



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109310762 A

(43)申请公布日 2019.02.05

(21)申请号 201780035194.0

(22)申请日 2017.06.06

(30)优先权数据

62/346,854 2016.06.07 US

62/432,299 2016.12.09 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.12.06

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/036075 2017.06.06

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/214092 EN 2017.12.14

(71)申请人 宏观基因有限公司

地址 美国马里兰州

(72)发明人 埃兹奥·泊韦尼 S·凯尼格

莱斯利·S·约翰逊

保罗·A·摩尔

拉尔夫·F·奥尔德森

J·M·威金顿

(74)专利代理机构 北京市铸成律师事务所

11313

代理人 刘文娜 郝名悦

(51)Int.Cl.

A61K 39/395(2006.01)

C07K 16/28(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 31/00(2006.01)

权利要求书4页 说明书133页

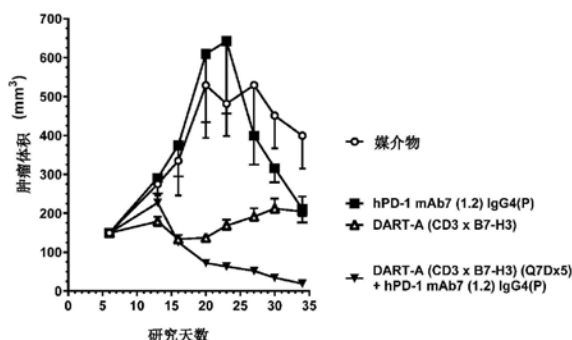
序列表134页 附图22页

(54)发明名称

联合疗法

(57)摘要

本发明涉及用于治疗癌症和病原体相关疾病的联合疗法,其包括施用:(1)能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子(例如,双抗体、ScFv、抗体、TandAb等),和(2)能够介导对表达疾病抗原的靶细胞(例如,癌细胞或病原体感染的细胞等)的重定向杀伤的分子(例如,双抗体、BiTe、双特异性抗体、CAR等)。本发明尤其涉及其中能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子是双特异性结合分子的实施方式,其中所述双特异性结合分子包含能够免疫特异性结合效应细胞的细胞表面分子的表位的第一表位结合位点和能够免疫特异性结合这类靶细胞的表位的第二表位结合位点。



1. 一种用于治疗癌症或病原体相关疾病的方法,所述方法包括向需要其的受试者施用治疗有效量的:

- (1) 能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子,和
- (2) 能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子,其中所述靶细胞是:
 - (a) 表达癌抗原的癌细胞;或
 - (b) 表达病原体相关抗原的病原体感染细胞。

2. 如权利要求1所述的方法,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述分子能够抑制PD-1和PD-1的天然配体之间的结合。

3. 如权利要求1所述的方法,其中所述方法包括施用累计包含三个表位-结合结构域的两结合分子,所述两结合分子是:

(A) 包含能够结合PD-1的抗体的表位-结合结构域或能够结合PD-1的天然配体的抗体的表位-结合结构域的结合分子;和

(B) 包含下述的结合分子:

- (1) 能够结合所述效应细胞的细胞表面分子的抗体的表位-结合结构域;和
 - (2) 能够结合所述靶细胞的所述癌抗原或所述病原体抗原的抗体的表位-结合结构域;
- 其中所述结合分子(A)的所述表位-结合结构域能够结合PD-1或PD-1的天然配体,并且所述结合分子(B)的所述表位-结合结构域(1)和(2)能够介导对所述靶细胞的重定向杀伤。

4. 如权利要求3所述的方法,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述结合分子包括双抗体、ScFv、抗体或TandAb,并且所述结合分子(B)包括双特异性双抗体、CAR、BiTe或双特异性抗体。

5. 如权利要求3或4中任一项所述的方法,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述结合分子包含结合PD-1的抗体的表位-结合结构域。

6. 如权利要求3或4中任一项所述的方法,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述结合分子包含结合PD-1的天然配体的抗体的表位-结合结构域。

7. 如权利要求5所述的方法,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述结合分子包含能够结合PD-1的第二表位-结合结构域,其中这类表位-结合结构域:

- (a) 竞争结合PD-1的相同表位;或
- (b) 不竞争结合PD-1的相同表位。

8. 如权利要求7所述的方法,其中所述PD-1表位-结合结构域能够同时结合至相同的PD-1分子。

9. 如权利要求6所述的方法,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述结合分子包含能够结合所述PD-1的天然配体的第二表位-结合结构域,其中这类表位-结合结构域:

- (a) 竞争结合PD-1的这类天然配体的相同表位;或
- (b) 不竞争结合PD-1的这类天然配体的相同表位。

10. 如权利要求9所述的方法,其中所述PD-1配体-表位-结合结构域能够同时结合所述PD-1的天然配体的相同分子。

11. 如权利要求5或6所述的方法,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述结合分子包含第二表位-结合结构域,其能够结合不是PD-1或不是PD-1的天然配体的分子的表位。

12. 如权利要求11所述的方法,其中所述第二表位-结合结构域结合CD137、LAG-3、

OX40、TIGIT、TIM-3或VISTA的表位。

13. 如权利要求1-12中任一项所述的方法,其中能够介导对所述靶细胞的重定向杀伤的所述结合分子包含第三表位-结合结构域,其能够结合所述效应细胞的细胞表面分子。

14. 如权利要求13所述的方法,其中能够介导对所述靶细胞的重定向杀伤的所述结合分子的所述第三表位结合-结构域能够结合所述效应细胞的不同细胞表面分子,以便能够介导所述重定向杀伤的所述结合分子能够结合所述效应细胞的两种不同细胞表面分子。

15. 如权利要求2-12中任一项所述的方法,其中能够介导对所述靶细胞的重定向杀伤的所述结合分子包含第三表位-结合结构域,其能够结合至所述靶细胞的癌抗原或病原体相关抗原。

16. 如权利要求15所述的方法,其中能够介导对所述靶细胞的重定向杀伤的所述结合分子的所述第三表位结合-结构域能够结合所述靶细胞的不同癌抗原或不同病原体抗原,以便能够介导所述重定向杀伤的所述结合分子能够结合至所述靶细胞的两种不同癌抗原或两种不同病原体抗原。

17. 如权利要求2-16中任一项所述的方法,其中所述效应细胞的所述细胞表面分子选自:CD2、CD3、CD8、CD16、TCR和NKG2D。

18. 如权利要求2-17中任一项所述的方法,其中所述癌抗原选自下述癌抗原:19.9、4.2、A33、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、 β -联蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79_a/CD79_b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、细胞角蛋白8、D1.1、D156-22、DR5、E₁系列、EGFR、肝配蛋白受体、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神经节苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳头瘤病毒-E6/人乳头瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13R α 2、整联蛋白 β 6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4全癌抗原、L6、L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、间皮素、MUC-1、MUM-1、My1、N-乙酰葡萄糖氨基转移酶、拟糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制癌蛋白M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸盐、R₂₄、ROR1、鞘脂类、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T细胞受体衍生的肽、T_{5A7}、TAG-72、TL5、TNF-受体、TNF- γ 受体、TRA-1-85、转铁蛋白受体、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受体、VEP8、VEP9、VIM-D5和Y半抗原Le^y。

19. 如权利要求2-17中任一项所述的方法,其中所述方法包括所述药物组合物的所述施用,并且其中所述病原体相关抗原选自下述病原体相关抗原:单纯疱疹病毒感染的细胞蛋白质(ICP)47、单纯疱疹病毒gD、爱泼斯坦-巴尔病毒LMP-1、爱泼斯坦-巴尔病毒LMP-2A、爱泼斯坦-巴尔病毒LMP-2B、人免疫缺陷病毒gp160、人免疫缺陷病毒gp120、人免疫缺陷病毒gp41等、人乳头瘤病毒E6、人乳头瘤病毒E7、人T细胞白血病病毒gp64、人T细胞白血病病毒gp46和人T细胞白血病病毒gp21。

20. 一种药物组合物,其包含:

(A) 治疗有效量的:

(1) 能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子,和

(2) 能够介导对表达癌抗原或病原体抗原的靶细胞的重定向杀伤的分子;和

(B) 药学上可接受的载体。

21. 如权利要求20所述的药物组合物,其中所述药物组合物包含累计包含三个表位-结合结构域的两种结合分子,所述两种结合分子是:

(A) 包含能够结合PD-1的抗体的表位-结合结构域或能够结合PD-1的天然配体的抗体的表位-结合结构域的结合分子;和

(B) 包含下述的结合分子:

(1) 能够结合所述效应细胞的细胞表面分子的抗体的表位-结合结构域;和

(2) 能够结合所述靶细胞的癌抗原或病原体相关抗原的抗体的表位-结合结构域;

其中所述结合分子(A)的所述表位-结合结构域能够结合PD-1或PD-1的天然配体,并且所述结合分子(B)的所述表位-结合结构域(1)和(2)能够介导对所述靶细胞的重定向杀伤。

22. 如权利要求21所述的药物组合物,其中所述结合分子(A)包括双抗体、ScFv、抗体或TandAb,并且所述结合分子(B)包括双抗体、CAR、BiTe或双特异性抗体。

23. 如权利要求21-22中任一项所述的药物组合物,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述分子包含结合PD-1的抗体的表位-结合结构域。

24. 如权利要求21-22中任一项所述的药物组合物,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述分子包含结合PD-1的天然配体的抗体的表位-结合结构域。

25. 如权利要求23所述的药物组合物,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述分子包含能够结合PD-1的第二表位-结合结构域,其中这类PD-1表位-结合结构域:

(a) 竞争结合PD-1的相同表位;或

(b) 不竞争结合PD-1的相同表位。

26. 如权利要求25所述的药物组合物,其中所述PD-1表位-结合结构域能够同时结合相同的PD-1分子。

27. 如权利要求24所述的药物组合物,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述结合分子包含能够结合所述PD-1的天然配体的第二表位-结合结构域,其中这类表位-结合结构域:

(a) 竞争结合PD-1的这类天然配体的相同表位;或

(b) 不竞争结合PD-1的这类天然配体的相同表位。

28. 如权利要求27所述的药物组合物,其中所述PD-1配体-表位-结合结构域能够同时结合所述PD-1的天然配体的相同分子。

29. 如权利要求23或24所述的方法,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述结合分子包含第二表位-结合结构域,其能够结合不是PD-1或不是PD-1的天然配体的分子的表位。

30. 如权利要求29所述的方法,其中所述第二表位-结合结构域结合CD137、LAG-3、OX40、TIGIT、TIM-3或VISTA的表位。

31. 如权利要求20-29中任一项所述的药物组合物,其中能够介导对所述靶细胞的重定向杀伤的所述分子包含第三表位-结合结构域,其中这样的三个表位-结合结构域能够同时结合,并且其中所述第三表位-结合位点能够结合所述效应细胞的细胞表面分子的表位。

32. 如权利要求31所述的药物组合物,其中能够介导对所述靶细胞的重定向杀伤的所述结合分子的所述第三表位结合-结构域能够结合所述效应细胞的不同细胞表面分子,以便能够介导所述重定向杀伤的所述结合分子能够结合所述效应细胞的两种不同细胞表面

分子。

33. 如权利要求20-30中任一项所述的药物组合物,其中能够介导对所述靶细胞的重定向杀伤的所述结合分子包含能够结合所述靶细胞的癌抗原或病原体相关抗原的第三表位-结合结构域。

34. 如权利要求33所述的药物组合物,其中能够介导对所述靶细胞的重定向杀伤的所述结合分子的所述第三表位结合-结构域能够结合所述靶细胞的不同癌抗原或不同病原体相关抗原,以便能够介导所述重定向杀伤的所述结合分子能够结合所述靶细胞的两种不同癌抗原或两种不同病原体相关抗原。

35. 如权利要求21-34中任一项所述的药物组合物,其中所述效应细胞的所述细胞表面分子选自:CD2、CD3、CD8、CD16、TCR和NKG2D。

36. 如权利要求20-35中任一项所述的药物组合物,其中所述癌抗原选自下述癌抗原: 19.9、4.2、A33、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、 β -联蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、细胞角蛋白8、D1.1、D156-22、DR5、E₁系列、EGFR、肝配蛋白受体、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神经节苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳头瘤病毒-E6/人乳头瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13R α 2、整联蛋白 β 6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4全癌抗原、L6、L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、间皮素、MUC-1、MUM-1、My1、N-乙酰葡萄糖氨基转移酶、拟糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制癌蛋白M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸盐、R₂₄、ROR1、鞘脂类、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T细胞受体衍生的肽、T₅A₇、TAG-72、TL5、TNF-受体、TNF- γ 受体、TRA-1-85、转铁蛋白受体、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受体、VEP8、VEP9、VIM-D5和Y半抗原Le^y。

37. 如权利要求20-35中任一项所述的药物组合物,其中所述病原体相关抗原选自下述病原体抗原:单纯疱疹病毒感染的细胞蛋白质(ICP)47、单纯疱疹病毒gD、爱泼斯坦-巴尔病毒LMP-1、爱泼斯坦-巴尔病毒LMP-2A、爱泼斯坦-巴尔病毒LMP-2B、人免疫缺陷病毒gp160、人免疫缺陷病毒gp120、人免疫缺陷病毒gp41等、人乳头瘤病毒E6、人乳头瘤病毒E7、人T细胞白血病病毒gp64、人T细胞白血病病毒gp46和人T细胞白血病病毒gp21。

38. 一种试剂盒,其包括如权利要求20-37中任一项所述的药物组合物,其中其所述结合分子被分装在一个或多个容器中。

联合疗法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求美国专利申请系列第62/346,854号(提交于2016年6月7日;未决)和第62/432,299号(提交于2016年12月9日;未决)的优先权,每一篇申请通过引用以其整体并入本文。

[0003] 序列表的参考

[0004] 根据37 C.F.R.1.821以及下面的条款,本申请包括一个或多个序列表,其以计算机-可读介质(文件名:1301_0142PCT_ST25.txt,2017年5月31日创建,并且大小为225,335字节)公开,该文件通过引用以其整体并入本文。

技术领域

[0005] 本发明涉及用于治疗癌症和病原体相关疾病的联合疗法,其包括施用:(1)能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子(例如,双抗体、ScFv、抗体、TandAb等),和(2)能够介导对表达疾病抗原的靶细胞(例如,癌细胞或病原体感染的细胞等)的重定向杀伤的分子(例如,双抗体、BiTe、双特异性抗体、CAR等)。本发明尤其涉及其中能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子是双特异性结合分子的实施方式,其中所述双特异性结合分子包含能够免疫特异性结合效应细胞的细胞表面分子的表位的第一表位结合位点和能够免疫特异性结合这种靶细胞(即,疾病抗原如癌抗原或病原体相关抗原)的表位的第二表位结合位点。本发明还涉及包含这类分子(一种或多种)的药物组合物。

背景技术

[0006] I.哺乳动物免疫系统

[0007] 哺乳动物免疫系统用作抵抗各种病况的防御,所述病况包括,例如损伤、感染和瘤形成。人类和其他哺乳动物发展对病原体、外来物质和癌抗原的免疫学应答的效率取决于两个特征:免疫应答对抗原识别的精致特异性,以及在以相同抗原再激活后允许更快和更有力的应答的免疫记忆(Portolés,P.等人,(2009)“The TCR/CD3 Complex:Opening the Gate to Successful Vaccination,”Current Pharmaceutical Design 15:3290-3300;Guy,C.S.等人,(2009)“Organization of Proximal Signal Initiation at the TCR:CD3 Complex,”Immunol Rev.232(1):7-21;Topalian,S.L.等人,(2015)“Immune Checkpoint Blockade:A Common Denominator Approach to Cancer Therapy,”Cancer Cell 27:450-461)。

[0008] 在健康的个体中,免疫系统处于静态,其受到各种抑制性受体和受体配体的库(repertoire)的抑制。在识别癌抗原、微生物病原体或过敏原后,一系列激活受体和受体配体被触发以诱导免疫系统的激活。这类激活引起巨噬细胞、天然杀伤(NK)细胞和抗原特异性细胞毒性T-细胞的激活,并且促进各种细胞因子的释放,其中全部用来反抗感知的对受试者健康的威胁(Dong,C.等人,(2003)“Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules,”Immunolog.Res.28(1):39-48;Viglietta,V.等人,(2007)“Modulating Co-

Stimulation,”*Neurotherapeutics* 4:666-675;Korman,A.J.等人,(2007)“Checkpoint Blockade in Cancer Immunotherapy,”*Adv.Immunol.*90:297-339)。当抗衡的抑制性免疫信号强过激活免疫信号时,免疫系统能够返回至其正常的静态。

[0009] 因此,可认为癌症的疾病状态(以及甚至传染病的疾病状态)反映了未能适当激活受试者的免疫系统。这种失败可反映激活免疫信号的不充分的呈递,或其可反映减少受试者中的抑制性免疫信号的能力不足。在一些情况中,研究者已经确定癌细胞能够拉拢(co-opt)免疫系统以避免被免疫系统检测到(Topalian,S.L.等人,(2015)“Immune Checkpoint Blockade:A Common Denominator Approach to Cancer Therapy,”*Cancer Cell* 27:450-461)。

[0010] 哺乳动物免疫系统通过两个分开但是相关的系统:体液免疫系统和细胞免疫系统介导。通常来讲,体液系统通过由B细胞产生的可溶分子(抗体或免疫球蛋白)介导。这类分子具有结合和中和已被识别为对于身体是外来的抗原的能力。细胞免疫系统涉及起到各种治疗作用的称为“T细胞”的某些细胞的动员。T细胞是在胸腺中成熟并且在组织、淋巴系统和循环系统间循环的淋巴细胞。响应于外来结构(抗原)的存在和识别,T细胞成为“激活的”以启动免疫应答。在许多情况中,由于瘤形成或感染,这些外来抗原在宿主细胞上表达。虽然T细胞本身不分泌抗体,但是它们通常是第二类淋巴细胞B细胞(其衍生自骨髓)进行抗体分泌所必需的。关键的是,T细胞具备特别的免疫特异性,从而能够区分一种抗原与另一种抗原)。

[0011] 两种相互作用对于T细胞激活是必需的(Viglietta,V.等人,(2007)“Modulating Co-Stimulation,”*Neurotherapeutics* 4:666-675;Korman,A.J.等人,(2007)“Checkpoint Blockade in Cancer Immunotherapy,”*Adv.Immunol.*90:297-339)。在第一种相互作用中,细胞必须展示结合至细胞的I类或II类主要组织相容性复合体(“MHC”)的相关靶抗原,以使其可结合幼稚T淋巴细胞的T细胞受体(“TCR”)。虽然几乎所有细胞类型皆可用作抗原呈递细胞,但是一些细胞如巨噬细胞、B细胞和树突细胞专门呈递外源性抗原而是“专业的”“抗原呈递细胞”。结合至抗原呈递细胞的MHC I类分子的抗原的免疫检测导致产生细胞毒性T细胞。结合至抗原呈递细胞的MHC II类分子的抗原的免疫检测导致产生细胞毒性T细胞。在第二种相互作用中,抗原呈递细胞的配体必须结合T细胞的共受体(Dong,C.等人,(2003)“Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules,”*Immunol.Res.*28(1):39-48;Lindley,P.S.等人,(2009)“The Clinical Utility Of Inhibiting CD28-Mediated Costimulation,”*Immunol.Rev.*229:307-321)。经历两种刺激信号的T细胞然后能够响应细胞因子(如白介素-2和白介素-12)。

[0012] 在TCR接合(TCR engagement)期间没有两种共同刺激信号的情况下,T细胞进入功能上无应答状态,其称作克隆无反应性(Khawli,L.A.等人,(2008)“Cytokine,Chemokine, and Co-Stimulatory Fusion Proteins for the Immunotherapy of Solid Tumors,”*Exp.Pharmacol.*181:291-328)。在病理状态中,T细胞是各种器官特异性自身免疫疾病,如I型糖尿病、类风湿性关节炎和多发性硬化症的关键作用因素(Dong,C.等人,(2003)“Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules,”*Immunol.Res.*28(1):39-48)。

[0013] 该免疫“检查点”途径在维持自身耐受性(即,防止受试者对他/她自己的细胞进行免疫系统攻击(“自身免疫”反应))中并且在抗微生物或抗过敏免疫应答期间限制附属组织

损伤中是重要的。在T细胞的接触导致产生两种所需信号中的仅一种的情况下,T细胞不会激活并且适应性免疫应答不会发生。因此,T细胞激活的“两种信号”机制为免疫系统避免不期望的应答提供一种手段,所述不期望的应答如以对其他方式导致对受试者的自身细胞的免疫系统攻击(“自身免疫”反应)的自身抗原的应答。

[0014] II.细胞免疫系统的细胞表面分子

[0015] A.CD3、CD4和CD8

[0016] 免疫系统的细胞特征在于其专门的糖蛋白细胞表面分子的表达。这类分子和其它细胞分子之间的相互作用触发、维持或阻抑免疫应答。具体的,所有T细胞特征在于其CD3的表达。CD3是包括四条不同链的T细胞共受体(Wucherpfennig,K.W.等人,(2010)“Structural Biology Of The T-Cell Receptor:Insights Into Receptor Assembly, Ligand Recognition,And Initiation Of Signaling,”Cold Spring Harb.Perspect.Biol.2(4):a005140;1-14页;Chetty,R.等人,(1994)“CD3:Structure, Function,And Role Of Immunostaining In Clinical Practice,”J.Pathol.173(4):303-307;Guy,C.S.等人,(2009)“Organization Of Proximal Signal Initiation At The TCR:CD3 Complex,”Immunol.Rev.232(1):7-21)。

[0017] 在哺乳动物中,复合物包含CD3 γ 链、CD3 δ 链和两条CD3 ϵ 链。这些链与TCR缔合,以在T淋巴细胞中产生激活信号(Smith-Garvin,J.E.等人,(2009)“T cell Activation,”Annu.Rev.Immunol.27:591-619)。在没有CD3的情况下,TCR不正确组装并且被降解(Thomas,S.等人,(2010)“Molecular Immunology Lessons From Therapeutic T-Cell Receptor Gene Transfer,”Immunology 129(2):170-177)。发现CD3结合至所有成熟T细胞的膜,并且实际上不结合其它细胞类型的膜(参见,Janeway,C.A.等人,(2005)在以下中:IMMUNOBIOLOGY:THE IMMUNE SYSTEM IN HEALTH AND DISEASE,”第六版,Garland Science Publishing, NY,214-216页;Sun,Z.J.等人,(2001)“Mechanisms Contributing To T Cell Receptor Signaling And Assembly Revealed By The Solution Structure Of An Ectodomain Fragment Of The CD3 ϵ : γ Heterodimer,”Cell 105(7):913-923;Kuhns,M.S.等人,(2006)“Deconstructing The Form And Function Of The TCR/CD3 Complex,”Immunity.2006 Feb;24(2):133-139)。

[0018] T细胞上的TCR复合物的恒定CD3 ϵ 信号组分已经被用作靶标以迫使在T细胞和癌细胞之间形成免疫突触。CD3和肿瘤抗原的共接合激活T细胞,触发表达肿瘤抗原的癌细胞的裂解(Baeuerle等人,(2011)“Bispecific T Cell Engager For Cancer Therapy,”在以下中:BISPECIFIC ANTIBODIES,Kontermann,R.E.(Ed.)Springer-Verlag;2011:273-287)。该途径允许双特异性抗体以对癌细胞的高特异性全面地与T细胞室(T cell compartment)相互作用,并且广泛适用于一系列的细胞表面肿瘤抗原,并且也已经被实施以靶向病原体感染的细胞(参见,例如,Sloan等人(2015)“Targeting HIV Reservoir in Infected CD4 T Cells by Dual-Affinity Re-targeting Molecules(DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cells,”PLoS Pathog 11(11):e1005233.doi:10.1371/journal.ppat.1005233;WO 2014/159940;和WO 2016/054101)。

[0019] T细胞的第一子集,称为“辅助T细胞”,特征在于CD4的表达(即,他们是“CD4⁺”)。CD4⁺T细胞是大多数哺乳动物免疫应答和自身免疫应答的主要组织者(Dong,C.等人,

(2003) “Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules,” *Immunolog. Res.* 28 (1):39-48)。已经发现CD4⁺T细胞的激活通过抗原:主要组织相容性II类(MHC II)分子复合物和两种分子(TCR和CD3细胞表面受体配体)的复合物之间的共刺激相互作用被介导,其中所述MHC II分子复合物排列在抗原呈递细胞(如B细胞、巨噬细胞或树突细胞)的表面上,所述TCR和CD3细胞表面受体配体两者皆排列在幼稚CD4⁺T细胞的表面上。激活的T辅助细胞能够增殖成Th1细胞,所述Th1细胞能够介导对靶细胞的炎症反应。

[0020] T细胞的第二子集,称为“细胞毒性T细胞”,特征在于CD8的表达(即,它们是“CD8⁺以及CD3⁺”)。CD8是包括两条不同的链的T-细胞共受体(Leahy, D. J. (1995) “A Structural View of CD4 and CD8,” *FASEB J.* 9:17-25),其在细胞毒性T细胞上表达。已经发现CD8⁺T细胞的激活通过抗原:主要组织相容性I类(MHC I)分子复合物以及CD8和T细胞受体的复合物之间的共刺激相互作用被介导,其中所述MHC I分子复合物排列在靶细胞的表面上,并且所述CD8和T细胞受体排列在CD8⁺T细胞的表面上((Gao, G. 等人, (2000) “Molecular Interactions Of Coreceptor CD8 And MHC Class I: The Molecular Basis For Functional Coordination With The T-Cell Receptor,” *Immunol. Today* 21:630-636)。与仅通过某些免疫系统细胞表达的主要组织相容性II类(MHC II)分子不同, MHC I类分子被非常广泛地表达。因此,细胞毒性T细胞能够结合许多种类的细胞类型。激活的细胞毒性T细胞通过其释放细胞毒素穿孔素、粒酶和粒溶素来介导细胞杀伤。通过穿孔素的作用,粒酶进入靶细胞的细胞质,并且它们的丝氨酸蛋白酶作用触发胱天蛋白酶级联系统,其是最终导致靶向的细胞的凋亡(程序性细胞死亡)的一系列半胱氨酸蛋白酶。

[0021] B. CD2

[0022] CD2是在T-细胞和天然杀伤(NK)细胞的表面上发现的细胞粘附分子。CD2增强NK细胞毒性,可能作为NK细胞纳米管形成的启动子(Mace, E. M. 等人, (2014) “Cell Biological Steps and Checkpoints in Accessing NK Cell Cytotoxicity,” *Immunol. Cell. Biol.* 92 (3):245-255;Comerci, C. J. 等人, (2012) “CD2 Promotes Human Nature Killer Cell Membrane Nanotube Formation,” *PLoS One* 7(10):e47664:1-12)。

[0023] C. T细胞受体(“TCR”)

[0024] T细胞受体(“TCR”)由CD4⁺或CD8⁺ T细胞天然表达,并且允许这类细胞识别抗原肽,所述抗原肽通过抗原呈递细胞的I类或II类MHC蛋白质结合和呈递。通过TCR识别pMHC(肽-MHC)复合物引发导致细胞因子产生和抗原呈递细胞裂解的细胞免疫应答的传播(参见,例如,Armstrong, K. M. 等人, (2008) “Conformational Changes And Flexibility In T-Cell Receptor Recognition Of Peptide-MHC Complexes,” *Biochem. J.* 415(Pt 2):183-196;Willemssen, R. (2008) “Selection Of Human Antibody Fragments Directed Against Tumor T-Cell Epitopes For Adoptive T-Cell Therapy,” *Cytometry A*. 73 (11):1093-1099;Beier, K. C. 等人, (2007) “Master Switches Of T-Cell Activation And Differentiation,” *Eur. Respir. J.* 29:804-812;Mallone, R. 等人, (2005) “Targeting T Lymphocytes For Immune Monitoring And Intervention In Autoimmune Diabetes,” *Am. J. Ther.* 12(6):534-550)。CD3是结合至TCR的受体(Thomas, S. 等人, (2010) “Molecular Immunology Lessons From Therapeutic T-Cell Receptor Gene Transfer,” *Immunology* 129(2):170-177;Guy, C. S. 等人, (2009) “Organization Of Proximal Signal Initiation

At The TCR:CD3 Complex,”*Immunol.Rev.*232(1):7-21;St.Clair,E.W.(Epub 2009 Oct 12) “Novel Targeted Therapies For Autoimmunity,”*Curr.Opin.Immunol.*21(6):648-657;Baeuerle,P.A.等人,(电子出版于2009年6月9日) “Bispecific T-Cell Engaging Antibodies For Cancer Therapy,”*Cancer Res.*69(12):4941-4944;Smith-Garvin,J.E.等人,(2009) “T Cell Activation,”*Annu.Rev.Immunol.*27:591-619;Renders,L.等人,(2003) “Engineered CD3 Antibodies For Immunosuppression,”*Clin.Exp.Immunol.*133(3):307-309)。

[0025] TCR和CD3复合物,连同CD3 ζ 链 ζ 链(也称为T细胞受体T3 ζ 链或CD247)构成“TCR复合物”(van der Merwe,P.A.等(电子出版于2010年12月3日) “Mechanisms For T Cell Receptor Triggering,”*Nat.Rev.Immunol.*11:47-55;Wucherpfennig,K.W.等人,(2010) “Structural Biology of the T Cell Receptor:Insights into Receptor Assembly, Ligand Recognition,and Initiation of Signaling,”*Cold Spring Harb.Perspect.Biol.*2:a005140)。复合物是尤其重要的,因为其包含大量(十种)的基于免疫受体酪氨酸的激活基序(ITAM)。

[0026] D.Fc受体:CD16、CD32和CD64

[0027] 如以下详细讨论的,天然IgG抗体包括四条多肽链:两条相同的“轻”链和两条相同的“重”链。重链包含C-末端“CH2”和“CH3”结构域,并且两条重链的缔合形成“Fc结构域”,其能连接(结合)至多种类型的免疫系统细胞(例如,B淋巴细胞、滤泡树突细胞、天然杀伤细胞、巨噬细胞、中性白细胞、嗜酸性细胞、嗜碱性细胞和肥大细胞)的表面上发现的受体(单个称为“Fc γ 受体”“Fc γ R”,并且统称为“Fc γ Rs”)。这类受体具有“细胞外”部分(其因而能够连接至Fc结构域),“跨膜”部分(其延伸通过细胞膜)和“细胞质”部分(位于细胞内)。已鉴定多种类型的Fc γ Rs:CD16A(Fc γ RIIIA)、CD16B(Fc γ RIIIB)、CD32A(Fc γ RIIA)、CD32B(Fc γ RIIB)和CD64(Fc γ RI)。这类结合导致激活信号或抑制性信号向免疫系统的转导。

[0028] CD16是激活Fc受体、Fc γ RIIIA(CD16A)和Fc γ RIIIB(CD16B)的一般名称。CD16通过中性白细胞、嗜酸性细胞、天然杀伤(NK)细胞和结合聚集的但不是单体的人IgG的组织巨噬细胞表达(Peltz,G.A.等人,(1989) “Human Fc Gamma RIII:Cloning,Expression,And Identification Of The Chromosomal Locus Of Two Fc Receptors For IgG,”*Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A.)*86(3):1013-1017;Bachanova,V.等人,(2014) “NK Cells In Therapy Of Cancer,”*Crit.Rev.Oncog.*19(1-2):133-141;Miller,J.S.(2013) “Therapeutic Applications:Natural killer Cells In The Clinic,”*Hematology Am.Soc.Hematol.Educ.Program.*2013:247-253;Youinou,P.等人,(2002) “Pathogenic Effects Of Anti-Fc Gamma Receptor IIB(CD16) On Polymorphonuclear Neutrophils In Non-Organ-Specific Autoimmune Diseases,”*Autoimmun Rev.*1(1-2):13-19;Peipp,M.等人,(2002) “Bispecific Antibodies Targeting Cancer Cells,”*Biochem.Soc.Trans.*30(4):507-511)。这些受体结合IgG抗体的Fc部分,从而触发细胞因子的释放。如果这类抗体被结合至在细胞(例如,癌细胞,病原体感染细胞等)表面上表达的疾病抗原,那么这样的释放介导对靶向细胞的杀伤。由于这样的杀伤是抗体依赖性的,其被命名为抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)。

[0029] CD32A(Fc γ RIIA)(Brandsma,A.M.(2015) “Fc Receptor Inside-Out Signaling

And Possible Impact On Antibody Therapy,”*Immunol Rev.*268(1):74-87;van Sorge, N.M.等人,(2003)“FcγR Polymorphisms:Implications For Function,Disease Susceptibility And Immunotherapy,”*Tissue Antigens* 61(3):189-202;Selvaraj,P.等人,(2004)“Functional Regulation Of Human Neutrophil Fc γ Receptors,”*Immunol.Res.*29(1-3):219-230)和CD64(Fc γ RI)(Lu,S.等人,(2015)“Structural Mechanism Of High Affinity Fc γ RI recognition Of Immunoglobulin G,”*Immunol.Rev.*268(1):192-200;Swisher,J.F.等人,(2015)“The Many Faces Of Fc γ RI: Implications For Therapeutic Antibody Function,”*Immunol.Rev.*268(1):160-174;Thepen,T.等人,(2009)“Fcγ Receptor 1(CD64),A Target Beyond Cancer,”*Curr.Pharm.Des.*15(23):2712-2718;Rouard,H.等人,(1997)“Fc Receptors As Targets For Immunotherapy,”*Int.Rev.Immunol.*16(1-2):147-185)是巨噬细胞、中性白细胞、嗜酸性细胞和树突细胞上(并且对于CD32A,还在血小板和朗格汉斯细胞上)表达的激活Fc受体。相比之下,CD32B(Fc γ RIIB)是B淋巴细胞(巨噬细胞、中性白细胞和嗜酸性细胞)上的抑制性Fc受体(Stopforth,R.J.等人,(2016)“Regulation of Monoclonal Antibody Immunotherapy by Fc γ RIIB,”*J.Clin.Immunol.*[电子出版于2016年2月27],1-7页;Bruhns,P.等人,(2009)“Specificity And Affinity Of Human Fcγ Receptors And Their Polymorphic Variants For Human IgG Subclasses,”*Blood.*113(16):3716-3725;White,A.L.等人,(2014)“Fc γ RIIB As A Key Determinant Of Agonistic Antibody Efficacy,”*Curr.Top.Microbiol.Immunol.*382:355-372;Selvaraj,P.等人,(2004)“Functional Regulation Of Human Neutrophil Fc γ Receptors,”*Immunol.Res.*29(1-3):219-230)。

[0030] 不同Fc γ Rs介导完全相反的作用的能力反映了其结构的不同,尤其是Fc γ R是具有基于免疫受体酪氨酸的激活基序(“ITAM”)还是具有基于免疫受体酪氨酸的抑制性基序(“ITIM”)。不同细胞质酶向这些结构的募集支配Fc γ R-介导的细胞应答的结果。含ITAM的Fc γ Rs包括Fc γ RI、Fc γ RIIA、Fc γ RIIB,并且当结合至Fc结构域(例如,存在于免疫复合物中的聚集的Fc结构域)时激活免疫系统。Fc γ RIIB是目前唯一已知的含ITIM的天然Fc γ R;当结合至聚集的Fc结构域时,其用来阻抑或抑制免疫系统。

[0031] E.NKG2D受体

[0032] 天然杀伤细胞组2D(“NKG2D”)受体在所有人类(和其他哺乳动物)天然杀伤细胞上表达(Bauer,S.等人,(1999)“Activation Of NK Cells And T Cells By NKG2D,A Receptor For Stress-Inducible MICA,”*Science* 285(5428):727-729;Jamieson,A.M.等人,(2002)“The Role Of The NKG2D Immunoreceptor In Immune Cell Activation And Natural Killing,”*Immunity* 17(1):19-29)以及所有CD8⁺T细胞上表达(Groh,V.等人,(2001)“Costimulation Of CD8αβ T Cells By NKG2D Via Engagement By MIC Induced On Virus-Infected Cells,”*Nat.Immunol.*2(3):255-260;Jamieson,A.M.等人,(2002)“The Role Of The NKG2D Immunoreceptor In Immune Cell Activation And Natural Killing,”*Immunity* 17(1):19-29)。在正常细胞表面上,NKG2D配体完全不存在,或仅以低水平存在,但是其由被感染的、转化的、衰老的或受胁迫的细胞过表达。这类结合配体,尤其是在正常细胞上不表达的那些,包括组织相容性60(H60)分子、视黄酸早期可诱导基因-1

(RAE-1)的产物和鼠科UL16-结合蛋白质样转录物1 (MULT1) (Raulet D.H. (2003) "Roles Of The NKG2D Immunoreceptor And Its Ligands," *Nature Rev.Immunol.*3:781-790; Coudert,J.D.等人, (2005) "Altered NKG2D Function In NK Cells Induced By Chronic Exposure To Altered NKG2D Ligand-Expressing Tumor Cells," *Blood* 106:1711-1717)。

[0033] III.免疫系统细胞的相互作用分子

[0034] 涉及几种不同类型的抗原呈递细胞分子和T细胞分子的相互作用影响所需的免疫应答的第二种相互作用。

[0035] A.CD80/CD86和CD28/CTLA-4

[0036] 抗原呈递细胞的B7.1 (CD80) 和B7.2 (CD86) 配体以及CD4⁺T淋巴细胞的CD28和CTLA-4受体之间的结合对于所需的免疫应答的第二种相互作用是特别重要的 (Sharpe, A.H.等人, (2002) "The B7-CD28 Superfamily," *Nature Rev.Immunol.*2:116-126; Dong,C.等人, (2003) "Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules," *Immunolog.Res.*28 (1):39-48; Lindley,P.S.等人, (2009) "The Clinical Utility Of Inhibiting CD28-Mediated Costimulation," *Immunol.Rev.*229:307-321)。B7.1或B7.2与CD28的结合刺激T-细胞激活; B7.1或B7.2与CTLA-4的结合抑制这样的激活 (Dong,C.等人, (2003) "Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules," *Immunolog.Res.*28 (1):39-48; Lindley,P.S.等人, (2009) "The Clinical Utility Of Inhibiting CD28-Mediated Costimulation," *Immunol.Rev.*229:307-321; Greenwald,R.J.等人, (2005) "The B7 Family Revisited," *Ann.Rev.Immunol.*23:515-548)。CD28在T-细胞的表面上组成型表达 (Gross,J.,等人, (1992) "Identification And Distribution Of The Costimulatory Receptor CD28 In The Mouse," *J.Immunol.*149:380-388), 而CTLA-4表达在T-细胞激活后被快速上调 (Linsley,P.等人, (1996) "Intracellular Trafficking Of CTLA4 And Focal Localization Towards Sites Of TCR Engagement," *Immunity* 4:535-543)。由于CTLA-4是更高亲和性的受体 (Sharpe,A.H.等人, (2002) "The B7-CD28 Superfamily," *Nature Rev.Immunol.*2:116-126; Topalian,S.L.等人, (2015) "Immune Checkpoint Blockade:A Common Denominator Approach to Cancer Therapy," *Cancer Cell* 27:450-461), 结合首先 (经由CD28) 启动T-细胞增殖, 然后抑制它 (经由CTLA-4的新生表达), 从而当不再需要增殖时阻抑该作用。

[0037] B.PD-1和B7-H1/B7-DC

[0038] 程序性死亡-1 ("PD-1", 还称为"CD279") 是广泛负调节免疫应答的T-细胞调节剂的扩展的CD28/CTLA-4家族的I型膜蛋白成员 (Ishida,Y.等人, (1992) "Induced Expression Of PD-1,A Novel Member Of The Immunoglobulin Gene Superfamily,Upon Programmed Cell Death," *EMBO J.*11:3887-3895; 美国专利申请公开号2007/0202100; 2008/0311117; 2009/00110667; 美国专利号6,808,710; 7,101,550; 7,488,802; 7,635,757; 7,722,868; PCT公开号W0 01/14557)。

[0039] 虽然PD-1和CTLA-4皆提供抑制性免疫信号, 但是由PD-1提供的信号随后在疾病过程中上升, 并且可通过限制响应疾病的T-细胞的初始产量 ("突发 (burst)") 而充分减弱免疫应答。因此, 这类PD-1可部分地将潜在有效的T-细胞应答转化为耐受性中的一种

(Topalian, S.L. 等人, (2015) “Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy,” *Cancer Cell* 27:450-461)。

[0040] PD-1系统的受体-配体相互作用似乎比CD28/CTLA-4系统的那些甚至更复杂。PD-1在激活的T-细胞、B-细胞和单核细胞的细胞表面上表达 (Agata, Y. 等人, (1996) “Expression Of The PD-1 Antigen On The Surface Of Stimulated Mouse T And B Lymphocytes,” *Int. Immunol.* 8 (5):765-772; Yamazaki, T. 等人, (2002) “Expression Of Programmed Death 1 Ligands By Murine T-Cells And APC,” *J. Immunol.* 169:5538-5545), 并且以低水平在天然杀伤 (NK) T-细胞中表达 (Nishimura, H. 等人, (2000) “Facilitation Of Beta Selection And Modification Of Positive Selection In The Thymus Of PD-1-Deficient Mice,” *J. Exp. Med.* 191:891-898; Martin-Orozco, N. 等人, (2007) “Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity,” *Semin. Cancer Biol.* 17 (4):288-298)。

[0041] PD-1的胞外区由与CTLA-4中的等同结构域具有23%同一性的单一免疫球蛋白 (Ig) V结构域组成 (Martin-Orozco, N. 等人, (2007) “Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity,” *Semin. Cancer Biol.* 17 (4):288-298)。细胞外IgV结构域后面是跨膜区和胞内尾部。胞内尾部包含位于基于免疫受体酪氨酸的抑制性基序和基于免疫受体酪氨酸的转换基序中的两个磷酸化位点, 这表明PD-1负调节TCR信号 (Ishida, Y. 等人, (1992) “Induced Expression Of PD-1, A Novel Member Of The Immunoglobulin Gene Superfamily, Upon Programmed Cell Death,” *EMBO J.* 11:3887-3895; Blank, C. 等人, (2006) “Contribution Of The PD-L1/PD-1 Pathway To T-Cell Exhaustion: An Update On Implications For Chronic Infections And Tumor Evasion Cancer,” *Immunol. Immunother.* 56 (5):739-745)。

[0042] PD-1通过结合B7-H1和B7-DC (也称为PD-L1和PD-L2) 介导其对免疫系统的抑制 (Flies, D.B. 等人, (2007) “The New B7s: Playing a Pivotal Role in Tumor Immunity,” *J. Immunother.* 30 (3):251-260; 美国专利号6,803,192; 7,794,710; 美国专利申请公开号2005/0059051; 2009/0055944; 2009/0274666; 2009/0313687; PCT公开号W0 01/39722; W0 02/086083)。

[0043] B7-H1和B7-DC在许多类型的人和鼠科组织的表面上广泛表达, 所述组织如心脏、胎盘、肌肉、胎肝、脾、淋巴结和胸腺以及鼠科肝、肺、肾、胰腺的胰岛细胞以及小肠 (Martin-Orozco, N. 等人, (2007) “Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity,” *Semin. Cancer Biol.* 17 (4):288-298)。在人类中, B7-H1蛋白质表达已经在以下中发现: 人类内皮细胞 (Chen, Y. 等人, (2005) “Expression of B7-H1 in Inflammatory Renal Tubular Epithelial Cells,” *Nephron. Exp. Nephrol.* 102:e81-e92; de Haij, S. 等人, (2005) “Renal Tubular Epithelial Cells Modulate T-Cell Responses Via ICOS-L And B7-H1” *Kidney Int.* 68:2091-2102; Mazanet, M.M. 等人, (2002) “B7-H1 Is Expressed By Human Endothelial Cells And Suppresses T-Cell Cytokine Synthesis,” *J. Immunol.* 169:3581-3588)、心肌 (Brown, J.A. 等人, (2003) “Blockade Of Programmed Death-1 Ligands On Dendritic Cells Enhances T-Cell Activation And Cytokine Production,” *J. Immunol.* 170:1257-1266)、合胞体滋养层 (Petroff, M.G. 等人, (2002) “B7

Family Molecules:Novel Immunomodulators At The Maternal-Fetal Interface,” Placenta 23:S95-S101)。分子也通过一些组织的驻留型巨噬细胞、通过已经经干扰素 (IFN)- γ 或肿瘤坏死因子 (TNF)- α 激活的巨噬细胞表达 (Latchman,Y.等人,(2001) “PD-L2 Is A Second Ligand For PD-1 And Inhibits T-Cell Activation,”Nat.Immunol 2: 261-268) 以及在肿瘤中表达 (Dong,H.(2003) “B7-H1 Pathway And Its Role In The Evasion Of Tumor Immunity,”J.Mol.Med.81:281-287)。

[0044] 已发现B7-H1和PD-1之间的相互作用向T细胞和B细胞提供关键的负共刺激信号 (Martin-Orozco,N.等人,(2007) “Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity,”Semin.Cancer Biol.17 (4):288-298),并且用作细胞死亡诱导物 (Ishida,Y.等人,(1992) “Induced Expression Of PD-1,A Novel Member Of The Immunoglobulin Gene Superfamily,Upon Programmed Cell Death,”EMBO J.11:3887-3895;Subudhi,S.K.等人,(2005) “The Balance Of Immune Responses:Costimulation Verse Coinhibition,”J.Molec.Med.83:193-202)。更具体的,已发现低浓度PD-1受体和B7-H1配体之间的相互作用导致抑制性信号的传输,所述抑制性信号强烈抑制抗原特异性CD8⁺T细胞的增殖;在更高浓度,与PD-1的相互作用未抑制T细胞增殖,但是明显地降低多种细胞因子的产生 (Sharpe,A.H.等人,(2002) “The B7-CD28 Superfamily,”Nature Rev.Immunol.2:116-126)。已发现通过静息CD4和CD8 T细胞和先前激活的CD4和CD8 T细胞以及甚至来自脐带血的幼稚T-细胞进行的T-细胞增殖和细胞因子产生,受到可溶性B7-H1-Fc融合蛋白的抑制 (Freeman,G.J.等人,(2000) “Engagement Of The PD-1 Immuno-inhibitory Receptor By A Novel B7 Family Member Leads To Negative Regulation Of Lymphocyte Activation,”J.Exp.Med.192:1-9;Latchman,Y.等人,(2001) “PD-L2 Is A Second Ligand For PD-1 And Inhibits T-Cell Activation,”Nature Immunol.2:261-268;Carter,L.等人,(2002) “PD-1:PD-L Inhibitory Pathway Affects Both CD4(+) and CD8(+) T-cells And Is Overcome By IL-2,”Eur.J.Immunol.32 (3): 634-643;Sharpe,A.H.等人,(2002) “The B7-CD28 Superfamily,”Nature Rev.Immunol.2: 116-126)。

[0045] B7-H1和PD-1在抑制T细胞激活和增殖中的作用已经表明这些生物分子可用于治疗炎症和癌症的治疗用靶标。因此,已经提出使用抗-PD-1抗体治疗感染和肿瘤并且上调节适应性免疫应答 (参见,美国专利申请公开号2010/0040614;2010/0028330;2004/0241745;2008/0311117;2009/0217401;美国专利号7,521,051;7,563,869;7,595,048;PCT公开号W0 2004/056875;W0 2008/083174)。能够特异性结合PD-1的抗体已经由下述文献提出:Agata,T.等人,(1996) “Expression Of The PD-1 Antigen On The Surface Of Stimulated Mouse T And B Lymphocytes,”Int.Immunol.8 (5):765-772;和Berger,R.等人,(2008) “Phase I Safety And Pharmacokinetic Study Of CT-011,A Humanized Antibody Interacting With PD-1,In Patients With Advanced Hematologic Malignancies,”Clin.Cancer Res.14 (10):3044-3051 (也参见,美国专利号8,008,449和8,552,154;美国专利公开号2007/0166281;2012/0114648;2012/0114649;2013/0017199;2013/0230514和2014/0044738;和PCT专利公开号W0 2003/099196;W0 2004/004771;W0 2004/056875;W0 2004/072286;W0 2006/121168;W0 2007/005874;W0 2008/083174;W0

2009/014708;WO 2009/073533;WO 2012/135408,WO 2012/145549;和WO 2013/014668)。

[0046] 尽管在鉴定参与哺乳动物免疫应答的分子中的这类进步,对于治疗癌症和传染病的改进疗法仍存在需要。本发明涉及该目标和其它目标。

发明内容

[0047] 本发明涉及用于治疗癌症和病原体相关疾病的联合疗法,其包括施用:(1)能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子(例如,双抗体、ScFv、抗体、TandAb等),和(2)能够介导对表达疾病抗原的靶细胞(例如,癌细胞或病原体感染的细胞等)的重定向杀伤的分子(例如,双抗体、BiTe、双特异性抗体、CAR等)。本发明尤其涉及其中能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子是双特异性结合分子的实施方式,所述双特异性结合分子包含能够免疫特异性结合效应细胞的细胞表面分子的表位的第一表位结合位点和能够免疫特异性结合这类靶细胞(即,疾病抗原如癌抗原或病原体相关抗原)的表位的第二表位结合位点。本发明还涉及包含这类分子(一种或多种)的药物组合物。

[0048] 详细地,本发明提供用于治疗癌症或病原体相关疾病的方法,其包括向需要其的受试者施用治疗有效量的:

[0049] (1)能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子,和

[0050] (2)能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子,其中所述靶细胞是:

[0051] (a)表达癌抗原的癌细胞;或

[0052] (b)表达病原体相关抗原的病原体感染细胞。

[0053] 本发明尤其涉及其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子能够抑制PD-1和PD-1的天然配体之间的结合的这类方法的实施方式。

[0054] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中所述方法包括施用两种结合分子,其累计地包括三个表位-结合结构域,所述两种结合分子是:

[0055] (A)结合分子,其包含能够结合PD-1的抗体的表位-结合结构域或能够结合PD-1的天然配体的抗体的表位-结合结构域;和

[0056] (B)结合分子,其包含以下:

[0057] (1)能够结合效应细胞的细胞表面分子的抗体的表位-结合结构域;和

[0058] (2)能够结合靶细胞的癌抗原或病原体抗原的抗体的表位-结合结构域;

[0059] 其中所述结合分子(A)的表位-结合结构域能够结合PD-1或PD-1的天然配体,并且结合分子(B)的表位-结合结构域(1)和(2)能够介导对靶细胞的重定向杀伤。

[0060] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的结合分子包括双抗体、ScFv、抗体或TandAb,并且所述结合分子(B)包括双特异性双抗体、CAR、BiTe或双特异性抗体。

[0061] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的结合分子包含结合至PD-1的抗体的表位-结合结构域。

[0062] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的结合分子包含结合至PD-1的天然配体的抗体的表位-结合结构域。

[0063] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的结合分子包含能够结合PD-1的第二表位-结合结构域,其中这类表位-结合结构域:

[0064] (a) 竞争结合PD-1的相同表位;或

[0065] (b) 不竞争结合PD-1的相同表位。

[0066] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中PD-1表位-结合结构域能够同时结合至相同的PD-1分子。

[0067] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的结合分子包含能够结合PD-1的天然配体的第二表位-结合结构域,其中这类表位-结合结构域:

[0068] (a) 竞争结合至PD-1的这类天然配体的相同表位;或

[0069] (b) 不竞争结合至PD-1的这类天然配体的相同表位。

[0070] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中PD-1配体-表位-结合结构域能够同时结合PD-1的天然配体的相同分子。

[0071] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的结合分子包含第二表位-结合结构域,其能够结合不是PD-1或PD-1的天然配体的分子的表位。

[0072] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中第二表位-结合结构域结合CD137、LAG-3、OX40、TIGIT、TIM-3或VISTA的表位。

[0073] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中能够介导对靶细胞的重定向杀伤的结合分子包含能够结合效应细胞的细胞表面分子的第三表位-结合结构域。

[0074] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中能够介导对靶细胞的重定向杀伤的结合分子的第三表位结合-结构域能够结合效应细胞的不同细胞表面分子,以使能够介导重定向杀伤的结合分子能够结合效应细胞的两种不同细胞表面分子。

[0075] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中能够介导对靶细胞的重定向杀伤的结合分子包含能够结合至靶细胞的癌抗原或病原体相关抗原的第三表位-结合结构域。

[0076] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中能够介导对靶细胞的重定向杀伤的结合分子的第三表位结合-结构域能够结合靶细胞的不同癌抗原或不同病原体抗原,以使能够介导重定向杀伤的结合分子能够结合至靶细胞的两种不同癌抗原或两种不同病原体抗原。

[0077] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中效应细胞的细胞表面分子选自:CD2、CD3、CD8、CD16、TCR和NKG2D。

[0078] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中所述癌抗原选自以下癌抗原:19.9、4.2、A33、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、 β -联蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、C017-1A、C0-43、C0-514、CTA-1、CTLA-4、细胞角蛋白8、D1.1、D156-22、DR5、E₁系列、EGFR、肝配蛋白受体、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神经节苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳头瘤病毒-E6/人乳头瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13R α 2、整联蛋白 β 6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4全癌抗原、L6、L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、间皮素、MUC-1、MUM-1、My1、N-乙酰葡萄糖氨基转移酶、拟糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制癌蛋白M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸盐

(prostatic acid phosphate)、R24、ROR1、鞘脂类、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T细胞受体衍生的肽、T5A7、TAG-72、TL5、TNF-受体、TNF- γ 受体、TRA-1-85、转铁蛋白受体、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受体、VEP8、VEP9、VIM-D5和Y半抗原Le^y。

[0079] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中所述方法包括施用药物组合物,并且其中所述病原体相关抗原选自以下病原体相关抗原:单纯疱疹病毒感染的细胞蛋白质(ICP) 47、单纯疱疹病毒gD、爱泼斯坦-巴尔病毒(Epstein-Barr) LMP-1、爱泼斯坦-巴尔病毒LMP-2A、爱泼斯坦-巴尔病毒LMP-2B、人免疫缺陷病毒gp160、人免疫缺陷病毒gp120、人免疫缺陷病毒gp41等)、人乳头瘤病毒E6、人乳头瘤病毒E7、人T-细胞白血病毒gp64、人T-细胞白血病毒gp46和人T-细胞白血病毒gp21。

[0080] 本发明进一步提供药物组合物,其包含:

[0081] (A) 治疗有效量的:

[0082] (1) 能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子,和

[0083] (2) 能够介导对表达癌抗原或病原体抗原的靶细胞的重定向杀伤的分子;和

[0084] (B) 药学可接受的载体。

[0085] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中所述药物组合物包含两种结合分子,其累计地包含三个表位-结合结构域,所述两种结合分子是:

[0086] (A) 结合分子,其包含能够结合PD-1的抗体的表位-结合结构域

[0087] 或能够结合PD-1的天然配体的抗体的表位-结合结构域;和

[0088] (B) 结合分子,其包含以下:

[0089] (1) 能够结合效应细胞的细胞表面分的抗体的表位-结合结构域;和

[0090] (2) 能够结合靶细胞的癌抗原或病原体相关抗原的抗体的表位-结合结构域;

[0091] 其中结合分子(A)的表位-结合结构域能够结合PD-1或PD-1的天然配体,并且结合分子(B)的表位-结合结构域(1)和(2)能够介导对靶细胞的重定向杀伤。

[0092] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中所述结合分子(A)包括双抗体、ScFv、抗体或TandAb,并且所述结合分子(B)包括双抗体、CAR、BiTe或双特异性抗体。

[0093] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述分子包含结合至PD-1的抗体的表位-结合结构域。

[0094] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述分子包含结合至PD-1的天然配体的抗体的表位-结合结构域。

[0095] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述分子包含能够结合PD-1的第二表位-结合结构域,其中这类PD-1-表位-结合结构域:

[0096] (a) 竞争结合至PD-1的相同表位;或

[0097] (b) 不竞争结合PD-1的相同表位。

[0098] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中所述PD-1表位-结合结构域能够同时结合相同PD-1分子。

[0099] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述结合分子包含能够结合PD-1的天然配体的第二表位-结合结构域,其中这类表位-结合结构域:

[0100] (a) 竞争结合至PD-1的这类天然配体的相同表位;或

[0101] (b) 不竞争结合至PD-1的这类天然配体的相同表位。

[0102] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中所述PD-1配体表位-结合结构域能够同时结合PD-1的天然配体的相同分子。

[0103] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的所述结合分子包含第二表位-结合结构域,其能够结合不是PD-1或PD-1的天然配体的分子的表位。

[0104] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中第二表位-结合结构域结合CD137、LAG-3、OX40、TIGIT、TIM-3或VISTA的表位。

[0105] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中能够介导对靶细胞的重定向杀伤的所述分子包含第三表位-结合结构域,其中这样的三个表位-结合结构域能够同时结合,并且其中第三表位-结合位点能够结合效应细胞的细胞表面分子的表位。

[0106] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中能够介导对靶细胞的重定向杀伤的结合分子的第三表位结合-结构域能够结合效应细胞的不同细胞表面分子,以使能够介导重定向杀伤的所述结合分子能够结合效应细胞的两种不同细胞表面分子。

[0107] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中能够介导对靶细胞的重定向杀伤的所述结合分子包含能够结合至靶细胞的癌抗原或病原体相关抗原的第三表位-结合结构域。

[0108] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中能够介导对靶细胞的重定向杀伤的结合分子的第三表位结合-结构域能够结合靶细胞的不同癌抗原或不同病原体相关抗原,以使能够介导重定向杀伤的所述结合分子能够结合至靶细胞的两种不同癌抗原或两种不同病原体相关抗原。

[0109] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中效应细胞的细胞表面分子选自:CD2、CD3、CD8、CD16、TCR和NKG2D。

[0110] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中癌抗原选自以下癌抗原:19.9、4.2、A33、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、 β -联蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、细胞角蛋白8、D1.1、D156-22、DR5、E₁系列、EGFR、肝配蛋白受体、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神经节苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳头瘤病毒-E6/人乳头瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13R α 2、整联蛋白 β 6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4全癌抗原、L6、L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、间皮素、MUC-1、MUM-1、My1、N-乙酰葡萄糖氨基转移酶、拟糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制癌蛋白M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸盐、R₂₄、ROR1、鞘脂类、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T细胞受体衍生的肽、T₅A₇、TAG-72、TL5、TNF-受体、TNF- γ 受体、TRA-1-85、转铁蛋白受体、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受体、VEP8、VEP9、VIM-D5和Y半抗原Le^y。

[0111] 本发明进一步涉及这类药物组合物的实施方式,其中所述病原体相关抗原选自以下病原体抗原:单纯疱疹病毒感染的细胞蛋白质(ICP)47、单纯疱疹病毒gD、爱泼斯坦-巴尔

病毒LMP-1、爱泼斯坦-巴尔病毒LMP-2A、爱泼斯坦-巴尔病毒LMP-2B、人免疫缺陷病毒gp160、人免疫缺陷病毒gp120、人免疫缺陷病毒gp41等)、人乳头瘤病毒E6、人乳头瘤病毒E7、人T-细胞白血病病毒gp64、人T-细胞白血病病毒gp46和人T-细胞白血病病毒gp21。

[0112] 本发明进一步提供包括任何上述药物组合物的试剂盒,其中其结合分子以一个或多个容器被分开(compartmentalized)。

附图说明

[0113] 图1提供了具有两个表位-结合结构域的代表性共价结合双抗体的示意图,其中所述双抗体由两条多肽链构成,每一条多肽链各具有E-螺旋或K-螺旋异源二聚体促进结构域(以下提供了可选的异源二聚体促进结构域)。半胱氨酸残基可存在于连接体和/或异源二聚体促进结构域中,如图3B中显示的。使用相同底纹或填充式样显示识别相同表位的VL和VH结构域。

[0114] 图2提供具有两个表位-结合结构域的代表性共价结合的双抗体分子的示意图,所述双抗体由两条多肽链构成,每一条多肽链各具有CH2和CH3结构域,以使缔合的链形成Fc结构域的全部或部分。使用相同底纹或填充式样显示识别相同表位的VL和VH结构域。

[0115] 图3A-3C提供显示具有四个表位-结合结构域的代表性共价结合的四价双抗体的示意图,所述双抗体由两对多肽链(即,总计四条多肽链)构成。每对中的一条多肽具有CH2和CH3结构域,以使缔合的链形成Fc结构域的全部或部分。使用相同底纹或填充式样显示识别相同表位的VL和VH结构域。两对多肽链可相同。在其中两对多肽链相同并且VL和VH结构域识别不同表位(如图3A-3B中显示的)的这类实施方式中,所得分子具备四个表位-结合结构域并且就每个结合的表位而言是双特异性和二价的。在其中VL和VH结构域识别相同表位(例如,在两条链上使用相同VL结构域CDR和相同VH结构域CDR)的这类实施方式中,所得分子具备四个表位-结合结构域并且相对于单表位而言是单特异性的和四价的。可选地,两对多肽可不同。在其中两对多肽链不同并且每对多肽的VL和VH结构域识别不同表位(如由图3C中的不同底纹和样式所显示的)的这类实施方式中,所得分子具备四个表位-结合结构域并且相对于每个结合的表位而言是四特异性的和单价的。图3A显示了含Fc结构域的双抗体,其包含含有半胱氨酸残基的肽异源二聚体促进结构域。图3B显示了含Fc结构域的双抗体,其包含含有半胱氨酸残基和连接体(具有任选的半胱氨酸残基)的E-螺旋和K-螺旋异源二聚体促进结构域。图3C显示了含Fc结构域的双抗体,其包含抗体CH1和CL结构域。

[0116] 图4A-4B提供了具有两个表位-结合结构域的代表性共价结合的双抗体分子的示意图,所述双抗体分子由三条多肽链构成。多肽链中的两条具备CH2和CH3结构域,以使缔合的链形成Fc结构域的全部或部分。包含VL和VH结构域的多肽链进一步包含异源二聚体促进结构域。使用相同底纹或填充式样显示识别相同表位的VL和VH结构域。

[0117] 图5提供了具有四个表位-结合结构域的代表性共价结合的双抗体分子的示意图,所述双抗体分子由五条多肽链构成。多肽链中的两条具备CH2和CH3结构域,以使缔合的链形成包含Fc结构域的全部或部分的Fc结构域。包含连接的VL和VH结构域的多肽链进一步包含异源二聚体促进结构域。使用相同底纹或填充式样显示识别相同表位的VL和VH结构域。

[0118] 图6A-6F提供了具有三个表位-结合结构域的代表性含Fc结构域的三价结合分子的示意图。图6A和6B分别示意性地阐释了包含两个双抗体型结合结构域和具有不同结构域

取向(其中所述双抗体型结合结构域在Fc结构域的N-末端或C-末端)的Fab型结合结构域的三价结合分子的结构域。图6A和6B中的分子包含四条链。图6C和6D分别示意性地阐释了三价结合分子的结构域,其包括在Fc结构域的N-末端的两个双抗体型结合结构域,和其中轻链和重链通过多肽间隔物连接的Fab型结合结构域,或scFv型结合结构域。图6E和6F中的三价结合分子分别示意性地阐释了三价结合分子的结构域,其包括在Fc结构域的C-末端的两个双抗体型结合结构域,和其中轻链和重链通过多肽间隔物连接的Fab型结合结构域,或scFv型结合结构域。图6C-6F中的三价结合分子包含三条链。使用相同底纹或填充式样显示识别相同表位的VL和VH结构域。

[0119] 图7显示了提供MHC^I^{-/-}小鼠的结果,所述小鼠已接受 5×10^6 LOX-IMVI人转移性黑色素瘤癌细胞(ID)和 10^6 人PBMC(IP),连同人源化抗-人PD-1抗体hPD-1 mAb7(1.2) IgG4(P)、CD3 x B7-H3双特异性双抗体DART-A、连同hPD-1 mAb7(1.2) IgG4(P)和DART-A两者,或连同仅仅媒介物(对照)。

[0120] 图8A-8B显示了提供MHC^I^{-/-}小鼠的结果,所述小鼠已接受 5×10^6 Detroit562人转移性咽癌细胞(ID)和 10^6 人PBMC(IP),连同人源化抗-人PD-1抗体hPD-1 mAb7(1.2) IgG4(P)、CD3 x B7-H3双特异性双抗体DART-A、连同hPD-1 mAb7(1.2) IgG4(P)和DART-A两者,或连同仅仅媒介物(对照)。图8A显示了媒介物对照hPD-1 mAb7(1.2) IgG4(P) (Q7Dx5)、DART-A (Q7Dx5)和hPD-1 mAb7(1.2) IgG4(P) +DART-A (Q7Dx5)的结果。图8B显示了媒介物对照hPD-1 mAb7(1.2) IgG4(P) (Q7Dx5)、DART-A (Q7Dx5)、hPD-1 mAb7(1.2) IgG4(P) +DART-A (Q7Dx5)和hPD-1 mAb7(1.2) IgG4(P) +DART-A (Q14Dx3)的结果。

[0121] 图9显示了对施用本发明联合疗法的效果的研究结果。结果显示受体动物的免疫应答的增强,如通过其CD3⁺细胞的浓度增加所确定的。

[0122] 图10A-10B显示了在荧光素酶报告测定中对于本发明联合疗法对T-细胞信号转导的作用的研究结果。以1:1(图10A)或3:1(图10B)的效应子:靶细胞比将表达PD-1和B7-H3的MDA-MB-231肿瘤靶细胞与MNFAT-luc2/PD-1 Jurkat T-细胞混合,并且在存在增加浓度的DART-A的情况下单独培养或与固定浓度(12.5nM)的PD-1结合分子hPD-1 mAb7(1.2) IgG4(P)、DART-1或对照抗体(hIgG)一起培养。这些结果显示在存在两种分子时信号转导活性的增强,如通过增加的光照所测定的。

[0123] 图11A-11B显示在存在无反应性T-细胞的情况下施用本发明联合疗法降低肿瘤复发。NOG小鼠已接受 5×10^6 A375 INF γ 处理的黑色素瘤细胞和 5×10^6 激活的或无反应性人T-细胞以及仅仅媒介物、0.5mg/kg DART-2 (Q7Dx4)、0.5mg/kg DART-B (QDx1)或0.5mg/kg DART-2 (Q7Dx4)和0.5mg/kg DART-B (QDx1)两者。图11A显示接受激活的T-细胞的小鼠的结果,并且图11B显示接受无反应性T-细胞的小鼠的结果。

[0124] 图12A-12H说明了相对于单独施用任一分子能够结合PD-1的分子和能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子的组合疗法的出乎意料的优点。作为时间的函数测量A375黑色素瘤细胞引起的肿瘤体积且将其在图12A-12H中绘制。图12A显示通过第50天的组1、2、5和6的结果;图12B-12H显示对于组2(图12B)、对于组5(图12C)、组6(图12D)、组3(图12E)、组7(图12F)、组4(图12G)和组8(图12H)的单个动物的通过第80天的蜘蛛图。

具体实施方式

[0125] 本发明涉及用于治疗癌症和病原体相关疾病的联合疗法,其包括施用:(1)能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子(例如,双抗体、ScFv、抗体、TandAb等),和(2)能够介导对表达疾病抗原的靶细胞(例如,癌细胞或病原体感染的细胞等)的重定向杀伤的分子(例如,双抗体、BiTe、双特异性抗体、CAR等)。本发明尤其涉及其中能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子是双特异性结合分子的实施方式,所述双特异性结合分子包含能够免疫特异性结合效应细胞的细胞表面分子的表位的第一表位结合位点和能够免疫特异性结合这类靶细胞的表位(即,疾病抗原如癌抗原或病原体相关抗原)的第二表位结合位点。本发明还涉及保护这类分子(一种或多种)的药物组合物。

[0126] 本发明分子的结合结构域以“免疫特异性”方式结合表位。如本文使用的,如果抗体、双抗体或其它表位结合分子,相对于可选的表位,与另一分子的区域(即,表位)更经常、更快速、以更长的持久性和/或以更大的亲和力反应或缔合,则认为抗体、双抗体或其它表位结合分子“免疫特异性”结合该表位。例如,免疫特异性地结合至病毒表位的抗体是这样的抗体,该抗体以比其免疫特异性地结合至其它病毒表位或非病毒表位更大的亲和力、亲合力、更容易和/或以更长的持久性结合该病毒表位。通过阅读该定义也可理解,例如,免疫特异性地结合至第一靶标的抗体(或部分或表位)可以特异性地或优先地结合第二靶标或不特异性地或优先地结合第二靶标。因此,“免疫特异性结合”不一定要(尽管其可包括)排它性结合。一般而言,但是不是必须的,提及结合意指“免疫特异性”结合。如果这类结合展示受体结合其各自配体的特异性,则认为这两种分子能够以“生理特异性(physiospecific)”方式彼此结合。

[0127] 如以上指出的,本发明的治疗分子特别包括双特异性结合分子,其包含能够免疫特异性结合效应细胞的细胞表面分子的表位的表位-结合位点以及还有能够免疫特异性地结合表达疾病抗原的靶细胞的表位的表位-结合位点。如本文使用的,术语“疾病抗原”表示这样的抗原:其在异常细胞或受感染的细胞的表面上表达,并且是这类异常或感染所特有的,或其在外源细胞的表面上表达并且是这类外来来源所特有的。如本文使用的,在其细胞表面上表达疾病抗原并且因此被本发明治疗分子结合并且从而被这类治疗分子靶向用于杀伤的细胞是“靶细胞”。与本发明具体相关的是作为“癌抗原”或“病原体相关抗原”的疾病抗原。

[0128] I. 抗体和其结合结构域

[0129] 本发明结合分子可以是抗体。“抗体”是能够通过位于免疫球蛋白分子的可变结构域中的至少一种抗原识别位点而特异性结合靶标如碳水化合物、多核苷酸、脂质、多肽等的免疫球蛋白分子。如本文使用的,术语“抗体(antibody)”和“抗体(antibodies)”指单克隆抗体、多特异性抗体、人抗体、人源化抗体、合成抗体、嵌合抗体、多克隆抗体、骆驼化(camelized)抗体、单链Fvs(scFv)、单链抗体、Fab片段、F(ab')片段、二硫键连接的双特异性Fvs(sdFv)、胞内抗体以及任何上述抗体或片段的表位-结合片段。具体的,术语“抗体”包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫学活性片段,即,包含表位-结合位点的分子。免疫球蛋白分子可属于任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如,IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁和IgA₂)或子类。由于在这类分子上存在特定结构域或部分或构象(“表位”),抗体能够“免疫特异性地结合”多肽或蛋白质或非蛋白质分子。含表位的分子可具有

免疫原活性,以使其在动物中引发抗体产生应答;这类分子称为“抗原”。最近几十年,已经见证了对抗体的治疗潜力的兴趣的复兴,并且抗体已经成为一种领先类别的生物技术衍生的药物(Chan,C.E.等人,(2009)“The Use Of Antibodies In The Treatment Of Infectious Diseases,”Singapore Med.J.50 (7):663-666)。超过200种基于抗体的药物已经被批准使用或在开发中。

[0130] 术语“单克隆抗体”指同质型(homogeneous)抗体群体,其中单克隆抗体包括参与抗原的选择性结合的氨基酸(天然产生的或非天然产生的)。单克隆抗体是高度特异性的,直接针对单个表位(或抗原位点)。术语“单克隆抗体”不仅仅包括完整的单克隆抗体和全长单克隆抗体,而且也包括其片段(比如Fab、Fab'、F(ab')₂Fv片段等)、单链(scFv)结合分子及其突变体、包括抗体部分的融合蛋白、人源化的单克隆抗体、嵌合单克隆抗体和包括具有结合抗原的必要的特异性和能力的抗原识别位点的免疫球蛋白分子的任何其他修饰构造(configuration)。就抗体的来源或制备其的方式(例如,通过杂交瘤、噬菌体选择、重组表达、转基因动物等)而言,不旨在是限制性的。术语包括完整的免疫球蛋白以及上面根据“抗体”的定义描述的片段等。制备单克隆抗体的方法是本领域已知的。可采用的一种方法是Kohler,G.等(1975)“Continuous Cultures Of Fused Cells Secreting Antibody Of Predefined Specificity,”Nature 256:495-497的方法或其改良。典型地,单克隆抗体在小鼠、大鼠或兔子中开发。通过用免疫原性量的细胞、细胞提取物或包含期望的表位的蛋白质制品免疫动物而产生抗体。免疫原可以是但不限于原代细胞、培养细胞系、癌细胞、蛋白质、肽、核酸或组织。用于免疫的细胞可被培养一段时间(例如,至少24小时),然后将它们用作免疫原。细胞它们本身或联合非变性佐剂,比如Ribi,可用作免疫原(见,例如,Jennings,V.M.(1995)“Review of Selected Adjuvants Used in Antibody Production,”ILAR J.37 (3):119-125)。一般而言,在用作免疫原时,细胞应保持完整并且优选地有活性。相比于破裂的细胞,完整的细胞可允许抗原被免疫的动物更好地检测。变性或烈性佐剂,例如,弗氏佐剂的使用,可使细胞破裂,因此,其应用受阻。免疫原可以周期性间隔被多次施用,诸如两周一次或一周一次,或者可以以维持在动物(例如,在组织重组体中)中的生存力这样的方式被施用。可选地,对于期望的致病表位是免疫特异性的现有单克隆抗体和任意其他等价抗体可被测序,并通过本领域中已知的任意手段重组产生。在一个实施方式中,对这样的抗体测序,然后将多核苷酸序列克隆至载体用于表达或增殖。编码感兴趣的抗体的序列可在宿主细胞中保持在载体中,并且,可然后扩展和冷冻宿主细胞,用于将来的使用。这样的抗体的多核苷酸序列可用于基因操作,以产生本发明的单特异性或多特异性(例如,双特异性、三特异性和四特异性)分子以及亲和力优化的嵌合抗体、人源化抗体和/或犬源化(caninized)抗体,以改善抗体的亲和力或其他特征。人源化抗体的一般原理涉及保留抗体的抗原结合的部分的基本序列,同时用人抗体序列交换抗体的非人剩余部分。

[0131] 天然抗体(如IgG抗体)由与两条“重链”复合的两条“轻链”构成。每条轻链包含可变结构域(“VL”)和恒定结构域(“CL”)。每条重链包含可变结构域(“VH”)、三个恒定结构域(“CH1”、“CH2”和“CH3”)和位于CH1和CH2结构域之间的“铰链”区(“H”)。相比之下,scFvs是通过经由短连接肽将轻链和重链可变结构域连接在一起而制备的单链分子。

[0132] 因此,天然产生的免疫球蛋白(例如,IgG)的基本结构单元因此是具有两条轻链和两条重链的四聚体,通常作为约150,000Da的糖蛋白被表达。每条链的氨基端(“N-末端”)部

分包括主要负责抗原识别的约100至110或更多氨基酸的可变结构域。每条链的羧基端(“C-末端”)部分限定了恒定区,其中轻链具有单个恒定结构域而重链通常具有三个恒定结构域和铰链结构域。因此,IgG分子的轻链的结构是n-VL-CL-c并且IgG重链的结构是n-VH-CH1-H-CH2-CH3-c(其中n和c分别表示多肽的N-末端和C-末端)。

[0133] A. 抗体可变结构域的特征

[0134] IgG分子的可变结构域由互补决定区(“CDR”)和称为框架区段(“FR”)的非CDR区段组成,所述互补决定区(“CDR”)包含与表位接触的残基,所述框架区段一般维持结构和决定CDR环的定位,以便允许这类接触(尽管某些框架残基也可接触抗原)。因此,VL和VH结构域具有结构n-FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4-c。是(或可用作)抗体轻链的第一、第二和第三CDR的多肽在本文分别命名为:CDRL1结构域、CDRL2结构域和CDRL3结构域。类似地,是(或可用作)抗体重链的第一、第二和第三CDR的多肽在本文分别命名为:CDRH1结构域、CDRH2结构域和CDRH3结构域。因此,术语CDRL1结构域、CDRL2结构域、CDRL3结构域、CDRH1结构域、CDRH2结构域和CDRH3结构域指当并入到蛋白质中时使得该蛋白质能够结合特异性表位的多肽,无论这样的蛋白质是具有轻链和重链的抗体还是双抗体或单链结合分子(例如,scFv、BiTe等)或是另一类型的蛋白质。因此,如本文所使用,术语“表位结合片段”表示能够免疫特异性结合表位的分子。表位结合片段可包含抗体的1、2、3、4或5个CDR结构域,或可包含抗体的所有6个CDR结构域,并且尽管能够免疫特异性结合这类表位,但可展示对与这样的抗体的表位不同的这样的表位的特异性、亲和力或选择性。但是,优选地,表位结合片段将包含这类抗体的所有6个CDR结构域。抗体的表位结合片段可以是单个多肽链(例如,scFv),或可包括两条或更多条多肽链,每条链均具有氨基末端和羧基末端(例如,双抗体、Fab片段、Fab₂片段等)。除非具体指出,否则本文所述的蛋白质分子的结构域的顺序是从“N-末端至C-末端”方向。

[0135] 本发明还特别包括表位-结合分子,其包含人源化抗体的VL和/或VH结构域。术语“人源化抗体”指一般使用重组技术制备的嵌合分子,其具有来自非人物种的免疫球蛋白的表位-结合位点和基于人免疫球蛋白的结构和/或序列的分子的剩余免疫球蛋白结构。这类抗体的可变结构域的多核苷酸序列可用于遗传操作,以产生这类衍生物和改善这类抗体的亲和力或其他特征。人源化抗体的一般原则涉及保留抗体的表位结合部分的基本序列,同时用人抗体序列交换抗体的非人剩余部分。人源化单克隆抗体有四个基本步骤。这些是:(1) 确定开始抗体轻链和重链可变结构域的核苷酸和预测的氨基酸序列;(2) 设计人源化抗体或犬源化抗体,即,决定在人源化或犬源化过程中使用哪种抗体框架区域;(3) 实际人源化或犬源化方法/技术;和(4) 转染和表达人源化抗体。见,例如,美国专利号4,816,567、5,807,715、5,866,692和6,331,415。

[0136] 表位-结合位点可包括融合到恒定结构域融合上的完整的可变结构域或仅仅包括移植至适当框架区的这类可变结构域的互补决定区(CDR)。表位结合结构域可以是野生型或通过一个或多个氨基酸取代被修饰。这消除了人个体中作为免疫原的恒定区,但是仍保留对外源可变结构域的免疫应答的可能性(LoBuglio, A.F.等(1989) “Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224)。另一种方法不仅仅关注提供源自人的恒定区,而且也修饰可变结构域,以便重塑它们使其尽可能地与人形式接近。已知重链和轻链的

可变结构域都包含三个互补决定区 (CDR), 侧翼是四个框架区 (FR), 所述互补决定区 (CDR) 对所讨论的抗原响应不同并且决定结合能力, 所述框架区 (FR) 在给定物种中相对保守并且推定其为 CDR 提供支架。当针对特定抗原制备非人抗体时, 通过将源自非人抗体的 CDR 移植在待修饰的人抗体中存在的 FR 上可“重塑”或“人源化”可变结构域。已经报道了该方法应用于各种抗体: Sato, K. 等 (1993) *Cancer Res* 53:851-856; Riechmann, L. 等 (1988) “Reshaping Human Antibodies for Therapy,” *Nature* 332:323-327; Verhoeyen, M. 等 (1988) “Reshaping Human Antibodies: Grafting An Antilysozyme Activity,” *Science* 239:1534-1536; Kettleborough, C.A. 等 (1991) “Humanization Of A Mouse Monoclonal Antibody By CDR-Grafting: The Importance Of Framework Residues On Loop Conformation,” *Protein Engineering* 4:773-3783; Maeda, H. 等 (1991) “Construction Of Reshaped Human Antibodies With HIV-Neutralizing Activity,” *Human Antibodies Hybridoma* 2:124-134; Gorman, S.D. 等 (1991) “Reshaping A Therapeutic CD4 Antibody,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 88:4181-4185; Tempest, P.R. 等 (1991) “Reshaping A Human Monoclonal Antibody To Inhibit Human Respiratory Syncytial Virus Infection in vivo,” *Bio/Technology* 9:266-271; Co, M.S. 等 (1991) “Humanized Antibodies For Antiviral Therapy,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 88:2869-2873; Carter, P. 等 (1992) “Humanization Of An Anti-p185her2 Antibody For Human Cancer Therapy,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 89:4285-4289; 和 Co, M.S. 等 (1992) “Chimeric And Humanized Antibodies With Specificity For The CD33 Antigen,” *J. Immunol.* 148:1149-1154。在一些实施方式中, 人源化抗体保留所有的 CDR 序列 (例如, 人源化鼠抗体, 其包含来自小鼠抗体的所有六个 CDR)。在其他实施方式中, 人源化抗体具有一个或多个 CDR (一个、两个、三个、四个、五个或六个), 其序列相对于初始抗体不同。

[0137] 已经描述了包含源自非人免疫球蛋白的表位结合位点的许多人源化抗体分子, 包括具有啮齿动物或修饰的啮齿动物可变结构域和它们与人恒定结构域融合的相关的互补决定区 (CDR) 的嵌合抗体 (见, 例如, Winter 等 (1991) “Man-made Antibodies,” *Nature* 349:293-299; Lobuglio 等 (1989) “Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 86:4220-4224 (1989), Shaw 等 (1987) “Characterization Of A Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody (17-1A) To A Colon Cancer Tumor-Associated Antigen,” *J. Immunol.* 138:4534-4538, and Brown 等 (1987) “Tumor-Specific Genetically Engineered Murine/Human Chimeric Monoclonal Antibody,” *Cancer Res.* 47:3577-3583)。其他参考文献描述了移植至人支撑框架区 (FR) 的啮齿动物 CDR, 其然后与适当的人抗体恒定结构域融合 (见, 例如, Riechmann, L. 等 (1988) “Reshaping Human Antibodies for Therapy,” *Nature* 332:323-327; Verhoeyen, M. 等 (1988) “Reshaping Human Antibodies: Grafting An Antilysozyme Activity,” *Science* 239:1534-1536; 和 Jones 等 (1986) “Replacing The Complementarity-Determining Regions In A Human Antibody With Those From A Mouse,” *Nature* 321:522-525)。另外的参考文献描述了由重组修饰的啮齿动物框架区支撑的啮齿动物 CDR。见, 例如, 欧洲专利公开号 519, 596。这些“人源化的”分子被设计, 以使对啮齿动物抗人抗体分子的不利免疫应答最小化, 所述不利免疫应答限制了这些部分在人接受

者中治疗应用的持续时间和效力。也可使用的人源化抗体的其他方法,其公开在以下文献中:Daugherty等(1991)“Polymerase Chain Reaction Facilitates The Cloning,CDR-Grafting,And Rapid Expression Of A Murine Monoclonal Antibody Directed Against The CD18 Component Of Leukocyte Integrins,”Nucl.Acids Res.19:2471-2476和美国专利号6,180,377、6,054,297、5,997,867和5,866,692。

[0138] B.抗体恒定区的特征

[0139] 遍及本说明书,在IgG重链的恒定区中的残基的编号是如Kabat等人的SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST,第五版,Public Health Service,NH1,MD(1991) (“Kabat”)的EU索引的编号,其通过引用明确并入本文。术语“Kabat中的EU索引”指人IgG1EU抗体的恒定结构域的编号。来自免疫球蛋白的成熟重链和轻链的可变结构域的氨基酸通过氨基酸在链中的位置而命名。Kabat描述了抗体的许多氨基酸序列,鉴定了每个子群的氨基酸共有序列,并且指定了每种氨基酸的残基编号,并且CDR如通过Kabat定义的被鉴定(应该理解,如通过Chothia,C.&Lesk,A.M.((1987)“Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins,”J.Mol.Biol.196:901-917)定义的,CDRH1提前五个残基开始)。通过参考保守的氨基酸比对所讨论的抗体与Kabat中的共有序列中的一条,Kabat的编号方案可扩展至未包括在其纲要中的抗体。用于赋予残基编号的该方法已经成为本领域的标准并且容易鉴定在不同抗体,包括嵌合或人源化的变体中相同位置处的氨基酸。例如,在人抗体轻链50位的氨基酸占据与在小鼠抗体轻链的50位氨基酸等同的位置。

[0140] 1.重链的恒定区:Fc结构域

[0141] 抗体的两条重链的CH1结构域与抗体的轻链的“CL”恒定区复合,并且经由间插铰链结构域连接至重链CH2结构域。

[0142] 示例性CH1结构域是人IgG1 CH1结构域。示例性人IgG1 CH1结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:1):

[0143]

```
ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRV
```

[0144] 示例性CH1结构域是人IgG2 CH1结构域。示例性人IgG2 CH1结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:2):

[0145]

```
ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVNHHKPS NTKVDKTV
```

[0146] 示例性CH1结构域是人IgG4 CH1结构域。示例性人IgG4 CH1结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:3):

[0147]

```
ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVNHHKPS NTKVDKRV
```

[0148] 一种示例性铰链结构域是人IgG1铰链结构域。示例性人IgG1铰链结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:4):EPKSCDKTHTCPPCP。

[0149] 另一示例性铰链结构域是人IgG2铰链结构域。示例性人IgG2铰链结构域的氨基酸

序列是 (SEQ ID NO:5): ERKCCVECPPCP。

[0150] 另一示例性铰链结构域是人IgG4铰链结构域。示例性人IgG4铰链结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:6): ESKYGPPCPSCP。如本文所述, IgG4铰链结构域可包含稳定化突变如S228P取代。示例性S228P-稳定化的人IgG4铰链结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:7): ESKYGPPCPPCP。

[0151] 抗体的两条重链的CH2和CH3结构域相互作用, 以形成“Fc结构域”, 其是由细胞Fc受体, 包括但不限于Fc γ 受体 (Fc γ R), 识别的结构域。如本文使用的, 术语“Fc结构域”用来限定IgG重链的C-末端区域。如果Fc结构域的氨基酸序列相对于其它IgG同种型与特定IgG同种型最同源, 则认为该Fc结构域属于该IgG同种型、类或子类。除了其在诊断剂中的已知用途, 还证明了抗体可用作治疗剂。

[0152] 示例性人IgG1的CH2-CH3结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:8):

```

231      240      250      260      270      280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
      290      300      310      320      330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
      340      350      360      370      380
[0153] PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
      390      400      410      420      430
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSV MHE
      440      447
ALHNHYTQKS LSLSPGX

```

[0154] 如通过Kabat中阐释的EU索引编号的, 其中X是赖氨酸 (K) 或不存在。

[0155] 示例性人IgG2的CH2-CH3结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:9):

```

231      240      250      260      270      280
APPVA-GPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD
      290      300      310      320      330
GVEVHNAKTK PREEQFNSTF RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA
      340      350      360      370      380
[0156] PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDISVE
      390      400      410      420      430
WESNGQPENN YKTTTPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSV MHE
      440      447
ALHNHYTQKS LSLSPGX

```

[0157] 如通过Kabat中阐释的EU索引编号的, 其中X是赖氨酸 (K) 或不存在。

[0158] 示例性人IgG3的CH2-CH3结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:10) :

231	240	250	260	270	280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFKWYVD					
	290	300	310	320	330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTF RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA					
	340	350	360	370	380
[0159]	PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE				
	390	400	410	420	430
WESSGQPENN YNTTPPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NIFSCSV MHE					
	440	447			
ALHNRFTQKS LSLSPG <u>X</u>					

[0160] 如通过Kabat中阐释的EU索引编号的,其中X是赖氨酸(K) 或不存在。

[0161] 示例性人IgG4的CH2-CH3结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:11) :

231	240	250	260	270	280
APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD					
	290	300	310	320	330
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS					
	340	350	360	370	380
[0162]	SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE				
	390	400	410	420	430
WESNGQPENN YKTPPVLD S DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSV MHE					
	440	447			
ALHNHYTQKS LSLSLG <u>X</u>					

[0163] 如通过Kabat中阐释的EU索引编号的,其中X是赖氨酸(K) 或不存在。

[0164] 在抗体恒定区中的许多不同位置(例如,Fc位置,包括但不限于270、272、312、315、356和358位,如在Kabat阐释的EU索引编号)处已经观察到了多态性,因此示出的序列和现有技术的序列之间可能存在轻微的差别。已经充分表征了人免疫球蛋白的多态性形式。目前,已知18个Gm同种异型:G1m(1、2、3、17)或G1m(a、x、f、z)、G2m(23)或G2m(n)、G3m(5、6、10、11、13、14、15、16、21、24、26、27、28)或G3m(b1、c3、b3、b0、b3、b4、s、t、g1、c5、u、v、g5)(Lefranc,等,“The Human IgG Subclasses:Molecular Analysis Of Structure, Function And Regulation.”Pergamon,Oxford,43-78页(1990);Lefranc,G.等1979, Hum.Genet.:50,199-211)。具体考虑本发明的抗体可并入任何免疫球蛋白基因的任何同种异型(allotype)、异同种异型(isoallotype)或单倍型(haplotype),并且不限于本文提供的序列的同种异型、异同种异型或单倍型。此外,在一些表达体系中,CH3结构域的C-末端氨

氨基酸残基(上面粗体显示的)可在翻译后去除。因此,CH3结构域的C-末端残基是本发明的结合分子中的任选的氨基酸残基。本发明具体考虑缺少CH3结构域的C-末端残基的结合分子。本发明也具体考虑包括CH3结构域的C-末端赖氨酸残基的这类构建体。

[0165] 2.轻链的恒定区

[0166] 如以上指出的,抗体的每条轻链包含可变结构域(“VL”)和恒定结构域(“CL”)。

[0167] 优选的CL结构域是人IgG CL κ 结构域。示例性人CL κ 结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:12):

RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG
[0168] NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK
SFNRGEC

[0169] 可选地,示例性CL结构域是人IgG CL λ 结构域。示例性人CL λ 结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:13):

QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA
[0170] GVETTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS

[0171] II.嵌合抗原受体

[0172] 能够介导对靶细胞(即,癌细胞、病原体感染的细胞等)的重定向杀伤的本发明结合分子可以可选地是单特异性单链分子,如并入能够结合癌抗原或病原体相关抗原的单链可变片段(scFv)的嵌合抗原受体(“CAR”)。如以上指出的,scFvs通过经由短连接肽将轻链和重链可变结构域连接在一起来制备。第一代CAR通常具有来自CD3 ζ -链的胞内结构域,其是来自内源性TCR的信号的主要递质。二代CAR在CAR的细胞质尾部具备来自各种共刺激蛋白质受体(例如,CD28、41BB、ICOS等)的另外的胞内信号转导结构域,以向T-细胞提供另外的信号。三代CAR结合多种信号转导结构域,如CD3 ζ -CD28-41BB或CD3 ζ -CD28-OX40,以进一步增强效价(Tettamanti,S.等人,(2013)“Targeting Of Acute Myeloid Leukaemia By Cytokine-Induced Killer Cells Redirected With A Novel CD123-Specific Chimeric Antigen Receptor,”Br.J.Haematol.161:389-401;Gill,S.等人,(2014)“Efficacy Against Human Acute Myeloid Leukemia And Myeloablation Of Normal Hematopoiesis In A Mouse Model Using Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells,”Blood 123(15):2343-2354;Mardiros,A.等人,(2013)“T Cells Expressing CD123-Specific Chimeric Antigen Receptors Exhibit Specific Cytolytic Effector Functions And Antitumor Effects Against Human Acute Myeloid Leukemia,”Blood 122:3138-3148;Pizzitola,I.等人,(2014)“Chimeric Antigen Receptors Against CD33/CD123 Antigens Efficiently Target Primary Acute Myeloid Leukemia Cells in vivo,”Leukemia doi:10.1038/leu.2014.62。

[0173] 本发明CAR的胞内结构域优选地选自下述任一项的胞内结构域:41BB-CD3 ζ 、b2c-CD3 ζ 、CD28、CD28-41BB-CD3 ζ 、CD28-CD3 ζ 、CD28-Fc ϵ RI γ 、CD28mut-CD3 ζ 、CD28-OX40-CD3 ζ 、CD28-OX40-CD3 ζ 、CD3 ζ 、CD4-CD3 ζ 、CD4-Fc ϵ RI γ 、CD8-CD3 ζ 、Fc ϵ RI γ 、Fc ϵ RI γ CAIX、Heregulin-CD3 ζ 、IL-13-CD3 ζ 或Ly49H-CD3 ζ (Tettamanti,S.等人,(2013)“Targeting Of Acute Myeloid Leukaemia By Cytokine-Induced Killer Cells Redirected With A Novel CD123-Specific Chimeric Antigen Receptor,”Br.J.Haematol.161:389-401;

Gill, S.等人, (2014) "Efficacy Against Human Acute Myeloid Leukemia And Myeloablation Of Normal Hematopoiesis In A Mouse Model Using Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells," Blood 123(15):2343-2354; Mardiros, A.等人, (2013) "T Cells Expressing CD123-Specific Chimeric Antigen Receptors Exhibit Specific Cytolytic Effector Functions And Antitumor Effects Against Human Acute Myeloid Leukemia," Blood 122:3138-3148; Pizzitola, I.等人, (2014) "Chimeric Antigen Receptors Against CD33/CD123 Antigens Efficiently Target Primary Acute Myeloid Leukemia Cells in vivo," Leukemia doi:10.1038/leu.2014.62)。

[0174] III. 双特异性抗体和多特异性双抗体

[0175] 抗体结合抗原表位的能力取决于抗体的VL和VH结构域的存在和氨基酸序列。抗体的轻链和重链的相互作用, 具体的, 其VL和VH结构域的相互作用形成天然抗体如IgG的两种表位-结合结构域中的一种。天然抗体能够结合仅一个表位种类(即, 它们是单特异性的), 尽管它们可结合该种类的多个拷贝(即, 展示二价或多价)。

[0176] 抗体的功能可通过以下手段得到增强: 产生基于多特异性抗体的分子, 其可同时结合两种单独的且不同的抗原(或相同抗原的不同表位); 和/或产生基于抗体的分子, 其对于相同的表位和/或抗原具有更高价(即, 多于两个结合位点)。

[0177] 为了提供具有比天然抗体更大能力的分子, 已经开发了各种重组双特异性抗体形式(见, 例如, PCT公布号WO 2008/003116、WO 2009/132876、WO 2008/003103、WO 2007/146968、WO 2009/018386、WO 2012/009544、WO 2013/070565), 其大部分使用连接肽, 所述连接肽与其他表位结合片段(例如, scFv、VL、VH等)融合或在抗体核心中(IgA、IgD、IgE、IgG或IgM)或与多个表位结合片段(例如, 两个Fab片段或scFvs)融合。可选的形式使用连接肽, 以将表位结合片段(例如, scFv、VL、VH等)与二聚化结构域, 比如CH2-CH3结构域, 或可选的多肽融合(WO 2005/070966、WO 2006/107786WO 2006/107617、WO 2007/046893)。PCT公开号WO 2013/174873、WO 2011/133886和WO 2010/136172公开了三特异性抗体, 其中CL和CH1结构域由其各自的天然位置被转变, 并且VL和VH结构域已经被多样化(WO 2008/027236、WO 2010/108127), 以允许它们结合大于一种抗原。PCT公开号WO 2013/163427和WO 2013/119903公开了修饰CH2结构域, 以包含包括结合结构域的融合蛋白加合物。PCT公开号WO 2010/028797、WO2010028796和WO 2010/028795公开了重组抗体, 其Fc结构域已经用另外的VL和VH结构域替换, 以便形成三价结合分子。PCT公开号WO 2003/025018和WO2003012069公开了重组双抗体, 其单个链包含scFv结构域。PCT公开号WO 2013/006544公开了多价Fab分子, 其作为单多肽链被合成, 然后经历蛋白酶解, 以产生异源二聚化结构。PCT公开号WO 2014/022540、WO 2013/003652、WO 2012/162583、WO 2012/156430、WO 2011/086091、WO 2008/024188、WO 2007/024715、WO 2007/075270、WO 1998/002463、WO 1992/022583和WO 1991/003493公开了添加另外的结合结构域或功能集团至抗体或抗体部分(例如, 添加双抗体至抗体的轻链或添加另外的VL和VH结构域至抗体的轻链和重链或添加异源融合蛋白或彼此链接多个Fab结构域)。

[0178] 本领域已经另外注意到产生在能够结合两个或多个不同表位种类(即, 除了双价或多价之外显示双特异性或多特异性)方面不同于这样的天然抗体的双抗体的能力(见, 例如, Holliger等人, (1993) "Diabodies": Small Bivalent And Bispecific Antibody

Fragments,”*Proc.Natl.Acad.Sci. (U.S.A.)* 90:6444-6448;US 2004/0058400 (Hollinger等人);US 2004/0220388/WO 02/02781 (Mertens等人);Alt等人,(1999) *FEBS Lett.* 454(1-2):90-94;Lu,D.等人,(2005) “A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity,”*J.Biol.Chem.* 280(20):19665-19672;WO 02/02781 (Mertens等人);Olafsen,T.等人,(2004) “Covalent Disulfide-Linked Anti-CEA Diabody Allows Site-Specific Conjugation And Radiolabeling For Tumor Targeting Applications,”*Protein Eng.Des.Sel.* 17(1):21-27;Wu,A.等人,(2001) “Multimerization Of A Chimeric Anti-CD20 Single Chain Fv-Fv Fusion Protein Is Mediated Through Variable Domain Exchange,”*Protein Engineering* 14(2):1025-1033;Asano等人,(2004) “A Diabody For Cancer Immunotherapy And Its Functional Enhancement By Fusion Of Human Fc Domain,” Abstract 3P-683,*J.Biochem.* 76(8):992;Takemura,S.等人,(2000) “Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System,”*Protein Eng.* 13(8):583-588;Baeuerle,P.A.等人,(2009) “Bispecific T-Cell Engaging Antibodies For Cancer Therapy,”*Cancer Res.* 69(12):4941-4944)。

[0179] 双抗体的设计是基于单链可变结构域片段(scFv)的结构,其中轻链和重链可变结构域使用短连接肽彼此连接。Bird等人(1988) (“Single-Chain Antigen-Binding Proteins,”*Science* 242:423-426) 描述了连接肽的例子,其在一个可变区的羧基末端和另一可变区的氨基末端之间桥接约3.5nm。已经设计和使用了其他序列的连接体(Bird等人(1988) “Single-Chain Antigen-Binding Proteins,”*Science* 242:423-426)。连接体进而可被修饰用于另外的功能,比如药物的附着或附着至固体载体。可重组或合成产生单链变体。为了合成产生scFv,可使用自动合成仪。为了重组体产生scFv,可将包含编码scFv的多核苷酸的合适质粒引入适当的宿主细胞中,所述宿主细胞可以是真核细胞,比如酵母细胞、植物细胞、昆虫细胞或哺乳动物细胞,或原核细胞,比如大肠埃希氏菌。可通过常规操作比如多核苷酸的连接制备编码感兴趣的scFv的多核苷酸。可使用本领域已知的标准蛋白质纯化技术分离所得scFv。

[0180] 双特异性结合分子(例如,非单特异性双抗体)的供应提供相比抗体的明显优势,包括但不限于足以共连接和/或共定位表达不同表位的不同细胞的“反式(trans)”结合能力和/或足以共连接和/或共定位由相同细胞表达的不同分子的“顺式(cis)”结合能力。因此,双特异性结合分子(例如,非单特异性双抗体)具有广泛的应用,包括治疗和免疫诊断。在各种应用中,双特异性在设计和工程化双抗体方面允许大的灵活性,提供对多聚抗原的增强的亲合力、不同抗原的交联和对特定细胞类型的导向靶向,这取决于两个靶抗原的存在。由于其增加的价、低离解速率和从循环中快速清除(对于小尺寸的双抗体,为~50kDa或以下),本领域中已知的双抗体分子在肿瘤成像领域还显示特别的用途(Fitzgerald等人(1997) “Improved Tumour Targeting By Disulphide Stabilized Diabodies Expressed In *Pichia pastoris*,”*Protein Eng.* 10:1221-1225)。

[0181] 产生双特异性双抗体的能力已经导致它们(以“反式”)将两个细胞共连接在一起的用途,例如,通过共连接在不同细胞表面上存在的受体(例如,交连细胞毒性T-细胞与靶

细胞,如表达疾病抗原的癌细胞或病原体感染细胞)(Staerz等人,(1985)“Hybrid Antibodies Can Target Sites For Attack By T Cell,”*Nature* 314:628-631,和 Holliger等人,(1996)“Specific Killing Of Lymphoma Cells By Cytotoxic T-Cells Mediated By A Bispecific Diabody,”*Protein Eng.*9:299-305;Marvin等人,(2005)“Recombinant Approaches To IgG-Like Bispecific Diabody,”*Acta Pharmacol.Sin.*26:649-658;Sloan等人,(2015)“Targeting HIV Reservoir in Infected CD4 T Cell by Dual-Affinity Re-targeting Molecules (DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cell”*PLoS Pathog* 11(11):e1005233.doi:10.1371/journal.ppat.1005233)。可选地(或另外),双特异性(或三特异性或多特异性)双抗体可用于(以“顺式”)共连接存在于相同细胞表面上的分子,如受体等。不同细胞和/或受体的共连接可用于调节效应子功能和/或免疫细胞信号转导。包含表位-结合结构域的多特异性分子(例如,双特异性双抗体)可被引导至任何在T淋巴细胞、天然杀伤(NK)细胞、抗原呈递细胞或其它单核细胞上表达的免疫细胞的表面决定子如CD2,CD3,CD8,CD16,TCR, NKG2D等。具体的,被引导至存在于免疫效应细胞上的细胞表面受体的表位-结合结构域可用于产生能够介导重定向细胞杀伤的多特异性结合分子。

[0182] 但是,上述双特异性双抗体的优势需要突出的成本。这类非单特异性双抗体的形成需要成功组装两个或更多个独特和不同的多肽(即,这样的形成需要通过不同多肽链种类的异源二聚化而形成双抗体)。该事实与单特异性双抗体不同,其通过一致的多肽链的同源二聚化而形成。由于至少两个不同的多肽(即,两个多肽种类)必须被提供以形成非单特异性双抗体并且由于这样的多肽的同源二聚化导致失活分子(Takemura,S.等人(2000)“Construction Of A Diabody(Small Recombinant Bispecific Antibody)Using A Refolding System,”*Protein Eng.*13(8):583-588),这样的多肽的产生必须以防止相同种类的多肽之间的共价结合的方式完成(即,以便防止同源二聚化)(Takemura,S.等人,(2000)“Construction Of A Diabody(Small Recombinant Bispecific Antibody)Using A Refolding System,”*Protein Eng.*13(8):583-588)。因此,现有技术已经教导了这类多肽的非共价缔合(参见,例如,Olafsen等人,(2004)“Covalent Disulfide-Linked Anti-CEA Diabody Allows Site-Specific Conjugation And Radiolabeling For Tumor Targeting Applications,”*Prot.Engr.Des.Sel.*17:21-27;Asano等人,(2004)“A Diabody For Cancer Immunotherapy And Its Functional Enhancement By Fusion Of Human Fc Domain,”*Abstract* 3P-683,*J.Biochem.*76(8):992;Takemura,S.等人,(2000)“Construction Of A Diabody(Small Recombinant Bispecific Antibody)Using A Refolding System,”*Protein Eng.*13(8):583-588;Lu,D.等人,(2005)“A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity,”*J.Biol.Chem.*280(20):19665-19672)。

[0183] 但是,现有技术已经认识到由非共价缔合的多肽构成的双特异性双抗体不稳定并且容易解离成非功能单体(参见,例如,Lu,D.等人,(2005)“A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity,”

J.Biol.Chem.280 (20) :19665-19672)。

[0184] 面对这样的挑战,本领域已经成功地开发了稳定的、共价结合的异源二聚非单特异性双抗体,称为**DART®**(双亲和性重靶向)双抗体;参见,例如,美国专利公开号2013-0295121;2010-0174053和2009-0060910;欧洲专利公开号EP 2714079;EP 2601216;EP 2376109;EP 2158221和PCT公开号WO 2012/162068;WO 2012/018687;WO 2010/080538;以及Sloan,D.D.等人,(2015)“Targeting HIV Reservoir in Infected CD4 T Cells by Dual-Affinity Re-targeting Molecules (DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cells,”*PLoS Pathog.* 11 (11) :e1005233. Doi:10.1371/journal.ppat.1005233;Al Hussaini,M.等人,(2015)“Targeting CD123 In AML Using A T-Cell Directed Dual-Affinity Re-Targeting(**DART®**)Platform,”*Blood pii:blood-2014-05-575704*;Chichili,G.R.等人,(2015)“A CD3xCD123Bispecific DART For Redirecting Host T Cells To Myelogenous Leukemia:Preclinical Activity And Safety In Nonhuman Primates,”*Sci.Transl.Med.* 7 (289) :289ra82;Moore,P.A.等人,(2011)“Application Of Dual Affinity Retargeting Molecules To Achieve Optimal Redirected T-Cell Killing Of B-Cell Lymphoma,”*Blood* 117 (17) :4542-4551;Veri,M.C.等人,(2010)“Therapeutic Control Of B Cell Activation Via Recruitment Of Fcgamma Receptor IIb(CD32B) Inhibitory Function With A Novel Bispecific Antibody Scaffold,”*Arthritis Rheum.* 62 (7) :1933-1943;Johnson,S.等人,(2010)“Effector Cell Recruitment With Novel Fv-Based Dual-Affinity Re-Targeting Protein Leads To Potent Tumor Cytolysis And in vivo B-Cell Depletion,”*J.Mol.Biol.* 399 (3) :436-449)。这样的双抗体包含两条或多条共价复合的多肽并涉及将一个或多个半胱氨酸残基工程化到每个应用的多肽种类中,其允许形成二硫键,从而将一对或多对这类多肽链彼此共价结合。例如,将半胱氨酸残基添加至这样的构建体的C-末端已经被证明允许涉及的多肽链之间的二硫结合,稳定了产生的双抗体,而不干扰双抗体的结合特性。

[0185] 已经描述了这类分子的许多变型(参见,例如,美国专利公开号2015/0175697;2014/0255407;2014/0099318;2013/0295121;2010/0174053;2009/0060910;2007-0004909;欧洲专利公开号EP 2714079;EP 2601216;EP 2376109;EP 2158221;EP 1868650;和PCT公开号WO 2012/162068;WO 2012/018687;WO 2010/080538;WO 2006/113665),并且在本文中被提供。

[0186] 用于期望双特异性或四价分子而不需要Fc的应用的可选的构建体在本领域中是已知的,包括但不限于双特异性T细胞衔接分子,也称为“BiTE”(参见,例如,PCT公开号:WO 1993/11161;和WO 2004/106381)和四价串联抗体,也称为“TandAb”(参见,例如美国专利公开号:2011-0206672;欧洲专利公开号EP 2371866,和;PCT公开号WO 1999/057150,WO 2003/025018,和WO 2013/013700)。BiTE由包含串联连接的scFv的单多肽链形成,而TandAb由两条相同多肽链的同源二聚化形成,每条多肽链具备VH1、VL2、VH2和VL2结构域。

[0187] 本发明提供能够介导对表达疾病抗原的靶细胞(例如,癌细胞或病原体感染的细胞等)的重定向杀伤的双特异性结合分子。这类双特异性结合分子能够结合“第一表位”和“第二表位”,这类表位彼此不同。这类双特异性分子包含能够结合第一表位的“VL1”/“VH1”

结构域和能够结合第二表位的“VL2”/“VH2”结构域。符号“VL1”和“VH1”分别表示结合这类双特异性分子的“第一”表位的轻链可变结构域和重链可变结构域。类似地,符号“VL2”和“VH2”分别表示结合这类双特异性分子的“第二”表位的轻链可变结构域和重链可变结构域。具体的表位被指定为第一还是第二表位是无关紧要的;这样的符号仅仅与本发明的结合分子的多肽链的结构域的存在和取向相关。在一个实施方式中,这类表位中的一种是存在于效应细胞如T淋巴细胞、天然杀伤(NK)细胞或其它单核细胞上的分子(例如,CD2、CD3、CD8、CD16、T-细胞受体(TCR)、NKG2D等)的表位,并且另一表位是疾病抗原(例如,癌抗原或病原体相关抗原)的表位。在某些实施方式中,双特异性分子包含多于两个表位-结合位点。本发明具体包括双特异性双抗体、BiTEs、抗体以及使用本文提供的任意方法产生的TandAb。

[0188] A. 缺少Fc结构域的双抗体

[0189] 在一个实施方式中,本发明双抗体是双特异性的并且包含能够结合第一和第二表位二者的结构域,但是缺少Fc结构域,因此不能结合Fc γ R分子。双特异性双抗体的这类实施方式的第一多肽链在N-末端至C-末端方向包含:N-末端、能够结合第一或第二表位的单克隆抗体的VL结构域(即,VL_{表位1}或VL_{表位2})、第一间插间隔肽(连接体1)、能够结合第二表位的单克隆抗体的VH结构域(如果这类第一多肽链包含VL_{表位1})或能够结合第一表位的单克隆抗体的VH结构域(如果这类第一多肽链包含VL_{表位2})、任选地包含半胱氨酸残基的第二间插间隔肽(连接体2)、异源二聚体促进结构域和C-末端(图1)。

[0190] 双特异性双抗体的该实施方式的第二多肽链在N-末端至C-末端方向包含:N-末端、能够结合第一或第二表位的单克隆抗体的VL结构域(即,VL_{表位1}或VL_{表位2},并且是未被选择包含于双抗体的第一多肽链中的VL结构域)、间插间隔肽(连接体1)、能够结合第一或第二表位的单克隆抗体的VH结构域(即,VH_{表位1}或VH_{表位2},并且是未被选择包含于双抗体的第一多肽链中的VH结构域)、任选地包含半胱氨酸残基的第二间插间隔肽(连接体2)、异源二聚体促进结构域和C-末端(图1)。所采用的对于具体表位具有特异性的VL和VH结构域优选地获自或衍生自相同的单克隆抗体。但是,这类结构域可衍生自不同单克隆抗体,条件是它们缔合以形成能够免疫特异性地结合这类表位的功能性结合位点。这类不同抗体在本文中被称为“相应的”抗体。

[0191] 第一多肽链的VL结构域与第二多肽链的VH结构域相互作用,以形成对表位之一(例如,第一表位)特异性的第一功能性表位-结合位点。类似地,第二多肽链的VL结构域与第一多肽链的VH结构域相互作用,以形成对其它表位(即,第二表位)特异性的第二功能性表位-结合位点。因此,第一和第二多肽链的VL和VH结构域的选择是“协同的(coordinated)”,以使双抗体的两条多肽链总共包含能够结合第一表位和第二表位二者的VL和VH结构域(即,它们总共包含VL_{表位1}/VH_{表位1}和VL_{表位2}/VH_{表位2})。

[0192] 最优选地,选择间插间隔肽(即,“连接体1”,其分开这类VL和VH结构域)的长度,以基本上或完全防止多肽链的VL和VH结构域彼此结合(例如由0、1、2、3、4、5、6、7、8或9个间插连接体氨基酸残基组成)。因此,第一多肽链的VL和VH结构域基本上或完全不能彼此结合。同样地,第二多肽链的VL和VH结构域基本上或完全不能彼此结合。优选的间插间隔肽(连接体1)具有序列(SEQ ID NO:14):GGGSGGGG。

[0193] 基于促进这类二聚化的一个或多个多肽结构域(即,“异源二聚体促进结构域”)的

选择来选择第二间插间隔肽(“连接体2”)的长度和组成。一般地,第二间插间隔体肽(连接体2)包含3-20个氨基酸残基。尤其地,当采用的异源二聚体促进结构域(一个或多个)包含/不包含半胱氨酸残基时,使用包含半胱氨酸的第二间插间隔肽(连接体2)。包含半胱氨酸的第二间插间隔体肽(连接体2)将包含1、2、3或更多个半胱氨酸。优选的含半胱氨酸的间隔肽(连接体2)具有序列GGCGGG (SEQ ID NO:15)。可选地,连接体2不包含半胱氨酸(例如,GGG、GGGS (SEQ ID NO:16)、LGGSG (SEQ ID NO:17)、GGSGGGSGGG (SEQ ID NO:18)、ASTKG (SEQ ID NO:19)、LEPKSS (SEQ ID NO:20)、APSSS (SEQ ID NO:21)等),并且,使用如以下所述的含半胱氨酸的异源二聚体促进结构域。任选地,使用含半胱氨酸的连接体2和含半胱氨酸的异源二聚体促进结构域二者。

[0194] 异源二聚体促进结构域可以是在一条多肽链上的GVEPKSC (SEQ ID NO:22) 或VEPKSC (SEQ ID NO:23) 或AEPKSC (SEQ ID NO:24) 和在另一条多肽链上的GFNRGEC (SEQ ID NO:25) 或FNRGEC (SEQ ID NO:26) (US2007/0004909)。

[0195] 在优选的实施方式中,异源二聚体促进结构域将包含具有相反电荷的串联重复的螺旋结构域,例如,“E-螺旋”异源二聚体促进结构域 (SEQ ID NO:27: EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK),其谷氨酸残基在pH 7形成负电荷,或“K-螺旋”异源二聚体促进结构域 (SEQ ID NO:28: KVAALEK-KVAALEK-KVAALEK-KVAALEK),其赖氨酸残基在pH 7形成正电荷。这类带电结构域的存在促进了第一和第二多肽之间的缔合,因此有助于异源二聚体形成。可以使用包括上述E-螺旋和K-螺旋序列的修饰的异源二聚体促进结构域,以便包括一个或多个半胱氨酸残基。这类半胱氨酸残基的存在允许在一条多肽链上存在的螺旋与另一多肽链上存在的互补螺旋成为共价结合的,从而彼此共价结合多肽链并且增加双抗体的稳定性。这样的尤其优选的例子是异源二聚体促进结构域包括修饰的E-螺旋,其具有氨基酸序列EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (SEQ ID NO:29),和修饰的K-螺旋,其具有氨基酸序列KVAALEK-KVAALEK-KVAALEK-KVAALEK (SEQ ID NO:30)。

[0196] 如WO 2012/018687中公开的,为了提高双抗体的体内药物代谢动力学特性,双抗体可被修饰,以在双抗体的一个或多个末端处包含血清结合蛋白的多肽部分。最优选地,血清结合蛋白的这类多肽部分设置在双抗体的多肽链的C-末端。白蛋白是血浆中最丰富的蛋白质并且在人中半衰期是19天。白蛋白具有若干小分子结合位点,这允许其非共价结合其他蛋白,从而延长它们的血清半衰期。链球菌属 (Streptococcus) 菌株G148的蛋白质G的白蛋白结合结构域3 (ABD3) 由形成稳定的三螺旋束的46个氨基酸残基组成并且具有广泛的白蛋白结合特异性 (Johansson, M.U. 等 (2002) “Structure, Specificity, And Mode Of Interaction For Bacterial Albumin-Binding Modules,” J.Biol.Chem.277 (10):8114-8120。因此,对于改善双抗体的体内药物代谢动力学特性,尤其优选的血清结合蛋白的多肽部分是来自链球菌蛋白质G的白蛋白结合结构域 (ABD),更优选地,链球菌属菌株G148的蛋白质G的白蛋白结合结构域3 (ABD3) (SEQ ID NO:31): LAEAKVLNR ELDKYGVSDY YKNLIDNAKS AEGVKALIDE ILAALP。

[0197] 如在WO 2012/162068 (通过引用并入本文) 中公开的,SEQ ID NO:31的“去免疫化”的变体具有削弱或消除II类MHC结合的能力。基于组合突变结果,对于形成这样的去免疫化的ABD,如下取代的组合被认为是优选的取代:66D/70S+71A、66S/70S+71A、66S/70S+79A、64A/65A/71A、64A/65A/71A+66S、64A/65A/71A+66D、64A/65A/71A+66E、64A/65A/79A+66S、

64A/65A/79A+66D、64A/65A/79A+66E。变异的ABD具有修饰L64A、I65A和D79A或修饰N66S、T70S和D79A。具有下述氨基酸序列：

[0198] LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNLID₆₆NAKS₇₀ A₇₁EGVKALIDE ILAALP

[0199] (SEQ ID NO:32)、

[0200] 或氨基酸序列：

[0201] LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNA₆₄A₆₅NNAKT VEGVKALIA₇₉E ILAALP

[0202] (SEQ ID NO:33)、

[0203] 或氨基酸序列：

[0204] LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNLIS₆₆NAKS₇₀ VEGVKALIA₇₉E ILAALP

[0205] (SEQ ID NO:34)、

[0206] 的变异的去免疫化ABD是特别优选的，因为这类去免疫化的ABD展示基本上野生型结合，同时提供削弱的II类MHC结合。因此，具有ABD的这类双抗体的第一多肽链包含第三连接体(连接体3)，其优选地位于这类多肽链的E螺旋(或K螺旋)结构域的C-末端，以便插在E螺旋(或K螺旋)结构域和ABD(其优选地是去免疫化的ABD)之间。用于这类连接体3的优选的序列是SEQ ID NO:16:GGGS。

[0207] B. 包含Fc结构域的双抗体

[0208] 本发明的一个实施方式涉及包含Fc结构域的能够同时结合第一和第二表位(即，相同抗原分子的不同表位或为不同抗原的分子的表位)的多特异性双抗体(例如，双特异性、三特异性、四特异性等)。这类分子的Fc结构域可属于任何同种型(例如，IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)。分子可进一步包含CH1结构域和/或铰链结构域。当存在时，CH1结构域和/或铰链结构域可属于任何同种型(例如，IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)，并且优选地与期望的Fc结构域属于相同的同种型。

[0209] 添加IgG CH2-CH3结构域至双抗体多肽链之一或两条中，以便双抗体链的复合导致形成Fc区，延长了生物半衰期和/或改变了双抗体的效价。这类双抗体包含两条或多条多肽链，其序列允许多肽链彼此共价结合，以形成能够同时结合第一表位和第二表位的共价缔合的双抗体。将IgG CH2-CH3结构域并入到两条双抗体多肽上允许形成包含Fc-区域的双链双特异性双抗体(图2)。

[0210] 可选地，仅仅在一条双抗体多肽上并入IgG CH2-CH3结构域允许形成更复杂的、包含Fc结构域的四链双特异性双抗体(图3A-3C)。图3C显示具有恒定轻链(CL)结构域和恒定重链CH1结构域的代表性四链双抗体，然而，可以可选地采用这类结构域的片段以及其他多肽(参见，例如，图3A和3B，美国专利公开号2013-0295121；2010-0174053和2009-0060910；欧洲专利公开号EP 2714079；EP 2601216；EP 2376109；EP 2158221和PCT公开号WO 2012/162068；WO 2012/018687；WO 2010/080538)。因此，例如，代替CH1结构域，可采用源自人IgG的铰链结构域的、具有氨基酸序列GVEPKSC(SEQ ID NO:22)、VEPKSC(SEQ ID NO:23)或AEPKSC(SEQ ID NO:24)的肽，并且代替CL结构域，可采用人κ轻链的C-末端6个氨基酸GFNRGEC(SEQ ID NO:25)或FNRGEC(SEQ ID NO:26)。包含代表性肽的四链双抗体显示在图3A中。可选地，或另外，可采用包含具有相反电荷的串联螺旋结构域的肽，比如“E-螺旋”螺旋结构域(SEQ ID NO:27:EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK或SEQ ID NO:29:EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK)；和“K-螺旋”结构域(SEQ ID NO:28:KVAALKE-KVAALKE-

KVAALKE-KVAALKE或SEQ ID NO:30:KVAACKKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE)。含螺旋结构域的代表性四链双抗体显示在图3B中。

[0211] 本发明的含Fc结构域的双抗体分子可包含另外的间插间隔肽(连接体),通常这类连接体将并入在异源二聚体促进结构域(例如,E-螺旋或K-螺旋)和CH2-CH3结构域之间和/或在CH2-CH3结构域和可变结构域(即,VH或VL)之间。一般地,另外的连接体将包含3-20个氨基酸残基并且可任选地包含全部或部分IgG铰链结构域的全部或部分(优选地,IgG铰链结构域的含半胱氨酸部分)。本发明的含Fc结构域的双特异性双抗体分子中可采用的连接体包括:GGGS (SEQ ID NO:16)、LGGGSG (SEQ ID NO:17)、GGGSGGGSGGG (SEQ ID NO:18)、ASTKG (SEQ ID NO:19)、LEPKSS (SEQ ID NO:20)、APSSS (SEQ ID NO:21)、APSSSPME (SEQ ID NO:35)、VEPKSADKTHTCPPCP (SEQ ID NO:36)、LEPKSADKTHTCPPCP (SEQ ID NO:37)、DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:38)、GGC和GGG。可使用LEPKSS (SEQ ID NO:20)代替GGG或GGC,以便于克隆。另外地,氨基酸GGG或LEPKSS (SEQ ID NO:20)之后紧接着可以是DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:38)以形成可选的连接体:GGGDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:39);和LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:40)。除了连接体以外或代替连接体,本发明含Fc结构域的双特异性分子可并入IgG铰链结构域。示例性铰链结构域包括:来自IgG1的EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:4)、来自IgG2的ERKCCVECP (SEQ ID NO:5)、来自IgG4的ESKYGPPCP (SEQ ID NO:6)、和ESKYGPPCP (SEQ ID NO:7),IgG4铰链变体包含稳定化的S228P取代(如通过Kabat中阐释的EU索引编号的)以减少链交换。

[0212] 如图3A-3C中提供的,本发明含Fc结构域的双抗体可包含四条链。这类双抗体的第一和第三多肽链包含三个结构域:(i)包含VL1的结构域、(ii)包含VH2的结构域、(iii)异源二聚体-促进结构域、和(iv)包含CH2-CH3序列的结构域。第二和第四多肽链包含:(i)包含VL2的结构域、(ii)包含VH1的结构域和(iii)异源二聚体-促进结构域,其中异源二聚体-促进结构域促进第一/第三多肽链与第二/第四多肽链的二聚化。第三和第四多肽链的VL和/或VH结构域,以及第一和第二多肽链的VL和/或VH结构域可以相同或不同,以便允许单特异性、双特异性或四特异性的四价结合。符号“VL3”和“VH3”分别表示结合这类双抗体的“第三”表位的轻链可变结构域和可变重链结构域。类似地,符号“VL4”和“VH4”分别表示结合这类双抗体的“第四”表位的轻链可变结构域和可变重链结构域。本发明的包含Fc结构域的、代表性四链双特异性双抗体的多肽链的一般结构提供在表1中:

[0213]

表 1		
双特异性	第二链	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
	第一链	NH ₂ -VL1-VH2-HPD-CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第一链	NH ₂ -VL1-VH2-HPD-CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第二链	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
四特异性	第二链	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
	第一链	NH ₂ -VL1-VH2-HPD-CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第三链	NH ₂ -VL3-VH4-HPD-CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第四链	NH ₂ -VL4-VH3-HPD-COOH

[0214] HPD=异源二聚体促进结构域

[0215] 在具体的实施方式中,本发明的双抗体是双特异性的、四价(即,具有四个表位-结合结构域)、包含Fc的双抗体,其由总共四条多肽链构成(图3A-3C)。本发明的双特异性、四价、含Fc的双抗体保护两个第一表位-结合结构域和两个第二表位-结合结构域。

[0216] 在进一步的实施方式中,本发明的含Fc结构域的双抗体包括三条多肽链。这类双抗体的第一多肽包含三个结构域:(i)包含VL1的结构域、(ii)包含VH2的结构域和(iii)包含CH₂-CH₃序列的结构域。这类双抗体的第二多肽包含:(i)包含VL2的结构域、(ii)包含VH1的结构域和(iii)促进与双抗体的第一多肽链异源二聚化和共价结合的结构域。这类双抗体的第三多肽包含CH₂-CH₃序列。因此,这类双抗体的第一和第二多肽链缔合在一起以形成能够结合第一或第二表位的VL1/VH1表位-结合位点以及能够结合这类表位的另一个的VL2/VH2表位-结合位点。第一和第二多肽通过涉及在它们各自的第三结构域中的半胱氨酸残基的二硫键彼此结合。值得注意的是,第一和第三多肽链彼此复合,以形成经二硫键稳定的Fc结构域。这类双特异性双抗体具有增强的效价。图4A和4B阐释了这类双抗体的结构。这类包含Fc区的双抗体可具有两个取向之一(表2):

[0217]

表 2		
第一方向	第三链	NH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第一链	NH ₂ -VL1-VH2-HPD-CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第二链	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
第二方向	第三链	NH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第一链	NH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -VL1-VH2-HPD-COOH
	第二链	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH

[0218] HPD=异源二聚体促进结构域

[0219] 在具体的实施方式中,本发明的双抗体是双特异性的、二价的(即,具备两个表位-结合结构域)、含Fc的双抗体,其由总共三条总多肽链构成(图4A-4B)。本发明的双特异性、二价的、含Fc的双抗体包含一个对于第一或第二表位免疫特异性的表位-结合位点,以及能够结合这类表位中的另一个的VL2/VH2表位-结合位点。

[0220] 在进一步的实施方式中,含Fc结构域的双抗体可包含总计五条多肽链。在具体的实施方式中,五条多肽链的两条具有相同的氨基酸序列。这类双抗体的第一多肽链包含:(i) 包含VH1的结构域、(ii) 包含CH1的结构域和(iii) 包含CH₂-CH₃序列的结构域。第一多肽链可以是抗体的重链,其包含VH1和重链恒定结构域。这类双抗体的第二和第五条多肽链包含:(i) 包含VL1的结构域和(ii) 包含CL的结构域。这类双抗体的第二和/或第五多肽链可以是抗体的轻链,其包含与第一/第三多肽链的VH1互补的VL1。第一、第二和/或第五多肽链可分离自天然产生的抗体。可选地,它们可以是重组构建的。这类双抗体的第三多肽链包含:(i) 包含VH1的结构域、(ii) 包含CH1的结构域、(iii) 包含CH₂-CH₃序列的结构域、(iv) 包含VL2的结构域、(v) 包含VH3的结构域和(vi) 异源二聚体-促进结构域,其中异源二聚体-促进结构域促进第三链与第四链的二聚化。这类双抗体的第四多肽链包含:(i) 包含VL3的结构域、(ii) 包含VH2的结构域和(iii) 促进与双抗体的第三多肽链异源二聚化和共价结合的结构域。

[0221] 因此,这类双抗体的第一和第二以及第三和第五多肽链缔合在一起以形成两个能够结合第一表位的VL1/VH1表位-结合结构域。这类双抗体的第三和第四多肽链缔合在一起以形成能够结合第二表位的VL2/VH2表位-结合位点以及能够结合第三表位的VL3/VH3结合位点。第一和第三多肽通过涉及在它们各自恒定区中的半胱氨酸残基的二硫键彼此结合。值得注意的是,第一和第三多肽链彼此复合以形成Fc结构域。这类多特异性双抗体具有增强的效力。图5阐释这类双抗体的结构。应该理解,VL1/VH1、VL2/VH2和VL3/VH3结构域可以是相同的或不同的,以允许单特异性、双特异性或三特异性的结合。

[0222] 选择多肽链的VL和VH结构域,以便形成对于期望的表位特异性的VL/VH结合位点。

通过多肽链的缔合形成的VL/VH结合位点可以相同或不同,以便允许单特异性、双特异性、三特异性或四特异性的四价结合。尤其地,可选择VL和VH结构域,以便多特异性双抗体包括针对第一表位的两个结合位点和针对第二表位的两个结合位点,或针对第一表位的三个结合位点和针对第二表位的一个结合位点,或针对第一表位的两个结合位点,针对第二表位的一个结合位点和针对第三表位的一个结合位点(如图5中所描绘)。本发明的包含Fc结构域的代表性五链双抗体的多肽链的一般结构提供在表3中:

[0223]

表 3		
双特异性(2x2)	第二链	NH ₂ -VL1-CL-COOH
	第一链	NH ₂ -VH1-CH1-CH2-CH3-COOH
	第三链	NH ₂ -VH1-CH1-CH2-CH3-VL2-VH2-HPD-COOH
	第五链	NH ₂ -VL1-CL-COOH
	第四链	NH ₂ -VL2-VH2-HPD-COOH
双特异性(3x1)	第二链	NH ₂ -VL1-CL-COOH
	第一链	NH ₂ -VH1-CH1-CH2-CH3-COOH
	第三链	NH ₂ -VH1-CH1-CH2-CH3-VL1-VH2-HPD-COOH
	第五链	NH ₂ -VL1-CL-COOH
	第四链	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
三 特 异 性 (2x1x1)	第二链	NH ₂ -VL1-CL-COOH
	第一链	NH ₂ -VH1-CH1-CH2-CH3-COOH
	第三链	NH ₂ -VH1-CH1-CH2-CH3-VL2-VH3-HPD-COOH
	第五链	NH ₂ -VL1-CL-COOH
	第四链	NH ₂ -VL3-VH2-HPD-COOH

[0224] HPD=异源二聚体促进结构域

[0225] 在具体的实施方式中,本发明的双抗体是双特异性、四价的(即,具备四个表位-结合结构域)、含Fc的双抗体,其由总共五条多肽链组成,其具有对于第一表位免疫特异性的两个表位-结合结构域和对于第二表位特异性的两个表位-结合结构域。在另一实施方式

中,本发明的双特异性、四价的、含Fc的双抗体包含对于第一表位免疫特异性的三个表位-结合结构域和对于第二表位特异性的一个表位-结合位点。如上提供的,VL和VH结构域可被选择以允许三特异性结合。因此,本发明还包括三特异性、四价的、含Fc的双抗体。本发明的三特异性、四价的、含Fc的双抗体包含对于第一表位免疫特异性的两个表位-结合结构域和对于第二分子免疫特异性的一个表位-结合位点以及对于第三表位免疫特异性的一个表位-结合位点。

[0226] 在传统的免疫功能中,抗体-抗原复合物与免疫系统的细胞的相互作用产生各种各样的应答,范围从效应子功能,比如抗体依赖性细胞毒性、肥大细胞脱粒和吞噬,到免疫调节信号,比如调节淋巴细胞增殖和抗体分泌。所有这些相互作用通过抗体或免疫复合物的Fc结构域与造血细胞上专用细胞表面受体的结合来启动。由抗体和免疫复合物引发的细胞应答的多样性由三种Fc受体:Fc γ RI (CD64)、Fc γ RII (CD32) 和Fc γ RIII (CD16) 的结构异质性造成。Fc γ RI (CD64)、Fc γ RIIA (CD32A) 和Fc γ RIII (CD16) 是激活(即,免疫系统增强)性受体;Fc γ RIIB (CD32B) 是抑制(即,免疫系统抑制)性受体。另外,与新生Fc受体(FcRn)的相互作用介导IgG分子从内体至细胞表面的再循环并且释放进入血液中。上面呈现了示例性野生型IgG1 (SEQ ID NO:8)、IgG2 (SEQ ID NO:9)、IgG3 (SEQ ID NO:10) 和IgG4 (SEQ ID NO:11) 的氨基酸序列。

[0227] Fc结构域的修饰可导致改变的表型,例如改变的血清半衰期、改变的稳定性、改变的对细胞酶的易感性或改变的效应子功能。因此,就效应子功能而言,可期望修饰本发明的包含Fc结构域的结合分子,例如,以便增强这类分子治疗癌症的效力。在某些情况下,例如在作用机制涉及阻断或拮抗,但是不杀伤携带靶抗原的细胞的抗体的情况下,期望降低或消除Fc结构域介导的效应子功能。当涉及非期望的细胞,比如肿瘤和外源细胞时,其中Fc γ Rs以低水平表达,例如,具有低水平的Fc γ RIIB肿瘤特异性B细胞(例如,非霍奇金淋巴瘤、CLL和伯基特淋巴瘤),一般期望增加的效应子功能。本发明的分子具有这样的赋予的或改变的效应子功能活性,可用于治疗和/或预防其中期望增强的效应子功能活性效力的疾病、病症或感染。

[0228] 因此,在某些实施方式中,本发明的包含Fc结构域的分子的Fc结构域可以是工程化的变异的Fc结构域。尽管本发明双特异性包含Fc结构域的分子的Fc结构域可以具有结合一个或多个Fc受体(例如,Fc γ R)的能力,但是更优选地这类变异的Fc结构域具有对Fc γ RIA (CD64)、Fc γ RIIA (CD32A)、Fc γ RIIB (CD32B)、Fc γ RIIIA (CD16a) 或Fc γ RIIIB (CD16b) 改变的结合(相对于野生型Fc结构域展示的结合),例如,具有与激活性受体增强的结合和/或具有对抑制性受体基本上降低的结合能力或没有结合抑制性受体的能力。因此,本发明包含Fc结构域的分子的Fc结构域可包括完整的Fc结构域的一些或所有CH2结构域和/或一些或所有CH3结构域,或可包括变异的CH2和/或变异的CH3序列(其相对于完整的Fc结构域的CH2或CH3结构域,可包括,例如,一个或多个插入和/或一个或多个缺失)。这类Fc结构域可包括非Fc多肽部分,或可包括非天然完整Fc结构域的部分,或可包括非天然产生的取向的CH2和/或CH3结构域(比如,例如,两个CH2结构域或两个CH3结构域,或者在N-末端至C-末端方向上,连接至CH2结构域的CH3结构域等)。

[0229] 鉴定为改变效应子功能的Fc结构域修饰是本领域已知的,包括增加与激活性受体(例如,Fc γ RIIA (CD16A) 结合的修饰和减少与抑制性受体(例如,Fc γ RIIB (CD32B) 结合的

修饰(例如,Fc γ RIIB(CD32B) (见,例如,Stavenshagen,J.B.等(2007)“Fc Optimization Of Therapeutic Antibodies Enhances Their Ability To Kill Tumor Cells In Vitro And Controls Tumor Expansion In Vivo Via Low-Affinity Activating Fcgamma Receptors,”Cancer Res.57(18):8882-8890)。表4列举了示例性修饰的示例性单、双、三、四和五取代((根据EU索引的)编号和取代是相对于上面示出的SEQ ID NO:8的氨基酸序列),其增加与激活性受体的结合和/或降低与抑制性受体的结合。

[0230]

表 4			
优选激活性 Fc 结构域的变异†			
单位点变异			
F243L	R292G	D270E	R292P
Y300L	P396L		
双位点变异			
F243L 和 R292P	F243L 和 Y300L	F243L 和 P396L	R292P 和 Y300L

[0231]

表 4			
优选激活性 Fc 结构域的变异†			
D270E 和 P396L	R292P 和 V305I	P396L 和 Q419H	P247L 和 N421K
R292P 和 P396L	Y300L 和 P396L	R255L 和 P396L	R292P 和 P305I
K392T 和 P396L			
三位点变异			
F243L、P247L 和 N421K		P247L、D270E 和 N421K	
F243L、R292P 和 Y300L		R255L、D270E 和 P396L	
F243L、R292P 和 V305I		D270E、G316D 和 R416G	
F243L、R292P 和 P396L		D270E、K392T 和 P396L	
F243L、Y300L 和 P396L		D270E、P396L 和 Q419H	
V284M、R292L 和 K370N		R292P、Y300L 和 P396L	
四位点变异			
L234F、F243L、R292P 和 Y300L		F243L、P247L、D270E 和 N421K	
L234F、F243L、R292P 和 Y300L		F243L、R255L、D270E 和 P396L	
L235I、F243L、R292P 和 Y300L		F243L、D270E、G316D 和 R416G	
L235Q、F243L、R292P 和 Y300L		F243L、D270E、K392T 和 P396L	
P247L、D270E、Y300L 和 N421K		F243L、R292P、Y300L 和 P396L	
R255L、D270E、R292G 和 P396L		F243L、R292P、V305I 和 P396L	
R255L、D270E、Y300L 和 P396L		F243L、D270E、P396L 和 Q419H	
D270E、G316D、P396L 和 R416G			
五位点变异			

[0232]

表 4	
优选激活性 Fc 结构域的变异†	
L235V、F243L、R292P、Y300L 和 P396L	F243L、R292P、V305I、Y300L 和 P396L
L235P、F243L、R292P、Y300L 和 P396L	
† 编号根据 Kabat 中的 EU 索引	

[0233] 具有与CD32B降低的结合和/或与CD16A增加的结合的人IgG1Fc结构域的示例性变体包括F243L、R292P、Y300L、V305I或P296L取代。这些氨基酸取代可以任何组合存在于人IgG1 Fc结构域中。在一个实施方式中,变异的人IgG1 Fc结构域包含F243L、R292P和Y300L取代。在另一实施方式中,变异的人IgG1 Fc结构域包含F243L、R292P、Y300L、V305I和P296L取代。

[0234] 在某些实施方式中,优选的,本发明含Fc结构域的结合分子的Fc结构域优选展示与Fc γ RIA (CD64)、Fc γ RIIA (CD32A)、Fc γ RIIB (CD32B)、Fc γ RIIIA (CD16a) 或Fc γ RIIB (CD16b)降低的(或基本上没有)结合(相对于野生型IgG1 Fc结构域(SEQ ID NO:8)展示的结合)。在具体的实施方式中,本发明含Fc结构域的结合分子包含展示降低的ADCC效应子功能的IgG Fc结构域。在优选的实施方式中,这类结合分子的CH2-CH3结构域包含以下取代中的任意1、2、3或4个:L234A、L235A、D265A、N297Q和N297G。在另一实施方式中,CH2-CH3结构域包含N297Q取代、N297G取代、L234A和L235A取代或D265A取代,因为这些突变消除FcR结合。可选地,使用天然存在的Fc结构域的CH2-CH3结构域,其固有地展示与Fc γ RIIIA (CD16a)降低的(或基本上没有)结合和/或减少的效应子功能(相对于野生型IgG1 Fc结构域(SEQ ID NO:8)展示的结合和效应子功能)。在具体的实施方式中,本发明的含Fc结构域的结合分子包含IgG2 Fc结构域(SEQ ID NO:9)或IgG4 Fc结构域(SEQ ID NO:11)。当利用IgG4 Fc结构域时,本发明也包括引入稳定化突变,比如上述的铰链区S228P取代(见,例如,SEQ ID NO:7)。因为N297G、N297Q、L234A、L235A和D265A取代消除了效应子功能,在期望效应子功能的情况下,优选地将不采用这些取代。

[0235] 对于具有降低的或消除的效应子功能的本发明的包含Fc结构域的分子的CH2和CH3结构域,优选的IgG1序列包括取代L234A/L235A(SEQ ID NO:41):

[0236]

```

APEAAGGPSV   FLFPPKPKDT   LMISRTPEVT   CVVVDVSHED   PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK   PREEQYNSTY   RVVSVLTVLH   QDWLNGKEYK   CKVSNKALPA
PIEKTISKAK   GQPREPQVYT   LPSPREEMTK   NQVSLTCLVK   GFYPSDIAVE
WESNGQPENN   YKTPPVLDL   DGSFFLYSKL   TVDKSRWQQG   NVFSCSVME
ALHNHYTQKS   LSLSPGX

```

[0237] 其中,X是赖氨酸(K)或不存在。

[0238] 可通过增加Fc结构域对于FcRn的结合亲和力而延长包含Fc结构域的蛋白质的血

清半衰期。如本文使用的术语“半衰期”意思是分子的药物代谢动力学性质，是对在其施用之后分子的平均生存时间的衡量。半衰期可表示为从受试者的身体（例如，人患者或其他哺乳动物）或其特定区室消除百分之五十（50%）的已知量的分子需要的时间，例如，如在血清中测量的，即，循环半衰期，或在其他组织中测量的。一般而言，半衰期的增加导致施用的分子在循环中的平均停留时间（MRT）的增加。

[0239] 在一些实施方式中，本发明的含Fc结构域的结合分子包含变异的Fc结构域，其包含相对于野生型Fc结构域的至少一个氨基酸修饰，使得该分子具有增加的半衰期（相对于包含野生型Fc结构域的这类分子）。在一些实施方式中，本发明含Fc结构域的结合分子包含变异的IgG Fc结构域，其在选自下述的一个或多个位置包括延长半衰期的氨基酸取代：238、250、252、254、256、257、256、265、272、286、288、303、305、307、308、309、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、428、433、434、435和436。能够延长包含Fc结构域的分子的半衰期的许多突变是本领域已知的，包括例如M252Y、S254T、T256E和其组合。例如，参见美国专利号6,277,375、7,083,784、7,217,797、8,088,376；美国公开号2002/0147311；2007/0148164；以及PCT公开号WO 98/23289；WO 2009/058492；和WO 2010/033279中描述的突变，这些专利通过引用一起整体并入本文。

[0240] 在一些实施方式中，展示增强的半衰期的本发明含Fc结构域的结合分子具备变异的Fc结构域，所述变异的Fc结构域在Fc结构域残基250、252、254、256、257、288、307、308、309、311、378、428、433、434、435和436中的两个或多个处包含取代。具体的，两个或多个取代选自：T250Q、M252Y、S254T、T256E、K288D、T307Q、V308P、A378V、M428L、N434A、H435K和Y436I。在具体的实施方式中，这类分子可具备变异的IgG Fc结构域，其包含下述取代：

[0241] (A) M252Y、S254T和T256E；

[0242] (B) M252Y和S254T；

[0243] (C) M252Y和T256E；

[0244] (D) T250Q和M428L；

[0245] (E) T307Q和N434A；

[0246] (F) A378V和N434A；

[0247] (G) N434A和Y436I；

[0248] (H) V308P和N434A；或

[0249] (I) K288D和H435K。

[0250] 在优选的实施方式中，本发明含Fc结构域的结合分子具备变异的IgG Fc结构域，所述变异的IgG Fc结构域包含下述取代：M252Y、S254T和T256E中的任何1、2或3个。本发明进一步包括这类具备变异的Fc结构域的结合分子，所述变异的Fc结构域包含：

[0251] (A) 改变效应子功能和/或Fc γ R结合的一个或多个突变；和

[0252] (B) 延长血清半衰期的一个或多个突变。

[0253] 对于期望具有不同氨基酸序列的含Fc-结构域的多肽链（例如，其含Fc结构域的第一和第三多肽链期望是不同的）的某些抗体、双抗体和三价结合分子，期望减少或防止两个第一多肽链的CH2-CH3结构域之间或两个第三多肽链的CH2-CH3结构域之间发生同源二聚化。这类多肽链的CH2和/或CH3结构域不需要序列相同，并且有利地被修饰以促进两条多肽链之间的复合。例如，氨基酸取代（优选以包括形成“杵（knob）”的大侧基的氨基酸例如色氨

酸进行取代)可被引入CH2或CH3结构域中,以便空间干扰将防止与类似的突变结构域的相互作用并将迫使突变的结构域与其中互补或适应性突变已经被工程化的结构域——即“白(hole)” (例如,用甘氨酸取代)——配对。这样的突变组可被工程化到任意对的、包含形成Fc结构域的CH2-CH3结构域的多肽中,以促进异源二聚化。蛋白质工程化以相对于同源二聚化利于异源二聚化的方法在本领域中是悉知的,尤其就工程化免疫球蛋白样分子而言,这些都包括在本文中(参见,例如,Ridgway等人,(1996)“‘Knobs-Into-Holes’ Engineering Of Antibody CH3 Domains For Heavy Chain Heterodimerization,”Protein Engr.9:617-621,Atwell等人,(1997)“Stable Heterodimers From Remodeling The Domain Interface Of A Homodimer Using A Phage Display Library,”J.Mol.Biol.270:26-35,和Xie等人,(2005)“A New Format Of Bispecific Antibody:Highly Efficient Heterodimerization,Expression And Tumor Cell Lysis,”J.Immunol.Methods 296:95-101;其中每一篇在此通过引用以其整体并入本文)。

[0254] 通过修饰IgG Fc结构域以包含修饰T366W而产生优选的杵。通过修饰IgG Fc结构域以包含修饰T366S、L368A和Y407V而产生优选的白。为了有助于从最终的双特异性的、异源二聚化的、包含Fc结构域的分子中纯化含白的第三多肽链同源二聚体,优选地通过在435位的氨基酸取代(H435R)突变第三多肽链的含白的CH2和CH3结构域的蛋白质A结合位点。因此,含白的第三多肽链同源二聚体不结合蛋白质A,而双特异性的异源二聚体经在第一多肽链上的蛋白质A结合位点而保持其结合蛋白质A的能力。在可选的实施方式中,含白的第三多肽链可并入在434和435位的氨基酸取代(N434A/N435K)。

[0255] 对于本发明含Fc结构域的分子的第一多肽链的CH2和CH3结构域,优选IgG氨基酸序列将具有“携带杵的”序列(SEQ ID NO:42):

[0256]

```
APEAAAGGPSV  FLFPPKPKDT  LMISRTPEVT  CVVVDVSHED  PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK  PREEQYNSTY  RVVSVLTVLH  QDWLNGKEYK  CKVSNKALPA
PIEKTISKAK  GQPREPQVYT  LPPSREEMTK  NQVSLWCLVK  GFYPSDIAVE
WESNGQPENN  YKTTTPVLDS  DGSFFLYSKL  TVDKSRWQQG  NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS  LSLSPGX
```

[0257] 其中X是赖氨酸(K)或不存在

[0258] 对于具有两条多肽链的本发明的包含Fc结构域的分子的第二多肽链(或具有三、四或五条多肽链的包含Fc结构域的分子的第三多肽链)的CH2和CH3结构域,优选的IgG氨基酸序列具有“携带白”的序列(SEQ ID NO:43):

[0259]

```
APEAAAGGPSV  FLFPPKPKDT  LMISRTPEVT  CVVVDVSHED  PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK  PREEQYNSTY  RVVSVLTVLH  QDWLNGKEYK  CKVSNKALPA
PIEKTISKAK  GQPREPQVYT  LPPSREEMTK  NQVSLSCAVK  GFYPSDIAVE
WESNGQPENN  YKTTTPVLDS  DGSFFLVSKL  TVDKSRWQQG  NVFSCSVMHE
ALHNRYTQKS  LSLSPGX
```

[0260] 其中X是赖氨酸(K)或不存在。

[0261] 如将注意到,SEQ ID NO:42和SEQ ID NO:43的CH2-CH3结构域包含在位置234用丙

氨酸的取代和在位置235用丙氨酸的取代,并且因此形成展示与Fc γ RIA (CD64)、Fc γ RIIA (CD32A)、Fc γ RIIB (CD32B)、Fc γ RIIIA (CD16a)或Fc γ RIIIB (CD16b)降低的(或基本上没有)结合的Fc结构域(相对于野生型Fc区(SEQ ID NO:8)展示的结合)。本发明也包括这类CH2-CH3结构域,其包括野生型丙氨酸残基,修饰Fc结构域的效应子功能和/或Fc γ R结合活性的可选的和/或另外取代。本发明也包括这类CH2-CH3结构域,其进一步包括一个或多个延长半衰期的氨基酸取代。尤其地,本发明包括这类包含白的和这类包含杵的CH2-CH3结构域,其进一步包含M252Y/S254T/T256E。

[0262] 优选的,第一多肽链具有“携带杵的”CH2-CH3序列,如SEQ ID NO:42的序列。但是,如将认识到,“携带白的”CH2-CH3结构域(例如,SEQ ID NO:43可在第一多肽链中采用,在该情况中,“携带杵的”CH2-CH3结构域(例如,SEQ ID NO:42)将在具有两条多肽链的本发明含Fc结构域的分子的第二多肽链中(或在具有三条、四条或五条多肽链的含Fc结构域的分子的第三多肽链中)采用。

[0263] 在其它实施方式中,本发明包括包含CH2和/或CH3结构域的含Fc结构域的结合分子,所述CH2和/或CH3结构域已使用本领域已知的突变被工程化成相对于同源二聚化利于异源二聚化,如PCT公开号WO 2007/110205;WO 2011/143545;WO 2012/058768;WO 2013/06867中公开的那些,其所有通过引用以其整体并入本文。

[0264] IV. 包含Fc结构域的三价结合分子

[0265] 本发明进一步的实施方式涉及三价结合分子,其包含能够同时结合第一表位、第二表位和第三表位的Fc结构域,其中这类表位中的至少一个与另一个表位不同。这类三价结合分子包含三个表位-结合结构域,其中两个是双抗体类型结合结构域,其提供结合位点A和结合位点B,并且其中的一个是Fab类型结合结构域,或scFv类型结合结构域,其提供结合位点C(参见,例如,图6A-6F,PCT公开号WO 2015/184207和WO 2015/184203)。这类三价结合分子因而包含能够结合第一表位的“VL1”/“VH1”结构域和能够结合第二表位的“VL2”/“VH2”结构域和能够结合这类三价结合分子的“第三”表位的“VL3”和“VH3”结构域。“双抗体类型结合结构域”是如上所述的双抗体中存在的表位-结合位点的类型。每个“Fab型结合结构域”和“scFv型结合结构域”是通过免疫球蛋白轻链的VL结构域和免疫球蛋白重链的互补VH结构域相互作用形成的表位-结合结构域。Fab型结合结构域与双抗体类型结合结构域的差异在于形成Fab型结合结构域的两条多肽链仅仅包括单个表位-结合位点,而形成双抗体类型结合结构域的两条多肽链包括至少两个表位-结合结构域。类似地,scFv型结合结构域与双抗体类型结合结构域的差异也在于它们仅仅包括单个表位-结合位点。因此,如本文使用的Fab型和scFv型结合结构域与双抗体类型结合结构域不同

[0266] 一般地,本发明的三价结合分子包括四条不同的多肽链(见图6A-6B),但是,例如,通过彼此融合这类多肽链(例如,经肽键)或通过分开这类多肽链,以形成另外的多肽链,或通过经二硫键缔合更少的或另外的多肽链,分子可包括更少或更多数量的多肽链。图6C-6F通过示意性描绘具有三条多肽链的这类分子阐释了本发明的这个方面。如图6A-6F中提供的,本发明的三价结合分子可具有可选的取向,其中双抗体类型结合结构域在Fc结构域的N-末端(图6A、6C和6D)或C-末端(图6B、6E和6F)。用于产生三价结合分子的CH2和CH3结构域在上面提供,其包含携带杵和携带白的结构域。

[0267] 在某些实施方式中,本发明的这类三价结合分子的第一多肽链包含:(i) 包含VL1

的结构域、(ii) 包含VH2的结构域、(iii) 异源二聚体-促进结构域和(iv) 包含CH2-CH3序列的结构域。VL1和VL2结构域位于包含CH2-CH3的结构域的N-末端或C-末端,如表4(也见图6A和6B)中所显示。这类实施方式的第二多肽链包含:(i) 包含VL2的结构域、(ii) 包含VH1的结构域和(iii) 异源二聚体-促进结构域。这类实施方式的第三多肽链包含:(i) 包含VH3的结构域、(ii) 包含CH1的结构域和(iii) 包含CH2-CH3序列的结构域。第三多肽链可以是包含VH3和重链恒定区的抗体的重链,或包含这样的结构域的多肽。这类实施方式的第四多肽包含:(i) 包含VL3的结构域和(ii) 包含CL的结构域。第四多肽链可以是包含与第三多肽链的VH3互补的VL3的抗体的轻链,或包含这样的结构域的多肽。第三或第四多肽链可分离自天然产生的抗体。可选地,它们可经重组、合成通过其方式而构建。

[0268] 第一和第二多肽链的轻链可变结构域通过间插间隔体肽与这类多肽链的重链可变结构域分开,所述间插间隔体肽长度太短而不允许它们的VL1/VH2(或它们的VL2/VH1)结构域缔合在一起形成能够结合第一或第二表位的表位结合位点。用于该目的的优选间插间隔体肽(连接体1)具有序列(SEQ ID NO:14):GGGSGGGG。三价结合分子的其他结构域可通过任选地包括半胱氨酸残基的一个或多个间插间隔体肽(连接体)分开。尤其地,如上面提供,这类连接体通常被并入在可变结构域(即,VH或VL)和肽异源二聚体促进结构域(例如,E-螺旋或K-螺旋)之间和这类肽异源二聚体促进结构域(例如,E-螺旋或K-螺旋)和CH2-CH3结构域之间。上面提供了用于产生三价结合分子的示例性连接体,并且其也提供在PCT公布号:PCT/US15/33081和PCT/US15/33076中。因此,这类三价结合分子的第一和第二多肽链缔合在一起,形成能够结合第一表位的VL1/VH1结合位点,以及能够结合第二表位的VL2/VH2结合位点。这类三价结合分子的第三和第四多肽链缔合在一起而形成能够结合第三表位的VL3/VH3结合位点。

[0269] 如上所描述的,本发明的三价结合分子可包括三条多肽。包括三条多肽链的三价结合分子可通过将第四多肽N-末端的结构域连接至第三多肽的包含VH3的结构域(例如,使用间插间隔体肽(连接体4))而获得。可选地,使用包含下述结构域的本发明的三价结合分子的第三多肽链:(i) 包含VL3的结构域、(ii) 包含VH3的结构域和(iii) 包含CH2-CH3序列的结构域,其中VL3和VH3通过间插间隔体肽彼此间隔开,所述间插间隔体肽足够长(至少9个或更多个氨基酸残基),以便允许这些结构域的缔合形成表位-结合位点。对于该目的,一个优选的间插间隔体肽具有序列:GGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO:44)。

[0270] 应当理解,这类三价结合分子的VL1/VH1、VL2/VH2和VL3/VH3结构域可以不同,以便允许单特异性、双特异性或三特异性的结合。具体的,VL和VH结构域可被选择,以便三价结合分子包含针对第一表位的两个结合位点和针对第二表位的一个结合位点,或针对第一表位的一个结合位点和针对第二表位的两个结合位点,或针对第一表位的一个结合位点、针对第二表位的一个结合位点和针对第三表位的一个结合位点。

[0271] 本发明代表性三价结合分子的多肽链的一般结构提供在图6A-6F中和表5中:

[0272]

表 5		
四链 第一取向	第二链	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
	第一链	NH ₂ -VL1-VH2-HPD-CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第三链	NH ₂ -VH3-CH1-CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第二链	NH ₂ -VL3-CL-COOH
四链 第二取向	第二链	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
	第一链	NH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -VL1-VH2-HPD-COOH

[0273]

表 5		
	第三链	NH ₂ -VH3-CH1-CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第二链	NH ₂ -VL3-CL-COOH
三链 第一取向	第二链	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
	第一链	NH ₂ -VL1-VH2-HPD-CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第三链	NH ₂ -VL3-VH3-HPD-CH ₂ -CH ₃ -COOH
三链 第二取向	第二链	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
	第一链	NH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -VL1-VH2-HPD-COOH
	第三链	NH ₂ -VL3-VH3-HPD-CH ₂ -CH ₃ -COOH

[0274] HPD=异源二聚体促进结构域

[0275] 如以上提供的,这类三价结合分子可包括三条、四条、五条或更多条多肽链。

[0276] V. 本发明的实施方式

[0277] 如以上所陈述的,本发明涉及用于治疗癌症的联合疗法,其包括施用:

[0278] (1) 能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子;和

[0279] (2) 能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子(例如,双抗体、BiTe、双特异性抗体等)。

[0280] 本发明还涉及包含这类分子(一种或多种)的药物组合物。

[0281] 如本文使用的,术语“施用(administration)”涉及以相对剂量和在时间上接近地提供这类分子,以为接收者提供与PD-1或PD-1的天然配体的结合以及对靶细胞(例如,癌细胞或病原体感染的细胞)的重定向杀伤二者。

[0282] 关于能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子,本发明尤其涉及其中这类分子具备免疫特异性地结合PD-1的表位以抑制(即,阻断或干涉)PD-1的抑制活性的能力的实施方式。例如,这类分子可结合PD-1,从而抑制细胞信号转导和/或抑制PD-1和PD-1的天然配体之间的结合。可选地,这类分子可结合PD-1的天然配体(例如,B7-H1或B7-DC),以便抑制(即,阻断或干涉)这类天然配体的抑制活性。例如,这类分子可结合PD-1的天然配体,从而抑制细胞信号转导和/或这类配体和PD-1之间的结合。在一个实施方式中,这类分子是单特异性的,以便具备结合单一表位(例如,PD-1的表位或PD-1的天然配体的表位)的能力。可选地,这类分子可以是多特异性的,即,能够结合PD-1的两个或多于两个的表位(例如,PD-1的2、3、4个或多于4个表位),或能够结合PD-1的一个或多个天然配体(一种或多种)的两个或多于两个(例如,2、3、4个或多于4个)表位,或能够结合PD-1的至少一个表位和PD-1的天然配体的至少一个表位。可选地,这类多特异性分子能够结合PD-1的至少一个表位和结合不是PD-1的不同分子的至少一个表位,或能够结合PD-1的天然配体的至少一个表位和不是PD-1的天然配体的不同分子的至少一个表位。优选地,不同分子的表位是参与调节存在于免疫细胞表面上的免疫检查点的分子(例如,B7-H3、B7-H4、BTLA、CD40、CD40L、CD47、CD70、CD80、CD86、CD94、CD137、CD137L、CD226、CTLA-4、半乳糖凝集素-9、GITR、GITRL、HHLA2、ICOS、ICOSL、KIR、LAG-3、LIGHT、MHC I或II类、NKG2a、NKG2d、OX40、OX40L、PD1H、PVR、SIRPa、TCR、TIGIT、TIM-3或VISTA,尤其是CD137、LAG-3、OX40、TIGIT、TIM-3或VISTA,参见例如PCT公开号WO 2015/200119和WO 2011/159877)的表位。因此,例如,这类分子可结合:

[0283] (1) PD-1的单一表位;

[0284] (2) PD-1两个或多个表位;

[0285] (3) PD-1的天然配体的单一表位;

[0286] (4) PD-1的相同天然配体的两个或多个表位;

[0287] (5) PD-1的第一天然配体的表位和PD-1的第二天然配体的表位;

[0288] (6) PD-1的第一天然配体的两个或多个表位和PD-1的第二天然配体的一个或多个表位;

[0289] (7) PD-1的一个或多个表位和PD-1的天然配体的一个或多个表位;

[0290] (8) PD-1的一个或多个表位和不同分子的一个或多个表位;或

[0291] (9) PD-1的天然配体的一个或多个表位和不同分子的一个或多个表位。

[0292] 关于能够介导对靶细胞(例如,癌细胞或病原体感染的细胞)的重定向杀伤的本发明分子,本发明尤其涉及这样的实施方式,其中这类分子包含能够免疫特异性结合效应细胞的细胞表面分子的表位的第一表位结合位点和能够免疫特异性地结合排列在这类靶细胞的表面上的疾病抗原的表位的第二表位结合位点。在一个实施方式中,这类分子具备结合效应细胞的细胞表面分子的仅单一表位和排列在靶细胞表面上的疾病抗原的仅单一表位的能力。可选地,关于任一种或两种结合特异性,这类分子可以能够结合效应细胞的细胞表面分子(一种或多种)的一个、两个或多于两个表位,并且能够结合疾病抗原(一种或多种)的一个、两个或多于两个表位。因此,例如,这类分子可结合:

[0293] (1) 效应细胞的细胞表面分子的仅单一表位和排列在靶细胞表面上的疾病抗原的单一表位；

[0294] (2) 这类效应细胞的这类细胞表面分子的仅单一表位和这类疾病抗原的两个或两个表位；

[0295] (3) 这类效应细胞的这类细胞表面分子的仅单一表位和这类疾病抗原的一个、两个或两个表位和不同疾病抗原的一个、两个或两个表位；

[0296] (4) 这类效应细胞的这类细胞表面分子的两个或两个表位和排列在靶细胞表面上的疾病抗原的单一表位；

[0297] (5) 这类效应细胞的这类细胞表面分子的两个或两个表位和这类疾病抗原的两个或两个表位；

[0298] (6) 这类效应细胞的这类细胞表面分子的两个或两个表位和这类疾病抗原的一个、两个或两个表位和这类不同疾病抗原的一个、两个或两个表位；

[0299] (7) 这类效应细胞的这类细胞表面分子的一个、两个或两个表位和效应细胞(其可以是相同类型的效应细胞或可以是不同类型的效应细胞)的不同细胞表面分子的一个、两个或两个表位和排列在靶细胞表面上的疾病抗原的单一表位；

[0300] (8) 这类效应细胞的这类细胞表面分子的一个、两个或两个表位和效应细胞(其可以是相同类型的效应细胞或可以是不同类型的效应细胞)的不同细胞表面分子的一个、两个或两个表位和这类疾病抗原的两个或两个表位；或

[0301] (9) 这类效应细胞的这类细胞表面分子的一个、两个或两个表位和效应细胞(其可以是相同类型的效应细胞或可以是不同类型的效应细胞)的不同细胞表面分子的一个、两个或两个表位和这类疾病抗原的一个、两个或两个表位和这类不同疾病抗原的一个、两个或两个表位。

[0302] 作为实例,本发明考虑这样的结合分子,其包含能够免疫特异性地结合CD3(作为效应细胞的细胞表面分子)的表位的第一表位结合位点;能够免疫特异性地结合排列在这类靶细胞的表面上的疾病抗原的表位的第二表位结合位点;和能够免疫特异性地结合CD8(作为效应细胞的不同细胞表面分子)的表位的第三表位-结合位点。

[0303] 表6A阐释了能够结合PD-1或PD-1的天然配体的本发明示例性分子的可能的组合结合特异性。表6B阐释了能够结合PD-1或PD-1的天然配体以及不是PD-1或PD-1的天然配体的分子的本发明示例性多特异性分子的可能的组合结合特异性。表7阐释了能够介导对靶细胞的重定向杀伤的本发明示例性分子的可能的组合结合特异性。

[0304]

表 6A		
通过能够结合 PD-1 或 PD-1 的天然配体的本发明示例性分子识别的表位数量		
PD-1	PD-1 配体	
	第一 PD-1 配体	第二 PD-1 配体
1	0	0
1	1	

表 6A

通过能够结合 PD-1 或 PD-1 的天然配体的本发明示例性分子识别的表位数量

PD-1	PD-1 配体	
	第一 PD-1 配体	第二 PD-1 配体
1	0	0
1		1
1	2	
1		2
1	>2	
1		>2
2	0	0
2	1	
2		1
2	2	
2		2
2	>2	
2		>2
>2	0	0
>2	1	
>2		1
>2	2	

[0305]

[0306]

表 6A		
通过能够结合 PD-1 或 PD-1 的天然配体的本发明示例性分子识别的表位数量		
PD-1	PD-1 配体	
	第一 PD-1 配体	第二 PD-1 配体
1	0	0
>2		2
>2	>2	
>2		>2
0	1	0
0	1	1
0	2	0
0	2	1
0	2	2
0	>2	1
0	>2	2
0	>2	>2

[0307]

表 6B				
通过能够结合 PD-1 或 PD-1 的天然配体以及不同分子的本发明示例性分子识别的表位数量				
PD-1	不同分子		PD-1 的配体	不同分子

[0308]

表 6B				
通过能够结合 PD-1 或 PD-1 的天然配体以及不同分子的本发明示例性分子识别的表位数量				
1	1		1	1
1	2		1	2
1	>2		1	>2
2	1		2	1
2	2		2	2
2	>2		2	>2
>2	1		>2	1
>2	2		>2	2
>2	>2		>2	>2

[0309]

表 7			
通过能够介导对靶细胞的重定向杀伤的本发明示例性分子识别的表位数量			
效应细胞的细胞表面分子		疾病抗原	
第一表面分子	第二表面分子	第一疾病抗原	第二疾病抗原
1	0	1	0
1	0	1	1
1	0	2	0
1	0	2	1
1	0	2	2

[0310]

表 7			
通过能够介导对靶细胞的重定向杀伤的本发明示例性分子识别的表位数量			
效应细胞的细胞表面分子		疾病抗原	
第一表面分子	第二表面分子	第一疾病抗原	第二疾病抗原
1	0	>2	0
1	0	>2	1
1	0	>2	2
2	0	1	0
2	0	1	1
2	0	2	0
2	0	2	1
2	0	2	2
2	0	>2	0
2	0	>2	1
2	0	>2	2
>2	0	1	0
>2	0	1	1
>2	0	2	0
>2	0	2	1
>2	0	2	2
>2	0	>2	0
>2	0	>2	1

[0311]

表 7			
通过能够介导对靶细胞的重定向杀伤的本发明示例性分子识别的表位数量			
效应细胞的细胞表面分子		疾病抗原	
第一表面分子	第二表面分子	第一疾病抗原	第二疾病抗原
>2	0	>2	2
1	1	1	0
1	1	1	1
1	1	2	0
1	1	2	1
1	1	2	2
1	1	>2	0
1	1	>2	1
1	1	>2	2
2	1	1	0
2	1	1	1
2	1	2	0
2	1	2	1
2	1	2	2
2	1	>2	0
2	1	>2	1
2	1	>2	2
2	2	1	0

[0312]

表 7			
通过能够介导对靶细胞的重定向杀伤的本发明示例性分子识别的表位数量			
效应细胞的细胞表面分子		疾病抗原	
第一表面分子	第二表面分子	第一疾病抗原	第二疾病抗原
2	2	1	1
2	2	2	0
2	2	2	1
2	2	2	2
2	2	>2	0
2	2	>2	1
2	2	>2	2
>2	1	1	0
>2	1	1	1
>2	1	2	0
>2	1	2	1
>2	1	2	2
>2	1	>2	0
>2	1	>2	1
>2	1	>2	2
>2	2	1	0
>2	2	1	1
>2	2	2	0

[0313]

表 7			
通过能够介导对靶细胞的重定向杀伤的本发明示例性分子识别的表位数量			
效应细胞的细胞表面分子		疾病抗原	
第一表面分子	第二表面分子	第一疾病抗原	第二疾病抗原
>2	2	2	1
>2	2	2	2
>2	2	>2	0
>2	2	>2	1
>2	2	>2	2
>2	>2	1	0
>2	>2	1	1
>2	>2	2	0
>2	>2	2	1
>2	>2	2	2
>2	>2	>2	0
>2	>2	>2	1
>2	>2	>2	2

[0314] 对于可由本发明分子结合的表位或另外的表位的性质没有限制,除了这类另外的结合能力不妨碍能够抑制结合PD-1或PD-1的天然配体的分子进行这类结合,并且未不妨碍能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子介导这类重定向杀伤。

[0315] A. 能够结合PD-1或PD-1的天然配体的示例性分子

[0316] 1. 对于PD-1免疫特异性的结合分子

[0317] 对于PD-1免疫特异性的抗体是已知的,并且可被采用或改造以用作能够结合PD-1或PD-1的天然配体的根据本发明的分子(例如,双抗体、ScFv、抗体、CAR、TandAb等)(参见,例如,美国专利申请号62/198,867;62/239,559;62/255,140美国专利号8,008,449;8,552,154;PCT专利公开WO 2012/135408;WO 2012/145549;和WO 2013/014668)。能够结合PD-1或

PD-1的天然配体的优选的分子将展现结合人PD-1的连续或非连续(例如,构象)部分(表位)(CD279)的能力,并且优选地同样展现结合一种或多种非人物种,尤其是灵长类物种(和尤其是灵长类物种,比如食蟹猴)的PD-1分子的能力。可通过分离使用PD-1或其肽片段引起的分泌抗体的杂交瘤来制备另外期望的抗体。代表性人PD-1多肽(NCBI序列NP_005009.2;包括20个氨基酸残基信号序列,加下划线显示)和268个氨基酸残基成熟蛋白质)具有氨基酸序列(SEQ ID NO:45):

MQIPQAPWPV VWAVLQLGWR PGWFLDSPDR PWNPPTFSPA LLVVTEGDNA
TFTCSFSNTS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCRFRTVL
PNGRDFHMSV VRARRNDSTG YLCGAISLAP KAQIKESLRA ELRVTERRAE
VPTAHPSPSP RPAGQFQTLV VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI
GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT
IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL

[0318] 可用于结合PD-1的优选PD-1-结合分子特征在于任意(一个或多个)的下述标准:

[0320] (1) 特异性结合在刺激的人T细胞表面上内源地表达的人PD-1;

[0321] (2) 以40nM或更少的平衡结合常数(K_D)特异性结合人PD-1;

[0322] (3) 以5nM或更少的平衡结合常数(K_D)特异性结合人PD-1;

[0323] (4) 以 $1.5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$ 或更多的结合速率(on rate) (k_a) 特异性结合人PD-1;

[0324] (5) 以 $90.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$ 或更多的结合速率(k_a) 特异性结合人PD-1;

[0325] (6) 以 $7 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ 或更少的解离速率(off rate) (k_d) 特异性结合人PD-1;

[0326] (7) 以 $2 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ 或更少的解离速率(k_d) 特异性结合人PD-1;

[0327] (8) 特异性结合非-人灵长类动物PD-1(例如,食蟹猴的PD-1);

[0328] (9) 抑制(即,阻断或干涉)PD-1配体(PD-L1/PD-L2)与PD-1的结合/抑制活性;

[0329] (10) 刺激免疫应答;和/或

[0330] (11) 用抗-人LAG-3抗体协同作用以刺激抗原特异性T细胞应答。

[0331] 本发明优选的可用于结合PD-1的抗-人PD-1-结合分子具备鼠科抗-人PD-1单克隆抗体“PD-1 mAb 1”、“PD-1 mAb 2”、“PD-1 mAb 3”、“PD-1 mAb 4”、“PD-1 mAb 5”、“PD-1 mAb 6”、“PD-1 mAb 7”、“PD-1 mAb 8”、“PD-1 mAb 9”、“PD-1 mAb 10”、“PD-1 mAb 11”、“PD-1 mAb 12”、“PD-1 mAb 13”、“PD-1 mAb 14”或“PD-1 mAb 15”的人源化VH和/或VL结构域,并且更优选地具备VH结构域的1、2或全部3个CDRH和/或这类抗体的VL结构域的1、2或全部3个CDRL。本发明尤其涉及这类PD-1-结合分子,其包含PD-1结合结构域,所述PD-1结合结构域具备:

[0332] (A) (1) PD-1 mAb 1的VH结构域的三个CDRH;

[0333] (2) PD-1 mAb 1的VL结构域的三个CDRL;

[0334] (3) PD-1 mAb 1的VH结构域的三个CDRH和PD-1 mAb 1的VL结构域的三个CDRL;

[0335] (4) hPD-1 mAb 1 VH1的VH结构域;

[0336] (5) hPD-1 mAb 1 VL1的VL结构域;

[0337] (6) hPD-1 mAb 1的VH和VL结构域;

- [0338] (B) (1) PD-1 mAb 2的VH结构域的三个CDR_H;
- [0339] (2) PD-1 mAb 2的VL结构域的三个CDR_L;
- [0340] (3) PD-1 mAb 2的VH结构域的三个CDR_H和PD-1 mAb 2的VL结构域的三个CDR_L;
- [0341] (4) hPD-1 mAb 2 VH1的VH结构域;
- [0342] (5) hPD-1 mAb 2 VL1的VL结构域;
- [0343] (6) hPD-1 mAb 2的VH和VL结构域;
- [0344] (C) (1) PD-1 mAb 3的VH结构域的三个CDR_H;
- [0345] (2) PD-1 mAb 3的VL结构域的三个CDR_L;
- [0346] (3) PD-1 mAb 3的VH结构域的三个CDR_H和PD-1 mAb 3的VL结构域的三个CDR_L;
- [0347] (D) (1) PD-1 mAb 4的VH结构域的三个CDR_H;
- [0348] (2) PD-1 mAb 4的VL结构域的三个CDR_L;
- [0349] (3) PD-1 mAb 4的VH结构域的三个CDR_H和PD-1 mAb 4的VL结构域的三个CDR_L;
- [0350] (E) (1) PD-1 mAb 5的VH结构域的三个CDR_H;
- [0351] (2) PD-1 mAb 5的VL结构域的三个CDR_L;
- [0352] (3) PD-1 mAb 5的VH结构域的三个CDR_H和PD-1 mAb 5的VL结构域的三个CDR_L;
- [0353] (F) (1) PD-1 mAb 6的VH结构域的三个CDR_H;
- [0354] (2) PD-1 mAb 6的VL结构域的三个CDR_L;
- [0355] (3) PD-1 mAb 6的VH结构域的三个CDR_H和PD-1 mAb 6的VL结构域的三个CDR_L;
- [0356] (G) (1) PD-1 mAb 7的VH结构域的三个CDR_H;
- [0357] (2) PD-1 mAb 7或hPD-1 mAb 7 VL2或hPD-1 mAb 7 VL3的VL结构域的三个CDR_L;
- [0358] (3) PD-1 mAb 7的VH结构域的三个CDR_H和PD-1 mAb 7或hPD-1 mAb 7 VL2、hPD-1 mAb 7 VL3的VL结构域的三个CDR_L;
- [0359] (4) hPD-1 mAb 7 VH1或hPD-1 mAb 7 VH2的VH结构域;
- [0360] (5) hPD-1 mAb 7 VL1或hPD-1 mAb 7 VL2或hPD-1 mAb 7 VL 3的VL结构域;
- [0361] (6) hPD-1 mAb 7 (1.1) 或hPD-1 mAb 7 (1.2) 或hPD-1 mAb 7 (1.3) 或hPD-1 mAb 7 (2.1) 或hPD-1 mAb 7 (2.2) 或hPD-1 mAb 7 (2.3) 的VH和VL结构域;
- [0362] (H) (1) PD-1 mAb 8的VH结构域的三个CDR_H;
- [0363] (2) PD-1 mAb 8的VL结构域的三个CDR_L;
- [0364] (3) PD-1 mAb 8的VH结构域的三个CDR_H和PD-1 mAb 8的VL结构域的三个CDR_L;
- [0365] (I) (1) PD-1 mAb 9或hPD-1 mAb 9 VH2的VH结构域的三个CDR_H;
- [0366] (2) PD-1 mAb 9或hPD-1 mAb 9 VL2的VL结构域的三个CDR_L;
- [0367] (3) PD-1 mAb 9或hPD-1 mAb 9 VH2的VH结构域的三个CDR_H和PD-1 mAb 9或hPD-1 mAb 9 VL2的VL结构域的三个CDR_L;
- [0368] (4) hPD-1 mAb 9 VH1或hPD-1 mAb 9 VH2的VH结构域;
- [0369] (5) hPD-1 mAb 9 VL1或hPD-1 mAb 9 VL2的VL结构域;
- [0370] (6) hPD-1 mAb 9 (1.1) 或hPD-1 mAb 9 (1.2) 或hPD-1 mAb 9 (2.1) 或hPD-1 mAb 9 (2.2) 的VH和VL结构域;
- [0371] (J) (1) PD-1 mAb 10的VH结构域的三个CDR_H;
- [0372] (2) PD-1 mAb 10的VL结构域的三个CDR_L;

- [0373] (3) PD-1 mAb 10的VH结构域的三个CDRH和PD-1 mAb 10的VL结构域的三个CDRL;
- [0374] (K) (1) PD-1 mAb 11的VH结构域的三个CDRH;
- [0375] (2) PD-1 mAb 11的VL结构域的三个CDRL;
- [0376] (3) PD-1 mAb 11的VH结构域的三个CDRH和PD-1 mAb 11的VL结构域的三个CDRL;
- [0377] (L) (1) PD-1 mAb 12的VH结构域的三个CDRH;
- [0378] (2) PD-1 mAb 12的VL结构域的三个CDRL;
- [0379] (3) PD-1 mAb 12的VH结构域的三个CDRH和PD-1 mAb 12的VL结构域的三个CDRL;
- [0380] (M) (1) PD-1 mAb 13的VH结构域的三个CDRH;
- [0381] (2) PD-1 mAb 13的VL结构域的三个CDRL;
- [0382] (3) PD-1 mAb 13的VH结构域的三个CDRH和PD-1 mAb 13的VL结构域的三个CDRL;
- [0383] (N) (1) PD-1 mAb 14的VH结构域的三个CDRH;
- [0384] (2) PD-1 mAb 14的VL结构域的三个CDRL;
- [0385] (3) PD-1 mAb 14的VH结构域的三个CDRH和PD-1 mAb 14的VL结构域的三个CDRL;
- [0386] (O) (1) PD-1 mAb 15的VH结构域的三个CDRH;
- [0387] (2) PD-1 mAb 15的VL结构域的三个CDRL;
- [0388] (3) PD-1 mAb 15的VH结构域的三个CDRH和PD-1 mAb 15的VL结构域的三个CDRL;
- [0389] (4) hPD-1 mAb 15 VH1的VH结构域;
- [0390] (5) hPD-1 mAb 15 VL1的VL结构域;
- [0391] (6) hPD-1 mAb 15的VH和VL结构域;
- [0392] 或
- [0393] 所述PD-1结合结构域结合或竞争结合与PD-1 mAb 1、PD-1 mAb 2、PD-1 mAb 3、PD-1 mAb 4、PD-1 mAb 5、PD-1 mAb 6、PD-1 mAb 7、PD-1 mAb 8、PD-1 mAb 9、PD-1 mAb 10、PD-1 mAb 11、PD-1 mAb 12、PD-1 mAb 13、PD-1 mAb 14或PD-1 mAb 15相同的表位。
- [0394] (a) PD-1 mAb 1
- [0395] 鼠科抗-人PD-1 mAb 1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:46)如下显示(CDRH残基以下划线显示)。
- [0396]

DVQLQESGPG RVKPSQSLSL TCTVTGFSIT NDYAWNWIRQ FPGNKLEWMG
HITYSGSTSY NPSLKSRISI TRDTSKNHFF LQLSSVTPED TATYYCARDY
GSGYPYTLDY WGQGTSTVTS S

- [0397] PD-1 mAb 1的CDRH1(SEQ ID NO:47):NDYAWN
- [0398] PD-1 mAb 1的CDRH2(SEQ ID NO:48):HITYSGSTSYNPSLKS
- [0399] PD-1 mAb 1的CDRH3(SEQ ID NO:49):DYGSGYPYTLDY
- [0400] 鼠科抗-人PD-1 mAb 1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:50)如下显示(CDRL残基以下划线显示):
- [0401]

QIVLTQSPAL MSASPGEKVT MTCSATSIVS YVYWYQQKPG SSPQPWIYLT
SNLASGVPAR FSGSGSGTSY SLTISSMEAE DAATYYCQQW SDNPYTFGGG TKLEIK

- [0402] PD-1 mAb 1CDRL1(SEQ ID NO:51):SATSIVSYVY

[0403] PD-1 mAb 1的CDRL2 (SEQ ID NO:52) :LTSNLAS

[0404] PD-1 mAb 1的CDRL3 (SEQ ID NO:53) :QQWSDNPYT

[0405] 当抗原表位被识别时,上述鼠科抗-人PD-1抗体PD-1 mAb 1被人源化并且进一步被去免疫化,以证明人源化抗-人PD-1抗体的能力时,从而降低其在施用至人接收者后的抗原性。人源化产生一种人源化VH结构域,本文指定为“hPD-1 mAb 1 VH1”,和一种人源化VL结构域,本文指定为“hPD-1 mAb 1 VL1”。因此,包含与人源化VH结构域配对的人源化VL结构域的抗体被称为“hPD-1 mAb 1”。

[0406] hPD-1 mAb 1 VH1的VH结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:54) 如下显示 (CDRH残基以下划线显示):

[0407]

DVQLQESGPG LVKPSQTLSL TCTVSGFSIS NDYAWNWIRQ PPGKGLEWIG
HITYSGSTSY NPSLKSRLLTI TRDTSKNQFV LTMTNMDPVD TATYYCARDY
SGGYPTLDY WGQGT TVTVS S

[0408] hPD-1 mAb 1 VL1的VL结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:55) 如下显示 (CDRH残基以下划线显示):

[0409]

EIVLTQSPAT LSVSPGEKVT ITCSATSIVS YVYWYQQKPG QAPQPLIYLT
SNLASGIPAR FSGSGSGTDF TLTISSEAE DAATYYCQQW SDNPYTFGGG TKVEIK

[0410] (b) PD-1 mAb 2

[0411] 鼠科抗-人PD-1 mAb 2的VH结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:56) 如下显示 (CDRH残基以下划线显示)。

[0412]

DVQLVESGGG LVQPGGSRKL SCAASGFVFS SFGMHWVRQA PEKGLEWVAY
ISSGMSISY ADTVKGRFTV TRDNAKNTLF LQMTSLRSED TAIYYCASLS
DYFDYWGQGT TLTVSS

[0413] PD-1 mAb 2的CDRH1 (SEQ ID NO:57) :SFGMH

[0414] PD-1 mAb 2的CDRH2 (SEQ ID NO:58) :YISSGMSISYADTVKG

[0415] PD-1 mAb 2的CDRH3 (SEQ ID NO:59) :LSDYFDY

[0416] 鼠科抗-人PD-1 mAb 2的VL结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:60) 如下显示 (CDRL残基以下划线显示):

[0417]

DVVMSTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSLV HSTGNTYLHW YLQKPGQSPK
LLIYRVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV FFCSQTTHVP
WTFGGGTKLE IK

[0418] PD-1 mAb 2的CDRL1 (SEQ ID NO:61) :RSSQSLVHSTGNTYLH

[0419] PD-1 mAb 2的CDRL2 (SEQ ID NO:62) :RVSNRFS

[0420] PD-1 mAb 2的CDRL3 (SEQ ID NO:63) :SQTTHVPWT

[0421] 当抗原表位被识别时,上述的鼠科抗-人PD-1抗体PD-1 mAb 2被人源化并且进一步被去免疫化,以证明人源化抗-人PD-1抗体的能力,从而降低其施用至人接收者后的抗原

性。人源化产生一种人源化VH结构域,本文指定为“hPD-1 mAb 2 VH1”,和一种人源化VL结构域,本文指定为“hPD-1 mAb 1 VL1”。因此,包含与人源化VH结构域配对的人源化VL结构域的抗体被称为“hPD-1 mAb 2”。

[0422] hPD-1 mAb 2 VH1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:64)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0423]

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFVFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY
ISSGSMSISY ADTVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRTE DYFDYWGQGT TVTVSS

[0424] hPD-1 mAb 2 VL1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:65)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0425]

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRRSSQSLV HSTGNTYLHW YLQKPGQSPQ
 LLIYRVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCSQTTHVP
WTFGQGTKLE IK

[0426] (c) PD-1 mAb 3

[0427] 鼠科抗-人PD-1 mAb 3的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:66)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)。

[0428]

QVQLQQSGAE LVRPGASVTL SCKASGYTFT DYVMHWVKQT PVHGLEWIGT
IDPETGGTAY NQKFKGKAIL TADKSSNTAY MELRSLTSED SAVYYFTREK
ITTIVEGTYW YFDVWGTGTT VTVSS

[0429] PD-1 mAb 3的CDR_H1(SEQ ID NO:67):DYVMH

[0430] PD-1 mAb 3的CDR_H2(SEQ ID NO:68):TIDPETGGTAYNQKFKG

[0431] PD-1 mAb 3的CDR_H3(SEQ ID NO:69):EKITTIVEGTYWYFDV

[0432] 鼠科抗-人PD-1 mAb 3的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:70)如下显示(CDR_L残基以下划线显示):

[0433]

DVLLTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRRSSQNIV HSNGDTYLEW YLQKPGQSPK
 LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHLP
YTFGGGTKLE IK

[0434] PD-1 mAb 3的CDR_L1(SEQ ID NO:71):RSSQNIVHSNGDTYLE

[0435] PD-1 mAb 3的CDR_L2(SEQ ID NO:72):KVSNRFS

[0436] PD-1 mAb 3的CDR_L3(SEQ ID NO:73):FQGSHPYT

[0437] (d) PD-1 mAb 4

[0438] 鼠科抗-人PD-1 mAb 4的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:74)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)。

[0439]

DVQLVESGGG LVQPGGSRKL SCAASGFVFS SFGMHWVRQA PEKGLEWVAY
ISSGMSISY ADTVKGRFTV TRDNAKNTLF LQMTSLRSED TAIYYCASLT
DYFDYWGQGT TLTVSS

[0440] PD-1 mAb 4的CDR_{H1} (SEQ ID NO:75) :SFGMH[0441] PD-1 mAb 4的CDR_{H2} (SEQ ID NO:76) :YISSGMSISYADTVKG[0442] PD-1 mAb 4的CDR_{H3} (SEQ ID NO:77) :LTDYFDY

[0443] 鼠科抗-人PD-1 mAb 4的VL结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:78) 如下显示 (CDR_L残基以下划线显示) :

[0444]

DVVMSTPLS LPVSLGDQAS ISRSSQSLV HSTGNTYFHW YLQKPGQSPK
 LLIYRVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCSQTTHVP
WTFGGGTKLE IK

[0445] PD-1 mAb 4的CDR_{L1} (SEQ ID NO:79) :RSSQSLVHSTGNTYFH[0446] PD-1 mAb 4的CDR_{L2} (SEQ ID NO:80) :RVSNRFS[0447] PD-1 mAb 4的CDR_{L3} (SEQ ID NO:81) :SQTTHVPWT

[0448] (e) PD-1 mAb 5

[0449] 鼠科抗-人PD-1 mAb 5的VH结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:82) 如下显示 (CDR_H残基以下划线显示)。

[0450]

QVQLQQPGVE LVRPGASVKL SCKASGYSFT AYWMNWMKQR PGQGLEWIGV
IHPDSETWL NQKFDKATL TVDKSSSTAY MQLISPTSED SAVYYCAREEH
YGSSPFAYWG QGTLVTVSA

[0451] PD-1 mAb 5的CDR_{H1} (SEQ ID NO:83) :AYWMN[0452] PD-1 mAb 5的CDR_{H2} (SEQ ID NO:84) :VIHPDSETWLNQKF[0453] PD-1 mAb 5的CDR_{H3} (SEQ ID NO:85) :EHYGSSPFAY

[0454] 鼠科抗-人PD-1 mAb 5的VL结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:86) 如下显示 (CDR_L残基以下划线显示) :

[0455]

DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISRANESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL
 LIYAASNQGS GVPARFSGSG SGTDFSLNIH PMEEDDTAMY FCQQSKEVPY
TFGGGTKLEI K

[0456] PD-1 mAb 5的CDR_{L1} (SEQ ID NO:87) :RANESVDNYGMSFMN[0457] PD-1 mAb 5的CDR_{L2} (SEQ ID NO:88) :AASNQGS[0458] PD-1 mAb 5的CDR_{L3} (SEQ ID NO:89) :QQSKEVPYT

[0459] (f) PD-1 mAb 6

[0460] 鼠科抗-人PD-1 mAb 6的VH结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:90) 如下显示 (CDR_H残基以下划线显示)。

[0461]

EVKLVESGGG LVNPGGSLKL SCAASGFTFS SYGMSWVRQT PEKRLEWVAT
ISGGGSDTTY PDSVKGRFTI SRDNAKNNLY LQMSSLRSED TALYYCARQK
ATTWFAYWGQ GTLTVTVST

[0462] PD-1 mAb 6的CDR_{H1} (SEQ ID NO:91):SYGMS[0463] PD-1 mAb 6的CDR_{H2} (SEQ ID NO:92):TISGGGSDTYYPDSVKG[0464] PD-1 mAb 6的CDR_{H3} (SEQ ID NO:93):QKATTWFAY

[0465] 鼠科抗-人PD-1 mAb 6的VL结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:94) 如下显示 (CDR_L残基以下划线显示):

[0466]

DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVD NYGISFMNWF QQKPGQPPKL
 LIYPASNQGS GVPARFSGSG SGTDFSLNIH PMEEDDAAMY FCQQSKEVPW
TFGGGTKLEI K

[0467] PD-1 mAb 6的CDR_{L1} (SEQ ID NO:95):RASESVDNYGISFMN[0468] PD-1 mAb 6的CDR_{L2} (SEQ ID NO:96):PASNQGS[0469] PD-1 mAb 6的CDR_{L3} (SEQ ID NO:97):QQSKEVPWT

[0470] (g) PD-1 mAb 7

[0471] 鼠科抗-人抗-人PD-1 mAb 7的VH结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:98) 如下显示 (CDR_H残基以下划线显示)。

[0472]

QVQLQQPGAE LVRPGASVKL SCKASGYSFT SYWMNWVKQR PGQGLEWIGV
IHPDSETWL DQKFKDKATL TVDKSSTTAY MQLISPTSED SAVYYCAREEH
YGTSPFAYWG QGTLTVTVSS

[0473] CDR_{H1} of PD-1 mAb 7 (SEQ ID NO:99):SYWMN[0474] PD-1 mAb 7的CDR_{H2} (SEQ ID NO:100):VIHPDSETWLDQKFKD[0475] PD-1 mAb 7的CDR_{H3} (SEQ ID NO:101):EHYGTSPFAY

[0476] 鼠科抗-人PD-1 mAb 7的VL结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:102) 如下显示 (CDR_L残基以下划线显示):

[0477]

DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRANESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL
 LIHAASNQGS GVPARFSGSG FGTDFSLNIH PMEEDDAAMY FCQQSKEVPY
TFGGGTKLEI K

[0478] PD-1 mAb 7的CDR_{L1} (SEQ ID NO:103):RANESVDNYGMSFMN[0479] PD-1 mAb 7的CDR_{L2} (SEQ ID NO:104):AASNQGS[0480] PD-1 mAb 7的CDR_{L3} (SEQ ID NO:105):QQSKEVPYT

[0481] 当抗原表位被识别时,上述鼠科抗-人PD-1抗体PD-1 mAb 7被人源化并且进一步被去免疫化,以证明人源化抗-人PD-1抗体人的能力,从而降低其施用至人接收者后的抗原性。人源化产生两种人源化VH结构域,本文指定为“hPD-1 mAb 7 VH1”和“hPD-1 mAb 7 VH2”,以及三个人源化VL结构域,本文指定为“hPD-1 mAb 7 VL1”、“hPD-1 mAb 7 VL2”和

“hPD-1 mAb 7 VL3”。任何人源化VL结构域可与任一人源化VH结构域配对。因此,包含与人源化VH结构域配对的人源化VL结构域的一种的任何抗体总体上被称为“hPD-1 mAb 7”,并且具体的人源化VH/VL结构域的组合通过参照特定的VH/VL结构域被命名,例如包含hPD-1 mAb 7 VH1和hPD-1 mAb 1 VL2的人源化抗体被具体称为“hPD-1 mAb 7(1.2)”。

[0482] hPD-1 mAb 7 VH1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:106)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0483]

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSFT SYWMNWVRQA PGQGLEWIGV
IHPDSETWL DQKFKDRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAREEH
YGTSPFAYWG QGTLVTVSS

[0484] hPD-1 mAb 7 VH2的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:107)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0485]

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSFT SYWMNWVRQA PGQGLEWAGV
IHPDSETWL DQKFKDRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAREEH
YGTSPFAYWG QGTLVTVSS

[0486] hPD-1 mAb 7 VL1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:108)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0487]

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRANESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL
LIHAASNQGS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY
TFGGGTKVEI K

[0488] hPD-1 mAb 7 VL2的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:109)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0489]

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL
LIHAASNQGS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY
TFGGGTKVEI K

[0490] hPD-1 mAb 7 VL3的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:110)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0491]

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL
LIHAASNRGS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY
TFGGGTKVEI K

[0492] hPD-1 mAb 7 VL2和hPD-1 mAb 7 VL3的VL结构域的CDRL1包含天冬酰胺至丝氨酸的氨基酸取代并且具有氨基酸序列:RASESVDNYGMSFMN(SEQ ID NO:111),取代的丝氨酸以下划线显示)。考虑类似的取代可并入至上述的任意PD-1 mAb 7 CDRL1结构域中。

[0493] 另外,hPD-1 mAb 7 VL3的VL结构域的CDRL2包含谷氨酰胺至精氨酸的氨基酸取代并且具有氨基酸序列:AASNRGS(SEQ ID NO:112),取代的精氨酸以下划线显示)考虑类似的

取代可并入至任意上述PD-1 mAb 7 CDR_{L2}结构域中。

[0494] (h) PD-1 mAb 8

[0495] 鼠科抗-人PD-1 mAb 8的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:113)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)。

[0496]

EGQLQQSGPE LVKPGASVKI SCKASGYTFT DYYMNWVKQN HGKSLEWIGD
INPKNGDTHY NQKFKGEATL TVDKSSTTAY MELRSLTSED SAVYYCASDF
DYWGQGTTILT VSS

[0497] PD-1 mAb 8的CDR_{H1}(SEQ ID NO:114):DYYMN

[0498] PD-1 mAb 8的CDR_{H2}(SEQ ID NO:115):DINPKNGDTHYNQKFKG

[0499] PD-1 mAb 8的CDR_{H3}(SEQ ID NO:116):DFDY

[0500] 鼠科抗-人PD-1 mAb 8的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:117)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0501]

DVVMQTPTLS LPVGLGDQAS ISCRSSQTLV YSNGNTYLNW FLQKPGQSPK
LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLG V YFCSQSTHVP
FTFGSGTKLE IK

[0502] PD-1 mAb 8的CDR_{L1}(SEQ ID NO:118):RSSQTLVYSNGNTYLN

[0503] PD-1 mAb 8的CDR_{L2}(SEQ ID NO:119):KVSNRFS

[0504] PD-1 mAb 8的CDR_{L3}(SEQ ID NO:120):SQSTHVPFT

[0505] (i) PD-1 mAb 9

[0506] 鼠科抗-人PD-1 mAb 9的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:121)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)。

[0507]

EVMLVESGGG LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SYLVSWVRQT PEKRLEWVAT
ISGGGGNTYY SDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQISSLRSED TALYYCARYYG
FDGAWFAYWG QGTLVTVSS

[0508] PD-1 mAb 9的CDR_{H1}(SEQ ID NO:122):SYLVS

[0509] PD-1 mAb 9的CDR_{H2}(SEQ ID NO:123):TISGGGGNTYYSDSVKG

[0510] PD-1 mAb 9的CDR_{H3}(SEQ ID NO:124):YGF~~FDGAWFAY~~

[0511] 鼠科抗-人PD-1 mAb 9的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:125)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0512]

DIQMTQSPAS LSASVGDIVT ITCRASENIY SYLAWYQQKQ EKSPQLLVYN
AKTLAAGVPS RFSGSGSGTQ FSLTINSLQP EDFGNYYCQH HYAVPWTFGG
GTRLEIT

[0513] PD-1 mAb 9的CDR_{L1}(SEQ ID NO:126):RASENIYSYLA

[0514] PD-1 mAb 9的CDR_{L2}(SEQ ID NO:127):NAKTLAA

[0515] PD-1 mAb 9的CDR_{L3}(SEQ ID NO:128):QH~~HYAVPWT~~

[0516] 当抗原表位被识别时,上述鼠科抗-人PD-1抗体PD-1 mAb 9被人源化并且进一步被去免疫化,以证明人源化抗-人PD-1抗体人的能力,从而降低其施用至人接收者后的抗原性。人源化产生两种人源化VH结构域,本文指定为“hPD-1 mAb 9 VH1”和“hPD-1 mAb 9 VH2”,以及两种人源化VL结构域,本文指定为“hPD-1 mAb 9 VL1”和“hPD-1 mAb 9 VL2”。任意人源化VL结构域可与人源化VH结构域配对。因此,包含与人源化VH结构域配对的人源化VL结构域中的一种的任何抗体总体上被称为“hPD-1 mAb 9”,并且具体的人源化VH/VL结构域的组合参照特定的VH/VL结构域被命名,例如包含hPD-1 mAb 9 VH1和hPD-1 mAb 9 VL2的人源化抗体被具体称为“hPD-1 mAb 9 (1.2)”。

[0517] hPD-1 mAb 9 VH1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:129)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0518]

```
EVQLVESGGG LVRPGGSLKL SCAASGFTFS SYLVSWVRQA PGKGLEWVAT
ISGGGGNTYY SDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TATYYCARYYG
FDGAWFAYWG QGTLVTVSS
```

[0519] hPD-1 mAb 9 VH2的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:130)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0520]

```
EVQLVESGGG LARPGGSLKL SCAASGFTFS SYLVGWVRQA PGKGLEWTAT
ISGGGGNTYY SDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSARAED TATYYCARYYG
FDGAWFAYWG QGTLVTVSS
```

[0521] hPD-1 mAb 9 VH2的VH结构域的CDR_{H1}包含丝氨酸至甘氨酸的氨基酸取代并且具有氨基酸序列:SYLVG((SEQ ID NO:131),取代的甘氨酸以下划线显示)。考虑类似的取代可并入至任意上述的PD-1 mAb 9 CDR_{H1}结构域中。

[0522] hPD-1 mAb 9 VL1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:132)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0523]

```
DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASENIY SYLAWYQQKP GKAPKLLIYN
AKTLAAGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH HYAVPWTFGQ
GTKLEIK
```

[0524] hPD-1 mAb 9 VL2的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:133)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0525]

```
DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASENIY NYLAWYQQKP GKAPKLLIYD
AKTLAAGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH HYAVPWTFGQ
GTKLEIK
```

[0526] hPD-1 mAb 9 VL2的VL结构域的CDR_{L1}包含丝氨酸至天冬酰胺的氨基酸取代并且具有氨基酸序列:RASENIYNYLA(SEQ ID NO:134),取代的天冬酰胺以下划线显示)。考虑类似的取代可并入至任意上述PD-1 mAb 9 CDR_{L1}结构域中。

[0527] hPD-1 mAb 9 VL2的VL结构域的CDR_{L2}包含天冬酰胺至天冬氨酸的氨基酸取代并

且具有氨基酸序列:DAKTLAA (SEQ ID NO:135),取代的天冬氨酸以下划线显示)。考虑类似的取代可并入至任意上述的PD-1 mAb 7 CDR_L2结构域中。

[0528] (j) PD-1 mAb 10

[0529] 鼠科抗-人PD-1 mAb 10的VH结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:136) 如下显示 (CDR_H残基以下划线显示)。

[0530]

EVILVESGGG LVKPGGSLKL SCAASGFTFS NYLMSWVRQT PEKRLEWVAS
ISGGGSNIYY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRSED TALYYCARQE
LAFDYWGQGT TLTVSS

[0531] PD-1 mAb 10的CDR_H1 (SEQ ID NO:137):NYLMS

[0532] PD-1 mAb 10的CDR_H2 (SEQ ID NO:138):SISGGGSNIYYPDSVKG

[0533] PD-1 mAb 10的CDR_H3 (SEQ ID NO:139):QELAFDY

[0534] 鼠科抗-人PD-1 mAb 10的VL结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:140) 如下显示 (CDR_L残基以下划线显示):

[0535]

DIQMTQTTSS LSASLGDRV T ISCRTSQDIS NFLNWYQQKP DGTIKLLIYY
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEQ EDIATYFCQQ GSTLPWTFGG
 GTKLEII

[0536] PD-1 mAb 10的CDR_L1 (SEQ ID NO:141):RTSQDISNFLN

[0537] PD-1 mAb 10的CDR_L2 (SEQ ID NO:142):YTSRLHS

[0538] PD-1 mAb 10的CDR_L3 (SEQ ID NO:143):QQGSTLPWT

[0539] (k) PD-1 mAb 11

[0540] 鼠科抗-人PD-1 mAb 11的VH结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:144) 如下显示 (CDR_H残基以下划线显示)。

[0541]

EVQLQQSGTV LARPGASVKM SCKTSGYTFT GYWMHWVKQR PGQGLKWMGA
IYPGNSDTHY NQKFKGKAKL TAVTSASTAY MELSSLTNE D SAIYYCTTGT
YSYFDVWGTG TTVTVSS

[0542] PD-1 mAb 11的CDR_H1 (SEQ ID NO:145):GYWMH

[0543] PD-1 mAb 11的CDR_H2 (SEQ ID NO:146):AIYPGNSDTHYNQKFKG

[0544] PD-1 mAb 11的CDR_H3 (SEQ ID NO:147):GTYSYFDV

[0545] 鼠科抗-人PD-1 mAb 11的VL结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:148) 如下显示 (CDR_L残基以下划线显示):

[0546]

DILLTQSPAI LSVSPGERVS FSCRASQSIG TSIHWYQHRT NGSPRLLIKY
ASESISGIPS RFSGSGSGTD FTLINSVES EDIADYYCQQ SNSWLTFGAG TKLELK

[0547] PD-1 mAb 11的CDR_L1 (SEQ ID NO:149):RASQSIGTSIH

[0548] PD-1 mAb 11的CDR_L2 (SEQ ID NO:150):YASESIS

[0549] PD-1 mAb 11的CDR_L3 (SEQ ID NO:151):QQSNSWLT

[0550] (1) PD-1 mAb 12

[0551] 鼠科抗-人PD-1 mAb 12的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:152)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)。

[0552]

QGHLLQQSGAE LVRPGASVTL SCKASGFTFT DYEMHWVKQT PVHGLEWIGT
IDPETGGTAY NQKFKGKAIL TVDKSSTTTY MELRSLTSED SAVFYCSRER
ITTVVEGAYW YFDVWGTGTT VTVSS

[0553] PD-1 mAb 12的CDR_{H1}(SEQ ID NO:153):DYEMH

[0554] PD-1 mAb 12的CDR_{H2}(SEQ ID NO:154):TIDPETGGTAYNQKFKG

[0555] PD-1 mAb 12的CDR_{H3}(SEQ ID NO:155):ERITTVVEGAYWYFDV

[0556] 鼠科抗-人PD-1 mAb 12的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:156)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0557]

DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK
 LLICKVSTRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGW YYCFQGSHPV
YTFGGGGTKLE IK

[0558] PD-1 mAb 12的CDR_{L1}(SEQ ID NO:157):RSSQNIVHSNGNTYLE

[0559] PD-1 mAb 12的CDR_{L2}(SEQ ID NO:158):KVSTRFS

[0560] PD-1 mAb 12的CDR_{L3}(SEQ ID NO:159):FQGSHPVYT

[0561] (m) PD-1 mAb 13

[0562] 鼠科抗-人PD-1 mAb 13的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:160)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)。

[0563]

EVMLVESGGG LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SHTMSWVRQT PEKRLEWVAT
ISGGGSNIYY PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLRSED TALYYCARQA
YYGNYWYFDV WGTGTTVTVS S

[0564] PD-1 mAb 13的CDR_{H1}(SEQ ID NO:161):SHTMS

[0565] PD-1 mAb 13的CDR_{H2}(SEQ ID NO:162):TISGGGSNIYYPDSVKG

[0566] PD-1 mAb 13的CDR_{H3}(SEQ ID NO:163):QAYYGNWYFDV

[0567] 鼠科抗-人PD-1 mAb 13的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:164)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0568]

DIQMTQSPAT QSASLGESVT ITCLASQTIG TWLAWYQQKP GKSPQLLIYA
ATSLADGVPS RFSGSGSGTK FSKISSQLQA EDFVSYYCQQ LDSIPWTFGG
 GTKLEIK

[0569] PD-1 mAb 13的CDR_{L1}(SEQ ID NO:165):LASQTIGTWLA

[0570] PD-1 mAb 13的CDR_{L2}(SEQ ID NO:166):AATSLAD

[0571] PD-1 mAb 13的CDR_{L3}(SEQ ID NO:167):QQLDIPSIPWT

[0572] (n) PD-1 mAb 14

[0573] 鼠科抗-人PD-1 mAb 14的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:168)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)。

[0574]

QVQLQQPGAE LVKPGASVKM SCKASGYNFI SYWITWVKQR PGQGLQWIGN
IYPGTDGTTY NEKFSKATL TVDTSSTAY MHL SRLTSED SAVYYCATGL
HWYFDVWGTG TTVTVSS

[0575] PD-1 mAb 14的CDR_{H1}(SEQ ID NO:169):SYWIT

[0576] PD-1 mAb 14的CDR_{H2}(SEQ ID NO:170):NIYPGTDGTTYNEKF

[0577] PD-1 mAb 14的CDR_{H3}(SEQ ID NO:171):GLHWYFDV

[0578] 鼠科抗-人PD-1 mAb 14的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:172)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0579]

DIVMTQSQKF MSTSVGDRVS VTCKASQSVG TNVAWYQQKP GQSPKALIYS
ASSRFSGVPD RFTGSGSGTD FTLTISNVQS EDLAEYFCQQ YNSYPYTFGG
GTKLEIK

[0580] PD-1 mAb 14的CDR_{L1} of (SEQ ID NO:173):KASQSVGTNVA

[0581] PD-1 mAb 14的CDR_{L2} of (SEQ ID NO:174):SASSRFS

[0582] PD-1 mAb 14的CDR_{L3} of (SEQ ID NO:175):QQYNSYPYT

[0583] (o)PD-1 mAb 15

[0584] 鼠科抗-人PD-1 mAb 15的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:176)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)。

[0585]

EVMLVESGGG LVKPGGSLKL SCAASGFIFS SYLISWVRQT PEKRLEWVAA
ISGGGADTTY ADSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLRSED TALYYCTTRG
TYAMDYWGQG TSVTVSS

[0586] PD-1 mAb 15的CDR_{H1}(SEQ ID NO:177):SYLIS

[0587] PD-1 mAb 15的CDR_{H2}(SEQ ID NO:178):AISGGGADTTYADSVKG

[0588] PD-1 mAb 15的CDR_{H3}(SEQ ID NO:179):RGTYAMDY

[0589] 鼠科抗-人PD-1 mAb 15的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:180)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0590]

DIQMTQSPAS QSASLGESVT ITCLASQTIG TWLAWYQQKP GKSPQLLIYA
ATSLADGVPS RFSGSGSGTK FSKISSQLQA EDFVNYYCQQ LYSIPWTFGG
GTKLEIK

[0591] PD-1 mAb 15的CDR_{L1}(SEQ ID NO:181):LASQTIGTWLA

[0592] PD-1 mAb 15的CDR_{L2}(SEQ ID NO:182):AATSLAD

[0593] PD-1 mAb 15的CDR_{L3}(SEQ ID NO:183):QQLYSIPWT

[0594] 当抗原表位被识别时,上述鼠科抗-人PD-1抗体PD-1 mAb 15被人源化并且进一步被去免疫化,以证明人源化抗-人PD-1抗体人的能力,从而降低其施用至人接收者后的抗原性。人源化产生一种人源化VH结构域,本文指定为“hPD-1 mAb 15 VH1”,和一种人源化VL结

构域,本文指定为“hPD-1 mAb 15 VL1”。包含与人源化VH结构域配对的人源化VL结构域的抗体被称为“hPD-1 mAb 15”。

[0595] hPD-1 mAb 15 VH1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:184)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0596]

EVQLVESGGG LVRPGGSLRL SCAASGFTFS SYLISWVRQA PGKGLEWVAA
ISGGGADTTY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TATYYCARRG
TYAMDYWGQG TLVTVSS

[0597] hPD-1 mAb 15 VL1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:185)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0598]

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCLASQTIG TWLAWYQQKP GKAPKLLIYA
ATSLADGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLPQ EDFATYYCQQ LYSIPWTFGQ
GTKLEIK

[0599] (p) 另外的抗PD-1抗体

[0600] 可用于产生能够结合PD-1或PD-1的天然配体的可选的分子的抗-PD-1抗体具备下述抗-人PD-1单克隆抗体的VL和/或VH结构域:尼鲁单抗(nivolumab)(CAS登记号:946414-94-4,也称为5C4、BMS-936558、ONO-4538、MDX-1106并且由Bristol-Myers Squibb以OPDIVO®售卖);派姆单抗(pembrolizumab), (之前称为兰罗利珠单抗(lambrolizumab)), CAS登记号:1374853-91-4,也称为MK-3475、SCH-900475,并且由Merck以KEYTRUDA®售卖);EH12.2H7(Dana Farber);皮地珠单抗(pidilizumab), CAS登记号:1036730-42-3,也称为CT-011, CureTech,) ,或表8中的任何抗PD-1抗体;并且更优选地具有这类抗PD-1单克隆抗体的VL区的1、2或所有3个CDRL和/或VH结构域的1、2或所有3个CDRH。尼鲁单抗(WHO药物信息,2013,推荐的INN:列表69,27(1):68-69)、派姆单抗(WHO药物信息,2014,推荐的INN:列表75,28(3):407)和皮地珠单抗(WHO药物信息,2013,推荐的INN:列表70,27(3):303-304)的完整重链和轻链的氨基酸序列是本领域中已知的。可用于本发明方法和组合物中的具备独特的结合特征的另外的抗-PD-1抗体最近已经被鉴别(参见,美国专利申请号62/198,867;62/239,559;62/255,140)。

表 8: 另外的抗 PD-1 抗体

PD-1 抗体	参照/来源
PD1-17; PD1-28; PD1-33; PD1-35; 和 PD1-F2	美国专利号 7,488,802 ; 7,521,051 和 8,088,905; PCT 专利公开 WO 2004/056875
17D8; 2D3; 4H1; 5C4; 4A11; 7D3; 和 5F4	美国专利号 8,008,449 ; 8,779,105 和 9,084,776; PCT 专利公开 WO 2006/121168
hPD-1.08A; hPD-1.09A; 109A; K09A; 409A; h409A11; h409A16; h409A17; 密码子优化的 109A; 和密码子优化的 409A	美国专利号 8,354,509 ; 8,900,587 和 5,952,136; PCT 专利公开 WO 2008/156712
1E3; 1E8; 和 1H3	美国专利公开 2014/0044738; PCT 专 利 公 开 WO 2012/145493
9A2 ; 10B11 ; 6E9 ; APE1922 ; APE1923 ; APE1924; APE1950; APE1963; 和 APE2058	PCT 专 利 公 开 WO 2014/179664
GA1; GA2; GB1; GB6; GH1; A2; C7; H7; SH-A4; SH-A9; RG1H10; RG1H11; RG2H7; RG2H10 ; RG3E12 ; RG4A6 ; RG5D9 ; RG1H10-H2A-22-1S ; RG1H10-H2A-27-2S ; RG1H10-3C ; RG1H10-16C ; RG1H10-17C ; RG1H10-19C; RG1H10-21C; 和 RG1H10-23C2	美国专利公开 2014/0356363; PCT 专 利 公 开 WO 2014/194302

[0601]

表 8: 另外的抗 PD-1 抗体

[0602]

PD-1 抗体	参照/来源
H1M7789N ; H1M7799N ; H1M7800N ; H2M7780N ; H2M7788N ; H2M7790N ; H2M7791N ; H2M7794N ; H2M7795N ; H2M7796N ; H2M7798N ; H4H9019P ; H4xH9034P2 ; H4xH9035P2 ; H4xH9037P2 ; H4xH9045P2 ; H4xH9048P2 ; H4H9057P2 ; H4H9068P2 ; H4xH9119P2 ; H4xH9120P2 ; H4Xh9128p2 ; H4Xh9135p2 ; H4Xh9145p2 ; H4Xh8992p; H4Xh8999p; 和 H4Xh9008p;	美国专利公开 2015/0203579; PCT 专 利 公 开 WO 2015/112800
PD-1 mAb 1; PD-1 mAb 2; hPD-1 mAb 2; PD-1 mAb 3; PD-1 mAb 4; PD-1 mAb 5; PD-1 mAb 6; PD-1 mAb 7; hPD-1 mAb 7; PD-1 mAb 8; PD-1 mAb 9; hPD-1 mAb 9; PD-1 mAb 10; PD-1 mAb 11; PD-1 mAb 12; PD-1 mAb 13; PD-1 mAb 14; PD-1 mAb 15; 和 hPD-1 mAb 15	美国专利申请号 62/198,867 和 62/239,559

[0603] (q) 示例性 IgG4PD-1 抗体

[0604] 在某些实施方式中,可用于本发明方法和组合物的抗-PD-1抗体包含以上提供的任意抗体(例如,PD-1 mAb 1、PD-1 mAb 2、PD-1 mAb 3、PD-1 mAb 4、PD-1 mAb 5、PD-1 mAb 6、PD-1 mAb 7、PD-1 mAb 8等或表6中的任意抗-PD-1抗体)的VL和VH结构域、κCL结构域(SEQ ID NO:12)和IgG4 Fc结构域,任选地缺少C-末端赖氨酸残基。这类抗体优选地包含IgG4 CH1结构域(SEQ ID NO:3)和铰链结构域,并且更优选地包括含S228P取代的稳定化IgG4铰链(其中编号根据Kabat中的EU索引,SEQ ID NO:7)和IgG4 CH2-CH3结构域(SEQ ID NO:7)。

[0605] 被命名为“hPD-1 mAb 7(1.2) IgG4 (P)”的示例性抗-PD-1抗体是人源化抗-人PD-1抗体。如以上指出的,hPD-1 mAb 7(1.2)包含hPD-1 mAb 7 VH1的VH结构域和抗体hPD-1

mAb 7 VL2的VL结构域。

[0606] hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P) 的完整重链的氨基酸序列是SEQ ID NO:186 (CDR_H残基和S228P残基以下划线显示)：

[0607]

QVQLVQSGAE	VKKPGASVKV	SCKASGYSFT	<u>SYWMN</u> WVRQA	PGQGLEWIG <u>V</u>
<u>IHP</u> <u>SDSETWL</u>	<u>DQKFKD</u> RVTI	TVDKSTSTAY	MELSSLRSED	TAVYYCARE <u>EH</u>
<u>YGTSPFAY</u> WG	QGTLVTVSSA	STKGPSVFPL	APCSRSTSES	TAAIGCLVKD
YFPEPVTVSW	NSGALTSGVH	TFPAVLQSSG	LYSLSSVVTV	PSSSLGTTY
TCNVDHKPSN	TKVDKRVESK	YGPPCP <u>P</u> CPA	PEFLGGPSVF	LFPPKPKDTL
MISRTPEVTC	VVVDVSQEDP	EVQFNWYVDG	VEVHNAKTKP	REEQFNSTYR
VVSVLTVLHQ	DWLNGKEYKC	KVSNKGLPSS	IEKTISKAKG	QPREPQVYTL
PPSQEEMTKN	QVSLTCLVKG	FYPSDIAVEW	ESNGQPENNY	KTTTPVLDSD
GSFFLYSRLT VDKSRWQEGN VFSCSVMEHA LHNHYTQKSL SLSLG				

[0608] 在SEQ ID NO:186中,残基1-119对应于hPD-1 mAb 7 VH1的VH结构域(SEQ ID NO:106),氨基酸残基120-217对应于人IgG4 CH1结构域(SEQ ID NO:3),氨基酸残基218-229对应于包括S228P取代的人IgG4铰链结构域(SEQ ID NO:7),氨基酸残基230-245对应于人IgG4 CH2-CH3结构域(SEQ ID NO:11,其中X不存在)。

[0609] 抗体hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P) 的完整轻链的氨基酸序列具备κ恒定区并且是(SEQ ID NO:187)：

[0610]

EIVLTQSPAT	LSLSPGERAT	LSCRASESVD	NYGMSFMNWF	QQKPGQPPKL
LIHAASNQGS	GVPSRFSGSG	SGTDFTLTIS	SLEPEDFAVY	FCQQSKEVPY
TFGGGTKVEI	KRTVAAPSVF	IFPPSDEQLK	SGTASVCLL	NNFYPPREKAV

[0611]

QWKVDNALQS	GNSQESVTEQ	DSKDSTYSLS	STLTLSKADY	EKKHKVYACEV
THQGLSSPVT KSFNRGEC				

[0612] 在SEQ ID NO:187中,氨基酸残基1-111对应于hPD-1 mAb 7VL2 VL的结构域(SEQ ID NO:109),并且氨基酸残基112-218对应于轻链κ恒定区(SEQ ID NO:12)。

[0613] 具有IgG4恒定区的其它示例性抗-PD-1抗体是尼鲁单抗,其是人抗体,以及派姆单抗,其是人源化抗体。每种各包含如上所描述的κCL结构域、IgG4 CH1结构域、稳定化的IgG4铰链和IgG4 CH2-CH3结构域。

[0614] (r)能够结合PD-1和LAG-3的示例性双特异性分子

[0615] 如本文中提供的,能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子可以是双特异性分子。在某些实施方式中,双特异性分子优选包含任意以上提供的抗-PD-1抗体(例如,PD-1 mAb 1、PD-1 mAb 2、PD-1 mAb 3、PD-1 mAb 4、PD-1 mAb 5、PD-1 mAb 6、PD-1 mAb 7、PD-1 mAb 8等或表6中的任意抗-PD-1抗体)的VL和VH结构域以及结合CD137、LAG-3、OX40、TIGIT、TIM-3或VISTA的表位的抗体的VL和VH结构域。这类双特异性分子可以是双抗体、**BITEs®**、双特异性抗体或三价结合分子。

[0616] 被命名为“DART-1”的、能够结合PD-1和LAG-3的示例性双特异性分子是包括四条多肽链的双抗体。DART-1是双特异性四链含Fc区的双抗体,其具有对于PD-1特异性的两个

结合位点、对于LAG-3特异性的两个结合位点、为了延长半衰期而被工程化的变异的IgG4 Fc区和包含半胱氨酸的E/K-螺旋异源二聚体促进结构域(参见,例如,图3B)。DART-1的第一和第三多肽链在N-末端至C-末端方向包含:N-末端、能够结合至LAG-3的单克隆抗体的VL结构域(SEQ ID NO:274中的下划线);间插连接体肽(连接体1:GGGSGGGG(SEQ ID NO:14))、hPD-1 mAb 7 VH1的VH结构域(SEQ ID NO:106);包含半胱氨酸的间插连接体肽(连接体2:GGCGGG(SEQ ID NO:15));包含半胱氨酸的异源二聚体促进(E-螺旋)结构域(EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK(SEQ ID NO:29));稳定化的IgG4铰链区(SEQ ID NO:7);另外包含氨基酸取代M252Y/S254T/T256E并且缺少C-末端残基的变异的IgG4 CH2-CH3结构域(SEQ ID NO:11));和C-末端。DART-1的第一和第三多肽链的氨基酸序列是(SEQ ID NO:274):

[0617]

DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCRASQDVS	SVVAWYQQKP	GKAPKLLIYS
ASYRYTGVP	RFSGSGSGTD	FTLTISSLQP	EDFATYYCQQ	HYSTPWTFGG
<u>GTKLEIK</u> GGG	SGGGGQVQLV	QSGAEVKKPG	ASVKVSCAS	GYSFTSYWMN
WVRQAPGQGL	EWIGVIHPSD	SETWLDQKFK	DRVITITVDKS	TSTAYMELSS
LRSEDTAVYY	CAREHYGTSP	FAYWGQGTLV	TVSSGGCGGG	EVAACEKEVA
ALEKEVAAL	KEVAALKEK	KYGPPCPPCP	APEFLGGPSV	FLFPPKPKDT
LYITREPEVT	CVVVDVSQED	PEVQFNWYVD	GVEVHNAKTK	PREEQFNSTY
RVVSVLTIVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKGLPS	SIEKTISKAK	GQPREPQVYT
LPPSQEEMTK	NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	WESNGQPENN	YKTTTPVLDS
DGSFFLYSRL	TVDKSRWQEG	NVFSCSVMHE	ALHNHYTQKS	LSLSLG

[0618] DART-1的第二和第四多肽链在N-末端至C-末端方向包含:N-末端、hPD-1 mAb 7 VL2的VL结构域(SEQ ID NO:109);间插连接体肽(连接体1:GGGSGGGG(SEQ ID NO:14));能够结合LAG-3的单克隆抗体的VH结构域(SEQ ID NO:275中的下划线);包含半胱氨酸的间插连接体肽(连接体2:GGCGGG(SEQ ID NO:15));包含半胱氨酸的异源二聚体促进(K-螺旋)结构域(KVAACEK-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE(SEQ ID NO:30));和C-末端。DART-1的第二和第四多肽链的氨基酸序列是(SEQ ID NO:275):

[0619]

EIVLTQSPAT	LSLSPGERAT	LSCRASESVD	NYGMSFMNWF	QQKPGQPPKL
LIHAASNQGS	GVPSRFSGSG	SGTDFTLTIS	SLEPEDFAVY	FCQQSKEVPY
TFGGGTKVEI	KGGGSGGGGQ	<u>VQLVQSGAEV</u>	<u>KKPGASVKVS</u>	<u>CKASGYTFTD</u>
<u>YNMDWVRQAP</u>	<u>GQGLEWMGDI</u>	<u>NPDNGVTIYN</u>	<u>QKFEGRVMTT</u>	<u>TDTSTSTAYM</u>
<u>ELRSLRSDDT</u>	<u>AVYYCAREAD</u>	<u>YFYFDYWGQG</u>	<u>TTLTVSS</u> GGC	GGGKVAACEK
KVAALKEKVA	ALKEKVAALK	E		

[0620] 命名为“DART-2”的能够结合PD-1和LAG-3的另一示例性双特异性分子具有与DART-1相同的结构但是并入可选的LAG-3VL和VH结构域。

[0621] 2. 对于PD-1的天然配体免疫特异性的结合分子

[0622] 如以上讨论的,PD-1的天然配体,例如B7-H1(PD-L1)和B7-DC(PD-L2),已经被描述(Ohigashi等人,(2005)“Clinical Significance Of Programmed Death-1 Ligand-1 And Programmed Death-1 Ligand-2 Expression In Human Esophageal Cancer,” Clin.Cancer Res.11:2947-2953;Dong,H.等人,(1999)“B7-H1,A Third Member Of The

B7 Family,Co-Stimulates Cell Proliferation And Interleukin-10 Secretion,” Nat.Med.5:1365-1369;Freeman,G.J.等人,(2000)“Engagement Of The PD-1 Immunoinhibitory Receptor By A Novel B7 Family Member Leads To Negative Regulation Of Lymphocyte Activation,”J.Exp.Med.192:1027-1034;Tseng,S.Y.等人,(2001)“B7-DC,A New Dendritic Cell Molecule With Potent Costimulatory Properties For T Cells,”J.Exp.Med 193:839-846;Latchman,Y.等人,(2001)“PD-L2 Is A Second Ligand For PD-1 And Inhibits T Cell Activation,”Nat.Immunol.2:261-268;Iwai等人,(2002)“Involvement Of PD-L1 On Tumor Cells In The Escape From Host Immune System And Tumor Immunotherapy By PD-L1 Blockade,”Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A.) 99:12293-12297)。

[0623] 代表性人B7-H1 (PD-L1) 多肽 (NCBI序列NP_001254635.1,包括预测的18个氨基酸信号序列) 具有氨基酸序列 (SEQ ID NO:188) :

[0624]

```
MRIFAVFIFM  TYWHLLNAPY  NKINQRILVV  DPVTSEHELT  CQAEGYPKAE
VIWTSSDHQV  LSGKTTTTNS  KREEKLFNVT  STLRINTTTN  EIFYCTFRRL
DPEENHTAEL  VIPELPLAHP  PNERTHLVIL  GAILLCLGVA  LTFIFRLRKG
RMDVKKCGI  QDTNSKKQSD  THLEET
```

[0625] 代表性人B7-DC (PD-L2) 多肽 (NCBI序列NP_079515.2;包括预测的18个氨基酸信号序列) 具有氨基酸序列 (SEQ ID NO:189) :

[0626]

```
MIFLLLMLSL  ELQLHQIAAL  FTVTVPKELY  IIEHGSNVTL  ECNFDTGSHV
NLGAITASLQ  KVENDTSPHR  ERATLLEEQL  PLGKASFHIP  QVQVRDEGQY
QCIIIIYGVAW  DYKYLTLKVK  ASYRKINTHI  LKVPETDEVE  LTCQATGYPL
AEVSWPNVSV  PANTSHSRTP  EGLYQVTSVL  RLKPPPGRNF  SCVFWNTHVR
ELTLASIDLQ  SQMEPRTHPT  WLLHIFIFPC  IIAFIFIATV  IALRKQLCQK
LYSSKDTTKR  PVTTHKREVN  SAI
```

[0627] 虽然B7-H1和B7-DC共享氨基酸序列的34%同一性,但是它们的表达已经表明它们被差别调节 (Youngnak,P.等人,(2003)“Differential Binding Properties Of B7-H1 And B7-DC To Programmed Death-1,”Biochem.Biophys.Res.Commun.307:672-677;Loke,P.等人,(2003)“PD-L1 And PD-L2 Are Differentially Regulated By Th1 And Th2 Cells,”Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A.) 100:5336-5341)。已表明PD-L1通过增加抗原-特异性T细胞克隆的凋亡而在肿瘤免疫中起作用 (Dong等人,(2002)“Tumor-Associated B7-H1 Promotes T-Cell Apoptosis:A Potential Mechanism Of Immune Evasion,”Nat Med 8: 793-800)。同样已经表明B7-H1可涉及肠粘膜炎症,并且抑制B7-H1压制与结肠炎有关的消耗病 (Kanai等人,(2003)“Blockade Of B7-H1 Suppresses The Development Of Chronic Intestinal Inflammation,”J.Immunol.171:4156-4163)。已经报道了在肺、卵巢和结肠的人类癌症中以及在黑色素瘤中的B7-H1表达 (Dong等人,(2002)“Tumor-Associated B7-H1 Promotes T-Cell Apoptosis:A Potential Mechanism Of Immune Evasion,”Nat Med 8: 793-800)。另一方面,B7-DC在肿瘤中的作用在很大程度上仍是未知的 (Liu,X.等人,(2003)“B7-DC/PD-L2 Promotes Tumor Immunity By A PD-1-Independent Mechanism,”

J.Exp.Med.197:1721-1730;Radhakrishnan,S.等人,(2004)“Immunotherapeutic Potential Of B7-DC (PD-L2) Cross-Linking Antibody In Conferring Antitumor Immunity,”Cancer Res 64:4965-4972。已经证明癌细胞上的B7-DC表达在抗肿瘤免疫的诱导和效应期促进CD8 T细胞介导的排斥(Liu,X.等人,(2003)“B7-DC/PD-L2 Promotes Tumor Immunity By A PD-1-Independent Mechanism,”J.Exp.Med.197:1721-1730)。

[0628] 抗-B7-H1抗体可使用具有以上提供的B7-H1氨基酸序列的蛋白质作为免疫原来获得。可选地,可用于产生能够结合PD-1的天然配体的分子的抗-B7-H1抗体可具备下述抗-人B7-H1抗体的VL和/或VH结构域:阿特朱单抗(atezolizumab)(CAS注册号1380723-44-3,也称为MPDL3280A)、度伐鲁单抗(durvalumab)(CAS注册号1428935-60-7,也称为MEDI-4736)、阿维鲁单抗(avelumab),MDX1105(CAS注册号1537032-82-8,也称为BMS-936559),5H1);(同样参见,美国专利号9,273,135、9,062,112、8,981,063、8,779,108、8,609,089和8,460,927;McDermott,D.F.等人,(2016)“Atezolizumab,an Anti-Programmed Death-Ligand 1 Antibody,in Metastatic Renal Cell Carcinoma:Long-Term Safety,Clinical Activity,and Immune Correlates From a Phase Ia Study,”J.Clin.Oncol.34(8):833-842;Antonia,S.等人,(2016)“Safety And Antitumour Activity Of Durvalumab Plus Tremelimumab In Non-Small Cell Lung Cancer:A Multicentre,Phase 1b Study,”Lancet Oncol.17(3):299-308;Boyerinas,B.等人,(2015)“Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Activity of a Novel Anti-PD-L1 Antibody Avelumab (MSB0010718C) on Human Tumor Cells,”Cancer Immunol Res.3(10):1148-1157;Katy,K.等人,(2014)“PD-1 And PD-L1 Antibodies For Melanoma,”Hum.Vaccin.Immunother.10(11):3111-3116;Voena,C.等人,(2016)“Advances In Cancer Immunology And Cancer Immunotherapy,”Discov.Med.21(114):125-133)和/或商业上可得的抗体VL和/或VH结构域(例如,兔抗-人PDL-1单克隆,1:25,克隆SP142;Ventana,Tuscon,AZ)。

[0629] 可根据本发明使用的示例性抗-人B7-H1抗体包括阿特朱单抗、度伐鲁单抗和阿维鲁单抗。阿特朱单抗(WHO药物信息,2015,推荐的INN:列表74,29(3):387)、度伐鲁单抗(WHO药物信息,2015,推荐的INN:列表74,29(3):393-394)和阿维鲁单抗(WHO药物信息,2016,推荐的INN:列表74,30(1):100-101)的完整重链和轻链的氨基酸序列是本领域已知的。

[0630] 抗-B7-DC抗体可同样使用具有以上提供的B7-DC氨基酸序列的蛋白质作为免疫原来获得。可选地,先前描述的抗-B7-DC抗体(例如,2C9、MIH18等)或商业上可得的抗-B7-DC抗体(例如,MIH18,Affymetrix eBioscience)可根据本发明采用(参见,美国专利公开号2015/0299322;Ritprajak,P.等人,(2012)“Antibodies Against B7-DC With Differential Binding Properties Exert Opposite Effects,”Hybridoma(Larchmt).31(1):40-47;Tsushima,F.等人,(2003)“Preferential Contribution Of B7-H1 To Programmed Death-1-Mediated Regulation Of Hapten-Specific Allergic Inflammatory Responses,”Eur.J.Immunol.33(10):2773-2782。

[0631] 可根据本发明使用的示例性抗-人抗-B7-DC抗体是商业上可得的抗-B7-DC抗体MIH18(eBioscience,Inc.)。

[0632] B.能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子

[0633] 具有介导对靶细胞(例如,癌细胞或病原体感染的细胞)的重定向杀伤的能力的本

发明分子优选地具有两种结合亲和力。第一,这类分子具有免疫特异性地结合效应细胞的细胞表面分子的表位的能力。第二,这类分子具有免疫特异性地结合排列在靶细胞表面上的疾病抗原(例如,癌抗原或病原体相关抗原)的表位的能力。这两种结合亲和力的联合存在用来将效应细胞定位至所述靶细胞的位点(即,以“重定向”效应细胞),以使其可介导对靶细胞的杀伤。如以上讨论的,这类分子可以是双特异性的,或可能结合多余两个表位。

[0634] 1. 效应细胞的示例性细胞表面分子

[0635] 如本文使用的,术语“效应细胞”表示直接或间接介导对靶细胞(例如,外源细胞、感染的细胞或癌细胞)的杀伤的细胞。效应细胞的实例包括辅助T细胞、细胞毒性T细胞、天然杀伤(NK)细胞、浆细胞(分泌抗体的B细胞)、巨噬细胞和粒细胞。这类细胞的优选细胞表面分子包括CD2、CD3、CD8、CD16、TCR和NKG2D受体。因此,能够免疫特异性地结合这类分子或结合其它效应细胞表面分子的表位的分子可根据本发明的原理使用。以下提供示例性抗体,其VH和VL结构域可用于构建能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子。

[0636] (a) CD2结合能力

[0637] 在一个实施方式中,能够介导对靶细胞的重定向杀伤的本发明分子通过免疫特异性地结合存在于这类效应细胞的表面上的CD2的表位来结合效应细胞。特异性结合CD2的分子包括抗-CD2抗体“CD2 mAb Lo-CD2a”。

[0638] CD2 mAb Lo-CD2a(ATCC登记号:11423)的VH结构域的氨基酸序列;SEQ ID NO:190)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0639]

```
EVQLQQSGPE LQRPGASVKL SCKASGYIFT EYYMYWVKQR PKQGLELVGR
IDPEDGSIDY VEKFKKKATL TADTSSNTAY MQLSSLTSED TATYFCARGK
FNYRFAYWGQ GTLVTVSS
```

[0640] CD2 mAb Lo-CD2a(ATCC登记号:11423;SEQ ID NO:191)的VL结构域的氨基酸序列如下显示(CDR_L残基以下划线显示):

[0641]

```
DVVLTTQTPPT LLATIGQSVS ISCRSSQSLL HSSGNTYLNW LLQRTGQSPQ
PLIYLVSKLE SGVPNRFSGS GSGTDFTLKI SGVEAEDLGV YYCMQFTHYP
YTFGAGTKLE LK
```

[0642] (b) CD3结合能力

[0643] 在一个实施方式中,能够介导对靶细胞的重定向杀伤的本发明分子通过免疫特异性地结合存在于这类效应细胞表面上的CD3的表位来结合这类效应细胞。特异性结合CD3的分子包括抗-CD3抗体“CD3 mAb 1”和“OKT3”。抗-CD3抗体CD3 mAb 1能够结合非-人灵长类动物(例如,食蟹猴)。

[0644] CD3 mAb 1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:192)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0645]

```
EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS TYAMNWVRQA PGKGLEWVGR
IRSKYNNYAT YYADSVKDRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNFGNSYVS WFAYWGQGTL VTVSS
```

[0646] CD3 mAb 1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:193)如下显示(CDR_L残基以下划线显示):

[0647]

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TCRSSTGAVT TSNYANWVQQ KPGQAPRGLI
GGTNKRAPWT PARFSGSLLG GKAAALTITGA QAEDEADYYC ALWYSNLWVF
GGGTKLTVLG

[0648] 这类抗体的优选变体命名为“CD3 mAb 1 (D65G)”,并且包含具有D65G取代(Kabat位置65,对应于SEQ ID NO:192的残基68)的CD3 mAb 1 VH结构域和CD3 mAb 1的VL结构域(SEQ ID NO:193)。CD3 mAb 1 (D65G)的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:194)如下显示(CDR_H残基以下划线显示,取代的位置(D65G)以双下划线显示):

[0649]

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS TYAMNWVRQA PGKGLEWVGR
IRSKYNNYAT YYADSVKGRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNFGNSYVS WFAYWGQGT L VTVSS

[0650] 可选地,可采用CD3 mAb 1的亲合性变体。变体包括低亲合性变体,命名为“CD3 mAb 1低”,和具有更快解离速率的变体,命名为“CD3 mAb 1快”。以下提供CD3 mAb 1低和CD3 mAb1快的每一种的VH结构域的氨基酸序列。

[0651] 抗-人CD3 mAb 1低的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:195)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0652]

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS TYAMNWVRQA PGKGLEWVGR
IRSKYNNYAT YYADSVKGRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNFGNSYVT WFAYWGQGT L VTVSS

[0653] 抗-人CD3 mAb 1快的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:196)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0654]

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS TYAMNWVRQA PGKGLEWVGR
IRSKYNNYAT YYADSVKGRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HKNFGNSYVT WFAYWGQGT L VTVSS

[0655] CD3 mAb 1的VL结构域(SEQ ID NO:193)对于CD3 mAb 1低和CD3 mAb1快是共有的,并且在上面提供。

[0656] 另一可使用的抗-CD3抗体是抗体莫罗单抗-CD3“OKT3”(Xu等人,(2000)“In Vitro Characterization Of Five Humanized OKT3 Effector Function Variant Antibodies,”Cell.Immunol.200:16-26);Norman,D.J.(1995)“Mechanisms Of Action And Overview Of OKT3,”Ther.Drug Monit.17(6):615-620;Canafax,D.M.等人,(1987)“Monoclonal Antilymphocyte Antibody(OKT3)Treatment Of Acute Renal Allograft Rejection,”Pharmacotherapy 7(4):121-124;Swinnen,L.J.等人,(1993)“OKT3 Monoclonal Antibodies Induce Interleukin-6 And Interleukin-10:A Possible Cause Of Lymphoproliferative Disorders Associated With Transplantation,”

Curr.Opin.Nephrol.Hypertens.2 (4) :670-678)。

[0657] OKT3的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:197)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)：

[0658]

QVQLQQSGAE LARPGASVKM SCKASGYTFT RYTMHWVKQR PGQGLEWIGY
INPSRGYTN NQKFKDKATL TTDKSSSTAY MQLSSLTSED SAVYYCARYY
DDHYCLDYWG QGTTLTVSS

[0659] OKT3的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:198)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0660]

QIVLTQSPAI MSASPGEKVT MTCSASSSVS YMNWYQKSG TSPKRWIYDT
SKLASGVP AH FRGSGSGTSY SLTISGMEAE DAATYYCQQW SSNPFTFGSG
 TKLEINR

[0661] 另外的可使用的抗-CD3抗体包括但不限于PCT公开号W0 2008/119566;和W0 2005/118635中描述的那些。

[0662] (c) CD8结合能力

[0663] 在一个实施方式中,能够介导对靶细胞的重定向杀伤的本发明分子通过免疫特异性地结合存在于效应细胞表面上的CD8的表位来结合这类效应细胞。特异性结合CD8的抗体包括抗-CD8抗体“OKT8”和X2”。

[0664] (i) OKT8

[0665] OKT8的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:199)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)：

[0666]

QVQLLES GPE LLKPGASVKM SCKASGYTFT DYNMHWVKQS HGKSLEWIGY
IYPYTGGTGY NQKFKNKATL TVDSSSSTAY MELRSLTSED SAVYYCARNF
 RYTYWYFDVW GQGT TVTVSS

[0667] OKT8的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:200)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0668]

DIVMTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVD SYDNSLMHWY QQKPGQPPKV
 LIYLASNLES GVPARFSGSG SRTDFTLTID PVEADDAATY YCQQNNEDPY
TFGGGTKLEI KR

[0669] (ii) TRX2

[0670] TRX2的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:201)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)：

[0671]

QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFTFS DFGMNWVRQA PGKGLEWVAL
IYYDGSNKFY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKPH
YDGYHHFFDS WGQGT LVTVS S

[0672] TRX2的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:202)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

示)：

[0673]

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKGSQDIN NYLAWYQQKP GKAPKLLIYN
TDILHTGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDIATYYCYQ YNNGYTFGQG TKVEIK

[0674] (d) CD16结合能力

[0675] 在一个实施方式中,能够介导对靶细胞的重定向杀伤的本发明分子将过免疫特异性地结合存在于效应细胞表面上的CD16的表位来结合这类效应细胞。特异性结合CD16的分子包括抗-CD16抗体“3G8”和“A9”。人源化A9抗体在PCT公开W0 03/101485中被描述。

[0676] (i) 3G8

[0677] 3G8的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:203)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)：

[0678]

QVTLKESGPG ILQPSQTLST TCSFSGFSLR TSGMGVGVWIR QPSGKGLEWL
AHIWWDDDKR YNPALKSRLT ISKDTSSNQV FLKIASVDTA DTATYYCAQI
NPAWFAYWGQ GTLVTVSA

[0679] 3G8的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:204)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0680]

DTVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSVD FDGDSFMNWY QQKPGQPPKL
LIYTTSNLES GIPARFSASG SGTDFTLNIH PVVEEDTATY YCQQSNEDPY
TFGGGTKLEI K

[0681] (ii) A9

[0682] A9的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:205)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)：

[0683]

QVQLQQSGAE LVRPGTSVKI SCKASGYTFT NYWLGWVKQR PGHGLEWIGD
IYPGGGYTNY NEKFKGKATV TADTSSRTAY VQVRSLTSED SAVYFCARSA
SWYFDVWGAR TTVTVSS

[0684] A9的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:206)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0685]

DIQAVVTQES ALTTSPGETV TLTCRSNTGT VTTSNYANWV QEKPDHLFTG
LIGHTNNRAP GVPARFSGSL IGDKAALTIT GAQTEDEAIY FCALWYNNHW
VFGGGTKLTVL

[0686] 另外的可使用的抗-CD19抗体包括但不限于PCT公开号W0 03/101485;和W0 2006/125668中描述的那些。

[0687] (e) TCR结合能力

[0688] 在一个实施方式中,能够介导对靶细胞的重定向杀伤的本发明分子通过免疫特异性地结合存在于效应细胞表面上的TCR的表位来结合这类效应细胞。

[0689] 特异性结合T细胞受体的分子包括抗-TCR抗体“BMA 031”(EP 0403156;Kurrle,R.等人,(1989)“BMA 031-A TCR-Specific Monoclonal Antibody For Clinical Application,”Transplant Proc.21(1 Pt 1):1017-1019;Nashan,B.等人,(1987)“Fine Specificity Of A Panel Of Antibodies Against The TCR/CD3 Complex,”Transplant Proc.19(5):4270-4272;Shearman,C.W.等人,(1991)“Construction,Expression,And Biologic Activity Of Murine/Human Chimeric Antibodies With Specificity For The Human α/β T Cell,”J.Immunol.146(3):928-935;Shearman,C.W.等人,(1991)“Construction,Expression And Characterization of Humanized Antibodies Directed Against The Human α/β T Cell Receptor,”J.Immunol.147(12):4366-4373)。

[0690] BMA 031的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:207)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)：

[0691]

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYKFT SYVMHWVRQA PGQGLEWIGY
INPYNDVTKY NEKFKGRVTI TADKSTSTAY LQMNSLRSED TAVHYCARGS
YYDYDGFVYW GQGTLLTVSS

[0692] BMA 031的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:208)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0693]

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCSATSSVS YMHWYQKPG KAPKRWIYDT
SKLASGVPSR FSGSGSGTEF TLTISSLQPE DFATYYCQQW SSNPLTFGQG TKLEIK

[0694] (f) NKG2D结合能力

[0695] 在一个实施方式中,能够介导对靶细胞的重定向杀伤的本发明分子通过免疫特异性地结合存在于效应细胞表面上的NKG2D受体的表位来结合这类效应细胞。特异性结合NKG2D受体的分子包括抗-NKG2D抗体“KYK-1.0”和“KYK-2.0”(Kwong,KY等人,(2008)“Generation,Affinity Maturation,And Characterization Of A Human Anti-Human NKG2D Monoclonal Antibody With Dual Antagonistic And Agonistic Activity,”J.Mol.Biol.384:1143-1156;和PCT/US09/54911)。

[0696] (i) KYK-1.0

[0697] KYK-1.0的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:209)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)：

[0698]

EVQLVESGGG VVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYGMHWVRQA PGKGLEWVAF
IRYDGSNKYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTKY LQMNSLRAED TAVYYCAKDR
FGYYLDYWGQ GTLLTVSS

[0699] KYK-1.0的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:210)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0700]

QPVLTPQSSV SVAPGETARI PCGGDDIETK SVHWYQQKPG QAPVLVIYDD
DDRPSGIPER FFGSNSGNTA TLSISRVEAG DEADYYCQVW DDNNDEWVFG
 GGTQLTVL

[0701] (ii) KYK-2.0

[0702] KYK-2.0的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:211)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0703]

QVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYGMHWVRQA PGKGLEWVAF
IRYDGSNKYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKDR
GLGDGTYFDY WGQGTITVTS S

[0704] KYK-2.0的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:212)如下显示(CDR_L残基以下划线显示):

[0705]

QSALTQPASV SGSPGQSITI SCSGSSSNIG NNAVNWYQQL PGKAPKLLIY
YDDLPSGVs DRFSGSKSGT SAFLAISGLQ SEDEADYYCA AWDDSLNGPV
 FGGGTKLTVL

[0706] C. 排列在癌细胞表面上的示例性癌抗原

[0707] 如本文使用的,术语“癌抗原”表示在癌细胞表面上特征性表达并且因而可以用基于抗体的分子或免疫调节分子处理的抗原。癌抗原的实例包括但不限于:如在结肠癌、胃癌黏蛋白中发现的19.9;4.2;A33(结直肠癌抗原;Almqvist,Y.(2006)“In vitro and in vivo Characterization of 177Lu-huA33:A Radioimmunoconjugate Against Colorectal Cancer,”Nucl.Med.Biol.33(8):991-998);ADAM-9(美国专利公开号2006/0172350;PCT公开号W0 06/084075);胃癌中发现的AH6;ALCAM(PCT公开号W0 03/093443);APO-1(恶性人淋巴细胞抗原)(Trauth,B.C.等人,(1989)“Monoclonal Antibodies-Mediated Tumor Regression By Induction Of Apoptosis,”Science 245:301-304);B1(Egloff,A.M.等人,(2006)“Cyclin B1 And Other Cyclins As Tumor Antigens In Immunosurveillance And Immunotherapy Of Cancer,”Cancer Res.66(1):6-9);B7-H3(Collins,M.等人,(2005)“The B7 Family Of Immune-Regulatory Ligands,”Genome Biol.6:223.1-223.7)。Chapoval,A.等人,(2001)“B7-H3:A Costimulatory Molecule For T Cell Activation and IFN- γ Production,”Nature Immunol.2:269-274;Sun,M.等人,(2002)“Characterization of Mouse and Human B7-H3 Genes,”J.Immunol.168:6294-6297);BAGE(Bodey,B.(2002)“Cancer-Testis Antigens:Promising Targets For Antigen Directed Antineoplastic Immunotherapy,”Expert Opin.Biol.Ther.2(6):577-584); β -联蛋白(Prange W.等人,(2003)“Beta-Catenin Accumulation In The Progression Of Human Hepatocarcinogenesis Correlates With Loss Of E-Cadherin And Accumulation Of P53,But Not With Expression Of Conventional WNT-1 Target Genes,”J.Pathol.201(2):250-259);结肠腺癌中发现的血型ALe^b/Le^y;伯基特淋巴瘤抗原-38.13;结肠腺癌中发现的C14;CA125(卵巢癌抗原)(Bast,R.C.Jr.等人,(2005)“New Tumor

Markers:CA125 And Beyond,”Int.J.Gynecol.Cancer 15(Suppl 3):274-281;Yu等人,(1991)“Coexpression Of Different Antigenic Markers On Moieties That Bear CA 125 Determinants,”Cancer Res.51(2):468-475;羧肽酶M(美国专利公开号2006/0166291);CD5(Calin,G.A.等人,(2006)“Genomics Of Chronic Lymphocytic Leukemia MicroRNAs As New Players With Clinical Significance,”Semin.Oncol.33(2):167-173;CD19(Ghetie等人,(1994)“Anti-CD19 Inhibits The Growth Of Human B-Cell Tumor Lines In Vitro And Of Daudi Cells In SCID Mice By Inducing Cell Cycle Arrest,”Blood 83:1329-1336;Troussard,X.等人,1998Hematol Cell Ther.40(4):139-48);CD20(Reff等人,(1994)“Depletion Of B Cells In Vivo By A Chimeric Mouse Human Monoclonal Antibody To CD20,”Blood 83:435-445;Thomas,D.A.等人,2006 Hematol Oncol Clin North Am.20(5):1125-36);CD22(Kreitman,R.J.(2006)“Immunotoxins For Targeted Cancer Therapy,”AAPS J.8(3):E532-51);CD23(Rosati,S.等人,(2005)“Chronic Lymphocytic Leukaemia:A Review Of The Immuno-Architecture,”Curr.Top.Microbiol.Immunol.294:91-107);CD25(Troussard,X.等人,(1998)“Hairy Cell Leukemia.What Is New Forty Years After The First Description?”Hematol.Cell.Ther.40(4):139-148);CD27(Bataille,R.(2006)“The Phenotype Of Normal,Reactive And Malignant Plasma Cells.Identification Of”Many And Multiple Myelomas”And Of New Targets For Myeloma Therapy,”Haematologica 91(9):1234-1240);CD28(Bataille,R.(2006)“The Phenotype Of Normal,Reactive And Malignant Plasma Cells.Identification Of”Many And Multiple Myelomas”And Of New Targets For Myeloma Therapy,”Haematologica 91(9):1234-1240);CD33(Sgouros等人,(1993)“Modeling And Dosimetry Of Monoclonal Antibody M195(Anti-CD33)In Acute Myelogenous Leukemia,”J.Nucl.Med.34:422-430);CD36(Ge,Y.(2005)“CD36:A Multiligand Molecule,”Lab Hematol.11(1):31-7);CD40/CD154(Messmer,D.等人,(2005)“CD154 Gene Therapy For Human B-Cell Malignancies,”Ann.N.Y.Acad.Sci.1062:51-60);CD45(Jurcic,J.G.(2005)“Immunotherapy For Acute Myeloid Leukemia,”Curr.Oncol.Rep.7(5):339-346);CD56(Bataille,R.(2006)“The Phenotype Of Normal,Reactive And Malignant Plasma Cells.Identification Of”Many And Multiple Myelomas”And Of New Targets For Myeloma Therapy,”Haematologica 91(9):1234-1240);CD46(美国专利号7,148,038;PCT公开号WO 03/032814);CD52(Eketorp,S.S.等人,(2014)“Alemtuzumab(Anti-CD52 Monoclonal Antibody)As Single-Agent Therapy In Patients With Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukaemia(CLL)-A Single Region Experience On Consecutive Patients,”Ann Hematol.93(10):1725-1733;Suresh,T.等人,(2014)“New Antibody Approaches To Lymphoma Therapy,”J.Hematol.Oncol.7:58;Hoelzer,D.(2013)“Targeted Therapy With Monoclonal Antibodies In Acute Lymphoblastic Leukemia,”Curr.Opin.Oncol.25(6):701-706);CD56(Bataille,R.(2006)“The Phenotype Of Normal,Reactive And Malignant Plasma Cells.Identification Of”Many And Multiple Myelomas”And Of New Targets For Myeloma Therapy,”Haematologica 91

(9):1234-1240);CD79a/CD79b(Troussard,X.等人,(1998)“Hairy Cell Leukemia.What Is New Forty Years After The First Description?”Hematol.Cell.Ther.40(4):139-148;Chu,P.G.等人,(2001)“CD79:A Review,”Appl.Immunohistochem.Mol.Morphol.9(2):97-106);CD103(Troussard,X.等人,(1998)“Hairy Cell Leukemia.What Is New Forty Years After The First Description?”Hematol.Cell.Ther.40(4):139-148);CD317(Kawai,S.等人,(2008)“Interferon- α Enhances CD317 Expression And The Antitumor Activity Of Anti-CD317 Monoclonal Antibody In Renal Cell Carcinoma Xenograft Models,”Cancer Science 99(12):2461-2466;Wang,W.等人,(2009)HM1.24(CD317)Is A Novel Target Against Lung Cancer For Immunotherapy Using Anti-HM1.24 Antibody,”Cancer Immunology,Immunotherapy 58(6):967-976;Wang,W.等人,(2009)“Chimeric And Humanized Anti-HM1.24 Antibodies Mediate Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Against Lung Cancer Cells.Lung Cancer,”63(1):23-31;Sayeed,A.等人,(2013)“Aberrant Regulation Of The BST2(Tetherin)Promoter Enhances Cell Proliferation And Apoptosis Evasion In High Grade Breast Cancer Cells,”PLoS ONE 8(6)e67191,1-10页);CDK4(Lee,Y.M.等人,(2006)“Targeting Cyclins And Cyclin-Dependent Kinases In Cancer:Lessons From Mice,Hopes For Therapeutic Applications In Human,”Cell Cycle 5(18):2110-2114);CEA(癌胚抗原;Foon等人,(1995)“Immune Response To The Carcinoembryonic Antigen In Patients Treated With An Anti-Idiotypic Antibody Vaccine,”J.Clin.Invest.96(1):334-42);Mathelin,C.(2006)“Circulating Proteinic Biomarkers And Breast Cancer,”Gynecol.Obstet.Fertil.34(7-8):638-646;Tellez-Avila,F.I.等人,(2005)“The Carcinoembryonic Antigen:Apropos Of An Old Friend,”Rev.Invest.Clin.57(6):814-819);CEACAM5/CEACAM6(Zheng,C.等人,(2011)“A Novel Anti-CEACAM5 Monoclonal Antibody,CC4,Suppresses Colorectal Tumor Growth and Enhances NK Cells-Mediated Tumor Immunity,”PloS One 6(6):e21146,1-11页);C017-1A(Ragnhammar等人,(1993)“Effect Of Monoclonal Antibody 17-1A And GM-CSF In Patients With Advanced Colorectal Carcinoma-Long-Lasting,Complete Remissions Can Be Induced,”Int.J.Cancer 53:751-758);C0-43(血型Le^b);如腺癌中发现的C0-514(血型Le^a);CTA-1;CTLA-4(Peggs,K.S.等人,(2006)“Principles And Use Of Anti-CTLA4 Antibody In Human Cancer Immunotherapy,”Curr.Opin.Immunol.18(2):206-13);细胞角蛋白8(PCT公开号W0 03/024191);D1.1;D156-22;DR5(Abdulghani,J.等人,(2010)“TRAIL Receptor Signaling And Therapeutics,”Expert Opin.Ther.Targets 14(10):1091-1108;Andera,L.(2009)“Signaling Activated By The Death Receptors Of The TNFR Family,”Biomed.Pap.Med.Fac.Univ.Palacky Olomouc Czech.Repub.153(3):173-180;Carlo-Stella,C.等人,(2007)“Targeting TRAIL Agonistic Receptors for Cancer Therapy,”Clin,Cancer 13(8):2313-2317;Chaudhari,B.R.等人,(2006)“Following the TRAIL to Apoptosis,”Immunologic Res.35(3):249-262);如胰腺癌中发现的E1系列(血型B);EGFR(表皮生长因子受体;Adenis,A.等人,(2003)“Inhibitors Of Epidermal Growth Factor Receptor And Colorectal Cancer,”Bull.Cancer.90Spec No:S228-

S232); 蝶素 (Ephrin受体) (具体为EphA2 (美国专利号7,569,672; PCT公开号W0 06/084226); Erb (ErbB1; ErbB3; ErbB4; Zhou, H. 等人, (2002) "Lung Tumorigenesis Associated With Erb-B-2 And Erb-B-3 Overexpression In Human Erb-B-3 Transgenic Mice Is Enhanced By Methylnitrosourea," *Oncogene* 21(57):8732-8740; Rimón, E. 等人, (2004) "Gonadotropin-Induced Gene Regulation In Human Granulosa Cells Obtained From IVF Patients: Modulation Of Genes Coding For Growth Factors And Their Receptors And Genes Involved In Cancer And Other Diseases," *Int. J. Oncol.* 24(5):1325-1338); GAGE (GAGE-1; GAGE-2; Akcakanat, A. 等人, (2006) "Heterogeneous Expression Of GAGE, NY-ESO-1, MAGE-A and SSX Proteins In Esophageal Cancer: Implications For Immunotherapy," *Int. J. Cancer.* 118(1):123-128); GD2/GD3/GM2 (Livingston, P. O. 等人, (2005) "Selection Of GM2, Fucosyl GM1, Globo H And Polysialic Acid As Targets On Small Cell Lung Cancers For Antibody Mediated Immunotherapy," *Cancer Immunol. Immunother.* 54(10):1018-1025); 神经节苷脂GD2 (GD₂; Saleh 等人, (1993) "Generation Of A Human Anti-Idiotypic Antibody That Mimics The GD2 Antigen," *J. Immunol.*, 151, 3390-3398); 神经节苷脂GD3 (GD₃; Shitara 等人, (1993) "A Mouse/Human Chimeric Anti-(Ganglioside GD3) Antibody With Enhanced Antitumor Activities," *Cancer Immunol. Immunother.* 36:373-380); 神经节苷脂GM2 (GM₂; Livingston 等人, (1994) "Improved Survival In Stage III Melanoma Patients With GM2 Antibodies: A Randomized Trial Of Adjuvant Vaccination With GM2 Ganglioside," *J. Clin. Oncol.* 12:1036-1044); 神经节苷脂GM3 (GM₃; Hoon 等人, (1993) "Molecular Cloning Of A Human Monoclonal Antibody Reactive To Ganglioside GM3 Antigen On Human Cancers," *Cancer Res.* 53:5244-5250); GICA 19-9 (Herlyn 等人, (1982) "Monoclonal Antibody Detection Of A Circulating Tumor-Associated Antigen. I. Presence Of Antigen In Sera Of Patients With Colorectal, Gastric, And Pancreatic Carcinoma," *J. Clin. Immunol.* 2:135-140); gp100 (Lotem, M. 等人, (2006) "Presentation Of Tumor Antigens By Dendritic Cells Genetically Modified With Viral And Nonviral Vectors," *J. Immunother.* 29(6):616-27); Gp37 (人白细胞T细胞抗原; Bhattacharya-Chatterjee 等人, (1988) "Idiotypic Vaccines Against Human T Cell Leukemia. II. Generation And Characterization Of A Monoclonal Idiotypic Cascade (Ab1, Ab2, and Ab3)," *J. Immunol.* 141:1398-1403); gp75 (黑色素瘤抗原; Vijayasardahl 等人, (1990) "The Melanoma Antigen Gp75 Is The Human Homologue Of The Mouse B (Brown) Locus Gene Product," *J. Exp. Med.* 171(4):1375-1380); gpA33 (Heath, J. K. 等人, (1997) "The Human A33 Antigen Is A Transmembrane Glycoprotein And A Novel Member Of The Immunoglobulin Superfamily," *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 94(2):469-474; Ritter, G. 等人, (1997) "Characterization Of Posttranslational Modifications Of Human A33 Antigen, A Novel Palmitoylated Surface Glycoprotein Of Human Gastrointestinal Epithelium," *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 236(3):682-686; Wong, N. A. 等人, (2006) "EpCAM and gpA33 Are Markers Of Barrett's Metaplasia," *J. Clin. Pathol.* 59(3):260-263); HER2抗原 (HER2/neu, p185^{HER2}; Pal, S. K. 等

人, (2006) "Targeting HER2 Epitopes," *Semin.Oncol.* 33 (4) :386-391; HMFG (人乳脂肪球抗原; W01995015171); 人乳头瘤病毒-E6/人乳头瘤病毒-E7 (DiMaio, D. 等人, (2006) "Human Papillomaviruses And Cervical Cancer," *Adv.Virus Res.* 66:125-59; HMW-MAA (高分子量黑色素瘤抗原; Natali 等人, (1987) "Immunohistochemical Detection Of Antigen In Human Primary And Metastatic Melanomas By The Monoclonal Antibody 140.240 And Its Possible Prognostic Significance," *Cancer* 59:55-63; Mittelman 等人, (1990) "Active Specific Immunotherapy In Patients With Melanoma. A Clinical Trial With Mouse Antiidiotypic Monoclonal Antibodies Elicited With Syngeneic Anti-High-Molecular-Weight-Melanoma-Associated Antigen Monoclonal Antibodies," *J.Clin.Invest.* 86:2136-2144); I 抗原 (分化抗原; Feizi (1985) "Demonstration By Monoclonal Antibodies That Carbohydrate Structures Of Glycoproteins And Glycolipids Are Onco-Developmental Antigens," *Nature* 314:53-57); IL13R α 2 (PCT 公开号 W0 2008/146911; Brown, C.E. 等人, (2013) "Glioma IL13R α 2 Is Associated With Mesenchymal Signature Gene Expression And Poor Patient Prognosis," *PLoS One.* 18;8 (10) :e77769; Barderas, R. 等人, (2012) "High Expression Of IL-13 Receptor A2 In Colorectal Cancer Is Associated With Invasion, Liver Metastasis, And Poor Prognosis," *Cancer Res.* 72 (11) :2780-2790; Kasaian, M.T. 等人, (2011) "IL-13 Antibodies Influence IL-13 Clearance In Humans By Modulating Scavenger Activity Of IL-13R α 2," *J.Immunol.* 187 (1) :561-569; Bozinov, O. 等人, (2010) "Decreasing Expression Of The Interleukin-13 Receptor IL-13R α 2 In Treated Recurrent Malignant Gliomas," *Neurol.Med.Chir. (Tokyo)* 50 (8) :617-621; Fujisawa, T. 等人, (2009) "A novel role of interleukin-13 receptor alpha2 in pancreatic cancer invasion and metastasis," *Cancer Res.* 69 (22) :8678-8685); 整联蛋白 β 6 (PCT 公开号 W0 03/087340); JAM-3 (PCT 公开号 W0 06/084078); KID3 (PCT 公开号 W0 05/028498); KID31 (PCT 公开号 W0 06/076584); KS 1/4 全抗原 (Perez 等人, (1989) "Isolation And Characterization Of A cDNA Encoding The Ks1/4 Epithelial Carcinoma Marker," *J.Immunol.* 142:3662-3667; Möller 等人, (1991) "Bi-specific-Monoclonal-Antibody-Directed Lysis Of Ovarian Carcinoma Cells By Activated Human T Lymphocytes," *Cancer Immunol.Immunother.* 33 (4) :210-216; Ragupathi, G. 2005 *Cancer Treat Res.* 123:157-80); L6 和 L20 (人肺癌抗原; Hellström 等人, (1986) "Monoclonal Mouse Antibodies Raised Against Human Lung Carcinoma," *Cancer Res.* 46:3917-3923); LEA; LUCA-2 (美国专利公开号 2006/0172349; PCT 公开号 W0 06/083852); M1:22:25:8; M18; M39; MAGE (MAGE-1; MAGE-3; (Bodey, B. (2002) "Cancer-Testis Antigens: Promising Targets For Antigen Directed Antineoplastic Immunotherapy," *Expert Opin.Biol.Ther.* 2 (6) :577-584); MART (Kounalakis, N. 等人, (2005) "Tumor Cell And Circulating Markers In Melanoma: Diagnosis, Prognosis, And Management," *Curr.Oncol.Rep.* 7 (5) :377-382; 间皮素 (Chang, K. 等人, (1996) "Molecular Cloning Of Mesothelin, A Differentiation Antigen Present On Mesothelium, Mesotheliomas, And Ovarian Cancers," *Proc.Natl.Acad.Sci. (U.S.A.)* 93:136-140); MUC-1 (Mathelin, C. (2006) "Circulating

Proteinic Biomarkers And Breast Cancer,”Gynecol.Obstet.Fertil.34(7-8):638-646);MUM-1(Castelli,C.等人,(2000)“T-Cell Recognition Of Melanoma-Associated Antigens,”J.Cell.Physiol.182(3):323-331);Myl;N-乙酰葡萄糖氨基转移酶(Dennis,J.W.(1999)“Glycoprotein Glycosylation And Cancer Progression,”Biochim.Biophys.Acta.6;1473(1):21-34);拟糖蛋白;如腺癌中发现的NS-10;OFA-1;OFA-2;制癌蛋白M(制癌蛋白受体 β ;美国专利号7,572,896;PCT公开号W0 06/084092);p15(Gil,J.等人,(2006)“Regulation Of The INK4b-ARF-INK4a Tumour Suppressor Locus:All For One Or One For All,”Nat.Rev.Mol.Cell Biol.7(9):667-677);p97(黑素瘤相关的抗原;Estin等人,(1989)“Transfected Mouse Melanoma Lines That Express Various Levels Of Human Melanoma-Associated Antigen p97,”J.Natl.Cancer Instit.81(6):445-454);PEM(多态上皮黏蛋白;Hilkens等人,(1992)“Cell Membrane-Associated Mucins And Their Adhesion-Modulating Property,”Trends in Biochem.Sci.17:359-363);PEMA(多态上皮黏蛋白抗原);PIPA(美国专利号7,405,061;PCT公开号W0 04/043239);PSA(前列腺特异性抗原;Henttu等人,(1989)“cDNA Coding For The Entire Human Prostate Specific Antigen Shows High Homologies To The Human Tissue Kallikrein Genes,”Biochem.Biophys.Res.Comm.10(2):903-910;Israeli等人,(1993)“Molecular Cloning Of A Complementary DNA Encoding A Prostate-Specific Membrane Antigen,”Cancer Res.53:227-230;Cracco,C.M.等人,(2005)“Immune Response In Prostate Cancer,”Minerva Urol.Nefrol.57(4):301-311);PSMA(前列腺特异性膜抗原;Ragupathi,G.(2005)“Antibody Inducing Polyvalent Cancer Vaccines,”Cancer Treat.Res.123:157-180);前列腺酸磷酸盐(Tailor等人,(1990)“Nucleotide Sequence Of Human Prostatic Acid Phosphatase Determined From A Full-Length cDNA Clone,”Nucl.Acids Res.18(16):4928);如黑素瘤中发现的R₂₄;ROR1(美国专利号5,843,749);鞘脂类;SSEA-1;SSEA-3;SSEA-4;sTn(Holmberg,L.A.(2001)“Theratope Vaccine(STn-KLH),”Expert Opin.Biol.Ther.1(5):881-91);皮肤T细胞淋巴瘤的T细胞受体衍生的肽(参见Edelson(1998)“Cutaneous T-Cell Lymphoma:A Model For Selective Immunotherapy,”Cancer J.Sci.Am.4:62-71);骨髓细胞中发现的T_{5A7};TAG-72(Yokota等人,(1992)“Rapid Tumor Penetration Of A Single-Chain Fv And Comparison With Other Immunoglobulin Forms,”Cancer Res.52:3402-3408);TL5(血型A);TNF-受体(TNF- α 受体、TNF- β 受体;TNF- γ 受体(van Horssen,R.等人,(2006)“TNF-Alpha In Cancer Treatment:Molecular Insights,Antitumor Effects,And Clinical Utility,”Oncologist 11(4):397-408;Gardnerova,M.等人,(2000)“The Use Of TNF Family Ligands And Receptors And Agents Which Modify Their Interaction As Therapeutic Agents,”Curr.Drug Targets 1(4):327-364);TRA-1-85(血型H);转铁蛋白受体(美国专利号7,572,895;PCT公开号W0 05/121179);5T4(TPBG,滋养层糖蛋白;Boghaert,E.R.等人,(2008)“The Oncofetal Protein,5T4,Is A Suitable Target For Antibody-Guided Anti-Cancer Chemotherapy With Calicheamicin,”Int.J.Oncol.32(1):221-234;Eisen,T.等人,(2014)“Naptumomab Estafenatox:Targeted Immunotherapy with a Novel Immunotoxin,”Curr.Oncol.Rep.16:370,1-6页);TSTA(肿瘤特异性移植抗

原)如病毒诱导的肿瘤抗原,包括T-抗原DNA肿瘤病毒和RNA肿瘤病毒的包膜抗原、胎性癌抗原-甲胎蛋白如结肠的CEA、膀胱肿瘤癌胚抗原(Hellström等人,(1985)“Monoclonal Antibodies To Cell Surface Antigens Shared By Chemically Induced Mouse Bladder Carcinomas,”Cancer.Res.45:2210-2188);VEGF(Pietrantonio,F.等人,(2015)“Bevacizumab-Based Neoadjuvant Chemotherapy For Colorectal Cancer Liver Metastases:Pitfalls And Helpful Tricks In A Review For Clinicians,”Crit.Rev.Oncol.Hematol.95(3):272-281;Grabowski,J.P.(2015)“Current Management Of Ovarian Cancer,”Minerva Med.106(3):151-156;Field,K.M.(2015)“Bevacizumab And Glioblastoma:Scientific Review,Newly Reported Updates,And Ongoing Controversies,”Cancer 121(7):997-1007;Suh,D.H.等人,(2015)“Major Clinical Research Advances In Gynecologic Cancer In 2014,”J.Gynecol.Oncol.26(2):156-167;Liu,K.J.等人,(2015)“Bevacizumab In Combination With Anticancer Drugs For Previously Treated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer,”Tumour Biol.36(3):1323-1327;Di Bartolomeo,M.等人,(2015)“Bevacizumab Treatment In The Elderly Patient With Metastatic Colorectal Cancer,”Clin.Interv.Aging 10:127-133);VEGF受体(O’Dwyer.P.J.(2006)“The Present And Future Of Angiogenesis-Directed Treatments Of Colorectal Cancer,”Oncologist 11(9):992-998);VEP8;VEP9;VIM-D5;和Y半抗原,如胚胎癌性细胞中发现的Le^y。另外的癌抗原和结合它们的分子(例如,抗体)公开于表10中。5T4、B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、CD123、DR5、EGFR、肝配蛋白受体、gpA33、HER2/neu、IL13Rα2、ROR1和VEGF是本发明特别优选的“癌抗原”。

[0708]

表 10 抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
3F8	Gd2	成神经细胞瘤
8H9	B7-H3	成神经细胞瘤、肉瘤、转移性脑瘤
阿巴伏单抗(Abagovomab)	CA-125	卵巢癌
阿德木单抗 (Adecatumumab)	Epcam	前列腺和乳腺癌
阿托珠单抗(Afutuzumab)	CD20	淋巴瘤
阿赛珠单抗(Alacizumab)	VEGFR2	癌症
阿妥莫单抗(Altumomab)	CEA	结直肠癌
阿麦妥昔(Atatuximab)	间皮素	癌症
麻安莫单抗(Anatumomab Mafenatox)	TAG-72	非小细胞肺癌
阿尼鲁单抗(Anifrolumab)	干扰素 A/B 受体	系统性红斑狼疮
安芦珠单抗 (Anrukinzumab)	IL-13	癌症
阿泊珠单抗(Apolizumab)	HLA-DR	血液癌症
阿西莫单抗 (Arcitumomab)	CEA	胃肠癌症
阿提努单抗(Atinumab)	RTN4	癌症

[0709]

表 10 抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
贝妥莫单抗(Bectumomab)	CD22	非霍奇金淋巴瘤(检测)
贝利木单抗(Belimumab)	BAFF	非霍奇金淋巴瘤
贝伐珠单抗 (Bevacizumab)	VEGF-A	转移性癌症, 早产儿视网膜病
比伐珠单抗(Bivatuzumab)	CD44 V6	鳞状细胞癌
博纳吐单抗 (Blinatumomab)	CD19	癌症
布伦妥昔单抗 (Brentuximab)	CD30 (TNFRSF8)	血液癌症
坎妥珠单抗(Cantuzumab)	MUC1	癌症
莫坎妥珠单抗 (Cantuzumab Mertansine)	黏蛋白 Canag	结直肠癌
卡普赛珠单抗 (Caplacizumab)	VWF	癌症
卡罗单抗(Capromab)	前列腺癌细胞	前列腺癌症(检测)
卡芦单抗(Carlumab)	MCP-1	肿瘤学/免疫指征
卡妥索单抗 (Catumaxomab)	Epcam、CD3	卵巢癌、恶性腹水、胃癌
Cc49	标签-72	肿瘤检测

[0710]

表 10		
抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
西妥昔单抗(Cetuximab)	EGFR	转移性结直肠癌和头颈癌
Ch.14.18	未确定的(undetermined)	成神经细胞瘤
西他珠单抗 (Citatuzumab)	Epcam	卵巢癌和其它实体肿瘤
西妥木单抗 (Cixutumumab)	IGF-1 受体	实体肿瘤
克立瓦妥珠单抗 (Clivatuzumab)	MUC1	胰腺癌
可那木单抗 (Conatumumab)	TRAIL-R2	癌症
达西珠单抗 (Dacetuzumab)	CD40	血液癌症
达洛珠单抗(Dalotuzumab)	胰岛素样生长因子 I 受体	癌症
达雷木单抗 (Daratumumab)	CD38	癌症
登西珠单抗(Demcizumab)	DLL4	癌症
地莫单抗(Detumomab)	B-淋巴瘤细胞	淋巴瘤
卓齐妥单抗(Drozitumab)	DR5	癌症
度利戈妥单抗	HER3	癌症

[0711]

表 10 抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
(Duligotumab)		
Dusigitumab	ILGF2	癌症
依美昔单抗 (Ecromeximab)	GD3 神经节苷脂	恶性黑素瘤
依库珠单抗(Eculizumab)	C5	阵发性夜间血红蛋白尿
依决洛单抗(Edrecolomab)	Epcam	结肠癌
依洛珠单抗(Elotuzumab)	SLAMF7	多发性骨髓瘤
艾思莫单抗(Elsilimomab)	IL-6	癌症
依纳妥珠单抗 (Enavatuzumab)	TWEAK 受体	癌症
恩莫单抗(Enlimomab)	ICAM-1 (CD54)	癌症
依诺吉珠单抗 (Enokizumab)	IL9	哮喘
依诺苏单抗(Enoticumab)	DLL4	癌症
恩司昔单抗(Ensituximab)	5AC	癌症
西依匹莫单抗 (Epitumomab Cituxetan)	Episialin	癌症
依帕珠单抗(Epratuzumab)	CD22	癌症、SLE
厄马索单抗	HER2/Neu, CD3	乳腺癌

[0712]

表 10		
抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
(Ertumaxomab)		
埃 达 珠 单 抗 (Etaracizumab)	整联蛋白 $\text{A}\alpha\beta_3$	黑素瘤、前列腺癌症、卵巢癌
法拉莫单抗(Faralimomab)	干扰素受体	癌症
法 勒 珠 单 抗 (Farletuzumab)	叶酸盐受体 1	卵巢癌
法西努单抗(Fasinumab)	HNGF	癌症
Fbta05	CD20	慢性淋巴细胞性白血病
菲 拉 妥 珠 单 抗 (Ficlatuzumab)	HGF	癌症
芬妥木单抗(Figitumumab)	IGF-1 受体	肾上腺皮质癌，非小细胞肺癌
夫兰妥单抗(Flanvotumab)	TYRP1 (糖蛋白 75)	黑素瘤
芳 妥 珠 单 抗 (Fontolizumab)	IFN- γ	克罗恩氏病
瑞 索 利 木 单 抗 (Fresolimumab)	TGF-B	特发性肺纤维化、局灶性节段性肾小球硬化症、癌症
伏妥昔单抗(Futuximab)	EGFR	癌症

[0713]

表 10 抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
加利昔单抗(Galiximab)	CD80	B 细胞淋巴瘤
甘尼妥单抗(Ganitumab)	IGF-I	癌症
吉妥珠单抗-奥佐米星 (Gemtuzumab Ozogamicin)	CD33	急性骨髓性白血病
吉伏珠单抗 (Gevokizumab)	IL-1 β	糖尿病
吉瑞昔单抗 (Girentuximab)	碳酸酐酶 9 (CA-IX)	透明细胞肾细胞癌
格莱木单抗-维多汀 (Glembatumumab Vedotin)	GPNMB	黑素瘤、乳腺癌
戈利木单抗(Golimumab)	TNF-A	风湿性关节炎、牛皮癣关节炎、关节强硬性脊椎炎
替-伊莫单抗(Ibritumomab Tiuxetan)	CD20	非霍奇金淋巴瘤
艾卢苏单抗(Icrucumab)	VEGFR-1	癌症
伊戈伏单抗(Igovomab)	CA-125	卵巢癌(诊断)
Imab362	Cldn18.2	胃肠腺癌和胰脏肿瘤
英加妥珠单抗	EGFR	癌症

[0714]

表 10		
抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
(Imgatuzumab)		
英拉苏单抗(Inclacumab)	选择素 P	癌症
拉 - 英 达 西 单 抗 (Indatuximab Ravtansine)	SDC1	癌症
伊 珠 单 抗 - 奥 佐 米 星 (Inotuzumab Ozogamicin)	CD22	癌症
英 妥 木 单 抗(Intetumumab)	CD51	实体肿瘤(前列腺癌症、黑素瘤)
伊 匹 木 单 抗(Ipilimumab)	CD152	黑素瘤
伊 妥 木 单 抗(Iratumumab)	CD30 (TNFRSF8)	霍奇金淋巴瘤
伊 曲 珠 单 抗(Itolizumab)	CD6	癌症
拉 贝 珠 单 抗 (Labetuzumab)	CEA	结直肠癌
兰 罗 利 珠 单 抗	PDCD1	抗肿瘤剂
兰 帕 利 珠 单 抗 (Lampalizumab)	CFD	癌症
来 沙 木 单 抗 (Lexatumumab)	TRAIL-R2	癌症
利 韦 单 抗(Libivirumab)	乙型肝炎表面抗原	乙型肝炎

[0715]

表 10 抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
利 格 利 珠 单 抗 (Ligelizumab)	IGHE	癌症
林妥珠单抗(Lintuzumab)	CD33	癌症
利瑞鲁单抗(Lirilumab)	KIR2D	癌症
洛 妥 珠 单 抗 (Lorvotuzumab)	CD56	癌症
鲁 卡 木 单 抗 (Lucatumumab)	CD40	多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤
鲁昔单抗(Lumiliximab)	CD23	慢性淋巴细胞性白血病
马 帕 木 单 抗 (Mapatumumab)	TRAIL-R1	癌症
玛 格 妥 昔 单 抗 (Margetuximab)	Ch4d5	癌症
马妥珠单抗(Matuzumab)	EGFR	结直肠癌、肺癌和胃癌
米 拉 珠 单 抗 (Mi latuzumab)	CD74	多发性骨髓瘤和其它血液学恶性肿瘤
明 瑞 莫 单 抗 (Minretumomab)	TAG-72	癌症
米妥莫单抗(Mitumomab)	GD3 神经节苷脂	小细胞肺癌

[0716]

表 10		
抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
莫 加 珠 单 抗 (Mogamulizumab)	CCR4	癌症
莫 罗 木 单 抗 (Morolimumab)	猕因子	癌症
帕苏托-莫塞妥莫单抗 (Moxetumomab Pasudotox)	CD22	癌症
他那可单抗 (Nacolomab Tafenatox)	C242 抗原	结直肠癌
奈米布单抗(Namilumab)	CSF2	癌症
他那莫单抗(Naptumomab Estafenatox)	5T4	非小细胞肺癌、肾细胞癌
纳那妥单抗(Narnatumab)	RON	癌症
奈巴库单抗(Nebacumab)	内毒素	败血症
奈 昔 木 单 抗 (Necitumumab)	EGFR	非小细胞肺癌
奈 瑞 莫 单 抗 (Nerelimomab)	TNF-A	癌症
耐 斯 伐 库 单 抗	血管生成素 2	癌症

[0717]

表 10 抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
(Nesvacumab)		
尼妥珠单抗 (Nimotuzumab)	EGFR	鳞状细胞癌、头颈癌、鼻咽癌、神经胶质瘤
尼鲁单抗	PD-1	癌症
莫坦-诺非妥莫单抗 (Nofetumomab Merpentan)	未确定的	癌症
奥卡拉妥珠单抗 (Ocaratuzumab)	CD20	癌症
奥法妥木单抗 (Ofatumumab)	CD20	慢性淋巴细胞性白血病
奥拉妥单抗 (Olaratumab)	PDGF-R A	癌症
奥洛珠单抗(Olokizumab)	IL6	癌症
奥纳妥珠单抗 (Onartuzumab)	人散射因子受体激酶 (Human Scatter Factor Receptor Kinase)	癌症
昂妥昔珠单抗 (Ontuxizumab)	TEM1	癌症
莫-奥珠单抗 (Oportuzumab monatox)	Epcam	癌症

[0718]

表 10 抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
奥戈伏单抗(Oregovomab)	CA-125	卵巢癌
奥替库单抗 (Orticumab)	Oxldl	癌症
奥乐妥珠单抗 (Otlertuzumab)	CD37	癌症
帕尼单抗(Panitumumab)	EGFR	结直肠癌
帕尼库单抗(Pankomab)	MUC1 的肿瘤特异性糖基 化	卵巢癌
巴萨妥珠单抗 (Parsatuzumab)	EGFL7	癌症
帕曲妥单抗(Patritumab)	HER3	癌症
派姆单抗	PD-1	癌症
培妥莫单抗 (Pemtumomab)	MUC1	癌症
培拉珠单抗(Perakizumab)	IL17A	关节炎
帕妥珠单抗(Pertuzumab)	HER2/Neu	癌症
皮地珠单抗	PD-1	癌症和传染病
皮那妥珠单抗-维多汀 (Pinatuzumab Vedotin)	CD22	癌症
平妥莫单抗(Pintumomab)	腺癌抗原	腺癌

[0719]

表 10		
抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
普拉库鲁单抗 (Placulumab)	人 TNF	癌症
泊拉妥珠单抗-维多汀 (Polatuzumab Vedotin)	CD79B	癌症
普立托昔单抗 (Pritoxaximab)	大肠杆菌志贺氏毒素类型 -1	癌症
普立妥木单抗 (Pritumumab)	波形蛋白	脑癌
奎利珠单抗(Quilizumab)	IGHE	癌症
雷妥莫单抗 (Racotumomab)	N-羟乙酰神经氨糖酸 (N-Glycolylneuraminic Acid)	癌症
雷得妥单抗(Radretumab)	纤连蛋白额外结构域-B	癌症
雷莫芦单抗 (Ramucirumab)	VEGFR2	实体肿瘤
利妥木单抗 (Rilotumumab)	HGF	实体肿瘤
利妥昔单抗(Rituximab)	CD20	淋巴瘤、白血病(Leukemias)、 一些自身免疫性疾病

[0720]

表 10		
抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
罗 妥 木 单 抗 (Robatumumab)	IGF-1 受体	癌症
罗度单抗 (Roledumab)	RHD	癌症
沙 马 珠 单 抗 (Samalizumab)	CD200	癌症
沙妥莫单抗喷地肽 (Satumomab Pendetide)	TAG-72	癌症
司 里 班 妥 单 抗 (Seribantumab)	ERBB3	癌症
司托昔抗(Setoxaximab)	大肠杆菌志贺氏毒素类型 -1	癌症
Sgn-CD19a	CD19	急性成淋巴细胞性白血病和 B 细胞非-霍奇金淋巴瘤
Sgn-CD33a	CD33	急性髓细胞样白血病
西 罗 珠 单 抗 (Sibrotuzumab)	FAP	癌症
司妥昔单抗(Siltuximab)	IL-6	癌症
索利托单抗(Solitomab)	Epcam	癌症
松 妥 珠 单 抗	Episialin	癌症

[0721]

表 10 抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
(Sontuzumab)		
他巴鲁单抗(Tabalumab)	BAFF	B 细胞癌
替他珠单抗(Tacatuzumab Tetraxetan)	甲胎蛋白	癌症
帕 - 他 莫 单 抗 (Taplitumomab Paptox)	CD19	癌症
替莫单抗 Telimomab	未确定的	癌症
替 妥 莫 单 抗 (Tenatumomab)	生腱蛋白 C	癌症
替奈昔单抗(Teneliximab)	CD40	癌症
替 妥 木 单 抗 (Teprotumumab)	CD221	血液肿瘤
替昔木单抗(Ticilimumab)	CTLA-4	癌症
替加珠单抗(Tigatuzumab)	TRAIL-R2	癌症
Tnx-650	Il-13	霍奇金淋巴瘤
托西莫单抗(tositumomab)	CD20	滤泡淋巴瘤
托维妥单抗(Tovetumab)	CD140a	癌症
曲妥珠单抗(Trastuzumab)	HER2/Neu	乳腺癌
Trbs07	Gd2	黑素瘤

[0722]

表 10		
抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
曲美木单抗 (tremelimumab)	CTLA-4	癌症
西莫白介素单抗 (Tucotuzumab Celmoleukin)	Epcam	癌症
优利妥昔单抗 (Ublituximab)	MS4A1	癌症
乌瑞鲁单抗(urelumab)	4-1BB	癌症
万替妥单抗(Vantictumab)	卷曲受体 (Frizzled Receptor)	癌症
伐利昔单抗(Vapaliximab)	AOC3 (VAP-1)	癌症
伐特殊单抗(Vatelizumab)	ITGA2	癌症
维妥珠单抗 (Veltuzumab)	CD20	非霍奇金淋巴瘤
维森库单抗(Vesencumab)	NRP1	癌症
伏洛昔单抗(Volociximab)	整联蛋白 A5β1	实体肿瘤
伏司妥珠单抗 (Vorsetuzumab)	CD70	癌症
伏妥昔单抗(Votumumab)	肿瘤抗原 CTAA16.88	结直肠肿瘤
扎芦木单抗	EGFR	头颈的鳞状细胞癌

[0723]

表 10		
抗体和基于抗体的分子		
抗体名称	癌抗原	治疗靶应用
(Zalutumumab)		
扎妥昔单抗(Zatuximab)	HER1	癌症
齐拉木单抗(Ziralimumab)	CD147	癌症

[0724] D.能够结合癌抗原的示例性抗体

[0725] 以上表10中列出了示例性抗体,其VH和VL结构域可用于构建能够结合排列在癌细胞表面上的癌抗原和介导这类癌细胞的重定向杀伤的分子,且下面提供另外的抗体,其可用于构建能够结合排列在癌细胞表面上的癌抗原和介导这种癌细胞的重定向杀伤的分子。

[0726] 1.结合B7-H3的抗体

[0727] B7-H3是在很多实体肿瘤类型上过表达的癌抗原,并且是参与免疫调节的分子的B7族的成员(参见,美国专利号8,802,091;US 2014/0328750;US 2013/0149236;Loo,D.等人,(2012)“Development Of An Fc-Enhanced Anti-B7-H3 Monoclonal Antibody With Potent Antitumor Activity,”Clin.Cnacer Res.18(14):3834-3845)。具体的,几项独立的研究已经证明人恶性癌细胞(例如,成神经细胞瘤和胃癌、卵巢癌和非小细胞肺癌的癌细胞)展示显著增加的B7-H3蛋白质的表达,并且该增加的表达与增加的疾病严重性有关(Zang,X.等人,(2007)“The B7 Family And Cancer Therapy:Costimulation And Coinhibition,”Clin.Cancer Res.13:5271-5279),这表明B7-H3被肿瘤用作免疫逃避路径(Hofmeyer,K.等人,(2008)“The Contrasting Role Of B7-H3,”Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A.) 105(30):10277-10278)。

[0728] 也已发现B7-H3共刺激CD4⁺和CD8⁺ T细胞增殖。B7-H3同样刺激IFN- γ 产生和CD8⁺裂解活性(Chapoval,A.等人,(2001)“B7-H3:A Costimulatory Molecule For T Cell Activation and IFN- γ Production,”Nature Immunol.2:269-274;Sharpe,A.H.等人,(2002)“The B7-CD28 Superfamily,”Nature Rev.Immunol.2:116-126)。但是,蛋白质同样可能通过NFAT(激活的T细胞的核因子)、NF- κ B(核因子 κ B)和AP-1(激活蛋白质-1)因子起作用,以抑制T细胞激活(Yi.K.H.等人,(2009)“Fine Tuning The Immune Response Through B7-H3 And B7-H4,”Immunol.Rev.229:145-151)。也认为B7-H3体内抑制Th1、Th2或Th17(Prasad,D.V.等人,(2004)“Murine B7-H3 Is A Negative Regulator Of T Cells,”J.Immunol.173:2500-2506;Fukushima,A.等人,(2007)“B7-H3 Regulates The Development Of Experimental Allergic Conjunctivitis In Mice,”Immunol.Lett.113:52-57;Yi.K.H.等人,(2009)“Fine Tuning The Immune Response Through B7-H3 And B7-H4,”Immunol.Rev.229:145-151)。

[0729] 优选的B7-H3-结合分子具备抗-人B7-H3单克隆抗体“B7-H3 mAb 1”、“B7-H3 mAb 2”或“B7-H3 mAb 3”或本文提供的任意抗-B7-H3抗体的VL和/或VH结构域;并且更优选地,具备这类抗-B7-H3单克隆抗体的VL区的1、2或全部3个CDRL和/或VH结构域的1、2或全部3个CDRH。特别优选的是具备人源化VH和/或VL结构域的B7-H3-结合分子,其包括但不限于“恩波妥珠单抗(Enoblituzumab)”(也称作MGA271;CAS注册号1353485-38-7)。恩波妥珠单抗是一种Fc-优化的单克隆抗体,其结合HER2/neu且介导增强的ADCC活性。恩波妥珠单抗的完整的重链和轻链的氨基酸序列在本领域中是已知的(参见例如WHO Drug Information,2017,被推荐的INN:表77,31(1):49)。

[0730] 本发明特别地包括且涵盖能够结合B7-H3和CD3的B7-H3 x CD3双特异性结合分子,以及特别地包含抗B7-H3单克隆抗体B7-H3 mAb 1、B7-H3 mAb 2或B7-H3 mAb 3中的任一种、或者文中提供的任意B7-H3 x CD3双特异性结合分子、或者在WO 2017/030926中提供的任意B7-H3 x CD3双特异性结合分子的VL和/或VH结构域、和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLS和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHs的这类双特异性结合分子。

[0731] (a) B7-H3 mAb 1

[0732] B7-H3 mAb 1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:213)如下显示(CDRH残基以下划线显示)。

[0733]

QVQLQQSGAE LARPGASVKL SCKASGYTFT SYWMQWVKQR PGQGLEWIGT
IYPGDGDTRY TQKFKGKATL TADKSSSTAY MQLSSLASED SAVYYCARRG
IPRLWYFDVW GAGTTVTVSS

[0734] B7-H3 mAb 1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:214)如下显示(CDRL残基以下划线显示)。

[0735]

DIQMTQTTSS LSASLGDRVT ISCRRASQDIS NYLNWYQQKP DGTVKLLIYY
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTIDNLEQ EDIATYFCQQ GNTLPPTFGG
GTKLEIK

[0736] 以下提供本文指定为“hB7-H3 mAb 1 VH1”和“hB7-H3 mAb 1 VH2”的B7-H3 mAb 1的两个示例性人源化VH结构域,以及本文指定为“hB7-H3 mAb 1 VL1”和“hB7-H3 mAb 1 VL2”的B7-H3 mAb 1的两个示例性人源化VL结构域。应注意到,hB7-H3 mAb 1 VL2包括CDRL1和CDRL2中的氨基酸取代,并且hB7-H3 mAb 1 VH2包括CDRH2中的氨基酸取代。任意人源化VL结构域可与任意人源化VH结构域配对以产生B7-H3结合结构域。因此,包含与人源化VH结构域配对的人源化VL结构域中之任意的任何抗体总体上称为“hB7-H3 mAb 1”,并且人源化VH/VL结构域的具体组合通过参照具体的VH/VL结构域命名,例如包含hB7-H3 mAb 1 VH1和hB7-H3 mAb 1 VL2的人源化抗体具体称为“hB7-H3 mAb 1(1.2)”。

[0737] hB7-H3 mAb 1 VH1的VH结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:215)(CDRH残基以下划线显示):

[0738]

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMQWVRQA PGQGLEWMGT
IYPGDGDTRY TQKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG
IPRLWYFDVW GQGTTVTVSS

[0739] hB7-H3 mAb 1 VH2的VH结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:216) (CDR_H残基以下划线显示)：

[0740]

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMQWVRQA PGQGLEWMGT
IYPGGGDTRY TQKFQGRTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG
IPRLWYFDVW GQGTTVTVSS

[0741] hB7-H3 mAb 1 VL1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:217)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)。

[0742]

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYY
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDIATYYCQQ GNTLPPTFGG
 GTKLEIK

[0743] hB7-H3 mAb 1 VL2的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:218)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)。

[0744]

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYY
TSRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDIATYYCQQ GNTLPPTFGG
 GTKLEIK

[0745] (b) B7-H3 mAb 2

[0746] B7-H3 mAb 2的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:219)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)。

[0747]

DVQLVESGGG LVQPGGSRKL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PEKGLEWVAY
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNPKNLTF LQMTSLRSED TAMYTCGRGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTLTV SS

[0748] B7-H3 mAb 2的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:220)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)。

[0749]

DIAMTQSQKF MSTSVGDRVS VTCKASQNVD TNVAWYQQKP GQSPKALIYS
ASYRYSGVPD RFTGSGSGTD FTLTINNVQS EDLAEYFCQQ YNNYPFTFGS
 GTKLEIK

[0750] 以下提供本文指定为“hB7-H3 mAb 2 VH1”、“hB7-H3 mAb 2 VH2”、“hB7-H3 mAb 2 VH3”和“hB7-H3 mAb 2 VH4”的B7-H3 mAb 2的四个示例性人源化VH结构域,和本文指定为“hB7-H3 mAb 2 VL1”、“hB7-H3 mAb 2 VL2”、“hB7-H3 mAb 2 VL3”、“hB7-H3 mAb 2 VL4”、“hB7-H3 mAb 2 VL5”和“hB7-H3 mAb 2 VL6”的B7-H3 mAb 2的六个示例性人源化VL结构域。任意人源化VL结构域可与任意人源化VH结构域配对,以产生B7-H3结合结构域。因此,包

含与人源化VH结构域配对的人源化VL结构域之一的任何抗体总体上被称为“hB7-H3 mAb 2”，并且人源化VH/VL结构域的具体组合通过参照具体特定的VH/VL结构域命名，例如包含hB7-H3 mAb 2 VH1和hB7-H3 mAb 2VL2的人源化抗体具体称为“hB7-H3 mAb 2(1.2)”。

[0751] hB7-H3 mAb 2 VH1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:221)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)：

[0752]

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCARGGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SS

[0753] hB7-H3 mAb 2 VH2的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:222)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)。

[0754]

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGRGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SS

[0755] hB7-H3 mAb 2 VH3的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:223)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)。

[0756]

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGRGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SS

[0757] hB7-H3 mAb 2 VH4的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:224)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)。

[0758]

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRSED TAVYYCARGGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SS

[0759] hB7-H3 mAb 2 VL1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:225)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)。

[0760]

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKPGKAPKLLIYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
GTKLEIK

[0761] hB7-H3 mAb 2 VL2的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:226)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)。

[0762]

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKPGKAPKALIYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
GTKLEIK

[0763] hB7-H3 mAb 2 VL3的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:227)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)。

基以下划线显示)。

[0764]

DIQLTQSPSF LSASVGDRVS VTCKASQNVD TNVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
 GTKLEIK

[0765] hB7-H3 mAb 2 VL4的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:228)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)。

[0766]

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GQAPKLLIYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
 GTKLEIK

[0767] hB7-H3 mAb 2 VL5的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:229)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)。

[0768]

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GQAPKALIYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
 GTKLEIK

[0769] hB7-H3 mAb 2 VL6的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:230)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)。

[0770]

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFAEYYCQQ YNNYPFTFGQ
 GTKLEIK

[0771] (c) B7-H3 mAb 3

[0772] B7-H3 mAb 3的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:231)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)。

[0773]

EVQQVESGGD LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT
INSGGSNTYY PDSLKGRFTI SRDNAKNTLY LQMRSLKSED TAMYYCARHD
GGAMDYWGQG TSVTVSS

[0774] B7-H3 mAb 3的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:232)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)。

[0775]

DIQMTQSPAS LSVSVGETVT ITCRASESIY SYLAWYQQKQ GKSPQLLVYN
TKTLPEGVPS RFSGSGSGTQ FSLKINSLQP EDFGRYYCQH HYGTPPWTFG
 GGTNLEIK

[0776] (d) 其它抗-B7-H3结合分子

[0777] 除了以上鉴定的优选的抗-B7-H3结合分子,本发明考虑使用任意下述抗-B7-H3结合分子:LUCA1;BLA8;PA20;或SKN2(参见,美国专利号7,527,969;8,779,098和PCT专利公开WO 2004/001381);M30;cM30;M30-H1-L1;M30-H1-L2;M30-H1-L3;M30-H1-L4;M30-H1-L5;

M30-H1-L6;M30-H1-L7;M30-H4-L1;M30-H4-L2;M30-H4-L3;和M30-H4-L4(参见,美国专利公开2013/0078234和PCT专利公开WO 2012/147713;和8H9(参见美国专利号7,666,424;7,737,258;7,740,845;8,148,154;8,414,892;8,501,471;9,062,110;美国专利公开2010/0143245和PCT专利公开WO 2008/116219)。

[0778] 2. 结合CEACAM5和CEACAM6的抗体

[0779] 已经发现癌胚抗原-相关的细胞粘附分子5 (CEACAM5) 和6 (CEACAM6) 与各种类型的癌症有关,所述各种类型的癌症包括甲状腺髓质癌、结直肠癌、胰腺癌、肝细胞癌、胃癌、肺癌、头颈癌、膀胱癌、前列腺癌、子宫癌、子宫内膜癌、乳腺癌、造血系统癌症(hematopoietic cancer)、白血病和卵巢癌(PCT公开号WO 2011/034660),尤其是结直肠癌、胃肠癌、胰腺癌、非小细胞肺癌(NSCL)、乳腺癌、甲状腺癌、胃癌、卵巢癌和子宫癌(Zheng,C.等人,(2011)“A Novel Anti-CEACAM5 Monoclonal Antibody,CC4,Suppresses Colorectal Tumor Growth and Enhances NK Cells-Mediated Tumor Immunity,”PLoS One 6(6):e21146,1-11页)。

[0780] 已经发现CEACAM5在90%的胃肠癌、结直肠癌和胰腺癌、70%的非小细胞肺癌细胞和50%的乳腺癌中过表达(Thompson,J.A.等人,(1991)“Carcinoembryonic Antigen Gene Family:Molecular Biology And Clinical Perspectives,”J.Clin.Lab.Anal.5:344-366)。过表达的癌胚抗原相关的细胞粘附分子6 (CEACAM6) 在各种人癌症的侵入和转移中起到重要作用,所述各种人癌症包括甲状腺髓质癌、结直肠癌、胰腺癌、肝细胞癌、胃癌、肺癌、头颈癌、膀胱癌、前列腺癌、子宫癌、子宫内膜癌、乳腺癌、造血系统癌症、白血病和卵巢癌(PCT公开号WO 2011/034660;Deng,X.等人,(2014)“Expression Profiling Of CEACAM6 Associated With The Tumorigenesis And Progression In Gastric Adenocarcinoma,”Genet.Mol.Res.13(3):7686-7697;Cameron,S.等人,(2012)“Focal Overexpression Of CEACAM6 Contributes To Enhanced Tumourigenesis In Head And Neck Cancer Via Suppression Of Apoptosis,”Mol.Cancer 11:74,1-11页;Chapin,C.等人,(2012)“Distribution And Surfactant Association Of Carcinoembryonic Cell Adhesion Molecule 6 In Human Lung,”Amer.J.Physiol.Lung Cell.Mol.Physiol.302(2):L216-L25;Riley,C.J.等人,(2009)“Design And Activity Of A Murine And Humanized Anti-CEACAM6 Single-Chain Variable Fragment In The Treatment Of Pancreatic Cancer,”Cancer Res.69(5):1933-1940;Lewis-Wambi,J.S.等人,(2008)“Overexpression Of CEACAM6 Promotes Migration And Invasion Of Oestrogen-Deprived Breast Cancer Cells,”Eur.J.Cancer 44(12):1770-1779;Blumenthal,R.D.等人,(2007)“Expression Patterns Of CEACAM5 And CEACAM6 In Primary And Metastatic Cancers,”BMC Cancer.7:2,1-15页)。免疫特异性地结合CEACAM5和CEACAM6的抗体是商业上可得的(Santa Cruz Biotechnology,Inc.,Novus Biologicals LLC;Abnova Corporation)。

[0781] (a) 抗体16C3

[0782] 人源化抗-CEACAM5/抗-CEACAM6抗体16C3(EP 2585476)的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:233)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0783]

QVQLQQSGPE VVRPGVSVKI SCKGSGYTFT DYAMHWVKQS HAKSLEWIGL
ISTYSGDTKY NQNFKGKATM TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARGD
YSGSRYWFAY WGQGTLVTVS S

[0784] 人源化抗-CEACAM5/抗-CEACAM6抗体16C3 (EP 2585476) 的VL结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:234) 如下显示 (CDRL残基以下划线显示):

[0785]

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCGASENIY GALNWYQRKP GKSPKLLIWG
ASNLADGMPS RFSGSGSGRQ YTLTISSLQP EDVATYYCQN VLSSPYTFGG
 GTKLEIK

[0786] (b) 抗体hMN15

[0787] 人源化抗-CEACAM5/CEACAM6抗体hMN15的VH结构域的氨基酸序列 (WO 2011/034660) (SEQ ID NO:235) 如下显示 (CDRH残基以下划线显示):

[0788]

QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCSSSGFALT DYYMSWVRQA PGKGLEWLG
IANKANGHTT DYSPSVKGRF TISRDN SKNT LFLQMDSLRP EDTGVYFCAR
DMGIRWNFDV WGQGTPVTVS S

[0789] 人源化抗-CEACAM5/CEACAM6抗体hMN15的VL结构域的氨基酸序列 (WO 2011/034660) (SEQ ID NO:236) 如下显示 (CDRL残基以下划线显示):

[0790]

DIQLTQSPSS LSASVGDRVIT MTCSASSRVS YIHWYQQKPG KAPKRWIYGT
STLASGVPAR FSGSGSGTDF TFTISSLQPE DIATYYCQQW SYNPPTFGQG
 TKVEIKR

[0791] 本发明具体地包括和涵盖能够结合CEACAM5和/或CEACAM6的CEACAM5/CEACAM6结合分子 (例如CEACAM5/CEACAM6 x CD3双特异性结合分子), 以及特别地是包含抗-CEACAM5/CEACAM6单克隆抗体16C3或hMN15的VL和/或VH结构域, 和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLs和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHs的这类结合分子。

[0792] 3. 结合EGFR的抗体

[0793] 表皮生长因子受体 (EGFR) 是某些转移性结直肠癌、转移性非小细胞肺癌和头颈癌的癌抗原。结合人EGFR的示例性抗体是“西妥昔单抗”和“帕尼单抗”。西妥昔单抗是重组人-小鼠嵌合表皮生长因子受体 (EGFR) IgG1单克隆抗体 (Govindan R. (2004) “Cetuximab In Advanced非-Small Cell Lung Cancer,” Clin.Cancer Res.10 (12Pt 2):4241s-4244s; Bou-Assaly, W.等人, (2010) “Cetuximab (Erbix),” Am.J.Neuroradiol.31 (4):626-627)。帕尼单抗 (**Vectibix®**, Amgen) 是全人源化表皮生长因子受体 (EGFR) IgG2单克隆抗体 (Foon, K.A.等人, (2004) “Preclinical And Clinical Evaluations Of ABX-EGF, A Fully Human Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Antibody,” Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.58 (3):984-990; Yazdi, M.H.等人, (2015) “A Comprehensive Review of Clinical Trials on EGFR Inhibitors Such as Cetuximab and Panitumumab as Monotherapy and in Combination for Treatment of Metastatic

Colorectal Cancer,”Avicenna J.Med.Biotechnol.7 (4):134-144)。

[0794] (a) 西妥昔单抗

[0795] 嵌合抗-EGFR抗体西妥昔单抗的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:237)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)：

[0796]

QVQLKQSGPG LVQPSQSLSI TCTVSGFSLT NYGVHWVRQS PGKGLEWLGV
IWSGNTDYN TPFTSRLSIN KDNSKSQVFF KMNSLQSNDT AIYYCARALT
YYDYEFAYWG QGTLVTVSA

[0797] 嵌合抗-EGFR抗体西妥昔单抗的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:238)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0798]

DILLTQSPVI LSVSPGERVS FSCRASQSIG TNIHWYQRT NGSPRLLIKY
ASESISGIPS RFSGSGSGTD FTLSINSVES EDIADYYCQQ NNNWPTTFGA
 GTKLELKR

[0799] (b) 帕尼单抗

[0800] 帕尼单抗的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:239)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)：

[0801]

QVQLQESGPG LVKPSETLSL TCTVSGGSVS SGDYYWTWIR QSPGKGLEWI
GHIYYSGNTN YNPSLKSRLT ISIDTSKTQF SLKLSSVTAA DTAIYYCVRD
RVTGAFDIWG QGTMVTVSS

[0802] 帕尼单抗的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:240)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0803]

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCQASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYD
ASNLETGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLPQ EDIATYFCQH FDHLPLAFGG
 GTKVEIKR

[0804] 本申请具体地包括和涵盖能够结合EGFR的EGFR结合分子(例如EGFR x CD3双特异性结合分子),以及特别地是包含抗-EGFR单克隆抗体西妥昔单抗或帕尼单抗的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLs和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHs的这类结合分子。

[0805] 4. 结合EphA2的抗体

[0806] 受体酪氨酸激酶、蝶素型-A受体2 (EphA2) 通常在成人上皮组织中细胞与细胞接触的位点处表达,但是,最近的研究已经证明其也在各种类型的上皮癌(epithelial carcinomas)中过表达,其中以在转移性病变中观察到的EphA2表达水平最高。已经在很大范围的癌症和许多癌细胞系,包括前列腺癌、乳腺癌、非小细胞肺癌和黑色素瘤,中发现高表达水平的EphA2(Xu,J.等人,(2014)“High EphA2 Protein Expression In Renal Cell Carcinoma Is Associated With A Poor Disease Outcome,”Oncol.Lett.Aug 2014;8 (2):687-692;Miao,B.等人,(2014)“EphA2is a Mediator of Vemurafenib Resistance and a Novel Therapeutic Target in Melanoma,”Cancer Discov.Pii:CD-14-0295)。

EphA2似乎不仅仅是癌症的标记物,而似乎在许多人类癌症中被持续地过表达并且功能上被改变(Chen,P.等人,(2014)“EphA2 Enhances The Proliferation And Invasion Ability Of LnCap Prostate Cancer Cells,”Oncol.Lett.8(1):41-46)。结合人EphA2的示例性抗体是“EphA2 mAb 1”、“EphA2 mAb 2”和“EphA2 mAb 3”。

[0807] (a) EphA2 mAb 1

[0808] EphA2 mAb 1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:241)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0809]

QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTVSGFSL **RYSVHWVRQP** PGKGLEWLGM
IWGGGSTDYN SALKSRLSIS KDNSKSQVFL KMNSLQTD **DDT** AMYYCAR**KHG**
NYYTMDYWGQ GTSVTVSS

[0810] EphA2 mAb 1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:242)如下显示(CDR_L残基以下划线显示):

[0811]

DIQMTQTSS LSASLGDRIT ISCR**RASQDIS** **NYLNWYQQKP** DGTVKLLIY**Y**
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEQ EDIATYFC**QQ GYTLTYT**FGGG TKLEIK

[0812] (b) EphA2 mAb 2

[0813] EphA2 mAb 2的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:243)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0814]

QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGFTFT **NYGMNWVKQA** PGKGLKWMGW
INTYIGEPTY ADDFKGRFVF SLETSASTAY LQINN **LKNE**D MATYFCAR**EL**
GPYYFDYWGQ GTTLTVSS

[0815] EphA2 mAb 2的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:244)如下显示(CDR_L残基以下划线显示):

[0816]

DVVMQTPLS LPVSLGDQAS ISCR**RSSQSLV** **HSSGNTYLHW** YLQKPGQSPK
LLIY**KVSNRF** **SGVPDR**FSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFC**SQSTHVP**
TFGSGTKLEI K

[0817] (c) EphA2 mAb 3

[0818] EphA2 mAb 3的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:245)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0819]

EVQLVESGGG SVKPGGSLKL SCAASGFTFT **DHYMY**WVRQT PEKRLEWVAT
ISDGGSFTSY **PDSVKGR**FTI SRDIAKNNLY LQMSS **LKSE**D TAMYYCT**RDE**
SDRPFPYWGQ GTLVTVSS

[0820] EphA2 mAb 3的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:246)如下显示(CDR_L残基以下划线显示):

[0821]

DIVLTQSHRS MSTSVGDRVN ITCKASQDVT TAVAWYQQKP GQSPKLLIFW
ASTRHAGVPD RFTGSGSGTD FTLTISSVQA GDLALYYCQQ HYSTPYTFGG
 GTKLEIK

[0822] 本申请具体地包括和涵盖能够结合EphA2的EphA2结合分子(例如EphA2 x CD3双特异性结合分子),以及特别地是包含抗-EphA2单克隆抗体EphA2 mAb 1、EphA2 mAb 2和EphA2 mAb 3的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLs和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHS的这类结合分子。

[0823] 5. 结合gpA33的抗体

[0824] 43kD跨膜糖蛋白A33(gpA33)在>95%的所有结肠癌中被表达(Heath,J.K.等人,(1997)“The Human A33 Antigen Is A Transmembrane Glycoprotein And A Novel Member Of The Immunoglobulin Superfamily,”Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A.)94(2):469-474;Ritter,G.等人,(1997)“Characterization Of Posttranslational Modifications Of Human A33 Antigen,A Novel Palmitoylated Surface Glycoprotein Of Human Gastrointestinal Epithelium,”Biochem.Biophys.Res.Commun.236(3):682-686;Wong,N.A.等人,(2006)“EpCAM and gpA33 Are Markers Of Barrett’s Metaplasia,”J.Clin.Pathol.59(3):260-263)。结合至人gpA33的示例性抗体是“gpA33 mAb 1”。

[0825] gpA33 mAb 1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:247)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

[0826]

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT GSWMNWVRQA PGQGLEWIGR
IYPGDGETNY NGKFKDRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARIIY
GNNVYFDVWG QGTTVTVSS

[0827] gpA33 mAb 1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:248)如下显示(CDR_L残基以下划线显示):

[0828]

DIQLTQSPSF LSASVGDRV T ITCSARSSIS FMYWYQQKPG KAPKLLIYDT
SNLASGVPSR FSGSGSGTEF TLTISSEAE DAATYYCQQW SSYPLTFGQG TKLEIK

[0829] 本申请具体地包括和涵盖能够结合gpA33的gpA33结合分子(例如gpA33 x CD3双特异性结合分子),以及特别地是包含抗-gpA33单克隆抗体gpA33 mAb 1或者在W0 2015/026894中提供的任意抗-gpA33单克隆抗体的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLs和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHS的这类结合分子。本发明还包括和涵盖在W0 2015/026894中提供的示例性gpA33 x CD3双特异性结合分子。

[0830] 6. 结合HER2/neu的抗体

[0831] HER2/neu是185kDa受体蛋白质,其起初被鉴定为来自经化学手段处理的大鼠的成神经细胞瘤的转化基因的产物。由于其在几种人类癌症和在哺乳动物开发中的作用,HER2/neu已经被大规模地研究(Hynes等人,(1994)Biochim.Biophys.Acta 1198:165-184;Dougall等人,(1994)Oncogene 9:2109-2123;Lee等人,(1995)Nature 378:394-398)。结合

人HER2/neu的示例性抗体包括“玛格妥昔单抗”、“曲妥珠单抗”和“帕妥株单抗”。玛格妥昔单抗(也称为MGAH22;CAS注册号1350624-75-7)是结合至HER2/neu并且介导增强的ADCC活性的Fc-优化的单克隆抗体。曲妥珠单抗(也称为rhuMAB4D5,并且作为HERCEPTIN®销售;CAS注册号180288-69-1;参见美国专利号5,821,337)是具有IgG1/κ恒定区的抗体4D5的人源化形式。帕妥株单抗(也称为rhuMAB2C4,并且作为PERJETA™销售;CAS注册号380610-27-5;参见例如,WO2001/000245)是具有IgG1/κ恒定区的抗体2C4的人源化形式。

[0832] 本申请具体地包括和涵盖能够结合Her2/Neu的Her2/Neu结合分子(例如Her2/Neu x CD3双特异性结合分子),以及特别地是包含抗-Her2/Neu单克隆抗体玛格妥昔单抗、曲妥珠单抗或帕妥株单抗的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLs和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHs的这类结合分子。

[0833] (a) 玛格妥昔单抗

[0834] 玛格妥昔单抗的VH结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:249) (CDRH残基以下划线显示):

[0835]

QVQLQQSGPE LVKPGASLKL SCTASGFNIK DTYIHWVKQR PEQGLEWIGR
IYPTNGYTRY DPKFQDKATI TADTSSNTAY LQVSRLTSED TAVYYCSRWG
GDGFYAMDYW GQGASVTVSS

[0836] 玛格妥昔单抗的VL结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:250) (CDRL残基以下划线显示):

[0837]

DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITCKASQDVN TAVAWYQQKP GHSPKLLIYS
ASFRYTGVDPD RFTGSRSGTD FTFTISSVQA EDLAVYYCQQ HYTTPPTFGG
GTKVEIK

[0838] 玛格妥昔单抗的完整重链和轻链的氨基酸序列是本领域已知的(参见,例如,WHO药物信息,2014,推荐的INN:列表71,28(1):93-94)。

[0839] (b) 曲妥珠单抗

[0840] 曲妥珠单抗的VH结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:251) (CDRH残基以下划线显示):

[0841]

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNIK DTYIHWVRQA PGKGLEWVAR
IYPTNGYTRY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCSRWG
GDGFYAMDYW GQGTLVTVSS

[0842] 曲妥珠单抗的VL结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:252) (CDRL残基以下划线显示):

[0843]

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASFLYSGVPS RFGSGRSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ HYTTPPTFGQ
GTKVEIK

[0844] (c) 帕妥株单抗

[0845] 帕妥株单抗的VH结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:253) (CDRH残基以下划线显

示)：

[0846]

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFT DYTMDWVRQA PGKGLEWVAD
VNPNSGGSIY NQRFKGRFTL SVDRSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARNL
GPSFYFDYWG QGTLVTVSS

[0847] 帕妥株单抗的VL结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:254) (CDRL残基以下划线显示)：

[0848]

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKASQDVS IGVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYTGVPS RFGSGSGSTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YYIYPYTFGQ
 GTKVEIK

[0849] (d) 其它抗-HER2/neu抗体

[0850] 除了上述鉴定的优选的抗-HER2/neu结合分子,本发明还考虑包含任意下述抗-Her-2结合分子的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLs和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHs的HER2/neu结合分子:1.44.1;1.140;1.43;1.14.1;1.100.1;1.96;1.18.1;1.20;1.39;1.24;和1.71.3(美国专利号8,350,011;8,858,942;和PCT专利公开W0 2008/019290);F5和C1(美国专利号7,892,554;8,173,424;8,974,792;和PCT专利公开W0 99/55367);并且也考虑美国专利公开US2013017114和PCT专利公开W02011/147986和W0 2012/143524的抗-Her-2结合分子)。本发明还包括和涵盖在W0 2012/143524中提供的示例性Her2/Neu x CD3双特异性结合分子。

[0851] 7. 结合VEGF的抗体

[0852] VEGF-A是在各种疾病中,尤其在某些转移性癌症如转移性结肠癌和在某些肺癌、肾癌、卵巢癌和脑的多形性成胶质细胞瘤中,刺激血管生成的化学信号。结合至人VEGF-A的示例性抗体是“贝伐珠单抗”(Avastin®)。贝伐珠单抗是重组人源化IgG1单克隆抗体(Midgley,R.等人,(2005)“Bevacizumab-Current Status And Future Directions,”Ann.Oncol.16(7):999-1004;Hall,R.D.等人,(2015)“Angiogenesis Inhibition As A Therapeutic Strategy In Non-Small Cell Lung Cancer(NSCLC),”Transl.Lung Cancer Res.4(5):515-523;Narita,Y.(2015)“Bevacizumab For Glioblastoma,”Ther.Clin.Risk Manag.11:1759-1765)。

[0853] 贝伐珠单抗的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:255)如下显示(CDRH残基以下划线显示)：

[0854]

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW
INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP
HYYGSSHWYF DVWGQGTIVT VSS

[0855] 贝伐珠单抗的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:256)如下显示(CDRL残基以下划线显示)：

[0856]

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIIYF
TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ
GTKVEIKR

[0857] 本申请具体地包括和涵盖能够结合VEGF的VEGF结合分子(例如VEGF x CD3双特异性结合分子),以及特别地是包含抗-VEGF单克隆抗体贝伐珠单抗的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLS和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHS的这类结合分子。

[0858] 8. 结合5T4的抗体

[0859] 癌胚蛋白质5T4是肿瘤相关的蛋白质,其在许多癌症(包括肾癌、结肠癌、前列腺癌、肺癌)的细胞膜上展示并在急性成淋巴细胞性白血病中展示(参见,Boghaert,E.R.等人,(2008)“The Oncofetal Protein,5T4,Is A Suitable Target For Antibody-Guided Anti-Cancer Chemotherapy With Calicheamicin,”Int.J.Oncol.32(1):221-234;Eisen,T.等人,(2014)“Naptumomab Estafenatox:Targeted Immunotherapy with a Novel Immunotoxin,”Curr.Oncol.Rep.16:370,1-6页)。结合至人5T4的示例性抗体包括“5T4 mAb 1”和“5T4 mAb 2”。

[0860] (a) 5T4 mAb 1

[0861] 5T4 mAb 1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:257)如下显示(CDR残基以下划线显示):

[0862]

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SFWMHWVRQA PGQGLEWMGR
IDPNRGGTEY NEKAKSRVTM TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAGGN
PYYPMDYWGQ GTT~~TV~~VSS

[0863] 示例性5T4 mAb 1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:258)如下显示(CDR残基以下划线显示):

[0864]

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRASQGIS NYLAWFQQKP GKAPKSLIIYR
ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCLQ YDDFPWTFGQ
GTKLEIK

[0865] (b) 5T4 mAb 2

[0866] 5T4 mAb 2的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:259)如下显示(CDR残基以下划线显示):

[0867]

QVQLQQPGAE LVKPGASVKM SCKASGYTFT SYWITWVKQR PGQGLEWIGD
IYPGSGRANY NEKFKSKATL TVDTSSSTAY MQLSSLTSED SAVYNCARYYG
PLFTTVVDPN SYAMDYWGQG TS~~VT~~VSS

[0868] 5T4 mAb 2的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:260)如下显示(CDR残基以下划线显示):

[0869]

DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV YSNGNTYLEW YLQKPGQSPK
LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHPV
FTFGSGTKLE IK

[0870] 本申请具体地包括和涵盖能够结合5T4的5T4结合分子(例如5T4 x CD3双特异性结合分子),其包含抗-5T4单克隆抗体5T4 mAb 1或5T4 mAb 2或者在WO 2013/041687或WO 2015/184203中提供的任意抗-5T4抗体的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLS和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHS。本发明还包括和涵盖在WO 2015/184203中提供的示例性5T4 x CD3双特异性结合分子。

[0871] 本申请具体地包括和涵盖能够结合5T4、CD3和CD8的5T4 x CD3 x CD8三特异性结合分子,特别地是包含抗-5T4单克隆抗体5T4 mAb 1或5T4 mAb 2或者在WO 2015/184203中提供的任意抗-5T4单克隆抗体的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLS和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHS;和/或在WO 2015/184203中提供的任意抗-CD8单克隆抗体的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLS和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHS的这类三特异性结合分子。本发明还包括和涵盖在WO 2015/184203中提供的示例性5T4 x CD3 x CD8三特异性结合分子。

[0872] 9. 结合IL13R α 2的抗体

[0873] 白介素-13受体 α 2(IL13R α 2)在各种癌症中过表达,所述癌症包括成胶质细胞瘤、结直肠癌、宫颈癌、胰腺癌、多发性黑素瘤、骨肉瘤、白血病、淋巴瘤、前列腺癌和肺癌(PCT公开号WO 2008/146911;Brown,C.E.等人,(2013)“Glioma IL13R α 2 Is Associated With Mesenchymal Signature Gene Expression And Poor Patient Prognosis,”PLoS One.18;8(10):e77769;Barderas,R.等人,(2012)“High Expression Of IL-13 Receptor A2 In Colorectal Cancer Is Associated With Invasion,Liver Metastasis,And Poor Prognosis,”Cancer Res.72(11):2780-2790;Kasaian,M.T.等人,(2011)“IL-13 Antibodies Influence IL-13 Clearance In Humans By Modulating Scavenger Activity Of IL-13R α 2,”J.Immunol.187(1):561-569;Bozinov,O.等人,(2010)“Decreasing Expression Of The Interleukin-13 Receptor IL-13R α 2 In Treated Recurrent Malignant Gliomas,”Neurol.Med.Chir.(Tokyo)50(8):617-621;Fujisawa,T.等人,(2009)“A Novel Role Of Interleukin-13 Receptor Alpha2 In Pancreatic Cancer Invasion And Metastasis,”Cancer Res.69(22):8678-8685)。免疫特异性地结合至IL13R α 2的抗体是商业上可得的,并且已经在现有技术中被描述(Abnova Corporation、Biorbyt、LifeSpan BioSciences、Unite States Biologicals;也参见PCT公开号WO 2008/146911)。结合至人IL13R α 2的示例性抗体包括“hu08”(参见,例如,PCT公开号WO 2014/072888)。

[0874] hu08的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:261)如下显示(CDR残基以下划线显示):

[0875]

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS RNGMSWVRQA PGKGLEWVAT
VSSGGSYIYY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARQG
TTALATRFFD VWGQGTLVTV SS

[0876] hu08的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:262)如下显示(CDR残基以下划线显示)：

[0877]

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKASQDVG TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASyrSTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH HYSAPWTFGG
GTKVEIK

[0878] 本申请具体地包括和涵盖能够结合IL13R α 2的IL13R α 2结合分子(例如IL13R α 2 x CD3双特异性结合分子),特别是包含抗-IL13R α 2单克隆抗体hu08的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLs和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHs的这类结合分子。

[0879] 10.结合CD123的抗体

[0880] CD123(白介素3受体 α , IL-3R α)是40kDa分子,其是白介素3受体复合物的一部分(Stomski,F.C.等人,(1996)“Human Interleukin-3(IL-3) Induces Disulfide-Linked IL-3 Receptor Alpha-And Beta-Chain Heterodimerization,Which Is Required For Receptor Activation But Not High-Affinity Binding,”Mol.Cell.Biol.16(6):3035-3046)。白介素3(IL-3)驱动多能干细胞早期分化为类红细胞、髓系细胞和淋巴样祖细胞。已经报道CD123在很大范围的血液学恶性肿瘤(包括急性髓细胞样白血病(AML)和骨髓增生异常综合征(MDS))中的恶性细胞上过表达(Muñoz,L.等人,(2001)“Interleukin-3 Receptor Alpha Chain(CD123) Is Widely Expressed In Hematologic Malignancies,”Haematologica 86(12):1261-1269)。CD123的过表达与AML中的较差的预后有关(Tettamanti,M.S.等人,(2013)“Targeting Of Acute Myeloid Leukaemia By Cytokine-Induced Killer Cells Redirected With A Novel CD123-Specific Chimeric Antigen Receptor,”Br.J.Haematol.161:389-401)。

[0881] 结合至人CD123且可用在本发明中的示例性抗体是“CD123 mAb 1”(参见,例如,PCT专利公开WO 2015/026892)。

[0882] CD123 mAb 1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:263)如下显示(CDR_H残基以下划线显示)：

[0883]

EVQLVQSGAE LKKPGASVKV SCKASGYTFT DYYMKWVRQA PGQGLEWIGD
IIPSNGATFY NQKFKGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARSH
LLRASWFAYW GQGTLVTVSS

[0884] CD123 mAb 1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:264)如下显示(CDR_L残基以下划线显示)：

[0885]

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSCKSSQSLL NSGNQKNYLT WYQQKPGQPP
 KLLIYWWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQNDYSY
PYTFGQGTKL EIK

[0886] 本申请具体地包括和涵盖能够结合CD123的CD123结合分子(例如CD123 x CD3双特异性结合分子),特别地是包含抗-CD123单克隆抗体CD123 mAb 1以及在US 2017/081424和WO 2016/036937中公开的任意抗-CD123抗体的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLs和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHS的这类结合分子。本发明还包括和涵盖示例性的CD123 x CD3双特异性结合分子,包括:flotetuzumab(也称作MGD007;CAS登记号1664355-28-5)、JNJ-63709178(Johnson&Johnson,也参见WO 2016/036937)和XmAb14045(Xencor,也参见US 2017/081424)。

[0887] 11. 结合CD19的抗体

[0888] CD19(B淋巴细胞表面抗原B4,基因库登录号M28170)是B细胞-受体(BCR)复合物的组分,且是调节B细胞激活和体液免疫的阈值的B细胞信号传导的正调节物。CD19是B细胞谱系中最广泛表达的抗原之一,且在>95%的B细胞恶性肿瘤上表达,该B细胞恶性肿瘤包括急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)和非霍奇金淋巴瘤(NHL)。特别地,在对抗-CD20疗法产生抗性的B细胞淋巴瘤上持续CD19表达(Davis等(1999)“Therapy of B-cell Lymphoma With Anti-CD20 Antibodies Can Result In The Loss Of CD20 Antigen Expression.”Clin Cancer Res,5:611-615,1999)。CD19也已被建议作为靶标来治疗自身免疫疾病(Tedder(2009)“CD19:A Promising B Cell Target For Rheumatoid Arthritis,”Nat.Rev.Rheumatol.5:572-577)。

[0889] 结合人类CD19且可用在本发明中的示例性抗体为在WO 2016/048938中公开的抗-CD19抗体(在文中称作“CD19 mAb 1”)。

[0890] CD19 mAb 1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:265)如下显示(CDR_H残基以下划线显示):

QVTLRSEGPA LVKPTQTLTL TCTFSGFSLS TSGMGVGWIR QPPGKALEWL
 [0891] AHIWDDDKR YNPALKSRLT ISKDTSKNQV FLTMTNMDPV DTATYYCARM
ELWSYYFDYW GQGTTVTVSS

[0892] CD19 mAb 1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:266)如下显示(CDR_L残基以下划线显示):

ENVLTQSPAT LSVTPGEKAT ITCRASQSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDA
 [0893] SNRASGVPSR FSGSGSGTDH TLTISSLEAE DAATYYCFQG SVYPFTFGQG
 TKLEIK

[0894] 本申请具体地包括和涵盖能够结合CD19的CD19结合分子(例如CD19 x CD3双特异性结合分子),特别地是包含抗-CD19单克隆抗体CD19 mAb 1以及在美国专利US 7,112,324中公开的任意抗-CD19抗体的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLs和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHS的这类结合分子。本发明具体地包括和涵盖可用在本发明中的示例性的CD19 x CD3双特异性结合分子,包括:博纳吐单抗(BLINCYTO®;在WHO Drug Information中发现的氨基酸序列,2009,推荐的INN:表62,23(3):240-241)和

duvortuxizumab(也称作MGD011;在WHO Drug Information中发现的氨基酸序列,2016,提议的INN:表116,30(4):627-629)。

[0895] E. 示例性病原体相关抗原

[0896] 如本文使用的,术语“病原体抗原”指这类抗原:所述抗原在病原体感染的细胞表面上特征性地表达,并且因而可以用基于抗体的分子或免疫调节分子处理。病原体抗原的实例包括但不限于在被下述病毒感染的细胞表面上表达的抗原:单纯疱疹病毒(例如、感染的细胞蛋白质(ICP) 47、gD等)、水痘带状疱疹病毒、卡波西肉瘤相关的疱疹病毒、爱泼斯坦-巴尔病毒(例如、LMP-1、LMP-2A、LMP-2B等)、巨细胞病毒(例如、UL11等)、人免疫缺陷病毒(例如、env蛋白质gp160、gp120、gp41等)、人乳头瘤病毒(例如、E6、E7等)、人T细胞白血病病毒(例如、env蛋白质gp64、gp46、gp21等)、甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、水泡性口炎病毒(VSV)、芽孢杆菌纲(Bacilli)、柠檬酸杆菌属(Citrobacter)、霍乱(Cholera)、白喉(Diphtheria)、肠杆菌属(Enterobacter)、淋球菌(Gonococci)、幽门螺旋杆菌(Helicobacter pylori)、克雷伯氏菌属(Klebsiella)、军团菌属(Legionella)、脑膜炎球菌(Meningococci)、分歧杆菌(myco bacteria)、假单胞菌属(Pseudomonas)、Pneumonococci、立克次氏体细菌(rickettsia bacteria)、沙门氏菌属(Salmonella)、沙雷菌属(Serratia)、葡萄球菌属(Staphylococci)、链球菌属(Streptococci)、破伤风(Tetanus)、曲霉菌属(Aspergillus)(烟曲霉(fumigatus)、黑曲霉(niger)等)、皮炎芽生菌(Blastomyces dermatitidis)、念珠菌属(Candida)(白色念珠菌(albicans)、克柔假丝酵母(krusei)、光滑念珠菌(glabrata)、热带念珠菌(tropicalis)等)、新生隐球菌(Cryptococcus neoformans)、毛霉目(Mucorales)的属(毛霉属(mucor)、犁头霉属(absidia)、根霉属(rhizopus))、申克氏胞丝菌(Sporothrix schenckii)、巴西芽生菌(Paracoccidioides brasiliensis)、粗球霉菌(Coccidioides immitis)、荚膜组织胞浆菌(Histoplasma capsulatum)、细螺旋体病(Leptospirosis)、包柔氏螺旋体(Borrelia burgdorferi)、蠕虫寄生虫(钩虫、绦虫、吸虫、扁形虫(例如血吸虫(Schistosomia))、蓝氏贾第虫(Giardia lamblia)、旋毛虫(trichinella)、脆双核阿米巴(Dientamoeba Fragilis)、布氏锥虫(Trypanosoma brucei)、克氏锥虫(Trypanosoma cruzi)和杜氏利什曼虫(Leishmania donovani)。这类抗体可从各种来源商购获得,或可通过用这类抗原对小鼠或其它动物进行免疫接种(包括用于产生单克隆抗体)来获得。

[0897] F. 能够结合病原体相关抗原的示例性抗体

[0898] 以下提供示例性抗体,其VH和VL结构域可用于构建能够结合排列在病原体感染的细胞表面上的病原体抗原的分子,另外的抗体是本领域已知的。

[0899] HIV的Env蛋白质是示例性病原体相关抗原,并且结合HIV的Env蛋白质的抗体是能够结合病原体相关抗原的示例性抗体。

[0900] HIV-1感染中的最初步骤伴随着细胞表面CD4与三聚HIV-1包膜糖蛋白(Env)、跨膜糖蛋白(gp41)和表面糖蛋白(gp120)的异源二聚体的结合而发生。gp120和gp41糖蛋白最初作为单gp160多肽被合成,该多肽随后被切割,以产生非共价缔合的gp120/gp41复合物。Env的胞外域是具有大约140kDa质量的异源二聚体,由全部gp120组分和大约20kDa的gp41构成(Harris,A.等人,(2011)“Trimeric HIV-1 Glycoprotein Gp140 Immunogens And Native HIV-1 Envelope Glycoproteins Display The Same Closed And Open Quaternary

Molecular Architectures,”Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A.) 108(28):11440-11445)。免疫特异性地结合至env蛋白质的抗体是商业上可得的,并且已经在现有技术中被描述(参见,例如,GenBank登记号AFQ31503;Buchacher,A.等人,(1994)“Generation Of Human Monoclonal Antibodies Against HIV-1 Proteins;Electrofusion And Epstein-Barr Virus Transformation For Peripheral Blood Lymphocyte Immortalization,”AIDS Res.Hum.Retroviruses 10(4):359-369;Shen,R.(2010)“GP41-Specific Antibody Blocks Cell-Free HIV Type 1 Transcytosis Through Human Rectal Mucosa And Model Colonic Epithelium,”J.Immunol.184(7):3648-3655;WO 2012/162068;和WO 2016/054101)。结合至HIV env的示例性抗体包括“7B2”(GenBank登记号AFQ31503)和“A32”(PCT公开号WO 2014/159940)。

[0901] 7B2的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:267)如下显示(CDR残基以下划线显示):

[0902]

QVQLVQSGGG VFKPGGSLRL SCEASGFTFT EYYMTWVRQA PGKGLEWLAY
ISKNGEYSKY SPSSNGRFTI SRDNAKNSVF LQLDRLSADD TAVYYCARAD
GLTYFSELLQ YIFDLWGQGA RVTVSS

[0903] 7B2的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:268)如下显示(CDR残基以下划线显示):

[0904]

DIVMTQSPDS LAVSPGERAT IHCKSSQTLL YSSNNRHSIA WYQQRPGQPP
KLLLYWASMR LSGVPDRFSG SGSGTDFTLT INNLQAEDVA IYYCHQYSSH
PPTFGHGTRV EIK

[0905] A32的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:269)如下显示(CDR残基以下划线显示):

[0906]

QVQLQESGPG LVKPSQTLST SCTVSGGSSS SGAHYWSWIR QYPGKGLEWI
GYIHYSGNTY YNPSLKSRIT ISQHTSENQF SLKLNSVTVA DTAVYYCARG
TRLRLRNAF DIWGQGTILVT VSS

[0907] A32的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:270)如下显示(CDR残基以下划线显示):

[0908]

QSALTQPPSA SGSPGQSVTI SCTGTSSDVG GYNYVSWYQH HPGKAPKLII
SEVNNRPSGV PDRFSGSKSG NTASLTVSGL QAEDAEYYC SSYTDIHNFV
FGGGTKLTVL

[0909] 本申请具体地包括和涵盖能够结合HIV的HIV结合分子(例如HIV x CD3双特异性结合分子),特别地是包含抗-HIV单克隆抗体7B2、A32以及在WO 2016/054101、WO 2017/011413、WO 2017/011414中公开的任意抗-HIV抗体的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLs和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHS的这类结合分子。本发明具体地包括和涵盖在WO 2014/159940、WO 2015/184203、WO 2017/011413和WO 2017/011414中

提供的示例性的HIV x CD3双特异性结合分子。

[0910] 本申请具体地包括和涵盖能够结合HIV、CD3和CD8的HIV x CD3 x CD8三特异性结合分子,特别地是包含抗-HIV单克隆抗体7B2或A32或者在W0 2015/184203、W0 2016/054101、W0 2017/011413、W0 2017/011414中提供的任意抗-HIV单克隆抗体的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLS和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHS;和/或在W0 2015/184203中提供的任意抗-CD8单克隆抗体的VL和/或VH结构域,和/或VL区的1个、2个或全部3个CDRLS和/或VH结构域的1个、2个或全部3个CDRHS的这类三特异性结合分子。本发明具体地包括和涵盖在W0 2015/184203、W0 2017/011413和W0 2017/011414中提供的示例性HIV x CD3 x CD8三特异性结合分子。

[0911] G. 本发明的示例性结合分子

[0912] 如以下讨论的,使用以下两种施用的分子的联合疗法阐释本发明:能够结合PD-1的分子(例如,以上描述的hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P)、DART-1或DART-2),和能够介导对肿瘤细胞的重定向杀伤的分子(例如,以下描述的“DART-A”或“DART-B”)。

[0913] DART-A是能够结合效应细胞的CD3细胞表面分子和B7-H3癌抗原的双特异性双抗体。它是由三条多肽链构成的含Fc区的双抗体,具有针对B7-H3一个结合位点、针对B7-H3的一个结合位点、携带杵和白的IgG1 Fc区和E/K-螺旋异源二聚体促进结构域(参见,例如,图4A)。

[0914] DART-A的第一多肽链在N-末端至C-末端方向包含N-末端、能够结合B7-H3的单克隆抗体(hB7-H3 mAb 2 VL2)的VL结构域(SEQ ID NO:226)、间插连接体肽(连接体1;GGGSGGGG(SEQ ID NO:14))、能够结合CD3的单克隆抗体(CD3 mAb 1 VH)的VH结构域(SEQ ID NO:192)、间插连接体肽(连接体2;GGCGGG(SEQ ID NO:15))、异源二聚体促进(E-螺旋)结构域(EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK(SEQ ID NO:27))、间插连接体肽(间隔-连接体3;GGGDKHTCPPCP(SEQ ID NO:39))、“携带杵的”Fc结构域(SEQ ID NO:42)和C-末端。因此,DART-A的第一多肽链由以下构成:SEQ ID NO:226—SEQ ID NO:14—SEQ ID NO:192—SEQ ID NO:15—SEQ ID NO:27—SEQ ID NO:39—SEQ ID NO:42。DART-A的第一多肽链的氨基酸序列是(SEQ ID NO:271):

[0915]

DIQLTQSPSF	LSASVGDRVT	ITCKASQNVD	TNVAWYQQKP	GKAPKALIYS
ASYRYSGVPS	RFSGSGSGTD	FTLTISSLQP	EDFATYYCQQ	YNNYPFTFGQ
GTKLEIKGGG	SGGGGEVQLV	ESGGGLVQPG	GSLRLSCAAS	GFTFSTYAMN
WVRQAPGKGL	EWVGRIRSKY	NNYATYYADS	VKDRFTISR	DSKNSLYLQM
NSLKTEDTAV	YYCVRHGNFG	NSYVSWFAYW	GQGTLVTVSS	GGCGGGEVAA
LEKEVAALEK	EVAALEKEVA	ALEKGGGDKT	HTCPPCPAPE	AAGGPSVFLF
PPKPKDTLMI	SRTPEVTCVV	VDVSHEDPEV	KFNWYVDGVE	VHNAKTKPRE
EQYNSTYRVV	SVLTVLHQDW	LNGKEYKCKV	SNKALPAPIE	KTISKAKGQP
REPQVYTLPP	SREEMTKNQV	SLWCLVKGFY	PSDIAVEWES	NGQPENNYKT
TPPVLDSDGS	FFLYSKLTVD	KSRWQQGNVF	SCSVMHEALH	NHYTQKSLSL
SPGK				

[0916] DART-A的第二多肽链在N-末端至C-末端方向包含N-末端、能够结合CD3的单克隆抗体(CD3 mAb 1 VL)的VL结构域(SEQ ID NO:193)、间插连接体肽(连接体1;GGGSGGGG(SEQ

ID NO:14))、能够结合B7-H3的单克隆抗体(hB7-H3 mAb 2 VH2)的VH结构域(SEQ ID NO:222)、间插连接体肽(连接体2;GGCGGG(SEQ ID NO:15))、异源二聚体促进(K-螺旋)结构域(KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE(SEQ ID NO:28)和C-末端。因此,DART-A的第二多肽由以下构成:SEQ ID NO:193—SEQ ID NO:14—SEQ ID NO:222—SEQ ID NO:15—SEQ ID NO:28。DART-A的第二多肽链的氨基酸序列是(SEQ ID NO:272):

[0917]

```
QAVVTQEPSL   TVSPGGTVTL   TCRSSTGAVT   TSNYANWVQQ   KPGQAPRGLI
GGTNKRAPWT   PARFSGSLLG   GKAALTITGA   QAEDeadYYC   ALWYSNLWVF
GGGTKLTVLG   GGGSGGGGEV   QLVESGGGLV   QPGGSLRLSC   AASGFTFSSF
GMHWVRQAPG   KGLEWVAYIS   SDSSAIYYAD   TVKGRFTISR   DNAKNSLYLQ
MNSLRDEDTA   VYYCGRGREN   IYYGSRLDYW   GQGT TVTVSS   GGCGGGKVAA
LKEKVAALKE KVAALKEKVA ALKE
```

[0918] DART-A的第三多肽链在N-末端至C-末端方向包含N-末端、肽(连接体3;DKTHTCPPCP(SEQ ID NO:38))、“携带白的”Fc结构域(SEQ ID NO:43)和C-末端。因此,DART-A的第三多肽由以下构成:SEQ ID NO:38—SEQ ID NO:43。DART-A的第三多肽的氨基酸序列是(SEQ ID NO:273):

[0919]

```
DKTHTCPPCP   APEAAGGPSV   FLFPPKPKDT   LMISRTPEVT   CVVVDVSHED
PEVKFNWYVD   GVEVHNAKTK   PREEQYNSTY   RVVSVLTVLH   QDWLNGKEYK
CKVSNKALPA   PIEKTISKAK   GQPREPQVYT   LPPSREEMTK   NQVSLSCAVK
GFYPSDIAVE   WESNGQPENN   YKTTTPVLDS   DGSFFLVSKL   TVDKSRWQQG
NVFSCSVMEH   ALHNRYTQKS   LSLSPGK
```

[0920] 能够介导对肿瘤细胞的重定向杀伤的另一示例性分子是DART-B。DART-B是能够结合效应细胞的CD3细胞表面分子和IL13Rα2癌抗原的双特异性双抗体。DART-B由三条多肽链构成并且具有与DART-A一样的一般结构。

[0921] 另外,可用于本发明方法中的能够介导对肿瘤细胞的重定向杀伤的示例性分子包括能够结合以下的双特异性分子:CD19和CD3(参见,例如,美国专利号7,235,641和WO 2016/048938);CD123和CD3(参见,例如,Kuo,S.R.等人,(2012)“Engineering a CD123xCD3bispecific scFv immunofusion for the treatment of leukemia and elimination of leukemia stem cells,”Protein Eng Des Sel.25:561-9;PCT公开WO 2015/026892);gpA33和CD3(例如,WO 2015/026894);CEA和CD3(例如,WO 2013/012414);B7-H3和CD3(例如,WO 2017/030926);HER2和CD3(例如,WO 2012/143524);5T4和CD3(例如,WO 2015/184203和WO 2013/041687),以及三特异性分子(参见,例如,WO 2015/184203;和WO 2015/184207)。

[0922] VI.生产方法

[0923] 本发明分子最优选地通过重组表达编码这类多肽的核酸分子来产生,如本领域众所周知的。

[0924] 本发明多肽可使用固相肽合成法被方便地制备(Merrifield,B.(1986)“Solid Phase Synthesis,”Science 232(4748):341-347;Houghten,R.A.(1985)“General Method For The Rapid Solid-Phase Synthesis Of Large Numbers Of Peptides:Specificity

Of Antigen-Antibody Interaction At The Level Of Individual Amino Acids,”
Proc.Natl.Acad.Sci. (U.S.A.) 82(15):5131-5135;Ganesan,A. (2006) “Solid-Phase
Synthesis In The Twenty-First Century,”Mini Rev.Med.Chem.6(1):3-10)。

[0925] 可重组制备抗体和使用本领域已知的任何方法表达。可如下经重组制备抗体：首先从宿主动物分离制备的抗体，获得基因序列，和使用基因序列在宿主细胞（例如，CHO细胞）中重组表达抗体。可采用的另一方法是在植物（例如，烟草）或转基因奶中表达抗体序列。用于在植物或奶中重组表达抗体的适当的方法已经被公开了（见，例如Peeters等（2001）“Production Of Antibodies And Antibody Fragments In Plants,”Vaccine 19:2756;Lonberg,N.等（1995）“Human Antibodies From Transgenic Mice,”Int.Rev.Immunol 13:65-93;和Pollock等（1999）“Transgenic Milk As A Method For The Production Of Recombinant Antibodies,”J.Immunol Methods 231:147-157）。制备抗体衍生物，例如，人源化抗体、单链抗体等的适当的方法是本领域已知的，并且已经在上面描述过了。在另一可选方案中，可通过噬菌体展示技术重组制备抗体（见，例如，美国专利号5,565,332、5,580,717、5,733,743、6,265,150；和Winter,G.等（1994）“Making Antibodies By Phage Display Technology,”Annu.Rev.Immunol.12.433-455）。

[0926] 包含感兴趣的多核苷酸（例如，编码本发明的结合分子的多肽链的多核苷酸）的载体可通过一些适当手段中的任意手段被引入到宿主细胞中，所述适当手段包括电穿孔；采用氯化钙、铷氯化物、磷酸钙、DEAE-葡聚糖或其他物质的转染；微弹轰击（microprojectile bombardment）；脂转染；和感染（例如，在载体是感染剂诸如痘苗病毒的情况下）。引入载体或多核苷酸的选择常常取决于宿主细胞的特征。

[0927] 能够过表达异源DNA的任何宿主细胞均可用于表达感兴趣的多肽或蛋白质的目的。合适的哺乳动物宿主细胞的非限制性例子包括但不限于COS、HeLa和CHO细胞。

[0928] 本发明包括包含本发明结合分子的氨基酸序列的多肽。可通过本领域已知的程序制备本发明的多肽。可通过抗体的蛋白水解或其他降解、如上述的重组方法（即，单个或融合多肽）或化学合成来产生多肽。抗体的多肽，尤其地，上至约50个氨基酸的较短的多肽，通过化学合成被常规制备。化学合成方法在本领域中是已知的，并且是商业上可得到的。

[0929] 本发明包括所公开的结合分子的变体，包括不明显影响这类分子的特性的功能上等同的多肽以及具有增强的或降低的活性的变体。多肽的修饰在本领域中是常规操作，因而不需要在本文详细描述。修饰的多肽的实例包括这样的多肽：其具有氨基酸残基的保守取代、未明显有害改变功能活性的氨基酸的一个或多个缺失或添加，或使用化学类似物。可彼此保守取代的氨基酸残基包括但不限于：甘氨酸/丙氨酸；丝氨酸/苏氨酸；缬氨酸/异亮氨酸/亮氨酸；天冬酰胺/谷氨酰胺；天冬氨酸/谷氨酸；赖氨酸/精氨酸；和苯基丙氨酸/酪氨酸。这些多肽还包括糖基化和非糖基化多肽以及具有其它翻译后修饰的多肽，所述其它翻译后修饰，诸如例如，用不同糖进行糖基化、乙酰化和磷酸化。优选地，氨基酸取代应该是保守的，即，取代的氨基酸会具有与原始氨基酸类似的化学性质。这样的保守取代在本领域中是已知的，并且已经在上文提供实例。氨基酸修饰范围可从改变或修饰一个或多个氨基酸到区域诸如可变结构域的完全重新设计（redesign）。可变结构域中的变化可改变结合亲和力和/或特异性。修饰的其它方法包括利用本领域中已知的偶合技术，包括但不限于酶促手段、氧化取代和螯合。修饰可用于例如，连接标签用于免疫分析，诸如连接放射性部分用于

放射免疫分析。修饰的多肽利用本领域中确定的方法制备,并且可利用本领域中已知的标准测定来筛选。

[0930] 本发明包括包含下述抗体的VH和/或VL结构域中的一个或多个的融合蛋白,所述抗体为:结合至PD-1(或PD-1的天然配体)的抗体、或结合至效应细胞的细胞表面分子的抗体、或结合至疾病抗原(例如,癌抗原或病原体相关抗原)的抗体。在一个实施方式中,提供包括轻链、重链或轻链和重链两者的融合多肽。在另一实施方式中,融合多肽包含异源免疫球蛋白恒定区。在另一实施方式中,融合多肽包含由公开保藏的杂交瘤产生的抗体的VH和VL结构域。为了本发明的目的,抗体融合蛋白包含特异性结合PD-1(或PD-1的天然配体)或结合至效应细胞的细胞表面分子的一个或多个多肽结构域,并且其包含在天然分子中未连接的另外的氨基酸序列,例如,异源序列或来自另一区域的同源序列。

[0931] 本发明尤其包括缀合至诊断或治疗部分的这类结合分子(例如,抗体、双抗体、三价结合分子等)。为了诊断目的,本发明结合分子可偶联至可检测检测的物质。这类结合分子可用于作为临床测试程序的一部分检测监控和/或预测疾病的发展或进展,如测定具体疗法的功效。可检测检测的物质的实例包括各种酶(例如,辣根过氧化物酶、 β -半乳糖苷酶等)、辅基(例如,抗生素蛋白/生物素)、荧光物质(例如,伞形酮、荧光素或藻红蛋白)、发光物质(例如,鲁米诺)、生物发光物质(例如,荧光素酶或水母发光蛋白)、放射物质(例如,碳-14、锰-54、锶-85或锌-65)、正电子发射金属和非放射性顺磁金属离子。可检测检测的物质可直接偶联或缀合至结合分子或使用本领域已知的技术通过中间体(例如,连接体)间接偶联或缀合至结合分子。

[0932] 为了治疗目的,本发明结合分子可以与治疗部分如细胞毒素(例如细胞生长抑制剂或杀细胞剂)、治疗剂或放射性金属离子(例如 α -发射体)缀合。细胞毒素或细胞毒性剂包括对细胞有害的任何试剂,例如假单胞菌外毒素、白喉毒素、肉毒杆菌毒素A至F、蓖麻毒蛋白相思豆毒蛋白、肥皂草毒蛋白和这些试剂的细胞毒性片段。治疗剂包括具有预防性或治疗性治疗病症的治疗效果的任何试剂。这样的治疗剂可以是化学治疗剂、蛋白质或多肽治疗剂,并且包括具有所需生物活性和/或改变给定生物应答的治疗剂。治疗剂的实例包括烷化剂、血管生成抑制剂、抗有丝分裂剂、激素治疗剂和用于治疗细胞增殖性病症的抗体。治疗部分可以使用本领域已知的技术与结合分子直接偶联或缀合,或通过中间体(例如,连接体)与结合分子间接偶联或缀合。

[0933] VII. 本发明结合分子的用途

[0934] 如以上讨论的,能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子和能够介导对靶细胞(即,癌细胞或病原体感染的细胞)的重定向细胞杀伤的分子可用于治疗目的,例如在患有癌症或感染的受试者中用于治疗目的。因此,本发明结合分子具有治疗疾病或病况的能力,所述疾病或病况与这类靶细胞表面上的疾病抗原(尤其是癌抗原或病原体相关抗原)的表达有关或特征为这类靶细胞表面上的疾病抗原(尤其是癌抗原或病原体相关抗原)的表达。因此,非限制性地,可采用本发明结合分子治疗癌症,尤其是特征为癌抗原的表达的癌症。可采用本发明结合分子治疗感染,尤其是特征为病原体相关抗原的表达的感染。

[0935] 具体的,本发明包括这类方法,其中能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子包含能够结合PD-1的抗体的表位-结合结构域或能够结合PD-1的天然配体的抗体的表位-结合结构域,并且其中能够介导重定向杀伤的分子包含能够结合效应细胞(例如,辅助T细胞、细

胞毒性T细胞、天然杀伤(NK)细胞、浆细胞(分泌的抗体B细胞)、巨噬细胞和粒细胞)的细胞表面分子(例如,CD2、CD3、CD8、CD16、TCR、NKG2D等)的表位-结合结构域,并且也包含能够结合靶细胞表面上的疾病抗原(具体的,癌抗原或病原体相关抗原)以介导对靶细胞的重定向杀伤(例如,通过介导重定向细胞杀伤(例如,重定向T细胞毒性))的表位-结合结构域。

[0936] 在具体的实施方式中,能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子是抗体,并且能够介导重定向细胞杀伤的分子是双抗体。在另一具体实施方式中,能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子是抗体,并且能够介导重定向细胞杀伤的分子是三价结合分子。

[0937] 在具体的实施方式中,能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子是双抗体并且能够介导重定向细胞杀伤的分子是双抗体。在另一具体实施方式中,能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子是双抗体并且能够介导重定向细胞杀伤的分子是三价结合分子。

[0938] 在一个实施方式中,能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子和能够介导重定向细胞杀伤的分子被同时施用。如本文使用的,这类“同时”施用意图表示:

[0939] (A)施用包含能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子和能够介导重定向细胞杀伤的分子二者的单一药物组合物;或

[0940] (B)分开施用两种或多种药物组合物,其中一种组合物包含能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子,并且其中另一种组合物包含能够介导重定向细胞杀伤的分子,其中组合物在48小时期间内被施用。

[0941] 在第二实施方式中,分子被“顺序地”施用(例如,施用能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子,并且,在随后的时间,施用能够介导重定向细胞杀伤的分子,或反之亦然)。在这类顺序施用中,在施用第一施用的组合物后至少48小时或更久施用第二施用的组合物。

[0942] “提供治疗(providing therapy)”或“治疗(treating)”指任何与有益或期望结果的任何迹象有关的组合物的施用,所述有益或期望结果包括而不限于任何临床结果,如减少由疾病导致的症状、减弱感染的症状(例如,病毒载量、发烧、疼痛、败血症等)、缩小肿瘤尺寸(在癌症的背景中,例如,乳房肿瘤、胃癌或前列腺癌)、延迟癌细胞生长、延缓转移的发作、发展或进展、减少由疾病导致的症状、提高接收受试者的生活质量、减少被提供来治疗受试者的疾病的其它药物的剂量、增强另一药物的作用如通过靶向和/或内在化、延缓疾病的进展和/或延长接收受试者的生存期(survival)。

[0943] 用于治疗受试者包括动物,最优选哺乳动物物种如非灵长类动物(例如,牛、马、猫、犬、啮齿动物等)或灵长类动物(例如,食蟹猴,人等)。在优选的实施方式中,受试者是人。

[0944] 可通过本发明各种实施方式治疗的示例性病症包括但不限于增殖性疾病、细胞增殖疾病和癌症(尤其是表达由能够介导重定向细胞杀伤的分子结合的癌抗原的癌症)、病原体相关疾病(尤其是与由能够介导重定向细胞杀伤的分子结合的病原体相关抗原的表达有关的慢性病毒感染)。在各种实施方式中,本发明包括用于治疗、预防或管理受试者的疾病或病症的方法和组合物,包括施予受试者治疗有效量的能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子和能够介导对靶细胞(例如,肿瘤细胞、病原体感染细胞或外源细胞)的重定向杀伤的分子。这类分子的组合尤其可用于预防、抑制、减少原发肿瘤的生长或复原和肿瘤的转移,并且可用于减少病原体载量或消除病原体感染的细胞。虽然不意欲被具体的作用机制所限制,但是这类分子可介导抵抗靶细胞的效应子功能,促进针对靶细胞的免疫系统的激活,交

联靶细胞上的细胞表面抗原和/或受体并且提高凋亡或负生长调节信号转导或其组合,导致靶细胞的清除和/或数量减少。

[0945] 可通过本发明分子和本发明方法治疗的癌症包括但不限于:肾上腺癌症,包括但不限于,嗜铬细胞瘤(pheochromocytom)或肾上腺皮质癌;AIDS相关癌症;软组织腺泡状肉瘤(alveolar soft part sarcoma);星形细胞瘤;基底癌(basal cancer);膀胱癌,包括但不限于,移行细胞癌、鳞状细胞癌、腺癌或癌肉瘤;骨肉瘤和结缔组织肉瘤,如包括但不限于,骨肉瘤(bone sarcoma)\骨肉瘤(osteosarcoma)、软骨肉瘤、尤文氏肉瘤、恶性巨细胞瘤、骨的纤维肉瘤、脊索瘤、骨膜肉瘤、软组织肉瘤、血管肉瘤(血管内皮瘤)、纤维肉瘤、卡波西肉瘤、平滑肌肉瘤、脂肪肉瘤、淋巴管肉瘤、神经鞘瘤、横纹肌肉瘤或滑膜肉瘤;脑癌,包括但不限于,神经胶质瘤、星形细胞瘤、脑干神经胶质瘤、室管膜细胞瘤、少突神经胶质瘤、非神经胶质肿瘤(nonglial tumor)、听神经瘤、颅咽管癌、成神经管细胞瘤、脑膜瘤、成松果体细胞瘤(pineocytoma)、松果体母细胞瘤(pineoblastoma)或原发性脑淋巴瘤;脑和脊髓癌;乳腺癌,包括但不限于,腺癌、小叶(小细胞)癌、导管内癌(intraductal carcinoma)、乳腺髓样癌、乳腺粘液癌、管状乳腺癌、乳头状乳腺癌(papillary breast cancer)、派杰病或炎性乳腺癌;动脉体瘤;宫颈癌,包括但不限于,鳞状细胞癌或腺癌;胆管癌,包括但不限于,乳突状、结节性胆管癌或弥漫性胆管癌;软骨肉瘤;脊索瘤;嫌色肾细胞癌;透明细胞癌;结肠癌;结直肠癌;皮肤良性纤维组织细胞瘤;促结缔组织增生性小圆细胞肿瘤;室管膜细胞瘤;眼癌,包括,但不限于眼黑素瘤如虹膜黑素瘤、脉络膜黑素瘤和睫状体黑素瘤和成视网膜细胞瘤;食管癌,包括但不限于鳞癌、腺癌、腺样囊性癌(adenoid cystic carcinoma)、粘液表皮样癌、腺鳞癌、肉瘤、黑素瘤、浆细胞瘤、疣状癌(verrucous carcinoma)和燕麦细胞(小细胞)癌;尤文氏肿瘤;骨骼外粘液样软骨肉瘤;不完全性骨纤维生成;骨纤维异常增殖症;胆囊癌或胆管癌,包括但不限于腺癌;胃癌;妊娠期滋养层病;生殖细胞肿瘤;头颈癌;肝细胞癌;重链病;胰岛细胞瘤;卡波西肉瘤;白血病,包括但不限于急性白血病;急性淋巴细胞性白血病;急性髓细胞性白血病,如,但不限于成髓细胞性白血病、早幼粒细胞白血病、骨髓单核细胞性白血病、单核细胞性白血病或红白血病或骨髓增生异常综合征;慢性白血病,如但不限于慢性髓细胞(粒细胞)白血病、慢性淋巴细胞性白血病、毛细胞白血病;脂肪瘤/良性脂肪肿瘤;脂肪肉瘤/恶性脂肪肿瘤;肝癌,包括但不限于肝细胞癌或肝母细胞癌;淋巴瘤,如但不限于霍奇金病;非霍奇金病;肺癌,包括但不限于非小细胞肺癌、鳞状细胞癌(表皮样癌)、腺癌、大细胞肺癌或小细胞肺癌;成神经管细胞瘤;黑素瘤;脑膜瘤;良性单克隆性丙种球蛋白病;意义未明的单克隆性丙种球蛋白病;多发性内分泌瘤;多发性骨髓瘤,如但不限于郁积型多发性骨髓瘤、非分泌性骨髓瘤、骨硬化性骨髓瘤、浆细胞白血病、孤立性浆细胞瘤和髓外浆细胞瘤;脊髓增生异常综合征;成神经细胞瘤;神经内分泌肿瘤;口腔癌,包括但不限于鳞状细胞癌;卵巢癌,包括但不限于卵巢上皮癌、交界瘤、生殖细胞肿瘤和间质肿瘤;胰腺癌,包括但不限于胰岛瘤、胃泌素瘤、胰高血糖素瘤、血管活性肠肽瘤(vipoma)、促生长素抑制素分泌肿瘤或类癌瘤或胰岛细胞瘤;甲状旁腺肿瘤;儿科癌症;严重癌症(penal cancer);周围神经鞘瘤;嗜铬细胞瘤;咽喉癌,包括但不限于鳞状细胞癌或疣状癌;垂体癌,包括但不限于,库欣病、催乳素分泌肿瘤(prolactin-secreting tumor)、肢端肥大症或糖尿病尿崩症(insipius)肿瘤;前列腺癌,包括但不限于腺癌、平滑肌肉瘤或横纹肌肉瘤;真性红细胞增多症(polycythemia vera);后葡萄膜黑素瘤(posterious uveal melanoma);

罕见血液病症；肾癌，包括但不限于腺癌、肾上腺样瘤(hypernephroma)、纤维肉瘤、肾转移性癌症或移行细胞癌(肾盂和/或uterer)；横纹肌样瘤；唾液腺癌，包括但不限于腺癌、粘液表皮样癌或腺样囊性癌；肉瘤；皮肤癌症，包括但不限于基底细胞癌、鳞状细胞癌和黑素瘤、浅表扩散性黑素瘤、结节性黑素瘤、雀斑样恶性黑素瘤或肢端黑素瘤；软组织肉瘤；鳞状细胞癌；胃癌，包括但不限于腺癌、蕈状(息肉样)、溃疡性、浅表扩散性、弥漫扩散性或恶性淋巴瘤、脂肪肉瘤、纤维肉瘤和癌肉瘤；滑膜肉瘤；睾丸癌，包括但不限于胚组织瘤、精原细胞瘤、未分化癌(anaplastic)、传统(典型)癌、精母细胞性肿瘤、非精原细胞瘤、胚胎性癌、畸胎瘤或绒毛膜癌(卵巢内胚层窦瘤(yolk-sac tumor))；胸腺癌；胸腺瘤；甲状腺癌，如但不限于乳头状甲状腺癌或滤泡甲状腺癌、转移性甲状腺癌、甲状腺髓质癌或未分化甲状腺癌；子宫癌，包括但不限于子宫内膜癌或子宫肉瘤；阴道癌，包括但不限于鳞状细胞癌、腺癌或黑素瘤；外阴癌，包括但不限于鳞状细胞癌、黑素瘤、腺癌、基底细胞癌、肉瘤或派杰病；华氏巨球蛋白血症(**Waldenström** macroglobulinemia)或威尔姆斯瘤。另外，癌症包括粘液肉瘤、骨源性肉瘤、内皮肉瘤(endotheliosarcoma)、淋巴管内皮肉瘤(lymphangio-endotheliosarcoma)、间皮瘤、滑膜瘤、成血管细胞瘤、上皮癌、囊腺癌、支气管癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌和乳头状腺癌(对于这类病症的综述，参见Fishman等人,1985, Medicine, 第二版, J.B.Lippincott Co., Philadelphia和Murphy等人,1997, Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment, and Recovery, Viking Penguin, Penguin Books U.S.A., Inc.)。

[0946] 具体的，本发明结合分子可用于治疗肾癌、膀胱癌、乳腺癌、结直肠癌、胃癌、成胶质细胞瘤、肾癌、非小细胞肺癌、急性淋巴细胞性白血病、急性髓细胞样白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性骨髓样白血病、毛细胞白血病、伯基特淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、小淋巴细胞性淋巴瘤、多发性骨髓瘤、黑素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮肤癌、肾细胞癌、睾丸癌和子宫癌。

[0947] 可由本发明LAG-3-结合分子治疗的病原体相关疾病包括慢性病毒、细菌、真菌和寄生虫感染。可由本发明LAG-3-结合分子治疗的慢性感染包括爱泼斯坦-巴尔病毒(Epstein Barr virus)、甲肝病毒(HAV)；乙肝病毒(HBV)；丙肝病毒(HCV)；疱疹病毒(例如HSV-1、HSV-2、HHV-6、CMV)、人免疫缺陷病毒(HIV)、水泡性口炎病毒(VSV)、芽孢杆菌纲、柠檬酸杆菌属、霍乱、白喉、肠杆菌属、淋球菌、幽门螺旋杆菌、克雷伯氏菌属、军团菌属、脑膜炎球菌、分歧杆菌、假单胞菌属、Pneumococci、立克次氏体细菌、沙门氏菌属、沙雷菌属、葡萄球菌属、链球菌属、破伤风、曲霉菌属(烟曲霉、黑曲霉等)、皮炎芽生菌、念珠菌属白色念珠菌、克柔假丝酵母、光滑念珠菌、热带念珠菌等)、新生隐球菌、毛霉目的属、犁头霉属、根霉属)、申克氏胞丝菌、巴西芽生菌、粗球霉菌、荚膜组织胞浆菌、细螺旋体病、包柔氏螺旋体、蠕虫寄生虫(钩虫、绦虫、吸虫、扁形虫(例如血吸虫)、蓝氏贾第虫、旋毛虫、脆双核阿米巴、布氏锥虫、克氏锥虫和杜氏利什曼虫。

[0948] VIII. 药物组合物

[0949] 本发明包括这类组合物，其包含能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子、能够介导对肿瘤细胞的重定向杀伤的分子，或这类分子的组合物。本发明的组合物包括原料药组合物，其可用于制造药物组合物(例如，不纯的或非无菌组合物)和可用于制备单位剂型的药物组合物(即，适于施用至受试者或患者的组合物)。这类组合物包含预防或治疗有效

量的能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子、能够介导对靶细胞(例如,癌细胞、病原体感染细胞等)的重定向杀伤的分子,或这类剂的组合以及药学可接受的载体。优选地,本发明组合物包含预防或治疗有效量的本发明结合分子和药学可接受的载体。在优选的方面,这类组合物是基本上纯的(即,基本上没有限制其效果或产生不期望的副作用的物质)。

[0950] 在多于一种治疗剂被施用的情况下,这些剂可在相同的制剂中被制备在一起或可被制备为单独的组合物。因此,在一些实施方式中,能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子和能够介导对靶细胞(例如,癌细胞、病原体感染细胞等)的重定向杀伤的分子在相同的药物组合物中被制备在一起。在可选的实施方式中,分子在单独的药物组合物中被制备。

[0951] 能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子、能够介导对靶细胞(例如,癌细胞、病原体感染细胞等)的重定向杀伤的分子或这类分子的组合的各种制剂可用于施用。除了药学活性剂(一种或多种),本发明组合物还可包含合适的药学可接受的载体,所述载体包括赋形剂和辅助剂,所述赋形剂和辅助剂是本领域中已知的并且是相对惰性的物质,其促进药学有效物质的施用或有助于活性化合物加工成在被制药上用于递送至作用位点的制剂。例如,赋形剂可具有给定的形式或稠度,或用作稀释剂。合适的赋形剂包括但不限于稳定剂、润湿剂和乳化剂、用于改变渗透压的盐、封装剂、缓冲剂和皮肤渗透增强剂。

[0952] 在具体的实施方式中,术语“药学上可接受的”表示获得联邦政府或州政府管理机构的许可或列于美国药典(U.S. Pharmacopeia)或其他通常获得认可的药典中,供用于动物,特别是用于人类。术语“载体”指与治疗剂一起施用的稀释剂、佐剂(例如弗氏佐剂(完全和不完全)、赋形剂或媒介。一般而言,本发明组合物的成分被单独提供或以单位剂型混合在一起,例如作为标明活性剂的量的密封容器中的冻干粉或无水浓缩物,所述密封容器如安瓿或小袋(sachette)。当通过输注施用组合物时,其可以用含有无菌的药学级水或盐水的输注瓶分配。如果通过注射施用所述组合物,则可以提供一安瓿注射用无菌水或盐水,以便可以在施用前混合所述成分。

[0953] 本发明也提供药物包装或试剂盒,其包括一个或多个容器,所述容器填充本发明的结合分子,单独地或与这类药学上可接受的载体一起。另外,用于治疗疾病的一种或多种其他预防剂或治疗剂也可包括在药物包装或试剂盒中。本发明也提供了这样的药物包装或试剂盒,其包括一个或多个容器,所述容器填充本发明药物组合物的一种或多种成分。任选地与这类容器(一个或多个)关联的可以是管理药物或生物产品的制造、使用或销售的政府机构规定的形式的布告(notice),所述布告反映了管理机构许可用于人类施用的制造、使用或销售。

[0954] 本发明提供了可用于上述方法的试剂盒。试剂盒可以包括本发明的任何结合分子。试剂盒可在一个或多个容器中进一步包括可用于治疗癌症的一种或多种其他预防剂和/或治疗剂。

[0955] IX. 施用方法

[0956] 通过向受试者施用有效量的包含本发明能够结合PD-1或PD-1的天然配体的分子的药物组合物,和包含本发明能够介导对肿瘤细胞的重定向杀伤的分子的药物组合物;或包括本发明这类分子的组合的药物组合物,可提供本发明组合物用于治疗、预防和改善与疾病、病症或感染有关的一种或多种症状。在优选的方面,这类组合物基本上是纯的(即,基本上不含限制其效果或产生不期望的副作用的物质)。在具体实施方式中,受试者是动物,

优选哺乳动物,如非灵长类(例如牛、马、猫科动物、犬科动物、啮齿动物等)或灵长类(例如,猴子,如食蟹猴、人等)。在优选的实施方式中,受试者是人。

[0957] 施用本发明的分子或组合物的方法包括但不限于肠胃外施用(例如皮内、肌肉、腹腔内、静脉内以及皮下)、硬膜外以及粘膜(例如鼻内和口腔途径)。在具体实施方式中,本发明的结合分子经肌肉、静脉内或皮下施用。组合物可以通过任何方便途径施用,例如通过输注或弹丸注射、通过上皮或黏膜皮肤被覆(lining)(例如口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)吸收,并且可以与其他生物活性剂一起施用。给药可以是全身的或局部的。

[0958] 本发明也使得本发明的结合分子的制剂包装在密封容器中,比如指示分子的数量安瓿或小袋中。在一个实施方式中,这样的分子作为冻干无菌粉或无水浓缩物提供于密封容器中,并且可以用例如水或盐水重构至适当浓度,用于施用于受试者。优选地,本发明的结合分子作为无菌冻干粉末提供在密封容器中。

[0959] 本发明结合分子的冻干制剂应在它们的初始容器中储存在2°C和8°C之间,并且分子应该在重构之后12小时内,优选地6小时内、5小时内、3小时内或1小时内施用。在可选的实施方式中,这样的分子以液体形式提供在指示分子、融合蛋白或缀合分子的量和浓度的密封容器中。优选地,这类结合分子在以液体形式提供时,被供应在密封容器中。

[0960] 可通过标准临床技术确定本发明的这类制剂有效治疗、预防或改善与病症相关的一个或多个症状的量。制剂中采用的精确剂量还将取决于施用的路径和病况的严重性,并且应根据从业者的判断和每个患者的情况决定。有效的剂量可从源自体外或动物模型测试系统的剂量响应曲线推断。

[0961] 如本文使用的,药物组合物的“有效量”是足以实现有益或期望的结果的量,所述结果包括但不限于临床结果,比如减少源自疾病的症状、减少感染的症状(例如,病毒量、发烧、疼痛、败血症等)或癌症的症状(例如,癌细胞的增殖、肿瘤存在、肿瘤转移等),从而提高遭受疾的患者的生命质量,降低治疗疾病需要的其他药物治疗的剂量、比如经靶向和/或内化增强另一药物的作用、延迟疾病的进展,和/或延长个体的生存期。当应用于单独施用的单一活性成分时,该术语仅指该成分。当应用于组合物时,该术语指无论连续地或同时地组合施用,引起治疗效果的活性成分的组的量。

[0962] 可在一次或多次施用中施加有效量。为了本发明的目的,药物、化合物或药物组合物的有效量是这样的量,所述量足以:直接或间接地杀伤和/或减少癌症细胞的增殖,和/或消除、降低和/或延迟从癌症的原发位点(primary site)转移的发展;或减少感染病原体的增殖(或影响)和降低和/或延迟病原体介导的疾病的发展。在一些实施方式中,药物、化合物或药物组合物的有效量可联合或不联合另一药物、化合物或药物组合物实现。因此,“有效量”可在施用一种或多种化疗剂的背景下考虑,并且如联合一种或多种其他剂,可实现或实现期望的结果,则单剂可视为以有效量施用。尽管个体的需要不同,但是测定每种组分的有效量的最佳范围是本领域技术人员已知的。

[0963] 对于本发明包括的结合分子,施用于患者的剂量优选基于接受受试者的体重(kg)确定。对于本发明包括的ROR1-结合分子,施用于患者的剂量通常为受试者体重的约0.01μg/kg至约30mg/kg或更多。

[0964] 可通过修饰比如,例如脂质化而增强分子的吸收和组织渗透,来减少或改变本发明的结合分子的给药剂量和频率。

[0965] 对于用作单剂疗法,可计算向患者施用的本发明的结合分子的剂量。可选地,分子可与其他治疗组合物联合使用,并且向患者施用的剂量小于当所述分子用作单剂疗法时的剂量。

[0966] 本发明药物组合物可被局部施用至需要治疗的区域;这可通过例如,但不限于下述方式实现:局部注入、通过注射、或通过植入物的手段,所述植入物是多孔的、非多孔的或胶状材料,包括膜,比如硅橡胶膜或纤维。优选地,当施用本发明的分子时,必须注意使用不吸收该分子的材料。

[0967] 本发明组合物可以在泡状体(vesicle),尤其是脂质体中递送(见Langer (1990) "New Methods Of Drug Delivery," Science 249:1527-1533); Treat等,在Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein和Fidler(编辑), Liss, New York, 353-365页(1989)中; Lopez-Berestein, 同上, 317-327页)。

[0968] 在本发明的组合物是编码本发明的结合分子的核酸的情况下,核酸可被体内施用,以通过如下方式促进其编码的结合分子的表达:将其构建为适当的核酸表达载体的一部分并且施用其从而其成为细胞内的,例如,通过使用逆转录病毒载体(见美国专利号4, 980, 286),或通过直接注射,或通过使用微粒轰击(例如,基因枪;生物弹道技术(Biolistic), Dupont),或用脂质或细胞表面受体或转染试剂涂覆,或通过已知进入核的同源框样肽联合施用(见例如, Joliot等(1991) "Antennapedia Homeobox Peptide Regulates Neural Morphogenesis," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 88:1864-1868)等。可选地,可以将核酸引入细胞内并通过同源重组整合到宿主细胞DNA中,以进行表达。

[0969] 用治疗或预防有效量的本发明的结合分子对受试者的治疗可包括单治疗,或优选地,可包括一系列治疗。在优选的实施例中,用本发明的药物组合物治疗受试者,持续约1至10周,优选地2至8周,更优选地约3至7周,和甚至更优选地持续约4、5或6周。本发明的药物组合物可以每天施用一次,其中这样的给药每周发生一次、每周发生两次、每两周发生一次、每月发生一次、每六周发生一次、每两月发生一次、每年发生两次或每年发生一次等。可选地,本发明的药物组合物可每天施用两次,其中这样的给药每周发生一次、每周发生两次、每两周发生一次、每月发生一次、每六周发生一次、每两月发生一次、每年发生两次或每年发生一次等。可选地,本发明的药物组合物可每天施用三次,其中这样的给药每周发生一次、每周发生两次、每两周发生一次、每月发生一次、每六周发生一次,每两月发生一次、每年发生两次或每年发生一次等。还应当理解,用于治疗的有效剂量可以在特定治疗过程中增加或减少。

[0970] 实施例

[0971] 现在已经大体上描述了本发明,通过参照下述实施例可更容易理解本发明,所述实施例以示例的方式提供,并不意欲限制本发明,除非指出。

[0972] 实施例1

[0973] 联合治疗研究: LOX-IMVI肿瘤模型

[0974] 为了阐释本发明的原理,使用重建的肿瘤模型进行联合治疗研究,在所述肿瘤模型中, LOX-IMVI人转移性黑素瘤细胞被皮下注射至经人PBMC重构的MHC I^{-/-}小鼠中。然后向小鼠施用媒介物或下述的治疗:

[0975] (1) 人源化抗-人PD-1抗体:hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P), 这类抗体是能够结合PD-1

的分子;和/或

[0976] (2) CD3 x B7-H3双特异性双抗体DART-A,这类双抗体是能够结合效应细胞的细胞表面分子(即,CD3)并且能够结合癌抗原(即,B7-H3)的分子,从而能够介导对表达B7-H3的癌细胞的重定向杀伤。

[0977] 这类施用的分子的氨基酸序列如上描述。表11显示了该研究的参数。每组由6只雌性小鼠组成。对于所有组,小鼠接受 5×10^6 LOX-IMVI癌细胞(ID;在研究的第33天施用)和 10^6 人PBMC(IP;在研究的第0天施用)。每周提供治疗(在研究的第42天开始施用的分子(一种或多种)或媒介物),达三个剂量(Q7Dx3);通过静脉注射施用剂量。

表 11		
组	施用的剂量(mg/kg)	
	hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)	DART-A
1	0	0
2	0	0.5
3	1.0	0
4	1.0	0.5

[0979] 测量随着时间变化的肿瘤体积。图7显示该研究的结果,并且证明联合疗法相对于仅施用hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P) 或仅使用DART-A具有不可预料的益处。

[0980] 实施例2

[0981] 联合治疗研究:Detroit562肿瘤模型

[0982] 为了进一步阐释本发明的原理,使用重建的肿瘤模型进行联合治疗研究,在所述肿瘤模型中,Detroit562人转移性咽癌癌细胞被皮下注射至经人PBMC重构的MHC I^{-/-}小鼠中。然后向小鼠施用媒介物对照,1mg/kg hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P)、0.5mg/kg DART-A或1mg/kg hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P) 和0.5mg/kg DART-A二者。表12显示该研究的参数。每组由8只雄性小鼠组成。对于所有组,小鼠接受 5×10^6 Detroit562癌细胞(ID)和 10^6 人PBMC(IP;在研究的第0天施用)。每周提供治疗(在研究的第7天开始施用的分子(一种或多种)或媒介物),进行四周(Q7Dx4),或每14天提供治疗一次,达两个剂量(Q14Dx2);通过静脉注射施用剂量。

表 12			
组	剂量方案	施用的剂量(mg/kg)	
		hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)	DART-A
1	Q7Dx4	0	0
2	Q7Dx4	1.0	0
3	Q7Dx4	0	0.5
4	Q14Dx2	0	0.5
5	Q7Dx4	1.0	0.5
6	Q14Dx2	1.0	0.5

[0983] 测量随着时间变化的肿瘤体积。图8A-8B显示该研究的结果，其再次证明联合疗法相对于仅施用hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P) 或仅使用DART-A具有不可预料的益处。图8A显示组1-3和5的结果；图8B显示组1-4和6的结果。

[0985] 小鼠中CD3⁺细胞的浓度在研究结束时测定。令人惊讶地发现，这类细胞的浓度在已经接受联合疗法的小鼠中已经增加(图9)，从而表明本发明疗法已经增强了动物的免疫应答。

[0986] 实施例3

[0987] 信号传导模型

[0988] 为了进一步阐释本发明的原理，在T细胞/肿瘤细胞共培养系统中使用Jurkat-luc-NFAT/肿瘤细胞荧光素酶报告测定来检验协作的T细胞信号转导。简言之，将表达PD-1和B7-H3的MDA-MB-231肿瘤靶细胞与MNAT-luc2/PD-1Jurkat T细胞以1:1(图10A)或3:1(图10B)的效应子:靶细胞比混合，并且在存在增加浓度的DART-A的情况下，单独培养或与固定浓度(12.5nM)的PD-1结合分子hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P)、DART-1、对照抗体一起培养。发光作为细胞激活和信号转导的指示(indicator)被测量。图10A-10B显示了该研究的结果，其证明了能够结合PD-1的分子(例如，hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P)、DART-1)和能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子(例如，DART-A)的组合增强了效应细胞信号转导活性。

[0989] 实施例4

[0990] 联合治疗研究：在A375肿瘤模型中比较正常T细胞与无反应性T细胞

[0991] 为了进一步阐释本发明的原理，使用重建的肿瘤模型进行联合治疗研究，在所述肿瘤模型中，A375人黑色素瘤细胞被皮下注射至经激活的或无反应性的人T细胞重构的NOG小鼠中。然后向小鼠施用媒介物或下述的治疗：

[0992] (1) PD-1 x LAG-3双特异性双抗体：DART-2，这类双抗体是能够结合PD-1的分子；和/或

[0993] (2) CD3 x IL13R α 2双特异性双抗体DART-B,这类双抗体是能够结合效应细胞的细胞表面分子(即,CD3)并且能够结合癌抗原(即,IL13R α 2)的分子,从而能够介导对表达IL13R α 2的癌细胞的重定向杀伤。

[0994] 通过在IL-2的存在下用CD3/CD28激活珠培养纯化的人T细胞,进行两轮,制备激活的T细胞。通过在IL-2的存在下用CD3/CD28激活珠培养纯化的人T细胞,进行一轮,接着在没有IL-2的情况下用CD3/CD28激活珠培养一轮,制备无反应性的T细胞。小鼠组(n=8只雌性)在研究的第0天接受皮下接种5 x 10⁶的A375黑色素瘤细胞(用0.1 μ g/mL IFN γ 预处理24小时)和5 x 10⁶人T细胞(激活的或无反应性的),并且然后施用媒介物对照、0.5mg/kg DART-2、0.5mg/kg DART-B或0.5mg/kg DART-2和0.5mg/kg DART-B两者。每周提供治疗(施用的分子(一种或多种)或媒介物),进行四个剂量(Q7Dx4),或在研究的第0天作为单治疗提供(QD(SD));通过静脉注射施用剂量。表13显示该研究的参数。

[0995]	表 13				
	组	T 细胞	治疗	剂量 (mg/kg)	途径/方案
	1	激活的	媒介物	0	IV/QD (SD0)
	2	激活的	DART-B	0.01	IV/QD (SD0)
[0996]	3	激活的	DART-B	0.01	IV/QD (SD0)
			DART-2	0.5	IV/Q7Dx4
	4	激活的	DART-2	0.5	IV/Q7Dx4
	5	无反应 性的	媒介物	0	IV/QD (SD0)
	6	无反应 性的	DART-B	0.01	IV/QD (SD0)
	7	无反应 性的	DART-B DART-2	0.01 0.5	IV/QD (SD0) IV/Q7Dx4
	8	无反应 性的	DART-2	0.5	IV/Q7Dx4

[0997] 测量随着时间变化的肿瘤体积。图11A-11B显示该研究的结果,证明能够结合PD-1的分子(例如,hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P)、DART-1、DART-2)和能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子(例如,DART-A、DART-B)的联合疗法在存在无反应性T细胞的情况下降低肿瘤复发率。这些结果再次证明了能够结合PD-1的分子和能够介导对靶细胞的重定向杀伤的分子的联合疗法相对于单独施用任一种分子具有不可预料的益处。图11A显示用正常活性的T细胞接种的组1-4的结果;图11B显示用无反应性T细胞接种的组5-8的结果。

[0998] 实施例5

[0999] 联合治疗研究:A375肿瘤模型

[1000] 为了进一步阐释本发明的原理,使用共混合(co-mix)肿瘤模型进行联合治疗研究,在所述肿瘤模型中,A375黑色素瘤细胞被皮下注射至人T细胞重构的NOG小鼠中。然后向小鼠施用媒介物或下述的治疗:

[1001] (1) PD-1 x LAG-3双特异性双抗体:DART-2,这类双抗体是能够结合PD-1的分子;和/或

[1002] (2) CD3 x IL13R α 2双特异性双抗体DART-B,这类双抗体是能够结合效应细胞的细胞表面分子(即,CD3)并且能够结合癌抗原(即,IL13R α 2)的分子,从而能够介导对表达IL13R α 2的癌细胞的重定向杀伤。

[1003] 表14显示该研究的参数。每个组由8只雌性小鼠组成。对于全部的组,小鼠接受与 1.25×10^6 人T细胞(用120 μ g/ml DART-2预处理20min)共混合的 1.25×10^6 的A375黑色素瘤细胞(用100ng/ml IFN γ 预处理24小时)(SC;在研究第0天施用)。在组5-8中的小鼠在细胞注射之前(研究第-1天)用DART-2(500 μ g/kg)预处理24小时且在研究第7天开始每7天接受附加剂量(addition dose)的DART-2(500 μ g/kg),总计10个剂量。在组2-4和6-8中的小鼠在研究第0天接受单剂量的DART-B(1、5或10 μ g/kg)。组1,仅仅接受媒介物。所有的剂量通过静脉注射施用。

表 14

组	N/性别	治疗	剂量 (μ g/kg)	途径/方案
1	8/F	媒介物	0	IV/QDx1
2	8/F	DART-B	1	IV/QDx1
3	8/F	DART-B	5	IV/QDx1
4	8/F	DART-B	10	IV/QDx1
5	8/F	DART-2	500	IV/Q7Dx7
6	8/F	DART-B	1	IV/QDx1

[1004]

[1005]	7	8/F	DART-2	500	IV/Q7Dx7
			DART-B	5	IV/QDx1
	8	8/F	DART-2	500	IV/Q7Dx7
			DART-B	10	IV/QDx1
			DART-2	500	IV/Q7Dx7

[1006] 作为时间的函数,测量肿瘤体积且将其在图12A-12H中绘制。图12A显示通过第50天的组1、2、5和6的结果;图12B-12H显示对于组2(图12B)、对于组5(图12C)、组6(图12D)、组3(图12E)、组7(图12F)、组4(图12G)和组8(图12H)的单个动物的通过第80天的蜘蛛图。该研究的结果表明:相对于单独施用任一分子,能够结合PD-1的分子和能够介导靶细胞的重定向杀伤的分子的联合治疗的出乎意料的优点。

[1007] 本说明书提到的所有出版物和专利通过参考并入本文,达到如同具体和单独指出每个单个出版物或专利申请通过参考以其整体并入的相同程度。尽管已经结合其具体实施方式描述了本发明,但是应当理解,其能够被进一步修改,并且本申请旨在覆盖大体上根据本发明原理并且包括与本公开的偏离的本发明的任何变型、用途或改变,只要在本发明所属领域的已知或习惯实践内并且如可应用至本文之前所阐释的本质特征。

序列表

<110> 宏观基因有限公司

E • 本维尼

Scott • 科宁

L • S • 约翰逊

P • A • 摩尔

R • F • 安德森

<120> 联合疗法

<130> 1301.0142PCT

<150> US 62/432,299

<151> 2016-12-09

<150> US 62/346,854

<151> 2016-06-07

<160> 275

<170> PatentIn 3.5版本

<210> 1

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (98)

<223> 示例性人IgG1 CH1结构域

<400> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val

<210> 2

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (98)

<223> 示例性人IgG2 CH1结构域

<400> 2

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

Thr Val

<210> 3

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (98)

<223> 示例性人IgG4 CH1结构域

<400> 3

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

65	70	75	80
Tyr Thr Cys Asn Val	Asp His Lys Pro Ser	Asn Thr Lys Val	Asp Lys
	85	90	95

Arg Val

<210> 4

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (15)

<223> 示例性人IgG1铰链结构域

<400> 4

Glu Pro Lys Ser Cys	Asp Lys Thr His	Thr Cys Pro Pro	Cys Pro
1	5	10	15

<210> 5

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (12)

<223> 示例性人IgG2铰链结构域

<400> 5

Glu Arg Lys Cys Cys	Val Glu Cys Pro	Pro Cys Pro
1	5	10

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (12)

<223> 示例性人IgG4铰链结构域

<400> 6

Glu Ser Lys Tyr Gly	Pro Pro Cys Pro	Ser Cys Pro
1	5	10

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性S228P-稳定化的人IgG4铰链结构域

<400> 7

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 8

<211> 217

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (217)

<223> 示例性人IgG1的CH2-CH3结构域

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (217) .. (217)

<223> XAA是赖氨酸(K) 或不存在

<400> 8

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145	150	155	160
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu			
	165	170	175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val			
	180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln			
	195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa			
	210	215	
<210> 9			
<211> 216			
<212> PRT			
<213> 智人			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (1) .. (216)			
<223> 示例性人IgG2的CH2-CH3结构域			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (216) .. (216)			
<223> XAA是赖氨酸(K) 或不存在			
<400> 9			
Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro			
1 5 10 15			
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val			
20 25 30			
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val			
35 40 45			
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln			
50 55 60			
Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln			
65 70 75 80			
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly			
85 90 95			
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro			
100 105 110			
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr			
115 120 125			
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser			

130	135	140
Asp Ile Ser Val Glu Trp	Glu Ser Asn Gly Gln	Pro Glu Asn Asn Tyr
145	150	155
Lys Thr Thr Pro Pro Met	Leu Asp Ser Asp Gly Ser	Phe Phe Leu Tyr
165	170	175
Ser Lys Leu Thr Val Asp	Lys Ser Arg Trp Gln Gln	Gly Asn Val Phe
180	185	190
Ser Cys Ser Val Met His	Glu Ala Leu His Asn His	Tyr Thr Gln Lys
195	200	205
Ser Leu Ser Leu Ser Pro	Gly Xaa	
210	215	
<210> 10		
<211> 217		
<212> PRT		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (1) .. (217)		
<223> 示例性人IgG3的CH2-CH3结构域		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (217) .. (217)		
<223> XAA是赖氨酸 (K) 或不存在		
<400> 10		
Ala Pro Glu Leu Leu Gly	Gly Pro Ser Val Phe	Leu Phe Pro Pro Lys
1	5	10
Pro Lys Asp Thr Leu Met	Ile Ser Arg Thr Pro	Glu Val Thr Cys Val
20	25	30
Val Val Asp Val Ser His	Glu Asp Pro Glu Val	Gln Phe Lys Trp Tyr
35	40	45
Val Asp Gly Val Glu Val	His Asn Ala Lys Thr	Lys Pro Arg Glu Glu
50	55	60
Gln Tyr Asn Ser Thr Phe	Arg Val Val Ser Val	Leu Thr Val Leu His
65	70	75
Gln Asp Trp Leu Asn Gly	Lys Glu Tyr Lys Cys	Lys Val Ser Asn Lys
85	90	95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile	Glu Lys Thr Ile Ser	Lys Thr Lys Gly Gln
100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val	Tyr Thr Leu Pro Pro	Ser Arg Glu Glu Met

115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu	Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro	
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
145	150	155
Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
165	170	175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile		
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln		
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa		
210	215	
<210> 11		
<211> 217		
<212> PRT		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (1) .. (217)		
<223> 示例性人IgG4的CH2-CH3结构域		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (217) .. (217)		
<223> XAA是赖氨酸(K) 或不存在		
<400> 11		
Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
1	5	10
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		
20	25	30
Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr		
35	40	45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		
50	55	60
Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
65	70	75
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
85	90	95
Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		

100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr	Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met	
115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr	Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro	
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn	
145	150	155
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu	
165	170	175
Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser	Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val	
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala	Leu His Asn His Tyr Thr Gln	
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa		
210	215	
<210> 12		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (1) .. (107)		
<223> 示例性人CL κ 结构域		
<400> 12		
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe	Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu	
1	5	10
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val	Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe	
20	25	30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp	Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln	
35	40	45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr	Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser	
50	55	60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr	Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu	
65	70	75
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val	Thr His Gln Gly Leu Ser Ser	
85	90	95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly	Glu Cys	
100	105	
<210> 13		

<211> 104

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (104)

<223> 示例性人CLA结构域

<400> 13

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

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的间插间隔肽(连接体)

<400> 14

```
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1          5
```

<210> 15

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的含半胱氨酸的间隔肽(连接体2)

<400> 15

```
Gly Gly Cys Gly Gly Gly
```

1 5
<210> 16
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 可选的间隔肽(连接体2)
<400> 16
Gly Gly Gly Ser
1
<210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 可选的间隔肽(连接体2)
<400> 17
Leu Gly Gly Gly Ser Gly
1 5
<210> 18
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 可选的间隔肽(连接体2)
<400> 18
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
1 5 10
<210> 19
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 可选的间隔肽(连接体2)
<400> 19
Ala Ser Thr Lys Gly
1 5
<210> 20
<211> 6

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 可选的间隔肽(连接体2)
<400> 20
Leu Glu Pro Lys Ser Ser
1 5
<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 可选的间隔肽(连接体2)
<400> 21
Ala Pro Ser Ser Ser
1 5
<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 异源二聚体促进结构域
<400> 22
Gly Val Glu Pro Lys Ser Cys
1 5
<210> 23
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 异源二聚体促进结构域
<400> 23
Val Glu Pro Lys Ser Cys
1 5
<210> 24
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 异源二聚体促进结构域

<400> 24

Ala Glu Pro Lys Ser Cys

1 5

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 异源二聚体促进结构域

<400> 25

Gly Phe Asn Arg Gly Glu Cys

1 5

<210> 26

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 异源二聚体促进结构域

<400> 26

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

1 5

<210> 27

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> "E-螺旋"异源二聚体促进结构域

<400> 27

Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val

1 5 10 15

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys

20 25

<210> 28

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> "K-螺旋"异源二聚体促进结构域

<400> 28

Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
1 5 10 15
Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
20 25

<210> 29

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 含半胱氨酸的“E-螺旋”异源二聚体促进结构域

<400> 29

Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val
1 5 10 15
Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
20 25

<210> 30

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 含半胱氨酸的“K-螺旋”异源二聚体促进结构域

<400> 30

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
1 5 10 15
Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
20 25

<210> 31

<211> 46

<212> PRT

<213> 停乳链球菌 (Streptococcus dysgalactiae)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (46)

<223> 链球菌属 (Streptococcus) 菌株G148的蛋白质G的白蛋白结合结构域3 (ABD3)

<400> 31

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly
1 5 10 15
Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asp Asn Ala Lys Ser Ala Glu

	20		25		30										
Gly	Val	Lys	Ala	Leu	Ile	Asp	Glu	Ile	Leu	Ala	Ala	Leu	Pro		
	35		40		45										
<210>	32														
<211>	46														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	链球菌属菌株G148的蛋白质G的去免疫化变体白蛋白结合结构域3 (ABD3)														
<400>	32														
Leu	Ala	Glu	Ala	Lys	Val	Leu	Ala	Asn	Arg	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Gly
1				5					10					15	
Val	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Lys	Asn	Leu	Ile	Asp	Asn	Ala	Lys	Ser	Ala	Glu
			20					25					30		
Gly	Val	Lys	Ala	Leu	Ile	Asp	Glu	Ile	Leu	Ala	Ala	Leu	Pro		
			35					40					45		
<210>	33														
<211>	46														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	链球菌属菌株G148的蛋白质G的去免疫化变体白蛋白结合结构域3ABD3)														
<400>	33														
Leu	Ala	Glu	Ala	Lys	Val	Leu	Ala	Asn	Arg	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Gly
1				5					10					15	
Val	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Lys	Asn	Ala	Ala	Asn	Asn	Ala	Lys	Thr	Val	Glu
			20					25					30		
Gly	Val	Lys	Ala	Leu	Ile	Ala	Glu	Ile	Leu	Ala	Ala	Leu	Pro		
			35					40					45		
<210>	34														
<211>	46														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	链球菌属菌株G148的蛋白质G的去免疫化变体白蛋白结合结构域3ABD3)														
<400>	34														
Leu	Ala	Glu	Ala	Lys	Val	Leu	Ala	Asn	Arg	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Gly
1				5					10					15	
Val	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Lys	Asn	Leu	Ile	Ser	Asn	Ala	Lys	Ser	Val	Glu

	20		25		30										
Gly	Val	Lys	Ala	Leu	Ile	Ala	Glu	Ile	Leu	Ala	Ala	Leu	Pro		
	35						40					45			
<210>	35														
<211>	8														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	间插间隔肽(连接体)														
<400>	35														
Ala	Pro	Ser	Ser	Ser	Pro	Met	Glu								
1				5											
<210>	36														
<211>	16														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	间插间隔肽(连接体)														
<400>	36														
Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Ala	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro
1				5					10					15	
<210>	37														
<211>	16														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	间插间隔肽(连接体)														
<400>	37														
Leu	Glu	Pro	Lys	Ser	Ala	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro
1				5					10					15	
<210>	38														
<211>	10														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	间插间隔肽(连接体)														
<400>	38														
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro						
1				5					10						

<210> 39

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可选的连接体

<400> 39

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 40

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可选的连接体

<400> 40

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

1 5 10 15

<210> 41

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有L234A/L235A取代的示例性人IgG1的CH2-CH3结构域

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (217) .. (217)

<223> XAA是赖氨酸(K)或不存在

<400> 41

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
85	90	95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		
100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met		
115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
145	150	155
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
165	170	175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val		
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln		
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa		
210	215	
<210> 42		
<211> 217		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> "携带杵的" IgG1 CH2-CH3结构域		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (217) .. (217)		
<223> XAA是赖氨酸(K) 或不存在		
<400> 42		
Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
1	5	10
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		
20	25	30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr		
35	40	45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		
50	55	60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
65	70	75
		80

Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
				85					90					95	
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
				100					105					110	
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met
				115					120					125	
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
				130					135					140	
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
				145					150					155	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
				165					170					175	
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
				180					185					190	
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
				195					200					205	
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Xaa							
				210					215						

<210> 43
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> "携带白的" IgG1 CH2-CH3结构域
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (217) .. (217)
 <223> XAA是赖氨酸(K) 或不存在
 <400> 43

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

Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
				85					90					95	
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
				100					105					110	
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met
				115					120					125	
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
				130					135					140	
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
				145					150					155	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
				165					170					175	
Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
				180					185					190	
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gln
				195					200					205	
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Xaa							
				210					215						

<210> 44

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 优选的间插间隔肽

<400> 44

Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
1				5					10					15

<210> 45

<211> 288

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (288)

<223> 人PD-1蛋白质 (NCBI序列NP_005009.2), 包括信号序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (20)

<223> 人PD-1蛋白质的信号序列 (NCBI序列NP_005009.2)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (21) .. (288)

<223> 人PD-1蛋白质 (NCBI序列NP_005009.2);成熟蛋白

<400> 45

```

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> 46

<211> 121

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (121)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 1的VH结构域

<400> 46

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Phe Ser Ile Thr Asn Asp
 20 25 30

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

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

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

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

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

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 47

<211> 6

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (6)

<223> PD-1 mAb 1的CDRH1

<400> 47

Asn Asp Tyr Ala Trp Asn
 1 5

<210> 48

160

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

<210> 51
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 小家鼠
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (10)
 <223> PD-1 mAb 1的CDRL1
 <400> 51
 Ser Ala Thr Ser Ile Val Ser Tyr Val Tyr
 1 5 10
 <210> 52
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 小家鼠
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (7)
 <223> PD-1 mAb 1的CDRL2
 <400> 52
 Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 53
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 小家鼠
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (9)
 <223> PD-1 mAb 1的CDRL3
 <400> 53
 Gln Gln Trp Ser Asp Asn Pro Tyr Thr
 1 5
 <210> 54

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人hPD-1 mAb 1 VH1的VH结构域

<400> 54

```

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

```

<210> 55

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人hPD-1 mAb 1 VL1的 VL结构域

<400> 55

```

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

```

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Asp Asn Pro Tyr Thr
 85 90 95

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

<210> 56

<211> 116

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (116)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 2的VH结构域

<400> 56

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

Ser Arg Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Val Phe Ser Ser Phe
 20 25 30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Val Thr Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
 65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 57

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 2的CDRH1

<400> 57

Ser Phe Gly Met His

1 5
 <210> 58
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 小家鼠
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (17)
 <223> PD-1 mAb 2的CDRH2
 <400> 58
 Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Met Ser Ile Ser Tyr Ala Asp Thr Val Lys
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 59
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 小家鼠
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (7)
 <223> PD-1 mAb 2的CDRH3
 <400> 59
 Leu Ser Asp Tyr Phe Asp Tyr
 1 5
 <210> 60
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 小家鼠
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (112)
 <223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 2的VL结构域
 <400> 60
 Asp Val Val Met Ser Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30
 Thr Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

<210> 61

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (16)

<223> PD-1 mAb 2的CDRL1

<400> 61

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Thr Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (7)

<223> PD-1 mAb 2的CDRL2

<400> 62

Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (9)

<223> PD-1 mAb 2的CDRL3

<400> 63

Ser Gln Thr Thr His Val Pro Trp Thr

1 5

<210> 64

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人hPD-1 mAb 2 VH1的VH结构域

<400> 64

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Met Ser Ile Ser Tyr Ala Asp Thr 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 Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 65

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人hPD-1 mAb 2 VH1的VL结构域

<400> 65

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

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

<210> 66

<211> 125

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (125)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 3的VH结构域

<400> 66

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

<210> 67

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 3的CDRH1

<400> 67

Asp Tyr Val Met His

1 5

<210> 68

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (17)

<223> PD-1 mAb 3的CDRH2

<400> 68

Thr Ile Asp Pro Glu Thr Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 69

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (16)

<223> PD-1 mAb 3的CDRH3

<400> 69

Glu Lys Ile Thr Thr Ile Val Glu Gly Thr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10 15

<210> 70

<211> 112

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (112)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 3的VL结构域

<400> 70

Asp Val Leu Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser

$\langle 222 \rangle \quad (1) \dots (9)$

<223> PD-1 mAb 3的CDRL3

<400> 73

Phe Gln Gly Ser His Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 74

<211> 116

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (116)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 4的VH结构域

<400> 74

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

1 5 10 15

Ser Arg Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Val Phe Ser Ser Phe

20 25 30

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

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Met Ser Ile Ser Tyr Ala Asp Thr Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Thr Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe

65 70 75 80

Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 75

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 4的CDRH1

<400> 75

Ser Phe Gly Met His

1 5
 <210> 76
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 小家鼠
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (17)
 <223> PD-1 mAb 4的 CDRH2
 <400> 76
 Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Met Ser Ile Ser Tyr Ala Asp Thr Val Lys
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 77
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 小家鼠
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (7)
 <223> PD-1 mAb 4的CDRH3
 <400> 77
 Leu Thr Asp Tyr Phe Asp Tyr
 1 5
 <210> 78
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 小家鼠
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (112)
 <223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 4的VL结构域
 <400> 78
 Asp Val Val Met Ser Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30
 Thr Gly Asn Thr Tyr Phe His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

<210> 79

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (16)

<223> PD-1 mAb 4的CDRL1

<400> 79

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Thr Gly Asn Thr Tyr Phe His
1 5 10 15

<210> 80

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (7)

<223> PD-1 mAb 4的CDRL2

<400> 80

Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 81

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (9)

<223> PD-1 mAb 4的CDRL3

<400> 81

Ser Gln Thr Thr His Val Pro Trp Thr

1 5

<210> 82

<211> 119

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (119)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 5的VH结构域

<400> 82

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Val Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Met Asn Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ile Ser Pro Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu His Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala

115

<210> 83

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 5的CDRH1

<400> 83

Ala Tyr Trp Met Asn

1 5

<210> 84

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (17)

<223> PD-1 mAb 5的CDRH2

<400> 84

Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 85

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (10)

<223> PD-1 mAb 5的CDRH3

<400> 85

Glu His Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 86

<211> 111

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (111)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 5的VL结构域

<400> 86

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ala

50 55 60

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

<210> 87

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (15)

<223> PD-1 mAb 5的CDRL1

<400> 87

Arg Ala Asn Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Met Ser Phe Met Asn
1 5 10 15

<210> 88

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (7)

<223> PD-1 mAb 5的CDRL2

<400> 88

Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser
1 5

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (9)

<223> PD-1 mAb 5的CDRL3

<400> 89

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 90

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (118)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 6的VH结构域

<400> 90

```

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

```

<210> 91

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 6的CDRH1

<400> 91

```

Ser Tyr Gly Met Ser
1           5

```

<210> 92

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (17)

<223> PD-1 mAb 6的CDRH2

<400> 92

Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (9)

<223> PD-1 mAb 6的CDRH3

<400> 93

Gln Lys Ala Thr Thr Trp Phe Ala Tyr

1 5

<210> 94

<211> 111

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (111)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 6的VL结构域

<400> 94

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Pro Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ala

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His

65 70 75 80

Pro Met Glu Glu Asp Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95
Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 95

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (15)

<223> PD-1 mAb 6的CDRL1

<400> 95

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

<210> 96

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (7)

<223> PD-1 mAb 6的CDRL2

<400> 96

Pro Ala Ser Asn Gln Gly Ser
1 5

<210> 97

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (9)

<223> PD-1 mAb 6的CDRL3

<400> 97

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 98

<211> 119

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (119)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 7的VH结构域

<400> 98

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

<210> 99

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 7的CDRH1

<400> 99

Ser Tyr Trp Met Asn
1 5

<210> 100

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (17)

<223> PD-1 mAb 7的CDRH2

<400> 100

Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 101

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (10)

<223> PD-1 mAb 7的CDRH3

<400> 101

Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 102

<211> 111

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (111)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 7的VL结构域

<400> 102

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ala

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Phe Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His

65 70 75 80

Pro Met Glu Glu Asp Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys

85 90 95

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 103

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (15)

<223> PD-1 mAb 7的CDRL1

<400> 103

Arg Ala Asn Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Met Ser Phe Met Asn
1 5 10 15

<210> 104

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (7)

<223> PD-1 mAb 7的CDRL2

<400> 104

Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser
1 5

<210> 105

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (9)

<223> PD-1 mAb 7的CDRL3

<400> 105

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 106

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人hPD-1 mAb 7 VH1的VH结构域

<400> 106

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

<210> 107

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人hPD-1 mAb 7 VH2的VH结构域

<400> 107

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

100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 108		
<211> 111		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人源化抗人hPD-1 mAb 7 VL1的VL结构域		
<400> 108		
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 Asn Glu Ser Val Asp Asn Tyr		
20 25 30		
Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro		
35 40 45		
Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser		
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 Phe Cys Gln Gln Ser Lys		
85 90 95		
Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100 105 110		
<210> 109		
<211> 111		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人源化抗人hPD-1 mAb 7 VL2的VL结构域		
<400> 109		
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 Glu Ser Val Asp Asn Tyr		
20 25 30		
Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro		
35 40 45		
Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser		
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 Phe Cys Gln Gln Ser Lys
 85 90 95
 Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 110

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人hPD-1 mAb 7 VL3的VL结构域

<400> 110

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 Glu Ser Val Asp Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Arg Gly Ser Gly Val Pro Ser
 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 Phe Cys Gln Gln Ser Lys
 85 90 95
 Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 111

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hPD-1 mAb 7 VL2和hPD-1 mAb 7 VL3的VL结构域的CDRL1

<400> 111

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Met Ser Phe Met Asn
 1 5 10 15

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hPD-1 mAb 7 VL3的CDRL2

<400> 112

Ala Ala Ser Asn Arg Gly Ser

1 5

<210> 113

<211> 113

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (113)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 8的VH结构域

<400> 113

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Asn His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Lys Asn Gly Asp Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Glu Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ser

<210> 114

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 8的CDRH1

<400> 114

Asp Tyr Tyr Met Asn

1 5

<210> 115

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (17)

<223> PD-1 mAb 8的CDRH2

<400> 115

Asp Ile Asn Pro Lys Asn Gly Asp Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 116

<211> 4

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (4)

<223> PD-1 mAb 8的CDRH3

<400> 116

Asp Phe Asp Tyr

1

<210> 117

<211> 112

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (112)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 8的VL结构域

<400> 117

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

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

<210> 118

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (16)

<223> PD-1 mAb 8的CDRL1

<400> 118

Arg Ser Ser Gln Thr Leu Val Tyr Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 119

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (7)

<223> PD-1 mAb 8的CDRL2

<400> 119

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (9)

<223> PD-1 mAb 8的CDRL3

<400> 120

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Phe Thr

1 5

<210> 121

<211> 119

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (119)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 9的VH结构域

<400> 121

Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ser Asp Ser 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 Ile Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Phe Asp Gly Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 122

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 9的CDRH1

<400> 122

Ser Tyr Leu Val Ser

1 5

<210> 123

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (17)

<223> PD-1 mAb 9的CDRH2

<400> 123

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

1 5 10 15

Gly

<210> 124

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (10)

<223> PD-1 mAb 9的CDRH3

<400> 124

Tyr Gly Phe Asp Gly Ala Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 125

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 9的VL结构域

<400> 125

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Glu Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val

35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50	55	60			
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro					
65	70	75	80		
Glu Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Ala Val Pro Trp					
	85	90	95		
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Thr					
	100	105			
<210> 126					
<211> 11					
<212> PRT					
<213> 小家鼠					
<220>					
<221> MISC_FEATURE					
<222> (1) .. (11)					
<223> PD-1 mAb 9的CDRL1					
<400> 126					
Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala					
1	5	10			
<210> 127					
<211> 7					
<212> PRT					
<213> 小家鼠					
<220>					
<221> MISC_FEATURE					
<222> (1) .. (7)					
<223> PD-1 mAb 9的CDRL2					
<400> 127					
Asn Ala Lys Thr Leu Ala Ala					
1	5				
<210> 128					
<211> 9					
<212> PRT					
<213> 小家鼠					
<220>					
<221> MISC_FEATURE					
<222> (1) .. (9)					
<223> PD-1 mAb 9的CDRL3					
<400> 128					
Gln His His Tyr Ala Val Pro Trp Thr					

1 5
 <210> 129
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人源化抗人hPD-1 mAb 9 VH1的 VH结构域
 <400> 129
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Arg Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ser Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Tyr Gly Phe Asp Gly Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 130
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人源化抗人hPD-1 mAb 9 VH2的VH结构域
 <400> 130
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Arg Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Thr
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ser Asp Ser Val
 50 55 60

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

<210> 131

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hPD-1 mAb 9 VH2的CDRH1

<400> 131

Ser Tyr Leu Val Gly

1 5

<210> 132

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人hPD-1 mAb 9 VL1的VL结构域

<400> 132

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

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

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

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

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

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

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

<210> 133

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人hPD-1 mAb 9 VL2的VL结构域

<400> 133

```

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

```

<210> 134

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hPD-1 mAb 9 VL2的CDRL1

<400> 134

```

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

```

<210> 135

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hPD-1 mAb 9 VL2的CDRL2

<400> 135

```

Asp Ala Lys Thr Leu Ala Ala
1           5

```

<210> 136

<211> 116

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (116)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 10的VH结构域

<400> 136

Glu Val Ile Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Ser Ile Ser Gly Gly Gly Ser Asn Ile Tyr Tyr Pro Asp Ser 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 Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Glu Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 137

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 10的CDRH1

<400> 137

Asn Tyr Leu Met Ser

1 5

<210> 138

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (17)

<223> PD-1 mAb 10的CDRH2

<400> 138

Ser Ile Ser Gly Gly Gly Ser Asn Ile Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 139

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (7)

<223> PD-1 mAb 10的CDRH3

<400> 139

Gln Glu Leu Ala Phe Asp Tyr

1 5

<210> 140

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 10的VL结构域

<400> 140

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Thr Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Trp

	85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Ile			
	100	105	
<210>	141		
<211>	11		
<212>	PRT		
<213>	小家鼠		
<220>			
<221>	MISC_FEATURE		
<222>	(1) .. (11)		
<223>	PD-1 mAb 10的CDRL1		
<400>	141		
Arg Thr Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe Leu Asn			
1	5	10	
<210>	142		
<211>	7		
<212>	PRT		
<213>	小家鼠		
<220>			
<221>	MISC_FEATURE		
<222>	(1) .. (7)		
<223>	PD-1 mAb 10的CDRL2		
<400>	142		
Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser			
1	5		
<210>	143		
<211>	9		
<212>	PRT		
<213>	小家鼠		
<220>			
<221>	MISC_FEATURE		
<222>	(1) .. (9)		
<223>	PD-1 mAb 10的CDRL3		
<400>	143		
Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Trp Thr			
1	5		
<210>	144		
<211>	117		
<212>	PRT		

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (117)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 11的VH结构域

<400> 144

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

<210> 145

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 11的CDRH1

<400> 145

```
Gly Tyr Trp Met His
1           5
```

<210> 146

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (17)

<223> PD-1 mAb 11的CDRH2

<400> 146

Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 147

<211> 8

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (8)

<223> PD-1 mAb 11的CDRH3

<400> 147

Gly Thr Tyr Ser Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 148

<211> 106

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (106)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 11的VL结构域

<400> 148

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

1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser

20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln His Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100	105
<210> 149	
<211> 11	
<212> PRT	
<213> 小家鼠	
<220>	
<221> MISC_FEATURE	
<222> (1) .. (11)	
<223> PD-1 mAb 11的CDRL1	
<400> 149	
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser Ile His	
1 5 10	
<210> 150	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> 小家鼠	
<220>	
<221> MISC_FEATURE	
<222> (1) .. (7)	
<223> PD-1 mAb 11的CDRL2	
<400> 150	
Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser	
1 5	
<210> 151	
<211> 8	
<212> PRT	
<213> 小家鼠	
<220>	
<221> MISC_FEATURE	
<222> (1) .. (8)	
<223> PD-1 mAb 11的CDRL3	
<400> 151	
Gln Gln Ser Asn Ser Trp Leu Thr	
1 5	
<210> 152	
<211> 125	
<212> PRT	
<213> 小家鼠	
<220>	

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (125)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 12的VH结构域

<400> 152

```

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

```

<210> 153

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 12的CDRH1

<400> 153

```

Asp Tyr Glu Met His
1           5

```

<210> 154

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (17)

<223> PD-1 mAb 12的CDRH2

<400> 154

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

Gly

<210> 155

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (16)

<223> PD-1 mAb 12的CDRH3

<400> 155

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

<210> 156

<211> 112

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (112)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 12的VL结构域

<400> 156

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

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

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

Pro Lys Leu Leu Ile Cys Lys Val Ser Thr Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 157

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (16)

<223> PD-1 mAb 12的CDRL1

<400> 157

Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu

1 5 10 15

<210> 158

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (7)

<223> PD-1 mAb 12的CDRL2

<400> 158

Lys Val Ser Thr Arg Phe Ser

1 5

<210> 159

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (9)

<223> PD-1 mAb 12的CDRL3

<400> 159

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 160

<211> 121

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (121)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 13的VH结构域

<400> 160

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

<210> 161

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 13的CDRH1

<400> 161

```
Ser His Thr Met Ser
1           5
```

<210> 162

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (17)

<223> PD-1 mAb 13的CDRH2

<400> 162

```
Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Asn Ile Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
```

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 163

<211> 12

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (12)

<223> PD-1 mAb 13的CDRH3

<400> 163

Gln Ala Tyr Tyr Gly Asn Tyr Trp Tyr Phe Asp Val

1	5	10
---	---	----

<210> 164

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 13的VL结构域

<400> 164

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Glu Ser Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

Ser Gly Ser Gly Thr Lys Phe Ser Phe Lys Ile Ser Ser Leu Gln Ala

65	70	75	80
----	----	----	----

Glu Asp Phe Val Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asp Ser Ile Pro Trp

85	90	95
----	----	----

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100	105
-----	-----

<210> 165

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1) .. (11)
<223> PD-1 mAb 13的CDRL1
<400> 165
Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Ala
1 5 10
<210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1) .. (7)
<223> PD-1 mAb 13的CDRL2
<400> 166
Ala Ala Thr Ser Leu Ala Asp
1 5
<210> 167
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1) .. (9)
<223> PD-1 mAb 13的CDRL3
<400> 167
Gln Gln Leu Asp Ser Ile Pro Trp Thr
1 5
<210> 168
<211> 117
<212> PRT
<213> 小家鼠
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1) .. (117)
<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 14的VH结构域
<400> 168

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

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 169

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 14的 CDRH1

<400> 169

Ser Tyr Trp Ile Thr
 1 5

<210> 170

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (17)

<223> PD-1 mAb 14的CDRH2

<400> 170

Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Asp Gly Thr Thr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Ser

<210> 171

<211> 8

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (8)

<223> PD-1 mAb 14的CDRH3

<400> 171

Gly Leu His Trp Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 172

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 14的VL结构域

<400> 172

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Asn

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Ser Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 173

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (11)

<223> PD-1 mAb 14的CDRL1

<400> 173

Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Asn Val Ala

1 5 10

<210> 174

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (7)

<223> PD-1 mAb 14的CDRL2

<400> 174

Ser Ala Ser Ser Arg Phe Ser

1 5

<210> 175

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (9)

<223> PD-1 mAb 14的CDRL3

<400> 175

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 176

<211> 117

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (117)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 15的VH结构域

<400> 176

Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ile Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Ala Ile Ser Gly Gly Gly Ala Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser 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 Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Arg Gly Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 177

<211> 5

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (5)

<223> PD-1 mAb 15的CDRH1

<400> 177

Ser Tyr Leu Ile Ser

1 5

<210> 178

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (17)

<223> PD-1 mAb 15的CDRH2

<400> 178

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

1 5 10 15

Gly

<210> 179

<211> 8

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (8)

<223> PD-1 mAb 15的CDRH3

<400> 179

Arg Gly Thr Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 180

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 15的VL结构域

<400> 180

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

1 5 10 15

Glu Ser Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Lys Phe Ser Phe Lys Ile Ser Ser Leu Gln Ala

65 70 75 80

Glu Asp Phe Val Asn Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Tyr Ser Ile Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 181

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (11)

<223> PD-1 mAb 15的CDRL1

<400> 181

Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 182

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (7)

<223> PD-1 mAb 15的CDRL2

<400> 182

Ala Ala Thr Ser Leu Ala Asp

1 5

<210> 183

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (9)

<223> PD-1 mAb 15的CDRL3

<400> 183

Gln Gln Leu Tyr Ser Ile Pro Trp Thr

1 5

<210> 184

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人hPD-1 mAb 15 VH1的VH结构域

<400> 184

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

<210> 185

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人hPD-1 mAb 15 VL1的VL结构域

<400> 185

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

<210> 186

<211> 445

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人PD-1抗体hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P)的重链

<400> 186

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

1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr			
20	25	30	
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile			
35	40	45	
Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe			
50	55	60	
Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly			
100	105	110	
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe			
115	120	125	
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu			
130	135	140	
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp			
145	150	155	160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu			
165	170	175	
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
180	185	190	
Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro			
195	200	205	
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro			
210	215	220	
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe			
225	230	235	240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro			
245	250	255	
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val			
260	265	270	
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr			
275	280	285	
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val			
290	295	300	
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys			
305	310	315	320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser															
				325						330				335	
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro															
				340						345				350	
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val															
				355						360				365	
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly															
				370						375				380	
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp															
385										390				395	400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp															
										405				410	415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His															
				420						425				430	
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly															
				435						440				445	
<210> 187															
<211> 218															
<212> PRT															
<213> 人工序列															
<220>															
<223> 人源化抗人PD-1抗体hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P)的轻链															
<400> 187															
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 Glu Ser Val Asp Asn Tyr															
					20					25				30	
Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro															
					35					40				45	
Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser															
					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 Phe Cys Gln Gln Ser Lys															
										85				90	95
Glu Val Pro Tyr 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> 188

<211> 176

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (176)

<223> 人B7-H1 (PD-L1) 多肽 (NCBI序列NP_001254635.1),
包括预测的18个氨基酸信号序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (18)

<223> 预测的信号序列

<400> 188

```

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

```

100	105	110
Pro Glu Leu Pro Leu Ala His	Pro Pro Asn Glu Arg Thr	His Leu Val
115	120	125
Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys	Leu Gly Val Ala Leu Thr Phe	Ile
130	135	140
Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met	Asp Val Lys Lys Cys Gly Ile	
145	150	155
Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser	Asp Thr His Leu Glu Glu Thr	
165	170	175
<210> 189		
<211> 273		
<212> PRT		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (1) .. (273)		
<223> 人B7-DC (PD-L2) 多肽 (NCBI序列NP_079515.2) ;		
包括预测的18个氨基酸信号序列		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (1) .. (18)		
<223> 预测的信号序列		
<400> 189		
Met Ile Phe Leu Leu Leu Met Leu Ser Leu Glu Leu Gln Leu His Gln		
1	5	10
Ile Ala Ala Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile		
20	25	30
Glu His Gly Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser		
35	40	45
His Val Asn Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn		
50	55	60
Asp Thr Ser Pro His Arg Glu Arg Ala Thr Leu Leu Glu Glu Gln Leu		
65	70	75
Pro Leu Gly Lys Ala Ser Phe His Ile Pro Gln Val Gln Val Arg Asp		
85	90	95
Glu Gly Gln Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly Val Ala Trp Asp Tyr		
100	105	110
Lys Tyr Leu Thr Leu Lys Val Lys Ala Ser Tyr Arg Lys Ile Asn Thr		
115	120	125

```

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

```

Ile

<210> 190

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (118)

<223> 抗人CD2抗体CD2 mAb Lo-CD2a的VH结构域

<400> 190

```

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

```

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

115

<210> 191

<211> 112

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (112)

<223> 抗人CD2抗体CD2 mAb Lo-CD2a的VL结构域

<400> 191

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

Gln	Ser	Val	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	His	Ser				
			20				25					30							

Ser	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Arg	Thr	Gly	Gln	Ser				
		35				40				45									

Pro	Gln	Pro	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro				
		50				55				60									

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

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

Thr	His	Tyr	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys				
			100				105						110						

<210> 192

<211> 125

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (125)

<223> 抗人CD3抗体CD3 mAb 1的VH结构域

<400> 192

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

```

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

```

<210> 193

<211> 110

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (110)

<223> 抗人CD3抗体CD3 mAb 1的VL结构域

<400> 193

```

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

```

<210> 194

<211> 125

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (125)

<223> 抗人CD3抗体CD3 mAb 1 (D65G)的VH结构域

<400> 194

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

<210> 195

<211> 125

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (125)

<223> 抗人CD3抗体CD3 mAb 1 Low的VH结构域

<400> 195

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

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

<210> 196

<211> 125

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (126)

<223> 抗人CD3抗体CD3 mAb 1 Fast的VH结构域

<400> 196

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

<210> 197

<211> 119

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (119)

<223> 抗人CD3抗体OKT3的VH结构域

<400> 197

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

<210> 198

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 抗人CD3抗体OKT3的VL结构域

<400> 198

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
 85 90 95

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

<210> 199

<211> 120

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (120)

<223> 抗人CD8抗体OKT8的VH结构域

<400> 199

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

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

Asn Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

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

Lys Asn Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Ser Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 200

<211> 112

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (112)

<223> 抗人CD8抗体OKT8的VL结构域

<400> 200

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

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

<210> 201

<211> 121

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (121)

<223> 抗人CD8抗体TRX2的VH结构域

<400> 201

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

<210> 202

<211> 106

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (106)

<223> 抗人CD8抗体TRX2的VL结构域

<400> 202

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

<210> 203

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (118)

<223> 抗人CD16抗体3G8的VH结构域

<400> 203

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

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Ser Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Phe Leu Lys Ile Ala Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Gln Ile Asn Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ala
 115

<210> 204

<211> 111

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (111)

<223> 抗人CD16抗体3G8的VL结构域

<400> 204

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

<210> 205

<211> 117

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (117)

<223> 抗人CD16抗体A9的VH结构域

<400> 205

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

<210> 206

<211> 111

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (111)

<223> 抗人CD16抗体A9的VL结构域

<400> 206

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

228

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

<210> 209

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (118)

<223> 抗人NKG2D抗体KYK-1.0的VH结构域

<400> 209

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

<210> 210

<211> 108

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (108)

<223> 抗人NKG2D抗体KYK-1.0的VL结构域

<400> 210

```

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

```

<210> 211

<211> 121

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (121)

<223> 抗人NKG2D抗体KYK-2.0的VH结构域

<400> 211

```

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

```

	85	90	95
Ala Lys Asp Arg Gly Leu Gly Asp Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly			
	100	105	110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser			
	115	120	
<210> 212			
<211> 110			
<212> PRT			
<213> 小家鼠			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (1) .. (110)			
<223> 抗人NKG2D抗体KYK-2.0的VL结构域			
<400> 212			
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln			
1 5 10 15			
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn			
20 25 30			
Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu			
35 40 45			
Ile Tyr Tyr Asp Asp Leu Leu Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser			
50 55 60			
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Phe Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln			
65 70 75 80			
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu			
85 90 95			
Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
100 105 110			
<210> 213			
<211> 120			
<212> PRT			
<213> 小家鼠			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (1) .. (120)			
<223> 抗人B7-H3抗体B7-H3 mAb 1的VH结构域			
<400> 213			
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala			
1 5 10 15			

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

<210> 214

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 抗人B7-H3抗体B7-H3 mAb 1的VL结构域

<400> 214

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

<210> 215

<211> 120

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (120)

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 1 VH1的VH结构域

<400> 215

```

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

```

<210> 216

<211> 120

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (120)

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 1 VH2的VH结构域

<400> 216

```

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

```

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

<210> 217

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 1 VL1的VL结构域

<400> 217

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

<210> 218

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 1 VL2的VL结构域

<400> 218

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

<210> 219

<211> 122

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (122)

<223> 抗人B7-H3抗体B7-H3 mAb 2的VH结构域

<400> 219

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

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

<210> 220

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 抗人B7-H3抗体B7-H3 mAb 2的VL结构域

<400> 220

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

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

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

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

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

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

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

<210> 221

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 2 VH1的VH结构域

<400> 221

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

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

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

Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val

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

<210> 222

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 2 VH2的VH结构域

<400> 222

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

<210> 223

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 2 VH3的VH结构域

<400> 223

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

<210> 224

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 2 VH4的VH结构域

<400> 224

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

<210> 225

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 2 VL1的VL结构域

<400> 225

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

<210> 226

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 2 VL2的VL结构域

<400> 226

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

	85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
100	105		
<210> 227			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 2 VL3的VL结构域			
<400> 227			
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn			
20	25	30	
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
35	40	45	
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe			
85	90	95	
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
100	105		

<210> 228

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 2 VL4的VL结构域

<400> 228

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

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

<210> 229

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 2 VL5的VL结构域

<400> 229

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

<210> 230

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hB7-H3 mAb 2 VL6的VL结构域

<400> 230

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

<400> 231

 $\langle 220 \rangle$

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (108)

<223> 抗人B7-H3抗体B7-H3 mAb 3的VL结构域

<400> 232

```

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

```

<210> 233

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人CEACAM5 / ANTI-CEACAM6抗体16C3的VH结构域

<400> 233

```

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

```

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 234

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人CEACAM5 / ANTI-CEACAM6抗体16C3的VL结构域

<400> 234

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

<210> 235

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人CEACAM5/ANTI-CEACAM6抗体hMN15的VH结构域

<400> 235

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

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

<210> 236

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人CEACAM5/ANTI-CEACAM6抗体hMN15的VL结构域

<400> 236

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

<210> 237

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 嵌合抗人EGFR抗体“西妥昔单抗”的VH结构域

<400> 237

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln			
1	5	10	15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr			
	20	25	30

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

<210> 238

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 嵌合抗人EGFR抗体“西妥昔单抗”的VL结构域

<400> 238

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

<210> 239

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人EGFR抗体“帕尼单抗”的VH结构域

241

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (118)

<223> 抗人EphA2抗体EphA2 mAb 1的VH结构域

<400> 241

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

<210> 242

<211> 106

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (106)

<223> 抗人EphA2抗体EphA2 mAb 1的VL结构域

<400> 242

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

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

<210> 243

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (118)

<223> 抗人EphA2抗体EphA2 mAb 2的VH结构域

<400> 243

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

<210> 244

<211> 111

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (111)

<223> 抗人EphA2抗体EphA2 mAb 2的VL结构域

<400> 244

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

<210> 245

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (118)

<223> 抗人EphA2抗体EphA2 mAb 3的VH结构域

<400> 245

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

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

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

<210> 248

<211> 106

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (106)

<223> 抗人gpA33抗体gpA33 mAb 1的VL结构域

<400> 248

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

<210> 249

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 亲和力优化的抗人Her2/Neu抗体玛格妥昔单抗的VH结构域

<400> 249

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

<210> 250

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 亲和力优化的抗人Her2/Neu抗体玛格妥昔单抗的VL结构域

<400> 250

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

<210> 252
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人源化抗人Her2/Neu抗体曲妥珠单抗的VL结构域
<400> 252
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

<210> 253

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人Her2/Neu抗体帕妥珠单抗的VH结构域

<400> 253

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

<210> 254

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人Her2/Neu抗体帕妥珠单抗的VL结构域

<400> 254

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

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

<210> 255

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人VEGF抗体贝伐珠单抗的VH结构域

<400> 255

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

<210> 256

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人VEGF抗体贝伐珠单抗的VL结构域

<400> 256

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

<210> 257

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (118)

<223> 抗人5T4抗体5T4 mAb 1的VH结构域

<400> 257

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

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 258

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 抗人5T4抗体5T4 mAb 1的VL结构域

<400> 258

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 259

<211> 127

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (127)

<223> 抗人5T4抗体5T4 mAb 2的VH结构域

<400> 259

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ile Thr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

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

<210> 260

<211> 112

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (112)

<223> 抗人5T4抗体5T4 mAb 2的VL结构域

<400> 260

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

<210> 261

<211> 122

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (122)

<223> 抗人IL13Ra2抗体hu08的VH结构域

<400> 261

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

<210> 262

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 抗人IL13Ra2抗体hu08的VL结构域

<400> 262

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

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

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

<210> 263

<211> 120

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (120)

<223> 抗人CD123抗体CD123 mAb 1的VH结构域

<400> 263

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Ser His Leu Leu Arg Ala Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 264

<211> 113

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (113)

<223> 抗人CD123抗体CD123 mAb 1的VL结构域

<400> 264

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

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

Lys

<210> 265

<211> 120

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_特征

<222> (1) .. (120)

<223> 抗人CD19抗体CD19 mAb 1的VH结构域

<400> 265

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

<210> 266

<211> 106

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_特征

<222> (1) .. (106)

<223> 抗人CD19抗体CD19 mAb 1的VL结构域

<400> 266

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

<210> 267

<211> 126

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (126)

<223> 抗HIV env抗体7B2的 VH结构域

<400> 267

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

$\langle 400 \rangle$ 268

Lys

<221> MISC FEATURE

<222> (1) .. (118)

<223> 抗HIV env抗体h3G8的VH结构域

<400> 269

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

<210> 270

<211> 111

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (111)

<223> 抗HIV env抗体h3G8的VL结构域

<400> 270

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

				85					90					95			
Glu	Asp	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys			
				100				105					110				
<210> 271																	
<211> 504																	
<212> PRT																	
<213> 人工序列																	
<220>																	
<223> DART-A的第一多肽链																	
<400> 271																	
Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Phe	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly		
1				5				10				15					
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Asp	Thr	Asn		
			20					25				30					
Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Ala	Leu	Ile		
			35				40					45					
Tyr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly		
			50				55					60					
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro		
65				70				75						80			
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Pro	Phe		
				85				90					95				
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly		
			100					105					110				
Gly	Gly	Gly	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln		
			115				120					125					
Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe		
			130				135					140					
Ser	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu		
145				150				155						160			
Glu	Trp	Val	Gly	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr		
				165				170						175			
Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser		
			180					185					190				
Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr		
			195				200					205					
Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Val		
			210				215					220					
Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser		

225	230	235	240
Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala			
	245	250	255
Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu			
	260	265	270
Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala			
	275	280	285
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro			
	290	295	300
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val			
305	310	315	320
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val			
	325	330	335
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln			
	340	345	350
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln			
	355	360	365
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala			
	370	375	380
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro			
385	390	395	400
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr			
	405	410	415
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser			
	420	425	430
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr			
	435	440	445
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr			
	450	455	460
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe			
465	470	475	480
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys			
	485	490	495
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
500			
<210> 272			
<211> 274			
<212> PRT			
<213> 人工序列			

<220>

<223> DART-A的第二多肽链

<400> 272

Gln	Ala	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Arg	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr	Ser
			20					25					30		
Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly
		35					40					45			
Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Trp	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe
50						55				60					
Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala
65					70					75				80	
Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn
			85					90					95		
Leu	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly
		100						105				110			
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly
	115					120				125					
Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly
130						135				140					
Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Phe	Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly
145					150					155				160	
Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Tyr	Ile	Ser	Ser	Asp	Ser	Ser	Ala	Ile
			165					170						175	
Tyr	Tyr	Ala	Asp	Thr	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn
		180						185					190		
Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Asp	Glu	Asp
		195					200					205			
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Arg	Gly	Arg	Glu	Asn	Ile	Tyr	Tyr	Gly
	210					215					220				
Ser	Arg	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser
225					230					235				240	
Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Gly	Lys	Val	Ala	Ala	Leu	Lys	Glu	Lys	Val	Ala
			245					250					255		
Ala	Leu	Lys	Glu	Lys	Val	Ala	Ala	Leu	Lys	Glu	Lys	Val	Ala	Ala	Leu
		260						265					270		

Lys Glu

<210> 273

<211> 227

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DART-A的第三多肽链

<400> 273

```

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1           5           10           15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
          20           25           30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
          35           40           45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
          50           55           60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65           70           75           80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
          85           90           95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
          100          105          110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
          115          120          125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
          130          135          140
Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145          150          155          160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
          165          170          175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
          180          185          190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
          195          200          205
His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
          210          215          220
Pro Gly Lys

```

225

<210> 274

<211> 496

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DART-1的第一和第三多肽链

<400> 274

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10					15		
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Ser	Ser	Val
			20					25				30			
Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
			35				40					45			
Tyr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
			50			55				60					
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75				80	
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	His	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp
				85				90					95		
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
				100				105					110		
Gly	Gly	Gly	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys
			115					120				125			
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe
			130					135				140			
Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
145					150					155					160
Glu	Trp	Ile	Gly	Val	Ile	His	Pro	Ser	Asp	Ser	Glu	Thr	Trp	Leu	Asp
				165					170					175	
Gln	Lys	Phe	Lys	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser
			180					185					190		
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val
			195					200				205			
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Glu	His	Tyr	Gly	Thr	Ser	Pro	Phe	Ala	Tyr	Trp
			210				215				220				
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Gly
225					230					235				240	
Glu	Val	Ala	Ala	Cys	Glu	Lys	Glu	Val	Ala	Ala	Leu	Glu	Lys	Glu	Val
				245					250				255		
Ala	Ala	Leu	Glu	Lys	Glu	Val	Ala	Ala	Leu	Glu	Lys	Glu	Ser	Lys	Tyr
			260					265					270		
Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro

275	280	285
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr		
290	295	300
Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp		
305	310	315
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
325	330	335
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
340	345	350
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
355	360	365
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys		
370	375	380
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
385	390	395
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
405	410	415
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
420	425	430
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
435	440	445
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys		
450	455	460
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
465	470	475
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly		
485	490	495

<210> 275

<211> 271

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> DART-1的第二和第四多肽链

<400> 275

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

35	40	45
Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser		
50	55	60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser		
65	70	75
Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys		
85	90	95
Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly		
100	105	110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala		
115	120	125
Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser		
130	135	140
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro		
145	150	155
Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Asp Ile Asn Pro Asp Asn Gly Val		
165	170	175
Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp		
180	185	190
Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp		
195	200	205
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Asp Tyr Phe Tyr Phe		
210	215	220
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys		
225	230	235
Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys		
245	250	255
Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu		
260	265	270

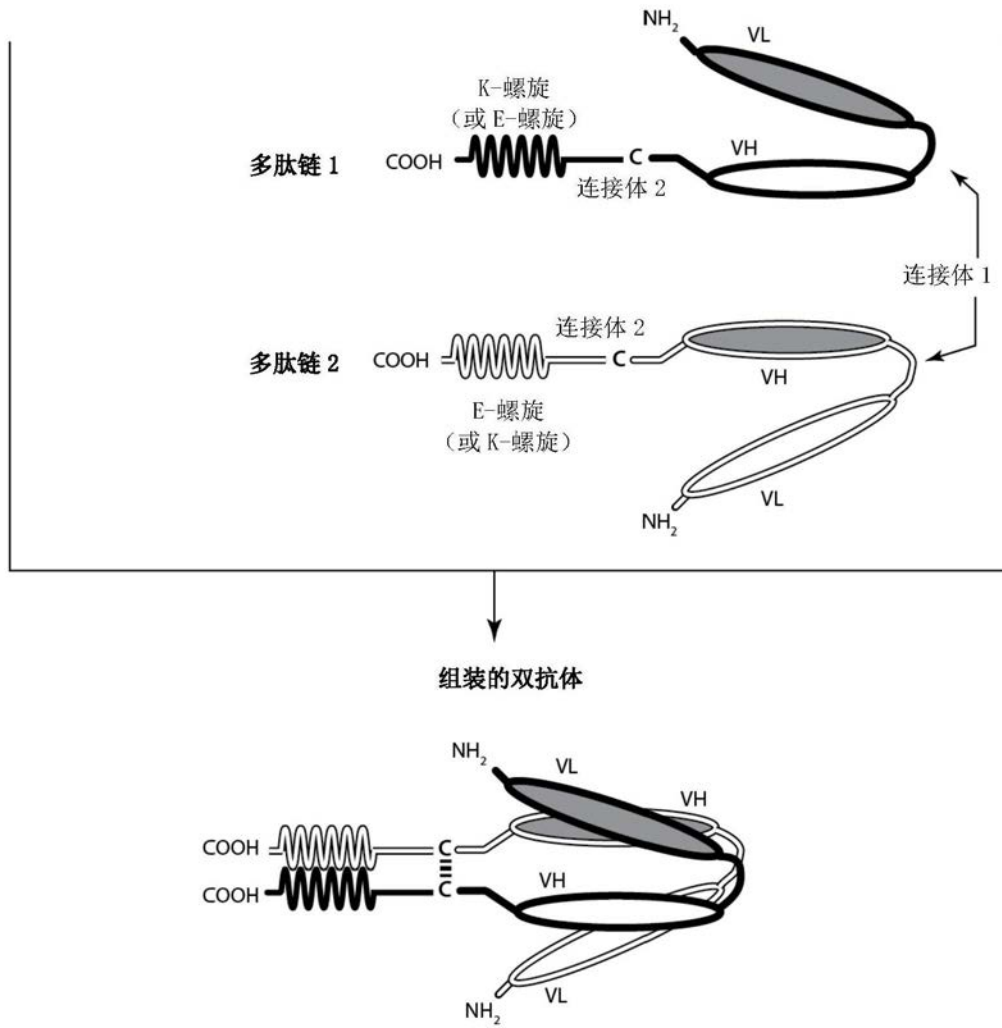


图1

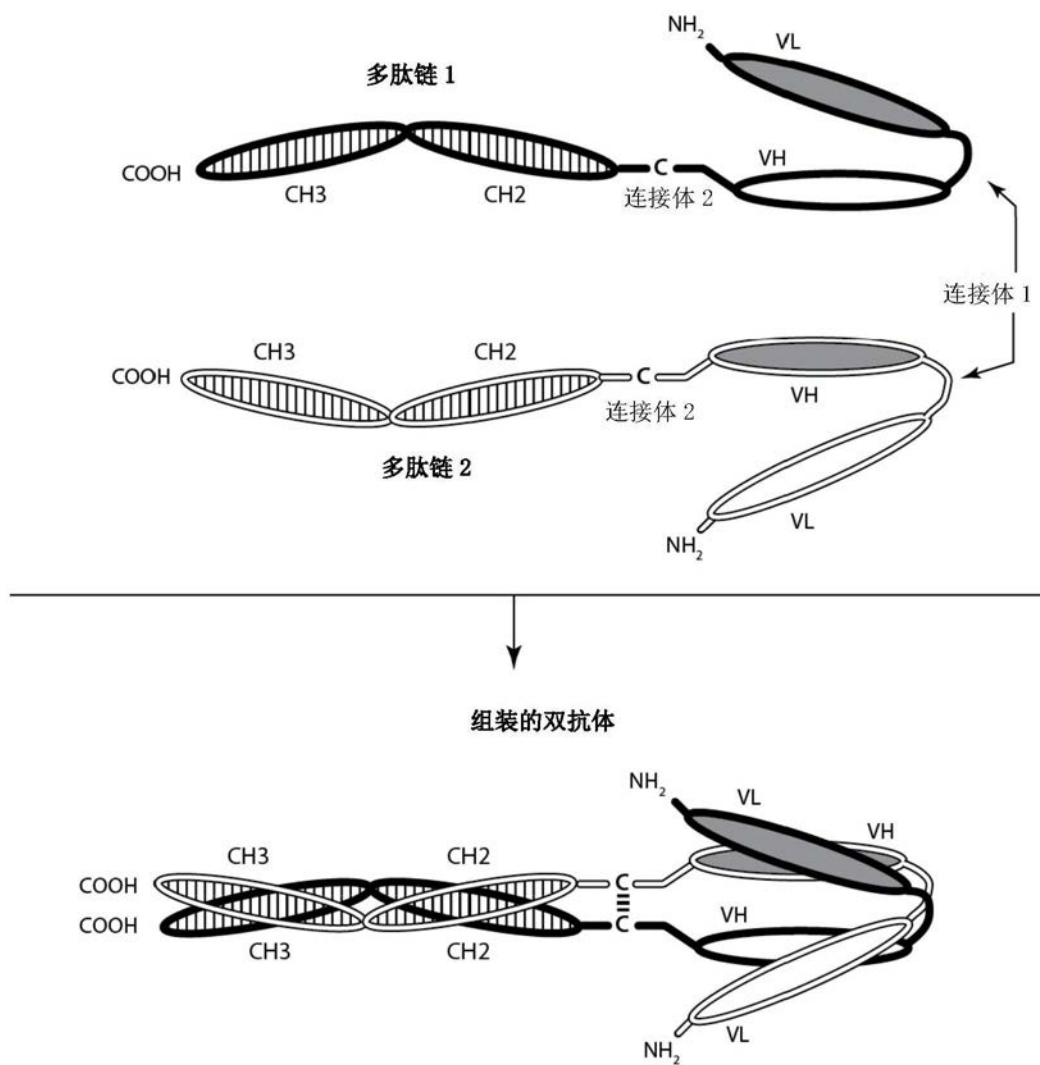


图2

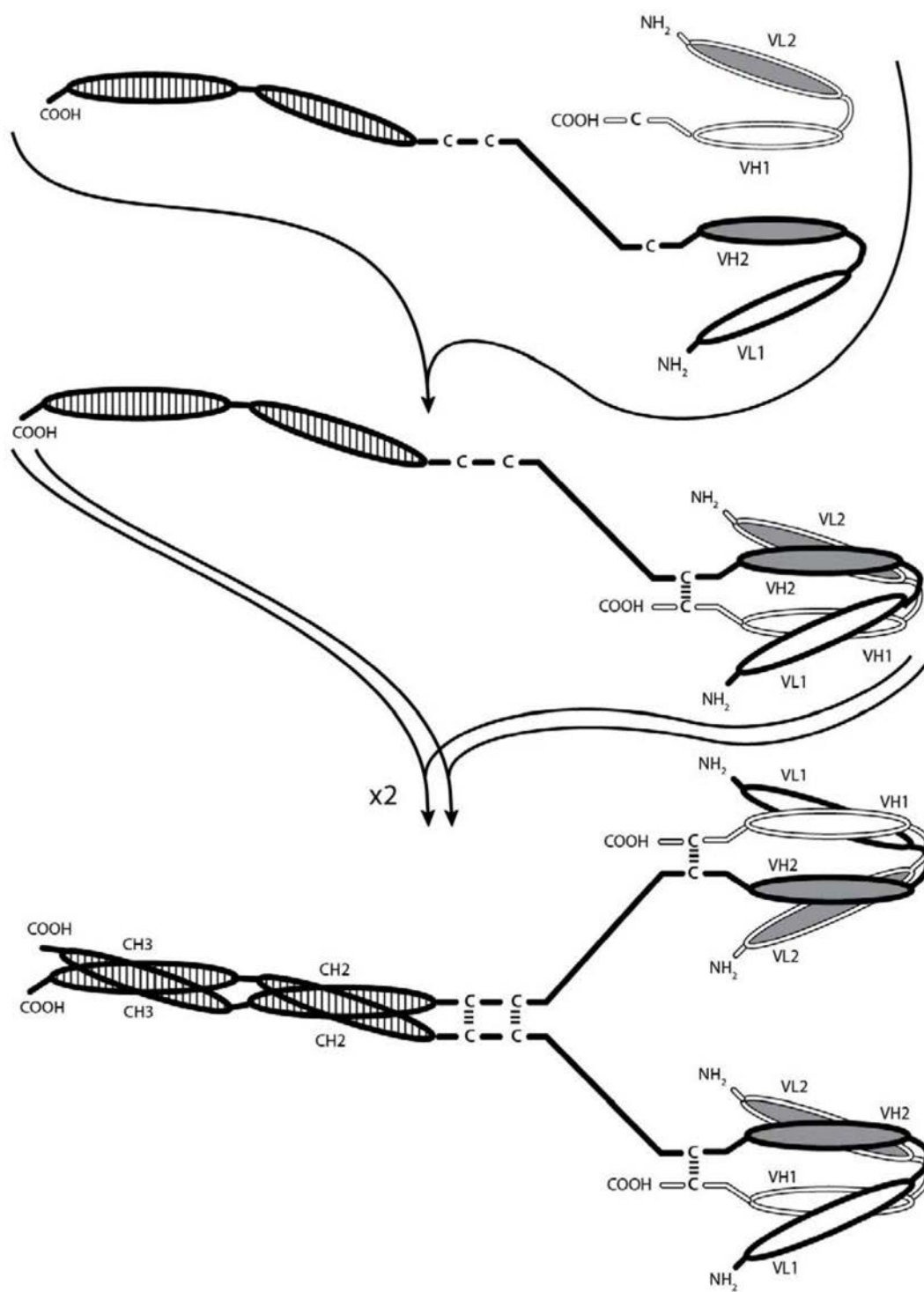


图3A

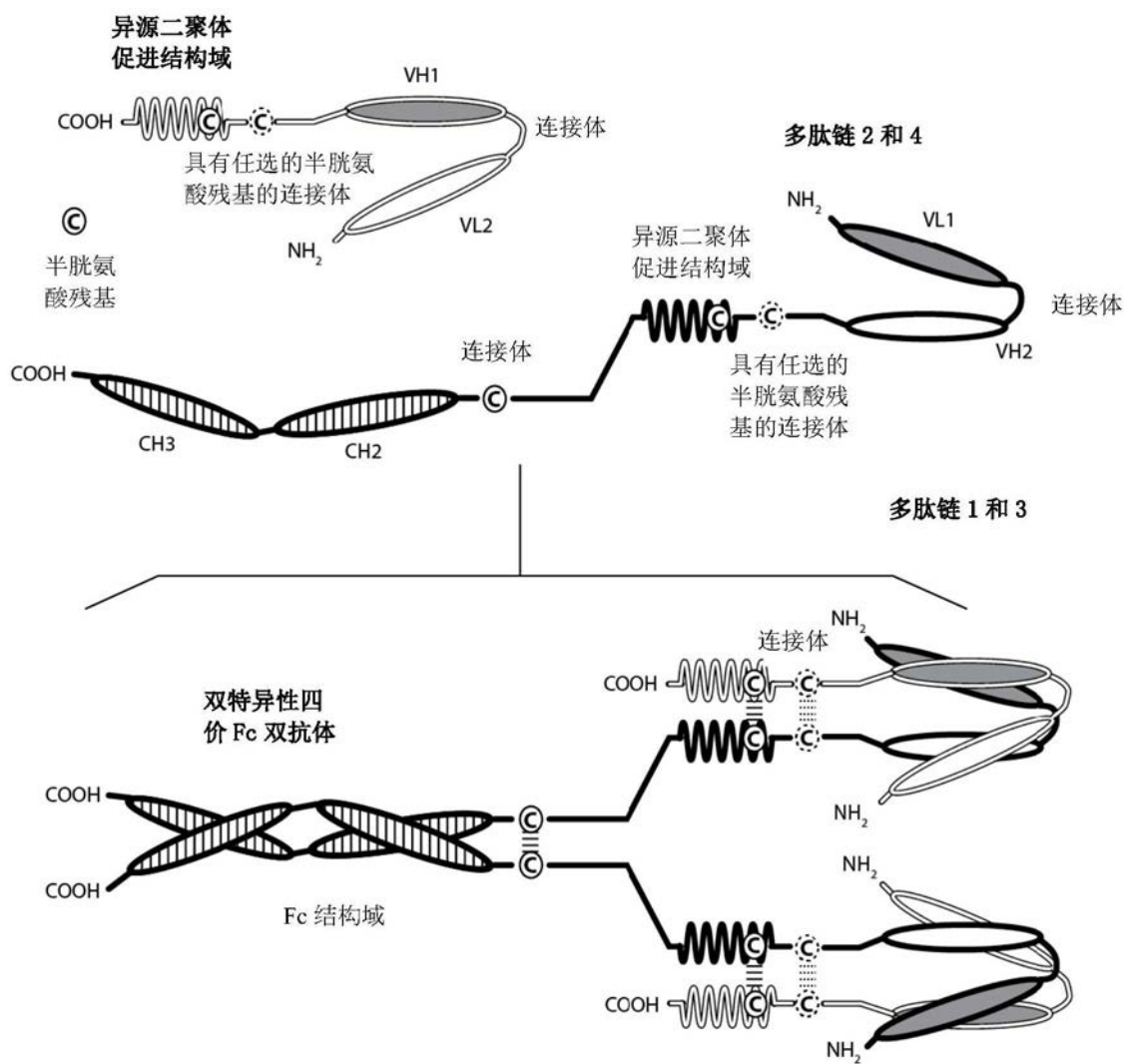


图3B

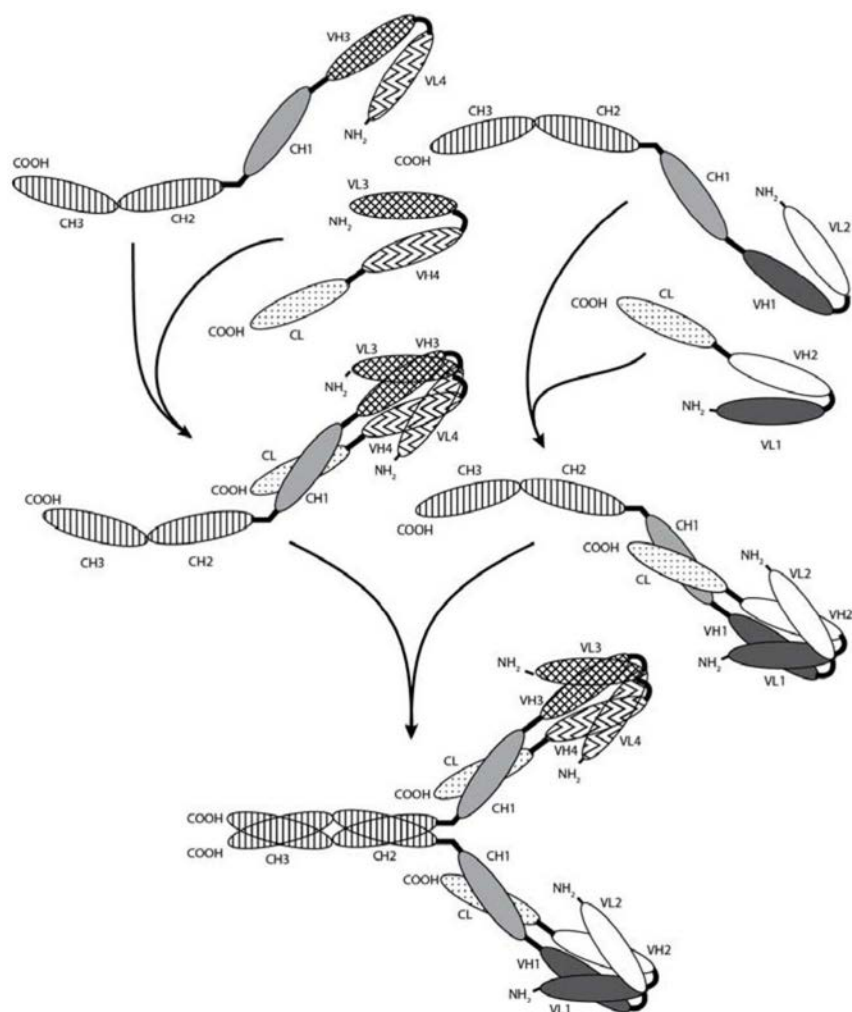


图3C

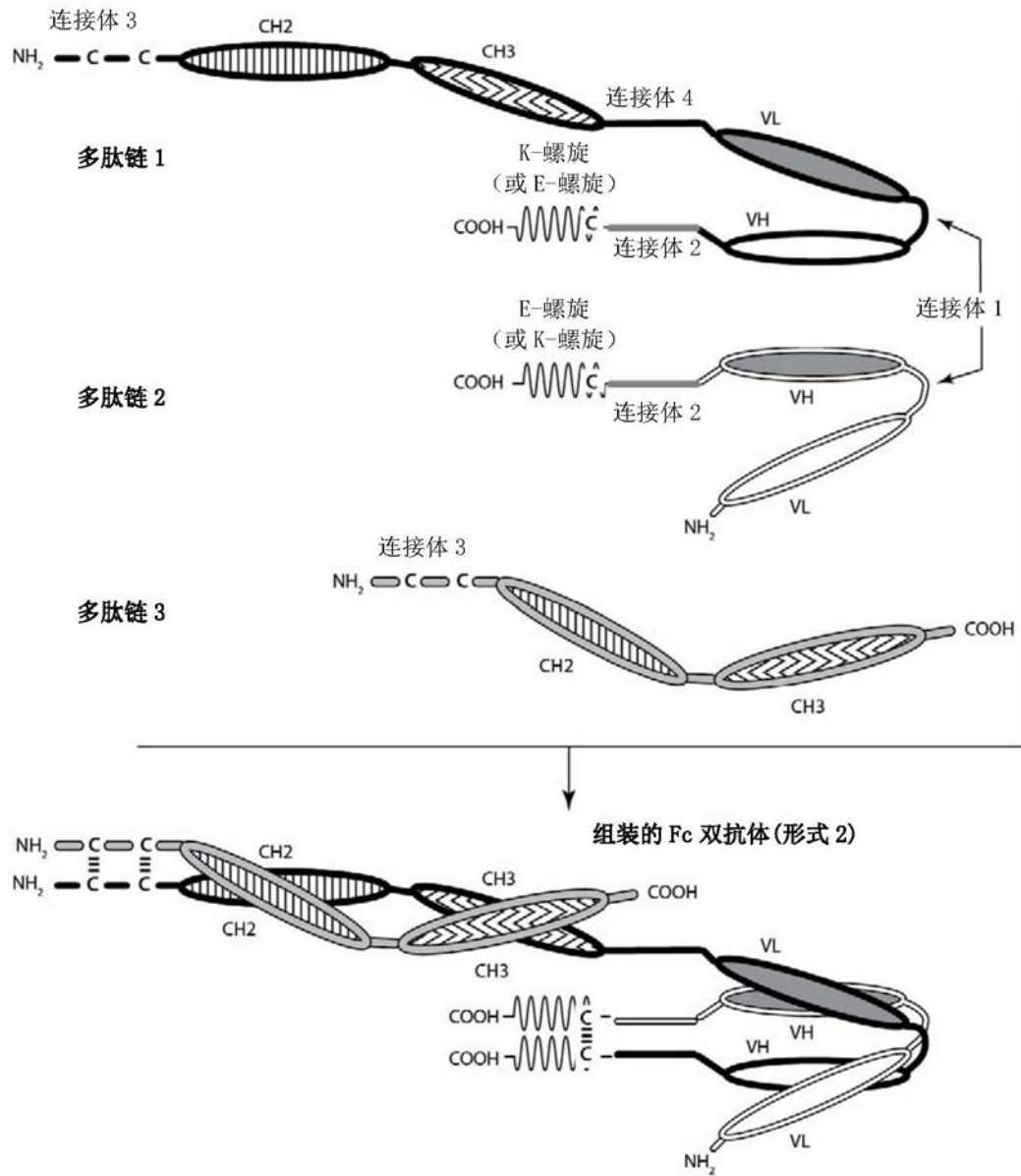


图4B

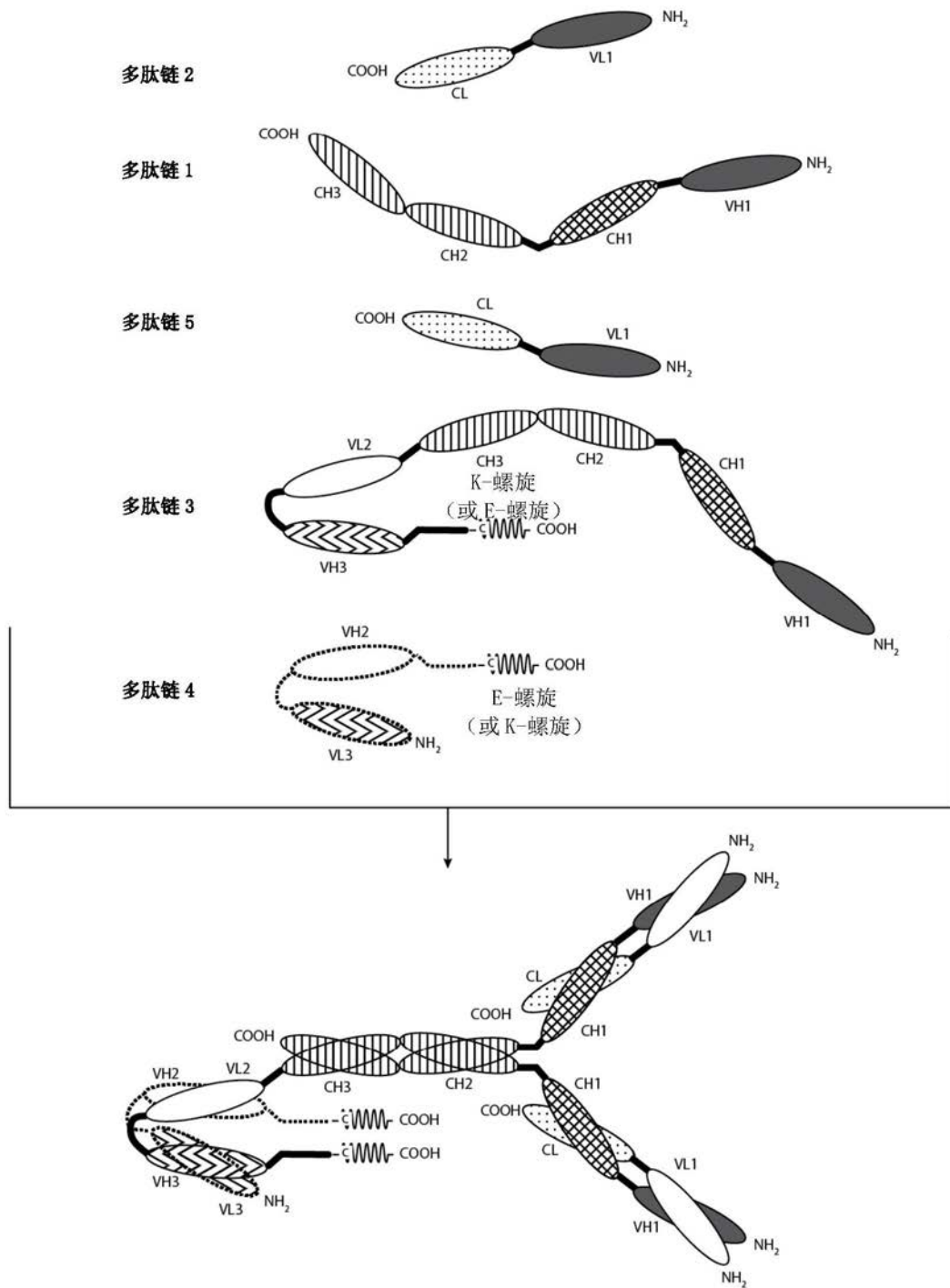


图5

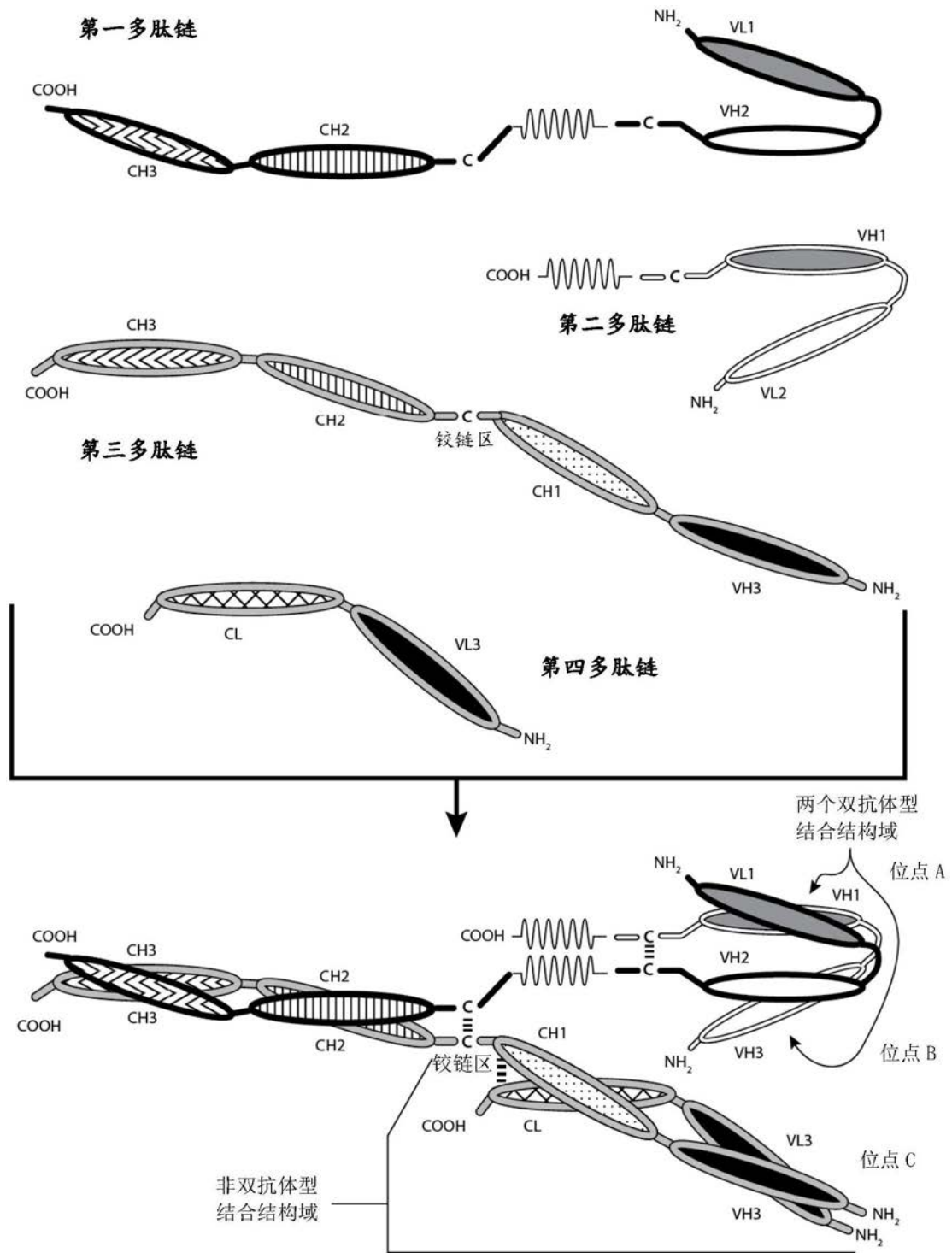


图6A

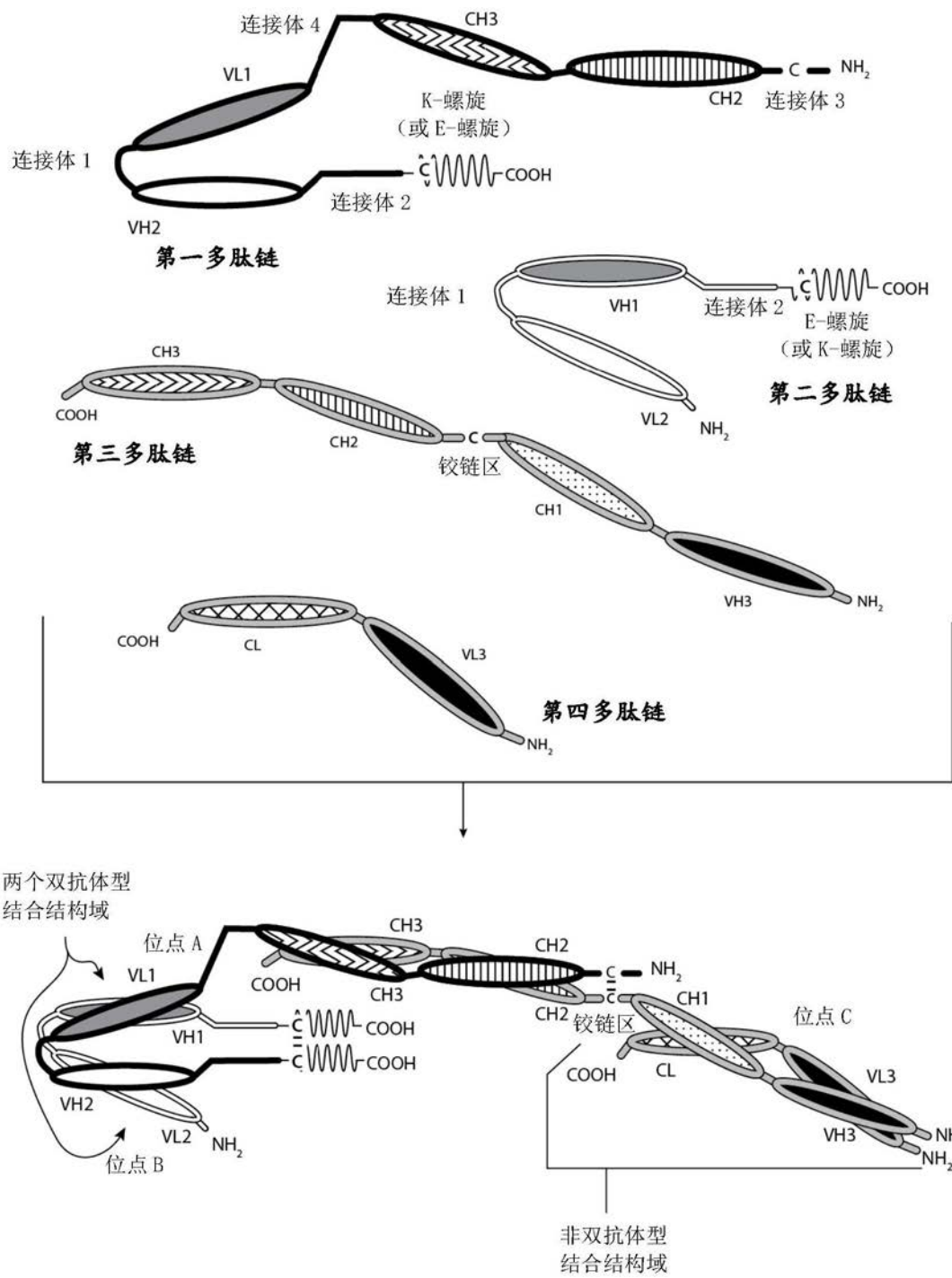


图6B

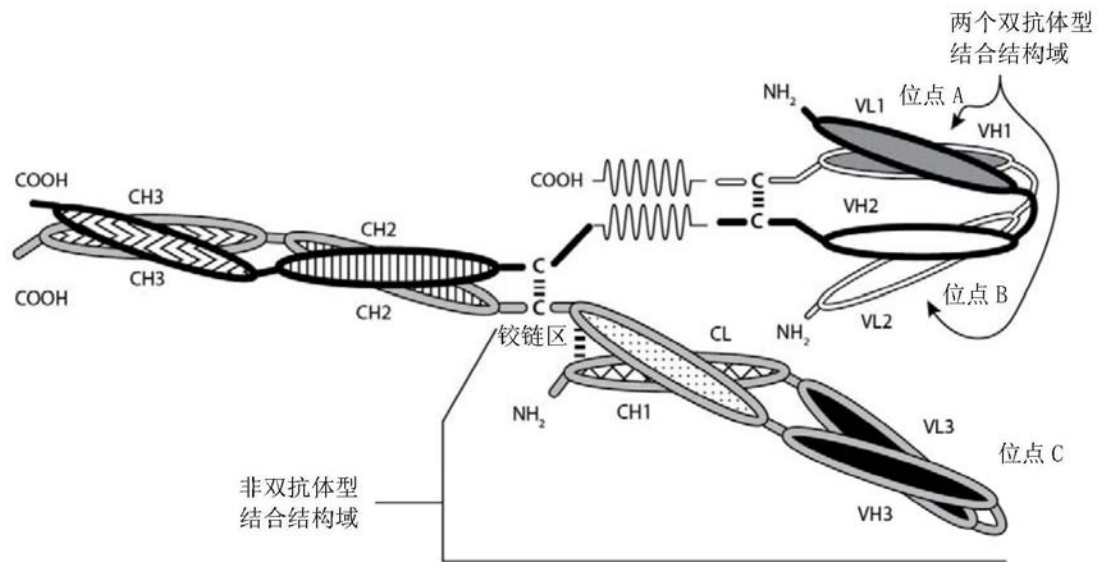


图6C

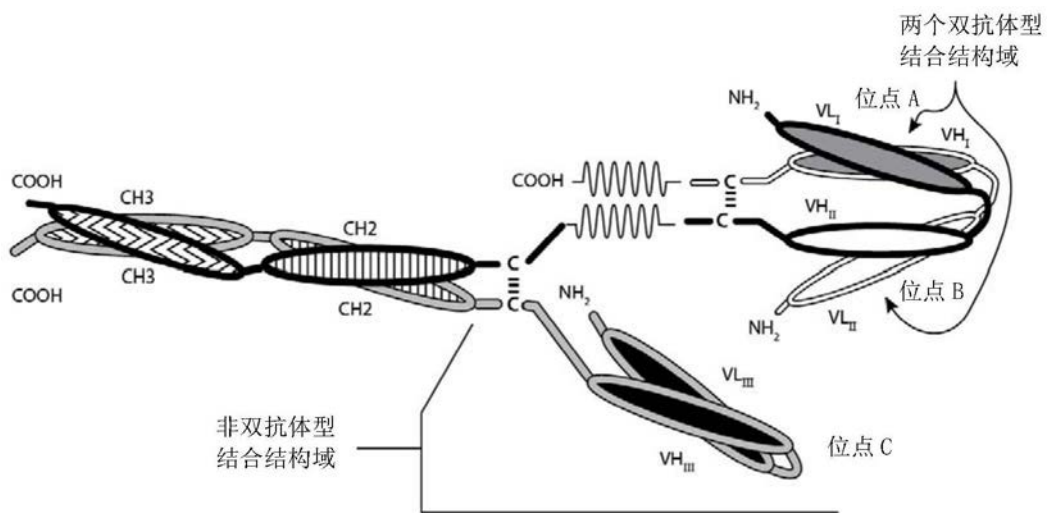


图6D

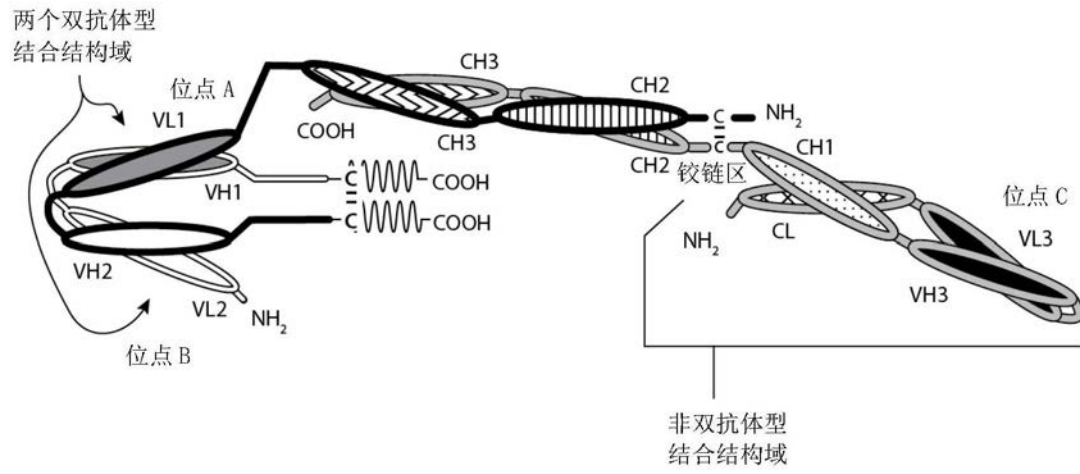


图6E

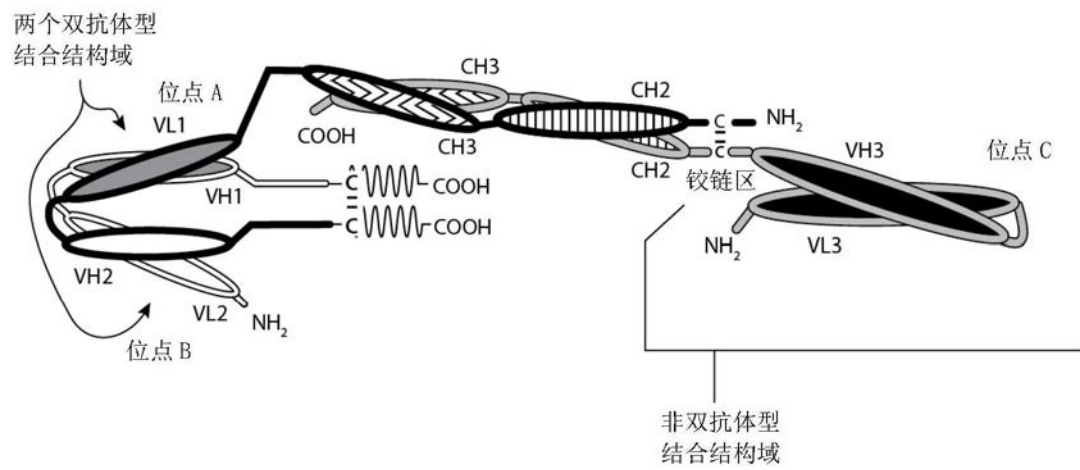


图6F

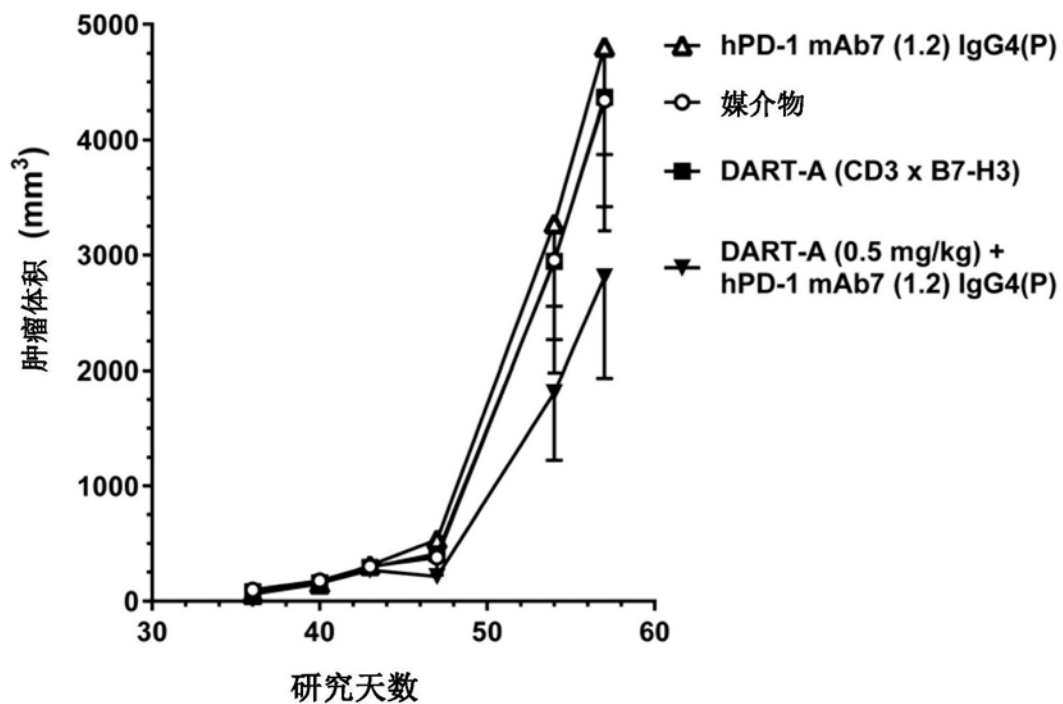


图7

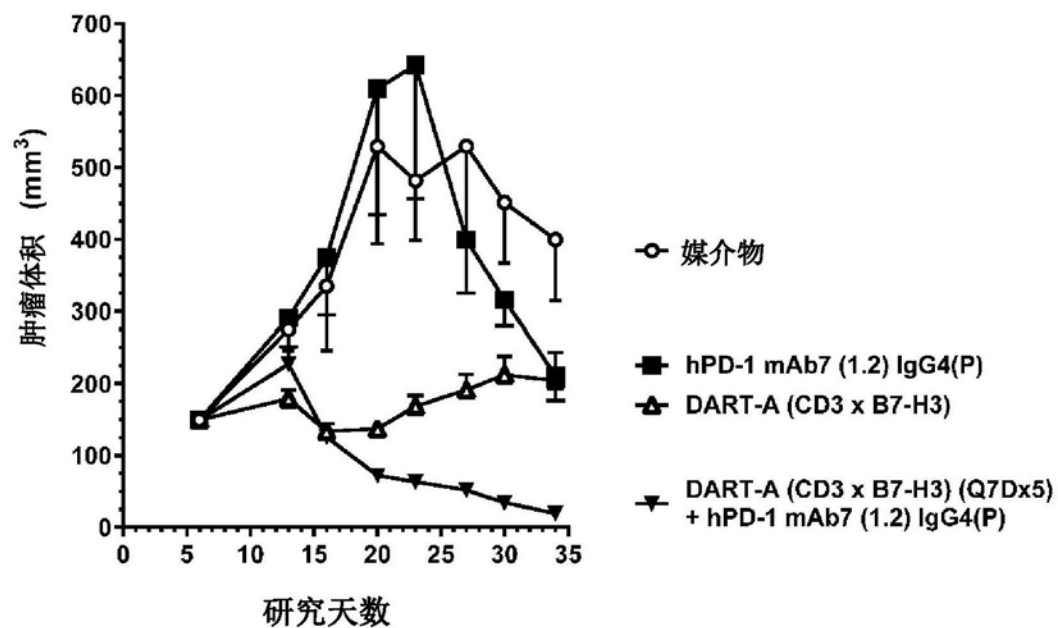


图8A

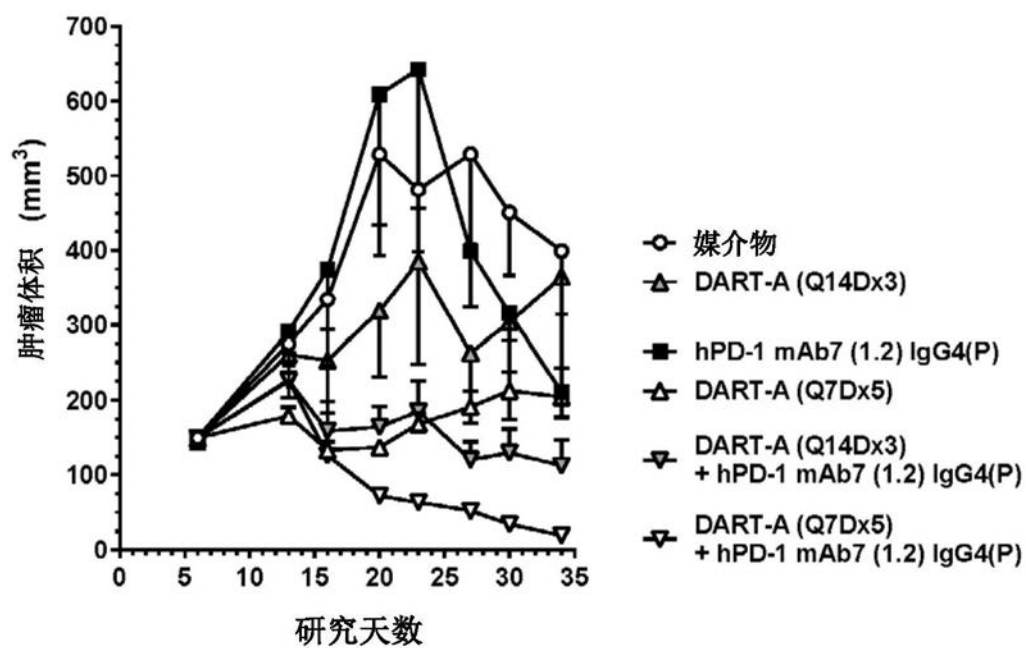


图8B

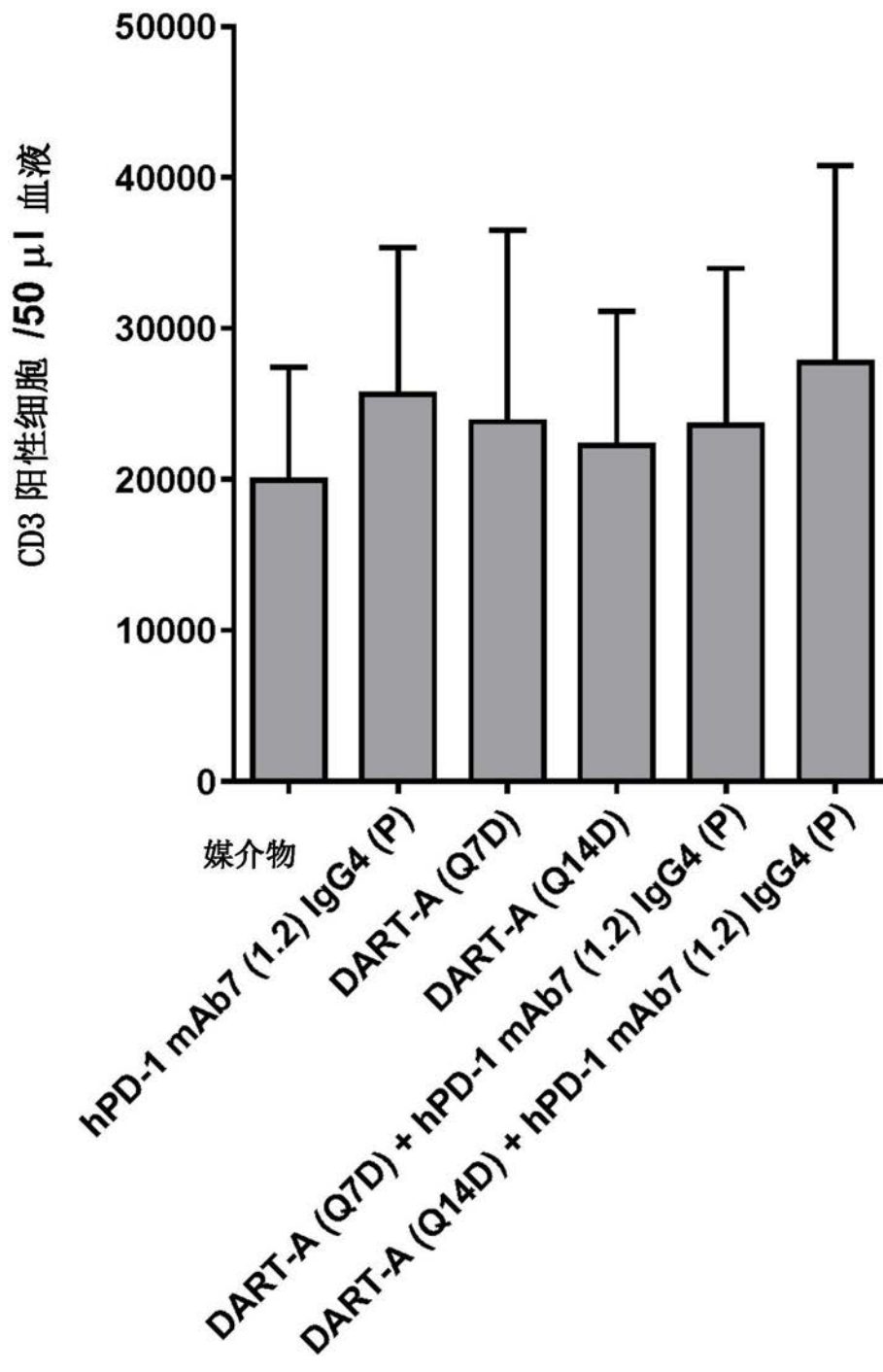


图9

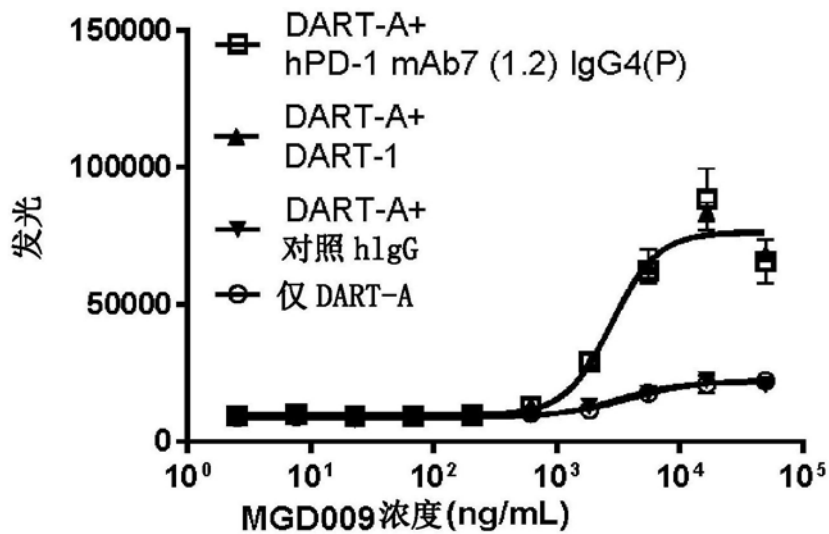
Jurkat/PD1(10K)+ MDA-MB-231(10k) (E:T=1:1)

图10A

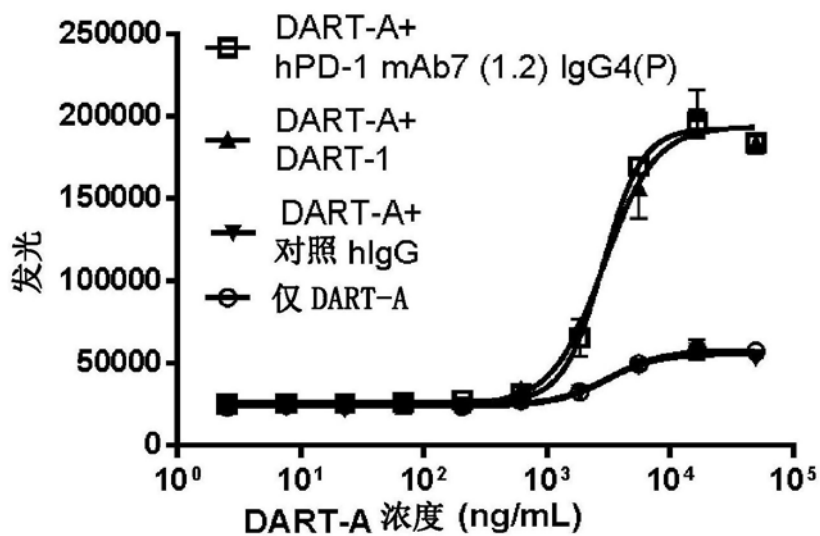
Jurkat/PD1(30K)+ MDA-MB-231(10k) (E:T=3:1)

图10B

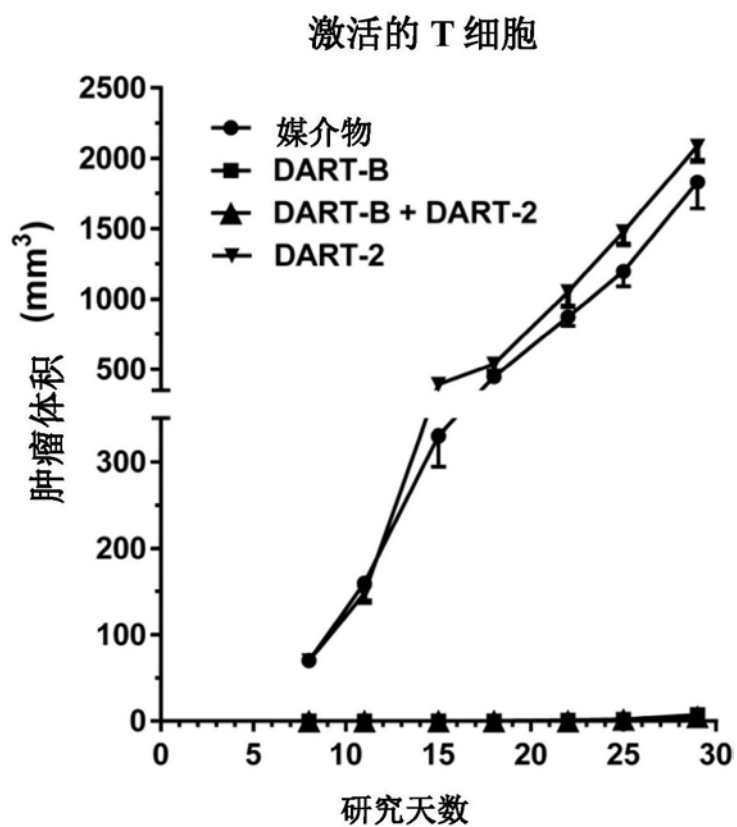


图11A

无反应性 T 细胞

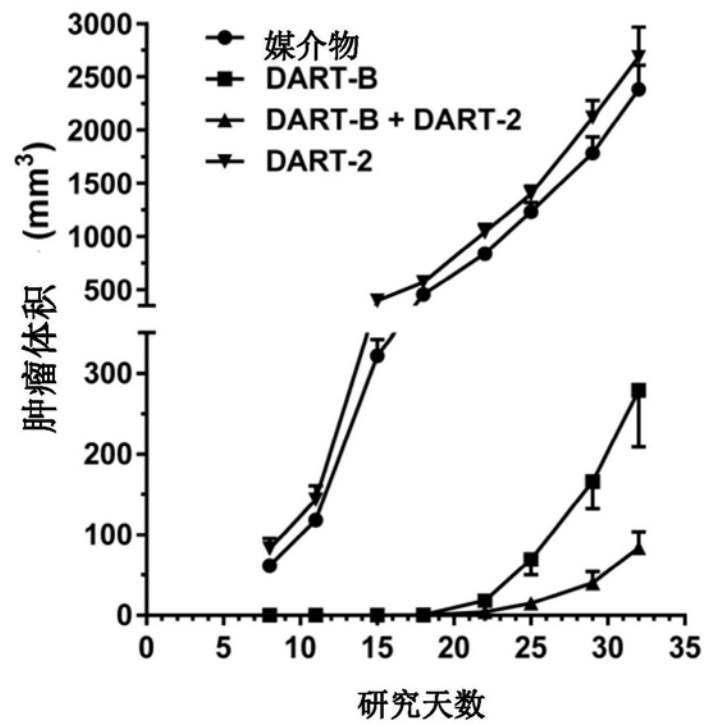


图11B

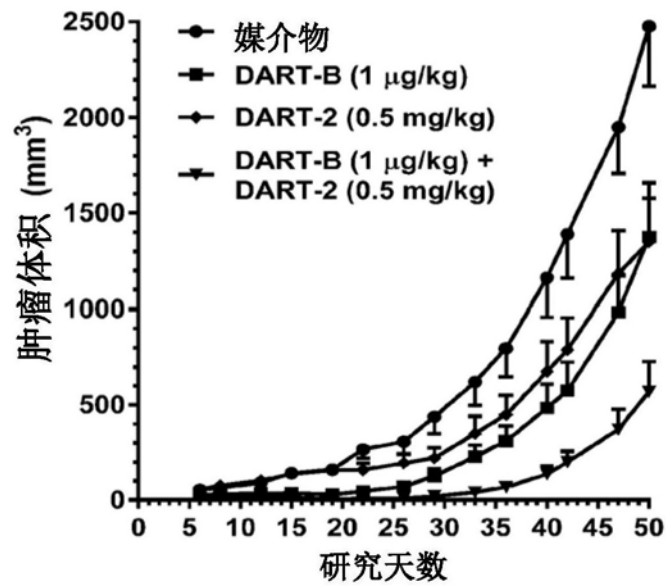


图12A

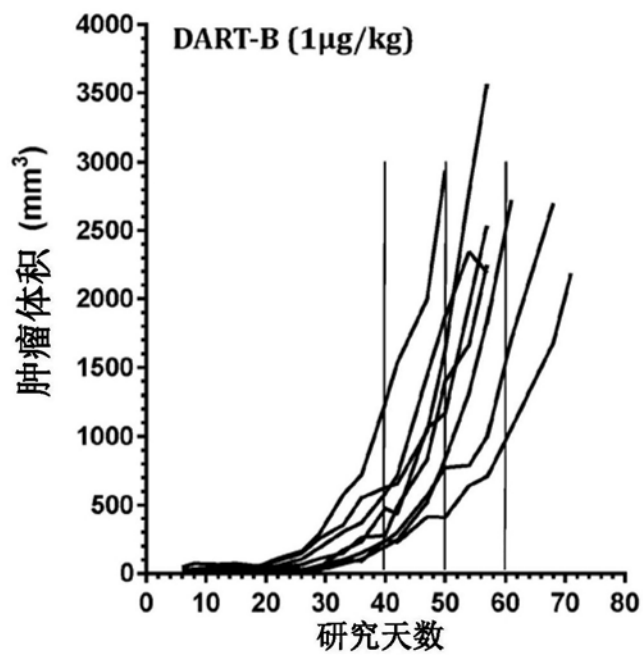


图12B

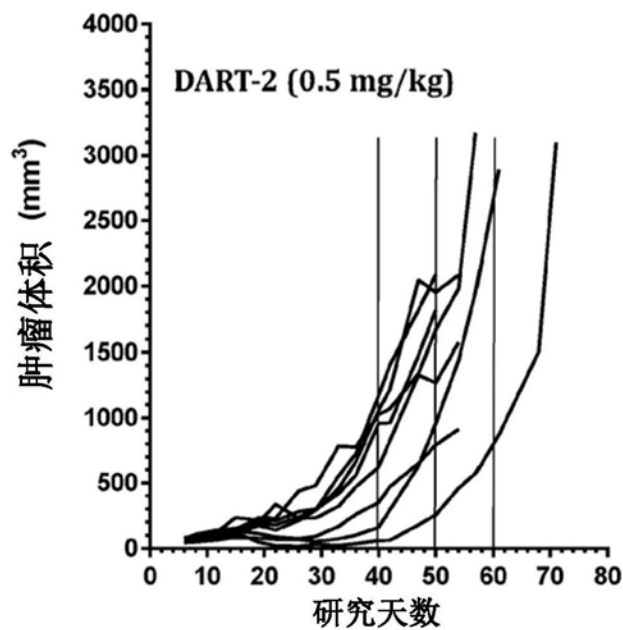


图12C

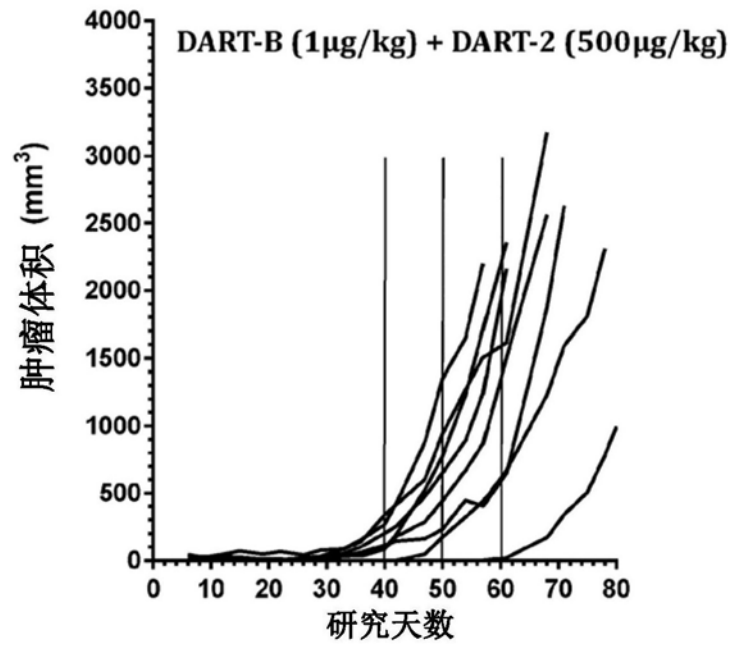


图12D

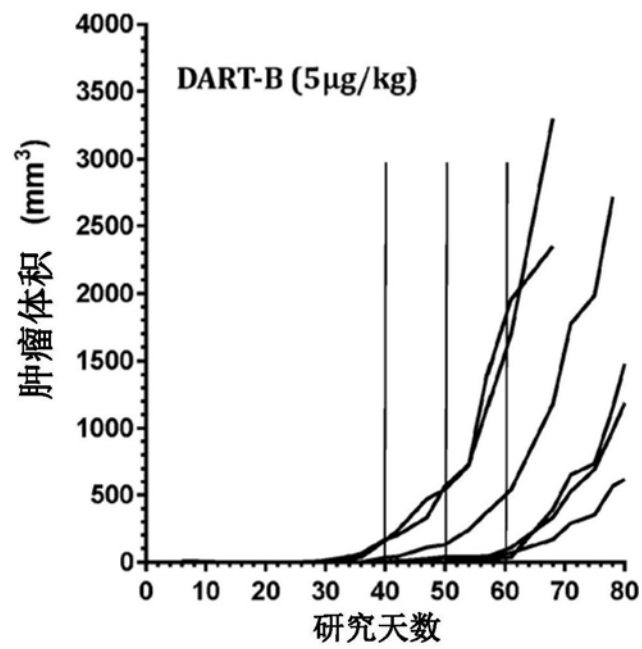


图12E

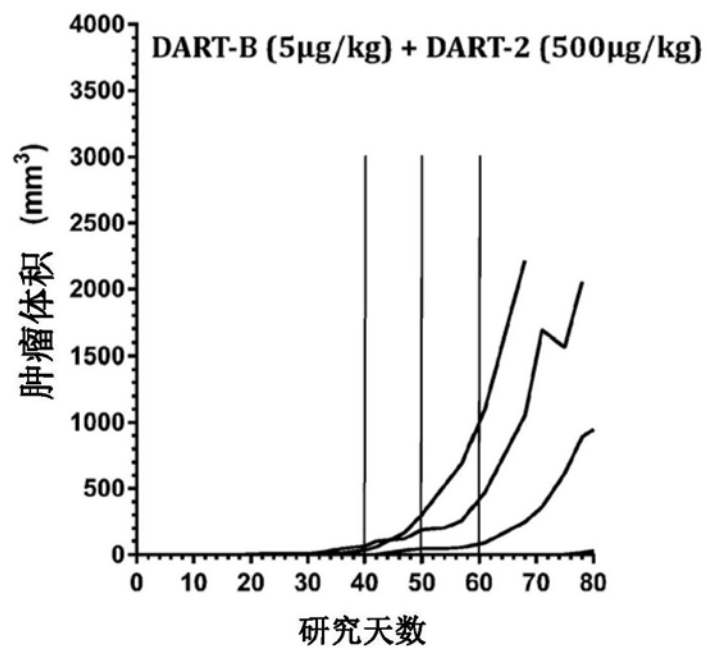


图12F

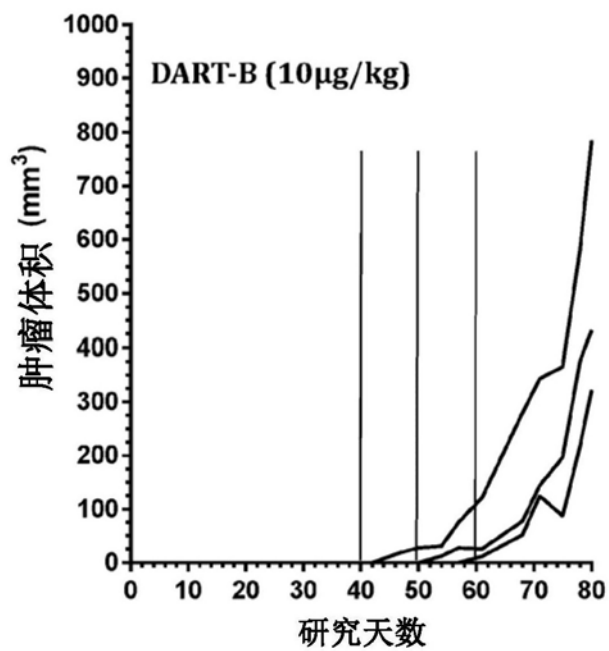


图12G

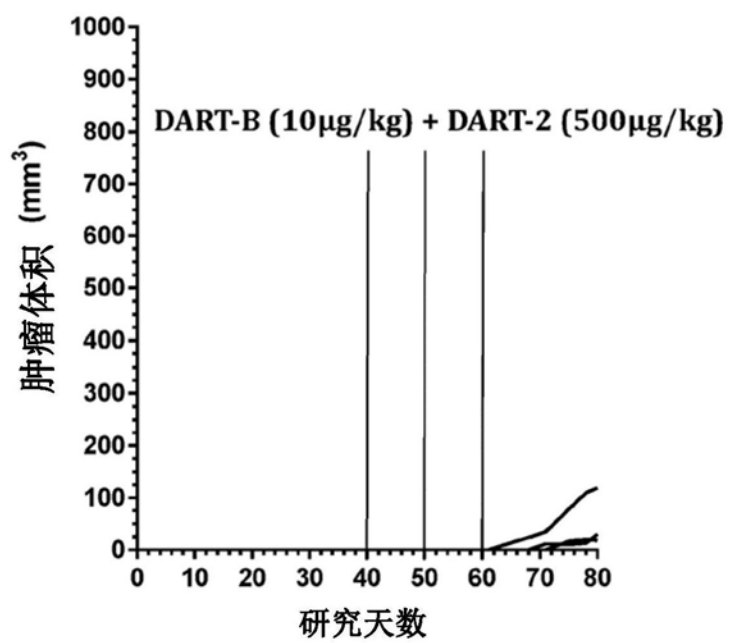


图12H