本上如本文關於本發明之PD1結合劑所描述之在位置11、89、110及/或112處之胺基酸殘基/突變(其適合的組合)。舉例而言，PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)描述許多Alb-1、Alb-8及Alb-23變異體，其含有在位置11、89、110及/或112處之減少預先存在抗體之結合的可在本發明多肽中使用之胺基酸殘基/突變。

當此類血清白蛋白結合ISVD (例如奈米抗體)存在於PD1及/或LAG3結合劑之C端時，血清白蛋白結合ISVD (且因此，本發明之PD1及/或LAG3結合劑)較佳具有C端延長部分X(n)，該C端延長部分可如本文關於本發明之PD1及/或LAG3結合劑所描述及/或如WO 12/175741或PCT/EP2015/060643 (WO2015 173325)中所描述。舉例而言，C端延長

部分可為單個丙胺酸殘基。其較佳亦具有減少預先存在抗體之結合的突變，如PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)中描述之在位置11、89、110及/或112處之胺基酸殘基/突變(其適合的組合)。

然而，如所提及，其他增加本發明之多肽之半衰期之方式(諸如聚乙二醇化、與人類白蛋白或其適合片段融合或使用適合之血清白蛋白結合肽)亦包括於本發明之範疇中。

一般而言，當本發明之PD1及/或LAG3結合劑具有增加之半衰期(例如經由增加半衰期之ISVD (例如奈米抗體)之存在或任何其他增加半衰期之適合的方式)時，本發明之所得PD1及/或LAG3結合劑較佳具有比本發明之缺乏半衰期延長劑之PD1及/或LAG3結合劑之半衰期大至少2倍，較佳至少5倍，例如至少10倍或大於20倍的半衰期(如本文所定義) (如在人類及/或適合之動物模型(諸如小鼠或食蟹獼猴)中量測)。特定言之，本發明之PD1及/或LAG3結合劑較佳具有在人類個體中至少1天、較佳至少3天、更佳至少7天，諸如至少10天之半衰期(如本文所定義)。

將自本文中之揭示內容瞭解基於一或多種ISVD (例如奈米抗體)之PD1及/或LAG3結合劑可具有不同「形式」，即基本上為單價、二價或三價，可為單特異性、雙特異性、三特異性等，且可為雙互補位(如本文及例如WO2009/68625中所定義)。舉例而言，本發明之PD1及/或LAG3結合劑可為：

-單價，即包含單個PD1或LAG3結合部分(例如ISVD，諸如奈米抗體)。如所提及，當以單價形式使用時，本發明之PD1或LAG3結合劑較佳具有如本文進一步描述之C端延長部分X(n) (例如單個丙胺酸殘基)。本發明之此類PD1或LAG3結合劑亦可為半衰期延長的；

-二價或三價及單特異性。舉例而言，在本發明之一實施例中，本發明之此類PD1或LAG3結合劑包含兩種或多於兩種可結合例如PD1及/或LAG3之ISVD (例如奈米抗體)，其可相同或不同且當不同時可針對PD1或LAG3之同一抗原決定基或針對PD1或LAG3上之不同抗原決定基(在後一情況中，以便提供本發明之雙互補位或多互補位PD1或LAG3結合劑)。本發明之此類PD1或LAG3結合劑亦可為半衰期延長的；

-二價、三價或多價且為雙特異性、三特異性或多特異性。舉例而言，在本發明之一實施例中，本發明之此類PD1結合劑將針對PD1 (且可包括多於一種，例如兩種PD1結合劑)及至少一種其他標靶(且可包括結合另一標靶之ISVD中之多於一者，例如兩者)，諸如CTLA-4、LAG-3、BTLA及/或CD27；例如包含PD1結合部分及CTLA4結合部分；PD1結合部分及BTLA結合部分；PD1結合部分及LAG3結合部分；或PD1結合部分、LAG3結合部分及BTLA結合部分。如本文所描述，該另一標靶可為例如另一治療相關標靶(亦即除PD1外)以便提供本發明之對於PD1及該另一治療標靶具有雙特異性之PD1結合劑。該另一標靶亦可為提供增加之半衰期的標靶(諸如人類血清白蛋白)，以便提供本發明之具有增加之半衰期的PD1結合劑。亦如本文中所提及，此類另一標靶亦可允許本發明之PD1結合劑靶向特定細胞、組織或器官或可允許本發明之PD1結合劑內化至細胞中。亦有可能組合此等方法/ISVD，例如以提供本發明之對PD1及至少一種其他治療相關標靶具有雙特異性且半衰期延長的PD1結合劑。舉例而言，分子可包含一種或兩種PD1結合劑，其連接至一種或兩種與HSA結合劑連接之LAG3結合劑，例如各結合劑之間具有連接子，例如35 GS連接子；例如F023700924或F023700931。

同樣，較佳地，當此等PD1及/或LAG3結合劑包括一或多種除PD1結合部分外之ISVD (例如奈米抗體)時，此等其他ISVD中之至少一者且較佳所有將在其序列內含有一或多種減少預先存在抗體之結合的構架突變(諸如特定言之，如本文關於本發明之PD1及/或LAG3結合劑所描述及/或如PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)中一般描述之在位置11、89、110及/或112處之胺基酸殘基/突變之組合)。此外，當本發明之此類PD1及/或LAG3結合劑在其C端具有PD1及/或LAG3結合部分時，則該C端PD1及/或LAG3結合部分將較佳具有如本文所描述之C端延長部分X(n)。類似地，當本發明之此類PD1及/或LAG3結合劑在其C端具有另一ISVD (亦即不為PD1及/或LAG3結合部分，但例如為半衰期延長ISVD)時，則該C端ISVD將較佳具有如本文所描述之C端延長部分X(n)及/或將在其序列內含有一或多種減少預先存在抗體之結合的構架突變(同樣，如進一步在本文及PCT/EP2015/060643 (WO2015/173325)中描述)。

如熟習此項技術者將瞭解，當本發明之PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)意欲用於局部用途(亦即皮膚上或眼睛中)或例如意謂在例如胃腸道中(亦即在經口投與或藉由栓劑投與之後)或在肺中(亦即在藉由吸入投與之後)某處具有(局部)治療作用或另外意謂直接施用至其預期作用位置(例如，藉由直接注射)時，本發明之PD1及/或LAG3結合劑將通常不需要半衰期延長。此外，對於治療某些急性病狀或適應症，其可較佳不具有延長之半衰期。在此等情況下，使用無半衰期延長的本發明之單價PD1或LAG3結合劑或本發明之另一PD1或LAG3結合劑(包含或LAG3結合劑)，例如就PD1或LAG3而言為二價或雙互補位之本發明PD1或LAG3結合劑，為較佳的。

本發明之此類PD1及/或LAG3結合劑之一些較佳但非限制性實例示意性地表示在下表D-1中，且此等中之每一者形成本發明之另一態樣。本發明之無半衰期延長的適合多肽之其他實例將為熟習此項技術者基於本文中之揭示內容所瞭解。

表D-1：本發明之無半衰期延長ISVD的一些PD1及/或LAG3結合劑之示意性表示.

[本發明之PD-1結合劑]
[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]- [其他]- [其他]
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]- [其他]- [其他]
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]- [其他]- [其他]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]- [其他]- [其他]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[其他]
[本發明之PD-1結合劑]-[其他]-X(n)
[其他]-[本發明之PD-1結合劑]
[其他]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]
[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]
[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]-X(n)
[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]- [本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]
[本發明之PD-1結合劑]- [本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]-X(n)
[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]
[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]
[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[其他]
[本發明之PD-1結合劑]-[其他]-X(n)
[其他]-[本發明之PD-1結合劑]
[其他]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]
[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]
[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]-X(n)
[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
圖例：

-「*[PD1結合部分]*」代表如本文所描述之PD1結合域或結合單元，諸如102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L) -「-」代表直接共價鍵或適合的連接子，諸如9GS、15GS或35GS連接子 -「*X(n)*」代表如本文所定義之C端延長部分，諸如單個丙胺酸殘基。 -「*[其他]*」代表針對與PD1結合劑不同之抗原決定基的結合域或結合單元(例如ISVD，諸如奈米抗體)，例如一或多種抗CTLA4、抗BTLA、抗LAG3及/或抗CD27 ISVD，諸如如本文所描述之抗LAG3 ISVD 11B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L) -「*[靶向單元]*」代表將本發明之多肽靶向至特定細胞、組織或器官的結合域或結合單元(且詳言之ISVD，諸如奈米抗體)

如熟習此項技術者將瞭解，當本發明之PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)意欲用於全身性投與及/或預防及/或治療慢性疾病或病症時，將通常較佳為本發明之該PD1及/或LAG3結合劑具有增加之半衰期(如本文所定義)。更佳地，本發明之此類PD1及/或LAG3結合劑將含有半衰期延長ISVD (例如奈米抗體)，諸如較佳地，結合至人類血清白蛋白之ISVD且詳言之奈米抗體(如本文所描述)。

本發明之此類PD1及/或LAG3結合劑之一些較佳但非限制性實例示意性地表示在下表D-2中，且此等中之每一者形成本發明之另一態樣。本發明之具有半衰期延長的適合PD1及/或LAG3結合劑之其他實例將為熟習此項技術者基於本文中之揭示內容所瞭解。一般而言，對於本發明之具有半衰期延長之多肽，存在C端延長部分較佳得多。

表D-2：本發明之具有半衰期延長ISVD的一些PD1及/或LAG3結合劑之示意性表示.

[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]
[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]
[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-X(n)
[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]
[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]
[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)

[本發明之PD-1結合劑]-[其他]-[HLE]
[本發明之PD-1結合劑]- [本發明之PD-1結合劑]-[其他]- [其他]-[HLE]
[本發明之PD-1結合劑]-[其他]-[HLE] -X(n)
[本發明之PD-1結合劑]- [本發明之PD-1結合劑]-[其他]- [其他]-[HLE] -X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[其他]
[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[其他]
[HLE] -[其他]-[本發明之PD-1結合劑]
[其他]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]
[其他] -[HLE] -[本發明之PD-1結合劑]
[本發明之PD-1結合劑]-[其他]-[HLE]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[其他]-X(n)
[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[其他]-X(n)
[HLE] -[其他]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[其他]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-X(n)
[其他] -[HLE] -[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]-[HLE]
[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[靶向單元]
[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]
[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]
[靶向單元]-[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]
[HLE]-[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]
[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]-[HLE]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[靶向單元]-X(n)
[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]-X(n)
[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-X(n)
[靶向單元]-[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[HLE]-[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]-[HLE]
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[靶向單元]
[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]
[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]-[HLE]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[靶向單元]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]-X(n)
[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-[靶向單元]-X(n)
[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]
[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]
[靶向單元]-[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]
[HLE]-[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]
[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-X(n)
[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[靶向單元]-[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[HLE]-[靶向單元]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]

[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]
[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-X(n)
[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]
[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]
[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]
[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[HLE]-[本發明之PD-1結合劑]-[本發明之PD-1結合劑]-X(n)
[本發明之PD-1結合劑]-[其他]-[HLE]
圖例： -「*[PD1結合部分]*」代表如本文所描述之PD1結合域或結合單元，諸如抗PD1 ISVD 102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L) -「-」代表直接共價鍵或適合的連接子，諸如9GS、15GS或35GS連接子 -「*X(n)*」代表如本文所定義之C端延長部分，諸如單個丙胺酸殘基。 -「*[HLE]*」代表延長半衰期之結合域或結合單元(且詳言之半衰期延長ISVD，諸如奈米抗體)，諸如針對(人類)血清白蛋白之ISVD (且詳言之奈米抗體)，諸如如本文所描述之抗HSA ISVD ALB11002； -「*[其他]*」代表針對與PD1結合劑不同之抗原決定基的結合域或結合單元(例如ISVD，諸如奈米抗體)，例如一或多種抗CTLA4、抗BTLA、抗LAG3及/或抗CD27 ISVD，諸如如本文所描述之抗LAG3 ISVD 11B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L) -「*[靶向單元]*」代表將本發明之多肽靶向至特定細胞、組織或器官的結合域或結合單元(且詳言之ISVD，諸如奈米抗體)

在本發明之一實施例中，本發明之PD1/LAG3結合劑如以下在表D-3中概述

表D-3.本發明之PD1/LAG3結合劑.

描述	序列
名稱：F023700899 描述：1PD102C12(A14P、A74S、K83R)-35GS-1PD102C12(A14P、A74S、K83R)-35GS-F0237611B09-35GS-F0237611B09-35GS-ALB11002 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 106	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNT VYLQMNSLRPEDTAIYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAP GKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNTVY LQMNSLRPEDTAIYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQL VESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQARGN EREFVAAISESGGRTHYADAVKGRFTISRDNAKNTLYLQ MNSLKPEDTAVYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGW FRQARGNEREFVAAISESGGRTHYADAVKGRFTISRDNA KNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCATTLLWWTSEYAPIKAND YDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRF TISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQ

	GTLVTVSS
名稱：F023700931 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-35GS-1PD102C12 (L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-35GS-F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-35GS-F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-35GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 107	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEV QLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAP GKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQL VESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGK EREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGW FRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKAND YDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRF TISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQ GTLVTVSSA
名稱：F023701016 描述：102C12(E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-20GS-102C12(L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-20GS-F0237611B09(L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-20GS-F0237611B09(L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-20GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 108	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGS LRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITWSGG** **ITY**YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYY CAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVM GWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKA NDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ LVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPG KEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGV VQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPE DTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
名稱：F023701017 描述：102C12(E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-9GS-102C12(L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-9GS-F0237611B09(L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-9GS-F0237611B09(L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-9GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 109	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSI** **ASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGR FTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSWY** **DY**WGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGS LRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISESGG RTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYY CATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGW FRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKAND YDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGN SLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSG SDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALY YCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
名稱：F023700924 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEV

A74S、K83R、I89L)-35GS- F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-35GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 110	QLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAP GKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGM SWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRD NAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVT VSSA
名稱：F023700969 描述：102C12(E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-20GS-F0237611B09(L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-20GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 111	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGS LRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISESGG RTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYY CATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAAS GFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSV KGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLS RSSQGTLVTVSSA
名稱：F023700970 描述：102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-9GS-F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-9GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 112	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITWSGGITY**YADSVKGRFTISRDNSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSWYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRT FSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSE YAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESG GGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEW VSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSL RPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
名稱：F023701163 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-35GS-1PD102C12 (L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-35GS-F023700842-35GS-F023700842-35GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 113	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDPSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEV QLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAP GKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDPSKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQL VESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGK EREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGW FRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKAND YDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRF TISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQ GTLVTVSSA
名稱：F023701168 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-9GS-1PD102C12 (L11V、A14P、	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDPSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSI** **ASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGR FTISRDPSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFY** **DY**WGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGS

W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-9GS-F023700842-9GS-F023700842-9GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 114	LRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISESGG RTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYY CATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGW FRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKAND YDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGN SLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSG SDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALY YCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
名稱：F023701173 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-35GS-F023700842-35GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 115	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDPSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEV QLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAP GKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGM SWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRD NAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVT VSSA
名稱：F023701178 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-9GS-F023700842-9GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 116	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDPSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRT FSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSE YAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESG GGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEW VSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSL RPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
名稱：F023701161 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-35GS-1PD102C12 (L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-35GS-F023700842-35GS-F023700842-35GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 117	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDQSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEV QLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAP GKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDQSKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQL VESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGK EREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGW FRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKAND YDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRF TISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQ GTLVTVSSA
名稱：F023701166 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-9GS-1PD102C12 (L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDQSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSI** **ASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGR FTISRDQSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFY** **DY**WGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGS LRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISESGG

W100aF)-9GS-F023700842-9GS-F023700842-9GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 118	RTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYY CATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGW FRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKAND YDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGN SLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSG SDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALY YCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
名稱：F023701171 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-35GS-F023700842-35GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 119	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDQSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEV QLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAP GKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGM SWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRD NAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVT VSSA
名稱：F023701176 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-9GS-F023700842-9GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 120	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDQSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRT FSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSE YAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESG GGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEW VSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSL RPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
名稱：F023701162 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)-35GS-1PD102C12 (L11V、A14P、W52aV、N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)-35GS-F023700842-35GS-F023700842-35GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 121	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDSSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEV QLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQAP GKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDSSKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQL VESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGK EREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGW FRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKAND YDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRF TISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQ GTLVTVSSA
名稱：F023701167 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)-9GS-1PD102C12 (L11V、A14P、W52aV、N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)-9GS-F023700842-9GS-F023700842-	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDSSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSI** **ASIHAMG**WFRQAPGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGR FTISRDSSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFY** **DY**WGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGS LRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISESGG RTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYY

9GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 122	CATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGW FRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKAND YDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGN SLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSG SDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALY YCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
名稱：F023701172 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)-35GS-F023700842-35GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 123	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDSSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEV QLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVMGWFRQAP GKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGM SWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRD NAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVT VSSA
名稱：F023701177 描述：1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)-9GS-F023700842-9GS-ALB11002-A 標靶：hPD-1/hLAG-3 SEQ ID NO: 124	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS**GSIASIHAMG**WFRQ APGKEREFVA**VITVSGGITY**YADSVKGRFTISRDSSKNT VYLQMNSLRPEDTALYYCAG**DKHQSSFYDY**WGQGTLVTV SSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRT FSDYVMGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSE YAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESG GGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEW VSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSL RPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA

*PD1結合劑及LAG3結合劑CDR加底線

視情況，分子中之任何結合劑部分之第一殘基視需要經D或E取代。

本發明包括任何包含SEQ ID NO: 106-124之胺基酸序列或包含80%或更多(例如85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)胺基酸序列一致性(亦即，比較完全胺基酸序列)的胺基酸序列之PD1/LAG3結合劑，其中PD1/LAG3結合劑保留結合至PD1及LAG3及視情況，HSA之能力。

本發明包括任何具有以下部分排列之PD1/LAG3結合劑：

● PD1結合劑1PD102C12 (A14P、A74S、K83R)-

●肽連接子，例如35GS-

● PD1結合劑1PD102C12 (A14P、A74S、K83R)-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結合劑F0237611B09-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結合劑F0237611B09-

●肽連接子，例如35GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002

或

● PD1結合劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-

●肽連接子，例如35GS-

● PD1結合劑1PD102C12 (L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結合劑F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結合劑F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-

●肽連接子，例如35GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-

●肽連接子，例如20GS-

● PD1結合劑102C12 (L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-

●肽連接子，例如20GS-

● LAG3結合劑F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-

●肽連接子，例如20GS-

● LAG3結合劑F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-

●肽連接子，例如20GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-

●肽連接子，例如9GS-

● PD1結合劑102C12 (L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-

●肽連接子，例如9GS-

● LAG3結合劑F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-

●肽連接子，例如9GS-

● LAG3結合劑F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-

●肽連接子，例如9GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結 合 劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結 合 劑F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-

●肽連接子，例如35GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-

●肽連接子，例如20GS-

● LAG3結 合 劑F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-

●肽連接子，例如20GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑102C12 (E1D、L11V、A14P、A74S、K83R、I89L)-

●肽連接子，例如9GS-

● LAG3結 合 劑F0237611B09 (L11V、A14P、R41P、N43K、A62S、A74S、K83R、V89L)-

●肽連接子，例如9GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如35GS-

● PD1結合劑1PD102C12 (L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如35GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如9GS-

● PD1結合劑1PD102C12 (L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如9GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如9GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如9GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如35GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73P、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如9GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如9GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如35GS-

● PD1結合劑1PD102C12 (L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如35GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如9GS-

● PD1結合劑1PD102C12 (L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如9GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如9GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如9GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如35GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73Q、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如9GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如9GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如35GS-

● PD1結合劑1PD102C12 (L11V、A14P、W52aV、N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如35GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如9GS-

● PD1結合劑1PD102C12 (L11V、A14P、W52aV、N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如9GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如9GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如9GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如35GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如35GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸

或

● PD1結合劑1PD102C12 (E1D、L11V、A14P、W52aV、N73S、A74S、K83R、I89L、W100aF)-

●肽連接子，例如9GS-

● LAG3結合劑F023700842-

●肽連接子，例如9GS-

●人類血清白蛋白結合劑，例如ALB11002-

●視情況存在之C端延長部分丙胺酸。

在本發明之一實施例中，本發明之PD1/LAG3結合劑包括以下部分排列：

● PD1結合劑SEQ ID NO: 98；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● PD1結合劑SEQ ID NO: 98；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 63；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 63；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 57；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● PD1結合劑SEQ ID NO: 99；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 57；

● 20GS連接子SEQ ID NO: 100；

● PD1結合劑SEQ ID NO: 99；

● 20GS連接子SEQ ID NO: 100；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 20GS連接子SEQ ID NO: 100；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 20GS連接子SEQ ID NO: 100；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 57；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● PD1結合劑SEQ ID NO: 99；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 57；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 57；

● 20GS連接子SEQ ID NO: 100；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 20GS連接子SEQ ID NO: 100；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 57；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 105；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● PD1結合劑SEQ ID NO: 105 (D1E)；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 105；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● PD1結合劑SEQ ID NO: 105 (D1E)；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 105；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 105；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 104；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● PD1結合劑SEQ ID NO: 104 (D1E)；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 104；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● PD1結合劑SEQ ID NO: 104 (D1E)；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 104；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 104；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 103 (N73S)；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● PD1結合劑SEQ ID NO:103 (D1E、N73S)；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 35GS連接子SEQ ID NO: 58；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

● PD1結合劑SEQ ID NO: 103 (N73S)；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● PD1結合劑SEQ ID NO:103 (D1E、N73S)；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；

● 9GS連接子SEQ ID NO: 125；

● HSA結合劑SEQ ID NO: 59；

●丙胺酸

或

- PD1結合劑SEQ ID NO: 103 (N73S)；
- 35GS連接子SEQ ID NO: 58；
- LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；
- 35GS連接子SEQ ID NO: 58；
- HSA結合劑SEQ ID NO: 59；
- 丙胺酸

或

- PD1結合劑SEQ ID NO: 103 (N73S)；
- 9GS連接子SEQ ID NO: 125；
- LAG3結合劑SEQ ID NO: 64；
- 9GS連接子SEQ ID NO: 125；
- HSA結合劑SEQ ID NO: 59；
- 丙胺酸

交叉阻斷抗體

本發明亦提供能夠交叉阻斷本文所揭示之結合劑中之任一者(例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117、F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)之結合的交叉阻斷結合劑。此類交叉阻斷結合劑可為任何展示此類交叉阻斷之分子，例如ISVD、奈米抗體、抗體或其抗原結合片段。

一般而言，「交叉阻斷」參考結合劑或與參考結合劑「交叉競爭」

之結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)或抗體或其抗原結合片段係指在競爭分析中將參考結合劑與其抗原之結合阻斷50%或更多之結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)或抗體或其抗原結合片段，且相反，在競爭分析中參考結合劑將結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)或抗體或其抗原結合片段與其抗原之結合阻斷50%或更多。交叉阻斷或交叉競爭可用此項技術中已知之任何分析(包括表面電漿子共振(SPR)、ELISA及流式細胞測量術)測定。

在本發明之一實施例中，交叉阻斷藉由使用Biacore分析測定。為方便起見，參考兩種結合劑，本發明之範疇包括交叉阻斷本發明之結合劑的抗體及其抗原結合片段，例如Fab片段。根據製造商的建議操作Biacore機器(例如Biacore 3000)。

因此，在一個交叉阻斷分析中，使用標準胺偶合化學方法將PD1或LAG3偶合至CM5 Biacore晶片以產生經PD1或LAG3塗佈之表面。舉例而言，200-800共振單位之PD1或LAG3將偶合至晶片(或給出結合之可容易量測的水準但可容易藉由使用之測試試劑之濃度飽和的任何量)。

將待評定彼此交叉阻斷之能力的兩種結合劑(稱為A*及B*)在適合的緩衝液中以一比一結合位點莫耳比混合以產生測試混合物。

各結合劑在測試混合物中之濃度應足夠高以容易地使在Biacore晶片上捕獲之PD1或LAG3分子上該結合劑之結合位點飽和。混合物中之結合劑在相同莫耳濃度下。

亦製備僅含有結合劑A*及僅含有結合劑B*之單獨溶液。此等溶液中之結合劑A*及結合劑B*應在相同緩衝液中且在與測試混合物中相同之濃度下。

將測試混合物穿過經PD1或LAG3塗佈之Biacore晶片且記錄總結合量。隨後以使得移除結合之結合劑而不損壞晶片結合PD1或LAG3之方式處理晶片。在本發明之一實施例中，此藉由用30 mM HCl處理晶片60秒進行。

隨後將僅結合劑A*之溶液穿過經PD1或LAG3塗佈之表面且記錄結合量。再次處理晶片以移除所有結合之結合劑而不損壞晶片結合PD1或LAG3。

隨後將僅結合劑B*之溶液穿過經PD1或LAG3塗佈之表面且記錄結合量。

隨後計算結合劑A*與結合劑B*之混合物之最大理論結合，且為當僅穿過PD1或LAG3表面時各結合劑之結合之總和。若混合物之實際記錄之結合小於此理論最大值，則兩種結合劑彼此交叉阻斷。

因此，一般而言，根據本發明之交叉阻斷結合劑為將在以上Biacore交叉阻斷分析中結合至PD1或LAG3使得在分析期間及在第二結合劑存在下，記錄之結合在呈組合之兩種結合劑之例如最大理論結合之80%與0.1%之間(例如80%至4%)，例如最大理論結合之75%與0.1%之間(例如75%至4%)，例如最大理論結合之70%與0.1%之間(例如70%至4%) (正如上文所定義)的結合劑。

在本發明之一實施例中，ELISA分析用於判定根據本發明之PD1及/或LAG3結合劑是否交叉阻斷或能夠交叉阻斷。

分析之通用原理為將抗PD1或LAG3結合劑塗佈至ELISA盤之孔上。添加過量呈溶液(亦即不結合於ELISA盤)之第二潛在交叉阻斷抗PD1或LAG3結合劑。隨後向孔中添加有限量之PD1或LAG3。經塗佈結合劑及

呈溶液之結合劑競爭有限數目之PD1或LAG3分子之結合。洗滌盤以移除尚未由經塗佈結合劑結合之PD1或LAG3且亦移除第二溶液相結合劑以及任何在第二溶液相結合劑與PD1或LAG3之間形成的複合物。隨後使用合適PD1或LAG3偵測試劑量測結合之PD1或LAG3之量。呈溶液之能夠交叉阻斷經塗佈結合劑之結合劑將能夠相對於經塗佈結合劑可在不存在第二溶液相結合劑的情況下結合之PD1或LAG3分子之數目，引起經塗佈結合劑可結合之PD1或LAG3分子之數目減少。

表現方法

本發明包括製備本發明之PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)之重組方法，其包含(i)引入編碼該PD1及/或LAG3結合劑之胺基酸序列的聚核苷酸，例如，其中聚核苷酸在載體中及/或可操作地連接於啟動子；(ii)在有利於表現聚核苷酸之條件下培養宿主細胞(例如CHO或畢赤酵母或甲醇酵母)，及(iii)視情況自宿主細胞及/或宿主細胞生長之培養基中分離PD1及/或LAG3結合劑。參見例如WO 04/041862、WO 2006/122786、WO 2008/020079、WO 2008/142164或WO 2009/068627。

本發明亦關於編碼如本文所描述之本發明PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、

F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)之聚核苷酸。在本發明之一實施例中，聚核苷酸可操作地連接於一或多個控制序列。聚核苷酸可呈質體或載體形式。同樣，此類聚核苷酸可一般如Ablynx N.V.之公開之專利申請案，諸如WO 04/041862、WO 2006/122786、WO 2008/020079、WO 2008/142164或WO 2009/068627中所描述。

本發明亦關於含有此類編碼PD1及/或LAG3結合劑之聚核苷酸、載體及/或本文中描述之PD1及/或LAG3結合劑多肽(例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)的宿主或宿主細胞。同樣，此類宿主細胞可一般如Ablynx N.V.之公開之專利申請案，諸如WO 04/041862、WO 2006/122786、WO 2008/020079、WO 2008/142164或WO 2009/068627中所描述。特定宿主細胞之實例在下文論述。

作為表現PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)之宿主的真核及原核宿主細胞(包括哺乳動物細胞)在此項技術中熟知且包括許多可購自美國典型培養物保藏中心(American Type Culture Collection；ATCC)之永生化細胞株。此等尤其包括中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、NSO、SP2細胞、海拉細胞(HeLa Cell)、幼倉鼠腎(BHK)細胞、猴腎細胞(COS)、人類肝細胞癌細胞(例如Hep G2)、A549細胞、3T3細胞、HEK-

293細胞及許多其他細胞株。哺乳動物宿主細胞包括人類、小鼠、大鼠、犬、猴、豬、山羊、牛、馬及倉鼠細胞。尤其較佳之細胞株經由確定何種細胞株具有高表現水準來選擇。其他可使用之細胞株為昆蟲細胞株(例如草地黏蟲(*Spodoptera frugiperda*)或粉紋夜蛾(*Trichoplusia ni*))、兩棲動物細胞、細菌細胞、植物細胞及真菌細胞。真菌細胞包括酵母及絲狀真菌細胞，包括例如甲醇酵母、芬蘭畢赤酵母(*Pichia finlandica*)、喜海藻糖畢赤酵母(*Pichia trehalophila*)、考拉姆畢赤酵母(*Pichia koclamae*)、膜醭畢赤酵母(*Pichia membranaefaciens*)、微小畢赤酵母(*Pichia minuta*)(甲醇誘導型酵母(*Ogataea minuta*)、林氏畢赤酵母(*Pichia lindneri*))、仙人掌畢赤酵母(*Pichia opuntiae*)、耐熱畢赤酵母(*Pichia thermotolerans*)、千屈菜畢赤酵母(*Pichia salictaria*)、松櫟畢赤酵母(*Pichia guercuum*)、皮傑普氏畢赤酵母(*Pichia pijperi*)、具柄畢赤酵母(*Pichia stiptis*)、甲醇畢赤酵母(*Pichia methanolica*)、畢赤酵母屬(*Pichia* sp.)、釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、酵母屬(*Saccharomyces* sp.)、多形漢遜酵母(*Hansenula polymorpha*)、克魯維酵母屬(*Kluyveromyces sp.*)、乳酸克魯維酵母(*Kluyveromyces lactis*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、小巢狀麴菌(*Aspergillus nidulans*)、黑麴菌(*Aspergillus niger*)、米麴菌(*Aspergillus oryzae*)、里氏木菌(*Trichoderma reesei*)、金孢子菌(*Chrysosporium lucknowense*)、鐮刀菌屬(*Fusarium* sp.)、禾穀鐮孢菌(*Fusarium gramineum*)、鐮孢黴(*Fusarium venenatum*)、小立碗藓(*Physcomitrella patens*)及粗厚神經胞子菌(*NeurosporaCrassa*)。畢赤酵母屬，任何酵母屬、多形漢遜酵母、任何克魯維酵母屬、白色念珠菌、任何麴菌屬、里氏木菌、金孢子菌、任何鐮刀

菌屬、解脂耶氏酵母及粗厚神經胞子菌。本發明包括任何含有本發明之PD1及/或LAG3結合劑(例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)或含有編碼此類結合劑之聚核苷酸或含有了含有該聚核苷酸之載體的宿主細胞(例如CHO細胞或畢赤酵母細胞，例如甲醇酵母)。

另外，可使用許多已知技術增強PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)自生產細胞株之表現。舉例而言，麩醯胺酸合成酶基因表現系統(GS系統)為用於增強在某些條件下表現之常用方法。GS系統整體或部分結合歐洲專利第0 216 846號、第0 256 055號及第0 323 997號及歐洲專利申請案第89303964.4號論述。因此，在本發明之一實施例中,哺乳動物宿主細胞(例如CHO)缺乏麩醯胺酸合成酶基因且在培養基中不存在麩醯胺酸下生長,其中然而，編碼免疫球蛋白鏈之聚核苷酸包含彌補宿主細胞中基因缺乏之麩醯胺酸合成酶基因。此類含有如本文所論述之結合劑或聚核苷酸或載體之宿主細胞以及如本文所論述之用於使用此類宿主細胞製備結合劑之表現方法為本發明之一部分。

本發明包括純化PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)(例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或

F023701177)之方法，其包含將包含PD1及/或LAG3結合劑之樣品(例如培養基、細胞溶解物或細胞溶解物溶離份，例如溶解物之可溶溶離份)引入至純化培養基(例如陽離子交換培養基、陰離子交換培養基及/或疏水交換培養基)中且自該樣品之不結合至培養基之流通溶離份收集純化之PD1及/或LAG3結合劑；或丟棄流通溶離份且自培養基溶離結合之PD1及/或LAG3結合劑且收集溶離液。在本發明之一實施例中，培養基在施加樣品之管柱中。在本發明之一實施例中，在宿主細胞中在抗體或片段之重組表現之後進行純化方法，例如其中首先溶解宿主細胞且視情況純化溶解物中之不可溶物質，隨後在培養基上進行純化；或其中藉由宿主細胞將PD1及/或LAG3結合劑分泌至培養基中且向純化培養基施用培養基或其溶離份。

一般而言，在特定細胞株或轉殖基因動物中產生之糖蛋白將具有為細胞株或轉殖基因動物中產生之糖蛋白所特有的糖基化模式。因此，PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)之特定糖基化模式將視用於產生PD1及/或LAG3結合劑之特定細胞株或轉殖基因動物而定。僅包含未經海藻糖基化之*N*-聚糖的PD1及/或LAG3結合劑為本發明之一部分且可為有利的，因為未經海藻糖基化之抗體已顯示通常活體外及活體內均展示比其海藻糖基化對應物更有效之功效(參見例如Shinkawa等人, J. Biol.Chem. 278: 3466-3473 (2003)；美國專利第6,946,292號及第7,214,775號)。此等具有未經海藻糖基化之*N*-聚糖的PD1

及/或LAG3結合劑可能不為免疫原性，因為其碳水化合物結構為人類血清IgG中存在之群體之正常組分。

本發明包括包含通常添加至在中國倉鼠卵巢細胞中產生之免疫球蛋白(CHO N連接聚糖)中或經工程改造酵母細胞(經工程改造酵母N連接聚糖) (諸如甲醇酵母)中之N連接聚糖的PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)。舉例而言，在本發明之一實施例中，PD1及/或LAG3結合劑包含圖4中闡述之「經工程改造酵母N連接聚糖」或「CHO N連接聚糖」中之一或多者(例如G0及/或G0-F及/或G1及/或G1-F及/或G2-F及/或Man5)。在本發明之一實施例中，PD1及/或LAG3結合劑包含經工程改造酵母N連接聚糖，即G0及/或G1及/或G2，視情況進一步包括Man5。在本發明之一實施例中，PD1及/或LAG3結合劑包含CHO N連接聚糖，即G0-F、G1-F及G2-F，視情況進一步包括G0及/或G1及/或G2及/或Man5。在本發明之一實施例中，PD1及/或LAG3結合劑上之所有N連接聚糖中之約80%至約95% (例如約80-90%、約85%、約90%或約95%)為經工程改造酵母N連接聚糖或CHO N連接聚糖。參見Nett等人 Yeast. 28(3): 237-252 (2011)；Hamilton等人 Science. 313(5792): 1441-1443 (2006)；Hamilton等人 Curr Opin Biotechnol. 18(5): 387-392 (2007)。舉例而言，在本發明之一實施例中，經工程改造酵母細胞為GFI5.0或YGLY8316或美國專利第7,795,002號或Zha等人 Methods Mol Biol. 988:31-43 (2013)中闡述之株系。亦參見國際專利申請公開案第WO2013/066765號。

組合

在特定實施例中，本發明之PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如

奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)可單獨或與另一、其他治療劑及/或治療程序組合使用以治療或預防需要此類治療或預防之個體之任何疾病(諸如癌症，例如如本文所論述)。包含此類PD1及/或LAG3結合劑與其他治療劑之組合的組合物或套組，例如包含醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合物亦為本發明之一部分。

術語「與……組合」指示組分本發明之PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)以及另一藥劑(諸如派立珠單抗(pembrolizumab)或尼沃單抗(nivolumab))可調配成單一組合物例如以便同時遞送，或單獨地調配成兩種或多於兩種組合物(例如套組)。各組分可在不同於其他組分投與之時間投與個體；舉例而言，每次投藥可在既定時段內以若干時間間隔非同時給與(例如分開或依序)。此外，單獨組分可藉由相同或藉由不同途徑向個體投與(例如其中非經腸投與本發明之PD1及/或LAG3結合劑且經口投與太平洋紫杉醇)。

在特定實施例中，PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、

F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)可與抗癌治療劑或免疫調節藥物(諸如免疫調節受體抑制劑，例如特異性結合至受體之抗體或其抗原結合片段)組合使用。

在本發明之一實施例中，PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)與諸如以下之抑制劑(例如較小有機分子或抗體或其抗原結合片段)中之一或多者組合：MTOR (哺乳動物雷帕黴素標靶)抑制劑、細胞毒性劑、鉑試劑、BRAF抑制劑、CDK4/6抑制劑、EGFR抑制劑、VEGF抑制劑、微管穩定劑、紫杉烷、CD20抑制劑、CD52抑制劑、CD30抑制劑、RANK (核因子κ-B之受體活化因子)抑制劑、RANKL (核因子κ-B配位體之受體活化因子)抑制劑、ERK抑制劑、MAP激酶抑制劑、AKT抑制劑、MEK抑制劑、PI3K抑制劑、HER1抑制劑、HER2抑制劑、HER3抑制劑、HER4抑制劑、Bcl2抑制劑、CD22抑制劑、CD79b抑制劑、ErbB2抑制劑或法呢基蛋白質轉移酶抑制劑。

在本發明之一實施例中，PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、

F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)與以下中之一或多者組合：抗PD1抗體或其抗原結合片段(例如派立珠單抗、尼沃單抗、CT-011)、抗PDL1、抗CTLA4、抗TIM3、抗CS1 (例如埃羅妥珠單抗(elotuzumab))、抗KIR2DL1/2/3 (例如利瑞路單抗(lirilumab))、抗CD27、抗CD137 (例如優瑞路單抗(urelumab))、抗GITR (例如TRX518)、抗PD-L1 (例如BMS-936559、MSB0010718C或MPDL3280A)、抗PDL2、抗ILT1、抗ILT2、抗ILT3、抗ILT4、抗ILT5、抗ILT6、抗ILT7、抗ILT8、抗CD40、抗OX40、抗CD137、抗KIR2DL1、抗KIR2DL2/3、抗KIR2DL4、抗KIR2DL5A、抗KIR2DL5B、抗KIR3DL1、抗KIR3DL2、抗KIR3DL3、抗NKG2A、抗NKG2C、抗NKG2E，或此類標靶之任何較小有機分子抑制劑；IL-10、抗IL10、抗TSLP (胸腺基質淋巴生成素)或聚乙二醇化IL-10。

在本發明之一實施例中，聚乙二醇化IL-10分子上之聚乙二醇(PEG)部分之分子量為約12,000道爾頓或約20,000道爾頓。在本發明之一實施例中，聚乙二醇化IL-10 (例如聚乙二醇化人類IL-10)包含一或多個聚乙二醇分子，其經由連接子(例如C_{2-12}烷基，諸如--$CH_2CH_2CH_2$--)共價連接至IL-10之單個子單元之單個胺基酸殘基，其中該胺基酸殘基為N端胺基酸殘基之α胺基或離胺酸殘基之ε胺基。在本發明之一實施例中，聚乙二醇化IL-10為：$(PEG)_b$-L-NH-IL-10；其中b為1-9且L為C_{2-12}烷基連接子部分，其共價連接至IL-10之單個胺基酸殘基之氮(N)。在本發明之一實施例中，聚乙二醇化IL-10之IL-10具有式：$[X\text{--}O(CH_2CH_2O)_n]_b$-L-NH-IL-10，其中X為H或$C_{1-4}$烷基；n為20至2300；b為1至9；且L為$C_{1-11}$烷基連接子部分，其共價連接至一個IL-10子單元之胺基端處之α胺基之氮(N)；其限制

條件為當b大於1時，n之總和不超過2300。參見US7,052,686。

在本發明之一實施例中，抗IL-10抗體或其抗原結合片段(例如人類化抗體)包含以下闡述之CDR：

CDR-L1：KTSQNIFENLA (SEQ ID NO: 71)

CDR-L2：NASPLQA (SEQ ID NO: 72)

CDR-L3：HQYYSGYT (SEQ ID NO: 73)

CDR-H1：GFTFSDYHMA (SEQ ID NO: 74)

CDR-H2：SITLDATYTYYRDSVRG (SEQ ID NO: 75)

CDR-H3：HRGFSVWLDY (SEQ ID NO: 76)

(參見US7,662,379)

在本發明之一實施例中，抗TSLP抗體或其抗原結合片段(例如人類化抗體)包含以下闡述之CDR：

CDR-H1：GYIFTDYAMH (SEQ ID NO: 77)

CDR-H2：TFIPLLDTSDYNQNFK (SEQ ID NO: 78)

CDR-H3：MGVTHSYVMDA (SEQ ID NO: 79)

CDR-L1：RASQPISISVH (SEQ ID NO: 80)

CDR-L2：FASQSIS (SEQ ID NO: 81)

CDR-L3：QQTFSLPYT (SEQ ID NO: 82)

(參見WO2008/76321)

在本發明之一實施例中，抗CD27抗體或其抗原結合片段(例如人類化抗體)包含以下闡述之CDR：

CDR-H1：GFIIKATYMH (SEQ ID NO: 83)

CDR-H2：RIDPANGETKYDPKFQV (SEQ ID NO: 84)

CDR-H3：YAWYFDV (SEQ ID NO: 85)

CDR-L1：RASENIYSFLA (SEQ ID NO: 86)

CDR-L2：HAKTLAE (SEQ ID NO: 87)

CDR-L3：QHYYGSPLT (SEQ ID NO: 88)

(參見WO2012/04367)。

因此，本發明包括包含PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗 體) (例 如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)與派立珠單抗之組合的組合物；以及治療或預防個體之癌症之方法，其包含向個體投與有效量之PD1及/或LAG3結合劑與派立珠單抗(例如以200 mg每三週一次給藥之派立珠單抗)之組合。視情況，亦與另一其他治療劑組合向個體投與。

在本發明之一實施例中，PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)與派立珠單抗抗體組合，該抗體包含：包含以下胺基酸序列之免疫球蛋白重鏈(或其CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3)：

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 89)；及包含以下胺基酸序列之免疫球蛋白輕鏈(或其CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3)：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 90)。

在本發明之一實施例中，PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023'00899、F023'00931、F023'01016、F023'01017、F023'00924、F023'00969、F023'00970、F023'01163、F023'01168、F023'01173、F023'0117' F023'01176、8、F023'01161、F023'01166、F023'01171、F023'01176、F023'01162、F023'01167、F023'01172或F023'01177)與包含以下之抗體組合：包含以下胺基酸序列之免疫球蛋白重鏈(或其CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3)：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGFTFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKKYYADSVKGRFTISDDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 91)；及包含以下胺基酸序列之免疫球蛋白輕鏈(或其CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3)：

ETVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 92)。

在本發明之一實施例中，PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)與以下中之任何一或多者組合：13-順-視黃酸、3-[5-(甲磺醯基哌啶甲基)-吲哚基]-喹諾酮、4-羥基他莫昔芬(hydroxytamoxifen)、5-去氧尿苷、5'-去氧-5-氟尿苷、5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤、7-羥基星孢菌素(hydroxystaurosporine)、A-443654、乙酸阿比特龍(abirateroneacetate)、阿布拉生(abraxane)、ABT-578、阿考比芬(acolbifene)、ADS-100380、阿柏西普(aflibercept)、ALT-110、六甲蜜胺(altretamine)、阿米福汀(amifostine)、胺魯米特(aminoglutethimide)、胺柔比星(amrubicin)、安吖啶(amsacrine)、阿那格雷(anagrelide)、阿那曲唑(anastrozole)、血管生長抑素、AP-23573、ARQ-197、阿佐昔芬(arzoxifene)、AS-252424、AS-605240、天冬醯胺酶、ATI3387、AT-9263、阿曲生坦(atrasentan)、阿西替尼(axitinib)、AZD1152、卡介苗(*Bacillus Calmette-Guerin*；BCG)疫苗、巴他布林(batabulin)、BC-210、貝索托克(besodutox)、貝伐單抗(bevacizumab)、BGJ398、比卡魯胺(bicalutamide)、Bio111、BIO140、BKM120、博萊黴素(bleomycin)、BMS-214662、BMS-247550、BMS-275291、BMS-310705、硼替佐米(bortezimib)、布舍瑞林(buserelin)、硫酸布他卡因(busulfan)、骨化三醇、喜樹鹼(camptothecin)、卡奈替尼(canertinib)、卡培他濱(capecitabine)、卡鉑(carboplatin)、卡莫司汀(carmustine)、CC8490、

CEA (重組牛痘癌胚抗原疫苗)、西地尼布(cediranib)、CG-1521、CG-781、克拉米多辛(chlamydocin)、氯芥苯丁酸(chlorambucil)、氯毒素(chlorotoxin)、西侖吉肽(cilengitide)、西米替丁(cimitidine)、順鉑(cisplatin)、克拉屈濱(cladribine)、氯屈膦酸鹽(clodronate)、克比替尼(cobimetnib)、COL-3、CP-724714、環磷醯胺(cyclophosphamide)、環丙孕酮(cyproterone)、乙酸環丙孕酮、阿糖胞苷(cytarabine)、胞嘧啶阿拉伯糖苷(cytosinearabinoside)、達拉菲尼(dabrafenib)、達卡巴嗪(dacarbazine)、達欣斯特(dacinostat)、放線菌素d (dactinomycin)、達洛圖單抗(dalotuzumab)、達魯舍替(danusertib)、達沙替尼(dasatanib)、道諾黴素(daunorubicin)、德卡替尼(decatanib)、魚藤素(deguelin)、地尼介白素(denileukin)、脫氧柯福黴素(deoxycoformycin)、縮肽(depsipeptide)、二芳基丙腈、己烯雌酚(diethylstilbestrol)、迪夫托斯(diftitox)、DNE03、多烯紫杉醇(docetaxel)、多韋替尼(dovitinib)、小紅莓(doxorubicin)、曲洛昔芬(droloxifene)、艾特咔林(edotecarin)、釔-90標記之艾多替德、艾多替德(edotreotide)、EKB-569、EMD121974、恩拉菲尼(encorafenib)、內皮生長抑素(endostatin)、恩雜魯胺(enzalutamide)、恩紮妥林(enzastaurin)、表柔比星(epirubicin)、埃博黴素(epithilone) B、ERA-923、艾必妥(erbitux)、埃羅替尼(erlotinib)、雌二醇(estradiol)、雌氮芥(estramustine)、依託泊苷(etoposide)、依維莫司(everolimus)、依西美坦(exemestane)、費拉妥珠單抗(ficlatuzumab)、非那雄安(finasteride)、夫拉平度(flavopiridol)、氟尿苷(floxuridine)、氟達拉賓(fludarabine)、氟氫可的松(fludrocortisone)、氟羥甲基睪酮(fluoxymesterone)、氟他胺(flutamide)、弗福克斯療程(FOLFOX

regimen)、氟維司群(fulvestrant)、加利特隆(galeterone)、加利特皮(ganetespib)、吉非替尼(gefitinib)、吉西他濱(gemcitabine)、吉馬替康(gimatecan)、葡萄哌喃糖基脂質A、戈舍瑞林(goserelin)、乙酸戈舍瑞林、棉子酚、GSK461364、GSK690693、HMR-3339、己酸羥基孕酮、羥基脲、IC87114、艾達黴素(idarubicin)、艾度昔芬(idoxyfene)、異環磷醯胺(ifosfamide)、IM862、伊馬替尼(imatinib)、IMC-1C11、咪喹莫特(imiquimod)、INC280、INCB24360、INO1001、干擾素、介白素-2、介白素-12、伊匹單抗、伊立替康(irinotecan)、JNJ-16241199、酮康唑(ketoconazole)、KRX-0402、拉帕替尼(lapatinib)、拉索昔芬(lasofoxifene)、LEE011、來曲唑(letrozole)、甲醯四氫葉酸、亮丙瑞林(leuprolide)、乙酸亮丙瑞林、左旋咪唑(levamisole)、脂質體包覆之太平洋紫杉醇、洛莫司汀(lomustine)、洛那法尼(lonafarnib)、硫蒽酮(lucanthone)、LY292223、LY292696、LY293646、LY293684、LY294002、LY317615、LY3009120、馬立馬司他(marimastat)、二氯甲二乙胺、乙酸甲羥孕酮、乙酸甲地孕酮、MEK162、美法侖(melphalan)、巯基嘌呤、美司鈉(mesna)、甲胺喋呤(methotrexate)、光神黴素(mithramycin)、絲裂黴素(mitomycin)、米托坦(mitotane)、米托蒽醌(mitoxantrone)、熱滅活奧布分支桿菌(heat killed Mycobacterium obuense)之懸浮液、陶紮色替(tozasertib)、MLN8054、納替克斯(natitoclax)、鯊癌靈(neovastat)、來那替尼(Neratinib)、紐拉迪布(neuradiab)、尼羅替尼(nilotinib)、尼魯米德(nilutimide)、諾拉曲特(nolatrexed)、NVP-BEZ235、奧利默森(oblimersen)、奧曲肽(octreotide)、奧伐木單抗(ofatumumab)、奧戈伏單抗(oregovomab)、奧

納圖單抗(ornatuzumab)、奧特羅那(orteronel)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、太平洋紫杉醇、帕博西里(palbociclib)、帕米膦酸鹽(pamidronate)、帕尼單抗(panitumumab)、帕唑帕尼(pazopanib)、PD0325901、PD184352、PEG-干擾素、培美曲塞(pemetrexed)、噴司他汀(pentostatin)、哌立福新(perifosine)、苯丙胺酸氮芥(phenylalaninemustard)、PI-103、皮克立西(pictilisib)、PIK-75、派多西芬(pipendoxifene)、PKI-166、普卡黴素(plicamycin)、聚ICLC、卟吩姆(porfimer)、潑尼松(prednisone)、丙卡巴肼(procarbazine)、孕酮、PSK蛋白質結合多醣(衍生自雲芝擔子菌(Basidiomycete coriolus versicolor))、PLX8394、PX-866、R-763、雷諾昔酚(raloxifene)、雷替曲塞(raltitrexed)、拉佐欣(razoxin)、瑞達莫司(ridaforolimus)、利妥昔單抗(rituximab)、羅米地辛(romidepsin)、RTA744、盧比替康(rubitecan)、斯克太德(scriptaid)、Sdx102、塞利希布(seliciclib)、司美替尼(selumetinib)、司馬沙尼(semaxanib)、SF1126、西羅莫司(sirolimus)、SN36093、索拉非尼(sorafenib)、螺內酯(spironolactone)、角鯊胺(squalamine)、SR13668、鏈脲佐菌素(streptozocin)、SU6668、辛二醯基苯胺異羥肟酸、舒尼替尼(sunitinib)、合成雌激素、他侖帕奈(talampanel)、塔里默拉赫帕(talimogene laherparepvec)、他莫昔芬、替莫唑胺(temozolomide)、坦羅莫司(temsirolimus)、替尼泊甙(teniposide)、替米利芬(tesmilifene)、睪固酮(testosterone)、漢防己鹼(tetrandrine)、TGX-221、撒利多胺(thalidomide)、6-硫鳥嘌呤、噻替派(thiotepa)、替西單抗(ticilimumab)、替吡法尼(tipifarnib)、替沃紮尼(tivozanib)、TKI-258、TLK286、TNFα (腫瘤壞死因子α)、拓朴替康(topotecan)、檸檬酸托瑞米

芬(toremifene citrate)、曲貝替定(trabectedin)、曲美替尼(trametinib)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、維甲酸(tretinoin)、曲古黴素A (trichostatin A)、磷酸曲西立濱單水合物(triciribinephosphate monohydrate)、雙羥萘酸曲普瑞林(triptorelin pamoate)、TSE-424、尿嘧啶氮芥、丙戊酸、伐柔比星(valrubicin)、凡德他尼(vandetanib)、凡塔藍尼(vatalanib)、VEGF捕獲劑、維羅非尼(vemurafenib)、長春鹼(vinblastine)、長春新鹼(vincristine)、長春地辛(vindesine)、長春瑞濱(vinorelbine)、維他欣(vitaxin)、維特斯潘(vitespan)、伏立諾他(vorinostat)、VX-745、渥曼青黴素(wortmannin)、Xr311、Z-100結核桿菌(Bacillus tuberculosis)之熱水提取物、紮木單抗(zanolimumab)、ZK186619、ZK-304709、ZM336372或ZSTK474。

在本發明之一實施例中，PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)與一或多種止吐藥組合，包括(但不限於)：卡索匹坦(casopitant) (GlaxoSmithKline)、奈妥吡坦(Netupitant) (MGI-Helsinn)及其他NK-1受體拮抗劑、帕洛諾司瓊(palonosetron) (由MGI Pharma以Aloxi出售)、阿匹坦(aprepitant) (由Merck and Co.以Emend出售；Rahway, NJ)、苯海拉明(diphenhydramine) (由Pfizer以Benadryl®出售；New York, NY)、安泰樂(hydroxyzine) (由Pfizer以Atarax®出售；New York, NY)、甲氧氯普胺(metoclopramide) (由AH Robins Co以Reglan®

出售；Richmond, VA)、勞拉西泮(lorazepam) (由Wyeth以Ativan®出售；Madison, NJ)、阿普唑侖(alprazolam) (由Pfizer以Xanax®出售；New York, NY)、氟哌啶醇(haloperidol) (由Ortho-McNeil以Haldol®出售；Raritan, NJ)、氟哌啶(droperidol) (Inapsine®)、屈大麻酚(dronabinol) (由Solvay Pharmaceuticals, Inc.以Marinol®出售；Marietta, GA)、地塞米松(dexamethasone) (由Merck and Co.以Decadron®出售；Rahway, NJ)、甲基潑尼龍(methylprednisolone) (由Pfizer以Medrol®出售；New York, NY)、丙氯拉嗪(prochlorperazine) (由Glaxosmithkline以Compazine®出售；Research Triangle Park, NC)、格拉司瓊(granisetron) (由Hoffmann-La Roche Inc.以Kytril®出售；Nutley, NJ)、昂丹司瓊(ondansetron) (由Glaxosmithkline以Zofran®出售；Research Triangle Park, NC)、多拉司瓊(dolasetron) (由Sanofi-Aventis以Anzemet®出售；New York, NY)、特比司瓊(tropisetron) (由Novartis以Navoban®出售；East Hanover, NJ)。

癌症治療之其他副作用包括紅血球及白血球缺乏。因此，在本發明之一實施例中，PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)與治療或預防此類缺乏之藥劑(諸如非格司亭(filgrastim)、PEG-非格司亭、紅血球生成素、阿法依泊汀(epoetin alfa)或阿法達貝泊汀(darbepoetin alfa))組合。

在本發明之一實施例中，PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)與疫苗組合。在本發明之一實施例中，疫苗為抗癌疫苗、肽疫苗或DNA疫苗。舉例而言，在本發明之一實施例中，疫苗為腫瘤細胞(例如輻射腫瘤細胞)或樹突狀細胞(例如由腫瘤肽脈動之樹突狀細胞)。

在本發明之一實施例中，PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)與治療程序組合投與。治療程序為一或多個由治療個體之醫師或臨床醫師執行之步驟，其意欲緩解所治療之個體中之一或多種症狀(例如癌症及/或感染性疾病之症狀)，其藉由引起此類症狀之消退或消除或藉由抑制此類症狀(例如癌症症狀，諸如腫瘤生長或癌轉移)之進程達到任何臨床上可量測之程度。

在本發明之一實施例中，治療程序為抗癌放射療法。舉例而言，在本發明之一實施例中，放射療法為外部光束療法(EBT)：遞送一束高能X射線至腫瘤位置之方法。光束在患者外部產生(例如藉由線性加速器)且靶向腫瘤部位。此等X射線可破壞癌細胞且謹慎的治療計劃允許繞過周圍正常組織。不將放射性來源置放於患者體內。在本發明之一實施例中，放射

療法為質子束療法：以質子代替X-射線轟擊患病組織之一種保形療法。在本發明之一實施例中，放射療法為保形外部光束放射療法：使用先進技術將放射療法針對個體身體結構調整的程序。

在本發明之一實施例中，放射療法為近接療法：放射性物質暫時置放於體內，通常用於將超劑量或增強劑量之放射線給與某一區域。

在本發明之一實施例中，與PD1及/或LAG3結合劑(例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)組合投與之外科程序為外科腫瘤切除術。

治療性用途

本發明包括預防及/或治療至少一種可藉由使用本發明之PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)視情況與另一治療劑或治療程序之組合預防或治療之疾病或病症的方法，該方法包含向有需要的個體投與醫藥活性量之PD1及/或LAG3結合劑，及/或包含其之醫藥組合物。

「治療(treat/treating)」意謂將本發明之PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、

F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)投與有PD1及/或LAG3結合劑對其有效之疾病之一或多種症狀的個體，例如在治療患有癌症或感染性疾病，或懷疑患有癌症或感染性疾病之個體中，對於癌症或感染性疾病該藥劑具有治療活性。通常，PD1及/或LAG3結合劑以「有效量」或「有效劑量」投與，其將緩解所治療之個體或群體中之一或多種症狀(例如癌症或感染性疾病之症狀)，其藉由引起此類症狀之消退或消除或藉由抑制此類症狀(例如癌症症狀，諸如腫瘤生長或癌轉移)之進程達到任何臨床上可量測之程度。PD1及/或LAG3結合劑之有效量可根據諸如以下之因素而變化：患者之疾病階段、年齡及體重及藥物在個體中引發所需反應之能力。

待治療之個體可為任何溫血動物，但特定言之為哺乳動物，且更特定言之為人類。如熟習此項技術者將瞭解，待治療之個體將特定言之為罹患本文中提及之疾病及病症或處於其風險下之個體。一般而言，將遵循治療方案直至實現所需治療效果及/或持續與維持所需治療效果一樣長的時間。同樣，此可由臨床醫師確定。

本發明亦關於醫藥組合物，其包含如本文所描述之至少一個胺基酸序列、PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)、多肽或化合物，諸如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或

F023701177；及視情況，至少一種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。此類製劑、載劑、賦形劑及稀釋劑可一般如Ablynx N.V.之公開之專利申請案，諸如WO 04/041862、WO 2006/122786、WO 2008/020079、WO 2008/142164或WO 2009/068627中所描述。

為了製備本發明之PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例 如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)之醫藥或無菌組合物，將PD1及/或LAG3結合劑與醫藥學上可接受之載劑或賦形劑摻和。參見例如雷明頓氏醫藥科學(Remington's Pharmaceutical Sciences)及美國藥典：國家處方集(U.S. Pharmacopeia: National Formulary), Mack Publishing Company, Easton, PA (1984)。此類組合物為本發明之一部分。

本發明之範疇包括包含PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗 體) (例 如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)之乾燥(例如冷凍乾燥)組合物或包括醫藥學上可接受之載劑但基本上不具有水之其醫藥組合物。

治療劑及診斷劑之調配物可藉由與可接受之呈例如凍乾粉末、漿料、水溶液或懸浮液形式的載劑、賦形劑或穩定劑混合來製備(參見例

如，Hardman, 等人 (2001) Goodman and Gilman之The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, NY；Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams及Wilkins, New York, NY；Avis等人 (編) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY；Lieberman等人 (編) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY；Lieberman等人 (編) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY；Weiner及Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, NY)。

一般而言，為了預防及/或治療本文中提及之疾病及病症且視待治療之特定疾病或病症、將使用之特定融合蛋白或構築體之效能及/或半衰期、使用之特定投藥途徑及特定醫藥調配物或組合物而定，本發明之奈米抗體及多肽將一般以每日每公斤體重1公克與0.01微克之間，較佳每日每公斤體重0.1公克與0.1微克之間，諸如每日每公斤體重約1、10、100或1000微克的量持續(例如藉由輸注)、以單一日劑量或以在一天期間的多種分次劑量投與。臨床醫師將一般能夠視本文中提及之因素而定，確定適合的日劑量。亦將瞭解在特定情況下，臨床醫師可例如基於上文所引用之因素及其專業判斷選擇偏離此等量。一般而言，一些關於待投與之量的指南可獲自經由基本上相同途徑投與之針對相同靶向之類似習知抗體或抗體片段通常所投與的量，然而考慮親和力/親合力、功效、生物分佈、半衰期差異及熟習此項技術者眾所周知之類似因素。

PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、

F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)向個體投與之模式可變化。投與途徑包括經口、直腸、經黏膜、經腸、非經腸；肌肉內、皮下、皮內、髓內、鞘內、直接心室內、靜脈內、腹膜內、鼻內、眼內、吸入、吹入、局部、皮膚、經皮或動脈內。

適當劑量之確定由臨床醫師，例如使用此項技術中已知或懷疑影響治療之參數或因素進行。一般而言，在確定劑量方面，劑量以稍微低於最佳劑量之量開始且在其之後其以較小增量增加直至相對於任何負面副作用實現所要或最佳效果。重要診斷量測包括例如發炎症狀或產生之發炎性細胞因子之量的量測。一般而言，需要將使用之生物製劑來源於與靶向治療之動物相同的物種，藉此使對試劑之任何免疫反應降至最低。在人類個體之情況下，例如嵌合抗體、人類化抗體及完全人類抗體可為合乎需要的。選擇適當劑量之PD1及/或LAG3結合劑(例如F023700924或F023700931)之指南為可獲得的(參見例如Wawrzynczak (1996) Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK；Kresina (編) (1991) Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, NY；Bach (編) (1993) Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, NY；Baert等人 (2003) New Engl. J. Med. 348:601-608；Milgrom等人 (1999) New Engl. J. Med. 341:1966-1973；Slamon等人 (2001) New Engl. J. Med. 344:783-792；Beniaminovitz等人 (2000) New Engl. J. Med. 342:613-619；Ghosh等人 (2003) New Engl. J. Med. 348:24-32；Lipsky等人

(2000) New Engl. J. Med. 343:1594-1602)。

疾病症狀是否已緩解可藉由醫師或其他熟練醫療保健提供者通常用以評定該症狀之嚴重程度或進程狀態的任何臨床量測來評定。雖然本發明之一實施例(例如，治療方法或製品)可能無法有效緩解每一個體中之標靶疾病症狀，但其應緩解如藉由此項技術中已知之任何統計測試所測定的統計學上顯著數目之個體中的標靶疾病症狀，統計測試諸如學生t測試、chi^2測試、根據曼(Mann)及惠特尼(Whitney)之U測試、克拉斯卡-瓦立斯測試(Kruskal-Wallis test；H測試)、約克希雷-特普斯特拉測試(Jonckheere-Terpstra-test)及威爾科克森測試(Wilcoxon-test)。

因為本發明之PD1及/或LAG3結合劑(例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)能夠結合至PD1 (例如ISVD，諸如奈米抗體)，其可特定言之用於治療或預防癌症、轉移性癌症、實體腫瘤、血液癌、白血病、淋巴瘤、骨肉瘤、橫紋肌肉瘤、神經母細胞瘤、腎癌、白血病、腎移行細胞癌、膀胱癌、威爾姆氏癌症、卵巢癌、胰臟癌、乳癌、前列腺癌、骨癌、肺癌、非小細胞肺癌、胃癌、結腸直腸癌、子宮頸癌、滑膜肉瘤、頭頸癌、鱗狀細胞癌、多發性骨髓瘤、腎細胞癌、視網膜母細胞瘤、肝母細胞瘤、肝細胞癌、黑素瘤、腎臟之桿狀腫瘤、尤文氏肉瘤、軟骨肉瘤、腦癌、神經膠母細胞瘤、腦膜瘤、垂體腺瘤、前庭神經鞘瘤、原始神經外胚層瘤、神經管胚細胞瘤、星形細胞瘤、退行性星形細胞瘤、少突神經膠質瘤、室管膜瘤、脈

絡叢乳頭狀瘤、真性紅血球增多症、血小板增多症、特發性骨髓纖維化、軟組織肉瘤、甲狀腺癌、子宮內膜癌、類癌或肝癌、乳癌及胃癌。

本發明之PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)可用於治療或預防感染性疾病，諸如病毒感染、細菌感染、真菌感染或寄生蟲感染。在本發明之一實施例中，病毒感染為選自由以下組成之群的病毒的感染：人類免疫缺乏病毒(HIV)、埃博拉病毒(ebola virus)、肝炎病毒(A、B或C)、疱疹病毒(例如VZV、HSV-I、HAV-6、HSV-II及CMV、埃-巴二氏病毒(Epstein Barr virus))、腺病毒、流感病毒、黃病毒(flaviviruses)、埃可病毒(echovirus)、鼻病毒(rhinovirus)、科沙奇病毒(coxsackie virus)、冠狀病毒(coronavirus)、呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus)、流行性腮腺炎病毒(mumps virus)、輪狀病毒(rotavirus)、麻疹病毒(measles virus)、風疹病毒(rubella virus)、細小病毒(parvovirus)、牛痘病毒(vaccinia virus)、HTLV病毒、登革熱病毒(dengue virus)、乳突狀瘤病毒(papillomavirus)、軟疣病毒(molluscum virus)、脊髓灰白質炎病毒(poliovirus)、狂犬病病毒(rabies virus)、JC病毒或蟲媒病毒性腦炎病毒(arboviral encephalitis virus)。在本發明之一實施例中，細菌感染為選自由以下組成之群的細菌的感染：衣原體(*Chlamydia*)、立克次體細菌(rickettsial bacteria)、分枝桿菌(mycobacteria)、葡萄狀球菌(staphylococci)、鏈球菌(streptococci)、肺炎球菌(pneumonococci)、腦膜炎球菌(meningococci)及淋球菌(gonococci)、克雷伯氏菌(klebsiella)、變形桿菌(proteus)、沙雷菌屬(serratia)、假單胞菌(pseudomonas)、軍團菌屬(*Legionella*)、白喉棒狀桿菌(*Corynebacterium diphtheriae*)、沙門氏菌(*Salmonella*)、桿菌(bacilli)、霍亂弧菌(*Vibrio cholerae*)、破傷風梭菌

(*Clostridium tetan*)、肉毒梭菌(*Clostridium botulinum*)、炭疽桿菌(*Bacillus anthricis*)、鼠疫耶爾森菌(*Yersinia pestis*)、麻風分支桿菌(*Mycobacterium leprae*)、彌漫型痲瘋分枝桿菌(*Mycobacterium lepromatosis*)及包柔體屬(*Borriella*)。在本發明之一實施例中，真菌感染為選自由以下組成之群的真菌的感染：念珠菌屬(*Candida*) (白色念珠菌(*albican*)、克魯斯氏念珠菌(*krusei*)、光滑念珠菌(*glabrata*)、熱帶念珠菌(*tropicalis*)等)、新型隱球菌(*Cryptococcus neoformans*)、麴菌屬(*Aspergillus*) (煙麴黴(*fumigatus*)、黑麴黴(*niger*)等)、毛黴屬(Genus *Mucorales*) (白黴菌屬(*mucor*)、犁頭黴屬(*absidia*)、根黴菌屬(*rhizopus*))、申克氏胞絲菌(*Sporothrix schenkii*)、皮炎芽生菌(*Blastomyces dermatitidis*)、巴西副球孢子菌(*Paracoccidioides brasiliensis*)、粗球孢子菌(*Coccidioides immitis*)及莢膜組織胞漿菌(*Histoplasma capsulatum*)。在本發明之一實施例中，寄生蟲感染為選自由以下組成之群的寄生蟲的感染：溶組織內阿米巴(*Entamoeba histolytica*)、大腸纖毛蟲(*Balantidium coli*)、變形纖毛蟲(*Naegleria fowleri*)、棘阿米巴蟲屬(*Acanthamoeba*)、蘭比亞梨形鞭毛蟲(*Giardia lambia*)、隱胞子蟲屬(*Cryptosporidium*)、肺炎肺囊蟲(*Pneumocystis carinii*)、間日瘧原蟲(*Plasmodium vivax*)、微小巴倍蟲(*Babesia microti*)、布氏錐蟲(*Trypanosoma brucei*)、克氏錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)、杜氏利什曼原蟲(*Leishmania donovani*)、剛地弓形蟲(*Toxoplasma gondii*)及巴西日圓線蟲(*Nippostrongylus brasiliensis*)。

本發明亦包括用於以下之方法：

●抑制LAG3與MHC II類分子之結合；

●與MHC II類分子競爭LAG3結合；

●在活化CD4+及/或CD8+ T細胞之表面上將LAG3結合劑(例如PD1/LAG3結合劑)結合至天然LAG3；

●抑制LAG3均二聚；及/或

●刺激IL-2之抗原特異性T細胞產生

其係在個體體內藉由向個體投與PD1/LAG3結合劑(例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)；或活體外藉由使LAG3與PD1/LAG3結合劑接觸進行。此類活性可經由LAG3結合劑介導。因此，此類方法亦可用任何包括LAG3結合劑之結合劑進行。

本發明亦包括用於以下之方法：

●阻斷PD1與PD-L1及/或PD-L2之間的結合

●將PD1結合劑(例如PD1/LAG3結合劑)結合至B細胞及/或T細胞

●阻斷PD1介導之T細胞抑制、T細胞凋亡及/或T細胞耗盡

其係在個體體內藉由向個體投與PD1/LAG3結合劑(例如F023700924或F023700931)；或活體外藉由使PD1與PD1/LAG3結合劑接觸進行。此類活性可經由PD1結合劑介導。因此，此類方法亦可用任何包括PD1結合劑之結合劑進行。

本發明進一步包括增加結合劑(諸如PD1及/或：LAG3結合劑)之半衰期之方法，其係藉由將結合劑融合至抗人類血清白蛋白結合劑(諸如

ALB11002)。

本發明亦關於治療前述疾病及病症之方法，其一般包含向有需要(亦即罹患前述疾病中之一者)之個體投與治療有效量之本發明PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)。本發明亦關於本發明之用於預防或治療前述疾病或病症中之一者之PD1及/或LAG3結合劑。

本文中描述之PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體)(例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)、多肽、化合物及聚核苷酸(例如載體)較佳向循環投與。因而，其可以允許PD1及/或LAG3結合劑、多肽、化合物及聚核苷酸進入循環中之任何適合之方式(諸如靜脈內、經由注射或輸注)投與，或以允許PD1及/或LAG3結合劑、多肽、化合物及聚核苷酸進入循環中之任何其他適合之方式(包括經口投與、皮下投與、肌肉內投與、經由皮膚投與、鼻內投與、經由肺投與等)投與。適合之投與方法及途徑將為熟習此項技術者瞭解，同樣例如亦自Ablynx N.V.之公開之專利申請案，諸如WO 04/041862、WO 2006/122786、WO 2008/020079、WO 2008/142164或WO 2009/068627

之教示瞭解。

本發明亦提供注射裝置，其包含本文所述之PD1及/或LAG3結合劑(例如ISVD，諸如奈米抗體) (例如F023700899、F023700931、F023701016、F023701017、F023700924、F023700969、F023700970、F023701163、F023701168、F023701173、F02370117 F023701176、8、F023701161、F023701166、F023701171、F023701176、F023701162、F023701167、F023701172或F023701177)、多肽或聚核苷酸或其醫藥組合物中之任一者。注射裝置為經由非經腸途徑，例如肌肉內、皮下或靜脈內，將物質引入患者體內之裝置。舉例而言，注射裝置可為注射器(例如預填有醫藥組合物，諸如自動注射器)，其例如包括用於容納待注射之流體(例如包含PD1及/或LAG3結合劑或其醫藥組合物)的針筒或圓筒、用於刺穿皮膚及/或血管以注射流體之針及用於推動流體自針筒出來且穿過針孔之推桿。在本發明之一實施例中，包含PD1及/或LAG3結合劑或其醫藥組合物之注射裝置為靜脈內(IV)注射裝置。此類裝置包括套管或套管針/針中之PD1及/或LAG3結合劑或其醫藥組合物，套管或套管針/針可附接至管，該管可附接至用於容納經由套管或套管針/針引入個體體內的流體(例如生理食鹽水；或包含NaCl、乳酸鈉、KCl、$CaCl_2$且視情況包括葡萄糖之乳酸化林格氏溶液(lactated ringer solution))之袋子或儲槽。在本發明之一實施例中，可在將套管針及套管插入個體之靜脈中後將PD1及/或LAG3結合劑或其醫藥組合物引入裝置中且自插入之套管移除套管針。IV裝置可例如插入周邊靜脈(例如，手或臂中)；上腔靜脈或下腔靜脈，或心臟右心房內(例如，中心IV)；或鎖骨下、頸內靜脈或股靜脈，且例如前進至心臟，直至其達到上腔靜脈或右心房(例如，中心靜脈導管)。在本發明

之一實施例中，注射裝置為自動注射器、噴射注射器或外部輸注泵。噴射注射器使用液體之高壓狹窄噴射，其穿透表皮以將PD1及/或LAG3結合劑或其醫藥組合物引入患者體內。外部輸注泵為將PD1及/或LAG3結合劑或其醫藥組合物以控制量遞送至患者體內的醫學裝置。外部輸注泵可為電動或機械動力。不同泵以不同方式操作，例如注射泵將流體保持在注射器之儲槽中，且可移動活塞控制流體遞送，彈性泵將流體保持在可拉伸氣囊儲槽中，且來自氣囊之彈性壁的壓力驅動流體遞送。在蠕動泵中，一組滾筒沿可撓性導管長度向下夾捏，推動流體向前。在多通道泵中，流體可自多個儲槽以多個速率遞送。

亦應注意除非本文中另外明確指示，否則圖式、任何序列表及實驗部分/實例僅為了進一步說明本發明而給出且不應解釋或理解為以任何方式限制本發明及/或所附申請專利範圍之範疇。

本發明之其他態樣、實施例、優勢及應用將自本文中之其他描述變得明顯。

實例

此等實例意欲舉例說明本發明不限於實例。實例中所述之組合物及方法形成本發明之一部分。

實例1：單價人類PD-1奈米抗體與CHO.Hpd-1之結合

在人類PD-1過度表現之CHO細胞上評估與細胞表現之人類PD-1之結合。在分析緩衝液：PBS/10% FBS/0.05%疊氮化鈉中製備奈米抗體稀釋系列。將1×10^5個細胞/孔轉移至96孔V底盤且再懸浮於100 μL奈米抗體稀釋液中。在4℃下培育30分鐘後，用100 μL/孔分析緩衝液洗滌細胞且再懸浮於100 μL/孔之1 μg/ml抗FLAG (Sigma，F1804)或抗HIS (AbD

Serotec，MCA 1396)中。在4℃下培育樣品30分鐘，用100 μL/孔分析緩衝液洗滌，且再懸浮於100 μL/孔之5 μg/ml PE-標記之山羊抗小鼠IgG (Jackson ImmunoResearch，115-116-071)中。在4℃下培育樣品30分鐘，洗滌，且再懸浮於100 μL/孔之5 nM TOPRO3 (LifeTechnologies，T3606)溶液中，隨後在FACS CANTO II (BD)上分析。來自此等實驗之資料闡述在圖5中。

此實例展現抗人類PD-1單價奈米抗體F023700706以與衍生其之F023700275單價奈米抗體類似之方式結合至人類PD-1。

實例2：單價人類LAG-3奈米抗體與3A9.hLAG-3之結合

在人類LAG-3過度表現之3A9細胞上評估與細胞表現之人類LAG-3之結合。在分析緩衝液：PBS/10% FBS/0.05%疊氮化鈉中製備奈米抗體稀釋系列。將1×10^5個細胞/孔轉移至96孔V底盤且再懸浮於100 μL奈米抗體稀釋液中。在4℃下培育30分鐘後，用100 μL/孔分析緩衝液洗滌細胞且再懸浮於100 μL/孔之1 μg/ml抗FLAG (Sigma，F1804)中。在4℃下培育樣品30分鐘，用100 μL/孔分析緩衝液洗滌且再懸浮於100 μL/孔之5 μg/ml PE-標記之山羊抗小鼠IgG (Jackson ImmunoResearch，115-116-071)中。在4℃下培育樣品30分鐘，洗滌，且再懸浮於100 μL/孔之5 nM TOPRO3 (LifeTechnologies，T3606)溶液中，隨後在FACS CANTO II (BD)上分析。來自此等實驗之資料闡述在圖6中。

此實例展現經序列優化之抗人類LAG-3單價奈米抗體F023700842以與衍生其之最初F02376611B09單價奈米抗體類似之方式結合至人類LAG-3。

實例3：含人類PD-1奈米抗體之多特異性奈米抗體與CHO.hPD-1及3A9.

恆河猴PD-1之結合

分別在人類PD-1過度表現之CHO細胞及恆河猴PD-1過度表現之3A9細胞上評估與細胞表現之人類PD-1及恆河猴PD-1之結合。在分析緩衝液：PBS/10% FBS/0.05%疊氮化鈉中製備奈米抗體稀釋系列。將1×10^5個細胞/孔轉移至96孔V底盤且再懸浮於100 μL奈米抗體稀釋液中。在4℃下培育30分鐘後，用100 μL/孔分析緩衝液洗滌細胞且再懸浮於100 μL/孔之3 μg/ml ABH0074 (識別結合白蛋白之奈米抗體半衰期延長部分的單株抗體)中。在4℃下培育樣品30分鐘，用100 μL/孔分析緩衝液洗滌，且再懸浮於100 μL/孔之5 μg/ml PE-標記之山羊抗小鼠IgG (Jackson ImmunoResearch，115-116-071)中。在4℃下培育樣品30分鐘，洗滌且再懸浮於100 μL/孔之5 nM TOPRO3 (LifeTechnologies，T3606)溶液中，隨後在FACS CANTO II (BD)上分析。來自此等實驗之資料闡述在圖7 (a-b)中。

此實例展現雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931及F023700924結合至人類PD 1及恆河猴PD-1兩者。亦顯示單特異性二價對照物抗人類PD-1 F023700933及抗人類LAG-3 F023700962。

實例4：含人類LAG-3奈米抗體之多特異性奈米抗體與CHO.hLAG3及CHO.恆河猴/食蟹獼猴LAG3之結合

在人類及恆河猴/食蟹獼猴LAG-3過度表現之CHO細胞上評估與細胞表現之人類及非人類靈長類動物LAG-3 (在食蟹獼猴與恆河猴之間細胞外域一致；因此，基因將稱作恆河猴/食蟹獼猴LAG-3)之結合。在分析緩衝液：PBS/10% FBS/0.05%疊氮化鈉中製備奈米抗體稀釋系列。將1×10^5個細胞/孔轉移至96孔V底盤且再懸浮於100 μL奈米抗體稀釋液中。在4℃下

培育30分鐘後，用100 μL/孔分析緩衝液洗滌細胞且再懸浮於100 μL/孔之1-3 μg/ml ABH0074 (識別結合白蛋白之奈米抗體半衰期延長部分的單株抗體)中。在4℃下培育樣品30分鐘，用100 μL/孔分析緩衝液洗滌，且再懸浮於100 μL/孔之5 μg/ml PE-標記之山羊抗小鼠IgG (Jackson ImmunoResearch，115-116-071)中。在4℃下培育樣品30分鐘，洗滌且再懸浮於100 μL/孔之5 nM TOPRO3 (LifeTechnologies，T3606)溶液中，隨後在FACSArray (BD)上分析。來自此等實驗之資料闡述在圖8 (a-b)中。

此實例展現雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931及F023700924結合至人類LAG-3及恆河猴/食蟹獼猴LAG-3兩者。亦顯示單特異性二價對照物抗人類PD-1 F023700933及抗人類LAG-3 F023700962。

實例5：生物物理學PD-L1-Fc及PD-L2-Fc阻斷分析

在人類PD-1過度表現之CHO細胞上進行配位體競爭分析。在分析緩衝液：PBS/10% FBS/0.05%疊氮化鈉中製備奈米抗體稀釋系列。自1 μM (2×)開始進行奈米抗體之五倍連續稀釋且用11 nM (2×)人類PD-L1-hFc (Merck Research Institute生產；批號51AGB)或29 nM (2×)人類PD-L2-hFc (Merck Research Institute生產；批號11AHC)以220 μL之總體積預稀釋。將2×10^4個細胞/孔接種於V底96孔盤中且再懸浮於200 μL/孔之奈米抗體/配位體稀釋液中。在4℃下培育90分鐘之後，用100 μL/孔分析緩衝液洗滌細胞且再懸浮於100 μL/孔PE標記之山羊抗人類IgG (Southern Biotech，2043-09)中。在4℃下培育樣品30分鐘，洗滌，且再懸浮於100 μL/孔之5 nM TOPRO3 (LifeTechnologies，T3606)溶液中，隨後在FACS

CANTO II (BD)上分析。來自此等實驗之資料闡述在圖9 (a-h)中。

此實例展現抗人類PD-1奈米抗體單價模組F023700706結合至人類PD-1且完全阻斷其與PD-L1 (圖9 (a))及PD-L2 (圖9 (b))之相互作用，類似於衍生其之最初F023700275單價模組。此外，此實例展現雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931及F023700924結合至人類PD-1且完全阻斷其與PD-L1 (圖9 (c))及PD-L2 (圖9 (d))之相互作用。亦顯示經序列優化之單特異性二價對照物抗人類PD-1 F023700933及抗人類LAG-3 F023700962(圖9 (e-f))。最後，此實例展現抗人類PD-1奈米抗體單價模組F023700929之其他胺基酸變異體結合至人類PD-1且完全阻斷其與PD-L1 (圖9 (g))及PD-L2 (圖9 (h))之相互作用。應注意F023700706及F023700929為分別作為FLAG3-HIS6融合蛋白或作為HIS6融合蛋白之相同抗人類PD-1單價奈米抗體實體。

實例6：生物物理學LAG-3-Fc阻斷分析

在顯示表面主要組織相容複合體(MHC) II類(ClassII)之較高內源表現的人類Daudi細胞上進行配位體競爭分析。在分析緩衝液：HBSS/2% FBS中製備奈米抗體稀釋系列。在實驗之前，在4℃下用人類Fc阻斷物(BD Pharmingen，564220)及5 μg/mL山羊IgG (Jackson ImmunoResearch，005-000-003)阻斷Daudi細胞上之Fc受體持續30分鐘。自2 μM (2×)開始進行奈米抗體之五倍連續稀釋且用80 nM (2×)人類LAG-3-hFc (Merck Research Laboratories生產；批號83AGM)以120 μL之總體積預稀釋。將1×10^5個細胞/孔接種於V底96孔盤中且再懸浮於100 μL/孔之奈米抗體/配位體稀釋液中。在4℃下培育30分鐘後，洗滌細胞且再懸浮於100 μL/孔PE標記之山羊抗人類IgG (Southern Biotech，2043-

09)中。在4℃下培育樣品15分鐘，洗滌，且再懸浮於100 μL/孔之5 nM TOPRO3 (LifeTechnologies，T3606)溶液中，隨後在FACS CANTO II (BD)上分析。來自此等實驗之資料闡述在圖10 (a-c)中。

此實例展現抗人類LAG-3奈米抗體單價模組F023700842結合至人類LAG-3且完全阻斷其與II類MHC之相互作用，類似於衍生其之最初F0237611B09單價奈米抗體(圖10 (a))。此外，此實例展現雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931及F023700924結合至人類LAG-3且完全阻斷其與II類MHC之相互作用(圖10 (b -c))。亦顯示單特異性二價對照物抗人類PD-1 F023700933及抗人類LAG-3 F023700962。

實例7：近接二聚分析

使用基於β-半乳糖苷酶片段互補分析系統之近接二聚分析。分析利用用稱為ProLink (PK)之標籤產生之融合蛋白及酶受體蛋白質(EA)融合至第二蛋白質的互補蛋白質。用融合至EA子單元之LAG-3 (1-477)細胞外域及融合至PK子單元之PD-1 (1-199)細胞外域穩定轉染U2OS細胞。U2OS.LAG3(1-477)-EA.PD1(1-199)-PK細胞株9號一式四份以5,000個細胞/孔接種於384孔盤上DiscoverX CP5平板培養基中。使細胞在37℃下在5%二氧化碳培育箱中附著4小時。隨後向細胞中添加奈米抗體樣品之11點1:3稀釋系列且在37℃下在5%二氧化碳培育箱中培育隔夜(16小時)。向孔中添加PathHunter偵測試劑，在室溫下在黑暗中培育一小時，且隨後在Envision光度計上讀取盤。來自此等實驗之資料闡述在圖11 (a-b)中。

此實例展現由於使PK及EA子單元結合形成活性酶複合物，雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931同時結合至在細胞膜中表現之人類PD-1及人類LAG-3，得到光信號(圖11 (a))。單特異性二價對照物抗人

類PD-1 F023700933單獨及抗人類LAG-3 F023700962單獨不能同時結合兩個標靶且因此不產生光信號。雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931中之個別模組與35個胺基酸長之甘胺酸-絲胺酸連接子(35GS)連接。雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023701016及F023701017含有與F023700931相同之PD-1及LAG-3模組但在構築體中所有模組之間的甘胺酸-絲胺酸連接子分別為20個胺基酸長(20GS)或9個胺基酸長(9GS)。此實例顯示將甘胺酸-絲胺酸連接子自35GS縮短至9GS對在細胞膜上同時結合兩個標靶及提供光信號之能力具有最小影響。共同地，此等資料顯示若兩個標靶由同一細胞表現，則雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931可同時結合兩個標靶。

此實例亦展現雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700924同時結合至在細胞膜中表現之人類PD-1及人類LAG-3 (圖11 (b))。雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700924中之個別模組與35個胺基酸長之甘胺酸-絲胺酸連接子(35GS)連接。雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700969及F023700970含有與F023700924相同之PD-1及LAG-3模組但在構築體中所有模組之間的甘胺酸-絲胺酸連接子分別為20個胺基酸長(20GS)或9個胺基酸長(9GS)。此實例顯示將甘胺酸-絲胺酸連接子自35GS縮短至9GS對同時結合兩個標靶及提供光信號之能力具有最小影響。共同地，此等資料顯示若兩個標靶由同一細胞表現，則雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700924可同時結合兩個標靶。

實例8：經工程改造Jurkat.hPD-1.IL2luc + THP-1.PD-L1分析

純系DT999A1為具有IL-2介導之螢光素酶報導子的表現PD-1轉殖基因之Jurkat細胞純系(Jurkat.hPD-1.IL2luc)。Jurkat.hPD-1.IL2luc在RPMI

培養基(Corning Cellgro 10-040-CV)+熱失活10% FBS (Hyclone SH30910.03) + 2 mM L-麩醯胺酸(Cellgro 25-005-CI) + 2 ug/ml嘌呤黴素(Sigma P9620) + 0.5 mg/ml遺傳黴素(Gibco 10131-027)中生長。在以2×10^5個細胞/毫升接種細胞之後細胞每週分裂兩次且當密度超過1×10^6個細胞/毫升時分離。表現PD-L1轉殖基因之THP-1細胞(THP-1.PD-L1)在RPMI培養基+熱失活10% FBS + 2 mM L-麩醯胺酸+ 0.5 ug/ml嘌呤黴素中生長。在以3×10^5個細胞/毫升接種之後細胞每週分裂兩次且當其達到1×10^6個細胞/毫升時分離。

使用分析培養基(無酚紅之RPMI培養基(Gibco 11835-030) + 10%經透析FBS (Hyclone，SH30079.03)設定生物分析。將人類白蛋白(Sigma，A8763)製備為600 uM儲備液。使用分析培養基製備4× (120 uM)溶液且向白壁經組織培養物處理盤(Costar 3903)中添加25 uL。使用分析培養基稀釋奈米抗體得到起始4×濃度。製得六份奈米抗體10倍連續稀釋液。將25 ul奈米抗體滴定液添加至含有白蛋白之白壁經組織培養物處理盤。在室溫下培育奈米抗體+白蛋白20-30分鐘。在T-75燒瓶中收集THP-1.PD-L1細胞，離心細胞，且再懸浮於10 ml分析培養基中。將細胞懸浮液計數且調節以得到4×10^6個細胞/毫升之細胞懸浮液。在T-75燒瓶中收集Jurkat.hPD-1.IL2luc細胞，離心細胞，且再懸浮於10 ml分析培養基中。將細胞懸浮液計數且調節以得到1×10^6個細胞/毫升之Jurkat.hPD-1.IL2luc細胞懸浮液。混合相等體積之THP-1.PD-L1細胞+ Jurkat.hPD-1.IL2luc細胞。向此混合懸浮液中添加2 ng/ml LPS (2×)及100 ng/ml IFN-g(2×)。將50 uL含有刺激條件之細胞懸浮液[IFN-g (R&D systems 285-IF/CF) + LPS (Sigma L4391)]添加至奈米抗體滴定液。在培育箱中用奈米抗體滴定

液培育細胞大約22小時。在22小時結束時，小心地添加10 ul 55 ng/ml抗CD3抗體(BD Pharmingen 555336；11X工作溶液)且留在培育箱中額外兩小時。在兩小時培育結束時，將白色膠帶(Perkin Elmer 6005199)黏至盤之底部且添加100 ul One-Glo試劑(Promega E6120)。在室溫下在震盪下培育3分鐘。在能夠以0.1秒之積分時間讀取發光之盤讀取器上讀取盤。原始資料(RLU (相對光單位))可直接繪製或繪製為藉由將處理孔除以不具有奈米抗體之孔獲得的螢光素酶信號之倍數變化。來自此等實驗之資料闡述在圖12 (a-e)中。

此實例展現抗人類PD-1奈米抗體單價模組F023700706結合至由T細胞株表現之人類PD-1，阻斷PD-1與由共培養細胞株表現之PD-L1的相互作用以減輕PD-L1向T細胞提供之抑制；藉此，基於抑制PD-L1介導之抑制允許T細胞在較大程度上對T細胞受體促效劑起反應(圖12 (a))。此外，此實例展現雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931及F023700924結合至由T細胞株表現之人類PD-1，阻斷PD-1與PD-L1之相互作用；藉此，基於抑制PD-L1介導之抑制允許T細胞在較大程度上對T細胞受體促效劑起反應(圖12 (b))。亦顯示單特異性二價對照物抗人類PD-1 F023700933及抗人類LAG-3 F023700962。另外，此實例顯示分別含有20GS或9GS連接子之雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700969及F023700970具有與含有35GS連接子之親本F023700924分子類似的效能(圖12 (c))。類似地，分別含有20GS或9GS連接子之雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023701016及F023701017具有與含有35GS連接子之親本F023700931分子類似的效能(圖12 (d))。此外，此實例展現經序列優化之抗人類PD-1奈米抗體單價模組F023700706之其他胺基酸變異體結

合至由T細胞株表現之人類PD-1，阻斷PD-1與PD-L1之相互作用；藉此，基於抑制PD-L1介導之抑制允許T細胞在較大程度上對T細胞受體促效劑起反應(圖12 (e))。

實例9：SEB活化人類PBMC分析

將人類周邊血液單核細胞(PBMC)融化至有10%人類血清(RPMI 1640 Glutamax (Thermo Fisher Scientific，目錄11875085)、1×青黴素-鏈黴素(Thermo Fisher Scientific，目錄15140148)、1× β-巯基乙醇(Thermo Fisher Scientific，目錄21985023)、1× HEPES (Thermo Fisher Scientific，目錄15630080)、1×丙酮酸鈉(Thermo Fisher Scientific，目錄11360070)、1×非必需胺基酸(Thermo Fisher Scientific，目錄11140076)、人類血清(Sigma，目錄H4522-100ML批號SLBP2783V)之完全RPMI中。懸浮至2.5E6個細胞/毫升且以2.5E5個細胞/孔等分100 uL至96孔U-底盤。使用3倍稀釋系列連續稀釋奈米抗體以製備4×工作儲備液且產生6點劑量-反應曲線。將50 uL奈米抗體溶液添加至孔中且在室溫下培育15-30分鐘同時製備鏈球菌外毒素B (SEB)溶液。藉由在蒸餾水中以1 mg/mL復原SEB且在-80℃下冷凍來製備儲備SEB (Toxin Technology Inc，目錄BT202)。藉由每毫升培養基添加2 ul儲備液製得2 uM工作溶液且使用10倍稀釋系列連續稀釋2 uM工作溶液以製得滴定曲線。添加50 μL至合適孔以製得滴定曲線作為內標以確認分析如所預期進行且以確定可自不同供體引發之最大反應。將2 uM SEB工作溶液稀釋至40 nM SEB且向孔中添加50 uL以刺激PBMC (SEB之最終濃度為10 nM)。在38℃及5% CO_2下培育72小時。將頂部100 uL上清液轉移至新鮮96孔盤中且1:2稀釋以用於使用MSD V-plex人類IL-2套組(MesoScale Discovery，

K151QQD-1)之IL-2分析。其餘部分在-80℃下儲存。來自此等實驗之資料闡述在圖13 (a-r)中。

此實例展現雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931及F023700924引起在獲自多種供體(a-r)之周邊血液單核細胞(PBMC)之T細胞受體促效劑刺激之後，IL-2含量增加。

實例10：混合淋巴細胞反應(MLR)分析

自白細胞群(leukopack)純化人類周邊血液單核細胞(PBMC)且在液氮冷凍器中冷凍。將冷凍人類PBMC融化，在完全RPMI (RPMI+10%人類血清)中稀釋，在450 x g下離心5分鐘，且細胞集結粒用完全RPMI (Gibco RPMI 1640培養基(Thermofisher Scientific；11875-119)、人類血清(Sigma-Aldrich；H4522-100 mL)再懸浮。使用人類單核細胞富集套組(STEMCELL technologies；19059)使單核細胞富集。細胞以於含有100 ng/ml GM-CSF (R&D Systems；215-GM-110)及50 ng/ml人類IL-4 (R&D Systems；204-IL-010/CF)之完全RPMI中1×106個細胞/毫升(5 ml/孔)轉移至6孔盤中。在37℃下培育單核細胞5天以允許樹突狀細胞(DC)分化。在第6天收集單核細胞衍生之樹突狀細胞(Mo-DC)，計數，且在MLR分析中用作刺激劑。

在實驗開始當天，將冷凍人類PBMC融化且在含有青黴素/鏈黴素之完全RPMI中兩倍稀釋。使用EasySep人類CD4 T細胞分離套組(STEMCELL technologies；17952)使來自各供體之CD4 T細胞富集。經分離CD4 T細胞以1×10^6個細胞/毫升懸浮於完全RPMI中。將Mo-DC以1:10比率(1×10^5個細胞/毫升)與$CD4^+$ T細胞(1×10^6個細胞/毫升)混合且將細胞混合物以200微升/孔接種於U-底96孔盤中。使用4倍稀釋系列連續稀

釋奈米抗體且製備5×工作儲備液。將50 μL各稀釋液添加至200 μL培養物中得到1×最終濃度之奈米/抗體。在實驗開始後第5天收集培養物上清液以便使用V-plex Human Pro-inflammatory Panel I (Mesoscale Discovery；K15052D-1)進行IFNγ定量。來自此等實驗之資料闡述在圖14 (a-f)中。

此實例展現在用獲自不同供體(a-f)之同種異體Mo-DC進行初級CD4 T細胞刺激之後，雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931及F023700924引起IFN-γ含量增加。

實例11：經工程改造3A9.hLAG-3分析

3A9.hLAG3為表現人類LAG-3轉殖基因之小鼠3A9 T細胞融合瘤。LK35.2 (ATCC；HB-98)為小鼠B細胞融合瘤，其具有將特異性抗原(亦即雞卵溶菌酶(HEL)肽DGSTDYGILQINSRWW)呈遞至II類受限3A9 T細胞融合瘤之表面I-Ad^k及I-Ed^k分子。將3A9.hLAG3細胞計數且以4×10^6個細胞/毫升新鮮培養基[RPMI (Invitrogen，61870-036) + 10% FBS+Pen Strep]再懸浮。將LK35.2細胞計數且以1×10^6個細胞/毫升新鮮培養基再懸浮。將25 μL 3A9.hLAG3細胞(1E5細胞)添加至96孔平底組織培養盤(Corning 3610)中之孔中。製備人類白蛋白(Sigma，A8763)之4× (200 uM)溶液且將25 μL添加至細胞中。在完全培養基中將奈米抗體稀釋至5×濃度且將20 ul之5×奈米抗體添加至細胞中。在37℃下用奈米抗體培育3A9.hLAG3細胞30分鐘。

製備500 μM HEL肽(GenScript定製肽)儲備溶液且儲存在-20℃下。在細胞培養基中1:20 (25 uM)稀釋HEL肽儲備液且隨後將HEL肽1:833進一步稀釋至LK35.2細胞上(最終HEL濃度=約30 nM)。在37℃下用肽培育LK35.2細胞30分鐘。將33 μL肽處理之LK35.2細胞添加至含有奈米抗體

處理之3A9.hLAG-3細胞的96孔盤中。在37℃下培育培養物24小時。在300 X g下旋轉盤5分鐘且收集上清液以用於IL-2分析(IL-2 Mesoscale V-Plex；Mesoscale K152QQD-4)。來自此等實驗之資料闡述在圖15 (a-d)中。

此實例展現抗人類LAG-3奈米抗體單價模組F023700842結合至由T細胞株表現之人類LAG-3，阻斷LAG-3與由共培養細胞株表現之II類MHC之相互作用以減輕II類MHC向T細胞提供之抑制；藉此，基於抑制II類MHC介導之抑制允許T細胞在較大程度上對T細胞受體促效劑起反應。抗人類LAG-3奈米抗體單價模組F023700842抑制II類MHC之效能與衍生其之親本奈米抗體F023700656類似(圖15 (a))。此外，此實例展現雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931及F023700924結合至由T細胞株表現之人類LAG-3，阻斷LAG-3與II類MHC之相互作用；藉此，基於抑制II類MHC介導之抑制允許T細胞在較大程度上對T細胞受體促效劑起反應(圖15 (b))。亦顯示單特異性二價對照物抗人類PD-1 F023700933及抗人類LAG-3 F023700962。另外，此實例顯示分別含有20GS或9GS連接子之雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700969及F023700970具有與含有35GS連接子之親本F023700924分子類似的效能(圖15(c))。類似地，分別含有20GS或9GS連接子之雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023701016及F023701017具有與含有35GS連接子之親本F023700931分子類似的效能(圖15 (d))。

實例12：經工程改造之雙特異性Jurkat.hPD-1.LAG-3生物分析

產生Jurkat.LAG-3.PD-1細胞(DT1088-純系G10PD1)

使用反轉錄病毒遞送系統用嘌呤黴素作為選擇標記物將人類LAG-3

轉殖基因引入Jurkat細胞(Je6.2.11)中。進行限制稀釋法以選取具有最佳LAG-3及CD3表現之純系(DT1088G10)。使用慢病毒遞送系統用遺傳黴素作為選擇標記物將人類PD-1轉殖基因引入DT1088G10純系中。針對較高LAG-3及PD-1表現對細胞進行FACS分選。維持分選細胞池且在RPMI完全培養基[補充有10% FBS (Hyclone SH30910.03) + 1 mM丙酮酸鈉(BioWhittaker，13-115E) + 2 mM L-麩醯胺酸(Corning CellGro，25-005-CI) + 10 mM HEPES (Corning，26-060-CI) + 1×非必需胺基酸(Sigma，M7145) + 0.2 ug/ml嘌呤黴素(Sigma P9620) + 0.5 mg/ml G418 (Gibco 10131-027)之RPMI (Corning 10-040-CV)]中繼代培養。

產生表現Raji.PD-L1之細胞

使用反轉錄病毒遞送系統用嘌呤黴素作為選擇標記物將人類PD-L1轉殖基因引入Raji細胞(ATCC CCL-86)中。對細胞進行分選以富集PD-L1及II類(內源)表現。維持富集之細胞池且在RPMI完全培養基(補充有10% Hyclone FBS + 2 mM L-麩醯胺酸+ 10 mM HEPES + 0.25 ug/ml嘌呤黴素之RPMI培養基)中繼代培養。

藉由在無菌蒸餾水中以1 mg/ml復原SED (Toxin technology DT303)且儲存在-80℃下來製備儲備SED毒素。藉由在37℃培育箱中在含有10%透析FBS (Hyclone SH30079.03)之RPMI培養基中用SED毒素(1.3X = 130 ng/ml，最終100 ng/ml)培育0.87×10^6個Raji-PD-L1細胞/毫升之懸浮液30分鐘使Raji.PD-L1細胞預裝載有毒素。製備8×10^6個Jurkat.LAG-3.PD-1細胞/毫升於含有10%透析FBS之RPMI培養基中之懸浮液。以奈米抗體之8點4倍劑量滴定液(12X=120 μg/ml)形式製備奈米抗體，起始分析濃度為10 ug/ml。

在圓底盤(Corning 3359)中在室溫下將45 ul Jurkat.LAG-3.PD-1細胞懸浮液(8×10^6個細胞/毫升)與45 ul奈米抗體滴定液一起培育30分鐘。在30分鐘結束時，向Jurkat.LAG-3.PD-1 +奈米抗體混合物中添加36 uL人類白蛋白(Sigma，A8763；15X = 450 uM以得到30 uM之最終分析濃度)。向分析盤(Thermoscientific 167008號)中添加115 ul裝載SED之Raji.PD-L1細胞。將Jurkat.LAG-3.PD-1+奈米抗體+白蛋白之35 uL混合物小心地分層至裝載SED之Raji.PD-L1細胞中。在5% CO_2培育箱中在37℃下培育分析盤24小時。在24小時培育之後，將75 uL上清液轉移至盤(Corning 3605號)中且在-80℃下冷凍。使用MSD IL-2 V-plex套組(Mesoscale裝置目錄號K151QQD)分析樣品。使用GraphPad prism軟體計算EC50值。來自此等實驗之資料闡述在圖16 (a-b)中。

此實例展現雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931及F023700924結合至由T細胞株表現之人類PD-1及人類LAG-3兩者，阻斷PD-1與PD-L1之相互作用，阻斷LAG-3與II類MHC之相互作用；藉此，基於抑制PD-L1介導及II類MHC介導之雙重抑制允許T細胞在較大程度上對T細胞受體促效劑起反應(圖16 (a))。單特異性二價對照物抗人類PD-1 F023700933及抗人類LAG-3 F023700862僅能夠分別地阻斷兩種抑制機制中之一者，引起T細胞以更加適度的方式對T細胞受體促效劑起反應。另外，此實例顯示分別含有20GS或9GS連接子之雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700969及F023700970具有與含有35GS連接子之親本F023700924分子類似的效能。類似地，分別含有20GS或9GS連接子之雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023701016及F023701017具有與含有35GS連接子之親本F023700931分子類似的效能(圖16 (b))。

實例13：人類T細胞純系+ JY.hPD-L1分析

產生及培養人類CD4+ T細胞純系

在Merck-Palo Alto藉由2輪與EBV轉形B細胞株JY之混合白血球反應產生II類MHC同種抗原特異性CD4+ T細胞純系BC4-49且藉由限制稀釋法選殖。純系以每2週之間隔用同種特異性抗原再刺激且在耶瑟爾培養基(Yssel's medium) (IMDM，Gibco 12440-053；人類血清抗體，Gemimi 100512；青黴素/鏈黴素，Mediatech 30-002-CI；人類白蛋白，Sigma A9080；ITS-X，Gibco 51500056；轉鐵蛋白，Roche 10652202001；PA Bioxtra Sigma p5585；LA-OA-白蛋白，Sigma L9655)中培養。自斯坦福血液中心(Stanford Blood Center)提供之兩種人類白血球層分離新鮮PBMC且以1:1細胞比率合併。在使用之前在γ照射器中以4000拉德(rad)之劑量照射PBMC。製備野生型JY細胞且以5000拉德之劑量照射。用飼養細胞在24孔盤中以1毫升/孔在CD4+ T細胞0.2×10^6/mL、經照射PBMC 1×10^6/mL、經照射JY 0.1×10^6/mL及100 ng/ml PHA (Sigma L9017)之最終濃度下培養T細胞純系。在再刺激之後第3天以100 ng/ml之最終濃度添加重組人類IL-2 (R&D Systems；202-IL/CF)，且在整個擴增中每3-4天補充。使細胞繼代至$0.5\text{-}1.0\times10^6$/mL之間的最佳濃度。在再刺激之後第7天，大量LAG-3及適度量之PD-1在T細胞表面上表現。

人類CD4+ T細胞功能分析

在抗原再刺激之後第7天自24孔培養盤收集同種抗原特異性CD4+ T細胞，隨後藉由離心用20 mL含有2 mM EDTA (Invitrogen，15575-38)之PBS (Hyclone，SH3002802)洗滌兩次。使集結粒再懸浮至含單細胞懸浮液之耶瑟爾培養基中。在96孔U底培養盤(Falcon，353077)中藉由以100

μL之體積在總共7次稀釋下自133 nM之最高濃度開始在耶瑟爾培養基中進行5倍連續稀釋來滴定測試奈米抗體。將五十微升在4 × 10^5個細胞/毫升之密度下之T細胞懸浮液添加至含有滴定奈米抗體之孔中。在培育箱中在37℃下在5% CO_2下預培育奈米抗體/T細胞混合物1小時。在共培養物中使用表現人類PD-L1轉殖基因之JY細胞(JY.hPD-L1)以提供同種特異性抗原。收集在T-75燒瓶(Thermo Scientific，156499)中在有10% FCS之RPMI培養基(Corning Cellgro，10-040-CV)中培養之JY.hPD-L1細胞且在γ照射器中以5000拉德之劑量照射，隨後藉由離心用含有2 mM EDTA之PBS洗滌兩次。集結粒用耶瑟爾培養基再懸浮，且用40 μm細胞過濾器過濾，隨後接種。將50微升/孔之濃度為2 × 10^5個細胞/毫升之JY.hPD-L1懸浮液分配至預培育之奈米抗體-T細胞混合物中，T細胞比JY.hPD-L1細胞比率為2:1。一式兩份進行所有條件。在大約3天培養之後，每孔收集100 μL上清液以便進行人類IFNγ定量。藉由使用hIFNγ Quantikine套組(R&D Systems，SIF50)進行人類IFNγ ELISA以評定來自複製品之合併上清液上之IFNγ量。遵循製造商提供之標準方案進行分析。使用GraphPad prism軟體計算EC50值。來自此等實驗之資料闡述在圖17 (a-c)中。

此實例展現雙特異性抗人類PD 1/LAG-3奈米抗體F023700931及F023700924結合至由T細胞純系表現之人類PD-1及人類LAG 3兩者，阻斷PD-1與PD-L1之相互作用，阻斷LAG-3與II類MHC之相互作用；藉此，基於抑制PD-L1介導及II類MHC介導之雙重抑制允許T細胞在較大程度上對同種異體刺激起反應(圖17 (a))。單特異性二價對照物抗人類PD-1 F023700933及抗人類LAG-3 F023700862僅能夠分別地阻斷兩種抑制機制中之一者，引起T細胞以更加適度的方式對同種異體刺激起反應。另外，

此實例顯示分別含有20GS或9GS連接子之雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700969及F023700970具有與含有35GS連接子之親本F023700924分子類似的效能(圖17 (c))。類似地，分別含有20GS或9GS連接子之雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023701016及F023701017具有與含有35GS連接子之親本F023700931分子類似的效能(圖17 (b))。

實例14：評估預抗體與F023700924及F023700931之結合

使用ProteOn XPR36 (Bio-Rad Laboratories, Inc.)評估預先存在抗體與在人類血清白蛋白(HSA)上捕獲之奈米抗體之結合。PBS/Tween (磷酸鹽緩衝鹽水，pH 7.4，0.005% Tween 20)用作電泳緩衝液且在25℃下進行實驗。ProteOn GLC感測器晶片之配位體泳道用EDC/NHS (流動速率30 μL/min)活化且以於ProteOn乙酸鹽緩衝液pH 4.5 (流動速率100 μl/min)中10 μg/ml注射人類血清白蛋白(has)以使得固定水準為大約3600 RU。在固定之後，表面用乙醇胺HCl (流動速率30 μL/min)去活化。在HSA表面上以45 μL/min注射奈米抗體持續2分鐘以使得三價F023700924之奈米抗體捕獲水準為大約600 RU且五價F023700931之奈米抗體捕獲水準為大約1000 RU。含有預先存在抗體之樣品在PBS-Tween20 (0.005%)中1:10稀釋，隨後以45 μl/min注射2分鐘，接著為隨後400秒解離步驟。在各循環之後(亦即在新奈米抗體捕獲及血液樣品注射步驟之前)，用HCl (100 mM)之在45 μl/min下之2分鐘注射再生HSA表面。用ProteOn管理器3.1.0 (Bio-Rad Laboratories, Inc.)進行感測器圖譜處理及資料分析。在雙參考之後藉由減去1)奈米抗體-HSA解離及2)與僅含有HSA之參考配位體泳道之非特異性結合獲得顯示預先存在抗體結合之感測器圖譜。藉由將報導點設定在125秒(締合結束之後5秒)來測定預先存在抗體之結合水準。作為參

考，亦測試含有預先存在抗體之樣品與未經修飾用於減少此等預先存在抗體之結合的三價奈米抗體(T013700112)之結合。來自此等實驗之資料闡述在圖19 (a-i)中。

雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700924具有三個奈米抗體模組(一個抗-PD-1模組、一個抗LAG-3模組及一個抗白蛋白模組)；而F023700931具有五個奈米抗體模組(二重抗PD-1模組、二重抗LAG-3模組及一個抗白蛋白模組)。序列優化方法之一個部分為將胺基酸取代併入至降低人類血清中存在之對奈米抗體模組的反應性的奈米抗體構架中。此實例展現在兩個時間點在一組來自健康人類供體之血清中發現之對3模組雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700924之預先存在反應性與對不含有此等構架胺基酸取代之不同3模組奈米抗體T013700112構築體之預先存在反應性相比降低。5模組雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931之反應性高於3模組F023700924 (圖19 (a-b))。此外，此實例展現在兩個時間點在一組來自癌症患者之血清中發現之對3模組雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700924之預先存在反應性與不含有此等構架胺基酸取代之不同3模組奈米抗體T013700112構築體之預先存在反應性相比降低。5模組雙特異性抗人類PD-1/LAG-3奈米抗體F023700931之反應性高於3模組F023700924 (圖19 (c-d))。最後，基於癌症跡象分離來自癌症患者之血清組對F023700924及F023700931之反應性(圖19 (e-i))。

實例15：藉由表面電漿子共振對經序列優化之人類LAG-3奈米抗體進行親和力量測

藉由表面電漿子共振(SPR)技術，使用Biacore T100儀器(GE Healthcare)進行奈米抗體之動力學分析。HBS-EP+ (0.01 M HEPES pH

7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.05% v/v界面活性劑P20)用作操作緩衝液且在25℃下進行實驗。用EDC (200 mM)/NHS (50 mM)活化S系列感測器晶片CM5之兩個流動通道且以於供應之固定緩衝液(10 mM乙酸鈉pH 5.0)中5 μg/ml注射抗人類IgG (Fc) (GE Healthcare，BR100839)以使得固定水準為大約2000 RU。在固定之後，表面用1 M乙醇胺/HCl (pH 8.5)去活化。感測器準備期間之流動速率設定為5 μL/min。

在動力學分析中，在一個抗人類IgG (Fc)表面上以10 μL/min注射62.5 nM人類LAG3-hFc持續1分鐘以使得捕獲水準為大約600 RU。在操作緩衝液中製得奈米抗體之2.5倍連續稀釋液(亦即，對於F023700842，5 μM降至3.3 nM)，隨後以45 μL/min注射2分鐘，接著為隨後900秒解離。在各循環之後(亦即在新人類LAG3-hFc捕獲及奈米抗體注射步驟之前)，用$MgCl_2$ (3 M)在10 μL/min下之2分鐘注射再生抗hIgG (Fc)表面。

用Biacore T100評估軟體版本2.0.4 (GE Healthcare)進行感測器圖譜處理及資料分析。在雙參考之後藉由減去1)人類LAG3-hFc/抗hIgG (Fc)解離及2)與參考流動通道之非特異性結合獲得顯示奈米抗體結合之感測器圖譜。經由與模型「具有質量輸送之朗繆爾(Langmuir with Mass Transport)」擬合來評估經處理曲線。

此實例展現抗人類LAG-3單價奈米抗體F023700842以高親和力結合至人類LAG-3。

表E.藉由表面電漿子共振對人類LAG-3奈米抗體進行親和力量測.

		ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
F023700929	人類PD-1-Fc	2.GE+06	5.9E-04	2.9E-10
F023701192		2.5E+06	3.2E-03	1.3E-09
F023701193		3.2E+06	7.5E-03	2.4E-09
F023700842	人類LAG-3-Fc	9.2E+05	1.9E-02	2.1E-08
F023700924	人類血清白蛋白	6.4E+04	7.7E-03	1.2E-07

F023700931		3.2E+04	8.2E-03	2.5E-07
F023700924	恆河猴血清白蛋白	6.9E+04	7.9E-03	1.2E-07
F023700931		3.2E+04	8.4E-03	2.7E-07

實例16：藉由表面電漿子共振對經序列優化之人類PD-1奈米抗體進行親和力量測

藉由SPR技術，使用Biacore T100儀器(GE Healthcare)進行奈米抗體之動力學分析。HBS-EP+ (0.01 M HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.05% v/v界面活性劑P20)用作操作緩衝液且在25℃下進行實驗。用EDC (200 mM)/NHS (50 mM)活化S系列感測器晶片CM5之兩個流動通道。在一個表面上以於適合之固定緩衝液(10 mM乙酸鈉pH 4.5)中5 μg/ml注射(4次) hPD-1-hFc (批號94AGF)以使得固定水準為303 RU。在固定之後，表面用1 M乙醇胺/HCl (pH 8.5)去活化。感測器準備期間之流動速率設定為5 μl/min。在動力學分析中，在操作緩衝液中製得奈米抗體之2.5倍連續稀釋液(亦即對於F023700929、F023701192及F023701193，1 μM降至0.46 nM)，隨後以45 μl/min注射2分鐘，接著為隨後900秒解離。在各循環之後(亦即在新奈米抗體注射步驟之前)，用10 mM甘胺酸pH 1.5在45 μl/min下之1分鐘注射再生hPD1-hFc表面。用Biacore T100評估軟體版本2.0.4 (GE Healthcare)進行感測器圖譜處理及資料分析。在雙參考之後藉由減去1)與參考流動通道之非特異性結合及2) HBS-EP+注射獲得顯示奈米抗體結合之感測器圖譜。經由與模型「具有質量輸送之朗繆爾」擬合來評估經處理曲線。

此實例展現抗人類PD-1單價奈米抗體F023700929以高親和力結合至人類PD-1。此外，此實例展現經序列優化之抗人類PD-1單價F023700929之其他胺基酸變異體(亦即F023701192及F023701193)以高親和力結合至人類PD-1。

表F.藉由表面電漿子共振對經序列優化之人類PD-1奈米抗體進行親和力量測.

	ka (1/Ms)	T(ka)	kd (1/s)	T(kd)	R最大 (RU)	T(R最大)	KD (M)	kt (RU/Ms)	Chi^2 (RU^2)	Chi^2/R最大 (%)
F023700929	2.0E+06	220	5.9E-04	150	32.0	500	2.9E-10	2.9E+15	1.8	5
F023701192	2.5E+06	63	3.2E-03	66	27.9	380	1.3E-09	8.7E+07	0.8	3
F023701193	3.2E+06	49	7.5E-03	49	29.5	450	2.4E-09	4.2E+07	1.2	4

實例17：藉由表面電漿子共振進行經序列優化之多特異性人類PD-1/LAG-3對不同物種之白蛋白之親和力的量測

藉由SPR技術，使用Biacore T100儀器(GE Healthcare)進行奈米抗體之動力學分析。HBS-EP+ (0.01 M HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.05% v/v界面活性劑P20)用作操作緩衝液且在25℃下進行實驗。用EDC (200 mM)/NHS (50 mM)活化S系列感測器晶片CM5之四個流動通道且以於10 mM乙酸鈉緩衝液pH 4.5中5 μg/ml注射人類血清白蛋白(Sigma，目錄A3782，批號SLBD7204V)或恆河猴血清白蛋白(BioWorld，目錄22070099-1，批號L15091001DA)以使得三個流動通道上之固定水準分別在179與312 RU之間。在固定之後，表面用1 M乙醇胺/HCl (pH 8.5)去活化。感測器準備期間之流動速率設定為5 μl/min。

在動力學分析中，在操作緩衝液中製備奈米抗體之三倍連續稀釋液(亦即6 μM降至2.7 nM)，隨後以45 μl/min注射2分鐘，接著為隨後900秒解離。在各循環之後(亦即在注射新奈米抗體濃度之前)，用10 mM甘胺酸pH 1.5在100 μl/min下之10秒注射再生所有表面。用Biacore T100評估軟體版本2.0.4 (GE Healthcare)進行感測器圖譜處理及資料分析。在雙參考之後藉由減去1)與參考流動通道之非特異性結合及2)特定流動通道上兩次HBS-EP+注射之平均值獲得顯示奈米抗體結合之感測器圖譜。經由與模型「具有質量輸送之朗繆爾」擬合來評估經處理曲線。

此實例展現雙特異性抗人類PD 1/LAG-3奈米抗體F023700931及F023700924以類似親和力結合至人類白蛋白及恆河猴白蛋白兩者。

表G.藉由表面電漿子共振進行經序列優化之多特異性人類PD-1/LAG-3對不同物種之白蛋白之親和力的量測.

		HSA			RhSA			MSA		
		ka	kd	KD	ka	kd	KD	ka	kd	KD
奈米抗體	價數	(1/Ms)	(1/s)	(M)	(1/Ms)	(1/s)	(M)	(1/Ms)	(1/s)	(M)
F023700924-CHO-EXPI	三聚體	6.4E+04	7.7E-03	1.2E-07	6.9E+04	7.9E-03	1.2E-07	>5.0E+05	<6.0E-01	-1.9E-06
F023700931-CHO- EXPI	五聚體	3.2E+04	8.2E-03	2.5E-07	3.2E+04	8.4E-03	2.7E-07	>5.0E+05	<6.0E-01	-4.1E-06

【序列表】

<110> 美商默沙東藥廠(Merck, Sharp & Dohme Corp.)

<120> PD1及／或LAG3結合劑

<130> TW 105137705

<150> US 62/257,009
<151> 2015-11-18

<160> 138

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 1

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 2

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 3
<211> 5
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 3

Ile His Ala Met Gly
1 5

<210> 4
<211> 17
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (4)..(4)
<223> X爲W或V

<400> 4

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

Gly

<210> 5
<211> 10
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (7)..(7)
<223> X爲W或F

<400> 5

Asp Lys His Gln Ser Ser Xaa Tyr Asp Tyr
1 5 10

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 6

Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly
1 5 10

<210> 7
<211> 10
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (4)..(4)
<223> X爲W或V

<400> 7

Val Ile Thr Xaa Ser Gly Gly Ile Thr Tyr
1 5 10

<210> 8
<211> 10
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (7)..(7)
<223> X爲W或F

<400> 8

Asp Lys His Gln Ser Ser Xaa Tyr Asp Tyr
1 5 10

<210> 9
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 9

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 10
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 10

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Lys Val Ser Ser
115

<210> 11
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 11

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Gln Val Ser Ser
115

<210> 12
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 12

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Lys Ser
115

<210> 13
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 13

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Gln Ser
115

<210> 14
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 14

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Lys Val Ser Ser
115

<210> 15
<211> 119
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 15

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Gln Val Ser Ser
115

<210> 16
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 16

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Lys Ser
115

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

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 17

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Gln Ser
115

<210> 18
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 18

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 19
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 19

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Lys Val Ser Ser
115

<210> 20
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 20

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Gln Val Ser Ser
115

<210> 21

<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 21

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Lys Ser
115

<210> 22
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 22

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Gln Ser
115

<210> 23
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 23

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 24
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 24

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 25
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 25

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 26
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 26

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Lys Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 27
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 27

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Gln Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 28
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 28

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Lys Ser Ala
115 120

<210> 29
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 29

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His

20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Gln Ser Ala
115 120

<210> 30
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 30

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Lys Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 31
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 31

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Gln Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 32
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 32

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Lys Ser Ala

115 120

<210> 33
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 33

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Gln Ser Ala
115 120

<210> 34
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 34

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 35
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 35

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Lys Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 36
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 36

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Gln Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 37
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 37

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Lys Ser Ala
115 120

<210> 38
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 38

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Gln Ser Ala
115 120

<210> 39
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 39

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 40
<211> 120
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 40

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 41
<211> 34
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HIS6-FLAG3標籤

<400> 41

His His His His His His Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly

1 5 10 15

Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly
20 25 30

Ala Ala

<210> 42
<211> 5
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 42

Val Thr Val Lys Ser
1 5

<210> 43
<211> 5
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 43

Val Thr Val Gln Ser
1 5

<210> 44
<211> 5
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 44

Val Lys Val Ser Ser
1 5

<210> 45
<211> 5
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 45

Val Gln Val Ser Ser
1 5

<210> 46
<211> 6
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<220>
<221> misc_特徵
<222> (6)..(6)
<223> Xaa可爲任何天然存在之胺基酸
<400> 46

Val Thr Val Lys Ser Xaa
1 5

<210> 47
<211> 6
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<220>
<221> misc_特徵
<222> (6)..(6)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acidXaa可爲任何天然存在之胺基酸

<400> 47

Val Thr Val Gln Ser Xaa
1 5

<210> 48
<211> 6
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<220>
<221> misc_特徵
<222> (6)..(6)
<223> Xaa可爲任何天然存在之胺基酸
<400> 48

Val Lys Val Ser Ser Xaa
1 5

<210> 49
<211> 6
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<220>
<221> misc_特徵
<222> (6)..(6)
<223> Xaa可爲任何天然存在之胺基酸
<400> 49

Val Gln Val Ser Ser Xaa
1 5

<210> 50
<211> 6
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 50

Val Thr Val Lys Ser Ala
1 5

<210> 51
<211> 6
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 51

Val Thr Val Gln Ser Ala
1 5

<210> 52
<211> 6
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 52

Val Lys Val Ser Ser Ala

1 5

<210> 53
<211> 6
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 53

Val Gln Val Ser Ser Ala
1 5

<210> 54
<211> 5
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 54

Val Thr Val Ser Ser
1 5

<210> 55
<211> 6
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<220>
<221> misc_特徵
<222> (6)..(6)
<223> Xaa可爲任何天然存在之胺基酸
<400> 55

Val Thr Val Ser Ser Xaa
1 5

<210> 56
<211> 6
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 56

Val Thr Val Ser Ser Ala
1 5

<210> 57
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 57

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 58
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 35GS連接子

<400> 58

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser
35

<210> 59
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (11)..(11)
<223> X爲L或V

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (93)..(93)
<223> X爲L或V

<400> 59

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

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

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala
115

<210> 60
<211> 10
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 60

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser
1 5 10

<210> 61
<211> 10
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 61

Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu
1 5 10

<210> 62
<211> 6
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 62

Gly Gly Ser Leu Ser Arg
1 5

<210> 63
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 63

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

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

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Arg Gly Asn Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

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

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

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
100 105 110

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

<210> 64
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人類化美洲駝

<400> 64

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

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

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

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
100 105 110

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

<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 65

Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly
1 5 10

<210> 66
<211> 10
<212> PRT

<213> 美洲駝屬

<400> 66

Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His
1 5 10

<210> 67
<211> 19
<212> PRT
<213> 美洲駝屬

<400> 67

Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp
1 5 10 15

Tyr Asp Tyr

<210> 68
<211> 34
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 68

Ala Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
20 25 30

His His

<210> 69
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HisX6標籤序列

<400> 69

Ala Ala Ala His His His His His His
1 5

<210> 70
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 35GS連接子

<400> 70

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser
35

<210> 71
<211> 11
<212> PRT
<213> 大鼠屬

<400> 71

Lys Thr Ser Gln Asn Ile Phe Glu Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 72
<211> 7
<212> PRT
<213> 大鼠屬

<400> 72

Asn Ala Ser Pro Leu Gln Ala

1 5

<210> 73
<211> 8
<212> PRT
<213> 大鼠屬

<400> 73

His Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
1 5

<210> 74
<211> 10
<212> PRT
<213> 大鼠屬

<400> 74

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr His Met Ala
1 5 10

<210> 75
<211> 17
<212> PRT
<213> 大鼠屬

<400> 75

Ser Ile Thr Leu Asp Ala Thr Tyr Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Arg
1 5 10 15

Gly

<210> 76
<211> 10
<212> PRT
<213> 大鼠屬

<400> 76

His Arg Gly Phe Ser Val Trp Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 77
<211> 10
<212> PRT
<213> 大鼠屬

<400> 77

Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr Ala Met His
1 5 10

<210> 78
<211> 16
<212> PRT
<213> 大鼠屬

<400> 78

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

<210> 79
<211> 11
<212> PRT
<213> 大鼠屬

<400> 79

Met Gly Val Thr His Ser Tyr Val Met Asp Ala
1 5 10

<210> 80
<211> 11
<212> PRT
<213> 大鼠屬

<400> 80

Arg Ala Ser Gln Pro Ile Ser Ile Ser Val His
1 5 10

<210> 81
<211> 7
<212> PRT
<213> 大鼠屬

<400> 81

Phe Ala Ser Gln Ser Ile Ser
1 5

<210> 82
<211> 9
<212> PRT
<213> 大鼠屬

<400> 82

Gln Gln Thr Phe Ser Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 83
<211> 10
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 83

Gly Phe Ile Ile Lys Ala Thr Tyr Met His
1 5 10

<210> 84
<211> 17
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 84

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

Val

<210> 85
<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 85

Tyr Ala Trp Tyr Phe Asp Val
1 5

<210> 86
<211> 11
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 86

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

<210> 87
<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 87

His Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 88

Gln His Tyr Tyr Gly Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 89
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化小鼠

<400> 89

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

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

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

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 90
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化小鼠

<400> 90

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser
20 25 30

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

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

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

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

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

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

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

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

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 91
<211> 440
<212> PRT
<213> 智人

<400> 91

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
130 135 140

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
145 150 155 160

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

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

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
195 200 205

Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
210 215 220

Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
225 230 235 240

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

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
305 310 315 320

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

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

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440

<210> 92
<211> 214
<212> PRT
<213> 智人

<400> 92

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 93
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HisX6標籤

<400> 93

His His His His His His
1 5

<210> 94
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HisX18標籤

<400> 94

His His His His His His His His His His His His His His His His
1 5 10 15

His His

<210> 95
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 95

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 96
<211> 279
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 96

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

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

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

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
100 105 110

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

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

145 150 155 160

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
165 170 175

Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
180 185 190

Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
195 200 205

Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala
210 215 220

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr
225 230 235 240

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu
245 250 255

Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr
260 265 270

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
275

<210> 97
<211> 442
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 97

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

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

20 25 30

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

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
100 105 110

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
165 170 175

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe
180 185 190

Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg
195 200 205

Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala
210 215 220

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
225 230 235 240

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu
245 250 255

Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro
260 265 270

Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
275 280 285

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
290 295 300

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
305 310 315 320

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
325 330 335

Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
340 345 350

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
355 360 365

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
370 375 380

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
385 390 395 400

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
405 410 415

Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser

420 425 430

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
435 440

<210> 98
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 98

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 Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 99

<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 99

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 100
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 20GS連接子

<400> 100

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 101
<211> 270
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 101

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
165 170 175

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
245 250 255

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
260 265 270

<210> 102
<211> 424
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 102

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
165 170 175

Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly Trp Phe Arg
180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Ile Thr Trp Ser
195 200 205

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

210 215 220

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Lys His Gln
245 250 255

Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
275 280 285

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
305 310 315 320

Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
325 330 335

Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
340 345 350

Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr
355 360 365

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
370 375 380

Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
385 390 395 400

Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly
405 410 415

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
420

<210> 103
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 103

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 104
<211> 119
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 104

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 105
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 105

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 106
<211> 749
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 106

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 Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
165 170 175

Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly Trp Phe Arg
180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Ile Thr Trp Ser
195 200 205

Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Lys His Gln
245 250 255

Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
275 280 285

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
305 310 315 320

Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr
325 330 335

Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Arg Gly Asn Glu
340 345 350

Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr
355 360 365

Ala Asp Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
370 375 380

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
385 390 395 400

Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala
405 410 415

Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
420 425 430

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
465 470 475 480

Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
485 490 495

Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Arg
500 505 510

Gly Asn Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg
515 520 525

Thr His Tyr Ala Asp Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
530 535 540

Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
545 550 555 560

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser
565 570 575

Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
580 585 590

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
595 600 605

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
610 615 620

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
625 630 635 640

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
645 650 655

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
660 665 670

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
675 680 685

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
690 695 700

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
705 710 715 720

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
725 730 735

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
740 745

<210> 107
<211> 750
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 107

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
165 170 175

Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly Trp Phe Arg
180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Ile Thr Trp Ser
195 200 205

Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Lys His Gln

245 250 255

Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
275 280 285

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
305 310 315 320

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr
325 330 335

Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
340 345 350

Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr
355 360 365

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
370 375 380

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
385 390 395 400

Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala
405 410 415

Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
420 425 430

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
465 470 475 480

Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
485 490 495

Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro
500 505 510

Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg
515 520 525

Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
530 535 540

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
545 550 555 560

Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser
565 570 575

Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
580 585 590

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
595 600 605

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
610 615 620

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
625 630 635 640

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys

645 650 655

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
660 665 670

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
675 680 685

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
690 695 700

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
705 710 715 720

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
725 730 735

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
740 745 750

<210> 108
<211> 690
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 108

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
130 135 140

Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
145 150 155 160

Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly Trp Phe
165 170 175

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Ile Thr Trp
180 185 190

Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
195 200 205

Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser
210 215 220

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

Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
245 250 255

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
275 280 285

Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
290 295 300

Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
305 310 315 320

Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr
325 330 335

His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
340 345 350

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

Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu
370 375 380

Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
385 390 395 400

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
405 410 415

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
420 425 430

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
435 440 445

Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg

450 455 460

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser
465 470 475 480

Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
485 490 495

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
500 505 510

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp
515 520 525

Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp
530 535 540

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
545 550 555 560

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
565 570 575

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu
580 585 590

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met
595 600 605

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser
610 615 620

Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
625 630 635 640

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln
645 650 655

Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile
660 665 670

Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
675 680 685

Ser Ala
690

<210> 109
<211> 646
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 109

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
145 150 155 160

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
165 170 175

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
245 250 255

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
260 265 270

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
275 280 285

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
290 295 300

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

305 310 315 320

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
325 330 335

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
340 345 350

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
355 360 365

Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
385 390 395 400

Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
405 410 415

Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln
420 425 430

Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly
435 440 445

Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
450 455 460

Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
465 470 475 480

Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp
485 490 495

Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly
500 505 510

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
515 520 525

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro
530 535 540

Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
545 550 555 560

Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
565 570 575

Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp
580 585 590

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr
595 600 605

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
610 615 620

Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu
625 630 635 640

Val Thr Val Ser Ser Ala
645

<210> 110
<211> 433
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 110

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
165 170 175

Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg
180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser
195 200 205

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

210 215 220

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp
245 250 255

Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp
260 265 270

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
275 280 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
290 295 300

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
305 310 315 320

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg
325 330 335

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser
340 345 350

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile
355 360 365

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
370 375 380

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met
385 390 395 400

Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly
405 410 415

Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
420 425 430

Ala

<210> 111
<211> 403
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 111

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
130 135 140

Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
145 150 155 160

Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe
165 170 175

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu
180 185 190

Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
195 200 205

Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
210 215 220

Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu
225 230 235 240

Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr
245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
275 280 285

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser
290 295 300

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly
305 310 315 320

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

325 330 335

Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
340 345 350

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu
355 360 365

Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr
370 375 380

Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
385 390 395 400

Ser Ser Ala

<210> 112
<211> 381
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 112

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
145 150 155 160

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
165 170 175

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
225 230 235 240

Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250 255

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
275 280 285

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln
290 295 300

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly
305 310 315 320

Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
325 330 335

Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
340 345 350

Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser
355 360 365

Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
370 375 380

<210> 113
<211> 750
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 113

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
165 170 175

Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly Trp Phe Arg
180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Ile Thr Val Ser
195 200 205

Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220

Ser Arg Asp Pro Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Lys His Gln

245 250 255

Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
275 280 285

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
305 310 315 320

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr
325 330 335

Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
340 345 350

Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr
355 360 365

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
370 375 380

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
385 390 395 400

Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala
405 410 415

Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
420 425 430

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
465 470 475 480

Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
485 490 495

Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro
500 505 510

Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg
515 520 525

Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
530 535 540

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
545 550 555 560

Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser
565 570 575

Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
580 585 590

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
595 600 605

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
610 615 620

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
625 630 635 640

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys

645 650 655

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
660 665 670

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
675 680 685

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
690 695 700

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
705 710 715 720

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
725 730 735

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
740 745 750

<210> 114
<211> 646
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 114

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

50 55 60

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
145 150 155 160

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
165 170 175

Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Pro Ser Lys Asn Thr Val Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
245 250 255

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
260 265 270

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
275 280 285

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
290 295 300

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
305 310 315 320

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
325 330 335

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
340 345 350

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
355 360 365

Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
385 390 395 400

Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
405 410 415

Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln
420 425 430

Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly
435 440 445

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

450 455 460

Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
465 470 475 480

Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp
485 490 495

Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly
500 505 510

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
515 520 525

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro
530 535 540

Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
545 550 555 560

Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
565 570 575

Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp
580 585 590

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr
595 600 605

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
610 615 620

Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu
625 630 635 640

Val Thr Val Ser Ser Ala
645

<210> 115
<211> 433
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 115

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
165 170 175

Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg
180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser
195 200 205

Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp
245 250 255

Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp
260 265 270

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
275 280 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
290 295 300

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
305 310 315 320

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg
325 330 335

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser
340 345 350

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

355 360 365

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
370 375 380

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met
385 390 395 400

Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly
405 410 415

Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
420 425 430

Ala

<210> 116
<211> 381
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 116

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

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

65 70 75 80

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
145 150 155 160

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
165 170 175

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
225 230 235 240

Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250 255

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
275 280 285

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln
290 295 300

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly
305 310 315 320

Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
325 330 335

Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
340 345 350

Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser
355 360 365

Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
370 375 380

<210> 117
<211> 750
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 117

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
165 170 175

Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly Trp Phe Arg
180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Ile Thr Val Ser
195 200 205

Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220

Ser Arg Asp Gln Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Lys His Gln

245 250 255

Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
275 280 285

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
305 310 315 320

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr
325 330 335

Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
340 345 350

Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr
355 360 365

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
370 375 380

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
385 390 395 400

Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala
405 410 415

Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
420 425 430

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
465 470 475 480

Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
485 490 495

Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro
500 505 510

Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg
515 520 525

Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
530 535 540

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
545 550 555 560

Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser
565 570 575

Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
580 585 590

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
595 600 605

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
610 615 620

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
625 630 635 640

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys

645 650 655

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
660 665 670

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
675 680 685

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
690 695 700

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
705 710 715 720

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
725 730 735

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
740 745 750

<210> 118
<211> 646
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 118

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

50 55 60

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
145 150 155 160

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
165 170 175

Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gln Ser Lys Asn Thr Val Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
245 250 255

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
260 265 270

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
275 280 285

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
290 295 300

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
305 310 315 320

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
325 330 335

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
340 345 350

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
355 360 365

Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
385 390 395 400

Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
405 410 415

Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln
420 425 430

Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly
435 440 445

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

450 455 460

Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
465 470 475 480

Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp
485 490 495

Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly
500 505 510

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
515 520 525

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro
530 535 540

Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
545 550 555 560

Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
565 570 575

Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp
580 585 590

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr
595 600 605

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
610 615 620

Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu
625 630 635 640

Val Thr Val Ser Ser Ala
645

<210> 119
<211> 433
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 119

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
165 170 175

Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg
180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser
195 200 205

Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp
245 250 255

Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp
260 265 270

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
275 280 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
290 295 300

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
305 310 315 320

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg
325 330 335

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser
340 345 350

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

355 360 365

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
370 375 380

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met
385 390 395 400

Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly
405 410 415

Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
420 425 430

Ala

<210> 120
<211> 381
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 120

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

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

65 70 75 80

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
145 150 155 160

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
165 170 175

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
225 230 235 240

Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250 255

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
275 280 285

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln
290 295 300

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly
305 310 315 320

Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
325 330 335

Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
340 345 350

Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser
355 360 365

Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
370 375 380

<210> 121
<211> 750
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 121

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
165 170 175

Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly Trp Phe Arg
180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Ile Thr Val Ser
195 200 205

Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220

Ser Arg Asp Ser Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Lys His Gln

245 250 255

Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
275 280 285

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
305 310 315 320

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr
325 330 335

Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
340 345 350

Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr
355 360 365

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
370 375 380

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
385 390 395 400

Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala
405 410 415

Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
420 425 430

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
465 470 475 480

Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
485 490 495

Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro
500 505 510

Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg
515 520 525

Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
530 535 540

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
545 550 555 560

Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser
565 570 575

Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
580 585 590

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
595 600 605

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
610 615 620

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
625 630 635 640

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys

645 650 655

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
660 665 670

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
675 680 685

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
690 695 700

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
705 710 715 720

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
725 730 735

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
740 745 750

<210> 122
<211> 646
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 122

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

50 55 60

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
145 150 155 160

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
165 170 175

Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys Asn Thr Val Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
245 250 255

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
260 265 270

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
275 280 285

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
290 295 300

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
305 310 315 320

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
325 330 335

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
340 345 350

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
355 360 365

Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
385 390 395 400

Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
405 410 415

Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln
420 425 430

Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly
435 440 445

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

450 455 460

Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
465 470 475 480

Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp
485 490 495

Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly
500 505 510

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
515 520 525

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro
530 535 540

Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
545 550 555 560

Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
565 570 575

Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp
580 585 590

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr
595 600 605

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
610 615 620

Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu
625 630 635 640

Val Thr Val Ser Ser Ala
645

<210> 123
<211> 433
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 123

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
165 170 175

Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg
180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser
195 200 205

Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp
245 250 255

Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp
260 265 270

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
275 280 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
290 295 300

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
305 310 315 320

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg
325 330 335

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser
340 345 350

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

355 360 365

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
370 375 380

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met
385 390 395 400

Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly
405 410 415

Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
420 425 430

Ala

<210> 124
<211> 381
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 124

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

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

65 70 75 80

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asp Tyr
145 150 155 160

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
165 170 175

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
225 230 235 240

Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250 255

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
275 280 285

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln
290 295 300

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly
305 310 315 320

Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
325 330 335

Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
340 345 350

Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser
355 360 365

Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
370 375 380

<210> 125
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 9GS連接子

<400> 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 126
<211> 423
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 126

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 Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
165 170 175

Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His Ala Met Gly Trp Phe Arg
180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Ile Thr Trp Ser
195 200 205

Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Gly Asp Lys His Gln
245 250 255

Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
275 280 285

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
305 310 315 320

Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
325 330 335

Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
340 345 350

Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr
355 360 365

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
370 375 380

Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala

385 390 395 400

Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly
405 410 415

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
420

<210> 127
<211> 441
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 127

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

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

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Arg Gly Asn Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

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

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

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
100 105 110

Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
165 170 175

Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe
180 185 190

Ser Asp Tyr Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Arg Gly Asn Glu Arg
195 200 205

Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His Tyr Ala
210 215 220

Asp Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
225 230 235 240

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
245 250 255

Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro
260 265 270

Ile Lys Ala Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
275 280 285

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
290 295 300

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
305 310 315 320

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
325 330 335

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
340 345 350

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
355 360 365

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
370 375 380

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
385 390 395 400

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
405 410 415

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
420 425 430

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
435 440

<210> 128
<211> 162
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 128

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

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

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Arg Gly Asn Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

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

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

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
100 105 110

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

Ala Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
130 135 140

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
145 150 155 160

His His

<210> 129
<211> 137
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 129

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

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

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Arg Gly Asn Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

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

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

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
100 105 110

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

Ala Ala Ala His His His His His His
130 135

<210> 130
<211> 162
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 130

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

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

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

Ala Ala Ile Ser Glu Ser Gly Gly Arg Thr His 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Thr Leu Leu Trp Trp Thr Ser Glu Tyr Ala Pro Ile Lys Ala
100 105 110

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

Ala Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
130 135 140

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
145 150 155 160

His His

<210> 131
<211> 153
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 131

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 Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp
115 120 125

Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
130 135 140

Gly Ala Ala His His His His His His
145 150

<210> 132
<211> 153
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 132

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp
115 120 125

Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
130 135 140

Gly Ala Ala His His His His His His
145 150

<210> 133
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 133

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Trp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His His His
115 120 125

<210> 134
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 134

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

Ala Val Ile Thr Val Ser Gly Gly Ile Thr Tyr 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 Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala His His His His His His
115 120 125

<210> 135
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 135

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala His His His His His His
115 120 125

<210> 136
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化美洲駝

<400> 136

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ala Ser Ile His
20 25 30

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

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

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

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

Ala Gly Asp Lys His Gln Ser Ser Phe Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala His His His His His His
115 120 125

<210> 137
<211> 288
<212> PRT
<213> 智人

<400> 137

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
20 25 30

Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
50 55 60

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
65 70 75 80

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

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
100 105 110

Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
115 120 125

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
145 150 155 160

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly
165 170 175

Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys
180 185 190

Ser Arg Ala Ala Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro
195 200 205

Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly
210 215 220

Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro
225 230 235 240

Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly
245 250 255

Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
260 265 270

Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
275 280 285

<210> 138
<211> 525
<212> PRT
<213> 智人

<400> 138

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val
20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile

35 40 45

Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln
50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu
65 70 75 80

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro
85 90 95

Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly
100 105 110

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln
115 120 125

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala
130 135 140

Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg Ala Leu Ser Cys
145 150 155 160

Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro
165 170 175

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser
180 185 190

Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln
195 200 205

Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser
210 215 220

Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly
225 230 235 240

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn
245 250 255

Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala
260 265 270

Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val
275 280 285

Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly
290 295 300

Pro Asp Leu Leu Val Thr Gly Asp Asn Gly Asp Phe Thr Leu Arg Leu
305 310 315 320

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His
325 330 335

Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Ile Ile Thr
340 345 350

Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu
355 360 365

Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser
370 375 380

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala
385 390 395 400

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln
405 410 415

Gly Glu Arg Leu Leu Gly Ala Ala Val Tyr Phe Thr Glu Leu Ser Ser
420 425 430

Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Pro Ala Gly

435 440 445

His Leu Leu Leu Phe Leu Ile Leu Gly Val Leu Ser Leu Leu Leu Leu
450 455 460

Val Thr Gly Ala Phe Gly Phe His Leu Trp Arg Arg Gln Trp Arg Pro
465 470 475 480

Arg Arg Phe Ser Ala Leu Glu Gln Gly Ile His Pro Pro Gln Ala Gln
485 490 495

Ser Lys Ile Glu Glu Leu Glu Gln Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro
500 505 510

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gln Leu
515 520 525

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種PD1結合劑，其包含結合PD1之免疫球蛋白單一可變域(ISVD)，該免疫球蛋白單一可變域包含SEQ ID NO: 1或2所載之胺基酸序列，且進一步包含位置11及89之胺基酸取代，該等胺基酸取代分別為胺基酸V及L；

其中該等殘基編號為Kabat殘基編號；

及視情況，半衰期延長劑及/或C端延長劑。

【請求項2】

一種PD1結合劑，其包含結合PD1之一或多個免疫球蛋白單一可變域(ISVD)，該免疫球蛋白單一可變域包含：

包含胺基酸序列IHAMG (SEQ ID NO: 3)或GSIASIHAMG (SEQ ID NO: 6)之CDR1；

包含胺基酸序列VITXSGGITYYADSVKG (SEQ ID NO: 4；其中X為W或V)或VITXSGGITY (SEQ ID NO: 7；其中X為W或V)之CDR2；及

包含胺基酸序列DKHQSSXYDY (SEQ ID NO: 5，其中X為W或F)之CDR3；

且進一步包含位置11及89之胺基酸取代，該等胺基酸取代分別為胺基酸V及L，其中該等殘基編號為Kabat殘基編號。

【請求項3】

如請求項1或2之PD1結合劑，其中該免疫球蛋白單一可變域包含以下胺基酸序列：

DVQLVESGGG VVQPGGSLRL SCAASGSIAS IHAMGWFRQA PGKEREFVAV ITWSGGITYY
ADSVKGRFTI SRDNSKNTVY LQMNSLRPED TALYYCAGDK HQSSWYDYWG QGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 57，或該序列視情況包含D1E突變)；

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNS
KNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSWYDYWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 99，或該序列視情況包含E1D突變)；

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDNS
KNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 103，或該序列視情況包含D1E及/或N73S突變)；

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDQS
KNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 104，或該序列視情況包含D1E突變)；或

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDPS
KNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 105，或該序列視情況包含D1E突變)，或

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDPS

KNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 113之胺基酸1至119，或該序列視情況包含D1E突變)；或

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDQS

KNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 117之胺基酸1至119，或該序列視情況包含D1E突變)；或

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDSS

KNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKHQSSFYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 121之胺基酸1至119，或該序列視情況包含D1E突變)；

及視情況，包含半衰期延長劑及/或C端延長劑。

【請求項4】

如請求項1或2之PD1結合劑，其包含C端延長劑，其中該C端延長劑為丙胺酸。

【請求項5】

如請求項1或2之PD1結合劑，其結合至PD1及/或LAG3。

【請求項6】

如請求項1或2之PD1結合劑，其包含半衰期延長劑，其中該半衰期延長劑為結合至人類血清白蛋白之包含以下之人類血清白蛋白ISVD：

包含胺基酸序列GFTFSSFGMS (SEQ ID NO: 60)或SFGMS(SEQ ID NO:60之胺基酸1-5)之CDR1；

包含胺基酸序列SISGSGSDTLYADSVKG (SEQ ID NO: 61)或SISGSGSDTL(SEQ ID NO:61之胺基酸1-10)之CDR2；及

包含胺基酸序列GGSLSR (SEQ ID NO: 62)之CDR3。

【請求項7】

如請求項6之PD1結合劑，其中該人類血清白蛋白ISVD包含以下胺基酸序列：

EVQLVESGGG VVQPGNSLRL SCAASGFTFS SFGMSWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTI
SRDNAKTTLY LQMNSLRPED TALYYCTIGG SLSRSSQGTL VTVSSA

(SEQ ID NO: 59)。

【請求項8】

一種注射裝置或容器，其包含如請求項1至7中任一項之PD1結合劑，視情況與另一治療劑組合。

【請求項9】

一種聚核苷酸，其編碼如請求項1至7中任一項之PD1結合劑。

【請求項10】

一種載體，其包含如請求項9之聚核苷酸。

【請求項11】

一種宿主細胞，其包含如請求項9之聚核苷酸或如請求項10之載體。

【請求項12】

一種製備如請求項1至7中任一項之PD1結合劑之方法，其包含將編碼該結合劑之聚核苷酸引入宿主細胞中且在培養基中於有利於自該聚核苷酸表現該結合劑之條件下培養該宿主細胞，及視情況自該宿主細胞及/或該培養基純化該結合劑。

【請求項13】

一種結合劑，其係由如請求項12之方法製造。

【請求項14】

一種如請求項1至7中任一項之PD1結合劑之用途，其係用以製備用於防止PD1結合至PD-L1及/或PD-L2之醫藥品，其中該醫藥品視情況包含另一治療劑或視情況與另一治療劑併用。

【請求項15】

一種如請求項1至7中任一項之PD1結合劑之用途，其係用以製備用於增強個體免疫反應之醫藥品，其中該醫藥品視情況包含另一治療劑或視情況與另一治療劑併用。

【請求項16】

一種如請求項1至7中任一項之PD1結合劑之用途，其係用以製備用於治療或預防人類個體之癌症或感染性疾病之醫藥品，其中該醫藥品視情況包含另一治療劑或視情況與另一治療劑併用。

【請求項17】

如請求項16之用途，其中該癌症為轉移性癌症、實體腫瘤、血液癌、白血病、淋巴瘤、骨肉瘤、橫紋肌肉瘤、神經母細胞瘤、腎癌、白血病、腎

移行細胞癌、膀胱癌、威爾姆氏癌症(Wilm's cancer)、卵巢癌、胰臟癌、乳癌、前列腺癌、骨癌、肺癌、非小細胞肺癌、胃癌、結腸直腸癌、子宮頸癌、滑膜肉瘤、頭頸癌、鱗狀細胞癌、多發性骨髓瘤、腎細胞癌、視網膜母細胞瘤、肝母細胞瘤、肝細胞癌、黑素瘤、腎臟之桿狀腫瘤、尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、軟骨肉瘤、腦癌、神經膠母細胞瘤、腦膜瘤、垂體腺瘤、前庭神經鞘瘤、原始神經外胚層瘤、神經管胚細胞瘤、星形細胞瘤、退行性(anaplastic)星形細胞瘤、少突神經膠質瘤、室管膜瘤、脈絡叢乳頭狀瘤、真性紅血球增多症、血小板增多症、特發性骨髓纖維化、軟組織肉瘤、甲狀腺癌、子宮內膜癌、類癌或肝癌、乳癌或胃癌。

【請求項18】

如請求項16之用途，其中該感染性疾病為細菌感染、病毒感染或真菌感染。

【請求項19】

如請求項14至18中任一項之用途，其中該醫藥品包含另一治療劑或與另一治療劑或治療程序併用。

【請求項20】

一種組合物，其包含如請求項1至7中任一項之PD1結合劑及至少一種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

版權Kabat之編號 (V-)	版權Chothia之編號 (V-)	Aho編號	MGT
10	10	12	12
14	14	15	15
16	16	18	16
42	42	49	47
87	87	101	99
89	89	103	101
108	108	144	———
110	110	146	———
112	112	148	———

來源：http://www.bioc.uzh.ch/plueckthun/antibody/Numbering/NumframeA.html

SEQ ID NO	描述	序列
1	WO 2008/071447, SEQ ID NO:348 (102C12)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIASHAMGWFRQAPGKEREFVAVIWSGGITYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAIYYCAGDKIQSSWYDYWGQGTQVTVSS
2	參考A	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIASHAMGWFRQAPGKEREFVAVIWSGGITYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAIYYCAGDKIQSSWYDYWGQGTLVTVSS
3	CDR1 (Kabat)	HAMG
4	CDR2 (Kabat)	VIWSGGITYYADSVKG
5	CDR3 (Kabat/Abm)	DKIQSSWYDY
6	CDR1 (Abm)	GSIASHAMG
7	CDR2 (Abm)	VIWSGGIY
8	CDR3 (Kabat/Abm)	DKIQSSWYDY
9	參考A (89T)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIASHAMGWFRQAPGKEREFVAVIWSGGITYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAIYYCAGDKIQSSWYDYWGQGTLVTVSS
10	參考A (11V + 110K)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIASHAMGWFRQAPGKEREFVAVIWSGGITYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAIYYCAGDKIQSSWYDYWGQGTLVKVSS
11	參考A (11V + 110Q)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAEMSGISGWDYWGQGTQVQVSS
12	參考A (11V + 112K)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVTVKS
13	參考A (11V + 112Q)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVTVQS

|(圖2-1)|

SEQ ID NO	描述	序列
14	參考A (89L + 110K)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIASHAMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVKVSS
15	參考A (89L + 110Q)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVQVSS
16	參考A (89L + 112K)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVTVKS
17	參考A (11V + 112Q)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVTVQS
18	參考A (11V + 89L)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVTVSS
19	參考A (11V + 89L + 110K)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVKVSS
20	參考A (11V + 89L + 110Q)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVQVSS
21	參考A (11V + 89L + 112K)	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQ MNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVTVKS
22	參考A (11V + 89L + 112Q)	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQ MNSLRPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVTVQS
23	PD1結合劑/結合部分	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAP GKEREFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQ MNSLRPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVTVSS

|(圖2.2)|

SEQ ID NO	描述	序列
24	PD1結合劑結合部分	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAAFMSGISGWDYWGQGTLVTVSS
25	參考A (89T)+A	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFYGMGWFRQAPGKEREFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAAFMSGISGWDYWGQGTLVTVSSA
26	參考A (11V+110K)+A	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTATYYCAAFMSGISGWDYWGQGTLVKVSSA
27	參考A (11V+110Q)+A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAFMSGISGWDYWGQGTLVQVSSA
28	參考A (11V+112K)+A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAFMSGISGWDYWGQGTLVTVKSA
29	參考A (11V+112Q)+A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAFMSGISGWDYWGQGTLVTVQSA
30	參考A (89L+110K)+A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAFMSGISGWDYWGQGTLVKVSSA
31	參考A (89L+110Q)+A	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTALYYCAAFMSGISGWDYWGQGTLVQVSSA
32	參考A (89L+112K)+A	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTALYYCAAFMSGISGWDYWGQGTLVTVKSA
33	參考A (89L+112Q)+A	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTALYYCAAFMSGISGWDYWGQGTLVTVQSA

|(圖2-3)|

SEQ ID NO	描述	序列
34	參考A (11V+89L)+A	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVTVSSA
35	參考A (11V+89L+110K)+A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVKVSSA
36	參考A (11V+89L+110Q)+A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVQVSSA
37	參考A (11V+89L+112K)+A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVTVKSA
38	參考A (11V+89L+112Q)+A	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVTVQSA
39	PD1結合劑/結合部分	EVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVTVSSA
40	PD1結合劑/結合部分	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSFYGMGWFRQAPGKEQEFVADIRTSAGRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAAEMSGISGWDYWGQGTLVTVSSA

|(圖2-4)|

SEQ ID NO	描述	序列
41	HIS6-FLAG3標籤	HHHHHHGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAA
42	CM1	VIVKS
43	CM1	VIVQS
44	CM1	VKVSS
45	CM1	VQVSS
46	CM1	VIVKSX(n)
47	CM1	VIVQSX(n)
48	CM1	VKVSSX(n)
49	CM1	VQVSSX(n)
50	CM1	VIVKSA
51	CM1	VIVQSA
52	CM1	VKVSSA
53	CM1	VQVSSA
54	CM1	VIVSS
55	CM1	VIVSSX(n)
56	CM1	VIVSSA

|(圖2-5)|

```
                                        20                  40                  60
                                         |                   |                   |
SEQ ID NO: 1  EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGSIAS LHAMGWFRQA PGKEREFVAV LWSGGLYY 60
SEQ ID NO: 2  ..........  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 9  ..........  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 10 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 11 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 12 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 13 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 14 ..........  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 15 ..........  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 16 ..........  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 17 ..........  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 18 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 19 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 20 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 21 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 22 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 23 .........V  ..P.......  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 24 ..........  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 25 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 26 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 27 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 28 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 29 ..........  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 30 ..........  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 31 ..........  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 32 ..........  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 33 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 34 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 35 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 36 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 37 .........V  ..........  ..........  ..........  ..........  ..... 60
SEQ ID NO: 38 .........V  ..P.......  ..........  ..........  ..........  ..... 60
```

圖3A

```
                                        80                  100                 120
                                         |                   |                   |
SEQ ID NO: 1  ADSVKGRFTI SRDNAKNTVY LQMNSLKPED TATYYCAGDK HQSSWYDYWG QGTQVTVSS  119
SEQ ID NO: 2  ........... ........... ........... .......... ........... ...|...... 119
SEQ ID NO: 9  ........... ........... ........... ..T....... ........... ...|...... 119
SEQ ID NO: 10 ........... ........... ........... .......... ........... ...|..K... 119
SEQ ID NO: 11 ........... ........... ........... .......... ........... ...|..Q... 119
SEQ ID NO: 12 ........... ........... ........... .......... ........... ...|....K. 119
SEQ ID NO: 13 ........... ........... ........... .......... ........... ...|....Q. 119
SEQ ID NO: 14 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|..K... 119
SEQ ID NO: 15 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|..Q... 119
SEQ ID NO: 16 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|....K. 119
SEQ ID NO: 17 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|....Q. 119
SEQ ID NO: 18 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|...... 119
SEQ ID NO: 19 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|..K... 119
SEQ ID NO: 20 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|..Q... 119
SEQ ID NO: 21 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|....K. 119
SEQ ID NO: 22 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|....Q. 119
SEQ ID NO: 23 ........... ....S..... .......R... ..I....... ........... ...|...... 119
SEQ ID NO: 24 ........... ........... ........... ..T....... ........... ...|.....A 120
SEQ ID NO: 25 ........... ........... ........... .......... ........... ...|..K...A 120
SEQ ID NO: 26 ........... ........... ........... .......... ........... ...|..Q...A 120
SEQ ID NO: 27 ........... ........... ........... .......... ........... ...|....K.A 120
SEQ ID NO: 28 ........... ........... ........... .......... ........... ...|....Q.A 120
SEQ ID NO: 29 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|..K...A 120
SEQ ID NO: 30 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|..Q...A 120
SEQ ID NO: 31 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|....K.A 120
SEQ ID NO: 32 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|....Q.A 120
SEQ ID NO: 33 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|.....A 120
SEQ ID NO: 34 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|..K...A 120
SEQ ID NO: 35 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|..Q...A 120
SEQ ID NO: 36 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|....K.A 120
SEQ ID NO: 37 ........... ........... ........... ..V....... ........... ...|....Q.A 120
SEQ ID NO: 38 ........... ....S..... .......R... ..I....... ........... ...|.....A 120
```

|(|3B)|

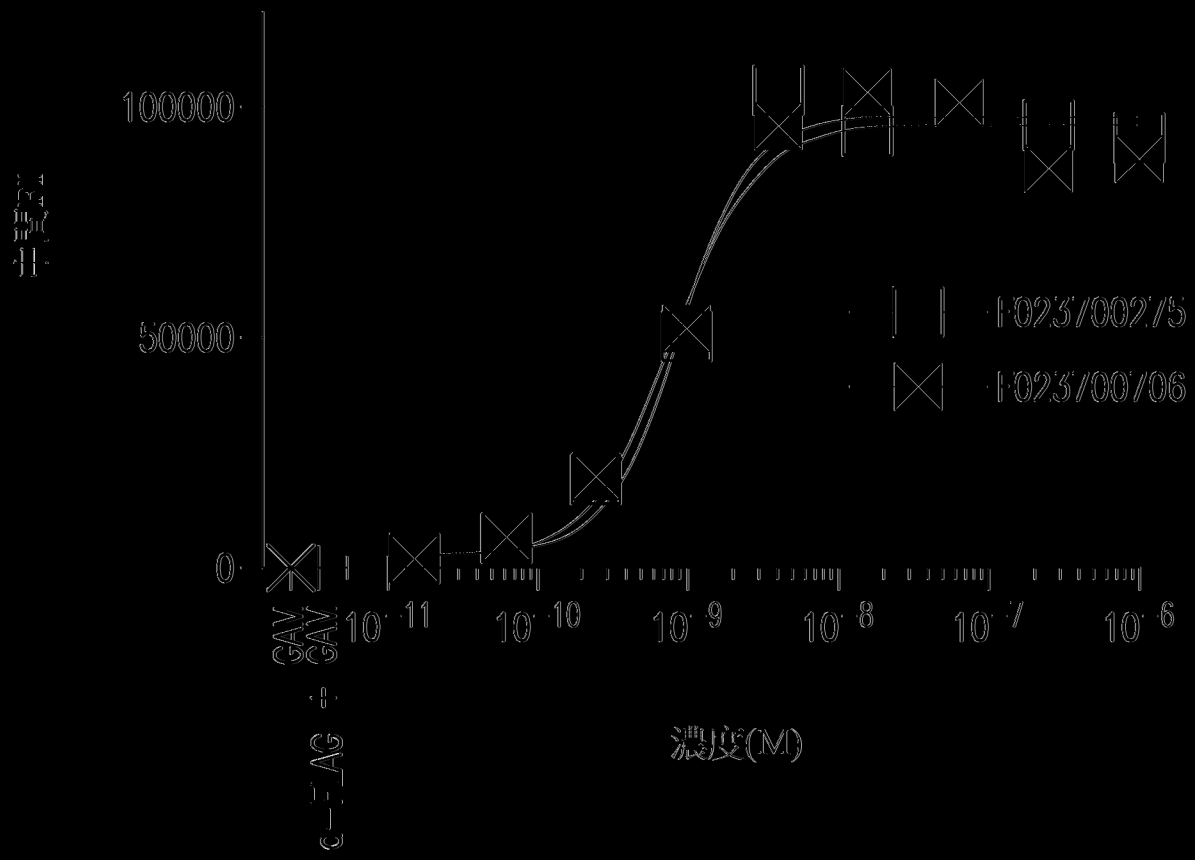
Asi
Vcc5
G2
Asi
G0
Asi
G2
Asi
G0
Asi
G2
Asi
G0
Asi
G2
Asi
G0
Asi
G2
Asi
Vcc5

不銹鋼材料

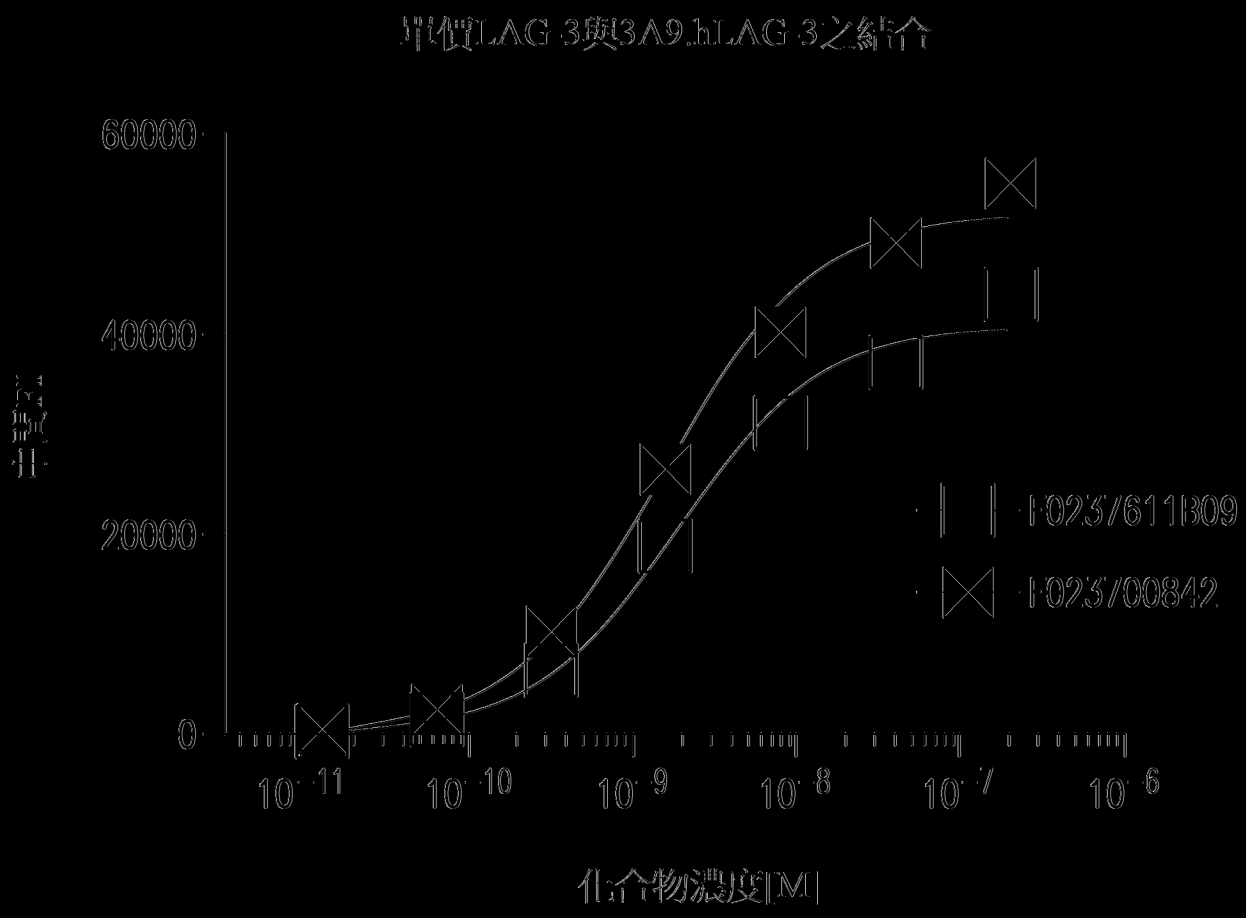
Asi
Vcc5
G2
Asi
G0
Asi
G2
Asi
G0
Asi
G2
Asi
G0
Asi
G2
Asi
G0
Asi
G2
Asi
Vcc5

不銹鋼材料

可溶PD-1與CHO-K1/hPD-1之結合



(圖5)


可溶性LAG-3與3A9-hLAG-3之結合
60000
40000
20000
0
結合量
10⁻¹¹
10⁻¹⁰
10⁻⁹
10⁻⁸
10⁻⁷
10⁻⁶
化合物濃度[M]
1-023/611B09
1-023/00842

(圖6)

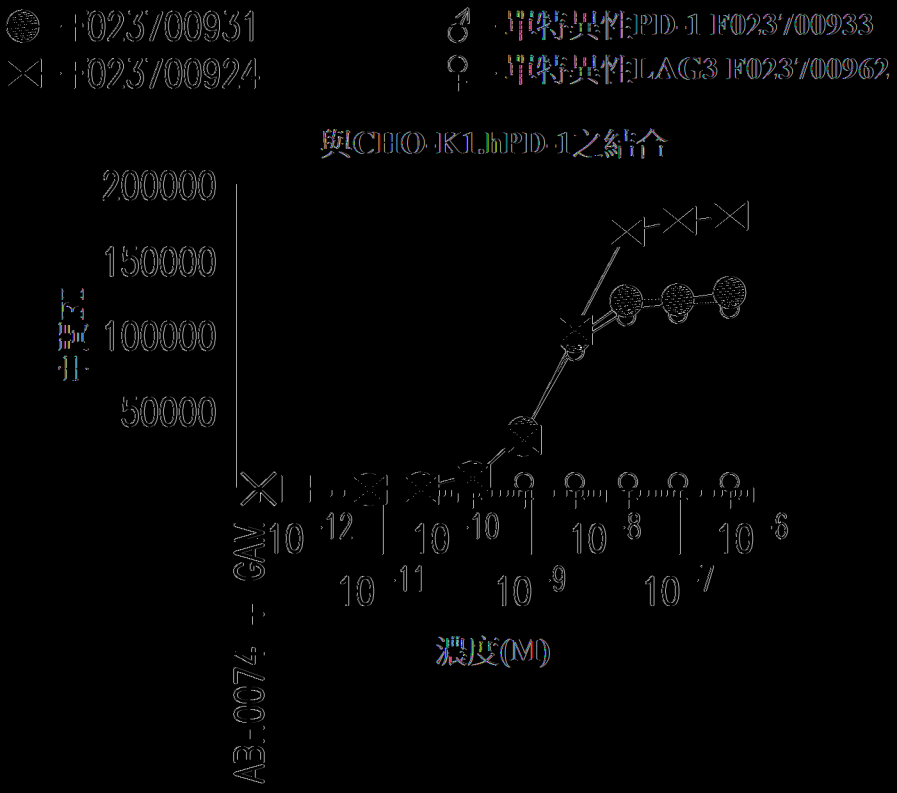

F023/00931
F023/00924
單特異性PD-1 F023/00933
單特異性LAG3 F023/00962
與CHO-K1hPD-1之結合
200000
150000
100000
50000
0
螢光強度
AB-0074 - GAV
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
濃度(M)

圖7A

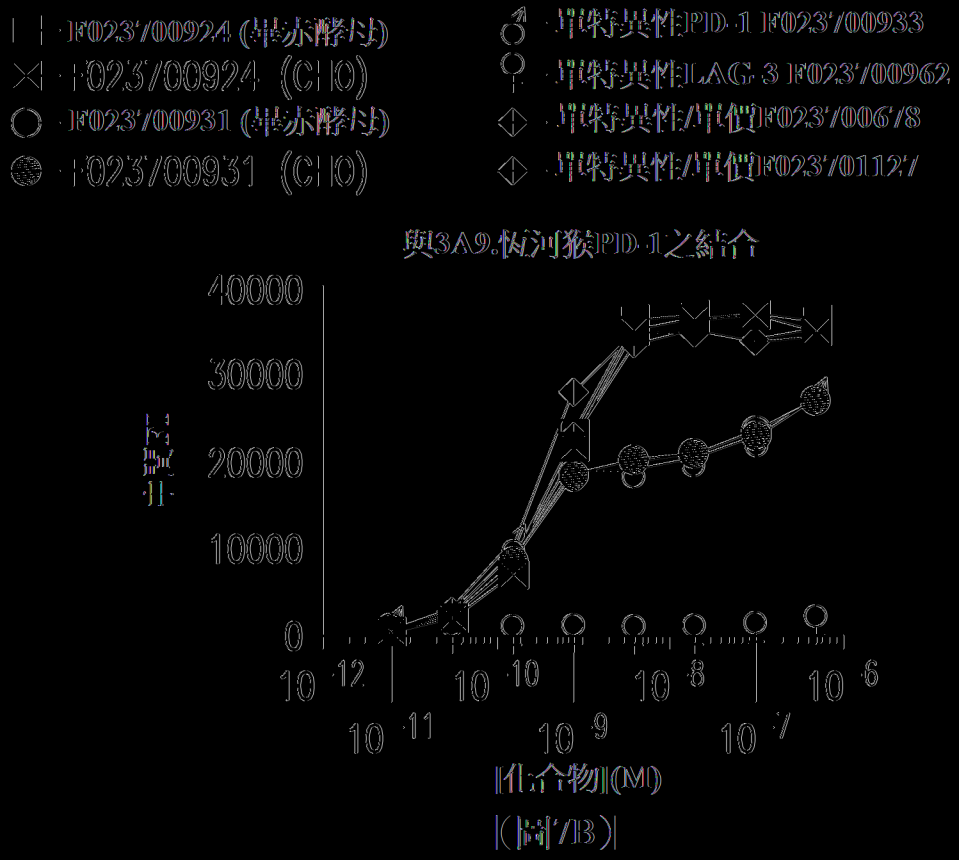
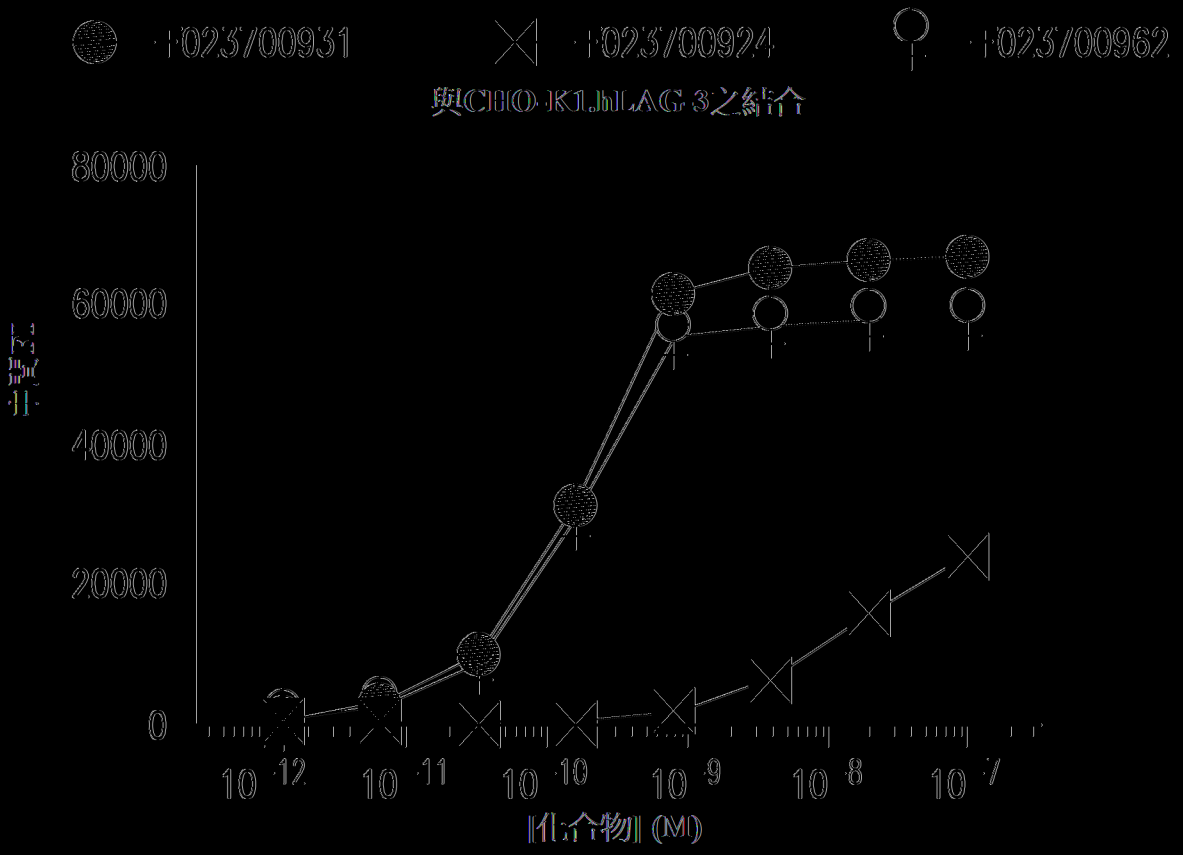
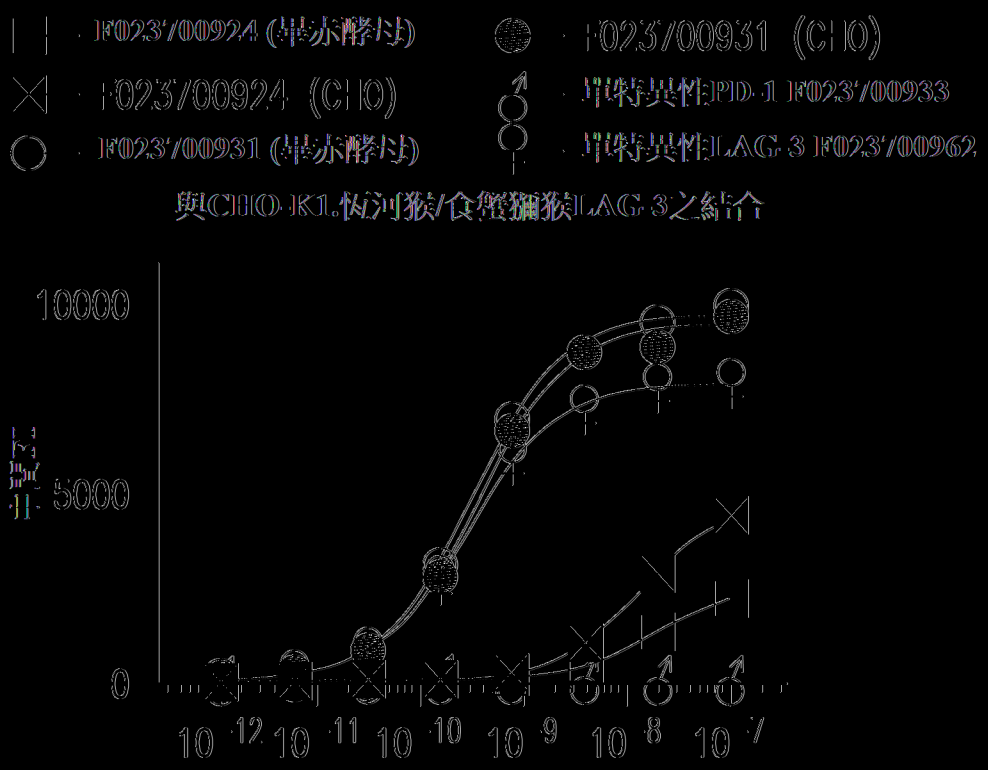

F023/00924 (單示劑量)
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (單示劑量)
F023/00931 (CHO)
單特異性PD-1 F023/00933
單特異性LAG-3 F023/00962
單特異性/單價F023/00678
單特異性/單價F023/01127
與3A9.仿河猴PD-1之結合
40000
30000
20000
10000
0
螢光強度
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
抗體濃度(M)

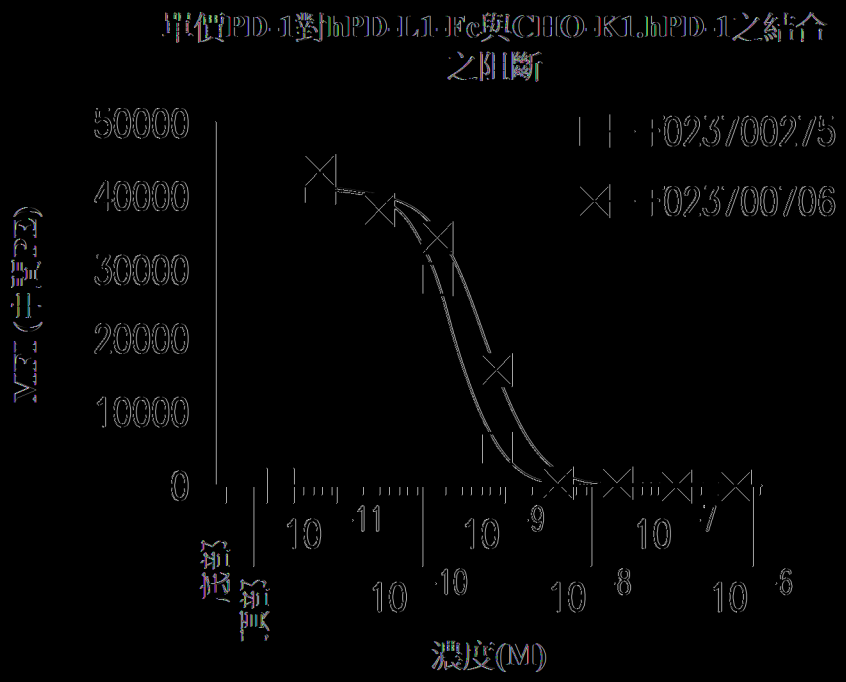
圖7B


F023/00931
F023/00924
F023/00962
與CHO-K1.hLAG-3之結合
80000
60000
40000
20000
0
螢光強度
10 -12
10 -11
10 -10
10 -9
10 -8
10 -7
[化合物] (M)

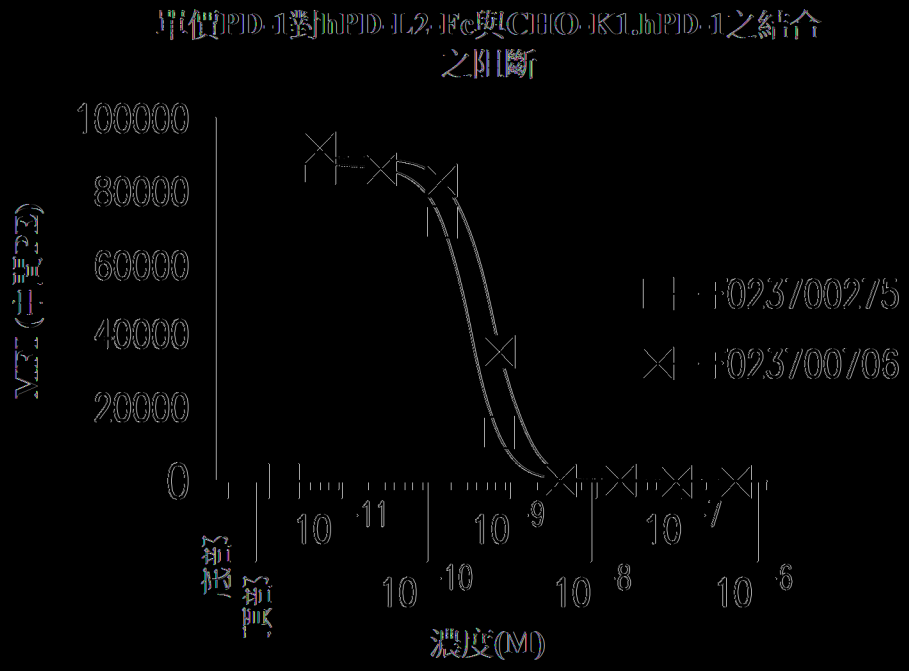
[圖8A]


F023/00924 (單示酵母)
F023/00931 (CHO)
F023/00924 (CHO)
甲特異性PD-1 F023/00933
F023/00931 (單示酵母)
甲特異性LAG-3 F023/00962
與CHO-K1.恆河猴/食蟹猴LAG-3之結合
10000
5000
0
螢光強度
10 -12
10 -11
10 -10
10 -9
10 -8
10 -7
[化合物] (M)

[圖8B]


抑價PD-1對hPD-L1-Fc與CHO-K1/hPD-1之結合之阻斷
50000
40000
30000
20000
10000
0
MFI (螢光)
10
-11
10
-10
10
-9
10
-8
10
-7
10
-6
濃度(M)
抑價
抑價
I-023/00275
I-023/00706

|(圖9A)|


抑價PD-1對hPD-L2-Fc與CHO-K1/hPD-1之結合之阻斷
100000
80000
60000
40000
20000
0
MFI (螢光)
10
-11
10
-10
10
-9
10
-8
10
-7
10
-6
濃度(M)
抑價
抑價
I-023/00275
I-023/00706

|(圖9B)|

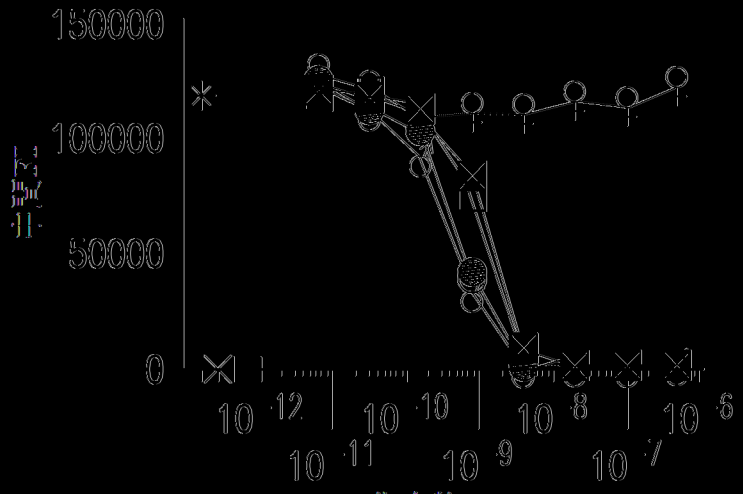
F023/00924 (野水酵母)　♂ 可特異性PD-1 F023/00933
F023/00924 (CHO)　♀ 可特異性LAG-3 F023/00962
F023/00931 (野水酵母)　US
F023/00931 (CHO)　EC30下之hPD-L1

hPD-L1-Fc與CHO-K1hPD-1之結合之
關係

[圖9C]

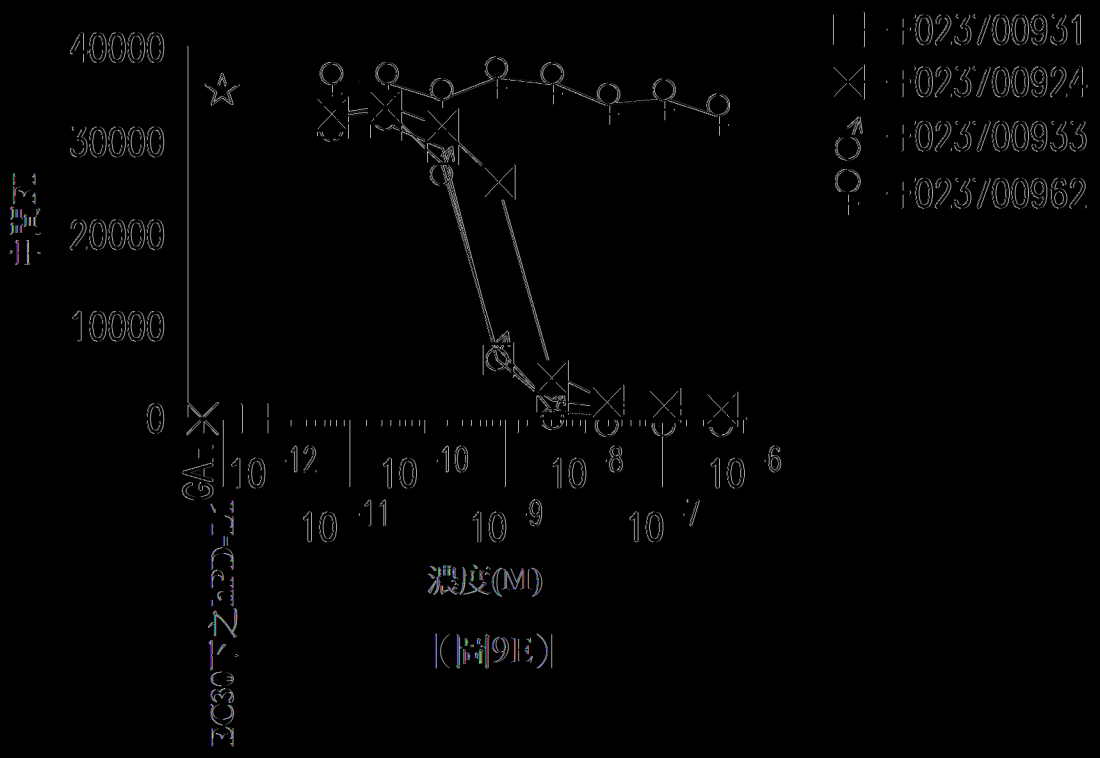
F023/00924 (野水酵母)　♂ 可特異性PD-1 F023/00933
F023/00924 (CHO)　♀ 可特異性LAG-3 F023/00962
F023/00931 (野水酵母)　US
F023/00931 (CHO)　EC30下之hPD-L1

hPD-L2-Fc與CHO-K1hPD-1之結合之
關係



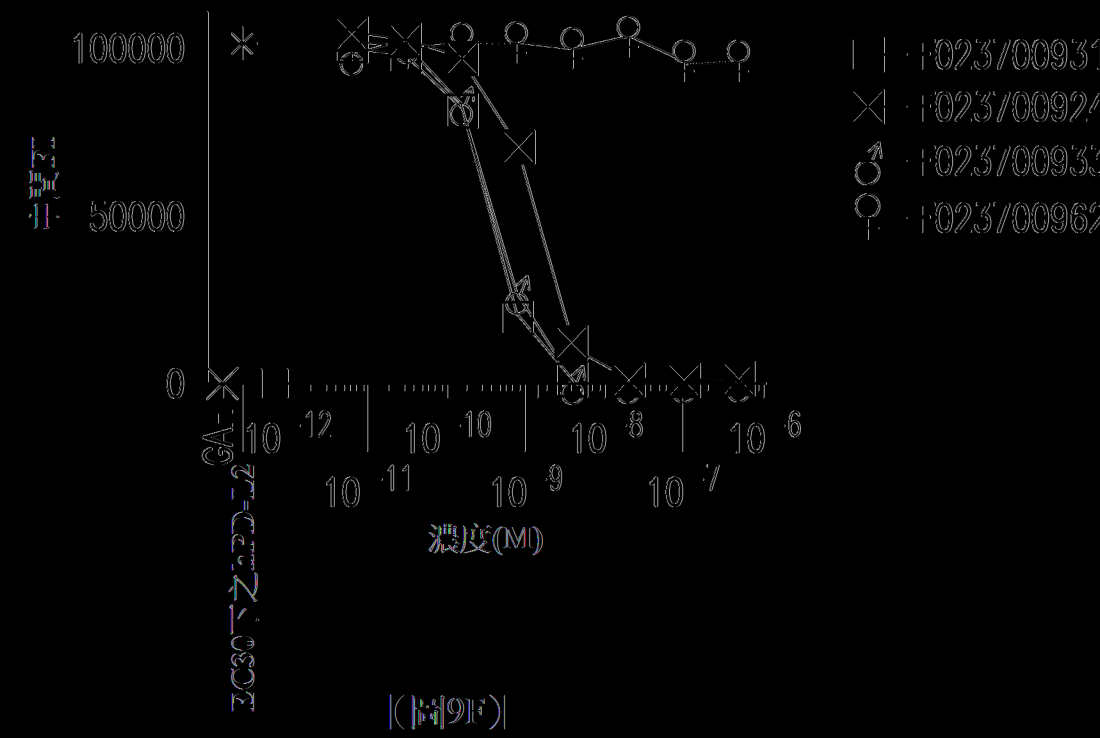
[圖9D]

hPD-L1-Fc與CHO-K1/hPD-1
之結合之阻斷

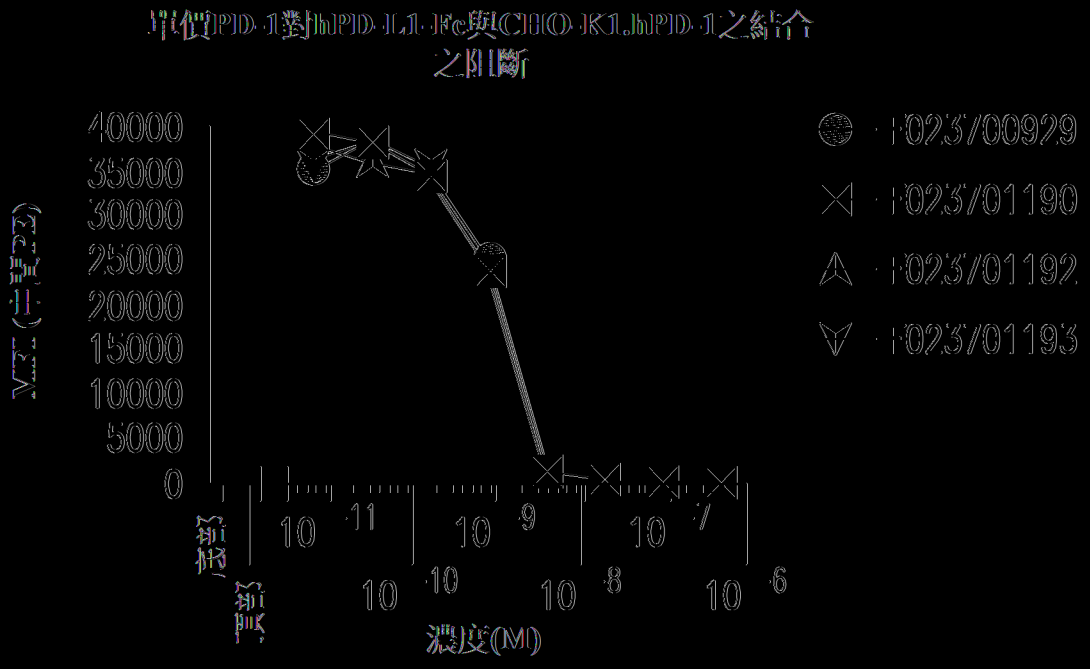


(圖9E)

hPD-L2-Fc與CHO-K1/hPD-1
之結合之阻斷



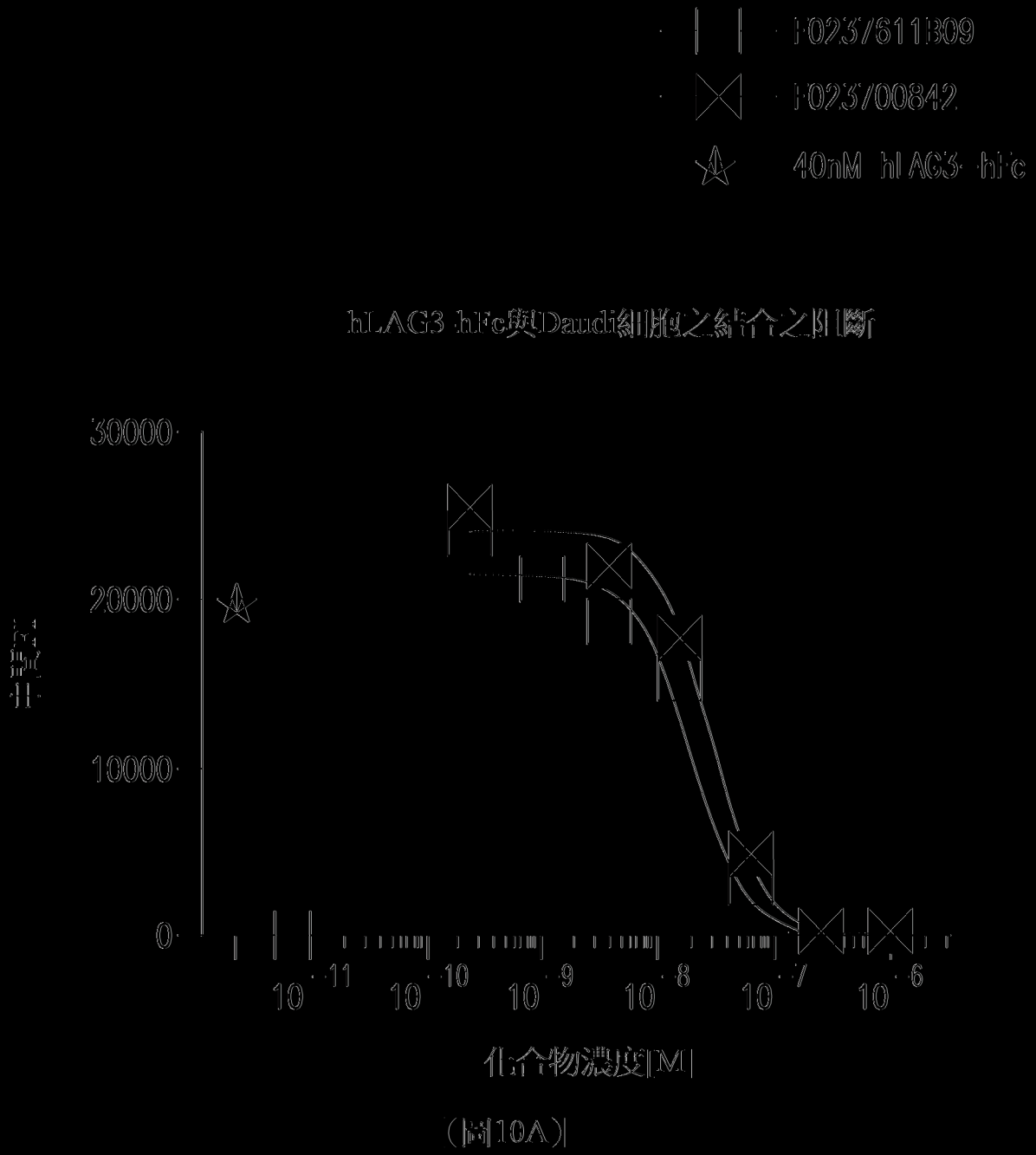
(圖9F)


評價PD-1對hPD-L1-Fc與CHO-K1/hPD-1之結合之阻斷
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
MFI (螢光強度)
抑制
10
-11
10
-9
10
-7
10
-10
10
-8
10
-6
濃度(M)
I-023/00929
I-023/01190
I-023/01192
I-023/01193

|(圖9G)|


評價PD-1對hPD-L2-Fc與CHO-K1/hPD-1之結合之阻斷
140000
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
MFI (螢光強度)
抑制
10
-11
10
-9
10
-7
10
-10
10
-8
10
-6
濃度(M)
I-023/00929
I-023/01190
I-023/01192
I-023/01193

|(圖9H)|


1023/611309
1023/00842
40nM hLAG3-hFc
hLAG3-hFc與Daudi細胞之結合之圖
30000
20000
10000
0
螢光強度
10^{-11}
10^{-10}
10^{-9}
10^{-8}
10^{-7}
10^{-6}
化合物濃度[M]

(圖10A)

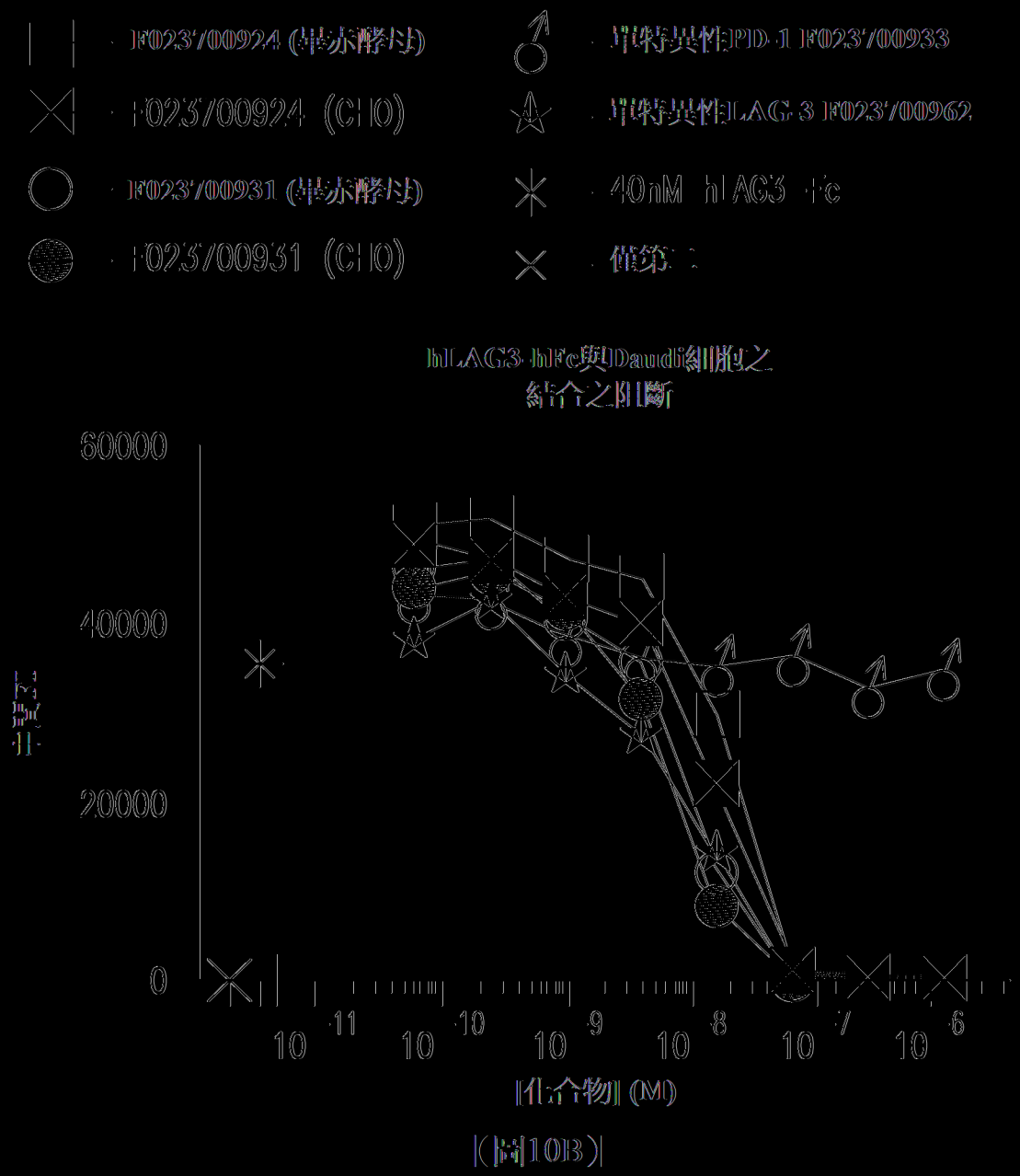

F023/00924 (畢赤酵母)
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (畢赤酵母)
F023/00931 (CHO)
單特異性PD-1 F023/00933
單特異性LAG-3 F023/00962
40nM hLAG3-Fc
僅第二
hLAG3-hFc與Daudi細胞之
結合之阻斷
60000
40000
20000
0
螢光
10^{-11}
10^{-10}
10^{-9}
10^{-8}
10^{-7}
10^{-6}
抗體 (M)

圖10B

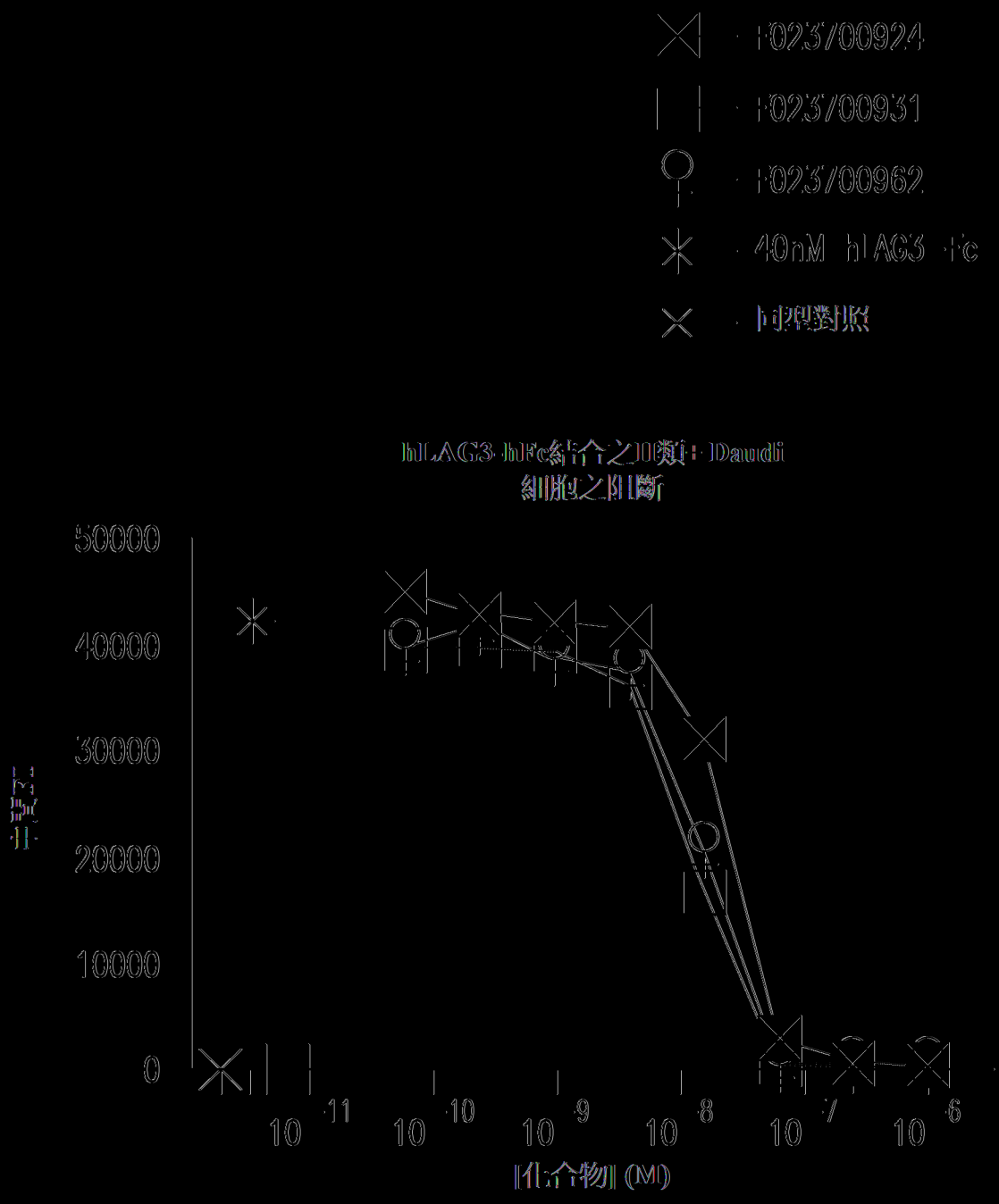
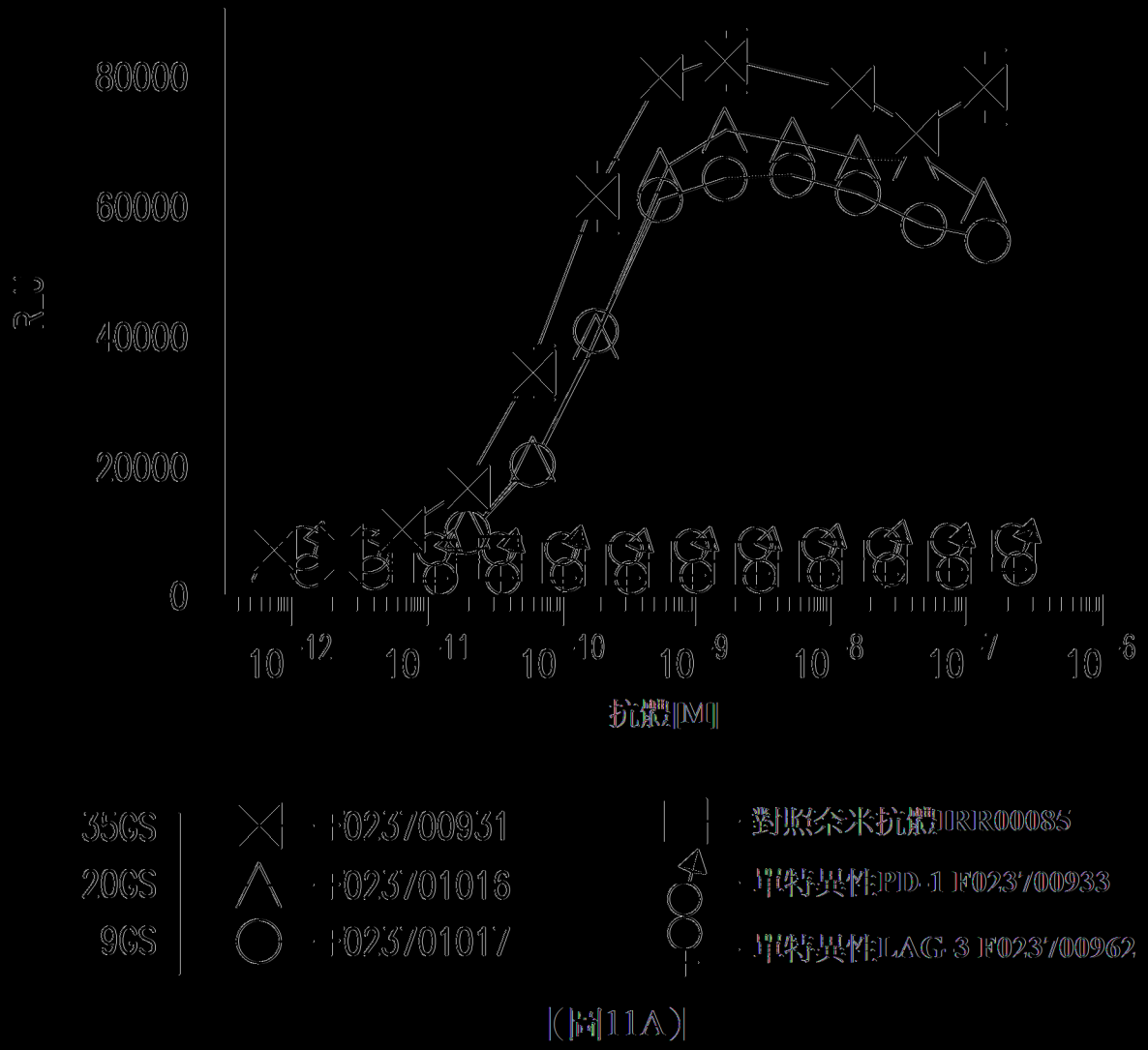
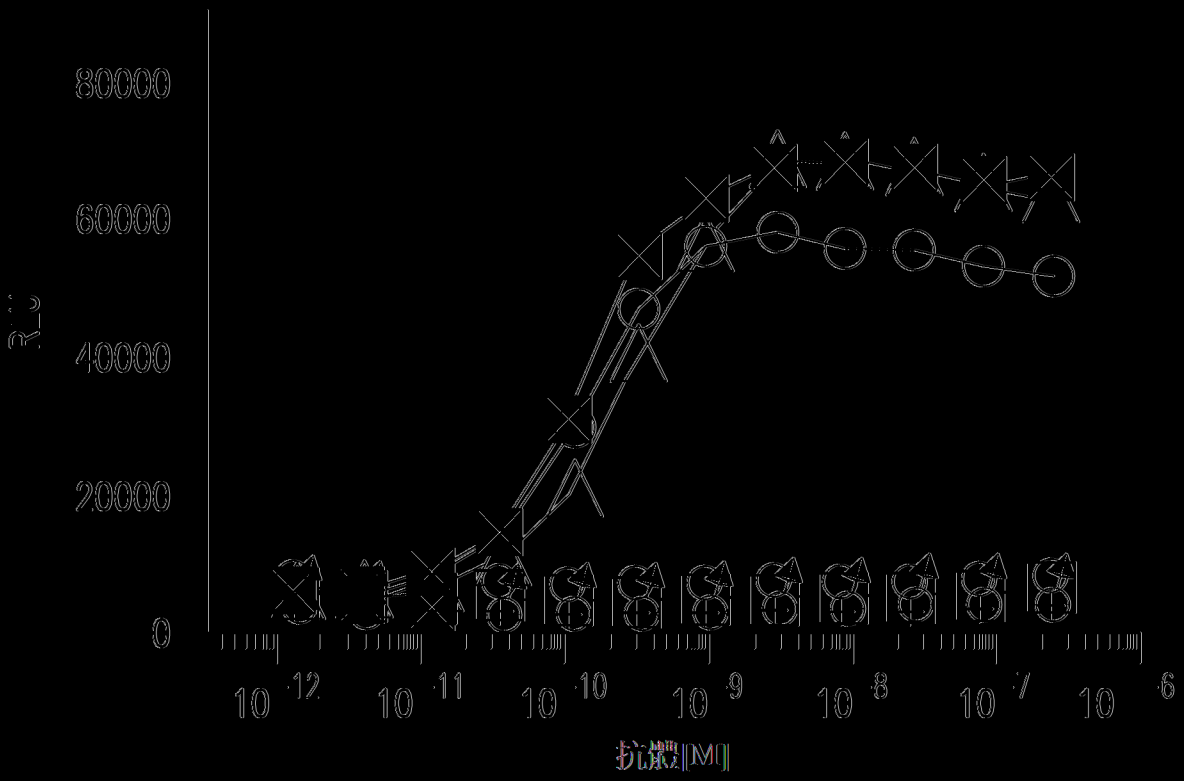

H023/00924
H023/00931
H023/00962
40nM hLAG3-Fc
同型對照
hLAG3-hFc結合之IC類：Daudi
細胞之阻斷
50000
40000
30000
20000
10000
0
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
[化合物] (M)

圖10C

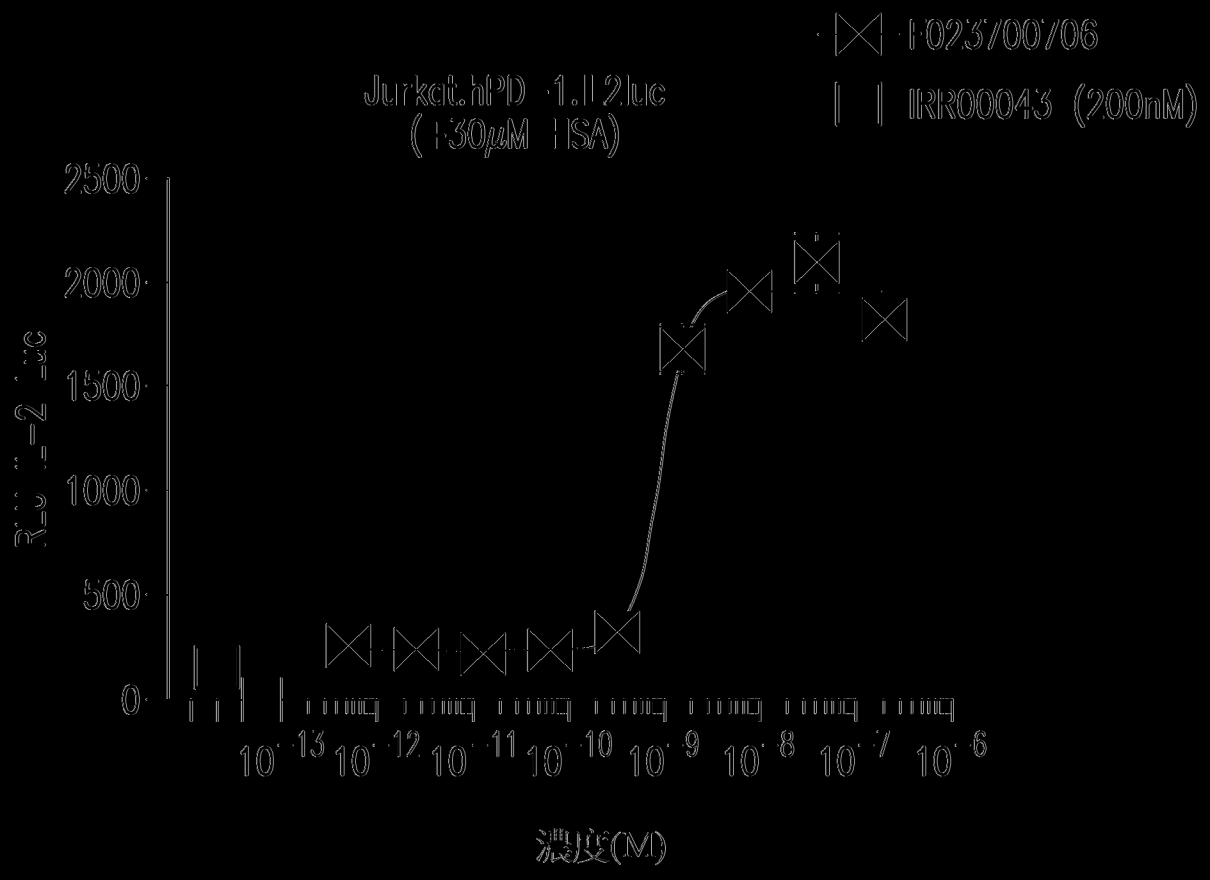

80000
60000
40000
20000
0
10^{-12}
10^{-11}
10^{-10}
10^{-9}
10^{-8}
10^{-7}
10^{-6}
抗體[M]
35GS
20GS
9GS
F023/00931
F023/01016
F023/01017
對照奈米抗體IRR00085
單特異性PD-1 F023/00933
單特異性LAG-3 F023/00962

[圖11A]



35CS · F023/00924 · 對照奈米抗體IRR00085
20CS · F023/00969 · 單特異性PD-1 F023/00933
9CS · F023/00970 · 單特異性LAG-3 F023/00962

|(圖113)|


F023/00/06
IRR00043 (200nM)
Jurkat.hPD-1.NF2.luc
(+30μM FSA)
2500
2000
1500
1000
500
0
Luc activity
10-13
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
濃度(M)

(図12A)

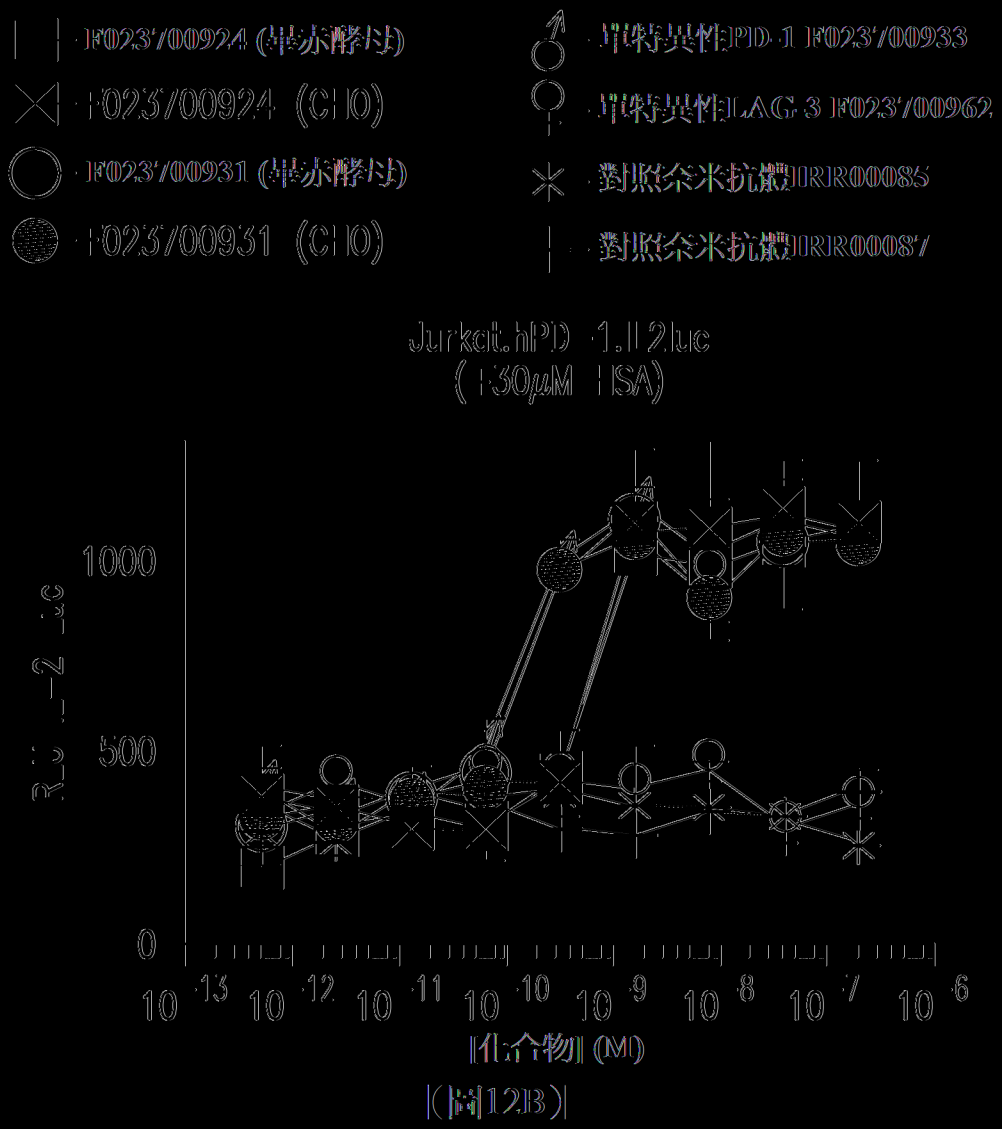
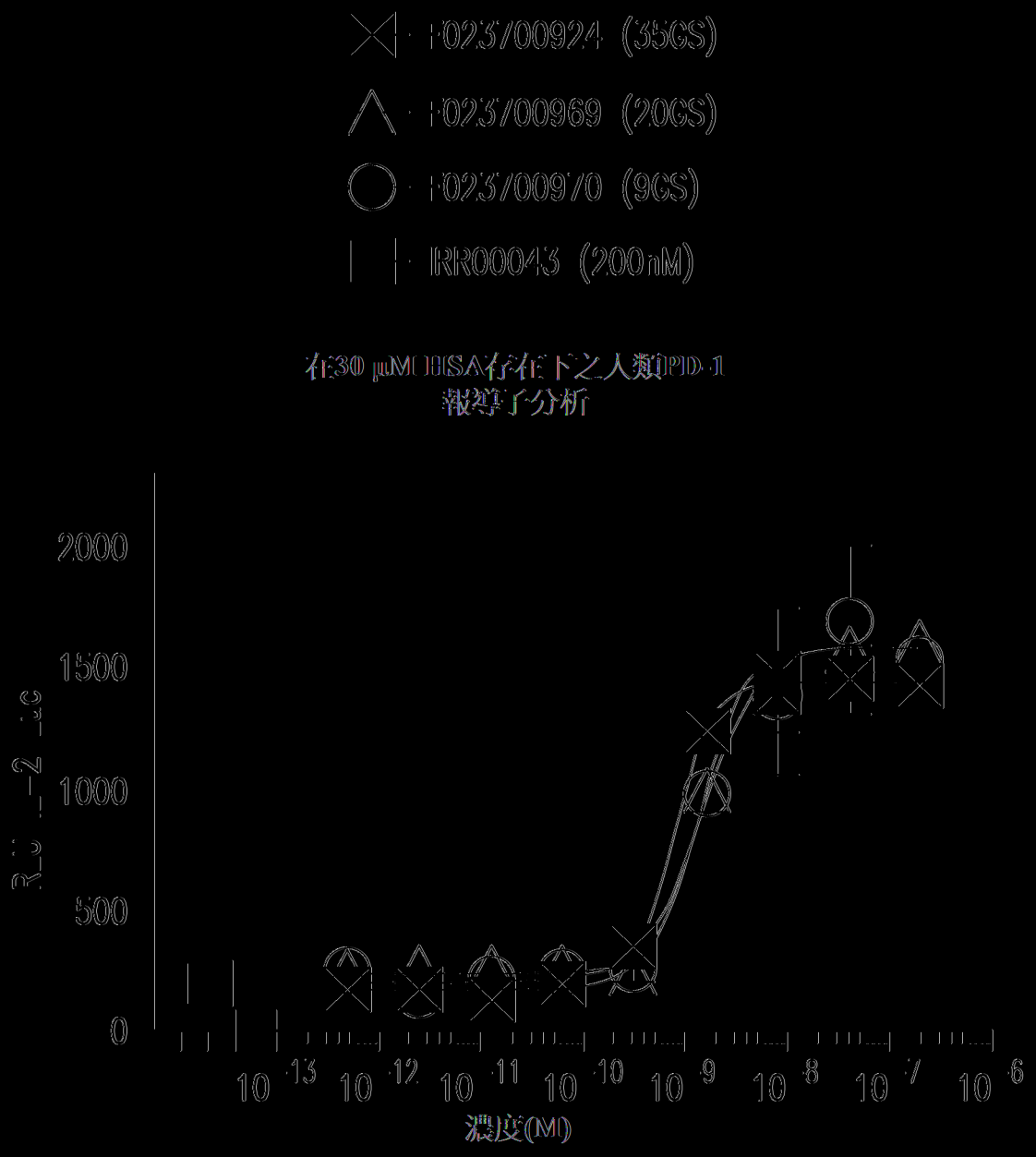
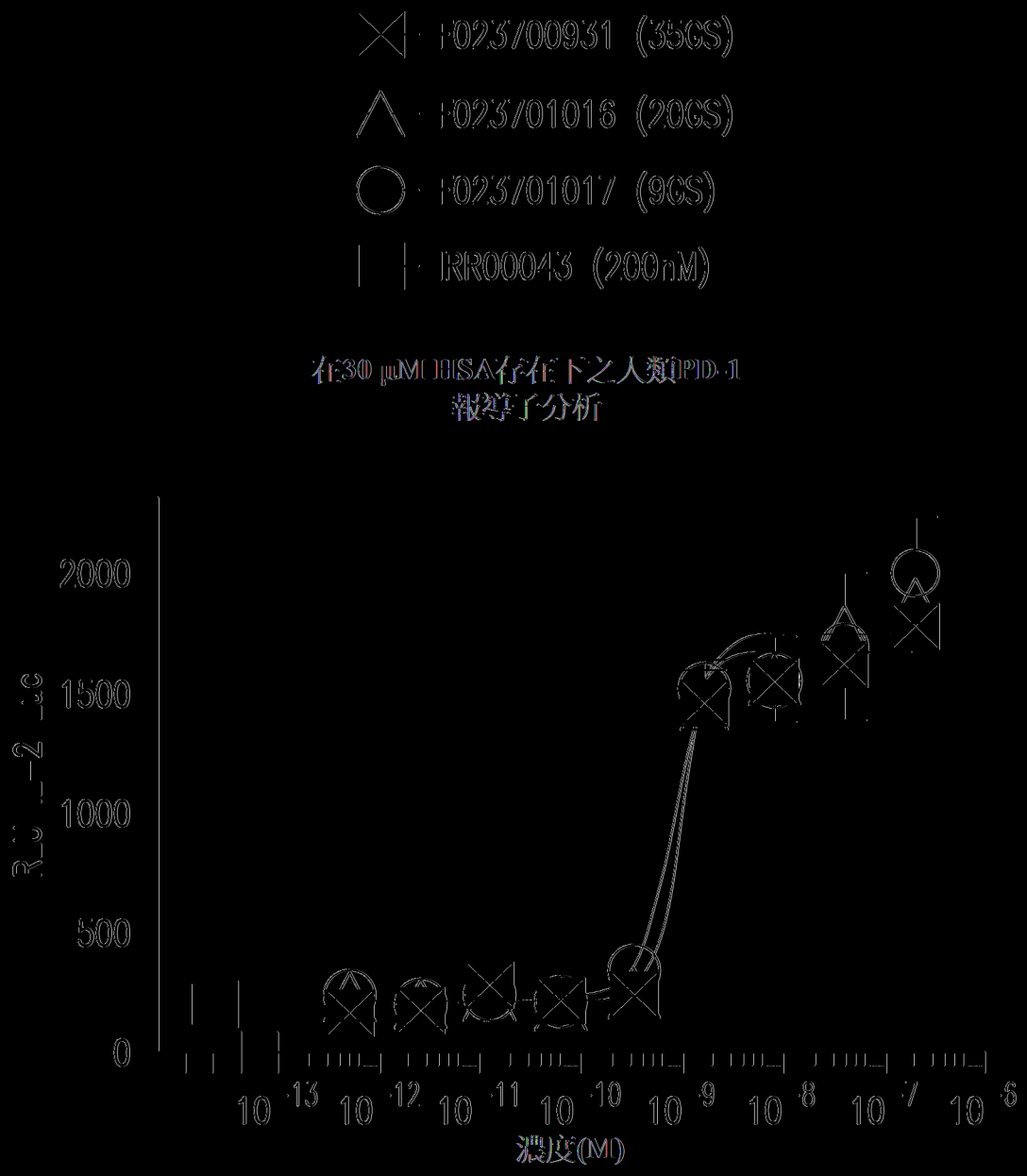

F023/00924 (甲赤酵母)
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (甲赤酵母)
F023/00931 (CHO)
抗PD-1 F023/00933
抗LAG-3 F023/00962
対照ネズミ抗体IRR00085
対照ネズミ抗体IRR00087
Jurkat.hPD-1.NF2luc
(+30μM HSA)
相対ルシフェラーゼ活性
1000
500
0
10-13
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
化合物 (M)

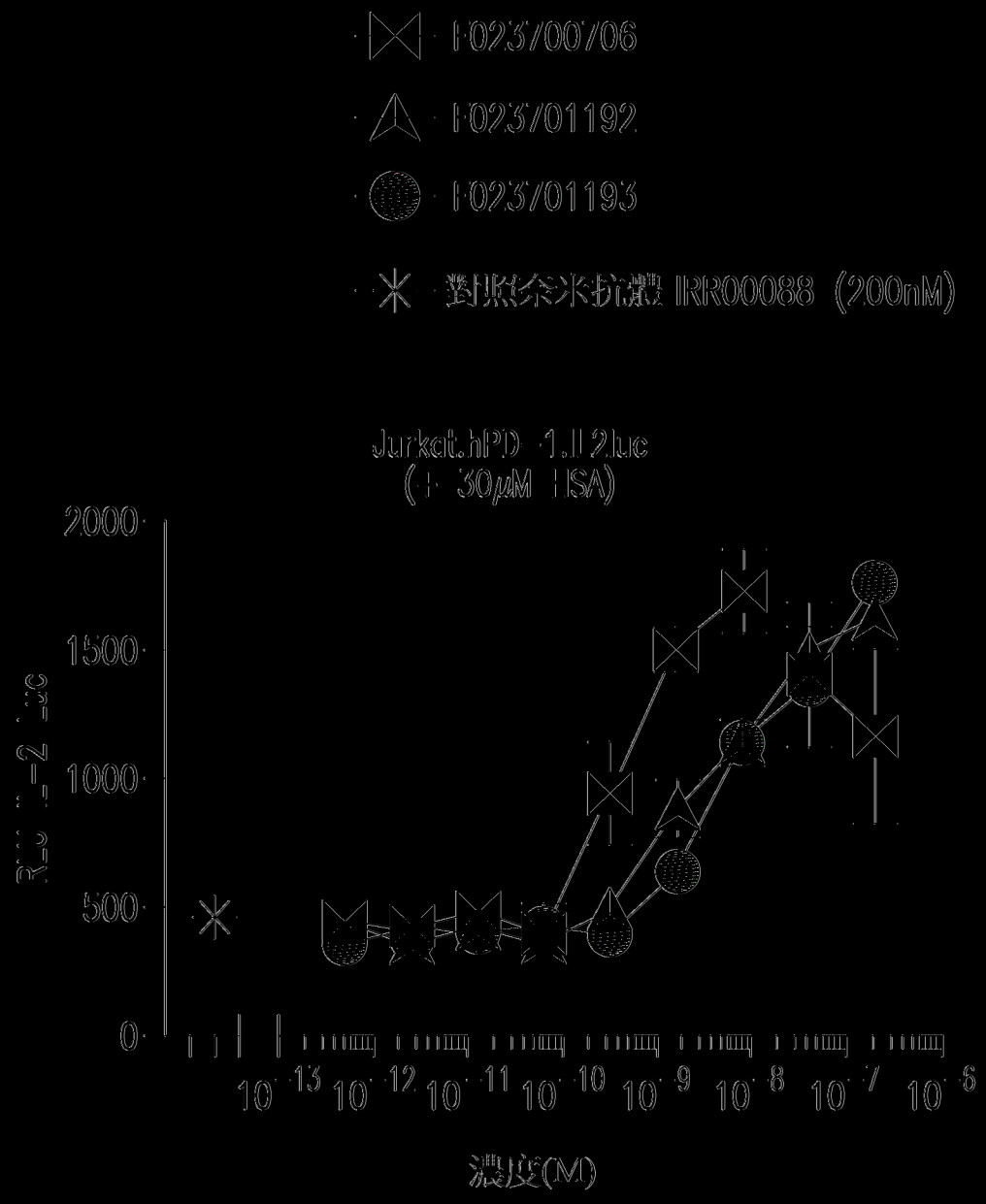
図12B


F0237/00924 (35GS)
F0237/00969 (20GS)
F0237/00970 (9GS)
RR00043 (200nM)
在30 μM DISA存在下之人類PD-1
報導子分析
2000
1500
1000
500
0
10 -13
10 -12
10 -11
10 -10
10 -9
10 -8
10 -7
10 -6
濃度(M)

|(|圖12C)|


F023/00931 (35GS)
F023/01016 (20GS)
F023/01017 (9GS)
RR00043 (200nM)
在30 μM HSA存在下之人類PD-1
報導子分析
2000
1500
1000
500
0
10^{-13}
10^{-12}
10^{-11}
10^{-10}
10^{-9}
10^{-8}
10^{-7}
10^{-6}
濃度(M)

|(圖12D)|

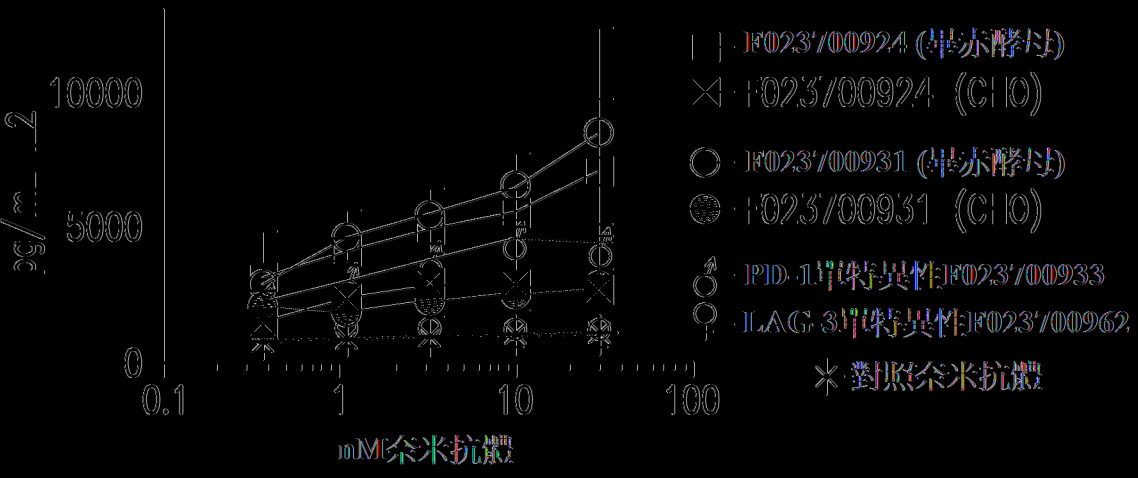

F023/00706
F023/01192
F023/01193
対照余米抗菌 IRR00088 (200nM)
Jurkat.hPD-1.IL2luc
(+ 30μM HSA)
2000
1500
1000
500
0
相対ルミネッセンス
濃度(M)

(図12E)

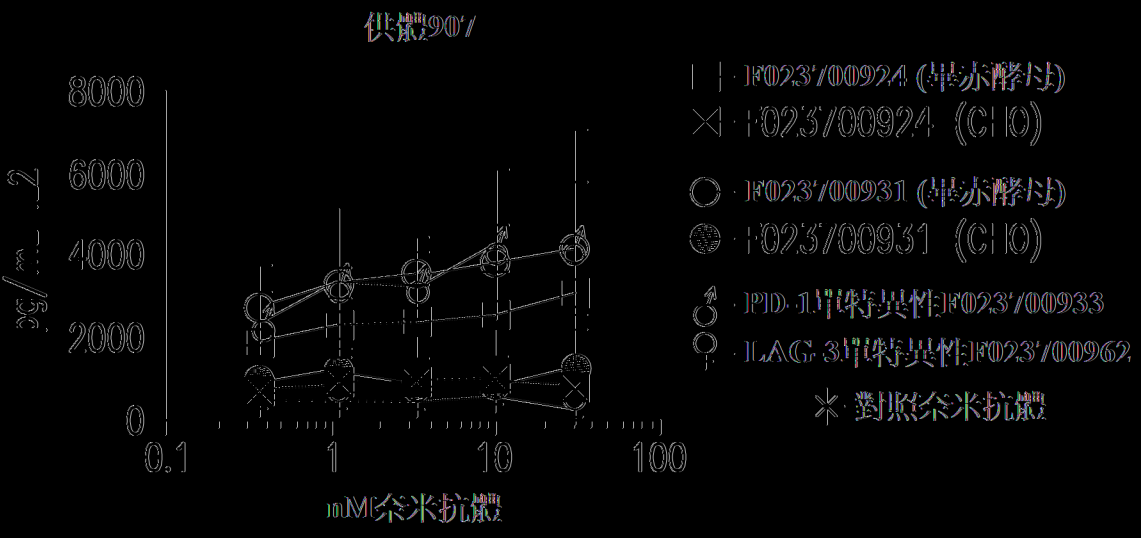
供試91

[圖13A]

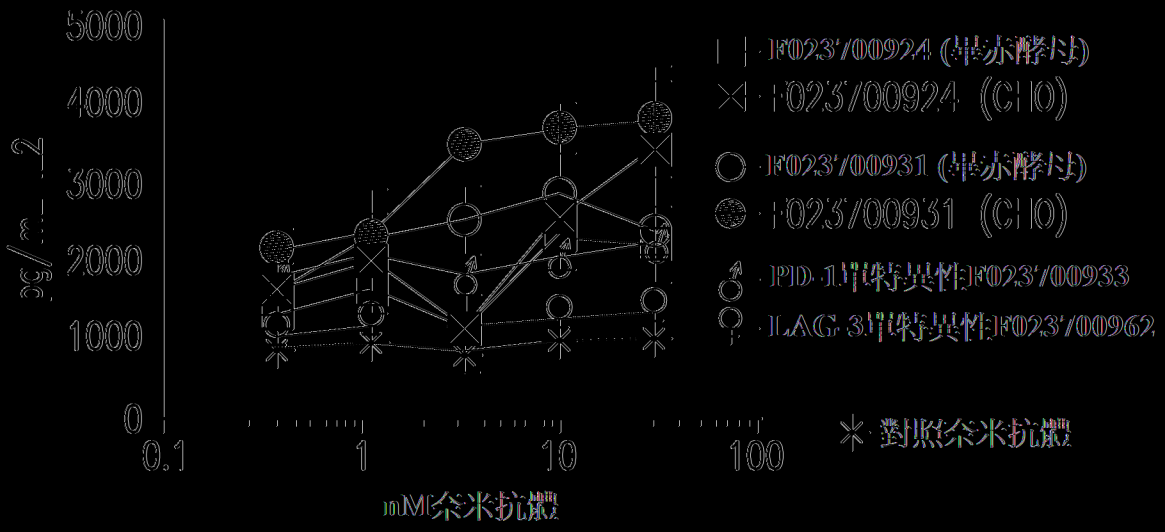
供試985



[圖13B]


供試907
8000
6000
4000
2000
0
0.1
1
10
100
mM奈米抗體
F023'/00924 (單亦酵母)
F023/00924 (CHO)
F023'/00931 (單亦酵母)
F023/00931 (CHO)
PD-1單特異性F023'/00933
LAG-3單特異性F023'/00962
對照奈米抗體

[圖13C]


供試91
5000
4000
3000
2000
1000
0
0.1
1
10
100
mM奈米抗體
F023'/00924 (單亦酵母)
F023/00924 (CHO)
F023'/00931 (單亦酵母)
F023/00931 (CHO)
PD-1單特異性F023'/00933
LAG-3單特異性F023'/00962
對照奈米抗體

[圖13D]

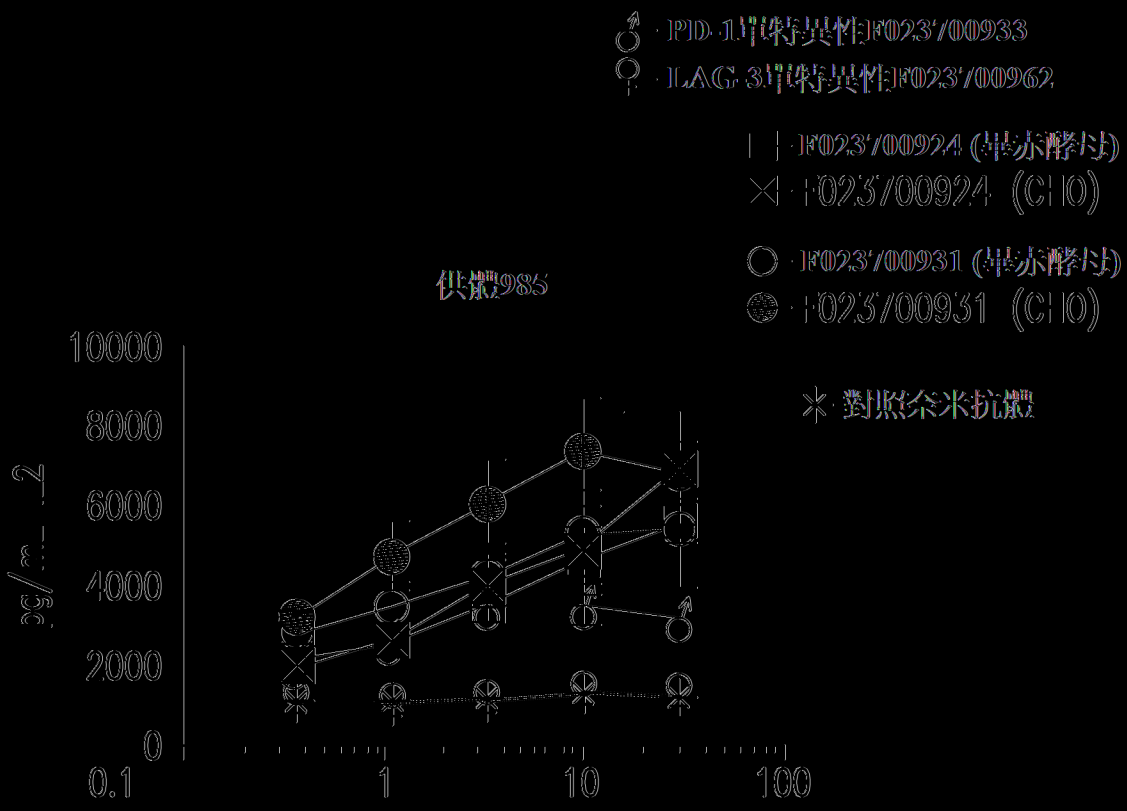

PID 1甲特異性F023/00933
LAG 3甲特異性F023/00962
F023/00924 (甲赤酵母)
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (甲赤酵母)
F023/00931 (CHO)
對照奈米抗體
供試985
10000
8000
6000
4000
2000
0
0.1
1
10
100
mM奈米抗體

圖13E

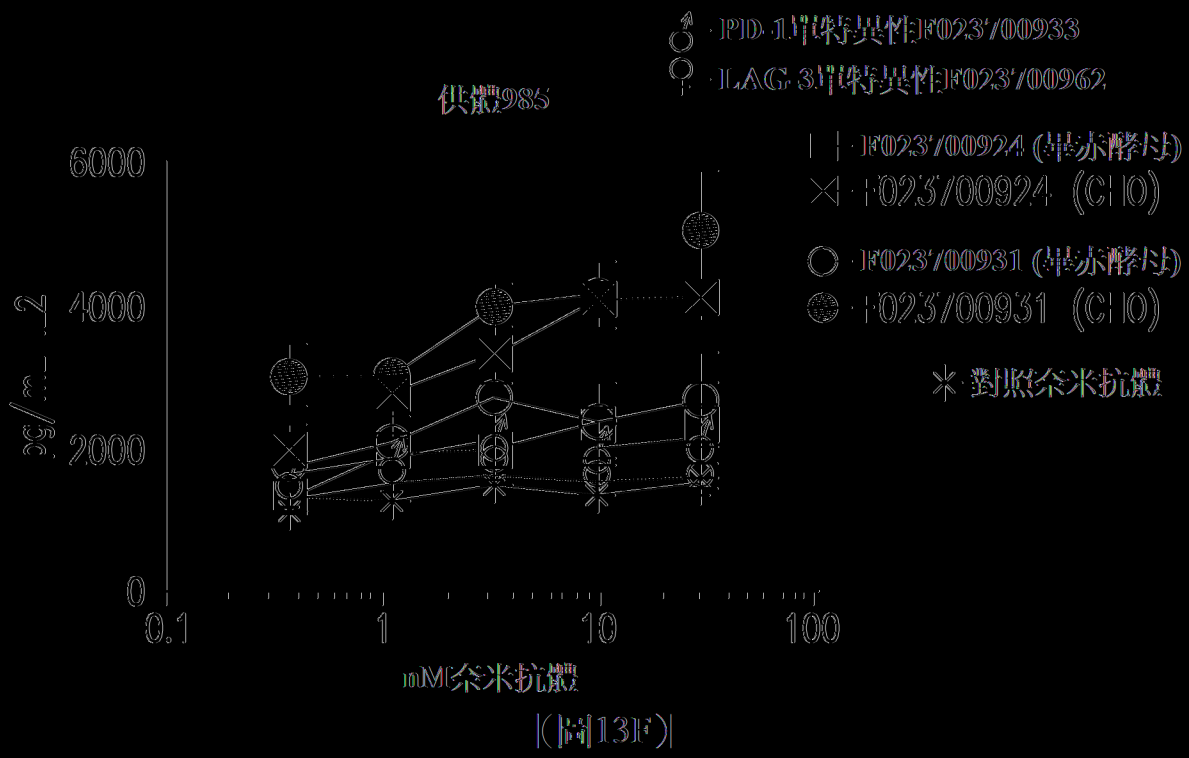
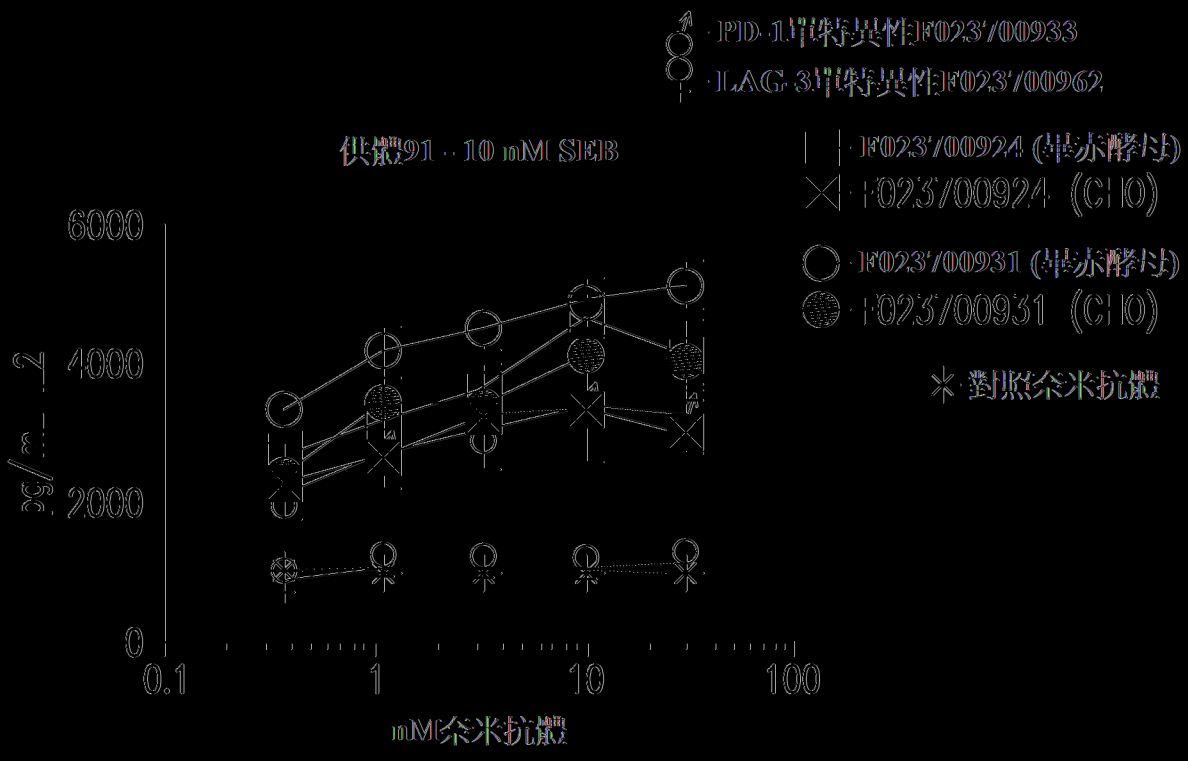
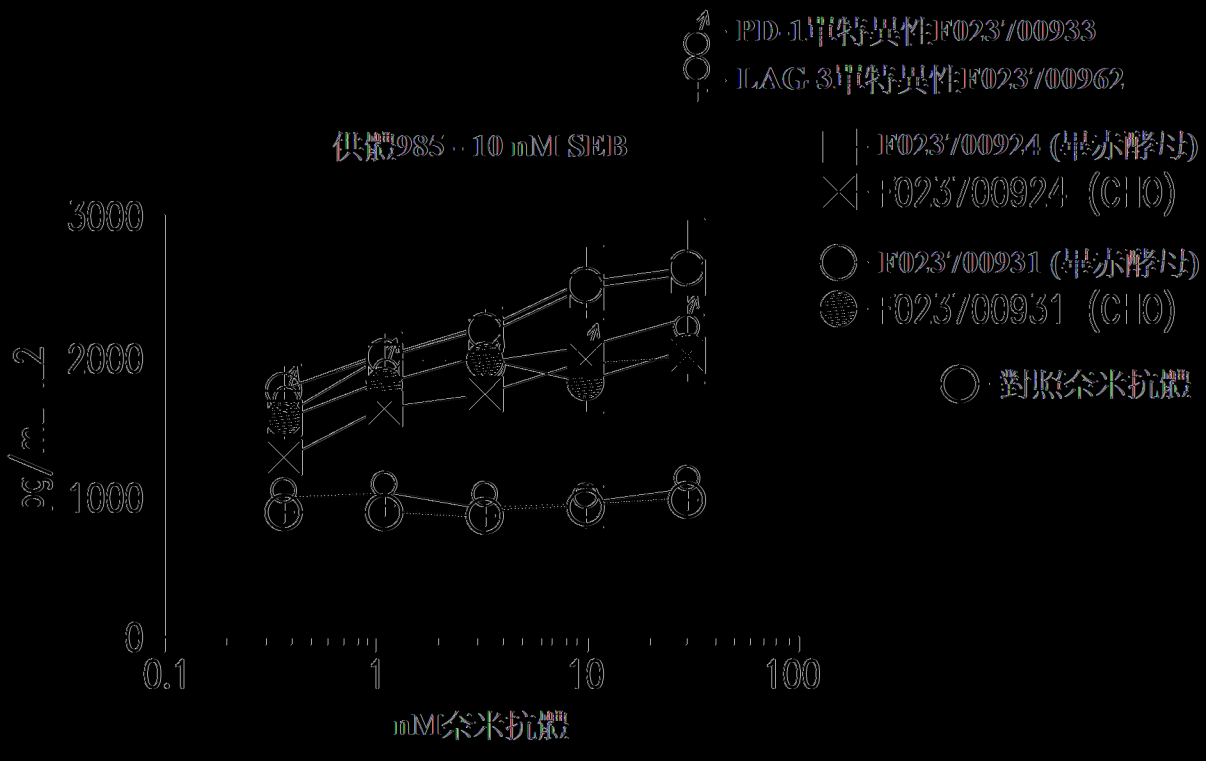

PID 1甲特異性F023/00933
LAG 3甲特異性F023/00962
F023/00924 (甲赤酵母)
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (甲赤酵母)
F023/00931 (CHO)
對照奈米抗體
供試985
6000
4000
2000
0
0.1
1
10
100
mM奈米抗體

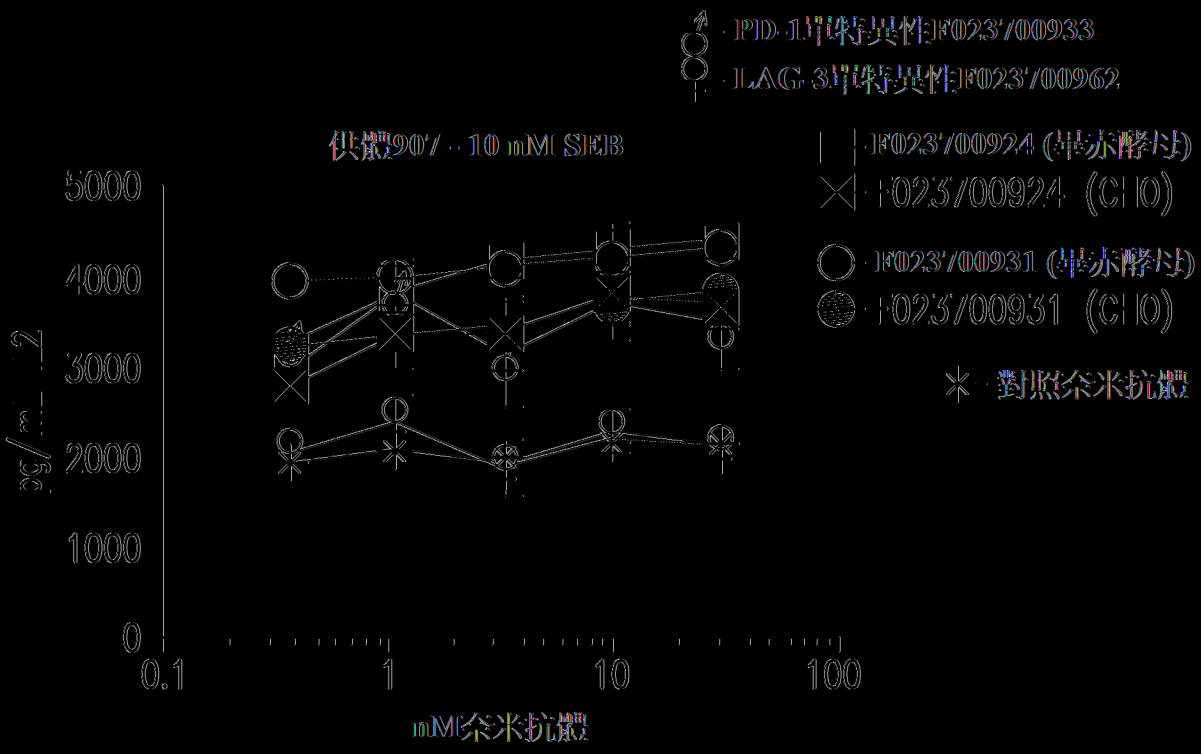
圖13F


PD-1抗特異性F023/00933
LAG-3抗特異性F023/00962
供試91 : 10 nM SEB
F023/00924 (単赤酵母)
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (単赤酵母)
F023/00931 (CHO)
対照余米抗體
6000
4000
2000
0
0.1
1
10
100
nM余米抗體

[図13G]


PD-1抗特異性F023/00933
LAG-3抗特異性F023/00962
供試985 : 10 nM SEB
F023/00924 (単赤酵母)
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (単赤酵母)
F023/00931 (CHO)
対照余米抗體
3000
2000
1000
0
0.1
1
10
100
nM余米抗體

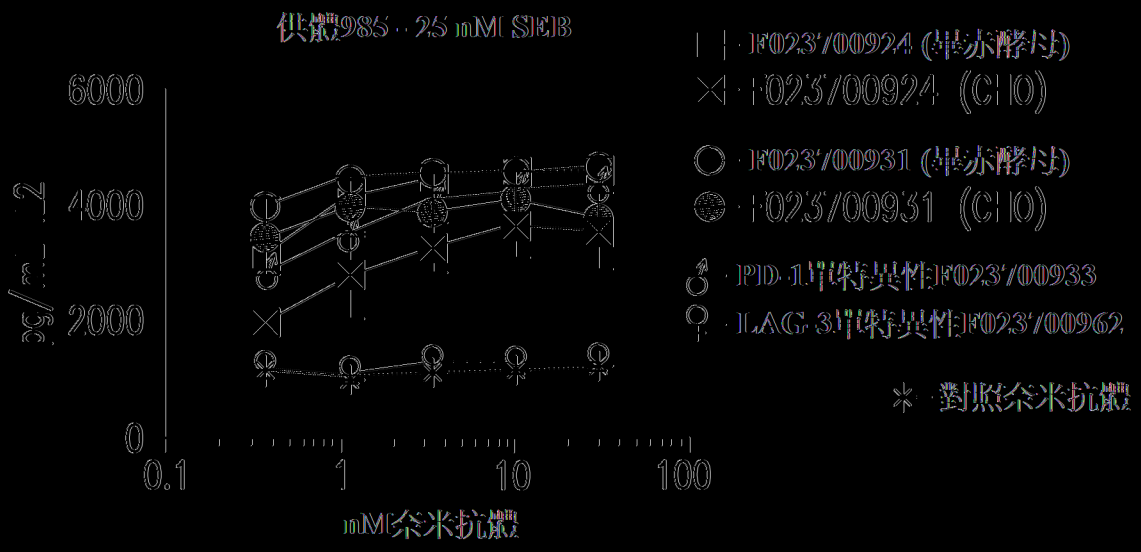
[図13H]


供試907：10 mM SEB
5000
4000
3000
2000
1000
0
0.1
1
10
100
mM奈米抗體
PD-1單特異性F023'00933
LAG-3單特異性F023'00962
F023'00924 (單赤酵母)
F023'00924 (CHO)
F023'00931 (單赤酵母)
F023'00931 (CHO)
對照奈米抗體

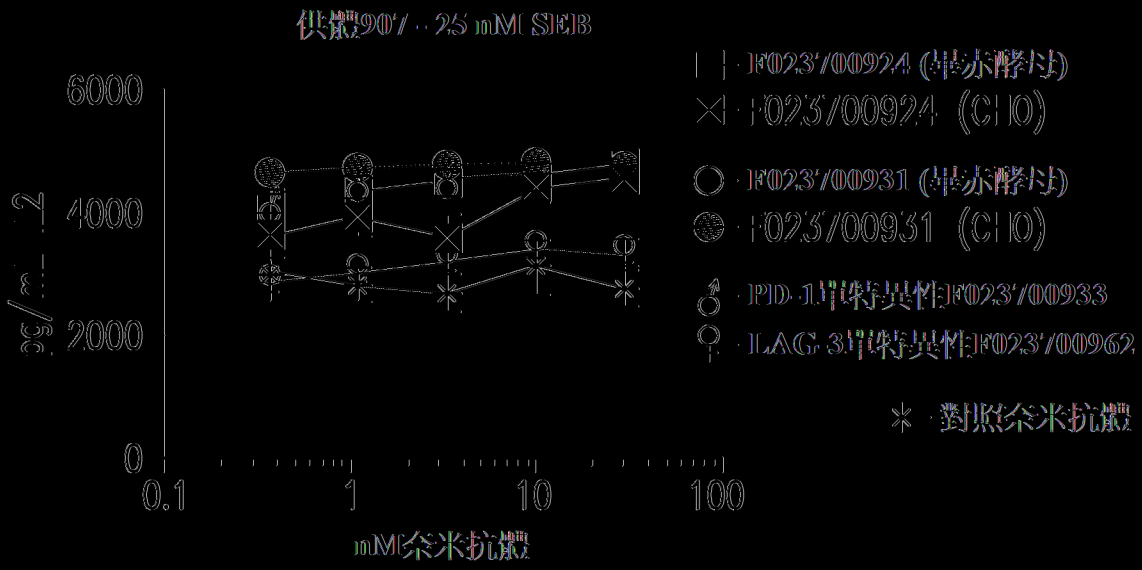
[圖13I]


供試91：25 mM SEB
3000
2000
1000
0
0.1
1
10
100
mM奈米抗體
F023'00924 (單赤酵母)
F023'00924 (CHO)
F023'00931 (單赤酵母)
F023'00931 (CHO)
PD-1單特異性F023'00933
LAG-3單特異性F023'00962
對照奈米抗體

[圖13J]


供試985：25 mM SEB
6000
4000
2000
0
0.1
1
10
100
mM奈米抗體
F023/00924 (單示酵母)
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (單示酵母)
F023/00931 (CHO)
PD-1單特異性F023/00933
LAG-3單特異性F023/00962
對照奈米抗體

[圖13K]


供試907：25 mM SEB
6000
4000
2000
0
0.1
1
10
100
mM奈米抗體
F023/00924 (單示酵母)
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (單示酵母)
F023/00931 (CHO)
PD-1單特異性F023/00933
LAG-3單特異性F023/00962
對照奈米抗體

[圖13L]

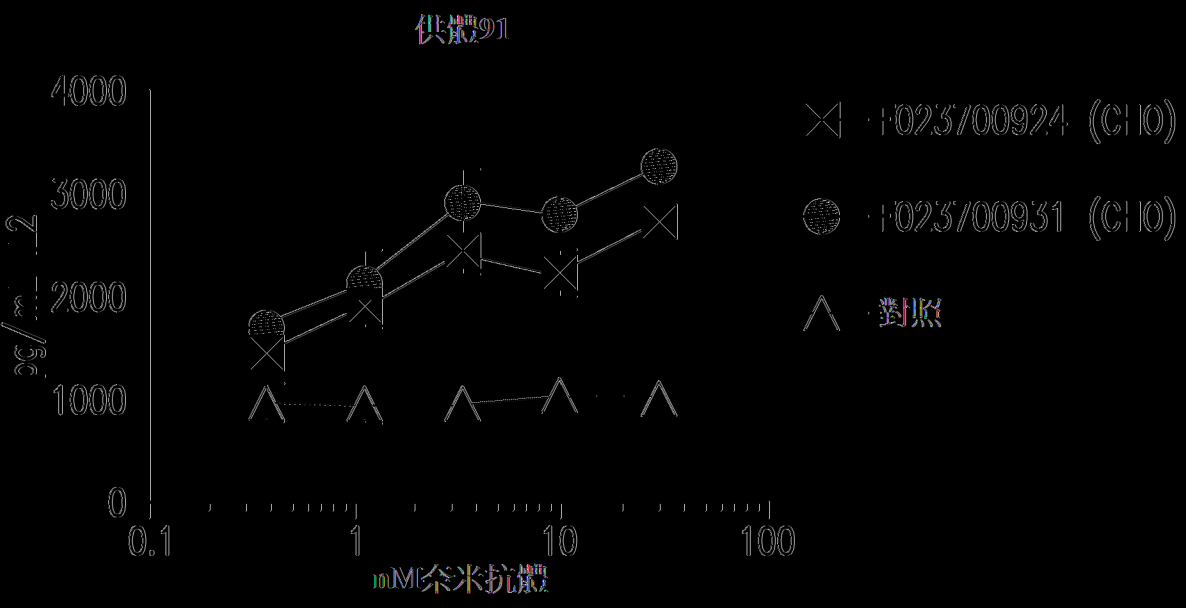

供試91
4000
3000
2000
1000
0
0.1
1
10
100
mM奈米抗體
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (CHO)
對照

圖13M

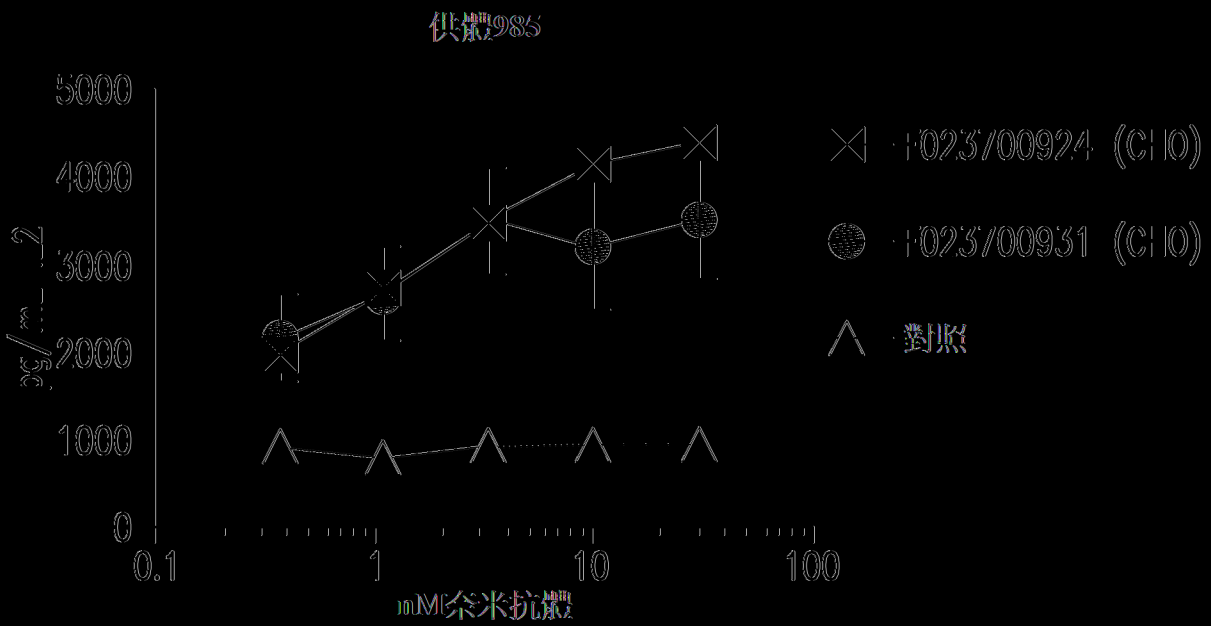
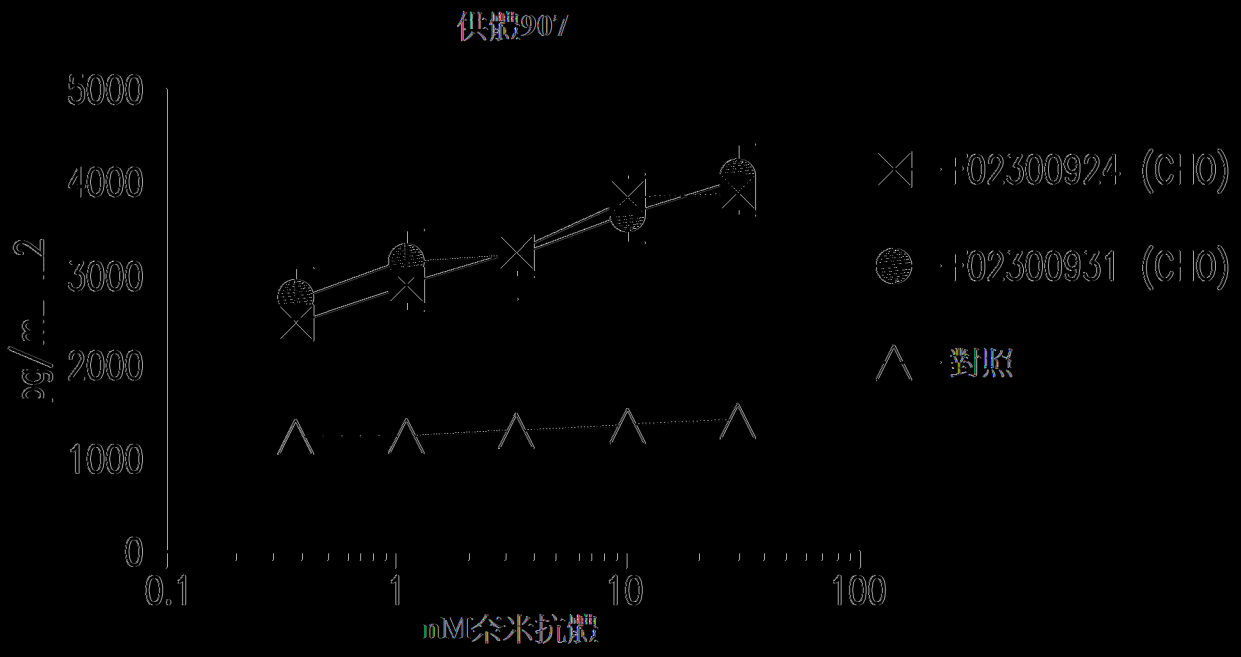
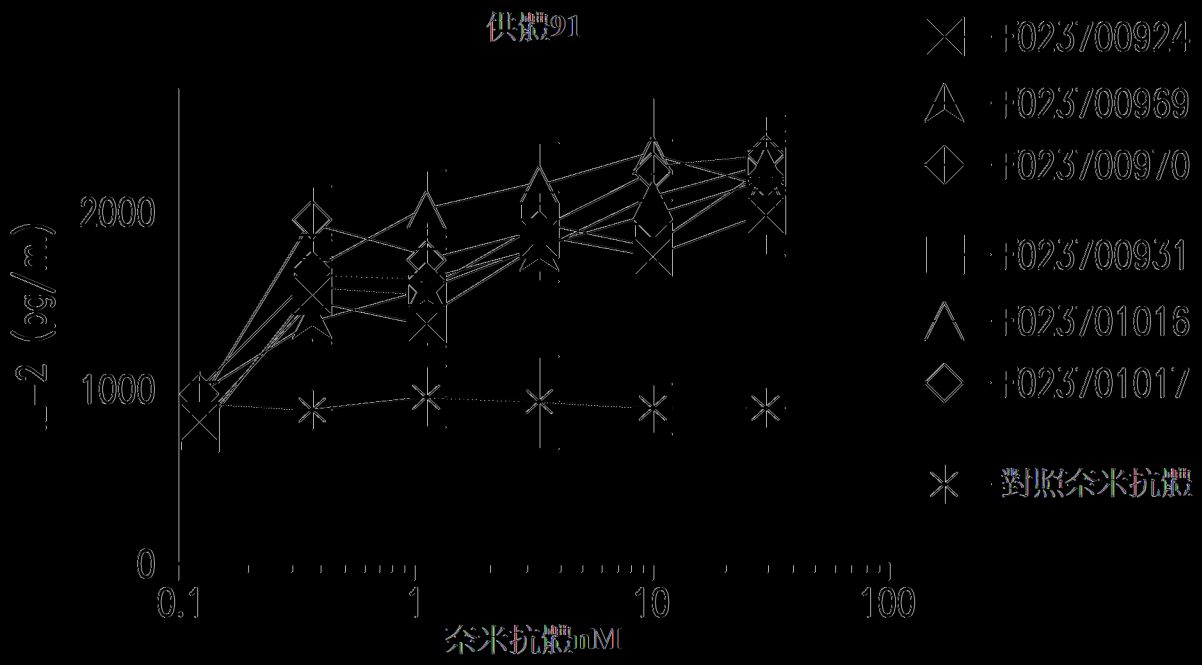

供試985
5000
4000
3000
2000
1000
0
0.1
1
10
100
mM奈米抗體
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (CHO)
對照

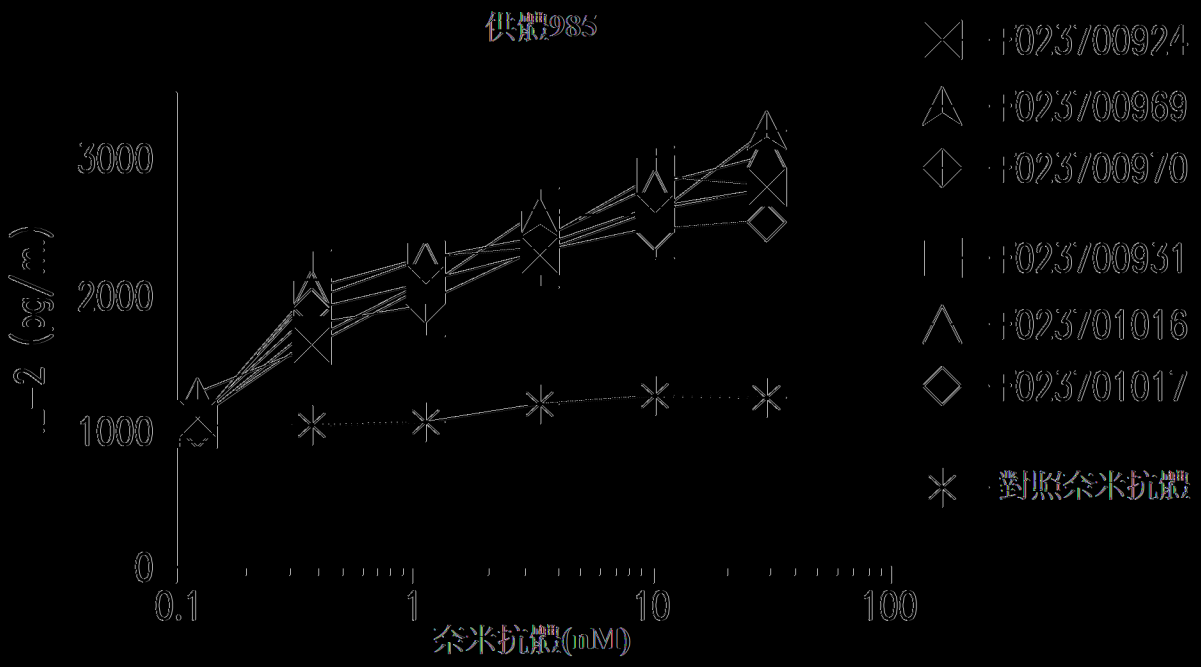
圖13N


供試907
5000
4000
3000
2000
1000
0
0.1
1
10
100
mM奈米抗體
F02300924 (CIO)
F02300931 (CIO)
對照

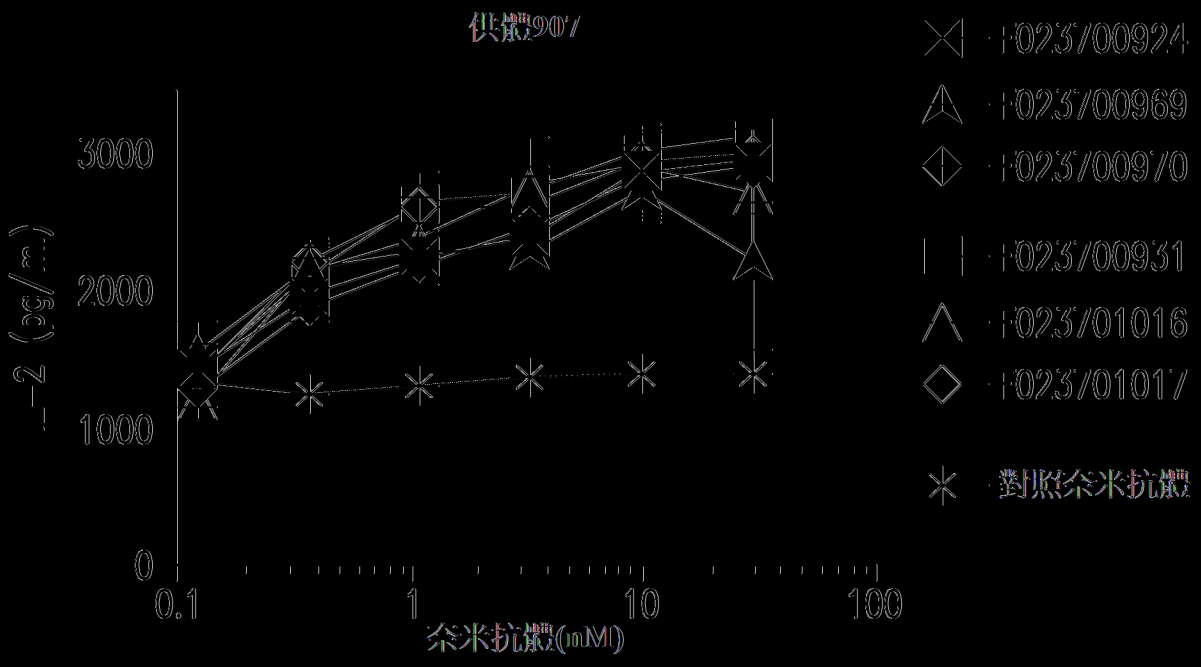
[圖13O]


供試91
2000
1000
0
0.1
1
10
100
奈米抗體mM
F023/00924
F023/00969
F023/00970
F023/00931
F023/01016
F023/01017
對照奈米抗體

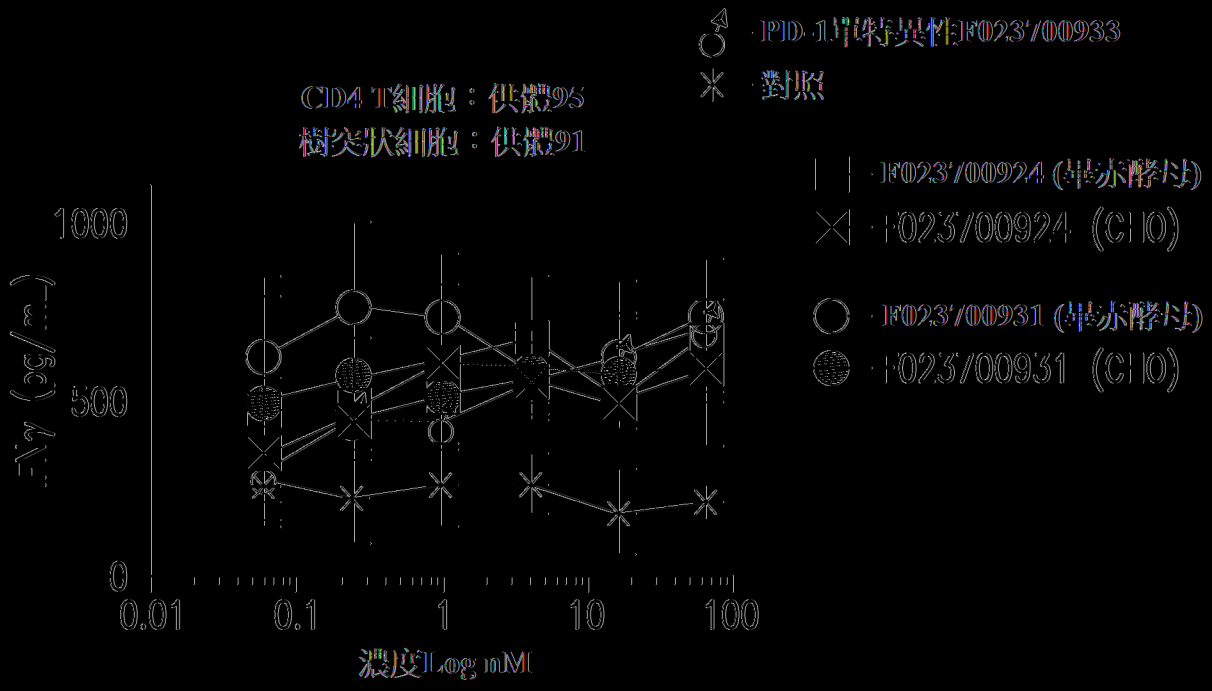
[圖13P]


供試985
3000
2000
1000
0
0.1
1
10
100
奈米抗體(mM)
F023/00924
F023/00969
F023/00970
F023/00931
F023/01016
F023/01017
對照奈米抗體

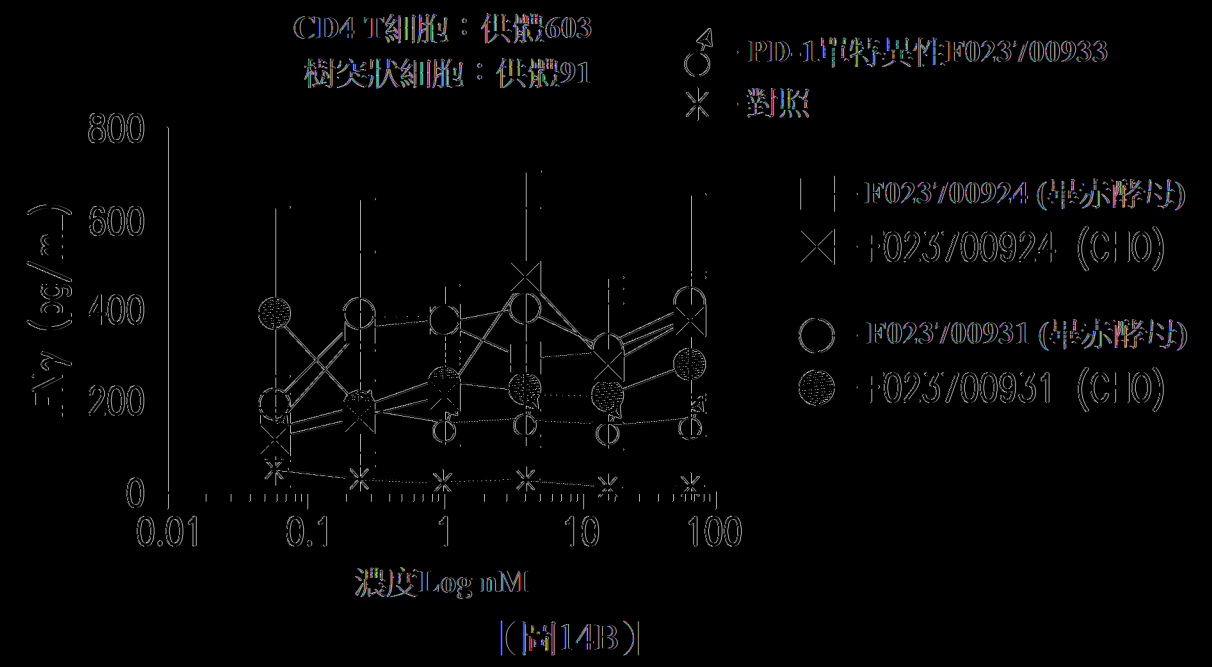
[圖13Q]


供試907
3000
2000
1000
0
0.1
1
10
100
奈米抗體(mM)
F023/00924
F023/00969
F023/00970
F023/00931
F023/01016
F023/01017
對照奈米抗體

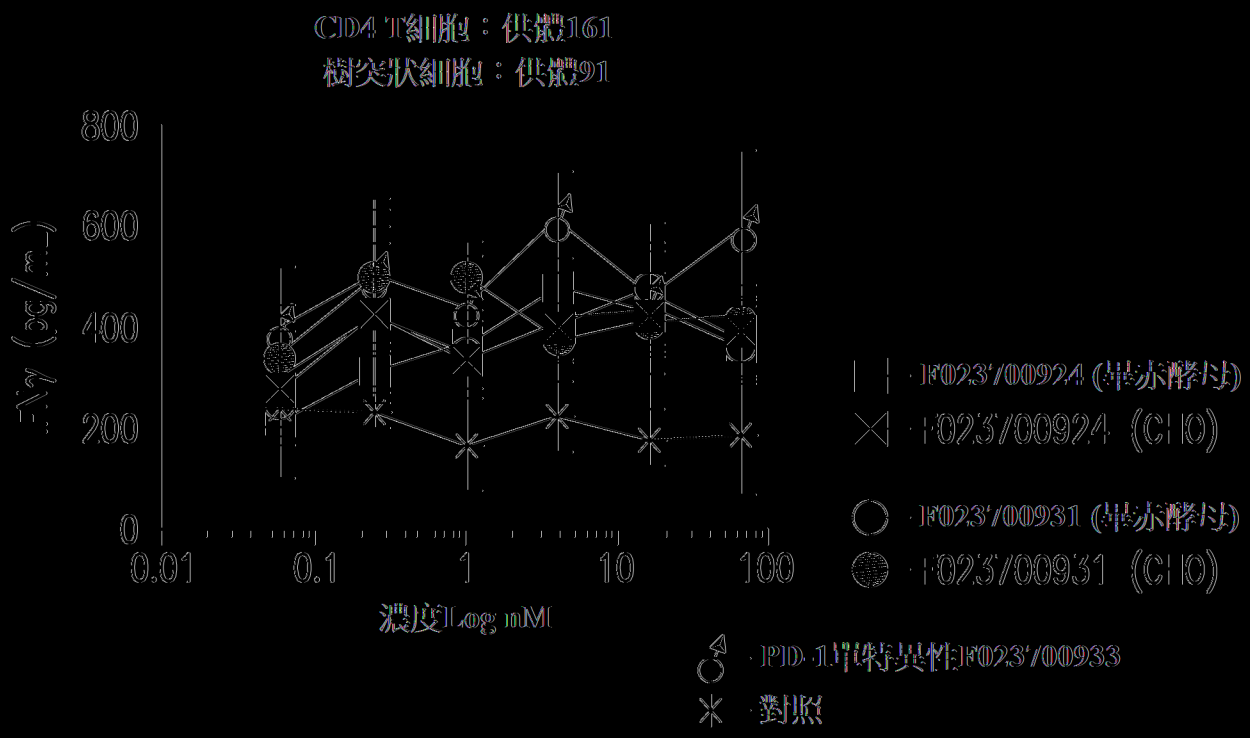
[圖13R]


CD4 T細胞：供試95
樹突状細胞：供試91
PD-1単特異性F023'/00933
対照
F023'/00924 (単赤酵母)
F023/00924 (CHO)
F023'/00931 (単赤酵母)
F023/00931 (CHO)
IFN-γ (pg/mL)
1000
500
0
0.01
0.1
1
10
100
濃度Log mM

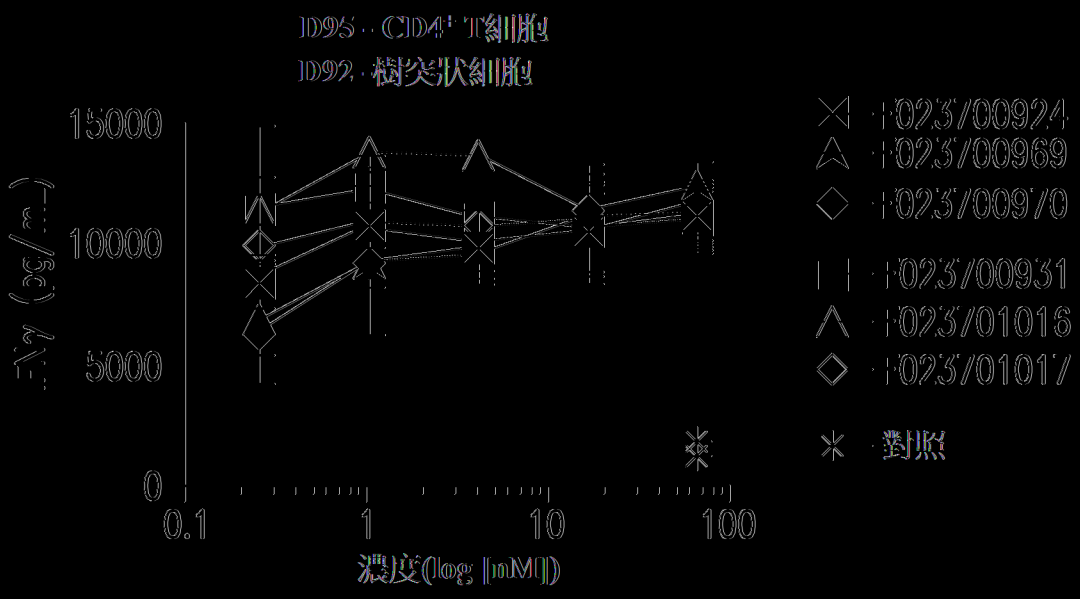
[図14A]


CD4 T細胞：供試603
樹突状細胞：供試91
PD-1単特異性F023'/00933
対照
F023'/00924 (単赤酵母)
F023/00924 (CHO)
F023'/00931 (単赤酵母)
F023/00931 (CHO)
IFN-γ (pg/mL)
800
600
400
200
0
0.01
0.1
1
10
100
濃度Log mM

[図14B]


CD4+T細胞：供試161
樹突狀細胞：供試91
800
600
400
200
0
IL-7 (pg/ml)
0.01
0.1
1
10
100
濃度(Log mM)
F023/00924 (半亦酵母)
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (半亦酵母)
F023/00931 (CHO)
PID-1單特異性F023/00933
對照

|(圖14C)|


D95：CD4+T細胞
D92：樹突狀細胞
15000
10000
5000
0
IL-7 (pg/ml)
0.1
1
10
100
濃度(log [mM])
F023/00924
F023/00969
F023/00970
F023/00931
F023/01016
F023/01017
對照

|(圖14D)|

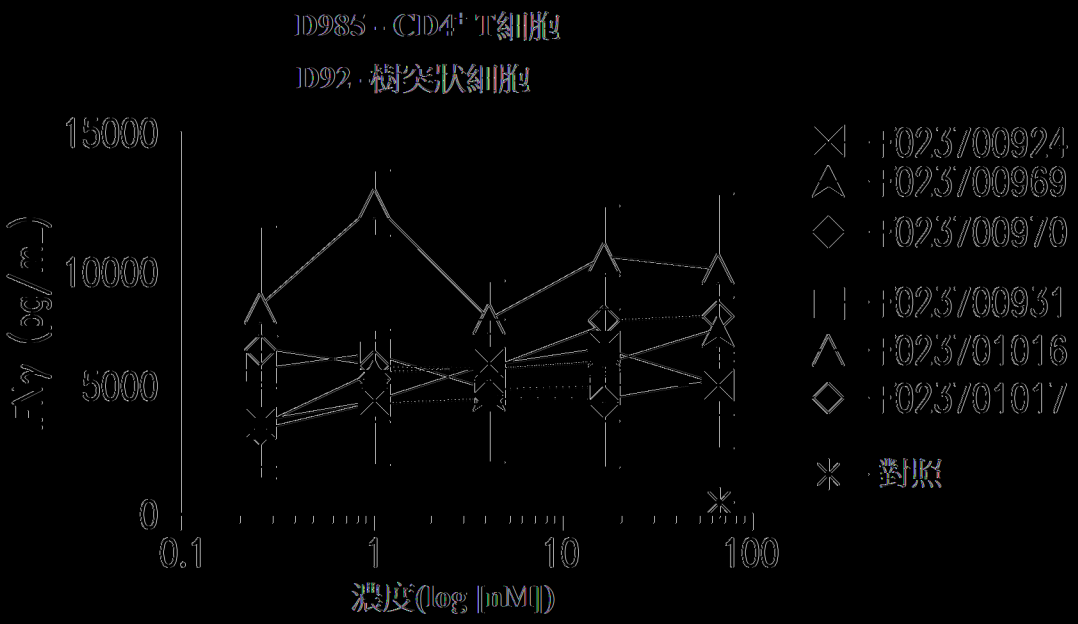

D985：CD4+ T細胞
D92：樹突狀細胞
15000
10000
5000
0
IL-17 (pg/mL)
0.1
1
10
100
濃度(log [μM])
化合物/00924
化合物/00969
化合物/00970
化合物/00931
化合物/01016
化合物/01017
對照

圖14E)

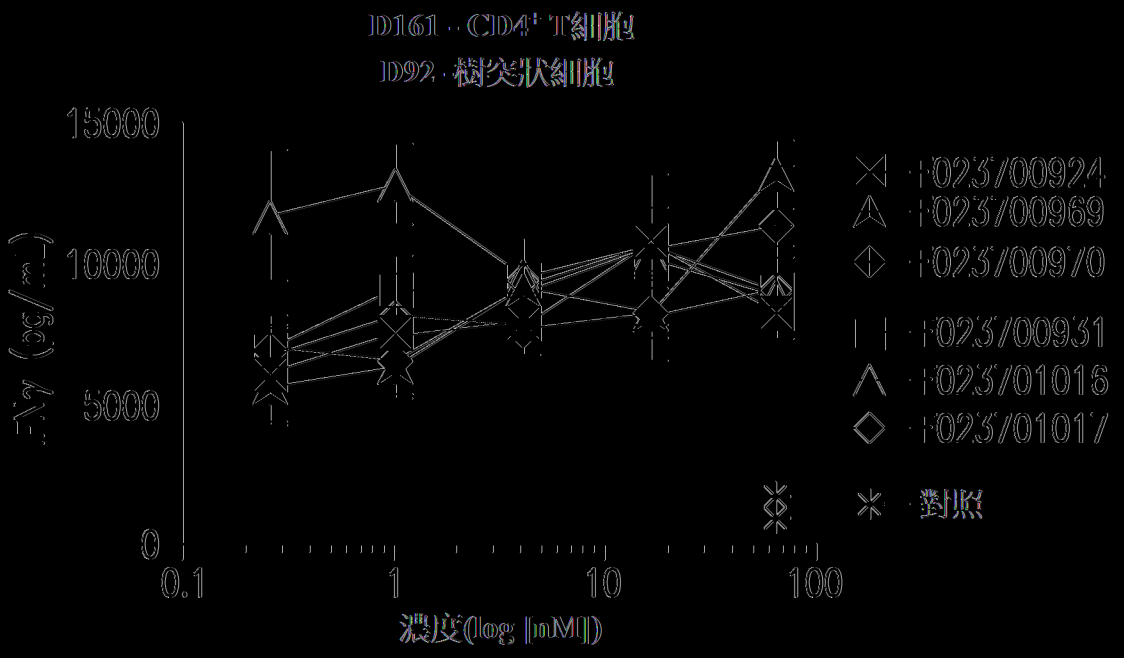
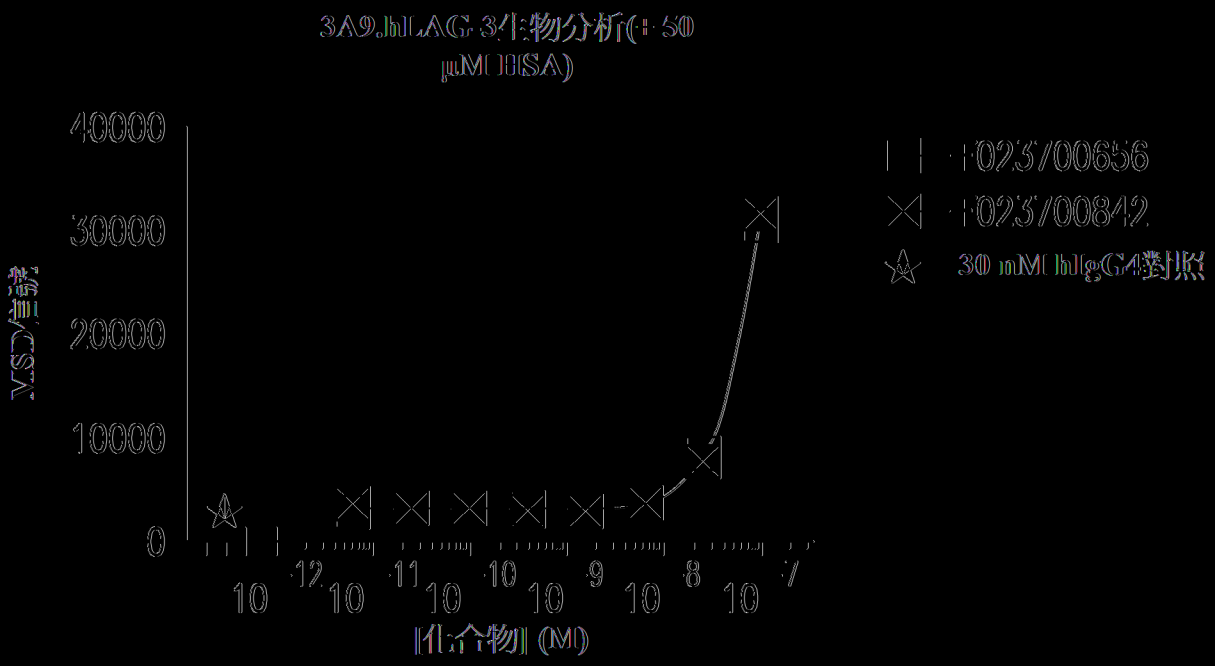
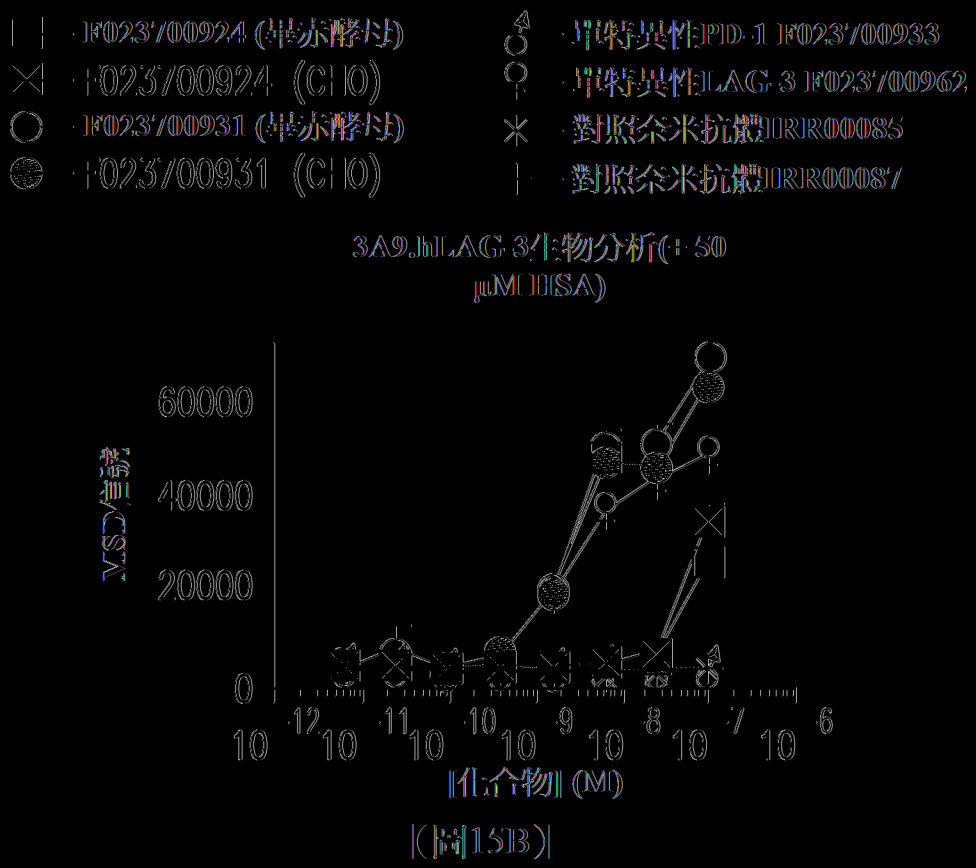

D161：CD4+ T細胞
D92：樹突狀細胞
15000
10000
5000
0
IL-17 (pg/mL)
0.1
1
10
100
濃度(log [μM])
化合物/00924
化合物/00969
化合物/00970
化合物/00931
化合物/01016
化合物/01017
對照

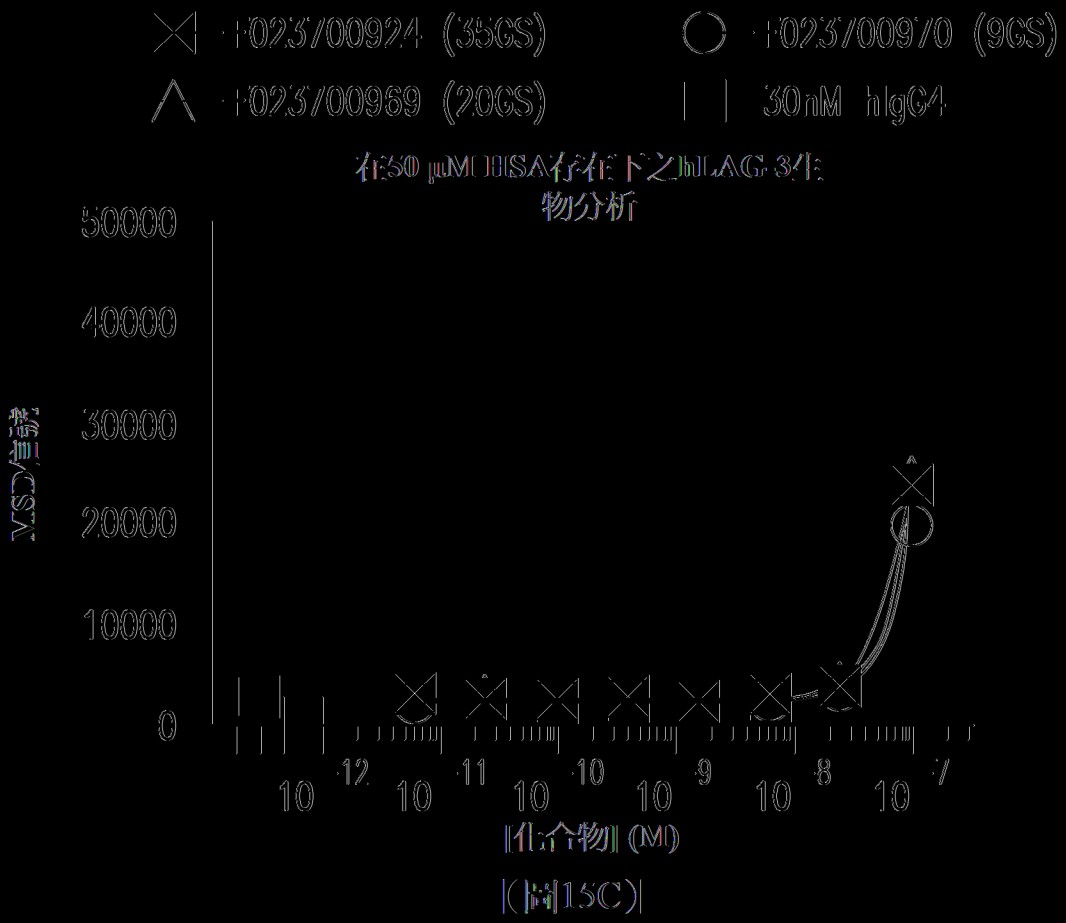
圖14F)


3A9.hLAG-3生物分析(+-50 μM HISA)
MSD信號
40000
30000
20000
10000
0
10^-12
10^-11
10^-10
10^-9
10^-8
10^-7
[化合物] (M)
F023/00656
F023/00842
30 nM hIgG4對照

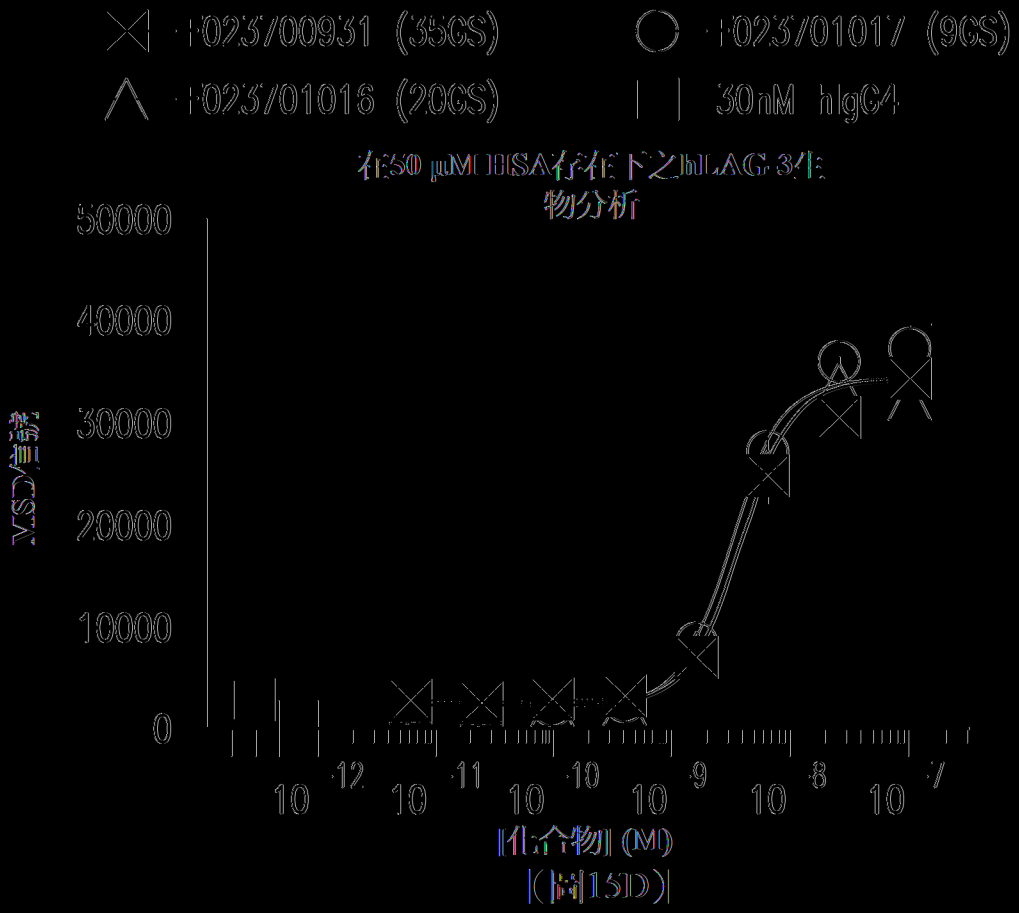
[圖15A]


F023/00924 (單示酵母)
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (單示酵母)
F023/00931 (CHO)
抗PD-1 F023/00933
抗LAG-3 F023/00962
對照奈米抗體IRR00085
對照奈米抗體IRR00087
3A9.hLAG-3生物分析(+-50 μM HISA)
MSD信號
60000
40000
20000
0
10^-12
10^-11
10^-10
10^-9
10^-8
10^-7
10^-6
[化合物] (M)

[圖15B]


H023/00924 (35GS)
H023/00970 (9GS)
H023/00969 (20GS)
30nM hIgG4
在50 μM HSA存在下之hLAG-3生物分析
50000
40000
30000
20000
10000
0
VSD/抑制
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
[化合物] (M)

[圖15C]


H023/00931 (35GS)
H023/01017 (9GS)
H023/01016 (20GS)
30nM hIgG4
在50 μM HSA存在下之hLAG-3生物分析
50000
40000
30000
20000
10000
0
VSD/抑制
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
[化合物] (M)

[圖15D]

F023/00924 (半赤酵母)
F023/00924 (CHO)
F023/00931 (半赤酵母)
F023/00931 (CHO)
雙特異性PD-1 F023/00933
雙特異性LAG-3 F023/00962

Jurkat.LAG3.PD-1雙特異性分析

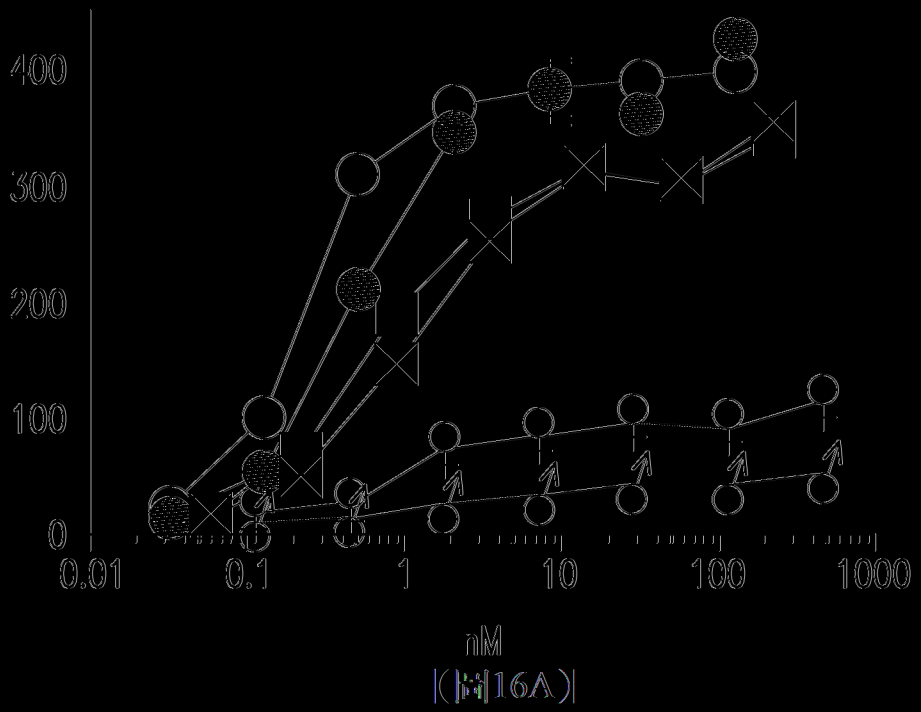
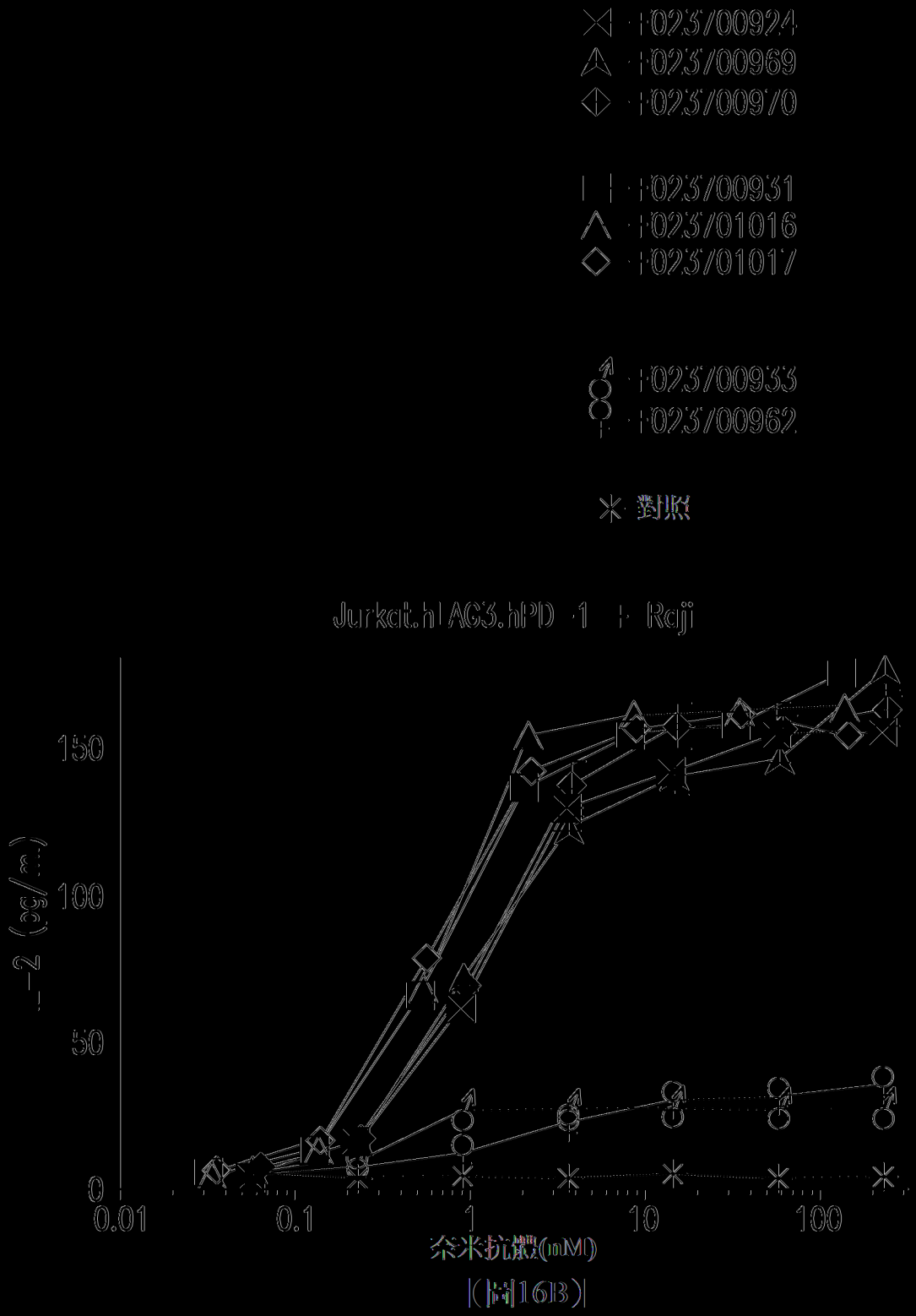


圖16A


特023/00924
特023/00969
特023/00970
特023/00931
特023/01016
特023/01017
特023/00933
特023/00962
対照
Jurkat.hIAG3.hPD-1 + Raji
150
100
50
0
−2 (pg/m)
0.01
0.1
1
10
100
奈米抗體(nM)

[圖16B]

F023/00924 (單赤酵母)

F023/00924 (CHO)

F023/00931 (單赤酵母)

F023/00931 (CHO)

PD-L1單特異性F023/00933

LAG-3單特異性F023/00962

對照奈米抗體A

對照奈米抗體B

JJJY PD-L1刺激之CD4+ T細胞純系4-49

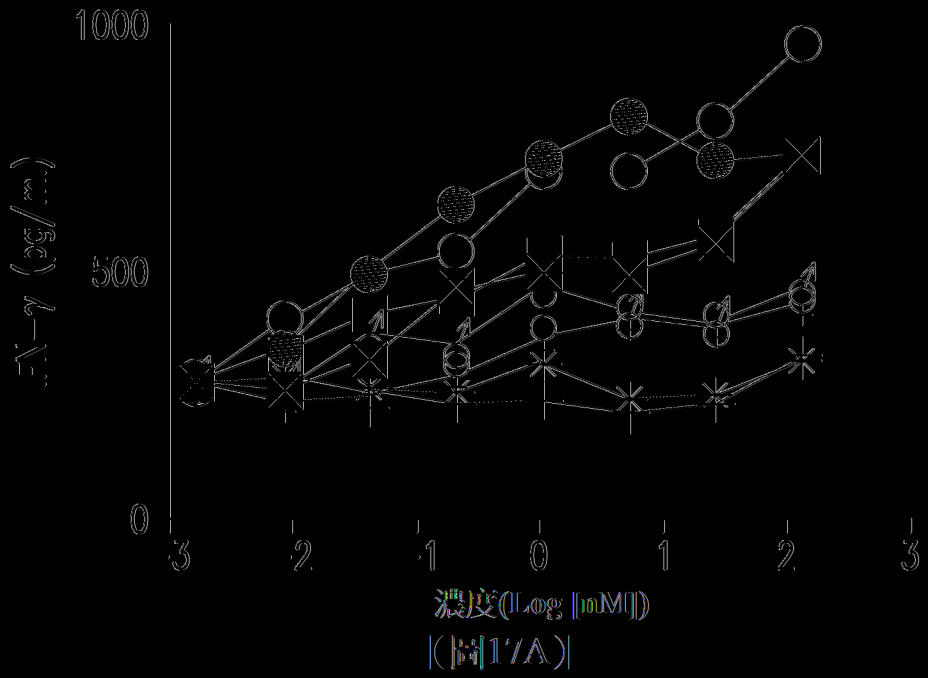


圖17A

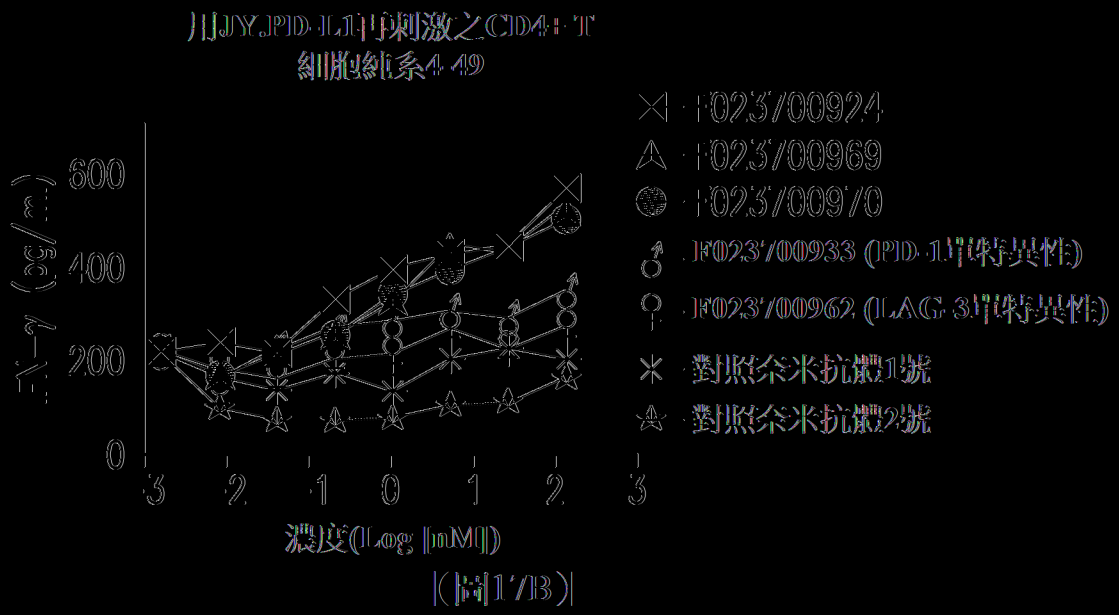

JJJY.PD-L1中刺激之CD4+ T
細胞純系4.49
IL-γ (pg/m)
600
400
200
0
3
2
1
0
1
2
3
濃度(Log [mM])
F023/00924
F023/00969
F023/00970
F023/00933 (PD-1抗特異性)
F023/00962 (LAG-3抗特異性)
對照奈米抗體1號
對照奈米抗體2號

圖1/B)

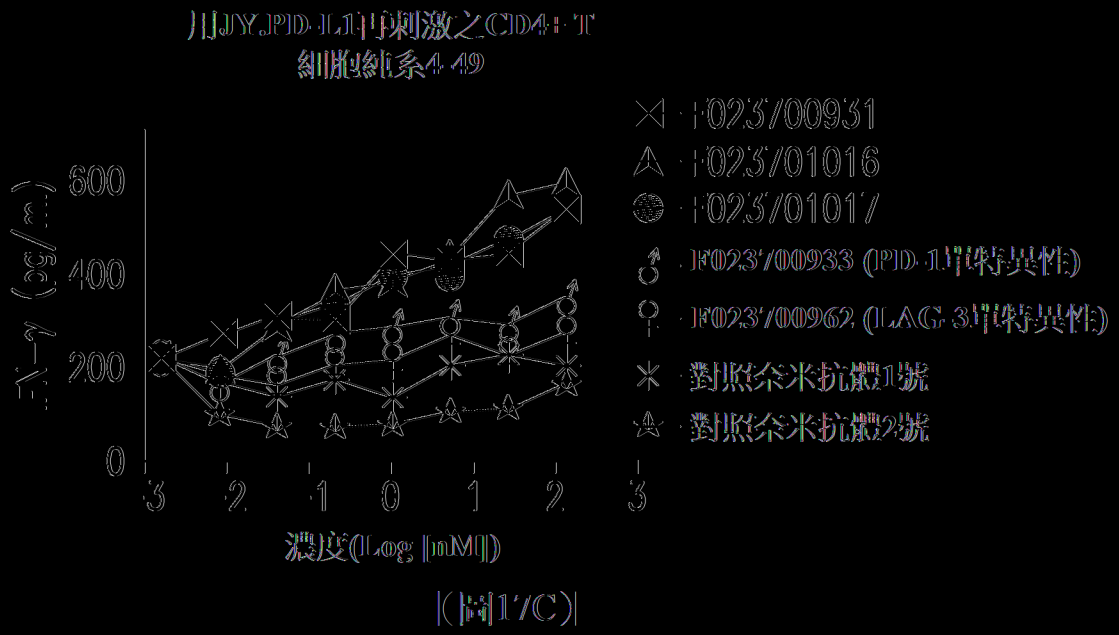

JJJY.PD-L1中刺激之CD4+ T
細胞純系4.49
IL-γ (pg/m)
600
400
200
0
3
2
1
0
1
2
3
濃度(Log [mM])
F023/00931
F023/01016
F023/01017
F023/00933 (PD-1抗特異性)
F023/00962 (LAG-3抗特異性)
對照奈米抗體1號
對照奈米抗體2號

圖1/C)

	試劑	溶記	濃耗	序列
類次611B309	F02376110309	F02376110309-FLAG3-HIS6 (SEQ ID NO: 128)	0.1AG-3	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSDYWMGWFRQARGKEREFVAATISESGGRTHYADAVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCATTTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSAAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAA--------
具有EID之611B309	F023700656	F02376110309(EID)-HIS6 (SEQ ID NO: 129)	0.1AG-3	DVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSDYWMGWFRQARGKEREFVAATISESGGRTHYADAVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCATTTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSAAA--------
SO 611B309重鏈	F023700842	F02376110309(LTTV,A174P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-FLAG3-HIS6 (SEQ ID NO: 130)	0.1AG-3	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYWMGWFRQAPGKEREFVAATISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCATTTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSAAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAA--------
重鏈SO 611B309 + ALB201	F023701128	F02376110309(EID,LTTV,A174P,R41P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89L)-35GS-ALB10002-A (SEQ ID NO: 96)	0.1AG-3	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYWMGWFRQAPGKEREFVAATISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCATTTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA

【圖18A】

二肽SO 611B309 -- AL3201	F023700962	F02376[illegible]309(E[illegible]D,L[illegible]V,A[illegible]4P,R4[illegible]P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89_)-356S-F02376[illegible]309(L[illegible]V,A[illegible]4P,R4[illegible]P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89_)-35GS-A_3[illegible]002-A (SEQ ID NO: 97)	[illegible]AG-3	DVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGR[illegible]FSDYVVGW[illegible]RQAPGKERE[illegible]VAA[illegible]SESGGR[illegible]YADSVKGR[illegible]SRDNSKN[illegible]Y_QMNS_RPED[illegible]A_YYCA[illegible]W[illegible]SEYAP[illegible]KANDYDYWGQG[illegible]V[illegible]VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGR[illegible]FSDYVVGW[illegible]RQAPGKERE[illegible]VAA[illegible]SESGGR[illegible]YADSVKGR[illegible]SRDNSKN[illegible]Y_QMNS_RPED[illegible]A_YYCA[illegible]W[illegible]SEYAP[illegible]KANDYDYWGQG[illegible]V[illegible]VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGNS_R_SCAASG[illegible]FSS[illegible]GVSWVRQAPGKG[illegible]WVSS[illegible]SGSGSD[illegible]YADSVKGR[illegible]SRDNAK[illegible]Y_QMNS_RPED[illegible]A_YYC[illegible]GGS_SRSSGG[illegible]V[illegible]VSSA
部分SO 1PD102C12	F023700275	[illegible]PD[illegible]02C[illegible]2(A[illegible]4P,A74S,K83R)-F_AG3-[illegible]S6 (SEQ ID NO: [illegible]3[illegible])	[illegible]PD-[illegible]	EVQ_VESGGG_VQPGGS_R_SCAASGS[illegible]AS[illegible]-AVGW[illegible]RQAPGKERE[illegible]VAV[illegible]WSGG[illegible]YYADSVKGR[illegible]SRDNSKN[illegible]V_QMNS_RPED[illegible]AYYCAGDK-QSSWYDYWGGG[illegible]V[illegible]VSSAAADYKD-DGDYKD-D[illegible]DYKDDDDKGAA-------
SO 1PD102C12 重链	F023700706	[illegible]PD[illegible]02C[illegible]2(L[illegible]V,A[illegible]4P,A74S,K83R,89_)-F_AG3-[illegible]S6 (SEQ ID NO: [illegible]32)	[illegible]PD-[illegible]	EVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGS[illegible]AS[illegible]-AVGW[illegible]RQAPGKERE[illegible]VAV[illegible]WSGG[illegible]YYADSVKGR[illegible]SRDNSKN[illegible]V_QMNS_RPED[illegible]A_YYCAGDK-QSSWYDYWGGG[illegible]V[illegible]VSSAAADYKD-DGDYKD-D[illegible]DYKDDDDKGAA-------

SO 1PD102C12 重链	F023700929	1PD102C12(L1VHA14P,A74S,K83R,89_)--S6 (SEQ ID NO: 133)	mPD-1	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIFAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCAGDKFQSSWYDYWGQGTLVTVSS--------
重/轻SO 1PD102C12 -- ALB201	F023701127	1PD102C12(E1D,L1VHA14P,A74S,K83R,89_)-350S-A_B11002-A (SEQ ID NO: 101)	mPD-1	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIFAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCAGDKFQSSWYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGVSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
二/轻SO 1PD102C12 -- ALB201	F023700933	1PD102C12(E1D,L1VHA14P,A74S,K83R,89_)-350S-1PD102C12(L1VHA14P,A74S,K83R,89_)-350S-A_B11002-A (SEQ ID NO: 102)	mPD-1	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIFAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCAGDKFQSSWYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIFAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYCAGDKFQSSWYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGVSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA

【表18C】

強化之SO1PD102C12單體	F02370110	1PD1020C12(E1D,L11V,A14P,W52dV,A74S,K83R,89_,W100dF)--1S6 (SEQ ID NO: 134)	nPD-1	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIFAVGWFRQAPGKEREFVAVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDK-QSSFYDYWGQGTLVTVSSAAA--------
強化之SO1PD102C12單體	F02370192	1PD1020C12(E1D,L11V,A14P,W52dV,N73Q,A74S,K83R,89_,W100dF)--1S6 (SEQ ID NO: 135)	nPD-1	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIFAVGWFRQAPGKEREFVAVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDQSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDK-QSSFYDYWGQGTLVTVSSAAA--------
強化之SO1PD102C12單體	F02370193	1PD1020C12(E1D,L11V,A14P,W52dV,N73P,A74S,K83R,89_,W100dF)--1S6 (SEQ ID NO: 136)	nPD-1	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIFAVGWFRQAPGKEREFVAVITVSGGITYYADSVKGRFTISRDPSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDK-QSSFYDYWGQGTLVTVSSAAA--------

王聚禮1號	F023700899	TPD1020T2(A14P,A74S,K83R)-350S-TPD1020T2(A14P,A74S,K83R)-350S-F0236T1309-350S-F02376T1309-350S-A_3T1 (SEQ ID NO: 106)	RPD-T/R_AG3	EVQ_VESGGG_VQPGGS_R_SCAASGSTASI-AVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVY_QMNS_RPEDTAIYYCAGDK-QSSWYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGG_VQPGGS_R_SCAASGSTASI-AVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVY_QMNS_RPEDTAIYYCAGDK-QSSWYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGG_VQAGGS_R_SCAASGRTFSDYVVGWFRQARGNEREFVAAISESGGRTYYADAVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNS_KPEDTAVYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGG_VQAGGS_R_SCAASGRTFSDYVVGWFRQARGNEREFVAAISESGGRTYYADAVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNS_KPEDTAVYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGG_VQPGNS_R_SCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNS_RPEDTAVYYCTIGGS_SRSSQGTLVTVSS

王聚禮	F02370093'	'PD'02C'2 (E'D,_''V,A'4P,A74S,K83R, .89_)-35GS-'PD'02C'2 (_''V,A'4P,A74S,K83R,89_) -35GS-F0237600309 (_''V,A'4P,R4'P,N43K,A62 S,A74S,K83R,V89_)-35GS- F02376''309 (_''V,A'4P,R4'P,N43K,A62 S,A74S,K83R,V89_)-35GS- A_3''002-A (SEQ_ID_NO: '07)	^PD- '/^_AG-3	DVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGS'AS'-AVGWFRQAPGKEREFVAV'''WSGG' ''YYADSVKGRF'''SRDNSKN'VY_QMNS_RPED'A_YYCAGDK-QSSWYDYWGQG''_ V'VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS _R_SCAASGS'AS'-AVGWFRQAPGKEREFVAV'''WSGG'''YYADSVKGRF'''SRDN SKN'VY_QMNS_RPED'A_YYCAGDK-QSSWYDYWGQG'_V'VSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGR'FSDYW. GWFRQAPGKEREFVAA'SESGGRT-YADSVKGRF'''SRDNSKN'_Y_QMNS_RPED' A_YYCA'''__WW'SEYAP'KANDYWGQG'_V'VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGR'FSDYWGWFRQAPG KEREFVAA'SESGGRT-YADSVKGRF'''SRDNSKN'_Y_QMNS_RPED'A_YYCA''' __WW'SEYAP'KANDYWGQG'_V'VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGNS_R_SCAASGF'FSS-GVSWVRQAPGKG_EWVSS 'SGSGSD'_YADSVKGRF'''SRDNAK'''_Y_QMNS_RPED'A_YYC'''GGS_SRSSQ G'_V'VSSA

具有20GS之王聚糖	F02370'0'6	'020'2(E'D,_''V,A'4P,A74S,K83R,89_)-20GS-'020'2(_''V,A'4P,A74S,K83R,89_)-20GS-F02376''309(_''V,A'4P,R4'P,N43K,A62S,A74S,K83R,89_)-20GS-F02376''309(_''V,A'4P,R4'P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89_-20GS-A_3''002-A (SEQ_ID_NO: '08)	''PD-'/'_AG-3	DVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGS'ASI'-AVGW'FRQAPGKERE'VAV'''WSGG'''YADSVKGR'''SRDNSKN'VY_QMNS_RPED'A_YYCAGDK-QSSWMDYWGGG'''V'VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGS'ASI'-AVGW'FRQAPGKERE'VAV'''WSGG'''YADSVKGR'''SRDNSKN'VY_QMNS_RPED'A_YYCAGDK-QSSWMDYWGGG'''V'VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGR'''FSDYWGW'FRQAPGKERE'VAA'SESGGR'''YADSVKGR'''SRDNSKN'''Y_QMNS_RPED'A_YYCA'''''__WW'SEYAP'KANDYDYWGGG'''V'VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGR'''FSDYWGW'FRQAPGKERE'VAA'SESGGR'''YADSVKGR'''SRDNSKN'''Y_QMNS_RPED'A_YYCA'''''__WW'SEYAP'KANDYDYWGGG'''V'VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGNS_R_SCAASGF'''FSSFGVSWVRQAPGKG_EWVSS'SGSGSD'''_YADSVKGR'''SRDNAK'''Y_QMNS_RPED'A_YYC'''GGS_SRSSQG'''V'VSSA	

具有9GS之王聚體	F02370.0.7	.02C.2(E.D,_..V,A.4P,A74S,K83R,89_)-9GS-.02C.2(_..V,A.4P,A74S,K83R,89_)-9GS-F02376..B09(_..V,A.4P,R4.P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89_)-9GS-F02376..B09(_..V,A.4P,R4.P,N43K,A62S,A74S,K83R,89_)-9GS-A_B..002-A (SEQ ID NO: .09)	mPD-./m_AG-3	DVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGSTASI-AVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNS_RPEDTA_YYCAGDK-QSSWYDYWGGGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGSTASI-AVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNS_RPEDTA_YYCAGDK-QSSWYDYWGGGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGRTFSDYWGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTIYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS_RPEDTA_YYCATTLIWWTSEYAPIKANDYDYWGGGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGRTFSDYWGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTIYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS_RPEDTA_YYCATTLIWWTSEYAPIKANDYDYWGGGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQ_VESGGGVVQPGNS_R_SCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNS_RPEDTA_YYCTIGGS_SRSSGGTLVTVSSA
三聚體	F023700924.	.PD.02C.2(E.D,_..V,A.4P,A74S,K83R,89_)-35GS-F02376..B09(_..V,A.4P,R4.P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89_)-35GS-A_B..002-A (SEQ ID NO: ..0)	mPD-./m_AG-3	DVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGSTASI-AVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNS_RPEDTA_YYCAGDK-QSSWYDYWGGGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGRTFSDYWGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTIYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS_RPEDTA_YYCATTLIWWTSEYAPIKANDYDYWGGGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGNS_R_SCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNS_RPEDTA_YYCTIGGS_SRSSGGTLVTVSSA

具有20GS之三聚體	F023700969	1020122(E1D,111V,A114P,A74S,K83R,I89_)-20GS-F023761113091(111V,A114P,R141P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89_)-200S-A_B11002-A (SEQ ID NO: 111)	APD-1/n_AG-3	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIFAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAIYYCAGDK-QSSWYDYWGGQTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVVGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTIYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGVSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAIYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
具有9GS之三聚體	F023700970	1020122(E1D,111V,A114P,A74S,K83R,I89_)-9GS-F023761113091(111V,A114P,R141P,N43K,A62S,A74S,K83R,V89_)-9GS-A_B11002-A (SEQ ID NO: 112)	APD-1/n_AG-3	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSIASIFAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAIYYCAGDK-QSSWYDYWGGQTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVVGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTIYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGVSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAIYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA

王聚 禮/35GS	F02370[[63	[PD[02C[2 (E[D, [[[V, A[4P, W52dV, N73P, A74S, K83R, 89_, W[00dF)–35GS–[PD[02C[2 (_[[V, A[4P, W52dV, N73P, A74S, K83R, 89_, W[00dF)–35GS–F02370084Z–35GS–F02370084Z–35GS–A_3[[002–A (SEQ ID NO: [[3)	NPD–[/N_AG–3	DVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGS[AS[[-AVGWFRQAPGKEREFVAV[[VSGG[[[YYADSVKGRF[[[SRDPSKN[VY_QMNS_RPED[A_YYCAGDK-QSSFYDYWGQG[[_V[VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGWQPGGS_R_SCAASGS[AS[[-AVGWFRQAPGKEREFVAV[[VSGG[[[YYADSVKGRF[[[SRDPSKN[VY_QMNS_RPED[A_YYCAGDK-QSSFYDYWGQG[[_V[VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGWQPGGS_R_SCAASGR[FSDYWWGWFRQAPGKEREFVAA[SESGGR[-YADSVKGRF[[SRDNSKN[[Y_QMNS_RPED[A_YYCA[[[__WW[SEYAP[KANDYDYWGQG[_V[VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGWQPGGS_R_SCAASGR[FSDYWWGWFRQAPGKEREFVAA[SESGGR[-YADSVKGRF[[SRDNSKN[[Y_QMNS_RPED[A_YYCA[[[__WW[SEYAP[KANDYDYWGQG[_V[VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGWQPGNS_R_SCAASGF[FSSFGVSWVRQAPGKG_EWVSS[SGSGSD[_YADSVKGRF[[SRDNAK[[Y_QMNS_RPED[A_YYC[[GGS_SRSSQG[_V[VSSA	

五聚體/9GS	F02370116B	1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73P, A74S, K83R, 189_, W100dF)-9GS-1PD102C12 (L11V, A14P, W52dV, N73P, A74S, K83R, 189_, W100dF)-9GS-F02370084Z-9GS-F02370084Z-9GS-A_B11002-A (SEQ ID NO: 114)	rPD-1/hAG-3	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSLYGMAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDPSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAGDK-QSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSLYGMAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDPSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAGDK-QSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVVGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTGGSLSRSSQGTLVTVSSA
三聚體/35GS	F02370173	1PD102C12 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73P, A74S, K83R, 189_, W100dF)-35GS-F02370084Z-35GS-A_B11002-A (SEQ ID NO: 115)	rPD-1/hAG-3	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSLYGMAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDPSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAGDK-QSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVVGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCATTLLWWTSEYAPIKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTGGSLSRSSQGTLVTVSSA

三聚體/9GS	F02370117.78	TPD1.02C12 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73P, A74S, K83R, 189_, W100dF)-9GS-F02370084.2-9GS-A_B11002-A (SEQ ID NO: 116)	APD-1/nAG-3	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSTASTFAVGWFRQAPGKEREFVAVTTVSGGTTYYADSVKGRFTISRDPSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKFQSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVVGWFRQAPGKEREFVAATSESGGRTFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLWWTSEYAPTKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGVSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTGGSLSRSSQGTLVTVSSA
三聚體/35GS	F02370116.1	TPD1.02C12 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73Q, A74S, K83R, 189_, W100dF)-35GS-TPD1.02C12 (L11V, A14P, W52dV, N73Q, A74S, K83R, 189_, W100dF)-35GS-F02370084.2-35GS-F02370084.2-35GS-A_B11002-A (SEQ ID NO: 117)	APD-1/nAG-3	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSTASTFAVGWFRQAPGKEREFVAVTTVSGGTTYYADSVKGRFTISRDQSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKFQSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSTASTFAVGWFRQAPGKEREFVAVTTVSGGTTYYADSVKGRFTISRDQSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKFQSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVVGWFRQAPGKEREFVAATSESGGRTFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLWWTSEYAPTKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGVSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTGGSLSRSSQGTLVTVSSA

三聚體/9GS	F023701166	1PD1020122 (E1D, L11V, A124P, W52dV, N73Q, A74S, K83R, 189_, W100cF)-9GS-1PD1020122 (L11V, A124P, W52dV, N73Q, A74S, K83R, 189_, W100cF)-9GS-F023700842-9GS-F023700842-9GS-A_B11002-A (SEQ ID NO: 118)	MPD-1/n_AG-3	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSLFAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDQSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKLQSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSLFAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDQSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKLQSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVWGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPTKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVWGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPTKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSLFAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDQSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKLQSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSLFAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDQSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKLQSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVWGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPTKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVWGWFRQAPGKEREFVAAISESGGRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCATTLLWWTSEYAPTKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
三聚體/35GS	F023701171	1PD1020122 (E1D, L11V, A124P, W52dV, N73Q, A74S, K83R, 189_, W100cF)-35GS-F023700842-35GS-A_B11002-A (SEQ ID NO: 119)	MPD-1/n_AG-3	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSLFAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDQSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKLQSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSLFAVGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDQSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAGDKLQSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA

三聚糖/9GS	F02370117.76	TPD1020T2 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73Q, A74S, K83R, 189_, W100dF)-9GS-F02370842-9GS-A_B11002-A (SEQ ID NO: 120)	APD-T/MAG-3	DVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGSTASL-AVGWFRQAPGKEREFVAVLTVSGGLTYYADSVKGRFTISRDQSKNTVYL_QMNS_RPEDTA_YYCAGDK-QSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGRTFSDYWVGWFRQAPGKEREFVAATSESGGRTFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL_QMNS_RPEDTA_YYCATTLWWTSEYAPLKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQ_VESGGGVVQPGNS_R_SCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKG_EWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYL_QMNS_RPEDTA_YYCTIGGS_SRSSQGTLVTVSSA
五聚糖/35GS	F02370162	TPD1020T2 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73S, A74S, K83R, 189_, W100dF)-35GS-TPD1020T2 (L11V, A14P, W52dV, N73S, A74S, K83R, 189_, W100dF)-35GS-F02370842-35GS-F02370842-35GS-A_B11002-A (SEQ ID NO: 121)	APD-T/MAG-3	DVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGSTASL-AVGWFRQAPGKEREFVAVLTVSGGLTYYADSVKGRFTISRDSSKNTVYL_QMNS_RPEDTA_YYCAGDK-QSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGSTASL-AVGWFRQAPGKEREFVAVLTVSGGLTYYADSVKGRFTISRDSSKNTVYL_QMNS_RPEDTA_YYCAGDK-QSSFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGGS_R_SCAASGRTFSDYWVGWFRQAPGKEREFVAATSESGGRTFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL_QMNS_RPEDTA_YYCATTLWWTSEYAPLKANDYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ_VESGGGVVQPGNS_R_SCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKG_EWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYL_QMNS_RPEDTA_YYCTIGGS_SRSSQGTLVTVSSA

三聚體/35GS	F02370117 2	MPD-020M2 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73S, A74S, K83R, 189L, W100dF)-35GS-MPD-020M2 (L11V, A14P, W52dV, N73S, A74S, K83R, 189L, W100dF)-35GS-F02370842-35GS-F02370842-35GS-A_B11002-A (SEQ ID NO: 123)	MPD-1/MAG-3	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSTASFAVGWFRQAPGKEREFVAVITVSGGTTYYADSVKGRFTISRDSSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAGDK-QSSFYDYWGGGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSTASFAVGWFRQAPGKEREFVAVITVSGGTTYYADSVKGRFTISRDSSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAGDK-QSSFYDYWGGGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVVGWFRQAPGKEREFVAATSESGGRTFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCATTLLWWTSEYAPTKANDYDYWGGGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVVGWFRQAPGKEREFVAATSESGGRTFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCATTLLWWTSEYAPTKANDYDYWGGGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTGGSLSRSSQGTLVTVSSA	
三聚體/35GS	F02370172	MPD-020M2 (E1D, L11V, A14P, W52dV, N73S, A74S, K83R, 189L, W100dF)-35GS-MPD-020M2 (L11V, A14P, W52dV, N73S, A74S, K83R, 189L, W100dF)-35GS-F02370842-35GS-F02370842-35GS-A_B11002-A (SEQ ID NO: 123)	MPD-1/MAG-3	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGSTASFAVGWFRQAPGKEREFVAVITVSGGTTYYADSVKGRFTISRDSSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAGDK-QSSFYDYWGGGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYVVGWFRQAPGKEREFVAATSESGGRTFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCATTLLWWTSEYAPTKANDYDYWGGGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTGGSLSRSSQGTLVTVSSA	

三聚氰胺/9GS	F02370[illegible]77	[illegible]PD[illegible]020[illegible]2 (E[illegible]D, [illegible]V, A[illegible]4P, W52dV, N73S, A74S, K83R, [illegible]89_, W[illegible]00dF)-9GS-F02370084Z-9GS-A_B[illegible]02-A (SEQ ID NO: [illegible]23)	[illegible]PD-[illegible]/[illegible]_AG-3	DVQ_VESGGGVWQPGGS_R_SCAASGS[illegible]ASI[illegible]-AVGW[illegible]RQAPGKERE[illegible]VAV[illegible]VSGG[illegible]YYADSVKGR[illegible]SRDSSKN[illegible]VY_QMNS_RPED[illegible]A_YYCAGDK-QSS[illegible]YDYWGQG[illegible]V[illegible]VSSGGGGSGGGSEVQ_VESGGGVWQPGGS_R_SCAASGR[illegible]FSDYWWGW[illegible]RQAPGKERE[illegible]VAA[illegible]SESGGR[illegible]YADSVKGR[illegible]SRDNSKN[illegible]Y_QMNS_RPED[illegible]A_YYCA[illegible]WW[illegible]SEYAP[illegible]KANDYDYWGQG[illegible]V[illegible]VSSGGGGSGGGSEVQ_VESGGGVWQPGNS_RSCAASG[illegible]FSS[illegible]GMSWVRQAPGKG_EWVSS[illegible]SGSGSD[illegible]YADSVKGR[illegible]SRDNAK[illegible]Y_QMNS_RPED[illegible]A_YYC[illegible]GGS_SRSSQG[illegible]V[illegible]VSSA

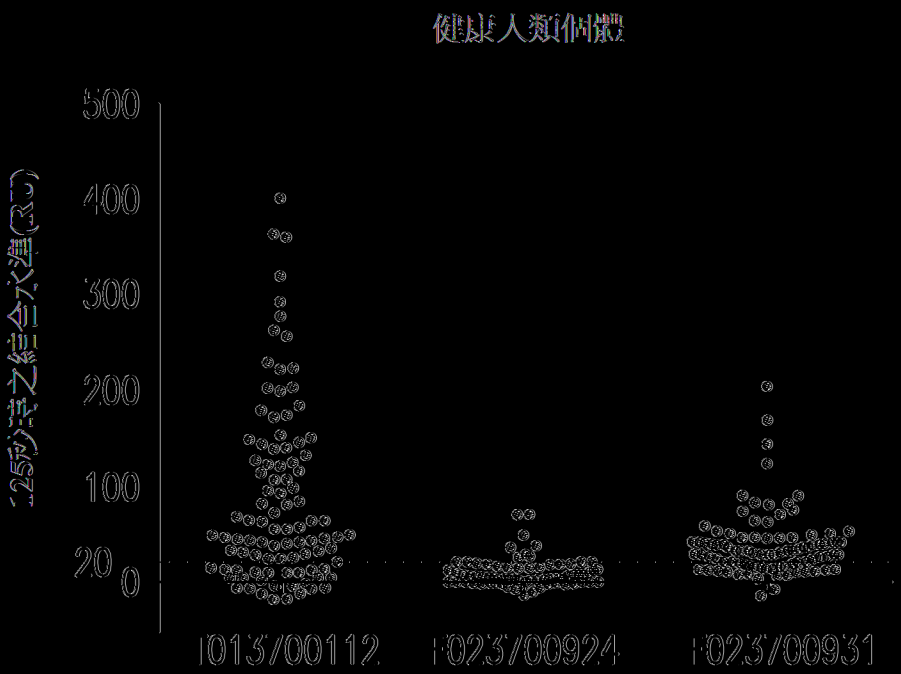

健康人類個體
125例完全結合大量(RU)
500
400
300
200
100
20
0
F013/00112
F023/00924
F023/00931

圖19A)

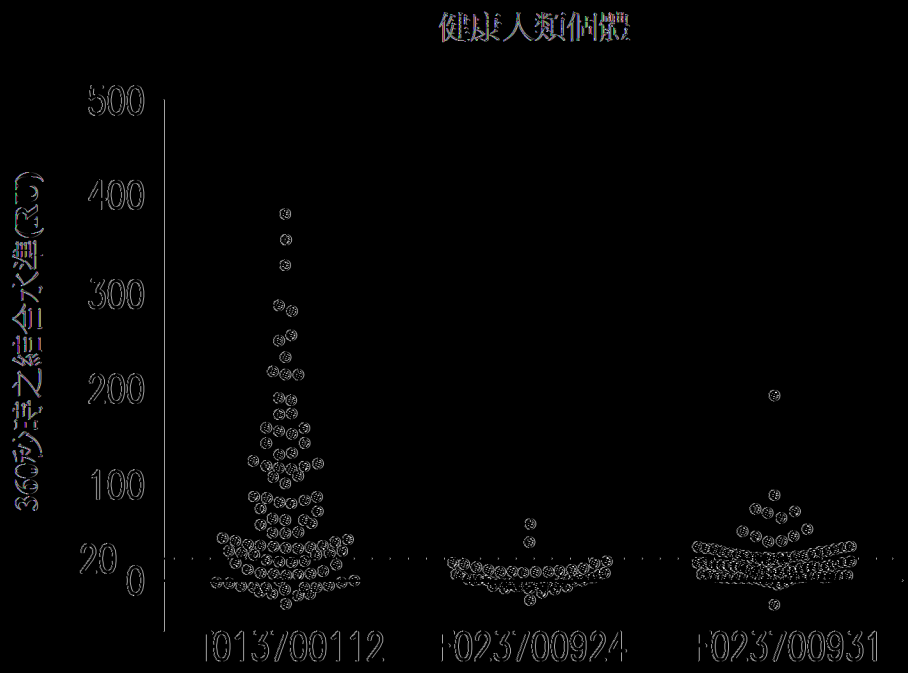
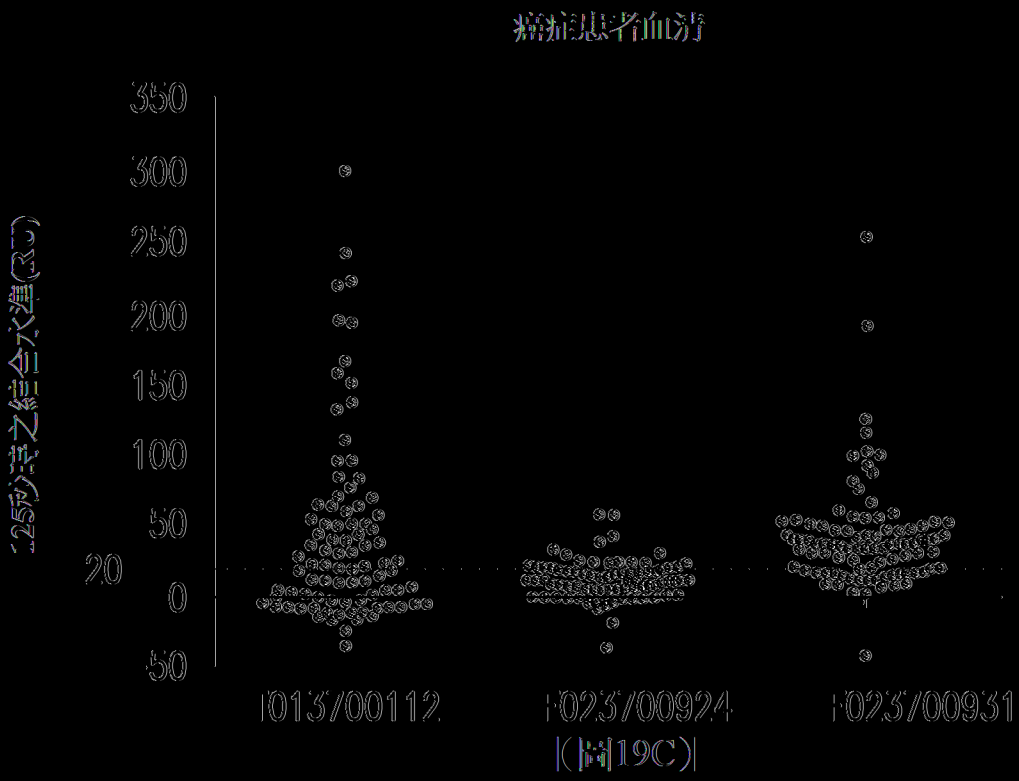
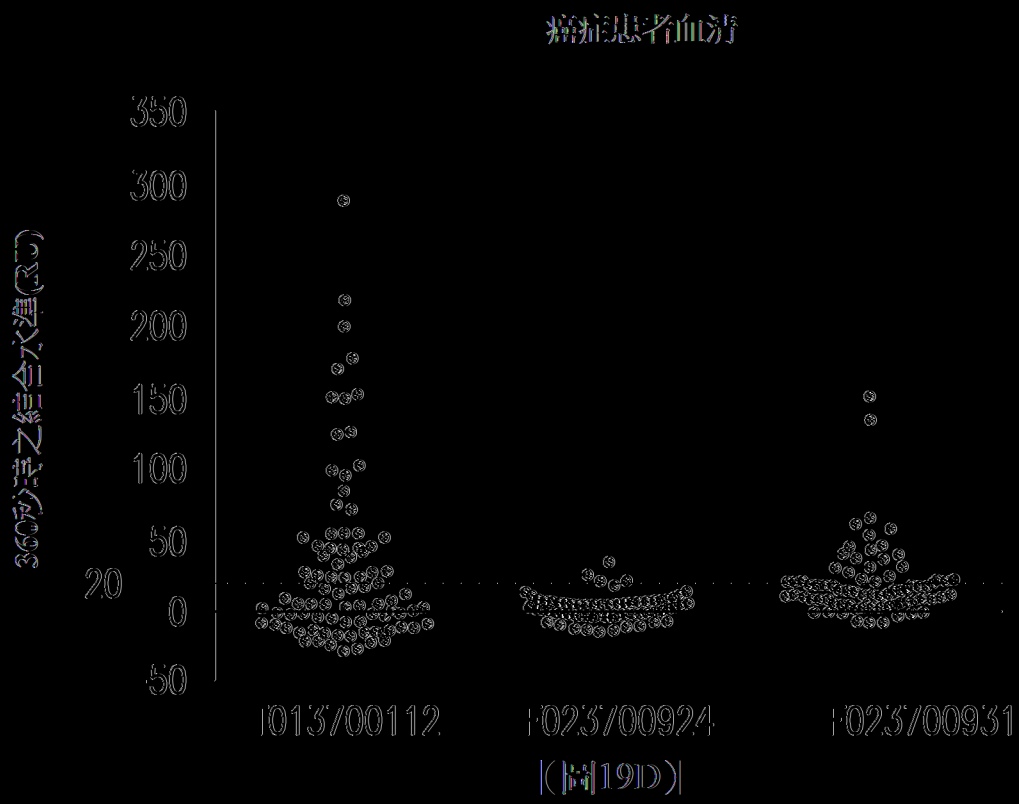

健康人類個體
360例完全結合大量(RU)
500
400
300
200
100
20
0
F013/00112
F023/00924
F023/00931

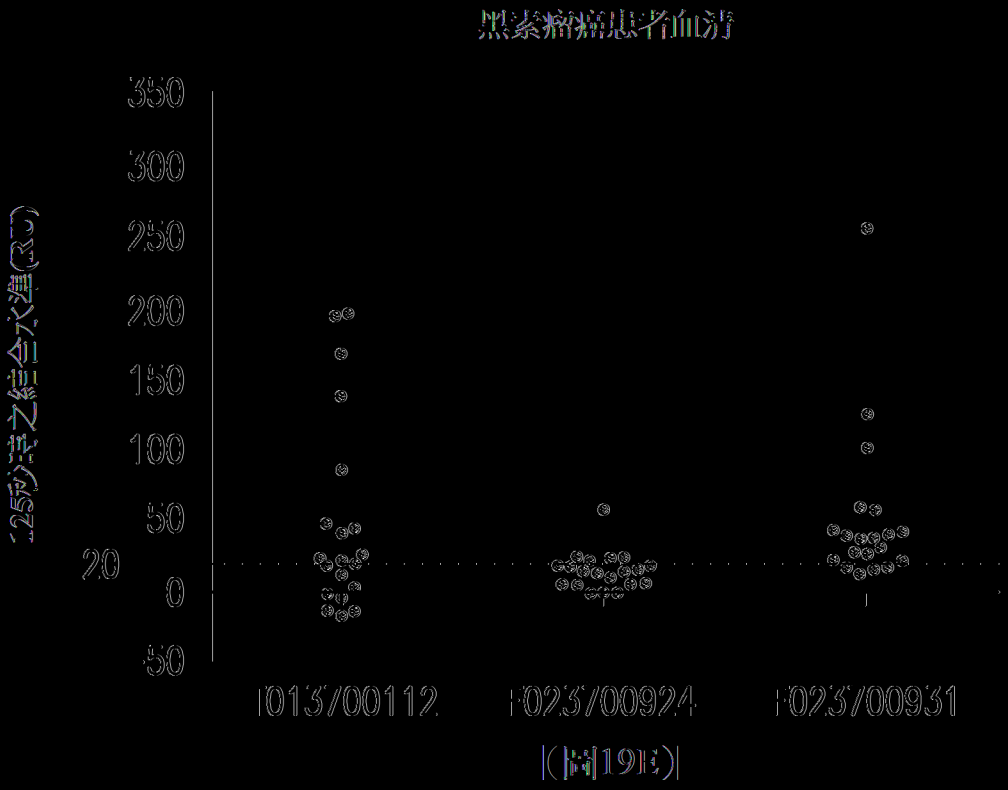
圖19B)

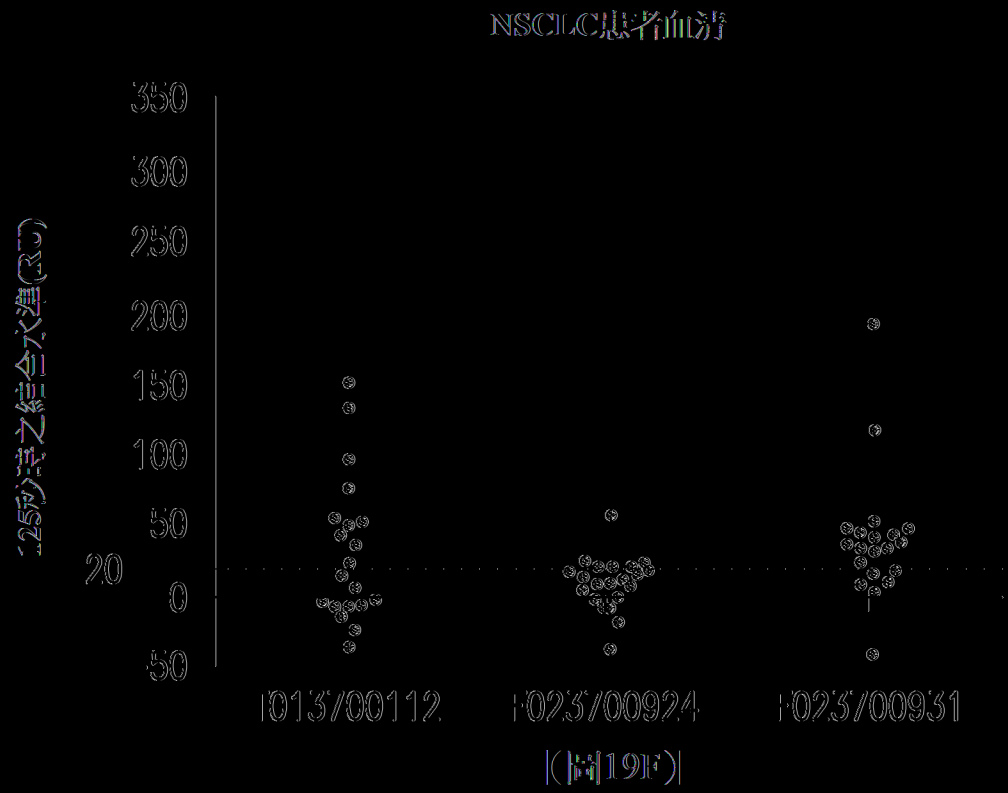

癌患者血清
350
300
250
200
150
100
50
0
−50
20
125形淀粉之結合活性(RU)
1013/00112
1023/00924
1023/00931

|(圖19C)|


癌患者血清
350
300
250
200
150
100
50
0
−50
20
360形淀粉之結合活性(RU)
1013/00112
1023/00924
1023/00931

|(圖19D)|


黑素瘤癌患者血清
350
300
250
200
150
100
50
20
0
-50
125碘注之給予水準(RT)
1013/00112
1023/00924
1023/00931
(圖19E)


NSCLC患者血清
350
300
250
200
150
100
50
20
0
-50
125碘注之給予水準(RT)
1013/00112
1023/00924
1023/00931
(圖19F)

頭頸部癌患者血清
350
300
250
200
150
100
50
0
−50
20
γ-25ヒドロキシビタミンD濃度(ng/mL)
H013/00112
H023/00924
H023/00931

図19G)

胃癌患者血清
350
300
250
200
150
100
50
0
−50
20
γ-25ヒドロキシビタミンD濃度(ng/mL)
H013/00112
H023/00924
H023/00931

図19H)

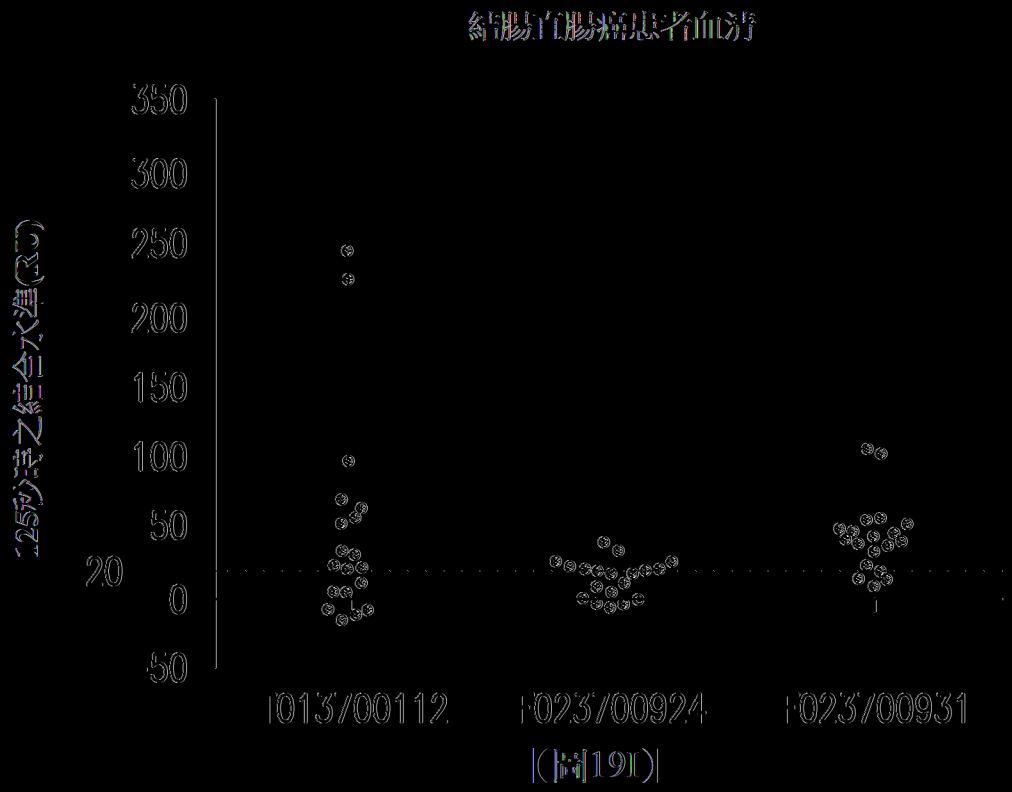

結腸直腸癌患者血清
350
300
250
200
150
100
50
0
−50
125ヨウ素標識抗体結合活性(RU)
20
1013/00112
1023/00924
1023/00931

図191